

· 综述 ·

小胶质细胞极化参与慢性疼痛的研究进展

钟毅 单热爱

【摘要】 慢性疼痛是备受关注的公共健康问题之一,我国超过 30% 的人群受到慢性疼痛的影响,其发病机制是疼痛医学研究的热点与难点。中枢神经系统中固有的小胶质细胞在外界微环境改变时发生极化以及随之产生的神经炎症反应在慢性疼痛中至关重要。小胶质细胞在神经炎症反应过程中可极化为促炎 M1 型或抗炎 M2 型,分别在神经系统中发挥神经毒性或神经保护作用。本文拟对小胶质细胞极化的主要机制及其参与慢性疼痛过程的机制进行综述。

【关键词】 小胶质细胞;极化;神经炎症反应;慢性疼痛

Research progress of microglia polarization involved in chronic pain ZHONG Yi, SHAN Re'ai. First Clinical Medical College, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China
Corresponding author: SHAN Re'ai, Email: shanreai@163.com

【Abstract】 Chronic pain has been a prominent public health issue in China for years, affecting over 30% of the population. The mechanism of chronic pain has always been a controversial and difficult topic of pain medicine research. The polarization of microglia inherent in the central nervous system when the external microenvironment changes and the subsequent neuroinflammatory response are critical in chronic pain. Microglia can polarize into pro-inflammatory M1 or anti-inflammatory M2 phenotypes during neuroinflammatory reactions, exerting neurotoxic or neuroprotective effects in the nervous system, respectively. The aim of the article is proposed to provide an overview of the main mechanisms of microglial polarization and how it might contribute to chronic pain.

【Key words】 Microglia; Polarization; Neuroinflammation; Chronic pain

慢性疼痛作为当代社会中普遍存在的公共健康问题之一,影响患者的睡眠、工作和生活能力,伴随抑郁、焦虑等情感障碍的发生,给个人及社会经济带来巨大负担。当前治疗慢性疼痛的药物只能有限地缓解临床症状,并不能从发生机制上根本地解决疼痛。小胶质细胞作为中枢神经系统(central nervous system, CNS)中广泛分布的、具有高度可塑性的固有免疫细胞,在神经炎症反应的初始阶段,受损伤相关分子模式激活,表现为细胞表面突起缩短、胞体变大,迁移至炎症区域参与疼痛的发生发展,同时通过释放神经生长因子间接参与神经元或突触的重塑过程^[1]。“促炎 M1 型”和“抗炎 M2 型”是小胶质细胞受不同微环境刺激下表现出的两种截然不同的极化类型,分别具有不同的表型和功

能。本文就小胶质细胞极化的主要机制及其参与慢性疼痛过程的机制进行综述。

慢性疼痛的机制

疼痛起始于伤害性感受器受到的刺激,伤害感受器属于 A δ 和 C 类传入神经纤维,能够将疼痛刺激转化为可传导的神经元电信号,通过脊髓背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)将信号传递到脊髓背角,与脊髓背角中的神经元发生突触联系而产生兴奋性突触后电位,同时 DRG 神经元上的多种受体如瞬时受体电位香草酸亚型 1 通道受体、N-甲基-D-天冬氨酸受体和阿片类受体等与相应的配体结合后,调控传入神经纤维中枢端化学物质的释放,从而影响伤害性刺激由外周向中枢传递的过程^[2]。疼痛的传导是一个复杂的过程,包括多种疼痛上行和下行通路,痛觉的形成源于这些上下行感觉信号在中枢的复杂汇聚和调制。DRG 中初级感觉神经元、脊髓和大脑中疼痛处理神经元以损伤和疾病特异性方式进化,共同参与慢性疼痛多维度进程^[3]。

DOI:10.12089/jca.2024.02.017

基金项目:赣南医学院校级重点课题(ZD201904);江西省卫健委一般科技计划项目(20204469);江西省中医药管理局项目(2021B614)

作者单位:341000 赣州市,赣南医科大学第一临床医学院(钟毅);赣南医科大学第一附属医院麻醉手术中心 赣州市麻醉学重点实验室 赣南医科大学疼痛医学研究所(单热爱)

通信作者:单热爱,Email: shanreai@163.com

小胶质细胞的来源和活化

巨噬细胞在维持正常组织稳态中起着重要作用,绝大多数单核巨噬细胞来源于骨髓造血干细胞,但 CNS 中的小胶质细胞与其他组织的巨噬细胞不同,并非来源于骨髓,而是来源于胚胎 E8.0 之前的卵黄囊祖细胞^[4]。小胶质细胞作为 CNS 的第一道防线,扫描环境中的危险信号或入侵的病原体,在细胞防御、维持组织修复中处于关键地位。处于静息状态的小胶质细胞,或者被称为“监视”小胶质细胞,通过其表面受体蛋白及离子通道等感受外界微环境,当检测到神经损伤、感染等迹象时,他们将迅速聚集活化成为“反应性”小胶质细胞,迁移到损伤部位并启动增殖^[5-6],小胶质细胞标记蛋白如离子钙结合衔接分子 1 (ionized calcium binding adapter molecule 1, Iba-1) 以及跨膜蛋白 119 等在此阶段表达上调^[7]。在外界刺激导致病理性损伤时,小胶质细胞容易被过度激活并在局部或组织中释放大量的神经毒性介质,包括炎症细胞因子、炎症趋化因子以及兴奋性氨基酸谷氨酸和天冬氨酸等^[8-9],他们的刺激使得活化的小胶质细胞具备调节脊髓背角及接受疼痛信息上传的大脑区域的可塑性的能力,同时增加脊髓背角神经元之间的突触连接密度,加快疼痛信号的传递,促进急性疼痛向慢性疼痛转变。因此,抑制小胶质细胞异常活化可能是缓解慢性疼痛进展的有效治疗方法。

小胶质细胞的极化

作为一种多功能的可塑性细胞,小胶质细胞在局部组织微环境中免疫细胞或神经元释放因子的作用下,增殖并极化为具有不同生理特征和生物学功能的表型,其中包括“经典激活”促炎 M1 型和“交替激活”抗炎 M2 型^[10]。由细菌、病毒或者外伤刺激引起的 M1 型小胶质细胞可表达典型的表面标记物如 CD16/32、CD86、CD68 和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)^[11-12]、活性氧(reactive oxygen species, ROS)^[13]等,参与抗原提呈及特异性 T 淋巴细胞的激活过程同时产生大量的促炎介质。另外,作为第二信使的 ROS 还导致神经退行性疾病如阿尔兹海默病等的氧化应激产生,加速神经炎症反应进程,最终导致神经元损伤。

在合并感觉和运动功能受损的脊髓损伤动物模型中,除 NK 细胞及巨噬细胞在损伤核心区域聚集浸润外,M1 型小胶质细胞释放的促炎细胞因子

如白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)等共同启动神经毒性反应,导致内皮细胞、神经元和少突胶质细胞等的凋亡和坏死,阻碍神经功能修复过程^[14-15]。

M2 型小胶质细胞分为 M2a、M2b、M2c 和 M2d 四种亚型,这些亚型因其细胞表面标志物、分泌的细胞因子和生物功能不同而各不相同。M2a 型小胶质细胞在 IL-4 和 IL-13 刺激后吞噬活性增强,在增殖早期表达高水平精氨酸酶-1(arginase-1, Arg-1)和几丁质酶 3 样蛋白^[16-17],促进细胞增殖和迁移。处于增殖期的小胶质细胞,在胰岛素样生长因子-1 的作用下表现为 M2b 表型,同时释放 IL-10 进一步刺激 M2c 型小胶质细胞活化,此亚型表达的 Mer 受体酪氨酸激酶在促进凋亡细胞吞噬方面发挥作用。胰岛素样生长因子-1 可诱导 SCI 后神经胶质瘢痕的形成,完整的胶质瘢痕提供限制炎症传播的关键屏障,在不破坏其完整性的情况下,适当降低瘢痕密度对改善轴突再生有积极作用^[18-19]。

小胶质细胞极化与慢性疼痛

小胶质细胞 M1/M2 型极化介导的炎症反应,在慢性疼痛的发生和发展中起着重要作用。不同的分子和合成药物能使 M1 和 M2 之间的不平衡正常化,且极化的小胶质细胞并不是锁定在某个特定状态,作为一种高度可塑性细胞,它可以随着细胞外微环境的改变而获得不同的功能表型。

慢性炎性痛 慢性炎性痛常源于组织损伤和长期炎症反应引发的伤害性感受器超敏反应,疼痛诱发阈值降低、损伤部位对有害刺激反应增强是其主要表现。同时炎症介质作用产生的外周感觉纤维兴奋性增加也参与慢性炎性痛的发展,常见的炎症介质如 P 物质、5-羟色胺和组胺等,低活性的小胶质细胞受到内源性痛介质刺激迅速活化,释放炎症因子和趋化因子等,有助于免疫信号在神经系统中的传播,诱发个体一系列生理和行为反应。在完全弗氏试剂诱导的小鼠炎性痛模型中,鞘内注射二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)逆转了 Iba-1 mRNA 和蛋白水平的上调,明显减轻了机械性异位痛,抑制了脊髓中的小胶质细胞的激活;实验数据显示,DHA 预处理可下调脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导的 BV-2 细胞和原代小胶质细胞中活化标记物的表达,间接参与炎症缓解^[20]。在单

碘乙酸钠 (sodium monoiodoacetate, MIA) 诱导的大鼠骨关节炎性痛模型中, 伤害性刺激诱发的机械性痛觉过敏和异常性疼痛持续存在, 关节腔内注射肉毒杆菌毒素 A 型 (botulinum toxin type A, BTX-A/BoNT/A) 可明显升高机械痛缩足反应阈值, 抑制嘌呤能受体 P2X4 (purine receptor P2X4, P2X4R) 上调, 最终缓解小胶质细胞 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 能中间神经元的去抑制作用, 减轻骨关节炎性痛^[21]。而鞘内给予 P2 受体拮抗剂抑制小胶质细胞活化相关的炎性因子释放, 减少机械痛觉过敏、脊髓反射活性及小胶质细胞增生^[22]。

神经病理性疼痛 躯体感觉神经损伤直接导致神经病理性疼痛的产生, 常表现为自发性疼痛和痛觉增敏等。免疫细胞的浸润、神经胶质细胞的激活及外周和中枢神经系统中炎性介质的产生是神经炎症反应的主要病理变化, 小胶质细胞极化介导的神经炎症反应在神经病理性疼痛的发生中不可或缺^[23]。骨髓间充质干细胞移植不仅上调大鼠体内 IL-4 水平, 且以 IL-4 依赖性方式持续诱导体内 M2 型细胞的产生, 而沉默 IL-4 基因表达明显影响 M1 和 M2 型细胞标志物, 在转录水平致 iNOS mRNA 表达增加, Arg-1 mRNA 表达减少^[24]。Chang 等^[25]构建大鼠神经病理性疼痛模型和离体 LPS 诱导的 BV-2 小胶质细胞炎症反应模型, 慢性坐骨神经结扎大鼠在山奈酚灌胃处理后, 血清中的 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 等炎性标志物表达减少, 与假手术大鼠比较, 慢性坐骨神经结扎大鼠坐骨神经损伤更重。LPS 处理的细胞模型结果同样表明, 山奈酚明显抵消了 LPS 诱导的 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 激活及小胶质细胞 M1 极化的影响, 提高 M2/M1 型占比, 抑制炎性趋化因子的产生。足底注射 BTX-A 可明显升高神经病理性疼痛大鼠机械撤回阈值、延长热撤回潜伏期, 提高大鼠痛阈。离体实验研究^[26]结果表明, BTX-A 处理有效降低 iNOS 和 M1 相关细胞因子 (TNF- α 和 IL-6) 的表达, 明显上调 Arg-1 和 M2 相关细胞因子 IL-10 的表达, 有效抑制神经病理性疼痛的发生与维持。

骨癌痛 骨癌痛是慢性疼痛中最严重也是最难以控制的疼痛之一, 并伴有炎性痛、神经性疼痛和肿瘤特异性等特点。当前癌痛的治疗遵循国际三阶梯疗法, 但由于骨癌痛发病机制复杂、个体差异性大, 仍缺乏针对性、长期有效的治疗方法, 极大地影响了患者的生活质量。在骨癌痛进程中, 小胶

质细胞被激活后发生形态和功能的改变, 活化的小胶质细胞通过极化释放过多的神经毒性物质, 刺激神经元, 造成痛觉形成及痛觉敏化。其中 M1 型小胶质细胞分泌的多种促炎因子会增强氧化应激, 上调炎症相关蛋白表达, 而 M2 型小胶质细胞通过分泌抗炎因子和神经营养因子抑制疼痛的发展^[27]。在包括骨癌痛的多种慢性疼痛发生时, 促进小胶质细胞向 M2 极化, 可以有效地缓解疼痛, 但是具体靶点并不明确。单次鞘内注射钩吻素子明显抑制骨癌痛大鼠脊髓小胶质细胞活化, 同时下调炎性因子、Iba-1 与胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 表达, 小鼠骨癌痛得到缓解^[28]。Wu 等^[29]构建的骨癌痛大鼠模型证明, DRG 中小胶质细胞嘌呤能受体 P2X7 (purine receptor P2X7, P2X7R) 在接种肿瘤后表达上调, 使用 P2X7R 抑制剂缓解了癌症引起的疼痛, 与骨癌痛大鼠比较, 应用 P2X7R 抑制剂的大鼠 M2 型标志物如 CD163、Arg-1、IL-10 等表达明显上调, M1 型标志物如 iNOS、CD86 和促炎细胞因子 TNF- α 、IL-18 表达明显下调。Zhang 等^[30]研究表明, 内侧前额叶皮层中的干扰素基因刺激蛋白 (stimulator of interferon genes, STING) 主要与 II 类主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex class II, MHC II) 共定位, 可能是骨癌痛中促进小胶质细胞向 M1 表型极化的关键调节因子; 骨癌痛 Wister 大鼠内侧前额叶皮层中 STING 上调, 同时下游 TANK 结合激酶 1 (TANK-binding kinase 1, TBK1) 和核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 的磷酸化蛋白含量明显升高。在注射 STING 抑制剂 C-176 后, 骨癌痛大鼠疼痛和焦虑样行为得到缓解, MHCII 和促炎细胞因子 IL-1 β 的激活被逆转。相反地, 作为 M2 小胶质细胞标志物的 CD206 的表达在 C-176 处理后明显升高。

小 结

神经炎症通过形成中枢敏化介导慢性疼痛, 而 CNS 中的小胶质细胞在形成中枢敏化过程中发挥重要作用。小胶质细胞在受到炎症等外界刺激被激活后, 表现出不同的表型和生物学功能, 其中包括促炎 M1 型和抗炎 M2 型。临床上常用的传统抗炎方法如非甾体类抗炎药、局麻药物或物理疗法等治疗措施的效果有限, 而调节小胶质细胞的极化及其表型的转换已被证实有助于减轻神经炎症, 减少继发性组织损伤, 并缓解慢性疼痛。因此, 选择性抑制具有神经毒性的 M1 型小胶质细胞极化, 或促

进具有神经保护作用的 M2 型小胶质细胞极化,可能是治疗慢性疼痛的潜在方式。

参 考 文 献

- [1] Hiraga SI, Itokazu T, Nishibe M, et al. Neuroplasticity related to chronic pain and its modulation by microglia. *Inflamm Regen*, 2022, 42(1): 15.
- [2] Fillingim RB, Loeser JD, Baron R, et al. Assessment of chronic pain: domains, methods, and mechanisms. *J Pain*, 2016, 17(9 Suppl): T10-T20.
- [3] Mercer Lindsay N, Chen C, Gilam G, et al. Brain circuits for pain and its treatment. *Sci Transl Med*, 2021, 13(619): eabj7360.
- [4] Domoto R, Sekiguchi F, Tsubota M, et al. Macrophage as a peripheral pain regulator. *Cells*, 2021, 10(8): 1881.
- [5] Hu X. Microglia/macrophage polarization: Fantasy or evidence of functional diversity? *J Cereb Blood Flow Metab*, 2020, 40(1-suppl): S134-S136.
- [6] 李祺, 李成龙, 戚思华. 小胶质细胞表面受体在术后认知功能障碍中的研究进展. *临床麻醉学杂志*, 2022, 38(8): 883-887.
- [7] Mercurio D, Fumagalli S, Schafer MK, et al. Protein expression of the microglial marker tmem119 decreases in association with morphological changes and location in a mouse model of traumatic brain injury. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 820127.
- [8] Zhang X, Wang D, Zhang B, et al. Regulation of microglia by glutamate and its signal pathway in neurodegenerative diseases. *Drug Discov Today*, 2020, 25(6): 1074-1085.
- [9] Lindhout IA, Murray TE, Richards CM, et al. Potential neurotoxic activity of diverse molecules released by microglia. *Neurochem Int*, 2021, 148: 105117.
- [10] Atta AA, Ibrahim WW, Mohamed AF, et al. Microglia polarization in nociplastic pain: mechanisms and perspectives. *Inflammopharmacology*, 2023, 31(3): 1053-1067.
- [11] Fan H, Wu Q, Peng L, et al. Phyllobium chinense fisch flavonoids (PCFF) suppresses the M1 polarization of LPS-stimulated RAW264.7 macrophages by inhibiting NF- κ B/iNOS signaling pathway. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 864.
- [12] Qu W, Cheng Y, Peng W, et al. Targeting iNOS alleviates early brain injury after experimental subarachnoid hemorrhage via promoting ferroptosis of M1 microglia and reducing neuroinflammation. *Mol Neurobiol*, 2022, 59(5): 3124-3139.
- [13] Simpson D, Oliver PL. ROS generation in microglia: understanding oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(8): 743.
- [14] Zhang Q, Zhang S, Chen H, et al. Targeting of MALT1 may improve functional recovery and attenuate microglia M1 polarization-mediated neuroinflammation during spinal cord injury. *Mol Neurobiol*, 2023, 60(5): 2632-2643.
- [15] Gaojian T, Dingfei Q, Linwei L, et al. Parthenolide promotes the repair of spinal cord injury by modulating M1/M2 polarization via the NF- κ B and STAT 1/3 signaling pathway. *Cell Death Discov*, 2020, 6(1): 97.
- [16] Kuramoto Y, Fujita M, Takagi T, et al. Early-phase administration of human amnion-derived stem cells ameliorates neurobehavioral deficits of intracerebral hemorrhage by suppressing local inflammation and apoptosis. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 48.
- [17] Kisucká A, Bimbová K, Bačová M, et al. Activation of neuroprotective microglia and astrocytes at the lesion site and in the adjacent segments is crucial for spontaneous locomotor recovery after spinal cord injury. *Cells*, 2021, 10(8): 1943.
- [18] Song G, Yang R, Zhang Q, et al. TGF- β secretion by M2 macrophages induces glial scar formation by activating astrocytes in vitro. *J Mol Neurosci*, 2019, 69(2): 324-332.
- [19] Yang T, Dai Y, Chen G, et al. Dissecting the dual role of the glial scar and scar-forming astrocytes in spinal cord injury. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 78.
- [20] Lu Y, Cao DL, Ma LJ, et al. TRAF6 contributes to CFA-induced spinal microglial activation and chronic inflammatory pain in mice. *Cell Mol Neurobiol*, 2022, 42(5): 1543-1555.
- [21] Yang H, Wang L, Chu X, et al. BoNT/A alleviates neuropathic pain in osteoarthritis by down-regulating the expression of P2X4R in spinal microglia. *Toxicon*, 2022, 206: 55-63.
- [22] Schaible HG, König C, Ebersberger A. Spinal pain processing in arthritis: neuron and glia (inter)actions. *J Neurochem*, 2022.
- [23] Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment. *Physiol Rev*, 2021, 101(1): 259-301.
- [24] Wang J, Ding H, Zhou J, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells attenuates acute liver failure in mice via an interleukin-4-dependent switch to the M2 macrophage anti-inflammatory phenotype. *J Clin Transl Hepatol*, 2022, 10(4): 669-679.
- [25] Chang S, Li X, Zheng Y, et al. Kaempferol exerts a neuroprotective effect to reduce neuropathic pain through TLR4/NF- κ B signaling pathway. *Phytother Res*, 2022, 36(4): 1678-1691.
- [26] Gui X, Wang H, Wu L, et al. Botulinum toxin type A promotes microglial M2 polarization and suppresses chronic constriction injury-induced neuropathic pain through the P2X7 receptor. *Cell Biosci*, 2020, 10: 45.
- [27] Ge MM, Li DY, Wang L, et al. Naringenin promoted spinal microglia M2 polarization in rat model of cancer-induced bone pain via regulating AMPK/PGC-1 α signaling axis. *Biomed Pharmacother*, 2022, 149: 112912.
- [28] 张文杰, 杨成伟, 韩明明, 等. 鞘内注射钩吻素子对骨癌痛小鼠行为学及脊髓背角胶质细胞活化的影响. *临床麻醉学杂志*, 2022, 38(8): 851-856.
- [29] Wu P, Zhou G, Wu X, et al. P2X7 receptor induces microglia polarization to the M1 phenotype in cancer-induced bone pain rat models. *Mol Pain*, 2022, 18: 17448069211060962.
- [30] Zhang X, Li X, Wang W, et al. STING contributes to cancer-induced bone pain by promoting M1 polarization of microglia in the medial prefrontal cortex. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(21): 5188.

(收稿日期:2023-05-16)