

DOI: 10.13376/j.cblls/2017048

文章编号: 1004-0374(2017)04-0364-07

阿片药引起痛觉过敏的分子机制

孙樱桐¹, 金 华^{1,2*}

(1 昆明理工大学医学院, 昆明 650500; 2 昆明理工大学附属云南省第一人民医院, 昆明 650500)

摘 要: 阿片类药物是临床上镇痛及手术麻醉的常用药物, 具有催眠、镇痛、镇静、抑制不良应激反应等作用。然而, 阿片类药物引起的恶心、呕吐、便秘、呼吸抑制等副作用极大地限制了其临床应用和推广。近年来, 阿片类药物诱导的痛觉敏化现象引起了学者们的高度关注。痛觉敏化即使用阿片类药物患者对疼痛刺激敏感性增加的现象, 其机制可能与中枢神经可塑性改变有关, 造成促伤害性感受通路敏化, 剂量效应曲线右移。现将对阿片药诱导痛觉敏化的研究进展进行综述。

关键词: 阿片类药物; 痛觉敏化; 分子机制

中图分类号: R441.1 **文献标志码:** A

The molecular mechanisms of opioid-induced hyperalgesia

SUN Ying-Tong¹, JIN Hua^{1,2*}

(1 Faculty of Medicine, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China;

2 First People's Hospital of Yunnan Province, Affiliated Hospital of
Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: Opioids are the most effective drugs used for moderating severe pain and are common anesthetic used for surgery, which produce sedative, hypnotic and analgesic effects. However, its clinical applications have been limited by its side effects such as nausea, vomiting and constipation. Besides, opioid-induced hyperalgesia has attracted greater attention recently. Opioid-induced hyperalgesia increases the thermal or mechanical sensitivity in patients receiving a prolonged treatment of opioids. The mechanism might involve the neural plastic changes in CNS, producing a rightward shift in the dose-effect curve. This article reviews the hypothesized mechanisms of opioid-induced hyperalgesia.

Key words: opioids; hyperalgesia; molecular mechanism

阿片类镇痛药作为缓解中至重度疼痛的主体药物在临床上应用多年。然而, 长期应用阿片类药物不仅会导致身体产生药物成瘾, 还会出现痛觉敏化现象, 需要增大剂量来维持原有的镇痛效果, 增加了阿片类药物其他副作用的发生率且加重其程度。阿片类药物引发痛觉敏化的机制目前还不清楚, 对其研究主要分为两个方向: 其一是中枢神经系统的敏化, 涉及兴奋性氨基酸的合成和释放增加, 及随后的细胞内生理变化; 其二是阿片受体的脱敏和复敏受损。因此, 阐明阿片类药物诱导痛觉敏化现象的分子机制有利于减少其发生可能, 并为该类药物的新药研究和临床推广提供理论依据和指导。

1 阿片受体

1.1 阿片受体生理特性

阿片受体属于 G 蛋白偶联受体 (G-protein-coupled receptors, GPCRs), 具有 7 个跨膜区域, 经典阿片受体主要有 μ 阿片受体 (μ -opioid receptor, MOR)、 δ

收稿日期: 2016-07-01; 修回日期: 2016-10-12

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(31360246); 国家自然科学基金青年项目(81300973); 云南省科技厅面上项目(2013FB100); 云南省高校联合专项面上项目(2014FB100)

*通信作者: E-mail: jinhuakm@163.com

阿片受体(δ -opioid receptor, DOR)和 κ 阿片受体(κ -opioid receptor, KOR)^[1]。此外, 1995年, Meunier等^[2]发现了一种新的阿片受体——内源性阿片肽, 即孤啡肽的受体ORL1。1987年, Tempel和Zukin^[3]首次利用放射性自显影技术揭示了3种主要阿片受体在大鼠脑中的分布特征: MOR广泛分布于中枢神经系统, 在脊髓背角浅层高度集中, 并在海马锥体细胞、纹状体和脑皮层中少量表达, 而在外周神经系统则主要分布于背根神经节神经元细胞膜表面^[4]; DOR弥漫性分布于脊髓背角^[5]; KOR主要集中在伏核、海马、丘脑等区域, 并有少量分布于纹状体^[3]。其中MOR有7个亚型, 研究较多的是MOR1和MOR2, 且有报道称MOR1在脊髓和脊髓上水平起镇痛作用, 而MOR2只在脊髓水平发挥镇痛作用^[6]。可见, 不同类型的阿片受体分布存在差异, 所发挥的生理功能也具有不同特点。

MOR是发挥镇痛作用的主要位点, 同许多GPCRs一样, MOR主要在细胞膜表面与细胞外配体结合后将信号转导入胞内, 通过G蛋白偶联受体信号系统发挥效应。配体作用于受体后, 与受体偶联的G蛋白发生构象改变, $G\alpha$ 和 $G\beta\gamma$ 亚单位解离, G蛋白亚基活化后通过作用于不同的效应分子, 放大和传递细胞信号, 介导胞内多条信号通路, 如腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)活性的抑制; G蛋白偶联受体激酶(G protein-coupled receptor kinase, GRK)、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的激活等。随后, 关闭N型电压门控型钙离子通道, 开放钙依赖性内控型钾通道, 导致神经元细胞超极化和兴奋性下降, 抑制痛觉冲动的进一步传导^[7]。

1.2 阿片受体和GPCRs的相互作用

作为GPCRs家族的一个成员, MOR可以和其他GPCRs相互作用, 并形成异源二聚体^[8]。最新研究显示, DOR和MOR可形成异源二聚体, 新的配体能产生较长时间的镇痛效果, 且不发生镇痛耐受^[9]。此外, MOR和其他GPCRs的相互作用已通过体外实验和神经元共定位得到证实^[10]。Heinisch等^[11]记录到中脑导水管周围灰质(periaqueductal gray, PAG)中MOR-CXCR4(C-X-C chemokine receptor type 4, 一种CXC趋化因子受体)异二聚体和MOR-CX3CR1(CX3C chemokine receptor 1)异二聚体存在受体的异源脱敏现象。椎管内注射趋化因子CXCL12降低吗啡镇痛效应, 而椎管内注射趋化因子受体CXCR4拮抗剂则能增强吗啡镇痛作用,

提示MOR-CXCR4二聚体脊髓内相互作用在体内促进吗啡镇痛作用^[12]。另有研究表明, 在同源和异源MOR上, 丝氨酸和苏氨酸残基发生磷酸化存在不同的机制^[13]。MOR磷酸化使抑制性G蛋白(inhibitory G protein, Gi)脱离MOR, GRK和抑制蛋白被吸收到MOR, 导致MOR内化并因此产生镇痛耐受^[14]。MOR-CXCR4活化也可导致细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)激活, 降低疼痛阈值, 因而导致痛觉的敏化^[15]。

1.3 G蛋白的活化

G蛋白在阿片受体和痛觉过敏的关联中发挥重要作用。阿片受体是G蛋白偶联受体, 镇痛作用是从Gi激活开始的, MOR与Gi结合, 产生 K^+ 外流, 促进细胞膜超极化, 抑制伤害性信号的传递。在脊神经L5-L6结扎(spinal nerve ligation, SNL)诱发的神经状态下, 脊髓MOR-Gs增加, 重复使用羟考酮使SNL诱导的MOR-Gs增加, 超低剂量纳曲酮能减弱Gs偶联以及羟考酮诱发的阿片药引起痛觉过敏(opioid-induced hyperalgesia, OIH)^[16]。

2 吗啡诱导痛觉过敏的相关分子信号通路机制

阿片类药物的使用可能是一把双刃剑, 在应用最初阶段提供了直接的镇痛和抗痛觉的效果, 但随后因促伤害性感受通路的敏化则导致OIH。有关痛觉敏化现象发生的信号通路如下所述。

2.1 NMDA/PLC β 3/PKC γ 信号通路

NMDA受体广泛存在于外周和中枢神经系统, 参与多种生理过程^[17]。伤害性信息可引起脊髓背根神经节神经末梢释放谷氨酸递质, 激活突触后NMDA受体^[18], 受体活化后引起 K^+ 和 Ca^{2+} 内流, 使脊髓背角神经元去极化, 产生动作电位^[19]。MOR受到刺激后促使细胞内PKC活化增加, 触发NMDA受体激活以及胞浆PKC γ 转移到质膜诱导NMDA受体磷酸化, 促进疼痛产生^[20]。在行为测试中, 低剂量吗啡诱导的痛觉过敏能被NMDA受体的高亲和力、非竞争性拮抗剂MK-801和氯胺酮减轻, 这种效果存在剂量依赖性^[21]。NMDA NR1和PKC γ 亚型在大鼠脑突触后紧密结合, 提示该受体可能直接被蛋白激酶磷酸化, 导致突触活性增强^[22]。

在细胞培养中, 阿片类药物对cAMP形成具有双重效应: 低浓度的MOR选择性激动剂DAMGO刺激cAMP的产生, 而高浓度激动剂则抑制cAMP的产生^[23]。阿片受体具有通过Gi蛋白的 $\beta\gamma$ 亚基激活PLC β (磷脂酶C β , phospholipase C β)同工酶的

能力,表明这些同工酶在吗啡诱导的痛觉过敏过程中发挥作用^[24]。在磷酸肌醇信号通路,PLC β 的激活导致了PIP2水解,产生两个重要的第二信使,即三磷酸肌醇(inositol triphosphate, InsP3)和二酰甘油(diacylglycerol, DAG)。前者促进细胞内储存的钙离子释放,后者激活蛋白激酶C γ ^[25]。

Galeotti等^[26]用非选择性PLC抑制剂U73122逆转了低剂量吗啡暴露诱导的痛觉过敏,并用U73343(无活性的U73122结构类似物)对U73122进行负调控,未能逆转痛觉过敏,因此,推断吗啡诱导的痛觉过敏似乎是由PLC的活化介导的。PKC γ 已被确定存在于中枢神经系统神经元中,调节阿片信号触发的NMDA谷氨酸受体的激活和参与疼痛刺激下谷氨酸NMDA系统的补给^[27-28]。考虑到在PLC/PKC肌醇脂质信号通路中PLC刺激PKC,故对PKC的激活也进行了研究。用PKC抑制剂calphostin C预处理小鼠,剂量依赖性地阻止了啡诱导的痛觉敏化,表明PKC的激活是啡诱导痛觉过敏的重要一步^[29]。另有研究证实,PKC γ 参与疼痛敏感性增加^[30]。利用anti-PKC γ 反义核苷酸预处理小鼠,下调PKC γ ,逆转了啡诱导的痛觉过敏作用。

2.2 PI3K/Akt/mTOR信号通路

磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidyl inositol 3-kinase, PI3K)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(Akt)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是3个主要的信号转导通路之一,其在癌症中的重要性已确定^[31]。mTOR是PI3K下游一个关键激酶,调节肿瘤细胞的增殖、生长、存活和肿瘤血管生成。对酪氨酸激酶类受体(G蛋白偶联受体)研究表明,当激动剂结合时,GTP结合的G α 亚基从G $\beta\gamma$ 亚基游离出来。G $\beta\gamma$ 亚基随后激活PI3K/Akt/mTOR通路。鉴于 μ 阿片受体也是G蛋白偶联受体,在脊髓背角神经元中PI3K和Akt可能参与MOR依赖的mTOR激活^[32]。在体外培养脊髓背角神经元中加入啡和10 μ mol/L LY294002(PI3K特异性抑制剂)或5 μ mol/L Akt抑制剂IV(Akt特异性抑制剂),均能显著减弱啡诱导的脊髓背角神经元内p-mTOR、p-S6K1的表达增加,同时也能阻断DAMGO引起神经元细胞的p-mTOR、p-S6K1、P-4E-BP1增加^[31]。在动物行为试验中,鞘内单独注射10 μ g LY294002或Akt抑制剂IV能抑制啡诱导的MPAE率(the percentage of maximal possible analgesic effect)下降和p-mTOR、p-S6K1、P-4E-BP1

在脊髓的表达增加^[33]。这表明PI3K/Akt参与脊髓背角神经元中MOR引起的mTOR激活。

PKC γ 、nNOS和CaMKII α 是啡耐受和痛觉过敏机制的关键成员,上调这些蛋白质导致早期痛觉通路敏化。在啡注射后,背角PKC γ 、nNOS和CaMKII α 的表达增加,而这一过程能被mTOR抑制剂逆转^[33]。因此,mTOR是慢性啡暴露下脊髓背角适应的一个关键调控因素。

2.3 ERK/MAPK信号通路

MAPK家族通过诱导转录、翻译和对靶蛋白的翻译后修饰把细胞外刺激转化产生多种细胞反应。MAPK家族包括细胞外信号调节激酶(ERK)、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)和c-Jun氨基末端激酶(JNK)。MAPK是细胞增殖、分化、生存、学习和记忆的一个关键的调控子^[34-35],并且有证据表明,MAPK可能是疼痛超敏反应的关键因素^[36]。多种MAPK抑制剂处理可降低炎症和神经性疼痛,且不影响主体感知疼痛。相关的细胞和分子机制已被证明参与啡诱导痛觉敏化的发展^[37]。

Haghparsat等^[38]试验显示,慢性啡处理能引起中脑多巴胺系统MAPK的激活,通过磷酸化环磷酸腺苷效应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB),可以调节多种基因产物,如c-fos、脑源性神经营养因子、神经激肽-1和降钙素基因相关肽。鞘内注射MAPK抑制剂能抑制慢性啡诱导的背根神经节神经元(dorsal root ganglia, DRGs)、脊髓和坐骨神经中瞬时感受器电位辣椒素受体I型免疫反应(transient receptor potential vanilloid type-1-immunoreactive, TRPV1-IR)的增加^[39]。鞘内注射靶向DRG神经元抑制剂可以抑制MAPK的磷酸化,从而降低啡耐受大鼠DRG神经元TRPV1-IR^[40]。Zhuang等^[41]研究表明,p38和ERK激活可能引起TRPV1表达增加。此外,长期持续的JNK/SAPK活化和c-Jun的表达可能参与DRG神经元TRPV1的表达调控^[42]。因此,慢性啡诱导的DRG中MAPK的激活可通过调节下游靶点TRPV1参与啡耐受和相关痛觉敏化,即MAPK信号通路包含了TRPV1的上游调控子,有助于啡痛觉过敏的形成。

2.4 神经元水平的OIH机制

在神经元水平,OIH可能发生于多个环节,如初级传入神经元敏化;二级神经元和兴奋性神经递质的活化;疼痛下行调控导致痛觉神经调质的上调和谷氨酸释放增强。

2.4.1 谷氨酸能神经传递系统

OIH 机制之一包括谷氨酸能系统, 尤其是 NMDA 谷氨酸受体。NMDA 受体位于初级传入神经元的中枢神经末梢突触前, 以及脊髓背角神经元突触后。皮下、鞘内或脑室注射 NMDA 受体拮抗剂均可降低或预防 OIH 发生^[43]。在痛觉敏化条件下, NMDA 受体拮抗剂长期与吗啡联合使用导致小鼠全脑 Arrb2(β -arrestin-2) 剪切体含量降低^[43]。吗啡镇痛耐受发生时, Arrb2 在中脑导水管周围灰质(periaqueductal gray, PAG)、皮层和纹状体中均表达增加^[44], 诱导 MOR 脱敏, 引起吗啡镇痛耐受^[45]。上述结果提示, NMDA 受体通过调节 Arrb2 活化参与 OIH 和镇痛耐受, 并将该两种现象联系在一起。有学者提出假设: 慢性阿片类药物可以通过从 NMDA 受体移除镁离子, 消除阻断作用, 诱导 PKC 易位到质膜, 导致突触前 NMDA 受体活性增强, 进而促进 NMDA 受体转运到质膜增加其活性, 使得谷氨酸大量释放^[46]。在吗啡持续注射一段时间后, 谷氨酸转运体、谷氨酸-天冬氨酸转运体的减少^[47]将导致谷氨酸在突触间隙增加, 造成突触的过度刺激, 因而引起痛觉敏化。

2.4.2 长时程增强(long-term potentiation, LTP)

长时程增强是一种同源突触致敏导致的突触强度及其信号转导增强, 引起系统超敏反应, 诱发持续性疼痛模型的痛觉过敏^[48]。近来研究发现, LTP 和 OIH 存在共同的信号通路, LTP 可能参与 OIH。例如, 由胶质细胞释放的脑源性神经营养因子(BDNF) 在 OIH 的发展中起到促进作用^[49], 并参与 LTP 的维持^[50]; 第二信使 CaMKII、PKC、PKA 和 PLC 都同时参与 OIH 和 LTP 超敏反应, 抑制这些信使即可阻碍 LTP^[51]。Haugan 等^[52] 研究发现, LTP 和 OIH 都需要 NMDA 受体, 且都可被 NMDA 受体拮抗剂, 如氯胺酮、MK801 等阻断。此外, 神经胶质细胞和促炎性细胞因子都是 LTP 和 OIH 的介质^[53]。关于 LTP 本身, IL-1 β 、TNF- α 可以提高自发兴奋性突触后电位(EPSCs) 和频率, 导致脊髓神经兴奋。这些细胞因子主要通过激活神经胶质细胞发挥其作用, 诱导其他介质触发 LTP 和 OIH^[53]。

3 阿片药诱导痛觉敏化的其他因素

一氧化氮是具有生物活性的气体分子, 是细胞内重要的第二信使, 在中枢和外周伤害性信息传递中发挥重要作用^[54]。神经元突触前膜去极化, 谷氨酸激活 Ca²⁺ 内流, 继而激活一氧化氮合酶产生一氧

化氮。NO 激活可溶性鸟苷酸环化酶 sGC, 促进环鸟苷酸合成, 作用于 cGMP 门控通道, 调节 PDE 与 PKG, 参与中枢神经系统伤害性信息传递, 维持神经元兴奋性^[55]。

兴奋性氨基酸(excitatory amino acids, EAAs) 是疼痛调制的主要介质之一。研究表明, 脊髓伤害性信息传递通路中 EAAs 释放引起 NMDA 受体活动和表达上调, 同时细胞内 NOS 活动增强, NO 生成增加, 引起痛觉过敏^[56]。EAAs 神经递质和受体系统联系密切, 因为合用 NMDA 受体拮抗剂 MK-801 或非 NMDA 兴奋性氨基酸受体拮抗剂 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione 与鞘内吗啡能完全或部分阻断 OIH 和耐受的发展^[57]。此外, 从蛋白激酶 C(PKC) 抑制剂神经节苷脂 GM1 能缓解 OIH 和耐受现象表明, PKC 在 OIH 和耐受形成中发挥关键作用^[58]。体外培养神经细胞发现, 神经节苷脂 GM1 在阿片类药物相关的神经可塑性中有调节作用^[59]。

小胶质细胞作为中枢神经系统中的免疫细胞, 在神经元生命活动中起着重要作用^[60]: 一方面作为吞噬细胞发挥免疫作用; 另一方面调控多种化学因子、细胞因子和炎症介质等。已证实这些因子参与吗啡诱导的痛觉敏感性增强, 造成神经系统紊乱, 具有损害作用^[61]。小胶质细胞还可直接作用于脊髓后角神经元使其敏化^[62]。进一步的研究表明, NO 作为细胞内自由扩散的信号分子, 能够直接调控小胶质细胞^[63]。另有证据表明, 抑制脊髓 ERK5 的表达能缓解注射 CX3CR1 导致的痛觉敏化和小胶质细胞活化^[64], 胶质细胞代谢抑制剂和炎症因子拮抗剂能逆转吗啡耐受模型中的异常疼痛^[65]。

星形胶质细胞能够被吗啡激活。急性吗啡暴露导致 DRG 卫星胶质细胞中胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、IL-1 β 和基质金属蛋白酶-9(MMP-9) 的表达上调^[66]。此外, 5~7 d 应用吗啡为脊髓星形细胞活化以及星形细胞中 IL-1 β 表达上调所必需^[67]。另一方面, 细菌脂多糖(lipopolysaccharides, LPS) 诱导的星形细胞中 Ca²⁺ 应答能在体外通过 μ 受体激动剂内啡肽衰减^[68]。鞘内注射吗啡后, 在神经元和星形胶质细胞、小胶质细胞中产生一个特定活动, 在脊髓神经元和星形胶质细胞中, 磷酸化 NF κ B-p65 水平增加, 而小胶质细胞中没有该现象发生^[69]。在这项研究中, Toll 样受体 4(toll-like receptors 4, TLR4) 拮抗剂 LPS-RS 能防止 p65 磷酸化以及镇痛耐受和 OIH。吗啡诱导星形细胞 p-JNK 水平升高, 而 JNK 和 NMDA 拮抗剂能预防 OIH 的发展^[70]。在超低剂

量丁丙诺啡 (0.11 g/kg) 产生痛觉敏化和激活脊髓星形胶质细胞时, 小胶质细胞并没有表现出活性增强的反应^[71]。此外, 脊髓给予 5-HT₂ 受体拮抗剂能减少星形胶质细胞的活化和逆转丁丙诺啡诱导的痛觉过敏, 表明超低剂量丁丙诺啡通过星形细胞 5-HT 介导的机制诱导 OIH。

在一些研究中也观察到小胶质细胞和星形细胞同时被激活的现象, 并伴随 TNF- α 的释放^[72]。2015 年, 有研究者着手于新的内啡肽衍生物, 与吗啡激活小胶质细胞和星形细胞相比, 这些衍生物具有良好的镇痛效果, 且没有胶质细胞介导的不良反应^[73]。

表观遗传学认为基因转录主要受到两个方面的调控: DNA 甲基化导致基因转录抑制和组蛋白乙酰化利于基因转录。OIH 和表观遗传学存在联系的第一个证据是 Doehring 等^[74]发现的阿片药使用者对 MOR 基因启动子有甲基化增加现象, 这将影响其转录, 这表明阿片类药物可以抑制 MOR 基因去甲基化。另一项研究表明, 吗啡诱导脊髓组蛋白乙酰化程度进行修饰, 参与吗啡耐受、依赖和 OIH^[75]。此外, 环境似乎也对 OIH 的发展有重大影响^[76]。根据性别、年龄、遗传背景、免疫情况、疼痛和阿片类药物治疗史以及阿片类药的剂量, 每个个体 OIH 的发生、发展和维持则可能不同。

4 展望

阿片类药物引起痛觉敏化的机制十分复杂, 尚需进一步深入探讨。NMDARs 受体及其下游信号通路在吗啡引起痛敏中起着至关重要的作用, 有望作为药物靶点进行深入研究。

另外, 已知阿片类药物诱导的耐受和痛觉敏化现象关系密切, 且在临床应用过程中难以明确划分界限, 但两者具有各自的特点, 且发生的分子机制存在差别。因此, 研究两者机制之间的相互关系和作用, 能为药物研发提供更准确的靶点, 有利于临床上根据患者实际情况和治疗目的选择性应用不同的阿片类药物或联合用药, 增强其镇痛作用, 并减少不良反应, 以求最大限度地提升患者的生活品质。

[参 考 文 献]

[1] Martin WR, Eades CG, Thompson JA, et al. The effects of morphine- and nalorphine- like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J Pharmacol Exp Ther*, 1976, 197: 517-32

[2] Meunier JC, Mollereau C, Toll L, et al. Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like

ORL1 receptor. *Nature*, 1995, 377: 532-5

[3] Tempel A, Zukin RS. Neuroanatomical patterns of the μ , δ , and κ opioid receptors of rat brain as determined by quantitative *in vitro* autoradiography. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 4308-12

[4] Arvidsson U, Riedl M, Chakrabarti S, et al. Distribution and targeting of a μ -opioid receptor (MOR1) in brain and spinal cord. *J Neurosci*, 1995, 15: 3328-41

[5] Quirion R, Zajac JM, Morgat JL, et al. Autoradiographic distribution of mu and delta opiate receptors in rat brain using highly selective ligands. *Life Sci*, 1983, 33: 227-30

[6] González-Rodríguez S, Hidalgo A, Baamonde A, et al. Involvement of G i/o, proteins and GIRK channels in the potentiation of morphine-induced spinal analgesia in acutely inflamed mice. *Arch Exp Pathol Pharmacol*, 2010, 381: 59-71

[7] 倪健强. 炎性疼痛大鼠背根神经节 microRNA 134 对 MOR1 调节作用的研究[D]. 江苏苏州: 苏州大学, 2013

[8] Gomes I, Fujita W, Gupta A, et al. Identification of a μ - δ opioid receptor heteromer-biased agonist with antinociceptive activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 17160

[9] Mosberg HI, Yeomans L, Anand JP, et al. Development of a bioavailable μ opioid receptor (MOPr) agonist, δ opioid receptor (DOPr) antagonist peptide that evokes antinociception without development of acute tolerance. *J Med Chem*, 2014, 57: 3148-53

[10] Massotte D. *In vivo*, opioid receptor heteromerization: where do we stand? *Br J Pharmacol*, 2015, 172: 420-34

[11] Heinisch S, Palma J, Kirby LG. Interactions between chemokine and μ -opioid receptors: anatomical findings and electrophysiological studies in the rat periaqueductal grey. *Brain Behav Immun*, 2011, 25: 360-72

[12] Rivat C, Sebaihi S, Steenwinckel JV, et al. Src family kinases involved in CXCL12-induced loss of acute morphine analgesia. *Brain Behav Immun*, 2014, 38: 38-52

[13] Mann A, Illing S, Miess E, et al. Different mechanisms of homologous and heterologous μ -opioid receptor phosphorylation. *Br J Pharmacol*, 2015, 172: 311-6

[14] Williams JT, Ingram SL, Henderson G, et al. Regulation of μ -opioid receptors: desensitization, phosphorylation, internalization, and tolerance. *Pharmacol Rev*, 2013, 65: 223-54

[15] Parsadaniantz SM, Rivat C, Rostène W, et al. Opioid and chemokine receptor crosstalk: a promising target for pain therapy? *Nat Rev Neurosci*, 2015, 16: 69-78

[16] Largent-Milnes TM, Guo W, Wang HY, et al. Oxycodone plus ultra-low-dose naltrexone attenuates neuropathic pain and associated μ -opioid receptor-Gs coupling. *J Pain*, 2008, 9: 700-13

[17] Santangelo RM, Acker TM, Zimmerman SS, et al. Novel NMDA receptor modulators: an update. *Expert Opin Ther Pat*, 2012, 22: 1337-52

[18] 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 Physiol*, 2013, 591: 2001-19

[19] Christie JM, Jahr CE. Dendritic NMDA receptors activate

- axonal calcium channels. *Neuron*, 2008, 60: 298-307
- [20] Ultenius C, Linderoth B, Meyerson BA, et al. Spinal NMDA receptor phosphorylation correlates with the presence of neuropathic signs following peripheral nerve injury in the rat. *Neurosci Lett*, 2006, 399: 85-90
- [21] Arout CA. Supraspinal and spinal mechanisms of morphine-induced hyperalgesia. *Dissertations & Theses-Gradworks*, 2014
- [22] Wang JQ, Guo ML, Jin DZ, et al. Roles of subunit phosphorylation in regulating glutamate receptor function. *Eur J Pharmacol*, 2014, 728: 183-7
- [23] Seseña E, Vega R, Soto E. Activation of μ -opioid receptors inhibits calcium-currents in the vestibular afferent neurons of the rat through a cAMP dependent mechanism. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 90
- [24] Bianchi E, Galeotti N, Menicacci C, et al. Contribution of G inhibitory protein α subunits in paradoxical hyperalgesia elicited by exceedingly low doses of morphine in mice. *Life Sci*, 2011, 89: 918-25
- [25] Berridge MJ. Inositol trisphosphate and calcium signaling. *Ann N Y Acad Sci*, 1995, 766: 31-43
- [26] Galeotti N, Stefano GB, Guarna M, et al. Signaling pathway of morphine induced acute thermal hyperalgesia in mice. *Pain*, 2006, 123: 294-305
- [27] Celerier E, Laulin J, Larcher A, et al. Evidence for opiate-activated NMDA processes masking opiate analgesia in rats. *Brain Res*, 1999, 847: 18-25
- [28] Celerier E, Simonnet G, Maldonado R. Prevention of fentanyl-induced delayed pronociceptive effects in mice lacking the protein kinase $C\gamma$ gene. *Neuropharmacology*, 2004, 46: 264-72
- [29] Song L, Wu C, Zuo Y. Melatonin prevents morphine-induced hyperalgesia and tolerance in rats: role of protein kinase C and *N*-methyl-*D*-aspartate receptors. *BMC Anesthesiol*, 2015, 15: 1-8
- [30] He YQ, Chen Q, Ji L, et al. PKC γ receptor mediates visceral nociception and hyperalgesia following exposure to PTSD-like stress in the spinal cord of rats. *Mol Pain*, 2013, 9: 35
- [31] Zhang Y, Zhang JW, Lv GY, et al. Effects of STAT3 gene silencing and rapamycin on apoptosis in hepatocarcinoma cells. *Int J Med Sci*, 2012, 9: 216-24
- [32] Shih MH, Kao SC, Wang W, et al. Spinal cord NMDA receptor-mediated activation of mammalian target of rapamycin is required for the development and maintenance of bone cancer- induced pain hypersensitivities in rats. *J Pain*, 2012, 13: 338-49
- [33] Xu JT, Zhao JY, Zhao X, et al. Opioid receptor-triggered spinal mTORC1 activation contributes to morphine tolerance and hyperalgesia. *J Clin Invest*, 2014, 124: 592-603
- [34] Costa AP, Lopes MW, Rieger DK, et al. Differential activation of mitogen-activated protein kinases, ERK 1/2, p38 MAPK, and JNK p54/p46 during postnatal development of rat hippocampus. *Neurochem Res*, 2015, 41: 1-10
- [35] Ji RR, Kawasaki Y, Zhuang ZY, et al. Protein kinases as potential targets for the treatment of pathological pain. *Handbook Exp Pharmacol*, 2007, 177: 359-89
- [36] Sanna MD, Mello T, Ghelardini C, et al. Inhibition of spinal ERK1/2-c-JUN signaling pathway counteracts the development of low doses morphine-induced hyperalgesia. *Eur J Pharmacol*, 2015, 764: 271-7
- [37] Maria DS, Carla Ghelardini, et al. Regionally selective activation of ERK and JNK in morphine paradoxical hyperalgesia: a step toward improving opioid pain therapy. *Neuropharmacology*, 2014, 86: 67-77
- [38] Haghparast A, Fatahi Z, Alamdary SZ, et al. Changes in the levels of p-ERK, p-CREB, and c-fos in rat mesocorticolimbic dopaminergic system after morphine-induced conditioned place preference: the role of acute and subchronic stress. *Cell Mol Neurobiol*, 2014, 34: 277-88
- [39] Yong C, Christian G, Claudia S. Activation of TRPV1 contributes to morphine tolerance: involvement of the mitogen-activated protein kinase signaling pathway. *J Neurosci*, 2008, 28: 5836-45
- [40] Cao M, Liu F, Ji F, et al. Effect of c-Jun N-terminal kinase (JNK)/p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) in morphine-induced tau protein hyperphosphorylation. *Behav Brain Res*, 2013, 237: 249-55
- [41] Zhuang ZY, Xu H, Clapham DE, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase activates ERK in primary sensory neurons and mediates inflammatory heat hyperalgesia through TRPV1 sensitization. *J Neurosci*, 2004, 24: 8300-9
- [42] Hou L, Li W, Wang X. Mechanism of interleukin-1 β -induced calcitonin gene-related peptide production from dorsal root ganglion neurons of neonatal rats. *J Neurosci Res*, 2003, 73: 188-97
- [43] Ohnesorge H, Feng Z, Zitta K, et al. Influence of clonidine and ketamine on m-RNA expression in a model of opioid-induced hyperalgesia in mice. *PLoS One*, 2012, 8: e79567
- [44] Jiang B, Shi Y, Li H, et al. Decreased morphine analgesia in rat overexpressing β -arrestin 2 at periaqueductal gray. *Neurosci Lett*, 2006, 400: 150-3
- [45] Li G, Ma F, Gu Y, et al. Analgesic tolerance of opioid agonists in mutant μ -opioid receptors expressed in sensory neurons following intrathecal plasmid gene delivery. *Mol Pain*, 2013, 9: 63
- [46] Zhao YL, Chen SR, Chen H, et al. Chronic opioid potentiates presynaptic but impairs postsynaptic *N*-methyl-*D*-aspartic acid receptor activity in spinal cords: implications for opioid hyperalgesia and tolerance. *J Biol Chem*, 2012, 287: 25073-85
- [47] Mao J, Sung B, Ji RR, et al. Chronic morphine induces downregulation of spinal glutamate transporters: implications in morphine tolerance and abnormal pain sensitivity. *J Neurosci*, 2002, 22: 8312-23
- [48] Sandkühler J, Gruber-Schoffnegger D. Hyperalgesia by synaptic long-term potentiation (LTP): an update. *Curr Opin Pharmacol*, 2012, 12: 18-27
- [49] Ferrini F, Trang T, Mattioli TA, et al. Morphine hyperalgesia gated through microglia-mediated disruption of neuronal Cl⁻ homeostasis. *Nat Neurosci*, 2013, 16: 183-92

- [50] Zhou HY, Chen SR, Chen H, et al. Opioid-induced long-term potentiation in the spinal cord is a presynaptic event. *J Neurosci*, 2010, 30: 4460-6
- [51] Drdla R, Gassner M, Gingl E, et al. Induction of synaptic long-term potentiation after opioid withdrawal. *Science*, 2009, 325: 207-10
- [52] Haugan F, Rygh LJ, Tjølsen A. Ketamine blocks enhancement of spinal long-term potentiation in chronic opioid treated rats. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2008, 52: 681-7
- [53] Gruberschoffnegger D, Drdla-Schutting R, Hönigsperger C, et al. Induction of thermal hyperalgesia and synaptic long-term potentiation in the spinal cord lamina I by TNF- α and IL-1 β is mediated by glial cells. *J Neurosci*, 2013, 33: 6540-51
- [54] Cury Y, Picolo G, Gutierrez VP, et al. Pain and analgesia: The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system. *Nitric Oxide*, 2011, 25: 243-54
- [55] 李慧明. 背根节慢性压迫模型小细胞交感敏化的NO-cGMP-PKG信号通路研究[D]. 陕西西安:第四军医大学, 2012
- [56] Romero TRL, Guzzo LS, Perez AC, et al. Noradrenaline activates the NO/cGMP/ATP-sensitive K⁺ channels pathway to induce peripheral antinociception in rats. *Nitric Oxide*, 2012, 26: 157-61
- [57] Dunbar S, Yaksh TL. Concurrent spinal infusion of MK801 blocks spinal tolerance and dependence induced by chronic intrathecal morphine in the rat. *Anesthesiology*, 1996, 84: 1177-88
- [58] Crain SM, Shen KF. Neuraminidase inhibitor, oseltamivir blocks GM1 ganglioside-regulated excitatory opioid receptor-mediated hyperalgesia, enhances opioid analgesia and attenuates tolerance in mice. *Brain Res*, 2004, 995: 260-6
- [59] Pitchers KK, Coppens CM, Beloate LN, et al. Endogenous opioid-induced neuroplasticity of dopaminergic neurons in the ventral tegmental area influences natural and opiate reward. *J Neurosci*, 2014, 34: 8825-36
- [60] Li Y, Du XF, Du JL. Physiological properties and functions of microglia. *Acta Physiol Sin*, 2013, 65: 471-82
- [61] Smith JA, Das A, Ray SK, et al. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in neurodegenerative diseases. *Brain Res Bull*, 2012, 87: 10-20
- [62] Sonekatsu M, Taniguchi W, Yamanaka M, et al. Interferon- γ potentiates NMDA receptor signaling in spinal dorsal horn neurons via microglia-neuron interaction. *Mol Pain*, 2016, 12: 1744806916644927
- [63] Orellana JA, Montero TD, Bernhardt RV. Astrocytes inhibit nitric oxide-dependent Ca²⁺ dynamics in activated microglia: involvement of ATP released via pannexin 1 channels. *Glia*, 2013, 61: 2023-7
- [64] 卢波, 姚娟. 大鼠脊髓小胶质细胞CX3CR1/ERK5信号通路在神经病理性疼痛中的作用. *中华医学杂志*, 2013, 93: 1997-2000
- [65] Gao YJ, Ji RR. Chemokines, neuronal-glial interactions, and central processing of neuropathic pain. *Pharmacol Ther*, 2010, 126: 56-68
- [66] Berta T, Liu T, Liu YC, et al. Acute morphine activates satellite glial cells and up-regulates IL-1 β in dorsal root ganglia in mice via matrix metalloproteinase-9. *Mol Pain*, 2012, 8: 18
- [67] Berta T, Liu YC, Xu ZZ, et al. Tissue plasminogen activator contributes to morphine tolerance and induces mechanical allodynia via astrocytic IL-1 β and ERK signaling in the spinal cord of mice. *Neuroscience*, 2013, 247: 376-85
- [68] Block L, Björklund U, Westerlund A, et al. A new concept affecting restoration of inflammation-reactive astrocytes. *Neuroscience*, 2013, 250: 536-45
- [69] Bai L, Zhai C, Han K, et al. Toll-like receptor 4-mediated nuclear factor- κ B activation in spinal cord contributes to chronic morphine-induced analgesic tolerance and hyperalgesia in rats. *Neurosci Bull*, 2014, 30: 936-48
- [70] Sanna MD, Ghelardini C, Galeotti N. Activation of JNK pathway in spinal astrocytes contributes to acute ultra-low dose morphine thermal hyperalgesia. *Pain*, 2015, 156: 1265-75
- [71] Gerhold KJ, Drdla-Schutting R, Honsek SD, et al. Pronociceptive and antinociceptive effects of buprenorphine in the spinal cord dorsal horn cover a dose range of four orders of magnitude. *J Neurosci*, 2015, 35: 9580-94
- [72] Tumati S, Largent-Milnes TM, Keresztes AI, et al. Tachykinin NK₁ receptor antagonist co-administration attenuates opioid withdrawal-mediated spinal microglia and astrocyte activation. *Eur J Pharmacol*, 2012, 684: 64-70
- [73] Zadina JE, Nilges MR, Morgenweck J, et al. Endomorphin analog analgesics with reduced abuse liability, respiratory depression, motor impairment, tolerance, and glial activation relative to morphine. *Neuropharmacology*, 2015, 105: 215-27
- [74] Doehring A, Geisslinger G, Lötsch J. Epigenetics in pain and analgesia: an imminent research field. *Eur J Pain*, 2011, 15: 11-6
- [75] Liang DY, Li XQ, Clark JD. Epigenetic regulation of opioid-induced hyperalgesia, dependence, and tolerance in mice. *J Pain*, 2013, 14: 36-47
- [76] Bates MLS, Emery MA, Wellman PJ, et al. Social environment alters opioid-induced hyperalgesia and antinociceptive tolerance in adolescent mice. *Eur J Pain*, 2016, 20: 998-1009