

研究论文

外周NF κ B参与强直刺激坐骨神经引起的神经病理性痛

王喆辰, 吕宁, 张玉秋*

复旦大学神经生物学研究所, 上海 200032

摘要: 强直电刺激大鼠坐骨神经(tetanic stimulation of the sciatic nerve, TSS)能够引起脊髓背角C纤维和A纤维介导的场电位的长时程增强(long-term potentiation, LTP)。以往对其机制的研究多集中在脊髓水平, 而对外周的变化了解甚少。核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF κ B)是一种重要的转录因子, 脊髓NF κ B的激活与多种促炎性细胞因子的合成与释放以及脊髓胶质细胞的激活密切相关, 提示其可能参与神经病理性痛的中枢敏化。为了明确在初级感觉神经元中NF κ B是否参与外周敏化, 本研究通过痛行为学测试、免疫荧光组织化学、免疫印迹等方法, 观察到TSS能够引起大鼠双侧后肢的持续性触诱发痛和双侧背根神经节(dorsal root ganglia, DRG)中磷酸化的NF κ B (激活形式的NF κ B)表达上调; 这些激活的NF κ B主要表达在神经元、施旺细胞和卫星胶质细胞的细胞核内; 给予选择性NF κ B抑制剂PDTC能够明显缓解TSS引起的触诱发痛。这些结果提示外周NF κ B也参与TSS诱导的神经病理性痛, 并首次为单侧坐骨神经损伤引起双侧“镜像痛”的外周机制提供了新的证据。

关键词: NF κ B; 强直刺激坐骨神经; 触诱发痛; 神经病理性痛; 镜像痛

中图分类号: Q426

Involvement of peripheral NF κ B in tetanic sciatic stimulation-induced neuropathic pain

WANG Zhe-Chen, LÜ Ning, ZHANG Yu-Qiu*

Institute of Neurobiology, Fudan University, Shanghai 200032, China

Abstract: Tetanic stimulation of the sciatic nerve (TSS) induces long-term potentiation (LTP) of both C- and A-fiber-evoked field potentials in the spinal dorsal horn and long-lasting mechanical allodynia in rats. Though central mechanisms underlying those phenomena have been well studied, peripheral mechanisms still remain poorly known. Nuclear factor κ B (NF κ B) is an important transcription factor. In the spinal cord, NF κ B plays a key role in regulating the expression of numerous pro-inflammation factors and contributes to glial activation in central nervous system, suggesting the involvement of spinal NF κ B in central sensitization. To address whether NF κ B in the dorsal root ganglion (DRG) participates in peripheral sensitization, we examined NF κ B expression in the DRG and the effect of inhibiting NF κ B activation on neuropathic pain using behavior test, Western blot analysis and immunohistochemical approaches. The results showed that TSS induced long-lasting mechanical allodynia in bilateral hind paws and increased phospho-NF κ B expression in the bilateral DRG. The activated NF κ B mainly expressed in nuclei not only of neurons, but also of Schwann cells and satellite glial cells. Moreover, NF κ B inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) significantly alleviated TSS-induced allodynia. Our results suggest that peripheral NF κ B may be involved in TSS-induced neuropathic pain, and provide new evidence for the peripheral mechanism of ‘mirror pain’.

Key words: NF κ B; tetanic stimulation of the sciatic nerve (TSS); allodynia; neuropathic pain; mirror pain

Received 2013-08-30 Accepted 2013-09-10

This work was supported by the National Basic Research Development Program of China (No. 2013CB531900) and the National Natural Science Foundation of China (No. 31121061 and 31070973).

*Corresponding author. Tel: +86-21-54237635; E-mail: yuqiuzhang@fudan.edu.cn

核因子 kappa B (nuclear factor kappa B, NFκB) 是一类转录因子, 能够调节包括细胞因子、趋化因子等在内的多种下游基因的转录和蛋白合成。NFκB 家族具有 5 种结构相似的蛋白质, p50、p52、p65(RelA)、RelB、c-Rel, 这 5 种蛋白质两两结合组成同源或异源二聚体, 其中 p50/p65 异源二聚体最为普遍^[1]。正常情况下, 胞质中的 NFκB 与其内源性抑制物 IκB 结合, 不具活性^[2], 外界刺激传入后, IκB 激酶 (IκB kinase, IKK) 复合物磷酸化 IκB 并使其与 NFκB 解离, NFκB 得以释放并进入细胞核, 与其辅助激活蛋白 CBP (CREB-binding protein) 共同作用, 激活下游基因表达^[3]。NFκB 磷酸化是 NFκB 活化的关键步骤, 并且与其进入胞核过程有关。NFκB 的 p65 亚基 Ser276 (第 276 位丝氨酸) 残基被细胞质中的蛋白激酶 (PKA) 或细胞核中的细胞分裂素 / 压力激活蛋白激酶 1 (mitogen- and stress-activated protein kinase 1, MSK1) 磷酸化^[3], 此过程能够被肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 或白细胞介素 1β (interleukin-1β, IL-1β) 诱导, 并进而引起 Lys310 的乙酰化, 增强 NFκB 与 DNA 的结合能力^[4]。

Kaltschmidt 等^[5]最早报道 NFκB 在神经元中有持续性表达。此后, 大量研究开始关注 NFκB 信号通路在中枢神经系统, 尤其是神经病理性痛情况下, 所扮演的角色^[4, 6–8]。慢性压迫坐骨神经 (CCI)、坐骨神经横断 (SNT)、坐骨神经损伤 (SNC) 等都能够引起中枢神经系统中的 NFκB 表达上调^[6, 9, 10], 给予 NFκB 抑制剂 PDTC、SN50、或 NFκB “圈套” 寡聚脱氧核苷酸序列 (decoy oligodeoxynucleotide) 能够降低 NFκB 及受其调控的下游炎症因子的活性, 抑制机械痛敏和热痛敏^[8, 11–13]。

强直刺激坐骨神经 (tetanic stimulation of the sciatic nerve, TSS) 能够引起脊髓背角 C 纤维和 A 纤维介导的场电位长时程增强 (long-term potentiation, LTP), 该现象反映了脊髓感觉传递神经元的中枢敏化^[14–16]。我们以往的研究工作显示, 这种能够引起脊髓 LTP 的强直电刺激同时能够诱发动物的持续性触诱发痛和热痛过敏^[17–21], 背根神经节 (dorsal root ganglia, DRG) 神经元表达损伤标志物 ATF3, 坐骨神经发生 Wallerian 退变等, 提示 TSS 可以作为一种神经损伤性痛模型^[17]。

DRG 神经元是感觉传入的第一级神经元, 外周神经损伤会引起 DRG 感觉神经元的可塑性变化,

DRG 感觉神经元的异常电活动可引起痛觉过敏^[22]。Berti-Mattera 等报道, 给予抗炎药 sulfasalazine 后, 糖尿病大鼠 DRG 中 NFκB 的 p50 亚基表达降低, 且痛觉敏感得到缓解^[23]。

本研究以 TSS 引起的实验性病理性痛为模型, 采用痛行为学测试、免疫荧光组织化学、免疫印迹杂交等方法, 观察 TSS 是否引起 NFκB 在 DRG 中的激活及其细胞类型和分布模式, 探讨 NFκB 在 TSS 诱导的触诱发痛中所发挥的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 实验采用成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体重 200~250 g, 由中国科学院上海生命科学研究所动物中心供应。动物分笼饲养, 自由饮食, 饲养环境温度、湿度恒定, 保持 12 h 明暗间隔的人工昼夜节律。在实验动物身上开展的所有操作均严格遵守国际疼痛研究学会 (International Association for the Study of Pain, IPSP) 相关动物保护及使用规定。

1.2 主要试剂 兔抗 pNFκB 抗体 (德国 Acris 公司, 与在 Ser276 位点磷酸化的 NFκB-p65 蛋白特异性结合) 和 GAPDH 抗体 (上海康城生物有限公司), HRP 偶联羊抗兔二抗 (美国 Santa Cruz 公司), 小鼠抗 NeuN 抗体 (美国 Millipore 公司), GFAP 抗体 (美国 Sigma 公司) 和 S100 抗体 (美国 Sigma 公司), PDTC 试剂 (美国 Sigma 公司)。

1.3 主要仪器 von Frey 毛 (美国 Stoelting 公司), 蛋白电泳系统 (美国 Bio-Rad 公司), 全自动凝胶成像系统 (美国 Bio-Rad 公司), 激光共聚焦扫描显微镜 (日本 Olympus 公司)。

1.4 TSS 引起神经病理痛模型的制备 动物在戊巴比妥钠 (60 mg/kg, 腹腔注射) 麻醉下, 切开其左侧大腿中部皮肤, 钝性分离肌肉, 暴露坐骨神经, 用玻璃分针小心分离神经。之后将坐骨神经置于银丝电极上, 给予强直刺激 (共 10 串, 每串间隔 10 s, 一串包含 200 个方波刺激, 波宽 500 μs, 频率 100 Hz, 刺激强度 40 V)。给予刺激期间, 固定大鼠后肢和骨盆, 以防其肌肉收缩引起坐骨神经牵拉损伤。假手术组 (sham 组) 仅将坐骨神经分离后悬挂于刺激电极上, 但不给予电刺激。Naïve 组动物未作任何处理。

1.5 腰椎穿刺注射法给药 使用异氟烷将动物麻醉后, 将其吻部与麻醉呼吸罩连接, 背部朝上, 根

据髂骨突出位置定位到第五和第六段腰椎之间的间隙, 用特制的注射器垂直向下突破皮肤和肌肉, 经该椎间隙进入蛛网膜下腔, 以动物尾部反射动作作为进针标志, 每次给药体积不超过 15 μL。

1.6 机械触诱发痛阈值测定 将动物放置在 10 cm × 20 cm × 20 cm 的有机玻璃隔笼内, 隔笼底面为金属网格, 每格间距为 1 cm, 室温控制在 (23 ± 2) °C, 湿度 40%~70%, 保持环境安静。实验动物在正式测试开始前两天预先适应实验环境, 每天在隔笼中放置 1~2 h。正式测试时, 将大鼠提前放入隔笼适应环境不少于 30 min, 之后按照重量递增顺序, 使用从 1.4 g 到 26 g 的不同压力强度 von Frey 纤毛, 对动物后脚掌中心位置进行刺激, 以纤毛弯曲作为完全受力的标准, 每次刺激持续 3 s, 间隔 30 s 以上, 每种强度的纤毛共刺激 5 次, 因刺激而引起的快速反射性缩腿动作被算作 1 次有效反应。在 5 次刺激中, 能够引起至少 3 次有效反应的刺激强度记为缩腿反应阈值 (paw withdrawal threshold, PWT)。

1.7 Western blot 分析蛋白表达 动物过量麻醉致死, 快速取双侧 L4、L5 段 DRG 组织, 加入含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的裂解液, 匀浆、提取蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 据此调节 Western blot 每孔蛋白上样量一致。

SDS-PAGE 电泳, 当与目标蛋白一致的预染蛋白条带到达适宜位置时停止, 通过湿法转膜将蛋白条带转移到 PVDF 膜上, 接着用 5% 脱脂牛奶封闭, 再加入一抗 (1:1 000), 4 °C 孵育过夜后, 加入二抗 (1:5 000), 最后使用 ECL 试剂显色, 在 Bio-Rad 全自动凝胶成像系统中曝光拍照, 并用配套软件 Image Lab 3.0 进行后期分析。

1.8 免疫荧光组织化学分析蛋白分布 动物过量麻醉后, 剪开胸腔, 暴露心脏, 通过升主动脉灌注 37 °C 生理盐水冲去血液, 再用 4% 的多聚甲醛灌注固定, 取 L4、L5 段 DRG, 经梯度脱水后, 冰冻切片 (厚度 16 μm)。每个 DRG 标本取 4~5 张切片, 用 pNFκB 抗体 (1:200) 和对应细胞标志物 NeuN 抗体 (1:1 000)、S100 抗体 (1:1 000) 或 GFAP 抗体 (1:1 000) 4 °C 共同孵育 48 h, 然后加入二抗孵育, 以 FITC (1:200) 和 RRX (1:200) 分别作为荧光显色物, 在激光共聚焦扫描显微镜下观察和拍片。

1.9 统计分析方法 行为学数据以 mean ± SEM 的形式进行描述。实验动物样本量表述为 *n*。同一

处理、多个时间点 (一个变量) 数据间采用 One-way ANOVA (两两比较采用 Holm-Sidak 检验) 方法进行比较, 多种处理、多个时间点 (两个变量) 数据间采用 Two-way ANOVA (两两比较采用 Holm-Sidak 检验) 方法进行比较, 统计学显著性水平设为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 TSS引起大鼠镜像痛和双侧背根神经节pNFκB表达上调

与本实验室以往的研究报道相一致, 强直刺激大鼠单侧坐骨神经可引起长时程的触诱发痛 (allodynia)。该反应呈双侧性——“镜像痛”, 即双侧后肢对机械刺激的 PWT 降低 (Two-way ANOVA, $P < 0.01$ vs sham group, $n = 8$) (图 1A)。

与 naïve 和 sham 组动物相比, TSS 大鼠患侧 DRG 中的 pNFκB 蛋白表达水平在刺激后第 1、4、7 天都有显著提高 (One-way ANOVA, 第 1 天: $P < 0.01$; 第 4、7 天: $P < 0.05$; $n = 5$); 对侧 DRG 中的 pNFκB 蛋白表达水平在刺激后 1 和 4 天也有显著提高 (One-way ANOVA, 第 1 天: $P < 0.01$; 第 4 天: $P < 0.05$; $n = 5$), 7 天后恢复 (图 1B)。该结果提示 NFκB 的激活可能参与 TSS 引起的触诱发痛过程; 对侧 DRG 中 pNFκB 在早期阶段的上调为“镜像痛”的发生提供了分子基础。

2.2 TSS前后pNFκB在大鼠DRG中的分布

为了解 TSS 引起 pNFκB 在 DRG 中激活的细胞类型和分布模式, 进一步采用免疫荧光双标记法观察 pNFκB 在 TSS 后 3 天大鼠 DRG 中的表达分布。结果如图 2 所示, 在作为对照的 sham 动物 DRG 切片中, pNFκB 在神经元和胶质细胞的核内仅有少量表达; 在 TSS 组动物 DRG 切片中, pNFκB 在 NeuN 标记的神经元、S100 标记的施旺细胞和 GFAP 标记的卫星细胞核内皆有较高水平的表达。pNFκB 在细胞核区域的表达模式提示, TSS 后 3 天, 激活的 NFκB 已发生核转位, 发挥其转录因子功能, 即 TSS 可激活外周感受器细胞 NFκB, 通过核转位, 促进下游基因的转录及相关蛋白合成。

2.3 pNFκB抑制剂PDTC能够减轻TSS引起的触诱发痛

为了研究 NFκB 活化与触诱发痛的关系, 在 TSS 后 4 天, 触诱发痛已稳定出现时, 通过腰椎穿刺法鞘内给予 NFκB 的抑制剂 PDTC (100 ng/15 μL)。

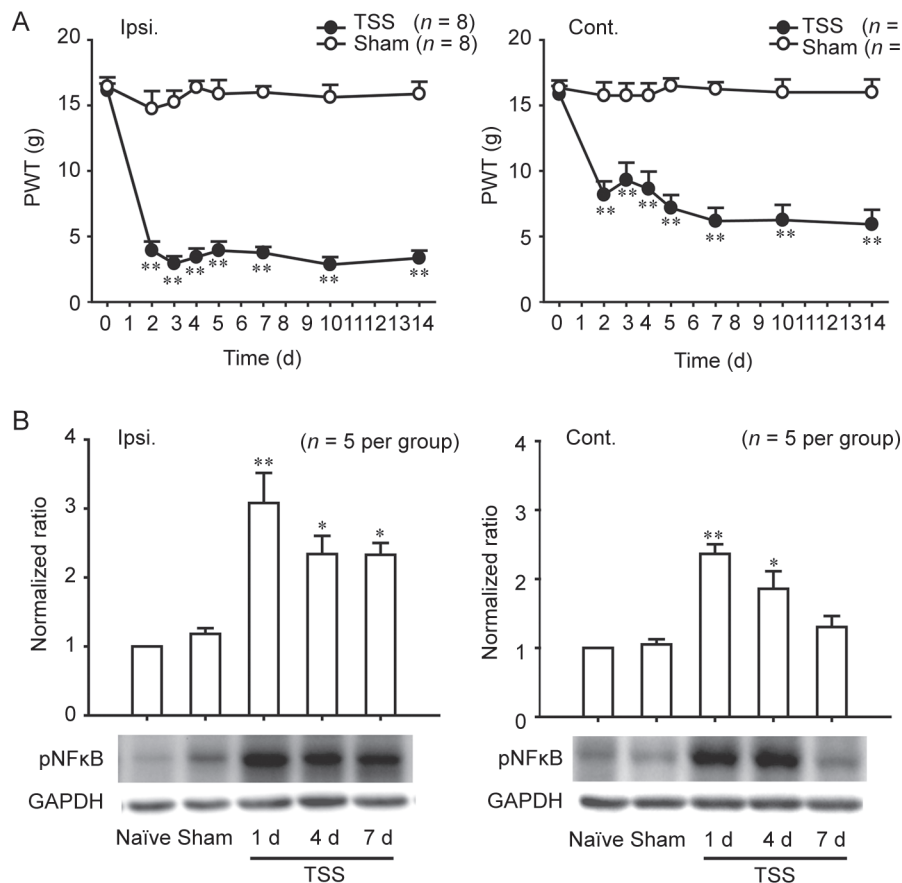


图 1. 强直刺激坐骨神经(TSS)引起大鼠双侧后肢的触诱发痛和pNFκB蛋白表达水平在DRG的上调

Fig. 1. Changes in paw withdrawal threshold (PWT) and phospho-NFκB (pNFκB) expression in the DRG after tetanic stimulation of the sciatic nerve (TSS). *A*: TSS decreased bilateral PWTs to von Frey filaments compared with the sham group. Day 0 represents the day of testing at baseline before TSS. *B*: Increased pNFκB expression was observed in the bilateral DRG from the TSS-treated rats. Mean ± SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs sham.

有多项研究显示, 这种给药方法可使药物进入 DRG 细胞 [24–26]。结果如图 3 所示, 给予 PDTC 后 2 h, TSS 组动物的触诱发痛程度有了明显缓解 (One-way ANOVA, 同侧: $P < 0.01$, 对侧: $P < 0.05$; $n = 8$), 而给予 PDTC 的溶剂生理盐水 (NS) 则并无此效果。此外, sham 组大鼠鞘内给予 PDTC, 对机械反应阈值无影响, 说明 PDTC 主要抑制由 TSS 引起的触诱发痛, 而不影响大鼠对机械刺激的基础反应阈值。

3 讨论

TSS 能够诱导脊髓背角 C 纤维和 A 纤维反应的 LTP 和持续性痛行为敏化, 中枢敏化和外周敏化可能均贡献于其中。以往的研究大都关注脊髓中枢敏化过程, 本研究针对 TSS 引起的 DRG 神经元及其周围胶质细胞转录因子 NFκB 表达的改变, 对 TSS

引起痛觉敏化的外周机制进行初步探讨。

NFκB 在神经病理性痛产生过程中可能扮演重要角色。中枢神经系统神经元中的 NFκB 能够被神经损伤、细胞因子、趋化因子、谷氨酸、NO 等多种因素激活, 进而调节下游一系列蛋白的转录合成 [10]。周围神经系统中, Ma 和 Bisby 曾经报道, 在坐骨神经部分结扎 (partial sciatic nerve ligation, PSLN) 和慢性压迫损伤 (chronic constriction injury, CCI) 大鼠模型上, DRG 中 NFκB 核转录水平在手术后两周时显著上调 [6]。本研究结果显示: (1) TSS 能够引起大鼠双侧机械触诱发痛, 伴随有 DRG 中磷酸化 NFκB 表达上升; (2) 激活的 NFκB 在 DRG 细胞发生了明显的核转位; (3) 抑制 NFκB 的激活能够缓解 TSS 引起的痛觉敏化。这些结果为外周 NFκB 参与 TSS 引起痛觉敏化提供了新的实验证据。

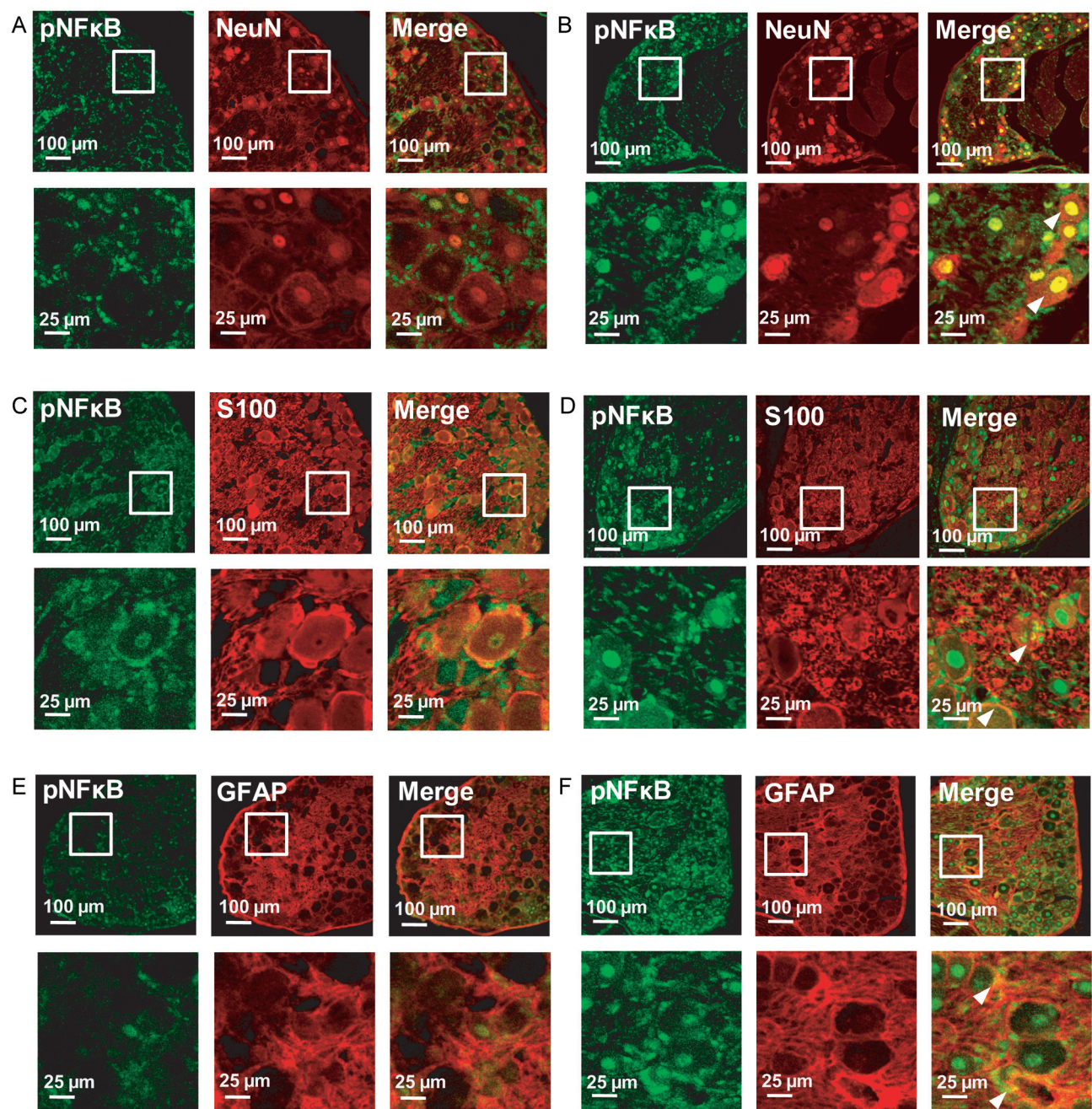


图 2. pNFκB在大鼠背根神经节的分布

Fig. 2. Expression of pNFκB in DRG neurons and glial cells before and after TSS. Confocal photomicrographs show colocalization of pNFκB with NeuN, S100 and GFAP in the ipsilateral L5 DRG before (A, C, E) and after (B, D, F) TSS. The framed regions are shown enlarged below. Arrows indicate examples of colocalized cell profiles. Scale bar, 100 μm, 25 μm.

多种促炎性细胞因子受 NFκB 的转录调控，DRG 细胞 NFκB 的激活可能促进细胞因子如 TNFα、IL-1β、IL-6、CCL2 等合成和释放，进而引起神经元上钠通道兴奋性升高，并同时引起 A 纤维和 C 纤维的异位放电，产生痛觉敏化^[27-29]。胶质细胞参与痛觉敏化，介导神经病理性疼痛的发生已有大量报

道^[30,31]，有研究显示，NFκB 信号通路在胶质细胞激活过程中发挥关键作用^[32,33]。在外周神经系统，施旺细胞可调节感觉神经元细胞外微环境稳态。当神经损伤时，施旺细胞会释放 TNFα 等因子，并产生 Wallerian 退变^[34,35]。神经损伤情况下，卫星胶质细胞能够被激活，分泌促炎因子 TNFα^[36]，而完全

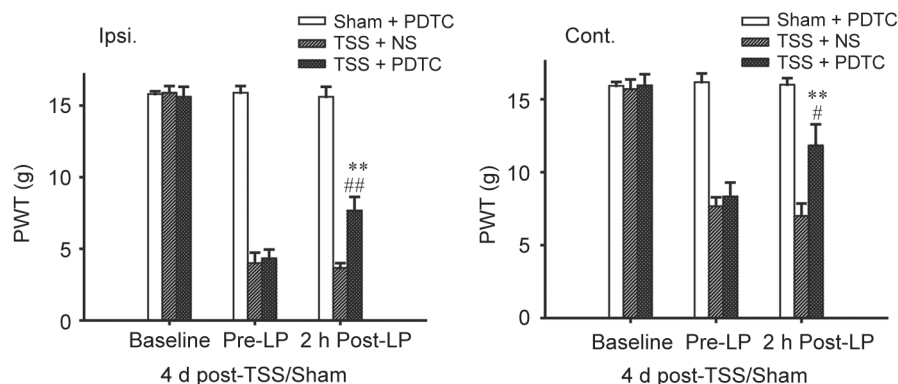


图 3. PDTC (NF κ B抑制剂)明显缓解TSS引起的机械触诱发痛

Fig. 3. Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) significantly alleviated TSS-induced mechanical allodynia. PDTC (100 ng/15 μ L) or saline (NS) was administered by lumbar puncture (LP) on day 4 after surgery. PWT was measured 2 h after LP. Mean $\pm$ SEM, $n = 8$. ** $P < 0.01$ vs control (TSS + NS); * $P < 0.05$, # $P < 0.01$ vs pre-LP administration of PDTC.

弗氏佐剂 (CFA) 引起的炎症痛下, 卫星胶质细胞表达上调, 且其与感觉神经元之间偶联增加^[37,38]。我们的结果显示, TSS 后, S100 标记的施旺细胞和 GFAP 标记的卫星胶质细胞核内, 磷酸化 NF κ B 阳性信号明显增强, 说明 NF κ B 核转位不仅发生在 DRG 感觉神经元, 还发生在 DRG 胶质细胞中, 提示外周胶质细胞的激活也参与神经损伤性疼痛过程。近来, Fu 等^[39]通过基因工程技术手段抑制胶质细胞中 NF κ B 表达, 发现外周神经损伤引起的痛觉敏化和炎症反应得到缓解。本实验结果进一步支持了 Fu 等的结论, 即 NF κ B 参与外周胶质细胞的激活, 而胶质细胞的激活对痛觉敏化的形成至关重要。

实验中, 我们还观察到给予 TSS 刺激后, 大鼠患侧和对侧 DRG 中的磷酸化 NF κ B 皆有上调, 对应着 TSS 引起的长时程机械触诱发痛的双侧性, 这一结果为“镜像痛”的发生提供了分子基础。所谓“镜像痛”, 即指由单侧神经损伤引起的神经病理性痛出现在双侧肢体, 产生这种现象的具体机制目前尚不清楚。目前主要有两种解释, 一是体液机制, 二是神经机制。前者指外周神经损伤后, 促炎因子等神经-胶质兴奋产物可能会通过体循环到达另一侧, 引起对侧疼痛; 后者指生物体可能同时受到两侧神经交叉支配, 一侧神经损伤后, 会影响到邻近的另一侧神经, 中枢神经系统中亦可能存在联合中间神经元 (commissural interneuron), 介导两侧神经的信息交流^[40]。本实验结果提示, 单侧神经损伤引起的双侧 DRG 内 NF κ B 活化可能也是“镜像痛”

的发生机制之一。

需要指出的是, 脊髓背角神经元和胶质细胞也表达大量 NF κ B, 脊髓 NF κ B 的激活也参与神经病理性痛的发生和发展^[10]。尽管腰椎穿刺给药可直接进入 DRG^[24–26], 但不能完全排除 PDTC 对脊髓背角 NF κ B 的作用。本实验中, PDTC 对 TSS 引起的触诱发痛的抑制, 除外周机制外, 脊髓机制可能也参与其中。

本实验为研究痛觉外周敏化机制提供了参考, 下一步的研究将进一步探索 DRG 中 NF κ B 信号的上下游调控通路, 以及其如何参与痛行为敏化和脊髓 LTP 的形成。

参考文献

- Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-kappa B in the immune system. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 141–179.
- Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. *Cell* 2002; 109 Suppl: S81–S96.
- Reber L, Vermeulen L, Haegeman G, Frossard N. Ser276 phosphorylation of NF-kB p65 by MSK1 controls SCF expression in inflammation. *PLoS One* 2009; 4(2): e4393.
- Vermeulen L, De Wilde G, Van Damme P, Vanden Berghe W, Haegeman G. Transcriptional activation of the NF-[kappa]B p65 subunit by mitogen- and stress-activated protein kinase-1 (MSK1). *EMBO J* 2003; 22(6): 1313–1324.
- Kaltschmidt C, Kaltschmidt B, Neumann H, Wekerle H, Baeuerle PA. Constitutive NF-kappa B activity in neurons. *Mol Cell Biol* 1994; 14(6): 3981–3992.
- Ma W, Bisby MA. Increased activation of nuclear factor

- kappa B in rat lumbar dorsal root ganglion neurons following partial sciatic nerve injuries. *Brain Res* 1998; 797(2): 243–254.
- 7 Malek R, Borowicz KK, Jargiello M, Czuczwar SJ. Role of nuclear factor kappaB in the central nervous system. *Pharmacol Rep* 2007; 59(1): 25–33.
- 8 Sakaue G, Shimaoka M, Fukuoka T, Hiroi T, Inoue T, Hashimoto N, Sakaguchi T, Sawa Y, Morishita R, Kiyono H, Noguchi K, Mashimo T. NF-kappa B decoy suppresses cytokine expression and thermal hyperalgesia in a rat neuropathic pain model. *Neuroreport* 2001; 12(10): 2079–2084.
- 9 Fernyhough P, Smith DR, Schapansky J, Van Der Ploeg R, Gardiner NJ, Tweed CW, Kontos A, Freeman L, Purves-Tyson TD, Glazner GW. Activation of nuclear factor-kappaB via endogenous tumor necrosis factor alpha regulates survival of axotomized adult sensory neurons. *J Neurosci* 2005; 25(7): 1682–1690.
- 10 Pollock G, Pennypacker KR, Memet S, Israel A, Saporta S. Activation of NF-kappaB in the mouse spinal cord following sciatic nerve transection. *Exp Brain Res* 2005; 165(4): 470–477.
- 11 Igwe OJ. Modulation of peripheral inflammation in sensory ganglia by nuclear factor (kappa)B decoy oligodeoxynucleotide: involvement of SRC kinase pathway. *Neurosci Lett* 2005; 381(1–2): 114–119.
- 12 Wang C, Ning LP, Wang YH, Zhang Y, Ding XL, Ge HY, Arendt-Nielsen L, Yue SW. Nuclear factor-kappa B mediates TRPV4-NO pathway involved in thermal hyperalgesia following chronic compression of the dorsal root ganglion in rats. *Behav Brain Res* 2011; 221(1): 19–24.
- 13 Zang Y, He XH, Xin WJ, Pang RP, Wei XH, Zhou LJ, Li YY, Liu XG. Inhibition of NF-kappaB prevents mechanical allodynia induced by spinal ventral root transection and suppresses the re-expression of Nav1.3 in DRG neurons *in vivo* and *in vitro*. *Brain Res* 2010; 1363: 151–158.
- 14 Liu XG, Sandkuhler J. Long-term potentiation of C-fiber-evoked potentials in the rat spinal dorsal horn is prevented by spinal N-methyl-D-aspartic acid receptor blockage. *Neurosci Lett* 1995; 191(1–2): 43–46.
- 15 Sandkuhler J. Understanding LTP in pain pathways. *Mol Pain* 2007; 3: 9.
- 16 Svendsen F, Tjolsen A, Rykkja F, Hole K. Behavioural effects of LTP-inducing sciatic nerve stimulation in the rat. *Eur J Pain* 1999; 3(4): 355–363.
- 17 Liang L, Wang Z, Lü N, Yang J, Zhang Y, Zhao Z. Involvement of nerve injury and activation of peripheral glial cells in tetanic sciatic stimulation-induced persistent pain in rats. *J Neurosci Res* 2010; 88(13): 2899–2910.
- 18 Lü N, Cheng LZ, Zhang YQ, Lü BC, Li YQ, Zhao ZQ. Involvement of ryanodine receptors in tetanic sciatic stimulation-induced long-term potentiation of spinal dorsal horn and persistent pain in rats. *J Neurosci Res* 2012; 90(5): 1096–1104.
- 19 Wang ZY, Zhang YQ, Zhao ZQ. Inhibition of tetanically sciatic stimulation-induced LTP of spinal neurons and Fos expression by disrupting glutamate transporter GLT-1. *Neuropharmacology* 2006; 51(4): 764–772.
- 20 Ying B, Lü N, Zhang YQ, Zhao ZQ. Involvement of spinal glia in tetanically sciatic stimulation-induced bilateral mechanical allodynia in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 340(4): 1264–1272.
- 21 Zhang XC, Zhang YQ, Zhao ZQ. Involvement of nitric oxide in long-term potentiation of spinal nociceptive responses in rats. *Neuroreport* 2005; 16(11): 1197–1201.
- 22 Chung JM, Chung K. Importance of hyperexcitability of DRG neurons in neuropathic pain. *Pain Pract* 2002; 2(2): 87–97.
- 23 Berti-Mattera LN, Kern TS, Siegel RE, Nemet I, Mitchell R. Sulfasalazine blocks the development of tactile allodynia in diabetic rats. *Diabetes* 2008; 57(10): 2801–2808.
- 24 Kawasaki Y, Xu ZZ, Wang X, Park JY, Zhuang ZY, Tan PH, Gao YJ, Roy K, Corfas G, Lo EH, Ji RR. Distinct roles of matrix metalloproteases in the early- and late-phase development of neuropathic pain. *Nat Med* 2008; 14(3): 331–336.
- 25 Storek B, Reinhardt M, Wang C, Janssen WG, Harder NM, Banck MS, Morrison JH, Beutler AS. Sensory neuron targeting by self-complementary AAV8 via lumbar puncture for chronic pain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(3): 1055–1060.
- 26 Vulchanova L, Schuster DJ, Belur LR, Riedl MS, Podetz-Pedersen KM, Kitto KF, Wilcox GL, McIvor RS, Fairbanks CA. Differential adeno-associated virus mediated gene transfer to sensory neurons following intrathecal delivery by direct lumbar puncture. *Mol Pain* 2010; 6: 31.
- 27 Sorkin LS, Xiao WH, Wagner R, Myers RR. Tumour necrosis factor-alpha induces ectopic activity in nociceptive primary afferent fibres. *Neuroscience* 1997; 81(1): 255–262.
- 28 Djouhri L, Koutsikou S, Fang X, McMullan S, Lawson SN. Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact C-fiber nociceptors. *J Neurosci* 2006; 26(4): 1281–1292.
- 29 Wei XH, Zang Y, Wu CY, Xu JT, Xin WJ, Liu XG. Peri-sciatic administration of recombinant rat TNF-alpha induces mechanical allodynia via upregulation of TNF-alpha in dorsal root ganglia and in spinal dorsal horn: the role of NF-kappa B pathway. *Exp Neurol* 2007; 205(2): 471–484.
- 30 Scholz J, Woolf CJ. The neuropathic pain triad: neurons, immune cells and glia. *Nat Neurosci* 2007; 10(11): 1361–1368.

- 31 Tsuda M, Inoue K, Salter MW. Neuropathic pain and spinal microglia: a big problem from molecules in “small” glia. *Trends Neurosci* 2005; 28(2): 101–107.
- 32 Memet S. NF-kappaB functions in the nervous system: from development to disease. *Biochem Pharmacol* 2006; 72(9): 1180–1195.
- 33 O'Neill LA, Kaltschmidt C. NF-kappa B: a crucial transcription factor for glial and neuronal cell function. *Trends Neurosci* 1997; 20(6): 252–258.
- 34 Campana WM. Schwann cells: activated peripheral glia and their role in neuropathic pain. *Brain Behav Immun* 2007; 21(5): 522–527.
- 35 Campana WM, Li X, Shubayev VI, Angert M, Cai K, Myers RR. Erythropoietin reduces Schwann cell TNF-alpha, Wallerian degeneration and pain-related behaviors after peripheral nerve injury. *Eur J Neurosci* 2006; 23(3): 617–626.
- 36 Miyagi M, Ohtori S, Ishikawa T, Aoki Y, Ozawa T, Doya H, Saito T, Moriya H, Takahashi K. Up-regulation of TNFalpha in DRG satellite cells following lumbar facet joint injury in rats. *Eur Spine J* 2006; 15(6): 953–958.
- 37 Dublin P, Hanani M. Satellite glial cells in sensory ganglia: their possible contribution to inflammatory pain. *Brain Behav Immun* 2007; 21(5): 592–598.
- 38 Hanani M. Satellite glial cells in sensory ganglia: from form to function. *Brain Res Brain Res Rev* 2005; 48(3): 457–476.
- 39 Fu ES, Zhang YP, Sagen J, Candiotti KA, Morton PD, Liebl DJ, Bethea JR, Brambilla R. Transgenic inhibition of glial NF-kappa B reduces pain behavior and inflammation after peripheral nerve injury. *Pain* 2010; 148(3): 509–518.
- 40 Koltzenburg M, Wall PD, McMahon SB. Does the right side know what the left is doing? *Trends Neurosci* 1999; 22(3): 122–127.