



• 特约综述 •

## 趋化因子及其受体：神经病理性疼痛的潜在治疗靶点\*

姜保春 高永静<sup>△</sup>

(南通大学疼痛医学研究院 特种医学研究院, 南通 226019)

**摘要** 神经病理性疼痛是临床上常见且难治的一种慢性疼痛,严重影响病人的生活,也给家庭和社会带来沉重的经济负担。目前的治疗药物和干预措施对神经病理性疼痛的疗效并不理想。趋化因子是一类结构相似的小分子分泌蛋白,通过激活相应的 G 蛋白偶联受体启动胞内信号通路,参与细胞迁移、增殖、炎症等生理和病理过程。越来越多的证据表明,外周和中枢神经系统内多种趋化因子及其受体(如 CCL2/CCR2, CXCL1/CXCR2, CXCL12/CXCR4, CX3CL1/CX3CR1, CXCL13/CXCR5, CXCL10/CXCR3)在慢性疼痛下表达增加,它们通过介导神经元和非神经元细胞的相互作用、增强神经炎症从而在慢性疼痛的发生发展中起重要作用。同时,趋化因子及其受体的表达受到转录因子、miRNA、DNA 甲基化、组蛋白修饰等调控。作为分泌型的小分子蛋白,趋化因子从神经元或非神经元细胞释放后作用于同类或其他类型细胞上的同源受体,激活 MAPK 及 PI3K 等胞内信号促进下游基因的表达,进一步促进炎症反应;或通过胞内激酶调控离子通道的功能,提高神经元兴奋性或增强突触传递效能来促进外周敏化和中枢敏化。动物行为学实验证明,采用趋化因子及其受体的 siRNA、中和抗体、小分子拮抗剂能有效缓解神经病理性疼痛。因此,趋化因子及其受体可能作为治疗神经病理性疼痛的潜在靶点。

**关键词** 神经病理性疼痛;趋化因子;趋化因子受体;表观遗传调控;细胞间相互作用

慢性疼痛是由神经损伤、组织损伤、肿瘤侵袭或治疗等引起的持续性或反复发作超过 3 个月的疼痛。流行病学研究显示 11%~19% 的成年人患有慢性疼痛。神经病理性疼痛是慢性疼痛的一种,由躯体感觉系统直接损伤引起,如外伤、手术、代谢性疾病(如糖尿病)、病毒感染(如带状疱疹病毒、艾滋病病毒)、药物(如化疗药物)毒性作用等。慢性疼痛病人不但遭受疼痛的折磨,还往往伴随抑郁、焦虑、恐惧等负性情绪。然而目前常用的镇痛药物如非甾体消炎镇痛药、阿片类药物对神经病理性疼痛的疗效有限。而且,阿片类药物还可能加剧痛觉过敏和痛觉超敏,或导致成瘾和呼吸抑制等不良反应。因此,深入研究慢性疼痛的机制对于开发新型的镇痛药至关重要。

以往研究证明,慢性疼痛与外周和中枢神经系统中神经元的敏化密切相关,分别称为外周敏化(外周伤害性神经元对其支配区域的刺激反应性增加和阈值降低)和中枢敏化(脊髓和脊髓上区域的神经

元对正常或阈下传入的反应性增加)<sup>[1]</sup>。越来越多的证据表明,包括促炎细胞因子、趋化因子和生长因子在内的炎症介质对外周和中枢神经元的敏化起重要作用<sup>[1,2]</sup>。在神经损伤或组织损伤后,浸润的免疫细胞(如 T 细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞和肥大细胞)和激活的胶质细胞(如外周神经系统的卫星细胞和施万细胞;中枢神经系统的小胶质细胞、星形胶质细胞和少突胶质细胞)中的炎症介质上调并释放,从而使感觉神经元敏化;感觉神经元也能够释放炎症介质促进神经胶质细胞的激活和神经炎症,加剧慢性疼痛的产生和维持<sup>[3-5]</sup>。

趋化因子是一类特殊的细胞因子,由 50 多个成员组成。根据结构分为 CC、CXC、CX3C 和 XC 四类;趋化因子受体相应分为 CCR、CXCR、CX3CR 和 XCR 4 种,大约有 20 个成员。趋化因子的经典功能是通过形成可溶性或固定于基质中的浓度梯度来调节炎症和免疫性疾病中的白细胞浸润<sup>[6]</sup>。证据表明,趋化因子参与多种生理(如血管生成、神经元

\* 基金项目: 国家自然科学基金(31871064、31671091、81971054、81771197); 江苏省自然科学基金(BK20171255)

<sup>△</sup> 通讯作者 jiangbaochun@ntu.edu.cn; gaoyongjing@ntu.edu.cn



发育)和病理(如神经退行性疾病、神经精神类疾病)过程。近十多年的研究证明了趋化因子及其受体参与多种类型的慢性疼痛,如神经病理性疼痛、炎性疼痛、癌性疼痛等。由于此前已经有这方面的综述文章<sup>[7,8]</sup>,本文主要介绍近年发现的、在神经病理性疼痛中起重要作用的趋化因子,重点介绍趋化因子及其受体的表达调控机制、参与疼痛调节的下游机制,以及基于其在慢性疼痛中的重要作用开发镇痛药物的可能性和思路。

#### 一、参与神经病理性疼痛调控的趋化因子及其受体

脊髓是调节慢性疼痛的重要部位,以往基因芯片的结果显示,在脊髓中有 37 种趋化因子表达,在脊神经结扎(spinal nerve ligation, SNL)诱导的神经病理性疼痛模型中,SNL 10 天有 10 种趋化因子的 mRNA 表达比假手术组增加 3 倍以上,依次为 CXCL13、CCL8、CCL7、CCL5、CXCL10、CCL12、CXCL1、CCL3 和 CCL11<sup>[9]</sup>。其中大部分趋化因子在疼痛中的作用都有报道。尽管有的趋化因子(如 CX3CL1 和 CXCL12)不在上述之列,它们在神经病理性疼痛中的作用也已被公认。在以往的综述中,对于趋化因子及其受体如 CCL2/CCR2、CXCL1/CXCR2、CX3CL1/CX3CR1、CXCL12/CXCR4 和 CCL21/CXCR3 在神经病理性疼痛中的作用有较详细的介绍<sup>[10]</sup>,本文不再赘述。近期的研究揭示了趋化因子 CXCL13 和受体 CXCR5,以及 CXCL9、CXCL10、CXCL11 和受体 CXCR3 在神经病理性疼痛中的作用。

##### 1. CXCL13/CXCR5 与神经病理性疼痛

CXCL13 又称 B 淋巴细胞趋化因子(BLC)或 B 细胞吸引趋化因子-1(BCA-1),其通过受体 CXCR5 在初始 B 细胞和一部分记忆 T 细胞向淋巴样组织的迁移中起重要作用。最近的研究表明,CXCL13/CXCR5 在脊髓、三叉神经节、前扣带回皮层(anterior cingulate cortex, ACC)中参与介导神经性疼痛和相关的厌恶情绪<sup>[9,11,12]</sup>。在脊髓中,CXCL13 和 CXCR5 在对照小鼠中的表达非常低,但在 SNL 第 1 天至第 21 天,CXCL13 mRNA 和 CXCR5 mRNA 均升高,并且 SNL 小鼠的脑脊液中 CXCL13 水平也升高。CXCL13 和 CXCR5 分别表达于脊髓背角的神经元和星形胶质细胞<sup>[9]</sup>。SNL 还增加了 ACC 中 CXCL13 和 CXCR5 的表达。不同的是,ACC 中的 CXCL13 和 CXCR5 都分布于神经元。与此相类似,在背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)和三叉神经节(trigeminal ganglion, TG)中,CXCL13 和 CXCR5 也都分布于神经元<sup>[12,13]</sup>,表明 CXCL13/CXCR5 在不同的组织中存在不同的

细胞分布。动物行为实验表明,鞘内注射 CXCL13 在野生型小鼠中引起热痛觉过敏和机械性触诱发痛,而在 CXCR5 敲除小鼠中上述疼痛行为明显减轻<sup>[9]</sup>。在 SNL 模型动物脊髓内注射 CXCL13 shRNA 或 CXCR5 shRNA 产生明显的镇痛作用,并维持 3 周以上。此外,CXCR5 基因敲除不影响基础痛阈和运动功能障碍,但持续减轻 SNL 引起的疼痛过敏反应<sup>[9]</sup>,也显著缓解眶下神经损伤引起的面部痛觉过敏<sup>[12]</sup>和慢性炎症性疼痛<sup>[14]</sup>。在 ACC 中注射 CXCR5 shRNA,不影响 SNL 诱导的痛觉过敏,但减轻了神经病理性疼痛相关的厌恶情绪反应<sup>[13]</sup>。

糖尿病周围神经病变是 1 型和 2 型糖尿病最常见的神经性综合征。在 db/db 2 型糖尿病小鼠脊髓中趋化因子 CXCL13 和 CXCR5 表达增多。上调的 CXCL13 和 CXCR5 分别位于 db/db 小鼠脊髓背角中的神经元和星形胶质细胞中<sup>[15]</sup>,这与 SNL 模型后 ICR 和 C57BL/6 小鼠中的细胞分布一致<sup>[9]</sup>。行为数据显示在 db/db 小鼠中,单侧脊髓注射 CXCR5 shRNA 可缓解机械性触诱发痛<sup>[15]</sup>。

##### 2. CXCL9、CXCL10、CXCL11/CXCR3 与神经病理性疼痛

CXCL9、CXCL10 和 CXCL11 是通过与受体 CXCR3 结合而发挥功能的同一亚家族趋化因子。CXCR3 与人类的多种疾病有关,包括慢性炎症、免疫功能障碍、癌症转移和瘙痒等。在 DRG, CXCL10 和 CXCR3 都在神经元中表达,并在 CCI 后持续增强<sup>[16]</sup>。在脊髓,SNL 或坐骨神经慢性压迫性损伤(chronic constriction injury, CCI)后, CXCR3 主要在神经元中上调<sup>[2,16]</sup>。在正常动物, CXCL10 在脊髓神经元中表达, CXCL9 和 CXCL11 在脊髓星形胶质细胞中低表达。但在 SNL 后,三者都在脊髓星形胶质细胞表达增加<sup>[2,17]</sup>。然而, CXCL10 和 CXCL9、CXCL11 在痛觉过敏中的作用不同。正常小鼠鞘内注射 CXCL10 诱导 CXCR3 依赖性痛觉过敏反应<sup>[2]</sup>,而鞘内注射 CXCL9 或 CXCL11 不会产生热痛觉过敏或机械性触诱发痛行为<sup>[17]</sup>。此外,通过脊髓注射 shRNA 抑制 CXCL10 的作用减弱了 SNL 诱导的热痛觉过敏和机械性触诱发痛<sup>[2]</sup>,但抑制 CXCL9 或 CXCL11 不能抑制上述神经性疼痛表现<sup>[17]</sup>。CXCL10 和 CXCL9、CXCL11 对疼痛的不同影响可能由于 CXCL9 和 CXCL11 增强了兴奋性突触传递和抑制性突触传递,而 CXCL10 仅增强了兴奋性突触传递<sup>[17]</sup>。CXCR3 基因敲除、脊髓内注射 CXCR3 shRNA 或鞘内注射 CXCR3 拮抗剂 NBI-774330 或 AMG487 均能减轻 SNL 或 CCI 诱导的神经性疼



痛<sup>[16,17]</sup>,说明CXCL10和受体CXCR3在神经病理性疼痛中有重要作用。

## 二、慢性疼痛条件下趋化因子及其受体的表达调控机制

除了上述CXCL13/CXCR5、CXCL10/CXCR3、其他的趋化因子及其受体如CCL2/CCR2、CXCL1/CXCR2、CX3CL1/CX3CR1、CXCL12/CXCR4、CCL21/CXCR3在神经损伤、组织损伤、肿瘤细胞浸润后,在脊髓或DRG中表达上调。基因表达通常由特异的转录因子和表观遗传调控所介导,后者主要包括非编码RNA、DNA甲基化和组蛋白修饰。证据表明,趋化因子及其受体的表达受到转录因子和表观遗传机制调控。

### 1. 转录因子对趋化因子及其受体表达的调控

现已发现多个趋化因子和趋化因子受体被不同的转录因子调控,转录因子可以直接与这些基因的特定启动子结合来启动或加强转录。证据显示,信号转导和转录激活因子3(STAT3)、核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)、CCAAT/增强子结合蛋白 $\alpha$ (C/EBP $\alpha$ )和激活蛋白-1(AP-1)参与调节趋化因子/受体的表达。

以往的研究证明,STAT3通过调节基因转录诱导细胞增殖和炎症。STAT3作为反应性星形胶质细胞的转录调节因子能够调节CX3CL1、CXCL5、CXCL10和CCL20的表达<sup>[18]</sup>。此外,包括奥沙利铂、紫杉醇和长春新碱在内的化疗药物增加了磷酸化STAT3(pSTAT3)的表达,导致pSTAT3与CXCL12基因启动子区结合增加,并增强了CXCL12的转录<sup>[19,20]</sup>。在慢性术后疼痛模型中,pSTAT3被招募到CX3CL1基因启动子区,导致CX3CL1在脊髓神经元中上调,从而引发机械性触诱发痛<sup>[21]</sup>。Imai等报道pSTAT3和Ets家族转录因子PU1参与脊髓星形胶质细胞中CCL7的表达,上述变化依赖于IL-6的表达和释放增加<sup>[22]</sup>。

NF- $\kappa$ B激活是各种促炎因子转录调控的中心途径。NF- $\kappa$ B促进受损初级感觉神经元产生CCL2,从而促进慢性疼痛的发展<sup>[23]</sup>。NF- $\kappa$ B还与CX3CL1启动子区结合,并在紫杉醇治疗后促进其在脊髓神经元中的表达<sup>[24]</sup>。

C/EBP $\alpha$ 是典型的碱性区域-亮氨酸拉链(bZIP)转录因子,在细胞增殖、存活和静息中起关键作用。在SNL引起的神经病理性疼痛中,脊髓神经元内C/EBP $\alpha$ 表达增加。此外,C/EBP $\alpha$ 与CXCR3启动子的结合增加,导致CXCR3表达上调。通过siRNA抑制C/EBP $\alpha$ 不仅减少了CXCR3的表达,也减轻了SNL诱导的神经病理性疼痛<sup>[2]</sup>。

除C/EBP $\alpha$ 外,AP-1(由c-Fos、c-Jun及相关蛋白组成)也属于转录因子bZIP家族。c-Jun是AP-1转录因子复合物的主要成分,也是c-Jun N末端激酶(JNK)的下游靶点。JNK是介导星形胶质细胞激活和慢性疼痛的重要激酶。SNL增加脊髓星形胶质细胞磷酸化c-Jun(p-c-Jun)的表达,JNK抑制剂抑制SNL诱导的脊髓星形胶质细胞c-Jun磷酸化<sup>[25]</sup>。此外,CCL2、CXCL1和CXCL10在体外或体内星形胶质细胞中的表达均受JNK的调控<sup>[26-28]</sup>。在CCL2启动子区域有3个AP-1结合位点,磷酸酯多糖处理可诱导JNK活化,增强AP-1(c-Jun)与CCL2启动子区DNA结合和CCL2的转录活性<sup>[29]</sup>。这些发现表明转录因子在调节趋化因子/受体表达以及慢性疼痛中起重要作用。

### 2. miRNA对趋化因子及其受体表达的调控

最近的研究表明,包括miRNA、长链非编码RNA和环状RNA在内的非编码RNA的表达谱在慢性疼痛相关组织发生了变化,这些变化与慢性疼痛病理有关。目前,一些miRNA,如miR-186-5p、miR-21-5p、miR-381和miR-23a,已被证明参与慢性疼痛中趋化因子和趋化因子受体表达的调节。然而,长链非编码RNA和环状RNA是否调节趋化因子和受体的表达仍有待研究。

体内外实验,都证明CXCL13的表达受miR-186-5p的调控。双荧光素酶分析表明,miR-186-5p mimics呈剂量依赖性地降低了CXCL13 3'-UTR荧光素酶报告重组子的荧光素酶活性。在体内,miR-186-5p在正常小鼠脊髓神经元有较高的表达,SNL后在同侧脊髓背角持续表达下降。此外,miR-186-5p与CXCL13共定位于脊髓神经元。脊髓过表达miR-186-5p可降低CXCL13的表达,减轻SNL诱导的神经病理性疼痛。相反,抑制miR-186-5p增加CXCL13的表达并诱导小鼠的疼痛过敏,表明miR-186-5p对CXCL13的表达具有紧张性抑制作用<sup>[9]</sup>。另一种miRNA,miR-21-5p被证明可调节CCL1的表达。神经周围微量注射miR-21-5p mimics可减轻神经病理性疼痛的发展,并减少CCL1的表达<sup>[30]</sup>。

已知单个miRNA可以靶向多个基因,单个基因也可以被不同的miRNA调控。如在神经病理性疼痛条件下,CXCR4受miR-381和miR-23a共同调节。周围神经损伤(CCI或partial sciatic nerve injury,PSNL)后,脊髓中miR-381和miR-23a均降低。miR-381或miR-23的上调可降低CXCR4的表达,并减轻神经损伤诱导的神经病理性疼痛行为<sup>[31,32]</sup>。此外,趋化因子的表达还受到miRNAs的间接调控。如SNL



诱导脊髓星形胶质细胞 miR-146a-5p 表达上调。鞘内注射 miR-146a-5p 通过抑制 TRAF6 及其下游的 JNK/CCL2 信号缓解神经病理性疼痛<sup>[29]</sup>。

### 3. DNA 甲基化和组蛋白修饰对趋化因子及其受体表达的调控

DNA 甲基化是控制基因表达的关键表观遗传机制。DNA 去甲基化能够使染色质从浓缩状态转变成活跃转录的松散状态，从而促进基因转录。DNA 甲基化可通过三种 DNA 甲基转移酶 (DNMT1、DNMT3a 和 DNMT3b) 的作用来实现。DNMT1 是起维持作用的甲基转移酶，而 DNMT3a 和 DNMT3b 负责从头甲基化。研究表明，SNL 后脊髓中的 DNMT1 和 DNMT3a 表达不变，但 DNMT3b 的表达下调，使 CXCR3 基因启动子去甲基化，促进转录因子 C/EBP $\alpha$  与 CXCR3 启动子的结合，进一步增加 CXCR3 在脊髓神经元中的表达<sup>[2]</sup>。去甲基化还增加了 NF- $\kappa$ B 在 CXCR4 基因启动子区的募集，并诱导外周注射完全弗氏佐剂后 DRG 中 CXCR4 的表达上调<sup>[33]</sup>。

组蛋白是染色质的主要蛋白质成分，其修饰与染色质的浓缩水平有关，从而开启或关闭基因表达。组蛋白乙酰化 (Ac) 是一种转录激活修饰。证据表明，PSNL 后损伤部位坐骨神经的中性粒细胞和巨噬细胞中 CCL3 和 CXCR2 启动子区的组蛋白 H3 [赖氨酸 (Lys9)-乙酰化组蛋白 H3 (K9H3Ac)] 乙酰化程度增加。组蛋白乙酰转移酶抑制剂 Anacardic acid 可抑制 CCL2 和 CXCR2 的上调，从而预防 PSLN 诱导的神经病理性疼痛<sup>[34,35]</sup>。此外，紫杉醇处理后，脊髓神经元中 CX3CL1 启动子区域组蛋白 H4 的乙酰化水平增加，从而上调 CX3CL1 的表达<sup>[35]</sup>。

除了组蛋白 H3 赖氨酸 4 三甲基化 (H3K4me3) 外，大多数组蛋白甲基化修饰会导致 DNA 结合更紧密，并抑制转录，而未发生甲基化修饰的组蛋白会导致基因表达增加。染色质免疫沉淀分析显示，PSNL 后损伤坐骨神经中 CCL2 和 CCL3 基因启动子区域的组蛋白 H3 赖氨酸 9 乙酰化 (H3K9Ac) 和 H3K4me3 的水平增加<sup>[36]</sup>。此外，PSNL 后，CCL7 启动子上的组蛋白 H3 赖氨酸 27 三甲基化 (H3K27me3) 降低，导致其在脊髓中表达上调。CCL7 启动子上的 H3K27me3 水平受 IL-6 信号调节<sup>[22]</sup>。此外，在慢性疼痛条件下，组蛋白修饰可以间接调节趋化因子的表达。在关节炎性疼痛的小鼠模型中，GM-CSF 诱导干扰素调节因子 4 (IRF4) 启动子区 H3K27me3 修饰发生去甲基化并导致表达上调，IRF4 表达上调后进一步促进 CCL17 的表达上调<sup>[37]</sup>。

### 三、慢性疼痛中趋化因子及其受体激活的下游调控机制

如前所述，趋化因子及其受体被证明在慢性疼痛的启动和维持中起作用，尤其是趋化因子 CCL2、CXCL1、CXCL13 和 CX3CL1 及其同源受体。这些趋化因子是如何调节慢性疼痛的呢？由于趋化因子及其受体通常分布在不同的细胞类型中，而且趋化因子是一种小分子分泌蛋白，它们在细胞间的相互作用中起重要作用。此外，趋化因子受体的激活启动了 G 蛋白相关的细胞内信号转导，如各种激酶的磷酸化。磷酸化的激酶转位到细胞核，启动新蛋白的合成；或使细胞膜上的受体磷酸化，进一步调节神经元的兴奋性和突触传递效率。

#### 1. 慢性疼痛条件下趋化因子和趋化因子受体介导不同细胞之间的相互作用

神经元可塑性是慢性疼痛发生和维持的关键机制，神经元的功能受周围非神经元细胞的调节，反之亦然。神经元和非神经元细胞之间的交流促进了外周敏化和中枢敏化。炎症介质，如趋化因子、细胞因子和生长因子，在这一过程起重要作用。在慢性疼痛条件下，趋化因子介导神经末梢、DRG 和脊髓的细胞间相互作用。如在 DRG 中，神经元表达的 CX3CL1 作用于卫星细胞和巨噬细胞诱导其激活。激活的施万细胞释放 CCL3，通过 CCR3 和 CCR5 作用于伤害性神经元<sup>[38,39]</sup>。在脊髓中，不同的趋化因子通过其同源受体参与神经元-星形胶质细胞-小胶质细胞的相互作用。如初级传入末梢释放 CX3CL1，通过 CX3CR1 诱导小胶质细胞激活<sup>[40]</sup>。脊髓神经元表达 CXCL13，通过 CXCR5 诱导星形胶质细胞激活<sup>[9,41]</sup>。激活的星形胶质细胞表达和分泌 CCL2、CXCL1 和 CXCL10，分别通过 CCR2、CXCR2 和 CXCR3 作用于神经元，增加神经元的兴奋性突触传递<sup>[2,27,28]</sup>。激活的星形胶质细胞还释放 CCL7 和 CXCL12，分别通过 CCR2 和 CXCR4 诱导小胶质细胞激活<sup>[22,42]</sup>。因此，神经元和非神经元细胞之间复杂的相互作用促进了局部神经炎症，促进了疼痛的慢性化。上述证据还表明，趋化因子及其受体的细胞分布具有组织细胞特异性。

#### 2. 趋化因子和趋化因子受体激活的细胞内信号通路

趋化因子受体属 A 型视紫红质 G 蛋白偶联受体 (G protein coupled receptor, GPCR)，为 7 次跨膜受体。趋化因子与其同源受体的结合触发受体的结构重排，促进其与异三聚体 G 蛋白的解偶联，导致第二信使生成和细胞内信号通路的激活，如磷脂



酶 C (PLC) 通路、磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) 通路和 MAPKs (包括 p38、JNK 和 ERK) 通路。此外, 趋化因子/受体的下游信号通路在不同的条件下或在不同的细胞类型中有所不同。

已经证实 CCL2 和 CXCL1 激活 DRG 神经元中的 PLC、PKC (蛋白激酶 C) 和细胞内储存的  $\text{Ca}^{2+}$  释放<sup>[43]</sup>。CCL2、CXCL1 或 CXCL10 还诱导脊髓神经元 ERK 激活, 从而促进神经病理性疼痛、炎症性疼痛和癌性疼痛<sup>[2,14,28,44]</sup>。此外, CXCR3 的激活增强了脊髓神经元中 AKT 的磷酸化, 促进了骨癌痛的维持<sup>[45]</sup>。CXCL13/CXCR5 激活脊髓星形胶质细胞 ERK、STAT3 和 AKT 信号通路, 参与神经损伤诱发的神经病理性疼痛和糖尿病性神经病理性疼痛<sup>[9,15]</sup>。在炎症性疼痛和神经病理性疼痛中的 DRG 和 TG 中, p38 被 CXCL13/CXCR5 或 CX3CL1/CX3CR1 激活<sup>[25,46]</sup>。在骨癌痛大鼠模型中, CXCL12/CXCR4 信号不仅诱导 ERK、p38 和 JNK 的磷酸化, 还激活了脊髓中的 PLC/CaMKII/CREB 通路<sup>[47,48]</sup>。已知这些细胞内激酶的激活会促进新蛋白的产生。如 CXCL13/CXCR5 通过激活 ERK 诱导 TG 中 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的表达<sup>[12]</sup>。CCL1/CCR8 上调脊髓中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达<sup>[49]</sup>。

### 3. 趋化因子和趋化因子受体调节神经元兴奋性和突触可塑性

越来越多的证据表明, 趋化因子能增强神经元的兴奋性, 这可能是由激活的细胞内激酶所介导。在 DRG 中 CXCL12/CXCR4 以 ERK 依赖的方式增加钠通道 Nav1.8 的表达, 并触发 Nav1.8 阳性 DRG 神经元的细胞内钙内流, 导致 DRG 神经元的超兴奋性<sup>[50,51]</sup>。CXCL13/CXCR5 通过激活 p38 增加 Nav 1.8 电流密度; 鞘内注射 p38 抑制剂 SB203580 或 Nav 1.8 钠通道阻滞剂 A-803467 抑制 CXCL13 诱导的痛敏反应<sup>[13]</sup>。研究还表明, CCL3/CCR1 增强了瞬时受体电位阳离子通道 1 (TRPV1) 对辣椒素的反应, 该过程依赖于钙内流和 PKC 激活<sup>[52]</sup>。CCL2 通过 CCR2 介导的 G- $\beta\gamma$  信号通路增加小直径和中等直径感觉神经元的 Nav 1.8 电流密度<sup>[53]</sup>。CCL2 也能激活损伤的 DRG 神经元中的 TRPV1 和 TRPA1, 但这种作用是否通过细胞内激酶介导尚不清楚。

CXCL1 刺激引起急性分离的大鼠小直径感觉神经元  $\text{Na}^+$  电流显著上调, 并增加 Nav 1.1 和 Nav 1.7 的表达。CXCL1 孵育过夜后还增加电压激活的  $\text{K}^+$  电流密度, 这一作用被 NF- $\kappa\text{B}$  抑制剂共同孵育完全阻断<sup>[54]</sup>。此外, CXCL1 和 CCL2 以百日咳毒素

(PTX) 敏感和 PLC/PKC 依赖的方式刺激 DRG 神经元 CGRP 释放和细胞内钙升高<sup>[47]</sup>。这些结果提示, 趋化因子通过激活细胞内激酶, 如 ERK、p38、PLC、PKA、PKC 和 NF- $\kappa\text{B}$  来调节神经元的兴奋性, 进而增强离子通道的功能。

在脊髓, CCL2/CCR2、CXCL1/CXCR2、CXCL10/CXCR3 和 CXCL13/CXCR5 参与了突触前神经末梢递质释放和谷氨酸受体活性的调节, 导致兴奋性突触传递增强<sup>[2,27,44,55]</sup>。膜片钳记录显示, CCL2 灌注脊髓薄片可增强自发兴奋性突触后电流 (spontaneous excitatory postsynaptic currents, sEPSCs) 的频率和幅度, 并增强 NMDA 和 AMPA 诱导的电流。CCR2 主要在兴奋性囊泡谷氨酸转运体亚型 2 阳性 (VGLUT2<sup>+</sup>) 神经元表达。CCL2 增加 CCR2/VGLUT2 神经元的 NMDA 诱导电流, 并增强刺激背根诱发的突触 NMDA 电流<sup>[56]</sup>, 提示趋化因子对脊髓兴奋性神经元有调节作用。此外, CXCL10 迅速提高了 II 层神经元 sEPSCs 的频率和幅度, 并增强了 NMDA 和 AMPA 诱导的电流<sup>[2]</sup>。然而, 趋化因子 CXCL9 和 CXCL11 虽然也是 CXCR3 的配体, 增加了 sEPSCs 的频率, 但没有增加 sEPSCs 的幅度, 同时也增加了 sIPSCs 的频率<sup>[17]</sup>, 这表明不同的趋化因子在介导脊髓突触传递中的作用不同。

趋化因子参与调节 NMDA 受体和 AMPA 受体 (NMDAR 和 AMPAR) 的功能。CCL1 增加脊髓背角 II 层神经元 sEPSCs 的频率和幅度, 并诱导 NMDA 受体亚单位 NR1 和 NR2B 的磷酸化, 因而调节 NMDAR 活性并促进伤害性信息的传递<sup>[49]</sup>。这些发现提示趋化因子/受体对激活多种细胞内激酶, 并进一步磷酸化离子通道和受体, 如钠通道、谷氨酸受体, 以增强神经元的兴奋性或突触传递。

### 四、靶向趋化因子和趋化因子受体治疗慢性疼痛的潜在方式

鉴于神经系统的神经元和非神经元中的趋化因子在慢性疼痛的起始和维持中的关键作用, 靶向趋化因子治疗慢性疼痛具有潜在可能性。而且, 趋化因子及其受体在物种间的序列有着高度的保守性, 因此从动物模型上得到的成果很有可能应用于人类。根据临床前数据, 趋化因子和受体治疗药物的发展有三个可行方向: ①小干扰 RNA; ②单克隆抗体; ③小分子抑制剂。

#### 1. 治疗性小干扰 RNA (siRNA)

RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 是通过靶向降解 RNA 来实现瞬时沉默基因表达的一项在基础研究中广泛使用的技术。近年来, 越来越多的临



床前研究和药物开发策略关注致病基因特异性 siRNA。首个治疗性 siRNA-Onpattro (patisiran), 治疗遗传性甲状腺素介导的淀粉样变性 (hATTR) 引起的神经损伤, 已于 2018 年获得美国食品和药物管理局 (FDA) 批准。

沉默趋化因子和趋化因子受体的表达是操纵这些在慢性疼痛期间异常上调基因的一个有希望的选择。许多动物模型研究表明, siRNAs 能够在体内抑制趋化因子和趋化因子受体的表达, 如 CXCL13、CXCL10、CXCR5 和 CXCR3, 从而减轻神经性疼痛<sup>[2,9]</sup>。由于慢性疼痛中存在多种趋化因子/受体, 设计针对几种重要趋化因子/受体的混合 siRNAs 可提高疗效。此外, RNAi 的临床应用仍然具有挑战性, 主要原因是半衰期短、潜在的非靶向效应和缺乏有效的传递系统。siRNA 的 5'-胆固醇基修饰和 2'-O-甲基修饰可以促进 siRNA 进入组织并防止 siRNA 衰变, 这可能有助于进一步的转化医学研究。

## 2. 阻断/中和抗体

趋化因子是分泌蛋白, 趋化因子受体属于 GPCRs, 其配体通过其胞外 N-末端结构域与一个或多个胞外环结合。因此, 位于细胞外空间的抗体可能通过中和趋化因子或封闭趋化因子受体来抑制趋化因子系统的功能。相比小分子化合物, 抗体有几个优点。第一, 抗体药物清除率低、半衰期长、给药频率低; 第二, 在一定剂量下, 抗体血浆浓度的个体差异较小; 第三, 抗体衍生疗法可以选择性地抑制靶抗原的功能, 限制靶外效应, 也会引起协同免疫反应。

有研究表明, 通过皮下或鞘内注射将单克隆抗体输送到外周或中枢神经系统是一种可行、有效且耐受性良好的方法。单克隆抗体靶向 CGRP 或 CGRP 受体已用于通过皮下注射预防和治疗偏头痛。近年来, 以趋化因子受体为靶点的抗体已被应用于临床或处于试验阶段。临床上, mogamulizumab (AMG761/KW-0761), 一种抗 CCR4 的去乙酰化人源化 IgG1-kappa 单克隆抗体已被 FDA 批准用于治疗皮肤 T 细胞淋巴瘤 (CTCL)<sup>[57]</sup>。此外, 已证明 mogamulizumab 可减少 CTCL 中的瘙痒<sup>[58]</sup>。Leronlimab (PRO-140) 是一种人源化 CCR5 抗体, 通过阻断 CD4 阳性细胞上的 CCR5 来防止 HIV 感染<sup>[59]</sup>, 目前正在进行的 2b/3 期临床试验 (NCT 02859961) 中进行评估。Ulocuplumab (BMS-936564/MDX-1338) 是一种靶向 CXCR4 的人单克隆抗体, 已被证明具有抗肿瘤作用<sup>[60]</sup>。然而, 这些药物是否能治疗慢性疼痛仍不得而知。

## 3. 小分子化合物

与 siRNAs 和抗体相比, 小分子药物具有口服生物利用性高、渗透性强, 还具有病人舒适性高、感染风险小和侵袭性小等优点。GPCR 是制药行业首选的小分子药物靶点。许多趋化因子受体小分子拮抗剂已被开发用于不同疾病, 包括感染、癌症和类风湿关节炎。抗 CCR5 小分子化合物 maraviroc 是 FDA 批准的第一种趋化因子受体靶向药物, 目前临床上用于治疗 HIV-1 感染。maraviroc 也能有效降低癌症中的肿瘤生长<sup>[61]</sup>。CXCR4 小分子拮抗剂 Plerixafor (AMD3100) 联合粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) 治疗造血干细胞动员。其他几种趋化因子受体拮抗剂包括 CCR5 拮抗剂 (如 leronlimab)、CCR2/CCR5 双拮抗剂 (如 cenicriviroc)、CXCR4 拮抗剂 (如 balixafortide、mavorixafor、motixafortide) 目前处于治疗 HIV、肝纤维化、癌症或干细胞动员三期临床试验中<sup>[62]</sup>, 提示趋化因子受体拮抗剂有望成为治疗人类各种疾病的靶点。

临床研究还表明, maraviroc 可减轻神经性疼痛<sup>[63]</sup>, 降低星形胶质细胞活化, 促进中风后运动恢复以及病人的创伤性脑损伤<sup>[64]</sup>。动物研究中, maraviroc 对小鼠神经病理性疼痛具有一致的镇痛作用<sup>[65]</sup>。越来越多的临床前证据支持 AMD3100 在减轻神经病理性疼痛、骨癌疼痛、内脏疼痛和阿片诱导的痛觉过敏方面的作用。其他一些趋化因子受体拮抗剂, 如 J113863 (靶向 CCR1)、RAP-103 (靶向 CCR2、CCR5 和 CCR8)、RS504393 (靶向 CCR2)、SB225002 (靶向 CXCR2) 和 NBI-774330 (靶向 CXCR3) 在啮齿动物模型中也显示了在不同慢性疼痛条件下的治疗效果。

然而, 小分子药物也存在一些缺点。其通常在肝脏中代谢, 常与肝脏细胞发生相互作用并造成肝脏毒性, 这使得特定的拮抗剂很难设计, 并可能在一定程度上解释了为什么目前开发针对趋化因子受体的拮抗剂经常失败。物种选择性和中枢神经系统通透性也是小分子趋化因子受体拮抗剂研究中的重要问题。

## 五、结论与未来研究方向

趋化因子不仅能够调节免疫系统中的炎症, 还可以介导外周和中枢神经系统中的神经炎症, 促进各种慢性疼痛的发展和维持。尽管趋化因子和慢性疼痛的研究取得了很大的进展, 但目前的研究仍存在一些局限性, 需要进一步的研究。首先, 以往的研究中主要通过免疫荧光染色检测趋化因子和趋化因子受体的分布, 但由于大多数趋化因子和趋化



因子受体在正常条件下的基础表达非常低,并且抗体也有可能存在非特异性的问题,因此需要通过原位杂交或单细胞转录组测序技术进一步确认细胞分布。RNAscope可以检测mRNA的表达以及趋化因子及其受体的位置,其比传统的原位杂交更为灵敏和可靠。此外,通过单细胞转录组测序技术与转基因小鼠结合可以揭示趋化因子和趋化因子受体在特定组织某种类型的细胞中表达。第二,以往的大多数研究集中在DRG和脊髓中的趋化因子及其受体的作用。慢性疼痛通常与抑郁、焦虑相关,并且脊髓上中枢的神经炎症已被证明与疼痛和抑郁症有关。如伏隔核中的CCL2/CCR2在介导神经病理性疼痛和相关的抑郁症中起重要作用<sup>[66]</sup>,ACC中的CXCL13/CXCR5促进神经病理性疼痛相关的厌恶情绪<sup>[13]</sup>。因此,脊髓上中枢的趋化因子及其受体在慢性疼痛伴随的不良情绪中的作用研究需要加强。第三,关于趋化因子和疼痛的临床研究仍然相当有限。以往的研究检测了血清或脑脊液中某些趋化因子的水平,如在慢性疼痛病人的脑脊液中CCL2、CXCL1、CXCL12和CX3CL1的水平升高。确定慢性疼痛病人脑脊液中趋化因子的表达谱对于揭示趋化因子水平与慢性疼痛的严重程度之间的关系非常重要。

综上所述,趋化因子在慢性疼痛的发病机理中起着重要作用,抑制趋化因子和趋化因子受体的产生或阻断趋化因子受体的功能可有效缓解慢性疼痛。未来的研究需要加强基础和临床的结合,以促进针对趋化因子及其受体的安全有效的镇痛药的开发。

### 参 考 文 献

- [1] Ji RR, Chamessian A, Zhang YQ. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation[J]. Science, 2016, 354(6312):572-577.
- [2] Jiang BC, He LN, Wu XB, *et al.* Promoted interaction of C/EBP $\alpha$  with demethylated cxcr3 gene promoter contributes to neuropathic pain in mice[J]. J Neurosci, 2017, 37(3):685-700.
- [3] Inoue K, Tsuda M. Microglia in neuropathic pain: Cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential[J]. Nat Rev Neurosci, 2018, 19(3):138-152.
- [4] Ji RR, Nackley A, Huh Y, *et al.* Neuroinflammation and central sensitization in chronic and widespread pain[J]. Anesthesiology, 2018, 129(2):343-366.
- [5] Ji RR, Donnelly CR, Nedergaard M. Astrocytes in chronic pain and itch[J]. Nat Rev Neurosci, 2019, 20(11):667-685.
- [6] Lau S, Feitzinger A, Venkiteswaran G, *et al.* A negative-feedback loop maintains optimal chemokine concentrations for directional cell migration[J]. Nature Cell Biol, 2020, 22(3):266-273.
- [7] Zhang ZJ, Jiang BC, Gao YJ. Chemokines in neuronal-glia cell interaction and pathogenesis of neuropathic pain[J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(18):3275-3291.
- [8] Montague K, Malcangio M. The therapeutic potential of targeting chemokine signalling in the treatment of chronic pain[J]. J Neurochem, 2017, 141(4):520-531.
- [9] Jiang BC, Cao DL, Zhang X, *et al.* CXCL13 drives spinal astrocyte activation and neuropathic pain via CXCR5[J]. J Clin Invest, 2016, 126(2):745-761.
- [10] 高永静, 张志军, 曹德利. 趋化因子介导的神经炎症反应和神经病理性疼痛[J]. 中国细胞生物学学报, 2014, 3:297-307.
- [11] Wu R, Zhang PA, Liu X, *et al.* Decreased miR-325-5p contributes to visceral hypersensitivity through post-transcriptional upregulation of CCL2 in rat dorsal root ganglia[J]. Neurosci Bull, 2019, 35(5):791-801.
- [12] Zhang Q, Cao DL, Zhang ZJ, *et al.* Chemokine CXCL13 mediates orofacial neuropathic pain via CXCR5/ERK pathway in the trigeminal ganglion of mice[J]. J Neuroinflammation, 2016, 13(1):183.
- [13] Wu XB, He LN, Jiang BC, *et al.* Increased CXCL13 and CXCR5 in anterior cingulate cortex contributes to neuropathic pain-related conditioned place aversion[J]. Neurosci Bull, 2019, 35(4):613-623.
- [14] Wu XB, Jing PB, Zhang ZJ, *et al.* Chemokine receptor CCR2 contributes to neuropathic pain and the associated depression via increasing NR2B-mediated currents in both D1 and D2 dopamine receptor-containing medium spiny neurons in the nucleus accumbens shell[J]. Neuropsychopharmacology, 2018, 43(11):2320.
- [15] Liu S, Liu X, Xiong H, *et al.* CXCL13/CXCR5 signaling contributes to diabetes-induced tactile allodynia via activating pERK, pSTAT3, pAKT pathways and pro-inflammatory cytokines production in the spinal cord of male mice[J]. Brain Behav Immun, 2019, 80:711-724.
- [16] Chen Y, Yin D, Fan B, *et al.* Chemokine CXCL10/CXCR3 signaling contributes to neuropathic pain in spinal cord and dorsal root ganglia after chronic constriction injury in rats[J]. Neurosci Lett, 2019, 694:20-28.
- [17] Wu XB, He LN, Jiang BC, *et al.* Spinal CXCL9 and CXCL11 are not involved in neuropathic pain despite an upregulation in the spinal cord following spinal nerve injury[J]. Mol Pain, 2018, 14:1744806918777401.
- [18] Liu X, Tian Y, Lu N, *et al.* Stat3 inhibition attenuates mechanical allodynia through transcriptional regulation of chemokine expression in spinal astrocytes[J]. Plos One, 2013, 8(10):e75804.

- [19] Li YY, Li H, Liu ZL, *et al.* Activation of STAT3-mediated CXCL12 up-regulation in the dorsal root ganglion contributes to oxaliplatin-induced chronic pain[J]. *Mol Pain*, 2017, 13:1744806917747425.
- [20] Xu T, Zhang XL, Ou-Yang HD, *et al.* Epigenetic upregulation of CXCL12 expression mediates anti-tubulin chemotherapeutics-induced neuropathic pain[J]. *Pain*, 2017, 158(4):637-648.
- [21] Shen Y, Li D, Li B, *et al.* Up-Regulation of CX3CL1 via STAT3 contributes to SMIR-induced chronic postsurgical pain[J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(3):556-565.
- [22] Imai S, Ikegami D, Yamashita A, *et al.* Epigenetic transcriptional activation of monocyte chemoattractant protein 3 contributes to long-lasting neuropathic pain[J]. *Brain*, 2013, 136(3):828-843.
- [23] Kanngiesser M, Haussler A, Myrcek T, *et al.* Inhibitor kappa B kinase beta dependent cytokine upregulation in nociceptive neurons contributes to nociceptive hypersensitivity after sciatic nerve injury[J]. *J Pain*, 2012, 13(5):485-497.
- [24] Li D, Huang ZZ, Ling YZ, *et al.* Up-regulation of CX3CL1 via nuclear factor- $\kappa$ B-dependent histone acetylation is involved in paclitaxel-induced peripheral neuropathy[J]. *Anesthesiology*, 2015, 122(5):1142-1151.
- [25] Zhuang ZY, Kawasaki Y, Tan PH, *et al.* Role of the CX3CR1/p38 MAPK pathway in spinal microglia for the development of neuropathic pain following nerve injury-induced cleavage of fractalkine[J]. *Brain Behav Immun*, 2007, 21(5):642-651.
- [26] Gao YJ, Zhang L, Ji RR. Spinal injection of TNF- $\alpha$ -activated astrocytes produces persistent pain symp-tom mechanical allodynia by releasing monocyte chemoattractant protein-1[J]. *Glia*, 2010, 58(15):1871-1880.
- [27] Gao YJ, Zhang L, Samad OA, *et al.* JNK-induced MCP-1 production in spinal cord astrocytes contributes to central sensitization and neuropathic pain[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(13):4096-4108.
- [28] Zhang ZJ, Cao DL, Zhang X, *et al.* Chemokine contribution to neuropathic pain: Respective induction of CXCL1 and CXCR2 in spinal cord astrocytes and neurons[J]. *Pain*, 2013, 154(10):2185-2197.
- [29] Lu Y, Cao DL, Jiang BC, *et al.* MicroRNA-146a-5p attenuates neuropathic pain via suppressing TRAF6 signaling in the spinal cord[J]. *Brain Behav Immun*, 2015, 49:119-129.
- [30] Zhong L, Xiao W, Wang F, *et al.* miR-21-5p inhibits neuropathic pain development via directly targeting C-C motif ligand 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-3[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(10):16614-16623.
- [31] Pan Z, Shan Q, Gu P, *et al.* miRNA-23a/CXCR4 regulates neuropathic pain via directly targeting TXNIP/NLRP3 inflammasome axis[J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1):29.
- [32] Zhan LY, Lei SQ, Zhang BH, *et al.* Overexpression of miR-381 relieves neuropathic pain development via targeting HMGB1 and CXCR4[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107:818-823.
- [33] Li F, Xue ZY, Yuan Y, *et al.* Upregulation of CXCR4 through promoter demethylation contributes to inflammatory hyperalgesia in rats[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24(10):947-956.
- [34] Kiguchi N, Kobayashi Y, Maeda T, *et al.* Epigenetic augmentation of the macrophage inflammatory protein 2/C-X-C chemokine receptor type 2 axis through histone H3 acetylation in injured peripheral nerves elicits neuropathic pain[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 340(3):577-587.
- [35] Li D, Huang ZZ, Ling YZ, *et al.* Up-regulation of CX3CL1 via nuclear factor- $\kappa$ B-dependent histone acetylation is involved in paclitaxel-induced peripheral neuropathy[J]. *Anesthesiology*, 2015, 122(5):1142-1151.
- [36] Kiguchi N, Kobayashi Y, Saika F, *et al.* Epigenetic upregulation of CCL2 and CCL3 via histone modifications in infiltrating macrophages after peripheral nerve injury[J]. *Cytokine*, 2013, 64(3):666-672.
- [37] Achuthan A, Cook AD, Lee MC, *et al.* Granulocyte macrophage colony-stimulating factor induces CCL17 production via IRF4 to mediate inflammation[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(9):3453-3466.
- [38] Holmes FE, Arnott N, Vanderplank P, *et al.* Intra-neural administration of fractalkine attenuates neuropathic pain-related behaviour[J]. *J Neurochem*, 2008, 106(2):640-649.
- [39] Verge GM, Milligan ED, Maier SF, *et al.* Fractalkine (CX3CL1) and fractalkine receptor (CX3CR1) distribution in spinal cord and dorsal root ganglia under basal and neuropathic pain conditions[J]. *Eur J Neurosci*, 2004, 20(5):1150-1160.
- [40] Taves S, Berta T, Liu DL, *et al.* Spinal inhibition of p38 MAP kinase reduces inflammatory and neuropathic pain in male but not female mice: Sex-dependent microglial signaling in the spinal cord[J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 55:70-81.
- [41] Groom JR, Luster AD. CXCR3 ligands: Redundant, collaborative and antagonistic functions[J]. *Immunol Cell Biol*, 2011, 89(2):207-215.
- [42] 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, 12:1744806916636385.
- [43] Qin XM, Wan Y, Wang X. CCL2 and CXCL1 trigger calcitonin gene-related peptide release by exciting primary nociceptive neurons[J]. *J Neurosci Res*, 2005, 82(1):51-62.
- [44] Cao DL, Zhang ZJ, Xie RG, *et al.* Chemokine CXCL1 enhances inflammatory pain and increases NMDA receptor activity and COX-2 expression in spinal cord

- neurons via activation of CXCR2[J]. *Exp Neurol*, 2014, 261:328-336.
- [45] Guan XH, Fu QC, Shi D, *et al.* Activation of spinal chemokine receptor CXCR3 mediates bone cancer pain through an Akt-ERK crosstalk pathway in rats[J]. *Exp Neurol*, 2015, 263:39-49.
- [46] Wu XB, Cao DL, Zhang X, *et al.* CXCL13/CXCR5 enhances sodium channel Nav 1.8 current density via p38 MAP kinase in primary sensory neurons following inflammatory pain[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:34836.
- [47] Hu XM, Liu YN, Zhang HL, *et al.* Retracted: CXCL12/CXCR4 chemokine signaling in spinal glia induces pain hypersensitivity through MAPKs-mediated neuroinflammation in bone cancer rats[J]. *J Neurochem*, 2015, 132(4):452-463.
- [48] Hu XM, Zhang H, Xu H, *et al.* Chemokine receptor CXCR4 regulates CaMKII/CREB pathway in spinal neurons that underlies cancer-induced bone pain[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):4005.
- [49] Akimoto N, Honda K, Uta D, *et al.* CCL-1 in the spinal cord contributes to neuropathic pain induced by nerve injury[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(6):e679.
- [50] Jayaraj ND, Bhattacharyya BJ, Belmadani AA, *et al.* Reducing CXCR4-mediated nociceptor hyperexcitability reverses painful diabetic neuropathy[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(6):2205-2225.
- [51] Yang F, Sun W, Yang Y, *et al.* SDF1-CXCR4 signaling contributes to persistent pain and hypersensitivity via regulating excitability of primary nociceptive neurons: Involvement of ERK-dependent Nav1.8 up-regulation[J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12:219.
- [52] Zhang N, Inan S, Cowan A, *et al.* A proinflammatory chemokine, CCL3, sensitizes the heat-and capsaicin-gated ion channel TRPV1[J]. *PNAS*, 2005, 102(12): 4536-4541.
- [53] Belkouch M, Dansereau MA, Reaux-Le Goazigo A, *et al.* The chemokine CCL2 increases Nav 1.8 sodium channel activity in primary sensory neurons through a gbetagamma-dependent mechanism[J]. *J Neurosci*, 2011, 31(50):18381-18390.
- [54] Yang RH, Strong JA, Zhang JM. NF-kappaB mediated enhancement of potassium currents by the chemokine CXCL1/growth related oncogene in small diameter rat sensory neurons[J]. *Mol Pain*, 2009, 5:26.
- [55] Li J, Shi H, Liu H, *et al.* Nerve injury-induced neuronal PAP-I maintains neuropathic pain by activating spinal microglia[J]. *J Neurosci*, 2020, 40(2):297-310.
- [56] Xie RG, Gao YJ, Park CK, *et al.* Spinal CCL2 promotes central sensitization, long-term potentiation, and inflammatory pain via CCR2: Further insights into molecular, synaptic, and cellular mechanisms[J]. *Neurosci Bull*, 2018, 34(1):13-21.
- [57] Kasamon YL, Chen H, de Claro RA, *et al.* FDA approval summary: Mogamulizumab-kpkc for mycosis fungoides and sezary syndrome[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(24):7275-7280.
- [58] Cedeno-Laurent F, Singer EM, Wysocka M, *et al.* Improved pruritus correlates with lower levels of IL-31 in CTCL patients under different therapeutic modalities[J]. *Clin Immunol*, 2015, 158(1):1-7.
- [59] Picker LJ, Deeks SG. HIV: Antibodies advance the search for a cure[J]. *Nature*, 2013, 503(7475):207-208.
- [60] Zhou W, Guo S, Liu M, *et al.* Targeting CXCL12/CXCR4 axis in tumor immunotherapy[J]. *Curr Med Chem*, 2019, 26(17):3026-3041.
- [61] Nie Y, Huang H, Guo M, *et al.* Breast phyllodes tumors recruit and repolarize tumor-associated macrophages via secreting CCL5 to promote malignant progression, which can be inhibited by CCR5 inhibition therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(13):3873-3886.
- [62] Miao M, De Clercq E, Li G. Clinical significance of chemokine receptor antagonists[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2020, 16(1):11-30.
- [63] Piotrowska A, Kwiatkowski K, Rojewska E, *et al.* Maraviroc reduces neuropathic pain through polarization of microglia and astroglia-evidence from in vivo and in vitro studies[J]. *Neuropharmacology*, 2016, 108:207-219.
- [64] Joy MT, Ben Assayag E, Shabashov-Stone D, *et al.* CCR5 is a therapeutic target for recovery after stroke and traumatic brain injury[J]. *Cell*, 2019, 176(5):1143-1157 e1113.
- [65] Matsushita K, Tozaki-Saitoh H, Kojima C, *et al.* Chemokine (C-C motif) receptor 5 is an important pathological regulator in the development and maintenance of neuropathic pain[J]. *Anesthesiology*, 2014, 120(6):1491-1503.
- [66] Wu XB, Jing PB, Zhang ZJ, *et al.* Chemokine receptor CCR2 contributes to neuropathic pain and the associated depression via increasing NR2B-mediated currents in both D1 and D2 dopamine receptor-containing medium spiny neurons in the nucleus accumbens shell[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2018, 43(11):2320-2330.