

血管紧张素 II 及其受体在疼痛中的研究进展

邢 丹 张励才

摘 要 血管紧张素 II (Angiotensin II, Ang II) 是肾素 - 血管紧张素系统 (the renin - angiotensin system, RAS) 的主要活性肽, 主要作用于 AT₁R (angiotensin II receptor) 和 AT₂R (angiotensin II type 2 receptor) 两种受体, 在人类及大鼠组织中广泛表达。近年来发现 Ang II 及其受体还参与疼痛的调节, 其受体拮抗剂可应用与临床疼痛的治疗。本文就血管紧张素 II 及其受体在疼痛中的研究进展进行综述。

关键词 Ang II AT₁R AT₂R 疼痛

中图分类号 R33

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.02.045

在 70 多年前, 有两组研究者成功分离得到具有生物活性的血管紧张素 II。血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 是由血管紧张素 I 在血管紧张素转化酶的作用下, 水解产生的八肽, 是肾素 - 血管紧张素系统 (the renin - angiotensin system, RAS) 的主要活性肽, 主要作用于两种受体: 血管紧张素 II 1 型受体 (angiotensin II type 1 receptor, AT₁R) 及血管紧张素 II 2 型受体 (angiotensin II type 2 receptor, AT₂R), 在体液电解质和血压的调节中发挥着不可或缺的作用。近年来随着人们对 Ang II 及其受体的研究不断深入, 发现还参与感觉信息的传递包括痛觉、学习、记忆及情绪反应的调节, 越来越多的研究提示 Ang II 可能作为一种神经递质或调质与其受体相互作用参与疼痛的调节。本文就 Ang II 及其受体的生物学特性、在疼痛中的作用、在外周及中枢水平参与疼痛调节的机制进行综述。

一、Ang II 及其受体的生物学特性

1. Ang II 及其受体的结构: 血管紧张素 II 的结构特征为: 由 Asp - Arg - Val - Tyr - Ile - His - Pro - Phe 8 肽组成, 具有 Tyr⁴ - Ile⁵ - 羧基折叠结构; His⁶ - Pro⁷ 以反式存在; 3 个氨基酸 Tyr⁴ - His⁶ - Phe⁸ 的侧链芳香环聚集在一起, 形成由酪氨酸的羟基 - 组氨酸的咪唑基 - 苯丙氨酸的羧基组成的电子传递系统。该系统类似于丝氨酸蛋白水解酶中的电子传递系统; C 端的三肽形成转角; 7 - 位脯氨酸的存在可保持 6、8 位两个氨基酸的空间构象处于聚集状态。

AT₁R 由 359 个氨基酸组成, 相对分子质量为 40kDa, 于 G 蛋白偶联受体超家族成员。在人类, 只有单一的受体型, 基因定位于 3 号染色体; 在啮齿类动物, AT₁R 有两种亚型, 即 AT_{1a} 和 AT_{1b}。AT_{1a} 定位于 17 号染色体, 而 AT_{1b} 定位于 2 号染色体, 这两种亚型的氨基酸序列具有 95% 的相似, 二者的分布和生物学特性也非常相似。

与 AT₁R 相似, AT₂R 相对分子质量为 41kDa, 由 363 个氨基酸组成, 其基因定位于 X 染色体, 但与 AT₁R 仅有 34% 的同源性。也具有 7 个跨膜区, 属于 G 蛋白偶联受体超家族成员, 分别在胞内、外形成 3 个环状结构, 其胞外第 2 环上的 Arg¹⁸² 第 3 环中的 Asp²⁹⁷ 是 Ang II 与 AT₂R 结合位点所在, 胞外 N 端含有 5 个潜在糖基化位点, 胞内第 2 个环中 N 端存在一个 Asp¹⁴¹ - Arg¹⁴² - Tyr¹⁴³ 高保守序列, 是与 G 蛋白偶联受体作用的关键位点, 第 3 个胞内环很短, 在 AT₂R 介导的信号传递中起着非常重要的作用^[1]。

2. Ang II 及其受体的分布: 免疫组化及放射自显影技术发现大鼠在脑中 Ang II 高密度结合的脑区: 依次为丘脑、中脑、最后区、延髓、下丘脑、纹状体、小脑海马和皮质。近年研究发现 AT₁R 主要高度分布于纹状体、下丘脑室旁核及孤束核, 也出现在室周器管、中脑、黑质、臂旁核、中脑导水管、脊髓中间外侧柱及背角、杏仁核、终纹床核、皮质及海马肺、血管平滑肌、肝、肾、肾上腺、脑。在神经系统中 AT₁R 常位于突触前神经末梢, 也存在胶质细胞上。脱水、高血压及各种应激能上调或下调 AT₁R 的表达。在人类胚胎发育期, AT₂R 几乎在所有组织中含量丰富, 但在成年后, 仅在大脑的特定区域, 尤其是丘脑及小脑与感觉相关的神经元, 也在背根神经节、三叉神经节及脊髓

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81371243)

作者单位: 221004 徐州医学院、江苏省麻醉学重点实验室、江苏省麻醉与镇痛应用技术重点实验室

通讯作者: 张励才, 电子信箱: lc Zhang@xzmc.edu.cn

及脑干有表达。在皮肤与神经系统受损等情况下 AT_2R 表达上调^[2]。

3. Ang II 及其受体的信号转导: Ang II 与 AT_1R 结合, 与 G_q 及 G_i 蛋白偶联, 激活 PLC 途径: 导致第二信使 IPI_3 、DAG 的产生, 从而引起胞内钙流的增加, 激活 Ca^{2+} 依赖性蛋白激酶 C。还抑制腺苷酸环化酶的活性, 减少胞内 cAMP 的生产同时也通过 RhoA/Rho 激酶途径抑制肌球蛋白轻链的磷酸化增加钙通道的敏感度。另一种途径是 Ang II 与 AT_1R 结合激活磷脂酶 A2 促进花生四烯酸衍生物及 NADPH 氧化酶源性 ROS 的产生, 使氧化应激增加。激活磷脂酶 D (PLD) 促进磷脂酰胆碱的水解, 刺激细胞增殖和增加 Ca^{2+} 内流, 并调节细胞膜上离子通道的功能, 包括大鼠心室肌受 Ang II 的激活增加 Na^+ 通道的开放次数、猪冠状动脉平滑肌细胞上 Ang II 阻断 ATP 敏感型 K^+ 通道。

而 Ang II 与 AT_2R 结合介导的血管扩张主要是通过 BK (缓激肽)/NO/cGMP 级联反应完成的, 外源性的 Ang II 作用于 AT_2R , 抑制 Na^+/H^+ 交换, 阻止 H^+ 外流, 使细胞内酸化, 激肽酶原活性增加, 通过 B_2R , 导致 BK 释放, 产生 NO, 促进 cGMP 的合成增加, 进而产生舒张血管的效应。还可以通过过调节酰基鞘胺醇 (ceramide, CM) (细胞内的一种脂质第二信使) 的再合成实现的, AT_2R 激活后引起丝氨酸和棕榈酰辅酶 A 缩合后再合成 CM, 激活一系列信号级联反应从而引起细胞凋亡。此外 AT_2R 激活后, 还可以通过磷脂酶 A_2 (PLA_2) 途径使其活性增加, 引起花生四烯酸和细胞色素 P450 依赖的代谢物释放, 进而激活小 G 蛋白 p21ras, 并调节 Ang II 诱导的 MAPK 磷酸化, 促进近曲小管钠排泄, 对血压调节有重要作用^[3]。

二、Ang II 及其受体在疼痛中的作用

疼痛引起应激反应的介质还包括儿茶酚胺、皮质醇、血管紧张素等, 会引起血压的变化。高血压在人类及动物模型中与疼痛敏感度的降低相关, 术后硬膜外镇痛能有效降低心律失常和心肌缺血的发生率, 并使心肌梗死发生率下降的趋势。相反血压的高低也与疼痛有一定的关系, 高血压最常见症状为头痛, 有报道颞下颌紊乱综合征、偏头痛常伴随疼痛敏感度降低。2012 年“正常人群体中疼痛敏感度基因鉴定”通过外显子测序的方法鉴定了与疼痛敏感度相关的基因变异, 对 2500 名受试者进行定量感觉测试 (quantitative sensory testing, QST) 在变异模式上差异有统计学意义。对这些基因进行代谢通路功能分析, 首次发现血管紧张素 II 代谢通路在疼痛调节中发挥重要作用

用, 提示抗高血压相关药物或许可以用于疼痛治疗^[4]。近年来血管紧张素转化酶抑制剂 (angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI) 及血管紧张素受体阻断剂 (angiotensin receptor blockers, ARBs) 被用于疼痛的研究及治疗, 2014 年 AT_2R 的特异性拮抗剂的 2 期临床试验对于带状疱疹后神经痛的有效性、安全性耐受性、药代动力学进行了多中心、安慰剂对照、双盲、随机的研究, 发现 EMA401 (每天 2 次, 每次 100mg) 对带状疱疹后神经痛的缓解效果显著优于安慰剂, 尚未发现该剂量有不良反应, 患者对 EMA401 的耐受性良好^[2]。然而血管紧张素及其受体在疼痛中的作用机制尚不太明确。

三、Ang II 及其受体在外周参与疼痛调节的机制

2010 年发现 Ang II 与 P 物质及 CGRP 降钙基因相关肽共表达于 DRG 神经元提示 Ang II 在伤害性感受中具有作用。反转录定量 PCR (qRT-PCR) 发现 DRG 表达大量的 Ang-N mRNA 及 ACE mRNA, 未检测出肾素 mRNA, 在大鼠 DRG 有组织蛋白酶 DmRNA 及蛋白表达提示 DRG 可能存在肾素转变为 Ang I 的通路。高效液相色谱也发现人类 DRG 有 Ang II, 在 DRG 许多神经元应用原位杂交证实 Ang-N mRNA 的表达, DRG 神经元 Ang II 与突触素、P 物质、CGRP 共表达, 提示可能作为伤害性感受的神经递质^[6]。

从 1998 年就有报道 Ang II 具有促突起生长的作用, 2003 年发现在大鼠坐骨神经损伤后能有效的修复神经, 2008 年应用 AT_2R 拮抗剂能够消除雌激素处理后的 DRG 的促突起生长作用, 这些提示该受体可能在疼痛信号及突起生长及再生中有作用。 AT_2R 分布于小到中直径人类及大鼠 DRG 神经元, Ang II 能增强辣椒素引起的兴奋性, AT_2R 拮抗剂 EMA401 能剂量依赖性的抑制培养 DRG 神经元对辣椒素的反应, 并能被膜渗透剂 8-bromo-cAMP 及 Ang II, forskolin (cAMP 的来源) 所翻转提示 EMA401 通过减少 cAMP 来抑制辣椒素引起的钙流。通过 Gap43 表达的情况判断轴突的长度及密度的变化, 发现 EMA401 也减少 DRG 轴突的密度及长度, 但并未看到轴突解体的现象, 提示这种药不是由于神经毒性的效应并且突起生长依赖 cAMP 信号的升高导致突起生长相关的肌动蛋白、微管蛋白及 Gap43 上调, 因此 Ang II 应用后 cAMP 水平升高, 及应用 EMA401 后其水平下调提示 Ang II 在感觉神经元中的致炎作用^[7]。

有研究发现 AT_1R (血管紧张素受体拮抗剂) 氯沙坦能胶原引起的关节炎模型 (胶原 AIA 和佐剂 Ad-

IA)减少关节水肿及 TNF 产生。氯沙坦降低了嗜中性粒细胞募集及 TNF- α 、IL-1 β 、趋化因子配体 1 的生成,显著减少组织损伤和炎症、蛋白多糖损失的减少、显著缓解了关节炎痛^[8]。

进一步报道 CFA 注射后的炎性痛伴随皮肤及表皮 PGP9.5、CGRP 及 GFR α 2 阳性轴突的增殖,在大鼠后爪注射 CFA 前持续给予 AT₂R 拮抗剂 PD123319 完全阻止了 7 天的痛觉过敏,PGP9.5 减少。在 CFA 注射后给急性给予药物而完全翻转热痛敏,部分逆转机械痛敏,PGP9.5 增加。并且长期应用 PD123319 能影响 CFA 皮肤及表皮神经支配表现为 PGP9.5 标记减少,CGRP 也减少,然而急性给予拮抗剂 CGRP 无明显变化,提示增加的痛敏被认为与突起生长有关^[9]。

然而全身持续给予 Ang II 在 CCI 7 天后引起对机械、热刺激及冷刺激引起的痛敏反应,并损伤 DRG 大直径神经元及激活星形胶质细胞。AT₁R 拮抗剂氯沙坦能阻止机械过敏、减弱热痛觉过敏,但是对伤害性热刺激无效,不能抑制全身应用 Ang II 所引起的 DRG 神经元的损伤及初级传入神经元的损伤及星形胶质细胞(SGCs)的激活^[10]。提示 Ang II 参与神经病理性疼痛的调节与 DRG 神经元损伤及星形胶质细胞激活有关。对于 Ang II 是如何损伤 DRG 神经元及激活星形胶质细胞尚需进一步研究。

近年来 Ang II 及其受体在外周痛中的信号转导有以下初步研究。有研究者发现 CCI 大鼠 DRG 中 Ang II 及磷酸化 p38MAPK 及 p44/p42MAPK 的水平升高,腹腔注射用 AT₂R 拮抗剂 EMA300 后引起缩足阈值的升高,p38MAPK 及 p44/p42MAPK 磷酸化水平下降,而 Ang II 无变化,提示 Ang II/AT₂R 在 DRG 通过 p38MAPK 及 p44/p42MAPK 激活调节神经病理性疼痛^[11]。另有研究发现,Ang II/AT₁R 及 AT₂R 可能在 TNF- α 介导的神经病理性疼痛起作用,TNF- α 通过 DRG 的 TNFR₁ 经 p38MAPK/GSK-3 β 抑制 AT₁R 的表达提示 Ang II 在 DRG 神经元 TNF- α 的表达具有双面的效应,一放面 AT₁R 抑制 TNF- α 的表达,另一方面通过 AT₂R 促进 TNF- α 的表达,这主要看 AT₁R/AT₂Rd 的比率从而 Ang II 对 TNF- α 表达的效应^[12]。

另外前列腺癌引起的骨癌痛大鼠,静脉给予 AT₂R 拮抗剂 EMA200 引起剂量依赖性镇痛,通过抑制 p38MAPK 及 p44/43MAPK 激活减少 Ang II,反过来引起下游 NGF/TrkA 信号通路的减少,从而起到镇

痛的作用^[13]。

四、Ang II 及其受体在中枢参与疼痛调节的机制

有研究者发现含有 Ang II 的神经末梢包括伤害性 C 纤维及 A δ 纤维终止在高度表达 AT₁R 的脊髓背角 I ~ II 层(边缘层和胶质层),提示 Ang II 在疼痛调节中的作用,应用 Ang II 易化了大鼠脊髓背角浅层的大多数神经元。有研究者发现 Ang II 通过脊髓 AT₁R 受体介导的 p38MAPK 的激活引起了伤害性感受行为包括舔咬爪子、尾巴及后肢轻微的扫向腹部,鞘内给 Ang II 引起伤害性行为,由两个峰 5 ~ 10min 及 20 ~ 25min,由于在 PAG 腹外侧有大量 Ang III、Ang IV 及 Ang(1 ~ 4)。因此可以假设 Ang II 引起第 1 峰效应,Ang III 引起第 2 峰效应。这种伤害性行为能被鞘内注射吗啡剂量依赖性的被抑制,说明这种行为与伤害性感受相关,并且被氯沙坦、p38MAPK 抑制剂抑制,注射 Ang II 所引起的 p38MAPK 磷酸化的增加被氯沙坦抑制,而 ERK1/3 及 JNK 无影响,提示 Ang II 通过脊髓 AT₁R 受体介导的 p38MAPK 的激活,从而参与疼痛的调节^[14]。

RAS 常存在于富含阿片的脑区例如中脑导水管周围灰质及三叉神经脊束核,中脑导水管周围灰质(periaqueductal gray, PAG)的胞核和胞质分布着 AT₁R,而 AT₂R 分布在胞质,在 PAG 腹外侧不同部位注射 Ang II 引起剂量依赖性的镇痛效应(甩尾潜伏期延长),并引起剂量依赖性的切口疼痛持续时间减少长达 20min,PAG(腹外侧)应用 AT₁R 拮抗剂氯沙坦或 AT₂R 拮抗剂 CGP42112A 增加切口痛。侧脑室注射 Ang II 在多项啮齿动物疼痛模型中有镇痛效应,侧脑室给予 Ang II 能翻转吗啡引起的镇痛。在侧脑室给予 Ang II 的类似物沙拉新对乙酸诱导的腹部收缩小鼠起到镇痛的作用,AT₂R 拮抗剂 PD123319 能够拮抗 Ang II 的镇痛效应然而 AT₁R 的拮抗及氯沙坦则不能拮抗,然而 AT₂R 敲除小鼠产生焦虑样行为,在甩尾实验痛阈明显降低,弓状核(ARC)中的 β -内啡肽分步明显降低,而不影响学习行为及脑水肿,可见 AT₂R 可能调节痛阈。

Ang II 在不同脑区引起伤害性感受传递的易化或抑制。延髓尾端腹外侧区(caudal ventrolateral medulla, CVLM)是疼痛下行调制的重要脑区,其有神经元投射到脊髓第 2 板层,并且有 AT₁R 受体表达,CVLM 注射 Ang II 发现甩尾潜伏期降低,在甲醛溶液引起的炎性痛中痛阈降低,疼痛相关行为增加,而 AT₁R

受体拮抗剂氯沙坦拮抗 Ang II 引起的痛觉过敏,在 CVLMAT₁R 低表达区注射 Ang II 不引起痛觉过敏,说明该受体在 CVLM 参与 Ang II 的痛觉过敏^[15]。

五、展 望

综上所述,血管紧张素 II 是疼痛介质或调质,参与疼痛调节。目前在外周参与疼痛的调解机制及细胞内信号转导机制不清楚,在中枢与疼痛相关的研究尚不充分。临床调查型试验研究显示其受体拮抗剂可以用于疼痛的治疗,但其具体的作用机制及意义仍不清楚,有待于进一步实验研究。慢性疼痛作为一种病症,当前尚无较好的治疗手段,一些用于治疗疼痛的药物,不是收效甚微就是不良反应很大,因此了解疼痛机制、开发新的用于镇痛的药物迫在眉睫,探索 Ang II 及其受体在疼痛中的作用为人们进一步深入阐明疼痛机制提供新的思路。

参考文献

- 1 Wright JW, Harding JW. Brain renin – angiotensin – a new look at an old system[J]. Prog Neurobiol, 2011, 95(1): 49 – 46
- 2 Wright JW, Harding JW. The brain renin – angiotensin system: a diversity of functions and implications for CNS diseases [J]. Pflugers Arch, 2013, 465(1): 133 – 151
- 3 Akazawa H, Yano M, Yabumoto C, *et al.* Angiotensin II type 1 and type 2 receptor – induced cell signaling[J]. Curr Pharm Des, 2013, 19. PMID: 23176210
- 4 Williams FM, Scollen S, Cao D, *et al.* Genes contributing to pain sensitivity in the normal population: an exome sequencing study [J]. PLoS Genetics, 2012, 8: e1003095
- 5 Rice AS, Dworkin RH, McCarthy TD, *et al.* EMA401, an orally administered highly selective angiotensin II type 2 receptor antagonist, as a novel treatment for postherpetic neuralgia: a randomised, double – blind, placebo – controlled phase 2 clinical trial [J]. Lancet, 2014, 383(9929): 1637 – 1647
- 6 Patil J, Schwab A, Nussberger J, *et al.* Intraneuronal angiotensinergic system in rat and human dorsal root ganglia [J]. Regul Pept, 2010, 162

- (1 – 3): 90 – 98
- 7 Anand U, Facer P, Yiangou Y, *et al.* Angiotensin II type 2 receptor (AT₂R) localization and antagonist – mediated inhibition of capsaicin responses and neurite outgrowth in human and rat sensory neurons [J]. Eur J Pain, 2013, 17(7): 1012 – 1026
- 8 Silveira KD, Coelho FM, Vieira AT, *et al.* Mechanisms of the anti – inflammatory actions of the angiotensin type 1 receptor antagonist losartan in experimental models of arthritis [J]. Peptides, 2013, 46: 53 – 63
- 9 Chakrabarty A, Liao Z, Smith PG. Angiotensin II receptor type 2 activation is required for cutaneous sensory hyperinnervation and hypersensitivity in a rat hind paw model of inflammatory pain [J]. J Pain, 2013, 14(10): 1053 – 1065
- 10 Pavel J, Oroszova Z, Hricova L, *et al.* Effect of subpressor dose of angiotensin II on pain – related behavior in relation with neuronal injury and activation of satellite glial cells in the rat dorsal root ganglia [J]. Cell Mol Neurobiol, 2013, 33(5): 681 – 688
- 11 Smith MT, Woodruff TM, Wyse BD, *et al.* A small molecule angiotensin II type 2 receptor (AT₂R) antagonist produces analgesia in a rat model of neuropathic pain by inhibition of p38 mitogen – activated protein kinase (MAPK) and p44/p42 MAPK activation in the dorsal root ganglia [J]. Pain Med, 2013, 14(10): 1557 – 1568
- 12 Yang Y, Wu H, Yan JQ, *et al.* Tumor necrosis factor – alpha inhibits angiotensin II receptor type 1 expression in dorsal root ganglion neurons via beta – catenin signaling [J]. Neuroscience, 2013, 248C: 383 – 391
- 13 Muralidharan A, Wyse BD, Smith MT. Analgesic efficacy and mode of action of a selective small molecule angiotensin II type 2 receptor antagonist in a rat model of prostate cancer – induced bone pain [J]. Pain Med, 2014, 15(1): 93 – 110
- 14 Pavel J, Tang H, Brimijoin S, *et al.* Expression and transport of Angiotensin II AT₁ receptors in spinal cord, dorsal root ganglia and sciatic nerve of the rat [J]. Brain Res, 2008, 1246: 111 – 122
- 15 Marques – Lopes J, Pinto M, Pinho D, *et al.* Microinjection of angiotensin II in the caudal ventrolateral medulla induces hyperalgesia [J]. Neuroscience, 2009, 158(4): 1301 – 1310

(收稿日期: 2014 – 07 – 05)

(修回日期: 2014 – 09 – 01)

Xp11.2 易位/TFE – 3 基因融合相关性肾癌的病理学研究进展

魏建国 袁晓露 孙爱静

摘 要 Xp11.2 易位/TFE – 3 基因融合相关性肾癌是一种发病极为罕见的肾脏恶性肿瘤, 主要见于儿童和青年。它在遗

基金项目: 浙江省医学扶植重点建设学科计划项目 (GJSX – 010 – 004)

作者单位: 312030 浙江省绍兴市人民医院病理科 (魏建国、孙爱静); 湖北省孝感市中心医院病理科 (袁晓露)

通讯作者: 袁晓露, 主治医师, 电子信箱: yuanyuaxiaolu@126.com