

## 小胶质细胞在酒精依赖中的研究进展

闫慧明 胡建

150000 哈尔滨医科大学附属第一医院精神卫生中心

通信作者: 胡建, Email: hujian0451@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2018.10.014

**【摘要】** 近年来,神经炎症在成瘾行为中的细胞和分子机制逐渐凸显,酒精滥用直接或间接与神经免疫系统相互作用,产生中枢免疫信号,改变神经免疫基因表达和信号转导,进而导致成瘾。小胶质细胞是中枢神经系统(CNS)中神经免疫应答和炎症的主要调节剂,现回顾有关长期酒精暴露与小胶质细胞激活的研究,突出小胶质细胞在 CNS 酒精反应中起到的关键监管作用,对于开发更好的治疗酒精依赖的方案至关重要。

**【关键词】** 小胶质细胞; 酒精依赖; 神经炎症; 免疫应答; 综述

**Research progress of microglia in alcohol dependence** Yan Huiming, Hu Jian

Mental Health Center, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, China

Corresponding author: Hu Jian, Email: hujian0451@163.com

**【Abstract】** In recent years, the cellular and molecular mechanisms of neuroinflammation in addictive behavior have become increasingly prominent. Alcohol abuse interacts directly or indirectly with the neuroimmune system, producing central immune signals, changing the expression and signaling of neuroimmune genes and leading to addiction. Microglia are primary modulators of the neuroimmune responses and inflammation in the central nervous system (CNS). This paper reviews literature relating to long-term alcohol exposure and microglia activation, highlighting that microglia are critical regulators of alcohol responses in the CNS, which will be essential for the development of better therapeutics for alcohol dependence.

**【Key words】** Microglia; Alcohol dependence; Neuroinflammation; Immune response; Review

饮酒常与减轻压力和娱乐等目的相关,经常被视为是情绪增强剂,其适度使用在社会上被广泛接受。然而,酒精是一种具有依赖生产特性的精神活性物质。英国的一项研究得出结论,从个人和社会角度来看,酒精是最有害的药物,超过了海洛因和可卡因<sup>[1]</sup>。在酒精依赖的发病机制中,小胶质细胞参与的先天免疫应答是诱发酒精成瘾的神经病理学基础,在受到成瘾物质影响时,它们的反应很可能导致与物质滥用相关的行为结果<sup>[2]</sup>。可以说,在中枢神经系统中,酒精通过激活小胶质细胞调节奖赏信号相关通路,增加神经元的兴奋性,最终导致酒精依赖和成瘾。不仅如此,近年来研究发现,鸦片、可卡因、冰毒及其他精神活性物质同样能依靠活化小胶质细胞来调节药物奖赏和依赖的神经通路<sup>[3]</sup>。目前已有学者通过瞄准这些中枢免疫系统信号通路来增加现有和新型的渴求行为新学说,并且在动物和临床试验中得到了证实,如免疫激活剂脂多糖增

加了小鼠的酒精消耗,在酗酒者的个体研究中显示酒精渴求与血清细胞因子和炎症内毒素水平呈正相关,表明先天免疫信号的激活可能增加酒精的渴求和消耗<sup>[4]</sup>。中央杏仁核中某些神经免疫基因表达的中断或相关神经免疫信号转导途径的药理学抑制会减少不同动物模型中的酒精摄入量。因此,神经免疫信号途径的激活是酒精依赖的一个关键过程<sup>[5]</sup>,小胶质细胞参与调节了与酒精和药物成瘾有关的大脑功能和行为。本文就小胶质细胞在酒精依赖中作用的最新研究进展进行回顾,为今后更好地治疗酒精依赖寻找新思路。

### 一、酒精依赖和大脑免疫反应

酒精与大脑免疫系统之间的作用是双向的,酒精暴露会激活大脑的免疫系统,大脑免疫系统的改变会调节酒精相关行为。酒精依赖的神经免疫应答改变来自暴露于酒精后脑中与先天免疫系统有关的炎症和免疫调节基因/分子的修饰<sup>[6]</sup>,在酒精诱导

免疫反应和向酒精依赖过渡的过程中,先天免疫成为主要介质,其中 Toll 样受体 4(Toll like receptor 4, TLR4)、细胞因子等被认为是介导酒精诱导大脑中免疫反应的关键因素。已有研究发现慢性酒精消耗会增加大鼠脑中的细胞因子和炎性介质,激活与神经炎症和触发细胞损伤相关的信号转导途径<sup>[7]</sup>。同时,各种促炎信号的产生与增加的饮酒和偏好相关,而使用抗感染剂将减少酒精的消耗<sup>[8]</sup>。

另一方面,人体肠道中有着一个庞大而动态的微生物群体,它们构成了位于体内的极其多样的免疫反应源<sup>[9]</sup>。慢性酒精滥用会增加肠道通透性并改变肠道微生物群的组成,使来自肠腔的细菌碎片能够到达体循环<sup>[10]</sup>。酒精依赖者外周血中升高的脂多糖水平表明酒精依赖严重程度与外周血细菌内毒素水平相关<sup>[11]</sup>。因此神经炎症除了可能与酒精在大脑水平的直接作用有关外,还有可能来自于酒精对肠道菌群的破坏。肠道菌群参与调节免疫因子或释放细菌内毒素激活外周免疫反应,并可能通过以下机制导致或加速神经炎症反应:(1)通过外周神经将信息传递到脑组织;(2)外周炎性介质可进入缺乏血脑屏障的脑室周围,激活小神经胶质细胞;(3)外周细胞因子或活化的外周细胞可能穿过血脑屏障并激活小胶质细胞;(4)内毒素诱发的外周免疫反应可以直接激活脑内小胶质细胞,并促成神经免疫反应。所以当发现由细菌内毒素暴露引起的血源性因子能够改变行为功能而不需要内毒素穿过血脑屏障时,免疫-脑信号学说诞生了,酒精诱导的免疫反应正在通过多种平行途径深刻地改变中枢神经系统功能<sup>[12]</sup>。

## 二、酒精依赖和小胶质细胞

小胶质细胞是中枢神经系统的主要免疫细胞,它分布在所有脑区,但主要集中在黑质、基底神经节和海马区域<sup>[13]</sup>。静息小胶质细胞本身具有吞饮和迁移能力,主动巡视中枢神经系统实质,调节神经元活动和突触重构。在感染或病理刺激后,小胶质细胞被迅速激活,形态学发生变化,并迁移到病变部位,清除损伤的细胞碎片,从而发挥免疫防御功能。但如果小胶质细胞受到持续性刺激,则转变成“过度活化”状态,将不可控地释放大量的炎性因子(肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、IL-1、NO 和前列腺素 E2 等)造成神经元的变性。小胶质细胞活化标志物,尤其是 Iba-1 和经典炎性介质在人类酗酒者的死后大脑中增加,表明小胶质细胞活化可能参与酒精中毒的病理生理学。同样,使用集落刺激因子 1 受体的药

物阻断剂化学消除小胶质细胞,可降低酒精戒断后小鼠大脑经典炎性介质的产生<sup>[14]</sup>。酒精滥用通过在先天免疫受体上发出信号来激活小胶质细胞,活化的小胶质细胞释放炎性因子,依靠这些炎性因子可提高神经递质的释放和突触传递,间接在神经通路的多个环节中放大成瘾物质诱导的神经信号活性。

心理学认为,抑郁和焦虑与渴求相关是消极成瘾过程的行为表达,消极情绪是酒精消费的驱动因素。与健康人相比,酒精依赖个体血清或血浆中的促炎介质的循环水平有着显著不同<sup>[15]</sup>,炎性因子会显著的影响脑内 5-羟色胺、多巴胺、去甲肾上腺素等神经递质的合成、释放和再摄取,从而导致抑郁焦虑样情绪,而饮酒者多数为缓解此类负性情绪而产生渴求心理,长此以往形成酒精依赖。不难理解,这里可能是一种“长期饮酒-神经炎症信号-渴求”的循环。一项在对小鼠中心杏仁核神经元使用 IL-1 拮抗剂或局部注射抑制 IL-1 信号转导后减少了对酒精的摄入,这表明杏仁核中的细胞因子表达可以调节酒精的强化作用<sup>[16]</sup>。另外,通过遗传分析发现,在人类中具有编码 IL-1 $\beta$ 、IL-1 $\beta$  受体拮抗剂基因、IL-10 和其他免疫相关基因的基因多态性与酒精依赖相关,这些等位基因变异的功能影响通常支持增加促炎信号和对酒精中毒的易感性。总的来说,小胶质细胞是酒精暴露引发的脑部炎症形成成瘾过程中不可或缺的成分。

1. TLR4: Toll 样受体是在感染和中枢神经系统损伤时调节免疫反应的关键宿主分子,在小胶质细胞中高度表达,其中,TLR4 与其辅助因子髓样分化蛋白 2 一起识别中枢神经系统中的外源性化学物质<sup>[17]</sup>,启动 TLR4 信号通路,此过程被认为是成瘾物质激活中枢免疫信号通路的起点<sup>[18]</sup>。酒精暴露可以通过直接损伤相关的分子模式诱导 TLR4 参与神经元损伤来激活小胶质细胞<sup>[19]</sup>,另一方面,酒精暴露也可以引起肠中细菌内毒素和体内高迁移率族蛋白 1 的释放,激活 TLR4 信号通路。在 TLR4 缺陷小鼠中,慢性酒精的使用不会激活神经胶质细胞,也不会诱导炎性介质、细胞凋亡或与认知、渴求和焦虑有关的行为障碍的表达。Bajo 等<sup>[20]</sup>通过在酒依赖模型的小鼠上注射 TLR4 抑制剂发现,阻断 TLR4 的激活有助于减少酒精的饮用和酒精依赖诱发的神经免疫反应,使之成为治疗酒精成瘾的潜在候选者。另外,TLR4 也可作用影响中脑边缘多巴胺系统,以放大酒精诱导的细胞外多巴胺水平升高,特别是尾部伏隔核,这意味着可以预期 TLR4 的激活或药理学模拟

其下游促炎中枢免疫信号将增强酒精的奖赏性。

2. 神经突触可塑性: 近年来, 随着神经回路重组中小胶质细胞的出现, 其在成瘾物质诱导神经元可塑性方面也逐渐被视作一个新的参与者。小胶质细胞与突触特别是与突触前元件形成特异性接触, 通过减少突触数量或调节突触黏附分子和谷氨酸受体表达来调节突触活性<sup>[21]</sup>, 而小胶质细胞的激活为这些接触提供了时机。提示在体内长期酒精暴露下, 神经元突触会发生变化, 产生特定的习得性行为, 形成记忆痕迹储存在脑内的奖赏系统中。最近有关体内的双光子成像和电子显微镜研究支持了小胶质细胞在突触重塑中的作用。基于成瘾性物质相关脑区的显著重塑以及小胶质细胞在发育期间和健康成年大脑中的形态可塑性中所起的作用, 可以假设小胶质细胞显著改变成瘾大脑中的形态学和生理学突触可塑性。

3. 谷氨酸能神经系统: 谷氨酸介导的兴奋性神经通路在酒精依赖的发病机制中起着重要作用, 小胶质细胞拥有色氨酸代谢成犬尿氨酸的完整酶系, 长期饮酒会引起个体的局部脑区通过小胶质细胞的酶机制产生显著水平的喹啉酸, 产生的喹啉酸通过激活 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体促进谷氨酸释放。喹啉酸还诱导氧化应激, 其与谷氨酸释放组合可能有助于中枢神经系统兴奋性毒性。Frye 等<sup>[22]</sup>在观察酒精依赖患者的质子磁共振光谱谷氨酸水平中发现, 酒精依赖患者组的中线前扣带皮层中谷氨酸水平较健康对照组显著升高, 以及在早期戒断期间谷氨酸水平与饮酒渴求度呈正相关。

4. 过氧化物酶体增殖物激活受体: 过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs)属于核受体家族, 其控制不同组织稳态的主要和复杂方面以及先天性和适应性免疫应答。Bernardo 等<sup>[23]</sup>在有关小鼠原代培养的小胶质细胞实验结果, 首次表明原代小胶质细胞能表达 PPAR $\gamma$ , PPAR $\gamma$ 激动剂能抑制活化的小胶质细胞, 保护神经元, 促进活化的小胶质细胞凋亡, 从而控制中枢神经系统炎性变性疾病。Stoppioni 等<sup>[24]</sup>通过研究 PPAR- $\gamma$ 的配体噻唑烷二酮类药物(吡格列酮)对酒精中毒啮齿动物模型的影响得出结论, PPAR- $\gamma$ 的激活使得嗜酒大鼠的饮酒行为减少, 还发现吡格列酮特异性地改变了酒精的奖赏特性, 而对食物或糖类的寻求没有影响。总之, 使用激动剂激活 PPARs 对减轻酒精的成瘾性是有益的。

### 三、基因定位小胶质细胞

基于对 Cre/lox 条件基因靶向方法与诱导系统相结合已被广泛用于获得细胞和组织特异性基因功能的深入了解, 学者们逐渐开始关注基因靶向小胶质细胞。该方法使用包含 38 kDa Cre 重组酶的 P1 噬菌体特异性重组系统, 它可以非常有效地识别 34 bp DNA 序列 loxP, 以催化 2 个 loxP 位点之间的分子内和分子间重组。loxP 位点之间 Cre 介导的 DNA 重组允许空间组织特异性基因激活、缺失、易位和 DNA 区段整合到基因组中。这种以空间方式靶向小胶质细胞的操作体系<sup>[25-26]</sup>, 可以主要针对小胶质细胞而不影响其他组织驻留的骨髓群或来自单核细胞谱系的循环细胞<sup>[27]</sup>。通过使用 Cre-lox 方法, 人们发现小胶质细胞在调节酒精对大脑影响方面发挥的作用比以前预期的更为重要。

综上所述, 大脑小胶质细胞的炎症激活作用介导了神经免疫反应, 进而参与酒精滥用的奖赏和强化。由于目前我们还没有充分认识到神经免疫系统反应的复杂性, 临床依据尚不充足, 对于开发酒精滥用或其他药物滥用的治疗方法, 提出以小胶质细胞为中心的治疗方法可能是一种治疗酒精依赖的新途径, 未来仍需深入探究导致酒精依赖的复杂机制。

**利益冲突** 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

**作者贡献声明** 资料收集与整理及论文撰写为闫慧明, 选题设计及论文修改为胡建

### 参 考 文 献

- [1] Flores-Bastías O, Karahanian E. Neuroinflammation produced by heavy alcohol intake is due to loops of interactions between Toll-like 4 and TNF receptors, peroxisome proliferator-activated receptors and the central melanocortin system: A novel hypothesis and new therapeutic avenues[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 128: 401-407. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.11.003.
- [2] Araque A, Carmignoto G, Haydon PG, et al. Gliotransmitters travel in time and space[J]. *Neuron*, 2014, 81(4): 728-739. DOI: 10.1016/j.neuron.2014.02.007.
- [3] 张天舒, 彭英华, 王晓辉. 靶向神经小胶质细胞的戒毒治疗策略[J]. *药理学进展*, 2016, 40(1): 56-61. Zhang TS, Peng YH, Wang XH. Treatment Strategy for Drug Addiction by Targeting Microglia[J]. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 2016, 40(1): 56-61.
- [4] Cui C, Shurtleff D, Harris RA. Neuroimmune mechanisms of alcohol and drug addiction[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2014, 118: 1-12. DOI: 10.1016/B978-0-12-801284-0.00001-4.
- [5] Warden A, Erickson E, Robinson G, et al. The neuroimmune transcriptome and alcohol dependence: potential for targeted therapies[J]. *Pharmacogenomics*, 2016, 17(18): 2081-2096. DOI: 10.2217/pgs-2016-0062.
- [6] Henriques JF, Portugal CC, Canedo T, et al. Microglia and

- alcohol meet at the crossroads: Microglia as critical modulators of alcohol neurotoxicity[J]. *Toxicol Lett*, 2018, 283: 21-31. DOI: 10.1016/j.toxlet.2017.11.002.
- [ 7 ] Alfonso-Loeches S, Pascual-Lucas M, Blanco AM, et al. Pivotal role of TLR4 receptors in alcohol-induced neuroinflammation and brain damage[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(24): 8285-8295. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0976-10.2010.
- [ 8 ] Mayfield J, Ferguson L, Harris RA. Neuroimmune signaling: a key component of alcohol abuse[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2013, 23(4): 513-520. DOI: 10.1016/j.conb.2013.01.024.
- [ 9 ] de Timary P, Stärkel P, Delzenne NM, et al. A role for the peripheral immune system in the development of alcohol use disorders[J]. *Neuropharmacology*, 2017, 122: 148-160. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.04.013.
- [ 10 ] Leclercq S, de Timary P, Delzenne NM, et al. The link between inflammation, bugs, the intestine and the brain in alcohol dependence[J]. *Transl Psychiatry*, 2017, 7(2): e1048. DOI: 10.1038/tp.2017.15.
- [ 11 ] Leclercq S, De Saeger C, Delzenne N, et al. Role of inflammatory pathways, blood mononuclear cells, and gut-derived bacterial products in alcohol dependence[J]. *Biol Psychiatry*, 2014, 76(9): 725-733. DOI: 10.1016/j.biopsych.2014.02.003.
- [ 12 ] Hutchinson MR, Watkins LR. Why is neuroimmunopharmacology crucial for the future of addiction research[J]. *Neuropharmacology*, 2014, 76 Pt B: 218-227. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2013.05.039.
- [ 13 ] Lacagnina MJ, Rivera PD, Bilbo SD. Glial and Neuroimmune Mechanisms as Critical Modulators of Drug Use and Abuse[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2017, 42(1): 156-177. DOI: 10.1038/npp.2016.121.
- [ 14 ] Walter TJ, Crews FT. Microglial depletion alters the brain neuroimmune response to acute binge ethanol withdrawal[J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 86. DOI: 10.1186/s12974-017-0856-z.
- [ 15 ] Collier JK, Hutchinson MR. Implications of central immune signaling caused by drugs of abuse: mechanisms, mediators and new therapeutic approaches for prediction and treatment of drug dependence[J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 134(2): 219-245. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.01.008.
- [ 16 ] Marshall SA, Casachahua JD, Rinker JA, et al. IL-1 receptor signaling in the basolateral amygdala modulates binge-like ethanol consumption in male C57BL/6J mice[J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 51: 258-267. DOI: 10.1016/j.bbi.2015.09.006.
- [ 17 ] Zhang Y, Chen K, Sloan SA, et al. An RNA-sequencing transcriptome and splicing database of glia, neurons, and vascular cells of the cerebral cortex[J]. *J Neurosci*, 2014, 34(36): 11929-11947. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1860-14.2014.
- [ 18 ] 乐凯, 文若剑. 阿片成瘾中的神经免疫机制[J]. 江汉大学学报: 自然科学版, 2017, 45(3): 241-246. DOI: 10.16389/j.cnki.cn42-1737/n.2017.03.009.
- Le K, Wen RJ. Neuroimmune Mechanism of Opiates Addiction[J]. *Journal of Jiangnan University (Natural Science Edition)*, 2017, 45(3): 241-246.
- [ 19 ] Montesinos J, Alfonso-Loeches S, Guerri C. Impact of the Innate Immune Response in the Actions of Ethanol on the Central Nervous System[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2016, 40(11): 2260-2270. DOI: 10.1111/acer.13208.
- [ 20 ] Bajo M, Montgomery SE, Cates LN, et al. Evaluation of TLR4 Inhibitor, T5342126, in Modulation of Ethanol-Drinking Behavior in Alcohol-Dependent Mice[J]. *Alcohol Alcohol*, 2016, 51(5): 541-548. DOI: 10.1093/alcal/agw026.
- [ 21 ] Kettenmann H, Kirchhoff F, Verkhratsky A. Microglia: new roles for the synaptic stripper[J]. *Neuron*, 2013, 77(1): 10-18. DOI: 10.1016/j.neuron.2012.12.023.
- [ 22 ] Frye MA, Hinton DJ, Karpyak VM, et al. Anterior Cingulate Glutamate Is Reduced by Acamprosate Treatment in Patients With Alcohol Dependence[J]. *J Clin Psychopharmacol*, 2016, 36(6): 669-674. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000590.
- [ 23 ] Bernardo A, Levi G, Minghetti L. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) and its natural ligand 15-deoxy- $\Delta$ 12, 14-prostaglandin J2 in the regulation of microglial functions[J]. *European Journal of Neuroscience*, 2010, 12(7): 2215-2223. DOI: 10.1046/j.1460-9568.2000.00110.x.
- [ 24 ] Stopponi S, Somaini L, Cippitelli A, et al. Activation of nuclear PPAR  $\gamma$  receptors by the antidiabetic agent pioglitazone suppresses alcohol drinking and relapse to alcohol seeking[J]. *Biological Psychiatry*, 2011, 69(7): 642-649. DOI: 10.1016/j.biopsych.2010.12.010
- [ 25 ] Goldmann T, Wieghofer P, Müller PF, et al. A new type of microglia gene targeting shows TAK1 to be pivotal in CNS autoimmune inflammation[J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16(11): 1618-1626. DOI: 10.1038/nn.3531.
- [ 26 ] Parkhurst CN, Yang G, Ninan I, et al. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor[J]. *Cell*, 2013, 155(7): 1596-1609. DOI: 10.1016/j.cell.2013.11.030.
- [ 27 ] Wieghofer P, Prinz M. Genetic manipulation of microglia during brain development and disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(3): 299-309. DOI: 10.1016/j.bbadis.2015.09.019.

(收稿日期: 2018-09-05)

(本文编辑: 戚红丹)