

小胶质细胞/脑巨噬细胞与胶质瘤相互关系的研究进展

曾山 综述 陈礼刚 审校

西南医科大学附属医院神经外科,四川省泸州市 646000

摘要:胶质瘤相关巨噬细胞(glioma-associated microglia and macrophages, GAMs)在胶质瘤的发生和发展中扮演重要角色。GAMs既可以参与胶质瘤免疫抑制微环境的形成,也可以促进胶质瘤细胞的增殖及侵袭。本文就GAMs与胶质瘤的关系做一综述,以期对胶质瘤治疗提供新的策略。

关键词:胶质瘤相关巨噬细胞;胶质瘤;免疫治疗

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2016.03.017

胶质瘤是发生于神经外胚层的肿瘤,是中枢神经系统(central nervous system, CNS)最常见的肿瘤。恶性胶质瘤具有侵袭性强、复发率高、复发时间短、预后差等特点,特别是多形性胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM),未经治疗的患者生存期不超过半年,即使经过手术及放化疗等综合治疗,其生存期也不超过14.2个月^[1]。尽管外科手术技术、放化疗及其它辅助治疗手段正在不断改进,但患者的生存预后依然未得到显著提高。研究表明,胶质瘤组织中浸润有大量的GAMs,近年来越来越多的证据已经表明,GAMs在免疫抑制微环境的形成中扮演重要角色,并且能释放刺激因子促进肿瘤增殖和扩散。本文就GAMs与胶质瘤的相互作用关系以及以GAMs为靶点的胶质瘤治疗策略的研究进展进行了总结。

1 GAMs 的概述

GAMs包括小胶质细胞和脑巨噬细胞。小胶质细胞是大脑的常驻免疫细胞,广泛分布于脑和脊髓,约占胶质细胞10%~20%^[2],具有抗原提呈及免疫监视等作用,是CNS免疫防御反应的第一道防线。研究指出,健康小鼠大脑的小胶质细胞起源于胚胎时期卵黄囊,并在胚胎发育的第9天左右进入CNS,发育为脑固有小胶质细胞。小胶质细胞处于静息状态时,呈分枝状,通过突触对脑进行监控。当脑发生病变时,小胶质细胞被激活,呈现变形虫样,活化的小胶质细胞表达MHC-II类分子,分泌趋化因子和促炎因子,发挥保护作用,然而浸

润在胶质瘤组织中的小胶质细胞,其免疫功能受到抑制,表现为促进肿瘤生长。

巨噬细胞是体内重要的吞噬细胞。在生理条件下,巨噬细胞无法穿过血脑屏障,然而胶质瘤形成过程中,血脑屏障被破坏,巨噬细胞在胶质瘤分泌的趋化因子作用下进入脑实质。CD45抗体常用于小胶质细胞和脑巨噬细胞的鉴别。Parney^[3]使用CD45抗体检测人胶质瘤标本中上述两种细胞的比例,结果表明含有更多的脑巨噬细胞,然而Muller^[4]采用嵌合体动物模型发现胶质瘤中浸润的小胶质细胞比脑巨噬细胞多,并指出胶质瘤细胞上调小胶质细胞CD45的表达,影响依赖于CD45的鉴别方法。

2 胶质瘤与 GAMs 的相互作用

2.1 胶质瘤趋化 GAMs 浸润

胶质瘤细胞能诱导GAMs向肿瘤趋化,并促使其表型变化。发现的第一个趋化因子是单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)。在鼠星形细胞瘤模型中,基质细胞衍生因子1(stromal cell-derived factor 1, SDF-1)能够趋化GAMs向缺氧区域移动。最新的研究还表明,SDF-1能够介导放疗后胶质瘤新生血管形成^[5]。此外,有研究表明,胶质瘤干细胞可以释放集落刺激因子1(colony-stimulating factor 1, CSF-1)和CC趋化因子配体2(C-C motif chemokine ligand 2, CCL2)趋化GAMs,并且比其它肿瘤细胞具有更强的趋化功能^[6]。除此之外,粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、肿

基金项目:四川省重点科技自筹项目(2013SZZ002);四川省科技厅-泸州市人民政府-泸州医学院联合科研专项资金项目(LZ-LY-9)

收稿日期:2016-02-16;修回日期:2016-06-12

作者简介:曾山(1990-),男,西南医科大学在读研究生,研究方向为立体定向及功能神经外科。

通讯作者:陈礼刚(1966-),男,博士,教授,主任医师,主要从事脑肿瘤的基础研究及临床研究。

瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、神经营养因子 (glial cell-derived neurotrophic factor, GDNF)、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 对 GAMs 也有趋化作用。活化的巨噬细胞可分为经典活化的巨噬细胞 (M1 型巨噬细胞) 和替代性活化的巨噬细胞 (M2 型巨噬细胞)。研究表明 GAMs 中主要是 M2 型巨噬细胞。胶质瘤细胞能够分泌细胞因子促进巨噬细胞表达 M2 型标记物。已报道的相关因子包括 GM-CSF, CSF-1 以及 S100B 蛋白, 白介素 (interleukin, IL) -4, IL-6, IL-10, 转化因子 $\beta 1$ (transformation growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 和前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)。除了肿瘤细胞, 在体外实验中还发现了间充质干细胞^[7] 和 B 细胞^[8] 也可以促进 M2 型巨噬细胞产生。值得注意的是, 已有研究表明, M2 型巨噬细胞的 M1 型巨噬细胞均处于肿瘤微环境中, 二者之间的比例影响免疫抑制微环境的形成。在这些研究的基础上, 把 M2 型巨噬细胞转换为 M1 型巨噬细胞的方法可以作为一种新的免疫治疗策略。

2.2 GAMs 促进胶质瘤生长

GAMs 在胶质瘤免疫抑制微环境形成中起着重要作用。HLA-G 和 HLA-E 具有抑制 NK 细胞和 T 细胞作用, GAMs 可以通过下调人类白细胞抗原 DR (human leukocyte antigen DR, HLA-DR), 以及上调 HLA-G 和 HLA-E 的表达介导胶质瘤免疫抑制微环境的形成^[9]。同时有研究发现 GAMs 还能表达 FAS 配体和 B7 同源物 1 (B7 homologue 1, B7-H1), 实验表明, B7-H1 与 T 细胞结合将导致 T 细胞抗原受体 (T cell receptor, TCR) 的下调和 T 细胞的凋亡^[10]; 下调胶质瘤 FAS 配体的表达能增强 T 细胞在肿瘤中的浸润并抑制肿瘤生长。此外, GAMs 还可以通过降低 LAK 细胞, NK 细胞和 CTL 活性, 抑制 T 细胞增殖和诱导调节性 T 细胞反应以促进免疫抑制形成^[11]。最近有报道, GAMs 诱导调节性 T 细胞取决于干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 水平, 在 IFN- γ 高水平表达时, 有效的抗肿瘤反应将产生, 然而在低水平的 IFN- γ 时, 将诱导产生调节性 T 细胞^[12]。另外 GAMs 还可以产生免疫抑制因子 IL-6、IL-10 和 TGF- $\beta 1$, 并且低表达共刺激分子 CD40、CD80、CD86, 介导免疫抑制微环境形成。

众多研究已经证明, GAMs 能够促进胶质瘤增殖及侵袭。GAMs 接受来自胶质瘤细胞的刺激, 通过多种信号通路, 产生不同的细胞因子, 促进胶质

瘤生长。代表性的细胞因子是基质金属蛋白酶 (matrix metalloprotein, MMP), 主要包括 MMP-2 和 MMP-9。研究表明, 胶质瘤能够激活 GAMs 上的 Toll 样受体 2 (Toll-like receptor, TLR2) 通路, 通过 MyD88 和 p38MARK 途径使膜型基质金属蛋白酶-1 (membrane-type matrix metalloproteinase-1, MT1-MMP) 表达上调, 产生的 MT1-MMP 激活 MMP-2 前体, 被激活的 MMP-2 能够降解胞外基质, 促进肿瘤扩散和迁移^[13]。最近的研究^[14] 指出多功能蛋白聚糖为触发 TLR2 通路的关键分子。实验发现, 下调胶质瘤中多功能蛋白聚糖的表达, 可以减少 MT1-MMP; 与接种正常同源胶质瘤细胞的小鼠相比较, 接种聚糖沉默的胶质瘤细胞的小鼠具有更长的生存期。此外, GAMs 分泌的应力诱导蛋白 1 (stress-inducible protein, STI1) 不仅可以促进胶质瘤增殖, 还可以增加 MMP-9 的活性^[15]。同样有研究报道 TGF- β 可以促进胶质瘤生长, 如, Coniglio 等^[16] 研究发现 TGF- $\beta 1$ 不仅能够提高胶质瘤干细胞样细胞上 MMP-9 的表达, 还可以诱导血管内皮生长因子在胶质瘤细胞的表达; 且 TGF- $\beta 2$ 也可以上调 MMP-2 的表达, 促进胶质瘤的侵袭。值得一提的是, 胶质瘤干细胞被认为是胶质瘤治疗后复发的根源^[17], 新近研究指出^[18] 胶质瘤干细胞通过 MyD88-TLR4 信号通路刺激 GAMs 分泌 IL-6, 而 GAMs 分泌的 IL-6 通过作用于胶质瘤干细胞最终促进肿瘤生长。另外, GAMs 还能分泌 IL-18、IL-10、CSF-1 和表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 等具有促进肿瘤生长和侵袭能力的细胞因子。

3 以 GAMs 为靶点的免疫治疗

CNS 被认为是免疫豁免部位, 这一观点沿用了几十年。然而, 近些年的研究指出: ①由于血脑屏障的存在, 正常生理条件下循环系统中的免疫细胞几乎不能进入 CNS, 但是当肿瘤发生时, 血脑屏障受损, 血液中免疫细胞可以进入脑实质产生免疫效应; ②在脑膜和脉络丛中存在一定量的 DC 细胞和 T 细胞; ③CNS 中发现能够运输脑脊液及免疫细胞至颈深淋巴结的管腔^[19]; ④虽然胶质瘤患者脑内存在免疫抑制微环境, 但是这并不是绝对不可改变的, 以上这些都说明了 CNS 具备进行免疫治疗的基础。GAMs 在胶质瘤免疫微环境及肿瘤生长中具备重要地位, 以 GAMs 为靶点的免疫治疗也是新近的一大研究方向。

STAT3 (signal transducer and activator of transcrip-

tion) 是 M2 型巨噬细胞诱导免疫抑制的关键因子。研究发现^[20], STAT3 可以导致免疫抑制因子 IL-10 和 IL-6 的过度表达, 以及下调促炎因子 IL-1 β 表达, 进一步研究发现使用 STAT3 抑制剂 CPA-7 或 siRNA 可以阻止胶质瘤生长, 延长小鼠生存时间; 同样的, 科罗索酸也可以阻止 M2 型巨噬细胞激活, 抑制 SATA3 活化, 从而抑制肿瘤生长。此外, 同时抑制 STAT3 和 P38 通路可以完全解除胶质瘤对 DC 细胞的抑制作用, 从而发挥 DC 细胞的抗肿瘤效应^[21]。研究还发现, 抑制 M2 型巨噬细胞其它表达产物, 如 CD163、CD204、CD206 同样能够阻止肿瘤生长^[22], 且 Salacz^[23] 指出使用 MCP-1 抑制剂, 如米诺环素、替米沙坦、唑来膦酸可以抑制或逆转 GAMs 引起的免疫抑制及肿瘤生长, 并提出三者联合使用作为常规放、化疗辅助治疗方案的假设。但是值得注意的是并非所有的 GAMs 表达产物均可作为治疗靶点, 例如当 TGF- β 的功能被阻断时将会引起全身性的急性炎症和免疫系统失衡^[24]。

此外, 有研究报道两性霉素 B 可以阻断胶质瘤干细胞的趋化作用^[25]; 多巴胺可以增加 M1 型巨噬细胞标记物的表达, 降低 M2 型巨噬细胞标记物的表达; 丙戊茶碱通过抑制 TROY 通路的表达, 阻断胶质瘤对 GAMs 的趋化作用^[26]; CSF-1 抑制剂可以阻断 GAMs 的募集, 抑制胶质瘤的侵袭性^[27]。这些都说明了, 虽然浸润在胶质瘤组织中的 GAMs 具有肿瘤促进功能, 但是这并非不可逆转的。

4 展望

多方面研究指出由胶质瘤细胞趋化形成的 GAMs 在肿瘤生长和侵袭中扮演重要角色, 不仅参与免疫抑制微环境的形成, 并且能够促进肿瘤增殖和扩散。尽管我们对 GAMs 有了一些了解, 但是仍有许多问题亟需研究, 例如 GAMs 与胶质瘤细胞相互作用的具体机制尚不清楚, 如何找到两者之间的关键分子, 进而寻找作用于关键靶点的有效干预物质, 对改善胶质瘤患者预后至关重要。其次目前对于 GAMs 的了解更多在于其促进肿瘤生长, 对于其是否参与胶质瘤复发及与肿瘤干细胞的相互作用关系尚不清楚。因此, 深入研究 GAMs 与胶质瘤细胞的关系有可能为胶质瘤患者的治疗带来诱人的发展前景。

参 考 文 献

[1] Johnson DR, O'Neill BP. Glioblastoma survival in the Unit-

ed States before and during the temozolomide era. *J Neurooncol*, 2012, 107(2):359-364.

- [2] Fu R, Shen Q, Xu P, et al. Phagocytosis of microglia in the central nervous system diseases. *Mol Neurobiol*, 2014, 49(3):1422-1434.
- [3] Parney IF, Waldron JS, Parsa AT. Flow cytometry and in vitro analysis of human glioma-associated macrophages. *Laboratory investigation*. *J Neurosurg*, 2009, 110(3):572-582.
- [4] Muller A, Brandenburg S, Turkowski K, et al. Resident microglia, and not peripheral macrophages, are the main source of brain tumor mononuclear cells. *Int J Cancer*, 2014, 137(2):278-288.
- [5] Wang SC, Yu CF, Hong JH, et al. Radiation therapy-induced tumor invasiveness is associated with SDF-1-regulated macrophage mobilization and vasculogenesis. *PLoS One*, 2013, 8(8):e69182.
- [6] Wu A, Wei J, Kong LY, et al. Glioma cancer stem cells induce immunosuppressive macrophages/microglia. *Neuro Oncol*, 2010, 12(11):1113-1125.
- [7] Gao S, Mao F, Zhang B, et al. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce macrophage M2 polarization through the nuclear factor- κ B and signal transducer and activator of transcription 3 pathways. *Exp Biol Med* (Maywood), 2014, 239(3):366-375.
- [8] Cruz-Leal Y, Lucatelli Laurindo MF, Osugui L, et al. Liposomes of phosphatidylcholine and cholesterol induce an M2-like macrophage phenotype reprogrammable to M1 pattern with the involvement of B-1 cells. *Immunobiology*, 2014, 219(6):403-415.
- [9] Rolle CE, Sengupta S, Lesniak MS. Mechanisms of immune evasion by gliomas, in: Ryuya Yamanaka MD, eds. *Glioma*, New York, Springer, 2012, 53-76.
- [10] Bloch O, Crane CA, Kaur R, et al. Gliomas promote immunosuppression through induction of B7-H1 expression in tumor-associated macrophages. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(12):3165-3175.
- [11] Li W, Graeber MB. The molecular profile of microglia under the influence of glioma. *Neuro Oncology*, 2012, 14(8):958-978.
- [12] Ebner F, Brandt C, Thiele P, et al. Microglia activation milieu controls regulatory T cell responses. *J Immunol*, 2013, 191(11):5594-5602.
- [13] Vinnakota K, Hu F, Ku MC, et al. Toll-like receptor 2 mediates microglia/brain macrophage MT1-MMP expression and glioma expansion. *Neuro Oncol*, 2013, 15(11):1457-1468.
- [14] Hu F, aDzaye OD, Hahn A, et al. Glioma-derived versican promotes tumor expansion via glioma-associated microglial/

- macrophages Toll-like receptor 2 signaling. *Neuro-Oncol*, 2015,17(2):200-210.
- [15] Fonseca AC, Romao L, Amaral RF, et al. Microglial stress inducible protein 1 promotes proliferation and migration in human glioblastoma cells. *Neuroscience*, 2012,200:130-141.
- [16] Coniglio SJ, Segall JE. Review: molecular mechanism of microglia stimulated glioblastoma invasion. *Matrix Biol*, 2013, 32(7-8):372-380.
- [17] 陈志杰;石松生;陈春美. 脑胶质瘤干细胞靶向免疫治疗研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2014, 41(2):181-184.
- [18] a Dzaye OD, Hu F, Derkow K, et al. Glioma Stem Cells but Not Bulk Glioma Cells Upregulate IL-6 Secretion in Microglia/Brain Macrophages via Toll-like Receptor 4 Signaling. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2016, 429-440.
- [19] Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*, 2015, 523(7560):337-341.
- [20] da Fonseca AC, Badie B. Microglia and macrophages in malignant gliomas: Recent discoveries and implications for promising therapies. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013:264124.
- [21] Oosterhoff D, Loughheed S, van de Ven R, et al. Tumor-mediated inhibition of human dendritic cell differentiation and function is consistently counteracted by combined p38 MARK and STAT3 inhibition. *Oncoimmunology*, 2012, 1(5):649-658.
- [22] Debinski W, Choi YA, Gibo DM. Antigens characteristic of M2 type proinflammatory macrophages are present on GBM tumor cells. *Neuro-Oncology*, 2013, 15:iii62-iii67.
- [23] Salacz ME, Kast RE, Saki N. et al. Toward an onco-cytotoxic glioblastoma therapy: blocking MCP-1 with the MTZ Regimen. *Onco Targets ther*, 2016, 9:2535-2545.
- [24] Wesolowska, A. Kwiatkowska A, Slomnicki L, et al. Microglia-derived TGF-beta as an important regulator of glioblastoma invasion—an inhibition of TGF-beta-dependent effects by shRNA against human TGF-beta type II receptor. *Oncogene*, 2008, 27(7) 918-930.
- [25] Sarkar S, Dfing A, Zemp FJ, et al. Therapeutic activation of macrophages and microglia to suppress brain tumor-initiating cells. *Nat Neurosci*, 2014, 17(1):46-55.
- [26] Qin T, Wang C, Chen X, et al. Dopamine induces growth inhibition and vascular normalization through reprogramming M2-polarized macrophages in rat C6 glioma. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 286(2):112-123.
- [27] Coniglio SJ, Eugenin E, Dobrenis K, et al. Microglial stimulation of glioblastoma invasion involves epidermal growth factor receptor (EGFR) and colony stimulating factor 1 receptor (CSF-1R) signaling. *Mol Med*, 2012, 18:519-527.

急性颅脑损伤动物模型的研究进展

王荣美 综述 李玲 审校
第二军医大学药理教研室,上海 200433

摘要:急性颅脑损伤是医学界的难点和热点之一。实验动物模型的制备是急性颅脑损伤相关研究的基础。加速性脑损伤、减速性脑损伤、挥鞭样脑损伤、创伤性窒息以及爆炸伤模型是常见的颅脑损伤动物模型。本文主要对这五种急性颅脑损伤动物模型的损伤机制和造模方法进行简要综述。

关键词:颅脑损伤;动物模型;造模方法;损伤机制

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2016.03.018

急性颅脑损伤(acute brain injury, ABI)因其发病率高、致死致残率高、医护费用高等特点,近几年

十年已成为全球关注的严重的公共卫生问题之一^[1-3]。因此,深入认识和了解 ABI 的发病机制,提

收稿日期:2016-02-28;修回日期:2016-06-14

作者简介:王荣美(1990-),女,硕士研究生,主要从事心脑血管药理研究。

通讯作者:李玲(1973-),女,副教授,主要从事心脑血管药理研究。