doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.15.003

BNP/NPR-A/BKCa 信号通路在大鼠神经痛形成中的作用及机制研究*

薛继娇 冯 慧 孟祥君 李 帅 席富强⁴

(内蒙古科技大学包头医学院第一附属医院神经内科 内蒙古 包头 830011)

摘要目的:探讨 BNP/NPR-A/BKCa 信号通路在大鼠神经痛形成中的作用及机制研究。方法:选取 SPF 级大鼠作为研究对象,并构 建神经痛病理性疼痛大鼠模型。并分为空白对照组、假手术组、A 组(20 ng/mL BNP 梢内注射)、B 组(50 ng/mL BNP 梢内注射)和 C 组(100 ng/mL BNP 梢内注射)。采用 qRT-PCR 和 Western blot 检测 NPR-A 和 BKCa 的 mRNA 和蛋白表达水平。采用 ELISA 法 检查炎症因子。全细胞膜片钳技术检测痛觉神经元 BKCa 通道电流;对大鼠进行机械性痛觉过敏测试和温度性痛觉敏感测试。结 果:与空白组相比,模型组、A、B 和 C 组 PWT 和 PWL 明显更低(P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 PWT 和 PWL 明显更高, 且 C 组大于 B 和 A 组,B 组大于 A 组(P < 0.05)。与空白组相比,模型组 NPR-A 的蛋白和 mRAN 水平明显更高,而 BKCa-α 明显 更低(P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 NPR-A 和 BKCa ^{\alpha} 的蛋白和 mRAN 水平明显更高,而 BKCa-\alpha 明显 更低(P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 NPR-A 和 BKCa-\alpha 的蛋白和 mRAN 水平明显更高, A B A C 组,B 组大于 A 组(P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 NPR-A 和 BKCa-\alpha 的蛋白和 mRNA 明显更高, L C 组大于 B 和 A 组,B 组大于 A 组(P < 0.05)。各电压水平,与空白组相比,模型组、A、B 和 C 组 BKCa-\alpha 电流水平明显更低(P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 TNF-\alpha、 L-6 和 IL-18 水平明显更高(P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 TNF-\alpha、 L-6 和 IL-18 水平明显更高(P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 TNF-\alpha、 L-6 和 IL-18 水平明显更高(P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 TNF-\alpha、 Suc B = A (P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 TNF-\alpha、 是 = A (P < 0.05)。 Sa = A (P < 0.05);与模型组相比,A、B 和 C (P < 0.05)。 Sa = A (P < 0.05); Sa = A (P <

关键词:BNP/NPR-A/BKCa 信号通路;大鼠;神经痛

中图分类号:R-33;R338.3;Q593.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2023)15-2817-05

The Role and Mechanism of BNP/NPR-A/BKCa Signaling Pathway in Neuralgia Formation in Rats*

XUE Ji-jiao, FENG Hui, MENG Xiang-jun, LI Shuai, XI Fu-qiang $^{\bigtriangleup}$

(Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College,

Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou, Inner Mongolia, 830011, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the role and mechanism of BNP/NPR-A/BKCa signaling pathway in neuralgia formation in rats. Methods: SPF rats were selected as research subjects and pathologic pain rat model of neuralgia was established. They were divided into blank control group, sham operation group, group A (20 ng/mL BNP injection), group B (50 ng/mL BNP injection) and group C (100ng/ml BNP injection). The mRNA and protein expression levels of NPR-A and BKCa were detected by gRT-PCR and Western blot. Inflammatory factors were examined by ELISA. BKCa channel currents of pain-sensing neurons were detected by whole-cell patch clamp technique. Mechanical hyperalgesia and temperature hyperalgesia were tested in rats. Results: Compared with blank group, PWT and PWL in model group, groups A, B and C were lower (P<0.05). Compared with the model group, the PWT and PWL in groups A, B and C were higher, and the PWT and PWL in group C were higher than those in groups B and A, and the PWL in group B was higher than that in group A (P<0.05). Compared with blank group, the level of NPR-A protein and mRAN was higher in model group, while the level of BKCa- α was lower (P<0.05). Compared with model group, the protein and mRNA of NPR-A and BKCa- α in groups A, B and C were higher, and group C was higher than that in groups B and A, and group B was higher than that in group A (P<0.05). Compared with blank group, the current level of BKCa- α in model group, groups A, B and C was lower (P<0.05). Compared with the model group, the current level of BKCa- α in groups A, B and C was significantly higher, and group C was higher than that in groups B and A, and group B was higher than that in group A (P < 0.05). Compared with blank group, the levels of TNF- α , IL-6 and IL-18 in model group, groups A, B and C were significantly higher (P < 0.05). Compared with model group, the levels of TNF- α , IL-6 and IL-18 in groups A, B and C were significantly lower, and group C was lower than that in groups B and A, and group B was lower than that in group A (P<0.05). Conclusion: Targeted up-regulation of BNP expression level can increase the expression of BKCa and the current of BKCa. Meanwhile, the up-regulation of BNP expression can also help to inhibit the level of inflammatory cytokines, so as to achieve the purpose of pain relief in multiple ways.

作者简介:薛继娇(1981-),女,硕士研究生,副主任医师,研究方向:神经内科,E-mail:xue51648615@163.com

^{*}基金项目:内蒙古自治区教育厅学校科学研究项目(NJZY22085)

[△] 通讯作者:席富强(1979-),男,硕士研究生,主任医师,研究方向:脑血管病,E-mail:xue51648615@163.com

⁽收稿日期:2023-02-13 接受日期:2023-03-10)

Key words: BNP/NPR-A/BKCa signal pathway; Rat; Neuralgia Chinese Library Classification(CLC): R-33; R338.3; Q593.2 Document code: A Article ID: 1673-6273(2023)15-2817-05

前言

神经病理性疼痛是指中枢神经系统或外周神经系统的直 接损失和功能紊乱导致的慢性疼痛,患者临床多表现为自发性 疼痛、痛觉过敏和感觉异常等[1]。数据统计显示[2],神经病理性疼 痛发病率约6%~8%,约占慢性疼痛疾病的17.9%。神经病理 性疼痛的病发机制复杂,且尚未明确四。中枢和外周损失学说是 现阶段神经病理性疼痛致病的重要观点,其中脊髓背根神经节 和神经损伤区的异位放电逐渐受到重点关注。神经元间的突 触传递增强是导致中枢敏化的核心机制,而离子通道的功能异 常表达与神经元间的突触传递增强密切相关的。钾离子通道是 离子通道家族中分布最为广泛的一种,其在痛觉传导和神经动 作电位产生中发挥重要作用,同时按药理特性和生物特性的不 同,其又可分为双孔钾离子通道(K2p)、内向整流型钾离子通 道(Kir)、钙离子依赖的钾离子通道(Kca)。BKca通道广泛分布 于子宫、膀胱、脑膜、血管平滑肌等器官组织。近来有证据表 明¹⁷,BKca参与介导离子通道紊乱相关的疼痛激活。b型利钠 肽(B-type natriuretic peptide, BNP)可由心肌细胞分泌,并激活 其受体,利钠肽受体 -a (Natriuretic peptide receptor type A, NPR-A), 以减少心室纤维化。本课题组前期研究发现, BNP/NPR-A/BKCa 信号通路在神经病理性疼痛模型中异常表 达。然而现阶段, BNP/NPR-A/BKCa 信号通路有望成为神经病 理性疼痛的新靶点仍未被系统探讨。基于此,本次课题拟采用 脊神经结扎术建立神经病理性疼痛模型,并深入探讨 BNP/NPR-A/BKCa 信号通路的作用。

1 材料与方法

1.1 研究对象

以 10 周龄 C57BL/6 大鼠(体重:220-240 g)为研究对象。 所有的大鼠均饲养于 SPF 级动物房(温度 23℃,湿度 60%,每 12 h 交替照明,自由饮食饮水)。本项目已获得本院伦理学会的 批准。

1.2 神经病理性大鼠模型的构建

大鼠完成适应性喂养后进行建模操作。首先采用腹腔注射 30-50 mg/kg的3%戊巴比妥钠进行麻醉,待麻醉起效后将大鼠 固定。选取两侧髂嵴连线和脊柱处做标记,并沿标记将大鼠皮 肤及皮下组织进行逐层切开,待脊柱左侧椎旁肌暴露后将其钝 性分离,并将L6横突充分暴露,暴露操作时需注意保护大鼠脊 神经,避免对其造成损伤。L6的充分暴露可使L4和L5脊神经 出现在视野中,随后将L5脊神经小心分离,并对其进行结扎。 结扎操作完成后密切观察大鼠的出血情况,待无出血活动后将 筋膜进行逐层缝合,并关闭切口逐层缝合皮肤及皮下组织。模 型构造完成后进行常规的抗感染操作。

1.3 动物模型分组

本次研究将40只大鼠分为,空白对照组(不做任何处理,8 只)和模型组(32只,构建动物模型),其中模型组分为,假手术 组(注射生理盐水,8只),A组(20 ng/mL BNP 梢内注射,8只),B组(50 ng/mL BNP 梢内注射,8只)和C组(100 ng/mL BNP 梢内注射,8只)。所有大鼠均注射等剂量,剂量为1 mL。

BNP 梢内注射方案:在大鼠完成模型构建后4d进行梢内 注射,方法如下:大鼠取俯卧位,于大鼠L6位置做标记,并采用 左手拇指和中指分别置于L6和S1间隙两侧,两指向外用力将 大鼠皮肤绷紧,同时右手持微量注射器从间隙进针,并在感觉 有落空感时进行注射,并在10s内完成注射。注射完成后第 4d,采用脊柱脱臼法处死大鼠,并无菌采集背根神经节及脊髓 背角,进行后续研究。

1.4 神经病理性疼痛行为测试

0 机械性痛觉过敏测试:采用电子机械痛敏测试仪进行机械性痛觉过敏程度测试,将大鼠放置在附带具有金属网格支架上的容器内,首先对大鼠后爪进行定位(定位采用一起自带具有棱镜的金属针尖探测器),实验者对大鼠后爪外侧缓慢的施加持续增加的力,力的大小为10g/s,监测系统采用Ratemeter,当大鼠出现后爪回缩时终止实验,并由仪器记录大鼠后爪回缩时其承受的最大压力,即缩爪阈值(PWT)。实验重复三次取平均值。

◎ 温度性痛觉敏感测试:采用足底测试仪进行温度痛觉过 敏,将大鼠放置在相同的容器内,以相同方法对大鼠后爪进行 准确定位,并采用红外线加热装置进行持续加热,直至大鼠出 现后爪回缩便终止加热。并由仪器自动记录大鼠缩回爪子的时 间,即缩爪潜伏期(PWL)。红外加热过程中需小心,不要对大鼠 造成损失。研究重复三次,取平均值。

1.5 qRT-PCR 和 Western blot

0 qRT-PCR

首先提取神经节中的总 RNA,方案为:术中分离获取的组 织进行研磨,待研磨操作完成后滴入 Trizol,将混合悬液移至离 心管中进行匀浆操作,匀浆操作采用电动匀浆器进行匀浆,此 步骤大约需要 2 分钟。待匀浆操作完成后提取细胞中总 RNA, RNA 的提取严格按照试剂盒说明进行,进行离心操作,离心前 滴人氯仿并震荡 15 min,随后进行 15 min 的离心,待离心完成 后吸取上清,并转移至离心管中,并再次滴入异丙醇混匀静置。 静置 10 min 后,再次进行离心,本次离心 10 min。此时向离心 管内滴入 75 %乙醇并缓慢温和的震荡,震荡操作完成后再室 温下晾干,并进行 cDNA 的逆转录操作,逆转录条件:94℃ 5 s; 60℃ 15 s;72℃ 15 s,共 40 个循环,待逆转录为 cDNA 后进行 RT-PCR 扩增,并以 GAPDH 为内参。荧光定量 PCR 扩增条件的 设置:(95℃,5 min)1 个循环;(95℃,30 s;60℃,30 s;72℃,30 s) 40个循环;(72℃,5 min)1 个循环。最后参考 2^{±4} 대 计算 NPR-A 和 BKCa 的 mRNA 相对表达水平。

Western blot

首先提取细胞中总蛋白(提取液配置: V_{组织裂解液}: V_{蛋白酶抑制剂}=100:1),随后采用 BCA 法进行蛋白定量(试剂盒购置于:),并进行浓缩胶和分离胶的配置,配置操作完成后进行凝胶电泳

(每孔滴入 40 μg 蛋白),电泳操作完成后湿转到 PVDF 膜上 (购置于:),并进行封闭 2 h(环境为:5%脱脂奶粉),随后置于 4℃冰箱孵育过夜。次日采用 5%脱脂奶粉对一抗与二抗原液 进行稀释(V 一抗原液:VTBST 溶液 =1:1000)。取出样本后进 行 lh 复温,并采用 TBST 进行洗涤,每次 10 min,共洗 3 次。再 次在室温下进行 1 h 孵育,并再次进行洗涤,15 min 每次,共 3 次。随后采用 ECL 化学发光法显色(试剂盒购置于:),并分析 条带灰度值(软件为:Image J),计算 NPR-A 和 BKCa 蛋白的相 对表达水平。

1.6 全细胞膜片钳技术检测痛觉神经元 BKCa 通道电流

维持 26℃左右室温,将放置有单个痛觉神经元的细胞记录槽放置于显微镜载物台上,对神经元的状态、大小和形态进行观察,并依据胞质清晰度、胞膜完整和直径进行神经元筛选,最终筛选出优质神经元作为记录对象。采用全细胞膜片钳技术,按照步阶 10 mV,膜电位钳制在 -70 mV,在 -70 mV~+100 mV的参数进行诱发 BKCa 电流,持续时间为 0.4 s。实验开始前加入了 10 mM 4-AP 和 200nM 的 Apamin 用于阻断电压依赖性的钾通道(KV)和钾通道(SKca)。

1.7 炎症因子检测

采集大鼠尾静脉血 3 ml,3500 r/min 条件下低速离心 10 分钟,静置 20 分钟后分离上清,并置入 -80℃冰箱待测。采用 ELISA 法检测 TNF-α、IL-6、IL-18 的表达水平。操作严格按照 试剂盒进行。

1.8 统计学方法

本研究所得数据结果采用 SPSS22.0 进行处理和分析,计 量资料以(均数±标准差)表示,多组间比较采用单因素方差分 析(one-way ANOVA)进行检验,两组间比较采用 t 检验,检验 水准 α=0.05。

2 结果

2.1 各组大鼠 PWT 和 PWL 结果比较

与空白组相比,模型组、A、B和C组PWT和PWL明显更低(P<0.05);与模型组相比,A、B和C组PWT和PWL明显 更高,且C组大于B和A组,B组大于A组(P<0.05),详情见 表1。

Table 1 Comparison of PW1 and PWL results in each group (mean ± standard deviation)					
Groups	n	PWT(g)	PWL(g)		
Blank control group	8	14.35±2.01	14.65±2.15		
Model group	8	5.32±0.31ª	4.32±0.31ª		
A group	8	8.23 ± 0.35^{ab}	7.56 ± 0.25^{ab}		
B group	8	10.02 ± 0.21^{abc}	9.65±0.32 ^{abc}		
C group	8	12.32±2.12 ^{abcd}	12.18 ± 2.25^{abcd}		
F	-	69.456	26.546		
Р		< 0.001	< 0.001		

表 1 各组大鼠 PWT 和 PWL 结果比较(均数±标准差)	
---------------------------------	--

Note: compared with the Blank control group, ${}^{\circ}P < 0.05$; compared with Model group, ${}^{\circ}P < 0.05$; compared with B group, ${}^{\circ}P < 0.05$; compared with B group, ${}^{\circ}P < 0.05$; the same below.

2.2 各组大鼠 NPR-A 和 BKCa- α 的蛋白和 mRNA 相对表达结 果比较

与空白组相比,模型组 NPR-A 的蛋白和 mRAN 水平明显 更高,而 BKCa-α 明显更低(P<0.05);与模型组相比,A、B 和 C 组 NPR-A 和 BKCa-α 的蛋白和 mRNA 明显更高(P<0.05), 且 C 组大于 B 和 A 组(P<0.05), B 组大于 A 组(P<0.05),详 情见表 2。

|--|

Table 2 Comparison of the protoin and mPNA	V relative expression regults for NDP	A and DVCa win each group (mean 1 stan	dard daviation)
radic 2 Combanson of the brotein and mixing	A TETALIVE EXDIESSION TESUITS TOT INFIN-	A and DNUa-0 in cach group theath stan	

Groups	n	NPR-A	BKCa-α	NPR-A mRNA	BKCa-α mRNA
Blank control group	8	1.02±0.12	0.99±0.12	1.01±0.11	1.02±0.09
Model group	8	1.67±0.11ª	0.76±0.02ª	1.85±0.13ª	0.65 ± 0.14^{a}
A group	8	3.65±0.11 ^{ab}	1.06 ± 0.04^{ab}	4.65±0.05 ^{ab}	1.17±0.35 ^{ab}
B group	8	5.65±0.31 ^{abc}	4.56 ± 0.21^{abc}	6.54 ± 0.34^{abc}	3.56±0.21 ^{abc}
C group	8	8.64 ± 1.31^{abcd}	$7.24 \pm 0.34^{\text{abcd}}$	8.24±0.13 ^{abcd}	6.57±0.21 ^{abcd}
F	-	56.452	182.31	23.544	64.464
Р		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.3 各组大鼠 BKCa-α 电流结果比较

各电压水平,与空白组相比,模型组、A、B和C组BKCa-α

电流水平明显更低 (*P*<0.05); 与模型组相比,A、B和C组 BKCa-α 电流水平明显更高,且C组大于B和A组,B组大于 A组(P<0.05),详情见表 3。

Table 3 Comparison of BKCa- α current results (mean± standard deviation)					
Groups	n	-40(mV)	0(mV)	40(mV)	60(mV)
Blank control group	8	1.03 ± 0.0^{3}	53.54±6.21	223.21±12.54	308.64±12.21
Model group	8	0.98±0.03ª	21.31±1.23ª	135.25±22.12ª	231.21±10.21ª
A group	8	0.95±0.03 ^{ab}	31±3.12 ^{ab}	153.12±16.12 ^{ab}	256.54±9.45 ^{ab}
B group	8	0.94 ± 0.02^{abc}	41±4.21 ^{abc}	189.54±12.21 ^{abc}	278.21±6.45 ^{abc}
C group	8	0.96 ± 0.01^{abcd}	49.54±5.31 ^{abcd}	193.45±11.23 ^{abcd}	298.45±12.64 ^{abcd}
F		167.541	25.545	65.455	75.456
Р		< 0.001	< 0.001	<0.001	< 0.001

表 3 各组大鼠 BKCa-α 电流结果比较(均数±标准差)

2.4 各组大鼠炎症因子结果比较

IL-6和IL-18水平明显更低, 且C组小于B和A组,B组小于A组(P<0.05),详情见表4。

与空白组相比,模型组、A、B和C组TNF-α、IL-6和IL-18 水平明显更高(P<0.05);与模型组相比,A、B和C组TNF-α、

Table 4 Comparison of inflammatory factors (mean ± standard deviation)					
Groups	n	TNF- α (ng/L)	IL-6(ng/mL)	IL-18(pg/mL)	
Blank control group	8	103.64±11.01	12.31±3.65	83.54±11.21	
Model group	8	225.54±9.54ª	39.54±2.45ª	182.45±8.24ª	
A group	8	185.64±11.21 ^{ab}	32.21±5.21 ^{ab}	165.65±6.54 ^{ab}	
B group	8	155.65±9.54 ^{abc}	26.54±4.21 ^{abc}	135.21±5.54 ^{abc}	
C group	8	115.54±10.54 ^{abcd}	16.54±3.54 ^{abcd}	96.54±9.45 ^{abcd}	
F		67.546	58.545	126.456	
Р		< 0.001	< 0.001	< 0.001	

表 4 各组大鼠炎症因子结果比较(均数±标准差)

3 讨论

本次研究参考华雷的方法¹⁸,选用脊神经结扎术建立神经 病理性疼痛模型。模型构建完成后,神经病理性大鼠模型 NPR-A的mRNA及蛋白表达上调,而BKCa的mRNA及蛋白 表达水平均降低,且BKCa电流亦被抑制,表明 BNP/NPR-A/BKCa信号通路在神经病理性疼痛大鼠病情发生 中扮演着尤为重要的角色。

BKca 通道由 4 个调节性蛋白 β 亚基和 4 个结构蛋白 α 亚基组成^[9]。BKca 通道被证实可发挥广泛的生物学功能,如镁 离子调控、钙离子调控和电压调控等。重要的是近年来,BKca 通道被证实在神经病理性疼痛中发挥着重要作用^[10]。BNP 及其 受体 NPR-A 被广泛证实在心肌病变中发挥重要作用^[11],12]。新进 证据发现^[13],BNP/NPR-A 信号的激活可参与调控疼痛相关的 基础病理机制。本次实验结果显示,神经病理性疼痛大鼠注射 BNP 后 BKCa 的 mRNA 和蛋白相对表达水平均显著升高,且 大剂量注射 BNP 可促进 BKCa 的 mRNA 和蛋白显著升高。这 与 zhang 等人研究结果基本一致。Zhang 等^[14]人报道显示,脑钠 素通过突触前受体 NPR-A 负向调控伤害性疼痛的传递,并且 在伤害性疼痛传入神经元中激活 BNP/NPR-A/PKG/BKCa 信号 通路,进而激活机体炎症性疼痛。本次研究结果显示,神经病理 性疼痛大鼠注射 BNP 后 BKCa 电流水平明显升高, 提示靶点 上调 BNP 的表达可激活 BKCa 电流。Sarantopoulos 等[15]研究证 实,BKca和 Ikca 的电流降低与大鼠神经元兴奋性密切相关。 Ming 等16研究发现, BKca 通道的过度激活介导了体外缺氧/ 复氧(H/R)和体内缺血 / 再灌注(I/R)诱导的海马神经元损伤。 Furukawa 等印证实,结扎大鼠外周坐骨神经后,其脊髓背角神 经元自发兴奋性突触后电流频率明显升高,且 RT-PCR 结果显 示,BKca 通道 α 亚基在 L4-L5 脊髓背角神经元中表达明显降 低。Chen 等18发现,结扎 L5、L6 脊神经后,采用 RT-PCR 和 Western blot 法检测发现 BKca 的 mRNA 和蛋白水平均显著降 低,而基于特异性阻断剂蝎毒 IBTX 干预后发现机械性伤害明 显减轻。Cao等四征实,BKca通道的活动在外周神经损伤组织 中明显受到抑制,然而其具体机制仍尚未明确。本次研究结果 显示,神经病理性疼痛大鼠注射 BNP 后大鼠 PWT 和 PWL 明 显升高,提示靶点上调 BNP 的表达可改善大鼠疼痛阈值。近来 BKca 通道产于介导疼痛调节被广泛证实,其中 BKca 电流强 度的降低对疼痛阈值的增强作用已被证实^[20,21]。BNP/NPR-A的 激活可促进 BKca mRNA 的表达水平升高,同时促进 BKca 通 道电流水平的升高,而高水平表达的 BKca mRNA 和电流水平 可通过离子通道水平从而达到抑制疼痛的目的, 故靶向上调 BNP 的表达后神经病理性大鼠的疼痛水平显著降低^[22,23]。此外 炎症因子的过度表达被证实是神经病理性疼痛发生、发展的关 键环节^[24]。TNF-α、IL-6、IL-18 是机体重要的炎症因子,被证实 与神经病理性疼痛相关[25,26]。本次研究结果显示,神经病理性疼 痛大鼠注射 BNP 后 TNF- α 、IL-6、IL-18 的表达下调,表明注射 BNP 可有效抑制神经病理性大鼠炎症介质的分泌。有观点认 为,BKca 通过维持三叉神经痛的发生、发展过程中伴随着炎症 表达,证据表明 TNF-α 可通过促进 BKca 通道从而导致三叉神 经痛病情进行性发展。LU 等四开展的一项动物实验发现,感觉 神经元中表达的 BKCa 通道可通过抑制炎症信号的表达从而 发挥缓解疼痛的作用,故BKCa通道可能在抑制炎症相关疼痛 中扮演重要角色。重要的是在诱发神经病理性疼痛的机制中, 促炎因子的过度激活被证实是核心靶点。故推测 BNP/NPR-A 信号通路可靶向调控 BKCa 的表达,从而一方面调控 BKCa 通 道相关的离子通道以改变疼痛阈值,同时调控 BKCa mRNA 的 表达上调还有助于抑制下游促炎因子的表达从而基于多角度 的抑制神经病理性疼痛的发生、发展[28-30]。提示临床早期可通过 监测患者 BNP 和 BKCa 的表达水平,并积极开发靶向干预策 略从而为后续临床更高的对神经病理性疼痛的预测评估和靶 向干预提供更多策略选择。

综上所述,神经病理性疼痛的发生过程中 BNP/NPR-A/BKCa 信号通路发挥着尤为重要的作用,靶向上调 BNP 的表 达水平可增加 BKCa 的表达及 BKCa 电流,同时 BNP 的表达 上调还有助于抑制炎症因子水平,从而达到多途径缓解疼痛的 目的。然而,本次研究仍存在不足,即本次研究仅为动物实验, 仍需进一步开展临床试验进行佐证。

参考文献(References)

- Finnerup NB, Kuner R, Jensen TS. Neuropathic Pain: From Mechanisms to Treatment[J]. Physiol Rev, 2021, 101(1): 259-301
- [2] Bannister K, Sachau J, Baron R, et al. Neuropathic Pain: Mechanism-Based Therapeutics [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2020, 60(5): 257-274
- [3] Cavalli E, Mammana S, Nicoletti F, et al. The neuropathic pain: An overview of the current treatment and future therapeutic approaches [J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2019, 33(10): 2058738419838383
- [4] Inoue K, Tsuda M. Microglia in neuropathic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential [J]. Nat Rev Neurosci, 2018, 19(3): 138-152
- [5] Gilron I, Baron R, Jensen T. Neuropathic pain: principles of diagnosis and treatment[J]. Mayo Clin Proc, 2015, 90(4): 532-45
- [6] Sommer C, Leinders M, Üçeyler N. Inflammation in the pathophysiology of neuropathic pain. Pain, 2018, 159(3): 595-602
- [7] N'Gouemo P. BKCa channel dysfunction in neurological diseases [J]. Front Physiol, 2014, 5(1): 373
- [8] 华雷,周外平,李梦杰.过表达 SIRT1 对脊神经结扎大鼠病理性疼痛的影响及机制[J].山东医药,2019,59(16):6-11
- [9] Tsantoulas C. Emerging potassium channel targets for the treatment of pain[J]. Curr Opin Support Palliat Care, 2015, 9(2): 147-54
- [10] Guntur D, Olschewski H, Enyedi P, et al. Revisiting the Large-Conductance Calcium-Activated Potassium (BKCa) Channels in the

Pulmonary Circulation[J].Biomolecules, 2021, 11(11): 1629

- [11] Pitake S, Debrecht J, Mishra SK. Brain natriuretic peptide (BNP) expressing sensory neurons are not involved in acute, inflammatory or neuropathic pain[J]. Mol Pain, 2017, 13(2): 1744806917736993
- [12] Wydenkeller S, Maurizio S, Dietz V, et al. Neuropathic pain in spinal cord injury: significance of clinical and electrophysiological measures [J]. Eur J Neurosci, 2009, 30(1): 91-9
- [13] Xu W, Yao Y, Zhu D, et al. Involvement of the BNP/NPR-A/BKCa pathway in rat trigeminal ganglia following chronic constriction injury[J]. J Neurophysiol, 2021, 125(4): 1139-1145
- [14] Zhang F X, Liu X J, Gong L Q, et al. Inhibition of inflammatory pain by activating B-type natriuretic peptide signal pathway in nociceptive sensory neurons[J]. J Neurosci, 2010, 30(32): 10927-10938
- [15] Sarantopoulos C, M ccallum B, Kwok W M, et al. Gabapentin decreases membrane calcium currents in injured as well as in control mammalian primary afferent neurons[J]. Reg Anesth Pain Med, 2002, 27(1): 47-57
- [16] Ming C, Sun H Y, Hu P, et al. Activation of BKca channels mediates hippocampal neuronal death after reoxygenation and reperfusion [J]. Mol Neurobiol, 2013, 48(3): 794-807
- [17] Furukawa N, Takasusuki T, Fukushima T, et al. Presynaptic largeconductance calcium-activated potassium channels control synaptic transmission in the superficial dorsal horn of the mouse [J]. Neurosci Lett, 2008, 444(1): 79-82
- [18] Wu B N, Chen C F, Hong Y R, et al. Activation of BKCa channels via cyclic AMP- and cyclic GMP-dependent protein kinases by eugenosedin-A in rat basilar artery myocytes [J]. Br J Pharmacol, 2010, 152(3): 374-385
- [19] Ca O Z, Zhang N, Lou T, et al. microRNA-183 down-regulates the expression of BKCaβ1 protein that is related to the severity of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Hippokratia, 2014, 18(4): 328-332
- [20] Liu CY, Lu ZY, Li N, et al. The role of large-conductance, calciumactivated potassium channels in a rat model of trigeminal neuropathic pain[J]. Cephalalgia, 2015, 35(1): 16-35
- [21] Chen SR, Cai YQ, Pan HL. Plasticity and emerging role of BKCa channels in nociceptive control in neuropathic pain [J]. J Neurochem, 2009, 110(1): 352-62
- [22] Li ZW, Wu B, Ye P, et al. Brain natriuretic peptide suppresses pain induced by BmK I, a sodium channel-specific modulator, in rats [J]. J Headache Pain, 2016, 17(1): 90
- [23] Al-Karagholi MA, Ghanizada H, Waldorff Nielsen CA, et al. Opening of BKCa channels causes migraine attacks: a new downstream target for the treatment of migraine [J]. Pain, 2021, 162 (10): 2512-2520
- [24] Duan YW, Chen SX, Li QY, et al. Neuroimmune Mechanisms Underlying Neuropathic Pain: The Potential Role of TNF-α-Necroptosis Pathway[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7191
- [25] Gu Y, Yang DK, Spinas E, et al. Role of TNF in mast cell neuroinflammation and pain [J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2015, 29(4): 787-91
- [26] Liu Y, Gao Y, Lin T. Expression of interleukin-1 (IL-1), IL-6, and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in non-small cell lung cancer and its relationship with the occurrence and prognosis of cancer pain[J]. Ann Palliat Med, 2021, 10(12): 12759-12766 (下转第 2867页)

少症患病率调查及危险因素分析[J].中华全科医学, 2019, 17(10): 1762-1767

- [13] 傳泽铤,李伦宇,官孝天,等. lncRNA 介导的 ceRNA 网络在肌肉 减少症中作用机制的研究进展[J].中国病理生理杂志, 2022, 38(9): 1694-1701
- [14] Pascual-Fernández J, Fernández-Montero A, Córdova-Martínez A, et al. Sarcopenia: Molecular Pathways and Potential Targets for Intervention[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(22): 8844
- [15] Nishikawa H, Fukunishi S, Asai A, et al. Sarcopenia, frailty and type 2 diabetes mellitus (Review)[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(6): 854
- [16] Baek JY, Jang IY, Jung HW, et al. Serum irisin level is independent of sarcopenia and related muscle parameters in older adults [J]. Exp Gerontol, 2022, 162(5): 111744
- [17] 郭丽君,杨俊朋,史晓阳,等.血浆鸢尾素与肌肉减少症的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2019,33(4):372-374
- [18] 刘震超,王妍之,刘光,等.血清鸢尾素对2型糖尿病肌少症的评估价值[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2021,14(6):607-614
- [19] Semba R D, Zhang P, Zhu M, et al. Relationship of circulating growth and differentiation factors 8 and 11 and their antagonists as measured using liquid chromatography-tandem mass spectrometry with age and skeletal muscle strength in healthy adults [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2019, 74(1): 129-136
- [20] Humbert M, McLaughlin V, Gibbs J S R, et al. Sotatercept for the treatment of pulmonary arterial hypertension[J]. N Engl J Med, 2021, 384(13): 1204-1215
- [21] Lee SM, Han MY, Kim SH, et al. Indoxyl Sulfate Might Play a Role in Sarcopenia, While Myostatin Is an Indicator of Muscle Mass in Patients with Chronic Kidney Disease: Analysis from the RECOVERY Study[J]. Toxins (Basel), 2022, 14(10): 660
- [22] 王琴,林萍,任谦,等. 肌肉减少症患者血清 AMPK-αmRNA、

SIRT1、GDF-8的水平及其临床意义 [J]. 中华全科医学, 2022, 20 (7): 1151-1154, 1229

- [23] Nishikawa R, Fukuda T, Haruyama A, et al. Association between serum GDF-15, myostatin, and sarcopenia in cardiovascular surgery patients[J]. Int J Cardiol Heart Vasc, 2022, 42(10): 101114
- [24] 张颖,许晓磊,汪元浚,等.老年住院患者肌肉减少症发生的危险因素分析及预测模型建立[J].中国实用护理杂志,2020,36(30): 2337-2342
- [25] Xia L, Zhao R, Wan Q, et al. Sarcopenia and adverse health-related outcomes: An umbrella review of meta-analyses of observational studies[J]. Cancer Med, 2020, 9(21): 7964-7978
- [26] Liu S, Fu P, Ning K, et al. HIF-1 α Negatively Regulates Irisin Expression Which Involves in Muscle Atrophy Induced by Hypoxia [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(2): 887
- [27] Yasar E, Tek NA, Tekbudak MY, et al. The Relationship Between Myostatin, Inflammatory Markers, and Sarcopenia in Patients With Chronic Kidney Disease[J]. J Ren Nutr, 2022, 32(6): 677-684
- [28] Bao J F, Hu P P, Li A, et al. Comment on 'Renal failure suppresses muscle irisin expression, and irisin blunts cortical bone loss in mice'by Kawao[J]. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2022, 13(4): 2259-2260
- [29] Skrzypczak D, Skrzypczak-Zielińska M, Ratajczak A E, et al. Myostatin and Follistatin-New Kids on the Block in the Diagnosis of Sarcopenia in IBD and Possible Therapeutic Implications [J]. Biomedicines, 2021, 9(10): 1301
- [30] Alexopoulos T, Vasilieva L, Kontogianni MD, et al. Myostatin in combination with creatine phosphokinase or albumin may differentiate patients with cirrhosis and sarcopenia [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2021, 321(5): G543-G551

(上接第 2821 页)

- [27] Lu R, Lukowski R, Sausbier M, et al. BKCa channels expressed in sensory neurons modulate inflammatory pain in mice [J]. Pain, 2014, 155(3): 556-565
- [28] Zhang FX, Liu XJ, Gong LQ, et al. Inhibition of inflammatory pain by activating B-type natriuretic peptide signal pathway in nociceptive sensory neurons[J]. J Neurosci, 2010, 30(32): 10927-38
- [29] Marchenkova A, Vilotti S, Fabbretti E, et al. Brain natriuretic peptide constitutively downregulates P2X3 receptors by controlling their phosphorylation state and membrane localization[J]. Mol Pain, 2015, 11(2): 71
- [30] Schell E, Theorell T, Hasson D, et al. Stress biomarkers' associations to pain in the neck, shoulder and back in healthy media workers: 12-month prospective follow-up[J]. Eur Spine J, 2008, 17(3): 393-405