

中枢神经系统免疫性疾病单细胞组学研究进展

李志彬 程希 邱伟

【摘要】 中枢神经系统免疫性疾病包括多发性硬化、视神经脊髓炎谱系疾病、抗髓鞘少突胶质细胞糖蛋白抗体相关疾病和抗 N-甲基-D-天冬氨酸受体脑炎等,发病机制复杂,多种中枢神经系统和外周来源细胞参与其中。单细胞组学通过一系列测序技术实现高分辨检测单个细胞水平表达谱,以解析细胞异质性及其功能表型。本文对单细胞测序技术在常见中枢神经系统免疫性疾病各类型细胞研究中的进展进行综述。

【关键词】 自身免疫性疾病; 中枢神经系统疾病; 序列分析; B-淋巴细胞; T淋巴细胞; 单核细胞; 巨噬细胞; 小神经胶质细胞; 树突细胞; 综述

Research progress of single-cell omics in central nervous system immune diseases

LI Zhi-bin, CHENG Xi, QIU Wei

Department of Neurology, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong, China

Corresponding author: QIU Wei (Email: qiuwei@mail.sysu.edu.cn)

【Abstract】 Central nervous system immune diseases include multiple sclerosis (MS), neuromyelitis optica spectrum disorders (NMOSDs), myelin oligodendrocyte glycoprotein - IgG associated disorders (MOGAD) and anti-N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) encephalitis. The pathogenesis of these diseases is complex, and a variety of central nervous system and peripheral cells are involved. Single-cell omics has achieved high-resolution detection of the expression profile at the level of single-cell through a series of sequencing techniques to analyze cell heterogeneity and functional phenotype. This review will summarize the single cell sequencing (SCS) and its applications in the above-mentioned diseases.

【Key words】 Autoimmune diseases; Central nervous system diseases; Sequence analysis; B-lymphocytes; T-lymphocytes; Monocytes; Macrophages; Microglia; Dendritic cells; Review

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81771300, 81971140, 82101418), and Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. 2020A1515010053).

Conflicts of interest: none declared

中枢神经系统免疫性疾病系机体免疫功能异常引起中枢神经系统功能障碍的一类疾病。根据免疫应答靶抗原,分为攻击髓鞘(少突胶质细胞)的特发性炎性脱髓鞘疾病(IHDDs),攻击星形胶质细胞中胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的自身免疫性胶质纤维酸性蛋白星形细胞病和攻击神经元的自身免疫性脑炎(AE);根据参与异常免疫应答的免疫细胞类

型,分为适应性免疫中以T淋巴细胞(以下简称T细胞)和B淋巴细胞(以下简称B细胞)为主介导的多发性硬化(MS)、以B细胞介导的自身抗体靶向神经元表面抗原N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)的抗NMDAR脑炎、靶向星形胶质细胞水通道蛋白4(AQP4)的视神经脊髓炎谱系疾病(NMOSDs)和抗髓鞘少突胶质细胞糖蛋白免疫球蛋白G抗体相关疾病(MOGAD)^[1-2],以及固有免疫中髓系来源的单核细胞、巨噬细胞、小胶质细胞、树突状细胞(DC)、自然杀伤细胞(NK)和组织细胞来源的血管内皮细胞、周细胞;也可根据免疫细胞来源位置,分为外周来源和颅内固有免疫细胞。中枢神经系统复杂解剖结构和参与免疫应答的复杂细胞类型,使得采用新技术探索中枢神经系统免疫性疾病的发病机制十

doi:10.3969/j.issn.1672-6731.2022.01.002

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:81771300);国家自然科学基金资助项目(项目编号:81971140);国家自然科学基金资助项目(项目编号:82101418);广东省自然科学基金资助项目(项目编号:2020A1515010053)

作者单位:510630 广州,中山大学附属第三医院神经内科

通讯作者:邱伟,Email:qiuwei@mail.sysu.edu.cn

分必要。单细胞组学(single-cell omics)是新兴研究方向,基于单细胞测序这一新的高通量测序技术。单细胞测序包括单细胞转录组测序(scRNA-seq)、单细胞表观基因组测序(single-cell epigenomics sequencing)、单细胞ATAC测序(scATAC-seq)、单细胞免疫组库测序[包括B细胞受体(BCR)/T细胞受体(TCR)]、单细胞免疫球蛋白测序(scIg-seq)、单细胞质谱流式技术(CyTOF)、单细胞重组抗体(rAb)、单细胞蛋白分析(CITE-seq和REAP-seq)及特殊类型空间转录组测序(spatial transcriptomics sequencing)^[3-4]。区别于传统的常规组学技术(如RNA-seq、DNA-seq和ATAC-seq),单细胞测序需首先进行单细胞捕获,然后在单细胞水平进行独立测序和分析,以反映不同细胞类型之间的异质性,从而避免常规组学技术本质上多细胞混合检测的均值结果,并且在疾病早期诊断、生物学标志物检测、治疗药物选择、疗效评价和预后预测等各方面均有其独特优势。应用于中枢神经系统免疫性疾病,单细胞测序主要针对参与发病机制的免疫细胞(B细胞、T细胞、单核细胞、巨噬细胞、小胶质细胞、树突状细胞等)和受累组织细胞(少突胶质细胞、星形胶质细胞、神经元等),从而为阐明发病机制、发掘新的治疗靶点提供新的技术支持。中枢神经系统免疫性疾病主要累及青壮年,临床易复发且遗留神经功能缺损,其发病机制尚不明确,缺乏有效的治疗方案,患者预后各异,因此,亟待阐明发病机制,寻找早期诊断、鉴别诊断和早期预测疗效的生物学标志物,研发特异性免疫靶向药物。本文综述单细胞测序在常见中枢神经系统免疫性疾病各类型细胞研究中的进展,探讨其在该领域的研究方向和应用价值。

一、髓系细胞

中枢神经系统有两种主要的、解剖学上不同的常驻巨噬细胞群体——小胶质细胞和中枢神经系统相关巨噬细胞(CAMs),后者亦称为边界相关巨噬细胞(BAMs),位于血-脑屏障如脑膜、脉络丛膜和血管周围间隙^[5]。小胶质细胞作为一种特殊的免疫细胞,具有存活期长和自我增殖特性,参与神经系统发育和神经炎症过程,如吞噬清除髓鞘碎片,参与髓鞘再生并监测环境变化,维持内环境稳态^[6]。生理状态下,中枢神经系统常驻髓系细胞仅有小胶质细胞和中枢神经系统相关巨噬细胞,神经炎症可以促使外周免疫细胞浸润至中枢神经系统,从而引起

疾病进展,因此,包括单核细胞、巨噬细胞、小胶质细胞和树突状细胞在内的髓系细胞在免疫介导的中枢神经系统炎症性疾病中发挥关键作用^[7]。然而,上述中枢神经系统和外周常驻髓系细胞亚群在疾病发病机制和临床表现中的作用难以评估且存有争议。单细胞测序技术的进步提高了细胞分析的深度和广度,可以鉴定不同髓系细胞亚群及其功能。既往研究显示,小胶质细胞和中枢神经系统相关巨噬细胞存在共同的标志基因,如*Iba1*、*CSF1R*和*CX3CR1*^[8-10]。最新的scRNA-seq研究阐明小胶质细胞与中枢神经系统相关巨噬细胞之间的差异性分子标志物,如*TMEM119*、*P2RY12*和*HEXB*,在小胶质细胞中呈高表达,中枢神经系统相关巨噬细胞则富含*MS4A7*、*MRC1*和*PF4*^[11]。有趣的是,生理状态下脑脊液也存在小胶质细胞,Esaulova等^[12]采用scRNA-seq技术在多发性硬化、视神经脊髓炎谱系疾病和正常人群的脑脊液中均发现小胶质细胞,提示脑脊液小胶质细胞并非疾病依赖性或非疾病活动依赖性,但是由于细胞数量较少,该项研究未比较各种疾病之间的小胶质细胞比例。

单细胞测序不仅可以鉴定参与神经炎症病理生理过程的髓系细胞及其亚群,还可以揭示其不同转录特征和潜在的多样化功能特性^[11]。Mrdjen等^[9]在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)发病期间采用CyTOF技术分析小胶质细胞,发现其活化标志物如CD44、CD86、CD274和CD11c表达上调。此外,在实验性自身免疫性脑脊髓炎模型的脊髓中鉴定出表达CXCL10⁺和Saa3⁺的两种单核细胞亚群,这些亚群主要来自单核细胞前体(cMoP),独立于经典的Ly6C⁺单核细胞,耗竭CXCL10⁺和Saa3⁺单核细胞亚群可以缓解临床症状^[13]。Ajami等^[10]同样采用CyTOF技术,在实验性自身免疫性脑脊髓炎模型的脊髓中鉴定出5种单核细胞亚群。作为一种被募集到中枢神经系统的髓系细胞,单核细胞较中枢神经系统相关巨噬细胞表达更高的磷酸化信号转导与转录激活因子3(pSTAT3)。Mrdjen等^[9]采用CyTOF技术在实验性自身免疫性脑脊髓炎模型的中枢神经系统相关巨噬细胞中发现主要组织相容性复合体II(MHC II)、CD44和CD11c等活化标志物表达上调。Jordão等^[8]发现,中枢神经系统相关巨噬细胞可以下调其稳态核心基因(如*MRC1*、*PF4*、*STAB1*和*CBR2*)的表达,仅*MS4A7*表达稳定。有趣的是,实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中,活化的

小胶质细胞还表达较高水平的 CXCL10^[8,14-15],后者可以招募外周免疫细胞,因此,作为独立的 CXCL10⁺细胞类型,小胶质细胞可能是潜在治疗靶点。Mathur 等^[15]在实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中发现不同小胶质细胞亚群及其特异性表达的细胞因子和趋化因子如肿瘤坏死因子(TNF)、I 型干扰素(IFN- I)、CCL4 和 CXCL10,突显出小胶质细胞多样化的功能特性。树突状细胞是一种抗原呈递细胞(APC),生理状态下传统树突状细胞(cDC)并不存在于中枢神经系统,但是有极少数存在于中枢神经系统边界、脑膜和脉络丛膜^[9]。Esaulova 等^[12]收集 2 例复发-缓解型多发性硬化(RRMS)患者脑脊液和外周血单个核细胞(PBMCs),通过 scRNA-seq 技术在脑脊液中鉴定出传统树突状细胞和浆细胞样树突状细胞(pDC)。

在中枢神经系统免疫性疾病中,小胶质细胞、树突状细胞、单核细胞和巨噬细胞均有提呈抗原的能力,但究竟哪种细胞发挥主要的抗原提呈作用一直备受争议。神经炎症期间,中枢神经系统髓系细胞的复杂性急剧增强,树突状细胞和巨噬细胞进入中枢神经系统,引起抗原特异性 T 细胞对中枢神经系统的浸润,这些 T 细胞可能通过接触大脑表面呈现的自身同源抗原而被重新激活,髓系细胞业已证实在抗原提呈中发挥关键作用^[11]。因此,髓系细胞在神经炎症期间的转录组学特征和动态变化对理解神经炎症的病理生理学机制至关重要。Masuda 等^[11]从实验性自身免疫性脑脊髓炎模型的软脑膜、脉络丛膜和血管周围间隙中分离出 CD45⁺细胞并行高通量 scRNA-seq 测序,结果显示,病理状态下中枢神经系统相关巨噬细胞核心基因表达改变,且表达抗原呈递分子如 CD74;小胶质细胞表达的 *P2RY12* 和 *TMEM119* 基因下调,*LY86* 基因上调;同时发现数种单核细胞亚群,包括表达 *MERTK* 和 *MRC1* 基因或表达 *ZBTB46* 和 *CD209A* 基因的单核细胞衍生细胞。虽然上述细胞均表现出抗原提呈特征,但究竟哪种细胞发挥主要的抗原提呈作用仍不明确。该项研究揭示出中枢神经系统髓系细胞的复杂性以及神经炎症期间不同髓系细胞亚群的动态变化。尽管病理状态下中枢神经系统相关巨噬细胞迅速产生疾病相关亚群,但其抗原提呈作用与病理改变的启动无关。在实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中,高度多样化的树突状细胞和单核细胞衍生细胞仍是主要的抗原呈递细胞。Wolf 等^[16]也得出类似结果,

双环己酮草酰二胺(CPZ)模型的小胶质细胞的抗原提呈作用并不激活 T 细胞。此后,有两项独立研究显示,在实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中,小胶质细胞并不作为抗原呈递细胞参与抗原提呈,而是通过浸润的髓系细胞或树突状细胞而发挥这一作用^[8,17]。上述结论与 Mrdjen 等^[9]的研究结果一致,即表达 MHC II 类的树突状细胞在实验性自身免疫性脑脊髓炎的发生发展中至关重要,而非小胶质细胞或中枢神经系统相关巨噬细胞。由于树突状细胞亚群的数量较少,无论检测外周血还是脑脊液树突状细胞均较困难,采用 scRNA-seq 技术检测脑脊液分选后的树突状细胞有可能揭示其异质性。而且在不同的微环境下,细胞的基因表达亦发生改变,呈现出环境刺激引起的某些共同组织特异性标志性基因表达模式,表现出跨细胞类型的改变,如单核细胞源性树突状细胞表达典型的单核细胞和树突状细胞共有的标志性基因,使得神经炎症期间分离树突状细胞亚群更加困难^[9]。

不同疾病模型或者不同病程时期和病变部位,参与的髓系细胞亚群及其功能各有差异。一项针对实验性自身免疫性脑脊髓炎不同疾病状态的 scRNA-seq 研究显示,小胶质细胞可以上调疾病相关基因如 *LY86*、*CCL2*、*CXCL10*、*MKI67* 和 *CCL4* 的表达,并分为 4 种不同疾病相关亚群^[8]。实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中可以检测到高度增殖和表达趋化因子的小胶质细胞亚群,得以空间分布的方式描述不同功能小胶质细胞亚群。Hammond 等^[18]发现,溶血磷脂酰胆碱(LPC)诱导的脱髓鞘小鼠模型存在多种反应性小胶质细胞亚群,多发性硬化患者存在与小鼠模型共有的 CCL4⁺TMEM119⁺小胶质细胞,由此将实验数据转化为临床资料。多发性硬化患者脑组织也存在疾病相关小胶质细胞亚群^[19],并采用 scRNA-seq 测序鉴定出疾病特异性小胶质细胞亚群,同时发现维持稳态的核心基因如 *TMEM119* 表达下调^[20]。Masuda 等^[20]在双环己酮草酰二胺诱导的脱髓鞘小鼠模型中鉴定出两种存在转录组学差异的小胶质细胞亚群,一种为 Cst7⁺/SPPI⁺细胞,主要表达于脱髓鞘过程;一种为 Cybb⁺/CD74⁺细胞,出现于髓鞘修复再生过程。多发性硬化患者不同脑区小胶质细胞的表达模式也存有差异,如灰质小胶质细胞高表达 *IFN- γ* 基因,白质则高表达核因子- κ B (NF- κ B)信号转导通路基因^[21]。进展型多发性硬化(PMS)活动期,病变组织小胶质细胞具有高吞噬性

和活性,而浸润的单核细胞衍生的巨噬细胞很少,表明疾病晚期髓系细胞的组成存在较大差异;与复发-缓解型多发性硬化相比,进展型多发性硬化活动性病变组织浸润的单核细胞衍生的巨噬细胞亦很少^[22]。上述研究有助于未来可以更准确地基于时间和空间异质性分析这些髓系细胞功能。

小胶质细胞在髓鞘再生中的作用亦十分重要。晚近研究显示,*TREM2*缺陷小鼠的小胶质细胞无法上调脂质代谢基因并累积源自髓鞘磷脂胆固醇的胆固醇酯,从而导致神经元损伤^[23]。髓鞘再生过程中,小胶质细胞的重要功能是与少突胶质细胞相互作用,其中一种亚群通过表达特异性基因组,募集参与髓鞘再生的少突胶质细胞并提供营养支持。Hammond等^[18]在溶血磷脂酰胆碱治疗后的髓鞘再生阶段也发现这一小胶质细胞亚群的存在。然而,小胶质细胞与少突胶质细胞之间的相互作用关系尚待进一步研究。观察多发性硬化外观正常组织中小胶质细胞亚群和髓鞘组成(少突胶质细胞作用),以进一步识别其分子变化,有助于早期识别多发性硬化病变的早期形成^[24]。

随着检测技术的进步,如 scRNA-seq 测序与空间转录组测序相结合可以了解不同时间和空间异质性下的小胶质细胞特征,有助于阐明小胶质细胞功能,并在生理和病理状态下鉴定出特殊亚群,从而为研发靶向治疗药物提供方法。晚近研究采用 scRNA-seq 测序结合空间转录组测序分析多发性硬化患者全脑组织,并鉴定出一组富含活化标志物的特异性小胶质细胞,共同定位于大脑皮质下病变的慢性活动边界;空间转录组学展示出多发性硬化病变微环境中皮质与皮质下反应性星形胶质细胞的不同表达模式,同时发现原位脱髓鞘皮质病变 *CUX2*⁺ 神经元丢失;提示选择性皮质神经元损伤和神经胶质激活相关的谱系和区域特异性转录组变化可以预测多发性硬化进展^[25]。另一项研究基于单细胞测序研发一种 Tox-seq 策略以探究实验性自身免疫性脑脊髓炎固有免疫细胞的氧化应激谱,并筛选出有效治疗药物^[14]。该项新技术的研发加之对疾病早期的全面认识,对寻找早期诊断的生物学标志物和新的治疗措施尤为重要。

二、T细胞和B细胞

T细胞和B细胞作为适应性免疫的主要参与者,是导致中枢神经系统免疫性疾病发病的主角,在体液免疫和细胞免疫中均发挥多重作用。在慢

性进行性多发性硬化患者脑组织中,炎症病变活动性和脱髓鞘病变程度与聚集在血管周围间隙的T细胞数目呈正相关,且炎症病变区聚集 *CD8*⁺ 记忆T细胞(*T_m*),其高表达 *CXCR6*、*Ki-67* 和 *GPR56*,但缺乏细胞溶解酶颗粒酶 B^[26]。一项基于 *CyTOF* 技术的大规模研究在多发性硬化患者中发现一个扩增的辅助性T细胞(*Th*)亚群,其特征是表达粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(*GM-CSF*)和 *CXCR4*^[27],后者的配体在多发性硬化患者脑脊液和中枢神经系统呈高表达,这可能是细胞毒性T细胞进入脑组织的通道^[13]。另一项研究采用单细胞转录组学鉴定多发性硬化患者脑脊液白细胞组成和转录谱,发现脑脊液存在更高丰度的细胞毒性 *Th* 细胞,后者驱动脑脊液B细胞扩增^[28];同时发现实验性自身免疫性脑脊髓炎模型的滤泡辅助性T细胞(*T_{fh}*)可促进B细胞浸润中枢神经系统并加重病情,证实炎症反应过程中 *T_{fh}* 细胞与B细胞之间存在相互作用的关系^[28]。

B细胞在中枢神经系统免疫性疾病的发病机制中有多重作用,分泌促炎性因子和趋化因子,向T细胞提供自身抗原,尤其是产生针对中枢神经系统抗原的一系列自身抗体,自身抗体与抗原结合可以激发炎症反应,最终导致脱髓鞘和神经元损伤^[29];同时亦产生病毒储存库,诱发脱髓鞘改变^[30]。然而致病性B细胞激活的触发因素、初始抗原提呈和亲和力成熟的位置、迁移性抗原反应性B细胞组成迄今尚未阐明。近年随着单细胞测序技术的发展,使得可以在单细胞水平观察B细胞转录组学数据并行BCR测序,该方法可以保留批量分析中丢失的同源VH-VL配对的每个序列,追溯到原始B细胞,从而保留天然VH-VL配对,再进行下游分析,通过计算样本内部及其之间的克隆多样性以表征免疫反应强度,并通过量化抗体序列中体细胞超突变(SHM)率和高突变CDR3区长度以确定亲和力成熟程度。精确定位疾病特异性抗体产生的B细胞亚群,有利于进行定向免疫干预。尽管序列分析有助于确定B细胞发育和某些B细胞在疾病中的作用,但是无法揭示分泌抗体的特异性或功能。现有研究以重组单克隆抗体补充BCR测序,通常采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)扩增单个B细胞的VH和VL序列,探讨中枢神经系统免疫性疾病原发性免疫启动机制,探寻其起源位置,方可达到预防或治疗疾病的目的^[29]。单细胞测序技术可以构建VH和VL序列转录文库,通过比较血液与脑脊液之间的重叠序列

以鉴定自身抗体原始位置。Ramesh 等^[30]采用 scRNA-seq 和 scIg-seq 测序对复发-缓解型多发性硬化患者和正常对照者血液和脑脊液 B 细胞亚群进行测序,发现脑脊液 B 细胞向炎性细胞、记忆 B 细胞 (Bm) 和浆母细胞/浆细胞表型分化,并呈现出差异化的炎症性信号转导通路表达谱,Bm 细胞中 NF- κ B 和胆固醇生物合成途径激活,特定的细胞因子和趋化因子受体表达上调;浆母细胞/浆细胞中 SMAD/转化生长因子- β 1(TGF- β 1)信号转导降低;但 Bm 细胞和浆母细胞/浆细胞的免疫球蛋白重链序列高度相似,该项研究支持靶向驻留在中枢神经系统的活化 B 细胞可以作为一种潜在的有效控制难治性慢性病的策略。

Kowarik 等^[29]在视神经脊髓炎谱系疾病患者急性复发期收集其外周血和脑脊液,分选出 4 种 B 细胞亚群,BCR 测序显示,脑脊液 AQP4 特异性 B 细胞来自 Bm 细胞和浆母细胞,且外周血与脑脊液之间存在 B 细胞的动态交换。CD19⁺CD27⁻IgD⁻双阴性 (DN) B 细胞与脑脊液 AQP4 特异性浆母细胞密切相关,并在脑室中完成分化和亲和力成熟过程。由此推测,类似的强烈抗体分泌细胞 (ASCs) 反应可以引起 AQP4 特异性 DN B 细胞从疾病相关的生发中心释放和迁移至中枢神经系统,并可能为视神经脊髓炎谱系疾病中 B 细胞耗竭治疗效果提供依据^[31-32]。Kowarik 等^[33]认为,脑脊液免疫球蛋白组主要由免疫球蛋白重链和轻链可变区转录组特有的序列组成,迁移的 DN Bm 细胞可能代表重要的促炎性 B 细胞亚群,参与视神经脊髓炎谱系疾病中新疾病活动的启动。研究显示,视神经脊髓炎谱系疾病中幼稚 B 细胞已具有抗原特异性,疾病相关抗体可能从逃避早期耐受机制的自身反应性成熟幼稚 B 细胞库发展而来^[34];随着疾病进展,B 细胞对自身反应性进行微调节,对 IFN- γ 过度反应,因此认为,抑制 IFN- γ 信号转导通路可能提供一种新的治疗方法^[35]。目前,关于 DN B 细胞来源及其亚群尚未完全阐明,尤其在小鼠模型中未找到对应的 B 细胞亚群,这将是未来探寻单细胞组学在 DN B 细胞功能和疾病模型中作用的研究方向。

采用 scRNA-seq 和 BCR 测序,既可以观察疾病中 B 细胞的共同克隆型,也可以从抗体特异性 B 细胞中获得单克隆重组抗体。抗体分泌细胞通常携带体细胞突变的 Ig 基因,经 IgG 类别转换,克隆扩增的细胞携带相同的体细胞超突变模式。Feng 等^[36]

纳入 12 例抗 NMDAR 脑炎患者,其中 11 例出现 BCR 重链共同克隆,且不同患者中存在 4 种共享克隆型。Kreye 等^[37]采用单细胞克隆全长 Ig 重链和轻链基因,从抗 NMDAR 脑炎患者脑脊液 Bm 细胞和抗体分泌细胞中生成重组 N-甲基-D-天冬氨酸受体 1 (NR1) 单克隆抗体,导致神经元表面 NMDAR 表达下调并干扰 NMDAR 介导的电流,从而为抗 NR1 抗体的致病性提供最终证据,该研究获得抗 NMDAR 脑炎脑脊液抗体库数据,并提示血清抗 NMDAR 抗体阳性可以作为抗 NMDAR 脑炎患者出现神经精神症状的危险因素,支持脑脊液抗 NMDAR 抗体滴度作为生物学标志物与临床缓解相关。此后,研究者们从抗 NMDAR 脑炎患者中获得重组抗体进而开展一系列机制研究,克隆扩增的抗 NR1 特异性重组抗体在体外和体内均显示出致病性^[38],但其对 NMDAR 的亲和力不同^[39]。抗 NR1 特异性重组抗体较抗非 NR1 重组抗体突变少,与突变抗 NR1 特异性重组抗体相比,抗 NR1 特异性重组抗体对海马组织的亲和力较低,但仍可降低 NMDAR 电流^[40]。视神经脊髓炎患者抗 AQP4 特异性重组抗体可以识别 AQP4 细胞外结构域多个构象表位^[41]。视神经脊髓炎谱系疾病患者抗 AQP4 单克隆重组抗体,通过靶向不同羧基端 (C-末端) 细胞外结构域,激活 C1q 经典补体途径,介导 AQP4 补体依赖性细胞毒性作用^[42]。

随着单细胞测序技术的进步、序列分析的深入,外周血和(或)脑脊液免疫球蛋白转录组和蛋白质组的联合分析以及周围淋巴结和骨髓取样,有助于揭示自身抗体产生的原始位置以及分泌抗体的特异性或功能,未来也将提供中枢神经系统 B 细胞成熟的确切途径。探索中枢和外周神经系统之间抗原特异性 B 细胞来源、运输、克隆增殖和亲和力成熟,有利于在 B 细胞耗竭治疗时对发病机制和疗效影响机制的阐明;对不同疾病或同一疾病不同临床表型患者进行免疫组库测序 (IR-seq) 研究,更有助于探寻到有意义的生物学标志物。

三、组织细胞

Wheeler 等^[43]采用 scRNA-seq 结合 ATAC-seq 测序在实验性自身免疫性脑脊髓炎和多发性硬化患者中鉴定星形胶质细胞,其特征是核因子- κ B 相关因子 2 (Nrf2) 降低和 V-Maf 鸟类肌筋膜纤维肉瘤癌基因同源物 G (MAFG) 增加,MAFG 与蛋氨酸腺苷转移酶 II α (MAT2 α) 协同促进 DNA 甲基化并抑制抗氧化和抗炎转录。星形胶质细胞中粒细胞-巨噬

表1 多发性硬化单细胞组学研究

Table 1. Summary of researches on single-cell omics involving MS

文献来源	诊断	组织来源	单细胞测序技术	细胞类型	主要发现
Jordão等 ^[8] (2019)	MS	实验性自身免疫性脑脊髓炎模型不同脑区(软脑膜、血管周围间隙和脉络丛膜)	scRNA-seq	小胶质细胞、中枢神经系统巨噬细胞、巨噬细胞和树突状细胞	树突状细胞和单核细胞衍生细胞是实验性自身免疫性脑脊髓炎发病机制中抗原提呈的主要参与者
Hammond等 ^[18] (2019)	MS	溶血磷脂酰胆碱诱导的脱髓鞘小鼠模型脑组织、MS患者脑组织	scRNA-seq	小胶质细胞	小鼠模型脑组织可见多种反应性小胶质细胞亚型,其中CCL4 ⁺ TMEM119 ⁺ 小胶质细胞在MS患者脑组织中呈高表达
Ramesh等 ^[30] (2020)	MS	正常对照者、MS患者外周血和脑脊液	scRNA-seq, scIg-seq	B细胞、浆母细胞/浆细胞	脑脊液B细胞向炎性细胞、Bm细胞和浆母细胞/浆细胞表型分化
Giladi等 ^[13] (2020)	MS	实验性自身免疫性脑脊髓炎模型脊髓	scRNA-seq	单核细胞和巨噬细胞	鉴定出实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中枢神经系统致病亚群CXCL10 ⁺ 单核细胞
Schirmer等 ^[25] (2019)	MS	MS患者全脑组织	scRNA-seq, 空间转录组测序	神经元、神经胶质细胞	选择性皮质神经元损伤和神经胶质细胞活化相关谱系以及区域特异性转录组变化促进多发性硬化进展
Masuda等 ^[20] (2019)	MS	MS患者,双环己酮草酰二胺诱导的脱髓鞘小鼠多个脑区	scRNA-seq	小胶质细胞	在正常对照者以及脱髓鞘小鼠模型和MS患者中建立和对比小胶质细胞亚群转录谱
Böttcher等 ^[22] (2020)	MS	MS患者脑组织	CyTOF	小胶质细胞、单核细胞衍生的巨噬细胞	进展型多发性硬化晚期髓系细胞构成与复发-缓解型多发性硬化存在本质差异
Galli等 ^[45] (2019)	MS	复发-缓解型多发性硬化患者外周血和脑脊液	CyTOF	CD4 ⁺ T细胞、CD8 ⁺ T细胞、自然杀伤细胞和B细胞	在MS患者中发现1个扩增的Th细胞亚群,其特征是共表达粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和CXCR4
Mundt等 ^[17] (2019)	MS	MOG ₃₅₋₅₅ 诱导的实验性自身免疫性脑脊髓炎模型全脑白质	CyTOF	树突状细胞	传统树突状细胞而非中枢神经系统相关巨噬细胞或小胶质细胞对刺激T细胞启动神经炎症至关重要
Ajami等 ^[10] (2018)	MS	实验性自身免疫性脑脊髓炎模型脑组织、脊髓和外周血	CyTOF	单核细胞、巨噬细胞	血液来源的单核细胞由5种亚群组成,并迁移至实验性自身免疫性脑脊髓炎脑组织
Mendiola等 ^[14] (2020)	MS	实验性自身免疫性脑脊髓炎模型脊髓	scRNA-seq	小胶质细胞和浸润的巨噬细胞	氧化应激转录组学鉴定出具有神经毒性作用的中枢神经系统固有免疫细胞
Mrdjen等 ^[9] (2018)	MS	实验性自身免疫性脑脊髓炎模型脑组织	CyTOF	小胶质细胞、中枢神经系统相关巨噬细胞和树突状细胞	生理状态下,小胶质细胞、中枢神经系统相关巨噬细胞和树突状细胞共存于中枢神经系统,并在MS模型中呈现出随免疫微环境中疾病特异性转变
Schafflick等 ^[28] (2020)	MS	MS患者脑脊液和外周血,实验性自身免疫性脑脊髓炎模型脑组织和脊髓	scRNA-seq	白细胞、Tfh细胞和B细胞	确定MS患者脑脊液白细胞组成和转录谱以及Tfh细胞与B细胞之间的相互作用
Wheeler等 ^[43] (2020)	MS	MS患者大脑皮质和小脑,实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中枢神经系统	scRNA-seq, ATAC-seq	星形胶质细胞	在MS和实验性自身免疫性脑脊髓炎模型中鉴定出星形胶质细胞及其表达特征
Esaulova等 ^[12] (2020)	MS	脑脊液和外周血单个核细胞	scRNA-seq	髓系细胞和小胶质细胞	正常对照者和MS患者脑脊液均存在小胶质细胞

MS, multiple sclerosis, 多发性硬化; MOG, myelin oligodendrocyte glycoprotein, 髓鞘少突胶质细胞糖蛋白; scRNA-seq, single-cell RNA sequencing, 单细胞转录组测序; scIg-seq, single-cell immunoglobulin sequencing, 单细胞免疫球蛋白测序; CyTOF, cytometry by time-of-flight, 质谱流式技术; Tfh, follicular helper T cell, 滤泡辅助性T细胞; Bm, memory B cell, 记忆B细胞

细胞集落刺激因子促进MAFG和MAT2α以及促炎性因子的表达,从而发生实验性自身免疫性脑脊髓炎和潜在的多发性硬化的中枢神经系统病理改变。目前仍缺乏针对少突胶质细胞的单细胞测序研究,未来将侧重于不同疾病状态尤其是髓鞘形成过程的研究及其与其他细胞之间的相互作用。

近年来,随着全基因组测序(WGS)研究的发展,极大地提高了我们对稳态和反应状态下细胞特异性基因特征的认识,同时也带来基于基因表达的过度解读,导致不是根据病理生理学功能而是根据分子特征和标记对细胞亚群进行分类。Stratoulis等^[44]认为,根据病理生理学功能对小胶质细胞亚型进行鉴定更合适,这是由于小胶质细胞在中枢神经系统可能构成一个细胞群落,不同成员表现出不同特性,发挥不同生理学功能,并对刺激做出不同反应。Tuzlak等^[45]在针对Th细胞的单细胞测序研究

中提出,鉴定新的亚群不应局限于表达极少的特异性标志性基因并以此来观察Th细胞的多样性,而应按照其辅助的细胞类型功能进行分类。

四、小结与展望

采用单细胞测序技术观察不同中枢神经系统自身免疫性疾病的不同细胞类型参见表1,2。单细胞测序已经发展成为神经科学领域的强有力研究工具,可以在转录组水平对中枢神经系统各种细胞类型和亚群进行分类,较好体现出神经系统的异质性和复杂功能,同时还有助于理解疾病状态与细胞反应之间的关系,揭示与不同疾病相关的特定神经元类型。随着更多高通量单细胞测序技术/平台的发展和组合应用,可以更准确全面地了解不同时间和空间分布的细胞类型以及归因于特定空间位置的细胞功能,也有助于探索不同中枢神经系统自身免疫性疾病的发病机制。在疾病发展过程中特定

表 2 其他中枢神经系统免疫性疾病的单细胞组学研究

Table 2. Summary of researches on single-cell omics involving other central nervous system immune diseases

文献来源	诊断	组织来源	单细胞测序技术	细胞类型	主要发现
Zhang 等 ^[35] (2021)	NMOSDs	脑脊液、血液和骨髓	scRNA-seq, BCR 测序	B 细胞	NMOSDs 患者 B 细胞对 IFN- I 过度反应
Cotzomi 等 ^[34] (2019)	NMOSDs	外周血	rAb	B 细胞	致病抗体可能从逃避早期耐受机制的自身反应性幼稚 B 细胞库而来
Kowarik 等 ^[29] (2017)	NMOSDs	外周血、脑脊液和脾脏	BCR 测序, rAb	浆母细胞、幼稚 B 细胞、 Bm 细胞和 DN B 细胞	急性期 AQP4 特异性 B 细胞在外周与中枢神经系统脑室之间进行动态交换;脑脊液 B 细胞成熟为 ASCs;DN B 细胞与脑脊液 AQP4 特异性 B 细胞紧密相关
Kowarik 等 ^[33] (2015)	NMOSDs	脑脊液和血清	rAb	浆母细胞	鞘内免疫球蛋白由不同来源的脑脊液 B 细胞产生,并从外周血被动转移至中枢神经系统
Owens 等 ^[41] (2015)	NMOSDs	脑脊液	rAb	浆母细胞/浆细胞	视神经脊髓炎患者 AQP4 特异性 rAb 识别人类 AQP4 细胞外结构域多个构象表位
Soltys 等 ^[42] (2019)	NMOSDs	脑脊液	rAb	浆母细胞	H101/L104 表位可以形成稳定的多聚抗 AQP4 抗体位点,促进补体激活
Esaulova 等 ^[12] (2020)	MOGAD	脑脊液和外周血 单个核细胞	scRNA-seq	髓系细胞、小胶质细胞	患者和正常对照者脑脊液均存在小胶质细胞,且与疾病类型无关
Kreye 等 ^[37] (2016)	抗 NMDAR 脑炎	脑脊液	rAb	Bm 细胞、ASCs	脑脊液 NR1 特异性 rAb 下调 NMDAR 表达并降低体外 NMDAR 电流
Malviya 等 ^[38] (2017)	抗 NMDAR 脑炎	脑脊液	rAb	浆细胞	克隆扩增的 NR1 特异性 rAb 在体外和体内表现出致病作用
Ly 等 ^[39] (2018)	抗 NMDAR 脑炎	脑脊液	rAb	Bm 细胞、ASCs	NR1 特异性 rAb 对 NMDAR 的亲合力不同
Wenke 等 ^[40] (2019)	抗 NMDAR 脑炎	脑脊液	rAb	神经元	NR1 特异性 rAb 较非 NR1 rAb 突变少;与突变 rAb 相比, NR1 特异性 rAb 对海马组织亲和力较低,但仍可降低 NMDAR 电流
Feng 等 ^[36] (2020)	抗 NMDAR 脑炎	脑脊液	BCR 测序	脑脊液细胞	抗 NMDAR 脑炎患者存在 BCR 重链共同克隆和共享克隆型

NMOSDs, neuromyelitis optica spectrum disorders, 视神经脊髓炎谱系疾病; MOGAD, myelin oligodendrocyte glycoprotein-IgG associated disorders, 抗髓鞘少突胶质细胞糖蛋白免疫球蛋白 G 抗体相关疾病; NMDAR, N-methyl-D-aspartate receptor, N-甲基-D-天冬氨酸受体; scRNA-seq, single-cell RNA sequencing, 单细胞转录组测序; scIg-seq, single-cell immunoglobulin sequencing, 单细胞免疫球蛋白测序; BCR, B cell receptor, B 细胞受体; rAb, recombinant antibody, 重组抗体; Bm, memory B cell, 记忆 B 细胞; DN, double negative, 双阴性; ASCs, antibody secreting cells, 抗体分泌细胞; IFN- I, type I interferon, I 型干扰素; AQP4, aquaporin 4, 水通道蛋白 4; NR1, N-methyl-D-aspartate receptor 1, N-甲基-D-天冬氨酸受体 1

时间点或病理事件特定位置,靶向特定细胞亚群,可以阻止其毒性作用或将其转变为保护性表型。为更精准地探讨这些细胞的病理生理学功能,须开发新的靶向策略,从而可以在病程中区分这些时间依赖性细胞亚群。随着中枢神经系统组织标本特别是活检标本的获得,给研究疾病早期病理改变以及全病程动态观察带来极大希望。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Zou A, Ramanathan S, Dale RC, Brilot F. Single - cell approaches to investigate B cells and antibodies in autoimmune neurological disorders[J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18:294-306.
- [2] Hauser SL, Cree BAC. Treatment of multiple sclerosis: a review [J]. Am J Med, 2020, 133:1380-1390.
- [3] Misevic G. Single - cell omics analyses with single molecular detection: challenges and perspectives[J]. J Biomed Res, 2021, 35:264-276.
- [4] Armand EJ, Li J, Xie F, Luo C, Mukamel EA. Single - cell sequencing of brain cell transcriptomes and epigenomes [J]. Neuron, 2021, 109:11-26.
- [5] Prinz M, Jung S, Priller J. Microglia biology: one century of evolving concepts[J]. Cell, 2019, 179:292-311.
- [6] Colonna M, Butovsky O. Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration [J]. Annu Rev Immunol, 2017, 35:441-468.
- [7] Borst K, Prinz M. Deciphering the heterogeneity of myeloid cells during neuroinflammation in the single-cell era [J]. Brain Pathol, 2020, 30:1192-1207.
- [8] Jordão MJC, Sankowski R, Brendecke SM, Sagar, Locatelli G, Tai YH, Tay TL, Schramm E, Armbruster S, Hagemeyer N, Groß O, Mai D, Çiçek Ö, Falk T, Kerschensteiner M, Grün D, Prinz M. Single - cell profiling identifies myeloid cell subsets with distinct fates during neuroinflammation [J]. Science, 2019, 363:eaat7554.
- [9] Mrdjen D, Pavlovic A, Hartmann FJ, Schreiner B, Utz SG, Leung BP, Lelios I, Heppner FL, Kipnis J, Merkler D, Greter M, Becher B. High-dimensional single-cell mapping of central nervous system immune cells reveals distinct myeloid subsets in health, aging, and disease [J]. Immunity, 2018, 48:380-395.
- [10] Ajami B, Samusik N, Wieghofer P, Ho PP, Crotti A, Bjornson Z, Prinz M, Fantl WJ, Nolan GP, Steinman L. Single-cell mass cytometry reveals distinct populations of brain myeloid cells in mouse neuroinflammation and neurodegeneration models [J]. Nat Neurosci, 2018, 21:541-551.
- [11] Masuda T, Sankowski R, Staszewski O, Prinz M. Microglia heterogeneity in the single-cell era [J]. Cell Rep, 2020, 30:1271-1281.
- [12] Esaulova E, Cantoni C, Shchukina I, Zaitsev K, Bucelli RC, Wu GF, Artyomov MN, Cross AH, Edelson BT. Single-cell RNA-seq analysis of human CSF microglia and myeloid cells in

- neuroinflammation [J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2020, 7:e732.
- [13] Giladi A, Wagner LK, Li H, Dörr D, Medaglia C, Paul F, Shemer A, Jung S, Yona S, Mack M, Leutz A, Amit I, Mildner A. Cxcl10(+) monocytes define a pathogenic subset in the central nervous system during autoimmune neuroinflammation [J]. *Nat Immunol*, 2020, 21:525-534.
- [14] Mendiola AS, Ryu JK, Bardehle S, Meyer-Franke A, Ang KK, Wilson C, Baeten KM, Hanspers K, Merlini M, Thomas S, Petersen MA, Williams A, Thomas R, Rafalski VA, Meza-Acevedo R, Tognatta R, Yan Z, Pfaff SJ, Machado MR, Bedard C, Rios Coronado PE, Jiang X, Wang J, Pleiss MA, Green AJ, Zamvil SS, Pico AR, Bruneau BG, Arkin MR, Akassoglou K. Transcriptional profiling and therapeutic targeting of oxidative stress in neuroinflammation [J]. *Nat Immunol*, 2020, 21:513-524.
- [15] Mathur V, Burai R, Vest RT, Bonanno LN, Lehallier B, Zardeneta ME, Mistry KN, Do D, Marsh SE, Abud EM, Blurton-Jones M, Li L, Lashuel HA, Wyss-Coray T. Activation of the STING-dependent type I interferon response reduces microglial reactivity and neuroinflammation [J]. *Neuron*, 2017, 96:1290-1302.
- [16] Wolf Y, Shemer A, Levy-Efrati L, Gross M, Kim JS, Engel A, David E, Chappell-Maor L, Grozovski J, Rotkopf R, Biton I, Eilam-Altstadter R, Jung S. Microglial MHC class II is dispensable for experimental autoimmune encephalomyelitis and cuprizone-induced demyelination [J]. *Eur J Immunol*, 2018, 48:1308-1318.
- [17] Mundt S, Mrdjen D, Utz SG, Greter M, Schreiner B, Becher B. Conventional DCs sample and present myelin antigens in the healthy CNS and allow parenchymal T cell entry to initiate neuroinflammation [J]. *Sci Immunol*, 2019, 4:eau8380.
- [18] Hammond TR, Dufort C, Dissing-Olesen L, Giera S, Young A, Wysoker A, Walker AJ, Gergits F, Segel M, Nemes J, Marsh SE, Saunders A, Macosko E, Ginhoux F, Chen J, Franklin RJM, Piao X, McCarroll SA, Stevens B. Single-cell RNA sequencing of microglia throughout the mouse lifespan and in the injured brain reveals complex cell-state changes [J]. *Immunity*, 2019, 50:253-271.
- [19] Tay TL, Sagar, Dautzenberg J, Grün D, Prinz M. Unique microglia recovery population revealed by single-cell RNAseq following neurodegeneration [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6:87.
- [20] Masuda T, Sankowski R, Staszewski O, Böttcher C, Amann L, Sagar, Scheiwe C, Nessler S, Kunz P, van Loo G, Coenen VA, Reinacher PC, Michel A, Sure U, Gold R, Grün D, Priller J, Stadelmann C, Prinz M. Spatial and temporal heterogeneity of mouse and human microglia at single-cell resolution [J]. *Nature*, 2019, 566:388-392.
- [21] van der Poel M, Ulas T, Mizze MR, Hsiao CC, Miedema SSM, Adelia, Schuurman KG, Helder B, Tas SW, Schultze JL, Hamann J, Huitinga I. Transcriptional profiling of human microglia reveals grey-white matter heterogeneity and multiple sclerosis-associated changes [J]. *Nat Commun*, 2019, 10:1139.
- [22] Böttcher C, van der Poel M, Fernández-Zapata C, Schlickeiser S, Leman JKH, Hsiao CC, Mizze MR, Adelia, Vincenten MCJ, Kunkel D, Huitinga I, Hamann J, Priller J. Single-cell mass cytometry reveals complex myeloid cell composition in active lesions of progressive multiple sclerosis [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2020, 8:136.
- [23] Nugent AA, Lin K, van Lengerich B, Lianoglou S, Przybyla L, Davis SS, Llapashtica C, Wang J, Kim DJ, Xia D, Lucas A, Baskaran S, Haddick PCG, Lenser M, Earr TK, Shi J, Dugas JC, Andreone BJ, Logan T, Solanoy HO, Chen H, Srivastava A, Poda SB, Sanchez PE, Watts RJ, Sandmann T, Astarita G, Lewcock JW, Monroe KM, Di Paolo G. TREM2 regulates microglial cholesterol metabolism upon chronic phagocytic challenge [J]. *Neuron*, 2020, 105:837-854.
- [24] Duan RN, Yang CL, Du T, Liu A, Wang AR, Sun WJ, Li X, Li JX, Yan CZ, Liu QJ. Smek1 deficiency exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis by activating proinflammatory microglia and suppressing the IDO1 - AhR pathway [J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18:145.
- [25] Schirmer L, Velmshiev D, Holmqvist S, Kaufmann M, Werneburg S, Jung D, Vistnes S, Stockley JH, Young A, Steindel M, Tung B, Goyal N, Bhaduri A, Mayer S, Engler JB, Bayraktar OA, Franklin RJM, Haeussler M, Reynolds R, Schafer DP, Friese MA, Shioh LR, Kriegstein AR, Rowitch DH. Neuronal vulnerability and multilineage diversity in multiple sclerosis [J]. *Nature*, 2019, 573:75-82.
- [26] Fransen NL, Hsiao CC, van der Poel M, Engelenburg HJ, Verdaasdonk K, Vincenten MCJ, Remmerswaal EBM, Kuhlmann T, Mason MRJ, Hamann J, Smolders J, Huitinga I. Tissue-resident memory T cells invade the brain parenchyma in multiple sclerosis white matter lesions [J]. *Brain*, 2020, 143:1714-1730.
- [27] Galli E, Hartmann FJ, Schreiner B, Ingelfinger F, Arvaniti E, Diebold M, Mrdjen D, van der Meer F, Krieg C, Nimer FA, Sanderson N, Stadelmann C, Khademi M, Piehl F, Claassen M, Derfuss T, Olsson T, Becher B. GM-CSF and CXCR₄ define a T helper cell signature in multiple sclerosis [J]. *Nat Med*, 2019, 25:1290-1300.
- [28] Schafflick D, Xu CA, Hartlehnert M, Cole M, Schulte-Mecklenbeck A, Lautwein T, Wolbert J, Heming M, Meuth SG, Kuhlmann T, Gross CC, Wiendl H, Yosef N, Meyer Zu Horste G. Integrated single cell analysis of blood and cerebrospinal fluid leukocytes in multiple sclerosis [J]. *Nat Commun*, 2020, 11:247.
- [29] Kowarik MC, Astling D, Gasperi C, Wemlinger S, Schumann H, Dzieciatkowska M, Ritchie AM, Hemmer B, Owens GP, Bennett JL. CNS aquaporin-4-specific B cells connect with multiple B-cell compartments in neuromyelitis optica spectrum disorder [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2017, 4:369-380.
- [30] Ramesh A, Schubert RD, Greenfield AL, Dandekar R, Loudermilk R, Sabatino JJ Jr, Koelzer MT, Tran EB, Koshal K, Kim K, Pröbstel AK, Banerji D, Guo CY, Green AJ, Bove RM, DeRisi JL, Gelfand JM, Cree BA, Zamvil SS, Baranzini SE, Hauser SL, Wilson MR; University of California, San Francisco MS-EPIC Team. A pathogenic and clonally expanded B cell transcriptome in active multiple sclerosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117:22932-22943.
- [31] Kim SM, Park J, Kim SH, Park SY, Kim JY, Sung JJ, Park KS, Lee KW. Factors associated with the time to next attack in neuromyelitis optica: accelerated failure time models with random effects [J]. *PLoS One*, 2013, 8:e82325.
- [32] Nakashima I, Takahashi T, Cree BA, Kim HJ, Suzuki C, Genain CP, Vincent T, Fujihara K, Itoyama Y, Bar-Or A. Transient increases in anti-aquaporin-4 antibody titers following rituximab treatment in neuromyelitis optica, in association with elevated serum BAFF levels [J]. *J Clin Neurosci*, 2011, 18:997-998.
- [33] Kowarik MC, Dzieciatkowska M, Wemlinger S, Ritchie AM, Hemmer B, Owens GP, Bennett JL. The cerebrospinal fluid immunoglobulin transcriptome and proteome in neuromyelitis optica reveals central nervous system-specific B cell populations [J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12:19.
- [34] Cotzomi E, Stathopoulos P, Lee CS, Ritchie AM, Solts JN,

- Delmote FR, Oe T, Sng J, Jiang R, Ma AK, Vander Heiden JA, Kleinstein SH, Levy M, Bennett JL, Meffre E, O'Connor KC. Early B cell tolerance defects in neuromyelitis optica favour anti-AQP4 autoantibody production[J]. *Brain*, 2019, 142:1598-1615.
- [35] Zhang C, Zhang TX, Liu Y, Jia D, Zeng P, Du C, Yuan M, Liu Q, Wang Y, Shi FD. B - cell compartmental features and molecular basis for therapy in autoimmune disease[J]. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2021, 8:e1070.
- [36] Feng J, Fan S, Sun Y, Zhang Z, Ren H, Li W, Cui L, Peng B, Ren X, Zhang W, Guan H, Wang J. Study of B cell repertoire in patients with anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1539.
- [37] Kreye J, Wenke NK, Chayka M, Leubner J, Murugan R, Maier N, Jurek B, Ly LT, Brandl D, Rost BR, Stumpf A, Schulz P, Radbruch H, Hauser AE, Pache F, Meisel A, Harms L, Paul F, Dirnagl U, Garner C, Schmitz D, Wardemann H, Prüss H. Human cerebrospinal fluid monoclonal N - methyl - D - aspartate receptor autoantibodies are sufficient for encephalitis pathogenesis[J]. *Brain*, 2016, 139(Pt 10):2641-2652.
- [38] Malviya M, Barman S, Golombeck KS, Planagumà J, Mannara F, Strutz-Seebohm N, Wrzoz C, Demir F, Baksmeier C, Steckel J, Falk KK, Gross CC, Kovac S, Bönte K, Johnen A, Wandinger KP, Martín-García E, Becker AJ, Elger CE, Klöcker N, Wiendl H, Meuth SG, Hartung HP, Seebohm G, Leyboldt F, Maldonado R, Stadelmann C, Dalmau J, Melzer N, Goebels N. NMDAR encephalitis: passive transfer from man to mouse by a recombinant antibody[J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2017, 4:768-783.
- [39] Ly LT, Kreye J, Jurek B, Leubner J, Scheibe F, Lemcke J, Wenke NK, Reincke SM, Prüss H. Affinities of human NMDA receptor autoantibodies: implications for disease mechanisms and clinical diagnostics[J]. *J Neurol*, 2018, 265:2625-2632.
- [40] Wenke NK, Kreye J, Andrzejak E, van Casteren A, Leubner J, Murgueitio MS, Reincke SM, Secker C, Schmidl L, Geis C, Ackermann F, Nikolaus M, Garner CC, Wardemann H, Wolber G, Prüss H. N - methyl - D - aspartate receptor dysfunction by unmutated human antibodies against the NR1 subunit[J]. *Ann Neurol*, 2019, 85:771-776.
- [41] Owens GP, Ritchie A, Rossi A, Schaller K, Wemlinger S, Schumann H, Shearer A, Verkman AS, Bennett JL. Mutagenesis of the aquaporin 4 extracellular domains defines restricted binding patterns of pathogenic neuromyelitis optica IgG [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290:12123-12134.
- [42] Soltys J, Liu Y, Ritchie A, Wemlinger S, Schaller K, Schumann H, Owens GP, Bennett JL. Membrane assembly of aquaporin-4 autoantibodies regulates classical complement activation in neuromyelitis optica[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129:2000-2013.
- [43] Wheeler MA, Clark IC, Tjon EC, Li Z, Zandee SEJ, Couturier CP, Watson BR, Scalisi G, Alkwa S, Rothhammer V, Rotem A, Heyman JA, Thaploo S, Sanmarco LM, Ragoussis J, Weitz DA, Petrecca K, Moffitt JR, Becher B, Antel JP, Prat A, Quintana FJ. MAFG - driven astrocytes promote CNS inflammation [J]. *Nature*, 2020, 578:593-599.
- [44] Stratoulis V, Venero JL, Tremblay MÈ, Joseph B. Microglial subtypes: diversity within the microglial community [J]. *EMBO J*, 2019, 38:e101997.
- [45] Tuzlak S, Dejean AS, Iannacone M, Quintana FJ, Waisman A, Ginhoux F, Korn T, Becher B. Repositioning T H cell polarization from single cytokines to complex help [J]. *Nat Immunol*, 2021, 22:1210-1217.

(收稿日期:2021-12-31)

(本文编辑:彭一帆)

· 小词典 ·

中英文对照名词词汇(二)

- 促性腺激素 gonadotropic hormone(GTH)
- 促性腺激素释放激素 gonadotropin-releasing hormone(GnRH)
- 催乳素 prolactin(PRL)
- 大脑中动脉闭塞 middle cerebral artery occlusion(MCAO)
- 代谢型谷氨酸受体 metabotropic glutamate receptor(mGluR)
- 单纯疱疹病毒 herpes simplex virus(HSV)
- 单纯疱疹病毒性脑炎 herpes simplex encephalitis(HSE)
- 单核细胞前体 common monocyte progenitor(cMoP)
- 单核细胞趋化蛋白-1 monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)
- 单细胞测序 single cell sequencing(SCS)
- 单细胞 ATAC 测序 single-cell ATAC sequencing(scATAC-seq)
- 单细胞免疫球蛋白测序 single-cell immunoglobulin sequencing(scIg-seq)
- 单细胞转录组测序 single-cell RNA sequencing(scRNA-seq)
- 低密度脂蛋白受体相关蛋白 4 low-density lipoprotein receptor-related protein 4(LRP4)
- 癫痫持续状态 status epilepticus(SE)
- 电压门控性钙离子通道 voltage-gated calcium channel(VGCC)
- 电压门控性钾离子通道 voltage-gated potassium channel(VGKC)
- 短链脂肪酸 short-chain fatty acids(SCFA)
- 多巴胺 2 型受体 dopamine-2 receptor(D2R)
- 多发性硬化 multiple sclerosis(MS)
- 粪菌移植 fecal microbiota transplantation(FMT)
- 辅助性 T 细胞 helper T cell(Th)
- 复发-缓解型多发性硬化 relapse-remitting multiple sclerosis(RRMS)
- 复发性良性淋巴细胞性脑膜炎 recurrent benign lymphocytic meningitis(RBLM)
- 复发性细菌性脑膜炎 recurrent bacterial meningitis(RBM)
- 富亮氨酸重复序列 leucine-rich repeat(LRR)
- 富亮氨酸胶质瘤失活基因 1 leucine-rich glioma-inactivated 1(LG11)