



神经递质和调质参与导水管周围灰质痛觉调控的研究进展*

严传婷 杜宜楠 韩 静 任 维 刘志强**

(陕西师范大学现代教育技术教育部重点实验室, 西安 710062)

摘要 导水管周围灰质 (periaqueductal gray, PAG) 在疼痛的调控过程中处于一个不可或缺的位置. 其不仅是痛觉信息上行传递的重要部位, 还是疼痛抑制系统的重要组成部分. 在 PAG, 包括 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA)、5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 和谷氨酸 (glutamate, Glu) 在内的神经递质以及内源性阿片肽 (endogenous opioid peptides, EOP) 和内源性大麻素 (endocannabinoid, eCB) 为代表的神经调质都参与了 PAG 对疼痛的信息传递以及调节. 本文重点综述 GABA、5-HT、Glu、EOP 和 eCB 在 PAG 参与疼痛生理调控机制的研究进展, 以期为中心神经系统的镇痛研究提供一定的理论基础.

关键词 导水管周围灰质, 痛觉调控, 神经递质, 神经调质, 受体

中图分类号 R338.3

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0187

疼痛是一种包含痛感觉和痛反应的复杂生物学活动, 并伴有强烈的情绪反应. 生理状态下的疼痛反应作为机体的一种防御性反应, 在应对伤害性刺激时发挥重要的积极作用. 然而当疼痛反应转变为慢性、持续性的病理状态时, 便会对人们的学习、工作和生活造成严重的困扰^[1], 因而对于疼痛机制的研究及其预防和控制在现代医学中至关重要^[2-3]. 导水管周围灰质 (periaqueductal gray, PAG) 在痛觉调控过程中处于一个不可或缺的位置^[4-5]. 非特异性激活 PAG 腹外侧区 (ventrolateral PAG, vlPAG) 神经元可产生镇痛效应, 反之则产生痛觉过敏^[6-7]. 此外, 刺激 PAG 的其他区域也能不同程度地引起痛觉反应的变化. PAG 不仅是痛觉信息上行传递的重要部位, 还是疼痛抑制系统的重要组成部分^[8]. 因而深入阐述 PAG 调控痛觉反应的作用机制对中枢神经系统痛觉调控方式的理解和应用具有重要意义.

疼痛的调控在痛觉传导通路的不同层次通过神经元轴突释放的递质和调质来产生, 并且在同一水平, 神经元与神经元之间、神经元与胶质细胞以及不同类别胶质细胞之间的相互作用也参与痛觉的调

控. 在 PAG, 有大量的神经递质和调质都参与了对疼痛的调控作用, 包括谷氨酸 (glutamate, Glu)、 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA)、5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 等以及内源性阿片肽 (endogenous opioid peptides, EOP)、内源性大麻素 (endocannabinoid, eCB)、P 物质 (substance P, SP)、神经降压素 (neurotensin, NTS)、胆囊收缩素 (cholecystokinin, CCK)、神经肽 S (neuropeptide S, NPS) 和食欲素 (orexins) 等. 本文将重点阐述其中的几类神经递质和调质在 PAG 参与疼痛调控生理机制的研究进展, 以期为进一步研究中枢神经系统的痛觉调控机制提供一定的理论基础.

1 PAG的解剖结构概述

PAG 是由一群位于中脑顶盖和被盖之间、围

* 国家自然科学基金(11727813, 91949105)和陕西师范大学学习科学交叉学科建设资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 029-85308178, E-mail: liuzhiqiang@snnu.edu.cn

收稿日期: 2020-07-31, 接受日期: 2020-08-17

绕中脑导水管的小神经细胞所形成的一片环形灰质层^[9]. PAG的头侧和尾侧分别达后连合和蓝斑核, 分别与第三脑室周灰质与第四脑室的室底灰质相接. 上丘、下丘、楔形核和中脑束以及三叉神经中脑核、滑车神经核和动眼神经核以及内侧纵束分别构成PAG的背侧、背外侧、外侧和腹侧边界. 最初, 人们将PAG分为3个区域: 背侧、内侧和腹侧. 现在普遍认为PAG分为4个分支, 即背内侧区(dorsomedial PAG, dmPAG), 背外侧区(dorsolateral PAG, dlPAG), 外侧区(lateral PAG, lPAG)以及vIPAG^[10], 这4个亚区以vIPAG与疼痛的关系最为密切^[11-12]. PAG与包括前额叶(prefrontal cortex, PFC)、扣带回(anterior cingulate cortex, ACC)和岛叶在内的皮质区、间脑、中脑、延髓等多个核团和脊髓都有广泛的联系^[13-15]. 不仅调节疼痛、呼吸、发声、排尿和心血管活动等机体生理功能, 而且调节焦虑、恐惧等情绪反应^[16-20].

2 PAG参与痛觉调控的功能定位

疼痛是指实际或潜在组织损伤相关, 或类似令人不快的感觉和情感体验^[21], 包括急性疼痛和慢性疼痛两类. 机体对痛觉的调控由内源性痛觉反应系统完成, 包括痛觉上行传递系统(ascending pain transmission pathways)和痛觉下行调节系统(descending pain modulation pathways), 前者主要是将作用于机体的伤害性刺激从伤害性感受器转换为伤害性信息经脊髓背角从下往上传递到丘脑、皮层等脑区, 让机体产生痛反应, 后者主要是对伤害性刺激产生的痛反应进行进一步的调控(即下行抑制或下行易化), 以便于机体在遭受到伤害性刺激时作出进一步调控反应.

PAG不仅是痛觉信息向上传递的重要部位, 还是疼痛抑制系统的重要组成部分^[8]. PAG对疼痛调控涉及一个复杂的网络路径, 几乎所有的神经递质以及大量的调质都参与了PAG对疼痛的调控作用. 在痛觉上行传递系统中, PAG经脊髓外侧索接收来自初级传入伤害感受器传递到脊髓的痛觉信息, 并将其传递到杏仁核、丘脑、皮层(额叶皮层、岛叶皮层)等痛觉高级调控中枢^[22-25], 这是一个自下而上的信息传导方式. 在痛觉下行调节系统中, 痛觉上行传递系统中的许多伤害性信息受到脊髓上下行通路的调节, PAG不仅接收来自皮层、丘脑、下丘脑等高级调节中枢的纤维投射, 同时自身还发出纤

维投射到延髓头端腹内侧区(rostral ventromedial medulla, RVM)和脊髓, 对痛觉上行传递系统中接收外周伤害性刺激所产生的痛反应做进一步调节^[26-28], 这是一个自上而下的信息传导方式. PAG中存在两个独立的痛觉调节系统, 一个是包括dmPAG、dlPAG和lPAG的背侧系统, 另一个是包括vIPAG和中缝核团的腹侧系统^[29].

3 PAG参与痛觉调控的生理机制

PAG中存在大量的神经递质和调质, 包括GABA、5-HT、Glu等神经递质以及EOP、eCB等神经调质, 这些神经递质和调质在痛觉的调控过程中起着十分重要的作用(图1, 表1).

3.1 γ -氨基丁酸

GABA是PAG内重要的抑制性神经递质. GABA能神经元分泌的GABA主要与特异性的GABA受体结合而发挥其生物学效应. GABA受体有3个亚型, 分别是GABA_A、GABA_B和GABA_C受体. 其中GABA_A和GABA_C受体属于配体门控通道, GABA_B受体属于G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)^[30-32]. GABA受体的功能包括痛觉调控^[33]、听觉传导、酒精依赖、神经保护等.

PAG中含有广泛的GABA能神经元网络. 首先, PAG接收包括腹侧被盖区(ventral tegmental area, VTA)和黑质(substantia nigra, SN)等多个脑区的GABA能传入^[34-35]. 其次, PAG中存在大量的GABA能抑制性中间神经元, 可直接或间接地调控PAG传出通路的活动. 此外, Reichling等^[36]应用免疫细胞化学(immunocytochemistry, ICC)结合逆行追踪术(retrograde tract tracing, NTT)将示踪剂注射到中缝大核(nucleus raphe magnus, NRM)和脊髓, 发现从NRM逆行标记到PAG的GABA能神经元占1.5%, 从脊髓逆行标记到NRM外侧的GABA能神经元占15%, 由此可见GABA能投射是PAG-NRM-脊髓通路的一个组成部分. 后续Reichling等^[37]通过免疫电镜细胞化学技术(electron microscopic immunocytochemical)观察到PAG神经元轴突终末大约有40%为GABA能阳性, 结合免疫胶体金技术(Immune colloidal gold technique, GICT)和NTT检测到PAG中的GABA能神经元与50%PAG至NRM投射神经元的胞体和树突发生纤维联系, 这表明GABA能神经元可直接调控PAG至NRM投射神经元的活动.

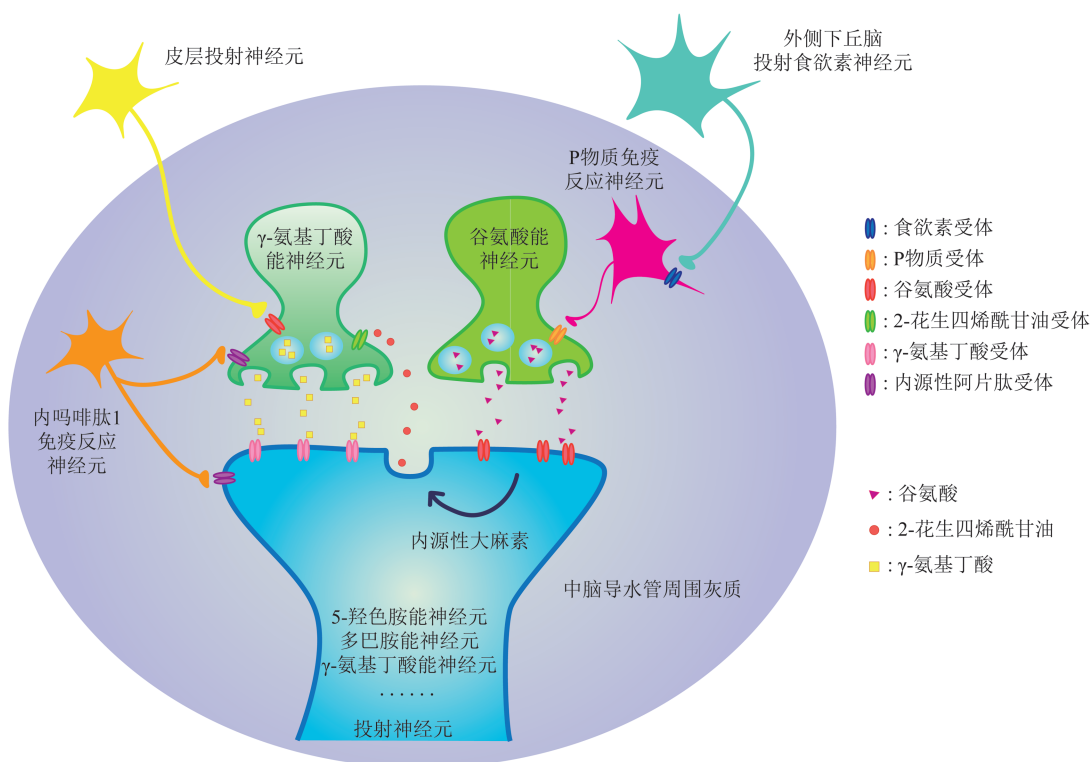


Fig. 1 Schematic of PAG neurotransmitters and modulators involved in pain regulation

图1 PAG神经递质和调质参与痛觉调控模式图

Huang 等^[38] 研究电针 (electroacupuncture, EA) 对慢性压迫神经损伤 (chronic constriction injury, CCI) 模型大鼠神经病理性疼痛的影响, 发现 15 Hz 的 EA 可减轻大鼠机械性痛觉过敏和热性痛觉过敏的疼痛行为, 这些现象与 PAG 中 GABA 含量以及 GABA 受体的增加有关, 由此可见 PAG 中的 GABA 与痛觉的调控有着十分密切的关系. 运动皮层刺激 (motor cortex stimulation, MCS) 是一种神经外科技术, 用于治疗神经性疼痛综合征. Andrade 等^[39] 采用高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 发现 MCS 可以使 PAG 中的 GABA 水平显著升高, 逆转 CCI 模型大鼠周围神经病变引起的痛觉过敏, 并且 GABA 的拮抗剂可以逆转 MCS 产生的镇痛作用, 说明来自皮层的纤维投射可以通过 PAG 对痛觉进行调控, 并且这种调控作用与 GABA 系统有关.

PAG 是 EOP 介导中枢神经系统镇痛的主要部位 (表 1). Depaulis 等^[40] 发现, 在 PAG 双侧注射吗啡引起的抗伤害性效应可被相同部位注射 GABA 受体激动剂显著逆转, 注射 GABA 受体拮抗剂显

著增强, 提示在 PAG 中阿片肽引起的镇痛作用部分是通过 GABA 来实现的.

此外, 下行的去甲肾上腺素 (noradrenaline, NA) 能投射纤维通路是伤害性感受下行通路的重要组成部分, 位于蓝斑和脑桥 A5、A6 和 A7 的儿茶酚胺细胞群主要投射至脊髓背角^[41], 约占所有投射至该区域 NA 能纤维的 50%^[42], 其中 A7 细胞群有 80% 的 NA 能神经元投射至脊髓背角浅层 (I~IV 层), GABA 与上述 NA 能投射纤维的解剖结构以及生理功能均有密切的联系. Bajic 等^[43] 采用逆行追踪结合酪氨酸羟化酶免疫反应 (tyrosine-hydroxylase immunoreaction, TH-IR) 观察到 vIPAG 的神经元与 A7 细胞群上的 NA 能神经元的胞体和树突存在突触联系, Budai 等^[44] 通过局部给药的方式发现, α_2 肾上腺素受体拮抗剂鞘内注射可部分减少由 PAG 微量给予 GABA_A 受体拮抗剂而产生的抗伤害性效应, 表明 GABA_A 受体拮抗剂在 PAG 产生的镇痛作用部分是通过促进 NA 能投射纤维在脊髓释放 NA 而产生的. Nuscier 等^[45] 在鞘内给予 α_2 肾上腺素受体拮抗剂可减弱在 A7 核群微量注射 GABA_A 受体拮抗剂产生的抗伤害性作用, 说明

A7细胞核群上的NA能神经元受到GABA能神经元的紧张性抑制, 同时进一步说明A7细胞核群下行痛觉调制系统中NA能投射受PAG中GABA能神经元的紧张性抑制. 综上所述, PAG中的GABA系统对于A7细胞群投射至脊髓的NA能纤维具有重要的调控作用, 且与痛觉密切相关.

综上所述, GABA在痛觉的传递和调控中发挥重要作用, 而PAG是其主要靶核团之一, 其途径可通过长投射纤维投射或局部环路抑制痛觉下行调控系统. 并且EOP在PAG中产生的镇痛作用部分是通过GABA系统实现的. 增强GABA功能的干预策略和手段是對抗疼痛的重要研究方向之一.

3.2 5-羟色胺

5-HT是一种单胺类神经递质, 通过与不同的5-HT受体亚型结合激活第二信使及离子通道, 从而参与多种机体功能调节. 5-HT受体种类繁多, 包括7个亚家族(即5-HT_{1R}~5-HT_{7R})共14个5-HT_R亚型, 其中只有5-HT_{3R}是配体门控离子通道, 其余6个亚家族均为GPCRs^[46-47], 5-HT具有调节疼痛、药物成瘾、学习记忆、运动协调、睡眠觉醒、焦虑抑郁等多种功能性生理作用^[47-51].

PAG中5-HT阳性纤维终末的分布主要集中在vIPAG^[52]. 5-HT能细胞大多为中型梭形细胞, 而大型、小型、卫星形细胞和三角形细胞较少. 早期有关刺激PAG产生镇痛效应的研究表明, 脑内5-HT水平的改变可介导或调节由刺激PAG引起的镇痛作用^[53], 说明PAG中的5-HT具有痛觉调控作用(表1).

三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)通过激活P2X/P2Y受体来调节疼痛传递, 其中P2X₃亚型是这种作用的重要靶点. Li等^[54]测量CCI模型大鼠机械刺激缩足反应阈值(paw withdrawal mechanical threshold, PWMT)观察到激活vIPAG的5-HT_{7R}可显著提高PMWT, 而经过P2X₃受体拮抗剂预处理后, 可明显抑制5-HT_{7R}产生的镇痛作用, 表明在PAG中, 5-HT_{7R}可能和P2X₃受体相互作用, 继而增强内源性镇痛系统的功能而发挥镇痛作用. Lin等^[55]通过足底辐射热测痛的方法发现, PAG内微量注射吗啡引起的抗伤害性作用可被脊髓内注射5-HT_{1AR}拮抗剂显著减弱, 提示PAG中的EOP可刺激脊髓背角释放5-HT并直接作用于脊髓5-HT_{1AR}, 从而抑制脊髓背角神经元, 这可能是5-HT能神经元通过下行抑制途径抗伤害的机制之一. Jeong等^[56]应用脑片膜片钳技术观察到

5-HT激活了30%~40%被测试神经元的K⁺电流, 并且此K⁺电流可被PTX显著抑制, 表明5-HT诱导的PAG神经元超极化是PTX敏感G蛋白通过5-HT_{1A}受体激活内向整流K⁺电流的结果. Li等^[57]采用脑立体定位注射的方法发现, PAG内微量注射SP可使大鼠的痛阈升高, 海马和下丘脑的5-HT水平升高, 且5-HT合成抑制剂耗竭脑内5-HT后可逆转上述效应, 说明PAG可能通过激活5-HT系统从而介导SP产生的镇痛作用.

综上所述, 5-HT在PAG中对痛觉的调控作用主要是通过改变脑内的5-HT水平, 亦或是发出纤维投射至RVM或投射至其他与疼痛相关的脑区. 且EOP和SP在PAG产生的镇痛作用与5-HT有关. 随着疼痛研究的深入, 5-HT越来越受到大家的关注, PAG中的5-HT在痛觉调控过程中起着十分重要的作用. 值得注意的是, PAG不仅是痛觉调控中枢, 而且是情绪调控中枢, 而5-HT在情绪障碍和疼痛相互影响中作用是目前的研究热点.

3.3 谷氨酸

Glu作为中枢神经系统中主要的一种兴奋性神经递质而发挥其生物学作用, 由相应的特异性谷氨酸受体(glutamate receptors, GluRs)介导. GluRs包括促离子型谷氨酸受体(ionotropic glutamate receptors, iGluRs)和促代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptors, mGluRs)两种. 其中, iGluRs包括N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-Aspartic acid, NMDA)受体、 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸(α -aminocyclopentane-1, 3-dicarboxylate, AMPA)受体和海人藻酸(kainate, KA)受体3个亚型. mGluRs有8个亚型(即mGluR₁~8), 分为3组: I组(mGluR_{1/5})、II组(mGluR_{2/3})和III组(mGluR_{4/6-8}), 所有mGluRs亚型除了mGluR₆亚型外都对疼痛都有不同程度的影响^[58]. GluRs作用包括调节疼痛、影响学习记忆及突触传递和可塑性等^[59-60]. 其中AMPA受体广泛表达于PAG在内的痛觉相关脑区^[61].

Samineni等^[62]采用PWMT测痛的方法发现激活vIPAG内的Glu能神经元可以显著提高小鼠的对伤害性热刺激的PWMT, 说明在PAG中, Glu可以对疼痛产生调控作用(表1).

Oliveira和Prado^[63]应用甩尾测痛(tail flick test, TFT)的方法发现, 刺激PAG同时在中央杏仁核(central amygdaloid nucleus, CeA)和内侧杏仁核(medial nucleus of the amygdala, MeA)注射

利多卡因, TFT 没有明显改变; 刺激 CeA 和 MeA 同时在 PAG 微量注射纳洛酮可以显著降低 CeA 产生的抗伤害作用, 而对 MeA 无影响, 说明 PAG 可能是刺激 CeA 产生镇痛作用的中继站. Bourbia 等^[64]采用大鼠辐射热甩尾反应测痛的方法观察到在 CeA 注射 Glu 可以增加大鼠甩尾反应的潜伏期; 另外还发现 CeA 经过 NMDA 受体拮抗剂预处理后, Glu 不能增加大鼠的甩尾潜伏期, 说明在 CeA 中, Glu 通过与 NMDA 受体结合而产生的镇痛作用. 后续 Bourbia 和 Pertovaara^[65]进一步验证 CeA 中 NMDA 受体介导的抗伤害性作用与 PAG 有关, 采用电生理和脑内埋管立体定位注射的方法发现, 当在 CeA 注射 Glu 时不仅大鼠甩尾潜伏期显著增加, 而且 PAG 中“开启”神经元 (On-cell) 放电频率显著提高, NMDA 受体的拮抗剂可以显著逆转上述效应, 说明 CeA 中 Glu (主要是由 NMDA 受体介导) 诱导的 ON-like-PAG 细胞活化在疼痛的调控中起着重要作用. 综上所述, CeA 中发出纤维投射至 PAG, 引起 PAG 中 On-cell 神经元的活化是下行痛觉调制通路的重要组成部分, 且此环路对痛觉的调控作用与 Glu 有关.

此外 Glu 也参与 PAG 中 eCB 介导的痛觉调控反应. Palazzo 等^[66]将 CB1R 激动剂注射至 PAG 后, 观察到大鼠的伤害性反应 (nociceptive reaction, NR) 潜伏期增加, 并且这种镇痛作用可以被 NMDA 受体拮抗剂和 mGlu5 受体拮抗剂阻断, 说明在 PAG 中, eCB 诱导中枢产生的镇痛作用可能与 Glu 相关, 且是通过 NMDA 受体或 mGlu5 受体介导的.

GluRs 中的 mGluR7 和 mGluR8 通过 PAG-RVM-脊髓下行痛觉调控通路影响 RVM 和脊髓伤害性感受神经元的活动, 参与疼痛的调控过程. 自受体 (autoreceptor) 是指递质直接激动位于本神经末梢的突触前膜受体, 对本递质释放产生负或正反馈调节作用. 其中 mGluR7 主要位于 Glu 能神经元的突触前膜, 作为一种自受体对 Glu 的释放起着精细调控的作用. Glu 是一种兴奋性的神经递质, 其含量降低, 导致 PAG 内源性下行抑制系统的兴奋性活动减弱, 对疼痛的调制产生下行易化作用. 异体受体是指递质激动突触前膜受体, 调节其他递质的释放. mGluR8 主要存在于 vIPAG 的 GABA 能神经元末梢, 是一种异体受体. 激活 mGluR8 会抑制 PAG 内 GABA 的释放, 而 PAG 内的 GABA 能中间神经元是抑制下行抑制系统激活的主要中继神经元,

GABA 的减少对下行抑制系统的激活产生了去抑制作用, 从而对伤害性感受表现出下行的抑制性调控作用^[67-68].

综上所述, Glu 在 PAG 对疼痛的调控作用同 GABA 相反, 可能是通过痛觉高级调控中枢 Glu 诱导 PAG 的 On-cell 活化介导疼痛的下行控制系统, 也可能是通过对其自身释放的精细调控作用, 亦或是通过间接的方式抑制 PAG 中 GABA 释放产生的去抑制作用对痛觉进行调控. 并且 eCB 在 PAG 产生的镇痛作用部分是通过 Glu 的作用实现的. Glu 作为中枢神经系统中主要的兴奋性神经递质在痛觉的调控过程中起着特别重要的作用, 不仅自身可对疼痛产生直接调节作用, 同时还可与其他神经递质和调质共同介导对痛觉的调控.

3.4 内源性阿片肽

阿片肽分为 EOP 和外源性阿片肽. EOP 是哺乳动物体内天然生成具有阿片样作用肽类物质的总称, 包括内啡肽 (endorphin, EP)、脑啡肽 (enkephalin, ENK)、强啡肽 (dynorphin, Dyn)、孤啡肽 (nociceptin/orphanin FQ, QFQ) 和内吗啡肽 (endomorphins, EM) 5 大类, 并通过作用于相应的阿片受体而产生镇痛作用. 阿片受体包括 μ 受体 (mu opioid receptor, MOR)、 δ 受体 (delta opioid receptor, DOR)、 κ 受体 (kappa opioid receptor, KOR) 和孤啡肽受体 (opioid receptor-like, ORL)^[69]. EOP 对不同的阿片受体无严格的对应关系, 但具有一定的选择性. ENK 对 DOR 具有很高的亲和力; EP 对 MOR 和 DOR 都具有很强的亲和力; Dyn 对 KOR 有很高的亲和力, 同时对 MOR 和 DOR 也有一定的亲和力; EM 对 MOR 具有很高的亲和力; QFQ 对 ORL 具有很高的亲和力. 阿片受体不仅对镇痛^[70]、成瘾^[71]、耐受^[72]和呼吸抑制^[73]有重要的作用, 还对免疫系统^[74]、心血管循环系统^[75]等有重要影响. 其中, EOP 系统在痛觉调控方面具有明显的区域和受体特异性. 在 PAG 中, 主要是通过 vIPAG 中的 MOR 发挥作用.

PAG 中含有丰富的阿片肽能神经元及其受体, 在 dmPAG 和 lPAG 有 56% 的神经元属于阿片类敏感神经元, vIPAG 有 14% 的神经元属于阿片类敏感神经元^[76]. 将阿片类物质和阿片类拮抗剂微量注射到 lPAG 对抗伤害性效应没有明显的影响^[77-78], 而将阿片类物质微量注射到 vIPAG 可以产生明显的镇痛作用^[40], 说明在 PAG 中, vIPAG 是阿片类物质产生镇痛作用的重要位点 (表 1).

对阿片敏感的痛觉调控通路^[79]包括: 前扣带回-PAG-RVM-脊髓、杏仁核-PAG-RVM-脊髓、下丘脑-PAG-RVM-脊髓. 阿片类激动剂可以通过抑制PAG中GABA能和Glu能突触传递^[80-81], 激活5-HT能神经元而产生镇痛作用, 说明阿片类物质在PAG产生的镇痛作用与GABA、Glu和5-HT有关. Chen等^[82]通过免疫荧光组织化学结合激光扫描共聚焦显微镜观察到PAG内吗啡肽1 (endomorphin-1, EM1)-免疫反应 (immunoreactive, ir) 的轴突终末靠近GABA-ir神经元, GABA-ir轴突终末靠近5-HT-ir神经元, EM1-ir主要与MOR-ir树突轴或树突棘形成突触, 同时也与GAD-ir和5-HT-ir的胞体、树突轴或树突棘形成突触, 说明在PAG中, 阿片肽能神经元可通过GABA能神经元与5-HT能神经元存在间接的突触联系, 也与5-HT能神经元存在直接的突触联系. Chen等^[82]还运用脑片膜片钳技术观察到EM1可以抑制GABA能和5-HT能神经元产生的自发兴奋性突触后电流 (spontaneous excitatory postsynaptic currents, sEPSCs) 和自发抑制性突触后电流 (spontaneous inhibitory postsynaptic currents, sIPSCs) 的产生频率, 并且这种效应可以被MOR的拮抗剂阻断; 紧接着将EM1注射到vIPAG, 发现其可以提高大鼠的PWMT和热刺激缩足反应阈值 (paw withdrawal thermal latency, PWTL), 并且这种效应可以被MOR的拮抗剂和GABA_A受体激动剂阻断. 综上可以推论: PAG中EOP可以直接作用GABA能和5-HT能神经元, 也可以通过GABA能神经元作用于5-HT能神经元进而对痛觉进行调控.

Lau等^[83]采用脑片膜片钳结合NTT的方法, 记录PAG中从RVM逆行标记的神经元电活动, 发现MOR和KOR激动剂均可以降低自发微小抑制性突触后电流 (miniature inhibitory postsynaptic currents, mIPSCs) 的产生频率, 增加PPR的比率, 而DOR激动剂无此作用, 说明EOP可以通过突触前作用抑制投射至RVM的神经元, 进而激活PAG的下行痛觉调控通路. vIPAG内多巴胺 (dopamine, DA) 能神经元的激活具有抗伤害性作用, Li等^[84]通过膜片钳技术观察到Dyn可以减少vIPAG内DA能神经元产生mIPSC的频率, 且这种效应可以被KOR拮抗剂和G蛋白 $\beta\gamma$ 亚基信号转导抑制剂拮抗, 说明Dyn对vIPAG内的DA能神经元具有突触前作用, 并且这种作用是通过 $\beta\gamma$ 亚单位介导的, 这可能是导致疼痛相关行为调节改变的原因.

Malick等^[85]应用TFT方法发现PAG注射SP引起的镇痛作用可被纳洛酮逆转, 且SP是一种有效、持久的镇痛剂, 提示SP可能是另一种内源性镇痛肽, 并且其产生的镇痛作用与EOP系统有关.

EOP在PAG对痛觉的调控作用可能是通过直接作用于PAG中的GABA能神经元、DA能神经元或由PAG向NRM投射的5-HT神经元, 亦或是通过作用于PAG中的GABA能神经元间接作用于PAG向NRM投射的5-HT神经元而起到对痛觉的调控作用. 其中SP在PAG产生的镇痛作用也与EOP有关. 阿片类药物的研发对于现代医学以及疼痛的治疗和控制都起着十分重要的作用, 因此对于EOP与不同类型神经元以及神经递质和调质之间机制研究就显得尤为重要.

3.5 内源性大麻素

大麻素包括植物大麻素^[86]、eCB^[87]和合成大麻素^[88]. 四氢大麻酚 (Δ^9 -tetrahydrocannabinol, Δ^9 -THC) 是大麻素的主要活性成分, Δ^9 -THC在疼痛、阿尔茨海默病、多发性硬化症、炎症等不同疾病中都有一定的作用^[89]. 内源性大麻素系统 (endocannabinoid system, ECS) 广泛表达于中枢及外周组织, 在调节个体生理、行为、免疫和代谢功能等各个方面具有重要作用^[90-93]. ECS的构成成分包括大麻素受体 (cannabinoid receptors, CBRs)、eCB以及参与其合成和降解的酶^[93-94]. CBRs包括CB1R和大麻素II型受体 (cannabinoid receptor type 2, CB2R), 均属于GPCRs家族^[95]. N-花生四烯酰乙醇胺 (anandamide, AEA)^[96]、2-花生四烯酰甘油 (2-AG)^[97]、2-花生四烯酰甘油醚 (2-arachidonoylglycerol ether)、O-花生四烯酰乙醇胺 (O-arachidonylethanolamine) 和N-花生四烯酰多巴胺 (N-arachidonoyldopamine, NADA)^[98]等花生四烯酸衍生物具有类似大麻的作用, 被称为eCB. AEA和2-AG是研究得最好的两种eCB类化合物, 尽管它们的化学结构相似, 但两者具有不同的生物合成和降解途径. AEA不仅可以作用于CB1R和CB2R, 还可作用于TRPV1通道^[99]. AEA在脑内的含量远低于2-AG^[100], 且2-AG主要作用于CB1R和CB2R. CB1R在中枢神经系统中表达比较丰富, 也是CNS中最丰富的GPCRs之一^[101], 其在外周表达相对较少. CB2R在免疫细胞和血细胞中表达比较丰富, 在CNS中表达相对较少^[102-103].

Lichtman等^[104]采用TFT方法发现, 当在vIPAG注射 Δ^9 -THC双环类似物CP-55940后, 大鼠

产生了抗伤害性效应,说明在PAG中eCB具有镇痛作用. Lichtman等^[105]采用TFT和脑区立体定位注射的方法发现,CB1R拮抗剂显著减弱了大鼠的抗伤害性能力,并且可以完全阻断 Δ^9 -THC和CP-55940产生的抗伤害性作用,说明大麻素在PAG产生的镇痛作用是通过CB1R介导的. Vaughan^[106]应用脑片膜片钳技术发现CB1R激动剂可降低sIPSCs的产生频率,说明PAG中的eCB通过作用于突触前CB1R介导突触前GABA的释放进而对痛觉进行调控(图1).

2-AG在PAG中主要通过结合CB1R发挥其生物学效应. Gq蛋白偶联受体(Gq protein-coupled receptors, GqPCRs)的活化是产生2-AG的主要途径,突触后GqPCRs的激活导致磷脂被PLC β 水解产生二酰基甘油(diacylglycerol, DAG),DAG被位于突触后膜的DAGL α 水解产生2-AG,然后通过突触间隙逆行扩散,激活突触前CB1R,抑制突触前膜神经递质的释放^[107]. 这种由GqPCR-PLC-DAGL-2-AG逆行信号级联介导的神经传递抑制机制已在多个脑区被发现^[107],包括PAG. 由GqPCRs激活使得PAG中2-AG逆行至突触前膜作用于CB1R抑制GABA释放产生的去抑制作用是一种新的镇痛机制.

Gregg等^[108]将mGluRs I组(mGluR1/5)激动剂DHPG注射到dIPAG后,观察到小鼠的抗伤害性作用增强,并且这种抗伤害性作用可被mGluR5拮抗剂、CB1R拮抗剂、DAGL阻断剂以及DAGL α 小分子干扰RNA(siRNA)所阻断;应用HPLC技术发现在dIPAG注射DHPG后发生2-AG而不是AEA的富集,说明dIPAG中mGluR5激活产生的抗伤害性效应是由2-AG介导的;电子显微镜技术结合DGL- α 免疫金标记和mGluR5的免疫过氧化物酶染色观察到DGL- α 和mGluR5在突触后存在共定位,并且利用siRNA干扰DAGL α 后2-AG减少. 说明通过突触后mGluR5-DGL- α 级联反应可诱导2-AG的产生,并作用于突触前CB1R抑制GABA释放进而产生去抑制作用.

食欲素(orexins)包括食欲素A(orexin-A)和食欲素B(orexin-B),其受体包括食欲素I型受体(orexin 1 receptors, OX1Rs)和食欲素II型受体(orexin 2 receptors, OX2Rs),都属于GqPCRs家族. Xie等^[109]采用热板试验和TFT的方法发现:应激小鼠产生的镇痛作用在prepro-orexin基因敲除小鼠中消失,说明orexins参与应激镇痛. Ho等^[110]

应用膜片钳的方法发现:orexin-A可以抑制eIPSCs,且这种抑制作用可被OX₁Rs拮抗剂和CB1R拮抗剂反转,被DAGL抑制剂、PLC抑制剂和2-AG降解酶减弱或阻断;orexin-A可改变PPR比率,降低mIPSCs产生的频率;且vIPAG内微量注射orexin-A产生的抗伤害性效应可被OX₁Rs和CB1R拮抗剂逆转. 综上可知,orexin-A产生的镇痛作用是其通过OX₁-PLC-DAGL级联反应合成的2-AG间接作用于突触前CB1R抑制GABA的释放产生去抑制作用. Lee等^[111]通过热板痛觉测试、ICC、vIPAG内微量注射等方法进一步验证了这一途径对应激引起的镇痛作用的影响.

SP属于神经肽家族的成员之一,主要是通过GqPCRs家族成员NK1受体(NK1Rs)发挥作用. Rosén^[112]将SP注射到PAG后发现PWMT和PWTL显著升高,并且此效应可被NK1Rs拮抗剂阻断,说明SP在PAG的镇痛作用是通过NK1Rs介导的. Drew等^[113]应用膜片钳技术观察到SP对PAG神经元eIPSCs幅度抑制效应和PPR比率的改变可被NK1Rs拮抗剂、广谱mGluR拮抗剂、mGluR5选择性拮抗剂、神经元与神经胶质细胞Glu转运体广谱抑制剂、CB1R拮抗剂、GPCR抑制剂和DAG脂肪酶抑制剂显著逆转,同时SP可以增加非NMDA受体介导的sEPSCs产生的频率,而对微小兴奋性突触后电流(miniature excitatory postsynaptic currents, mEPSC)无影响,提示SP在PAG产生的镇痛作用是通过NK1Rs介导释放大量谷氨酸作用于突触后的mGluR5并激活GqPCR-PLC-DAGL通路进而合成2-AG,2-AG作用于突触前的CB1R抑制GABA释放而产生.

NPS^[114]、orexins、SP、Glu和eCB都在应激镇痛中起了重要作用. Lee等^[115]通过热板试验和酶联免疫试剂盒观察到束缚应激产生的抗伤害性效应可被脑室内微量注射NK1Rs拮抗剂以及vIPAG内微量注射OX₁Rs拮抗剂、NK1Rs拮抗剂、mGluR5s拮抗剂、CB1Rs拮抗剂拮抗,且产生抗伤害性作用的时间进程存在显著差异,束缚应激后外侧下丘脑(lateral hypothalamus, LH) NPS, vIPAG中orexin-A、SP的含量均显著增加,说明在束缚应激后,LH可释放NPS,NPS通过作用于NPSRs激活LH的Orexin神经元,同时在vIPAG释放orexins作用于OX₁Rs促使神经元释放SP,SP作用于NK1Rs促使谷氨酸能神经元释放谷氨酸,谷氨酸又作用于突触后的mGluR5s激活ECS释放

2-AG, 2-AG 作用于突触前的 CB1R 抑制 GABA 的释放而产生镇痛作用.

除上述通路外, 研究还发现, 在 PAG 中, NTS 和 CCK 分别通过作用于神经降压素受体 1/2 (neurotensin receptor1/2, NTSR1/2) ^[116] 和胆囊收缩素受体 1 (cholecystokinin1 receptors, CCK1Rs) ^[117] 激活突触后的 mGlu5Rs, 使神经元释放 2-AG 作用于突触前的 CB1R, 进而抑制 GABA 的释放而产生镇痛作用.

综上所述, eCB 在 PAG 中产生的镇痛作用主要是通过作用于突触前 CB1R 抑制 GABA 的释放而

产生的. 在 PAG 中存在这样一条 eCB 痛觉调控通路: 即 (NPS-NK1R) / (orexin-A-OX1Rs) / (SP-NK1Rs) / (NTS-NTSR1/2) / (CCK-CCK1Rs) / (Glu-mGluR5) -GqPCR-PLC-DAGL-2-AG, 2-AG 作用突触前的 CB1R 抑制 GABA 释放对痛觉进行调控 (图 1). ECS 在痛觉调控中担任着一个十分重要的角色, 很多神经递质以及调质通过直接或间接的方式激活 GqPCR-PLC-DAGL-2-AG 通路参与痛觉调控, 这对疼痛机制研究具有一个里程碑的意义.

Table 1 The summary of PAG neurotransmitters and modulators involved in pain regulation
表1 PAG神经递质和调质参与痛觉调控总结

分类	递质/ 调质	实验动物	干预手段	结果	参考文献
神经 递质	GABA	CCI模型 (Rat)	PAG注射GABA拮抗剂 (BIC)	减弱MCS镇痛效应	[39]
		WT (Rat)	vIPAG微量注射GABA _A 受体拮抗剂 (PTX)	增强吗啡镇痛效应	[40]
		WT (Rat)	vIPAG微量注射GABA _A 受体拮抗剂 (PTX)	增强EM-1镇痛效应	[82]
		WT (Rat)	vIPAG微量注射GABA激动剂 (THIP)	减弱吗啡镇痛效应	[40]
		WT (Rat)	鞘内注射α2肾上腺素受体拮抗剂 (Yohimbine)	减弱BIC镇痛效应	[44]
		WT (Rat)	vIPAG微量注射GABA _A 受体激动剂 (Mus)	阻断EM1镇痛效应	[82]
	5-HT	SPA模型 (Rat)	PAG注射5-HT的前体物质 (5-HTP)	增强SPA镇痛效应	[53]
		CCI模型 (Rat)	vIPAG注射5-HT7R选择性激动剂 (AS-19)	具有镇痛效应	[54]
		SPA模型 (Rat)	PAG注射抑制单胺类抑制剂TBZ (包括抑制5-HT)	减弱SPA镇痛效应	[53]
		WT (Rat)	脊髓内注射5-HT1AR拮抗剂 (S- (-) -propranolol)	减弱吗啡镇痛效应	[55]
	Glu	(Vglut2-ires-Cre)	vIPAG内注射hM3Dq-mCherry病毒激活Glutamate能神经元	具有镇痛效应	[62]
		WT (Rat)	dIPAG注射mGluR1 组 (mGluR1/5) 激动剂 (DHPG)	具有镇痛效应	[108]
		WT (Rat)	PAG微量注射NMDA受体拮抗剂 (DL-AP5) 和 mGluR5s拮抗剂 (MPEP)	减弱WIN55212-2镇痛效应	[66]
		WT (Rat)	dIPAG注射mGluR5s拮抗剂 (MPEP)	减弱DHPG镇痛效应	[108]
		30 min束缚应激 (C57BL/6)	vIPAG内微量注射mGluR5s拮抗剂 (MPEP)	减弱镇痛效应	[115]
		WT (Rat)	vIPAG微量注射吗啡、EM1	具有镇痛效应	[40, 82]
神经 调质	EOP	WT (Rat)	刺激中央杏仁核 (CeA) 的同时在PAG注射阿片受体拮抗剂纳洛酮	减弱CeA镇痛效应	[63]
		WT (Rat)	vIPAG微量注射MOR拮抗剂 (CTOP)	减弱EM-1镇痛效应	[82]
		WT (Rat)	PAG注射阿片受体拮抗剂纳洛酮	减弱SP镇痛效应	[85]
		WT (Rat)	vIPAG微量注射Δ9-THC双环类似物CP-55940、CB1R激动剂WIN55212-2	具有镇痛效应	[66, 104]
	eCB	WT (Rat)	vIPAG微量注射CB1R拮抗剂 (SR141716A)	减弱CP-55940镇痛效应	[105]
		WT (Rat)	dIPAG注射CB1R拮抗剂 (Rimonabant)、DAGL的阻断剂 (RHC80267或THL) 以及DAGLα小分子干扰RNA (siRNA)	减弱DHPG镇痛效应	[108]
		WT (Rat)	vLPAG内微量注射CB1R拮抗剂 (AM251)	减弱orexin-A镇痛效应	[110]
		30 min束缚应激 (C57BL/6)	vIPAG内微量注射CB1R拮抗剂 (AM251)	减弱镇痛效应	[115]

WT: 野生型 (wide type); SPA: 刺激镇痛 (stimulation produced analgesia) .

4 小 结

疼痛是一个困扰人们亘古不变的话题,也是医学上常见的症状之一. 因此对疼痛的研究就显得极为重要,对中枢神经的镇痛机制研究是临床上镇痛药物开发的一大课题. PAG在中枢镇痛的过程中处于一个不可或缺的位置,其中神经递质GABA、5-HT、Glu和神经调质EOP、eCB在PAG参与痛觉调控的过程中发挥了重要作用,它们之间的相互作用关系十分密切,途径十分复杂. 一方面,PAG不仅接收来自痛觉高级调控中枢的纤维投射调控PAG的神经元,PAG中间神经元还可通过突触传递影响PAG投射神经元的活动;另一方面,PAG投射神经元可直接投射至RVM和脊髓或通过影响其他投射至RVM的神经元间接对痛觉进行调控. 通过深入研究PAG在痛觉调控过程中的神经生理调控机制以及神经元之间的相互作用关系,对于进一步了解其在中枢镇痛中的作用以及相关镇痛药物的研发具有及其重要的意义.

参 考 文 献

- [1] Hou N, Zhang L, Meng C, *et al.* Research progress of plasticity of nociceptors in chronic pain. *Medical Review*, 2020, **26**(05): 950-954
- [2] Saco M, Golda N. Postoperative pain management in dermatologic surgery: a systematic review. *Dermatol Clin*, 2019, **37**(3): 341-348
- [3] Lovich-Sapola J, Smith C E, Brandt C P. Postoperative pain control. *Surg Clin North Am*, 2015, **95**(2):301-318
- [4] Ong W Y, Stohler C S, Herr D R. Role of the prefrontal cortex in pain processing. *Mol Neurobiol*, 2019, **56**(2): 1137-1166
- [5] Tobaldini G, Sardi N F, Guilhen V A, *et al.* Pain inhibits pain: an ascending-descending pain modulation pathway linking mesolimbic and classical descending mechanisms. *Mol Neurobiol*, 2019, **56**(2): 1000-1013
- [6] Vázquez-León P, Mendoza-Ruiz L G, Juan E R, *et al.* Analgesic and anxiolytic effects of [Leu31, Pro34] -neuropeptide Y microinjected into the periaqueductal gray in rats. *Neuropeptides*, 2017, **66**:81-89
- [7] Avegno E M, Lobell T D, Itoga C A, *et al.* Central amygdala circuits mediate hyperalgesia in alcohol-dependent rats. *J Neurosci*, 2018, **38**(36):7761-7773
- [8] Michael M. Functional characteristics of the midbrain periaqueductal gray. *Prog Neurobiol*, 1995, **46**(6):575-605
- [9] Fields H L, Basbaum A I, Heinricher M M. Central nervous systems mechanisms of pain modulation//McMahon SB, Koltzenburg M. *Textbook of Pain*. Philadelphia: Elsevier, 2005: 125-142
- [10] George D T, Ameli R, Koob G F. Periaqueductal gray sheds light on dark areas of psychopathology. *Trends Neurosci*, 2019, **42**(5): 349-360
- [11] Mehalick M L, Ingram S L, Aicher S A, *et al.* Chronic inflammatory pain prevents tolerance to the antinociceptive effect of morphine microinjected into the ventrolateral periaqueductal gray of the rat. *J Pain*, 2013, **14**(12):1601-1610
- [12] Miranda-Paez A, Zamudio S, Vazquez-Leon P, *et al.* Involvement of opioid and GABA systems in the ventrolateral periaqueductal gray on analgesia associated with tonic immobility. *Pharmacol Biochem Behav*, 2016, **142**: 72-78
- [13] Cheriyan J, Sheets P L. Altered excitability and local connectivity of mPFC-PAG neurons in a mouse model of neuropathic pain. *J Neurosci*, 2018, **38**(20): 4829-4839
- [14] Lueptow L M, Fakira A K, Bobeck E N. The contribution of the descending pain modulatory pathway in opioid tolerance. *Front Neurosci*, 2018, **12**: 886
- [15] de Git K C G, van Tuijl D C, Luijendijk MCM, *et al.* Anatomical projections of the dorsomedial hypothalamus to the periaqueductal grey and their role in thermoregulation: a cautionary note. *Physiol Rep*, 2018, **6**(14):e13807
- [16] Faull O K, Subramanian H H, Ezra M, *et al.* The midbrain periaqueductal gray as an integrative and interoceptive neural structure for breathing. *Neurosci Biobehav Rev*, 2019, **98**: 135-144
- [17] Zare A, Jahanshahi A, Rahnama'i M S, *et al.* The role of the periaqueductal gray matter in lower urinary tract function. *Mol Neurobiol*, 2019, **56**(2):920-934
- [18] Watson T C, Cerminara N L, Lumb B M, *et al.* Neural correlates of fear in the periaqueductal gray. *J Neurosci*, 2016, **36**(50): 12707-12719
- [19] Menant O, Prima M C, Morisse M, *et al.* First evidence of neuronal connections between specific parts of the periaqueductal gray (PAG) and the rest of the brain in sheep: placing the sheep PAG in the circuit of emotion. *Brain Struct Funct*, 2018, **223**(7): 3297-3316
- [20] Lefler Y, Campagner D, Branco T. The role of the periaqueductal gray in escape behavior. *Curr Opin Neurobiol*, 2020, **60**: 115-121
- [21] Raja S N, Carr D B, Cohen M, *et al.* The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 2020, **10**:1097
- [22] Kang J, Cho S S, Kim H Y, *et al.* Regional hyperexcitability and chronic neuropathic pain following spinal cord injury. *Cell Mol Neurobiol*, 2020, **40**(6):861-878
- [23] Li Y X, An H, Wen Z, *et al.* Can oxytocin inhibit stress-induced hyperalgesia?. *Neuropeptides*, 2020, **79**: 101996
- [24] Samineni V K. Neuropathic pain induced enhancement of spontaneous and pain-evoked neuronal activity in the periaqueductal gray that is attenuated by gabapentin. *Pain*, 2017, **158**(7): 1241-1253
- [25] Sprenger C, Finsterbusch J, Buche C. Spinal cord-midbrain functional connectivity is related to perceived pain intensity: a combined spino-cortical fMRI study. *J Neuro Sci*, 2015, **35**(10) :

- 4248-4257
- [26] Follansbee T, Akiyama T, Fujii M, *et al.* Effects of pruritogens and algogens on rostral ventromedial medullary ON and OFF cells. *J Neurophysiol*, 2018, **120**(5): 2156-2163
- [27] Huang J, Gadotti V M, Chen L, *et al.* A neuronal circuit for activating descending modulation of neuropathic pain. *Nat Neurosci*, 2019, **22**(10):1659-1668
- [28] Lopez-Alvarez V M, Puigdomenech M, Navarro X, *et al.* Monoaminergic descending pathways contribute to modulation of neuropathic pain by increasing-intensity treadmill exercise after peripheral nerve injury. *Exp Neurol*, 2018, **299**: 42-55
- [29] Prado W A, Pelegrini-da-Silva A, Martins A R. Microinjection of renin-angiotensin system peptides in discrete sites within the rat periaqueductal gray matter elicits antinociception. *Brain Res*, 2003, **972**(1-2):207-215
- [30] Sigel E, Ernst M. The benzodiazepine binding sites of GABA_A receptors. *Trends Pharmacol Sci*, 2018, **39**(7): 659-671
- [31] Terunuma M. Diversity of structure and function of GABA_B receptors: a complexity of GABA_B-mediated signaling. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2018, **94**(10): 390-411
- [32] George K, Sadiq N M. GABA Inhibitors. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020[2020-09-06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545230/>
- [33] Huang Y J, Grau J W. Ionic plasticity and pain: the loss of descending serotonergic fibers after spinal cord injury transforms how GABA affects pain. *Exp Neurol*, 2018, **306**: 105-116
- [34] Breton J M, Charbit A R, Snyder B J, *et al.* Relative contributions and mapping of ventral tegmental area dopamine and GABA neurons by projection target in the rat. *J Comp Neurol*, 2019, **527**(5): 916-941
- [35] Kirouac G J, Li S, Mabrouk G. GABAergic projection from the ventral tegmental area and substantia nigra to the periaqueductal gray region and the dorsal raphe nucleus. *J Comp Neurol*, 2004, **469**(2): 170-184
- [36] Reichling D B, Basbaum A I. Contribution of brainstem GABAergic circuitry to descending antinociceptive controls: I. GABA-immunoreactive projection neurons in the periaqueductal gray and nucleus raphe magnus. *J Comp Neurol*. 1990, **302**(2): 370-377
- [37] Reichling D B, Basbaum A I. Contribution of brainstem GABAergic circuitry to descending antinociceptive controls: II. Electron microscopic immunocytochemical evidence of GABAergic control over the projection from the periaqueductal gray to the nucleus raphe magnus in the rat. *J Comp Neurol*, 1990, **302**(2): 378-393
- [38] Huang C P, Lin Y W, Lee D Y, *et al.* Electroacupuncture relieves CCI-induced neuropathic pain involving excitatory and inhibitory neurotransmitters. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, **2019**: 6784735
- [39] de Andrade E M, Martinez R C R, Pagano R L, *et al.* Neurochemical effects of motor cortex stimulation in the periaqueductal gray during neuropathic pain. *J Neurosurg*, 2019, **132**(1): 239-251
- [40] Depaulis A, Morgan M M, Liebeskind J C. GABAergic modulation of the analgesic effects of morphine microinjected in the ventral periaqueductal gray matter of the rat. *Brain Res*, 1987, **436**(2): 223-228
- [41] Hirschberg S, Li Y, Randall A, *et al.* Functional dichotomy in spinal-vs prefrontal-projecting locus coeruleus modules splits descending noradrenergic analgesia from ascending aversion and anxiety in rats. *Elife*, 2017, **6**: e29808
- [42] Llorca-Torralba M, Borges G, Neto F, *et al.* Noradrenergic locus coeruleus pathways in pain modulation. *Neuroscience*, 2016, **338**: 93-113
- [43] Bajic D, Van Bockstaele E J, Proudfit H K. Ultrastructural analysis of ventrolateral periaqueductal gray projections to the A7 catecholamine cell group. *Neuroscience*, 2001, **104**(1): 181-197
- [44] Budai D, Harasawa I, Fields H L. Midbrain periaqueductal gray (PAG) inhibits nociceptive inputs to sacral dorsal horn nociceptive neurons through alpha2-adrenergic receptors. *J Neurophysiol*, 1998, **80**(5): 2244-2254
- [45] Nuseir K, Proudfit H K. Bidirectional modulation of nociception by GABA neurons in the dorsolateral pontine tegmentum that tonically inhibit spinally projecting noradrenergic A7 neurons. *Neuroscience*, 2000, **96**(4): 773-783
- [46] Thirumaran S L, Lepailleur A, Rochais C. Structure-activity relationships of serotonin 5-HT7 receptors ligands: a review. *Eur J Med Chem*, 2019, **183**: 111705
- [47] Cortes-Altamirano J L, Olmos-Hernandez A, Jaime H B, *et al.* Review: 5-HT1, 5-HT2, 5-HT3 and 5-HT7 receptors and their role in the modulation of pain response in the central nervous system. *Curr Neuropharmacol*, 2018, **16**(2): 210-221
- [48] Peng Y, McCorvy J D, Harpsøe K, *et al.* 5-HT2C receptor structures reveal the structural basis of GPCR polypharmacology. *Cell*, 2018, **172**(4): 719-730
- [49] Chen X F, Jin Z L, Gong Y, *et al.* 5-HT6 receptor agonist and memory-enhancing properties of hypidone hydrochloride (YL-0919), a novel 5-HT1A receptor partial agonist and SSRI. *Neuropharmacology*, 2018, **138**: 1-9
- [50] Żmudzka E, Sałaciak K, Sapa J, *et al.* Serotonin receptors in depression and anxiety: insights from animal studies. *Life Sci*, 2018, **210**: 106-124
- [51] Bogáthy E, Papp N, Tóthfalusi L, *et al.* Additive effect of 5-HT2C and CB1 receptor blockade on the regulation of sleep-wake cycle. *BMC Neurosci*, 2019, **20**(1): 14
- [52] Clements J R, Beitz A J, Fletcher T F, *et al.* Immunocytochemical localization of serotonin in the rat periaqueductal gray: a quantitative light and electron microscopic study. *J Comp Neurol*, 1985, **236**(1): 60-70
- [53] Akil H, Liebeskind J C. Monoaminergic mechanisms of stimulation-produced analgesia. *Brain Res*, 1975, **94**(2): 279-296
- [54] Li S F, Zhang Y Y, Li Y Y, *et al.* Antihyperalgesic effect of 5-HT7 receptor activation on the midbrain periaqueductal gray in a rat model of neuropathic pain. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014,

- 127: 49-55
- [55] Lin Q, Peng Y B, Willis W D. Antinociception and inhibition from the periaqueductal gray are mediated in part by spinal 5-hydroxytryptamine(1A) receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 1996, **276**(3): 958-967
- [56] Jeong H J, Han S H, Min B I, *et al.* 5-HT1A receptor-mediated activation of G-protein-gated inwardly rectifying K⁺ current in rat periaqueductal gray neurons. *Neuropharmacology*, 2001, **41**(2): 175-185
- [57] Li X, Zhao B, Ruan H, *et al.* Effect of intracerebral injection of substance P on serotonin contents of several brain regions and its relation with pain threshold, electroacupuncture analgesia in rats. *Acupuncture Research*, 1991, **16**(2): 125-128
- [58] Pereira V, Goudet C. Emerging trends in pain modulation by metabotropic glutamate receptors. *Front Mol Neurosci*, 2019, **11**: 464
- [59] Chen S, Kadakia F, Davidson S. Group II metabotropic glutamate receptor expressing neurons in anterior cingulate cortex become sensitized after inflammatory and neuropathic pain. *Mol Pain*, 2020, **16**: 1744806920915339
- [60] Woodcock E A, Greenwald M K, Khatib D, *et al.* Pharmacological stress impairs working memory performance and attenuates dorsolateral prefrontal cortex glutamate modulation. *Neuroimage*, 2019, **186**: 437-445
- [61] Monaghan D T, Yao D, Cotman C W. Distribution of [3H]AMPA binding sites in rat brain as determined by quantitative autoradiography. *Brain Res*, 1984, **324**(1): 160-164
- [62] Samineni V K, Grajales-Reyes J G, Copits B A, *et al.* Divergent modulation of nociception by glutamatergic and GABAergic neuronal subpopulations in the periaqueductal gray. *eNeuro*, 2017, **4**(2): ENEURO.0129-16.2017
- [63] Oliveira M A, Prado W A. Role of PAG in the antinociception evoked from the medial or central amygdala in rats. *Brain Res Bull*, 2001, **54**(1): 55-63
- [64] Bourbia N, Sagalajev B, Pertovaara A. Descending effect on spinal nociception by amygdaloid glutamate varies with the submodality of noxious test stimulation. *Neurosci Lett*, 2014, **570**: 26-31
- [65] Bourbia N, Pertovaara A. Involvement of the periaqueductal gray in the descending antinociceptive effect induced by the central nucleus of amygdala. *Physiol Res*, 2018, **67**(4): 647-655
- [66] Palazzo E, Marabese I, de Novellis V, *et al.* Metabotropic and NMDA glutamate receptors participate in the cannabinoid-induced antinociception. *Neuropharmacology*, 2001, **40**(3): 319-326
- [67] Marabese I, de Novellis V, Palazzo E, *et al.* Differential roles of mGlu8 receptors in the regulation of glutamate and gamma-aminobutyric acid release at periaqueductal grey level. *Neuropharmacology*, 2005, **49**(Suppl 1): 157-166
- [68] Marabese I, Rossi F, Palazzo E, *et al.* Periaqueductal gray metabotropic glutamate receptor subtype 7 and 8 mediate opposite effects on amino acid release, rostral ventromedial medulla cell activities, and thermal nociception. *J Neurophysiol*, 2007, **98**(1): 43-53
- [69] Valentino R J, Volkow N D. Untangling the complexity of opioid receptor function. *Neuropsychopharmacology*. 2018, **43**(13): 2514-2520
- [70] Toll L, Ozawa A, Cippitelli A. NOP-related mechanisms in pain and analgesia. *Handb Exp Pharmacol*. 2019, **254**: 165-186
- [71] Darceq E, Kieffer B L. Opioid receptors: drivers to addiction?. *Nat Rev Neurosci*, 2018, **19**(8): 499-514
- [72] Zhang R, Xu B, Zhang Q, *et al.* Spinal administration of the multi-functional opioid/neuropeptide FF agonist BN-9 produced potent antinociception without development of tolerance and opioid-induced hyperalgesia. *Eur J Pharmacol*, 2020, **880**: 173169
- [73] Gupta K, Prasad A, Nagappa M, *et al.* Risk factors for opioid-induced respiratory depression and failure to rescue: a review. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2018, **31**(1): 110-119
- [74] Plein L M, Rittner H L. Opioids and the immune system-friend or foe. *Br J Pharmacol*, 2018, **175**(14): 2717-2725
- [75] Corbett K, Dugan A, Vitale C, *et al.* Long-term effects of opioids on the cardiovascular system: examine the evidence. *Nursing*, 2019, **49**(4): 47-49
- [76] Osborne P B, Vaughan C W, Wilson H I, *et al.* Opioid inhibition of rat periaqueductal grey neurones with identified projections to rostral ventromedial medulla *in vitro*. *J Physiol*, 1996, **490**(Pt 2): 383-389
- [77] Yaksh T L, Yeung J C, Rudy T A. Systematic examination in the rat of brain sites sensitive to the direct application of morphine: observation of differential effects within the periaqueductal gray. *Brain Res*, 1976, **114**(1): 83-103
- [78] Cannon J T, Prieto G J, Lee A, *et al.* Evidence for opioid and non-opioid forms of stimulation-produced analgesia in the rat. *Brain Res*, 1982, **243**(2): 315-321
- [79] Fields H. State-dependent opioid control of pain. *Nat Rev Neurosci*, 2004, **5**(7): 565-575
- [80] Vaughan C W, Christie M J. Presynaptic inhibitory action of opioids on synaptic transmission in the rat periaqueductal grey *in vitro*. *J Physiol*, 1997, **498**(Pt 2): 463-472
- [81] Vaughan C W, Ingram S L, Connor M A, *et al.* How opioids inhibit GABA-mediated neurotransmission. *Nature*, 1997, **390**(6660): 611-614
- [82] Chen T, Li J, Feng B, *et al.* Mechanism underlying the analgesic effect exerted by endomorphin-1 in the rat ventrolateral periaqueductal gray. *Mol Neurobiol*, 2016, **53**(3): 2036-2053
- [83] Lau B K, Winters B L, Vaughan C W. Opioid presynaptic disinhibition of the midbrain periaqueductal grey descending analgesic pathway. *Br J Pharmacol*, 2020, **177**(10): 2320-2332
- [84] Li C, Kash T L. κ -Opioid receptor modulation of GABAergic inputs onto ventrolateral periaqueductal gray dopamine neurons. *Mol Neuropsychiatry*, 2019, **5**(4): 190-199
- [85] Malick J B, Goldstein J M. Analgesic activity of substance P following intracerebral administration in rats. *Life Sci*, 1978, **23**(8): 835-844
- [86] Maroon J, Bost J. Review of the neurological benefits of

- phytocannabinoids. *Surg Neurol Int*, 2018, **9**: 91
- [87] Hillard C J. Circulating endocannabinoids: from whence do they come and where are they going?. *Neuropsychopharmacology*, 2018, **43**(1): 155-172
- [88] Kong T Y, Kim J H, Kim D K, *et al.* Synthetic cannabinoids are substrates and inhibitors of multiple drug-metabolizing enzymes. *Arch Pharm Res*, 2018, **41**(7): 691-710
- [89] Maurya N, Velmurugan B K. Therapeutic applications of cannabinoids. *Chem Biol Interact*, 2018, **293**: 77-88
- [90] Basavarajappa B S, Shivakumar M, Joshi V, *et al.* Endocannabinoid system in neurodegenerative disorders. *J Neurochem*, 2017, **142**(5): 624-648
- [91] Manzanares J, Cabañero D, Puente N, *et al.* Role of the endocannabinoid system in drug addiction. *Biochem Pharmacol*, 2018, **157**: 108-121
- [92] Lutz B, Marsicano G, Maldonado R, *et al.* The endocannabinoid system in guarding against fear, anxiety and stress. *Nat Rev Neurosci*, 2015, **16**(12): 705-718
- [93] Joshi N, Onaivi E S. Endocannabinoid system components: overview and tissue distribution. *Adv Exp Med Biol*, 2019, **1162**: 1-12
- [94] Sharkey K A, Wiley J W. The role of the endocannabinoid system in the brain-gut axis. *Gastroenterology*, 2016, **151**(2): 252-266
- [95] Zou S, Kumar U. Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: signaling and function in the central nervous system. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(3): 833
- [96] Scherma M, Masia P, Satta V, *et al.* Brain activity of anandamide: a rewarding bliss?. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, **40**(3): 309-323
- [97] Bonini S A, Premoli M, Tambaro S, *et al.* Cannabis sativa: a comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *J Ethnopharmacol*, 2018, **227**: 300-315
- [98] Ramer R, Schwarz R, Hinz B. Modulation of the endocannabinoid system as a potential anticancer strategy. *Front Pharmacol*, 2019, **10**: 430
- [99] Zygmunt P M, Petersson J, Andersson D A, *et al.* Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature*, 1999, **400**(6743): 452-457
- [100] Stella N, Schweitzer P, Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature*, 1997, **388**(6644): 773-778
- [101] Hu S S, Mackie K. Distribution of the endocannabinoid system in the central nervous system. *Handb Exp Pharmacol*, 2015, **231**: 59-93
- [102] Galiègue S, Mary S, Marchand J, *et al.* Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem*, 1995, **232**(1): 54-61
- [103] Dhopeshwarkar A, Mackie K. CB2 cannabinoid receptors as a therapeutic target-what does the future hold?. *Mol Pharmacol*, 2014, **86**(4): 430-407
- [104] Lichtman A H, Cook S A, Martin B R. Investigation of brain sites mediating cannabinoid-induced antinociception in rats: evidence supporting periaqueductal gray involvement. *J Pharmacol Exp Ther*, 1996, **276**(2): 585-593
- [105] Lichtman A H, Martin B R. The selective cannabinoid antagonist SR 141716A blocks cannabinoid-induced antinociception in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 1997, **57**(1-2): 7-12
- [106] Vaughan C W, Connor M, Bagley E E, *et al.* Actions of cannabinoids on membrane properties and synaptic transmission in rat periaqueductal gray neurons *in vitro*. *Mol Pharmacol*, 2000, **57**(2): 288-295
- [107] Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimoto-dani Y, *et al.* Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev*, 2009, **89**(1): 309-380
- [108] Gregg L C, Jung K M, Spradley J M, *et al.* Activation of type 5 metabotropic glutamate receptors and diacylglycerol lipase- α initiates 2-arachidonoylglycerol formation and endocannabinoid-mediated analgesia. *J Neurosci*, 2012, **32**(28): 9457-9468
- [109] Xie X, Wisor J P, Hara J, *et al.* Hypocretin/orexin and nociceptin/orphanin FQ coordinately regulate analgesia in a mouse model of stress-induced analgesia. *J Clin Invest*, 2008, **118**(7): 2471-2481
- [110] Ho Y C, Lee H J, Tung L W, *et al.* Activation of orexin 1 receptors in the periaqueductal gray of male rats leads to antinociception via retrograde endocannabinoid (2-arachidonoylglycerol)-induced disinhibition. *J Neurosci*, 2011, **31**(41): 14600-14610
- [111] Lee H J, Chang L Y, Ho Y C, *et al.* Stress induces analgesia via orexin 1 receptor-initiated endocannabinoid/CB1 signaling in the mouse periaqueductal gray. *Neuropharmacology*, 2016, **105**: 577-586
- [112] Rosén A, Zhang Y X, Lund I, *et al.* Substance P microinjected into the periaqueductal gray matter induces antinociception and is released following morphine administration. *Brain Res*, 2004, **1001**(1-2): 87-94
- [113] Drew G M, Lau B K, Vaughan C W. Substance P drives endocannabinoid-mediated disinhibition in a midbrain descending analgesic pathway. *J Neurosci*, 2009, **29**(22): 7220-7229
- [114] Holanda A D, Asth L, Santos A R, *et al.* Central adenosine A1 and A2A receptors mediate the antinociceptive effects of neuropeptide S in the mouse formalin test. *Life Sci*, 2015, **120**: 8-12
- [115] Lee M T, Chiu Y T, Chiu Y C, *et al.* Neuropeptide S-initiated sequential cascade mediated by OX1, NK1, mGlu5 and CB1 receptors: a pivotal role in stress-induced analgesia. *J Biomed Sci*, 2020, **27**(1): 7
- [116] Mitchell V A, Kawahara H, Vaughan C W. Neurotensin inhibition of GABAergic transmission via mGluR-induced endocannabinoid signalling in rat periaqueductal grey. *J Physiol*, 2009, **587**(Pt 11): 2511-2520
- [117] Mitchell V A, Jeong H J, Drew G M, *et al.* Cholecystokinin exerts an effect via the endocannabinoid system to inhibit GABAergic transmission in midbrain periaqueductal gray. *Neuropsychopharmacology*, 2011, **36**(9): 1801-1810

Neurotransmitters and Modulators of Periaqueductal Gray That Involved in Pain Regulation*

YAN Chuan-Ting, DU Yi-Nan, HAN Jing, REN Wei, LIU Zhi-Qiang**

(Key Laboratory of Modern Teaching Technology Ministry of Education, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract Periaqueductal gray(PAG) plays an important role in pain modulation. It is not only an important participant of ascending pain transmission pathways, but also a critical part of descending pain modulation pathways. In PAG, there are evidences that several neurotransmitters (such as γ -aminobutyric acid, 5-hydroxytryptamine, glutamate) and neuromodulators (such as endogenous opioid peptide, cannabinoid) are involved in the information transmission and functional regulation of pain. PAG not only regulates pain locally through their own level changes and interaction of these factors, but also regulates pain by receiving fiber projections from other brain regions and sending fiber projections to other pain related brain regions. For example, the analgesic effect of the increased level of GABA in PAG could be realized by the effect of opioid peptides on GABAergic interneurons, or driven directly by the fiber projection from cortex to the GABAergic interneurons in PAG. GABAergic neurons in PAG can also regulate pain by affecting the NAergic fibers projected from A7 cells to the spinal cord. Thus, PAG participates pain modulation in complicated and multiple ways.

Key words periaqueductal gray, pain modulation, neurotransmitter, neuromodulator, receptor

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0187

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (11727813, 91949105) and the Learning Science Interdisciplinary Project of Shaanxi Normal University.

** Corresponding author.

Tel: 86-29-85308178, E-mail: liuzhiqiang@snnu.edu.cn

Received: July 31, 2020 Accepted: August 17, 2020