

二甲胺四环素对小胶质细胞激活状态影响的研究

左安俊 欧振飞 王天瑞 丁磊 李天予 于腾波

【摘要】 目的 探究二甲胺四环素对大鼠小胶质细胞 M1、M2 激活状态的研究。方法 取 10 只 Wistar 大鼠脑组织,选取其小胶质细胞,以 LPS 及 IL-4 产生 M1 激活组和 M2 激活组,确定 Notch 信号通路对小胶质细胞 M1 激活途径及 M2 激活途径的调控作用,通过不同浓度二甲胺四环素干预 Notch 信号通路,调控小胶质细胞的激活状态,观察细胞膜特异性抗原 CD16/32 及 CD206 蛋白表达和细胞培养上清中 TNF- α 、IL-12、IL-10 水平。**结果** 成功诱导 M1 激活组和 M2 激活组,确定 Notch 信号通路对 M1 激活途径及 M2 激活途径起调控作用,二甲胺四环素在 0 $\mu\text{g/ml}$ 、5 $\mu\text{g/ml}$ 、10 $\mu\text{g/ml}$ 、20 $\mu\text{g/ml}$ 浓度中,促使小胶质细胞 TNF- α 、IL-12 分泌逐渐减少,IL-10 分泌逐渐增多,CD16/32 蛋白表达逐渐降低,CD206 蛋白表达逐渐增加。**结论** 二甲胺四环素能够抑制小胶质细胞向 M1 型极化,且对 M2 型极化过程没有影响,可以改善脊髓损伤患者的预后。

【关键词】 二甲胺四环素; 脊髓损伤; 小胶质细胞

The effect of minocycline on the activation state of microglia Zuo anjun, Ou zhenfei, Wang tianrui, Ding lei, Li tianyu, Yu tengbo. The Affiliated Hospital of Qingdao University, Department of Sports Medicine, Qingdao 266100, China

Corresponding author: Yu tengbo, Email: ytb8912@hotmail.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the activation status of minocycline on microglia M1 and M2 in rats. **Methods** The brain tissue of 10 Wistar rats was used to select microglia cells, and LPS and IL-4 were used to produce M1-activated group and M2-activated group to determine the regulatory effect of Notch signaling pathway on M1-activated pathway and M2-activated pathway of microglia. The Notch signaling pathway was interfered with different concentrations of minocycline to regulate the activation state of microglia. The expression of cell membrane specific antigen CD16/32 and CD206 and the levels of TNF- α , IL-12 and IL-10 in cell culture supernatant were observed. **Results** The M1 activation group and M2 activation group were successfully induced, and the Notch signaling pathway was determined to regulate the M1 activation pathway and M2 activation pathway. Minocycline promoted the secretion of TNF- α and IL-12 in microglia at 0 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$ and 20 $\mu\text{g/ml}$ concentrations. The secretion of IL-10 increased gradually, the expression of CD16/32 decreased gradually, and the expression of CD206 increased gradually. **Conclusion** Minocycline can inhibit the polarization of microglia to M1-type and has no effect on M2-type polarization process, which can improve the prognosis of SCI patients.

【Key words】 Minocycline; Spinal cord injury; Microglial

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是各种原因导致的脊髓结构或功能受损,患者易产生脊髓神经受损,严重者导致截瘫甚至死亡,对患者及其家庭会造成重大的社会经济影响^[1]。目前世界脊髓损伤的年发病率为(10-83)/百万,在中国为(15-60)/百万,且逐年呈增加趋势^[2-3]。随着我国人口老龄化,老年

人因跌倒导致的脊髓损伤比例也在增加^[4],积极的治疗可以提高患者的生活质量。自2019年底新冠肺炎在我国蔓延,新发骨折患者相对减少,可能与老年人户外活动减少有关,并且部分地区交通管制,导致交通原因的骨折减少^[5]。SCI最初是由外伤导致的,在损伤出现后炎症细胞激活,小胶质细胞、巨噬细胞、中性粒细胞等会渗入损伤部位,释放各种炎症因子如TNF- α 、IL-12、IL-10等,这些细胞因子在6h内就能达到峰值,并在4d内逐步上升^[6]。机体如果可以通过自我调节,平衡好这些炎症因子,患者可以

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2096-0263.2022.03.005

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31872310)

作者单位:266100 青岛大学附属医院运动医学科

通信作者:于腾波,Email: ytb8912@hotmail.com

逐渐康复,一旦平衡无法调节就会导致疾病进一步加重。虽然脊髓损伤后有一定的再生能力,但很有限,并且随着年龄增加再生能力也愈来愈差^[7-9]。SCI患者的早期识别、及时的手术处理^[10]和有效的药物治疗,对患者的预后都起着至关重要的作用。

SCI发生后,小胶质细胞可被迅速激活并极化为M1、M2两种不同的表型,对患者的预后是一把双刃剑。小胶质细胞在对SCI的损伤修补中有重要作用,主要通过调节M1/M2极化状态来减轻氧化应激使患者加速康复^[11]。小胶质细胞可以通过干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)或脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)等诱导使M1极化,使炎症因子(IL-12、TNF- α)、CD16/32释放增加,延缓患者的预后,而M2通过IL-4或IL-13等诱导极化,使抗炎因子(IL-10)、CD206的水平增加,改善患者预后^[12]。二甲胺四环素属于第二代四环素类抗生素,通过减少细胞和轴突的死亡,对脊髓损伤后功能的恢复有帮助^[13-14]。有研究显示二甲胺四环素可抑制小胶质细胞向M1极化,促进M2型的极化^[13]。Notch信号通路是脊髓神经发育的重要分子途径,在中枢神经系统的突触生长中起关键作用^[15-16]。通过调节细胞增殖、神经发生、突触形成和轴突髓鞘再生积极参与损伤后的神经再生^[17],一旦脊髓神经出现损伤,Notch信号通路会被激活^[18]。因此本文通过研究二甲胺四环素对小胶质细胞激活状态影响,希望为临床用药提供指导。

资料与方法

一、实验材料

Wistar大鼠脑组织;实验所用DMEM培养基,来自中国源培;青链霉素溶液、胰蛋白酶购于中国碧云天公司;胎牛血清购于美国Peak公司;LPS购于Solarbio公司;IL-4购于ACROBiosystems公司;IL-10 ELISA试剂盒、IL-12 ELISA试剂盒购于武汉云克隆公司;TNF- α ELISA试剂盒购于上海通蔚公司;CD16/32、CD206购于Elabscience公司。

二、实验方法

(一)混合胶质细胞培养

取6只Wistar大鼠脑组织,分离出大脑皮质,放入PBS洗涤,剪碎,转入离心管中,吸除PBS。加入等体积的消化酶(胶原蛋白酶:胰蛋白酶=1:1),放入37°C培养箱中消化15 min,至出现聚团现象,消化过

程中每5 min晃动一次,接着吸出上层液体,加含血清培养液终止消化。重复上述过程,1 500 rpm,离心5 min,弃上清,留沉淀,加完全培养基重悬;加入T25cm² Flask,每瓶加4 ml培养液,再滴加1 mL的细胞重悬液,混匀,放入37°C,5% CO₂培养箱中培养,3 d后全换液,培养9 d时,可见细胞分层生长,收取上层小胶质细胞,同时在混合培养瓶中继续加入新培养液放入培养箱培养3~4 d,可收获第二批小胶质细胞。

(二)小胶质细胞分离纯化

采用直立手摇法+差速贴壁法。直立手摇法:待混合胶质细胞培养第9 d,细胞充分分层生长后,小胶质细胞成熟,镜下可看到大量折光性强的细胞,或贴壁或漂浮,这时直接将混合培养瓶直立起来4~5 min,然后再平放,重复几次,直到镜下看到大量小胶质细胞悬浮后,收集细胞悬液,离心(1 000 rpm,离心5 min)收集细胞,接种于预先包被的多聚赖氨酸培养瓶或培养板中。差速贴壁法:铺板30 min后,完全换液1次,去除未贴壁细胞,如少突胶质细胞。

(三)选取纯化后贴壁24 h的小胶质细胞

随机抽取纯化后的小胶质细胞培养24 h后随机取4孔,每孔取 1×10^6 个细胞,留取一孔细胞样本直接加入300 μ L流式缓冲液重悬,另外3孔细胞样本每样本加入流式缓冲液稀释的(1:100)流式抗体(CD11b-FITC和MHCII-PE),染色体系50 μ L/管,4°C避光染色30 min,流式缓冲液洗涤2次,300 μ L流式缓冲液重悬后进行流式细胞仪检测,抗体染色双阳性的细胞CD11b+MHCII+为小胶质细胞,以CytExpert软件进行获取和分析。

(四)小胶质细胞激活的实验分组

(1)M1激活组:给予100 ng/mL的LPS在DMEM培养基中培养24 h后,换用无添加药物的单纯DMEM完全培养基培养24 h。

(2)M2激活组:给予20 ng/mL的IL-4在DMEM培养基中培养24 h后,换用无添加药物的单纯DMEM完全培养基再培养24 h。

(五)流式细胞术检测细胞膜特异性抗原CD16/32及CD206蛋白表达

用6孔板培养细胞,用0.25%胰酶消化细胞,1 000 rpm离心5 min,沉淀细胞,吸去上清,加入约1 mL预冷的PBS,再次离心沉淀细胞。在每个流式检测管或板式微孔中加入50 μ L的稀释后的抗体

(抗体用 Staining Buffer 稀释成合适的浓度);在空白管中加入 50 μ L Staining Buffer, 1.0 μ g/10⁶ 细胞。在各管中分别加入 50 μ L 细胞悬液(约 10⁶ 细胞),并轻轻混匀。在 4 $^{\circ}$ C 冰箱中孵育 30 min。孵育完成后,加入 Staining Buffer, 1 000 rpm 4 $^{\circ}$ C 离心 5 min,并弃去上清,重复洗涤过程 3 次。100 μ L 重悬细胞后上流式仪检测。

三、确定 Notch 信号通路对小胶质细胞 M1 激活途径及 M2 激活途径的调控作用

取对数生长期状态良好的小胶质细胞分为四组,① DAPT+M1 激活组:在 DMEM 培养基中先给予终浓度为 10 μ mol/L 的 DAPT 刺激培养 24 h 后更换用含有 100 ng/ml 的 LPS 的 DMEM 培养基再培养 24 h;② M1 激活洗脱+DAPT 组:在 DMEM 培养基中先给予 100 ng/ml 的 LPS 的培养 24 h 后洗脱 LPS 再给予终浓度为 10 μ mol/L 的 DAPT 刺激培养 24 h;③ DAPT+M2 激活组:在 DMEM 培养基中先给予终浓度为 10 μ mol/L 的 DAPT 刺激培养 24 h 后更换用含有 20 ng/ml IL-4 的 DMEM 培养基再培养 24 h;④ M2 激活洗脱+DAPT 组:在 DMEM 培养基中先给予 20 ng/ml IL-4 培养 24 h 后洗脱 IL-4 再给予终浓度为 10 μ mol/L 的 DAPT 刺激培养 24 h。

收集各组细胞经刺激培养后培养上清,ELISA 检测各组细胞培养上清中 TNF- α 、IL-12、IL-10 水平;流式细胞仪检测细胞膜 CD16/32 及 CD206 蛋白表达。

四、二甲胺四环素干预 Notch 信号通路调控小胶质细胞的激活状态

取小胶质细胞悬液,接种于 6 孔板上,用含 10% FBS 的 DMEM 完全培养基培养至细胞生长密度约 60% 左右,细胞分为 4 组,给予不同浓度的二甲胺四环素(0 μ g/ml、5 μ g/ml、10 μ g/ml、20 μ g/ml)在 DMEM 培养基中培养 24 h 后,CCK-8 检测细胞存活率。ELISA 检测各组细胞培养上清中 TNF- α 、IL-12、IL-10 水平,流式细胞术检测细胞膜特异性抗原 CD16/32 及 CD206 蛋白表达。

五、统计学分析

使用 CytExpert、SPSS26 软件(IBM, 美国)进行统计学处理。计量资料采用 Kolmogorov-Smirnov 检验是否符合正态分布,符合正态分布的以 $\bar{x} \pm s$ 表示,M1 激活组和 M2 激活组间基础数据比较采用独立样本 *t* 检验;不同浓度二甲胺四环素对小胶质细胞的计量资料比较采用单因素方差分

析,两两比较采用 LSD-*t* 检验,数据不符合正态分布采用秩和检验。检验水准 α 值取双侧 0.05。

结 果

一、小胶质细胞激活

分别用 LPS、IL-4 激活小胶质细胞形成 M1 激活组和 M2 激活组,见图 1~2。两个激活组中 TNF- α 、IL-12、IL-10、CD16/32 及 CD206 的基础水平比较,见图 3、图 4、表 1、表 2。

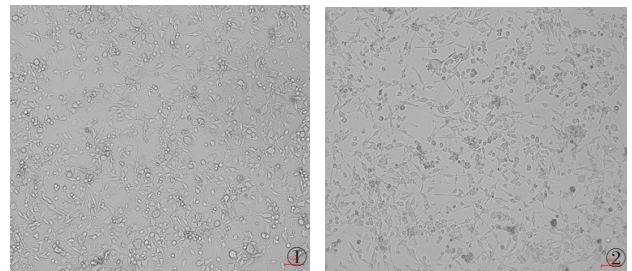
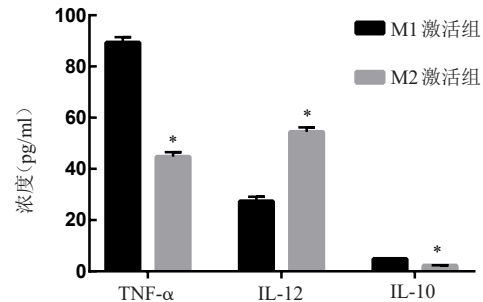
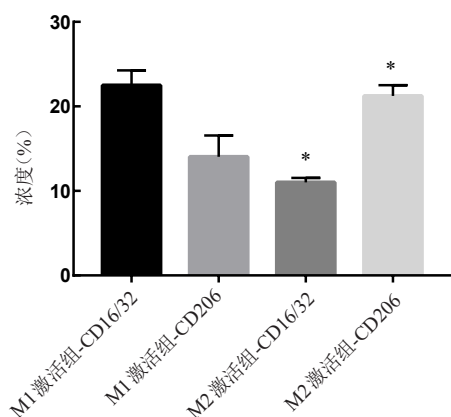


图 1~2 细胞培养。图 1 M1 激活组;图 2 M2 激活组



注:“*”表示 $P < 0.01$

图 3 M1 激活组与 M2 激活组中 TNF- α 、IL-12、IL-10 基础水平比较



注:“*”表示 $P < 0.01$

图 4 M1 激活组与 M2 激活组 CD16/32 及 CD206 基础水平比较

表1 M1激活组与M2激活组中TNF-α、IL-12、IL-10基础水平比较($\bar{x}\pm s$, pg/ml)

组别	IL-10	IL-12	TNF-α
M1 激活组	27.38±1.76	4.89±0.08	89.36±2.06
M2 激活组	54.47±1.73	2.31±0.03	44.78±1.74
t值	-19.002	54.354	28.605
P值	<0.01	<0.01	<0.01

表2 M1激活组与M2激活组CD16/32及CD206基础水平比较(%, $\bar{x}\pm s$)

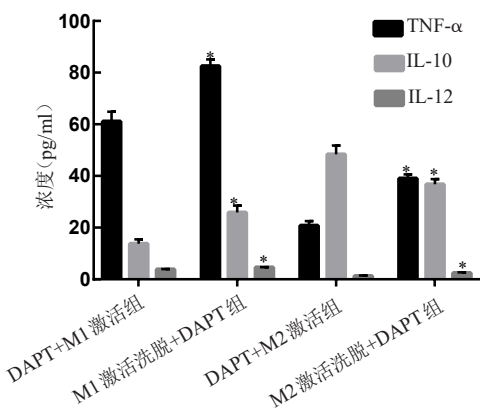
组别	CD16/32	CD206
M1 激活组	22.48±1.78	14.04±0.53
M2 激活组	11.01±2.53	21.24±1.26
t值	10.721	-4.428
P值	<0.01	<0.01

二、Notch 信号通路对小胶质细胞M1 激活途径及M2 激活途径起到调控作用

ELISA 方法分别检测 M1、M2 激活组中标志物 IL-10、IL-12、TNF-α, CD16/32、CD206 的基础水平分泌量, 统计学方法采用方差分析, 并进一步两两比较, 证明 Notch 信号通路对小胶质细胞 M1 激活途径及 M2 激活途径起到调控作用, 见图5、图6、表3、表4。

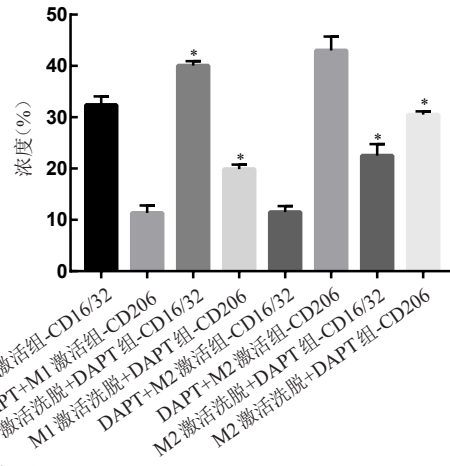
三、二甲胺四环素细胞毒性验证

二甲胺四环素对细胞的存活率检测, 分析不同浓度的二甲胺四环素对细胞存活率的影响, 随着二甲胺四环素浓度的增加, 在 0 μg/ml、5 μg/ml、10 μg/ml、20 μg/ml 中, 对小胶质细胞细胞增殖没有显著影响, 差异均无统计学意义(P>0.05), 证明二甲胺四环素对小胶质细胞无细胞毒性, 见图7。



注：“*”表示 P<0.01

图5 Notch 信号通路调控下 IL-12、TNF-α、IL-10 水平比较



注：“*”表示 P<0.01

图6 Notch 信号通路调控下细胞膜 CD16/32 及 CD206 蛋白表达水平比较

表3 Notch 信号通路调控下 IL-12、TNF-α、IL-10 水平比较($\bar{x}\pm s$, pg/ml)

组别	IL-10	TNF-α	IL-12
DAPT+M1 激活组	13.81±1.61	61.13±3.74	3.86±0.07
M1 激活洗脱+DAPT 组	25.85±2.70	82.58±2.55	4.59±0.14
t值	-6.646	-8.228	-8.014
P值	<0.01	<0.01	<0.01
DAPT+M2 激活组	48.39±3.40	20.81±1.70	1.27±0.15
M2 激活洗脱+DAPT 组	36.81±1.95	39.08±1.51	2.50±0.21
t值	5.113	-13.926	-8.342
P值	<0.01	<0.01	<0.01

表4 Notch 信号通路调控下细胞膜 CD16/32 及 CD206 蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$, %)

组别	CD16/32	CD206
DAPT+M1 激活组	32.38±1.68	11.37±1.42
M1 激活洗脱+DAPT 组	40.04±0.89	19.88±0.90
t值	-6.973	-8.761
P值	<0.01	<0.01
DAPT+M2 激活组	11.51±1.19	43.04±2.69
M2 激活洗脱+DAPT 组	22.54±2.23	30.54±0.61
t值	-7.567	7.863
P值	<0.01	<0.01

四、二甲胺四环素通过 Notch 信号通路对小胶质细胞的调控作用

随着二甲胺四环素浓度的增加, 在 0 μg/ml、5 μg/ml、10 μg/ml、20 μg/ml 中, 小胶质细胞 TNF-α、IL-12 分泌逐渐减少, IL-10 分泌逐渐增多, 统计学方

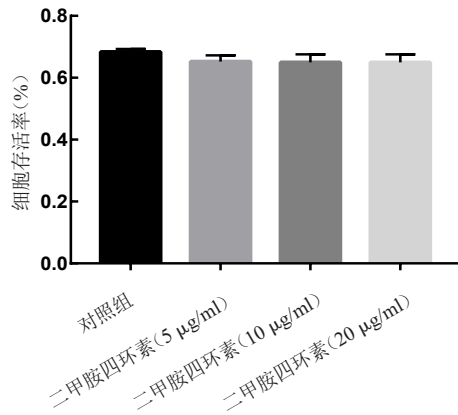


图7 不同浓度二甲胺四环素对细胞存活率影响

法采用方差分析,并进一步两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表5、图8。小胶质细胞可通过Notch信号通路下调CD16/32蛋白表达,上调CD206蛋白表达,统计学方法采用方差分析,并进一步两两比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见表6、图9。

讨 论

M1型可以释放如TNF- α 、IL-12等炎症因子,促进炎症反应发生,导致疾病的加重。M2型释放如IL-10等抗炎因子,加速疾病的康复。SCI发生后小胶质细胞如何提高M2型的比例,或者减少M1的比例,对于加速SCI患者康复至关重要。最近的研究提示,通过对小胶质细胞M1、M2之间极化的调节,是一种修复中枢神经损的方法。Tomas Drabek等^[19]的研究提示二甲胺四环素可以降低因长时间体温过低导致心脏骤停大鼠脑组织中的TNF- α 水平,对神经可能有保护作用。在以往的动物实验中,二甲胺四环素对急性脊髓损伤可以减小病变部位的大小,加速组织的康复^[20]。二甲胺四环素可能通过抑制小胶质细胞活化,减少细胞死亡和凋亡,调节促炎和抗炎细胞因子(IL-10)的产生^[21],抑制环氧化酶(COX)

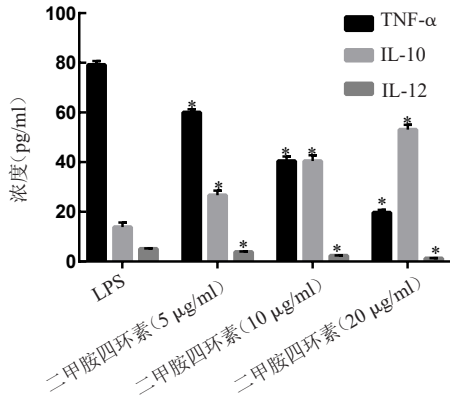
和脂肪氧化酶(LOX)等多种机制进行神经保护以及促进脊髓损伤的修复^[22]。Zahra Nazemi等^[23]的研究发现,米诺环素联和紫杉醇可用于治疗急性脊髓损伤的大鼠,在用药7 d后炎症就出现减轻,并且在28 d可以见到疤痕组织减少,神经元再生。但不同浓度的二甲胺四环素对小胶质细胞激活状态的影响目前尚不清楚。我们以此为研究进行实验。

首先我们从Wistar大鼠胎脑组织中成功分离培养出小胶质细胞,然后分别用LPS、IL-4激活小胶质细胞形成M1激活组和M2激活组,对两个激活组中TNF- α 、IL-12、IL-10、特异性抗原CD16/32及CD206蛋白的基础水平进行比较,结果提示差异有统计学意义($P < 0.05$),说明M1激活组和M2激活组两组之间的炎症因子和特异性抗原蛋白表达有差异,这验证了既往实验的结论,同时证明M1激活状态和M2激活状态诱导成功。M1小胶质细胞,其诱导iNOS和NF- κ B通路并产生各种促炎细胞因子,如TNF- α 、IL-1 β 和IL-6等^[24],本研究中M1激活组中TNF- α 、IL-12水平显著高于M2激活组,M1激活组中IL-10的水平显著低于M2激活组,TNF- α 和IL-12作为促炎因子对SCI预后不利,因此有必要在SCI后对M1型激活状态进行抑制,IL-10作为抗炎因子可以改善SCI预后,促进M2型的激活对加快SCI后预后有关键性作用。M1激活组中CD16/32水平显著高于M2激活组,M1激活组中CD206水平显著低于M2激活组,CD206是甘露糖受体1,是M2型细胞的标志物,具有高度特异性^[25],因此本研究中进一步验证将小胶质细胞有效诱导成M2型,甘露糖受体(MR, CD206)是微噬细胞和树突状细胞上的内吞受体,可以识别多种配体,并在调节免疫反应和维持糖蛋白稳态方面发挥重要作用^[26]。CD16/32是M1型细胞的标志物,也提示实验成功诱导M1型细胞。

以往的研究显示二甲胺四环素可以通过抑制大鼠脊髓Notch信号减弱糖尿病神经病变,改善预后^[27]。

表5 不同浓度二甲胺四环素对TNF- α 、IL-12、IL-10水平影响比较($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组别	TNF- α	IL-12	IL-10
LPS	79.22 \pm 1.53 ^{bcd}	5.13 \pm 0.72 ^{bcd}	13.87 \pm 1.80 ^{bcd}
二甲胺四环素(5 μ g/mL)+LPS	60 \pm 1.32 ^{acd}	3.86 \pm 0.83 ^{acd}	26.68 \pm 1.89 ^{acd}
二甲胺四环素(10 μ g/mL)+LPS	40.45 \pm 1.80 ^{abd}	2.36 \pm 0.59 ^{abd}	40.46 \pm 2.33 ^{abd}
二甲胺四环素(20 μ g/mL)+LPS	19.67 \pm 1.09 ^{abc}	1.29 \pm 0.11 ^{abc}	53.14 \pm 1.88 ^{abc}
F值	923.855	388.462	219.759
P值	<0.01	<0.01	<0.01

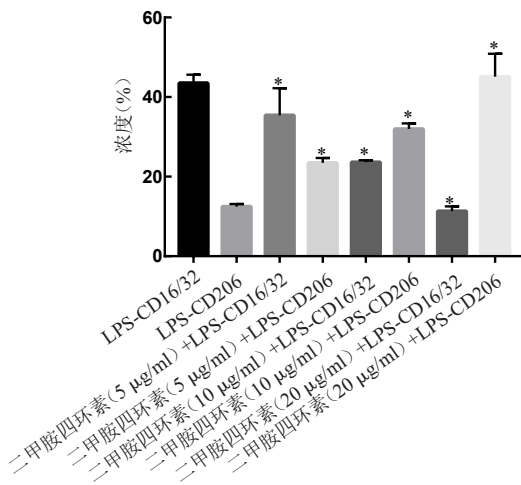


注：“*”表示与前组相比有差异 $P < 0.01$

图8 不同浓度二甲胺四环素对 TNF-α、IL-12、IL-10 水平影响比较

表6 不同浓度二甲胺四环素对 CD16/32 及 CD206 蛋白水平影响比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	CD16/32	CD206
LPS	43.51±2.10 ^{bd}	12.48±0.64 ^{bd}
二甲胺四环素 (5 μg/ml)+LPS	35.43±6.81 ^{acd}	23.45±1.21 ^{acd}
二甲胺四环素 (10 μg/ml)+LPS	23.60±0.54 ^{abd}	31.96±1.42 ^{abd}
二甲胺四环素 (20 μg/ml)+LPS	11.34±1.18 ^{abc}	45.13±5.72 ^{abc}
F值	45.095	62.324
P值	<0.01	<0.01



注：“*”表示与前组相比有差异 $P < 0.01$

图9 不同浓度二甲胺四环素对 CD16/32 及 CD206 蛋白水平影响比较

接着在研究中,我们通过取对数生长期状态良好的小胶质细胞分为四组进行实验,证明 Notch 信号通路对小胶质细胞 M1 激活途径及 M2 激活途径起到调控作用。接下来我们通过分析不同浓度的二甲胺四环素对细胞存活率的影响判断二甲胺四环素的毒

性,经过实验提示不同浓度的二甲胺四环素对细胞存活率影响没有显著差异,证明二甲胺四环素对小胶质细胞无细胞毒性。最后我们的实验结果提示在 0 μg/ml、5 μg/ml、10 μg/ml、20 μg/ml 浓度的二甲胺四环素作用下, TNF-α 和 IL-12 分泌随着二甲胺四环素浓度的增加而逐渐减少,而 IL-10 则逐渐增加,这提示二甲胺四环素在一定浓度下可以增加抗炎因子,促进 M2 激活状态,减少促炎因子,抑制 M1 激活状态,以此产生缓解炎症的作用。CD16/32 蛋白表达随二甲胺四环素浓度的增加逐渐降低, CD206 蛋白表达则逐渐增加。总的来说,本研究提示 20 μg/ml 浓度下的二甲胺四环素将激活的小胶质细胞从极化 M1 表型转化为 M2 表型效果最明显,增加抗炎作用,通过体外实验观察小胶质细胞的不同类型极化所产生的促炎和抗炎因子水平变化并确定合适的治疗浓度,为体内实验提供理论基础,以期为 SCI 后减轻炎症反应探索治疗新思路,但是二甲胺四环素诱导小胶质细胞极化变化的分子机制尚不清楚。本研究也有局限,我们只进行了二甲胺四环素体外对细胞的试验,人体复杂的内环境能否得到相似的结果,未来仍需要进一步的试验验证。

综上所述,本研究证实二甲胺四环素随着浓度的增加,可以调控小胶质细胞极化,使小胶质细胞从促炎表型向抗炎表型的极化,抑制 SCI 后的炎症反应,进而改善 SCI 患者的预后。这项研究为二甲胺四环素在治疗小胶质细胞介导的 SCI 中的作用提供了新的思路。目前对小胶质细胞活化机制的研究尚不完善,在未来对其分子基础的探索将会为 SCI 的治疗提供新的理解。同时验证了 Notch 通路对小胶质细胞调控的重要性,为 SCI 的免疫治疗提供了靶点和依据。

参 考 文 献

- 李忠辉,于涛,张晓艳. 椎弓根螺钉固定联合椎体成形术治疗老年胸腰段骨折的初步疗效观察[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2021, 7(1):7.
- 徐艳松, 罗大卿, 潘文辉, 等. 创伤性颈脊髓损伤的流行病学分析[J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 028(001): 84-89.
- Singh A, Tetreault L, Kalsi-Ryan S, et al. Global prevalence and incidence of traumatic spinal cord injury [J]. Clin Epidemiol, 2014, 6(6): 309-331.
- Badhiwala JH, Christopher SA, Fehlings MG. Time is spine: a review of translational advances in spinal cord injury [J]. J Neurosurg Spine, 2019, 30(1): 1-18.
- 王治乾,付明明,尹英超,等. 新型冠状病毒肺炎疫情期间老年患者骨

- 折流行病学特点分析[J].中华老年骨科与康复电子杂志,2020,6(01):3-9.
- 6 Ulndreaj A, Chio JC, Ahuja CS, et al. Modulating the immune response in spinal cord injury [J]. *Expert Rev Neurother*, 2016, 16(10): 1127-1129.
- 7 Okano H, Yamanaka S. iPS cell technologies: significance and applications to CNS regeneration and disease [J]. *Mol Brain*, 2014, 7(1): 22.
- 8 Tafida MA, Wagatsuma Y, Ma E, et al. Descriptive epidemiology of traumatic spinal injury in Japan [J]. *J Orthop Sci*, 2018, 23(2): 273-276.
- 9 Fehlings M G, Tetreault L, Nater A, et al. The Aging of the Global Population: The Changing Epidemiology of Disease and Spinal Disorders [J]. *Neurosurgery*, 2015, 77 Suppl 4: S1-S5.
- 10 Fehlings MG, Martin AR, Tetreault LA, et al. A clinical practice guideline for the management of patients with acute spinal cord injury: recommendations on the role of baseline magnetic resonance imaging in clinical decision making and outcome prediction [J]. *Global Spine J*, 2017, 7(3 suppl): 221S-230S.
- 11 陈锴, 蔡梦溪, 晏梓钧, 等. 小胶质细胞 M1/M2 极化状态在脊髓损伤中作用的研究进展 [J]. *脊柱外科杂志*, 2019, 17(3): 216-219.
- 12 Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets [J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(11): 723-737.
- 13 Aceves M, Terminel MN, Okoreeh A, et al. Morphine increases macrophages at the lesion site following spinal cord injury: Protective effects of minocycline [J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 79: 125-138.
- 14 Ahuja CS, Nori S, Tetreault L, et al. Traumatic spinal cord Injury-Repair and regeneration [J]. *Neurosurgery*, 2017, 80(3S): S9-S22.
- 15 Mizuguchi R, Kriks S, Cordes R, et al. Ascl1 and Gsh1/2 control inhibitory and excitatory cell fate in spinal sensory interneurons [J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9(6): 770-778.
- 16 Xie K, Qiao F, Sun Y, et al. Notch signaling activation is critical to the development of neuropathic pain [J]. *BMC Anesthesiol*, 2015, 15(1): 41.
- 17 Patel M, Anderson J, Lei S, et al. Nkx6.1 enhances neural stem cell activation and attenuates glial scar formation and neuroinflammation in the adult injured spinal cord[J].*Experimental Neurology*,2021, 345: 113826.
- 18 Givogri MI, De PM, Galbiati F, et al. Notch signaling in astrocytes and neuroblasts of the adult subventricular zone in health and after cortical injury [J]. *Dev Neurosci*, 2006, 28(1/2): 81-91.
- 19 Drabek T, Janata A, Wilson CD, et al. Minocycline attenuates brain tissue levels of TNF- α produced by neurons after prolonged hypothermic cardiac arrest in rats-ScienceDirect [J]. *Resuscitation*, 2014, 85(2): 284-291.
- 20 Moini ZT, Ostad SN, Labibi F, et al. Minocycline effects on IL-6 concentration in macrophage and microglial cells in a rat model of neuropathic pain [J]. *Iran Biomed J*, 2016, 20(5): 273 - 279.
- 21 Thompson CD, Zurko JC, Hanna BF, et al. The therapeutic role of interleukin-10 after spinal cord injury [J]. *J Neurotrauma*, 2013, 30(15): 1311-1324.
- 22 Afshari K, Momeni RN, Lashgari NA, et al. Antibiotics with therapeutic effects on spinal cord injury: a review [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2021, 35(2): 277-304.
- 23 Nazemi Z, Nourbakhsh MS, Kiani S, et al. Co-delivery of minocycline and paclitaxel from injectable hydrogel for treatment of spinal cord injury [J]. *J Control Release*, 2020, 321: 145-158.
- 24 Tang Y, Le W. Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases [J]. *Molecular Neurobiology*, 2016, 53 (2): 1181-1194.
- 25 Yang Y, Cheng S, Liang G, et al. Celastrol inhibits cancer metastasis by suppressing M2-like polarization of macrophages [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 503(2): 414-419.
- 26 Hu Z, Shi X, Yu B, et al. Structural Insights into the pH-Dependent Conformational Change and Collagen Recognition of the Human Mannose Receptor [J]. *Structure*, 2016, 26(1): 60-71.
- 27 Yang C, Gao J, Wu B, et al. Minocycline attenuates the development of diabetic neuropathy by inhibiting spinal cord Notch signaling in rat [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94: 380-385.

(收稿日期:2021-11-15)

(本文编辑:吕红芝)

左安俊, 欧振飞, 王天瑞, 等. 二甲胺四环素对小胶质细胞激活状态影响的研究 [J/CD]. *中华老年骨科与康复电子杂志*, 2022, 8(3): 152-158.