

白薇煎对糖尿病神经病变大鼠脊神经致痛通道蛋白的影响

郑全喜, 王昆, 刘超*

(南京中医药大学附属中西医结合医院内分泌科, 南京 210028)

[摘要] 目的: 观察中药复方白薇煎对糖尿病大鼠脊神经传导速度和脊神经致痛通道蛋白的影响。方法: 大鼠随机选取10只作为正常组, 其余为模型组, 采用链尿佐菌素(STZ)造模, 按 $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量一次性给大鼠左下腹腔内注射。72 h后测尾尖血血糖, 血糖水平 $\geq 16.7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上且稳定3 d者为造模成功, 造模成功后随机分为模型组、甲钴胺组($1.97 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、白薇煎低、高剂量组($5.3, 21.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)ig给药, 共给药4周, 给药结束后, 观察白薇煎对糖尿病大鼠脊神经传导速度和脊神经致痛通道蛋白的影响。结果: 治疗4周后, 糖尿病大鼠体质量、尾尖热敏感度和神经传导速度明显改善, 脊神经致痛通道蛋白表达亦明显改变; 与正常组(21.12 ± 1.07) $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 比较, 模型组在4周时的神经传导速度(14.23 ± 1.13) $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 均有明显减慢($P < 0.05$), 致痛通道蛋白表达高于正常组; 与模型组比较, 甲钴胺组在4周可明显改善神经传导速度(17.55 ± 1.43) $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ($P < 0.05$), 致痛通道蛋白表达弱于模型组, 白薇煎低、高剂量组均能明显改善神经传导速度(15.49 ± 1.36), (18.9 ± 1.25) $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ($P < 0.05$), 低剂量组的致痛通道蛋白表达略低于模型组, 高剂量组的致痛通道蛋白表达弱于模型组。结论: 白薇煎能改善糖尿病大鼠脊神经传导速度, 降低脊神经致痛通道蛋白的表达, 对糖尿病周围神经病变具有较好的防治作用。这可能是其对糖尿病周围神经病变防治作用的机制之一。

[关键词] 糖尿病; 白薇煎; 周围神经病变

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)14-0145-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014140145

[收稿日期] 20140217(006)

[基金项目] 南京中医药大学中医学优势学科开放课题(012062003009C)

[第一作者] 郑全喜, 研究实习员, 从事内分泌代谢病及并发症发病机制研究, E-mail: zqx.cumt@163.com

[通讯作者] *刘超, 教授, 从事中西医结合治疗内分泌及代谢疾病的临床研究, E-mail: liuchao@nfmcn.com

[参考文献]

- [1] 李才. 器官纤维化-基础与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 188.
- [2] 李瑞琴, 肖红, 张瑞, 等. 瓜蒌薤白汤对平阳霉素所致大鼠肺纤维化肺组织中细胞因子PDGFBB表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(22): 2666.
- [3] 曾媪, 谭亚夏, 孙红, 等. 灯盏生脉胶囊对博来霉素诱导的小鼠肺纤维化的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 199.
- [4] Taooka Y, Maeda A, Hiyama K, et al. Effects of neutrophil elastase inhibitor on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1997, 156(1): 260.
- [5] 刘成海, 刘平, 刘成, 等. 抗肝纤维化有效中药复方血清药理学方法探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(2): 16.
- [6] 李霞, 宫晓燕, 杨光, 等. 纤克颗粒对肺纤维化大鼠模型病理形态学的影响研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(10): 2449.
- [7] Szapiel S V, Elson N A, Fulmer J D, et al. Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude athymic mouse[J]. Am Rev Respir Dis, 1979, 120(4): 893.
- [8] Wunderlich K, Senn B C, Reiser P, et al. Connective tissue growth factor in retrocorneal membranes and corneal scars[J]. Ophthalmological, 2000, 214(5): 341.
- [9] Kavvadas P, Kypreou K P, Protopapadakis E, et al. Intergrin-linked kinase (ILK) in pulmonary fibrosis[J]. Virchows Arch, 2010, 457(5): 563.
- [10] Lasky J A, Ortiz L A, Tonthat B, et al. Connective tissue growth factor mRNA expression is upregulated in bleomycin-induced lung fibrosis[J]. Am J Physiology, 1998, 275(2Pt1): 365.

[责任编辑 聂淑琴]

Effect of Baiweijian on Pain-related Proteins of Spinal Nerve of Diabetic Peripheral Neuropathies in Rats

ZHENG Quan-xi, WANG Kun, LIU Chao*

(Department of Endocrinology and Metabolism, the Affiliated Jiangsu Province Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Baiweijian (BWJ) on the blood rheology and spinal nerve conduction velocity (SNCV) in streptozotocin (STZ) induced diabetic rats. **Method:** STZ induce diabetic rats were randomly divided into diabetic model group ($1.97 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), Mecobalamin group ($5.3, 21.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, ig), BWJ low dose group, and BWJ high dose group. The levels of blood rheology and spinal nerve conduction velocity of the animals were checked after 4 weeks' treatment. **Result:** The weight, tail heat sensitivity SNCV obviously changed, as well as the expression levels of pain-related proteins of spinal nerve, compared with normal group, the SNCV of model group decreased significantly after 4 weeks' ($P < 0.05$). Compared with diabetic model group, the SNCV of Mecobalamin group significantly increased after 4 weeks' treatment ($P < 0.05$). Compared with diabetic model group, the SNCV of low, and high dose BWJ groups had significantly improved after 4 weeks' treatment ($P < 0.05$). **Conclusion:** BWJ can reduce the blood sugar, SNCV and increase the expression levels of pain-related proteins of spinal nerve in STZ induced diabetic rats. And BWJ has good cure function on diabetic peripheral neuropathy. It may be one of the mechanisms on control of peripheral neuropathy.

[Key words] diabetes mellitus; Baiweijian; diabetic peripheral neuropathies

远端对称性感觉运动多发性神经病变是糖尿病常见并发症之一,其发病率占糖尿病患者的 50%,而痛性糖尿病神经病变(DPN),属于感觉性周围神经病变。痛性糖尿病神经病变疼痛的表现可是自发的、连续或间断的,经常在夜晚加重,位于单个或多个皮节区,以烧痛、热痛、刀割样、虫咬样、撕裂性、针刺样疼痛多见。由于其发病机制尚未完全明确^[1-2],故对于 DPN 的治疗现代医学仍无切实有效的方法。现代医学对 PDN 发病机制目前亦尚未完全明确,公认的观点认为,疼痛的产生可能与长期严重的高血糖毒性、钠通道糖毒性、钠通道表达和分布的改变等因素有关,其中脊神经节伤害性感觉神经元内河豚毒素敏感性电压门控性钠通道(tetrodotoxin-sensitive voltage-gated sodium channel)蛋白 NaV1.7 在其中起着关键的作用^[3-5]。对 NaV1.7 的调控主要通过触突前 δ 鸦片受体(DORs),而后者经由蛋白激酶(PKC)通路和丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)通路激活^[5]。而中医通过辨证,以“瘀热”学说,采用凉血化瘀法对 PDN 做了大量的临床实践和研究,其中加减白薇煎在 PDN 治疗中效果较为显著^[7-11]。由于脊神经节

PKC/MAPK-DORs-NaV1.7 是 DPN 疼痛产生的关键通路,加减白薇煎在 DPN 治疗中所发挥的止痛作用,很可能是其有效成分通过阻断此通路而实现的。本实验选用临床疗效确切的加减白薇煎,以链尿佐菌素诱发实验性糖尿病大鼠模型,并以具有神经营养作用的甲钴胺作为对照,观察白薇煎对 DPN 的神经保护作用,为其临床治疗 DPN 提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级健康 SD 大鼠 50 只,雄性,体重(250 ± 10)g,购自上海斯莱克动物实验中心,合格证号 SCXK(沪)2007-0005。

1.2 药物与试剂 白薇煎组方:白薇 10 g,泽兰 10 g,牡丹皮 10 g,赤芍 10 g,川芎 5 g,地龙 10 g,桂枝 3 g(由江苏省中西医结合医院提供),甲钴胺(卫材药业),链尿佐菌素(STZ)(Sigma,货号 S0130),柠檬酸(Sigma,货号 C0759),柠檬酸钠(Sigma,货号 C7254),NaV1.7 抗体(Millipore Bioscience Research Reagents,货号 AB5390),PKC 抗体(Cell Signaling Technology,货号 9371),p-p38 抗体(Cell Signaling Technology,货号 8690)。

1.3 仪器 稳豪血糖仪 (Tail-Flick Analgesia Apparatus,美国哥伦比亚公司),FASCO-3010 型全自动血液流变快测仪(重庆大学维多生物工程研究所),MP-100A 多导生理信号分析系统(成都仪器厂制造),Chemi imager 5500 型自动电泳凝胶成像分析仪(USA)。

2 方法

2.1 模型建立及分组 动物适应性喂养 1 周后,随机选取 10 只为正常组,普通饲料喂养,其余为模型组,使用 STZ 造模:用 0.1 mmol·L⁻¹ 无菌柠檬酸钠缓冲液(pH 4.5,4 ℃),将 STZ 配成 0.45% 的溶液,按 45 mg·kg⁻¹ 的剂量标准一次性给大鼠左下腹腔内注射。72 h 后用血糖仪测尾尖血血糖,选持续血糖水平 ≥ 16.7 mmol·L⁻¹ 以上且血糖稳定 3 d 者为造模成功。模型成功后,按体质量随机分为以下 4 组,每组 10 只:模型组、甲钴胺组、白薇煎低、高剂量组,加上正常组,共 5 组。

2.2 给药方法 造模成功,待大鼠血糖稳定后开始 ig 给药。白薇煎低剂量组按成人剂量 5.5 倍给药,即生药 5.3 g·kg⁻¹;白薇煎高剂量组按成人剂量 22 倍给药,即生药 21.2 g·kg⁻¹,均换算成白薇煎为 2 mL ig;甲钴胺组按成人剂量 5.5 倍给药,即 1.97 mg·kg⁻¹,ip;模型组及正常组给予等量蒸馏水 ig。以上药物均由蒸馏水配制,配置后储存于 4 ℃ 冰箱中,药液定期配制。每日 ig 1 次,连续 4 周。各组均自由取食、饮水。

2.3 检测指标及方法

2.3.1 体重检测 分别于治疗前、治疗后的 1,2,3,4 周称其体重。

2.3.2 大鼠热敏感度 检测实验结束前,采用 Tail Flick Analgesia Apparatus 测量大鼠尾尖的热敏感度,将大鼠固定在 Tail Flick Analgesia Apparatus 上,测定尾尖热敏感度,重复测定 5 次。

2.3.3 脊神经传导速度的测定 治疗 4 周后用电极刺入法测定脊神经传导速度。以 10% 水合氯醛为麻醉剂,按 300 mg·kg⁻¹,ip 麻醉,麻醉后俯卧位固定。将刺激电极置于坐骨神经干 A 点,记录电极置于 L5 神经根背根神经节中枢突段 B 点,刺激并记录诱发电位 A,B(潜伏期),连续记录 2 次,取其平均值;测量并记录 A 点与 B 点的距离。神经电位传导速度 = A 点与 B 点距离/潜伏期。严格控制室温(20 ± 5) ℃,保持动物体温 37 ℃。

2.3.4 脊神经节致痛通道蛋白(NaV1.7,PKC,MAPK)表达的测定 麻醉各组大鼠后,充分暴露脊神经,用剪刀将脊神经剪断后,迅速放于液氮罐内,实验结束时全部移至 -80 ℃ 冰箱内保存,用于蛋白印迹检测。用电动匀浆机提取蛋白后用考马斯亮蓝法进行蛋白定量,各样品取等量蛋白经 SDS-PAGE 电泳转膜,封闭。加入一抗(1:200 稀释)孵育后,与二抗室温孵育。特异性的反应条带通过 AP 显色后,采用自动电泳凝胶成像分析仪进行蛋白条带的扫描。

2.4 统计学方法 实验数据采用 SPSS 10.0 软件 *t* 检验法进行统计学分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组以上的组间比较采用方差分析统计处理。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般状态 STZ 注射 72 h 后,大鼠均有不同程度的进食增加,尿量增多,消瘦,神态萎靡,毛色枯黄无光泽,竖毛弓背,活动减少。以上情况在甲钴胺组和白薇煎组得到了不同程度的改善。

3.2 各组大鼠体重变化的比较 造模后,模型组大鼠体重与正常组相比均有降低(*P* < 0.05)。各治疗组治疗后各时间间体重与模型组相比有显著差异(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 不同时间点各组大鼠体重的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	治疗前 体重	治疗后体重			
				1 周	2 周	3 周	4 周
正常	10	0	218.5 ± 11.2	255.8 ± 23.6	305.9 ± 31.8	324.7 ± 30.1	353.2 ± 39.4
模型	10	0	198.2 ± 15.3 ¹⁾	184.1 ± 42.7 ¹⁾	156.2 ± 43.2 ¹⁾	148.6 ± 37.9 ¹⁾	136.5 ± 39.7 ¹⁾
甲钴胺	9	1.97 × 10 ⁻³	199.3 ± 15.7	206.0 ± 39.1 ²⁾	319.3 ± 31.4 ²⁾	210.8 ± 36.6 ²⁾	213.8 ± 25.9 ²⁾
白薇煎	9	5.3	204.8 ± 11.3	212.3 ± 30.2 ²⁾	228.6 ± 15.9 ²⁾	265.6 ± 20.5 ²⁾	287.3 ± 14.9 ²⁾
	10	21.2	203.5 ± 16.2	229.5 ± 32.0 ²⁾	240.5 ± 27.9 ²⁾	274.2 ± 29.6 ²⁾	325.7 ± 28.4 ²⁾

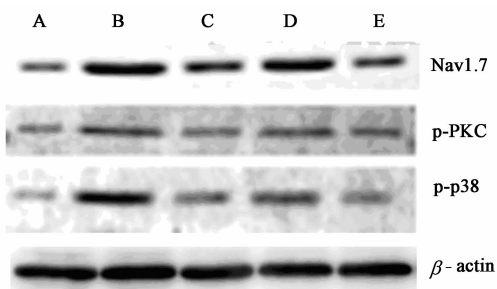
注:与正常组比较¹⁾*P* < 0.05;与模型组比较²⁾*P* < 0.05(表 2 同)。

3.3 各组大鼠尾尖热敏感度和脊神经传导速度变化 治疗4周后与正常组相比,模型组大鼠尾尖热敏感度明显减弱($P < 0.05$);白薇煎低、高剂量组及甲钴胺组均能减轻糖尿病大鼠尾尖热敏感度的减弱,与模型组相比差异显著($P < 0.05$)。模型组大鼠脊神经传导速度明显减慢($P < 0.05$);白薇煎低、高剂量组及甲钴胺组均能减轻糖尿病大鼠脊神经传导速度的减慢,与模型组相比差异显著($P < 0.05$)。见表2。

表2 大鼠治疗4周后尾尖热敏感度和脊神经传导速度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 /g·kg ⁻¹	尾尖热敏感 度/s	脊神经传导 速度/m·s ⁻¹
正常	10	-	13.79 ± 1.06	21.12 ± 1.07
模型	10	-	100 ± 2.26 ¹⁾	14.23 ± 1.13 ¹⁾
甲钴胺	9	1.97 × 10 ⁻³	30.56 ± 1.18 ²⁾	17.55 ± 1.43 ²⁾
白薇煎	9	5.3	54.58 ± 1.51 ²⁾	15.49 ± 1.36 ²⁾
	10	21.2	29.52 ± 1.16 ²⁾	18.90 ± 1.25 ²⁾

3.4 各组大鼠脊神经致痛通道蛋白变化的比较 治疗4周后,正常对照组脊神经致痛通道蛋白Nav1.7, p-PKC, p-p38表达水平较低,模型组脊神经致痛通道蛋白Nav1.7, p-PKC, p-p38表达较正常对照组有增高趋势,甲钴胺组脊神经致痛通道蛋白表达水平低于模型组,但高于正常组,白薇煎低剂量组脊神经致痛通道蛋白表达水平略低于模型组,但高于正常组和甲钴胺组,白薇煎高剂量组脊神经致痛通道蛋白表达水平低于低剂量组和模型组,与甲钴胺组基本一致,略高于正常组。见图1。



A. 正常组; B. 模型组; C. 甲钴胺 1.97 mg·kg⁻¹;
D. 白薇煎 5.3 g·kg⁻¹; E. 白薇煎 21.2 g·kg⁻¹

图1 治疗4周后大鼠脊神经致痛通道蛋白变化

4 讨论

痛性糖尿病神经病变肢体烧痛、热痛、刀割样疼痛性质与络热血瘀证热性疼痛性质一致;而疼痛夜晚加重的发作特点,则责之瘀血作祟,符合瘀血疼痛

发作的特点。而血热、血瘀两种病理因素互为搏结、相合为患则形成痛性糖尿病神经病变络热血瘀证的病机,瘀然相搏证中子证-络热血瘀证是痛性糖尿病神经病变的重要证型。近年来众多的研究表明,在中医理论指导下,采用中药复方治疗DPN,取得了良好的临床效果,积累了丰富的经验^[7-11]。

现代医学对DPN发病机制目前亦尚未完全明确,公认的观点认为,疼痛的产生可能与长期严重的高血糖毒性、钠通道糖毒性、钠通道表达和分布的改变等因素有关,其中Nav1.7在其中起着关键的作用^[3-5]。Nassar等^[12]研究发现,由交叉胶(carrageenan)诱导普通大鼠炎症性疼痛后,Nav1.7蛋白呈高表达。Choi等^[13]研究发现,Nav1.7蛋白编码基因SCN9A突变是遗传性神经源性红斑性肢痛和遗传性阵发性肢痛的主要病因。对Nav1.7的调控主要通过触突前DORs,而后者经由PKC通路和丝裂原激活的MAPK通路激活。Uehara等^[14]发现,糖尿病大鼠脊神经节内PKCβ活性明显高于正常大鼠,阻断PKC可有效减少痛觉反应;而Weiss等^[15]研究表明,PKC的上述作用是通过河豚毒敏感性及耐受性门控压力钠离子通道实现的。p38是河豚毒耐受性门控压力钠离子通道的另一种上游关键酶。Munmun等^[6]发现,痛性糖尿病神经病变大鼠中,脊神经节细胞p38的磷酸化活性的增强与Nav1.7蛋白水平呈正相关性;Obata等^[16]亦发现,各种疼痛状态下,均会出现脊神经节细胞p38磷酸化活性增强。

本研究所用治疗痛性糖尿病神经病变络热血瘀证的中药复方。方中除白薇、泽兰外,加上长于清热凉血、祛瘀止痛的赤芍,活血化瘀止痛的川芎,清热活血散瘀的丹皮,还佐之桂枝。痛性糖尿病神经病变络热血瘀证,是由于瘀血日久化热,必成瘀热互结之势。治当逐瘀泻热、活血散结。处方中用桂枝配合白薇、赤芍等温凉同用者,意在借桂枝温通活络,并有川芎辛香温润,能养血而行血中之气者以流动之。活血化瘀药物具有改善血液流变性,降低血黏度,抑制血小板聚集,扩张微血管等作用,可改善微循环,有助于改善症状和体征,而且能显著改善不同切变率下血液表观黏度、降低血浆黏度,使各级血管的血液流变性普遍趋于正常。由于脊神经节PKC/MAPK-DORs-Nav1.7是DPN疼痛产生的关键通路,白薇煎在DPN治疗中所发挥的止痛作用,很可能是其有效成分通过阻断此通路而实现的。

本研究结果显示,白薇煎对糖尿病大鼠的体重、

尾尖热敏感度、脊神经传导速度及其致痛通道蛋白有明显作用,白薇煎高剂量组显著优于甲钴胺组,可能由于甲钴胺治疗仅针对发病的单一因素,而中药复方能起到整体调节作用,充分发挥了中药复方多环节、多靶点,辨证论治的优势和特色有关,证实白薇煎能有效治疗糖尿病周围神经病变,值得临床推广和应用。

本实验提示,白薇煎可通过改善糖尿病大鼠脊神经传导速度和脊神经致痛通道蛋白的表达,发挥对糖尿病周围神经病变的防治作用,而白薇煎对糖尿病周围神经病变神经保护作用的相关机制有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Bril V, England J, Franklin G M, et al. Evidence-based guideline: Treatment of painful diabetic neuropathy [J]. *Neurology*, 2011, 76(20):1758.

[2] Argoff C E, Cole B E, Fishbain D A, et al. Diabetic peripheral neuropathic pain: clinical and quality-of-life issues [J]. *Mayo Clin Proc*, 2006, 81(4 suppl):3.

[3] Fumimasa A, Haibin W, Michael C, et al. The voltage-gated sodium channel Nav1.9 is an effector of peripheral inflammatory pain hypersensitivity [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(50):12852.

[4] Shuang H, Thomas J, Pamela E, et al. Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in tetrodotoxin-sensitive and-resistant sodium channels in dorsal root ganglion neurons in the rat [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(28):29341.

[5] Shao C, Hong C, Wei Y, et al. Increased presynaptic and postsynaptic α 2-adrenoceptor activity in the spinal dorsal horn in painful diabetic neuropathy [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 337(1):285.

[6] Munmun C, Marina M, David J. Continuous δ -opioid receptor activation reduces neuronal voltage-gated sodium channel (Nav1.7) levels through activation of protein kinase C in painful diabetic neuropathy [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(26):6652.

[7] 薛江博. 六味地黄联合黄芪桂枝五物汤治疗糖尿病

周围神经病变的临床研究 [J]. *中国当代医药*, 2010, 17(33):101.

- [8] 高红勤,周仲瑛. 学习周仲瑛教授应用白薇煎治痹经验之体会 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2011, 18(9):85.
- [9] 穆晓红,刘铜华,秦玲玲,等. 从血液流变学和坐骨神经传导速度评价中药糖痹康对大鼠糖尿病周围神经病变的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(2):378.
- [10] 张涛静,高彦彬,周晖,等. 糖络宁对 STZ 诱导糖尿病大鼠坐骨神经传导速度及病理学的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2009, 24(8):1010.
- [11] 孙连庆,梁晓春,张宏,等. 中药筋脉通对高糖培养雪旺细胞增殖及 NGF 表达的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2009, 24(6):55.
- [12] Nassar M A, Stirling L C, Forlani G, et al. Nociceptor-specific gene deletion reveals a major role for Nav1.7 (PN1) in acute and inflammatory pain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(34):12706.
- [13] Choi J S, Zhang L, Dib-Hajj S D, et al. Mexiletine-responsive erythromelalgia due to a new Na(v)1.7 mutation showing use-dependent current fall-off [J]. *Exp Neurol*, 2009, 216(2):383.
- [14] Uehara K, Yamagishi S, Otsuki S, et al. Effects of polyol pathway hyperactivity on protein kinase C activity, nociceptive peptide expression, and neuronal structure in dorsal root ganglia in diabetic mice [J]. *Diabetes*, 2004, 53(12):3239.
- [15] Weiss S, Keren-Raifman T, Oz S, et al. Modulation of distinct isoforms of L-type calcium channels by G(q)-coupled receptors in *Xenopus* oocytes: antagonistic effects of $G\beta\gamma$ and protein kinase C [J]. *Channels (Austin)*, 2012, 6(6):426.
- [16] Obata K, Yamanaka H, Kobayashi K, et al. Role of mitogen-activated protein kinase activation in injured and intact primary afferent neurons for mechanical and heat hypersensitivity after spinal nerve ligation [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(45):10211.

[责任编辑 聂淑琴]