

DOI: 10.13376/j.cblls/2014087

文章编号: 1004-0374(2014)06-0620-06



李慧泉, 博士。本实验室的主要研究方向为: (1) 胶质细胞释放ATP对突触可塑性的调节机制; (2) 神经元突触囊泡转运释放机制; (3) 小胶质细胞囊泡转运释放机制; (4) 神经元早期网络形成; (5) 情绪和情绪相关疾病的神经环路基础。

小胶质细胞在脑中的生理功能

李慧泉*, 陈 聪, 娄绘芳, 段树民
(浙江大学医学院, 杭州 310058)

摘 要: 小胶质细胞是脑中的巨噬细胞, 也是脑实质中唯一的一种免疫细胞, 因而被看作是中枢神经系统抵御病原入侵的第一道防线。在其他非感染病理状态下, 如脑损伤及神经退行性疾病等, 小胶质细胞也发挥着保护和毒性损伤的双重作用。相比较其病理功能, 人们对小胶质细胞的生理功能长期以来很少关注。然而, 近几年关于小胶质细胞生理功能的研究在多个方面都有突破。这些研究结果揭示, 小胶质细胞在发育的神经系统中起着调控神经元存活和修饰突触的作用, 并且在成熟的健康脑中具有探测和调控神经元活动的功能。将着重对近几年关于小胶质细胞生理功能的相关研究做一综述。

关键词: 小胶质细胞; 神经系统发育; 神经环路维系

中图分类号: Q25; Q42 **文献标志码:** A

The multiple roles played by microglia

LI Hui-Quan*, CHEN Cong, LOU Hui-Fang, DUAN Shu-Min
(School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Microglia are the macrophages in the brain and are the only subset of immune cells in the brain parenchyma. Previous studies about microglia have been mainly focusing on their protection of the brain from pathogen invasions and their protective or toxic roles in the degenerative diseases. In contrast to the abundant knowledge of their pathological roles, little is known about the physiological functions of microglia. Interestingly, recent studies have revealed that microglia play key roles in both the developmental and the mature healthy brains. During the neural development, microglia regulate neurogenesis as well as neuronal death and play key roles in synapse pruning. In the mature healthy brains, microglia detect and regulate neuronal activities. In this review, we will focus on the most recent discoveries of microglial functions in the healthy brain.

Key words: microglia; neural development; neural circuit homeostasis

收稿日期: 2014-02-26

*通信作者: E-mail: huiquan.louise.li@gmail.com

小胶质细胞是脑内的巨噬细胞。人们以往对小胶质细胞的研究,主要集中在活化的小胶质细胞的病理功能;生理状态下“静息”的小胶质细胞则被认为处于休眠状态,没有实质的功能^[1]。然而,随着近些年双光子显微成像技术的发展,人们逐渐发现静息型小胶质细胞在健康的脑内也有非常活跃的形态变化;虽然小胶质细胞的胞体很少发生位移,但其分枝却在不停地快速舞动^[2]。因而,人们猜测这些舞动的分枝可能是在探测周围组织,监控神经元的活动。因此,近几年来,小胶质细胞的生理功能受到前所未有的关注,并被多家实验室争相报道,成为现今神经科学领域的一个热点^[3]。

1 小胶质细胞的发育

小胶质细胞在脑中约占10%,这一比例在不同的脑区有所差异,通常介于5%~20%之间^[1]。在发育过程中,小胶质细胞与神经元和大胶质细胞(macrogliia)的来源不同,后两者来源于外胚层,而小胶质细胞作为一种巨噬细胞,来源于中胚层^[4]。通常,巨噬细胞是由骨髓源造血细胞分化而来的。然而,近几年不少研究表明小胶质细胞作为脑中的巨噬细胞,并非由骨髓源造血细胞产生的^[5],而是由卵黄囊中的原始巨噬细胞(primitive macrophage)产生的^[5]。在原始造血过程(primitive hematopoiesis)中,原始巨噬细胞首先迁移到发育的神经管,然后在那里分化为小胶质细胞^[5]。有趣的是,卵黄囊原始巨噬细胞的发育不需要转录因子Myb的调控,而Myb作为调控干细胞发育的经典转录因子,对造血干细胞的成熟起着调控作用^[6-7]。此外,外周的巨噬细胞本身不具有分化能力,需要由骨髓源的造血干细胞分化补充,而小胶质细胞则是由脑中的前体细胞直接增殖分化补充的^[5]。当血脑屏障受到破坏时,骨髓源单核细胞会进入脑内,并在脑内环境中表现出一些小胶质细胞的特征,然而这些入侵的骨髓源单核细胞是否能整合到小胶质细胞的功能网络中目前仍不清楚^[8]。由此可见,小胶质细胞的发生和补充与其他类型的巨噬细胞有很大差异。

2 小胶质细胞的活化

生理状态下的小胶质细胞的胞体较小,突起较长,呈多分枝状,因此被称为分枝样小胶质细胞(ramified microglia),又称静息型小胶质细胞(resting microglia)。在病理状态下,包括在脑损伤、病原入侵以及退行性疾病中,小胶质细胞的胞体变大,分

枝回缩变得粗短,呈现阿米巴虫样的典型巨噬细胞形态,因此被称为阿米巴样小胶质细胞(amoebic microglia)。这种状态下的小胶质细胞,其迁移、吞饮以及释放细胞因子的能力都会增强,因此也被称为活化型小胶质细胞(reactive microglia)(如图1所示)^[1]。

小胶质细胞在两种状态下的转换受到多种信号分子调控。简而言之,调控小胶质细胞的信号可以被分为“启动”和“关闭”两种^[9]。启动信号指的是可以使小胶质细胞从静息状态转化为活化状态的信号分子,广义的“启动”信号还包括其他可以促进小胶质细胞迁移、吞饮以及释放炎症因子等功能的分子。损伤的神经元会释放大量的“启动”信号激活小胶质细胞^[9]。这些信号分子可以分为细胞膜结合的和游离的两种形式。游离的“启动”信号包括趋化因子^[10-11]、核酸^[12-13]、谷氨酸^[14]以及MMP3^[15]分子等。目前发现的膜结合启动分子只有TREM2分子^[9]。凋亡神经元的细胞膜表面会表达TREM2分子,而TREM2可作为“启动”信号诱导小胶质细胞吞噬这些凋亡的神经元^[16]。“关闭”信号是神经元释放的用来维系小胶质细胞静息状态的信号分子。炎症状态下,小胶质细胞的过度活化会促使神经元死亡,而健康的神经元释放的“关闭”信号可以抑制小胶质细胞的过度活化,从而起到保护作用。然而,健康脑内的小胶质细胞是否被这些信号分子维系在“静息”状态,还需进一步研究^[9]。同样的,“关闭”信号也可分为细胞膜结合的和游离的两种形式。已报道的游离的关闭信号分子包括CX3CL1、CD22以及多种神经递质和神经营养因子^[17-20]。这些信号分子是通过何种途径被神经元释放的,到目前这还不明确。已经发现的细胞膜结合的“关闭”信号分子包括IgSF蛋白家族的几个成员,这些分子可能通过神经元和小胶质细胞的直接接触来抑制小胶质细胞的活化^[21]。而细胞膜结合的

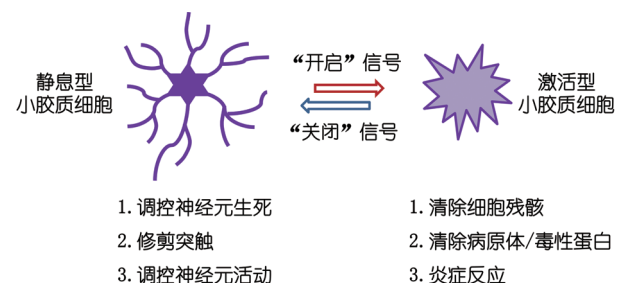


图1 小胶质细胞的活化

CX3CL1 分子是否有“关闭”小胶质细胞活化的功能至今尚不明确^[9]。

3 小胶质细胞的生理功能

3.1 小胶质细胞调控神经元的生死

在神经系统发育过程中,会有大量神经元凋亡,而小胶质细胞可以通过吞噬作用清除凋亡的神经元^[22]。人们以往猜测的是,只有活化的小胶质细胞才可以清除凋亡神经元。然而,最近的研究表明在发育过程中,静息型小胶质细胞可以通过突起末端(process terminal)吞噬海马齿状回颗粒细胞层凋亡的新生神经元,这说明静息型的小胶质细胞也具有清除凋亡神经元的功能^[23]。

有趣的是,近几年的研究发现小胶质细胞不仅可以清除凋亡的神经元,还可以调控神经元的生死。Marin-Teva等^[24]在小鼠离体培养的脑片中发现,去除小胶质细胞能够降低小脑部位新生神经元的凋亡,从而说明小胶质细胞会促进发育时期神经元的凋亡。然而在在体情况下,以及在其他不同脑区,小胶质细胞是否能够影响神经元的凋亡还有待进一步的研究。

海马是神经发生(neurogenesis)的主要部位之一^[25]。近期有研究发现,与在普通环境下生长的小鼠相比,在丰富环境(enriched environment)中生长的小鼠脑中新生神经元和小胶质细胞的数目都会增多;而且,在免疫缺陷的小鼠中,神经发生也会受到影响,新生神经元的数目会减少^[26]。这些研究提示,小胶质细胞的数量和功能与神经发生存在正相关的关系。最近的两篇报道则直接揭示了小胶质细胞对神经发生的调控作用。2011年,Rogers等^[27]发现,特异性敲除小胶质细胞的趋化因子受体CX3CR1之后,小鼠脑内的神经发生和小鼠的学习记忆都受到影响。2012年,Vukovic等^[28]将自愿运动或不运动的小鼠脑内的小胶质细胞提取出来加到神经干细胞球中,发现经过运动训练的小鼠脑内的小胶质细胞比不运动的小鼠的小胶质细胞对神经干细胞再生的促进作用明显增强。这些研究结果均提示,小胶质细胞对神经发生有调控作用。至于在神经发生过程中,小胶质细胞具体行使着什么样的功能还需要进一步的研究。

3.2 小胶质细胞在突触修剪中的作用

小胶质细胞病理情况下对突触的修剪早在1968年就被报道^[29]。Blinzinger和Kreutzberg^[29]以及Kettenmann等^[30]发现,面神经核的轴突损坏会

诱发小胶质细胞活化,继而引起小胶质细胞释放多种炎症因子,促进自身的增殖、迁移和吞噬,从而清除损坏的轴突。而小胶质细胞在健康脑中对突触的修剪作用则是近几年才被发现的。

补体系统是免疫细胞清除病原体的方式之一,主要作用过程为:C1q识别需要被清除的病原体,继而诱发级联补体反应,当C3被募集至C1q上时,免疫细胞可通过自身表达的C3R受体识别C3,继而将病原体吞噬^[31]。有意思的是,Stevens等^[32]发现,补体系统中的C1q表达于神经元的突触上,而且敲除C1q会导致发育过程中外膝体(LGN)多余的神经元轴突无法被清除^[32]。他们进一步研究发现,敲除小胶质细胞的C3R也会导致LGN多余的神经元轴突无法被清除^[33]。这些研究表明,在健康脑内小胶质细胞对突触前结构有修剪作用。

Paolicelli等^[34]几乎在同期发现,发育过程中小胶质细胞可以清除多余的突触后结构。在小胶质细胞趋化因子受体CX3CR1功能受损的成年小鼠脑内,神经元的树突棘增多,微小兴奋性突触后电位(miniature excitatory postsynaptic potential, mEPSP)的幅度和频率都升高,神经环路处于不成熟的状态。这一研究表明,小胶质细胞对突触后结构也有修剪作用。CX3CR1是一种趋化因子受体,但是为何它的缺失能够导致小胶质细胞突触修剪的功能障碍还不得知。

3.3 小胶质细胞在神经环路中的作用

从发现小胶质细胞开始,人们一直想找到小胶质细胞与神经活动,特别是突触活动的关系,但一直没有找到有力的证据来证明两者存在联系。近些年来,随着显微成像技术的发展,人们找到了一些证据来证明小胶质细胞对突触活动有着调节作用。Tremblay等^[35]使用结合了三维重构技术的透射电镜以及双光子成像技术,发现小胶质细胞的突起与突触部位有着亲密接触,并且两者之间的距离与神经元活动水平相关。Li等^[36]在斑马鱼中用在体双光子实时成像方法,发现神经元的活动增强会吸引小胶质细胞的突起向其附近延伸,而小胶质细胞的突起能够使神经元的活动受到抑制,起到负反馈调节的作用。这些研究十分生动地描述了小胶质细胞在成熟脑中对于突触功能的调节作用。此过程中的细胞之间信号传递的机制尚需进一步探讨。

3.4 小胶质细胞缺失对神经系统的影响

将小胶质细胞的缺失和神经系统疾病联系起来有助于理解小胶质细胞的生理功能。Grathwohl等^[37]

在成熟的阿尔兹海默氏症小鼠中去除小胶质细胞 4 周后, 观察到去除小胶质细胞对脑中的淀粉样板块的沉积数量没有影响, 这使得人们开始怀疑小胶质细胞在健康脑中的作用。然而, 近几年的部分研究提示, 小胶质细胞的功能缺失实则与多种神经系统疾病有关。

蕾特氏症是自闭症的一种。这种疾病是由 *MECP2* 基因的缺失造成的。Derecki 等^[38] 发现将野生型小鼠的骨髓移植到 *Mecp2* 缺失的小鼠脑皮层中, 可使蕾特氏症的病情得到缓解; 此外, 在 *Mecp2lox/Lysmcre* 的转基因小鼠中特异性地在小胶质细胞中重表达 *Mecp2*, 也可使得蕾特氏症的病情得到缓解, 说明小胶质细胞的功能与蕾特氏症的病症有密切的关联。由于这一现象发现于出生后 28 天的小鼠, 而对出生后 40 天的小鼠进行基因操作不会影响病症, 因此, 小胶质细胞可能是通过调控神经元发育来影响蕾特氏症的病情发展。

另外, 也有报道称强迫性障碍症 (obsessive compulsive disorder, OCD) 与小胶质细胞有关。转录因子 *Hoxb8* 的功能变异会导致小鼠强迫性梳理和撕扯毛发, 这一现象可以通过移植野生型骨髓源细胞得到改善。并且, 在特异性敲除小胶质细胞 *Hoxb8* 基因的小鼠中也可以观察到强迫症的行为。由于移植实验是在成年小鼠 (两月龄) 中完成的, 因此, 该研究揭示了小胶质细胞在成年脑中的作用^[39]。然而, 在这一过程中, 小胶质细胞是否直接作用于神经环路还不得而知。移植骨髓源细胞可以增强小鼠的免疫力, 而敲除免疫细胞内的 *Hoxb8* 可能降低免疫力, 这些因素都可能导致小鼠对外界真菌、细菌的抵抗力下降, 从而造成皮肤感染, 进而过度挠抓。该研究并未对这一可能性进行排除, 因此, 小胶质细胞缺失 *Hoxb8* 造成的强迫性障碍是由于小胶质细胞对神经环路的直接作用还是免疫细胞功能丧失导致的副效应还有待进一步研究。

4 调控小胶质细胞活动的信号分子

现阶段, 人们对小胶质细胞生理功能的研究多为对现象的描述, 而对机制了解得很少。如前所述, 小胶质细胞对突触前的修剪是通过突触上的 C1q 引起级联反应从而诱导小胶质细胞对 C3R 产生吞噬反应来完成的^[40]。有研究表明, 神经元细胞膜上唾液酸分布调控了 C1q 对神经元突触前的标记过程^[41]。目前为止, 小胶质细胞对突触后的修剪机制尚不明确。

小胶质细胞调控神经元生死以及维系神经环路的机制也都有待研究, 其中小胶质细胞调控神经环路的机制已有一些线索。

2012 年, Pascual 等^[42] 在小鼠脑片中加入脂多糖 (LPS) 诱导小胶质细胞活化, 发现小胶质细胞的活化可以引起自发性 EPSP 的频率升高, 他们进一步证明小胶质细胞对神经元活动的调节是通过星形胶质细胞完成的。这一过程为: LPS 诱导小胶质细胞释放 ATP, ATP 继而活化星形胶质细胞的 P2Y1 受体, 使得星形胶质细胞释放谷氨酸作用于神经上 mGluR 受体, 从而诱发 EPSP。虽然 LPS 并非生理刺激, 但该报导为研究小胶质细胞调控神经元活动的机制提供了线索。

在阿尔兹海默氏症 (Alzheimer's disease, AD) 中, 可溶性的 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 的过量堆积是引起神经元功能紊乱的重要原因^[43-44]; 与此同时, $A\beta$ 作为调控突触活动的信号分子, 又是神经元正常活动所必需的^[45], 因此, 胞外 $A\beta$ 的含量应受到精确的调控。本实验室的研究发现, 可溶性 $A\beta$ 可以刺激小胶质细胞释放 ATP, 而 ATP 可以通过 P2Y4 受体以及下游的 PI3K/AKT 通路诱导小胶质细胞的胞饮, 从而清除可溶性 $A\beta$ ^[46]。这一研究不仅为阿尔兹海默氏症的治疗提供潜在靶点, 也为小胶质细胞与神经元之间的信号交流提供线索。如果在生理情况下, $A\beta$ 同样可以引起小胶质细胞活化并清除 $A\beta$, 那么这一反馈通路可能对脑内可溶性 $A\beta$ 浓度的调节起着重要作用, 也因此可能是小胶质细胞调控神经元活动的机制。

其实, 星形胶质细胞、神经元和小胶质细胞都表达多种核苷酸受体, 因此, 核苷酸可能同时通过其他调节方式起作用^[48]。已有研究表明, 核苷和核苷酸可以调节神经元的活动, 影响神经元的发育^[49-51]。此外, 核苷和核苷酸也可以通过多种受体调控小胶质细胞的活动, 如核苷 (adenosine) 可以通过 A_2A 受体诱发小胶质细胞的突起回缩及细胞活化^[52]; ATP 可以通过 P2X₄、P2Y₁、P2Y₁₂ 受体诱导小胶质细胞的迁移^[53-55]; UDP 可通过 P2Y₆ 受体诱导小胶质细胞的吞噬^[13]; ATP 和 UTP 可以通过 P2Y₄ 受体诱导小胶质细胞的胞饮^[46]。因此, 在生理条件下, 核苷酸及其受体可能作为信号分子在小胶质细胞与神经元的沟通中起作用。虽然在健康脑中小胶质细胞释放 ATP 的机制尚不清楚, 已有研究发现病理状态下小胶质细胞释放 ATP 的机制。本实验室还发现, 在应激状态下小胶质细胞可通过溶酶体释放 ATP,

而且这种释放机制与小胶质细胞的长距离迁移有着密切联系^[47]。

除此之外,趋化因子、神经递质、黏附分子以及多种肽段都可能影响小胶质细胞的活动^[9],因此也可能作为信号分子调控小胶质细胞在健康脑中的功能。

5 总结与展望

对小胶质细胞生理功能的研究已经在多个方向有所突破,包括小胶质细胞对神经元生死的调控、在突触修剪中的作用以及对环路稳态的维系作用等。然而,小胶质细胞作为脑内十分特殊且重要的细胞,其生理功能可能并不局限于此。随着技术的发展,人们今后或许可以更清楚地认识小胶质细胞对神经系统的贡献。此外,小胶质细胞究竟是通过何种方式来完成这些功能也是重要的问题,关于调节生理功能的机制研究也将是研究小胶质细胞功能的主要方向之一。

[参 考 文 献]

- [1] Barron KD. The microglial cell. A historical review. *J Neurol Sci*, 1995, 134 Suppl: 57-68
- [2] Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma *in vivo*. *Science*, 2005, 308(5726): 1314-8
- [3] Tremblay ME, Stevens B, Sierra A, et al. The role of microglia in the healthy brain. *J Neurosci*, 2011, 31(45): 16064-9
- [4] Chan WY, Kohsaka S, Rezaie P. The origin and cell lineage of microglia: new concepts. *Brain Res Rev*, 2007, 53(2): 344-54
- [5] Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science*, 2010, 330(6005): 841-5
- [6] Kierdorf K, Erny D, Goldmann T, et al. Microglia emerge from erythromyeloid precursors via Pu.1- and Irf8-dependent pathways. *Nat Neurosci*, 2013, 16(3): 273-80
- [7] Ramsay RG, Gonda TJ. MYB function in normal and cancer cells. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(7): 523-34
- [8] Ajami B, Bennett JL, Krieger C, et al. Infiltrating monocytes trigger EAE progression, but do not contribute to the resident microglia pool. *Nat Neurosci*, 2011, 14(9): 1142-9
- [9] Biber K, Neumann H, Inoue K, et al. Neuronal 'On' and 'Off' signals control microglia. *Trends Neurosci*, 2007, 30(11): 596-602
- [10] de Jong EK, Dijkstra IM, Hensens M, et al. Vesicle-mediated transport and release of CCL21 in endangered neurons: a possible explanation for microglia activation remote from a primary lesion. *J Neurosci*, 2005, 25(33): 7548-57
- [11] Klein RS, Lin E, Zhang B, et al. Neuronal CXCL10 directs CD8⁺ T-cell recruitment and control of West Nile virus encephalitis. *J Virol*, 2005, 79(17): 11457-66
- [12] Wang X, Arcuino G, Takano T, et al. P2X7 receptor inhibition improves recovery after spinal cord injury. *Nat Med*, 2004, 10(8): 821-7
- [13] Koizumi S, Shigemoto-Mogami Y, Nasu-Tada K, et al. UDP acting at P2Y6 receptors is a mediator of microglial phagocytosis. *Nature*, 2007, 446(7139): 1091-5
- [14] Pocock JM, Kettenmann H. Neurotransmitter receptors on microglia. *Trends Neurosci*, 2007, 30(10): 527-35
- [15] Rosenberg GA. Matrix metalloproteinases in neuroinflammation. *Glia*, 2002, 39(3): 279-91
- [16] Neumann H, Takahashi K. Essential role of the microglial triggering receptor expressed on myeloid cells-2 (TREM2) for central nervous tissue immune homeostasis. *J Neuroimmunol*, 2007, 184(1-2): 92-9
- [17] Bajetto A, Bonavia R, Barbero S, et al. Chemokines and their receptors in the central nervous system. *Front Neuroendocrinol*, 2001, 22(3): 147-84
- [18] Mott RT, Ait-Ghezala G, Town T, et al. Neuronal expression of CD22: novel mechanism for inhibiting microglial proinflammatory cytokine production. *Glia*, 2004, 46(4): 369-79
- [19] Venero JL, Santiago M, Tomas-Camardiel M, et al. DCG-IV but not other group-II metabotropic receptor agonists induces microglial BDNF mRNA expression in the rat striatum. Correlation with neuronal injury. *Neuroscience*, 2002, 113(4): 857-69
- [20] Inoue K. The function of microglia through purinergic receptors: neuropathic pain and cytokine release. *Pharmacol Ther*, 2006, 109(1-2): 210-26
- [21] Streit WJ. Microglia as neuroprotective, immunocompetent cells of the CNS. *Glia*, 2002, 40(2): 133-9
- [22] Peri F, Nusslein-Volhard C. Live imaging of neuronal degradation by microglia reveals a role for v0-ATPase a1 in phagosomal fusion *in vivo*. *Cell*, 2008, 133(5): 916-27
- [23] Sierra A, Encinas JM, Deudero JJ, et al. Microglia shape adult hippocampal neurogenesis through apoptosis-coupled phagocytosis. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(4): 483-95
- [24] Marin-Teva JL, Dusart I, Colin C, et al. Microglia promote the death of developing Purkinje cells. *Neuron*, 2004, 41(4): 535-47
- [25] Inokuchi K. Adult neurogenesis and modulation of neural circuit function. *Curr Opin Neurobiol*, 2011, 21(2): 360-4
- [26] Ziv Y, Ron N, Butovsky O, et al. Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. *Nat Neurosci*, 2006, 9(2): 268-75
- [27] Rogers JT, Morganti JM, Bachstetter AD, et al. CX3CR1 deficiency leads to impairment of hippocampal cognitive function and synaptic plasticity. *J Neurosci*, 2011, 31(45): 16241-50
- [28] Vukovic J, Colditz MJ, Blackmore DG, et al. Microglia modulate hippocampal neural precursor activity in response to exercise and aging. *J Neurosci*, 2012, 32(19): 6435-43
- [29] Blinzinger K, Kreutzberg G. Displacement of synaptic

- terminals from regenerating motoneurons by microglial cells. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 1968, 85(2): 145-57
- [30] Kettenmann H, Kirchhoff F, Verkhratsky A. Microglia: new roles for the synaptic stripper. *Neuron*, 2013, 77(1): 10-8
- [31] Brennan FH, Anderson AJ, Taylor SM, et al. Complement activation in the injured central nervous system: another dual-edged sword? *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 137
- [32] Stevens B, Allen NJ, Vazquez LE, et al. The classical complement cascade mediates CNS synapse elimination. *Cell*, 2007, 131(6): 1164-78
- [33] Schafer DP, Lehrman EK, Kautzman AG, et al. Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron*, 2012, 74(4): 691-705
- [34] Paolicelli RC, Bolasco G, Pagani F, et al. Synaptic pruning by microglia is necessary for normal brain development. *Science*, 2011, 333(6048): 1456-8
- [35] Tremblay ME, Lowery RL, Majewska AK. Microglial interactions with synapses are modulated by visual experience. *PLoS Biol*, 2010, 8(11): e1000527
- [36] Li Y, Du XF, Liu CS, et al. Reciprocal regulation between resting microglial dynamics and neuronal activity *in vivo*. *Dev Cell*, 2012, 23(6): 1189-202
- [37] Grathwohl SA, Kalin RE, Bolmont T, et al. Formation and maintenance of Alzheimer's disease β -amyloid plaques in the absence of microglia. *Nat Neurosci*, 2009, 12(11): 1361-3
- [38] Derecki NC, Cronk JC, Lu Z, et al. Wild-type microglia arrest pathology in a mouse model of Rett syndrome. *Nature*, 2012, 484(7392): 105-9
- [39] Chen SK, Tvrdik P, Peden E, et al. Hematopoietic origin of pathological grooming in Hoxb8 mutant mice. *Cell*, 2010, 141(5): 775-85
- [40] Stephan AH, Barres BA, Stevens B. The complement system: an unexpected role in synaptic pruning during development and disease. *Annu Rev Neurosci*, 2012, 35: 369-89
- [41] Linnartz B, Kopatz J, Tenner AJ, et al. Sialic acid on the neuronal glycocalyx prevents complement C1 binding and complement receptor-3-mediated removal by microglia. *J Neurosci*, 2012, 32(3): 946-52
- [42] Pascual O, Ben Achour S, Rostaing P, et al. Microglia activation triggers astrocyte-mediated modulation of excitatory neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(4): E197-205
- [43] Hsia AY, Masliah E, McConlogue L, et al. Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(6): 3228-33
- [44] Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 2002, 297(5580): 353-6
- [45] Abramov E, Dolev I, Fogel H, et al. Amyloid- β as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nat Neurosci*, 2009, 12(12): 1567-76
- [46] Li HQ, Chen C, Dou Y, et al. P2Y4 receptor-mediated pinocytosis contributes to amyloid β -induced self-uptake by microglia. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(21): 4282-93
- [47] Dou Y, Wu HJ, Li HQ, et al. Microglial migration mediated by ATP-induced ATP release from lysosomes. *Cell Res*, 2012, 22(6): 1022-33
- [48] Del Puerto A, Wandosell F, Garrido JJ. Neuronal and glial purinergic receptors functions in neuron development and brain disease. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7: 197
- [49] Koles L, Leichsenring A, Rubini P, et al. P2 receptor signaling in neurons and glial cells of the central nervous system. *Adv Pharmacol*, 2011, 61: 441-93
- [50] Fields RD, Burnstock G. Purinergic signalling in neuron-glia interactions. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7(6): 423-36
- [51] Dietz B, Jovanovic S, Wielsch B, et al. Purinergic modulation of neuronal activity in developing auditory brainstem. *J Neurosci*, 2012, 32(31): 10699-712
- [52] Orr AG, Orr AL, Li XJ, et al. Adenosine A(2A) receptor mediates microglial process retraction. *Nat Neurosci*, 2009, 12(7): 872-8
- [53] Horvath RJ, DeLeo JA. Morphine enhances microglial migration through modulation of P2X4 receptor signaling. *J Neurosci*, 2009, 29(4): 998-1005
- [54] De Simone R, Niturad CE, De Nuccio C, et al. TGF- β and LPS modulate ADP-induced migration of microglial cells through P2Y1 and P2Y12 receptor expression. *J Neurochem*, 2010, 115(2): 450-9
- [55] Haynes SE, Hollopeter G, Yang G, et al. The P2Y12 receptor regulates microglial activation by extracellular nucleotides. *Nat Neurosci*, 2006, 9(12): 1512-9