

疼痛的神经生物学

——理解大脑机制及神经疾病治疗的机理

卓 敏

(多伦多大学医学院生理系, 多伦多大学痛觉研究中心, 加拿大安大略省
多伦多市国王学院环路 1 号 M5S 1A8)

摘 要: 中枢神经系统的神经元和突触具有可塑性, 他们能够发生贯穿整个生命过程的长时程改变。研究这种长时程变化的分子和细胞学机制, 不仅可以帮助我们了解大脑如何学习和储存新的知识, 而且还可以揭示机体损伤后病理变化的机制。我认为, 一方面学习和记忆等生理学功能的神经机制可能与大脑在疼痛期间的反常或机体损伤相关的变化过程共用一些信号分子; 另一方面, 一些不参与认知学习和记忆过程的突触和神经网络机制也可能与疼痛的病理过程相关。伤害性感受可以从脊髓传递到前脑并在不同水平受到调节。其中, 前扣带脑皮质 (anterior cingulate cortex, ACC) 在痛觉的感受和调节中具有重要作用。我们的实验结果表明, ACC 中的 N-甲基-D-门冬氨酸 (NMDA) 受体依赖的、钙/钙调蛋白激活的腺苷酸环化酶 (adenylyl cyclases, AC) (AC1 和 AC8) 在慢性痛的表达过程中起着重要的作用。ACC 还可以通过激活内源性易化系统影响脊髓背角的痛觉信号传递。这些结果为机体对损伤的生理反应如痛行为反应、情绪变化和不良记忆等提供了重要的突触和分子水平的机制。加强对疼痛机制研究, 会带动中国的神经科学的基础和临床研究。

关键词: 突触可塑性 长时程增强 长时程抑制 前扣带脑皮质 持续性疼痛 恐惧记忆 小鼠
基因敲除 早期应答基因 腺苷酸环化酶

Neurobiology of Pain : A Window to Understand Brain Mechanism and Treat Mental Diseases

Ph. D. ZHUO Min

(Department of Physiology, University of Toronto 1 King 's College Circle
Toronto, Ontario M5S 1A8 Canada)

Abstract : *Neurons and synapses in the central nervous systems are plastic, and can undergo long-term changes throughout life. Studies of molecular and cellular mechanisms of such changes not only provide important insight into how we learn and store new knowledge in our brains, but also reveal the mechanisms of pathological changes occurring following an injury. Here, I propose that while neuronal mechanisms underlying physiological functions such as learning and memory may share some common signaling molecules with abnormal or injury-related changes in the brain during the*

induction, distinct synaptic and neuronal network mechanisms are involved in pathological pain as compared with that of cognitive learning and memory. Nociceptive information are transmitted and regulated at different levels of the brain, from the spinal cord to forebrains. Furthermore, N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor-dependent, calcium-calmodulin activated adenylyl cyclases (AC1 and AC8) in the anterior cingulate cortex (ACC) play important roles in the induction and expression of persistent inflammatory and neuropathic pain. Neuronal activity in the ACC can also influence nociceptive transmission in the spinal cord dorsal horn through activation of endogenous facilitatory system. Our results provide important synaptic and molecular insights into physiological responses to the injury, including behavioral, emotional and memory.

Key words: *synaptic plasticity, long-term potentiation, long-term depression, anterior cingulate cortex, persistent pain, fear memory, mice, gene knockout, immediate early genes, adenylyl cyclases*

导言

精神病学和神经病学疾病是最常见和最严重的健康问题之一。精神病学和神经病学疾病的临床治疗需要神经科学领域里对这些疾病机制的阐明。过去大约20年间,我们看到分子生物学和细胞生物学成功地应用于中枢神经系统研究^[1]。随着人类和小鼠基因组绘制工作的完成^[2],与疾病相关的新基因和蛋白质正很快被鉴定出来。对这些新基因和蛋白质的研究为疾病发病机理的研究打开了大门,并为患有脑部疾病,如精神分裂症、孤独症、智力迟钝、慢性疼痛、忧郁症、阿尔采默症以及帕金森病的病人的临床治疗打下了基础。

但是,仅仅知道新基因的序列或新蛋白质的结构并不足以了解其在大脑功能中发挥的作用。神经元通过一种名为突触的结构互相交换信息。加拿大科学家 Donald Hebb 在他的著名著作 *The Organization of Behavior* 中提出了一条突触工作的基本原则,即:当两个神经元同时显示出活性时,他们之间的突触强度应该得到增强。随后,在海马中发现的长时程增强现象为大脑的学习功能提供了一种突触模型。最近在小鼠基因技术领域的进展使得人们有可能研究特定的基因在突触信号传递/可塑性中的功能甚至是动物行为(如记忆、持续性疼痛和药物成瘾)中的功能。在这个令人激动的时代中,我和 Eric Kandel 博士实验室的同伴们合作得到了两个可能与神经疾病相关的重要发现。其一是钙调磷酸酶(calcineurin) A 基因敲除小鼠具有癫痫反应,其机制可能在于突触抑制的丧失^[3];其二是钙调磷酸

酶(calcineurin) A 基因敲除小鼠的 LTP 后期相的丧失可能会导致老年记忆丧失^[4]或与阿尔采默症相关的记忆丧失^[5,6]。这些基因敲除小鼠的研究强有力地证明突触信号传递和可塑性改变可能导致不同的精神疾病。事实上,其他的研究结果也支持了这种观点^[7~10]。

在我们成功地将一个或两个突触功能相关基因与行为表型改变结合起来的时候,我们正面临着更为复杂的任务:突触可塑性(如长时程增强)的改变是怎样影响大脑在系统和行为水平功能的呢?为回答这一问题,我决定采用一些新的研究手段来研究突触可塑性和精神疾病,并主要集中于研究机体损伤后躯体感觉的可塑性变化。做出这个决定有四个原因:首先,我相信组织或神经损伤后的突触变化比人为刺激(1-5个系列的强直刺激)产生的长时程增强现象更接近于精神疾病(如慢性痛、癫痫症)的状态;第二,感觉信号突触传递的变化更容易测量,并且更容易直接与行为学的变化联系起来;第三,慢性疼痛是一种主要的健康问题,并且已知它可以导致多种精神疾病,如忧郁症、快乐或兴趣的丧失、睡眠失调、注意力失调以及自杀的心理等,慢性疼痛可能与这些精神疾病的机制共享一些信号通路和神经网络;最后,对于突触可塑性、记忆以及慢性疼痛十分重要的 NMDA 受体与精神疾病广泛相关。我们也使用了一些补充手段来进行与突触可塑性、学习和记忆、恐惧情绪和慢性疼痛相关的研究。

本文将回顾近来对痛觉相关神经通路中中枢可塑性的研究,希望能帮助我们理解从慢性疼痛到精神疾病等不同大脑疾病的分子机制。最后,还将结

合笔者最近参加一些生命科学相关的研究所评估的经历,以及对**中国神经科学研究**的了解,提出笔者对中国未来疼痛研究的看法。

1 脊髓背角:疼痛之旅的起点

1.1 AMPA 和红藻氨酸 (Kainate, KA) 受体介导的反应

脊髓背角及相关区域的神经元接受包括有害信息在内的感觉输入,并将其传递到大脑中参与疼痛信息的结构^[11]。药理学和行为学研究显示,谷氨酸和包括 P 物质 (SP) 在内的神经肽都是痛觉的兴奋性递质。初级传入纤维与脊髓背角神经元间突触反应的电生理研究证明谷氨酸是主要的快速兴奋性递质,突触反应由突触后的谷氨酸受体介导,其中 -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噁唑 (-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate, AMPA) 受体介导主要的突触后电流^[12],而 Kainate 受体则更倾向于介导由更高的 (有害的) 强度刺激诱发的突触反应^[13]。与这些结果一致的是,同时阻断成年动物的 KA 和 AMPA 受体能比单独阻断 AMPA 受体产生更强的止痛效果。这些研究提示感觉信号可能是由不同的突触后递质受体编码。

1.2 单纯 NMDA 受体介导的反应

在脊髓背角中的沉默谷氨酸能突触 (silent glutamatergic synapse) 已见报道^[14~16]。在沉默突触中,没有有效的 AMPA/ KA 受体响应来自突触终末的谷氨酸释放,从而导致这些突触在静息膜电位下不能传导任何突触信号的传递。值得指出的是,这种沉默突触不应该与潜在的“沉默突触传递”相混淆,沉默突触的定义与突触后细胞膜电位被钳制于 -70 毫伏的条件相关。根据其定义,在这些沉默突触中存在大量的 NMDA 受体,若膜电位未被钳制,这些 NMDA 受体可能能够传导感觉信号突触传递 (比如,在组织损伤引起的高强度感觉纤维活性的情况下)。这些结果一致地提示在初级传入纤维和脊髓背角神经元之间的感觉连接中存在着不同类型的谷氨酸能突触,这种沉默突触为解释因测量机体损伤后神经峰电位而发现的无效突触的招募过程提供了关键的突触模型。

由于大部分沉默突触的实验均是在幼小动物 (如出生后 2 至 4 天) 的脊髓切片上完成的,人们已经开始关心与之相关的发育因素。在成年动物神经元上记录的结果已有报道,但是只发现了更少或没

有发现沉默突触^[17]。为了研究 5-羟色胺 (5-HT) 对突触的调节作用,我们在成年小鼠的脊髓切片上进行了细胞内记录,结果发现,在成年小鼠的感觉突触中,一些初级传入纤维和脊髓背角神经元之间的突触反应 (38 例实验中的 26.3%) 几乎完全是由 NMDA 受体介导的^[18],脊髓背角的刺激并不能在这些突触中引起任何可记录的 AMPA/ KA 受体介导的反应。

1.3 神经肽介导的反应

除了谷氨酸之外,包括 P 物质在内的一些神经肽也被认为是感觉神经递质。由于 P 物质介导的突触反映的潜伏期很长,因此一些年来一直无法确认这种反应是多突触还是单突触反应。P 物质能由许多脊髓的中间神经元合成,所以记录到的慢反应可能是单突触释放的谷氨酸间接激活这些中间神经元的结果。最近的全细胞膜片钳记录研究揭示了初级传入纤维突触中相对较快的 P 物质和神经激肽 (neurokinin) A 介导的突触电流和兴奋性突触后电流 (EPSCs),这些反应对脊髓背角神经元的活性产生影响^[19],从而首先提供了 P 物质作为神经递质的电生理证据。这些神经肽介导的 EPSPs 与谷氨酸介导的突触反应一起,可能使脊髓背角神经元在很长的一段时间内产生高频动作电位。这种谷氨酸和神经肽介导 EPSCs 将感觉信息从周围神经系统传递到中枢神经系统。

2 脊髓感觉信号传递的调节

脊髓背角常常被认为是感觉信号传递的一种简单接替区域,但是最近的研究揭示脊髓背角的突触信号传递能够接受复杂的、两相的、且是活性依赖的神经调节。在这种调节之下,从周围神经系统的感觉传入被精确地编码并被传入大脑。脊髓背角中突触调节方式可分为以下几种主要模型。

2.1 突触后调节:背根神经节 - 脊髓背角突触

神经递质或者神经调质在脊髓背角神经元中结合并激活它们在突触后的受体上,从而导致了 AMPA/ KA 受体介导的突触反应的改变。他们包括乙酰胆碱、5-羟色胺、鸦片类多肽、去甲肾上腺素、催产素^[20~22]。

2.2 突触前调节:背根神经节 - 脊髓背角突触

感觉神经递质或者神经调质结合于他们位于脊髓背根神经节神经中心终末上的靶受体上,这些突触前受体的激活将导致周围感觉刺激引起的感觉神

递质释放的改变。已报道一些神经递质和肽段,如 ATP、5-羟色胺和鸦片类多肽能对背根神经节-背角突触进行突触前调节^[23~25]。

2.3 异突触(heterosynaptic)调节:背根神经节-脊髓抑制性神经元

脊髓背角中,含有谷氨酸的感觉纤维终末在突触小球处与含有 GABA 和甘氨酸的局部中间神经元的终扣距离很近^[26,27]。在最近的研究里,我们提供了初级传入感觉纤维释放的谷氨酸通过激活 KA 受体调节脊髓抑制性信号传递的证据,数据提示感觉纤维和背角中间神经元之间通过突触前配体门控型离子通道进行的递质异突触调节可能是相互的。突触释放的谷氨酸抑制激活的兴奋性信号传递,这提示在充分的高水平感觉输入下,一直处于激活状态的抑制水平可能会降低,从而易化感觉信息向更高级大脑中心的接替^[28~29]。

2.4 自身突触前调节

另外,能作用于其靶受体的神经递质也可以在突触前终末表达。他们可以是兴奋性的谷氨酸或是抑制性的 GABA 突触。如果是谷氨酸突触,谷氨酸可能作用于在初级传入纤维中心终末表达的突触前 KA 受体,从而调节谷氨酸释放^[29,30]。相似的 GABA 释放的自身调节在脊髓中也有报道^[31]。

2.5 逆行信使

在中枢突触中,突触后受体的激活常常导致可扩散的信使,如一氧化氮(NO)和一氧化碳(CO)的生成^[32,33]。生成逆行信使的酶已在脊髓背角神经元中发现。这些可扩散的逆行信使非常有可能影响突触前的谷氨酸和/或神经肽释放。

3 脊髓感觉突触的长时程可塑性

3.1 长时程增强(LTP)

由于人们相信损伤后感觉反应的增强可能缓解慢性疼痛^[34~36],脊髓 LTP 的研究引起了广泛的关注。损伤后脊髓背角神经元对周围刺激的峰电位刺激得到增强已得到一致性地证明^[37],但是人们仍然需要研究增强的峰电位刺激是否仅仅是由背根神经节细胞与背角神经元之间的突触信号传递增强引起的。与其他区域,如海马的突触不同,脊髓背角神经元中的突触增强并不是由强烈的强直刺激引起的^[37]。最近的研究进一步显示 LTP 仅出现在一些脊髓投射细胞中^[38],在不表达 P 物质受体的脊髓背角神经元中不能产生增强;并且, NK1 受体或 NM-

DA 受体的激活为 LTP 所必须。但是,在大脑的其他区域, NMDA 受体依赖的 LTP 的激活并不要求 P 物质的存在^[38],为什么 LTP 在不表达 P 物质的其他神经元中不能表达还有待回答。

3.2 长时程易化

脊髓背角神经元从脑干的下行 5-羟色胺系统接收调制信号^[39,40]。除了 5-羟色胺产生的抑制作用,5-羟色胺或 5-羟色胺受体激动剂诱发了突触反应的长时程易化^[41,42]。易化的一种机制是通过谷氨酸 AMPA 受体与包含 PDZ (Postsynaptic Density-95/Discs Large/Zona Occludens-1) 结构域的蛋白质相互作用而使沉默突触从沉默状态转变到活性状态。GluR2 和 GluR3 在脊髓背角浅层感觉神经元中广泛表达^[42~44];谷氨酸受体相互作用蛋白(Glutamate receptor-interacting protein, GRIP)有 7 个 PDZ 结构域,并能特异性地结合于 GluR2/3 的 C 端,它在脊髓背角神经元中表达^[42,45];在很多背角神经元中同时 GluR2/3 和 GRIP^[42]。海马神经元中 GluR2 的 C 端的长时程过表达减少了突触 AMPA 受体簇的数量^[45],这提示 GluR2/3 和 PDZ 蛋白质之间的相互作用参与了突触后 AMPA 受体的靶定作用。为了研究感觉突触信号传递中 GluR2/3 - PDZ 相互作用的意义,我们制备了与 GluR2 最后 10 个氨基酸相对应的合成肽段("GluR2-SVKI": NVYGIKSVKI),它能够破坏 GluR2 与 GRIP 的结合^[42]。与预想结果一致的是, GluR2-SVKI 肽段阻断了 5-羟色胺的易化效果;在这些细胞中谷氨酸诱发的正常 EPSCs 和电流并不随着时间发生改变^[42],可见这种阻断效应相当有选择性地针对可塑性变化。使用不同对照肽段的实验一致性地显示 GluR2/3 的 C 端与 GRIP/ABP(或称其为 GRIP1 和 GRIP2)^[46]对 5-羟色胺诱导的易化作用十分重要,并且,由 PDBu 诱导的突触易化效应同样能被 GluR2-SVKI 所阻断,提示由 PKC 激活介导的突触易化和 5-羟色胺依赖其与 GluR2/3 的 C 端相互作用而产生的易化效应是相似的^[42]。

cAMP 信号通路被认为与脊髓背角神经元的功能相关,已有报道一些感觉神经递质,如谷氨酸和降血钙素基因相关肽段(calcitonin gene related peptide, CGRP)的激活能够提高 cAMP 的水平。在最近的一项研究中, forskolin 并不能显著影响成年小鼠切片中由脊髓背根刺激诱发的突触反应,但是同时加入 5-羟色胺和 forskolin 却能够导致突触反应

的长时程易化。我们发现钙敏感的腺苷酸环化酶 (AC1 和 AC8) 可能对 cAMP 水平提高有所贡献, 在缺乏 AC1 和 AC8 双重基因敲除的小鼠中, 由 5-羟色胺和 forskolin 诱发的长时程易化被完全阻断, 这显示钙敏感的腺苷酸环化酶十分重要。这些结果显示在成年的感觉突触中, cAMP 信号通路决定了 5-羟色胺受体的激活是否能够导致突触反应的异化或抑制效应^[18], 这个发现为生理或病理条件下两种不同信号通路的调节提供了可能的解释。由感觉神经递质引起的突触后 cAMP 水平的增加可能更倾向于 5-羟色胺诱发的易化, cAMP 和 5-羟色胺之间的相互作用可能提供了一种脊髓背角中允许感觉信号从外周到与下行于脑干 RVM 区域的中枢调节影响协作的异突触可塑性机制。

3.3 长时程去抑制

除了同性或异性突触增强, 最近的一项研究报告长时程去抑制可能对神经损伤引起的持续性疼痛有贡献^[47]。损伤激发了突触后一种钾-氯转运蛋白 KCC2 表达水平的降低, 并且随之引起了脊髓背角感觉兴奋性的显著增加, 这些变化发生可能在慢性疼痛的后期, 并在损伤后的脊髓兴奋性增强中扮演了重要角色。

4 ACC: 产生疼痛的区域

动物和人类学研究一致表明, 前脑神经元在伤害感受和疼痛感受中扮演着重要的角色。在动物学研究中, 包括 ACC 区域在内的大脑内侧额叶皮质区显著性地增强了急性伤害感觉的反应, 注射福尔马林则能增强厌恶记忆行为^[48-49]。在进行了额叶切除术或扣带回切除术的病人中, 不愉快的疼痛的感觉则会消失^[10]。从 ACC 神经元得到的电生理记录发现 ACC 区域的神经元, 包括伤害感受特异性的神经元, 能对有害的刺激做出反应^[50, 51]。神经成像研究进一步确证了这些观察结果, 并且显示出 ACC 区域和其他的皮层结构一起能被急性的有害刺激激活^[52-55]。因此, 对 ACC 区域内突触机制的理解将极大地帮助我们获得大脑内与疼痛相关区域可塑性变化的信息。

在此, 很有必要指出, 除了疼痛之外, ACC 区域还被认为是认知和运动过程的执行控制基础。人类成像的研究显示 ACC 区域被包括动机驱动、奖励、获利或损失、冲突监控或错误预见以及关注或期望在内的不同因素激活。由于人类功能成像有许多技

术上的限制, ACC 区域内这些不同功能的神经机制还不明了。ACC 区域的这些“副作用”或非选择性的角色进一步说明 ACC 在慢性疼痛相关的精神疾病中发挥着重要的角色。人类 ACC 区域的贡献可能还不仅局限于疼痛, 与其相关的功能可能还包括疼痛相关的忧郁症、药物成瘾、自杀和兴趣丧失。

5 ACC 区域中的长时程可塑性

5.1 长时程增强

谷氨酸是 ACC 区域主要的快速兴奋性递质^[56]。不同类别的谷氨酸受体, 包括 AMPA, KA, NMDA 和代谢型谷氨酸受体 (mGluRs) 在 ACC 区域都有发现。由于 CNQX 可以完全阻断快速突触反应, 因此可以判断由局部刺激或源自丘脑皮层投射通路的刺激诱发的快速突触反应是由 AMPA/KA 受体介导的。除了快速突触反应, 生理温度下的成年 ACC 切片中 NMDA 受体介导的慢速突触反应也能在 ACC 区域记录到^[57], 这提示 NMDA 受体在此区域活性很强。

ACC 区域中的谷氨酸能突触在给与脉冲电刺激后能够发生至少持续 40 到 120 分钟长时程的增强效应^[58]; 脉冲电刺激是比强直性刺激更为生理的刺激。已知在其他中枢突触, 比如海马中的 LTP 中非常重要的 cAMP 信号通路也为 ACC 区域 LTP 诱导所必需。使用基因敲除小鼠和药理激动剂及抑制剂的方法进行的初级研究发现, 钙刺激的 AC1 和 AC8 对 ACC 区域的 LTP 有所贡献, 另外, 钙-钙调蛋白依赖蛋白激酶 (CaMKIV) 也为 LTP 诱发所必需^[58]。

5.2 长时程抑制 (LTD)

LTD 被认为是 LTP 可塑性的相反形式。在成年大鼠和小鼠的 ACC 切片研究中, LTD 能被长时间 (15 分钟) 的反复刺激所诱发^[56], 延长的、低频刺激 (1 赫兹, 15 分钟) 可以长时间持续地抑制突触反应。这种抑制效应是输入特异性的, 未被刺激的通路并不会发生改变。与海马中的 LTD 相比, ACC 中的 LTD 有一些不同的性质: 首先, 5 赫兹 (3 分钟) 的重复刺激能够在成年动物的 ACC 区域诱发 LTD, 而在海马切片中则不能。第二, 与海马中的 LTD 需要 NMDA 受体的激活不同, ACC 区域 LTD 的诱发还需要 mGluRs 和 L-型电压门控型钙离子通道 (L-VDCs) 的激活。最后, 成年 ACC 切片中的 LTD 很容易检测^[56], 而成年海马切片中的 LTD 则

很难被检测到。

6 损伤后 ACC 区域可塑性的改变

6.1 损伤后 ACC 区域突触反应的长时程加强

有关 ACC 可塑性的一个重要问题是,在整体动物中损伤是否会导致延长的或是长时程的突触信号传递的改变。为了回答这个问题,我们首先测量了突触对外周足部短暂电刺激的反应。我们在已麻醉大鼠的 ACC 区域放置记录电极^[59],在足以激活参加痛觉的 A 和 C 纤维的高强度刺激下,在 ACC 区域中发现了场 EPSPs。实际上,从 ACC 区域记录到的场 EPSPs 显然是多突触的,有可能至少与初级传入纤维和脊髓丘脑及丘脑皮层束相关(EPSPs 的潜伏期大约是 12.0 ± 0.1 毫秒)。为了检测中枢可塑性的改变,我们给进行刺激的对侧足实施截断手术,有趣的是,在截断了中间脚趾后,我们观察到动物对正常足上施加电刺激诱发的反应迅速加强。这种加强是长时间的,激发的反应在至少 120 分钟后仍保持加强^[59]。为了了解 ACC 区域内是否会发生局部的突触改变,我们测量了局部 ACC 电刺激引起的场 EPSPs,结果一致性地观察到了至少持续到截断术后 90 分钟的场 EPSPs 的长时间增强^[59],这种长时程增强和足部刺激引起的变化并没有显著性差异,从而提示长时间变化主要发生在 ACC 中。我们假设 ACC 区域内的 LTP 可能是由于在截断手术前后的不正常活性引起的。一个重要的问题是增强的感觉反应是否需要来自刺激足的持续激活。为了检测这个问题,我们在截断术后 120 分钟在足部局部注射(5%,50 微升)了一种局部麻醉剂 QX-314,结果发现 QX-314 的注射并没有显著性地影响因截断而引起的突触反应增强^[59],说明 ACC 的长时程增强不需要持续的外周电活动。

6.2 长时程抑制的丧失

与损伤后 ACC 区域发生的突触改变一致的是,ACC 神经元中活性依赖的早期应答基因,如 *c-fos*, *Egr1*, *3,5-磷酸腺苷反应结合蛋白(CREB)*,在组织炎症或截断手术后都得到激活^[56,59],并且这些可塑性的变化能持续从几个小时到几天的很长一段时间。AC1 和 AC8 双基因敲除小鼠或 NR2B 过表达小鼠的研究显示 NMDA 受体,AC1 和 AC8 均对损伤后早期应答基因的激活有所贡献^[59,60]。与这些基因表达的变化相对应的,从体外切片中记录到的突触可塑性也有所改变。在实施截断手术后的动物

ACC 切片中,同样的重复性刺激只产生了更少的 LTD 或不能产生 LTD。这种 LTD 的丧失是区域选择性的,在别的皮层区域里没有发现改变^[56]。ACC 中 LTD 的一种可能生理学机制是一种自身调节机制。低频重复刺激诱发的 LTD 可能通过减少突触的信号传递来帮助控制过强外周刺激导致的 ACC 活性。在实施截断手术或受伤的动物中,突触自身调节的丧失可能会导致 ACC 细胞内的过度兴奋并引起疼痛或与损伤相关的其他精神性异常反应。

7 将 ACC 神经元与慢性疼痛结合起来的遗传学证据

为了研究 ACC 区域内与疼痛相关的可塑性的分子和细胞学机制,我们决定使用基因手段和整体神经科学技术来研究 ACC 区域内的突触机制。首先,我们希望检测持续性疼痛是否可以被遗传增强的 NMDA 受体所增强,这是在大脑中激发中枢可塑性的一种关键机制^[10]。功能性的 NMDA 受体包含 NR1 亚基加上一个或多个 NR2A-D 亚基的异性组合。NR1 亚基在大脑中广泛地分布,而 NR2 亚基则区域性地分布,在人类和哺乳动物中, NR2A 和 NR2B 亚基均分布在前脑结构中。NR2A 和 NR2B 亚基为 NMDA 受体带来了不同的性质:包含 NR1 和 NR2B 亚基的异性组合受体介导的电流的衰减速度比由 NR1 和 NR2A 亚基组成的受体介导的电流要慢;与其他离子型通道不同, NMDA 对钙离子(一种关键的细胞内信号分子)的通透性要比钠离子或钾离子的通透性强四到五倍; NMDA 受体介导的电流比动力学快速失活 AMPA 和 KA 受体介导的电流能够持续更长时间。在前脑区域 NR2B 亚基过表达的转基因小鼠中, NMDA 受体动力学的正常发育变化被反转过来^[61]。在此小鼠中, NR2B 亚基在整个大脑皮层,纹状体、杏仁核和海马中均有大量表达,但在丘脑、脑干或小脑中并没有表达。在 ACC 和海马结构中, NR2B 的表达都明显增强,并且 NMDA 受体介导的反应也得到增强^[59],但是在脊髓中 NMDA 受体介导的反应却没有受到影响。NR2B 转基因型和野生型的小鼠在急性伤害感觉测试中无法区分,而 NR2B 转基因小鼠在外周注射福尔马林之后显示出行为反应的增强。得到增强的伤害感觉反应是其后期相而不是前期相,并且在 NR2B 转基因小鼠的弗氏完全佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)模型中机械触觉超敏(allodynia)得到增

强。这些发现首先为前脑 NMDA 受体在慢性疼痛中扮演重要角色的观点提供了遗传学证据。

更重要的生理学问题是, ACC 区域中被 NMDA 受体依赖的钙激活的信号通路是否能在维持急性痛觉完整性的同时(这对动物或者人类的自身保护是至关重要的)帮助降低慢性疼痛的水平。AC1 和 AC8,这两种大脑内主要的钙调激酶激活腺苷酸环化酶,能够将 NMDA 受体的激活与 cAMP 信号通路结合起来。在 ACC 区域的所有细胞层中,都观察到了强的和均一的 AC1 和 AC8 的表达形式^[60]。行为学研究发现,在急性痛测试(包括烫尾测试(tail-flick test),热板法测试(hot-plate test)以及机械力撤回测试(mechanical withdrawal test))中,野生型以及 AC1 敲除、AC8 敲除或 AC1 与 AC8 双重敲除的小鼠无法区分,但是,在 AC1 或 AC8 单独敲除的小鼠中能够诱导对两种炎症刺激(福尔马林和 CFA)外周注射的行为反应;这表明 AC1 和 AC8 双重敲除的小鼠对持续性疼痛的反应减弱更为强烈^[60]。更为重要的是,一种 AC 激活剂, forskolin 的微注射能够恢复 AC1 和 AC8 双重基因敲除小鼠失去的慢性疼痛。与之相一致的结果是,与 cAMP 信号通路一样,ACC 区域内 NMDA 受体的药理学干涉能够在普通或野生型的小鼠中产生对持续性疼痛的抑制效应,这说明了 ACC 区域在慢性疼痛中起着重要的维持作用。微注射 NMDA 受体的拮抗剂或 cAMP 依赖的蛋白激酶(PKA)的抑制剂能够抑制或阻断与炎症相关的机械触觉超敏^[60]。最近一项研究显示,在 PDZ-93 基因敲除的小鼠中,部分地因为在基因敲除小鼠脊髓和皮层水平 NR2B 亚基表达水平下降,从而导致了由组织炎症或神经损伤诱发的持续性疼痛的显著的减弱^[62]。

8 在 ACC 区域中损伤相关增强的分子机制模型

根据药理学、电生理、生物化学、组织、行为解剖和遗传学的研究,我们相信 ACC 区域中中枢可塑性的分子和细胞机制正逐渐被揭示。我们的结果表明:ACC 区域突触因为损伤而释放的兴奋性神经递质谷氨酸启动了神经活性,谷氨酸 NMDA 受体的激活导致了在树突棘处突触后钙离子浓度的增加,钙离子作为一种重要的细胞内信号分子激活了对 LTP 有贡献的生化反应:钙离子与钙调蛋白结合并且导致了钙调蛋白激活信号通路的激活^[63],其中包

括钙/钙调蛋白激活的腺苷酸环化酶,包括 AC1 和 AC8 以及钙/钙调蛋白依赖的蛋白激酶(PKC 和 CaMKII);钙/钙调蛋白依赖的蛋白激酶磷酸化谷氨酸 AMPA 受体,使其对谷氨酸的敏感性增强;钙调激酶 IV(CaMKIV)(一种主要在核团中表达的蛋白激酶)激活了钙调激酶 IV 依赖的 CREB;另外,AC1 和 AC8 的激活导致了 PKA 的激活,并接下来激活 CREB。CREB 与其它的早期应答基因轮流激活可能导致结构变化的靶点,这个分子模型还需要得到更多研究的检验。

9 内源性镇痛和调节系统:自上而下的调节

9.1 内源性镇痛/去伤害感受系统

脊髓的伤害感受信号传递由一个包含中脑 PAG 和 RVM 区域的内源性去伤害感觉或镇痛系统调节^[64~66],RVM 区域起到了十分重要的将下行影响由 PAG 传递到脊髓的接替作用。RVM 区域神经元的激活抑制了脊髓伤害感觉信号传递和行为伤害感觉反射,这种抑制效应由双侧投射到背外侧索的下行通路直接介导,或由下行的局部脊髓抑制性神经元间接介导^[67~69]。在脊髓中,毒蝇碱型、去甲肾上腺素能以及 5-羟色胺能受体对行为伤害感受反射的下行抑制均十分重要。使用细胞内或全细胞记录技术的脊髓背角神经元的电生理研究使得人们可以寻找由这些神经递质引起的去伤害感觉或镇痛效果的细胞机制。在麻醉的整体动物中电刺激中缝大核(nucleus raphe magnus)或 PAG 区域在脊髓背角神经元中能产生 IPSPs;体外大脑/脊髓切片的研究提供了更细节的药理学分析结果:在三叉神经核中,三种主要神经递质(乙酰胆碱、5-羟色胺、以及去甲肾上腺素)对谷氨酸能传递的抑制效应均有报道^[70,71];在脊髓中,突触后毒蝇碱型受体的激活抑制了兴奋性的感觉信号传递。与碳酰胆碱(carbachol)的效应能够完全被突触后 G 蛋白的抑制削弱不同,5-羟色胺和 2-肾上腺素受体的激动剂能够通过突触前和突触后受体两种途径发挥抑制效果,在实验中突触后 G 蛋白的阻断只能部分削弱他们的效应^[20],这些发现与解剖学上这些感觉突触中同时存在突触前和突触后受体的现象是一致的。抑制突触后谷氨酸介导反应的分子机制还有待于未来的进一步研究。

9.2 内源性易化系统

除了下行性抑制之外,由脑干或前脑产生的下行兴奋性或易化的影响已经得到了详细和系统的分析^[67~69,72~74],从RVM来的脊髓伤害感觉信号传递的双向调节提供了多种调节脊髓感觉阈值和反应的方式。下行性抑制主要参与有害刺激的阈上反应的调节,下行性易化则降低细胞对伤害感觉刺激的阈值^[67~69,73,74],其对包括从皮肤以及内脏器官传入的感觉信号在内的脊髓感觉信号传递具有广泛的影响^[75,76]。在生理条件下,下行易化作用能被激活,并且其生理学功能之一就是增强动物感知环境中潜在危险信号的能力。事实上,RVM区域的神经元不仅对有害刺激做出反应,而且在重复的有害刺激中也显示出类似“学习”的变化;更重要的是,RVM区域的神经元能够在组织损伤或炎症过程之中以及之后发生可塑性的变化,从而对次级痛觉过敏(secondary hyperalgesia)产生贡献^[21,77]。由RVM区域损伤或脊髓5-羟色胺受体阻断导致的下行易化的阻断是去伤害感觉的^[78~80]因此,下行易化系统是中枢神经系统中的一把“双刃剑”:一方面,它允许不同疼痛区域的神经元互相交流信号,从而增强了对潜在危险信号的敏感度;另一方面,损伤后脊髓伤害感觉易化效应的延长加速了与慢性疼痛相关的中枢可塑性变化。

10 结论与展望

为了更准确地了解伤害感觉与痛觉,我们应该避免疼痛相关研究中的误区。首先,并不是所有的对疼痛的研究都需要和“疼痛”相关,很多基本的动物模型能够提供损伤机制的模型,但是可能与疼痛并不相关,因为它们并没有能够感觉痛觉的大脑。如果缺乏对痛觉分子机制的了解,而仅仅简单地追求与临床的或人体的痛觉研究大概只能得到一些肤浅的数据。其次,生物学家有必要了解,疼痛是整个包括从外周到中枢系统共同合作的结果,而不仅仅只是脊髓或者外周背根神经节细胞的功能。再次,我们在学习记忆相关区域(如海马)中所了解到的可塑性的机制,并不一定能解释疼痛相关大脑区域的可塑性。因此,综合运用神经生物学、神经生理学和神经药理学的手段来进行生理和病理疼痛的相关机制研究便是一个必要和合理的要求。我相信,新一代的疼痛药物在不久的将来必将被发现,并为人类

带来福音。

随着社会生活水平的提高,人们渴望能治疗疼痛特别是慢性疼痛。然而,目前我们仍然缺乏有效的控制慢性疼痛的药物,这其中部分的原因在于我们仍然不了解疼痛的准确的细胞和分子机制。现在,美国和许多发达中国家都正在陆续建立疼痛研究和治疗中心,但事实上,很多中心都未能有效地将基础研究与临床研究和治疗结合起来,这主要是因为从事基础研究的科学家和从事临床治疗的医生分别从属于管理和收入奖励机制完全不同的系统。并且,动物权利运动的兴起,使得与临床密切相关的动物实验(尤其是以猴子对象的实验),越来越难,成本也越来越高。从发表在《自然》杂志上的一些文章把在细胞系上完成的实验称为体外生理实验,而把在分离神经元上的实验称为体内生理实验也可见一斑。

中国有多年的疼痛研究历史和经验,早期的神经中枢研究主要围绕针刺疼痛的神经生理研究。例如,原上海脑研究所的张香桐院士;北京大学的韩济生院士;复旦大学的赵志奇等所做的工作。可是遗憾的是,在我2004年参加的北京五个研究所评估中未见到一位由科学院资助的从事疼痛研究的年轻科学家。可见,中国的学术界在追求《科学》、《自然》杂志上发表文章的同时忽略了自己的特点和长期性研究。事实上,中国的许多科学家在整体动物研究上有很深造诣,比如复旦大学的李葆明(实验对象为猴子)、昆明动物研究所的徐明(实验对象为大鼠)。因此,在长远的科学发展计划中,应该支持结合整体动物和临床实践的研究,支持将细胞生物学、神经科学和化学、遗传学结合起来寻找慢性疼痛新药的研究。同时,通过国际性合作引进国外的主要基础研究成果,也必然会加强中国科学家在国际上的竞争力,从而建立有中国特点的主导世界前沿的神经科学及疾病的研究。在美国和加拿大,大量与临床相关的神经科学或疼痛研究中心已在建立中。在笔者原处的美国华盛顿大学及现在所在的加拿大多伦多大学,都有初具规模的痛觉研究中心和康复中心。在今年神经加拿大获奖的仅三项研究中,就有慢性痛(多伦多大学),(其他两项是神经再生和脑中风)。中国在不久的将来需要克服科学院和医院、卫生部之间的区分以加速中国生命科学的发展并维护领先

的国际地位。

致谢:感谢加拿大 EJLB-CHIR Michael Smith Chair in Neurosciences and Mental Health 以及 NIH NINDS42733 基金的支持。

参考文献

- [1]Cowan W. M. , Kandel E. R. Prospects for neurology and psychiatry. *Jama*, 2001 , 285 , 594 ~ 600
- [2]Gregory S. G. , Sekhon M. , Schein J. , Zhao S. , Osoegawa K. , Scott C. E. , Evans R. S. , Burrige P. W. , Cox T. V. , Fox C. A. , et al. A physical map of the mouse genome. *Nature*, 2002 , 418 , 743 ~ 750
- [3]Zhuo M. , Zhang W. , Son H. , Mansuy I. , Sobel R. A. , Seidman J. , and Kandel E. R. A selective role of calcineurin alpha in synaptic depotentiation in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 1999 , 96 , 4650 ~ 4655
- [4]Bach M. E. , Barad M. , Son H. , Zhuo M. , Lu Y. F. , Shih R. , Mansuy I. , Hawkins R. D. , Kandel E. R. Age-related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hippocampal long-term potentiation in vitro and are attenuated by drugs that enhance the cAMP signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 1999 , 96 , 5280 ~ 5285
- [5]Huang Y. Y. , Bach M. E. , Lipp H. P. , Zhuo M. , Wolfer D. P. , Hawkins R. D. , Schoonjans L. , Kandel E. R. , Godfraind J. M. , Mulligan R. , et al. Mice lacking the gene encoding tissue-type plasminogen activator show a selective interference with late-phase long-term potentiation in both Schaffer collateral and mossy fiber pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* , 1996 , 93 , 8699 ~ 8704
- [6]Zhuo M. , Holtzman D. M. , Li Y. , Osaka H. , DeMaro J. , Jacquin M. , Bu G. Role of tissue plasminogen activator receptor LRP in hippocampal long-term potentiation. *J Neurosci*, 2000 , 20 , 542 ~ 549
- [7]Hyman S. E. , Malenka R. C. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci*, 2001 , 2 , 695 ~ 703
- [8]LeDoux J. E. Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* , 2000 , 23 , 155 ~ 184
- [9]Nestler E. J. Neurobiology. Total recall-the memory of addiction. *Science* , 2001 , 292 , 2266 ~ 2267
- [10]Zhuo M. Glutamate receptors and persistent pain: targeting fore-brain NR2B subunits. *Drug Discov Today* , 2002 , 7 , 259 ~ 267
- [11]Levine J. D. , Fields H. L. , Basbaum A. I. Peptides and the primary afferent nociceptor. *J Neurosci* , 1993 , 13 , 2273 ~ 2286
- [12]Yoshimura M. , Jessell T. Amino acid-mediated EPSPs at primary afferent synapses with substantia gelatinosa neurones in the rat spinal cord. *J Physiol* , 1990 , 430 , 315 ~ 335
- [13]Li P. , Wilding T. J. , Kim S. J. , Calejesan A. A. , Huettner J. E. , Zhuo M. Kainate-receptor-mediated sensory synaptic transmission in mammalian spinal cord. *Nature* , 1999b , 397 , 161 ~ 164
- [14]Bardoni R. , Magherini P. C. , MacDermott A. B. NMDA EPSCs at glutamatergic synapses in the spinal cord dorsal horn of the post-natal rat. *J Neurosci* , 1998 , 18 , 6558 ~ 6567
- [15]Li P. , Zhuo M. Silent glutamatergic synapses and nociception in mammalian spinal cord. *Nature* , 1998 , 393 , 695 ~ 698
- [16]Zhuo M. Silent glutamatergic synapses and long-term facilitation in spinal dorsal horn neurons. *Prog Brain Res* , 2000 , 129 , 101 ~ 113
- [17]Baba H. , Doubell T. P. , Moore K. A. , Woolf C. J. Silent NMDA receptor-mediated synapses are developmentally regulated in the dorsal horn of the rat spinal cord. *J Neurophysiol* , 2000 , 83 , 955 ~ 962
- [18]Wang G. D. , Zhuo M. Synergistic enhancement of glutamate-mediated responses by serotonin and forskolin in adult mouse spinal dorsal horn neurons. *J Neurophysiol* , 2002 , 87 , 732 ~ 739
- [19]Li P. , Zhuo M. Substance P and neurokinin A mediate sensory synaptic transmission in young rat dorsal horn neurons. *Brain Res Bull* , 2001b , 55 , 521 ~ 531
- [20]Li P. , Zhuo M. Cholinergic , noradrenergic , and serotonergic inhibition of fast synaptic transmission in spinal lumbar dorsal horn of rat. *Brain Res Bull* , 2001a , 54 , 639 ~ 647
- [21]Robinson D. A. , Wei F. , Wang G. D. , Li P. , Kim S. J. , Vogt S. K. , Muglia L. J. , Zhuo M. Oxytocin mediates stress-induced analgesia in adult mice. *J Physiol* , 2002 , 540 , 593 ~ 606
- [22]Yoshimura M. , North R. A. Substantia gelatinosa neurones hyperpolarized in vitro by enkephalin. *Nature* , 1983 , 305 , 529 ~ 530
- [23]Kohno T. , Kumamoto E. , Higashi H. , Shimoji K. , Yoshimura M. Actions of opioids on excitatory and inhibitory transmission in substantia gelatinosa of adult rat spinal cord. *J Physiol* , 1999 , 518 (Pt 3) , 803 ~ 813
- [24]Li P. , Calejesan A. A. , Zhuo M. ATP P2x receptors and sensory synaptic transmission between primary afferent fibers and spinal dorsal horn neurons in rats. *J Neurophysiol* , 1998 , 80 , 3356 ~ 3360
- [25]Nakatsuka T. , Gu J. G. ATP P2X receptor-mediated enhancement of glutamate release and evoked EPSCs in dorsal horn neurons of the rat spinal cord. *J Neurosci* , 2001 , 21 , 6522 ~ 6531
- [26]Ribeiro-da-Silva A. , Coimbra A. Two types of synaptic glomeruli and their distribution in laminae F III of the rat spinal cord. *J Comp Neurol* , 1982 , 209 , 176 ~ 186
- [27]Todd A. J. GABA and glycine in synaptic glomeruli of the rat spinal dorsal horn. *Eur J Neurosci* , 1996 , 8 , 2492 ~ 2498
- [28]Kerchner G. A. , Wang G. D. , Qiu C. S. , Huettner J. E. , Zhuo M. Direct presynaptic regulation of GABA/ glycine release by kainate receptors in the dorsal horn: an ionotropic mechanism. *Neuron* , 2001a , 32 , 477 ~ 488
- [29]Kerchner G. A. , Wilding T. J. , Li P. , Zhuo M. , Huettner J. E. Presynaptic kainate receptors regulate spinal sensory transmission. *J Neurosci* , 2001c , 21 , 59 ~ 66
- [30]Kerchner G. A. , Wilding T. J. , Huettner J. E. , Zhuo M. Kainate receptor subunits underlying presynaptic regulation of

- transmitter release in the dorsal horn. *J Neurosci*, 2002, 22, 8010 ~ 8017
- [31] Kerchner G. A., Wei F., Wang G. D., Kim S. J., Xu H. M., Robinson D. A., Li P., Chen Z. F., Zhuo M. Do 'smart' mice feel more pain, or are they just better learners? Reply. *Nature Neuroscience*, 2001b, 4, 453 ~ 454
- [32] Zhuo, M., Kandel, E. R., and Hawkins, R. D. (1994). Nitric oxide and cGMP can produce either synaptic depression or potentiation depending on the frequency of presynaptic stimulation in the hippocampus. *Neuroreport* 5, 1033 ~ 1036
- [33] Zhuo, M., Small, S. A., Kandel, E. R., and Hawkins, R. D. (1993). Nitric oxide and carbon monoxide produce activity-dependent long-term synaptic enhancement in hippocampus. *Science* 260, 1946 ~ 1950
- [34] Ji, R. R., Kohno, T., Moore, K. A., and Woolf, C. J. (2003). Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends Neurosci* 26, 696 ~ 705
- [35] Willis, W. D. (2002). Long-term potentiation in spinothalamic neurons. *Brain Res Brain Res Rev* 40, 202 ~ 214
- [36] Woolf, C. J., and Salter, M. W. (2000). Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science* 288, 1765 ~ 1769
- [37] Zhuo, M. (2003). Synaptic and molecular mechanisms of glutamatergic synapses in pain and memory. *Sheng Li Xue Bao* 55, 1 ~ 8
- [38] Ikeda, H., Heinke, B., Ruscheweyh, R., and Sandkuhler, J. (2003). Synaptic plasticity in spinal lamina I projection neurons that mediate hyperalgesia. *Science* 299, 1237 ~ 1240
- [39] Basbaum, A. I., and Fields, H. L. (1984). Endogenous pain control systems: brainstem spinal pathways and endorphin circuitry. *Annu Rev Neurosci* 7, 309 ~ 338
- [40] Fields, H. L., Heinricher, M. M., and Mason, P. (1991). Neurotransmitters in nociceptive modulatory circuits. *Annu Rev Neurosci* 14, 219 ~ 245
- [41] Hori, Y., Endo, K., and Takahashi, T. (1996). Long-lasting synaptic facilitation induced by serotonin in superficial dorsal horn neurones of the rat spinal cord. *J Physiol* 492 (Pt 3), 867 ~ 876
- [42] Li, P., Kerchner, G. A., Sala, C., Wei, F., Huettner, J. E., Sheng, M., and Zhuo, M. (1999a). AMPA receptor-PDZ interactions in facilitation of spinal sensory synapses. *Nat Neurosci* 2, 972 ~ 977
- [43] Popratiloff, A., Weinberg, R. J., and Rustioni, A. (1996). AMPA receptor subunits underlying terminals of fine-caliber primary afferent fibers. *J Neurosci* 16, 3363 ~ 3372
- [44] Tachibana, M., Wenthold, R. J., Morioka, H., and Petralia, R. S. (1994). Light and electron microscopic immunocytochemical localization of AMPA-selective glutamate receptors in the rat spinal cord. *J Comp Neurol* 344, 431 ~ 454
- [45] Dong, H., O'Brien, R. J., Fung, E. T., Lanahan, A. A., Worley, P. F., and Huganir, R. L. (1997). GRIP: a synaptic PDZ domain-containing protein that interacts with AMPA receptors. *Nature* 386, 279 ~ 284
- [46] Dong, H., Zhang, P., Song, I., Petralia, R. S., Liao, D., and Huganir, R. L. (1999). Characterization of the glutamate receptor-interacting proteins GRIP1 and GRIP2. *J Neurosci* 19, 6930 ~ 6941
- [47] Coull, J. A., Boudreau, D., Bachand, K., Prescott, S. A., Nault, F., Sik, A., De Koninck, P., and De Koninck, Y. (2003). Trans-synaptic shift in anion gradient in spinal lamina I neurons as a mechanism of neuropathic pain. *Nature* 424, 938 ~ 942
- [48] Johansen, J. P., Fields, H. L., and Manning, B. H. (2001). The affective component of pain in rodents: direct evidence for a contribution of the anterior cingulate cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 8077 ~ 8082
- [49] Lee, D. E., Kim, S. J., and Zhuo, M. (1999). Comparison of behavioral responses to noxious cold and heat in mice. *Brain Res* 845, 117 ~ 121
- [50] Hutchison, W. D., Davis, K. D., Lozano, A. M., Tasker, R. R., and Dostrovsky, J. O. (1999). Pain-related neurons in the human cingulate cortex. *Nat Neurosci* 2, 403 ~ 405
- [51] Sikes, R. W., and Vogt, B. A. (1992). Nociceptive neurons in area 24 of rabbit cingulate cortex. *J Neurophysiol* 68, 1720 ~ 1732
- [52] Casey, K. L. (1999). Forebrain mechanisms of nociception and pain: analysis through imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 7668 ~ 7674
- [53] Rainville, P., Bushnell, M. C., and Duncan, G. H. (2001). Representation of acute and persistent pain in the human CNS: potential implications for chemical intolerance. *Ann N Y Acad Sci* 933, 130 ~ 141
- [54] Rainville, P., Duncan, G. H., Price, D. D., Carrier, B., and Bushnell, M. C. (1997). Pain affect encoded in human anterior cingulate but not somatosensory cortex. *Science* 277, 968 ~ 971
- [55] Talbot, J. D., Marrett, S., Evans, A. C., Meyer, E., Bushnell, M. C., and Duncan, G. H. (1991). Multiple representations of pain in human cerebral cortex. *Science* 251, 1355 ~ 1358
- [56] Wei, F., Li, P., and Zhuo, M. (1999). Loss of synaptic depression in mammalian anterior cingulate cortex after amputation. *J Neurosci* 19, 9346 ~ 9354
- [57] Liauw, J., Wang, G. D., and Zhuo, M. (2003). NMDA receptors contribute to synaptic transmission in anterior cingulate cortex of adult mice. *Sheng Li Xue Bao* 55, 373 ~ 380
- [58] Wei, F., Qiu, C. S., Liauw, J., Robinson, D. A., Ho, N., Chatila, T., and Zhuo, M. (2002b). Calcium calmodulin-dependent protein kinase IV is required for fear memory. *Nat Neurosci* 5, 573 ~ 579
- [59] Wei, F., Wang, G. D., Kerchner, G. A., Kim, S. J., Xu, H. M., Chen, Z. F., and Zhuo, M. (2001). Genetic enhancement of inflammatory pain by forebrain NR2B overexpression. *Nat Neurosci* 4, 164 ~ 169
- [60] Wei, F., Qiu, C. S., Kim, S. J., Muglia, L., Maas, J. W., Pineda, V. V., Xu, H. M., Chen, Z. F., Storm, D. R., Muglia, L. J., and Zhuo, M. (2002a). Genetic elimination of

- behavioral sensitization in mice lacking calmodulin-stimulated adenylyl cyclases. *Neuron* 36, 713 ~ 726
- [61] Tang, Y. P., Shimizu, E., Dube, G. R., Rampon, C., Kerchner, G. A., Zhuo, M., Liu, G., and Tsien, J. Z. (1999). Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature* 401, 63 ~ 69
- [62] Tao, Y. X., Rumbaugh, G., Wang, G. D., Petralia, R. S., Zhao, C., Kauer, F. W., Tao, F., Zhuo, M., Wenthold, R. J., Raja, S. N., et al. (2003). Impaired NMDA receptor-mediated postsynaptic function and blunted NMDA receptor-dependent persistent pain in mice lacking postsynaptic density-93 protein. *J Neurosci* 23, 6703 ~ 6712
- [63] Wei, F., Xia, X. M., Tang, J., Ao, H., Ko, S., Liauw, J., Qiu, C. S., and Zhuo, M. (2003). Calmodulin regulates synaptic plasticity in the anterior cingulate cortex and behavioral responses: a microelectroporation study in adult rodents. *J Neurosci* 23, 8402 ~ 8409
- [64] Gebhart, G. F. (1986). Modulatory effects of descending systems on spinal dorsal horn neurons. In *Spinal Afferent Process*, T. L. Yaksh, ed. (Plenum), pp. 391 ~ 426
- [65] Gebhart, G. F., and Randich, A. (1990). Brainstem modulation of nociception. In *Brainstem Mechanisms of Behavior*, W. R. Klemm, and R. P. Vettes, eds. (New York, Wiley and Sons), pp. 315 ~ 352
- [66] Willis, W. D., Jr. (1988). Anatomy and physiology of descending control of nociceptive responses of dorsal horn neurons: comprehensive review. *Prog Brain Res* 77, 1 ~ 29
- [67] Zhuo, M., and Gebhart, G. F. (1990a). Characterization of descending inhibition and facilitation from the nuclei reticularis gigantocellularis and gigantocellularis pars alpha in the rat. *Pain* 42, 337 ~ 350
- [68] Zhuo, M., and Gebhart, G. F. (1992). Characterization of descending facilitation and inhibition of spinal nociceptive transmission from the nuclei reticularis gigantocellularis and gigantocellularis pars alpha in the rat. *J Neurophysiol* 67, 1599 ~ 1614
- [69] Zhuo, M., and Gebhart, G. F. (1997). Biphasic modulation of spinal nociceptive transmission from the medullary raphe nuclei in the rat. *J Neurophysiol* 78, 746 ~ 758
- [70] Grudt, T. J., Williams, J. T., and Travagli, R. A. (1995). Inhibition by 5-hydroxytryptamine and noradrenaline in substantia gelatinosa of guinea-pig spinal trigeminal nucleus. *J Physiol* 485 (Pt 1), 113 ~ 120
- [71] Travagli, R. A., and Williams, J. T. (1996). Endogenous monoamines inhibit glutamate transmission in the spinal trigeminal nucleus of the guinea-pig. *J Physiol* 491 (Pt 1), 177 ~ 185
- [72] Calejesan, A. A., Kim, S. J., and Zhuo, M. (2000). Descending facilitatory modulation of a behavioral nociceptive response by stimulation in the adult rat anterior cingulate cortex. *Eur J Pain* 4, 83 ~ 96
- [73] Zhuo, M., and Gebhart, G. F. (1990b). Spinal cholinergic and monoaminergic receptors mediate descending inhibition from the nuclei reticularis gigantocellularis and gigantocellularis pars alpha in the rat. *Brain Res* 535, 67 ~ 78
- [74] Zhuo, M., and Gebhart, G. F. (1991). Spinal serotonin receptors mediate descending facilitation of a nociceptive reflex from the nuclei reticularis gigantocellularis and gigantocellularis pars alpha in the rat. *Brain Res* 550, 35 ~ 48
- [75] Zhuo, M., and Gebhart, G. F. (2002). Modulation of noxious and non-noxious spinal mechanical transmission from the rostral medial medulla in the rat. *J Neurophysiol* 88, 2928 ~ 2941
- [76] Zhuo, M., Sengupta, J. N., and Gebhart, G. F. (2002). Biphasic modulation of spinal visceral nociceptive transmission from the rostroventral medial medulla in the rat. *J Neurophysiol* 87, 2225 ~ 2236
- [77] Calejesan, A. A., Chang, M. H., and Zhuo, M. (1998). Spinal serotonergic receptors mediate facilitation of a nociceptive reflex by subcutaneous formalin injection into the hindpaw in rats. *Brain Res* 798, 46 ~ 54
- [78] Porreca, F., Ossipov, M. H., and Gebhart, G. F. (2002). Chronic pain and medullary descending facilitation. *Trends Neurosci* 25, 319 ~ 325
- [79] Robinson, D. A., Calejesan, A. A., Wei, F., Gebhart, G. F., and Zhuo, M. (2004). Endogenous facilitatory system: a novel pain modulatory mechanism. *Current Neurovascular Research* 1, 11 ~ 20
- [80] Urban, M. O., and Gebhart, G. F. (1999). Spinal contributions to hyperalgesia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 7687 ~ 7692

(责任编辑:高利丹)