

痛觉感受相关的 TRP 离子通道蛋白研究进展*

隋 峰¹ 霍海如¹ 姜廷良¹ 罗 非² 郭建友²

(¹中国中医科学院中药所唐氏中药研究中心,北京 100700; ²中国科学院心理研究所,北京 100101)

摘要 疼痛是机体对外界伤害性刺激产生的一种不愉快感觉,与临床上包括癌症、糖尿病、关节炎等在内的多种疾病的病理过程相关。瞬变感受器离子通道蛋白是一类非选择性阳离子通道蛋白超家族,目前已有七个亚族、30多个成员在哺乳动物中被相继发现。近年研究表明 TRPV 亚家族中 TRPV1、TRPV2、TRPV3、TRPV4 以及 TRPM 亚家族中 TRPM8 和 TRPA 亚家族中 TRPA1 与痛觉的产生关系密切。本文主要对上述离子通道与各种伤害性刺激引起的痛觉增敏的病理机制进行简要综述。

瞬时感受器电位离子通道蛋白 (Transient receptor potential ion channel protein, TRPs) 是近年来发现存在于细胞膜或胞内细胞器膜上的非选择性阳离子通道蛋白。1989 年,TRP 基因作为果蝇的光感受器异常变异株基因被人们所认识,现已明确它们编码的蛋白质广泛分布于包括人类在内的哺乳动物中。TRP 家族主要由七个亚族组成:TRPC (Canonical)、TRPV (Vanilloid)、TRPM (Melastatin)、TRML (Mucolipin)、TRPP (Polycystin)、TRPA (ANKTM1)、TRPN (NOMPC) 等。TRP 蛋白的基本结构中含有 6 个跨膜区 (TM),其 N 末端和 C 末端均位于细胞膜内侧,在 TM5 和 TM6 之间有一段疏水基团构成孔型结构,大多数成员在 N 末端有 3 个锚蛋白重复区和 1 个富含脯氨酸区域,C 末端形成多个结构域^[1]。

神经节 (DRG) 成功克隆了 TRPV1 (vanilloid receptor subtype 1, VR1) 受体后,TRPV2 (vanilloid receptor-like protein 1, VRL1)、TRPV3 (vanilloid receptor-like protein 3, VRL3)、TRPV4 (OTRPC4, VR-OAC) 以及 TRPM8 (Trp p8, CMR1) 和 TRPA1 (ANKTM1) 也相继被发现存在于背根神经节中。这些离子通道被认为参与了化学物质、温度以及机械刺激所诱导的痛觉的形成。

1. TRPV1

TRPV1 是目前研究最多、机制较为清楚的 TRPV 亚家族成员之一,主要存在于背根神经节 (DRG) 和三叉神经节的较小直径细胞中。化学物质如辣椒素 (capsaicin) 和树脂脂毒素 (resiniferatoxin, RTX) 均可使其活化,引起 Ca²⁺ 内流。由于辣椒素的分子结构中都具有香草酸的类似结构 -4 羟基-3 甲氧苯甲基 (vanillyl), 因此 TRPV1 又称为辣椒素受体 (capsaicin receptor) 或香草酸受体亚型 1 (vanilloid receptor subtype 1, VR1)。TRPV1 除对辣椒素敏感外,伤害性热刺激 (> 43 °C) 和酸 (pH < 5.9) 也可使其激活。内源性物质,如大麻素类的花生四烯酸乙醇胺 (anandamide) 和脂氧酶代谢产物等也可激活 TRPV1^[1]。

近年研究表明,TRPV1 通道在痛觉的产生及痛觉敏感性增强的病理发生过程中扮演着重要角色。Bolskei 等将蛋白激酶 C (PKC) 的激活剂佛波醇-12 肉豆蔻酸酯-13 醋酸盐 (PMA) 注入小鼠脚掌内致炎后,小鼠产生的痛觉防御行为明显增强;TRPV1 基因敲除后,小鼠的痛觉防御行为消失^[2],而前者

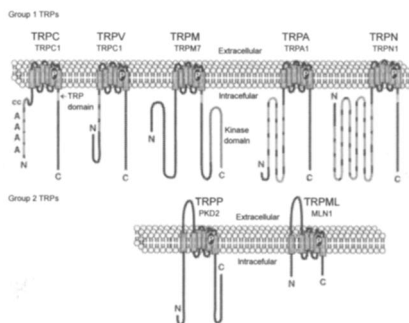


图 1 TRP 亚家族离子通道蛋白结构示意图

TRP 家族与其它离子通道家族的显著区别在于家族各成员之间的同源性较低,并且可被多种介质和配体激活或敏化。继 1997 年 Caterina 等在背根

* 国家自然科学基金项目 (30672677) 资助课题
通讯作者

的研究结果与在临床上观察到的人皮肤受热损伤后对热和机械刺激产生痛觉增敏的结论相吻合。提示: (1) FMA 诱导的痛觉防御行为特异性依赖 TRPV1 的介导; (2) TRPV1 在急性炎症性疼痛模型中可能作为致伤害性递质 (pronociceptive) 起作用; (3) PKC 可能参与了炎症后痛觉增敏病理机制的形成。Christoph 等通过结扎坐骨神经诱导创伤性神经性疼痛模型, 用沉默子脱氧核糖核酸封闭 TRPV1 基因后, 伤害性冷刺激诱导的异常疼痛明显减弱^[3]。由此推测, 被结扎神经周围的感觉神经纤维 TRPV1 对痛觉介导功能的增强可能是这一病理机制发生的生物学基础。在糖尿病引起的神经性疼痛模型中, TRPV1 对热和化学物质引起的敏感性增强也起着非常重要的作用, 其机制可能与细胞特异性表达改变引起功能增强有关 (如 C 神经纤维 TRPV1 蛋白表达减少而 A 神经纤维 TRPV1 蛋白表达增加)^[4]。另外, TRPV1 寡聚化、从胞浆移位于细胞膜以及 TRPV1 的磷酸化等皆可加强 TRPV1 的介导功能而最终引起痛觉敏感性增强。Bölcskei 等研究发现 TRPV1 基因缺失小鼠与野生型小鼠相比, 前者对机械刺激产生的痛感强度明显大于后者, 并且痛觉的发生也早于后者。同时还发现, 在顺铂引起的神经毒性疾病模型中, TRPV1 缺失小鼠对机械刺激产生的高敏感性比野生型小鼠虽然提前四周出现, 但是痛觉发生后, 两者产生的强度则无明显差异^[2], 提示糖尿病小鼠 TRPV1 除对热和化学物质诱导的高度敏感化起着伤害性前递质作用外, 还对机械刺激敏感性的形成可能具有一定的保护或抑制作用。

2 TRPV2

TRPV2 最初被称为香草酸样受体蛋白 1 (Vanilloid receptor-like protein 1, VR-L1), 主要分布在感受伤害性热和机械刺激的有髓 A 神经和少部分 C 神经纤维中, 与 TRPV1 有 50% 的同源性。但它对辣椒素、质子不敏感, 可被热刺激 (>52 °C) 或组织肿胀及 2-氨基乙氧基联苯硼酸盐 (2-aminoethoxy diphenyl borate, 2-AB) 所激活。编码 TRPV2 的基因在感觉神经中呈高表达, 在脑及多种非神经组织也发现 TRPV2 的转录产物, 提示其可能具有多种功能。TRPV2 在 A 神经及异源性表达体系中均可被 >52 °C 的热刺激激活, 提示它可能在感觉神经中作为一种高阈值热的伤害性感受体存在。研究表明中等大小 DRG 神经细胞在受到炎症刺激后 TRPV2 的蛋白表达显著升高; 又有研究表明, 在背根神经节中发现了少量 TRPV2 和 TRPV1 两种离子通道共同存

在的神经细胞, 这两种通道可形成异源性多聚体, 该多聚体形式在 TRPV2 或 TRPV1 不存在的情况下仍然可能行使着感受热伤害性刺激的使命^[5], 提示 TRPV2 与炎症引起的痛觉增敏可能相关。

3 TRPV3

TRPV3 与 TRPV1 有 40 - 50% 同源性。TRPV3 基因位于人染色体 17p13, 与 TRPV1 基因相距仅约 10kb。在人体中, 背根神经节、三叉神经节、脑、角质细胞、脊髓、舌等多种组织和器官中 TRPV3 均有表达; 在鼠中 TRPV3 主要存在于皮肤中。TRPV3 可被热 (34 °C) 激活, 也可被樟脑、2-APB 等外源性刺激物激活或敏化。TRPV3 通道被打开后, 以胞外阳离子向胞内流动的形式激活下游通路, 该离子流主要由两个时相组成: 缓慢的第一时相和紧随其后的快速内流的第二时相^[6]。研究表明, G 蛋白偶联受体通过磷脂酶 C (PLC)、花生四烯酸或不饱和脂肪酸等途径均可提高 TRPV3 的活性。另外, 一氧化氮 (NO) 也可通过半胱氨酸硫位硝基化的形式间接敏化 TRPV3。以上皆提示 TRPV3 是炎症病理过程中痛觉增敏的介导者, 其主要机制可能为: (1) 在人的背根神经节中与 TRPV1 共存且形成异聚体感知各种伤害性刺激; (2) 感觉神经上受体炎症介质激活后通过 PLC 和 PKC 途径激活或敏化 TRPV3; (3) 感觉神经产生的 NO 作为第二信使直接激活 TRPV3; (4) 炎症过程中产生的花生四烯酸或其他脂肪酸也可提高 TRPV3 的功能^[7,8]。

4 TRPV4

TRPV4 是近年来研究较多的 TRPV 家族成员之一, 最初是作为渗透压感受器被克隆, 因为该通道可被小于 30 mOsm 的渗透压激活。近年研究表明, TRPV4 是一种多觉感受器通道, 除被低渗透压和剪应力激活外, 还可感受 27 °C 以上的温和热刺激。另外, 低 pH、柠檬酸盐、内源性大麻酚类物质、花生四烯酸代谢产物、NO 以及中药穿心莲中的活性成分 - 双穿心莲内酯 A (bisandrographolide A) 等也对该通道具有激活作用。TRPV4 组织分布广泛, 除较多表达于肾远曲小管的上皮组织, 也表达于心、肝、肺、脾、睾丸以及许多其它组织^[1]。Lee 等研究发现, TRPV4 基因缺失小鼠对酸刺激和机械伤害性感受的敏感性下降, 对热刺激的反应行为也发生了改变。Chung 等报道 TRPV4 基因缺失小鼠对辣椒素诱导炎症性和热刺激产生的痛觉敏感性明显下降。Grant 等又进一步研究表明, TRPV4 激动剂可促进脊髓初级传入神经元在中枢投射区 P 物质 (SP) 和

钙调素基因相关肽 (CGRP)的释放^[9],提示 TRPV4 在伤害性刺激感觉中扮演者某种角色。

糖尿病、酒精中毒、以及哮喘等疾病均可见到渗透压的升高和 pH 值的下降。而渗透压的改变可通过 TRPV4 介导痛性反应,提示 TRPV4 可能与临床上的病理性疼痛密切相关。Lessandri-Haber 等对炎症介质诱导的痛觉增敏机制进行了相关研究,结果发现:(1)炎症介质协同作用通过 cAMP 介导 TRPV4 参与痛觉敏化机制;(2)TRPV4 参与机械或渗透压改变引起的炎症性痛觉增敏主要通过胞内两种第二信使途径:蛋白激酶 A (PKA)和蛋白激酶 C (PKC)的分别激活。除炎症介质外,炎症和损伤过程中产生的蛋白酶及蛋白酶激活受体 2 的激动剂也可敏化 TRPV4^[10],其分子机理可能与其激活胞内第二信使通路 (PLC、PKA、PKC、PKD 等)有关。

5. TRPM8

TRPM8 初始被认为是在前列腺中作为雄激素刺激反应的一种通道。2002 年 McKenry 等又在三叉神经细胞中成功克隆了该受体通道,当时称作冷和薄荷醇敏感受体 (cold and menthol sensitive receptor 1, CMR1),现在命名为 TRPM8,是 TRP 通道家族中 TRPM 亚家族成员之一。TRPM8 主要分布在三叉神经节和背根神经节的小型神经元以及前列腺中,可被包括薄荷醇 (menthol)、桉油精 (eucalyptol)、留兰香 (spearmint)、WS-3 及 icilin 等在内多种凉性化合物及低温 (< 28 °C)激活^[11]。TRPV4 对胞内酸碱度具有调节作用并且对长时间的刺激具有适应能力^[11],提示 TRPM8 可能参与了炎症和神经性疾病诱导的痛觉增敏机制。Proudfoot 等采用坐骨神经源性慢性疼痛模型及炎性疼痛模型研究表明, icilin 作为一种 TRPM8 激动剂在感觉神经中可起到拮抗痛觉增敏的作用,并且发现坐骨神经损伤后背根神经节和脊髓中 TRPM8 的表达增高, TRPM8 反义寡核苷酸可阻断 icilin 在感觉神经中对痛觉增敏的拮抗作用。同时发现 TRPM8 的中枢激活机制依赖于谷氨酸受体,该受体被来自表达 TRPM8 的传入神经释放的谷氨酸激活后可抑制痛觉信号的输入^[12]。有关 TRPM8 基因缺失小鼠相关报道尚未见到,但已有的研究表明 TRPM8 对各种伤害性刺激引起的痛觉增敏起到一定的保护作用。

6. TRPA1

TRPA1 最初是作为脂肪肉瘤细胞系 (ANKIM1)中过量表达的一种蛋白质被认识,后来逐渐认识到它是 TRP 家族成员之一,它具有典型的

结构特征:在胞浆氨基末端有多量锚定蛋白重复序列 (TRPAnkyrin)。TRPA1 主要存在于内耳、三叉神经以及背根神经节细胞中。TRPA1 在异源表达体系中可被芥末油、大蒜、冬绿油、丁香油、生姜以及桂皮油中的辛辣成分激活,并诱发灼烧或刺痛感觉。在小直径肽能伤害性感受器中, TRPA1 常常与 TRPV1 共表达,很少与 TRPM8 共存,提示 TRPA1 可能具有感觉伤害性刺激的作用。TRPA1 基因缺失小鼠对芥末油、丙烯醛及大蒜等伤害性刺激的敏感性下降也进一步支持这一观点^[13]。Bandell 等研究认为温度低于 18 °C 可激活基因重组 TRPA1 通道, TRPA1 反义寡核苷酸可显著降低小鼠对 CFA 诱导的炎症和坐骨神经损伤引起的冷刺激敏感性。TRPA1 野生型小鼠能够转导高阈值机械刺激,而 TRPA1 基因缺失小鼠则对机械刺激产生反应的阈值明显升高,提示 TRPA1 也作为一种机体高阈值机械刺激感受器存在。Bautista 等研究认为 TRPA1 与 TRPV1 还可以通过异源性寡聚化作用形成新的离子通道来感知炎症介质的刺激,并认为缓激肽通过与其偶联的 G 蛋白激活 PLC/PKC 信号途径,导致 Ca²⁺从胞内钙库释放从而敏化了 TRPV1,后者的开放又进一步引起胞外及胞内钙库 Ca²⁺进入胞浆,胞浆内 Ca²⁺浓度的增高最终激活 TRPV1 通道是 TRPA1 与 TRPV1 异聚化通道感知刺激的作用机制。最近 Jeske 等采用离体模型研究发现大麻素类激动剂 WIN55, 212-2 可直接激活 TRPA1 通道, TRPA1 通道开放后, Ca²⁺流入胞浆而诱导 TRPV1 解磷酸化,这可能是 TRPA1 与 TRPV1 协调作用的另一种形式或感知伤害性刺激负反馈作用机制^[14]。总之,有关 TRPA1 激活机制及对各种伤害性刺激的感知作用尚有待进一步确证。

7. 结论及展望

目前,有关 TRP 通道蛋白与痛觉感受的相关性研究多数采用炎症和神经病理模型来探讨炎症介质和神经损伤在增敏机制中所扮演的角色,研究结论未能完全统一,有些甚至相互矛盾。实验条件和行为测试中指标选择的不同可能是研究结论产生差异的主要原因,同时也反应了 TRP 通道蛋白功能的多样性及复杂性。对于 TRP 通道蛋白生理功能的研究,人们总是试图将某一化学物质或物理刺激与 TRP 通道蛋白家族中特定表型相关联或对应起来,如辣椒素和薄荷醇可各自打开 TRPV1 和 TRPM8 通道,又分别被大于 43 °C 和小于 28 °C 的温度所激活。但近年研究发现 TRP 各通道蛋白的激活介质或配

体之间存在明显的交叉性；TRP通道蛋白虽然都有特定的温度激活阈值和范围，但随着细胞周围物理或化学环境的不同会发生改变。可见，TRP通道蛋白之间的相互作用以及与其他受体或影响因素之间的相关性仍是一个需要进一步研究和值得探索的问题，如，各TRP通道之间以及TRP通道与其他受体之间是如何相互作用来协调发挥痛觉感受的功能？机体对温度、化学物质及机械刺激的引起的痛觉增敏是否与C和A神经纤维的敏感性增高有关？以及各TRP通道如何通过复杂的精确整合而对各种不同刺激物质产生相应的生理功能？等等。这一系列问题的深入研究和解决将会有助于进一步揭示和探讨TRP通道的痛觉感受和增敏机制。

研究表明，TRP通道除与痛觉感受关系密切外，尚与其它多种疾病相关。如TRPV1与炎症、咳嗽、尿失禁的发病有关；TRPV2与与心肌病变相关；TRPM8与前列腺癌的病理改变有关等。目前，以TRP通道为靶标的新药开发也方兴未艾，如Capsaicin、SB-705498作为TRPV1受体的激动剂和拮抗剂治疗痛性相关疾病已分别进入了美国FDA的三期和二期临床实验。总之，TRP通道作为新的药物作用靶点，其生理病理机制的不断阐明将为研发高质量新药奠定基础。

参 考 文 献

- 1 Clapham DE. SnapShot mammalian TRP channels. *Cell*, 2007, 129: 220.
- 2 Bolcskei K, Helyes Z, Szabo A, et al. Investigation of the role of TRPV1 receptors in acute and chronic nociceptive processes using gene-deficient mice. *Pain*, 2005, 117: 368 ~ 376.
- 3 Christoph T, Gillen C, Mika J, et al. Antinociceptive effect of antisense oligonucleotides against the vanilloid receptor VR1/TRPV1. *Neurochem*, 2007, 50: 281 ~ 290.
- 4 Hong S, Wiley JW. Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in the expression and function of vanilloid receptor 1. *J Biol Chem*, 2005, 280: 618 ~ 627.
- 5 Rau KK, Jiang N, Johnson RD, et al. Heat sensitization in skin and muscle nociceptors expressing distinct combinations of TRPV1 and TRPV2 protein. *J Neurophysiol*, 2007, 97: 2651 ~ 2662.
- 6 Chung MK, Guler AD, Caterina MJ. Biphasic currents evoked by chemical or thermal activation of the heat-gated ion channel, TRPV3. *J Biol Chem*, 2005, 280: 15928 ~ 15941.
- 7 Hu HZ, Xiao R, Wang C, et al. Potentiation of TRPV3 channel function by unsaturated fatty acids. *J Cell Physiol*, 2006, 208: 201 ~ 212.
- 8 Yoshida T, Inoue R, Morii T, et al. Nitric oxide activates TRP channels by cysteine S-nitrosylation. *Nat Chem Biol*, 2006, 2: 596 ~ 607.
- 9 Grant AD, Cottrell GS, Amadesi S, et al. Protease-activated receptor 2 sensitizes the transient receptor potential vanilloid 4 ion channel to cause mechanical hyperalgesia in mice. *J Physiol*, 2007, 578: 715 ~ 733.
- 10 Alessandri-Haber N, Dina OA, Joseph EK, et al. A transient receptor potential vanilloid 4-dependent mechanism of hyperalgesia is engaged by concerted action of inflammatory mediators. *J Neurosci*, 2006, 26: 3864 ~ 3874.
- 11 Andersson DA, Chase HW, Bevan S. TRPM8 activation by menthol, icilin, and cold is differentially modulated by intracellular Ph. *J Neurosci*, 2004, 24: 5364 ~ 5369.
- 12 Proudfoot CJ, Garry EM, Cottrell DF, et al. Analgesia mediated by the TRPM8 cold receptor in chronic neuropathic pain. *Curr Biol*, 2006, 16: 1591 ~ 1605.
- 13 Kosugi M, Nakatsuka T, Fujita T, et al. Activation of TRPA1 Channel Facilitates Excitatory Synaptic Transmission in Substantia Gelatinosa Neurons of the Adult Rat Spinal Cord. *J Neurosci*, 2007, 27: 4443 ~ 4451.
- 14 Jeske NA, Patwardhan AM, Gamper N, et al. Cannabinoid W N 55, 212 - 2 regulates TRPV1 phosphorylation in sensory neurons. *J Biol Chem*, 2006, 281: 32879 ~ 32890.