

· 实验研究 ·

脊髓背角内 NDRG2 在脊神经结扎神经病理性痛模型大鼠中的作用

程浩 唐君 刘清珍 嵇晴

【摘要】 目的 通过鞘内注射 N-myc 下游调节基因 2 (NDRG2) 干扰腺病毒 (AD-NdrG2-RNAi), 研究脊髓背角内 NDRG2 在脊神经结扎 (SNL) 神经病理性痛模型大鼠中的作用。**方法** 雄性 SD 大鼠 42 只, 体重 180~230 g, 随机分为假手术组 (sham 组, $n=6$) 和 SNL 组 ($n=36$), sham 组仅暴露脊神经不结扎, SNL 组行 L₅ 脊神经结扎术。分别测定术前 1 d、术后 1、3、7、10、14 和 21 d 大鼠术侧足底机械缩足阈值 (MWT) 和热缩足潜伏期 (TWL)。SNL 组大鼠各相应时点行为学测试后分别处死, 取术侧脊髓腰膨大, 检测 NDRG2 蛋白含量和 mRNA 表达量。另取 48 只雄性 SD 大鼠行鞘内置管后随机分为四组 ($n=12$): sham+生理盐水组 (CS 组)、sham+AD-NdrG2-RNAi 组 (CA 组)、SNL+生理盐水组 (SS 组) 和 SNL+AD-NdrG2-RNAi 组 (SA 组); CS、SS 两组大鼠术后 3 d 鞘内单次注射生理盐水 10 μ l, CA、SA 两组大鼠相同时点鞘内单次注射 10 μ l, 滴度为 2×10^9 PFU/ml 的 AD-NdrG2-RNAi。于 SNL 术前 1 d、术后 1、3、7 和 10 d 分别测定大鼠足底 MWT 和 TWL。术后 10 d 行为学测试后处死大鼠, 取术侧脊髓腰膨大, 检测 NDRG2 和胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 蛋白含量, 采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法检测 NDRG2 mRNA 的表达量。**结果** 与 sham 组比较, SNL 组术后 1、3、7、10、14、21 d MWT 明显降低 ($P<0.01$), 术后 3、7、10、14、21 d TWL 明显缩短 ($P<0.01$)。与术前 1 d 比较, SNL 组脊髓背角内 NDRG2 的蛋白含量和 mRNA 表达量在术后 1 d 明显降低, 术后 7、10、14、21 d 明显升高 ($P<0.05$)。与 CS 组比较, SS 组和 SA 组术后 1、3、7、10 d MWT 明显降低, TWL 明显缩短 ($P<0.05$); 与 SS 组比较, SA 组术后 7、10 d MWT 明显升高, TWL 明显延长 ($P<0.05$)。与 CS 组比较, 术后 10 d CA 组脊髓背角内 NDRG2 的蛋白含量和 mRNA 表达量均明显降低 ($P<0.05$), SS 组均明显升高 ($P<0.05$); 与 SS 组比较, SA 组脊髓背角内 NDRG2 的蛋白含量和 mRNA 表达量均明显降低 ($P<0.05$)。与 CS 组比较, 术后 10 d CA、SS、SA 组脊髓背角内 GFAP 蛋白含量均明显升高 ($P<0.05$)。**结论** NDRG2 蛋白含量升高参与了神经病理性痛的形成, 鞘内注射 AD-NdrG2-RNAi 明显抑制大鼠脊神经结扎造成的慢性病理性疼痛, 提示星形胶质细胞中的 NDRG2 参与慢性病理性疼痛的发生和发展。

【关键词】 NDRG2; 神经病理性痛; 大鼠; 脊神经结扎

Role of NDRG2 in the dorsal horn of the spinal cord in rats with spinal nerve ligation of neuropathic pain
CHENG Hao, TANG Jun, LIU Qingzhen, JI Qing. Department of Anesthesiology, Nanjing General Hospital of PLA, Nanjing 210002, China

Corresponding author: JI Qing, Email: jiqing1973@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of NDRG2 on neuropathic pain model rats with spinal cord ligation (SNL) in the dorsal horn of the spinal cord by using intrathecal NDRG2 adenovirus (AD-NdrG2-RNAi). **Methods** Forty-two male SD rats weighing 180-230 g were randomly divided into sham operation group ($n=6$) and SNL group ($n=36$). SNL group underwent lumbar spinal dorsal ligation. The sham operation group only exposed the spinal nerve without ligation. The mechanical withdraw threshold (MWT) and thermal withdraw latency (TWL) were measured at 1 d before operation and at 1, 3, 7, 10, 14 and 21 d after operation. After the behavioral testing, the rats in SNL group were sacrificed and the lumbar segment of the spinal cord was removed to test the protein and mRNA level of NDRG2. Another forty-eight male SD rats were randomly divided into 4 groups after intrathecal catheterization ($n=12$): group sham operation with saline (group CS); group sham operation with adenovirus (group CA); group SNL with saline (group SS); group SNL with adenovirus

DOI:10.12089/jca.2018.03.015

基金项目:国家自然科学基金(81600975);江苏省自然科学基金(BK20150555)

作者单位:210002 南京大学医学院附属金陵医院 解放军南京总医院麻醉科

通信作者:嵇晴, Email: jiqing1973@163.com

(group SA). The rats in groups CS and SS were treated with intrathecal injection of normal saline 10 μ l on the third day after operation, while groups CA and SA received the single injection titer of 2×10^9 PFU/ml of AD-NdrG2-RNAi on the same day. The rat plantar MWT and TWL were measured at 1 d before SNL and at 1, 3, 7 and 10 d after SNL. The rats were sacrificed after the last behavioral test. Lumbar enlargement of the spinal cord was removed to test the level of NDRG2 and GFAP protein. The expression of NDRG2 mRNA was detected by real-time fluorescence quantitative PCR.

Results Compared with sham group, the MWT and TWL was significantly decreased and reduced in SNL group 1, 3, 7, 10, 14, 21 d and 3, 7, 10, 14, 21 d after surgery respectively ($P < 0.01$). Compared with 1 d before surgery, protein content and mRNA expression of NDRG2 in the spinal dorsal horn of the SNL group were significantly decreased 1 d after surgery, and they were significantly increased on the 7, 10, 14, and 21 d after operation ($P < 0.01$). Compared with group CS, the MWT and TWL were significantly decreased and reduced in group SS and group SA 1, 3, 7 and 10 d after surgery ($P < 0.05$). MWT and TWL on 7 and 10 d were increased significantly in group SA ($P < 0.05$) compared with group SS. Compared with group CS, protein content and mRNA expression of NDRG2 in the spinal dorsal horn of group CA were significantly decreased, and increased significantly in group SS 10 d after surgery ($P < 0.05$). Compared with group SS, protein content and mRNA expression of NDRG2 in the spinal dorsal horn of group SA were significantly decreased. Compared with group CS, the protein content of GFAP in spinal dorsal horn of group CA, group SS and group SA were increased significantly 10 d after surgery ($P < 0.05$).

Conclusion Intrathecal injection of AD-NdrG2-RNAi significantly inhibits neuropathic pain caused by spinal cord ligation in rats, suggesting that NDRG2 in astrocytes is involved in the development and progression of neuropathic pain.

【Key words】 NDRG2; Neuropathic Pain; Rat; Spinal nerve ligation

神经病理性痛是由感觉神经原发性损害和功能障碍所激发或引起的疼痛,前期研究报道,脊髓背角内星形胶质细胞的激活在神经病理性痛维持阶段起到了关键作用^[1]。N-myc 下游调节基因 2 (N-myc downstream regulated gene 2, NDRG2) 是近年来新发现一种与细胞增殖与分化以及多种细胞应激反应相关的基因,其在细胞中的表达改变与某些神经系统疾病有必然的联系,并且具有肿瘤抑制的作用^[2]。在成熟的中枢神经系统中, NDRG2 主要表达在星形胶质细胞内,通过调节星形胶质细胞的形态和调节与星形胶质细胞反应性相关的细胞骨架蛋白-纤维状肌动蛋白,来促进星形胶质细胞激活^[3]。鉴于 NDRG2 与星形胶质细胞的反应相关性,以及星形胶质细胞在神经病理性痛中发挥的重要作用,对 NDRG2 在神经病理性痛中的调控、转导机制和发挥的作用的研究,对于促进该领域的基础研究和临床诊疗均有重要意义。目前为止,关于 NDRG2 与神经病理性痛的关系尚未见研究,本实验通过观察 L₅ 脊神经结扎 (spinal nerve ligation, SNL) 大鼠脊髓背角内 NDRG2 蛋白含量变化,以及使用 NDRG2 干扰腺病毒 (AD-NdrG2-RNAi) 观察对 SNL 大鼠术后行为学变化的影响,探讨 NDRG2 在神经病理性痛中发挥的作用与机制。

材料与方法

实验动物与分组 清洁级雄性 2 月龄 SD 大鼠,由本院比较医学科提供 (2016DWLS-0302),体

重 180~230 g。实验分为两部分,第一部分,将 42 只大鼠随机均分为两组:假手术组 (sham 组, $n = 6$) 和 SNL 组 ($n = 36$),两组均不鞘内置管。第二部分,采用随机数字表法,另取 48 只大鼠随机分为四组 ($n = 12$): sham+生理盐水组 (CS 组)、sham+AD-NdrG2-RNAi 组 (CA 组)、SNL+生理盐水组 (SS 组) 和 SNL+AD-NdrG2-RNAi 组 (SA 组),四组均鞘内置管给药。

动物模型制备 采用 Kim 等^[4]方法制备 SNL 模型,自大鼠背部 L₅ 棘突水平纵行切开皮肤,钝性分离皮下筋膜和椎旁肌肉,暴露右侧 L₅ 横突,咬除 L₅ 横突后,暴露 L₅ 脊神经, sham 组仅暴露 L₅ 脊神经不结扎, SNL 组用 5-0 丝线结扎。生理盐水冲洗后,无菌纱布止血,之后逐层缝合伤口。术后大鼠单笼饲养,维持室温在 25℃,自然节律,自由饮水摄食。剔除手术后肢体瘫痪的动物。

鞘内置管与给药 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 400 mg/kg 麻醉后,参照 Milligan 等^[4]方法,常规消毒后在大鼠 L_{5~6} 间隙纵行切开,依次分离筋膜和肌肉,暴露 L₅ 椎板,咬骨钳咬除棘突后用 5 号针尖刺破脊间膜。用镊子将一段长度为 15 cm 的 PE-10 导管经 L_{4~5} 间隙向头侧置入 2 cm,置入过程中出现鼠尾侧向甩动视为穿刺成功。导管外端经皮下隧道至颈部引出皮肤后固定,热熔封口。伤口冲洗后逐层缝合伤口。术后大鼠单笼饲养防止导管脱落,维持室温在 25℃,自然节律,自由饮水摄食。置管成功 5 d 后,剔除运动功能异常的大鼠。

经导管注入 2%利多卡因 20 μ l, 如注射后 30 s 内大鼠出现双后肢麻痹现象说明鞘内置管成功。置管成功的大鼠纳入第二部分实验, 其中: CS 组仅暴露神经不结扎, 术后 3 d 鞘内单次注射 10 μ l 的生理盐水; CA 组仅暴露神经不结扎, 术后 3 d 鞘内单次注射 10 μ l 滴度为 2×10^9 PFU/ml 的 AD-Ndrg2-RNAi; SS 组结扎 L₅ 脊神经, 术后 3 d 鞘内单次注射 10 μ l 的生理盐水; SA 组结扎 L₅ 脊神经, 术后 3 d 鞘内单次注射 10 μ l 滴度为 2×10^9 PFU/ml 的 AD-Ndrg2-RNAi。

行为学测定 分别使用 von Frey 丝和热辐射法测定大鼠的机械缩足阈值 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 和热缩足潜伏期 (thermal withdrawal latency, TWL)。所有大鼠均在术前 1 d 测定基础 MWT 和 TWL, 第一部分实验大鼠在术后 1、3、7、10、14、21 d, 测定 MWT 和 TWL, 第二部分实验大鼠在术后 1、3、7、10 d 测定 MWT 和 TWL。使用 von Frey 纤维丝推算 50% 缩足阈: 将一透明有机玻璃箱 (22 cm $\times$ 12 cm $\times$ 22 cm) 置于离桌面 40 cm 的金属筛网上, 将大鼠放在有机玻璃箱中安静适应 15 min, 用 von Frey 纤维丝垂直刺激大鼠右侧后肢足底中部, 持续 6~8 s, 大鼠出现抬足或舔足行为视为阳性反应, 否则为阴性反应。首先从 2 g 纤维丝刺激开始, 当该力度的刺激不能引起阳性反应, 则给予相邻大一级力度的刺激, 如出现阳性反应则给予相邻小一级力度的刺激, 如此连续进行, 直至出现第一次阳性反应后, 再连续测定 4 次。最大刺激克数为 15 g, >15 g 时也记为 15 g, 每次刺激间隔 30 s。将有机玻璃箱置于 3 mm 厚的玻璃板上, 使用辐射热测痛仪照射大鼠右侧后肢足底。测试前使大鼠在有机玻璃箱中安静适应 15 min。以 5 mm 光斑照射大鼠右侧第一足趾下着力点开始计时, 至大鼠出现抬腿回避时为一次有效数据。自动切断时间为 20 s, 以防止灼伤。热刺激强度在实验过程中保持一致。每只动物测定 6 次, 每次间隔 5 min, 去掉大小极值, 取 4 次测量的平均值作为 TWL。

Western blot 检测 大鼠行为学测试后行腹腔注射 10% 水合氯醛 400 mg/kg 深麻醉, 断头处死迅速取腰膨大段脊髓, 磷酸缓冲液清洗后加入裂解缓冲液匀浆裂解组织。4℃ 离心后, 取上清液, 分装冷冻保存。上样后加入蛋白上样缓冲液, 沸水浴 10 min 使蛋白变性。配置 SDS-PAGE 凝胶, 上样后进行电泳, 转膜, 5% 脱脂牛奶 (含 0.05% tween-

20 的 TBST 配) 封闭 1 h。加一抗 4℃ 孵育过夜。TBST 洗膜, 加入二抗, 室温下孵育 30 min 后, 在脱色摇床上洗膜 3 次, 每次 5 min。加入 ECL 发光剂室温孵育 5 min, 最后曝光、显影和定影, 使用 Image J 软件检测 NDRG2 和胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 的含量。选用一抗和二抗试剂如下: NDRG2 (#5667)、GFAP (#3670)、GAPDH (GB11002) 和 HRP 二抗 (GB23303、GB23301)。

实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测 取冻存于 -80℃ 冰箱的脊髓样本 100 mg, 加入 1 ml Trizol Reagent, 利用逆转录试剂盒进行逆转录合成 cDNA。以 GAPDH 作为内参进行 RT-PCR 反应。引导扩增的目的蛋白含量 NDRG2 上游引物序列: 5'-AACTTTGAGCGAGGTGGTGAGA-3', 下游引物: 5'-ATTCCACCACGGCATCTTCA-3'。以 GAPDH 蛋白含量为内参, 上游引物: 5'-GGAGC-GAGATCCCTCCAAAAT-3', 下游引物: 5'-GGC-TGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。qPCR 反应条件如下: 95℃ 预变性 10 min, 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 60 s, 72℃ 延伸 30 s, 共 40 个循环。实验数据使用 NDRG2 和 GAPDH 的 RNA 循环阈值 (Ct) 之差 (Δ Ct) 计算得到相关基因的表达量。计算对比的样本间基因表达量的差异 ($\Delta\Delta$ Ct), 表达差异的倍数 RQ 值为 $2^{-\Delta\Delta Ct}$, 以对照组的 RQ 值为 1, 各组是相对于 1 的变化倍数。

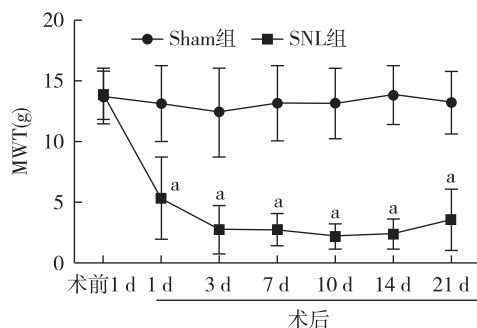
观察指标 第一部分实验两组大鼠均测定术前 1 d 和术后 1、3、7、10、14、21 d 的术侧足底 MWT 和 TWL, 在每个相应时点行为学测试结束后处死 SNL 组大鼠, 取脊髓腰膨大检测 NDRG2 的蛋白含量和 mRNA 表达量, 观察 NDRG2 蛋白含量和 mRNA 表达量随 SNL 时程表达的改变。第二部分实验四组大鼠均测定术前 1 d 和术后 1、3、7、10 d 的术侧足底 MWT 和 TWL, 在术后 10 d 行为学测试结束后统一处死大鼠, 取脊髓腰膨大检测 NDRG2 和 GFAP 的蛋白含量和 NDRG2 的 mRNA 表达量。

统计分析 采用 SPSS 18.0 软件进行统计分析。正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间比较采用两独立样本 *t* 检验或重复测量数据方差分析, 两两比较采用 Tukey 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

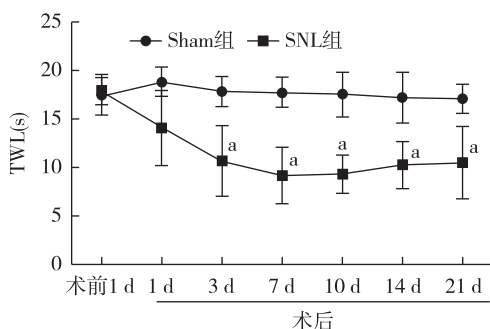
与 sham 组比较, SNL 组术后 1、3、7、10、14、21 d

MWT 明显降低 ($P < 0.01$), 术后 3、7、10、14、21 d TWL 明显缩短 ($P < 0.01$); 与术前 1 d 比较, SNL 术后 1 d 大鼠脊髓背角内 NDRG2 蛋白含量明显降低 ($P < 0.05$), 术后 7、10、14、21 d 明显升高, 且术后 10 d 明显高于术后 7 d ($P < 0.05$) (图 1~3)。



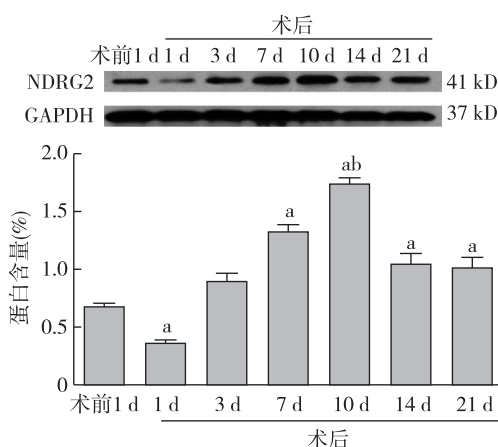
注: 与 Sham 组比较, ^a $P < 0.01$

图 1 Sham 组和 SNL 组大鼠不同时点 MWT 的比较



注: 与 Sham 组比较, ^a $P < 0.01$

图 2 Sham 组和 SNL 组大鼠不同时点 TWL 的比较

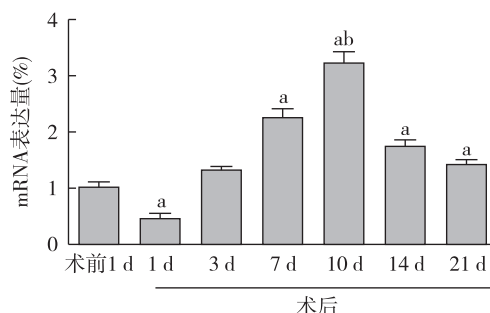


注: 与术前 1 d 比较, ^a $P < 0.05$; 与术后 7 d 比较, ^b $P < 0.05$

图 3 SNL 组大鼠不同时点脊髓背角 NDRG2 蛋白含量的比较

与术前 1 d 比较, SNL 术后 1 d 大鼠脊髓背角内 NDRG2 的 mRNA 表达量明显降低 ($P < 0.05$),

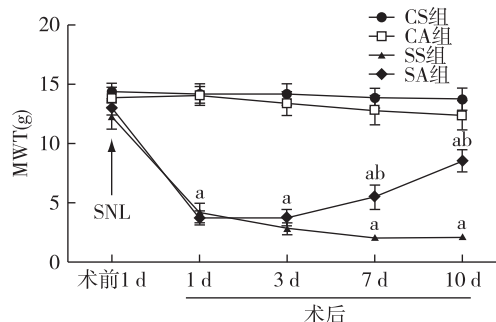
术后 7、10、14、21 d 明显升高, 且术后 10 d 明显高于术后 7 d ($P < 0.05$) (图 4)。



注: 与术前 1 d 比较, ^a $P < 0.05$; 与术后 7 d 比较, ^b $P < 0.05$

图 4 SNL 组大鼠不同时点脊髓背角 NDRG2 的 mRNA 表达量的比较

四组大鼠术前基础 MWT 差异无统计学意义。与 CS 组比较, CA 组术后不同时点 MWT 差异无统计学意义, SS 组和 SA 组术后 1、3、7、10 d MWT 明显降低 ($P < 0.05$); 与 SS 组比较, SA 组术后 7、10 d MWT 明显升高 ($P < 0.05$) (图 5)。



注: 与 CS 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 SS 组比较, ^b $P < 0.05$

< 0.05

图 5 四组大鼠不同时点 MWT 的比较

四组大鼠术前基础 TWL 差异无统计学意义。与 CS 组比较, CA 组术后各时点 MWT 差异无统计学意义, SS 组和 SA 组术后 1、3、7、10 d TWL 明显缩短 ($P < 0.05$); 与 SS 组比较, SA 组术后 7、10 d TWL 明显延长 ($P < 0.05$) (图 6)。

与 CS 组比较, 术后 10 d CA 组脊髓腰膨大的 NDRG2 蛋白含量明显降低 ($P < 0.05$), SS 组脊髓腰膨大的 NDRG2 蛋白含量明显升高 ($P < 0.05$); 与 SS 组比较, SA 组脊髓腰膨大的 NDRG2 蛋白含量明显降低 ($P < 0.05$) (图 7)。

与 CS 组比较, 术后 10 d CA 组脊髓腰膨大的 NDRG2 的 mRNA 表达量明显降低 ($P < 0.05$), SS 组脊髓腰膨大的 NDRG2 的 mRNA 表达量明显升高 ($P < 0.05$) (图 8)。

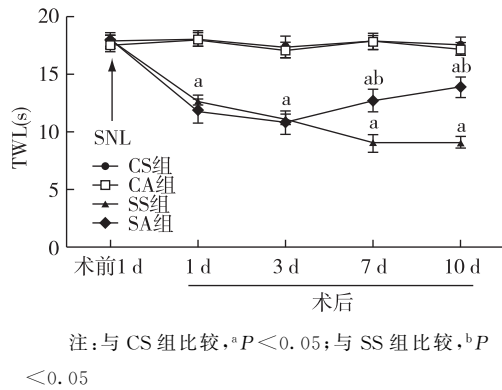


图6 四组大鼠不同时点 TWL 的比较

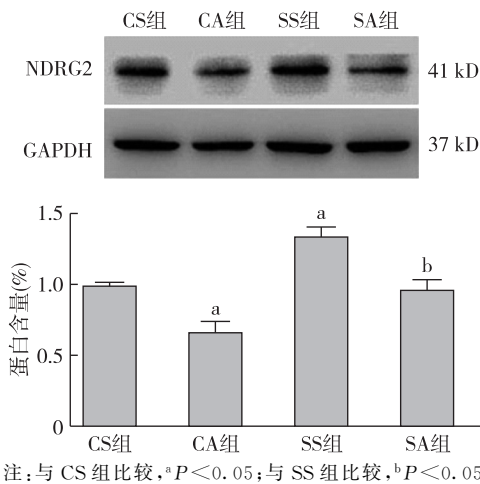


图7 四组大鼠术后 10 d 脊髓腰膨大内 NDRG2 蛋白含量的比较

$P < 0.05$);与SS组比较,SA组脊髓腰膨大的 NDRG2 的 mRNA 表达量明显降低($P < 0.05$)(图 8)。

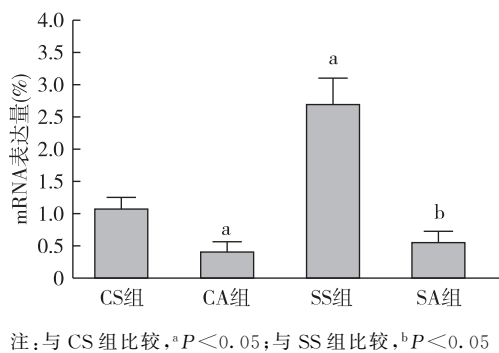


图8 四组大鼠术后 10 d 脊髓腰膨大内 NDRG2 的 mRNA 表达量的比较

与CS组比较,术后 10 d CA、SS、SA 组脊髓腰膨大的 GFAP 蛋白含量均明显升高($P < 0.05$),CA、SS、SA 三组 GFAP 蛋白含量差异无统计学意义(图 9)。

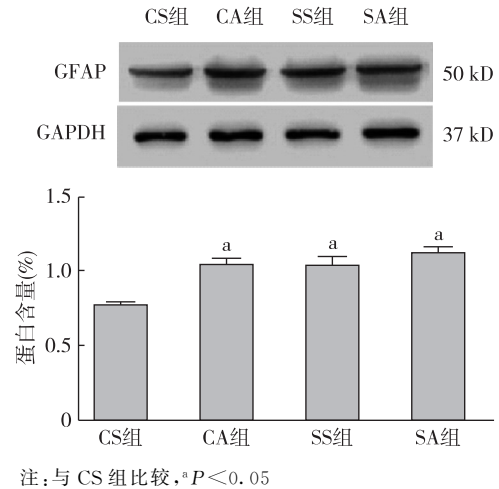


图9 四组大鼠术后 10 d 脊髓腰膨大内 GFAP 蛋白含量的比较

讨 论

本实验结果显示,SNL 大鼠术侧后肢 MWT 术后 1 d 明显降低,在 10 d 左右降低最为明显,之后缓慢上升;TWL 术后 1 d 明显缩短,在 10 d 左右缩短最为明显,之后缓慢延长,显示神经病理性痛模型建立成功。术后 1 d 大鼠脊髓背角 NDRG2 蛋白含量和 mRNA 表达量明显降低,3 d 开始升高,到 10 d 时达到高峰,其时程表达改变与术后 MWT 和 TWL 同步。NDRG2 几乎全部表达在星形胶质细胞样胶质细胞中,与星形胶质细胞的激活密切相关^[3]。有研究显示 SNL 术后脊髓背角的星形胶质细胞中的 GFAP 时程表达改变,本研究结果与其相近^[5],因此,本研究选择观察术后 10 d 脊髓背角内的 NDRG2 与 GFAP 表达。Sham 组大鼠鞘内注射 AD-NdrG2-RNAi 后,脊髓背角内 NDRG2 的蛋白含量表达较注射前明显降低,显示鞘内注射 AD-NdrG2-RNAi 成功干扰脊髓中 NDRG2 的表达。但脊髓背角内 GFAP 的蛋白含量明显升高,提示可能是由于 NDRG2 对 GFAP 的抑制作用减弱,导致 GFAP 表达升高。而大鼠 MWT 和 TWL 并无明显改变,显示在没有神经损伤的情况下,单纯引起星形胶质细胞激活也并不会引发神经病理性痛。

SNL 术后大鼠痛阈明显降低,脊髓背角内 GFAP 和 NDRG2 蛋白含量均明显升高,提示在外周神经损伤的应激状态下星形胶质细胞过度激活,同时伴随 NDRG2 含量升高。鞘内注射 AD-NdrG2-RNAi 后,GFAP 含量变化差异无统计学意义,NDRG2 蛋白含量明显降低,MWT 明显升高,TWL 明显延长,提示干扰

脊髓背角内 NDRG2 的表达,对神经病理性痛的镇痛作用强于对基础痛阈的影响,显示 NDRG2 含量升高可能参与了神经病理性痛的发生和维持。

神经病理性痛是由神经系统原发性损害和功能障碍所激发或引起的疼痛,属于慢性疼痛的一种,可表现为自发性疼痛、痛觉过敏、异常疼痛和感觉异常等临床特征。目前对神经病理性痛的疼痛机制的了解仍不明确,但已有研究显示,小胶质细胞参与疼痛的发生阶段,而星形胶质细胞在神经病理性痛的维持阶段中发挥了更为重要的作用。

NDRG2 基因是近年来新发现的一个基因家族—NDRG 家族中的成员之一,在哺乳动物的中枢神经系统(central nervous system, CNS)中广泛且特异性的表达。成熟的中枢神经系统中, NDRG2 主要表达在星形胶质细胞内,在小胶质细胞与神经元中几乎无表达。Araya-Callis 等^[6]通过免疫荧光实验进一步证实, NDRG2 主要在星形胶质细胞的细胞质中与 GFAP 共标。GFAP 是星形胶质细胞的中间丝状蛋白,也是星形胶质细胞活化的生物标志物,参与其细胞骨架的构成。这种表达特性揭示 NDRG2 可能与星形胶质细胞的激活相关联,即 NDRG2 可能通过参与调控星形胶质细胞生理学功能,在细胞应激的过程中发挥一定的作用。有研究显示,大脑皮质损伤处的反应性星形胶质细胞中 NDRG2 表达明显降低,显示在激活的星形胶质细胞中 NDRG2 表达是降低的,星形胶质细胞在损伤处形成的胶质瘢痕内包含很少的 NDRG2,也显示了这个蛋白含量在相关的星形胶质细胞中表达降低^[7]。

星形胶质细胞中 NDRG2 含量改变在许多 CNS 疾病的研究中被发现。在帕金森病(parkinson disease, PD)的小鼠模型中,星形胶质细胞的活化可以起到一定的神经保护作用,但过度活化则会造成神经毒性作用,而 NDRG2 可以抑制星形胶质细胞的增殖,因此 PD 患者大脑黑质中 NDRG2 含量升高被认为可能与抑制星形胶质细胞的超活化从而抑制其神经毒性有关^[8]。此外, NDRG2 含量改变还出现在其他 CNS 疾病中包括胶质瘤^[9]和缺血性脑卒中^[10]等。这些发现显示 NDRG2 是一个应激反应基因,与星形胶质细胞的激活和随之而来的炎症反应相关, NDRG2 介导细胞应激反应可能是一种内源性的神经保护机制。目前,对 NDRG2 在神经病理性痛中的相关作用机制暂无研究,结合本实验研究结果,可以推测神经病理性痛模型大鼠的脊髓背角中星形胶质细胞过度激活,脊髓背角内

GFAP 含量明显升高, NDRG2 为了抑制 GFAP 的过度激活而出现“保护性上调”。但本实验尚存在一些缺陷,如只使用了鞘内注射腺病毒干扰 NDRG2 的表达,未使用 NDRG2 基因敲除鼠模型;未在其他神经病理性痛模型如坐骨神经分支选择性损伤(SNI)、坐骨神经慢性压迫损伤(CCI)模型中观察干扰 NDRG2 表达对神经病理性痛的影响,将在以后的实验研究中加以改进。

综上所述,大鼠鞘内注射 AD-NdrG2-RNAi 抑制脊髓背角内 NDRG2 的表达,神经病理性痛大鼠的 MWT 和 TWL 明显上调,疼痛得到缓解,提示 NDRG2 与神经病理性痛具有某种关联,可能是通过调节星形胶质细胞的激活来调控疼痛,但其调控的具体机制仍待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Gao YJ, Ji RR. Chemokines, neuronal-glial interactions, and central processing of neuropathic pain. *Pharmacol Ther*, 2010, 126(1): 56-68.
- [2] Yao L, Zhang J, Liu X. NDRG2: a myc-repressed gene involved in cancer and cell stress. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2008, 40(7): 625-635.
- [3] Zuo ZF, Liao YH, Ding T, et al. Astrocytic NDRG2 is involved in glucocorticoid-mediated diabetic mechanical allodynia. *Diabetes Res Clin Pract*, 2015, 108(1): 128-136.
- [4] Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 1992, 50(3): 355-363.
- [5] Wang W, Wang W, Wang Y, et al. Temporal changes of astrocyte activation and glutamate transporter-1 expression in the spinal cord after spinal nerve ligation-induced neuropathic pain. *Anat Rec (Hoboken)*, 2008, 291(5): 513-518.
- [6] Araya-Callis C, Hiemke C, Abumaria N, et al. Chronic psychosocial stress and citalopram modulate the expression of the glial proteins GFAP and NDRG2 in the hippocampus. *Psychopharmacology (Berl)*, 2012, 224(1): 209-222.
- [7] Flügge G, Araya-Callis C, Garea-Rodriguez E, et al. NDRG2 as a marker protein for brain astrocytes. *Cell Tissue Res*, 2014, 357(1): 31-41.
- [8] Takeichi T, Takarada-Iemata M, Hashida K, et al. The effect of NdrG2 expression on astroglial activation. *Neurochem Int*, 2011, 59(1): 21-27.
- [9] Deng Y, Yao L, Chau L, et al. N-Myc downstream-regulated gene 2 (NDRG2) inhibits glioblastoma cell proliferation. *Int J Cancer*, 2003, 106(3): 342-347.
- [10] Li Y, Shen L, Cai L, et al. Spatial-temporal expression of NDRG2 in rat brain after focal cerebral ischemia and reperfusion. *Brain Res*, 2011, 1382: 252-258.

(收稿日期:2017-06-06)