

## 特约综述



本实验室的研究工作主要集中在两个方面: (1)病理性疼痛的外周和脊髓敏化机制, 重点关注背根神经节初级感觉神经元在骨癌痛外周敏化中的作用和脊髓背角神经元与胶质细胞相互作用在慢性痛中枢敏化中的作用; (2)慢性痛诱发负面情绪和相关记忆的细胞和分子机制, 重点关注前扣带皮层在神经损伤和炎症痛引起的抑郁样情绪中的作用。

[http://www.skmm.fudan.edu.cn/web\\_site/html/member-1.htm](http://www.skmm.fudan.edu.cn/web_site/html/member-1.htm)

[http://iobs.fudan.edu.cn/Ch/team\\_view.asp?ID=10](http://iobs.fudan.edu.cn/Ch/team_view.asp?ID=10)

## P2X7受体在病理性疼痛中的研究进展

杨 艳 张玉秋\*

(复旦大学神经生物学研究所, 上海 200032)

**摘要** 病理性疼痛主要包括组织损伤或炎症引起的炎症痛、神经系统损伤或疾病引起的神经病理性疼痛和恶性肿瘤及治疗引起的癌症痛三大类。病理性疼痛对常规的镇痛药物反应不理想, 迫切需要寻找新的对病理性疼痛更有效和更特异的治疗手段。P2X7受体作为离子通道型嘌呤能受体, 在炎症痛、神经病理性疼痛和癌症痛中都具有重要作用。靶向P2X7受体的新药物将为病理性疼痛的治疗带来新的希望。该文综述了P2X7受体在三类病理性疼痛中的研究进展。

**关键词** P2X7受体; 炎症痛; 神经病理性疼痛; 癌症痛

## Progress of P2X7 Receptor Research in Chronic Pain

Yang Yan, Zhang Yuqiu\*

(Institute of Neurobiology, Fudan University, Shanghai 200032, China)

**Abstract** Pathological pain can be usefully divided into three categories, inflammatory pain, a pain related to peripheral tissue damage/inflammation, neuropathic pain, pain mainly associated with peripheral nerve injury or illness, and cancer pain, pain induced by tumors infiltrating/metastasizing and resulting from treatment. Treatment of chronic pain is always accompanied by a poor response, thus, effective therapeutic strategy is imminently needed. P2X7 receptor is one of the purinergic receptors, and belongs to ligand gating non selective ion channel. Numerous studies imply a critical role of P2X7 receptor in chronic pain. Targeting to P2X7 receptor will be a new approach for treatment of pathological pain. In this paper, we reviewed the progress of P2X7 receptor in chronic pain.

**Key words** P2X7 receptor; inflammation pain; neuropathic pain; cancer pain

国家自然科学基金(批准号: 31271183)资助的课题

\*通讯作者. Tel: 021-54237635, Email: yuqiuzhang@fudan.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31271183)

\*Corresponding author. Tel: +86-21-54237635, Email: yuqiuzhang@fudan.edu.cn

网络出版时间: 2014-04-29 16:01

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.05.9002.html>

疼痛是大多数疾病具有的共同症状,是人类共有而个体差异很大的一种不愉快的主观感觉和情绪体验。按其产生的部位、性质、起因和时程的不同,可将疼痛分为两大类:生理性痛和病理性痛,也被称为“好痛”和“坏痛”。生理性疼痛为机体带来受到伤害的警报信号。病理性疼痛在伤害性刺激消除后持续存在,临床症状表现为自发性疼痛和诱发性痛觉过敏(包括痛觉过敏与触诱发性痛)。病理性疼痛按其起因可分为炎症性痛、神经病理性痛和癌性痛。由于病理性疼痛对常规的镇痛药物反应不理想,成为当代医学的一大难题<sup>[1]</sup>,因此,迫切需要寻找新的对病理性疼痛更有效和更特异的治疗手段。嘌呤受体是以三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)为配体的离子通道型受体。在过去的20多年的研究中,共发现了19种不同的嘌呤能受体亚型,包括7种离子通道型受体(ionotropic receptors P2X)、9种代谢型受体(metabotropic receptors P2Y)和4种腺苷受体<sup>[2]</sup>。嘌呤能离子通道型受体7(purinergic ligand-gated ion channel 7 receptor, P2X7受体)具有独特且重要的生理功能。P2X7受体的活化可引起细胞膜钠离子、钾离子和钙离子内流、促炎细胞因子的释放、胶质细胞的活化、炎症反应以及参与调控神经递质释放、细胞存活等过程<sup>[3-5]</sup>。近年来,随着P2X7受体基因敲除小鼠和P2X7受体选择性拮抗剂的问世,P2X7受体在一些慢性痛的产生和维持中的作用越来越受到关注,使P2X7受体成为一个慢性痛药物治疗的潜在靶点。本文将P2X7受体在不同类型疼痛中的作用的研究进展进行综述。

## 1 P2X7受体的结构与分布

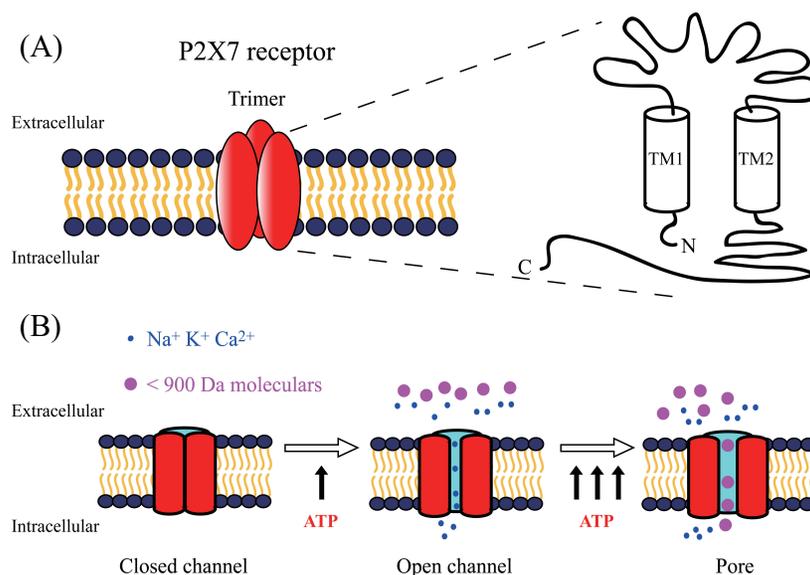
P2X7受体的全长cDNAs首次从大鼠大脑的cDNA文库中克隆得到<sup>[6]</sup>。P2X7R基因位于染色体12q24上,编码595个氨基酸组成的多肽链,在细胞膜上多形成三聚体,较少以多同源亚基组成多聚体。P2X7受体与其他六个P2X受体有35%~40%的同源性。P2X7受体有两个跨膜结构域和一个大的胞外环(图1A)。胞外环结构有3个N-糖基化位点、18~21个赖氨酸残基及1个含半胱氨酸的区域,这一区域被认为是ATP的结合位点。胞内N末端有395个氨基酸。胞内C末端(239个氨基酸)较其他P2X受体成员长(27~129氨基酸),是多种蛋白质和脂质的结合部位,与其他蛋白无同源性<sup>[2,7-8]</sup>。

起初研究者们运用Northern blotting的方法检测到P2X7R mRNA广泛分布于许多组织中,其中以免疫系统(如胸腺和脾脏)表达最为丰富,在其他组织诸如大脑、脊髓、骨骼肌、肺和胎盘中也能检测到P2X7R mRNA的表达<sup>[2-6]</sup>。近年随着更灵敏的检测技术—RT-PCR等的发展,发现在人和大鼠的中枢神经系统(包括大脑皮层、海马、脑干及脊髓)<sup>[9-11]</sup>和外周神经系统(如背根神经节)<sup>[12]</sup>中均能检测到P2X7受体的阳性信号。在mRNA水平,P2X7R不仅表达在小胶质细胞和星型胶质细胞,在神经元也有表达<sup>[11,13-14]</sup>。在蛋白水平,P2X7受体主要在非神经细胞中被检测到<sup>[4]</sup>,由于检测抗体的特异性问题,P2X7受体在神经元中的分布仍存在争议。最近有研究报道,P2X7受体选择性表达在大鼠的兴奋性神经元突触前终末,包括位于脊髓、延髓、小脑、纹状体、丘脑、杏仁核和海马等部位的神经末梢<sup>[15]</sup>。有关P2X7受体更准确的组织和细胞定位,还有待于单细胞RT-PCR等更精确的研究方法以及特异性更高的抗体的应用。

## 2 P2X7受体的生理功能和药理学特性

ATP可作为独立的神经递质/调质,作用于嘌呤受体,也可以同其他神经递质或调质,如去甲肾上腺素、乙酰胆碱、多巴胺、谷氨酸、氨基丁酸、P物质、神经肽等一起作为共递质,调控机体内其他激素类物质的释放或调控自身的释放<sup>[16-17]</sup>。在豚鼠的交感神经元首先观察到ATP的释放,参与维持结肠袋正常的生理功能<sup>[18]</sup>。随后的研究发现,ATP可以通过改变免疫细胞功能和引起炎症反应等影响免疫系统,ATP的受体因此受到关注。P2X7受体是一种离子通道型的嘌呤能受体,最初被称作P2Z受体,它具有一些不同于其他P2X家族受体的特征(图1B):第一,它的激活需要高浓度的ATP(>100 μmol/L),但用促炎性细胞因子或者是细菌产物(如LPS)能够上调P2X7受体对胞外ATP的敏感性;第二,该受体的持续激活导致大的膜孔形成,分子质量小于900 Da的大分子和很多离子可以从该膜孔自由通过(可能与其较长的羧基端区域有关),促使多种离子的渗透性增加和细胞内小分子代谢物的丢失。与细胞的凋亡、水肿和死亡等有相当密切的关系<sup>[2-8]</sup>。

ATP是P2X受体家族的天然配体,P2X7受体被胞外ATP快速激活(<10 s)后,能使P2X7受体通道快速且可逆地打开,导致Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>内流和K<sup>+</sup>外流,其



A: P2X7受体的分子结构示意图; B: ATP刺激时P2X7受体的三种功能状态。

A: schematic diagram of P2X7 receptor; B: three functional states of P2X7 receptor by ATP stimulation.

图1 P2X7受体的分子结构示意图及其三种功能状态

Fig.1 Schematic diagram of P2X7 receptor and its three functional states

中以 $\text{Ca}^{2+}$ 内流为主<sup>[2]</sup>。在很多组织中, P2X7受体既可以作为 $\text{Ca}^{2+}$ 的直接通道, 也可以间接激活电压门控的 $\text{Ca}^{2+}$ 通道从而调控 $\text{Ca}^{2+}$ 依赖的信号转导通路<sup>[19]</sup>, 还可导致一系列的细胞反应如caspases的激活、细胞因子的释放、细胞增殖和凋亡等<sup>[20-23]</sup>。P2X7受体在多种组织中广泛表达, 导致了其生理功能的多样性, 包括过氧化物和一氧化氮的生成、T细胞的激活和成熟、诱导细胞产生炎症细胞因子、诱导淋巴细胞形成膜泡等。此外, P2X7受体在炎症过程中调控具有生物活性的白介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ )的释放<sup>[24]</sup>。

对P2X7受体来说, BzATP( $\text{EC}_{50}=20 \mu\text{mol/L}$ )是比ATP( $\text{EC}_{50}>100 \mu\text{mol/L}$ )激动作用更强的配体。但BzATP并不是一种选择性的P2X7受体激动剂, 它对P2X1和P2X3受体的作用比P2X7受体高出100~1 000倍<sup>[25]</sup>。但研究者们常用不同细胞或组织上嘌呤受体对不同激动剂的有效程度来鉴定P2X7受体(BzATP>2-MeSATP>ATP>UTP> $\alpha, \beta$ -meATP)<sup>[13]</sup>。实验证明, PPADS和Suramin是P2X7受体的非选择性、非竞争性拮抗剂, 对P2X7受体的亲和力很低<sup>[26]</sup>。亮蓝G(BBG)是更有效的选择性拮抗剂, 对大鼠的P2X7受体的亲和力比人的高30~50倍<sup>[27]</sup>。KN62是钙和钙调蛋白依赖的蛋白激酶II的离子型抑制剂, 它能非竞争性地抑制P2X7受体功能, 也具有种属特异性<sup>[28]</sup>。近年发现了两种新的选择性的P2X7受体的拮抗剂: dis-

stitutedtetrazoles和cyanoguanidines, 对人和大鼠没有种属特异性且可逆的竞争性抑制剂。A-438079属于disubstitutedtetrazoles类药物, 对大鼠和人的P2X7受体的50%抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ )是100和300 nmol/L, 而对其他P2受体的 $\text{IC}_{50}$ 远远大于10  $\mu\text{mol/L}$ <sup>[29]</sup>。A740003是cyanoguanidine类药物, 对大鼠和人的P2X7受体的 $\text{IC}_{50}$ 在18~40 nmol/L之间。在人的THP-1细胞中, A740003阻断BzATP诱发的IL-1 $\beta$ 的释放和大分子孔的形成能力比A-438079要高。在L5/L6脊神经结扎的大鼠中, A740003对大鼠机械痛敏的下调作用也比A-438079要高。这两种药经腹腔注射后, 都有很高的生物利用率<sup>[30]</sup>。

### 3 P2X7受体与病理性疼痛

#### 3.1 P2X7受体在炎症痛中的作用

由创伤、细菌或病毒感染及外科手术等引起的外周组织损伤导致的炎症, 表现为局部红、肿、灼热感和功能障碍。由此产生对伤害性刺激敏感性增强和反应阈值降低的痛觉过敏, 和对非痛刺激引起疼痛的触诱发痛。目前, 炎症痛的动物模型主要有外周组织炎症痛模型, 包括福尔马林急性痛模型、致炎剂(角叉菜胶、完全弗氏佐剂和蜂毒)模型、紫外线引起的表皮炎症模型、关节炎痛模型(包括单关节炎痛模型和多关节炎痛模型)、实验性肌炎模

型和手术创伤痛模型等。

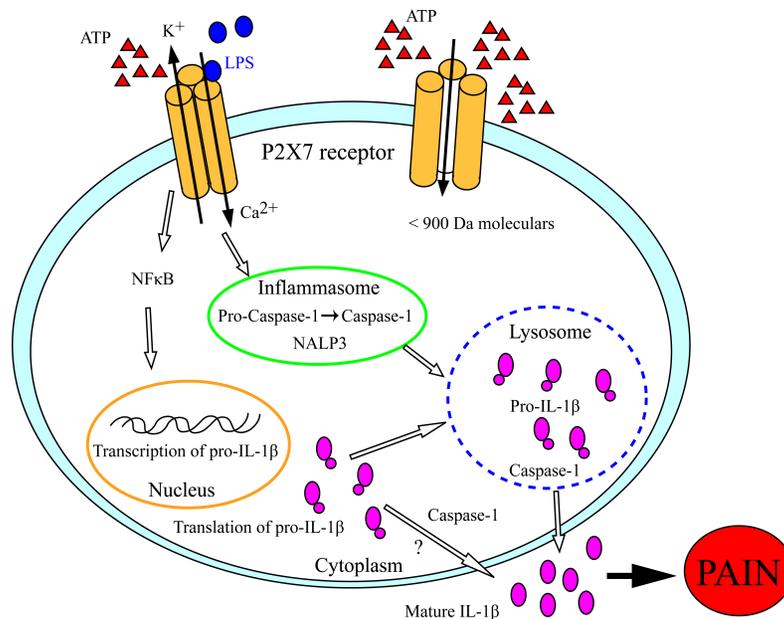
Dell' Antonio等<sup>[31]</sup>在Wistar大鼠一侧后爪注射完全弗氏佐剂所诱导的炎症痛模型中,观察到大鼠后爪局部注射P2X7受体拮抗剂氧化型ATP,大鼠的痛敏现象显著减轻。McGaraughty等<sup>[32]</sup>在小鼠足底注射福尔马林诱导急性炎症痛,并给予这些小鼠腹腔注射P2X7受体选择性拮抗剂A438079后,能明显抑制福尔马林的二相痛。Teixeira等<sup>[33]</sup>在鼠爪背侧皮下注射角叉菜胶所致的炎症痛模型中,局部给予P2X7受体选择性拮抗剂A-438079和氧化型ATP后均能有效降低大鼠的炎性痛敏。Broom等<sup>[34]</sup>发现一种新的P2X7受体拮抗剂——AACBA,可减轻大鼠足底皮下注射角叉菜胶所引起的肿胀和机械痛敏。Labasi等<sup>[35]</sup>用抗胶原质的单克隆抗体诱导单关节炎模型,发现野生型的小鼠产生严重的关节炎,而P2X7R敲除小鼠的关节炎症状显著减轻。Chessell等<sup>[36]</sup>采用足底注射CFA制备炎症痛模型,观察到野生型的小鼠出现明显的痛觉过敏,而P2X7敲除的小鼠无明显的变化。以上结果均提示,P2X7受

体在介导炎症性痛觉敏化中具有重要的作用。

那么P2X7受体是如何在炎症痛中发挥作用的呢?很多的研究显示,P2X7受体主要在炎症的起始和发展阶段发挥作用。P2X7受体是炎症介质的重要调节子,其近羧基端有LPS结合位点<sup>[8]</sup>,它可将外界炎症刺激转化为胞内信号。P2X7受体激活后可以产生多种炎症介质,如IL-1 $\beta$ 、IL-18、IL-6和肿瘤坏死因- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等。在外周组织中,炎症能促进单核细胞、巨噬细胞和施旺细胞产生大量的IL-1 $\beta$ 前体,且激活的P2X7受体能激活半胱天冬酶-1,它将IL-1 $\beta$ 的前体剪切,并能在15 min内释放出成熟的具有生物活性的IL-1 $\beta$ (图2)。IL-1 $\beta$ 能进一步诱导环氧化酶-2(COX-2)、一氧化氮合酶、生长因子和其他致痛原的产生,进而引起痛敏。上述机制在P2X7受体敲除的小鼠中得到了佐证,在缺乏P2X7受体的巨噬细胞中,ATP促进IL-1 $\beta$ 释放的现象消失<sup>[24,37-40]</sup>。

### 3.2 P2X7受体在神经病理性疼痛中的作用

神经病理性疼痛是由于外周或中枢神经系统的直接损伤或功能紊乱所致,在损伤修复后疼痛仍



细胞外ATP和LPS(脂多糖)与P2X7受体结合后,一方面激活胞内NF $\kappa$ B信号通路,促进IL-1 $\beta$ 的核转录,产生pro-IL-1 $\beta$ ;另一方面P2X7受体离子通道打开, K<sup>+</sup>外流,大量Ca<sup>2+</sup>内流,促使钙依赖的pro-caspase-1的剪切,活性的caspase-1进入溶酶体,将其中的IL-1 $\beta$ 前体剪切为成熟型IL-1 $\beta$ ,促进IL-1 $\beta$ 的释放。pro-IL-1 $\beta$ 也可能不通过溶酶体途径而在胞浆中被caspase-1剪切释放(“?”标记部分)。释放的IL-1 $\beta$ 可促进痛敏的产生。

On contact with ATP and LPS, the P2X7R forms a non-selective ion pore. This allows the efflux of K<sup>+</sup> and the influx of Ca<sup>2+</sup>, which results in activation of NF $\kappa$ B and nuclear transcription of IL-1 $\beta$ , and also drives the conversion of pro-caspase-1 into mature caspase-1. Pro-IL-1 $\beta$  and caspase-1 are incorporated into the lysosome. Pro-IL-1 $\beta$  is converted into mature IL-1 $\beta$  by action of caspase-1 within the lysosome and is released into the extracellular environment. Caspase-1-dependent processing of pro-IL-1 $\beta$  may occur in the cytosol following activation of P2X7 receptor and may be released via mechanisms independent of the lysosomal pathway (marked with “?”). Mature IL-1 $\beta$  enhances allodynia and hyperalgesia.

图2 P2X7受体促进IL-1 $\beta$ 释放机制

Fig.2 Mechanism of IL-1 $\beta$  release induced by P2X7R activation

可能长期存在,它以自发性疼痛、痛觉过敏、感觉异常为特征,可起源于代谢异常、感染、卡压、外伤、中毒、肿瘤、离子通道及自体免疫异常。目前,常用的神经病理性痛模型主要有神经损伤模型(包括神经瘤模型、慢性压迫性损伤模型、部分神经损伤模型、背根节慢性压迫模型、低温神经损伤模型和强制刺激坐骨神经模型等)、糖尿病神经病变模型和中枢损伤痛模型。

2005年,Chassell等<sup>[36]</sup>发现,在P2X7受体基因敲除的小鼠中,由部分坐骨神经结扎术引起的对热和机械性的痛觉过敏未能出现;在由创伤导致的神经损伤痛的病人中,P2X7受体在损伤的神经中有高强度的阳性表达,且比对照组显著增高;在撕裂的DRG组织周围也观察到施旺细胞中P2X7受体表达显著增高。Chassell等的发现首次证实了P2X7受体在外周神经损伤引起的病理性疼痛中的重要作用。He等<sup>[41]</sup>和Kobayashi等<sup>[42]</sup>在大鼠神经损伤引起的病理性疼痛模型上发现,大鼠脊髓背角小胶质细胞P2X7受体的激活与动物痛敏变化一致,给予亮蓝G等抑制P2X7受体的活性后,大鼠痛敏现象得到明显减轻。Wang等<sup>[43]</sup>发现,脊髓急性损伤后,在损伤区周围释放出大量的ATP,与该区域内的神经细胞变性密切相关。OxATP阻断P2X7受体可避免神经元细胞变性死亡,同时可以促进创伤性损伤的功能性的恢复。强直刺激坐骨神经诱发的脊髓C-纤维介导的场电位的长时程增强(long term potentiation, LTP)可视为中枢敏化的一种形式,是脊髓伤害性感受产生的机制之一。我们实验室近年来的研究显示,强直刺激坐骨神经显著上调P2X7受体在脊髓小胶质细胞的表达,应用P2X7受体拮抗剂或siRNA抑制或下调P2X7受体功能,可完全阻断强直刺激坐骨神经诱发的脊髓LTP,并部分缓解机械性痛觉过敏,提示脊髓背角小胶质细胞上的P2X7受体参与调控脊髓痛敏神经元的可塑性<sup>[44]</sup>。Honore等<sup>[30]</sup>发现,P2X7受体拮抗剂可以抑制神经损伤所诱发的慢性痛维持过程中多种脊髓神经元的放电,全身应用P2X7受体拮抗剂可剂量依赖性地缓解神经病理性疼痛<sup>[29-30]</sup>。最近加拿大和美国的研究人员发现<sup>[45]</sup>,P2X7受体基因中第451位上脯氨酸突变为亮氨酸(P451L),可抑制P2X7受体大分子孔道的形成,具有这种基因突变型的小鼠由脊神经损伤(spared nerve injury, SNI)引起的痛敏减弱;阻断大分子孔形成的肽段TAT-P451也能减轻脊神经损伤

小鼠的痛敏行为,提示P2X7受体在神经病理性痛中的作用主要由受体大分子孔道的形成来介导。对于某些个体来说,设计针对阻断P2X7受体大分子孔道形成功能的药物,可能成为潜在的有效减轻慢性痛的治疗方法。

### 3.3 P2X7受体在癌症痛中的作用

癌痛是由恶性肿瘤所引起的疼痛,是慢性痛中最严重也最难以控制的疼痛之一。癌痛的成因主要有三种,最常见的癌痛为由乳腺癌、前列腺癌、肺癌和卵巢癌的骨转移引起的疼痛;其次是肿瘤浸润神经和空腔器官引起的严重疼痛;此外,癌症的化疗、放疗和手术治疗等手段也可引起剧烈疼痛。各种癌痛中,癌性骨痛是最严重的疼痛。骨癌痛分为原发骨肿瘤疼痛和骨转移性疼痛。原发骨肿瘤并不多见,在美国仅占有所有癌症的不到0.2%<sup>[46]</sup>。临床上骨癌痛主要有三种形式:持续性疼痛、爆发性疼痛和持续爆发性疼痛。持续性疼痛是骨癌的第一病症,表现为单调的持续的钝痛,随着时间的变化出现持续性跳痛并且不断加重,肢体活动也能加重这种疼痛。当骨癌进一步恶化,会出现自发间歇性疼痛和活动诱发的突然性疼痛<sup>[47]</sup>。

为了研究癌症痛的机制,建立了多种骨癌痛动物模型用于模拟临床。Currie等<sup>[48]</sup>分析了最近几年发表的150篇关于骨癌痛的文献,发现至少有38种不同的骨癌痛模型。这些模型的差异主要表现在动物的品系、性别、肿瘤的种植部位和肿瘤细胞类型的不同上。不同品系的动物适合的肿瘤细胞的类型不一样,而动物的性别主要取决于肿瘤细胞合适的生存环境,如Walker256乳腺癌细胞株多选用雌性大鼠,而前列腺癌细胞株多选用雄性大鼠。肿瘤的种植部位多选择在大鼠或小鼠的胫骨、股骨和跟骨,少数在皮下,详细内容见表一。

研究认为,骨癌引起的痛觉过敏一方面来自于背根神经节的初级感觉神经元兴奋性增强(骨癌痛的外周机制);另一方面由于脊髓背角神经化学物质的改变对背角神经元细胞兴奋性和可塑性产生影响,脑内与调节疼痛的下行易化相关脑区神经化学物质的改变和神经元兴奋性的改变产生的下行易化作用,后者统归为骨癌痛的中枢机制。

初级感觉神经元兴奋性的改变与破骨细胞的活化、肿瘤细胞及免疫细胞释放的各种细胞因子、肿瘤细胞对外周神经纤维的浸润、压迫等有关。

表1 不同的骨癌痛模型

Table 1 Models of bone cancer pain

	细胞株 Cell line	品系 Strain	性别 Sex	注射位点 Injection site	
Mouse	66.1	Unknown	Unknown	Femur	
	4T1	BALB/cAnNCr	Female	Femur	
		BALB/cJ WT	Unknown	Femur	
		C3H/SCID	Female	Femur	
	ACE-1	Nude nu/nu	Male	Femur	
	B16-F10	C3H/SCID	Male	Femur	
		C57BL/6	Unknown	Tibia	
	C26	C3H/SCID	Male	Femur	
	G3.26	B6C3/F1	Male	Humerus	
	HCa-1	C3H/HeJ	Male	Dorsum of the foot/thigh	
	Lewis lung	C57BL/6	Male	Femur	
		C57BL/6L	Unknown	Femur	
		Unknown	Unknown	Tibia	
	MC57G	C57Bl/6J	Male	Femur	
	NCTC 2472	B6C3/F2	Male	Humerus	
		B6C3-Fe-a/a	Unknown	Femur	
		C3H	Male	Calcaneus/calcaranea/femur	
		C3H/He	Male	Femur/humerus	
			Unknown	Tibia	
			Female	Humerus	
		C3H/HeJ	Male	Femur/tibia	
			Unknown	Femur/tibia	
			Male	Calcaneusa/femur	
		C3H/HeN	Unknown	Femur	
			Male	Calcaneusa	
			Male	Calcaneusa/femur	
		C3H/SCID	Male	Femur	
Unknown	Femur/calcaranea				
Male	Femur				
NCTC 2472-GFP	C3H/HeJ	Male	Femur		
PC3N-A6-WT	SCID	Male	Femur		
Unknown	C3H/He	Male	Calcaneus		
Rat	AT-3.1	Copenhagen	Male	Tibia	
	AT3B-1	Wistar	Male	Tibia	
	MADB-106	Sprague-Dawley	Female	Tibia	
	MATLyLu	Copenhagen	Male	Femur	
	MRMT-1	Sprague-Dawley	Female	Tibia	
			Male	Femur/tibia	
	Walker 256	Sprague-Dawley	Unknown	Female	Tibia
			Female	Tibia	
			Male	Tibia	
			Unknown	Unknown	Femur/tibia
Female			Wistar	Tibia	
Unknown	Unknown	Tibia			

在肿瘤的病灶部位, 细胞外ATP可调节肿瘤组织局部微环境的变化, 进而促进新的瘤细胞的生长、新生血管的形成和肿瘤细胞的浸润, 且ATP的这些作用主要通过P2X7受体所介导<sup>[49-54]</sup>。通过mRNA表达芯片数据库和大量的文献分析, 发现P2X7受体在

原发性骨肿瘤和一些其他的肿瘤(多发性骨髓瘤、成神经细胞瘤、乳腺癌和前列腺癌)中有很高水平的表达<sup>[55-56]</sup>。在大鼠和小鼠的骨癌痛模型中, 通过组织化学染色方法都能观察到破骨细胞的增殖与活化, 影像学的方法也能观察到骨质破坏<sup>[57-60]</sup>。骨

质破坏主要是由肿瘤细胞的浸润促进了破骨细胞的生成,打破了骨溶解与骨再生的平衡所致。P2X7受体在成骨细胞和破骨细胞上都有表达。成骨细胞上P2X7受体通过激活NFATc1、PI3K/Akt、ROCK和VEGF等信号通路促进早期肿瘤的发展和成骨细胞的损伤<sup>[50-51,61]</sup>;破骨细胞上表达的P2X7受体能促进破骨细胞的分化、RANKL(转录因子NFκB配体)的表达、基质金属蛋白酶和组织蛋白酶的分泌,增强骨吸收和溶骨性病<sup>[62-64]</sup>。同时,肿瘤局部病灶的肿瘤细胞以及坏死的细胞能释放大量的ATP,高浓度的ATP能激活巨噬细胞等免疫细胞上的P2X7受体,使后者释放大量的促炎症因子,如TNF-α、IL-1β、IL-6和IL-18等,这些细胞因子均可兴奋初级感觉神经元<sup>[37]</sup>。此外,TNF-α还可以激活环氧合酶-2(COX-2),增强外周感觉神经元辣椒素受体的敏感性<sup>[65-67]</sup>。

Hansen等<sup>[68]</sup>研究人员运用P2X7受体敲除小鼠研究发现,P2X7受体缺陷的小鼠对骨癌痛易感,选择性的P2X7受体拮抗剂A-438079急性给药后,不能减轻4T1乳腺癌细胞BALB/cJ骨癌小鼠和NCTC2472骨肉瘤细胞C3H骨癌小鼠的痛行为。这个发现显示,P2X7受体在骨癌痛中的作用与炎症痛和神经病理性痛相反,因阻断P2X7受体功能或基因缺陷小鼠中,慢性炎症痛和神经病理性痛都显著减弱。但由于Xu等<sup>[69]</sup>和Nicke等<sup>[70]</sup>所用的P2X7受体转基因小鼠中存在一个P2X7受体的剪切突变体[P2X7 (k) variant],该突变体在脊髓中有表达,它可能代偿P2X7受体的作用,因此并不能排除P2X7受体对骨癌痛的作用。我们实验室尚未发表的数据显示,在Walker256乳腺癌细胞诱导的大鼠骨癌痛模型中,脊髓背角P2X7受体表达水平显著上调,阻断该受体能明显对抗进展期骨癌的维持;P2X7受体在大鼠骨癌痛中的作用主要是通过激活脊髓小胶质细胞p38/MAPK信号通路介导的。

慢性疼痛状态可引起中枢神经系统的可塑性改变,从而引起脑功能的长时程变化<sup>[71-72]</sup>。慢性痛可以导致脑干痛觉下行易化系统正反馈环路活动的持续放大,从而诱导慢性痛的加剧和维持。持续的伤害刺激可引起下行易化系统的重要核团延髓头端腹内侧核团(rostral ventromedial medulla, RVM)神经元可塑性改变。我们实验室最新的研究报道<sup>[73]</sup>,在Walker256乳腺癌细胞诱导的大鼠骨癌痛模型中,RVM小胶质细胞中的P2X7受体表达显著增高,干扰

RVM中P2X7受体功能和药理学阻断RVM中P2X7受体功能均能显著抑制骨癌痛。干扰RVM中P2X7受体表达和功能后,抑制了骨癌痛导致的RVM中小胶质细胞和星型胶质细胞的激活,同时也抑制了骨癌痛导致的RVM中D型丝氨酸的表达增加,从而抑制RVM中5-HT表达增加和脊髓中Fos阳性细胞的表达。

## 4 结论与展望

疼痛,尤其是慢性痛,一直是困扰着广大患者和临床医生的一个难题。伴随着慢性痛的恶性情绪也一直在加剧着慢性痛患者的痛苦。P2X7受体在炎症、炎症痛和神经病理性疼痛中的作用已有大量深入的研究,对P2X7受体大分子孔道形成的调节已成为P2X7受体介导神经病理性疼痛的关键点,设计针对P2X7受体大分子孔的药物,可能是一种比较有效的镇痛手段,一些P2X7受体的拮抗剂已进入临床一期和二期的研究阶段<sup>[5]</sup>。P2X7受体在骨癌痛中的作用目前尚处于初始阶段,相关的报道相对较少,对于P2X7受体在其中的作用也较有争议,需要更多相关的研究来进一步阐明。P2X7受体在一些负性情绪如抑郁、社交回避中的作用也已有许多的报道,那么痛相关厌恶情绪作为一种负性情绪,是否也有P2X7受体参与其中? P2X7受体在痛相关厌恶情绪中作用和机制的研究,可作为一个新的疼痛研究方向,并能促进对P2X7受体在疼痛中作用的全面了解,为寻找解决疼痛患者身体和精神上折磨的新药物带来新的希望。

## 参考文献 (References)

- 1 Gangadhar M, Mishra RK, Sriram D, Yogeewari P. Future directions in the treatment of neuropathic pain: A review on various therapeutic targets. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2013; 13(1): 63-81.
- 2 Surprenant A, Rassendren F, Kawashima E, North RA. The cytolitic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X7). *Science* 1996; 272(5262): 735-8.
- 3 Jarvis MF. The neural-glia purinergic receptor ensemble in chronic pain states. *Trends Neurosci* 2009; 33(1): 48-57.
- 4 Trang T, Beggs S, Salter MW. ATP receptors gate microglia signaling in neuropathic pain. *Exp Neurol* 2011; 234(2): 354-61.
- 5 Arulkumaran N, Unwin RJ, Tam FW. A potential therapeutic role for P2X7 receptor (P2X7R) antagonists in the treatment of inflammatory diseases. *Expert Opin Investig Drugs* 2011; 20(7): 897-915.
- 6 Rassendren F, Buell GN, Virginio C, Collo G. The permeabilizing ATP receptor, P2X7. Cloning and expression of a human cDNA. *J Biol Chem* 1997; 272(9): 5482-6.
- 7 Gu BJ, Sluyter R, Skarratt KK, Shemon AN, Dao-Ung LP, Fuller SJ,

- et al.* An Arg307 to Gln polymorphism within the ATP-binding site causes loss of function of the human P2X7 receptor. *J Biol Chem* 2004; 279(30): 31287-95.
- 8 Denlinger LC, Fisetite PL, Sommer JA, Watters JJ, Prabhu U, Dubyak GR, *et al.* Cutting edge: the nucleotide receptor P2X7 contains multiple protein- and lipid-interaction motifs including a potential binding site for bacterial lipopolysaccharide. *J Immunol* 2001; 167(4): 1871-6.
- 9 Sperlagh B, Szabo G, Erdelyi F, Baranyi M. Homo- and heteroexchange of adenine nucleotides and nucleosides in rat hippocampal slices by the nucleoside transport system. *Br J Pharmacol* 2003; 139(3): 623-33.
- 10 Papp L, Balazsa T, Kofalvi A, Erdelyi F, Szabo G, Vizi ES, *et al.* P2X receptor activation elicits transporter-mediated noradrenaline release from rat hippocampal slices. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 310(3): 973-80.
- 11 Deuchars SA, Atkinson L, Brooke RE, Musa H, Milligan CJ, Batten TF, *et al.* Neuronal P2X7 receptors are targeted to presynaptic terminals in the central and peripheral nervous systems. *J Neurosci* 2001; 21(18): 7143-52.
- 12 Kobayashi K, Fukuoka T, Yamanaka H, Dai Y, Obata K, Tokunaga A, *et al.* Differential expression patterns of mRNAs for P2X receptor subunits in neurochemically characterized dorsal root ganglion neurons in the rat. *J Comp Neurol* 2005; 481(4): 377-90.
- 13 Anderson CM, Nedergaard M. Emerging challenges of assigning P2X7 receptor function and immunoreactivity in neurons. *Trends Neurosci* 2006; 29(5): 257-62.
- 14 Brandle U, Kohler K, Wheeler-Schilling TH. Expression of the P2X7-receptor subunit in neurons of the rat retina. *Brain Res Mol Brain Res* 1998; 62(1): 106-9.
- 15 Atkinson L, Batten TF, Moores TS, Varoqui H. Differential colocalisation of the P2X7 receptor subunit with vesicular glutamate transporters VGLUT1 and VGLUT2 in rat CNS. *Neuroscience* 2004; 123(3): 761-8.
- 16 Burnstock G. Purinergic cotransmission. *F1000 Biol Rep* 2009; 1: 46.
- 17 Nakanishi H, Takeda H. The possible role of adenosine triphosphate in chemical transmission between the hypogastric nerve terminal and seminal vesicle in the guinea-pig. *Jpn J Pharmacol* 1973; 23(4): 479-90.
- 18 Su C, Bevan JA, Burnstock G. [3H]adenosine triphosphate: Release during stimulation of enteric nerves. *Science* 1971; 173(3994): 336-8.
- 19 Samways DS, Egan TM. Acidic amino acids impart enhanced Ca<sup>2+</sup> permeability and flux in two members of the ATP-gated P2X receptor family. *J Gen Physiol* 2007; 129(3): 245-56.
- 20 Panenka W, Jijon H, Herx LM, Armstrong JN, Feighan D, Wei T, *et al.* P2X7-like receptor activation in astrocytes increases chemokine monocyte chemoattractant protein-1 expression via mitogen-activated protein kinase. *J Neurosci* 2001; 21(18): 7135-42.
- 21 Perregaux DG, McNiff P, Laliberte R, Conklyn M. ATP acts as an agonist to promote stimulus-induced secretion of IL-1 beta and IL-18 in human blood. *J Immunol* 2000; 165(8): 4615-23.
- 22 Chakfe Y, Seguin R, Antel JP, Morissette C, Malo D, Henderson D, *et al.* ADP and AMP induce interleukin-1beta release from microglial cells through activation of ATP-primed P2X7 receptor channels. *J Neurosci* 2002; 22(8): 3061-9.
- 23 Kahlenberg JM, Dubyak GR. Mechanisms of caspase-1 activation by P2X7 receptor-mediated K<sup>+</sup> release. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 286(5): C1100-8.
- 24 Burnstock G. Purinergic mechanisms and pain—an update. *Eur J Pharmacol* 2013; 716(1/2/3): 24-40.
- 25 Bianchi BR, Lynch KJ, Touma E, Niforatos W, Burgard EC, Alexander KM, *et al.* Pharmacological characterization of recombinant human and rat P2X receptor subtypes. *Eur J Pharmacol* 1999; 376(1/2): 127-38.
- 26 Jacobson KA, Jarvis MF, Williams M. Purine and pyrimidine (P2) receptors as drug targets. *J Med Chem* 2002; 45(19): 4057-93.
- 27 Jiang LH, Mackenzie AB, North RA, Surprenant A. Brilliant blue G selectively blocks ATP-gated rat P2X(7) receptors. *Mol Pharmacol* 2000; 58(1): 82-8.
- 28 Gargett CE, Wiley JS. The isoquinoline derivative KN-62 a potent antagonist of the P2Z-receptor of human lymphocytes. *Br J Pharmacol* 1997; 120(8): 1483-90.
- 29 Nelson DW, Gregg RJ, Kort ME, Perez-Medrano A, Voight EA, Wang Y, *et al.* Structure-activity relationship studies on a series of novel, substituted 1-benzyl-5-phenyltetrazole P2X7 antagonists. *J Med Chem* 2006; 49(12): 3659-66.
- 30 Honore P, Donnelly-Roberts D, Namovic MT, Hsieh G, Zhu CZ, Mikusa JP, *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 Pharmacol Exp Ther* 2006; 319(3): 1376-85.
- 31 Dell'Antonio G, Quattrini A, Cin ED, Fulgenzi A. Relief of inflammatory pain in rats by local use of the selective P2X7 ATP receptor inhibitor, oxidized ATP. *Arthritis Rheum* 2002; 46(12): 3378-85.
- 32 McGaraughty S, Chu KL, Namovic MT, Donnelly-Roberts DL, Harris RR, Zhang XF, *et al.* P2X7-related modulation of pathological nociception in rats. *Neuroscience* 2007; 146(4): 1817-28.
- 33 Teixeira JM, Oliveira MC, Parada CA, Tambeli CH. Peripheral mechanisms underlying the essential role of P2X7 receptors in the development of inflammatory hyperalgesia. *Eur J Pharmacol* 2010; 644(1/2/3): 55-60.
- 34 Broom DC, Matson DJ, Bradshaw E, Buck ME, Meade R, Coombs S, *et al.* Characterization of N-(adamantan-1-ylmethyl)-5-[(3R-amino-pyrrolidin-1-yl)methyl]-2-chloro-benzamide, a P2X7 antagonist in animal models of pain and inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 327(3): 620-33.
- 35 Labasi JM, Petrushova N, Donovan C, McCurdy S, Lira P, Payette MM, *et al.* Absence of the P2X7 receptor alters leukocyte function and attenuates an inflammatory response. *J Immunol* 2002; 168(12): 6436-45.
- 36 Chessell IP, Hatcher JP, Bountra C, Michel AD, Hughes JP, Green P, *et al.* Disruption of the P2X7 purinoceptor gene abolishes chronic inflammatory and neuropathic pain. *Pain* 2005; 114(3): 386-96.
- 37 Ferrari D, Pizzirani C, Adinolfi E, Lemoli RM, Curti A, Idzko M, *et al.* The P2X7 receptor: A key player in IL-1 processing and release. *J Immunol* 2006; 176(7): 3877-83.
- 38 Solle M, Labasi J, Perregaux DG, Stam E, Petrushova N, Koller BH, *et al.* Altered cytokine production in mice lacking P2X(7) receptors. *J Biol Chem* 2001; 276(1): 125-32.
- 39 Samad TA, Moore KA, Sapirstein A, Billet S, Allchorne A, Poole S, *et al.* Interleukin-1beta-mediated induction of Cox-2 in the CNS

- contributes to inflammatory pain hypersensitivity. *Nature* 2001; 410(6827): 471-5.
- 40 Dinarello CA. The IL-1 family and inflammatory diseases. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20(5 Suppl 27): S1-13.
- 41 He WJ, Cui J, Du L, Zhao YD, Burnstock G, Zhou HD, *et al.* Spinal P2X7(7) receptor mediates microglia activation-induced neuropathic pain in the sciatic nerve injury rat model. *Behav Brain Res* 2011; 226(1): 163-70.
- 42 Kobayashi K, Takahashi E, Miyagawa Y, Yamanaka H. Induction of the P2X7 receptor in spinal microglia in a neuropathic pain model. *Neurosci Lett* 2011; 504(1): 57-61.
- 43 Wang X, Arcuino G, Takano T, Lin J, Peng WG, Wan P, *et al.* P2X7 receptor inhibition improves recovery after spinal cord injury. *Nat Med* 2004; 10(8): 821-7.
- 44 Chu YX, Zhang Y, Zhang YQ, Zhao ZQ. Involvement of microglial P2X7 receptors and downstream signaling pathways in long-term potentiation of spinal nociceptive responses. *Brain Behav Immun* 2010; 24(7): 1176-89.
- 45 Sorge RE, Trang T, Dorfman R, Smith SB, Beggs S, Ritchie J, *et al.* Genetically determined P2X7 receptor pore formation regulates variability in chronic pain sensitivity. *Nat Med* 2012; 18(4): 595-9.
- 46 Dorfman HD, Czerniak B. Bone cancers. *Cancer* 1995; 75(1 Suppl): 203-10.
- 47 Mercadante S. Malignant bone pain: Pathophysiology and treatment. *Pain* 1997; 69(1/2): 1-18.
- 48 Currie GL, Delaney A, Bennett MI, Dickenson AH, Egan KJ, Vestertinen HM, *et al.* Animal models of bone cancer pain: Systematic review and meta-analyses. *Pain* 2013; 154(6): 917-26.
- 49 Adinolfi E, Amoroso F, Giuliani AL. P2X7 Receptor Function in Bone-Related Cancer. *J Osteoporos* 2012; 2012: 637863.
- 50 Adinolfi E, Callegari MG, Ferrari D, Bolognesi C, Minelli M, Wieckowski MR, *et al.* Basal activation of the P2X7 ATP receptor elevates mitochondrial calcium and potential, increases cellular ATP levels, and promotes serum-independent growth. *Mol Biol Cell* 2005; 16(7): 3260-72.
- 51 Adinolfi E, Raffaghello L, Giuliani AL, Cavazzini L, Capece M, Chiozzi P, *et al.* Expression of P2X7 receptor increases *in vivo* tumor growth. *Cancer Res* 2012; 72(12): 2957-69.
- 52 Pellegatti P, Raffaghello L, Bianchi G, Piccardi F. Increased level of extracellular ATP at tumor sites: *In vivo* imaging with plasma membrane luciferase. *PLoS One* 2008; 3(7): e2599.
- 53 Wilhelm K, Ganesan J, Muller T, Durr C, Grimm M, Beilhack A, *et al.* Graft-versus-host disease is enhanced by extracellular ATP activating P2X7R. *Nat Med* 2010; 16(12): 1434-8.
- 54 Di Virgilio F, Ferrari D, Adinolfi E. P2X7(7): A growth-promoting receptor-implications for cancer. *Purinergic Signal* 2009; 5(2): 251-6.
- 55 Lukk M, Kapushesky M, Nikkila J, Parkinson H, Goncalves A, Huber W, *et al.* A global map of human gene expression. *Nat Biotechnol* 2010; 28(4): 322-4.
- 56 Farrell AW, Gadeock S, Pupovac A, Wang B, Jalilian I, Ranson M, *et al.* P2X7 receptor activation induces cell death and CD23 shedding in human RPMI 8226 multiple myeloma cells. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1800(11): 1173-82.
- 57 Honore P, Luger NM, Sabino MA, Schwei MJ, Rogers SD, Mach DB, *et al.* Osteoprotegerin blocks bone cancer-induced skeletal destruction, skeletal pain and pain-related neurochemical reorganization of the spinal cord. *Nat Med* 2000; 6(5): 521-8.
- 58 Mao-Ying QL, Zhao J, Dong ZQ, Wang J, Yu J, Yan MF, *et al.* A rat model of bone cancer pain induced by intra-tibia inoculation of Walker 256 mammary gland carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 345(4): 1292-8.
- 59 Zhang RX, Liu B, Wang L, Ren K, Qiao JT, Berman BM, *et al.* Spinal glial activation in a new rat model of bone cancer pain produced by prostate cancer cell inoculation of the tibia. *Pain* 2005; 118(1/2): 125-36.
- 60 Medhurst SJ, Walker K, Bowes M, Kidd BL, Glatt M, Muller M, *et al.* A rat model of bone cancer pain. *Pain* 2002; 96(1/2): 129-40.
- 61 Mistafa O, Stenius U. Statins inhibit Akt/PKB signaling via P2X7 receptor in pancreatic cancer cells. *Biochem Pharmacol* 2009; 78(9): 1115-26.
- 62 Korcok J, Raimundo LN, Ke HZ, Sims SM. Extracellular nucleotides act through P2X7 receptors to activate NF-kappaB in osteoclasts. *J Bone Miner Res* 2004; 19(4): 642-51.
- 63 Baroni M, Pizzirani C, Pinotti M, Ferrari D, Adinolfi E, Calzavarini S, *et al.* Stimulation of P2 (P2X7) receptors in human dendritic cells induces the release of tissue factor-bearing microparticles. *FASEB J* 2007; 21(8): 1926-33.
- 64 Gu BJ, Wiley JS. Rapid ATP-induced release of matrix metalloproteinase 9 is mediated by the P2X7 receptor. *Blood* 2006; 107(12): 4946-53.
- 65 Nicol GD, Lopshire JC, Pafford CM. Tumor necrosis factor enhances the capsaicin sensitivity of rat sensory neurons. *J Neurosci* 1997; 17(3): 975-82.
- 66 Panupinthu N, Rogers JT, Zhao L, Solano-Flores LP, Possmayer F, Sims SM, *et al.* P2X7 receptors on osteoblasts couple to production of lysophosphatidic acid: A signaling axis promoting osteogenesis. *J Cell Biol* 2008; 181(5): 859-71.
- 67 Gavala ML, Hill LM, Lenertz LY, Karta MR. Activation of the transcription factor FosB/activating protein-1 (AP-1) is a prominent downstream signal of the extracellular nucleotide receptor P2RX7 in monocytic and osteoblastic cells. *J Biol Chem* 2010; 285(44): 34288-98.
- 68 Hansen RR, Nielsen CK, Nasser A, Thomsen SI, Eghorn LF, Pham Y, *et al.* P2X7 receptor-deficient mice are susceptible to bone cancer pain. *Pain* 2011; 152(8): 1766-76.
- 69 Xu XJ, Boumechache M, Robinson LE, Marschall V, Gorecki DC, Masin M, *et al.* Splice variants of the P2X7 receptor reveal differential agonist dependence and functional coupling with pannexin-1. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 16): 3776-89.
- 70 Nicke A, Kuan YH, Masin M, Rettinger J, Marquez-Klaka B, Bender O, *et al.* A functional P2X7 splice variant with an alternative transmembrane domain 1 escapes gene inactivation in P2X7 knockout mice. *J Biol Chem* 2009; 284(38): 25813-22.
- 71 Xiao X, Yang Y, Zhang Y, Zhang XM. Estrogen in the anterior cingulate cortex contributes to pain-related aversion. *Cereb Cortex* 2012; 23(9): 2190-203.
- 72 Han M, Xiao X, Yang Y, Huang RY, Cao H, Zhao ZQ, *et al.* SIP30 is required for neuropathic pain-evoked aversion in rats. *J Neurosci* 2014; 34(2): 346-55.
- 73 Huang ZX, Lu ZJ, Ma WQ, Wu FX, Zhang YQ, Yu WF, *et al.* Involvement of RVM-expressed P2X7 receptor in bone cancer pain: Mechanism of descending facilitation. *Pain* 2014; 155(4): 783-91.