

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2021.10.004

• 特约综述 •

诺贝尔生理学或医学奖的明星分子 TRPV1 受体
参与慢性疼痛 *刘风雨^{1,2,3} 万有^{1,2,3} △(¹ 北京大学神经科学研究所; ² 北京大学基础医学院神经生物学系; ³ 神经科学教育部重点实验室/国家卫生健康委员会神经科学重点实验室, 北京 100191)

摘 要 2021 年诺贝尔生理学或医学奖揭晓。科学家大卫·朱利叶斯 (David Julius) 和阿登·帕塔普蒂安 (Ardem Patapoutian) 因为发现了“温度和触觉感受器”荣获该奖。作为疼痛领域的研究者, 我们早在 1999 年就开始关注 David Julius 实验室在 1997 年克隆成功的辣椒素受体 (现在统一命名为 TRPV1 受体)。TRPV1 克隆成功以来, 本实验室致力于研究 TRPV1 受体在慢性疼痛中的作用, 主要学术贡献为: (1) 率先提出了 TRPV1 受体在慢性炎症痛中的作用; (2) 率先提出了 TRPV1 受体参与内源性甲醛导致慢性癌性疼痛及其调控的分子机制。期待科学家们以此为靶点, 开发出高效低毒的药物, 用以治疗慢性疼痛等疾病。

关键词 辣椒素受体; 慢性炎症痛; 骨癌痛; 甲醛; 诺贝尔生理学或医学奖

TRPV1, a star molecule of Nobel Prize in Physiology or Medicine, participates in chronic pain *

LIU Fengyu^{1,2,3}, WAN You^{1,2,3} △(¹ Neuroscience Research Institute, Peking University; ² Department of Neurobiology, School of Basic Medical Sciences, Peking University; ³ Key Laboratory for Neuroscience, Ministry of Education/National Health Commission, Beijing 100191, China)

Abstract The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2021 was awarded jointly to David Julius and Ardem Patapoutian for their discoveries of "receptors for temperature and touch". Transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) is a non-selective cation channel gated by noxious heat, proton and capsaicin, which has been cloned successfully by David Julius in 1997. Since 1999, a series of investigations in our group focused on the role of TRPV1 in chronic pain. Our academic contributions mainly include two aspects: (1) TRPV1 participates in chronic inflammatory pain; (2) TRPV1 plays important roles in cancer pain, especially it is activated by tumor tissue-derived endogenous formaldehyde and up-regulated by insulin-like growth factor-I (IGF-I). We hope new drugs based on TRPV1 will be developed to treat diseases like chronic pain.

Keywords transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1); chronic inflammatory pain; bone cancer pain; formaldehyde; Nobel Prize in Physiology or Medicine

北京时间 2021 年 10 月 4 日, 2021 年诺贝尔生理学或医学奖共同授予了大卫·朱利叶斯 (David Julius) 和阿登·帕塔普蒂安 (Ardem Patapoutian), 以表彰他们分别发现了“温度和触觉感受器”。大卫·朱利叶斯利用辣椒素 (一种来自辣椒的刺激性化合物, 可引起灼热感), 发现了皮肤神经末梢中

对热有反应的“感受器”——瞬时感受器电位受体家族-香草酸受体亚型 1 (transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1, 也称为辣椒素受体)。阿登·帕塔普蒂安则使用对压力敏感的细胞, 发现了一类对机械刺激做出反应的新型“感受器”——PIEZO 通道。人类甚至包括动物能感知热、冷和碰触的能力,

* 基金项目: 国家自然科学基金委项目 (32171002, 81974166, 30570566); 国家重点研发计划 (2017YFA0701302); 北京大学医学科技创新平台发展基金-医学交叉种子基金资助项目 (BMU2021MX002)

△ 通信作者 万有 ywan@bjmu.edu.cn

对生存至关重要,是人们与周围世界互动的基础。神经感觉纤维和周围环境之间存在复杂的相互作用,很显然这两名获奖者找到的温度觉和触觉感受器是机体与环境相互作用时关键环节。

作为疼痛领域的研究者,我们在1999年就关注到大卫·朱利叶斯等1997年克隆的TRPV1受体^[1]。TRPV1受体是一个配体门控的非选择性阳离子通道,当其与配体结合后导致阳离子(尤其是钠离子和钙离子)从胞外进入胞内,引发了一系列生物学效应。TRPV1受体可被多种伤害性刺激激活,例如芳香醛化合物(以辣椒素为代表)、热刺激(>43℃)和氢离子(proton)。早期研究表明,TRPV1参与了急性炎症痛的形成^[1-5]。急性疼痛属于生理性疼痛,对生物体起到警示和保护作用。与急性疼痛不同,慢性疼痛属于病理性疼痛。即使原发病灶治愈了,慢性疼痛依然存在,对个体是一种折磨。

TRPV1参与慢性疼痛吗?针对这个有趣的科学问题,TRPV1克隆成功以来,本实验室进行了系列研究,本文将进行简要回顾和评述。

一、TRPV1受体参与慢性炎症痛

TRPV1是外周重要的温度感受器,广泛分布于伤害性感受器上,在急性炎症痛中的作用受到高度的关注,而在慢性炎症痛中的作用不甚明了。本课题组首次报道TRPV1参与慢性炎症痛^[6-10]。

1. TRPV1受体参与慢性炎症痛大鼠的外周敏化

采用大鼠足底注射完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA),建立慢性炎症痛模型。慢性炎症痛能够持续28天,在7~14天时较为明显。正常大鼠中TRPV1特异表达于背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)的中、小直径神经元和脊髓背角I、II层的纤维上。在炎症痛大鼠的前3周(21天),造模侧DRG和脊髓背角浅层TRPV1的表达水平均显著性增加,其中在7~14天左右达高峰,但是第28天时趋于恢复到正常^[6]。外周皮下或脊髓鞘内给予TRPV1特异性拮抗剂,可以阻断CFA模型的热痛敏和机械痛敏。更有意思的是,正常和急性疼痛时只表达在与痛觉相关的小直径DRG神经元上的TRPV1,在慢性疼痛时也表达在大、中直径神经元上,即出现了TRPV1表达的“移型”,进而从外周敏化的角度,合理解释慢性炎症痛大鼠发生的热痛敏和机械痛敏^[6-8]。

TRPV1受体活性的调节,一直备受关注。TRPV1受体主要受到蛋白磷酸化和去磷酸化修饰的动态调控,如在丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶作用下发生磷酸化(phosphorylation),而在丝氨酸/苏氨酸蛋白

磷酸酶作用下发生去磷酸化(de-phosphorylation)。研究还发现,TRPV1通道活性还受到酪氨酸磷酸化的调节,如在Src作用下发生酪氨酸磷酸化。从酪氨酸去磷酸化的角度,本实验室发现TRPV1受到一种酪氨酸磷酸酶Shp-1(全称:含Src同源结构域2的酪氨酸磷酸酶-1, Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase 1)的调节。研究结果表明:①Shp-1通过抑制TRPV1受体活性维持大鼠热诱发疼痛的正常痛阈。一旦Shp-1的抑制作用被消除,大鼠将出现热痛敏;②在CFA炎症痛大鼠的DRG中,酪氨酸磷酸化的TRPV1以及TRPV1总蛋白质表达量增加。Shp-1蛋白质表达量也代偿性地增加,Shp-1通过抑制TRPV1的活性限制CFA炎症痛的发展,对机体起到保护作用^[9]。

2. TRPV1受体参与慢性炎症痛大鼠脊髓的中枢敏化

前面说到,DRG神经元外周端(外周痛觉纤维)的TRPV1受体,可以感受到温度和痛觉刺激,这似乎还比较容易理解。那么,位于DRG神经元的中枢端(脊髓背角浅层)的TRPV1受体,在疼痛和伤害性信息的传递中是否发挥了作用?这也是一个有趣的问题,因为脊髓背角是中枢神经系统,这里是“恒温”的,从常识上说,这里的TRPV1似乎不应该起什么作用。但我们的研究结果表明,慢性炎症痛的早期,大鼠脊髓中即出现突触传递的长时程增强(long-term potentiation, LTP)现象。引起LTP的C纤维放电为低频无规律放电。脊髓背角突触前TRPV1受体,通过增加突触前递质释放,诱发脊髓背角LTP的形成,从而参与慢性炎症痛脊髓背角的中枢敏化^[10]。

以上结果表明,TRPV1通过以下机制参与慢性炎症痛:DRG外周端的TRPV1受体,做为温度和痛觉感受器,当受到外周炎症刺激后,TRPV1受体表达出现从小直径到大中直径细胞的“移型”,参与外周的热痛敏与机械痛敏;DRG中枢端的TRPV1受体位于脊髓背角,增加突触前递质释放,诱导LTP形成,参与脊髓背角的中枢敏化。

二、TRPV1受体参与慢性癌性疼痛

随着癌症诊疗技术的进步,癌症病人生存时间的延长,慢性癌性疼痛成为影响癌症病人生活质量的一个严重问题。大约30%~50%的癌症病人和75%~95%的晚期癌和转移癌病人都有疼痛的发生。因此,对慢性癌性疼痛发生机制的研究受到全世界的关注。研究表明,慢性癌性疼痛既有慢性炎症痛和神经病理性疼痛的参与,也有独特的神经

化学调节的机制,具有自身独特的特点^[11]。在发现 TRPV1 受体参与慢性炎症痛的基础上,本课题组深入探讨了 TRPV1 受体在慢性癌性疼痛的作用及其调控机制,并首次报道 TRPV1 受体参与内源性甲醛导致的慢性癌性疼痛,肿瘤微环境中的 IGF-1 参与上调 TRPV1 受体^[12-17]。

1. TRPV1 受体参与慢性癌性疼痛

采用大鼠胫骨注射 MRMT-1 乳腺癌细胞系的方法,建立大鼠慢性癌性疼痛模型。造模后 7 天骨质微弱破坏,14 天出现骨质明显破坏,28 天胫骨完全破坏。在造模后 10 天左右,模型动物出现明显热痛敏以及机械痛敏,并一直维持至 28 天。在慢性癌性疼痛造模后 7~28 天,DRG 中 TRPV1 表达水平明显增加,并且增加 TRPV1 主要表达在面积为 300~400 μm^2 的小直径 DRG 神经元上。从造模后第 9 天开始注射 TRPV1 拮抗剂,可以明显缓解热痛敏以及机械痛敏^[12-14]。

2. TRPV1 受体被肿瘤组织产生的内源性甲醛激活导致慢性癌性疼痛

肿瘤细胞本身分泌与肿瘤生长、免疫及炎症相关的因子(如肿瘤坏死因子、白细胞介素-1、内皮素等)。除了这些已知的因子,我们发现代谢与生长非常旺盛的肿瘤细胞(如乳腺癌细胞),通过丝氨酸羟甲基转移酶 (serine hydroxymethyltransferase, SHMT) 1 和 2 以及赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 (lysine-specific histone demethylase, LSD) 1 的催化产生大量的代谢“废物”——内源性甲醛(区别于环境中的外源性甲醛)^[15]。在大鼠胫骨转移性慢性癌性疼痛模型,其骨髓、血浆和脊髓等部位,内源性甲醛含量明显升高。

进一步的实验表明,这些升高的内源性甲醛会导致骨癌痛;而且,是通过激活 TRPV1 起作用。离体实验发现,甲醛不仅能够剂量依赖性增加 DRG 神经元的细胞内钙离子水平,还可以增加内向电流的幅度。进一步模拟癌症局部的酸化环境 (pH = 6.0),将明显增强甲醛诱发的内向电流。而甲醛的以上作用,均可被 TRPV1 拮抗剂阻断。另外,甲醛通过 ERK、P38、JNK 和 PI3K 信号通路上调 DRG 中 TRPV1 的表达^[14,16]。

在体实验发现,足底注射极低浓度的甲醛(模拟体内产生的病理浓度内源性甲醛),能够引起大鼠疼痛反应。给予甲醛清除剂谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 后,能缓解甲醛引起的疼痛。在慢性癌性疼痛模型中,给予 TRPV1 受体拮抗剂或者甲醛清除剂,均可缓解热痛敏和机械痛敏^[14]。

3. 癌症转移组织中神经纤维上的 TRPV1,其蛋白表达受到 I 型胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor-I, IGF-I) 的上调,从而加剧骨癌痛

慢性癌性疼痛模型中,DRG 神经元中 TRPV1 的表达出现明显上调。我们进一步探究了是什么原因上调了 TRPV1 受体。在骨癌痛模型中,从接种癌细胞的胫骨骨髓腔的局部微环境来看,除了观察到骨质破坏,还可以观察到明显的骨再生现象,表明成骨细胞是激活的。研究发现,激活的成骨细胞能释放 IGF-I。随着慢性癌性疼痛造模后时间的延长,IGF-I 的含量逐渐增加。IGF-I 具有促进神经再生的作用。慢性癌性疼痛时,局部升高的 IGF-I,是否上调 TRPV1 的表达?

离体实验发现,在原代培养 DRG 神经元上,IGF-I 不仅剂量依赖性的上调 TRPV1 蛋白质表达,还可以增加辣椒素电流。这说明 IGF-I 不仅上调 TRPV1 蛋白表达量,还可以增强其功能。在体实验发现,抑制 IGF-1 可以缓解热痛敏和机械痛敏^[13]。

以上结果表明,转移到骨髓腔内的癌细胞产生病理浓度的甲醛,通过激活神经纤维末梢上的 TRPV1 受体,引起感觉神经纤维的兴奋性增高而导致骨癌痛。这些甲醛的产生来自于癌细胞系高表达的甲醛合成酶丝氨酸羟甲基转移酶 (SHMT1 和 SHMT2) 和赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 (LSD1)。另一方面,癌细胞骨转移之后,在局部导致破骨作用的同时激活了成骨细胞,后者释放出来的 IGF-I,通过细胞内的信号传导通路上调 TRPV1 的表达,从而加剧慢性癌性疼痛^[17]。

三、总结

自 1997 年 TRPV1 受体被克隆以来,本课题组致力于 TRPV1 受体参与慢性疼痛的机制研究,学术贡献主要如下:①率先提出了 TRPV1 受体在慢性炎症痛中的作用;②率先提出了 TRPV1 受体参与内源性甲醛导致慢性癌性疼痛及其调控的分子机制。2021 年,TRPV1 受体作为诺贝尔奖明星分子,将再次成为科学家的研究焦点。期待以此为靶点,开发出高效低毒的药物,用以治疗慢性疼痛等疾病,从而诠释诺贝尔生理学或医学奖奖章上的一句话——“新的发现使生命更美好”。

参 考 文 献

- [1] Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, *et al.* The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway[J]. *Nature*, 1997, 389(6653):816-824.
- [2] Welch JM, Simon SA, Reinhart PH. The activation

- mechanism of rat vanilloid receptor, by capsaicin involves the pore domain and differs from the activation by either acid or heat[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:13889-13894.
- [3] John BD, Julie G, Martin J, *et al.* Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia[J]. *Nature*, 2000, 405(6783):183-187.
- [4] Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, *et al.* Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor[J]. *Science*, 2000, 288(5464):306-313.
- [5] 骆昊, 万有, 韩济生. 辣椒素及其受体 [J]. *生理科学进展*, 2003, 34(1):11-15.
- [6] Luo H, Cheng J, Han JS, *et al.* Change of vanilloid receptor 1 expression in dorsal root ganglion and spinal dorsal horn during inflammatory nociception induced by complete Freund's adjuvant in rats[J]. *NeuroReport*, 2004, 15(4):655-658.
- [7] Yu L, Yang F, Luo H, *et al.* The role of TRPV1 in different types of dorsal root ganglion neurons in chronic inflammatory nociception induced by complete Freund's adjuvant[J]. *Mol Pain*, 2008, 4(1):61.
- [8] Luo H, Xu IS, Chen Y, *et al.* Behavioral and electrophysiological evidence for the differential functions of TRPV1 at early and late stages of chronic inflammatory nociception in rats[J]. *Neurochem Res*, 2008, 33(10):2151-2158.
- [9] Xiao X, Zhao XT, Xu LC, *et al.* Shp-1 dephosphorylates TRPV1 in dorsal root ganglion neurons and alleviates CFA-induced inflammatory pain in rats[J]. *Pain*, 2015, 156(4):597-608.
- [10] Yang F, Guo J, Sun WL, *et al.* The induction of long-term potentiation in spinal dorsal horn after peripheral nociceptive stimulation and contribution of spinal TRPV1 in rats[J]. *Neuroscience*, 2014, 269:59-66.
- [11] Halvorson KG, Sevcik MA, Ghilardi JR, *et al.* Similarities and differences in tumor growth, skeletal remodeling and pain in an osteolytic and osteoblastic model of bone cancer[J]. *Clin J Pain*, 2006, 22(7):587-600.
- [12] Wan Y. New mechanism of bone cancer pain: tumor tissue-derived endogenous formaldehyde induced bone cancer pain via TRPV1 activation[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016; 904: 41-58. In: Ma C and Huang YG (Eds): *Translational Research in Pain and Itch*.
- [13] Li Y, Cai J, Han Y, *et al.* Enhanced function of TRPV1 via up-regulation by insulin-like growth factor-1 in a rat model of bone cancer pain[J]. *Eur J Pain*, 2014, 18(6):774-784.
- [14] Tong ZQ, Luo WH, Wang YQ, *et al.* Tumor tissue-derived formaldehyde and acidic microenvironment synergistically induce bone cancer pain[J]. *PloS One*, 2010, 5(4):e10234.
- [15] Liu J, Liu FY, Tong ZQ, *et al.* Lysine-specific demethylase 1 (LSD1) in the breast cancer cells contributes to the production of endogenous formaldehyde in metastatic bone cancer pain model of rats[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3):e58957.
- [16] Han Y, Li Y, Xiao X, *et al.* Formaldehyde up-regulates TRPV1 through MAPK and PI3K signaling pathways in bone cancer pain model of rats[J]. *Neurosci Bull*, 2012, 28(2):165-172.
- [17] 童志前, 李艳, 刘佳, 等. 转移性骨癌痛的新机制: 癌细胞产生的内源性甲醛激活外周神经纤维上的辣椒素受体 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2014, 20(7):449-453.
- sensation in mice[J]. *Nature*, 2014, 516(7529):121-125.
- [11] Woo SH, Lukacs V, de Nooij JC, *et al.* Piezo2 is the principal mechanotransduction channel for proprioception[J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(12):1756-1762.
- [12] Nonomura K, Woo SH, Chang RB, *et al.* Piezo2 senses airway stretch and mediates lung inflation-induced apnoea[J]. *Nature*, 2017, 541(7636):176-181.
- [13] Jiang F, Yin K, Wu K, *et al.* The mechanosensitive Piezo1 channel mediates heart mechano-chemo transduction[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):869.
- [14] Sun W, Chi S, Li Y, *et al.* The mechanosensitive Piezo1 channel is required for bone formation[J]. *Elife*, 2019, 8:e47454.
- [15] Sun Y, Li M, Liu G, *et al.* The function of Piezo1 in colon cancer metastasis and its potential regulatory mechanism[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(5):1139-1152.
- [16] Syeda R. Physiology and pathophysiology of mechanically activated PIEZO channels[J]. *Annu Rev Neurosci*, 2021, 44:383-402.
- [17] Koivisto AP, Belvisi MG, Gaudet R, *et al.* Advances in TRP channel drug discovery: From target validation to clinical studies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 1-19.

(上接第 732 页)