

GDNF与疼痛的关系

李文艳 王冬梅*

(福建师范大学生命科学学院, 神经内分泌实验室; 福建省发育与神经生物学重点实验室, 福州 350117)

摘要 胶质细胞源性神经营养因子(glial cell derived neurotrophic factor, GDNF)配体家族及其受体系统是神经系统中主要的神经营养网络之一, 对神经元的生长发育、营养和功能行使非常重要。近些年诸多学者证实, GDNF在疼痛的调节尤其是病理性疼痛发生中发挥重要作用, 具体参与机制取得一些研究进展。该文综述了GDNF在病理性疼痛中的作用及参与机制。

关键词 GDNF; 神经病理性痛; 炎性痛; 癌痛; 机制

The Relationship Between GDNF and Pain

LI Wenyan, WANG Dongmei*

(Laboratory of Neuroendocrinology, College of Life Science, Fujian Normal University;
Fujian Key Laboratory of Developmental and Neurobiology, Fuzhou 350117, China)

Abstract GDNF (glial cell derived neurotrophic factor) ligand family and its receptor system are one of the major neurotrophic networks in the nervous system, which are important for the growth, development, nutrition and the function of neurons. In recent years, many scholars have confirmed that GDNF plays an important role in the regulation of pain, especially in the occurrence of pathological pain. Some research progresses have been made on the specific participation mechanism. This paper reviews the role and mechanism of GDNF in pathologic pain.

Keywords GDNF; neuropathic pain; inflammatory pain; cancer pain; mechanism

疼痛分为慢性疼痛和急性疼痛, 急性疼痛又称为生理性痛, 慢性疼痛则是一种病理性疼痛, 包括炎性痛、神经性痛和癌痛^[1]。疼痛常伴随疾病出现, 原发性疾病治愈后, 慢性疼痛可能仍持续存在。伤害感受系统的可塑性改变是造成病理性疼痛发生的原因, 可能表现出自发性痛、痛觉过敏和异位性疼痛等临床症状。目前临床上治疗病理性疼痛的药物如阿片类药物和三环类抗抑郁药等通常需要较高剂量或者有较多不良反应。因此, 以病理性痛发生机制为靶点的治疗手段是目前主要的研究方向。

GDNF家族配体信号系统是近些年发现的病理

性疼痛的潜在治疗靶点。该系统的成员之一GDNF对中枢和外周某些神经元具有修复、保护和支持作用^[2]。在一级和二级神经元之间起着传递伤害性信息的作用^[3], 但根据受神经支配的外周区域(皮肤或肌肉)、疼痛类型(炎症或神经性疾病)和刺激(机械或热)的不同, GDNF显示出了促伤害感受和抗伤害感受两种作用。如GDNF已被证明其可在神经痛和癌疼痛模型中表现出很好的镇痛作用, 但可能参与了炎性痛的发生过程^[4]。本文以GDNF在病理性疼痛中的研究进行综述, 探讨其作为病理性疼痛治疗靶点的可能性。

收稿日期: 2020-07-20 接受日期: 2020-08-17

国家自然科学基金(批准号: 81400922、81571084)、福建省自然科学基金(批准号: 2018J01813)和福建省教育厅项目(批准号: JAT190090)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0591-22868211, E-mail: dmwang@fjnu.edu.cn

Received: July 20, 2020 Accepted: August 17, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81400922, 81571084), Natural Science Foundation of Fujian Province (Grant No.2018J01813), and Education Department Foundation of Fujian Province (Grant No.JAT190090)

*Corresponding author. Tel: +86-591-22868211, E-mail: dmwang@fjnu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5406>

1 GDNF概述

1.1 GDNF的结构与分布

胶质细胞源性神经营养因子(glial cell derived neurotrophic factor, GDNF)于1993年被LIN等^[5]首次从大鼠神经胶质细胞株B49中纯化并命名。其发现基础是GDNF对多巴胺能神经元有高特异性营养作用。目前研究发现, GDNF家族成员包括: GDNF、神经生长因子NTN(neurturin)、EVN(evnovin)/ART(artemin)和PSP(persephin)。该家族成员是一类结构相似、功能相关的分泌型蛋白质, 具有7个保守的半胱氨酸残基, 具有相似的空间结构, 核苷酸序列、氨基酸顺序也具有较高的同源性^[6]。GDNF半胱氨酸残基的相对位点与转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族相同, 所以GDNF被认为是TGF- β 家族中的一员^[7], 且与TGF- β 家族有远缘关系。人与鼠的GDNF氨基酸序列有93%的同源性^[6]。GDNF在中枢及外周神经系统的不同区域和外周组织中均有表达。GDNF在发育中的胚胎中广泛表达, 在中脑黑质神经元的靶细胞如纹状体、丘脑核、海马等部位表达, 多巴胺能神经元以及面部运动神经元中有较强的GDNF信号。GDNF的mRNA在成年鼠大脑和脊髓的不同神经元细胞群的细胞质中均有表达^[8]。周围神经系统的施万细胞以及非神经细胞如角质形成细胞、成纤维细胞和血管平滑肌细胞都能分泌GDNF。中枢神经损伤时星形胶质细胞分泌GDNF, 施万细胞是外周神经损伤时GDNF mRNA的来源^[9]。GDNF在部分背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)表达IB4(isolectin B4)的中小型神经元和脊髓背角I、II层纤维中表达^[10-13]。IB4是一种被广泛用于表征非肽能小DRG神经元亚群的标记物, 这提示了GDNF在非肽能痛觉神经元中的定位。GDNF在脊髓中的表达主要是在脊髓浅层, 这一区域被认为与疼痛传递密切相关, 所以暗示了GDNF具有伤害性功能的可能性^[14-16]。GDNF在外周器官中的表达量比在神经组织中要高, 在中枢神经系统的表达量比较低, 在周围神经系统中的表达量受到感觉神经、运动神经或者交感神经支配。GDNF在非神经组织和细胞的表达提示其可能具有非神经的作用。

1.2 GDNF受体

GDNF受体家族为磷脂酰肌醇锚定的辅助受体GFR α 1-4(GDNF family receptor alpha1-4)。GDNF配体与其特异性受体GFR α 结合, GFR α 进一步与跨

膜蛋白酪氨酸激酶(tyrosine kinase, Ret)结合, 引起Ret活化, 通过激发MAPK级联反应来行使其功能^[6]。GDNF、NTN、EVN/ART、PSP分别特异性地与GFR α 1-4结合, 但这种特异性并不是绝对的。GDNF配体家族中的一些成员还可以通过与神经细胞黏附分子(neural cell adhesion molecule, NCAM)相互作用发出信号, 但从配体受体亲和力和下游信号触发方面来看, GFR α 家族受体处于优势地位^[15-16]。一般认为, 只有GFR α 和Ret同时存在, GDNF才能发挥作用。但有研究发现, GDNF也可以与Ret直接作用, 或者GDNF不借助Ret直接通过GFR α 受体激活细胞内信号转导途径。

1.3 GDNF的功能

GDNF作为被广泛研究的神经营养因子家族成员, 已被证明是积极分泌的, 这为其成为具有生物学效应的细胞外信使提供了基础。GDNF家族是一类促进外周和中枢神经元存活的重要神经因子^[6]。GDNF对多巴胺能神经元、运动神经元、肠道神经元及伤害性感觉神经元等多种神经元均具有促存活及损伤保护作用^[17]。它不仅对感觉神经元亚群的成熟和维持至关重要, 而且对调节其功能性质也是必不可少的^[18]。GDNF支持DRG神经元在体内和体外的存活^[18-19]以及成年期的再生。在DRG神经元中, 约有一半的小直径原发性传入神经元再生依赖GDNF。GDNF属于TGF- β 家族, 是靶源性的神经营养因子, 不仅能够促进神经元的生长发育、存活及再生, 还能够延长轴索的长度, 使其朝靶器官的方向生长, 阻止轴突断裂所致的神经元变性, 从而阻止其退化和凋亡^[20]。

GDNF家族及其受体信号的作用方式具多样性, 使得这些因子参与多种与神经系统有关的调控过程——从神经元存活到发育中神经系统的引导和形成, 以及成人的神经系统的功能和反应等^[7]。GDNF的许多生物反应是通过与特定膜受体的结合介导的。GDNF绑定到特定的受体上激活胞内信号^[15], 这些信号通过逆行传递到神经元细胞核中, 通过对基因表达^[21]的影响来控制生物反应。另外, JANKOWSKI等^[22]发现, GDNF家族受体GFR α 1和GFR α 3的表达会受到Sox11过表达的诱导。GDNF被Sox11影响改变了自身的响应性从而可以促进神经突生长。GDNF家族配体信号系统还是躯体疼痛和神经退行性疾病中已知的治疗靶点。由于Ret的

有效激活依赖于与辅助结合蛋白形成的受体复合物,因此可以实现不同成员作用的特异性。这些因子对疼痛的相关贡献目前尚不清楚。但是相关的因素已经被证明可以防止其中某些神经活动的潜在改变,并可能参与感觉神经元的外周轴突在损伤后的再生机制^[22]。有研究者发现,GDNF通过直接或间接调节Nectin-1/c-Src信号传导发挥镇痛作用^[1]。除了对神经元的保护作用 and 镇痛效果外,GDNF还是缺血和癫痫的有效治疗药物,并且被认为是帕金森病的潜在治疗剂^[1]。

2 GDNF在病理性疼痛中的作用

2.1 GDNF与神经病理性痛

神经病理性痛(neuropathic pain, NPP)是因外周或中枢体感系统的损伤或疾病而引起的慢性病症,研究NPP的动物模型包括坐骨神经压迫(chronic constriction injury, CCI)、脊神经结扎(spinal nerve ligation, SNL)、坐骨神经横断(sciatic nerve transection, SNT)、脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)等。证据表明,GDNF在NPP中发挥显著作用^[23](图1)。

在多种NPP发生和维持过程中GDNF及其受体表达量发生变化。(1)外周损伤引发NPP发生时,在外周水平,CCI第7天至第28天损伤神经远端GDNF和GDNFR α -1表达降低^[23],CCI第7天至第14天损伤侧L4及L5 DRG中GDNF表达减少,表达Ret神经元的比例明显降低^[24]。SNL 7天内GDNF虽未发生变化,但第7天至第14天L4及L5 DRG中GDNF及Ret神经元的表达也减少。外周神经损伤后是可以修复再生的,这个过程中外周胶质细胞释放的GDNF发挥重要作用。所以这些区域的GDNF在外周损伤引发NPP时有不同的变化现象:有研究发现慢性坐骨神经损伤引起损伤处远端施万细胞GDNF的mRNA表达从第3天开始升高,维持5个月之久,损伤DRG的施万细胞和卫星细胞GDNF也明显增加。CCI也会引起损伤神经GDNF及损伤远端GDNF与GDNFR α mRNA上调,DRG中卫星细胞GDNF、GDNFR α 、Ret mRNA表达增加。SNI或CCI诱发脑区GDNF增加^[25],关节炎NPP病人脑脊液中GDNF含量增多。但受体表达的增加可能是因为GDNF含量下降的原因。三叉神经性疼痛发生时,皮肤GDNF表达也增多^[26]。在中枢水平CCI第5天脊髓GDNF及GDNFR α -1表达降低^[27],而CCI后第二周至第四周脊髓GDNF及GFR α 1

表达增加^[28]。SNI或CCI诱发脑区GDNF增加^[25],关节炎NPP病人脑脊液中GDNF含量增多^[29]。(2)中枢损伤引发NPP发生时,在外周水平,SCI会诱发DRG中的GDNF表达减少^[30]。三叉神经病理性痛发生时神经节和神经纤维GDNF表达减弱^[31]。在中枢水平,SCI^[26]、脊髓压迫性损伤(compression injury of spinal cord, SCC)^[29]会诱发脊髓GDNF表达减少,并且SCC还引起传入纤维在脊髓背角浅层投射段的GFR α 1、GFR α 2和GFR α 3表达降低。临床研究发现,NPP病人脑脊液中GDNF含量与正常人相比降低^[29]。GDNF在不同条件下存在变化差异,如不同损伤类型(外周损伤或中枢损伤诱发的NPP)、不同部位(外周或中枢水平)、不同时期(损伤早期或晚期)等,GDNF参与NPP的复杂作用机制。

研究者们不但发现NPP导致GDNF发生量变,且证实外源给予GDNF后可以影响NPP痛行为^[28,32-33],此作用机制涉及受体蛋白、炎症因子、离子通道、信号通路异常等造成的神经系统可塑性改变。研究发现,鞘内注射GDNF能够抑制CCI诱发的痛觉过敏和触诱发痛,GDNF作用于GDNFR α -1通过p38和PKC信号通路抑制MMP2、eNOS和nNOS表达,发挥抗炎和阻止小胶质细胞激活(中枢)的作用;同时GDNF能削弱CCI引起的程序性细胞死亡,包括凋亡和自噬^[23]。鞘内注射GDNF还能翻转SNL诱发的机械痛敏,并能阻断SNL诱发的DRG中IB4标记结构丧失、P2X(3)受体下调、大直径DRG神经元中甘丙肽和NPY的上调、转录因子ATF3增加,通过启动这些对损伤初级传入的保护性作用发挥抑制NPP的作用^[34]。鞘内注射GDNF还能抑制SNL后脊髓GFAP表达的增加,通过抑制星形胶质细胞激活减轻NPP。蓝斑核内注射GDNF也能削弱CCI诱发的机械和热痛敏,增加脊髓去甲肾上腺素含量,而蓝斑核注射ERK抑制剂U0126或鞘内注射 α 2肾上腺素能受体阻断剂育亨宾能抑制这种作用,说明脑内GDNF通过ERK信号通路、增强去甲肾上腺素实现镇痛作用^[35]。CCI会诱发小鼠脊髓E-钙黏蛋白/p120连环蛋白下调,鞘内注射GDNF使p120恢复正常鼠水平,并促进p120募集到近膜区,正向调节E-钙黏蛋白。同时,应用E-钙黏蛋白抑制剂DECMA-1会削弱GDNF对CCI的镇痛作用。这说明E-钙黏蛋白/p120连环蛋白参与GDNF对CCI的抑痛机制^[36]。GDNF还能抑制CCI引起的脊髓局灶黏附激酶(focal adhesion

kinase, FAK)蛋白上调, FAK是整合素 $\beta 1$ 尾部胞浆结构域保守苏氨酸磷酸化的调节因子, 影响整合素 $\beta 1$ 的活性。同时进一步应用抗体阻断Ret功能可以抑制GDNF对整合素 $\beta 1$ 的这种作用从而抑制GDNF对CCI的抑痛作用。这说明GDNF通过Ret相关机制调节整合素 $\beta 1$ 活性参与神经病理性痛^[37]。GDNF还能通过GDNF-GFR $\alpha 1$ -Ret信号通路抑制CCI病理性痛, 直接或间接地下调细胞黏附蛋白nectin-1磷酸化及其下游蛋白c-Src信号发挥镇痛作用^[1]。也有研究证实GDNF通过神经细胞黏附分子(nerve cell adhesion molecules, NCAM)而不是Ret信号通路发挥镇痛作用, 注射NCAM反义寡核苷酸或NCAM模拟肽c3d能够消除GDNF对CCI病理性痛的抑痛作用^[38-39]。鞘内注射GDNF还能抑制L5脊神经横断模型(SNT)诱发的NPP, 一个重要机制是参与脊髓突触回路的重组: 外源性GDNF首先主要通过GFR $\alpha 1$ 受体和NCAM直接抑制神经损伤诱发的脊髓E-钙黏蛋白消失, 并随后间接使得N-钙黏蛋白增加(与GAP-43共位, 参与轴突生长), 这两种蛋白分别分布在非肽能和肽能传入纤维的末端, 在维持和改变突触结构和功能方面发挥不同作用。敲除N-钙黏蛋白或 β -连环蛋白显著降低GDNF的镇痛作用, 鞘内注射GDNF能重新激活N-钙黏蛋白和 β -连环蛋白, 启动跨膜和细胞内信号转导机制减轻NPP^[40]。另外, GDNF可以正常化损伤传入端的Na⁺通道的亚基^[41], 减少感觉神经元的异位放电, 抑制或翻转NPP。体外应用GDNF会显著增加神经元P物质和辣椒素受体VR1表达, 而且体外DRG急性应用GDNF能降低热门控TRPA1通道对疼痛刺激的反应度, 而慢性应用GDNF能够增加TRPA1表达增加神经元对疼痛刺激的敏感性^[42]。体外应用GDNF还能通过抑制鸟苷酸环化酶或增加cAMP水平来抑制信号素sema3A引起DRG的生长锥萎缩, 这种调节作用可能为损伤后脊髓内感觉纤维的错误靶向生长从而导致NPP提供新的机制^[43]。

通过不同手段和方法干预或放大GDNF的研究证实其还有不同的抑痛机制。局部、全身或鞘内注射GDNF抗体能减缓神经损伤(brachial plexus avulsion, BPA)小鼠的机械病理性痛行为^[44]。向脊神经结扎动物脊髓背角注射表达GDNF的病毒载体诱发神经元和胶质细胞过表达GDNF, 可显著降低受损DRG神经元的ATF-3(activating transcription factor-3)上调和IB4下调, 从而显著翻转神经损伤导致的热和机械

痛敏。外周转导表达GDNF能阻断SNL后脊髓疼痛状态相关因子c-fos表达上调^[45]。内源性的GDNF能够影响伤害性感受器的存活和功能, 敲除受体Ret能够导致小的无髓感觉神经元的数量和体积减小、增加正常痛和炎症痛的敏感性^[21]。移植GDNF到损伤的脊髓可显著减少损伤体积和胶质瘢痕形成, 促进神经突起生长、轴突再生和髓鞘形成, 增加施万细胞迁移以促进髓鞘修复, 明显减少皮质脊髓背束轴突退化坏死。同时移植GDNF能逆转脊髓损伤后电压门控性钠通道、神经肽Y的增加, 促进GABA表达升高, 这些共同导致SCI引发的NPP减轻^[46]。将转染GDNF的干细胞移植到SCI的小鼠, 这些干细胞在损伤部位主要分化为星形胶质细胞, GDNF通过促进神经功能恢复(表现为诱导神经元生长相关蛋白GAP43增多、痛相关原件CGRP趋向正常), 减轻SCI引发的痛觉超敏程度^[47]。沉默miR-204上调GDNF能抬高感觉诱发电位(sensory evoked potential, SEP), 释放促炎因子IL-1、TNF- α , 增加抗炎因子BDNF, 共同减弱SCI诱发的自发性痛^[48]。将表达GDNF的慢病毒载体注射到脊髓或未损伤的DRG能够明显降低SNL引起的痛敏, 而注射到损伤的DRG或足底对痛反应没有影响^[49]。鞘内注射神经干细胞使得脊髓背角和DRG大量表达GDNF能显著减轻CCI引起的神经病理性痛^[51], 将能在体内表达GDNF的间充质干细胞注射到神经损伤侧DRG也能显著减少病理性痛行为。NCAM反义寡核苷酸或NCAM模拟肽c3d给予CCI大鼠能取消GDNF的镇痛作用, 部分减轻CCI引起的慢性疼痛, 这提示GDNF-NCAM途径参与NPP的形成^[52]。应用重组腺病毒方法肌肉注射GDNF基因能够促进髓鞘形成, 抑制周围神经变性, 治疗CCI神经病理性痛^[23]。筛选出的GDNF小分子类似物BT13能选择性地激活DRG神经元RET, 皮下注射BT13通过ERK/Akt通路调节损伤侧DRG神经元标记蛋白表达(上调IB4、CGRP, 下调NPY), 恢复神经元正常状态, 降低SNL诱发的机械痛敏^[50]。神经损伤导致触敏性神经纤维(触觉小体)中GDNF产生低频传入放电, 持续激活脊髓代谢型谷氨酸受体, 而由于激活失败触发了皮层触觉超敏反应^[51]。星形胶质细胞产生和分泌GDNF作用于相应受体引发胞内Ca²⁺瞬间变化, 增加Na⁺/K⁺-ATP酶表达, 体外炎症因素刺激(LPS、NMDA、IL-1)会减弱这种现象^[52]。脊髓刺激(spinal cord stimulation, SCS)可以减轻背部手术失败

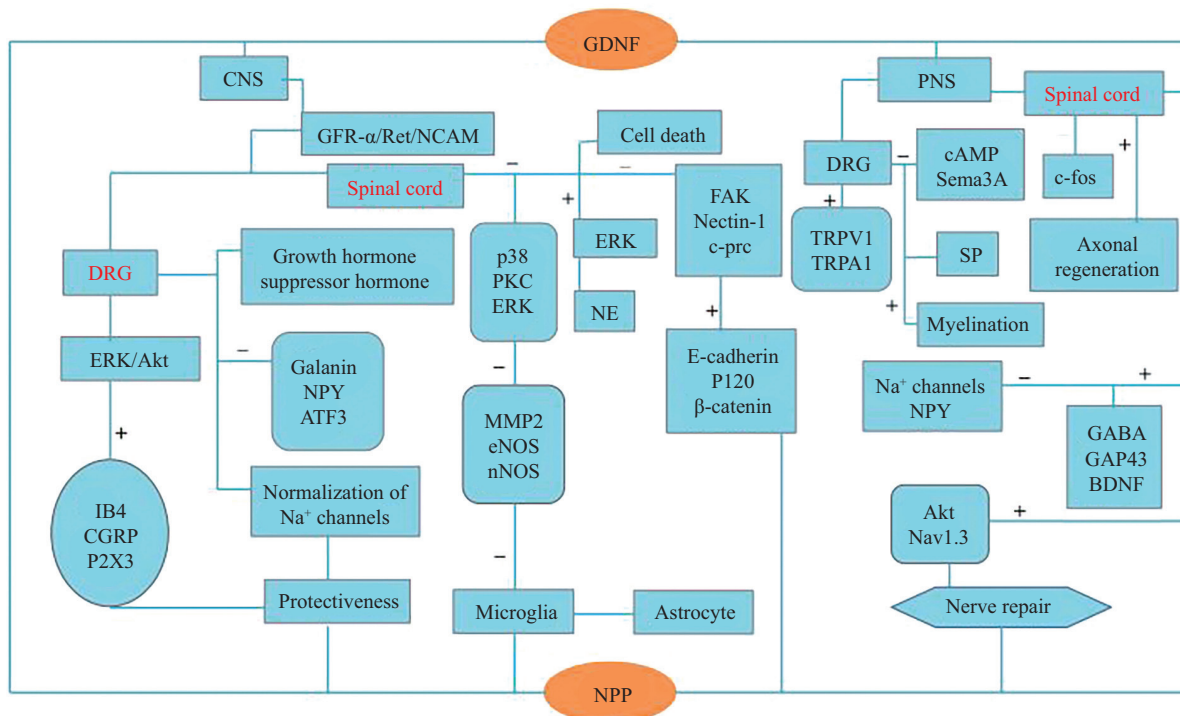
综合征 (failed back surgery syndrome, FBSS) 引起的神经性疼痛, 在这个过程中, SCS 的频率和 GDNF 的水平之间呈正相关, 这也揭示了 GDNF 在 NPP 中的作用^[53]。OUCHER^[54] 等的研究证实, GDNF 对 NPP 状态的影响是由于其对受损纤维中 NaV1.3 表达的抑制, 阻断了 DRG 中电压门控性的、对 N_2O_4 敏感的被外周损伤诱导的钠通道亚型 NaV1.3 的表达。GDNF 可在 DRG 神经元轴突损伤后上调 SNS 和 NaN 钠通道的数量。由于 DRG 神经元钠通道表达异常可能是神经性疼痛的发病机制之一, 所以进一步研究 GDNF 的作用可能有助于神经损伤后的疼痛治疗。

GDNF 参与 NPP 的重要机制是促进神经损伤修复。神经营养因子具有支持神经元存活和刺激神经突起生长的能力, 使其成为修复受损神经的最佳候选因子。研究发现, 注射 GDNF 能促进坐骨神经再生。GDNF 能促进横断的坐骨神经修复、增加感觉恢复的速度, 但同时能增加自割、加重 NPP^[55]。在三叉神经病理痛发生时皮肤中上调的 GDNF 能促进非肽能的 C 纤维再生^[26]。有研究者推测, GDNF 蛋白水平可能受到 PRF 影响而上调, 进而促进受损周围神经的自我修复减轻 NPP。但 PRF 通过上调 GDNF

抑制 NPP 的机制尚不清楚^[33]。脱髓鞘、再髓鞘过程是 NPP 的重要事件^[56], 脱髓鞘轴突的紧密连接促进交叉兴奋和异位冲动^[31,56]。在糖尿病神经病变引起的坐骨神经病变和 CCI^[23] 模型中, 都出现了神经纤维结构的改变, 包括坐骨神经超微结构扭曲、髓鞘发育不良和髓鞘丢失等类似的行为学改变以及 GDNF-GFR α 1-Akt 信号通路衰减, 并表现出明显的机械性异常性疼痛和热敏感性疼痛。肌肉递送 GDNF 基因, 可逆性运输到坐骨神经, 改善糖尿病大鼠神经的缺损, 正常化 GDNF-GFR α 1-Akt 信号通路, 改善机械性异常性疼痛和热敏感性疼痛^[57]。这些结果表明, 从肌细胞转运的 GDNF 发挥神经营养作用, 可以减少大鼠损伤后的外周神经的脱髓鞘和轴突丧失以减轻疼痛过敏现象^[23]。

2.2 GDNF 与炎性痛

有研究表明, GDNF 配体家族 (GDNF ligand family, GFLs) 和 GDNF 敏感神经元参与炎症性痛的发生 (图 2)。研究发现, GDNF 不仅影响生理痛 (鞘内或脚底或肌肉注射能产生痛觉过敏), 即引起炎性痛觉过敏^[58-60], 还能延长炎症物质如前列腺素 (prostaglandin E₂, PGE₂) 诱发的痛觉过敏^[61-62]。在完全弗



+促进作用; -抑制作用。
+ promotion; - inhibition.

图1 GDNF和神经病理性痛的关系

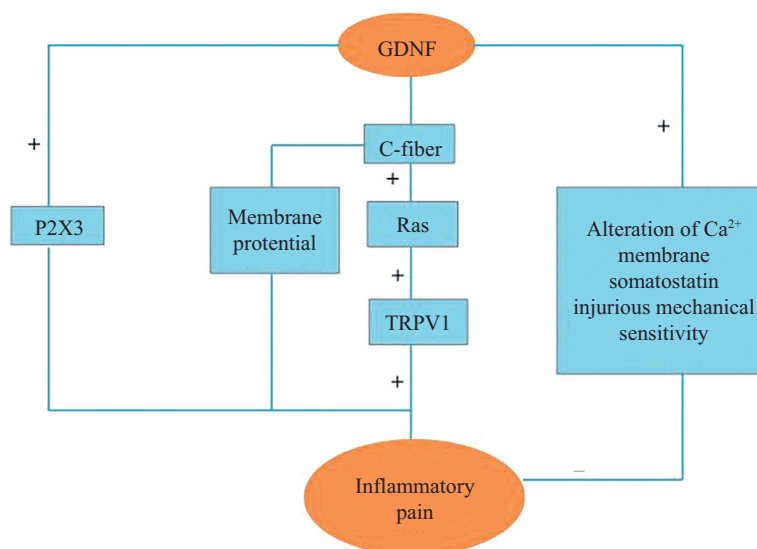
Fig.1 The relationship between GDNF and neuropathic pain

氏佐剂CFA诱发的关节炎性痛情况下,炎症部位周围的GDNF阳性细胞百分比明显增多^[63]。术后痛觉过敏发生时,炎症受伤肌肉中GDNF mRNA表达显著上调,而皮肤中GDNF受体下调^[64]。慢性关节炎痛病人虽然血液中的GDNF显著降低,但脑脊液中GDNF伴随一些炎性因子如IL-1显著升高,外周局部组织中的GDNF表达也增加。CFA诱导胫骨骨髓腔产生炎症时,应用GDNF抗体对疼痛行为不会产生影响。在CFA诱导的延迟性关节炎模型中,虽然脊髓和DRG中的GDNF含量降低,但GDNF抗体能减少单侧注射CFA引起的延迟性双侧痛觉过敏^[13]。肌肉延长收缩引起的机械性痛觉过敏也可以被抗GDNF抗体阻断,这种延迟性肌肉酸痛与环氧合酶-2依赖性GDNF mRNA上调相关。这提示外周伤害感受器对GDNF的反应在浅层组织和深层组织是不同的。中枢头面部神经切断损伤引起GDNF在浸润性炎性细胞中表达增强^[65]。另外,体外实验发现,应用炎性因子IL-1、TNF- α 会引起胶质细胞GDNF表达升高^[66]。这些说明炎性痛相关状态下GDNF水平与周围组织的炎症有关。

GDNF参与炎性痛的作用主要有两种研究结果。一些研究证实,GDNF参与促进炎性痛的形成,在CFA诱导炎症后,DRG中GDNF的表达增加。GDNF诱导IB4阳性神经元TRPV1上调,TRPV1是瞬时受体电位离子通道,在炎性痛觉过敏的发生

发展中起着重要作用。一半的无髓c-纤维的初级感觉神经元依赖GDNF,另一半依赖NGF^[67],所以炎症过程中TRPV1的表达受NGF和GDNF双重调控。NGF或GDNF促进TRPV1表达的机制可能是NGF和GDNF激活对TRPV1表达非常重要的小的GTPase蛋白Ras^[68],也可能是通过调节膜电位调控TRPV1的表达。GDNF和NGF通过发挥对TRPV1表达不同的调节作用参与炎症性痛觉过敏的发生^[4]。另外,研究证实,GDNF和NGF分别通过非肽能纤维和肽能伤害感受器^[18,69]促进疼痛超敏反应,可能与表达IB4⁺和GFR α 1的伤害感受器相关^[59]。也可能是GDNF以其神经营养作用诱导无髓神经纤维向局部炎症病灶生长,释放更多的痛递质而引起痛敏现象的发生。另外,GDNF能调节热和辣感受器的敏感性,激活和敏化骨传入神经元参与炎症性骨痛^[65]。鞘内注射GDNF引起脊髓浅层和DRG P2X3表达增多参与炎性痛^[70]。GDNF也可以通过上调脊髓背角P物质、前列腺素、辣椒素等炎性致痛物质的释放促进疼痛的产生。

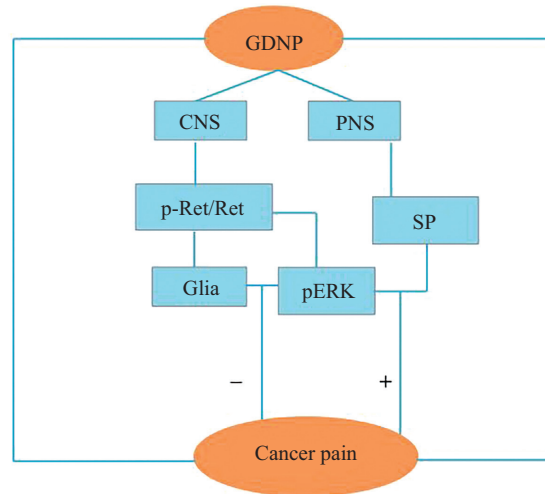
另有实验证实,炎性痛发生时,GDNF的活性减弱,鞘内注射GDNF能翻转小鼠福尔马林急性炎性期对化学刺激的痛反应^[71]。GDNF能促进感觉神经元中枢和外周终末内源性抗炎和镇痛物质生长抑素的释放^[3],还能增强轴突再生和伤害性机械敏感性的恢复^[72]。星形胶质细胞在炎症诱发因子LPS、NMDA(*N*-methyl-*D*-aspartate)或IL-1 β 刺激下,星形



+促进作用; -抑制作用。
+ promotion; - inhibition.

图2 GDNF和炎性痛的关系

Fig.2 The relationship between GDNF and inflammatory pain



+促进作用; -抑制作用。
+ promotion; - inhibition.

图3 GDNF和癌症痛的关系

Fig.3 The relationship between GDNF and cancer pain

胶质细胞中GDNF通过触发Ca²⁺瞬变活动以发挥神经保护及抗炎的能力^[52]。

2.3 GDNF与癌症痛

GDNF参与癌症痛的中枢和外周机制也存在差异。在胫骨注射乳腺癌细胞(Walker 256)诱导的骨癌模型中, GDNF在腰脊髓的表达水平下降, GDNF家族受体Ret的磷酸化表达量降低, 并且出现明显的机械痛和热痛觉过敏以及持续性疼痛。鞘内增加脊髓中GDNF的含量, 通过抑制脊髓胶质细胞激活和pERK活性, 显著降低骨癌诱导的机械和热痛觉过敏^[7]。同样是胫骨注射乳腺癌细胞(MRMT-1)诱导的骨癌模型, MENG等^[73]的研究结果却与此不同, 他们发现鞘内递送GDNF干扰RNA(siRNA)使GDNF表达量下调, 通过抑制SP的释放和pERK活性同样减弱了MRMT-1诱导的机械和热痛觉过敏。GDNF在不同癌痛模型的不同现象, 可能是由于鞘内直接注射GDNF引起的镇痛作用主要通过中枢(脊髓背角)发挥作用所致, 以慢病毒为载体的GDNF-siRNA敲减的可能主要是DRG细胞及脊髓浅层初级传入末梢中枢突的GDNF。由此说明, GDNF在中枢和外周可能通过不同的机制参与癌痛的调节(图3)。

3 结语

GDNF是活跃分泌的神经营养因子, 可以作为具有生物学效应的细胞外信使。GDNF既有抗伤害作用, 也有促伤害作用。其结合受体通过不同的作

用通路修复损伤神经元实现多种病理性疼痛的镇痛作用, 也可能通过敏化非肽能神经元诱导超敏反应而参与疼痛的产生。但疼痛不是单一的神经传递效应, 其中涉及到多种感受器、神经元和生物因子。初级感觉神经元检测外周刺激以辨别触觉、温度和伤害感受。伤害感受器是周围神经纤维的子集, 其选择性地响应有害或潜在的组织损伤刺激, 并支配皮肤、肌肉、关节和内脏的感觉末端器官。疼痛处理中, 每个感觉神经元子集的功能特性以及GDNF在不同的镇痛效应中所扮演的角色对于开发GDNF的镇痛作用是很重要的。GDNF的研究为治疗病理性疼痛提供了一个新的治疗靶点。

参考文献 (References)

- [1] WANG H J. Role of Nectin-1/c-Src signaling in the analgesic effect of GDNF on a rat model of chronic constrictive Injury [J]. J Mol Neurosci, 2016, 60(2): 258-66.
- [2] SALTER M W, CLIFFORD J W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain [J]. Science, 2000, 288(5472): 1765-8.
- [3] MALCANGIO M. GDNF and somatostatin in sensory neurones [J]. Curr Opin Pharmacol, 2003, 3(1): 41-5.
- [4] AMAYA F, SHIMOSATO G, NAGANO M, et al. NGF and GDNF differentially regulate TRPV1 expression that contributes to development of inflammatory thermal hyperalgesia [J]. Eur J Neurosci, 2004, 20(9): 2303-10.
- [5] LIN L, DOHERTY D, LILE J, et al. GDNF: a glial cell line-derived neurotrophic factor for midbrain dopaminergic neurons [J]. Science, 1993, 260(5111): 1130-2.
- [6] 潘智芳. GDNF家族及其受体[J]. 潍坊学院学报(PAN Z F. The GDNF family and its receptor [J]. Weifang College Newspaper),

- 2005, 5(6): 86-9.
- [7] DING Z, XU W, ZHANG J, et al. Normalizing GDNF expression in the spinal cord alleviates cutaneous hyperalgesia but not ongoing pain in a rat model of bone cancer pain [J]. *Int J Cancer*, 2017, 140(2): 411-22.
- [8] POCHON A M, MENOUD A, TSENG J L, et al. Neuronal GDNF expression in the adult rat nervous system identified by in situ hybridization [J]. *Eur J Neurosci*, 2010, 9(3): 463-71.
- [9] XU P, ROSEN K M, HEDSTROM K, et al. Nerve injury induces glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression in schwann cells through purinergic signaling and the pkc-pkd pathway [J]. *Glia*, 2013, 61(7): 1029-40.
- [10] SALIO C, FERRINI F, MUTHURAJU S, et al. Presynaptic modulation of spinal nociceptive transmission by glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) [J]. *J Neurosci*, 2014, 34(41): 13819-33.
- [11] KAWAMOTO Y, NAKAMURA S, MATSUO A, et al. Immunohistochemical localization of glial cell line-derived neurotrophic factor in the human central nervous system [J]. *Neuroscience*, 2000, 100(4): 701-12.
- [12] OHTA K, INOKUCHI T, GEN E, et al. Ultrastructural study of anterograde transport of glial cell line-derived neurotrophic factor from dorsal root ganglion neurons of rats towards the nerve terminal [J]. *Cells Tissues Organs*, 2001, 169(4): 410-21.
- [13] FANG M, WANG Y, HE Q H, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor contributes to delayed inflammatory hyperalgesia in adjuvant rat pain model [J]. *Neuroscience*, 2003, 117(3): 503-12.
- [14] TRUPP M. Peripheral expression and biological activities of GDNF, a new neurotrophic factor for avian and mammalian peripheral neurons [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 1995, 130(1): 137-48.
- [15] PARATCHA G, FERNANDA L. GDNF and GFR α : a versatile molecular complex for developing neurons [J]. *Trends Neurosci*, 2008, 31(8): 384-91.
- [16] IBANEZ C F. Beyond the cell surface: new mechanisms of receptor function [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(1): 24-7.
- [17] MALIN S A, MOLLIVER D C, KOERBER H R, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor family members sensitize nociceptors *in vitro* and produce thermal hyperalgesia *in vivo* [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(33): 8588-99.
- [18] MOLLIVER D C, WRIGHT D E, LEITNER M L, et al. IB4-binding DRG neurons switch from NGF to GDNF dependence in early postnatal life [J]. *Neuron*, 1997, 19(4): 849-61.
- [19] YAN Q, ROSENFELD R D, MATHESON C R, et al. Expression of brain-derived neurotrophic factor protein in the adult rat central nervous system [J]. *Neuroscience*, 1997, 78(2): 431-48.
- [20] IBANEZ C F. Structure and physiology of the RET receptor tyrosine kinase [J]. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2013, doi: 10.1101/cshperspect.a009134.
- [21] GOLDEN J P, HOSHI M, NASSAR M A, et al. RET signaling is required for survival and normal function of nonpeptidergic nociceptors [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(11): 3983-94.
- [22] JANKOWSKI M P, MILLER L, KOERBER H R. Increased expression of transcription factor SRY-box-Containing Gene 11 (Sox11) enhances neurite growth by regulating neurotrophic factor responsiveness [J]. *Neuroscience*, 2018, doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.04.037.
- [23] SHI J Y, LIU G S, LIU L F, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor gene transfer exerts protective effect on axons in sciatic nerve following constriction-induced peripheral nerve injury [J]. *Hum Gene Ther*, 2011, 22(6): 721-31.
- [24] NAGANO M, SAKAI A, TAKAHASHI N, et al. Decreased expression of glial cell line-derived neurotrophic factor signaling in rat models of neuropathic pain [J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 140(7): 1252-60.
- [25] AL-AMIN H, SARKIS R, ATWEH S, et al. Chronic dizocilpine or apomorphine and development of neuropathy in two animal models II: effects on brain cytokines and neurotrophins [J]. *Exp Neurol*, 2011, 228(1): 30-40.
- [26] TAYLOR A M W, RIBEIRO-DA-SILVA A. GDNF levels in the lower lip skin in a rat model of trigeminal neuropathic pain: implications for nonpeptidergic fiber reinnervation and parasympathetic sprouting [J]. *Pain*, 2011, 152(7): 1502-10.
- [27] AN-KUO C, YANG M C, HUNG-PEI T, et al. Adenoviral mediated glial cell line-derived neurotrophic factor gene transfer has a protective effect on sciatic nerve following constriction induced spinal cord injury [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e92264.
- [28] OTOSHI K I, KIKUCHI S I, KONNOS I, et al. The reactions of glial cells and endoneurial macrophages in the dorsal root ganglion and their contribution to pain-related behavior after application of nucleus pulposus onto the nerve root in rats [J]. *Spine*, 2010, 35(3): 264-71.
- [29] CAPELLE H H, WEIGEL R, SCHMELZ M, et al. Neurotrophins in the cerebrospinal fluid of patient cohorts with neuropathic pain, nociceptive pain, or normal pressure hydrocephalus [J]. *Clin J Pain*, 2009, 25(8): 729.
- [30] DETLOFF M R, SMITH E J, QUIROS M D, et al. Acute exercise prevents the development of neuropathic pain and the sprouting of non-peptidergic (GDNF- and artemin-responsive)-fibers after spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2014, 255: 38-48.
- [31] ARANTES E, MARIA R, COSTA F, et al. Demyelination/remyelination and expression of interleukin-1 β , substance P, nerve growth factor, and glial-derived neurotrophic factor during trigeminal neuropathic pain in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2016, 612: 210-8.
- [32] DONG Z Q, MA F, XIE H, et al. Changes of expression of glial cell line-derived neurotrophic factor and its receptor in dorsal root ganglions and spinal dorsal horn during electroacupuncture treatment in neuropathic pain rats [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 376(2): 143-8.
- [33] HAILONG J, HAO R, ZIPU J, et al. Pulsed radiofrequency improves neuropathic pain in chronic constriction injury rats through the upregulation of the transcription and translation levels of glial cell line-derived neurotrophic factor [J]. *Pain Physician*, 2018, 21(1): 33-40.
- [34] WANG R A, GUO W A, OSSIPOV M H A, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor normalizes neurochemical changes in injured dorsal root ganglion neurons and prevents the expression of experimental neuropathic pain [J]. *Neuroscience*, 2003, 121(3): 815-24.
- [35] KIMURA M, SAKAI A, SAKAMOTO A, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor-mediated enhancement of

- noradrenergic descending inhibition in the locus coeruleus exerts prolonged analgesia in neuropathic pain [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(10): 2469-78.
- [36] WANG C, WANG H, PANG J, et al. Glial cell-derived neurotrophic factor attenuates neuropathic pain in mouse model of chronic constriction injury: possible involvement of E-cadherin/p120ctn signaling [J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 54(2): 156-63.
- [37] WANG H J, SONG G, LIANG J, et al. Involvement of integrin β 1/FAK signaling in the analgesic effects induced by glial cell line-derived neurotrophic factor in neuropathic pain [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 135: 149-56.
- [38] SAKAI A, ASADA M, SENO N, et al. Involvement of neural cell adhesion molecule signaling in glial cell line-derived neurotrophic factor-induced analgesia in a rat model of neuropathic pain [J]. *Pain*, 2008, 137(2): 378-88.
- [39] PARATCHA G, LEDDA F, IBÁÑEZ C F. The neural cell adhesion molecule NCAM is an alternative signaling receptor for GDNF family ligands [J]. *Cell*, 2003, 113(7): 867-79.
- [40] PAN Y C, JIANG L Q, WANG C J. The impact of N-cadherin- β -catenin signaling on the analgesic effects of glial cell-derived neurotrophic factor in neuropathic pain [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 522(2): 463-70.
- [41] MCMAHON S B. Neurotrophic factors and neuropathic pain [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2001, 1(1): 66-72.
- [42] CIOBANU C, REID G, BABES A. Acute and chronic effects of neurotrophic factors BDNF and GDNF on responses mediated by thermo-sensitive TRP channels in cultured rat dorsal root ganglion neurons [J]. *Brain Res*, 2009, 1284: 54-67.
- [43] WANIGASEKARA Y, KEAST J R. Nerve growth factor, glial cell line-derived neurotrophic factor and neurturin prevent semaphorin 3A-mediated growth cone collapse in adult sensory neurons [J]. *Neuroscience*, 2006, 142(2): 369-79.
- [44] QUINTAO N L, SANTOS A R S, CAMPOS M M, et al. The role of neurotrophic factors in genesis and maintenance of mechanical hypernociception after brachial plexus avulsion in mice [J]. *Pain*, 2008, 136: 125-33.
- [45] HAO S. HSV-mediated gene transfer of the glial cell-derived neurotrophic factor provides an antiallodynic effect on neuropathic pain [J]. *Mol Ther*, 2003, 8(3): 367-75.
- [46] LEE H J, PARK I H, KIM H J, et al. Human neural stem cells overexpressing glial cell line-derived neurotrophic factor in experimental cerebral hemorrhage [J]. *Gene Ther*, 2009, 16(9): 1066-76.
- [47] MACIAS M Y, SYRING M B, PIZZI M A, et al. Pain with no gain: allodynia following neural stem cell transplantation in spinal cord injury [J]. *Exp Neurol*, 2006, 201(2): 335-48.
- [48] SHEN W S, LI C F, ZHOU Z S, et al. MicroRNA-204 silencing relieves pain of cervical spondylotic radiculopathy by targeting GDNF [J]. *Gene Ther*, 2020, 27(6): 254-65.
- [49] TAKASU K, SAKAI A, HANAWA H, et al. Overexpression of GDNF in the uninjured DRG exerts analgesic effects on neuropathic pain following segmental spinal nerve ligation in mice [J]. *J Pain*, 2011, 12(11): 1130-9.
- [50] SIDOROVA Y A. A novel small molecule GDNF receptor RET agonist, BT13, promotes neurite growth from sensory neurons and attenuates experimental neuropathy in the rat [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 365.
- [51] KONMAGATA S, CHEN S, SUZUKI A, et al. Initial phase of neuropathic pain within a few hours after nerve injury in mice [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(13): 4896-905.
- [52] LUNDBORG C, WESLTERLUND A, BJÖRKLUND U, et al. Ifenprodil restores GDNF-evoked Ca^{2+} signalling and Na^{+}/K^{+} -ATPase expression in inflammation-pretreated astrocytes [J]. *J Neurochem*, 2011, 119(4): 686-96.
- [53] MCCARTHY K F, MCCRORY C. Cerebrospinal fluid levels of glial cell-derived neurotrophic factor correlate with spinal cord stimulation frequency in patients with neuropathic pain: a preliminary report [J]. *Spinal Cord*, 2014, 52(2): S8-10.
- [54] BOUCHER T J, OKUSE K, BENNETT D L, et al. Potent analgesic effects of GDNF in neuropathic pain states [J]. *Science*, 2000, 290(5489): 124-7.
- [55] JUBRAN M, WIDENFALK J. Repair of peripheral nerve transections with fibrin sealant containing neurotrophic factors [J]. *Exp Neurol*, 2003, 181(2): 204-12.
- [56] DEVOR M. Sodium channels and mechanisms of neuropathic pain [J]. *J Pain*, 2006, 7(1-suppl-1): S3-12.
- [57] LIU G S. Peripheral gene transfer of glial cell-derived neurotrophic factor ameliorates neuropathic deficits in diabetic rats [J]. *Hum Gene Ther*, 2009, 20(7): 715-27.
- [58] PINTO L G, SOUZA G R, KUSUDA R, et al. Non-peptidergic nociceptive neurons are essential for mechanical inflammatory hypersensitivity in mice [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(8): 5715-28.
- [59] ALVAREZ P, CHEN X, BOGEN O, et al. IB4(+)nociceptors mediate persistent muscle pain induced by GDNF [J]. *J Neurophysiol*, 2012, 108(9): 2545-53.
- [60] MURASE S, KATO K, TAGUCHI T, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor sensitized the mechanical response of muscular thin-fibre afferents in rats [J]. *Eur J Pain*, 2014, 18(5): 629-38.
- [61] JOSEPH K, LEVINE D. Hyperalgesic priming is restricted to isolectin B4-positive nociceptors [J]. *Neuroscience*, 2010, 169(1): 431-5.
- [62] SACHA A, MALIN B D. Postnatal roles of glial cell line-derived neurotrophic factor family members in nociceptors plasticity [J]. *Sheng Li Xue Bao*, 2008, 60(5): 571-8.
- [63] FEI L, JUAN L I, YING H, et al. Effects of electroacupuncture on GDNF positive cell immunoreactivity in local dermal tissue of the inflammatory pain focus in the rat of adjuvant arthritis [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2006, 26(6): 436.
- [64] SPOFFORD C M, BRENNAN T J. Gene expression in skin, muscle, and dorsal root ganglion after plantar incision in the rat [J]. *Anesthesiology*, 2012, 117(1): 161-72.
- [65] SARA N, MITCHELL R, DONG-HYUN K, et al. GDNF, Neurturin, and Artemin activate and sensitize bone afferent neurons and contribute to inflammatory bone pain [J]. *J Neurosci*, 2018, 38(21): 4899-911.
- [66] GUO Q, MIZUNO K, OKUYAMA K, et al. Antineuropathic pain actions of Wu-tou decoction resulted from the increase of neurotrophic factor and decrease of CCR5 expression in primary rat glial cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 123: 109812.
- [67] PRIESTLEY J. Regulation of nociceptive neurons by nerve growth factor and glial cell line derived neurotrophic factor [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2002, 80(5): 495.
- [68] BRON R, KLESSE L J, SHAH K, et al. Activation of Ras is

- necessary and sufficient for upregulation of vanilloid receptor type 1 in sensory neurons by neurotrophic factors [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2003, 22(1): 118-32.
- [69] BUJ-BELLO A, BUCHMAN V L, HORTON A, et al. GDNF is an age-specific survival factor for sensory and autonomic neurons [J]. *Neuron*, 1995, 15(4): 821-8.
- [70] RAMER M S, BRADBURY J, MCMAHON S B. Nerve growth factor induces P2X(3) expression in sensory neurons [J]. *J Neurochem*, 2001, 77(3): 864-75.
- [71] CHRISTIANSON J A, RYALS M, MCCARSON K E, et al. Beneficial actions of neurotrophin treatment on diabetes-induced hypoalgesia in mice [J]. *J Pain*, 2003, 4(9): 493-504.
- [72] MASAHIRO W, MASAMICHI S, DULGUUN B, et al. Peripheral glial cell line-derived neurotrophic factor facilitates the functional recovery of mechanical nociception following inferior alveolar nerve transection in rats [J]. *J Oral Facial Pain Headache*, 2018, 33(3): 71-5.
- [73] MENG F F, XU Y, DAN Q Q, et al. Intrathecal injection of lentivirus-mediated glial cell line-derived neurotrophic factor RNA interference relieves bone cancer-induced pain in rats [J]. *Cancer Sci*, 2015, 106(4): 430-7.