

综述

延髓头端腹内侧区的 On 细胞和 Off 细胞在疼痛调节中的作用

王若曦, 蒋 涛, 焦英甫, 高 坡, 杨立群, 俞卫锋

上海交通大学医学院附属仁济医院麻醉科, 上海 200127

[摘要] 延髓头端腹内侧区是疼痛下行易化和抑制调节系统中的核心结构, 向上接受下丘脑、中脑导水管周围灰质、臂旁核等的投射, 向下通过脊髓背外侧束和脊髓腹外侧束对疼痛发挥易化或抑制性调节的作用, 是中枢疼痛调控通路的最后一道闸门。此区域的神经元根据其疼痛刺激所引起的放电活动的反应, 可分为 On 细胞、Off 细胞和 Neutral 细胞, 其与疼痛调节以及阿片类药物发挥镇痛作用有密切的关系。该文就 On 细胞和 Off 细胞结构和功能的研究进行综述, 以期为进一步探究延髓头端腹内侧区的 On 细胞和 Off 细胞在疼痛调节中的作用机制提供方向。

[关键词] 延髓头端腹内侧区; On 细胞; Off 细胞; 阿片类受体; 疼痛

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2019.01.018 **[中图分类号]** R338.1; R441.1 **[文献标志码]** A

Role of On-cells and Off-cells in the rostral ventromedial medulla in pain modulation

WANG Ruo-xi, JIANG Tao, JIAO Ying-fu, GAO Po, YANG Li-qun, YU Wei-feng

Anesthesiology Department, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

[Abstract] The rostral ventromedial medulla is one of the key structures in descending pain modulation system. It receives inputs from the thalamus, the periaqueductal gray, and parabrachial nucleus, and sends descending projections through the dorsolateral funiculus and ventrolateral funiculus to the spinal dorsal horns. The rostral ventromedial medulla is thought to be the final relay in descending modulation of pain. The neurons in this region can be classified into On-cells, Off-cells and Neutral cells according to the changes in the firing activity before tail flick. This review mainly focuses on pain modulation functions and potential analgesia mechanisms of On-cells and Off-cells.

[Key words] rostral ventromedial medulla; On-cell; Off-cell; opioid receptor; pain

疼痛是继血压、呼吸、脉搏、体温之后的第五大生命体征。关于疼痛发生机制及病理生理的结构基础改变研究也越来越被重视。临床上因急慢性疼痛而就诊的患者逐渐增多, 做好疼痛的预防和管理是亟待解决的重要问题。目前关于疼痛发生及其慢性化的机制尚未完全阐明, 而延髓头端腹内侧区 (rostral ventromedial medulla, RVM) 作为疼痛调节的关键核团, 其存在的放电活动和疼痛刺激明显相关的 On 细胞和 Off 细胞更是疼痛研究的关键。本文就近年来关于 On 细胞和 Off 细胞结构和功能的相关研究进展进行综述。

1 On 细胞和 Off 细胞的发现

RVM 的神经元对调节伤害性刺激相关的行为反应以及伤害性感觉的传递均有重要作用, 也是阿片类镇痛药物

发挥作用的关键靶点。这就需要更多的研究以明确 RVM 神经元的分类、结构和功能。Fields 等^[1]通过对大鼠尾部进行热痛刺激, 同时对 RVM 神经元进行在体电生理记录, 将在甩尾反应发生之前或发生时出现放电增加的神经元定义为 On 细胞, 甩尾反应发生之前出现放电减少的定义为 Off 细胞, 没有明显变化的称为 Neutral 细胞, 且发现 Off 细胞多位于 On 细胞的腹侧。这 3 类神经元均通过有髓神经纤维下行投射至脊髓^[2]。对神经损伤模型的大鼠进行脊髓电刺激, 可促进 RVM 的 Off 细胞放电从而起到镇痛效果^[3]。这也提示 RVM 的 On 细胞和 Off 细胞对于疼痛在脊髓水平的调节发挥着重要作用。

RVM 向上接受下丘脑、中脑导水管周围灰质 (periaqueductal gray, PAG)、臂旁核 (parabrachial nucleus, PBN) 等的投射, 但这些核团是否有神经纤维直接投射至 RVM 的 On 细胞或者 Off 细胞尚未完全明确。有许多

[基金项目] 国家自然科学基金 (81571048, 81771185); 上海市浦东新区卫生和计划生育委员会卫生科技项目 (PW2015D-3) (National Natural Science Foundation of China, 81571048, 81771185; Medical Science and Technology Project of Health and Family Planning Commission of Pudong, Shanghai, PW2015D-3)。

[作者简介] 王若曦 (1993—), 女, 博士生; 电子信箱: sjtuwangruoxi@163.com。

[通信作者] 俞卫锋, 电子信箱: ywf808@yeah.net。

研究^[4-5]表明,对PAG利用电刺激、阿片类镇痛药物、谷氨酸受体激动剂等进行调控可以直接影响On细胞或Off细胞的放电活动从而对伤害性刺激产生抑制作用。最近,Chen等^[6]利用光遗传技术和膜片钳记录的方法发现,在PBN存在谷氨酸能和 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能的神经纤维,这些神经纤维直接投射至RVM的神经元并参与伤害性刺激信息的调控,对生理和病理情况下的疼痛调节都有着重要作用。已有研究报道调控其他与RVM有投射关系的脑区如次级躯体感觉皮层^[7]、下丘脑^[8]、杏仁核^[9]等也能对疼痛产生影响,但其是否和On细胞及Off细胞有直接的投射关系还有待于更多的研究。

2 下行调节系统神经递质调制通路与On细胞和Off细胞

下行抑制系统主要通过5-羟色胺(serotonin, 5-hydroxytryptamine, 5-HT)能下行投射神经纤维和去甲肾上腺素能下行投射神经纤维在脊髓水平发挥抗伤害性刺激的作用。On细胞及Off细胞接受的投射神经纤维末梢中均含有酪氨酸羟化酶与多巴胺 β -羟化酶。酪氨酸羟化酶可催化氨基酸L-酪氨酸转变为多巴,而多巴胺 β -羟化酶可催化多巴胺转变为去甲肾上腺素,这2种酶均为去甲肾上腺素合成的关键酶。因而,RVM的On细胞和Off细胞均接受去甲肾上腺素能的神经纤维投射^[10]。去甲肾上腺素能下行投射神经纤维起自杏仁核,经RVM向下调控脊髓背角的伤害性刺激信息。近来的研究^[9]显示,阻滞PAG-RVM的神经环路也不影响在杏仁核给予 α_2 受体激动剂后对脊髓的镇痛调节作用。RVM的On细胞和Off细胞与脊髓背角的直接纤维投射联系还需要进一步研究。

5-HT能神经元在中枢主要分布于中缝核群,其合成的5-HT经神经纤维运输至中枢神经系统。脊髓背角的5-HT主要来自于RVM的下行5-HT能神经纤维的释放。但研究^[11]发现,Neutral细胞中5-HT丰度最高,其次是Off细胞,On细胞中最少,绝大部分5-HT阳性的神经元都不是On细胞或者Off细胞。而RVM的5-HT能神经元可能通过调节On细胞和Off细胞神经末梢在脊髓背角释放5-HT从而对疼痛产生影响^[12]。鞘内注射5-HT可能通过激活脊髓的5-HT_{1A}受体而发挥镇痛作用^[7]。在RVM微量注射许多其他神经递质如GABA^[13]、神经肽Y^[14]、谷氨酸^[15]、乙酰胆碱^[16]等也在疼痛调节中发挥非常重要的作用,但这些神经递质是否通过On细胞或Off细胞而发挥调节作用仍需要更确切的研究。

3 On细胞和Off细胞对急慢性疼痛的调节作用

如何做好急性疼痛管理,防止急性疼痛慢性化,是临床上的重要难题。RVM作为脊髓上疼痛调控系统中的关键部位,其包含的On细胞和Off细胞放电活动变化是否与急性疼痛慢性化有关也受到很多关注。中枢神经系统存在可塑性变化,负责镇痛的脑区可能会由于持续疼痛刺激而发生功能的改变。有研究^[17]表明,给予单个热痛刺激时,On细胞表现为放电增加而Off细胞表现为放电减少。但持续热刺激尾部会易化缩爪反射,持续热刺激后足却会抑制甩尾反应。在RVM给予利多卡因可延长对任一单独伤害性热刺激的行为潜伏期,但却只能消除持续热刺激尾部导致的缩爪反应易化,这说明On细胞仅参与疼痛易化过程。Cleary等^[18]给大鼠足底注射完全弗式佐剂,将造模后1h的疼痛反应和3~10d的疼痛反应分别定义为急性痛和慢性痛,观察神经元在机械痛和热痛刺激下的放电活动变化,以探究On细胞和Off细胞在急慢性疼痛中发挥的作用。结果表明,急性痛期存在机械痛和热痛觉过敏,On细胞自发放电活动增加,Off细胞自发放电活动抑制。若在RVM给予利多卡因阻滞可逆转此现象,说明On细胞是发生急性疼痛痛觉敏化必不可少的因素。在慢性痛期,主要表现为机械痛敏增加,但On细胞和Off细胞依然分别保持放电活动的抑制和激活状态,与无伤害性刺激时放电活动一致。而阻滞RVM,也就是抑制Off细胞的放电活动,则会加重机械痛敏。这表明On细胞和Off细胞在急慢性疼痛中作用不同:在急性炎症导致的疼痛中,On细胞自发电活动增加促进痛觉敏化;当炎症已经形成,Off细胞的抗痛作用可能更为主要。

持续性的伤害性刺激导致的On细胞的激活能够易化对某些其他伤害性刺激的反应,同时亦有其他神经结构产生以痛镇痛作用。弥散性伤害抑制性控制(diffuse noxious inhibitory controls, DNIC)对脊髓和三叉神经伤害性刺激均有强大的下行抑制作用,是发挥内源性疼痛调节(以痛镇痛)的重要方式。研究者^[19]发现,热板对后爪的热刺激可以抑制C纤维诱发的三叉神经广动力范围(wide dynamic range, WDR)神经元的放电。给予GABA_A受体激动剂抑制RVM的On细胞和Off细胞,能易化WDR神经元,并造成热痛觉过敏;而给予兴奋性氨基酸受体拮抗剂犬尿酸来选择性阻滞On细胞,对C纤维诱发的WDR神经元放电并无影响。这提示与On细胞相比,Off细胞可能在DNIC中发挥更多的作用。

4 On 细胞和 Off 细胞参与阿片类药物镇痛的机制

阿片类药物是临床上最常见和常用的镇痛药,其通过作用于中枢和外周的阿片类受体而发挥强大的镇痛作用。在 RVM 主要分布和表达的阿片类受体有 μ 受体 (MOR)、 δ 受体 (DOR)、 κ 受体 (KOR) 和 σ 受体,不同类型的受体对于阿片类镇痛药物的反应强度也不尽相同。不同种类阿片类药物的镇痛以及耐受机制和痛觉过敏的发生机制目前也各不相同。比如氯胺酮通过作用于 MOR 和 DOR 而发挥中枢镇痛作用^[20],羟考酮虽然主要通过 MOR 发挥效应,但也通过激动 DOR 而加强其镇痛效果^[21]。On 细胞和 Off 细胞作为放电活动和疼痛反应密切相关的 2 类细胞,或许与阿片类药物的作用机制有重要的关系。

4.1 On 细胞和 Off 细胞与 MOR

有研究^[22]表明,在 RVM 给予 MOR 特异性激动剂 DAMGO 可产生强大的镇痛作用。通过在 RVM 给予 DAMGO,同时记录 On 细胞与 Off 细胞的放电活动以及发生甩尾反应的时间,发现给予 DAMGO 后 On 细胞放电活动均被抑制,而 Off 细胞仅在甩尾反应被抑制的情况下增加放电活动。此放电活动的改变和伤害性刺激行为的改变均可被静脉给予纳洛酮消除。这进一步表明,On 细胞是阿片类药物在 RVM 发挥作用的直接位点,而 Off 细胞的去抑制则与预测镇痛效果密切相关^[23]。此外,阿片类药物一个重要的不良反应是导致呼吸抑制。研究^[24]表明,在 RVM 局部给予 DAMGO 同静脉注射 μ -阿片类药物一样会使 On 细胞放电持续被抑制而 Off 细胞放电增加;而另一种非阿片类镇痛药 improgan 会激活 On 细胞、Off 细胞和 Neutral 细胞,且仅产生镇痛作用而无呼吸抑制。或许 Off 细胞是调控维持呼吸功能的重要神经元,明确其特异性标志物可能为提高阿片类药物镇痛效果、减少药物不良反应提供方向。

但是也有研究^[4]表明,RVM 神经元上的 MOR 并不是阿片类药物发挥镇痛作用的必需因素。根据前期研究结果,将皮啡肽-皂角素的复合物注射至 RVM 神经元,可实现选择性阻滞 MOR。通过在体电生理记录发现,接受皮啡肽-皂角素复合物处理后,On 细胞和 Off 细胞的放电活动比对照组显著降低,且对 MOR 特异性激动剂 DAMGO 无反应。但是,在处理组的 RVM 给予谷氨酸受体激动剂仍能增加甩尾反应潜伏期,电刺激 PAG 区也依然能产生镇痛作用。这表明 MOR 的缺失对直接或者间接作用于 RVM 的神经元并实现镇痛作用可能不是必需的。

其他种类阿片受体的存在可能对阿片类药物镇痛作用的发挥起着补充作用。

4.2 On 细胞和 Off 细胞与 DOR

随着 DOR 及其特异性激动剂和拮抗剂的发现,RVM 阿片类镇痛药物机制的发挥是否和此受体相关,以及此受体与 On 细胞及 Off 细胞放电活动变化的关系也受到了关注。Harasawa 等^[25]探究了在 RVM 给予 DOR₂ 激动剂 DELT 后对甩尾反应和 RVM 的 On 细胞、Off 细胞放电活动的变化。结果发现:DELT 能够剂量依赖性地延长甩尾反应的潜伏期,并能抑制 On 细胞的放电活动、促进 Off 细胞的激活,但是对 Neutral 细胞无明显影响;这些作用均可被 DOR₂ 拮抗剂抵消。虽然 DOR 介导的伤害性刺激相关的神经元放电活动改变与 MOR 相似,但是有研究^[26]表明 2 种受体在疼痛相关的脑区如前额叶皮层、PBN、杏仁核的分布完全不共标,且这 2 种受体的内化过程及发挥作用的方式也并不相同。此 2 种受体在 RVM 的分布及作用的联系与区别还需要更多的研究。

4.3 On 细胞和 Off 细胞与 KOR

KOR 作用机制较为复杂。激动 KOR 可减轻 MOR 介导的镇痛作用,也能减弱应激条件下对伤害性刺激的保护作用;但是也有部分结果证明激动 KOR 可产生镇痛作用,即 KOR 具有镇痛和易化疼痛的双重作用。关于 MOR 激动剂对 RVM 神经元的作用已有在体和离体电生理研究结果。在离体电生理实验中,MOR 激动剂能在突触前抑制 GABA 能神经纤维对第一类神经元的作用,并能直接去极化第二类神经元。第一类神经元对应于在体电生理实验中的 Off 细胞和 Neutral 细胞,第二类神经元对应 On 细胞。而目前 RVM 神经元对 KOR 激动剂的电生理反应仅有离体电生理结果。KOR 激动剂能直接去极化第一类神经元的一个亚群,也就是 Off 细胞;但是对第二类神经元无突触后作用,且能够突触前抑制谷氨酸能神经纤维对 RVM 神经元的投射^[27]。

为了进一步明确其作用机制,Meng 等^[28]借助在体电生理实验,在 RVM 给予 U69593 激动 KOR,发现虽然未影响甩尾反应潜伏期,但是使 On 细胞放电减弱,Off 细胞和 Neutral 细胞的持续放电被抑制。而特异性激动 KOR 也通过抑制 Off 细胞的兴奋性,减弱了外周给予吗啡而产生的镇痛作用。那么,KOR 激动剂可能通过直接对 Off 细胞发生突触后抑制而实现拮抗 MOR 介导的镇痛作用,而对 Off 细胞的突触前抑制则是其发挥镇痛作用的机制。

5 总结

RVM 在疼痛下行调节系统中扮演着重要的角色,其神经元不同的类别及其放电活动的变化对疼痛的发生和调节都有重要的影响。目前利用在体电生理技术对 On 细胞和 Off 细胞与疼痛的关系研究已较为透彻,On 细胞的激活和疼痛

的发生及易化相关,Off 细胞则在镇痛作用的发挥中扮演重要的角色。然而,由于 On 细胞和 Off 细胞是根据电生理活动特点定义的 2 类细胞,且缺乏较为明确而特异的细胞标志物,对其进行特异性调控仍存在较大的困难。寻找特异性标志物,利用 Cre/Loxp 系统进行化学遗传和光遗传调控,将对研究 On 细胞和 Off 细胞在疼痛中的作用大有裨益。

参·考·文·献

- [1] Fields HL, Bry J, Hentall I, et al. The activity of neurons in the rostral medulla of the rat during withdrawal from noxious heat[J]. *J Neurosci*, 1983, 3(12): 2545-2552.
- [2] Salas R, Ramirez K, Tortorici V, et al. Functional relationship between brainstem putative pain-facilitating neurons and spinal nociceptive neurons during development of inflammation in rats[J]. *Brain Res*, 2018, 1686: 55-64.
- [3] Song Z, Ansah OB, Meyerson BA, et al. The rostroventromedial medulla is engaged in the effects of spinal cord stimulation in a rodent model of neuropathic pain[J]. *Neuroscience*, 2013, 247(13): 134-144.
- [4] Harasawa I, Johansen JP, Fields HL, et al. Alterations in the rostral ventromedial medulla after the selective ablation of μ -opioid receptor expressing neurons[J]. *Pain*, 2016, 157(1): 166-173.
- [5] Posa L, De Gregorio D, Gobbi G, et al. Targeting melatonin MT2 receptors: a novel pharmacological avenue for inflammatory and neuropathic pain[J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(32): 3866-3882.
- [6] Chen Q, Roeder Z, Li MH, et al. Optogenetic evidence for a direct circuit linking nociceptive transmission through the parabrachial complex with pain-modulating neurons of the rostral ventromedial medulla (RVM)[J]. *eNeuro*, 2017, 4(3): ENEURO.0202-17. 2017.
- [7] Sagalajev B, Viisanen H, Wei H, et al. Descending antinociception induced by secondary somatosensory cortex stimulation in experimental neuropathy: role of the medullospinal serotonergic pathway[J]. *J Neurophysiol*, 2017, 117(3): 1200-1214.
- [8] Pinto-Ribeiro F, Amorim D, David-Pereira A, et al. Pronociception from the dorsomedial nucleus of the hypothalamus is mediated by the rostral ventromedial medulla in healthy controls but is absent in arthritic animals[J]. *Brain Res Bull*, 2013, 99: 100-108.
- [9] Maire J, Close L, Heinricher M, et al. Distinct pathways for norepinephrine- and opioid-triggered antinociception from the amygdala[J]. *Eur J Pain*, 2016, 20(2): 206-214.
- [10] Taylor BK, Westlund KN. The noradrenergic locus coeruleus as a chronic pain generator[J]. *J Neurosci Res*, 2017, 95(6): 1336-1346.
- [11] Potrebic SB, Mason P, Fields HL. The density and distribution of serotonergic appositions onto identified neurons in the rat rostral ventromedial medulla[J]. *J Neurosci*, 1995, 15(5): 3273-3283.
- [12] Silva M, Costa-Pereira JT, Martins D, et al. Pain modulation from the brain during diabetic neuropathy: uncovering the role of the rostroventromedial medulla[J]. *Neurobiol Dis*, 2016, 96: 346-356.
- [13] Li MH, Suchland KL, Ingram SL. GABAergic transmission and enhanced modulation by opioids and endocannabinoids in adult rat rostral ventromedial medulla[J]. *J Physiol*, 2015, 593(1): 217-230.
- [14] Cleary DR, Roeder Z, Elkhatib R, et al. Neuropeptide Y in the rostral ventromedial medulla reverses inflammatory and nerve injury hyperalgesia in rats via non-selective excitation of local neurons[J]. *Neuroscience*, 2014, 271: 149-159.
- [15] Rossi F, Marabese I, de Chiaro M, et al. Dorsal striatum metabotropic glutamate receptor 8 affects nociceptive responses and rostral ventromedial medulla cell activity in neuropathic pain conditions[J]. *J Neurophysiol*, 2014, 111(11): 2196-2209.
- [16] Jareczek FJ, White SR, Hammond DL. Plasticity in brainstem mechanisms of pain modulation by nicotinic acetylcholine receptors in the rat[J]. *eNeuro*, 2017, 4(1): ENEURO.0364-16. 2017.
- [17] Morgan MM, Fields HL. Pronounced changes in the activity of nociceptive modulatory neurons in the rostral ventromedial medulla in response to prolonged thermal noxious stimuli[J]. *J Neurophysiol*, 1994, 72(3): 1161-1170.
- [18] Cleary DR, Heinricher MM. Adaptations in responsiveness of brainstem pain-modulating neurons in acute compared with chronic inflammation[J]. *Pain*, 2013, 154(6): 845-855.
- [19] Chebbi R, Boyer N, Monconduit L, et al. The nucleus raphe magnus off-cells are involved in diffuse noxious inhibitory controls[J]. *Exp Neurol*, 2014, 256: 39-45.
- [20] Pacheco Dda F, Romero TR, Duarte ID. Central antinociception induced by ketamine is mediated by endogenous opioids and μ - and δ -opioid receptors[J]. *Brain Res*, 2014, 1562: 69-75.
- [21] Yang PP, Yeh GC, Yeh TK, et al. Activation of δ -opioid receptor contributes to the antinociceptive effect of oxycodone in mice[J]. *Pharmacol Res*, 2016, 111: 867-876.
- [22] Hough LB, Nalwalk JW, Yang W, et al. Neuronal cytochrome P450 activity and opioid analgesia: relevant sites and mechanisms[J]. *Brain Res*, 2015, 1616: 10-18.
- [23] Heinricher MM, Morgan MM, Tortorici V, et al. Disinhibition of off-cells and antinociception produced by an opioid action within the rostral ventromedial medulla[J]. *Neuroscience*, 1994, 63(1): 279-288.
- [24] Phillips RS, Cleary DR, Nalwalk JW, et al. Pain-facilitating medullary neurons contribute to opioid-induced respiratory depression[J]. *J Neurophysiol*, 2012, 108(9): 2393-2404.
- [25] Harasawa I, Fields HL, Meng ID. δ opioid receptor mediated actions in the rostral ventromedial medulla on tail flick latency and nociceptive modulatory neurons[J]. *Pain*, 2000, 85(1): 255-262.
- [26] Wang D, Tawfik VL, Corder G, et al. Functional divergence of δ and μ opioid receptor organization in CNS pain circuits[J]. *Neuron*, 2018, 98(1): 90-108.
- [27] Bie B, Pan ZZ. Presynaptic mechanism for anti-analgesic and anti-hyperalgesic actions of κ -opioid receptors[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(19): 7262-7268.
- [28] Meng ID, Johansen JP, Harasawa I, et al. κ opioids inhibit physiologically identified medullary pain modulating neurons and reduce morphine antinociception[J]. *J Neurophysiol*, 2005, 93(3): 1138-1144.

[收稿日期] 2018-10-22

[本文编辑] 曹智勇