

## · 实验研究 ·

## 背根神经节 Sigma-1 受体在大鼠神经病理性痛中的作用

余璇 李雪 刘双双 李清梅 袁杰 秦榜勇

**【摘要】 目的** 探讨神经病理性痛大鼠背根神经节 (DRG) 中 Sigma-1 受体的作用以及 Sigma-1 受体对 P2X<sub>3</sub> 受体表达和功能的影响。**方法** 选择健康 SPF 级 SD 雄性大鼠 48 只, 7 周龄, 体重 180~200 g。按照随机数字表法分为三组: 假手术组 (Sham 组)、神经病理性痛组 (CCI 组) 和 Sigma-1 受体拮抗剂 BD-1047 组 (BD 组), 每组 16 只。鞘内置管后 1 d, Sham 组只游离右侧坐骨神经主干不结扎, CCI 组、BD 组制备神经病理性痛大鼠模型。模型制备后第 1 天起, 每日上午 08:00 Sham 组和 CCI 组鞘内注射生理盐水 30  $\mu$ l, BD 组鞘内注射 120 nmol BD-1047 20  $\mu$ l+生理盐水 10  $\mu$ l, 连续 14 d。于模型制备前 1 d、模型制备后 1、3、7、10、14 d 鞘内给药后 30 min 测定热缩足潜伏期 (TWL) 和机械缩足反应阈值 (MWT)。于模型制备后 7 d 采用 Western blot 法检测 Sigma-1 受体和 P2RX<sub>3</sub> 受体蛋白含量。CCI 组于模型制备后 7、14 d 采用免疫荧光双标技术和免疫共沉淀技术检测 Sigma-1 受体、P2X<sub>3</sub> 受体共表达和共沉淀情况。**结果** 与 Sham 组比较, CCI 组模型制备后 1、3、7、10、14 d TWL 明显缩短, MWT 明显降低, 模型制备后 7 d DRG 组织 Sigma-1 受体和 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量明显升高 ( $P<0.05$ )。与 CCI 组比较, BD 组模型制备后 1、3、7、10、14 d TWL 明显延长, MWT 明显升高, 模型制备后 7 d DRG 组织 Sigma-1 受体和 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量明显降低 ( $P<0.05$ )。模型制备后 7、14 d CCI 组中 DRG 组织 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体共表达、共沉淀。**结论** Sigma-1 受体和 P2X<sub>3</sub> 受体在 DRG 中共表达, 且存在共沉淀现象, 抑制 Sigma-1 受体可以降低 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量, 缓解大鼠神经病理性痛。

**【关键词】** 神经病理性痛; 背根神经节; Sigma-1 受体; P2X<sub>3</sub> 受体

**Role of Sigma-1 receptor in dorsal root ganglia of neuropathic pain rats** YU Xuan, LI Xue, LIU Shuangshuang, LI Qingmei, YUAN Jie, QIN Bangyong. Department of Pain Medicine, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China  
Corresponding author: QIN Bangyong, Email: qbyzy@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of Sigma-1 receptor activation in the dorsal root ganglia (DRG) of rats with neuropathic pain on the expression and function of P2X<sub>3</sub> receptor. **Methods** Forty-eight healthy male SPF grade SD rats, aged 7 weeks, weighing 180–200 g, were randomly divided into three groups by using random number table method: sham operation group (group Sham), neuropathic pain group (group CCI), and Sigma-1 receptor antagonist BD-1047 group (group BD), 16 rats in each group. One day after the insertion of the sheath tube, group Sham only dissociated the right sciatic nerve trunk without ligation, while groups CCI and BD established neuropathic pain rat models. Starting from the first day after model established, normal saline 30  $\mu$ l were intrathecal injected at 08:00 in groups Sham and CCI, while 120 nmol BD-1047 20  $\mu$ l and normal saline 10  $\mu$ l were intrathecal injected in group BD 14 days continuously. Thermal contraction latency (TWL) and mechanical contraction response threshold (MWT) were measured 1 day before model established and 30 minutes after intrathecal administration on 1 day, 3, 7, 10, and 14 days after model established. Western blot was used to detect the protein content of Sigma-1 receptor and P2RX<sub>3</sub> receptor on 7 days after model established. Co-expression and co-precipitation of Sigma-1 receptor and P2X<sub>3</sub> receptor were tested using immunofluorescence double labeling and immunoprecipitation techniques 7 and 14 days after model established in group CCI. **Results** Compared with group Sham, TWL and MWT were significantly decreased on 1 day, 3, 7, 10, and 14 days after model established, while the protein content of Sigma-1 receptor and P2X<sub>3</sub> receptor in DRG was significantly increased on 7 days after model established in group CCI ( $P < 0.05$ ). Compared with group CCI, TWL and MWT were significantly

DOI: 10.12089/jca.2024.03.012

基金项目: 遵义市科学技术局基金引导项目[遵市科合 HZ[2019]74 号]; 贵州省卫生健康委科学技术基金项目(gzwmkj2021-271); 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]一般 637)

作者单位: 563000 遵义医科大学附属医院疼痛科[余璇(现在遵义医科大学第二附属医院麻醉科)、刘双双、袁杰、秦榜勇], 麻醉科(李清梅); 遵义医科大学附属口腔医院麻醉科(李雪)

通信作者: 秦榜勇, Email: qbyzy@163.com

increased on 1 day, 3, 7, 10, and 14 days after model established, and the protein content of Sigma-1 receptor and P2X<sub>3</sub> receptor in DRG was significantly decreased 7 days after model established in group BD ( $P < 0.05$ ). Sigma-1 receptor and P2X<sub>3</sub> receptor in DRG were co-expressed and co-precipitated in group CCI 7 and 14 days after model established. **Conclusion** Sigma-1 receptor and P2X<sub>3</sub> receptor were co-expressed in DRG, and there was co-precipitation. Inhibition of Sigma-1 receptor could decrease P2X<sub>3</sub> receptor protein content and alleviate neuropathic pain in rats.

**【Key words】** Neuropathic pain; Dorsal root ganglion; Sigma-1 receptor; P2X<sub>3</sub> receptor

躯体感觉神经系统损伤或疾病引起的神经病理性痛是一种常见的慢性痛,其机制复杂,并影响生活质量<sup>[1]</sup>。因此,深入研究神经病理性痛的机制具有重要意义。背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)是感觉冲动从外周传到中枢的第一站,可传输、调节伤害性感觉<sup>[2]</sup>。Sigma-1 受体是一种具有分子伴侣活性的受体蛋白,与 DRG 中的伤害性离子通道或受体相互结合并起调节作用,参与疼痛的发生发展<sup>[3]</sup>。P2X<sub>3</sub> 受体高度选择性表达于 DRG 中,伤害性刺激可引起受损细胞释放 ATP,激活感觉神经元上的 P2X<sub>3</sub> 受体,导致感觉神经元兴奋性增高,进而参与伤害性信息传递和痛觉敏化<sup>[4]</sup>。本研究通过建立大鼠坐骨神经慢性缩窄性损伤(chronic constrictive injury, CCI)模型,探讨 Sigma-1 受体在神经病理性痛中的作用以及 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体之间的关系,进一步了解神经病理性痛的可能机制。

## 材料与方法

**实验动物** 选择健康 SPF 级 SD 雄性大鼠 48 只,7 周龄,体重 180~200 g,实验动物许可证号:SCXK(湘)2014-0011。每只大鼠分笼饲养,环境温度 22~26 ℃,12 h/12 h 昼夜交替,分笼饲养,自由饮食水,待大鼠完全适应环境 1 周后进行实验。

**鞘内置管** 参照文献<sup>[5]</sup>的操作方法进行鞘内置管,予 1%戊巴比妥 40 mg/kg 腹腔麻醉后备皮消毒。沿 L<sub>5-6</sub> 间隙作长约 2 cm 皮肤切口,钝性分离筋膜、棘突间韧带及肌肉,使棘突间隙充分暴露,插入 PE-10 导管 2 cm,脑脊液溢出后封闭导管。鞘内置管后第 1 天,观察大鼠运动情况,若出现运动功能障碍的大鼠予以剔除;无运动功能障碍的大鼠,鞘内注射 2%利多卡因 10 μl,并予以生理盐水 10 μl 冲管,大鼠在 30 s 内出现双下肢瘫软,并 30 min 内恢复,提示鞘内置管成功。分笼饲养,术后 3 d 内每天常规腹腔注射青霉素 200 000 U 预防感染。

**神经病理性痛大鼠模型制备** 鞘内置管后 1 d 制备神经病理性痛大鼠模型<sup>[6]</sup>,予 1%戊巴比妥 40

mg/kg 腹腔麻醉后,术区备皮消毒,顺着股骨方向钝性分离筋膜及肌肉,坐骨神经主干充分暴露,用 4-0 丝线松扎四处,间距为 1 mm,结扎的松紧程度以引起小腿肌肉轻微颤动为宜。术后结扎大鼠均出现术侧下肢有跛行、悬空、并拢背屈等神经病理性痛的表现,提示模型全部制备成功。

**实验分组与处理** 采用随机数字表法将大鼠分为三组:假手术组(Sham 组)、神经病理性痛组(CCI 组)和 Sigma-1 拮抗剂 BD-1047 组(BD 组),每组 16 只。鞘内置管后 1 d,Sham 组只游离右侧坐骨神经主干不结扎,CCI 组、BD 组制备神经病理性痛大鼠模型。模型制备后第 1 天起,每日上午 08:00 Sham 组和 CCI 组鞘内注射生理盐水 30 μl,BD 组鞘内注射 120 nmol BD-1047 20 μl<sup>[7]</sup>+生理盐水 10 μl,连续 14 d。

**热缩足潜伏期和机械缩足反应阈值测定** 于模型制备前 1 d、模型制备后 1、3、7、10、14 d 鞘内给药后 30 min 测定热缩足潜伏期(thermal withdrawal latency, TWL)和机械缩足反应阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT)。将每组 16 只大鼠单独放入底部透明的玻璃箱内,使用足底热刺激仪将光辐射焦点对准术侧后肢掌中央,记录从照射开始至术侧抬足时间,最大时限为 30 s,测量 5 次,每次间隔 5 min,取 5 次平均值,记录为 TWL。将大鼠单独放置于底部带孔的透明玻璃箱内,探头对准术侧后肢足掌中央,垂直向上均匀施加压力。后肢抬起即为完成 1 次测定,测量 5 次,每次间隔 5 min,取 5 次平均值,记录为 MWT。

**Western blot 法** 每组于模型制备后 7 d 取 8 只大鼠,处死后取术侧 L<sub>4-6</sub> DRG 组织匀浆、摇床、离心。BCA 法测定蛋白浓度后行 SDS-PAGE 凝胶电泳,转至 PVDF 膜。室温封闭 2 h,分别加入一抗:兔抗 Sigma-1 多克隆抗体(1:2 000,批号:D121774)、兔抗 P2RX<sub>3</sub> 多克隆抗体(1:2 000,批号:17843-1-AP)。摇匀,4 ℃ 孵育过夜,PBS 洗膜,加入二抗(1:5 000)。TBST 振摇,ECL 发光。曝光后洗膜,再次 TBST 振摇。洗膜结束后加入内参抗体:兔抗 β-actin 多克隆抗体(1:3 000 批号:D110001)。

TBST 振摇、ECL 发光, X 射线显影, 以  $\beta$ -actin 为内参。将胶片进行扫描和拍照, 采用 ImageJ 软件系统分析 Sigma-1 受体和 P2RX<sub>3</sub> 受体蛋白含量。

**免疫荧光双标技术** CCI 组于模型制备后 7、14 d 取 8 只大鼠, 处死后取术侧 L<sub>4-6</sub> DRG 组织采用 4% 多聚甲醛固定, 置入福尔马林液中固定, 转移至 15%、30% 蔗糖浓度梯度中脱水。用 OCT 包埋剂处理后, 冰冻切片, 厚度为 10  $\mu$ m, PBS 洗片, 用滤纸吸去多余液体后, 予 3% 正常牛血清 37  $^{\circ}$ C 封闭(牛血清溶于 PBS) 1 h, 阻断组织与抗体蛋白的非特异性结合, 加入一抗: 兔抗 Sigma-1 多克隆抗体(1: 200, 批号: ab53852)、猪抗 P2X<sub>3</sub> 多克隆抗体(1: 1 000 批号: ab10267), 置于湿盒中 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。向标本中滴加荧光二抗: 山羊抗兔 IgG H&L(1: 200, 批号: S0008)、山羊抗猪 IgG H&L(1: 200, 批号: ab150187), 37  $^{\circ}$ C 中置于湿盒中避光孵育 1 h。PBS 清洗二抗, 每次 3 min, 清洗 3 次, 用滤纸擦去标本外的 PBS, 用含有 DAPI 的封片剂封片。加盖玻片, 采用荧光显微镜( $\times 10$  倍)进行拍片并保存。

**免疫共沉淀** CCI 组于模型制备后 7、14 d 取 8 只大鼠, 处死后取术侧 DRG 向其加入 IP 裂解液, 匀浆、冰上裂解、离心、取上清。BCA 法测定蛋白浓度, 取少量上清液变性后用于 Input 实验, 即 Western blot 检测靶蛋白。向阴性对照(IgG)组别蛋白上清液中加入 IgG 和 protein A/G 珠子, 实验组加入 protein A/G 珠子 20  $\mu$ l, 摇转、孵育、离心、取上清。向样本中加入抗体 1~10  $\mu$ l, 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。然后再次向各组样本中加入 protein A/G 珠子 80  $\mu$ l, 4  $^{\circ}$ C 孵育、离心, 取上清, 收集免疫沉淀复合物。免疫沉淀复合物用预冷的 IP 裂解液 1 ml 洗涤、离心、弃去上清。最后加入 1 $\times$ 还原型上样缓冲液 80  $\mu$ l, 离心取上清。取上清样品 10  $\mu$ l 用于 Western blot 检测, 方

法同上。

**统计分析** 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 组间比较用单因素方差分析。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

TWL 和 MWT 与 Sham 组比较, CCI 组模型制备后 1、3、7、10、14 d TWL 明显缩短, MWT 明显降低( $P<0.05$ )。与 CCI 组比较, BD 组模型制备后 1、3、7、10、14 d TWL 明显延长, MWT 明显升高( $P<0.05$ )。Sham 组和 BD 组模型制备后 1、3、7、10、14 d TWL 和 MWT 差异均无统计学意义(表 1)。

DRG 组织 Sigma-1 受体和 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量与 Sham 组比较, CCI 组模型制备后 7 d DRG 组织 Sigma-1 受体和 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量明显升高( $P<0.05$ )。与 CCI 组比较, BD 组模型制备后 7 d DRG 组织 Sigma-1 受体和 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量明显降低( $P<0.05$ )。Sham 组和 BD 组模型制备后 7 d DRG 组织 Sigma-1 受体和 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量差异均无统计学意义(表 2)。

DRG 组织 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体共表达模型制备后 7、14 d CCI 组中 DRG 组织 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体共表达(图 1)。

DRG 组织 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体共沉淀模型制备后 7、14 d CCI 组中 DRG 组织 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体共沉淀(图 2)。

## 讨 论

CCI 模型是常用的神经病理性痛动物模型, 本实验研究结果显示, 假手术的大鼠行为学未有神经痛表现, 制备神经病理性痛模型的大鼠神经病理性

表 1 三组大鼠不同时点 TWL 和 MWT 的比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 指标         | 组别     | 只数 | 模型制备<br>前 1 d  | 模型制备<br>后 1 d               | 模型制备<br>后 3 d               | 模型制备<br>后 7 d               | 模型制备<br>后 10 d              | 模型制备<br>后 14 d              |
|------------|--------|----|----------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| TWL<br>(s) | Sham 组 | 16 | 24.2 $\pm$ 1.5 | 24.2 $\pm$ 1.4              | 24.3 $\pm$ 1.0              | 24.4 $\pm$ 1.8              | 24.7 $\pm$ 1.4              | 23.6 $\pm$ 1.8              |
|            | CCI 组  | 16 | 24.8 $\pm$ 1.5 | 13.4 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup> | 11.8 $\pm$ 1.1 <sup>a</sup> | 9.8 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>  | 9.4 $\pm$ 1.8 <sup>a</sup>  | 10.1 $\pm$ 1.6 <sup>a</sup> |
|            | BD 组   | 16 | 24.3 $\pm$ 1.4 | 19.0 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup> | 18.2 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup> | 16.8 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup> | 17.3 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup> | 17.4 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup> |
| MWT<br>(g) | Sham 组 | 16 | 37.9 $\pm$ 1.2 | 36.1 $\pm$ 1.0              | 36.2 $\pm$ 1.4              | 37.3 $\pm$ 1.3              | 36.8 $\pm$ 1.2              | 37.2 $\pm$ 1.3              |
|            | CCI 组  | 16 | 37.3 $\pm$ 1.3 | 20.1 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup> | 17.4 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup> | 13.1 $\pm$ 1.9 <sup>a</sup> | 11.8 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup> | 11.0 $\pm$ 2.0 <sup>a</sup> |
|            | BD 组   | 16 | 35.8 $\pm$ 1.9 | 24.4 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup> | 22.6 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup> | 21.9 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup> | 20.9 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup> | 21.6 $\pm$ 2.0 <sup>b</sup> |

注: 与 Sham 组比较, <sup>a</sup> $P<0.05$ ; 与 CCI 组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$ 。



表 2 三组大鼠模型制备后 7 d DRG 组织 Sigma-1 受体和 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 只数 | Sigma-1 受体             | P2X <sub>3</sub> 受体    |
|--------|----|------------------------|------------------------|
| Sham 组 | 8  | 0.13±0.03              | 0.47±0.02              |
| CCI 组  | 8  | 0.52±0.06 <sup>a</sup> | 0.88±0.06 <sup>a</sup> |
| BD 组   | 8  | 0.30±0.02 <sup>b</sup> | 0.70±0.06 <sup>b</sup> |

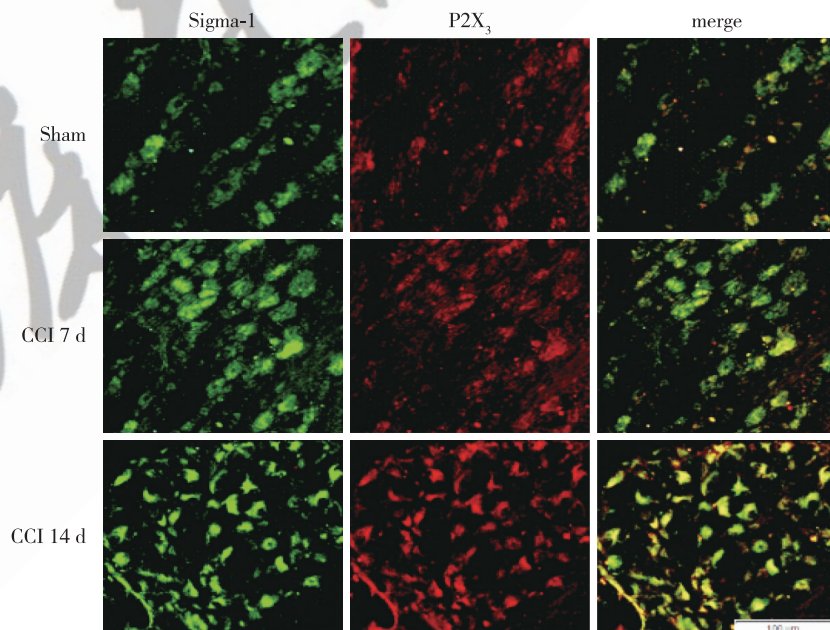
注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 CCI 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

痛行为学表现加重,提示模型制作成功。假手术的大鼠不同时点 TWL 和 MWT 无明显变化,与假手术的大鼠比较,制备神经病理性痛模型的大鼠模型制备后各时点 TWL 和 MWT 均明显降低。本课题组前期研究<sup>[8]</sup>表明,模型制备后 7 d 大鼠疼痛表现最为明显,且在术后 14 d 疼痛阈值达最大,而假手术的大鼠术后 7、14 d 疼痛阈值无明显差异,故本研究选择假手术的大鼠后 7、14 d 进行取材,完成相关指标的测定。

Sigma-1 受体作为一种伴侣蛋白,可调节各种受体和离子通道的表达和活性,在中枢及外周神经系统中涉及疼痛感知的部位表达,尤其在 DRG 组织中的感觉神经元中高度表达,而 DRG 组织与神经性痛的发生和维持密切相关<sup>[9]</sup>。BD-1047 是 Sigma-1 受体特异性拮抗剂,但若无疼痛刺激,正常的感觉阈值不会受到 Sigma-1 受体拮抗剂的影响,仅在伤害性感受系统启动后才会出现超敏反应<sup>[10]</sup>。病理条

件下,抑制 Sigma-1 受体的表达可减轻痛觉过敏,恢复痛阈值到较高水平,进而改善神经病理性疼痛<sup>[11]</sup>。本实验研究结果显示,制备神经病理性痛模型的大鼠神经痛行为学表现加重,术后疼痛阈值降低,DRG 组织 Sigma-1 受体蛋白含量升高,而鞘内注射 BD-1047 后,大鼠神经病理性痛行为学表现减轻,术后疼痛阈值升高,DRG 组织 Sigma-1 受体蛋白含量降低,提示 Sigma-1 受体参与了大鼠神经病理性痛的病理生理机制。P2X<sub>3</sub> 受体激活与神经痛的发生发展密切相关。P2X<sub>3</sub> 受体高选择性地表达于伤害性感受密切相关的中小型 DRG 神经元<sup>[4]</sup>。当机体受到伤害或神经损伤后,释放大量的 ATP,作用于感觉神经元上的 P2X<sub>3</sub> 受体使其发生去极化,激活 P2X<sub>3</sub> 受体从胞质转移到胞膜,使其膜表达增加,进而参与伤害性信息传递和痛觉敏化<sup>[12]</sup>。本实验研究结果显示,制备神经病理性痛模型的大鼠神经痛行为学表现加重,术后 TWL 缩短、MWT 降低,DRG 组织 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量升高,提示 P2X<sub>3</sub> 受体升高与大鼠神经病理性痛有关。Sigma-1 受体与 P2X 嘌呤受体共同参与了慢性神经病理性疼痛的发生与发展,在伤害性信息传递过程中,Sigma-1 受体可能通过调节 P2X 嘌呤受体,参与痛觉过敏反应<sup>[13]</sup>,但具体机制尚未阐明。

本实验研究 Western blot 结果提示,鞘内注射 BD-1047 后,可明显降低 DRG 组织 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量。同时应用免疫荧光染色技术,检测结果显



注:绿色荧光,Sigma-1 受体;红色荧光,P2X<sub>3</sub> 受体;黄色荧光,Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体共表达。

图 1 DRG 组织 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体共表达荧光图 (×10)

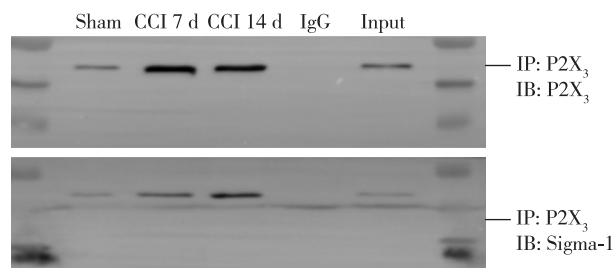


图 2 DRG 组织 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体共沉淀图

示, Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体在大鼠脊髓 L<sub>4-6</sub> 的 DRG 组织共表达, 表明 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体共同存在于 DRG 组织。本实验研究进一步利用免疫共沉淀技术, 结果显示 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体在大鼠脊髓 L<sub>4-6</sub> 的 DRG 组织共沉淀, 验证了 Sigma-1 受体与 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白间的相互作用。由此表明 Sigma-1 受体可能对 P2X<sub>3</sub> 受体具有调节作用。推测 Sigma-1 受体可能通过调节 P2X<sub>3</sub> 受体参与大鼠神经病理性痛。

此外, 由于 P2X<sub>3</sub> 的活性可以通过第二信使介导, 因此是否存在 Sigma-1 受体通过第二信使如 Ca<sup>2+</sup>、环磷酸腺苷、肌醇 1,4,5-三磷 (inositol 1,4,5-triphosphate, IP<sub>3</sub>) 间接调节 P2X<sub>3</sub> 的可能性有待进一步研究。Sigma-1 受体通过调节 IP<sub>3</sub> 受体直接向线粒体提供 Ca<sup>2+</sup>, 进一步激活三羧酸循环中涉及的酶, 从而增强 ATP 的产生。而 ATP 的释放可加强 P2X<sub>3</sub> 受体的激活, 从而放大伤害性信号<sup>[14]</sup>。Sigma-1 受体的激活可以刺激 PLC 产生二酰甘油与 IP<sub>3</sub><sup>[15]</sup>。其下游通道代表了痛觉调制的另一个环节——蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)。PKC 及其磷酸化形式已被证明参与了神经病理性痛的调节<sup>[16]</sup>。本课题组前期研究结果表明, CCI 模型中, 磷酸化的 PKC $\alpha$  与 P2X<sub>3</sub> 之间有着相互作用关系, 可以引起神经病理性痛<sup>[17]</sup>, 而是上述哪种机制或其他机制来参与 Sigma-1 受体调节 P2X<sub>3</sub> 受体的作用, 从而最终促进了外周致敏作用的发生发展, 需要进一步研究。

综上所述, Sigma-1 受体和 P2X<sub>3</sub> 受体在 DRG 中共表达, 且存在共沉淀现象, 抑制 Sigma-1 受体可以降低 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白含量, 缓解大鼠神经病理性痛。

## 参 考 文 献

- [1] Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment. *Physiol Rev*, 2021, 101(1): 259-301.
- [2] Liem L, van Dongen E, Huygen FJ, et al. The dorsal root gangli-

on as a therapeutic target for chronic pain. *Reg Anesth Pain Med*, 2016, 41(4): 511-519.

- [3] Chu UB, Ruoho AE. Biochemical pharmacology of the Sigma-1 receptor. *Mol Pharmacol*, 2016, 89(1): 142-153.
- [4] Dal Ben D, Marchenkova A, Thomas A, et al. 2',3'-O-Substituted ATP derivatives as potent antagonists of purinergic P2X<sub>3</sub> receptors and potential analgesic agents. *Purinergic Signal*, 2017, 13(1): 61-74.
- [5] Milligan ED, Hinde JL, Mehmert KK, et al. A method for increasing the viability of the external portion of lumbar catheters placed in the spinal subarachnoid space of rats. *J Neurosci Methods*, 1999, 90(1): 81-86.
- [6] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 1988, 33(1): 87-107.
- [7] Zhu S, Wang C, Han Y, et al. Sigma-1 receptor antagonist BD1047 reduces mechanical allodynia in a rat model of bone cancer pain through the inhibition of spinal NR1 phosphorylation and microglia activation. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 265056.
- [8] 李周睿, 曹欣娅, 秦榜勇, 等. 鞘内注射 PDTC 对神经病理性痛大鼠 TRPM8 受体表达的影响. *临床麻醉学杂志*, 2018, 34(11): 1102-1106.
- [9] Shin SM, Wang F, Qiu C, et al. Sigma-1 receptor activity in primary sensory neurons is a critical driver of neuropathic pain. *Gene Ther*, 2022, 29(1-2): 1-15.
- [10] Linciano P, Rossino G, Listro R, et al. Sigma-1 receptor antagonists: promising players in fighting neuropathic pain. *Pharm Pat Anal*, 2020, 9(3): 77-85.
- [11] Merlos M, Burgueño J, Portillo-Salido E, et al. Pharmacological modulation of the Sigma 1 receptor and the treatment of pain. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 964: 85-107.
- [12] Bele T, Fabbretti E. The scaffold protein calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase controls ATP release in sensory ganglia upon P2X<sub>3</sub> receptor activation and is part of an ATP keeper complex. *J Neurochem*, 2016, 138(4): 587-597.
- [13] Kwon SG, Roh DH, Yoon SY, et al. Role of peripheral Sigma-1 receptors in ischaemic pain: potential interactions with ASIC and P2X receptors. *Eur J Pain*, 2016, 20(4): 594-606.
- [14] Hayashi T. The Sigma-1 receptor in cellular stress signaling. *Front Neurosci*, 2019, 13: 733.
- [15] Tao J, Liu L, Fan Y, et al. Role of hesperidin in P2X<sub>3</sub> receptor-mediated neuropathic pain in the dorsal root ganglia. *Int J Neurosci*, 2019, 129(8): 784-793.
- [16] Morin-Surun MP, Collin T, Denavit-Saubié M, et al. Intracellular sigma1 receptor modulates phospholipase C and protein kinase C activities in the brainstem. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(14): 8196-8199.
- [17] Xie JD, Chen SR, Chen H, et al. Bortezomib induces neuropathic pain through protein kinase C-mediated activation of presynaptic NMDA receptors in the spinal cord. *Neuropharmacology*, 2017, 123: 477-487.

(收稿日期: 2023-05-08)