

## · 综述 ·

## 嘌呤能受体 P2X 对痛性糖尿病神经病变的调控作用

孙荷平 许岚

【摘要】 痛性糖尿病神经病变(PDN)是糖尿病周围神经病变(DPN)的常见临床表现之一。目前PDN的发病机制尚不明确,现有的治疗方案有限且疗效欠佳。在初级传入感觉神经系统,P2X3受体在小直径背根神经节(DRG)神经元选择性高表达,高血糖通过诱导P2X3受体可塑性的改变来调控对疼痛的反应。在1型糖尿病模型小鼠中,P2X7受体可能通过调节神经递质的释放,使糖尿病小鼠产生机械痛敏。此外,也有研究报道其他P2X受体如P2X2、P2X4参与对PDN的调控。设计针对P2X受体的药物,可能是一种新的个体化治疗PDN的有效方法。

【关键词】 痛性糖尿病神经病变;嘌呤受体;信号转导通路

**The role of P2X receptors in painful diabetic neuropathy** Sun Heping, Xu Lan. Department of Endocrinology, The People's Hospital of Wuxi, Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China

Corresponding author: Xu Lan, Email: xulanl26@126.com

【Abstract】 Painful diabetic neuropathy (PDN) is one of the most common clinic manifestation of diabetic peripheral neuropathy(DPN). The pathogenesis of PDN is not fully understood and current treatment options are limited and not satisfying. P2X3 receptor mostly expresses in the small-diameter dorsal root ganglion (DRG) neurons in primary afferent sensory nerve system. Hyperglycemia induces the change of P2X3 receptor's plasticity to adjust pain responses. In type 1 diabetes mellitus model mice, P2X7 receptor makes the diabetic mice produce mechanical pain sensitivity by releasing neurotransmitters. What's more, it has been reported that other P2X receptors such as P2X2 and P2X4 are involved in the regulation of PDN. Designing drugs against P2X receptors may be a new effective method of individualized treatment of PDN.

【Key words】 Painful diabetic neuropathy; Purinergic receptor; Signaling transduction pathways

糖尿病周围神经病变(DPN)是糖尿病主要的并发症之一,据统计,2013年全球糖尿病患者总数达到3.82亿<sup>[1]</sup>。其中,痛性糖尿病神经病变(PDN)作为DPN常见临床表现之一,占30%~40%。由于疼痛严重影响患者的生活质量,PDN的研究以及治疗越来越受重视。PDN的临床表现为痛觉过敏、触诱发痛、自发性疼痛,以肢端、对称性发作、夜间加重为特点,其疼痛往往随着感觉缺失加重而缓解。所以PDN的研究对改善糖尿病神经病变、提高患者生活质量具有重要意义。目前PDN的治疗之所以成为一个难题,主要由于:第一,对于只有部分患者出现神经病理痛症状的原因不十分清楚;第二,对于中枢神经系统如何调控周围神经系统产生疼痛,没有一

个全面的了解。现有的PDN治疗仅能缓解症状,而不能停止或逆转疾病的进展<sup>[2]</sup>。因此,迫切需要寻找新的对PDN更有效和更特异的治疗手段。目前的研究发现,脊髓磷酸化细胞外信号调节激酶水平的升高、高血糖介导的氧化应激以及嘌呤能受体的可塑性改变均参与了糖尿病痛觉过敏的形成<sup>[3]</sup>。本文主要探讨嘌呤能受体的可塑性改变及其信号转导通路在PDN发展中的重要作用。

### 1 嘌呤能受体 P2X 概述

嘌呤能受体是以ATP为配体的离子通道型受体。ATP可作为独立的神经递质/调质,作用于嘌呤能受体,也可以同其他神经递质或调质如去甲肾上腺素、乙酰胆碱、多巴胺、谷氨酸、氨基丁酸、P物质、神经肽等一起作为共递质,调控机体内其他激素类物质释放或调控自身释放。在过去20多年的研究中,共发现19种不同的嘌呤能受体亚型,包括7种离子通道型受体(P2X)、9种代谢型受体(P2Y)和

4 种腺苷受体。近年的研究发现,糖尿病状态下,P2X受体在感觉神经元及小胶质细胞的激活,对PDN的发生和维持起着重要作用。

## 2 P2X3 受体对 PDN 的调控作用

在初级传入感觉神经系统,P2X3受体在小直径背根神经节(DRG)神经元选择性高表达,调控对疼痛的反应。很多研究显示,DRG神经元在皮肤和内脏占优势,可表达30%~40%的P2X3受体,而只有2%的DRG神经元在肌肉占优势。ATP不仅是一个重要的能量分子,而且是细胞间的信息转导递质,其由炎症反应或损伤后被破坏的细胞释放,通过细胞表面的嘌呤能受体发挥神经递质的作用。因为ATP由包括皮肤在内的周围组织释放,P2X3受体可能在周围组织发挥作用。P2X3受体介导的反应在异常疼痛如痛觉过敏和触诱发痛时被很大程度的放大,对P2X3受体在PDN中的研究发现,P2X受体拮抗剂可以缓解链脲佐菌素(STZ)诱导糖尿病小鼠和大鼠的机械触诱发痛<sup>[3-4]</sup>。P2X受体介导的兴奋性改变的分子机制尚未完全阐明。Migita等<sup>[4]</sup>发现在STZ诱导的糖尿病小鼠,DRG中P2X2和P2X3受体mRNA表达增加,但并没有检测该受体蛋白的表达情况。Xu等<sup>[5]</sup>最近报道,在糖尿病大鼠DRG细胞膜的P2X3受体蛋白表达有明显上调,而总的P2X3受体表达并没有改变,提示在糖尿病神经病变时,P2X3受体从胞质转移到细胞膜的表面。P2X3受体蛋白的运输部分归因于糖尿病造模后P2X3受体介导的电流增大(2.2倍)。

糖尿病时 P2X3 受体蛋白运输的机制目前仍不清楚。为确定在DRG神经元中P2X3受体和钙离子/钙调蛋白依赖的蛋白激酶 2 (CaMK II) 的关系,Xu等<sup>[5]</sup>发现电刺激激活的CaMK II 促进细胞膜表达P2X3受体。CaMK II 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,它们大部分位于大鼠DRG神经元,参与疼痛信号的调控。在炎症反应和神经损伤后,CaMK II 表达增加,尽管目前在DRG神经元中是否有CaMK I 的激活改变仍不十分清楚,越来越多的证据表明,在糖尿病大鼠心脏的乳头肌和视网膜中CaMK II 的磷酸化水平较高<sup>[6-8]</sup>。在高血糖状态下培养大鼠视网膜神经元细胞,显示嘌呤能受体激活,导致钙反应增加。综上所述,高血糖诱导P2X3受体可塑性的改变参与糖尿病神经病变的发生。

## 3 P2X7 受体对 PDN 的调控作用

P2X7 受体是 P2X 中的一种,由胞内的 N 末端和 C 末端、两段跨膜结构(TM1和TM2)以及与配体结合的胞外环状结构组成。起初研究者们运用Northern印记的方法检测到P2X7受体mRNA广泛分布于许多组织中,其中以免疫系统(如胸腺和脾脏)表达最为丰富,在其他组织诸如大脑、脊髓、骨骼肌、肺和胎盘中也能检测到P2X7 mRNA的表达。在人和大鼠的中枢神经系统(包括大脑皮层、海马、脑干及脊髓)和外周神经系统(如DRG)中均能检测到P2X7受体的表达。最近有研究报道,P2X7受体选择性表达在大鼠的兴奋性神经元突触前终末端,包括位于脊髓、延髓、小脑、纹状体、丘脑、杏仁核和海马等部位的神经末梢。研究发现,P2X7受体在STZ诱导的1型糖尿病小鼠的脊髓背角中有表达,且主要和小胶质细胞的标志物 I ba1共表达,与神经元的标志物NeuN、星形胶质细胞的标志物GFAP都几乎没有共表达,提示在小鼠的脊髓背角中P2X7受体主要在小胶质细胞中表达。

研究显示,P2X7 受体能够调节神经递质的释放,其在炎症反应性疼痛、神经病理性痛以及骨痛痛中的作用均有所报道。P2X7受体被细胞外ATP快速激活(<10 s)后,能使P2X7受体通道快速且可逆的打开,导致Na<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>内流和K<sup>+</sup>外流,其中以Ca<sup>2+</sup>内流为主。在很多组织中,P2X7 受体既可以作为Ca<sup>2+</sup>的直接通道,也可以间接激活电压门控的Ca<sup>2+</sup>通道,从而调控Ca<sup>2+</sup>依赖的信号转导通路<sup>[9]</sup>。还可导致一系列的细胞反应如细胞因子的释放、细胞增殖和凋亡等<sup>[10-11]</sup>。

Clark 等<sup>[12-13]</sup>研究发现,在脊髓背角被损伤神经纤维控制的区域,小胶质细胞从静息状态被激活,继而暴露于因损伤被初级传入纤维末端释放的因子——ATP。高浓度的ATP导致P2X7受体在小胶质细胞的激活,激活的P2X7受体通道导致钾离子外流、钙离子内流和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)p38的磷酸化。p38的磷酸化使磷脂酶A2介导的含有溶酶体的组织蛋白酶S(Cat S)转运到细胞膜,进而通过胞吐释放到细胞外。细胞外的Cat S可以切割与脊髓背角神经元细胞膜连接的膜结合型的趋化因子CX3CL1,使其变为游离型CX3CL1,游离型的CX3CL1又通过与其在小胶质细胞的唯一受体

CX3CR1 结合,进一步激活 p38 MAPK,使小胶质细胞产生白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、前列腺素E<sub>2</sub>、一氧化氮、脑源性神经生长因子、IL-18等与病理性痛相关的物质,导致慢性痛。研究表明,在STZ诱导的1型糖尿病动物模型中,早期有显著的机械触诱发痛,并伴随腰段脊髓背角P2X7受体表达上调;痛阈下调期鞘内给予P2X7受体选择性拮抗剂A740003可部分抑制糖尿病小鼠的痛觉,提示P2X7受体的抑制可能是PDN的有效治疗方法之一。此外,还发现,在STZ诱导的P2X7受体基因敲除1型糖尿病小鼠模型中,由糖尿病引起的对机械的痛觉过敏相比于C57糖尿病对照组有明显缓解。

#### 4 其他 P2X 受体对 PDN 的调控作用

Migita 等<sup>[4]</sup>发现 STZ 诱导的糖尿病小鼠,DRG 中P2X2受体mRNA表达增加。研究发现,在糖尿病小鼠的脊髓背角,P2X4受体表达增加且集中表达于神经损伤后激活的小胶质细胞。具体的机制还不清楚,一个可能的机制是P2X4受体的激活导致细胞内钙离子水平上调,激活细胞内钙离子敏感的信号通路,如p38MAPK,从而形成疼痛。Migita等<sup>[14]</sup>发现,和对照组相比,糖尿病小鼠在注射STZ后14 d,P2X2受体mRNA水平明显增加,而P2X1,P2X4,P2X5,P2X6,P2X7受体mRNA水平并无改变。目前P2X受体在PDN中的作用尚处于初始阶段,相关的研究报告相对较少,对于P2X受体在其中的作用也较有争议,需要进一步研究。

#### 5 针对 P2X 受体治疗 PDN

目前 PDN 的治疗对患者和医生都是一个巨大的挑战,有研究报告39%的PDN患者可能未经治疗<sup>[15]</sup>。为了提供有效治疗PDN的方法,专业机构制定了指南<sup>[16]</sup>。中华医学会糖尿病分会在2013年中国2型糖尿病防治指南中对PDN的治疗也有所涉及,但除了加强血糖控制作为一种基础的对因治疗,其他大多是一些对症治疗<sup>[17]</sup>。由于目前对PDN的发病机制仍不十分清楚,很少有治疗的缓解率能达到50%以上,且随着剂量增加往往会出现不可忽视的不良反应。因此,更好地理解PDN的发病机制,弄清楚中枢神经系统如何调控周围神经系统而产生疼痛,对将PDN的治疗从缓解症状到停止或者逆转病情的进展、寻求新的治疗方法很有必要。

研究发现,P2X7受体不仅在STZ诱导的1型糖

尿病小鼠病程初期疼痛的形成中发挥重要作用,而且对其疼痛的维持也起一定的调控作用。在脊髓水平,P2X7受体很可能是诱发PDN的重要因素。设计阻断P2X7受体大分子孔道形成的药物,可能是一种新的个体化治疗包括PDN在内的神经病理性痛的有效方法<sup>[18]</sup>。一些P2X7受体的拮抗剂已进入临床I期和II期的研究阶段。目前对于P2X受体在PDN中作用的相关研究报道较少,需要更多相关的研究来进一步阐明它在PDN中的作用。

综上所述,PDN与医生和患者息息相关,尽管过去几十年的研究有所进展,PDN的发病机制仍不清楚且缺乏有效的治疗手段。根据糖尿病患者的个体化症状,需要采取更有效的个体化治疗。最新的数据表明,感觉神经元上P2X3受体的激活可能与急性痛的发生有关,而神经病理性痛更可能和小胶质细胞表面的P2X4受体及P2X7受体的激活有关。设计阻断这些受体的药物,可能是一种新的个体化治疗PDN的有效方法。

#### 参 考 文 献

- [1] Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 103 (2): 137-149. DOI: 10.1016/j.diabres.2013.11.002.
- [2] Greig M, Tesfaye S, Selvarajah D, et al. Insights into the pathogenesis and treatment of painful diabetic neuropathy [J]. *Handb Clin Neurol*, 2014, 126: 559-578. DOI: 10.1016/B978-0-444-53480-4.00037-0.
- [3] Xu X, Chen H, Ling BY, et al. Extracellular signal-regulated protein kinase activation in spinal cord contributes to pain hypersensitivity in a mouse model of type 2 diabetes [J]. *Neurosci Bull*, 2014, 30 (1): 53-66. DOI: 10.1007/s12264-013-1387-y.
- [4] Migita K, Moriyama T, Koguchi M, et al. Modulation of P2X receptors in dorsal root ganglion neurons of streptozotocin-induced diabetic neuropathy [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 452 (2): 200-203. DOI: 10.1016/j.neulet.2009.01.048.
- [5] Xu GY, Li G, Liu N, et al. Mechanisms underlying purinergic P2X3 receptor-mediated mechanical allodynia induced in diabetic rats [J]. *Mol Pain*, 2011, 7: 60. DOI: 10.1186/1744-8069-7-60.
- [6] Tuncay E, Zeydanli EN, Turan B. Cardioprotective effect of propranolol on diabetes-induced altered intracellular Ca<sup>2+</sup> signaling in rat [J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2011, 43 (6): 747-756. DOI: 10.1007/s10863-011-9400-5.

- [7] Kim YH, Kim YS, Kang SS, et al. Resveratrol inhibits neuronal apoptosis and elevated  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase II activity in diabetic mouse retina[J]. *Diabetes*, 2010, 59 (7):1825-1835. DOI: 10.2337/db09-1431.
- [8] Kim YH, Kim YS, Park SY, et al. CaMK II regulates pericyte loss in the retina of early diabetic mouse[J]. *Mol Cells*, 2011, 31 (3):289-293. DOI: 10.1007/s10059-011-0038-2.
- [9] Kobayashi K, Takahashi E, Miyagawa Y, et al. Induction of the P2X7 receptor in spinal microglia in a neuropathic pain model [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 504 (1):57-61. DOI: 10.1016/j.neulet.2011.08.058.
- [10] Sorge RE, Trang T, Dorfman R, et al. Genetically determined P2X7 receptor pore formation regulates variability in chronic pain sensitivity[J]. *Nat Med*, 2012, 18 (4):595-599. DOI: 10.1038/nm.2710.
- [11] Samways DS, Egan TM. Acidic amino acids impart enhanced  $\text{Ca}^{2+}$  permeability and flux in two members of the ATP-gated P2X receptor family[J]. *J Gen Physiol*, 2007, 129 (3):245-256.
- [12] Clark AK, Wodarski R, Guida F, et al. Cathepsin S release from primary cultured microglia is regulated by the P2X7 receptor[J]. *Glia*, 2010, 58 (14):1710-1726. DOI: 10.1002/glia.21042.
- [13] Clark AK, Yip PK, Malcangio M. The liberation of fractalkine in the dorsal horn requires microglial cathepsin S[J]. *J Neurosci*, 2009, 29 (21):6945-6954. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0828-09.2009.
- [14] Migita K, Moriyama T, Koguchi M, et al. Modulation of P2X receptors in dorsal root ganglion neurons of streptozotocin-induced diabetic neuropathy[J]. *Neurosci Lett*, 2009, 452 (2):200-203. DOI: 10.1016/j.neulet.2009.01.048.
- [15] Ziegler D, Rathmann W, Dickhaus T, et al. Neuropathic pain in diabetes, prediabetes and normal glucose tolerance: the MONICA/KORA Augsburg Surveys S2 and S3 [J]. *Pain Med*, 2009, 10 (2):393-400. DOI: 10.1111/j.1526-4637.2008.00555.x.
- [16] Abbott CA, Malik RA, van Ross ER, et al. Prevalence and characteristics of painful diabetic neuropathy in a large community-based diabetic population in the U. K. [J]. *Diabetes Care*, 2011, 34 (10):2220-2224. DOI: 10.2337/dc11-1108.
- [17] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2014, 30 (10):893-942. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2014.10.020.
- [18] He WJ, Cui J, Du L, et al. Spinal P2X(7) receptor mediates microglia activation-induced neuropathic pain in the sciatic nerve injury rat model[J]. *Behav Brain Res*, 2012, 226 (1):163-170. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.09.015.

(收稿日期:2015-07-09)

(上接第 268 页)

- [14] Król E, Krejpcio Z, Byks H, et al. Effects of chromium brewer's yeast supplementation on body mass, blood carbohydrates, and lipids and minerals in type 2 diabetic patients[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2011, 143 (2):726-737. DOI: 10.1007/s12011-010-8917-5.
- [15] Bailey CH. Improved meta-analytic methods show no effect of chromium supplements on fasting glucose[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2014, 157 (1):1-8. DOI: 10.1007/s12011-013-9863-9.
- [16] Yin RV, Phung OJ. Effect of chromium supplementation on glycated hemoglobin and fasting plasma glucose in patients with diabetes mellitus[J]. *Nutr J*, 2015, 14:14. DOI: 10.1186/1475-2891-14-14.
- [17] Landman GW, Bilo HJ, Houweling ST, et al. Chromium does not belong in the diabetes treatment arsenal: current evidence and future perspectives[J]. *World J Diabetes*, 2014, 5 (2):160-164. DOI: 10.4239/wjd.v5.i2.160.
- [18] Kwon MJ, Chung HS, Yoon CS, et al. The effect of chromium on rat insulinoma cells in high glucose conditions [J]. *Life Sci*, 2010, 87 (13-14):401-404. DOI: 10.1016/j.lfs.2010.08.001.
- [19] Hoffman NJ, Penque BA, Habegger KM, et al. Chromium enhances insulin responsiveness via AMPK[J]. *J Nutr Biochem*, 2014, 25 (5):565-572. DOI: 10.1016/j.jnuthio.2014.01.007.
- [20] Cieslak W, Pap K, Bunch DR, et al. Highly sensitive measurement of whole blood chromium by inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Clin Biochem*, 2013, 46 (3):266-270. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.10.035.
- [21] He S, Tang YH, Zhao G, et al. Pioglitazone prescription increases risk of bladder cancer in patients with type 2 diabetes: an updated meta-analysis[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35 (3):2095-2102. DOI: 10.1007/s13277-013-1278-x.

(收稿日期:2015-07-22)