

环氧化酶在腰痛中的作用

隰建成¹, 侯树勋²

(1 解放军总医院 309 临床部骨科 100091 北京市; 2 解放军总医院 304 临床部骨科 100037 北京市)

中图分类号: R681.5, R363.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2005)-09-0559-03

腰痛是临床常见症状,严重影响患者的生活质量。环氧化酶(Cox)途径是机体花生四烯酸代谢的重要过程,在下腰痛的发病机制中具有重要的作用。花生四烯酸由细胞膜磷脂水解而来,在 Cox 的作用下,转变成前列腺素内过氧化物酶(PGG₂, PGH₂),后者再转变成血栓素 A₂、前列腺环素(PGI₂)及其它前列腺素(PGs)而发挥多种生物学作用。Cox 主要有两种亚型,即 Cox-1 和 Cox-2^[1-3]。笔者就脊髓中 Cox 及其在腰部异常性疼痛、痛觉过敏中的作用作一综述。

1 基因定位与结构特点

Cox-1 基因位于 9 号染色体上,长度为 22kb,含有 11 个外显子与 10 个内含子。从 Cox-1 的 mRNA 反转录得到的 cDNA 长度为 2.7kb,编码 599 个氨基酸,其羧基侧是阿司匹林乙酰化的部位。Cox-2 由 604 个氨基酸组成,与 Cox-1 的氨基酸次序有 61%同源,其中与酶特性相关的区域有 75%相同,其肽链结构有两个方面与 Cox-1 明显不同:Cox-1 N 端的信号肽长(30 个氨基酸),而 Cox-2 则短

(12 个氨基酸);Cox-2 的 C 端有一个特异的 18 个氨基酸片段,Cox-1 则不含此片段^[4]。

2 表达部位

Cox-1 几乎在机体所有的组织中均有表达,并对前列腺素(PG)的合成起重要作用,而 PG 是细胞体内代谢平衡所必须的^[5]。Cox-2 是一种高度可诱导酶,主要在炎症过程和其它细胞应激时表达,在不同炎症刺激后 PG 的生物合成过程中起主要作用^[6]。Cox 的两种亚型主要在大鼠的大脑和脊髓中表达^[7]。

免疫细胞化学研究揭示,Cox-2 和含有神经元氮氧合酶(nNOS)阳性的神经元在脊髓背侧神经根的浅层 I、II 层有高频度的表达^[8]。这种局限性染色特点与包含 P 物质和钙基因相关肽的脊髓内无髓鞘纤维的分布特点相一致,而 P 物质和钙基因相关肽可促进脊髓中伤害性信号的传导。但 Schwah 等^[9]发现,正常情况下脊髓中的 Cox-1 在室管膜细胞、一些神经元、少数内皮细胞和前后角的神经胶质细胞中表达。Cox-2 在脊髓灰质各层神经元均有表达,特别是 I~IV 板层和 X 板层。用 Cox-2 和神经胶质纤维酸性蛋白(GFAP)双标星形胶质细胞,发现脊髓灰质中神经胶质细胞核中没有 Cox-2 表达,但白质星形胶质细胞核

第一作者简介:男(1968-),主治医师,医学博士在读,研究方向:椎间盘源性腰痛的基础与临床
电话:(010)66775071 E-mail:jianchengxi309@yahoo.com.cn

- spine surgery[J].Spine,1996,21(12):1454-1457.
20. 宫良泰,王永惕,王集镗.根动脉保留法脊髓移位术治疗脊柱侧凸并不完全性截瘫[J].中国脊柱脊髓杂志,1994,4(3):103-105.
 21. 徐根兴,朱晓东,沈宗林.胸主动脉阻断后脊髓各段血供状况的动物实验研究[J].中国循环杂志,1996,11(8):499-500.
 22. Shamji MF, Maziak DE, Shamji FM, et al. Circulation of the spinal cord: an important consideration for thoracic surgeons [J].Ann Thorac Surg, 2003, 76(1): 315-321.
 23. 刘树清,胥少汀.胸椎无骨折脱位性脊髓损伤[J].中华创伤杂志,1994,10(6):264-265.
 24. Safi HJ, Miller CC III, Carr C, et al. Importance of intercostal artery reattachment during thoracoabdominal aortic aneurysm repair[J].Vasc Surg, 1998, 27(1): 56-68.
 25. 戴景兴,原林,周志涛,等.结扎数支肋间后动脉对胸腰段脊髓血供影响[J].中国临床解剖学杂志,2003,21(6):575-577.
 26. Griep RB, Ergin MA, Galla JD, et al. Looking for the artery of Adamkiewicz: a quest to minimize paraplegia after operations for aneurysms of the descending thoracic and thoracoabdominal aorta [J].Thorac Cardiovasc Surg, 1996, 112(5): 1202-1215.
 27. 郑文济,赵志,谭振美,等.电凝犬脊髓血管建立完全性缺血性脊髓损伤模型的实验研究[J].中华外科杂志,1989,27(1):52-54.
 28. Zhan MS, Ji QY, Xu Z, et al. Paraplegia caused by local spinal cord ischemia: an animal spinal cord ischemia model [J].Chin Med J(Engl), 1989, 102(1):28-33.
 29. Morishita K, Murakami G, Fujisawa Y, et al. Anatomical study of blood supply to the spinal cord[J].Ann Thorac Surg, 2003, 76(6):1967-1971.
- (收稿日期:2004-08-23 修回日期:2004-09-28)
(本文编辑 卢庆霞)

中有明显的 Cox-2 表达。Beiche 等^[9]的研究则提示, Cox-1 主要在内质网表达, 而 Cox-2 主要在核膜表达, 而且尼氏体、神经纤维网和胞质等区域也有轻微表达。

为了研究周围炎症性伤害刺激对于脊髓 Cox 免疫活性和 PG 的影响, Maihofner 等^[10]在诱导小鼠足部炎症后, 分析了 Cox-1、Cox-2 和 nNOS 在脊髓中的分布、细胞间的定位和调节机制。他们发现: (1) 小鼠脊髓中 Cox-1 的免疫活性只局限在背侧和腹侧神经元的胶质细胞中; (2) Cox-2 免疫活性只局限在运动神经元, 而在背侧神经元中无表达; (3) 酵母多糖所致炎性反应可引起 I~VI 层和 X 层神经元中 Cox-2 免疫活性的明显提高, 在这些区域个别细胞同时存在 nNOS 免疫活性 (II/III 层内数量最多)。应用电子显微镜发现, Cox-2 只局限在神经元的细胞核膜和粗面内质网内。Meller 等^[11]选择酵母多糖诱发大鼠急性自发性痛觉, 随后产生持续的热性、机械性痛觉过敏和明显的水肿。酵母多糖所致后足炎症可导致同侧腰脊髓的 I~VI 层和 X 层中的 Cox-2 免疫活性升高, 而在对侧则升高程度较轻。

3 调控机制

3.1 对 PG 的作用

软组织损伤发生炎症后, 在初级传入神经元对于热、机械、化学刺激的敏感性反应中, PG 是一个重要的因素。PG 不仅能降低产生动作电位的阈值、增加诱发动作电位的数量, 还可加强受损部位初级传入神经元末端前炎性肽 (如 P 物质、降钙素基因相关肽) 的释放。Cox-2 作为 PG 合成的限速酶, 在组织损伤部位促进 PG 的合成与释放^[12]。PG 不仅在受损组织部位初级传入神经元敏感性增高方面起作用, 而且在脊髓痛觉过敏发生机制上起着重要的作用。当 C 纤维持续活化或周围组织炎症时, Cox-1 和 Cox-2 在脊髓组织中均有表达^[13], 而且, 无论在脑脊液中或脊髓灌注液中 PG 的水平均增高。在脊神经后根的浅层 PGE2 水平明显升高, 而小的初级传入神经元的末端则提供了 PG 发挥生理效应的场所。鞘内注射 PG 可导致热、机械、化学性痛觉过敏。这说明, 脊髓组织内源性 PG 水平是可以导致痛觉过敏的。已有研究证实, 在周围组织注射福尔马林、热性、机械性所致痛觉过敏及周围组织炎症过程中, 鞘内注射 Cox 抑制剂能抑制异常行为反应, 这说明在脊髓痛觉过敏机制中, 内源性 PG 起着重要的作用。Malmberg 等^[14]也发现在实验大鼠后足注射弗氏佐剂 (FCA) 后, Cox-2 mRNA 有明显的升高, 在术后 2~4h 达高峰 (3 倍), 同时伴有前列腺素 F-1 α (PGF1 α) 和前列腺素 E2 (PGE2) 的明显提高, 术后 8h 达到最高。这一现象提示, Cox 及其产物在周围组织炎性反应过程中、在腰脊髓的适应性反应中起着重要的作用。药理分析提示, PG 直接参与了异常性疼痛的过程。

3.2 与炎性因子的关系

Beiche 等^[9]发现, 在 FCA 所致的大鼠关节炎模型中, 腰脊髓 Cox-2 mRNA 表达水平升高呈双相性。这提示,

Cox-2 蛋白的表达是由体液因素介导的。2001 年, Samad 等^[15]证实, 白细胞介素 (IL)-1 β 是其中诱导因素之一。1998 年 Kaufmann 等^[16]发现, Cox-2 的表达可由兴奋性突触的活性增高所诱导。如果这一区域的细胞没有表达 IL-1 β 受体, 则 Cox-2 蛋白在脊髓腹侧就不会升高。Svonsson 等^[17]在大鼠髓内注射 IL-1 α 后发现, Cox-2 mRNA 在 4h 达高峰, 抗炎的细胞因子 IL-10 则可抑制 Cox-2 的产生。而且, 神经冲动的传入和循环中的细胞因子, 如 IL-1 β 等, 可诱导 Cox-2 蛋白表达上调。Miyamoto 等^[18]检测了在突出的腰椎间盘突出组织中 Cox-2、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的表达水平。免疫组化显示, 它们在构成椎间盘组织的软骨细胞胞质中均有表达。逆转录多聚酶链式反应 (RT-PCR) 显示, 来源于突出椎间盘的组织细胞于体外在炎性细胞因子存在下, 有 Cox-2、IL-1 β 、TNF- α 的 mRNA 表达。这些椎间盘组织在炎性细胞因子刺激下会有大量 PGE2 表达, 而且, PGE2 的含量会被 Cox-2 的选择性抑制剂 6MNA (6-methoxy-2-naphthyl acetic acids) 明显地抑制。上述结果表明, Cox-2 和炎性细胞因子通过上调 PGE2 的合成在神经根症状的发病机制中起着重要的作用。

3.3 对 P 物质的作用

Yaksh 等^[19]1999 年发现, 伤害性感受器的激活导致初级传入神经元中 P 物质的释放, P 物质活化脊髓细胞受体, 导致 PG 的产生。2001 年, Yaksh 等^[20]又发现, 鞘内注射布洛芬可阻断 P 物质诱导的痛觉过敏, PG 是介导脊髓中 P 物质效应的重要因素, 在其产生过程中, Cox-2 起着重要的作用。因此可认为, 脊髓组织中 Cox-2 蛋白的增高导致 P 物质的释放和 PG 水平的增高, 增强炎症组织初级传入神经的突触传递, 从而导致痛觉过敏。而且, 在这一过程中, 脊髓中的 PG 通过增强初级传入神经元中 P 物质的释放可能起着前反馈的作用^[21]。

3.4 一氧化氮 (NO) 的作用

Sakai 等^[22]发现, 由鞘内注射 PGE2 所致的痛觉过敏可被 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 受体的拮抗剂所抑制, 而在 NMDA 受体敲除的大鼠则无此现象^[23]。这就提示, 由 PGE2 所致的痛觉过敏至少部分是由天冬氨酸的释放引起的。NMDA 受体的兴奋与神经元一氧化氮酶 (nNOS) 的活化相关^[24]。其产物 NO 与细胞信号转导有关, 能够刺激其后的关键细胞间信使分子环鸟苷酸 (3', 5'-GMP) 的形成^[25]。给予一氧化氮合成酶 (NOS) 的拮抗剂 NW-硝基-L-精氨酸甲酯, 可导致由于鞘内注射 PGE2 所致伤害反应的剂量依赖性减少^[26]。由此提示, PGE2 诱导的痛觉过敏是由脊髓中 NO 介导的感觉信号传递的相互作用介导的。

总之, 腰部异常性疼痛和痛觉过敏的可能发病机制可概括为: 周围炎症性损害 $\rightarrow$ 炎性细胞因子 (IL 等) 增加 $\rightarrow$ Cox 增加 $\rightarrow$ NO/P 物质 $\rightarrow$ PG 增加 $\rightarrow$ 痛觉过敏/异常性疼痛。但其确切机制尚待进一步研究

4 参考文献

1. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1998, 38: 97-120.
2. Yamamoto T, Nozaki Taguchi N. The role of Cyclooxygenases-1 and -2 in the rat formalin test[J]. *Anesth Analg*, 2002, 94(4): 962-967.
3. Beiche F, Brune K, Geisslinger G, et al. Expression of cyclooxygenase isoforms in the rat spinal cord and their regulation during adjuvant induced arthritis [J]. *Inflamm Res*, 1998, 47(12): 482-487.
4. 王兆钺. 环氧酶-2 及其临床意义[J]. *国外医学·生理、病理科学与临床分册*, 1996, 16(2): 97-99.
5. Vane JR, Botting RM. New insights into the model of action of anti-inflammatory drugs[J]. *Inflamm Res*, 1995, 44(1): 1-10.
6. Seibert K, Zhang Y, Leahy K, et al. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase-2 in inflammation and pain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(25): 12013-12017.
7. Kaufmann WE, Worley PF, Pegg J, et al. Cox-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(6): 2317-2321.
8. Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, et al. Cox-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(21): 13926-13931.
9. Schwab JM, Brechtel K, Nguyen TD, et al. Persistent accumulation of cyclooxygenase-1 (Cox-1) expressing microglia/macrophages and upregulation by endothelium following spinal cord injury[J]. *J Neuroimmunol*, 2000, 111(1-2): 122-130.
10. Maihofner C, Tegeder I, Eichenhofer C, et al. Localization and regulation of cyclooxygenase-1 and -2 and neuronal nitric oxide synthase in mouse spinal cord[J]. *Neuroscience*, 2000, 101(4): 1093-1108.
11. Meller ST, Gebhart GF. Intraplantar zymosan as a reliable, quantifiable model of thermal and mechanical hyperalgesia in the rat[J]. *Eur J Pain*, 1997, 1(1): 43-52.
12. Seibert K, Zhang Y, Leahy K, et al. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(25): 12013-12017.
13. Willingale HL, Gardiner NJ, McLymont N, et al. Prostanoids synthesized by cyclo-oxygenase isoforms in rat spinal cord and their contribution to the development of neuronal hyperexcitability[J]. *Br J Pharmacol*, 1997, 122(8): 1593-1604.
14. Malmberg AB, Yaksh TL. Cyclooxygenase inhibition and the spinal release of prostaglandin E2 and amino acids evoked by paw formalin injection: a microdialysis study in unanesthetized rats[J]. *J Neurosci*, 1995, 15(4): 2768-2776.
15. Samad TA, Moore KA, Sapirstein A, et al. Interleukin-1 beta-mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity [J]. *Nature*, 2001, 410: 471-475.
16. Kaufmann WE, Worley PF, Pegg J, et al. COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(6): 2317-2321.
17. Svonsson CI, Yaksh TL. The spinal phospholipase-cyclooxygenase prostanoid cascade in nociceptive processing [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2002, 42: 553-558.
18. Miyamoto H, Saura R, Harada T, et al. The role of cyclooxygenase-2 and inflammatory cytokines in pain induction of herniated lumbar intervertebral disc[J]. *Kobe J Med Sci*, 2000, 46(1-2): 13-28.
19. Yaksh TL, Hua XY, Kalcheva I, et al. The spinal biology in humans and animals of pain states generated by persistent small afferent input [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(14): 7680-7686.
20. Yaksh TL, Dirig DM, Conway CM, et al. The acute antihyperalgesic action of non-steroidal, anti-inflammatory drugs and release of spinal PGE2 is mediated by the inhibition of constitutive spinal cyclo-oxygenase-2 (COX-2) but not COX-1 [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(16): 5847-5853.
21. Vasko MR, Zirkelbach SL, Waite KJ. Prostaglandins stimulate the release of substance P from the rat spinal cord slices[J]. *Progr Pharmacol Clin Pharmacol*, 1993, 10(1): 69-89.
22. Sakai M, Minami T, Hara Net al. Stimulation of nitric oxide release from rat spinal cord by prostaglandin E2 [J]. *Br J Pharmacol*, 1998, 123(5): 890-894.
23. Minami T, Sugatani J, Sakimura K, et al. Absence of prostaglandin E2-induced hyperalgesia in NMDA receptor epsilon subunit knockout mice [J]. *Br J Pharmacol*, 1997, 120(8): 1522-1526.
24. Manzoni O, Bockaert J. Nitric oxide synthase activity endogenously modulates NMDA receptors[J]. *J Neurochem*, 1993, 61(1): 368-370.
25. Salter M, Stribos PJ, Neale S, et al. The nitric oxide-cyclic GMP pathway is required for nociceptive signaling at specific loci within the somatosensory pathway [J]. *Neuroscience*, 1996, 73(3): 649-655.
26. Minami T, Onaka M, Okuda-Ashitaka E, et al. L-NAME, an inhibitor of nitric oxide synthase, blocks the established allodynia induced by intrathecal administration of prostaglandin E2[J]. *J Neurosci Lett*, 1995, 201(3): 239-242.

(收稿日期: 2004-06-14 修回日期: 2004-08-23)

(本文编辑 卢庆霞)