

小胶质细胞在缺血性脑损伤中作用的研究进展

刘 兵

湖北省十堰市太和医院 湖北十堰 442000

【摘要】脑缺血再灌注损伤是多种机制参与的一种复杂病理生理过程,其中炎症反应是诱导缺血性损伤的主要环节,脑缺血后缺血脑组织内炎症介质明显增加,这些炎症介质主要来自小胶质细胞。激活的小胶质细胞分为经典型(M1)或替代激活型(M2),其中,M1小胶质细胞分泌促炎细胞因子,以及一些细胞毒性物质,使细胞存活、分化等功能紊乱,对神经元、血管内皮细胞、周细胞等的功能产生非特异性的损伤。而M2表型可以通过其吞噬功能的增强而加快对坏死组织清除及正常组织修复。因此,通过调节M1/M2小胶质细胞的激活,可以最大限度地减少有害作用和/或最大限度地发挥保护作用。调节小胶质细胞极化后损伤和修复双重功能的平衡被视作重要的脑保护治疗靶点,为缺血性卒中的治疗提供新思路。本文对小胶质细胞在脑缺血后的极化特征、调节机制和药物研发领域的进展作一综述。

【关键词】缺血性脑损伤,小胶质细胞,炎症

【中图分类号】R651

【文献标识码】A

【文章编号】2095-9753(2020)05-181-03

Research progress of microglia in ischemic stroke

Bing Liu

【Abstract】cerebral ischemic injury is a complex pathophysiological process involved in many mechanisms, in which inflammatory response is the main link to induce ischemic injury, and the inflammatory mediators in ischemic brain tissue increase significantly after cerebral ischemia, and these inflammatory mediators mainly come from microglia. The activated microglia can be divided into classical type (M1) or alternative activated type (M2). Among them, M1 microglia secretes pro-inflammatory cytokines, and some cytotoxic substances, which make cell survival, differentiation and other functional disorders, and produce non-specific damage to the functions of neurons, vascular endothelial cells, peripheral cells and so on. The M2 phenotype can accelerate the clearance of necrotic tissue and the repair of normal tissue through the enhancement of its phagocytic function. Therefore, by regulating the activation of M1/M2 microglia, harmful effects and / or protective effects can be minimized. Regulating the balance between the damage and repair of microglia after polarization is regarded as an important therapeutic target of brain protection, which provides a new idea for the treatment of ischemic stroke. In this paper, we review the progress of microglia in the field of polarization characteristics, regulation mechanism and drug development after cerebral ischemia.

【Key words】ischemic brain injury, microglia, inflammation

引言

小胶质细胞是中枢神经系统的常驻免疫细胞,巡逻并充当大脑的哨兵。具有很多重要的功能,小胶质细胞通过快速伸缩“分枝”结构,监测脑内微环境,吞噬病原微生物和坏死细胞。此外,小胶质细胞在突触发育、功能和可塑性方面可发挥重要调节作用^[1]。在脑发育过程中,小胶质细胞会吞噬和清除突触结构,这一生理现象被称为“突触修剪”,对突触结构的成熟和维持具有重要意义。在缺血性中风中,小胶质细胞在几分钟内被激活并持续激活数天,小胶质细胞与缺血缺氧性脑损伤炎症反应密切相关,在脑缺血缺氧炎症反应中小胶质细胞被激活,但小胶质细胞激活表型有一定的时间特性^[2]。小胶质细胞和招募的巨噬细胞在脑梗死早期主要表现为M2型,随后逐渐转变为M1型,这在缺血半暗带尤为明显。这种极化与脑组织损伤时间、缺血损伤程度、发生在灰质还是白质有关。中风期间抗炎策略的失败可能部分与小胶质细胞发挥的双重或多相作用相关^[3]。因此,中风后靶向小胶质细胞激活可提供限制中风引起的脑损伤的有效方法。此外,缺血发作和完全发育的小胶质细胞激活状态之间的相对长的时间间隔(许多小时)使得靶向小胶质细胞反应在临床上可行^[4,5]。虽然小胶质细胞的适度激活能够减轻受累组织或细胞的代谢紊乱,促进组织修复,但过度激活会导致细胞释放大

量自由基和促炎细胞因子,介导氧化应激和炎症反应^[6]。总之,小胶质细胞的激活和增殖是许多中枢神经系统损伤的特点,而损伤后调节小胶质细胞活化和增殖反应的潜在的分子机制,仍不清楚,仍需要进一步的研究。

1 脑卒中后 M1/M2 极化的功能改变

作为中枢神经系统中最重要用于感知危险信号的免疫细胞,脑卒中发生后,小胶质细胞/巨噬细胞迅速作出反应,通过获得不同的功能表型:M1和M2极化表型来防止脑损伤。然而,激活的小胶质细胞和巨噬细胞在大脑炎症环境中有不同的作用^[7]。例如,在巨噬细胞吞噬和炎症反应中,巨噬细胞可以不依赖于它们的M1或M2表型产生细胞毒性,而天然小胶质细胞似乎可以优先清除碎片,从而发挥保护作用。这些结果表明,M2型小胶质细胞似乎比M2型巨噬细胞更具保护性,其中一部分原因可能是由其天然基因表达特征来决定^[8]。

在体外脑缺血模型中,糖氧剥夺引起的神经元损伤可诱导小胶质细胞向M1表型极化,从而加剧了糖氧剥夺(oxygen glucose deprivation, OGD)诱导的神经元死亡,而M2型小胶质细胞保护神经元,以抵抗OGD诱导的神经元死亡。这可能与M2表型可以促进脑缺血后碎片的吞噬及促进受伤组织的修复有关^[9]。另外,研究人员将M1或M2型小胶质细胞加入OGD处理后的脑组织切片中,发现M1型小胶质细胞对神经元

的存活有害,而M2型小胶质细胞在OGD处理后,对海马CA1和CA3区的神经元具有保护作用。这些结果表明,小胶质细胞极化在缺血性脑卒中病理中发挥着不同的功能^[10,11]。因此,减少卒中后M1型小胶质细胞数量,并促进其向M2型过渡可能会获得更好的治疗效果。总之,阐明在卒中后不同时间点切换M1/M2表型的调节机制可以提供更好的治疗策略,在正确的时间靶向调节小胶质细胞/巨噬细胞表型,以获得治疗卒中中的最佳方案。

2 小胶质细胞对脑缺血性损伤的保护作用

小胶质细胞具有明显的异质性,不同亚群的小胶质细胞对脑损伤产生不同的作用。耗竭实验大鼠小胶质细胞使其卒中后脑损伤加重,而注射外源性小胶质细胞可减轻实验沙鼠缺血性脑损伤^[12]。由于caspase-3介导的细胞凋亡,小胶质细胞未能完全吞噬凋亡神经元,从而增加兴奋性毒性损伤,并进一步加重由缺血再灌注引起的细胞因子和趋化因子的释放^[13,14]。兴奋性毒性被认为是神经元死亡的主要机制,它由各种细胞死亡信号通路介导的细胞内钙超载引起。缺乏小胶质细胞会加重兴奋性毒性损伤,这是因为小胶质细胞缺乏会引起神经元钙反应失调、钙超载和增加神经元死亡^[15-17]。

M2型小胶质细胞可产生多种神经营养因子,刺激神经发生和改善神经可塑性^[18]。一项动物实验研究证实,在短暂性大脑中动脉栓塞后,小胶质细胞表达的IL-33明显升高。而将IL-33注入已敲除IL-10的小鼠脑室内,不能对脑梗死小鼠提供神经保护作用。此外,在中枢神经系统重塑过程中,M2型小胶质细胞可分化为少突胶质细胞,这有助于促进神经系统的恢复^[19]。

3 小胶质细胞对脑缺血性损伤的促进作用

活化的小胶质细胞通过TLR2-Sphk1通路,引起IL-1 β 、IL-17、IL-23和TNF- α 释放,从而参与脑缺血再灌注损伤。IL-1 β 可趋化白细胞在炎症局部聚集和活化,加重脑组织损伤,还可激活小胶质细胞,释放细胞因子进一步加重脑损伤^[20]。TNF可加剧或减轻炎症反应,这与其信号转导途径有关。活化的小胶质细胞也能释放基质金属蛋白酶(MMPs),主要有MMP-3、MMP-8和MMP-9三种。MMPs在病理状态下异常表达,导致血脑屏障破坏、炎性细胞浸润、脱髓鞘和神经元死亡^[21,22]。MMP-8在活化的小胶质细胞中表达明显上调,对神经炎症反应具有促进作用。临床研究显示,MMP-8与卒中严重程度存在相关性。MMP-9能分解大多数细胞外基质,尤其是IV型和V型胶原蛋白。它还能激活多种促炎性细胞因子和趋化因子^[23]。此外,由于IV型胶原分解破坏,促进了白细胞向血管内皮细胞迁移。最后,细胞核内MMP-9水平升高降低二磷酸核糖聚合酶-1和X线的交叉互补因子-1的水平,导致破坏的DNA在神经元中蓄积。然而,由于蛋白酶在神经血管方面的修复作用,卒中后长时间抑制MMPs可能对神经功能的恢复产生不利影响^[24]。

小胶质细胞在局部炎症刺激下,不仅发生表型改变,也会引起迁移能力改变;小胶质细胞受刺激向炎症病灶迁移浸润。小胶质细胞表面的G蛋白耦联受体在激活小胶质细胞不同组分中起着重要的作用,不同的受体对小胶质细胞迁移产生不同的效应^[25,26]。小胶质细胞表达的NADPH氧化酶(NOX)是细胞内氧自由基的一个重要来源,生理条件下可以维持小胶质细胞的正常功能,在病理条件下参与炎症反应及神经元坏死。NOX是缺血期间产生有害氧自由基(ROS)一个主要的复合体,ROS很不稳定,半衰期极短,能夺取电子而使其它的敏

感分子或化合物氧化,具有参与链式反应的趋向,容易形成恶性循环。大鼠短暂脑缺血后期小胶质细胞内活化的NOX表达增加^[27,28]。ROS能与蛋白质、核酸、脂质及其它分子如透明质酸等反应并破坏其分子结构,发生超氧变化、交联或断裂,引起细胞结构和功能破坏。

脑缺血后小胶质细胞活化,活化的小胶质细胞分泌趋化因子CCL3和CCL5增加。有研究发现新生鼠脑在急性胆缺氧时CCL3浓度明显升高,8~72h达到高峰,结果显示CCL3上调与单核细胞和小胶质细胞聚集于脑损伤区域相关联^[29]。在小鼠侧脑室注射CCL3可以增加脑梗死体积,而注射趋化因子拮抗剂则可以剂量依赖性地减少脑梗死体积。在局灶性脑缺血模型中敲除CCL5后的小鼠与野生小鼠相比,梗死面积明显减少,血脑屏障的渗透性降低,提示抑制CCL5有望减轻缺血后脑损伤^[30]。

4 针对小胶质细胞反应的潜在疗法

迄今为止,还没有针对卒中后免疫反应的特定治疗方法。所有在卒中背景下靶向小胶质细胞激活的有希望的药物,仅用于实验研究或临床前实验。尽管其中一些已用于治疗自身免疫性疾病(如TNF- α 拮抗剂),但对调节缺血性小胶质细胞激活的有效药物的探索性研究仍处于初期阶段。卒中后小胶质细胞激活的双重功能,使得必须对任何针对小胶质细胞的治疗策略进行微调,以选择性地抑制促炎反应和/或促进抗炎活化^[31]。研究表明,二甲双胍是一种腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK)激活剂,可通过促进小胶质细胞向M2型的极化,来促进脑卒中小鼠的神经功能恢复和组织修复^[32]。给予二甲双胍后,小胶质细胞/巨噬细胞通过抑制NF- κ B介导的炎症信号传导而趋向于M2型米诺环素是小胶质细胞M1型极化的选择性抑制剂,用于缺血性脑卒中的慢性治疗,能够促进局灶性脑缺血后的神经发生和功能恢复。米诺环素治疗可以通过改善局部脑缺血后血脑屏障(blood brain barrier, BBB)通透性,以及促进小胶质细胞向M2型极化,发挥长期保护作用。研究还表明,米诺环素可以通过调节小胶质细胞的极化^[33]。他汀类药物是一类降胆固醇药物,已被发现在缺血性脑卒中中具有抗炎和保护作用。用辛伐他汀治疗可以胆固醇依赖性方式,改变小胶质细胞分泌细胞因子(IL-1和TNF- α)和脑源性神经营养因子。普罗布考是另一种降脂药,通过下调LPS刺激的原代小鼠和BV2小胶质细胞中的NF- κ B、MAPK和AP-1信号通路,抑制小胶质细胞释放IL-1 β 和IL-6^[34]。普罗布考的体内预先给药,减少了促炎介质(iNOS、IL-6)的产生,并改善脑缺血后造成的损伤^[35]。

5 展望

脑缺血时小胶质细胞可通过调节受体、蛋白或细胞因子的表达发挥脑保护作用,也可以通过释放或分泌一系列炎症细胞因子、蛋白及其他生物活性物质介导神经毒性作用,引起继发性脑损伤,在脑缺血后炎症反应中具有重要的作用。因此,抑制小胶质细胞分泌神经毒性因子或拮抗其毒性作用、促进小胶质细胞分泌具有神经保护的物质、调控小胶质细胞表面或细胞内受体或蛋白分子、阻断小胶质细胞介导的炎症反应或氧化应激损伤等将为脑缺血的治疗及改善预后提供新思路。

参考文献:

[1] Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association[J]. Circulation,

2012,125(1):188-197.

[2] Shekhar S, Travis OK, He X, Roman RJ, Fan F. Menopause and Ischemic Stroke: A Brief Review[J]. *MOJ Toxicol*, 2017,3(4).

[3] Shindo A, Maki T, Mandeville ET, et al. Astrocyte-Derived Pentraxin 3 Supports Blood-Brain Barrier Integrity Under Acute Phase of Stroke[J]. *Stroke*, 2016,47(4):1094-1100.

[4] Szalay G, Martinecz B, Lenart N, et al. Microglia protect against brain injury and their selective elimination dysregulates neuronal network activity after stroke[J]. *Nat Commun*, 2016,7:11499.

[5] Papadopoulos V, Baraldi M, Guilarte TR, et al. Translocator protein (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006,27(8):402-409.

[6] Lee EJ, Moon PG, Baek MC, et al. Comparison of the Effects of Matrix Metalloproteinase Inhibitors on TNF- α Release from Activated Microglia and TNF- α Converting Enzyme Activity[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2014,22(5):414-419.

[7] Elkind MS, Cheng J, Rundek T, et al. Leukocyte count predicts outcome after ischemic stroke: the Northern Manhattan Stroke Study[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2004,13(5):220-227.

[8] de Courten-Myers GM, Kleinholz M, Wagner KR, et al. Efficacious experimental stroke treatment with high-dose methylprednisolone[J]. *Stroke*, 1994,25(2):487-492; discussion 493.

[9] Norris JW, Hachinski VC. High dose steroid treatment in cerebral infarction[J]. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1986,292(6512):21-23.

[10] Sandercock PA, Soane T. Corticosteroids for acute ischaemic stroke[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2011(9):CD000064.

[11] Andersohn F, Schade R, Suissa S, Garbe E. Cyclooxygenase-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of ischemic stroke: a nested case-control study[J]. *Stroke*, 2006,37(7):1725-1730.

[12] Bresalier RS, Sandler RS, et al. Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial[J]. *N Engl J Med*, 2005,352(11):1092-1102.

[13] Solomon SD, McMurray JJ, Pfeffer MA, et al. Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal adenoma prevention[J]. *N Engl J Med*, 2005,352(11):1071-1080.

[14] CAST: randomised placebo-controlled trial of early aspirin use in 20,000 patients with acute ischaemic stroke. CAST (Chinese Acute Stroke Trial) Collaborative Group[J]. *Lancet*, 1997,349(9066):1641-1649.

[15] Pierce JW, Read MA, Ding H, Luscinskas FW, Collins T. Salicylates inhibit I kappa B- α phosphorylation, endothelial-leukocyte adhesion molecule expression, and neutrophil transmigration[J]. *J Immunol*, 1996,156(10):3961-3969.

[16] Yamamoto Y, Yin MJ, Lin KM, Gaynor RB. Sulindac inhibits activation of the NF- κ B pathway[J]. *J Biol Chem*, 1999,274(38):27307-27314.

[17] Weinstein JR, Koerner IP, Moller T. Microglia in ischemic brain injury[J]. *Future Neurol*, 2010,5(2):227-246.

[18] Simon-O' Brien E, Gauthier D, Riban V, et al. Etifoxine improves sensorimotor deficits and reduces glial activation, neuronal degeneration, and neuroinflammation in a rat model of

traumatic brain injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2016,13(1):203.

[19] Iadecola C. The Neurovascular Unit Coming of Age: A Journey through Neurovascular Coupling in Health and Disease[J]. *Neuron*, 2017,96(1):17-42.

[20] Jin F, Xing J. Circulating pro-angiogenic and anti-angiogenic microRNA expressions in patients with acute ischemic stroke and their association with disease severity[J]. *Neurol Sci*, 2017,38(11):2015-2023.

[21] Petrovic-Djergovic D, Goonewardena SN, Pinsky DJ. Inflammatory Disequilibrium in Stroke[J]. *Circ Res*, 2016,119(1):142-158.

[22] Rayasam A, Hsu M, Hernandez G, et al. Contrasting roles of immune cells in tissue injury and repair in stroke: The dark and bright side of immunity in the brain[J]. *Neurochem Int*, 2017,107:104-116.

[23] Takata F, Dohgu S, Matsumoto J, et al. Brain pericytes among cells constituting the blood-brain barrier are highly sensitive to tumor necrosis factor- α , releasing matrix metalloproteinase-9 and migrating in vitro[J]. *J Neuroinflammation*, 2011,8:106.

[24] Anrather J, Iadecola C. Inflammation and Stroke: An Overview[J]. *Neurotherapeutics*, 2016,13(4):661-670.

[25] Wattanani S, Tornero D, Graubardt N, et al. Monocyte-Derived Macrophages Contribute to Spontaneous Long-Term Functional Recovery after Stroke in Mice[J]. *J Neurosci*, 2016,36(15):4182-4195.

[26] Botelho FM, Gaschler GJ, Kianpour S, et al. Innate immune processes are sufficient for driving cigarette smoke-induced inflammation in mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010,42(4):394-403.

[27] Prinz M, Priller J. Microglia and brain macrophages in the molecular age: from origin to neuropsychiatric disease[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2014,15(5):300-312.

[28] Taylor RA, Sansing LH. Microglial responses after ischemic stroke and intracerebral hemorrhage[J]. *Clin Dev Immunol*, 2013,2013:746068.

[29] Stefano L, Racchetti G, Bianco F, et al. The surface-exposed chaperone, Hsp60, is an agonist of the microglial TREM2 receptor[J]. *J Neurochem*, 2009,110(1):284-294.

[30] Wang Y, Cella M, Mallinson K, Ulrich JD, et al. TREM2 lipid sensing sustains the microglial response in an Alzheimer's disease model[J]. *Cell*, 2015,160(6):1061-1071.

[31] Denes A, Vidyasagar R, Feng J, et al. Proliferating resident microglia after focal cerebral ischaemia in mice[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007,27(12):1941-1953.

[32] Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2010,87(5):779-789.

[33] Lai AY, Todd KG. Microglia in cerebral ischemia: molecular actions and interactions[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2006,84(1):49-59.

[34] Kettenmann H, Hanisch UK, Noda M, et al. Physiology of microglia[J]. *Physiol Rev*, 2011,91(2):461-553.

[35] Block ML, Zecca L, Hong JS. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2007,8(1):57-69.