

突触体素与神经病理痛

陈 敏^{1*}, 田玉科², 项红兵³

(1. 广州军区武汉总医院麻醉科, 武汉 430070; 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院麻醉科, 武汉 430030; 3. 广州中医药大学附属第二医院麻醉科, 广州 510120)

[摘要] 突触体素(synaptophysin)是突触前囊泡膜上含量最丰富的糖蛋白之一,几乎存在于所有的神经元,是它们的可靠标记物,它与神经递质的释放、突触的可塑性等有密切关系。神经病理痛发生时脊髓突触体素的表达明显增多,这种增多与热痛敏典型症状的变化在时程上相一致,突触体素的上调可能为神经病理痛的机制之一。本文对突触体素及其在神经病理痛中的研究进展作一综述。

[关键词] 突触体素;神经病理痛

[中图分类号] R 741.02 [文献标识码] A [文章编号] 0258-879X(2006)10-1142-03

Synaptophysin and neuropathic pain

CHEN Min^{1*}, TIAN Yu-ke², XIANG Hong-bing³ (1. Department of Anesthesiology, Wuhan General Hospital, PLA Guangzhou Military Area Command, Wuhan 430070, China; 2. Department of Anesthesiology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong Science and Technology University, Wuhan 430030; 3. Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120)

[ABSTRACT] Synaptophysin, a presynaptic vesicle protein found in all nerve terminals, is readily detectable by immunocytochemistry and is useful in the identification of axonal nerve terminals and synapses. Upregulation of synaptophysin might play an important role in neurotransmitter release and neuronal plasticity. Synaptophysin is increased in the superficial layers of the dorsal horn during the development of chronic pain. Synaptophysin levels are temporally correlated with thermal hyperalgesia, but not with tactile allodynia. Upregulation of synaptophysin might be one of the mechanisms for neuropathic pain.

[KEY WORDS] synaptophysin; neuropathic pain

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(10): 1142-1144]

以自发性疼痛(spontaneous pain)、痛觉过敏(hyperalgesia)和痛觉超敏(allodynia)为特征的神经病理痛发生和维持的机制较多,它们均是以神经元的可塑性为基础,神经元的可塑性是指神经元改变其结构、化学特性及功能的能力^[1]。突触体素(synaptophysin)是突触前囊泡特有的一种生物膜固有糖蛋白,与神经递质释放以及突触的可塑性等都有密切关系。在神经病理痛的发生和维持中,突触体素的表达可为突触可塑性的变化提供形态学依据。本文将突触体素及其在神经病理痛中的研究进展综述如下。

1 突触体素的结构与分布

突触体素是一种主要的突触囊泡膜的整合蛋白,占突触囊泡分级组成的7%。哺乳类突触体素是一个相对分子质量为38 000的酸性糖蛋白,含307个氨基酸。突触体素存在于所有哺乳动物的神经细胞和神经内分泌细胞中,而在神经系统中最为丰富。突触体素在中枢神经系统几乎存在于所有的神经终末,其免疫组化染色特征为小点或颗粒状标记。在神经终末处内,应用免疫电镜技术发现透明的较小囊泡的胞质面存在大量的点状的突触体素标记,而在大的致密型突触囊泡(LDCVs)中未见突触体素。突触体素在神经元中的分布不是终生不变的,只有到了发育成熟期或突触形成时才集

中于神经轴突终末内^[2]。

2 突触体素在神经递质释放中的作用

神经递质释放过程是神经系统信息传递的基本过程,是生命活动的基本事件之一,而突触囊泡胞吐过程又是神经递质释放机制中的一个核心问题。近来研究认为突触体素并不直接参与胞吐过程,但是在胞吐过程中起到了重要的调节作用^[3]。突触体素可以调控 synaptobrevin 进入 SNARE 复合体^[4],SNARE 复合体是突触囊泡胞吐过程中的核心成分,此外,其过度表达还可以提高囊泡胞吐过程发生的可能性并增加突触囊泡泊靠的数目^[5]。Becher 等^[6]对突触体素-synaptobrevin 复合物的研究发现,该复合物并不是递质释放所必需的,但当突触活动增强时可以通过该复合物来重新利用 synaptobrevin。神经元发育成熟时,该复合物增多。Hinz 等^[7]也发现在成熟的大脑中当突触活动长时程增强时突触体素-synaptobrevin 复合物增加。

Güncel 等^[8]采用一种新方法得到大量纯化的突触体素,并让这些高度纯化的突触体素重组进入脂质双分子层,诱导

[作者简介] 陈 敏,硕士,主治医师。

* Corresponding author. E-mail: wuhan.chenmin@sina.com

了一个平均电导为 $414 + 13\text{pS}$ 的通道开启,该通道特性表现为:(1)电压依赖;(2)快速波动;(3)对阳离子有选择性,特别是对钾离子有高度选择性;(4)通道开放能力随去极化而减小。抗突触体素抗体可以抑制突触体素的通道活性,并抑制 Ca^{2+} 触发的精氨酸血管加压素的释放,这说明突触体素的通道活性在神经递质分泌机制中起重要作用。然而,突触体素作为一种通道在突触传递中的作用仍不清楚。虽然 Ca^{2+} 可以通过与突触体素相关蛋白发生相互作用来间接调节突触体素的活性,但没有证据表明 Ca^{2+} 能够影响其通道的动力学参数。

3 突触体素在神经病理痛中的研究进展

3.1 突触体素与脊髓背角纤维发芽和新突触形成 正常情况下 A 纤维投射到脊髓 Ⅰ、Ⅱ层,当外周神经损伤时 A 纤维向背角浅层发芽,并与次级伤害感受神经元形成新的突触,这可能是痛觉超敏的发病机制^[9]。突触体素存在于几乎所有神经末梢的突触前囊泡,很容易通过免疫组织化学技术检测到,可以准确反映突触的分布和密度。Chou 等^[10]利用突触体素为指标研究了大鼠坐骨神经慢性压迫性损伤模型(CCI)中脊髓背角浅层新突触发生的变化,观察到 CCI 后第 7 天脊髓背角浅层突触体素免疫活性密度增加,第 14 天增加更为显著,第 21 天回到基线附近。在病理性疼痛发展过程中脊髓突触体素的增高可能反映了次级伤害感受神经元的功能性传入的突触连接上调,这些新的突触可以和兴奋性中间神经元联系,也可以和抑制性中间神经元联系。Chou 等还发现 CCI 后脊髓突触体素的增加与热痛敏典型症状的变化在时间上相一致,即都在第 7 天开始升高,第 14 天达到高峰,第 21 天回到术前状态,但是和痛觉超敏在时程上却不相一致。

大量的实验结果证明,应用 NMDA 受体拮抗剂能阻止神经源性痛觉过敏的形成,减轻神经源性痛的自发性疼痛、痛觉过敏和痛觉超敏^[11]。有研究^[12]发现在 CCI 后连续 10 d 使用不同剂量氯胺酮,结果高剂量氯胺酮组大鼠 CCI 侧痛阈明显升高,同时 CCI 侧脊髓背角突触体素的表达明显减少,说明 NMDA 受体的活性与突触体素的过度表达可能存在某种相关性。

3.2 突触体素与突触可塑性 突触体素在突触囊泡向突触前膜活性带运输过程、膜融合以及随后神经终末突触囊泡的恢复和重建过程中都起着重要的作用。其 C 末端的酪氨酸残基和丝氨酸残基可分别被原癌基因产物 C-src 和钙调蛋白激酶 (CAMK) 磷酸化。这两个磷酸化反应均发生在囊泡内,提示突触体素参与神经可塑性变化。Mullany 等^[13]认为突触体素可能通过激活酪氨酸激酶使自身磷酸化,从而调节内源性谷氨酸的释放,促进齿状回长时程增强(LTP)的诱导和维持,最终影响了突触的可塑性。在 LTP 发生过程中磷酸化的突触体素是增加的,有许多研究认为突触可塑性可由突触体素调节。Janz 等^[14]在研究中单独和联合敲除 syn-

aptogyrin 和 synaptophysin 基因的小鼠仍能存活和生育,而没有形态学和生化方面的改变。联合敲除这两个基因后进行电生理学记录发现海马 CA1 区短期和长期突触可塑性明显降低。Ishibashi^[15]通过对大鼠胡须反复刺激发现对应 Barrel cortex 区域(小鼠接收胡须讯号的部位)突触体素的表达增加,他认为突触体素参与了突触可塑性调节,虽然具体机制并不清楚,但可能与脑源性神经营养因子(BDNF)有关。

目前认为 LTP 和 LTD 现象是中枢神经系统可塑性的重要模式,尽管它们与学习记忆高度相关,但是有学者认为慢性神经病理痛发生、发展与维持过程中也有类似的突触传递可塑性变化的发生^[16]。最近的研究表明,外周神经损伤后,脊髓背角在外周异位冲动的兴奋下,也能诱发出 LTP,从而引起脊髓背角神经元的敏化^[17]。脊髓背角的 LTP 可能只有在有 P 物质神经肽-1(NKI)受体表达的第一层神经元发生,在这些神经元中诱导产生 LTP 需要 N-甲基-D-门氨酸(NMDA)受体和 NK1 受体的激活以及低阈值的 T 型 Ca^{2+} 通道的激活^[18]。外周神经损伤可引起兴奋性氨基酸(EAAs)、P 物质释放增多,EAAs、P 物质和其他兴奋性递质能引起脊髓背角神经元发生快速的长时程的敏化,这种敏化是通过多种细胞内信号转导机制实现的,其中细胞内 Ca^{2+} 浓度的升高和蛋白激酶(PKs)的激活起着关键性的作用^[19]。突触体素酪氨酸磷酸化可以调节突触活动的强度,并在活体内表现为刺激依赖性^[20]。Mullany 等^[13]研究发现,LTP 效应总是伴随着内源性谷氨酸释放和突触体素酪氨酸残基磷酸化的增加,使用酪氨酸激酶抑制剂或 NMDA 受体拮抗剂能阻止 LTP 发生,并抑制磷酸化的突触体素升高和谷氨酸释放。另有实验也证明 LTP 的诱导和突触体素的合成是偶联的,老年动物 LTP 效应显著降低,在这些动物体内发现突触体素的合成也是同步降低的^[21]。脊髓 LTP 的机制还不完全清楚。神经病理痛时突触体素表达的增加如何参与 LTP 效应的诱导和维持还有待进一步研究。

传统的观念认为,突触主要由突触前成分和突触后成分组成,两者之间借突触间隙隔开。近年来提出了在中枢神经系统中神经元之间的突触是一种三联复合体结构(tripartite synapse)的新观点^[22],即突触由突触前成分、突触后成分以及在其周围与之密切相关的星形胶质细胞三者共同构成。项红兵等^[23]使用突触体素的标志物来检测神经解剖水平的突触重塑情况,结果显示,在 CCI 后第 14 天机械痛阈值下降到最低点,与此相对应其脊髓背角突触体素免疫阳性产物密度和 GFAP 免疫阳性产物密度均明显增加,后者表明星形胶质细胞在 CCI 发生后受到激活,出现增生性改变。由于突触体素免疫阳性产物表达明显增加提示突触终末和突触囊泡量增加,同时在慢性疼痛发展过程中脊髓突触体素的增高可能反映了次级痛觉感受神经元功能性传入的突触连接增多,这可能表明突触体素与脊髓星形胶质细胞共同参与了突触可塑性,导致脊髓突触重塑^[24]。

4 小结

外周神经损伤后发生神经病理痛时脊髓背角浅层突触体素增多,突触体素的上调对于神经递质释放和神经可塑性调节均有重要作用,反映有新的突触形成,并参与中枢敏化形成和LTP的诱导,可能为神经病理痛的机制之一。

[参考文献]

- [1] Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain[J]. Science, 2000, 288:1765-1769.
- [2] Phelan P, Gordon-Weeks PR. Widespread distribution of synaptophysin, a synaptic vesicle glycoprotein, in growing neurites and growth cones[J]. Eur J Neurosci, 1992, 4:1180-1190.
- [3] Diana M, Clemens R, Britta H, et al. The synaptophysin/synaptobrevin interaction critically depends on the cholesterol content[J]. J Neurochem, 2003, 84:35-42.
- [4] Bonanomi D, Pennuto M, Rigoni M, et al. Taiopoxin induces synaptic vesicle exocytosis and disrupts the interaction of synaptophysin with VAMP2[J]. Mol Pharmacol, 2005, 67:1901-1908.
- [5] Scarr E, Gray L, Keriakous D, et al. Increased levels of SNAP-25 and synaptophysin in the dorsolateral prefrontal cortex in bipolar I disorder[J]. Bipolar Disord, 2006, 8:133-143.
- [6] Becher A, Drenckhahn A, Pahner I, et al. The synaptophysin-synaptobrevin complex: a hallmark of synaptic vesicle maturation[J]. J Neurosci, 1999, 19:1922-1931.
- [7] Hinz B, Becher A, Mitter D, et al. Activity-dependent changes of the pre-synaptic synaptophysin-synaptobrevin complex in adult rat brain[J]. Eur J Cell Biol, 2001, 80:615-619.
- [8] Gıncel D, Shoshan-Barmatz V. The synaptic vesicle protein synaptophysin: purification and characterization of its channel activity[J]. Biophys J, 2002, 83:3223-3229.
- [9] Hoseini SS, Hoseini M, Gharibzadeh S. Sprouting phenomenon, a new model for the role of A-beta fibers in wind up[J]. Med Hypotheses, 2006, 66:805-807.
- [10] Chou AK, Muhammad R, Huang SM, et al. Altered synaptophysin expression in the rat spinal cord after chronic constriction injury of sciatic nerve[J]. Neurosci Lett, 2002, 333:155-158.
- [11] 孙瑞卿, 王韵, 万有, 等. 神经源性痛的机制研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2003, 9:105-110.
- [12] 陈敏, 田玉科, 项红兵, 等. 大鼠坐骨神经慢性压迫性损伤脊髓突触体素的变化[J]. 中华实验外科杂志, 2005, 5:580-582.
- [13] Mullany PM, Lynch MA. Evidence for a role for synaptophysin in expression of long-term potentiation in rat dentate gyrus[J]. Neuroreport, 1998, 9:2489-2494.
- [14] Janz R, Sudhof TC, Hammer RE, et al. Essential roles in synaptic plasticity for synaptogyrin and synaptophysin[J]. Neuron, 1999, 24:687-700.
- [15] Ishibashi H. Increased synaptophysin expression through whisker stimulation in rat[J]. Cell Mol Neurobiol, 2002, 22:191-195.
- [16] Amantea B, Gemelli A, Militano D, et al. Neuronal plasticity and neuropathic pain[J]. Minerva Anestesiol, 2000, 66:901-911.
- [17] Rygh LJ, Kontinen VK, Suzuki R, et al. Different increase in C-fibre evoked responses after nociceptive conditioning stimulation in shamoperated and neuropathic rats[J]. Neurosci Lett, 2000, 288:99-102.
- [18] Ikeda H, Heinke B, Ruscheweyh R, et al. Synaptic plasticity in spinal lamina projection neurons that mediate hyperalgesia[J]. Science, 2003, 299:1237-1240.
- [19] Dina OA, Chen X, Reichling D, et al. Role of protein kinase Cepsilon and protein kinase A in a model of paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy in the rat[J]. Neuroscience, 2001, 108:507-515.
- [20] Evans GJ, Cousin MA. Tyrosine phosphorylation of synaptophysin in synaptic vesicle recycling[J]. Biochem Soc Trans, 2005, 33:1350-1353.
- [21] Mullany P, Lynch MA. Changes in protein synthesis and synthesis of the synaptic vesicle protein, synaptophysin, in entorhinal cortex following induction of long-term potentiation in dentate gyrus: an age-related study in the rat[J]. Neuropharmacology, 1997, 36:973-980.
- [22] Araque A, Parpura V, Sanzgiri RP, et al. Tripartite synapse: glia, the unacknowledged partner[J]. TINS, 1999, 22:208-214.
- [23] 项红兵, 招伟贤, 陈敏. 坐骨神经慢性压迫性损伤对大鼠脊髓星形胶质细胞增生和突触重塑的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2005, 22:1116-1117.
- [24] 陈敏, 项红兵. 胶质细胞参与疼痛中枢敏化机制[J]. 中国临床康复, 2005, 9:127-129.

[收稿日期] 2006-03-23

[修回日期] 2006-05-16

[本文编辑] 孙岩