用弥散张量成像检测猕猴大脑运动区占位病变对健侧皮质脊 髓束的作用

李经辉¹,马芳州¹,王载忠¹,鲁 毅²,吴海鹰³,孙学进^{2,*},余化霖^{1,*}

1. 昆明医科大学第一附属医院 神经外二科, 云南 昆明 650032;

2. 昆明医科大学第一附属医院 放射科, 云南 昆明 650032;

3. 昆明医科大学第一附属医院 急诊科, 云南 昆明 650032

摘要:因皮质脊髓束 (corticospinal tract, CST)损伤而造成的运动功能丧失可得到一定恢复,但关于大脑运动区占位性病变对健侧 CST 结构功能影响的研究却相对较少。该研究采用两只健康猕猴行球囊置入术建立大脑运动区占位性病变模型,行4次磁共振弥散张量成像 (diffusion tensor imaging, DTI)扫描,检测手术区对侧 CST 的 FA 值 ("各向异性"值),发现球囊置入术后当天,对侧 CST 的 FA 值无明显变化,但随时间的延长升高,球囊取出术后一周更为明显。实验表明该模型可行、可靠,从 DTI 观察到病变健侧 CST 出现代偿,即使占位解除短期内这一作用仍明显,提示健侧 CST 共同参与瘫痪肢体功能的恢复。

关键词:猕猴;大脑运动区占位病变模型;皮质脊髓束;弥散张量成像 中图分类号:Q959.848 文献标志码:A 文章编号:0254-5853-(2013)02-0103-05

A DTI study of the contralateral corticospinal tract modeled through simulated intracranial space-occupying lesions in macaque brain motor areas

Jing-Hui LI¹, Fang-Zhou MA¹, Zai-Zhong WANG¹, Yi LU², Hai-Ying WU³, Xue-Jin SUN^{2,*}, Hua-Lin YU^{1,*}

1. First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Second Department of Neurosurgery, Kunming 650032, China;

2. First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Department of Radiology, Kunming 650032, China;

3. First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Department of Emergency, Kunming 650032, China

Abstract: Recent studies found that a loss of motor function following corticospinal tract (CST) damage can, to some extent, be restored. Few studies, however, examine how space-occupying lesions in the brain motor area may affect the contralateral CTS structure and function. We performed a simulation of intracranial space-occupying lesions in the brain motor area by implanting of balloons into the brains of the two healthy macaques. Diffusion tensor imaging (DTI) was performed on the macaques' brains four times to measure the FA values of the contralateral CST operative area. The results showed that on the day of balloon implantation, the FA values had no obvious effect, but with time the effect increased, becoming increasingly apparent one week after removing the balloons. Experimental results demonstrated that this model was both feasible and reliable. After the simulated space-occupying lesions occurred in the brain motor area, DTI showed a compensatory response of the contralateral CST may then also contribute to recovery of limb function.

Keywords: Macaque; Simulation model of intracranial space-occupying lesions; Corticospinal tract; Diffusion tensor imaging

近的占位性病变,可造成肢体瘫痪、颅内高压等临

床症状。目前,手术切除病变仍是常用治疗手段,

颅内占位性病变是中枢神经系统常见疾病,如
肿瘤、血肿及炎症等,位于大脑运动功能区及其附

第一作者简介:李经辉,昆明医科大学第一附属医院神经外二科,昆明医科大学在读博士研究生,E-mail: km_ljh@126.com

收稿日期: 2012-10-15; 接受日期: 2013-03-05

基金项目: 云南省联合基金项目 (2008CD006)

^{*}通信作者(Corresponding authors), E-mail: yuhl308@126.com; sunxuejinkm@126.com

但手术风险大,易发生较严重的并发症,造成永久 性肢体功能丧失。

大脑半球额叶运动区皮质锥体细胞及其轴突 组成的皮质脊髓束 (corticospinal tract, CST)是控制 肢体运动的直接中枢神经结构,是中枢神经系统最 大的下行白质束,主要起自额叶的中央前回皮质。 CST 主要支配肢体远端的肌肉, 控制骨骼肌的随意 运动,特别是细微的主动运动 (Susan, 2005),如绣 花等。CST 损伤造成的功能丧失可以部分恢复 (Meintzschel & Ziemann, 2006; Dong, 2006), 但由于 人体大脑运动功能区占位性病变的不可预知性, 故 无法准确追踪病情发展过程、开展实验性检查和创 新性治疗以及准确选择条件相同的样本,因此,建 立能够模拟人脑功能区占位性病变发病机制及病 理过程和临床转归一致的动物模型是开展相关研 究的前提。猕猴在进化地位、生理学、解剖学、遗 传学、系统发育学等方面与人类非常相近 (Kuai et al, 2009), 且其基因组也已得到破译 (Liao & Su, 2012),是适用于大脑运动功能区占位性病变研究的 模型动物。

颅内大脑运动区占位病变以压迫推挤白质纤 维束所致的对侧肢体功能障碍为主要临床表现,临 床以手术摘除病灶,解除压迫为目的。因此,本研 究在猕猴脑运动区表面建立逐渐扩大的球型占位 模型压迫推挤 CST 以致对侧肢体瘫痪,1 周后取出 球囊,模拟临床发病过程。自由水的随机扩散在不 同方向上程度相同,即所谓"各向同性",而不同 组织器官中各异的水含量可导致水分子在不同方 向上扩散的不一致,且这种不一致可通过计算得到 客观指标并得以量化。基于此原理,无创性磁共振 弥散张量成像 (diffusion tensor imaging, DTI) 技术 能够在活体脑组织中显示白质纤维束的走行、排 列、方向、紧密度和髓鞘化以及细胞的完整性和病 理变化等 (Le et al, 2003; Eriksson et al, 2001)。在中 枢神经系统中,由于轴突膜和髓鞘将阻碍水分子在 垂直于神经纤维走向上的扩散,即部分"各向异性"

(fractional anisotropy, FA) (Beaulieu & Allen, 1994),

而脑白质纤维束总是向同一方向走行,水分子的水 平方向扩散速度明显快于垂直方向。FA 值的大小 主要与髓鞘的完整性、纤维致密性及平行性等有关 (Chenevert et al,1990),数值在 0~1之间,1为最大 各向异性,0 为最小各向异性。由于脑白质有大量 的纤维传导束,其表面包绕的髓鞘及少突胶质细胞 等将阻碍水分子的扩散, FA 值升高,影像上呈高 信号,说明神经传导功能越强 (Barrick & Clark, 2004; Klose et al, 2004)。脑脊液呈液态,比重为 1, 其中水分子几乎可自由活动,FA 值很低,影像上 呈低信号。目前 DTI 研究多集中在脑梗塞、出血及 肿瘤等病变与同侧脑白质区纤维束变化的关系 (Yu et al, 2009),而对大脑运动区占位性病变手术 前后与健侧 CST 的相关性研究很少。

本研究旨在建立能够模拟临床大脑运动区占 位性病变的猕猴动物模型,应用 DTI 探讨大脑运动 区占位性病变所造成的对侧肢体运动障碍,监测手 术前后病变对侧 CST 的 FA 值动态变化过程,并了 解健侧 CST 是否也参与瘫痪肢体功能的恢复。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康猕猴两只,5a龄,一号猴体重7.1kg、二 号猴体重7.8kg,饲养于中国科学院昆明动物研究 所实验动物中心,动物饲养及实验经实验动物使用 和伦理委员会批准并符合 AAALAC 规范。

1.2 实验方法

1.2.1 猕猴大脑中央前回占位病变模型的制备及 护理

实验猕猴术前禁食 12 h, 禁水 6 h。常规肌注 麻醉 (0.4 mg/kg 阿托品, 15 mg/kg 氯胺酮, 15~30 mg/kg 戊巴比妥) 后俯卧位固定;猕猴立体定向头 架固定头颅并保持气道通畅,根据猕猴脑定位图谱 确定左侧皮质中央前回运动区为手术区域;备皮、 消毒后行弧形切口,依次切开皮肤、皮下组织、帽 状腱膜及骨膜,显露颅骨,钻孔两个,铣刀铣出 2×3 cm²的骨窗;小心剪开 1 cm 硬脑膜,将未注水球囊 慢慢送入硬膜下中央前回脑表面,吸取生理盐水 1.5 mL,每 5 min 注射 0.5 mL 入球囊,注射完毕后将 球囊远端结扎,严密缝合硬脑膜,回纳骨瓣,分层 缝合切口;术后右侧卧位,待其自然苏醒。术后 4 h, 猕猴意识清醒并且活跃,给予食物及饮水。

1.2.2 猕猴运动区球囊取出术

麻醉、备皮及消毒后 (方法同前),依次剪开切 口各层组织缝线,用注射器小心缓慢抽出球囊中的 水,待其收缩完全后缓慢取出球囊,仔细止血后严 密缝合切口。

1.2.3 模型评价指标

麻醉苏醒后的猕猴出现对侧肢体功能障碍。参

照 Glasgow 评分 (Teasdale & Jennett,1974),制定功 能评分表,0分:正常;1分:对侧前后肢不能完 全伸直;2分:行走时向对侧(右)倾抖;3分:行 走时身体向对侧(右)倾倒;4分:不能站立和自发 行走,意识障碍。动物麻醉清醒后观察神经功能缺 失情况,≥3分者符合研究实验条件。

MRI 检查球囊位于左侧中央沟前份硬膜下,中线向右侧移位。

1.3 DTI 检查

每只猕猴行四次 DTI 检查 (Achieva 3.0T 超导 核磁共振扫描仪,荷兰 PHILIPS 公司)。第 1 次: 手术前 1 d (Before 组);第 2 次:球囊置入术当天 (Just 组);第 3 次:球囊置入术后 7 d (球囊取出术 前 1 d (Remove 组);第 4 次:第一次术后 14 d (球 囊取出术后 7 d (Recover 组)。给予标准膝关节线圈 扫描、磁共振 MP-RAGE 及 DT-MRI 扫描,且每次 DTI 序列均连续扫描 12 次。采集图像数据经后处 理,给予变形纠正与配准校正。

处理后每个层面获得 FA 值平均图,选取健侧 CST 为感兴趣区 (regions of interest, ROI),测量 FA 值。ROI 以双侧对称且小于解剖结构大小为标准, 避免邻近组织的影响。

1.4 统计学方法

采用 SPSS17.0 统计软件进行相关统计学分析, 计量资料数据以 mean±SD 表示, 两组间差异采用 秩和检验及非参数检验,秩次方差分析方法进行统 计学处理, P<0.05 差异显著。

2 结 果

2.1 猕猴术后对侧肢体功能评分比较

两只猕猴术后对侧肢体均出现功能障碍(表 1,表2),术后对侧肢体活动评分无差异(P>0.05); 同侧肢体功能未受影响,各时间段评分均为0分, 与对侧肢体功能评分行秩和检验,P<0.05提示术后 对侧肢体活动较同侧差;球囊置入术后与取出术后 对侧肢体功能评分行秩和检验,一号猴P<0.05,二 号猴P<0.05,提示两只猕猴的对侧肢体活动功能在 球囊取出术后较置入术后有所恢复。

2.2 四次 DTI 检查手术区对侧 CST 的 FA 值统计 学分析

一号猴 DTI 检查手术区对侧 CST (图 1)FA 值行 非参数检验秩次方差分析,可见秩次在四组间差异

Table 1 Contralateral limb function in macaques after balloon implantation								
术后 Post-operation	当天 Same day	1 天 1d	2 天 2d	3 天 3d	4 天 4d	5 天 5d	6 天 6d	7 天 7d
一号猴 Macaque 1	4	3	3	3	3	3	2	2
二号猴 Macaque 2	3	3	3	3	3	2	2	2

表1 猕猴球囊置入术后对侧肢体功能评分表

Z=-0.617, 渐进显著性 (双侧) P=0.537, 精确显著性 (单侧显著性)P=0.721, P>0.05。

Z=-0.617, Asymp.sig. (2-tailed) P=0.537, Exact sig [2*(1-tailed sig.)] P=0.721, P>0.05.

表 2	猕猴球囊取出术后对侧肢体功能评分表	
衣 2	猕猴球襄取出不后刈侧放体切能评分表	

I able 2 Contralateral limb function in macaques after balloon removal								
术后	当天	1天	2 天	3天	4 天	5天	6天	7天
Post-operation	Same day	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
一号猴 Macaque 1	2	2	2	2	2	1	1	1
二号猴 Macaque 2	2	2	2	2	1	1	1	0

Z=-0.657, 渐进显著性(双侧) P=0.511, 精确显著性(单侧显著性)P=0.574, P>0.05。

Z=-0.657, Asymp.sig (2-tailed) P=0.511, Exact sig [2*(1-tailed sig.)] P=0.574, P>0.05.

表:	3 两.	只猕猴四次	ם DTI ל	的 FA 值	(mean	±SD)	
Table 3	FA v	alues of 4 l	DTI on	two mac	aques	(mean±SD))

			- ·	
	术前 Before (before operation)	术后当天 Just (day of operation)	球囊取出前 1 天 Remove (day before balloon removal)	球囊取出术后一周 Recover (7 days after balloon removal)
一号猴 Macaque 1	0.3570±0,0038	0.3588 ± 0.0089	0.3651 ± 0.0076	0.3991 ± 0.0059
二号猴 Macaque 2	0.4974 ± 0.0095	0.4985 ± 0.0227	0.5028 ± 0.0064	0.5344 ± 0.0056

显著 (*F*=20.679, *P*=0.000, *P*<0.05),使用 LSD 法 进行 4 组间两两比较,Before 组与 Just、Remove 及 Recover 组的比较 *P* 值分别为 0.386、0.003 及 0.000; Just 组与 Remove、Recover 组的比较 *P* 值分 别为 0.031、0.000; Remove 组与 Recover 组的比较 *P* 值为 0.000。说明球囊置入术后当天,对侧 CST 的 FA 值无明显变化,但随着时间的延长而升高, 于球囊取出术后一周更为明显。

二号猴 DTI 检查手术区对侧 CST (图 2) FA 值

行非参数检验秩次方差分析,可见秩次在4组间差 异显著 (F=20.815, P=0.000, P<0.05),使用 LSD 法 进行4组间两两比较,Before 组与 Just、Remove 及 Recover 的比较 P 值分别为 0.288、0.126 及 0.000; Just 组与 Remove、Recover 组的比较 P 值分别为 0.632、0.000;Remove 组与 Recover 组的比较 P 值 为 0.000。说明球囊置入术后当天及取出术前当天 对侧 CST 的 FA 值无明显变化,但随着时间的延长 明显高于正常值,与一号猴相符。



图 1 一号猴球囊置入术后 MRI Figure 1 Macaque 1 postoperative MRI



图 2 二号猴球囊置入术后 MRI 影像 Figure 2 Macaque 2 postoperative MRI A: 置入球囊当天 TI 像,平均 FA 后的感兴趣区 (CST): B: 轴位、C: 冠状位、D: 矢状位。 A: postoperative T1 image. Anatomical regions of interest (CST): B: axial view; C: coronal view; D: sagittal view.

3 讨 论

本研究中猕猴大脑运动区占位病变模型中的 球囊注水渐进式增多,逐渐压迫大脑皮层,可较好 地模拟临床过程,实验对象虽仅限于两只猕猴,但 两者的临床表现、影像学和实验数据等检测指标合 理可信,易于重复。由于 DTI 能够敏感定量分析大 脑的微细结构,而且在大脑白质纤维的成像方面具 有独到之处 (Tang et al,2012),故可用于监测模型病 变对侧 CST 动态变化过程。而 FA 能够量化水分子 扩散的各向异性程度, FA 值升高代表 CST 传导功 能升高 (Jellison et al,2004),可用于评价脑白质纤 维的完整程度。

实验中两只猕猴行球囊置入手术后均出现了 对侧肢体偏瘫,DTI 敏感观察到球囊置入手术后病 变健侧 CST 出现代偿,短期内,即使占位解除这一 作用仍明显,大脑皮质总体积 3%为神经元胞体, 其余 97%为轴突、树突和神经胶质等,当部分神经 元死亡,功能下降时,周围存活细胞中大量的轴突 可通过侧枝出芽取代损伤的轴突,重建已散失神经 支配的组织的神经控制 (Fenrich et al,2007),同时, 成年动物大脑中轴突分枝非常稳定,轴突也保留着 一定程度的结构可塑性 (Rao et al,2012)。因此,神 经细胞轴突代偿可导致平行于 CST 走向的水分子 运动增加,同时,髓鞘也可能由于代偿性改变而导 致垂直于 CST 走向的水分子运动受限增加、自由度 减少,而两者的共同作用将导致病变对侧 FA 值升 高。球囊取出后,由于肢体功能尚未恢复,可能存 在的反馈作用导致短期内健侧 ROI 区域 FA 值仍然 升高,提示健侧 CST 出现代偿作用。Yeo et al (2010) 发现一侧桥脑出血患者的对侧运动皮质代偿、参与 肢体运动恢复的皮质重组,或其他相关纤维束的代

参考文献:

Barrick TR, Clark CA. 2004. Singularities in diffusion tensor fields and their relevance in white matter fiber tractography. *Neuroimage*, **22**(2): 481-491.

Beaulieu C, Allen PS. 1994. Water diffusion in the giant axon of the squid: implications for diffusion weighted MRI of the nervous system. *Magnetic Resonance in Medicine*, **32**(5): 579-583.

Chenevert TI, Brunberg JA, Pipe JG. 1990. Anisotropic diffusion within human white matter: demonstration with NMR techniques in *vivo*. *Radiology*, **177**(2): 401-405.

Dong Y. 2006. Motor cortex activation during treatment may predict therapeutic gains in paretic hand function after stroke. *Stroke*, **37**(6): 1552-1555.

Eriksson SH, Rugg-Gunn FJ, Symms MR, Barker GJ, Duncan JS. 2001. Diffusion tensor imaging in patients with epilepsy and malformations of cortical development. *Brain*, **124**(Pt 3): 617-626.

Fenrich KK, Skelton N, MacDermid VE, Meehan CF, Armstrong S, Neuber-Hess MS, Rose PK. 2007. Axonal regeneration and development of de novo axons from distal dendrites of adult feline commissural interneurons after a proximal axotomy. *Journal of Comparative Neurology*, **502**(6): 1079-1097.

Jellison BJ, Field AS, Medow J, Lazar M, Salamat MS, Alexander AL. 2004. Diffusion tensor imaging of cerebral white matter: a pictorial review of physics, fiber tract anatomy, and tumor imaging patterns. *American Journal of Neuroradiology*, **25**(3): 356-369.

Klose U, Mader I, Unrath A, Erb M, Grodd W. 2004. Directional correlation in white matter tracks of the human brain. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, **20**(1): 25-30.

Kuai XL, Gagliardi C, Flaat M, Bunnell BA. 2009. Differentiation of nonhuman primate embryonic stem cells along neural lineages.

偿作用,可能有助于其肢体功能恢复,支持本实验 结果。

综上所述,我们认为猕猴大脑运动区占位病变 健侧 CST 可出现代偿现象,且该现象即使在占位解 除后的短期内仍然明显,提示健侧 CST 参与肢体功 能的恢复,推测患者锻炼健侧肢体有助于患侧肢体 功能的恢复。

Differentiation, 77(3): 229-238.

Le Bihan D. 2003. Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI. *Nature Reviews Neuroscience*, **4**(6): 469-480.

Liao CH, Su B. 2012. Research proceedings on primate comparative genomics. *Zoological Research*, **33**(1): 108-118. [廖承红, 宿兵. 2012. 灵 长类比较基因组学的研究进展. 动物学研究, **33**(1): 108-118.]

Meintzschel F, Ziemann U. 2006. Modification of practice-dependent plasticity in human motor cortex by neuromodulators. *Cerebral Cortex*, **16**(8): 1106-1115.

Rao XP, Xu ZX, Xu FQ. 2012. Progress in activity-dependent structural plasticity of neural circuits in cortex. *Zoological Research*, **33**(5): 527-536. [饶小平, 许智祥, 徐富强. 2012. 大脑皮层内活动依赖的神经环路结构 可塑性研究进展. 动物学研究, **33**(5): 527-536.]

Susan S. 2005. Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice, 39/E. London: Elsevier, 458-562.

Tang XY, Xia LM, Zhu WZ. 2012. DTI study off relationship between infarction damage as well as Wallerian degeneration of CTS and motor function following chronic cerebral infarction. *Radiologic Practice*, **27**(5): 484-488. [汤翔宇, 夏黎明, 朱文珍. 2012. 慢性期脑梗死患者脑梗死灶 扩散变化及 Wallerian 变性与运动功能关系 DTI 研究. 放射学实践, **27**(5): 484-488.]

Teasdale G, Jennett B. 1974. Assessment of coma and impaired consciousness. A practical scale. *Lancet*, **2**(7872): 81-84.

Yeo SS, Choi BY, Chang CH, Jang SH. 2010. Transpontine connection fibers between corticospinal tracts in hemiparetic patients with intracerebral hemorrhage. *European Neurology*, **63**(3): 154-158.

Yu CS, Zhu CZ, Zhang YJ, Chen H, Qin W, Wang ML, Li KC. 2009. A longitudinal diffusion tensor imaging study on Wallerian degeneration of corticospinal tract after motor pathway stroke. *Neuroimage*, **47**(2): 451-458.