

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2024.10.002

• 学术动态 •

Piezo2 电压阻滞调节机械痛敏感性

摘要 PIEZO2 是由背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 中大多数感觉神经元表达的一种三聚体机械门控离子通道。在遗传学层面上, 机械敏感的 PIEZO2 通道是小鼠和人类产生正常触觉所必需的。PIEZO2 通道受膜电压调节, 只有在去极化的膜电压下, 所有通道才能被机械力打开; 而在正常负的静息膜电位下, 大多数 PIEZO2 通道受到电压的阻滞。然而, PIEZO2 通道这种不寻常的生物物理特性的生理功能尚不清楚。该研究通过基因敲入构建 *Piezo2* 基因特定突变的小鼠模型, 揭示体内改变 PIEZO2 电压敏感性所产生的生理影响。本文作者检测了从 DRG 分离的感觉神经元中的内源性机械敏感电流, 使用电生理技术表征了机械感受器和伤害感受器的功能, 并且对小鼠进行行为和形态学评估。研究结果发现, PIEZO2 通道中进化保守的精氨酸 (R2756) 位点的突变减轻了电压阻滞, 降低了通道激活的机械阈值。R2756 位点突变导致伤害感受器的机械敏感电流显著增强, 而其他机械感受器仅受轻微影响。行为学上, *Piezo2* 点突变敲入小鼠展现出对伤害性机械刺激的超敏反应。该研究指出在人类慢性疼痛综合征中出现的伤害感受器的持续激活和敏化可能与 PIEZO2 离子通道电压阻滞的减轻有关。

一、主要研究背景

Piezo2 基因对正常触觉感知至关重要, 普遍认为 PIEZO2 通道构成了介导触觉感受器的机械敏感电流的离子通道。然而, *Piezo2* 的缺失不会导致所有机械感受器机械敏感性的完全丧失, 其他机械激活通道 (如 ELKIN1) 也可能在触觉中发挥非冗余作用。在 *Piezo2* 缺失的情况下, 几乎所有伤害感受器的机械敏感性都得到了很大程度的保留。既往研究表明, 机械转导通道的基因缺失不一定能提供明确的证据证明该蛋白形成了天然机械敏感电流的通道。直接评估通道参与机械转导的一个有效方法是改变内源性通道的生物物理特性使得内源性的机械敏感电流获得这些新的生物物理特性。PIEZO 通道不仅受机械刺激的调控, 还受到膜电位的控制, 在静息膜电位下 90% 以上的 PIEZO 通道无法被机械刺激打开, 但在去极化膜电位下可被机械刺激打开。

PIEZO1 通道高度保守的精氨酸残基 (mR2482) 发生突变时, 可以有效消除 PIEZO1 的电压阻滞。PIEZO2 中相同的保守残基突变与人类发育障碍, 例如远端关节挛缩、Gordon 综合征和 Marden-Walker 综合征相关。这些单一突变可以消除 PIEZO2 通道的电压阻滞, 显著增加生理膜电位下的通道可用性。该研究发现 *Piezo2* 的突变对触觉感受器只有轻微影响, 但显著增强伤害感受器机械敏感电流, 说明

PIEZO2 的电压阻滞使伤害感受器具有较高机械阈值, 从而使它们只检测有害的机械刺激。此外, 该研究提出了一种模型, 即不同种类的有害或致敏刺激可以通过减轻 PIEZO2 通道的电压阻滞来驱动伤害感受器的致敏。

二、主要研究结果

1. PIEZO2 中与人类疾病相关的突变是功能获得性突变

为研究 R2756 残基对 mPIEZO2 电压敏感性的调控, 本文作者构建了 *mPiezo2* 单一错义突变体 (R2756H、R2756C、R2756K) 并评估其机械敏感性。结果显示, 突变体快适应电流 (RA) 比例减少, 中等适应电流 (IA) 和慢适应电流 (SA) 比例增加。拉伸-电流关系显示, 与野生型或 R2756H/R2756C 突变通道相比, R2756K 突变通道对纤毛拉伸更为敏感。进一步研究显示, R2756K 与 R2756H 突变显著增强了拉伸敏感性, 但 R2756C 突变没有改变拉伸敏感性。此外, R2756K 和 R2756H 突变减缓了膜拉伸失活动力学, 降低了挤压诱导 RA 电流的激活阈值并减缓其失活动力学。尾电流实验揭示 R2756H 与 R2756K 在生理膜电位下电压阻滞显著缓解。此外, 突变体的失活动力学显著减慢, 并伴有通道关闭延迟。综上所述, R2756H 与 R2756K 突变主要减缓了失活、增强机械敏感性及解除电压阻滞, 其中 R2756K 突变对机械敏感性的影响最大。



2. 机械感受器亚群在 *Piezo2* 敲入小鼠中轻度致敏
本文作者构建了全身突变的敲入小鼠系 (*Piezo2*^{R2756H} 和 *Piezo2*^{R2756K} 小鼠)。在 8 周龄和 12 周龄时, *Piezo2*^{R2756H/R2756H} 和 *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 小鼠的平均体重明显低于野生型, 且 *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 小鼠半数发生脊柱侧凸。未观察到与远端关节挛缩有关的关节异常。研究显示突变不影响 DRG 中 *Piezo2* 的表达水平, 也不影响机械感受器的兴奋性。在 *Piezo2* 完全缺失的情况下, 大约一半的机械感受器对机械刺激完全不敏感。机械敏感电流研究显示, *Piezo2*^{R2756H/R2756H} 和 *Piezo2*^{+R2756K} 突变的机械感受器中 RA 电流比例降低, 而 *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 和 *Piezo2*^{+R2756H} 突变的机械感受器中 RA 电流比例无明显变化。基因型之间的偏转-电流振幅关系相似, *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 小鼠的机械感受器敏感性更高。*Piezo2*^{R2756H} 和 *Piezo2*^{R2756K} 点突变均降低了机械敏感电流阈值。离体单细胞电生理记录显示, 突变体支配触觉小体的快速适应机械感受器 (RAMs) 机械阈值降低, 而与梅克尔细胞相关的缓慢适应机械感受器 (SAMs) 几乎不受错义突变的影响。因此, PIEZO2 特性变化可改变特定机械感受器亚群特性。

3. *Piezo2*^{R2756H} 和 *Piezo2*^{R2756K} 小鼠的伤害感受器表现出机械超敏反应

Piezo2^{R2756H/R2756H} 及 *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 突变小鼠的神经膜弯曲诱发电流增大, 电流激活阈值降低, 机械刺激电流频率上升。单等位基因突变增强膜弯曲诱发电流敏感性的程度较轻。压痕刺激下, 突变型神经元 RA 电流失活动力学增强, *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 小鼠伤害感受器压痕感应电流阈值更低。此外, 突变型伤害感受器在无电流刺激下呈现自发持续放电, 机械刺激诱发动作电位的阈值降低。综上所述, *Piezo2*^{R2756H/R2756H} 及 *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 小鼠伤害感受器呈现显著机械兴奋性增强。

4. *Piezo2* 点突变小鼠的 C 纤维显示自发放电

与野生型相比, *Piezo2* 点突变小鼠的 C 纤维和 A δ 纤维伤害感受器在定量力刺激下放电频率明显增加, 机械激活阈值更低, 刺激开始 (斜坡期) 和静止期的放电都有实质性的致敏。突变体 C 纤维伤害感受器在刺激移除后持续放电加剧。*Piezo2*^{R2756H/R2756H}、*Piezo2*^{+R2756K} 和 *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 小鼠 C 纤维刺激间放电活性比野生型增加 3 倍。只有杂合的 *Piezo2*^{+R2756H} 小鼠刺激间放电活性与野生型对照相当。电流钳模式下记录离体伤害感受器, 发现突变小鼠伤害感受器存在自发放电, 且机械刺激增强自发放电频率, 提示突变通道可以持续开放增加膜兴奋性。

5. *Piezo2* 突变敲入小鼠在体内表现出增强的机械性疼痛

除 *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 小鼠中出现脊柱侧凸或偶尔的生长迟缓现象外, *Piezo2* 敲入小鼠总体上保持健康状态, 未观察到明显的运动功能缺陷。*Piezo2*^{R2756H/R2756H} 与 *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 小鼠对毛刷刺激无超敏反应, 但对点状机械刺激表现出高敏感性。突变小鼠对有害热刺激的行为反应潜伏期与野生型无差异。运动协调性评估及步态分析表明, 除 *Piezo2*^{R2756H/R2756H} 小鼠直线行走能力轻微受损外, 突变小鼠运动基本正常, *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 脊柱侧凸个体运动也未受影响。未发现突变小鼠自发性疼痛增强迹象。综上所述, *Piezo2* 电压阻滞的丧失特异性增强在体的机械疼痛敏感性, 而不影响运动协调或触觉反应。

该研究通过构建 *Piezo2*^{R2756H/R2756H} 和 *Piezo2*^{R2756K/R2756K} 基因敲入小鼠模型, 成功获得了功能获得性突变纯合子小鼠, 发现 PIEZO2 通道中进化保守的精氨酸 R2756 位点的突变显著改变了通道的生物物理学特性, 减轻了 PIEZO2 通道的电压阻滞, 进而增强了伤害感受器对机械刺激的敏感性。研究结果显示, *Piezo2* 敲入小鼠伤害感受器中的机械敏感电流显著增强, 但对触觉感知起作用的大多数机械感受器的机械敏感电流仅受到轻微影响。进一步的单细胞电生理记录揭示, *Piezo2* 敲入小鼠中支配触觉小体的快速适应机械感受器机械阈值降低。与离体感觉神经元中机械激活电流的测量结果一致, *Piezo2* 敲入小鼠中基本上所有皮肤痛觉感受器, 包括快速传导的 A δ -机械痛觉感受器和无髓鞘的 C 纤维痛觉感受器对机械刺激均更加敏感, 并且获得了与超敏触觉感受器相似的受体特性。此外, *Piezo2* 敲入小鼠皮肤伤害感受器在机械刺激下表现出持续活动增强, 且超敏感的 PIEZO2 通道能够独立在离体的伤害神经元中驱动持续活动。*Piezo2* 敲入小鼠对有害机械刺激展现出超敏行为反应。基于上述发现, 该研究提出, 在人类慢性疼痛综合征中常见的伤害感受器持续活动和致敏现象, 可能部分归因于 PIEZO2 离子通道电压阻滞的减轻。多种有害刺激诱导的膜去极化可能通过这一机制敏化伤害感受器。因此, 该研究不仅加深了我们对 PIEZO2 通道在疼痛感知中作用的理解, 还为开发针对 PIEZO2 电压敏感性的新型镇痛药物提供了科学依据和潜在靶点。

(Sánchez-Carranza O, Chakrabarti S, Kühnemund J, et al. Piezo2 voltage-block regulates mechanical pain sensitivity. Brain, 2024, 147(10):3487-3500. 南方科技大学医学院, 张宇欣译, 王子龙校)