

# 异常活化的小胶质细胞的特征与功能\*

王均辉 孙峰波 秦绿叶 岳 鑫 于常海

(北京大学神经科学研究所,教育部神经科学重点实验室,北京大学医学部神经生物学系,北京 100083)

**摘要** 神经系统的各种损伤均可以引起小胶质细胞的激活。小胶质细胞是神经系统中发挥免疫功能的细胞,与 T淋巴细胞、B淋巴细胞、自然杀伤细胞,以及其他的循环系统来源的白细胞共同参与神经损伤后的免疫反应。一般情况下,激活的小胶质细胞可以中止或者降低受累组织或细胞的生化代谢紊乱。但是持续激活的小胶质细胞释放的大量炎性因子能够对正常组织造成损害,加重神经损伤。关于小胶质细胞激活的病理生理学研究在最近几年取得较大进展,本文将主要介绍小胶质细胞在病理情况下激活的过程、特征,以及激活后发挥的功能及其调节机制。

**关键词** 中枢神经系统;损伤;小胶质细胞;激活

**中图分类号** Q25

中枢神经系统 (central nerve system, CNS)中胶质细胞包括大胶质细胞 (macroglia)和小胶质细胞 (microglia),大胶质细胞又分为星形胶质细胞 (astrocyte)和少突胶质细胞 (oligodendrocyte)。CNS损伤后激活的胶质细胞主要是星形胶质细胞和小胶质细胞 (Tzeng等, 2005)。小胶质细胞广泛分布在大脑和脊髓中,从数量上小胶质细胞占 CNS中整个胶质细胞数目的 5% ~ 20% (Lawson等, 1990)。形态学上,小胶质细胞主要有分枝状和阿米巴状,前者为静息状态的小胶质细胞,缺乏吞噬功能,但具有吞饮功能和一定的迁移能力,可分泌和释放生长因子以维持神经元的存活,促进其生长分化;后者为激活的小胶质细胞,具有吞噬作用,可释放大量的细胞因子,以自分泌或旁分泌的方式发挥免疫调节作用 (王健伟等, 2007)。关于小胶质细胞的起源目前还存在较大争议,主要有两种观点:一种观点认为小胶质细胞和其它胶质细胞一样共同起源于成胶质细胞谱系,即小胶质细胞起源于神经外胚层的神经干细胞 (Ashwell等, 1990);另一种观点认为小胶质细胞起源于骨髓造血干细胞,在胚胎发育早期骨髓造血干细胞进入中枢神经系统,经单核细胞谱系发育成为小胶质细胞 (Hickey等, 1990)。目前后一种观点受到更多的支持。无论从形态、免疫表型还是功能上,小胶质细胞都与单核细胞或巨噬细胞有着密切的联系。小胶质细胞就像大脑中的卫士,密切监控着大脑中微环境的变化<sup>[1,2]</sup>。

## 一、病理情况下小胶质细胞激活的过程与特征

小胶质细胞是 CNS受损伤后最早发生反应的细胞类型 (Gehmann等, 1996)。中枢神经系统的多种病理状态均可激活小胶质细胞,例如创伤和中风 (Yrjanheikki等, 1998),炎症反应<sup>[3]</sup>和神经退行性疾病<sup>[4]</sup>等。

小胶质细胞的激活是一个逐级进展的过程,激活的第一步小胶质细胞出现一些特征性的细胞学反应,但不会转变为具有吞噬能力的吞噬细胞,比如细胞增生,细胞形态改变,一系列髓样标志物 (myeloid markers)的诱导以及细胞因子、趋化因子、氧自由基和一氧化氮的诱导表达 (Raivich等, 1999)。激活状态下的小胶质细胞还可以表达免疫反应相关因子,如 MHC类抗原、CD4抗原、粘附分子等。

动物试验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)模型可以诱发大脑中小胶质细胞的剧烈增生。增生小胶质细胞可以强烈上调 MHC-I类和 MHC-II类抗原分子以及细胞粘附分子的表达;并且大量释放超氧化物中间产物和炎性细胞因子,转化成职能吞噬细胞,发挥吞噬功能。

在体情况下,动物面神经切割术 (facial-nerve

\* 国家自然科学基金 (30270426, 30470543, 30670644)和北京市自然科学基金 (7032026, 7051004)资助课题  
通讯作者

axotomy)可以在不破坏动物血脑屏障的情况下诱导 CNS内部胶质细胞的激活,因此可以在没有血源性细胞参与的情况下研究小胶质细胞的激活。在割断面神经后,小胶质细胞而不是星形胶质细胞迅速肥大并同时表达数种标志分子。这些分子不仅包括巨噬细胞相关抗原,如补体受体 3 (CR3, 在大鼠是 CR3bi,在小鼠是 M 2),还包括 MHC-I和 MHC-II 类抗原,共刺激分子 B7-1、TNF- 和一些细胞粘附分子,包括血栓粘素 (thrombospondin)。而且激活的小胶质细胞还能表达淀粉样蛋白前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP),以及 APP特异的剪切形式 (L-APP)。显示了小胶质细胞激活在神经退行性疾病发生中可能发挥作用。原位杂交显示围绕在神经元周围的激活的小胶质细胞产生大量 TGF- 1 mRNA,而 TGF- 1 在组织修复中发挥积极作用 (Kiefer等, 1993)。

在激活的第二步,特别是在慢性神经退行性疾病 (chronic neurodegenerative disease)发生时,激活状态的小胶质细胞在趋化因子作用下可以迅速向受损区聚集,最终获得吞噬能力,转化为吞噬细胞,被称为小胶质细胞源性脑吞噬细胞 (microglia-derived brain macrophage)。除了释放炎症介质和发挥吞噬功能以外,抗原递呈作用也是激活后的小胶质细胞的重要功能。在 T细胞介导的神经系统自身免疫性损伤发生时,小胶质细胞的激活往往发生在此类疾病的早期。小胶质细胞可以通过与 T细胞等的相互作用,在损伤后的 CNS中发挥抗原识别和呈递作用 (Jochen等, 1995)。在体情况下的研究表明相对于星形胶质细胞在大脑受损伤后发生相对迟缓的反应,小胶质细胞的激活发生较早而且持续时间较长,暗示在小胶质细胞的激活过程中涉及一个较迅速而且作用较远的信号机制。

在中枢神经系统发生自身免疫性疾病时,小胶质细胞可以增加释放多种细胞因子,包括 L-1、L-6、TNF- 、IFN- 、TGF- 等,而这些细胞因子本身又有激活小胶质细胞和星形胶质细胞的作用 (表 1)。

表 1 小胶质细胞分泌的细胞因子

细胞因子	作用细胞	功能
L-1	星形胶质细胞	星形胶质细胞增生
L-6	星形胶质细胞	星形胶质细胞增生
TNF-	少突胶质细胞	神经轴突脱去髓鞘
TGF-	T细胞	缓解炎症反应

此外,激活的小胶质细胞还可以释放一些蛋白酶、超氧化物中间产物、一氧化氮等。除了在某些情况下抵御异源微生物外,这些物质往往也对正常组织造成损害。激活的小胶质细胞还可以释放大量的谷氨酸、天冬氨酸,这些兴奋性氨基酸将直接造成 NMDA 受体介导的神经元损伤 (Jochen等, 1995)。一系列实验证明,在缺氧造成神经元损伤后,通过施加抑制小胶质细胞激活的药物可以恢复一些受损神经元的功能。但是同时也证明已经发生坏死和不可逆损伤神经元的功能是无法恢复的 (Jochen等, 1995)。因此在炎症的早期干扰小胶质细胞的毒性效应可以减少炎症反应时正常组织的损伤。

目前在一些 CNS自身免疫性疾病的治疗中,抑制小胶质细胞激活的药物研究越来越受到重视。深入了解小胶质细胞增生和激活的机制对于进一步发展这方面的治疗措施极为重要。

## 二、活化后的小胶质细胞参与神经系统疾病的发病过程

激活后的小胶质细胞参与多种神经系统疾病的病理过程。激活后的小胶质细胞通过释放自由基可以引起运动神经元的损伤<sup>[5]</sup>,这一过程主要是通过提高运动神经元 AMPA (alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) / 红藻氨酸盐 (kainate)受体对谷氨酸的敏感性来实现的。同时,小胶质细胞激活后还可以抑制星形胶质细胞清除细胞外空间过多谷氨酸的能力,从而进一步促进了这一病理过程。

小胶质细胞能被经典的补体通路所激活,如 C 反应蛋白就可以将其激活。此蛋白在帕金森病 (Parkinson's Disease, PD)患者大脑中表达上调。PD是一种以患者中脑黑质多巴胺能神经元变性坏死为主要特征的神经退行性疾病。在 PD患者脑中除了 C反应蛋白,还有大量的炎症因子表达上调,以及嗜铬球蛋白 A (chromogranin A)的表达,这些都是小胶质细胞激活的促进因素。在 PD患者和 PD动物模型中除了黑质致密部大量多巴胺能神经元坏死外还有大量的小胶质细胞的增殖。这些激活的小胶质细胞可以产生大量的超氧自由基,超氧自由基被认为是造成 PD患者脑中多巴胺能神经元坏死的氧化应激 (oxidative stress)的主要原因。激活的小胶质细胞同样出现在鱼藤酮诱导的 PD动物模型中以及啮齿类动物通过黑质注射脂多糖诱导多巴胺能神经元损失的动物模型中。这些证据都强烈显示小胶质细胞在多巴胺能神经元坏死中的作用,从

而进一步证实了小胶质细胞产生的超氧化物在 PD 发生过程中的作用。因此在 PD 时小胶质细胞的激活可能主动参与了多巴胺神经元变性过程<sup>[6]</sup>。

在阿尔采末病 (Alzheimer's disease, AD) 患者大脑的老年斑 (senile plaques) 周围有大量激活的小胶质细胞, 这些小胶质细胞通过释放细胞因子可以诱导神经元和星形胶质细胞表达淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP), APP 的大量沉积是造成 AD 重要原因。激活的小胶质细胞释放的 TNF- 等炎性因子可以损伤少突胶质细胞和髓鞘, 引起多发性硬化 (multiple sclerosis, MS)<sup>[7]</sup>。

### 三、激活的小胶质细胞在 CNS 中的双重调控作用

激活的小胶质细胞在 CNS 中发挥双重作用, 在发挥神经保护作用的同时, 也可能造成周围正常神经组织的进一步损伤。一些研究显示小胶质细胞激活后在许多情况下发挥着积极的作用。原代培养的小胶质细胞能够抑制, 但并不能有效地降解 AD 纤维状淀粉样蛋白 (A $\beta$ )。A $\beta$  的降解主要是通过溶酶体内的蛋白酶进行的, 通过比较小胶质细胞与 J774 巨噬细胞中这种酶的水平发现实际上前者此酶的水平更高。但是, 小胶质细胞的溶酶体酸化不足, 降低了细胞内溶酶体酶的活性。经巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF) 或白细胞介素-6 (IL-6) 处理后可以酸化小胶质细胞的溶酶体, pH 值接近 J774 巨噬细胞, 使之具备降解 A $\beta$  的功能。而且此 M-CSF 诱导的酸化可以部分地被蛋白激酶 A 抑制剂或阴离子载体抑制剂抑制。同时, 利用其他蛋白激酶 A 的激活剂如 forskolin 也可以酸化溶酶体进而降解 A $\beta$ 。提示激活状态的小胶质细胞具有降解 A $\beta$  的能力<sup>[8]</sup>。动物面神经切割术后被割断的运动神经大部分可以成功再生, 而且这种再生往往发生在强烈的小胶质细胞胶质化 (microgliosis) 之时或者之后, 提示激活的小胶质细胞能够促进神经再生。激活的小胶质细胞形成胞突包绕神经元末端, 造成小胶质细胞与受损神经元的密切接触。这种接触对于小胶质细胞和受损神经元的相互作用是非常有利的, 它非常有利于小胶质细胞源性的营养因子向受损神经元的分配。而切割内在的神经元如红核脊髓神经元, 由于仅仅造成较少的小胶质细胞活化, 小胶质细胞也不能形成大的胞突包绕神经元, 因此被切割的神经元几乎没有再生的潜力。这些在体研究的发现同样在离体实验中得到了证实: 体外培养的小胶质细胞可以产生神经营养因子 (Elkabet 等, 1996)。

另一方面, 一些在体实验证实激活的小胶质细胞可以通过一系列的机制, 如释放一氧化氮、谷氨酸和其它一些未知神经毒性因子引起神经元死亡 (Giulian 等, 1993)。在许多急性 CNS 损伤条件下, 如外科手术、创伤、中风时都有非常明显的炎性变化, 如小胶质细胞胶质化、白细胞侵入、炎性因子大量表达等, 这些变化往往是瞬间的或者持续时间不长。相对于这些急性的炎性变化, 在一些慢性进展性疾病中, 如自身免疫性硬化、HM 感染引起的脑硬化、AD 等一般都有明显的持续性白细胞侵入和小胶质细胞胶质化, 同时也有一些炎性因子的持续表达上调, 如 IL-1。由于这种条件下常伴有神经元的损坏丢失, 因此可以认为这种丢失部分上是由于持续激活的小胶质细胞释放大量炎性因子所造成的 (Georg 等, 1996)。在神经元突触传导和突触信息处理过程中有星形胶质细胞 CXCR4 受体的激活, 激活的 CXCR4 受体可以引起 TNF- $\alpha$ 、前列腺素 (prostaglandin, PG) 和兴奋性神经递质谷氨酸的释放。神经损伤时, 突触周围小胶质细胞既可以自己释放大量的 TNF- $\alpha$ , 也可以促进星形胶质细胞释放 TNF- $\alpha$ , 从而引起过多的谷氨酸在细胞外空间的聚集, 造成对神经元的损害 (Paola 等, 2001)。小胶质细胞对少突胶质细胞的细胞毒效应也有大量报道 (Murata 等, 1997)。

因此在 CNS 损伤的情况下激活后的小胶质细胞可以发挥不同的作用, 它既可以对机体发挥保护作用, 也可能参与或加重机体的损伤。

### 四、小胶质细胞激活调节机制

多种调节机制参与损伤后小胶质细胞的激活。组织损伤后引起的各种物理和生化代谢改变, 是如何导致小胶质细胞内部较长期的基因表达变化从而导致它的激活的呢? 目前认为转录因子 NF- $\kappa$ B 是重要的介导分子。在 EAE 的炎性早期, 小胶质细胞核内部就出现 NF- $\kappa$ B 的两个 DNA 结合亚单位 p50 和 p65 的免疫活性。此后 4 天, p50 和 p65 的免疫活性继续在小胶质细胞而不是在星形胶质细胞中增加。其免疫活性在 4~6 天间达到高峰。随后在机体恢复期, NF- $\kappa$ B 的免疫活性恢复到基础水平。另一个可能参与小胶质细胞激活的转录因子是 cAMP 反应元件结合蛋白 (CREB)。在外周神经受损伤后, 可以检测到 CREB 在小胶质细胞核内的早期表达。

另外一些细胞因子也参与了小胶质细胞形态和功能的变化。细胞因子是一种小分子量蛋白, 通过

与细胞表面相应受体的结合,参与细胞的增生、分化、存活、死亡等。与小胶质细胞相关的细胞因子有许多种,主要的细胞因子见表 2。

表 2 作用于小胶质细胞的细胞因子

细胞因子	来源细胞	功能
L-4	T细胞	小胶质细胞激活
GM-CSF	星形胶质细胞	小胶质细胞激活
IFN-	T细胞	FC受体表达上调;MHC II类抗原表达上调
TGF-	星形胶质细胞	FC受体表达下调;MHC II类抗原表达下调

GM-CSF:颗粒和巨噬细胞克隆刺激因子

在自身免疫性疾病时,T细胞释放的细胞因子 L-4、IFN-、L-1能够在疾病的早期启动小胶质细胞的激活。而克隆刺激因子(colony stimulating factor, CSF)是小胶质细胞强烈的有丝分裂原,并且可以深远地影响小胶质细胞形态和功能的分化(Jochen等, 1995)。

神经损伤后的另一个标志性反应是星形胶质细胞的激活。小胶质细胞在疾病早期就迅速发生反应,而星形胶质细胞的反应发生则相对迟缓(Matsumoto等, 1992)。激活后的星形胶质细胞和小胶质细胞相互协调共同参与神经损伤过程。机械性神经损伤可以诱导星形胶质细胞释放大量 ATP,ATP是诱导小胶质细胞激活的重要介质。通过释放 ATP,星形胶质细胞可以促进小胶质细胞向损伤区聚集<sup>[9]</sup>。而且神经损伤后两种胶质细胞可以通过旁分泌和自分泌的方式释放炎性因子和趋化因子,这些不同来源的活性因子介导星形胶质细胞和小胶质细胞的相互作用。神经损伤诱导的小胶质细胞增生受到克隆刺激因子的调节,如 M-CSF和 GM-CSF,星形胶质细胞调节损伤局部克隆刺激因子的浓度。此外,星形胶质细胞还可以减少激活的小胶质细胞释放一氧化氮,而一氧化氮是小胶质细胞发挥毒性效应时释放的主要物质。与小胶质细胞运动和激活有关的层粘连蛋白(laminin)的表达也受到星形胶质细胞的调节<sup>[7]</sup>。

持续激活后小胶质细胞往往更多的发挥细胞毒性效应,对周围残存组织或正常组织造成继发损害。部分激活后的小胶质细胞可以发生过度激活后的程序性死亡:凋亡。通过凋亡小胶质细胞主动中止了其周围组织的毒性效应。自身分泌的干扰素调节因子-1(interferon-1, IFN1)是促进小胶质细胞凋亡

的重要因素<sup>[10]</sup>。

## 五、展望

激活后小胶质细胞的变化是非常复杂的。首先是形态学的变化,小胶质细胞每种形态与其相应的不同功能相对应。目前激活后的小胶质细胞形态学变化和细胞内基因转录变化之间的相应联系还远远没有被人们所了解。了解处于不同形态时期小胶质细胞内部基因转录的变化,各种可能参与小胶质细胞功能变化的基因表达顺序,不同调节因素对小胶质细胞功能影响的详细情况,对于发展针对病理情况下小胶质细胞过度激活的药物研究将有极大帮助。

## 参 考 文 献

- 1 Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*, 2005, 308: 1314 ~ 1318.
- 2 Davalos D, Grutzendler J, Yang G, et al. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat Neurosci*, 2005, 8: 752 ~ 758.
- 3 Hemmer B, Archelos JJ, Hartung HP. New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3: 291 ~ 301.
- 4 Benveniste EN, Nguyen VT, O'Keefe GM. Immunological aspects of microglia: relevance to Alzheimer's disease. *Neurochem Int*, 2001, 39: 381 ~ 391.
- 5 Zhao W, Xie W, Le W, et al. Activated microglia initiate motor neuron injury by a nitric oxide and glutamate-mediated mechanism. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004, 63: 964 ~ 977.
- 6 McGeer PL, McGeer EG. Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 2004, 10(Suppl 1): S3 ~ S7.
- 7 Nakatamura Y. Regulating factors for microglial activation. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25: 945 ~ 953.
- 8 Majumdar A, Cruz D, Asamoah N, et al. Activation of microglia acidifies lysosomes and leads to degradation of Alzheimer amyloid fibrils. *Mol Biol Cell*, 2007, 18: 1490 ~ 1496.
- 9 Raivich G. Like cops on the beat: the active role of resting microglia. *Trends Neurosci*, 2005, 19: 312 ~ 318.
- 10 Lee J, Hur J, Lee P, et al. Dual role of inflammatory stimuli in activation-induced cell death of mouse microglial cells. Initiation of two separate apoptotic pathways via induction of interferon regulatory factor-1 and caspase-11. *J Biol Chem*, 2001, 276: 32956 ~ 32965.