

综述

小胶质细胞在肌萎缩侧索硬化症发病中的作用机制
及其治疗策略陈佑甲¹ 孔垂禧¹ 蔡招聘^{1,2} 沈承勇² 金志刚^{1*}(¹浙江师范大学生命科学学院, 金华 321004; ²浙江大学转化医学研究院, 杭州 310020)

摘要 肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)是一种多因素造成的神经退行性疾病,其特征是上下运动神经元变性导致肌无力、进行性麻痹和严重的功能障碍。ALS运动神经元损伤可由错误折叠蛋白聚集、神经炎症、谷氨酸兴奋毒性、铁过载和脱髓鞘等多种因素引起。近几年研究发现,小胶质细胞的活化是ALS神经病理学的重要标志之一,但其在ALS发病过程中的确切作用仍不清楚。小胶质细胞与运动神经元之间的平衡状态在运动神经元损伤中起到了保护作用,并促进了神经再生。然而,随着遗传和环境等因素的共同作用,运动神经元应激损伤可能加剧,并伴随小胶质细胞异常增殖和活化,不仅导致小胶质细胞介导的运动神经元保护和损伤修复功能的丧失,还促使小胶质细胞自身表型由抗炎和神经保护转变为促炎和神经毒性。此外,来自运动神经元的神经毒性信号诱导小胶质细胞产生炎症因子,进一步加剧运动神经元损伤,并促进运动神经元丢失和细胞死亡的恶性循环,从而加剧ALS疾病进展。该文将简要概述和讨论小胶质细胞在ALS中的病理作用及其潜在靶向治疗策略。

关键词 小胶质细胞; 肌萎缩侧索硬化症; 神经退行性疾病

The Mechanism of Microglia in the Pathogenesis
of Amyotrophic Lateral Sclerosis and Its Therapeutic StrategiesCHEN Youjia¹, KONG Chuixi¹, CAI Zhaopin^{1,2}, SHEN Chengyong², JIN Zhigang^{1*}¹College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China;²Institute of Translational Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310020, China)

Abstract ALS (amyotrophic lateral sclerosis) is a multifactorial neurodegenerative disease characterized by the degeneration of upper and lower motor neurons leading to muscle weakness, progressive paralysis and severe functional impairment. ALS motor neuron damage is caused by a variety of factors including misfolded protein aggregation, neuroinflammation, glutamate excitotoxicity, iron overload, and demyelination. Recent studies have found that the activation of microglia is one of the important hallmarks of ALS neuropathology, but its precise role in the pathogenesis of ALS remains unclear. The balance between microglia and motor neurons executes a protective effect in motor neuron damage and promotes neurogenesis. However, along the combination of genetic,

收稿日期: 2024-07-17

接受日期: 2024-10-28

国家自然科学基金(批准号: 31970755)和浙江省自然科学基金(批准号: LY21C120001)资助的课题

*通信作者。Tel: 0579-82288003, E-mail: zgkin@zjnu.edu.cn

Received: July 17, 2024

Accepted: October 28, 2024

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31970755) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.LY21C120001)

*Corresponding author. Tel: +86-579-82288003, E-mail: zgkin@zjnu.edu.cn

environmental and other factors, stress-induced motor neuron damage is further exacerbated, concomitant with abnormal proliferation and activation of microglia. Thus, microglia not only lose their ability in motor neuron protection and injury repair, but also is switched from anti-inflammation and neuroprotection to pro-inflammation and neurotoxicity in phenotype. Besides, neurotoxic signaling from motor neurons induces microglia to produce inflammatory factors, further increases motor neuron damage, and promotes the motor neuron loss and vicious circle of cell death, thereby exacerbating the ALS progression. This review will briefly summarize and discuss the pathological role of microglia in ALS and its potential targeted therapy strategies.

Keywords microglia; amyotrophic lateral sclerosis; neurodegenerative diseases

肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)作为一种致命的神经退行性疾病,通常表现为大脑、脑干和脊髓中运动神经元进行性死亡,并最终导致身体完全瘫痪。虽然ALS相对罕见,但对个人、社会和经济的负担很大,其发病率为每100 000人中约有2例^[1]。目前,尽管经过数十年的深入研究,并确定了50多种潜在的致病或疾病修饰基因^[2],但ALS的具体病因仍不清楚。此外,由于动物模型难以真实模拟人类ALS患者的遗传和表型异质性,这使得多数研究成果难以在临床上被成功转化,进而导致ALS治疗方法研发缓慢。

临床数据显示,与ALS相关的多种基因突变能够增强小胶质细胞介导的神经炎症,并且携带相关突变的转基因ALS动物模型也往往伴随炎症反应^[3],这或许为介导免疫失调的小胶质细胞参与ALS提供了可能的解释。小胶质细胞的活化是一把双刃剑。一方面,它促进中枢神经系统抵御炎症感染和修复组织损伤,从而降低ALS引起的神经毒性;另一方面,持续激活和失调的小胶质细胞会导致促炎因子和其他有害物质的不断释放,从而促进ALS的进展^[4]。因此,本文旨在通过概述小胶质细胞在ALS中的作用和机制,以便更好地理解ALS的发病机制。同时我们总结了针对小胶质细胞的ALS治疗策略及其潜在的药物靶点,希望能够为改善ALS患者的生活质量提供理论依据。

1 ALS

1.1 ALS的疾病特征

ALS是成人最常见的运动神经元疾病之一,其特征为上下运动神经元退化导致的进行性肌无力。随着神经系统和骨骼肌之间的沟通中断,ALS患者由最初的四肢肌无力和痉挛逐渐恶化为全身骨骼肌瘫痪,并且大多数患者在症状出现后的3~5年内死

于呼吸衰竭^[5]。同时,由于ALS的疾病进展高度可变,截至2022年,获批的四种药物利鲁唑(riluzole)、氢溴酸右美沙芬联合硫酸奎尼丁(dextromethorphan hydrobromide with quinidine sulfate)、依达拉奉(edaravone)以及苯丁酸钠联合牛磺二醇(sodium phenylbutyrate with taurursodiol)都只能暂时延缓ALS病情发展,而不能完全治愈它^[6]。

ALS被认为是遗传和环境等因素引起的综合性疾病,并根据是否与遗传相联系分为两类:家族性ALS(familial amyotrophic lateral sclerosis, fALS, 5%~10%),一般与单基因致病突变有关,表现出常染色体显性遗传模式;而其余没有明显遗传联系的ALS病例则被称为散发性ALS(sporadic amyotrophic lateral sclerosis, sALS, >90%)^[7]。ALS在线数据库ALSoD(<https://alsod.ac.uk/>)显示,100多个基因可能与ALS相关,其中*C9orf72*(chromosome 9 open reading frame 72)、*SOD1*(superoxide dismutase 1)、*TARDBP*(TARDNA-binding protein)和*FUS*(fused in sarcoma)等已被确定为常见的ALS致病基因^[7]。但ALS作为多因素疾病,环境因素(包括重金属、杀虫剂和化学溶剂等)同样在其中扮演着重要角色^[8]。可由于研究结果的重复性较低,环境因素对ALS的影响需要通过更准确的技术和方法进行确定。

1.2 ALS相关突变基因

自1933年*SOD1*被发现与ALS密切相关后,目前有100多个ALS相关基因被发现并报道,其中多种突变基因扮演着重要角色,如*C9orf72*疾病相关重复扩增导致二肽重复蛋白的清除受损,从而诱发ALS突触功能障碍^[9]。此外,在*C9orf72*重复扩增中也观察到TDP-43异常聚集。作为常见的病理蛋白,TDP-43聚集体存在于97%的ALS病例中,其突变能够破坏泛素蛋白酶体系统(ubiquitin proteasome system, UPS),使得蛋白异常聚集导致神经损伤^[10]。而同样

作为RNA结合蛋白的FUS, 在ALS患者中已被发现了50多种不同的突变, 其突变干扰了自身核定位信号从而促使胞质病理性聚集体的形成^[11]。此外, 作为第一个被发现与ALS相关的基因, *SOD1*存在170多个已知的ALS突变位点^[12], 这些突变导致神经元丧失对抗自由基的关键抗氧化酶, 从而促使氧化应激和蛋白质错误折叠。当TANK结合激酶1(tank-binding kinase 1, TBK1)在运动神经元中被选择性敲除并与突变型*SOD1*共同存在时, TBK1的功能丧失会加速神经肌肉接头的去神经化, 进而促进ALS早期发病进程^[13]。而视神经蛋白(optineurin, OPTN)也可以通过结合TBK1从而参与ALS发展^[14]。因此, 这些突变基因在临床上作为ALS病理标志物能够推动相关疾病诊断。

综上所述, 遗传基因已被证明是ALS关键的致病因素之一, 但这些遗传因素导致ALS的细胞和分子机制仍不清楚。在*C9orf72*六核苷酸重复扩增的患者中存在广泛的小胶质细胞激活^[15], 这提示活化的小胶质细胞可能参与ALS进展。

2 小胶质细胞及其神经保护和神经毒性的双重功能

2.1 小胶质细胞的生物学特征

小胶质细胞作为中枢神经系统(central nervous system, CNS)的固有免疫细胞, 其自身增殖和功能的发挥离不开集落刺激因子1受体(colony-stimulating factor 1 receptor, CSF-1R)的持续参与。该受体通过传递胞内信号(如蛋白激酶B)和激活胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase)促进小胶质细胞的发育和存活^[16]。与其他神经细胞有所不同, 小胶质细胞由卵黄囊分化产生, 占CNS细胞的5%~12%^[17]。即使在静息状态下, 小胶质细胞仍然保持高度“警戒”, 并通过对脑实质的持续监测维持CNS的稳态与平衡。这种持续的动态监测能力使其能够被快速激活。因此, 在几乎所有的神经病理过程(如神经退行性疾病、感染和肿瘤)中都能够观察到小胶质细胞形态和功能的变化。事实上, 小胶质细胞与CNS微环境以及外周免疫系统之间进行着复杂的双向通信, 并通过这一功能在机体的稳态维持中发挥独特作用。因此, 其承担着多重任务, 包括清除死亡细胞、多余突触和蛋白质聚集体, 以及分泌营养因子等^[18-19]。

近年来研究表明, 神经炎症与神经退行性疾病[如阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)、帕金森病(Parkinson's disease)和ALS等]密切相关^[20]。而小胶质细胞作为炎症因子的主要来源之一, 其与神经退行性疾病的关系逐渐受到重视。同时, 随着单细胞测序技术的发展, 表型异质性小胶质细胞也被逐渐识别并受到了广泛关注。研究发现, 小胶质细胞通过自身表型转换能够调节神经炎症, 从而参与退行性病变。在传统上, 活化的小胶质细胞被分为两类, 即通过激活外周巨噬细胞和辅助性T细胞从而诱导局部炎症的M1表型, 以及通过分泌神经因子和营养因子从而辅助受损神经元修复的M2表型^[21]。在神经炎症过程中, M1和M2小胶质细胞均发挥了决定性作用。

2.2 小胶质细胞的双重功能

根据刺激的类型和程度对小胶质细胞进行的简单分类被称为二分法, 而M1和M2不同表型标志物的表达也使小胶质细胞具有双重功能^[22](图1)。单细胞RNA测序技术能够识别更多状态下的小胶质细胞, 包括疾病相关小胶质细胞(disease-associated microglia, DAM)^[23]和受体相互作用蛋白激酶1调节的炎症小胶质细胞(RIPK1-regulated inflammatory microglia)^[24]。虽然传统二分法无法真实地反映小胶质细胞随神经退行性疾病种类和发病进展改变而呈现的多种形式, 但M1和M2表型变化确实证明了小胶质细胞在CNS中扮演着独特的角色。

作为CNS主要的免疫细胞之一, 小胶质细胞不断监测细菌、病毒等外源性有害信号, 以及DNA、RNA和蛋白质等内源性有害信号, 并通过三种基本功能参与稳态和防御机制^[25]: 感知环境, 感受器由各种基因编码; 生理管理, 包括吞噬死亡细胞或碎片并重塑突触和维持髓磷脂稳态; 保护神经元免受伤害性刺激, 这一功能由病原体相关分子模式和损伤相关分子模式介导。首先, 小胶质细胞通过质膜上的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)[包括toll样受体(toll-like receptor, TLR)和髓系细胞触发受体2(triggering receptor expressed on myeloid cells-2, TREM2)等]响应外来刺激。其次, 小胶质细胞通过上述受体识别炎症因子, 如白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF α)和活性氧(reactive oxygen species, ROS)等^[26], 从而促进自身对受损神经元和异常聚集体的吞噬。除了清除功能外,

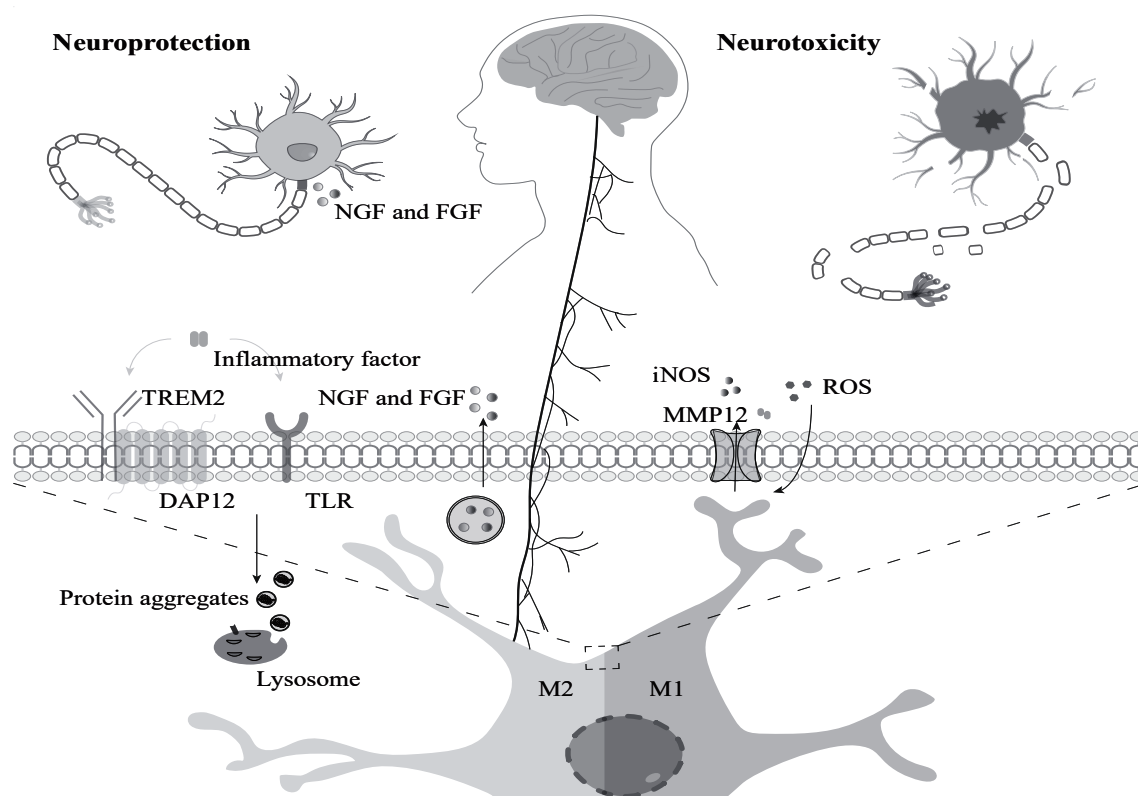


图1 小胶质细胞及其神经保护和神经毒性的双重功能

Fig.1 Microglia and its dual roles of neuroprotection and neurotoxicity

小胶质细胞还能够分泌神经营养因子,如维持神经元正常形态和功能的神经生长因子(nerve growth factor, NGF)和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)^[27](图1)。然而,M2表型的维持依赖于自身功能的正常运行。而持续释放的炎症因子将诱导M1表型的转换(图1),如高表达烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶2(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase 2, NOX2)的M1小胶质细胞通过产生ROS和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS),导致谷氨酸(glutamate, Glu)兴奋毒性。这一过程还涉及分泌基质金属蛋白酶12(matrix metalloproteinase 12, MMP12),进而导致轴突脱髓鞘等神经毒性效应^[28](图1)。除了执行上述功能外,不同表型的小胶质细胞还通过与星形胶质细胞和少突胶质细胞的相互作用,积极参与CNS的稳态维持、自身的迁移与传播^[29]和神经发生^[30]。因此,靶向抑制M1炎症表型或诱导M2保护表型可能是改善包括ALS在内的神经元变性和神经炎症的治疗策略之一。

3 ALS相关的小胶质细胞异常

活化的小胶质细胞作为ALS病理学的重要特征

之一,其在疾病进程中逐渐失去免疫特性而变成功能失调的免疫细胞。然而,活化的小胶质细胞是一把双刃剑。依赖于自身激活状态的不同,M1和M2小胶质细胞在ALS中分别具有神经毒性和神经保护作用。

据报道,具有ALS相关突变的细胞能够被小胶质细胞识别,并进一步刺激小胶质细胞功能受损,例如终末期小胶质细胞很容易由于*SOD1*基因突变转变为M1^[20],并通过激活载脂蛋白E(apolipoprotein E, APOE)诱导miR-155的表达,导致自身吞噬功能受损,进而缩短ALS患者生存期^[31];此外,关于ALS,体外研究表明病理性TDP-43能够通过NLRP3(nucleotide-binding oligomerization domain, leucine-rich repeat and pyrin domain-containing 3)依赖性途径诱导小胶质细胞激活并分泌促炎因子^[32]。在OPTN功能丧失突变中,Toll-2和Toll-4通过核因子κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)途径刺激小胶质细胞促炎因子的释放,从而加速运动神经元损伤^[3]。以上证据表明,小胶质细胞与ALS的发病和进展之间具有密切联系。

尽管小胶质细胞在ALS中的活化机制仍未明确,但在ALS早期,特别是在形态改变的运动神经元

附近,小胶质细胞通过异常增殖、形态改变、活化失调以及吞噬功能障碍等机制参与了疾病的进展。小胶质细胞在ALS病理中表现出与神经炎症相关的明显异常形态,通常伴随有miRNA失调、表型改变和异常肥大^[33]。研究表明,与巨噬细胞类似,小胶质细胞在ALS中可能表现为交替激活的M1或M2表型^[34]。在ALS神经元丢失和病理性包涵体形成的区域,小胶质细胞通过释放细胞因子、神经递质和外泌体等参与神经组织的复杂信号网络,同时增殖分化为DAM,以调控疾病进展^[35]。

此外,ALS相关SOD1突变小鼠远端轴突发生变性后,有文献报道了运动神经元周围的小胶质细胞和星形胶质细胞被异常激活^[36]。神经胶质细胞的病理性改变促使研究人员提出了ALS发病机制中的“逆行死亡”(dying-back)假说^[37],即该疾病起源于外周组织病变,包括运动终板去神经支配和轴突变性,随后通过逆行信号级联导致脊髓运动神经元死亡。在突变SOD1蛋白积累或慢性谷氨酸毒性引起远端轴突营养不足的过程中,活化的小胶质细胞可能发挥作用^[37]。而小胶质细胞的激活涉及多条途径,其中包括Dicer酶介导的miRNA加工^[38]、NLRP3通路的激活以及炎症组分caspase-1和IL-1 β 的上调等^[39]。

对ALS病理中的小胶质细胞研究发现,其吞噬相关的受体基因突变也具有一定的ALS风险。如TREM2的错义突变破坏了自身与DAPI2的相互作用,这导致小胶质细胞吞噬清除机制受损,从而影响神经元的功能和存活^[40]。此外,颗粒蛋白前体基因(progranulin gene)突变能够诱发TDP-43吞噬障碍和突触修剪损伤^[41]。在fALS中编码profilin 1的PFN1基因的突变能够导致肌动蛋白动态调节损伤,从而阻碍吞噬小体的形成^[42]。这都表明小胶质细胞正常吞噬功能的维持对保护运动神经元免受ALS毒性是重要的。因此,深入探究小胶质细胞在ALS疾病发生发展中的异常状态,有助于推动对ALS病理进展的研究。

4 小胶质细胞诱导ALS运动神经元损伤或死亡的机制

目前,ALS运动神经元变性机制仍然未知,但研究表明其在细胞水平上与小胶质细胞存在密切关联。因此,我们总结了小胶质细胞诱导运动神经元毒性并参与ALS发病过程的五种潜在机制,包括神

经炎症、谷氨酸兴奋毒性(glutamate excitotoxicity)、蛋白聚集体、铁过载和神经元脱髓鞘。

4.1 神经炎症与ALS

小胶质细胞被认为是ALS发病机制的关键参与者之一。当暴露于不同的刺激时,小胶质细胞被激活并呈现出不同的表型,在诱导或抑制神经炎症方面发挥了重要的作用。多数情况下,神经炎症的主要特征包括:驻留胶质细胞激活、促炎因子和趋化因子(chemotactic factor)释放以及血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)破坏导致的外周免疫细胞(peripheral immune cells)浸润大脑^[43]。其中,M1小胶质细胞作为炎症反应和神经毒性细胞,在TLR和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)信号通路的共同激活下可被诱导,而在M1小胶质细胞被激活的过程中,NLRP3也发挥了重要作用^[44-45]。

ALS相关神经炎症已被证明可由TNF α 激活TNF受体1(TNF receptor 1, TNFR1)和NF- κ B这一过程引起^[24]。而RIPK1作为一类具有Ser/Thr死亡结构域的蛋白激酶,在NF- κ B激活下进一步促进TNF α 诱导的神经炎症^[46](图2A)。但OPTN通过调节RIPK1的泛素化和TBK1的磷酸化又能够降低RIPK1的活性^[47],从而抑制RIPK1活化下的轴突变性和胞质TDP-43聚集等。此外,TLR4作为炎症感受器,与小胶质细胞受体P2X7被LPS和ATP共激活时,能够通过产生IL-1 β 而加剧ALS病变^[48]。而C9orf72突变的小胶质细胞在LPS诱导下也表现为炎症表型,并通过持续上调的MMP9表达和自噬功能障碍,共同促进神经退行性变的发生^[15,49]。综上所述,小胶质细胞的炎症反应受到多种信号分子调控,其中NF- κ B可能扮演着重要角色。因此,进一步研究小胶质细胞炎症反应中的NF- κ B信号通路或许能够为ALS的治疗提供新的思路。

4.2 谷氨酸兴奋毒性与ALS

谷氨酸兴奋毒性是指兴奋性神经递质Glu持续累积产生的毒性作用。异常高的Glu浓度会过度刺激Glu离子型受体,如N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR),从而导致胞内Ca²⁺浓度增加。这一过程引发了神经毒性的级联反应,并最终导致了神经元功能丧失和死亡^[50]。有证据表明,谷氨酸兴奋毒性是ALS运动神经元死亡的主要原因之一,过量的Glu通过神经胶质细胞和神经元上表达的谷氨酰胺合成酶(glutamine synthe-

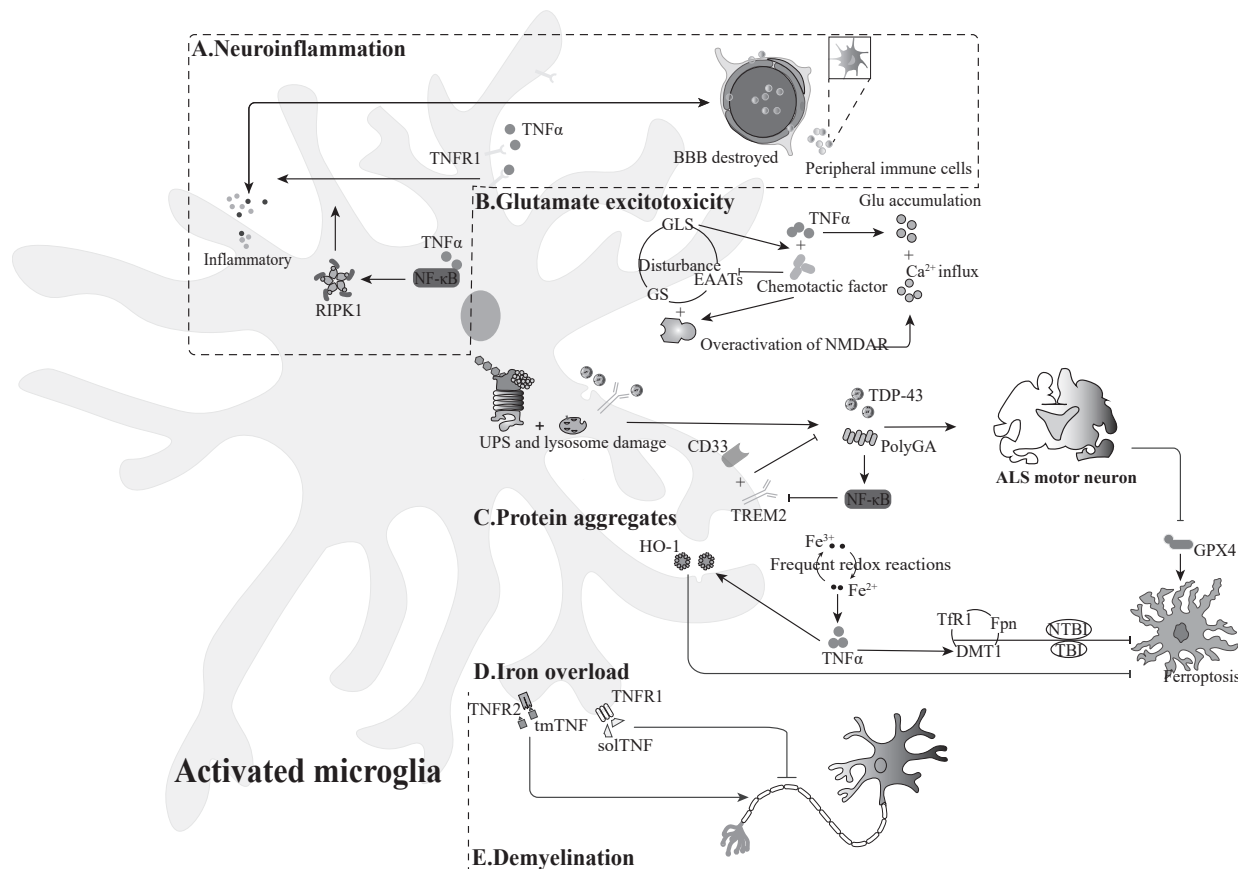


图2 ALS发病过程中小胶质细胞诱导运动神经元毒性的潜在机制

Fig.2 Potential mechanisms of microglia-induced toxicity to motor neuron during the pathogenesis of ALS

tase, GS)、谷氨酰胺酶 (glutaminase, GLS) 以及兴奋性氨基酸转运体 (excitatory amino acid transporters, EAATs) 介导的谷氨酰胺-Glu 循环不断累积^[51]。因此, Glu 转运体功能障碍、Glu 受体受损以及 NMDAR 过度激活导致的 Ca^{2+} 持续内流, 都将促使突触间隙中 Glu 浓度突破阈值而引起神经兴奋毒性 (图 2B)。此外, 代谢型 Glu 受体 2 (metabotropic glutamate receptor 2, mGluR2) 编辑障碍能够降低神经胶质细胞对 Glu 的再摄取能力, 这也被认为是兴奋毒性的诱发因素之一^[52]。因此, Glu 诱导的兴奋毒性作为运动神经元损伤的重要原因之一, 或许也参与了 ALS 的发生发展。

GLS 作为催化谷氨酰胺水解产生 Glu 的酶, 于 1957 年首次被报道能够参与谷氨酸兴奋毒性^[53]。GLS 过表达不仅诱导了小胶质细胞的激活和炎症微环境的形成, 同时参与了多种 CNS 病理发生。小胶质细胞中 GLS 过度激活会导致 Glu 积累, 以及炎症因子 (如 $\text{TNF}\alpha$) 和趋化因子持续释放, 一方面 $\text{TNF}\alpha$ 进一步促进 Glu 释放和 M1 小胶质细胞转换, 导致兴奋性神

经元功能障碍和死亡^[54]; 另一方面趋化因子通过抑制 EAATs 和促进 Glu 受体 (如 NMDAR) 的表达以增强兴奋毒性并导致 ALS 神经元损伤^[55] (图 2B)。此外, 系统 xC-胱氨酸/Glu 反转运蛋白 (system xC-cystine/glutamate antiporter, SXC) 作为小胶质细胞和星形胶质细胞中的一种转运体, 能够将胱氨酸转入细胞并输出 Glu, 其在 ALS 中的表达上调也会导致 Glu 积累而引起兴奋毒性^[56]。这表明小胶质细胞和神经元之间的 Glu 循环是引起谷氨酸兴奋毒性的重要因素。因此, 一旦 CNS 中的 Glu 平衡被破坏, 突触中积累过多的 Glu 就会导致运动神经元损伤。

4.3 蛋白聚集体与 ALS

疾病相关蛋白聚集体通常是由错误折叠的蛋白质聚集形成, 其病理特征包括低序列复杂结构域的形成和错误折叠后天然构象的丧失, 并且能够导致不可逆的退行性病变^[57]。然而, 错误折叠的蛋白质形成聚集体是一种异常的生理现象, 细胞能够自发抑制聚集体的形成或清除已形成的聚集体, 但疾病发展过程中 UPS 和自噬-溶酶体途径的破坏加剧了聚

集体形成^[58](图2C)。据报道,蛋白质聚集体的形成是导致晚期ALS运动神经元死亡的关键因素之一。而致病突变基因(如*SOD1*等)的发现使得相应的蛋白质能够被识别,例如突变蛋白TDP-43和FUS被发现 ALS患者神经元与胶质细胞不溶性沉积物中含量丰富^[59]。这为ALS作为一种蛋白质错误聚集疾病(proteinopathy)提供了有力证据。

小胶质细胞作为CNS常驻巨噬细胞,主要通过PRR和炎症途径对错误折叠蛋白做出反应,但小胶质细胞的持续激活反过来又加剧了自身蛋白质降解机制受损^[60]。因此,小胶质细胞的吞噬能力在神经退行性病变中是既有利又有弊的,一方面,小胶质细胞能够吞噬胞外的错误折叠蛋白质,例如运动神经元释放的错误折叠SOD1蛋白或者 α -突触核蛋白(α -synuclein);另一方面,如果自身蛋白质降解机制受损,小胶质细胞又可能促进致病种子的传播,从而“感染”周围正常细胞^[28]。而在此过程中,小胶质细胞对蛋白聚集体的吞噬作用受到TREM2和CD33等自身表面受体的精细调控^[61]。TREM2的特异表达维持了小胶质细胞的正常增殖和吞噬作用,并且促进了小胶质细胞对病理性TDP-43聚集体的清除,从而减轻了运动神经元功能障碍^[62](图2C)。此外,我们的研究也发现,TREM2能够作为蛋白聚集体清除过程中的负反馈调控因子。具体而言,*C9orf72*重复扩增产生的poly-GA通过激活小胶质细胞中的NLRP3-IL-1 β 通路,导致TREM2被切割并失活,从而阻碍小胶质细胞对poly-GA的吞噬功能^[63](图2C)。这些证据表明,小胶质细胞吞噬作用的维持与破坏在ALS中直接充当“保护者”或“损害者”的角色。

4.4 铁过载与ALS

铁是CNS代谢中重要的辅助因子之一,能够参与氧化磷酸化和神经递质释放等生理过程。但作为一种强氧化剂,铁也会对生物分子造成严重破坏,而BBB的存在将维持铁稳态以保护大脑^[64]。因此,铁稳态的维持对于生理功能至关重要。转铁蛋白(transferrin, Tf)和转铁蛋白受体1(transferrin receptor protein 1, TfR1)形成的复合体能够将铁转运进大脑,并与铁调素(hepcidin)调节的二价金属转运蛋白1(divalent metal transporter 1, DMT1)和膜铁转运蛋白(ferroportin, Fpn)共同参与铁稳态调节^[64-65]。研究表明,ALS患者的运动皮层中大脑铁稳态失调会导致铁水平升高以及TfR1等铁调节因子改变^[66]。而低

水平血清转铁蛋白和高水平血清铁蛋白也能够标志铁稳态失调^[64]。因此,这些生物标志物被视为ALS损伤信号。此外,谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)是铁死亡的关键抑制因子。在ALS中谷胱甘肽水平降低将导致GPX4的失活,从而破坏铁稳态并加剧ALS^[67](图2D)。

CNS细胞在铁过载下具有不同的敏感性,这可能是由自身铁稳态调节能力差异引起的。而轻链铁蛋白既能储存铁又能清除铁,活化小胶质细胞通过该蛋白能够阻止铁过载,从而避免过量ROS导致的持续氧化应激^[68]。同时,小胶质细胞作为BBB的一部分,其也能够通过DMT1、TfR1和Fpn等铁转运蛋白,以及转铁蛋白结合铁摄取(transferrin-bound iron, TBI)和非转铁蛋白结合铁摄取(non-transferrin-bound iron, NTBI)两条途径调节铁稳态^[69](图2D)。值得注意的是,当铁摄取量增加导致氧化还原频繁时,小胶质细胞能够被诱导为M1表型,并释放TNF α 以促进DMT1表达和血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)产生,从而抑制铁死亡(ferroptosis)(图2D)^[70]。此外,已有文献报道,在ALS晚期患者的小胶质细胞内可观察到丰富的阳性铁蛋白^[71]。这说明小胶质细胞在清除退化的神经元碎片时,能够将多余的铁储存在铁蛋白中而维持CNS稳态。因此,小胶质细胞通过调控铁蛋白表达及铁摄取途径维持铁稳态,同时清除损伤或退化的神经元释放的铁,从而进一步维持CNS平衡。

4.5 神经元脱髓鞘与ALS

脱髓鞘是指髓鞘的进行性退化,这已成为许多神经退行性变的关键特征之一。脱髓鞘通常表现为轴突细胞内Ca²⁺持续释放和ROS增多,从而引起兴奋毒性和轴突细胞骨架解体导致的不可逆神经退化^[72]。目前,已发现在少突胶质细胞损伤导致神经元脱髓鞘过程中,ALS患者呈现特异性的白质病理学改变,且ALS相关的突变基因(如*SOD1*)可能也参与其中^[73]。同时,有文献报道,尽管小胶质细胞在髓鞘发育过程中并非必需,但它们对髓鞘生长的调节和防止髓鞘变性是必要的^[74]。这提示神经胶质细胞在维持髓鞘的功能中具有重要作用。

有文献报道,小胶质细胞能够通过Ranvier结节与少突胶质细胞相互作用共同调控脱髓鞘^[75]。此外,小胶质细胞与Ranvier结节的相互作用受到神经元活动和K⁺释放的调节。在脱髓鞘发生的过程中,轴突

K⁺外流引起的含量改变损害了小胶质细胞转换为促再生表型的能力,并降低了髓鞘再生率^[76]。同时临床数据也表明,当脑膜炎性浸润时,活化的小胶质细胞能够直接或间接诱导脱髓鞘^[77],在此过程中TNFR发挥了重要作用。TNFR1结合可溶性TNF从而抑制髓鞘形成,TNFR2则结合跨膜TNF从而促进髓鞘形成(图2E)^[78],这证明小胶质细胞与神经元脱髓鞘之间具有密切联系。早前的一项研究证明,小胶质细胞是铜胫(cuprizone, CUP)模型中脱髓鞘的主要应答者和关键效应者之一^[79]。当小胶质细胞数量减少时,转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1)信号水平下降,进而诱发致命性脱髓鞘^[31],而CSF1对小胶质细胞数量的恢复又能够减轻CUP中髓鞘的损伤^[80]。以上证据表明,小胶质细胞在轴突脱髓鞘中具有双重作用。当小胶质细胞获得促再生表型时能够在髓鞘修复中发挥积极作用,但如果其持续维持炎症表型,则又会产生有害影响从而导致CNS损伤,并可能促进ALS发生发展。

5 靶向小胶质细胞的ALS治疗策略

自1824年ALS被发现以来,临床上仍缺乏有效的治疗手段,这主要是由于ALS的多因素致病特性,包括遗传易感性、环境暴露和临床异质性^[81]。随着小胶质细胞在ALS疾病进展中的重要作用逐渐被揭示,我们总结了三类靶向小胶质细胞的ALS治疗策略,包括抑制M1神经炎症表型转换、促进M2神经保护表型转换以及靶向小胶质细胞线粒体障碍(表1)。

5.1 靶向小胶质细胞抑制M1神经炎症表型转换

ALS中持续的神经炎症通常与失控的小胶质细胞激活相关,而他汀类药物(statins)能够穿过BBB并调节M1小胶质细胞激活和炎症因子释放以此减轻神经炎症^[82]。同时,miR-155作为*SOD1*转基因模型中促炎miRNA之一,其表达抑制能够靶向APOE信号从而恢复ALS中小胶质细胞的稳态,以防止神经元丢失^[83-84]。这表明抑制M1小胶质细胞的过度炎症反应可能成为ALS的治疗策略。

近年来,酪氨酸激酶抑制剂马赛替尼(masitinib)被发现在*SOD1*-G93A小鼠中抑制小胶质细胞异常的增殖、激活和炎症信号释放,从而参与调节ALS相关神经炎症^[6]。色甘酸钠(cromolyn sodium)则通过将促炎小胶质细胞转变为促吞噬小胶质细胞,以此减轻*SOD1*-G93A小鼠的炎症反应^[85]。米诺环素

(minocycline)被认为能够特异性抑制M1表型转换,而不影响M2标志物的表达,其通过抑制M1小胶质细胞的活化和NF- κ B的上调在*SOD1*-G93A小鼠疾病早期起作用,从而延缓疾病的进展^[86]。在ALS中,ROCK通路也被证明参与M1小胶质细胞炎症因子的释放,通过口服法舒地尔(fasudil)抑制ROCK通路能够延长*SOD1*-G93A小鼠的生存时间^[87]。同时,IL受体相关激酶-M(interleukin receptor-associated kinases-M, IRAK-M)作为小胶质细胞受体TLR4重要的负调节因子,能够抑制炎症因子的产生以减少*SOD1*-G93A小鼠的神经元丢失^[88]。除此之外,小胶质细胞和星形胶质细胞(astrocytes)的相互作用在神经退行性疾病中也扮演着重要角色,如在*SOD1*-G93A小鼠中活化的小胶质细胞能够释放IL-1 α 和TNF α 等炎症因子,进而促使星形胶质细胞产生神经毒性,以加快疾病进展^[89-90]。但在体外实验中小胶质细胞分泌的高水平IL-10又能够抑制星形胶质细胞诱导的ALS表型^[91]。

5.2 靶向小胶质细胞促进M2神经保护表型转换

小胶质细胞在ALS发病过程中呈现出疾病分期依赖性,其表现在早期具有更多的M2表型,在疾病末期则转换为高表达NOX2的M1表型,从而加剧神经肌肉接头的功能障碍。因此,通过药物靶向小胶质细胞表型转换为神经保护表型M2,可能对治疗ALS产生有益效果。作为小胶质细胞极化的调节剂,天然产物引起了广泛关注,如白藜芦醇(resveratrol)和姜黄素(curcumin)等不仅抑制了M1小胶质细胞的神经毒性,还增强了M2小胶质细胞神经营养因子的分泌,从而促进了受损运动神经元和髓鞘的修复^[92-93]。

小鼠模型数据也表明,M2表型转换可能延缓ALS进展。TREM2-DAP12作为调控小胶质细胞表型的信号通路之一,其被激活时能够诱导M2小胶质细胞从而促进细胞碎片吞噬和炎症因子下调^[94]。TREM2-APOE信号通路对DAM表型的激活也能够降低在ALS小鼠中神经毒性^[84,95]。同时,小胶质细胞作为CNS常驻巨噬细胞,与其他免疫细胞的相互作用同样发挥着重要功能。在*SOD1*突变小鼠的早期阶段,调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)被发现能够促进M2小胶质细胞数量增加,并延长突变小鼠的生存期^[96-97],而富马酸二甲酯(tecfidera)可以安全有效地提高人体Tregs水平,同时通过增强Tregs的稳定性和降低促炎T细胞数量促进M2神经保护表型标志物的表达^[97]。

表1 基于小胶质细胞的ALS治疗靶点和潜在药物

Table 1 ALS therapeutic targets and potential drugs based on microglia

治疗策略分类	治疗靶点	潜在药物	潜在作用机制	参考文献
Therapeutic strategy classification	Therapeutic target	Potential drugs	Potential mechanism of action	References
Target M1 neuroinflammation	miR-155	-	Inhibition of miR-155 expression by targeting APOE signal can restore homeostasis of ALS microglia	[83-84]
Target M1 neuroinflammation	IRAK-M	-	As an important negative regulator of microglia receptor TLR4, it can inhibit the production of inflammatory factors to reduce neuron loss in mouse models	[88]
Target M1 neuroinflammation	Astrocytes	-	Activated microglia release IL-1 α and TNF α to induce neurotoxicity from astrocytes, but high levels of IL-10 significantly decrease the ALS phenotype induced by astrocytes	[89-91]
Target M2 neuroprotection	TREM2	-	Activation of TREM2-TYROBP induces M2 microglia, which promotes cell debris phagocytosis and down-regulation of inflammatory factors	[94]
			The TREM2-APOE signaling pathway promotes DAM phenotype activation in mouse models	[84,95]
Target mitochondrial disorders	Mfn2	-	Regulation of Mfn2 inhibits LPS-induced mitochondrial disruption in microglia	[99]
Target M1 neuroinflammation	-	Statins	Crossing the BBB regulates M1 microglia activation and release of inflammatory factors to reduce neuroinflammation	[82]
Target M1 neuroinflammation	-	Masitinib	Reduce abnormal proliferation of microglia and release of inflammatory signals in mouse models	[6]
Target M1 neuroinflammation	-	Cromolyn sodium	The neuroinflammatory microglia are transformed into pro-phagocytic microglia to reduce the inflammatory response of the mouse model	[85]
Target M1 neuroinflammation	-	Minocycline	Specifically inhibits M1 phenotypic transition without affecting M2 marker expression, and inhibits M1 microglia activation and NF- κ B upregulation	[86]
Target M2 neuroprotection	-	Resveratrol and curcumin	Inhibit M1 microglia inflammatory toxicity and enhance the secretion of M2 microglia neurotrophic factor, thus promoting damaged motor neurons and myelin repair	[92-93]
Target M1 neuroinflammation	ROCK	Fasudil	Inhibiting the participation of ROCK in the release of M1 microglia inflammatory factors can prolong the survival time of mouse models	[87]
Target M2 neuroprotection	Tregs	Tecfidera	Improve the level of human Tregs, and promote the expression of M2 neuroprotective phenotypic markers by enhancing the stabilization of Tregs and decreasing the number of proinflammatory T cells	[96-97]
Target mitochondrial disorders	Drp1	P110	Selective inhibition of the binding of activated Drp1 to Fis1 in microglia plays a protective role	[98]

-: 未确定。
 -: not determined.

5.3 靶向小胶质细胞的线粒体障碍

ALS临床研究表明, 损伤神经元的扩散是由碎片化和功能失调的小胶质细胞线粒体释放到CNS微环境所导致的, 这提示了一种潜在的ALS干预措施^[98]。过量动力相关蛋白1(dynamin-related protein 1, Drp1)诱导的线粒体断裂是临床上神经退行性疾病的典型

特征, 而P110能够选择性抑制小胶质细胞中活化的Drp1与线粒体分裂蛋白1(mitochondrial fission protein 1, Fis1)的结合, 从而在ALS中发挥保护作用^[98]。此外, 正常神经元能够调控线粒体融合蛋白2(mitochondrial fusion protein 2, Mfn2)的表达, 进一步抑制LPS诱导的小胶质细胞线粒体断裂而保护自身稳态^[99]。

综上所述,抑制M1神经炎症、促进M2神经保护和线粒体障碍逐渐被报道,这提示以上三种方法在治疗ALS方面具有巨大潜力。因此,深入研究M1/M2表型转换和线粒体障碍在ALS中的作用或许能够为探索ALS治疗的新思路提供帮助。

由于目前缺乏有效的治愈方法,ALS的临床治疗方案主要集中在疾病缓解和提高患者生活质量的手段上。但随着发病机制的深入研究以及多种技术的联合应用,新的潜在治疗方法逐渐被发现,包括基因疗法、免疫靶向疗法和细胞疗法等^[100]。但目前大多数的研究成果仍然停留在动物试验阶段,而无法直接应用于人类ALS患者。不可否认的是,动物模型涉及的复杂生理过程和行为研究确实为ALS治疗策略的研发提供了宝贵的见解。其中*SOD1*、*C9orf72*、*FUS*以及*TARDBP*等ALS相关突变基因的非脊椎和脊椎动物模型在临床上的不同特征,进一步促进了对ALS发病机制的理解。但目前使用的多数转基因小型动物模型在反映ALS的疾病特征方面仍存在一定局限性。例如,广泛使用的*SOD1*-G93A小鼠模型在大脑皮层中缺乏运动神经元变性特征,而这一特征是人类患者的主要标志之一^[101]。因此,尽管动物模型在模拟人类ALS疾病方面仍存在不足,但其在推动ALS发病机制的探索、新型治疗药物的开发以及生物标志物的识别等方面发挥了重要贡献。

6 总结与展望

ALS作为成人运动神经元变性最常见、最具侵袭性的形式之一,其具体致病机制仍不清楚。但研究表明几种常见致病突变基因与ALS进展密切相关。此外,非细胞自主性致病理论使神经胶质细胞成为ALS研究的热点,特别是运动神经元周围形态异常的小胶质细胞,它们与ALS的发病机制密切相关。一方面,小胶质细胞激活具有神经保护作用,另一方面,小胶质细胞过度激活导致的功能障碍可能加速ALS疾病进展。因此,本文简要回顾了近年来小胶质细胞活化与ALS疾病相关的研究进展,重点关注了神经炎症、谷氨酸兴奋毒性、蛋白聚集体、铁过载和脱髓鞘等方面,以及靶向小胶质细胞的ALS治疗策略。通过总结上述研究,旨在进一步推动对ALS致病机制的深入探讨。

尽管ALS被发现已经大约两百年,关于其发病

原因与疾病机制也取得了重要进展,但针对ALS的临床治疗策略仍未达到治愈的效果。利鲁唑、氢溴酸右美沙芬联合硫酸奎尼丁、依达拉奉以及苯丁酸钠联合牛磺二乙醇作为仅获得FDA许可的ALS治疗药物,对患者病情缓解与生命延长非常有限,这提示未来的研究需要更深入地挖掘ALS神经元自身毒性积累机制和CNS内复杂多变的信号网络,以期发现并开发新的ALS治疗靶点。而小胶质细胞与ALS疾病进展密切相关,这推动了靶向小胶质细胞的ALS治疗策略的提出和研究。此外,近年来小胶质细胞对运动神经元损伤的调控和在神经元转分化领域上的发现可能为ALS治疗带来曙光。

然而,ALS作为一种多因素神经系统疾病,靶向小胶质细胞的ALS治疗策略仍面临诸多挑战。首先,单独抑制M1小胶质细胞似乎不足以在临床上实现治疗效果,因此,如何同时阻断M1小胶质细胞联合星形胶质细胞等其他细胞的毒性作用,或是同时激活M2小胶质细胞,仍需进一步探索方法。其次,抑制或激活M1/M2小胶质细胞的治疗效果所能够持续的时间尚未研究,而长时间抑制或激活M1/M2小胶质细胞可能会降低小胶质细胞的敏感性,进而影响其免疫功能的发挥。最后,多数转基因小型动物模型缺乏完整的人类ALS疾病特征,并且其较短的生命周期难以模拟具有数年或数十年进展的人类退行性疾病。因此,近年来小胶质细胞极化机制的进一步研究,以及猪和非灵长类等大型ALS动物模型的应用,可能有助于揭示更接近人类ALS的特定神经病理事件。通过解决以上问题,相信将为小胶质细胞治疗包括ALS在内的CNS疾病开辟广阔的前景。

参考文献 (References)

- [1] CHIO A, LOGROSCINO G, TRAYNOR B J, et al. Global epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review of the published literature [J]. *Neuroepidemiology*, 2013, 41(2): 118-30.
- [2] MEJZINI R, FLYNN L L, PITOUT I L, et al. ALS genetics, mechanisms, and therapeutics: where are we now [J]? *Front Neurosci*, 2019, 13: 1310.
- [3] BEERS D R, APPEL S H. Immune dysregulation in amyotrophic lateral sclerosis: mechanisms and emerging therapies [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(2): 211-20.
- [4] JADHAV S P. MicroRNAs in microglia: deciphering their role in neurodegenerative diseases [J]. *Front Cell Neurosci*, 2024, 18: 1391537.
- [5] ASAKAWA K, HANDA H, KAWAKAMI K. Illuminating ALS motor neurons with optogenetics in zebrafish [J]. *Front Cell Dev*

- Biol, 2021, 9: 640414.
- [6] KETABFOROUSH A, CHEGINI R, BARATI S, et al. Masitinib: the promising actor in the next season of the amyotrophic lateral sclerosis treatment series [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 160: 114378.
 - [7] YUN Y, HA Y. CRISPR/Cas9-mediated gene correction to understand ALS [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 3801.
 - [8] TALBOTT E O, MALEK A M, LACOMIS D. The epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Handb Clin Neurol*, 2016, 138: 225-38.
 - [9] XIAO S, MCKEEVER P M, LAU A, et al. Synaptic localization of C9orf72 regulates post-synaptic glutamate receptor 1 levels [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2019, 7(1): 161.
 - [10] LEE S, JEON Y M, CHA S J, et al. PTK2/FAK regulates UPS impairment via SQSTM1/p62 phosphorylation in TARDBP/TDP-43 proteinopathies [J]. *Autophagy*, 2020, 16(8): 1396-412.
 - [11] KOROBEYNIKOV V A, LYASHCHENKO A K, BLANCO-REDONDO B, et al. Antisense oligonucleotide silencing of FUS expression as a therapeutic approach in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Nat Med*, 2022, 28(1): 104-16.
 - [12] KAUR S J, MCKEOWN S R, RASHID S. Mutant SOD1 mediated pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Gene*, 2016, 577(2): 109-18.
 - [13] GERBINO V, KAUNGA E, YE J, et al. The loss of TBK1 kinase activity in motor neurons or in all cell types differentially impacts ALS disease progression in SOD1 mice [J]. *Neuron*, 2020, 106(5): 789-805.
 - [14] HARDING O, EVANS C S, YE J, et al. ALS- and FTD-associated missense mutations in TBK1 differentially disrupt mitophagy [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(24): e2025053118.
 - [15] VAHSEN B F, NALLURU S, MORGAN G R, et al. C9orf72-ALS human iPSC microglia are pro-inflammatory and toxic to co-cultured motor neurons via MMP9 [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 5898.
 - [16] DAI X M, RYAN G R, HAPEL A J, et al. Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects [J]. *Blood*, 2002, 99(1): 111-20.
 - [17] IIDA T, YANAI K, YOSHIKAWA T. Histamine and microglia [J]. *Curr Top Behav Neurosci*, 2022, 59: 241-59.
 - [18] BORST K, DUMAS A A, PRINZ M. Microglia: immune and non-immune functions [J]. *Immunity*, 2021, 54(10): 2194-208.
 - [19] MAKINODAN M, KOMORI T, OKAMURA K, et al. Brain-derived neurotrophic factor from microglia regulates neuronal development in the medial prefrontal cortex and its associated social behavior [J]. *Mol Psychiatry*, 2024, 29(5): 1338-49.
 - [20] GUO S, WANG H, YIN Y. Microglia polarization from M1 to M2 in neurodegenerative diseases [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 815347.
 - [21] KWON H S, KOH S H. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes [J]. *Transl Neurodegener*, 2020, 9(1): 42.
 - [22] SUBHRAMANYAM C S, WANG C, HU Q, et al. Microglia-mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 94: 112-20.
 - [23] MATHYS H, ADAIKKAN C, GAO F, et al. Temporal tracking of microglia activation in neurodegeneration at single-cell resolution [J]. *Cell Rep*, 2017, 21(2): 366-80.
 - [24] MIFFLIN L, HU Z, DUFORT C, et al. A RIPK1-regulated inflammatory microglial state in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(13): e2025102118.
 - [25] RODRIGUEZ-GOMEZ J A, KAVANAGH E, ENGSKOG-VLA-CHOS P, et al. Microglia: agents of the CNS pro-inflammatory response [J]. *Cells*, 2020, 9(7): 1717.
 - [26] FU R, SHEN Q, XU P, et al. Phagocytosis of microglia in the central nervous system diseases [J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 49(3): 1422-34.
 - [27] VIDAL-ITRAGO A, RADFORD R A W, ARAMIDEH J A, et al. Microglia morphophysiological diversity and its implications for the CNS [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 997786.
 - [28] COLONNA M, BUTOVSKY O. Microglia function in the central nervous system during health and neurodegeneration [J]. *Annu Rev Immunol*, 2017, 35: 441-68.
 - [29] HICKMAN S, IZZY S, SEN P, et al. Microglia in neurodegeneration [J]. *Nat Neurosci*, 2018, 21(10): 1359-69.
 - [30] GAO C, JIANG J, TAN Y, et al. Microglia in neurodegenerative diseases: mechanism and potential therapeutic targets [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 359.
 - [31] BUTOVSKY O, WEINER H L. Microglial signatures and their role in health and disease [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2018, 19(10): 622-35.
 - [32] VAN SCHOOR E, OSPITALIERI S, MOONEN S, et al. Increased pyroptosis activation in white matter microglia is associated with neuronal loss in ALS motor cortex [J]. *Acta Neuropathol*, 2022, 144(3): 393-411.
 - [33] CIPOLLINA G, DAVARI SEREJ A, DI NOLFI G, et al. Heterogeneity of neuroinflammatory responses in amyotrophic lateral sclerosis: a challenge or an opportunity [J]? *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 7923.
 - [34] HENKEL J S, BEERS D R, ZHAO W, et al. Microglia in ALS: the good, the bad, and the resting [J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2009, 4(4): 389-98.
 - [35] KELLER A F, GRAVEL M, KRIZ J. Treatment with minocycline after disease onset alters astrocyte reactivity and increases microgliosis in SOD1 mutant mice [J]. *Exp Neurol*, 2011, 228(1): 69-79.
 - [36] JIANG X, GUAN Y, ZHAO Z, et al. Potential roles of the WNT signaling pathway in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Cells*, 2021, 10(4): 839.
 - [37] ROTHSTEIN J D, JIN L, DYKES-HOBERG M, et al. Chronic inhibition of glutamate uptake produces a model of slow neurotoxicity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(14): 6591-5.
 - [38] GUO Y, HONG W, WANG X, et al. MicroRNAs in microglia: how do MicroRNAs affect activation, inflammation, polarization of microglia and mediate the interaction between microglia and glioma [J]? *Front Mol Neurosci*, 2019, 12: 125.
 - [39] GUAN Y, HAN F. Key mechanisms and potential targets of the NLRP3 inflammasome in neurodegenerative diseases [J]. *Front Integr Neurosci*, 2020, 14: 37.
 - [40] XIE M, ZHAO S, BOSCO D B, et al. Microglial TREM2 in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Dev Neurobiol*, 2022, 82(1): 125-37.
 - [41] BOYLAN M A, PINCETIC A, ROMANO G, et al. Targeting

- progranulin as an immuno-neurology therapeutic approach [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(21): 15946.
- [42] FUNES S, JUNG J, GADD D H, et al. Expression of ALS-PFN1 impairs vesicular degradation in iPSC-derived microglia [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 2497.
- [43] HENEKA M T, GOLENBOCK D T, LATZ E. Innate immunity in Alzheimer's disease [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(3): 229-36.
- [44] DEORA V, LEE J D, ALBORNOZ E A, et al. The microglial NLRP3 inflammasome is activated by amyotrophic lateral sclerosis proteins [J]. *Glia*, 2020, 68(2): 407-21.
- [45] HUANG Q, WANG Y, CHEN S, et al. Glycometabolic reprogramming of microglia in neurodegenerative diseases: insights from neuroinflammation [J]. *Aging Dis*, 2024, 15(3): 1155-75.
- [46] YUAN J, AMIN P, OFENGHEIM D. Necroptosis and RIPK1-mediated neuroinflammation in CNS diseases [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20(1): 19-33.
- [47] DEGTEREV A, OFENGHEIM D, YUAN J. Targeting RIPK1 for the treatment of human diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(20): 9714-22.
- [48] ZHANG Y, YIN H Y, RUBINI P, et al. A possible causal involvement of neuroinflammatory, purinergic P2X7 receptors in psychiatric disorders [J]. *Curr Neuroparmacol*, 2022, 20(11): 2142-55.
- [49] BANERJEE P, MEHTA A R, NIRUJOGI R S, et al. Cell-autonomous immune dysfunction driven by disrupted autophagy in C9orf72-ALS iPSC-derived microglia contributes to neurodegeneration [J]. *Sci Adv*, 2023, 9(16): eabq0651.
- [50] GHODDOUSSI F, GALLOWAY M P, JAMBEKAR A, et al. Methionine sulfoximine, an inhibitor of glutamine synthetase, lowers brain glutamine and glutamate in a mouse model of ALS [J]. *J Neurol Sci*, 2010, 290(1/2): 41-7.
- [51] LEWERENZ J, MAHER P. Chronic glutamate toxicity in neurodegenerative diseases-what is the evidence [J]? *Front Neurosci*, 2015, 9: 469.
- [52] MAHAJAN S S, THAI K H, CHEN K, et al. Exposure of neurons to excitotoxic levels of glutamate induces cleavage of the RNA editing enzyme, adenosine deaminase acting on RNA 2, and loss of GLUR2 editing [J]. *Neuroscience*, 2011, 189: 305-15.
- [53] GAO G, LI C, ZHU J, et al. Glutaminase 1 regulates neuroinflammation after cerebral ischemia through enhancing microglial activation and pro-inflammatory exosome release [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 161.
- [54] DING L, XU X, LI C, et al. Glutaminase in microglia: a novel regulator of neuroinflammation [J]. *Brain Behav Immun*, 2021, 92: 139-56.
- [55] IOVINO L, TREMBLAY M E, CIVIERO L. Glutamate-induced excitotoxicity in Parkinson's disease: the role of glial cells [J]. *J Pharmacol Sci*, 2020, 144(3): 151-64.
- [56] FIGUERA-LOSADA M, THOMAS A G, STATHIS M, et al. Development of a primary microglia screening assay and its use to characterize inhibition of system x_c^- by erastin and its analogs [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2017, 9: 266-72.
- [57] ROSS C A, POIRIER M A. Protein aggregation and neurodegenerative disease [J]. *Nat Med*, 2004, doi: 10.1038/nm1066.
- [58] BLOKHUIS A M, GROEN E J, KOPPERS M, et al. Protein aggregation in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Acta Neuropathol*, 2013, 125(6): 777-94.
- [59] PEREZ-CABELLO J A, SILVERA-CARRASCO L, FRANCO J M, et al. MAPK/MAK/MRK overlapping kinase (MOK) controls microglial inflammatory/type-I IFN responses via Brd4 and is involved in ALS [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, 120(28): e2302143120.
- [60] SCHEIBLICH H, DANSOKHO C, MERCAN D, et al. Microglia jointly degrade fibrillar alpha-synuclein cargo by distribution through tunneling nanotubes [J]. *Cell*, 2021, 184(20): 5089-106.
- [61] LI Q, HANEY M S. The role of glia in protein aggregation [J]. *Neurobiol Dis*, 2020, 143: 105015.
- [62] XIE M, LIU Y U, ZHAO S, et al. TREM2 interacts with TDP-43 and mediates microglial neuroprotection against TDP-43-related neurodegeneration [J]. *Nat Neurosci*, 2022, 25(1): 26-38.
- [63] SHU X, WEI C, TU W Y, et al. Negative regulation of TREM2-mediated C9orf72 poly-GA clearance by the NLRP3 inflammasome [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(2): 112133.
- [64] PETILLON C, HERGESHEIMER R, PUY H, et al. The relevancy of data regarding the metabolism of iron to our understanding of deregulated mechanisms in ALS: hypotheses and pitfalls [J]. *Front Neurosci*, 2018, 12: 1031.
- [65] MASALDAN S, BUSH A I, DEVOS D, et al. Striking while the iron is hot: iron metabolism and ferroptosis in neurodegeneration [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 221-33.
- [66] XIONG H, TUO Q Z, GUO Y J, et al. Diagnostics and treatments of iron-related CNS diseases [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1173: 179-94.
- [67] WANG T, TOMAS D, PERERA N D, et al. Ferroptosis mediates selective motor neuron death in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(6): 1187-98.
- [68] ASHRAF A, MICHAELIDES C, WALKER T A, et al. Regional distributions of iron, copper and zinc and their relationships with glia in a normal aging mouse model [J]. *Front Aging Neurosci*, 2019, 11: 351.
- [69] MCCARTHY R C, SOSA J C, GARDECK A M, et al. Inflammation-induced iron transport and metabolism by brain microglia [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(20): 7853-63.
- [70] FERNANDEZ-MENDIVIL C, LUENGO E, TRIGO-ALONSO P, et al. Protective role of microglial HO-1 blockade in aging: implication of iron metabolism [J]. *Redox Biol*, 2021, 38: 101789.
- [71] KWAN J Y, JEONG S Y, VAN GELDEREN P, et al. Iron accumulation in deep cortical layers accounts for MRI signal abnormalities in ALS: correlating 7 tesla MRI and pathology [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35241.
- [72] VELASCO-ESTEVEZ M, GADALLA K K E, LINAN-BARBA N, et al. Inhibition of Piezo1 attenuates demyelination in the central nervous system [J]. *Glia*, 2020, 68(2): 356-75.
- [73] FERRAIUOLO L, MEYER K, SHERWOOD T W, et al. Oligodendrocytes contribute to motor neuron death in ALS via SOD1-dependent mechanism [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(42): E6496-E505.
- [74] MCNAMARA N B, MUNRO D A D, BESTARD-CUCHE N, et al. Microglia regulate central nervous system myelin growth and integrity [J]. *Nature*, 2023, 613(7942): 120-9.
- [75] STADELMANN C, TIMMLER S, BARRANTES-FREER A, et al. Myelin in the central nervous system: structure, function, and pathology [J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(3): 1381-431.
- [76] RONZANO R, ROUX T, THETIOT M, et al. Microglia-neuron interaction at nodes of ranvier depends on neuronal activity

- through potassium release and contributes to remyelination [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5219.
- [77] LASSMANN H. Multiple sclerosis pathology [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8(3): a028936.
- [78] PAPAIZIAN I, TSOUKALA E, BOUTOU A, et al. Fundamentally different roles of neuronal TNF receptors in CNS pathology: TNFR1 and IKKbeta promote microglial responses and tissue injury in demyelination while TNFR2 protects against excitotoxicity in mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 222.
- [79] HIREMATH M M, SAITO Y, KNAPP G W, et al. Microglial/macrophage accumulation during cuprizone-induced demyelination in C57BL/6 mice [J]. *J Neuroimmunol*, 1998, 92(1/2): 38-49.
- [80] MARZAN D E, BRUGGER-VERDON V, WEST B L, et al. Activated microglia drive demyelination via CSF1R signaling [J]. *Glia*, 2021, 69(6): 1583-604.
- [81] QUEK H, CUNI-LOPEZ C, STEWART R, et al. ALS monocyte-derived microglia-like cells reveal cytoplasmic TDP-43 accumulation, DNA damage, and cell-specific impairment of phagocytosis associated with disease progression [J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 58.
- [82] BAGHERI H, GHASEMI F, BARRETO G E, et al. The effects of statins on microglial cells to protect against neurodegenerative disorders: a mechanistic review [J]. *Biofactors*, 2020, 46(3): 309-25.
- [83] BUTOVSKY O, JEDRYCHOWSKI M P, CIALIC R, et al. Targeting miR-155 restores abnormal microglia and attenuates disease in SOD1 mice [J]. *Ann Neurol*, 2015, 77(1): 75-99.
- [84] KRASEMANN S, MADORE C, CIALIC R, et al. The TREM2-APOE pathway drives the transcriptional phenotype of dysfunctional microglia in neurodegenerative diseases [J]. *Immunity*, 2017, 47(3): 566-81, e9.
- [85] GRANUCCI E J, GRICIUC A, MUELLER K A, et al. Cromolyn sodium delays disease onset and is neuroprotective in the SOD1^{G93A} mouse model of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 17728.
- [86] KOBAYASHI K, IMAGAMA S, OHGOMORI T, et al. Minocycline selectively inhibits M1 polarization of microglia [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(3): e525.
- [87] WANG M J, KANG L, WANG Y Z, et al. Microglia in motor neuron disease: signaling evidence from last 10 years [J]. *Dev Neurobiol*, 2022, 82(7/8): 625-38.
- [88] ZHONG X, LI C, LI Y, et al. IRAK-M plays a role in the pathology of amyotrophic lateral sclerosis through suppressing the activation of microglia [J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(10): 7603-10.
- [89] GUTTENPLAN K A, WEIGEL M K, ADLER D I, et al. Knock-out of reactive astrocyte activating factors slows disease progression in an ALS mouse model [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3753.
- [90] ALLISON R L, ADELMAN J W, ABRUDAN J, et al. Microglia influence neurofilament deposition in ALS iPSC-derived motor neurons [J]. *Genes*, 2022, 13(2): 241.
- [91] ALLISON R L, EBERT A D. ALS iPSC-derived microglia and motor neurons respond to astrocyte-targeted IL-10 and CCL2 modulation [J]. *Hum Mol Genet*, 2024, 33(6): 530-42.
- [92] LIU J, LIAO H, CHEN Y, et al. Resveratrol inhibits oxidative stress and regulates M1/M2-type polarization of microglia via mediation of the nrf2/shh signaling cascade after ogd/r injury *in vitro* [J]. *J Pers Med*, 2022, 12(12): 2087.
- [93] FENG L, LUO G, LI Y, et al. Curcumin-dependent phenotypic transformation of microglia mediates resistance to pseudorabies-induced encephalitis [J]. *Vet Res*, 2023, 54(1): 25.
- [94] CADY J, KOVAL E D, BENITEZ B A, et al. TREM2 variant p.R47H as a risk factor for sporadic amyotrophic lateral sclerosis [J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(4): 449-53.
- [95] JAUREGUI C, BLANCO-LUQUIN I, MACIAS M, et al. Exploring the disease-associated microglia state in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Biomedicines*, 2023, 11(11): 2994.
- [96] BEERS D R, HENKEL J S, ZHAO W, et al. Endogenous regulatory T lymphocytes ameliorate amyotrophic lateral sclerosis in mice and correlate with disease progression in patients with amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Brain*, 2011, 134(Pt 5): 1293-314.
- [97] VUCIC S, RYDER J, MEKHAEL L, et al. Phase 2 randomized placebo controlled double blind study to assess the efficacy and safety of tecfidera in patients with amyotrophic lateral sclerosis (TEALS study): study protocol clinical trial (SPIRIT compliant) [J]. *Medicine*, 2020, 99(6): e18904.
- [98] JOSHI A U, MINHAS P S, LIDDELOW S A, et al. Fragmented mitochondria released from microglia trigger A1 astrocytic response and propagate inflammatory neurodegeneration [J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(10): 1635-48.
- [99] WANG L, GAO J, LIU J, et al. Mitofusin 2 regulates axonal transport of calpastatin to prevent neuromuscular synaptic elimination in skeletal muscles [J]. *Cell Metab*, 2018, 28(3): 400-14.
- [100] FELDMAN E L, GOUTMAN S A, PETRI S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Lancet*, 2022, 400(10360): 1363-80.
- [101] ZHU L, LI S, LI X J, et al. Pathological insights from amyotrophic lateral sclerosis animal models: comparisons, limitations, and challenges [J]. *Transl Neurodegener*, 2023, 12(1): 46.