



带状疱疹后神经痛病人 Treg/Th17 与发病时间的相关性研究 *

庄茂林¹ 潘旻升³ 孙明洁² 于洋² 姜祖波² 赵政政² 张本旺² 江峰² 陈付强^{2△}

(¹ 潍坊医学院麻醉学院, 潍坊 261000; ² 青岛市市立医院东院区² 疼痛科; ³ 检验科, 青岛 266011)

摘要 目的: 探讨带状疱疹后神经痛 (postherpetic neuralgia, PHN) 病人外周血中的调节性 T 淋巴细胞 (regulatory T cells, Treg) 与辅助性 T 淋巴细胞 17 (helper T cell, Th17) 比值, 即 Treg/Th17 与发病时间的相关性。**方法:** 选取 2021 年 2 月至 2022 年 9 月青岛市市立医院疼痛科 PHN 病人 48 例及同期的 22 名健康对照者为研究对象, 采集他们的各淋巴细胞亚群数据并进行比较。使用流式细胞术检测 PHN 病人和健康对照者外周血中的 Treg 细胞和 Th17 细胞水平, 计算 Th17 与 Treg 细胞的比率。将 PHN 病人与健康对照者的 Treg 细胞比例、Th17 细胞比例、Treg/Th17 进行对比。统计病人自发病到就诊时间, 分析 PHN 病人 Treg/Th17 与发病时间的相关性。**结果:** 与健康对照组相比, PHN 组外周血中 CD4⁺ 淋巴细胞数量显著下降, Treg 细胞比例, Th17 细胞比例, Treg/Th17、CD8⁺/CD4⁺ 比率显著升高; Pearson 相关性分析结果显示, PHN 病人的 Treg/Th17 与发病时间呈正相关。**结论:** 带状疱疹病人外周血中 Treg 细胞与 Th17 细胞均显著增高, 提示两种细胞通过改变免疫系统功能在疾病的转归过程发挥重要作用。PHN 病人 Treg/Th17 与发病时间呈正相关, 可能意味着随 Treg 细胞的相对增多, 引起免疫系统功能减退, 延长病人病程。

关键词 带状疱疹后神经痛; 调节性 T 细胞; Th17 细胞; 发病时间

Correlation between Treg/Th17 and time of onset in patients with postherpetic neuralgia *

ZHUANG Maolin¹, PAN Minsheng³, SUN Mingjie², YU Yang², JIANG Zubo², ZHAO Zhengzheng², ZHANG Benwang², JIANG Feng², CHEN Fuqiang^{2△}

(¹ School of Anesthesia, Weifang Medical University, Weifang 261000, China; ² Department of Pain; ³ Department of Clinical Laboratory, East Hospital of Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266011, China)

Abstract Objective: To investigate the correlation between regulatory T cells (Treg) to helper T cells 17 (Th17) ratio (Treg/Th17) in peripheral blood and time of onset in patients with postherpetic neuralgia. **Methods:** Forty-eight patients with postherpetic neuralgia and 22 healthy controls during the same period were enrolled for the study, and data on each of their lymphocyte subpopulations were collected and compared. The levels of Treg cells and Th17 cells in the peripheral blood of patients with postherpetic neuralgia and healthy controls were measured using flow cytometry, and the ratio of Th17 to Treg cells was calculated. The ratio of Treg cells, the ratio of Th17 cells, and Treg/Th17 were compared between patients and the healthy controls. Patients' time from onset to consultation was counted, and the correlation between Treg/Th17 and onset time in patients with postherpetic neuralgia was analyzed. **Results:** Compared with the healthy control group, the number of CD4⁺ lymphocytes in peripheral blood in the patient group decreased significantly and the percentage of Treg cells, Th17 cells, Treg/Th17, and CD8⁺/CD4⁺ ratios increased significantly. Pearson correlation analysis showed that Treg/Th17 in patients with postherpetic neuralgia was positively correlated with time of onset. **Conclusion:** Treg and Th17 cells were significantly increased in the peripheral blood of patients with herpes zoster, suggesting that both cells play an important role in the disease by altering the function of the immune system. The positive correlation between Treg/Th17 and time of onset in patients may imply that the

* 基金项目: 青岛市市南区科技发展计划 (2022-2-015-YY); 青岛市科技计划项目 (17-3-3-17-nsh)

△ 通信作者 陈付强 fuqiangchen126@126.com



increase of Treg cells causes immune system dysfunction and prolongs the course of the disease in patients.

Keywords postherpetic neuralgia; regulatory T cells; Th17 cells; time of onset

带状疱疹 (herpes zoster, HZ) 皮疹愈合后持续 1 个月及以上的疼痛定义为带状疱疹后神经痛 (postherpetic neuralgia, PHN)^[1]。PHN 是 HZ 最常见最严重的并发症, 老年 HZ 病人罹患 PHN 的比例高达 75%^[2]。PHN 带来的慢性疼痛给病人带来极大地痛苦, 严重影响病人生活质量, 临床上一些病人忍受病痛折磨长达数年。而 PHN 的发病机制至今仍未阐明, 临床上缺乏预测 PHN 病程长短的方法。

最近的一项研究证实, 外周血中的水痘-带状疱疹病毒 (varicella zoster virus, VZV) 特异性 T 细胞随着年龄的增长而减少, 而调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg) 会增加^[3]。病毒感染中的 Treg 细胞可以控制抗病毒炎症但它们抑制抗病毒免疫力, 间接促进了病毒复制, 并导致持续的病毒感染。辅助性 T 细胞 (helper T cell, Th17) 在宿主抵御一些病毒感染方面发挥着重要作用, 但它们可能会导致有害的免疫病理反应^[4]。最近的研究已经证实, Treg/Th17 的平衡在 HZ 的疾病发展中起到重要作用^[5]。且有研究证实, Treg/Th17 与 PHN 疼痛程度呈负相关, 但是 Treg/Th17 的高低与发病时间的关系没有得到阐明。为解决临床中无法预估 PHN 病人发病时长、预后情况的问题, 本研究立足于免疫相关的 Treg 细胞与 Th17 细胞, 阐明了 PHN 病人 Treg/Th17 失衡与发病时间的关系, 以求可以帮助了解 PHN 这一疾病在转归过程中免疫功能的变化。甚至基于维护两细胞平衡对病人免疫功能水平进行预防性治疗, 改善病人预后。

方 法

1. 一般资料

本研究通过青岛市市立医院伦理委员会审核 (伦理批号 2023061), 已与病人家属沟通后签署知情同意书。选取 2021 年 2 月至 2022 年 9 月青岛市市立医院疼痛科收治的 PHN 病人 48 例, 其中疱疹部位为头面部 9, 上肢 1 例, 季肋区 6 例, 胸背部 12 例, 腰腹部 18 例, 下肢 2 例。年龄 50~93 岁, 平均年龄 69.7 岁, 男 22 例, 女 26 例。选取健康对照组 22 例, 均为同期门诊健康体检者, 年龄 54~81 岁, 平均年龄 70.7 岁, 男 10 例, 女 12 例。两组在年龄、性别等方面比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

纳入标准: 符合 PHN 诊断标准, 疼痛数字分

级评分法 (numerical rating scale, NRS) 评分在 4 分及以上, 且具有典型的 HZ 临床症状和体征, 沟通无障碍, 能够配合 NRS 评分的评估, 在过去的 1 个月内, 没有使用免疫抑制剂 (如糖皮质激素) 等可影响 T 淋巴细胞亚群的药物。

排除标准: 伴有严重心、肺、肾等系统性疾病、恶性肿瘤、自身免疫性疾病和应用免疫抑制剂, 以及精神病或不合作者。

2. 主要试剂及仪器

小鼠抗人单克隆抗体 (CD4-FITC/CD25-APC)、Foxp3 固定破膜工作液、红细胞裂解液 (Optilyse C) 法国 Immunotech 公司; 小鼠单克隆抗体 (Foxp3-APC) 英国 abcam 公司; 流式细胞仪 (Epics XL·MCL): 美国 BECKMANCOULTER 公司; 低温高速离心机: 德国 Heraeus 公司; 37℃ 恒温箱: 北京福意电器有限公司; Varioskan Flash 全波长扫描式多功能读数仪。

3. 方法

资料收集: 收集病人的淋巴细胞亚群检测结果, 内容包括总淋巴细胞、T 淋巴细胞、诱导性 T 细胞 (CD4⁺T)、杀伤性 T 细胞 (CD8⁺T)、NK 细胞。病人的临床资料包括性别、年龄、发病至就诊时间、疱疹位置等。

标本收集: 在病人初诊时抽取静脉血 10 ml 于肝素输液管中, 用等体积的磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffer saline, PBS) 稀释后, 采用密度梯度离心法分离外周血单个核淋巴细胞。用于后期 Th17 和 Treg 细胞检测。

Treg 细胞检测: Treg 细胞被定义为 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T 细胞。为了确定 Treg 细胞比例, 将单个核淋巴细胞 PBS 重悬, 调节 PBMC 浓度为 1×10^6 个/ml 左右。使用 CD4-FITC 和 CD25-APC 单克隆抗体对 Treg 细胞表面进行染色, 以检测 PBMC 的细胞表面抗原。然后, 使用流式染色缓冲液洗涤, 加入 1 ml Fixation 破膜缓冲液, 4℃ 避光孵育 45 min; 用破膜缓冲液洗涤 2 次, 加入 20 μ l Foxp3-APC, 4℃ 避光孵育 30 min; 经破膜缓冲液洗涤 2 次, 用 500 μ l 流式染色缓冲液重悬, 上机检测, 荧光数据的获得以荧光强度 > 3000 个个体细胞为阳性, 经分析后将 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T 细胞相对于 CD4⁺ 总细胞的比例转换为百分比, 以获得 Treg 细胞的数量。

Th17 细胞检测: Th17 细胞被定义为产生白介素 17 (interleukin-17, IL-17) 的辅助 T 细胞。将单个

核淋巴细胞 PBS 重悬后, 调节 PBMC 浓度保持在 1×10^6 个/ml 左右。之后按照流式检测试剂盒说明书操作, 分别加入固定液、破膜剂, 抗体混合液, 每种试剂加入后均按说明进行避光、孵育、离心、洗涤。用 500 μ l 流式染色缓冲液重悬, 上机检测, 荧光数据的获得以荧光强度 > 3000 个个体细胞为阳性, 结果最终以每个细胞的平均荧光强度表示。

4. 统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析, 采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, 独立样本 t 检验用于评估 HZ 和对照组之间各淋巴细胞亚群、Treg 细胞、Th17 细胞和 Treg/Th17 细胞比率的差异。使用 Pearson 相关测试分析 Treg/Th17 与发病时间的关系。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. PHN 组和对照组外周血中各淋巴细胞亚群比较

将对照组和 PHN 组外周血中各淋巴细胞亚群数量进行比较, 发现 PHN 组的 $CD4^+$ 细胞 (23.11 ± 7.38) 少于对照组 (29.55 ± 10.54), 而 PHN 组 $CD8^+$ 细胞 (46.98 ± 7.9) 多于对照组 (42.39 ± 8.34), PHN 组 $CD8^+/CD4^+$ 细胞比率 (2.32 ± 1.1) 高于对照组 (2.32 ± 1.1), 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 见图 1、图 3)。

2. PHN 组和对照组外周血中的 Treg 和 Th17 细胞计数比较

对照组和 PHN 组外周血中的 Treg 细胞和 Th17 细胞数量进行比较, 发现 PHN 组的 Treg 细胞 ($4.23\% \pm 2.27\%$) 多于对照组 ($3.09\% \pm 1.61\%$), 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。且与对照组 ($0.94\% \pm 0.98\%$) 相比, PHN 组的 Th17 细胞 ($1.58\% \pm 1.08\%$) 增多 (见图 2)。为了进一步研究两个 T 细胞亚群之间的平衡, 计算了 Treg 细胞与 Th17 细胞的比率。PHN 组 Th17/Treg 细胞比率 (0.92 ± 1.07) 显著高于对照组 (0.38 ± 0.36), 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 见图 3)。PHN 组与对照组外周血 Treg 细胞的流式细胞结果图见图 4。PHN 组与对照组外周血 Th17 细胞的流式细胞结果图见图 5。

3. PHN 病人 Th17/Treg 与 PHN 发病时间的相关性分析

48 例 PHN 病人中, 平均发病时间为 (37.8 ± 3.5) 天, 经 Pearson 相关性分析显示, PHN 病人外周血中 Th17/Treg 与发病时间呈正相关 ($r = 0.738$, $P < 0.01$, 见图 6)。

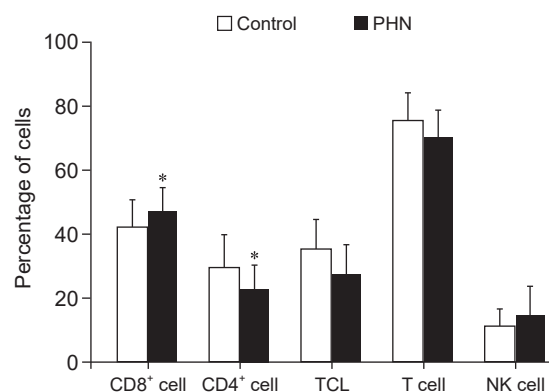


图 1 PHN 组和对照组各淋巴细胞亚群百分比 ($\bar{x} \pm SD$)
Fig. 1 Percentages of each lymphocyte subset in the PHN group and control group ($\bar{x} \pm SD$)
* $P < 0.05$, 与对照组相比; * $P < 0.05$, compared with group control.

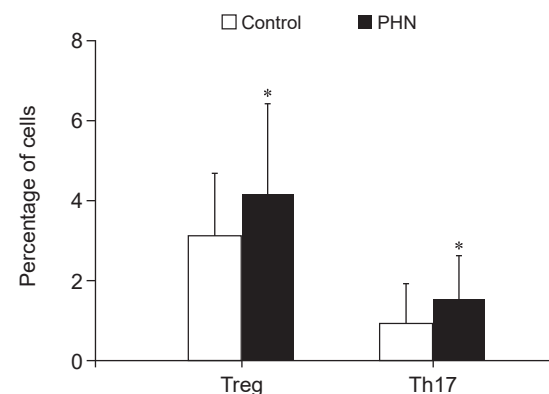


图 2 PHN 组和对照组 Treg 细胞与 Th17 细胞百分比 ($\bar{x} \pm SD$)
Fig. 2 Percentages of Treg cells and Th17 cells in the PHN group and control group ($\bar{x} \pm SD$)
* $P < 0.05$, 与对照组相比; * $P < 0.05$, compared with group control.

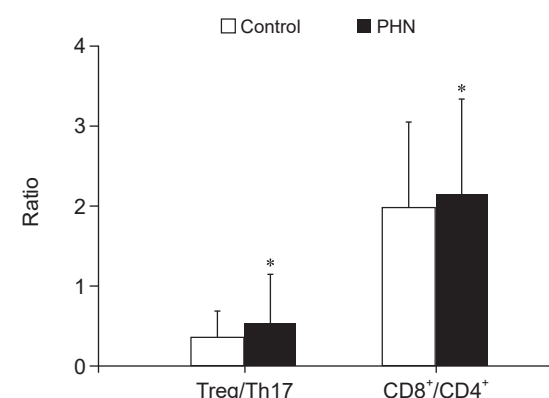


图 3 PHN 组和对照组 Treg/Th17 与 $CD8^+/CD4^+$ 比率 ($\bar{x} \pm SD$)
Fig. 3 Treg/Th17 and $CD8^+/CD4^+$ ratios in PHN group and control group ($\bar{x} \pm SD$)
* $P < 0.05$, 与对照组相比; * $P < 0.05$, compared with group control.

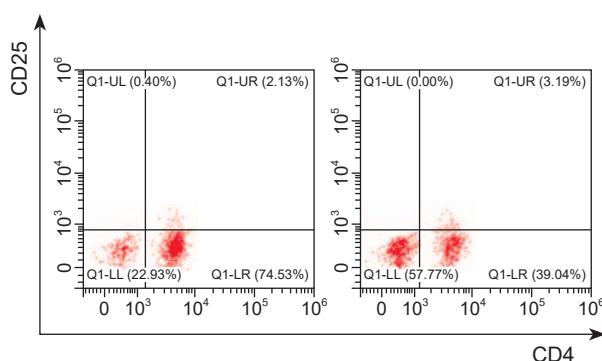


图4 PHN组和对照组外周血Treg水平的流式细胞图像对比

Fig. 4 Flow cytometric comparison of peripheral blood Treg levels between PHN group and control group

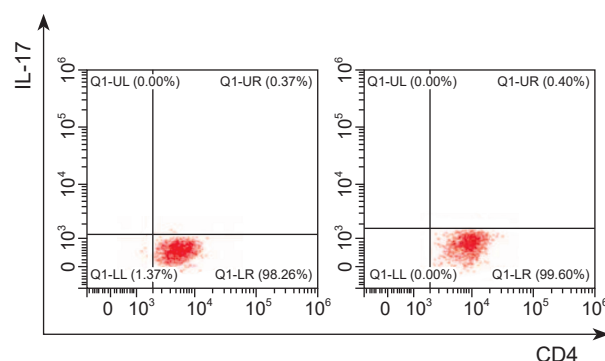


图5 PHN组和对照组外周血Th17水平的流式细胞图像对比

Fig. 5 Flow cytometric comparison of Th17 levels in peripheral blood between PHN group and control group

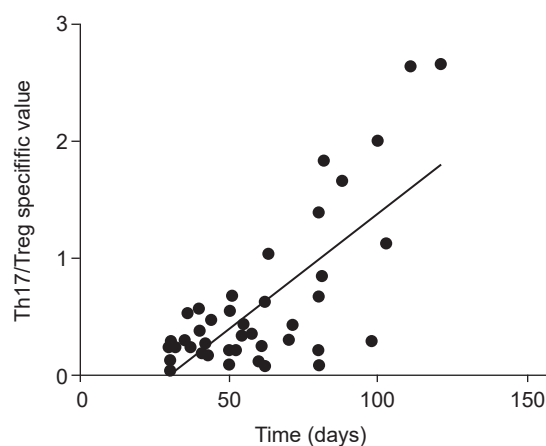


图6 PHN病人Treg/Th17与发病时间的相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis between Treg/Th17 and time of onset in patients with postherpetic neuralgia

讨论

PHN是VZV病毒感染神经系统的一种长期并发症, 5%~30%的HZ病人在皮疹后的神经损伤中会遭受PHN带来的剧痛^[6]。研究表明PHN的发生与机体细胞免疫紊乱、被异常抑制相关^[7]。免疫功能与HZ及其后遗神经痛的发生有关, 免疫系统的功能低下可能会导致VZV的再次激活和HZ的发生。老年人、免疫系统功能减弱的人、器官移植病人、艾滋病病毒感染者等人群更容易患HZ。有研究显示HZ病人IgG、IgM和IgA水平均较同龄段健康体检人群明显下降, 这提示HZ病人存在体液免疫功能下降^[8]。最近一项研究显示, 在新型冠状病毒大流行期间, HZ病人病例大幅增加, 这更提示我们免疫功能的减弱可能是诱发HZ的原因^[9]。

原始CD4⁺T细胞可以在某些条件下分化为

Th1、Th2、Treg和Th17细胞并产生各种介导免疫反应的细胞因子。转化生长因子TGF- β 诱导原始CD4⁺T细胞分化为Treg细胞, 以产生TGF- β 和IL-10, 减少炎症反应。IL-6诱导原始CD4⁺T细胞分化为Th17, 使其产生IL-17、IL-23并增加炎症反应, 同时抑制原始CD4⁺T细胞分化为Treg细胞。可以说IL-6是Treg细胞与Th17细胞之间平衡的调节器^[10]。一项单中心回顾性研究结果显示, 与对照组相比, PHN病人的IL-6水平更高, 且血清中IL-6水平可以用作PHN严重程度的生化指标^[11]。这可能意味着, 随着IL-6的升高, Th17细胞的数量增加, 导致了更严重的炎症反应。

Treg分化和Th17分化是相关的过程, 两个T细胞亚群在维持免疫系统稳态方面发挥着重要作用。Xue-Song等^[12]研究也证实了Treg细胞和Th17细胞在病毒感染性疾病(如慢性肝炎)中的作用, 并表明Treg细胞和Th17细胞之间的平衡失调可能在疾病进展和病毒持续性中发挥重要作用。

已有研究结果显示, PHN病人外周血中Treg细胞的数量显著高于正常对照组, 并随着疼痛严重程度的增加而增加^[13]。本研究表明, HZ病人的免疫力受损, Treg细胞的数量增加可能会抑制CD4⁺T细胞的抗病毒免疫反应。由此可以推断Treg细胞可能在HZ的发病机制和PHN进展中发挥重要作用^[13]。本研究检测了病人外周血中Treg、Th17细胞数量并计算了Treg/Th17, 探讨了与健康对照人群相比, Th17和Treg两种细胞的数量变化及是否存在平衡失调的情况。结果显示, 与对照组相比PHN病人外周血中Treg细胞的数量显著增加, Th17细胞数量显著增加。且PHN病人Treg/Th17明显高于对照组。本研究还统计了PHN病人与健康对



照者外周血中各淋巴细胞亚群水平,结果显示与对照组相比,PHN病人外周血中 $CD4^+$ 细胞显著减少, $CD8^+$ 细胞显著增多,PHN组 $CD8^+/CD4^+$ 细胞比率显著升高。本研究结果表明抗病毒的免疫反应随着Treg细胞的增加而减少,且导致疾病爆发后 $CD4^+$ 细胞的相对减少。此外,随着Th17细胞的增加,免疫炎症反应也随之增加,这可能是导致神经损伤并进一步导致PHN的原因。此外,我们认为Treg细胞与Th17细胞在HZ疾病发展的不同时间段发挥不同的作用,Treg细胞的增加可能与HZ急性期VZV的持续复制且进一步造成PHN有关,而Th17细胞的数量可能与PHN的疼痛程度及累计范围呈正相关。

已有研究显示,HZ病人Treg/Th17与PHN的疼痛程度呈负相关^[14]。本研究结果显示,Treg/Th17与PHN病人的发病时间呈正相关。这可能意味着在疾病的进程中,随着Treg细胞的相对增加,其带来的免疫抑制效应也增加,抗病毒的免疫反应相对减少,使得VZV病毒更长时间地在外周血中复制,延长病程。另外,据既往研究表明,在炎症因子的诱导下,Th17细胞与Treg细胞间存在相互转化^[15]。本研究结果也显示,PHN病人外周血中Treg/Th17随着时间的推移而上升,这意味着Treg的相对增加。这可能与这两个T细胞子集的可塑性有关,其中Th17细胞可能在炎症细胞因子的作用下转化为Treg细胞^[16]。一项研究也表明在风湿性关节炎病人外周血中,病理性的Th17细胞可以转化Treg细胞,发挥抗炎的功能^[17]。且已有研究证明,Treg细胞与Th17细胞之间存在一种 $CD4^+Foxp3^+IL-17^+$ 的中间型细胞,这也为两者之间的转化提供有力的证据^[18]。是否在PHN病人外周血中存在Th17向Treg细胞转化,使外周血中Treg数量上升,导致后遗神经痛病程的延长呢?这一点仍需我们的后期研究得以阐明。

本研究局限性在于,所采集样本量较少,且已知Treg细胞随年龄增加而增加,在探究Treg/Th17与发病时间相关性时,未考虑PHN组内年龄因素。另外,本研究仅能证实Treg/Th17与发病时间呈正相关,无法得出PHN病人因Treg/Th17的升高而发病时间延长的结论。

综上所述,机体免疫功能失衡可能是PHN发病的重要原因,而Treg/Th17细胞的比例失衡可能是机体复杂的免疫调节中关键一环。且本研究可初步确定,Treg/Th17细胞的比例失衡与PHN发病时间呈正相关,PHN病人Treg细胞的相对升高可能

与Th17细胞向Treg细胞的转化有关,但具体机制仍不明确,需要后续研究进行验证。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 于生元,万有,万琪,等. 带状疱疹后神经痛诊疗中国专家共识[J]. 中国疼痛医学杂志, 2016, 22(3):161-167.
- [2] Johnson RW, Dworkin RH. Treatment of herpes zoster and post herpetic neuralgia[J]. BMJ, 2003, 326(7392):748-750.
- [3] Vukmanovic-Stejić M, Sandhu D, Seidel JA, *et al.* The characterization of varicella zoster virus-specific T cells in skin and blood during aging[J]. J Invest Dermatol, 2015, 135(7):1752-1762.
- [4] Martinez NE, Sato F, Kawai E, *et al.* Regulatory T cells and Th17 cells in viral infections: implications for multiple sclerosis and myocarditis[J]. Future Virol, 2012, 7(6):593-608.
- [5] Wan Z, Zhou Z, Liu Y, Lai Y, *et al.* Regulatory T cells and T helper 17 cells in viral infection[J]. Scand J Immunol, 2020, 91(5):e12873.
- [6] Van Oorschot D, Vroeling H, Bunge E, *et al.* A systematic literature review of herpes zoster incidence worldwide[J]. Hum Vaccin Immunother, 2021, 17(6):1714-1732.
- [7] 陈晓彤,王蕊,常敏,等. 老年带状疱疹后神经痛病人外周血Th17/Treg细胞及相关细胞因子的表达[J]. 中国疼痛医学杂志, 2019, 25(7):513-517.
- [8] 陶学芹,崔会新,王大巍. 鼠神经生长因子治疗老年带状疱疹临床疗效及血清IgG、IgM、IgA的变化观察[J]. 中华全科医学, 2020, 18(8):1294-1296, 1403.
- [9] Cao XQ, Zhang XW, Meng WH, *et al.* Herpes zoster and postherpetic neuralgia in an elderly patient with critical COVID-19: a case report[J]. J Pain Res, 2020, 13:2361-2365.
- [10] Kimura A, Kishimoto T. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance[J]. Eur J Immunol, 2010, 40(7):1830-1835.
- [11] Lin D, Zhong CY, Jiang QL, *et al.* Serum interleukin-6 levels are increased in post-herpetic neuralgia: a single-center retrospective study[J]. An Bras Dermatol, 2023, 98(2):202-207.
- [12] Xue-Song L, Cheng-Zhong L, Ying Z, *et al.* Changes of Treg and Th17 cells balance in the development of acute and chronic hepatitis B virus infection[J]. BMC gastroenterology, 2012, 12:43.
- [13] Xing Q, Hu D, Chen FQ, *et al.* Role of regulatory T cells in patients with acute herpes zoster and relationship to postherpetic neuralgia[J]. Arch Dermatol Res, 2013, 305(8):715-722.



- [14] 吐尔逊娜依·阿布都热依木, 赵秋鹤, 常成, 等. Th17/Treg 细胞与带状疱疹后神经痛的相关性分析 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2022, 28(5):388-391.
- [15] Zhou HF, Wang FX, Sun F, *et al.* Aloperine ameliorates IMQ-induced psoriasis by attenuating Th17 differentiation and facilitating their conversion to treg[J]. Front Pharmacol, 2022, 13:755788.
- [16] Xu L, Kitani A, Fuss I, *et al.* Cutting edge: regulatory T cells induce CD4⁺CD25-Foxp3- T cells or are self-induced to become Th17 cells in the absence of exogenous TGF-beta[J]. J Immunol, 2007, 178(11):6725-6729.
- [17] Gagliani N, Amezcua Vesely MC, Iseppon A, *et al.* Th17 cells transdifferentiate into regulatory T cells during resolution of inflammation[J]. Nature, 2015, 523(7559):221-225.
- [18] 刘朝朝. 子痫前期患者外周血中 Treg 细胞向 Th17 细胞病理转化的研究 [D]. 湖北: 华中科技大学, 2018.

• 国际译文 •

疼痛和瘙痒由不同的前额叶神经元集群编码

疼痛和瘙痒是两种驱动不同行为反应的感觉。疼痛引起回避性反应, 瘙痒引起搔抓行为。既往关于疼痛和瘙痒的研究, 主要集中于外周和脊髓, 两者的中枢编码机制有何差异尚不清楚。研究目的: 探究疼痛和瘙痒两种不同的感觉, 如何在前额叶进行编码? 两者的编码机制有何异同? 主要结果: (1) 辣椒素 (capsaicin, CAP) 引起小鼠的疼痛反应, 表现为舔足和缩足等反应。氯喹 (chloroquine, CQ) 是一种致痒剂, 引起小鼠的搔抓行为。超微型显微镜钙成像技术显示, CAP 和 CQ 均引起前边缘皮质 (prelimbic cortex, PL) 神经元的反应。但是, 疼痛和瘙痒由各自独立的 PL 神经元集群 (neural ensembles) 编码。对两种刺激均有反应的神经元比例很低。(2) 研究者结合 FosTRAP 系统以及 Fos 染色技术, 深入研究编码疼痛和瘙痒的不同神经元集群。将 FosCreER^{T2} (TRAP2) 小鼠与 Cre 依赖的 Ai9 小鼠杂交得到 TRAP2::Ai9 小鼠。TRAP2::Ai9 小鼠第 1 次注射 CAP 可以激活 CAP-TRAPed 神经元。如果第 2 次注射是 CAP, CAP-TRAPed 神经元被重新激活比例高, 表现为 tdTomato⁺/Fos⁺ 双标细胞比例高。如果第 2 次注射是 CQ, CAP-TRAPed 神经元被重新激活比例很低, 变现为 tdTomato⁺/Fos⁺ 双标细胞比例很低。进一步证明疼痛和瘙痒信息在 PL 脑区分离处理。(3) 对 FosTRAP 标记的 CAP 和 CQ 激活的 PL 神经元进行脑片膜片钳记录, 电生理数据表明 PL 中与疼痛相关的神经元集群具有较高的内在兴奋性。(4) 化学遗传学抑制 PL 脑区 CAP-TRAPed 神经元集群, 增加 CAP 诱发的舔脚行为。激活这群神经元有镇痛作用。操纵 CAP-TRAPed 神经元集群, 不影响 CQ 诱发的瘙痒反应, 也不影响运动。(5) 化学遗传学抑制 PL 脑区 CQ-TRAPed 神经元集群, 降低 CQ 诱发的瘙痒反应。激活这群神经元增加 CQ 诱发的瘙痒反应。操纵 CQ-TRAPed 神经元集群, 不影响 CAP 诱发疼痛行为, 也不影响运动。研究者也进一步对疼痛和瘙痒的负性情绪进行研究。结果表明, PL 中编码疼痛和瘙痒神经元集群互相独立, 并且对疼痛和瘙痒信息的处理机制不同。(6) 逆行示踪结果显示, CAP-TRAPed 神经元上游主要来自基底外侧杏仁核 (basolateral amygdala, BLA), 而 CQ-TRAPed 上游主要来自初级躯体感觉皮质和丘脑前核。(7) 顺行示踪结果显示, CAP-TRAPed 神经元下游特异性投射到丘脑带旁核 (paratenial thalamic nucleus, PT) 或背内侧丘脑 (mediodorsal thalamus, MD), CQ-TRAPed 神经元下游特异性投射到 BLA。CAP-TRAPed 神经元和 CQ-TRAPed 神经元均向下游投射到中脑导水管周围灰质及未定带。化学遗传学抑制 PL-MD 环路, 增加 CAP 诱发的痛行为, 但不影响 CQ 作用。化学遗传学抑制 PL-BLA 环路, 抑制 CQ 诱发的瘙痒行为, 但不影响 CAP 作用。结论: 疼痛和瘙痒由不同的前额叶神经元集群编码, 该研究为解析感觉信息的脑机制提供新思路。

(Pan Q, Guo SS, Chen M, *et al.* Representation and control of pain and itch by distinct prefrontal neural ensembles. Neuron, 2023, 111(15):2414-2431.e7. 北京大学神经科学研究所, 刘一璇译, 刘风雨校)