



• 学术动态 •

巨噬细胞防止糖尿病周围神经病变中 感觉神经轴突的丢失

摘要 周围神经病变是2型糖尿病最常见的并发症之一，常表现为感觉功能减退，部分病人还可出现神经病理性疼痛。虽然血脂异常和高血糖被认为是糖尿病周围神经病变的重要诱因，但炎症在其发病机制中的具体作用尚不清楚。该研究采用高脂高果糖饮食 (high-fat and high-fructose diet, HFHFD) 诱导小鼠出现肥胖及糖尿病前期代谢改变，探索其对周围神经系统的影响。结果发现，HFHFD 喂养3个月后小鼠出现持续性的热痛觉减退，而表皮神经纤维密度的显著下降则出现在第6个月。通过单细胞测序分析观察到，在轴突变性发生之前，CCR2⁺ 巨噬细胞已大量浸润至 HFHFD 小鼠的坐骨神经中。这些巨噬细胞与神经压迫损伤模型中浸润的巨噬细胞在转录水平上具有高度相似性，表现出小胶质细胞样的基因表达特征，且此时尚未出现明显的轴突缺失或脱髓鞘现象。当通过遗传或药物方式阻断 CCR2 信号通路、抑制巨噬细胞的募集后，小鼠表现出更严重的热痛觉减退，且皮肤感觉神经纤维的丢失明显加速。条件性敲除巨噬细胞中表达的 *Lgals3* (编码 Galectin-3) 基因，也加速了感觉神经轴突终末的变性。该研究表明，在2型糖尿病前期阶段，外周神经中的巨噬细胞通过分泌 Galectin-3，发挥延缓感觉神经退变的保护作用。这提示增强并维持这种早期的神经保护性免疫反应，有望成为延缓甚至预防糖尿病周围神经病变发生的新策略。

2型糖尿病影响着全球数以百万计人群的健康，其发病与儿童和成人肥胖密切相关。约有50%的2型糖尿病患者会发展为糖尿病周围神经病变 (diabetic peripheral neuropathy, DPN)，其中30%~40%的病人还会出现神经病理性疼痛，表现为去神经支配区域的自发性疼痛感。既往研究表明，在神经遭遇横断或挤压等损伤后，远端轴突会经历沃勒变性 (Wallerian degeneration)，同时损伤部位及远端区域均可观察到免疫细胞的浸润。然而免疫细胞是否参与 DPN 相关轴突变性或疾病进展尚未明确。

为探究神经免疫相互作用在 DPN 早期阶段中的作用，该研究构建了饮食诱导的肥胖、糖尿病前期及代谢综合征小鼠模型。给予野生型雄性小鼠高脂饮食 (其中60%热量来自猪油)，并补充高脂高果糖饮食 (high-fat and high-fructose diet, HFHFD)，以模拟高热量摄入并促进内源性脂质合成、诱导肥胖和代谢异常。与正常饲料和纯水对照组相比，该饮食方案导致小鼠体重显著增加和葡萄糖耐受下降。HFHFD 喂养12周和24周后，小鼠空腹胰岛素水平显著升高，提示存在胰岛素抵抗，糖化血红蛋白 (HbA1c) 水平也显著升高，表明小鼠处于持续高血糖状态，并符合糖尿病前期特征。

一、HFHFD 诱导小鼠发生周围神经病变

从第8周开始，HFHFD 喂养小鼠对非伤害性机械刺激表现出痛觉超敏行为。至第12周，首次观察到热痛觉减退，这也是 DPN 病人和糖尿病小鼠模型的典型表现。无论雄性还是雌性小鼠，在 HFHFD 饲喂下均表现出体重显著上升、机械性痛觉超敏及热痛觉减退。在热敏感性测试中，HFHFD 小鼠表现出更强的低温回避和更高的热耐受性。值得注意的是，机械性痛觉超敏在第24周逐渐消失，提示随着病程进展，部分神经功能障碍可能发生缓解或转变。DPN 的典型标志之一是皮肤表皮内神经纤维密度下降。HFHFD 小鼠在第12周时 IENFD 并未明显下降，但至第24周时，末梢神经轴突出现显著变性。以降钙素基因相关肽 (CGRP⁺) 为标记的小纤维在24周时表现出明显退行性变化，而12周时尚未观察到异常，提示小直径伤害性感觉神经元具有特定的易感性。

为验证上述轴突变性是否依赖于 SARM1 通路，研究者进一步采用 *Sarm1* 基因敲除小鼠进行 HFHFD 喂养。结果显示，敲除小鼠的体重变化与野生型一致，但在第24周时，其皮肤中表皮神经纤维损失显著较少。同时，在第12周时未出现热



痛觉减退现象,提示热觉功能障碍依赖于 SARM1 介导的轴突功能障碍,而非完全由形态变化驱动。值得注意的是,无论是否敲除 *Sarm1*,机械性痛觉超敏均在第 8 周时出现,说明该表型改变不依赖于 SARM1 信号通路。综上所述, HFHFD 饲养可诱导小鼠出现肥胖、糖尿病前期和感觉神经病变等多种与临床 2 型糖尿病相符的表现。值得强调的是,感觉功能障碍可早于神经形态的变化,提示其为疾病早期诊断和干预的重要窗口。热觉障碍和末梢神经变性依赖于 SARM1,而机械性痛觉超敏的发生机制则相对独立。

二、HFHFD 饲喂导致小鼠周围神经中巨噬细胞数量增加

糖尿病和肥胖常伴随代谢综合征,免疫系统在其发病机制中扮演着重要角色。为探究神经-免疫相互作用是否参与周围神经病变的发生,该研究选取 HFHFD 饲喂 12 周的小鼠(此时小鼠已表现出热痛觉减退,但尚未发生轴突末梢变性)进行分析,旨在识别可能直接影响感觉神经元的免疫细胞变化。采用荧光激活细胞分选技术,从后足皮肤和坐骨神经中分选出 CD45⁺ 免疫细胞,并进行单细胞 RNA 测序,分别获得皮肤 9793 个细胞和坐骨神经 8462 个细胞的转录图谱。坐骨神经中共鉴定出 13 个免疫细胞群体,其中包括通过 *Csf1r* 表达定义的 5 个巨噬细胞亚群:2 个不表达 *Ccr2* 的驻留型巨噬细胞(resident macrophages, resMac)群体,其中 1 个表达 *Retnla* 和 *Clec10a*,另 1 个则不表达这两种标志物;1 个高表达 *Cx3cr1* 的 resMac 亚群,其特征类似于皮肤中已知可促进轴突生长的巨噬细胞;2 个高表达 MHC II 类分子(*H2-Ab1* 和 *Cd74*)的树突细胞群体,分别表达 *Cd209a* 及 *Clec9a/Xcr1*。

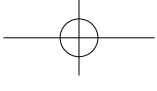
在 HFHFD 饲喂的小鼠中,募集型巨噬细胞(recruited macrophages, recMac)亚群显著增多。该类细胞依然表达单核细胞标志物(*Ccr2*、*Fnl* 和 *Ly6c2*),但同时具备巨噬细胞特征(表达 *Csf1r* 和 *Mrc1*)。随着 recMac 的增加, resMac 的比例相应下降,提示两者间可能存在动态转化或调节关系。通过对坐骨神经全段进行免疫染色,研究者观察到神经内膜区域的 F4/80⁺ 巨噬细胞数量明显增加。流式细胞术进一步验证了 recMac (LY6C^{hi}CD64⁺CD11B⁺) 群体的扩增。这一变化在雄性和雌性小鼠中均于第 12 周首次出现,时间上与热痛觉减退的发生高度一致。值得注意的是,尽管巨噬细胞已大量浸润神经,此时皮肤尚未发生轴突末梢丢失,神经组织也未出现脱髓鞘现象。这一发现提示,巨噬细胞的募集更可

能是对神经元活动变化或局部微环境扰动的反应,而非轴突变性所致的继发性炎症。

为探究 HFHFD 是否改变了 resMacs 的转录状态,研究者对 HFHFD 与对照组坐骨神经中的 resMacs (CSF1R⁺CCR2⁻细胞)进行了差异表达分析。结果显示, HFHFD 小鼠的 resMacs 上调了多种趋化因子(如 CCL3 和 CCL8)的表达。信号通路分析表明,其趋化因子通路显著活化,提示 resMacs 可能在 recMac 的募集过程中发挥主导作用。为明确神经中 CCL2 的来源,研究者使用 CCL2-RFP 报告小鼠分别接受标准饮食或 HFHFD 饲喂。结果发现,在 HFHFD 饲喂 12 周后, RFP 信号与巨噬细胞标志物 F4/80⁺ 显著共定位,而与神经元和施万细胞标志物无共定位,表明 CCL2 主要由 resMacs 分泌。RT-qPCR 结果进一步证实神经组织中 CCL2 水平在第 12 周显著升高,提示 resMacs 介导的巨噬细胞募集是糖尿病前期阶段的事件。虽然在 HFHFD 小鼠皮肤中未发现免疫细胞的大量浸润,但 resMac 亚群中已可见一定程度的基因表达变化。与此同时,背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)中免疫浸润并无明显改变,说明巨噬细胞向神经组织的迁移具有高度组织特异性,可能源于神经局部微环境的改变,而非系统性免疫激活所致。

三、共同的神经免疫反应

为评估 HFHFD 饲喂小鼠周围神经中募集的巨噬细胞是否与轴突损伤后的免疫细胞反应相似,该研究将 HFHFD 小鼠坐骨神经中的 CSF1R⁺ 细胞群与既往神经挤压损伤模型中获得的单细胞转录组数据进行比对分析。结果发现,两者具有相似的细胞组成,均包含 resMac 和 recMac。在对照饮食饲喂 12 周的小鼠神经中,巨噬细胞群体主要以 resMac 为主。在 HFHFD 饲喂 12 周和神经挤压后第 1 天及第 5 天的神经组织中,均观察到两类典型的 recMac 亚群:一类高表达 *Ccr2* (CCR2⁺ recMacs),另一类则高表达 *Lgals3* (LGALS3^{hi} recMacs)。这两类 recMacs 同时表达与神经退行性疾病相关的小胶质细胞标志基因(如 *Trem2* 和 *Lgals3*)。为进一步验证这一发现,研究者建立了坐骨神经挤压模型。流式细胞术分析显示, HFHFD 小鼠中观察到的 recMac 亚群在受损神经中亦显著扩增。RT-qPCR 结果显示,无论是 HFHFD 饲喂还是神经挤压均可上调 *Lgals3* 和 *Trem2* 的表达。综上所述, HFHFD 饲喂小鼠完整神经中浸润的巨噬细胞与损伤后快速募集的巨噬细胞在表型和基因表达方面高度相似。尽管两者刺激机制不同,但这些巨噬细胞均表达促修复基因,提示



其具有潜在的保护性作用。

四、巨噬细胞延缓周围神经病变的发生

为探讨 HFHFD 饲喂小鼠神经中募集的巨噬细胞是否具有神经保护功能,研究者比较了 HFHFD 饲喂的 *Ccr2* 基因敲除 (*Ccr2*-KO) 小鼠与野生型小鼠之间的神经病理变化。结果发现, *Ccr2*-KO 小鼠坐骨神经中 LY6C^{hi}CD64⁺ recMac 数量显著低于野生型,表明巨噬细胞的募集依赖于 CCR2 信号,且 T 细胞数量未见明显变化。行为学分析显示, *Ccr2*-KO 小鼠在 HFHFD 饲喂 12 周后表现出更为严重的热痛觉减退,而机械性痛觉超敏则无显著差异。

皮肤 IENFD 检测显示, *Ccr2*-KO 小鼠在第 12 周即出现明显下降,提示其轴突病变的发生时间早于野生型小鼠(后者通常在 6 个月时才出现明显 IENFD 丢失)。然而到 6 个月时,两组小鼠在 IENFD 和热痛觉减退程度上趋于一致。在代谢方面, *Ccr2*-KO 和野生型小鼠在体重增长、糖耐量异常程度方面无显著差异。尽管 *Ccr2*-KO 小鼠空腹胰岛素水平较低,但其 HbA1c 在 12 周后与野生型相当,说明两组小鼠均处于持续高血糖状态,处于糖尿病前期阶段。为进一步验证 CCR2 依赖性巨噬细胞募集的功能作用,研究者采用 CCR2/CCR5 双重拮抗剂塞尼克韦罗 (cenicriviroc, CVC) 进行药理干预。HFHFD 饲喂 8 周后,小鼠被随机分入 CVC 治疗组与溶剂对照组,筛选未出现体重下降的 CVC 治疗组小鼠进行行为学与组织学评估。CVC 治疗组在第 12 周表现出与 *Ccr2*-KO 小鼠相似的表型:持续的机械性痛觉超敏,热刺激反应潜伏期显著延长,且皮肤 IENFD 显著下降,提示外周神经轴突变性提前发生。相比之下,对照组在 8~12 周期间给予 CVC 或溶剂后未表现出热敏感性或 IENFD 的变化,进一步证实 CCR2 介导的巨噬细胞募集在维持热敏感性和神经完整性方面发挥重要作用。

五、Galectin-3 介导的神经保护效应

在 HFHFD 饲喂小鼠周围神经中募集的 CCR2⁺ 巨噬细胞中, *Lgals3* 是上调最显著的基因之一,其编码产物为半乳糖凝集素-3 (Galectin-3)。为探讨其功能作用,研究者比较了 HFHFD 饲喂的 *Lgals3* 基因敲除小鼠与野生型小鼠的表型。尽管 *Lgals3*-KO 小鼠体重增长与野生型相似,但其在第 12 周时表现出更严重的热痛觉减退,并出现 IENFD 的明显下降。流式细胞术结果表明, *Lgals3* 缺失并不影响 recMac 的募集,提示 Galectin-3 并不调控巨噬细胞迁移过程,而更可能通过调节其功能实现神经保护。综上所述,在 HFHFD 饲喂的小鼠中,CCR2 依赖性巨

噬细胞募集通过 Galectin-3 发挥双重保护作用:一方面减轻感觉功能障碍,另一方面延缓外周神经末梢变性的发生。因此,在糖尿病前期状态下,阻断巨噬细胞向神经的募集可能有害,而通过 Galectin-3 信号促进其募集与功能激活则有助于神经保护。

六、讨论

在饮食诱导的肥胖与糖尿病前期小鼠模型中,具有神经退行性疾病相关髓系细胞特征的巨噬细胞可浸润完整的周围神经。该过程依赖 Galectin-3 的介导,能够延缓末梢轴突退变,发挥神经保护作用。HFHFD 模型中,机械性异常疼痛在疾病早期(第 2 个月)即出现,但于第 6 个月时自然缓解。这一暂时性的机械性痛觉超敏现象在遗传性肥胖模型(如 db/db 小鼠)中亦有报道。进一步研究发现,通过 *Sarm1* 基因敲除阻断轴突退化后,并不能缓解机械性痛觉超敏,提示其并非由轴突变性直接驱动。值得注意的是, HFHFD 小鼠在尚未出现可检测的轴突末梢退变之前已出现热痛觉减退,且 *Sarm1* 基因敲除能在变性发生前阻止这一热敏感性的丧失。这一现象与糖尿病前期病人在皮肤活检确诊前数年即出现感觉异常的临床表现高度一致,提示 HFHFD 模型较好地模拟了人类疾病的关键特征。然而,这种 SARM1 依赖的、早期发生的热痛觉减退的机制仍需深入探究。

在糖尿病前期小鼠模型中,巨噬细胞选择性募集至周围神经(而非皮肤组织),且 HFHFD 可诱导坐骨神经中 *Lgals3* 表达显著上调,该基因在 recMacs 中高表达。已有研究表明, Galectin-3 的缺失会延迟神经损伤后的轴突再生,其作为 TREM2 的配体亦参与小胶质细胞对神经退行性刺激的反应。Galectin-3 高表达的吞噬性巨噬细胞也可浸润糖尿病模型中的脑组织,提示其可能通过清除神经组织中的碎片、游离脂肪酸或脱氧鞘脂等代谢产物而发挥保护作用。该研究发现 *Lgals3* 缺失小鼠热痛觉减退加重,皮肤感觉神经元更早退缩,进一步证实 Galectin-3 在外周神经病变中具有保护作用。Galectin-3 能够识别并促进晚期糖基化终末产物的吞噬清除,而 AGEs 恰在 DPN 中大量积聚。与促进炎症的 AGE 受体 RAGE 不同, Galectin-3 可能在神经中代表一种保护性免疫机制,说明在糖尿病前期的周围神经中同时存在保护与损害两类免疫反应。recMacs 与损伤性巨噬细胞及疾病相关小胶质细胞的高度相似性,揭示了不同病理状态下可能共享的髓系细胞介导的神经保护机制。

巨噬细胞募集可能由周围神经微环境的变化驱



动。HFHFD 可能通过调控施万细胞等非神经元细胞状态,诱导其分泌介质,进而改变神经中驻留巨噬细胞的特性并触发外周髓系细胞的募集。代谢组学研究亦表明,高脂饮食(单独或联合小剂量链脲佐菌素)可改变神经组织的脂肪酸组成。HFHFD 饲喂 12 周后可能导致神经内游离脂肪酸水平升高,类似于急性创伤中膜碎片或髓鞘残骸对巨噬细胞的激活。此外, Galectin 3 也可能通过识别 AGEs 参与巨噬细胞的募集。若 AGEs 积聚过多,可能抑制 CCR2⁺ 巨噬细胞的清除功能,最终导致神经变性加重。另一种可能性是,巨噬细胞通过分泌信号分子调控施万细胞功能,以发挥神经保护作用,这在创伤性神经损伤模型中已有报道。

尽管传统观点认为巨噬细胞在糖尿病及其并发症中具有致病作用,但该研究发现,在糖尿病前期阶段募集至周围神经的巨噬细胞能够延缓病变进程并减轻其严重程度。已有研究虽指出巨噬细胞在高脂饮食诱导的神经病变中可能具有损伤作用,但其未区分不同巨噬细胞亚型、忽略了热痛觉和神经支配状况,仅关注了机械性痛觉超敏。但该研究提示,机械性痛觉超敏只是暂时现象,其消退可能由痛觉

纤维末端变性所致。此外,与糖尿病病人中持续性的感觉丧失和皮肤神经纤维缺失不同,机械性痛觉超敏并非病程中稳定的表现。鉴于糖尿病前期小鼠中神经巨噬细胞与创伤后巨噬细胞在转录谱上的相似性,且均具有神经保护作用,未来有必要进一步探讨这一机制是否同样适用于(如化疗诱导的神经病变等)非代谢性神经病变。

综上所述,该研究揭示了糖尿病前期周围神经病变的早期免疫调控机制。巨噬细胞响应神经内脂质代谢紊乱及 AGEs 积聚等微环境变化被募集至神经, Galectin 3 介导的募集与清除作用可延缓轴突变性并减轻感觉功能损害。该研究不仅突破了巨噬细胞在糖尿病病理中致病角色的单一认知局限,也为早期干预周围神经病变提供了潜在的免疫治疗靶点。未来可基于巨噬细胞募集和功能状态,开发预测周围神经病变风险的生物标志物,并制订促进其神经保护作用的精准治疗策略。

(Hakim S, Jain A, Adamson SS, *et al.* Macrophages protect against sensory axon loss in peripheral neuropathy. *Nature*, 2025, 640(8057):212-220. 南通大学特种医学研究院, 崔夏林, 马君怡, 吴静妮 译, 刘通 校)

• 消 息 •

2025 年《中国疼痛医学杂志》征稿与征订

《中国疼痛医学杂志》是由中华人民共和国教育部主管,北京大学和中华医学会疼痛学分会共同主办的专业性学术期刊。报道有关疼痛学科领域基础研究和临床诊疗具有原创性和前沿性重要研究成果的综合性学术刊物。现收录于中文核心期刊(北京大学图书馆)、中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊、世界期刊影响力指数(WJCI)报告、中国科协“高质量科技期刊分级目录”等数据库。《中国疼痛医学杂志》诚邀您投稿、订阅。

投稿: 来稿可在杂志官网在线投稿 <http://casp.ijournals.cn>, 请署真实姓名、工作单位、职称,附单位介绍信(信中须注明未“一稿两投”、署名无争议、对文章内容的真实性负责、无泄密内容)。投稿时请注明通信作者、提供伦理审查批号及证明、基金资助信息,以及详细的通信地址、邮编、联系电话、E-mail 等。衷心希望《中国疼痛医学杂志》成为您了解疼痛医学发展和发表科研成果的平台之一。

订购: 邮发代号: 82-832, 本刊为月刊, 大 16 开本, 80 页, 每册定价 32.00 元, 全年 12 期, 共 384.00 元。欢迎在当地邮局订阅或联系编辑部订阅。

编辑部地址: 北京市海淀区学院路 38 号, 《中国疼痛医学杂志》编辑部

杂志官网: <http://casp.ijournals.cn>

联系电话: 010-82801712; 010-82801705

电子邮箱: pain1712@126.com

联系人: 赵磊

