

小胶质细胞异常激活在帕金森病发病中的作用及潜在临床应用

方芳 丁健青

【摘要】 帕金森病为老年人群中常见的神经系统变性疾病,发病机制至今不明。近年研究表明,异常激活的小胶质细胞在神经炎症机制介导的帕金森病发病过程中起重要作用,小胶质细胞可在 α -突触核蛋白、环境毒素、老龄化等因素的刺激下,以及内源性 CD200-CD200R 抑制信号减弱或缺失的情况下发生异常激活,通过分泌大量炎症因子(如肿瘤坏死因子- α 、IL-1 β 等)活化诱导型一氧化氮合酶、环氧合酶-2、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶-2 等介导神经元损伤。抑制小胶质细胞异常激活从而有效抑制免疫炎症损伤,可能是帕金森病治疗的有效新途径。

【关键词】 帕金森病; 小神经胶质细胞; 综述

The role of abnormally activated microglia in the pathogenesis of Parkinson's disease and its potential clinical application

FANG Fang, DING Jian-qing

Department of Neurology and Institute of Neurology, Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China

Corresponding author: DING Jian-qing (Email: jqding18@163.com)

【Abstract】 Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disorder which usually affects old-aged people, and the mechanism underlying the disease still remains unknown. Recent studies have suggested that abnormally activated microglia plays an important role in the pathogenesis of the disease. Several stimuli, such as α -synuclein, neurotoxins, aging, as well as attenuated or deficient inhibiting signals of endogenous CD200 - CD200R can cause the abnormal activation of microglia, which will result in dopaminergic neuron injuries through secreting pro-inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β), activating inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2) and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-2 (NOX-2). Therefore, it may be a novel way for PD therapy to inhibit neuroinflammatory injuries by suppressing the abnormal activation of microglia.

【Key words】 Parkinson disease; Microglia; Review

This study was supported by "Twelfth Five-Year" Science and Technology Support Program of Ministry of Science and Technology of China (No. 2012BAI10B03).

帕金森病(PD)是中老年常见的神经系统变性疾病,以中脑黑质致密部多巴胺能神经元进行性变性缺失、纹状体多巴胺能水平下降为主要病变特征。其发病隐匿,病程进展缓慢,临床主要表现为静止性震颤、运动迟缓、肌强直和姿势步态障碍等

运动症状,部分患者可伴有嗅觉减退、自主神经功能失调、睡眠障碍、认知损害等非运动性症状,生活质量严重受损,最终导致失去生活自理能力。自1817年James Parkinson首次描述该病至今,其病因及发病机制尚未明确,亦无令人满意的有效治疗方法。目前的研究认为,帕金森病与多种因素有关,在遗传背景、环境暴露、老龄化的共同作用下,氧化应激、线粒体功能衰竭、钙稳态失衡、兴奋性氨基酸(EAA)毒性、细胞凋亡等机制导致黑质多巴胺能神经元大量变性缺失。近年来,越来越多的研究证实神经免疫和炎症反应也参与了帕金森病的发病。

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2013.02.013

基金项目: 国家科技部“十二五”科技支撑计划项目(项目编号: 2012BAI10B03)

作者单位: 200025 上海交通大学医学院附属瑞金医院神经科, 上海交通大学医学院神经病学研究所

通讯作者: 丁健青 (Email: jqding18@163.com)

Gao 等^[1]对 136 197 例普通人群进行为期 6 年的随访研究显示,非甾体抗炎药(NSAID)布洛芬能够降低帕金森病的发病风险;对帕金森病患者的尸检可观察到黑质部位存在异常激活的小胶质细胞^[2];Ouchi 等^[3]采用¹¹C(R)-PK11195 和¹¹C-CFT 对帕金森病患者进行 PET 检查,发现小胶质细胞激活与多巴胺能神经元变性死亡具有相关性。上述研究结果均提示,异常激活的小胶质细胞参与的神经炎症反应在帕金森病的发病中可能起着重要作用。

一、小胶质细胞的生理性激活

多数研究者认为,小胶质细胞来源于髓细胞系,是中枢神经系统中的常驻细胞,约占神经胶质细胞总数的 10%,以中脑黑质分布最为密集。Kreutzberg^[4]提出,小胶质细胞的形态可随所处状态的不同而发生改变:未受刺激时细胞处于“静息”状态,胞体较小,分支数目多而细长;而在细胞外刺激因素如内毒素、细胞因子、趋化因子、错误折叠蛋白等的作用下,小胶质细胞可发生“激活”,胞体增大呈阿米巴样,分支数目减少,回缩变粗。被激活的小胶质细胞可在维持所处微环境的稳态中发挥重要作用。在中枢神经系统发生过程中,激活的小胶质细胞作为“清道夫”通过吞噬神经元和细胞残骸维持细胞数目稳定,从而保证中枢神经系统正常的结构与功能,并可在吞噬后释放生长因子营养支持邻近的神经元和神经胶质细胞;作为在中枢神经系统的固有免疫反应中最为重要的细胞类群,在脑损伤、脑卒中、肿瘤等病理情况下,小胶质细胞激活后通过形态改变可快速迁移至病变部位,吞噬病原体 and 受损细胞,清除有毒代谢产物,组成“屏障”保护邻近细胞,限制受损范围,分泌抗炎因子[转化生长因子- β (TGF- β)、IL-10],以及神经营养因子[脑源性神经营养因子(BDNF)、胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)等],促进神经元的存活^[5]。

二、帕金森病小胶质细胞的异常激活

小胶质细胞的适度激活对中枢神经系统具有支持保护作用,而在某些情况下小胶质细胞的持续激活或过度激活(统称为异常激活)则对神经元产生毒性作用,从而引起损伤。许多研究业已显示,小胶质细胞在帕金森病的发生发展过程中可通过多种途径被激活,导致黑质多巴胺能神经元损伤。

McGeer 等^[6]对帕金森病患者的尸检结果发现,黑质致密部激活的小胶质细胞聚集在 Lewy 小体周围。Gerhard 等^[7]对帕金森病患者进行的 PET 研究

也有相同发现。 α -突触核蛋白(α -Syn)是 Lewy 小体的主要成分,许多帕金森病实验模型也证实其作为病理蛋白可以刺激小胶质细胞发生异常激活:体外培养的原代小胶质细胞经 α -突触核蛋白处理后分泌大量炎症因子^[8],与野生型 α -突触核蛋白相比,突变型(A53T、A30P)和硝基化 α -突触核蛋白更易引起小胶质细胞的异常激活和炎症介质的过度释放^[9-10]。小胶质细胞能够大量吞噬神经元分泌在细胞外并聚集的 α -突触核蛋白,当其吞噬数量超过消化能力,或所吞噬的突变型和硝基化 α -突触核蛋白在小胶质细胞体内难以被消化而过度积聚时,小胶质细胞即可能被异常激活^[11]。

长期接触农药,特别是杀虫剂(如鱼藤酮和百草枯),一直被认为参与帕金森病发病过程中的“环境暴露”机制。在最近报道的一项临床对照试验中,Tanner 等^[12]再次证实接触鱼藤酮和百草枯可增加帕金森病发病风险。1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)能够选择性地损伤黑质致密部的多巴胺能神经元,导致类似帕金森病的临床表现,在实验室制作的帕金森病动物模型中被广泛应用。而在鱼藤酮和 MPTP 动物模型中均能够观察到大量被激活的小胶质细胞^[13],提示环境毒素可通过小胶质细胞的异常激活参与帕金森病的发生与发展。

Beach 等^[14]经染色方法观察正常老年人和青年人黑质小胶质细胞数目,发现正常老年人群激活小胶质细胞数目高于青年人群。Dilger 和 Johnson^[15]认为,正常衰老过程中中枢神经系统局部微环境发生改变,小胶质细胞被预激(“primed”)而处于慢性激活状态,当受到外界环境毒素或病原体刺激时,小胶质细胞可发生异常激活,分泌过量的炎症介质而导致神经损伤。

与此同时,还有研究发现,神经元与小胶质细胞之间存在“接触抑制”,其分子基础可能为神经元表面糖蛋白 CD200 及小胶质细胞表面受体 CD200R 之间的相互作用可产生抑制信号使中枢神经系统内的大部分小胶质细胞在正常情况下处于“静息”状态^[16]。我们的研究结果显示,青年人、老年人及帕金森病患者外周血单核源性巨噬细胞 CD200R 水平并无明显差异,但将上述细胞分别与健康的、经脂多糖(LPS)或鱼藤酮处理的 PC12 细胞共培养后,青年人单核源性巨噬细胞 CD200R 的表达在各组中均可被有效诱导,但老年人,特别是帕金森病患者单核源性巨噬细胞 CD200R 的表达则不能被脂多糖

或条件培养基有效诱导,导致 CD200-CD200R 抑制信号在衰老和帕金森病情况下出现异常,可能与帕金森病患者脑组织中小胶质细胞异常激活及神经元损伤有关^[17]。我们的另一项动物实验采用 CD200R 封闭抗体阻断 CD200-CD200R 之间的相互作用,结果表明,单纯采用亚剂量的 6-羟基多巴胺(6-OHDA)即可引起大鼠产生明显的帕金森病表型,对黑质部位进行染色后能够观察到大量激活的小胶质细胞和多巴胺能神经元死亡,进一步证明 CD200-CD200R 抑制信号缺乏或降低均可导致小胶质细胞异常激活及中枢神经系统免疫损伤^[18]。

三、异常激活的小胶质细胞引起神经元损伤的机制

既往研究证实,被异常激活的小胶质细胞可通过分泌大量炎症因子如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-1 β 等,以及活化诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、环氧合酶-2(COX-2)和 NADPH 氧化酶(NOX)介导对神经元的损伤作用。有文献报道,在帕金森病患者的脑组织和脑脊液中检测到 IL-1 β 、IL-6 和肿瘤坏死因子- α 水平升高^[19]。Dehmer 等^[20]研究发现,iNOS 基因表达减少或敲除的小鼠能够降低黑质多巴胺能神经元对 MPTP 或 6-羟基多巴胺诱导的神经损伤的敏感性,而在 MPTP 或脂多糖诱导的小鼠模型中应用诱导型一氧化氮合酶抑制剂能够在较大程度上逆转多巴胺能神经元死亡。Vijitruth 等^[21]发现,敲除小鼠 COX-2 基因可减少 MPTP 介导的黑质多巴胺能神经元损伤,应用选择性的环氧合酶-2 抑制剂也能起到相同的神经保护作用。NADPH 氧化酶由位于胞膜和胞质的多个亚基构成,通过基因敲除小鼠 NADPH 氧化酶的亚单位使其失活可显著减少 MPTP 诱导的黑质多巴胺能神经元损伤;NADPH 氧化酶-2 在小胶质细胞中呈高表达,当在帕金森病动物模型中抑制 NADPH 氧化酶-2 或敲除其基因可削弱小胶质细胞神经毒性作用,提示 NADPH 氧化酶-2 参与介导小胶质细胞异常激活引起神经损伤^[22]。此外,张辉等^[23]发现,小鼠源性小胶质细胞 BV-2 在脂多糖刺激下,可分泌细胞因子 Cathepsin L,参与神经细胞的损伤。

四、以小胶质细胞为靶点的帕金森病治疗策略

上述有关炎症因子的动物实验或临床研究从不同侧面提示,帕金森病治疗过程中抑制小胶质细胞激活可能会有效减少多巴胺能神经元损伤。近年来,一些抑制小胶质细胞激活的药物在帕金森病

模型中也被证实可对多巴胺能神经元产生保护作用。Du 等^[24]发现,米诺环素(minocycline)作为四环素衍生物,能够通过下调 IL-1 β 表达、降低诱导型一氧化氮合酶和 NADPH 氧化酶活化,阻断 MPTP 诱导的黑质多巴胺能神经元的变性死亡。Delgado 和 Ganea^[25]通过颅内输入血管活性肠肽(VIP)显著抑制 MPTP 引起小胶质细胞激活的方法,减少 IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α 和诱导型一氧化氮合酶的产生,从而降低黑质多巴胺能神经元和纹状体神经纤维损伤;Lu 等^[26]经研究证实,纳洛酮(naloxone)可通过阻止激活小胶质细胞产生活性氧(ROS),保护原代皮质神经元不受脂多糖损伤。Dehmer 等^[27]观察发现,过氧化物酶增殖物激活受体 γ (PPAR γ)拮抗剂在帕金森病动物模型中发挥抑制炎症因子表达、保护多巴胺能神经元的作用。

以往的观点认为,小胶质细胞仅是作为中枢神经系统“吞噬细胞”参与维持脑组织内环境的稳定,随着对帕金森病发病机制的深入研究,特别是阐明了小胶质细胞异常激活在帕金森病发病中的作用后,小胶质细胞激活的相关免疫损伤成为帕金森病潜在治疗的又一新靶点^[28]。通过对帕金森病小胶质细胞异常激活及其损伤机制的进一步研究,将有助于寻找特异性抑制小胶质细胞异常激活、发挥神经保护作用的治疗药物。

参 考 文 献

- [1] Gao X, Chen H, Schwarzschild MA, Ascherio A. Use of ibuprofen and risk of Parkinson disease. *Neurology*, 2011, 76: 863-869.
- [2] Long-Smith CM, Sullivan AM, Nolan YM. The influence of microglia on the pathogenesis of Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*, 2009, 89:277-287.
- [3] Ouchi Y, Yagi S, Yokokura M, Sakamoto M. Neuroinflammation in the living brain of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 2009, 15 Suppl 3:200-204.
- [4] Kreutzberg GW. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci*, 1996, 19:312-318.
- [5] Graeber MB, Streit WJ. Microglia: biology and pathology. *Acta Neuropathol*, 2010, 119:89-105.
- [6] McGeer PL, Itagaki S, Boyes BE, McGeer EG. Reactive microglia are positive for HLA-DR in the substantia nigra of Parkinson's and Alzheimer's disease brains. *Neurology*, 1988, 38:1285-1291.
- [7] Gerhard A, Pavese N, Hotton G, Turkheimer F, Es M, Hammers A, Eggert K, Oertel W, Banati RB, Brooks DJ. In vivo imaging of microglial activation with [11C](R)-PK11195 PET in idiopathic Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*, 2006, 21: 404-412.
- [8] Su X, Maguire-Zeiss KA, Giuliano R, Prifti L, Venkatesh K, Federoff HJ. Synuclein activates microglia in a model of Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*, 2008, 29:1690-1701.

- [9] Roodveldt C, Labrador-Garrido A, Gonzalez-Rey E, Fernandez-Montesinos R, Caro M, Lachaud CC, Waudby CA, Delgado M, Dobson CM, Pozo D. Glial innate immunity generated by non-aggregated alpha-synuclein in mouse: differences between wild-type and Parkinson's disease-linked mutants. *PLoS One*, 2010, 5:E13481.
- [10] Reynolds AD, Glanzer JG, Kadiu I, Ricardo - Dukelow M, Chaudhuri A, Ciborowski P, Cerny R, Gelman B, Thomas MP, Mosley RL, Gendelman HE. Nitrated alpha-synuclein-activated microglial profiling for Parkinson's disease. *J Neurochem*, 2008, 104:1504-1525.
- [11] Halliday GM, Stevens CH. Glia: initiators and progressors of pathology in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2011, 26:6-17.
- [12] Tanner CM, Kamel F, Ross GW, Hoppin JA, Goldman SM, Korell M, Marras C, Bhudhikanok GS, Kasten M, Chade AR, Comyns K, Richards MB, Meng C, Priestley B, Fernandez HH, Cambi F, Umbach DM, Blair A, Sandler DP, Langston JW. Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease. *Environ Health Perspect*, 2011, 119:866-872.
- [13] Yokoyama H, Uchida H, Kuroiwa H, Kasahara J, Araki T. Role of glial cells in neurotoxin - induced animal models of Parkinson's disease. *Neurol Sci*, 2011, 32:1-7.
- [14] Beach TG, Sue LI, Walker DG, Lue LF, Connor DJ, Caviness JN, Sabbagh MN, Adler CH. Marked microglial reaction in normal aging human substantia nigra: correlation with extraneuronal neuromelanin pigment deposits. *Acta Neuropathol*, 2007, 114:419-424.
- [15] Dilger RN, Johnson RW. Aging, microglial cell priming, and the discordant central inflammatory response to signals from the peripheral immune system. *J Leukoc Biol*, 2008, 84:932-939.
- [16] Wang XJ, Ye M, Zhang YH, Chen SD. CD200 - CD200R regulation of microglia activation in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2007, 2:259-264.
- [17] Luo XG, Zhang JJ, Zhang CD, Liu R, Zheng L, Wang XJ, Chen SD, Ding JQ. Altered regulation of CD200 receptor in monocyte-derived macrophages from individuals with Parkinson's disease. *Neurochem Res*, 2010, 35:540-547.
- [18] Zhang S, Wang XJ, Tian LP, Pan J, Lu GQ, Zhang YJ, Ding JQ, Chen SD. CD200 - CD200R dysfunction exacerbates microglial activation and dopaminergic neurodegeneration in a rat model of Parkinson's disease. *J Neuroinflammation*, 2011, 8: 154.
- [19] Stone DK, Reynolds AD, Mosley RL, Gendelman HE. Innate and adaptive immunity for the pathobiology of Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11:2151-2166.
- [20] Dehmer T, Lindenau J, Haid S, Dichgans J, Schulz JB. Deficiency of inducible nitric oxide synthase protects against MPTP toxicity in vivo. *J Neurochem*, 2000, 74:2213-2216.
- [21] Vijitruth R, Liu M, Choi DY, Nguyen XV, Hunter RL, Bing G. Cyclooxygenase-2 mediates microglial activation and secondary dopaminergic cell death in the mouse MPTP model of Parkinson's disease. *J Neuroinflammation*, 2006, 3:6.
- [22] Surace MJ, Block ML. Targeting microglia - mediated neurotoxicity: the potential of NOX2 inhibitors. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69:2409-2427.
- [23] Zhang H, Liu GD, Lou Y, Xiao Q, Chen SD. The release of lysosomal Pro - cathepsin L of BV - 2 cells upon lipopolysaccharide stimulation and its toxicity to neurons. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2011, 11:71-75. [张辉, 刘桂冬, 楼跃, 肖勤, 陈生弟. 脂多糖刺激小胶质细胞分泌Pro-cathepsin L及对神经元凋亡的影响. 中国现代神经疾病杂志, 2011, 11:71-75.]
- [24] Du Y, Ma Z, Lin S, Dodel RC, Gao F, Bales KR, Triarhou LC, Chernet E, Perry KW, Nelson DL, Luecke S, Phebus LA, Bymaster FP, Paul SM. Minocycline prevents nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98:14669-14674.
- [25] Delgado M, Ganea D. Neuroprotective effect of vasoactive intestinal peptide (VIP) in a mouse model of Parkinson's disease by blocking microglial activation. *FASEB J*, 2003, 17: 944-946.
- [26] Lu X, Bing G, Hagg T. Naloxone prevents microglia-induced degeneration of dopaminergic substantia nigra neurons in adult rats. *Neuroscience*, 2000, 97:285-291.
- [27] Dehmer T, Heneka MT, Sastre M, Dichgans J, Schulz JB. Protection by pioglitazone in the MPTP model of Parkinson's disease correlates with γ B α induction and block of NF kappa B and iNOS activation. *J Neurochem*, 2004, 88:494-501.
- [28] Doorn KJ, Lucassen PJ, Boddeke HW, Prins M, Berendse HW, Drukarch B, van Dam AM. Emerging roles of microglial activation and non-motor symptoms in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol*, 2012, 98:222-238.

(收稿日期:2013-01-11)

· 小词典 ·

中英文对照名词词汇(六)

衣壳抗原 virus capsid antigen(VCA)

F₂-异前列腺烷 F₂-isoprostananes(F₂-IsoPs)

英国帕金森病协会

UK Parkinson's Disease Society(UKPDS)

诱导型一氧化氮合酶 inducible nitric oxide synthase(iNOS)

原发进展型多发性硬化

primary progressive multiple sclerosis(PPMS)

原发性中枢神经系统淋巴瘤

primary central nervous system lymphoma(PCNSL)

运动单位电位 motor unit potential(MUP)

运动单位动作电位 motor unit action potential(MUAP)

运动诱发电位 motor evoked potential(MEP)

载脂蛋白E apolipoprotein E(ApoE)

早期分泌抗原靶-6

early secretory antigenic target-6(ESAT-6)

植物凝集素 phytoagglutinin(PHA)

脂多糖 lipopolysaccharide(LPS)

中心静脉导管 central venous catheter(CVC)

肿瘤坏死因子- α tumor necrosis factor- α (TNF- α)转化生长因子- β transforming growth factor- β (TGF- β)

自然杀伤T细胞 natural killer T lymphocyte(NKT)