



孤啡肽受体对痛觉调控作用的研究进展*

杜宜楠** 张金铭** 刁志君** 马 宁 严传婷 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 孤啡肽受体是继经典的mu阿片受体、kappa阿片受体和delta阿片受体之后发现的又一类新型阿片受体, 不仅在结构上具有同上述阿片受体相类似的特征, 而且可介导相同或相似的细胞内生物学反应. 孤啡肽受体对痛觉反应具有独特的调控模式. 一方面, 在背根神经节以及脊髓水平, 孤啡肽受体主要介导镇痛效应, 并且在脊髓水平还与其他阿片受体有协同效应以增强镇痛效果. 另一方面, 在脊髓上水平, 孤啡肽受体往往产生痛敏而拮抗了其他阿片受体的镇痛效应. 此外孤啡肽受体对痛觉的调控在不同物种间也表现一定的差异性. 这为进一步阐明内源性阿片系统的痛觉调控作用提供一定的理论依据.

关键词 孤啡肽受体, 痛觉调控, 背根神经节, 脊髓, 痛觉高级中枢

中图分类号 Q42

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0137

阿片类受体是机体中参与痛觉反应调节最为重要的一类G蛋白偶联受体(G protein coupled receptor, GPCR), 可由外源性的吗啡及其类似物或内源性的阿片肽所激活, 通过作用于痛觉上行传递通路或下行调节通路的脑区神经元从而对疼痛信息进行调节, 由此增强或减弱痛反应^[1]. 孤啡肽受体(nociceptin-opioid receptor, NOR)是在1995年克隆得到的新一类阿片受体, 在结构上具有同经典的mu阿片受体(mu-opioid receptor, MOR)、kappa阿片受体(kappa-opioid receptor, KOR)和delta阿片受体(delta-opioid receptor, DOR)很高的同源性, 但是对这3类受体的配体亲和力很低, 因而又被称为阿片受体样受体1(opioid receptor like-1 receptor, ORL-1)^[2]. NOR广泛分布于中枢和外周神经系统的各个区域, 并在外周神经系统、脊髓背角以及脊髓上的痛觉高级中枢等多个水平表现对痛觉反应的调控作用^[3]. 本文就孤啡肽受体在痛觉调控过程中的作用及机制作一综述, 以期为进一步阐明内源性阿片系统的痛觉调控作用提供一定的理论依据.

1 NOR的结构与功能概述

1.1 NOR的结构

NOR由Oprl 1基因所单独编码, 可形成由370

个左右氨基酸残基所组成的肽链. NOR的结构在人、大鼠及小鼠等哺乳动物中均高度保守, 有研究显示由人、大鼠的cDNA文库中分别克隆出来的NOR同源性高达92%^[4]. 同其他阿片受体一样, NOR也属于GPCRs, 以7次跨膜的 α -螺旋结构镶嵌在细胞膜上, 其N末端位于膜外, C末端位于膜内, 中间还包括有3个胞外环(extracellular loop, ECL)和3个胞内环(intracellular loop, ICL). 对NOR的三维晶体结构分析显示, 在NOR的ECL2和ECL3的位置均存在一个天冬氨酸残基, 前者是该受体结合内源性配体或特异性激动剂的关键位点, 后者则是受体发生结构调节的重要部位, 它们共同构成了NOR发挥生物学作用的结构基础^[5]. 与不同类别的经典阿片受体结构相比, NOR和它们的同源性均在60%以上, 但在配体-受体结合位点的216、280和305号氨基酸残基位置上, NOR的氨基酸残基序列分别为丙氨酸、谷氨酸和丝氨酸, 而其他阿片受体这3个位置的氨基酸残基序列分别为赖氨酸、组氨酸和异亮氨酸, 由此导致了

* 国家自然科学基金(81171264)资助项目.

** 并列第一作者.

*** 通讯联系人.

Tel: 029-85308178, E-mail: zqliu1969@163.com

收稿日期: 2019-10-21, 接受日期: 2019-12-26

NOR与其他阿片受体在配体-受体结合位点空间构象的差异,这被认为是NOR对其他阿片受体的内源性配体亲和力较低的原因^[6],也因此的功能上具有一定的差异.

1.2 NOR的内源性配体

NOR的内源性配体被称为痛敏肽或孤啡肽(nociceptin/orphanin FQ, N/OFQ),是一种与NOR有高度同源性的17肽分子,具有对NOR极高的亲和性而对其他的阿片受体几乎不产生作用^[7].同其他的内源性阿片肽的合成与释放过程类似,N/OFQ也是主要以神经递质的形式由相应的肽能神经元的突触终末释放,在肽能神经元的胞体中N/OFQ首先以其前体蛋白质的形式被包裹于密芯囊泡内,在向突触终末运输的过程中经过裂解及修饰加工等过程形成成熟的N/OFQ分子,并最终被释放^[8].现已明确,N/OFQ的前体蛋白质称为前孤啡肽原(prepro-N/OFQ, ppN/OFQ),在人类是一个由染色体8p21所编码形成的176肽大分子.ppN/OFQ的氨基酸序列在大部分灵长类和啮齿类动物中也是高度保守的,而且在结构上与阿黑皮素原(pro-opiomelanocortin, POMC)、强啡肽原(prodynorphin, PDYN)等其他的内源性阿片肽前体蛋白质具有相似性^[9].在ppN/OFQ的裂解及修饰加工过程中,除N/OFQ外,ppN/OFQ还可裂解产生17肽的孤啡肽-II(nociceptin/orphanin FQ-II, N/OFQ-II)和30肽的痛稳素(nocistatin),前者产生与N/OFQ相类似的作用,而后者则具有拮抗N/OFQ作用的功能^[10].

1.3 NOR介导的细胞内效应

作为GPCRs, NOR同其他类型的阿片受体一样,也与抑制性的G_i蛋白相偶联.在N/OFQ与之结合后,一方面通过G蛋白的效应直接或间接调控离子通道的活性,另一方面通过受体的磷酸化和内在化过程启动细胞内信号通路,以调节靶细胞的兴奋性以及生理功能.

1.3.1 NOR介导的G蛋白效应

当N/OFQ与NOR结合之后,首先介导的是NOR的G蛋白效应.N/OFQ与NOR所形成的配体-受体复合物可直接诱导G蛋白从NOR上解离,并促使G蛋白发生分解,产生两个具有调节作用的活性亚基G_{ai}和G_{βγ}^[11].G_{ai}主要作为腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)的抑制分子阻断ATP向cAMP转化,从而间接减弱cAMP调控的环腺苷酸门控性Na⁺通道活性,阻断Na⁺的内流作用;而G_{βγ}

则直接作用于离子通道,一方面激活G蛋白门控性内向整流K⁺通道(inwardly rectifier potassium channels, IRK),使K⁺的外流增加,另一方面抑制P/Q型、N型以及L型Ca²⁺通道的活性,减弱Ca²⁺的内流.上述作用的结果均是使靶细胞的膜电位向超极化方向发展,减弱其兴奋性,并使其生物学功能减弱^[12].在NOR对痛觉反应的调控过程中,由该受体介导的G蛋白效应往往是产生痛觉反应调控作用的主要机制,其他作用机制也往往是对该机制的进一步调控而实现的.

1.3.2 NOR介导的脱敏过程及细胞内信号通路

当G蛋白从NOR上解离之后,便会进入脱敏过程.与其他的阿片受体脱敏过程类似,G_{βγ}会作为信号分子招募G蛋白激酶(G protein related kinase, GRK)至细胞膜表面,促使NOR进行磷酸化过程而发生构象改变,使得NOR在脱敏过程完成之前不再具备结合G蛋白或N/OFQ的能力^[13].磷酸化的NOR提供了与接头蛋白β-抑制蛋白(β-arrestins)的结合位点,使得以β-抑制蛋白2为主的接头蛋白被快速募集至磷酸化NOR周边,并在β-抑制蛋白2的帮助下促进网格蛋白包被的细胞内囊泡,即初级核内体的形成,随后核内体包裹细胞膜表面的磷酸化NOR,并引发网格蛋白依赖的内吞作用将磷酸化NOR由细胞膜表面运输至细胞质基质,完成磷酸化NOR的内在化过程^[14].携带β-抑制蛋白2的磷酸化NOR可作为一个细胞内信号通路的启动因子,激活包括ERK1/2、JNK和p38MAPK在内的MAPK信号通路以及PKA/PKC蛋白激酶信号通路,这些信号通路的激活在后续参与到了细胞增殖、凋亡、转录因子活化、离子通道磷酸化等细胞功能的调控^[15].最后,在细胞质基质内的初级核内体发生磷酸化作用,形成具有分拣作用的次级核内体,将磷酸化NOR与其配体分开进入不同的核内体区室,随后GPCR磷酸酯酶被激活,诱导NOR发生去磷酸化过程,恢复NOR对N/OFQ或其受体激动剂的结合能力,并在核内体的帮助下重新回到细胞膜表面,完成脱敏过程^[16].

2 NOR对痛觉反应的调控作用

痛觉反应是机体对外界伤害性刺激或是内部组织器官的病变所做出的一种复杂的感觉性反应,由神经系统中多个层次的结构共同完成.在外周神经水平,分布于皮肤或各组织器官的感觉神经纤维末梢收集疼痛信息,并传递到背根神经节(dorsal

root ganglion, DRG) 进行初步整合, 形成了疼痛信息传递的第一级结构. 而后 DRG 发出神经纤维到达脊髓背角并进一步整合处理疼痛信息, 由此构成疼痛信息传递的第二级结构. 脊髓可继续发出神经纤维到达形如大脑皮层、丘脑、下丘脑、臂旁核、杏仁核等的痛觉高级中枢, 对痛觉信息进行最后的整合处理, 再由导水管周围灰质 (periaqueductal gray, PAG)、延髓头端腹内侧区 (rostral ventromedial medulla, RVM) 等结构所组成的痛觉下行调节通路传递回脊髓以调节痛觉反应, 构成疼痛信息传递的第三级结构^[17]. NOR 与其他经典的阿片受体一样, 在痛觉反应发生与调节的每一级结构中均能发挥调控作用, 使得 NOR 在疼痛反应中的调节作用变得复杂而多样, 在动物行为学试验中疼痛诱发性质、行为学范式的不同以及 N/OFQ 等 NOR 激动剂用药的部位、剂量、反应时间的不同均会导致 NOR 对疼痛调节结果的差异. 本部分内容就 NOR 在疼痛调节中不同层次的作用分类讨论, 以全面阐述 NOR 对痛觉的调控作用.

2.1 NOR在背根神经节中的痛觉调控作用

DRG 是外周神经系统中躯体感觉神经元的胞体聚集地, 包含大、中、小三种直径的神经元, 分别发出 A α /A β 、A δ 、C 三类纤维到达脊髓背角从而在本体痛觉、触觉痛以及热痛的信息传递中发挥作用, 是外周神经系统中痛觉信息汇总并进行上行传递的重要部位^[18]. 形态学研究中, Pettersson 等^[19]采用反式斑点杂交技术在包括颈部、胸部以及腰部 DRG 的大、中型神经元的胞体及其向脊髓发出的纤维内均观察到了 NOR 的 mRNA 阳性信号的大量分布, 并且与 N/OFQ 的阳性纤维末梢存在广泛的共表达, 表明 NOR 可在 DRG 内直接由 N/OFQ 激活而重点参与对内脏痛和机械痛信息传递的调节作用. 行为学试验也证实了这一点. 在伤害性刺激诱发的急性动物疼痛模型中, 给予小鼠外周水平的 N/OFQ 处理可极显著降低小鼠对电击刺激的疼痛反应^[20], 足底注射 NOR 的受体拮抗剂 [Nphe¹] nociceptin (1-13) NH₂ 则会显著减弱机体对辣椒素诱导痛敏反应的抗伤害作用^[21]. 同样在慢性病理性动物疼痛模型研究中, Briscini 等^[22]在大鼠坐骨神经结扎术后 5 d 观察到 DRG 神经元中 NOR 的 mRNA 表达量会显著上升; Chen 等^[23]也发现 N/OFQ 在 DRG 局部的含量水平以及 NOR 的活性在部分坐骨神经横断 (partial sciatic nerve transection, PST) 模型和 CFA 诱导的炎性痛这两种疼痛模型中

显著上升. 通过在 DRG 局部运用 NOR 的选择性激动剂 Ro64-6198, Obara 等^[24]证实病理性神经痛的模型大鼠在温觉和触觉异常性疼痛测试中的痛阈值显著上升, 即产生镇痛作用. 上述结果表明 NOR 在急性的伤害性刺激疼痛中具有对疼痛反应的直接抑制作用, 而在慢性病理性疼痛过程中则可能通过表达上调的方式产生对痛觉反应的抵抗作用.

对于 NOR 在 DRG 抑制疼痛反应的机制, 目前主要认为是通过减弱 DRG 的痛觉信息向脊髓的传递来实现的. P 物质 (substance P, SP) 与降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 是表达于 DRG 内 A δ 和 C 类纤维末梢两类最主要的肽类神经递质, 在 DRG 向脊髓的痛觉信息传递过程中发挥重要作用, NOR 可直接通过调控上述两种递质的释放与功能活动从而影响痛觉信息传递. 首先在形态学研究中, Mika 等^[25]运用原位杂交和 RT-PCR 技术在大鼠 DRG 的 SP 能和 CGRP 能阳性神经元上发现有 NOR 的广泛分布, 同时与 N/OFQ 的阳性纤维末梢存在密切的突触联系, 提示在 DRG 局部 N/OFQ 可通过激活 NOR 调控 SP 和 CGRP 的递质释放. 随后的行为学研究中, Helyes 等^[26]运用放射免疫分析示踪标记 (radioimmunoassay, RIA) 技术观察到大鼠神经性炎症发生过程中在 DRG 局部注射 N/OFQ 可显著抑制 SP 和 CGRP 的释放, 并减弱大鼠的疼痛反应. Inoue 等^[27]也在大鼠屈肌反射的行为学范式中证实 N/OFQ 可通过激活 DRG 向脊髓背角发出的纤维末梢中的 NOR 以调控 SP 的产生与释放, 在 NOR 的基因敲除鼠中上述现象会被逆转. 进一步的电生理学研究中, Abdulla 等^[28]运用膜片钳技术在急性分离的大鼠 DRG 神经元上观察到运用 N/OFQ 可显著抑制 T 型及 N 型 Ca²⁺通道的电导作用, 并由此减弱了该区域的兴奋性递质释放; 而 Murali 等^[29]在上述试验结果的基础之上进一步证实 N/OFQ 在 DRG 神经元上发挥对 Ca²⁺通道抑制作用的细胞类型主要为释放 SP 或 CGRP 的肽能神经元, 结合之前的形态学与行为学结果, 得出如下结论, 即 NOR 可通过减弱 DRG 中肽能神经元的兴奋性减少 SP 和 CGRP 的释放, 进而减弱 DRG 向脊髓背角的痛觉信息输入, 产生对痛觉反应的抵抗作用. 此外 NOR 也可通过类似的作用减弱由 DRG 向脊髓背角发出的谷氨酸等其他兴奋性递质的信息传递, 其最终结果均是产生镇痛作用^[30].

2.2 NOR在脊髓水平的痛觉调控作用

脊髓中的背角区是痛觉信息传递过程中最为重要的结构,它一方面是外周痛觉感受汇集并向高级痛觉中枢传递的重要中继站,另一方面也是中枢神经系统对痛反应进行调节的效应靶点.脊髓背角包含Rexed分区中的I~V层结构,内含由DRG的中型或小型神经元投射至此的A δ 和C类神经纤维终末、具有局部调节作用的中间神经元以及由脊髓投射至痛觉高级中枢上行投射性神经元,分别负责痛觉信息的汇总,局部调节和上行传递^[31].Ozawa等^[32]通过基因敲入技术构建NOR-eGFP荧光蛋白基因小鼠,结合免疫荧光染色技术,发现NOR的阳性产物广泛分布于脊髓背角浅层,并且在I~III层的神经元中阳性产物分布最为密集.其中在I层和II层的外侧部,NOR与痛觉相关CGRP肽能神经元的投射纤维终末存在广泛共存,而在II层的内侧部,NOR与同工凝集素B4(isolectin B4, IB4)阳性的痛觉相关非肽能神经元的投射纤维终末也广泛共存,此外在II层内侧和III层的兴奋性中间神经元,NOR同样广泛表达.以上结果提示,NOR在脊髓水平是以多种不同的方式对痛觉反应进行调控的.此外,N/OFQ的阳性纤维终末也分布广泛,并与NOR的分布基本一致,提示NOR在脊髓水平发挥痛觉调控作用能够在该区域局部直接实现^[33].

在行为学研究中,NOR可产生类似于外周DRG的直接镇痛作用.其中在急性痛的相关研究中,给予大鼠和小鼠鞘内注射N/OFQ处理,可在甩尾痛测试中产生显著的镇痛作用,并且这一作用可被NOR特异性拮抗剂J-113397所阻断^[34].同样在慢性病理性疼痛动物模型中,Chen等^[23]发现,神经痛模型大鼠腰段脊髓的NOR水平在建模后14 d表现显著上升,应用N/OFQ治疗便可显著减弱大鼠的痛反应.给予大鼠及小鼠鞘内注射N/OFQ处理可显著抑制弗式完全佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)诱导的痛觉过敏以及脊神经结扎(spinal nerve ligation, SNL)引起的热痛觉过敏和机械性异常性疼痛^[35].此外在慢性压迫性损伤(chronic constriction injury, CCI)中,鞘内注射N/OFQ或NOR的激动剂GRT-TA2210、Ro65-6570可在机械性疼痛、热痛、甩尾痛等多个行为学范式中观察到显著的痛反应下降效应,表明NOR在多个类型的慢性痛中都具有强有力镇痛作用.对于NOR在脊髓水平产生痛觉抑制的机制也与外周DRG类似.Murali等^[29]的膜片钳试验的相关结果显示,

在大鼠急性分离的脊髓冠状切片中使用N/OFQ,可同时抑制脊髓背角神经元中突触前A δ 和C纤维的N型Ca²⁺通道的功能,以减弱兴奋性递质谷氨酸的释放而抑制突触传递.此外NOR还可直接增强突触后神经元K⁺通道的功能而诱发其超极化过程,直接抑制上行投射性神经元的兴奋性,从而以突触前和突触后的双重抑制减弱痛觉信息的传递,进而产生镇痛效应^[36].

此外,Ozawa等^[37]通过基因敲入技术构建NOR-eGFP荧光蛋白基因小鼠,发现NOR在脊髓背角区的多数投射性神经元与MOR、DOR等其他类型的阿片受体存在广泛的共表达现象.药理行为学试验也表明,鞘内注射N/OFQ或者NOR的特异性受体激动剂Ro64-6198均可强有力地增强大鼠全身性应用吗啡类药物所产生的镇痛作用^[38].Christoph等^[39]也发现在脊髓水平运用特异性受体激动剂激活MOR、DOR以及KOR均有助于鞘内注射N/OFQ所产生的镇痛作用.而在大鼠的甩尾痛测试中,运用纳曲酮可将鞘内注射N/OFQ所产生的镇痛效应阻断^[23],表明NOR在脊髓水平的痛觉调控反应中具有同其他阿片受体的协同作用.在慢性病理性疼痛动物模型中,Courteix等^[35]运用等辐射分析法在大鼠CCI模型的行为学测试中发现激活脊髓的NOR对正常大鼠的痛觉反应并不产生影响,但可极显著增强由吗啡诱导的对抗机械痛觉过敏的作用.Sukhtankar等^[40]的药理学试验也表明,在脊髓水平使用NOR和MOR的联合受体激动剂BU08028或SR16435在慢性炎症以及神经性疼痛的小鼠模型中发挥的抗痛觉过敏和抗异常性疼痛作用效力远远高于单一性NOP或MOR受体激动剂的效力.上述研究结果表明,NOR也可在慢性痛中产生与其他阿片受体的协同作用.

有趣的是,对于灵长类动物,NOR并不产生与其他阿片受体的协同作用而只表现自身所介导的镇痛效应.在猕猴的甩尾痛测试中,给予实验动物鞘内注射N/OFQ处理可引发类似啮齿类动物的镇痛作用^[41],但这一作用并不会被纳洛酮所阻断,运用NOR的特异性阻断剂J-113397才会使镇痛效应完全消失.Ko等^[42]也在猴子的行为学试验中证实,在脊髓水平用特异性受体激动剂同时激活NOR与MOR所产生的镇痛效应也只是两种受体单独镇痛作用的加和效应,单一运用某一种受体阻断剂并不能完全阻断二者共同作用的效应.这表明,NOR在不同物种中脊髓水平的痛觉调节作用具有

不同的作用机制。

2.3 NOR在脊髓上水平的痛觉调控作用

在脊髓上水平, 疼痛信息进入了最终的整合与处理阶段, 有多个脑区和核团都参与到了这一过程的调控, NOR也在其中发挥了十分重要的作用。在来自 Ozawa 等^[32] NOR-eGFP 荧光蛋白基因敲入小鼠的形态学研究中, NOR 的阳性信号在 PAG、RVM 以及蓝斑等参与痛觉信息下行调控的核心脑区中广泛表达, 并且在包括前额叶眶皮层、前扣带回皮层 (anterior cingulate cortex, ACC) 等对痛觉信息具有分辨整合作用的皮质区也都有一定程度的表达与分布。此外在边缘系统, NOR 的阳性信号还表达在参与疼痛反应发生过程中情绪变化的基底外侧核群以及杏仁核, 这些结果提示, NOR 在脊髓上水平对疼痛反应的调控作用变得比在外周神经或脊髓水平更为复杂, 它不仅直接参与了疼痛信息的加工与处理, 还有可能对疼痛反应相伴产生的情绪变化有一定的调节作用。

在对脊髓上痛觉高级中枢整体的行为学研究中, NOR 的激活并不像在脊髓或外周那样可以产生镇痛作用, 而是加剧疼痛反应发生的程度从而产生痛敏作用, 这种作用在急性刺激的疼痛动物模型中表现得十分明显。如给予小鼠脑室内注射 N/OFQ 会在热板以及甩尾测试中表现强烈的痛阈值下降现象^[43], 使用 N/OFQ 则可以显著拮抗吗啡介导的镇痛作用^[44]。Rizzi 等^[45] 给大鼠脑室内注射 N/OFQ 的类似物也会引发小鼠在甩尾测试中的痛敏现象, 并拮抗吗啡介导的镇痛作用, 而经过脑室内注射高选择性肽类 NOR 拮抗剂 UFP-101 处理后则会使小鼠表现的痛敏症状完全逆转。同样慢性病理性动物疼痛模型研究中, 在 CFA 诱导的慢性炎症大鼠模型中给予脑室内注射 N/OFQ 的类似物处理会诱发强烈的痛觉过敏现象, 同时系统性应用吗啡的镇痛作用也被阻断, 而运用 NOR 拮抗剂 UFP-101 处理则可完全逆转大鼠的疼痛过敏现象^[46]。在脊髓上水平的痛觉高级中枢, 痛觉下行调节通路是调节痛觉反应最主要的神经机制, 因而对于诱发 NOR 在脊髓上水平产生痛敏作用的机制研究, 目前均主要集中于其对痛觉下行调节通路功能活动的影响。

痛觉下行调控通路主要由 PAG、RVM 以及脊髓所组成, 其中 PAG 接收由脊髓或其他痛觉高级中枢传入的痛觉信息, 在该区域的投射性神经元处于兴奋状态时下行调控 RVM 的活动而产生镇痛作用。而在 RVM 内部存在被称为“开启”神经元

(on-cell) 和“关闭”神经元 (off-cell) 这两类调节痛觉反应的细胞, 其中 on-cell 的性质多为 GABA 能神经元, 对 off-cell 具有抑制性调节作用, off-cell 则为投射性神经元, 直接发出纤维投射至脊髓背角, 可经由 PAG 传递的兴奋性信息打破 on-cell 对其抑制性作用, 从而抑制脊髓背角神经元的活动并减弱痛觉信息的上行传递, 以产生镇痛作用^[47]。在早期的分子生物学研究中, PAG 和 RVM 的 NOR 表达量在 CCI 以及 SNL 诱发的大鼠疼痛模型中均显著上调^[48], 并且在 PAG 局部 N/OFQ 的浓度也显著上升^[49]。随后行为学试验也证实, PAG 脑区局部注射 N/OFQ 可以显著诱发大鼠对于触摸痛的痛敏反应^[50], 同时 PAG 和 RVM 脑区内局部注射 N/OFQ 类似物还能直接阻断由吗啡诱导的大鼠镇痛效应^[51]。Scoto 等^[52] 在上述结果的研究基础之上, 发现将 UFP-101 局域性注射到 PAG 可显著降低包括 CCI 以及炎性痛大鼠模型对触摸痛的敏感反应。随着电生理学技术的发展, 借助离体的膜片钳实验技术手段, Vaughan 等^[53] 在大鼠的 PAG 脑片上观察到运用 N/OFQ 激活该区域的 NOR 可通过增加 K⁺ 的外向电流显著降低 PAG 神经元微小兴奋性突触后电流的频率, 即抑制了突触前的兴奋性递质释放, 使 PAG 向 RVM 的信息传递减弱, 造成对痛觉反应抑制作用的减弱。Heinricher 等^[54] 同样通过膜片钳技术发现, 运用 N/OFQ 激活 RVM 脑区中的 NOR 可直接抑制 off-cell 的兴奋性, 减弱其向脊髓背角传递痛觉调制信息的能力。此外 NOR 还可阻断传统阿片类受体对 on-cell 的抑制作用, 使得 on-cell 对 off-cell 的抑制作用加强, 其最终结果均是使 RVM 内 off-cell 对脊髓水平的抑制性调节作用减弱, 进而产生痛敏反应^[55]。综上所述, NOR 通过抑制痛觉下行调节通路中 PAG 以及 RVM 内神经元的兴奋性活动是其在脊髓上水平产生痛敏的作用机制之一。

然而还有一些研究显示, NOR 在脊髓上水平的其他脑区仍然发挥镇痛作用。Shane 等^[56] 发现, 在给予大鼠杏仁核局部注射 N/OFQ 后, 动物对辐射热刺激产生的痛反应程度呈剂量依赖性地显著降低, 而运用 NOR 的阻断剂可拮抗上述作用。Meis 等^[57] 则通过膜片钳技术证实 N/OFQ 激活中央杏仁核内投射性神经元的 NOR 后可通过打开 IRK 以减弱其兴奋性, 从而使包括疼痛以及恐惧相关的投射信息输出减弱, 产生镇痛以及镇静作用。此外在丘脑, Albrecht 等^[58] 运用离子电泳技术将 N/OFQ 施

加到大鼠不同丘脑结构的神经元内,发现有60%的神经元放电被抑制.丘脑作为痛觉信息由脊髓传向大脑的重要中继站,NOR对其神经元的抑制作用可显著降低机体对疼痛反应的敏感程度,因而NOR在丘脑也很大程度上参与了对疼痛反应的抑制作用.由此可见,NOR在脊髓上水平的痛觉调控作用存在十分复杂的作用机制,其在各脑区之间调节痛觉效应的交互作用关系仍需进一步的研究才能得以明确.

3 小 结

NOR作为阿片受体家族的新成员,在机体痛觉反应的调控上具有不同于经典阿片受体的独特作用.一方面,NOR在脊髓和外周神经系统水平具备和传统阿片受体类似的镇痛作用,并且还能与传统阿片受体协同作用;另一方面,NOR也能在脊髓上水平拮抗传统阿片受体的镇痛作用而产生痛敏效应.疼痛一直以来都是困扰人类的顽固性疾病之一,对病人的生活质量、精神以及情绪都有十分严重的干扰,通过深入研究NOR在痛觉调控中的作用,对于疼痛疾病的治疗,镇痛药物的研发都具有十分深远的意义.

参 考 文 献

- [1] Ballantyne J C, Sullivan M D. Discovery of endogenous opioid systems: what it has meant for the clinician's understanding of pain and its treatment. *Pain*, 2017, **158**(12):2290-2300
- [2] Kantola I, Scheinin M, Gulbrandsen T, *et al.* Safety, tolerability, and antihypertensive effect of SER100, an opiate receptor-like 1 (ORL-1) partial agonist, in patients with isolated systolic hypertension. *Clin Pharmacol Drug Dev*, 2017, **6**(6):584-591
- [3] Kiguchi N, Ding H, Ko M C. Central N/OFQ-NOP receptor system in pain modulation. *Adv Pharmacol*, 2016, **75**:217-243
- [4] Mustazza C, Pieretti S, Marzoli F. Nociceptin/Orphanin FQ Peptide (NOP) receptor modulators: an update in structure-activity relationships. *Curr Med Chem*, 2018, **25**(20):2353-2384
- [5] Stein C. Opioid receptors. *Annu Rev Med*, 2016, **67**:433-451
- [6] G. Calo, D.G. Lambert. Nociceptin/orphanin FQ receptor ligands and translational challenges: focus on cebranopadol as an innovative analgesic. *Br J Anaesth*, 2018, **121**(5):1105-1114
- [7] Nurulain T. Zaveri. The nociceptin opioid receptor (NOP) as a therapeutic target: progress in Translation from preclinical research to clinical utility. *J Med Chem*, 2016, **59**(15):7011-7028
- [8] Pacifico S, Carotenuto A, Brancaccio D, *et al.* Structure- and conformation-activity studies of nociceptin/orphanin FQ receptor dimeric ligands. *Sci Rep*, 2017, **7**:45817
- [9] Lutfy K, Zaveri N T. The Nociceptin receptor as an emerging molecular target for cocaine addiction. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2016, **137**:149-181
- [10] Toll L, Bruchas M R, Calo' G, *et al.* Nociceptin/Orphanin FQ receptor structure, signaling, ligands, functions, and interactions with opioid systems. *Pharmacol Rev*, 2016, **68**(2):419-457
- [11] Luttrell L M. GPCR signaling rides a wave of conformational changes. *Cell*, 2016, **167**(3):602-603
- [12] Mela V, Vargas A, Meza C, *et al.* Modulatory influences of estradiol and other anorexigenic hormones on metabotropic, Gi/o-coupled receptor function in the hypothalamic control of energy homeostasis. *Steroid Biochem Mol Biol*, 2016, **160**:15-26
- [13] Sencanski M, Ivanovic M D, Dosen-Micovic L. Modelling of ORL1 receptor-ligand interactions. *Chem Pap*, 2014, **68**:1305-1316
- [14] Halls M L, Yeatman H R, Nowell C J, *et al.* Plasma membrane localization of the μ -opioid receptor controls spatiotemporal signaling. *Sci Signal*, 2016, **9**(414):ra16
- [15] Eichel K, Jullie D, von Zastrow M. β -Arrestin drives MAP kinase signalling from clathrin-coated structures after GPCR dissociation. *Nat Cell Biol*, 2016, **18**(3):303-330
- [16] Ranjan R, Gupta P, Shukla A K. GPCR Signaling: β -arrestins kiss and remember. *Curr Biol*, 2016, **26**(7):R285-288
- [17] Delpont B, Blanc C, Osseby GV, *et al.* Pain after stroke: a review. *Rev Neurol (Paris)*, 2018, **174**(10):671-674
- [18] Esposito MF, Malayil R, Hanes M, *et al.* Unique characteristics of the dorsal root ganglion as a target for neuromodulation. *Pain Med*, 2019, **20**(Supplement 1):S23-S30
- [19] Pettersson LM, Sundler F, Danielsen N. Expression of orphanin FQ/nociceptin and its receptor in rat peripheral ganglia and spinal cord. *Brain Res*, 2002, **945**(2):266-275
- [20] Kolesnikov Y A, Pasternak G W. Peripheral orphanin FQ/nociceptin analgesia in the mouse. *Life Sci*, 1999, **64**(22):2021-2028
- [21] Sakurada T, Komatsu T, Moriyama T, *et al.* Effects of intraplantar injections of nociceptin and its N-terminal fragments on nociceptive and desensitized responses induced by capsaicin in mice. *Peptides*, 2005, **26**(12):2505-2512
- [22] Briscini L, Corradini L, Ongini E, *et al.* Up-regulation of ORL-1 receptors in spinal tissue of allodynic rats after sciatic nerve injury. *Eur J Pharmacol*, 2002, **447**(1):59-65
- [23] Chen Y, Sommer C. Nociceptin and its receptor in rat dorsal root ganglion neurons in neuropathic and inflammatory pain models: implications on pain processing. *J Peripher Nerv Syst*, 2006, **11**(3):232-240
- [24] Obara I, Przewlocki R, Przewlocka B. Spinal and local peripheral antiallodynic activity of Ro64-6198 in neuropathic pain in the rat. *Pain*, 2005, **116**(1-2):17-25
- [25] Mika J, Li Y, Weihe E, *et al.* Relationship of pronociceptin/orphanin FQ and the nociceptin receptor ORL1 with substance P and calcitonin gene-related peptide expression in dorsal root ganglion of the rat. *Neurosci Lett*, 2003, **348**(3):190-194
- [26] Helyes Z, Németh J, Pintér E, *et al.* Inhibition by nociceptin of

- neurogenic inflammation and the release of SP and CGRP from sensory nerve terminals. *Br J Pharmacol*, 1997, **121**(4):613-615
- [27] Inoue M, Kobayashi M, Kozaki S, *et al.* Nociceptin/orphanin FQ-induced nociceptive responses through substance P release from peripheral nerve endings in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(18):10949-10953
- [28] Abdulla FA, Smith PA. Axotomy reduces the effect of analgesic opioids yet increases the effect of nociceptin on dorsal root ganglion neurons. *J Neurosci*, 1998, **18**(23):9685-9694
- [29] Murali S S, Napier I A, Rycroft B K, *et al.* Opioid-related (ORL1) receptors are enriched in a subpopulation of sensory neurons and prolonged activation produces no functional loss of surface N-type calcium channels. *J Physiol*, 2012, **590**(7):1655-1667
- [30] Luo C, Kumamoto E, Furue H, *et al.* Nociceptin inhibits excitatory but not inhibitory transmission to substantia gelatinosa neurones of adult rat spinal cord. *Neuroscience*, 2002, **109**(2):349-358
- [31] Koch SC, Acton D, Goulding M. Spinal circuits for touch, pain, and itch. *Annu Rev Physiol*, 2018, **80**:189-217
- [32] Ozawa A, Brunori G, Cippitelli A, *et al.* Analysis of the distribution of spinal NOP receptors in a chronic pain model using NOP-eGFP knock-in mice. 2018, **175**(13):2662-2675
- [33] Schiene K, Schröder W, Linz K, *et al.* Nociceptin/orphanin FQ opioid peptide (NOP) receptor and μ -opioid peptide (MOP) receptors both contribute to the anti-hypersensitive effect of cebranopadol in a rat model of arthritic pain. *Eur J Pharmacol*, 2018, **832**:90-95
- [34] Genovese R F, Dobre S. Mitigation of adverse behavioral impact from predator exposure by the nociceptin/orphanin FQ peptide antagonist J-113397 in rats. *Behav Pharmacol*, 2017, **28**(7):521-530
- [35] Courteix C, Coudoré-Civiale M A, Privat A M, *et al.* Evidence for an exclusive antinociceptive effect of nociceptin/orphanin FQ, an endogenous ligand for the ORL1 receptor, in two animal models of neuropathic pain. *Pain*, 2004, **110**(1-2):236-245
- [36] Constantin S, Wray S. Nociceptin/Orphanin-FQ inhibits gonadotropin-releasing hormone neurons *via* G-protein-gated inwardly rectifying potassium channels. *eNeuro*, 2018, **5**(6): pii: ENEURO.0161-18.2018
- [37] Ozawa A, Brunori G, Mercatelli D, *et al.* Knock-in mice with NOP-eGFP receptors identify receptor cellular and regional localization. *J Neurosci*, 2015, **35**(33): 11682-11693
- [38] Cremeans C M, Gruley E, Kyle D J, *et al.* Roles of μ -opioid receptors and nociceptin/orphanin FQ peptide receptors in buprenorphine-induced physiological responses in primates. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, **343**(1):72-81
- [39] Christoph T, Raffa R, De Vry J, *et al.* Synergistic interaction between the agonism of cebranopadol at nociceptin/orphanin FQ and classical opioid receptors in the rat spinal nerve ligation model. *Pharmacol Res Perspect*, 2018, **6**(6):e00444
- [40] Sukhtankar D D, Zaveri N T, Husbands S M, *et al.* Effects of spinally administered bifunctional nociceptin/orphanin FQ peptide receptor/ μ -opioid receptor ligands in mouse models of neuropathic and inflammatory pain. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, **346**(1):11-22
- [41] Flynn S M, Epperly P M, Davenport A T, *et al.* Effects of stimulation of μ opioid and nociceptin/orphanin FQ peptide (NOP) receptors on alcohol drinking in rhesus monkeys. *Neuropsychopharmacology*, 2019, **44**(8):1476-1484
- [42] Ko M C, Wei H, Woods J H, *et al.* Effects of intrathecally administered nociceptin/orphanin FQ in monkeys: behavioral and mass spectrometric studies. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, **318**(3): 1257-1264
- [43] Reinscheid R K, Nothacker H P, Bourson A, *et al.* Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioidlike G protein-coupled receptor. *Science*, 1995, **270**(5237):792-794
- [44] Bodnar R J. Endogenous opiates and behavior: 2015. *Peptides*, 2017, **88**:126-188
- [45] Rizzi A, Ruzza C, Bianco S, *et al.* Antinociceptive action of NOP and opioid receptor agonists in the mouse orofacial formalin test. *Peptides*, 2017, **94**:71-77
- [46] Bertorelli R, Corradini L, Rafiq K, *et al.* Nociceptin and the ORL-1 ligand [Phe¹psi (CH₂-NH)Gly²]nociceptin(1-13)NH₂ exert anti-opioid effects in the Freund's adjuvant-induced arthritic rat model of chronic pain. *Br J Pharmacol*, 1999, **128**(6):1252-1258
- [47] Damien J, Colloca L, Bellei-Rodriguez C É, *et al.* Pain modulation: from conditioned pain modulation to placebo and nocebo effects in experimental and clinical pain. *Int Rev Neurobiol*, 2018, **139**:255-296
- [48] Ma F, Xie H, Dong Z Q, *et al.* Expression of ORL1 mRNA in some brain nuclei in neuropathic pain rats. *Brain Res*, 2005, **1043**(1-2): 214-217
- [49] Sun R Q, Wang Y, Zhao C S, *et al.* Changes in brain content of nociceptin/orphanin FQ and endomorphin 2 in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett*, 2001, **311**(1):13-16
- [50] Lü N, Han M, Yang Z L, *et al.* Nociceptin/Orphanin FQ in PAG modulates the release of amino acids, serotonin and norepinephrine in the rostral ventromedial medulla and spinal cord in rats. *Pain*, 2010, **148**(3):414-425
- [51] Pan Z, Hirakawa N, Fields H L. A cellular mechanism for the bidirectional pain-modulating actions of orphanin FQ/nociceptin. *Neuron*, 2000, **26**(2):515-522
- [52] Scoto GM, Arico G, Iemolo A, *et al.* Involvement of the Nociceptin/Orphanin FQ-NOP receptor system in the ventrolateral periaqueductal gray following mechanical allodynia in chronic pain. *Life Sci*, 2009, **85**(5-6):206-210
- [53] Vaughan C W, Ingram S L, Christie M J. Actions of the ORL1 receptor ligand nociceptin on membrane properties of rat periaqueductal gray neurons in vitro. *J Neurosci*, 1997, **17**(3):996-1003
- [54] Heinricher M M, McGaraughty S, Grandy D K. Circuitry underlying antiopioid actions of orphanin FQ in the rostral ventromedial medulla. *J Neurophysiol*, 1997, **78**(6):3351-3358
- [55] Hernandez J, Fabelo C, Perez L, *et al.* Nociceptin/orphanin FQ modulates energy homeostasis through inhibition of

- neurotransmission at VMN SF-1/ARC POMC synapses in a sex- and diet-dependent manner. *Biol Sex Differ*, 2019, **10**(1): 9
- [56] Shane R, Lazar D A, Rossi G C, *et al.* Analgesia elicited by OFQ/ nociceptin and its fragments from the amygdala in rats. *Brain Res*, 2001, **907**(1-2):109-116
- [57] Meis S, Pape H C. Postsynaptic mechanisms underlying responsiveness of amygdaloid neurons to nociceptin/orphanin FQ. *J Neurosci*, 1998, **18**(20):8133-8144
- [58] Albrecht D, Bluhdorn R, Siegmund H, *et al.* Inhibitory action of nociceptin/orphanin FQ on functionally different thalamic neurons in urethane-anaesthetized rats. *Br J Pharmacol*, 2001, **134**(2):333-342

Research Progress of Nociceptin Receptors on Pain Modulation*

DU Yi-Nan**, ZHANG Jin-Ming**, DIAO Zhi-Jun**, MA Ning, YAN Chuan-Ting, LIU Zhi-Qiang***

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

Abstract The nociceptin receptor is another new type of opioid receptor found after mu-opioid receptor, kappa-opioid receptor and delta-opioid receptor, which not only has structural similar features to classical opioid receptors, but also mediates same or similar intracellular biological response. Nociceptin receptor has a unique modulation of pain response. On the one hand, it usually exerts the analgesic effect at the dorsal root ganglia and spinal cord levels, and synergistic with other opioid receptors at the level of the spinal cord to enhance the analgesic effect. On the other hand, at the level of the spinal cord, nociceptin receptor produces hyperalgesia that antagonizes the analgesic effects of other opioid receptors. In addition, the regulation of pain sensation by nociceptin receptors also shows some differences among different species. This provides a theoretical basis for further elucidation of the pain regulation of the endogenous opioid system.

Key words nociceptin receptor, pain modulation, dorsal root ganglion, spinal cord, pain-related supraspinal center

DOI: 10.16476/j.pibb.2019.0137

* This study was supported by a grant from the National Natural Science Foundation of China(81171264).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

Tel: +86-29-85308178, E-mail: zqliu1969@163.com

Received: October 21, 2019 Accepted: December 26, 2019