

DOI: 10.13376/j.cblls/2022043

文章编号: 1004-0374(2022)04-0365-11

P2X受体介导神经病理性疼痛的研究进展

王思妤, 汪 津*, 于 烨*

(中国药科大学基础医学与临床药学院, 南京 210009)

摘要: 神经损伤所导致的神经病理性疼痛是一种常见的慢性疼痛, 对患者的生理和心理健康造成严重负面影响。目前针对该病的治疗药物局限于部分精神类药物和阿片类药物, 但伴随诸多不良反应。ATP 激活的配体门控离子通道 P2X 受体参与疼痛信号传递和神经损伤相关的炎症过程, 研究其在神经病理性疼痛机制中的作用对相关的药物开发具有重要意义。该文主要对神经病理性疼痛中 P2X 受体介导的分子机制进行综述, 并讨论 P2X 受体靶向化合物应用于治疗的可能性。

关键词: 神经病理性疼痛; 离子通道; P2X 受体

中图分类号: R363

文献标志码: A

Advances in P2X receptor-mediated neuropathic pain

WANG Si-Yu, WANG Jin*, YU Ye*

(School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Abstract: Neuropathic pain caused by nerve injury is a common form of chronic pain which severely debilitates the physical and psychological health of patients. Currently, clinically available drugs for treatment are limited to partial psychotropic drugs and opioids, which usually lead to severe adverse effects. The P2X receptors, ATP-activated ligand-gated ion channels, are associated with pain signaling and inflammation after nerve injury. Thus, studying on the mechanisms that P2X receptors mediate in neuropathic pain might shed light on relevant drug discovery. Here, we review the molecular mechanisms by which P2X receptors contribute to neuropathic pain and discuss the druggable potential of their targeting compounds in therapeutic applications.

Key words: neuropathic pain; ion channel; P2X receptors

根据国际疼痛学会 (International Association for the Study of Pain, IASP) 的定义, 神经病理性疼痛 (neuropathic pain, 简称神经痛) 是由外部刺激或疾病侵袭导致躯体感觉神经系统损伤而产生的疼痛, 是临床上常见的一类慢性疼痛^[1]。外周神经损伤 (peripheral nerve injury, PNI)、脊髓损伤、感染、癌症, 以及多种疾病如糖尿病、带状疱疹、多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 等, 均能造成外周或中枢神经损伤并诱发神经痛^[2]。越来越多的研究证据表明, 神经痛作为一种应激源可诱发抑郁和焦虑等精神障碍^[3]。由于神经痛可造成极大的身心危害且发病率十分广泛, 因此, 深入研究其发病机制和开发相应镇痛药物在临床治疗中具有重要的意义。

从病理生理学角度来说, 神经痛的主要致病机

制为外周敏化 (peripheral sensitization) 和中枢敏化 (central sensitization)。外周敏化是指炎症因子及致敏 / 致痛物质释放, 导致外周痛觉感受神经元对外界刺激信号的敏感性增加。脊髓及上行传导通路的痛觉相关神经元兴奋性发生异常变化, 继而导致痛觉感受增强的过程称为中枢敏化^[1]。其中, 由三磷

收稿日期: 2021-12-29; 修回日期: 2022-02-07

基金项目: 江苏省自然科学基金前沿引领技术基础研究专项 (BK20202002); 国家自然科学基金项目 (31971146、32000869); 江苏省双创人才和双创博士; 湖南省“湖湘”高层次人才计划 (2021); 中国药科大学兴药领军学者 (2021)

*通信作者: E-mail: yuye@cpu.edu.cn (于烨); wangjin@cpu.edu.cn (汪津)

腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 作为胞外信号分子所介导的信号传递过程起到关键作用。1976年, Burnstock 提出“共递质假说 (co-transmission hypothesis)”^[4], 即 ATP 除了为细胞活动提供能量外, 也在外周和中枢神经系统中与多种经典神经递质共释放并介导细胞信号传递。大量研究结果表明, ATP 的自分泌和旁分泌广泛参与到多种生理和病理过程^[5]。

胞外 ATP 及其代谢产物所激活的一类配体门控受体称为 P2 嘌呤受体 (P2 purinergic receptor), 又分为 P2X 离子型配体门控受体和 P2Y 代谢型 G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptor, GPCR)^[6] (图 1)。目前 P2X 受体家族有 7 种亚型, 分别命名为 P2X1~7。P2X 受体为三聚体, 亚基的拓扑结构包括位于胞内的 N 端和 C 端、胞外域和 2 个跨膜螺旋。P2X 受体广泛表达于生物体内, 如神经元、胶质细胞、肌细胞和上皮细胞等, 并参与突触传递、免疫反应、血压调节和炎症反应等多种生理病理过程^[4] (表 1)。在 P2X 受体各亚型中, P2X3 受体参与痛觉信号的转导^[7], P2X4 及 P2X7 受体表达于小胶质细胞, 参与其激活、迁移、增殖和相关的神经炎症反应^[8], 三者 in 神经痛发病机制中均具有关键作用。

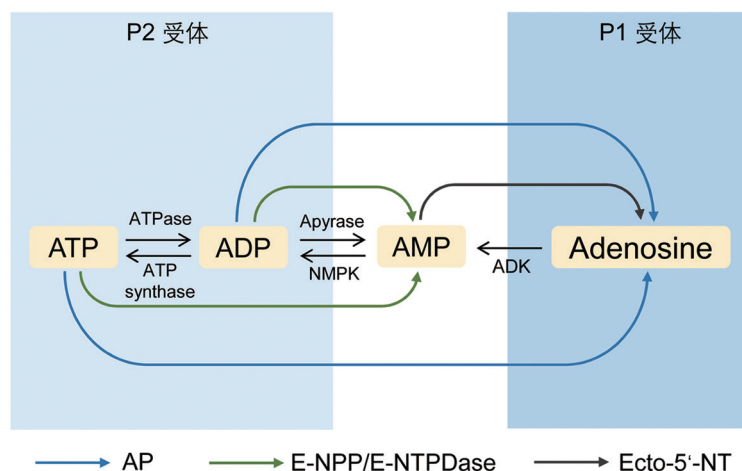
1 神经病理性疼痛及其发病机制

神经病理性疼痛是临床治疗中一种常见的疼痛

形式, 是由外界伤害性刺激或疾病造成的神经系统损伤所引起的一系列疼痛的总称, 包括外周神经系统病变 (癌症、神经损伤、感染和关节炎等) 和中枢神经系统疾病 (脑卒中、脊髓损伤和 MS 等) 引起的疼痛^[1]。临床治疗中常见的神经痛的症状主要有自发性疼痛 (spontaneous pain)、触诱发痛 (allodynia) 和痛觉过敏 (hyperalgesia)。目前针对神经痛的研究主要围绕动物实验展开, 并已经提出了以外周敏化和中枢敏化为主的病理生理学机制。

1.1 外周敏化

外周组织或神经损伤后, 受损部位对外界刺激信号 (机械刺激、化学刺激或温度变化) 的响应加强, 初级感受神经元 (primary sensory neurons) 的敏感化是导致疼痛的原因之一^[9]。损伤组织的免疫细胞释放各种炎症调节物质, 如 ATP、缓激肽 (bradykinin)、前列腺素 (prostaglandin)、质子 (H^+), 以及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和 IL-6 等促炎症因子, 还有化学因子配体 2 (C-C motif chemokine ligand 2, CCL21)、CXCL1 (CXC motif chemokine ligand 1) 等趋化因子。痛觉感受神经元上多种受体和离子通道的表达上调并被相应的物质激活: 配体门控离子通道 P2X3、TRPV1、TRPA1 和 ASICs, 电压门控钠离子通道 Nav1.7、Nav1.8 和 Nav1.9, 以及 GPCR、受体酪氨酸激酶 (receptors tyrosine kinase, RTK) 和细胞因子受体 (cytokines receptor) 等被激活, 分别



P2受体的配体为ATP和ADP, P1受体的配体为腺苷(adenosine)。胞外ATP通过多种外切核苷酸酶进行代谢产物转化。E-NPP (ectonucleotide pyrophosphatase): 胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸双酯酶; E-NTPDase (ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase): 胞外核苷三磷酸二磷酸水解酶; Ecto-5'-NT (ecto-5'-nucleotidase): 胞外-5'-核苷酸酶; AP (alkaline phosphatase): 碱性磷酸酶; ATPase (adenosine triphosphatase): 腺苷三磷酸酶; NMPK (nucleoside monophosphate kinase): 一磷酸核苷酸酶; ADK (adenosine kinase): 腺苷激酶。

图1 ATP及其胞外代谢产物转化

表1 P2X受体各亚型药理学性质及在体表达

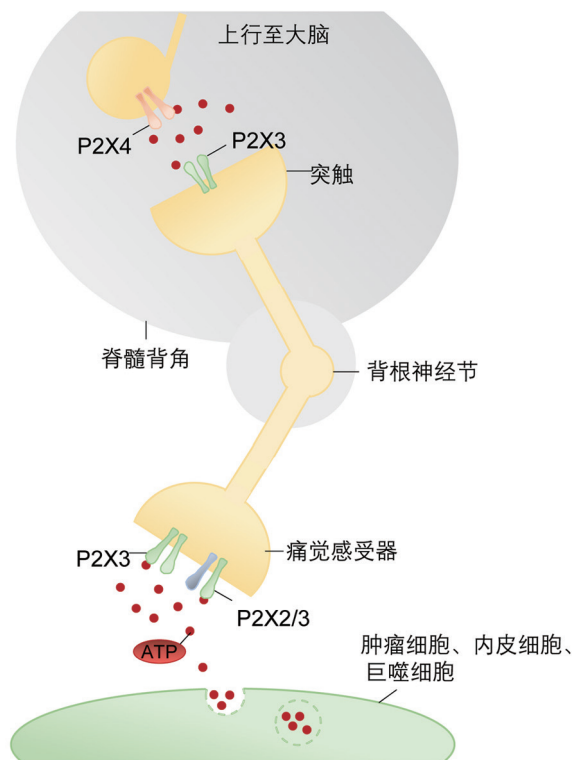
亚型	ATP EC ₅₀	激动剂	拮抗剂	表达分布
P2X1	0.1~0.7 μmol/L	α,β-meATP=ATP=2-meSATP	Suramin、PPADS、TNP-ATP、NF449、NF023、MRS2220、MRS2159	平滑肌、血小板、小脑、脊髓背角神经元
P2X2	2~8 μmol/L	ATP>ATPγS>2-meSATP>>α,β-meATP	Suramin、PPADS、TNP-ATP、RB-2、NF770、PSB-1011、PSB-10211	平滑肌、视网膜、嗜铬细胞、耳蜗
P2X3	~1 μmol/L	2-meSATP>ATP>α,β-meATP	Suramin、PPADS、TNP-ATP、A-317491、RO-85、AF-353、AF-219	膀胱、气道、背根神经节、结节神经节、三叉神经节
P2X4	1~10 μmol/L	ATP>>α,β-meATP	Suramin、PPADS、TNP-ATP、5-BDBD、BBG、BX430、PSB-12062、NP-1815-PX	神经元、小胶质细胞、巨噬细胞、单核细胞
P2X5	0.5 μmol/L	ATP>>α,β-meATP	Suramin、PPADS、TNP-ATP、BBG	膀胱、皮肤、胸腺、脊髓
P2X6	*	*	*	脑、肾、膀胱、胸腺、
P2X7	2~4 mmol/L	BzATP>ATP>2-meSATP>>α,β-meATP	Suramin、PPADS、A740003、A438079、GW791343、JNJ-54175446	淋巴细胞、巨噬细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞、胰腺、单核细胞、皮肤

*P2X6作为同源三聚体生理活性较低, ATP及其衍生物对其激活作用较弱; =、>和>>为各激动剂对P2X受体的激活效应的比较。

作用于外周神经末梢, 增加痛觉感受传导。神经痛发病机制复杂, 参与细胞信号转导的分子和蛋白质众多, 其中 ATP 及 P2X 受体介导的疼痛信号机制引起了广泛关注和研究 (图 2)。P2X3 受体在初级传入神经, 特别是非肽能传导性 (nonpeptidergic) C 纤维中选择性表达, 啮齿动物的背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 神经元和三叉神经节 (trigeminal ganglion, TG) 中约 40%~70% 的中小型神经元表达 P2X3 受体^[10]。研究发现, PNI 后 P2X3 受体在 DRG 神经元中表达上调, 急性分离和原代培养的 DRG 神经元和 TG 神经元对 ATP 的响应电流呈现出快速失活的动力学性质, 且可被 P2X 非选择性拮抗剂 PPADS、Suramin 及 TNP-ATP 抑制^[11]。目前发现多种 P2X3 受体选择性抑制剂具有镇痛效果, P2X3 受体功能阻断可能对外周敏化造成的痛觉敏感有抑制作用。

1.2 中枢敏化

神经损伤导致脊髓背角 (spinal dorsal horn, SDH) 神经元的整体兴奋性增加, 这种兴奋性上调表现为神经元应对外界刺激所产生的动作电位输出增加, 加深机体的痛觉感受程度^[12]。损伤部位释放谷氨酸并激活突触后的 N-甲基-D-天门冬氨酸 (N-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 受体, 引起 Ca²⁺ 内流, Ca²⁺ 依赖性的蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 激活并磷酸化 NMDA 受体诱发 Ca²⁺ 内流进一步增加, 导



P2X3受体表达于外周感觉神经末端, 与P2X2受体形成异源三聚体。ATP在中枢神经系统感觉通路突触前通过P2X3受体增强谷氨酸释放, 突触后主要通过P2X4受体将痛觉信息上传至相应脑区。作用于外周感觉神经终端的ATP的来源包括肿瘤细胞、内皮细胞和巨噬细胞。

图2 P2X3受体介导的痛觉传递过程

致 SDH 神经元的敏感性加强^[13]。生理状态下对 SDH 神经元起抑制作用的 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 能和 / 或甘氨酸能中间神经元的功能受到抑制或被逆转为兴奋作用^[14-15], 此过程所引起的神经元兴奋性 - 抑制性作用失衡是导致神经元动作电位异常发放的原因之一。P2X1/5 异聚体与 NMDA 受体共同调节星形胶质细胞的钙信号^[16], P2X7 受体与 pannexin 1 共同放大 NMDA 受体功能并增强神经元的兴奋性^[17]。胶质细胞与神经元之间的相互作用也是导致中枢敏化的原因之一, 神经元释放 ATP 作为神经递质, 作用于小胶质细胞、星形胶质细胞、Schwan 细胞和少突胶质细胞上的 P2X 受体^[18]。神经损伤后, 小胶质细胞中 P2X4 和 P2X7 受体表达上调, P2X4 受体参与小胶质细胞激活过程, P2X7 受体介导小胶质细胞分泌促炎症因子 IL-1 β , 易化小胶质细胞参与的神经炎症反应^[19]。

2 P2X受体在神经病理性疼痛中的作用

P2X 受体中, 与神经痛有密切关系的亚型包括 P2X3、P2X4 和 P2X7^[20]。P2X3 受体表达于 DRG 神经元并参与疼痛信号转导。另外, P2X2 受体与 P2X3 受体形成的异源三聚体表达于外周感觉神经元^[21-22]; P2X4 受体主要表达于神经元和小胶质细胞, 小胶质细胞 P2X4 受体的功能激活是神经痛发病机制中的一个重要环节, 对调节痛觉神经元兴奋性和维持神经炎症反应都十分关键; P2X7 受体主要表达于巨噬细胞和肥大细胞等免疫细胞, 也表达于胶质细胞。促炎症因子 IL-1 β 的成熟和释放、细胞增殖和凋亡以及神经病变部位炎性环境的维持等过程都需要 P2X7 受体的参与^[6]。

2.1 P2X3受体介导神经病理性疼痛的痛觉信号转导

目前在多种动物模型中发现, P2X3 受体的激活能够引起痛觉相关行为: 大鼠后爪注射 ATP 和 α, β -MeATP (ATP 类似物) 后, 大鼠出现急性痛觉行为 (即抬起或舔舐后爪), 长期给予上述药物后, 痛觉行为随 P2X3 受体的脱敏而被抑制^[23]; 另一项研究发现, 在大鼠膝关节初级传入神经外围注射 α, β -MeATP 后可引起痛觉敏感, 且这种症状能被 P2X3 拮抗剂 A-317491 所抑制^[24]。

P2X3 受体表达于 SDH 的 lamina I 的内部, 参与调节突触前神经元释放神经递质。脊髓急性分离切片观察到 P2X3 受体激活会增加神经元的谷氨酸能兴奋性突触后电流 (excitatory postsynaptic current, EPSC), 鞘内注射 α, β -MeATP 激活 P2X3 受体能够

导致机械性痛觉敏感, 两种症状均能被 P2X3 受体抑制剂所抑制^[11]。上述现象可能是由于 ATP 激活 P2X 受体引起突触前谷氨酸释放增加, 继而促进兴奋性突触传递并加强了痛觉感受神经元的活动。

目前, P2X3 受体在感觉神经元中的组装形式得到了广泛的研究。一项研究表明, 大鼠的背根中对辣椒素敏感的小直径 DRG 神经元主要表达同聚 P2X3 受体, 而对辣椒素不敏感的中等直径神经元则表达 P2X2/3 异聚体^[21]。有报道指出, P2X2 受体在啮齿类动物和人类 DRG 神经元中的表达量有所差异, P2X2 受体几乎不在猴和人类的 DRG 神经元中表达^[25]。针对 P2X2/3 异聚体表达的种属差异的研究可能对进一步探究其介导的痛觉传导机制有推动作用。

其他受体对 P2X3 功能的调节效应可能影响其介导的痛觉感受传递过程。在家族性偏瘫型偏头痛 (familial hemiplegic migraine, FHM) 的小鼠模型中发现两种蛋白质对 P2X3 受体的功能有调节作用: 脑钠肽 (brain natriuretic peptide, BNP)- 钠肽受体 A (natriuretic peptide receptor-A, NPR-A) 的失活影响 P2X3 受体磷酸化并增强 TG 中 P2X3 受体的激活^[26]; 另一种参与痛觉感受传递的肽, 降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP), 可以调节 TG 中 P2X3 受体的表达以易化疼痛敏感过程^[27]。

炎症性疼痛模型中的一个主要的信号分子前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) 可以调节感觉神经元中 P2X3 受体的功能。研究表明, P2X3 受体介导的骨癌疼痛是通过肿瘤细胞释放 PGE₂ 引起的^[28]; PGE₂ 增强 P2X3 受体电流并能增强 α, β -MeATP 引起的机械性痛觉, 且这种现象可被 PKA 抑制剂 H89 阻断, 表明 PGE₂ 可能通过激活 PKA 相关信号通路引起 P2X3 受体功能上调^[29]。

有研究表明, P2X3 受体在神经元中与 TRPV1 受体形成功能性单位。P2X3 受体和 TRPV1 受体共同表达于 TG 神经元的的一个亚群中; 炎症性疼痛模型中 P2X3 受体激活可以增强辣椒素引起的自发性疼痛^[30]; 用 TRPV1 受体拮抗剂 AMG9810 预处理能够防止 α, β -MeATP 诱导的机械性疼痛, 这种现象可能是由于辣椒素引起的钙瞬时电位改变被 P2X3 受体的激动作用进一步放大。两种受体之间的相互作用可能源于 P2X3 受体对 TRPV1 受体磷酸化过程的影响^[31]。

2.2 小胶质细胞P2X4受体-BDNF-TrkB-KCC2途径介导的神经病理性疼痛机制

2005 年, Coull 等^[15]基于 ATP-P2X4 介导的小

胶质细胞激活提出了一个神经痛发病分子机制: ATP 激活小胶质细胞 P2X4 受体, 从而释放脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), 作用于脊髓 lamina I 神经元上表达的酪氨酸受体激酶 B (tyrosine receptor kinase B, TrkB) 并下调 K^+-Cl^- 转运体 2 (K^+-Cl^- cotransporter 2, KCC2) 功能, 细胞 Cl^- 梯度破坏使得 GABA 能中间神经元的阴离子电位发生逆转, 最终引起机体对伤害性感受的过度异常敏感。

大量实验表明, 神经损伤发生后, 脊髓小胶质细胞中 P2X4 受体的表达上调是维持疼痛的重要过程, 但研究的关键在于发现介导 P2X4 受体表达增加的分子机制^[19]。由于 SDH 的小胶质细胞的变化是对远端神经损伤的反应, 因此必然存在一系列的信号转导过程来实现小胶质细胞的状态变化, 其中包括转录因子对 *P2rx4* 基因转录的调节及细胞因子对 P2X4 受体表达的调节。

对 PNI 后的 SDH 小胶质细胞进行转录组分析后发现, 小胶质细胞中基因表达的关键转录因子之一, 干扰素调节因子 8 (interferon regulatory factor 8, IRF8) 的转录模式发生明显变化^[19, 32]。一系列选择性表达于小胶质细胞的基因的转录受到 IRF8 的调节, 包括 *P2rx4*、*Tlr2*、*P2ry12* 和 *Cx3cr1* 以及 *Il-1 β* 、*Ctss* 和 *Bdnf1*。其中 IRF8 诱导 *Irf5* 基因表达, IRF5 直接与 *P2rx4* 的启动子区域结合并诱导其表达; 细胞外基质成分纤连蛋白 (fibronectin, FN) 与整合素 (integrin) 对 P2X4 受体表达的调节已有报道^[33], 二者通过 Scr 家族酪氨酸蛋白激酶 Lyn 将 IRF5 运转到细胞核以调控 *P2rx4* 表达^[34]。PNI 后, *Irf8* 或 *Irf5* 的转录与 *P2rx4* 的表达量呈正相关^[35], 表明 IRF8-IRF5 转录信号级联是驱动小胶质细胞 P2X4 受体表达上调的关键过程。

PNI 发生后, 受损的 DRG 神经元释放集落刺激因子 1 (colony-stimulating factor 1, CSF1)^[36] 和 CCL21^[37] 激活小胶质细胞上的 CSF1 受体和 CCL 受体, 二者均促进 P2X4 受体的表达; 细胞因子 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 将静止状态的脊髓小胶质细胞转化为 P2X4 受体阳性的激活状态^[38]; 肥大细胞通过释放蛋白酶和 / 或胰蛋白酶, 激活蛋白酶激活受体 2 (protease-activated receptor 2, PAR2) 来调节 P2X4 受体的表达^[39]。

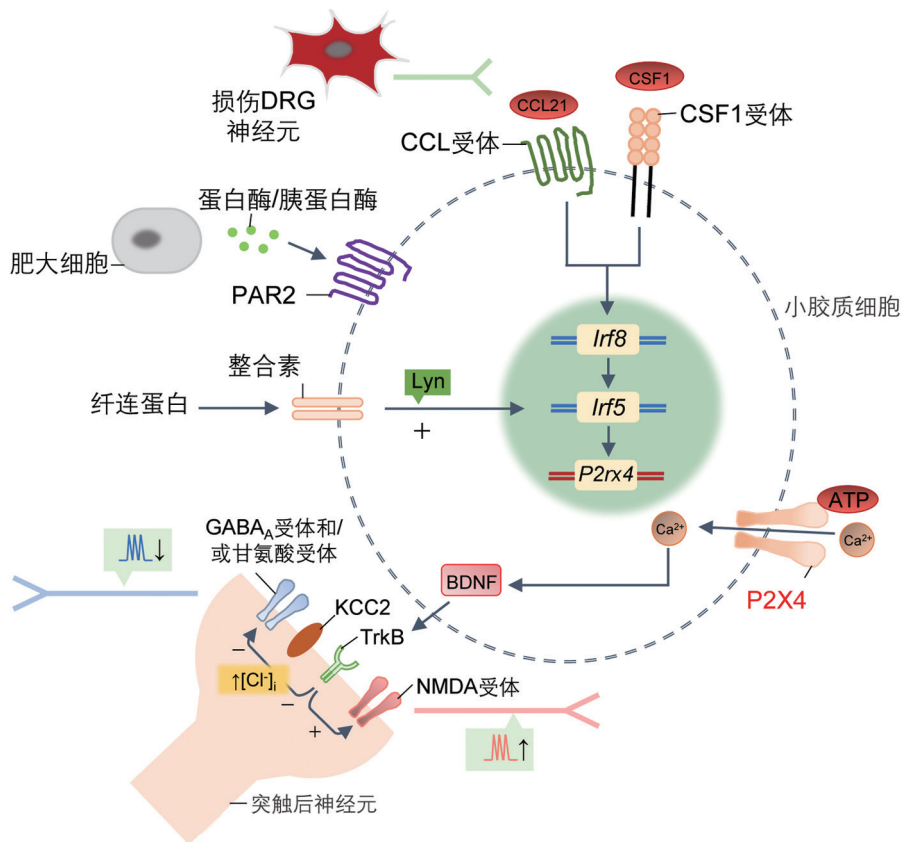
痛觉的感知从最初由外周神经系统受到物理刺激到最终在大脑皮层形成感觉, 整个过程跨越了从解剖学水平到细胞分子水平的桥梁。因此, 小胶质

细胞需要向脊髓中参与痛觉信号转导的神经元释放信号分子以传递信息。有研究表明, 向大鼠脊髓注射经过 ATP 处理的小胶质细胞可引起 BDNF 释放且能诱发动物的疼痛行为, 用 P2X4 受体抑制剂 TNP-ATP 处理后 BDNF 释放量减少, 表明 BDNF 是 PNI 后小胶质细胞所释放的一种关键分子; 用小干扰 RNA (small interfering ribonucleic acid, siRNA) 条件性敲除小胶质细胞中 BDNF 的表达可以防止 ATP 处理后的小胶质细胞所诱发的疼痛行为^[15, 40]。那么 BDNF 是如何调节下游信号通路以诱发神经痛的主要症状的呢? Coull 等^[15]的工作表明, PNI 后, 分离大鼠 DRG 神经元并给予 GABA 可检测到 Ca^{2+} 内流和胞内 Ca^{2+} 浓度上升, 说明神经元对 GABA 的响应被逆转兴奋性作用; 用 anti-TrkB 抗体处理后, 大鼠 DRG 神经元的阴离子电位恢复超极化, 鞘内注射 anti-TrkB 抗体可以防止 ATP 处理后的小胶质细胞所诱发的疼痛行为, 表明干扰 BDNF-TrkB 信号可以阻断 BDNF 的功能并废除 ATP 引起的小胶质细胞激活。

在 BDNF 导致下游神经元阴离子电位逆转的过程中, 神经元内 Cl^- 浓度的变化是一个关键的因素。正常状态下, 抑制性神经元如 GABA 能或甘氨酸能神经元在受到激活后, 胞内 Cl^- 浓度上升导致膜电位超极化并减少动作电位发放。 Cl^- 主要通过 KCC2 转运入胞, 而 BDNF-TrkB 信号能够下调 KCC2 的功能并破坏神经元的 Cl^- 稳态平衡, 削弱抑制性神经元的抑制作用 (图 3), 最终导致: (1) 痛觉神经元反应上调, 对同样的痛觉信号输入产生更大的动作电位输出, 造成痛觉过敏症状; (2) 痛觉神经元对痛觉信号处理产生变化, 机体将无害的外界刺激编码为伤害性感受信号, 导致触诱发痛; (3) 导致痛觉神经元持续性和 / 或自发性激活, 造成自发性疼痛的症状。

2.3 P2X7受体介导炎症因子释放与神经病理性疼痛

P2X7 受体是 P2X 受体家族中对 ATP 敏感性最低的亚型, 只有在高浓度 ATP 作用的条件下才能被激活, 这种性质使得 P2X7 受体能够在炎症环境下发挥作用^[20]。在中枢系统中, P2X7 受体主要表达于小胶质细胞, 通过介导促炎因子释放来支持小胶质细胞发挥免疫细胞功能^[6]。PNI 发生后, 转录组分析结果表明, 在脊髓中 P2X7 受体的 mRNA 和蛋白表达水平均上调且富集于小胶质细胞^[19, 41]; 而 *P2rx7* 敲除小鼠出现痛觉敏感性降低的现象^[42], 表明 P2X7 受体可能通过参与维持细胞炎症状态而介



PNI后, 受损DRG神经元释放的CSF1和CCL21作用于激活态小胶质细胞上表达的相应受体, 通过IRF8-IRF5转录信号级联诱导*P2rx4*基因表达增加, 纤连蛋白通过Scr家族酪氨酸蛋白酶Lyn调节*P2rx4*转录, 肥大细胞通过释放蛋白酶/胰蛋白酶调节P2X4受体表达。P2X4受体受到胞外ATP激活并驱动小胶质细胞释放BDNF, BDNF与TrkB作用以下调KCC2功能, 造成神经元电位去极化逆转, 并增加NMDA受体兴奋性, 最终导致GABA能和/或甘氨酸能神经元抑制作用下调, 神经元兴奋性总体上调, 痛觉信号转导增强。

图3 P2X4受体-BDNF-KCC2途径

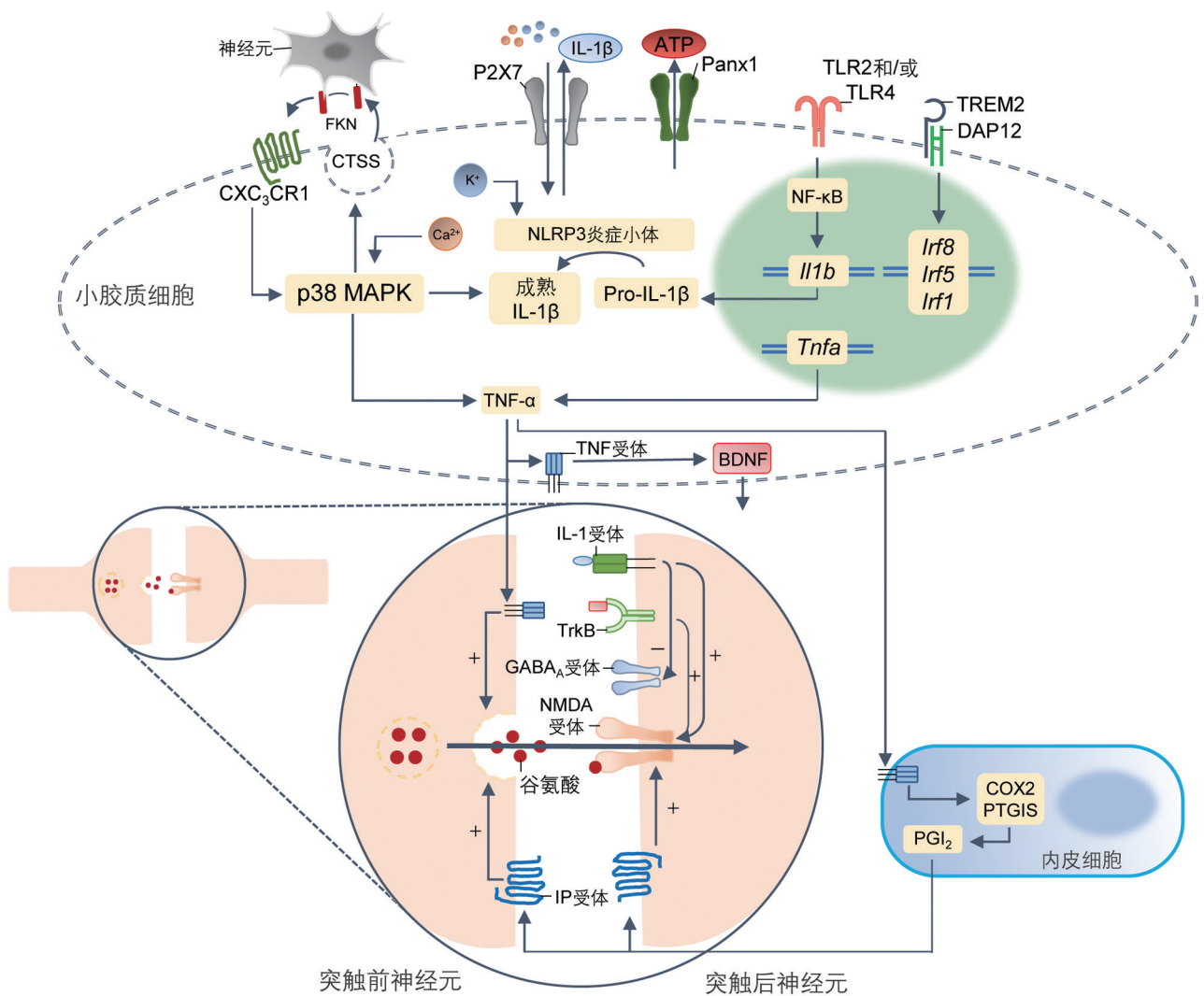
导痛觉信号转导。

神经痛发病机制中的一个关键环节是炎症因子和溶酶体蛋白的释放, 以及后续引起的致敏/致痛效应。炎症反应导致外周敏化并维持痛觉持续传导^[12], 其中关键的两种炎症因子——IL-1 β 和TNF- α 均由P2X7受体介导分泌。

一直以来, IL-1 β 被认为是神经病变、慢性炎症和慢性疼痛等过程中的关键炎症介质^[1, 12, 43]。动物实验表明, *P2rx7*敲除小鼠在注射完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)或慢性神经结扎(chronic constriction injury, CCI)后的IL-1 β 分泌水平较野生型小鼠有所减少^[44]; 有报道称, 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导脊髓中小胶质细胞上P2X7受体释放IL-1 β , 且此过程需要p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)信号通路参与^[45]; 另外有证据表明, P2X7

受体介导的IL-1 β 分泌对吗啡的镇痛作用有拮抗效果^[46-47], 这可以解释阿片类药物治疗神经痛效果不佳的现象。

目前已经提出了PNI后P2X7受体诱导小胶质细胞产生炎症因子的主要信号通路(图4)。Toll样受体2(toll-like receptor 2, TLR2)和/或TLR4及骨髓细胞触发受体2(triggering receptor expressed on myeloid cells 2, TREM2)分别通过NF- κ B通路^[48]和IRF8-IRF5转录级联通路^[49]诱导IL-1 β 表达。原IL-1 β (pro IL-1 β)经过NOD样受体家族LRR和pyrin结构域蛋白3(nod-like receptor family, pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)炎症小体的加工活化生成成熟的IL-1 β ^[50], P2X7受体激活所介导的K⁺有助于激活NLRP3炎症小体^[51]。小胶质细胞释放的IL-1 β 作用于SDH神经元, 能够减少突触后抑制作用并迅速增加兴奋性突触传递。在此过程中, P2X7



P2X7受体参与的信号通路促进小胶质细胞形成炎症环境。TREM2和TLR2 (和/或TLR4)促进IL-1β转录, 原IL-1β通过NLRP3炎症小体加工活化, 生成成熟的IL-1β。IL-1β作用于SDH神经元上的IL-1受体, 增加谷氨酸受体突触传递同时抑制GABA_A受体介导的突触抑制。P2X7受体激活引入的K⁺激活NLRP3炎症小体, Ca²⁺激活p38 MAPK信号通路, 溶酶体酶CTSS裂解SDH神经元上FKN并激活CX₃CR1, 通过p38 MAPK诱导IL-1β分泌; TNF-α通过p38 MAPK进行转录和分泌, 作用于小胶质细胞上的TNF受体可促进BDNF释放, 作用于突触后神经元可增强谷氨酸受体功能。TNF-α激活内皮细胞上TNF受体上调COX2和PTGIS生成, PGI₂激活IP受体可增加SDH神经元兴奋性突触传递。

图4 P2X7受体介导的炎症信号通路

受体本身也分泌炎症因子: pannexin 1 释放的 ATP 激活 P2X7 受体并介导细胞内外离子和大分子的物质交换^[52-53]。

另一种重要的炎症介质 TNF-α 的释放也需要 P2X7 受体参与。P2X7 受体激活后, 大量 Ca²⁺ 进入并激活 p38 MAPK 信号通路从而介导多种下游信号级联反应, 其中就包括 TNF-α 的表达^[45]。TNF 受体表达于 SDH 神经元、小胶质细胞、星形胶质细胞和内皮细胞。在 SDH 神经元表面, TNF-α 增加谷氨酸受体兴奋性突触传递^[54]; TNF-α 通过作用于

小胶质细胞上的 TNF-α 受体以增加 BDNF 分泌 (目前机制未知), 然后 BDNF 作用于 SDH 神经元上的 TrkB 来加强突触结构重塑和突触连接; 在内皮细胞上, TNF-α 受体激活可上调 COX2 和前列腺素 I₂ 合成酶 (prostaglandin I₂ synthase, PTGIS), 导致前列腺素 I₂ (prostaglandin I₂, PGI₂) 生成, PGI₂ 作用于表达在突触前后的 PGI₂ 受体 (IP 受体) 以增强谷氨酸受体功能^[55]。溶酶体释放半胱氨酸蛋白酶 (cathepsin S, CTSS) 至周围神经元或星形胶质细胞, 裂解其上结合的 Fractalkine (FKN), 释放的 FKN 反过来作用

于其位于小胶质细胞上的特异性受体 CX₃ 趋化因子受体 1 (CX₃-chemokine receptor 1, CX₃CR1) 再次激活 p38 MAPK 通路, 形成功能上的循环^[56-57]。

3 靶向P2X受体的小分子化合物对神经病理性疼痛的治疗作用

目前临床上用于治疗神经痛的药物除阿片类药物外, 一线用药主要选择抗癫痫类药物(表2), 如卡马西平、奥卡西平, 加巴喷丁和普瑞巴林; 或抗抑郁类药物, 如文拉法辛和度洛西汀等 5-羟色胺(5-Hydroxytryptamine, 5-HT) 和去甲肾上腺素再摄取抑制剂。精神类药物除发挥镇痛作用外, 往往容易引起各类不良反应, 如嗜睡、头痛、厌食、注意力涣散、体重减轻、记忆力下降和共济失调等, 长期使用会对患者的生理和精神状态产生较大的负面影响。阿片类药物如吗啡、芬太尼、舒芬太尼及羟考酮等, 尽管镇痛作用明显, 起效时间短, 但其成瘾性、耐受性和其他不良反应(呼吸抑制、尿潴留、呕吐、便秘、戒断反应和免疫力降低等)大大限制了这类药物在临床上的使用^[58-59], 并且阿片类药物普遍存在由于成瘾性和致欣快作用所导致的滥用现象^[1, 60], 因而进一步增加了其使用风险和安全隐患。现有药物的诸多副作用使得开发可用于临床治疗的新型镇痛剂成为一个迫切的问题, 因此, 对神经痛机制的

深入研究有助于发现新型药物靶标并为相应的新药设计提供新的思路。

近年来, 靶向 P2X 受体的药物开发受到了广泛关注并取得可喜的成果。虽然目前没有相关药物上市, 但 P2X3、P2X4 和 P2X7 受体三个亚型均有若干靶向小分子化合物进入临床试验(表3)。P2X3 受体拮抗剂 Gefapixant (AF-219) 主要针对难治性慢性咳嗽(refractory chronic cough, RCC) 和不明原因慢性咳嗽(unexplained chronic cough, UCC)^[61]。2021 年 FDA 受理了默克公司提交的新药申请, 除右美

表2 神经病理性疼痛的治疗药物及临床使用优先级

病理条件	药物	优先级
糖尿病后 NP	加喷他丁	一线
	普加巴林	一线
	文拉法辛	一线
疱疹后 NP	加喷他丁	一线
	普加巴林	一线
	阿片类	二线
三叉神经痛	卡马西平	一线
	奥卡西平	一线
中枢神经系统 NP	加喷他丁	一线
	普加巴林	一线
	曲马多	二线
	阿片类	二线

NP (neuropathic pain): 神经痛。

表3 P2X受体相关化合物的临床研究

亚型	化合物	临床阶段	适应症
P2X3	AF-130	I 期(2015)	高血压
P2X3	AF-219/Gefapixant/MK-7264	新药申请(2021)	RCC/UCC
P2X3	BAY-1817080	II 期(2018)	RCC
P2X3	BAY-1902607	I 期& II 期(2018-2019)	慢性咳嗽
P2X3	BLU-5937	II 期(2019)	慢性咳嗽
P2X3	S-600918	II 期(2019)	RCC
P2X4	NC-2600	I 期(2016)	神经痛
P2X7	JNJ-54175446	II 期(2019)	重度抑郁症
P2X7	JNJ-55308942	I 期(2017-2018)	情绪障碍
P2X7	RO-00466479	I 期(2018)	神经痛
P2X7	AZD9056	II 期(失败)	风湿性关节炎
P2X7	CE-224	I 期(失败)	风湿性关节炎
P2X7	EVT 401	I 期(2020)	免疫失调/炎症
P2X7	GSK1482160	I 期(2008-2009)	炎症痛
P2X7	AFC-5128	临床前(2017)	MS/CMT/神经痛

RCC (refractory chronic cough): 难治性慢性咳嗽; UCC (unexplained chronic cough): 不明原因慢性咳嗽; MS (multiple sclerosis): 多发性硬化症; CMT (Charcot-Marie-Tooth disease): 腓骨肌萎缩症。数据来源为NCBI临床试验数据库(<http://clinicaltrials.gov/>)和AdisInsight药物研发信息数据库(<http://adisinsight.springer.com/>)。标注时间为临床试验开始年份或起止年份。

沙芬以外, AF-219 有可能成为近 50 年来第一个有望治疗 RCC 和 UCC 的上市新药; P2X4 受体拮抗剂 NC-2600 已通过治疗神经痛的 I 期临床试验^[21], 拜耳公司开发的一个 P2X4 拮抗剂正在进行针对子宫内异位症的临床 I 期研究; P2X7 受体拮抗剂 JNJ-54175446 正在进行针对抑郁症的治疗, 计划将于 2022 年 6 月完成 II 期临床试验^[62]。未来更多靶向 P2X 受体家族的药物发现和设计将为创新药物开发提供新的视角。

目前, 多种 P2X 受体选择性化合物在神经痛模型中表现出潜在的治疗作用。P2X3 受体选择性抑制剂 A-317491 在 CFA 模型和 CCI 模型中均有抑制疼痛的效果^[7]; 在单碘乙酸诱导的骨关节炎 (osteoarthritis) 模型中, 大鼠口服 Gefapixant 后缩爪阈值 (paw withdrawal threshold, PWT) 明显升高^[63]; 在大鼠骨癌模型中, 预防性给予 P2X3 受体选择性拮抗剂 AF-353 可明显降低痛觉敏感症状^[64]; 目前正在进行 RCC 临床试验的 BAY-1817080 在 CFA 模型中具有镇痛效果, 并有望应用到针对子宫内异位症的治疗中^[65]。

P2X4 选择性拮抗剂 5-BDBD 通过阻断 P2X4 受体功能减少中枢敏化和痛觉敏感已有报道^[66]; 有研究表明, P2X4 受体拮抗剂帕罗西汀可抑制 PNI 引起的疼痛行为^[67]; 2021 年, 研究发现, 一种 P2X4 受体选择性拮抗剂 NP-1815-PX 可抑制 1 型单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus type 1, HSV-1) 接种引起的诱发疼痛行为, 并减少脊髓小胶质细胞的激活^[10]; 人源 P2X4 受体拮抗剂 COMR-2 可抑制 CCI 大鼠的疼痛症状并增强吗啡的镇痛作用^[68]。

PNI 后, 小胶质细胞 P2X7 受体的激活也能诱导 CCL3 和 CXCL2 等趋化因子分泌。在化疗引起的神经痛模型中, 发现给予紫杉醇治疗导致 P2X7 受体 mRNA 增加和 CCL3 表达上调, P2X7 受体拮抗剂 A438079 对紫杉醇诱导的机械性痛觉有预防作用^[32, 69]。在 DRG 慢性压迫 (chronic compression of DRG, CCD) 模型中发现 P2X7 受体表达上调, P2X7 选择性拮抗剂 BBG 和 A438079 可显著降低 DRG 神经元中 IL-1 β 和 IL-6 的水平^[70]; P2X7 选择性拮抗剂 AFC-5261 (AFC-5128) 于 2017 年开始进行针对神经痛治疗的临床前试验。

4 总结与展望

长久以来, 对痛觉传导机制和病理性疼痛发病机制的探究以及相关镇痛药的开发是基础研究和临

床治疗关注的重点问题。自 19 世纪初次从鸦片分离得到后, 吗啡至今仍是临床上常用的镇痛剂, 但吗啡可怕的成瘾性、耐受性和致欣快作用所导致的滥用现象严重阻碍了其继续应用于临床镇痛, 后来对吗啡进行改造所得到的阿片类药物也存在上述问题。因此, 找到新的靶标并开发一种安全性更高的替代药物是新药发现所关注和重点研究的问题。

揭示 P2X 受体介导的神经痛发病机制为针对神经痛治疗的药物发现提供了新的思路, 即可以通过设计药物调节发病机制中关键分子的功能, 继而达到干扰核心致病通路的目的。抑制 P2X4 或 P2X7 受体的表达或功能、阻断 BDNF 的表达或释放、阻断 BDNF-TrkB 信号转导对 KCC2 功能的下调或是直接上调 KCC2 的功能等, 都是具有潜在成药性的方法。其中, BDNF-TrkB 途径是一个经典信号通路, 在多种病理过程中起作用, 如神经退行性疾病、自闭症和抑郁症等, BDNF 影响中枢神经系统的突触可塑性、神经元活性和认知功能等, 因此靶向 BDNF-TrkB 信号通路的机制研究和新药发现将对多种疾病的治疗有所裨益。

随着单粒子冷冻电镜、X 射线衍射晶体学、膜片钳技术和计算机辅助药物设计等生物物理学技术的不断发展, P2X 受体的结构解析对相关药物发现和疾病治疗提供了巨大动力。2009 年和 2012 年分别得到的 zfP2X4 静息态和开放态结构为后续探究 P2X 受体的活性位点和门控机制奠定了基础^[6]; 2016 年得到了 hP2X3 与 TNP-ATP 的复合体结构^[71]; 2018 年, hP2X3 与 AF-219 的复合体结构及结合模式被提出^[72]; 2019 年获得了 rP2X7 全长结构并进一步揭示了 P2X 受体的门控机制^[73]。高分辨率的 P2X 受体晶体结构对指导靶向小分子的设计和优化具有重要意义, 之后也将进一步推动 P2X 受体领域的研究发展。

[参 考 文 献]

- [1] Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment. *Physiol Rev*, 2021, 101: 259-301
- [2] Mills SEE, Nicolson KP, Smith BH. Chronic pain: a review of its epidemiology and associated factors in population-based studies. *Br J Anaesth*, 2019, 123: e273-83
- [3] Humo M, Lu H, Yalcin I. The molecular neurobiology of chronic pain-induced depression. *Cell Tissue Res*, 2019, 377: 21-43
- [4] Burnstock G. Introduction to purinergic signalling in the brain. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1202: 1-12

- [5] Illes P, Burnstock G, Tang Y. Astroglia-derived ATP modulates CNS neuronal circuits. *Trends Neurosci*, 2019, 42: 885-98
- [6] Illes P, Müller CE, Jacobson KA, et al. Update of P2X receptor properties and their pharmacology: IUPHAR Review 30. *Br J Pharmacol*, 2021, 178: 489-514
- [7] Krajewski JL. P2X3-containing receptors as targets for the treatment of chronic pain. *Neurotherapeutics*, 2020, 17: 826-38
- [8] Calovi S, Mut-Arbona P, Sperlágh B. Microglia and the purinergic signaling system. *Neuroscience*, 2019, 405: 137-47
- [9] Ji RR, Xu ZZ, Gao YJ. Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13: 533-48
- [10] Inoue K, Tsuda M. Nociceptive signaling mediated by P2X3, P2X4 and P2X7 receptors. *Biochem Pharmacol*, 2021, 187: 114309
- [11] Burnstock G. Purine-mediated signalling in pain and visceral perception. *Trends Pharmacol Sci*, 2001, 22: 182-8
- [12] Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, et al. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*, 2009, 139: 267-84
- [13] Liao GY, Wagner DA, Hsu MH, et al. Evidence for direct protein kinase-C mediated modulation of N-methyl-D-aspartate receptor current. *Mol Pharmacol*, 2001, 59: 960-4
- [14] Ji RR, Nackley A, Huh Y, et al. Neuroinflammation and central sensitization in chronic and widespread pain. *Anesthesiology*, 2018, 129: 343-66
- [15] Coull JA, Beggs S, Boudreau D, et al. BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain. *Nature*, 2005, 438: 1017-21
- [16] Palygin O, Lalo U, Verkhratsky A, et al. Ionotropic NMDA and P2X1/5 receptors mediate synaptically induced Ca²⁺ signalling in cortical astrocytes. *Cell Calcium*, 2010, 48: 225-31
- [17] Bravo D, Maturana CJ, Pelissier T, et al. Interactions of pannexin 1 with NMDA and P2X7 receptors in central nervous system pathologies: possible role on chronic pain. *Pharmacol Res*, 2015, 101: 86-93
- [18] Fields RD, Burnstock G. Purinergic signalling in neuron-glia interactions. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7: 423-36
- [19] Inoue K, Tsuda M. Microglia in neuropathic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential. *Nat Rev Neurosci*, 2018, 19: 138-52
- [20] Bernier LP, Ase AR, Seguela P. P2X receptor channels in chronic pain pathways. *Br J Pharmacol*, 2018, 175: 2219-30
- [21] Inoue K. Nociceptive signaling of P2X receptors in chronic pain states. *Purinergic Signal*, 2021, 17: 41-7
- [22] Lewis C, Neidhart S, Holy C, et al. Coexpression of P2X2 and P2X3 receptor subunits can account for ATP-gated currents in sensory neurons. *Nature*, 1995, 377: 432-5
- [23] Bland-Ward PA, Humphrey PP. Acute nociception mediated by hindpaw P2X receptor activation in the rat. *Br J Pharmacol*, 1997, 122: 365-71
- [24] Teixeira JM, Parada CA, Tambeli CH. P2X3 and P2X2/3 receptors activation induces articular hyperalgesia by an indirect sensitization of the primary afferent nociceptor in the rats' knee joint. *Eur J Pharmacol*, 2020, 879: 173054
- [25] Serrano A, Mo G, Grant R, et al. Differential expression and pharmacology of native P2X receptors in rat and primate sensory neurons. *J Neurosci*, 2012, 32: 11890-6
- [26] Marchenkova A, Vilotti S, Ntamati N, et al. Inefficient constitutive inhibition of P2X3 receptors by brain natriuretic peptide system contributes to sensitization of trigeminal sensory neurons in a genetic mouse model of familial hemiplegic migraine. *Mol Pain*, 2016, 12: 1744806916646110
- [27] Fabbretti E, D'Arco M, Fabbro A, et al. Delayed upregulation of ATP P2X3 receptors of trigeminal sensory neurons by calcitonin gene-related peptide. *J Neurosci*, 2006, 26: 6163-71
- [28] Wu JX, Xu MY, Miao XR, et al. Functional up-regulation of P2X3 receptors in dorsal root ganglion in a rat model of bone cancer pain. *Eur J Pain*, 2012, 16: 1378-88
- [29] Wang C, Li GW, Huang LY. Prostaglandin E2 potentiation of P2X3 receptor mediated currents in dorsal root ganglion neurons. *Mol Pain*, 2007, 3: 22
- [30] Yu J, Du J, Fang J, et al. The interaction between P2X3 and TRPV1 in the dorsal root ganglia of adult rats with different pathological pains. *Mol Pain*, 2021, 17: 17448069211011315
- [31] Saloman JL, Chung MK, Ro JY. P2X₃ and TRPV1 functionally interact and mediate sensitization of trigeminal sensory neurons. *Neuroscience*, 2013, 232: 226-38
- [32] Yi MH, Liu YU, Liu K, et al. Chemogenetic manipulation of microglia inhibits neuroinflammation and neuropathic pain in mice. *Brain Behav Immun*, 2021, 92: 78-89
- [33] Tsuda M, Toyomitsu E, Komatsu T, et al. Fibronectin/integrin system is involved in P2X₄ receptor upregulation in the spinal cord and neuropathic pain after nerve injury. *Glia*, 2008, 56: 579-85
- [34] Tsuda M, Tozaki-Saitoh H, Masuda T, et al. Lyn tyrosine kinase is required for P2X₄ receptor upregulation and neuropathic pain after peripheral nerve injury. *Glia*, 2008, 56: 50-8
- [35] Zabala A, Vazquez-Villoldo N, Rissiek B, et al. P2X4 receptor controls microglia activation and favors remyelination in autoimmune encephalitis. *EMBO Mol Med*, 2018, 10: e8743
- [36] Yang G, Tan Q, Li Z, et al. The AMPK pathway triggers autophagy during CSF1-induced microglial activation and may be implicated in inducing neuropathic pain. *J Neuroimmunol*, 2020, 345: 577261
- [37] Inoue K. Purinergic signaling in microglia in the pathogenesis of neuropathic pain. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2017, 93: 174-82
- [38] Tsuda M, Masuda T, Kitano J, et al. IFN- γ receptor signaling mediates spinal microglia activation driving neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106: 8032-7
- [39] Yuan H, Zhu X, Zhou S, et al. Role of mast cell activation in inducing microglial cells to release neurotrophin. *J*

- Neurosci Res, 2010, 88: 1348-54
- [40] Inoue K. Role of the P2X4 receptor in neuropathic pain. *Curr Opin Pharmacol*, 2019, 47: 33-9
- [41] Zhang WJ, Zhu ZM, Liu ZX. The role and pharmacological properties of the P2X7 receptor in neuropathic pain. *Brain Res Bull*, 2020, 155: 19-28
- [42] Ren WJ, Illes P. Involvement of P2X7 receptors in chronic pain disorders. *Purinergic Signal*, 2022, 18: 83-92
- [43] Adinolfi E, De Marchi E, Orioli E, et al. Role of the P2X7 receptor in tumor-associated inflammation. *Curr Opin Pharmacol*, 2019, 47: 59-64
- [44] Chessell IP, Hatcher JP, Bountra C, et al. Disruption of the P2X7 purinoceptor gene abolishes chronic inflammatory and neuropathic pain. *Pain*, 2005, 114: 386-96
- [45] Mai L, Zhu X, Huang F, et al. p38 mitogen-activated protein kinase and pain. *Life Sci*, 2020, 256: 117885
- [46] Leduc-Pessah H, Weilinger NL, Fan CY, et al. Site-specific regulation of P2X7 receptor function in microglia gates morphine analgesic tolerance. *J Neurosci*, 2017, 37: 10154-72
- [47] Grace PM, Strand KA, Galer EL, et al. Morphine paradoxically prolongs neuropathic pain in rats by amplifying spinal NLRP3 inflammasome activation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: E3441-50
- [48] Lim H, Lee H, Noh K, et al. IKK/NF- κ B-dependent satellite glia activation induces spinal cord microglia activation and neuropathic pain after nerve injury. *Pain*, 2017, 158: 1666-77
- [49] Kobayashi M, Konishi H, Sayo A, et al. TREM2/DAP12 signal elicits proinflammatory response in microglia and exacerbates neuropathic pain. *J Neurosci*, 2016, 36: 11138-50
- [50] Heneka MT, Kummer MP, Latz E. Innate immune activation in neurodegenerative disease. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14: 463-77
- [51] Pelegrin P. P2X7 receptor and the NLRP3 inflammasome: Partners in crime. *Biochem Pharmacol*, 2021, 187: 114385
- [52] Aquilino MS, Whyte-Fagundes P, Zoidl G, et al. Pannexin-1 channels in epilepsy. *Neurosci Lett*, 2019, 695: 71-5
- [53] Kanneganti TD, Lamkanfi M, Kim YG, et al. Pannexin-1-mediated recognition of bacterial molecules activates the cryopyrin inflammasome independent of Toll-like receptor signaling. *Immunity*, 2007, 26: 433-43
- [54] Sommer C, Leinders M, Üçeyler N. Inflammation in the pathophysiology of neuropathic pain. *Pain*, 2018, 159: 595-602
- [55] Kanda H, Kobayashi K, Yamanaka H, et al. Microglial TNF α induces COX2 and PGI2 synthase expression in spinal endothelial cells during neuropathic pain. *eNeuro*, 2017, 4: ENEURO.0064-17.2017
- [56] Malcangio M. Role of the immune system in neuropathic pain. *Scand J Pain*, 2019, 20: 33-7
- [57] Nakanishi H. Cathepsin regulation on microglial function. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2020, 1868: 140465
- [58] Sánchez-Salcedo JA, Cabrera MME, Molina-Jiménez T, et al. Depression and pain: use of antidepressant. *Curr Neuropharmacol*, 2021:
- [59] Woolf CJ. Capturing novel non-opioid pain targets. *Biol Psychiatry*, 2020, 87: 74-81
- [60] Moore J, Gaines C. Gabapentin for chronic neuropathic pain in adults. *Br J Community Nurs*, 2019, 24: 608-9
- [61] Smith JA, Kitt MM, Morice AH, et al. Gefapixant, a P2X3 receptor antagonist, for the treatment of refractory or unexplained chronic cough: a randomised, double-blind, controlled, parallel-group, phase 2b trial. *Lancet Respir Med*, 2020, 8: 775-85
- [62] Cully M. Can anti-inflammatory strategies light up the dim depression pipeline? *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19: 224-5
- [63] Richards D, Gever JR, Ford AP, et al. Action of MK-7264 (gefapixant) at human P2X3 and P2X2/3 receptors and *in vivo* efficacy in models of sensitisation. *Br J Pharmacol*, 2019, 176: 2279-91
- [64] Kaan TK, Yip PK, Patel S, et al. Systemic blockade of P2X3 and P2X2/3 receptors attenuates bone cancer pain behaviour in rats. *Brain*, 2010, 133: 2549-64
- [65] Davenport AJ, Neagoe I, Bräuer N, et al. Eliapixant is a selective P2X3 receptor antagonist for the treatment of disorders associated with hypersensitive nerve fibers. *Sci Rep*, 2021, 11: 19877
- [66] Li L, Zou Y, Liu B, et al. Contribution of the P2X4 receptor in rat hippocampus to the comorbidity of chronic pain and depression. *ACS Chem Neurosci*, 2020, 11: 4387-97
- [67] Zarei M, Sabetkasaei M, Moini-Zanjani T. Effect of paroxetine on the neuropathic pain: a molecular study. *Iran Biomed J*, 2020, 24: 306-13
- [68] Wilkinson WJ, Kemp PJ. The carbon monoxide donor, CORM-2, is an antagonist of ATP-gated, human P2X4 receptors. *Purinergic Signal*, 2011, 7: 57-64
- [69] Ochi-ishi R, Nagata K, Inoue T, et al. Involvement of the chemokine CCL3 and the purinoceptor P2X7 in the spinal cord in paclitaxel-induced mechanical allodynia. *Mol Pain*, 2014, 10: 53
- [70] Fan X, Wang C, Han J, et al. Role of TRPV4-P2X7 pathway in neuropathic pain in rats with chronic compression of the dorsal root ganglion. *Neurochem Res*, 2021, 46: 2143-53
- [71] Kasuya G, Yamaura T, Ma XB, et al. Structural insights into the competitive inhibition of the ATP-gated P2X receptor channel. *Nat Commun*, 2017, 8: 876
- [72] Wang J, Wang Y, Cui WW, et al. Druggable negative allosteric site of P2X3 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: 4939-44
- [73] McCarthy AE, Yoshioka C, Mansoor SE. Full-length P2X₇ Structures reveal how palmitoylation prevents channel desensitization. *Cell*, 2019, 179: 659-70.e13