

小胶质细胞在脊髓损伤中的作用机制研究进展

夏宇, 丁璐, 邓宇斌

摘要 脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是由于外力或非外力作用造成脊柱骨、韧带及神经结构的破坏,并伴随着损伤部位以下躯干与四肢的感觉运动功能障碍,其致残率高。小胶质细胞作为中枢神经系统固有的免疫细胞,在SCI后接受损伤信号,发挥分泌因子及吞噬作用,同时和神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞及其它细胞与非细胞成分发生反应。目前研究显示,小胶质细胞具有多态性和多功能性,参与SCI的病理生理过程,包括炎症、疤痕形成和疼痛。本综述结合前期课题组星形胶质细胞研究基础,通过总结近年来小胶质细胞在SCI过程中功能的研究文献,为SCI疾病进展研究提供新的思路与方向。

关键词 脊髓损伤;小胶质细胞;星形胶质细胞

中图分类号 R741;R741.02;R744 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20220376

作者单位

中山大学附属第七医院科研中心
深圳 518107

基金项目

国家自然科学基金项目(No. 82071362)

收稿日期

2022-04-25

通讯作者

邓宇斌

dengyub@mail.

sysu.edu.cn

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是由于外力或非外力作用造成脊柱骨、韧带及神经结构的破坏,并伴随着损伤部位以下躯干与四肢的感觉运动功能障碍,每年全球约70万例新发病例,致残率高^[1,2]。神经功能障碍是导致SCI高残障率的基础。除了神经元的死亡、突触连接的丢失等原发性损伤,小胶质细胞作为胶质细胞的一员参与激活炎症级联反应,造成继发性损伤^[3]。

1 小胶质细胞的定义

小胶质细胞作为中枢神经系统(central nervous system, CNS)固有的免疫细胞,是神经组织中唯一来源于中胚层的细胞^[4]。根据命运图谱追踪显示,小胶质细胞起源于卵黄囊的髓样祖细胞(myeloid progenitor cells, MPCs)^[5],并在发育早期进入CNS,通过血脑屏障与血液隔离。正常生理状态下,小胶质细胞在CNS中发挥着调节神经突触、促进血管与髓鞘生成以及维持血脑屏障通透性的作用^[6]。在病理状态下,小胶质细胞主要诱导CNS的炎症反应^[7]。随着小胶质细胞的分离培养、小胶质细胞特异性的追踪剂与小胶质细胞清除剂等新技术的研发,人们认识到小胶质细胞在SCI的疾病进展中发挥着重要的作用(比如诱导继发性损伤,促进疤痕形成抑制轴突再生)^[6]。下面我们将结合最新研究进展,详细解读小胶质细胞在SCI中的作用机制。

2 小胶质细胞的分型(见图1)

2.1 M0型

小胶质细胞在大部分情况下为处于静息态(M0型,也被称为稳定态)。这种形态的小胶质细胞具有长而细的突起,并呈现高度运动状态^[8]。这种形态一方面是为了更快对外界环境的改变做出反应,另一方面与星形胶质细胞、血管以及神经元广泛接触,以便更好的发挥作用^[9]。SCI后,细胞破碎释放大量的细胞内蛋白,这些暴露的碎片信号^[3]可以被小胶质细胞通过损伤模式识别受体(比如Toll样受

体)识别,通过激活NF- κ B、P38/MAPK以及PI3K/Akt/mTOR等相关通路,诱导固有的免疫反应^[10]。根据小胶质细胞的激活后功能,统一将其分为经典激活型(M1)和替代激活型(M2)。也有人将M1命名为神经毒性型或促炎表型,将M2命名为神经保护型或抗炎表型。

2.2 M1型

小胶质细胞作为SCI后最早做出反应的免疫细胞,能通过极化为M1诱发体内炎症反应^[11]。小胶质细胞诱发体内炎症的方式有很多,比如产生活性氧(iNOS, COX)引起呼吸爆炸;或是分泌相关的细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-12)募集血液中炎症细胞,引起炎症的级联反应^[10]。M1诱发的炎症在极短的时间内填补收缩伤口,局限炎症扩散,清理坏死及异物,达到即刻防御的效果^[12]。但是炎症带来不利的影响更多,M1能激活星形胶质细胞促进疤痕的形成,抑制轴突再生,促进神经元及星形胶质细胞的坏死,不利于组织的修复。因此,很多研究抑制M1极化后,可以促进SCI后的功能修复。

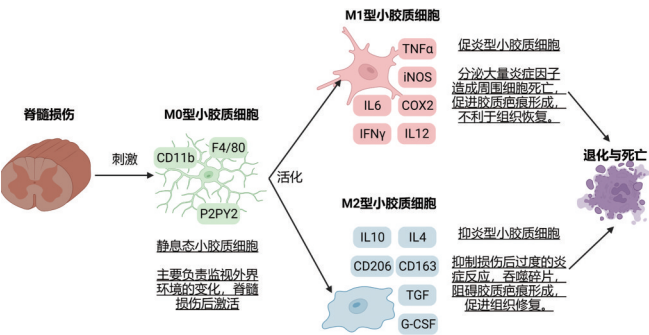
2.3 M2型

M2型小胶质细胞在SCI后主要发挥吞噬和抗炎的作用,借此达到神经保护的功能。根据受控因素以及自身发挥功能方式的不同,将之细分为I型替代激活型(M2a)、II型替代激活型(M2b)以及获得性失活型(M2c)。①M2a能在IL-4和IL-13的作用下,激发自身吞噬活性,也能通过分泌胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)-1、营养多胺和抗炎因子(比如IL-10),以及自身表达粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)和CD209,抑制体内的炎症。②M2b型的小胶质细胞接受免疫球蛋白的调控所激活,也能分泌抗炎因子IL-10、IL-12和人类组织相容性白细胞抗原(human leucocyte antigen, HLA)-DR,同时也能表达CD32和CD64来促进吞噬。③M2c型的极化

受控于 IL-10 以及糖皮质激素,它会通过增加表达转化生长因子(transforming growth factor, TGF)、鞘氨醇激酶(Sphingosine kinase, SphK)和 CD163,同样发挥抑制炎症,吞噬凋亡细胞的作用^[11]。通过以上作用,M2 型小胶质细胞可以吞噬 SCI 后细胞碎片及异物,同时可以刺激组织再生。

2.4 其他

SCI 后,小胶质细胞的分型并不固定,而是根据环境发生不同表型间的转换。比如 SCI 后,吞噬细胞通过吞噬血红蛋白导致铁负荷增加,从而增加肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)的分泌,诱导小胶质细胞从 M2 向 M1 转化,借此阻碍 SCI 后运动功能的修复^[13]。同样,缺氧预处理的间充质干细胞外泌体,可以通过 miR-216-5p 调节 TLR4/NF-κB/PI3K/Akt 信号通路,促进小胶质细胞 M2 向 M1 转变,最后达到促进 SCI 功能恢复的作用^[14]。随着近年来单细胞测序等新技术的出现,小胶质细胞分型更加多元化。如 Li 等^[15]证明表达 Ms4a7 的 MG3 型小胶质细胞可以促进 SCI 后的无疤痕修复。



注:小胶质细胞起源于 MPCs,平时为静息态(M0),在 SCI 后转变为经典激活型(M1)和替代激活型(M2),M1 型主要分泌大量炎症因子造成周围细胞死亡,并促进疤痕形成,不利于组织恢复;M2 主要抑制炎症爆发,吞噬碎片,阻碍胶质疤痕形成,有利于组织恢复。

图1 SCI后小胶质细胞的分型与功能

3 小胶质细胞在 SCI 中的功能 (见图2)

小胶质细胞是 CNS 的主要常驻免疫细胞,在 SCI 后介导炎症反应。小胶质细胞活化阈值很低,能在损伤后 20 ~ 40 min 内迅速激活^[16],与神经元及其他胶质细胞群体相互作用。此外,损伤后进入 CNS 的外周免疫细胞可能直接与小胶质细胞相互影响。这一现象提示小胶质细胞作为桥梁,在免疫细胞、胶质细胞、神经元等组分之间构建了一个完整的通信网络^[17]。下面我们将分别从小胶质细胞自身与其他细胞相互作用的角度出发,分别阐述小胶质细胞在 SCI 中的直接和间接作用。

3.1 小胶质细胞在 SCI 中的直接作用

3.1.1 分泌炎症因子 SCI 后,小胶质细胞可以通过分泌炎症相关细胞因子(如 ROS、TNF-α等)^[18],逐级放大炎症信号(炎症级联反应),引导 SCI 的继发损伤。

3.1.2 引起持续疼痛 SCI 后小胶质细胞短期大量增殖。同时小胶质细胞的 P38^[19]、P2X4 受体^[20]等相关蛋白表达增加,诱发疼痛并使疼痛持续。

3.1.3 吞噬碎片 在 SCI 初期,小胶质细胞通过 MyD88 途径,吞噬降解髓鞘的碎片,缓解炎症并启动新的少突胶质细胞的生成^[21]。随着时间的推移,小胶质细胞发生迁移,远离损伤中心,吞噬作用主要被血源性巨噬细胞替代^[22]。小胶质细胞的吞噬作用往往和再生联系在一起。

3.1.4 其他 小胶质细胞除了分泌炎症相关因子外,还分泌诸多营养及生长因子,用于调整 SCI 后的内环境,从而发挥其作用。比如 SCI 后小胶质细胞分泌脑源性神经营养因子增加,促进损伤修复^[23]。此外,小胶质细胞可以通过趋化因子受体途径,影响运动电路突触的可塑性^[24],从而干预 SCI 运动感觉功能的恢复。

3.2 小胶质细胞在 SCI 中的间接作用

3.2.1 小胶质细胞对星形胶质细胞的作用 激活后的小胶质细胞通过分泌 IL-1α、TNFα 以及 C1q,诱导星形胶质细胞往神经毒性方向极化,从而进一步加深神经功能的破坏^[25]。M1 小胶质细胞还可以通过 TLR/MyD88 信号通路,促进反应性星形胶质细胞介导的组织坏死反应,诱发空洞形成,加重 SCI 的继发性损伤^[26]。小胶质细胞也可以对星形胶质细胞产生积极的影响,比如小胶质细胞能通过嘌呤能信号抑制星形胶质细胞的 PY1 受体,使星形胶质细胞受 IL-6、IL-1β 以及 TNFα 等炎症因子的影响减弱,促进疤痕形成,限制坏死核心,修复血脑屏障,降低白细胞浸润^[27],在一定程度上能促进神经元以及少突胶质细胞的存活,起到有利的作用^[28]。小胶质细胞还可以通过 Plexin-B2 的作用,使得疤痕中星形胶质细胞更加有序,进一步促进细胞的聚集以及创口的收缩,达到 SCI 后结构功能的恢复^[12]。但胶质疤痕占据了受损区域会阻碍神经元、轴突以及其它正常组成成分的更新,从而限制 SCI 后运动感觉功能的恢复^[29]。

有意思的是,小胶质细胞可以在 SCI 后第 7 天分泌 TGFβ 以及 IGF 去逆转 A1 型星形胶质细胞极化,从而减弱免疫浸润,促进神经元与少突胶质细胞的存活,减小病灶并增强功能恢复^[28]。我们推论,小胶质细胞对星形胶质细胞的影响可能是伴随着 SCI 环境的改变而调整,这也和小胶质细胞能够迅速根据接受外界信号的特性相关。

3.2.2 小胶质细胞对神经元的作用 SCI 急性期,小胶质细胞介导的炎症抑制了突触形成,诱导神经元死亡^[25]。并通过释放前列腺素 E2 等炎症介质,向神经元传递疼痛信号^[30]。损伤慢性期小胶质细胞对神经元功能造成长久影响,包括多巴胺信号与钙信号的传递等^[31]。神经元可以通过 EGFR2/PI3K/Akt 途径抑制小胶质细胞的 TLR1/NF-κB 信号通路,减弱其炎症细胞因子的释放,促进 SCI 后运动功能的恢复^[32]。小胶质细胞还可以通过神经元-神经胶质相互作用进一步调节和传递疼痛。2022 年一篇发表于 Science 的研究表明, CD11c(+) 的小胶质细胞可以通过胰岛素样生长因子-1 参与神经性疼痛的缓解与复发过程^[33]。

3.2.3 小胶质细胞对少突胶质细胞的作用 小胶质细胞可以通过影响脊髓微环境,直接或间接的造成少突胶质细胞的死亡^[25],氟西汀抑制小胶质细胞激活后,可以减少 SCI 后少突胶质细胞的死亡^[34]。Liu 等^[35]利用 PDGFR 抑制剂特异性诱导少突胶质前体

细胞(NG2⁺)耗竭后会损害小胶质细胞TGFβ信号的传导,从而证明NG2⁺胶质细胞可以维持小胶质细胞体内稳态信号。

3.2.4 小胶质细胞对外周免疫细胞的作用 正常生理情况下,外周免疫细胞无法进入CNS。SCI后,血脑屏障破坏,小胶质细胞在几分钟内对急性损伤做出反应,招募外周免疫细胞,并启动炎症级联反应^[36],而募集而来的外周免疫细胞也可以直接作用于小胶质细胞,抑制其活化^[37]。比如通过共培养系统和体内模型的研究发现,浸润性单核细胞衍生的巨噬细胞(monocyte-derived macrophages, MDMs)可以抑制小胶质细胞介导的吞噬及炎症作用,抑制MDMs会增加小胶质细胞的激活并恶化功能恢复^[37]。

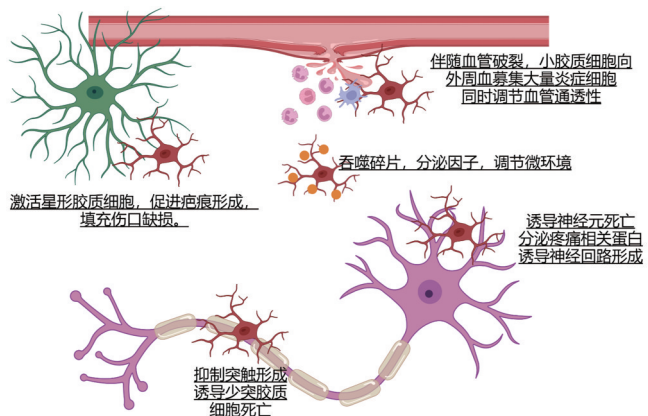


图2 SCI后小胶质细胞的功能

4 总结

小胶质细胞在SCI病理进展中承担着重要功能。有研究通过使用集落刺激因子1受体(CSF-1R)抑制剂PLX5622清除小胶质细胞,能够有效的缓解慢性炎症与神经退化,从而促进神经功能的恢复^[38]。同时清除小胶质细胞后能够重塑损伤后的轴突^[39],有效地缓解疼痛^[40],并抵御外周炎细胞的浸润^[41]。但是有的研究显示,清除小胶质细胞会导致胶质疤痕无法形成,造成神经功能恢复受阻^[42]。

SCI后,小胶质细胞能迅速感应损伤,通过与周围组织相互作用,参与病理生理的进程。其中小胶质细胞对星形胶质细胞的作用最值得关注。星形胶质细胞作为CNS中分布最为广泛的细胞群,在SCI后发挥着重要作用。我们课题组前期已经证明,小胶质细胞所分泌的TNFα、C1q和IL1α可以有效激活A1型星形胶质细胞,A1型星形胶质细胞通过减少冗余蛋白的降解,在SCI后抑制内源性神经干细胞的分化作用,从而限制了SCI后的组织再生。小胶质细胞作为原位的免疫细胞,扮演CNS第一道防线的角色。小胶质细胞能在损伤后快速的吞噬碎片,局限炎症,收缩伤口,使得损伤不至于进一步扩大。但随着时间的推移,小胶质细胞引起炎症的积累会诱导神经元及其他细胞成分的死亡,诱导的疤痕形成会抑制轴突再生,同时小胶质细胞也会诱导持续的疼痛并限制了运动感觉功能的修复。

总结来说,SCI后的小胶质细胞是具有时效性与多能性,可以通过调节周围细胞组织引导损伤后病理进程。针对小胶质细胞的研究可以为今后SCI的治疗提供新的方向。

参考文献

[1] Ahuja CS, Wilson JR, Nori S, et al. Traumatic spinal cord injury[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3: 17018.

[2] Kumar R, Lim J, Mekary RA, et al. Traumatic Spinal Injury: Global Epidemiology and Worldwide Volume[J]. World Neurosurg, 2018, 113: e345-e363.

[3] Orr MB, Gensel JC. Spinal Cord Injury Scarring and Inflammation: Therapies Targeting Glial and Inflammatory Responses[J]. Neurotherapeutics, 2018, 15: 541-553.

[4] Wu Y, Hirschi KK. Tissue-Resident Macrophage Development and Function[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 617879.

[5] Gomez Perdiguer E, Klapproth K, Schulz C, et al. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors[J]. Nature, 2015, 518: 547-551.

[6] Sierra A, Paolicelli RC, Kettenmann H. Cien Años de Microglía: Milestones in a Century of Microglial Research[J]. Trends Neurosci, 2019, 42: 778-792.

[7] Savage JC, Carrier M, Tremblay ME. Morphology of Microglia Across Contexts of Health and Disease[J]. Methods Mol Biol, 2019, 2034: 13-26.

[8] David S, Kroner A. Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury[J]. Nat Rev Neurosci, 2011, 12: 388-399.

[9] Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo[J]. Science, 2005, 308: 1314-1318.

[10] Akhmetzyanova E, Kletnikov K, Mukhamedshina Y, et al. Different Approaches to Modulation of Microglia Phenotypes After Spinal Cord Injury[J]. Front Syst Neurosci, 2019, 13: 37.

[11] Shechter R, Schwartz M. Harnessing monocyte-derived macrophages to control central nervous system pathologies: no longer ‘if’ but ‘how’[J]. J Pathol, 2013, 229: 332-346.

[12] Zhou X, Wahane S, Friedl MS, et al. Microglia and macrophages promote corraling, wound compaction and recovery after spinal cord injury via Plexin-B2[J]. Nat Neurosci, 2020, 23: 337-350.

[13] Francos-Quijorna I, Amo-Aparicio J, Martinez-Muriana A, et al. IL-4 drives microglia and macrophages toward a phenotype conducive for tissue repair and functional recovery after spinal cord injury[J]. Glia, 2016, 64: 2079-2092.

[14] Liu W, Rong Y, Wang J, et al. Exosome-shuttled miR-216a-5p from hypoxic preconditioned mesenchymal stem cells repair traumatic spinal cord injury by shifting microglial M1/M2 polarization[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17: 47.

[15] Li Y, He X, Kawaguchi R, et al. Microglia-organized scar-free spinal cord repair in neonatal mice[J]. Nature, 2020, 587: 613-618.

[16] Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglia cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo[J]. Science, 2005, 308: 1314-1318.

[17] Greenhalgh AD, David S, Bennett FC. Immune cell regulation of glia during CNS injury and disease[J]. Nat Rev Neurosci, 2020, 21: 139-152.

[18] Lv B, Zhang X, Yuan J, et al. Biomaterial-supported MSC transplantation enhances cell-cell communication for spinal cord injury[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12: 36.

[19] Kishima K, Tachibana T, Yamanaka H, et al. Role of Rho-associated coiled-coil containing protein kinase in the spinal cord injury induced neuropathic pain[J]. Spine J, 2021, 21: 343-351.

[20] Kobashi S, Terashima T, Katagi M, et al. Transplantation of M2-Deviated Microglia Promotes Recovery of Motor Function after Spinal Cord Injury in Mice[J]. Mol Ther, 2020, 28: 254-265.

[21] Cunha MI, Su M, Cantuti-Castelvetri L, et al. Pro-inflammatory activation following demyelination is required for myelin clearance and oligodendrogenesis[J]. J Exp Med, 2020, 217: e20191390.

[22] Green LA, Nebiolo JC, Smith CJ. Microglia exit the CNS in spinal root avulsion[J]. PLoS Biol, 2019, 17: e3000159.

[23] Dougherty KD, Dreyfus CF, Black IB. Brain-derived neurotrophic factor in astrocytes, oligodendrocytes, and microglia/macrophages after spinal cord injury[J]. Neurobiol Dis, 2000, 7: 574-585.

- [24] Rotterman TM, Akhter ET, Lane AR, et al. Spinal Motor Circuit Synaptic Plasticity after Peripheral Nerve Injury Depends on Microglia Activation and a CCR2 Mechanism[J]. *J Neurosci*, 2019, 39: 3412-3433.
- [25] Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia[J]. *Nature*, 2017, 541: 481-487.
- [26] Fan H, Zhang K, Shan L, et al. Reactive astrocytes undergo M1 microglia/macrophages-induced necroptosis in spinal cord injury[J]. *Mol Neurodegener*, 2016, 11: 14.
- [27] Shinozaki Y, Shibata K, Yoshida K, et al. Transformation of Astrocytes to a Neuroprotective Phenotype by Microglia via P2Y1 Receptor Downregulation[J]. *Cell Rep*, 2017, 19: 1151-1164.
- [28] Bellver-Landete V, Bretheau F, Mailhot B, et al. Microglia are an essential component of the neuroprotective scar that forms after spinal cord injury[J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 518.
- [29] D'Ambrosi N, Apolloni S. Fibrotic Scar in Neurodegenerative Diseases[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1394.
- [30] Zhao P, Waxman SG, Hains BC. Extracellular signal-regulated kinase-regulated microglia-neuron signaling by prostaglandin E2 contributes to pain after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2007, 27: 2357-2368.
- [31] Witcher KG, Bray CE, Chunchai T, et al. Traumatic Brain Injury Causes Chronic Cortical Inflammation and Neuronal Dysfunction Mediated by Microglia[J]. *J Neurosci*, 2021, 41: 1597-1616.
- [32] Chen J, Wang Z, Zheng Z, et al. Neuron and microglia/macrophage-derived FGF10 activate neuronal FGFR2/PI3K/Akt signaling and inhibit microglia/macrophages TLR4/NF-kappaB-dependent neuroinflammation to improve functional recovery after spinal cord injury[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e3090.
- [33] Kohno K, Shirasaka R, Yoshihara K, et al. A spinal microglia population involved in remitting and relapsing neuropathic pain[J]. *Science*, 2022, 376: 86-90.
- [34] Lee JY, Kang SR, Yune TY. Fluoxetine prevents oligodendrocyte cell death by inhibiting microglia activation after spinal cord injury[J]. *J Neurotrauma*, 2015, 32: 633-644.
- [35] Liu Y, Aguzzi A. NG2 glia are required for maintaining microglia homeostatic state[J]. *Glia*, 2020, 68: 345-355.
- [36] Fekete R, Cserép C, Lénárt N, et al. Microglia control the spread of neurotropic virus infection via P2Y12 signalling and recruit monocytes through P2Y12-independent mechanisms[J]. *Acta Neuropathol*, 2018, 136: 461-482.
- [37] Greenhalgh AD, Zarruk JG, Healy LM, et al. Peripherally derived macrophages modulate microglial function to reduce inflammation after CNS injury[J]. *PLoS Biol*, 2018, 16: e2005264.
- [38] Li Y, Ritzel RM, Khan N, et al. Delayed microglial depletion after spinal cord injury reduces chronic inflammation and neurodegeneration in the brain and improves neurological recovery in male mice[J]. *Theranostics*, 2020, 10: 11376-11403.
- [39] Hutchinson JM, Isaacson LG. Elimination of microglia in mouse spinal cord alters the retrograde CNS plasticity observed following peripheral axon injury[J]. *Brain Res*, 2019, 1721: 146328.
- [40] Lee S, Shi XQ, Fan A, et al. Targeting macrophage and microglia activation with colony stimulating factor 1 receptor inhibitor is an effective strategy to treat injury-triggered neuropathic pain[J]. *Mol Pain*, 2018, 14: 1744806918764979.
- [41] Unger MS, Scherthaner P, Marschallinger J, et al. Microglia prevent peripheral immune cell invasion and promote an anti-inflammatory environment in the brain of APP-PS1 transgenic mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15: 274.
- [42] Jakovčevski I, Förster E, Reiss G, et al. Impact of Depletion of Microglia/Macrophages on Regeneration after Spinal Cord Injury[J]. *Neuroscience*, 2021, 459: 129-141.

(本文编辑:唐颖馨)