神经病学

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000833

脑创伤后炎症反应与免疫抑制

张为丹[1],赵　敬[2],翟　瑄[1]

(1. 重庆医科大学附属儿童医院神经外科,重庆　400014;2. 重庆医科大学基础医学院病理生理教研室,重庆　400016)

【摘　要】脑创伤(traumatic brain injury,TBI)后血脑屏障(blood brain barrier,BBB)受损,脑内固有免疫细胞(小胶质细胞、星型胶质细胞等)和外周来源免疫细胞(巨噬/单核细胞、T 细胞、中性粒细胞等)均参与到脑组织的炎症反应中,释放多种炎症因子、活性氧、化学诱导物,造成脑组织损伤,同时引发机体对免疫细胞的产生和功能的抑制性调节,即免疫抑制。本文就 TBI 后脑内炎症反应和外周免疫抑制方面的研究作一综述,旨在进一步了解其病理生理改变,为临床治疗提供理论依据。

【关键词】脑创伤;炎症反应;免疫抑制

【中图分类号】R651.1　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2015-11-03

Inflammation and immunosuppression after traumatic brain injury

Zhang Weidan[1], *Zhao Jing*[2], *Zhai Xuan*[1]

(*1. Department of Neurosurgery, the Children's Hospital, Chongqing Medical University;*

2. Teaching and Research Section of Pathophysiology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】The blood brain barrier(BBB) are damaged after traumatic brain injury(TBI). Resident immune cells including microglia, astrocytes and periphery immune cells(monocytes/macrophages, T-cells, neutrophils, etc) are involved in the inflammation reaction of brain tissue. These cells release a variety of inflammatory factor, reactive oxygen species, chemical inducer, result in brain damage, and pull the trigger of the inhibitive regulation to depress the manufacture and feature of immune cells at the same time(immunosuppression). This review describes the mechanism of brain inflammation and peripheral immunosuppression after TBI through the acquaintance of the pathophysiologic proceeding to provide advices and basis for clinical therapy.

【Key words】traumatic brain injury; inflammation response; immunosuppression

创伤性脑损伤简称脑创伤(traumatic brain injury,TBI),伤后中枢神经系统(central nervous system,CNS)中固有的免疫细胞和外周免疫细胞会迅速响应,迁移、渗透到损伤部位参与各种免疫反应[1-2],主要包括脑组织内急性期的无菌性炎症反应和后期的神经组织修复。TBI 造成血脑屏障(brain blood barrier,BBB)的破坏以及神经元的损害,引起各种炎症因子的产生及脑组织内固有免疫细胞的活化是一系列的炎症反应启动因素;脑组织内大量趋化因子通过破损的血脑屏障进入外周血,借助各种神经内分泌途径募集外周血中的免疫细胞向脑内聚集,导致了外周免疫功能的退化或抑制。本文就 TBI 后脑组织内及外周的免疫改变作一综述。

作者介绍:张为丹,Email:zwdcqmu@hotmail.com,
研究方向:小儿神经外科疾病。

通信作者:翟　瑄,Email:zhaixuan@163.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81171090);重庆市科委"基础科学与前沿技术研究专项"重点资助项目(编号:cstc2015jcyjB0226);重庆市卫生局科研计划资助项目(编号:2009-2-264);国家临床重点专科经费建设资助项目(编号:国卫办医函[2013]544)。

优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160109.1730.010.html (2016-01-09)

1　TBI 后脑内免疫反应

脑创伤后脑组织内发生的免疫反应由两类免疫细胞共同参与,包括来源于外周血的单核细胞、中性粒细胞、T-淋巴细胞,以及脑组织内固有的免疫细胞如星形胶质细胞、小胶质细胞。两类免疫细胞在 TBI 后均会迅速响应,在脑组织损伤区域聚集,产生"无菌性免疫反应",在损伤前期主要表现为炎症反应,后期则表现为坏死组织的清除与神经修复。目前普遍认为非感染性的组织损害(如创伤)会启动损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns,DAMPs),通过嘌呤受体信号通路激活上述各类免疫细胞[3-4],释放内源性的相关分子 DAMPs,进而诱发和维持无菌性免疫反应。这种免疫反应旨在维持组织的稳态,但随着损伤程度和损伤时相的

进展，该反应也会对组织造成炎性损害[5]。以下分别阐述上述两类细胞在脑内无菌性免疫反应中的作用机制。

1.1 脑内固有免疫细胞

TBI 后在脑组织免疫反应中首先发挥作用的是脑内固有免疫细胞：小胶质细胞和星形胶质细胞。小胶质细胞发源于原始髓系母细胞，也是中枢神经系统的固有免疫哨兵细胞[6-7]，负责参与维持中枢神经系统的稳态功能如突触可塑性等[7]，是对脑实质内炎症活动反应最快的细胞。动物实验[8]发现小胶质细胞在脑损伤后几分钟内即可响应，迅速向胶质界膜扩展并包围个体的星形胶质细胞，形成如同六边形蜂窝状结构；与此同时，部分小胶质细胞转化为具有高度活动性的吞噬细胞，嵌入受损的胶质界膜以吞噬死亡的星形胶质细胞，并相互连接成为一组吞噬屏障，从而维持胶质界膜的稳定。上述两种反应的发生机制均以嘌呤受体信号（P2X4、P2Y6、P2Y12）以及星形细胞三磷酸腺苷（adenosine triphosphate，ATP）的释放为基础。虽然随着损伤时间延长以及后期多种炎症介质的参与，小胶质细胞逐渐表现出损害作用[9]，例如随着炎症反应的进展而产生大量肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor α，TNF-α），加重炎性损害，但目前仍然认为 TBI 急性期小胶质细胞的作用是神经保护作用。

星形胶质细胞是连接 CNS 和免疫系统的桥梁之一，特别是星形胶质细胞能够通过吞噬作用来扮演抗原提呈细胞的角色。例如星形胶质细胞可以凭借限制性的主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex，MHC）向 T 细胞提呈抗原，而 MHC 能活化鞘磷脂碱蛋白，后者是一种 T 细胞介导脑膜炎的关键物质。星形胶质细胞也可以传递 MHC Ⅱ抗原、共刺激分子 B7 和 CD40，这对于抗原的呈现和 T 细胞的活化有至关重要的作用[10]。此外，星形细胞还可以表达影响固有免疫的受体，包括 Toll 样受体、双链 RNA 依赖性蛋白酶等。近期有研究[11]发现，星形胶质细胞可产生一种音猬因子，属于刺猬信号通路家族的一种，后者在血脑屏障的塑造和定型中起重要作用，其传递的信号可以介导中枢神经系统偏向免疫静默。

1.2 外周来源免疫细胞

TBI后 BBB 受损，外周血中的免疫细胞包括单核/巨噬细胞、中性粒细胞、T-淋巴细胞等由炎性介质介导渗透入脑组织内参与免疫反应，主要的涉及炎性介质包括三类：细胞因子、趋化因子和 DAMPs。上述几种细胞在免疫反应中的作用与不同炎性介质的活化和诱导作用紧密相关。①单核/巨噬细胞：在促炎型细胞因子如白介素（interleukin，IL）-1、细菌脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）、IL-6、转化生长因子（transforming growth factor，TGF）-α、IL-8 等尤其是 IL-1 和 LPS 的诱导下单核/巨噬细胞可分化为 M1 亚型，参与炎症反应，加重损伤区域的炎性损害；而抗炎型细胞因子（IL-4、IL-10、TGF-β等）尤其是 IL-4 则促进单核/巨噬细胞向 M2 亚型分化，具有吞噬损伤区域坏死物质、促进神经修复的作用。有研究显示[12]TBI 后 24 h 内细胞因子在脑脊液中的浓度即有明显升高，其诱导的炎症反应则在伤后 48~72 h 达到高峰。趋化因子的作用是吸引、募集白细胞，其中其主要作用的是 IL-8 和单核细胞趋化蛋白-1（monocyte chemoattactant protein，MCP-1），前者作用于中性粒细胞，后者作用于单核细胞。②中性粒细胞：TBI 后在细胞间黏附分子-1（intercellular adhesion molecule 1，ICAM-1）诱导下，中性粒细胞与内皮细胞、血小板紧密黏附并活化[13]，随后释放细胞毒性分子如活性氧（reactive oxygen species，ROS）、反应性含氮物质（reactive nitrogen species，RNS）等弥散进入脑实质，造成组织损害[14]；而 Cuartero 等[15]研究发现，在一些药物（如罗格列酮）的影响下，中性粒细胞会由致炎的 N1 型向抗炎性的N2 型转化，促进组织的修复；最终脑内聚集的中性粒细胞凋亡后被巨噬细胞吞噬，致使这些有吞噬功能的细胞变得具有抗炎和组织修复的特性。③T 淋巴细胞：TBI 后活化的内皮屏障释放的 ROS 会召集外周 T 细胞浓聚于脑组织受损部位。目前已证实脊髓损伤（spinal cord injury，SCI）后自反应 T 细胞能对抗髓鞘碱性蛋白等中枢系统抗原，从而对神经系统起保护的作用；调节性 T 细胞则会分泌 IL-10，担当着促进单核/巨噬细胞向 M2 型转化的角色。外周来源免疫细胞进入脑内后均受到炎性介质的引导和调控，需要指出的是细胞因子对脑内固有免疫细胞也有调控作用，如 IL-1、TGF-α 能提升小胶质细胞的能动性和吞噬功能，IL-6 则可活化星形胶质细胞，起到神经保护的作用。

2 TBI 后外周免疫抑制

TBI 引起脑内无菌性免疫反应发生后，会进而引发全身性的免疫抑制反应：由于 BBB 的破坏，TBI 后脑组织中产生的炎症介质进入外周血循环，导致机体发生体温变化、急相蛋白产生、内皮细胞反应及新陈代谢紊乱等一系列改变。此外，TBI 后下丘脑-垂体-肾上腺轴和交感神经系统两者的失衡会导致机体免疫功能紊乱，使器官更容易遭受损害或发生感染，而皮质醇和儿茶酚胺的大量释放则会加重免疫抑制。TBI 也通过自主神经系统和神经内分泌系统影响系统免疫应答：迷走神经通过减少细胞因子来抑制免疫，也称“胆碱能抗炎”通路[16]；TBI 后颅内压上升可活化交感系统，增加 IL-10 的产出水平，而 IL-10 则有抑制 T 细胞反应的作用；神经肽和 α-促黑色素激素同样也被认为可以抑制免疫细胞。下面分别阐述外周血中几种主要免疫细胞在 TBI 后免疫抑制中的改变。

2.1 中性粒细胞

中性粒细胞的募集和活化需要化学诱导物及整合素家族中的白细胞黏附分子的存在，其中 β2 类的整合素（CD11/CD18）对中性粒细胞的黏附和迁移有着突出的作用；化学诱导物 CXC 类趋化因子配体 1（CXC chemokine ligand 1，CXCL1）和 CXC 类趋化因子 2（CXC chemokine ligand 2，CXCL2）的释放及甲酰基肽也能募集中性粒细胞至损伤部位[17]。TBI 发生后中性粒细胞 CD11 受体的表达及 ROS 的产生会迅速增加；

同样，中性粒细胞的活化与创伤后内脏出血、弹性蛋白酶增加也有着紧密的联系。中性粒细胞功能的活化和寿命的延长可能是对创伤的应激反应，目的是增强消灭病原的能力。但随着中性粒细胞主导的炎症反应（systemic inflammatory response syndrome，SIRS）加重，造成大量细胞死亡及免疫器官的损伤，成为免疫功能下降的基础；而继之出现的代偿性抗炎反应（compensatory antinflammatory response syndrome，CARS）逐渐占据优势，亦会直接造成免疫功能的抑制[18]。

2.2 单核/巨噬细胞

单核细胞是由外周骨髓分化而来的多功能细胞，在组织发生炎症或者损伤时能分化为巨噬细胞和树突细胞[19]；在脑内也有一定数量的已分化的巨噬细胞固定存在于脑膜、脉络丛、血管间隙中[20]。单核细胞按照 CD14 的表达分为两种类型，一种为 $CD14_{high}CD16^{-}$单核细胞即“炎性单核细胞”，表达高水平的 CC 趋化因子受体-2（CC chemokine receptor 2，CCR-2），具有向微生物感染区域的聚集性；另一种为 $CD14_{low}CD16^{+}$单核细胞，也被称为“固有单核细胞”，表达高水平的主要组织相容性复合分子Ⅱ（major histocompatibility complex molecules Ⅱ，MCH-Ⅱ），CXC 类趋化因子受体-1（CXC chemokine receptor 1，CXCR-1）和低水平的 CCR-2，通常指成熟的组织巨噬细胞。对于巨噬细胞，近年来学者按其生理活动特点分为 3 类：一类是经典的活化巨噬细胞（classical activated macrophages，CAM），对来源于适应性免疫的 Th1 或固有免疫的自然杀伤细胞产生的干扰素-γ（interferon-γ，IFN-γ）、抗原提呈细胞的 TNF 反应敏感，作用为吞噬/杀伤微生物、释放 ROS，以及产生高水平的 IL-12、适度的 IL-10 及氮中间体（如一氧化氮）；第二类是替代性活化巨噬细胞（alternatively activated macrophages），亦被称为治愈性巨噬细胞（wound-healing macrophages），对于适应性免疫的 Th2 或固有免疫的粒细胞产生的 IL-4 敏感，主要参与组织修复；第三类为监管巨噬细胞（regulatory macrophages），对于 IL-10、前列腺素、糖皮质激素、腺苷等免疫复合物反应敏感，可产生高水平的 IL-10、低水平的 IL-12 参与抑制免疫，并可产生 TGF-β、前列腺素 E2 等因子。当创伤发生时，经典活化巨噬细胞及监管巨噬细胞最先参与到 SIRS 与 CARS，此后治愈性巨噬细胞再参与炎症的消退和组织的修复[18]。TBI 早期大量单核细胞可通过损坏的 BBB 由外周进入脑内，也可借脉络丛上皮细胞产生的趋化因子 CCL-2 与中性粒细胞一起跨越血脑脊液屏障进入脑内[21]，转变为单核/巨噬细胞，参与脑内免疫反应，成为导致免疫抑制的重要原因。

创伤后外周血单核细胞 IL-12 的产生和人类白细胞 DR 抗原（human leukocyte antigen DR，HLA-DR）的表达均有下降趋势。IL-12 水平的下降常导致脑创伤预后不良，有研究表明如术前外周血中 IL-12 水平较低，术后发生严重脓毒血症的几率会明显升高[22]；HLA-DR 的表达抑制与创伤患者发生严重的感染综合症及较差的预后密切相关，有临床研究证实外周血单核细胞 HLA-DR 表达值越低的病人感染越不容易控制[23]。由此可见，单核细胞的“钝化作用”，即 IL-12、HLA-DR 产生水平的下降，与创伤后免疫抑制有着密切的关系。此外，单核/巨噬细胞是一氧化氮（nitric oxide，NO）重要的产生源，NO 作为一种新型生物信使分子，在神经-免疫调控及防止感染中具有重要作用。LPS、IFN 和 IL-1 等细胞因子也是通过促进单核/巨噬细胞释放 NO 而达到增强免疫活性的作用。有研究显示 TBI 后 NO 会在脑实质中积聚，加重脑组织内的炎症反应[24]。由此可见，TBI 后大量单核/巨噬细胞的脑内迁移，导致外周 NO 水平下降、各种细胞因子活性降低，机体抗感染能力减弱是单核/巨噬细胞参与 TBI 后机体免疫抑制的重要机制。

2.3 T-淋巴细胞

有研究证实[25]TBI 早期 T 细胞在免疫反应中的作用并不突出，但随着创伤后的时间进展，其免疫功能逐渐显现。T 细胞在免疫反应中的作用与其不同的分化方向相关，表现为 Th1/Th2 分化和 Treg/Th17 分化两个方面。

近年来，Th1/Th2 平衡学说是创伤后 T 细胞免疫功能的研究热点。原始的 Th0 细胞因为局部细胞因子环境的差异而分化为 Th1 或 Th2 细胞，即 IL-12 诱导 Th0 向 Th1 方向分化，在 T-bet 转化因子活化作用下分化为 Th1，进而参与 T 细胞主导的细胞免疫；IL-4 诱导 Th0 向 Th2 方向分化，在 GATA-3 转化因子的活化作用下分化为 Th2，进而参与 B 细胞主导的体液免疫。创伤后外周血中 IL-2、INF-γ、IL-12 水平下降导致 Th1 分化受抑制，而 IL-10、IL-4 的水平则有升高，引起 Th2 的分化增强，即 Th1/Th2 平衡向 Th2 偏斜，对机体的细胞免疫有抑制作用，从而增加病原感染甚至脓毒血症的发生概率。

Th0 不仅可向 Th1/Th2 分化，也可因细胞因子环境的不同向 Treg（调节性 T 细胞）和 Th17 分化，且两者也参与创伤后免疫反应的调节。IL-10、TGF-β 向 Treg 方向诱导，在 FoxP3 转化因子活化作用下分化为 Treg，进而参与抑制适应性免疫；IL-6、IL-21 向 Th17 方向诱导，在 GATA 结合蛋白 3（GATA binding protein 3，GATA-3）转化因子的活化作用下分化为 Th17，进而发挥强大的促炎作用。有报道证实 Treg 细胞可介导单核/巨噬细胞的替代活化，发挥强力的抗炎效应，Treg 的活跃会抑制具有免疫保护性的 Th1 细胞因子的产生[26]，因此 Treg 细胞在创伤后对固有和适应性免疫有较强的抑制作用。Th17 的作用则表现为促进促炎性细胞因子及趋化因子的产生，以及后续募集和活化中性粒细胞和巨噬细胞，即促进炎症、增强免疫功能的作用。由于创伤后 IL-10 水平的升高，Th0 细胞更偏向于分化为 Treg 细胞，机体免疫功能偏向于被抑制。

综上所述，TBI 后脑内首先发生以小胶质细胞和星形胶质细胞为主导的无菌性免疫反应，大量炎症介质通过破损的血脑屏障进入外周血循环，受自主神经系统及神经内分泌系统的调控，募集或刺激外周血免疫细胞进入脑内参与炎症反应，引发机体保护性调节，同时外周血中出现以细胞介导为主的免疫抑制。多层面的细胞因子在循环或其他系统中构成

主体，调节中性粒细胞的募集、激活；伴随 SIRS 和 CARS 的进展，抗炎性的单核巨噬细胞参与介导、分泌、吞噬，Th1/Th2 平衡向 Th2 偏斜，Treg 细胞的出现及增生，在外周血层面继之器官层面表现出免疫抑制的效应，导致 TBI 患者更易出现感染甚至脓毒血症。近年来，研究人员通过大量的临床试验以期降低 TBI 的感染发生率但收效甚微[27-28]，因此，需要更多关于 TBI 后免疫改变机制方面的基础研究，为临床提供更有效的药物选择及防治方案，有效降低 TBI 后并发症的发生率，获得更好的预后。

参 考 文 献

[1] Das M,Mohapatra SS.New perspectives on central and peripheral immune responses to acute traumatic brain injury[J].Neuroinflammation,2012(9):236.

[2] Finnie JW.Neuroinflammation:beneficial and detrimental effects after traumatic brain injury[J].Inflammopharmacology,2013,21(4):309-320.

[3] Junger WG.Immune cell regulation by autocrine purinergic signalling[J].Nat Rev Immunol,2011,11(3):201-212.

[4] Eltzschig HK,Sitkovsky MV,Robson SC.Purinergic signaling during inflammation[J].N Engl J Med,2013,368(13):1260.

[5] Manson J,Thiemermann C,Brohi K.Trauma alarmins as activators of damage-induced inflammation[J].Br J Surg,2012,99(s1):12-20.

[6] Ginhoux F,Greter M,Leboeuf M,et al.Fate mapping analysis reveals that adultmicroglia derive from primitive macrophages[J].Science,2010,330(6005):841-845.

[7] Nayak D,Roth TL,McGavern DB.Microglia development and function[J].Annu Rev Immunol,2014(32):367-402.

[8] Corps KN,Roth TL,Dorian B,et al.Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury[J].JAMA Neurol,2015,72(3):355-362.

[9] Zhang J,Malik A,Choi HB,et al.Microglial CR3 activation triggers long-term synaptic depression in the hippocampus via NADPH oxidase[J].Neuron,2014,82(1):195-207.

[10] Dong Y,Benveniste EN.Immune function of astrocytes[J].Glia,2001,36(2):180-190.

[11] Alvarez JI,Dodelet DA,Kebir H,et al.The Hedgehog pathway promotes blood-brain barrier integrity and CNS immune quiescence[J].Science,2011,334(6063):1727-1731.

[12] Csuka E,Morganti KMC,Lenzlinger PM,et al.IL-10 levels in cerebrospinal fluid and serum of patients with severe traumatic brain injury:relationship to IL-6,TNF-alpha,TGF-beta1,and blood-brain barrier function[J].J Neuroimmunol,1999,101(2):211-221.

[13] Thornton P,McColl BW,Greenhalgh A,et al.Platelet interleukin-1 alpha drives cerebrovascular inflammation[J].Blood,2010,115(17):3632-3639.

[14] García-Bonilla L,Moore JM,Racchumi G,et al.Inducible nitric oxide synthase in neutrophils and endothelium contributes to ischemic brain injury in mice[J].J Immunol,2014,193(5):2531-2537.

[15] Cuartero MI,Ballesteros I,Moraga A,et al.N2neutrophils,novel players in brain inflammation after stroke:modulation by the PPARγ agonist rosiglitazone[J].Stroke,2013,44(12):3498-3508.

[16] Gaddam SSK,Buell T,Claudia S,et al.Systemic manifestations of traumatic brain injury[J].Handbook of Clinical Neurology,2015(127):205-218.

[17] McDonald B,Pittman K,Menezes GB,et al.Intravascular danger signals guide neutrophils to sites of sterile inflammation[J].Science,2010,330(6002):362-366.

[18] Kimura F,Shimizu H,Yoshidome H,et al.Immunosuppression following surgical and traumatic injury[J].Surg Today,2010,40(9):793-808.

[19] Shi C,Pamer EG.Monocyte recruitment during infection and inflammation[J].Nat Rev Immunol,2011,11(11):762-774.

[20] Nayak D,Zinselmeyer BH,Corps KN,et al.In vivo dynamics of innate immune sentinels in the CNS[J].Intravital,2012,1(2):95-106.

[21] Szmydynger CJ,Strazielle N,Gandy JR,et al.Posttraumatic invasion of monocytes across the blood-cerebrospinal fluid barrier[J].J Cereb Blood Flow Metab,2012,32(1):93-104.

[22] Weighardt HHCD,Westerholt AEK,Maier SVM,et al.Impaired monocyte IL-12 production before surgery as a predictive factor for the lethal outcome of postoperative sepsis[J].Ann Surg,2002,235(4):560-567.

[23] Venet F,Tissot S,Debard AL,et al.Decreased monocyte human leukocyte antigen-DR expression after severe burn injury:Correlation with severityand secondary septic shock[J].Crit Care Med,2007,35(8):1910-1917.

[24] Garry PS,Ezra M,Rowland MJ,et al.The role of the nitric oxide pathway in brain injury and its treatment--from bench to bedside[J].Exp Neurol,2015(263):235-243.

[25] Weckbach S,Neher M,Losacco JT,et al.Challenging the role of adaptive immunity in neurotrauma:Rag1(-/-) mice lacking mature B and T cells do not show neuroprotection after closed head injury[J].J Neurotrauma,2012,29(6):1233-1242.

[26] MacConmara MP,Maung AA,Fujimi S,et al.Increased CD4+CD25+ T regulatory cell activity in trauma patients depresses protective Th1 immunity[J].Ann Surg,2006,244(4):514-523.

[27] Janowitz T,Menon DK.Exploring new routes for neuroprotective drug development in traumatic brain injury[J].Sci Transl Med,2010,2(27):27rv1.

[28] McConeghy KW,Hatton J,Hughes L,et al.A review of neuroprotection pharmacology and therapies in patients with acute traumatic brain injury[J].CNS Drugs,2012,26(7):613-636.

（责任编辑：冉明会）