

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.27.039

## 人骨髓间充质干细胞与羊膜间充质干细胞的研究进展\*

陈锐憬 综述,史明霞<sup>△</sup>审核

(昆明医科大学第一附属医院血液科/云南省血液病研究中心 650032)

[关键词] 间质干细胞;人骨髓间充质干细胞;羊膜间充质干细胞

[中图分类号] R321

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)27-3863-04

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)广泛存在于机体的各种组织器官中,例如骨髓、脂肪、羊膜、脐带等。最初 MSC 是在骨髓中被发现的,因此骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSC)被认为是干细胞的最好来源,并且用 BMSC 作为衡量其他组织干细胞来源的标准<sup>[1]</sup>。在其他组织来源的 MSC 中,羊膜间充质干细胞(amniotic mesenchymal stem cells, AMSC)因具有增殖能力强、免疫原性低和来源无伦理学争议等特点备受专家学者们的关注,被视为 BMSC 的理想替代物。本文就 BMSC 和 AMSC 的生物学特性、免疫调节机制及临床运用的潜在价值进行综述。

## 1 人羊膜间充质干细胞(hAMSC)和人骨髓间充质干细胞(hBMSC)的分离、培养和扩增

hBMSC 主要来源于骨髓,需经有创操作进行采集,具有一定伦理学争议。hBMSC 常用的体内分离方法有 4 种:密度梯度离心法、全骨髓贴壁分离法、流式细胞仪分离法和免疫磁珠分离法。其中密度梯度离心法应用最广泛也最为经典,此方法获得的 hBMSC 纯度高,增殖活性强,但操作复杂,故研究者常用简单易行的贴壁法与此结合。最近,有学者探索使用一种 BMSC 过滤装置分离纯化 MSC,这种滤过装置可快速、高效、可靠地分离 BMSC,避免 BMSC 被外界污染物污染<sup>[2]</sup>。BMSC 最常用的培养液是含 10%~20% 胎牛血清的 DMEM 培养基。MSC 在骨髓中的含量稀少,大约  $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$  个单核细胞中含有 1 个 MSC,体外分离培养、扩增纯化在科学研究及临床应用当中就显得尤为重要。研究表明,hBMSC 可稳定培养 15 代左右,而在第 15 代以后,细胞逐步出现衰老现象,在体外传代培养 20 代以后,细胞生长明显变慢,并呈现明显的老化现象。

hAMSC 是由胚胎发育过程中的胚外中胚层发育而来,是将羊膜组织剪碎用组织贴壁法或胰蛋白酶-胶原酶消化法分离得到的 AMSC,采集过程对母体和新生儿不造成任何损伤,不受伦理学和临床医学的限制。国内外文献报道 hAMSC 的分离培养尚无统一的方法,最常用的分离方法是组织块贴壁法和胰蛋白酶-胶原酶消化法。Parolini 等<sup>[3]</sup>发现,1 g 羊膜组织理论上应该含有  $5 \times 10^8$  个 hAMSC。通常,1 g 组织中 hAMSC 的产量约为  $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$  个。研究发现,hAMSC 传至 3~5 代后,细胞排列紧密,形态与成纤维细胞类似,以放射状漩涡样生长<sup>[4]</sup>。hAMSC 不能够自我分化,也不会增殖超过 70 代<sup>[5]</sup>。

## 2 hBMSC 和 hAMSC 的生物学特性

**2.1 表面标志及基因表达** 目前,还没有特异性的抗原可以直接鉴定 hBMSC,它不仅表达间质细胞表面抗原,还可以表达内皮细胞、上皮细胞、肌肉细胞的表面抗原,但不表达造血细胞的表面抗原<sup>[6]</sup>。BMSC 可表达的主要表面抗原黏附分子类,如 CD106、CD44、CD54、CD102、CD166 等;整合素家族,如 CD29、CD49、CD104 等;生长因子和细胞因子受体家族,如 IL-1R、IL-3R、IL-4R、IL-6R、IL-7R 等;干扰素受体;肿瘤坏死因子受体等,不表达 CD34、CD45、CD14 等造血干细胞表面标志。

hAMSC 也没有特异性的表面抗原,但随着分选干细胞侧群技术在多分化潜能干细胞中的广泛应用,研究者们通过用流式细胞仪、聚合酶链反应或者免疫细胞化学染色来分析 hAMSC 表面抗原标志后发现,hAMSC 可以表达间质细胞表面抗原,如 CD73、CD90、CD105,也可以表达 CD10、CD13、CD29、CD44、CD49c、CD49d、CD49e、CD54、CD140b、CD166、CD349、STRO-1 和 HLA-ABC。在使用聚合酶链反应检测时,CD271 和 CD117(ckit)为弱表达。hAMSC 不表达造血标志抗原 CD34、CD45,单核细胞标志物 CD14 和内皮细胞标志物 CD31、CD133、CD3 及 CD11<sup>[7]</sup>。但是 Chika 等<sup>[8]</sup>用流式细胞仪检测出 hAMSC 可以表达造血干细胞表面标志物 CD34、CD45、HLA-DR 和 CD14,阳性率分别为 3%、17%、14% 和 10%。Chika 等<sup>[8]</sup>还通过定量 RT-PCR 检测来衡量间充质干细胞标志物,发现载脂蛋白 D 的阴性标志物在 hBMSC 和 hAMSC 中的表达都很低,但是在 hAMSC 中的含量还要比 hBMSC 低 100 倍;LIF 和 MGP 都是 MSC 的阳性标志物,其中 LIF 和 MGP 在 hBMSC 中的表达率分别是 AMSC 的 1.5 倍和 2 200 倍,这说明 BMSC 和 AMSC 具有其各自不同的特性;他们继续使用定量 RT-PCR 来分析 Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc、Nanog 及 Lin28 基因在 hBMSC 和 hAMSC 中的表达情况,发现 hAMSC 的 Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc、Nanog 及 Lin28 基因表达率均要高于 hBMSC,提示 hAMSC 的干细胞特性要比 hBMSC 更接近于诱发型多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)。Oct3/4 是胚胎干细胞表面标志,对胚胎干细胞的增殖和多向分化具有重要作用,我国学者在研究 hAMSC 和 hBMSC 的生物学特性时发现,hAMSC 可表达 Oct3/4,而 hBMSC 不表达,进一步证明了 hAMSC 比 hBMSC 具有更强的干细胞特性<sup>[9]</sup>。

**2.2 免疫原性及免疫调节和抑制功能** hBMSC 和 hAMSC 一样,均只能表达低水平的 MHC-I 类分子,不表达 MHC-II

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260232);云南省中青年学术技术带头人后备人才培养项目(2010CI013);云南省科技厅昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目(2012FB031)。 作者简介:陈锐憬(1991—),在读硕士,主要从事干细胞移植及血液肿瘤方面的研究。 <sup>△</sup> 通信作者,E-mail:shm Xia2002@sina.com。

类分子及 B7-1、B7-2、CD40、CD40L 等 T 细胞共刺激分子,所以这两种 MSC 都具有较弱的免疫原性,在组织移植中不易引起免疫排斥反应<sup>[10]</sup>。MSC 可分泌转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、肝细胞生长因子(HGF)及 PGE2 等抑制 T 细胞的增殖、活化和防止免疫排斥反应;可产生 IDO 并通过色氨酸途径抑制 B 细胞的增殖与活化,抑制自身免疫作用;还可通过降低自然杀伤(NK)细胞  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )的分泌参与 NK 细胞的免疫调节<sup>[11]</sup>。有学者将 hAMSC 与人或兔的外周血单核细胞以不同比例进行混合培养,发现 hAMSC 可以抑制单核细胞的增殖,且当 hAMSC 与单核细胞的比例为 1 : 5 时抑制效果最显著;用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测混合培养以后的上清液发现,T 细胞所分泌的白细胞介素 2(IL-2)和 IFN- $\gamma$  细胞因子的水平显著下降,且 hAMSC 加入的量与 IL-2 和 IFN- $\gamma$  的分泌量呈反比<sup>[12]</sup>,说明 hAMSC 可通过抑制 IL-2 和 IFN- $\gamma$  细胞因子的分泌间接作用或细胞间直接接触调节各类免疫细胞活性而发挥其免疫抑制作用,hAMSC 具有低免疫原性,为其在干细胞移植治疗中预防移植物抗宿主病提供了依据。因此, MSC 免疫调节的研究潜力在很大程度上取决于其分泌的可以调节免疫细胞活性和影响细胞微环境的可溶性因子。随着对 MSC 免疫调节性质的不断研究,许多学者认为 MSC 的免疫调节特性是不成立的, MSC 受到微环境中不同炎症介质的诱导,并在不同炎症刺激下表现出较高的功能可塑性,使其不仅能抑制免疫反应,也能增强免疫效应<sup>[13]</sup>。

3 hBMSC 和 hAMSC 的临床应用前景

hBMSC 具有分化为骨细胞、软骨细胞、上皮细胞等的多向分化潜力,且易取样分离,具有弱的免疫原性,在组织工程和临床应用的研究当中备受青睐。最新研究表明,多种细胞因子都可促进 BMSC 分化为骨细胞和软骨细胞,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和成骨蛋白 2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)。有学者就将 BMP-2/VEGF-165 基因转染后的 BMSC 通过关节镜髓芯减压移植入兔股骨头坏死的骨髓腔中,发现移植 4 周后即有新生骨生成,移植 8 周后,股骨头坏死区域的缺损骨质已基本被修复,骨质也得到了改善,骨质修复的生理期限也有所缩短。表明人 BMP-2/VEGF-165 基因转染的 BMSC 在股骨头坏死的临床治疗中具有可观的疗效<sup>[14]</sup>。在缺血性心脏病的研究当中,有学者构建了一种双特异性抗体,并辅助 BMSC 移植入心肌梗死小鼠体内,发现这种双特异性抗体可以提高小鼠 BMSC 的归巢率,显著提高了干细胞移植治疗缺血性心脏疾病的移植效率<sup>[15]</sup>。以往研究表明,增加体内 Th17 细胞和减少 Treg 细胞都可以触发炎症性疾病<sup>[16]</sup>。BMSC 可以通过调节炎症细胞因子的血清水平显示出有效的免疫抑制和抗炎作用<sup>[17-18]</sup>。有学者将 IL-10 通过基因工程转染入 BMSC 中,再将转染后的 BMSC 引入到大鼠同种异体肝移植中,发现移植 MSCs-IL-10 组的大鼠与盐水组的大鼠相比存活时间更长,且 Treg 细胞相关细胞因子(IL-10 和 TGF- $\beta$ 1)和转录因子(FoxP3)的表达也显著增加,同时 Th17 细胞相关的细胞因子(IL-17, IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  和 IL-23)和转录因子(ROR $\gamma$ t)显著减少<sup>[19]</sup>。表明 BMSC 在肝脏疾病的临床治疗应用中具有重要价值。随着 hBMSC 研究的不断深入,越来越多的学者将目光从动物实验转向了临床应用的研究。矽肺是一种不可逆的难以治愈的疾病,其特征是肺间质病变和肺部广泛的结节性的纤维化。有学者为了研究

hBMSC 和肝细胞生长因子是否对矽肺的治疗有效,将经肝细胞生长因子转染过的自体 BMSC 以每公斤体质量  $2 \times 10^6$  个的细胞量静脉输注到患者体内,并连续输注 3 周,结果发现患者的咳嗽、胸闷症状在干细胞输注后的 6 个月逐渐好转,肺功能也显著改善,说明 hBMSC 的多向分化潜能和免疫调节特性在矽肺的临床治疗中具有重要研究意义<sup>[20]</sup>。在乙型肝炎相关肝硬化治疗中,有学者在对患者进行自体 BMSC 移植的研究中发现,自体 BMSC 移植可以明显升高血清中炎症因子 TGF- $\beta$  水平,高浓度 TGF- $\beta$  诱导的 FoxP3 可通过拮抗 ROR $\gamma$ t 的功能来抑制 Th17 的分化。自体 BMSC 移植有望改善患者的肝功能,纠正乙型肝炎相关肝硬化患者体内 Treg/Th17 细胞的比例失衡,在以后的临床治疗当中拥有巨大的潜力<sup>[21]</sup>。现今,自体造血干细胞移植(autologous hematopoietic stem cell transplantation, AHST)已越来越多地被用于恶性血液性疾病的治疗中,然而移植早期淋巴细胞复苏率低也决定了 AHST 需要进一步优化来提高移植效率。AHST 的移植率取决于造血干细胞的植入和造血恢复的有效性,其在很大程度上也是由骨髓基质细胞决定的,移植前持续高剂量化疗使得骨髓基质细胞严重受损,而 BMSC 的独特的造血刺激活性可促进基质细胞再生。Batorov 等<sup>[22]</sup>比较了 BMSC 与自身造血干细胞共移植和标准自体造血干细胞移植在治疗恶性血液病患者中的疗效,并且首次发现共移植组更能促进移植早期淋巴细胞的恢复,尤其是记忆 T 细胞和幼稚 T 细胞的恢复,能有效改善造血干细胞输入量低或者机采淋巴细胞绝对值低患者的淋巴细胞复苏情况。这为临床提供了一种改善造血干细胞移植疗效的新方法。

hAMSC 可以分泌比 hBMSC 更为丰富的造血细胞因子,拥有更强的扩增能力和免疫原性低等优势,是组织工程再生医学领域的重要生物材料来源。有学者将 hAMSC 与 hBMSC 共培养后发现, hAMSC 不仅具有成骨分化能力,还可以促进 hBMSC 的增殖及分化为成骨细胞,并能促进成骨细胞的生长和碱性磷酸酶的合成,也可上调骨生成相关蛋白在成骨细胞中的表达<sup>[23]</sup>。促进间充质细胞骨再生的研究还需进一步建立动物模型实验,更好地应用于再生医学。最近有研究表明, hAMSC 所具有的免疫特性可能被运用到自身免疫性疾病的治疗当中。Shu 等<sup>[24]</sup>将 hAMSC 注入人类类风湿关节炎大鼠模型的腹腔内,发现 hAMSC 可显著改善大鼠关节炎的严重程度,降低关节炎的病理改变,同时可显著抑制促炎细胞因子 IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  的分泌。此外, hAMSC 可以显著提高超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和抗氧化能力,同时降低丙二醛的水平,具有抗氧化的能力。hAMSC 可以减缓大鼠模型中关节炎疾病的进展,这可能是治疗类风湿性关节炎的一个很有希望的细胞来源。Yamahara 等<sup>[25]</sup>研究了 hAMSC 和人绒毛膜间充质干细胞(human chorion-derived mesenchymal stem cell, hCMSC)在细胞功能和治疗性质上的差异,证实了 hAMSC 和 hCMSC 均可以分泌大量有助于促进再生作用的可溶性因子,例如各种生长因子和细胞因子,包括 VEGF、胰岛素样生长因子-1、肝细胞生长因子、肾上腺髓质素和前列腺素 E2(prostaglandin E2, PEG2)。发现 hAMSC 所分泌的 PEG2 浓度要明显高于 hCMSC,尤其是将两种间充质干细胞与 CD4<sup>+</sup> T 细胞共培养时。他们还将两种 MSC 移植入 GVHD 动物模型中,首次证明了 hAMSC 可以更好地改善急性 GVHD 动物模型的病

理情况<sup>[25]</sup>。有研究证明,hAMSC 可以显著抑制 Th1/Th7 细胞的增殖和分化<sup>[26]</sup>,并通过有效抑制 Th1/Th7 细胞的免疫特性来缓解 GVHD。因此 hAMSC 在防治 GVHD 方面有着潜在的广阔前景。

#### 4 展 望

综上所述,hAMSC 虽然与 hBMSC 具有相似的细胞形态、生长特性、细胞表型、多向分化潜能、免疫原性及免疫调节作用,但是仍存在着一定差异,hAMSC 比 hBMSC 具有更强的增殖能力和干细胞特性,这可能与二者的来源稍有差异有关。hAMSC 在羊膜中的含量要远多于 hBMSC 在骨髓中的含量,且羊膜的获取几乎不存在伦理学争议;hAMSC 的干细胞相关基因表达水平平均要高于 hBMSC。但是这两种间充质干细胞具体的差异性及哪种细胞更适合作为细胞组织工程种子细胞及用于多种疾病的细胞治疗等问题,需要进一步更深入的研究。

#### 参考文献

- [1] Ullah I, Subbarao RB, Rho GJ, et al. Human mesenchymal stem cells-current trends and future prospective[J]. *Biosci Rep*, 2015, 35(2):1-18.
- [2] Otsuru S, Hofmann TJ, Olson TS, et al. Improved isolation and expansion of bone marrow mesenchymal stromal cells using a novel marrow filter device[J]. *Cytotherapy*, 2013, 15(2):146-153.
- [3] Parolini O, Alviano F, Bagnara GP, et al. Concise review: Isolation and characterization of cells from human term placenta; outcome of the first international workshop on placenta derived stem cells[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(2):300-311.
- [4] Qiang Y, Liang G, Yu L, et al. Human amniotic mesenchymal stem cells alleviate lung injury induced by ischemia and reperfusion after cardiopulmonary bypass in dogs [J]. *Lab Invest*, 2016, 96(5):537-546.
- [5] Kim SW, Zhang HZ, Kim CE, et al. Amniotic mesenchymal stem cells with robust chemotactic properties are effective in the treatment of a myocardial infarction model [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(2):1062-1069.
- [6] McCarty RC, Gronthos S, Zannettino AC, et al. Characterisation and developmental potential of ovine bone marrow derived mesenchymal stem cells[J]. *J Cell Physiol*, 2008, 23(1):121-125.
- [7] Lindenmir A, Hatlapatka T, Kollwiq G, et al. Mesenchymal stem or stromal cells from amnion and umbilical cord tissue and their potential for clinical applications [J]. *Cells*, 2012, 1(4):1061-1088.
- [8] Chika K, Kaixuan Z, Yuji T, et al. Characterization of amniotic stem cells [J]. *Cellular Reprogramming*, 2013, 16(4):298-305.
- [9] 洪佳琼, 高雅, 宋洁, 等. 人羊膜间充质干细胞与骨髓间充质干细胞的生物学特性及免疫抑制作用的比较[J]. *中国实验血液学杂志*, 2016, 24(3):858-864.
- [10] Bagley RG, Weber W, Rouleau C, et al. Human mesenchymal stem cells from bone marrow express tumor endothelial and stromal markers[J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(3):619-627.
- [11] 赵春华. 间充质干细胞系统:解析机体免疫调控和代谢平衡[J]. *中国实验血液学杂志*, 2013, 21(2):263-267.
- [12] Xue Y1, Miao Z, Sun H, et al. Effects of human amniotic mesenchymal stromal cells on rabbit T-cell responses in a xenolymphocyte reaction assay[J]. *Exp Clin Transplant*, 2014, 12(3):253-260.
- [13] Kim N, Cho SG. Overcoming immunoregulatory plasticity of mesenchymal stem cells for accelerated clinical applications[J]. *Int J Hematol*, 2016, 103(2):129-137.
- [14] Ma XW, Cui DP, Zhao DW, et al. Vascular endothelial growth factor/bone morphogenetic protein-2 bone marrow combined modification of the mesenchymal stem cells to repair the avascular necrosis of the femoral head[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9):15528-15534.
- [15] Deng W, Chen QW, Li XS, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells with CD47 high expression via the signal transducer and activators of transcription signaling pathway preventing myocardial fibrosis[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9):10555-10564.
- [16] Kimura A, Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(7):1830-1835.
- [17] Tatara R, Ozaki K, Kikuchi Y, et al. Mesenchymal stromal cells inhibit Th17 but not regulatory T-cell differentiation[J]. *Cytotherapy*, 2011, 13(6):686-694.
- [18] Augello A, Tasso R, Negrini SM, et al. Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(4):1175-1186.
- [19] Niu J, Yue W, Song Y, et al. Prevention of acute liver allograft rejection by IL-10-engineered mesenchymal stem cells[J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 176(3):473-484.
- [20] Liu WW, Wang HX, Yu W, et al. Treatment of silicosis with hepatocyte growthfactor-modified autologous bone marrow stromal cells: a non-randomized study with followup[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3):10672-10681.
- [21] Xu L, Gong Y, Wang B, et al. Randomized trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cells transplantation for hepatitis B virus cirrhosis: Regulation of Treg/Th17 cells [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(8):1620-1628.
- [22] Batorov EV, Shevela EY, Tikhonova MA, et al. Mesenchymal stromal cells improve early lymphocyte recovery and T cell reconstitution after autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with malignant lymphomas. [J]. *Cell Immunol*, 2015, 297(2):80-86.
- [23] Wang Y, Yin Y, Jiang F, et al. Human amnion mesenchymal stem cells promote proliferation and osteogenic differentiation in human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *J Mol Histol*, 2015, 46(1):13-20.
- [24] Shu J, Pan L, Huang X, et al. Transplantation of human

amnion mesenchymal cells attenuates the disease development in rats with collagen-induced arthritis[J]. Clin Exp Rheuma-tol,2015,33(4):484-490.

[25] Yamahara K,Harada K,Ohshima M,et al. Comparison of angiogenic, cytoprotective, and immunosuppressive properties of human amnion- and chorion-derived mesenchymal stem cells[J]. PLoS One,2014,9(2):e88319.

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.27.040

[26] Ohshima M, Yamahara K, Ishikane S, et al. Systemic transplantation of allogenic fetal membrane-derived mesenchymal stem cells suppresses Th1 and Th17 T cell responses in experimental autoimmune myocarditis[J]. J Mol Cell Cardiol,2012,53(3):420-428.

(收稿日期:2016-11-15 修回日期:2017-04-02)

小胶质细胞极化在神经系统疾病中的研究进展\*

徐 陶 综述,黄杜娟,曾俊伟<sup>△</sup>审校

(遵义医学院生理学教研室/贵州省麻醉与器官功能保护重点实验室,贵州遵义 563000)

[关键词] 小胶质细胞;极化;神经系统疾病

[中图法分类号] R741 [文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)27-3866-04

神经炎症反应是许多神经系统病变的重要病理基础。在病变进程的不同阶段,小胶质细胞内的一些炎症因子、趋化因子和蛋白激酶的表达呈动态变化。病变部位的小胶质细胞往往具有双重作用,小胶质细胞病态活化可释放高水平的促炎因子及细胞毒性物质,作用于神经元,促进其凋亡坏死;另一方面,小胶质细胞吞噬清除细胞碎片,并释放神经生长因子及抗炎因子而减轻神经损伤,促进组织修复。近年的研究表明,在神经系统疾病发展的不同阶段,可见小胶质细胞多重活化表型转换,这可能与局部微环境变化有关。本文对小胶质细胞表型转化在神经系统疾病发展中的作用方面近年的研究进展进行综述,为寻找更加有效的神经疾病治疗靶点提供理论依据。

1 小胶质细胞表型分类

小胶质细胞作为中枢神经系统的固有免疫细胞,对细胞外环境变化非常敏感,当中枢神经系统受到损伤,例如感染、脑创伤、缺血性损伤时,小胶质细胞从静息态转化为阿米巴状的激活态。活化的小胶质细胞分为经典活化状态(M1型)和选择活化状态(M2型)<sup>[1]</sup>。M1型小胶质细胞 Toll 样受体活化,胞体变大,突起回缩变粗、变短,Toll 样受体 4(TLR4)和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶复合体表达上调,转录因子核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)活化,并产生促炎因子白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-6 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、趋化因子(CCL2、CXCL9 和 CXCL10 等)及氧化代谢产物,对神经元产生毒性作用,促进炎症和组织损伤。该表型的常见标记物有一氧化氮合酶(iNOS)、环氧酶-2(COX-2)及一些膜表面分子如 CD16、CD32、CD86 和 MHC II 等。小胶质细胞 M1 表型标记物往往在损伤减轻或病原体清除后下调,但失控或过度的 M1 活化可以释放多种神经活性物质,造成神经元损伤,引发神经系统退行性病变。

M2 型小胶质细胞分为 M2a、M2b 和 M2c 3 类表型。M2a 表型由 IL-4 和 IL-13 诱导,形态较小,突起变少、变长,可分泌高水平的抗炎因子如 IL-4、IL-13 及转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、

并伴有 IL-12 低表达而 IL-10 高表达,通过清道夫受体和基质降解酶作用吞噬损伤的神经细胞碎片,抑制过度炎症反应,促进组织修复和神经元的再生,避免继发炎症损伤。M2a 表型常见标记物包括精氨酸酶-1(arginase-1)、甘露醇受体(Mrc1)、CD206、Ym1 和 Fizz1 等。当 IL-1 $\beta$  与 LPS 同时作用于小胶质细胞,或暴露于 IgA 免疫复合体时可以形成具有免疫调节表型的 M2b 亚型,表型标记物兼具 M1(iNOS、IL-1ra、TLR4、CD74、CD86、MHC II、NADPH 氧化酶复合体)和 M2(IL-4ra、IL-10、Socs3)细胞的特点,同时 STAT1、NF- $\kappa$ B1、NF- $\kappa$ B2 等表达上调,具有促炎/抗炎的双重作用。小胶质在吞噬凋亡细胞后,在 IL-10 诱导下呈现“去活化”的 M2c 抗炎表型,富含肌动蛋白的吞噬体 SLP-76,M2c 细胞在炎症反应下调后可帮助组织重塑和基质沉积,其表型标志物包括 CD163、CD206、Sphk-1 及 TGF- $\beta$  等。

2 小胶质细胞表型变化与神经系统疾病

2.1 脑出血(intracerebral hemorrhage,ICH) ICH 是指非创伤性脑实质内血管破裂引起的出血,病灶局部水肿和炎症对周边脑组织造成进一步损伤。ICH 早期血管破裂时,血液成分中的凝血酶、亚铁血红素、白细胞及血小板等可刺激小胶质细胞激活,释放炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 TNF- $\alpha$  及趋化因子 CX-CL2,促进神经元炎症损伤。ICH 的严重程度及血肿的大小影响 M1 和 M2 极化程度,反复的脑创伤会造成严重的皮质病变,M1 表型持续可达数月甚至数年<sup>[2]</sup>。ICH 大鼠小胶质细胞激活最早在出血 1 h 后即可观察到。在 ICH 小鼠 M1 表型标记物明显上调,4 h 后到达顶峰并维持 3 d,7 d 后逐渐减少;M2 表型标记物表达上升达峰值较 M1 晚,但也在 7 d 后表达下降<sup>[3]</sup>。在蛋白酶活化受体-1(PAR-1)基因敲除的 ICH 小鼠,M1 型小胶质细胞数量及炎症因子表达同步下降,提示 PAR-1 参与了 ICH 诱导的小胶质细胞 M1 极化。调节性 T 细胞可以通过 IL-10/GSK3 $\beta$ /PTEN axis 途径,促进小胶质细胞从 M1 型向 M2 型转变。在脑出血损伤的最后阶段,小胶质细胞 M2b

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81460266);教育部新世纪优秀人才计划(NCET-13-1070);贵州省遵义市科学技术联合基金(遵市科合社字 2016-26 号)。作者简介:徐陶(1992—),在读硕士,助理实验师,主要从事疼痛的神经化学机制方面的研究。 <sup>△</sup> 通信作者,E-mail: junweizeng@sohu.com。