

# 小胶质细胞在神经病理性疼痛中的作用

杜雯 孙益\*

(浙江大学生命科学院, 杭州 310058)

**摘要** 神经病理性疼痛对患者的生理和心理健康都有着极大的影响。近年来的研究表明, 外周神经炎症或损伤激活的小胶质细胞通过表达及释放一系列介质分子, 在神经病理性疼痛的产生和传递通路中发挥重要的调制作用。激活的小胶质细胞与神经元之间信息交互传递从而影响痛敏行为的这一崭新模式极大地推进了人们对于疼痛的理解。同时也为以小胶质细胞作为靶点, 开辟镇痛药物治疗的新方法提供了理论依据。

**关键词** 小胶质细胞; 神经病理性疼痛

慢性疼痛是一种长时间给患者造成巨大痛苦的疾病。其中的神经病理性疼痛就是由于某些病理原因造成的神经系统功能异常<sup>[1]</sup>: 它由身体损伤、外科手术、病毒感染、化学治疗、某些代谢疾病(如糖尿病)或癌症所引起, 具有对非伤害性刺激产生疼痛反应的痛觉过敏(allodynia)和对伤害性疼痛刺激反应程度和时间过度增强的痛觉超敏(hyperalgesia)两种表现形式。吗啡等一些现有的镇痛药物可能由于其药物作用靶点仅局限于神经元, 对神经性疼痛的治疗效果并不十分明显<sup>[2]</sup>。深入了解疼痛的内在分子机制, 在此基础上设计新的药物作用靶点来治疗神经病理性疼痛, 仍然是当今临床医学领域一个值得研究的问题。

## 1 经典的痛觉产生和传递通路模型及其局限性

对痛觉产生和传递过程的经典解释是这样的: 伤害性刺激信号经外周疼痛感受器 A $\delta$  和 C 纤维以突触传递的形式从外周传递至脊髓背角痛觉传递神经元(pain transmission neurons, PTN)。突触前膜痛觉递质——P 物质和兴奋性氨基酸释放并且分别与突触后膜 NK-1 受体、AMPA 受体/NMDA 受体结合引起疼痛的扩大。这样经过脊髓背角初步整合后的疼痛信号上行到达高级中枢接受一步的加工与整合。

神经病理性疼痛的病因可以简单归为损伤点同侧神经元的过度兴奋和异常动作电位的发放。虽然经典模型为痛觉产生的机制提供了一个很好的框架, 但由于对侧及损伤点附近健康的神经元并没有异常的活动, 因此还是存在许多该模型无法解释的问题: (1)

在传染性疾病中, 很多伴随疾病的慢性疼找不到病源; (2)在损伤点和其周围健康的组织中都有疼痛感觉; (3)区域外痛; (4)镜像痛<sup>[3]</sup>。

胶质细胞参与疼痛产生传递的模型很可能对上述现象的发生给以合理的解释: 激活的小胶质细胞产生的促炎症细胞因子通过旁分泌的方式激活远处的神经元, 造成疼痛向周边以及对侧的扩布反应; 此外有实验结果表明星型胶质细胞间通过间隙连接形成钙离子流的网络也参与镜像痛的产生<sup>[4]</sup>。虽然这些假说还有待于进一步验证, 但其合理性已经被逐渐公认。

## 2 小胶质细胞: 神经性疼痛药物作用的新靶点

### 2.1 胶质细胞参与神经病理性疼痛

传统观点认为胶质细胞在中枢神经系统中只具支持、绝缘和营养功能。然而近年来, 疼痛相关研究开始向“神经元中心”机制发出挑战, 大量的实验证据证明胶质细胞也在痛觉的产生与发展过程中起重要的作用<sup>[5]</sup>。

Garrison 等<sup>[6]</sup>提出胶质细胞与扩大的疼痛反应有关, 其免疫组织化学的结果说明星型胶质细胞标记物胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)在痛觉过敏的大鼠模型中表达上调。早期研究工作的重点放在星型胶质细胞参与中枢敏感化的机制, 认为星形胶质细胞参与疼痛的产生和级联放大<sup>[7]</sup>。后

收稿日期: 2006-06-02 接受日期: 2006-09-12

浙江省自然科学基金资助项目(No.Y204331)

\* 通讯作者。Tel: 0571-88206477, Fax: 0571-88206006, E-mail: ysun@zju.edu.cn

来,随着对中枢神经系统中小胶质细胞免疫功能的深入理解,人们开始意识到小胶质细胞应该比星型胶质细胞对外周神经损伤或炎症诱发的神经痛负有更直接的“责任”。Colburn 等<sup>[8]</sup>首次将小胶质细胞和星型胶质细胞在疼痛发生过程中的不同作用区分开来。根据细胞形态学的观察结果和细胞免疫化学实验中两种细胞着色程度的差异,他提出小胶质细胞的活化出现在疼痛的起始阶段,相反,星型胶质细胞在疼痛的发展和持续阶段有很强的活化反应。虽然现阶段对于星型胶质细胞和小胶质细胞在痛觉调制过程中的相关性还并不清楚<sup>[9]</sup>,但目前一系列激活的小胶质细胞对痛觉信号产生与传递通路影响方面的研究还是给疼痛治疗药物的开发工作提供了一个崭新的思路。

## 2.2 激活的小胶质细胞发生形态功能上的改变

中枢神经系统中的胶质细胞分为三类:少突胶质细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞。其中小胶质细胞与巨噬细胞有十分紧密的关系,是重要的免疫细胞,生理情况下占中枢神经系统胶质细胞总数的5%~10%<sup>[11]</sup>。神经损伤之前鞘内注射小胶质细胞激活抑制剂米诺环素(minocycline)可以减少神经痛大鼠模型中痛觉超敏行为<sup>[10]</sup>。处于静息状态的小胶质细胞对中枢神经系统外伤、缺血或感染等情况做出反应而激活,发生一系列形态功能上的变化(图1):(1)由原来有分枝的静息态转变为类似变形虫的状态,具有吞噬功能;(2)同时一系列细胞表面分子物质表达上调,如由抗体OX-42识别的补体受体3(complement receptor 3, CR3);(3)表达一些免疫相关分子:I、II

型主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex class I, II, MHC I, II)等;(4)产生和释放包括促炎症细胞因子(proinflammatory cytokines)在内的多种化学介质,促进免疫反应的发生并改变神经元的功能<sup>[11]</sup>。

随着工作的进一步深入,研究者们发现越来越多的由小胶质细胞释放的化学因子、促炎症细胞因子等介质以及与之相作用的受体参与神经痛的发生和发展,并作为胶质细胞之间以及胶质细胞与神经元之间双向交流的崭新“语言”。这些新认识对于神经病理性疼痛的临床治疗,高效镇痛药靶位的设计有着十分重要的意义。

## 3 小胶质细胞的激活以及下游痛觉调制通路

### 3.1 “炎症汤”中的各种细胞因子

当组织受到损伤、炎症或是缺血的情况下,大量的前列腺素、组胺、5-羟色胺、缓激肽、神经生长因子、趋化因子、细胞因子等与小胶质细胞有关的物质释放到病变组织周围,形成所谓“炎症汤(inflammatory soup)”的微环境<sup>[11]</sup>。“炎症汤”包围的小胶质细胞神经免疫激活,提高释放包括TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 和IL-6在内的多种促炎症细胞因子和兴奋性氨基酸、NO、前列腺素等痛觉递质的能力(这些过程均由转录因子NF- $\kappa$ B调控)。大量的动物实验证明外源性的促炎症细胞因子可以提高神经元的兴奋性并产生痛觉过敏现象<sup>[12]</sup>。

3.1.1 趋化因子——Fractalkine Frctalkine(又称CX3CL1)是一种与其受体CX3CR1特异性结合的典

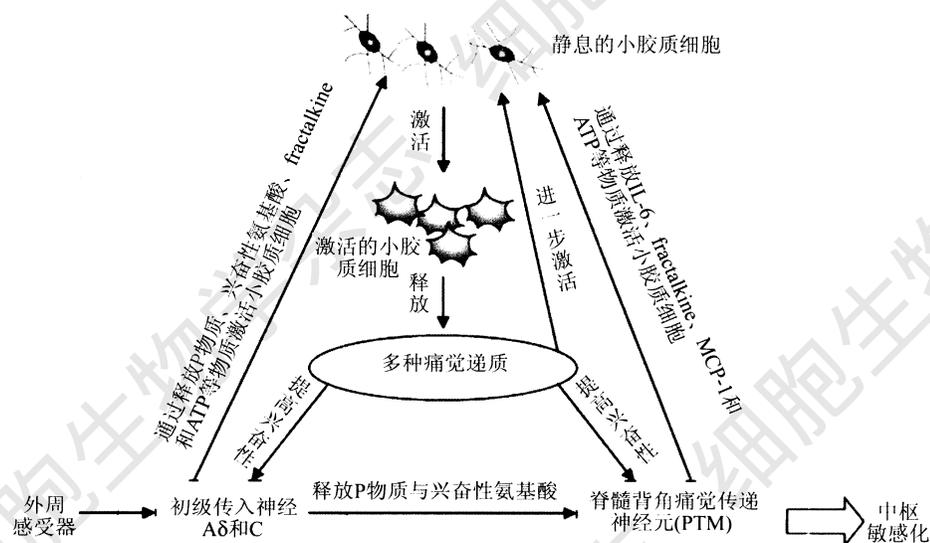


图1 小胶质细胞参与的疼痛信号传递通路

型混合型趋化因子。向脊髓中注射 fractalkine 可以引起疼痛的扩大揭示了其在神经性痛敏症中的作用<sup>[3]</sup>。细胞形态学与 OX-42 和 CD4 免疫着色反应研究表明 CX3CR1 定位于小胶质细胞,而只有在神经元上才能观察到 fractalkine 的免疫活性及其 mRNA 的表达<sup>[13]</sup>。Milligan 等<sup>[14]</sup>证明了 fractalkine 产生一种剂量依赖的机械痛敏和热觉超敏现象。在慢性压迫性损伤 (CCI) 和坐骨神经炎 (SIN) 这两个疼痛模型中,注射 CX3CR1 拮抗剂能延缓机械性痛敏和热觉超敏的发展且 fractalkine 的长时间释放导致神经性疼痛的维持。

Fractalkine 在疼痛信号传递、放大通路中的作用机制可能是这样:炎症反应和外周神经损伤激活小胶质细胞,促进其基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases)的合成,进一步加快神经元 fractalkine 的产生。Fractalkine 与小胶质细胞表面受体 CX3CR1 结合之后再次促进神经性和胶质细胞性的兴奋性物质释放。但到目前为止,这种假设还是缺乏实验上的证据。米诺环素以及 IL-1 和 IL-6 的受体拮抗剂和 NO 合成抑制剂的预处理均可抑制 fractalkine 诱导疼痛产生,证实了 IL-1、IL-6、NO 是 fractalkine 引起的疼痛易化的下游调控分子<sup>[15]</sup>。如上所述,痛觉易化物质的循环合成、释放导致疼痛的迅速传递和反应的扩大。

**3.1.2 单核细胞趋化蛋白及其受体** 趋化因子受体 2(chemotactic cytokine receptor 2, CCR2)是单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)的受体。神经损伤后脊髓背角神经元中趋化因子 MCP-1 的表达上升,且 CCR2 在慢性损伤激活的小胶质细胞中表达<sup>[16]</sup>。CCR2 基因剔除(CCR2<sup>-/-</sup>)的小鼠机械性痛敏症状明显减轻,推测可能与巨噬细胞浸润减少所导致的 Wallerian 脱髓鞘过程的进行速度减慢有关<sup>[17]</sup>。Zhang 等<sup>[18]</sup>进一步证明外周损伤神经元释放脊髓小胶质细胞的激活剂 MCP-1,激活的小胶质细胞通过 MAPK 磷酸化参与疼痛的发生。

尽管 MCP-1/CCR2 之间的相互作用及上、下游调控机制尚未明确,但同 fractalkine 相比,两者最大的相同之处是:受体均定位于小胶质细胞,激活小胶质细胞的信号分子都是由兴奋的神经元所释放。因此, MCP-1 及其受体 CCR2 相互作用,很有可能会对疼痛发生过程中神经元——小胶质细胞间的细胞因子信号传递途径做出很重要的补充。

**3.1.3 IL-10 的镇痛作用** 最近, Milligan 等<sup>[19]</sup>的实

验已经证明鞘内注射 IL-10 或含有编码人 IL-10 基因的载体均能有效控制痛觉过敏,但不改变对机械和热刺激的反应。由于脊髓神经元上没有 IL-10 受体,有证据证明 IL-10 通过对胶质细胞产生抗炎作用从而影响痛敏反应。

### 3.2 ATP 激活小胶质细胞

Tsuda 等<sup>[20]</sup>发现在损伤神经同侧的脊髓背角中与 ATP 结合 P2X<sub>4</sub> 受体表达量明显增加并伴随小胶质细胞活性的特异性增强。减少小胶质细胞中 P2X<sub>4</sub> 受体表达或使用 P2X<sub>4</sub> 受体拮抗剂均能减轻外周神经损伤所引起的痛觉过敏。这些都说明 ATP 与 P2X<sub>4</sub> 受体结合激活小胶质细胞,进而改变了脊髓神经元之间的疼痛信号传递途径,最终产生疼痛。这个重要的发现为解释小胶质细胞在神经病理性疼痛中的作用奠定了理论基础。

**3.2.1 激活的小胶质细胞参与神经性痛敏产生过程中的 P2X<sub>4</sub>R-p38 MAPK 通路** Tsuda 等<sup>[21]</sup>在脊髓损伤大鼠的模型中观察到背角小胶质细胞中磷酸化的 p38 MAPK 和 P2X<sub>4</sub> 受体增多,并且 p38 MAPK 激活只出现在小胶质细胞中,在星型胶质细胞和神经元中并无显著变化。p38 MAPK 抑制剂 SB203580 能有效抑制痛觉过敏症的发生。

基于上述实验事实, Inoue 等<sup>[22]</sup>提出了在神经损伤后的神经病理性疼痛假说:由损伤的神经元和星形胶质细胞释放的 ATP 激活静息水平的小胶质细胞,使其转变为极度活跃的状态,引起 P2X<sub>4</sub> 受体的高度表达和 p38 MAPK 磷酸化,最终造成了神经损伤后的痛觉过敏。

**3.2.2 激活的小胶质细胞参与神经性痛敏产生过程中的 P2X<sub>4</sub>R-GABA 通路** 脑源性神经营养因子 (BDNF) 是神经营养因子家族的成员之一。2002 年 Rivera 等<sup>[23]</sup>就在培养的海马脑片神经元上发现 BDNF 与其特异性受体 TrkB 结合,造成细胞膜上氯-钾共转运体 KCC2 表达量的减少。

Coull 等<sup>[24]</sup>对外周神经损伤引发疼痛的机制进行新的解释:外周神经损伤点后的突触活性发生变化,原先以甘氨酸为递质的抑制信号通路转变为由甘氨酸和 GABA 共同介导,引起的膜逆转电流增强。这些都是由于膜表面的 KCC2 表达量减少,改变质膜两边氯离子分布,氯离子内流造成神经元去极化,从而引发电压敏感的 T 型 Ca<sup>2+</sup> 通道和 NMDA 受体通道开放, Ca<sup>2+</sup> 内流产生动作电位。使神经细胞中低电压活化的 T 型钙通道家族 (Ca<sub>v</sub>3.1、Ca<sub>v</sub>3.2 和 Ca<sub>v</sub>3.3) 中的

Ca<sub>v</sub>3.2 基因沉默可以有效的抑制单一神经性疼痛,这一实验事实证明 Ca<sub>v</sub>3.2 是伤害性感受中起主要作用的钙离子通道<sup>[25]</sup>。

Coull 等<sup>[26]</sup>把自己已经发表的工作与 ATP 激活的 P2X<sub>4</sub> 受体通过 BDNF 相联系,发现 ATP 激活的小胶质细胞与引起神经病理性疼痛的信号传递加工过程的变化有关。ATP 激活的小胶质细胞分泌 BDNF 使 GABA 对大鼠脊髓背角第一层神经元的抑制作用转变为激活作用:通常激活 GABA<sub>A</sub> 受体引起细胞外阴离子(尤其是氯离子)的内流,造成神经细胞的超极化抑制。而外周神经损伤使 ATP 激活小胶质细胞并释放 BDNF, BDNF 与 TrkB 结合, KCC2 的表达量减少,细胞内部氯离子浓度上升(高于胞外),此时 GABA 使受体离子通道 GABA<sub>A</sub> 开放,氯离子顺电化学梯度外流,造成神经元的去极化兴奋,从而引起痛觉过敏。GABA<sub>A</sub> 成为传递疼痛信号的主要通道的一部分。

### 3.3 与神经病理性疼痛相关的小胶质细胞表面受体

#### 3.3.1 先天性免疫相关受体——Toll 样受体 4(TLR4)

近来,小胶质细胞相关的神经性疼痛研究扩展到中枢神经系统对于神经损伤的免疫反应方面。Tanga 等<sup>[27]</sup>首次报道了脊髓小胶质细胞的 TLR4 在小鼠和大鼠神经性痛敏模型中的重要作用。

Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)是跨膜的蛋白质受体,具有胞外丰富的亮氨酸重复模体和细胞质信号域,TLR4 在小胶质细胞表面特异表达且脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)是 TLR4 的内源配体。Tanga 等<sup>[27]</sup>为了验证 L5 神经横断之后,中枢神经系统的免疫活性和接下来细胞因子的释放由小胶质细胞膜表面受体 TLR4 所触发这个假说,使用 TLR4 基因剔除和点突变的小鼠株系(即缺少 TLR4 基因和 TLR4 功能突变)以及 TLR4 反义核酸鞘内注射的方法。结果表明基因剔除和注射反义核酸小鼠痛敏行为都明显减少,活化小胶质细胞的数目及促炎症细胞因子的表达量也有明显下降。

早期的实验证实饱和脂肪酸和其他与单核、巨噬细胞膜表面 TLR4 相作用的炎症标记分子能引起 NF-κB 的活化。因此,TLR4 对中枢神经免疫活化起了十分重要作用:TLR4 活化促进促炎症细胞因子的释放,并与其他疼痛介质共同产生中枢敏感化,造成痛觉过敏症的发生。

3.3.2 大麻碱受体 2 2003 年,在阿尔茨海默病患者大脑中发现小胶质细胞特异性表达大麻碱受体 2(cannabinoid receptor 2, CB2)<sup>[28]</sup>,且炎症环境产生的

干扰素 γ 和粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)促进小胶质细胞的活化和 CB2 表达增加<sup>[29]</sup>。CB2 的拮抗剂可以通过调节神经递质的释放而减轻疼痛<sup>[30]</sup>。这些实验结果都暗示了 CB2 在神经性疼痛中所发挥的作用。但小胶质细胞中 CB2 表达调控的分子信号传递机制还有待于进一步研究。

### 3.4 激活的小胶质细胞中的信号转导途径

外界输入的刺激是如何激活小胶质细胞而使其参与疼痛反应的扩大化呢?目前的实验证据证明有两条主要的信号传递通路参与这一过程。(1)钙离子依赖型通路:激活小胶质细胞表面的配体门控离子通道偶联受体(如: P2X<sub>4</sub>、NMDAR)和 CCR2、CX3CR1 等 G 蛋白偶联受体(GPCR),引起胞外钙离子内流,进一步激活 MAPK 家族的 p38、ERK;(2)非钙离子依赖型通路:IL-1β、TNF-α 与细胞表面受体结合以及外源性物质与 TLR 的作用,也可以激活 p38 与 ERK。MAPK 激活之后,通过 NF-κB 或其他转录因子,提高膜表面受体 CD11b、TLR4、P2X<sub>4</sub>、CB2 和 CX3CR1 的表达,同时也增加 IL-1β、IL-6、TNF-α 和 BDNF 等疼痛递质的合成释放。激活的小胶质细胞发生形态学的变化,具有迁移和吞噬能力,释放疼痛递质造成脊髓背角神经元敏感化,最终造成疼痛的产生和扩大<sup>[31]</sup>(图 2)。

### 3.5 激活小胶质细胞过程可能的参与分子:溶血磷脂酸与神经节苷脂 3

除了上面所提到的物质之外,最近发现的一些新的具生物活性的脂类物质,也是疼痛发生过程中重要的信号分子。溶血磷脂酸(lysophosphatidic, LPA)激活小胶质细胞后很可能通过 ROCK(Rho kinase)通路引起胞内钙离子浓度升高,最终产生神经性疼痛<sup>[32,33]</sup>。Gomez-Nicola 等<sup>[34]</sup>肯定了神经节苷脂 3(ganglioside 3, GD3)通过阻碍 IL-15 介导的小胶质细胞和 T 细胞之间的相互作用来达到抗炎反应的作用。综上所述,新、老痛觉递质的协同作用,对神经、免疫系统之间的相互交流产生深刻影响。

## 4 小结

近年来,对痛觉产生分子机制的深入研究为临床特效镇痛药物的设计与开发提供了新的思路。越来越多的研究者已经把工作的重心由从对损伤神经元和痛觉感受器的研究转向对神经胶质细胞在神经病理性疼痛发生中的作用,并且取得了重大的突破。但仍然有一些重要的问题还没有得到彻底的解决,例

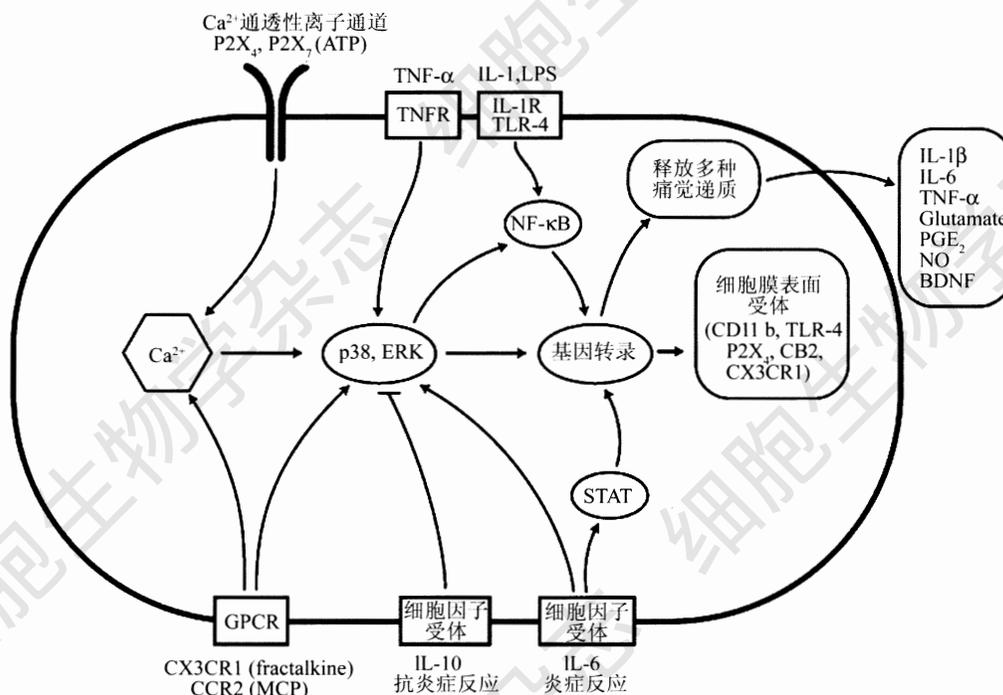


图2 激活的小胶质细胞中的信号转导通路(引自文献 31, 略加修改)

如: 这些激活的小胶质细胞来自哪里? 什么信号通路引起小胶质细胞释放这些痛觉递质? 目前发现的一些细胞因子和其受体的拮抗剂往往只能预防疼痛的产生, 在痛敏症发生之后它们并不能起到很有效的治疗作用。因此, 人类在与疼痛斗争的过程中还有一段相当长的路要走, 但现在可以预见的是以小胶质细胞为靶点的镇痛药物的开发将开创疼痛治疗一个崭新的时代。

### 参考文献 (References)

- [1] Tsuda M et al. *Trends Neurosci*, 2005, **28**: 101
- [2] Miller G. *Neuroscience*, 2005, **308**: 778
- [3] Watkins LR et al. *Trends Neurosci*, 2001, **24**: 450
- [4] Milligan ED et al. *J Neurosci*, 2003, **23**: 1026
- [5] 钟带星等. *生理科学进展*, 2003, **34**: 353
- [6] Garrison CJ et al. *Exp Neurol*, 1994, **129**: 237
- [7] 项红兵等. *临床麻醉学杂志*, 2003, **19**: 576
- [8] Colburn RW et al. *J Neuroimmunol*, 1997, **79**: 163
- [9] Inoue K. *Pharmacol Ther*, 2006, **109**: 210
- [10] Raghavendra V et al. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, **306**: 624
- [11] Abbadie C. *Trends Immunol*, 2005, **26**: 529
- [12] Moalem G et al. *Brain Res Brain Res Rev*, 2006, **51**: 240
- [13] Verge GM et al. *Eur J Neurosci*, 2004, **20**: 1150
- [14] Milligan ED et al. *Eur J Neurosci*, 2004, **20**: 2294
- [15] Milligan E et al. *Eur J Neurosci*, 2005, **22**: 2775
- [16] Tanaka T et al. *Neurosci Res*, 2004, **48**: 463
- [17] Abbadie C et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 7947
- [18] Zhang J et al. *J Neurochem*, 2006, **97**: 772
- [19] Milligan ED et al. *Eur J Neurosci*, 2005, **21**: 2136
- [20] Tsuda M et al. *Nature*, 2003, **424**: 778
- [21] Tsuda M et al. *Glia*, 2004, **45**: 89
- [22] Inoue K et al. *J Pharmacol Sci*, 2004, **94**: 112
- [23] Rivera C et al. *J Cell Biol*, 2002, **159**: 747
- [24] Coull JA et al. *Nature*, 2003, **424**: 938
- [25] Bourinet E et al. *EMBO J*, 2005, **24**: 315
- [26] Coull JA et al. *Nature*, 2005, **438**: 1017
- [27] Tanga FY et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**: 5856
- [28] Benito C et al. *J Neurosci*, 2003, **23**: 11136
- [29] Maresz K et al. *J Neurochem*, 2005, **95**: 437
- [30] Beltramo M et al. *Eur J Neurosci*, 2006, **23**: 1530
- [31] Ji RR et al. *Sci STKE*, 2004, (252): reE14
- [32] Ye X et al. *Neuroreport*, 2002, **13**: 2169
- [33] Inoue M et al. *Nat Med*, 2004, **10**: 712
- [34] Gomez-Nicola D et al. *J Neurosci Res*, 2006, **8**: 754

## The Role of Microglia in Neuropathic Pain

Wen Du, Yi Sun\*

(College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

**Abstract** Neuropathic pain has severe effects on patients' physical and mental health. Recent evidence indicates that microglia activated by inflammation or injury of peripheral nerve system, expressing and releasing a series of mediators, are key cellular regulators in the causation and transmission of the neuropathic pain. Taken together, these findings not only greatly improve people's understanding on pain, but also suggest a new, dramatically different approach to explore the communications between neuron and glia. Additionally, the continuing progress in the neuropathic pain will ultimately lead to development of new analgesic drugs, based on microglia response that follows nerve trauma or injury in the peripheral or central nervous system.

**Key words** microglia; neuropathic pain

---

Received: June 2, 2006

Accepted: September 12, 2006

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.Y204331)

\*Corresponding author. Tel: 86-571-88206477, Fax: 86-571-88206006, E-mail: ysun@zju.edu.cn