

· 综述 ·

小胶质细胞介导缺血性卒中后炎症的机制研究进展

韩丽娟 综述 徐运 审校

南京大学医学院附属鼓楼医院神经科, 江苏省南京市 210008

摘 要:小胶质细胞是中枢神经系统固有免疫细胞,在维持脑组织局部微环境稳定中发挥重要作用,是介导缺血性卒中后炎症反应的主要细胞,过度激活会加重脑组织炎症损伤,抑制炎症反应是潜在的卒中治疗手段。然而小胶质细胞亦可发挥脑保护作用,抑制不当会干扰其保护作用。本文对其在缺血性卒中后的损伤和保护作用进行综述,阐明调控小胶质细胞活化状态是缺血性卒中有效的治疗方法。

关键词:缺血性卒中;炎症反应;小胶质细胞;活化;经典型活化;替代性活化;脑保护

溶栓治疗是缺血性卒中主要治疗手段,但其疗效有限,且受限于就诊时间并存在出血及再灌注损伤等风险^[1,2]。尽管国内外已开展了大量基础和临床研究,但仍未找到有效的缺血性卒中治疗方法。迄今为止,药物研究主要着眼于离子通道调节、氧自由基清除剂、凋亡抑制剂及兴奋性神经递质拮抗剂等。遗憾的是,由于存在诸如疗效差、不良反应多及实验设计缺陷等因素,这些治疗方法的临床试验结果都不尽如人意^[3]。缺血后神经系统炎症反应是造成缺血性脑损伤的重要机制之一,小胶质细胞参与缺血性卒中后整个病理过程,主要为炎症反应。近年来,研究者愈发关注小胶质细胞在炎症发展中的作用,并将其视为缺血性卒中治疗的新靶标。

1 小胶质细胞的生理功能

1919年,Rio-Hortega首次提出小胶质细胞是一种特殊的脑胶质细胞。小胶质细胞起源于髓单核细胞系,是中枢神经系统固有免疫细胞,可维护局部微环境的稳定。小胶质细胞占成人中枢神经系统细胞总数的10%,占脑胶质细胞的20%,其在灰、白质中均有分布,但分布不均,甚至差异显著。海马、基底节及黑质区分布最广,脑干和小脑分布最少。小胶质细胞形态多样,与其所在部位、离血管远近及所处生理阶段有关。生理状态下,小胶质

细胞处于“静息”或“监控”状态,细胞体积小、核周胞质少,细胞表面抗原表达少,有“分枝状”细小突起,并通过其“分枝状”突起持续地、有规律地、高速地伸缩运动与外界环境相联系,监控微环境及吞噬、清除凋亡组织^[4]。但小胶质细胞彼此间并不通过突起相联系,可相距50~60 μm。小胶质细胞可在数小时内完成全脑监控,相邻小胶质细胞交替、随机地对微环境进行监控而避免相互接触。

2 小胶质细胞转变活化状态

学者们之前认为,小胶质细胞在生理状态下处于“静息”状态,可被病理因素激活。近年来,Nimmerjahn等^[5]利用双光子激光扫描显微技术证实,在生理状态下,小胶质细胞的突起处于高速运动状态,对脑组织局部微环境进行扫描、监控。故有学者提出,其在生理状态下处于“监控”活化状态,发挥感知功能;病理刺激并非激活小胶质细胞,而是转变其活化状态^[4]。多种病理因素(如缺血、感染、外伤)或刺激信号等均可改变小胶质细胞活化状态,促使其基因表达和形态发生改变。小胶质细胞突起的运动方式也由随机转为定向(指向损伤区),并向损伤区迁移,嘌呤受体刺激与此定向迁移相关^[6]。两种信号通路参与小胶质细胞活化状态的改变:一是通过受体感知新出现的改变,包括新出现的物质,如微管结构、血清蛋白;或者是原

基金项目:国家自然科学基金(81171085);国家自然科学基金青年基金(81100863)

收稿日期:2011-12-30;**修回日期:**2012-03-31

作者简介:韩丽娟(1988-),女,博士研究生,主要从事缺血性卒中研究。

通讯作者:徐运(1961-),女,教授,主任医师,博士生导师,神经内科行政主任,主要从事脑血管病及神经系统变性疾病的相关研究。E-mail: xuyun20042001@yahoo.com.cn。

有物质达到损伤浓度,如细胞组成结构表达增加;或者是结构异常,如出现蛋白质聚集体;二是生理功能缺失,如神经元完整性受损等^[4]。

小胶质细胞亦有类似外周巨噬细胞的形态、功能异质性^[4]。生理状态下,不同部位的小胶质细胞形态、功能即有差别。病理情况下,病理刺激的性质、程度及所处病理生理阶段、局部微环境等均可影响小胶质细胞的形态及功能表型,并随疾病进程发生变化^[4,7]。LPS、IFN- α 等通过“经典途径”活化的促炎相小胶质细胞可发展为阿米巴样组织吞噬细胞,分泌 TNF- α 、IL-1 α 、IL-12、IL-6、蛋白酶(如 MMP-9)、NO 等细胞活性物质,具有组织防御、吞噬病原微生物等功能,但若不受控制也会造成邻近组织发生炎症性损伤^[8]。而有些情况下,IL-4、IL-13 等抗炎因子经替代型途径激活的小胶质细胞可通过释放生长因子或免疫调节(通过与 T 细胞相互作用)发挥脑保护和促进神经再生的功能。此型小胶质细胞表达及分泌 IL-10 增加,能够拮抗 IFN- γ 的促炎作用并促进组织重构^[9]。

3 缺血级联反应及缺血后炎症反应

脑组织缺血数秒至数分钟后即触发缺血级联反应。包括早期的氧供减少,兴奋性毒性、钙超载、梗死区周围去极化、氧化应激及后期的血脑屏障功能障碍、缺血后炎症及细胞死亡。各事件在缺血后依次发生,但又相互重叠,相互影响。缺血程度及持续时间决定了缺血级联反应事件及脑损伤范围。缺血核心区血流受损严重,缺血数分钟后缺血级联反应即发生,细胞发生永久去极化,细胞骨架及膜完整性受损而最终死亡^[10]。相反,缺血半暗带区缺血级联反应发展速度较慢,常持续数小时甚至数天,是卒中治疗靶区^[11]。炎症反应是造成脑组织缺血损伤的重要机制,小胶质细胞参与早期炎症反应,在炎症反应中发挥重要作用^[9]。局部胶质细胞激活后,引发细胞黏附分子、炎症因子表达上调,随后多种免疫炎症细胞如淋巴细胞、多形核白细胞及单核/巨噬细胞等先后迁移至损伤区域参与炎症反应。缺血性卒中急性期炎症反应破坏血脑屏障功能,造成脑组织水肿及神经细胞死亡。

4 小胶质细胞在缺血后炎症反应中的双重作用

缺血后活化增殖的小胶质细胞和外周血来源的巨噬细胞环绕坏死核心区形成一个吞噬细胞层且下丘脑及对侧皮质亦有活化的小胶质细胞表达^[12]。研究进一步证实^[13,14],小胶质细胞而非外

周血来源的免疫细胞是卒中后前几天损伤处的主要免疫细胞。缺血后 1 d,小胶质细胞活化并增殖,外周血中性粒细胞直到缺血后 2 d 才出现在损伤处,于 4 d 时达到高峰。巨噬细胞则出现更晚,缺血 4 d 后出现,10 d 时达高峰,说明小胶质细胞是介导缺血后炎症反应的主要细胞小胶质细胞在缺血性卒中后炎症反应中具有双重性。炎症反应具有组织防御功能,但小胶质细胞过度激活亦会加重脑组织损伤;而另一方面,替代性途径激活的小胶质细胞也可发挥一定的脑保护作用,抑制不当又会干扰其保护作用。

4.1 小胶质细胞促进缺血后炎症反应的作用

体外研究发现,缺氧、缺糖可经经典途径激活小胶质细胞,促使其发挥促炎作用。在严重缺氧($\leq 0.2\% \text{O}_2$) 8 h 复氧 24 h 后,BV-2 细胞株(小鼠小胶质瘤细胞)NO 的分泌量均显著增高,且能够少量分泌 TNF α 。该研究还证实,完全缺氧 6 h 即可造成 BV-2 细胞 iNOS 表达增加。p38MAPK 磷酸化与此过程相关,药物抑制 p38 后 BV-2 细胞缺氧后释放的 NO、iNOS 及 TNF- α 明显减少^[15]。另一项研究证实,中度缺氧($\leq 1\% \text{O}_2$) 合并缺糖 6 h 的原代小胶质细胞 MMP-9 mRNA 的表达显著增加^[16],而 MMP-9 在介导卒中引发的血管通透性增加过程中发挥重要作用。

此外,神经元在缺血损伤后也可经经典途径激活小胶质细胞,使其分泌促炎因子。研究表明,氧糖剥夺(oxygen and glucose deprivation, OGD)处理后的神经元可能通过释放谷氨酸,作用于小胶质细胞表面的代谢性谷氨酸受体 II(mGluR II),诱导小胶质细胞发生经典途径活化,刺激促炎因子 TNF- α 、NF- κ B 表达^[17]。而小胶质细胞可通过 TNF- α 对正常神经元造成损伤,如此造成恶性循环。小胶质细胞包激活后,通过分泌趋化因子,募集外周免疫炎症细胞如淋巴细胞、多形核白细胞及单核/巨噬细胞等先后迁移至损伤区域参与炎症反应。

4.2 小胶质细胞的脑保护作用

然而,缺氧不仅诱导小胶质细胞释放促炎因子 NO、IL-1 β 及 TNF- α ^[18],同时经替代性激活的小胶质细胞还能够表达神经营养因子,如 BDNF、GDNF 等,发挥神经保护作用^[9]。在体实验证实小胶质细胞具有调控缺血后炎症反应,保护脑组织的功能。采用含有基于 CD11b 基因启动子启动的 HSV1-胸苷激酶基因的 CD11b-TKmt30 转基因小鼠进行

MCAO 实验,发现小胶质细胞具有神经保护作用^[19]。该实验证实更昔洛韦处理能够抑制 1 h MCAO 转基因小鼠的小胶质细胞增殖,但是对静息状态下的小胶质细胞没有影响。转基因小鼠在 MCAO 72 h 后 NF- κ B 表达增加,促炎因子如 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等的 mRNA 及 IL-6、TNF α 蛋白也表达增加。而野生型小鼠在 72 h 时,上述细胞因子的表达已经开始降低。小胶质细胞被抑制的同时,IGF-1 的表达减少 1.8 倍。应用 M-CSF 后,Mac-2 阳性的小胶质细胞增殖显著增加,IGF-1 表达亦增加。作者认为经替代性途径激活的小胶质细胞能够分泌神经营养因子,如 IGF-1,并有助于抑制炎症,发挥神经保护作用。

此外,由 IL-4 经替代性途径激活的小胶质细胞能够通过分泌 IGF-1 促进胚胎神经球分化^[20]。另一项研究表明,大鼠短暂 MCAO 后,其室下区的小胶质细胞增殖并持续长达 16 周。在此期间,神经再生被激活,同时,IGF-1 产生增加^[13]。但缺血区和半暗带区小胶质细胞活化增殖在 MCAO 2 周后达到高峰,随后开始下降。但是,亦有研究表明小胶质细胞会抑制神经再生^[21]。体内实验证实,小胶质细胞移植能够减少缺血脑组织损伤^[22]。移植的小胶质细胞不仅能够减少缺血坏死区体积还能够促进大鼠缺血后的神经功能缺损。虽然小胶质细胞这种保护作用的具体机制尚不明确,但可能机制有二:首先,大量的移植小胶质细胞能够有效限制浸润的白细胞;其次,轻度激活的小胶质细胞也可能具有免疫功能,产生二重保护作用。

近年来,也有一系列人体实验研究了缺血性卒中对小胶质细胞造成的影响以及小胶质细胞在人卒中病理生理机制中的作用。研究证实^[9],人缺血性卒中后小胶质细胞发生增殖、活化并向损伤区迁移,坏死核心区周边是吞噬细胞聚集最多的部位,并向远处延伸。但是关于损伤脑组织中吞噬细胞的来源仍有争议,有关缺血后炎症细胞向缺血脑组织浸润的时间及空间分布研究仍有限^[9]。

5 展望

脑保护治疗是缺血性卒中治疗的主要手段。脑保护治疗作用于缺血级联反应的不同阶段,小胶质细胞在缺血性卒中病理生理机制中发挥双重作用,可能是卒中治疗的新靶点。通过调控小胶质细胞功能,抑制其经典型促炎活化途径或促进其替代型免疫调节型活化,从而限制缺血后炎症反应,减

轻脑组织损伤,促进神经再生,改善神经功能。目前,尚不能严格区分中枢神经系统固有的小胶质细胞和外周血来源的巨噬细胞在卒中病理生理机制中所起的具体作用,基于外周免疫亦参与卒中病理生理机制及小胶质细胞与巨噬细胞的诸多共同点,同时调节小胶质细胞和巨噬细胞的治疗措施可能更为有效。

参 考 文 献

- [1] 巫嘉陵,王纪佐.组织型纤溶酶原激活剂对神经血管单元功能影响的研究进展.国际神经病学神经外科学杂志,2011,38(4):334-337.
- [2] Richard M, Carine A, Olivier T, et al. Stroke and the immune system: from pathophysiology to new therapeutic strategies. *Lancet*, 2011, 10(5): 471-480.
- [3] Reza Noorian A, Nogueira R, Gupta R. Neuroprotection in acute ischemic stroke. *J Neurosurg Sci*, 2011, 55(2): 127-138.
- [4] Hanisch UK, Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci*, 2007, 10(11): 1387-1394.
- [5] Ransohoff RM, Hugh Perry V. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27: 119-145.
- [6] Ekdahl CT, Kokaia Z, Lindvall O. Brain inflammation and adult neurogenesis: the dual role of microglia. *Neuroscience*, 2009, 158(3): 1021-1029.
- [7] Block ML, Zecca L, Hong JS. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nat Rev Neurosci*, 2007, 8(1): 57-69.
- [8] Colton CA, Wilcock DN. Assessing activation states in microglia. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2010, 9(2): 174-191.
- [9] Weinstein JR, Koerner IP, Thomas M. Microglia in ischemic brain injury. *Future Neurol*, 2010, 5(2): 227-246.
- [10] Guiraud V, Amor MB, Mas JL, et al. Triggers of ischemic stroke: a systematic review. *Stroke*, 2011, 41(11): 2669-2677.
- [11] Risher WC, Ard D, Yuan J, et al. Recurrent spontaneous spreading depolarizations facilitate acute dendritic injury in the ischemic penumbra. *J Neurosci*, 2010, 30(29): 9859-9868.
- [12] Weinstein JR, Koerner IP, Ard D, et al. Microglia in ischemic brain injury. *Future Neurol*, 2010, 5(2): 227-246.
- [13] Thored P, Heldmann U, Wallace L, et al. Long-term accumulation of microglia with proneurogenic phenotype concomitant with persistent neurogenesis in adult subventricular zone after stroke. *Glia*, 2009, 57(8): 835-849.

- [14] Denes A, Thornton P, Rothwell NJ, et al. Inflammation and brain injury: acute cerebral ischaemia, peripheral and central inflammation. *Brain Behav Immun*, 2010, 24(5): 708-723.
- [15] Lechpammer M, Manning SM, Samonteet F, et al. Minocycline treatment following hypoxic/ischaemic injury attenuates white matter injury in a rodent model of periventricular leukomalacia. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2008, 34(4): 379-393.
- [16] Gao Z, Wang J, Thiex R, et al. Microglial activation and intracerebral hemorrhage. *Acta Neurochir Suppl*, 2008, 105(2): 51-53.
- [17] Kaushal V, Schlichter LC. Mechanisms of microglia-mediated neurotoxicity in a new model of the stroke penumbra. *J Neurosci*, 2008, 28(9): 2221-2230.
- [18] Sawe N, Steinberg G, Zhao H. Dual roles of the MAPK/ERK1/2 cell signaling pathway after stroke. *J Neurosci Res*, 2008, 86(8): 1659-1669.
- [19] Lalancette-Hebert M, Gowing G, Simard A, et al. Selective ablation of proliferating microglial cells exacerbates ischemic injury in the brain. *J Neurosci*, 2007, 27(10): 2596-2605.
- [20] Butovsky O, Ziv Y, Schwartz A, et al. Microglia activated by IL-4 or IFN- γ differentially induce neurogenesis and oligodendrogenesis from adult stem/progenitor cells. *Mol Cell Neurosci*, 2006, 31(1): 149-160.
- [21] Liu Z, Fan Y, Won SJ, et al. Chronic treatment with minocycline preserves adult new neurons and reduces functional impairment after focal cerebral ischemia. *Stroke*, 2007, 38(1): 146-152.
- [22] Weinstein JR, Koerner IP, Möller T. Microglia in ischemic brain injury. *Future Neurol*, 2010, 5(2): 227-246.

钾离子通道 KCNQ2、KCNQ3 与良性家族性新生儿惊厥

李楠 综述 严新翔 审校

中南大学湘雅医院神经内科,湖南省长沙市 410008

摘要:钾离子通道与中枢神经元的电活动密切相关,其结构和功能异常将改变神经元兴奋性,引起癫痫发作,其中,KCNQ2、KCNQ3 通道异常即导致良性家族性新生儿惊厥(BFNS)。深入探讨 BFNS 的 KCNQ2、KCNQ3 通道突变分子致病机制,将有助于引导 BFNS 今后的基因治疗研究,并为遗传咨询提供理论基础。

关键词:钾离子通道;KCNQ2;KCNQ3;良性家族性新生儿惊厥

中枢神经元细胞膜离子通道的功能活动是产生电活动的基础,编码离子通道的基因突变将导致各类离子通道的结构和功能紊乱甚至丧失,导致相应疾病。研究发现,良性家族性新生儿惊厥(benign familial neonatal seizures, BFNS)患者中,即存在钾离子通道成员基因 KCNQ2、KCNQ3 的致病性突变^[1,2]。本文对钾离子通道尤其 KCNQ2、KCNQ3 的结构、功能,及 KCNQ2、KCNQ3 异常导致 BFNS 的分子发病机制进行综述。

1 钾离子通道及其编码基因

钾离子通道广泛分布于神经、心血管、骨骼肌、

气管、胃肠道、血液及腺体等,是目前发现的人体组织中表达分布最广、类型最多的离子通道^[3,4],主要参与细胞膜静息电位和动作电位复极化过程的调节,决定着动作电位的发放频率和幅度。根据电生理特性和药理学性质的不同,钾离子通道分为:电压门控型钾通道(voltage-gated potassium channel, Kv)、内向性整流型钾通道(inwardly rectifying potassium channel, Kir)、钙激活型钾通道(calcium-activated potassium channel, Kca)和双孔钾通道(two-pore-domain potassium channels, K2p)。

电压门控型钾通道(Kv)是目前已知的最大的

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金(2012QNZT113);中南大学湘雅医院首批“优秀青年科研人才培养计划”资助项目(20111012)

收稿日期:2012-04-24;**修回日期:**2012-07-12

作者简介:李楠(1978-),男,医师,助理研究员,博士,主要从事神经退行性疾病与遗传病的分子遗传学研究。

通讯作者:严新翔(1960-),女,主任医师,教授,博士,主要从事神经退行性疾病与遗传病的分子遗传学研究。