

· 综 述 ·

辣椒素受体与慢性疼痛

程阔菊, 景 胜 综述, 杨天德[△] 审校

(第三军医大学新桥医院麻醉科 400037)

关键词: 神经痛; 辣椒素受体; 炎性疼痛; 癌痛

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.02.041

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)02-0199-03

辣椒素受体是表达于感觉神经元伤害性感受器上的阳离子通道,与人体对伤害性冲动的感受和痛觉的产生密切相关。实验条件下,辣椒素受体激活后机体会产生痛觉反 r 应,而敲除辣椒素受体的动物则对某些伤害性刺激,如辣椒素、H⁺、热(>43℃)极不敏感^[1]。随着研究的深入,外周伤害性感受器上的辣椒素受体(VR1)作为新型镇痛靶点的研究开始受到广泛关注。

1 辣椒素受体的发现历程

辣椒素是辣椒中的主要辛辣成分,18世纪时人们就已发现用辣椒涂抹于伤口具有镇痛的作用。19世纪中叶 IThresh 首次将辣椒素从辣椒粉中分离出来并将其命名为 capsaicin。1919年, Nelson 报道了辣椒素的结构,一种酰基化的香草酸同源同系物高香草酸(homovanillic acid),这也是后来将辣椒素受体命名为香草酸受体(vanilloid receptor, VR)的原因。Spath 和 Darling 于 1930 年首次用化学合成方法将 capsaicin 合成成功。自 18 世纪以来的很长一段时间里,辣椒素与疼痛方面的相关研究都没有引起人们的注意。直到 20 世纪 80 年代,Janeso 提出辣椒素可能参与了激活感知痛觉的神经元的电生理活动,从此辣椒素在疼痛方面的研究才开始进入人们的视线。1997 年,大鼠背根神经节 VR1 的成功克隆,将 VR1 在疼痛方面的研究推向了一个新的高度,同时也给国际疼痛学带来了新的希望。

2 辣椒素受体的结构

经蛋白质组学鉴定^[2], VR1 是一个四亚基组成的、配体门控的非选择性阳离子通道,当其配体结合后,通道开放,阳离子[主要是钙离子(Ca²⁺)]从胞外进入胞内,进而引发一系列生物学效应。亲水性分析显示它有 6 个锚蛋白重复序列(ARD),整个 TRPV1-ARD 结构与 TRPV2-ARD 很相似,均由 6 个 ARD 和连接 ARD 的 5 个“指环”组成,每个 ARD 由一对反向平行的单环组成。其中第 5“指环”为非选择性阳离子通道,参与并调控辣椒素激活 VR1 的过程。VR1 与瞬时感受器电位(transient receptor potential, TRP)家族成员在氨基酸序列上有 23% 的同源性,TRP 家族相关分子的核心跨膜结构类似于钾离子门控和环核苷酸门控通道。VR1 分子中还存在着 3 个 PKA 磷酸化位点,在信号转导通路中可能起到磷酸化激活或失活的作用。

3 辣椒素受体的分布

应用免疫组化等方法发现, VR1 主要分布于伤害性感觉神经元。应用放射自显影的方法,揭示出 VR1 的 mRNA 分布于 vanilloid 敏感神经元的全长,从外周末梢-轴索-胞体-中央端

均有分布,这些神经元的轴索主要是无髓鞘的 C 类纤维,以及一小部分的 A δ 纤维。VR1 还存在于大脑的某些区域,按含量大小依次是丘脑和小脑大于皮质、纹状体和中脑大于嗅球、脑桥、海马、和背侧丘脑^[3]。除此之外,TRPV1 在体内其他部位也有较为广泛的分布,比如皮肤角质细胞、膀胱黏膜上皮细胞和胰岛 β_2 细胞等。

4 VR1 受体的分子生物学和电生理学特性

VR1 受体是一种由 838 个氨基酸组成的非选择性阳离子通道,如前所述共有 6 个锚蛋白重复序列(ARD),第 5“指环”为一孔道形成部位,N 端、C 端均位于细胞质内。VR1 受体具有脂质结合部位和质子化、磷酸化位点,可被 G 蛋白耦联受体和酪氨酸激酶受体间接激活。VR1 的直接激活物为伤害性热刺激(阈值>43℃)、氢离子、辣椒素及其花生四烯酸的脂氧合代谢产物等^[4]。当 VR1 与配体结合后,通道开放,阳离子(尤其是 Ca²⁺)从胞外进入胞内,引发了一系列生物学效应。通过 VR1 受体和后继的电压依赖型 Ca²⁺ 通道引起的 Ca²⁺ 内流,可触发神经末梢释放神经肽类和兴奋性氨基酸,最终引起大脑皮层痛觉形成。

5 VR1 与神经性疼痛

VR1 与神经性疼痛的关系,目前为止研究远不够深入。在几种神经结扎模型中发现,在部分神经结扎损伤模型中,VR1 在受损的神经元中表达下调,在末受损的神经元中表达上调,这种上调不仅表现在无髓鞘的 C-纤维上而且也表现在有髓鞘的 A δ 纤维上^[5];在脊神经结扎模型中,L₅ 脊神经轻度结扎后,VR1 在受损的 L₅ 背根神经元中表达下调,而在邻近未受损的 L₄ 背根神经元中表达上调^[6-7]。

除神经结扎模型外, Hong 等^[5] 的研究表明, VR1 在糖尿病性神经疼痛模型中对化学和热痛觉过敏起着重要作用,它的作用可能涉及细胞特性表达的改变(VR1 蛋白在 C-纤维神经元上表达减少,在 A-纤维上表达相对增多),以及 VR1 功能的增多[对细胞膜上通道的寡聚化、重分配,和(或)增加 TRPV1 的磷酸化以及减少脱敏]。相对于 VR1 在糖尿病性大鼠模型中对化学和热痛觉过敏有促进作用之外, VR1 似乎对机械性痛觉过敏的发展却有保护作用^[8]。

6 VR1 与炎性疼痛

Caterina 等^[9] 成功培育出的 VR1 基因敲除小鼠表明, VR1 敲除小鼠可以存活,有繁殖力,外形、大体解剖、体质量、运动和与正常野生型小鼠没有区别; VR1 敲除小鼠对皮下注射辣椒素、喝辣椒水无疼痛抗拒行为,热力致痛反应减弱;但对伤害性机械刺激反应正常,对角叉菜胶诱发的热痛觉过敏反应能

[△] 通讯作者, Tel:13883008811; E-mail:31011@sina.com。

力丧失。因此,VR1 很可能参与了外周局部炎症痛敏的形成。前期的一些实验证明,炎症介质(缓激肽、前列腺素 E₂、细胞外 ATP、谷氨酸、神经生长因子)对 VR1 很可能起的是间接敏化作用而不是直接激活作用。炎症介质敏化 VR1 的机制包括:(1)有可能增加 VR1 在感觉神经细胞膜上的表达^[9-11];(2)通过蛋白激酶间接诱导 VR1 磷酸化^[12-14];(3)通过 4,5-二磷酸化环己六醇(可使通道对激动剂刺激更为敏感)解除对 VR1 的活性抑制^[15];(4)炎症介质通过 G 蛋白耦联受体或酪氨酸蛋白激酶通路,激活磷脂酶 C 或 A2,导致花生四烯酸代谢物的释放,而一些花生四烯酸代谢物(如大麻素、12-(S)-HPETE)正是 VR1 的激动剂^[16]。

在中枢,VR1 在下丘脑表达特别丰富。脑室应用 VR1 的拮抗剂 capsazepine 和 ruthenium red 可对抗皮下注射辣椒素所造成的急性痛觉过敏^[17];硬膜内给予 VR1 的拮抗剂 A-784168 可阻断完全弗罗因德佐剂诱导的热痛觉过敏^[18]。以上研究表明中枢的 VR1 也参与了炎性痛觉过敏的形成过程。

至于 VR1 在炎症过程中是如何起作用,相关的研究还不够深入,有待进一步探索。有学者发现在成年大鼠炎症模型中,VR1 的功能及表达选择性地 IB4-阳性神经元上增强^[19],说明 IB4-positive C 纤维神经元在炎性疼痛的发展过程中很可能起着重要作用。另有学者在实验性结肠炎研究中发现,肠道局部炎症可以上调支配肠道的脊髓传入神经元中 VR1 的表达,这种表达可以持续至肠道炎症反应消退后的一段时间^[20]。

7 VR1 与癌痛

研究资料显示,VR1 参与了癌症的发展与癌痛的传导。在癌症的整个发展过程中,癌细胞内 VR1 基因并没有发生改变,改变的只是 VR1 基因的表达水平。在骨癌^[21]、前列腺癌^[22]、肠癌^[23]和胰腺癌细胞中^[24],VR1 的表达水平上升;而在膀胱癌^[25]、皮肤癌中^[26],VR1 的基因表达下降。但是,到目前为止,还不能说 VR1 的表达改变在癌症发展过程中具有关键作用,或者对于癌症的其他变化来说只是次要的,或许后者的可能性更大。暂先不考虑这个问题,有文献报道称,VR1 有可能根据在癌细胞中的表达水平对癌症的发展阶段起着指示性作用。因此,VR1 也可能成为药物治疗癌症的一个新靶点。根据 VR1 在癌症组织上的表达特征,提出以下 2 条治疗癌症的假设途径:(1)通过特异性激活癌细胞上 VR1 引起大量 Ca²⁺和 Na⁺内流,最后导致癌细胞凋亡和坏死;(2)以癌细胞上 VR1 为靶点将放射性核素或毒性化学物质导入癌细胞,进而杀灭癌细胞。除此之外,在伤害性感觉神经元上分布有大量的 VR1,有报道称它们在传导癌痛方面起着非常重要的作用,因此,位于神经元上的 VR1 也有可能成为癌痛治疗的一个作用靶点。

参考文献:

[1] Bolcskei K, Helyes Z, Szabo A, et al. Investigation of the role of TRPV1 receptors in acute and chronic nociceptive processes using genedeficient mice [J]. *Pain*, 2005, 117 (3):368-376.

[2] Tominaga M, Tominaga T. Structure and function of TRPV1[J]. *Pflugers Arch*, 2005, 451(2):143-150.

[3] Daniel M, Johnson, Elizabeth M. Functional mapping of the transient receptor potential vanilloid 1 intracellular

binding site[J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 70(8):1005-1012.

[4] Jordt SE, Tominaga M, Julius D, et al. Acid potentiation of the capsaicin receptor determined by a key extraellular site[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97 (14): 8134-8139.

[5] Hong S, Wiley JW. Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in the expression and function of vanilloid receptor 1[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (5):618-627.

[6] Hudson LJ, Bevan S, Wotherspoon G, et al. VR1 protein expression increases in undamaged DRG neurons after partial nerve injury [J]. *European Journal of Neuroscience*, 2001, 13(18):2105-2114.

[7] Fukuoka T, Tokunaga A, Tachibana T, et al. VR1, but not P2-X(3), increases in the spared L₄ DRG in rats with L₅ spinal nerve ligation[J]. *Pain*, 2002, 99(1):111-120.

[8] Boleskei K, Helyes Z, Szabo A, et al. Investigation of the role of TRPV1 receptors in acute and chronic nociceptive processes using genedeficient mice [J]. *Pain*, 2005, 117 (3):368-376.

[9] Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor[J]. *Science*, 2000, 288(3):306-313.

[10] Chung MK, Lee J, Duraes G, et al. Lipopolysaccharide-induced pulpitis up-regulates TRPV1 in trigeminal ganglia [J]. *J Dent Res*, 2011, 90(9):1103-1107.

[11] Zhang X, Huang J, McNaughton PA. NGF rapidly increases membrane expression of TRP-V1 heat-gated ion channels[J]. *EMBO J*, 2005, 24(32):4211-4223.

[12] Premkumar LS, Sikand P. TRPV1: a target for next generation analgesics[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2008, 6(2):151-163.

[13] Nathaniel AJ, Elaine DP, Sergei B, et al. A-Kinase anchoring protein 150 mediates transient receptor potential family V Type 1 sensitivity to phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate[J]. *J Neuro Sci*, 2011, 31(23):8681-8688.

[14] Liu DL, Wang WT, Xing JL, et al. Research progress in transient receptor potential vanilloid 1 of sensory nervous system[J]. *Neuroscience Bulletin*, 2009, 25(4):221-227.

[15] Bhawe G, Gereau RW. Posttranslational mechanisms of peripheral sensitization[J]. *J Neuro Biol*, 2004, 61(1):88-106.

[16] Kim SR, Bok E, Chung Y, et al. Interactions between CB1 receptors and TRPV1 channels mediated by 12-HPETE are cytotoxic to mesencephalic dopaminergic neurons[J]. *British J Pharmacol*, 2008, 155(2):253-264.

[17] Santos AR, Calixto JB. Ruthenium red and capsazepine antinociceptive effect in formalin and capsaicin models of pain in mice[J]. *Neurosci Lett*, 1997, 235(1):73-76.

[18] Cui M, Honore P, Zhong C, et al. TRPV1 receptors in the CNS play a key role in broad-spectrum analgesia of TRPV1 antagonists[J]. *J Neuro Sci*, 2006, 26 (37): 9385-9393.

- [19] Breese N, George A, Pauers L, et al. Peripheral inflammation selectively increases TRPV1 function in IB4-positive sensory neurons from adult mouse [J]. *Pain*, 2005, 115 (1):37-49.
- [20] Yang X, Han JQ, Liu R. Effects of experimental colitis on the expressions of calcitonin gene-related peptide and vanilloid receptor 1 in rat spinal cord sensory neurons [J]. *Acta Physiologica Sinica*, 2008, 60(1):143-148.
- [21] Pan HL, Zhang Q, Zhao ZQ. Involvement of lysophosphatidic acid in bone cancer pain by potentiation of TRPV1 via PKC pathway in dorsal root ganglion neurons [J]. *Mol Pain*, 2010, 6(1):85-95.
- [22] Czifra G, Varga A, Nyeste K, et al. Increased expressions of cannabinoid receptor-1 and transient receptor potential vanilloid-1 in human prostate carcinoma [J]. *J Cancer Res and Clin Oncol*, 2009, 135(4):507-514.
- [23] Domotor A, Peidl Z, Vincze A, et al. Immunohistochemi-
• 综 述 •
- cal distribution of vanilloid receptor, calcitonin-gene related peptide and substance P in gastrointestinal mucosa of patients with different gastrointestinal disorders [J]. *Inflammopharmacology*, 2005, 13:161-177.
- [24] Liddle RA. The Role of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels in pancreatitis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1772(8):869-878.
- [25] Lazzeri M, Vannucchi MG, Spinelli M, et al. Transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) expression changes from normal urothelium to transitional cell carcinoma in human bladder [J]. *Eur Urol*, 2005, 48(5):691-698.
- [26] Bode AM, Cho YY, Zheng D, et al. Transient receptor potential type vanilloid1 suppresses skin carcinogenesis [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(7):905-913.

(收稿日期:2011-08-23 修回日期:2011-10-09)

内质网应激与免疫炎症反应的研究进展*

钟河江 综述, 杨天德 审校

(第三军医大学新桥医院麻醉科, 重庆 400037)

关键词:内质网;未折叠蛋白反应;免疫炎症反应

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.02.042

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)02-0201-03

内质网是具有重要生理功能的细胞器,是细胞内 Ca^{2+} 贮存器,负责蛋白的生物合成、折叠、组装和修饰。内质网对各种刺激非常敏感,蛋白折叠需求增强或外界刺激等因素,均可引起内质网蛋白折叠负荷与蛋白折叠能力之间的不平衡,造成未折叠蛋白或错误折叠蛋白在内质网腔内蓄积,即诱发内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)。为了确保蛋白折叠的精准性,防止未折叠蛋白或错误折叠蛋白在内质网腔内蓄积,ERS可激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)。UPR是一种复杂的多信号转导通路,主要通过3种跨内质网膜蛋白始动:肌醇需要酶1(inositol requiring enzyme 1, IRE1)、蛋白激酶受体样内质网激酶(protein kinase receptor-like ER kinase, PERK)和激活转录因子6(activating transcription factor 6, ATF6)。通过增强蛋白折叠、促进未折叠蛋白或错误折叠蛋白降解、减缓蛋白质翻译等,UPR在维持细胞内环境稳定及细胞功能方面有重要作用。近年来研究发现ERS与免疫炎症反应关系密切,在免疫细胞功能调控和免疫炎症性疾病的发病机制中起重要作用。本文对ERS与免疫炎症反应的相关研究进展进行简要综述。

1 ERS与炎症反应

研究发现UPR与炎症信号转导通路之间通过各种机制存在相互联系,包括核因子- κB (NF- κB)和分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的JNK(JUN N-末端激酶)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)及内质网钙

释放等。NF- κB 是一种重要的转录调控因子,在炎症反应中起重要作用。内质网蛋白折叠负荷增加(如病毒感染)可导致NF- κB 激活。研究发现钙耦剂剂和抗氧化剂有助于ERS时激活NF- κB ^[1],由此推测NF- κB 激活可能是氧化应激和(或)钙渗漏所致^[2]。UPR可通过PERK-eIF2 α 介导的翻译减缓直接促进NF- κB 激活^[3]。I κB 的半衰期较NF- κB 的短,翻译减缓可增加NF- κB 与I κB 之间的比率,因此,ERS时,游离NF- κB 可转位到细胞核中。运用内质网诱导剂处理细胞及紫外线照射细胞均可观察到这种效应,这2种处理因素均可激活PERK通路^[3-4]。一般而言,ERS可激活MAPK和NF- κB ,引起细胞活化。通过IRE1-ASK1通路,UPR具有激活应激激酶的能力,包括JNK和p38 MAPK^[5]。同样,UPR可通过多种机制激活NF- κB ,如通过IRE1通路和(或)PERK-eIF2 α 通路。

在哺乳动物,IRE1 α 可能在ERS与炎症反应信号转导通路中具有重要作用。ERS时,IRE1 α 自磷酸化可诱导其细胞质区域发生构象变化,与衔接蛋白肿瘤坏死因子- α 受体相关因子2[tumour-necrosis factor- α (TNF- α)-receptor-associated factor 2, TRAF2]结合^[6]。IRE1 α -TRAF2复合物能招募I κB 激酶(IKK),磷酸化I κB ,导致I κB 发生降解和NF- κB 核转位。在缺失IRE1 α 的小鼠胚胎成纤维细胞,ERS可诱导NF- κB 激活并产生炎症因子TNF- α ^[7]。IRE1 α -TRAF2复合物也能招募蛋白激酶JNK,导致JNK激活。活化的JNK可通过磷酸化转录因子活化蛋白1(activator protein-1, AP-1)诱导炎症基因表达。

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81171803)。