

超声神经调控钾通道治疗疼痛的研究进展

应育娟 黄 燕 郑元义

摘 要 神经性疼痛不仅影响患者的生活质量,甚至威胁生命,临床难以治愈。背根神经节神经元是神经性疼痛发生和维持的主要解剖部位,其钾离子通道与动作电位的放电频率和由此产生的神经元活动有着密不可分的联系;超声波可以作用于体外单独的细胞离子通道,又可以作用于体内局部组织的离子通道,使其开闭。基于超声的神经调控是一种治疗中枢及外周神经性疼痛很有潜力的方法。本文就钾离子通道作为治疗神经性疼痛的超声靶点机制及研究现状进行综述。

关键词 超声;钾离子通道;神经性疼痛;背根神经节

[中图分类号]R445.1;R441.1

[文献标识码]A

Research progress of ultrasonic neuroregulation of potassium channels in the treatment of pain

YING Yujuan, HUANG Yan, ZHENG Yuanyi

Department of Ultrasound, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

ABSTRACT Neuropathic pain is difficult to treat clinically, which not only affects the patient's quality of life, but even threatens patient's life. Dorsal root ganglion (DRG) neurons are the main anatomic sites for the occurrence and maintenance of neuropathic pain, and the potassium channels of DRG neurons are closely related to the firing frequency of action potential and the neuronal activities. Ultrasound can act on the ion channels of individual cells in vitro and the ion channels in local tissues in vivo to make them open or close. In this paper, the mechanism and research status of potassium channel as ultrasound target for the treatment of neuropathic pain are reviewed.

KEY WORDS Ultrasound; Potassium ion channels; Neuropathic pain; Dorsal root ganglion

神经性疼痛,临床难以治愈,主要是因其机制尚未完全清楚,但神经性疼痛与神经细胞超兴奋性引起的外周敏化和中枢敏化关系密切,在人类基因组存在的215个离子通道中,有85个离子通道与疼痛有较多的联系^[1-2]。背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)神经元是神经性疼痛发生和维持的主要解剖部位^[3],且其钾离子通道与动作电位的放电频率和由此产生的神经元活动有着密不可分的联系,可见钾离子通道是治疗疼痛的很好的靶点^[4]。临床上治疗慢性神经性疼痛的方法主要有药物、神经阻滞、脉冲射频和电刺激治疗等,但疗效未能完全令人满意,且存在多种并发症。因此寻求一种新的无创且精准治疗神经性疼痛的方法仍面临巨大的挑战。超声具有无辐射、经济、价廉等优势,目前已用于消融实体肿瘤和治疗软组织疼痛,基于超声的神经调控也拥有良好的发展前景。短时间的超声暴露可以通过调控离子通道影响神经元兴奋性,进而影响大脑活动而无明显的神经损伤,可用于治疗癫痫、焦虑、偏头痛等中枢神经系统疾病^[5]。超声神经调控是一种治疗中枢及外周神经性疼痛很有潜力的方法。疼痛的发生与体内不同部位的离子通道(如钠、钾、钙通道)开闭密切相关,基于目前超声的神经

调控研究越来越多,本文将研究较多且与疼痛相关的电压依赖性的钾离子通道(Kv)和双孔钾离子通道(K2p)作为靶点的可能机制及研究现状综述如下。

一、疼痛相关的钾离子通道

钾离子通道,亚型多,几乎遍及全身组织,其在神经元兴奋性及维持细胞静息电位等中均具有重要作用^[6-7]。根据其生物和药理特性的不同可分为4类:电压依赖性的Kv、钙离子依赖的钾离子通道(Kca)、内向整流型钾离子通道(Kir)和K2p。Kv家族包括12个成员(Kv1.x~Kv12.x)^[7];K2p通道可以分为6类,即弱内向整流钾通道(TWIK)、TWIK相关的钾通道(TREK)、TWIK相关的酸敏感钾通道(TASK)、TWIK相关的碱激活钾通道(TALK)、TWIK相关的脊髓钾通道(TAESK)、可被氟醚抑制的双孔钾通道(THIK),其中,TREK-1、TREK-2和TRAAK是DRG神经元的主要背景电流^[6]。

1.Kv:A型Kv通道是中枢神经系统神经元兴奋性的重要调控因子,它包括Kv1.4、Kv3.4、Kv4.1、Kv4.3和Kv4.2,DRG神经元的A型Kv通道与持续型疼痛敏化紧密相关^[8]。研究^[9]表明在结扎大鼠第5腰椎脊髓神经后,受损的有髓A类纤维的神经

元 Kv 电流密度会减少,其中 Kv4.1 和 A 型 Kv 通道电流同步变化,而胶质细胞源性神经营养因子可以通过调控 Kv4.1 表达逆转大鼠的超兴奋性,减少受损 A 纤维的自发放电,提示了 Kv4.1 是特异性调控神经性疼痛的重要靶点。Kv 电流密度减少时,可以促进疼痛发生发展。研究^[2]表明,Kv9.1 功能障碍可促使对冷刺激不敏感的神纤维向敏感方向转化,触发 A 类纤维的自发放电,介导外周性神经性疼痛的机械性感觉异常,这可能与 Kv 通常提供兴奋性抑制有关。随着疼痛的发生发展,大多数神经损伤后会经历神经元过度兴奋和动作电位恢复至正常水平的过程,有髓鞘的感觉轴突 Kv1 通道的分子组成和分布会不断发生相应变化,从而抑制神经损伤后的过度兴奋产生相应保护机制^[1]。研究^[10]表明,神经损伤诱导的表现遗传变化在启动和维持慢性疼痛中也有一定作用。当周围神经损伤出现神经性疼痛时,DRG 神经元的 DNMA3a 增加,下游 Kv2 降低,细胞兴奋性升高,促进疼痛敏化^[11];神经损伤后,DRG 的 MZF1 转录因子增多,促进 K1.2 的反义 RNA 生成,降低 K1.2 mRNA 和蛋白表达^[12]。慢性压迫性损伤大鼠模型中 HDAC2 通过调节 Kv1.2 的表达参与疼痛反应^[13]。另外,有研究^[10]认为 DRG 神经元中的 G9a 是参与神经损伤后由急性疼痛向慢性疼痛转变的重要表现遗传学调控因子;G9a 可使 H3K9me2 增加,抑制 DRG 神经元钾通道的表达,反之使用 G9a 和 HDAC 抑制剂联合治疗可以恢复因神经损伤而减少的部分 Kv 电流,可明显改善痛觉过敏。

2.K2p: TREK-1、TREK-2 和 TRAAK 是 DRG 神经元主要的背景电流^[3],TREK 是普遍应用的挥发性麻醉如异氟醚和氟烷药品的主要靶点^[7]。在生理条件下,TREK-2 在维持神经元静息电位中的作用更大,而在神经性疼痛中 TREK-1 的作用可能更大^[14-15]。TREK-1 广泛分布在肽类及非肽类神经元,感知多种刺激导致的疼痛^[14]。TREK-1 在突触前和突触后神经元中均有表达,麻醉剂神经保护剂等可以通过该受体发挥麻醉、镇痛、神经保护等作用。在星形胶质细胞中,疼痛时 G 蛋白偶联受体激活,影响 TREK-1 介导的快速谷氨酸释放^[7]。利鲁唑作为 TREK-1 钾通道靶向激活剂,可以明显缓解奥沙利铂化疗药物导致的神经毒性作用,提高小鼠疼痛刺激的阈值^[16]。调节 TREK-1 通道可能对神经性疼痛患者具有一定的镇痛作用。然而,在慢性压迫性神经损伤小鼠模型中,DRG 神经元的 TREK-1 和 TREK-2 mRNA 均显著表达^[3,17],鞘内注射 miR-183 时可减轻慢性压迫性损伤大鼠模型的疼痛,且会下调 TREK-1 的表达^[3]。TREK-2 主要分布在外周神经系统,可选择性地表达在 B4 蛋白结合的 C 类纤维的大鼠伤害性感受器中^[3,14],通过促进感受器膜电位超极化限制自发性疼痛^[14]。在疼痛发生发展过程中,K2p 通道表达调节下降,可能是神经兴奋性增强的潜在机制^[6,14]。当 DRG 神经元 TREK-2 通道通过 siRNA 诱导敲除,会导致细胞膜去极化,细胞电兴奋性增强^[4]。而 TREK-2 激活剂开放通道,膜电位超极化可以限制电兴奋性从而降低 C 类纤维中的疼痛信号;不仅如此,TREK-2 激活剂具有限制 DRG 神经元 Ca²⁺内流的能力,也可以减少疼痛信号^[4,15]。PD-1 作为内源性疼痛抑制剂和神经调节剂,可以通过 SHP-1 抑制钠通道功能,增强 TREK-2 功能,使同时表达 PD-1 和 TREK-2 的细胞中产生逆转电位的负偏移,从而调节神经元的兴奋性,缓解疼痛^[18]。TREK-2 在限制痛觉方面起着如此重要的作用,因此激

活剂也被认为是治疗疼痛的潜在治疗靶点^[4,14]。另外通道多位于外周神经系统,激活剂可能有助于限制外周信号和减少疼痛且无中枢神经系统的副作用。目前更加精确的疼痛治疗策略正在开发,参与控制伤害性神经元兴奋性的钾通道可作为神经性疼痛治疗的靶点^[14]。不同部位通道开闭情况不同,但功能上上调 K2p 通道活性可能是一种有用的策略,在结合未来更多的研究的基础上临床有望开发更加高效的超声治疗疼痛的疗法。

二、超声神经调控技术对离子通道的作用

神经调控技术是采用植入性或非植入性操作来改善患者症状的治疗技术,它可通过电刺激或药物等手段可逆地改变中枢神经、外周神经或自主神经系统的活性^[19]。基于超声的神经调控技术多采用低强度聚焦超声(low intensity focused ultrasound, LIFU),一般探头频率<1 MHz,较诊断用的强度相似或者更低,LIFU 可以间歇刺激或连续刺激进行非热介导的神经调节^[20]。中枢神经系统中,LIFU 可以通过动物颅骨深入到大脑深部组织,可聚焦调控神经元,与光遗传学、经颅磁刺激和经颅电刺激等方法相比,具有高分辨率、非侵入性的优势。超声神经调控技术具有无创、高分辨率、靶向性好的优势,有利于避免药物副作用和有创的操作治疗。超声可使特定部位的神经产生兴奋性或抑制性的可逆调控^[21]。根据超声波频率、脉冲重复频率、持续时间和占空比等参数不同,对神经元组织会产生不同的影响,麻醉水平可能也是一个重要影响因素^[20-21]。超声波作为一种可以传递信息的声波,主要是通过机械效应、热效应、空化效应机制调节生物机体。超声对离子通道作用的精确生理机制并未完全解决,近年来观察的证据解释了超声对离子通道起作用的部分机制,超声波是一种机械波,细胞膜上的许多门控的离子通道和突触受体受到敏感性机械性刺激,声辐射力拉伸细胞膜脂质双层,引起脂质双层张力的瞬时变化,导致离子通道开放或者失活或者受体下游分子活性改变,包括 K2p、TRP、Piezo 通道等,以及部分电压敏感性离子通道,如 Na、Kv、Ca²⁺^[22-24]。聚焦超声可以刺激单个海马神经元的电压门控 Na⁺和 Ca²⁺通道使其活性发生改变,细胞膜去极化并诱导突触传递,Na⁺和 Ca²⁺通道的药理抑制作用可阻断诱导的去极化^[24]。因此,超声对离子通道的作用并非完全是机械性作用,或许空化作用、热效应,以及不影响细胞离子通道的机械性作用的膜电容改变。研究^[22-24]认为 LIFU 治疗的热效应对神经活动的影响可以忽略不计,局部受刺激组织温度变化<0.1℃,但是温度变化也足以激活温度敏感的部分 K2p、TREK-1、TREK-2 和 TRAAK。

三、以钾离子通道作为靶点的超声神经调控现状

超声是一种非常有潜力的精准治疗中枢和外周神经系统疾病的工具^[22]。部分电压门控钾通道及 K2p 通道均具有机械敏感性,对机械拉伸或超声波刺激有响应,通道状态发生改变,这些离子通道均是治疗疼痛的重要离子通道靶点^[14]。LIFU 可以影响中枢和外周兴奋神经元的功能^[23],其作用于海马神经元时可调节神经元功能。高强度聚焦超声(频率为 2.68 MHz)可以可逆地阻断感觉神经传导,缓解大鼠糖尿病性神经性疼痛^[25]。研究^[26]发现,超声可以降低大鼠慢性压迫性损伤与疼痛相关物质包括 p 物质、NK-1R、TNF-α 等,减轻痛觉过敏。奥沙利铂药物所致的大鼠神经性疼痛模型中,超声可以使大鼠的撤足阈增加,提示超声可以降低大鼠的冷刺激和机械刺激敏感

性^[27]。LIFU 激活神经元 K2p 通道,保护细胞免受 mpp1 诱导的细胞死亡,以及离子通道介导的下游通路进而减少神经细胞毒性^[28]。超声可调制体外和动物体内的钾通道来调节钾离子流动^[24,28]。在转染钾通道的蟾蜍卵母细胞实验^[26]中,聚焦超声可以调控 TREK-1、TREK-2、TRAAK 通道,产生外向钾电流,通道阻断剂可以使这样的作用消失。但人体细胞与蟾蜍卵母细胞不尽相同,且体外实验^[24]排除了许多干扰因素,未考虑体内细胞周围组织对超声的影响,因此最佳的体内超声应用参数尚需进一步研究。另外有研究^[29]发现,超声可以通过微泡放大对线虫的行为活动控制,进而产生靶向调控的作用,但超声调控单个细胞活动还受到超声传统分辨率限制。

四、总结

综上所述,超声可以通过调节钾通道进而激活或者抑制局部中枢和外周神经元,对下游的细胞分子信号调控,可能的机制是利用开放或者关闭机械性敏感的离子通道及部分电压门控通道。目前在药理学和临床学研究方向的镇痛药物靶向性欠佳或副作用较大,而非侵入性的超声神经调控作为一项靶向性好、深度可调节、分辨率高的治疗策略,有能力诱导不同的神经活动模式,具有作为临床工具的巨大潜力。但在临床应用前尚需解决以下问题:①参与不同部位疼痛的离子通道具体种类;②超声在体内外操作设置方案和参数的统一;③治疗效果重复性;④在人类开展的安全性等。超声神经调控技术尚处于起步阶段,实现超声神经调控以钾离子通道为靶点来治疗神经性疼痛还需要更多的研究。

参考文献

- Calvo M, Richards N, Schmid AB, et al. Altered potassium channel distribution and composition in myelinated axons suppresses hyperexcitability following injury[J]. *Elife*, 2016, 5(1):12661.
- Tsantoulas C, Denk F, Signore M, et al. Mice lacking Kcna1 in peripheral neurons show increased basal and neuropathic pain sensitivity[J]. *Pain*, 2018, 159(8):1641-1651.
- Han HJ, Lee SW, Kim GT, et al. Enhanced expression of TREK-1 is related with chronic constriction injury of neuropathic pain mouse model in dorsal root ganglion[J]. *Biomol Ther (Seoul)*, 2016, 24(3):252-259.
- Dadi PK, Vierra NC, Days E, et al. Selective small molecule activators of TREK-2 channels stimulate dorsal root ganglion C-fiber nociceptor two-pore-domain potassium channel currents and limit calcium influx[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2017, 8(3):558-568.
- Karmacharya MB, Hada B, Park SR, et al. Low-intensity ultrasound decreases α -synuclein aggregation via attenuation of mitochondrial reactive oxygen species in MPP(+)-treated PC12 cells[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(8):6235-6244.
- Li XY, Toyoda H. Role of leak potassium channels in pain signaling[J]. *Brain Res Bull*, 2015, 119(Pt A):73-79.
- Ryoo K, Park JY. Two-pore domain potassium channels in astrocytes[J]. *Exp Neurobiol*, 2016, 25(5):222-232.
- Zemel BM, Ritter DM, Covarrubias M, et al. A-type Kv channels in dorsal root ganglion neurons: diversity, function, and dysfunction[J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11(1):253.
- Shinoda M, Fukuoka T, Takeda M, et al. Spinal glial cell line-derived neurotrophic factor infusion reverses reduction of Kv4.1-mediated A-type potassium currents of injured myelinated primary afferent neurons in a neuropathic pain model[J]. *Mol Pain*, 2019, 15(1):2069322324.
- Laumet G, Garriga J, Chen SR, et al. G9a is essential for epigenetic silencing of K(+) channel genes in acute-to-chronic pain transition[J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(12):1746-1755.
- Zhao JY, Liang L, Gu X, et al. Author Correction: DNA methyltransferase DNMT3a contributes to neuropathic pain by repressing Kcna2 in primary afferent neurons[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):4696.
- Li Z, Gu X, Sun L, et al. Dorsal root ganglion myeloid zinc finger protein 1 contributes to neuropathic pain after peripheral nerve trauma[J]. *Pain*, 2015, 156(4):711-721.
- Li Z, Guo Y, Ren X, et al. HDAC2, but not HDAC1, regulates Kv1.2 expression to mediate neuropathic pain in CCI rats[J]. *Neuroscience*, 2019, 408(1):339-348.
- Viatchenko-Karpinski V, Ling J, Gu JG. Characterization of temperature-sensitive leak K(+) currents and expression of TRAAK, TREK-1, and TREK2 channels in dorsal root ganglion neurons of rats[J]. *Mol Brain*, 2018, 11(1):40.
- Royal P, Andres-Bilbe A, Avalos PP, et al. Migraine-associated tresk mutations increase neuronal excitability through alternative translation initiation and inhibition of TREK[J]. *Neuron*, 2019, 101(2):232-245.
- Poupon L, Lamoine S, Pereira V, et al. Targeting the TREK-1 potassium channel via riluzole to eliminate the neuropathic and depressive-like effects of oxaliplatin[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 140(1):43-61.
- Shi DN, Yuan YT, Ye D, et al. MiR-183-5p alleviates chronic constriction injury-induced neuropathic pain through inhibition of TREK-1[J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(6):1143-1149.
- Chen G, Kim YH, Li H, et al. PD-L1 inhibits acute and chronic pain by suppressing nociceptive neuron activity via PD-1[J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(7):917-926.
- Naor O, Krupa S, Shoham S. Ultrasonic neuromodulation[J]. *J Neural Eng*, 2016, 13(3):31003.
- Li GF, Zhao HX, Zhou H, et al. Improved anatomical specificity of non-invasive neuro-stimulation by high frequency (5 MHz) Ultrasound[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1):24738.
- 王君, 随力, 蔡爱楠, 等. 超声刺激参数在超声神经调控中的作用[J]. *中国医学物理学杂志*, 2018, 35(2):236-242.
- Tyler WJ, Lani SW, Hwang GM. Ultrasonic modulation of neural circuit activity[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2018, 50(1):222-231.
- Kubaneck J, Shukla P, Das A, et al. Ultrasound elicits behavioral responses through mechanical effects on neurons and ion channels in a simple nervous system[J]. *J Neurosci*, 2018, 38(12):3081-3091.
- Kubaneck J, Shi J, Marsh J, et al. Ultrasound modulates ion channel currents[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1):24170.
- Lee YF, Lin CC, Cheng JS, et al. Nerve conduction block in diabetic rats using high-intensity focused ultrasound for analgesic applications[J]. *Br J Anaesth*, 2015, 114(5):840-846.
- Chen YW, Tzeng JI, Huang PC, et al. Therapeutic ultrasound suppresses neuropathic pain and upregulation of substance P and neurokinin-1 receptor in rats after peripheral nerve injury[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2015, 41(1):143-150.

[27] Hsieh YL, Chen HY, Yang CH, et al. Analgesic effects of transcutaneous ultrasound nerve stimulation in a rat model of oxaliplatin-induced mechanical hyperalgesia and cold allodynia[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2017, 43(7): 1466-1475.

[28] Zhao L, Feng Y, Shi A, et al. Neuroprotective effect of low-intensity pulsed ultrasound against MPP⁺-induced neurotoxicity in PC12

cells: involvement of K2P channels and stretch-activated ion channels[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2017, 43(9): 1986-1999.

[29] Ibsen S, Tong A, Schutt C, et al. Sonogenetics is a non-invasive approach to activating neurons in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 8264.

(收稿日期:2020-04-16)

· 病例报道 ·

Three-dimensional color Doppler ultrasound in the diagnosis of umbilical cord knotting: 2 cases report

三维彩色多普勒超声诊断脐带打结 2 例

祁平安 练芮含 李天刚 王艺璇

[中图法分类号]R445.1;R714.56

[文献标识码]B

孕妇 1, 30 岁, 孕 1 产 0。既往体健, 孕早期超声检查及 23 周系统超声检查胎儿结构均未见异常。孕 30⁺3 周超声检查: 二维超声显示脐带游离段成襻, 局部堆积(图 1A), 脐动脉血流参数未见异常; 三维彩色多普勒超声提示脐带打结(图 1B)。之后每周例行产检未见异常。孕 37⁺5 周超声检查: 胎心监护基线变异消失, 同时有多发减速, 超声监测脐动脉舒张期血流缺失(图 1C)。行紧急剖宫产后证实为脐带打结(图 1D), 新生儿 1 min Apgar 评分 6 分, 5 min Apgar 评分 9 分。

孕妇 2, 29 岁, 孕 2 产 1。既往体健, 外院系统超声胎儿结构未见异常。孕 26⁺2 周超声检查: 羊水轻度过多(羊水指数 25.9 cm), 二维超声显示脐带游离段成襻, 局部堆积(图 2A), 脐动脉血流参数未见异常; 三维彩色多普勒超声提示脐带打结(图 2B)。之后每周例行产检未见异常, 孕 39⁺2 周行剖宫产后证实为脐带打结。新生儿 1 min、5 min Apgar 评分均为 10 分。

讨论: 脐带是胎儿的生命线, 脐带打结在所有新生儿中发生率为 0.3%~2.1%, 胎儿死亡率为常规胎儿死亡率的 4 倍^[1], 明确诊断脐带打结对临床意义重大。常规二维超声诊断脐带打结显示为脐带成襻、局部堆积, 以及显示“四叶草征”、“环结征”、“绞环套索征”^[2], 但存在假阳性及假阴性。本组 2 例系统超声均未发现脐带异常, 三维彩色多普勒超声

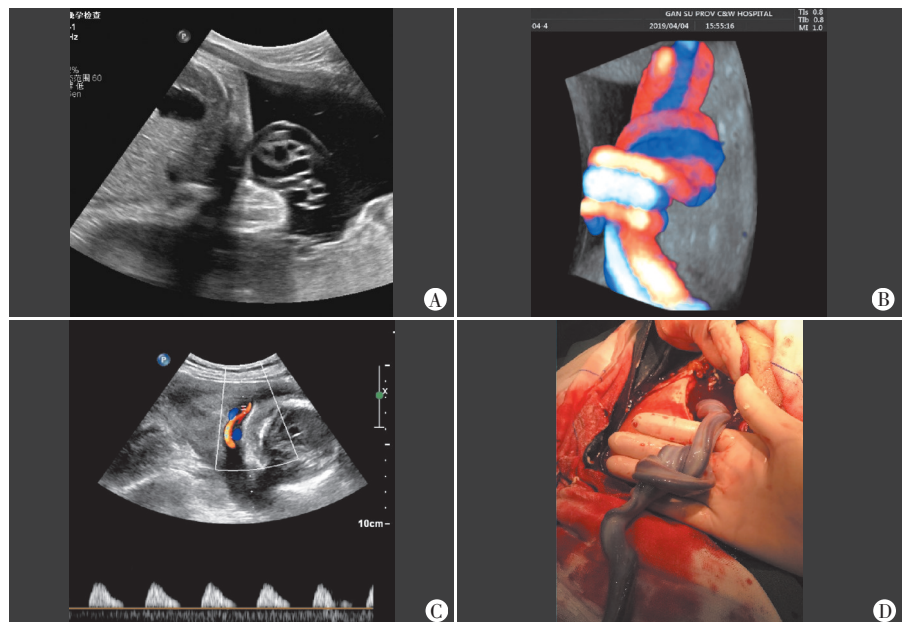


图 1 孕妇 1 声像图及产后图

A: 孕 30⁺3 周二维超声显示脐带局部堆积成襻; B: 孕 30⁺3 周三维血流成像图; C: 孕 37⁺5 周超声检查示脐动脉舒张期血流缺失; D: 产后证实为中段打结

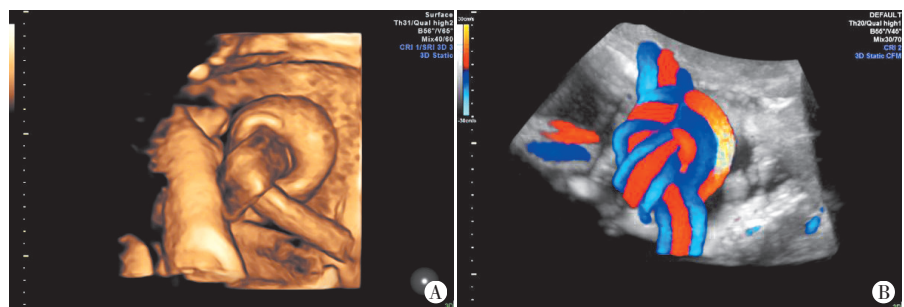


图 2 孕妇 2 三维超声图像

A: 孕 26 周三维图; B: 孕 32 周三维血流成像图

(下转第 151 页)