

胶质细胞与病理性疼痛

孙 珊^{1,2} 高俊鹏¹ 吕 宁^{2*} 蔡定芳^{1*}¹ 复旦大学附属中山医院中西医结合科, 上海 200032; ² 复旦大学神经生物学研究所, 上海 200032)

摘要 胶质细胞是中枢神经系统内的一类有别于神经元的细胞, 可表达多种神经递质或细胞因子受体, 在神经系统的多种功能中扮演着重要角色。组织损伤或炎症引起脊髓胶质细胞大量激活, 激活的胶质细胞分泌多种细胞因子和神经-胶质兴奋物质, 参与病理性疼痛的产生与维持。以胶质细胞为靶点可能为病理性疼痛的治疗另辟蹊径。

关键词 胶质细胞; 细胞因子; 疼痛; 痛觉过敏; 触诱发痛

1 概述

胶质细胞在脊椎动物的外周和中枢神经系统广泛分布, 在数量上相当于神经元的 10 倍, 构成神经系统总量的一半。外周神经系统主要有施旺细胞和卫星细胞; 中枢神经系统主要有星形胶质细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞、放射状胶质细胞及室管膜细胞; 脊髓以小胶质细胞、星形胶质细胞及少突胶质细胞为主。长期以来, 胶质细胞被认为是神经系统中神经元的间质细胞或支持细胞。

静息状态下胶质细胞膜电位负于神经元, 可达 -90 mV, 几乎完全由 K^+ 的平衡电位决定。接受刺激后胶质细胞发生程度不等的去极化, 通过低阻抗的缝隙连接(gap junctions)扩布到相邻的胶质细胞。其膜上除分布有 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 等离子通道和离子泵外, 也表达多种神经递质及其受体和转运体^[1]。

1.1 神经系统细胞之间的信息传递

1.1.1 神经元与胶质细胞间的信息传递 神经冲动可调节胶质细胞的活动, 胶质细胞也能调节神经元突触的形成, 控制突触传递的效能。包绕在脊髓神经轴突末梢周围的星形胶质细胞一方面可通过释放信号分子调节突触前神经递质的释放^[1,2]; 另一方面也可通过膜转运体的活动控制突触间隙的递质浓度, 进而调节突触传递的效能。此外, 在非突触区, 细胞外间隙离子浓度的改变和神经递质、生长因子或其他神经-胶质信号分子等的非突触性释放也能介导神经元与胶质细胞之间的信息传递^[1,3-5]。

1.1.2 胶质细胞与胶质细胞之间的信息传递 脊髓胶质细胞之间除了通过缝隙连接直接进行胞内离子和小分子物质的交换外, 也通过胞外信号分子进行信息传递^[5,6]。目前认为, 胞外 ATP 的扩散和谷氨酸

的释放是星形胶质细胞间联系的主要因素。胞外 ATP 弥散到邻近的星形胶质细胞, 激活膜上的 P_2Y 或 P_2X 受体, 导致胞内 Ca^{2+} 浓度增加, 钙波通过缝隙连接扩布到邻近的胶质细胞^[7], 使信号传递到整个脑区。细胞外间隙中的 ATP 除来自于神经元轴突末梢的释放外, 还可来自于胶质细胞。星形胶质细胞也可以分泌谷氨酸^[8], 但其机制与释放 ATP 不同(两种胞外信号转导分子是协同作用的)^[9]。谷氨酸的释放依赖于星形胶质细胞胞内钙离子浓度的升高。星形胶质细胞表达的许多分子与神经元释放递质相关的突触囊泡蛋白相同, 这些分子被特异性毒素阻断后, 可抑制星形胶质细胞释放谷氨酸。ATP 的释放机制尚不清楚, 可能与 ATP 结合的级联转运体、囊性纤维化跨膜转导调节因子、牵张激活的氯通道或者是和邻近细胞不配对的缝隙连接等因素有关。近来的研究发现 ATP 的释放可能和非选择性膜通道的瞬间开放有关, 而胞外 ATP 的单纯性扩散可能与星形胶质细胞调节钙波扩散有关。

1.2 脊髓胶质细胞表面受体及其分泌的细胞因子

神经元表达的受体或分泌的神经递质大部分在胶质细胞中也有表达。脊髓胶质细胞可合成和分泌多种细胞因子, 参与中枢神经系统稳态的维持^[10]。正常情况下胶质细胞一般处于静息状态, 静息状态下, 星形胶质细胞调节胞外离子、神经递质浓度, 使邻近神经元有效地利用神经递质或调质前体物质, 并维持胞外的 pH 值。静息状态的小胶质细胞膜上存在

收稿日期: 2007-01-24 接受日期: 2007-07-02

国家自然科学基金(No.30600178, No.30570594)及长江学者和创新团队发展计划资助项目

* 通讯作者: 蔡定芳: Tel: 021-64041990-2413, E-mail: dingfangcai@163.com; 吕 宁: Tel: 021-54237636, E-mail: ninglu@fudan.edu.cn

表 1 星形胶质细胞与小胶质细胞表达的趋化因子及趋化因子受体^[11]

CNS 细胞类型	趋化因子产物	趋化因子受体的表达	细胞因子调节
星形胶质细胞	IL-8	CXCR2	IL-1 β
	IP-10	CXCR4	TNF α
	MIP-1 α , MIP-1 β	CCR1	
	RANTES	CCR5	
	MCP-1		
小胶质细胞	IP-10	CXCR4	IL-1 β
	RANTES	CCR3	TNF α
	MCP-3	CCR5	
	MIP-1 α , MIP-1 β	CX3CR	
	Fractalkine		

少量免疫识别分子,如主要组织相容性抗原复合物 II (MHC II)分子;激活后则表达多种促炎性细胞因子或趋化因子受体,如 Toll 样受体,补体受体,趋化因子受体,阿片受体等等(表 1),参与多种神经系统疾病的病理过程。

2 脊髓胶质细胞与痛觉信息传递

脊髓胶质细胞在疼痛中的作用研究是近 20 年来痛觉领域的热点。早在 1978 年 Jancso 等^[12]曾报道,经辣椒素(capsaicin)处理的新生小鼠,脊髓 I、II 层的小胶质细胞数量大量上调,在 24 h 达峰值。20 世纪 90 年代以来,胶质细胞日益成为人们关注的重点,越来越多的证据显示,胶质细胞与病理性疼痛有极为密切的联系。我们实验室以往的工作表明,脊髓内给予胶质细胞功能抑制剂可阻断吗啡耐受引起的痛觉过敏和触诱发痛^[13],并翻转强直刺激诱导的脊髓长时程增强(LTP)为长时程抑制(LTD)^[14];进一步的工作显示,干扰胶质细胞功能可以部分阻断大鼠关节炎性疼痛^[15,16]和强直刺激诱导的镜像性触诱发痛^[17]。

Watkins 在前人和自己的研究成果基础上,提出假设:“疼痛并非完全是因为神经元之间发生错误联系而引起,神经系统中的胶质细胞可能促成了神经损伤的发展,引起慢性病理性疼痛”^[18],并首次指出胶质细胞参与痛觉过敏的产生和维持^[19](图 1)。

2.1 伤害性刺激激活脊髓胶质细胞

多种伤害性刺激可激活脊髓小胶质细胞和星形胶质细胞,如皮下注射福尔马林^[20]、酵母聚糖^[21]、腹腔注射细菌^[22]诱发的外周炎症;外周神经损伤^[21],骨癌^[23],脊神经根结扎^[24],脊髓损伤^[25]等均可激活脊髓胶质细胞,包括小胶质细胞和星形胶质细胞,产生痛觉过敏^[26]。

小胶质细胞是中枢固有的免疫细胞,为单核-巨噬细胞家族的成员之一。目前大多数研究使用 OX-

42 作为其活化的标记物。激活的小胶质细胞不仅可以释放经典的神经、胶质活性物质,而且与其他免疫细胞一样,还可以释放促炎性细胞因子,如 IL-1、IL-6、TNF 等^[27]。美满霉素是半合成的第二代四环素类衍生物,可选择性抑制小胶质细胞的活性。炎症或损伤早期,系统或脊髓内给予美满霉素可有效抑制小胶质细胞的激活,减少促炎性细胞因子的释放,延迟或阻断痛敏行为的产生^[25,28]。

星形胶质细胞的激活过程较小胶质细胞慢,但在激活后,星形胶质细胞在不同神经病理痛模型的表达水平与痛行为密切相关。胶质纤维酸性蛋白(GFAP)是星形胶质细胞的特异性标记物^[10]。在骨癌痛动物模型上,脊髓星形胶质细胞表现出高度激活;与神经损伤引起的神经病理痛相比,骨癌痛模型的星形胶质细胞肿胀更为明显^[29]。目前尚无特异性星形胶质细胞抑制剂,尽管有报道显示,鞘内给予氟代柠檬酸可逆转 gp120 蛋白引起的 GFAP 和 IL-1 β 的升高,并抑制相关的痛行为反应,但小胶质细胞也同时被抑制^[30]。

在完全弗氏佐剂(CFA)诱导的关节炎大鼠,我们也观察到类似的胶质细胞激活过程。在大鼠踝关节腔内注入 CFA 后数小时,即可在同侧后爪观察到明显的热痛觉过敏和触诱发痛现象,一天之内达峰值,稳定维持两周以上。免疫组织化学结果显示,脊髓小胶质细胞在炎症第 1 天(24 h)已有激活,第 3 天达到高峰,第 10 天仍保持较高水平。与小胶质细胞的激活不同的是,星形胶质细胞在致炎后第 3 天开始激活,第 10 天免疫活性表现为较高水平;给予胶质细胞的功能抑制剂氟代柠檬酸明显抑制脊髓背角 GFAP 和 OX-42 的表达水平,并剂量依赖地抑制炎症痛行为^[15],炎症早期鞘内注射小胶质细胞抑制剂美满霉素不仅明显抑制小胶质细胞的激活,也能抑制星形胶质细胞的激活,并延迟痛敏行为的产生。但炎症性热痛过敏或触诱发痛产生后,鞘内给予美满霉素仅能抑制小

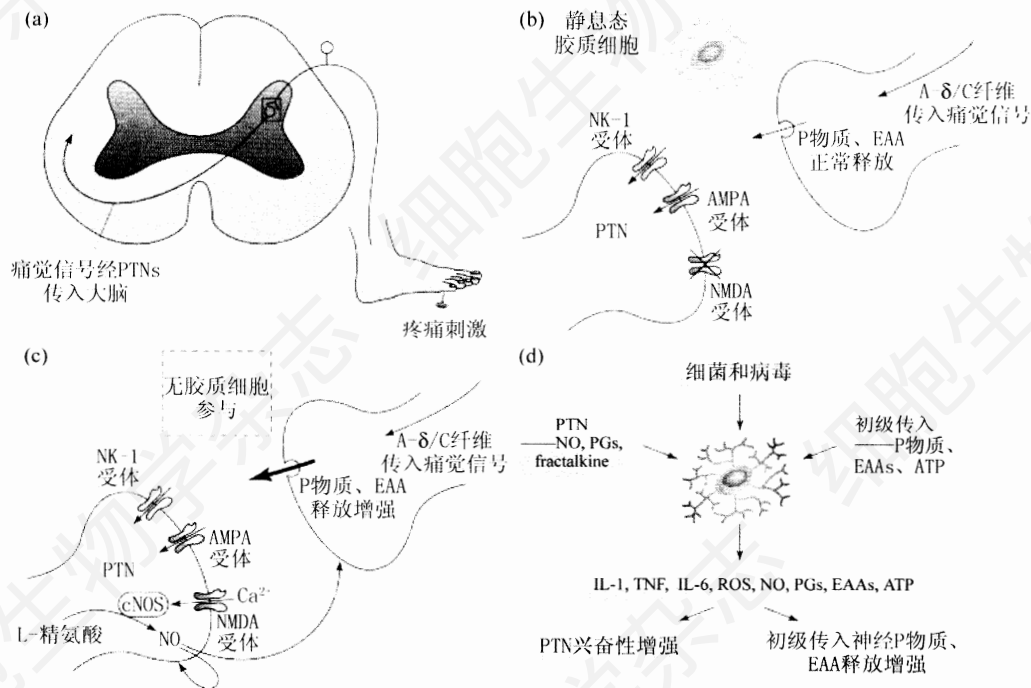


图1 痛觉产生与调制的模式图^[19]

(a)经典的痛觉信号转导过程: 伤害性刺激(如踩到钉子)激活外周痛觉感受器, A- δ 和C纤维传递伤害性信息至脊髓背角神经元, 经脊丘束上传至对侧丘脑, 投射到大脑感觉皮层。(b)生理性痛过程: 生理性疼痛通常不伴有胶质细胞激活。外周伤害性刺激激活初级传入A- δ 和C纤维, 引起P物质和兴奋性氨基酸(EAAs)在脊髓背角的释放, 通过突触后NK-1和AMPA受体激活脊髓伤害投射神经元(PTNs), 并传递痛觉信息到脊髓上高级脑区。(c)病理痛的神经元驱动说: 伤害性信息的持续性传入使PTNs敏感化, NMDA受体激活引起大量钙离子内流, 上调一氧化氮合酶(cNOS)表达水平, 一氧化氮(NO)合成增多并迅速扩散, 导致PTNs过度兴奋。(d)病理性痛产生的新观点: 伤害性信息的持续性传入引起P物质、EAAs等兴奋性递质在脊髓大量释放, 它们作用于PTNs的同时, 也激活胶质细胞表达的相关受体, 导致脊髓小胶质细胞和星形胶质细胞的大量激活。激活的胶质细胞发生增生、肿胀并合成、释放多种细胞因子和趋化因子, 如促炎因子(IL-1、IL-6、TNF)和神经生长因子等。这些神经-胶质激活因子进一步兴奋PTNs, 产生中枢敏化。在这里, 胶质细胞的激活成为产生和维持病理性痛的驱动力量。

胶质细胞的激活, 对已激活的星形胶质细胞无抑制作用, 也不能翻转已存在的痛敏行为^[16]。这些结果提示, 脊髓小胶质细胞可能主要参与关节炎性痛敏的形成, 而星形胶质细胞对关节炎性痛敏的维持可能更具意义。

2.2 脊髓胶质细胞激活的可能机制

外周炎症或损伤后数分钟内, 脊髓胶质细胞即发生反应性改变, 包括形态学的变化和多种细胞因子的分泌上调。最早发生变化的可能是小胶质细胞, 激活的小胶质细胞释放多种促炎性细胞因子, 一方面引起其自身的进一步激活, 另一方面激活星形胶质细胞, 两者释放的多种神经、胶质活性物质正反馈地促使脊髓伤害性神经元和胶质细胞更大程度地激活, 导致痛信号的放大, 痛觉敏化的发展和维持(表2, 图2)。

启动小胶质细胞的激活的可能因子之一是fractalkine及其受体CX3CR1^[32]。Fractalkine主要表达于神经元, 特别是初级传入末梢。神经元受到强烈刺激发生兴奋后, 大量释放fractalkine。Fractalkine

的可溶性部分与特异性表达在小胶质细胞表面的受体CX3CR1结合, 使小胶质细胞激活^[33,34]。该假设在我们的实验中得到进一步证实。关节炎早期, 大鼠脊髓CX3CR1的表达显著上调, 其时间过程与小胶质细胞的激活过程相一致。在炎症的急性期(致炎后24 h期间)鞘内给予CX3CR1抗体干扰CX3CR1的功能, 既可延迟热痛敏和触诱发痛的产生, 也可翻转已形成的痛敏行为。与此同时, 脊髓小胶质细胞和星形胶质细胞的激活也受到明显抑制^[35]。Milligan等^[36]在外周神经炎模型上也得到类似结果, 即鞘内注射fractalkine可以产生触诱发痛和热痛敏, 而阻断脊髓fractalkine受体既可以延迟痛敏反应的形成, 也能减弱已形成的痛觉敏化。此外, 鞘内注射小胶质细胞抑制剂美满霉素和促炎性因子IL-1或IL-6抑制剂也可阻断鞘内注射fractalkine引起的触诱发痛和痛觉过敏, 提示fractalkine可能通过激活小胶质细胞上的CX3CR1受体, 激活小胶质细胞。

表 2 可激活中枢神经系统的因子以及激活后释放的一些因子列表^[31]

启动子	作用部位	信号通路	释放产物
ATP	小胶质细胞	p38/ERK	TNF α
	小胶质细胞	JNK/ERK/p38	TNF α
	小胶质细胞		IL-1 β
	小胶质细胞	p38/PKC	IL-6
	小胶质细胞	ERK/p38/PI3K	自由基
	小胶质细胞	PKC/MAPK	TGF β
	小胶质细胞		LIF
	小胶质细胞	p38	Plasminogen
	小胶质细胞		NO
	星形胶质细胞	NF- κ B	
	星形胶质细胞	PI3K/AKT	
	星形胶质细胞	PKC/PKA/ERK	GABA
	星形胶质细胞		EAA
	星形胶质细胞	ERK/p38	CCL
细胞因子			
TNF α	小胶质细胞		TGF β
IL-6/TNF α	小胶质细胞		IL-10
TNF α	小胶质细胞	PKC	O $_2^-$
IL-1 β	小胶质细胞		TNF α
IL-1	星形胶质细胞		NO
谷氨酸	小胶质细胞	p38	PGE2
	星形胶质细胞		ATP
多肽			
P 物质	小胶质细胞	p38	
P 物质	小胶质细胞		IL-6/PGE2
P 物质	小胶质细胞		TBX
P 物质	小胶质细胞		PGE2/EAA
CGRP	小胶质细胞		
促生长激素神经肽	星形胶质细胞		

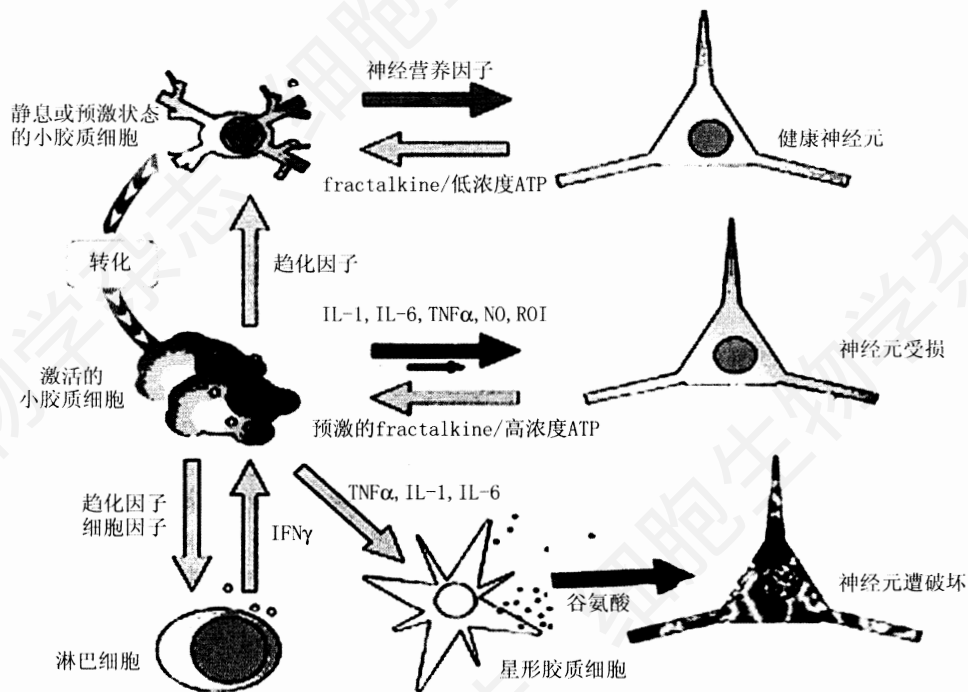


图 2 神经元、小胶质细胞、星形胶质细胞及其他免疫细胞间的联系^[31]

正常情况下神经元通过传入末梢释放神经递质/调质如 ATP, 向小胶质细胞发送正常信号。静息的小胶质细胞产生神经营养因子支持神经元的功能和生存。损伤后, 初级传入神经末梢释放神经-胶质激活分子如 fractalkine 及高浓度兴奋性递质/调质如 ATP, 通过 CX3CR1 和 P2X4 受体激活小胶质细胞。激活的小胶质细胞不仅合成趋化物质, 也产生细胞因子或其他因子(如 NO 等), 产生神经毒性, 并激活星形胶质细胞使之参与反应, 同时更多的小胶质细胞进一步被激活。

如前所述,星形胶质细胞表达多种神经递质和细胞因子受体。外周初级传入末梢释放的EAA s、SP、ATP等兴奋性神经递质以及激活的小胶质细胞释放的大量促炎性细胞因子,通过相应受体进一步激活星形胶质细胞。后者与小胶质细胞一道,参与痛觉易化效应的维持。

除fractalkine和CX3CR1外,Toll样受体4(TLR-4)和P2X4也特异性表达在小胶质细胞,可能也参与启动小胶质细胞的激活^[37-38]。

3 小结

脊髓胶质细胞在神经病理痛及外周炎症引起的疼痛中扮演着重要的角色,其中神经元-胶质细胞间信号转导的通路可能显示了新的疾病发生机制。

目前,临床上对病理疼痛治疗有效的药物较少。非甾体类消炎镇痛药和阿片类药物又因其副作用的存在,在应用中受到一定限制。考虑到胶质细胞在痛觉调控过程中的重要作用,以胶质细胞为靶点可能会为病理痛的治疗另辟蹊径^[39]。

感谢复旦大学脑研究院的张玉秋教授和赵志奇教授在本文写作和修稿过程中给予的大力帮助。

参考文献(References)

[1] Alvarez-Maubecin V et al. *J Neurosci*, 2000, **20**: 4091

- [2] Inoue K et al. *Life Sci*, 2003, **74**: 189
 [3] Fields RD et al. *Science*, 2002, **298**: 556
 [4] Bezzi P et al. *Curr Opin Neurobiol*, 2001, **11**: 387
 [5] Haydon PG. *Curr Biol*, 2000, **10**: R712
 [6] Kielian T et al. *Neurochem Int*, 2004, **45**: 429
 [7] Fam SR et al. *J Neurosci*, 2000, **20**: 2800
 [8] Anderson CM et al. *J Neurochem*, 2004, **88**: 246
 [9] Jeremic A et al. *J Neurochem*, 2001, **77**: 664
 [10] Benveniste EN. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1998, **9**: 259
 [11] Hanisch UK. *Glia*, 2002, **40**: 140
 [12] Jancso G *Cell Tissue Res*, 1978, **195**: 145
 [13] Song P et al. *Neurosci Res*, 2001, **39**: 281
 [14] Ma JY et al. *Neuroreport*, 2002, **13**: 1781
 [15] Sun S et al. *Exp Neurol*, 2006, **198**: 294
 [16] Sun S et al. *Neurobiol Dis*, 2007, **26**: 558
 [17] Ying B et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **340**: 1264
 [18] Nicholls JG et al. *From Neuron to Brain*, 4th ed., Sunderland: Sinauer Associates, Inc., 2000, **133**
 [19] Watkins LR et al. *Trends Neurosci*, 2001, **24**: 450
 [20] Fu KY et al. *Brain Res*, 1999, **825**: 59
 [21] Sweitzer SM et al. *Brain Res*, 1999, **829**: 209
 [22] Zhang Z et al. *Neuroreport*, 2005, **16**: 1495
 [23] Medhurst SJ et al. *Pain*, 2002, **96**: 129
 [24] Colburn RW et al. *J Neuroimmunol*, 1997, **79**: 163
 [25] Raghavendra V. et al. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, **306**: 624
 [26] Watkins LR et al. *Adv Exp Med Biol*, 2003, **521**: 1
 [27] Rock RB et al. *Clin Microbiol Rev*, 2004, **17**: 942
 [28] Ledebor A et al. *Pain*, 2005, **115**: 71
 [29] Honore P et al. *Nat Med*, 2000, **6**: 521
 [30] Milligan ED et al. *J Neurosci*, 2001, **21**: 2808
 [31] Ji RR et al. *Sci STKE*, 2004, 2004: reE14
 [32] Hinkerohe D et al. *Glia*, 2005, **52**: 85
 [33] Harrison JK et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 10896
 [34] Chapman GA et al. *J Neurosci*, 2000, **20**: RC87
 [35] Sun S et al. *Pain*, 2007, **129**: 64
 [36] Milligan E et al. *Eur J Neurosci*, 2005, **22**: 2775
 [37] Lehnardt S et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 8514
 [38] Tsuda M et al. *Nature*, 2003, **424**: 778
 [39] Watkins LR et al. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, **2**: 973

Glia and Pathological Pain

Shan Sun^{1,2}, Jun-Peng Gao¹, Ning Lü^{2*}, Ding-Fang Cai^{1*}

¹Integrative Medicine Department, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai, 200032, China;

²Institute of Neurobiology, Fudan University, Shanghai, 200032, China)

Abstract In the central nervous system, glial cells play an important role in the development and maintenance of central sensitization. Glial cells express many receptors of neurotransmitters and cytokines. Robust glial activation has been observed on the lumbar spinal cord in various rodent models of chronic pain. The degree and time course of glial activation are correlated with pain facilitation. Activated spinal glia release a variety of algescic substances, such as pro-inflammatory cytokines, which enhance pain transmission. Glial cells will be targeted in order to kill pathological pain.

Key words glia; cytokines; pain; hyperalgesia; allodynia

Received: January 24, 2007 Accepted: July 2, 2007

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30600178, No.30570594) and the University Program for Changjiang Scholars and Innovative Research

*Corresponding author. Ding-Fang Cai: Tel: 86-21-64041990-2413, E-mail: dingfangcai@163.com; Ning Lü: Tel: 86-21-53237636, E-mail: ninglu@fudan.edu.cn