

研究论文

右美托咪啶通过抑制超极化激活内向电流减轻机械性触诱发痛

张芳¹, 古瑞², 冯亚星², 张耀雷², 李薇², 李婷², 张明^{2,3,*}

¹陕西省西安市公安消防支队卫生队, 西安 710003; ²成都军区总医院中心实验室, 成都 610083; ³空军军医大学南京医院麻醉与围术期医学科, 西安 710032

摘要: 本文旨在研究右美托咪啶(dexmedetomidine, DEX)对慢性压迫背根神经节(chronic compression of dorsal root ganglion, CCD)引起的机械性触诱发痛的作用及机制。制备Sprague Dawley (SD)大鼠CCD模型, 用痛行为学方法检测机械性触诱发痛, 用全细胞膜片钳技术检测背根神经节(dorsal root ganglion, DRG) C类和A_δ类神经元兴奋性和超极化激活内向电流(hyperpolarization-activated inward currents, I_h)的变化。结果显示: 鞘内注射DEX显著减轻CCD大鼠机械性触诱发痛($P < 0.05$); 在CCD大鼠DRG C类和A_δ类神经元上, DEX显著提高细胞基强度和后超极化电位, 降低I_h电流密度。上述结果提示, DEX可能通过抑制C类和A_δ类DRG神经元I_h电流, 降低神经元兴奋性, 从而减轻神经病理性疼痛。

关键词: 右美托咪啶; 背根神经节; 机械性触诱发痛; 超极化激活内向电流; 神经病理性疼痛

中图分类号: Q424

Dexmedetomidine suppresses mechanical allodynia by inhibiting hyperpolarization-activated inward current

ZHANG Fang¹, GU Rui², FENG Ya-Xing², ZHANG Yao-Lei², LI Wei², LI Ting², ZHANG Ming^{2,3,*}

¹The Police Fire Brigade Health Team, Xi'an 710003, China; ²Central Laboratory, General Hospital of Chengdu Military Command, Chengdu 610083, China; ³Department of Anesthesiology and Perioperative Medicine, Xijing Hospital, The Airforce Medical University of People's Liberation Army of China, Xi'an 710032, China

Abstract: The purpose of the present study was to investigate the effects of dexmedetomidine (DEX) on neuropathic pain in the chronic compression of dorsal root ganglion (CCD) rat model and the underlying mechanism. Pain behavioral tests were applied to observe the effects of DEX on mechanical allodynia in Sprague Dawley (SD) rats. Whole cell patch clamp was used to observe the influence of DEX on excitability and hyperpolarization-activated inward current (I_h) of C- and A_δ-type dorsal root ganglion (DRG) neurons. The results showed that mechanical allodynia of CCD rats was significantly inhibited by DEX ($P < 0.05$). In C- and A_δ-type DRG neurons from the CCD rats, DEX significantly increased rheobase and after hyperpolarizing potential, as well as decreased I_h current density. These results suggest that DEX could attenuate the neuropathic pain in the CCD rats, and the mechanism might be related to the depressed I_h current density and excitability of C- and A_δ-type DRG neurons.

Key words: dexmedetomidine; dorsal root ganglion; mechanical allodynia; hyperpolarization-activated inward currents; neuropathic pain

慢性腰痛伴随高概率致残率, 研究表明腰椎间盘突出、肿瘤或外力引起背根神经节 (dorsal root

ganglion, DRG) 压迫是造成慢性腰背痛的主要原因之一^[1]。临床研究显示右美托咪啶(dexmedetomidine,

Received 2017-09-25 Accepted 2018-01-26

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81701095) and Hospital Management Foundation of Chengdu Military General Hospital, China (No. 2016KC13).

*Corresponding author. Tel: +86-18291901180; E-mail: artzhangming@163.com

DEX) 可有效缓解腰椎手术的术后痛^[2]。Paul 等研究显示, DEX 能有效减少阿司匹林诱导插管后导致的肌肉疼痛; 缓解瑞芬太尼导致的痛觉过敏, 减轻疼痛; 延后术后首次需要镇痛药的时间, 减少吗啡用量^[3, 4]。这些研究表明 DEX 可用于治疗神经病理性疼痛, 但是 DEX 抑制神经病理性疼痛的离子通道机制尚不明确。

超极化环核苷酸门控离子通道 (hyperpolarization cyclic-nucleotide gated ion channels, HCN channels) 介导的超极化激活内向电流 (hyperpolarization-activated inward currents, I_h) 存在于 DRG 神经细胞上, 参与去极化过程, 影响动作电位产生。 I_h 电流增大会提高动作电位发放率, 使细胞兴奋性升高, 造成疼痛阈值降低, 从而产生神经病理性疼痛, 其特异性阻断剂 ZD7288 可降低 DRG A 类神经元和 CA1 锥体神经元自发放电频率, 抑制神经病理性疼痛^[5-7]。这些研究结果表明 DRG I_h 电流参与神经病理性疼痛的形成。

DRG 是伤害性信息向中枢传输的门户^[8], 本研究组前期研究显示 DRG 慢性压迫 (chronic compression of DRG, CCD) 模型大鼠 DRG A 类神经元兴奋性升高, 自发放电频率增大^[9], 且 I_h 电流密度的增加与 CCD 模型大鼠机械触诱发痛和 DRG 细胞兴奋性升高有关^[9]。有文献报道 DEX 可抑制 HEK 细胞克隆的 HCN1/HCN2 通道介导的 I_h 电流^[10], 但是缺少动物实验证据证明 DEX 抑制神经病理性疼痛与 I_h 电流受抑有关。DRG 中 A_α 和 A_β 类神经元与本体感觉和机械感受有关, 而 A_δ 和 C 类神经元与痛感觉的形成有关^[11]。本研究以 CCD 大鼠模型为研究对象, 采用全细胞膜片钳技术, 探讨 DEX 抑制神经病理性疼痛与 DRG A_δ 和 C 类神经元 I_h 电流的关系, 以期为临床应用 DEX 缓解神经病理性疼痛提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 试剂和材料 葡萄糖酸钾、NaCl、KCl、 NaH_2PO_4 、 MgCl_2 、 CaCl_2 、 NaHCO_3 、葡萄糖和 DEX 购自于 Sigma 公司, 戊巴比妥钠购自于上海试剂厂。实验动物: 选用成年健康的 SPF 级 Sprague Dawley (SD) 大鼠, 体重 180~250 g, 共使用 68 只, 雄性。由空军军医大学实验动物中心提供, 按照实验动物管理条例对其进行饲养, 动物实验方案获得空军军医大学动物伦理委员会批准。

1.2 实验动物分组和模型制备 36 只大鼠随机分为假手术组 (sham, $n = 18$) 和模型组 (CCD, $n = 18$)。参考 Zhang 等^[9]报道的方法制备慢性腰背痛的 CCD 动物模型, 将大鼠用戊巴比妥钠 (40 mg/kg, i.p.) 麻醉, 背部去毛, 消毒后沿脊柱左侧切开皮肤, 用钝性游离镊将脊柱肌肉分离, 暴露左侧 L5 椎间孔, 将长约 4 mm, 直径 0.5~0.8 mm 的 L 型不锈钢柱沿试探好的孔道插进椎间孔。当左侧后肢肌肉轻微颤动表明钢柱触及 DRG, 形成对左侧 L5 DRG 神经根恒定压迫。假手术组不对 L5 DRG 进行任何损伤处理, 其余操作同手术组。模型制备全程无菌操作。

1.3 机械缩足阈值的测定 参考 Zhang 等^[9]报道的方法, 提前将大鼠放到底部铺有金属网格 (网格大小 1 cm × 1 cm) 的棕色塑料箱 (25 cm × 30 cm × 25 cm) 中适应 30 min。测试时, 用 von Frey 纤毛刺激大鼠后足足心, 大鼠在受刺激时出现快速抬足、抖足或舔足中任意一种现象, 该次刺激反应被视为阳性反应。当 5 次刺激引起 3 次及以上阳性反应时, von Frey 纤毛的克数值即大鼠该侧后足的机械缩足阈值。为保护动物, von Frey 纤毛的克数不超过 15 g。记录注射 DEX 前 3、2 和 1 d 以及注射 DEX 后 1、3、5、7 和 24 h 时机械缩足阈值的变化。

1.4 鞘内注射 DEX 按照 Yaksh 等报道的方法^[12], 在 CCD 模型建模和鞘内置管 7 d 后, DEX 注射组鞘内注射 DEX (100 $\mu\text{mol/L}$, 10 μL); 对照组注射生理盐水 10 μL ; 避免药物在导管中残留, 注射完药物后再注射生理盐水 10 μL 。注射药物后 1、3、5、7 和 24 h 检测大鼠机械缩足阈值的变化。

1.5 全细胞膜片钳实验 各组 SD 大鼠麻醉后分离 DRG 及附带的坐骨神经, 用消化液 (含胶原蛋白酶 1.0 mg/mL 和胰蛋白水解酶 0.4 mg/mL, 均购自于 Sigma 公司) 在 37 °C 处理 40 min。将消化好的 DRG 转移到人工脑脊液 (artificial cerebrospinal fluid, ACSF, mmol/L: NaCl 124、 MgCl_2 1、KCl 2.5、 NaH_2PO_4 1.2、 CaCl_2 2、 NaHCO_3 25、葡萄糖 10, pH 7.4, 渗透压 290~310 mOsmol/L) 中冲洗 3 次, 放在孵育槽 (5% CO_2 , 95% O_2) 内孵育至少 1 h, 然后移到灌流槽内, 用 U 形白金框架将标本固定, 灌流速度 1~2 mL/min。用 suck 电极刺激坐骨神经末端测定神经传导速度。玻璃电极充灌适量电极内液 (mmol/L: K-葡萄糖 120、 MgCl_2 2、KCl 18、 CaCl_2 1、EGTA 5、HEPES 10、 $\text{Na}_2\text{-ATP}$ 5、 $\text{Na}_3\text{-GTP}$ 0.4, pH 7.4, 渗透压调整至 280~300 mOsmol/L)。玻璃

电极的电阻控制在 3~6 M Ω 。在细胞表面压出“脐状”凹陷，使电极和细胞之间形成高阻封接，电极电阻值到 G Ω ，让细胞自行破膜，形成全细胞钳制。钳制形成后，记录膜电容 (membrane capacitance, C_m)、膜电阻 (membrane resistance, R_m) 和输入电阻 (access resistance, R_a) 等参数数值。在电流钳下观察细胞的静息膜电位和受到刺激后能否发生具有超射的动作电位，选择 $R_a < 20$ M Ω ，静息膜电位低于 -50 mV 的细胞进行下一步实验。测量传导速度：使用 suck 电极给予 L5 DRG 电脉冲 (2 Hz, 50 ms)，激发动作电位，通过记录到的时间和距离计算该纤维的传导

速度，根据传导速度 [C 类 (0.5~2 m/s) 和 A $_8$ 类 (5~15 m/s)] 对神经元进行分类^[13]。神经元基强度的测定方法：在电流钳模式下，给予细胞方波刺激，从 -100 pA，步阶 10 pA，维持时间 60 ms，引起细胞第一个动作电位时的电流强度为基强度；同时，测定后超极化电位 (after hyperpolarizing potential, AHP)，即动作电位超极化过程中最低点和静息膜电位之间的电位差。

测定基线水平的基强度和 AHP 后，用含有 DEX (10 μ mol/L) 的灌流液处理 15 min，再次给予被记录神经细胞方波刺激，观察 DRG C 类和 A $_8$ 类

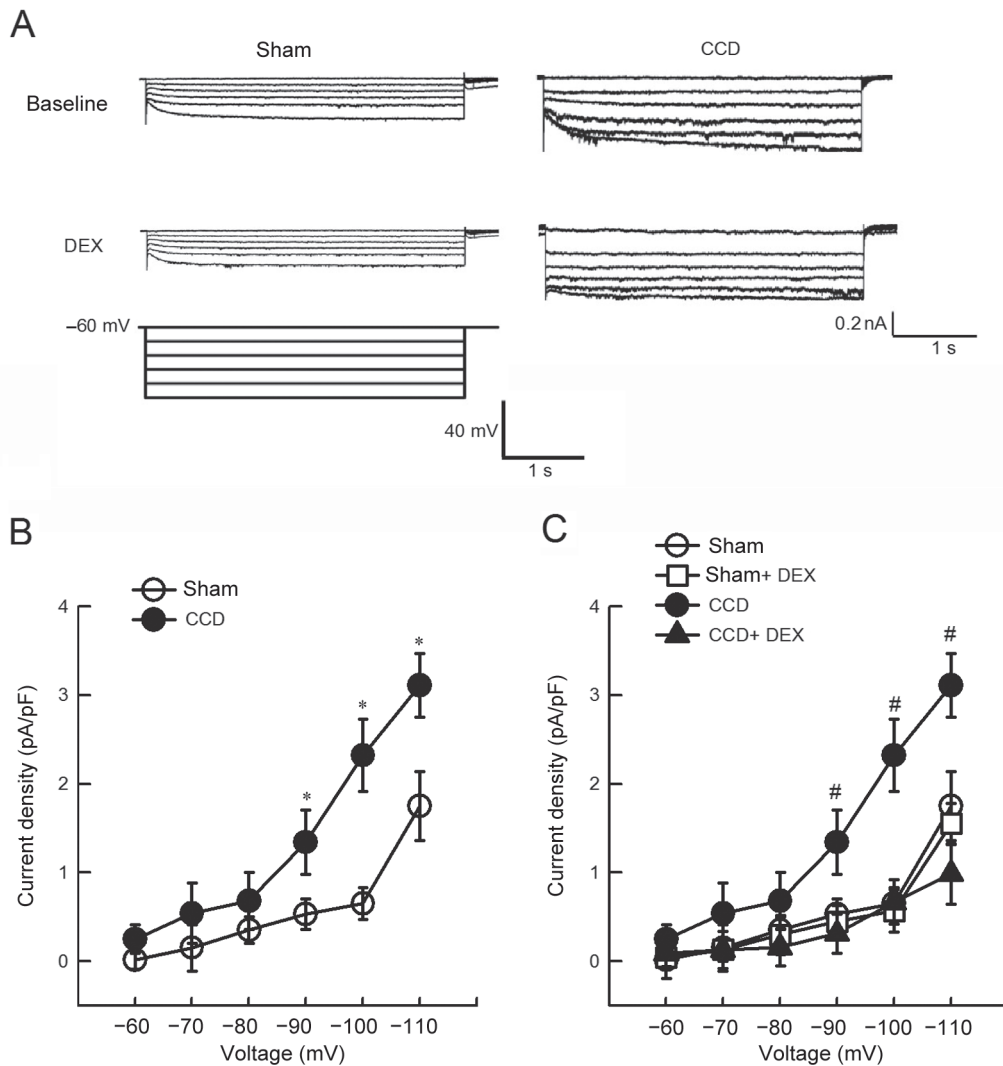


图 1. 右美托咪啶对背根神经节C类神经细胞 I_h 电流密度的影响

Fig. 1. Effects of dexmedetomidine (DEX, 10 μ mol/L) on I_h current density of C-type dorsal root ganglion (DRG) neurons detected by whole cell patch clamp. A: Representative I_h current from a C-type DRG neuron; B: Changes of I_h current density in the CCD group; C: Effects of DEX on I_h current density. Mean \pm SD. In the sham group, $n = 9$; and in the CCD group, $n = 8$. * $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs CCD+DEX group (Repeated ANOVA).

神经细胞 I_h 电流强度和兴奋性的变化。

1.6 数据和统计方法 数据用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 使用 pClamp 10.0 和 Origin 8.0 软件制图, 使用 SPSS16.0 进行统计学分析。重复测量方差分析用于检验各组鞘内注射 DEX 后痛行为学的差异和 I_h 电流密度变化, 单因素方差分析用于检验组间兴奋性差异, 配对 t 检验用于分析 DEX 对各组组内神经元兴奋性的影响, $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 DEX 对 C 类和 A_{δ} 类 DRG 细胞 I_h 电流密度的影响

结果显示, 与 sham 组比较, CCD 组 DRG C 类

和 A_{δ} 类细胞 I_h 电流密度增大 ($P < 0.05$, 图 1 和 2, 重复测量方差分析)。为了检测 DEX 能否通过抑制 I_h 电流降低 CCD 组 DRG C 类和 A_{δ} 类细胞的兴奋性, 在灌流液中加入 DEX。结果显示, DEX 显著降低 CCD 组 DRG C 类和 A_{δ} 类细胞 I_h 电流密度 ($P < 0.05$, 图 1 和 2, 重复测量方差分析), 使之与 sham 组没有差异, 而 sham 组 DRG C 类和 A_{δ} 类细胞 I_h 电流密度未受 DEX 影响 (图 1 和 2, 重复测量方差分析)。

2.2 DEX 对 C 类和 A_{δ} 类 DRG 细胞兴奋性的影响

本研究中 C 类和 A_{δ} 类 DRG 细胞基本特性如表 1 所示。结果显示, 和 sham 组相比, CCD 组神经元在神经病理性疼痛条件下传导速度、输入电阻、

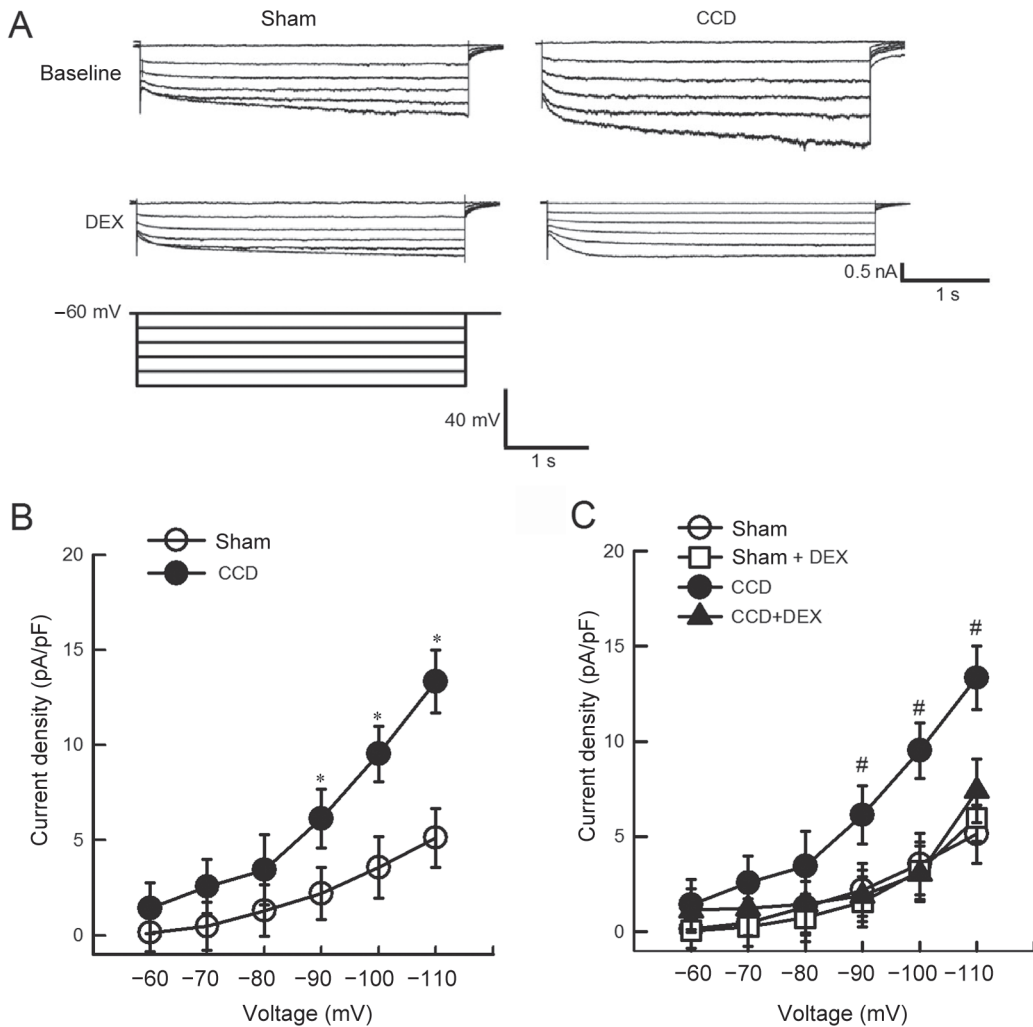


图 2. 右美托咪啉对背根神经节 A_{δ} 类细胞 I_h 电流密度的影响

Fig. 2. Effects of dexmedetomidine (DEX, 10 $\mu\text{mol/L}$) on I_h current density of A_{δ} -type dorsal root ganglion (DRG) neurons detected by whole cell patch clamp. A: Representative I_h current from an A_{δ} -type DRG neuron; B: Changes of I_h current density in the CCD group; C: Effects of DEX on I_h current density. Mean \pm SD. In the sham group, $n = 9$; and in the CCD group, $n = 8$. * $P < 0.05$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs CCD+DEX group (Repeated ANOVA).

静息膜电位和膜电容均未发生明显变化 ($P > 0.05$, 表 1, 单因素方差分析)。

但是用于衡量 DRG 细胞兴奋性变化的基强度和 AHP 幅值发生变化。与 sham 组比较, CCD 组 DRG C 类和 A_{δ} 类细胞的基强度和 AHP 幅值均明显降低 ($P < 0.05$, 图 3, 单因素方差分析)

在灌流细胞外液中加入 DEX (10 $\mu\text{mol/L}$), 研究 DEX 对 C 类和 A_{δ} 类 DRG 细胞兴奋性的影响。

结果显示, DEX 显著提高 CCD 组 C 和 A_{δ} 类 DRG 细胞的基强度和 AHP 幅值 (均 $P < 0.05$, 图 3, 配对 t 检验), 但对 sham 组 C 类和 A_{δ} 类 DRG 细胞的基强度和 AHP 幅度没有明显影响 (图 3, 配对 t 检验)。

2.3 DEX对CCD大鼠损伤侧机械触诱发痛的影响

与 sham 组比较, 从术后 3 d 到 21 d, CCD 组损伤侧机械缩足阈值明显降低 ($P < 0.01$, 图 4, 重

表 1. DRG C 类和 A_{δ} 类细胞的被动膜特性统计

Table 1. Passive characteristics of membrane in C- and A_{δ} -type DRG neurons

	C		A_{δ}	
	Sham	CCD	Sham	CCD
Conduction velocity (m/s)	1.56 \pm 0.21	1.67 \pm 0.15	7.05 \pm 1.43	8.46 \pm 1.54
Resting membrane potential (mV)	-57.8 \pm 2.56	-58.2 \pm 2.62	-58.53 \pm 1.63	-57.75 \pm 3.43
Membrane resistance (M Ω)	112.25 \pm 9.45	103.86 \pm 9.75	57.87 \pm 5.36	54.28 \pm 3.67
Membrane capacitance (pF)	32.35 \pm 1.91	37.24 \pm 1.53	61.46 \pm 6.75	63.28 \pm 8.77
<i>n</i>	18	12	14	16

Mean \pm SD.

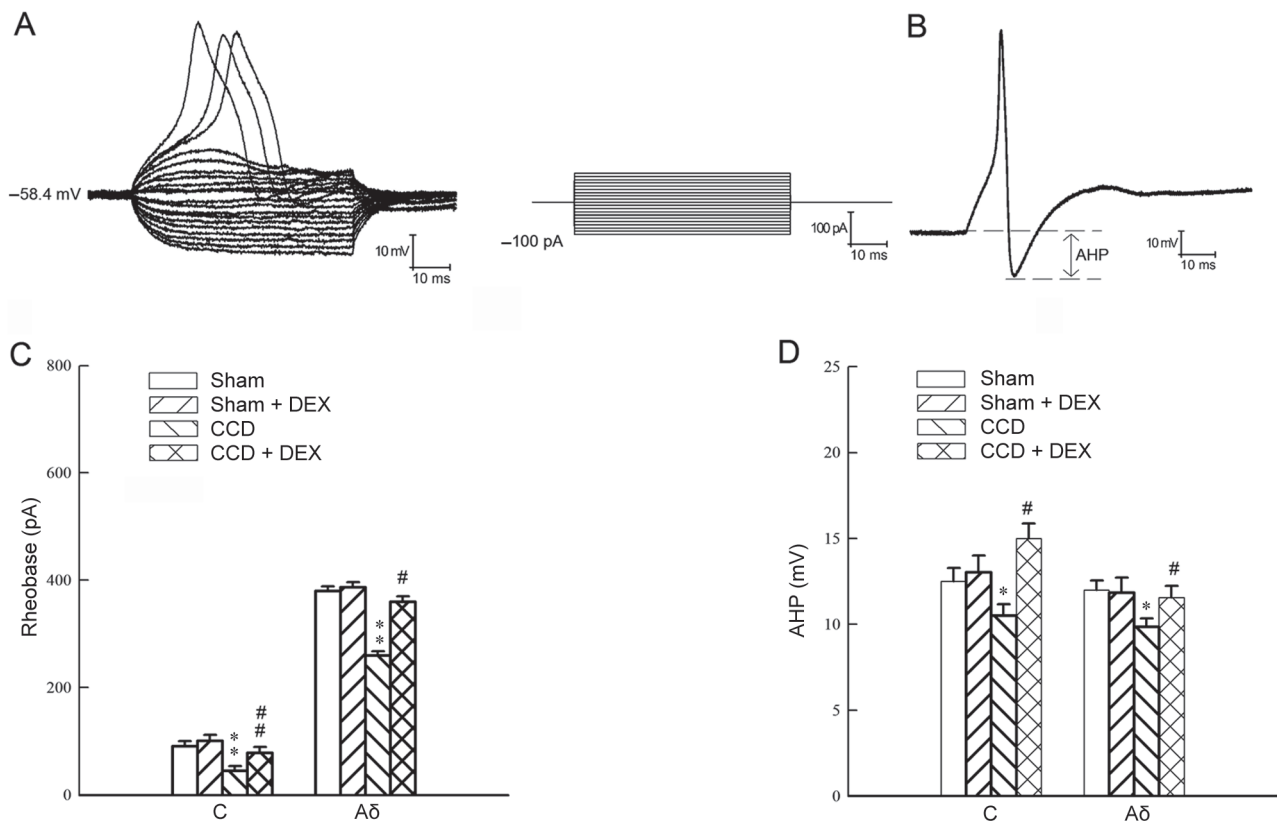


图 3. 右美托咪啶对背根神经节 C 和 A_{δ} 类细胞兴奋性的影响

Fig. 3. Effects of dexmedetomidine (DEX, 10 $\mu\text{mol/L}$) on excitability of C- and A_{δ} -type dorsal root ganglion (DRG) neurons. A: Voltage curves in a C-type DRG neuron; B: Representative pattern of after hyperpolarizing potential (AHP) in an A_{δ} -type DRG neuron; C: Rheobase in different groups; D: AHP in different groups. Mean \pm SD. In the sham group $n = 8$, and in the CCD group $n = 7$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs sham group (one-way ANOVA); # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$ vs CCD group (paired t -test).

复测量方差分析), 而对侧机械缩足阈值未变化 (图 4, 重复测量方差分析)。

单次鞘内注射 DEX (100 $\mu\text{mol/L}$, 10 μL) 1 h 后, CCD 大鼠损伤侧机械缩足阈值明显提高并维持 5 h ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$, 图 5, 重复测量方差分析), 表明 DEX 明显抑制 CCD 模型的机械性触诱发痛,

而 DEX 对 sham 组机械缩足阈值没有影响 (图 5, 重复测量方差分析)。

3 讨论

DEX 是 α_2 - 肾上腺素受体激动剂, 除了镇静作用, 还有抑制神经病理性疼痛的作用。DRG 神经

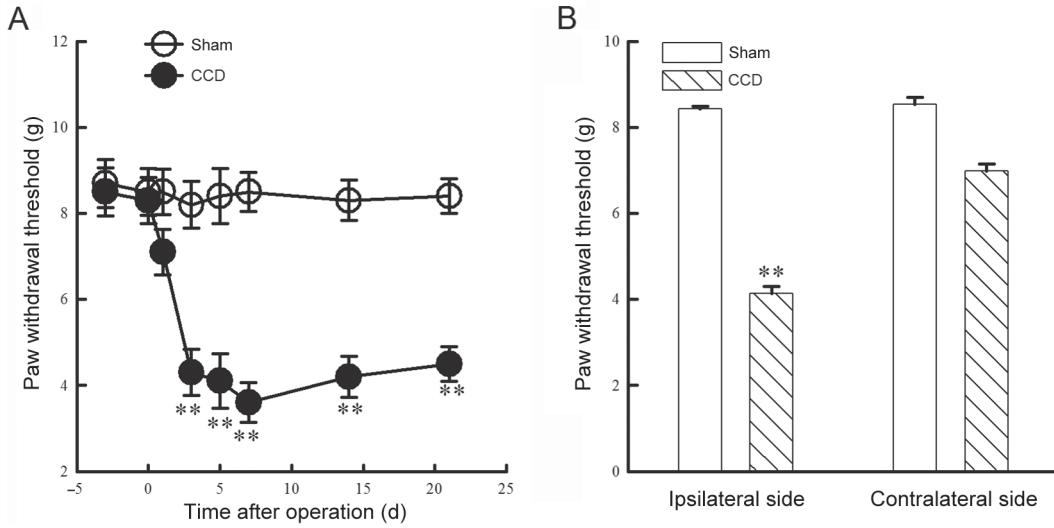


图 4. 背根神经节慢性压迫大鼠损伤侧缩足阈值的变化

Fig. 4. Changes of paw withdrawal threshold of the CCD rats. *A*: Changes of mechanical paw withdrawal threshold in the ipsilateral side after CCD; *B*: Changes of mechanical paw withdrawal threshold in two sides. Mean \pm SD. In sham group, $n = 7$, and in CCD group, $n = 6$. ** $P < 0.01$ vs sham group (repeated ANOVA).

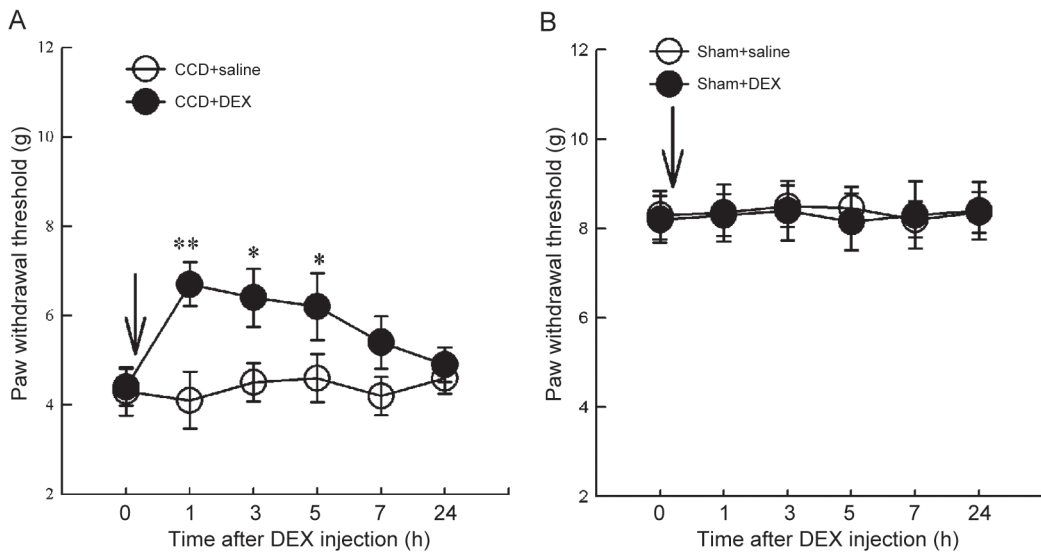


图 5. 右美托咪啉对背根神经节慢性压迫大鼠机械性触诱发痛的影响

Fig. 5. Effects of dexmedetomidine (DEX, 100 $\mu\text{mol/L}$) on the paw withdrawal threshold. Effects of DEX on ipsilateral side paw withdrawal threshold of CCD (*A*) and sham rats (*B*). The arrows indicate the time of DEX injection. Mean \pm SD, $n = 6$. In sham + DEX group, $n = 5$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs CCD + saline group.

元 I_h 参与神经病理性疼痛形成, 本研究结果表明, DEX 通过抑制 DRG C 和 A_δ 类细胞 I_h 电流减轻神经病理性疼痛, 阐明了 DEX 抑制神经病理性疼痛的电流机制, 为 DEX 用于神经病理性疼痛的治疗提供了实验依据。

3.1 DRG 神经元 I_h 参与神经病理性疼痛形成

HCN 通道是超极化激活的非选择性阳离子通道, 被激活产生去极化电流 (I_h), 影响下一个动作电位产生的阈值。 I_h 在调节细胞静息膜电位和兴奋性方面具有关键作用, Mayer 等^[14]首次提出 I_h 电流在 DRG 神经元兴奋性中发挥作用, 包括影响 DRG 神经元膜电位、自发放电、重复放电以及神经递质释放等。 I_h 电流阻断剂 ZD7288 可使 DRG 神经元超极化产生的“sag”消失, 降低传导速度, 延长动作电位持续时间, 增加基强度, 使自发放电和重复放电现象消失^[15]。本研究结果显示, CCD 模型 DRG C 类和 A_δ 类细胞的基强度明显降低, 说明 C 类和 A_δ 类细胞 CCD 模型 DRG 兴奋性升高; 而 AHP 幅度变小 (代表细胞产生下一个动作电位的时程越短), 表明 DRG 细胞的兴奋性升高。CCD 模型 DRG C 类和 A_δ 类细胞兴奋性升高可能与 I_h 电流有关。

研究报道 CCD 模型 DRG 中型神经元的 I_h 电流密度增大并参与神经病理性疼痛形成^[9], 本研究结果也显示 CCD 模型 A_δ 类细胞 I_h 电流密度增大, 说明 CCD 模型神经病理性疼痛与 DRG A_δ 类细胞 I_h 电流密度增大有关; Weng 等^[16]在炎性痛模型上证实机械痛敏与 DRG C 类 I_h 电流密度增大有关, 本研究结果显示 CCD 模型 DRG C 类 I_h 电流密度也增大, 这在 CCD 模型机械痛敏发生中发挥重要作用。行为学研究显示 HCN 阻滞剂 ZD7288 可阻断 I_h 电流, 抑制温和热损伤 (mild thermal injury, MTI) 引起的自发性疼痛和减轻 MTI、脊神经结扎 (spinal nerve ligation, SNL) 和 CCI 引起的机械性触诱发痛^[17-19], 说明 I_h 电流参与神经病理性疼痛的形成。

3.2 DEX 抑制神经病理性疼痛

文献报道 $\alpha 2A$ 、 $\alpha 2B$ 、 $\alpha 2C$ 肾上腺素受体不参与神经病理性疼痛的形成^[20], 但是在脊神经结扎模型上的结果却显示足底皮肤 $\alpha 2B$ 和 $\alpha 2C$ 肾上腺素受体的表达量明显上调^[21]。虽然 $\alpha 2$ -肾上腺素受体是否参与神经病理性疼痛还存在争议, 但是外周 $\alpha 2$ -肾上腺素受体均参与 DEX 的镇痛作用^[20, 21]。在中枢神经系统, DEX 抑制神经病理性疼痛与降低脊

髓炎症前体物质 (IL-1、TNF- α 、IL-6 和 NF- κ B) 表达水平、Glu 释放量、NR2B 表达水平、胶质细胞活性 (下调 P2X4Rs、p-p38-MAPK 和 BDNF 表达水平)、胞内 ERK 通路活性和上调脊髓背角小胶质细胞 IL-18 水平有关^[22-27]。另外, Kimura 等^[28]发现脊髓去甲肾上腺素-胆碱能轴在神经病理性疼痛条件下发生可塑性变化, 介导内源性镇痛, 而 DEX 可增强脊髓与去甲肾上腺素-胆碱能轴的镇痛作用。

鞘内注射、局部注射、腹腔注射等方式注射 DEX 可降低 DRG IL-10 水平、激活 $\alpha 2$ -肾上腺素受体、降低 DRG 神经生长因子表达、减少 DRG 交感神经芽出, 从而抑制神经病理性疼痛^[28-31]。大量研究已证实 DRG 神经元 I_h 参与神经病理性疼痛形成, 引发人们猜想 DEX 抑制神经病理性疼痛是否与 I_h 有关。Yang 等^[10]研究显示, 腹腔注射 DEX 明显增加野生鼠和 $HCN1^{-/-}$ 小鼠的甩尾潜伏期, 而 $HCN1^{-/-}$ 小鼠甩尾潜伏期增加的幅度明显小于 sham 组, 说明 DEX 抑制神经病理性疼痛的作用可能与 I_h 有关。在 HEK 细胞单克隆 HCN1 或 HCN2 通道后, Yang 等^[10]发现 DEX 能明显减小 I_h 电流, 激活电压向更负的方向移动, 这些结果提示 DEX 抑制疼痛可能与 HCN 通道介导的 I_h 电流减小有关, 但是还缺少直接的实验证据明确神经病理性疼痛条件下 DEX 对 I_h 的影响。

3.3 DEX 通过抑制 I_h 电流减轻 CCD 模型神经病理性疼痛

本研究结果显示, CCD 大鼠 DRG C 类和 A_δ 类细胞兴奋性升高: 基强度和 AHP 幅值明显降低; DEX 明显增大 CCD 模型 DRG C 类和 A_δ 类细胞的基强度和 AHP 幅值, 表明 DEX 可降低 DRG C 类和 A_δ 类细胞的兴奋性。本研究全细胞膜片钳结果显示, DEX 明显减小 CCD 模型 DRG C 类和 A_δ 类细胞 I_h 电流密度。另一方面, 本研究单次鞘内注射结果显示, DEX 能明显抑制机械性触诱发痛, 表明 DEX 通过抑制 DRG 神经细胞 I_h 电流和兴奋性减轻 CCD 模型神经病理性疼痛, 为证明 DEX 通过抑制 I_h 电流参与镇痛提供了动物实验证据。

I_h 电流由 HCN 控制, 而 HCN 有 4 种不同亚型, 分别由不同基因编码合成, 这 4 种亚型的核心跨膜区域和环核苷酸的结合结构域同源性高达 80%, 但是在胞质区域内各个亚型的氨基末端和羧基末端差别较大, 胞质内结构的不同, 造成通道电流的动力学和结合位点的敏感性有较大不同。HCN1 具有快

速动力学特征,多表达在外周神经系统、感觉器官和中枢神经系统;HCN2在大脑和脊髓中分布广泛,相比之下,HCN3在大脑中的表达较少;HCN4主要分布在心肌系统。在外周神经系统,HCN1和HCN2是研究镇痛机制的靶点^[32],其表达丰富^[33]。特异性敲除HCN1对多种模型的疼痛程度没有影响^[34],而Emery等^[35]研究显示,敲除HCN2基因后,神经病理性疼痛的机械痛敏均消失,说明HCN2在神经病理性疼痛形成中发挥关键作用。DEX抑制CCD大鼠DRG I_h 电流是否与DRG C类和A_δ类细胞HCN2的表达变化有关,需要进一步实验证明。

综上所述,本研究结果显示,在神经病理性疼痛模型上DEX能明显抑制DRG C类和A_δ类细胞的 I_h 电流,降低细胞兴奋性,降低机械痛敏,为DEX临床应用于神经病理性疼痛治疗提供了动物实验证据。

参考文献

- Briggs CA, Chandraraj S. Variations in the lumbosacral ligament and associated changes in the lumbosacral region resulting in compression of the fifth dorsal root ganglion and spinal nerve. *Clin Anat* 1995; 8(5): 339–346.
- Hong QX (洪庆熊), Xiong X, Long WF, Zhong M, Li YJ, Xiao JB, Zhao WX. Sedative effect of dexmedetomidine and application of Narcotrend index in percutaneous transforaminal endoscopic discectomy. *J Pract Med (实用医学杂志)* 2014; 30(23): 3722–3724 (in Chinese with English abstract).
- Paul S, Bhattacharjee DP, Ghosh S, Dawn S, Chatterjee N. Efficacy of intra-articular dexmedetomidine for postoperative analgesia in arthroscopic knee surgery. *Ceylon Med J* 2010; 55(4): 111–115.
- Lee C, Kim YD, Kim JN. Antihyperalgesic effects of dexmedetomidine on high-dose remifentanyl-induced hyperalgesia. *Korean J Anesthesiol* 2013; 64(4): 301–307.
- Maccaferri G, McBain CJ. The hyperpolarization-activated current (I_h) and its contribution to pacemaker activity in rat CA1 hippocampal stratum oriens-alveus interneurons. *J Physiol* 1996; 497(Pt 1): 119–130.
- Gasparini S, DiFrancesco D. Action of the hyperpolarization-activated current (I_h) blocker ZD 7288 in hippocampal CA1 neurons. *Pflugers Arch* 1997; 435(1): 99–106.
- Sun Q, Xing GG, Tu HY, Han JS, Wan Y. Inhibition of hyperpolarization-activated current by ZD7288 suppresses ectopic discharges of injured dorsal root ganglion neurons in a rat model of neuropathic pain. *Brain Res* 2005; 1032(1–2): 63–69.
- Harper AA, Lawson SN. Conduction velocity is related to morphological cell type in rat dorsal root ganglion neurones. *J Physiol* 1985; 359: 31–46.
- Zhang M, Han W, Zheng J, Meng F, Jiao X, Hu S, Xu H. Inhibition of hyperpolarization-activated cation current in medium-sized DRG neurons contributed to the antiallodynic effect of methylcobalamin in the rat of a chronic compression of the DRG. *Neural Plast* 2015; 2015: 197392.
- Yang YC, Meng QT, Pan X, Xia ZY, Chen XD. Dexmedetomidine produced analgesic effect via inhibition of HCN currents. *Eur J Pharmacol* 2014; 740: 560–564.
- Berta T, Qadri Y, Tan PH, Ji RR. Targeting dorsal root ganglia and primary sensory neurons for the treatment of chronic pain. *Expert Opin Ther Targets* 2017; 21(7): 695–703.
- Yaksh TL, Rudy TA. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav* 1976; 17(6): 1031–1036.
- Steeds CE. The anatomy and physiology of pain. *Surgery* 2009; 27(12): 507–511.
- Mayer ML, Westbrook GL. A voltage-clamp analysis of inward (anomalous) rectification in mouse spinal sensory ganglion neurones. *J Physiol* 1983; 340: 19–45.
- Dunlop J, Vasilyev D, Lu P, Cummons T, Bowlby MR. Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN) channels and pain. *Curr Pharm Des* 2009; 15(15): 1767–1772.
- Weng X, Smith T, Sathish J, Djouhri L. Chronic inflammatory pain is associated with increased excitability and hyperpolarization-activated current (I_h) in C- but not Adelta-nociceptors. *Pain* 2012; 153(4): 900–914.
- Lotsch J, Walter C, Felden L, Noth U, Deichmann R, Oertel BG. The human operculo-insular cortex is pain-preferentially but not pain-exclusively activated by trigeminal and olfactory stimuli. *PLoS One* 2012; 7(4): e34798.
- Kurth F, Zilles K, Fox PT, Laird AR, Eickhoff SB. A link between the systems: functional differentiation and integration within the human insula revealed by meta-analysis. *Brain Struct Funct* 2010; 214(5–6): 519–534.
- Forss N, Raij TT, Seppa M, Hari R. Common cortical network for first and second pain. *Neuroimage* 2005; 24(1): 132–142.
- Malmberg AB, Hedley LR, Jasper JR, Hunter JC, Basbaum AI. Contribution of α_2 receptor subtypes to nerve injury-induced pain and its regulation by dexmedetomidine. *Br J Pharmacol* 2001; 132(8): 1827–1836.
- Lee HG, Choi JI, Kim YO, Yoon MH. The role of α_2 adrenoceptor subtype in the antiallodynic effect of intraplantar dexmedetomidine in a rat spinal nerve ligation model. *Neurosci Lett* 2013; 557 Pt B: 118–122.
- Li SS, Zhang WS, Ji D, Zhou YL, Li H, Yang JL, Xiong YC, Zhang YQ, Xu H. Involvement of spinal microglia and inter-

- leukin-18 in the anti-nociceptive effect of dexmedetomidine in rats subjected to CCI. *Neurosci Lett* 2014; 560: 21–25.
- 23 Zhou TT, Wu JR, Chen ZY, Liu ZX, Miao B. Effects of dexmedetomidine on P2X4Rs, p38-MAPK and BDNF in spinal microglia in rats with spared nerve injury. *Brain Res* 2014; 1568: 21–30.
- 24 Liu L, Ji F, Liang J, He H, Fu Y, Cao M. Inhibition by dexmedetomidine of the activation of spinal dorsal horn glia and the intracellular ERK signaling pathway induced by nerve injury. *Brain Res* 2012; 1427: 1–9.
- 25 Liang F, Liu M, Fu X, Zhou X, Chen P, Han F. Dexmedetomidine attenuates neuropathic pain in chronic constriction injury by suppressing NR2B, NF-kappaB, and iNOS activation. *Saudi Pharm J* 2017; 25(4): 649–654.
- 26 Li X, Eisenach JC. alpha2A-adrenoceptor stimulation reduces capsaicin-induced glutamate release from spinal cord synaptosomes. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 299(3): 939–944.
- 27 Farghaly HS, Mahmoud AM, Abdel-Sater KA. Effect of dexmedetomidine and cold stress in a rat model of neuropathic pain: Role of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha. *Eur J Pharmacol* 2016; 776: 139–145.
- 28 Kimura M, Saito S, Obata H. Dexmedetomidine decreases hyperalgesia in neuropathic pain by increasing acetylcholine in the spinal cord. *Neurosci Lett* 2012; 529(1): 70–74.
- 29 Wu JR, Chen H, Yao YY, Zhang MM, Jiang K, Zhou B, Zhang DX, Wang J. Local injection to sciatic nerve of dexmedetomidine reduces pain behaviors, SGCs activation, NGF expression and sympathetic sprouting in CCI rats. *Brain Res Bull* 2017; 132: 118–128.
- 30 Nie B, Zhang S, Huang Z, Huang J, Chen X, Zheng Y, Bai X, Zeng W, Ouyang H. Synergistic interaction between dexmedetomidine and ulinastatin against vincristine-induced neuropathic pain in rats. *J Pain* 2017; 18(11): 1354–1364.
- 31 Gu XY, Liu BL, Zang KK, Yang L, Xu H, Pan HL, Zhao ZQ, Zhang YQ. Dexmedetomidine inhibits Tetrodotoxin-resistant Nav1.8 sodium channel activity through Gi/o-dependent pathway in rat dorsal root ganglion neurons. *Mol Brain* 2015; 8: 15.
- 32 Biel M, Wahl-Schott C, Michalakis S, Zong X. Hyperpolarization-activated cation channels: from genes to function. *Physiol Rev* 2009; 89(3): 847–885.
- 33 Orio P, Madrid R, de la Pena E, Parra A, Meseguer V, Bayliss DA, Belmonte C, Viana F. Characteristics and physiological role of hyperpolarization activated currents in mouse cold thermoreceptors. *J Physiol* 2009; 587(Pt 9): 1961–1976.
- 34 Momin A, Cadiou H, Mason A, McNaughton PA. Role of the hyperpolarization-activated current I_h in somatosensory neurons. *J Physiol* 2008; 586(24): 5911–5929.
- 35 Emery EC, Young GT, Berrocoso EM, Chen L, McNaughton PA. HCN2 ion channels play a central role in inflammatory and neuropathic pain. *Science* 2011; 333(6048): 1462–1466.