

小胶质细胞对脑缺血的影响

邓杜萍¹, 谢晓龙¹, 李凌鑫²

(1. 成都中医药大学养生康复学院, 成都 610000; 2. 四川大学华西医院康复科, 成都 610000)

【摘要】小胶质细胞是中枢神经系统的重要免疫细胞,在脑缺血后的炎症反应过程中发挥炎症损伤和神经保护双重作用。脑缺血发生后,小胶质细胞出现活化和增生,并被激活为 M1 型和 M2 型,不同的小胶质细胞表型对脑缺血的作用不同。M1 型极化的小胶质细胞通过释放促炎性介质抑制中枢神经系统恢复,而 M2 型极化通过释放抗炎细胞因子、转化生长因子、脑源性神经生长因子等促进组织的修复和再生。本文将对脑缺血后小胶质细胞的活化及机制、迁移增生、极化及小胶质细胞对脑缺血的影响作一综述。

【关键词】小胶质细胞;活化机制;迁移增生;极化;脑缺血中的影响

【中图分类号】R743.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2019-05-16

Effect of microglial cells on cerebral ischemia

Deng Duping¹, Xie Xiaolong¹, Li Lingxin²

(1. College of Health Care and Rehabilitation, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine;

2. Department of Rehabilitation, West China Hospital, Sichuan University)

【Abstract】Microglia are important immune cells in the central nervous system. They play a dual role in inflammatory damage and neuroprotection during inflammatory response after cerebral ischemia. After cerebral ischemia, microglia are activated and proliferated, converting into M1 phenotype and M2 phenotype. Different microglia phenotypes have different effects on cerebral ischemia. M1-polarized microglia inhibit the recovery of central nervous system by releasing inflammatory mediators, while M2-polarized microglia promote tissue regeneration and repair by releasing anti-inflammatory cytokines, transforming growth factor, and brain-derived nerve growth factor. This article reviews the activation and mechanism of action, migration and proliferation, polarization, and the effect of microglia on cerebral ischemia.

【Key words】microglia; activation mechanism; migration and proliferation; polarization; cerebral ischemia

小胶质细胞是中枢神经系统的固有免疫细胞^[1],来源于大脑发育过程中的原始巨噬细胞,占中枢神经系统脑细胞总量的 5%~10%。小胶质细胞作为中枢神经系统的第一道防线,起着重要的免疫活性和吞噬细胞的作用,用以清除感染、炎症、创伤、缺血和神经退行性病变中的坏死细胞,监测中枢神经系统脑微环境的变化^[2]。小胶质细胞在健康和病理状态下可影响神经发育和维持神经细胞功能,促进中枢神经系统的修复和再生^[3-4]。相关研究证实,小胶质细胞可通过调控中枢神经系统突触的数量,指导细胞迁移和突触活动,积极调节神经发生,影响脑缺血预后^[5]。

作者介绍:邓杜萍, Email: 1260208349@qq.com,

研究方向:脑梗死的研究与治疗。

通信作者:李凌鑫, Email: lilingxin111@163.com。

基金项目:四川省科技厅重点支撑课题资助项目(编号:2016SZ0039)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20190912.1528.006.html>

(2019-09-16)

脑缺血是以大脑中动脉缺血为主的脑血管疾病,是世界范围内导致残疾和死亡的主要疾病之一。在中国,每年有 150 万~200 万卒中新发病例^[6],给社会和家庭造成严重的经济负担。在脑缺血的病理进展过程中,炎症反应起到了关键性的作用^[7]。小胶质细胞(microglia, MG)作为大脑中的主要免疫细胞,是缺血性损伤的第一反应者,在循环系统巨噬细胞浸润中枢神经系统之前激活,对脑缺血的病理变化产生重要影响。本文将对脑缺血后小胶质细胞的活化与迁移增生情况、活化机制、表型特点及其在脑缺血中的作用作一综述。

1 脑缺血后小胶质细胞的活化及机制

脑缺血后的进展性组织梗死触发炎症介质的释放,这些炎症介质激活大脑中的固有免疫细胞——小胶质细胞,使小胶质细胞由“静息”的分支状态转化为激活后的阿米巴状。激

活后的小胶质细胞胞体变大、突触缩短,出现和循环系统中巨噬细胞相同的形态,这种形态的改变表明小胶质细胞被激活^[9]。诱导小胶质细胞激活的因素较多,目前的研究发现细胞因子(如 IL-4、IL-6、IL-10 等)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)等均可诱导小胶质细胞的活化。在实验研究中,采用脂多糖诱导小胶质细胞炎症反应的应用较多^[9]。

目前关于脑缺血后小胶质细胞活化的具体机制并不完全清楚。但小胶质细胞作为大脑中最重要的先天免疫细胞,其活化与先天免疫系统的激活途径密切相关。因此,研究者将先天免疫系统激活途径中的相关因素和脑缺血后小胶质细胞活化进行相关性研究。Yang 等^[10]在采用 hHMGB1 对 TLR4^{+/+}和 TLR4^{-/-}小鼠的原代小胶质细胞进行研究的过程中,发现小胶质细胞的活化,同时观察到 rhHMGB1 处理的小胶质细胞中的 COX-2、TNF- α 和 IL-1 β 的 mRNA 水平明显增加,结果表明 rhHMGB1 在体外可通过 TLR4(Toll-like receptors 4)激活小胶质细胞。Frank 等^[11]的研究中也发现 ds-HMGB1 诱导了体外培养小胶质细胞的活化,增加了小胶质细胞中 NF- κ B α mRNA 和 NLR P3 mRNA 的表达,导致小胶质细胞对脂多糖的促炎反应,这些结果表明 ds-HMGB1 可能直接诱导小胶质细胞中的一种启动免疫表型。Bohacek 等^[12]则发现脑缺血后小胶质细胞的激活由 TLR2 信号诱导,TLR2 缺陷小鼠与自然大鼠相比,TLR2 缺陷小鼠的小胶质细胞增殖减少。Arjun 等^[13]发现脑缺血后小胶质细胞的活化与核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路相关,使用 Eupatilin 可通过抑制 NF- κ B 信号活性减轻小胶质细胞活化增殖,达到神经保护作用。

关于脑缺血后小胶质细胞激活机制的研究较多,多数学者主要是将先天免疫系统激活途径中的某一因素与小胶质细胞活化进行相关性研究。但由于脑缺血后,小胶质细胞活化过程中涉及的相关分子、受体及信号通路复杂,因此还需要进一步系统的基础研究来明确小胶质细胞活化的具体机制。

2 脑缺血后小胶质细胞的迁移增殖

当大脑局部发生损伤时,小胶质细胞被危险信号激活,并向脑损伤区域迁移,导致损伤周围区域小胶质细胞密度下降,随后出现损伤周围区域小胶质细胞增殖。Arjun 等^[13]在研究中采用双重免疫荧光 Iba1 和 BrdU 测定缺血脑小胶质细胞的增殖过程中发现,Iba1/BrdU 双阳性细胞数量在脑缺血周围和脑缺血核心区之间的半影区明显增加,表明该区域有小胶质细胞增殖。Moraga 等^[14]也通过 PET 成像和流式细胞仪证实,与对照组和对侧半球相比,缺血诱导了同侧皮质的小胶质细胞增殖。在关于脑缺血后小胶质细胞增殖反应的相关机制研究中,Bohacek 等^[12]发现,在脑中动脉缺血(middle cerebral artery occlusion, MCAO)后 3 d,TLR2^{-/-}小鼠的大脑中

小胶质细胞增殖减少。Moraga 等^[14]则发现,TLR4 缺乏可促进 MCAO 后室上下区(subventricular zone, SVZ)的细胞增殖。这些研究表明驻留小胶质细胞的增殖能力与 Toll 样受体相关。

小胶质细胞的增殖被认为可加重损伤脑的促炎反应,对疾病预后造成不利影响。Arjun 等^[13]在 MCAO 小鼠模型中采用 Eupatilin 进行抗炎治疗,发现治疗组小鼠小胶质细胞增殖减少的同时脑缺血体积明显降低。Manso 等^[15]在慢性脑灌注不足小鼠模型中,采用 Iba1 和 Ki67 对增殖小胶质细胞进行双重标记,发现在低灌注小鼠中存在小胶质细胞增殖和脑白质破坏增加,经米诺环素抗炎治疗后小鼠小胶质细胞增殖减少,脑白质功能恶化得到改善。

虽然,目前的大多数观点认为小胶质细胞增殖对脑损伤预后具有不利影响。但 Pepe 等^[16]在实验研究中则发现小胶质细胞对不同极化信号具有选择性增殖反应,因此促进小胶质细胞向有利表型增殖,可以为选择性调节疾病结局提供新的治疗策略。

3 脑缺血后小胶质细胞极化

3.1 小胶质细胞极化表型及标记物

目前的文献中将小胶质细胞分为 2 类:一是经典活化的 M1 型(具有细胞毒性);二是交替活化的 M2 型,包括 M2a(参与修复和再生)、M2b(免疫调节)、M2c(获得性失活)^[17-18]。体内外研究中采用 LPS、LPS+IFN- γ ^[19]诱导小胶质细胞向 M1 型极化,IL-4^[20]诱导小胶质细胞向 M2 型极化。为了研究脑缺血后小胶质细胞的极化情况,采用不同的标记物对小胶质细胞进行标记,其中 CD11b、CD16、CD32、CD68、CD86、iNOS、CD32 等标记 M1 型,Arg-1、CD206、Ym1、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)等标记 M2 型^[21-22]。随着缺血时间的延长,循环系统中的巨噬细胞通过血脑屏障进入大脑,巨噬细胞有着小胶质细胞相同的极化表型,因此研究中可采用双重标记法对脑缺血后活化的小胶质细胞进行标记。

3.2 脑缺血后小胶质细胞表型的时空分布特征

关于脑缺血后活化小胶质细胞时间变化特点及空间分布情况,不同的研究者存在一定的差异性。Hu 等^[22]通过实时 PCR 检测发现 M2 型小胶质细胞在 MCAO 后 1~3 d 开始诱导,并在 3~5 d 时达到峰值,并且大多数 M2 型基因在 MCAO 后 7 d 开始减少,第 14 天恢复到受伤前水平,而 M1 型小胶质细胞则从第 3 天开始逐渐增加,并且在缺血后至少 14 d 仍然维持高水平。Perego 等^[23]从 12 h 时开始检测 M2 型标记物(Ym1),发现其在 24 h 时达到表达高峰,在随后的时间点逐渐下降,并且在 24 h 时完全表达在缺血核心区,与标记物 CD206 的表达相同;而 M1 型标记物(CD68)在缺血后 24 h 观察到,在 7 d 时达高峰,CD68 最初表达在缺血边缘区,而缺血核心区少见,随着时间的推移,其表达量增加,缺血核心区 and 边缘区均有表达。对于脑缺血后小胶质细胞不同表型表

达的时间差异性可能与造模方法、模型梗死程度等相关。为进一步研究脑缺血后小胶质细胞的时空分布特征,需要在实验研究中寻找稳定的脑缺血模型。

3.3 脑缺血后影响小胶质细胞表型转化的相关因素

关于脑缺血后小胶质细胞 M1/M2 表型转化的机制并不完全清楚,但随着研究的深入,发现以下因素与脑缺血后小胶质细胞 M1/M2 表型转化相关。

3.3.1 NF- κ B 信号通路 Gaire 等^[21]发现在脑缺血中,S1P3 通过激活 NF- κ B 信号传导介导活化的小胶质细胞向 M1 型极化。Zhao 等^[24]研究证明 CD4⁺ T 细胞可以通过 NF- κ B 信号通路诱导 M1 小胶质细胞极化,而 FasL 突变体 CD4⁺ T 细胞则能明显逆转这种作用,重塑小胶质细胞极化减轻 CD4⁺ T 细胞诱导的炎症反应。

3.3.2 STAT 家族成员 Qin 等^[25]发现 FTY720 明显增加 STAT3 的表达和磷酸化水平,介导小胶质细胞向 M2 表型极化,同时 STAT3 抑制剂消除了 FTY720 诱导的抗炎作用和对 M2 型小胶质细胞的极化。Yang 等^[26]在脂多糖诱导的神经炎症中,发现 PGC-1 α 不仅通过抑制 NF- κ B 活性抑制 LPS 诱发 M1 标记的表达,而且通过共同激活 STAT6 和 STAT3 途径增加 M2 标记的表达。

3.3.3 Notch 信号 Wu 等^[27]发现 LXA4 在蛋白表达和转录水平上抑制 M1 标志物 iNOS 和 CD32 的表达,并上调 M2 标志物 Arg1 和 CD206 的表达,而 Notch 信号阻滞剂 DAPT 可消除 LXA4 的作用,证实 LXA4 通过 Notch 信号途径介导小胶质细胞表型转化。

由于小胶质细胞不同极化表型在脑缺血中的作用不同,因此加强对脑缺血后小胶质细胞 M1/M2 表型转化的机制研究可以为治疗介入时间、发现新的治疗靶点提供依据。

4 小胶质细胞对脑缺血的影响

4.1 小胶质细胞在脑缺血中的保护作用

小胶质细胞是促进大脑发育的主要神经细胞之一,在支持神经发生和突触修剪中发挥作用,通过释放神经营养和抗炎分子来支持神经元存活。脑缺血早期,小胶质细胞通过对大脑中受损碎片的吞噬作用或改善神经炎症环境中有毒物质释放来感知神经元危险,从而挽救神经元^[28]。在脑卒中的恢复中,活化小胶质细胞产生营养因子,使梗死周围的发芽纤维沿着增加的营养梯度向伤口边缘生长^[29]。此外,Paolicelli 等^[30]发现小胶质细胞功能的缺失可能导致突触异常,这表明小胶质细胞对突触成熟具有调控作用。小胶质细胞通过调控中枢神经系统功能突触的数量,通过指导细胞迁移和影响突触活动,积极调节神经发生。

4.2 小胶质细胞在脑缺血中的损害作用

脑组织对缺血/缺氧非常敏感,脑缺血发生后,随着脑血流量的减少,出现细胞坏死并产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),神经炎症因子也随之出现,这些引发因子导致

小胶质细胞活化,产生更多的细胞因子,同时活化的小胶质细胞导致血脑屏障的破坏^[31],使脑血管系统黏附分子上调,黏附分子介导循环白细胞与血管内皮细胞的黏附并渗入脑实质。一旦进入大脑,激活的白细胞和小胶质细胞就会产生多种炎症介质,如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)、诱导型一氧化氮合酶,它们会产生一氧化氮、细胞因子和更多的活性氧,导致脑水肿、出血,最终导致细胞死亡。

综上所述,活化小胶质细胞对脑缺血的病理进程是一把双刃剑,具有保护与损害的双重作用,小胶质细胞对脑缺血的双重作用取决于小胶质细胞的表型,M1 型具有损害作用,M2 型则对大脑恢复具有保护作用。M1 极化的小胶质细胞通过释放促炎性介质扩大炎症反应,抑制中枢神经系统的恢复^[32];而 M2 极化促进抗炎细胞因子、TGF- β 、脑源性神经生长因子等的释放促进组织的再生和修复^[33-34]。因此,减少脑缺血后 M1 型小胶质细胞极化,促进 M2 型数量增加将有助于脑缺血后神经功能恢复。Gaire 等^[21]发现 S1P3 通过引发缺血脑中 M1 极化细胞的促炎反应促进短暂局灶性脑缺血后的脑损伤。而 Mei 等^[35]研究表明,通过抑制自噬和促进 M2 小胶质细胞极化明显降低缺血脑损伤面积。Darsalia 等^[36]则发现 Exendin-4 在不影响 M1 表达的情况下,通过增加 M2 表达减少了正常和老年 2 型糖尿病小鼠的缺血性脑损伤。

5 结论与展望

综上所述,小胶质细胞作为中枢神经系统的第一道防线,参与脑缺血后的炎症反应,对脑缺血的病理进程起着关键性作用。脑缺血发生后,小胶质细胞的活化、迁移增殖及极化表型均影响脑缺血预后。介于不同小胶质细胞表型对卒中预后的影响截然不同,因此明确脑缺血后活化小胶质细胞迁移增殖情况及相关机制,M1、M2 表型极化机制及时空分布特点可以为脑缺血治疗介入时间提供依据,同时使寻找新的治疗靶点成为可能。

参 考 文 献

- [1] Salter M, Beggs S. Sublime microglia: expanding roles for the guardians of the CNS[J]. Cell, 2014, 158(1): 15-24.
- [2] Nayak D, Roth TL, McGavern DB. Microglia development and function[J]. Ann Rev of Immunol, 2014, 32: 367-402.
- [3] Jolivel V, Bicker F, Ploen R, et al. Perivascular microglia promote blood vessel disintegration in the ischemic penumbra[J]. Acta Neuropathol, 2015, 129(2): 279-295.
- [4] Michell-Robinson MA, Touil H, Healy LM, et al. Roles of microglia in brain development, tissue maintenance and repair[J]. Brain, 2015, 138(Pt5): 1138-1159.
- [5] Ji K, Akgul G, Wollmuth LP, et al. Microglia actively regulate the number of functional synapses[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56293.

- [6] Gu L, Huang J, Liang B, et al. TLR4 polymorphisms affect stroke risk and inflammatory response in Chinese ischemic stroke patients[J]. *Neurol Sci*, 2018, 39(1): 127–133.
- [7] Simone V, Arturo C, Marco A, et al. Postischemic inflammation in acute stroke[J]. *J Clin Neurol*, 2017, 13(1): 1–9.
- [8] Xiong XY, Liu L, Yang QW. Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis during stroke[J]. *Prog Neurobiol*, 2016, 142: 23–44.
- [9] Furube E, Kawai S, Inagaki H, et al. Brain region-dependent heterogeneity and dose-dependent difference in transient microglia population increase during lipopolysaccharide-induced inflammation[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2203.
- [10] Yang QW, Lu FL, Zhou Y, et al. HMBG1 mediates ischemia-reperfusion injury by TRIF-adaptor independent Toll-like receptor 4 signaling[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2010, 31(2): 593–605.
- [11] Frank MG, Weber MD, Fonken LK, et al. The redox state of the alarmin HMBG1 is a pivotal factor in neuroinflammatory and microglial priming: a role for the NLRP3 inflammasome[J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 55: 215–224.
- [12] Bohacek I, Cordeau P, Mélanie Lalancette-Hébert, et al. Toll-like receptor 2 deficiency leads to delayed exacerbation of ischemic injury[J]. *J Neuroinflamm*, 2012, 9(1): 191.
- [13] Arjun S, Prasad GB, Suk CK, et al. Eupatilin exerts neuroprotective effects in mice with transient focal cerebral ischemia by reducing microglial activation[J]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0171479.
- [14] Moraga A, Gomez-Vallejo V, Cuartero MI, et al. Imaging the role of toll-like receptor 4 on cell proliferation and inflammation after cerebral ischemia by positron emission tomography[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36(4): 702–708.
- [15] Manso Y, Holland PR, Kitamura A, et al. Minocycline reduces microgliosis and improves subcortical white matter function in a model of cerebral vascular disease[J]. *Glia*, 2017, 66(1): 34–46.
- [16] Pepe G, De Maglie M, Minoli L, et al. Selective proliferative response of microglia to alternative polarization signals[J]. *J Neuroinflamm*, 2017, 14(1): 236.
- [17] Franco R, Fernández-Suárez D. Alternatively activated microglia and macrophages in the central nervous system[J]. *Prog Neurobiol*, 2015, 131: 65–86.
- [18] Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(12): 958–969.
- [19] Collmann FM, Pijnenburg R, Schneider G, et al. Imaging reporter strategy to monitor gene activation of microglia polarisation states under stimulation[J]. *J Neuroimm Pharmacol*, 2018, 13(3): 371–382.
- [20] Liu X, Liu J, Zhao S, et al. Interleukin-4 is essential for microglia/macrophage M2 polarization and long-term recovery after cerebral ischemia[J]. *Stroke*, 2016, 47(2): 498–504.
- [21] Gaire BP, Song MR, Choi JW. Sphingosine 1-phosphate receptor subtype 3(S1P3) contributes to brain injury after transient focal cerebral ischemia via modulating microglial activation and their M1 polarization[J]. *J Neuroinflamm*, 2018, 15(1): 284.
- [22] Hu X, Li P, Guo Y, et al. Microglia/macrophage polarization dynamics reveal novel mechanism of injury expansion after focal cerebral ischemia[J]. *Stroke*, 2012, 43(11): 3063–3070.
- [23] Perego C, Fumagalli S, De Simoni MG. Temporal pattern of expression and colocalization of microglia/macrophage phenotype markers following brain ischemic injury in mice[J]. *J Neuroinflamm*, 2011, 8: 174.
- [24] Zhao H, Wan L, Chen Y, et al. FasL incapacitation alleviates CD4⁺ T cells-induced brain injury through remodeling of microglia polarization in mouse ischemic stroke[J]. *J Neuroimm*, 2018, 318: 36–44.
- [25] Qin C, Fan WH, Liu Q, et al. Fingolimod protects against ischemic white matter damage by modulating microglia toward M2 polarization via STAT3 pathway[J]. *Stroke*, 2017, 48(12): 3336–3346.
- [26] Yang X, Xu S, Qian Y, et al. Resveratrol regulates microglia M1/M2 polarization via PGC-1 α in conditions of neuroinflammatory injury[J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 64: 162–172.
- [27] Wu J, Ding DH, Wang XY, et al. Lipoxin A4 regulates lipopolysaccharide-induced BV2 microglial activation and differentiation via the Notch signaling pathway[J]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13: 19.
- [28] Suzumura A. Neuron-microglia interaction in neuroinflammation[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2013, 14(1): 16–20.
- [29] Batchelor PE, Porritt MJ, Martinello P, et al. Macrophages and microglia produce local trophic gradients that stimulate axonal sprouting toward but not beyond the wound edge[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2002, 21(3): 436–453.
- [30] Paolicelli RC, Bolasco G, Pagani F, et al. Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development[J]. *Science*, 2011, 333(6048): 1456–1458.
- [31] Yang F, Wang Z, Wei X, et al. NLRP3 deficiency ameliorates neurovascular damage in experimental ischemic stroke[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34(4): 660–667.
- [32] Tang Y, Le W. Differential roles of M1 and M2 microglia in neurodegenerative diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(2): 1181–1194.
- [33] Kanazawa M, Miura M, Toriyabe M, et al. Microglia preconditioned by oxygen-glucose deprivation promote functional recovery in ischemic rats[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42582.
- [34] Jin Q, Cheng J, Liu Y, et al. Improvement of functional recovery by chronic metformin treatment is associated with enhanced alternative activation of microglia/macrophages and increased angiogenesis and neurogenesis following experimental stroke[J]. *Brain Behav Immun*, 2014, 40: 131–142.
- [35] Mei J, Hairong W, Mingming J, et al. Exosomes from MiR-30d-5p-ADSCs reverse acute ischemic stroke-induced, autophagy-mediated brain injury by promoting M2 microglial/macrophage polarization[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(2): 864–878.
- [36] Darsalia V, Hua S, Larsson M, et al. Exendin-4 reduces ischemic brain injury in normal and aged type 2 diabetic mice and promotes microglial M2 polarization[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e103114.

(责任编辑:唐秋姗)