

等^[11]的研究结果(肺鳞癌: $n = 18$,甲基化率 15%),这样的差异可能由多种原因引起,如样本量、检测方式、取材过程等,仍需要开展多中心、大样本的研究。另外,与正常对照组比较,NSCLC 患者细胞中的 G_0S_2 基因表达量明显下降。鉴于 G_0S_2 基因在 NSCLC 肿瘤组织中的高甲基化率及表达量的下降,笔者猜测检测 G_0S_2 基因的甲基化率或该基因的表达水平对 NSCLC 的早期诊断有一定的参考价值。但在 G_0S_2 基因表达量影响的单因素分析结果显示 NSCLC 患者的年龄、性别、吸烟史(不包括二手烟史)、肿瘤的病理类型、分期分级对 G_0S_2 基因表达的影响差异均无统计学意义,并且 G_0S_2 基因表达量的多少与 NSCLC 患者的 DFS 及 OS 无明显相关性,但笔者可以看到,在 G_0S_2 基因表达高低组中,发生疾病进展及死亡的病例数在数值上有一定的差异,这种差异在小样本的实验研究中无法体现,提高样本量的情况下这种差异是否会进一步拉大并具有统计学意义,仍需开展进一步的研究来证实。笔者认为 G_0S_2 基因在肿瘤形成过程中起着一定的作用。

综上所述,检测 G_0S_2 基因的表达情况对 NSCLC 患者早期诊断有一定的作用,但在后续指导肺癌分期、预测患者预后等方面无明显参考价值。本研究结果对于该基因在 NSCLC 患者发生、发展中的作用有一定的指导意义,为后续研究和临床决策提供参考意义。

参考文献

- 1 Li X, Zhu G. Clinical developments for the EGFR - TKI combined with radiotherapy in advanced non - small cell lung cancer [J]. Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 2014, 17(4):357 - 362
- 2 Molina JR, Yang P, Cassivi SD, *et al.* Non - small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship [J]. Mayo

- Clin Proc, 2008, 83(5):584 - 594
- 3 Ting AH, Schuebel KE, Baylin SB, *et al.* Short double - stranded RNA induces transcriptional gene silencing in human cancer cells in the absence of DNA methylation [J]. Nat Genet, 2005, 37(8):906 - 910
- 4 Heckmann BL, Zhang X, Xie X, *et al.* The G_0/G_1 switch gene 2 (G_0S_2): regulating metabolism and beyond [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1831(2):276 - 281
- 5 Cerk IK, Salzburger B, Boeszoeremnyi A, *et al.* A peptide derived from G_0/G_1 switch gene 2 acts as noncompetitive inhibitor of adipose triglyceride lipase [J]. J Biol Chem, 2014, 289(47):32559 - 32570
- 6 Kusakabe M, Watanabe K, Emoto N, *et al.* Impact of DNA demethylation of the G_0S_2 gene on the transcription of G_0S_2 in squamous lung cancer cell lines with or without nuclear receptor agonists [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 390(4):1283 - 1287
- 7 Kitareewan S, Blumen S, Sekula D, *et al.* G_0S_2 is an all - trans - retinoic acid target gene [J]. Int J Oncol, 2008, 33(2):397 - 404
- 8 Ma T, Lopez - Aguiar AG, Lu Y, *et al.* Mice lacking G_0S_2 are lean and cold - tolerant [J]. Cancer Biol Ther, 2014, 15(5):643 - 650
- 9 Tokumaru Y, Yamashita K, Osada M, *et al.* Inverse correlation between cyclin A1 hypermethylation and p53 mutation in head and neck cancer identified by reversal of epigenetic silencing [J]. Cancer Res, 2004, 64(17):5982 - 5987
- 10 Welch C, Santra MK, El - Assaad W, *et al.* Identification of a protein, G_0S_2 , that lacks Bcl - 2 homology domains and interacts with and antagonizes Bcl - 2 [J]. Cancer Res, 2009, 69(17):6782 - 6789
- 11 Kusakabe M, Kutomi T, Watanabe K, *et al.* Identification of G_0S_2 as a gene frequently methylated in squamous lung cancer by combination of in silico and experimental approaches [J]. Int J Cancer, 2010, 126(8):1895 - 1902
- 12 Chang X, Monitto CL, Demokan S, *et al.* Identification of hypermethylated genes associated with cisplatin resistance in human cancers [J]. Cancer Res, 2010, 70(7):2870 - 2879

(收稿日期:2016 - 07 - 20)

(修回日期:2016 - 09 - 03)

右美托咪定对神经病理性疼痛的作用及其机制

杨颖聪 夏中元 孟庆涛 刘康 赵博

摘要 目的 观察右美托咪定对坐骨神经结扎所致神经病理性疼痛的镇痛作用,从离子通道角度探讨其机制。**方法** SD 大鼠随机分为 3 组:CCI 组、CCI + Dex 组及 Sham 组,每组 9 只。CCI 组和 CCI + Dex 组通过结扎坐骨神经建立神经病理性疼痛模型,Sham 组只暴露坐骨神经不结扎。术后 7 天,CCI + Dex 组腹腔注射右美托咪定 $40\mu\text{g}/\text{kg}$,CCI 组腹腔注射等量生理盐水,1 次/天,连续 3 天。大鼠术前、CCI 术后 7 天及注药后 3 天采用 Von Frey 纤维测定机械性缩足阈值(PWMT),热辐射法测定缩足潜伏期(TWL)。麻醉后处死大鼠,采用酶解法分离大鼠的腰段背根神经节(DRG)细胞,另将 HCN1 与 HCN2 质粒转染至 HEK293 细

作者单位:430060 武汉大学人民医院麻醉科

通讯作者:夏中元,教授,主任医师,博士生导师,电子信箱:xiazhongyuan2005@aliyun.com

胞,全细胞膜片钳记录 HEK293 细胞及大鼠 DRG 神经元的 HCN 电流。结果 CCI 术后 7 天,CCI 组及 CCI + Dex 组大鼠 PWMT、TWL 较术前降低 ($P < 0.05$),而 Sham 组大鼠的 PWMT、TWL 与术前比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。给药 3 天后,CCI + Dex 组 PWMT、TWL 较给药前增加 ($P < 0.05$);而 CCI 组给药前后 PWMT 和 TWL 无明显变化。与 Sham 组比较,CCI 组与 CCI + Dex 组 DRG 神经元 I_h 幅度均增加, $V_{1/2}$ 值降低 ($P < 0.05$);与 CCI 组比较,右美托咪定治疗后的大鼠 DRG 神经元 I_h 幅度降低, $V_{1/2}$ 值增加 ($P < 0.05$)。另外右美托咪定 ($0.1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$) 抑制 HEK 293 细胞中的 HCN1 和 HCN2 电流,导致最大电流降低, I_h 抑制率增加, $V_{1/2}$ 向超极化方向改变 ($P < 0.05$)。结论 右美托咪定可缓解神经病理性疼痛,这可能与抑制 DRG 神经元 I_h 有关。

关键词 神经病理性疼痛 右美托咪定 背根神经节 超极化激活的环核苷酸门控通道

中图分类号 R745

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.07.019

Effect and Mechanism of Dexmedetomidine on Neuropathic Pain. Yang Yingcong, Xia Zhongyuan, Meng Qingtao, et al. Department of Anesthesiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430060, China

Abstract Objective To examine the effect and mechanism of dexmedetomidine on neuropathic pain. **Methods** SD rats ($n = 9$ per group) were randomly divided into Group CCI, Group CCI + Dex and Group Sham. The neuropathic pain model was established by performing sciatic nerve ligation in Group CCI and Group CCI + Dex. The sciatic nerve was exposed but not ligated in Group Sham. On day 7 after surgery, Group CCI + Dex rats were intraperitoneally (ip) injected dexmedetomidine ($40 \mu\text{g/kg}$), and Group CCI rats were i. p injected with a similar volume of saline solution. Injections were performed once a day for 3 days. The paw withdrawal threshold to mechanical stimulation (PWMT) and the thermal withdrawal latency (TWL) tests were conducted before operation, on day 7 after operation, and after treatment, respectively. After treatment, the L4, L5 DRG neurons of rats were isolated. In addition, hyperpolarization - activated cyclic nucleotide - gated (HCN) channels subtype plasmids were transfected into HEK293 cells. Whole - cell clamp recordings were used to examine the properties of HCN currents (I_h) expressed in HEK293 cells and DRG neurons. **Results** On day 7 after operation, PWMT and TWL of the right hind foot were significantly reduced in Group CCI and Group CCI + Dex ($P < 0.05$) compared with preoperative. No significant differences in PWMT and TWL were observed in Group Sham. After dexmedetomidine administration, PWMT and TWL were significantly increased in rats of group CCI + Dex compared to the values before treatment ($P < 0.05$). After saline treatment, no significant changes were observed in PWMT and TWL in Group CCI. Compared with Group Sham, the I_h amplitude of DRG neurons in Group CCI and Group CCI + Dex was increased, and the $V_{1/2}$ value was decreased significantly ($P < 0.05$). After treatment with dexmedetomidine, the I_h amplitude in Group CCI + Dex was lower, and the $V_{1/2}$ value was increased significantly, compared to Group CCI ($P < 0.05$). The slope factors for each group were not significantly different ($P > 0.05$). In addition, dexmedetomidine ($0.1 - 10 \mu\text{mol/L}$) inhibited HCN1 and HCN2 channel currents in HEK 293 cells; caused a decrease of maximal currents, an increase of inhibition rate of I_h , and a negative shift in $V_{1/2}$. **Conclusion** Dexmedetomidine significantly alleviates neuropathic pain. This may be associated with the inhibition of I_h in DRG neurons.

Key words Neuropathic pain; Dexmedetomidine; Dorsal root ganglion; HCN Channel

神经病理性疼痛 (neuropathic Pain, NP) 多由外周或中枢神经系统损伤引起,其主要表现为自发性疼痛 (spontaneous pain)、痛觉过敏 (hyperalgesia) 及异常性触摸痛 (allodynia)^[1]。神经病理性疼痛发生率高,治疗难度高,严重影响患者的工作与生活。神经病理性疼痛发病机制复杂。研究发现外周神经损伤后,受损的细胞以及炎性细胞会释放出许多细胞介质,如缓激肽、5 - 羟色胺、组胺及细胞因子等,这些细胞介质可使伤害性感受器发生敏化,导致神经元兴奋性增强,神经元异位放电增多,对外界刺激阈值降低,导致痛觉过敏的形成。离子通道是调节神经元兴奋性的重要结构^[2]。大量研究表明超极化激活的环核苷酸门控 (hyperpolarization activated cyclic nucleotide gated channel, HCN) 通道广泛分布在疼痛传导通路中,在神经病

理性疼痛的发生、发展中可能发挥重要作用^[3,4]。

右美托咪定是一种高效、高选择性的 α_2 肾上腺素受体激动剂。临床麻醉与术后镇痛研究发现,小剂量的右美托咪定即可产生良好的镇痛效应,与阿片类镇痛药合用,还可减少阿片类药物的使用剂量与不良反应^[5]。右美托咪定是否也可用于神经病理性疼痛的治疗,其安全性与有效性如何,还有待进一步研究。本研究拟通过建立大鼠坐骨神经慢性压迫性损伤 (chronic constriction injury, CCI) 模型,观察右美托咪定对神经病理性疼痛大鼠的镇痛作用,并通过电生理学研究从离子通道的角度探讨其镇痛机制。

材料与方法

1. 动物与分组: 雄性健康 SD 大鼠, 体重 $140 \sim 160 \text{g}$, 由湖南斯莱克景达实验动物公司提供, 动物合

格证号:SCXX(湘)2009-0004。采用随机数字表法将大鼠分为3组,即坐骨神经结扎组(CCI组)、坐骨神经结扎+右美托咪定治疗组(CCI+Dex组)及假手术组(Sham组),每组9只。CCI术后7天,CCI+Dex组腹腔注射右美托咪定 $40\mu\text{g}/\text{kg}$ (批号:09081232,江苏恒瑞医药股份有限公司),CCI组腹腔注射等体积生理盐水,每天1次,连续3天。实验动物的饲养与处理均按照武汉大学动物管理与使用指南进行,本实验经武汉大学人民医院伦理委员会批准。

2. CCI模型制备:大鼠腹腔注射 $50\text{mg}/\text{kg}$ 戊巴比妥麻醉,暴露右下肢坐骨神经主干,CCI组和CCI+Dex组大鼠用4-0丝线在坐骨神经的中段结扎4道,间隔2mm,结扎强度以引起小腿肌肉轻度颤动为宜,仅留下缢痕而不阻断神经血供,然后逐层缝合。Sham组大鼠仅暴露右侧坐骨神经而不结扎。术后连续3天腹腔注射0.3ml氨基青霉素($100\text{mg}/\text{ml}$)。

3. 行为学测试:大鼠术前、CCI术后7天及注药后3天进行机械性缩足阈值(PWMT)与热辐射缩足潜伏期(TWL)的测试。(1)PWMT的测定:将大鼠置于铁丝网上,并罩于树脂玻璃箱内。大鼠适应环境15min后,采用Von Frey纤维,以逐渐增强的力度($1.4\sim 20.0\text{g}$)垂直刺激大鼠右后肢足底部,力度以引起纤维轻微弯曲为准,持续 $3\sim 5\text{s}$,观察大鼠是否出现缩足反应。重复测试3次,每次间隔5min,引起大鼠缩足反应的最小刺激力度即为PWMT。(2)TWL的测定:将大鼠置于3mm厚的玻璃板上,并罩于树脂玻璃箱内。大鼠适应环境15min后,采用热辐射刺激仪照射大鼠右后肢足底。热刺激强度IR设置为60,照射时间不超过20s。记录照射开始至大鼠出现缩足反应的时间。每只大鼠测定3次,每次间隔5min,取平均值为大鼠TWL。

4. 脊髓背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)神经元的制备:药物治疗完成后,大鼠腹腔注射戊巴比妥($50\text{mg}/\text{kg}$)麻醉,暴露L4、L5节段DRG。取下DRG并置于完全盐水溶液(complete saline solution, CSS)中进行清洁和切碎。CSS溶液包含以下成分: $137\text{mmol}/\text{L}$ NaCl, $5.3\text{mmol}/\text{L}$ KCl, $1\text{mmol}/\text{L}$ MgCl_2 , $3\text{mmol}/\text{L}$ CaCl_2 , $25\text{mmol}/\text{L}$ 山梨醇和 $10\text{mmol}/\text{L}$ HEPES。37℃下,在含有 $0.5\text{mmol}/\text{L}$ EDTA和 $2\mu\text{g}$ 半胱氨酸的CSS溶液中,将DRG用胶原酶A($1\text{mg}/\text{ml}$)消化15min,再用胶原酶D($1\text{mg}/\text{ml}$)和木瓜蛋白酶($30\text{U}/\text{ml}$)消化15min。在含有 $1\text{mg}/\text{ml}$ 胎牛血清和 $1\text{mg}/\text{ml}$ 胰蛋白酶抑制剂的培养基中研磨细胞,并将

其铺在涂有多聚鸟氨酸和层粘连蛋白的盖玻片上。将细胞在37℃含5% CO_2 的培养箱中孵育1h。

5. DRG神经元的记录:在DRG细胞黏附到载玻片上之后,高倍镜下选取中等大小的细胞(直径为 $35\sim 45\mu\text{m}$)进行全细胞膜片钳记录。本实验细胞外液包含以下成分: $125\text{mmol}/\text{L}$ NaCl, $3\text{mmol}/\text{L}$ KCl, $1\text{mmol}/\text{L}$ CaCl_2 , $1\text{mmol}/\text{L}$ MgCl_2 , $10\text{mmol}/\text{L}$ HEPES, $10\text{mmol}/\text{L}$ 葡萄糖, $10\text{mmol}/\text{L}$ TEA-Cl, $3\text{mmol}/\text{L}$ 4-AP, $2\text{mmol}/\text{L}$ MnCl_2 , $1\text{mmol}/\text{L}$ BaCl_2 和 $0.001\sim 0.005\text{mmol}/\text{L}$ TTX, pH值用NaOH调至7.4。电极内液包含以下成分: $120\text{mmol}/\text{L}$ K-aspartate, $18\text{mmol}/\text{L}$ KCl, $1\text{mmol}/\text{L}$ CaCl_2 , $2\text{mmol}/\text{L}$ MgCl_2 , $5\text{mmol}/\text{L}$ EGTA, $10\text{mmol}/\text{L}$ HEPES, $5\text{mmol}/\text{L}$ Na-ATP和 $0.4\text{mmol}/\text{L}$ Na-GTP, pH值用KOH调至7.2。

6. HEK 293细胞中转染HCN通道亚型及其记录:使用标准程序培养HEK293。将HCN1、HCN2质粒连同绿色荧光质粒通过脂质体2000转染至HEK293细胞,转染后24~48h进行全细胞膜片钳记录。高倍镜下选取显示绿色荧光的细胞进行全细胞膜片钳记录。实验所用的细胞外液及电极内液同上述。

7. 数据采集与分析:DRG细胞持续细胞外液灌注($2\text{ml}/\text{min}$),破膜后运用电压钳记录HCN电流;HEK293细胞先用细胞外液灌注($2\text{ml}/\text{min}$),破膜后运用电压钳记录HCN电流作为基础值,记录完基础值后,用含不同浓度(0.1 、 1 、 $10\mu\text{mol}/\text{L}$)的右美托咪定的细胞外液灌注,5min后再次记录HCN电流。使用pCLAMP数据采集软件和Digidata 1322A数模转换器(美国Molecular Devices公司)收集数据。HCN电流由一系列超极化脉冲刺激激发。细胞膜保持电位于 -40mV ,在此基础上施以跃阶 -10mV 的超极化电压刺激,持续 $3\sim 4\text{s}$,范围 $-130\sim -40\text{mV}$, -90mV 获得尾电流。电流幅值为开始施加电压时和施加电压结束前引起的电流的差值。最大电流为 -130mV 电压激发的电流幅值。标准化尾电流,以尾电流相对值对条件脉冲电压作散点图,再按Boltzmann方程 $I/I_{\text{max}} = 1/\{1 + \exp[(V - V_{1/2})/K]\}$ 进行拟合,采用Origin6.0软件得出HCN通道的半激活电位($V_{1/2}$)和曲线斜率。

8. 统计学方法:采用SPSS 20.0及Graphpad prism6.0统计学软件进行统计分析与做图,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,给药前后的比较采用t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 大鼠行为学测试结果:(1)大鼠机械性缩足阈值(PWMT)的变化:CCI术后7天,CCI组和CCI+Dex组大鼠右后爪的PWMT较术前显著降低($P < 0.05$);而Sham组大鼠PWMT无显著变化。右美托咪定治疗3天后,CCI+Dex组大鼠的PWMT较治疗前明显升高($P < 0.05$);而CCI组大鼠经生理盐水治疗3天后,PWMT较治疗前无明显变化(图1A)。(2)大鼠热辐射缩足潜伏期(TWL)的变化:CCI术后7天,CCI组和CCI+Dex组大鼠右后爪的TWL较术前显著降低($P < 0.05$);而Sham组大鼠TWL无显著变化。右美托咪定治疗3天后,CCI+Dex组大鼠的TWL较治疗前明显升高($P < 0.05$);而CCI组大鼠经生理盐水治疗3天后,TWL较治疗前无明显变化(图1B)。

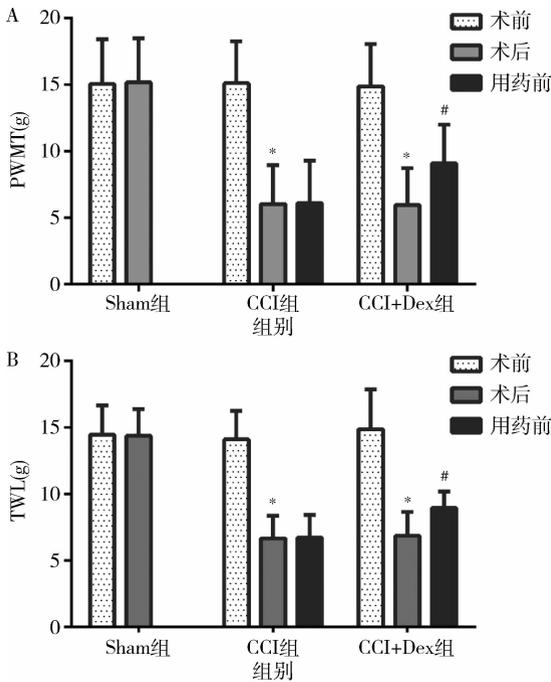


图1 各组大鼠行为学测试的变化

A. 术前、术后及用药后各组大鼠机械性痛阈 PWMT 的变化; B. 术前、术后及用药后各组大鼠热痛阈 TWL 的变化;与术前比较, * $P < 0.05$;与用药前比较, # $P < 0.05$

2. DRG 细胞 I_h 的记录:本实验共记录了 77 个 DRG 神经元,27 个来自 Sham 组,25 个来自 CCI 组,25 个来自 CCI + Dex 组,3 组 DRG 细胞大小差异无统计学意义。电压钳模式下,3 组的 DRG 神经元上均检测到超极化活激活的 I_h 电流,见图 2A。Sham 组的 DRG 神经元 I_h 平均值为 $-852.14 \pm 55.7\text{pA}$,CCI 组的 DRG 神经元 I_h 平均值为 $-1177.92 \pm 78.9\text{pA}$ 。与 Sham 组比较,CCI 组 DRG 神经元的 I_h 值明显增加

($P < 0.05$),增加率为 $38.23\% \pm 9.72\%$ 。右美托咪定治疗后,CCI + Dex 组的 I_h 平均值为 $-1075.78 \pm 62.3\text{pA}$,明显低于 CCI 组,但仍高于 Sham 组 ($P < 0.05$)。由 Boltzmann 方程拟合的 HCN 电流激活曲线见图 2B。与 Sham 组比较,CCI 组 I_h 激活曲线右移, $V_{1/2}$ 值显著降低 (Sham 组为 $-82.57 \pm 3.52\text{mV}$,CCI 组为 $-73.00 \pm 5.16\text{mV}$, $P < 0.05$)。右美托咪定治疗后,CCI + Dex 组 DRG 神经元 $V_{1/2}$ 值 ($-76.20 \pm 6.61\text{mV}$) 较 CCI 组明显升高,但仍低于 Sham 组 ($P < 0.05$)。各组电流激活曲线的斜率差异无统计学意义 (Sham 组为 $6.1 \pm 4.8\text{mV}$,CCI 组为 $5.9 \pm 4.4\text{mV}$,CCI + Dex 组为 $6.3 \pm 3.6\text{mV}$, $P > 0.05$)。

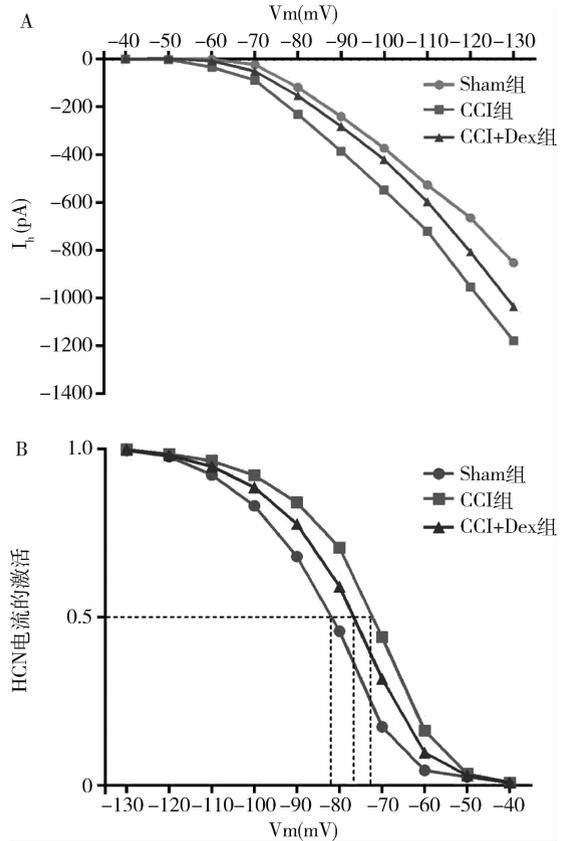


图2 各组大鼠 DRG 神经元 HCN 电流的比较

A. 各组大鼠 HCN 电流 I - V 曲线的比较; B. 各组大鼠 HCN 电流激活曲线的比较

3. HEK293 细胞 I_h 的记录:电压钳模式下,在表达 HCN1 与 HCN2 亚型的 HEK293 细胞里均记录到超极化激活的阳离子电流,见图 3A。0.1、1、10 $\mu\text{mol/L}$ 的右美托咪定降低了 HCN1 的电流幅度,使电流幅值从 $-627.53 \pm 200.86\text{pA}$ 降低到 $-204.27 \pm 27.95\text{pA}$ ($P < 0.05$,图 3B)。与 HCN1 相似,右美托咪定 (0.1、1、10 $\mu\text{mol/L}$) 也降低了 HCN2 的电流幅度,使

电流幅值从 $-593.87 \pm 56.64\text{pA}$ 降低到 $-199.99 \pm 24.72\text{pA}$ ($P < 0.05$, 图 3B)。右美托咪定对 HCN1、HCN2 电流的抑制率呈浓度依赖性增加 ($P < 0.05$, 图 3C)。相同浓度的右美托咪定对 HCN1 与 HCN2 电流的作用差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。由 Boltzmann 方程拟合的 HCN 电流激活曲线见图 3D。右美托咪定 (0.1、

1、10 $\mu\text{mol/L}$) 使 HCN1 及 HCN2 电流的激活曲线产生剂量相关性的左移。10 $\mu\text{mol/L}$ 的右美托咪定使 HCN1 的 $V_{1/2}$ 值从 $-81.80 \pm 1.52\text{mV}$ 增加到 $-103.09 \pm 6.14\text{mV}$, HCN2 的 $V_{1/2}$ 值从 $-102.61 \pm 1.16\text{mV}$ 增加到 $-120.00 \pm 1.56\text{mV}$ 。右美托咪定对 HCN1 及 HCN2 电流激活曲线的斜率均没有影响 ($P > 0.05$)。

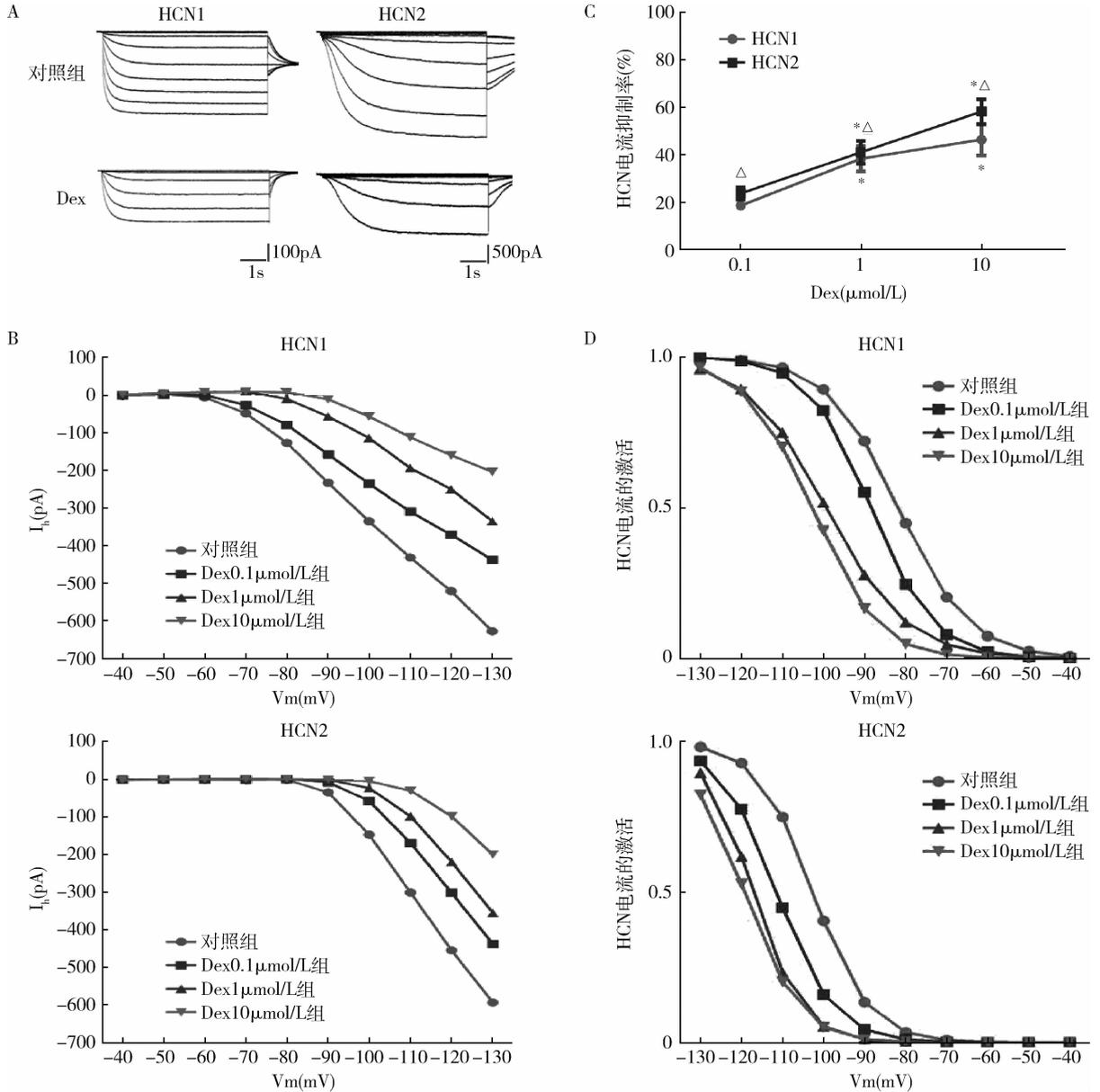


图 3 不同浓度右美托咪定对 HEK293 细胞 HCN 通道的作用

A. 10 $\mu\text{mol/L}$ 右美托咪定对 HCN1、HCN2 电流的作用比较; B. 不同浓度右美托咪定对 HCN 电流 $I-V$ 曲线的作用比较; C. 不同浓度右美托咪定对 HCN 电流抑制率的比较; D. 不同浓度右美托咪定对 HCN 电流激活曲线的作用比较; 与 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 组比较, * $P < 0.05$; $n = 9 \sim 11$

讨 论

坐骨神经慢性压迫性损伤模型是目前使用最广泛的神经病理性疼痛模型之一,其通过结扎坐骨神经模拟神经病理性疼痛患者的症状,具有高度的重复

性。本研究发现大鼠在 CCI 术后显示出机械性与热痛觉过敏。此外,笔者还发现,CCI 大鼠 DRG 神经元 HCN 电流幅度增加, $V_{1/2}$ 值显著降低。这些结果表明,由神经损伤引起的神经性疼痛可能与 HCN 通道

关系密切。

HCN通道属于电压门控钾通道超家族,具有稳定细胞膜静息电位,参与心脏起搏及神经元节律调节、控制膜电阻和树突整合、调节神经递质释放等生理功能^[3]。HCN通道激活产生 I_h 电流,显著的激活电位为 $-60 \sim -50\text{mV}$ 。因此,HCN通道在静息膜电位下即被激活,这可以保持神经元的兴奋性并有助于产生动作电位。HCN通道具有调节神经元兴奋性的重要功能。当HCN通道异常变化时,神经元的放电明显变化,可引起神经元兴奋性改变,引起一系列病理变化^[3]。

DRG是感觉传入的第一级神经元,属于假单极初级感觉神经元,胞体发出单个轴突在节内延伸一段后分为两支,一支为外周神经轴突,伸向外周组织,接受感觉信息;另一支为中枢轴突,将外周信息传至脊髓背角,完成初级感觉信息的传递^[6]。在哺乳动物中,HCN家族包含4个不同的亚型(HCN1~HCN4)。DRG神经元中表达的主要是HCN1和HCN2。定量RT-PCR(TaqMan)分析表明HCN1和HCN2 mRNA在大中型(直径 $55 \sim 80\mu\text{m}$)DRG神经元中表达量较大^[6]。研究发现异位放电主要产生于大中型DRG神经元,这与DRG神经元中HCN的分布基本一致^[6-8]。大鼠脊髓神经结扎1~3周后,DRG大中型神经元HCN通道的密度和激活率显著上调^[7]。在CCI模型受损坐骨神经部位也观察到HCN1和HCN2的表达显著增加^[8]。外周神经损伤或炎性反应导致HCN通道介导DRG神经元内向电流 I_h 的上调。 I_h 的增强使静息膜电位去极化,增加神经元的异位放电,降低伤害性感受器的激活阈值,促进神经元的自发或重复性活动,增加神经元对疼痛刺激的敏感度。研究发现抑制感觉神经元HCN电流可减少神经元兴奋性,减轻疼痛并影响疼痛转导^[9]。ZD7288是HCN通道抑制剂,对神经病理性疼痛模型大鼠具有显著的镇痛作用,而不影响其运动功能^[8,9]。结果表明抑制感觉神经元的HCN电流可降低神经元兴奋性,减少疼痛敏感度并影响疼痛转导。这将为神经病理性疼痛的治疗提供新的思路和药物靶点。

右美托咪定是一种高效、高选择性的 α_2 肾上腺素受体激动剂,具有良好的镇痛作用。动物实验表明,外周或鞘内给与右美托咪定提高了神经病理性疼痛大鼠机械性和热痛阈的阈值^[10,11]。临床研究还表明,全身给与右美托咪定对人体可产生中等程度的镇痛作用^[12]。本研究发现右美托咪定显著缓解了CCI大鼠的机械性和热痛觉过敏。电生理研究发现右美

托咪定可降低CCI大鼠DRG神经元的HCN电流幅度,并显著增加 $V_{1/2}$ 值。这些结果表明右美托咪定可能通过抑制HCN通道活化,减少DRG神经元的异位放电,从而对神经病理性疼痛发挥良好的镇痛作用。表达在DRG神经元中的HCN通道亚型主要是HCN1和HCN2。笔者通过质粒转染技术与电生理研究观察右美托咪定对HCN1和HCN2的作用。结果表明右美托咪定对HCN1和HCN2均具有显著的抑制作用,其作用与右美托咪定的浓度呈正比。此外,DEX对HCN1和HCN2的影响差异无统计学意义。

笔者的研究结果表明,右美托咪定可能通过抑制DRG神经元的HCN通道活化,减少感觉神经元的异位放电,从而减轻神经病理性疼痛。目前右美托咪定已被广泛用作重症监护病房的镇静剂,作为临床麻醉的辅助药物,但很少用于神经病理性疼痛的治疗。进一步研究右美托咪定对神经病理性疼痛的作用及其机制将有助于为疼痛治疗提供更安全、有效的方法与措施。

参考文献

- 1 Dosenovic S, Jelacic Kadic A, Miljanovic M, et al. Interventions for neuropathic pain: an overview of systematic reviews [J]. *Anesth Analg*, 2017, 125(2):643-652
- 2 Zhang JM, Strong JA. Recent evidence for activity-dependent initiation of sympathetic sprouting and neuropathic pain [J]. *Sheng Li Xue Bao*, 2008, 60(5):617-627
- 3 Benarroch EE. HCN channels: function and clinical implications [J]. *Neurology*, 2013, 80(3):304-310
- 4 杨舒蕾,龙景东,孙涛,等.脊髓背角HCN通道在神经病理性疼痛中的作用[J]. *神经解剖学杂志*, 2015, 31(5):557-561
- 5 邝鹰,肖暨艳.右美托咪定应用于手术麻醉和镇痛的研究进展[J]. *医学综述*, 2016, 22(14):2822-2824
- 6 瞿祥薇,林显光,王滔,等.HCN通道在神经系统中的分布及功能[J]. *生理科学进展*, 2015, 46(2):143-146
- 7 Chaplan SR, Guo HQ, Lee DH, et al. Neuronal hyperpolarization-activated pacemaker channels drive neuropathic pain [J]. *J Neurosci*, 2003, 23:1169-1178
- 8 Jiang YQ, Xing GG, Wang SL, et al. Axonal accumulation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation channels contributes to mechanical allodynia after peripheral nerve injury in rat [J]. *Pain*, 2008, 137(3):495-506
- 9 Sun Q, Xing GG, Tu HY, et al. Inhibition of hyperpolarization-activated current by ZD7288 suppresses ectopic discharges of injured dorsal root ganglion neurons in a rat model of neuropathic pain [J]. *Brain Res*, 2005, 1032:63-69
- 10 Wu JR, Chen H, Yao YY, et al. Local injection to sciatic nerve of dexmedetomidine reduces pain behaviors, SGCs activation, NGF expression and sympathetic sprouting in CCI rats [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 132:118-128
- 11 Liang F, Liu M, Fu X, et al. Dexmedetomidine attenuates neuropathic pain in chronic constriction injury by suppressing NR2B, NF- κ B, and iNOS activation [J]. *Saudi Pharm J*, 2017, 25(4):649-654
- 12 Grosu I, Lavand'homme P. Use of dexmedetomidine for pain control [J]. *F1000 Med Rep*, 2010, 2:90

(收稿日期:2018-09-03)

(修回日期:2018-10-13)