



• 学术动态 •

感觉神经元中 Piezo2 感受背根神经节血管运动触发的间歇性神经病理性疼痛

摘要 自发痛是神经病理性疼痛病人的主要症状,以间歇性锐痛或刺痛为特征,但对其机制知之甚少。近期研究发现,自发痛与“簇状放电”(即相邻的感觉神经元同步放电)存在关联。该研究表明,自发痛和簇状放电的触发因素是受损神经感觉神经节内小血管的动态运动,伴有血管密度(血管生成)增加和血管周围的周细胞数量增加;在神经病理性疼痛小鼠模型中,药物或机械因素诱发的肌源性血管反应加重了自发痛,也增加了簇状放电;感觉神经元中的 Piezo2 机械通道在监控血管运动中发挥着重要作用;应用抑制血管生成的抗 VEGF 单克隆抗体可有效阻断自发痛和簇状放电。提示靶向 Piezo2、血管生成或血管异常动力学可成为治疗神经病理性自发痛的潜在策略。

一、研究背景

顽固性自发痛(如在外无刺激情况下发生的间歇性锐痛和刺痛)是神经病理性疼痛病人的临床主诉。与神经元敏感性增高诱发的疼痛不同,间歇性自发痛的发生机制在神经病理性疼痛病人和动物模型中可能存在差异。近来,研究者利用在体背根神经节(dorsal root ganglia, DRG)钙离子成像技术,发现神经病理性自发痛与感觉神经元的一种新形式活动相关,即空间聚集的神经元会自发地、间歇性地同步激活。然而,这种簇状放电及其相关自发痛的机制有待阐明。

通过观察簇状放电的空间分布模式,研究发现簇状放电多发生在 DRGs 中交感神经纤维和血管丰富的区域。完整 DRGs 接受邻近动脉的脊髓分支和后根动脉供血。神经受损 DRG 的血管表现分支增加、不规则性和曲张性,并且轴突受损神经元通常被血管环绕包裹。这些现象使研究者设想,临近的血管活动或运动是否触发了神经元簇状放电?周细胞是毛细血管、小动脉和小静脉血管内皮细胞与基膜之间的收缩性细胞,在调节血流、血管发育(血管生成)、血脑屏障维持、神经保护和神经炎症中发挥核心作用。周细胞形状细长并存在收缩蛋白,使它们能够与血管内皮细胞紧密相互作用。

Piezo2 通道广泛存在于多种感觉神经元(除运动神经元和交感神经元外)及其所支配的机械性感受器中,其作用是检测机械力并介导触觉、本体感觉、肺扩张、膀胱充盈和压力感受等。Piezo2 也在伤害性感觉神经元中表达,并在炎症或神经损伤

后的机械痛敏和触诱发痛过程中发挥作用。但这些研究主要集中在诱发性机械痛,而不是自发痛。与 Piezo2 不同, Piezo1 在 DRGs 中表达非常低,在瘙痒特异性神经元中选择性表达,介导小鼠的机械性痒。

该研究中,研究者首先观察了神经损伤 DRGs 内血管化情况,接下来研究了全身或局部给予血管收缩剂时,所出现的簇状放电和自发痛特点。进一步研究证实,簇状放电可以通过局部脉管系统的化学和机械操控来触发,也可通过对损伤 DRGs 中的机械感受器(包括 Piezo2)的抑制(药理学方法和遗传学方法),以及应用抗血管生成的单克隆抗体治疗来减少。

二、主要研究结果

1. 神经损伤 DRGs 内血管密度增加

用改良的全 DRG 透明化技术并结合 CD31 (Pecam 1, 一种泛内皮标志物)标记所有血管,以及 Alexa 633 染料(一种平滑肌特异性标志物)标记小动脉结构中的弹性蛋白。DRGs 的整体共聚焦扫描显示出内部高密度的血管网。来自 3 个分支的血管形成了覆盖整个 DRG 表面的网状结构。数条小直径动脉从脊神经——DRGs 连接处进入 DRGs 内部,顶面可见另一支 Alex 633⁺ 动脉进入 DRGs。在坐骨神经保留性损伤(spared nerve injury, SNI)诱导的神经病理性疼痛模型小鼠 DRGs 中,观察到血管密度增加或血管生成增加,表现为血管包绕的神经元数目增加和 CD31 mRNA 表达增加。神经损伤后, Gap43 标记的轴突靠近血管,表明血管密度增加使血管和神经元之间的相互作用增加。



2. 簇状放电与间歇性血管运动相关的活体显微观察

静脉注射右旋糖酐，能够使在体钙成像可视化的同时，记录同一 DRG 中神经元的簇状放电和血管动力学。为了识别参与簇状放电的神经元，在 SNI 小鼠的后足掌中注射示踪剂 DiI，5 天后用于识别标记端的未损伤轴突。研究发现，DiI 标记未受伤的神经元很少发生簇状放电，而簇状放电完全发生在未受损神经元所在区域之外，或者发生在损伤和未损伤神经元的混合区域。在记录的 51 个簇状放电中，有 17 个在簇状放电之前有间歇性的、突发的血管反应，包括血流的突然变化、小血管移位和血管收缩或扩张。

3. 血管收缩剂增加簇状放电和自发痛

研究者提出假设：局部或全身给予血管收缩剂——苯肾上腺素（phenylephrine, PE, $\alpha 1$ 肾上腺素受体激动剂）可能引起 DRGs 中血管收缩。结果发现腹腔注射（i.p.）PE（而非溶剂对照）可增加 SNI 小鼠的自发痛，而假手术鼠的自发痛较低，且不受 PE 影响。神经损伤 DRGs 的在体钙成像显示，SNI 小鼠给予 PE（而非溶剂对照）增加了簇状放电的发生率和放电的神经元数量。

PE 给予前的自发簇状放电，在 5 只小鼠中有 4 只被 PE 增强。PE 通常增加这些簇群中的神经元数量，并激活额外的簇群。在先前未观察到簇状放电的小鼠中（ $n = 2$ ），PE 也诱发了簇状放电。在假手术对照小鼠中从未观察到簇状放电，即使注射 PE 后也未见簇状放电。PE 诱发的簇群也发生在完整神经元所在之外区域或与具有完整轴突神经元的混合区域。在 PE 诱导簇群的共 360 个神经元的 5 只小鼠中，只有 4 个有簇状放电的神经元被 DiI 标记，表明簇状放电的几乎所有神经元都是受损神经元。DRGs 内注射 PE 也增强簇状放电，表明是局部作用。这种反应比腹腔注射 PE 更加迅速。而且，将神经瘤与 DRG 断开后，PE 诱发的簇状放电仍持续存在，也支持是局部 DRGs 作用。PE 诱发的簇状放电经常发生在较大血管的分支处或附近。分析的 58 个簇状放电中，有 24 个在放电之前检测到异常血管反应，包括血流的突然变化、血管收缩和小血管移位。表明 PE 处理的 DRGs 中微血管动力学和簇状放电启动之间存在强相关性。

神经损伤后肾上腺素敏感性的增加主要由 $\alpha 2$ 受体介导，PE 直接激活感觉神经元不能解释放电的簇状特性。研究者接着用血管紧张素 II（A-II）做进一步检验，以排除 PE 诱发的簇状放电是感觉神经

元的直接激活所导致。A-II 增加了 SNI 鼠的自发痛和簇状放电，但在对照鼠中未见，与 PE 的结果类似。但 A-II 诱导的簇状放电的起始比 PE 诱导的簇状放电慢，与行为学中观察到的对自发痛影响较慢相一致。

4. 阻断 DRG 神经元的 Piezo2 通道可减轻自发痛和减少血管收缩剂诱发的簇状放电

研究者观察机械敏感通道阻断剂 D-GsMTx 4 和 GsMTx 4 对 PE 诱导的簇状放电的影响，来研究对血管运动有监控功能的机械通道的激活情况。DRG 局部注射阻断剂减少了 PE 诱导的簇状放电。由于这些非特异性阻断剂影响几种不同的机械通道，研究者将 Piezo2 作为候选通道进行研究。Piezo2 在 DRG 神经元中高度表达，原位杂交发现在 SNI 小鼠的 DRGs 中，Piezo2 高表达在 Nav1.8⁺ 伤害感受器神经元上。

通过鞘内注射（i.t.）siRNA 敲减腰段 DRGs 中的 Piezo2，可以阻断 PE（i.p.）诱发的自发痛增加和簇状放电。此外，Piezo 2 敲减也降低了自发痛基础值，但对照 siRNA 无此效果，证明 DRGs 是 PE 诱发自发痛和簇状放电增加的主要作用部位。为了敲除 DRG 神经元中的 Piezo2，在出生后第 16 天的 Piezo2-floxp 小鼠后足注射表达 Cre 的腺相关病毒（adeno-associated virus, AAV）或表达红色荧光对照的 AAV，注射 AAV-Cre 小鼠能降低自发痛基础值，并阻断 SNI 小鼠中 PE 诱导的簇状放电的增加。

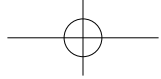
5. 在体机械诱导的肌源性血管反应诱发簇状放电

采用微操技术，将具有钝头的细玻璃管向 DRG 血管局部施加温和压力，通过肌源性反应引发血管运动。这种机械刺激可以触发血管收缩和扩张。SNI 小鼠同侧 L₄ DRG 记录 45 分钟簇状放电后，依次刺激 DRG 中的几个区域，包括有较大血管区域和低倍镜下看不到有大血管的区域。在有较大血管的 DRG 区域，10 只 SNI 小鼠中有 8 只可诱发簇状放电，其总体上具有与自发和 PE 诱发的簇状放电类似的特征。

对侧未损伤的 DRGs 中，机械刺激血管仅诱发极少的簇状放电（9 只小鼠的 34 个刺激中，仅 1 处出现簇状放电）。在正常、未损伤的对照 DRGs（ $n = 8$ ）的相同位置刺激血管，8 只小鼠均未出现任何神经元反应。在远离较大血管的区域中刺激时，从未诱发簇状放电（10 只小鼠的 31 个刺激中，仅有单个神经元放电）。

6. 机械诱导的肌源性血管反应在离体 DRGs 引起簇状放电

在 SNI 小鼠分离的 DRGs 中，可以观察到机



械刺激血管诱发神经元簇状放电,有时也导致毛细血管中的红细胞(red blood cell, RBC)移动到邻近 DRG 神经元附近。在 SNI 小鼠的 7 个 DRGs 中,有 6 个被诱发出簇状放电,簇平均大小为 10.5 个神经元。8 个正常 DRGs 未诱发出簇状放电。

7. 神经损伤导致 DRGs 内周细胞数量增加及其功能变化

激活周细胞导致血管收缩和血流改变。在 SNI 术后 28 天的 DRGs 中,周细胞密度增加。用血小板衍生生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor β , PDGFR β) 抗体鉴定周细胞,用番茄凝集素(Tomato lectin)进行血管可视化,周细胞体呈现“黄色”可以将其与 PDGFR β^+ 神经元信号区分开。此外,在具有周细胞的一些血管中观察到酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)阳性的交感神经纤维,表明交感神经纤维和周细胞之间存在相互作用。

采用离体全 DRG 钙成像技术观察到,与对照小鼠相比, SNI 小鼠的 RBC 运动显著增加和延长。表明 SNI 增强了周细胞活性,可能是由于对血管活性刺激的反应增强,影响了 DRGs 内的微循环动力学。

8. 在体周细胞激活触发感觉神经元簇状放电

术后 28 天的 SNI 小鼠和 Pirt-GCaMP6 正常对照小鼠 L₄ DRG 的体内钙成像检测,观察到 10 mM 的 U46619 在正常对照小鼠未引起簇状放电,而 30 mM 的 U46619 在 7 只正常小鼠中有 3 只引起单个簇状放电,均显著少于 SNI 小鼠。使用 U46619 之前局部给予 D-GsMTx 4 和 GsMTx 4,可阻断簇状放电,并抑制 U46619 触发的新簇状放电,表明周细胞活化诱导的簇状放电是由机械通道介导。

9. 抗 VEGF 单克隆抗体阻断簇状放电和自发痛的发生

免疫染色显示术后 21 天的 SNI 小鼠 DRGs 血管中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)蛋白增加。贝伐单抗是美国 FDA 批准的用于癌症治疗的抗 VEGF 单克隆抗体。在神经损伤后的前 3 周,每周 2 次给予贝伐单抗,可降低 DRGs 内的血管密度和自发痛,效果从术后第 1 周

开始,持续超过 4 周。体内钙成像发现用贝伐单抗处理可显著减少术后 28 天的 SNI 小鼠 DRGs 的簇状放电。但不能排除 VEGF 对感觉神经元的直接兴奋作用。

三、讨论

既往研究表明, DRGs 中空间上聚集的神经元自发、间歇性放电与自发痛之间存在相关性,而这种自发痛依赖于交感神经系统。该研究揭示了交感神经纤维自发放电的爆发、外周神经损伤的 DRGs 内的异常发芽,可能引发血管运动(即血管收缩、舒张和/或局部血压变化引起的血管位移)的发作,激活了附近的 Piezo2⁺ 神经元,导致簇状放电和疼痛。由于血管运动是交感神经纤维放电的“下游”,其他血管收缩剂(如 A-II)引起类似的簇状放电和自发痛。自发放电神经元的空间聚集提供了一种可能的机制,即它们都靠近一个共同的血管区域,且轴突受损。SNI 小鼠可观察到 PE 诱导的簇状放电,在正常 DRGs 中未见。该观察结果可通过以下因素解释: SNI 后感觉神经元的过度兴奋、感觉神经元的发芽使 Piezo2⁺ 纤维与血管接触增多、周围神经损伤后 DRG 血管化增加(或改变)以及通过 $\alpha 1$ 受体激活高反应性周细胞。离体血管机械刺激的反应也表明,响应于体内血管收缩的簇状放电不是由短暂的局部缺氧或低葡萄糖引起的。在 SNI 小鼠中,多达 2/3 的 DRG 神经元轴突损伤,并表现出过度兴奋性。如果血管收缩剂直接激活感觉神经元,将导致整个神经节中单个感觉神经元的随机放电,而不是聚集放电;当阻断机械感受器(包括 Piezo2 通道),由血管收缩剂触发的簇状放电被抑制,因此血管收缩剂在 SNI-DRGs 中诱发的簇状放电,并非是直接激活 DRG 神经元所引起。

综上所述,该研究为血管运动、聚集性放电和神经病理性自发痛之间的因果关系提供了令人信服的证据。

(Xie W, Lückemeyer DD, Qualls KA, *et al.* Vascular motion in the dorsal root ganglion sensed by Piezo2 in sensory neurons triggers episodic pain. *Neuron*, 2025, 113(11):1774-1788.e5. 南通大学戈家宜,张子昂译,刘兴君校)