

NF-KappaB、p38 MAPK 和 JNK 通路在运动神经损伤引起的大鼠病理性疼痛中的作用及机制

臧颖, 陈秋英, 李玉莹, 刘先国*

(中山大学 疼痛研究中心//中山医学院生理教研室, 广东 广州 510080)

摘要:【目的】探讨肿瘤坏死因子 α (TNF- α)激活的下游信号转导途径-核转录因子 kappaB (NF- κ B)、JNK 和 p38 MAPK是否参与运动神经损伤引起的大鼠病理性疼痛的形成,并探讨其可能机制。【方法】采用痛行为学测试和免疫荧光组织化学方法,观察蛛网膜下腔内注射 NF- κ B 抑制剂(PDTC)、p38 MAPK 抑制剂(SB203580)和 JNK 抑制剂(SP600125)对腰5脊神经前根切断(L5-VRT)大鼠机械性痛过敏及腰5背根神经节(DRG)内电压门控钠通道(Nav1.3)表达的影响。【结果】① L5-VRT 术前应用 NF- κ B 抑制剂 PDTC 可完全抑制大鼠双侧机械性痛过敏的形成,并阻断同侧 L5 DRG 内 Nav1.3 的上调;② 术前应用 p38 MAPK 抑制剂 SB203580 和 JNK 抑制剂 SP600125 主要抑制大鼠对侧后肢的机械性痛过敏;对手术同侧 DRG 内 Nav1.3 的表达,SB203580 和 SP600125 分别具有完全阻断和部分阻断作用;③ 术后 7 d 给予 PDTC 或 SB203580 或 SP600125 对已形成的大鼠机械性痛过敏均无影响。【结论】运动神经损伤可能通过 NF- κ B、p38 MAPK 和 JNK 途径调控未损伤 DRG 神经元内 Nav1.3 的表达从而进一步调控 L5-VRT 引起的大鼠后肢机械性痛过敏。

关键词: 痛超敏; 肿瘤坏死因子- α ; NF-kappaB; p38 MAPK; JNK; 钠通道

中图分类号: R338.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-3554(2009)06-0645-07

Role of NF-KappaB, p38 MAPK, and c-jun N-terminal Kinase in Neuropathic Pain Rats Following Motor Nerve Injury

ZANG Ying, CHEN Qiu-ying, LI Yu-ying, LIU Xian-guo*

(Pain Research Center//Department of Physiology of Zhongshan Medical School, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】 To test the idea that the downstream molecules of TNF- α [NF-kappa B, p38 MAPK, and c-jun N-terminal kinase (JNK)] might be involved in the development of neuropathic pain induced by L5 ventral root transection (L5-VRT). 【Method】 The behavioral test and the method of immunofluorescence staining were used to observe the affections of the three inhibitors of NF-kappa B, p38 MAPK, and JNK on the mechanical allodynia induced by L5 VRT and the expression of Nav1.3 in L5 dorsal root ganglion (DRG). 【Result】 Intrathecal injection of NF-kappa B inhibitor (PDTC) or JNK inhibitor (SP600125) or p38 inhibitor (SB203580), administered 10 min before L5-VRT, all of these significantly inhibited the expression of Nav1.3 in ipsilateral L5 DRGs. Single pre-treatment of PDTC completely attenuated bilateral mechanical allodynia. Intrathecal injection of SB203580 or SP600125 being applied 10 min before L5-VRT and once daily thereafter until day 7 after surgery, attenuated the contralateral, but not the ipsilateral, mechanical allodynia. 【Conclusion】 NF- κ B, p38 MAPK, and JNK pathways, through down-regulating the expression of Nav1.3 in L5 DRG, could inhibit the rat mechanical allodynia induced by motor nerve injury.

Key words: allodynia; tumor necrosis factor-alpha; NF-kappaB; p38 MAPK; c-jun N-terminal kinase; sodium channels

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2009, 30(6): 645-651]

经典的神经病理性疼痛模型大多涉及感觉传入的损伤。早期研究认为,被损伤的感觉神经产生

收稿日期: 2009-05-31

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(30900436)

作者简介: 臧颖, 博士, 讲师, E-mail: yingzang@163.com; * 通信作者, 刘先国, liuxg@mail.sysu.edu.cn

的异位放电是引起病理性疼痛的原因^[1]。但最近的研究不支持这一观点,因为切断损伤神经与脊髓的联系不能缓解异常痛行为反应^[2];外周神经损伤后邻近未损伤神经元上也有异位放电的产生^[3],因此,未损伤的传入神经产生的异位冲动可能在病理性疼痛中起关键作用。新近研究发现,选择性切断大鼠腰5脊神经前根(lumbar 5 ventral root transection, L5-VRT),在不损伤初级感觉传入的情况下可以引起大鼠双后肢痛过敏^[4],我们的近期研究也验证了这一结论^[5]。此外,大量研究已表明肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)在病理性疼痛的形成中扮演重要角色。我们近期发现 TNF- α 在 L5-VRT 引起的大鼠病理性疼痛的诱导和早期维持中具有重要作用^[5]。TNF- α 作用于其 I 型受体(TNFR1)^[6]可激活两条信号转导途径,即通过 I κ B 激酶(I κ K)激活核转录因子 kappaB (NF- κ B)和通过丝裂原-激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族中的 JNK(c-jun 氨基末端激酶, c-jun N-terminal kinase)和 p38 激活 AP-1^[7]。现已证实这两条信号转导途径在周围神经损伤引起的病理性疼痛中均发挥重要作用^[8-9],但它们是否参与运动神经损伤引起的病理性疼痛尚无报道。本实验拟在大鼠 L5-VRT 术前 10 min 或术后 7 d,分别鞘内注射 NF- κ B 抑制剂(PDTC)。JNK 抑制剂(SP600125)或 p38 MAPK 抑制剂(SB203580),观察阻断上述信号转导通路对 L5-VRT 引起的大鼠痛过敏的影响,并探讨其可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

将 66 只实验动物(成年雄性 SD 大鼠,体质量 150~200 g)随机分组:假手术组、PDTC 用药组、SB203580 用药组、SP600125 用药组和溶剂对照组。动物均由中山大学北校区实验动物中心提供,分笼饲养,室温及室内相对湿度分别维持在(22±1)℃和(65±5)%,按照大鼠的生物节律将光照时间维持在每日的 7:00 AM-7:00 PM。为尽量减轻实验中动物的痛苦,所有实验步骤均按照有关实验动物的使用原则操作。

1.2 腰5脊神经前根切除模型的制作

在 4 g/L 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻

醉下,实验大鼠经备皮、消毒后,按照 Li 等^[4]描述的方法对大鼠行腰5脊神经前根切除手术。在左侧 L4-L5 椎间行半椎板切除术,暴露 L5 根鞘,将 L5 前根小心拉出并形成环状,在 L5 背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)近脊髓侧 3~4 mm 处切断并移去 2 mm 左右的前根,同时将切断的 L5 前根残端分离,避免发生神经纤维的再生。用 3-0 医用缝合线分层缝合肌肉和皮肤,待动物苏醒后,与术前相同条件下喂养。手术中一切手术器具都经严格消毒。假手术组大鼠(Sham 组)只分离出 L5 前根,不做前根切断术。实验结束后,全部 L5-VRT 大鼠经解剖确认前根被切除的位置,不符合标准的动物从实验中排除。

1.3 微创性蛛网膜下腔内给药方法

由于实验设计需要,本实验按照 Watanabe 等^[10]描述的蛛网膜下腔内埋置导管术对部分实验大鼠施行鞘内给药(intrathecal injection)。大鼠麻醉后, L4-S2 脊髓节段处备皮、消毒,并沿中线做一纵行切口,将无菌的 PE-10 管(8 cm)从 L5-L6 椎间隙的硬膜下隙向头端小心插入,使导管尖端置于脊髓腰膨大处,将大鼠置于垂直体位后若导管内有脑脊液流出说明导管尖端位于椎管内,遂将导管固定于周围肌肉组织上用 3-0 医用缝合线逐层缝合切口,暴露于切口外的导管埋置于皮毛中,同时用烧热的镊子封闭导管末端管口。经导管给药前用剪刀将末端封闭管口处剪开,对部分 L5-VRT 大鼠分别于术前 10 min 或术后 7 d 开始给予药物或对照溶剂,微量加样器的给药量不超过 40 μ L, 10 μ L 盐水冲管,给药结束后重新封闭管口。

1.4 50%机械性撤足阈值的测定

将大鼠放置于测试的透明有机玻璃箱(18 cm × 25 cm × 18 cm)内,箱底为金属网制成(网格为 0.8 cm × 0.8 cm),待大鼠安静后,采用 Up-Down 方法^[11],选 8 根强度呈对数递增方式的 von Frey hair (0.41、0.70、1.20、2.04、3.63、5.50、8.51、15.14 g)分别对大鼠后肢左右足心部进行机械性刺激,每次刺激持续时间为 6~8 s。以 2.04 g 刺激强度为初始刺激强度,若撤足反应为阴性则选用刺激强度呈对数递增的相邻 von Frey hair 继续刺激,若撤足反应为阳性,则选择相邻递减的刺激强度给予刺激。如此反复,以第一个转折点的前一点为起点连续 6 次的刺激结果为最终的撤足反应模式,再通过特定的程序将撤足反应模式转换为相应的撤

足阈值。

1.5 免疫组织化学

1.5.1 动物灌注和标本处理 手术后的大鼠,按实验设计饲养规定的时间后,用 200 g/L 乌拉坦(氨基甲酸乙酯,1.5 g/kg)腹腔注射深麻醉。先后用生理盐水和 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(phosphate buffer, PB)配制的 40 g/L 多聚甲醛(pH 7.2~7.4, 4 °C)对动物进行主动灌注固定,约 30 min。解剖动物取出同侧 L5 DRG,在 40 g/L 多聚甲醛中固定 3 h,转入 300 g/L 蔗糖溶液中脱水 3 d。标本经蔗糖脱水后进行冰冻切片(LEICA CM3050S, 德国)并收集于含有 0.01 mol/L PBS 的 24 孔板内,切片为横切面,厚度 16 μm,切片后置于 4 °C 冰箱短暂保存。

1.5.2 免疫荧光组织化学染色及定量分析 将收集于 24 孔板内的 DRG 冰冻切片用 0.01 mol/L PBS 洗 3 次,每次 5 min,室温下加入封闭液,以封闭非特异性结合位点。1 h 后吸去封闭液并加入兔抗-Nav1.3 抗体(1:100; Sigma, St. Louis, USA)。4 °C 过两夜后,吸去一抗, PBS 洗 3 次,每次 5 min,加入标记 Cy3 的 IgG(1:300; Jackson Immuno Research, PA),室温下避光作用 1 h,再用 PBS 洗 3 次,每次 5 min,随机挑选切片贴于载玻片上,立即于荧光显微镜(LEICA DFC350FX/DMIRB, Germany)下观察并拍照。

DRG 组织切片免疫染色结果的定量分析是通过计数每张切片上的免疫阳性细胞获得的。对每只实验大鼠随机挑取 4 张 L5 DRG 切片,在荧光显微镜下计数每张切片上 Nav1.3 免疫活性(Nav1.3 immunoreactivity, Nav1.3-IR)为阳性细胞的百分比,从而得到每只大鼠 Nav1.3-IR 阳性细胞百分比的均数。每个实验组共计数 5~6 只大鼠,最后计算出每组大鼠 Nav1.3-IR 阳性细胞百分比的均数 ± 标准误。

1.6 药物使用

Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC, Sigma, St. Louis, USA)使用前用生理盐水稀释,终浓度为 5 μmol/L。4-(4-fluorophenyl)-2-(4-methylsulfonylphenyl)-5-(4-pyridyl)-1H-imidazole(SB203580, Sigma, St. Louis, USA)使用前先溶于二甲基亚砜(dimethylsulfoxide, DMSO)中(50 g/L),再用生理盐水稀释至 1 g/L(DMSO 体积分数为 2%)。Anthra [1,9-cd]pyrazol-6(2H)-one(SP600125, Calbiochem,

La Jolla, CA)使用前先溶于 DMSO 中(50 mmol/L),再用生理盐水稀释至 5 mmol/L (DMSO 体积分数为 10%)。溶剂对照组大鼠只给予相同体积的 DMSO 盐水,给药方式同实验组(蛛网膜下腔内给药)。

1.7 统计学分析

所有统计学分析均通过 SPSS 10.0 软件进行,实验结果以均数 ± 标准误表示。行为学测试数据:50%撤足阈值(g)使用配对秩和检验(Wilcoxon Signed Ranks Test)。免疫荧光组织化学染色数据的处理首先用单因素方差分析(one-way ANOVA),后用 Tukey 法(Tukey post hoc test)检测组间差异或使用 *t* 检验(Student's *t*-test)进行两组间差异比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抑制 NF-κB 通路对大鼠痛过敏的影响

L5-VRT 可以引起大鼠双侧后肢 50%撤足阈值显著下降,表现出机械性痛过敏,并持续长达 5 周(图 1)。L5-VRT 术前 10 min 单次蛛网膜下腔内注射 PDTC(5 μmol/L, 15 μL)可完全抑制损伤运动神经引起的大鼠双侧后肢机械性痛过敏的形成,抑制效应于术后 1 d 出现并持续至实验结

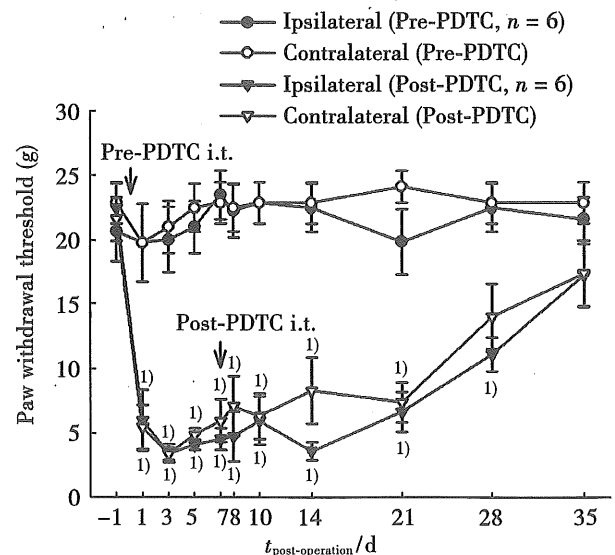


图 1 手术前鞘内注射 PDTC 阻断 L5-VRT 引起的双侧机械性痛过敏的形成

Fig.1 Intrathecal injection of PDTC before L5-VRT (Pre-PDTC) attenuates bilateral mechanical allodynia

PDTC: pyrrolidine dithiocarbamate; Error bar: standard error of mean; 1) $P < 0.05$ vs -1 d.

束(术后 35 d)。为了观察 NF- κ B 激活对已经建立起来的神经病理性疼痛的作用,选择在大鼠 L5-VRT 术后 7 d 即病理性疼痛确立后(撤足阈值显著下降)给予 PDTC,发现其对大鼠双后肢已形成的机械性痛过敏无显著影响,与术前相比,大鼠 50%撤足阈值仍显著小于正常基础对照值 ($P < 0.05$)。

2.2 抑制 p38 MAPK 通路对大鼠痛过敏的影响

如图 2 所示,术前 10 min 蛛网膜下腔内注射 SB203580(1 g/L, 20 μ L),每天 1 次,持续 7 d,可完全阻断 L5-VRT 引起的大鼠对侧后肢机械性痛过敏的形成,对同侧后肢的抑制效应出现较晚(术后 2 周左右撤足阈值逐渐回升),且不完全。L5-VRT 术后 7 d 鞘内注射 SB203580 (1 g/L, 20 μ L),每天 1 次,持续 3 d,对 L5-VRT 引起的大鼠机械性痛过敏无明显影响,给药后大鼠 50%撤足阈值与术前基础值相比差异始终存在($P < 0.05$)。

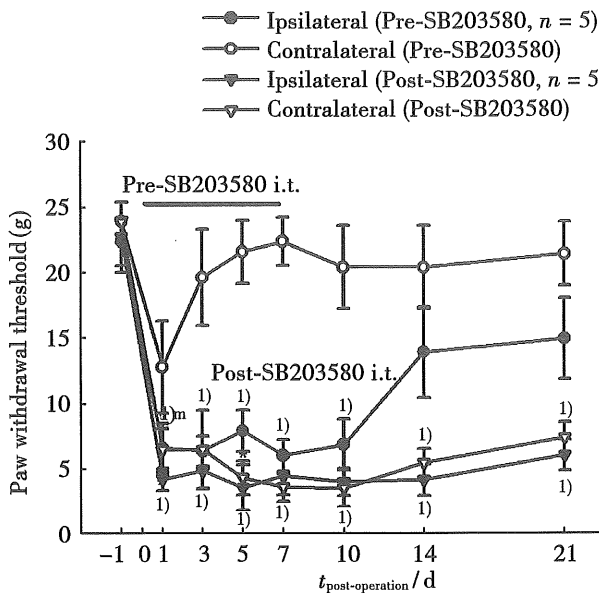


图 2 术前鞘内注射 SB203580 阻断 L5-VRT 引起的对侧机械性痛觉过敏

Fig.2 Intrathecal injection of SB203580 before L5-VRT application attenuates the contralateral mechanical allodynia

Error bar: standard error of mean; 1) $P < 0.05$ vs -1 d

2.3 抑制 JNK 通路对大鼠痛过敏的影响

术前鞘内注射 SP600125 可完全抑制 L5-VRT 引起的大鼠对侧后肢 50%机械性撤足阈值的下降,而对同侧后肢的撤足阈值无影响。L5-VRT 术

后 7 d 给予相同剂量的 SP600125,每天 1 次,持续 3 d,对已形成的大鼠双侧机械性痛过敏均无影响,给药组大鼠 50%撤足阈值与术前基础值相比差异始终存在($P < 0.05$, 图 3)。

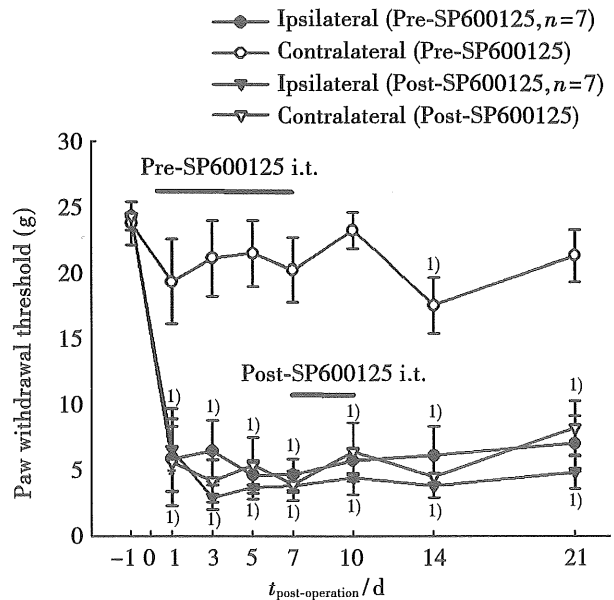


图 3 术前注射 SP600125 抑制 L5-VRT 引起的对侧机械性痛过敏的形成。

Fig.3 Pre-operation SP600125 attenuates the contralateral mechanical allodynia

Error bar: standard error of mean; 1) $P < 0.05$ vs -1 d

2.4 抑制 NF- κ B、p38 MAPK 和 JNK 通路对 DRG 内 Nav1.3 表达的影响

用与上述相同的注射方法和用药剂量,在术后 7 d 对大鼠进行灌流取材,分别对 PDTC, SB203580, SP600125 的术前用药组、溶剂对照组和假手术组大鼠(每组 $n = 5$)进行 Nav1.3 的免疫荧光检测发现(图 4),与假手术组(A)相比,L5 VRT(B, F)可引起术后 7 d 大鼠同侧 L5 DRG 神经元内 Nav1.3 的显著上调,其 Nav1.3-IR 阳性细胞百分比显著高于假手术组($P < 0.001$);术前给予 PDTC(C, F)和 SB203580(D, F)均可完全阻断 L5 VRT 引起的大鼠同侧 DRG 内 Nav1.3 的上调,其 Nav1.3-IR 阳性细胞百分比与假手术组相比无显著差异;但术前给予 SP600125 (E, F)对 L5 VRT 引起的同侧 DRG 内 Nav1.3 的表达仅有部分影响,其 Nav1.3-IR 阳性细胞百分比仍显著高于假手术组($P < 0.001$)。

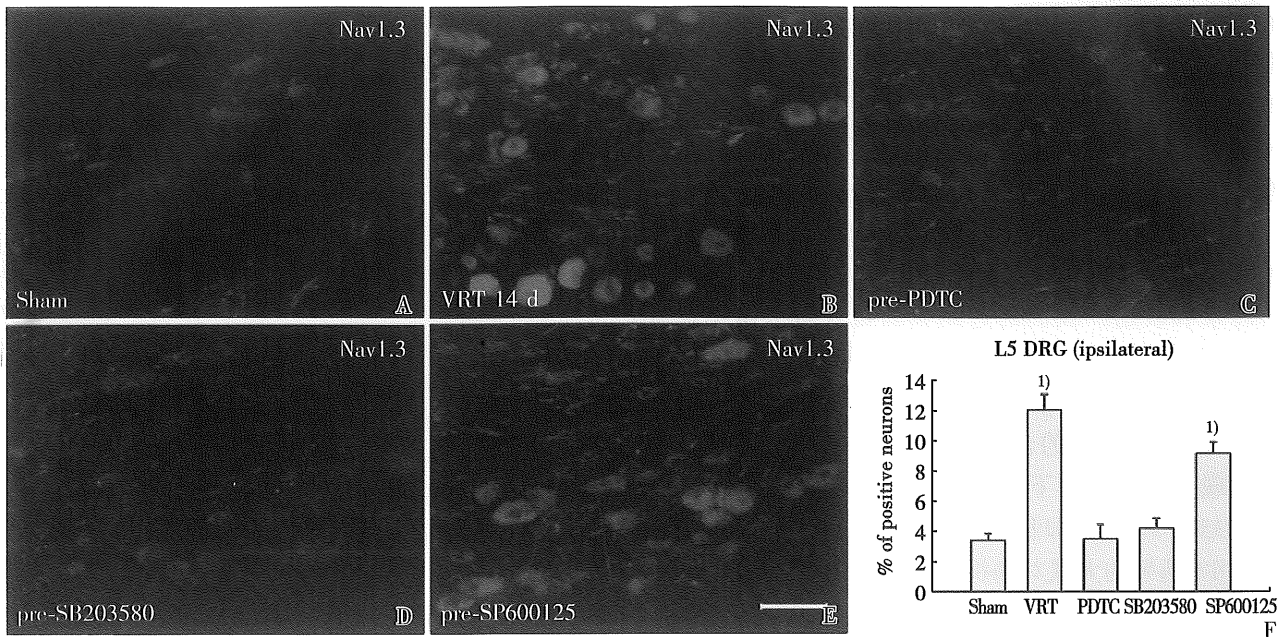


图4 术前鞘内注射 PDTC, SB203580, SP600125 对病理性疼痛大鼠同侧 L5 DRG 神经元内 Nav1.3 表达的影响
Fig.4 The effect with intrathecal injection of PDTC, SB203580 and SP600125 on the expression of Nav1.3 in ipsilateral L5 DRG

A-E: Representative results obtained in ipsilateral L5 DRGs in rats that sham or vehicle treatment or received PDTC, SB203580 and SP600125, started 10 min before L5-VRT; F: Quantification of Nav1.3-IR positive neurons in L5 DRG in above group rats; 1) $P < 0.001$ vs sham group; Error bar: standard error of mean; Scale bar: 50 μm

3 讨论

本研究发现:①L5-VRT 术前应用 NF- κ B 抑制剂 PDTC 可完全抑制大鼠双侧机械性痛过敏的形成,并阻断同侧 L5 DRG 内 Nav1.3 的上调;②术前应用 p38 MAPK 抑制剂 SB203580 和 JNK 抑制剂 SP600125 主要抑制大鼠对侧后肢的机械性痛过敏;对手术同侧 DRG 内 Nav1.3 的表达,SB203580 和 SP600125 分别具有完全阻断和部分阻断作用;③术后 7 d 给予 PDTC 或 SB203580 或 SP600125 对已形成的大鼠痛过敏均无影响。以上结果提示,运动神经损伤可能通过 NF- κ B、p38 MAPK 和 JNK 途径调控未损伤 DRG 神经元内 Nav1.3 的表达从而进一步调控 L5-VRT 引起的大鼠后肢机械性痛过敏。

3.1 抑制 NF- κ B 途径对大鼠痛过敏和 DRG 内 Nav1.3 表达的影响

我们近期的研究^[5]已表明 L5-VRT 可引起未损伤的 DRG 神经元内 TNF- α 显著上调,抑制 TNF- α 的合成可缓解大鼠痛过敏的形成。NF- κ B

是 TNF- α 激活的下游信号转导途径之一,其被 TNF- α 激活后,转而再促进 TNF- α 等细胞因子和其他致痛物质的转录,进而增强蛋白的表达^[12]。已有研究发现,当大鼠坐骨神经部分性损伤后,损伤侧 DRG 内激活的 NF- κ B 阳性神经元数量显著升高;损伤的坐骨神经轴突和施万细胞内 NF- κ B 的免疫活性也强于对侧未损伤处^[13],表明坐骨神经的部分性损伤可直接引起损伤的神经纤维及相应的 DRG 神经元内 NF- κ B 的激活。特异性抑制 I κ B 激酶^[14]或鞘内注射 NF- κ B 的反义寡核苷酸^[15]均可缓解炎性或神经病理性疼痛大鼠的痛过敏行为。此外,在 NF- κ B p50 亚单位基因敲除的小鼠研究中发现,与野生型小鼠相比,基因敲除小鼠对机械刺激和热刺激的反应降低^[16]。以上结果表明 NF- κ B 途径在病理性疼痛的形成中具有重要作用,但这些研究都是建立在感觉传入损伤的痛模型基础上获得的。本研究在损伤运动神经而不损伤感觉传入的情况下,给予 NF- κ B 抑制剂 PDTC 可显著阻断痛过敏的诱导并抑制 Nav1.3 在同侧 DRG 内的表达。由于电压门控钠通道-Nav1.3 的上调可能是神经损伤后 DRG 神经元高兴奋性的主导因

素^[17-18],提示抑制NF- κ B通路可能阻断了DRG内TNF- α 与NF- κ B间的正反馈环路,并最终通过调控Nav1.3的表达,从而抑制痛过敏的形成。

3.2 抑制p38 MAPK和JNK途径对大鼠痛过敏和DRG内Nav1.3表达的影响

已知,TNF- α 不仅可激活NF- κ B通路还可通过p38 MAPK通路和JNK通路的激活增强TNF- α 的转录和表达。我们的近期实验也发现大鼠L5-VRT后,不仅有TNF- α 在DRG和脊髓背角的显著上调^[5],同时也引起p38在DRG和脊髓背角的激活,抑制TNF- α 的合成,可阻断此效应^[19]。本研究发现术前蛛网膜下腔内注射p38 MAPK抑制剂SB203580和JNK抑制剂SP600125均能明显减轻L5-VRT诱导的大鼠对侧机械性痛过敏,并显著抑制Nav1.3在同侧DRG内的上调,提示p38和JNK通路可通过调控DRG内Nav1.3的表达参与阻断由运动神经损伤引起的痛过敏的诱导。

此外,我们的近期研究还发现脊髓表面局部给予PDTC或SB203580或SP600125对正常动物强直刺激引起的C纤维诱发电位的长时程增强(long term potentiation, LTP)无影响,但可完全抑制L5-VRT大鼠TNF- α 诱导的C纤维LTP^[20]。由于脊髓背角C纤维诱发电位的LTP是初级传入C-纤维与脊髓背角神经元之间突触传递效率的增强,被认为是由组织损伤或强烈的伤害性刺激引起的痛觉过敏的中枢机制^[21],提示预处理NF- κ B或p38 MAPK或JNK通路的抑制剂可能通过阻断TNF- α 与这些信号通路间的正反馈环路,进而干预脊髓背角C纤维诱发电位LTP的形成,抑制痛过敏的产生。

本研究应用NF- κ B、p38 MAPK或JNK信号通路的选择性抑制剂在抑制运动神经损伤引起的大鼠机械性痛过敏的同时,都可抑制Nav1.3在DRG内的上调。尽管目前尚没有证据证明NF- κ B、p38 MAPK和JNK信号通路可直接调控Nav1.3的表达,但由于细胞内的信号转导通路可通过相互作用形成复杂的细胞内信号网络^[22],因此推测L5-VRT后DRG内TNF- α 的上调通过激活其下游信号转导通路并在复杂的细胞内信号网络作用下最终引起DRG内Nav1.3上调。抑制上述信号转导通路,可阻断Nav1.3的异常上调,降低初级传入的兴奋性,缓解病理性疼痛的产生。

参考文献:

- [1] Gracely RH, Lynch SA, Bennett GJ. Painful neuropathy: altered central processing maintained dynamically by peripheral input [J]. *Pain*, 1992, 51(2): 175-194.
- [2] Li Y, Dorsi MJ, Meyer RA, et al. Mechanical hyperalgesia after an L5 spinal nerve lesion in the rat is not dependent on input from injured nerve fibers [J]. *Pain*, 2000, 85(3): 493-502.
- [3] Ali Z, Ringkamp M, Hartke TV, et al. Uninjured c-fiber nociceptors develop spontaneous activity and alpha-adrenergic sensitivity following L6 spinal nerve ligation in monkey [J]. *J Neurophysiol*, 1999, 81(2): 455-466.
- [4] Li L, Xian CJ, Zhong JH, et al. Effect of lumbar 5 ventral root transection on pain behaviors: a novel rat model for neuropathic pain without axotomy of primary sensory neurons [J]. *Exp Neurol*, 2002, 175(1): 23-34.
- [5] Xu JT, Xin WJ, Zang Y, et al. The role of tumor necrosis factor-alpha in the neuropathic pain induced by lumbar 5 ventral root transection in rat [J]. *Pain*, 2006, 123(3): 306-321.
- [6] Jiang Y, Woronicz JD, Liu W, et al. Prevention of constitutive TNF receptor 1 signaling by silencer of death domains [J]. *Science*, 1999, 283(5401): 543-546.
- [7] Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives [J]. *Trends Cell Biol*, 2001, 11(9): 372-377.
- [8] Obata K, Noguchi K. MAPK activation in nociceptive neurons and pain hypersensitivity [J]. *Life Sci*, 2004, 74(21): 2643-2653.
- [9] Sun T, Song WG, Fu ZJ, et al. Alleviation of neuropathic pain by intrathecal injection of antisense oligonucleotides to P65 subunit of NF-kappaB [J]. *Br J Anaesth*, 2006, 97(4): 553-558.
- [10] Watanabe C, Sakurada T, Okuda K, et al. The role of spinal nitric oxide and glutamate in nociceptive behaviour evoked by high-dose intrathecal morphine in rats [J]. *Pain*, 2003, 106(3): 269-283.
- [11] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. *J Neurosci Methods*, 1994, 53(1): 55-63.
- [12] O'Neill LA, Kaltschmidt C. NF-Kappa B: a crucial transcription factor for glial and neuronal cell function

- [J]. Trends Neurosci, 1997, 20(6): 252-258.
- [13] Ma W, Bisby MA. Increased activation of nuclear factor kappa B in rat lumbar dorsal root ganglion neurons following partial sciatic nerve injuries [J]. Brain Res, 1998, 797(2): 243-254.
- [14] Tegeder I, Niederberger E, Schmidt R, et al. Specific inhibition of IkappaB kinase reduces hyperalgesia in inflammatory and neuropathic pain models in rats [J]. J Neurosci, 2004, 24(7): 1637-1645.
- [15] Sun T, Song WG, Fu ZJ, et al. Alleviation of neuropathic pain by intrathecal injection of antisense oligonucleotides to P65 subunit of NF-kappaB [J]. Br J Anaesth, 2006, 97(4): 553-558.
- [16] Niederberger E, Schmidt A, Gao W, et al. Impaired acute and inflammatory nociception in mice lacking the P50 subunit of NF-kappaB [J]. Eur J Pharmacol, 2007, 559(1): 55-60.
- [17] Waxman SG, Kocsis JD, Black JA. Type III sodium channel mRNA is expressed in embryonic but not adult spinal sensory neurons, and is reexpressed following axotomy [J]. J Neurophysiol, 1994, 72(1): 466-470.
- [18] Lindia JA, Kohler MG, Martin WJ, et al. Relationship between sodium channel NaV1.3 expression and neuropathic pain behavior in rats [J]. Pain, 2005, 117(1-2): 145-153.
- [19] Xu JT, Xin WJ, Wei XH, et al. P38 activation in uninjured primary afferent neurons and in spinal microglia contributes to the development of neuropathic pain induced by selective motor fiber injury [J]. Exp Neurol, 2007, 204(1): 355-365.
- [20] Liu YL, Zhou LJ, Hu NW, et al. Tumor necrosis factor-alpha induces long-term potentiation of c-fiber evoked field potentials in spinal dorsal horn in rats with nerve injury: the role of NF-kappa B, JNK and p38 MAPK [J]. Neuropharmacology, 2007, 52(3): 708-715.
- [21] Liu X, Sandkuhler J. Characterization of long-term potentiation of c-fiber-evoked potentials in spinal dorsal horn of adult rat: essential role of NK1 and NK2 receptors [J]. J Neurophysiol, 1997, 78(4): 1973-1982.
- [22] Weng G, Bhalla US, Iyengar R. Complexity in biological signaling systems [J]. Science, 1999, 284(5411): 92-96.

(编辑 刘清海)

(上接第 644 页 from page 644)

- horn of adult rat: essential role of NK1 and NK2 receptors [J]. J Neurophysiol, 1997, 78(4): 1973-1982.
- [16] Zhang HM, Zhou LJ, Hu XD, et al. Acute nerve injury induces long-term potentiation of C-fiber evoked field potentials in spinal dorsal horn of intact rat [J]. Sheng Li Xue Bao, 2004, 56(5): 591-596.
- [17] Watkins LR, Maier SF. Beyond neurons: evidence that immune and glial cells contribute to pathological pain states [J]. Physiol Rev, 2002, 82(4): 981-1011.
- [18] Wieseler-Frank J, Maier SF, Watkins LR. Immune-to-brain communication dynamically modulates pain: physiological and pathological consequences [J]. Brain Behav Immun, 2005, 19(2): 104-111.
- [19] Liu YL, Zhou LJ, Hu NW, et al. Tumor necrosis factor-alpha induces long-term potentiation of C-fiber evoked field potentials in spinal dorsal horn in rats with nerve injury: The role of NF-kappa B, JNK and p38 MAPK [J]. Neuropharmacology, 2007, 52(3): 708-715.
- [20] Wang Q, Wu J, Rowan MJ, et al. Beta-amyloid inhibition of long-term potentiation is mediated via tumor necrosis factor [J]. Eur J Neurosci, 2005, 22(11): 2827-2832.
- [21] Hanson GR, Borden LS Jr, Backous DD, et al. Erectile function following unilateral cavernosal nerve replacement [J]. Can J Urol, 2008, 15(9): 3990-3993.
- [22] Sekiguchi M, Sekiguchi Y, Konno SI, et al. Comparison of neuropathic pain and neuronal apoptosis following nerve root or spinal nerve compression [J]. Eur Spine J, 2009, Jun 19[Epub ahead of print] DOI: 10.1007/S00586-009-1064-Z
- [23] Black JA, Cummins TR, Plumpton C, et al. Upregulation of a silent sodium channel after peripheral, but not central, nerve injury in DRG neurons [J]. J Neurophysiol, 1999, 82(5): 2776-2785.

(编辑 刘清海)