

## 降钙素基因相关肽在慢性吗啡耐受及相关痛觉过敏中的作用\*

郑宇欣 综述 于泳浩 审校

**摘要** 疼痛是晚期恶性肿瘤患者的常见症状,是影响患者生存质量的主要因素,阿片类药物吗啡是治疗急慢性疼痛的常用药物,但长时间应用会导致吗啡耐受及其相关痛觉过敏现象的发生,制约其临床应用。本文总结分析近年相关文献,从伤害性感受角度探讨慢性吗啡耐受及其相关痛觉过敏的形成原因,重点阐述降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)在其中的作用,从CGRP的分子生物学特征与分布、长期吗啡应用与CGRP的关系、CGRP与痛觉过敏等方面详细分析了慢性吗啡给药所致的神经系统可塑性变化与CGRP表达上调之间的关系,并对CGRP表达上调对机体伤害性感受系统的影响进行分析,阐述了CGRP表达上调与痛觉过敏形成之间的关系。从机制上论述了CGRP表达上调所致的伤害性感受增强对吗啡耐受及其相关痛觉过敏的促进作用,为治疗吗啡耐受和进一步研究吗啡耐受机理提供了一个靶点和思路。

**关键词** 药物耐受 吗啡 痛觉过敏 降钙素基因相关肽

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20130964

### Function of calcitonin gene-related peptides in chronic morphine tolerance and hyperalgesia

Yuxin ZHENG, Yonghao YU

Correspondence to: Yonghao YU; E-mail: yuyonghao@126.com

Department of Anesthesiology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

This work was supported by the Science and Technology Development Foundation, Tianjin Bureau of Health (No. 2010KZ107)

**Abstract** Pain is a common symptom in patients with terminal cancer and is the main factor that affects their quality of life. Morphine is commonly used for the treatment of acute and chronic pain, but the long-time application of morphine results in morphine tolerance and hyperalgesia, which restrict the clinical applications of the anesthetic. In this review, pertinent studies on morphine over recent years were summarized and analyzed, and the mechanism of morphine tolerance and hyperalgesia were discussed, specifically on the function of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in clinical practice. The authors analyzed the relationship between the plastic changes in the nervous system and chronic morphine application in terms of CGRP up-regulation based on its molecular biology characteristics and distribution, the relationship between CGRP and chronic application of morphine, and between CGRP and hyperalgesia. The effect of CGRP up-regulation on the nociceptive system and the relationship between CGRP up-regulation and the formation of hyperalgesia were also analyzed. We discussed the sensitized effect of CGRP up-regulation on the nociceptive system, which promotes morphine tolerance and hyperalgesia. This study provides a framework for treating morphine tolerance and can be used as a guide for further research on the topic.

**Keywords:** drug tolerance, morphine, hyperalgesia, calcitonin gene-related peptide (CGRP)

阿片类药物是用于急慢性疼痛特别是晚期恶性肿瘤患者疼痛治疗的重要药物,其长时间应用可发生耐受现象(opioid tolerance),表现为与临床病情进展无关的用量不断增加,同时患者常表现出对伤害性刺激的反应增强(痛觉过敏)和对正常无害性刺激的高反应性(异常痛敏),大大限制了阿片类药物的临床应用。持续给予吗啡能够导致机体一系列的适应性变化,如阿片受体活性的降低或导致前伤害

性神经递质的上调,这些变化对抗了阿片类药物的镇痛作用,促成了吗啡耐受<sup>[1-2]</sup>。最近的研究显示在吗啡耐受形成过程中,神经网络系统的适应性变化非常复杂,其中包括了许多神经肽类伤害性神经递质的相互作用和影响,如降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)和P物质(substance P, SP)等。因此,本文将对CGRP与慢性吗啡耐受的关系研究做一综述,为进一步研究吗啡耐受形成机理

作者单位:天津医科大学总医院麻醉科(天津市300052)

\*本文课题受天津市卫生局科技基金(编号:2010KZ107)资助

通信作者:于泳浩 yuyonghao@126.com

提供思路。

## 1 CGRP的分子生物学特征

CGRP是由 Amara 等<sup>[3]</sup>利用基因重组和分子生物学技术于1982年首先发现的生物活性多肽,由37个氨基酸残基组成,分子量3 786.91D。降钙素基因相关肽被分为两种:CGRP $\alpha$ 和CGRP $\beta$ (也被称为CGRP-I与CGRP-II),人和鼠的CGRP均含 $\alpha$ 和 $\beta$ 两种基因,分别表达两种分子异构肽,二者具有相近的生物活性。许多研究<sup>[4-5]</sup>发现CGRP mRNA与CGRP广泛地存在于包括中枢与外周神经系统在内的身体各部,是目前所知最强的内源性血管舒张肽。

CGRP需要与其受体结合才能发挥功能,而且其与不同部位表达的受体结合可发挥不同的生理功能。目前发现的CGRP受体类型有CGRP 1A受体、CGRP 1B受体、CGRP 2受体及CGRP 3受体<sup>[6]</sup>。有研究<sup>[7]</sup>发现,在人和大鼠的大脑皮质、海马体、丘脑各核团、孤束核、薄束核、小脑皮质、脊髓前角和后角、背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)内各组神经元、三叉神经节等处均有CGRP受体的分布,其分布部位与CGRP的分布基本一致。CGRP与受体结合后,激活腺苷酸环化酶,细胞内cAMP升高,经第二信使的介导而发挥CGRP的功能。

在脊髓水平方面,CGRP由DRG神经元细胞产生,初级传入感觉神经末梢的神经元释放。CGRP阳性神经元约占整个DRG细胞数量的50%<sup>[8]</sup>。大鼠DRG内CGRP多表达于小直径神经元,这些神经元的直径约20  $\mu\text{m}$ ,另外中等直径神经元(直径约50  $\mu\text{m}$ )也存在CGRP表达,而大直径神经元无CGRP表达。CGRP阳性的轴突主要是无髓鞘和较小有髓鞘的神经元轴突,大约包含了脊髓背外侧束30%左右的初级传入轴突,而背外侧束是通往背角浅层的主要传入通路<sup>[9]</sup>。CGRP主要存在于小直径的C纤维、A $\delta$ 纤维的初级传入神经,而C纤维、A $\delta$ 纤维主要负责外周伤害性刺激信息传递,因此CGRP被认为在大鼠伤害性感受过程中起到了重要作用。

## 2 长期吗啡应用与CGRP的关系

越来越多的研究表明,长期吗啡应用在形成吗啡耐受与痛觉过敏现象的同时,其中枢与外周神经系统神经元同样产生了某些可塑性变化,其中包括了某些肽类神经递质如CGRP、SP的表达变化及其受体的活性改变,而这些改变又对吗啡的镇痛效能产生影响,加重吗啡镇痛耐受<sup>[1-2]</sup>。有研究<sup>[10]</sup>发现椎管内给予吗啡能够导致CGRP在脊髓背角浅层显著增加;而静脉长期注射吗啡能够导致三叉神经束核尾部CGRP表达增加<sup>[11]</sup>。Ménard等<sup>[12]</sup>利用渗透性微量

注射泵持续给予大鼠吗啡,发现随着吗啡耐受现象的出现,脊髓背角浅层CGRP表达增加,CGRP受体拮抗剂CGRP8-37能够阻断这一过程,提示了脊髓背角CGRP受体的过度活跃与吗啡的长期暴露相关。经椎管内给予吗啡形成耐受的动物模型中,与吗啡同时使用CGRP8-37逆转了CGRP的增加,同时一定程度上逆转了吗啡镇痛效能的减弱。一种有效的非肽类CGRP受体拮抗剂BIBN4096BS也能起到类似的效果<sup>[13]</sup>。以上提示,在持续吗啡给药的情况下,脊髓内CGRP适应性地增加,而CGRP的增加又促成了吗啡耐受的诱导和保持。

长期吗啡应用导致DRG与脊髓水平CGRP表达上调的细胞机制尚不完全清楚。对体外培养的DRG神经元的提示,阿片类药物诱发的CGRP表达增加可能与蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)依赖信号途径的 $\mu$ 、 $\delta$ 、 $\kappa$ 阿片受体的激活有关<sup>[14]</sup>。另外,有研究显示丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径参与了吗啡导致的CGRP上调:长期吗啡暴露能够导致MAPK途径的激活,导致环磷腺苷反应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)的磷酸化活化,由于CREB是调节CGRP基因表达的转录因子之一,因此CREB的活化能够促进CGRP基因转录,从而影响CGRP的蛋白表达<sup>[15]</sup>。

## 3 CGRP与痛觉过敏的关系

### 3.1 神经元可塑性改变是痛觉过敏的分子基础

痛觉过敏(hyperalgesia)通常定义为对疼痛的敏感性增加,包含两层含义:1)疼痛阈值的降低;2)对阈值上刺激的反应性增加。从广义上讲所有类型的疼痛敏感性增加均包含痛觉过敏范畴<sup>[16]</sup>。有学者<sup>[17]</sup>认为痛觉感知不是将外界刺激传入大脑痛觉中枢的被动过程,而是通过外周神经系统或部分中枢系统的神经可塑性变化来决定机体感受的主动过程。痛觉过敏是神经可塑性变化的一种表现,这种可塑性变化是对痛觉系统进行某种形式的激活、调整与修饰的过程,这些改变构成了神经元对外界刺激反应的多样性(图1)<sup>[17]</sup>。

有研究<sup>[18]</sup>认为吗啡等药物长期刺激能够引起脊髓与DRG水平的特定基因表达改变,导致长时间的功能变化,这些神经元的可塑性改变包括了某些伤害性感受通路中疼痛调节因子的表达变化,疼痛调节因子包括强啡肽(dynorphin)、SP、CGRP与N-甲基-d-天冬氨酸(N-methyl-d-aspartate, NMDA)等兴奋性氨基酸。

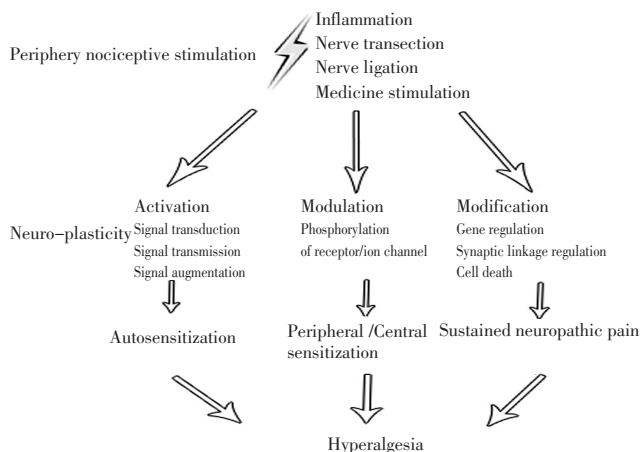


图1 痛觉过敏的神经元可塑性机制示意图

Figure 1 Neuroplasticity mechanisms of hyperalgesia

### 3.2 CGRP参与了痛觉过敏神经元可塑性改变

越来越多的研究表明, CGRP能够调控痛觉过敏的发生发展, 其在导致痛觉过敏的神经元可塑性变化中起到重要作用。Leem等<sup>[19]</sup>通过对CGRP在神经元敏化作用的研究表明, CGRP能够非特异性增强脊髓背角神经元对兴奋性氨基酸受体激动剂的反应, 这一反应与疼痛模型所导致的痛觉敏感性增加一致, 提示CGRP能够有助于某些疼痛模型神经元敏感性的发展。Bulling等<sup>[20]</sup>发现佐剂性关节炎大鼠在佐剂注射30分钟内伴随着关节肿胀与痛觉过敏, 其支配受累关节的小直径L<sub>5</sub> DRG神经元中αCGRP mRNA及CGRP、SP等蛋白显著增高; 若阻断支配关节的感觉神经电活动可阻止由刺激引起的CGRP mRNA在DRG神经元中的迅速表达。Zhang等<sup>[21]</sup>发现CGRPα基因敲除小鼠对伤害性刺激表现出正常反应, 但在建立膝关节炎后在远离原发伤害区未表现出继发性痛觉过敏, 提示小鼠未出现神经敏化。而对照组野生型小鼠在建立关节炎模型后出现了继发性痛觉过敏现象, 因此证明内源性CGRP在伤害性刺激诱发神经元可塑性变化中起到了重要作用。

### 3.3 CGRP诱发痛觉过敏的机制

当外周神经损伤时, 外周伤害性刺激引起C纤维放电的高频刺激可导致谷氨酸和神经肽(如CGRP)由初级传导纤维释放, 首先非NMDA兴奋性氨基酸受体激活产生快速突触电位, 再由连续去极化和SP、CGRP等肽类产生缓慢突触电位, 继而去掉NMDA受体上的电压依赖性镁离子的阻断作用, 从而容许钙离子经由NMDA受体离子通道内流, 大量的钙离子内流以及NMDA受体激活, 可导致PKC激活。激活的PKC在引起底物磷酸化时, 引起脊髓的可塑性变化, 使神经元兴奋性得以长时间维持, 导致中枢敏化<sup>[18]</sup>。

通过大鼠鞘内注入CGRP, 发现CGRP对脊髓背角CGRP1受体直接作用, 使大鼠对机械性刺激产生痛觉过敏, 并且这种效应是通过第二信使(蛋白激酶C和蛋白激酶K)通路介导, 应用CGRP竞争性受体拮抗剂CGRP8-37可以明显延长大鼠热和机械性刺激引起的后爪退缩反应潜伏期, 并有效缓解痛觉过敏<sup>[22]</sup>。而其他研究也发现通过鞘内预先给予CGRP可以明显增强炎症或神经性疼痛的发生, 并引起痛觉过敏<sup>[23-24]</sup>。

### 4 CGRP与其他疼痛介质的相互作用

有研究<sup>[25]</sup>发现在初级感受传入神经系统中CGRP与SP存在共表达现象, 同时发现这些递质之间存在功能性的相互作用。这种CGRP与SP的相互作用在于: 1) CGRP可通过影响神经元SP水平及其受体NK-1的活性促进痛觉过敏的形成: CGRP能够促进脊髓SP的释放, 放大SP诱导的伤害感受<sup>[26]</sup>, 并通过抑制SP降解延长其作用时间<sup>[27]</sup>; 进一步的研究<sup>[28]</sup>发现CGRP能够通过激活CERB而增加体外培养神经元SP及NK-1的表达。2) SP受体NK-1的活性变化能够影响CGRP的表达: 对体外培养背根神经节神经元的研究发现, NK-1受体拮抗剂SR140333能抑制慢性吗啡给药导致的CGRP上调<sup>[29]</sup>; 活体研究发现SR140333能够抑制伴随吗啡脱瘾反应而出现的CGRP表达下降<sup>[30]</sup>。进一步的研究认为, NK-1受体影响慢性吗啡给药所致CGRP表达的原因是SP和CGRP之间能够产生相互调制作用<sup>[26-27]</sup>。

综上所述, 慢性吗啡给药所致的吗啡耐受及其相关痛觉过敏形成过程中, CGRP起到了重要作用。连续的吗啡应用作为一种伤害性刺激, 能够导致神经系统的长期可塑性变化, CGRP等疼痛神经递质表达水平在长期吗啡给药过程中受转录因子活性变化的影响而不断上调, 同时CGRP可与SP等疼痛介质及相关受体相互调制产生增效作用, 导致机体痛觉敏感性不断增加形成痛觉过敏, 因此为了达到相同镇痛强度需要的吗啡剂量不断增加, 诱发吗啡耐受的形。将CGRP及其相关疼痛介质作为治疗靶点, 研发针对性药物抑制其表达上调, 可作为缓解吗啡耐受的一个思路, 但对其作用机理仍需要更加深入的研究。

#### 参考文献

- 1 郑宇欣, 于泳浩, 王国林, 等. 炎性痛-吗啡耐受大鼠DRG辣椒素受体表达的变化及电针对吗啡耐受的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2010, 30(9):1054-1057.
- 2 郑宇欣, 于泳浩, 王国林. 炎性痛-吗啡耐受大鼠背根神经节CGRP、SP、BDNF表达的变化及电针对吗啡耐受的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2010, 30(8):962-965.

- 3 Amara SG, Jonas V, Rosenfeld MG, et al. Alternative RNA processing in calcitonin gene expression generates mRNAs encoding different polypeptide products[J]. *Nature*, 1982, 298(5871):240–244.
- 4 Edvinsson L, Eftekhari S, Salvatore CA, et al. Cerebellar distribution of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and its receptor components calcitonin receptor-like receptor (CLR) and receptor activity modifying protein 1 (RAMP1) in rat[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2011, 46(1):333–339.
- 5 Wu ZM, Chen YF, Qiu PN, et al. Correlation between the distribution of SP and CGRP immunopositive neurons in dorsal root ganglia and the afferent sensation of preputial frenulum[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2011, 294(3):479–486.
- 6 Arulmani U, Maassenvandenbrink A, Villalón CM, et al. Calcitonin gene-related peptide and its role in migraine pathophysiology[J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 500(1–3):315–330.
- 7 Murata Y, Masuko S. Peripheral and central distribution of TRPV1, substance P and CGRP of rat corneal neurons[J]. *Brain Res*, 2006, 1085(1):87–94.
- 8 Gibson SJ, Polak JM, Bloom SR, et al. Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in the spinal cord of man and of eight other species[J]. *J Neurosci*, 1984, 4(12):3101–3111.
- 9 Levine JD, Fields HL, Basbaum AI. Peptides and the primary afferent nociceptor[J]. *J Neurosci*, 1993, 13(6):2273–2286.
- 10 Chen P, Wang D, Li M, et al. Modulation of sensory neuron-specific receptors in the development of morphine tolerance and its neurochemical mechanisms[J]. *J Neurosci Res*, 2010, 88(13):2952–2963.
- 11 Vijayan L, Bansal D, Ray SB. Nimodipine down-regulates CGRP expression in the rat trigeminal nucleus caudalis[J]. *Indian J Exp Biol*, 2012, 50(5):320–324.
- 12 Ménard DP, van Rossum D, Kar S, et al. Alteration of calcitonin gene related peptide and its receptor binding sites during the development of tolerance to mu and delta opioids[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 1995, 73(7):1089–1095.
- 13 Powell KJ, Quirion R, Jhamandas K. Inhibition of neurokinin-1-substance P receptor and prostanoid activity prevents and reverses the development of morphine tolerance in vivo and the morphine-induced increase in CGRP expression in cultured dorsal root ganglion neurons[J]. *Eur J Neurosci*, 2003, 18(6):1572–1583.
- 14 Belanger S, Ma W, Chabot JG, et al. Expression of calcitonin gene-related peptide, substance P and protein kinase C in cultured dorsal root ganglion neurons following chronic exposure to mu, delta and kappa opiates[J]. *Neuroscience*, 2002, 115(2):441–453.
- 15 Wang Z, Ma W, Chabot JG, et al. Calcitonin gene-related peptide as a regulator of neuronal CaMKII-CREB, microglial p38-NF $\kappa$ B and astroglial ERK-Stat1/3 cascades mediating the development of tolerance to morphine-induced analgesia[J]. *Pain*, 2010, 151(1):194–205.
- 16 Sandkühler J. Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia[J]. *Physiol Rev*, 2009, 89(2):707–758.
- 17 Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain[J]. *Science*, 2000, 288(5472):1765–1769.
- 18 Chen Y, Sommer C. The role of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in morphine tolerance and dependence[J]. *Mol Neurobiol*, 2009, 40(2):101–107.
- 19 Leem JW, Gwak YS, Lee EH, et al. Effects of iontophoretically applied substance P, calcitonin gene-related peptide on excitability of dorsal horn neurones in rats[J]. *Yonsei Med J*, 2001, 42(1):74–83.
- 20 Bulling DG, Kelly D, Bond S, et al. Adjuvant-induced joint inflammation causes very rapid transcription of beta-preprotachykinin and alpha-CGRP genes in innervating sensory ganglia[J]. *J Neurochem*, 2001, 77(2):372–382.
- 21 Zhang L, Hoff AO, Wimalawansa SJ, et al. Arthritic calcitonin/alpha calcitonin gene-related peptide knockout mice have reduced nociceptive hypersensitivity[J]. *Pain*, 2001, 89(2–3):265–273.
- 22 Marquez de Prado B, Hammond DL, Russo AF. Genetic enhancement of calcitonin gene-related peptide-induced central sensitization to mechanical stimuli in mice[J]. *J Pain*, 2009, 10(9):992–1000.
- 23 Lee SE, Kim JH. Involvement of substance P and calcitonin gene-related peptide in development and maintenance of neuropathic pain from spinal nerve injury model of rat[J]. *Neurosci Res*, 2007, 58(3):245–249.
- 24 Tzabazis AZ, Pirc G, Votta-Velis E, et al. Antihyperalgesic effect of a recombinant herpes virus encoding antisense for calcitonin gene-related peptide[J]. *Anesthesiology*, 2007, 106(6):1196–1203.
- 25 Merighi A, Polak JM, Theodosios DT. Ultrastructural visualization of glutamate and aspartate immunoreactivities in the rat dorsal horn, with special reference to the co-localization of glutamate, substance P and calcitonin gene related peptide[J]. *Neuroscience*, 1991, 40(1):67–80.
- 26 Oku R, Satoh M, Fujii N, et al. Calcitonin gene-related peptide promotes mechanical nociception by potentiating release of substance P from the spinal dorsal horn in rats[J]. *Brain Res*, 1987, 403(2):350–354.
- 27 Le Greves P, Nyberg F, Terenius L, et al. Calcitonin gene-related peptide is a potent inhibitor of substance P degradation[J]. *Eur J Pharmacol*, 1985, 115(2–3):309–311.
- 28 Seybold VS, McCarson KE, Mermelstein PG, et al. Calcitonin gene-related peptide regulates expression of neurokinin1 receptors by rat spinal neurons[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(5):1816–1824.
- 29 Powell KJ, Quirion R, Jhamandas K. Inhibition of neurokinin-1-substance P receptor and prostanoid activity prevents and reverses the development of morphine tolerance in vivo and the morphine-induced increase in CGRP expression in cultured dorsal root ganglion neurons[J]. *Eur J Neurosci*, 2003, 18(6):1572–1583.
- 30 Trang T, Sutak M, Quirion R, et al. The role of spinal neuropeptides and prostaglandins in opioid physical dependence[J]. *Br J Pharmacol*, 2002, 136(1):37–48.

(2013-06-19 收稿)

(2013-07-25 修回)

(本文编辑:邢颖)