



• 国外医学动态 •

## 初级感觉神经元 STING 通过 IFN-I 信号通路 控制伤害性感受

**摘要** 天然免疫调节因子 STING 是机体响应自身和病原微生物 DNA 的关键感受器，能够通过诱导 IFN-I 和其他细胞因子来促进机体免疫细胞对病原体和肿瘤细胞进行清除，因此 STING 激动剂已成为癌症免疫治疗的辅剂。疼痛由外周伤害性神经元传导，能够提醒机体潜在伤害性刺激（包括病原微生物和癌细胞）的存在，促使机体提前采取防御措施。杜克大学纪如荣教授团队研究发现 STING 是伤害性感受的关键调控因子，主要通过调节伤害性感受器中的 IFN-I 信号来发挥功能。缺失 STING 或者 IFN-I 信号的小鼠有痛敏反应，并且伤害性感受器的兴奋性增强。相反，在小鼠和非人类灵长类动物中鞘内激活 STING 能产生强烈的镇痛作用，并快速抑制小鼠、猴子和人类伤害性感受器的兴奋性，进一步的研究发现 STING 的镇痛作用受 IFN-Is 控制。该研究揭示了 STING-IFN-I 信号轴是生理条件下伤害性感受形成的关键因素，并有望成为治疗慢性疼痛的新靶点。

伤害性感受在进化上高度保守，传统观点认为外周伤害性感受器仅是危险刺激的简单传感器，但现在观点则认为它同时也是炎症和免疫的关键调节因素。伤害性感受器能直接被损伤/病原相关分子模式 (DAMPs/PAMPs) 激活，从而引起疼痛、瘙痒或镇痛。背根神经节感觉神经元深度测序的结果表明：大量本来在免疫细胞中表达的宿主防御相关 DAMP 或 PAMP 受体在伤害性感受器上也有表达。STING 是 IFN 基因的刺激因子，也被称为 TMEM173，是一种定位于内质网的 DNA 传感器。杜克大学纪如荣教授团队研究发现，STING 在伤害性感受器中高度表达，由于多种调节因子均通过 STING 发挥功能，本文作者推测 STING 可能参与调控伤害性感受。

### 一、STING 的激动剂抑制伤害性感受

为了验证 STING 是否调节伤害性感受，本文作者向正常小鼠鞘内注射合成的 (DMXAA 和 ADU-S100) 或天然的 STING 激动剂 (2', 3'-cGAMP 和 3', 3'-cGAMP)。结果显示激活 STING 引起剂量依赖的镇痛作用和机械感受阈值的增加，药效长达 48 小时，而全身给药使小鼠的后爪回缩阈值增加，药效持续 24 小时。在紫杉醇引起的化疗痛模型中，发现鞘内或全身给药均能逆转模型小鼠机械或冷异痛敏，另外神经病理性疼痛也被缓解。骨癌痛是一种严重的、尚不能被有效控制的疼痛，鞘内注射 STING 激动剂能快速抑制癌症引起的机械和冷异痛敏，且不改变局部的肿瘤负荷。接下来进行了条件性位置偏爱 (CPP) 实验来检测 STING

激动剂在持续性疼痛中的作用，结果显示 STING 激动剂不像阿片类药物一样激活大脑成瘾及奖赏系统，但能引起显著的位置偏好，同时阿片类受体拮抗剂纳洛酮对 DMXAA 和 ADU-S100 的镇痛作用没有影响。此外，在正常和坐骨神经分支损伤 (SNI) 模型小鼠中反复鞘内注射 DMXAA 可以减轻 SNI 引起的星形胶质细胞增生，却不会引起耐受。

### 二、STING 调节稳态伤害性感受

本文作者分析了 STING 全敲小鼠的疼痛敏感性，发现全敲小鼠对机械和冷刺激的敏感性增加。利用 0.04 g 的纤维丝刺激进行条件性位置厌恶 (CPA) 实验，结果显示仅在敲除鼠中会引起位置厌恶，而野生型却没有。膜片钳记录显示 STING 敲除的 DRG 神经元动作电位增加且基强度降低，说明 STING 缺失导致 DRG 神经元兴奋性增加。此外，在伤害性感受器中特异性敲除 STING 的小鼠 (*Sting*<sup>fl/fl</sup>; Na<sub>v</sub>1.8-Cre 小鼠) 具有同样表型，表明是感觉神经元中 STING 缺失引起的。此外，在野生型正常小鼠中注射 STING 抑制剂，也会引起短暂的剂量依赖性的痛敏反应。STING 全敲小鼠中，STING 激动剂不会引起镇痛作用，而在条件性敲除鼠中注射后期能缓解机械痛敏。这表明 STING 阳性神经元是镇痛作用起始阶段必须的，而长时程的镇痛作用需要其他细胞类型的参与。用树胶毒素 (RTX) 消融 TRPV1<sup>+</sup> 伤害感受器，STING 激动剂注射后期具有明显镇痛效果。另外，在免疫缺陷的 *Prkdc*<sup>scid</sup> 小鼠

中注射 STING 激动剂, 结果显示也具有一定的镇痛效果。因此感觉神经元固有的 STING 信号能够在内稳态中稳定地调节伤害性感受, 但是在其他细胞类型中, STING 信号可能参与持续镇痛。

### 三、STING 通过 IFN-I 信号调节伤害性感受

激活 STING 会导致细胞因子及趋化因子的产生, 包括 IFN-I 家族的成员 IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$ 。利用 STING 激动剂治疗会导致血清或 DRG 组织中 IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$  的增加, 而在 *STING<sup>gt/gt</sup>* 小鼠中则无该现象。另外, 培养的野生型小鼠的 DRG 神经元, ADU-S100 也能诱导培养基中 IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$  增加。接下来, 本文作者利用 *Ifnb1<sup>YFP/YFP</sup>* 报告基因小鼠, 验证了 DRG 内响应 STING 激动剂而产生 IFN-I 的细胞类型。与 STING 缺失小鼠类似, *Ifnar1<sup>-/-</sup>* 小鼠及在感觉神经元中特异性缺少 *Ifnar1* 的小鼠, 都表现出对机械和冷刺激的痛敏反应, 而 0.04 g 纤维丝重复刺激, 也能在 *Ifnar1<sup>-/-</sup>* 小鼠中诱导条件位置厌恶, 膜片钳记录也显示其动作电位发放频率增加且基强度降低。在正常小鼠中注射 IFN- $\alpha$  或 IFN- $\beta$  中和抗体, 也会产生 *Ifnar1<sup>-/-</sup>* 和 *Ifnar1<sup>fl/fl</sup>; Na<sub>v</sub>1.8-Cre* 小鼠一致的痛敏现象。正常小鼠鞘内注射 IFNAR1 信号受体 TYK2 的药理学抑制剂, 产生剂量依赖的痛敏反应。同样在 DRG 中检测了 IFN-I 的水平及功能, IFN- $\beta$  抗体孵育的 DRG 神经元其动作电位增强, 从而进一步证明在 DRG 中 IFN-I 信号能够调节生理性伤害性感受。

值得注意的是, 在 *Ifnar1<sup>fl/fl</sup>; Na<sub>v</sub>1.8-Cre* 小鼠中, STING 激动剂的镇痛作用全部消失。ADU-S100 仅能诱导野生型小鼠的 DRG 神经元中 IFN- $\alpha$  及 IFN- $\beta$  表达量增加, 但在敲除鼠中该现象消失。为了验证鞘内注射 IFN-I 的镇痛作用, 在正常小鼠中注射重组的 IFN- $\alpha$  和 IFN- $\beta$  以及 IFN-I, 结果显示这三类干扰素均能够产生短暂的、剂量依赖的镇痛作用。一项最近研究表明, 腹腔注射高浓度的 IFN- $\alpha$  及 IFN- $\beta$  能够引起机械痛觉过敏。研究发现腹腔注射 300 U 的 IFN- $\alpha$  在 *Ifnar1<sup>+/+</sup>* 以及 *Ifnar1<sup>-/-</sup>* 小鼠中导致长达 3 天的急性机械痛敏, 而鞘内注射 IFN- $\alpha$  则能够阻断这种痛敏反应, 表明激活 DRG 或者脊髓中 IFN-I 信号通路对于 IFNAR 介导的镇痛作用是必须的。

接下来, 检测了 STING 或 IFN-I 信号通路在脊髓背角不同类型的细胞中的作用。首先, 检测接受 C 型纤维传入的外二层投射神经元 mEPSCs 的频率和幅度, 发现与同窝对照相比, *Ifnar1<sup>-/-</sup>* 小鼠的 mEPSC 频率和幅度均增加, 而 *Ifnar1<sup>fl/fl</sup>; Na<sub>v</sub>1.8-Cre* 小鼠则无显著性差异。STING 在脊髓背角主要定位于 IBA1<sup>+</sup> 小胶质细胞中, STING 激动剂能够增加野

生型小鼠脊髓背角中 IFN- $\alpha$  的含量, 而在 *STING<sup>gt/gt</sup>* 小鼠中则无该现象。用 ADU-S100 孵育脊髓切片后, 脊髓背角 IIo 层神经元 sEPSCs 的频率和幅度都降低, 表明 STING 激动剂能够减弱脊髓内的突触传递。另外, rIFN-I 的急性灌注也会降低野生型小鼠脊髓切片中 mEPSCs 的频率和幅度, 而在 *Ifnar1<sup>-/-</sup>* 小鼠中不引起该现象。因此, 脊髓中 STING 介导的 IFN-I 信号传导也具有减弱伤害性神经传递的作用。

由于缺乏 STING 的小鼠在 DRG 及脊髓背角组织中 IFN- $\alpha$  及 IFN- $\beta$  的基础水平较低, 本文作者检测了 IFN-I 配体是否使 *STING<sup>gt/gt</sup>* 小鼠的痛敏有所恢复, 结果显示鞘内注射 IFN- $\alpha$  及 IFN- $\beta$  使其机械痛敏反应短暂恢复。由于 STING 能被双链 DNA (dsDNA) 激活, 其主要通过细胞质内的 DNA 传感器 cGAS 产生 2', 3'-cGAMP 来响应 dsDNA 的刺激, 因此推测细胞内部的 dsDNA 也能通过激活 cGAS-STING 途径产生镇痛作用。此外, DNA 传感器也是 RNA 传感器 (如 RIG-I) 都有诱导 IFN-I 的特征, 因此同样推测细胞内的 RNA 可能通过非 STING 依赖, 但依赖于 RIG-I 及 IFN-I 的机制而发挥镇痛作用。进一步, 本文作者在 *Ifnar1<sup>+/+</sup>*, *Ifnar1<sup>fl/fl</sup>; Na<sub>v</sub>1.8-Cre*, *STING<sup>gt/gt</sup>*, *Cgas<sup>-/-</sup>* 或 *RIG-I<sup>-/-</sup>* (RIG-I 由 *Ddx58* 基因编辑) 正常小鼠中, 通过鞘内注射激活了细胞内的 dsDNA 和 dsRNA, 发现只有 dsDNA 依赖的镇痛作用需要 cGAS-STING 途径。

为了解 IFN 镇痛机理, 本文作者对 DRG 神经元进行了膜片钳记录, rIFN-I 急性灌注抑制了动作电位的发放频率, 并且使其基强度增加, 但在 *Ifnar1<sup>-/-</sup>* 小鼠中该现象消失。考虑到钠通道对于产生动作电位以及生理和病理性疼痛至关重要, 本研究认为 IFN-I 引起的镇痛效果是由于其调节钠电流引起的。值得注意的是, IFN-I 灌注导致的钠电流显著降低及基强度增强现象在 *Ifnar1<sup>-/-</sup>* 小鼠中缺失。为了验证 rIFN-I 是否可以调节生理和病理性伤害性感受的关键钠通道 *Na<sub>v</sub>1.7* 的活性, 本文作者记录了在 rIFN-I 急性灌注后 *Na<sub>v</sub>1.7* 的 HEK-293 稳转株细胞的钠电流, 这导致 *Na<sub>v</sub>1.7* 电流减少约 20%。同样也记录了离体的 DRG 神经元中的钙电流, 观察到 rIFN-I 灌注后钙电流显著降低, 而在 *Ifnar1<sup>-/-</sup>* 小鼠中, 其基础钙电流无变化, 因此 IFN-I 信号途径可能通过多方面抑制钠通道和钙通道的活性来对伤害性感受器的兴奋性产生直接抑制。

### 四、STING 激动剂能够对猴子产生镇痛作用

为了验证研究结果的转化应用潜力, 本文作者在非人类灵长类中检测激活 STING 是否能够抑制伤害性感受, 在恒河猴中使用薄荷醇凝胶诱导冷异



常性疼痛实验。结果显示 ADU-S100 可以产生持久且剂量依赖性的镇痛作用，并且脑脊液中 IFN- $\beta$  的含量也大幅增加。引起该类效应的剂量远低于在小鼠模型中的用量，这表明 ADU-S100 对于灵长类动物以及人类 STING 的选择性更高。接下来，记录了离体的猴 DRG 神经元的动作电位，结果显示 rIFN-I 急性灌注强烈抑制了其动作电位的发放频率并且使其基强度增加。最后，测试了 rIFN-I 处理是否可以改变人的 DRG 神经元的兴奋性，尽管未记录到动作电位，但 rIFN-I 灌注能够引起小直径的人类 DRG 神经元超级化。这些数据表明 STING 途径的激活在猴子中诱导了长期的镇痛作用，并且 IFN-I 配体能够通过调节钠和钙通道的功能直接抑制小鼠、猴以及人类伤害性感受器的活性。

### 五、讨论

本研究将 STING-IFN-I 信号轴确定为主要的调节稳态疼痛敏感性及几种病理条件下慢性疼痛的伤害性感受调节因素。从进化的角度看，因为导致 IFN-I 通路激活的刺激往往是痛苦的（如辐射、癌症或感染），所以使用能激活免疫反应 STING-IFN-I 信号通路镇痛是对机体的很大挑战。感觉神经元中 IFN-I 途径的激活可能是在机体受到挑战时抑制疼痛的固有机制。实

验数据表明 STING 介导的 IFN-I 信号途径通过旁分泌和自分泌途径作用于外周的感觉神经元，通过非经典的 IFN-I-IFNAR1 信号导致钠通道和钙通道的快速抑制。与吗啡相比，猴子鞘内注射 STING 激动剂产生镇痛作用的剂量低，镇痛时间长，并且重复注射并不会引发耐受性，因此低浓度的 STING 激动剂在药物治疗方面也有更大的优越性。尽管这些结果具有广阔前景，但现在要考虑的是哪种慢性疼痛严重到机体不惜引起免疫调节产生的不良反应也要调动这种镇痛机制。大多数晚期癌症病人会经历严重的疼痛，但这些病人中只有不到一半的病人表示疼痛能够得到有效控制。在异常疼痛的骨癌痛模型中，STING 激动剂能够产生显著的镇痛作用，表明在骨癌痛条件这种镇痛机制的作用值得尽早探索。临床研究表明 STING 激动剂已成为癌症免疫治疗的辅剂，能够促进免疫细胞介导的抗肿瘤免疫。本研究则提出这些依赖于 STING 的功能，可以通过作用于免疫细胞以及外周的伤害性感受器来协同完成。

(Donnelly CR, Jiang C, Andriessen AS, *et al.* STING controls nociception via type I interferon signalling in sensory neurons. *Nature*, 2021. doi: 10.1038/s41586-020-03151-1. 复旦大学脑科学研究院, 周斌 译, 韩清见 校)

## · 消 息 ·

### 2021 年《中国疼痛医学杂志》征稿与征订

《中国疼痛医学杂志》是由中华人民共和国教育部主管，北京大学和中华医学会疼痛学会共同主办的专业性学术期刊。报道有关疼痛基础研究和临床诊疗的综合性学术刊物。现为中文核心期刊（北京大学核心期刊）、中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库 (CSCD) 来源期刊。《中国疼痛医学杂志》诚邀您投稿、订阅。

**投稿:** 来稿可在杂志官网投稿 <http://casp.ijournals.cn>, 请署真实姓名、工作单位、职称, 附单位介绍信(信中须注明未“一稿两投”、署名无争议、对文章内容的真实性负责、无泄密内容)。投稿时请注明通讯作者及基金资助信息, 并提供详细的通讯地址、邮编、联系电话、E-mail 等。衷心希望《中国疼痛医学杂志》成为了您了解疼痛医学发展和发表科研成果的平台之一。

**订购:** 邮发代号: 82-832, 本刊为月刊, 大 16 开本, 80 页, 每册定价 32.00 元, 全年 12 期, 共 384.00 元。欢迎在当地邮局订阅或直接汇款至编辑部订阅。

编辑部地址: 北京海淀区学院路 38 号, 北京大学医学部《中国疼痛医学杂志》编辑部

投稿网址: <http://casp.ijournals.cn>

联系电话: 010-82801712; 010-82801705

电子邮箱: [pain1712@126.com](mailto:pain1712@126.com)

联系人: 赵 磊

QQ 群: 222950859 微信公众平台: pain1712

