



河鲀毒素——一种具有缓解癌性疼痛潜力的药物*

张梦倩^{1,2)} 储智勇³⁾ 钱晓明³⁾ 王梓涵⁴⁾ 刘德祥¹⁾ 龙程^{1,2)**}

⁽¹⁾ 广州市番禺区中心医院, 华南师范大学-番禺区中心医院基础与转化医学联合实验室, 广州 511400;

⁽²⁾ 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631; ⁽³⁾ 中洋生物科技(上海)股份有限公司, 上海 200002;

⁽⁴⁾ 徐州医科大学生命科学学院, 徐州 221004)

摘要 河鲀毒素(tetrodotoxin, TTX)是一种剧毒的生物碱类天然神经毒素,具有选择性阻断钠离子通道作用。人体摄入TTX后会产生致命影响,对人类的致死剂量范围1.5~2.0 mg(血药浓度9 μg/L)。但以远低于其半数致死量(LD₅₀)给患者施用TTX时,却可以治疗多种疾病,包括海洛因和可卡因戒断症状、脊髓损伤、脑外伤、肿瘤、神经性疼痛和内脏疼痛等。研究人员经过几十年不懈地探索,在TTX应用于生物医学领域,尤其是治疗癌症相关疼痛方面取得可喜进展,本文着重介绍TTX作为缓解癌性疼痛药物的临床开发、作用的有效性和安全性等最新结果,展示TTX缓解癌性疼痛的前景。

关键词 河鲀毒素, 电压门控钠通道, 癌性疼痛

中图分类号 Q4, Q5

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0300

癌性疼痛是癌症的一种常见且具有破坏性的症状,有时对患者生活的影响比诊断出癌症更大。目前常用的药理学和非药理学方法仅在一定程度上控制癌性疼痛^[1],世界卫生组织(World Health Organization, WHO)推出了癌症三阶梯止痛原则(图1)^[2],但药理学和非药理学方法并非普遍有效,许多患者继续遭受疼痛。未经治疗或治疗不当的疼痛会影响身体机能、心理健康和社交互动^[3]。持续性疼痛对癌症患者的生活质量是毁灭性的,因为与癌症可能导致死亡的这一后果相比,患者时常更难以忍受癌性疼痛。随着癌症的发展,癌性疼痛往往会加剧。超过1/3的癌症患者经历中度至重度癌性疼痛。癌性疼痛的原因多种多样,包括癌症本身、化疗放疗,以及并发症(例如便秘、行动不便和血栓性静脉炎)^[4]。目前,治疗中度至重度癌症相关疼痛的药物疗法主要是口服或注射阿片类药物,然而并不总是奏效,长期使用可能导致成瘾、躯体依赖性及镇痛耐受性等,并且伴有多种不良反应,如便秘、恶心/呕吐、尿潴留、瘙痒和中枢神

经系统毒性(嗜睡、认知障碍、困惑、幻觉、肌肉阵挛性抽搐、痛觉过敏等)^[5-7]。此外,癌症患者常有的多种并发症也一定程度上降低了对阿片类药物不良反应的耐受性。因此,对于许多饱受疼痛的癌症患者来说,现有的药物治疗不能满足其需求,迫切地需要新的非阿片类镇痛药物。

河鲀毒素曾称河豚毒素(tetrodotoxin, TTX),其结晶是一种弱碱性的无色物质,分子式为C₁₁H₁₇O₈N₃(图2a)。它是一种典型的钠离子通道阻断剂,对钠离子通道的选择性很高,其致毒作用主要是选择性地与肌肉和神经细胞细胞膜表面的电压门控钠离子通道(voltage-gated sodium channel, VGSC)结合,从而阻断钠离子通道,使神经兴奋与传导、中枢神经系统调控功能、心脏搏动、平滑

* 国家自然科学基金(31871170)和广东省自然科学基金(2021A1515010804, 2023A1515010899)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 020-85211372, E-mail: longcheng@m.scnu.edu.cn

收稿日期: 2022-06-25, 接受日期: 2022-09-19

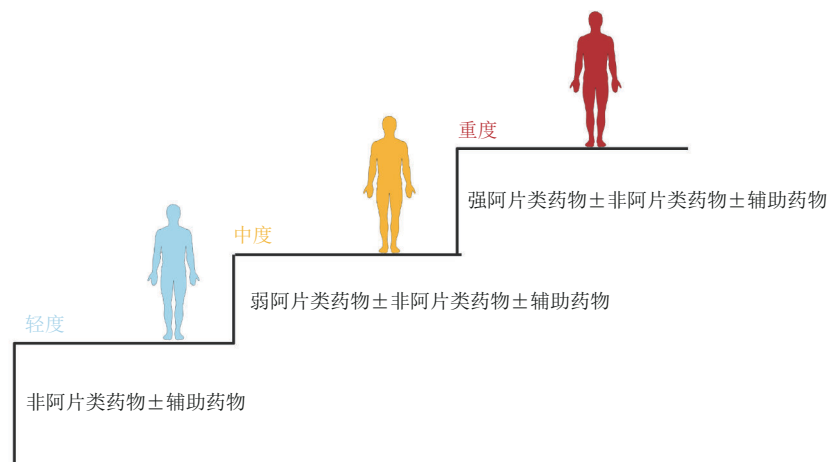


Fig. 1 The World Health Organization (WHO) three-step analgesic ladder for managing cancer pain in adults^[2]
图1 世界卫生组织对成人癌性疼痛的三阶梯止痛原则^[2]

肌蠕动、骨骼肌收缩和激素分泌等一系列的生理功能受到影响,导致肌肉和神经的麻痹,严重时导致死亡。TTX带正电的胍基(化学式为—CN₃H₄, 1个C与3个N连接,其中与1个N是以双键相连的,其余的2个N是以单键与C相连)(图2a)与VGSCs结合,与通道外前庭周围带负电的羧基端残基发生相互作用,堵塞通道孔并阻断Na⁺流动,从而阻断了神经冲动的传递^[8]。2018年由清华大学生命科学学院颜宁实验室与澳大利亚昆士兰大学Glenn King实验室合作发表的《科学》(*Science*)杂志文章^[9]报道了运用高分辨率冷冻电镜成像解析VGSCs与其阻断剂TTX、石房蛤毒素(saxitoxin, STX)及其门控调节剂蜘蛛毒素(Dc1a)三种复合物的结构,发现TTX的极性基团与VGSCs选择性滤器上的酸性残基形成大量的氢键,使其稳定地堵在孔道区域,阻断Na⁺通过选择性滤器的通路,为TTX的功能研究提供了分子解释。通过VGSC-Dc1a-TTX复合体的结构分析还发现VGSCs细胞膜外侧与TTX和STX相互作用的特定氨基酸位点,详细阐明了TTX阻断VGSCs功能的结构机制^[9]。

VGSCs在疼痛中起着重要作用,许多研究表明,一些TTX敏感的VGSCs亚型与病理性疼痛有

很强的关联^[10]。由于TTX以高度选择的方式阻断这些VGSCs,在缓解疼痛方面具有巨大的潜力^[11]。因此,本文将先介绍VGSCs及其与疼痛相关的临床实验研究数据,进一步阐明TTX缓解癌性疼痛的治疗潜力。

1 VGSCs

VGSCs是由一个大的α亚基和一个或多个β亚基组成的跨膜蛋白,是细胞形成动作电位(action potential, AP)过程中重要的组成构件(图2b)。大多数VGSCs广泛分布于中枢和外周神经系统,负责产生Na⁺电流,参与神经元AP的引起和传导^[12]。TTX发挥镇痛作用的机制是通过与VGSC外前庭内的α亚基结合,阻止Na⁺通过钠离子通道进入^[13-14]。通过这种方式,TTX减少了神经冲动的启动和传导所需的Na⁺通量。根据电压门控钠离子通道对TTX的敏感性,将其分为TTX敏感型(TTX-sensitive, TTX-S)和TTX耐受型(TTX-resistant, TTX-R),其中6个TTX-S钠离子通道成员(Nav1.1、Nav1.2、Nav1.3、Nav1.4、Nav1.6、Nav1.7)可以被TTX阻断,其他的钠离子通道亚型是TTX-R钠离子通道(Nav1.5、Nav1.8、Nav1.9),不能被TTX阻断(表1)。

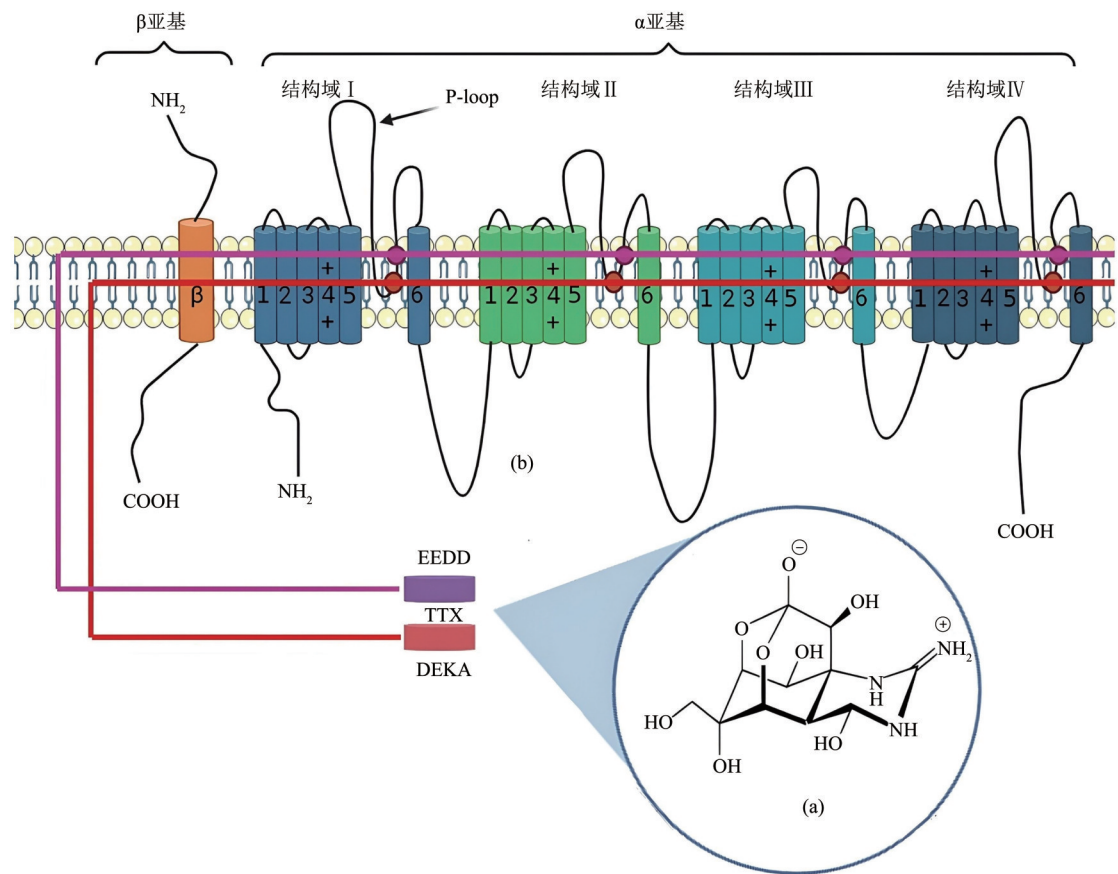


Fig. 2 Schematic diagram of VGSC and TTX binding sites
图2 VGSC和TTX结合位点示意图

(a) TTX化学结构式（引自维基百科），(b) VGSCs构型，VGSCs的α亚基由4个同源结构域（I~IV）组成，每个结构域由6个α螺旋跨膜片段（1~6）组成，这些片段通过细胞外和细胞内环连接。TTX的结合位点位于钠离子通道内高度保守的成孔区域（P-loop），TTX与P-loop（外EEDD；内DEKA）中的选择性过滤器结合，EEDD序列和DEKA序列分别由紫色和红色带表示，根据文献 [13] 修改，属于知识共享署名（CC BY）许可（<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>）条款分发的开放获取文章。

Table 1 VGSCs and their associated pain
表1 VGSCs与其相关的疼痛

钠离子通道亚型	TTX敏感性	分布 ^[11]	相关疼痛 ^[15]
Nav1.1	TTX-S	中枢神经系统、外周神经系统、小胶质细胞	慢性疼痛、慢性内脏高敏症状、结直肠癌、卵巢癌等
Nav1.2	TTX-S	中枢神经系统、外周神经系统（低表达）、脊髓（板层I/II）	卵巢癌等
Nav1.3	TTX-S	胚胎和新生儿中枢神经系统（高表达）、脊髓（板层I/II）	慢性疼痛、炎症性疼痛、卵巢癌等
Nav1.4	TTX-S	骨骼肌	卵巢癌等
Nav1.5	TTX-R	心肌细胞	乳腺癌、肠易激综合征、心脏综合征等
Nav1.6	TTX-S	表皮游离神经末梢、角质细胞、小胶质细胞、郎飞氏结、脊髓、外周神经系统	宫颈癌、结直肠癌等
Nav1.7	TTX-S	外周神经系统、脊髓、表皮游离神经末梢	慢性疼痛、炎症性疼痛、间质性膀胱炎/膀胱痛综合征、环磷酸腺苷诱导的膀胱炎、机械性痛觉过敏、非小细胞肺癌、卵巢癌、前列腺癌等
Nav1.8	TTX-R	外周神经系统	慢性空肠炎疼痛、骨癌等
Nav1.9	TTX-R	外周神经系统	慢性炎症性疼痛等

在这些钠离子通道亚型中, 伤害性感受器 (Nociceptor) 高表达的Nav1.7 (优先表达于背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 神经元)、Nav1.8和Nav1.9 (选择性表达于DRG神经元) 和损伤后在伤害性神经元表达上调的Nav1.3一直是研究的中心, 主要集中于这些通道在慢性疼痛发生和维持中的作用, 这些通道亚型有望成为解除病理性疼痛状态药物的治疗靶点^[16]。其中Nav1.7因其与部分疼痛疾病的遗传相关而备受关注^[17-18], 而Nav1.8特异性富集表达在DRG神经元上, 在疼痛的病理生理学研究中也极为重要^[19]。

1.1 Nav1.7

与其他钠离子通道亚型相比, Nav1.7通道具有快速激活、快速失活的特点, 以缓慢的闭合状态失活, 且从失活中恢复缓慢, 微小刺激就能将其激活, 并促进细胞膜进一步去极化^[20-21] (表2)。Nav1.7通道可以在外周神经元中表达, 且相比非伤害性感觉神经元, Nav1.7通道在伤害性感觉神经元中表达更为明显^[22-23]。同时Nav1.7通道在许多癌细胞中表达, 如子宫内膜癌细胞、胃癌细胞、乳腺癌细胞、肺癌细胞, 通过抑制Nav1.7通道可以进

一步减弱这些细胞的活性^[24]。已有研究证明, 敲除Nav1.7会出现严重的疼痛不敏感和嗅觉缺失^[17, 25], 而条件性剔除小鼠感觉神经元中的Nav1.7也能消除疼痛感。Black等^[26]观察到, 与从同一神经获得的更近端的对照组织相比, 在人类痛性神经瘤的盲端轴突中, Nav1.7表达上调。说明Nav1.7确实在人类神经瘤相关疼痛的发展中起重要作用。

不仅如此, 2021年发表的一篇文章进一步证明, Nav1.7疼痛靶点确实存在, MacDonald等^[27]发现, 尽管感觉上产生镇痛效果, 但DRG神经元的伤害性感受器活动基本上不受Nav1.7缺失的影响。在Nav1.7缺失的神经元中, 镇痛的关键位点是其中枢突末梢, 而非外周部分。因此, 该发现为外周靶向Nav1.7抑制剂未能引起镇痛提供了生物学解释, 并指出DRG神经元中枢突末梢表达的Nav1.7和相关的阿片信号通路是止痛的替代治疗靶点^[27]。

另外, 已经有报道详细阐述了Nav1.7和TTX之间相互作用的模式图 (图3)^[28-29], 这对未来止痛配体的优化有一定的帮助。

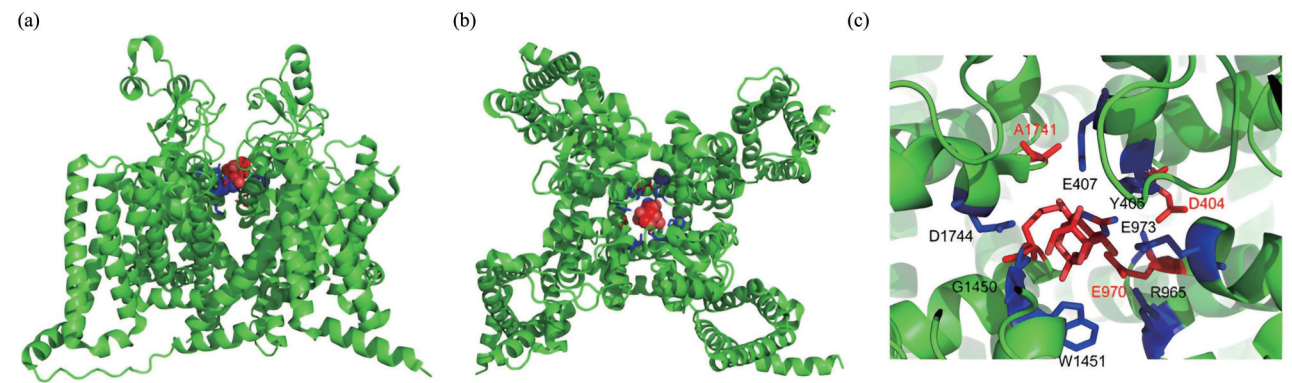


Fig. 3 Interaction between TTX and Nav1.7 channel^[29]

图3 TTX与Nav1.7通道的交互作用^[29]

(a) Nav1.7通道的侧视图; (b) 俯视图; (c) 特写显示孔内的TTX结合部位; TTX为孔中央的红色部分。引自文献^[29], 属于知识共享署名 (CC BY) 许可 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) 条款分发的开放获取文章。

1.2 Nav1.8

Nav1.8是参与慢性疼痛、心房纤维性颤动、血管性疾病布加综合征的重要离子通道, 是疼痛治疗的高选择性作用靶点。早在20世纪90年代, 在非洲爪蟾卵母细胞中发现Nav1.8通道表现出缓慢激活和失活的TTX-R电流^[30] (表2)。Dib-Hajj等^[31]通过膜片钳记录研究发现, 人类DRG神经元中存

在Nav1.8通道, 并且具有相同的特性。证实在表达Nav1.8的卵母细胞上获得的结果与人类伤害性感受器有关。对Nav1.8的深入研究, 有助于明确疼痛及其他相关疾病的发病机制、开发镇痛药物, 为疾病的诊断、治疗、预防提供基础。

借助骨癌疼痛模型的研究发现, Nav1.8在骨髓鼠DRG神经元细胞膜上的表达显著升高, 这种升

高提示它可能参与骨癌疼痛的发生和维持,说明Nav1.8与骨癌疼痛存在潜在关系^[32];在空肠炎模型中,正常小鼠DRG神经元的兴奋性大大增加,而Nav1.8敲除小鼠的兴奋性缺失^[33],说明Nav1.8也参与了慢性癌性痛、慢性内脏痛。一项计算机模拟研究揭示,Nav1.8表达的改变可能损坏了神经元兴奋性的调节功能,进而导致神经病理性疼痛和炎症性疼痛等慢性疼痛状态的发展^[34]。新近研究发现,在miR-96基因敲除小鼠的脊髓背角(spinal dorsal horn, SDH)神经元中,Nav1.7、Nav1.8、Nav1.9和Nav1.2表达上调^[35]。这些小鼠DRG中CACNA2D1/2的表达被抑制,并表现出机械性和热性痛觉异常,鞘内或腹膜内注射Nav1.7或Nav1.8阻滞剂可减轻症状。SDH神经元miR-96和钠离子通道表达下调导致神经病理性疼痛,鞘内注射Nav1.7或Nav1.8阻滞剂也可缓解这种疼痛。首次发现脊髓神经元在神经损伤时异常表达Nav1.7和Nav1.8,且钠离子通道抑制剂需要透过血脑屏障才能达到最好的止痛效果,改写了靶向Nav1.7和Nav1.8镇痛药物研发的策略^[35]。

1.3 其他钠离子通道与疼痛领域最新研究进展

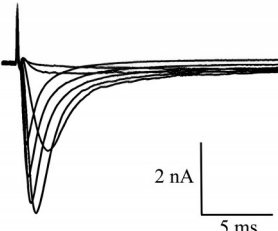
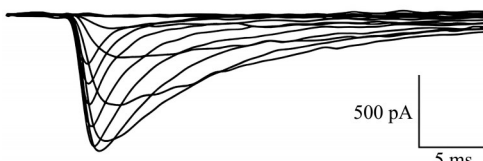
当今关于疼痛和钠离子通道的研究并非仅限于Nav1.7和Nav1.8两种亚型,越来越多的研究开始关注其他钠离子通道亚型。

2020年的一篇报道证明了蜘蛛毒HpTx1抑制Nav1.7、激活Nav1.9,但不影响Nav1.8,进而可以恢复Nav1.7基因敲除小鼠痛觉^[36]。此研究首次揭

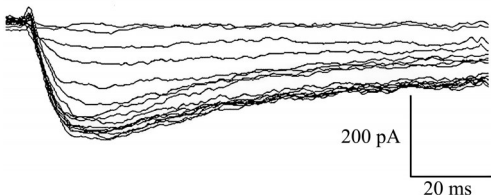
示了DRG神经元中激活Nav1.9通道可以部分补偿Nav1.7功能缺失以及在AP产生中3种钠离子通道亚型之间的关系,提出这3种通道可能在调节DRG神经元的膜兴奋性和AP发放中发挥不同的作用。AP的产生是神经细胞膜去极化的过程,Nav1.7、Nav1.8和Nav1.9在静息膜电位、AP阈值或上升阶段扮演着不同的角色,它们的协作是形成完整的AP和重复启动所必需的^[36]。数据还显示,Nav1.9活性的增强降低了电流阈值,这表明,与Nav1.7类似,Nav1.9也可以作为增益放大器来放大AP的阈下刺激^[37-38](表2)。多项研究表明,Nav1.8可能是AP上升阶段的主要贡献者^[39-40]。Bennett等^[36]进一步细化了Nav1.7对AP生成的贡献,指出Nav1.7有助于AP的上升阶段。到目前为止,还没有证据表明Nav1.9对AP上升阶段有贡献。正常情况下,由于Nav1.9在DRG神经元中的低表达,其对与疼痛信号相关AP放电的贡献可能不显著^[41]。与Nav1.7和Nav1.8不同的是,临床上没有发现Nav1.9功能丧失的突变,Nav1.9敲除小鼠对生理伤害的感受没有明显的差异。另一方面,在痛觉过敏(如HpTx1治疗、炎症因子、感冒和功能突变)的情况下,Nav1.9的贡献增强,甚至补偿Nav1.7的损失。增强Nav1.9的激活可能会恢复Nav1.7相关的先天性无痛症(congenital insensitivity to pain, CIP)的疼痛反应,为进一步治疗Nav1.7相关的CIP提供了新的方向^[42]。

Table 2 Contribution of Nav1.7, Nav1.8, Nav1.9 to action potentials

表2 Nav1.7、Nav1.8、Nav1.9对动作电位的贡献

Na ⁺ 通道亚型	主要贡献	电流特点	电流图	参考文献
Nav1.7	有助于AP的上升阶段并放大阈下刺激	产生快速激活和失活、缓慢重新启动的TTX-S电流		[43]
Nav1.8	AP上升阶段的主要贡献者	产生缓慢失活的TTX-R电流		[44]

续表2

Na ⁺ 通道亚型	主要贡献	电流特点	电流图	参考文献
Nav1.9	放大阈下刺激	介导TTX-R电流, 在阈下刺激激活, 并显示出极慢的失活		[45]

电流图依次引用自文献 [43] 图5a, 文献 [44] 图2c, 文献 [45] 图4b。文献 [43] 是根据知识共享署名 (CC BY) 许可 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) 条款分发的开放获取文章; 文献 [44] 是根据知识共享署名 (CC BY-NC-ND) 许可证 (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) 条款分发的开放获取文章; 文献 [45] 是根据知识共享署名 (CC BY) 许可 (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0/>) 条款分发的开放获取文章。

上述研究的重要意义可概括为以下3点: 一是提供了Nav1.7相关的先天性无痛症治疗的新策略、新靶点和药物先导分子; 二是揭示了Nav1.7、Nav1.8和Nav1.9三个亚型在AP的产生以及疼痛信号传导中共同精细调节神经元兴奋性; 三是提供了Nav1.9担负疼痛感知重要角色的药理学证据, 填补了Nav1.9在疼痛信号传导药理研究的空白。

有研究注意到VGSCs在乳腺癌中的作用, 数
据表明Nav1.5及其剪接变体nNav1.5在乳腺癌的
诊断(包括预后)和治疗中有望作为潜在的肿瘤标
志物^[46]。研究还证明VGSCs产生的复苏性电流
(INaR) 是许多神经元维持高频发放所必需的, 参
与神经元的超兴奋和疾病的病理生理^[47]。一项工
作揭示了TTX-R的INaR产生的新机制, 通过
VGSCs的α亚基和A型成纤维细胞生长因子同源因
子(fibroblast growth factor homologous factors,
FHF)的共表达证明, INaR可以在异源系统中重
组, A型FHF可以诱导Nav1.8、Nav1.9、Nav1.5
和Nav1.7产生INaR, A型FHF的N端是介导INaR
的关键分子。FHF4A是调节Nav1.8和Nav1.9 INaR
的最重要异构体, 敲除FHF4A基因显著降低感觉
神经元中INaR的幅度和产生INaR神经元的百分
比, 大大抑制其兴奋性, 为疼痛的治疗提供了重要
的潜在靶点^[48]。

目前, 中洋生物科技(上海)股份有限公司已
与中国科学院上海药物研究所合作, 采用醋酸扭体
镇痛模型和吗啡躯体依赖模型开展药效实验, 进行
TTX镇痛、戒毒应用研究, 与中国药科大学合作,
开展TTX治疗口服、外用两种形式, 戒毒、抗癌、
镇痛、麻醉、癫痫病的前期基础研究, 与中国科学
院昆明植物研究所合作, 针对疼痛药物研发的两个
热门靶点, 应用靶点抑制剂NYZY01, 开展TTX

镇痛复方配伍应用研究, 初步结果表明协同镇痛效
果显著。

综上所述, 天然毒素TTX能够有效地阻断
VGSCs中9个亚型的6个, 是治疗多种疼痛综合征
的极具吸引力的靶点, 前景可期。TTX在治疗癌
性疼痛的最新进展和潜力尤为受到关注。

2 TTX治疗癌性疼痛的试验研究

当今神经毒素药物开发领域的研究侧重于
VGSCs的特定阻滞剂, 例如TTX、μ芋螺毒素、石
房蛤毒素及其类似物。这些毒素是极具吸引力的麻
醉和镇痛候选药物, 已经开展的TTX相关临床试
验结果表明, 其在治疗轻度至重度癌症疼痛方面的
有效性, 也进一步显示出TTX在临床应用的巨大潜
力。

2.1 临床前实验

有关TTX在癌症引起疼痛的临床前模型的探
索较少, 2015年的一项大鼠研究表明, 局部注射
TTX会显著减轻因使用结直肠癌化疗药物奥沙利铂
引起的神经性疼痛^[49]。大鼠接受静脉注射奥沙利
铂后第4天和15天表现出强烈的肌肉机械痛敏。若
每45 min增加注射一次剂量为0.03、0.1、0.3或
1.0 g/20 L的TTX则显示, 在第4天, 给予0.1 g/20 L
或更高剂量的TTX, 大鼠表现出伤害性机械阈值的
显著增加, 在最高剂量1.0 g/20 L时增加效果最
大。在第15天时, 1.0 g/20 L剂量继续显著增加机
械伤害阈值, 减少化疗引起的神经性疼痛^[49]。此
外, 还有研究证明1.0、3.0和6.0 μg/kg剂量的TTX
可以抑制由化疗药物紫杉醇引起的神经性疼痛, 并
且没有产生毒性或其他不良副作用的迹象^[50]。

2.2 临床研究

多项临床试验表明, TTX对癌症患者有缓解

疼痛或镇痛作用。第一项临床试验是关于肌注 TTX 治疗严重癌痛的 IIa 期开放标签、多剂量疗效和安全性研究^[51], 24 名患者先后接受 31 次治疗, 剂量范围为 15~90 $\mu\text{g}/\text{d}$, 2 次/d (b.i.d.) 或 3 次/d (t.i.d.) 给药, 为期 4 d。这 31 份实验结果中的 17 份显示, TTX 可以显著降低疼痛强度, 持续缓解疼痛长达 2 周甚至更久, 在高达 30 μg b.i.d. 的 TTX 剂量下有效且耐受良好^[51]。威克斯药业有限公司 (Wex Pharmaceuticals Inc.) 的研究人员通过一项规模更大、多中心、随机、双盲、同时有安慰剂为对照的试验, 进一步评估了 TTX 在中度至重度癌痛中的作用^[52], 该研究把 82 名患者随机分为 TTX ($n=41$) 或安慰剂 ($n=41$) 组, 以疼痛强度差异为主要终点分析显示, TTX 组 (皮下注射 TTX, 30 μg b.i.d.) 对 42% 的患者有镇痛效果, 显著高于安慰剂组 (仅 31%)。进一步使用复合终点分析 (包括疼痛水平下降或阿片类药物剂量下降以及生活质量的改善) 和探索性事后分析均表明镇痛效果更强^[52]。一项新的多中心开放标签研究进一步评估皮下 TTX 治疗 (30 μg b.i.d.) 在降低慢性癌痛强度方面的长期安全性和有效性, 研究招募了 45 名患者, 其中 47% 符合应答者的标准 (即疼痛严重程度比平均基线降低 30 % 或更多的受试者), 在长达 1 年以上的连续治疗周期内, 一直能持续缓解癌痛, 并且副作用程度在可接受的范围^[53]。

Wex Pharmaceutical Inc. 还在一项 II 期随机、双盲、安慰剂对照、多中心试验中测试了 TTX 改善化疗引起的神经性疼痛, 研究在 125 名因紫杉烷类或铂类化合物抗癌治疗而导致神经性疼痛的患者中进行, 目的是探索连续 4 天服用多个剂量 TTX 和不同给药间隔的安全性和有效性^[54]。分别对 5 个给药队列 (7.5 μg b.i.d.、15 μg b.i.d.、30 $\mu\text{g}/\text{d}$ 一次

(q.d.)、30 μg b.i.d.、安慰剂组) 的受试者开展的研究表明, 在为期 4 周的试验期间, 每周平均疼痛评分与基线相比变化最大的是 TTX 30 μg q.d. 和 30 μg b.i.d.。此外, TTX 30 μg b.i.d. 方案在任何测试时间点都显示出最大数量的应答者。与之前的临床试验结果一致, 显示出 TTX 具有良好的耐受性及可接受的安全性。尽管如此, 仍有必要继续开展新的、更大规模的临床试验, 客观全面评价 TTX 治疗癌症患者因化疗引起疼痛的效果。

为了进一步验证 TTX 在减轻癌性疼痛方面的安全性和耐受性, Wex Pharmaceutical Inc. 进行了一项 III 期随机、双盲、安慰剂对照临床试验, 用于治疗不受控制的癌症疼痛^[55]。这项研究从 2008 年开始持续到 2012 年, 从加拿大、澳大利亚和新西兰的 19 个中心招募了 165 名患者, 其中 TTX 组 77 名患者和安慰剂组 88 名患者^[55]。仅基于疼痛终点, TTX 组与安慰剂相比具有显著的临床益处 (TTX 组有 50.8 % 的患者属于应答者, 而安慰剂组仅 34.5 % 的患者为应答者)。并且, 次要分析也非常有说服力, TTX 镇痛作用的平均持续时间为 56.7 d, 而安慰剂组仅为 9.9 d。此外, 对患者临床疗效总评量表分析, 大多数接受安慰剂治疗的患者 (63.1%) 表示没有缓解疼痛, 而接受 TTX 治疗的半数以上患者 (55.4%) 报告疼痛得到一定程度的改善, 并且大多数报告的不良事件通常是短暂的, 严重程度为轻度至中度^[55]。

总之, II 期和 III 期临床试验已对 TTX 缓解癌症疼痛进行了评估, 验证了其缓解癌症相关疼痛的安全性和有效性 (表 3), 并且为未来使用 TTX 作为癌症疼痛治疗提供了第一手证据。TTX 确实可以止痛又没有严重副作用, 在不久的将来有望成为阿片类药物疼痛治疗的替代方案。

Table 3 Summary of clinical trials of TTX in cancer pain

表3 TTX在癌性疼痛临床试验总结

患者数	给药方式	剂量/ μg	研究类型	结果	主要不良事件	参考文献
24	皮下注射	15~90	重度癌痛的开放标签研究	31次治疗中, 17次出现了有临床意义的疼痛强度的减轻, 并且疼痛缓解持续长达两周或更长时间	口周刺痛或其他轻度感	[51]
82	皮下注射	30	中重度癌痛的安慰剂对照试验	TTX组对42%的患者有镇痛效果, 显著高于安慰剂组 (仅31%)	短暂性共济失调、轻度刺痛、麻木, 或其他短暂的感知症状	[52]
45	皮下注射	30	癌症疼痛的开放标签研究	47%符合应答者的标准	轻度口周刺痛或麻木、短暂的恶心、刺激	[53]

续表3

患者数	给药方式	剂量/ μg	研究类型	结果	主要不良事件	参考文献
125	皮下注射	7.5、15、30	化疗引起的神经性疼痛的II期随机、双盲、安慰剂对照试验	由于试验规模小和少数强有力的安慰剂应答者的影响, 疼痛评分的变化在队列之间没有统计学差异	轻度或中度口腔感觉异常 (29.6%) 和口腔感觉减退 (24.8%)	[54]
165	皮下注射	30	中重度癌痛的III期随机、双盲、安慰剂对照临床试验	基于疼痛终点, TTX组相对于安慰剂组的临床益处具有16.2%的临床显著估计效应量 ($P=0.046\ 0$)	轻度到中度的短暂的恶心、头晕和口腔麻木或刺痛	[55]

3 TTX作为缓解癌性疼痛药物的研究进展

3.1 TTX的供应

要将TTX广泛用于临床治疗, 必须首先保障其产量。人们尝试在实验室合成, 但需要通过23~67步合成反应, 总得率也仅为0.34%~1.82%, 产量极低且价格昂贵^[56]。2022年7月《科学》(*Science*)杂志发表了一种更有效的新方法, 把从葡萄糖衍生物合成为TTX的步骤减少到22步, 且效率提高到11%^[57]。另外, 中国中洋生物科技(上海)股份有限公司近年另辟蹊径, 着力攻克TTX的提取、分离和纯化, 其工艺日臻成熟, 精制技术与工艺也在不断突破, 并获得国家发明型专利授权(专利号: 5069953)。尽管如此, 进一步完善TTX的制备方法、优化产品生产线仍是需要继续努力的方向。今后TTX能否大批量进入医药市场很大程度上也有赖于其药物配方的进一步研发。

3.2 TTX给药方式

随着对TTX治疗潜力的评估, 优化给药效果受到越来越多的关注。最近已有研究报道, 在治疗带状疱疹后遗神经痛方面, 口服TTX微丸比肌肉注射有效得多, 治疗指数高于注射剂^[58]。在后续大鼠醋酸诱导扭体试验中, 对肠道持续释放TTX微丸进行的镇痛作用表明, 给予20~80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TTX能产生镇痛效果, 且给药后持续1.5~9.0 h, 最强效应在3~6 h之间^[59]。与肌肉注射相比, TTX的口服给药极大地促进其在临床治疗中的应用。

TTX镇痛以及麻醉的有效性在很大程度上取决于其穿透神经组织的能力及其作用范围, 通过辅助物质或靶向递送系统, 针对局部治疗可以减少TTX用药量, 延长其镇痛及麻醉作用时间, 显著改善TTX治疗指数^[60]。化学渗透促进剂(chemical permeation enhancers, CPE)能增加小分子对生物屏障的渗透率, 包括一些表面活性剂和非表面活性剂(如亚硫酸醚、多元醇、脂肪酸、醇和

酯), 能够可逆地修饰脂质, 导致膜流动性增加^[61]。Melnikova等^[62]发现, 与血管收缩剂、局部麻醉剂和化学渗透促进剂共同给药时, TTX的疗效显著提高。微米和纳米药物输送系统的引入提供了以更低的药量获得更好治疗反应的机会, 同时保持了较高的安全性^[63]。以此方式包裹和运输TTX, 在特定选择的组织中释放并达到治疗要求的高浓度, 从而实现靶向治疗, 同时降低全身毒性^[63]。当TTX用微粒和脂质体与金纳米棒结合时, 观察到最大的给药功效^[64-66]。用二氧化硅纳米粒子封装可降低全身毒性, 同时增加TTX持续镇痛的时间^[65]。值得注意的是, 较大的颗粒可以容纳更多的药物且不易崩解, 比微颗粒或纳米颗粒的使用效果更为优越^[67]。

大幅提升TTX药效的主要挑战在于载药量、稳定性、毒性以及克服生物屏障的能力, 事实上, 这不仅是TTX所面临的挑战, 也是其他类似生物毒素面临的问题。因此, 未来需要进一步研究如何确保作用部位具有优异的TTX生物利用度(bioavailability)以及更高的选择性和安全性。

4 总结与展望

神经毒素TTX高活性和选择性地阻断参与疼痛信号形成VGSCs的能力引起研究人员的高度注意, 同时也为TTX提供了优于其他镇痛和麻醉药物的优势。大量研究数据表明, TTX在缓解癌性疼痛方面有较明显治疗效果、有良好的耐受性, 以及可接受的安全性。最近, Wex Pharmaceutical Inc.进行的一项随机双盲安慰剂对照研究进一步评估了TTX在临床实验中的安全性、耐用性和药理动力学, 再次证明TTX不仅安全、耐受性良好, 也不会引起临床或监管方面的心脏变化、没有诱发神经肌肉或呼吸系统的任何临床可测量损伤^[68]。即便部分患者有轻或中度不良反应, 也是暂时性的, 均未对临床试验带来不利影响。

为了开发更安全的靶向药物,人们一直在寻求新的方法,在减少不良反应的同时增强药物止痛效果的另一种方法是使用联合疗法。探索联合治疗方案是癌性疼痛临床试验未来的方向,最近报道一个临床相关药物靶向阿片系统和脑啡肽酶抑制剂^[69]。研究显示,在与Nav1.7缺失突变的CIP小鼠和人类相关的无痛状态中,阿片类药物的信号通路具有重要作用^[7]。研究人员发现,Nav1.7的缺失导致产生脑啡肽蛋白的*Penk* mRNA和甲硫氨酸脑啡肽蛋白上调,证明CIP中阿片信号增加^[7]。当给予阿片拮抗剂纳洛酮时,加强了对脊髓的伤害性外周输入,并显著逆转了Nav1.7缺失突变小鼠的镇痛。研究还发现,较低的Na⁺水平与*Penk* mRNA表达上调有关^[7],揭示了阿片系统在CIP中的作用及其镇痛的潜在机制。上述发现提示,Nav1.7抑制剂与小剂量的外源性阿片类药物或脑啡肽酶抑制剂联合使用产生显著的镇痛效果,这种效应已经在炎症性和神经性疼痛的动物模型中得到证实^[70-71]。因此,TTX结合其他镇痛药物,多药联用可以达到更好的止痛效果,为未来的止痛研究提供了一条充满希望的途径。

进一步的研究应该推广到动物模型以外,验证治疗动物的方法用于患者的安全性和有效性,确定TTX对人类的最有效治疗方案。另外,应该更多研究TTX穿透血脑屏障的能力,确保其穿过血脑屏障起到治疗作用的同时,限制其意外影响。

虽然大量动物和人类实验证实,Nav1.7、Nav1.8和Nav1.9等VGSCs亚型是潜在的疼痛治疗靶点,VGSCs亚型在伤害性感受器过度兴奋的过程中发挥核心作用,但VGSCs参与癌性疼痛的病理生理过程中的分子途径和靶点仍不明确,故在医学领域、药物开发方面暂未取得显著进展。造成这种现象的原因可能是以下几点。a. 动物和人类的药物靶点分布存在一定差异,且缺乏人类VGSCs结构数据。b. 药物对靶点的选择特异性不高。VGSCs虽可以作为治疗癌细胞转移的潜在治疗靶点^[72],但在几个预知的结合位点中只有两个位于胞外连接物上的结合位点具有开发亚型选择性药物的潜力,剩下的结合部位都位于跨膜区的通道孔内,其氨基酸序列高度相似。美国食品药品监督管理局(food and drug administration, FDA)已经批准的药物雷诺拉嗪、利多卡因、罗比卡因和苯妥英都靶向局部麻醉位点,却与其他位点有一些重叠,存在共同的结合区,这个结合区域严重限制了这些药物

分子的亚型选择性和临床应用。c. 缺乏合适的人类疾病的临床前替代模型。像悬尾试验这样的急性抗伤害性测试实际上是在测量啮齿类动物的反射行为,而不一定是抗伤害性行为。此外,神经病理性疼痛模型中的损伤后时间(约14 d)不能恰当反映人类的神经病理性疼痛。没有合适的疼痛模型,药物发现工作必然受到阻碍,因为大多数候选药物在临床前阶段通常表现出良好的止痛效果,不良反应较少,但在临床试验中产生类似于安慰剂的效果。因此,迫切需要合适的临床前疼痛模型。

Genentech等制药公司大力开发针对Nav1.7的小分子抑制剂,GX-936等小分子与Nav1.7嵌合体通道的三维结构已经得到解析^[73]。人们已经确定了一系列VGSCs的高分辨率结构,并采用高通量自动膜片钳分析来检测状态依赖的通道调制器,越来越清晰地认识到动物毒素等天然化合物作为一大类极具潜力的候选生物大分子药物在VGSCs亚型上的作用^[74]。完全有理由相信,随着现代分子生物学的发展、计算机辅助药物设计、结构生物学和组合化学等先进技术的应用,通过对VGSCs高分辨率复合物结构的不断解析,探明靶点选择性分子基础,理清特异性离子通道与疾病间的内在联系,进而明确镇痛机制,不断优化作用靶点,未来必定会有越来越多的靶向镇痛药物走向临床,造福广大癌性疼痛患者。

参 考 文 献

- [1] Bruera E, Kim H N. Cancer pain. JAMA, 2003, **290**(18): 2476-2479
- [2] Reid C, Davies A. The World Health Organization three-step analgesic ladder comes of age. Palliat Med, 2004, **18**(3): 175-176
- [3] Serlin R C, Mendoza T R, Nakamura Y, *et al.* When is cancer pain mild, moderate or severe? Grading pain severity by its interference with function. Pain, 1995, **61**(2): 277-284
- [4] Bennett M I, Kaasa S, Barke A, *et al.* The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic cancer-related pain. Pain, 2019, **160**(1): 38-44
- [5] Prommer E E. Pharmacological management of cancer-related pain. Cancer Control, 2015, **22**(4): 412-425
- [6] Jamison R N, Mao J. Opioid analgesics. Mayo Clin Proc, 2015, **90**(7): 957-968
- [7] Minett M S, Pereira V, Sikandar S, *et al.* Endogenous opioids contribute to insensitivity to pain in humans and mice lacking sodium channel Nav1.7. Nat Commun, 2015, **6**: 8967
- [8] Duran-Riveroll L M, Cembella A D. Guanidinium toxins and their interactions with voltage-gated sodium ion channels. Mar Drugs, 2017, **15**(10): 303

- [9] Shen H, Li Z, Jiang Y, *et al.* Structural basis for the modulation of voltage-gated sodium channels by animal toxins. *Science*, 2018, **362**(6412): eaau2596
- [10] Cardoso F C, Lewis R J. Sodium channels and pain: from toxins to therapies. *Br J Pharmacol*, 2018, **175**(12): 2138-2157
- [11] Gonzalez-Cano R, Ruiz-Cantero M C, Santos-Caballero M, *et al.* Tetrodotoxin, a potential drug for neuropathic and cancer pain relief?. *Toxins (Basel)*, 2021, **13**(7): 483
- [12] de Lera R M, Kraus R L. Voltage-gated sodium channels: structure, function, pharmacology, and clinical indications. *J Med Chem*, 2015, **58**(18): 7093-7118
- [13] Nieto F R, Cobos E J, Tejada M A, *et al.* Tetrodotoxin (TTX) as a therapeutic agent for pain. *Mar Drugs*, 2012, **10**(2): 281-305
- [14] Fozzard H A, Lipkind G M. The tetrodotoxin binding site is within the outer vestibule of the sodium channel. *Mar Drugs*, 2010, **8**(2): 219-234
- [15] Bucciarelli G M, Lechner M, Fontes A, *et al.* From poison to promise: the evolution of tetrodotoxin and its potential as a therapeutic. *Toxins (Basel)*, 2021, **13**(8): 517
- [16] Dib-Hajj S D, Cummins T R, Black J A, *et al.* Sodium channels in normal and pathological pain. *Annu Rev Neurosci*, 2010, **33**: 325-347
- [17] Cox J J, Reimann F, Nicholas A K, *et al.* An SCN9A channelopathy causes congenital inability to experience pain. *Nature*, 2006, **444**(7121): 894-898
- [18] Isensee J, Krahe L, Moeller K, *et al.* Synergistic regulation of serotonin and opioid signaling contributes to pain insensitivity in Nav1.7 knockout mice. *Sci Signal*, 2017, **10**(461): eaah4874
- [19] Han C, Huang J, Waxman S G. Sodium channel Nav1.8: emerging links to human disease. *Neurology*, 2016, **86**(5): 473-483
- [20] Cummins T R, Howe J R, Waxman S G. Slow closed-state inactivation: a novel mechanism underlying ramp currents in cells expressing the hNE/PN1 sodium channel. *J Neurosci*, 1998, **18**(23): 9607-9619
- [21] Herzog R I, Cummins T R, Ghassemi F, *et al.* Distinct repriming and closed-state inactivation kinetics of Nav1.6 and Nav1.7 sodium channels in mouse spinal sensory neurons. *J Physiol*, 2003, **551**(Pt 3): 741-750
- [22] Toledo-Aral J J, Moss B L, He Z J, *et al.* Identification of PN1, a predominant voltage-dependent sodium channel expressed principally in peripheral neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(4): 1527-1532
- [23] Kretschmer T, Happel L T, England J D, *et al.* Accumulation of PN1 and PN3 sodium channels in painful human neuroma-evidence from immunocytochemistry. *Acta Neurochir (Wien)*, 2002, **144**(8): 803-810
- [24] Liu J, Tan H, Yang W, *et al.* The voltage-gated sodium channel Nav1.7 associated with endometrial cancer. *J Cancer*, 2019, **10**(20): 4954-4960
- [25] Weiss J, Pyrski M, Jacobi E, *et al.* Loss-of-function mutations in sodium channel Nav1.7 cause anosmia. *Nature*, 2011, **472**(7342): 186-190
- [26] Black J A, Nikolajsen L, Kroner K, *et al.* Multiple sodium channel isoforms and mitogen-activated protein kinases are present in painful human neuromas. *Ann Neurol*, 2008, **64**(6): 644-653
- [27] MacDonald D I, Sikandar S, Weiss J, *et al.* A central mechanism of analgesia in mice and humans lacking the sodium channel Nav1.7. *Neuron*, 2021, **109**(9): 1497-1512
- [28] Shen H, Liu D, Wu K, *et al.* Structures of human Nav1.7 channel in complex with auxiliary subunits and animal toxins. *Science*, 2019, **363**(6433): 1303-1308
- [29] Mackieh R, Abou-Nader R, Wehbe R, *et al.* Voltage-gated sodium channels: a prominent target of marine toxins. *Mar Drugs*, 2021, **19**(10): 562
- [30] Akopian A N, Sivilotti L, Wood J N. A tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel expressed by sensory neurons. *Nature*, 1996, **379**(6562): 257-262
- [31] Dib-Hajj S D, Tyrrell L, Cummins T R, *et al.* Two tetrodotoxin-resistant sodium channels in human dorsal root ganglion neurons. *FEBS Lett*, 1999, **462**(1-2): 117-120
- [32] Qiu F, Jiang Y, Zhang H, *et al.* Increased expression of tetrodotoxin-resistant sodium channels Nav1.8 and Nav1.9 within dorsal root ganglia in a rat model of bone cancer pain. *Neurosci Lett*, 2012, **512**(2): 61-66
- [33] Hillsley K, Lin J H, Stanis A, *et al.* Dissecting the role of sodium currents in visceral sensory neurons in a model of chronic hyperexcitability using Nav1.8 and Nav1.9 null mice. *J Physiol*, 2006, **576**(Pt 1): 257-267
- [34] Choi J S, Waxman S G. Physiological interactions between Na(v) 1.7 and Na(v)1.8 sodium channels: a computer simulation study. *J Neurophysiol*, 2011, **106**(6): 3173-3184
- [35] Sun L, Xia R, Jiang J, *et al.* MicroRNA-96 is required to prevent allodynia by repressing voltage-gated sodium channels in spinal cord. *Prog Neurobiol*, 2021, **202**: 102024
- [36] Bennett D L, Clark A J, Huang J, *et al.* The role of voltage-gated sodium channels in pain signaling. *Physiol Rev*, 2019, **99**(2): 1079-1151
- [37] Herzog R I, Cummins T R, Waxman S G. Persistent TTX-resistant Na⁺ current affects resting potential and response to depolarization in simulated spinal sensory neurons. *J Neurophysiol*, 2001, **86**(3): 1351-1364
- [38] Rush A M, Cummins T R, Waxman S G. Multiple sodium channels and their roles in electrogenesis within dorsal root ganglion neurons. *J Physiol*, 2007, **579**(Pt 1): 1-14
- [39] Renganathan M, Cummins T R, Waxman S G. Contribution of Na (v)1.8 sodium channels to action potential electrogenesis in DRG neurons. *J Neurophysiol*, 2001, **86**(2): 629-640
- [40] Blair N T, Bean B P. Roles of tetrodotoxin (TTX)-sensitive Na⁺ current, TTX-resistant Na⁺ current, and Ca²⁺ current in the action potentials of nociceptive sensory neurons. *J Neurosci*, 2002, **22**(23): 10277-10290
- [41] Priest B T, Murphy B A, Lindia J A, *et al.* Contribution of the tetrodotoxin-resistant voltage-gated sodium channel Nav1.9 to sensory transmission and nociceptive behavior. *Proc Natl Acad Sci*

- USA, 2005, **102**(26): 9382-9387
- [42] Zhou X, Ma T, Yang L, *et al.* Spider venom-derived peptide induces hyperalgesia in Nav1.7 knockout mice by activating Nav1.9 channels. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 2293
- [43] Alexandrou A J, Brown A R, Chapman M L, *et al.* Subtype-selective small molecule inhibitors reveal a fundamental role for Nav1.7 in nociceptor electrogenesis, axonal conduction and presynaptic release. *PLoS One*, 2016, **11**(4): e152405
- [44] Eberhardt E, Havlicek S, Schmidt D, *et al.* Pattern of functional TTX-resistant sodium channels reveals a developmental stage of human iPSC- and ESC-Derived nociceptors. *Stem Cell Reports*, 2015, **5**(3): 305-313
- [45] Liang J, Liu X, Zheng J, *et al.* Effect of amitriptyline on tetrodotoxin-resistant Nav1.9 currents in nociceptive trigeminal neurons. *Mol Pain*, 2013, **9**: 31
- [46] Azahar I I, Sharudin N A, Noor D A, *et al.* nNav1.5 expression is associated with glutamate level in breast cancer cells. *Biol Res*, 2022, **55**(1): 18
- [47] Ransdell J L, Moreno J D, Bhagavan D, *et al.* Intrinsic mechanisms in the gating of resurgent Na⁺ currents. *Elife*, 2022, **11**: e70173
- [48] Xiao Y, Theile J W, Zybur A, *et al.* A-type FHF's mediate resurgent currents through TTX-resistant voltage-gated sodium channels. *Elife*, 2022, **11**: e77558
- [49] Alvarez P, Levine J D. Antihyperalgesic effect of tetrodotoxin in rat models of persistent muscle pain. *Neuroscience*, 2015, **311**: 499-507
- [50] Nieto F R, Entrena J M, Cendan C M, *et al.* Tetrodotoxin inhibits the development and expression of neuropathic pain induced by paclitaxel in mice. *Pain*, 2008, **137**(3): 520-531
- [51] Hagen N A, Fisher K M, Lapointe B, *et al.* An open-label, multi-dose efficacy and safety study of intramuscular tetrodotoxin in patients with severe cancer-related pain. *J Pain Symptom Manage*, 2007, **34**(2): 171-182
- [52] Hagen N A, du Souich P, Lapointe B, *et al.* Tetrodotoxin for moderate to severe cancer pain: a randomized, double blind, parallel design multicenter study. *J Pain Symptom Manage*, 2008, **35**(4): 420-429
- [53] Hagen N A, Lapointe B, Ong-Lam M, *et al.* A multicentre open-label safety and efficacy study of tetrodotoxin for cancer pain. *Curr Oncol*, 2011, **18**(3): e109-e116
- [54] Goldlust S A, Kavoosi M, Nezzar J, *et al.* Tetrodotoxin for chemotherapy-induced neuropathic pain: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-dose finding trial. *Toxins (Basel)*, 2021, **13**(4): 235
- [55] Hagen N A, Cantin L, Constant J, *et al.* Tetrodotoxin for moderate to severe cancer-related pain: a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-design trial. *Pain Res Manag*, 2017, **2017**: 7212713
- [56] Ohyabu N, Nishikawa T, Isobe M. First asymmetric total synthesis of tetrodotoxin. *J Am Chem Soc*, 2003, **125**(29): 8798-8805
- [57] Konrad D B, Ruhmann K P, Ando H, *et al.* A concise synthesis of tetrodotoxin. *Science*, 2022, **377**(6604): 411-415
- [58] Hong B, Sun J, Zheng H, *et al.* Effect of tetrodotoxin pellets in a rat model of postherpetic neuralgia. *Mar Drugs*, 2018, **16**(6): 195
- [59] Hong B, He J, Sun J, *et al.* Analgesia effect of enteric sustained-release tetrodotoxin pellets in the rat. *Pharmaceutics*, 2020, **12**(1): 32
- [60] 李惠冬, 储智勇, 钱晓明, 等. 反毒为药: 精准控制河鲀毒素用作局部麻醉药的新进展. *生物化学与生物物理进展*, 2021, **48**(9): 1031-1041
- Li H D, Chu Z Y, Qian X M, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2021, **48**(9): 1031-1041
- [61] Kovacik A, Kopečna M, Vavrova K. Permeation enhancers in transdermal drug delivery: benefits and limitations. *Expert Opin Drug Deliv*, 2020, **17**(2): 145-155
- [62] Melnikova D I, Khotimchenko Y S, Magarlamov T Y. Addressing the issue of tetrodotoxin targeting. *Mar Drugs*, 2018, **16**(10): 352
- [63] Milan A, Mioc A, Prodea A, *et al.* The optimized delivery of triterpenes by liposomal nanoformulations: overcoming the challenges. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(3): 1140
- [64] Kohane D S, Smith S E, Louis D N, *et al.* Prolonged duration local anesthesia from tetrodotoxin-enhanced local anesthetic microspheres. *Pain*, 2003, **104**(1-2): 415-421
- [65] Liu Q, Santamaria C M, Wei T, *et al.* Hollow silica nanoparticles penetrate the peripheral nerve and enhance the nerve blockade from tetrodotoxin. *Nano Lett*, 2018, **18**(1): 32-37
- [66] Zhan C, Wang W, McAlvin J B, *et al.* Phototriggered local anesthesia. *Nano Lett*, 2016, **16**(1): 177-181
- [67] Kohane D S. Microparticles and nanoparticles for drug delivery. *Biotechnol Bioeng*, 2007, **96**(2): 203-209
- [68] Kavoosi M, O'Reilly T E, Kavoosi M, *et al.* Safety, tolerability, pharmacokinetics, and concentration-QTc analysis of tetrodotoxin: a randomized, dose escalation study in healthy adults. *Toxins (Basel)*, 2020, **12**(8): 511
- [69] Emery E C, Luiz A P, Wood J N. Nav1.7 and other voltage-gated sodium channels as drug targets for pain relief. *Expert Opin Ther Targets*, 2016, **20**(8): 975-983
- [70] Minett M S, Falk S, Santana-Varela S, *et al.* Pain without nociceptors? Nav1.7-independent pain mechanisms. *Cell Rep*, 2014, **6**(2): 301-312
- [71] Minett M S, Eijkelkamp N, Wood J N. Correction: significant determinants of mouse pain behaviour. *PLoS One*, 2021, **16**(1): e245813
- [72] Horne J, Mansur S, Bao Y. Sodium ion channels as potential therapeutic targets for cancer metastasis. *Drug Discov Today*, 2021, **26**(5): 1136-1147
- [73] Ahuja S, Mukund S, Deng L, *et al.* Structural basis of Nav1.7 inhibition by an isoform-selective small-molecule antagonist. *Science*, 2015, **350**(6267): aac5464
- [74] Yang S, Xiao Y, Kang D, *et al.* Discovery of a selective Nav1.7 inhibitor from centipede venom with analgesic efficacy exceeding morphine in rodent pain models. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(43): 17534-17539

Tetrodotoxin —— a Promising Drug to Relieve Cancer Pain^{*}

ZHANG Meng-Qian^{1,2)}, CHU Zhi-Yong³⁾, QIAN Xiao-Ming³⁾, WANG Zi-Han⁴⁾, LIU De-Xiang¹⁾,
LONG Cheng^{1,2)**}

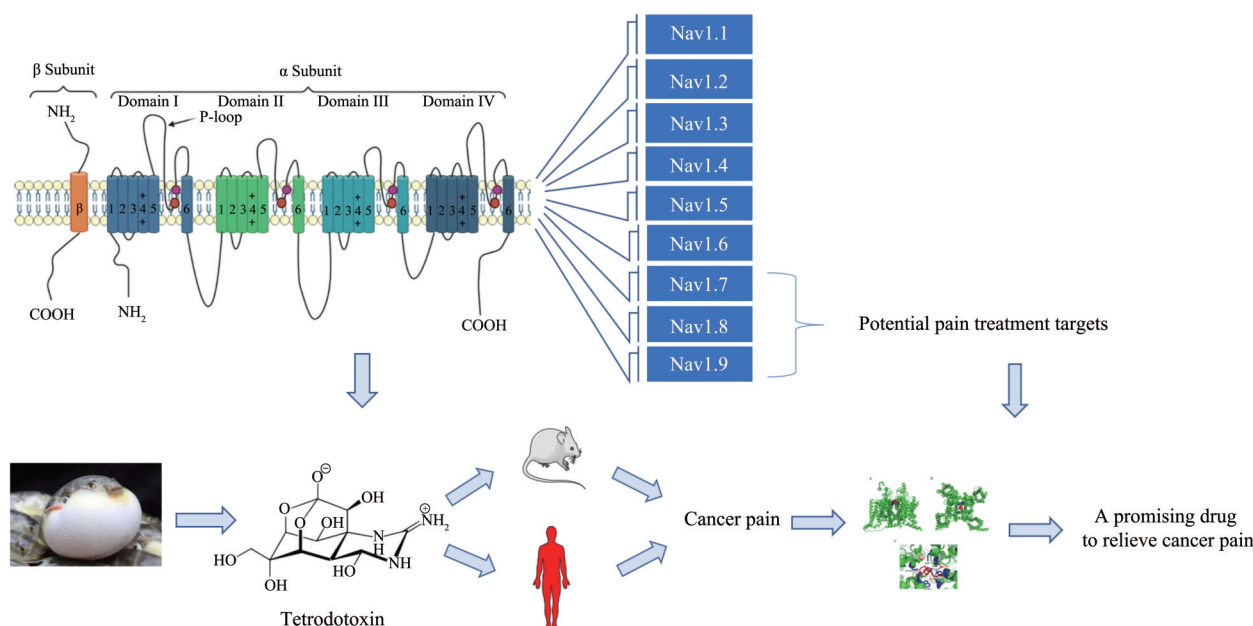
⁽¹⁾Guangzhou Panyu Central Hospital, South China Normal University-Panyu Central Hospital Joint Laboratory of Basic and Translational Medical Research, Guangzhou 511400, China;

²⁾School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;

³⁾Zhongyang Biotechnology (Shanghai) Co. Ltd, Shanghai 200002, China;

⁴⁾School of Life Sciences, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China)

Graphical abstract



Abstract Tetrodotoxin (TTX) is a highly toxic alkaloid natural neurotoxin that selectively blocks sodium ion channels. As a poison, TTX has lethal effects when ingested in humans, with lethal doses ranging from 1.5 mg to 2.0 mg (9 $\mu\text{g/L}$ in plasma). However, when TTX is administered to patients at levels well below its median lethal dose (LD_{50}), it can treat a variety of medical diseases, including heroin and cocaine withdrawal symptoms, spinal cord injury, traumatic brain injury, tumor, neuropathic pain, and visceral pain. Cancer pain is generally treated with opioids, but it has certain dependence and addiction. After decades of unremitting exploration, researchers

^{*} This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31871170) and the Natural Science Foundation of the Guangdong Province (2021A1515010804, 2023A1515010899).

^{**} Corresponding author.

Tel: 86-20-85211372, E-mail: longcheng@m.scnu.edu.cn

Received: June 25, 2022 Accepted: September 19, 2022

have made gratifying progress in the application of TTX in the field of biomedicine, especially in the treatment of cancer-related pain. Here we first review voltage-gated sodium channels (VGSCs), which are transmembrane proteins composed of a large α subunit and one or more β subunits. VGSCs play an important role in pain and are typically classified as TTX-sensitive or TTX-resistant channels. Furthermore, we focus on roles of three VGSC subtypes Nav1.7, Nav1.8 and Nav1.9, and present the current status of research progress in the field of cancer-related pain. We also discuss the binding sites, tolerability, delivery and supply of TTX. Finally, we summarize the most relevant recent advances in the clinical development, efficacy and safety of TTX as a drug for relieving cancer pain, showing the promise of TTX in cancer pain relief. On this basis, the limitations of existing research are pointed out, and the research directions of TTX in relieving cancer pain and the development of targeted analgesic drugs in the future are prospected.

Key words tetrodotoxin, voltage-gated sodium channels, cancer pain

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0300