

- of the circadian clock in mammals. *Cell Tissue Res*, 2002, 309(1): 47-56.
- [7] Shi S, Hida A, McGuinness OP, et al. Circadian Clock Gene *Bmal1* Is Not Essential; Functional Replacement with its Paralog, *Bmal2*. *Cur Biol*, 2010, 20(4): 316-321.
- [8] Honma S, Kawamoto T, Takagi Y, et al. *Dec1* and *Dec2* are regulators of the mammalian molecular clock. *Nature*, 2002, 419(6909): 841-844.
- [9] Borbely AA, Baumann F, Brandeis D, et al. Sleep deprivation: effect on sleep stages and EEG power density in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1981, 51(5): 483-495.
- [10] Franken P, Dijk DJ. Circadian clock genes and sleep homeostasis. *Eur J Neurosci*, 2009, 29(9): 1820-1829.
- [11] Hamaguchi H, Fujimoto K, Kawamoto T, et al. Expression of the gene for *Dec2*, a basic helix-loop-helix transcription factor, is regulated by a molecular clock system. *Biochem J*, 2004, 382(Pt 1): 43-50.
- [12] Massari ME, Murre C. Helix-Loop-Helix Proteins: Regulators of Transcription in Eucaryotic Organisms. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(2): 429-440.
- [13] He Y, Jones CR, Fujiki N, et al. The transcriptional repressor *DEC2* regulates sleep length in mammals. *Science*, 2009, 325(5942): 866-870.

## 中枢神经系统小胶质细胞的研究进展

李师君 综述 毛定安 审校

中南大学湘雅二医院儿科,湖南省长沙市 410011

**摘要:** 中枢神经系统(CNS)中的小胶质细胞源于造血系统,是CNS的胶质细胞,又有着单核吞噬细胞的属性。在正常情况下,它对周围神经组织起着连续监视作用以维持CNS的稳态,小胶质细胞微小的异常也会引起机体的功能障碍;而当疾病或损伤发生时,失去了神经元的抑制作用,活化后的小胶质细胞作为CNS中的定植炎症细胞参与炎症反应与免疫应答。

**关键词:** 小胶质细胞;中枢神经系统;起源;免疫反应

中枢神经系统(CNS)主要由3种细胞组成:神经元、胶质细胞以及血管细胞。在CNS的实质中(不包括脑脊液、血管及脑膜的细胞),小胶质细胞是定植炎症细胞,它的活化与所有的CNS功能失调疾病都有关联,并且作用于疾病的进展与痊愈过程,所以关于小胶质细胞的研究具有重要意义。近年来,运用新颖的成像手段,如双光子显微镜,使得小胶质细胞的研究取得了许多的进展。

### 1 小胶质细胞是CNS中的髓系细胞

#### 1.1 CNS的细胞

Cajal(1913年)应用金属灌注组织染色法,将CNS的细胞分为以下3类:神经元(第一类),星形胶质细胞(第二类),以及第三类(有着小圆细胞核的细胞)。Hortega(1919年、1921年)解析出第3

类细胞,并首次提出它是由两种不同细胞组成的理念:其中一种是少突胶质细胞,它更接近于星形胶质细胞,因此可被归入第二类。他为真正的第三类细胞提出了“小胶质细胞”的概念,认为这类细胞能够改变自身的形态成为迁徙性的吞噬细胞。这些想法与Nissl在1899年关于“棒状细胞”的描述颇有共通之处,Nissl当时认为这些细胞参与组织病理反应,与其它器官中的白细胞功能相似。

#### 1.2 单核吞噬细胞

自妊娠的晚期开始,哺乳动物血液系统中的细胞——包括淋巴细胞、红细胞、巨核细胞、粒细胞以及单核吞噬细胞——源于骨髓造血干细胞,一生中都在不断更新。单核吞噬细胞广泛分布于骨髓、血液和组织间隙,包括骨髓中的单核系祖细胞,血液

收稿日期:2011-03-08;修回日期:2011-05-12

作者简介:李师君(1986-),女,在读研究生,主要从事小儿神经内科学的研究。

通讯作者:毛定安(1956-),男,教授,博士生导师,主要从事小儿神经内科学的研究。

中的单核细胞,组织中的巨噬细胞及树突细胞。这些细胞不具有组织或血液的染色特性,因而不能简单地被组织免疫化学染色或是免疫荧光流式细胞学划分。它们的区别在于不同的细胞表面或酶学标记物、定位(骨髓、血液及组织)、功能和细胞起源。出生后,骨髓中的髓系祖细胞分化为单核细胞——树突细胞的共同祖细胞,然后再依次分化为单核细胞和树突细胞的祖细胞。而卵黄囊中的髓系祖细胞则分化为小胶质细胞,这一过程仅发生在机体生长发育的过程中。

### 1.3 小胶质细胞

1.3.1 小胶质细胞源于髓系祖细胞 Hortega(1921年)阐述了小胶质细胞就是 Cajal 所谓的“第三类细胞”的观点,他提出小胶质细胞起源于中胚层而不是外胚层,这一理念已经在今天得到了证实。McKercher 等<sup>[1]</sup>发现,髓系细胞的分化实验,包括分化为巨噬细胞与中性粒细胞,在缺乏转录因子 PU.1(Pu.1<sup>-/-</sup>小鼠)的小鼠身上失败了,同时在这类小鼠的 CNS 中也不能检测到小胶质细胞。这是关于小胶质细胞髓系来源的最可靠证据。应用源示踪技术的最新研究足以证明成年小鼠的小胶质细胞起源于原始髓系祖细胞,它们在一段严格限定的时间内,正好在 E8 之前,由胚外的卵黄囊产生,然后在 E9,当血管生成后进入胚胎。在胚胎及成年时期,造血活动都不产生小胶质细胞。

1.3.2 小胶质细胞是一种单核吞噬细胞 小胶质细胞是 CNS 实质中的髓系细胞,它具有独特的特性:既是 CNS 的神经胶质细胞又是一种特殊的单核吞噬细胞。CNS 实质中的小胶质细胞位于神经血管区域附近的组织中,但不与可能构成血管周神经胶质界膜的血管直接关联。表型为细胞浆型而不是细胞膜型的 MHCII 类分子,小胶质细胞是潜在的吞噬细胞,能够通过氧化作用瞬间产生多种细胞因子即杀菌物质。严格说来,它与脑实质中的 T 细胞的相互作用是远距离的,是通过 T 细胞分泌的细胞因子例如 IFN- $\gamma$  来实现的,因此不具有抗原特异性。

## 2 小胶质细胞的个体发生学

### 2.1 小胶质细胞移入及衍生

动物实验表明啮齿动物早至 E8.5 时,未成熟的大脑附近就已经出现了含髓系标志物的细胞,在 E10.5 时,它们出现在 CNS 实质的原基中。这些胚胎时期的髓系细胞来源于卵黄囊中的髓系祖

细胞,它们移入尚在发育中端脑和脑干,可能也进入了脊髓。在出生后几天内,啮齿动物 CNS 中的小胶质细胞的数量会大幅增加。这种增加是由原位增生引起的。目前还不清楚小胶质细胞的祖细胞穿过血管床的机制,因为小鼠 CNS 中的小胶质细胞缺乏对白细胞迁徙起决定作用的调节因子<sup>[2]</sup>;帮助白细胞与内皮细胞相互作用的分子,例如细胞间黏附因子 1(ICAM1)等。

### 2.2 胚胎小胶质细胞与个体的发育

Ashwell 等<sup>[3]</sup>的实验显示,小胶质细胞可以吞噬整个细胞。而 Wu 等<sup>[4]</sup>的实验研究表明单核吞噬细胞以外的细胞也参与了从发育中的 CNS 中移除凋亡细胞。此外,小胶质细胞可能参与启动发育过程中多余细胞的凋亡,但这一理念还未被广泛认可<sup>[5]</sup>。

### 2.3 小胶质细胞与 Nasu-Hakola 病

小胶质细胞微小的异常会严重影响神经功能。例如,一种罕见的常染色体隐性遗传病——Nasu-Hakola 病。病人表现为骨囊肿和早发性痴呆。该病的遗传学基础是基因突变所致编码 TREM2(髓系细胞表面表达的触发受体)的基因缺失,只有纯合子发病。这种细胞表面蛋白的缺失(在 CNS 中,它仅在小胶质细胞上表达),导致小胶质细胞与破骨细胞(它能分解骨骼,属髓系细胞)的选择性功能异常。Neumann 等<sup>[6]</sup>的实验显示,剔除靶基因后,缺乏 TREM2 的小鼠与人类患者表达了一些共性。考虑到在一个人类家系中<sup>[7]</sup>,TREM2 的功能丧失仅导致了早发性痴呆而非骨囊肿,最可能的是 TREM2 的损坏造成异常的小胶质细胞从而破坏了 CNS 中的平衡。

Cameron 等<sup>[8]</sup>的实验显示,TREM2 通路早在 E14 开始就间接参与调节 CNS 的发育,而 TREM2 通路的异常会引起出生前小胶质细胞的活化从而导致髓鞘的缺失。这可能与早发性痴呆的发生有关。然而,缺乏 TREM2 的小鼠与人类患者并不表现出明显的神经解剖学缺陷。

### 2.4 小胶质细胞应答与神经退行性疾病

阿尔茨海默病(AD)是一种中枢神经系统(CNS)退行性疾病,其病因十分复杂,组织病理学特点为  $\beta$ -淀粉样蛋白沉淀为特征的老年斑(SP)。Amor 等<sup>[9]</sup>的研究结果表明,免疫和炎症反应可能是 AD 发病机制中的一个关键,多种细胞与细胞因子参与其中。它们分泌的增加可激活小胶质细胞,

受细胞因子控制的小胶质细胞的增量调节持续激活星形胶质细胞,使其失去负反馈调控,被迫终止生理性缓冲作用,导致其释放有神经毒性作用的 NO,并促进具有神经毒性作用的  $\beta$ -淀粉样蛋白形成,加重神经元的损害,从而促进 AD 发病或加速。因此,体内的炎症可能参与了 AD 的病理生理变化,而不是 AD 所继发的改变。Reed-Geaghan 等<sup>[10]</sup>的研究显示小胶质细胞对纤维状  $\beta$ -淀粉样蛋白的识别是通过受体介导实现的,而诱导吞噬作用与产生活性氧化物和/或含氮物的信号之间难以区分。炎症初期小胶质细胞表达吞噬受体清除  $\beta$ -淀粉样蛋白,随着  $\beta$ -淀粉样蛋白增多, $\beta$ -淀粉样蛋白封闭了吞噬受体使小胶质细胞失去吞噬作用,小胶质细胞反而被激活释放大量炎性细胞因子<sup>[11]</sup>。而高水平的细胞因子再促进  $\beta$ -淀粉样蛋白的产生,由此产生恶性正反馈调节,致使病人 CNS 中  $\beta$ -淀粉样蛋白持续增加。因此,小胶质细胞对纤维状  $\beta$ -淀粉样蛋白的应答有着双面的作用。

### 3 成熟 CNS 中的小胶质细胞

#### 3.1 数量

小胶质细胞在成人的 CNS 中所占的细胞总比例超过 10%,基于在神经轴索上位置的不同,局部数量波动在 5%~20% 之间。在健康的 CNS 中,小胶质细胞的分布极具特征性,它们的胞突呈放射状,彼此不重叠,胞体小而且每个细胞都有自己的作用范围。

#### 3.2 监视作用

健康的 CNS 中的小胶质细胞不时表现出“静息”状态。在 Davalos 等<sup>[12]</sup>的实验中,活小鼠大脑皮质的双光子成像显示,“静息”小胶质细胞不断地通过胞突探测外周环境,而这些忙碌的细胞大约每 4~5 h 就将整个大脑检查一遍<sup>[13]</sup>。小胶质细胞对健康的神经组织连续的监测行为可以用“监视”来形容。

#### 3.3 抑制

在正常 CNS 中,小胶质细胞被为数众多的微环境抑制因子所拘束,其中的许多都是由神经元产生的<sup>[14]</sup>。神经元——小胶质细胞抑制信号系统由下列因子所介导: CD200-CD200 受体 (CD200R)、CD22-CD45 (PTPRC) 71、CD172A (SIRP- $\alpha$ )-CD47a 以及 CX3CL1-CX3CR1。信号从神经元的 CX3CL1 传至小胶质细胞的 CX3CR1,从神经元的 ICAM5 传至小胶质细胞的 LFA1 (淋巴细胞功能相

关抗原 1; 又称 CD11a-CD18 和  $\alpha$ L $\beta$ 2-整联蛋白),可以分别通过细胞表面受体与细胞表面结合配体的接触完成,或是与可溶性配体 CX3CL1 或 ICAM5 的结合完成。

### 4 小胶质细胞活化的机制

患病或受损的 CNS 中的小胶质细胞表现为活化形式,并极易通过常规的组织学检查识别,因为与正常的小胶质细胞相比,它们的形态已大不相同。

#### 4.1 形态学与细胞分子学改变

小胶质细胞的活化形态包括胞体的增大,胞突的缩短以及髓系细胞标志物表达的上升。其机制可由<sup>[12]</sup>双光子成像技术解释:受到局部的激光损伤后,在 ATP (损伤细胞释放或星形细胞调控释放)控制下,小胶质细胞首先伸展胞突,随后很快包绕小的损伤区域。这个反应的基础是嘌呤受体 P2Y12,随后的形态学改变则与许多因素有关,包括 P2Y12 表达的下调,小胶质细胞胞外酶 CD73 和 CD39 将 ATP 转化为腺苷,以及腺苷 A2A 受体表达的上升<sup>[15]</sup>,这种受体介导胞突的回缩。当形态上的活化将结束时,小胶质细胞从正常状态的“分枝样”转化为“变形虫样”,即有着稀疏胞突的圆形细胞并具有吞噬能力。有趣的是,这种形态学的改变正是小胶质细胞发育过程的逆向重演。

#### 4.2 移除抑制物可能解抑制小胶质细胞

基于神经元对小胶质细胞的抑制,某种程度上来说,移除抑制物就等同于活化了小胶质细胞。这可以解释小胶质细胞在神经元损伤后的突然应答:当神经元抑制物的表达停止时,小胶质细胞察觉到了损伤。活体实验中,Cx3cr1<sup>-/-</sup>小鼠神经元的损耗多于 Cx3cr1<sup>+/+</sup>小鼠。鉴于在 CNS 中只有小胶质细胞表达 CX3CR1<sup>[16]</sup>,这项成果可以用来调节小胶质细胞的活化。此外,血浆蛋白能活化小胶质细胞<sup>[17]</sup>。因此,当疾病或损伤使血脑屏障受损时,渗出的蛋白质能活化小胶质细胞,而纤维蛋白原在其中起着关键作用<sup>[18]</sup>。纤维蛋白原与血小板的整合素相连的序列也能结合 MAC1,一种与小胶质细胞活化有关的整合素(又称 CD11b-CD18 and  $\alpha$ M $\beta$ 2-整合素),而这一活化过程是由 AKT 依赖途径和 Rho 依赖途径所介导的<sup>[19]</sup>。

#### 4.3 小胶质细胞与获得性免疫

获得性免疫包括体液免疫与细胞免疫,需要抗原呈递细胞的参与。正常的 CNS 实质是免疫豁免

区,因为那里唯一的单核吞噬细胞——小胶质细胞不能承担树突细胞的作用,即吞噬抗原,游离组织,进入局部淋巴结后刺激原始 T 细胞。而 Heppner 等<sup>[20]</sup>的实验运用实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)的动物,显示实质中的小胶质细胞似乎有着某种加剧疾病恶化的作用。

## 5 小结

作为一类特殊的单核吞噬细胞,小胶质细胞的功能受到 CNS 实质独特微环境的影响,因此只有活体实验才能精确了解它们的作用。同时由于缺乏明确的细胞学标志物,很难将它们与具有相同形态的血源性浸润巨噬细胞相区别。解决这些难题需要对 CNS 的固有解剖学特性及小胶质细胞局部微环境的进一步了解。

## 参 考 文 献

- [1] McKercher SR, Torbett BE, Anderson KL, et al. Targeted disruption of the PU.1 gene results in multiple hematopoietic abnormalities. *EMBO*, 1996, 15(20): 5647-5658.
- [2] Man S, Ubogu EE, Ransohoff RM. Inflammatory cell migration into the central nervous system: a few new twists on an old tale. *Brain Pathology*, 2007, 17(2): 243-250.
- [3] Ashwell K. The distribution of microglia and cell death in the fetal rat forebrain. *Brain Research. Dev Brain Res*, 1991, 58(1): 1-12.
- [4] Wu HH, Bellmunt E, Scheib JL, et al. Glial precursors clear sensory neuron corpses during development via Jedi-1, an engulfment receptor. *Nat Neurosci*, 2009, 12(12): 1534-1541.
- [5] Caldero J, Brunet N, Ciutat D, et al. Development of microglia in the chick embryo spinal cord: implications in the regulation of motoneuronal survival and death. *Neuroscience*, 2009, 87(11): 2447-2466.
- [6] Neumann H, Takahashi K. Essential role of the microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2 (TREM2) for central nervous tissue immune homeostasis. *Neuroimmunology*, 2007, 184(1-2): 92-99.
- [7] Chouery E, Delague V, Bergougnoux A, et al. Mutations in TREM2 lead to pure early-onset dementia without bone cysts. *Hum Mutat*, 2008, 29(9): E194-E204.
- [8] Thrash JC, Torbett BE, Carson MJ. Developmental Regulation of TREM2 and DAP12 Expression in the Murine CNS: Implication of Nasu-Hakola Disease. *Neurochem Res*, 2009, 34(1): 38-45.
- [9] Amor S, Puentes F, Baker D, et al. Inflammation in Neurodegenerative Diseases. *Immunology*, 2010, 129(2): 154-169.
- [10] Reed-Geaghan EG, Savage JC, Hise AG, et al. CD14 and Toll-like receptors 2 and 4 are required for fibrillar A $\beta$ -stimulated microglial activation. *Neuroscience*, 2009, 29(9): 11982-11992.
- [11] Czlonkowska A, Kurkowska-jastrzebska I. The role of inflammatory reaction in Alzheimers' disease and neurodegenerative processes. *Neurol Neurochir Pol*, 2002, 36(1): 15-23.
- [12] Davalos D, Grutzendler J, Yang G, et al. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury in vivo. *Nat Neurosci*, 2005, 8(6): 752-758.
- [13] Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*, 2005, 308(5726): 1314-1318.
- [14] Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci*, 2007, 10(11): 1387-1394.
- [15] Orr AG, Orr AL, Li XJ, et al. Adenosine A2A receptor mediates microglial process retraction. *Nat Neurosci*, 2009, 12(7): 872-878.
- [16] Cardona AE, Piro EP, Sasse ME, et al. Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor. *Nat Neurosci*, 2006, 9(7): 917-924.
- [17] Bechmann I, Galea I, Perry VH. What is the blood-brain barrier (not)? *Trends Immunol*, 2007, 28(1): 5-11.
- [18] Adams RA, Bauer J, Flick MJ, et al. The fibrin-derived  $\gamma$ 377-395 peptide inhibits microglia activation and suppresses relapsing paralysis in central nervous system autoimmune disease. *J Exp Med*, 2007, 204(3): 571-582.
- [19] Ryu JK, Davalos D, Akassoglou K. Fibrinogen signal transduction in the nervous system. *Thromb Haemost*, 2009, 7(suppl 1): 151-154.
- [20] Heppner FL, Greter M, Marino D, et al. Experimental autoimmune encephalomyelitis repressed by microglial paralysis. *Nature*, 2005, 11(2): 146-152.