

小胶质细胞活化在慢性神经性疼痛中作用的研究进展

邵 帅, 史高娜, 张天泰*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

摘要: 小胶质细胞作为中枢神经系统中主要的天然免疫细胞, 对外界伤害性刺激做出应答的过程中可被活化, 并与星形胶质细胞及神经元产生相互作用, 诱导神经炎症的发生, 易化疼痛信号的传导。该应答机制有助于中枢神经系统适应伤害性刺激介导的内环境改变, 导致外周及中枢的痛觉神经传导通路的长时程敏感及慢性疼痛。虽然大量的动物实验证实小胶质细胞活化参与慢性神经性疼痛的发生发展和维持, 抑制脊髓或脑内小胶质细胞的活化可产生镇痛的效果, 但由于其应答机制尚不明确, 难以系统阐述小胶质细胞参与疼痛调控的分子事件, 因此, 目前尚未发现靶向小胶质细胞活化而设计的治疗慢性神经性疼痛的药物。本文拟通过对小胶质细胞与慢性疼痛相关研究文献进行综述, 梳理小胶质细胞与慢性疼痛的关系, 为调控小胶质细胞活化途径治疗慢性神经性疼痛的新药研发提供一些启示。

关键词: 伤害性刺激; 小胶质细胞; 神经炎症; 疼痛信号; 慢性神经性疼痛

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)07-1166-08

Recent advances in microglial activation for treatment of chronic neuropathic pain

SHAO Shuai, SHI Gao-na, ZHANG Tian-tai*

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: As the primary innate immune cells in the central nervous system, microglia can be activated by external noxious stimulus and in turn interact with astroglia and neurons to induce neuroinflammation and facilitate the transmission of pain signals. This response can help the central nervous system adapt to the changes of the internal environment induced by noxious stimulus, leading to the long-term sensitivity of peripheral and central pain nerve conduction pathways and chronic neuropathic pain. Numerous researches found that activation of microglia participated in the occurrence and maintenance of chronic neuropathic pain, and inhibition of microglial activation in the spinal cord or the brain had analgesic effect in animal experiments. Due to the fact that molecular and cellular mechanisms between the activation of microglia and pain remittance are unclear, there are many difficulties in designing of new drugs selectively targeting to the activation of microglia for treatment of chronic neuropathic pain. We review here the research articles on microglia and chronic neuropathic pain, sorting out the relationship between microglia and chronic neuropathic pain, and provide new ideas for the development of new drugs targeting to microglia for the treatment of chronic neuropathic pain.

Key words: noxious stimulus; microglia; neuroinflammation; pain signal; chronic neuropathic pain

国际疼痛学会 (International Association for the

Study of Pain, IASP) 关于疼痛的定义认为“疼痛是与实际或潜在的组织损伤相关联的一种不愉快的躯体感觉和情感体验”。根据美国疼痛协会研究显示, 在过去的一个月里, 大约有一半的美国人会经历持续至少一天的疼痛^[1], 其中患慢性疼痛的人数占美国人口的

收稿日期: 2018-12-06; 修回日期: 2019-01-11.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81373388).

*通讯作者 Tel: 86-10-63035779, E-mail: ttzhang@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-1087

35.5%, 卫生保健支出达1 000多亿美元^[2]。在英国的一项疼痛研究中, 最常见的疼痛部位是下背部(30%)、臀部(25%)、颈部和肩部(25%)以及膝盖(24%)^[3]。疼痛反应可发生于各种疾病的病理生理进程中, 严重影响人们的心理情绪和生活质量, 同时增加了社会负担, 已然成为一大难题。

疼痛是人体的一种主观感受, 根据其病程长短的不同可以分为急性疼痛和慢性疼痛, 急性疼痛持续时间一般在3天左右, 可自行缓解。慢性疼痛分为炎症性疼痛、神经性疼痛、内脏痛及混合型疼痛, 可持续数周、数月甚至更久的时间, 易造成机体损伤导致愈后差。目前对疼痛的治疗依然依赖于传统的镇痛药物, 如非甾体类抗炎镇痛药、阿片类镇痛药等, 但由于其胃肠道的不良反应及成瘾性, 产生了一系列药物安全的问题。因此, 了解小胶质细胞的活化与疼痛发生机制之间的关系, 将有助于开发靶向小胶质细胞活化状态的安全而有效的新型镇痛药物。

1 神经性疼痛的状态与传导机制

神经性疼痛是慢性疼痛的一种, 表现为自发性疼痛(spontaneous pain)、痛觉过敏(由伤害性刺激引起的疼痛增强, hyperalgesia)和痛觉超敏(由非伤害性刺激引起的疼痛, allodynia)^[4]。当机体受到外界伤害性刺激时, 物理或化学信号会传导至外周神经末梢痛觉感受器, 这些感受器属于初级传入感觉神经元的集合, 主要包括有髓鞘的A δ 纤维和无髓鞘C纤维^[5]。兴奋性信息通过这些纤维传递至脊髓背角(spinal dorsal horn, SDH), 通过谷氨酸受体(*N*-methyl-*D*-aspartic acid receptor, NMDAR)激活了脊髓板层I中的痛感投射神经元, 促进Na⁺和Ca²⁺内流, 继而将该信息投射到脑干和大脑中负责处理疼痛感觉信号的区域, 产生痛觉^[6,7]。相比之下, 非伤害性刺激信号通过非痛觉感受器的A β 纤维^[8,9]被传递到含有抑制性中间神经元的SDH区域中, 该区域的抑制性中间神经元含有 γ 氨基丁酸(GABA)和/或甘氨酸等抑制性神经递质。这种特殊的信号投射方式会导致前馈抑制, 从而确保在正常的健康状态下, A β 纤维不会激活痛觉投射神经元, 并能减少它们的自发活动, 这是疼痛传导的门控理论中一个关键基础^[10]。在慢性神经性疼痛的研究历程中, 人们一致认为疼痛的发生发展及维持是神经细胞间信号传递的一种自主行为, 即神经的可塑性(neuroplasticity): 主要包括背根神经节的外周敏化以及脊髓区域的中枢敏化^[11]。随着对疼痛传导机制的深入研究, 外周及中枢神经系统中一些非神经元细胞, 如单核细胞、巨噬细胞、胶质细胞, 尤其是小胶质细胞, 开始受到大家的关注。各种内源性或外源性的因素, 如

细胞因子、神经损伤、感染导致的小胶质细胞的活化, 也参与了慢性神经性疼痛的发生发展及维持(图1)。

2 小胶质细胞的活化与慢性神经性疼痛的发生发展及维持

越来越多的证据表明, 免疫反应在神经痛的发展中起着重要的作用, 特别是通过免疫细胞活动引起的外周神经系统和中枢神经系统的神经炎症, 介导着慢性神经性疼痛的发生发展和维持^[12-14]。慢性神经性疼痛条件下的神经炎症的特征是在背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)中免疫细胞的渗透, 以及脊髓和大脑中的小胶质细胞的激活。通过对多种慢性神经痛动物模型的研究, 人们发现, 病理状态下的脊髓中CD11b高表达, 这表明脊髓中的小胶质细胞被活化^[15], 这是因为在神经损伤后, 小胶质细胞在脊髓的腹侧角周围形成密集细胞群, 类似于在外周神经系统中, 巨噬细胞包围损伤的感觉神经元的方式, 表现为胞体变大, 细胞分支触角增多, 同时分泌多种细胞因子和致痛物质, 调节疼痛信号在神经元中传导。但是在不同微环境下, 活化的小胶质细胞表现出不同的表型和功能, 即促炎的M1型小胶质细胞和抗炎的M2型小胶质细胞, 如由脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)或干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)诱导小胶质细胞活化形成的具有强烈吞噬功能的M1型小胶质细胞, 能产生大量的促炎因子, 包括白介素6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)等, 从而促进炎症反应, 并加重神经元的损伤, 导致神经信号传导功能障碍, 使中枢痛觉敏化。相比之下, M2型小胶质细胞可分泌抗炎介质如白介素-10(interleukin-10, IL-10)和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β), 抑制炎症反应, 维护中枢内环境稳态。伤害性刺激信号长时程反复作用于小胶质细胞后, 将使小胶质细胞持续处于活化状态, M1极化程度增加, 进而演化为慢性疼痛, 这也是慢性神经痛难以彻底根治的原因之一。有研究报道, 大鼠慢性坐骨神经结扎后脊髓中促炎因子IL-6和TNF- α 增多, 给予大鼠米诺环素, 通过选择性抑制小胶质细胞内p38MAPK的磷酸化, 以及caspase-1和caspase-3的活化来阻止小胶质细胞的活化及M1极化^[16], 降低了脊髓中促炎因子IL-6和TNF- α 的含量, 进而达到镇痛的作用^[17], 这表明小胶质细胞M1极化及其随后产生的促炎因子所介导的神经炎症在参与介导神经病理性疼痛中发挥至关重要作用。与此同时, 随着该模型后期炎症的消退, 活化小胶质细胞开始由M1型向M2型转化, 促进抗炎因子如IL-4和IL-10的产生, 帮助神经恢复正常功能, 转变疼

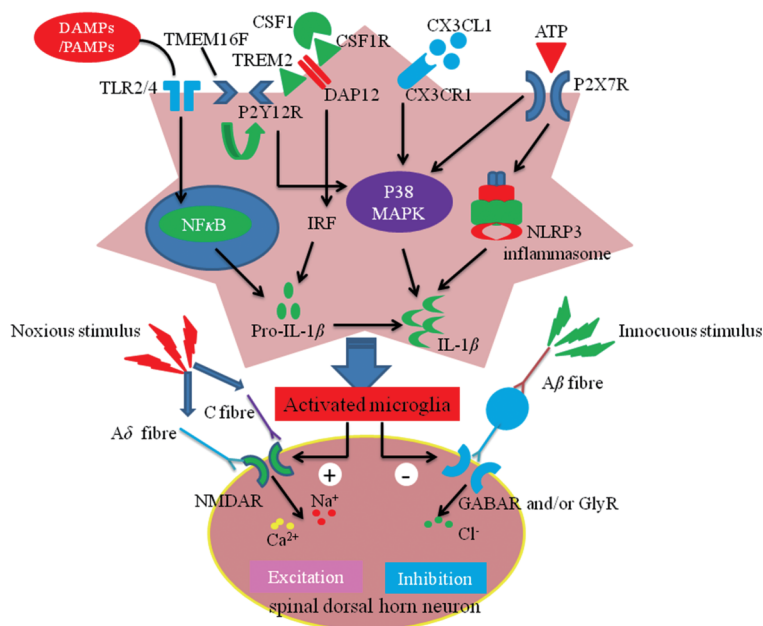


Figure 1 Mechanism of pain signals transmission between microglia and spinal dorsal horn neuron. DAMPs/PAMPs: Damage-associated molecular patterns/ pathogen-associated molecular patterns; TLR2/4: Toll-like receptor 2/4; TMEM16F: Transmembrane protein 16 F; TREM2: Triggering receptor expressed myeloid cells 2; CSF1: Colony stimulating factor 1; CSF1R: Colony stimulating factor 1 receptor; DAP12: DNAX activation protein 12; CX3CL1: Chemokine C-X3-motif ligand 1; CX3CR1: Chemokine C-X3-motif receptor 1; ATP: Adenosine triphosphate; P2X7R: Purinergic ligand-gated ion channel 7 receptor; P2Y12R: Purinergic metabotropic G-protein coupled 12 receptor; NF- κ B: Nuclear factor- κ B; p38 MAPK: p38 mitogen-activated protein kinase; IRF: Interferon regulatory factor; NLRP3: Nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 3; IL-1 β : Interleukin-1 β ; Pro-IL-1 β : Precursor-interleukin-1 β ; NMDAR: *N*-Methyl-D-aspartic acid receptor; GABAR: γ -Aminobutyric acid receptor; GlyR: Glycine receptor

痛状态。由此可见,小胶质细胞的极化状态随着疼痛状态可出现动态变化,在慢性神经性疼痛的发生发展中合理调节小胶质细胞极化状态有望成为治疗慢性神经疼痛的潜在策略。

2.1 Toll样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 与慢性神经性疼痛 小胶质细胞表面可以表达所有已确证的天然免疫受体,尤其是TLRs。TLRs作为第一个被确证用于启动对病原体免疫反应的病原体相关分子模式,在小胶质细胞的活化中扮演着重要的角色^[18]。TLRs定位于神经免疫接口,介导免疫细胞与神经元之间的信号交联。越来越多的证据表明,TLR激活所诱导的神经胶质细胞(包括小胶质和星形胶质细胞)或感觉神经元炎症会影响痛觉传导并表现出慢性疼痛状态^[19]。研究显示,周围神经损伤后,TLR2和TLR4参与脊髓小胶质细胞的激活,介导神经性疼痛的发生^[15,20]。TLR4的活化会导致髓样分化因子88(MyD88)活化,MyD88作为一种锚定蛋白可以上调IL-1R1或TLRs,激活NF- κ B信号通路,促进多种促炎因子和小胶质细胞表面相关分子标志物的表达。敲除TLR4的小鼠一方面显著减少了小胶质细胞的活化,降低相关炎症因子如IFN- γ 、IL-1 β 、TNF- α 表达,另一方面降低了神经

损伤后的痛觉敏化。除了TLR4,TLR2也在活化的小胶质细胞中高表达,TLR2敲除的小鼠表现出与TLR4敲除鼠相似的变化。

2.2 丝裂原激活的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 途径与慢性神经性疼痛 继神经性疼痛动物模型建立以来,研究者发现外周及中枢神经损伤后,小胶质细胞内疼痛相关基因及细胞膜表面的一系列分子标志物表达上调^[20-22]。研究者通过大鼠外周神经损伤(peripheral nerve injury, PNI)模型发现了小胶质细胞内p38MAPK磷酸化水平表达的上调,并将其确证为小胶质细胞活化的分子标志之一,届时小胶质细胞活化在神经性疼痛中的作用开始备受关注^[23]。有研究显示,对神经痛动物模型鞘内注射p38MAPK的抑制剂SB230580可减弱痛觉敏感^[24]。因此,研究者思考能否通过p38MAPK抑制剂来抑制小胶质细胞活化,以达到治疗慢性神经性疼痛的目的。通过实验证明,p38MAPK抑制剂仅能阻止慢性神经性疼痛的发生和发展,但无法逆转疼痛症状。相同的,小胶质细胞活化抑制剂米诺环素,同样抑制胞内p38的磷酸化,也无法逆转疼痛症状,因此这些方法只能在慢性神经性疼痛的初期阶段有效。届时,p38MAPK的亚型受到研究

者的关注, p38MAPK 分为 α 、 β 、 γ 和 δ 四种亚型, 其中 α 和 β 是最主要的两种亚型, 现有的 p38 抑制剂由于靶向 p38 α 和 p38 β 共同的磷酸化位点, 还无法特异性阻断 p38 α 或 p38 β 的磷酸化, 因此研究者通过 RNA 干扰的方式沉默 p38 α 或 p38 β 的表达后发现, 在脊神经结扎大鼠疼痛模型的脊髓中, p38 磷酸化程度在 p38 β 沉默的条件下大幅度降低, 而沉默 p38 α 对脊髓中 p38 的磷酸化影响不大, 同时, p38 β 沉默后降低了大鼠中枢痛觉敏化, 达到镇痛的效果^[25]。也有研究者发现, 小胶质细胞中 p38 α 的磷酸化可促进 NF- κ B 的活化, 在诱导炎症中占主导作用, 而 p38 β 或 ERK1/2 的磷酸化可促进 CREB 的活化, 促进强啡肽或内啡肽的表达和分泌, 达到镇痛的效果^[26,27]。研究显示, 乌头或附子来源的一类二萜生物碱或水提取物在小鼠醋酸扭体实验中有良好的镇痛效果^[28,29]。研究者还发现, 乌头或附子来源的 C-18、C-19 类二萜生物碱的镇痛机制与强啡肽或内啡肽的表达分泌有关^[26,27], 但这种镇痛机制是否存在于所有类型的二萜生物碱中还未可知。因此, 虽然病理性疼痛状态下脊髓中小胶质细胞的活化和 p38 的磷酸化被众多研究疼痛的研究者所发现, 但这两者之间的关系及影响疼痛发生发展的具体机制尚不十分明确, 有待深入研究。

2.3 嘌呤受体与慢性神经性疼痛 嘌呤受体是一类非选择性的离子通道受体, 在外周及中枢神经系统中广泛分布。随着对小胶质细胞和神经性疼痛研究的深入, 小胶质细胞膜表面的一些活化标志物备受关注。研究显示, P2XR_s 及 P2YR_s, 尤其是亚型 P2X₄R/P2X₇R 和 P2Y₁₂R/P2Y₁₃R 在活化的小胶质细胞膜表面高度表达, 是神经性疼痛发生发展的重要标志之一^[8]。在人类和鼠类的小胶质细胞膜上, 嘌呤受体主要参与胞内外钠离子和钙离子的交换, 在细胞损伤或凋亡等因素的驱动下, ATP 释放到胞外, 作为嘌呤受体的天然内源性配基, ATP 与其结合, 使静息状态的小胶质细胞进入活化状态, 既刺激胞内 MAPK_s 信号通路中激酶的磷酸化表达, 又调节胞内活化 T 细胞核因子 (nuclear factor of activated T cell, NFAT) 和 NF- κ B 的表达, 调控早期炎症因子相关基因及细胞因子的表达, 进而诱导 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等分泌, 引起神经炎症, 产生痛觉敏化或异常疼痛。研究显示, 在慢性神经性疼痛发生时, 活化的小胶质细胞表面 P2X₄R 和 P2X₇R 表达上调。伤害性刺激信号作用于 P2X₄R, 一方面抑制 SDH 中的抑制性中间神经元的活动, 促进兴奋性信号的传导, 另一方面会产生脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), BDNF 作用于脊髓背角神经元的 TrkB 酪氨酸激酶 (TRKB), 抑制神经元膜表面

的 K⁺-Cl⁻ 协同转运蛋白 2 (KCC2) 的活动, 从而降低胞内 Cl⁻ 的浓度, 削弱 GABA 能神经元的抑制性信号传导, 增强谷氨酸能神经元的兴奋性信号传导, 最终增强 SDH 神经元中的动作电位, 易化疼痛信号的传导, 诱发慢性神经痛^[30,31]。慢性神经性疼痛条件下, P2X₇R 的高表达也是小胶质细胞活化的一个重要的分子标志物。P2X₇R 是 NLRP3 炎性小体活化的有效上游膜蛋白受体之一^[32], ATP 作用于 P2X₇R 后一方面降低胞内钾离子浓度的同时升高钙离子的浓度, 进而促进 p38MAPK 磷酸化, 产生的 TNF- α 作用于小胶质细胞膜上的 TNFR, 可协助 BDNF 作用于突触神经元上的 TRKB, 最终易化痛觉信号的传导诱发疼痛; 另一方面激活 NLRP3 炎症小体, 促进 caspase-1 的活化及自我切割, 并将 NF- κ B 激活后表达出的 IL-1 β 前体 (pro-IL-1 β) 切割为成熟的 IL-1 β , 同时释放到胞外, 同时, P2X₇R 活化还通过 p38MAPK 磷酸化释放溶酶体-半胱氨酸蛋白酶-组织蛋白酶 S (CTSS), 然后 CTSS 切割 SDH 神经元和星形胶质细胞上的膜结合驱动蛋白 (fractalkine, FKN) 激活小胶质细胞上的 CX3C 趋化因子受体 1 (CX3CR1), 并通过 p38MAPK 导致 IL-1 β 分泌, 释放出 IL-1 β 作用于 SDH 神经元, 通过 NMDAR 的磷酸化, 并减少 GABA 和/或甘氨酸介导的突触抑制, 迅速增强兴奋性突触传递的强度^[33-35]。此外, 研究者发现在外周神经损伤的大鼠疼痛模型中通过鞘内注射 R2Y12R/P2Y13R 的拮抗剂或 ROCK 抑制剂 H1152 可降低 p38 MAPK 的磷酸化, 从而达到镇痛作用, 可见小胶质细胞中 P2Y12R/P2Y13R 所激活的 RhoA/ROCK-p38MAPK 通路也在慢性神经性疼痛发生发展中发挥着作用^[36]。针对 P2X₄-BDNF-TRKB-KCC2 通路, 一系列镇痛目标化合物已被开发, 如 NP-1815-PX 是最近被确证的一种新型的 P2X₄ 受体抑制剂, 可有效抑制啮齿动物和人类的 P2X₄ 受体, 在疱疹引起的异常疼痛中有良好的镇痛效果^[33], 且不影响动物的运动协调性, 但由于无法透过血脑屏障难以进入中枢神经系统, 因此, 一种中枢神经系统穿透性能更强的 P2X₄ 拮抗剂 NC2600 被开发, 并已在日本完成 I 期临床试验。针对 P2X₇-CX3CR1-p38MAPK-IL-1 β 通路, 也有一系列选择性 P2X₇ 抑制剂被开发, 在临床前疼痛动物模型中可有效缓解疼痛, 但在临床治疗类风湿关节炎引起的疼痛试验中以失败告终。化合物 GSK314181 是 P2X₇R 的抑制剂, 在大鼠的炎性疼痛模型和足水肿模型中有一定的效果, 但对大鼠慢性神经性疼痛模型如脊神经结扎和坐骨神经结扎没有影响。此外, 研究者通过预防性给药的方式可在胶原诱导的大鼠关节炎模型中减弱病症, 但没有在治疗性给药方案中发挥药效, 这表明 P2X₇R 可能参与

该模型中疾病进展的初始阶段, 早期抑制 P2X7R 的活化可能是阻止疾病进展或缓解症状的关键。另外两个化合物 JNJ42253432 和 JNJ47965567 在大鼠神经性疼痛模型中有一定的效果, 但 JNJ42253432 在炎性疼痛模型中并没有发挥它的作用^[37]。与上述研究结果不同, 来自 Abbvie 实验室的研究小组报告了在大鼠脊神经结扎和坐骨神经结扎模型中使用另外两种靶向抑制 P2X7R 的化合物 (A-740003 和 A-438079) 可减弱大鼠的机械性异常疼痛, 这符合 P2X7R 敲除后大鼠痛觉过敏的表型。研究者还表明, A-740003 和 A-438079 在逆转由炎性诱导的热痛觉过敏和足水肿方面也有治疗效果。但在这些炎性疼痛模型中, 两种化合物均未能完全逆转疼痛终点, 从而说明 P2X7R 可能不是大鼠急性炎症性疼痛发生发展过程中的主要参与者^[38]。在 Abbvie 实验室的另一项研究中, A-839977 在炎症性疼痛的小鼠模型中表现出一定效果, 并且研究者也证实了 IL-1 β 在炎症性疼痛中的作用^[39]。总之, 有关嘌呤受体与疼痛治疗相关的研究多种多样, 且相关分子机制尚未在临床中得到验证。因此, 嘌呤受体在慢性神经性疼痛中的作用机制以及药物作用靶点的确认还需要进行深入的研究。

2.4 集落刺激因子 1 (colony stimulating factor 1, CSF1) 与慢性神经性疼痛 神经损伤后, CSF1 在受损的 DRG 中被快速诱导分泌, 该诱导方式可能涉及中枢神经系统中小胶质细胞和神经元之间的信号传导。相比之下, 在炎症性疼痛模型中, CSF1 并没有被发现在 DRG 神经元中增加, 在小鼠 DRG 神经元中条件性敲除 CSF1, 或鞘内注射 CSF1R 抑制剂, 减少了外周神经损伤 (PNI) 诱导的小胶质细胞增生和机械性痛觉敏化。同时, 对正常小鼠鞘内注射 CSF1 会引起小胶质细胞活化增生。因此, 受损 DRG 来源的 CSF1 通过小胶质细胞膜上的衔接蛋白 DAP12 作用于 CSF1R, 进而促进小胶质细胞的活化增生^[40]。一方面, 小胶质细胞作为天然免疫细胞接受刺激信号并活化后, 产生大量促炎物质, 如 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等, 介导神经炎症的发生; 另一方面, CSF1 诱导小胶质细胞活化后, 上调小胶质细胞内疼痛相关基因的表达, 使外周及中枢疼痛敏化, 再通过小胶质细胞与神经元之间的信号交联促进疼痛信号的传导诱发慢性神经性疼痛^[41,42]。

2.5 趋化因子与慢性神经性疼痛 趋化因子是一种微小的分泌蛋白, 最初被认为是外周免疫细胞的调控因子, 控制白细胞向损伤部位趋化。现在研究发现, 趋化因子在中枢神经系统的神经元和胶质细胞中也有表达。外周神经损伤后, 脊髓中小胶质细胞被活化, 一系列趋化因子表达上调并在神经元与小胶质细胞之间相互

作用, 诱发慢性神经性疼痛^[43,44]。其中 CX3CL1 与 CX3CR1 之间的相互作用值得关注^[45,46]。CX3CL1/CX3CR1 信号通路参与坐骨神经结扎引起的中枢痛觉敏化和慢性神经性疼痛的发生发展和维持, 在这种外周神经损伤导致的慢性神经性疼痛条件下, 背根神经节中的神经元分泌趋化因子 CX3CL1 作用于小胶质细胞膜上的 CX3CR1 受体, 进行神经元与小胶质细胞之间的信号传导, 调节慢性神经性疼痛的发生发展。p38 是丝裂原激活的蛋白激酶 (MAPKs) 成员之一, 也是 CX3CL1 的一个重要的下游激酶^[41], 对小鼠鞘内注射 CX3CR1 抗体减少了脊神经结扎后的 p38 磷酸化诱导的脊髓小胶质细胞的活化, 减弱了中枢及外周的痛觉敏化。相反地, 鞘内注射 CX3CL1 诱导 p38 磷酸化可促进小胶质细胞活化并产生促炎细胞因子, 如 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α , 它们可以调节脊髓背角中小胶质细胞和神经元之间的突触传递。研究表明, 活化的小胶质细胞有助于增强神经系统突触可塑性, 如长时程增强 (LTP), 并诱导病理性疼痛的发生与发展。因此, 趋化因子表达上调在小胶质细胞活化后介导的神经元疼痛信号传导过程中起着关键作用。

2.6 髓样细胞触发性受体 (triggering receptor expressed myeloid cells, TREM) 与慢性神经性疼痛 有研究报道, 在小鼠外周神经损伤同侧的背根神经节中 TREM2 mRNA 的增加速率几乎等于活化的小胶质细胞数的增加速率, 表明 TREM2 可能在小胶质细胞活化中起一定作用。最近报道 *Trem2* 是一系列神经退行性疾病如阿尔茨海默病、帕金森病和肌萎缩侧索硬化症的致病基因, 这是因为 TREM2 由小胶质细胞表达, 所以认为这些神经退行性疾病部分与小胶质细胞异常活化有关^[47]。TREM2 被认为是决定小胶质细胞表型和活化状态的必需分子。因此, 小胶质细胞中 TREM2-DAP12 信号通路的改变可能导致慢性神经性疼痛。有研究者发现, 鞘内注射 TREM2 受体激动剂可在没有神经损伤的小鼠中引起疼痛行为, 并且在 *Dap12* 基因缺陷小鼠中完全消除这种疼痛行为^[48], 这表明 DAP12 参与的 TREM2 受体的信号传导可能是疼痛信号传导的关键途径之一。随着研究的深入, 疼痛研究者不再局限于 TREM2-DAP12 通路的下游效应, 虽然结合并激活 TREM2 的配体仍未可知, 但有研究者提出由于初级感觉神经元的损伤而直接或间接产生的多种脂质可能作为潜在的 TREM2 配体^[49]。据报道载脂蛋白 E (ApoE) 是 TREM2 的有效配体, 在脊神经结扎模型中, ApoE 蛋白在损伤的 DRG 神经元中表达上调^[50]。这些结果表明, ApoE 可能是目前疼痛模型中 TREM2/DAP12 信号通路的有效激活剂。总之, TREM2 受体

与 DAP12 受体可能是一对关键的小胶质细胞膜分子, 可调节小胶质细胞功能并引起感觉神经损伤后的异常疼痛。因此, DAP12 和 TREM2 可作为神经病理性疼痛的潜在治疗靶点, 但需要进一步研究以确定 TREM2/DAP12 在小胶质细胞内的信号传导机制。

2.7 跨膜蛋白 16 (transmembrane protein 16, TMEM16) 家族与慢性神经性疼痛 TMEM16 家族成员包括了著名的钙离子激活的氯离子通道 (TMEM16A) 及钙离子激活的磷脂酶 (TMEM16F) 等。有报道, 这些分子机制中的每一种都可以通过调节脊髓小胶质细胞的功能来促成神经病理性疼痛状态的发生。在一项研究中, 研究者通过在骨髓谱系细胞中条件消除 *TMEM16F* 基因, 探索了 TMEM16F 在小胶质细胞中高表达水平的重要性, 其证明 *TMEM16F* 条件性敲除小鼠在外周神经损伤后不会发生机械超敏反应, 并且这与脊髓小胶质细胞的吞噬作用减弱有关^[51], 同时, 小胶质细胞表现出的这种功能障碍还体现在形态的改变, 如细胞分支数目的减少以及活化标志物表达的改变等。这些数据表明, 小胶质细胞的吞噬活性是导致神经性疼痛中伤害感受器发生信号传导变化的重要组成部分。TMEM16F 既可作为钙依赖性离子通道, 也可作为磷脂酶, 且实验证明 TMEM16F 对于巨噬细胞和小胶质细胞中的吞噬作用和分支化是十分重要的, 这表明 TMEM16F 可以利用多种机制来调节小胶质细胞功能^[52], 从而改变疼痛状态。此外, 研究者还发现, 嘌呤受体如 P2Y12 受体与小胶质细胞吞噬作用有关, 由于 P2Y12 受体仅由小胶质细胞表达, 并且已被证明在 ATP 介导的细胞形态改变和受损轴突的吞噬作用中起关键作用^[53]。

因此, 研究小胶质细胞中 TMEM16F 和 P2Y12 受体之间的相互作用可能是治疗神经病理性疼痛的新策略。

3 小结与展望

目前, 小胶质细胞活化参与慢性神经性疼痛疾病发展过程的作用已经明确, 在病理性疼痛条件下, 脊髓中小胶质细胞活化主要表现在膜受体的表达上调, 如 TLRs、P2X4R、P2X7R、P2Y12R/P2Y13R、TREM2 及 TMEM16F 等; 胞内信号通路的激活, 如 p38MAPK; 以及疼痛相关物质的分泌, 如炎症因子、趋化因子和 BDNF 等。上述机制最终表现在中枢及痛觉敏化并易化疼痛信号传导, 反复信号刺激最终发展为慢性神经性疼痛。选择性抑制神经毒性的 M1 型或促进神经保护性 M2 型小胶质细胞极化可能是个潜在的治疗策略, 但现今小胶质细胞表型转换的临床应用还面临着许多问题, 且靶向小胶质细胞活化治疗神经痛的药物

还未真正进入临床减轻患者痛苦, 这主要是因为小胶质细胞活化机制复杂, 其参与疼痛信号传导的靶点众多, 任何一个靶点都具有镇痛的潜能, 但单一靶点抑制却无法逆转疼痛症状, 多靶点联合应用治疗应成为疼痛药物研发的趋向, 多靶点镇痛药物亟待开发。

References

- [1] Macfarlane GJ. The epidemiology of chronic pain [J]. *Pain*, 2016, 157: 2158-2159.
- [2] Melnikova I. Pain market [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9: 589-590.
- [3] Macfarlane GJ, Beasley M, Smith BH, et al. Can large surveys conducted on highly selected populations provide valid information on the epidemiology of common health conditions? An analysis of UK Biobank data on musculoskeletal pain [J]. *Br J Pain*, 2015, 9: 203-212.
- [4] Zeilhofer HU, Benke D, Yevenes GE. Chronic pain states: pharmacological strategies to restore diminished inhibitory spinal pain control [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2012, 52: 111-133.
- [5] Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, et al. Cellular and molecular mechanisms of pain [J]. *Cell*, 2009, 139: 267-284.
- [6] Bushnell MC, Ceko M, Low LA. Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14: 502-511.
- [7] Bliss TV, Collingridge GL, Kaang BK, et al. Synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex in acute and chronic pain [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17: 485-496.
- [8] Inoue K, Tsuda M. Microglia in neuropathic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2018, 19: 138-152.
- [9] Todd AJ. Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2010, 11: 823-836.
- [10] Peirs C, Seal RP. Neural circuits for pain: recent advances and current views [J]. *Science*, 2016, 354: 578-584.
- [11] Gao YJ, Ji RR. Chemokines, neuronal-glia interactions, and central processing of neuropathic pain [J]. *Pharmacol Ther*, 2010, 126: 56-68.
- [12] Ji RR, Chamesian A, Zhang YQ. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation [J]. *Science*, 2016, 354: 572-577.
- [13] Walters ET. Neuroinflammatory contributions to pain after SCI: roles for central glial mechanisms and nociceptor-mediated host defense [J]. *Exp Neurol*, 2014, 258: 48-61.
- [14] Zhou YQ, Liu Z, Liu HQ, et al. Targeting glia for bone cancer pain [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2016, 20: 1365-1374.
- [15] Tanga FY, Nutile-McMenemy N, DeLeo JA. The CNS role of toll-like receptor 4 in innate neuroimmunity and painful neuropathy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102: 5856-5861.

- [16] Xing B, Shen T, Xiao C, et al. Effect of minocycline on activation of microglia M1/M2 phenotypes [J]. Acta Pharm Sin (药 学 学 报), 2017, 52: 1255-1261.
- [17] Zhou YQ, Liu DQ, Chen SP, et al. Minocycline as a promising therapeutic strategy for chronic pain [J]. Pharmacol Res, 2018, 134: 305-310.
- [18] Thakur KK, Saini J, Mahajan K, et al. Therapeutic implications of toll-like receptors in peripheral neuropathic pain [J]. Pharmacol Res, 2017, 115: 224-232.
- [19] Lacagnina MJ, Watkins LR, Grace PM. Toll-like receptors and their role in persistent pain [J]. Pharmacol Ther, 2018, 184: 145-158.
- [20] Jurga AM, Rojewska E, Piotrowska A, et al. Blockade of toll-like receptors (TLR2, TLR4) attenuates pain and potentiates buprenorphine analgesia in a rat neuropathic pain model [J]. Neural Plast, 2016, 2016: 5238730.
- [21] Luo X, Tai WL, Sun L, et al. Crosstalk between astrocytic CXCL12 and microglial CXCR4 contributes to the development of neuropathic pain [J]. Mol Pain, 2016, 12: 105-113.
- [22] Inoue K. Purinergic signaling in microglia in the pathogenesis of neuropathic pain [J]. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci, 2017, 93: 174-182.
- [23] Tsuda M. Microglia in the CNS and neuropathic pain [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1099: 77-91.
- [24] Tsuda M, Mizokoshi A, Shigemoto-Mogami Y, et al. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in spinal hyperactive microglia contributes to pain hypersensitivity following peripheral nerve injury [J]. Glia, 2004, 45: 89-95.
- [25] Svensson CI, Fitzsimmons B, Azizi S, et al. Spinal p38beta isoform mediates tissue injury-induced hyperalgesia and spinal sensitization [J]. J Neurochem, 2005, 92: 1508-1520.
- [26] Huang Q, Mao XF, Wu HY, et al. Cynandione A attenuates neuropathic pain through p38beta MAPK-mediated spinal microglial expression of beta-endorphin [J]. Brain Behav Immun, 2017, 62: 64-77.
- [27] Li ZY, Huang Y, Yang YT, et al. Moxibustion eases chronic inflammatory visceral pain through regulating MEK, ERK and CREB in rats [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23: 6220-6230.
- [28] Guo QL, Zhang TT, Shi JG, et al. Aconicarmisulfonate A, a sulfonated C₂₀-diterpenoid alkaloid inner salt with skeleton and analgesic activity from an aqueous extract of the lateral roots of *Aconitum carmichaelii* [J]. Org Lett, 2018, 20: 816-819.
- [29] Guo Q, Xia H, Meng X, et al. C19-Diterpenoid alkaloid arabinosides from an aqueous extract of the lateral root of *Aconitum carmichaelii* and their analgesic activities [J]. Acta Pharm Sin B, 2018, 8: 409-419.
- [30] Liu C, Zhang Y, Liu Q, et al. P2X4-receptor participates in EAAT3 regulation via BDNF-TrkB signaling in a model of trigeminal allodynia [J]. Mol Pain, 2018, 14: 1744806918795930.
- [31] Ulmann L, Hatcher JP, Hughes JP, et al. Up-regulation of P2X4 receptors in spinal microglia after peripheral nerve injury mediates BDNF release and neuropathic pain [J]. J Neurosci, 2008, 28: 11263-11268.
- [32] Bhattacharya A, Jones DNC. Emerging role of the P2X7-NLRP3-IL1beta pathway in mood disorders [J]. Psychoneuroendocrinology, 2018, 98: 95-100.
- [33] Matsumura Y, Yamashita T, Sasaki A, et al. A novel P2X4 receptor-selective antagonist produces anti-allodynic effect in a mouse model of herpetic pain [J]. Sci Rep, 2016, 6: 32461.
- [34] Li SJ, Zhang YF, Ma SH, et al. The role of NLRP3 inflammasome in stroke and central poststroke pain [J]. Medicine, 2018, 97: e11861.
- [35] Clark AK, Gruber-Schoffnegger D, Drdla-Schutting R, et al. Selective activation of microglia facilitates synaptic strength [J]. J Neurosci, 2015, 35: 4552-4570.
- [36] Tatsumi E, Yamanaka H, Kobayashi K, et al. RhoA/ROCK pathway mediates p38 MAPK activation and morphological changes downstream of P2Y12/13 receptors in spinal microglia in neuropathic pain [J]. Glia, 2015, 63: 216-228.
- [37] Lord B, Aluisio L, Shoblock JR, et al. Pharmacology of a novel central nervous system-penetrant P2X7 antagonist JNJ-42253432 [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2014, 351: 628-641.
- [38] Honore P, Donnelly-Roberts D, Namovic MT, et al. A-740003 [N-(1-((cyanoimino)(5-quinolinylamino)methyl)amino)-2,2-dimethylpropyl)-2-(3,4-dimethoxyphenyl)acetamide], a novel and selective P2X7 receptor antagonist, dose-dependently reduces neuropathic pain in the rat [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 319: 1376-1385.
- [39] Bhattacharya A, Biber K. The microglial ATP-gated ion channel P2X7 as a CNS drug target [J]. Glia, 2016, 64: 1772-1787.
- [40] Guan Z, Kuhn JA, Wang X, et al. Injured sensory neuron-derived CSF1 induces microglial proliferation and DAP12-dependent pain [J]. Nat Neurosci, 2016, 19: 94-101.
- [41] Lim H, Lee H, Noh K, et al. IKK/NF-kappaB dependent satellite glia activation induces spinal cord microglia activation and neuropathic pain after nerve injury [J]. Pain, 2017, 158: 1666-1677.
- [42] Nho B, Lee J, Lee J, et al. Effective control of neuropathic pain by transient expression of hepatocyte growth factor in a mouse chronic constriction injury model [J]. FASEB J, 2018, 32: 5119-5131.
- [43] Abbadie C, Bhargoo S, De Koninck Y, et al. Chemokines and pain mechanisms [J]. Brain Res Rev, 2009, 60: 125-134.
- [44] Zhang ZJ, Jiang BC, Gao YJ. Chemokines in neuron-glia cell interaction and pathogenesis of neuropathic pain [J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74: 3275-3291.
- [45] Liu C, Zhang F, Liu H, et al. NF-kappaB mediated CX3CL1 activation in the dorsal root ganglion contributes to the maintenance of neuropathic pain induced in adult male Sprague Dawley rats [J]. Acta Cir Bras, 2018, 33: 619-628.

- [46] Wang J, Zhang XS, Tao R, et al. Upregulation of CX3CL1 mediated by NF-kappaB activation in dorsal root ganglion contributes to peripheral sensitization and chronic pain induced by oxaliplatin administration [J]. *Mol Pain*, 2017, 13: 1744806917726256.
- [47] Giegling I, Andreassen OA, Engedal K, et al. Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368: 107-116.
- [48] Masaaki K, Hiroyuki K, Akira S, et al. TREM2/DAP12 signal elicits proinflammatory response in microglia and exacerbates neuropathic pain [J]. *J Neurosci*, 2016, 36: 11138-11150.
- [49] Wang Y, Cella M, Mallinson K, et al. TREM2 lipid sensing sustains the microglial response in an Alzheimer's disease model [J]. *Cell*, 2015, 160: 1061-1071.
- [50] Melemedjian OK, Yassine HN, Shy A, et al. Proteomic and functional annotation analysis of injured peripheral nerves reveals ApoE as a protein upregulated by injury that is modulated by metformin treatment [J]. *Mol Pain*, 2013, 9: 14.
- [51] Batti L, Sundukova M, Murana E, et al. TMEM16F regulates spinal microglial function in neuropathic pain states [J]. *Cell Rep*, 2016, 15: 2608-2615.
- [52] Callahan MK, Williamson P, Schlegel RA. Surface expression of phosphatidylserine on macrophages is required for phagocytosis of apoptotic thymocytes [J]. *Cell Death Differ*, 2000, 7: 645-653.
- [53] Ohsawa K, Irino Y, Sanagi T, et al. P2Y12 receptor-mediated integrin-beta1 activation regulates microglial process extension induced by ATP [J]. *Glia*, 2010, 58: 790-801.