



小胶质细胞极化在多发性硬化发病中的作用机制研究进展

张明^{1,2}, 刘江红², 洪浩¹, 尹琳琳²

(1. 中国药科大学药理学教研室, 南京 210009; 2. 首都医科大学宣武医院, 北京 100053)

【摘要】 多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种以中枢神经系统(central nervous system, CNS)炎症反应和髓鞘脱失为主要病理特征的自身免疫性疾病,具有青壮年高发、致残率高等特点,具体发病机制尚不明确。研究发现,MS发病时CNS固有的免疫细胞—小胶质细胞向促炎态M1型极化,导致体内小胶质细胞M1/M2比率失衡,形成CNS促炎态的微环境,损害神经组织。受损神经组织进一步促进小胶质细胞极化,构成恶性循环,最终加重病情。小胶质细胞极化状态失衡是启动MS的关键病因,为此,本文将综述近年来国内外小胶质细胞在MS发病中作用机制的研究进展,旨在为进一步阐明MS发病机制及寻找潜在的治疗靶点提供借鉴。

【关键词】 小胶质细胞极化;多发性硬化;中枢炎症反应

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 04-0079-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.04.015

Advances in research of the role of microglia polarization in the mechanisms of pathogenesis of multiple sclerosis

ZHANG Ming^{1,2}, LIU Jiang-hong², HONG Hao¹, YIN Lin-lin²

(1. Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;

2. Department of Pharmacology, Xuan Wu Hospital of Capital Medical University, Beijing, 100053)

【Abstract】 Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune disease of the central nervous system (CNS) characterized by demyelination and inflammation lesions. MS predominantly affects young adults with a high incidence of disability. However, the exact pathogenesis of MS is still not clear. Studies found that microglia polarization tending to pro-inflammatory M1-like state during the onset of MS, causing the M1/M2 ratio imbalance, forming pro-inflammatory microenvironment state, and which further leading to nervous tissue damage ultimately. Microglia polarization may be considered as the initiator of pathologic alterations by releasing pro-inflammatory cytokines and secondarily trigger the initial microglia response. Given the pivotal role of imbalanced microglia polarization in MS initiation, a critical review of microglia polarization is presented here, in order to elucidate the pathogenesis of MS and highlight the noteworthy candidate therapeutic targets for clinic treatment.

【Key words】 Microglia polarization; Multiple sclerosis; Central inflammatory reaction; Pathogenesis; Treatment

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81273497, 81301208), 北京市卫生系统高层次卫生技术人才—学科骨干(2014-3-052)。

【作者简介】 张明(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 神经药理学研究。电话: (010) 83198881, E-mail: mingzhangmingzhang@126.com。

【通讯作者】 尹琳琳(1977-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 中枢神经炎症的药物干预策略。电话: (010) 83198881, E-mail: yinll913@126.com; 洪浩(1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 神经与内分泌药理学。电话: (025) 86185227, E-mail: haohongchina@hotmail.com。

近年研究发现,小胶质细胞几乎参与所有神经退行性疾病的病理过程,如多发性硬化(multiple sclerosis, MS)、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、脑缺血等^[1,2],并已成为新的研究热点和药物作用靶标。小胶质细胞是中枢神经系统中主要的免疫监视细胞,疾病发生时活化的小胶质细胞显著增多,且活化态的小胶质细胞可分泌大量促炎因子及神经毒物,如 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、ROS、NO 等^[3]。多发性硬化(MS)是一种主要累及中枢白质的慢性自身免疫性疾病,炎性浸润和髓鞘脱失是其主要病理特征,具体发病机制尚不明确,是目前导致青壮年肢体残疾的第二大诱因(仅次于脑外伤)。该病所致的认知、运动、感觉等功能障碍,给病人身体、心理造成极大的伤害,同时也给家庭、社会带来沉重的经济压力和心理负担。因此,深入探索 MS 的发病机制,发掘有效的药物作用靶点,缓解 MS 患者病情,减轻患者家庭和社会负担,具有广阔的应用前景。本文通过分析、归纳近年来国内外小胶质细胞在 MS 或者拟 MS 的实验动物模型—实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)中作用机制的报道,旨在为进一步阐明 MS 的发病机制及寻找潜在治疗靶点提供借鉴。

1 小胶质细胞的特征及其极化

Del Rio Hortega 在 1932 年首次报道 CNS 中小胶质细胞的存在,进一步研究发现,小胶质细胞相当于哺乳动物 CNS 中的巨噬细胞,约占 CNS 细胞总数的 12%,与外周巨噬细胞极其相似,但由于 CNS 独特的生理环境,使得小胶质细胞在形态和某些功能上与外周巨噬细胞之间存在明显差异^[4]。

1.1 小胶质细胞的特征

小胶质细胞属 CNS 中固有的免疫细胞,也是中枢神经炎症反应的主要参与细胞,能够维持 CNS 内环境稳态,包括免疫调节、碎屑清除、损伤修复等过程,其在 MS 的发生、发展中扮演重要角色^[5]。最新研究发现,CNS 的硬脑膜窦存在与外周淋巴管相通的运输淋巴细胞和脑脊液的淋巴管^[6],否定了国际上一直公认 CNS 独立于外周免疫系统而具有免疫豁免权的认识,这一发现提示外周淋巴细胞参与 CNS 的免疫反应。但在维持 CNS 免疫平衡的过程中,特别是在炎症反应早期,小胶质细胞仍占主导作用。

在生理状态下,小胶质细胞是 CNS 的“巡查员”,时刻监测 CNS 环境变化,以应对体内外各种应激刺激^[1]。一旦识别异物或有害刺激(如感染、创伤、毒性刺激等),小胶质细胞迅速活化。一方面,活化的小胶质细胞通过增殖、抗原呈递、分泌促炎因子等募集更多小胶质细胞或者外周巨噬细胞“抵达”病灶,引发炎症反应,并释放大量的炎症因子如 IL-1 β 、IL-6、IL-12、TNF- α 以及 ROS、NO、超氧化物、谷氨酸盐等神经物质,杀死病原微生物等异物^[7]。此外,活化态的小胶质细胞吞噬能力大大增强,能够及时吞噬并清除体内外异物、碎屑等。另一方面,小胶质细胞还可通过自分泌或旁分泌途径^[8],分泌抗炎产物 IL-4、IL-10 等,抑制促炎因子和神经物质的过度生成,分泌营养因子促进机体的自我修复,维持 CNS 正常的微环境^[9]。随着研究的深入,人类对小胶质细胞的形态结构与相应功能的研究取得了实质性进展,将活化态的小胶质细胞主要分为两大亚型。

1.2 小胶质细胞的极化

1.2.1 经典活化态(classical activation, M1 型):诱导小胶质细胞呈 M1 型的信号分子很多^[5],最经典的诱导剂是脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)^[10],其次,外周血液中的活性成分如免疫球蛋白、补体等也可透过血脑屏障,刺激小胶质细胞向 M1 型极化。该极化过程主要通过 TLR 家族的 TLR4 受体介导^[11,12],且小胶质细胞表达 TLR1 - TLR9,这些受体几乎能够识别所有的细胞和病毒刺激。活化后的小胶质细胞由静息态的分枝状转变为胞体变大、突起变少的阿米巴状活化态,且细胞表面的 MHC-II、清道夫受体、辅助刺激蛋白(CD40)的表达上调,增强其抗原呈递能力,激活辅助 Th1 细胞介导的免疫反应;其特异性的分子标志物 CD86、CD16/32、iNOS 等表达上调^[5,16]。此外, M1 型小胶质细胞还释放一系列的促炎因子(IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-23, TNF- α)、趋化因子、氧化还原分子(NADPH 氧化酶,吞噬作用氧化酶,诱导型一氧化氮合酶)、NO 等参与机体的炎症反应^[13-14],对神经系统造成一定程度损害的同时,还能及时杀死外周入侵的异物,或者清理机体自身的异常蛋白、碎屑,维持 CNS 相对稳定^[5]。

1.2.2 可替代活化态(alternative activation, M2 型):Arg1、CD206、FIZZ-1、YM-1 是 M2 型小胶质细胞的标志物^[15,16]。M2 型小胶质细胞在免疫调节、

炎症抑制、组织重构、血管再生中发挥重要作用。M2 型可分为若干亚型,当 IL-4、IL-13 联合使用,可以诱导具有长时程修复功能的 M2a 亚型,该亚型通过 IL-4 受体抑制 M1 型活化后的 NF- κ B 信号通路。Fc γ 受体、TLRs 和免疫复合物诱导的 M2b 亚型高表达 IL-10,低表达 IL-12,同时, MHC-II、CD86 表达也会上调,说明 M2b 保留了刺激 T 细胞活化的能力,可能是小胶质细胞活化的中间态。糖皮质激素以及特定的抗炎因子 IL-10、TGF- β 诱导 M2c 亚型主要参与炎症反应下调后组织的修复与重构。其他细胞因子 IL-3、IL-21、IL-33,趋化因子 CCL2、CXCL4 等也能诱导小胶质细胞向 M2 型极化。M2 型小胶质细胞分泌抗炎因子 (IL-10、IL-13、TGF- β)、神经营养因子 (IGF-1、BDNF、VEGF、EGF) 等减轻炎症反应,钝化促炎态细胞,促进损伤修复,保护神经元,从而维持中枢内环境的稳定^[17]。M1、M2 是小胶质细胞活化的两个极端,在复杂的体内环境中,不排除活化中间态小胶质细胞的存在。值得一提的是,小胶质细胞是可塑性极强的多功能细胞,其活化态并不是始终固定在某一种极化态,而是处于不断的动态变化中。研究显示,在一些静息态或者分支杆菌感染的巨噬细胞中可以检测到 M2 型的主要标志物之一 -Arg1 的表达^[18]。也有研究发现, M2b 亚型可以转化为 M1 和 M2a/b 的过渡态^[19]。这些研究提示,小胶质细胞 M1 和 M2 型之间存在相互转化的可能性,在 M1 型小胶质细胞过度活化的 CNS 退行性疾病中,促进 M1 型小胶质细胞向 M2 型的转化,或者促进小胶质细胞向抗炎态 M2 型的极化,维持 M1/M2 相对平衡,是一个潜在的药物作用靶点。

2 小胶质细胞极化与 MS 病变

MS 是一种主要累及中枢白质的自身免疫性疾病^[20]。MS 患者尸检发现:中枢白质病灶周围有大量淋巴细胞和活化的巨噬细胞浸润,提示 MS 病变与中枢炎症反应密切相关。

2.1 MS 病变与中枢炎症反应

生理状态下,炎症是机体及时应对体内外异物的侵袭、维持内环境动态平衡的一种重要自我保护机制。而病理状态下,长期、慢性炎症反应诱导大量小胶质细胞向促炎态 M1 型极化,并抑制小胶质细胞向 M2 型极化,破坏 M1/M2 的相对平衡^[21],生成大量的神经毒物,损伤神经组织,破坏血脑屏障,

使外周的免疫细胞、蛋白、补体等大量涌入中枢,加剧 CNS 炎症反应,使病情恶化,这一现象可能是复发缓解型多发性硬化 (relapsing-remitting multiple sclerosis, RRMS) 患者病情呈缓解-复发且逐渐加重的主要病理机制。M2 型小胶质细胞缺失导致损伤的组织不能及时被修复或者清除,从而诱发更大面积的次发损伤,且不利于神经营养因子 IGF-1、BDNF 等的生成。因此,调节小胶质细胞的极化状态,有助于缓解 MS 患者的病情。

2.2 MS 病变与小胶质细胞极化

MS 患者尸检样本 CNS 病灶可见大量活化的小胶质细胞,细胞内 iNOS、COX2 的表达显著增高,进而释放大量的神经毒物 NO、ROS 等;实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 动物模型研究发现, CNS 病变周围的小胶质细胞增殖及其溶酶体活性均增强^[22]。中枢浸润的活化 Th1 细胞分泌的 IFN- γ 是 M1 型细胞的强效诱导剂,在 MS 炎症反应的初始阶段,小胶质细胞倾向于向 M1 型极化,并抑制其向 M2 型极化。在 MS 病人外周血中,可以检测到相应炎症因子表达的上调。此外, M1 型小胶质细胞分泌的神经毒性因子可抑制少突胶质细胞前体细胞增殖和向成熟少突胶质细胞的分化,引发髓鞘脱落^[23]。在 MS 病人,促进形成 M2 型极化的脑内微环境有助于缓解病情。例如,用于治疗 RRMS 的药物-格拉替雷通过诱导 Th1 向 Th2 转变,促进抗炎相关因子的表达,从而治疗疾病。因此,抑制小胶质细胞向 M1 型极化,促进其向抗炎态 M2 型极化,是干预 MS 病变的一个有效的靶标。

3 小结与展望

MS 是一种极其复杂的神经退行性疾病^[24],现有的研究尚不能确定 MS 病变与炎症反应的因果关系。但能够肯定的是,适度的抑制小胶质细胞向 M1 型极化,并促进其向 M2 型极化,维持脑内 M1/M2 比率的相对平衡,能够减轻 MS 病人的临床症状,延缓病情的发展。其可能的作用机制如下:(1)钝化促炎态 M1 型小胶质细胞,减少 NO、ROS 等神经毒物以及促炎因子生成,减轻神经损伤;(2)促进 M2 型小胶质细胞活化,释放大量的抗炎因子,对抗炎症因子的神经毒性作用,减少 CNS 损伤;再者,增强小胶质细胞/巨噬细胞的吞噬能力,及时清除死亡的细胞或者碎屑^[25];(3) M2 型小胶质细胞释放的

IGF1、PDGF- α 、BDNF 等营养因子以及 TGF- β 、IL10, 能够促进损伤修复、再生, 保持神经细胞功能的完整性^[26]。值得一提的是, M2 型小胶质细胞/巨噬细胞同样也是一把双刃剑, 过度活化将引起组织纤维化、促进瘢痕形成^[11]; Arg1 催化的代谢产物—聚胺生成过多时, 将募集大量巨噬细胞、诱发炎症反应。因此, 小胶质细胞向 M2 型极化并不是在任何环境下都是有益的, 如何适度调节其极化程度, 尚需对活化态小胶质细胞的功能特征进行更深入的研究。

参考文献:

- [1] Wyss-Coray T, Mucke L. Inflammation in neurodegenerative disease—a double-edged sword [J]. *Neuron*, 2002, 35 (3): 419–432.
- [2] Centonze D, Muzio L, Rossi S, et al. The link between inflammation and neurodegeneration in MS [J]. *Cell Death Differenti*, 2010, 17(7): 1083–1089.
- [3] Chhor V, Le Charpentier T, Lebon S, et al. Characterization of phenotype markers and neuronotoxic potential of polarised primary microglia *in vitro* [J]. *Brain Behav Immun*, 2013, 32: 73–81.
- [4] Michael W. Salter, Beggs S. Sublime microglia; expanding roles for the guardians of the CNS [J]. *Cell*, 2014, 158 (1): 15–17.
- [5] Garden GA, Möller T. Microglia biology in health and disease [J]. *Neuroimmune Pharmacol*, 2006, 1(2): 127–137.
- [6] Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels [J]. *Nature*, 2015, 523(7560): 337–341.
- [7] Block ML, Zecca L, Hong JS. Microglia-mediated neurotoxicity; uncovering the molecular mechanisms [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8(1): 57–69.
- [8] Shin WH, Lee DY, Park KW, et al. Microglia expressing interleukin-13 undergo cell death and contribute to neuronal survival *in vivo* [J]. *Glia*, 2004, 46(2): 142–152.
- [9] Xin J, Wainwright DA, Mesnard NA, et al. IL-10 within the CNS is necessary for CD4+ T cells to mediate neuroprotection [J]. *Brain Behav Immun*, 2011, 25(5): 820–829.
- [10] Rivest S. Molecular insights on the cerebral innate immune system [J]. *Brain Behav Immun*, 2003, 17(1): 13–19.
- [11] Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states [J]. *Br J Pharmacol*, 2015; 2–16.
- [12] Burguillos MA, Svensson M, Schulte T, et al. Microglia-secreted galectin-3 acts as a Toll-like receptor 4 ligand and contributes to microglial activation [J]. *Cell Rep*, 2015, 2 (12): 1626–1638.
- [13] von Bernhardi R, Eugenin-von Bernhardi L, Eugenin J. Microglial cell dysregulation in brain aging and neurodegeneration [J]. *Front Aging Neurosci*, 2015, 7: 124.
- [14] Li Cao, Cheng He. Polarization of macrophages and microglia in inflammatory demyelination [J]. *Neurosci Bull*, 2013, 29(2): 192–194.
- [15] David S, Kroner A. Repertoire of microglial and macrophage responses after spinal cord injury [J]. *Nature Rev Neurosci*, 2011, 12(7): 391–395.
- [16] 方雪, 谭卫星, 何成, 等. MicroRNA 调控小胶质细胞极化在神经系统疾病中的作用和机制研究进展 [J]. *生理学报*, 2015, 67(1): 33–37.
- [17] Ajami B, Bennett JL, Krieger C, et al. Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life [J]. *Nat Neurosci*, 2007, 10(12): 538–1543.
- [18] 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.
- [19] Lisi L, Stigliano E, Lauriola L, et al. Proinflammatory-activated glioma cells induce a switch in microglial polarization and activation status, from a predominant M2b phenotype to a mixture of M1 and M2a/B polarized cells [J]. *ASN Neuro*, 2014, 6 (3): 171–183.
- [20] Breij EC, Brink BP, Veerhuis R, et al. Homogeneity of active demyelinating lesions in established multiple sclerosis [J]. *Ann Neurol*, 2008, 63(1): 421–427.
- [21] Mills CD. M1 and M2 Macrophages; oracles of health and disease [J]. *Crit Rev Immunol*, 2012, 32(6): 476–477.
- [22] Block ML, Hong JS. Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration; multiple triggers with a common mechanism [J]. *Progress Neurobiol*, 2005, 76 (2): 79–81.
- [23] Rawji KS, Yong VW. The benefits and detriments of macrophages/microglia in models of multiple sclerosis [J]. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013: 948976.
- [24] Compston A, Coles A. Multiple sclerosis [J]. *Lancet*, 2008, 372: 1502–1517.
- [25] Neumann H, Kotter MR, Franklin RJM. Debris clearance by microglia; an essential link between degeneration and regeneration [J]. *Brain*, 2009, 132(Pt 2): 288–295.
- [26] Miron VE, Boyd A, Zhao JW, et al. M2 microglia and macrophages drive oligodendrocyte differentiation during CNS remyelination [J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16(9): 1211–1218.

[修回日期] 2015-12-29