DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.04.036

P物质在脊髓痛觉调制中作用的研究

A study on effect of substance P on pain modulation of spinal cord

阮怀珍 李希成 (第三军医大学基础部生理教研室) 630038
蔡文琴 (第三军医大学基础部组织胚胎学教研室) 630038

P物质(substance P,SP)是一种重要的非阿片肽,在脊髓痛觉调制中起着重要的作用。以往报道指出脊髓内SP具有镇痛和致痛的双重作用。然而,有关SP在脊髓痛觉调制中是以镇痛为主,还是以致痛为主,产生镇痛或致痛的条件是什么以及与SP共同分布于脊髓的5-羟色胺(Serotonin,5-HT)和生长抑素(Somatostatin,SST)对SP痛觉调制作用有何影响等问题,迄今了解甚少。近年来人们创立了一种对神经元功能活动进行细胞水平定位的新型形态学方法——c-fos癌基因表达法,该方法是利用神经元受到兴奋性刺激时其c-fos癌基因的表达急剧增加和c-fos癌蛋白迅速堆积于细胞核的特点,用原位杂交法或免疫组化法在神经组织切片上染出受兴奋的神经元。c-fos癌基因表达法的建立,使形态和功能结合起来,为痛觉研究开辟了新的途径。为此本文以大白鼠为实验对象,采用痛阈测定,免疫组化,原位杂交,放射免疫测定及离子微电泳等技术,并首次将c-fos、前生长抑素原mRNA(PPS-mRNA)与参与痛觉调制作用的SP进行联系,观察了致痛、镇痛过程中SP所起的作用。本研究的特点在于将形态和功能结合,从不同水平——整体,组织,细胞及分子水平,研究了SP在脊髓痛觉调制中的作用,并力求阐明其可能的机理。实验分五部分,结果如下:

1. **P物质参与伤害性刺激诱发的脊髓c-fos表达**:本文首次运用c-fos癌基因表达法结合痛阈测定,观察了鞘内注射(it)SP的效应及其对伤害性反应的作用。it SP可引起痛反应,并与剂量有关,大剂量(2 μg,10 μg)可使痛阈降低,小剂量(0.5 μg,1 μg)无明显影响;为了观察能引起伤害性反应的SP是否能激活脊髓背角感觉神经元,我们进行了c-fos免疫组化染色。it SP(10 μg)引起的痛反应与福尔马林(For)一样,可使脊髓背角c-fos表达增多,主要分布于浅表层,此外固有核,背角颈部,腹侧部都有许多散在的c-fos样免疫反应(FLI)神经元。it SP还可加强For引起的伤害性反应,使痛级均数(PIR)升高,脊髓FLI增多。而大鼠于it辣椒素,24 h耗竭内源性SP后,给于右后足底注射For,则For引起的伤害性反应减轻,PIR降低,脊髓FLI减少。

2. **5-HT对脊髓P物质痛觉调制作用的影响**:本文首次运用c-fos癌基因表达法结合痛阈测定,观察了5-HT对脊髓SP痛觉调制作用的影响。大鼠it 5-HT可使痛阈提高,也诱发脊髓c-fos表达,然而FLI细胞主要分布于背角Ⅰ~Ⅳ层,而For或SP引起的脊髓c-fos表达主要在背角Ⅰ、Ⅱ、Ⅴ、Ⅵ层。it 5-HTR可减弱For及SP引起的痛反应,并使For和SP诱发的脊髓背角Ⅰ、Ⅱ、Ⅴ、Ⅵ层FLI表达减少。腹腔内注射(ip)对氯苯丙氨酸(pCPA),耗脊髓内源性5-HT后,则For及SP诱发的脊髓c-fos表达增多,痛级均数提高。

3. **吗啡和电针对脊髓内SP痛觉调制作用的影响**:ip吗啡(7.5 mg/kg)或电针"夹脊"穴(3 V,3 Hz)均可使痛阈明显升高,脊髓内SP样免疫活性物质(Ir-SP)含量及脊髓背角SP样免疫反应物(SP-LI)显著增多。ip吗啡加电针刺激,上述效应的作用更为显著;纳洛酮可阻断吗啡和电针所引起的痛阈升高和脊髓内Ir-SP增多效应。it吗啡(10 μg)不仅使痛阈提高,还可抑制it SP产生的痛反应及脊髓c-fos表达,此效应可被纳洛酮翻转。

4. **生长抑素在脊髓SP痛觉调制中的作用**:本研究除应用痛阈测定、免疫组化外,并首次用FLI和SST免疫组化双重染色法研究了这两种免疫标记物的关系,对SP诱导SST合成的可能性进行了探讨,以及用原位杂交技术来观察SP致痛过程中PPS-mRNA的表达,探讨SST在脊髓水平对SP痛常见调制作用的影响。it SST(10 μg)可使痛阈提高,并可抑制SP引起的痛反应及脊髓c-fos表达;大鼠足底注射For不仅引起痛反应,还可使脊髓SP-LI增加,而it SST可抑制For引起的痛反应及脊髓SP-LI增多效应。脊髓内源性SST与外源性不同,它可参与与SP的痛觉传递,足底注射For均可使SP-LI,SST-LI,FLI及PPS-mRNA增多;it SP使痛阈降低,脊髓背角FLI增多的同时,也可使脊髓SST-LI和PPS-mRNA增多。双重免疫组化法(ABC)结果显示,脊髓背角半数神经元呈(c-fos)或SST阳性反应,其中有一部分是双标记神经元;皮下注射半胱胺3 h后,脊髓SST-LI减少,此时,it SP,与单纯SP组比较,痛阈升高,脊髓背角FLI和PPS-mRNA无明显变化,而SST-LI减少。由此表明脊髓内源性SST可加强SP的痛反应。

5. **SP对慢痛引起的脊髓背角神经元电活动的影响**:微电泳导入SP可使脊髓背角神经元单位放电增多,其效应可被SP受体阻断剂(D-Arg^{1},D-Trp^{7,9},Leu^{11})SP阻断;而导入SP又可抑制For引起的神经元伤害性电活动,此效应可被纳洛酮翻转。另外电泳导入5-HT、吗啡及SST都可抑制SP诱发的脊髓背角神经元放电,而对导入SP被抑制的神经元伤害性电活动,吗啡则加强其抑制作用。

以上结果表明:(1)it SP引起垢痛阈降低及其诱发的脊髓c-fos表达的分布与致痛物质For引起的十分一致,而与镇痛物质5-HT的截然不同。SP可加强For的痛反应,而SP和For引起的痛反应均被5-HT、吗啡、电针、SST所抑制,由此表明,脊髓内SP主要起致痛作用。(2)ip吗啡和电针引起的镇痛作用以及For引起的致痛作用,脊髓内SP-LI都随之增多,但it SST却可抑制For引起的痛反应和SP-LI增多效应。因此脊髓内SP是引起镇痛效应还是致痛作用,看来与导致SP增多的条件和药物注射部位等因素有关。(3)内源性SST参与SP的致痛作用。

关键词 P物质;蛋白质;脊髓;痛阈;免疫组化
中图法分类号 R971.9;Q514.3

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net