

DOI: 10.13376/j.cbls/2014139

文章编号: 1004-0374(2014)09-0967-07

miRNA在疼痛相关离子通道及受体中的作用研究

邱芳¹, 刘玉强², 胡旺平³, 杨之帆^{1*}

(1 湖北大学生命科学学院, 武汉 430062; 2 武汉大学基础医学院生理学系, 武汉 430071; 3 湖北科技学院药学院, 咸宁 437000)

摘要: miRNA广泛表达于神经系统, 与疼痛的发生、发展密切相关。近年来研究表明, 抑制 miRNA 的合成调制伤害性神经元对炎症刺激的反应。疼痛时, 背根神经节(DRG)上 miRNA 明显下调, 该变化参与炎性疼痛和神经性疼痛的产生和维持。同时, miRNA 也可以下调 $Na_v\alpha$ 亚基、ASIC3、TRPV1 和 P2X7 mRNA 的表达水平, 还可以降低 K_v 电流。因此, miRNA 可能成为疼痛治疗的新靶点。综述了 miRNA 的生物起源、分布, 及其对痛觉相关离子通道 Na_v 、 K_v 、ASICs、TRPV1 以及嘌呤受体的调节作用。

关键词: miRNA; 痛觉; 离子通道; 嘌呤受体

中图分类号: Q522; R441.1 文献标志码: A

The role of miRNA in pain-related ion channels and receptors

QIU Fang¹, LIU Yu-Qiang², HU Wang-Ping³, YANG Zhi-Fan^{1*}

(1 College of Life Sciences, Hubei University, Wuhan 430062, China; 2 Department of Physiology, School of Basic Medical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071, China; 3 Department of Pharmacology, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, China)

Abstract: miRNA is widely expressed in the nervous system and is closely related to the genesis and development of pain. Recently, studies have demonstrated that inhibition of miRNA synthesis can mediate the response of nociceptive nerve to inflammatory stimulation. In the dorsal root ganglion (DRG), miRNA is greatly down-regulated following pain, which is involved in the induction and maintenance of inflammatory and neuropathic pain. Meanwhile, miRNA can decrease the mRNA expression levels of the $Na_v\alpha$ subunits, ASIC3, TRPV1 and P2X7, and down-regulate the current of K_v . So miRNA may provide a novel target for the treatment of pain. This article highlights the miRNA biogenesis, distribution, and its significant role in pain-related ion channels (Na_v , K_v , ASICs, TRPV1 and purinergic receptor).

Key words: miRNA; pain; ion channel; purin receptor

疼痛是机体受到伤害性刺激时的一种感觉^[1]。疼痛分为生理性疼痛和病理性疼痛。生理性疼痛由伤害性刺激引起的, 而病理性疼痛则由外周组织损伤、炎症或肿瘤等各种疾病引起的。病理性疼痛按其起因又分为炎症痛和神经病理性痛, 常见的表现有自发痛、痛觉过敏和触诱发痛等^[2-3]。目前病理性疼痛没有治疗的特效药, 而现如今临床上应用的一些镇痛药有各种各样的副作用, 患者常因痛苦不堪而严重影响生活质量。

病理性疼痛出现的痛觉异常现象与离子通道的

功能改变、重新分布以及表达变化有密切的关系^[4-5]。在痛觉传入通路中, 神经元因离子通道出现以上可塑性变化, 其兴奋性发生改变, 导致敏感化。最近的研究表明, miRNA 参与痛觉相关的离子通道的调

收稿日期: 2013-11-18; 修回日期: 2013-12-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(30500328, 31071679, 31272050, 31301675); 湖北省教育厅科研基金项目(D20091007); 湖北省科技厅面上项目(2010CDB04504)

*通信作者: E-mail: sailyangzhf@gmail.com

制, 与神经系统有关疾病的发生发展密切相关^[6-7]。

1 miRNA的概况

miRNA 是近年来新发现的存在于各种生物体内一类 19~22 nt 的非编码小 RNA 分子, 通常在转录后水平调控基因的表达。它们通过和 mRNAs 碱基配对调节基因的表达, 而且 miRNA 在神经系统内表达丰富^[8-11]。最近的研究揭示了 miRNA 在神经发育中起着关键作用^[12]。miRNAs 影响中枢神经系统发育中细胞的分化或细胞的周期, 并能影响与神经发育相关的疾病。Kusuda 等^[13]研究表明, miRNAs 可能参与了慢性疼痛病理生理相关基因的调节机制以及急性有害刺激后疼痛的过程。实时定量聚合酶链反应分析表明, 背根神经节 (DRG) 和脊髓背角上表达成熟的 miRNA-1、miRNA-16 和 miRNA-206, 并且在不同疼痛情况下背根神经节和脊髓背角上 miRNA 对疼痛的调节有差异: 完全弗氏佐剂 (CFA) 诱导炎症后 DRG 上 miRNA-1 和 miRNA-16 的表达显著性减少, miRNA-206 呈时间依赖性方式被下调, 相反在脊髓背角上这 3 种 miRNAs 均被上调; 坐骨神经部分结扎后 miRNA-1 和 miRNA-206 在 DRG 上表达下调, 而在脊髓背角上的表达无明显变化; 坐骨神经切断后 miRNA-1、miRNA-16 和 miRNA-206 的表达在 DRG 上呈时间依赖方式增加, 而脊髓背角 miRNA-1 显著下调; 辣椒素急性有害刺激后也可以增加 DRG 上 miRNA-1 和 miRNA-16 的表达, 然而仅在辣椒素高剂量刺激时脊髓背角上 miRNA206 的表达才被下调^[13]。miRNAs 在多种生理病理过程中发挥重要作用。研究发现, miRNA124 为哺乳动物神经系统特异性 miRNA^[14-15], 具有 3 种亚型, miRNA-124a 是其中一种, 它在神经系统的发育、肿瘤、损伤等进程中发挥着重要作用, 脊髓损伤后脊髓组织中 miRNA-124a 基因表达显著降低^[16]; Yunta 等^[17]在脊髓撞击伤后小鼠脊髓组织中证实 miRNA21 在损伤初期表达上调, 后期 miRNA21 表达下调可导致细胞凋亡的发生。miRNA203 参与了不同的恶性肿瘤的病理过程, 在炎症疾病患者的细胞中 miRNA-203 表达明显增高, 说明 miRNA203 可能是导致骨关节病 (OA) 病症加重的一种促炎性因子; miRNA-195 可通过作用于靶基因来参与细胞周期和凋亡的调控^[18-19]。因此, 目前较新发现的 miRNA 很可能成为疼痛治疗的作用靶点。

由于 miRNA 没有开放阅读框或蛋白质编码基

因, 所以推测 miRNA 是由 mRNA 不同的转录单元表达的。编码 miRNA 的基因一般位于染色体各基因的间隔区域、基因外区域、基因内含子区域等, 由 RNA 聚合酶 II 或者 III 进行转录, 也可以包含在其他编码的 mRNA 中被共同转录^[20]。miRNA 的最初产物 pri-miRNA 与 mRNA 相同, 也带有 5' 端帽子结构和 3' polyA 尾巴^[21]。从 miRNA 基因到产生成熟的 miRNAs 需要多步生物合成^[22-24]。miRNA 的形成首先是在细胞核内, 基因 DNA 在 RNA 聚合酶 II 或者 III 作用下转录形成初级 miRNA (pri-miRNA); 然后, pri-miRNA 在细胞核内被 RNA 酶 III 家族中的 Drosha/DGCR8 酶切割成长度大约为 70 bp 并具有发夹状结构的前体 miRNA (pre-miRNA); 该前体被核输出蛋白——Exportin-5 蛋白从核内转运到细胞质中, 在胞浆中被 Dicer 酶复合体剪切成 21~22 bp 的双链 miRNA, 双链 miRNA 被解旋酶解开后形成成熟的单链 miRNA。每一个 miRNA 都有一个或者多个目标基因, 可以针对不同的基因进行有效的调节; 同一基因也不是仅仅受到某一种单一 miRNA 的调节, 而是受到多种 miRNA 的调节。成熟 miRNA 与 RNA 诱导的基因沉默复合物 (RNA induced silencing complex, RISC) 进行选择性的结合, 形成 RISC 复合物。RISC 复合物与靶 mRNA 上 3' 端非翻译区 (3'-untranslated regions, 3'-UTR) 碱基互补配对结合, 对靶基因 mRNA 进行直接降解或抑制, 从而调控基因的表达^[25-26]。RISC 复合物与靶 mRNA 上 3'-UTR 碱基互补不完全配对结合, 直接调控翻译过程, 从而调节蛋白质的表达水平。该调节过程异常可引起多种疾病。

2 miRNA在背根神经节上的表达

近年来的实验研究发现, 背根神经节 (DRG) 神经元在炎性痛和神经源性痛的情况下可发生显著的可塑性变化, 如神经肽、受体、酶和细胞表面分子的表达都出现了不同水平的上下调变化^[27]。miRNA 不仅仅局限于在背根神经节 (DRG) 上有表达, 同时在疼痛传导通路的脊髓及脊髓以上的中枢都有表达, 且参与慢性疼痛的发生或调节。抑制 miRNA 的合成能调制伤害性神经元对炎症刺激的反应^[28], 然而, 目前在其他疼痛条件下 (如神经性疼痛和随后的外周神经损伤), 对伤害感受器进行调制的 miRNAs 的分布还不清楚。在神经病理性痛慢性结扎损伤模型 (CCI) 大鼠中, 身体同侧的 DRG 上 miR-96、miR-182 和 miR-183 明显下调^[29]。在

炎性疼痛模型小鼠中,背根神经节 miRNA143 表达显著下降^[30]。在 CFA 炎症疼痛模型中,鞘内过表达 miRNA143 能有效增加小鼠热激疼痛阈值。特定的 miRNA,如 miRNA134 已经被证实与神经生理功能及疼痛调节关系密切,miRNA134 在小直径神经元中变化的程度明显,疼痛时降低,疼痛减轻时升高。miRNA134 作为一种翻译前水平的调节性小 RNA,很可能在初级感觉神经元水平上通过调节基因的表达参与慢性炎性疼痛的调制^[31]。因此,miRNA 与基因的调节作用和缓解疼痛有关。初步研究表明,miR-1 存在于大鼠和人类 DRG 上,而原位杂交显示 miR-1 几乎表达于所有的 DRG 上;miR-1 在小鼠 DRG 上 I-B4 阴性的神经元上的表达水平比 I-B4 阳性的神经元高^[32]。在坐骨神经损伤实验中,DRG 上 miR-9、miR-320、miR-672、miR-466b、miR-144、miR-320 和 miR-324-3p 都有明显的改变^[33]。最近许多实验表明,miRNAs 在痛觉相关离子通道,如 Na_v 、 K_v 、 ASIC_5 、TRPV1 以及嘌呤受体中起着重要的作用。

2.1 miRNA与电压门控钠通道

钠通道是选择性允许 Na^+ 通过细胞膜的离子通道。电压门控性钠通道 (voltage-gated sodium channels, VGSCs, Na_v) 因其开放和关闭受细胞膜两侧的电位差即膜电位的控制而得名,其主要生理功能是使可兴奋细胞产生和转导动作电位。电压门控的钠通道是神经元兴奋性及其信号转导的关键决定物^[34-36]。疼痛伤害性神经元 TTX 不敏感的电压门控的钠通道表达异常,TTX 不敏感的 $\text{Na}_v1.8$ 和 $\text{Na}_v1.9$ 在外周神经元上均有表达且与痛觉通路传导有关^[37-38]。鞘内注射 $\text{Na}_v1.8$ 反义寡核苷酸降低了 $\text{Na}_v1.8$ mRNA 和蛋白的表达,可逆转 CFA 所致的疼痛过敏^[39-40],说明抑制 $\text{Na}_v1.8$ 表达可能会缓解疼痛。 $\text{Na}_v1.8$ 钠通道在脊髓背根神经节小细胞上的分布显著降低与骨癌痛大鼠疼痛的维持以及 $\text{Na}_v1.8$ mRNA 水平降低有关;采用反义寡核苷酸特异性地阻断 $\text{Na}_v1.8$ 钠通道的表达,可以显著减轻骨癌痛的疼痛行为。此外, $\text{Na}_v1.8$ 也参与了神经病理性疼痛的维持,神经损伤模型受损的神经元上 $\text{Na}_v1.8$ 通道几乎不表达。

Chattopadhyay 等^[41]将构建好的一系列具有靶向 $\text{Na}_v\alpha$ 亚基的 miRNA 序列插入到非复制的 HSV 重组载体中,然后再转染到原代的 DRG 神经元中,分别在 2 h、48 h 后用 RT-PCR 检测 $\text{Na}_v1.7$ mRNA 的水平,筛选出能够完好结合 $\text{Na}_v1.7$ 的质

粒 QHmi Na_v ,再将质粒 QHmi Na_v 感染 DRG,在感染 3 d 后发现 $\text{Na}_v1.7$ 的 mRNA 的水平下降。然而,在含有随机序列的(非 Na_v miRNA 序列)载体组中, $\text{Na}_v1.7$ 的 mRNA 的水平没有明显的变化。 Na_v s 是神经兴奋性的关键物质,在体外实验中,非复制的带有抑制 $\text{Na}_v\alpha$ 亚单位表达的 HSV-miRNA 载体可以减少 DRG 上 Na_v s 的表达^[41]。von Schack 等^[42]选取参与神经性疼痛的 Scn11a 和 $\text{Na}_v1.9$,然后将 miRNA 与荧光素酶报告基因共转染到 HEK293 细胞中,使用荧光素酶检测电压门控钠通道 Scn11a 的 3'-UTR 靶位点,结果显示 Scn11a 基因表达被抑制,这表明 miRNAs 能明显调节基因的表达。Zhao 等^[28]使用 $\text{Na}_v1.8$ -Cre 鼠来靶向炎性痛相关的伤害性感受器,在 miRNAs 缺失下,与野生的小鼠相比, $\text{Na}_v1.8$ -Cre 小鼠在急性疼痛行为中无明显变化,而冷疼痛行为表现为衰减。Dicer 酶是 miRNA 生物合成中的重要酶,Zhao 等^[28]利用基因芯片和 qRT-PCR 分析显示,Dicer 酶缺失时 DRG 上许多表达 mRNA 的转录子上调,而与疼痛相关的 mRNA 转录子,如 $\text{Na}_v1.8$ 则下调,疼痛特异性的 pre-mRNA 转录子的表达水平下降。他们还利用 Solexa 测序方法研究已知的和新的 miRNAs,但这些 miRNAs 在含有切除了 $\text{Na}_v1.8$ 的 Dicer 酶的 DRG 神经元上未被检测出。

2.2 miRNA和电压门控钾通道

钾通道是选择性允许钾离子通过的离子通道,是目前发现的亚型最多、作用最复杂的一类离子通道。自 1987 年从果蝇体内克隆出第一个钾通道基因后,人们陆续地从果蝇、哺乳动物及其他生物体内克隆出多种电压依赖性和配体依赖性钾通道。电压依赖性钾通道 (K_v) 在调节细胞膜兴奋性中起着重要的作用,它参与痛觉的调制。 K_v 通道的激活可以阻碍许多与大脑、肌肉、心脏过度兴奋相关的疾病,如癫痫、偏头痛、神经病理性疼痛和中风。 $\text{K}_v1.1/1.2$ 激动剂是治疗癫痫和神经性疼痛的良好药物, $\text{K}_v1.1/1.2$ 表达减少可增强神经细胞的兴奋性而引发癫痫;在脊髓背角神经元中, $\text{K}_v4.2$ 与疼痛的可塑性有关, $\text{K}_v4.2$ 也可能调制炎症性疼痛^[43-44]。在早期生命活动中,内向整流钾通道 Kir 在脊髓疼痛回路中能调节心脏起搏点的活动^[45]。Zheng 等^[46]研究表明,KCNQ 通道在发生功能性缺陷时会引发多种神经性疾病,包括癫痫、心律失常和耳聋;KCNQ/M 通道的特异性抑制剂 XE-991 能够明显增加小直径型 DRG 神经元的兴奋性和产生明显的机

械触诱发痛,并且大鼠 DRG 上 KCNQ/M(K_v7) 的下调在癌症和骨癌疼痛中发挥了关键作用。当神经损伤后,感觉神经元上的 K_v9.1 水平的降低可以调制神经性疼痛^[47]。

Goldoni 等^[48]将 mCherry-3'UTR(含红色荧光蛋白编码序列)质粒和插入了 miRNA 的 pSM30(含绿色荧光蛋白)质粒共转化到 HEK293 细胞中,发现 miR-212 的表达能够靶向控制 KCNJ2 3'UTR 区域,调节内向整流钾电流 K(ir)2.1, miR-212 还能够在 HeLa 细胞中下调 KCNJ2 电流和蛋白质的水平。在成年人心脏组织中,存在肌肉特异性的 miR-133 的表达^[49]。Xiao 等^[50]发现, miR-133 能在转录后调节和抑制与钾电流相关的 KvLQT1 的蛋白表达,而不影响 mRNA 的水平。快速激活延迟整流钾(Ikr)电流的降低可能会导致缓慢激活延迟整流钾(Iks)电流的互补上调,这一过程可能是在转录后通过介导 miRNA 的改变而上调钾通道亚基实现的。

2.3 miRNA和酸敏感离子通道

酸敏感离子通道(ASICs)可以被质子激活,属于上皮钠通道 ENaC/退化蛋白 DEG 通道阿米洛利敏感蛋白家族的成员,其通道可被阿米洛利(amiloride)阻断^[51-52]。在哺乳动物基因组中,ASICs 是由 4 种基因编码的 7 种剪接变体转录物,分别为 ASIC1a、ASIC1b、ASIC1b2、ASIC2a、ASIC2b、ASIC3 和 ASIC4。它们组合成异聚体,从而形成离子通道的功能。每一个 ASICs 具有独一无二的生物物理学特征,如 pH 敏感性的不同,以及电动力学、离子选择性和药理学敏感性的不同。ASICs 分布在神经元上,当组织发生炎症或局部缺血后 ASICs 能够被酸性 pH 溶液激活,增强炎症介质的效应,从而诱发疼痛。在脚掌炎症模型中,ASIC3 缺陷或敲除小鼠与野生小鼠相比,前者痛觉过敏增强^[53]。肌肉炎症后,ASIC3^{-/-}小鼠不会产生二次疼痛过敏,但是依然会产生初次疼痛过敏;然而 ASIC1^{-/-}小鼠则不会产生初次痛觉过敏,会产生二次痛觉过敏^[54]。关于 ASIC3 与痛觉感受的联系,ASIC3 敲除的小鼠的研究结果证明 ASIC3 是痛觉感受所必需的^[55]。酸可以产生高强度的痛,如炎症时乳酸的产生导致胞外 pH 降低,从而产生痛觉。一些促炎介质,如 5 羟色胺(5-HT)、缓激肽(BK)、神经生长因子(NGF)等均能促进 ASIC3 在转录水平上的表达^[55]。

Walder 等^[56]在体内外实验中用克隆和人造的 miRNAs(miR-ASIC3)来直接抑制小鼠的 ASIC3,从而下调 ASIC3 的表达,Western blotting 分析显示,

在 CHO-K1 细胞中 miR-844 剂量依赖地抑制 ASIC3 的蛋白表达和酸诱导的电流,然而,miR-844、miR-847 对 ASIC1a 蛋白的表达水平和酸诱导的电流没有作用。Walder 等^[56]还发现,在使用 HSV-miR844 处理后,可以降低 ASIC3 在肌肉组织中蛋白水平和 DRG 神经元上的 mRNA 的表达及炎症性痛觉过敏;miR-844 可以降低 ASIC1a/ASIC3 异聚体通道的电流大小,改变原始 ASIC 通道的亚基构成。

2.4 miRNA和嘌呤受体

腺苷及其相关的磷酸衍生物(AMP、ADP、ATP)与人类疼痛有关。嘌呤受体分两类:与腺苷起反应的 P1 受体和与腺苷三磷酸(ATP)起反应的 P2 受体。P1 受体属于 G-蛋白耦联受体(GPCR);P2 受体又根据组织反应的类型和激动剂作用效力顺序,可分为 P2X 和 P2Y 两类亚型。P2X 是亲离子的配体门控离子通道受体,通过细胞外 ATP 调控突触传递,其激动引起平滑肌收缩反应;P2Y 则是代谢型的 G 蛋白耦联受体。在现已克隆的 P2X1~P2X7 等受体亚型中,P2X3 存在于背根神经节,在与伤害性感受有关的小直径细胞中表达,这也提示其在伤害感受中发挥作用^[57]。

P2X7 受体属于 ATP 激活的配体门控离子通道 P2X 家族,Zhou 等^[58]将包含人类的全长序列 P2X7 的 3'UTR 或部分序列的 3'UTR-P2X7 的报告基因过表达,发现 miR-186 和 miR-150 能降低 P2X7 的转录。然而,在 HEK-293 细胞中将能够表达全长的 3'-UTR-P2X7 用 luciferase 分析,发现 miR-186 和 miR-150 抑制剂能增加 luciferase 活性;而 miR-186 和 miR-150 mimics 在放线菌素 D 处理后却能降低 luciferase 活性,这表明 miR-186 和 miR-150 表达的增加可以通过靶向激活 3'-UTR-P2X7,从而降低 P2X7 mRNA 的水平。Landry 等^[59]研究发现,在人类血小板中 P2Y12 的表达可能受 miRNA 的控制。

2.5 miRNA和辣椒素受体

辣椒素受体 TRPV1 属于瞬时感受器电位家族,是一种配体门控的非选择性阳离子通道。它能够被有害热刺激、质子、辣椒素 capsaicin(CAP)和超强辣椒素 resiniferatoxin(RTX)、膜源性脂类和大麻素激活^[60]。TRPV1 敲除小鼠的研究表明,TRPV1 在细胞和行为学上对有害热刺激的反应起作用^[61]。最初报道 TRPV1 仅分布在初级传入感受器背根神经节(DRG)、三叉神经(TG)和有节神经节上^[62],随

后的研究则表明了它也广泛分布在中枢神经系统和非神经组织。TRPV1 敲除的小鼠对伤害性热刺激和化学刺激的反应受损,也缺乏对 H^+ 的反应,从而很少呈现热痛觉过敏,因此,TRPV1 是一种伤害性热刺激和化学刺激的分子整合器^[55],提示 TRPV1 与疼痛有关。

miR-146a 能调节人类关节软骨的体内稳态,是疼痛的相关因子^[63]。在骨关节炎诱导的疼痛中,miR-146a 在 DRGs 和脊髓背角上表达降低;将不同剂量的 miR-146a 瞬时转染到人星形胶质细胞中,然后采用 qRT-PCR 分析发现 TRPV1 的 mRNA 的表达水平下降,说明 miR-146a 以剂量依赖的方式调节 TRPV1 的表达^[63]。Zhou 等^[64] 研究发现,miRNA-199 能以 TRPV1 依赖途径调节痛觉过敏;Thilo 等^[65] 也发现,在心肌肥大的小鼠中 TRPV1 表达的增加与 miR-21 有关。随后,Colak 等^[66] 的研究表明,miRNA-135a 在慢性胰腺炎大鼠的敏感神经元上的表达上调,并且能改变神经元对辣椒素刺激的反应。

3 总结

miRNA 的发现给我们提供了一个新的研究方向和思路,它对于认识疼痛的发生、发展和调制过程起了重要的作用。miRNAs 在许多神经性疼痛疾病中表达失调,因此,对这些非编码的调节性 RNAs 的研究可以为诊断和治疗神经系统损伤提供理论依据。miRNAs 在细胞增殖和疾病中发挥着重要的作用。现研究已确定 miRNAs 能调制炎症因子和疼痛相关分子,如 $TNF\alpha$ 、COX-2、iNOS、IL-6、IL8、RANTS 和离子通道、TRPV1 等。在以后的研究中,希望能够明确参与疼痛的 miRNA 及其种类,阐明它们的作用机制和作用靶点。如果能够找到 miRNA 在疼痛作用途径上的合适药物载体,并且能在人体内安全有效地发挥作用,那么 miRNA 可能成为疼痛相关疾病诊断和治疗的新靶点。

[参 考 文 献]

- [1] 赵志奇. 疼痛及其脊髓机理[M]. 上海科技教育出版社, 2000
- [2] Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 2009, 139(2): 267-84
- [3] Kuner R. Central mechanisms of pathological pain. *Nat Med*, 2010, 16(11): 1258-66
- [4] Raouf R, Quick K, Wood JN. Pain as a channelopathy. *J Clin Invest*, 2010, 120(11): 3745-52
- [5] Baron R, Binder A, Wasner G. Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *Lancet Neurol*, 2010, 9(8): 807-19
- [6] Eacker SM, Dawson TM, Dawson VL. Understanding microRNAs in neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10(12): 837-41
- [7] Hutchison ER, Okun E, Mattson MP. The therapeutic potential of microRNAs in nervous system damage, degeneration, and repair. *Neuromol Med*, 2009, 11(3): 153-61
- [8] Krichevsky AM, King KS, Donahue CP, et al. A microRNA array reveals extensive regulation of microRNAs during brain development. *RNA*, 2003, 9(10): 1274-81
- [9] Sempere LF, Freemantle S, Pitha-Rowe I, et al. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. *Genome Biol*, 2004, 5(3): R13
- [10] Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, et al. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. *Science*, 2005, 309(5732): 310-1
- [11] Luciano DJ, Mirsky H, Vendetti NJ, et al. RNA editing of a miRNA precursor. *RNA*, 2004, 10(8): 1174-7
- [12] Géranton SM. Targeting epigenetic mechanisms for pain relief. *Curr Opin Pharmacol*, 2012, 12(1): 35-41
- [13] Kusuda R, Cadetti F, Ravanelli MI, et al. Differential expression of microRNA in mouse pain modules. *Mol Pain*, 2011, 7: 17
- [14] Skalsky RL, Cullen BR. Reduced expression of brain-enriched microRNAs in glioblastomas permits targeted regulation of a cell death gene. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24248
- [15] Huang TC, Chang HY, Chen CY, et al. Silencing of miR-124 induces neuroblastoma SK-N-SH cell differentiation, cell cycle arrest and apoptosis through promoting AHR. *FEBS Lett*, 2011, 585(22): 3582-6
- [16] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, et al. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol*, 2002, 12(9): 735-9
- [17] Yunta M, Nieto-Díaz M, Esteban FJ, et al. MicroRNA dysregulation in the spinal cord following traumatic injury. *PLoS One*, 2012, 7(4): e34534
- [18] Chen YQ, Wang XX, Yao XM, et al. MicroRNA-195 promotes apoptosis in mouse podocytes via enhanced caspase activity driven by BCL2 insufficiency. *Am J Nephrol*, 2011, 34(6): 549-59
- [19] Zhu H, Yang Y, Wang Y, et al. MicroRNA-195 promotes palmitate-induced apoptosis in cardiomyocytes by down-regulating Sirt1. *Cardiovas Res*, 2011, 92(1): 75-84
- [20] Lee Y, Kim M, Han J, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *EMBO J*, 2004, 23(20): 4051-60
- [21] Cai X, Hagedorn CH, Cullen BR. Human microRNAs are processed from capped, polyadenylated transcripts that can also function as mRNAs. *RNA*, 2004, 10(12): 1957-66
- [22] Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet*, 2008, 9(2): 102-

- 14
- [23] Fineberg SK, Kosik KS, Davidson BL. MicroRNAs potentiate neural development. *Neuron*, 2009, 64(3): 303-9
- [24] Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass *Drosha* processing. *Nature*, 2007, 448(7149): 83-6
- [25] Chekulaeva M, Filipowicz W. Mechanisms of miRNA-mediated post-transcriptional regulation in animal cells. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(3): 452-60
- [26] Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs. *Annu Rev Biochem*, 2010, 79: 351-79
- [27] Persson AK, Gebauer M, Jordan S, et al. Correlational analysis for identifying genes whose regulation contributes to chronic neuropathic pain. *Mol Pain*, 2009, 5: 7
- [28] Zhao J, Lee MC, Momin A, et al. Small RNAs control sodium channel expression, nociceptor excitability, and pain thresholds. *J Neurosci*, 2010, 30(32): 10860-71
- [29] Aldrich BT, Frakes EP, Kasuya J, et al. Changes in expression of sensory organ-specific microRNAs in rat dorsal root ganglia in association with mechanical hypersensitivity induced by spinal nerve ligation. *Neuroscience*, 2009, 164(2): 711-23
- [30] Tam ST, Bastian I, Zhou XF, et al. MicroRNA-143 expression in dorsal root ganglion neurons. *Cell Tissue Res*, 2011, 346(2): 163-73
- [31] Ni J, Gao Y, Gong S, et al. Regulation of μ -opioid type 1 receptors by microRNA134 in dorsal root ganglion neurons following peripheral inflammation. *Eur J Pain*, 2013, 17(3): 313-23
- [32] Bastian I, Tam S, Zhou XF, et al. Differential expression of microRNA-1 in dorsal root ganglion neurons. *Histochem Cell Biol*, 2011, 135(1): 37-45
- [33] Rau CS, Jeng JC, Jeng SF, et al. Entrapment neuropathy results in different microRNA expression patterns from denervation injury in rats. *BMC Musculoskelet Disord*, 2010, 11: 181
- [34] Catterall WA. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 2000, 26(1): 13-25
- [35] Blair NT, Bean BP. Roles of tetrodotoxin (TTX)-sensitive Na^+ current, TTX-resistant Na^+ current, and Ca^{2+} current in the action potentials of nociceptive sensory neurons. *J Neurosci*, 2002, 22(23): 10277-90
- [36] Bosmans F, Martin-Eauclaire MF, Swartz KJ. Deconstructing voltage sensor function and pharmacology in sodium channels. *Nature*, 2008, 456(7219): 202-8
- [37] Momin A, Wood JN. Sensory neuron voltage-gated sodium channels as analgesic drug targets. *Curr Opin Neurobiol*, 2008, 18(4): 383-8
- [38] Amaya F, Decosterd I, Samad TA, et al. Diversity of expression of the sensory neuron-specific TTX-resistant voltage-gated sodium ion channels SNS and SNS2. *Mol Cell Neurosci*, 2000, 15(4): 331-42
- [39] Porreca F, Lai J, Bian D, et al. A comparison of the potential role of the tetrodotoxin-insensitive sodium channels, PN3/SNS and NaN/SNS2, in rat models of chronic pain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(14): 7640-4
- [40] Yu YQ, Zhao F, Guan SM, et al. Antisense-mediated knockdown of $\text{Na}_v1.8$, but not $\text{Na}_v1.9$, generates inhibitory effects on complete Freund's adjuvant-induced inflammatory pain in rat. *PLoS One*, 2011, 6(5): e19865
- [41] Chattopadhyay M, Zhou Z, Hao S, et al. Reduction of voltage gated sodium channel protein in DRG by vector mediated miRNA reduces pain in rats with painful diabetic neuropathy. *Mol Pain*, 2012, 8: 17
- [42] von Schack D, Agostino MJ, Murray BS, et al. Dynamic changes in the microRNA expression profile reveal multiple regulatory mechanisms in the spinal nerve ligation model of neuropathic pain. *PLoS One*, 2011, 6(3): e17670
- [43] Maljevic S, Lerche H. Potassium channels: a review of broadening therapeutic possibilities for neurological diseases. *J Neurol*, 2013, 260(9): 2201-11
- [44] Rajakulendran S, Schorge S, Kullmann DM, et al. Episodic ataxia type 1: a neuronal potassium channelopathy. *Neurotherapeutics*, 2007, 4(2): 258-66
- [45] Li J, Blankenship ML, Baccei ML. Inward-rectifying potassium (Kir) channels regulate pacemaker activity in spinal nociceptive circuits during early life. *J Neurosci*, 2013, 33(8): 3352-62
- [46] Zheng Q, Fang D, Liu M, et al. Suppression of KCNQ/M (Kv7) potassium channels in dorsal root ganglion neurons contributes to the development of bone cancer pain in a rat model. *Pain*, 2013, 154(3): 434-48
- [47] Tsantoulas C, Zhu L, Shaifta Y, et al. Sensory neuron downregulation of the Kv9.1 potassium channel subunit mediates neuropathic pain following nerve injury. *J Neurosci*, 2012, 32(48): 17502-13
- [48] Goldoni D, Yarham JM, McGahon MK, et al. A novel dual-fluorescence strategy for functionally validating microRNA targets in 3' untranslated regions: regulation of the inward rectifier potassium channel $\text{K}(\text{ir})2.1$ by miR-212. *Biochem J*, 2012, 448(1): 103-13
- [49] Chen JF, Mandel EM, Thomson JM, et al. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet*, 2005, 38(2): 228-33
- [50] Xiao L, Xiao J, Luo X, et al. Feedback remodeling of cardiac potassium current expression: a novel potential mechanism for control of repolarization reserve. *Circulation*, 2008, 118(10): 983-92
- [51] Dube GR, Elagoz A, Mangat H. Acid sensing ion channels and acid nociception. *Curr Pharm Des*, 2009, 15(15): 1750-66
- [52] Wemmie JA, Price MP, Welsh MJ. Acid-sensing ion channels: advances, questions and therapeutic opportunities. *Trends Neurosci*, 2006, 29(10): 578-86
- [53] Price MP, McIlwrath SL, Xie J, et al. The DRASIC cation channel contributes to the detection of cutaneous touch and acid stimuli in mice. *Neuron*, 2001, 32(6): 1071-83
- [54] Sluka KA, Radhakrishnan R, Benson CJ, et al. ASIC3 in muscle mediates mechanical, but not heat, hyperalgesia associated with muscle inflammation. *Pain*, 2007, 129(1-

- 2): 102-12
- [55] 关兵才, 张海林, 李之望. 细胞电生理学基本原理与膜片钳技术[M]. 北京: 科学出版社, 2013
- [56] Walder RY, Gautam M, Wilson SP, et al. Selective targeting of ASIC3 using artificial miRNAs inhibits primary and secondary hyperalgesia after muscle inflammation. *Pain*, 2011, 152(10): 2348-56
- [57] Kobayashi K, Yamanaka H, Noguchi K. Expression of ATP receptors in the rat dorsal root ganglion and spinal cord. *Anat Cience Int*, 2013, 88(1): 10-6
- [58] Zhou L, Qi X, Potashkin JA, et al. MicroRNAs miR-186 and miR-150 down-regulate expression of the proapoptotic purinergic P2X7 receptor by activation of instability sites at the 3'-untranslated region of the gene that decrease steady-state levels of the transcript. *J Biol Chem*, 2008, 283(42): 28274-86
- [59] Landry P, Plante I, Ouellet DL, et al. Existence of a microRNA pathway in anucleate platelets. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(9): 961-6
- [60] Caterina MJ, Julius D. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway. *Annu Rev Neurosci*, 2001, 24: 487-517
- [61] Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. *Science*, 2000, 288(5464): 306-13
- [62] Cavanaugh DJ, Chesler AT, Jackson AC, et al. Trpv1 reporter mice reveal highly restricted brain distribution and functional expression in arteriolar smooth muscle cells. *J Neurosci*, 2011, 31(13): 5067-77
- [63] Li X, Gibson G, Kim JS, et al. MicroRNA-146a is linked to pain-related pathophysiology of osteoarthritis. *Gene*, 2011, 480(1-2): 34-41
- [64] Zhou Q, Croce C, Verne G. MicroRNA-199 modulates hyperalgesia via TRPV1 dependent pathways. *J Pain*, 2012, 13(4): S35
- [65] Thilo F, Liu Y, Schulz N, et al. Increased transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channel expression in hypertrophic heart. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 401(1): 98-103
- [66] Colak T, Mehta KR, Tiwari G, et al. MiRNA 135a is up-regulated in sensory neurons in rats with chronic pancreatitis and alters their responsiveness to capsaicin stimulation. *Gastroenterology*, 2011, 140(5): S-541