

# 文献分析: Hypothalamic deep brain stimulation augments walking after spinal cord injury

2021 级直博生 李洪达

脊髓损伤 (Spinal Cord Injury, SCI) 破坏了大脑到脊髓负责产生行走功能的区域的神经元投射连接, 从而导致不同程度的瘫痪。脊髓损伤后的运动功能恢复问题近年来受到广泛关注, 研究者们证实脊髓硬膜外电刺激 (Epidural Electrical Stimulation, EES) 可以有效帮助脊髓损伤患者恢复下肢运动功能。2024 年 12 月, *Nature Medicine* 杂志报道了瑞士洛桑联邦理工学院 (EPFL) 和洛桑大学医院 (CHUV) 的研究人员在脊髓损伤后运动功能康复方面取得的重要研究成果: 使用脑深部电刺激 (Deep Brain Stimulation, DBS) 可以有效改善脊髓损伤患者的下肢运动功能, 帮助两名脊髓损伤患者重新获得了行走能力。这一看似颠覆性的研究结果引发了广泛关注, 本次文献分析将基于该文章 (Hypothalamic deep brain stimulation augments walking after spinal cord injury) 从研究背景、研究方法与结果、研究结论与讨论三个方面介绍该项工作。

## 【研究背景】

脊髓损伤会导致大脑和损伤平面以下的脊髓神经元失去全部或部分连接, 从而导致感觉和运动功能的缺失或减弱, 部分患者因此无法实现行走。对于不完全损伤的患者, 仍然保留了部分从大脑到损伤平面以下脊髓区域的神经连接, 以往的研究证明该部分残余连接可能足以帮助调控下肢运动。尽管在健康人群中, 大脑中的很多区域被证明跟行走功能有关, 但是对于脊髓损伤后的情况并没有确定性结论。Courtine 团队之前的研究证明  $SC^{Vsx2::Hoxa7::Zfhx3} \rightarrow lumbar$  神经元在脊髓损伤后的步行活动中发挥了重要作用, 更进一步, 他们想要研究在康复前后, 大脑中是否存在一个区域对脊髓损伤后的康复起到重要作用, 以及调控该区域是否会帮助改善损伤后的运动功能。基于这样的想法, Courtine 团队首先在小鼠上开展研究, 并进一步招募了脊髓损伤患者开展实验。

## 【研究方法 with 结果】

一、时空全脑图谱表明外侧下丘脑与脊髓损伤后运动功能恢复具有较强相关性

为了研究大脑的哪块区域在脊髓损伤后运动功能恢复发挥了重要作用, 研究者采用了多种方式绘制了脊髓损伤前后的全脑图谱。研究团队采用先进生理方法

观测大脑的转录活动和与脊髓之间的投射，并提出了四种原则以确定和脊髓损伤后运动功能恢复有关的区域：1. 该区域在脊髓损伤后的早期阶段的转录活动应该有明显下降；2. 该区域在步行功能逐渐恢复的过程中，转录活动会逐渐增加；3. 从该区域到腰部脊髓的神经投射的密度在脊髓损伤后有显著减少；4. 从该区域到腰部脊髓的神经投射密度随着运动功能恢复而增加。通过多种方法对大脑各区域进行比较判断，尽管存在很多区域可能满足一个原则，但是同时满足4个原则的区域只有一个：外侧下丘脑（Lateral Hypothalamus, LH）。这一结果表明，LH这一在过往被认为调节唤醒、进食的区域有很大可能与脊髓损伤后下肢运动功能恢复有关。

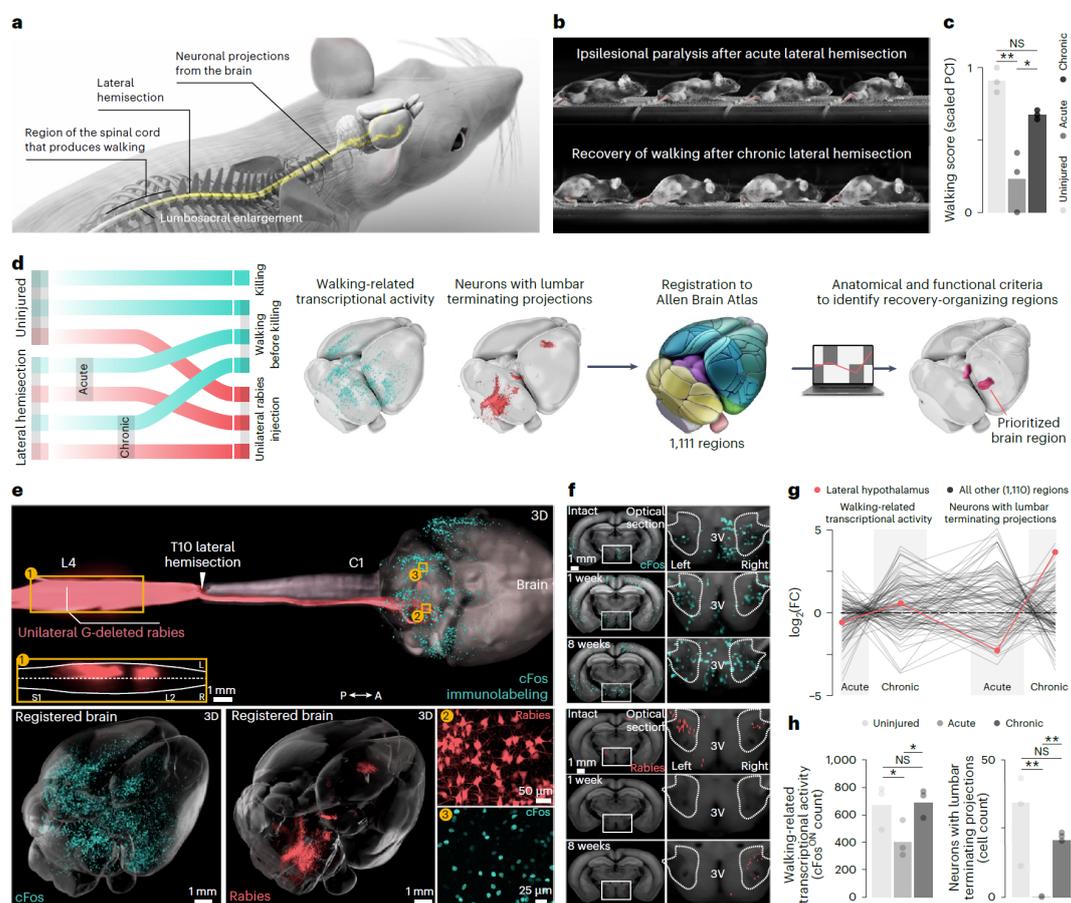


图 1. 脊髓损伤前后的时空全脑图谱证明外侧下丘脑与运动功能恢复有较强相关性。

(a)，小鼠外侧半切脊髓损伤实验方法概览。(b)，脊髓损伤急性期（一周后）和慢性期（八周后）小鼠步态的延时照片。(c)，使用主成分分析方法基于运动学数据评估小鼠的步态水平。(d)，脊髓损伤前后构建全脑时空图谱的实验方法概览。

(e)，cFos 免疫标记和 G-deleted 狂犬病毒介导的腰部脊髓投射神经元的 3D 可

视化，覆盖大脑中整个 CNS 的投射神经元。(f)，局部区域在急性期和慢性期转录活动强度和投射密度。(g)，脊髓损伤后大脑 1111 个区域转录活动和投射密度变化。

(h)，外侧下丘脑转录活动强度和神经元投射密度在脊髓损伤前后的量化比较。

## 二、LH<sup>Vglut2</sup> 神经元改善脊髓损伤后的步态表现

在通过转录活动强度和神经投射密度在损伤前后的表现确定了 LH 这一“可疑区域”后，研究团队继续探索该区域神经元的激活或者抑制是否会对脊髓损伤后小鼠的行走表现产生影响。研究者发现 LH 区域的神经元要么表达 Vglut2 这一激活性神经递质或者表达 Vgat 这一抑制性神经递质。为了探索这两种神经细胞对脊髓损伤后小鼠步态的恢复的作用，研究者使用光遗传技术分别激活或者抑制这两组细胞。实验结果表明，使用光探针激活 LH<sup>Vglut2</sup> 神经元时，处于脊髓损伤慢性期的小鼠的步态得到了明显的改善，而抑制 LH<sup>Vglut2</sup> 神经元时，小鼠的步态表现立马变差。而 LH<sup>Vgat</sup> 神经元的激活和抑制对小鼠的步态并没有产生明显影响。这一结果表明，LH<sup>Vglut2</sup> 神经元在脊髓损伤小鼠的步态功能恢复中发挥了关键作用。

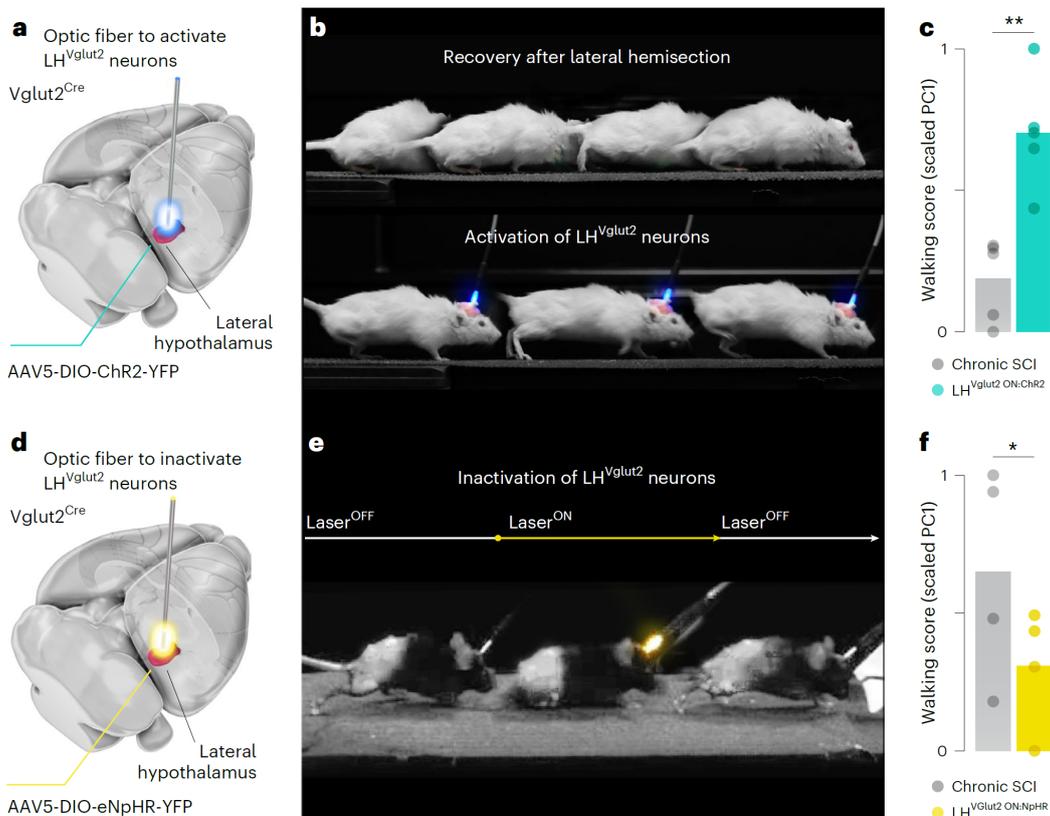


图 2. LH<sup>Vglut2</sup> 神经元在脊髓损伤后的步态恢复中发挥作用。(a)，LH<sup>Vglut2</sup> 神经元的光遗传激活实验操作示意。(b)，有光刺激和没有光刺激时小鼠行走的延时照

片。(c), 使用主成分分析方法对步态进行量化评估。(d), LHVglut2 神经元的光遗传抑制实验操作示意。(e), 有光刺激和没有光刺激时小鼠行走的延时照片。(f), 使用主成分分析方法对步态进行量化评估。

### 三、LH 通过中继神经元改善 SCI 后的步态表现

以上实验都是使用脊髓半切小鼠模型开展的, 而挫伤模型与实际的人类脊髓损伤更为相似。研究者于是使用挫伤小鼠模型继续开展实验, 但是实验结果与半切模型有所不同: LH 到腰部神经元的投射密度并没有随着步态表现的恢复而增加, 图谱研究揭示了挫伤模型会打乱损伤平面以下源自 LH 的神经元投射。因此研究者认为肯定存在一些中继神经元, 会将来自 LH 的神经元投射转至损伤平面以下。为了找到这些中继神经元, 研究者继续使用生理标记方法研究 LH<sup>Vglut2</sup> 神经元的投射。研究发现 LH<sup>Vglut2</sup> 神经元会向多个被认为与步行相关的脑区投射, 特别是会与腹侧巨细胞核团建立新的突触连接 (ventral gigantocellular nucleus, vGi), 而这一核团在之前被研究团队证实会在挫伤脊髓损伤后接收来自运动皮层的信号并中继与行走相关的命令。于是研究者们假设 vGi 是中继传递来自 LH 信号的区域, 并基于此假设开展实验。研究者继续使用光遗传手段操纵控制神经细胞, 发现单独激活 LH<sup>Vglut2</sup> 细胞会改善挫伤脊髓损伤小鼠的步态但是如果同时抑制 vGi<sup>Vglut2</sup> 细胞则会抑制这种改善效果。由此研究者们得出结论: LH 通过 vGi 中继改善挫伤脊髓损伤小鼠的步态表现。

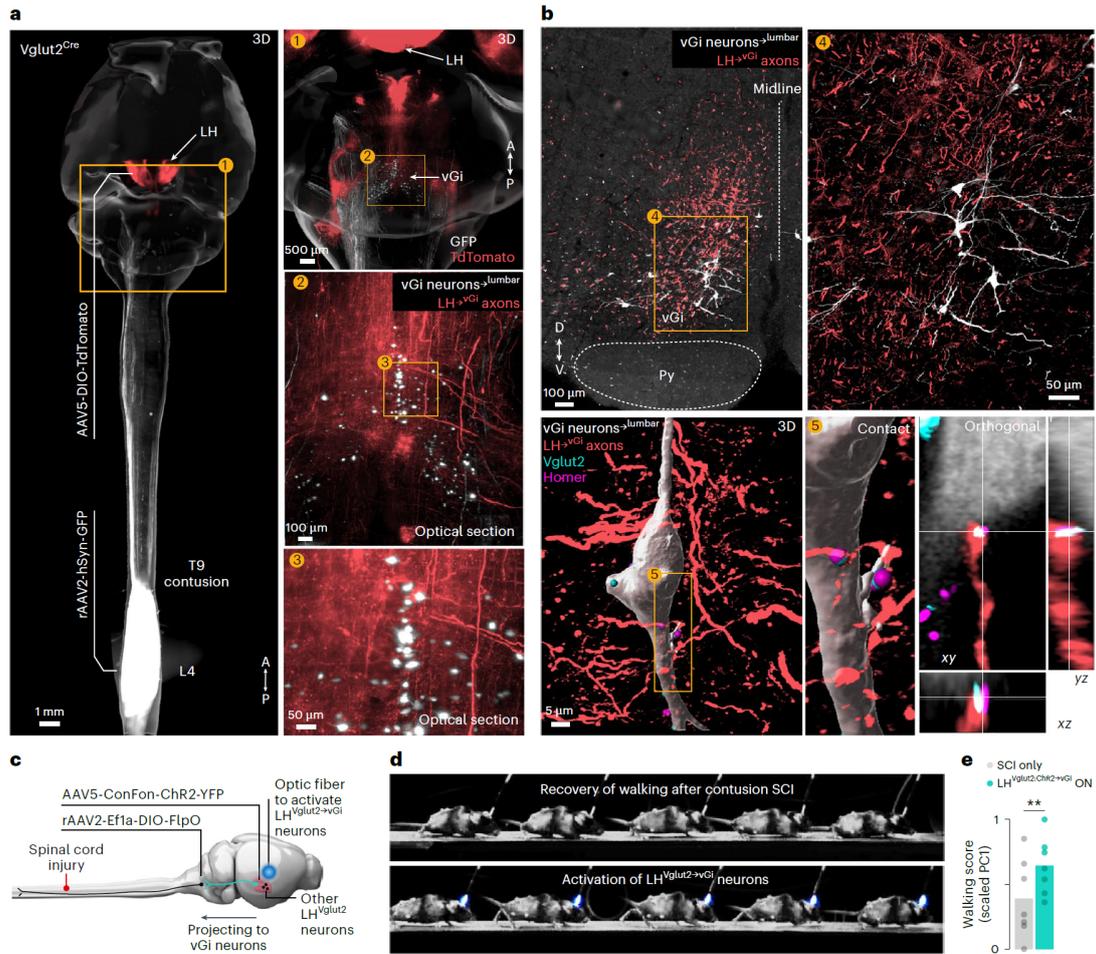


图 3. vGi 区域细胞会中继传递来自 LH 的信号。(a)，脊髓挫伤后小鼠完整的中枢神经系统三维成像。(b)，三维成像显示 LH 与 vGi 区域的突触连接。(c)，挫伤脊髓损伤后激活 LH<sup>vGlut2</sup> 细胞的实验方法概览。(d)，在有光激活和无光激活状态下脊髓损伤小鼠的延时摄影。(e)，使用主成分分析方法量化评估 LH<sup>vGlut2</sup> 细胞对步态的改善。

#### 四、DBS<sup>LH</sup> 可以立即并且持续地改善步态表现

至此，研究者已经证明使用光遗传操作激活 LH<sup>vGlut2</sup> 神经元会改善脊髓半切和挫伤小鼠的步态表现，但是考虑到光遗传操作对于患者不太友好，因此研究者想要探索使用 DBS 激活 LH 是否也会改善脊髓损伤后的步态表现。首先在挫伤模型小鼠上进行测试，在确保 DBS 电极植入到了 LH 位置后，实验结果表明 DBS 开启会立即改善小鼠的步行表现。进一步，研究者在健康大鼠模型上开展实验，实验表明，开启 DBS<sup>LH</sup> 会立即触发行走行为，增加刺激强度，行走速度也会随之增加。进一步研究者以脊髓挫伤大鼠作为实验对象，发现 DBS<sup>LH</sup> 可以即刻加强

行走表现，并且行为学实验结果表明大鼠病灭有表现出任何不适。进一步地，研究者探究了将 DBS<sup>LH</sup> 与该团队成熟的机器人辅助的康复范式结合是否会更好地改善脊髓损伤大鼠的步态表现。结果表明，DBS 确实会进一步提高大鼠训练后的步行表现，并且脊髓内轴突的数目也有所增加，vGi 区域到腰部脊髓的神经投射密度也明显增长。

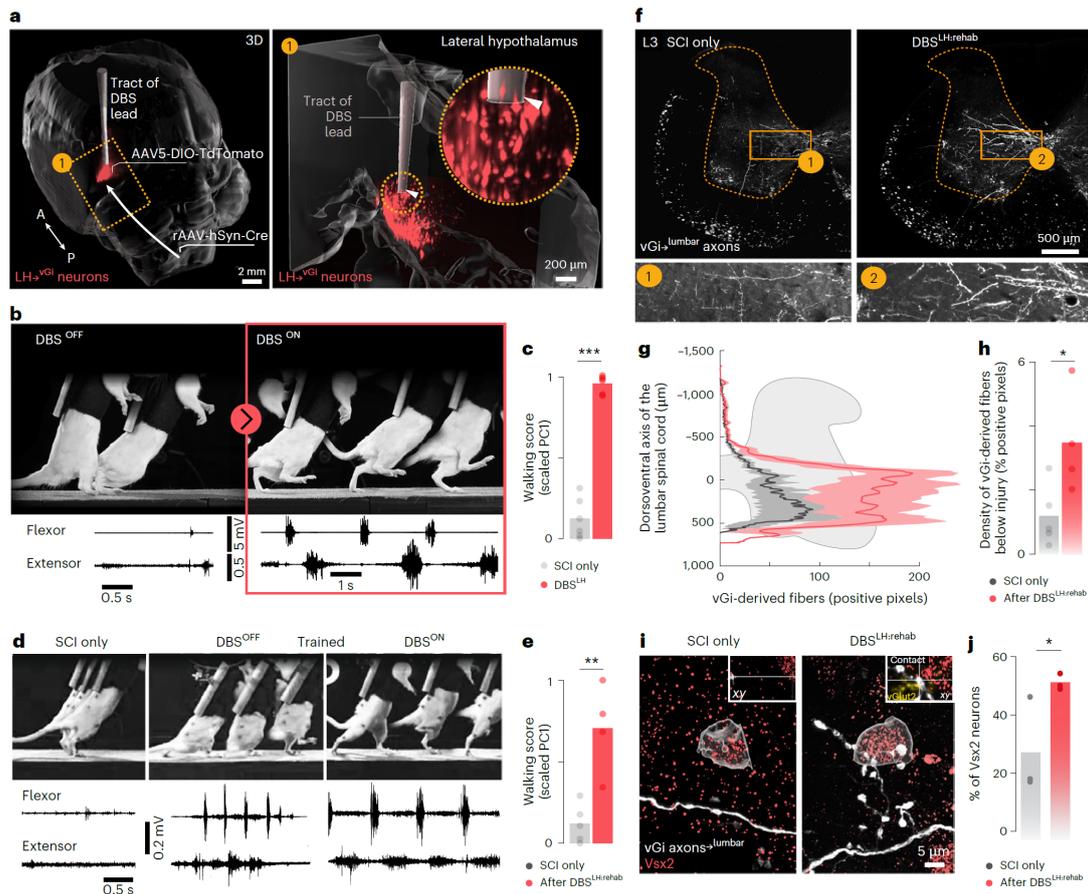


图 4. DBS<sup>LH</sup> 介导的脊髓挫伤大鼠步态表现的短期与长期改善。(a)，全脑可视化模型与 DBS 电极植入位置示意。(b)，在 DBS 开/关状态下大鼠的延时摄影。(c)，使用主成分分析方法量化评估 DBS 开/关状态下大鼠的步态表现。(d)，在有/无 DBS 的系统化康复后大鼠行走的延时摄影。(e)，使用主成分分析方法量化评估有/无 DBS 系统化康复后大鼠的步态表现。(f)，脊髓损伤后与进行包含 DBS 系统化康复后的大鼠脊髓内 vGi 投射到腰部脊髓轴突的显影。(g)，腰部脊髓灰质区域轴突数目的比较。(h)，f 图中的量化比较。(i)，光学显影展示 DBS 系统化康复后 vGi 区域到腰部脊髓神经元投射密度的增加。(j)，i 图的量化结果。

## 五、DBS<sup>LH</sup> 改善脊髓损伤患者的步态表现

更进一步，研究团队想要探究 DBS 是否会对不完全脊髓损伤患者的康复带来积极影响。首先，研究团队想要确认在步行状态下 LH 是否会被激活，他们招募了 21 名健康受试，并获取他们在进行类似行走运动时的 fMRI。结果表明在类行走活动中，对侧的 LH 确实会表现出较强的激活。研究团队招募了两名脊髓损伤受试，他们均可以在没有辅具的帮助下移动，但是展现出步态障碍。其中第一位受试希望能够在没有减重条件下进行行走，而第二位受试损伤程度更轻，希望能够走更远的距离并且能够独立地上下楼梯。为了决定 DBS 电极的植入位置，研究者获取了两位受试的 MRI 和 DTI 数据，并据此确定了最佳的植入位置。两位受试在清醒状态下接受了 DBS 植入手术，其中第一位受试在进行术中测试时说“我感受到了移动我的腿的冲动。”在 DBS 电极植入后，研究团队基于术后的解剖学重建和仿真以预测能够最大化激活 LH 同时最小化对其他核团激活的电极参数设置。在精细调参的过程中，研究团队改变刺激参数，并要求受试者试图行走。在这些 mapping 阶段之后，研究团队开展了精细专业的功能和运动学评估。这些评估结果表明 DBS<sup>LH</sup> 立即增强了受试者下肢肌肉的活动。受试者报道：他们感觉走路所需的努力更少了。

在三个月的系统化康复项目（包含每周三天、每次三小时的步行训练）后，两名受试均展现出了步态表现的改善。即使在 DBS 关机状态下，两位患者都在 10m 和 6min 步行测试中获得了更好的表现。而 DBS 开机状态下，他们的行走表现会更上一层楼。在整个过程中，没有发生不良事故。

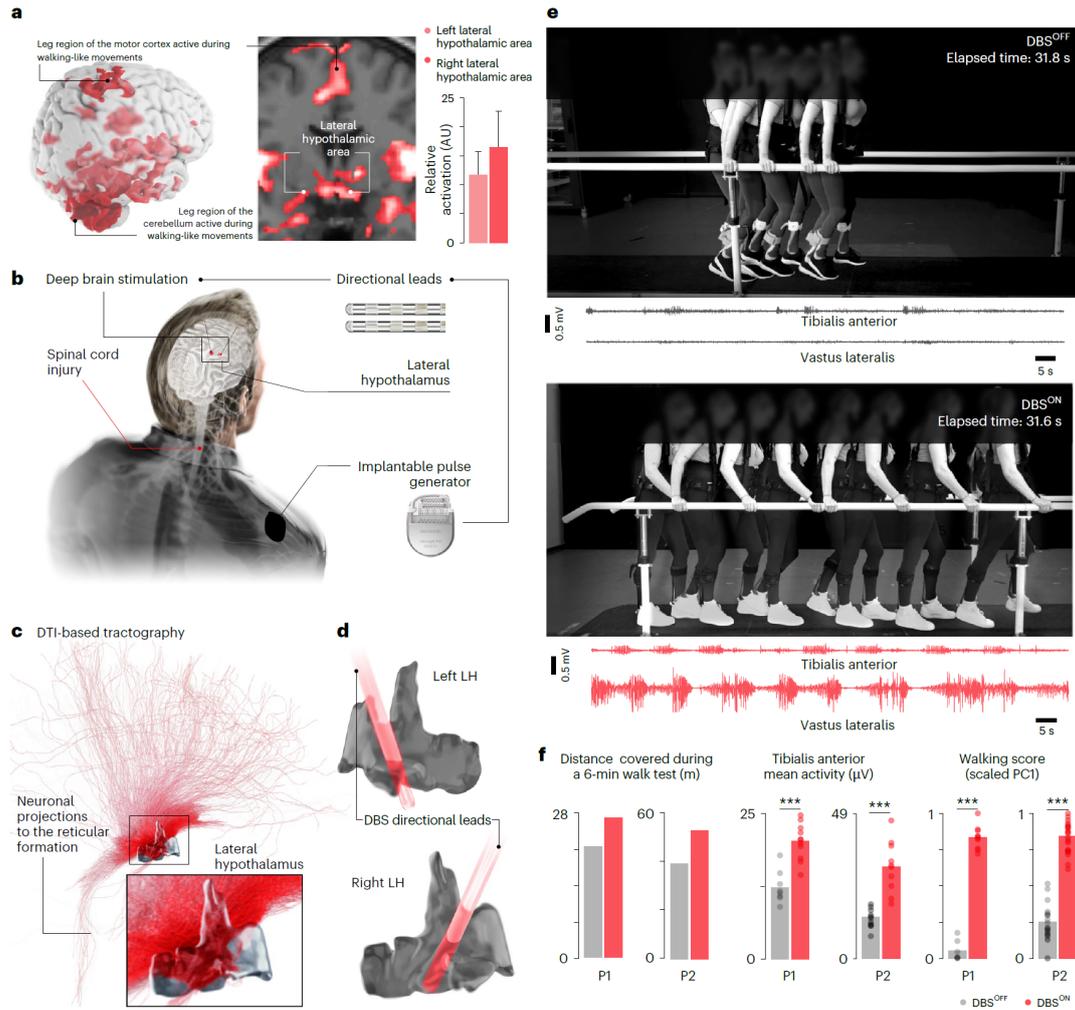


图 5. DBSLH 立即增强脊髓损伤患者的步态表现。(a), fMRI 表明健康者受试在进行类行走运动时, LH 区域活动较强。(b), DBS 电极植入到两位脊髓损伤受试体内。(c), 全脑 DTI 重建从 LH 出发的神经投射, 并指导了 DBS 电极的植入位置。(d), DBS 电极最终植入位置。(e), 受试在 DBS 开/关机状态下进行行走的延时摄影和下肢 EMG (胫前肌和股外侧肌)。(f), 两例患者在开/关机状态下的行走表现, 包括 6 分钟步行测试、胫前肌的平均 EMG 强度和步态评分。

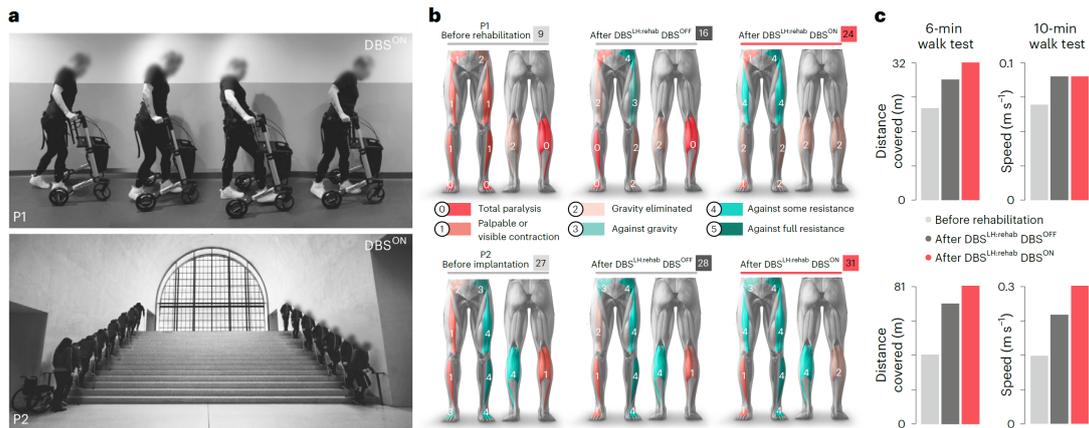


图 6. DBS<sup>LH</sup> 改善脊髓损伤患者的长期步态表现。(a)，两位患者在经过 DBS<sup>LH</sup> 康复流程后实现各自目标的延时摄影。第一位患者可以在没有支具和减重的条件下进行行走，第二位患者可以独立地上下楼梯。(b)，两位患者康复前后开/关机状态下主要下肢肌肉评分。(c)，柱状图显示了两位患者在康复前后进行 10m 和 6min 步行测试的结果。

### 【研究结论与讨论】

不完全脊髓损伤后，从大脑到脊髓的神经元投射会重新组织，恢复一定程度的信号传导能力，从而恢复部分的行走功能。在本研究中，研究者首先通过多种方法确定了 LH 在 SCI 后行走恢复的作用，并确定了 LH<sup>Vglut2</sup> 神经元对行走的促进作用。另外研究者还证明，LH<sup>Vglut2</sup> 神经元并没有直接激活脊髓，而是通过 vGi 这一“中继”将执行命令传递至损伤平面以下的腰段脊髓负责行走的区域。这为 SCI 后行走的恢复提供了新的治疗思路。

在本研究中，研究者循序渐进，从小鼠到大鼠，再到脊髓损伤患者，一步步地证明 DBS 刺激 LH 会改善脊髓损伤后的步态表现。值得注意的是，在本研究中，研究者使用了两种不同类型的 SCI 模型：半切和挫伤。半切伤模型通过横切脊髓的一侧来产生高度一致的损伤，而挫伤模型则通过可控的冲击力造成脊髓的挫伤。他们解释之所以选择这两种模型，是因为它们能够模拟人类 SCI 的病理生理特征。半切模型被广泛用于研究 SCI 后神经可塑性和功能恢复的机制，因为它能够产生明确的损伤边界和相对一致的损伤程度。挫伤模型则更能够模拟人类 SCI 的复杂性，包括损伤部位的异质性、神经纤维的断裂和轴突的变性等。研究结果表明，在这两种 SCI 模型中，激活 LH<sup>Vglut2</sup> 神经元都能够增强行走能力，这表明我们的发现具有广泛的适用性。

本研究共招募了两名脊髓损伤患者开展临床实验，实验结果表明，DBS<sup>LH</sup>确实可以有效改善脊髓损伤后的行走表现。但是后续仍需要开展大规模的临床实验，以更全面地评估 DBS 的效用。

在读完这篇工作后，首先感叹 GC 团队在研究思路上的先进性，从最初的 EES，到 Brain-spine-interface，再到 DBS+EES，再到 DBS<sup>LH</sup>，以及在细胞层级开展的多项重要研究，都在学术界激起了重要的关注和讨论，这无疑是需要我们学习的。他们每篇工作的工作量都十分巨大，几乎每个章节都可以作为一篇完整且重磅的文章发表，这得益于他们丰厚的学术研究资源和积累的研究技术和平台，包括动物实验平台、生理实验平台和技术、医学影像平台、运动学和动力学评估手段等，这些都是拿来即用的，或者有成熟合作关系。他们最近的几篇文章就像分享他们的思考过程一样，循序渐进地介绍他们的发现以及研究思路方法，让我十分钦佩。

但是对于这篇工作，我还有几个小疑问没有从文中获得答案：

1. 与半切脊髓损伤模型小鼠不同，挫伤模型小鼠的从 LH 到腰段脊髓的神经投射密度与行走恢复程度并没有正相关，这是为什么？作者认为挫伤模型由于损伤部位的异质性、神经纤维的断裂和轴突的变性等原因，导致神经投射发生重组，我觉得该解释并不令人信服。
2. 两名不完全脊髓损伤受试在经过三个月的系统性康复后，行走能力都得到了改善，即使在 DBS 关机状态下也有所改善。但是如何评估单纯的行走训练和其他常规康复项目对于行走能力改善的影响？
3. DBS<sup>LH</sup> 与 EES 相比，哪个改善效果更优？采用 EES 康复策略，是否也会反过来增加大脑与腰段脊髓的连接？

总之这篇文章再次让我感叹 GC 团队的强大能力与丰富的科研资源，我们与之还有不小的差距。即使我们有新的研究思路，也缺少相应的能力和勇气去立马付诸实践，这种资源和技术的积累确实需要时间。