

ERK-CREB 信号通路参与慢性疼痛中枢敏化的形成

李亚楠, 周海燕*

浙江大学医学院附属邵逸夫医院麻醉科, 浙江 杭州 310016

摘要: 慢性疼痛是临床上常见的难题, 给人们的生活及工作带来了极大困扰。它是由组织损伤或潜在的组织损伤所引起, 发生机制主要有中枢敏化和外周敏化两方面, 研究表明中枢敏化过程在慢性疼痛的形成过程中起重要作用。cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP response element-binding protein, CREB) 是一种细胞核内转录因子, 通过自身磷酸化激活, 对细胞内的信号通路及突触可塑性产生较大的影响, 在慢性疼痛中枢敏化形成过程中起重要作用。CREB 重要的上游信号分子细胞外信号调节激酶 (extracellular signal regulated kinase, ERK) 能将细胞外的各种刺激转化为细胞内的不同反应, 参与细胞增殖、分化和神经突触可塑性。近年来研究表明 ERK-CREB 信号通路通过痛觉基因的调控、突触可塑性改变参与中枢敏化的形成。总结了关于 ERK-CREB 信号通路参与中枢敏化的研究进展、详细阐述了慢性疼痛的基本特点, ERK-CREB 信号通路的一般特性及参与中枢敏化的形成, 并总结目前 ERK-CREB 信号通路参与中枢敏化的研究局限, 提出研究展望。

关键词: 慢性疼痛; cAMP 反应元件结合蛋白; ERK-CREB 信号通路; 中枢敏化

中图分类号: R969 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2019) 04-0805-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.04.039

ERK-CREB signaling pathway participates in progression of central sensitization

LI Yanan, ZHOU Haiyan

Department of Anaesthesia, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China

Abstract: Chronic pain is a common clinical issue, leading to great burden of people's life. Chronic pain is caused by (potential) tissue damage, and the main hypothesis of it is central sensitization and peripheral sensitization. Studies have proven that the central sensitization process plays an important role in the progression of chronic pain. cAMP response element-binding protein (CREB), a nuclear transcription factor which is activated by autophosphorylation, has a great effect on intracellular signaling pathways and synaptic plasticity, and it is critical in the progression of central sensitization. Extracellular signal regulated kinase (ERK), an important upstream signaling molecule of CREB, can transmit various extracellular stimuli into different intracellular responses, and regulate cell proliferation, differentiation and synaptic plasticity. Recent studies have shown that the involvement of ERK-CREB signaling pathway in regulation of pain-related gene expressions, the changes in synaptic plasticity, and the progression of central sensitization. This review summarizes the advance studies of ERK-CREB signaling pathway in central sensitization, describes the characteristics of chronic pain and ERK-CREB signaling pathway and how it participates in central sensitization. We summarize the limitations of ERK-CREB signal pathway documenting in the central sensitization in current studies and propose research prospects.

Key words: chronic pain; cAMP response element-binding protein; ERK-CREB signaling pathway; central sensitization

疼痛是一种令人不愉快的感觉和情感体验, 可以分为急性疼痛和慢性疼痛。急性疼痛是通过提醒人体远离能致组织损伤的有害刺激而发挥重要作用的生理功能, 而持续几周甚至更长时间的疼痛被称为慢性疼痛, 慢性疼痛对人体几乎没有有利的作用, 并且常常伴随着恐惧、焦虑、抑郁、认知功能和行为障碍, 导致患者生活质量下降, 给家庭和社

会造成很大的负担^[1-2]。慢性疼痛的形成机制很复杂, 主要分为中枢敏化和外周敏化两方面, 其中中枢敏化为中枢神经系统受到有害刺激后突触可塑性改变, 常表现为阈值降低和神经元响应增多^[3], 在慢性疼痛发生发展过程中起重要作用。现关于慢性疼痛形成过程中中枢敏化机制的研究以相关蛋白研究居多, 而分子水平的研究较少。相关研究发

收稿日期: 2018-11-02

第一作者: 李亚楠, 硕士研究生, 浙江大学医学院附属邵逸夫医院麻醉科。

*通信作者: 周海燕, Tel: 13605818796, E-mail: 2185031@zju.edu.cn

现伤害性刺激及炎症因子能够激活细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)-cAMP反应元件结合蛋白(cAMP response element-binding protein, CREB)通路, ERK-CREB通路将细胞外的信号转化为细胞内的反应,参与相关痛觉基因转录,使中枢神经系统突触重塑,参与中枢敏化过程^[4]。本文就ERK-CREB信号通路参与慢性疼痛中枢敏化的相关研究进展进行综述,并总结目前ERK-CREB信号通路参与中枢敏化的研究局限,期望其相关研究更加深入,为慢性疼痛的治疗提供更多选择。

1 慢性疼痛的表现及形成机制

慢性疼痛的表现主要有三方面,第一为痛觉过敏,即对伤害性刺激的增强反应;第二为痛觉异常,即对非伤害性刺激的高敏反应^[5-6];第三为自发痛,即在没有任何直接刺激的情况下,机体感受到疼痛^[7]。

慢性疼痛形成的机制有外周敏化和中枢敏化两个方面。各种炎症介质作用于伤害感受器末端表达的G蛋白偶联受体或酪氨酸激酶受体,通过磷酸化受体和改变伤害感受器末端离子通道的阈值及动力学来激活细胞内信号传导通路,从而增加伤害感受器末端的灵敏性和兴奋性,即为外周敏化过程。在受到有害刺激后,相应蛋白激酶激活导致突触后表面谷氨酸受体磷酸化,改变离子通道的开放时间,增加突触传递效能,突触可塑性改变,主要表现为阈值的降低和脊髓背角神经元的响应增多,即为中枢敏化过程^[3]。中枢敏化是初始刺激持续数十分钟后产生的异常突触易化,突触后膜兴奋性增加,抑制性减弱,突触功能增强,对之后产生的损伤后疼痛敏化起重要作用^[8]。

2 CREB的一般特性及参与慢性疼痛中枢敏化的形成

CREB是转录因子大家族成员之一,是一种细胞核内转录因子,由341个氨基酸组成,通过自身磷酸化调控下游基因的表达。CREB结合于靶基因的相应位点才能发挥作用。结合位点以cAMP反应序列(cAMP response element, CRE)研究较多,CRE位于DNA启动子区,其序列为5'-TGACGTCA-3',是基因识别cAMP信号的重要部位。各种细胞内信号通过CREB激酶导致CREB在丝氨酸133位点磷酸化,磷酸化后的CREB以二聚体的形式与CRE目标基因序列结合,募集RNA聚合酶II组合成转录复合体,并引发靶基因的转录^[9]。研究表明有许多神

经元细胞内信号级联反应能够激活CREB家族,并且依赖于CREB调控的基因也被证明参与突触可塑性形成及疾病发生等生理病理过程^[10]。转录因子CREB也参与学习和记忆,但其中的机制并不完全清楚,可能涉及长时程增强、长时程抑制、新突触连接的生长和分化过程^[11]、或者记忆恢复和再巩固中的蛋白合成过程。此外,CREB还与成瘾、抑郁、焦虑等方面有关^[12]。

有研究在大鼠神经病理性疼痛模型中,神经损伤手术后,脊髓背角磷酸化CREB表达量升高,鞘内注射较高浓度CREB拮抗剂后,神经损伤所致的双侧肢体机械痛和神经损伤同侧肢体冷觉敏感显著减轻^[13],提示CREB参与慢性疼痛中枢敏化的形成。Descalzi等^[14]用前脑CREB活性增强突变转基因小鼠,测试福尔马林急性疼痛模型小鼠、CFA慢性炎性疼痛模型小鼠和神经病理性疼痛模型小鼠的热痛和机械痛,发现CREB活性增强突变转基因小鼠在完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)慢性炎性痛模型、神经病理性疼痛模型处理1周后,与野生型小鼠相比,机械性痛阈值显著降低,机械痛增强,研究表明,前脑CREB活性的增加对损伤后非伤害性刺激行为反应的增强起重要作用。Duric等^[15]发现在CFA慢性疼痛模型中,大鼠脊髓中的磷酸化CREB增加,而海马中CREB的活性显著降低,提示持续性伤害刺激过程中,中枢神经系统的不同区域对CREB的调节也是不同。

3 ERK-CREB信号通路基本特征

ERK是细胞内信号转导家族丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)成员之一,能将细胞外的各种刺激转化为细胞内的不同反应。ERK对细胞增殖、分化和神经突触可塑性起重要作用^[16],是CREB重要的上游信号分子,在慢性疼早期突触增敏过程中,ERK能够被cAMP蛋白激酶A(cAMP-dependent protein kinase, PKA)、磷脂蛋白激酶C(Ca^{2+} /phospholipid-dependent protein kinase, PKC)、酪氨酸激酶、原癌基因酪氨酸蛋白激酶等物质激活^[3,17]。ERK-CREB信号通路参与的后继基因转录对中枢神经系统突触重塑起重要作用^[4]。

4 ERK-CREB信号通路参与慢性疼痛中枢敏化的形成

外周伤害性刺激经脊髓背角向脑区传递,外周强烈的伤害性刺激使脊髓背角释放大量的谷氨酸、P物质、脑源性神经营养因子(Brain-derived

neurotrophic factor, BDNF), 这些物质激活 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体(*N*-Methyl-*D*-aspartic acid receptor, NMDAR), 代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptor, mGluR)、神经激肽 1 受体(Neurokinin 1 receptor, NK1)、原肌球蛋白相关激酶 B 受体(Tropomyosin related kinase B receptor, trkB), 这些受体的活化激活 PKA、PKC、ERK-CREB 通路。一些研究表明伤害性刺激及炎症, 能够上调中枢神经系统中编码 Fos、环氧合酶 2(cyclooxygenase 2, COX-2) 的即刻早期基因以及编码强啡肽原(prodynorphin)、NK1、trkB 的晚期反应基因, 这些基因的启动子区都有 CRE 位点, ERK-CREB 通路可通过调控这些包含 CRE 启动子的基因参与中枢敏化, 阻断 ERK 活化, 能够逆转伤害性刺激后这些基因的转录表达, 并减少导致炎性痛超敏反应因子的产生^[3,18]。Han 等发现在大鼠坐骨神经慢性压迫损伤(chronic constriction injury, CCI) 引起的神经病理性疼痛模型中, 单侧神经损伤后 1 d, 免疫组化及 Western blot 结果提示大鼠损伤侧脊髓背角 ERK 磷酸化水平较未损伤侧及假手术组显著上调, 同时双侧脊髓背角 CREB 的磷酸化水平较假手术组上调, 行为学纤维细丝测机械痛实验及热板测热痛实验结果示损伤侧缩爪反应阈值及缩爪反应潜伏期较未损伤侧及假手术组, 第一天无明显差异, 第二天出现下降且有统计学意义, 提示由损伤侧神经损伤引起的痛觉敏化行为在第二天出现, 而在神经损伤前及神经损伤后早期鞘内给予促分裂原活化蛋白激酶的抑制剂 U0126, 行为学结果提示 U0126 可减缓坐骨神经损伤引起的触诱发痛和热痛觉敏化行为的发生, 综上说明脊髓背角 ERK-CREB 信号通路的激活参与神经病理性疼痛中枢敏化的发生发展^[19]。最新研究发现, 在慢性炎性内脏痛模型中, Western blot 实验提示丝裂原活化的细胞外信号调节激酶(mitogen-activated extracellular signal regulated kinase, MEK) 抑制剂组与对照组相比, 脊髓中 ERK 与 CREB 磷酸化蛋白明显下降, 同时其 mRNA 表达也下降, 腹部收缩值降低、机械痛阈值及热痛阈升高, 疼痛行为明显减轻, 综上提示 ERK-CREB 信号通路参与慢性疼痛中枢敏化的形成^[20]。

ERK-CREB 信号通路参与慢性疼痛中枢敏化还受一些神经递质的调控。Cao 等^[4]在大鼠脚掌注射福尔马林和体外大鼠脑片应用 NMDA, Western blot 实验及免疫组化实验观察到前扣带皮质中的 ERK 磷酸化水平、CREB 磷酸化水平明显上调, 磷酸

化 ERK 主要与磷酸化 CREB 共定位, 应用选择性 NMDA 抑制剂, 阻断 NMDA GluN2B 亚基与甘氨酸结合位点能明显抑制上调的 ERK 磷酸化水平、CREB 磷酸化水平, 综上表明 NMDA GluN2B 亚基参与 ERK-CREB 信号通路的调控。背根神经节(dorsal root ganglia, DRG) 是背根神经的一个神经节, 包含初级感觉神经元, 神经元末梢有许多感受器, 能够被机械、温度、化学、伤害性刺激激活^[21]。背根神经节中 ERK-CREB 信号通路参与慢性疼痛中枢敏化的研究较少, 最近研究表明在神经病理性疼痛模型中, Western blot 实验提示神经损伤侧背根神经节及脊髓中的 ERK 磷酸化水平较对侧明显上调, 而磷酸化 ERK 的过表达可以被组胺受体亚型 G 蛋白偶联受体 H4(G-protein coupled receptor H4) 的激动剂抑制, 且行为学实验提示侧脑室内注射组胺 H4 受体激动剂可以减轻神经损伤侧的痛觉敏化^[22]。后续研究 Western blot 实验表明神经损伤模型中 H4R-KO 小鼠脊髓中 ERK 磷酸化水平较 WT 小鼠高, 且有统计学意义; 免疫组化实验表明 H4R-KO 小鼠损伤侧 CREB 磷酸化水平较 WT 小鼠高, 且磷酸化 ERK 与磷酸化 CREB 共标, 磷酸化 CREB 与组胺 H4 受体共标, 而 WT 小鼠侧脑室内注射组胺 H4 受体激动剂组脊髓中 CREB 磷酸化水平较对照组低; 行为学实验提示 H4R-KO 小鼠神经损伤侧较 WT 小鼠痛觉敏化; 综上提示组胺 H4 受体可抑制脊髓 ERK-CREB 信号通路, 减少神经炎症和氧化应激, 产生镇痛效应, 同时也提示脊髓 ERK-CREB 通路激活能够提高 H4R-KO 小鼠的行为敏感性^[23]。

5 研究展望

目前, 关于 ERK-CREB 信号通路参与慢性疼痛中枢敏化形成的研究还局限于背根神经节^[24]、脊髓背角水平, 而更高级中枢方面的研究较少。并且 ERK-CREB 信号通路参与神经可塑性形成, 除了痛觉中枢敏化, 还包括长期记忆、脊髓及海马区域的长时程增强^[25]。长时程增强是学习和记忆的基础, 与长期记忆、中枢痛觉敏化共同参与慢性疼痛形成过程。慢性疼痛形成过程中, ERK-CREB 信号通路在更高级中枢的表达、相关上级调控及是否参与慢性疼痛维持过程中中枢疼痛记忆的形成等, 还待进一步研究, 期待其相关研究更加深入, 为慢性疼痛的治疗提供更多选择。

参考文献

- [1] Bliss T V P, Collingridge G L, Kaang B K, et al. Synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex in acute and

- chronic pain [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17(8): 485-496.
- [2] Mansour A R, Farmer M A, Baliki M N. Chronic pain: The role of learning and brain plasticity [J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2014, 32: 129-139.
- [3] Ji R R, Kohno T, Moore K A, et al. Central sensitization and LTP: Do pain and memory share similar mechanisms? [J]. *Trends Neurosci*, 2003, 26(12): 696-705.
- [4] Cao H, Ren W H, Zhu M Y, et al. Activation of glycine site and GluN2B subunit of NMDA receptors is necessary for ERK / CREB signaling cascade in rostral anterior cingulate cortex in rats: Implications for affective pain [J]. *Neurosci Bull*, 2012, 28(1): 77-87.
- [5] 罗小青, 林春. 突触可塑性在慢性痛发病中的作用研究进展 [J]. *福建医科大学学报*, 2013(5): 325-328..
- [6] Edelmayer R M, Brederson J D, Jarvis M F, et al. Biochemical and pharmacological assessment of MAP-kinase signaling along pain pathways in experimental rodent models: A potential tool for the discovery of novel antinociceptive therapeutics [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 87(3): 390-398.
- [7] Bennett G J. What is spontaneous pain and who has it? [J]. *J Pain*, 2012, 13(10): 921-929.
- [8] 李彩娟, 田玉科. 突触重塑在慢性疼痛机理中的研究进展 [J]. *实用疼痛学杂志*, 2012, 8(4): 295-299.
- [9] Ji R R, Woolf C J. Neuronal plasticity and signal transduction in nociceptive neurons: implications for the initiation and maintenance of pathological pain [J]. *Neurobiol Dis*, 2001, 8(1): 1-10.
- [10] Barco A, Marie H. Genetic approaches to investigate the role of CREB in neuronal plasticity and memory [J]. *Mol Neurobiol*, 2011, 44(3): 330-349.
- [11] Marie H, Morishita W, Yu X, et al. Generation of silent synapses by acute *in vivo* expression of CaMKIV and CREB [J]. *Neuron*, 2005, 45(5): 741-752.
- [12] Carlezon W A, Duman R S, Nestler E J. The many faces of CREB [J]. *Trends Neurosci*, 2005, 28(8): 436-445.
- [13] Wang Y Y, Wu S X, Zhou L, et al. Dose-related antiallodynic effects of cyclic AMP response element-binding protein-antisense oligonucleotide in the spared nerve injury model of neuropathic pain [J]. *Neurosci*, 2006, 139(3): 1083-1093.
- [14] Descalzi G, Fukushima H, Suzuki A, et al. Genetic enhancement of neuropathic and inflammatory pain by forebrain upregulation of CREB-mediated transcription [J]. *Mol Pain*, 2012, 8(1): 90.
- [15] Duric V, McCarron K E. Neurokinin-1 (NK-1) receptor and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene expression is differentially modulated in the rat spinal dorsal horn and hippocampus during inflammatory pain [J]. *Mol Pain*, 2007, 3(1): 32.
- [16] Rahn E J, Guzman-Karlsson M C, David Sweatt J. Cellular, molecular, and epigenetic mechanisms in non-associative conditioning: Implications for pain and memory [J]. *Neurobiol Learning Memory*, 2013, 105: 133-150.
- [17] Ji R R, Gereau IV R W, Malcangio M, et al. MAP kinase and pain [J]. *Brain Res Rev*, 2009, 60(1): 135-148.
- [18] Ji R-R, Befort K, Brenner G J, et al. ERK MAP kinase activation in superficial spinal cord neurons induces prodynorphin and NK-1 upregulation and contributes to persistent inflammatory pain hypersensitivity [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(2): 478-485.
- [19] Han M, Huang R-Y, Du Y-M, et al. Early intervention of ERK activation in the spinal cord can block initiation of peripheral nerve injury-induced neuropathic pain in rats [J]. *Acta Physiol Sin*, 2011, 63(2): 106-114.
- [20] Li Z Y, Huang Y, Yang Y T, et al. Moxibustion eases chronic inflammatory visceral pain through regulating MEK, ERK and CREB in rats [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(34): 6220.
- [21] Cho H, Shin J, Shin C Y, et al. Mechanosensitive ion channels in cultured sensory neurons of neonatal rats [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(4): 1238-1247.
- [22] Mapk P. Histamine H 4 receptor activation alleviates neuropathic pain through differential regulation of ERK, JNK, and P38 MAPK phosphorylation [J]. *Pain*, 2015, 156: 2492-2504.
- [23] Sanna M D, Mello T, Masini E, et al. Activation of ERK / CREB pathway in noradrenergic neurons contributes to hypernociceptive phenotype in H4 receptor knockout mice after nerve injury [J]. *Neuropharmacology*, 2018, 128: 340-350.
- [24] Price T J, Inyang K E. Commonalities between pain and memory mechanisms and their meaning for understanding chronic pain[M]. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, Elsevier Inc., 2015, 131.
- [25] Cao H, Cui Y H, Zhao Z Q, et al. Activation of extracellular signal-regulated kinase in the anterior cingulate cortex contributes to the induction of long-term potentiation in rats [J]. *Neurosci Bull*, 2009, 25(5): 301-308.