

网络出版时间: 2023-12-28 09:38:06 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20231227.0802.030>

硬脑膜对颅脑发育及损伤修复的作用及其机制

王雷^{1,2,3}, 邢剑鸣⁴, 马玉博⁵, 张晓璐^{1,2,3}, 张司玺⁶, 文平¹ 综述 孙志刚¹, 张春阳^{1,2,3} 审校

摘要 硬脑膜是贴覆在颅骨内面且包绕大脑的一层质韧的结缔组织膜。近年来对硬脑膜的生理功能, 以及其在颅脑生长发育以及损伤修复的过程中的作用成为研究热点。明确硬脑膜在其中的作用机制, 可能会对许多尚不明确具体病因的神经系统疾病的诊治提供新的理论依据。但目前对于硬脑膜的研究甚浅, 许多分子机制和对目前硬脑膜在颅脑发育和损伤修复中发挥的作用还缺乏深入地探究。该文对硬脑膜发育过程及硬脑膜在颅脑发育和损伤修复中的作用进行综述, 以期为进一步研究提供参考。

关键词 硬脑膜; 颅骨; 大脑; 生长发育; 损伤修复

中图分类号 R 651.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)01-0181-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.030

对硬脑膜起源的研究最早可以追溯到 200 多年以前^[1]。在胚胎的早期发育过程中, 间充质干细胞逐渐包围后脑, 并向中脑和前脑扩展, 随后在大脑表面形成了一层间充质鞘, 这就是初级脑膜、颅骨及头皮的原始形态。这一变化最早可以追溯到人类妊娠的第 5 周。后续研究^[2]表明, 硬脑膜包含两种不同的细胞来源: 神经嵴和中胚层。而后对中胚层进行的深入研究^[3], 证实前脑的硬脑膜是神经嵴来源, 而中脑和后脑的硬脑膜则由中胚层分化而来。由于

大脑、硬脑膜和颅骨在发育上高度同源, 又有着极为密切的位置关系, 三者在生长发育及损伤修复的过程中必然有着密切的信息交流和广泛的物质联系。尽管经历了多年的研究, 但目前这其中涉及的具体分子机制尚不十分明确。

1 硬脑膜生理

1.1 硬脑膜生理结构 成人的大脑与颅骨之间被三层具有不同生物学特性的膜性结构所隔离, 由外向内为硬脑膜、蛛网膜和软脑膜, 三层膜合称为脑膜。其中最外层的膜性结构紧贴着颅骨的内表面被称为硬脑膜。硬脑膜本身也由内外两层构成: 与颅骨紧密贴合的外层称为壁层硬脑膜, 也可以将其理解成颅骨的内层骨膜; 内层硬脑膜称为脏层硬脑膜。二者仅在矢状窦等静脉窦的位置分离成明显的两层, 绝大多数部位两层紧密融合。同时, 硬脑膜形成硬脑膜反折伸向颅腔深处, 将颅腔分隔为左右大脑半球、小脑幕上下四个空间。硬脑膜是由硬膜成纤维细胞产生的胶原骨架, 主要为结构致密的纤维结缔组织。硬脑膜包绕在中枢神经系统的外表面, 是 3 层脑膜结构中质地最坚韧的一层, 在中枢神经系统中发挥了重要作用^[4]。

1.2 硬脑膜发育过程中基因调控 硬脑膜的发育是编码的过程, 其中涉及了极其复杂的基因调控过程。如 *Foxc1*、*ZIC* 基因家族及 *Twist1* 等多种基因都参与调控了硬脑膜的发育过程, 见表 1。

2 硬脑膜功能及其在颅脑发育中的作用

2.1 硬脑膜的功能 硬脑膜作为颅骨的内骨膜, 为颅骨的生长发育提供了血供。硬脑膜在中枢神经系统中具有强大的保护作用。当硬脑膜的发育存在缺陷时, 会导致某些神经发育障碍。将新生小鼠的硬脑膜破坏, 会导致小鼠齿状回基本消失^[5]。而硬脑膜中如 *Twist1* 的基因表达异常时, 会导致颅缝过早融合, 从而引发颅缝早闭综合征。颅缝早闭综合征会造成小儿“扁头”、“舟状头”等颅骨发育畸形, 严重影响大脑及智力发育^[6]。在发育期, 大脑快速生长, 脑容积迅速增加, 这就使得未成熟的硬脑膜承受了迅速增加的颅内压, 这一压力信号被传递给颅骨。

2023-10-10 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 82160250、81960238); 国家临床重点建设项目(编号: 2022-内 05); 内蒙古自治区自然科学基金(编号: 2021MS08124); 包头医学院研究生教育创新计划资助项目(编号: byex2021014)

作者单位: ¹ 内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院神经外科, 包头 014010

² 内蒙古科技大学包头医学院神经外科疾病研究所(转化医学), 包头 014010

³ 内蒙古自治区骨组织再生与损伤修复工程技术中心, 包头 014010

⁴ 内蒙古科技大学包头医学院, 包头 014010

⁵ 秦皇岛市第三医院, 秦皇岛 066000

⁶ 中国人民解放军联勤保障部队第 903 医院神经外科, 杭州 310000

作者简介: 王雷, 男, 硕士研究生;

张春阳, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: zhangchunyang_1964@aliyun.com;

孙志刚, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: sunzhg@21.cn

表1 硬脑膜发育过程中受到的主要基因调控

基因名称	调控形式	影响	参考文献
<i>FAK</i>	—	<i>FAK</i> 未参与硬脑膜的发育过程,但在维持硬脑膜结构完整性上起到了关键作用。	Long et al ^[3]
<i>Foxc1</i>	基因突变	可导致胚胎出现脑出血、颅骨缺损以及其他部位的严重缺陷,在出生时就已经死亡。 <i>Foxc1</i> 及其突变体的表达水平对顶部的硬脑膜具有高度的调控特异性。目前通过对不同 <i>Foxc1</i> 的基因突变体的研究证实,这种基因在早期硬脑膜发育过程中扮演了比较重要的角色。	Gillnäs et al ^[3]
<i>Foxc1^{ch/ch}</i>	基因突变	在 <i>Foxc1^{ch/ch}</i> 突变体中,硬脑膜结构存在明显致命的缺陷。脑膜间充质细胞异常紧密的相互贴合,导致硬脑膜发育失败。	Lee et al ^[3]
β -catenin	激活/敲除	当直接激活或移除 β -catenin 时, <i>Wnt</i> / β -catenin 通路不能调节脑膜细胞的规格;移除 β -catenin 时也会导致大脑基外侧的脑膜发育不良。	DiNuccio et al ^[3]
<i>Tgfbβ2</i>	基因缺失	当胚胎中缺失 <i>Tgfbβ2</i> 基因时,前脑脑膜不能发育。在胚胎的早期阶段就被没有增殖能力的细胞所取代。	Dasgupta et al ^[3]
<i>Twist1</i>	基因缺失	<i>Twist1</i> 基因的缺失会导致硬脑膜发育不良和蛛网膜下腔的闭锁,限制大脑的发育。	Como et al ^[3]
<i>ZIC</i> 家族	<i>Wnt</i> 通路	该基因的突变导致了硬脑膜成纤维细胞活性下降。进一步研究表明, <i>ZIC</i> 基因家族位于信号通路的上游,能够调节 <i>Foxc1</i> 基因的表达水平。	Ali et al ^[3]

转化生长因子、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 和骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 也陆续被发现在硬脑膜中广泛表达,并参与了颅骨生长的调节。

前期研究^[12]证实,在正常生理过程中颅缝处的硬脑膜会表达较低水平的 FGF-2。当向胚胎时期小鼠硬膜中注射表达 FGF-2 的腺病毒,会导致 FGF-2 的过表达,随之导致新生小鼠发生颅缝早闭^[13]。前期实验^[14]证实,去除硬脑膜后采用添加重组人骨形态发生蛋白-2 (recombinant human BMP-2, rhBMP-2) 的人工材料修补的颅骨缺损明显修复;而对照组则仅有少量新骨形成。这表明 rhBMP-2 是硬脑膜影响颅骨生长发育和损伤修复过程中的重要因子。当人为在体外对未成熟大鼠硬脑膜施加一定的压力会促进转化生长因子、FGF-2、FAK 以及骨桥蛋白的表达和质膜通透性的增加^[15]。这再次说明了机械应力(压力)信号的变化会影响诸多成骨蛋白与基因的表达情况。并通过硬脑膜的旁分泌形式向颅骨释放,调节颅骨的发育过程。

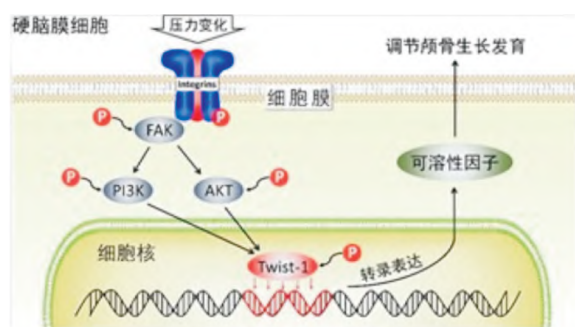


图1 硬脑膜功能示意图

2.2 硬脑膜淋巴系统的作用 硬脑膜淋巴系统是

近年来被广泛研究的重要结构,对颅内稳态起着重要的作用。硬脑膜中存在着丰富的免疫细胞,这些免疫细胞参与形成了中枢神经的免疫防御和监视等机制。硬脑膜淋巴系统可以将大分子物质从颅内运输到颈深淋巴结,这一发现证明硬脑膜淋巴系统在清除颅内代谢废物这一生理过程中发挥重要作用^[16]。该系统的发现为中枢神经系统免疫球蛋白可能参与了胚胎或婴幼儿生长发育的作用提供了广阔的研究前景。同时,相关研究^[17]表明,脑膜淋巴管不仅发挥了重要的生理功能,而且在一些中枢神经系统疾病的发生发展过程中也扮演了重要角色。硬脑膜淋巴系统能够清除颅内产生的 β -APP 和 Tau 蛋白,这些有毒物质与阿尔兹海默病的发病密切相关^[18]。实验研究^[19]表明:硬膜下血肿发生后抑制硬脑膜淋巴管的生成,减缓了硬脑膜淋巴系统对血肿的清除;颅内因脑出血、外伤等释放的炎症因子、自由基等物质均会减弱硬脑膜淋巴系统的清除作用,致使继发性脑损伤加重。

2.3 硬脑膜对颅骨发育的影响 人类的颅盖骨由成对的额骨、顶骨和一块顶骨间骨构成。由于硬脑膜与颅骨紧密贴合,二者在生长发育过程中可能存在密切的物质交换和信息交流。实验^[20]证实,当硬脑膜与颅骨的对位关系被破坏时,颅骨的骨化迟缓甚至直接终止。目前认为硬脑膜功能和结构的完整性,是颅骨成骨骨化的基础,是颅骨损伤修复的充分必要条件。更重要的是,颅骨缝线下方的硬脑膜可能在维持颅缝的正常功能上起到了某些特殊作用。*Twist1* 是一种转录调节因子,其在硬脑膜中广泛表达。在中枢神经系统的主要作用就是通过颅缝下方的硬脑膜释放至颅骨,维持颅缝不闭合,使颅骨与大脑的发育相适应^[21]。而将胚胎期大鼠的硬脑膜细

胞与颅骨母细胞共培养后,也可以得出类似结论:二者共培养可以使颅骨母细胞的增殖较单独培养时明显增加^[23]。硬脑膜能够通过旁分泌形式调控转化生长因子、FGF、BMP等物质的活性和水平,参与颅骨的生长发育。并且,在发育过程中,颅骨的生长范围与硬脑膜高度吻合^[4]。由此可以推断,未成熟的硬脑膜可能引导了颅骨的生长,并对生长发育过程中颅盖骨的构造和形态起到了重要的指导作用。

2.4 硬脑膜对大脑发育的影响 在颅骨-硬脑膜-大脑发育体系中,硬脑膜对大脑的发育也产生了千丝万缕的联系。将胚胎中的神经嵴细胞去除,会导致硬脑膜无法发育成型,这会导致前脑的神经细胞大量凋亡^[23]。由此推论硬脑膜可能为脑细胞的发育提供了某些营养因子,但这一功能目前还尚不明确。硬脑膜能够对神经元的迁徙和定位进行调节。当硬脑膜中维甲酸(retinoic acid, RA)合成的关键酶活力下降或失活时,会引起大脑发育过程中神经元的迁移改变,从而导致大脑皮层出现不正常的分层现象,严重影响大脑的正常发育;在*Foxc1*突变体小鼠中,在胚胎期即可检测到大脑表面的血管直径和密度均有不同的变化,这会导致小鼠在发育过程中出现脑出血等疾病导致死亡^[4]。这种硬脑膜发育缺陷可能与RA的合成减少密切相关。早期研究^[24]表明,RA信号对脑血管系统的发育具有调节作用,一定水平的RA保证了脑血管的正常发育。由此可以推测,硬脑膜释放的某些物质还参与调节了脑血管的发育过程。

还有研究^[25]指出,*Twist1*除前文提到的维持颅缝不闭合的功能外,还可以通过调节BMP-2和BMP-4的表达水平,对大脑静脉的发育和侧枝循环的建立起到关键性的作用。另外,硬脑膜参与调节大脑胼胝体的形成。硬脑膜产生的BMP-7可以抑制胼胝体轴突细胞的发育,造成智力低下等严重的脑发育障碍^[26]。最后通过谱系追踪的相关实验^[27]证实,硬脑膜形成了皮质神经元的干细胞巢,深入的影响了中枢神经系统的发育。由此可见,硬脑膜在大脑的发育中作为不可或缺的重要角色。

2.5 硬脑膜参与神经系统修复

2.5.1 硬脑膜参与神经功能缺失的修复 目前有一些新的证据^[28]表明,硬脑膜中可能持续存在某些未分化的干细胞群。除发育期参与到正常的生长发育以外,在创伤性脑损伤、颅骨缺损等一系列神经系统功能缺失中起到一定的修复作用。硬脑膜神经嵴细胞目前已被公认为一种具有多向分化潜能的细胞亚群。据报道^[29],将人类的硬脑膜神经嵴细胞

移植到患有帕金森病的大鼠上,能够有效逆转多巴胺能神经元的变性坏死,并在一定程度上缓解相关神经功能的缺失;CD271作为神经嵴细胞来源的特异性标志物,同样具有多能分化潜能,这种细胞在硬脑膜上广泛表达。在脑缺血动物模型中,病灶周围硬脑膜的CD271细胞显著增加^[4]。由此可以推断,当由于外伤、脑卒中或其他神经系统病变导致神经功能缺失时,硬脑膜可能通过对诸如CD271这样的具有多能分化潜能细胞的增殖参与修复。

2.5.2 硬脑膜促进颅骨损伤的再生 由于神经外科手术、脑外伤等原因,颅骨缺损时有发生。但在对动物颅骨缺损修复模型的观察中发现,硬脑膜上方产生新鲜骨组织的速度和数量总是优于硬脑膜损伤或缺失的部位^[30]。而当使用无生物活性的材料隔绝硬脑膜与颅骨时,颅骨的再生与修复同样受到影响。由此可以推断:硬脑膜具有一定的成骨分化能力,并且硬脑膜与颅骨存在密切的信息交流。相关报道^[31]表明,颅骨损伤时能够释放多种信号分子。如肿瘤坏死因子 α 作为一种炎性因子,能够刺激间充质细胞大量产生外泌体,而外泌体能够使骨细胞的成骨能力显著提升。外泌体所分泌的功能性的微小核糖核酸分子(microRNA, miRNA)被认为是完成这一功能的重要载体。miRNA是一组长度为22个左右核苷酸的单链RNA小分子,能够通过与mRNA靶向配对的形式控制蛋白合成的水平。幼龄大鼠血清外泌体中的miRNA-19b-3p能够缓解骨质疏松模型大鼠间充质干细胞的活力降低;脐带干细胞来源的过表达的miR-23a-3p可以加快小鼠颅骨缺损的修复速度^[32]。因此,当颅骨缺损发生时释放肿瘤坏死因子 α ,最终导致硬脑膜中某些miRNA被释放,参与到颅骨缺损的修复过程中来。由此推论,通过刺激硬脑膜中内源性干细胞的增殖,有可能促进硬脑膜干细胞向脑内的神经元、血管定向分化修复受损的神经系统,以及向缺损的颅骨组织定向分化,促进缺损区域的颅骨组织再生。

3 总结与展望

硬脑膜参与了颅骨的生长发育和损伤修复,以及大脑神经系统的调节修复,保护大脑不受伤害。硬脑膜在颅脑受到伤害后,启动的损伤修复功能对颅脑有重要作用。因此,深入研究硬脑膜在此过程中涉及的物质信息传递与交流方式,明确硬脑膜中不同药物靶点作用的信号转导通路的分子机制,针对性地应用分子靶向药物,可能对颅骨缺损、脑卒中、创伤性脑损伤、帕金森病及阿尔兹海默病等疾病

导致的神经功能缺失的修复提供新的研究方向,为相关临床神经外科疾病的治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Okano A, Miyawaki S, Hongo H, et al. Associations of pathological diagnosis and genetic abnormalities in meningiomas with the embryological origins of the meninges [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 6987.
- [2] Como C N, Kim S, Siegenthaler J. Stuck on you: meninges cellular crosstalk in development [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2023, 79: 102676.
- [3] DeSisto J, O'Rourke R, Jones H E, et al. Single-cell transcriptomic analyses of the developing meninges reveal meningeal fibroblast diversity and function [J]. *Dev Cell*, 2020, 54(1): 43 – 59. e4.
- [4] Hayakawa K, Snyder E Y, Lo E H. Meningeal multipotent cells: a hidden target for CNS repair? [J]. *Neuromolecular Med*, 2021, 23(3): 339 – 43.
- [5] Long K R, Huttner W B. The role of the extracellular matrix in neural progenitor cell proliferation and cortical folding during human neocortex development [J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 15: 804649.
- [6] Gillnäs S, Gallini R, He L, et al. Severe cerebellar malformations in mutant mice demonstrate a role for PDGF-C/PDGFR α signalling in cerebellar development [J]. *Biol Open*, 2022, 11(8): bio059431.
- [7] Lee Y H, Lee H T, Chen C L, et al. Role of *FOXCI* in regulating APSCs self-renewal *via* STI-1/PrPC signaling [J]. *Theranostics*, 2019, 9(22): 6443 – 65.
- [8] DiNuoscio G, Atit R P. Wnt/ β -catenin signaling in the mouse embryonic cranial mesenchyme is required to sustain the emerging differentiated meningeal layers [J]. *Genesis*, 2019, 57(1): e23279.
- [9] Dasgupta K, Jeong J. Developmental biology of the meninges [J]. *Genesis*, 2019, 57(5): e23288.
- [10] Ali R G, Bellchambers H M, Warr N, et al. Wnt-responsive SUMOylation of ZIC5 promotes murine neural crest cell development, having multiple effects on transcription [J]. *J Cell Sci*, 2021, 134(9): jcs256792.
- [11] Stanton E, Urata M, Chen J F, et al. The clinical manifestations, molecular mechanisms and treatment of craniosynostosis [J]. *Dis Model Mech*, 2022, 15(4): dmm049390.
- [12] Zhao X, Erhardt S, Sung K, et al. FGF signaling in cranial suture development and related diseases [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1112890.
- [13] Chen G, Xu H, Yao Y, et al. BMP signaling in the development and regeneration of cranium bones and maintenance of calvarial stem cells [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 135.
- [14] Ferguson J W, Devarajan M, Atit R P. Stage-specific roles of Ezh2 and Retinoic acid signaling ensure calvarial bone lineage commitment [J]. *Dev Biol*, 2018, 443(2): 173 – 87.
- [15] 曹志威, 邵国, 张春阳. 硬脑膜对颅骨生长发育影响的研究现状 [J]. *中华神经外科杂志*, 2022, 38(5): 537 – 40.
- [16] Yağmurlu K, Sokolowski J, Soldozy S, et al. A subset of arachnoid granulations in humans drain to the venous circulation *via* intradural lymphatic vascular channels [J]. *J Neurosurg*, 2021, 136(3): 917 – 26.
- [17] Bálint L, Ocskay Z, Deák B A, et al. Lymph flow induces the postnatal formation of mature and functional meningeal lymphatic vessels [J]. *Front Immunol*, 2020, 10: 3043.
- [18] Chachaj A, Gaśiorowski K, Szuba A, et al. The lymphatic system in the brain clearance mechanisms—new therapeutic perspectives for Alzheimer's disease [J]. *Curr Neuroparmacol*, 2023, 21(2): 380 – 91.
- [19] Liu X, Gao C, Yuan J, et al. Subdural haematomas drain into the extracranial lymphatic system through the meningeal lymphatic vessels [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2020, 8(1): 16.
- [20] 寇正雄, 张海燕, 邵国, 等. FAK/Twist1 信号通路在颅缝闭合过程中的作用机制研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(1): 60 – 6.
- [21] Nuri T, Ota M, Ueda K, et al. Quantitative morphologic analysis of cranial vault in twist1^{+/-} mice: implications in craniosynostosis [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2022, 149(1): 28e – 37e.
- [22] Doro D, Liu A, Grigoriadis A E, et al. The osteogenic potential of the neural crest lineage may contribute to craniosynostosis [J]. *Mol Syndromol*, 2019, 10(1–2): 48 – 57.
- [23] Wilkins A S, Wrangham R, Fitch W T. The neural crest/domestication syndrome hypothesis, explained: reply to Johnsson, Henriksen and Wright [J]. *Genetics*, 2021, 219(1): iyab098.
- [24] Pouso M R, Cairrao E. Effect of retinoic acid on the neurovascular unit: a review [J]. *Brain Res Bull*, 2022, 184: 34 – 45.
- [25] Pibouin-Fragner L, Eichmann A, Pardanaud L. Environmental and intrinsic modulations of venous differentiation [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(9): 491.
- [26] Gafner M, Michelson M, Argilli E, et al. Major brain malformations: corpus callosum dysgenesis, agenesis of septum pellucidum and polymicrogyria in patients with BCORL1-related disorders [J]. *J Hum Genet*, 2022, 67(2): 95 – 101.
- [27] Decimo I, Dolci S, Panuccio G, et al. Meninges: a widespread niche of neural progenitors for the brain [J]. *Neuroscientist*, 2021, 27(5): 506 – 28.
- [28] Le Douarin N M, Dupin E. The “beginnings” of the neural crest [J]. *Dev Biol*, 2018, 444 Suppl 1: S3 – 13.
- [29] Windmüller B A, Höving A L, Knabbe C, et al. Inter- and intrapopulation heterogeneity of characteristic markers in adult human neural crest-derived stem cells [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2022, 18(4): 1510 – 20.
- [30] Taguchi T, Lopez M J. An overview of de novo bone generation in animal models [J]. *J Orthop Res*, 2021, 39(1): 7 – 21.
- [31] Meyers C A, Lee S, Sono T, et al. A neurotrophic mechanism directs sensory nerve transit in cranial bone [J]. *Cell Rep*, 2020, 31: 107696.
- [32] Hu H, Zhang H, Bu Z, et al. Small extracellular vesicles released from bioglass/hydrogel scaffold promote vascularized bone regeneration by transferring miR-23a-3p [J]. *Int J Nanomedicine*, 2022, 17: 6201 – 20.