

小胶质细胞与创伤性脑损伤关系的研究进展

唐佳琦 卢韵碧*

(浙江大学医学院药理学系, 杭州 310058)

摘要 创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)是全球范围内人类致残和致死的主要原因之一, 目前尚无有效的治疗方案。TBI可分为两个阶段: 瞬时的原发性损伤, 发生在损伤瞬间; 以及之后的继发性损伤, 该阶段涉及一系列复杂的病理过程。神经炎症是TBI的一个标志, 它被认为是一个决定TBI转归的主要因素。作为中枢神经系统中的第一道也是最主要的一道免疫防线, 小胶质细胞在TBI发生后被迅速激活, 其表型随脑内微环境的变化而变化, 表现出神经保护和神经毒性双重作用, 因此小胶质细胞被视为治疗TBI的一个重要靶点。该文对TBI发生后小胶质细胞的时空特征、功能及以小胶质细胞为靶点的治疗方法的研究进展作一综述。

关键词 小胶质细胞; 创伤性脑损伤; 治疗策略

Research Progress of the Relationship between Microglia and Traumatic Brain Injury

TANG Jiaqi, LU Yunbi*

(Department of Pharmacology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)

Abstract TBI (traumatic brain injury) is one of the main causes of human death and disability in the world, and there is no effective treatment at present. TBI can be divided into two stages: transient primary injury, which occurs at the moment of injury, and subsequent secondary injury. The secondary injury involves a series of complex pathological processes. Neuroinflammation is a symbol of TBI, which is considered as a major factor in determining disease progression and outcome. Microglia, as the first and most important immune defense line in the central nervous system, is activated rapidly after TBI, and shows dynamic phenotype in response to the changes of brain microenvironment. Microglia has dual effects of neuroprotection and neurotoxicity. Therefore, microglia is regarded as an important target for the treatment of TBI. Here, the temporal and spatial characteristics, function of microglia after TBI and the research progress of microglia-targeted therapy are reviewed.

Keywords microglia; traumatic brain injury; treatment strategy

创伤性脑损伤(trumatic brain injury, TBI)的致残和致死率高, 目前尚无有效的临床治疗策略。TBI的病理过程分为两个阶段: 第一阶段为损伤发生时导致的细胞瞬间死亡; 第二阶段继发于第一阶段之后, 涉及一系列病理变化。第一阶段的损伤被认为

是不可治疗的; 第二阶段的损伤因可以进行治疗干预而受到了更多的关注。

神经炎症是TBI的一个标志, 包括驻留胶质细胞(小胶质细胞和星形胶质细胞)的激活、免疫细胞的募集以及炎症介质在大脑中的释放。在神经

收稿日期: 2021-02-27 接受日期: 2021-04-29

浙江省自然科学基金(批准号: LY18H170001)、浙江省卫生科研基金(批准号: 2017KY320)和浙江省教育厅科研项目(批准号: Y201636340)资助的课题

*通讯作者。Tel: 13858108542, E-mail: yunbi@zju.edu.cn

Received: February 27, 2021 Accepted: April 29, 2021

This work was supported by the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation (Grant No. LY18H170001), the Zhejiang Provincial Health Research Foundation (Grant No. 2017KY320), and the Zhejiang Provincial Department of Education Research Project (Grant No. Y201636340)

*Corresponding author. Tel: +86-13858108542, E-mail: yunbi@zju.edu.cn

炎症中,小胶质细胞是第一道防线,小胶质细胞对脑损伤后释放的损伤相关分子模式做出快速反应,然后以腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)依赖的方式迁移到损伤部位。早期活化的小胶质细胞被认为具有神经保护作用,可以清除细胞碎片^[1]。然而,在TBI慢性期,许多小胶质细胞仍处于激活状态,这通常被认为是有害的。近年来,对于小胶质细胞在TBI中作用的研究得到了越来越多的关注,以小胶质细胞为靶点的治疗也具有广阔的应用前景。

1 TBI

TBI是指在施加外力后对大脑造成的暂时性或永久性的功能性或结构性损伤^[2]。据估计,每年约有1 000万新增患者受到TBI的影响^[3]。TBI具有高医护费用、高致残率、高死亡率的特点,其预后较差,患者可伴有行为、认知、情感障碍等后遗症,因此TBI对患者的生活质量有很大影响^[4]。此外,TBI会导致阿尔茨海默病、帕金森病、抑郁症等疾病的风险增加^[5]。因此,TBI的防治是一个紧迫的公共卫生和医疗问题。

TBI的发病机制复杂,由于损伤和大脑反应的异质性,TBI在不同患者中的病理过程是不完全相同的。TBI造成的脑损伤一般可分为两种,即原发性和继发性。原发性损伤在损伤后即刻发生,由头部的物理损伤引起,导致邻近组织受到压迫,并可能伴有意识丧失。原发性损伤发生后,在分子和细胞水平上会发生一系列复杂的级联事件,如线粒体功能障碍、自由基生成、细胞因子产生、血脑屏障破坏、炎症反应和细胞死亡,从而导致继发性损伤^[6]。继发性损伤过程复杂,在原发性损伤后的数小时或数天内发生,可持续数月。继发性损伤包括原发性损伤引起的脑缺血、脑缺氧、脑水肿、灌注压降低、颅内压升高等,这些病理变化相互交织,引发神经功能损害,进一步损伤脑组织^[7]。神经炎症是继发性损伤的主要病理过程,具有双重作用,而小胶质细胞在其中扮演了重要角色^[8]。

2 小胶质细胞

1856年,德国著名病理学家RUDOLF^[9]发明了glia一词来描述大脑中不同于神经元的细胞群。在

随后的几十年里,这一领域的研究进展缓慢。直到1919年,小胶质细胞(microglia)才作为一种独立的细胞类型被西班牙神经学家PÍ O DEL^[10]发现并命名。

2.1 小胶质细胞的来源

小胶质细胞起源于胚胎卵黄囊中表达转录因子RUNX1(runt related transcription factor 1)和受体酪氨酸激酶c-Kit(又称CD117)的早期髓系祖细胞^[11]。在发育过程中,小鼠卵黄囊髓系前体细胞大约在胚胎发育第9.5天到达大脑,然后分化为未成熟的小胶质细胞,呈现变形虫形态,具有独特的分子和功能特性^[11]。小胶质细胞分化受转录因子SPI1(spleen focus forming virus proviral integration oncogene)(以前称为PU.1)和干扰素调节因子8的调控^[12]。小胶质细胞通过自我更新来维持其在中枢神经系统中的数量^[13],这一过程依赖于集落刺激因子1受体(colony-stimulating factor 1 receptor, CSF1R)的持续激活,其是小胶质细胞和巨噬细胞发育的必要条件^[11]。

2.2 小胶质细胞的表型

小胶质细胞是大脑中的免疫细胞,根据其激活状态的不同,表现出从神经营养到神经毒性的复杂作用谱。依据巨噬细胞的分类方式,小胶质细胞的激活通常被分为经典激活型小胶质细胞(M1型)和替代激活型小胶质细胞(M2型)^[14]。小胶质细胞M1型激活是一种促炎和神经毒性状态,通常由同时触发Toll样受体和 γ -干扰素信号通路引起。M1型小胶质细胞可产生促炎性细胞因子[如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-1 β]和趋化因子,还可表达NADPH氧化酶和基质金属蛋白酶12^[15]。小胶质细胞M2型激活是小胶质细胞抗炎和愈合作用的状态。M2型小胶质细胞可诱导精氨酸酶1的表达,分泌生长因子,并促进白细胞介素10和转化生长因子 β 等抗炎细胞因子的释放^[15]。然而,关于M1型、M2型小胶质细胞仍存在争议,有证据表明,小胶质细胞极化是多维的,在基因表达上有广泛的重叠,而不是发生在一个简化的线性谱上^[16]。单细胞RNA测序研究表明,小胶质细胞可以同时表达M1型和M2型激活的标志基因^[17]。转录组研究表明,小胶质细胞激活后显示出比M1型和M2型更广泛的转录谱,且依赖于环境^[18]。在体内,小胶质细胞的表型更为复杂,存在多种不同的细胞亚型。最近有

研究发现,在鼠大脑中存在至少9种在转录水平上不同的小胶质细胞亚群^[19]。而在人类大脑皮层样本中,也确定了9个不同的小胶质细胞亚群^[20]。有研究通过对小胶质细胞三维形态进行分析,在鼠和人脑样本中观察到10种不同的小胶质细胞形态亚群^[21]。此外,有研究人员发现单细胞水平鼠和人小胶质细胞具有时空异质性^[22]。另有文献报道了肌萎缩侧索硬化特异性小胶质细胞表型^[23]以及一种与神经退行性疾病相关的小胶质细胞亚型^[24]。

2.3 小胶质细胞的功能

在中枢神经系统的早期发育过程及成人大脑中,小胶质细胞可以吞噬神经前体细胞和死亡的神经元,还可以分泌神经生长因子和肿瘤坏死因子等可溶性因子,以及产生活性氧调节神经元程序性细胞死亡,从而控制神经发生,调节神经元数量^[25-26]。突触区小胶质细胞通过表面的CD11b(CR3)和C1q、C3蛋白相互作用从而参与突触修剪^[27]。小胶质细胞还能分泌多种神经营养因子,参与突触重塑。此外,小胶质细胞还可与少突胶质细胞前体细胞相互作用,参与髓鞘形成以及去髓鞘和再髓鞘化反应^[28]。小胶质细胞是一种动态细胞群,通过伸展和收缩突起不断监察周围覆盖其胞体10倍以上的区域,与邻近细胞发生强烈的相互作用,持续监测大脑活动,对各种环境信号做出灵敏的反应^[29]。研究发现, β -淀粉样斑块和髓鞘碎片的聚集可触发小胶质细胞活化为与神经炎症疾病相关的表型^[23]。活化的小胶质细胞可同时产生神经保护和神经毒性因子^[23]。此外,通过分泌TNF- α 、IL-1 α 和C1q,活化的小胶质细胞可促进星形胶质细胞转化为神经毒性表型^[30]。星形胶质细胞也可以激活小胶质细胞,表达抗炎分子精氨酸酶1和脑源性神经营养因子,以促进组织修复^[31]。

3 小胶质细胞与TBI

神经炎症是TBI后继发性损伤最显著的特征之一,神经炎症是一把双刃剑,一方面,它会加重神经细胞损伤,抑制神经修复;另一方面,它又可以起到促进组织修复与神经再生的作用。因此,如何引导神经炎症反应向有利的方向发展显得尤为重要。而小胶质细胞是中枢神经系统的免疫哨兵,在TBI发生后,随着脑内微环境的变化,其表型随之改变,进而参与神经炎症。

3.1 TBI后小胶质细胞的时空特征

TBI后小胶质细胞被迅速激活并大量增殖,迁移到受损区域;小胶质细胞的形态由静息状态时的高度分支状转变为收缩的、增厚的突起和增大的胞体^[32]。一般来说,小胶质细胞的激活状态按照一个活化状态谱进行分型,该活化状态谱的一端为M1型,另一端为M2型,这两种不同的极化状态取决于特定的微环境。根据脑损伤的类型和严重程度,小胶质细胞的激活遵循不同的时间模式。以控制性脑皮质撞击(controlled cortical impact, CCI)模型模拟TBI, M2型小胶质细胞在损伤后1周内增加,第5天最多,之后迅速减少。大脑皮质、纹状体和胼胝体中的M1型小胶质细胞在损伤后1周时开始增加,在损伤后第4周达到最高值^[33]。与局灶性损伤相似,液压冲击损伤(fluid percussion injury, FPI)模型引起的弥漫性损伤可诱导M2型小胶质细胞短暂激活,并使其在损伤后7天内消退,而M1型小胶质细胞在损伤后30天内仍保持激活的阿米巴样形态^[34]。而在CCI后分离的小胶质细胞中, M2型的增加发生在最初的几天内,随后在第7天M2型标记物被主要的M1型标记物所取代^[35]。这表明,脑损伤后急性期小胶质细胞以M2型为主,慢性期以M1型为主。在鼠CCI模型中,小胶质细胞/巨噬细胞可在多个时间点同时表达M1型和M2型标记物^[36]。这表明, TBI后小胶质细胞活化状态的分型仍然有待商榷。

研究也表明,小胶质细胞在急性炎症过程消退后仍然可以在损伤后的数年内保持慢性激活状态。鼠TBI后1年,脑内仍存在激活状态的小胶质细胞^[37]。在TBI患者中发现, TBI后小胶质细胞活化的增强可以持续17年^[38]。一项对脑外伤后脑样本的研究发现,反应性小胶质细胞在损伤后可存在长达18年之久^[39]。尽管这些小胶质细胞的表型尚未明确,但这些激活的小胶质细胞表明脑损伤后存在慢性炎症反应。

有趣的是,脑损伤后小胶质细胞的激活模式不仅在时间上不同,而且在空间上也不同。小胶质细胞、巨噬细胞和星形胶质细胞在急性期主要位于病变部位周围,但在损伤后1年已扩散到远处的脑区,这与大脑广泛、长期的病变一致^[40]。这些形态学发现表明,创伤会导致大脑发生慢性神经炎症,这种炎症不仅不能在病灶附近完全消退,而且似乎会随着时间的推移扩散到远离撞击部位的其他脑区。

3.2 小胶质细胞在TBI中的作用

有研究认为, TBI后受损细胞释放的损伤相关分子模式可成为强大的炎症刺激, 以募集小胶质细胞, 但也会导致组织损伤^[41]。小胶质细胞迁移到损伤部位后, 可建立一个减轻损伤后有害结果的保护性环境^[42]。然而, 活化的小胶质细胞也能释放各种有害物质, 如活性氧、兴奋性神经递质及促炎性细胞因子, 从而加重损伤^[43]。最近的研究表明, 小胶质细胞的活化加重了神经元丢失的严重程度, 这可能是由于小胶质细胞分支延伸的丧失, 抑制了损伤后小胶质细胞的修复功能^[44]。

TBI后早期小胶质细胞的激活可以清除死细胞和其他碎片, 具有神经保护作用, 有助于脑内稳态的恢复^[45]。然而, 在人类和啮齿类动物研究中, TBI导致小胶质细胞长时间激活, 而呈病理性促炎状态, 这可进一步损伤神经元和星形胶质细胞, 进而引起组织损伤^[46]。小胶质细胞的慢性激活可对神经元功能和海马依赖性行为产生负面影响, 改变发育中神经元的迁移模式^[47], 并有助于进行性病变扩大、海马神经退行性变和白质损伤^[48]。在CCI中, 慢性小胶质细胞活化与髓鞘丢失、血管改变和微出血有关^[49]。有证据表明, 中枢神经系统损伤后, 小胶质细胞参与的持续神经炎症反应会增加患慢性神经退行性疾病的风险^[50]。

TBI后小胶质细胞激活具有双重作用, 这与小胶质细胞的不同表型之间的平衡密切相关。对于损伤后大脑炎症异质性的研究, 特别是与小胶质细胞极化表型有关的研究仍处于初级阶段, 而靶向调节小胶质细胞极化可能是治疗TBI的一种潜在途径。

4 以小胶质细胞为靶点的治疗

目前, 已发现许多调控TBI后神经炎症的药物。虽然其中一些药物已获得食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准^[51], 其安全性和有效性也在临床前试验中得到了证实, 但在临床试验中, 这些药物都未获成功。这可能是由TBI异质性强、治疗时间窗窄造成的。然而, 可以看到的是, 许多抗炎策略都以小胶质细胞为靶点, 通过调节TBI后小胶质细胞活化状态及M1型/M2型的比值而获得一定的治疗效果。

4.1 米诺环素

米诺环素是一种抑制小胶质细胞活化和增殖

的第二代四环素。研究表明, 它能够通过抑制核因子 κ B和干扰丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路从而抑制小胶质细胞的M1极化状态^[52]。米诺环素可减小小鼠落体打击(weight-drop, WD)模型模拟TBI的损伤体积, 减轻脑水肿, 抑制小胶质细胞活化, 并改善长期神经功能恢复^[53]。此外, 一项I/II期临床试验(临床试验号: NCT01058395)也显示了米诺环素对于治疗人类TBI具有安全性和可行性^[54]。然而, 米诺环素在新生大鼠CCI模型中的研究结果表明, 米诺环素的保护作用只能在损伤急性期(损伤后3天)治疗后检测到, 而在慢性期(损伤后9天)治疗后检测不到^[55]。考虑到小胶质细胞活化在损伤后所发生的动态变化, 在损伤后的不同时间点进行米诺环素治疗可能会产生不同的效果, 这与给药剂量、给药途径等也密切相关。

4.2 他汀类

他汀类药物通过抑制3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶, 而产生降低血脂的作用, 也具有广泛的免疫调节和抗炎作用。急性CCI后每天用1 mg/kg的阿托伐他汀进行治疗可减少神经元死亡, 减轻T细胞、中性粒细胞和自然杀伤细胞的浸润, 以及减少细胞因子和趋化因子的产生^[56]。这些与小胶质细胞/巨噬细胞活化减弱有关。同样, CCI后24 h给予辛伐他汀治疗可降低小胶质细胞和星形胶质细胞的活性以及IL-1 β 水平^[57]。尽管他汀类药物对小胶质细胞的抑制作用已被证实, 但其作用机制仍有待进一步探索。在培养的小胶质细胞中, 瑞舒伐他汀强烈抑制小胶质细胞的增殖和黏附, 并增加一些抗炎基因的表达^[58]。另一项在体研究表明, 辛伐他汀通过抑制小胶质细胞RhoA移位和p38MAPK激活, 可减弱小胶质细胞的激活, 抑制炎症反应以及福尔马林诱导的大鼠伤害性行为反应^[59]。然而, 美国FDA报道了与他汀类药物治疗相关的认知副作用^[60]。鉴于这些相互矛盾的发现, 他汀类药物对脑外伤后小胶质细胞活化和极化的影响还需要进一步研究。

4.3 过氧化物酶体增殖物激活受体激动剂

作为核激素受体家族的成员, 过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs)是一种配体激活受体, 已被发现3种亚型: PPAR α 、PPAR β/δ 、PPAR γ 。PPAR α 受体激动剂非诺贝特, 可以显著改善TBI后的行为缺陷, 减轻脑水肿、氧化应激和炎症^[61]。PPAR γ 受体激动剂

吡格列酮,可阻止CCI后活化小胶质细胞数量的增加,保护线粒体,减轻炎症和皮质损伤,改善认知功能^[62]。一项研究显示,在大鼠TBI后24 h内使用另一种PPAR γ 受体激动剂罗格列酮进行治疗,能抑制小胶质细胞活化,提高海马CA3区神经元的存活率,改善大鼠的短期运动能力^[63]。但PPAR激动剂在小胶质细胞中作用的研究非常有限,PPAR激动剂对小胶质细胞表型转换的影响仍有待研究。

4.4 血红素结合蛋白

血红素结合蛋白(hemopexin, HPX)是一种多分子形式的蛋白质,对血红素具有高亲和力,通过与游离的血红素结合形成复合物降低血红素毒性,阻止血红素产生自由基反应^[64]。在TBI后的炎症过程中,血红素结合蛋白具有神经保护作用^[65]。敲除HPX的小鼠在脑出血造模后,活化的小胶质细胞数量减少,脑损伤加重^[66]。而用重组腺相关病毒载体在小鼠脑内特异性过表达HPX后,小胶质细胞增生明显增加,脑出血损伤显著减轻^[67]。此外,在小鼠脊髓挤压伤后,HPX与M2型小胶质细胞标志物精氨酸酶1表达模式一致。而与野生型相比,敲除HPX的小鼠在挤压伤后,M1型小胶质细胞所占比例增加,M2型小胶质细胞所占比例减少。体外研究发现,用脂多糖刺激原代小胶质细胞后,HPX促进M1型小胶质细胞向M2型转化,并与神经元变性减少、脱髓鞘减少以及成熟的少突胶质细胞数量增加有关^[68]。可见,HPX可作为一种小胶质细胞极化的调节剂,可能是一种有应用价值的治疗脑损伤的药物。

4.5 细胞疗法

小胶质细胞是脑外伤后减轻神经炎症和改善预后的关键靶点。细胞疗法在减轻脑外伤后继发性神经炎症的有害影响方面有着广阔的应用前景,但是其治疗的时机是成功的关键^[69]。在CCI后24 h内静脉注射多潜能成体祖细胞,可保护血脑屏障,减少海马齿状回中活化的小胶质细胞/巨噬细胞,改善空间学习能力与认知行为^[70]。目前正在研究细胞疗法对脑外伤后患者亚急性和慢性期的治疗效果(临床试验号: NCT04063215),移植的神经前体细胞可分泌多种信号蛋白,这些蛋白可以调节小胶质细胞的激活、增殖、吞噬功能和活性^[71]。在体外共培养模型中,神经前体细胞和小胶质细胞存在相互作用,神经前体细胞可增强小胶质细胞的吞噬活性,小胶质细胞可促进神经前体细胞的增殖,且神经前体细胞和小

胶质细胞的共培养物具有抗炎作用^[72]。实验性TBI后静脉注射多潜能成体祖细胞和脑内移植人神经干细胞都可以促进小胶质细胞/巨噬细胞向M2型转变,导致M1/M2比值降低,起到神经保护的作用^[73]。因此,通过细胞疗法调节TBI后小胶质细胞表型可成为治疗TBI的方法之一。

4.6 小胶质细胞的耗竭与再生

小胶质细胞耗竭策略现在被认为是治疗神经系统疾病有前途的转化疗法。小胶质细胞耗竭通过减轻神经炎症而产生广泛的神经保护作用。在小鼠CCI后1个月,注射CSF1R抑制剂PLX5622以去除TBI后慢性激活的小胶质细胞,并在1周后停用该抑制剂以允许小胶质细胞重新增殖,可显著减轻慢性神经炎症和相关的神经退行性变,促进长期运动和认知功能的改善^[74]。另有研究表明,小胶质细胞的缺失并不能改善认知功能障碍,但是在脑损伤早期,小胶质细胞再生却可以通过IL-6信号通路促进海马神经再生,提高空间学习能力^[75]。而在大面积神经元丢失的小鼠模型中,小胶质细胞的耗竭与再生也促进了小鼠的功能恢复^[76]。然而有研究发现,小胶质细胞耗竭与再生会诱发灰质小胶质细胞增多、躯体感觉皮层神经元死亡和共济失调样行为^[77]。这表明,短期消除小胶质细胞后再进行细胞增殖可能是一种临床上可行的、新颖的减轻神经炎症和促进大脑恢复的方法,但应考虑其潜在的副作用。

5 小结与展望

研究人员一直在探索促进TBI患者良好转归的治疗方法,然而迄今没有一种疗法在临床试验中被证明是有效的。小胶质细胞被认为是TBI的一个潜在的治疗靶细胞,这在许多临床前研究中已得到验证,但目前对于小胶质细胞的激活和极化机制仍不清楚,这需要进行进一步的研究,以明确这些机制并将其有效地应用于TBI的治疗中。此外,由于TBI的异质性及其发病机制的复杂性,对治疗时间窗口的选择显得尤为重要。此外,在血脑屏障受损的情况下,血源性单核细胞会浸润大脑,由于小胶质细胞和中枢神经系统相关的单核巨噬细胞(CNS-associated macrophages, CAMs)共享许多标志物,很多研究中激活的小胶质细胞的作用常常混杂有浸润的单核巨噬细胞的作用。最近的单细胞RNA测序研究已明确区分了小胶质细胞和CAMs,并揭示了小胶质细胞不同

的转录组特征^[78]。也有研究鉴定出一些仅在小胶质细胞中表达的特异性标志物, 如Sall1(Sal-like protein 1)^[79]和Siglec-H(sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin H)^[80], 以用于区分常驻小胶质细胞与其他髓系细胞。这些研究进展将有助于在以后的研究中, 明确区分脑损伤后浸润的单核巨噬细胞的作用和激活的小胶质细胞的作用。

随着神经影像学、三维模型、基因组学、转录组学与蛋白质组学等技术方法的发展, 结合时间动态、空间微环境与复杂信号网络的研究, 我们对小胶质细胞在TBI中的作用有了更全面和深入的了解, 这将有助于开发出有效的以小胶质细胞为靶点的治疗TBI的方法。

参考文献 (References)

- [1] BELLVER-LANDETE V, BRETHERAU F, MAILHOT B, et al. Microglia are an essential component of the neuroprotective scar that forms after spinal cord injury [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 518.
- [2] KLINE A E, LEARY J B, RADABAUGH H L, et al. Combination therapies for neurobehavioral and cognitive recovery after experimental traumatic brain injury: is more better [J]? *Prog Neurobiol*, 2016, 142: 45-67.
- [3] TAYLOR C A, BELL J M, BREIDING M J, et al. Traumatic brain injury-related emergency department visits, hospitalizations, and deaths—United States, 2007 and 2013 [J]. *MMWR Surveill Summ*, 2017, 66(9): 1-16.
- [4] OBERHOLZER M, MÜRI R M. Neurorehabilitation of traumatic brain injury (TBI): a clinical review [J]. *Med Sci*, 2019, 7(3): 47.
- [5] GARDNER R, BURKE J, NETTIKSIMMONS J, et al. Dementia risk after traumatic brain injury vs nonbrain trauma: the role of age and severity [J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(12): 1490-7.
- [6] BRAMLETT H, DIETRICH W. Long-term consequences of traumatic brain injury: current status of potential mechanisms of injury and neurological outcomes [J]. *J Neurotraum*, 2015, 32(23): 1834-48.
- [7] LOZANO D, GONZALES-PORTILLO G, ACOSTA S, et al. Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: etiology, clinical consequences, and therapeutic opportunities [J]. *Neuropsych Dis Treat*, 2015, 11: 97-106.
- [8] KARVE I, TAYLOR J, CRACK P. The contribution of astrocytes and microglia to traumatic brain injury [J]. *Brit J Pharmacol*, 2016, 173(4): 692-702.
- [9] ALMAD A A, MARAGAKIS N J. Glia: an emerging target for neurological disease therapy [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2012, 3(5): 37.
- [10] PÉREZ-CERDÁ F, SÁNCHEZ-GÓMEZ M V, MATUTE C. Pio del Río Hortega and the discovery of the oligodendrocytes [J]. *Front Neuroanat*, 2015, 9: 92.
- [11] GINHOUX F, GRETER M, LEBOEUF M, et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages [J]. *Science*, 2010, 330(6005): 841-5.
- [12] KIERDORF K, ERNY D, GOLDMANN T, et al. Microglia emerge from erythromyeloid precursors via Pu.1- and Irf8-dependent pathways [J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16(3): 273-80.
- [13] LI Q, BARRES B A. Microglia and macrophages in brain homeostasis and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(4): 225-42.
- [14] XIONG X, LIU L, YANG Q. Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2016(142): 23-44.
- [15] COLONNA M, BUTOVSKY O. Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration [J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35: 441-68.
- [16] RANSOHOFF R M. A polarizing question: do M1 and M2 microglia exist [J]? *Nat Neurosci*, 2016, 19(8): 987-91.
- [17] SOUSA C, GOLEBIEWSKA A, POOVATHINGAL S, et al. Single-cell transcriptomics reveals distinct inflammation-induced microglia signatures [J]. *EMBO Rep*, 2018, 19(11): e46171.
- [18] XUE J, SUSANNE V, SANDER J, et al. Transcriptome-based network analysis reveals a spectrum model of human macrophage activation [J]. *Immunity*, 2014, 40(2): 274-88.
- [19] HAMMOND T, DUFORT C, DISSING-OLESEN L, et al. Single-cell RNA sequencing of microglia throughout the mouse lifespan and in the injured brain reveals complex cell-state changes [J]. *Immunity*, 2019, 50(1): 253-71.e6.
- [20] OLAH M, MENON V, HABIB N, et al. Single cell RNA sequencing of human microglia uncovers a subset associated with Alzheimer's disease [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6129.
- [21] SALAMANCA L, MECHAWAR N, MURAI K, et al. MIC-MAC: an automated pipeline for high-throughput characterization and classification of three-dimensional microglia morphologies in mouse and human postmortem brain samples [J]. *Glia*, 2019, 67(8): 1496-509.
- [22] MASUDA T, SANKOWSKI R, STASZEWSKI O, et al. Spatial and temporal heterogeneity of mouse and human microglia at single-cell resolution [J]. *Nature*, 2019, 566(7744): 388-92.
- [23] CHIU I, MORIMOTO E, GOODARZI H, et al. A neurodegeneration-specific gene-expression signature of acutely isolated microglia from an amyotrophic lateral sclerosis mouse model [J]. *Cell Rep*, 2013, 4(2): 385-401.
- [24] KEREN-SHAUL H, SPINRAD A, WEINER A, et al. A unique microglia type associated with restricting development of Alzheimer's disease [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1276-90.e17.
- [25] FRADE J, BARDE Y. Microglia-derived nerve growth factor causes cell death in the developing retina [J]. *Neuron*, 1998, 20(1): 35-41.
- [26] SEDEL F, BÉCHADE C, VYAS S, et al. Macrophage-derived tumor necrosis factor alpha, an early developmental signal for motoneuron death [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(9): 2236-46.
- [27] SCHAFER DOROTHY P, LEHRMAN EMILY K, KAUTZMAN AMANDA G, et al. Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner [J]. *Neuron*, 2012, 74(4): 691-705.
- [28] HAGEMEYER N, HANFT K, AKRIDITOU M, et al. Microglia contribute to normal myelinogenesis and to oligodendrocyte progenitor maintenance during adulthood [J]. *Acta Neuropathol*,

- 2017, 134(3): 441-58.
- [29] NIMMERJAHN A, KIRCHHOFF F, HELMCHEN F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma *in vivo* [J]. *Science*, 2005, 308(5726): 1314-8.
 - [30] LIDDELOW S, GUTTENPLAN K, CLARKE L, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia [J]. *Nature*, 2017, 541(7638): 481-7.
 - [31] LOUVEAU A, NERRIÈRE-DAGUIN V, VANHOVE B, et al. Targeting the CD80/CD86 costimulatory pathway with CTLA4-Ig directs microglia toward a repair phenotype and promotes axonal outgrowth [J]. *Glia*, 2015, 63(12): 2298-312.
 - [32] CAPLAN H W, CARDENAS F, GUDENKAUF F, et al. Spatio-temporal distribution of microglia after traumatic brain injury in male mice [J]. *ASN Neuro*, 2020, 12: 1759091420911770.
 - [33] JIN X, ISHII H, BAI Z, et al. Temporal changes in cell marker expression and cellular infiltration in a controlled cortical impact model in adult male C57BL/6 mice [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41892.
 - [34] WANG G, ZHANG J, HU X, et al. Microglia/macrophage polarization dynamics in white matter after traumatic brain injury [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(12): 1864-74.
 - [35] KUMAR A, ALVAREZ-CRODA D M, STOICA B A, et al. Microglial/macrophage polarization dynamics following traumatic brain injury [J]. *J Neurotrauma*, 2016, 33(19): 1732-50.
 - [36] MORGANTI J M, RIPARIP L K, ROSI S. Call off the dog(ma): M1/M2 polarization is concurrent following traumatic brain injury [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0148001.
 - [37] LOANE D J, KUMAR A, STOICA B A, et al. Progressive neurodegeneration after experimental brain trauma: association with chronic microglial activation [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2014, 73(1): 14-29.
 - [38] RAMLACKHANSINGH A F, BROOKS D J, GREENWOOD R J, et al. Inflammation after trauma: microglial activation and traumatic brain injury [J]. *Ann Neurol*, 2011, 70(3): 374-83.
 - [39] JOHNSON V E, STEWART J E, BEGBIE F D, et al. Inflammation and white matter degeneration persist for years after a single traumatic brain injury [J]. *Brain*, 2013, 136(Pt 1): 28-42.
 - [40] HOSOMI S, OHNISHI M, OGUURA H, et al. Traumatic brain injury-related inflammatory projection: beyond local inflammatory responses [J]. *Acute Med Surg*, 2020, 7(1): e520.
 - [41] ZHANG Z, ZHANG Z Y, WU Y, et al. Immunolocalization of Toll-like receptors 2 and 4 as well as their endogenous ligand, heat shock protein 70, in rat traumatic brain injury [J]. *Neuroimmunomodulation*, 2012, 19(1): 10-9.
 - [42] FADEN A I, WU J, STOICA B A, et al. Progressive inflammation-mediated neurodegeneration after traumatic brain or spinal cord injury [J]. *Brit J Pharmacol*, 2016, 173(4): 681-91.
 - [43] KREUTZBERG G W. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS [J]. *Trends Neurosci*, 1996, 19(8): 312-8.
 - [44] KLUGE M G, MAHMOUD A, KATARZYNA Z, et al. Spatio-temporal analysis of impaired microglia process movement at sites of secondary neurodegeneration post-stroke [J]. *J Cerebr Blood F Met*, 2019, 39(12): 2456-70.
 - [45] KALLA R, LIU Z Q, XU S L, et al. Microglia and the early phase of immune surveillance in the axotomized facial motor nucleus: impaired microglial activation and lymphocyte recruitment but no effect on neuronal survival or axonal regeneration in macrophage-colony stimulating factor-deficient [J]. *J Comp Neurol*, 2001, 436(2): 182-201.
 - [46] COX C S, JR, JURANEK J, BEDI S. Clinical trials in traumatic brain injury: cellular therapy and outcome measures [J]. *Transfusion*, 2019, 59(S1): 858-68.
 - [47] BELARBI K, ARELLANO C, FERGUSON R, et al. Chronic neuroinflammation impacts the recruitment of adult-born neurons into behaviorally relevant hippocampal networks [J]. *Brain Behav Immun*, 2012, 26(1): 18-23.
 - [48] LOANE D J, ALOK K, STOICA B A, et al. Progressive neurodegeneration after experimental brain trauma: association with chronic microglial activation [J]. *J Neuropath Exp Neur*, 2014, 73(1): 14-29.
 - [49] GLUSHAKOVA O Y, JOHNSON D, HAYES R L. Delayed increases in microvascular pathology after experimental traumatic brain injury are associated with prolonged inflammation, blood-brain barrier disruption, and progressive white matter damage [J]. *J Neurotrauma*, 2014, 31(13): 1180-93.
 - [50] LOANE D J, KUMAR A. Microglia in the TBI brain: the good, the bad, and the dysregulated [J]. *Exp Neurol*, 2016, 275(3): 316-27.
 - [51] HO K J, JENROW K A, BROWN S L. Mechanisms of radiation-induced normal tissue toxicity and implications for future clinical trials [J]. *Radiat Oncol J*, 2014, 32(3): 103.
 - [52] KOBAYASHI K, IMAGAMA S, OHGOMORI T, et al. Minocycline selectively inhibits M1 polarization of microglia [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(3): e525.
 - [53] HOMSI S, PIAGGIO T, CROCI N, et al. Blockade of acute microglial activation by minocycline promotes neuroprotection and reduces locomotor hyperactivity after closed head injury in mice: a twelve-week follow-up study [J]. *J Neurotraum*, 2010, 27(5): 911-21.
 - [54] MEYTHALER J, FATH J, FUERST D, et al. Safety and feasibility of minocycline in treatment of acute traumatic brain injury [J]. *Brain Injury*, 2019, 33(5): 679-89.
 - [55] HANLON L A, RAGHUPATHI R, HUH J W. Differential effects of minocycline on microglial activation and neurodegeneration following closed head injury in the neonate rat [J]. *Exp Neurol*, 2017, 290: 1-14.
 - [56] XU X, GAO W, CHENG S, et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of atorvastatin in a murine model of traumatic brain injury [J]. *J Neuroinflamm*, 2017, 14(1): 167.
 - [57] LI B, MAHMOOD A, LU D, et al. Simvastatin attenuates microglial cells and astrocyte activation and decreases interleukin-1 β level after traumatic brain injury [J]. *Neurosurgery*, 2009, 65(1): 179-85.
 - [58] KATA D, FÖLDESI I, FEHER L Z, et al. Rosuvastatin enhances anti-inflammatory and inhibits pro-inflammatory functions in cultured microglial cells [J]. *Neuroscience*, 2015, 314: 47-63.
 - [59] CHEN X Y, LI K, LIGHT A R, et al. Simvastatin attenuates formalin-induced nociceptive behaviors by inhibiting microglial RhoA and p38 MAPK activation [J]. *J Pain*, 2013, 14(11): 1310-9.
 - [60] HEAD B P, PATEL H H, INSEL P A. Interaction of membrane/lipid rafts with the cytoskeleton: impact on signaling and function: membrane/lipid rafts, mediators of cytoskeletal arrangement and cell signaling [J]. *BBA-Biomembranes*, 2014, 1838(2): 532-

- 45.
- [61] BESSON V C, CHEN X R, PLOTKINE M, et al. Fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist, exerts neuroprotective effects in traumatic brain injury [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 388(1): 7-12.
- [62] SAUERBECK A, GAO J, READNOWER R, et al. Pioglitazone attenuates mitochondrial dysfunction, cognitive impairment, cortical tissue loss, and inflammation following traumatic brain injury [J]. *Exp Neurol*, 2011, 227(1): 128-35.
- [63] LIU H, ROSE M E, CULVER S, et al. Rosiglitazone attenuates inflammation and CA3 neuronal loss following traumatic brain injury in rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 472(4): 648-55.
- [64] GUTTERIDGE J, SMITH A. Antioxidant protection by haemopexin of haem-stimulated lipid peroxidation [J]. *Biochem J*, 1988, 256(3): 861-5.
- [65] HAHN P, DAVIS T, WASHBURN C, et al. Mechanisms of neuroprotection by hemopexin: modeling the control of heme and iron homeostasis in brain neurons in inflammatory states [J]. *J Neurochem*, 2013, 125(1): 89-101.
- [66] BO M, DAY J P, PHILLIPS H, et al. Deletion of the hemopexin or heme oxygenase-2 gene aggravates brain injury following stroma-free hemoglobin-induced intracerebral hemorrhage [J]. *J Neuroinflamm*, 2016, 13(1): 26.
- [67] LECLERC J, SANTIAGO-MORENO J, DANG A, et al. Increased brain hemopexin levels improve outcomes after intracerebral hemorrhage [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2018, 38(6): 1032-46.
- [68] HAN D, YU Z, LIU W, et al. Plasma hemopexin ameliorates murine spinal cord injury by switching microglia from the M1 state to the M2 state [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 181.
- [69] BEDI S S, AERTKER B M, LIAO G P, et al. Therapeutic time window of multipotent adult progenitor therapy after traumatic brain injury [J]. *J Neuroinflamm*, 2018, 15(1): 84.
- [70] BEDI S S, AERTKER B M, LIAO G P, et al. Therapeutic time window of multipotent adult progenitor therapy after traumatic brain injury [J]. *J Neuroinflamm*, 2018, 15(1): 1-13.
- [71] MOSHER K I, ANDRES R H, FUKUHARA T, et al. Neural progenitor cells regulate microglia functions and activity [J]. *Nat Neurosci*, 2012, 15(11): 1485-7.
- [72] LIU J, HJORTH E, ZHU M, et al. Interplay between human microglia and neural stem/progenitor cells in an allogeneic co-culture model [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(11): 1434-43.
- [73] GAO J, GRILL R J, DUNN T J, et al. Human neural stem cell transplantation-mediated alteration of microglial/macrophage phenotypes after traumatic brain injury [J]. *Cell Transplant*, 2016, 25(10): 1863-77.
- [74] HENRY R J, RITZEL R M, BARRETT J P, et al. Microglial depletion with CSF1R inhibitor during chronic phase of experimental traumatic brain injury reduces neurodegeneration and neurological deficits [J]. *J Neurosci*, 2020, 40(14): 2960-74.
- [75] WILLIS E F, MACDONALD K P A, NGUYEN Q H, et al. Repopulating microglia promote brain repair in an IL-6-dependent manner [J]. *Cell*, 2020, 180(5): 833-46, e16.
- [76] RICE R A, PHAM J, LEE R J, et al. Microglial repopulation resolves inflammation and promotes brain recovery after injury [J]. *Glia*, 2017, 65(6): 931-44.
- [77] RUBINO S, MAYO L, WIMMER I, et al. Acute microglia ablation induces neurodegeneration in the somatosensory system [J]. *Nature Commun*, 2018, 9(1): 4578.
- [78] JORDÃO M, SANKOWSKI R, BRENDENCKE S M, et al. Single-cell profiling identifies myeloid cell subsets with distinct fates during neuroinflammation [J]. *Science*, 2019, 25: 363.
- [79] BUTTGEREIT A, LELIOS I, YU X, et al. Sall1 is a transcriptional regulator defining microglia identity and function [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(12): 1397-406.
- [80] KONISHI H, KOBAYASHI M, KUNISAWA T, et al. Siglec-H is a microglia-specific marker that discriminates microglia from CNS-associated macrophages and CNS-infiltrating monocytes [J]. *Glia*, 2017, 65(12): 1927-43.