

脓毒性脑病免疫障碍机制研究进展

费翔 张庆红 姚咏明

脓毒性脑病(SE)是由脓毒症导致的急性、弥散性、可逆性脑损伤,患者存在短期的意识或认知功能障碍,有时发生记忆和行为缺陷,其发病率在脓毒症患者中为 9%~71%,是严重创(烧)伤后脓毒症的常见并发症之一^[1]。

目前 SE 的病因尚未充分澄清,它与其他脑疾病的不同之处在于局部表达促炎因子,而大脑血流改变不明显或无大脑直接感染。炎症因子通过对脑细胞的直接作用或信号转导系统,促使炎症介质和神经毒素介质释放,从而改变血脑屏障(BBB)通透性、导致脑血管功能障碍。同时,亦存在氧化应激、线粒体功能障碍、细胞凋亡、氨基酸代谢紊乱和神经递质失衡等病理生理反应^[1-2]。本文拟就 SE 免疫学发病机制的研究进展进行综述,旨在为严重 SE 的早期诊断及合理干预提供新思路。

1 脓毒症时脑内神经免疫反应过程

神经和免疫系统之间的紧密联系及相互作用是脓毒症病理生理变化的重要组成部分,脓毒性休克常合并一系列脑损伤及功能障碍^[3]。外周感染组织释放的促炎因子可通过多种途径最终影响神经元功能。

1.1 神经-免疫信号转导通路

在炎症反应和脓毒症过程中,迷走神经和室周器官是外周炎症信号转导至脑的 2 条主要转导通路。迷走神经通过轴突上细胞因子受体感受内脏炎症,其传入纤维终止于孤束核,后者控制窦弓反射并和其他自主神经结构及下丘脑室旁核发生联系。室周器官表达天然和获得性免疫系统的组成成分,如 Toll 样受体、CD14、细胞因子受体等。

1.2 细胞因子进入中枢神经系统启动免疫反应

免疫细胞通过病原菌表面模式识别受体辨认入侵的微生物,随即激活免疫细胞导致感染局部释放

促炎因子。细胞因子进入大脑主要有 3 种机制:(1)炎症介质通过缺乏 BBB 的脑区如室周器官被动进入大脑;(2)细胞因子经特殊载体及胞饮作用主动转运通过 BBB;(3)脑脊液将 LPS 携带至第三脑室,在此 LPS 经室管膜扩散接触神经元细胞,或者直接作用于神经元细胞^[4]。

1.3 中枢神经系统天然免疫反应

外周细胞因子能作用于脑内大多数细胞,目前认为小胶质细胞是脑内主要的天然免疫细胞,作为骨髓来源的组织吞噬细胞参与中枢神经系统所有的天然免疫反应。全身感染时,即使 BBB 完整,小胶质细胞仍能被激活,这是大脑炎症反应的重要特征。血液中炎性因子是小胶质细胞的主要激活分子,例如 IL-1 β 和 TNF- α 能损伤神经元导致小胶质细胞激活,或者直接激活小胶质细胞,后者又产生炎症介质,造成恶性循环。

1.4 中枢神经系统获得性免疫反应

在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)动物模型中观察到,为了启动脑内炎症反应,髓鞘特异性 T 淋巴细胞必须先经抗原呈递细胞-主要组织相容性复合物 II(MHC II)-髓鞘蛋白抗原呈递后才能穿过 BBB 进入大脑。脑内自身免疫性 T 淋巴细胞在多发硬化、帕金森病等患者的中枢神经系统中发挥重要功能。小胶质细胞抗原呈递功能有限,但在正常情况下脑血管间隙和脑脊液中存在表达 MHC II 的巨噬细胞和少量树突细胞(DC)。在 EAE 模型中,脑内分离出的 DC 可诱导髓鞘特异性 CD4⁺T 淋巴细胞向 Th1 和 Th17 亚型分化,2 种细胞亚型比例直接决定着是否会出现脑损伤,只有 Th17 细胞比例大于或等于 Th1 才可能发生炎性细胞迁移和脑内炎症反应^[5]。

又头翼状螺旋转录因子 3 呈阳性表达的调节性 T 淋巴细胞(Treg),能通过分泌 IL-10、TGF- β 抑制外周髓鞘特异性 CD4⁺T 淋巴细胞的活化,从而减轻脑内炎症反应。但 Treg 在脑内是否有抑制炎症的作用,学术界一直存在争议。尽管有报道显示,脑内 Treg 分泌的 IL-10 可能与减轻局部炎症反应有关,但效应 T 淋巴细胞分泌 IL-6、TNF- α 并未减少^[6]。

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2011.02.015

基金项目:国家自然科学基金(30872683,30973120)

作者单位:100048 北京,解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所

通信作者:姚咏明,Email:c_ff@sina.com,电话:010-66867394

SE 和脑内自身免疫疾病在病理机制上存在相似之处,即均存在脑内炎症反应,目前还未见与 SE 有关的 T 淋巴细胞迁移报道。

2 脑内免疫功能障碍机制

2.1 细胞因子和趋化因子的表达

脓毒症时脑内细胞因子和趋化因子升高,破坏 BBB。在脓毒症患者和动物模型中均观察到 BBB 的破坏及后续的免疫细胞、毒性物质进入大脑。TNF- α 、IL-1 β 、血管生成素 2 能活化 CD68⁺ 粒细胞分化抗原 1 (Gr-1) 呈阴性表达的单核细胞,该单核细胞通过贴壁、爬行、变形过程穿过 BBB,增殖成为脑血管周围巨噬细胞发挥免疫活性^[7]。持续性脓毒性休克则不断增加 BBB 通透性,造成系列继发损伤,包括脑内 TNF- α 大量释放、水通道蛋白开放,造成脑水肿、颅内高压甚至昏迷。

2.2 NO 的毒性作用

NO 是普遍存在的第二信使,具有广泛的病理生理效应。Handa 等^[8]证实,出血、创伤或严重烧伤等应激状态下脑组织诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 表达上调,生成的 NO 具有神经毒性并与小胶质细胞及神经元凋亡相关,抑制 iNOS 能有效减轻严重烧伤后脑内微血管渗漏。腹腔注射 LPS 后 2 h 可在小鼠脑组织检测到 IL-1 β 及 iNOS mRNA 表达增强,4~6 h 达高峰,而 iNOS 基因敲除小鼠未出现 LPS 介导的认知功能改变,提示 iNOS 激活对严重脓毒症后大脑长期认知功能改变具有重要性。

2.3 补体损伤机制

在许多大脑炎症性或退行性疾病中,均出现补体激活,神经元和非神经元脑细胞组成性表达过敏毒素 C5a。注射 LPS 后,大脑内皮细胞 C5a 受体呈现时间依赖性表达上调。C5a 可诱导脑血管内皮细胞血管黏附分子 1、细胞内黏附分子 1、E 选择素表达,这些黏附分子能促进中性粒细胞和单核细胞在脑血管内的黏附和迁移,产生促炎效应;同时 C5a 还能促使内皮细胞产生 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6,进一步直接损伤 BBB 完整性,使发生脓毒症时大量促炎因子向中枢神经系统渗透。全身给予抗 C5a 中和抗体能减弱 LPS 所致神经元激活,防止 BBB 损伤,减少神经元凋亡。

3 新的神经免疫信号调控途径

传统观点认为,在全身炎症反应综合征中,外周和中枢神经系统通过神经、体液途径进行相互交流。

但新近的研究表明,还存在第 3 种可能的途径,即免疫细胞迁移,尤其是单核细胞能从外周主动地迁移至大脑^[9]。免疫细胞移行至中枢神经系统是大脑炎症反应重要的病理特征,由此引发的神经递质改变能导致行为学变化。由于存在可以利用外周单核细胞作为载体抑制中枢神经系统炎症反应的可能性,因而该通路引起人们广泛关注。

3.1 单核巨噬细胞脑内迁移

在脑内炎症疾病过程中,神经递质改变和后续行为变化通常在明显脑损伤前已出现,但有充分证据表明免疫细胞迁移入脑是最早期发生的事件。D'Mello 等^[10]在肝损伤脓毒症大鼠中观察到小胶质细胞被入脑的 TNF- α 激活,随后上调巨噬细胞趋化蛋白 1 (MCP1, 又称 CCL2) 表达,外周表达 MCP1 受体 (CCR2) 的单核巨噬细胞增多,脑组织检测到 CD45^{high}CD11b^{high} 巨噬细胞和 CD45^{low}CD11b^{high} 小胶质细胞;而分别应用 CCR2 和 TNF 受体 1 (TNFR1) 基因敲除小鼠未引发上述现象,证明小胶质细胞募集外周巨噬细胞由 TNFR1 启动, MCP1 及 CCR2 担当了“信使”作用。

3.2 单核巨噬细胞的神经免疫调节功能

Gr-1 是一种相对分子质量为 $(21 \sim 25) \times 10^3$ 的糖基化连接蛋白,这种骨髓细胞分化抗原在粒细胞和单核细胞表面表达,且其表达与粒细胞分化和成熟过程相关。Ly-6 家族是一组低分子质量的磷脂酰肌醇细胞表面锚定糖基蛋白,Gr-1 抗原表型在 Ly-6G/Ly-6C 的表面表达,抗 Gr-1 抗体可以与 Ly-6G/Ly-6C 紧密结合,由此可依据 Ly-6G/Ly-6C 在不同细胞膜上的表达分选特定亚型细胞。Ly-6C 在单核巨噬细胞、内皮细胞、浆细胞、胸腺细胞、自然杀伤细胞、T 淋巴细胞表面表达, Ly-6G 在骨髓和外周粒细胞表面表达。

现已明确巨噬细胞可分为 2 种亚型:炎性巨噬细胞 (M1 型) 和多功能巨噬细胞 (M2 型)^[11]。每种亚型具有不同表型和功能, M1 型细胞可标记为 CCR2^{high}/分形素受体 (CX3CR1)^{low}, 表达 TNF- α 、iNOS, 具有蛋白水解活性; M2 型细胞则标记为 CCR2^{low}/CX3CR1^{high}, 具有免疫调节、组织修复和塑形功能。若使用 Gr-1、Ly-6C 标记 2 种亚型,其结果再与 CCR2/CX3CR1 配合则能更加清晰地针对巨噬细胞分群, M1 型细胞标记为 CCR2⁺/Gr-1⁺/Ly-6C^{high}, M2 型细胞标记为 CX3CR1⁺/Gr-1⁻/Ly-6C^{low}。2 类细胞群的募集均呈时间依赖性,与组织损伤和不同修复阶段相对应。推测在 SE 早期,小胶质细胞分

泌 MCP1/CCL2 吸引 CCR2⁺M1 型细胞向脑内迁移,而在缓解期神经细胞分泌的分形素(CX3CL1)促进 CX3CR1⁺M2 型细胞进入大脑发挥修复效应。

3.3 单核巨噬细胞的神经修复功能

有研究证实,免疫系统具备调控脑功能的能力,包括改变自主神经系统功能、胶质细胞反应活性及神经细胞兴奋性。在大鼠脊髓损伤模型中,观察到免疫系统能影响来源于骨髓的小胶质细胞前体细胞,促使其发挥神经保护和修复功能^[12]。但由于各免疫细胞具有多种亚型和不同的表型及功能,对神经是起保护作用抑或损伤效应尚待深入探讨。

4 SE 可能的免疫治疗策略

4.1 髓样细胞衍生的免疫抑制细胞

小鼠髓系抑制细胞(MDSC)以 Gr-1⁺CD11b⁺髓样前细胞为代表,参与免疫系统耐受的诱导,可以在骨髓造血活跃或剧烈的炎症反应中观察到,提示它们可能参与调节髓样细胞分化和淋巴细胞的激活及扩增。CD11b⁺Ly-6G⁺Ly-6C^{low}MDSC,代表多形核粒细胞(PMN)-MDSC;CD11b⁺Ly-6G⁻Ly-6C^{high}MDSC,代表单核细胞(MO)-MDSC。PMN-MDSC 与肿瘤免疫有关,主要高表达活性氧分子和 NO;MO-MDSC 与炎症反应有关,低表达活性氧分子、高表达 NO。MDSC 在脓毒症中的作用已有报道^[13],脓毒症可导致骨髓、脾脏和淋巴结中的 Gr-1⁺CD11b⁺细胞剧烈扩增,产生 IL-10、TNF- α 以及其他细胞因子,体内 Gr-1⁺细胞的扩增通过对 γ 干扰素的抑制作用产生 Th2 极性漂移,诱导 CD8⁺T 淋巴细胞免疫耐受。有研究者采用 LPS + γ 干扰素模拟脓毒症模型,观察到 MDSC 大量扩增伴随髓内 DC 前体细胞分化停滞;若单独给予 LPS 或 γ 干扰素则 MDSC 的抑制效应减弱,说明 MDSC 功能的发挥需要二者共同参与,但其具体机制不清^[14]。若能寻找措施增强 MDSC 的作用,则有可能减轻 SE 的病理损害。

4.2 骨髓来源的小胶质细胞(BMDM)

鼠创伤模型、神经损伤模型中均观察到大量骨髓来源的小胶质细胞向中枢神经系统迁移,甚至在 BBB 未损坏的情况下脑内仍存在 BMDM,这种来源于骨髓的巨噬细胞/小胶质细胞前体细胞,可能直接影响神经细胞损伤和修复过程。需要明确的是,这一过程也受到体内适应性免疫系统的调控,例如在急性神经损伤中调节性 T 淋巴细胞能减轻小胶质

细胞促炎活性,从而发挥神经保护作用。新近研究表明,骨髓干细胞能够移行至脑内,并分化成小胶质细胞^[15]。在实验性休克模型和多种神经损伤模型中,脑组织出现大量 BMDM 浸润,这些细胞可作为极好的呈递重要分子载体,用来促进神经修复和清除有毒蛋白。如何提高 BMDM 募集的效率、加强其功能是 SE 研究的重要方向。

参考文献

- [1] 姚咏明,林洪远. 提高对脓毒症相关性脑病的认识水平. 武警医学, 2010, 21(7): 553-556.
- [2] Wratten ML. Therapeutic approaches to reduce systemic inflammation in septic-associated neurologic complications. Eur J Anaesthesiol Suppl, 2008, 42: 1-7.
- [3] 姚咏明,柴家科,林洪远. 现代脓毒症论与实践. 北京:科学出版社, 2005: 795-800.
- [4] Siami S, Annane D, Sharshar T. The encephalopathy in sepsis. Crit Care Clin, 2008, 24(1): 67-82, viii.
- [5] Goverman J. Autoimmune T cell responses in the central nervous system. Nat Rev Immunol, 2009, 9(6): 393-407.
- [6] Appel SH, Beers DR, Henkel JS. T cell-microglial dialogue in Parkinson's disease and amyotrophic lateral sclerosis: are we listening? Trends Immunol, 2010, 31(1): 7-17.
- [7] Audoy-Rémus J, Richard JF, Soulet D, et al. Rod-shaped monocytes patrol the brain vasculature and give rise to perivascular macrophages under the influence of proinflammatory cytokines and angiopoietin-2. J Neurosci, 2008, 28(41): 10187-10199.
- [8] Handa O, Stephen J, Cepinskas G. Role of endothelial nitric oxide synthase-derived nitric oxide in activation and dysfunction of cerebrovascular endothelial cells during early onsets of sepsis. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 295(4): H1712-1719.
- [9] Yong VW, Rivest S. Taking advantage of the systemic immune system to cure brain diseases. Neuron, 2009, 64(1): 55-60.
- [10] D'Mello C, Le T, Swain MG. Cerebral microglia recruit monocytes into the brain in response to tumor necrosis factor alpha signaling during peripheral organ inflammation. J Neurosci, 2009, 29(7): 2089-2102.
- [11] Benoit M, Desnues B, Mege JL. Macrophage polarization in bacterial infections. J Immunol, 2008, 181(6): 3733-3739.
- [12] Imai M, Watanabe M, Suyama K, et al. Delayed accumulation of activated macrophages and inhibition of remyelination after spinal cord injury in an adult rodent model. J Neurosurg Spine, 2008, 8(1): 58-66.
- [13] Ribechini E, Greifenberg V, Sandwick S, et al. Subsets, expansion and activation of myeloid-derived suppressor cells. Med Microbiol Immunol, 2010, 199(3): 273-281.
- [14] Lambert C, Desbarats J, Arbour N, et al. Dendritic cell differentiation signals induce anti-inflammatory properties in human adult microglia. J Immunol, 2008, 181(12): 8288-8297.
- [15] Opydo-Chanek M, Dąbrowski Z. Response of astrocytes and microglia/macrophages to brain injury after bone marrow stromal cell transplantation: a quantitative study. Neurosci Lett, 2011, 487(2): 163-168.

(收稿日期:2010-12-24)

(本文编辑:莫愚)