

脊髓缺血再灌注损伤后的免疫炎性微环境

高煜, 韩佳慧, 葛新

<https://doi.org/10.12307/2023.051>

投稿日期: 2022-01-18

采用日期: 2022-03-12

修回日期: 2022-04-26

在线日期: 2022-05-14

中图分类号:

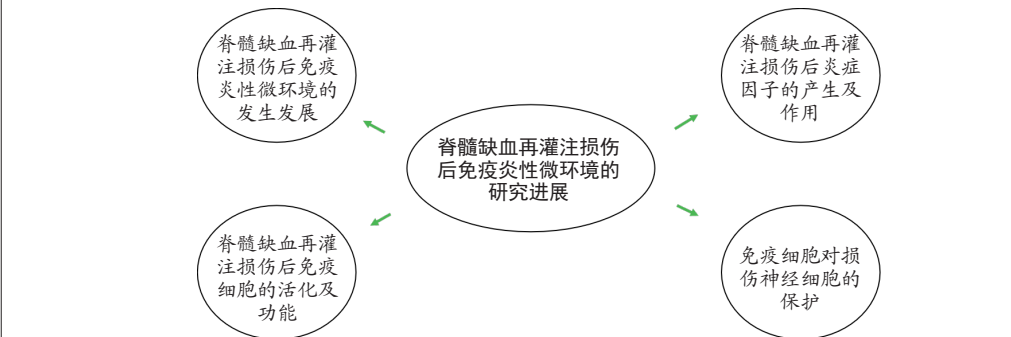
R496; R318; R651.2

文章编号:

2095-4344(2023)08-01300-06

文献标识码: A

文章快速阅读: 脊髓缺血再灌注损伤后的炎性微环境



文题释义:

脊髓缺血再灌注损伤: 是创伤、脊髓和胸腹主动脉手术后的一种严重并发症。血液灌流恢复后,原发性缺血脊髓组织损伤加重,甚至出现脊髓神经元迟发性死亡。脊髓缺血再灌注损伤的发病机制包括无氧自由基诱导的脂质过氧化、细胞内钙超载、白细胞活化、炎症反应和神经元凋亡等。

炎性微环境: 脊髓缺血再灌注损伤后炎症反应中涉及多种免疫细胞,以小胶质细胞、巨噬细胞、星形胶质细胞为主,这些细胞长期存在于受损脊髓内。免疫细胞的组成和表型也随着损伤阶段和损伤微环境中的信号而改变,刺激可以诱导细胞分化为促炎表型,也可以分化为抑炎表型,从而调节缺血再灌注损伤后的继发性损伤。

摘要

背景: 脊髓缺血再灌注损伤后炎性微环境的变化影响着损伤修复和预后。

目的: 对脊髓缺血再灌注损伤后炎性微环境研究进展进行综述。

方法: 以“spinal cord ischemia-reperfusion, inflammation, Microglia, Astrocytes, Macrophages, Crosstalk”为英文检索词,以“脊髓缺血再灌注损伤,炎症,小胶质细胞,星形胶质细胞,巨噬细胞,细胞交互”为中文检索词,检索发表在PubMed、CNKI、万方数据库的相关文献,最终纳入42篇文献进行综述分析。

结果与结论: 免疫炎性微环境的变化对脊髓缺血再灌注损伤后神经细胞损伤和修复具有调控作用,如小胶质细胞通过活化为M1/M2表型来调控炎症反应抵御传染源、清除凋亡和受损细胞、重塑不适当的神经连接从而帮助神经系统恢复稳态;星形胶质细胞在炎症因子的刺激下通过活化为A1/A2表型调控免疫过程来维持中枢神经系统稳态和神经元功能;以及巨噬细胞通过活化为M1/M2型来调控免疫过程修复损伤的脊髓组织,它们互相影响着彼此,如小胶质细胞和星形胶质细胞彼此也相互影响,如脊髓损伤时,小胶质细胞最先活化并释放炎症因子诱导星形胶质细胞激活,释放相应的细胞因子、趋化因子、Ca²⁺等来调节小胶质细胞的表型和功能,通过维持免疫炎性微环境稳态才是脊髓缺血再灌注损伤治疗的关键。

关键词: 脊髓缺血再灌注损伤;炎症;免疫细胞;小胶质细胞;星形胶质细胞;巨噬细胞;细胞交互;综述

Immunoinflammatory microenvironment after spinal cord ischemia-reperfusion injury

Gao Yu, Han Jiahui, Ge Xin

Department of Intensive Care Unit, Wuxi Ninth Hospital Affiliated to Soochow University, Wuxi 214000, Jiangsu Province, China

Gao Yu, Master, Department of Intensive Care Unit, Wuxi Ninth Hospital Affiliated to Soochow University, Wuxi 214000, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Ge Xin, MD, Associate chief physician, Department of Intensive Care Unit, Wuxi Ninth Hospital Affiliated to Soochow University, Wuxi 214000, Jiangsu Province, China

Abstract

BACKGROUND: The changes in the immunoinflammatory microenvironment after spinal cord ischemia-reperfusion injury affect injury repair and prognosis.

OBJECTIVE: To review the research progress in the immunoinflammatory microenvironment after spinal cord ischemia-reperfusion injury

METHODS: PubMed, CNKI, and WanFang databases were searched for relevant studies using the keywords of “spinal cord ischemia-reperfusion, inflammation, microglia, astrocytes, macrophages, crosstalk” in English and Chinese, respectively. Finally, 42 relevant articles were included for further review.

RESULTS AND CONCLUSION: Changes in the immunoinflammatory microenvironment can regulate nerve cell injury and repair after spinal cord ischemia-reperfusion injury. For example, microglia can be differentiated into M1/M2 phenotypes to regulate inflammatory responses, resist infectious sources, remove apoptotic and damaged cells, and reshape inappropriate neural connections, thereby helping the nervous system restore homeostasis. Astrocytes can regulate

苏州大学附属无锡九院重症医学科, 江苏省无锡市 214000

第一作者: 高煜, 男, 1992年生, 江苏省无锡市人, 南通大学神经再生重点实验室2018届毕业生, 硕士。

通讯作者: 葛新, 博士, 副主任医师, 苏州大学附属无锡九院重症医学科, 江苏省无锡市 214000

<https://orcid.org/0000-0003-2986-8623> (高煜); <https://orcid.org/0000-0003-4218-8016> (葛新)

基金资助: 无锡市卫健委精准医学重点专项(J202007), 项目负责人: 葛新

引用本文: 高煜, 韩佳慧, 葛新. 脊髓缺血再灌注损伤后的免疫炎性微环境 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(8):1300-1305.



immune process through differentiation into A1/A2 phenotype to maintain homeostasis in the central nervous system and neuronal function under the stimulation of inflammatory factors. Macrophages can regulate immune process and repair injured spinal cord tissue by differentiation into M1/M2 phenotype. Microglia, astrocytes and macrophages also affect each other. For example, after spinal cord injury, microglia are the first to activate and release inflammatory factors to induce the activation of astrocytes and then release corresponding cytokines, chemokines, and Ca²⁺ to regulate the phenotype and function of microglia. Maintaining the homeostasis of immunoinflammatory microenvironment is the key to the treatment of spinal cord ischemia-reperfusion injury.
Key words: spinal cord ischemia-reperfusion injury; inflammation; immune cell; microglia; astrocyte; macrophage; crosstalk; review

Funding: the Precision Medicine Project of Wuxi Municipal Healthy Commission, No. J202007 (to GX)

How to cite this article: GAO Y, HAN JH, GE X. immunoinflammatory microenvironment after spinal cord ischemia-reperfusion injury. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2023;27(8):1300-1305.

0 引言 Introduction

脊髓缺血再灌注损伤 (spinal cord ischemia-reperfusion injury, SCII) 是创伤、脊髓和胸腹主动脉手术后的一种严重并发症, 于 1911 年由 Allen 首先阐述^[1], 在 1968 年 Ames 研究中首先报道了脑缺血再灌注损伤^[2], 直到 1985 年才由 Mccord 正式提出缺血再灌注损伤的概念^[3]。到目前为止人们对脊髓损伤的病理机制进行了大量的探究, 发现脊髓缺血再灌注损伤的发病机制包括无氧自由基诱导的脂质过氧化、细胞内钙超载、白细胞活化、炎症反应和神经元凋亡^[4]。而神经炎症导致的细胞水肿、细胞凋亡和细胞内免疫稳态失衡等继发性病理生理变化可显著提高急性脊髓损伤的水平, 导致损伤后出现严重神经功能障碍^[5]。关于脊髓缺血再灌注损伤后免疫炎症微环境改变的机制尚不明确, 是国内外研究的热点问题。该文将对脊髓损伤后免疫炎症微环境的研究进展进行综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在 2021 年 12 月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 检索时间范围重点为 2016 年 1 月至 2021 年 12 月, 同时纳入少数远期经典及特别相关文献。

1.1.3 检索数据库 检索 CNKI、PubMed、万方数据库。

1.1.4 检索词 以“脊髓缺血再灌注损伤、免疫炎症微环境、小胶质细胞、星形胶质细胞、巨噬细胞、细胞互作”为中文检索词, 以“spinal cord ischemia-reperfusion, immune inflammation microenvironment, microglia, astrocyte, macrophage, crosstalk”为英文检索词, 分别进行检索。

1.1.5 检索文献类型 研究原著, 综述, 基础研究等。

1.1.6 手工检索情况 无。

1.1.7 检索策略 PubMed 数据库检索策略如下: “(Spinal Cord Ischemia-reperfusion OR Immune Inflammation Microenvironment) AND (Microglia OR Astrocyte OR Macrophage OR Crosstalk)”。

1.1.8 检索文献量 初检得到 3 241 篇文章。

1.2 入选标准

1.2.1 纳入标准 脊髓缺血再灌注损伤后免疫炎症微环境相关研究。

1.2.2 排除标准 文献内容与主题无关的文章和重复性研究。

1.3 文献筛选过程及质量评估 在 3 241 篇文章中初步筛选 1 508 篇文章, 其中英文 1 265 篇, 中文 243 篇, 排除重复文献及与文章相关性低的文献, 结合手工检索及远期经典文献, 最终纳入 42 篇文章进行综述分析, 见图 1。

2 结果 Results

脊髓损伤作为国内外研究领域的热点之一, 其大致研究时间脉络见图 2。

2.1 脊髓缺血再灌注损伤后的免疫炎症反应 脊髓缺血再灌注损伤是在原发性脊髓损伤基础上的继发性损伤, 再灌注血液不仅加

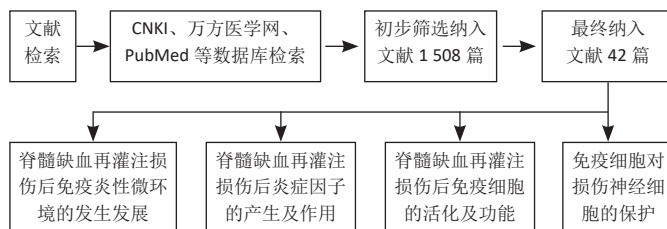


图 1 | 文献筛选分析流程图



图 2 | 脊髓缺血再灌注损伤研究领域的时间脉络图

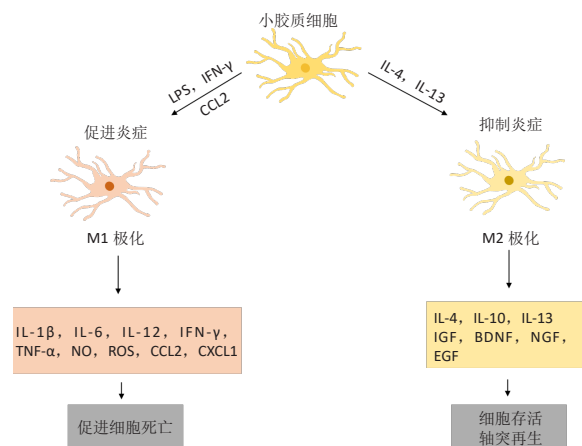
重缺血脊髓组织损伤还会导致神经系统的并发症。脊髓缺血再灌注损伤潜在病理机制较为复杂, 其显著的病理学特征就是血管系统以及免疫微环境的紊乱, 如脊髓损伤部位浸润性白细胞的活化, 再灌注后恢复的血流刺激黏附分子和趋化因子的表达, 通过激活小胶质细胞、星形胶质细胞和巨噬细胞等免疫细胞导致免疫炎症微环境的改变^[6]。脊髓缺血再灌注损伤的炎症反应以灰质内大量炎症细胞聚集为特征, 继发性损伤的级联反应在损伤区域引发了后续的巨大炎症反应, 可广泛延伸至邻近组织, 最终导致血脊髓屏障的破坏, 神经细胞水肿、凋亡和焦亡, 并在很大程度上抑制轴突再生和脊髓损伤后的功能恢复^[6-8]。在炎症的不同阶段, 不同的免疫细胞可以交互影响, 免疫微环境的变化在促炎过程和抑炎过程的调节中起着至关重要的作用。

2.2 脊髓缺血再灌注损伤后的免疫细胞活化 免疫细胞在脊髓缺血再灌注损伤中调控作用, 见表 1。

表 1 | 免疫细胞在脊髓缺血再灌注损伤中调控作用的研究成果

细胞	表型	主要功能	释放细胞因子	主要结论
小胶质细胞	M1	促进炎症	干扰素 γ , 肿瘤坏死因子 α	促进细胞死亡
	M2	抑制炎症	白细胞介素 4, 白细胞介素 10, 白细胞介素 13, 转化生长因子 β	轴突再生
星形胶质细胞	A1	促进炎症	白细胞介素 1 α , 白细胞介素 1 β , 白细胞介素 6, 干扰素 γ , 肿瘤坏死因子 α	促进神经元死亡
	A2	抑制炎症	白细胞介素 17A	保护神经元
巨噬细胞	M1	促进炎症	肿瘤坏死因子 α , 白细胞介素 17A	吞噬细菌等外来物质及凋亡细胞碎片
	M2	抑制炎症	白细胞介素 4, 白细胞介素 13	抑制炎症, 修复组织

2.2.1 小胶质细胞 神经细胞和胶质细胞是构成中枢神经系统的主要细胞，神经细胞和胶质细胞的比例接近 1 : 1。神经胶质细胞主要包括星形胶质细胞，少突胶质细胞和小胶质细胞，它们共同起着维持神经系统平衡的作用，支持和保护神经元^[6-7]。小胶质细胞是巨噬细胞样细胞，作为中枢神经系统的主要免疫细胞，是免疫微环境变化的主动感受器，负责抵御传染源，清除凋亡和受损细胞，重塑不适当的神经连接，帮助神经系统恢复稳态。它们在正常的中枢神经系统中保持静止，而在神经损伤受到刺激时被迅速激活^[9-10]。小胶质细胞可以按照不同的表型进行分化，分为 M1 型和 M2 型（见图 3），不同的亚型具有不同的特征，影响着后续的神经炎症过程。M1 型为促炎表型，与高水平的促炎细胞因子如肿瘤坏死因子 α 和干扰素 γ 相关，促进炎症反应进而杀死外源性入侵微生物。但是 M1 型可以产生高水平的一氧化氮和基质金属蛋白酶造成组织损伤和轴索回缩，产生不良后果。M2 型为抑炎表型，可以产生白细胞介素 4、白细胞介素 10 和白细胞介素 13 等抑炎递质，抑制炎症反应恢复稳态起到神经保护作用，还可以通过吞噬细胞碎片等方式参与后期的组织修复和重塑^[6-7]。已有多项研究表明 M1/M2 小胶质细胞表型的平衡在脊髓损伤中起重要作用，促进 M2 小胶质细胞的分化可以减轻炎症损伤并改善恢复过程^[11-12]。



图注：小胶质细胞受到外在条件刺激会活化成 M1/M2 不同的表型，从而分泌相应的因子回应外在的刺激。IL：白细胞介素；LPS：脂多糖；INF：干扰素；TNF- α ：肿瘤坏死因子 α ；ROS：活性氧；NGF：神经生长因子；BDNF：脑源性神经营养因子；IGF：胰岛素样生长因子；EGF：表皮生长因子

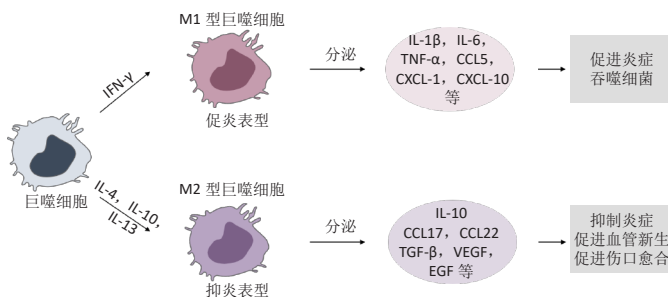
图 3 | 小胶质细胞表型 (M1 和 M2) 极化模式图

通过检测脊髓缺血再灌注损伤模型大鼠的血浆和脑脊液，有研究发现高级氧化蛋白产物增加，免疫荧光染色提示小胶质细胞过度激活，呈 M1 促炎表型。脊髓缺血再灌注损伤使活性氧释放增加并诱导了 p38MAPK 和 JNK 的磷酸化，随后触发了核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)p65 的核转位表达促炎因子。用高级氧化蛋白产物处理小胶质细胞后诱导了核苷酸结合寡聚化样受体蛋白 3(nucleotide-binding oligomerization like receptor protein 3, NLRP3) 炎性小体的激活和 Gasdermin-d(GSDMD) 的裂解，出现了细胞焦亡^[13]。有研究通过腹主动脉夹闭的方式进行造模，脊髓缺血再灌注损伤后小胶质细胞激活明显增加，而给予右美托咪定后可以抑制小胶质细胞活化。将长链非编码 RNA 小核仁 RNA 宿主基因 14(small nucleolar RNA host gene 14, SNHG14) 转染到小胶质细胞后通过敲低和过表达进行调控处理，发现 SNHG14 敲低可以进一步降低 ED-1、肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6 的水平，帮助抑制氧糖剥夺/再氧合诱导的小胶质细胞激活的作用，而过表达 SNHG14 重新激活了小胶质细胞。

并加重了神经功能缺陷，消除了右美托咪定的治疗效果，最终证实抑制小胶质细胞活化有利于脊髓缺血再灌注损伤神经功能恢复^[14]。电刺激也可以影响小胶质细胞的活化，通过脊髓缺血再灌注损伤造模后于硬膜外放置脊髓电刺激电极，立即给予 2 Hz 和 50 Hz 电刺激，结果提示脊髓缺血再灌注损伤后 8 h，第 1, 3, 7 天小胶质细胞活化明显增加，肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1 β 、白细胞介素 10 和 NF- κ B 分泌与对照组相比有增加，给予电刺激后可以缓解上述情况；同时发现脊髓刺激对 ERK1/2 的表达有影响，与对照组相比再灌注后 8 h 及第 1, 3, 7 天 p-ERK1/2 水平显著升高；与对照组相比，2 Hz 组 p-ERK1/2 水平在再灌注后 8 h 及 1, 3, 7 d 显著下降，而 50 Hz 组 p-ERK1/2 水平无差异；该研究首次证实了 2 Hz 的脊髓电刺激可以抑制小胶质细胞活化起到神经保护作用^[15]。

随着研究的深入，学者们发现抑制小胶质细胞会影响脊髓缺血再灌注损伤的神经功能恢复。有研究使用集落刺激因子受体抑制剂 PLX3397 选择性地消除小胶质细胞来研究小胶质细胞在脊髓中的特定作用，免疫荧光 IBA-1 染色证实 PLX3397 喂养，可以成功消除几乎所有的小胶质细胞，但没有影响脊髓中星形胶质细胞和少突胶质细胞等其他类型的细胞。结果提示脊髓损伤 7 d 后，对照组病变中心周围的小胶质细胞显著减少，小胶质细胞在脊髓损伤部位周围被迅速招募，而集落刺激因子受体减少了脊髓损伤诱导的这种积累，小胶质细胞耗竭的小鼠表现出运动功能恢复受损；而且他们惊奇的发现使用 PLX3397 耗尽小胶质细胞时，病变核心周围的星形胶质细胞定向是随机的，没有向任何特定方向对齐并形成了较小紧凑的瘢痕；最后作者们认为小胶质细胞消耗使得活化的星形胶质细胞对病变部位的再生明显延迟，在脊髓损伤后活化的星形胶质细胞消融之前，炎症细胞扩散增加；无序的星形胶质细胞瘢痕促进了白细胞在病变核心外的扩散，并伴随着神经元存活率减少，轴突收缩明显增加，致使运动功能恢复减弱^[16]。在挫伤性脊髓损伤的小鼠模型中，小胶质细胞也被确定为脊髓损伤后形成瘢痕的关键细胞成分，以保护神经组织^[17]。

2.2.2 巨噬细胞 巨噬细胞是先天免疫的重要细胞组成部分，主要为源于骨髓造血干细胞的单核细胞，其特点是具有较高的可塑性和对不同刺激的多向分化能力^[18]。巨噬细胞按其表型分为原始型巨噬细胞 (M0)，经典活化的巨噬细胞 (M1) 和选择性活化巨噬细胞 (M2)^[19] (见图 4)。M1 型巨噬细胞，可以被 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 的配体脂多糖或干扰素 γ 激活，高表达促炎细胞因子白细胞介素 12、白细胞介素 23 和肿瘤坏死因子 α 等，在功能上可以促进免疫清除外来病原体和肿瘤细胞，也被称为促炎表型^[20]。M2 型巨噬细胞可以被细胞因子、糖皮质激素



图注：巨噬细胞受到外在条件刺激会活化成 M1/M2 不同的表型，从而分泌相应的因子回应外在的刺激。IL：白细胞介素；INF：干扰素；TNF- α ：肿瘤坏死因子 α ；TGF：转化生长因子；VEGF：血管内皮生长因子；EGF：表皮生长因子

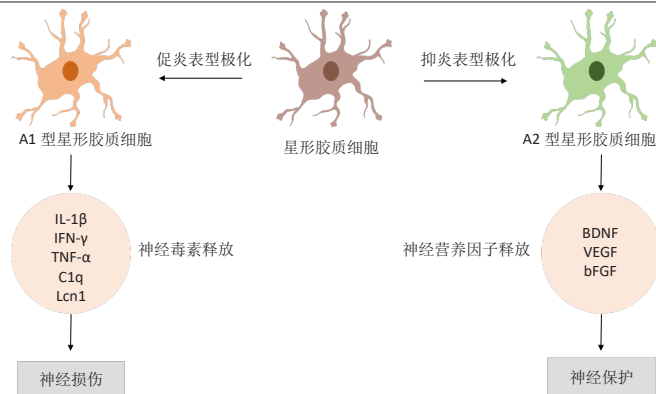
图 4 | 巨噬细胞表型 (M1 和 M2) 极化模式图

素、免疫复合物和脂多糖等多种刺激极化,进一步分为 M2a、M2b、M2c 和 M2d 亚类,在抗炎、促进新生血管形成和损伤组织修复等方面起重要作用^[21]。尽管小胶质细胞和单核细胞来源的巨噬细胞具有相同的细胞标记物和形态,但它们可以通过对特殊环境刺激的极化反应显示出不同的功能。与单核细胞来源的巨噬细胞相比,小胶质细胞产生高水平的白细胞介素 10,并显示出更强的髓磷脂吞噬能力^[20-21]。

研究表明在脊髓缺血再灌注损伤早期,单核细胞来源的巨噬细胞表现为 M1 型,其生物标志物 iNOS、肿瘤坏死因子 α 、CD86、CD16 的急剧升高,释放有害的促炎细胞因子肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6 和氧化代谢物,形成炎症微环境从而损害轴突的再生,但是短暂的局限于脊髓缺血再灌注损伤后的第 1 周。1 周后, M2 生物标志物 CD204 和 CD206 升高,释放保护性和神经营养因子、清除细胞碎片和解决局部炎症来限制缺血性损伤。此外,通过氯膦酸脂质体全身给药的方式消耗单核细胞来源的巨噬细胞,小鼠显著保留了神经功能,缓解了脊髓缺血再灌注损伤引起的神经元损伤。而第 2 周开始消融单核细胞来源的巨噬细胞可能对功能恢复没有影响,因此认为单核细胞来源的巨噬细胞流入脊髓的时间仅限于第 1 周,主要是促炎的 M1 型,而小胶质细胞是后期 M2 型细胞的主要来源。早期单核细胞来源的巨噬细胞会导致脱髓鞘和神经元损伤,后期小胶质细胞则通过清除碎片来保护神经元^[22]。最近的脊髓缺血再灌注损伤研究证实活化的小胶质细胞和巨噬细胞使得丛状蛋白 B2(Plexin-B2) 表达增加,小胶质细胞负责早期同心物理屏障的形成同时影响新生血管的空间方向。新生血管空间方向反过来可能通过引导血源性免疫细胞导向病变核心来促进聚集,从而确保屏障内的清除活性和炎症反应。事实上,最初缺乏细胞的坏死核心后来被充满脂质碎片的密集的巨噬细胞所取代。活化的巨噬细胞也可以通过直接的物理相互作用触发轴突顶梢枯死或营养不良轴突收缩。因此,在星形胶质细胞边界内聚集活化的小胶质细胞和巨噬细胞对于减轻它们与轴突的直接接触至关重要^[23]。

2.2.3 星形胶质细胞 星形胶质细胞是神经元的支持细胞,是胶质细胞边缘的关键组成部分,维持中枢神经系统稳态和神经元功能。它积极促进血脑屏障的形成和维持,而且可以限制免疫细胞通过血脑屏障进入中枢神经系统实质;它可以分泌神经营养因子来调节突触发生、神经元分化和存活,在局部和适应性免疫反应调节中起着关键作用^[24-25]。神经炎症诱导星形胶质细胞活化,表型分类分为 A1 型和 A2 型,与小胶质细胞中 M1 和 M2 的活化分型平行。A1 型为促炎表型,使多个促炎基因上调,并增强促炎细胞因子、趋化因子和生长因子的产生,对突触有破坏性^[26]。A2 型可以使许多神经营养因子上调,并分泌促进中枢神经系统突触生长的蛋白,具有神经保护和修复功能^[27],见图 5。

(1) 脊髓缺血再灌注损伤后星形胶质细胞中 NF- κ B 通路研究现状:在炎症过程中,星形细胞的信号通路似乎汇聚在共同的下游转录调控因子上,例如, NF- κ B 异源二聚体的核转位是星形胶质细胞活化的中心步骤。近期研究显示脊髓缺血再灌注损伤后星形胶质细胞活化增强,通过热休克蛋白 A8 激活 NLRP3 炎症小体,导致 NF- κ B 的核转位和 DNA 结合活性增强。将热休克蛋白 A8 敲低后可以逆转上述状况,使活化的星形胶质细胞表达减少,产生神经保护作用,改善神经功能^[6]。热休克蛋白 A8 的表达,在该研究存在星形胶质细胞和小胶质细胞的共定位,但是热休克蛋白 A8 和 IBA-1 之间的相关性弱于热休克蛋白 A8 和 GFAP 免疫反应细胞,特别是在再灌注 12 h 后,因此强调脊髓星形胶质



图注:星形胶质细胞受到外在条件刺激会活化成 A1/A2 不同的表型,从而分泌相应的因子回应外在的刺激,参与免疫炎症微环境的调控。IL: 白细胞介素; INF: 干扰素; TNF- α : 肿瘤坏死因子 α ; BDNF: 脑源性神经营养因子; VEGF: 血管内皮生长因子; bFGF: 碱性成纤维细胞生长因子
图 5 | 星形胶质细胞表型 (A1 和 A2) 极化模式图

细胞的热休克蛋白 A8 表达可能在脊髓缺血再灌注损伤发病机制中发挥重要作用^[6]。

(2) 脊髓缺血再灌注损伤后脊髓水肿机制研究现状:星形胶质细胞对血脑屏障的影响和缺血再灌注后脊髓水肿的机制研究也是主要的研究方向。有研究发现给予脊髓缺血再灌注损伤模型大麻素-2 受体 (cannabinoid-2 receptor, CB2R) 激动剂 JWH-133 预处理,可减轻模型大鼠后肢运动功能缺陷和血脑屏障渗漏,并可防止紧密连接蛋白 1 下调和基质金属蛋白酶 9 上调,可降低损伤后血管周围基质金属蛋白酶 9 和活化星形胶质细胞的表达^[5]。该结论也在其他研究中得到证实^[28],同时作者还证实了星形胶质细胞的水肿是通过 HMGB1/TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路介导并以白细胞介素 6 依赖的方式完成的,而使用右美托咪定可以抑制该通路的激活,增加水通道蛋白 (aquaporin, AQP)4 的表达,抑制炎症反应减轻水肿,改善神经功能^[28]。人参皂苷单体具有抗氧化、抗凋亡和神经保护的生物学活性。研究发现 AQP4 在脊髓缺血再灌注损伤的星形胶质细胞氧糖剥夺/再氧合模型中的表达下调,人参皂苷 Rb1 治疗显著减弱了 AQP4 的降低,以保护星形胶质细胞的完整性,上调 AQP4 可以抑制氧糖剥夺/再氧合诱导的星形胶质细胞水肿^[29]。

(3) 脊髓缺血再灌注损伤治疗药物研究现状:临床药物对 AQP4 的影响也有报道,甲强龙 (methylprednisolone) 和促红细胞生成素 (erythropoietin) 是目前最常见的用于治疗脊髓缺血再灌注损伤的药物,研究发现它们对 AQP4 有协同作用增加其表达,减轻损伤后水肿^[30]。退行性颈椎病手术减压模型在减压前 30 min 和术后 2 周给予 30 mg/kg 甲强龙,结果发现单剂量甲强龙治疗可在不损害免疫系统的情况下,显著加快运动恢复 ($P < 0.05$),降低围术期运动并发症发生率,且不影响循环白细胞组成。脊髓的组织学评估显示神经元存活增多和实质炎症的减轻^[31]。而促红细胞生成素 5 000 U/kg 的预处理同样改善了脊髓缺血再灌注损伤模型的组织损伤和细胞凋亡,改善神经功能获得更高的评分^[32]。因此,有国外学者将甲强龙和促红细胞生成素进行了临床研究,将 110 例脊髓型颈椎病患者随机分为对照组和试验组,两组患者均行颈椎融合内固定和颈前路椎间盘切除术,对照组在脊髓减压前 30 min 快速注射甲强龙 30 mg/kg,而试验组在脊髓减压前 30 min 静脉注射甲强龙同时还给予促红细胞生成素 3 000 U/kg;在术前和治疗后 3 个月对两组患者进行神经功能评估,治疗后 3 个月两组患者采用世界卫生组织生活质量评估工具 (WHOQOL-100) 评估生活质量;术前统计学资料基线数据

无差异, 治疗3个月后试验组患者白细胞介素1 β 、白细胞介素8水平低于对照组 ($P < 0.05$), 试验组患者在心理、生理、社会关系、独立性、环境和一般生活质量等方面的WHOQOL-100指标均高于对照组 ($P < 0.05$); 因此得出结论促红细胞生成素与甲强龙联合治疗脊髓缺血再灌注损伤是有效的, 可以降低S-100 β 、神经特异性烯醇和白细胞介素1 β 的分泌, 保留和改善患者脊髓神经功能和生活质量^[33]。最近, 维生素D也被用于脊髓缺血再灌注损伤的治疗, 有研究将0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 维生素D和30 mg/kg 甲强龙进行了单药物治疗比较, 结果发现维生素D治疗组在氧化应激产物的生成、病理损伤和神经功能评分方面均优于甲强龙组, 提示维生素D是治疗脊髓缺血再灌注损伤的有效药物^[34], 在未来有一定的前景。

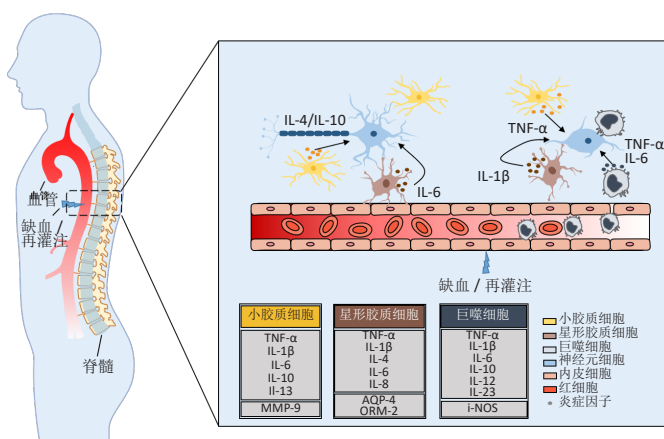
2.2.4 小胶质细胞和星形胶质细胞的交互 小胶质细胞、少突胶质细胞和星形胶质细胞形成一个被高度调控的微环境, 它们之间的相互作用对维持中枢神经系统内稳态至关重要。小胶质细胞通常对病理刺激比星形胶质细胞反应更快, 诱导星形胶质细胞激活并决定它的命运^[24]。星形胶质细胞反馈性影响小胶质细胞激活的能力和细胞功能, 形成星形胶质细胞和小胶质细胞交互。细胞因子、趋化因子、生长因子和三磷酸腺苷等多种分子是这种细胞间的交互的主要媒介^[35]。高度富集的星形胶质细胞培养物在脂多糖刺激下仅释放少量的肿瘤坏死因子 α 、一氧化氮和活性氧等炎性因子, 这表明至少在炎症条件下星形胶质细胞的免疫反应仍依赖于小胶质细胞, 在没有小胶质细胞刺激后, 星形胶质细胞不能产生足够水平的促炎因子^[36]。通过脂多糖激活的小胶质细胞分泌白细胞介素1 α 、肿瘤坏死因子 α 和补体成分1q, 诱导星形胶质细胞的转录反应使星形胶质细胞活化, 分化为A1表型继而分泌了神经毒性因子, 导致星形胶质细胞吞噬活性降低, 神经营养因子表达减少。在炎症条件下, 小胶质细胞来源的促炎因子损害了星形胶质细胞代谢谷氨酸的能力, 这表明中枢神经系统先天免疫中小胶质细胞-星形胶质细胞交互作用是十分关键的^[37]。星形胶质细胞反过来通过许多星形胶质细胞衍生的因子来调节小胶质细胞的表型和功能, 如细胞因子、趋化因子、 Ca^{2+} 、补体蛋白和其他炎性递质。在病理损伤或存在炎症刺激的情况下, 星形胶质细胞的多种可溶性因子的表达发生变化, 通过改变小胶质细胞的激活、迁移和吞噬发挥关键作用。星形胶质细胞在炎症刺激下可以分泌血清类黏蛋白2(orosomucoid-2, ORM2), 可以与小胶质细胞C-C趋化因子受体5(C-C chemokine receptor type 5, CCR5)结合, 并阻断趋化因子C-X-C配体(C-X-C motif ligand, CXCL4)和CCR5相互作用。星形胶质细胞通过ORM2下调小胶质细胞的激活, 在神经炎症过程中发挥抗炎作用^[35, 38]。1型纤溶酶原激活剂抑制剂(plasminogen activator inhibitor type 1, PAI-1), 已被确定为星形胶质细胞-小胶质细胞相互作用的重要介质, 它可以通过低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP)1/Janus激酶(JAK)/STAT1通路促进体外小胶质细胞迁移^[35]。星形胶质细胞也通过细胞增生对中枢神经系统损伤做出反应, 并与包括小胶质细胞在内的其他细胞类型形成胶质细胞瘢痕, 有助于轴突的再生^[39]。在创伤性脑损伤模型中, 小胶质细胞可以通过下调星形胶质细胞P2Y1嘌呤能受体和形成星形胶质细胞瘢痕来诱导星形胶质细胞分化为A2表型^[40]。

CXCL10在脊髓中以低水平表达, 但在脊髓缺血再灌注损伤后CXCL10在3d内以时间依赖的方式持续增加, 免疫荧光双染证实CXCL10在小胶质细胞和星形胶质细胞中均表达上调。趋化因子受体CXCR3是CXCL10的主要配体, 在不同的细胞上表达激活导致不同的细胞活性。小胶质细胞中CXCR3的表达在脊髓缺血再灌注损伤后12h开始增加, 在48h更加明显。相比之下,

星形胶质细胞上CXCR3表达的增加明显延迟, 在脊髓缺血再灌注损伤后48h才被检测到。CXCR3可能早早期给小胶质细胞提供了兴奋性信号并开始扩散, 从而导致星形胶质细胞的晚期激活, 证实了脊髓缺血再灌注损伤后小胶质细胞和星形胶质细胞的序贯激活^[41]。应激诱导磷酸蛋白1是一种配体蛋白, 可以与I κ B竞争, 与热休克蛋白A8结合形成复合物。研究证实应激诱导磷酸蛋白1通过抑制NF- κ B信号活性改善脊髓缺血再灌注损伤炎症和氧糖剥夺/再氧合诱导的小胶质细胞炎症, 表明应激诱导磷酸蛋白1通过抑制小胶质细胞介导的炎症来抑制脊髓缺血再灌注损伤。而应激诱导磷酸蛋白1过表达可以使I κ B表达增加和NF- κ B信号通路失活, 使得活化的星形胶质细胞减少缓解了细胞焦亡^[42]。

3 总结与展望 Summary and prospects

3.1 综述结果分析 脊髓损伤主要由两个重要的阶段组成: 首先是原发性损伤, 随后是一个延长的继发性损伤, 包括可能持续数年的不断发展的亚阶段, 其潜在病理生理机制非常复杂。免疫微环境的紊乱是脊髓损伤病理学的一个显著特征, 特别是脊髓损伤的一个重要组成部分是缺血再灌注损伤, 它能够导致内皮功能障碍和血管通透性改变。事实上, 缺血再灌注损伤与内皮细胞损伤以及免疫微环境的紊乱相关联, 引发了由固有免疫细胞(小胶质细胞和星形胶质细胞)和浸润性白细胞(巨噬细胞)激活引起的全面炎症级联反应。这些炎症细胞释放神经毒素、促炎细胞因子和趋化因子、自由基、兴奋性毒性氨基酸、一氧化氮, 所有这些都参与了轴突和神经元缺陷, 如图6所示。因此, 该综述研究了脊髓缺血再灌注损伤机制的最新进展。



图注: 脊髓缺血再灌注损伤是在原发性脊髓损伤基础上的继发性损伤, 再灌注血液不仅加重缺血脊髓组织损伤还会导致神经系统的并发症, 其显著的病理学特征就是血管系统以及免疫微环境的紊乱, 引发了由固有免疫细胞(小胶质细胞和星形胶质细胞)和浸润性白细胞(巨噬细胞)激活引起的全面炎症级联反应。MMP-9: 基质金属蛋白酶9; AQP-4: 水通道蛋白4; ORM-2: 血清类黏蛋白2; IL: 白细胞介素; TNF: 肿瘤坏死因子

图6 | 脊髓缺血再灌注损伤后免疫炎症微环境的发生发展模式图

3.2 既往他人该领域研究的贡献和存在的问题 既往对于脊髓缺血再灌注损伤中免疫炎症微环境研究主要分为临床和基础两部分, 临床研究主要聚焦于寻找脊髓缺血再灌注损伤治疗靶点以及药物, 基础研究主要聚焦于脊髓缺血再灌注损伤发生发展的潜在分子机制。脊髓缺血再灌注损伤的发生发展较为复杂, 由多种免疫细胞参与并影响多个相关的组织器官, 因此既往研究分散, 尚没有学者进行系统性的研究。

3.3 综述的局限性 文章主要涉及脊髓缺血再灌注损伤中免疫相关细胞的研究, 未能对免疫细胞分泌的细胞因子具体功能进行概述, 以及靶向炎症相关因子的治疗策略的概述。

3.4 综述的重要意义 炎症反应是脊髓缺血再灌注损伤发生发展的重要病理生理学机制之一, 免疫炎症微环境的探究对脊髓缺血再灌注损伤后期的治疗具有重要参考价值, 以及深入基础研究有助于发现新的治疗靶点。

致谢: 感谢无锡市卫健委给与的研究资金资助。

作者贡献: 文章设计者为葛新, 资料收集者为高煜、韩佳慧, 数据分析者为高煜, 韩佳慧, 葛新, 高煜负责撰写论文, 高煜负责文章审核。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明)。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发表宗旨。

4 参考文献 References

- ALLEN AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column. *J Am Med Assoc.* 1911;57:878-890.
- CHIANG J, KOWADA M, AMES A, et al. Cerebral ischemia. III. Vascular changes. *Am J Pathol.* 1968;52(2):455-476.
- MCCORD JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med.* 1985;312(3):159-163.
- JING N, FANG B, LI Z, et al. Exogenous activation of cannabinoid-2 receptor modulates TLR4/MMP9 expression in a spinal cord ischemia reperfusion rat model. *J Neuroinflammation.* 2020;17(1):101.
- AL MAMUN A, WU Y, MONALISA I, et al. Role of pyroptosis in spinal cord injury and its therapeutic implications. *J Adv Res.* 2021;28:97-109.
- MI J, YANG Y, YAO H, et al. Inhibition of heat shock protein family A member 8 attenuates spinal cord ischemia-reperfusion injury via astrocyte NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway: HSPA8 inhibition protects spinal ischemia-reperfusion injury. *J Neuroinflammation.* 2021;18(1):170.
- GU C, LI L, HUANG Y, et al. Salidroside Ameliorates Mitochondria-Dependent Neuronal Apoptosis after Spinal Cord Ischemia-Reperfusion Injury Partially through Inhibiting Oxidative Stress and Promoting Mitophagy. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:3549704.
- 陈梦吉, 叶佳辉, 应一博, 等. 氧调控性神经生长因子基因修饰神经干细胞移植治疗急性脊髓损伤 [J]. *中华骨科杂志*, 2020,40(10):669-679.
- ANWAR MA, AL SHEHABI TS, EID AH. Inflammogenesis of Secondary Spinal Cord Injury. *Front Cell Neurosci.* 2016;10:98.
- WU J, SUN L, LI H, et al. Roles of programmed death protein 1/programmed death-ligand 1 in secondary brain injury after intracerebral hemorrhage in rats: selective modulation of microglia polarization to anti-inflammatory phenotype. *J Neuroinflammation.* 2017;14(1):36.
- TANG Y, LE W. Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Mol Neurobiol.* 2016;53(2):1181-1194.
- GOGOLEVA VS, DRUTSKAYA MS, ATRETKHANY KS. The Role of Microglia in the Homeostasis of the Central Nervous System and Neuroinflammation. *Mol Biol (Mosk).* 2019;53(5):790-798.
- LIU Z, YAO X, JIANG W, et al. Advanced oxidation protein products induce microglia-mediated neuroinflammation via MAPKs-NF- κ B signaling pathway and pyroptosis after secondary spinal cord injury. *J Neuroinflammation.* 2020;17(1):90.
- TA NA HS, AN M, ZHANG T, et al. Dexmedetomidine inhibits microglial activation through SNHG14/HMGB1 pathway in spinal cord ischemia-reperfusion injury mice. *Int J Neurosci.* 2020;1:1-12.
- CHIU C W, HUANG W H, LIN SJ, et al. The immunomodulator decoy receptor 3 improves locomotor functional recovery after spinal cord injury. *J Neuroinflammation.* 2016;13(1):154.
- FU H, ZHAO Y, HU D, et al. Depletion of microglia exacerbates injury and impairs function recovery after spinal cord injury in mice. *Cell Death Dis.* 2020;11(7):528.
- BELLVER-LANDETE V, BRETHERAU F, MAILHOT B, et al. Microglia are an essential component of the neuroprotective scar that forms after spinal cord injury. *Nat Commun.* 2019;10(1):518.
- CHISTIakov DA, MYASOEDOVA VA, REVIN VV, et al. The impact of interferon-regulatory factors to macrophage differentiation and polarization into M1 and M2. *Immunobiology.* 2018;223(1):101-111.
- SHAPOURI-MOGHADDAM A, MOHAMMADIAN S, VAZINI H, et al. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol.* 2018;9(233):6425-6440.
- ARORA S, DEV K, AGARWAL B, et al. Macrophages: their role, activation and polarization in pulmonary diseases. *Immunobiology.* 2018;223(4-5):383-396.
- ATRI C, GUERFALI FZ, LAOUINI D. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases. *Int J Mol Sci.* 2018;19(6):E1801.
- LI H, WANG P, TANG L, et al. Distinct Polarization Dynamics of Microglia and Infiltrating Macrophages: A Novel Mechanism of Spinal Cord Ischemia/Reperfusion Injury. *J Inflamm Res.* 2021;14:5227-5239.
- ZHOU X, WAHANE S, FRIEDL MS, et al. Microglia and macrophages promote corraling, wound compaction and recovery after spinal cord injury via Plexin-B2. *Nat Neurosci.* 2020;23(3):337-350.
- LINNERBAUER M, WHEELER MA, QUINTANA FJ. Astrocyte Crosstalk in CNS Inflammation. *Neuron.* 2020;108(4):608-622.
- JHA MK, LEE WH, SUK K. Functional polarization of neuroglia: Implications in neuroinflammation and neurological disorders. *Biochem Pharmacol.* 2016;103:1-16.
- IIZUMI T, TAKAHASHI S, MASHIMA K, et al. A possible role of microglia-derived nitric oxide by lipopolysaccharide in activation of astroglial pentose-phosphate pathway via the Keap1/Nrf2 system. *J Neuroinflammation.* 2016;13(1):99.
- WANG G, WENG YC, CHIANG IC, et al. Neutralization of Lipocalin-2 Diminishes Stroke-Reperfusion Injury. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):E6235.
- SUN L, LI M, MA X, et al. Inhibition of HMGB1 reduces rat spinal cord astrocytic swelling and AQP4 expression after oxygen-glucose deprivation and reoxygenation via TLR4 and NF- κ B signaling in an IL-6-dependent manner. *J Neuroinflammation.* 2017;14(1):231.
- LI Y N, GAO Z W, LI R, et al. Aquaporin 4 regulation by ginsenoside Rb1 intervenes with oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced astrocyte injury. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(42):e17591.
- WANG C, XU Y, HUANG Y, et al. Effects of erythropoietin and methylprednisolone on AQP4 expression in astrocytes. *Mol Med Rep.* 2017;16(5):5924-5930.
- VIDAL PM, ULNDREAJ A, BADNER A, et al. Methylprednisolone treatment enhances early recovery following surgical decompression for degenerative cervical myelopathy without compromise to the systemic immune system. *J Neuroinflammation.* 2018;15(1):222.
- SIMON FH, ERHART P, VCELAR B, et al. Erythropoietin preconditioning improves clinical and histologic outcome in an acute spinal cord ischemia and reperfusion rabbit model. *J Vasc Surg.* 2016;64(6):1797-1804.
- ERYILMAZ F, FAROOQUE U. The Efficacy of Combined Medication With Methylprednisolone and Erythropoietin in the Treatment of Ischemia-Reperfusion Injury to the Spinal Cord in Patients With Cervical Spondylotic Myelopathy. *Cureus.* 2021;13(3):e14018.
- GÜRER B, KARAKOC A, BEKTAŞOĞLU PK, et al. Comparative effects of vitamin D and methylprednisolone against ischemia/reperfusion injury of rabbit spinal cords. *Eur J Pharmacol.* 2017;813:50-60.
- JHA MK, JO M, KIM JH, et al. Microglia-Astrocyte Crosstalk: An Intimate Molecular Conversation. *Neuroscientist.* 2019;25(3):227-240.
- IIZUMI T, TAKAHASHI S, MASHIMA K, et al. A possible role of microglia-derived nitric oxide by lipopolysaccharide in activation of strogliar pentose-phosphate pathway via the Keap1/Nrf2 system. *J Neuroinflammation.* 2016;13(1):99.
- LIDDELOW SA, GUTTENPLAN KA, CLARKE LE, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature.* 2017;541(7638):481-487.
- TRIPATHI P, RODRIGUEZ-MUELA N, KLIM JR, et al. Reactive Astrocytes Promote ALS-like Degeneration and Intracellular Protein Aggregation in Human Motor Neurons by Disrupting Autophagy through TGF- β 1. *Stem Cell Reports.* 2017;9(2):667-680.
- ANDERSON MA, BURDA JE, REN Y, et al. Astrocyte scar formation aids central nervous system axon regeneration. *Nature.* 2016;532(7598):195-200.
- SHINOZAKI Y, SHIBATA K, YOSHIDA K, et al. Transformation of Astrocytes to a Neuroprotective Phenotype by Microglia via P2Y(1) Receptor Downregulation. *Cell Rep.* 2017;19(6):1151-1164.
- YU Q, TIAN DL, TIAN Y, et al. Elevation of the Chemokine Pair CXCL10/CXCR3 Initiates Sequential Glial Activation and Crosstalk During the Development of Bimodal Inflammatory Pain after Spinal Cord Ischemia Reperfusion. *Cell Physiol Biochem.* 2018;49(6):2214-2228.
- JIN H, GE X, HUAN Z, et al. Stress-induced phosphoprotein 1 restrains spinal cord ischaemia-reperfusion injury by modulating NF- κ B signalling. *J Cell Mol Med.* 2021;25(24):11075-11084.

(责任编辑: ZN, ZJP)