

偏头痛的动物模型

唐春花,刘朝阳,黄梅,张莉莉

摘要 偏头痛是一种常见的慢性失能性原发性头痛,临床以发作性中重度、搏动样头痛为主要表现。偏头痛的致病原因复杂,病理生理机制还不是十分明确,近年来研究者围绕三叉神经血管系统伤害感受通路构建了多种动物模型,在这些动物模型中使用电生理学、视频影像学、免疫组织化学、生物化学和行为学评估等进行偏头痛的相关研究。目前应用较为广泛的偏头痛动物模型有三叉神经刺激模型、皮质扩布去极化/抑制诱发模型及转基因动物模型等,本文就此做一综述。

关键词 偏头痛;动物模型;三叉神经刺激;皮质扩布去极化/抑制;家族性偏瘫型偏头痛

中图分类号 R741;R741.02;R742 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20200640

本文引用格式:唐春花,刘朝阳,黄梅,张莉莉.偏头痛的动物模型[J].神经损伤与功能重建,2022,17(8):467-469.

作者单位

陆军军医大学陆军特色医学中心神经内科

重庆 400043

收稿日期

2021-08-06

通讯作者

张莉莉

zll197312@

hotmail.com

偏头痛是一种常见的慢性失能性原发性头痛^[1],临床以发作性中重度、搏动样头痛为主要表现,常伴有畏光、恶心及呕吐等各种自主神经症状。偏头痛的致病原因复杂,病理生理机制还不十分明确,目前主流的观点是“三叉神经血管理论”,见图1。近年来研究者围绕三叉神经血管系统(trigeminovascular system, TVS)伤害感受通路构建了多种动物模型,在这些动物模型中使用电生理学、视频影像学、免疫组织化学、生物化学和行为学评估等进行偏头痛的相关研究。但这些偏头痛的动物模型都具有自身局限性,要建立能全面模拟这种疾病的动物模型还存在着很多问题^[2]。

首先,头痛是主观症状,在动物模型上很难进行量化观察。其次,偏头痛的病理生理机制复杂,如一部分患者存在先兆症状,表现为闪光、暗点及视物变形等视觉障碍,也有倦怠、打哈欠以及食欲改变等下丘脑症状。先兆通常出现在头痛发作前数日至数小时,是偏头痛病理生理机制中重要的上游事件,这在动物模型中很难模拟。目前大部分学者认为皮质扩布去极化/抑制(cortical spreading depression, CSD)是偏头痛先兆的发生机制^[3],这种电生理现象在实验动物中相对容易诱导(如下文所述),为偏头痛的研究提供了一个新的手段。

此外,由于偏头痛是一种发作性的疾病,一直以来我们都认为患者在头痛发作间期与常人无异。但研究发现偏头痛患者在头痛发作间期也存在脑功能的异常。在进行诱发电位检查时,健康人在持续刺激后电位的振幅逐渐减低,这种现象称为习惯化(habituation),但偏头痛患者发作间期往往缺乏这种现象^[4],而在偏头痛发作前期到发作期这一时段却能观察到这种现象。所以我们推测偏头痛发作可能是中枢神经系统周期性的异常引起三叉神经系统的异常活化所致,这种周期性在动物模型中也很难复制。

目前应用较为广泛的偏头痛动物模型有三叉

神经刺激模型、CSD诱发模型及转基因动物模型等,具体介绍如下。

1 三叉神经刺激模型(头痛再现)

偏头痛发作时三叉神经系统处于非常活跃的状态^[5],因此有学者提出可以通过某种方式刺激三叉神经来创建头痛模型。硬脑膜和三叉神经节(trigeminal ganglion, TG)是较常选用的部位。偏头痛患者的头痛程度相对较重,而头部活动加重头痛,这种头痛的特征与脑膜炎非常相似。硬脑膜中分布着大量的三叉神经末梢,对伤害刺激非常敏感,头部的运动相当于对硬脑膜施加物理刺激而引起头痛加重。此外,偏头痛发作时,脑膜动脉扩张,神经源性炎症激活硬脑膜周围伤害感受器,将伤害刺激传入TG,上行传导至脑干、丘脑、皮质,引起疼痛。无菌性硬脑膜炎被认为是偏头痛发作的主要机制^[6]。基于此,硬脑膜三叉神经刺激法成为偏头痛的常用模型之一,见图1b。

该模型中除了物理刺激外,电刺激和化学刺激也常作为刺激手段。分布在硬脑膜的三叉神经末梢主要存在于血管和静脉窦周围,这些地方常被选作为刺激部位。化学刺激中常用的是炎症汤(inflammatory soup, IS),它是由组胺、5-羟色胺、缓激肽和前列腺素E2组成的PH呈酸性的混合物。它能引起局部炎症,不但可使外周致敏,还能引起中枢敏化。此外,一氧化氮、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、高渗盐水等也可用于化学刺激。既往常用的TG电刺激法破坏性较大,目前已不常采用。三叉神经刺激模型引起的头痛,可通过测量机体对外界刺激的感受性来进行评估,常使用体内电极(TG和三叉神经脊束尾核)来测定电活动变化,也常使用间接的方法如免疫组化染色等测定即刻早期基因的产物c-Fos或者转录因子ATF3等来观察被激活的神经细胞的位置、表达的范围及程度。

在IS诱导模型中,实验动物表现出明显头痛相关的行为学表现(如活动减少、理毛增多等等)^[7]。通过该模型发现三叉神经受刺激后,不仅产生疼痛信号,还促使神经肽从神经末梢的释放。目前研究较多的是CGRP和垂体腺苷酸环化酶激活肽(pituitary adenylate cyclase-activating Polypeptide, PACAP),以CGRP及其受体为靶点研发的偏头痛药物目前已进入临床应用,有望开启偏头痛精准治疗的新时代。此外,研究者在该模型中通过逆行示踪剂,解析出硬脑膜的三叉神经向中枢的投射通路,该通路止于三叉神经脊束核最尾侧,部分下行至上位颈髓。此外,在丘脑水平,发现来自硬脑膜的纤维束与传导视觉信号的纤维合并,这被认为是畏光发生的解剖学基础^[8]。

但是该模型也受到一些质疑,被认为头痛可能是慢性硬膜炎症而非偏头痛导致的。而且偏头痛的发病机制不甚明确,尚不清楚从三叉神经末梢到丘脑至皮质的感觉通路上哪一部分异常而触发了头痛,因此用这种动物模型来阐释偏头痛的机理是存在局限性的。

2 CSD诱发模型(先兆再现)

如上所述,大约30%的偏头痛患者头痛之前会出现短暂的神经功能异常症状,即偏头痛的先兆,CSD被认为是先兆发生的重要机制。CSD是大脑皮质神经元和胶质细胞快速的、近乎完全的去极化及紧随的超极化形成的扩布性慢波,并抑制大脑电活动的现象^[9]。在电生理记录中,去极化是低频成分(~ 0.5 Hz)的直流电位变化,电活动抑制是高频成分(0.5~50 Hz)的脑电活动的幅度降低。整个过程是初始去极化后伴随着超长的复极,同时伴随着局部脑血流的变化,即短暂的充血期后呈现持续的缺血状态,类似于偏头痛先兆期间脑皮质的血流灌注变化^[9]。

CSD的动实验模型常常使用在体(麻醉或清醒的动物)和离体(细胞、脑片)两种方式。在体动物模型中,CSD可通过化学药物、电(电极)或机械刺激(针刺)在大脑皮质进行诱导。化学药品中,氯化钾、谷氨酸受体激动剂、N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)或哇巴因(Na^+/K^+ -ATP酶抑制剂)等是较多用于CSD研究的药物,以氯化钾诱导最为常

用。这种方法可以通过逐步提高的钾离子浓度来测量CSD的阈值,或连续施加恒定的超阈值浓度诱发重复CSD的产生并确定其频率,以此量化CSD的易感性。针刺法可以在目标区域快速诱发单一CSD波,操作简单,但不能测定CSD阈值,重复性较差,且容易对组织造成累计损伤。电极刺激法也可以通过调节刺激强度来进行CSD阈值检测。这些诱导CSD的方法均属于侵袭性方法,目前有学者采用非侵袭性光遗传的方法诱导CSD,可避免上述有创刺激带来的伪影及组织损伤。

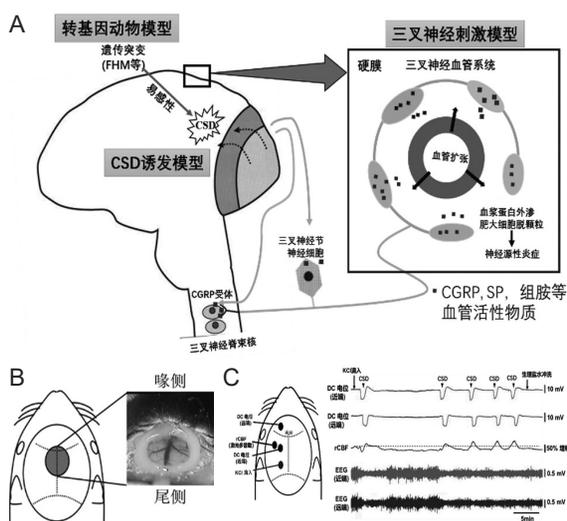
CSD诱发后,可通过皮质内微电极或硬膜外安置的电极,记录去极化波的电位改变,同时记录脑皮质电位,显示脑电活动抑制情况。并可以测量计算CSD波的传播速度、振幅及持续时间。由于CSD的发生会伴随局部脑血流的变化及血管直径的变化,可以同时使用颅外激光多普勒或激光散斑成像技术检测局部脑血流的变化,见图1c。由此可量化评估外界干预对CSD的影响。

TVS的活化是偏头痛发生的重要病理生理机制,而CSD可能是TVS激活的重要触发因素。CSD已被证实可引起外周三叉神经末梢及中枢三叉神经尾侧脊束核上神经元迟发且持久的活化^[10,11]。动物实验发现,CSD可引起脑膜中动脉的血管舒张,让基质金属蛋白酶-9级联激活引起长时间的血脑屏障破坏,导致同侧硬脑膜中血浆蛋白外渗,引起无菌性神经源性脑膜炎症^[12],从而引起头痛发生。此外,与CSD在偏头痛上游机制的作用相一致,药理学研究发现长期使用偏头痛预防药物(托吡酯,丙戊酸盐,普萘洛尔等)可降低大鼠CSD的发生率及传播速度,并存在量效关系^[13]。这些实验支持了CSD在偏头痛发生中的重要作用,为我们了解偏头痛的病理生理机制提供了依据。

但是,CSD与偏头痛之间的关系还存在许多质疑,由于相关手段的限制,缺少CSD与偏头痛关系的直接临床证据,所以用该模型直接来解释偏头痛的病理机制还是缺乏强有力的说服力的。

3 转基因动物模型

我们习惯上把所有基因工程小鼠统称为“转基因小鼠”。



注:(A)偏头痛的病理生理机制(三叉神经血管学说)及动物模型的模拟部位。遗传或其他因素使大脑皮质兴奋阈值降低,CSD易感性增加,脑膜血管周围的三叉神经末梢容易被激活,使三叉神经血管纤维释放血管活性肽如CGRP等,引起脑膜血管扩张、血浆蛋白外渗、肥大细胞脱颗粒释放组胺等,引起局部神经源性炎症,这种伤害性刺激沿着三叉神经传入纤维至三叉神经节然后传至三叉神经脊束核尾部,并将冲动传入大脑皮质产生痛觉。(B)硬脑膜三叉神经刺激模型。左侧为刺激部位示意图,右侧为小鼠颅骨开窗后进行化学或物理刺激的窗口,可以直视脑膜的血管变化。(C)CSD诱发模型。左图为氯化钾滴入部位及DC电极、激光多普勒放置部位的示意图。右图电为生理检测CSD发生时的DC电位、局部脑血流及脑电图相应改变。CSD:皮质扩布抑制;CGRP:降钙素基因相关肽;SP:P物质;rCBF:局部脑血流;EEG:脑电图。

图1 偏头痛的动物模型示意图

头痛易感性在某种程度上是由基因决定的,有学者认为遗传因素可导致偏头痛患者大脑皮质细胞的兴奋阈值降低,容易在轻微刺激后出现细胞内外的电解质的快速交换,引起神经元和胶质细胞去极化,引起广泛神经元的活化。目前,偏头痛相关的多种转基因动物模型(包括基因敲除或敲入)已被成功构建。

家族性偏瘫型偏头痛(familial hemiplegic migraine, FHM)是一种少见的常染色体显性遗传的偏头痛,遵循孟德尔遗传法则,也是目前唯一明确的单基因遗传性偏头痛。FHM患者具有程度较重、持续时间较长的完全可逆的包括偏侧肢体无力在内的先兆症状,诊断要求家族中至少有1例一级或二级家属有类似的症状^[14]。研究者将不同类型的FHM致病基因导入啮齿动物,成功培养出多种转基因小鼠。在转基因小鼠模型中结合三叉神经刺激模型及CSD诱导模型,通过与野生同胞小鼠之间的对比,观察其行为学、电生理学、组织免疫学、药理学等特征,探索偏头痛的遗传异质性和相关的病理生理机制。

研究较多的是携带FHM1或FHM2突变基因的小鼠模型。在FHM1基因敲入R192Q及S218L小鼠中,由于单个CaV_{2.1}通道的功能改变,导致皮质网络兴奋性增加,在去极化过程中,进入突触前末梢的钙增加,使得谷氨酸过多释放,引起细胞去极化,表现出异常增高的CSD易感性,而且表型的严重程度与这些突变相关的临床先兆的严重程度相一致(即S218L比R192Q更严重)^[15]。携带FHM2的 $\alpha 2$ 亚基突变的W887R及G301R小鼠与同胞的野生小鼠相比,CSD的阈值更低,传导速度更快,直流电位变化恢复更慢^[16,17]。FHM2基因敲除的杂合型小鼠在条件性刺激后表现出比野生型更显著的恐惧/焦虑行为,免疫组化结果显示其杏仁核和梨状核的神经元活化明显增强^[18]。

尽管FHM相对罕见,但这些数据表明,更常见形式的偏头痛的未知多基因决定因素也可能改变大脑皮质兴奋性,减低CSD的阈值,作为偏头痛易感性的最后共同机制。对这些基因突变的动物模型的研究可能揭示这些基因对偏头痛病理生理学的作用,并有助于筛选出潜在的抗偏头痛的治疗药物。但是转基因小鼠繁殖能力有限,部分亚型的纯合型小鼠生存困难,短期内难以大量复制。且FHM与一般的偏头痛还是存在很大差别,除偏头痛之外,还伴随许多其他的症状,比如较长时间的肢体偏瘫以及偏身痛觉障碍、癫痫发作、共济失调甚至昏迷等^[19]。因此,从FHM突变的小鼠获得的实验结果,用于解释普通偏头痛的病理机制和治疗成果还需要仔细斟酌。

总之,模拟人类疾病的有效动物模型应具有5个特征:症状相似性、行为表型的可观察性和可测量性、观察者间评估结果的可靠性、对治疗反应的相似性和系统的再现性^[20]。由于偏头痛复杂的病理机制以及动物和人类之间的存在的差异,很难完全满足这些标准,但基于目前的动物模型,我们对偏头痛有了较多的认识,也在治疗上取得了突破性的进展。为了更好地了解疾病的本质,以及更好地进行偏头痛的预防、治疗并开发新的治疗靶点,需要尽可能接近地在遗传学、生理学及行为学水平模拟疾

病,因此亟待偏头痛模型的进一步完善和改进。

参考文献

- [1] GBD 2016 Neurology Collaborators. Global, regional, and national burden of neurological disorders, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18: 459-480.
- [2] Romero-Reyes M, Akerman S. Update on animal models of migraine [J]. *Curr Pain Headache Rep*, 2014, 18: 462.
- [3] Ayata C. Cortical spreading depression triggers migraine attack: pro[J]. *Headache*, 2010, 50: 725-730.
- [4] Sand T, Zhitniy N, White L R, et al. Brainstem auditory-evoked potential habituation and intensity-dependence related to serotonin metabolism in migraine: A longitudinal study[J]. *Clin Neurophysiol*, 2008, 119: 1190-1200.
- [5] Goadsby P J, Holland P R, Martins-Oliveira M, et al. Pathophysiology of migraine: a disorder of sensory processing[J]. *Physiol Rev*, 2017, 97: 553-622.
- [6] Olesen J, Burstein R, Ashina M, et al. Origin of pain in migraine: evidence for peripheral sensitisation[J]. *Lancet Neurol*, 2009, 8: 679-690.
- [7] Melo-Carrillo A, Lopez-Avila A. A chronic animal model of migraine, induced by repeated meningeal nociception, characterized by a behavioral and pharmacological approach[J]. *Cephalalgia*, 2013, 33: 1096-1105.
- [8] Nosedá R, Jakubowski M, Kainz V, et al. Cortical projections of functionally identified thalamic trigeminovascular neurons: implications for migraine headache and its associated symptoms[J]. *J Neurosci*, 2011, 31: 14204-14217.
- [9] Ayata C, Lauritzen M. Spreading depression, spreading depolarizations, and the cerebral vasculature[J]. *Physiol Rev*, 2015, 95: 953-993.
- [10] Zhang X, Levy D, Kainz V, et al. Activation of central trigeminovascular neurons by cortical spreading depression[J]. *Ann Neurol*, 2011, 69: 855-865.
- [11] Zhang X, Levy D, Nosedá R, et al. Activation of meningeal nociceptors by cortical spreading depression: implications for migraine with aura[J]. *J Neurosci*, 2010, 30: 8807-8814.
- [12] Bolay H, Reuter U, Dunn A K, et al. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model[J]. *Nat Med*, 2002, 8: 136-142.
- [13] Ayata C, Jin H, Kudo C, et al. Suppression of cortical spreading depression in migraine prophylaxis[J]. *Ann Neurol*, 2006, 59: 652-661.
- [14] Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition[J]. *Cephalalgia*, 2018, 38: 1-211.
- [15] van den Maagdenberg AM, Pizzorusso T, Kaja S, et al. High cortical spreading depression susceptibility and migraine-associated symptoms in Ca (v) 2.1 S218L mice[J]. *Ann Neurol*, 2010, 67: 85-98.
- [16] Kros L, Lykke-Hartmann K, Khodakhah K. Increased susceptibility to cortical spreading depression and epileptiform activity in a mouse model for FHM2[J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 16959.
- [17] Leo L, Gherardini L, Barone V, et al. Increased susceptibility to cortical spreading depression in the mouse model of familial hemiplegic migraine type 2[J]. *PLoS Genet*, 2011, 7: e1002129.
- [18] Ikeda K, Onaka T, Yamakado M, et al. Degeneration of the amygdala/piriform cortex and enhanced fear/anxiety behaviors in sodium pump $\alpha 2$ subunit (Atp1a2)-deficient mice[J]. *J Neurosci*, 2003, 23: 4667-4676
- [19] 李英娇,王翠,陈晨,等.头痛出现在先兆之前的偏瘫型偏头痛2例并文献复习[J]. *神经损伤与功能重建*, 2020, 15: 495-496.
- [20] Belzung C, Lemoine M. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression[J]. *Biol Mood Anxiety Disord*, 2011, 1: 9.

(本文编辑:唐颖馨)