

脊髓损伤肌萎缩肌球蛋白重链可塑性与训练的影响

范晓华^{1,2}, 纪树荣^{2,3}, 周红俊^{2,3}

【摘要】 骨骼肌的收缩特性部分是由肌球蛋白重链(MHC)亚型决定的。脊髓损伤后损伤水平以下的骨骼肌 MHC 各亚型 mRNA 和蛋白水平发生适应性变化,表现为慢 MHC-I 亚型表达下调,快 MHC 亚型表达上调。MHC-mRNA 的适应性变化先于蛋白的变化。不同物种、不同肌肉 MHC 转化的程度与速度不同。脊髓损伤后短时间训练不能引起 MHC 亚型发生显著的转化,而长期负重步行训练能够减缓肌纤维 MHC 亚型表达发生由慢到快的转化。

【关键词】 脊髓损伤;肌萎缩;肌球蛋白重链;训练;综述

Effect of Spinal Cord Injury and Training on Expression of Myosin Heavy Chain of Skeletal Muscle (review) FAN Xiao-hua, JI Shu-rong, ZHOU Hong-jun. *The Department of Rehabilitation Medicine, Shandong Provincial Hospital, Jinan 250021, Shandong, China*

Abstract: Skeletal muscle contractile properties are determined by their myosin heavy chain (MHC) expression profiles partly. Spinal cord injury induced the adaptation change in MHC isoform mRNAs and protein expression of skeletal muscle below the injured level, leading to the increased expression of fast and decreased expression of slow MHC isoforms. The adaptations in the MHC-mRNAs preceded the changes in proteins. The degree and velocity of MHC isoform adaptation were dependent on different muscle and animal species. Short-term training could not induce the significant change of the transformation of MHC isoform, whereas long-term stepping training which emphasized load bearing could attenuate the MHC shift from slow toward faster isoforms.

Key words: spinal cord injury; muscle atrophy; myosin heavy chain; training; review

【中图分类号】 R683.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1006-9771(2007)06-0508-03

【本文著录格式】 范晓华,纪树荣,周红俊. 脊髓损伤肌萎缩肌球蛋白重链可塑性与训练的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2007,13(6):508—510.

神经肌肉活动(包括电活动与负荷)在肌肉表型特征的特殊化中起着重要的作用。Buller 等首次阐述了神经系统对骨骼肌特征的影响^[1,2]。此后,许多研究集中于神经肌肉活动增加或降低对肌肉特征的影响。笔者仅对人类与动物脊髓损伤后肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)表型的适应性,以及脊髓损伤后训练对 MHC 表型的影响做一综述。

1 MHC 的作用

肌球蛋白是横纹肌中最多的蛋白,占总蛋白的 25%。天然肌球蛋白以复合分子的形式存在,由两条重链和两对轻链组成。肌球蛋白作为结构与调节蛋白,其功能主要是:①形成肌膜结构的骨架,作为肌收缩的成分;②与肌动蛋白相互作用,通过活化 ATP 酶使化学能转变为机械能,产生力和/或肌小节收缩,使肌肉机械作功,产生力量^[3]。从生理和功能上说,肌肉结构与功能的一个主要特点是运动蛋白中存在 MHC 基因家族,不同的 MHC 蛋白亚型具有不同的 ATP 酶特点,影响肌纤维的内在功能特点,为肌纤维的功能多样性提供了分子基础。

哺乳动物骨骼肌按收缩特性分为慢肌和快肌,是由 MHC 亚型决定的。慢肌纤维主要表达 MHC-I 亚型,并含一定比例的 MHC-II a 亚型,MHC-II a 是快 MHC 亚型中最慢的一种^[3,4]。比目鱼肌和股中间肌属于此类,主要起抗重力作用。快肌如腓肠肌、跖肌、股直肌、趾长伸肌和胫前肌主要表达两种快 MHC 亚型 II x 与 II b。

哺乳动物横纹肌至少存在 9 种 MHC 亚型^[3],分别是:①胚胎型;②新生型;③心肌 α 型;④心肌 β 型或慢肌 I 型(在骨骼肌

中表达);⑤快肌 II a 型;⑥快肌 II x/II d 型;⑦快肌 II b 型;⑧眼外肌型;⑨咀嚼肌型(M-MHC)。胚胎型和新生型主要在发育中的骨骼肌表达,成年骨骼肌的再生纤维、特殊类型的骨骼肌如咬肌和眼外肌也有表达。 α -MHC 与 β -MHC 主要在心肌纤维表达,骨骼肌如咬肌也有 α -MHC 的表达。 β -MHC(I 型)在胚胎骨骼肌也有表达,是成年慢肌纤维表达的主要亚型。除 MHC-I 外,成年骨骼肌也表达 MHC-II a、II x 与 II b 亚型。眼外肌 MHC 亚型主要限于眼肌和喉肌;咀嚼肌亚型(M-MHC)主要在食肉动物的下颌肌表达。

成年啮齿类动物的肢体骨骼肌至少表达 4 种不同的 MHC 亚型,即 MHC-I、MHC-II a、MHC-II x 和 MHC-II b。各亚型均单独表达,导致有 4 种不同的肌纤维的出现,即 I、II a、II x 和 II b 纤维。成年人类与猫的肢体骨骼肌主要表达 MHC-I、MHC-II a、MHC-II x 3 种亚型,因此包括表达单一 MHC 亚型的肌纤维,即 I、II a 和 II x 纤维,此外还包括表达多种 MHC 亚型的杂交纤维。人类及其他哺乳动物的 I c、II c 纤维即是杂交纤维,MHC-I 与 MHC-II a 所占比例不同。正常成年骨骼肌杂交纤维所占的比例很小,肌纤维多为单一 MHC 亚型,只有少数肌肉如喉部的环状肌以杂交纤维为主。MHC 亚型与肌纤维类型发生转化时,杂交纤维的比例显著增加^[5,6]。

每一 MHC 亚型均由单一基因编码。成年小鼠和人类的慢 MHC 分别由 14 号、15 号染色体上的基因 myh7 编码,快 MHC 各亚型(II a、II x、II b)分别由 myh2、myh1、myh4 基因编码,在人类、小鼠、大鼠分别位于 17、11、10 号染色体上。胚胎型与新生型 MHC 亚型主要在发育过程中表达,由与 II a、II x 和 II b 相联的基因编码,胚胎型位于快 MHC 基因簇的上游,新生型位于下游^[7]。成年正常或瘫痪骨骼肌中均未检测到有胚胎型或新生型 MHC 亚型的表达^[6]。

不同 MHC 亚型的表达决定肌纤维的收缩与组化特性,肌纤维的最大收缩速度与 MHC 亚型的组成与含量有关^[8]。对单

作者单位:1. 山东省立医院康复医学中心,山东济南市 250021;2. 首都医科大学康复医学院,北京市 100068;3. 中国康复研究中心北京博爱医院,北京市 100068。作者简介:范晓华(1970-),女,山东青岛人,副主任医师,博士研究生,主要研究方向:肢体伤残患者的康复和康复治疗技术。通讯作者:纪树荣。

条肌纤维的研究表明,啮齿类动物肌纤维的最大收缩速度呈现一定的顺序,即 $I < II a < II x < II b$ 。表达两种 MHC 亚型的肌纤维最大收缩速度介于所含 MHC 亚型纤维的收缩速度之间^[4]。

2 脊髓损伤后 MHC 的可塑性

脊髓完全横断能引起哺乳类动物伸肌电活动(可通过 EMG 检测)减少^[9]。电活动的减少并不等于完全丧失,有的电活动可持续存在,但目前还不清楚残余的电活动是在少数低阈值的运动单位以相对高水平发生,或是在大多数运动单位以较低水平发生,而且脊髓横断(spinal cord transection, ST)动物(包括猫与大鼠)小腿三头肌不负重,因此,脊髓横断是电活动与负荷均减少的神经肌肉活动减少的模型。

一定水平的电活动和/或负荷是保持表达单一 MHC 亚型的先决条件。猫与啮齿类动物如大鼠,脊髓横断完全可引起损伤水平以下骨骼肌慢 MHC-I 亚型表达下调,快 MHC 亚型表达上调^[4,6,10]。Dupont-Versteegden 等研究发现,脊髓横断后 5 d MHC 亚型表达的可塑性即开始^[11]。Talmadge 等研究了大鼠脊髓横断后比目鱼肌和内侧腓肠肌 MHC 各亚型 mRNA 和蛋白水平的变化,发现脊髓横断后 15 d 内,比目鱼肌 MHC-I mRNA 表达下调至正常的 15%,MHC-II a 的表达较正常上调了 75%~200%,MHC-II x mRNA 上调了 8~10 倍,至 30 d MHC mRNA 的表达达稳态^[7],说明细胞内信号机制的变化主要在脊髓横断后 2 周内影响 MHC mRNA 的表达。MHC-I 与 MHC-II x 的表达呈时间依赖性,对肌肉的电活动水平和/或机械负荷水平敏感。脊髓横断后 MHC-II x mRNA 表达快速上调,横断后 30 d 达稳态,但 MHC-II a 的表达缓慢上调,横断后 90 d 才达稳态,说明脊髓横断后 MHC-II x 与 II a 表达的调节存在不同的细胞与分子机制。脊髓横断后比目鱼肌 MHC-II b 的表达持续在低水平,表明神经肌肉活动减少不是刺激 MHC-II b 表达的主要因素。横断后 MHC-I、MHC-II x 蛋白水平在伤后 15 d 分别是对照组的 95% 和 90%,到伤后 90 d 仍未达到稳态,说明 MHC-mRNA 的变化先于蛋白的变化,原因可能是肌纤维内细胞器的重塑过程较 mRNA 降解速度缓慢。例如,MHC 蛋白半衰期约为 54 d^[12],而 mRNA 的半衰期则 <1 d^[13]。内侧腓肠肌 MHC-I 蛋白亚型在脊髓横断后 90 d 才开始减少,其他 MHC 亚型 mRNA 与蛋白表达在脊髓横断后无持续明显变化,说明神经肌肉电活动减少与机械负荷降低不足以引起快肌肌纤维表型的变化,MHC 亚型的转化对神经肌肉活动减少的反应存在肌肉特殊性。猫比目鱼肌(99% 为 MHC-I)在脊髓横断 6 个月后,MHC-II a 与 MHC-II x 表达上调,MHC-II x 的表达上调是以 MHC-I 下调为代价的^[14]。Roy 等研究发现,脊髓横断 6 个月后猫的快肌也表现出快肌纤维成分的增加与 MHC-II x 表达上调^[15]。脊髓横断后啮齿类动物 MHC 亚型的转化速度比猫快^[5,6,14,15]。

脊髓横断后,比目鱼肌中出现杂交纤维,杂交方式包括上述 3 种 MHC 亚型。开始人们认为脊髓横断(或其他导致肌纤维转化的模型)后杂交纤维的出现代表着肌纤维从一种类型向另一种类型转化。但 Talmadge 等研究发现,大鼠脊髓横断 1 年后比目鱼肌中的杂交纤维持续存在^[6],说明在特殊状况下杂交纤维是一稳定的表型,因为完成 MHC 亚型的转化,1 年的时间已足够长。两种或两种以上 MHC 亚型表达的生理功能有待

进一步研究,同时要考虑肌球蛋白轻链的作用,因为轻链参与调节肌纤维的收缩速度。

人类骨骼肌对脊髓损伤后神经肌肉电活动与负荷减少的可塑性目前尚未明了。Castro 等从脊髓损伤的 3 个时间点(损伤后 6、11、24 周)对 15 例患者进行了研究,发现在任一时间点上,股外侧肌均无明显的 MHC 亚型转化的现象,每一 MHC 亚型的含量与对照组相似,但在脊髓损伤后 24 周,可检测到 MHC-II a 向 MHC-II x 转化,伤后 24 周 MHC-II x(它是人类肢体骨骼肌 MHC 亚型的最快亚型)的比例明显增高^[16]。应用免疫荧光技术和肌肉活检方法,Burnham 等对完全性脊髓损伤患者股外侧肌 MHC 各蛋白亚型进行分析,发现脊髓损伤 1 个月内 MHC 蛋白各亚型保持相对稳定,1~20 个月表达慢 MHC 亚型的肌纤维数量明显减少,至 70 个月达稳态,以快肌 MHC 亚型表达为主^[17]。与之相似,Anderson 等研究发现,伤后 3~20 年的脊髓损伤患者股外侧肌 MHC-II x(37%)与 MHC-II a(41%)的比例增高,而 MHC-I 含量低于 1%^[18]。与正常对照人群相比,脊髓损伤患者股外侧肌 MHC-II x 肌纤维的比例明显增高,MHC-I 的比例明显下降,表明脊髓损伤后人类股外侧肌发生了明显的 MHC-I 向 MHC-II x 的转化。Burnham^[17]、Gerrits^[19]等的研究结果也支持上述观点。这些研究结果均表明人类与动物之间存在差异性,与低等哺乳类动物相比,人类骨骼肌对电活动与负荷减少的适应性要慢。这种转化延迟的机制不明,且 MHC 基因表达转化的速度与肌肉萎缩速度也不相符,骨骼肌在失去负重能力后即发生显著的萎缩,而 MHC 变化则较慢。以后需要对人类脊髓损伤后骨骼肌 MHC 亚型转化的时间框架与速度做进一步深入的研究,不同肌肉 MHC 转化的程度与速度不同,因此应针对不同的肌肉进行不同的研究,这些研究结果将对制定合适的康复策略有益。

3 脊髓损伤后训练对 MHC 可塑性的影响

Dupont-Versteegden 等对 T₁₀ 水平脊髓横断大鼠在横断 5 d 后分别给予踏车训练 0.5 d、1 d、5 d,发现训练 0.5 d 与 1 d 对比目鱼肌与趾长伸肌的肌纤维萎缩无明显影响,训练 5 d 后比目鱼肌所有肌纤维类型、趾长伸肌 II a、II x 纤维的横截面积均较横断组显著增加,接近正常对照组,肌萎缩减轻^[11]。与横断组相比,各时间点的训练均不能引起 MHC 亚型 mRNA 与蛋白水平发生明显的变化,表明在脊髓横断早期,即使训练能够增大肌纤维横截面积,减缓肌萎缩,也不能引起肌纤维 MHC 亚型发生转化。同样,Houle 等在大鼠脊髓横断后分别进行胚胎脊髓移植及横断 5 d 后开始不负重的踏车训练,应用免疫组化方法检测 MHC 亚型,发现胚胎移植组与训练组 MHC-I 与 II a 表达较横断组轻微减少,胚胎移植组 MHC-II x 的比例较脊髓横断组减少,但均无显著性意义^[20]。训练组与脊髓横断组均未检测到 II b 的表达,训练组与胚胎移植组均检测到杂交纤维,表明训练或移植虽能减缓肌萎缩,增大肌肉体积与重量,但不能逆转脊髓横断导致的 MHC 亚型表达的转化,使其恢复到正常对照组状态,而且肌肉大小的调节与 MHC 表达的调节可能存在于不同的机制。训练减缓骨骼肌萎缩的原因可能是训练牵张肌肉,使肌肉的电活动与负荷增加,对脊髓产生感觉反馈,进而影响支配比目鱼肌的低级运动中枢神经元的放电模式,使肌萎缩减轻。此外,训练骨骼肌释放脑源性神经生长因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)与胶质细胞衍生的神经营养

因子 (glial derived neurotrophic factor, GDNF) 等神经营养因子,可能参与脊髓的可塑性过程,而脊髓的重塑反过来又可增加神经肌肉的电活动,从而减缓骨骼肌萎缩^[21]。但 MHC 亚型表达的恢复需要其他因素的参与或较高水平的电活动。

与上述研究结果相反,Roy 等认为,长期训练能使脊髓横断后 MHC 亚型的表达发生变化^[22]。脊髓横断猫 1 个月开始步行训练与站立训练 5 个月,横断未训练组与站立训练组比目鱼肌 MHC-I 表达下调,MHC-II a 表达上调,并出现 MHC-II x 的表达。而步行训练组主要表达 MHC-I,与对照组相似,提示强调负重的步行训练能够减缓、预防肌纤维类型的转化,当神经肌肉电活动与负荷增加时,脊髓横断水平以下的瘫痪骨骼肌能够做出反应。

有趣的是,跑台上的步行训练较站立训练在保持肌纤维类型特征方面更为有效,提示肌肉对不同训练方式做出的反应存在特异性。与 Dupont-Versteegden 和 Houle 有所区别的是,Roy 等采用的是步行训练,强调肌肉负重,因此能够影响脊髓损伤后 MHC 的表达。Roy 等对脊髓横断大鼠进行站立与步行训练 6 个月,发现两种训练方法均不能引起快肌 MHC 亚型表达发生变化^[15],说明训练对肌肉存在选择性。Misawa 等在大鼠脊髓横断后 1 d 给予电刺激胫骨前肌 1 周,结果与上述研究相似,表明训练的方式与时间、受训练的肌肉类型不同,MHC 的表达有不同的反应^[23]。

Stewart 等研究了减重步行训练对不完全性脊髓损伤患者 (ASIA C) 骨骼肌 MHC 亚型的影响,发现减重步行训练 6 个月后,股外侧肌表达 MHC-II ax/II x、MHC-II x 的肌纤维比例减小,而表达 MHC-II a 的肌纤维增多,I 与 II a 亚型含量无明显变化,表明长期减重步行训练能够使 MHC 亚型发生由快向慢的转化^[24]。而 Harridge 等对 9 例截瘫患者的胫骨前肌给予等长负荷训练 4 周与 9 周后,发现肌肉的抗疲劳性增加,虽然 3 种 MHC 蛋白亚型的比例无变化,但在训练 2 周后即表现为 MHC-I mRNA 表达上调与 MHC-II x mRNA 表达下调,并且这种变化持续至训练 4 周与 9 周^[25],说明训练能够使 MHC 亚型发生转化,而且这种转化首先发生在转录水平。有研究报道,慢氧和肌纤维对神经肌肉活动减少特别敏感^[26],因此,可推断这类纤维对训练也尤其敏感,表现为肌萎缩减轻,MHC 亚型发生转化,EMG 显示肌肉的电活动水平也有一定程度恢复。

总之,在神经肌肉环路完整的情况下,脊髓损伤能引起骨骼肌快 MHC 亚型表达上调,并伴随慢 MHC 亚型表达下调;电活动与负荷减少使 MHC 亚型产生适应性变化,尤其是快 MHC 亚型表达的上调具有种属特异性,MHC 亚型表达的调节可能是在转录水平实现的,长期强调负重步行训练能够部分逆转脊髓损伤后引起的 MHC 亚型慢向快的转化。今后,应进一步从训练方式、施予时间方面进一步研究训练对 MHC 的影响。

【参考文献】

[1] Buller AJ, Eccles JC, Eccles RM. Differentiation of fast and slow muscles in the cat hind limb[J]. J Physiol (Lond), 1960, 150:399-416.

[2] Buller AJ, Eccles JC, Eccles RM. Interactions between motoneurons and muscles in respect of the characteristic speeds of their responses[J]. J Physiol (Lond), 1960, 150:417-439.

[3] Baldwin KM, Haddad F. Plasticity in skeletal, cardiac, and smooth muscle invited review: effects of different activity and inactivity paradigms on myosin heavy chain gene expression in striated muscle[J]. J Appl Physiol, 2001, 90:345-357.

[4] Talmadge RJ. Myosin heavy chain isoform expression following reduced neuromuscular activity: potential regulatory mechanisms[J]. Muscle Nerve, 2000, 23:661-679.

[5] Talmadge RJ, Roy RR, Edgerton VR. Prominence of myosin heavy chain hybrid fibers in soleus muscle of spinal cord-transected rats[J]. J Appl Physiol, 1995, 78:1256-1265.

[6] Talmadge RJ, Roy RR, Edgerton VR. Persistence of hybrid fibers in rat soleus after spinal cord transection[J]. Anat Rec, 1999, 255:188-201.

[7] Talmadge RJ, Garcia ND, Roy RR, et al. Myosin heavy chain isoform mRNA and protein levels after long-term paralysis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 325:296-301.

[8] Fitts RH, Bodine SC, Romatowski JG, et al. Velocity, force, power and Ca²⁺ sensitivity of fast and slow monkey skeletal muscle fibers[J]. J Appl Physiol, 1998, 84:1776-1787.

[9] Alaimo MA, Smith JL, Roy RR, et al. EMG activity of slow and fast ankle extensors following spinal cord transection[J]. J Appl Physiol, 1984, 56:1608-1613.

[10] Talmadge RJ, Roy RR, Caiozzo VJ, et al. Mechanical properties of rat soleus after long-term spinal cord transection[J]. J Appl Physiol, 2002, 93:1487-1497.

[11] Dupont-Versteegden EE, Houle JD, Gurley CM, et al. Early changes in muscle fiber size and gene expression in response to spinal cord transection and exercise[J]. Am J Physiol, 1998, 275:C1124-C1133.

[12] Papegeorgopoulos K, Caldwell H, Schweingrubber RA, et al. Measuring synthesis rates of muscle creatine kinase and myosin with stable isotopes and mass spectrometry[J]. Anal Biochem, 2002, 309:1-10.

[13] Qi M, Ojamaa K, Eleftheriades EG, et al. Regulation of rat ventricular myosin heavy chain expression by serum and contractile activity[J]. Am J Physiol, 1994, 267:C520-C528.

[14] Talmadge RJ, Roy RR, Edgerton VR. Myosin heavy chain profile of cat soleus following chronic reduced activity or inactivity[J]. Muscle Nerve, 1996, 19:980-988.

[15] Roy RR, Talmadge RJ, Hodgson JA, et al. Differential response of fast hindlimb extensor and flexor muscles to exercise in adult spinalized cats[J]. Muscle Nerve, 1999, 22:230-241.

[16] Castro MJ, Apple DF, Staron RS, et al. Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle within 6 mo of injury[J]. J Appl Physiol, 1999, 86:350-358.

[17] Burnham J, Martin T, Stein R, et al. Skeletal muscle fibre type transformation following spinal cord injury[J]. Spinal Cord, 1997, 35:86-91.

[18] Anderson JL, Mohr T, Biering-Sorenson F, et al. Myosin heavy chain isoform transformation in single fibers from m. vastus lateralis in spinal cord injured individuals; effects of long-term functional electrical stimulation[J]. Pflugers Arch, 1996, 431:513-518.

[19] Gerrits HL, Hopman MT, Offringa C, et al. Variability in fibre properties in paralysed human quadriceps muscles and effects of training[J]. Pflugers Arch, 2003, 445:734-740.

[20] Houle JD, Morris K, Skinner RD, et al. Effects of fetal spinal cord tissue transplants and cycling exercise on the soleus muscle in spinalized rat[J]. Muscle Nerve, 1999, 22:846-856.

[21] Dupont-Versteegden EE, Houle JD, Dennis RA, et al. Exercise-induced gene expression in soleus muscle is dependent on time after spinal cord injury in rats[J]. Muscle Nerve, 2004, 29:73-81.

[22] Roy RR, Talmadge RJ, Hodgson JA, et al. Training effects on soleus of cats spinal cord transected (T12-13) as adults[J]. Muscle Nerve, 1998, 21:63-71.

[23] Misawa A, Shimada Y, Matsunaga T, et al. The effects of therapeutic electric stimulation on acute muscle atrophy in rats after spinal cord injury[J]. Arch Phys Med Rehabil, 2001, 82:1596-1603.

[24] Stewart BG, Tarnopolsky MA, Hicks AL, et al. Treadmill training-induced adaptations in muscle phenotype in persons with incomplete spinal cord injury[J]. Muscle Nerve, 2004, 30:61-68.

[25] Harridge SD, Andersen JL, Hartkopp A, et al. Training by low-frequency stimulation of tibialis anterior in spinal cord-injured men[J]. Muscle Nerve, 2002, 25:685-694.

[26] Roy RR, Baldwin KM, Edgerton VR. The plasticity of skeletal muscle; effects of neuromuscular activity[M]//Holloszy J. ed. Exercise Sport Science Reviews. Baltimore: Williams & Wilkins, 1991: 269-312.

(收稿日期:2006-11-09)