·小 专 论·

异位电活动的特点及其与慢性神经病理性痛的关系*

孙 钱 涂会引 万 有△(北京大学神经科学研究所、神经生物学系,教育部神经科学重点实验室,北京 100083)

摘要 外周神经损伤后,受累的背根神经节(DRG)神经元及损伤部位发放大量异位放电,这种放电被认为是慢性神经病理性痛发生发展的基础之一,但近期这一理论受到越来越多实验的挑战。本文以脊神经结扎(SNL)模型为例,从三个方面就异位放电的特点及其与慢性神经病理性痛的关系进行论述:首先介绍异位放电的特点;然后根据现有的实验资料分析异位放电发生的可能分子机制,着重讨论电压依赖性钠离子通道在异位放电中的作用;最后,从正反两方面分析了损伤的外周神经产生的异位放电在慢性神经病理性痛发生发展过程中的作用。

关键词 慢性神经病理性痛;异位放电;背根神经节;脊神经结扎;钠离子通道

中图分类号 Q424

外周神经损伤引起的慢性神经病理性痛是一种严重困扰人类的病症,至今仍缺乏有效的治疗手段,其机制也未能完全阐明。尽管如此,有一个因素一直被公认为是慢性神经病理性痛的发病基础之一,那就是"异位放电"(ectopic discharges)。所谓异位放电就是在一些本不该产生自发电活动的部位产生的自发放电,比如背根神经节(dorsal root ganglion, DRG),外周神经的轴突等。有关异位放电的发生机制以及它在疼痛发生中的病理意义的研究一直是慢性痛研究领域的一个热点,但现在关于它在疼痛中的作用也受到了质疑(Gold. 2000)。为了使分析尽量简单,本文将主要以腰 5 或腰 5/6 脊神经结扎(spinal nerve ligation, SNL)模型为例进行讨论,不同神经病理性痛模型的发病机制不完全相同,因而其中的理论有可能不适合其它慢性模型。可能涉及的其它动物模型会在文中注明,否则就是指 SNL 模型。本文将按下面三个主题分别进行论述:异位放电的特点、异位放电产生的可能分子机制和异位放电与慢性神经病理性痛的关系。

一、异位放电的特点

(一) 产生部位——DRG 和损伤部位 最初,Wall 等(1974)利用分离坐骨神经单纤维细胞外记录的方法,发现在神经瘤(neuroma)模型大鼠坐骨神经的近心端上可以记录到电活动,当时人们即推测这种放电极有可能就是神经病理性痛的病理基础。随后的研究发现异位放电还源于另一个重要的部位——DRG (Wall 等. 1983),在正常情况下 DRG 神经元的主要功能是对其支配的神经纤维起营养和支持作用,而很少产生自发放电,但是当外周神经受损之后,它可产生大量的自发电活动。有趣的是,神经损伤部位不同可以导致放电的起源部位也存在很大差异[1],比如在神经瘤模型中较多的异位放电来自神经瘤,而脊神经结扎后,大部分异位放电却来自 DRG 神经元而不是损伤神经的残端。

(二) 异位放电的类型 绝大部分异位放电可以归入下述三类(图 1)。(1) 紧张型(也可称为规律型)(tonic or regular)放电:其特点是相邻两次放电的时间间隔(interspike interval, ISI)基本相等。多见于 SNL[1]及坐骨神经慢性束缚(chronic constriction injury, CCI)模型的早期(Tal 等. 1996);(2) 簇状放电(bursting):其特点是快速放电之后会有一段静息期,放电期(intraburst)频率较快,接近于紧张型放电的频率。多见于 SNL 模型的早期[1],以及 CCI 模型(Tal 等. 1996);(3) 不规律型放电(irregular):其特点是 ISI 变化较大,频率最低。神经瘤

国家自然科学基金(30330230,30240059,30170319)、国家科技部脑功能和脑重大疾病的基础研究(G1999054002)、教育部"跨世纪优秀人才培养计划"、北京大学"985"工程和教育部"211"工程 II 期资助课题。

△通讯作者

© 1995-2004 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd. All rights reserved.

模型的 DRG 神经元放电以这一类型为主(Wall 等. 1983) ,SNL 模型的后期主要也是这类放电[1]。

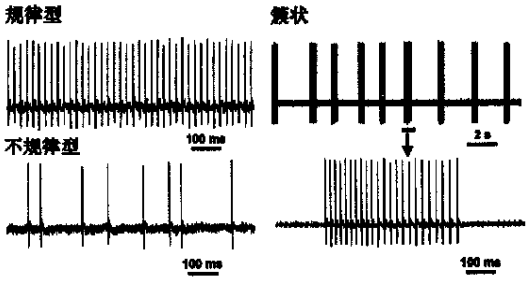

图 1　三种不同类型的异位放电

(三) 放电的时程变化　外周神经损伤之后随着时间的推移异位放电会发生很大的变化,这种变化主要表现为三个方面的改变:放电类型、放电纤维的比例和平均频率以及放电纤维的类型。(1) 放电类型:神经损伤的早期(2 天以内) 以簇状放电和紧张型放电为主,随后逐渐转变以不规律型放电占绝对多数,我们在造模后 14 天只记录到不规律型放电;(2) 放电纤维的比例和平均频率:总体而言,在神经损伤之后随着时间的推移无论是放电纤维的比例还是平均频率都是逐渐降低的;(3) 放电纤维的类型:在 SNL 模型中,随着时间的延长异位放电纤维的类型有向粗纤维偏移的趋势[2]。而在神经瘤模型中,随着时间的推移异位放电的纤维类型逐渐转向 C 纤维。

二、异位放电产生可能的分子机制 ——以 SNL 模型为例

神经损伤后 DRG 神经元的变化过于复杂,成百上千种分子发生了变化,所以至今人们仍然不清楚究竟是哪种或者哪几种离子通道起着主导作用。以下所述是根据相关的文献以及我们自己的实验结果做出的推测。

(一) 电压依赖性钠离子通道(voltage-gated sodium channels, VGSCs)　在正常的 DRG 神经元上就存在大量钠通道,为何在神经损伤之前绝大部分神经元没有自发放电,而神经损伤之后却出现自发放电(异位放电) ? 可能的解释是:钠离子通道发生了变化,或者是数量上,或者是结构功能上。

在试图解释这种变化之前,先简单回顾一下钠离子通道的特点,迄今已有至少 9 种钠通道亚型被成功克隆,而其中表达在 DRG 神经元上的至少有 6 种[3]。目前仍缺乏各种钠通道亚型的特异性阻断剂,只能依靠河豚毒素(tetrodotoxin, TTX) 将其粗略划分为 TTX 敏感型(TTX-sensitive, TTX-s) 和 TTX 抵抗型(TTX-resistant, TTX-r) 。根据文献以及我们的实验,我们认为在这已知的 6 种表达在 DRG 神经元上的钠通道中,$Na_v1.3$ 通道(属于 TTX-s 型) 可能在异位放电的产生中起着主导作用,理由如下:(1) 从 DRG 神经元上钠通道的 mRNA 和蛋白的变化看,在外周神经损伤后,DRG 神经元的 $Na_v1.3$ 通道的 mRNA 和蛋白明显上调[3],而所有 TTX-r 型钠通道($Na_v1.8$ 和 $Na_v1.9$) 均明显下调[3],另外几种 TTX-s 型钠通道除了 Nax 外也均下调(Kim 等. 2001) 。(2) 从各种钠通道亚型在 DRG 神经元中的分布看,TTX-r 型钠通道主要分布于中、小细胞,异位放电则主要源于大、中型细胞。与 TTX-r 钠通道不同,TTX-s 型钠通道在几乎所有类型 DRG 神经元上均有表达,而且神经损伤后,$Na_v1.3$ 通道在大、中细胞的上调尤为明显(Kim 等. 2001) ,这与产生异位放电的细胞类型相吻合,这一现象使我们不禁推测可能正是 $Na_v1.3$ 通道的上调增加了细胞的兴奋性而产生异位放电。此外膜片钳实验也显示脊神经结扎后损伤的 DRG 神经元的 TTX-s 电流明显上调而 TTX-r 电流则减小[4],进一步提示 TTX-r 不太可能在异位放电中起主要作用。(3) 从异位放电与钠离子通道的时程变化看:脊神经损伤后,异位放电出现的时间在约 12～16 小时后[1],$Na_v1.3$ 通道也在这一时间段开始上调(Kim 等. 2001) ,强烈提示此时 $Na_v1.3$ 通道的上调可能是导致异位放电的产生的原因。而上面提到的 Nax 的上调则发生在 5 天以后,这很难解释异位放电的变化规律,因为在 SNL 模型中神经损伤后的第一天异位放电是最强烈的。(4) $Na_v1.3$ 通道自身的生物物理特性:$Na_v1.3$ 通道具有快速激活,快速失活的特点[3],这一生物物理特性使其能够胜任神经损伤初期的高频异位放电。

综上所述,我们推测:神经损伤后 $Na_v1.3$ 通道的上调可能是 DRG 神经元高兴奋性的主导因素,但并不排除其它各型钠通道在其中的作用。此外,值得指出的是前面提到的钠通道的变化主要是 mRNA 或蛋白水平,而对于任何一种钠通道亚型的功能变化现在并不清楚,想阐明究竟是哪种亚型在异位放电中的作用,也许只有等到它们各自的特异性阻断剂被发现才有可能。

(二) 电压依赖性钾离子通道(voltage-gated potassium channels, VGPCs)　钾通道的生理作用在于使动作电位复极化、维持细胞膜的静息电位以及决定神经元的放电频率等等,实验表明,抑制钾通道可使异位放电频率增加,提示钾通道参与异位放电

© 1995-2004 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd.　All rights reserved.

的形成。Everill 及其同事(1999)发现坐骨神经损伤后,受损的大 DRG 神经元(直径约 46～50 μm)的钾电流明显下调,其中 I_A 降低 60 %,I_K 降低 65 %,I_D 无明显变化。钾通道的下调可能使细胞的兴奋性上升而产生异位放电。此外,有研究表明,外周神经损伤导致多种钾通道基因和蛋白也明显下调。不过这些实验都是基于坐骨神经损伤模型,SNL 模型中受损 DRG 神经元钾通道的变化还未见报道。

(三) 其它离子通道　如超极化激活环核苷酸门控的离子通道(hyperpolarization-activated, cyclic nucleotide gated cation channels, HCN channels) (Chaplan 等. 2003)、电压依赖性钙通道(voltage-gated calcium channels, VGCCs)等也参与异位放电的形成。

以上所述,或许我们还有疑问,究竟是谁在异位放电中起主导作用呢?为何那么多离子通道阻断剂都会对它有影响呢?事实上,每一次异位放电就是一个动作电位的爆发,任何影响动作电位甚至改变细胞膜电位的因素都可能会对它产生影响,所以我们不难理解为何如此之多的因素[各种离子通道阻断剂或激动剂(liu 等. 2001)、肾上腺素或去甲肾上腺素(liu 等. 1999)、多种炎性因子如 TNF、甚至环境温度等等]都可以影响异位放电。

三、异位放电与慢性神经病理性痛的关系 ——仍以 SNL 模型为例

到此为止,有一个根本的问题尚未回答:我们为何关注异位放电?目前大多数研究者接受这样的观点:来自损伤部位和(或)DRG 神经元的异位放电不断轰击脊髓,在神经病理性痛的产生和维持中起着重要作用。然而,近来这一假说已经受到越来越多实验直接或间接的挑战,研究人员开始怀疑异位放电在疼痛中的作用是否被高估了(Gold. 2000)。基于我们自己的实验以及其它相关的研究,我们认为,在慢性神经病理性痛的产生、发展和维持的过程中,异位放电仅仅是众多因素中的一个,而且极有可能在慢性神经病理性痛的后期并不起主要作用。值得强调的是我们提出这一假设的所有实验基础都基于 SNL 模型,因而不能简单地推广至其它慢性神经病理性痛模型。

(一) 异位放电参与神经病理性痛的相关证据　直接的证据来自于 Chung 的实验室(Sheen 等. 1993, Yoon 等. 1996):在造模之前或造模之后,把受损神经的背根剪断(rhizotomy)之后(相当于阻断了异位放电),动物的自发痛以及触诱发痛和痛超敏均明显减轻,证实了异位放电导致慢性神经病理性痛的发生。

Ossipov 等(1999)用辣椒素(capsaicin)破坏细纤维之后尽管热痛敏明显减弱,但却不能消除 SNL 模型大鼠的触诱发痛行为。这一现象提示触诱发痛主要由粗纤维而非细纤维介导,由于异位放电主要来自于大、中神经元,因而人们推测可能异位放电就是触诱发痛的元凶。2000 年,Pain 杂志上连续发表了三篇研究论文[1,2,5],提示来自损伤神经的异位放电与痛行为存在很强的相关性。首先,神经损伤后异位放电出现的时间与机械痛敏出现的时间非常吻合,均在术后 16～20 小时左右;其次,神经损伤后异位放电的频率以及放电纤维的比例均随着时间的延长逐渐降低,这与动物的痛行为的变化存在较好的相关性;再次,大鼠的痛行为与异位电活动也存在着一定的相关性,越痛敏的大鼠异位放电越强。此外,人们还发现抑制异位放电能够减轻动物的痛行为,但值得注意的是,在这些实验中,要么是疼痛虽然被抑制但往往只是部分抑制,要么是不能排除这种抑制异位放电的药物(如 GDNF[6]以及利多卡因)有可能通过其它途径产生镇痛作用。

(二) 异位放电不参与神经病理性痛的相关证据　这方面的证据相对较少,仅有两篇文献认为损伤神经的异位放电不是 SNL 模型大鼠痛行为的必要条件[7,8]。

两篇文献的实验与 Chung 的实验类似,在造模之前或之后切断 L5 背根从而阻断外周异位放电的传入,然后观察动物行为的变化。令人吃惊的是,与 Chung 实验室的结果恰恰相反,L5 背根切断不能逆转动物的痛行为,更有趣的是,作者发现切断 L5 背根本身即可导致短暂的或者长期的痛行为。这一结果提示 SNL 模型中的痛行为不是由损伤神经的异位放电产生的,那是由什么引起的呢?作者提出了自己的假说(见下述)。

(三) 异位放电之外的可能机制　这里不想简单地罗列神经病理性痛的各种假说,而是重点介绍那些与异位放电相关并且对它补充的一些机制。

1. 相邻于损伤 DRG (L5 或 L5/6)的 L4 可能在神经病理性痛中起着重要作用:自 SNL 模型于 1992 年建立以来,人们关注的焦点一直集中在损伤的 DRG 即 L5 或 L6,而新近的研究表明,未受损的 L4 神经元以及它支配的外周纤维发生了很大的变化[9],这些变化可能是由于 L5 DRG 支配的外周纤维发生华勒变性(Wallerian degeneration)后释放多种炎性因子引起[9]。L4 神经元和未受损外周纤维的

© 1995-2004 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd. All rights reserved.

变化表现在下面几个方面:首先未受损 C 纤维的自发放电比例与对照相比明显增加,由于 C 纤维是伤害性传入纤维,人们很自然地就推测这可能是引起疼痛的基础(Ali 等. 1999)。其次,Lai 等(2002)将 $Na_v1.8$ 反义核苷酸注入 SNL 大鼠的蛛网膜下腔,发现可以明显减轻动物的触诱发痛和痛敏行为。更深入的研究发现,$Na_v1.8$ 在外周纤维明显上调,并且用电生理方法证明这些上调的离子通道是有功能意义的[4]。这一结果提示 $Na_v1.8$ 通道的重新分布可能是神经病理性痛的基础之一,并且解释了 $Na_v1.8$ 反义核苷酸注入 SNL 大鼠的蛛网膜下腔的镇痛机制,即可能是通过抑制外周纤维上调的 $Na_v1.8$ 起作用。同时它还可以部分解释前面提到的未受损 C 纤维的自发放电现象。再次,Ma 等(2003)的研究提示,L5 脊神经结扎后相邻的 L4 神经元也发生了一系列的变化,比如细胞的兴奋性上升,自发放电增加等等,这些变化可能参与了疼痛的产生和维持。

2. 下行易化系统在慢性神经病理性痛中的作用:Porreca 等的一系列研究证实下行易化系统的激活在慢性神经病理性痛的发生发展过程中起着重要作用,以 SNL 作为神经病理性痛模型,将利多卡因(lidocaine)注入延髓头端腹内侧核(RVM)几乎可以完全逆转动物的痛行为。进一步的研究证实,RVM 区局部注射胆囊收缩素(CCK)受体的拮抗剂或破坏 RVM 中表达 μ 受体的细胞同样可以翻转动物的痛行为[10]。更有趣的是,如果这一系列操作在术后 3 天进行不能翻转痛行为,而在 6 天以后则可以翻转疼痛,提示下行易化系统可能在 SNL 大鼠疼痛发生的早期不起主要作用,但对于晚期疼痛的维持则有重要意义[10]。此外,毁损痛觉的下行调制通路背外侧束(dorsolateral funiculus, DLF)同样也可翻转动物的痛行为,更进一步证实激活的下行易化系统在神经病理性痛的发生发展中起着重要作用。

3. 其他:越来越多的证据表明,外周神经损伤后脊髓中激活的胶质细胞在慢性神经病理性痛发生发展过程中起着极为重要的作用。此外,脊髓背角的长时程增强(long-term potentiation, LTP)现象可能参与慢性神经病理性痛的维持。

参 考 文 献

1 Liu CN, Wall PD, Ben Dor E, et al. Tactile allodynia in the absence of C-fiber activation: altered firing properties of DRG neurons following spinal nerve injury. Pain, 2000, 85:503～521.

2 Han HC, Lee DH, Chung JM. Characteristics of ectopic discharges in a rat neuropathic pain model. Pain, 2000, 84:253～261.

3 Waxman SG, Dib-Hajj S, Cummins TR, et al. Sodium channels and pain. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96:7635～7639.

4 Gold MS, Weinreich D, Kim CS, et al. Redistribution of Na(V)1.8 in uninjured axons enables neuropathic pain. J Neurosci, 2003, 23:158～166.

5 Liu X, Eschenfelder S, Blenk KH, et al. Spontaneous activity of axotomized afferent neurons after L5 spinal nerve injury in rats. Pain, 2000, 84:309～318.

6 Boucher TJ, Okuse K, Bennett DL, et al. Potent analgesic effects of GDNF in neuropathic pain states. Science, 2000, 290:124～127.

7 Li Y, Dorsi MJ, Meyer RA, et al. Mechanical hyperalgesia after an L5 spinal nerve lesion in the rat is not dependent on input from injured nerve fibers. Pain, 2000, 85:493～502.

8 Eschenfelder S, Habler HJ, Janig W. Dorsal root section elicits signs of neuropathic pain rather than reversing them in rats with L5 spinal nerve injury. Pain, 2000, 87:213～219.

9 Wu G, Ringkamp M, Hartke TV, et al. Early onset of spontaneous activity in uninjured C-fiber nociceptors after injury to neighboring nerve fibers. J Neurosci, 2001, 21:RC140.

10 Burgess SE, Gardell LR, Ossipov MH, et al. Time-dependent descending facilitation from the rostral ventromedial medulla maintains, but does not initiate, neuropathic pain. J Neurosci, 2002, 22:5129～5136.

© 1995-2004 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd. All rights reserved.