



• 综 述 •

小胶质细胞活化参与骨癌痛机制的研究进展*

李琪琪 林健清[△]

(福建医科大学附属第一医院麻醉科, 福州 350005)

摘 要 骨癌痛是一种涉及炎性、神经病理性、肿瘤特异性机制的慢性疼痛, 以持续性钝痛和爆发性痛为特点, 常见于晚期癌症病人。小胶质细胞是脑实质内的固有免疫细胞, 通过感应周围环境的改变参与中枢疾病的发生发展, 对中枢内环境稳态的维护有重要作用。近年来关于小胶质细胞活化在骨癌痛发生、维持中的重要作用已成为研究热点。骨癌痛状态下, 活化的小胶质细胞可通过分泌促炎因子、上调细胞表面受体、激活相关信号通路参与疼痛的发生和维持。本文以小胶质细胞活化为切入点, 主要综述小胶质细胞及其功能状态与骨癌痛相关的病理机制。

关键词 骨癌痛; 小胶质细胞; 活化; 机制

癌性痛普遍存在于癌症病人的每个阶段, 包括癌症本身引起的疼痛和抗癌治疗带来的疼痛。根据全球癌症负担现状报告, 癌症发生率最高的依次是肺癌、乳腺癌、前列腺癌^[1]。而这些肿瘤最常发生骨转移, 从而诱发骨癌痛, 严重影响器官功能状态和生存质量。但由于缺乏特异性的药物和疗法^[2], 临床上多数骨癌痛仍未得到充分的控制和缓解, 因而探讨骨癌痛的发生机制、寻求其有效治疗靶点是临床骨癌痛治疗所关注的焦点。以往骨癌痛的研究多集中于神经元, 而近年来有关中枢小胶质细胞活化在骨癌痛中作用的研究提示, 在骨癌痛进程中, 中枢小胶质细胞被激活后发生形态和功能的改变, 通过释放大量促炎因子参与其疼痛的发展和维持。本文就小胶质细胞活化在骨癌痛发展中的致痛机制进行综述, 并提出以小胶质细胞为靶点, 抑制其活化或成为治疗骨癌痛的关键, 为骨癌痛的治疗提供新思路。

一、小胶质细胞的一般特性

小胶质细胞是中枢神经系统中固有的抗原提呈细胞, 占有神经胶质细胞的5%~20%。细胞谱系追踪结果表明它们来源于卵黄囊的红髓祖细胞, 随后移行至大脑, 一旦定居于中枢神经系统, 小胶质细胞将在有机体的整个生命周期中持续存在, 并通过自我更新维持稳定^[3]。对突触形成、突触修剪、神经形成和神经元活动修剪至关重要^[4,5]。在脑实质中, 小胶质细胞与血浆蛋白质相隔离, 被限制于抑

制性的免疫微环境中。此外, 小胶质细胞能以不同形态/表型存在, 这取决于小胶质细胞所处的微环境及其所受的刺激因素。

1. 静息状态

正常生理条件下, 小胶质细胞处于静息状态, 主要依靠氧化磷酸化产生腺苷三磷酸 (adenosin triphosphate, ATP) 获得能量。由于中枢神经系统被视为“免疫豁免”部位, 小胶质细胞长期以来被认为是健康大脑中的静态旁观者。除吞噬清除和免疫监视外, 其对稳态的维持仅起小部分作用。但随着现代实时成像技术的出现, 研究者发现小胶质细胞并非静止不动, 而是通过胞体表面发出的突起不断伸缩而处于高度活跃的状态, 从而感知周围环境的改变。该状态下, 小胶质细胞对中枢神经系统起着支持和营养作用, 并发挥信号传递作用以维护正常大脑内环境稳态。

2. 活化状态

小胶质细胞做为中枢神经系统最重要的第一道免疫防线, 一旦大脑发生病变、出现炎症反应, 小胶质细胞即转变为阿米巴样形态, 迅速迁移至病变部位。通过吞噬受损神经、病原体、斑块, 以保护受损的神经元, 使组织再生。该功能由多种细胞表面受体介导, 这些受体在识别病原体或危险相关分子模式后, 对刺激信号做出反应。被激活的小胶质细胞可极化为不同的表型及功能状态, 主要分为“经典激活”促炎 M1 型和“选择激活”抑

* 基金项目: 福建省自然科学基金 (2019J01439); 福建省医学创新课题 (2016-CX-43)

[△] 通讯作者 13850143313@163.com



炎 M2 型。其中, M1 型小胶质细胞可产生高浓度的促炎因子, 如肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 、白细胞介素 (interleukin, IL)-6、IL-12、IL-15、IL-18、 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 等发挥神经毒害作用, 加重组织损伤和神经炎症反应。另一方面, M2 型小胶质细胞通过分泌抑炎因子, 如 IL-10、IL-4、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β), 维持中枢稳态, 参与抑制炎症反应、修复受损组织、促进神经元再生。不同表型对机体有益或破坏性的影响, 具体取决于伤害性刺激的持续时间及其所处微环境的变化。近年来, 关于小胶质细胞活化与中枢退行性病变、中枢神经系统肿瘤、脑炎症性疾病之间的联系得到了合理的证实^[6]。

二、小胶质细胞活化参与骨癌痛的机制

过去关于骨癌痛的研究主要集中在神经元上, 但越来越多研究表明, 小胶质细胞的增殖活化在骨癌痛的发展和维持中发挥着重要作用。骨癌痛进展过程中, 中枢小胶质细胞被激活后发生形态和功能的改变, 通过上调炎症因子、改变细胞表面受体及相关信号通路促进疼痛的发生和维持。

1. 分泌炎症因子

胶质细胞所分泌的促炎细胞因子的增加被认为是慢性疼痛中胶质细胞活化的重要标志^[7]。小胶质细胞在骨癌痛发展过程中被激活, 而活化的小胶质细胞通过合成释放促炎细胞因子进一步加重骨癌痛, 导致持续性疼痛。目前认为骨癌痛动物模型中, 小胶质细胞活化后衍生的促炎细胞因子主要有 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6^[8,9], 且抑制这些炎症介质可以有效缓解骨癌痛。有研究^[10]表明, 应用 TNF- α 合成抑制剂沙利度胺可以缓解骨癌痛模型动物的机械痛敏和热痛敏, 并降低脊髓中 TNF- α 的表达。并推测可能是由于沙利度胺能较好地透过血脑屏障从而直接作用于脊髓胶质细胞, 降低 TNF- α 的合成。然而, Liu 等^[11]发现鞘内给药 MRS2395 (小胶质细胞表面受体抑制剂) 治疗骨癌痛大鼠后, 其机械痛阈值显著降低, 小胶质细胞分泌的炎症因子 IL-1 β 、IL-6 均明显减少, 但 TNF- α 的表达与对照组相比并无差异。这些差异可能是由于构建模型的肿瘤细胞品系不同、实验动物种类差别、研究方法差异所造成。延髓头端腹内侧区 (rostromedial medulla, RVM) 主要由中缝大核和巨细胞网状核组成, 可接收来自大脑皮质和中脑导水管周围灰质等部位的信息, 整合后向下传递至脊髓参与下行抑制/易化系统调节伤

害性刺激信息的传递。Liu 等^[12]也证实了癌痛模型中这些促炎介质在 RVM 中显著上调, 并且显微镜下注射 p38 MAPK 抑制剂 (SB203580) 能够抑制小胶质细胞活化, 降低相关促炎介质的表达, 改善机械异常性疼痛。上述研究结果证实了小胶质细胞活化在骨癌痛中的作用, 靶向抑制其活化可降低炎症介质表达和减弱疼痛超敏。

2. 上调细胞受体

活化状态的小胶质细胞伴随多种表面受体的表达增加, 当前已被证实与骨癌痛相关的受体主要有嘌呤能 P2X 受体 (P2X4R、P2X7R)、嘌呤能 P2Y 受体 (P2Y12R)、趋化因子受体 2 (cc chemokine receptor 2, CCR2)、CXC 型趋化因子受体 [chemokine (C-X-C motif) receptor, CXCR] 3、CXCR4、CX3C 型趋化因子受体 [chemokine (C-X-3-C motif) receptor, CX3CR] 1。小胶质细胞表面的嘌呤能受体主要参与细胞的运动、活化、旁分泌信号传导, 并促进其吞噬脑内受损细胞。抑制这些受体不仅可以缓解骨癌痛, 还能抑制小胶质细胞的活化及促炎细胞因子的表达。任春光等^[13]研究发现, 胫骨癌痛大鼠脊髓小胶质细胞中 P2X4R 的表达上调, 结合动物行为学变化趋势, 推测 P2X4R 参与骨癌痛的发展和维持。Jin 等^[14]发现小胶质细胞表面 P2X4R 在增强骨癌痛伤害感受传递中有重要作用, 其与脊髓背角 Toll 样受体 (toll like receptor, TLR) 4 的激活和脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 及 TNF- α 的分泌相关。另外, TLR4 可能通过 p-38 信号通路激活脊髓小胶质细胞中的 P2X4R, 导致中枢敏化和疼痛超敏^[15]。经典趋化因子受体属于视紫红质样 G 蛋白偶联受体超家族, 与相应配体结合后可以通过偶联的 G 蛋白传递信号, 引起胞内钙离子浓度改变, 从而引发一系列生物学效应。Yin 等^[16]通过构建胫骨癌痛模型, 首次探讨了 CX3CR1 在骨癌疼痛中的作用。此后, Hu 等^[17]证实了 CX3CR1 在脊髓小胶质细胞上的特异表达, 鞘内注射抗 CX3CR1 抗体在有效缓解骨癌痛机械痛敏的同时, 亦可抑制小胶质细胞的活化。研究表明 CXCR3 分布于中枢神经系统中的小胶质细胞^[18]。此外, 神经元趋化因子/受体的持续表达与慢性伤害感受行为的变化相关。Bu 等^[19]研究发现阻断 CXCR3 可缓解骨癌诱发的机械痛敏, 并推测脊髓中过度表达的趋化因子 CXCL10/CXCR3 可能通过激活小胶质细胞参与骨癌痛的形成。这些都表明接种癌细胞后, 脊髓小胶质细胞激活伴随着多种表面受体表达的改变, 靶向抑制小胶质细胞表面受体或成为骨癌痛治疗的新方式。

3. 激活信号通路

骨癌痛时小胶质细胞的活化涉及多种信号通路（见图1），如 Janus 激酶/信号转导和转录激活因子 (janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT) 途径、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 途径、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路等。① JAK/STAT 通路的激活是慢性疼痛中重要的细胞信号通路之一，Chen 等^[20]研究发现，在骨癌痛大鼠中，脊髓中 p-JAK2 和 p-STAT3 的表达升高。通过免疫荧光双染色发现 p-JAK2 仅与脊髓小胶质细胞共定位，而与星形胶质细胞和神经元无关。② 促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 超家族包括细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK)、p38 MAPK 和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 家族，三者信号通路的激活均已证实与小胶质细胞的活化相关。Wang 等^[21]在骨癌痛模型中同时发现小胶质细胞、星形胶质细胞、神经元上 p-ERK 的表达升高，进一步研究发现鞘内注射 U0126（一种 MEK 抑制剂）后，骨癌痛诱发的机械痛敏得以缓解。而 Hu 等^[22]发现星形胶质细胞产生的 CXCL12 通过旁分泌的方式作用于小胶质细胞，随后进一步研究表明 CXCL12/CXCR4 轴通过激活 ERK、p38 MAPK 和 JNK 信号通路介导骨癌痛的发生。这也

提示了阻断 MAPK 信号通路能缓解骨癌诱发的痛觉过敏、减轻胶质细胞源性神经炎症。③ Akt 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，可被磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 依赖的细胞外信号通路激活，而处于磷酸化状态。Jin 等^[23]在体外实验中发现，单核细胞趋化蛋白 (monocyte chemoattractant protein, MCP)-1 可以激活小胶质细胞和 PI3K/Akt 信号通路。而通过鞘内注射抗 MCP-1 中和抗体可抑制骨癌痛大鼠脊髓中 p-Akt 的表达，且鞘内给予 PI3K 抑制剂 LY294002 不仅能抑制小胶质细胞活化，还可减轻骨癌痛的机械痛敏。Guan 等^[24]观察到 CXCR3 在骨癌痛大鼠同侧背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 中的表达随时间递增，且荧光双染结果显示 CXCR3 与小胶质细胞表面标记物共定位；进一步研究证实了脊髓中 CXCR3 激活后，通过 Akt 和 ERK 信号通路促进骨癌痛的形成与发展。

三、结语

综上所述，活化的小胶质细胞通过分泌炎症因子、上调细胞表面受体、激活相关信号通路参与骨癌痛的发生发展；调节其过度活化，抑制异常的神免疫反应可以达到缓解骨癌痛的目的。然而，关于小胶质细胞活化在骨癌痛动物模型中的研究，由于瘤株品系、动物类型的不同，可出现不同的实验结果；且其活化于骨癌痛领域的研究仅局限于临床前动物实验，相关临床研究报道较少。另一方面，

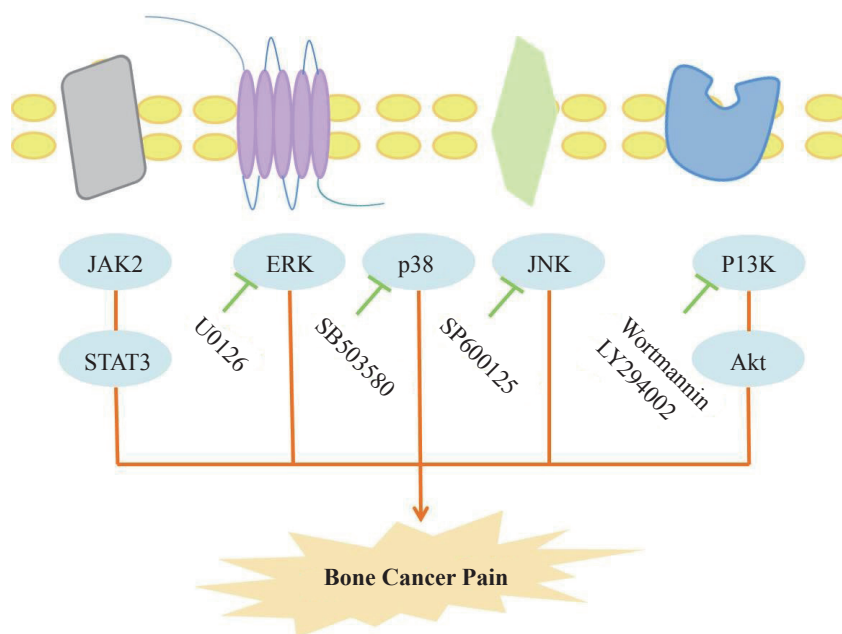


图1 小胶质细胞参与骨癌痛的信号通路图

JAK2: Janus 激酶 2; STAT3: 信号传导和转录激活因子 3; ERK: 细胞外调节蛋白激酶; p38: p38 丝裂原活化蛋白激酶; JNK: c-Jun 氨基末端激酶; PI3K: 磷脂酰肌醇 3-激酶; Akt: 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶; U0126: MEK 抑制剂^[21,24]; SB503580: p38 抑制剂^[22]; SP600125: JNK 抑制剂^[22]; Wortmannin: PI3K 抑制剂^[24]; LY294002: PI3K 抑制剂^[24]

小胶质细胞可活化为功能截然不同的“经典激活”促炎 M1 型和“选择激活”抑炎 M2 型，这两种类型的小胶质细胞与骨癌痛关联的分子层面机制同样有待进一步阐明。相信随着骨癌痛进展中中枢小胶质细胞极化调节机制的深入研究，基于调控小胶质细胞活化为策略，确定适当的治疗靶标将成为骨癌痛治疗研究的新方向。

参 考 文 献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.
- [2] 余慧芬, 唐李, 安家乐, 等. 骨癌痛药物治疗的研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2019, 40(2):126-130.
- [3] Tay TL, Hagemeyer N, Prinz M. The force awakens: insights into the origin and formation of microglia[J]. Curr Opin Neurobiol, 2016, 39:30-37.
- [4] Yang L, Jin P, Wang X, *et al.* Fluoride activates microglia, secretes inflammatory factors and influences synaptic neuron plasticity in the hippocampus of rats[J]. Neurotoxicology, 2018, 69:108-120.
- [5] Sellner S, Paricio-Montesinos R, Spieß A, *et al.* Microglial CX3CR1 promotes adult neurogenesis by inhibiting Sirt 1/p65 signaling independent of CX-3CL1[J]. Acta Neuropathol Commun, 2016, 4(1):102. doi: 10.1186/s40478-016-0374-8.
- [6] Saijo K, Glass CK. Microglial cell origin and phenotypes in health and disease[J]. Nat Rev Immunol, 2011, 11(11):775-787.
- [7] Watkins LR, Hutchinson MR, Rice KC, *et al.* The "toll" of opioid-induced glial activation: improving the clinical efficacy of opioids by targeting glia[J]. Trends Pharmacol Sci, 2009, 30(11):581-591.
- [8] 高龙飞, 孟纯阳. 小胶质细胞极化在神经病理性疼痛中的作用研究进展 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2018, 24(2):130-134.
- [9] Zhou KX, He XT, Hu XF, *et al.* XPro1595 ameliorates bone cancer pain in rats via inhibiting p38-mediated glial cell activation and neuroinflammation in the spinal dorsal horn[J]. Brain Res Bull, 2019, 149:137-147.
- [10] Gu X, Zheng Y, Ren B, *et al.* Intraperitoneal injection of thalidomide attenuates bone cancer pain and decreases spinal tumor necrosis factor- α expression in a mouse model[J]. Mol Pain, 2010, 6(1):64. doi: 10.1186/1744-8069-6-64.
- [11] Liu M, Yao M, Wang H, *et al.* P2Y₁₂ receptor-mediated activation of spinal microglia and p38MAPK pathway contribute to cancer-induced bone pain[J]. J Pain Res, 2017, 10:417-426.
- [12] Liu X, Bu H, Liu C, *et al.* Inhibition of glial activation in rostral ventromedial medulla attenuates mechanical allodynia in a rat model of cancer-induced bone pain[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2012, 32(2): 291-298.
- [13] 任春光, 杨建平, 王丽娜, 等. P2X₄ 受体在大鼠胫骨癌痛中的变化及可能机制 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2011, 17(1):41-45.
- [14] Jin XH, Wang LN, Zuo JL, *et al.* P2X₄ receptor in the dorsal horn partially contributes to brain-derived neurotrophic factor oversecretion and toll-like receptor-4 receptor activation associated with bone cancer pain[J]. J Neurosci Res, 2015, 92(12):1690-1702.
- [15] Meng X, Gao J, Zuo JL, *et al.* Toll-like receptor-4/p38 MAPK signaling in the dorsal horn contributes to P2X₄ receptor activation and BDNF over-secretion in cancer induced bone pain[J]. Neurosci Res, 2017, 125:37-45.
- [16] Yin Q, Cheng W, Cheng MY, *et al.* Intrathecal injection of anti-CX3CR1 neutralizing antibody delayed and attenuated pain facilitation in rat tibial bone cancer pain model[J]. Behav Pharmacol, 2010, 21(7):595-601.
- [17] Hu JH, Yang JP, Liu L, *et al.* Involvement of CX3CR1 in bone cancer pain through the activation of microglia p38 MAPK pathway in the spinal cord[J]. Brain Res, 2012, 1465:1-9.
- [18] Vinet J, de Jong EK, Boddeke HW, *et al.* Expression of CXCL10 in cultured cortical neurons[J]. J Neurochem, 2010, 112(3):703-714.
- [19] Bu H, Shu B, Gao F, *et al.* Spinal IFN- γ -induced protein-10 (CXCL10) mediates metastatic breast cancer-induced bone pain by activation of microglia in rat models[J]. Breast Cancer Res Treat, 2014, 143(2):255-263.
- [20] Chen SP, Sun J, Zhou YQ, *et al.* Sinomenine attenuates cancer-induced bone pain via suppressing microglial JAK2/STAT3 and neuronal CAMKII/CREB cascades in rat models[J]. Mol Pain, 2018, 30(5):165-168.
- [21] Wang L, Yao M, Yang J, *et al.* Cancer-induced bone pain sequentially activates the ERK/MAPK pathway in different cell types in the rat spinal cord[J]. Mol Pain, 2011, 7(1):48.
- [22] Hu XM, Liu YN, Zhang HL, *et al.* CXCL12/CXCR4 chemokine signaling in spinal glia induces pain hypersensitivity through MAPKs-mediated neuroinflammation in bone cancer rats[J]. J Neurochem, 2015, 132(4):452-463.
- [23] Jin D, Yang J, Hu J, *et al.* MCP-1 stimulates spinal microglia via PI3K/Akt pathway in bone cancer pain[J]. Brain Res, 2015, 1599:158-167.
- [24] Guan XH, Fu QC, Shi D, *et al.* Activation of spinal chemokine receptor CXCR3 mediates bone cancer pain through an Akt-ERK crosstalk pathway in rats[J]. Exp Neurol, 2015, 263:39-49.