

DOI: 10.13376/j.cbbs/2025066

文章编号: 1004-0374(2025)06-0663-09

钾-氯协同转运蛋白2在神经病理性疼痛中的研究进展

张建青, 牛 钦, 陈 莹, 欧阳杰, 思永玉*

(昆明医科大学第二附属医院麻醉科, 昆明 650106)

摘 要: 神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 发病率高, 机制复杂, 现有的治疗方案疗效不佳, 严重影响患者的生活质量。越来越多的研究表明钾-氯协同转运蛋白 2 (K^+-Cl^- cotransporter, KCC2) 通过将细胞内钾离子和氯离子一起转运到细胞外, 维持胞内低氯水平, 是超极化抑制信号传导的核心。KCC2 表达下调或 KCC2 的活性降低, 导致胞内氯离子浓度增加, 神经元去极化, 神经系统兴奋性升高, 引起 NP。探究 KCC2 的作用机制有助于了解 NP 发病、预防和治疗。本文将从 KCC2 的结构和功能, 及其参与调控 NP 的相关机制展开讨论, 旨在为 NP 的预防和治疗提供新思路。

关键词: 钾-氯协同转运蛋白 2; 神经病理性疼痛; γ -氨基丁酸

中图分类号: Q42; R741 **文献标志码:** A

The research development of K^+-Cl^- cotransporter 2 in neuropathic pain

ZHANG Jian-Qing, NIU Qin, CHEN Ying, OUYANG Jie, SI Yong-Yu*

(Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650106, China)

Abstract: The incidence of neuropathic pain is high, and the pathogenesis is complex, and the current treatment regimens are not effective, which seriously affects the quality of life of patients. A growing number of studies have shown that K^+-Cl^- cotransporter 2 (KCC2) maintains intracellular low chlorine levels by transporting intracellular potassium and chloride ions together to the outside of the cell, which is the core of hyperpolarization inhibition of signal transduction. A decrease in the expression or activity of KCC2 will lead to an increase in intracellular chloride ion concentration, depolarization of neurons, an elevation in the excitability of the nervous system, and the occurrence of NP. Investigating the action mechanism of KCC2 is beneficial for comprehending the etiology, prophylaxis, and management of neuropathic pain. In this review, we will discuss the structure and function of KCC2 and its associated mechanisms that govern neuropathic pain, with the aim of offering novel insights into the prevention and treatment of this condition.

Key words: K^+-Cl^- cotransporter 2; neuropathic pain; γ -aminobutyrate

神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 被定义为“由躯体感觉神经系统的病变或疾病而直接造成的疼痛”, 主要表现为痛觉过敏、痛觉超敏、自发性疼痛和感觉异常等^[1], 分为中枢神经病理性疼痛和外周神经病理性疼痛。NP 是多因素相互作用的结果, 可伴有高级神经功能障碍, 如焦虑、抑郁和社交障碍等, 严重影响患者的生活质量, 给家庭乃至社会带来沉重负担。现有针对 NP 的治疗方法在很大程度上是无效的, 不能充分缓解疼痛且多不良反应^[2]。大量的研究旨在阐明 NP 的潜在机制并

开发新的治疗策略。研究表明, 痛觉神经元功能障碍导致下行抑制和兴奋之间失衡^[3], γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyrate, GABA) 和甘氨酸对突触的抑制作用减弱和 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-

收稿日期: 2024-10-22; 修回日期: 2024-11-28

基金项目: 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项(202101AY070001-149、202201AY070001-125); 云南省科技厅基础研究计划项目(202401AT-070024)

*通信作者: E-mail: siyongyu@kmmu.edu.cn

aspartic acid receptor, NMDAR) 活性增强是 NP 的关键机制^[4]。氯离子是体内含量最丰富的阴离子, 参与许多生理学过程, 包括维持细胞的正常功能和形态、调节酸碱平衡及膜电位稳定性等, 氯离子通道的数量和开闭状态还会影响神经元的兴奋性和兴奋阈值。当闭合的氯离子通道数量较多时, 神经元的兴奋性将会增强, 兴奋阈值降低, 神经元活化和传导能力增强。反之, 当打开的氯离子通道数量增多时, 神经元的兴奋性将减弱, 兴奋阈值升高, 神经元活化和传导能力降低。在神经系统中, 阳离子-氯离子联合转运体 (cation-chloride cotransporters, CCCs) 是氯离子稳态的主要调控蛋白之一。CCCs 家族有多个转运蛋白, 钠钾氯联合转运蛋白 -1 ($\text{Na}^+ \text{-K}^+ \text{-Cl}^-$ cotransporter 1, NKCC1) 和钾-氯协同转运蛋白 2 ($\text{K}^+ \text{-Cl}^-$ cotransporter 2, KCC2) 是主要的 CCCs, NKCC1 将氯离子、钠离子和钾离子运至胞内, KCC2 将细胞内钾离子和氯离子一起转运到细胞外, 共同调节氯离子稳态及细胞兴奋性^[5,6]。与多种细胞广泛表达的 NKCC1 相比, KCC2 的表达更具有神经系统特异性, 是超极化抑制信号传导的核心, 被认为是多种神经系统疾病的潜在治疗靶点, 在 NP 的发展过程中发挥重要作用^[3,5]。目前暂无靶向 KCC2 的药物应用于临床, 但基于大量且效果确切的临床前研究, 开发靶向 KCC2 的药物或探索调节 KCC2 的治疗手段将推动神经系统疾病治疗的发展。本文总结了离子通道 KCC2 的结构和生理功能, 及其参与调控 NP 的相关机制, 旨在为 NP 的预防及治疗提供新思路。

1 KCC2的结构与功能

KCC 家族包括 KCC1、KCC2、KCC3 和 KCC4, 其中 KCC2 由 *Slc12a5* 基因编码, 由 12 个跨膜结构域和胞内 N 和 C 末端组成^[7,8], N 末端是 KCC2 插入质膜所必需的, 而 C 末端对于 KCC2 的膜稳定性至关重要^[9]。其表达具有神经特异性, 广泛分布于嗅球、大脑皮质、海马、小脑以及脊髓等中枢神经系统。KCC2 有两种不同亚型, 即 KCC2a 和 KCC2b, N 末端结构差异带来了二者功能的差异, 在结构上, KCC2a 的 N 末端含有 40 个特有的氨基酸, 其中包含一个与 Ste20 相关的富含脯氨酸-丙氨酸蛋白激酶结合序列, 这种结构差异决定了 KCC2a 和 KCC2b 的功能不同: KCC2a 在脊髓和脑干中起重要作用, 能够影响脑发育和行为, 而 KCC2b 则主要负责调控 γ -氨基丁酸能神经元去极化到超极化的功能转

变^[10]。Uvarov 等^[11]研究表明, 在新生小鼠中枢神经系统中, 两种亚型各占 KCC2 蛋白总量的一半, 且分布模式相似; 成年后, KCC2b 成为成年脑中主要 KCC2 亚型, 其功能可能与脊髓和脑干的发育有关, 且主要介导 γ -氨基丁酸能神经元在发育过程中由兴奋向抑制的功能转变^[12]。

在中枢神经系统中, 绝大多数的抑制性突触是由 GABA 介导, 其余由甘氨酸介导。GABA 可以作用于两种受体: 促离子型受体 ($\text{GABA}_\text{A}\text{R}$ 、 $\text{GABA}_\text{C}\text{R}$) 和促代谢型受体 ($\text{GABA}_\text{B}\text{R}$)。GABA_AR 和 GABA_CR 均为门控型氯离子选择性通道, GABA 与其结合后, 选择性通透氯离子, 诱发细胞膜的超极化, 抑制突触后神经元的兴奋性。GABA_BR 通过 G 蛋白偶联激活第二信使引起钾离子通道开放, 或可抑制钙离子通道开放, 从而发挥抑制作用。KCC2 通过将氯离子转运至胞外来调控神经元氯离子浓度, 从而调控 GABA_AR 介导的突触传递。GABA 在未成熟神经元中是一种兴奋性神经递质, 未成熟神经元细胞表面 NKCC1 表达较高, 细胞内氯离子浓度比细胞外高, GABA 与 GABA_AR 结合, 选择性通透氯离子, 氯离子外流, 细胞膜去极化发挥兴奋性作用。成熟神经元内 KCC2 表达增加, 形成细胞外高内低的氯离子浓度差, GABA 激活 GABA_AR, 氯离子通道开放, 氯离子内流, 细胞膜超极化出现抑制性作用, GABA 在成熟神经元中转变为抑制性神经递质^[13-15]。

2 KCC2与多种神经系统疾病相关

研究表明, KCC2 的表达或活性降低与多种神经病理性疾病相关, 如癫痫^[12,16]、孤独症^[17]、Rett 综合征^[18]、亨廷顿病等。*Slc12a5* 基因编码 KCC2, *Slc12a5* 基因突变导致氯离子外流障碍被认为是癫痫发病的基础, KCC2 作为神经元中主要的氯离子排出通道, 它确保神经递质 GABA 和甘氨酸能够发挥其适当的抑制作用。KCC2 通过维持氯离子的超极化梯度, 在快速突触抑制过程中扮演着关键角色^[19]。*Slc12a5* 的错义突变会引起两方面的问题: 一是影响 KCC2 转运蛋白在细胞表面的正确表达和定位, 以及损害其翻译后修饰; 二是导致 KCC2 转运蛋白活性缺陷, 进而影响 KCC2 介导的氯离子排出, 降低细胞表面 KCC2 的表达量和蛋白质的糖基化水平^[20], 最终导致兴奋-抑制平衡崩溃而致病。Stöberg 等^[20]报道了 4 名癫痫伴游走性局灶性发作患儿均存在隐性 *Slc12a5* 基因突变, 鉴定的突变体影响 KCC2 蛋白的表达和糖基化, KCC2 介导

的氯离子外流功能受损。Kahle等^[21]研究亦证实,特发性全面性癫痫发病与*Slc12a5*基因突变有关。Prael等^[22]报道了一种KCC2的新型激动剂,它可以有效抑制神经元-神经胶质细胞共培养物的癫痫样活动。KCC2的直接激活还可以改善苯二氮草类药物难治性的癫痫持续状态,同时减少了小鼠癫痫相关的神经元损伤^[23]。KCC2的表达不足与孤独症发病有关,Haratizadeh等^[24]研究证实,KCC2表达异常是孤独症发病的关键因素,纳米促红细胞生成素可以通过KCC2改变丙戊酸钠诱导的孤独症大鼠模型的行为学变化;该研究还提出纳米促红细胞生成素和其他一些针对KCC2的干预措施作为早期治疗和预防孤独症的新方法。Bertoni等^[25]通过孤独症动物模型证实Magel2^{tm1.1Mus}缺陷小鼠幼崽的GABAergic发育序列延迟,这与KCC2的磷酸化修饰有关,而皮下注射催产素能恢复成年期小鼠的海马改变和社会记忆,这对患有孤独症谱系障碍的婴儿有治疗价值。Rett综合征是一种容易被误诊为孤独症的罕见遗传病,主要由X染色体上的单基因甲基CpG结合蛋白2(MeCP2)突变引起中枢神经系统成熟障碍。Rett综合征患者表现出一段正常发育期,随后大脑功能退化并出现孤独症行为。Tang等^[26]研究证实神经元上的KCC2是MeCP2的关键下游基因靶标。从Rett综合征患者的诱导多能干细胞分化而来的人类神经元表现出KCC2表达的显著缺陷,从而导致GABA功能从兴奋到抑制的转换延迟。在MeCP2缺陷神经元中过表达KCC2可以挽救GABA功能缺陷,表明KCC2在Rett综合征中发挥重要作用。亨廷顿病是一种常染色体显性遗传神经退行性疾病,其典型特征是纹状体和相关神经元通路退行性变导致的进行性运动不协调和自主运动。亨廷顿病患者早期表现出海马依赖的学习和记忆缺陷,以及后期的运动功能障碍。Dargaei等^[27]报道亨廷顿病模型小鼠海马中NKCC1表达增加,KCC2表达降低,模型小鼠出现空间记忆和学习能力下降。NKCC1抑制剂布美他尼的治疗可以有效缓解模型小鼠空间记忆和学习能力、行为学能力的下降。综上所述,深入探究KCC2的作用机制可为多种神经系统疾病的治疗提供新的思路和策略。

3 KCC2表达及功能变化参与神经病理性疼痛的发生与发展

3.1 KCC2与NP

感觉信息的传导依赖于兴奋性和抑制性神经递

质作用的平衡,伤害性刺激持续作用可减弱中枢痛觉抑制功能,产生去抑制效应,导致神经元过度兴奋,是病理性疼痛产生的基础,神经元中KCC2表达的缺失是GABA和甘氨酸受体介导的信号通路中枢去抑制的主要原因^[28,29]。KCC2广泛分布于中枢神经系统,大量研究表明,中枢和外周神经损伤后,神经元中KCC2表达均降低^[30,31],导致胞内氯离子浓度增加,GABA_AR激活后,由生理条件下介导氯离子内流转变为介导氯离子外流,神经细胞去极化,GABA_AR发挥兴奋性效应,GABA能去抑制,神经系统兴奋性升高,痛觉系统兴奋和抑制之间的良好平衡被打破,引起了NP。KCC2的功能受多种信号的调节,外周神经损伤、中枢神经损伤、糖尿病和周围炎症引起的NP是由于抑制系统功能障碍,而抑制系统功能障碍与脊髓神经元KCC2下调并行发生,这是由于KCC2表达减少导致氯离子转运受损,从而增强了氯离子反转电位。这提示KCC2表达的改变可能在NP的发生和(或)发展中起关键作用,KCC2下调可导致NP^[32]。因此,预防KCC2表达降低介导的GABA能去抑制可能是缓解NP的有效手段。

在动物模型的基础研究中,研究者们观察到,炎症性疼痛^[33]、痛觉敏化诱发^[34]、癌性疼痛^[35]、瑞芬太尼诱导的痛觉过敏^[30,36]、脑卒中后疼痛^[37]、糖尿病神经性疼痛^[38]等多种类型的NP过程均与KCC2的表达降低有关。但是在紫杉醇诱导的大鼠NP模型中,笔者课题组研究发现,脊髓背角KCC2表达并未发生明显变化,这可能是由于不同类型的NP的发病存在不同的病理生理基础。此外,科学家证实KCC2在脊神经结扎(spinal nerve ligation, SNL)和选择性神经损伤(spared nerve injury, SNI)雌性和雄性大鼠模型的NP发展中发挥同样重要的作用^[39]。

Coull等^[3]首次报道了NP与脊髓背角浅层细胞KCC2下调的相关性:外周神经损伤后,KCC2的表达下降,脊髓背角浅层神经元胞内氯离子浓度增加,氯离子稳态被破坏,GABA_A受体激活使得神经元去极化,中枢去抑制促进了NP的产生。在正常大鼠中,利用药物或siRNA阻断或抑制KCC2的表达,诱发了大鼠的机械痛觉过敏。Knabl等^[40,41]认为,即使在受伤后,机体仍有足够的抑制性张力,因此增强脊髓GABA能神经传递可能会减轻周围神经损伤引起的痛觉过敏。使用GABA_AR点突变敲入的小鼠进行研究表明,专门针对 $\alpha 2$ 和(或) $\alpha 3$

亚基的 GABA_AR 复合物的药物可以减轻炎性疼痛和 NP, 而不会产生与苯二氮草类药物有关的镇静催眠副作用。背根神经节作为疼痛传导的重要组成部分, Price 等^[42] 和 Payne 等^[43] 研究发现, KCC2 在背根神经节神经细胞、小直径和中等直径的背根神经节、坐骨神经中的表达较少, 且在 NP 动物模型中表达量无明显变化。因此, 对于 KCC2 在 NP 中作用的研究多聚焦脊髓背角以及脑内神经元。

近年来, 研究者在不同的中枢和周围神经损伤导致 NP 的动物模型中观察到实验动物的脊髓^[44]、前扣带回皮质^[45]、脑中缝中核^[46]内 KCC2 mRNA 和蛋白表达下调。Gagnon 等^[47] 筛选出一种可以降低细胞内氯离子浓度的化合物——CLP257, 该化合物可实现与普瑞巴林相当但无运动障碍的口服镇痛效果, 它是一种特异性 KCC2 激活剂, 研究证实 CLP257 可以逆转神经性疼痛大鼠中 KCC2 下调, 同时减轻 NP 大鼠的痛觉超敏反应。CLP257 有望作为一种新颖且有效的药物, 用于预防和治疗广泛的神经和精神类疾病。笔者认为, KCC2 的表达下调或其他机制导致 KCC2 的活性下降, 均可能与 NP 的产生有密切的联系, 目前已经发现的机制大多聚焦 KCC2 的表达下调与 NP 的相关性, 然而, KCC2 的活性改变或调节异常与 NP 的关系有待更多的研究来证实。

3.2 BDNF-TrkB与KCC2

脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 是体内含量最多的营养因子, BDNF 通过与酪氨酸蛋白激酶 B 受体 (tyrosine kinase receptor B, TrkB) 结合发挥作用, 研究证实 BDNF-TrkB-KCC2 信号通路参与 NP 的发生发展^[48], 其中心机制为 BDNF 诱导的背角神经元中 KCC2 的表达降低, 从而导致脊髓伤害感受途径内的神经元抑制, 进而引起疼痛。虽然目前对于 BDNF-TrkB 信号通路调节 KCC2 表达的机制尚不完全明确, 但多项研究显示, 神经病变或者损伤可激活该通路, 且钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 IV 型 (CaMKIV)、磷酸化环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (p-CREB) 和磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2 (p-ERK1/2) 在 BDNF-TrkB 通路级联反应激活和 KCC2 表达下调中起重要作用^[49, 51]。Ferrini 等^[52] 在吗啡诱导的痛觉过敏小鼠模型中的研究发现, 小胶质细胞中嘌呤受体 P2X 配体门控离子通道 4 (purinergic receptor P2X ligand gated ion channel 4, P2X4) 是一种 ATP 门控阳离子通道受体, 其表达变化与神经疼痛信号的传递有关, ATP 激活小胶质

细胞上的 P2X4 受体后促进 BDNF 释放, BDNF 与 TrkB 受体结合, 引起 KCC2 下调, 进而改变神经元的兴奋性, 脊髓小胶质细胞到神经元的 P2X4-BDNF-KCC2 通路是一个在不影响吗啡镇痛的情况下预防痛觉过敏的治疗靶点。Zhao 等^[53] 通过建立臂丛撕脱伤动物模型, 证实了 BDNF-TrkB-KCC2 通路在臂丛撕脱损伤引起的神经性疼痛中的作用, 通过鞘内注射 TrkB 特异性抑制剂 K-252a 逆转撕脱伤导致的脊髓背角中 KCC2 的下降和星形胶质细胞的活化增加, 从而缓解 NP。在坐骨神经慢性缩窄性损伤 (chronic constriction injury of the sciatic nerve, CCI) 诱导的 NP 动物模型中, Zarei 等^[54] 研究发现, CCI 导致了脊髓背角 BDNF 的表达增加, 小胶质细胞活化, KCC2 和 GABA_AR 表达下降, 神经损伤前使用小胶质细胞活化抑制剂米诺环素可抑制 BDNF 表达增加和 KCC2、GABA_AR 表达下降, 这表明 KCC2 表达下降与 NP 的发生有关。Jia 等^[55] 研究发现, 三氟-淫羊藿苷 (trifluoro-icaritin, ICTF) 可以通过 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体 ($\alpha 7$ nAChR) 介导的对脊髓中 BDNF-TrkB-KCC2 信号传导的抑制来抑制小胶质细胞激活, 减轻选择性神经损伤 (SNI) 引起的神经性疼痛, 该研究同时也表明 ICTF 可能是一种对抗神经性疼痛的药物。Hu 等^[56] 在坐骨神经分支选择损伤 (spared nerve injury, SNI) 模型中也验证了该结果, 即激活的小胶质细胞介导的 BDNF-TrkB 通路会导致神经元 KCC2 下调, 导致 SNI 小鼠异常疼痛。Ma 等^[57] 指出 BDNF 可激活脊髓背角中的环指 E3 泛素连接酶, 增强 KCC2 的酪氨酸磷酸化水平, 选择性增强 KCC2 与泛素连接酶之间的相互作用, 进而促进 KCC2 的泛素化修饰, 在小鼠脊神经结扎 (spinal nerve ligation, SNL) 介导的 NP 中, 阻断 TrkB 能够逆转神经损伤诱发的 KCC2 泛素化水平升高。一些特殊的非药物手段缓解 NP 可能与该通路有关, Shi 等^[58] 使用痛觉过敏启动 (HP) 模型研究电针 (electroacupuncture, EA) 是否可以通过 BDNF-TrkB 增加 KCC2 表达来抑制疼痛转变, 可观察到 HP 模型大鼠脊髓背角 BDNF 和 TrkB 磷酸化水平上调, 并伴随 KCC2 表达下调, 该研究证实 EA 通过介导 BDNF-TrkB 通路上调了脊髓背角 KCC2 的表达, 进一步缓解了 NP, 这与笔者课题组的研究结果一致。张秀娟等^[59] 通过探究高频重复经颅磁刺激 (repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS) 对 NP 模型大鼠疼痛的影响发现, rTMS 可以通过抑制小胶质细胞活性, 阻断 P2X4-BDNF-KCC2 通路,

即下调 P2X4 受体和 BDNF 表达,和上调 KCC2、GABA_AR 蛋白表达来减少小胶质细胞—神经元间的异常信息交流,从而发挥治疗 NP 的作用。同样地, Gao 等^[60]也发现 10 Hz rTMS 可以减轻 SCI 大鼠的痉挛状态,这可能归因于 KCC2 蛋白的上调,且早期 SCI 后高频 rTMS 治疗可能会取得更满意的疗效。Liao 等^[61]通过探讨低强度聚焦超声 (LIFU) 对 L4-L5 节段周围神经损伤 (PNI) 大鼠脊髓 NP 和 KCC2 表达的影响发现, LIFU 可以通过增加脊髓背角神经元 KCC2 的表达来有效缓解 PNI 大鼠的 NP 行为,这可能与 LIFU 抑制 CaMKIV-KCC2 通路的激活有关。BDNF 到神经元的 TrkB 信号通路被认为是调控 KCC2 最普遍的信号通路,通过激活小胶质细胞并引起 P2X4R 的激活,触发 BDNF 从小胶质细胞的释放; P2X4R-BDNF-TrkB-KCC2 级联反应下调 KCC2 的表达,导致神经元氯离子外排能力的降低,从而抑制 GABA 和 (或) 甘氨酸所介导的抑制作用,引发疼痛。这一通路把细胞外环境的改变、小胶质细胞的活化、神经元的兴奋性及疾病的发生联系起来,为未来防治 NP 提供基础理论依据。

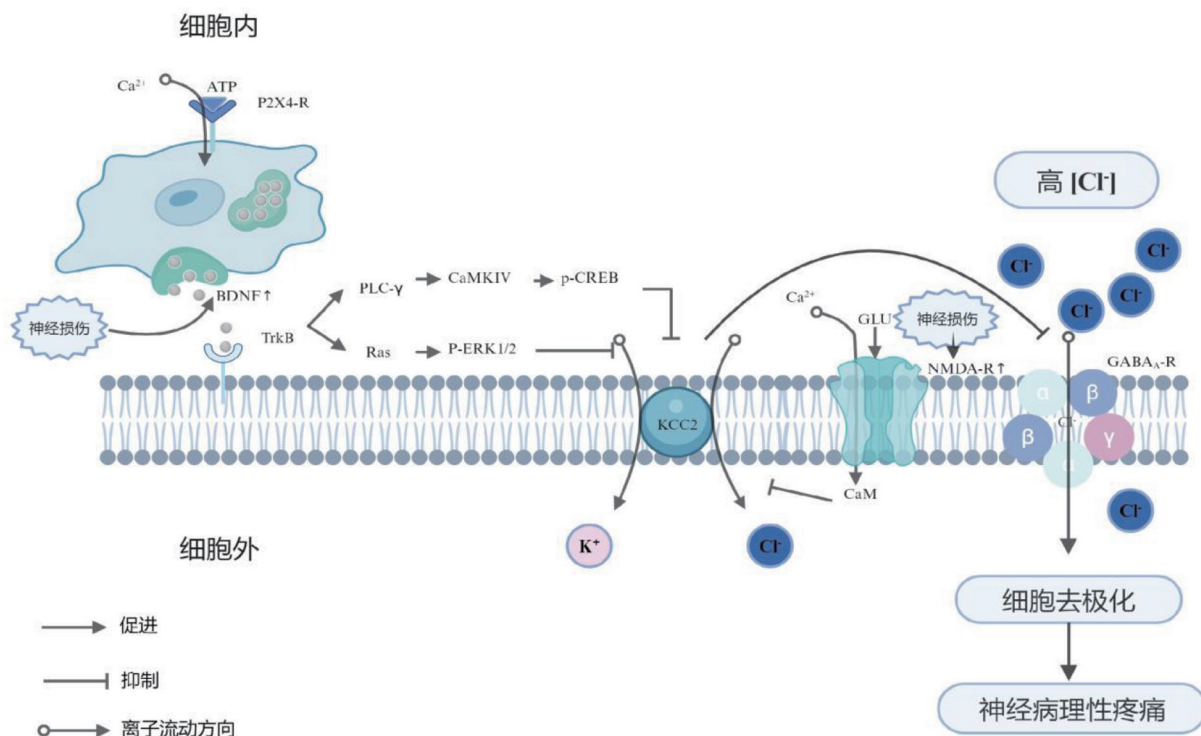
3.3 G蛋白偶联受体与 KCC2

NMDA 受体 (N-methyl-D-aspartic acid receptor) 即为 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (NMDAR), 是神经系统中重要的兴奋性离子型谷氨酸受体, 受电压、递质双重门控, 主要分布在中枢系统中, 在外周也有分布, 在神经系统发育及神经元回路的形成中发挥作用^[62]。神经损伤后会导致 NMDAR 的数量增加和活性增强, 导致钙离子流入细胞内, 胞内钙离子浓度快速增加, 刺激钙依赖性钙蛋白酶的活性, 钙蛋白酶促进 KCC2 蛋白水解切割, 使氯离子稳态失衡而出现痛觉超敏反应, 即钙蛋白酶介导 KCC2 的 C 末端裂解使 KCC2 表达下调, 并非抑制 KCC2 基因表达^[63, 64]。Zhou 等^[65]发现 SNL 大鼠脊髓背角 NMDAR 表达增加、KCC2 表达降低, 鞘内给予 NMDAR 拮抗剂 AP-5 可逆转 KCC2 表达的降低, 同时发现, 脊髓背角钙蛋白酶 mRNA 水平明显高于对侧, 通过鞘内给予钙蛋白酶可引起疼痛进一步加剧, 而使用钙蛋白酶抑制剂可使 KCC2 蛋白水平回升。由此可见, 外周神经损伤时, 脊髓背角活化的 NMDAR 可激活钙蛋白酶, 激活的钙蛋白酶进而水解 KCC2, 导致氯离子稳态失衡, 突触抑制作用被减弱, 从而促进病理性疼痛的发生。Huang 等^[66]的研究也证实了 KCC2 通过 NMDAR 以细胞类型和突触类型特异性的方式控制脊髓伤害性突触强度。

KCC2 抑制优先通过 $\alpha 2\delta-1$ (以前称为钙通道亚基) 增强脊髓兴奋性中间神经元中的突触前和突触后 NMDAR 活性。而且, 脊髓 KCC2 损伤通过 $\alpha 2\delta-1$ 偶联 NMDAR 触发疼痛超敏反应 (图 1)。

5-羟色胺 (5-HT) 最早是从血清中发现的, 又名血清素, 在大脑皮层及神经突触内含量很高, 是一种抑制性神经递质。Aby 等^[67]通过光遗传学技术来调控空白对照和 NP 动物的 5-HT 下行通路, 揭示了内源性血清素源性疼痛调节不稳定的机制。以已知的投射到脊髓背角的中缝核 5-HT 神经元为目标, 笔者发现这一特定群体可通过激活局部脊髓抑制性中间神经元来介导下行抑制。在神经损伤的动物中, 由于脊髓氯离子失调, 这种下行抑制转变为下行易化。通过使脊髓氯离子稳态正常化可以恢复 5-HT 神经元的下行抑制, 并使得 5-HT 再摄取抑制剂能够对 NP 产生镇痛效果。5-羟色胺 2A 受体 (5-HT_{2A}R) 已经在多种 NP 动物模型中被证实参与疼痛的调节, 具有镇痛作用, 激活 5-HT_{2A}R 可以上调 KCC2 表达, 恢复内源性抑制。Bos 等^[68]研究发现, 5-HT_{2A}R 对 5-HT 的激活可超极化脊髓运动神经元的抑制性突触后电位, 增加细胞膜上 KCC2 的表达, 从而恢复大鼠脊髓损伤后的内源性抑制和减轻痉挛。因此, 通过靶向 5-HT_{2A}R 上调 KCC2 的表达, 在涉及氯离子稳态改变的神经系统疾病中具有潜在的治疗效应。Sánchez 等^[69]研究对比了脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 介导的 NP 和 SNI 介导的 NP, 发现鞘内注射 5-HT_{2A}R 特异性激活剂 TCB-2 能够缓解 SCI 大鼠的痛觉过敏, 却不能缓解 SNI 大鼠的疼痛, 即使 SNI 大鼠脊髓背角 KCC2 表达也略有增高。手术诱发的神经性疼痛 (surgically-induced neuropathic pain, SNPP) 是一种持续性疼痛, 持续性 NP 会导致一些神经退行性病变, 而 Yang 等^[70]却通过 SNPP 的大鼠模型证实, 鞘内注射 TCB-2 可有效激活 KCC2 表达, 显著缓解 CCI 大鼠的机械和热痛觉过敏, 该研究还表明 TCB-2 介导的 KCC2 再激活可能会减缓大鼠神经退行性变的进一步发展, 这表明未来可通过该路径减少临床术后神经性疼痛和治疗神经退行性疾病。两项研究结果差异的原因可能与外周神经损伤动物模型以及鞘内注射药物剂量有关, 但可以明确的是 5-HT_{2A}R 特异性激活剂 TCB-2 可有效上调脊髓背角 KCC2 的表达。

腺苷是一种内源性嘌呤核苷, 其作用是通过激活四种 G 蛋白偶联腺苷受体 (AR) 亚型 (A₁、A_{2A}、



模式图由BioRender.com生成, <https://BioRender.com/d96n231>。

图1 KCC2表达降低介导NP发生

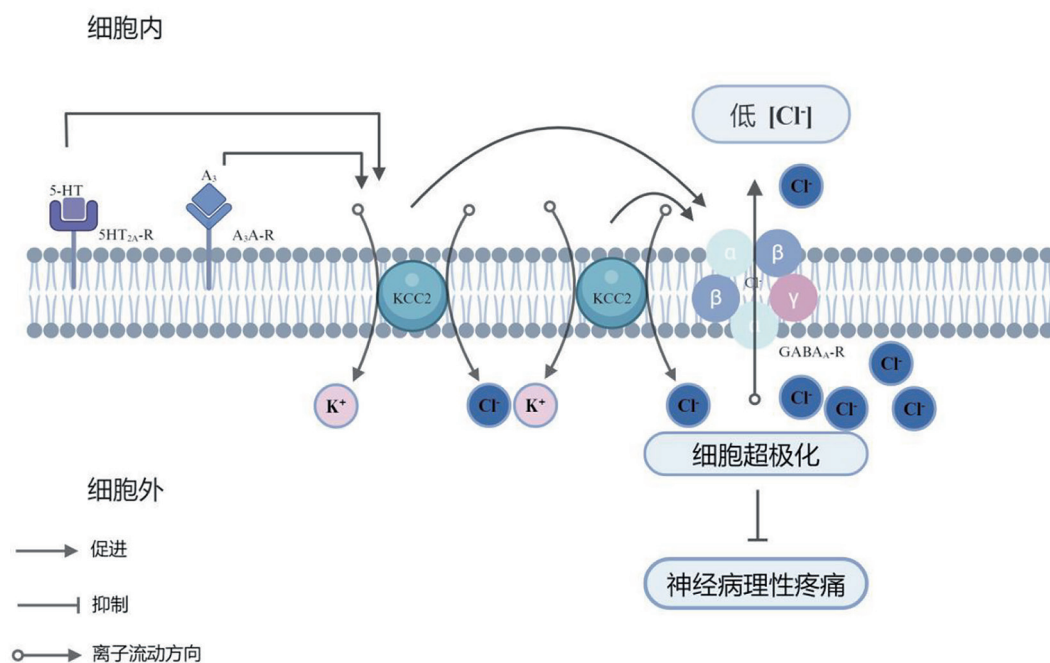
A_{2B} 和 A_3 来调节兴奋性神经传递、持续神经元信号传导以及神经胶质细胞活化和增殖,在中枢神经系统对疼痛的处理中起着不可或缺的作用。既往认为它通过 A_1 和 A_{2A} 受体亚型发挥抗伤害感受作用,它们的治疗效用受到不良心血管副作用的限制。近来 A_3 受体也被认为具有临床前抗伤害作用^[71-73], A_3 腺苷受体 (A_3AR) 激活通过降低脊髓宽动态范围神经元的兴奋性,并通过激活血清素能和去甲肾上腺素能延髓脊髓回路,产生脊髓上部脊髓痛觉抑制,从而减少了脊髓疼痛处理,而且启动 A_3AR 机制不会改变非神经病变动物的痛觉阈值,也不会促进镇痛耐受性或固有奖励^[72]。Ford 等^[74]证实 A_3AR 激动剂在啮齿类动物 NP 模型中具有有效的镇痛作用,通过 CCI 诱导的 NP 的小鼠和大鼠模型,研究者发现, $GABA_A$ 受体介导的信号传导可因 KCC2 介导的氯离子梯度的改变而进一步中断。同时,研究证明了 A_3AR 激动剂 (IB-MECA 和 MRS5698) 通过保护 KCC2 功能直接和间接增加了 GABA 抑制性神经传递的调节,进而逆转 NP。而脊髓给予 $GABA_A$ 拮抗剂荷包牡丹碱逆转了 A_3AR 介导的镇痛效应 (图 2)。

综上,神经损伤后, NMDAR 表达增加,刺激钙依赖性钙蛋白酶的活性,激活的钙蛋白酶对

KCC2 蛋白进行剪切,使氯离子稳态失衡,引起痛觉超敏反应; 5-HT 作为一种抑制性神经递质,其 2A 受体激活后可上调 KCC2 表达,产生镇痛效果;腺苷是一种内源性嘌呤核苷,其 A_3 腺苷受体激活后可通过保护 KCC2 功能逆转 NP。未来有望通过调控相关受体活性抑制 KCC2 下调,从而达到防治 NP 的效果。

4 总结与展望

综上所述, KCC2 在 NP 的发生发展中发挥重要作用, KCC2 表达下降促进了 NP 的发生,保护 KCC2 的功能、增加 KCC2 的表达或增强其活性,可以有效缓解、逆转 NP 的痛觉过敏, KCC2 有望成为 NP 的治疗新方向和靶点。动物研究表明 KCC2 激动剂——CLP257 可有效缓解 NP 大鼠的痛觉过敏^[47]; 鞘内注射 TrkB 特异性抑制剂 K-252a 可以逆转撕脱伤导致的脊髓背角中 KCC2 的下降和星形胶质细胞的活化增加,从而缓解 NP^[53]; 鞘内给予 NMDAR 拮抗剂 AP-5 可逆转 KCC2 表达的降低以缓解 NP^[65]; 5-HT_{2A}R 特异性激活剂 TCB-2 可以有效激活 KCC2 表达,缓解 CCI 大鼠的机械和热痛觉过敏^[70]; A_3AR 激动剂 (IB-MECA 和 MRS5698) 通过保护 KCC2 功能可以逆转 NP^[74]; 此外,电针^[75]、



模式图由BioRender.com生成, <https://BioRender.com/d96n231>。

图2 KCC2表达上调缓解NP

经颅磁刺激^[59, 60]、低强度聚焦超声(LIFU)^[61]等非药物治疗方案对NP均有一定的疗效,且镇痛机制也可能与KCC2表达或活性增强相关,这对未来通过靶向调控KCC2来预防与治疗NP提供可能。上述研究已在动物模型中得到验证:干预KCC2的表达可以缓解或逆转NP,这为临床上治疗NP及一些神经系统疾病提供了基础。然而,多数研究均提示BDNF-TrkB通路、G蛋白偶联相关受体激活与KCC2表达存在相关性,其作用机理尚不完全明确,也未比较各种通路的综合作用,这些通路是否代表疼痛传递的不同组成部分或相互作用,未来需要结合基础与临床研究,进一步验证KCC2作为治疗靶点的有效性和安全性。

[参 考 文 献]

- [1] Treede RD, Rief W, Barke A, et al. Chronic pain as a symptom or a disease: the IASP Classification of Chronic Pain for the International Classification of Diseases (ICD-11). *Pain*, 2019, 160: 19-27
- [2] Alles SRA, Smith PA. Etiology and pharmacology of neuropathic pain. *Pharmacol Rev*, 2018, 70: 315-47
- [3] Coull JAM, Boudreau D, Bachand K, et al. Trans-synaptic shift in anion gradient in spinal lamina I neurons as a mechanism of neuropathic pain. *Nature*, 2003, 424: 938-42
- [4] Li L, Chen SR, Chen H, et al. Chloride homeostasis critically regulates synaptic NMDA receptor activity in neuropathic pain. *Cell Rep*, 2016, 15: 1376-83
- [5] Wu H, Che X, Tang J, et al. The K^+-Cl^- cotransporter KCC2 and chloride homeostasis: potential therapeutic target in acute central nervous system injury. *Mol Neurobiol*, 2016, 53: 2141-51
- [6] Delpire E, Gagnon KB. $Na^+-K^+-2Cl^-$ Cotransporter (NKCC) physiological function in nonpolarized cells and transporting epithelia. *Compr Physiol*, 2018, 8: 871-901
- [7] Rivera C, Voipio J, Payne JA, et al. The K^+/Cl^- cotransporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature*, 1999, 397: 251-5
- [8] Payne JA, Stevenson TJ, Donaldson LF. Molecular characterization of a putative K-Cl cotransporter in rat brain. A neuronal-specific isoform. *J Biol Chem*, 1996, 271: 16245-52
- [9] Friedel P, Ludwig A, Pellegrino C, et al. A novel view on the role of intracellular tails in surface delivery of the potassium-chloride cotransporter KCC2. *eNeuro*, 2017, 4: 0055-17
- [10] Markkanen M, Ludwig A, Khirug S, et al. Implications of the N-terminal heterogeneity for the neuronal K-Cl cotransporter KCC2 function. *Brain Res*, 2017, 1675: 87-101
- [11] Uvarov P, Ludwig A, Markkanen M, et al. Coexpression and heteromerization of two neuronal K-Cl cotransporter isoforms in neonatal brain. *J Biol Chem*, 2009, 284: 13696-704
- [12] van van Hugte EJH, Schubert D, Nadif Kasri N. Excitatory/inhibitory balance in epilepsies and neurodevelopmental disorders: depolarizing γ -aminobutyric acid as a common mechanism. *Epilepsia*, 2023, 64: 1975-90
- [13] Zhu S, Noviello CM, Teng J, et al. Structure of a human synaptic GABA_A receptor. *Nature*, 2018, 559: 67-72

- [14] Olde EA, Meijer JH, Michel S. Chloride cotransporter KCC2 is essential for GABAergic inhibition in the SCN. *Neuropharmacology*, 2018, 138: 80-6
- [15] Bannai H, Levi S, Schweizer C, et al. Activity-dependent tuning of inhibitory neurotransmission based on GABA_AR diffusion dynamics. *Neuron*, 2009, 62: 670-82
- [16] Buchin A, Chizhov A, Huberfeld G, et al. Reduced efficacy of the KCC2 cotransporter promotes epileptic oscillations in a subiculum network model. *J Neurosci*, 2016, 36: 11619-33
- [17] Tyzio R, Nardou R, Ferrari DC, et al. Oxytocin-mediated GABA inhibition during delivery attenuates autism pathogenesis in rodent offspring. *Science*, 2014, 343: 675-9
- [18] Tang BL. The expanding therapeutic potential of neuronal KCC2. *Cells*, 2020, 9: 240
- [19] Fukuda A, Watanabe M. Pathogenic potential of human SLC12A5 variants causing KCC2 dysfunction. *Brain Res*, 2019, 1710: 1-7
- [20] Stödberg T, McTague A, Ruiz AJ, et al. Mutations in SLC12A5 in epilepsy of infancy with migrating focal seizures. *Nat Commun*, 2015, 6: 8038
- [21] Kahle KT, Merner ND, Friedel P, et al. Genetically encoded impairment of neuronal KCC2 cotransporter function in human idiopathic generalized epilepsy. *EMBO Rep*, 2014, 15: 766-74
- [22] Prael IF, Kim K, Du Y, et al. Discovery of small molecule KCC2 potentiators which attenuate *in vitro* seizure-like activity in cultured neurons. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 912812
- [23] Jarvis R, Josephine Ng SF, Nathanson AJ, et al. Direct activation of KCC2 arrests benzodiazepine refractory status epilepticus and limits the subsequent neuronal injury in mice. *Cell Rep Med*, 2023, 4: 100957
- [24] Haratizadeh S, Ranjbar M, Darvishzadeh-Mahani F, et al. The effects of postnatal erythropoietin and nano-erythropoietin on behavioral alterations by mediating K-Cl co-transporter 2 in the valproic acid-induced rat model of autism. *Dev Psychobiol*, 2023, 6: e22353
- [25] Bertoni A, Schaller F, Tyzio R, et al. Oxytocin administration in neonates shapes hippocampal circuitry and restores social behavior in a mouse model of autism. *Mol Psychiatry*, 2021, 26: 7582-95
- [26] Tang X, Kim J, Zhou L, et al. KCC2 rescues functional deficits in human neurons derived from patients with Rett syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113: 751-6
- [27] Dargaei Z, Bang JY, Mahadevan V, et al. Restoring GABAergic inhibition rescues memory deficits in a Huntington's disease mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115: E1618-26
- [28] Rodríguez-Palma EJ, De la Luz-Cuellar YE, Islas-Espinoza AM, et al. Activation of $\alpha 6$ -containing GABA_A receptors induces antinociception under physiological and pathological conditions. *Pain*, 2023, 164: 948-66
- [29] Iura A, Takahashi A, Hakata S, et al. Reductions in tonic GABAergic current in substantia gelatinosa neurons and GABA_A receptor δ subunit expression after chronic constriction injury of the sciatic nerve in mice. *Eur J Pain*, 2016, 20: 1678-88
- [30] Dai S, Qi Y, Fu J, et al. Dexmedetomidine attenuates persistent postsurgical pain by upregulating K⁺-Cl⁻ cotransporter-2 in the spinal dorsal horn in rats. *J Pain Res*, 2018, 11: 993-1004
- [31] Pellegrino C, Gubkina O, Schaefer M, et al. Knocking down of the KCC2 in rat hippocampal neurons increases intracellular chloride concentration and compromises neuronal survival. *J Physiol*, 2011, 589: 2475-96
- [32] Kitayama T. The role of K⁺-Cl⁻-cotransporter-2 in neuropathic pain. *Neurochem Res*, 2018, 43: 110-5
- [33] Takahara-Yamauchi R, Ikemoto H, Okumo T, et al. Analgesic effect of voluntary exercise in a rat model of persistent pain via suppression of microglial activation in the spinal cord. *Biomed Res*, 2021, 42: 67-76
- [34] Ferrini F, Lorenzo LE, Godin AG, et al. Enhancing KCC2 function counteracts morphine-induced hyperalgesia. *Sci Rep*, 2017, 7: 3870
- [35] Gao JL, Peng K, Shen MW, et al. Suppression of WNK1-SPAK/OSR1 attenuates bone cancer pain by regulating NKCC1 and KCC2. *J Pain*, 2019, 20: 1416-28
- [36] Gao Y, Zhan W, Jin Y, et al. KCC2 receptor upregulation potentiates antinociceptive effect of GABA_AR agonist on remifentanyl-induced hyperalgesia. *Mol Pain*, 2022, 18: 17448069221082880
- [37] Huang A, Shih HC, Shyu BC. The P2X7 hypothesis of central post-stroke pain. *Int J Mol Sci*, 2024, 25: 6577
- [38] Ma Y, Chen J, Chen C, et al. Suppression of HCN channels in the spinal dorsal horn restores KCC2 expression and attenuates diabetic neuropathic pain. *Neurosci Lett*, 2024, 822: 137626
- [39] Mapplebeck JCS, Lorenzo LE, Lee KY, et al. Chloride dysregulation through downregulation of KCC2 mediates neuropathic pain in both sexes. *Cell Rep*, 2019, 28: 590-6
- [40] Knabl J, Witschi R, Hosl K, et al. Reversal of pathological pain through specific spinal GABA_A receptor subtypes. *Nature*, 2008, 451: 330-4
- [41] Knabl J, Zeilhofer UB, Crestani F, et al. Genuine antihyperalgesia by systemic diazepam revealed by experiments in GABA_A receptor point-mutated mice. *Pain*, 2009, 141: 233-8
- [42] Price TJ, Hargreaves KM, Cervero F. Protein expression and mRNA cellular distribution of the NKCC1 cotransporter in the dorsal root and trigeminal ganglia of the rat. *Brain Res*, 2006, 1112: 146-58
- [43] Payne JA, Rivera C, Voipio J, et al. Cation-chloride cotransporters in neuronal communication, development and trauma. *Trends Neurosci*, 2003, 26: 199-206
- [44] Miletic G, Miletic V. Loose ligation of the sciatic nerve is associated with TrkB receptor-dependent decreases in KCC2 protein levels in the ipsilateral spinal dorsal horn. *Pain*, 2008, 137: 532-9
- [45] Shih HC, Kuan YH, Shyu BC. Targeting brain-derived neurotrophic factor in the medial thalamus for the treatment of central poststroke pain in a rodent model. *Pain*, 2017, 158: 1302-13
- [46] Zhang Z, Wang X, Wang W, et al. Brain-derived

- neurotrophic factor-mediated downregulation of brainstem K^+-Cl^- cotransporter and cell-type-specific GABA impairment for activation of descending pain facilitation. *Mol Pharmacol*, 2013, 84: 511-20
- [47] Gagnon M, Bergeron MJ, Lavertu G, et al. Chloride extrusion enhancers as novel therapeutics for neurological diseases. *Nat Med*, 2013, 19: 1524-8
- [48] Richner M, Pallesen LT, Ulrichsen M, et al. Sortilin gates neurotensin and BDNF signaling to control peripheral neuropathic pain. *Sci Adv*, 2019, 5: v9946
- [49] Kaila K, Price TJ, Payne JA, et al. Cation-chloride cotransporters in neuronal development, plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*, 2014, 15: 637-54
- [50] Rivera C, Voipio J, Thomas-Crusells J, et al. Mechanism of activity-dependent downregulation of the neuron-specific K-Cl cotransporter KCC2. *J Neurosci*, 2004, 24: 4683-91
- [51] 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
- [52] Ferrini F, Trang T, Mattioli TM, et al. Morphine hyperalgesia gated through microglia-mediated disruption of neuronal Cl^- homeostasis. *Nat Neurosci*, 2013, 16: 183-92
- [53] Zhao S, Wang F, Wang L, et al. Involvement of the BDNF-TrkB-KCC2 pathway in neuropathic pain after brachial plexus avulsion. *Brain Behav*, 2022, 12: e2464
- [54] Zarei M, Sabetkasaei M, Moini ZT, et al. The effect of microglial inhibition on the expression of BDNF, KCC2, and GABAA receptor before and after the establishment of CCI-induced neuropathic pain model. *Fundam Clin Pharmacol*, 2022, 36: 277-85
- [55] Jia D, Liu G, Sun Y, et al. Trifluoro-icaritin ameliorates spared nerve injury-induced neuropathic pain by inhibiting microglial activation through $\alpha 7nAChR$ -mediated blockade of BDNF/TrkB/KCC2 signaling in the spinal cord of rats. *Biomed Pharmacother*, 2023, 157: 114001
- [56] Hu Z, Yu X, Chen P, et al. BDNF-TrkB signaling pathway-mediated microglial activation induces neuronal KCC2 downregulation contributing to dynamic allodynia following spared nerve injury. *Mol Pain*, 2023, 19: 814386719
- [57] Ma JJ, Zhang TY, Diao XT, et al. BDNF modulated KCC2 ubiquitylation in spinal cord dorsal horn of mice. *Eur J Pharmacol*, 2021, 906: 174205
- [58] Shi M, Zhou J, Hu R, et al. EA participates in pain transition through regulating KCC2 expression by BDNF-TrkB in the spinal cord dorsal horn of male rats. *Neurobiol Pain*, 2023, 13: 100115
- [59] 张秀娟, 鲁银山, 张松, 等. 不同频率的高频重复经颅磁刺激对大鼠神经病理性疼痛的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2021, 43: 6
- [60] Gao W, Yu LG, Liu YL, et al. Effects of high frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on KCC2 expression in rats with spasticity following spinal cord injury. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2017, 37: 777-81
- [61] Liao YH, Wang B, Chen MX, et al. LIFU alleviates neuropathic pain by improving the KCC(2) expression and inhibiting the CaMKIV-KCC(2) pathway in the L4-L5 section of the spinal cord. *Neural Plast*, 2021, 2021: 6659668
- [62] Dedek A, Xu J, Kandegedara CM, et al. Loss of STEP61 couples disinhibition to N-methyl-D-aspartate receptor potentiation in rodent and human spinal pain processing. *Brain*, 2019, 142: 1535-46
- [63] Lee HH, Deeb TZ, Walker JA, et al. NMDA receptor activity downregulates KCC2 resulting in depolarizing GABA_A receptor-mediated currents. *Nat Neurosci*, 2011, 14: 736-43
- [64] Toyoda H, Ohno K, Yamada J, et al. Induction of NMDA and GABA_A receptor-mediated Ca^{2+} oscillations with KCC2 mRNA downregulation in injured facial motoneurons. *J Neurophysiol*, 2003, 89: 1353-62
- [65] Zhou HY, Chen SR, Byun HS, et al. N-methyl-D-aspartate receptor- and calpain-mediated proteolytic cleavage of K^+-Cl^- cotransporter-2 impairs spinal chloride homeostasis in neuropathic pain. *J Biol Chem*, 2012, 287: 33853-64
- [66] Huang Y, Chen H, Shao JY, et al. Constitutive KCC2 cell- and synapse-specifically regulates NMDA receptor activity in the spinal cord. *J Neurosci*, 2024, 44: e1943232023
- [67] Aby F, Lorenzo LE, Grivet Z, et al. Switch of serotonergic descending inhibition into facilitation by a spinal chloride imbalance in neuropathic pain. *Sci Adv*, 2022, 8: eabo0689
- [68] Bos R, Sadlaoud K, Boulenguez P, et al. Activation of 5-HT_{2A} receptors upregulates the function of the neuronal K-Cl cotransporter KCC2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 348-53
- [69] Sánchez-Brualla I, Boulenguez P, Brocard C, et al. Activation of 5-HT_{2A} receptors restores KCC2 function and reduces neuropathic pain after spinal cord injury. *Neuroscience*, 2018, 387: 48-57
- [70] Yang A, Wang H, Zuo X, et al. Potassium chloride cotransporter 2 inhibits neuropathic pain and future development of neurodegeneration. *J Alzheimers Dis*, 2020, 74: 875-81
- [71] Yoon MH, Choi JI, Park HC, et al. Interaction between intrathecal gabapentin and adenosine in the formalin test of rats. *J Korean Med Sci*, 2004, 19: 581-5
- [72] Little JW, Ford A, Symons-Liguori AM, et al. Endogenous adenosine A3 receptor activation selectively alleviates persistent pain states. *Brain*, 2015, 138: 28-35
- [73] Janes K, Wahlman C, Little JW, et al. Spinal neuroimmune activation is independent of T-cell infiltration and attenuated by A3 adenosine receptor agonists in a model of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. *Brain Behav Immun*, 2015, 44: 91-9
- [74] Ford A, Castonguay A, Cottet M, et al. Engagement of the GABA to KCC2 signaling pathway contributes to the analgesic effects of A₃AR agonists in neuropathic pain. *J Neurosci*, 2015, 35: 6057-67
- [75] Li S, Jiang X, Wu Q, et al. Electroacupuncture suppresses CCI-induced neuropathic pain through GABA_A receptors. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 4505934