

DOI: 10.13376/j.cblls/2023023

文章编号: 1004-0374(2023)02-0165-08

脑膜淋巴管重塑在中枢神经系统疾病中的研究进展

李建涛, 陈志毅, 齐淑雅, 黄青芸, 谭国鹤*

(广西脑科学研究重点实验室, 广西医科大学神经科学研究所, 广西医科大学基础医学院人体解剖学教研室, 南宁 530021)

摘要: 近年来, 随着脑膜淋巴管 (meningeal lymphatic vessels, MLVs) 研究的进一步深入, 越来越多的证据表明 MLVs 在中枢神经系统疾病的发生发展中扮演着重要角色, 而血管内皮生长因子 C (vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C)/ 血管内皮生长因子受体 3 (vascular endothelial growth factor receptor-3, VEGFR-3) 信号通路在 MLVs 重塑中起到重要作用。本文拟对 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路的作用机制及其介导的 MLVs 重塑在阿尔茨海默病、多发性硬化症、创伤性脑损伤等中枢神经系统疾病的发病和进展中的作用进行综述, 旨在为中枢神经系统疾病的治疗提供新策略。

关键词: 脑膜淋巴管; 血管内皮生长因子 C; 血管内皮生长因子受体 3; 淋巴管重塑; 中枢神经系统疾病
中图分类号: R74 文献标志码: A

Research progress of meningeal lymphatic vessels remodeling in central nervous system diseases

LI Jian-Tao, CHEN Zhi-Yi, QI Shu-Ya, HUANG Qing-Yun, TAN Guo-He*

(Department of Human Anatomy, Institute of Neuroscience and Guangxi Key Laboratory of Brain Science, School of Basic Medical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract: In recent years, as meningeal lymphatic vessels (MLVs) have been further investigated, there is increasing evidence that MLVs are critical to the pathological progression of central nervous system diseases. Vascular endothelial growth factor C/vascular endothelial growth factor receptor 3 (VEGF-C/VEGFR-3) signaling pathway is a critical regulator of MLVs remodeling. The purpose of this paper is to review the mechanism of the VEGF-C/VEGFR-3 signaling pathway and its mediated MLVs remodeling in the pathogenesis and progression of central nervous system diseases such as Alzheimer's disease, multiple sclerosis, traumatic brain injury, and to look forward to manipulating MLVs' function as a new therapeutic strategy for treatment of central nervous system diseases.

Key words: meningeal lymphatic vessels; VEGF-C; VEGFR3; lymphatic remodeling; central nervous system diseases

淋巴系统是人体循环系统的重要组成部分, 由淋巴管道、淋巴组织和淋巴器官构成, 具有调节组织压力、免疫监视和维持体液内环境稳态的功能^[1]。其中, 淋巴管由淋巴内皮细胞组成, 是转运多余体液、细胞、抗原、营养和代谢物质的单向引流管道^[2-3]。以往研究认为中枢神经系统缺乏经典的淋巴管结构。直到近年来, Louveau 等^[4]在寻找 T 细胞进出脑膜的通道时, 发现了排列在小鼠硬脑膜窦两侧的功能性淋巴管, 才纠正了长期以来人们认为中枢

神经系统中不存在淋巴管的“误区”。脑膜淋巴管 (meningeal lymphatic vessels, MLVs) 的发现引起了学者们对其与中枢神经系统疾病关系研究的兴趣。在 MLVs 发育过程中, 主要由血管平滑肌细胞中表达的血管内皮生长因子 C (vascular endothelial growth

收稿日期: 2022-12-13; 修回日期: 2023-01-17

基金项目: 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(No.2021KY0117)

*通信作者: E-mail: tanguohe@gxmu.edu.cn

factor-C, VEGF-C) 和淋巴管内皮细胞中表达的血管内皮生长因子受体 3 (vascular endothelial growth factor receptor-3, VEGFR-3) 发挥调控作用, 该信号通路可介导 MLVs 发生重塑并参与一些中枢神经系统疾病的发生发展过程^[5]。因此, 总结 MLVs 重塑与中枢神经系统疾病关系的研究结果, 并进一步阐述 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路介导 MLVs 重塑的作用机制可能对中枢神经系统疾病的治疗具有重要意义。

1 MLVs概述

脑膜淋巴系统最早发现于 1787 年, 由意大利解剖学家 Maggiani 在《人类历史和遗迹血管淋巴管》一书中描述。然而, 他的发现并没有得到科学界同行的认可, 以至于后续的解剖书并未有记载^[6]。虽然在 20 世纪也有学者提及脑膜淋巴管, 但可能由于当时技术条件的限制, 这一发现同样也没能得到证实^[7]。直到 2015 年, Louveau 等^[4]和 Aspeland 等^[8]两个研究团队相继(重新)发现小鼠硬脑膜中存在功能性淋巴管, 位于硬脑膜静脉窦两旁并与其伴行。他们通过对小鼠整张脑膜进行免疫荧光染色, 确认该管路上的细胞表达经典淋巴内皮细胞的特异性标志物, 如淋巴管内皮透明质酸受体 1 (LYVE-1)、Prospero 相关同源异形盒蛋白 1 (PROX1)、VEGFR-3、平足蛋白(PDPN)、C-C 基序趋化因子配体 21 (CCL21) 等^[4, 8], 并使用流式细胞术进一步证实淋巴管内皮细胞存在于硬脑膜中^[4], 最终确认中枢神经系统中存在 MLVs。随后, 研究人员在斑马鱼、狨猴、人类尸检标本中均发现 MLVs 结构, 针对 MLVs 这一解剖结构的研究自此逐渐展开^[9-10]。

1.1 MLVs的生理功能

MLVs 与外周淋巴管功能相似, 主要发挥物质引流和免疫调节功能^[11]。Louveau 等^[4]向小鼠小脑延髓池注射荧光染料伊文思蓝 30 min 后, 对小鼠硬脑膜和颈深部淋巴结 (deep cervical lymph nodes, dCLNs) 进行观察, 发现荧光染料经 MLVs 转运到 dCLNs, 表明 MLVs 这一解剖结构能够引流大分子物质并且与外周免疫系统相连通。该团队发现小鼠 MLVs 中存在众多免疫细胞, 主要包括 24% 的 T 细胞、12% 的 MHC II⁺ 细胞以及部分 CD11c⁺ 细胞和 B220⁺ 细胞, 手术切除 dCLNs 后导致脑膜上的 T 细胞数量增加^[4]。另有研究报道, 与野生型小鼠相比, MLVs 障碍的转基因小鼠小脑延髓池内注射的 CD4 T 淋巴细胞难以有效地迁移至 dCLNs^[12]。这些结果表明 MLVs 是颅内免疫细胞转运至外周免疫系统的

重要通道, 可能参与免疫监视和免疫反应发生。

MLVs 是引流颅内脑脊液和组织间液至颅外 dCLNs 的主要通路^[13]。Iltis 等^[14]通过双光子活体成像显微镜观察注射在小鼠脑室内的脑脊液荧光示踪剂引流途径, 发现示踪剂沿大脑动脉周围间隙流入脑实质内, 通过星形胶质细胞上的水通道蛋白-4 (AQP4) 实现脑脊液与脑间质液的交换, 之后引流至静脉的周围间隙。MLVs 从邻近的蛛网膜下腔吸收脑脊液, 通过颅底孔将液体输送到 dCLNs^[8]。与此同时, 另有研究人员通过磁共振成像技术观察到脑脊液示踪剂沿着大脑皮层静脉汇进矢状窦入口的附近流入硬脑膜, 证明脑脊液示踪剂可直接外排至人类矢状窦旁硬脑膜^[15], 这提示硬脑膜可能作为脑实质和 MLVs 之间沟通的桥梁, 参与脑脊液循环, 最终引流至外周 dCLNs。

1.2 MLVs的生长发育

与其他组织淋巴管相比, MLVs 缺少瓣膜且发育过程明显迟缓^[16]。在其他组织中, 如皮肤的第一个淋巴结构出现在胚胎发育的第 10.5~11.5 天^[17], 而 MLVs 在小鼠出生后通过颅底孔穿过硬脑膜, 到出生后第 13 天, 淋巴管沿硬脑膜的动脉和静脉窦生长, 在第 13 至 20 天之间, MLVs 沿硬脑膜横窦到达上矢状窦并沿上矢状窦、脑膜中动脉向嗅球区域延伸^[16], 直到第 28 天左右发育完全成熟^[5], 覆盖整张脑膜。但有关 MLVs 上淋巴内皮细胞的起源尚不清晰, 亟需进一步明确。关于外周淋巴管的发育情况, Antila 等^[5]在成年期转基因小鼠腹腔内注射他莫昔芬, 通过诱导 *vegfr3* 基因的敲除来阻断 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路, 结果发现与对照组小鼠相比, 敲除 *vegfr3* 基因后的小鼠 MLVs 明显减少, 表明 MLVs 的发育和维持主要依赖 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路。

此外, 最新研究报道颅缝早闭影响 MLVs 的发芽和重塑能力^[18]。探究 MLVs 周围的结构, 如颅骨是否会影响 MLVs 的发育形成将为我们提供一个研究思路, 未来可以考虑从 MLVs 周围基质中挖掘淋巴管重塑的新靶点。

2 VEGF-C/VEGFR-3信号通路介导MLVs重塑的关键机制

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 及其家族成员在动物的多种生命活动过程中起着重要的调控作用, 具有促进血管生成、功能性淋巴管形成等功能^[19]。其家族配体包括

VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F 和胎盘生长因子 (PIGF)^[20-21], 这些配体以不同的亲和力结合三种内皮受体酪氨酸激酶, 在不同内环境下发挥不同的作用。例如, VEGFR1 和 VEGFR2 在血管内皮细胞上表达, VEGFR-2 和 VEGFR-3 在淋巴内皮细胞上表达^[22], 其中由 VEGF-C 和 VEGF-D 激活的 VEGFR-3 信号对淋巴管的生长至关重要^[23]。VEGF-C/VEGFR3 信号通路是促使脊椎动物淋巴管胚胎期重塑的主要信号轴, 淋巴管由淋巴内皮细胞组成, 最初是在胚胎发育期间由主静脉的内皮细胞转分化而产生^[24]。Karkkainen 等^[25]使用 *Vegfc* 基因编辑小鼠通过免疫荧光实验发现, *Vegfc* 从 E8.5 开始在颈静脉区域高表达, 并形成第一个淋巴囊; 在 E10.5 时, *Vegfc* 在 VEGFR-3 阳性颈静脉背外侧的间质中大量表达, 从而形成淋巴内皮细胞。时间和空间维度结果均提示, VEGF-C 是淋巴内皮细胞从主静脉分化到形成胚胎期最初淋巴结构阶段所必需的旁分泌因子。其中, 基质蛋白 CCBE1 和金属蛋白酶 ADAMTS3 促进 VEGF-C 的激活^[22], 由淋巴管内皮细胞表达的神经纤毛蛋白-2 促进 VEGFR-3 磷酸化和激活, 最终 VEGF-C 结合 VEGFR3 诱导淋巴管发芽^[26]。基于 Izen 等^[16]的研究提到的 MLVs 的发育相比一般组织淋巴管的发育要迟缓, 那么 MLVs 发育、重塑的分子机制是否与一般组织的淋巴管一致, 是否还受到其他分子调控, 需进一步探究。

在 MLVs 发育相关的研究中, Antila 等^[5]通过免疫荧光实验观察到 *Vegfc* 杂合子小鼠 MLVs 发育出现障碍, 但敲除 *Vegfd* 基因后, 小鼠 MLVs 发育并未受到影响, 也侧面体现出 VEGFR-3 的特异性。之后, 研究发现向成年期 C57 小鼠的小脑延髓池注射携带有血管内皮生长因子 VEGF-C 的腺相关病毒载体 (AAV1-CMV-mVEGF-C) 可诱导 MLVs 重塑, 表现为窦汇、横窦和上矢状窦区域的淋巴管管径变粗、分支增多, 表明 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路是调控 MLVs 重塑的主要信号轴。与此同时, De Mesquita 等^[27]使用携带有 VEGF-C 的腺相关病毒治疗老龄小鼠后, 观察到这些小鼠的 MLVs 管径变粗, 而硬脑膜上的血管数量与对照组相比较则没有明显差异。这些研究表明 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路特异性地调控 MLVs 的重塑, 但并不影响血管的变化。形态结构特征决定其功能状态, 重塑后的 MLVs 究竟如何参与中枢神经系统疾病需要进一步被阐述。

3 MLVs 重塑参与各类中枢系统疾病

MLVs 重塑与中枢神经系统疾病的发生发展有着密切的联系, 本文以 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路为切入点, 通过进一步解析该信号通路及其所介导的 MLVs 重塑与中枢神经系统疾病之间的关系 (图 1), 为相关疾病的治疗提供新的思路。

3.1 MLVs 重塑在阿尔茨海默病中的作用

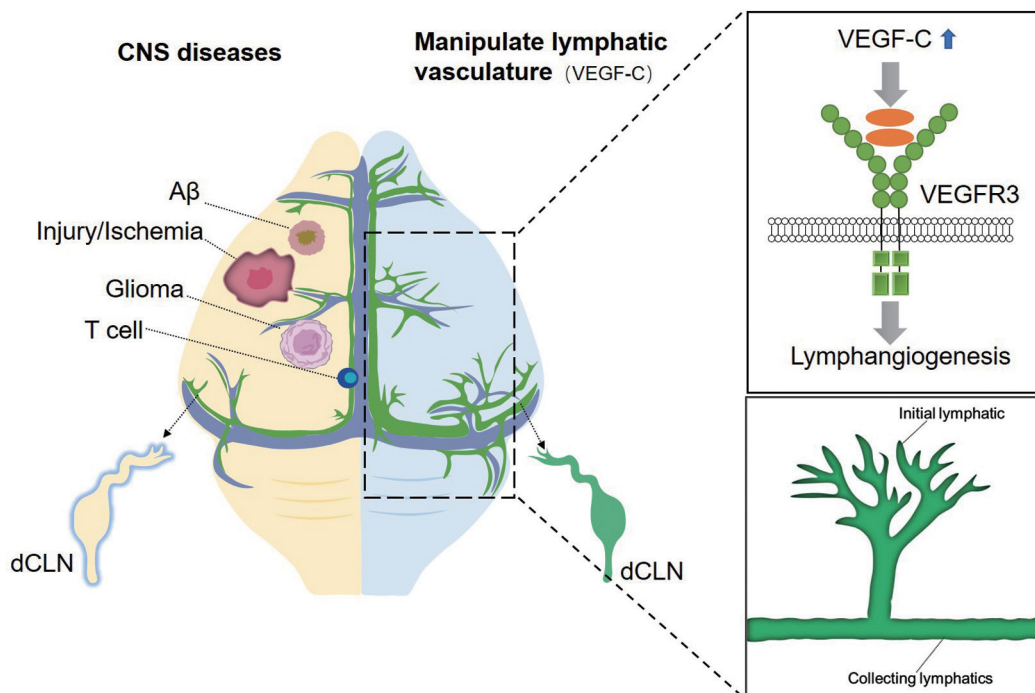
阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是最常见的中枢神经系统退行性疾病, 临床表现为认知能力下降与记忆力减退, 严重影响人类健康和生活质量。淀粉样蛋白- β (amyloid beta, A β) 斑块沉积和 Tau 蛋白过度磷酸化形成神经纤维缠结是 AD 主要的神经病理标志^[28]。近年来发现的 MLVs 已被证明可以清除大脑实质内的代谢物质^[4], 研究人员通过注射光动力药维替泊芬脂质体 (Visudyne) 联合激光照射破坏 MLVs 后, 观察到脑血管中的大分子物质进入脑实质的速率和脑组织间液中的大分子物质外流速率减慢, 并诱发小鼠出现明显的行为认知障碍; 随后通过向老年小鼠小脑延髓池注射携带有 VEGF-C 的腺相关病毒, 发现 VEGF-C 表达上调可增强 MLVs 引流功能, 加快老年小鼠脑脊液中大分子物质转运, 最终改善脑灌注和学习记忆能力^[27]。此外, 使用人源重组 VEGF-C 干预 APP/PS1 转基因小鼠后, 其 MLVs 出现重塑, 脑脊液和大脑中的 A β 水平降低, 小鼠空间认知能力得到改善^[29]。这些结果表明 MLVs 功能障碍加剧了脑内 A β 沉积, 增强其功能后, 病理情况得到缓解。

De Mesquita 等^[30]分别对 MLVs 功能正常和障碍的 AD 模型小鼠进行单克隆抗体 mAdu-canumab 和 mAb158 治疗, 结果发现 MLVs 功能障碍的 AD 模型小鼠在接受单克隆抗体治疗后, 脑内 A β 沉积并没有减少反而增加, 认知和记忆功能也受损。当向 5 \times FAD 模型小鼠小脑延髓池注射 AAV1-CMV-mVEGF-C 诱导 MLVs 引流功能增强后, 小鼠脑内的 A β 沉积明显减少, 其认知功能也得到改善。这表明在 A β 免疫疗法的基础上增强 MLVs 引流功能可以促进 A β 的排泄, 明显改善 AD 的病理情况和行为认知能力。

因此, 通过 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路调控 MLVs 重塑, 增强其引流功能, 可能是预防或延缓年龄相关神经疾病的一个有前景的治疗靶点。

3.2 MLVs 重塑在创伤性脑损伤中的作用

创伤性脑损伤 (traumatic brain injury, TBI) 为世



CNS diseases: 中枢神经系统疾病; Manipulate lymphatic vasculature: 调控淋巴管; VEGF-C: 血管内皮生长因子C; VEGFR3: 血管内皮生长因子受体3; Lymphangiogenesis: 淋巴管增生; Initial lymphatics: 初始淋巴管; Collecting lymphatics: 集合淋巴管; A β : 淀粉样蛋白- β ; Injury/Ischemia: 损伤/卒中; Glioma: 胶质瘤; T cell: T细胞; dCLN: 颈深部淋巴结。

图1 VEGF-C/VEGFR-3信号通路介导MLVs重塑与中枢神经系统疾病的关系

界范围内的主要健康问题,是导致残疾和死亡的主要原因之一^[31]。TBI过程中会有大量损伤相关的分子模式(DAMPs)产生,如坏死细胞及碎片、蛋白质聚集体等,如果它们得不到及时有效的清除,将会引发持续的神经炎症反应,加重TBI的发病进程^[32]。Bolte等^[33]向TBI模型小鼠小脑延髓池内注射荧光微珠,观察不同时间点MLVs的形态改变并量化回流至dCLNs的荧光微珠,结果表明TBI导致小鼠MLVs出现结构重塑、引流功能受损,且最大程度的形态学改变发生在TBI后1~2周。与此同时,有其他研究报道TBI会导致脑膜上淋巴内皮细胞数量减少,而相应淋巴内皮细胞上的淋巴管增生标记物FMS样酪氨酸激酶4和神经纤毛蛋白-2在mRNA、蛋白质水平上表达增高^[34],进一步从分子生物学角度解释了Bolte等^[33]的研究结果。综上,TBI导致的MLVs重塑伴有功能损害,这类重塑是区别于通过VEGF-C/VEGFR-3信号通路增强MLVs功能的重塑方式。

研究人员使用光消融技术破坏小鼠MLVs后,脑创伤组小鼠脑内GFAP⁺星形胶质细胞增多,IBA1⁺小胶质细胞增多且呈激活态,行为学实验表明小鼠

的学习记忆能力受损。相反,接受过mVEGF-C治疗的脑创伤老年小鼠MLVs引流功能得到改善,IBA1⁺细胞激活数量明显减少^[33],表明MLVs功能障碍加重TBI后脑内神经炎症并导致小鼠认知功能下降,经过VEGF-C治疗后的老年小鼠脑内神经炎症和行为障碍得到好转。此外,脑水肿是TBI最常见的并发症,酮洛芬、9-顺式维甲酸、VEGF-C可以通过上调淋巴管内皮细胞特异性蛋白的表达,改善MLVs功能,从而促进TBI后脑水肿的吸收^[35]。以上研究表明通过VEGF-C/VEGFR-3信号通路调控MLVs重塑,增强MLVs引流功能,可以减轻TBI后产生的神经炎症和脑水肿,从而改善预后。

随着MLVs在TBI中的潜在作用被挖掘,未来更深入细致的研究将有助于开发脑损伤相关的中枢神经系统疾病新的治疗策略。

3.3 MLVs重塑在脑卒中中的作用

脑卒中(stroke)是一类由脑血管原因引起的中枢神经系统局灶性损伤和神经功能障碍疾病的总称,包括缺血性脑卒中和出血性脑卒中^[36]。缺血性脑卒中最常见的是脑梗死,研究报道光血栓(photothrombosis, PT)模型小鼠矢状窦处MLVs发

生重塑, 且重塑的部位与脑梗死发生的解剖区域相对应, 表明这些新生的 MLVs 延伸进入了相应的梗死区域, 但在短暂的大脑中动脉闭塞 (transient middle cerebral artery occlusion, tMCAO) 模型中并没有观察到同样的现象^[37], 这可能是由于在 PT 造模过程中, 激光在到达皮层前会损伤脑膜内皮细胞, 导致小血管闭塞, 进而可能引起脑膜缺血, 从而刺激脑膜淋巴管代偿性重塑。为了确定 MLVs 功能是否影响脑梗死的进展程度, Yanev 等^[37] 测量了 MLVs 功能正常小鼠 *vegfr3^{wt/wt}* 和 MLVs 功能障碍小鼠 *vegfr3^{wt/mut}* 在脑梗死 2 周后的梗死灶体积并对 MLVs 的重塑情况进行检测, 结果显示在 tMCAO 模型中, *vegfr3^{wt/mut}* 小鼠脑梗死病灶体积增大且 MLVs 生成相应减少, 而在 PT 模型中并没有发现同样的现象。因此, PT 诱导的脑梗死可引起 MLVs 重塑, tMCAO 模型小鼠 MLVs 功能障碍可加剧脑梗死病灶范围。综上, 通过 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路调控 MLVs 功能参与缺血性脑卒中的治疗可能是有前景的, 但可能因为 PT 和 tMCAO 造模原理不同, 所以导致不同模型之间的研究结果存在差异, 这也提醒未来在研究 MLVs 的作用时需要考虑缺血性卒中模型的选择^[38]。

在大鼠局灶性脑缺血模型中, 阻断 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路可以减少颈部淋巴结中促炎巨噬细胞数目, 减小脑梗死病灶体积; 反之, 外源性激活 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路增强了巨噬细胞的炎症反应^[39]。值得注意的是, 通过手术切除颈部淋巴结显著减少了小鼠局灶性脑缺血后的梗死灶体积^[39]。以上研究表明调节大脑到外周颈部淋巴结的通路可能改善脑梗死后全身炎症和脑损伤, 这期间 MLVs 作为大脑和颈部淋巴结之间重要的桥梁, 可能发挥着不可忽视的作用。

蛛网膜下腔出血 (subarachnoid hemorrhage, SAH) 是出血性脑卒中的一种类型, 常由颅内动脉瘤破裂引起^[40], 清除蛛网膜下腔中的红细胞有助于降低 SAH 死亡率。Chen 等^[41] 首次发现 SAH 小鼠脑脊液中的红细胞可随 MLVs 引流至 dCLNs, 他们使用光消融技术破坏 SAH 小鼠模型的 MLVs, 数小时后观察到小鼠 dCLNs 中 Ter119 标记的红细胞数量明显减少, 表明 MLVs 在 SAH 后将外溢的红细胞从脑脊液中排出到 dCLNs。随后他们通过另一种导致 MLVs 功能障碍的手段即向小鼠体内注射 VEGFR-3 抑制剂阻断 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路, 结果导致 SAH 引起的神经炎症加剧, 表明 MLVs 功能障

碍影响红细胞的排出, 加剧了 SAH 的病理情况^[41]。反之, 通过小鼠脑内注射 VEGF-C 激活 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路可增强 MLVs 功能从而促进血肿的清除^[42], 有助于脑出血的恢复。但通过表达 VEGF-C 或其他方式调节淋巴管重塑是否影响 SAH 引起的神经炎症, 还需要进一步的研究。

综上, MLVs 通过 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路参与脑卒中的发展进程, 在脑卒中发病早期干预 MLVs 功能可能对疾病治疗更有意义。

3.4 MLVs 重塑在胶质瘤中的作用

胶质瘤 (glioma) 是指起源于神经胶质细胞的肿瘤, 为中枢神经系统中常见的原发性肿瘤^[43], 其病因尚不明确, 目前整体治疗效果欠佳。其中, 程序性死亡受体 1 (programmed death receptor-1, PD-1)/细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4) 抗体联合免疫疗法疗效欠佳的一个重要原因是胶质瘤引发的免疫反应有限^[43]。而 MLVs 引流免疫细胞至 dCLNs 可调控脑内免疫反应^[12], 为通过免疫疗法治疗胶质瘤提供了新的思路。

有研究表明, 在胶质瘤模型小鼠造模 1 周后, 可观察到模型小鼠的背侧 MLVs 形态有明显的重塑^[43], 这提示 MLVs 重塑可能在胶质瘤发病过程中起作用。通过光消融技术抑制 MLVs 功能在一定程度上可以影响 PD-1/CTLA-4 抗体联合抗肿瘤效果, 表明该疗法通过 MLVs 发挥一定作用。在免疫治疗过程中, Hu 等^[43] 向小鼠体内注射 PD-1/CTLA-4 抗体后, 与对照组相比, 过表达 VEGF-C 诱导 MLVs 重塑可以促进树突状细胞向颈部淋巴结迁移, 并且观察到 dCLNs 中 CD8/Treg 比值显著升高, 进一步证明通过 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路增强 MLVs 功能可提高 PD-1/CTLA-4 抗体的抗肿瘤效果。与此同时, Song 等^[44] 在小鼠小脑延髓池内注射 VEGF-C 增强 MLVs 引流功能, 促进 dCLNs 中的 CD8 T 细胞引流至脑内并增强其活化, CD8 T 细胞迁移到肿瘤部位, 快速清除胶质母细胞瘤, 发挥长久的抗肿瘤免疫记忆反应, 也证明增强 MLVs 功能在治疗胶质瘤中起着关键作用。此外, 在前期研究基础上^[43], 该研究团队最新报道抑制 MLVs 功能会减弱胶质瘤模型小鼠的放疗效果, 相反通过脑内递送 VEGF-C mRNA 的方式增强 MLVs 功能可提升放疗的抗肿瘤效果^[45], 正反两方面均表明调控 MLVs 功能在胶质瘤放疗治疗中起重要作用。

综上, 胶质瘤可以诱导 MLVs 的重塑, 激活

VEGF-C/VEGFR-3 信号通路增强 MLVs 功能可提高抗胶质瘤的免疫反应和放疗的抗肿瘤免疫疗效,为治疗胶质瘤乃至脑肿瘤提供了新思路。

3.5 MLVs 重塑在多发性硬化症中的作用

多发性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 是常见的中枢神经脱髓鞘疾病, T 细胞和 B 细胞为 MS 发病机制中的中心介质^[46]。通过光消融技术破坏 MS 模型即实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalitis, EAE) 小鼠的 MLVs, 可以抑制脑膜免疫细胞引流到 dCLNs, 降低脑内反应性 T 细胞的免疫反应, 从而改善 EAE 症状^[12]。然而, 切除晚期 EAE 小鼠的 dCLNs 可以减少浸润到中枢神经系统的髓鞘碱性蛋白特异性 T 细胞数量, 但 EAE 模型小鼠的症状并没有完全得到改善^[47]。上述结果表明, MLVs 参与 MS 的发生发展, 并主要在 EAE 疾病早期阶段发挥作用。之后, Hsu 等^[47]向 EAE 模型小鼠外周注射酪氨酸激酶抑制剂 MAZ51 抑制 VEGFR-3 信号后, 与对照组相比, 使用 MAZ51 治疗的 EAE 模型小鼠脊髓脱髓鞘改变减轻、CD4 T 细胞浸润减少, EAE 发展的严重程度得到缓解, 重复了上述同样的生物学现象。以上研究表明在 MS 中, 抑制 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路, 减弱 MLVs 引流衍生抗原的能力, 对 MS 的治疗有益。

因此, MLVs 与 MS 的相关研究提示, 增强 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路并不一定能为 MS 的治疗带来相应的正向结果。因此, 针对不同的疾病还需要进一步了解其发病机制和病理特征, 做到精准调控 MLVs 功能。

4 总结及展望

综上所述, 一方面 MLVs 在调节中枢神经系统稳态方面发挥作用, 如引流大分子代谢物质、调节免疫反应、参与脑脊液循环; 另一方面, MLVs 通过其重塑形式影响中枢神经系统疾病的病理生理学过程。VEGF-C/VEGFR-3 信号通路在 MLVs 重塑中起着重要调控作用, 表明调控 MLVs 功能有望成为中枢神经系统疾病新的治疗策略。在上述中枢神经系统疾病发生发展过程中, MLVs 调节免疫反应对中枢神经系统疾病发挥的作用相比 MLVs 引流脑内大分子代谢物质到外周对疾病发挥的作用更显著。可能原因有: 首先, 中枢神经系统淋巴引流的途径不止一条^[48]; 再者, MLVs 作为淋巴组织, 是脑内免疫与外周免疫的重要连接部分, 对脑内的免疫调节有着举足轻重的作用。

当下调控 MLVs 功能的手段可大致分为三类。一是物理化学刺激: 如经颅连续 θ 脉冲刺激可促进 MLVs 重塑^[49], 提高引流效率; 光生物治疗^[50]能够改善 MLVs 引流功能; “徒手淋巴引流” (manual lymphatic drainage, MLD) 能够提高 MLVs 到外周 dCLNs 的引流效率^[51], 但该手法疗效还缺少一定基础研究来进行验证。二是分子手段: 如唐氏综合征关键区域 1 (Down syndrome critical region 1, DSCR1) 基因可通过上调脑膜中的 VEGF-C 表达来促进 MLVs 重塑^[52], 增强引流功能。三是中医疗法: 如冰片 (中药) 可通过增加脑膜中的 FOXC2、VEGFC 和 LYVE-1 蛋白表达水平诱导 MLVs 重塑, 从而促进脑内大分子的清除速率^[53]; 此外, 还有针刺效应, 如针灸有可能促进 MLVs 及整个中枢神经系统循环^[54]。

目前存在的问题是, 关于 MLVs 重塑的研究主要聚焦在 VEGF-C/VEGFR-3 这条经典信号通路上, 在 MLVs 重塑过程中是否存在其他分子机制亟需进一步研究。此外, 上述所谈及的调控 MLVs 重塑或增强引流功能的研究手段多建立在啮齿类动物模型上且相关研究稀少, 部分调控 MLVs 功能的手段采用手术等有创操作, 不利于研究成果向临床应用转化。未来可以考虑运用包含非人灵长类动物在内的多种模式动物进行基础实验, 结合影像学技术开展临床研究。总的来说, 通过研究 MLVs 重塑有望进一步了解疾病机制, 为中枢神经系统疾病治疗提供新思路。

[参 考 文 献]

- [1] Uddin N, Rutar M. Ocular lymphatic and glymphatic systems: implications for retinal health and disease. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 10139
- [2] Petrova TV, Koh GY. Biological functions of lymphatic vessels. *Science*, 2020, 369: eaax4063
- [3] Oliver G, Kipnis J, Randolph GJ, et al. The lymphatic vasculature in the 21(st) century: novel functional roles in homeostasis and disease. *Cell*, 2020, 182: 270-96
- [4] Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*, 2015, 523: 337-41
- [5] Antila S, Karaman S, Nurmi H, et al. Development and plasticity of meningeal lymphatic vessels. *J Exp Med*, 2017, 214: 3645-67
- [6] Sandrone S, Moreno-Zambrano D, Kipnis J, et al. A (delayed) history of the brain lymphatic system. *Nat Med*, 2019, 25: 538-40
- [7] Li J, Zhou J, Shi Y. Scanning electron microscopy of human cerebral meningeal stomata. *Ann Anat*, 1996, 178: 259-61
- [8] Aspelund A, Antila S, Proulx ST, et al. A dural lymphatic

- vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med*, 2015, 212: 991-9
- [9] Absinta M, Ha SK, Nair G, et al. Human and nonhuman primate meninges harbor lymphatic vessels that can be visualized noninvasively by MRI. *Elife*, 2017, 6: e29738
- [10] Castranova D, Samasa B, Galanternik MV, et al. Live imaging of intracranial lymphatics in the zebrafish. *Circ Res*, 2021, 128: 42-58
- [11] Petrova TV, Koh GY. Organ-specific lymphatic vasculature: from development to pathophysiology. *J Exp Med*, 2018, 215: 35-49
- [12] Louveau A, Herz J, Alme MN, et al. CNS lymphatic drainage and neuroinflammation are regulated by meningeal lymphatic vasculature. *Nat Neurosci*, 2018, 21: 1380-91
- [13] Ahn JH, Cho H, Kim JH, et al. Meningeal lymphatic vessels at the skull base drain cerebrospinal fluid. *Nature*, 2019, 572: 62-6
- [14] Iliff JJ, Wang M, Liao Y, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid beta. *Sci Transl Med*, 2012, 4: 147ra111
- [15] Ringstad G, Eide PK. Cerebrospinal fluid tracer efflux to parasagittal dura in humans. *Nat Commun*, 2020, 11: 354
- [16] Izen RM, Yamazaki T, Nishinaka-Arai Y, et al. Postnatal development of lymphatic vasculature in the brain meninges. *Dev Dynam*, 2018, 247: 741-53
- [17] Srinivasan RS, Dillard ME, Lagutin OV, et al. Lineage tracing demonstrates the venous origin of the mammalian lymphatic vasculature. *Genes Dev*, 2007, 21: 2422-32
- [18] Ang PS, Matrongolo MJ, Tischfield MA. The growth and expansion of meningeal lymphatic networks are affected in craniosynostosis. *Development*, 2022, 149: dev200065
- [19] 邬建飞, 字向东. VEGF家族及其受体调控雌性动物生殖活动的研究进展. *中国畜牧杂志*, 2022, 58: 69-76
- [20] Meyer M, Clauss M, Lepple-Wienhues A, et al. A novel vascular endothelial growth factor encoded by Orf virus, VEGF-E, mediates angiogenesis via signalling through VEGFR-2 (KDR) but not VEGFR-1 (Flt-1) receptor tyrosine kinases. *EMBO J*, 1999, 18: 363-74
- [21] Yamazaki Y, Matsunaga Y, Tokunaga Y, et al. Snake venom vascular endothelial growth factors (VEGF-Fs) exclusively vary their structures and functions among species. *J Biol Chem*, 2009, 284: 9885-91
- [22] Künnapuu J, Bokharaie H, Jeltsch M. Proteolytic cleavages in the VEGF family: generating diversity among angiogenic VEGFs, essential for the activation of lymphangiogenic VEGFs. *Biology (Basel)*, 2021, 10: 167
- [23] Achen MG, Stacker SA. Vascular endothelial growth factor-D: signaling mechanisms, biology, and clinical relevance. *Growth Factors*, 2012, 30: 283-96
- [24] Nicenboim J, Malkinson G, Lupo T, et al. Lymphatic vessels arise from specialized angioblasts within a venous niche. *Nature*, 2015, 522: 56-61
- [25] Karkkainen MJ, Haiko P, Sainio K, et al. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nat Immunol*, 2004, 5: 74-80
- [26] Xu Y, Yuan L, Mak J, et al. Neuropilin-2 mediates VEGF-C-induced lymphatic sprouting together with VEGFR3. *J Cell Biol*, 2010, 188: 115-30
- [27] Da Mesquita S, Louveau A, Vaccari A, et al. Functional aspects of meningeal lymphatics in ageing and Alzheimer's disease. *Nature*, 2018, 560: 185-91
- [28] Tarasoff-Conway JM, Carare RO, Osorio RS, et al. Clearance systems in the brain-implications for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11: 457-70
- [29] Wen YR, Yang JH, Wang X, et al. Induced dural lymphangiogenesis facilitates soluble amyloid- β clearance from brain in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*, 2018, 13: 709-16
- [30] Da Mesquita S, Papadopoulos Z, Dykstra T, et al. Meningeal lymphatics affect microglia responses and anti-A β immunotherapy. *Nature*, 2021, 593: 255-60
- [31] Blommer J, Fischer MC, Olszewski AR, et al. Ketogenic diet reduces early mortality following traumatic brain injury in drosophila via the PPAR γ ortholog Eip75B. *PLoS One*, 2021, 16: e0258873
- [32] Gadani SP, Walsh JT, Lukens JR, et al. Dealing with danger in the CNS: the response of the immune system to Injury. *Neuron*, 2015, 87: 47-62
- [33] Bolte AC, Dutta AB, Hurt ME, et al. Meningeal lymphatic dysfunction exacerbates traumatic brain injury pathogenesis. *Nat Commun*, 2020, 11: 4524
- [34] Shimada R, Tataru Y, Kibayashi K. Gene expression in meningeal lymphatic endothelial cells following traumatic brain injury in mice. *PLoS One*, 2022, 17: e0273892
- [35] Liao J, Zhang M, Shi Z, et al. Improving the function of meningeal lymphatic vessels to promote brain edema absorption after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 2023, 40: 383-94
- [36] Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, et al. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 2013, 44: 2064-89
- [37] Yanev P, Poinsette K, Hominick D, et al. Impaired meningeal lymphatic vessel development worsens stroke outcome. *J Cerebr Blood F Met*, 2020, 40: 263-75
- [38] 莫澜, 孟波, 袁桢, 等. 脑膜淋巴管在中枢神经系统疾病中作用和机制的研究进展. *中国病理生理杂志*, 2022, 38: 162-6
- [39] Esposito E, Ahn BJ, Shi J, et al. Brain-to-cervical lymph node signaling after stroke. *Nat Commun*, 2019, 10: 5306
- [40] Wan H, Brathwaite S, Ai J, et al. Role of perivascular and meningeal macrophages in outcome following experimental subarachnoid hemorrhage. *J Cerebr Blood F Met*, 2021, 41: 1842-57
- [41] Chen J, Wang L, Xu H, et al. Meningeal lymphatics clear erythrocytes that arise from subarachnoid hemorrhage. *Nat Commun*, 2020, 11: 3159
- [42] Tsai HH, Hsieh YC, Lin JS, et al. Functional investigation of meningeal lymphatic system in experimental

- intracerebral hemorrhage. *Stroke*, 2022, 53: 987-98
- [43] Hu X, Deng Q, Ma L, et al. Meningeal lymphatic vessels regulate brain tumor drainage and immunity. *Cell Res*, 2020, 30: 229-43
- [44] Song E, Mao T, Dong H, et al. VEGF-C-driven lymphatic drainage enables immunosurveillance of brain tumours. *Nature*, 2020, 577: 689-94
- [45] Zhou C, Ma L, Xu H, et al. Meningeal lymphatics regulate radiotherapy efficacy through modulating anti-tumor immunity. *Cell Res*, 2022, 32: 543-54
- [46] Glinskii OV, Huxley VH, Xie L, et al. Complex non-sinus-associated pachymeningeal lymphatic structures: interrelationship with blood microvasculature. *Front Physiol*, 2019, 10: 1364
- [47] Hsu M, Rayasam A, Kijak JA, et al. Neuroinflammation-induced lymphangiogenesis near the cribriform plate contributes to drainage of CNS-derived antigens and immune cells. *Nat Commun*, 2019, 10: 229
- [48] 姜维卫, 江荣才. 颅内淋巴系统及其与中枢神经系统疾病模型关系的研究进展. *中华神经外科杂志*, 2020, 36: 532-5
- [49] Li MN, Jing YH, Wu C, et al. Continuous theta burst stimulation dilates meningeal lymphatic vessels by up-regulating VEGF-C in meninges. *Neurosci Lett*, 2020, 735: 135197
- [50] Salehpour F, Khademi M, Bragin DE, et al. Photobiomodulation therapy and the glymphatic system: promising applications for augmenting the brain lymphatic drainage system. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 2975
- [51] Gao C, Wei Y, Zhang X, et al. Craniocervical manual lymphatic drainage increases the efficiency of atorvastatin-based treatment of chronic subdural hematoma. *Transl Stroke Res*, 2022, Online ahead of print
- [52] Choi C, Park J, Kim H, et al. DSCR1 upregulation enhances dural meningeal lymphatic drainage to attenuate amyloid pathology of Alzheimer's disease. *J Pathol*, 2021, 255: 296-310
- [53] Wu Y, Zhang T, Li X, et al. Borneol-driven meningeal lymphatic drainage clears amyloid- β peptide to attenuate Alzheimer-like phenotype in mice. *Theranostics*, 2023, 13: 106-24
- [54] 王临梅, 赵恬田, 邵水金. 硬脑膜淋巴管研究进展及其与头部针灸穴位的相关性[C]. 海口: 第七届全国解剖学技术学术会议, 2019