·专题综述·

〔文章编号〕 1007-0893(2022)14-0133-04 DOI：10.16458/j.cnki.1007-0893.2022.14.041

小胶质细胞表型转换在脑缺血再灌注中作用的研究进展

梁晓瑜 郑丽芳※

（南方科技大学盐田医院，广东 深圳 518083）

〔**摘 要**〕 小胶质细胞是神经系统免疫的重要组成部分，脑缺血再灌注（CIR）是缺血性卒中损伤加重的重要机制之一，小胶质细胞与 CIR 中炎症反应关系密切。受不同因子途径影响，小胶质细胞被活化并表型转换为 M1、M2 不同亚型，调节小分子核糖核酸 miRNA–139、miRNA–137、长链非编码核糖核酸（lncRNA）–U90926 基因片段等基因的表达，抑制或激活 NOD 样受体蛋白 3（NLRP3）/ 半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 1（caspase–1）、Notch 等通路，从而产生促炎、抗炎作用，在 CIR 中呈现构筑炎症反应并参与炎症修复双向调节作用。

〔**关键词**〕 小胶质细胞；表型转换；脑缺血再灌注

〔**中图分类号**〕 R 743.3 〔**文献标识码**〕 A

Research Progress on the Role of Microglia Phenotypic Transformation in Cerebral Ischemia Reperfusion

LIANG Xiao-yu, ZHENG Li-fang※

(Yantian Hospital of Southern University of Science and Technology, Guangdong Shenzhen 518083)

〔**Abstract**〕 Microglia are an important part of nervous system immunity. Cerebral ischemia reperfusion (CIR) is one of the important mechanisms of aggravation of ischemic stroke injury. Microglia are closely related to inflammatory response in CIR. Under the influence of different factor pathways, microglia are activated and phenotypically converted into different subtypes of M1 and M2, which regulate micro ribonucleic acid. The expression of micro ribonucleic acid (miRNA)-139, miRNA-137, long non-coding ribonucleic acid (lncRNA)-U90926 gene fragment and other genes inhibits or activates NOD-like receptor protein 3 (NLRP3)/ cysteine aspartate proteolytic enzyme 1 (caspase-1) and Notch pathways. Thus, it can produce proinflammatory and anti-inflammatory effects, and constitute inflammatory response and participate in the bidirectional regulation of inflammatory repair in CIR.

〔**Keywords**〕 Microglia; Phenotypic transformation; Cerebral ischemia reperfusion

神经胶质细胞是神经组织中除了神经元以外的一大类细胞，在其中起着支撑、保护、维持稳定、营养等作用。神经胶质细胞包括星形胶质细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞等三种细胞，小胶质细胞是神经组织中巨噬细胞的别称，来源于骨髓的募集和分化，也有研究认为小胶质细胞起源于卵黄囊来源的红髓系祖细胞。在多种中枢神经系统（centra neural system，CNS）疾病中，可检测到小胶质细胞的活性增强，并转化为不同表型（M1/M2），不同表型分别具有促炎症和抗炎性质，其在 CNS 的进展和转归中发挥着重要的作用。脑缺血再灌注（cerebral ischemic reperfusion，CIR）是指缺血性脑卒中（cerebral ischemic stroke，CIS）血管再灌注后，相应神经组织出现进一步损伤及结构破坏的现象。实验研究及临床观察表明，CIR 是急性 CIS 脑损伤加重的原因之一，其病理机制主要包含自由基过度形成、兴奋性氨基酸毒性作用、钙离子超载及血脑屏障破坏等。大量动物实验表明炎症反应参与了 CIR 的发生进展。小胶质细胞在 CIR 中何时活化，如何接受不同细胞因子影响转化为作用相反的表型，并发挥怎样的作用，相关机制至今仍不能解释清楚。因此笔者就小胶质细胞的表型转换在 CIR 中的机制作用进行综述。

1 小胶质细胞的分型、表型转换及功能

小胶质细胞在刺激下被极化而呈现某种表型，受不同环境及不同进程的刺激，表型的呈现会有所差异。常见的表型可归类为主要两种，即经典激活型 M1 表型，

〔**收稿日期**〕 2022 - 05 - 09

〔**基金项目**〕 广东省自然科学基金项目（2020A151501287）；深圳市科创委自然基金面上项目（JCYJ20210324134800001，JCYJ20190808103401655）

〔**作者简介**〕 梁晓瑜，女，住院医师，主要研究方向是脑血管病研究。

〔**※ 通信作者**〕 郑丽芳（E-mail：575163506@qq.com；Tel：15307180827）

以及替代激活型M2表型。M2表型也存在（M2a、M2b、M2c）等亚型。Toll样受体4（toll like receptor 4，TLR4）、脂多糖（lipopolysaccharides，LPS）、γ–干扰素（interferon–γ，IFN–γ）等可诱导小胶质细胞极化为M1型，使之表达清除病原体的功能。但M1型小胶质细胞被过度活化后，将产生白细胞介素–β（interleukin–β，IL–β）、白细胞介素–6（interleukin–6，IL–6）、肿瘤坏死因子–α（tumor necrosis factor–α，TNF–α）等炎症因子，进一步扩大炎症反应，加深神经受损程度；小胶质细胞在白细胞介素–10（interleukin–10，IL–10）等因子影响下活化为M2型，表达抗炎等作用。同时存在研究发现M1表型在某些环境下可同时产生具有抗炎效果的细胞因子，具体作用机制仍在研究中。

2 小胶质细胞在CIR中的作用

2.1 小胶质细胞参与了炎症反应

CIR后，趋化因子与黏附因子大量产生，吸引循环系统的免疫细胞聚集于受损的脑实质周围，引起脑组织损伤。小胶质细胞在TNF–α、LPS等促炎因子的刺激下活化成经典激活型（M1表型），又产生高水平的促炎因子如TNF–α、白细胞介素–1（interleukin–1，IL–1）等，引起炎症的级联反应，进一步扩大炎症范围，破坏血脑屏障（blood brain barrier，BBB）完整性，最终加重脑部损伤。缺血引起神经元死亡而刺激神经元的释放损伤相关分子模式（damage–associated molecular pattern，DAMP），例如内源性肽聚糖和热休克蛋白（heat shock proteins，HSP），高迁移率族蛋白B1（high mobility group box 1，HMGB1），过氧化物酶家族蛋白（peroxidases，PRXs）和半乳糖凝集素（galectin）等，通过激活模式识别受体（pattern recognition receptor，PRR）触发强烈的免疫反应。PRR的激活通过κ基因结合核因/β干扰素TIR结构域衔接蛋白（nuclear factor–κ–gene binding/TIR–domain–containing adaptor inducinginterferon–β，NF–κB/TRIF）信号传导途径刺激小胶质细胞，可见小胶质细胞对CIR炎症反应导致的组织受损有极大的影响。然而通过培西达替尼（pexidartinib，PLX3397）消除小胶质细胞，脑部缺血灶面积出现增大，可见小胶质细胞的保护作用要大于破坏作用[1]。NOD样受体蛋白3（NOD–1ike receptor protein 3，NLRP3）炎症体主要存在于小胶质细胞体内，是调控IL–1β、IL–18等炎症因子成熟释放的重要物质。在神经炎症中，小胶质细胞和巨噬细胞内的NLRP3–炎症体能被β淀粉样蛋白（amyloid–beta，Aβ），α–共核蛋白（α–synuclein，α–syn）所激活。活化的NLRP3发生寡聚化，募集接头蛋白凋亡相关的斑点样蛋白（apoptosis–associated speck–like protein containing a CARD，ASC），通过胱天蛋白酶相关的募集结构域（caspase–associated recruitment domain，CARD）与热蛋白结构域（pyrin domain，PYD）相互作用，进一步激活半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶1（cysteinyl aspartate specific proteinase–1，caspase–1），进而加工白介素1β前体（pro–interleukin–1β，pro–IL–1β）为成熟的IL–1β，并释放于细胞外发挥作用[2]。小胶质的M1表型在促炎性的微环境下，大量产生一氧化氮合成酶（NO synthetase，NOS），该因子上调了氧自由基NO的产生，NO的过多形成细胞毒性，进一步造成组织细胞的受损。因此抑制M1表型活化有助于减少脑实质受损。抑制M1表型转化治疗可以考虑为未来的治疗CIR损伤的研究方向。神经元的缺氧时间影响了小胶质细胞的表型表达比例，缺氧期间M1表型持续活化：缺氧早期M1表型分泌TNF–α、IL1–β和IL–6增多，促进炎症发展；缺氧中期（2 h）M2的arginase–1的表达上调；至缺氧晚期（4 h），M1表型加速向M2转化；然而缺氧早期和晚期神经元受损的程度均较中期严重，考虑存在其他因素，在缺氧后期增强了对神经组织的破坏[3]。

2.2 小胶质细胞参与了CIR的修复

既往研究认为，小胶质细胞在CIR中促进炎症微环境形成，浸润在血管壁内皮周围，破坏血脑屏障的完整性，进一步破坏脑组织。通过小鼠的小胶质细胞模型及血管瘤内皮细胞模型（mouse henmangioma endothelial cel，EOMA）发现，EOMA可能通过白细胞分化抗原200（cluster of differentiation–200，CD200）–白细胞分化抗原200受体（cluster of differentiation–200 receptor，CD200R）通路，促进M1表型向M2a表型转换，激活M2清道夫受体并增强吞噬细胞碎片的活性，最终呈现出短暂性的BBB修复的结果以及相关炎性因子分泌减少。然而随着缺氧时间的延长，CD200的表达水平下降，M1表型转换缺乏抑制而得到进一步活化，最终加重BBB的破坏[4]。同时研究发现[5]，经典激活型M1也可生成促血管生成因子，促进损伤血管的修复，包括结扎损伤的血管，介导在血管末端，促进血管的生长和吻合。对缺血再灌注脑血管内皮及时调整小胶质细胞M1活化转换及增强部分活化部位，可实现对再灌注后破坏的血管进行精准修复。

3 小胶质细胞表型转换的分子机制研究

小胶质细胞的表型转换及表达比例的调节受多个分子及途径影响。本文作者主要从基因、蛋白、药物治疗等方面总结。

通过敲除不同基因片段可抑制小胶质细胞的活化和表达或促进M1向M2转换，相关基因的信号路径各有差异。小分子核糖核酸（micro ribonucleic acid，miRNA）即只含有21～23个核苷酸的短链核糖核酸（ribonucleic acid，RNA），因miRNA从脱氧核糖核酸

（deoxyribonucleic acid，DNA）转录而来，无法编译蛋白质，所以 miRNA 又称为非编码 RNA。miRNA 无法控制氨基酸的排列顺序、多肽链的长度以及空间排列形式，其主要作用是调控蛋白质的表达数量水平，因此实验可以通过对 miRNA 进行过表达或抑制表达处理，来达到影响蛋白质表达水平的结果。通过调控不同基因的表达进而调控蛋白表达水平，由于直接调控途径中关键因子的生成数量，相较于其他方法而言，更具有高效率性及准确性。强调 miRNA–139 核苷酸片段表达后发现，过表达 miR–139 导致 c–Jun 转录因子表达水平的下降，下调了 NLRP3/caspase–1 通路的表达，并抑制 ASC 等因子的释放，最终改善缺血再灌注后神经的损伤 [6]。固有免疫系统是人体免疫系统的重要组成部分，通过识别各种危险因子及病原体，启动体内免疫炎症反应，破坏、去除相关危险相关分子。含核苷酸结合寡聚化结构域（nucleotide binding oligomerization domain，NOD）样受体（NOD like receptors，NLRs）是体内危险相关分子及病原体的主要识别系统，而 NLRP3 则是 NLRs 中常见的、人类研究较深入的识别传感蛋白，是炎症复合小体的重要组成部分。caspase–1 在 NLRP3 的识别传感作用下被激活，形成促炎性的环境，最终促进 pro–IL–1β 等炎性因子成熟分泌。因此抑制 NLRP3/caspase–1 信号通路，有助于抑制炎症产生，减少炎症反应。人特异性 CHRFAM7A 基因通过抑制 NLRP3/caspase–1 途径，减少 NF–κB 通路的激活，促进小胶质细胞 M1 到 M2 的转化，最终减少细胞炎性损伤 [7]。Notch 通路是经典的转录反应激活通路，含有 Notch1–4 等多种分型。研究发现，Notch1 是外泌体 miRNA–137 的直接靶向基因，小胶质细胞可通过转运外来体 miRNA–137 减轻缺血再灌注脑损伤 [8]。外泌体来自于多种细胞的细胞核内，在免疫反应、抗原呈递等方面主要发挥传递信息的作用，由于外泌体是细胞中包括多种蛋白分子的小囊泡结构，相对于干细胞而言体积更小，成分更单纯，因此应用于神经修复等场所更具有优越性。在骨髓间充质干细胞衍生的外泌体（bone marrow mesenchymal stem cells，BMSC–Exos）的作用下，小胶质细胞 M2 表型的标志物 CD206 和 1 型精氨酸酶（arginase 1，Arg–1）出现上调，提示 BMSC–Exos 可促进 M1 极化小胶质细胞向 M2 表型转移，下调 NLRP3 炎性体表达，抑制 NLRP3 炎性体介导的炎症和细胞凋亡 [9]。相较于只含有约 20 余核苷酸的 miRNA，长链非编码核糖核酸（long non–coding ribonucleic acid，lncRNA）核苷酸量可达 200 以上。lncRNA 不具有编码表达功能，但在遗传、细胞周期、细胞凋亡分化等方面具有调控的作用。实验中敲除小胶质细胞 lncRNA–U90926 基因片段，可以观察到中性粒细胞向缺血性病变部位的浸润面积出现减少，机制可能为 U90926 直接与苹果酸脱氢酶 2（recombinant malate dehydrogenase 2，MDH2）结合，并竞争性地抑制 MDH2 与趋化因子 CXC 配体 2（chemokine CXC ligand 2，CXCL2）的结合非翻译区（untranslational region，UTR），从而防止 MDH2 介导的 CXCL2 mRNA 衰变 [10]。

组蛋白去乙酰化酶（histone deacetylase，HDACs）是一种核苷酸的修饰酶，通过对组蛋白的去乙酰化修饰从而使转录沉默。组蛋白的乙酰化及去乙酰化，与细胞的凋亡密切相关，因此 HDACs 的调控多见于多项肿瘤相关研究中。研究发现，使用 HDAC3 可借助环磷酸鸟苷 – 腺苷酸合成酶 – 干扰素基因刺激蛋白（cyclic guanosine monophosphate–adenylate synthase–stimulator of interferon genes，cGAS–STING）途径，通过上调环状 GMP–AMP 合酶（cyclic guanosine monophosphate–adenylate synthase，cGAS）的表达，增强 cGAS 下游干扰素基因刺激剂（stimulator of interferon genes，STING）的激活，促进了 I 型干扰素的表达，造成了促炎症微环境的形成 [11]。cGAS–STING 途径与 M1/M2 表型转换相关，抑制 cGAS–STING 途径，则促进小胶质细胞向 M2 表型转换，从而抑制炎症表达 [12]。髓过氧化物酶（myeloperoxidase，MPO）可通过促进活性氧（reactive oxygen species，ROS）和活性氮（reactive nitrogen species，RNS）的产生，增强小胶质细胞 M1 活化来介导氧化应激，抑制 MPO 可显着减少脑梗塞并改善神经功能 [13]。脑特异性高表达蛋白 TMEM59L 为 I– 型跨膜蛋白，可通过下调小胶质细胞标志物离子钙接头蛋白分子 –1（ionized calcium bindingadaptor molecule–1，Iba–1）表达来抑制小胶质细胞的 M1 表型活化，TMEM59 相关基因敲除后的啮齿类动物出现了 NLRP3，ASC，caspase–1，gasdermin 家族蛋白 N 末端结构域（N–terminal domain of gasdermin family proteins，GSMDD–N），等炎症因子表达明显增加，从而引起炎症反应的增强 [14]。促红细胞生成素（erythropoietin，EPO）[15] 均可减轻神经胶质细胞增生，并促进小胶质细胞向有利的 M2 表型极化，从而改善脑缺血后的白质完整性。抑制蛋白酪氨酸磷酸酶 1B（protein tyrosine phosphatase 1B，PTP1B）发现 PRK 样内质网激酶（PRK–like ER kinase，PERK）信号下调，导致参与的原发性小胶质细胞的内质网应力依赖性自噬减轻了氧糖剥夺 / 复氧复糖模型（oxygen–glucose deprivation/re–oxygenation，OGD/R）诱导的小胶质细胞活化，最终促进了 M2 表型的转化 [16]。含溴结构域蛋白 4（bromodomain–containing protein 4，BRD4）是溴结构域和超末端家族蛋白家族的成员，BRD4 的表达可促进 M1 表型小胶质细胞表达 NLRP3、ASC，炎症反应加重，应用溴结构域蛋白抑制剂 JQ1 可抑制 BRD4 的表达，减少小胶质细胞的活化、表达，和炎症因子的分泌，从而抑制炎症 [17]。可透过血脑屏障的 Sirtuin–1 新型小分子激活剂 SRT2104，最近被

证明具有抗炎特性，SRT2104 可以显着抑制小胶质细胞中 NF–κB 的激活并增强 Sirt–1 的表达，SRT2104 通过改变小胶质细胞表型来保护 OGD/R 诱导的损伤[18]。脂氧合蛋白 A4（lipoxins A4，LXA4）对局灶性 CIR 损伤具有保护作用，降低促炎细胞因子 IL–1β 和 TNF–α 的表达。此外，LXA4 抑制了 Notch–1，Hes1，诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）和 CD32 的表达，上调了 Hes5，Arg–1 和 CD206 的表达，进而抑制 M1 型而促进 M2 表型表达[19]。突触后密蛋白度 93（postsynaptic density protein 93，PSD–93）与 CX3 趋化因子配体 1（chemokine C–X3–C–motif Ligand 1，CX3CL1）结合以激活小胶质细胞，上调促炎性细胞因子 IL–1β 和 TNF–α 的表达并引发神经炎症。PSD–93–CX3CL1 相互作用的特异性阻断减少了 I / R 诱导的神经元细胞死亡[20]。

4 小胶质细胞在 CIR 中的研究展望

小胶质细胞作为神经组织中的重要免疫细胞，具有高度的可塑性和异质性，在外界的因子影响下转换表型，分泌促炎或抗炎的分子，实现对神经组织的双向调节作用。何种外界因子在何种条件下起主要作用，仍然需要继续深入探讨。现今实验表明，小胶质细胞的 M2 表型具有抗炎作用，其表达的上调有助于脑损伤的减少，促进修复。这给予未来 CIR 治疗以启示：再灌注期间输注促转化 M2 因子促进小胶质表型转换，改善缺血部位损伤比例，提高神经缺损恢复比例。但输注时机、输注剂量、如何维持M2恒定表达，仍需要大量基础及临床研究支持。

〔参考文献〕

〔1〕 Jin WN，Shi SX，Li Z，et al. Depletion of microglia exacerbates postischemic inflammation and brain injury〔J〕. Cerebr Blood Flow Metabol，2017，37(6)：2224-2236.

〔2〕 王迪雅. NLRP3 炎症体介导的小胶质细胞炎症反应在锰神经毒性中的作用〔D〕. 西安：第四军医大学，2016.

〔3〕 罗振钊，王静，孔曼，等. 神经元损伤度对小胶质细胞表型的影响〔J〕. 华中科技大学学报（医学版），2015，44(1)：47-51.

〔4〕 吴卫江，陆华，徐杰，等. 缺氧应激下血管内皮细胞调控小胶质细胞表型及其机制〔J〕. 临床神经外科杂志，2021，18(2)：182-187.

〔5〕 Salehi A，Zhang JH，Obenaus A. Response of the cerebral vasculature following traumatic brain injury〔J〕. Cereb Blood Flow Metab，2017，37(7)：2320-2339.

〔6〕 Wang QS，Luo XY，Fu H，et al. MiR-139 protects against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation(OGD/R)-induced nerve injury through targeting c-Jun to inhibit NLRP3 inflammasome activation〔J〕. Stroke Cerebrovasc Dis，2020，29(9)：105037.

〔7〕 Cao X，Wang Y，Gao L. CHRFAM7A Overexpression Attenuates Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury via Inhibiting Microglia Pyroptosis Mediated by the NLRP3/caspase-1 pathway〔J〕. Inflammation，2021，44(3)：1023-1034.

〔8〕 Zhang D，Cai G，Liu K，et al. Microglia exosomal miRNA-137 attenuates ischemic brain injury through targeting Notch1〔J〕. Aging(Albany NY)，2021，13(3)：4079-4095.

〔9〕 Liu X，Zhang Mt，Liu H，et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate cerebral ischemia-reperfusion injury-induced neuroinflammation and pyroptosis by modulating microglia M1/M2 phenotypes〔J〕. Exp Neurol，2021，341(28)：113700.

〔10〕 Chen J，Jin J，Zhang X，et al. Microglial lnc-U90926 facilitates neutrophil infiltration in ischemic stroke via MDH2/CXCL2 axis〔J〕. Mol Ther，2021，29(9)：2873-2885.

〔11〕 Liao Y，Cheng J，Kong X，et al. HDAC3 inhibition ameliorates ischemia/reperfusion-induced brain injury by regulating the microglial cGAS-STING pathway〔J〕. Theranostics，2020，10(21)：9644-9662.

〔12〕 Jiang GL，Yang XL，Zhou HJ，et al. cGAS knockdown promotes microglial M2 polarization to alleviate neuroinflammation by inhibiting cGAS-STING signaling pathway in cerebral ischemic stroke〔J〕. Brain Res Bull，2021，171(1)：183-195.

〔13〕 Chen S，Chen H，Du Q，et al. Targeting Myeloperoxidase (MPO)Mediated Oxidative Stress and Inflammation for Reducing Brain Ischemia Injury：Potential Application of Natural Compounds〔J〕. Front Physiol，2020，11(5)：433.

〔14〕 Zhang L，Wang T，Chen XF，et al. TMEM59 protects against cerebral ischemic stroke by suppressing pyroptosis and microglial activation〔J〕. Biochem Biophys Res Commun，2021，543(5)：72-79.

〔15〕 Wang R，Li J，Duan Y，et al. Effects of Erythropoietin on Gliogenesis during Cerebral Ischemic/Reperfusion Recovery in Adult Mice〔J〕. Aging Dis，2017，8(4)：410-419.

〔16〕 Zhu Y，Yu J，Gong J，et al. PTP1B inhibitor alleviates deleterious microglial activation and neuronal injury after ischemic stroke by modulating the ER stress-autophagy axis via PERK signaling in microglia〔J〕. Aging(Albany NY)，2021，13(3)：3405-3427.

〔17〕 Zhou Y，Gu Y，Liu J. BRD4 suppression alleviates cerebral ischemia-induced brain injury by blocking glial activation via the inhibition of inflammatory response and pyroptosis〔J〕. Biochem Biophys Res Commun，2019，19(3)：481-488.

〔18〕 Fu CY，Zhong CR，Yang YT，et al. Sirt1 activator SRT2104 protects against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced injury via regulating microglia polarization by modulating Sirt1/NF-κB pathway〔J〕. Brain Res，2021，1753(4)：147236.

〔19〕 Li QQ，Ding DH，Wang XY，et al. Lipoxin A4 regulates microglial M1/M2 polarization after cerebral ischemia-reperfusion injury via the Notch signaling pathway〔J〕. Exp Neurol，2021，339(5)：113645.

〔20〕 Zhang Q，He L，Chen M，et al. PSD-93 mediates the crosstalk between neuron and microglia and facilitates acute ischemic stroke injury by binding to CX3CL1〔J〕. Neurochem，2020，157(6)：2145-2157.