

## GCH1 基因和神经源性疼痛以及相互作用机制方面的研究进展

李庆伟 梁啸 孟纯阳

**【摘要】** 神经病理性疼痛(NP)是一种常见的慢性痛,是由创伤或疾病致外周或中枢神经受损所引起的异常的疼痛状态。GCH1基因目前被公认为与神经痛相关的基因。本文就GCH1基因和神经源性疼痛以及相互作用机制方面的研究进展分析综述。

**【关键词】** 神经源性疼痛; GCH1基因

**Interaction mechanisms of research progress of neuropathic pain and GCH1 gene** Li Qingwei, Liang Xiao, Meng Chunyang. Department of Orthopedics, Jining Medical College Affiliated Hospital, Shandong 272029, China

Corresponding author: Meng Chunyang, Email: plasurg0618@163.com

**【Abstract】** The neuropathic pain is a common chronic pain, which is an abnormal pain state caused by trauma or disease of the peripheral or central nervous system damage. GTP cyclohydrolase 1 (GCH1) gene recognized neuralgia related genes. In this review, progress of precondition measures and the GCH1 genes and neurogenic pain in the interaction mechanisms were summarized.

**【Key words】** Neuropathic pain; GCH1 gene

疼痛代表着疾病发展趋势,尤其在个体医疗保健中越加引起重视,人类神经源性疼痛的发病情况及临床表现多种多样,人与人之间的表现形式也存在差异。越来越多的证据表明遗传因素有助于解释临床与试验性疼痛个体差异性,为此遗传因素的研究将最终改良临床疼痛条件的诊断与处理。遗传引起的疼痛存在多种疼痛表现型,例如一个与基因遗传相关的特殊疼痛:颞颌关节病(temporomandibular disorders, TMD)或者下腰痛(low back pain),它们之间存在明确的异质性。这就进一步证实疼痛表现型的研究能够更好地解释遗传联合的量值和个体差异的影响。应用双生子对疼痛遗传组分析研究成为现阶段重要的工具,尤其是选择单卵双生(MZ)和双卵双生(DZ)的研究更具有代表意义。2006年12月14日的《Nature》杂志上报道了体内一种称为SCN9A的基因发生突变,可导致无痛感,并证实了存在遗传性。

据文献报道<sup>[1]</sup>,应用多态核苷酸酶链反应、连

锁分析和微卫星定位检测候选基因,证实至少有23个基因与实验性疼痛、临床性疼痛或者疼痛缺失有关联,其中GCH1基因与神经病理性疼痛(NP)关系最为密切。

通过综合文献查阅总结分析,认为NP是由躯体感觉神经系统的损伤或疾病而直接造成的疼痛,它属于一种慢性疼痛,表现为自发性疼痛、痛觉过敏、异常疼痛和感觉异常等临床特征。GCH1基因被认定为是疼痛相关性基因,已进行初步研究。利用SCANSITE程序(<http://scansite.mit.edu/abtskansite.phtml>)对GCH1蛋白的结构域进行了预测,GCH1基因包含6个外显子,cDNA全长含2 129 bp<sup>[2]</sup>,其开放读码框为750 bp,编码的产物GCH1含250个氨基酸<sup>[3]</sup>,是四氢生物蝶呤(BH4)合成过程中的限速酶,GCH1活性降低导致BH4的生成减少,最终影响TH功能和多巴胺生成减少。最新研究还发现GCH1是周边神经性和炎性疼痛的主要调节因子,GCH1基因突变可能降低疼痛敏感性。BH4在感觉疼痛中也扮演重要角色,当GCH1活性增强,BH4含量上升时,疼痛的敏感性会明显增强<sup>[4]</sup>。现就GCH1基因和神经源性疼痛以及相互作用机制方面的研究进展分析综述。

### 一、GCH1 基因相互分子生物学机制

GCH1 基因编码鸟苷三磷酸环化水解酶 I

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.09.031

基金项目:山东省教育厅资助课题(J11LF19);济宁医学院院校级科研计划重点项目(Z2009033)

作者单位:272029 山东省,济宁医学院附属医院脊柱外科

通讯作者:孟纯阳,Email: plasurg0618@163.com

(GTP cyclohydrolase 1), 是 BH4 生物合成过程中的第一个限速酶, 也是酪氨酸/色氨酸羟化酶的天然辅因子, 为各种激素和神经递质, 如 5-羟色胺、儿茶酚胺、肾上腺素、去甲肾上腺素和氧化亚氮(NO) 等合成所必需<sup>[4-5]</sup>。当 GCH1 基因功能出现异常时, GTP 环化水解酶 I 活性降低, 导致 BH4 合成量减少, 蝶呤代谢障碍影响黑质纹状体多巴胺(dopamine, DA) 的合成, 引起纹状体功能不足的表现, 如多巴反应性肌张力异常(dopa-responsive dystonia, DRD, 又称 Segawa 综合征)、帕金森病(PD)、神经障碍等<sup>[6]</sup>。在神经系统疾病患者中, GCH1 突变散布在整个基因中。Nygaard 等<sup>[7]</sup>通过对 3 个家系的连锁分析将 DRD 致病基因定位于 14 号染色体长臂, 随后 Ichinose 等<sup>[8]</sup>证实了 GCH1 基因为 DRD 的致病基因, 在常染色体显性遗传性 DRD 疾病患者, GCH1 基因突变是最常见的致病基因。

通过我们实验结果<sup>[9]</sup>分析 GCH1 基因与疼痛动物模型存在时间上的因果关系, 初步证实了在神经源性疼痛动物模型中 GCH1 在第 3 天表达上调, 第 7 天达到高峰, 随后该基因蛋白表达下降, 也就是说该基因在特定时间点对疼痛起到控制调节作用; 从 GCH1 的作用途径、表达调控因素、分子信号通路、与其他作用蛋白之间相互关系等入手进一步证实该基因分子生物学机制将成为今后研究的重点。

14-3-3 $\zeta$  蛋白在真核生物细胞中普遍存在, 具有高度保守性, 但又是功能繁多的同源或异源二聚体分子。该蛋白能激活酪氨酸/色氨酸羟化酶, 在神经系统中高度表达。14-3-3 $\zeta$  蛋白通过与不同的配体蛋白结合, 参与和调控多种细胞内生理过程。14-3-3 $\zeta$  有可能是通过与 GCH1 相互作用, 以某种方式参与了 DA 的合成。14-3-3 $\zeta$  与 GCH1 相互作用的发现为深入理解神经系统的分子生理学机制和研究 DRD、PD 病等神经系统疾病的发病机理提供了新的思路和线索。但 14-3-3 $\zeta$  具体如何与 GCH1 相互作用, 在 DRD 等疾病中扮演怎样的角色, 还有待于做更进一步的研究。

另外 GCH1 基因活性还与一氧化氮合酶存在密切相关性, 且呈正相关性, 可用于解释多种疾病的发病机制<sup>[10]</sup>。GCH1 基因还与心血管疾病、高苯丙氨酸血症、高血压、高胆固醇血症及动脉粥样硬化、糖尿病存在密切相关性。在整个文献查阅分析过程中有关 GCH1 基因的相关密切报道较少, 其在多种疾病中起到调控作用。

## 二、神经源性疼痛与候选基因相关性研究

神经源性病理性疼痛(neuropathic pain) 目前尚缺乏有效的治疗措施<sup>[11]</sup>, 在人类疾病中有 90% 以上与疼痛相关, 所以大量就诊人群因疼痛就医, 从而发现与之相关疾病, 所以对神经源性疼痛研究也是国际研究热点问题。在痛觉的传递、整合、调节以及敏化过程中多种受体蛋白、通道蛋白、酶蛋白以及凋亡相关蛋白等都起了重要作用, 其变化也是 NP 治疗关注的热点之一。关于神经源性疼痛的研究也毫不例外地受到了新兴学科发展的冲击, 科研重心发生了转移, 各种基因、蛋白质在疼痛中的作用得到了重新认识。

现已发现有很多因素可以影响动物神经源性疼痛的表现, 其中包括在相同种系的动物中的不同的基因表现型, 动物种系间的差异及动物种属间的差异等。

疼痛种类、类型较多, 因此存在多种候选基因, 包括: Cohen 等<sup>[12]</sup>发现纤维性肌痛血清素运载受体基因(SLC6A4); 儿茶酚邻位甲基转移酶(COMT);  $\beta_2$  肾上腺素能受体(ADRB2) 雌激素受体  $\alpha$ ; Herken 等<sup>[13]</sup>又通过 48 例 TMD 患者检测到与 SLC6A4 一样的不定数串列重复区(VNTR)。N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA) 与其 2 型受体结合后使突触后密度蛋白 95(PSD-95) 表达增加, 引起神经元可塑性变化, 认为 PSD-95 蛋白在大鼠热痛觉过敏形成中起到了关键作用。另有报道显示干扰 NMDA 受体的表达可以减轻大鼠对甲醛诱导的炎性疼痛的反应性。NMDA 受体拮抗剂 MK.801 降低炎性疼痛大鼠脊髓 NOS 表达和 NO 含量。神经激酶 1(NKI) 受体和蛋白激酶 C(PKC) 在慢性疼痛的中枢敏化中也发挥了重要作用。有文献报道<sup>[14]</sup>外周神经损伤后大鼠脊髓背角神经谷氨酰胺(GABA) 受体 mRNA 表达下降, GABA 能细胞凋亡增加, 此外即刻早期基因的激活导致脊髓中间神经元凋亡, 也能减少 GABA 的释放。在亚急性坐骨神经痛中 GABA-A  $\beta_1$  亚型单倍体作为内生性的肌肉放松剂, 具有缓解疼痛的作用。钙网蛋白(calreticulin, CRT) 在动物和高等植物体内普遍存在, 在神经系统的多种生理、病理过程中发挥重要作用<sup>[15-16]</sup>。刘珊等<sup>[17]</sup>研究表明 IFN- $\alpha$  在 SNI 神经源性疼痛模型小鼠中的镇痛作用, 且呈剂量效应, IFN- $\alpha$  的镇痛作用可能通过阿片受体传导。钙结合蛋白(calcium-binding proteins, CaBPs) 是一种神经系统内特异的多功能



标志蛋白,能与神经元内游离的钙离子结合,对进入神经元内的钙离子具有缓冲作用。这些资料为进一步揭示钙结合蛋白在坐骨神经损伤疾病中的作用提供一定的实验依据。Campana等<sup>[18]</sup>在神经病理性疼痛模型中发现大鼠疼痛行为与脊髓后角细胞的凋亡相关,促红细胞生成素可以通过抑制神经元凋亡相关酶蛋白的活化而发挥抗凋亡和镇痛效应。

以上大量的研究告诉我们神经源性疼痛中不仅包含一般的神经冲动,而且存在一定数量的蛋白质变化,这就为神经系统基因、蛋白质网络研究提供了物质基础。在神经源性疼痛中痛觉的产生与机体内外源性镇痛之间长期相互作用必然会形成新的平衡点。现在国际上公认的MC1R、COMT和GCH1三个基因与疼痛密切相关。MC1R已被证实可以减轻电刺激的疼痛<sup>[19]</sup>。

### 三、GCH1基因致神经源性疼痛作用机制

首先,研究人员对坐骨神经损伤中基因表达发生重大变化的基因进行分析,并确定出了GCH1基因。GCH1编码的GTP环化水解酶是合成BH4所需的生物酶之一<sup>[20]</sup>。新研究首次证实GCH1和BH4在感觉疼痛中也扮演重要角色。研究人员在几种疼痛动物模型中测定了GTP环化水解酶和BH4的活动,他们发现出现神经痛的大鼠中,其GCH1基因活性和BH4量明显上升<sup>[21]</sup>。在神经疼痛和炎症疼痛动物模型中注射GTP环化水解酶抑制剂2,4-diamino-6-hydroxypyrimidine(DAHP)能够减轻动物对疼痛的敏感性。相反,给模型注射BH4会明显增加对疼痛的敏感性。接着,研究人员在人类中观察GCH1基因的变化情况,并且发现GCH1基因的一个特殊突变可预防手术后的慢性疼痛。在被分析的患者群中,大约有28%的患者至少有一个拷贝发生这种突变。

GCH1基因的两个拷贝都发生突变的患者发生慢性疼痛的可能性最小,由于种族的分层现象存在,疼痛等级评定和遗传性变异一样在种族人群之间是不一致的<sup>[22-23]</sup>,这就要求我们利用同族的种群(生物)进行遗传联合研究。考虑到等位基因频率和疼痛敏感性在种族人群之间存在明显差别,所以选择应用单纯的种族起源进行分析比对更加有利于明确作用机制。另外一个可能的原因就是疼痛表现型的不一致性,由于痛性刺激的类型不同,所对应遗传学是可分离的,GCH1遗传性变异可以影响特定的痛性刺激类型,但并不影响其他的痛性刺激

类型<sup>[24]</sup>。认为GCH1遗传性变异和相似的热源刺激疼痛之间无显著相关,这种不一致性无法通过不同刺激模式进行合理的解释,相应也证实了GCH1基因与神经源性疼痛的相关性。

Hyungsuk等<sup>[25]</sup>通过大量的试验研究认为:由于存在种族(人种)差异,以前报道的遗传性变异和痛性刺激敏感性之间的疼痛相关性是微弱的或者可以忽略的。疼痛保护基因GCH1单倍体对于内脏性疼痛没有显著意义,GCH1基因敲除后可引起神经源性疼痛,而无内脏器官的疼痛,这也就为不同的疼痛模型引起的疼痛机制存在差异做出了合理的解释<sup>[26]</sup>。例如,慢性全身性疼痛(chronic widespread pain, CWP)是一种病因不明的疾病,通过核酸多态性分析(SNPs)表明CWP疾病中GCH1和 $\mu$ 阿片受体(OPRM1)两者之间表达水平与疼痛敏感性不存在相关性<sup>[27]</sup>。

通过我们实验室动物模型研究<sup>[9]</sup>发现,GCH1基因在神经源性疼痛动物模型中表达及其与神经凋亡存在相关性。下一步我们将通过临床外周神经源性疼痛研究的GCH1基因突变多态性研究,进一步指导临床疼痛相关疾病的治疗前后评估。

### 四、总结与展望

综上所述,GCH1基因与神经源性疼痛确实存在相互关系,但由于遗传性与表现型的多样性,其作用机制有待研究。通过复杂的生物学和心理学模式研究,认为疼痛是一种复合的人类疾病,它涉及了多种蛋白并影响中枢神经系统,还可通过外周环境起作用。它不可避免地牵涉到多基因的表达问题,且在多种环境因素之间相互作用,并影响疼痛敏感性和慢性疼痛条件的表达。此外,候选基因的相关性研究也促成了实验性和临床性疼痛的鉴别,候选基因的研究显示多种基因与疼痛有关联,特别是COMT、OPRM1和GCH1基因关系最为密切。候选基因导致实验性和临床疼痛的作用机制还不明确,多态现象的直接功能效应还不能被普遍解释。疼痛机制相关基因研究也是未来的研究重点,可以提供新的临床药理靶向治疗和其他的疼痛治疗理论依据,有效地促进医学事业的发展与进步,因此应继续进行大量的工作,为此我们做出更大努力、深入研究,解决人类痛苦。

### 参 考 文 献

- [1] Michael L, LaCroix-Fralish, Jeffrey S. Progress in genetic studies of pain and analgesia[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2009, 49: 97-121.

- [2] Nomura T, Ohtsuki M, Matsui S, et al. Isolation of a full-length cDNA clone for human GTP cyclohydrolase I type 1 from pheochromocytoma[J]. *Neural Transm*, 1995, 101(1/3): 237-242.
- [3] Nat H, Huber R, Meining W, et al. Atomic structure of GTP cyclohydrolase[J]. *Struature*, 1995, 3(5): 459-466.
- [4] Tegeder I, Costigan M, Griffin RS, et al. GTP cyclohydrolase and tetrahydrobiopterin regulate pain sensitivity and persistence[J]. *Nat Med*, 2006, 12(11): 1269-1277.
- [5] Kealey C, Roche S, Claffey E, et al. Linkage and candidate gene analysis of 14q22-24 in bipolar disorder: support for GCHI as a novel susceptibility gene[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2005, 136(1): 75-80.
- [6] TAss IN J, Durr A, Bonnet AM, et al. Levodopa-responsive dystonia: GTP cyclohydrolase I or parkin mutations? [J]. *Brain*, 2000, 123(Pt 6): 1112-1111.
- [7] Nysaard TG, Wilhelmson KC, Risch NJ, et al. Linkage mapping of dopa-responsive dystonia (DIM) to chromosome 14q[J]. *Nat Genet*, 1993, 5: 386-391.
- [8] Iehinose H, Ohye T, Takahashi E, et al. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation caused by mutations in the GTP cyclohydrolase I gene[J]. *Nat Genet*, 1994, 8(3): 223-242.
- [9] 梁啸, 刘洪美, 李庆伟. 大鼠坐骨神经慢性压迫后脊髓背角 GCHI 基因表达与疼痛的关系[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2013, 4: 225-229.
- [10] Zhang L, Rao F, Zhang K, et al. Discovery of common human genetic variants of GTP cyclohydrolase 1 (GCHI) governing nitric oxide, autonomic activity, and cardiovascular risk[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(9): 2658-2671.
- [11] Fillingim RB, Wallace MR, Herbstman DM. Genetic contributions to pain: a review of findings in humans[J]. *Oral Dis*, 2008, 14(8): 673-682.
- [12] Cohen H, Buskila D, Neumann L, et al. Confirmation of an association between fibromyalgia and serotonin transporter promoter region (5-HTTLPR) polymorphism, and relationship to anxiety-related personality traits[J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46: 845-847.
- [13] Herken H, Erdal E, Mutlu N, et al. Possible association of temporomandibular joint pain and dysfunction with a polymorphism in the serotonin transporter gene[J]. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 2001, 120: 308-313.
- [14] Mishra BK, Wu T, Belfer I, et al. Do motor control genes contribute to interindividual variability in decreased movement in patients with pain? [J]. *Molecular Pain*, 2007, 3: 201-211.
- [15] Gelebart P, Opas M, Michalak M. Calreticulin, a Ca<sup>2+</sup>-binding chaperone of the endoplasmic reticulum[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(2): 260-266.
- [16] Wu JC, Liang ZQ, Qin ZH. Quality control system of endoplasmic reticulum and related diseases[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2006, 38(4): 219-226.
- [17] 刘珊, 范桂香, 袁育康. IFN- $\alpha$  对 SNI 神经源性疼痛模型小鼠中的镇痛作用[J]. *武汉大学学报: 医学版*, 2007, 28(2): 242-244.
- [18] Campana WM, Myers RR. Exogenous erythropoietin protects against dorsal root ganglion apoptosis and pain following peripheral nerve injury[J]. *Eur J Neurosci*, 2003, 18(6): 1497-1506.
- [19] Mogil JS, Ritchie J, Smith SB, et al. Melanocortin-1 receptor gene variants affect pain and m-opioid analgesia in mice and humans[J]. *J Med Genet*, 2005, 42: 583-587.
- [20] Tegeder I, Costigan M, Griffin RS, et al. GTP cyclohydrolase and tetrahydrobiopterin regulate pain sensitivity and persistence[J]. *Nat Med*, 2006, 12: 1269-1277.
- [21] Campbell CM, Edwards RR, Carmona C, et al. Polymorphisms in the GTP cyclohydrolase gene (GCHI) are associated with ratings of capsaicin pain[J]. *Pain*, 2009, 141: 114-118.
- [22] Strachan T, Read AP. *Human molecular genetics* [J]. 3rd ed. London and New York: Garland Science, 2004.
- [23] Healy DG. Case-control studies in the genomic era: a clinician's guide[J]. *Lancet Neurol*, 2006, 5: 701-707.
- [24] Lariviere WR, Wilson SG, Laughlin TM, et al. Heritability of nociception: Genetic relationships among commonly used assays of nociception and hypersensitivity[J]. *Pain*, 2002, 97: 75-86.
- [25] Kim H, Dionne RA. Lack of influence of GTP cyclohydrolase gene (GCHI) variations on pain sensitivity in humans[J]. *Molecular Pain*, 2007, 6: 1-9.
- [26] Lazarev M, Lamb J, Barmada MM, et al. Does the pain-protective GTP cyclohydrolase haplotype significantly alter the pattern or severity of pain in humans with chronic pancreatitis? [J]. *Molecular Pain*, 2008, 58: 1-8.
- [27] Holliday KL, Nicholl BI, Macfarlane GJ, et al. Do genetic predictors of pain sensitivity associate with persistent widespread pain? [J]. *Molecular Pain*, 2009, 5: 56.

(收稿日期: 2014-01-29)

(本文编辑: 戚红丹)