

## • 诺贝尔奖工作评述 •

# 从 2022 年诺贝尔奖重新审视 $\text{Na}_V1.7$ 在疼痛中的作用\*

王铮锐<sup>1, #</sup> 李 畅<sup>1, #</sup> 张 瑛<sup>2,  $\Delta$</sup> <sup>1</sup> 北京大学医学部 2020 级临床医学专业本科生;<sup>2</sup> 北京大学基础医学院神经生物学系/神经科学研究所, 神经科学教育部/卫健委重点实验室, 北京 100191)

**摘要** 2022 年诺贝尔生理学或医学奖获得者——瑞典科学家斯万特·帕博(Svante Pääbo), 在他 2020 年发表的一项研究中揭示, 与现代人的蛋白质序列相比, 已灭绝人种——尼安德特人的电压门控钠通道  $\text{Na}_V1.7$  蛋白存在三个突变位点, 导致通道活性发生显著改变。既往大量的遗传学证据表明,  $\text{Na}_V1.7$  与疼痛感知密切相关。本文从帕博团队  $\text{Na}_V1.7$  的相关研究工作出发, 进一步对  $\text{Na}_V1.7$  的表达模式、电生理学特性、已鉴定的与多种疼痛疾病相关的  $\text{Na}_V1.7$  蛋白突变位点, 以及靶向  $\text{Na}_V1.7$  的镇痛药物研发(天然毒素、小分子抑制剂和单克隆抗体)进行简要综述。

**关键词** 诺贝尔奖; 电压门控钠通道; 氨基酸突变; 外周感觉神经元; 镇痛药物

**中图分类号** R339

**Revisiting the Role of  $\text{Na}_V1.7$  in Pain From 2022 Nobel Prize in Physiology or Medicine\*** WANG Zheng-Rui<sup>1, #</sup>, LI Chang<sup>1, #</sup>, ZHANG Ying<sup>2,  $\Delta$</sup>  (<sup>1</sup>Undergraduates of clinical medicine enrolled in 2020, Peking University Health Science Center; <sup>2</sup>Department of Neurobiology, School of Basic Medical Sciences and Neuroscience Research Institute, Key Lab for Neuroscience, Ministry of Education of China and National Health Commission, Beijing 100191, China)

**Abstract** In 2022, the Swedish scientist Svante Pääbo was awarded the Nobel Prize in Physiology or Medicine, in whose study published in 2020, 3 mutations were discovered to have existed in the sequence of the voltage-gated sodium channel  $\text{Na}_V1.7$  in the extinct Neanderthals compared to that in modern humans, which led to remarkable changes of the channel activity. In previous studies, large amounts of genetic evidence have indicated that  $\text{Na}_V1.7$  is closely related to pain perception. In this review, drawing from the work of Pääbo, we give a brief introduction to the expression pattern and electrophysiological properties of  $\text{Na}_V1.7$ , the mutation sites in  $\text{Na}_V1.7$  associated with multiple pain disorders, and the drug development targeting  $\text{Na}_V1.7$ , including natural toxins, small molecule inhibitors and monoclonal antibodies.

**Key words** Nobel Prize; voltage-gated sodium channels; mutation of amino acids; peripheral sensory neurons; analgesics

**引用格式:**王铮锐,李畅,张瑛.从 2022 年诺贝尔奖重新审视  $\text{Na}_V1.7$  在疼痛中的作用.生理科学进展,2022,53(6):473~477  
WANG Zheng-Rui, LI Chang, ZHANG Ying. Revisiting the Role of  $\text{Na}_V1.7$  in Pain From 2022 Nobel Prize in Physiology or Medicine. Progress in Physiological Sciences, 2022, 53(6): 473~477, DOI: 10.20059/j.cnki.pps.2022.11.1109

收稿日期:2022-10-17;修回日期:2022-10-20;接受日期:2022-10-20

\* 国家自然科学基金(32271190;31972905;31771295)资助课题

# 共同第一作者

$\Delta$  通信作者 zhangyingnri@bjmu.edu.cn

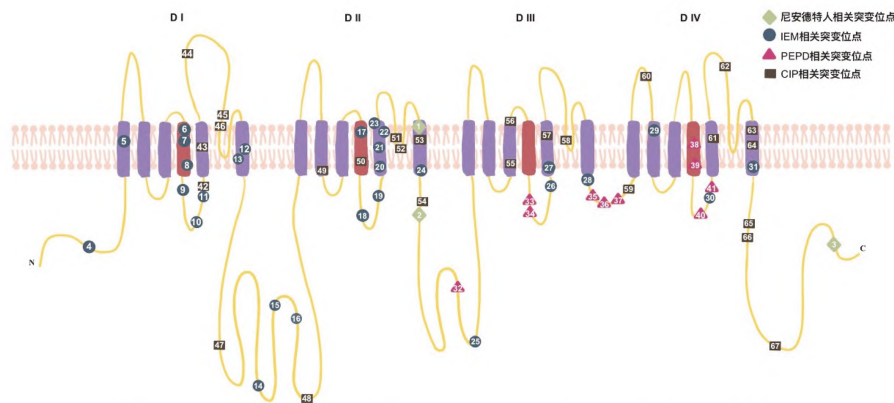
2022年10月3日,诺贝尔生理学或医学奖获奖名单揭晓,瑞典科学家斯万特·帕博(Svante Pääbo)因对已灭绝人种的基因组和人类进化的发现而获此殊荣。他在2020年发表在Current Biology的论文中提到,与现代人相比,尼安德特人(Neanderthals)痛觉相关通道蛋白 $Na_v1.7$ 存在显著突变<sup>[1]</sup>。因此, $Na_v1.7$ 这种高表达在外周感觉神经元,尤其是痛觉感受神经元中的电压门控钠离子通道(voltage-gated sodium channel, VGSC)再次走入公众视野,引发人们的思考。本文将从诺贝尔奖相关成果出发,分析讨论 $Na_v1.7$ 在疼痛中的作用。

### 一、诺贝尔奖成果:尼安德特人存在 $Na_v1.7$ 突变

尼安德特人属于晚期智人,主要居住在欧洲及西亚。在近50万年的进化过程中,他们几乎与现代人类的祖先没有接触,然而在他们生存的历史后期,尼安德特人与现代人类的祖先发生接触,这使得许多尼安德特人的变异基因在现代人类中得到遗传。通过对这些变异基因的功能研究,可以使我们对正常体的基因功能及其相关疾病的发生机制有更加

深入的认识,同时也可以为人类进化史的研究提供辅助依据。

帕博团队发现,与现代人相比,尼安德特人 $Na_v1.7$ 的编码基因 $SCN9A$ 存在显著突变,由此导致 $Na_v1.7$ 蛋白产生三个氨基酸位点突变——M932L、V991L和D1908G。其中,前者位于胞外近跨膜区,后两者位于胞内区(图1)。为了研究上述突变的生物学效应,研究人员将含有和不含上述突变的两种 $SCN9A$ 及其辅助亚基 $SCN3B$ 的mRNA注射至非洲爪蟾卵母细胞中。实验结果显示,突变体的电流失活曲线相较于非突变体,半数失活电压(half-inactivation potential,  $V_h$ )向右偏移6.1 mV。类似地,在哺乳动物细胞——人胚胎肾293细胞的研究显示,突变体蛋白 $V_h$ 向右偏移11.7 mV。进一步通过计算机模拟,作者证明这种偏移可导致生理条件下,更多的 $Na_v1.7$ 通道处于可激活状态,或激活后保持更长时间的开放状态,同时降低动作电位阈值。这就提示与现代人相比,尼安德特人的 $Na_v1.7$ 通道功能增强,痛觉感受神经元更容易兴奋,因此对疼痛可能更加敏感。



序号	突变	序号	突变	序号	突变	序号	突变
1	M932L	18	I848T	35	I1461T	52	W897X
2	V991L	19	G856D	36	F1462V	53	E919X
3	D1908G	20	L858H/F	37	T1464I	54	E970X
4	Q10R/K	21	A863P	38	G1607R	55	F1200LfsX33
5	I136V	22	V872G	39	L1612P	56	A1236E
6	S211P	23	Q875E	40	M1627K	57	L1331F
7	F216S	24	L955Del	41	A1632E	58	R1370_L1374del
8	I228M	25	R1150W	42	F258fs	59	R1488X
9	I234T	26	P1308L	43	R277X	60	I1493SfsX8
10	S241T	27	V1316A	44	Y328X	61	K1659X
11	I245V	28	F1449V	45	G375Afs	62	W1689X
12	N395K	29	W1538R	46	K376Q	63	C1719R
13	V400M	30	A1632E/G/T	47	S459X	64	G1725R
14	S449N	31	A1746G	48	R523X	65	E1773fs
15	P610T	32	R996C	49	I767X	66	W1775R
16	G616R	33	V1298F/D	50	R830X	67	L1831X
17	L823R	34	V1299F	51	R896Q		

图1 从古人类基因组推测的和从现代人类疼痛相关疾病中发现的 $Na_v1.7$ 蛋白突变位点示意图

功能获得型(gain of function)突变包括:尼安德特人相关突变位点1~3号<sup>[1]</sup>,遗传性红斑肢痛症(inherited erythromelgia, IEM)相关突变4~31号,阵发性极度疼痛障碍(paroxysmal extreme pain disorder, PEPD)相关突变32~41号,主要位于结构域III~IV;功能缺失型(loss of function)突变包括:先天性无痛症(congenital Insensitivity to Pain, CIP)相关突变42~67号。表中X表示任意氨基酸,fs表示移码突变(frameshift mutation)

那么这三个突变位点中,哪个或哪些位点突变对通道活性的影响最大?不同位点之间是否存在协同效应?作者进一步进行了单一或组合位点突变的研究。结果发现,单一突变对通道活性并没有显著影响,而在两两组合突变的研究中,作者发现两种胞内区突变体 V991L 与 D1908G 的组合,可导致  $V_h$  发生如上所述的偏移现象。因此, V991L 和 D1908G 同时存在是引发相关效应的关键因素, M932L 的贡献并不显著。

之后,作者通过对全球不同地区基因组的研究发现,上述突变主要出现在亚洲和美洲人群中,并且 M932L 和 V991L 突变之间存在遗传连锁不平衡现象,其发生概率在亚洲和美洲人当中分别为 0.9%~7.8% 和 0.5%~23.8%。D1908G 突变在上述两大洲人群的发生概率分别为 0%~17.1% 和 0.5%~52.9%。作者进一步通过进化过程分析,推测这些变异是通过尼安德特人传入现代人类的,而非从两个群体的共同祖先遗传而来。

最后,这三种突变的传入是否对现代人类的疼痛感知产生影响呢?作者对英国生物样本库(UK Biobank, UKBB)的 362,944 个样本进行了观察。结果没有发现纯合突变的存在,但其中 1,327 名个体携带有三种氨基酸的杂合突变,在行为表型上,他们比仅携带 1~2 种突变或非携带者的疼痛敏感性更强。这就意味着尼安德特人携带的三突变  $Na_v1.7$  通道可能会使他们的痛觉感受神经元更加敏感,因此个体对疼痛刺激的敏感性也更高。但由于痛觉信息编码和处理受到脊髓和大脑神经元活性的显著影响,也不能由此判定尼安德特人一定比现代人经受了更多的疼痛。

## 二、既往研究: $Na_v1.7$ 在疼痛中的作用

(一)什么是  $Na_v1.7$ ? 电压门控钠离子通道 VGSC 是一类表达在细胞膜上的多亚基跨膜蛋白,主要负责  $Na^+$  的跨膜内向运输。由于  $Na^+$  跨膜流动产生的去极化电位变化是引发动作电位的基础,因此这一类蛋白的活性对细胞兴奋性有着显著影响。通常情况下, VGSC 由 1 个  $\alpha$  亚基和 1 或 2 个  $\beta$  亚基组成。目前已经发现十种  $\alpha$  亚基( $Na_v1.1$ ~ $1.9$  和  $Na_vX$ ), 本文介绍的  $Na_v1.7$  就属于其中一种。由于其产生的  $Na^+$  电流可以被河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)所阻断,因此在分类上属于 TTX 敏感型 VGSC。

$Na_v1.7$  包含 4 个同源结构域 I、II、III 和 IV, 每个结构域包含六个跨膜螺旋片段(S1~S6), 其中 S1

~S4 构成电压感应模块(voltage sensing module, VSM), S5、S6 和胞外连接孔环组成孔道区模块(pore module, PM)。四个同源结构域中的相关位点包括结构域 I 中的天门冬氨酸(D)、结构域 II 中的谷氨酸(E)、结构域 III 中的赖氨酸(K)和结构域 IV 中的丙氨酸(A)(合称为 DEKA), 共同组成选择性过滤器(selective filter, SF), 与水合  $Na^+$  结合, 从而形成对离子的选择性通透<sup>[2]</sup>。

### (二) $Na_v1.7$ 在疼痛中的作用

1.  $Na_v1.7$  的表达模式和电生理学特性:  $Na_v1.7$  通道主要表达在外周感觉神经元聚集分布的部位——背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)和三叉神经节(trigeminal ganglion, TG)中, 在交感神经节中也有分布。细胞亚型上, 虽然  $Na_v1.7$  在中/大直径感觉神经元(负责非伤害性机械感觉)中也有表达, 但约 85% 都表达在介导伤害性感受的小直径神经元中<sup>[3]</sup>, 并在外周感觉神经末梢的终端有富集。此外,  $Na_v1.7$  的分布具有种属差异性, 人  $Na_v1.7$  分布的组织特异性高, 但小鼠  $Na_v1.7$  除在外周感觉神经元中分布外, 在垂体、肾上腺和部分脑区也有分布<sup>[4]</sup>。

电生理学上,  $Na_v1.7$  具有缓慢关闭态失活的特点, 这就使得它在缓慢的、阈下去极化刺激作用下不太可能失活。因此, 当外周感觉神经纤维受到伤害性刺激作用时, 由  $Na_v1.7$  通道激活产生的斜坡电流(ramp current), 可以形成对发生器电位的放大效应, 促进动作电位的产生<sup>[5]</sup>。因此, 一般认为  $Na_v1.7$  激活, 降低神经元的动作电位发放阈值, 促进动作电位发放, 从而增强感觉神经元对伤害性刺激的敏感性。

2.  $Na_v1.7$  突变与遗传性疼痛疾病:  $Na_v1.7$  是一种典型的、从临床疾病研究中发现的疼痛相关基因, 其突变可引起痛觉感知的显著异常。我国杨勇等首次证明,  $SCN9A$  基因功能获得性突变是红斑肢痛症(inherited erythromelalgia, IEM)的发病原因<sup>[6]</sup>。之后的研究陆续表明, 阵发性极度疼痛障碍(paroxysmal extreme pain disorder, PEPD)、先天性无痛症(congenital insensitivity to pain, CIP)等多种疼痛疾病与  $SCN9A$  基因突变有关<sup>[7~9]</sup>。目前已知的与这些疾病相关的  $\alpha$  亚基突变点位共计 64 个(图 1, 4~67 号突变)。  $SCN9A$  基因敲除小鼠表现出 CIP 类似的表型<sup>[10]</sup>, 但部位特异性基因敲除研究发现, 除外周感觉神经元外, 交感神经元表达的  $Na_v1.7$  对痛觉调控的贡献不可忽视<sup>[11]</sup>。

(三)靶向  $Na_v1.7$  的镇痛药物研发 遗传学研究的发现,引发了人们对  $Na_v1.7$  在慢性炎性痛、神经病理痛等病理性疼痛模型中的作用及其机制的广泛研究,并将其作为镇痛或麻醉药物研发的重要靶点。尽管一些非选择性 VGSC 阻断药物,如利多卡因和卡马西平也可以抑制  $Na_v1.7$ ,但是它们对循环系统和神经系统的副作用不可忽视,因此具有亚型特异性的 VGSC 阻断剂的研发具有重要意义。目前,针对该通道的特异性药物主要包括天然毒素、小分子抑制剂和单克隆抗体。

1. 天然毒素:TTX 和石房蛤毒素(saxitoxin, STX)通过与  $Na_v1.7$  通道孔区的胞外面结合,阻塞孔区,从而阻断通道功能。另外一些毒素,如分离自蓟马狼蛛的 Protoxin II(ProTx-II)和分离自虎纹捕鸟蛛的 Huwentoxin IV(HWTX-IV),被称为门控调节毒素(gate modifier toxin, GMT),通过变构效应发挥对  $Na_v1.7$  的选择性抑制作用<sup>[12,13]</sup>。颜宁团队的结构解析表明,ProTx-II 和 HWTX-IV 分别与  $Na_v1.7$  结构域 II、IV 和结构域 II 的电压感受模块结合,引起结构域 IV 的 S6 发生从  $\alpha \rightarrow \pi$  螺旋的转变,孔道区缩窄,从而实现了对通道功能的抑制<sup>[14,15]</sup>。我国科学家近年还发现蜈蚣毒素  $\mu$ -SLPTX-Ssm6a 也可选择性抑制  $Na_v1.7$  通道<sup>[16]</sup>。

2. 小分子抑制剂:目前主流的  $Na_v1.7$  小分子抑制剂都是针对其孔道区的,但研发困境在于不同 VGSC 的孔道区 S5 和 S6 结构都高度相似,因此导致这类药物的特异性不够强,未来研发可靶向 VGSC 的其他部位。比如,芳基磺酰胺类化合物 PF-05089771 和 PF-05198007 可特异性地与结构域 IV 中的电压感受模块结合,抑制通道功能<sup>[17,18]</sup>。此外,植物类天然药物——异黄酮类化合物 3'-O-甲基香豌豆苷元,可选择性抑制  $Na_v1.7$ ,并缓解组胺依赖性瘙痒<sup>[19]</sup>。

3. 单克隆抗体:利用抗体特异性阻断  $Na_v1.7$  也是一种有效方法。有研究报道,已开发出可以与  $Na_v1.7$  结构域 II 电压感应模块相结合的单克隆抗体——SVmab<sup>[20]</sup>。它不仅以高效阻断外源转染或内源表达的  $Na_v1.7$  通道电流,还可以缓解化疗药物紫杉醇诱导的机械痛敏行为。

此外,还有一些新型  $Na_v1.7$  通道阻断剂被研发。临床研究表明 XEN402 可有效缓解遗传性 IEM 病人的疼痛症状<sup>[21]</sup>。2-氨基嘧啶磺酰胺也被证明可特异阻断  $Na_v1.7$  通道,该药物可显著缓解小鼠组胺依赖性瘙痒、辣椒素注射或晒伤模型诱发

的痛行为反应<sup>[22]</sup>。

### 三、总结

帕博团队关于尼安德特人 *SCN9A* 基因的研究,从进化角度解释了人群中 *SCN9A* 基因多样性的来源,同时其对于 UKBB 样本库的研究也为相关疼痛疾病机制的研究提供了进一步依据。但对于该研究发现的通道蛋白的两个突变位点——V991L 和 D1908G 之间是否存在协同作用,有待进一步的研究。与传统观点不同,最新研究发现,特异性敲除小鼠感觉神经元中的 *SCN9A* 基因,可以阿片受体依赖的方式抑制外周伤害性传入纤维向脊髓背角的信息传递<sup>[23]</sup>,从而减轻疼痛感知,由此提示感觉神经元中枢端的  $Na_v1.7$  在痛觉传递中发挥关键作用。不论  $Na_v1.7$  通道通过外周(感觉神经元或交感神经元)或中枢机制参与痛觉调控,高选择性、高效  $Na_v1.7$  通道拮抗剂,包括静息态或激活态抑制、不依赖膜电位的完全阻断以及增加药物对神经束膜和脊髓的穿透性等,都是未来  $Na_v1.7$  相关镇痛药物的研发方向。

### 参 考 文 献

- 1 Zeberg H, Dannemann M, Sahlholm M, et al. A Neanderthal sodium channel increases pain sensitivity in present-day humans. *Curr Biol*, 2020, 30 : 3465~3469.
- 2 Wood JN, Boorman JP, Okuse K, et al. Voltage-gated sodium channels and pain pathways. *J Neurobiol*, 2004, 61 : 55~71.
- 3 Djouhri L, Newton R, Levinson SR, et al. Sensory and electrophysiological properties of guinea-pig sensory neurones expressing Nav 1.7 (PN1) Na<sup>+</sup> channel alpha subunit protein. *J Physiol*, 2003, 546 : 565~576.
- 4 MacDonald DI, Sikandar S, Weiss J, et al. A central mechanism of analgesia in mice and humans lacking the sodium channel  $Na_v1.7$ . *Neuron*, 2021, 109 : 1497~1512.
- 5 Cheng X, Dib-Hajj SD, Tyrrell L, et al. Deletion mutation of sodium channel  $Na(V)1.7$  in inherited erythromelalgia: enhanced slow inactivation modulates dorsal root ganglion neuron hyperexcitability. *Brain*, 2011, 134 : 1972~1986.
- 6 Yang Y, Wang Y, Li S, et al. Mutations in *SCN9A*, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythromelalgia. *J Med Genet*, 2004, 41 : 171~174.
- 7 Dib-Hajj SD, Cummins TR, Black JA, et al. From genes

- to pain; Nav1.7 and human pain disorders. *Trends Neurosci*, 2007, 30 : 555~563.
- 8 Cox JJ, Reimann F, Nicholas AK, et al. An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain. *Nature*, 2006, 444 : 894~898.
- 9 Yang Y, Wang Y, Li S, et al. Mutations in SCN9A, encoding a sodium channel alpha subunit, in patients with primary erythralgia. *J Med Genet*, 2004, 41 : 171~174.
- 10 Gingras J, Smith S, Matson DJ, et al. Global Nav1.7 knockout mice recapitulate the phenotype of human congenital indifference to pain. *PLoS One*, 2014, 9 : e105895.
- 11 Minett MS, Nassar MA, Clark AK, et al. Distinct Nav1.7-dependent pain sensations require different sets of sensory and sympathetic neurons. *Nat Commun*, 2012, 3 : 791.
- 12 Peng K, Shu Q, Liu Z, et al. Function and solution structure of huwentoxin-IV, a potent neuronal tetrodotoxin (TTX)-sensitive sodium channel antagonist from Chinese bird spider *Selenocosmia huwena*. *The Journal of biological chemistry*, 2002, 277 : 47564~47571.
- 13 Priest BT, Blumenthal KM, Smith JJ, et al. ProTx-I and ProTx-II; gating modifiers of voltage-gated sodium channels. *Toxicon*, 2007, 49 : 194~201.
- 14 Huang G, Liu D, Wang W, et al. High-resolution structures of human Nav1.7 reveal gating modulation through  $\alpha$ - $\pi$  helical transition of S6IV. *Cell Rep*, 2022, 39 : 110735.
- 15 Shen H, Liu D, Wu K, et al. Structures of human Nav1.7 channel in complex with auxiliary subunits and animal toxins. *Science*, 2019, 363 : 1303~1308.
- 16 Yang S, Xiao Y, Kang D, et al. Discovery of a selective Nav1.7 inhibitor from centipede venom with analgesic efficacy exceeding morphine in rodent pain models. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110 : 17534~17539.
- 17 Theile JW, Fuller MD, Chapman ML. The Selective Nav1.7 Inhibitor, PF-05089771, Interacts Equivalently with Fast and Slow Inactivated Nav1.7 Channels. *Mol Pharmacol*, 2016, 90 : 540~548.
- 18 Alexandrou AJ, Brown AR, Chapman ML, et al. Subtype-selective small molecule inhibitors reveal a fundamental role for Nav1.7 in nociceptor electrogenesis, axonal conduction and presynaptic release. *PLoS One*, 2016, 11 : e0152405.
- 19 Zhang F, Wu Y, Xue S, et al. 3'-O-Methylorobol inhibits the voltage-gated sodium channel Nav1.7 with anti-Itch efficacy in a histamine-dependent Itch mouse model. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 : 6058.
- 20 Bang S, Yoo J, Gong X, et al. Differential inhibition of Nav1.7 and neuropathic pain by hybridoma-produced and recombinant monoclonal antibodies that target Nav1.7; Differential activities of Nav1.7-targeting monoclonal antibodies. *Neurosci Bull*, 2018, 34 : 22~41.
- 21 Goldberg YP, Price N, Namdari R, et al. Treatment of Nav1.7-mediated pain in inherited erythromelalgia using a novel sodium channel blocker. *Pain*, 2012, 153 : 80~85.
- 22 Butler JR, Rescourio G, Milgram BC, et al. Discovery of pyridyl urea sulfonamide inhibitors of Nav1.7. *Bioorg Med Chem Lett*, 2022, 73 : 128892.
- 23 MacDonald DI, Sikandar S, Weiss J, et al. A central mechanism of analgesia in mice and humans lacking the sodium channel Nav1.7. *Neuron*, 2021, 109 : 1497~1512.