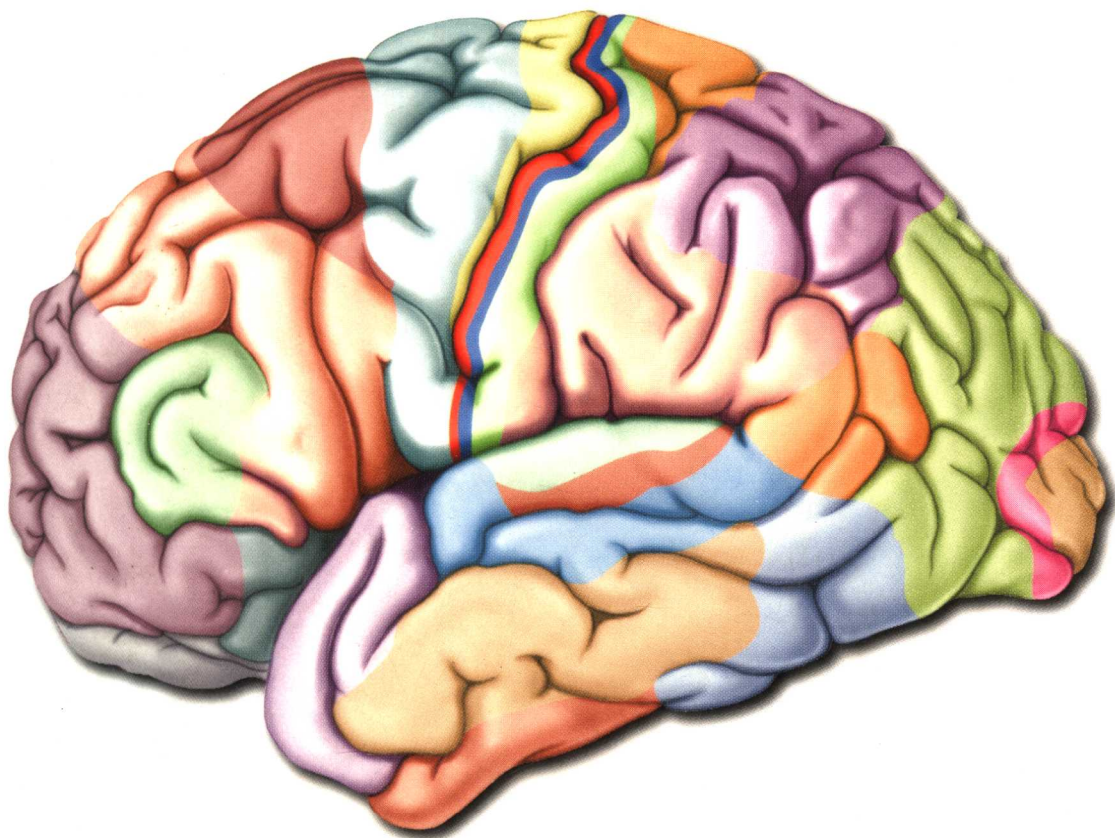


神经科学进展

(二)

范明 王晓民 周专 饶毅 邱小庆 徐天乐 主编



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

神经科学进展

(二)

范明 王晓民 周专 饶毅 邱小庆 徐天乐 主编



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

图书在版编目(CIP)数据

神经科学进展.2/范明等主编. —北京: 高等教育出版社, 2003. 9
ISBN 7-04-013640-6

I. 神… II. 范… III. 神经生理学—研究—进展—文集 IV. R338-11

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 080637 号

策 划 王 莉 责任编辑 王 莉 封面设计 张 楠
版式设计 李 杰 责任印制 宋克学

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100011
总 机 010-82028899

购书热线 010-64054588
免费咨询 800-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>

经 销 新华书店北京发行所
印 刷 北京中科印刷有限公司

开 本 787×1092 1/16
印 张 27.5
字 数 670 000

版 次 2003 年 9 月第 1 版
印 次 2003 年 9 月第 1 次印刷
定 价 98.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

参 编 人 员

主 编 范 明 王晓民 周 专 饶 毅 邱小庆 徐天乐
编 委 会 (按姓氏拼音排序)

鲍 岚	陈建国	陈 军	陈 林	崔 岐	范 明
高天明	胡小平	胡志安	Zuoshi Josh Huang		江安世
蒋春雷	李 兵	李晓江	李云庆	梁培基	刘少君
刘向明	罗跃嘉	钱忠明	饶 毅	任 维	石 建
孙长凯	唐一源	汪萌芽	汪青松	王建军	王晓民
王 云	王中峰	吴秀山	夏若虹	肖华胜	肖志成
谢俊霞	徐 涛	徐天乐	徐晓军	徐晓明	徐造成
徐志卿	杨 慧	Weihai Ying	Guang H. Yue		张 康
张绍武	张玉秋	周 专	左 健		

责任编辑 孙长凯 葛学铭

前 言

光阴似箭,转眼离《神经科学进展(一)》的出版已逾两年。在这两年中神经科学又有了长足进展,曾经参与第一卷编写的老朋友和参与本卷编写的新朋友在工作中也都有了新的成绩。正可谓两载岁月不经意,又是硕果满枝头。

随着“第二届海内外青年神经科学工作者学术交流会”的闭幕,与会的青年学者将自己从事领域的新观点、新理论、新技术、新方法等在会议交流摘要的基础上整理成文,归于本卷。参与编写的学者都是按照①高级职称;②实验室负责人;③在所撰写方面有自己独到的工作等条件入选,他们均为海内外神经科学领域华人学子中之翘楚,所撰写文章反映了近年来神经科学诸多方面的新理论、新技术和新进展。特别的是,本书将大多数著者的简历、代表工作、联系方法都同时做了介绍,以便今后的学术交流。相信每一位读者从本书中不仅能学到新的理论、新的技术并将新的思路带回自己的工作,而且还可以结交新的朋友,必将大有所获。

在编撰过程中,编委会诸君做了大量工作,责任编委更是尽心尽责。中国生理学会、中国生物物理学会、中国神经科学学会的工作人员也做了大量配合工作。国家科技部、自然科学基金委员会等也给予了具体指导与帮助。特别是高等教育出版社鼎力支持,在此一并表示感谢。

唯一美中不足的是,个别曾经参与会议的同仁因为诸事繁杂,错过了交稿日期,来不及编入《神经科学进展(二)》交付印刷。希望在第三卷出版时能弥补这一遗憾。

《神经科学进展(二)》编辑委员会

目 录

1. 外周神经损伤后痛敏的解剖学基础探讨	鲍 岚(1)
2. H^+ - 门控性阳离子通道:结构与功能	陈建国(5)
3. Diversity of spinal mechanisms of pathological pain	陈 军(13)
4. 鸟类的电诱发耳声发射	陈 林等(24)
5. 中枢神经系统损伤后细胞存活与神经纤维再生的研究	崔 岐(30)
6. 肌肉卫星细胞的批量获取和定向分化的研究进展	范 明等(36)
7. 脑缺血后海马神经元迟发性死亡的钾通道机制	高天明(40)
8. A minireview of event - related fMRI	胡小平(47)
9. 大脑皮层在睡眠 - 觉醒周期中的变化及 Orexin 的调节	胡志安等(55)
10. Development and plasticity of neocortical GABAergic circuits	Zuoshi Josh Huang(62)
11. 果蝇脑的记忆网络	江安世(70)
12. 糖皮质激素的非基因组效应	蒋春雷等(78)
13. 运动视觉感知的神经基础和机制	李 兵等(86)
14. Polyglutamine aggregates and axonal degeneration in Huntington's disease, an inherited neurodegenerative disorder	李晓江等(92)
15. 神经解剖研究的利器——GFP 基因重组病毒	李云庆(98)
16. 视网膜外网状层的短时程突触可塑性	梁培基等(104)
17. Can mature neurons divide in vitro and in vivo?	刘少君等(110)
18. 离子通道门控建模的现状、问题及新思路	刘向明等(124)
19. 视觉运动知觉的脑机制研究	罗跃嘉(130)
20. 异常增高的脑铁 - 神经变性性疾病的起始原因还是继发后果	钱忠明(137)
21. Spatial control of neuronal migration in the central nervous system	饶 毅等(143)
22. 感觉神经信息编码的动力学规律	任 维等(170)
23. 神经突触形成的发育调控	石 建(179)
24. 兴奋毒性神经损害的防治策略研究	孙长凯等(193)
25. 人类脑计划和神经信息学	唐一源(202)
26. 离体脊髓运动神经元的突触调制机理	汪萌芽(207)
27. 轻度认知损害研究的新进展	汪青松等(214)

28. 中枢组胺能神经系统研究的新进展	王建军等(220)
29. 免疫抑制剂及其受体在神经系统的作用	王晓民等(228)
30. 尼古丁受体与多巴胺神经元的关系	王 云(238)
31. 突触前阻断剂川楝素对膜离子通道的调控	王中峰等(244)
32. 果蝇周围神经系统发育的基因控制	吴秀山等(249)
33. The redox control mechanism of the Ca^{2+} release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum	夏若虹(256)
34. 外周神经损伤后大鼠背根节基因表达谱的建立	肖华胜(264)
35. 中枢神经系统朗飞氏节侧区:轴突-胶质细胞互相作用的 功能性分子复合体	肖志成等(268)
36. 中枢神经系统铁代谢与帕金森病的关系	谢俊霞等(276)
37. 胰岛素分泌的分子机制及调控	徐 涛等(284)
38. 全麻药对 GABA_A 及甘氨酸受体的调控作用	徐天乐等(292)
39. Experimental models of chronic neuropathic pain and their application in studying mechanisms and treatments	徐晓军等(299)
40. 神经干细胞及其在脊髓损伤修复中的应用	徐晓明等(308)
41. Electrophysiological changes associated with neuronal injury following cerebral ischemia	徐造成(317)
42. Recent advances in neuropeptides and their receptors: physiological function and pharmacological application	徐志卿(326)
43. 骨髓基质细胞的分化潜能及对帕金森病治疗的应用前景	杨 慧等(332)
44. Roles of oxidative stress, poly(ADP-Ribose) polymerase and poly(ADP-Ribose) glycohydrolase in ischemic brain injury	Weihai Ying(338)
45. Assessing the role of the central nervous system in human motor control	Guang H. Yue(348)
46. Molecular genetics of macular degeneration	张 康等(361)
47. Exploration of visual cognition in honeybees	张绍武(376)
48. 5-羟色胺及其受体在痛觉调制中的作用	张玉秋(394)
49. 胚胎中脑多巴胺神经元的发育	周嘉伟(403)
50. 单个细胞分泌的实时记录方法	周 专(409)
51. Current views on classical neurological mouse mutants	左 健(421)

外周神经损伤后痛敏的解剖学基础探讨

鲍 岚^{CA}

中国科学院神经科学研究所感觉系统研究组



【作者简介】 鲍岚博士,女,1964年12月生。1985年毕业于第四军医大学,1988年在该校获硕士学位。1993年在瑞典卡罗琳斯卡医学院神经科学系进修一年。1996年任第四军医大学空军医学系副教授,1999年获医学博士学位。现任中国科学院神经科学研究所感觉系统研究组研究员。曾获军队科技进步一等奖一项、二等奖一项,国家科技进步三等奖一项。在 *Neuron*、*PNAS*、*USA*、*Eur. J. Neurosci.*、*Neuroscience* 等杂志发表论文十多篇。目前主要从事神经损伤后背根神经节神经元、脊髓的细胞和组织结构可塑性变化及再生机制与痛觉传递相互关系的研究。

代表性论文

1. Bao L, Jin S X, Zhang C, *et al.* Activation of delta-opioid receptors induces receptor insertion and neuropeptide secretion. *Neuron*, 2002(accepted)
2. Bao L, Wang H F, Cai H J, Tong Y G, Jin S X, Lu Y J, Grant G, Hökfelt T, Zhang X. Peripheral axotomy induces only very limited sprouting of coarse myelinated afferents into inner lamina II of rat spinal cord. *Eur. J. Neurosci.*, 2002, 16: 175 ~ 185
3. Xiao H S, Huang Q H, Zhang F X, Bao L, Lu Y J, Guo C, Yang L, Huang W J, Fu G, Xu S H, Cheng X P, Yan Q, Zhu Z D, Zhang X, Chen Z, Han Z G, Zhang X. Identification of gene expression profile of dorsal root ganglion in the rat peripheral axotomy model of neuropathic pain. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2002, 99: 8 360 ~ 8 365
4. Zhang X, Bao L, Shi T J, Ju G, Elde R. Hökfelt T. Down-regulation of μ -opioid receptors in rat and monkey dorsal root ganglion neurons and spinal cord after peripheral axotomy. *Neuroscience*, 1998, 82: 223 ~ 240
5. Bao L, Kopp J, Zhang X, Xu Z Q D, Zhang L F, Wong H, Walsh J, Hökfelt T. Localization of

^{CA}上海市岳阳路 320 号中国科学院神经科学研究所 200031 E-mail: baolan@ion.ac.cn

neuropeptide Y Y1 receptors in cerebral blood vessels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 12 661 ~ 12 666

大鼠背根神经节细胞大致可分为大和小神经元两类。大神经元发出 A 纤维,投射到脊髓背角的 III 和 IV 层;小神经元发出的 C 纤维投射到脊髓背角的 I 和 II 层,另有一些薄髓纤维投射到脊髓背角的 I 和 V 层(Maxwell and Rethelyi 1987, Willis and Coggeshall 1991, Grant 1995)。外周神经损伤可以引起神经病理性痛,因此可以用外周神经损伤(如神经全切断)动物模型来研究其机制。许多研究显示:外周神经损伤后在脊髓水平发生可塑性的变化(Dray *et al.* 1994, Hokfelt *et al.* 1994, Zigmond *et al.* 1996, Woolf and Salter 2000)。

以往研究用电生理和癌前基因 *c-fos* 作为功能指标,显示外周神经损伤后,脊髓背角 I 和 II 层的神经元能够被选择性电刺激 A 纤维所激活(Dalal *et al.* 1999, Bester *et al.* 2000)。然而,这一功能性重组的结构和分子机制仍然不清。曾有报道:外周神经损伤引起大量的 A 纤维长入脊髓背角的 I 和 II 层(Woolf *et al.* 1992, Woolf *et al.* 1995, Coggeshall *et al.* 1997),主要的研究方法为用两种逆行和跨神经节的神经束路追踪剂:霍乱毒素 B 亚单位(CTB)和与辣根过氧化物酶偶联的 CTB(CTB-HRP)。正常情况下,主要是背根神经节的大神经元摄取这两种追踪剂,可以标记 A 纤维(Trojanowski *et al.* 1981, LaMotte *et al.* 1991),因此外周神经损伤后,在脊髓背角 I 和 II 层出现大量的 CTB 标记纤维被解释为 A 纤维的长芽现象,被认为是导致慢性痛的解剖学基础(Woolf and Mannion 1999, Woolf and Salter 2000)。

1999 年我们实验室的报道显示:外周神经损伤可引起背根神经节小神经元的表型发生改变,其与 CTB 的结合位点上调,导致小神经元摄取和运输 CTB 的容量增加,除了大神经元被标记外,几乎所有的小神经元也被标记(Tong *et al.* 1999)。这些发现提示:脊髓背角 II 层的 CTB 标记纤维主要代表 C 纤维,因此对外周神经损伤后,脊髓后角 A 纤维的长芽作为神经病理性痛的解剖学基础的观点提出了质疑(Blomqvist and Craig 2000)。但是否有可能外周神经损伤后 C 纤维运输 CTB 至背根神经节,但不进一步运输到脊髓背角?另外,如果有 A 纤维长芽并进入脊髓 II 层,那么能够观察到这些长芽纤维的数量和分布?因此,有必要用更加特异的技术来重新评价这一重要问题。

2002 年我们对以上两个问题进行了进一步的实验研究(Bao *et al.* 2002)。首先,我们证明了外周神经损伤后,脊髓背角 I 和 II 层大量的 CTB 标记纤维为 C 纤维。主要实验依据有两个方面,第一,外周神经损伤后,背根神经节中 CTB 的标记神经元数在损伤 2 d 时即有增加,随着损伤时间的延长增加更加显著,损伤 14 d 时,CTB 标记细胞达到 $78.5 \pm 2.6\%$,而对照侧为 $45.8 \pm 2.2\%$;同时观察到脊髓背角 CTB 标记纤维也随着损伤时间的延长而增加,损伤 2 d 时增加不明显,损伤 7 d 时增加明显,14 d 时数量和强度增加更加显著。脊髓背角的 CTB 标记增加稍滞后于背根神经元,但增加的时程和强度一致。第二,用特异性的小神经元的标记物甘丙肽(galanin)和血管活性肠肽(VIP)作为标记,在正常情况下,甘丙肽和血管活性肠肽只存在于小神经元中,外周神经损伤后,甘丙肽和血管活性肠肽阳性细胞数增加,仍只存在于小神经元中。在正常情况下,脊髓背角 I 和 II 层可见甘丙肽和血管活性肠肽阳性标记的纤维,没有 CTB 标记纤维,外周神经损伤后,甘丙肽和血管活性肠肽阳性标记纤维增加,且与 CTB 标记共存于同一纤维中。因此可以认为:外周神经损伤后,脊髓背角 I 和 II 层大量的 CTB 标记纤维主要是背根小神经元的投射。其

次,我们重新评价了外周神经损伤后 A 纤维的长芽情况。我们对 CTB 追踪方法进行了改良,将原来的先做外周神经切断、后打追踪剂,改为先打追踪剂、后做神经切断,这样在外周神经损伤后即使小神经元摄取 CTB 的能力增加了,但 CTB 均已被大神经元摄取,小神经元无 CTB 可以摄取,此时 CTB 仍只标记大神经元和 A 纤维,如果脊髓背角有 A 纤维的长芽,在 I 和 II 层就有 CTB 标记纤维。结果显示外周神经损伤后脊髓背角 II 层只有非常有限数量的 CTB 标记纤维,且随着损伤时间的延长有少量增加,这些标记纤维主要分布于 II 层的深部,I 层中没有观察到标记纤维增加。用外周神经损伤后在大神经元特异性表达的神经肽 Y 作为标记,发现长入脊髓背角 I 和 II 层的 CTB 标记纤维与神经肽 Y 共存,进一步提示少量的长芽纤维为 A 纤维,神经肽 Y 可能是这些长芽 A 纤维的主要神经递质之一。包埋前免疫电镜的结果显示:少量长芽的纤维在 II 层可形成突触连接,有可能形成异常的神经过回路。

以上结果提示:外周神经损伤后,少量的主要传导触压觉的 A 类初级传入纤维可以生长入脊髓背角 II 层痛觉初级整合区,虽然长芽的 A 纤维数量十分有限,但可以与 II 层神经元形成突触联系,因此,可能为形成慢性痛的解剖学结构基础。

参考文献

1. Bao L, Wang H F, Cai H J, Tong Y G, Jin S X, Lu Y J, Grant G, Hokfelt T, Zhang X. Peripheral axotomy induces only very limited sprouting of coarse myelinated afferents into inner lamina II of rat spinal cord. *Eur J Neurosci*, 2002, 16: 175 ~ 85
2. Bester H, Beggs S, Woolf C J. Changes in tactile stimuli-induced behavior and *c-Fos* expression in the superficial dorsal horn and in parabrachial nuclei after sciatic nerve crush. *J Comp Neurol*, 2000, 428: 45 ~ 61
3. Blomqvist A, Craig A D. Is neuropathic pain caused by the activation of nociceptive-specific neurons due to anatomic sprouting in the dorsal horn? *J Comp Neurol*, 2000, 428: 1 ~ 4
4. Coggeshall R E, Lekan H A, Doubell T P, Allchorne A, Woolf C J. Central changes in primary afferent fibers following peripheral nerve lesions. *Neuroscience*, 1997, 77: 1 115 ~ 22
5. Dalal A, Tata M, Allegre G, Gekiere F, Bons N, Albe-Fessard D. Spontaneous activity of rat dorsal horn cells in spinal segments of sciatic projection following transection of sciatic nerve or of corresponding dorsal roots. *Neuroscience*, 1999, 94: 217 ~ 28
6. Dray A, Urban L, Dickenson A. Pharmacology of chronic pain. *Trends Pharmacol Sci*, 1994, 15: 190 ~ 7
7. Grant G. Primary afferent projections to the spinal cord. In *The rat nervous system*. G. Paxinos ed. New York: Academic Press, 1995, 61 ~ 66
8. Hokfelt T, Zhang X, Wiesenfeld-Hallin Z. Messenger plasticity in primary sensory neurons following axotomy and its functional implications. *Trends Neurosci*, 1994, 17: 22 ~ 30
9. LaMotte C C, Kapadia S E, Shapiro C M. Central projections of the sciatic, saphenous, median, and ulnar nerves of the rat demonstrated by transganglionic transport of cholera toxin B-subunit-HRP (B-HRP) and wheat germ agglutinin-HRP (WGA-HRP). *J Comp Neurol*, 1991, 311: 546 ~ 62
10. Maxwell D J, Rethelyi M. Ultrastructure and synaptic connections of cutaneous afferent fibres in the spinal cord. *TINS*, 1987, 10: 117 ~ 123
11. Tong Y G, Wang H F, Ju G, Grant G, Hokfelt T, Zhang X. Increased uptake and transport of cholera toxin B-subunit in dorsal root ganglion neurons after peripheral axotomy: possible implications for sensory sprouting. *J Comp Neurol*, 1999, 404: 143 ~ 58

12. Trojanowski J Q, Gonatas J O, Gonatas N K. Conjugates of horseradish peroxidase (HRP) with cholera toxin and wheat germ agglutinin are superior to free HRP as orthogradely transported markers. *Brain Res*, 1981, 223: 381 ~ 5
13. Willis W D J, Coggeshall R E. Sensory mechanisms of the spinal cord. New York and London: Plenum Press, 1991
14. Woolf C J, Mannion R J. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet*, 1999, 353: 1959 ~ 64
15. Woolf C J, Salter M W. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science*, 2000, 288: 1765 ~ 9
16. Woolf C J, Shortland P, Coggeshall R E. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature*, 1992, 355: 75 ~ 8
17. Woolf C J, Shortland P, Reynolds M, Ridings J, Doubell T, Coggeshall R E. Reorganization of central terminals of myelinated primary afferents in the rat dorsal horn following peripheral axotomy. *J Comp Neurol*, 1995, 360: 121 ~ 34
18. Zigmond R E, Hyatt-Sachs H, Mohny R P, Schreiber R C, Shadiack A M, Sun Y, Vaccariello S A. Changes in neuropeptide phenotype after axotomy of adult peripheral neurons and the role of leukemia inhibitory factor. *Perspect Dev Neurobiol*, 1996, 4: 75 ~ 90

H⁺ - 门控性阳离子通道:结构与功能

陈建国^{CA}

华中科技大学同济医学院药理学系



【作者简介】 陈建国,男,39岁,华中科技大学同济医学院药理学系教授,系主任。1985年在湖北咸宁医学院获学士学位,90年在同济医科大学获硕士学位,后留药理学教研室任讲师,95年赴德国凯撒斯劳滕(Kaiserslautern)大学学习,98年在德国海德堡(Heidelberg)大学获博士学位,1998—2001年在美国依阿华(Iowa)大学医学院做博士后研究。2002年3月起任现职。研究兴趣主要集中于代谢型谷氨酸受体(mGluRs)、氧自由基与突触可塑性及离子通道的关系。近年研究工作涉及:mGluRs参与脑内神经细胞间对话和脊髓背角疼痛调制的机制;氨基酸(蛋氨酸、半胱氨酸)氧化对Shaker钾通道电流和P/Q-型钙通道电流的调节。最近的研究发现:酸感受通道和肌营养不良蛋白聚糖参与海马突触可塑性和学习记忆过程。近五年在 *Nature*、*Neuron* 和 *J. Neurosci.* 等国际

权威杂志上发表论文9篇。现为美国神经科学学会会员、中国药理学学会理事、中国生物物理学会神经生物物理专业委员会委员、湖北省药理学学会副秘书长、湖北省科协委员、全国规划教材《药理学》(第六版)编委、《新编实用药理学》编委、《离子通道药理学》编委。获得“国家自然科学基金面上项目、重点项目”,“教育部回国启动基金”等资助。

代表性论文

1. **Chen J**, Backus K H, Deitmer J W. Intracellular calcium transients and potassium current oscillations evoked by glutamate in cultured rat astrocytes. *J Neurosci*, 1997, 17: 7 278 ~ 7 287
2. **Chen J**, Avdonin V, Ciorba M A, Heinemann S H, Hoshi T. Acceleration of P/C-type inactivation in voltage-gated K⁺ channels by methionine oxidation. *Biophysic J*, 2000, 78: 174 ~ 187
3. Wemmie J A, **Chen J**, Askwith C C, Hruska-Hageman A M, Price M P, Nolan B C, Yoder P G, Lamani E, Hoshi T, Freeman J H and Welsh M J. The acid-activated ion channel ASIC contributes to synaptic plasticity, learning, and memory. *Neuron*, 2002, 34: 463 ~ 477(cover story)
4. Moore S A, Saito F, **Chen J**, Michele D E, Henry M D, Messing A, Cohn R D, Ross-Barta S E, Westra S, Williamson R, Hoshi T, Campbell K P. Deletion of brain dystroglycan recapitulates aspects of

^{CA}武汉市航空路13号华中科技大学同济医学院药理学系 430030

电话:027-83692636 传真:027-83692608 E-mail:chenj@mails.tjmu.edu.cn

congenital muscular dystrophy. Nature, 2002, 418:422 ~ 425

5. **Chen J**, Daggett H, Heinemann S H, Hoshi T. Nitric oxide augments voltage-gated P/Q-type Ca^{2+} channels constituting a putative positive feedback loop. Free Radical Biology & Medicine, 2002, 32: 638 ~ 649

一、概述

DEG/ENaC(degenerins /epithelial sodium channels), 即退变素/上皮细胞钠离子通道,是一个近年被新发现的、具有十分广泛的分布和功能的阳离子通道超级家族。自 20 世纪 90 年代初被克隆出以来,有关其基因、分子结构和生理/病理功能的研究进展很快,越来越受到生命科学各有关领域的关注。DEG/ENaC 的名称来源于该家族中最早确定的线虫退变素(degenerins)和脊椎动物上皮细胞氨氯吡咪敏感性 Na^{+} 离子通道(epithelial amiloride-sensitive Na^{+} channels)两个亚家族。退变素基因 *deg-1* 和 *mec-4* 是该家族中最早发现的两个基因,与线虫(*Caenorhabditis elegans*)的触觉感觉神经元退变有关(Chalfant *et al.* 1989)。相对其他离子通道家族而言,该通道超级家族一个明显的特点是,其通道成员间尽管分子结构相似,但生理/病理功能迥异。已有大量证据表明,该家族成员参与了从神经元退变、痛觉和触觉等感觉的形成到学习记忆等多种复杂的生理/病理过程。这些通道可以被结构性地激活(如上皮细胞的 Na^{+} 通道),被配体门控(如肽类-门控性通道 FaNaC 或 H^{+} -门控性通道 ASIC),或可能被牵张刺激所激活(如线虫退变素通道)。另一方面,尽管其功能很广泛,但这一通道家族成员又有如下共同特点:对 Na^{+} 具有通透性、能被利尿药氨氯吡咪所阻断、不受电压门控。

根据通道蛋白氨基酸序列同源性、通道首次被克隆时所用的动物种类、通道的电生理特性,将 DEG/ENaC 阳离子通道超级家族进行了大致分类(表 1)。迄今为止,已证实该超级家族含 7 个亚家族,其中退变素通道只存在于线虫类,肽类-门控性通道存在于软体动物类,存在于果蝇的有 RPK/dGNAC1、PPK/dmdNaC1,存在于哺乳类动物的有上皮细胞氨氯吡咪敏感 Na^{+} 通道(ENaC)和 H^{+} -门控性阳离子通道(ASICs)。此外,在哺乳动物最近还发现了脑-肝-肠 Na^{+} 离子通道(brain-liver-intestine Na^{+} channels, BLINaC),在线虫还存在一种氟化物不敏感通道(fluoride-resistant channels, FLR1)。本综述重点放在这一通道超级家族的新成员—— H^{+} -门控性阳离子通道亚家族上。

表 1 DEG/ENaC 通道超级家族的组成和分类

通道名称	通道亚型
H^{+} -门控性阳离子通道(ASICs)	ASIC1, ASIC2, ASIC3, ASIC4
肽类-门控性通道	FaNaC
退变素(degenerin)通道	UNC-105、UNC-8、DEG-1、DEL1、MEC-4、MEC-10
果蝇氨氯吡咪敏感 Na^{+} 通道	RPK/dGNAC1、PPK/dmdNaC1
上皮细胞氨氯吡咪敏感 Na^{+} 通道	亚单位: α ENaC、 β ENaC、 γ ENaC、 δ ENaC
脑-肝-肠 Na^{+} 通道	BLINaC
氟化物不敏感 Na^{+} 通道	FLR1, F28A12.1, C24G7.2, T28.F2.7

二、H⁺ - 门控性阳离子通道的命名和分类

H⁺ - 门控性阳离子通道(H⁺-gated cation channels)又称酸感受通道(acid sensing ion channels, ASICs)。该通道电流早在 20 世纪 80 年代初就在中枢及外周神经元上被记录到(Krishtal and Pidoplichko 1981),其分子结构则在 90 年代末被克隆出(Waldmann *et al.* 1997, Lingueira *et al.* 1997)。该通道亚家族在体内分布十分广泛,中枢神经系统中的海马、小脑、大脑皮层、上丘脑、丘脑下部、脑垂体和脊髓,外周神经系统中的背根神经节、触压觉神经末梢及其周围组织、心脏交感神经传入末梢,消化系统中的肝、肠等器官组织均有表达。其主要的激活因素是细胞外 H⁺ 增加(pH 下降),其电流大小在一定范围内与 pH 呈正相关,最佳刺激范围在 pH 6.8 ~ 5.6 之间。H⁺ - 门控性阳离子通道可能具有十分重要的生理或病理学功能。现有资料表明,它们可能参与了神经元退变、伤害性感觉的产生、组织酸中毒的病理生理学反应、细胞间对话、突触可塑性和学习记忆等重要生理/病理过程。

因发现和克隆的时间、动物和实验室不同,此类通道命名很不一致,为避免混乱,本文参照 Waldmann 和 Lazdunski(1998)倡导的统一命名原则,结合最新进展,将各类命名的对应关系列于表 2。存在于哺乳动物的 H⁺ - 门控性阳离子通道的统一命名分别是:ASIC1,原名酸感受离子通道(又名 ASIC, BaNaC2);ASIC2,原名脑 Na⁺ 通道 1(又名 BNC1, MDEG, BNaC1);ASIC3,原名背根神经节酸感受通道(又名 DRASIC);ASIC4,原名脑垂体 Na⁺ 通道(Bianchi and Driscoll, 2002)。此外,ASIC1(ASIC)和 ASIC2(BNC1)都分别具有剪接异构体 ASIC1a(ASIC α)、ASIC1b(ASIC β)和 ASIC2a(BNC1a)、ASIC2b(BNC1b)(Waldmann and Lazdunski 1998)。这些亚单位中绝大多数通过异源性表达组成 Na⁺ 通道,这类通道能被细胞外较低的 pH 所激活,随后在酸性刺激继续存在时则产生去敏感化。单个亚单位和多个亚单位共同表达产生不同的电流动力学特征和 pH 敏感性。

表 2 ASIC 通道亚家族的组成和分类

通道亚型	变异体	原有名称
ASIC1	ASIC1a; ASIC1b	ASIC, BaNaC2; ASIC β
ASIC2	ASIC2a; ASIC2b	BNC1, MDEG, MDEG1, BNaC1; MDEG2
ASIC3	ASIC3a; ASIC3b; ASIC3c	DRASIC
ASIC4		SPASIC

三、H⁺ - 门控性阳离子通道的分子结构

H⁺ - 门控性阳离子通道蛋白家族中的亚单位,以同型多聚体和异型多聚体的形式相互联合而组成电压 - 非依赖性通道。3 种通道亚单位已被克隆出,分别被命名为: α 、 β 、 γ 亚单位。这些亚单位都为通道最大程度的激活所必须。有关组成天然通道亚单位的数目尚没有定论,一般认为有四聚体($\alpha_2\beta\gamma$)或九聚体($\alpha_3\beta_3\gamma_3$)两种(Waldmann and Lazdunski 1998)。ASIC 通道亚单位的跨膜拓扑学结构已被多个实验室确定,它们有 500 ~ 1 000 个氨基酸残基组成,具有一个共同的结构:即两个疏水性跨膜结构域(TM1, TM2),胞内侧为相对较短的 C - 端和 N - 端,胞外侧较长的袢形结构(~ 50 kDa)中含有 3 个保守的半胱氨酸富集结构域(cysteine-rich domain I, II, III, CRDI,

CRDII, CRDIII) 和 1 个胞外调节结构域 (extracellular regulatory domain, ERD) (Kellenberger and Schild 2002), 胞外结构被认为是接受胞外刺激的部分。尽管有关其结构和功能关系的研究还处于初始阶段, 但已有的资料表明, 此类通道上有 3 个保守性区域颇受重视。其中, TM2 和 TM2 - 前片段 (pre-TM2 segment) 共同组成通道孔, 靠近 TM1 的胞内侧段的一个保守片段影响通道开放概率、离子通透性和 Na^+ 选择性, 胞外结构域中一富含半胱氨酸的保守片段与保持通道的基本功能有关 (Bianchi and Driscoll 2002)。

四、 H^+ - 门控性阳离子通道各亚型的特点

ASIC1 是文献中首先描述的 H^+ - 门控性离子通道。当胞外 pH 自 7.6 快速减低至 6.9 以下时, 异源型表达的 ASIC1 将被激活, 激活后以单指数的方式快速去敏感 ($\tau_{\text{inact}} = 1.4\text{s}$)。该通道对 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 K^+ 都具有通透性 ($\text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{K}^+$), $P_{\text{Na}}/P_{\text{K}}$ 比值为 6 ~ 13 (ASIC1a) 或 ~ 6 (ASIC1b)。与其它通道相比, ASIC1a 对 Ca^{2+} 有一定的通透性, $P_{\text{Na}}/P_{\text{Ca}}$ 比值为 2.5。ASIC1 的 mRNA 在脑内和外周感觉神经元均有较高密度的分布。

ASIC2 是第一个被克隆出的 H^+ - 门控性离子通道, 因其被推测与哺乳类动物神经元退变有关, 故最早被命名为 MDEG (mammalian degenerin), 或以其分布特点被命名为 BNC1 (Brain Na^+ channel 1)。其氨基酸序列与 ASIC1 有 67% 的同一性。是继 ASIC1 之后紧接着被证明为 H^+ - 门控性阳离子通道亚家族成员的。其生物物理学特点与前者亦有所不同, pH 低于 5.5 时才能被激活, 只对 Na^+ 通透, $P_{\text{Na}}/P_{\text{K}}$ 比值为 10 左右。激活后去敏感比 ASIC1 慢。ASIC2 及其剪接异构体 ASIC2a、ASIC2b 在中枢和外周神经系统均有表达 (Waldmann *et al.* 1999, Alvarez 2002)。

ASIC3 最早是在背根神经节被克隆出的, 故名 DRASIC (Dorsal root ganglia ASIC)。天然 ASIC3 的半数激活 pH 为 5.8, 人工表达的通道的激活需要更加酸性的 pH (pH < 4)。 $P_{\text{Na}}/P_{\text{K}}$ 比值为 12。与前两种通道明显不同的是: ASIC3 被激活后不会很快去敏感化, 而是当刺激继续存在时, 表现为一双相电流, 即在一快速电流后紧随着一幅度较低、与快速电流同向的持续电流 (Waldmann *et al.* 1997)。

ASIC4 是新近被发现和克隆出的 ASICs 亚家族新成员, 最早被证明存在于脑垂体, 现已被证明在整个中枢神经系统都有表达, 特别是脑垂体有很强的表达 (Grunder *et al.* 2001)。其氨基酸结构与其他的 ASICs 有 45% 的同一性 (Grunder *et al.* 2000)。

H^+ - 门控性离子通道不同的亚单位组成异型多聚体性通道是其普遍的存在形式。不同亚单位具有共同的分布部位这一特点也支持通道以异型多聚体组成的推论。这一判断也得到以下的一些实验证实: 如将 ASIC2 的前 236 个氨基酸用另外一个新序列代替形成的变异型通道 ASIC2b, 单独表达时则处于失活状态, 但当其与 ASIC3 或 ASIC2 共同表达时, 则可以修饰后两者的通道特性; ASIC2 同型多聚体以单指数形式失活并对 Na^+ 有高度选择性, 但当与 ASIC2b 共同表达时, 其失活过程变成双相, 且对 Na^+ 、 K^+ 选择性很差; 同样, 当 ASIC3 与 ASIC2b 共同表达时, 其离子选择性发生类似的变化, ASIC3 持续的 Na^+ - 选择性电流变成非选择性, 即 $P_{\text{Na}} = P_{\text{K}}$ 。令人感兴趣的是, 自感觉神经元上记录到的双相性 H^+ - 门控性阳离子电流中的持续性成分也对 Na^+ 、 K^+ 没有选择性, 提示 ASIC 异型多聚体的确存在于机体内 (Waldmann and Lazdunski 1998)。

五、 H^+ - 门控性阳离子通道的生理/病理学功能

1. 感受细胞外 H^+ 的变化

细胞外微环境中 pH 的变化会对多种细胞特别是神经元的功能产生很大的影响。ASICs 一方面介导了这种影响, 另一方面也是神经元感受外环境 pH 变化的感受器(Waldmann 2001)。因而, ASICs 在细胞外微环境的稳定以及神经元的调节中起着十分重要的作用。基于 H^+ 引起的电流的瞬时性和对氨氯吡咪敏感的特点, Varming(1999)提出 DEG/ENaC 通道特别是 ASIC1(ASIC)可能与内源性 H^+ - 门控性电流有关。通道表达谱支持这一主张: ASIC1 α (ASIC α), ASIC2a(BNC1a)和 ASIC2b(BNC1b)在中枢神经系统有转录, ASIC3(DRASIC)和 ASIC1 β (ASIC β)主要表达于外周神经系统。ASIC1 转录物在小脑皮层、海马、小脑和嗅球最丰富。最近一份研究表明 ASIC1 可被朗蛛毒素(tarantula toxin)所抑制, 而这种毒素也可抑制培养的小脑颗粒细胞上的酸激活电流, 进一步证明 ASIC1 参与介导这些 pH 门控性电流(Escoubas *et al.* 2000)。

2. 神经元“退变素”样作用

线虫退变素突变可导致线虫迟发性神经性退变。绝大多数这类突变与刚好在第二跨膜结构域之前处丙氨酸被较大的缬氨酸或苯丙氨酸替代有关。它们被推测与退变素通道获得功能有关。令人感兴趣的是, 同样的突变也可引起 ASIC1 和 ASIC2 结构性的通道活动和细胞死亡。线虫退变素通道获得功能导致神经性退变和增加上皮细胞 Na^+ 活性被证明与人类某些遗传性疾病有关。ASIC 亚单位结构性激活具有杀死神经元的潜能, 涉及人类型神经性退变的 ASIC 变异, 很可能与它们导致线虫神经性死亡的同源物变异是相似的(Driscoll 1996, Bassilana *et al.* 1997, Waldmann *et al.* 1999)。

3. 参与痛觉的形成

现有证据表明: 与痛觉有关的主要通道或受体有: TTX 不敏感 Na^+ 通道(慢 Na^+ 通道)、P2X3 受体、VR1 受体和 H^+ - 门控性阳离子通道(ASICs)(McCleskey and Glod 1999, Treede 1999, Wood 2000), H^+ - 门控性阳离子通道是酸感受器, 现已证明 ASIC3、ASIC1 在外周神经系统有广泛的分布(Waldmann *et al.* 1997), ASIC1b(ASIC- β)在背根神经节部分小直径细胞和大直径细胞也都有分布(Chen *et al.* 1998)。 H^+ 本身可引起痛觉, 其他痛觉致敏介质又可增强 H^+ 引起的痛觉反应(Steen *et al.* 1996)。组织酸中毒可引起疼痛, 某些情况下, 伴有炎症和缺血的组织酸中毒可使组织内 pH 下降两个单位以上, 足以激活 ASIC 通道。因此, ASICs 被推论为痛觉形成的中心成分之一(Waldmann 2001)。实验证明其中 ASIC2 可能没有参与伤害性感觉的形成, 而存在于感觉神经末梢的 ASIC3 被推论为组织酸中毒所致疼痛的感受器(Steen *et al.* 1996, Price *et al.* 2000)。最新实验还证明: ASIC3 分布于心交感神经末梢, 在心肌缺血时可以被激活, 从而介导心绞痛(Benson and Sutherland 2001)。

4. 参与轻触觉的形成

线虫退变素通道 MEC-4、MEC-10 被推测与机械性刺激感受有关系, 与之相类似的 ASIC 通道是否也参与机械性刺激的感受呢? 采用 ASIC2 或 ASIC3 基因敲除的方法(Price, *et al.*, 2000), 发现 ASIC2 参与了毛发或皮肤机械性刺激感受的形成, 该通道敲除后, 动物的毛发或皮肤对轻触觉的敏感性明显降低, 尽管酸诱导的电流和酸刺激所致的伤害性感受器的反应仍然正常。由此推测, ASIC2 和 ASIC3 为正常轻触觉的产生所必须, 并且可能是触觉感受复合体的中心成分(Price *et al.* 2000, Welsh *et al.* 2001)。

5. 参与突触传递可塑性和学习记忆活动

神经活动可导致胞外 pH 波动, 尽管细胞外较大的 pH 变动会被平衡机制很好地控制, 但在

某些微小区域、如突触间隙内 pH 的波动是极有可能的。比如突触囊泡释放时,泡内的酸性 pH 能瞬时地影响局部 pH。与此推测一致的是,瞬时细胞外间隙的酸化在培养的海马神经元和脑片上与神经传递同时被记录到。因此,酸引起的电流极有可能在突触传递的过程中扮演一个角色。采用基因敲除的方法,我们制备了 ASIC1 α 基因剔除动物模型。该模型动物总体情况与野生型没有什么差别,在取自该模型的海马神经元上,酸性刺激不再引起电流,说明 ASIC1 功能不再存在。在模型小鼠的海马脑片上,高频刺激(HFS)所引导的 CA3-CA1 突触长时增强(LTP)被损害,HFS 后 40 min 内,兴奋性突触后电位(EPSP)的上升相斜率或幅度逐渐回到基线水平,而在此同一时间点上,对照组 EPSP 仍处于 200% 的增强水平。同时,模型小鼠对 HFS 的反应减弱,EPSP 不能像对照组那样可以进行时间性总和,这一变化与 NMDA 受体特异性阻断剂 D-APV 存在时,野生型动物对 HFS 的反应很相似。在行为学检测中,模型小鼠表现为空间性学习记忆功能和眨眼条件反射明显受到损害。由此推论,ASIC1 在海马 LTP 和空间性学习记忆活动中扮演了一个重要的角色。因海马 LTP 的产生依赖于突触后膜 NMDA 受体的兴奋,而 NMDA 受体的激动依赖于突触后膜去极化而致使受体通道中的 Mg^{2+} 阻隔被去除,另一方面,HFS 刺激产生的大量酸性($pH < 5.6$)囊泡释放,导致突触间隙瞬时酸化,由此激活 ASIC1 通道,导致 Na^+ 、 Ca^{2+} 内流而增加突触后膜去极化的程度,从而易化 NMDA 受体的激活,最后通过升高胞内 Ca^{2+} 浓度而引发 LTP。ASIC1 剔除后,膜去极化受影响,NMDA 激活不够,从而损害 LTP 的形成(Wemmie *et al.* 2002, Bianchi and Driscoll 2002)。

6. 小结和展望

有关 H^+ - 门控性阳离子通道结构和功能的研究,近年越来越受到学者们的重视。他们在机体内广泛分布的事实提示他们具有同样广泛的生理学意义。有关这一领域的研究还只能说是刚刚起步,已有的证据表明他们至少涉及到酸中毒反应及其所导致的慢性疼痛、轻触觉、神经元退变、突触可塑性和学习记忆等过程。随着研究手段的进步,必将会有更多的功能被发现。有关 ASIC 的研究,为我们认识触觉、伤害性感觉形成和神经元退变的分子机制,了解突触可塑性和学习记忆等复杂过程及其发生机制开拓了新的视野。

疼痛及其感受机制仍未完全明了,伴随炎症状态如慢性关节炎、肿瘤和缺血等出现的局部酸中毒极大地参与了疼痛和痛觉过敏的产生,作为酸感受装置的 ASICs 被推论在其中起到关键性的介导作用。非甾体类抗炎药(NSAIDs)是常用的镇痛抗炎药物,其作用机制除经典的抑制前列腺素环加氧酶(COX)外,有许多研究提示其作用也涉及到其他机制。特别是最新的研究证明:ASICs 在传导痛觉的背根神经节小细胞中与 P 物质共同表达,其表达密度可被炎症诱导,NSAIDs 可以抑制这种炎症诱导的 ASICs 表达,并可直接抑制 ASIC 电流。由此推论,抑制 COX 和抑制 ASICs 都是 NSAIDs 镇痛的重要机制(Voillely *et al.* 2001)。因此,开展对 ASICs 的研究不但有助于对现有镇痛药物作用机制的进一步了解,而且有可能发现镇痛药作用新的靶点和催生新一代镇痛药物。

增强突触可塑性的药物,如 NMDA 受体激动剂等,被试图用于增强记忆功能的治疗,ASIC 参与了突触可塑性,提示它的激活情况可被进行药理学意义上的调节。此外,也可通过抑制 ASIC 来减少酸中毒所产生的副作用。酸中毒和胞外谷氨酸浓度升高是癫痫和中风的病理生理学变化之一,NMDA 受体在与之相关的兴奋性毒性作用中扮演了关键性角色。NMDA 受体阻断剂被试图用来治疗这些疾病,但因其副作用太大而价值不大。ASIC 阻断剂有可能提供一条既能减弱兴