



# 外周 P2X3 受体在不同炎性痛模型中的作用比较

肖婷, 杜俊英, 乐小琴, 俞婕, 潘宁芳, 房军帆, 方剑乔\*

(浙江中医药大学第三临床医学院, 杭州 310053)

**【摘要】** P2X3 亚单位是嘌呤受体 P2X 家族成员之一, 高度选择性的表达于伤害感受器上, 参与炎性痛病理过程。目前炎性痛的动物模型主要包括福尔马林炎性痛模型、弗氏佐剂炎性痛模型、角叉菜胶炎性痛模型、蜜蜂毒炎性痛模型等。不同的炎性痛模型具有不同的病理特征, 福尔马林模型的主要特点是双时相的自发痛, 由于炎症持续时间的不同, 角叉菜胶模型一般用于亚急性的炎症模型, 而弗氏佐剂模型和蜜蜂毒模型, 以及松节油模型则用于慢性炎性痛模型研究, P2X3 受体在其中的表达和功能可能有所不同, 本文就外周 P2X3 受体在不同炎性痛模型中的作用做一综述。

**【关键词】** P2X3 受体; 炎性痛; 动物模型

**【中图分类号】** R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016)07-0074-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2016.07.013

## Comparison of the effects of periphery P2X3 receptors in different inflammatory pain models

XIAO Ting, DU Jun-ying, LE Xiao-qin, YU Jie, PAN Ning-fang, FANG Jun-fan, FANG Jian-qiao\*

(The Third Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

**【Abstract】** P2X3 subunit was one of the P2X receptor family members, which highly selective expressed in the nociceptors, and involved in the pathological process of inflammatory pain. Currently, animal inflammatory pain models included formalin inflammatory pain model, Freund's adjuvant inflammatory pain model, the carrageenan inflammatory pain model, bee venom inflammatory pain model, et al. Different inflammatory pain model had different pathological features, the main features of the formalin pain model is double phase of spontaneous pain, due to different duration time of inflammation, carrageenan inflammatory pain model is commonly used in sub acute inflammation model, Freund's adjuvant inflammatory pain model, bee venom inflammatory pain model, and turpentine inflammatory pain model are for chronic inflammatory pain model research, the expression and function of P2X3 may be different. This paper focused on the effects of P2X3 receptors in different inflammatory pain models.

**【Key words】** P2X3 receptors; Inflammatory pain; Animal models

疼痛作为人类第五大生命体征,也是临床上常见症状之一,严重困扰人类健康,其中炎性痛是最常见的病理类型之一,其他慢性疼痛大多与这类疼

痛有关。P2X3 亚单位是嘌呤受体 P2X 家族成员之一,高度选择性的表达于伤害感受器上,在伤害感受器中起重要作用,参与疼痛通路的传导<sup>[1]</sup>。目前

**【基金项目】** 国家自然科学基金项目(81473772);浙江省医药卫生科技项目省部共建项目(WKJ-ZJ-1419);浙江省自然科学基金项目(LQ15H270003);浙江省医药卫生科技项目一般项目(2015KYB281)。

**【作者简介】** 肖婷(1991-),女,硕士生研究生,研究方向:针灸镇痛与免疫调节的相关性研究。E-mail:741409838@qq.com。

**【通讯作者】** 方剑乔(1961-),男,教授,研究方向:针灸镇痛与免疫调节的相关性研究。E-mail:fangjianqiao7532@163.com。

国内外很多研究都表明外周的 P2X<sub>3</sub> 受体参与炎性痛的产生,但其具体机制尚未完全清楚<sup>[2,3]</sup>。由于疼痛机制复杂,利用动物模型研究疼痛机制迫切需要,目前有多种用于研究炎性疼痛的动物模型,并且每种模型的特性不同,不同的炎性痛模型中外周的 P2X<sub>3</sub> 受体的可能作用不同,目前尚未有研究对其进行总结,故本文将围绕不同炎性痛模型阐述 P2X<sub>3</sub> 受体的作用。

## 1 各类炎性痛模型的一般特点

### 1.1 福尔马林炎性痛模型

福尔马林模型是一种无菌性炎症模型,福尔马林又称甲醛,经过一定倍数的稀释后,注射于大鼠后足掌部皮下,产生一种明显的自发性痛行为反应,即注射足表现出缩腿、舔爪及颤抖等反应,此模型具有良好的重复性,操作简单,该模型所导致的疼痛行为反应分为两个时相,第一时相为急性疼痛期,持续约 3~5 min;之后是 10~15 min 的间歇期;第二时相为强直期,持续约 20~60 min<sup>[4]</sup>。国内另有研究发现微量甲醛皮下注射,造成的炎性热痛敏可持续 7 d<sup>[5]</sup>。

### 1.2 弗氏佐剂炎性痛模型

#### 1.2.1 多发性佐剂关节炎模型

本模型一般采用动物足底皮内注射高浓度的弗氏佐剂,表现为多个关节的红肿,多数动物在 18~25 d 炎症最明显,由于弗氏佐剂是一种免疫佐剂,故此模型诱导的是免疫反应性炎症,其缺点是病变范围广泛,除炎症外,还伴有免疫系统疾病的产生,不利于单一的研究<sup>[6]</sup>。

#### 1.2.2 单发性佐剂关节周围炎模型

此模型克服了多发性佐剂关节炎模型的缺点,将弗氏佐剂注入足底皮下而非足内,造成局部组织周围炎症,注射 1 d 后即产生明显的红肿,运动障碍和自我保护,以及机械和热痛过敏,本模型痛敏持续时间一般是 1~3 周,随着时间延长,也会出现多发性关节炎模型的缺点。有研究发现大鼠后爪完全弗氏佐剂(CFA)皮下注射 3 h 后注射侧发生水肿和红斑等炎症反应,4~5 h 发生炎性痛觉过敏,1~4 d 达到高峰,可持续长达 14 d<sup>[7]</sup>。

### 1.3 角叉菜胶炎性痛模型

角叉菜胶是从一种红藻类鹿角菜种提取的,具有过敏刺激的作用,最早开始一般与白陶土混合液注射,增强其致炎效果,之后则发展为直接单独角

叉菜胶皮下注射,一般在注射后 2 h 即出现红肿,皮肤温度显著升高,24~48 h 内出现自发痛,PWT 显著降低<sup>[8]</sup>。亦有研究发现角叉菜胶皮下注入后,0.5 h 开始肿胀,2.5~3 h 肿胀达到高峰,8 h 后肿胀开始消退。此模型致炎强烈,一般用于亚急性炎症模型<sup>[9]</sup>。

### 1.4 蜜蜂毒炎性痛模型

此模型是一种化学组织损伤性炎性痛模型,能够呈现多种疼痛表现型,包括持续性自发痛相关行为,与福尔马林试验自发痛相似,原发性热和机械痛敏以及镜像热痛敏,其优点是能够极大的避免个体间和实验间的差异<sup>[10]</sup>。大鼠足底皮下注入蜜蜂毒溶液后,引起局部组织炎性红肿,并且引起单相自发痛反应和较长时间的热和机械性痛觉过敏。即注射侧足产生持续 1~2 h 单相性自发痛,诱发长达 3~4 d 热痛和机械痛敏<sup>[11,12]</sup>。

### 1.5 松节油炎性痛模型

动物局部皮下注射松节油,可出现红肿、发热,出现明显的抽搐,并出现热痛觉过敏,至注射后第 5 d 最明显,随后逐渐增大,于第 13 d 左右后恢复到正常值,故此模型主要用于慢性炎性痛的研究<sup>[13,14]</sup>。

## 2 P2X<sub>3</sub> 受体的发现、一般特性及分布特点

### 2.1 P2X<sub>3</sub> 受体的发现

1995 年,Chen 等<sup>[1]</sup>首次用大鼠背根神经节的 cDNA 编码,克隆出 P2X<sub>3</sub> 亚基,发现其高度选择性表达于伤害性初级传入神经元上。之后在孤束核和三叉神经脊束核中检测到 P2X<sub>3</sub> 阳性细胞间接参与疼痛信号传导<sup>[15]</sup>。

### 2.2 P2X<sub>3</sub> 受体的一般特性

P2X<sub>3</sub> 受体通过形成同源 (P2X<sub>3</sub>) 或异源 (P2X<sub>2/3</sub>) 三聚体而成为功能性通道<sup>[16,17]</sup>。P2X<sub>3</sub> 受体亚基由两个跨膜区、胞内的 N 末端和 C 末端及细胞外环组成,细胞外环包含大多数的氨基酸,其中包含的 10 个氨基酸残基,以二硫键相互连接<sup>[18]</sup>。细胞外环含有通道调控位点,有相应的激动剂、拮抗剂和调节剂的作用位点,其中的赖氨酸及精氨酸残基为激动剂结合位点<sup>[19]</sup>。C 端 Src 抑制酶 (Csk) 可直接磷酸化 P2X<sub>3</sub> 受体酪氨酸 393 残基,并且抑制受体电流<sup>[20]</sup>。跨膜区参与离子中心孔道的形成,并涉及离子通道开放控制<sup>[21]</sup>。

P2X<sub>3</sub> 受体是配体门控非选择性阳离子通道,激

活时,能够通透  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ ,但对  $\text{Ca}^{2+}$  通透性较高,P2X<sub>3</sub> 受体激活时,通道开放,细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高<sup>[22,23]</sup>。同聚 P2X<sub>3</sub> 受体对 pH 不太敏感,在分离的哺乳动物感觉神经元上,酸性 pH 值可以增加三磷酸腺苷(ATP)的兴奋性作用,在炎症局部的酸化环境中,感觉神经节上的异聚体 P2X<sub>2/3</sub> 对伤害性刺激敏感性增加。低温能够显著下降 P2X<sub>3</sub> 受体的反应性,RhoA 激酶依赖性 P2X<sub>3</sub> 受体膜转运至细胞膜对温度高敏感<sup>[24]</sup>。根据对 P2X 受体激动剂  $\alpha\beta$ -meATP 的敏感性和电流脱敏的速率,P2X 家族分为快速脱敏和  $\alpha\beta$ -meATP 敏感受体(P2X<sub>1</sub> 和 P2X<sub>3</sub>);缓慢或乏脱敏和  $\alpha\beta$ -meATP 不敏感受体(P2X<sub>2</sub>、P2X<sub>4</sub>、P2X<sub>7</sub>),而异聚体 P2X<sub>2/3</sub> 属于乏脱敏但  $\alpha\beta$ -meATP 敏感受体<sup>[25]</sup>。

### 2.3 P2X<sub>3</sub> 受体的分布特点

最初研究报道发现 P2X<sub>3</sub> 受体 mRNA 高度选择性的表达于大鼠背根神经节(DRG)和结状神经节(NG)的神经元上,且主要表达于大鼠 DRG 的中小直径神经元中<sup>[1,26]</sup>,后继研究表明也有 P2X<sub>3</sub> 受体选择性表达于三叉神经节(TG)上<sup>[27]</sup>。P2X<sub>3</sub> 受体高度表达于对胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)敏感的神经元细胞上,大鼠 DRG 中 P2X<sub>3</sub> 受体阳性细胞高度与凝集素 B4(IB4)、抗氟离子酸性磷酸酶(FRAP)、瞬时受体电位香草酸亚型 1(TRPV1)共表达,少量与降钙素基因相关肽(CGRP)共表达<sup>[28-30]</sup>。亦有研究表明在 DRG 和 TG 上,P2X<sub>3</sub> 受体和 P 物质(SP)共表达<sup>[31]</sup>。然而,有研究发现人类 DRG 中,P2X<sub>3</sub> 受体阳性细胞不表达酪氨酸激酶(TrkA)<sup>[32]</sup>。

## 3 外周 P2X<sub>3</sub> 在不同类型炎性痛模型中的作用比较

### 3.1 福尔马林模型

足底注射活性蓝(一种 P2X<sub>3</sub> 和 P2X<sub>2/3</sub> 受体活性变构增强子)增强福尔马林大鼠的痛反应<sup>[33]</sup>。大鼠后肢足底注射福尔马林后,免疫荧光检测 L5-6DRG 中 P2X<sub>3</sub> 受体的表达,发现其主要表达于中小神经元的细胞质和膜上,DRG 中 P2X<sub>3</sub> 转录的表达在注射福尔马林后 30 min 和 1 h 时无改变,而在 12 h 后显著增加,注射后 24 h 发现 P2X<sub>3</sub> 受体功能上调。这些表明福尔马林注射可以引起 DRG 中 P2X<sub>3</sub> 受体的早期上调<sup>[34]</sup>。亦有研究发现皮下注射福尔马林产生 60 min 自发痛行为反应(第一时相 0~6 min,第二时相 36~60 min),并且一种选择性 P2X<sub>3</sub>

受体拮抗剂或反义寡核苷酸都可以减轻福尔马林产生的两个时相自发痛,运用反义寡核苷酸抗 P2X<sub>3</sub> 受体减少隐神经中 P2X<sub>3</sub> 受体表达,并且研究表明了通过调节外周炎症组织中瞬间受体电位离子通道亚型 A1(TRPA1)受体,5-羟色胺 3(5-HT<sub>3</sub>)受体,5-羟色胺 1A(5-HT<sub>1A</sub>)受体调节 P2X<sub>3</sub> 受体的活化和 ATP 的释放导致了炎性痛产生<sup>[35]</sup>。

### 3.2 完全弗氏佐剂模型

外周炎症损伤会引起 P2X<sub>3</sub> 受体表达的变化,大鼠足底注射 CFA 建立的外周慢性炎性痛模型中,发现 L4-6DRG 中 P2X<sub>3</sub> 受体表达增加,说明炎症可以上调 DRG 中 P2X<sub>3</sub> 受体的表达<sup>[36]</sup>,小鼠下唇 CFA 炎性痛模型可以引起须垫皮肤机械痛敏,并且支配须垫皮肤和下唇的 P2X<sub>3</sub> 受体 TG 神经元数量增加,研究表明 TG 中 P2X<sub>3</sub> 受体的过度表达是小鼠 CFA 炎性须垫皮肤异位机械痛敏的基础<sup>[37]</sup>。大鼠前列腺 CFA 炎性模型中,检测模后第 3 d 和 10 d 的 L6-S1 DRG 神经元,发现 P2X<sub>3</sub> 受体表达和功能上调,促进了神经元敏化,从而导致了慢性前列腺炎性痛<sup>[38]</sup>。大鼠颞下颌关节 CFA 单发性关节炎模型中,出现持续的口面部的深组织痛敏(持续至模后 15 d),并且模后第 15 d 时 TG 中的小型神经元细胞中 P2X<sub>3</sub> 阳性细胞数增加,而在中和大型神经元细胞中无改变,P2X<sub>3</sub> 受体参与大鼠颞下颌关节炎深组织痛的产生<sup>[39]</sup>。而 Zhu 发现在 CFA 炎性痛模型大鼠中,P2X<sub>3</sub>mRNA 的表达频率未发现改变,其可能原因是对 CFA 炎症反应的 P2X<sub>3</sub> 受体调节发生于蛋白表达或对配体的通道敏感性层面<sup>[40]</sup>。

### 3.3 松节油炎性痛模型

大鼠足底注射松节油建立的慢性炎性痛模型中发现热痛阈下降,直至 14 d 后恢复正常,DRG 神经元中,中小型 P2X<sub>3</sub> 受体阳性细胞数增加,表明 P2X<sub>3</sub> 受体在中小型 DRG 神经元中的改变可能参与了炎性痛过敏的产生和维持<sup>[41]</sup>。大鼠面部皮下注射松节油建立面部慢性炎性痛模型,发现 TG 中 P2X<sub>3</sub> 受体阳性神经元增多,其胞体上 P2X<sub>3</sub> 受体蛋白表达上调<sup>[42]</sup>。

### 3.4 角叉菜胶炎性痛模型

有研究发现鞘内注射或足底注射 A-317491 不能减轻角叉菜胶炎性痛模型大鼠的热痛觉过敏,而能够缓解角叉菜胶致炎的机械性痛敏,说明可能是 P2X<sub>3</sub> 受体介导角叉菜胶炎性热痛敏和机械痛敏机制不同<sup>[43,44]</sup>。亦有研究发现大鼠颞下颌关节角叉

菜胶炎性痛模型中, TNP-ATP(一种 P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>3</sub> 和 P2X<sub>2/3</sub> 受体拮抗剂)显著减轻炎性痛敏, 而 P2X<sub>1</sub> 受体不参与此模型痛敏, 说明可能是 P2X<sub>3</sub> 和 P2X<sub>2/3</sub> 受体参与了大鼠颞下颌关节角叉菜胶模型的炎性痛敏<sup>[45]</sup>。国内另有研究发现大鼠足底皮下注射角叉菜胶后, 患足出现热痛敏和机械性痛敏, 于 12 h 达最明显, 72 h 后恢复至正常。L4-6DRG 中 P2X<sub>3</sub> 受体阳性神经元细胞数于注射后 12 h 开始明显增加, 24 h 达到高峰, 然后逐渐下降, 于第 7 d 恢复正常水平<sup>[46]</sup>, 大鼠的痛阈在模后 3 d 恢复正常, 而 P2X<sub>3</sub> 受体的水平至模后 7 d 恢复正常, 其原因可能是 P2X<sub>3</sub> 受体去磷酸化失活, 即使表达量高于正常, 痛阈仍为正常水平, 具体机制有待进一步研究<sup>[46]</sup>。

### 3.5 其他

有研究表明在人类肠道炎症疾病中发现肠道中 P2X<sub>3</sub> 受体阳性细胞增多, 说明 P2X<sub>3</sub> 受体可能参与肠道炎症和疼痛发病机制<sup>[47]</sup>。亦有研究发现慢性食管炎增加 P2X<sub>3</sub>mRNA 表达并且伴随 TRPV1、NGF、GDNF 的上调, 该食管粘膜基因改变可能调节人类食管炎的敏化<sup>[48]</sup>。脂多糖引起的大鼠牙髓炎模型中, 发现 V1-V2 TG 中 P2X<sub>3</sub> 受体表达增加, 并且主要表达于中小型神经元中, 上调的 P2X<sub>3</sub> 受体可能引起神经元敏化, 介导慢性炎性疼痛<sup>[49]</sup>。三硝基苯磺酸(TNBS)性慢性胰腺炎模型大鼠中, TNBS 的注射显著上调胰腺 DRG 中 P2X<sub>3</sub> 受体的表达和功能, 并且研究表明通过初级感觉神经元中肾上腺素信号介导 P2X<sub>3</sub> 受体的敏化, 从而导致了胰腺炎的痛敏<sup>[50]</sup>。胶原蛋白抗体关节炎模型(CAIA)大鼠中, 检测大鼠模后 15 d 和 47 d 的 DRG 发现 P2X<sub>3</sub> 受体表达显著增高<sup>[51]</sup>, 大鼠模后 15 d 是炎症的高峰期, 而模后 47 d 则是炎症消退, 疼痛持续期。所以可能 P2X<sub>3</sub> 受体不仅参与炎性痛, 而且还有后期的神经病理性痛, 此关节炎模型是一种神经化学损伤模型。

## 4 结语

综上所述, 以上各种炎性痛模型特点不同, 一般福尔马林模型的主要特点是双时相的自发痛, 分为急性疼痛期和强直期。角叉菜胶模型一般用于亚急性的炎症模型, 而弗氏佐剂模型和蜜蜂毒模型, 以及松节油模型则用于慢性炎性痛的研究。配体门控非选择性通道 P2X<sub>3</sub> 受体在不同炎性痛中的

作用不同, 福尔马林炎性痛模型中, 主要是早期外周组织中小神经元的胞质和膜上 P2X<sub>3</sub> 受体表达和功能上调介导疼痛的产生。不同组织 CFA 慢性炎性痛模型中, 主要表现晚期外周 P2X<sub>3</sub> 受体表达和功能上调, 但 P2X<sub>3</sub>mRNA 层面却无改变。相比 CFA 模型, 角叉菜胶模型炎症持续时间较短, 并且外周 P2X<sub>3</sub> 受体主要参与机械痛敏, 而不参与热痛敏, 主要表现为较早期 P2X<sub>3</sub> 受体表达的上调, 但其具体机制有待进一步研究。松节油模型中, 主要是晚期外周 DRG 中小神经元 P2X<sub>3</sub> 表达增加。而目前尚未有研究涉及蜜蜂毒模型 P2X<sub>3</sub> 的改变, 需要进一步的探讨。

### 参考文献:

- [1] Chen CC, Akopian AN, Sivilotti L, *et al.* A P2X purinoceptor expressed by a subset of sensory neurons[J]. *Nature*, 1995, 337(6548): 428-431.
- [2] Hemmings-Mieszczak M, Dorn G, Natt FJ, *et al.* Independent combinatorial effect of antisenseoligonucleotides and RNAi-mediated specific inhibition of the recombinantRat P2X<sub>3</sub> receptor[J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31(8): 2117-2126.
- [3] Honore P, Kage K, Mikusa J, *et al.* Analgesic profile of intrathecal P2X<sub>3</sub> antisenseoligonucleotide treatment in chronic inflammatory and neuropathic painstates in rats[J]. *Pain*, 2002, 99(1-2): 11-19.
- [4] 黄浩, 丁明敏, 陈雅娟. 两种福尔马林试剂对大鼠炎性痛诱导的行为学比较[J]. *福建师范大学学报*, 2008, 24(5): 75-78.
- [5] 代小奇, 刘金锋, 都兴光, 等. 小鼠微量甲醛炎性痛模型的建立及其脊髓背角 c-fos 的表达[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2011, 45(5): 421-424.
- [6] 汪伟, 王文, 武胜昔, 等. 炎性痛和神经病理性痛模型[J]. *神经解剖学杂志*, 2007, 23(1): 93-98.
- [7] 冯继英. 脊髓 HMGB1 在大鼠炎性痛中的作用[D]. 苏州大学学位论文, 2014.
- [8] Yang LC, Marsala M, Yaksh TL. Characterization of time course of spinal amino acids, citrulline and PGE<sub>2</sub> release after carrageenan/kaolin-induced knee joint inflammation: a chronic microdialysis study[J]. *Pain*, 1996, 67(2-3): 345-354.
- [9] 肖保全, 朱少璇, 杨威, 等. 角叉菜胶致大鼠足肿胀模型探讨及其机制研究[J]. *中国实用医药*, 2008, 3(23): 63-64.
- [10] Yang F, Yang Y, Wang Y, *et al.* Selective class I histone deacetylase inhibitors suppress persistent spontaneous nociception and thermal hypersensitivity in a rat model of bee venom-induced inflammatory pain[J]. *Sheng Li Xue Bao.*, 2015, 67(5): 447-454.
- [11] Chen HS, Lei J, He X, *et al.* Pivotal involvement of neurogenic mechanism in subcutaneous bee venom induced inflammation and allodynia in anesthetized conscious rats [J]. *Experimental Neurology*, 2006, 200(2): 386-391.

- [12] Chen HS, Lei J, He X, *et al.* Peripheral involvement of PKA and PKC in subcutaneous bee venom-induced persistent nociception, mechanical hyperalgesia, and inflammation in rats [J]. *Pain*, 2008, 135(1-2): 31-36.
- [13] Neumann S, Doubell TP, Leslie T, *et al.* Inflammatory pain hypersensitivity mediated by phenotypic primary sensory neurons. *Nature*, 1996, 384(6607): 360-364.
- [14] 刘羊. 大鼠面部慢性炎症痛导致三叉神经节表达 P2X3 神经元表型的转变[D]. 华中科技大学硕士学位论文, 2006.
- [15] Llewellyn-Smith IJ, Burnstock G. Ultrastructural localization of P2X3 receptors in rat sensory neurons[J]. *Neuroreport*, 1998, 9(11): 2545-2550.
- [16] Virginio C, North RA, Surprenant A. Calcium permeability and block at homomeric and heteromeric P2X2 and P2X3 receptors, and P2X receptors in rat nodose neurons [J]. *Physiol*, 1998, 510(1): 27-35.
- [17] Köles L, Gerevich Z, Oliveira JF, *et al.* Interaction of P2 purinergic receptors with cellular macromolecules [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2008, 377(1): 1-33.
- [18] North RA. Molecular physiology of P2X receptors [J]. *Physiol Rev*, 2002, 82(4): 1013-1067.
- [19] Fischer W, Zadori Z, Kullnick Y, *et al.* Conserved lysin and arginin residues in the extracellular loop of P2X(3) receptors are involved in agonist binding [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 576(1-3): 7-17.
- [20] D'Arco M, Giniatullin R, Leone V, *et al.* The c-terminal src inhibitory kinase (Csk)-mediated tyrosine phosphorylation is a novel molecular mechanism to limit P2X3 receptor function in mouse sensory neurons [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(32): 21393-21401.
- [21] Burnstock G. Introduction: P2 receptors [J]. *Curr Top Med Chem*, 2004, 4(8): 793-803.
- [22] Bean BP. Pharmacology and electrophysiology of ATP-activated ion channels [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1992, 13(3): 87-90.
- [23] Khakh BS, North RA. P2X receptors as cell-surface ATP sensors in health and disease [J]. *Nature*, 2006, 442(7102): 527-532.
- [24] Pryazhnikov E, Fayuk D, Nittytoski M, *et al.* Unusually strong temperature dependence of P2X3 receptor traffic to the plasma membrane [J]. *Front Cell Neurosci*, 2011, 5: 27.
- [25] Franklin C, Braam U, Eisele T, *et al.* Lack of evidence for direct phosphorylation of recombinantly expressed P2X2 and P2X3 receptors by protein kinase C [J]. *Purinergic Signalling*, 2007, 3(4): 377-388.
- [26] Wang L, Feng D, Yan H, *et al.* Comparative analysis of P2X1, P2X2, P2X3, and P2X4 receptor subunits in rat nodose ganglion neurons [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96699.
- [27] Burnstock G. P2X receptors in sensory neurons [J]. *BR J Anaesth*, 2000, 84(4): 476-488.
- [28] Bradbury EJ, Burnstock G, McMahon SB. The expression of P2X3 purinoceptors in sensory neurons; effects of axotomy and glial derived neurotrophic factor [J]. *Mol Cell Neurosci*, 1998, 12(4-5): 256-268.
- [29] Vulchanova L, Riedl MS, Shuster SJ, *et al.* Immunohistochemical study of the P2X2 and P2X3 receptor subunits in rat and monkey sensory neurons and their central terminals [J]. *Neuropharmacology*, 1997, 36(9): 1229-1242.
- [30] Guo A, Vulchanova L, Wang J, *et al.* Immunocytochemical localization of the vanilloid receptor 1 (VR1): Relationship to neuropeptides, the P2X3 purinoceptor and IB4 binding sites [J]. *Eur J Neurosci*, 1999, 11(3): 946-958.
- [31] 赵士洁, 殷光甫, 谷远征, 等. 大鼠初级感觉神经元 P2X3 受体的表达及其与 SP 的关系 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2006, 15(1): 91-94.
- [32] Yiangou Y, Facer P, Birch R, *et al.* P2X3 receptor in injured human sensory neurons [J]. *NeuroReport*, 2000, 11(5): 993-996.
- [33] Jarvis MF, Wismer CT, Schweitzer E, *et al.* Modulation of BzATP and formalin induced nociception [J]. *British Journal of Pharmacology*, 2001, 132(1): 259-269.
- [34] Pan AH, Lu DH, Luo XG. Formalin-induced increase in P2X(3) receptor expression in dorsal root ganglia: implications for nociception [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2009, 36(8): 6-11.
- [35] Krimon S, Araldi D, do Prado FC, *et al.* P2X3 receptors induced inflammatory nociception modulated by TRPA1, 5-HT3 and 5-HT1A receptors [J]. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2013, 112: 49-55.
- [36] Xu GY, Huang LY. Peripheral inflammation sensitizes P2X receptor-mediated responses in rat dorsal root ganglion neurons [J]. *J. Neurosci*, 2002, 22(1): 93-102.
- [37] Yasuda M, Shinoda M, Kiyomoto M, *et al.* P2X3 receptor mediates ectopic mechanical allodynia with inflamed lower lip in mice [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 528(1): 67-72.
- [38] Zhang H, Liu L, Lu G, *et al.* Chemical irritation of the prostate sensitizes P(2)X(3) receptor-mediated responses in rat dorsal root ganglion neurons [J]. *NeuroUrol Urodyn*, 2011, 30(4): 612-618.
- [39] Shinoda M, Ozaki N, Asai H, *et al.* Changes in P2X3 receptor expression in the trigeminal ganglion following monoarthritis of the temporomandibular joint in rats [J]. *Pain* 2005, 116(1-2): 42-51.
- [40] Zhu H, Yu Y, Zheng L, *et al.* Chronic inflammatory pain upregulates expression of P2Y receptor in small-diameter sensory neurons [J]. *Metab Brain Dis*, 2015, 30(6): 1349-1358.
- [41] 杨友华, 杨荣, 黄丹, 等. 慢性炎症痛引起 DRG 感觉神经元 P2X3 受体表达的改变 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2009, 18(5): 515-520.
- [42] 林琳. 面部慢性炎症疼痛模型大鼠三叉神经节 CB1 和 P2X3 受体表达的改变 [D]. 华中科技大学硕士学位论文, 2011.
- [43] McGaraughty S, Wismer CT, Zhu CZ, *et al.* Effects of A-317491, a novel and selective P2X3/P2X2/3 receptor antagonist, on neuropathic, inflammatory and chemogenic nociception following intrathecal and intraplantar administration [J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 140(8): 1381-1388.

同;自制固定装置多以塑料瓶设计制作,虽简易、价廉,但易损坏,使用寿命短;市售固定装置采用有机玻璃或不锈钢材质制作,虽不易损坏,但固定装置四周不能透气,对动物伤害较大,不能较长时间固定动物。同时笔者发现以往研究报道的固定装置均不适用于发汗、止汗实验研究中小鼠的固定,虽然,王艳宏等<sup>[7]</sup>人通过自制小鼠固定装置固定小鼠研究了麻黄的发汗作用,但尚未对小鼠固定装置作相关报道。

笔者研发的用于观察后足趾类实验的小鼠固定器克服了现有固定装置的不足,同时也适用于尾静脉注射、断尾取血等实验操作,具有以下突出的优点:(1)材质为铜片,不易损坏;(2)固定器四周透气,不会因为固定时间太长易导致其出汗过多影响实验结果;(3)固定时不易对实验者或动物造成伤害;(4)使用方便;(5)固定装置结构简单,利于生产、易于推广,且所有材料均可清洗消毒处理,方便重复使用。本实验室首次设计制作适用于观察后

足趾类发汗、止汗实验等实验操作的固定器,为实验者提供简单、安全、携带实验工具。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 田顺亮, 钱学华. 大鼠断尾取血固定装置的设计及取血的方法[J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(7): 419 - 421.
- [ 2 ] 刘保新, 陈廖斌, 汪晖. 介绍一种简易的大鼠固定装置[J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(3): 75 - 77.
- [ 3 ] 孟荣. 小白鼠固定器的制作及其应用[J]. 衡阳医学院学报, 1985, 1(1): 51 - 54.
- [ 4 ] 刘辉, 康白. 小鼠固定器的制作与应用[J]. 临床和实验医学杂志, 2010, 9(3): 227 - 228.
- [ 5 ] 金永柱, 蒋作君. 简易小鼠固定器的制作[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2000, 1(1): 87 - 87.
- [ 6 ] 施文, 孙永强. 小鼠尾静脉注射和采血简易固定装置的制作和使用方法[J]. 免疫学杂志, 2011, 27(9): 807 - 808
- [ 7 ] 王艳宏, 王秋红, 夏永刚, 等. 麻黄化学拆分组分的性味药理学评价[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(6): 489 - 491.

[ 修回日期 ] 2015-12-14

(下接第 78 页)

- [44] Oliveira MC, Pelegrini-da-Silva A, Tambeli CH. Peripheral mechanisms underlying the essential role of P2X<sub>3</sub>/2/3 receptors in the development of inflammatory hyperalgesia[J]. Pain 2009, 141(1-2): 127 - 134.
- [45] Teixeira JM, Oliveira MC, Jr Nociti FH Jr, et al. Involvement of temporomandibular joint P2X<sub>3</sub> and P2X<sub>2</sub>/3 receptors in carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia in rats[J]. Eur J Pharmacol., 2010, 645(1-3): 79 - 85.
- [46] 杜璐, 张金海, 阮怀珍. 炎性痛大鼠脊髓和背根节 P2X<sub>3</sub> 受体的表达变化[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(2): 99 - 102.
- [47] Yiangou Y, Facer P, Baecker PA, et al. ATP-gated ion channel P2X<sub>3</sub> is increased in human inflammatory bowel disease[J]. Neurogastroenterol, 2001, 13(4): 365 - 369.
- [48] Shieh KR, Yang SC, Tseng HL, et al. Evidence for up-regulation of purinergic receptor genes associating with TRPV1 receptors and

neurotrophic factors in the inflamed human esophagus[J]. Curr Mol Med, 2014, 14(9): 1205 - 1214.

- [49] Chen Y, Zhang L, Yang J, et al. LPS-induced dental pulp inflammation increases expression of ionotropic purinergic receptors in rat trigeminal ganglion[J]. Neuroreport, 2014, 25(13): 991 - 997.
- [50] Wang S, Zhu HY, Jin Y, et al. Adrenergic signaling mediates mechanical hyperalgesia through activation of P2X<sub>3</sub> receptors in primary sensory neurons of rats with chronic pancreatitis[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2015, 308(8): G710 - G719.
- [51] Su J, Gao T, Shi T, et al. Phenotypic changes in dorsal root ganglion and spinal cord in the collagen antibody-induced arthritis mouse model[J]. J Comp Neurol, 2015, 523(10): 1505 - 1528.

[ 修回日期 ] 2015-12-28