



• 学术动态 •

脊髓小胶质细胞群参与神经病理性疼痛的
缓解和复发

摘要 神经病理性疼痛通常由损伤和影响躯体感觉系统的疾病所致。虽然疼痛的发展已经得到了很好地研究,但疼痛恢复机制仍不清楚。在该研究中,研究者发现表达 CD11c 的脊髓小胶质细胞出现在神经损伤引起的疼痛超敏反应行为的发展之后。脊髓 CD11c⁺ 小胶质细胞缺失的神经损伤小鼠不能从这种超敏反应中自发恢复。脊髓 CD11c⁺ 小胶质细胞表达胰岛素样生长因子-1 (IGF1), IGF1 信号的干扰会再现疼痛恢复的障碍。在疼痛恢复的小鼠中,CD11c⁺ 小胶质细胞的缺失或 IGF1 信号的中断均会导致疼痛超敏反应的复发。该研究揭示了神经病理性疼痛缓解和复发的一种新机制,为神经病理性疼痛治疗策略提供了潜在的靶标。

1. 周围神经损伤 (PNI) 后疼痛超敏反应的缓解需要 CD11c⁺ 脊髓小胶质细胞的参与

神经系统的损害会引起躯体感觉神经元细胞和非神经元细胞特别是小胶质细胞功能的改变,从而导致神经病理性疼痛的产生和发展。在周围神经损伤 (PNI, 一种神经病理性疼痛模型) 后,脊髓背角 (SDH) 的小胶质细胞会迅速作出反应,如形态、细胞数量和基因表达水平等发生改变,这些变化都是疼痛发展所必需的过程;然而,小胶质细胞具有高度可塑性,不同基因表达显现出不同的功能及形态上的差异,并且小胶质细胞群在神经元发育和疾病发展过程中同样会发生相应变化。

由于大脑中表达 CD11c (也称为整合素 α_X , ITGAX) 的小胶质细胞在几种神经疾病模型中都有增加;因此,该研究重点关注了 CD11c⁺ 小胶质细胞在 PNI 后参与神经病理性疼痛缓解与复发的过程。通过使用 *Itgax-Venus* 小鼠 (其 CD11c⁺ 细胞表达 Venus 荧光蛋白),发现 SDH 中的 Venus⁺ 细胞在正常小鼠和假手术小鼠中很少被观察到,但在 PNI 后明显增加。Venus 的表达局限于 IBA1⁺ 和 CD11b⁺、嘌呤能受体 P2Y12R⁺、Hexb^{tdT/tdT} 小鼠 tdTomato⁺ (tdT⁺) 细胞,这使得小胶质细胞的可视化成为可能。在部分 tdT⁺ 和 P2Y12R⁺ 小胶质细胞中观察到了 Venus⁺ 细胞;此外,来自骨髓嵌合体小鼠和脾切除小鼠的数据排除了外周衍生细胞参与形成 Venus⁺ 细胞;所以,该研究将 SDH 中的 Venus⁺ 细胞称为 CD11c⁺ 小胶质细胞。为探究 CD11c⁺ 小胶质细胞在神经病理性疼痛不同阶段的变化情况,研究者通过流式细

胞术发现 CD11c⁺ 小胶质细胞在 PNI 造模后第 14 天达到峰值,CD11c 不表达 (CD11c^{neg}) 的小胶质细胞在 PNI 后的第 7 天达到峰值。此外,CD11c 高表达 (CD11c^{high}) 的小胶质细胞在 PNI 后第 35 天达到峰值;这时,机械刺激缩足反射阈值 (MWT) 已恢复到基线。因此,在 PNI 诱导的痛觉超敏反应中,CD11c⁺ 小胶质细胞出现在 SDH 中,即使在疼痛缓解后仍然存在。

为进一步探究 CD11c⁺ 小胶质细胞的作用,研究者使用 *Itgax-DTR-EGFP* 小鼠 (CD11c⁺ 细胞表达白喉毒素受体 DTRs 和增强型绿色荧光蛋白 EGFP),鞘内注射白喉毒素 (DTX) 耗尽 CD11c⁺ 小胶质细胞,然后进行疼痛行为测试,发现 CD11c⁺ 小胶质细胞剔除的小鼠未能从痛觉超敏反应中自发恢复。相反,PBS 处理的 *Itgax-DTR-EGFP* 小鼠和 DTX 处理的野生型 (WT) 小鼠 (未删除 CD11c⁺ 细胞),在造模后,其 MWT 显著降低,14 天后又逐渐恢复。因此,认为 CD11c⁺ 小胶质细胞在缓解神经病理性疼痛中发挥了作用。

2. IGF1 是 CD11c⁺ 小胶质细胞恢复痛觉超敏所必需的一种细胞因子

该研究对 PNI 后的 *Itgax-Venus* 小鼠 SDH 中的小胶质细胞进行了 RNA 测序,发现 CD11c^{neg} 和 CD11c^{high} 小胶质细胞具有不同的转录特征。该研究分析了 PNI 造模后第 35 天 SDH 中 CD11c^{high} 小胶质细胞的差异表达基因 (DEG),并重点关注了胰岛素样生长因子 1 基因 (*Igf1*)。荧光定量 PCR 结果证实, PNI 造模后 CD11c⁺ 小胶质细胞中 *Igf1* mRNA 增加,并



在第 35 天达到峰值。研究者通过原位杂交检测到 SDH 中 CD11c⁺ 小胶质细胞 *Igfl* 的 mRNA 表达。为了确定 IGF1 的作用, 该研究使用 *Itgax-Cre; Igfl^{flox/flox}* 小鼠敲除 CD11c⁺ 细胞中的 IGF1, 发现 PNI 后小鼠没有从痛觉超敏反应中恢复。然后, 用他莫昔芬处理 *Cx3cr1^{CreERT2}; Igfl^{flox/flox}* 小鼠敲除 CX3CR1⁺ 细胞 (所有小胶质细胞和中枢神经系统相关巨噬细胞的一类细胞群) 中的 *Igfl* 基因, 也获得了类似的结果。对 PNI 小鼠反复鞘内注射 IGF1 中和抗体可抑制疼痛缓解, 而对 PNI 小鼠反复鞘内注射重组 IGF1 可加速疼痛缓解。在神经元中也观察到 IGF1, 但敲除 SDH 神经元中的 *Igfl* 并未改变 PNI 诱导的超敏反应。因此, CD11c⁺ 小胶质细胞的 IGF1 对于神经性疼痛的自发缓解是必要的。

3. AXL 通过吞噬髓鞘碎片参与 PNI 诱导的 SDH 中 CD11c^{high} 小胶质细胞出现

在炎症疼痛模型中, 研究者发现 SDH 中 CD11c⁺ 小胶质细胞并没有增加。据此数据推测, CD11c⁺ 小胶质细胞的出现是 PNI 特有的改变。研究者通过足底注射 *saporin-CTB* (损伤有髓神经纤维) 发现 SDH 中 CD11c⁺ 小胶质细胞增加, 而足底注射 *saporin-IB4* (损伤无髓神经纤维) CD11c⁺ 小胶质细胞则没有变化。以上结果结合 SDH 中 CD11c⁺ 小胶质细胞表达与吞噬作用相关基因的事实, 表明 PNI 后脊髓 CD11c⁺ 小胶质细胞的出现可能与受损的初级传入纤维的髓鞘吞噬作用有关。分离 PNI 造模后 *Itgax-Venus* 小鼠的脊髓 CD11c⁺ 小胶质细胞进行原代培养, 显示细胞对髓鞘碎片的吞噬增加; 在 PNI 造模后的 SDH 中, 溶酶体 (CD68⁺) 中含有髓鞘碱性蛋白 (MBP) 的 CD11c⁺ 小胶质细胞增加。电镜结果显示 PNI 造模后脊髓中 CD11c⁺ 小胶质细胞吞噬了髓鞘颗粒。向正常的 *Itgax-Venus* 小鼠脊髓内注射纯化的髓鞘碎片, 会诱导髓鞘碎片的吞噬并导致 CD11c⁺ 小胶质细胞增加。研究进一步发现, PNI 造模后脊髓中 CD11c^{high} 小胶质细胞表达 *Axl* mRNA, AXL 是酪氨酸激酶受体家族 TAM (TYRO3, AXL, MERTK) 的一员, 与髓鞘碎片的吞噬有关。Mertk 而不是 Tyro3 的 mRNA 也表达, 但其水平在 CD11c^{neg} 和 CD11c^{high} 小胶质细胞之间, PNI 后没有改变。*Itgax-Venus* 小鼠 PNI 后的免疫荧光显示 AXL 蛋白表达在脊髓 CD11c⁺ 小胶质细胞中。敲除 *Axl* 显著降低了 CD11c⁺ 小胶质细胞数量和 *Igfl* 的表达, 并且抑制了疼痛自发缓解。通过比较分选的

SDH 小胶质细胞 TAM 受体和 *Igfl* 在 PNI 后的时间表达模式, 发现 *Axl* 的峰值表达与 *Itgax* 的峰值表达相匹配, 并在 *Igfl* mRNA 之前。因此, AXL 可能通过吞噬髓鞘碎片参与 PNI 诱导的 SDH 中 CD11c^{high} 小胶质细胞出现。

4. 剔除 CD11c⁺ 小胶质细胞会使 PNI 诱导的痛觉超敏复发

CD11c⁺ 小胶质细胞在 SDH 中能保留很长一段时间, 即使在疼痛超敏反应的行为消失后也依然存在。PNI 术后 35 天, 小鼠缩足阈值已恢复至基线水平; 此时, 利用 *Itgax-DTR-GFP* 小鼠剔除 CD11c⁺ 小胶质细胞后, 导致痛觉超敏复发。已有数据支持 SDH 中 CD11c⁺ 小胶质细胞在复发性疼痛中的作用, 该数据显示 DTX 对 WT 小鼠的 MWT 没有影响, 周围其他组织 CD11c⁺ 细胞的缺失同样没有影响。类似的, PNI 术后第 37、39 天给予他莫昔芬特异性敲除 *Cx3cr1^{CreERT2}; Igfl^{flox/flox}* 小鼠小胶质细胞中的 *Igfl*, 也会引起疼痛超敏复发。此外, 鞘内注射中和抗体抗 IGF1#1 或 IGF1 受体抑制剂 JB-1 也导致了超敏反应的再次出现。因此, 脊髓中 CD11c⁺ 小胶质细胞介导的 IGF1 以持续的方式抑制了疼痛超敏。另外, PNI 后 SDH 中 CD11c⁺ 小胶质细胞的出现和它们在神经病理性疼痛中的作用无性别差异。

5. 讨论

该研究表明, CD11c⁺ 小胶质细胞对于神经病理性疼痛的缓解和复发至关重要。这意味着, 尽管小鼠在 PNI 几周后似乎表现出正常的行为反应, 但这并不是由于病理改变的过敏状态的正常化, 而是由于持续的疼痛促进和抑制之间的动态平衡, 这种平衡主要涉及 CD11c⁺ 小胶质细胞 IGF1 的表达; 小胶质细胞向这种状态的转变部分与 AXL 和髓鞘的吞噬作用有关。脊髓 IGF1 对疼痛的抑制作用可能与包括调节神经元活动, 星形胶质细胞和小胶质细胞炎症反应在内的多重效应有关。在神经疾病模型的小鼠大脑中, CD11c⁺ 小胶质细胞也显示增加。因此, 该发现能够为神经病理性疼痛和其他病理症状疾病治疗策略的制订提供一条途径。

(Kohno K, Shirasaka R, Yoshihara K, *et al.* A spinal microglia population involved in remitting and relapsing neuropathic pain. *Science*, 2022, 376(6588):86-90. 南京中医药大学医学院整合医学学院, 张晴 吉海旺 译, 唐宗湘 校)