

芬太尼诱导的大鼠急性痛觉过敏和脊髓炎性反应有关

常路¹, 叶芳², 舒海华^{1,2}, 李桥波³, 杨琳⁴, 黄文起²

(1. 广东省第二人民医院麻醉科, 广东广州 510317; 2. 中山大学附属第一医院麻醉科, 广东广州 510080;
3. 天津市儿童医院麻醉科, 天津 300074; 4. 广州市番禺区中心医院, 广东广州 511400)

摘要:【目的】探索芬太尼诱导的急性痛觉过敏模型中, 大鼠脊髓促炎因子表达的变化。【方法】64只雄性SD大鼠分为2组($n=32$), 实验组(Fentanyl组)皮下注射芬太尼60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 共4次, 每次间隔15 min, 对照组(Normal saline组)皮下注射生理盐水4次。于注射前1 d(D-1)、注射后1、2、3、4 h及1~5 d对各组大鼠进行压尾机械伤害阈值(Tail flick threshold, TFT)和足底热伤害潜时(Paw withdrawal latency, PWL)两项疼痛行为学测试。注射前1 d, 注射后4 h及1~4 d每组随机选取4只大鼠处死, 取腰段脊髓, 以蛋白印迹法(Western blot)测定NF- κB 表达, 以酶联免疫吸附法(ELISA)测定PGE2、TNF- α 、IL-1 β 和IL-6的表达。【结果】①对照组大鼠行为学(TFT和PWL)及脊髓NF- κB p65、PGE2、IL-1 β 、TNF- α 分子水平与基础值相比无统计学差异。②实验组大鼠注射后1hTFT及PWL值升高至最高水平(高于基础水平), 随后下降, 在注射后第1天降低至最低水平(低于基础水平), 随后上升, 在第3天恢复至基础水平; 脊髓NF- κB 、PGE2、IL-1 β 、TNF- α 在注射后4 h、1及2 d表达升高, IL-6在注射后4 h及1 d表达升高。【结论】急性皮下注射芬太尼可引起大鼠的热及机械痛觉过敏和脊髓促炎因子的升高, 且行为学及分子学的改变在时间上平行, 提示芬太尼诱导的大鼠痛觉过敏和脊髓炎性反应相关。

关键词: 芬太尼; 痛觉过敏; 脊髓; 炎症

中图分类号: R961

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2017)01-0015-06

Fentanyl Induced Acute Hyperalgesia is Associated with Spinal Inflammatory Reaction in Rats

CHANG Lu¹, YE Fang², SHU Hai-hua^{1,2}, LI Qiao-bo³, YANG Lin⁴, HUANG Wen-qi²

(1. Department of Anesthesiology, Guangdong No.2 Provincial People's Hospital, Guangzhou 510317; 2. Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080; 3. Department of Anesthesiology Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300074; 4. Department of Anesthesiology, Guangzhou Panyu Central Hospital, Guangzhou 511400)

Corresponding to: SHU Hai-hua, E-mail: shuhaihua@hotmail.com

Abstract: 【Objective】To investigate the change of spinal pro-inflammatory cytokines in a rat model of fentanyl induced acute hyperalgesia. 【Methods】64 male SD rats were divided into 2 groups ($n=32$), fentanyl group and NS group. The rats were subcutaneously injected with fentanyl (60 $\mu\text{g}/\text{kg}$) or normal saline (1.2 mL/kg) 4 times with 15-minute intervals. Mechanical nociceptive thresholds and thermal nociceptive latency were measured via the tail pressure test (Tail flick thresholds, TFT) and paw withdrawal test (Paw withdrawal latency, PWL) on the day before, at 1, 2, 3, and 4 hour and on 1~5 day after injection. 4 rats were killed concomitantly and the lumbar spinal cord were harvested to analysis the expression of NF- κB , PGE2, TNF- α , IL-1 β , and IL-6. 【Results】There were no significant changes of TFT, PWL and the expression of spinal inflammatory cytokines such as NF- κB , PGE2, IL-1 β , and TNF- α compared to baseline of rats treated with normal saline. The value of TFT, PWL in fentanyl group raised to the highest (above the baseline) at the 1st hour after fentanyl injections and decreased thereafter, reached the lowest at the 1st day, raised increasingly and up to baseline on the 3 day after injection. NF- κB , PGE2, IL-1 β , and TNF- α increased at the 4th hour, on 1 and 2 day and IL-6 increased at the 4 hour and on the 1 day after fentanyl injections. 【Conclusion】Subcutaneously injection of fentanyl induced significant mechanical and thermal hyperalgesia and increased spinal pro-inflammatory cytokines parallelly, indicated that fentanyl induced acute hyperalgesia is associated with spinal inflammatory reaction in rats.

Key words: fentanyl; hyperalgesia; spinal cord; inflammation

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(1): 15-20]

收稿日期: 2016-11-07

基金项目: 国家自然科学基金(81571071); 广东省自然科学基金(2014A030313203)

作者简介: 常路, 硕士研究生, 研究方向: 阿片诱导的痛觉过敏及治疗, E-mail: changlu0728@163.com; 舒海华, 通信作者, 教授, E-mail: shuhaihua@hotmail.com, 现在广东省第二人民医院麻醉科工作。

作为阿片类药物的代表,芬太尼(fentanyl)目前广泛用于围术期镇痛^[1]和各种急慢性痛的治疗^[2]。和其他阿片类药物(如瑞芬太尼和吗啡一样),芬太尼的镇痛作用通过激动中枢神经系统中的 μ 受体实现,但其反复或大量使用可引起阿片诱导的痛觉过敏(opioid induced hyperalgesia, OIH)。OIH表现为正常的阈下刺激即可引起疼痛,可能恶化术后疼痛甚至增加术后疼痛慢性化的发生,需要积极干预^[3]。导致OIH发生的机制目前尚不清楚,普遍认为其发生与各种原因造成的中枢敏化和脊髓神经塑性改变有关^[4-5]。最近研究表明,脊髓神经炎性反应是引起中枢敏化和脊髓神经可塑性改变的重要机制^[4]。研究发现,慢性吗啡暴露可导致脊髓胶质细胞的核因子 κ B(NF- κ B)和p38激酶等激活,并引起细胞因子、前列腺素、白介素和兴奋性氨基酸等的产生和释放增加,从而引起脊髓神经炎性反应^[5]。我们^[6]和其他作者^[7]的既往研究发现,无论在人体还是动物上,环氧酶2(COX-2)抑制剂均可抑制OIH的发生,提示中枢神经系统的COX-2活化在OIH的发生中有重要作用。临床研究^[4-5]明确了手术期短时期的芬太尼暴露可引起痛觉过敏,但是芬太尼暴露是否会引起脊髓促炎症因子产生增加和脊髓炎性反应,目前还不清楚。本实验拟建立大剂量芬太尼诱导的大鼠痛觉过敏模型并测定脊髓促炎分子NF- κ B p65、前列腺素E2(PGE2)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素6(IL-6)的表达,以明确急性芬太尼暴露和脊髓炎症的关系。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

64只SPF级雄性SD大鼠,2~3月龄,体质量180~250g,中山大学实验动物中心(实验动物质量合格证编号:SCXK(粤)2011-0029)提供。以苦味酸标记后根据随机数表分为2组,实验组(fentanyl组)和对照组(NS组), $n=32$ 。实验室温度18~22 $^{\circ}$ C,湿度40%~70%,空气流通,自然昼夜光线下饲养,自由饮水进食。实验前在实验室内分笼饲养3d,使其充分适应环境。

主要仪器:ZH-YLS-3E电子压痛仪(安徽省淮北正华生物仪器设备有限公司)、Lifescience热

痛仪(美国Lifescience公司)、MK3酶标仪(美国Thermo公司)、蛋白电泳和转膜系统(美国Bio-rad公司)

主要试剂:枸橼酸芬太尼注射液(宜昌人福药业有限责任公司,批号:1141101)、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 试剂盒(上海依科赛生物制品有限公司)、PGE2试剂盒(美国RND公司)、兔抗大鼠P65抗体、兔抗人GAPDH抗体(美国CST公司)

1.2 实验方法

1.2.1 芬太尼诱导的痛觉过敏模型建立 本实验分为芬太尼组(Fentanyl组,以下简称为F组)和生理盐水组(Normal saline组,以下简称NS组)。F组的痛觉过敏模型参照E.Celerier等^[8]的方法,大鼠皮下注射芬太尼(浓度50 μ g/mL)60 μ g/kg共4次,总量240 μ g/kg,每次间隔15min,对照组每次注射生理盐水1.2mL/kg共4次,给药间隔同上。模型建立后根据行为学确定造模效果。

1.2.2 行为学测试 行为学测试在每天的9~12点进行,给药前5d开始大鼠每天适应热痛仪的透明有机玻璃隔笼和压痛仪的筒形固定器,前3d开始每天测定压尾机械阈值(TFT)和足底热伤害潜时(PWL)。前1d测量TFT和PWL值并记录作为基线。给药后1、2、3、4h及1~5d每天进行行为学测试。

TFT测定:大鼠固定于筒形固定器中,在尾端10cm处做一标记,将该位置平放于压痛平台上,使楔形压痛模块于正好对准标记点处,待大鼠安静后开始测量,记录大鼠尾部出现明显甩动或肢体明显蜷缩等逃避反应时的压力(g)。重复测量3次,每次间隔5min,取3次平均值作为大鼠的TFT。为了避免组织损伤,实验终点设为600g。

PWL测定:有机玻璃箱置于3mm厚的玻璃板上,大鼠在有机玻璃箱中适应至清醒且安静后,用热辐射刺激仪(10v,50w,光斑直径为5mm)照射大鼠左侧后足底正中,记录从开始照射到大鼠出现缩足反射的时间(s)。重复测量3次,每次间隔5min,取3次平均值作为大鼠的PWL。为了避免组织损伤,实验终点设为20s。整个测量过程保持大鼠足底的干净干燥。

1.2.3 脊髓促炎分子学测试 取材时间点为给药前1d,给药后4h、1~4d,每次随机选取4只大鼠。将大鼠以10%水合氯醛麻醉后(腹腔注射给药,300mg/kg),剪破右心耳快速放血,将大鼠置

于冰块中,沿背部后正中中线逐层分离至脊椎,小心咬开脊椎,根据解剖定位找到L4~6段脊髓,快速离断后在冰生理盐水中仔细分离表面的脑脊膜,冲洗干净后每标本均分为两份,放入-80℃低温内保存备用。

Western blot法测定NF- κ Bp65的含量:脊髓称重匀浆,电泳后转膜,分别与一、二抗孵育后显影、暗室拍照并以BI2000图像分析系统分析各蛋白条带的积分光密度

ELISA法测定PGE2、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的含量:脊髓称重匀浆,以倍比稀释法将标准品稀释后加入备好的试剂盒标准孔,稀释后的试剂液和样本液按比例加入样本孔,标准品孔和样本孔中分别加入生物素化抗体工作液后,室温下孵育(PGE2: 60 min; TNF- α , IL-1 β , IL-6: 120 min)后洗板并重复一次,显色后即刻在酶标仪下测量OD₄₅₀值,以MicroplateManager 4.0软件行样品浓度分析,结果以pg/mg表示。

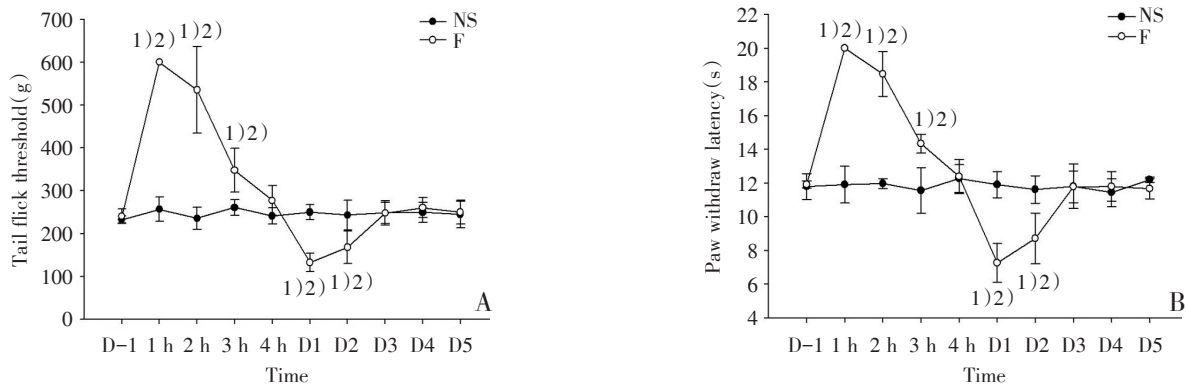
1.2.4 数据分析 数据分析采用SPSS 13.0统计软件包(SPSS Inc, USA)进行统计分析,检验水准: $\alpha = 0.05$,检验功效0.8。结果以均数 \pm 标准差(Mean \pm Std)表示,方差齐性检验用Levene法。行为学及分子学结果比较:以重复测量资料的方差分析确定影响主因素,以One-way ANOVA(方差齐)或Kruskal-Wallis秩和检验(方差不齐)对组内各时点进行比较,以 t 检验(方差齐)或Wilcoxon秩和检验(方差不齐)进行同一时点两组间的比较; $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学结果

重复测量的方差分析结果表明芬太尼组及盐水组大鼠机械痛阈存在统计学差异($F = 124.829$, $P < 0.001$)如图1A所示,实验组与对照组大鼠机械痛阈基线无统计学差异。对照组(NS组)大鼠的TFT在注射后各时点相比注射前无显著差异,实验组(F组)大鼠的TFT在注射后1 h上升至最高,随后下降,在1~3 h均高于基础值,在4 h降至基础值,并在第1天降至最低,随后升高,在1~2 d均低于基础值,在第3~5天恢复至基础水平。实验组大鼠机械痛阈在注射后1、2、3 h高于对照组,1、2 d低于对照组,注射后4 h及3、4、5 d与对照组无统计学差异。

重复测量的方差分析结果示芬太尼组及盐水组大鼠热痛阈存在统计学差异($F = 46.473$, $P < 0.001$)如图1B所示,实验组与对照组大鼠机械痛阈基线无统计学差异。对照组(NS组)大鼠的TFT在注射后各时点相比注射前无显著差异,实验组(F组)大鼠的TFT在注射后1 h上升至最高,随后下降,在1~3 h均高于基础值,在4 h降至基础值,并在第1天降至最低,随后升高,在1~2 d均低于基础值,在第3~5天恢复至基础水平。实验组大鼠机械痛阈在注射后1、2、3 h高于对照组,1、2 d低于对照组,注射后4 h及3、4、5 d与对照组无统计学差异。



SD rats received subcutaneous fentanyl (60 μ g/kg \times 4) or normal saline (1.2 mL/kg \times 4) with 15-minute intervals. Tail flick threshold (g) (Fig.1A) and paw withdraw latency (s) (Fig.1B) on the day before, at 1, 2, 3, 4 hour and on the 1, 2, 3, 4, 5 day after any treatment were shown as mean \pm Std. ($n=8$). 1) $P < 0.05$ group F vs baseline 2) $P < 0.05$ group F vs Group NS. $P < 0.05$ was considered statistically significant. (NS=normal saline, F=fentanyl)

图1 芬太尼诱导的大鼠机械及热痛觉过敏 ($n=8$, Mean \pm Std)

Fig.1 Fentanyl induced mechanical and thermal hyperalgesia in rats

2.2 分子学结果

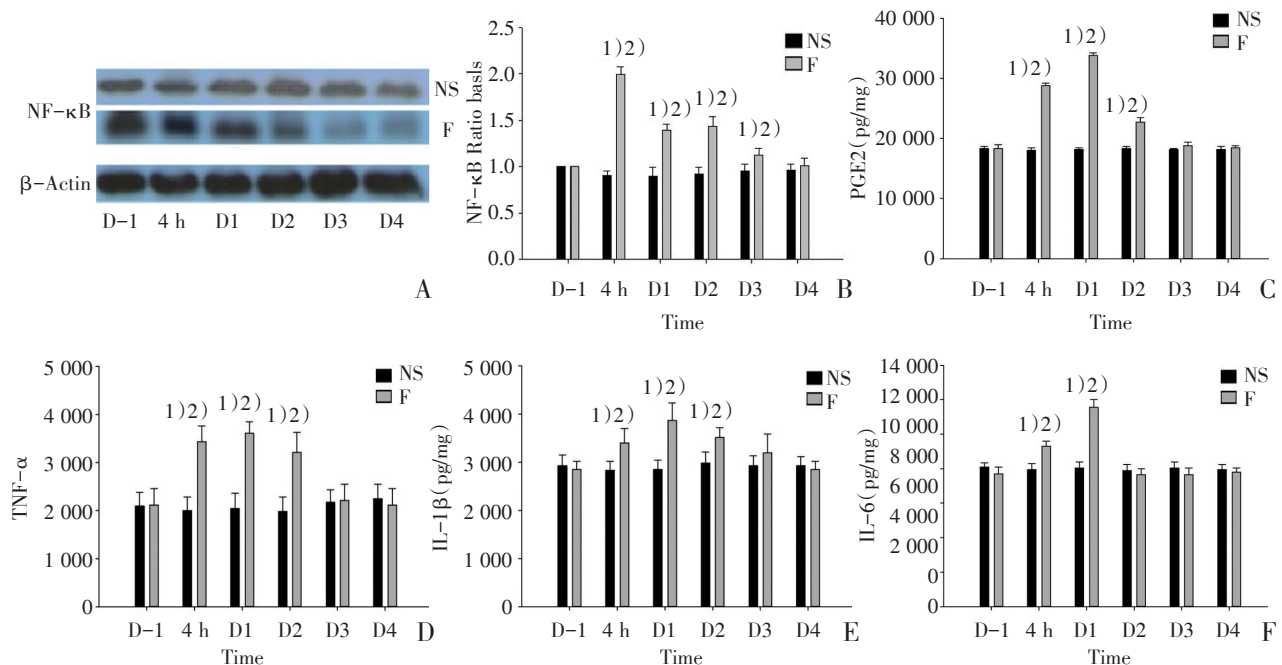
重复测量的方差分析结果示芬太尼组及盐水组大鼠脊髓NF- κ B表达存在统计学差异($F = 709.487$, $P < 0.001$)。如图2AB所示,实验组与对照组大鼠大鼠脊髓NF- κ B基线无统计学差异。对照组(NS组)大鼠脊髓NF- κ B在注射后各时点相比注射前无显著差异,实验组(F组)大鼠脊髓NF- κ B在注射后4 h表达最高,1~3 d表达均高于基础值,4 d降至基础值。实验组大鼠脊髓NF- κ B在注射后4 h,1~3 d高于对照组,第4天与对照组无统计学差异。

重复测量的方差分析结果示芬太尼组及盐水组大鼠脊髓PGE2表达存在统计学差异($F = 1\,044.398$, $P < 0.001$)。如图2C所示,实验组与对照组大鼠大鼠脊髓PGE2基线无统计学差异。对照组(NS组)大鼠脊髓PGE2在注射后各时点相比注射前无显著差异,实验组(F组)大鼠脊髓PGE2在注射后4 h及1、2 d表达升高,第1天表达最高,3、4 d降至基础值。实验组大鼠脊髓PGE2在注射后4 h,1、2 d高于对照组,第3、4天与对照组无统计学差异。

重复测量的方差分析结果示芬太尼组及盐水组大鼠脊髓TNF- α 表达存在统计学差异($F = 101.019$, $P < 0.001$)。如图2D所示,实验组与对照组大鼠大鼠脊髓TNF- α 基线无统计学差异。对照组(NS组)大鼠脊髓TNF- α 在注射后各时点相比注射前无显著差异,实验组(F组)大鼠脊髓TNF- α 在注射后4 h,1、2 d表达升高,第1天表达最高,3、4 d降至基础值。实验组大鼠脊髓TNF- α 在注射后4 h,1、2 d高于对照组,第3、4天与对照组无统计学差异。

重复测量的方差分析结果示芬太尼组及盐水组大鼠脊髓IL-1 β 表达存在统计学差异($F = 19.681$, $P = 0.004$)。如图2E所示,实验组与对照组大鼠大鼠脊髓IL-1 β 基线无统计学差异。对照组(NS组)大鼠脊髓IL-1 β 在注射后各时点相比注射前无显著差异,实验组(F组)大鼠脊髓IL-1 β 在注射后4 h,1、2 d表达升高,第1天表达最高,3、4 d降至基础值。实验组大鼠脊髓IL-1 β 在注射后4 h,1、2 d高于对照组,第3、4天与对照组无统计学差异。

重复测量的方差分析结果示芬太尼组及盐水组



SD rats received subcutaneous fentanyl($60 \mu\text{g}/\text{kg}\times 4$) or normal saline($1.2 \text{ mL}/\text{kg}\times 4$) with 15-minute intervals. Lumbar spinal cord of 4 rats were harvested on the day before, at 4 hour and on the 1, 2, 3, 4 day. After injections in each group and NF- κ b(A, B) was detected via Western blot, PGE2 (pg/mg)(C), TNF- α (pg/mg)(D), IL-1 β (pg/mg)(E) and IL-6(pg/mg)(F) were detected via ELISA. All data were shown as Mean \pm Std.($n = 4$). 1) $P < 0.05$ group F vs baseline 2) $P < 0.05$ group F vs Group NS. $P < 0.05$ was considered statistically significant. (NS=normal saline, F=fentanyl)

图2 芬太尼诱导的大鼠的脊髓分子学改变($n=4$, Mean \pm Std.)

Fig.2 Fentanyl induced molecular changes in spinal of rats

大鼠脊髓IL-6表达存在统计学差异($F = 48.080$, $P < 0.001$)。如图2F所示,实验组与对照组大鼠大鼠脊髓IL-6基线无统计学差异。对照组(NS组)大鼠脊髓IL-6在注射后各时点相比注射前无显著差异,实验组(F组)大鼠脊髓IL-6在注射后4 h及1 d表达升高,第1天表达最高,2~4 d降至基础值。实验组大鼠脊髓IL-6在注射后4 h及1 d高于对照组,第2~4天与对照组无统计学差异。

3 讨论

既往有大量研究建立了动物的OIH模型,本实验中芬太尼诱导的痛觉过敏大鼠模型参照了我们的既往实验^[8]和Laboureyras E等^[9]的方法。和我们的既往研究^[6]一致,在急性、大剂量芬太尼(60 $\mu\text{g}/\text{kg} \times 4$ 次)暴露后,实验组大鼠的行为学在时间上表现为倒“S”型,即1~4 h的镇痛效应和第1~2天的机械及热痛觉过敏。而分子学结果表明,NF- κB 、PGE2、TNF- α 、IL-1 β 在4 h,1~2 d较对照组升高,IL-6在4 h和注射后1d较对照组升高,炎症因子的分子学改变和行为学改变在时间上高度并行,提示在OIH的发生和脊髓炎症因子的增加密切相关。本研究首次证实了急性芬太尼暴露可以引起脊髓促炎症因子的增加。

阿片类药物主要通过激活胶质细胞引起中枢系统的炎症反应。少量存在于小胶质细胞的 μ 受体可与大剂量的阿片结合而激活小胶质细胞,引起 μ 阿片受体介导的免疫效应^[10],释放各种促炎症因子。而广泛存在于神经胶质细胞的TLR4可被阿片类药物激活,活化的TLR4可与MD-2结合形成二聚复合物,促进转录因子NF- κB 的生成^[11],而NF- κB 应答元件存在于多种促炎症因子基因的启动子区域,可从基因层面启动炎症反应的发生^[12]。而本实验中NF- κB p65的表达在给药后早期痛觉过敏还未形成时(芬太尼注射后4h)就显著高于基础水平并达到了峰值,而其他促炎症因子如PGE2、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等在脊髓的表达峰值在痛觉过敏形成后(芬太尼注射后1 d),这也与前述NF- κB 作为转录因子的作用特点相符。

促炎症因子可通过直接和间接作用引起中枢敏化。IL-1 β ^[13]可直接作用于神经元受体TRPV1、GABA、NMDA等受体上调神经元的兴奋性,TNF- α ^[14]则可诱发脊髓背角神经元的自放电。IL-1 β 还可

磷酸化NMDAR参与脊髓水平的伤害信息的传递和加工过程,易化脊髓的伤害感受过程^[15]。正常大鼠鞘内注射IL-1 β ^[16]、TNF- α ^[17]可诱发痛觉过敏。同时,IL-1 β 与TNF- α 又可通过激活NF- κB 启动COX-2的转录正反馈放大神经炎症^[18]。作为COX-2通路的下游分子,PGE2通过EP-1受体在炎性疼痛中发挥作用^[19,20],且PGE2的在脊髓浓度表达常作为中枢致敏的标志^[21]。Shuai Ma^[22]等建立的小鼠慢性吗啡暴露模型中,可观察到IL-1 β 、TNF- α 和IL-6基因表达的升高与痛觉过敏的行为学表现在时间上呈平行关系,这和我们的研究一致。故促炎症因子与促炎症因子、促炎症因子与小胶质细胞之间的互相作用形成了错综复杂的网络关系,并最终造成了炎症反应的级联放大与中枢敏化,在行为学上表现出了机械和热痛觉过敏。

而促炎症因子除了通过中枢神经敏化引发急性痛觉过敏,也在慢性疼痛的形成和维持中起着重要作用。如前所述,IL-1 β 通过磷酸化NMDAR上调其活性,活化的NMDAR在突触传递效能的长时程增强(long time potentiation, LTP)发挥着至关重要的作用^[23],而LTP则被认为是慢性疼痛形成的重要生物学基础^[24]。PGE2通过EP受体激活PKC通路,可引起阿片诱导的急性痛觉过敏向慢性疼痛转化^[25]。TNF- α 可通过介导细胞的程序性死亡^[26],直接引起神经的损伤,进而产生疼痛^[27]。

综上,可认为脊髓炎症改变是痛觉过敏以及急性痛觉过敏向慢性疼痛转化的重要分子机制,那么,以抗炎或者逆转炎症反应为目标,可为痛觉过敏及其发展的治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Bujedo BM, Santos SG, Azpiazu AU. A review of epidural and intrathecal opioids used in the management of postoperative pain [J]. J Opioid Management, 2011, 8(3): 177-192.
- [2] Berna C, Kulich RJ, Rathmell JP. Tapering long-term opioid therapy in chronic noncancer pain: evidence and recommendations for everyday practice//Mayo Clinic Proceedings [C]. Elsevier, 2015, 90(6): 828-842.
- [3] Yildirim V, Doganci S, Cinar S, et al. Acute high dose-fentanyl exposure produces hyperalgesia and tactile allodynia after coronary artery bypass surgery [J]. Euro Review for Med PharmacSciences, 2014, 18(22): 3425-3434.

- [4] Latremoliere A, Woolf CJ. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity[J]. *J Pain*, 2009, 10(9): 895-926.
- [5] Hutchinson MR, Shavit Y, Grace PM, et al. Exploring the neuroimmunopharmacology of opioids: an integrative review of mechanisms of central immune signaling and their implications for opioid analgesia[J]. *Pharmac Reviews*, 2011, 63(3): 772-810.
- [6] 舒海华, 李桥波, 叶芳, 等. 环氧酶-2 抑制剂帕瑞昔布对急性芬太尼诱导的大鼠痛觉过敏的抑制作用[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(5): 711-714.
- [7] Troster A, Sittl R, Singler B, et al. Modulation of remifentanyl induced analgesia and post infusion hyperalgesia by parecoxib in humans [J]. *Anesthesiology*, 2006, 105(9): 1016-1023.
- [8] Célèrier E, Rivat C, Jun Y, et al. Long-lasting hyperalgesia induced by fentanyl in rats preventive effect of ketamine[J]. *J Am Society Anesthet*, 2000, 92(2): 465-465.
- [9] Laboueyras E, Aubrun F, Monsaingeon M, et al. Exogenous and endogenous opioid-induced pain hypersensitivity in different rat strains [J]. *Pain Research & Management: JCanPain Society*, 2014, 19(4): 191-196.
- [10] Börner C, Stumm R, Höllt V, et al. Comparative analysis of mu-opioid receptor expression in immune and neuronal cells[J]. *J Neuro*, 2007, 188(1): 56-63.
- [11] Kenny EF, O'Neill LAJ. Signalling adaptors used by Toll-like receptors: an update [J]. *Cytokine*, 2008, 43(3): 342-349.
- [12] Kawai T, Akira S. Signaling to NF- κ B by Toll-like receptors[J]. *Trends in Mole Med*, 2007, 13(11): 460-469.
- [13] Schafers M, Sorkin L. Effect of cytokines on neuronal excitability[J]. *Neurosci Lett*, 2008, 437(3): 188-193.
- [14] Reeve AJ, Patel S, Fox A, et al. Intrathecal administered endotoxin or cytokines produce allodynia, hyperalgesia and changes in spinal cord neuronal responses to nociceptive stimuli in the rat [J]. *Euro J Pain*, 2000, 4(3): 247-257.
- [15] Zhang RX, Li AH, Liu B, et al. IL-1ra alleviates inflammatory hyperalgesia through preventing phosphorylation of NMDA receptor NR-1 subunit in rats [J]. *Pain*, 2008, 135(3): 232-239
- [16] Sung CS, Wen ZH, Chang WK, et al. Intrathecal interleukin-1 administration induces thermal hyperalgesia by activating inducible nitric oxide synthase expression in the rat spinal cord[J]. *Brain Res*, 2004, 1015(1-2): 145-153
- [17] 周子超, 姚尚龙, 游志坚. 鞘内注射肿瘤坏死因子- α 对大鼠痛阈的影响[J]. *华中医学杂志*, 2008, 32(4): 262-264.
- [18] Narita M, Shimamura M, Imai S, et al. Role of interleukin-1 beta and tumor necrosis factor- α -dependent expression of cyclooxygenase-2 mRNA in thermal hyperalgesia [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2001, 41(9): 661-690.
- [19] Breyer RM, Bagdassarian CK, Myers SA, et al. Prostanoid receptors: subtypes and signaling [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2001, 41(9): 661-690.
- [20] Millan MJ. The induction of pain: an integrative review [J]. *Prog Neurobiol*, 1999, 57(1): 1-164.
- [21] Guevara C, Fernandez AC, Cardenas R, et al. Reduction of spinal PGE 2 concentrations prevents swim stress-induced thermal hyperalgesia [J]. *Neuroscience letters*, 2015, 591(9): 110-114.
- [22] Ma S, Li XY, Gong N, et al. Contributions of spinal d-amino acid oxidase to chronic morphine-induced hyperalgesia [J]. *J Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 2015.
- [23] Yan X, Jiang E, Gao M, et al. Endogenous activation of presynaptic NMDA receptors enhances glutamate release from the primary afferents in the spinal dorsal horn in a rat model of neuropathic pain [J]. *J Physiology*, 2013, 591(7): 2001-2019.
- [24] Ji RR, Kohno T, Moore KA, et al. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? [J]. *Trends in Neurosciences*, 2003, 26(12): 696-705.
- [25] Joseph EK, Reichling DB, Levine JD. Shared mechanisms for opioid tolerance and a transition to chronic pain [J]. *J Neuroscience*, 2010, 30(13): 4660-4666.
- [26] Huang Y, Erdmann N, Peng H, et al. The role of TNF related apoptosis-inducing ligand in neurodegenerative diseases [J]. *Cell Mol Immunol*, 2005, 2(2): 113-122.
- [27] Navarro X, Vivó M, Valero-Cabré A. Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration [J]. *Pro Neuro*, 2007, 82(4): 163-201.

(编辑 王晓鹰)