

神经病理痛中枢敏化的 TRPV1 机制及电针干预作用*

颜思思, 叶佳瑜, 蒋永亮, 何晓芬, 杜俊英, 陈利芳, 陈晓军, 赵文胜, 方剑乔[△]

(浙江中医药大学第三临床医学院, 浙江 杭州 310053)

摘要: 辣椒素受体(Transient receptor potential vanilloid type 1, TRPV1)是一类和痛觉传递密切相关的离子通道受体,在神经病理痛的发生、维持中发挥着重要作用。大量资料表明,电针具有较好的治疗神经病理痛的作用,同时有研究发现电针具有调节 TRPV1 表达的作用。本文主要综述 TRPV1 参与神经病理痛的中枢敏化调控机制以及电针干预作用的研究进展。

关键词: 辣椒素受体; 神经病理痛; 中枢敏化; 电针; 综述

中图分类号: R246 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2015)03-0088-04

神经病理性疼痛(neuropathic pain, NP)是临床常见,多发且难治的一类慢性疼痛疾病,如外周神经损伤、中风后遗痛、三叉神经痛、疱疹后遗痛等^[1]。当前对神经病理痛的治疗不尽如人意,超过三分之二的病人未能得到有效的治疗^[2]。国际疼痛学会(IASP)将神经病理性疼痛定义为:“神经病理性疼痛是由躯体感觉神经系统的损伤或功能紊乱而造成的疼痛综合症”^[3]。其主要表现为痛觉敏化,如自发性疼痛、痛觉过敏和痛觉超敏^[4-5]。迄今为止, NP 的发病机制尚不明确,越来越多学者认为中枢敏化是 NP 发生、维持的关键机制之一。应用神经病理痛动物模型,观察到脊髓背角辣椒素受体(TRPV1)在神经病理痛的痛觉形成、传导和调节中起着重要作用,有望成为治疗神经病理痛的新靶点^[6]。电针已成为治疗神经病理痛的主要手段之一,同时已有研究表明电针可以通过干预 TRPV1 的表达,发挥镇痛作用^[7]。本文将对 TRPV1 参与神经病理痛的中枢敏化调控机制以及电针干预作用的研究进展进行综述。

1 中枢敏化与神经病理痛

中枢敏化是神经病理痛发生、维持的关键机制之一,主要涉及脊髓背角神经元的超兴奋性^[8]。中枢敏化机制主要为神经元功能以及膜兴奋性和突触效能增强或抑制减少^[9]。正常情况下,脊髓背角神经

元接受外周输入刺激的强度很弱,不足以诱发能向更高脑区传递的动作电位^[10];在有外周炎症的情况下,持续的刺激可以导致脊髓背角的突触可塑性,这种突触效能的放大使普通的阈下刺激也能产生动作电位,进而向更高级中枢传递伤害性信号^[11]。LaMotte 等通过皮内注射辣椒素(激活 TRPV1 受体)引起次级皮肤痛觉过敏实验首次在人体上验证了中枢敏化现象^[12]。Campbell 等第一个证明了中枢敏化对神经病理痛有作用,他们的研究显示,有髓鞘纤维的缺血性传导阻滞会引起动态触觉痛过敏^[13]。

2 辣椒素受体与神经病理痛

辣椒素受体属于瞬时感受器电位通道家族成员,是一种配体门控的非选择性阳离子通道,可以被天然生物碱辣椒素激活,其内源性激活物主要为大麻素、高温(>42℃)、酸(pH<5.9)^[14]。TRPV1 基本结构中含 6 个跨膜区,在第 5 和第 6 个跨膜区间有一段疏水基团,构成了一个孔型结构, N 端和 C 端位于细胞内侧^[15]。N 端有大量磷酸化位点和锚蛋白序列作为钙调蛋白和 ATP 的结合位点^[16]。C 端包括一个 TRP 结构域以及钙调蛋白和磷酸酰肌醇二磷酸(PIP₂)(内生 TRPV1 抑制剂)的结合位点^[17]。TRP 结构域是 TRPV1 受体成为功能性通道的决定因子,也是维持亚基多聚化的进化上高度保守的区域^[18]。

* 基金项目: 国家自然科学基金(81303038,81473772);浙江省自然科学基金(LY12H27015,LY14H270007,LY14H270002);国家中医药管理局重点学科(针灸学)建设经费资助(国中医药发[2009]30 号)

收稿日期: 2015-04-27

作者简介: 颜思思(1989-),女,浙江岱山人,在读硕士研究生,研究方向:针刺镇痛与免疫调节的相关性研究。

[△]通信作者: 方剑乔, E-mail: fangjianqiao7532@163.com

结合使用基因敲除大鼠、放射性配体及免疫化学等方法研究,已证明 TRPV1 在中枢神经系统的表达^[19]。通过胶质纤维酸蛋白双标后显示,TRPV1 受体存在于大鼠脊髓背角 I、II 层的星形胶质细胞中^[20]。利用 3H 标记树脂毒素发现,大鼠海马、大脑皮质、丘脑、下丘脑、嗅球、齿状回、蓝斑中均有 TRPV1 的表达^[15,21]。

TRPV1 受体是一类和痛觉传递密切相关的离子通道受体,可以在炎性痛、神经病理痛等多种疼痛中发挥重要作用。当辣椒素及 ATP 等刺激机体时,分布于皮肤、内脏的痛觉感受器感知后,可激活 TRPV1 通道。通过 Na^+ 、 Ca^{2+} 等离子内流发生去极化,从而以电信号的方式传递给痛觉的传入神经纤维,继而传给初级神经元(脊髓背根神经节和三叉神经节),整合后经脊髓最后传至大脑皮层^[6]。

3 TRPV1 参与神经病理痛的中枢敏化调控机制

由组织损伤或炎症引起的痛觉过敏,通常与 TRPV1 离子通道的敏化有关,磷酸化作用,与磷脂化 PIP_2 的相互作用,以及与辅助蛋白的交换和联系作用是其主要作用机制^[22]。最近研究表明,TRPV1 调制感觉传递由中枢末端的初级传入纤维传向脊髓背角神经元^[23],从而参与中枢敏化过程。已有研究表明,TRPV1 的敏化可以导致更大的膜去极化,使低阈值神经元激活以及整体兴奋性增加^[24]。因此,在慢性疼痛中,当 TRPV1 作为外周神经末梢伤害性热刺激和辣椒素的分子传感器的同时,其在中央终端的活性同样作用于整体的中枢敏化。TRPV1 主要从其通道的上游蛋白激酶和下游神经激肽产物参与与中枢敏化的调节。

TRPV1 通道的上游主要有 cAMP 依赖的蛋白激酶 A(PKA),蛋白激酶 C(PKC),钙调蛋白(CaM)等。前列腺素 E2 通过增加 cAMP 水平激活 PKA,直接磷酸化 TRPV1 通道。PKA 通过磷酸化 TRPV1 N 端的 Ser116 和 Thr 370 位点发挥脱敏作用,磷酸化 Thr 144, Thr 370 和 Ser 502 位点发挥致热敏作用^[25]。PKC 的磷酸化作用可以增强 TRPV1 对辣椒素、酸和温度的敏感性,其磷酸化主要位点是 Ser 502 和 Ser 800^[26],且 PKC 还可通过胞外分泌参与部分 TRPV1 通道与细胞膜的交换作用。TRPV1 N 端与囊泡蛋白以及突触结合蛋白 IX 的相互作用,可以抑制由 PKC 介导的 TRPV1 功能敏化^[27]。CaM 能与 TRPV1 羧基端结合, Ca^{2+} /CaM 复合物依赖性的激酶 II(CaMKII)可以通过磷酸化 Ser502 和 Thr704 位点

来调节 TRPV1 功能。突变这两个位点后就不能引发辣椒素敏感性电流,伴随 TRPV1 磷酸化程度降低^[28]。综上所述,在诸多的 TRPV1 功能敏化途径中,由 PKA、PKC 以及 CaMKII 介导的 TRPV1 磷酸化信号通路对脊髓背角 TRPV1 功能起着重要作用。

TRPV1 通道的下游神经激肽产物,如脊髓背角无髓鞘的 C 纤维中的 P 物质(SP)、降钙素基因相关肽(CGRP)、谷氨酸(Glu)对疼痛的维持起着重要作用,并且这三大神经递质与 TRPV1 在痛觉敏化的发生过程中基本呈协同作用,其相互作用与 PKC 或 PKA 介导的磷酸化信号通路密切相关^[29-31]。脊髓背角 TRPV1 功能上调能促进 SP、CGRP 以及 Glu 的释放,使背角神经元超兴奋性,进而引起中枢敏化^[32]。其中 SP 又能通过 PKC 及 PKA 等第二信使途径使 TRPV1 通道敏化,两者形成反复激活的正反馈连锁反应,从而降低疼痛阈值,提高痛觉敏感性,使 TRPV1 通道变得更易激活^[29]。CGRP 可以通过由 PKC 介导的磷酸化信号通路参与调控脊髓背角水平的痛觉敏化过程。当鞘内注射 PKC 抑制剂时,可以显著抑制脊髓背角 CGRP 的表达^[30]。TRPV1 的表达与 CGRP 呈明显正相关,不能排除 CGRP 可以通过由 PKC 介导的磷酸化信号通路与 TRPV1 发生相互作用。Glu 与 TRPV1 也存在着协同作用,在谷氨酸能神经末端和某些 γ -氨基丁酸能神经末端突触前均有 TRPV1 通道的存在,对突触传递效能具有增强作用^[31]。研究还发现 TRPV1 诱发的脊髓背根神经节谷氨酸突触传递效能的增强依赖于由 PKC 介导的磷酸化信号通路^[33]。

4 电针对 TRPV1 受体的干预作用

针刺镇痛疗效已得到国内外研究者的肯定,在临床治疗中也取得了显著疗效,并广泛应用于治疗慢性疼痛。电针的镇痛效应可通过抑制人体的短暂或持续的痛觉过敏,以及在中枢神经系统水平上调节痛觉敏感性来实现^[34]。有研究发现^[35],电针可以通过抑制脊髓中 TRPV1 mRNA 及蛋白的表达发挥镇痛效应。脊髓中的 TRPV1 还有可能作为 JNK1/2 通路的下游效应器来介导电针的抗痛觉过敏效应。有研究观察到 1.0mA 和 3.0mA 电针对正常小鼠具有全身性镇痛效应,敲除小鼠 TRPV1 基因后,1.0mA 和 3.0mA 电针对异位肢体的镇痛效应减弱,以上证实了 TRPV1 参与较高强度电针产生的镇痛效应,并且此镇痛效应是通过激活机体脊髓上水平的抗痛系统产生^[36]。另有研究表明^[37],2Hz 电针可通过干

预脊髓中 TRPV1 的表达来治疗 NP。Wu CH 等^[38]发现 2Hz 和 15Hz 电针可以增加 RTX 治疗后大鼠的热敏性,并恢复 RTX 治疗后脊髓背角浅层传入纤维中枢终端减少的 TRPV1 阳性细胞。因此,低频电针可能通过促进脊髓背角中枢终端 TRPV1 阳性细胞的再生和恢复提高大鼠的热敏性。另有报道显示^[7],TRPV1 在皮下神经纤维的高表达性和其在电针刺激后的表达上调对介导电针信号向中枢神经系统转导起着重要作用。在电针治疗慢性炎性痛的 MAPK 信号转导机制研究中发现,电针能更有效得抑制脊髓背角 p38MAPK 活化,并能下调其下游 TRPV1 水平^[39]。由此推测电针能通过调制 TRPV1 的表达发挥其抗神经病理痛中枢敏化的作用,但对于 TRPV1 的功能敏化途径以及电针治疗 NP 具体是通过干预上游蛋白激酶还是下游神经肽产物,亦或是均有影响有待进一步研究。

5 展望

综上所述,TRPV1 作为疼痛信号产生、传递的分子整合器,其在神经病理痛中枢敏化中起着重要作用。电针可以通过改变 TRPV1 的表达发挥镇痛效应。目前对 TRPV1 与神经病理痛中枢敏化关系的研究已取得很大进展,但在神经病理痛发生、维持的不同阶段,TRPV1 主要通过何种途径参与中枢敏化尚未清楚,以及电针对 TRPV1 功能敏化的调控机制也有待进一步探讨。明确 TRPV1 参与神经病理痛的中枢敏化机制,从多角度和多层次说明电针对 TRPV1 通路的干预作用,将为电针治疗神经病理痛提供更多有力的证据,从而能更大范围地推动电针疗法在临床的应用。

参考文献:

- [1] Colleoni M, P Sacerdote. Murine models of human neuropathic pain [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1802 (10): 924-933.
- [2] Jaggi AS, Singh N. Role of different brain areas in peripheral nerve injury-induced neuropathic pain [J]. *Brain Res*, 2011, 1381: 187-201.
- [3] Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, et al. Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes[J]. *Neurology*, 2008, 70(18): 1630-1635.
- [4] Wang W, Gu J, Li YQ, et al. Are voltage-gated sodium channels on the dorsal root ganglion involved in the development of neuropathic pain?[J]. *Mol Pain*, 2011, 7: 16-25.
- [5] Austin PJ, Moalem-Taylor G. The neuro-immune balance in neuropathic pain: involvement of inflammatory immune cells, immune-like glial cells and cytokines [J]. *Neuroimmunol*, 2010, 229(1-2): 26-50.
- [6] Palazzo E, Luongo L, de Novellis V, et al. Moving towards supraspinal TRPV1 receptors for chronic pain relief [J]. *Mol Pain*, 2010, 6: 66-77.
- [7] Abraham TS, Chen M, Ma S. TRPV1 expression in acupuncture points: Response to electroacupuncture stimulation[J]. *Chemical Neuroanatomy*, 2011, 41(3): 129-136.
- [8] Costigan M, Scholz J, Woolf C J. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage [J]. *Annual Review of Neuroscience*, 2009, 32(1): 1-32.
- [9] Latremoliere A, Woolf C J. Central Sensitization: A Generator of Pain Hypersensitivity by Central Neural Plasticity [J]. *Pain*, 2009, 10(9): 895-926.
- [10] Woolf C J, King A E. Subthreshold components of the cutaneous mechanoreceptive fields of dorsal horn neurons in the rat lumbar spinal cord[J]. *Neurophysiol*, 1989, 62: 907-916.
- [11] Woolf C J, King A E. Dynamic alterations in the cutaneous mechanoreceptive fields of dorsal horn neurons in the rat spinal cord[J]. *Neurosci*, 1990, 10: 2717-2726.
- [12] LaMotte RH, Shain CN, Simone DA, et al. Neurogenic hyperalgesia: psychophysical studies of underlying mechanisms[J]. *Neurophysiol*, 1991, 66: 190-211.
- [13] Campbell JN, Raja SN, Meyer RA, et al. Myelinated afferents signal the hyperalgesia associated with nerve injury[J]. *Pain*, 1988, 32: 89-94.
- [14] Di Marzo V, Bisogno T, De Petrocellis L. Anandamide: some like it hot [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2001, 22: 346-349.
- [15] Robert JC, Davis JB, Benham CD. 3H resiniferatoxin autoradiography in the CNS of wild-type and TRPV1 null mice defines TRPV1 (VR-1) protein distribution[J]. *Brain Res*, 2004, 995: 176-183.
- [16] Lishko PV, Procko E, Jin X, et al. The ankyrin repeats of TRPV1 bind multiple ligands and modulate channel sensitivity[J]. *Neuron*, 2007, 54: 905-918.
- [17] Garcia-Sanz N, Fernandez-Carvajal A, Morenilla-Palao C, et al. Identification of a tetramerization domain in the C terminus of the vanilloid receptor [J]. *Neuroscience*, 2004, 24(23): 5307-5314.
- [18] Tominaga M, Tominaga T. Structure and function of TRPV1 [J]. *Pflügers Arch*, 2005, 451: 143-150.
- [19] Sanchez JF, Krause JE, Cortright DN. The distribution and regulation of vanilloid receptor VR1 and VR1 5' splice variant RNA expression in rat [J]. *Neuroscience*, 2001, 107: 373-381.
- [20] Doly S, Fischer J, Salio C, et al. The vanilloid receptor-1 is expressed in rat spinal dorsal horn astrocytes [J]. *Neurosci Lett*, 2004, 357: 123-126.

- [21] Toth A, Boczan J, Kedei N, et al. Expression and distribution of vanilloid receptor 1 (TRPV1) in the adult rat brain [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2005, 135: 162–168.
- [22] Zhang X, Li L, McNaughton PA. Proinflammatory mediators modulate the heat-activated ion channel TRPV1 via the scaffolding protein AKAP79/150 [J]. *Neuron*, 2008, 59: 450–461.
- [23] Gregus AM, Doolen S, Dumlao DS, et al. Spinal 12-lipoxygenase-derived hepoxilin A3 contributes to inflammatory hyperalgesia via activation of TRPV1 and TRPA1 receptors [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2012, 109: 6721–6726.
- [24] Zhang XF, Han P, Neelands TR, et al. Coexpression and activation of TRPV1 suppress the activity of the KCNQ2/3 channel [J]. *Gen Physiol*, 2011, 138: 341–352.
- [25] Rathee PK, Distler C, Obreja O, et al. PKA/AKAP/VR-1 module: A common link of Gs-mediated signaling to thermal hyperalgesia [J]. *Neuroscience*, 2002, 22: 4740–4745.
- [26] Bhawe G, Hu HJ, Glauner KS, et al. Protein kinase C phosphorylation sensitizes but does not activate the capsaicin receptor transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 12480–12485.
- [27] Morenilla-Palao C, Planells-Cases R, Garcia-Sanz N, et al. Regulated exocytosis contributes to protein kinase C potentiation of vanilloid receptor activity [J]. *Biol Chem*, 2004, 279: 25665–25672.
- [28] Jung J, Shin JS, Lee SY, et al. Phosphorylation of vanilloid receptor 1 by Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II regulates its vanilloid binding [J]. *Biol Chem*, 2004, 279: 7048–7054.
- [29] 刘欣, 刘沙, 燕兰云, 等. 偏头痛大鼠硬脑膜及三叉神经节上 TRPV1 的表达变化 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2012, 18(7): 422–424.
- [30] 王懿春, 郭曲练, 王明德, 等. 鞘内注射舒芬太尼和 PKC 抑制剂对神经病理痛大鼠痛阈及脊髓背角 N-甲基-D-天冬氨酸受体和降钙素基因相关肽表达的影响 [J]. *中南大学学报(医学版)*, 2012, 37(8): 383–389.
- [31] 余红妹, 何晓华, 杨国华, 等. TRPV1 通道在中枢神经系统中的功能 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2010, 7(3): 275–278.
- [32] Bolay H, MA Moskowitz. Mechanisms of pain modulation in chronic syndromes [J]. *Neurology*, 2002, 59(5 Suppl 2): 2–7.
- [33] 马骋, 李翠贤, 余黎. 电针对大鼠神经病理痛 SNI 模型脊髓背角传入神经末梢 Glu 的影响 [J]. *南京中医药大学学报*, 2010, 26(5): 379–382.
- [34] Aloe L, Manni L. Low-frequency electro-acupuncture reduces the nociceptive response and the pain mediator enhancement induced by nerve growth factor [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 449(3): 173–177.
- [35] Du JY, Fang JQ, Liang Y, et al. Electroacupuncture attenuates mechanical allodynia by suppressing the spinal JNK1/2 pathway in a rat model of inflammatory pain [J]. *Brain Research Bulletin*, 2014, 108: 27–36.
- [36] 辛娟娟, 宿杨帅, 杨兆坤, 等. 不同强度电针、热灸样刺激对香草酸瞬时受体亚型 1 基因敲除小鼠痛阈的影响 [J]. *针刺研究*, 2012(6): 431–439.
- [37] Manni L, Florenzano L, Aloe L. Electroacupuncture counteracts the development of thermal hyperalgesia and the alteration of nerve growth factor and sensory neuromodulators induced by streptozotocin in adult rats [J]. *Diabetologia*, 2011, 54(7): 1900–1908.
- [38] Wu CH, Lv ZT, Zhao Y, et al. Electroacupuncture improves thermal and mechanical sensitivities in a rat model of postherpetic neuralgia [J]. *Mol Pain*, 2013, 9: 18–27.
- [39] Fang JQ, Du JY, Liang Y, et al. Intervention of electroacupuncture on spinal p38 MAPK/ATF-2/VR-1 pathway in treating inflammatory pain induced by CFA in rats [J]. *Mol Pain*, 2013, 9: 13–27.

(编辑:徐建平)

Mechanisms of TRPV1 in Central Sensation of Neuropathic Pain and the Intervention of Electro-acupuncture

YAN Sisi, YE Jiayu, JIANG Yongliang, HE Xiaofen, DU Junying, CHEN Lifang,
CHEN Xiaojun, ZHAO Wensheng, FANG Jianqiao[△]

(The Third Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: Transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) is an ion channel receptor which closely related to pain transmission, and plays an important role in the incidence and maintenance of neuropathic pain (NP). A large amount of data has indicated that electro-acupuncture (EA) has a good effect on NP treatment. Also studies have found that EA has a role in regulating the expression of TRPV1. This article mainly reviews the advance of TRPV1 involvement in the mechanisms of central sensation modulating in NP and the intervention of EA.

KEY WORDS: TRPV1; neuropathic pain; central sensation; electro-acupuncture; review