

# ATP 对大鼠三叉神经节神经元瞬时外向钾电流( $I_A$ )的快速作用

李娜<sup>1,2△</sup>, 卢占英<sup>1△</sup>, 邓小明<sup>2\*</sup>, 马蓓<sup>1\*</sup>

1. 第二军医大学基础部生理学教研室, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院麻醉科, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 通过大鼠三叉神经节(TG)神经元体外培养及全细胞膜片钳技术, 观察 ATP 对大鼠 TG 神经元上电压敏感性钾离子电流  $I_A$  的调节及可能的机制。**方法** 雄性 SD 大鼠 TG 神经元急性分离, 体外培养 4 h 后进行全细胞膜片钳记录。**结果** 在 TG 神经元上 ATP 可以诱导三种型式的电流, 即 T 型、S 型和 B 型。ATP 可以抑制 T 型神经元  $I_A$  ( $P < 0.05$ ), 这种作用可以被 P2X3 受体拮抗剂 TNP-ATP 拮抗, 在 S 型神经元上 ATP 对  $I_A$  无作用。在 ATP 未能诱导出内向电流的 TG 神经元, ATP 仍然对  $I_A$  有抑制作用, 而且这一作用可以被 P2Y 受体的拮抗剂 suramin 拮抗。**结论** ATP 对分离培养的 TG 神经元上  $I_A$  可以起到抑制作用, 这一作用可能通过 P2X3 受体或 P2Y 受体来完成, 但 ATP 对  $I_A$  电流的作用机制目前尚不清楚。这一研究将为进一步阐明神经病理性痛的发生机制提供实验依据, 为临床治疗提供理论基础。

**[关键词]** 腺苷三磷酸; P2X3 受体; P2Y 受体; 三叉神经节; 电压门控钾通道**[中图分类号]** R 338.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)07-0712-06

## Rapid effect of ATP on transient outward potassium current ( $I_A$ ) in rat trigeminal ganglion neurons

LI Na<sup>1,2△</sup>, LU Zhan-ying<sup>1△</sup>, DENG Xiao-ming<sup>2\*</sup>, MA Bei<sup>1\*</sup>

1. Department of Physiology, College of Basic Medical Sciences, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Anesthesiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect of ATP on transient outward potassium current ( $I_A$ ) and the underlying mechanism in the cultured trigeminal ganglion (TG) neurons by using whole-cell patch clamp technique. **Methods** The TG neurons were acutely separated from male SD rats and were cultured *in vitro*, and then were subjected to whole-cell patch clamp 4 h later. **Results** The results showed that the ATP-activated currents in rat TG neurons could be classified into three types (T, S and B type). ATP significantly inhibited  $I_A$  on T type neurons ( $P < 0.05$ ), and TNP-ATP, an antagonist of P2X3 receptors, could block the inhibitory effect of ATP against  $I_A$ . ATP did not inhibit  $I_A$  in S type neurons. Meanwhile, ATP could inhibit  $I_A$  in TG neurons in which ATP could not induce any inward currents. Suramin, an antagonist of P2Y receptors, could block the inhibitory effect of ATP against  $I_A$ . **Conclusion** ATP can inhibit  $I_A$  in cultured TG neurons, probably through P2X3 or P2Y receptors. Further studies are required to clarify the underlying mechanisms by which ATP affect  $I_A$ , which will cast lights on the mechanism of neuropathic pain and provide evidence for the clinical therapy.

**[Key words]** adenosine triphosphate; P2X3; P2Y; trigeminal ganglion; voltage-gated potassium channel

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(7): 712-717]

20 世纪 50 年代, Holton 等<sup>[1]</sup>发现感觉神经兴奋时释放三磷酸腺苷(ATP), 并可作用于平滑肌、心肌和神经细胞等多种组织产生重要的生物效应, 提示 ATP 在神经兴奋传递中具有实际意义。1972 年 Burnstock 提出了“嘌呤能神经”学说, 并推测存

在特异性的 ATP 受体, 这被后来的很多研究证实。1978 年 Burnstock 正式命名“嘌呤受体”(purinoceptor), 并将其分为腺苷(P1)受体和 ATP(P2)受体两种类型<sup>[2]</sup>。近来的研究进一步证实, 外周伤害性感受器(nociceptor)有丰富的 ATP 门控的 P2X 受体

**[收稿日期]** 2012-04-16 **[接受日期]** 2012-05-04**[基金项目]** 上海市科委基础重点项目(08JC1405400). Supported by the Key Program of Shanghai Science and Technology Committee (08JC1405400).**[作者简介]** 李娜, 博士生. E-mail: lina8346@gmail.com; 卢占英, 硕士生. E-mail: luzhanying2008@126.com

△共同第一作者(Co-first authors).

\*通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81873484, E-mail: xmdeng@anesthesia.org.cn; Tel: 021-81870979, E-mail: mabei08@yahoo.com.cn

通道的表达,提示ATP及其受体在外周伤害性感受的形成和调节中起到重要作用<sup>[3]</sup>。

根据结构、功能和药理学特性,神经元上的钾离子通道可以分为四大家族,分别是电压敏感性钾离子通道( $K_v$ )、钙依赖性钾离子通道( $K_{Ca}$ )、内向整流性钾离子通道( $K_{ir}$ )、双孔钾离子通道( $K_{2p}$ )<sup>[4]</sup>,其中一些离子通道的开放在对抗伤害性疼痛中起到重要的作用<sup>[4]</sup>。我们以往的研究<sup>[5-6]</sup>已建立了经颞骨下缘入路的大鼠三叉神经眶下神经环扎术(infraorbital nerve chronic constriction injury, ION-CCI)模型,运用全细胞膜片钳的方法观察了大鼠三叉神经节(trigeminal ganglion, TG)神经元中电压门控性钾电流的变化。结果发现,正常大鼠TG神经元电压门控性钾电流分为3种:瞬时外向钾电流(transient outward potassium current,  $I_A$ ),延迟外向钾电流(delayed rectifier potassium current,  $I_K$ )和慢失活瞬时电流(slow inactivating transient current,  $I_D$ )。其中 $I_A$ 主要影响神经元兴奋的阈电位,调节动作电位的产生频率和间期<sup>[5]</sup>。ION-CCI术后TG神经元上总钾电流(total potassium current,  $I_{total}$ )、 $I_A$ 和 $I_K$ 均降低,其中以 $I_A$ 的降低最为明显<sup>[6]</sup>,提示钾电流的普遍下降可能和TG神经元的兴奋性增强以及面部痛觉过敏有关。

因此,本研究通过细胞培养和全细胞膜片钳技术,观察了ATP对 $I_A$ 的影响,旨在初步探讨ATP对电压门控钾通道(voltage-gated potassium channels, VGPCs)的调节作用及机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 TG神经元分离及培养

雄性SD大鼠,体重100~120 g,麻醉后,断头处死,快速取出TG,约5 min,置于L-15培养液中(Life Technologies, Paisley, UK),将神经节置于4 ml含有1.5 g/L胶原酶(class II, Worthington Biochemical Corporation, UK)和6 g/L牛血清白蛋白(BSA, Sigma, Poole, UK)的无钙无镁Hanks平衡盐溶液(HBSS, Life Technologies)中。37℃恒温孵育45 min,然后将神经节置于4 ml含1 g/L的胰酶(Sigma)中,37℃孵育15 min。然后用1 ml培养液(由含有10%胎牛血清、50 g/L神经生长因子、2 g/L  $\text{NaHCO}_3$ 、5.5 g/L葡萄糖、200 mg/L青霉素和200 mg/L庆大霉素的L-15培养液组成)轻轻吹打直至将神经节分离成单个细胞,将这些细胞铺在用10 mg/L层粘连蛋白(laminin)预先涂过的35 mm的平皿上。在含有5%  $\text{CO}_2$  37℃的恒温箱中孵育,TG神经元分离

培养后6~30 h内用于实验。

## 1.2 全细胞膜片钳记录

### 1.2.1 全细胞膜片钳记录方法

常温下进行全细胞膜片钳记录,所用仪器为Axopatch 200B放大器(Axon Instruments, Foster City, CA, USA)。钳制电压为-60 mV。电极尖端电阻2~5 M $\Omega$ 。电极内液成分(mmol/L):磷酸肌酸钠14、KCl 140、 $\text{CaCl}_2$  1、EGTA 10、HEPES 10、Mg-ATP 2;pH值用Tris碱调至7.3。当电极贴近细胞后,加一负压形成高阻抗封接(封接电阻>1 G $\Omega$ ),给负压吸破细胞膜后形成全细胞模式。滤波3 kHz,数据采集频率20 kHz。记录槽外液灌流(2~3 ml/min),外液成分(mmol/L):NaCl 154、KCl 47、 $\text{MgCl}_2$  1.2、 $\text{CaCl}_2$  2.5、HEPES 10、葡萄糖 5.6;pH值用NaOH调至7.4。记录钾电流时外液成分(mmol/L):N-甲基-D-葡萄糖胺145、KCl 3、 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$  2.5、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.6、HEPES 10、葡萄糖 10;用盐酸将pH值调至7.4<sup>[6]</sup>。

### 1.2.2 给药方法

通过软件控制多道灌流系统(DAD-12 Superfusion System)的不同通道,从而选择所给的药物,给药系统出口的尖端为毛细石英微孔,内径为100  $\mu\text{m}$ 。使用HL-2型恒流泵进行细胞外灌流冲洗细胞,以 $\text{N}_2$ 提供正压,压力选择为200 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),开启电磁阀的电压选择24 mV。在本实验中,选择15~30  $\mu\text{m}$ 小直径三叉神经元进行电压钳模式下全细胞膜片钳记录。参考Liu等<sup>[5]</sup>的实验方法,细胞封接成功后,给予含四乙铵阻断剂的钾电流记录外液5 min充分阻断 $I_K$ ,则去极化电压从-60 mV到+60 mV,主要激活瞬时外向钾电流 $I_A$ ,继而给予ATP,并观察此神经元细胞是否有ATP电流,然后在ATP的环境中观察 $I_A$ ,冲洗4 min再次记录 $I_A$ 。

### 1.3 统计学处理

所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 来表示, $n$ 指所测定的神经元的数目。用SPSS 16.0软件对给药前后 $I_A$ 峰电流用配对 $t$ 检验分析,三组间 $I_A$ 峰电流用单因素方差分析(one-way ANOVA),检验水平( $\alpha$ )为0.05。

## 2 结果

### 2.1 TG神经元ATP诱导的三种形式的电流

当给予ATP(10~100  $\mu\text{mol/L}$ ,4 s)时,40%(14/35)的TG神经元出现一个快速激活和失活的瞬时型内向电流(transient inward current, T-type),幅值为(0.48 $\pm$ 0.21) nA,见图1A;26%(9/35)的TG神

神经元出现一个快速激活和缓慢失活的内向电流 (sustained inward current, S-type), 幅值为  $(0.37 \pm 0.13)$  nA, 见图 1C; 11% (4/35) 的 TG 神经元出现一个双相的内向电流 (biphasic inward current, B-type), 即分别有一部分缓慢失活成分和一部分快速失活成分, 幅值为  $(0.53 \pm 0.18)$  nA, 见图 1B。另外在 23% (8/35) 个 TG 神经元上, ATP 不能引起明显的反应, 此类神经元称为 N-型神经元 (with no response to ATP)。

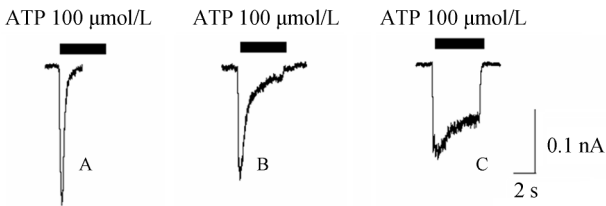


图 1 分离培养的 TG 神经元上 ATP 诱导的三种形式的电流

Fig 1 Three types of ATP-activated currents

A: Current traces of transient inward current, T-type; B: Current traces of biphasic inward current, B-type; C: Current traces of sustained inward current, S-type

2.2 ATP 对 T 型 TG 神经元  $I_A$  的快速抑制作用 在 T 型 TG 神经元中, 100  $\mu\text{mol/L}$  的 ATP 使瞬时外向钾电流  $I_A$  减小。在未加入 ATP 时, 记录钾电流的外液中含有 25 mmol/L 的 TEA, 则记录到的电流主要是  $I_A$ , 其峰电流为  $(4.18 \pm 0.63)$  nA, 当给予 ATP 60 s 后,  $I_A$  峰电流减小到  $(1.34 \pm 0.22)$  nA, 与未给予 ATP 时的  $I_A$  峰电流相比差异具有统计学意义 (图 2A、2B,  $n=5$ ,  $P < 0.05$ )。当给予 P2X3 和 P2X2/3 受体拮抗剂 TNP-ATP (1  $\mu\text{mol/L}$ ) 后, ATP 对 TG 神经元的抑制作用消失,  $I_A$  的峰电流给药前为  $(0.15 \pm 0.02)$  nA, 给予 ATP 后  $I_A$  峰电流减小到  $(0.10 \pm 0.01)$  nA, 给予 TNP-ATP 拮抗剂  $I_A$  峰电流为  $(0.14 \pm 0.01)$  nA (图 2A、2B,  $n=5$ ,  $P < 0.05$  vs ATP,  $P > 0.05$  vs TNP-ATP)。ATP 可以使  $I_A$ -V 曲线显著右移, 这一作用可被 P2X3 受体拮抗剂 TNP-ATP 拮抗 (图 2C,  $n=5$ ,  $P < 0.05$  vs ATP,  $P > 0.05$  vs TNP-ATP, one-way ANOVA)。ATP 对 T 型 TG 神经元 G-V 曲线无影响 (图 2D,  $n=5$ ,  $P > 0.05$ )。

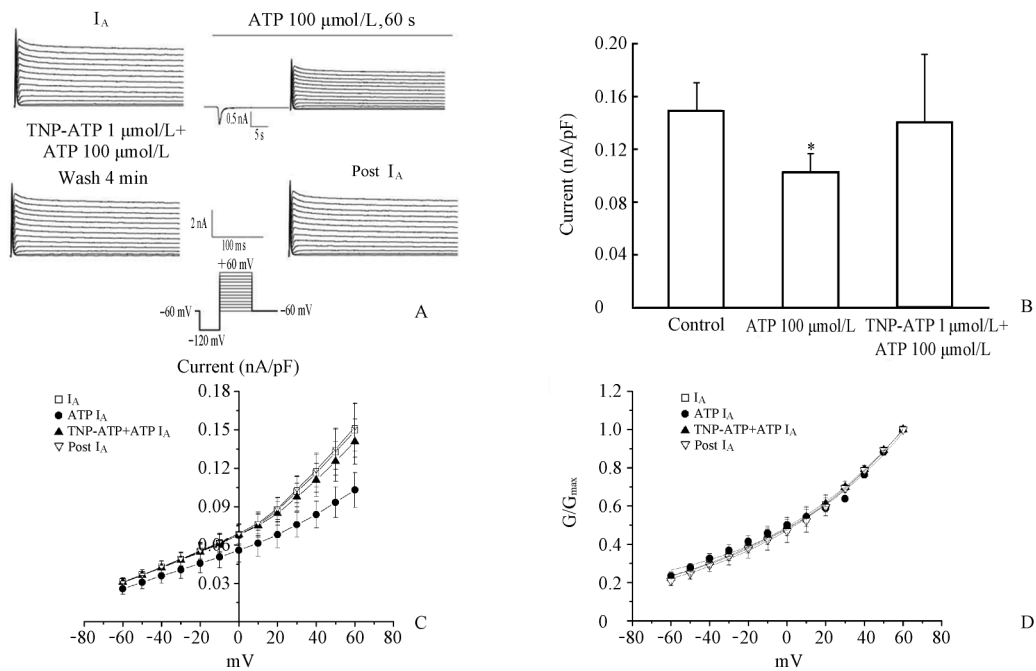


图 2 ATP 对大鼠 T 型 TG 神经元  $I_A$  的抑制作用

Fig 2 Inhibition effect of ATP against  $I_A$  in the T-type TG neurons

A: Original traces showing the inhibition effect of ATP against  $I_A$ . In the presence of TNP-ATP, the inhibition of  $I_A$  by ATP could be blocked. B: The inhibition effect of ATP (100  $\mu\text{mol/L}$ ) against  $I_A$ . In the presence of TNP-ATP, the inhibition of  $I_A$  by ATP could be blocked ( $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $* P < 0.05$ ). C: I-V curves were shifted to right by ATP (100  $\mu\text{mol/L}$ ), which was blocked by TNP-ATP ( $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $P < 0.05$  vs ATP,  $P > 0.05$  vs TNP-ATP, one-way ANOVA). D: ATP had no influence on the G-V curves of T-type TG neurons ( $n=5$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $P > 0.05$ ).

2.3 ATP 对 S 型 TG 神经元  $I_A$  无显著影响 在 S 型 TG 神经元中, 给予 100  $\mu\text{mol/L}$  的 ATP, 瞬时

外向钾电流  $I_A$  无改变 (图 3A,  $n=9$ )。ATP 对  $I_A$ -V 曲线也没有显著影响 (图 3B)。

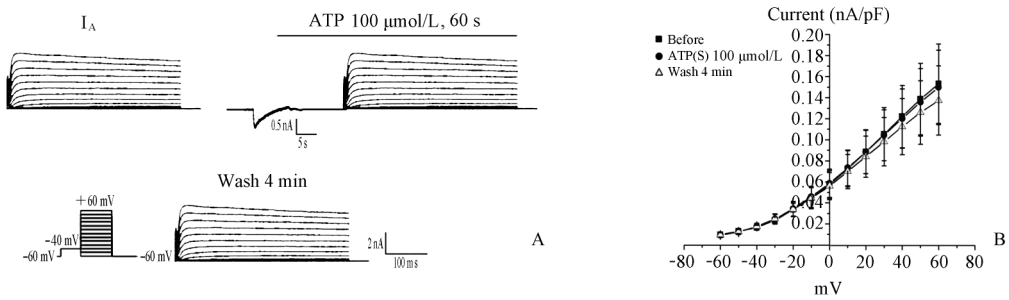


图 3 ATP 对 S 型 TG 神经元的  $I_A$  无显著影响

Fig 3 ATP showed no significant influence on  $I_A$  in the S-type TG neurons

A: Original traces showed no significant inhibition on  $I_A$ ; B: ATP had no significant influence on the  $I-V$  curves in the S-type TG neurons ( $n=9$ ,  $\bar{x}\pm s$ ,  $P>0.05$  paired  $t$ -test)

2.4 ATP 对部分不敏感型 TG 神经元中  $I_A$  的快速抑制作用 用同样的方法记录, 在对 ATP 不敏感型 TG 神经元中, 100  $\mu\text{mol/L}$  的 ATP 使瞬时外向钾电流  $I_A$  减小。在未加入 ATP 时, 其峰电流为  $(0.13\pm 0.02)$  nA, 当给予 ATP 60 s 后,  $I_A$  峰电流减小到  $(0.09\pm 0.01)$  nA, 与未给予 ATP 时的  $I_A$  峰

电流相比差异具有统计学意义(图 4A、4B,  $n=8$ ,  $P<0.05$ )。当给予 P2Y 受体拮抗剂 Suramin 后, 可以阻断 ATP 对 TG 神经元  $I_A$  的抑制作用(图 4A、4B,  $n=8$ ,  $P<0.05$  vs ATP)。ATP 可以使  $I_A-V$  曲线右移(图 4C)。ATP 对 N 型 TG 神经元 G-V 曲线无显著影响(图 4D)。

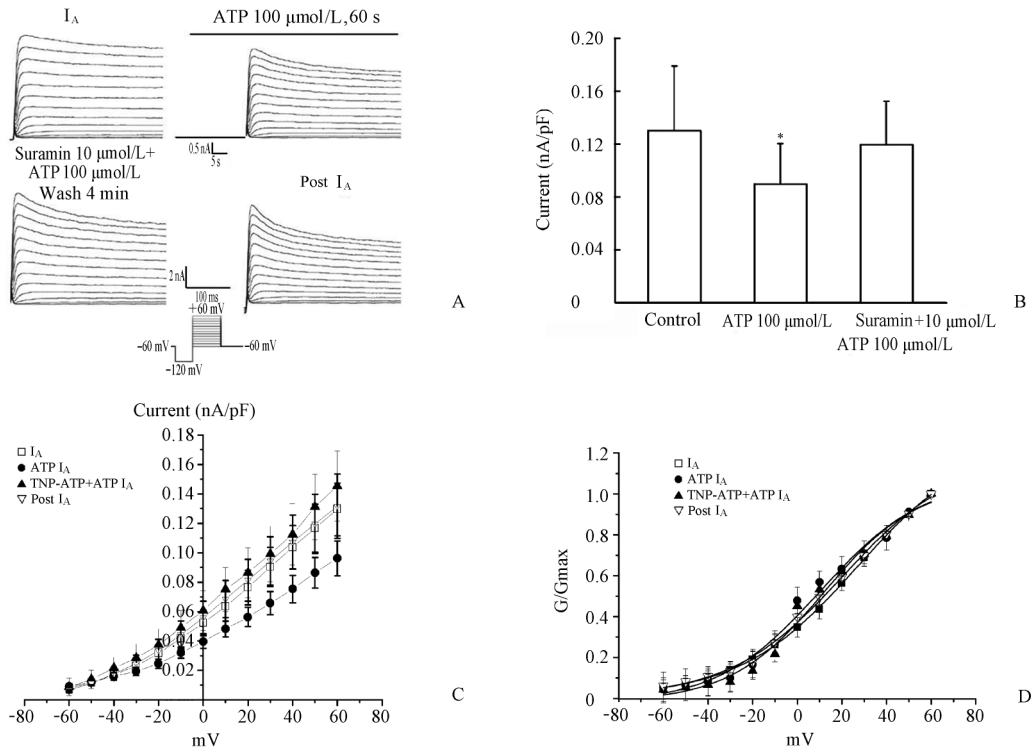


图 4 ATP 对 N 型 TG 神经元上  $I_A$  的抑制作用

Fig 4 Inhibition effect of ATP against  $I_A$  in the N-type TG neurons

A: Original traces showing the inhibition of ATP on  $I_A$ . In the presence of suramin, the inhibition of  $I_A$  by ATP could be blocked. B: The inhibition of ATP (100  $\mu\text{mol/L}$ ) on  $I_A$ . In the presence of suramin, the inhibition of  $I_A$  by ATP could be blocked ( $n=8$ ,  $\bar{x}\pm s$ ,  $*P<0.05$ ). C:  $I-V$  curves were shifted to right by ATP (100  $\mu\text{mol/L}$ ), which could be blocked by suramin ( $n=8$ ,  $\bar{x}\pm s$ ,  $P<0.05$  vs ATP, one-way ANOVA). D: ATP had no significant influence on the G-V curves in the N-type TG neurons

### 3 讨论

#### 3.1 TG 神经元中 ATP 诱导的电流类型 文献

报道, 当外源性 ATP 作用于 TG 神经元, 可记录到 3 种类型的内向电流: F 型、I 型和 S 型<sup>[7]</sup>。F 型电流幅值的绝对值较小, 电流 10%~90% 的上升时间

( $R_{10-90}$ )短, 10%~90% 去敏感时间( $D_{10-90}$ )也短; S型电流幅值的绝对值较大, 电流的 $R_{10-90}$ 长,  $D_{10-90}$ 也长; I型电流幅值介于F型和S型之间, 电流的 $R_{10-90}$ 较长, 呈双指数形式去敏感。3种电流最敏感的激动剂是ATP, 且与细胞直径密切相关, 小直径的细胞多表现为F型特征, 大直径的细胞多表现为S型特征, 而中等大小的细胞多表现为I型特征。这些电流型式可能与不同的受体亚型有关<sup>[7]</sup>。在我们的实验中, TG分离培养的神经元上, 主要记录到3种ATP电流: T型、S型和B型。此外仍有一部分细胞在ATP给予后不能引起明显的内向电流。目前已经明确, T型主要由P2X3受体介导, S型主要由P2X2受体介导, B型则可能由同聚体P2X3和异聚体P2X2/3共同介导。

**3.2 ATP对TG神经元 $I_A$ 的快速抑制作用** ATP参与痛觉传导主要是通过P2X受体介导, 但不同的P2X受体可能介导了不同性质的疼痛, Eriksson等<sup>[8]</sup>研究发现神经损伤后, P2X3受体在损伤局部上调并可逆行运输到初级传入神经元, 因而局部的P2X3受体上调可能与异常的冲动扩散有关。Bradbury等<sup>[9]</sup>研究发现坐骨神经切断后, 腰4和腰5节段的背根节P2X3受体表达下降50%, 而鞘内给予GDNF可完全逆转P2X3受体的表达下降。采用慢性压迫性损伤(CCI)模型研究发现, 在损伤后4~10 d, 同侧TG中的P2X3受体表达增加, 22 d后恢复正常<sup>[10]</sup>。近年研究表明, ATP除了通过P2X受体, 还有可能通过一种新的机制参与疼痛信息的传递。Tominaga等<sup>[11]</sup>发现, 细胞外ATP通过作用于P2Y<sub>1</sub>受体可使PKC激活, 后者再作用于TRPV<sub>1</sub>受体而降低辣椒素、H<sup>+</sup>和热刺激时TRPV<sub>1</sub>激活的阈值。TG神经元上电压门控性钾通道打开时可以诱导出3种类型的钾电流, 分别是 $I_A$ 、 $I_K$ 和 $I_D$ <sup>[12]</sup>。其中,  $I_K$ 主要加速动作电位的复极化, 而 $I_A$ 主要影响神经元兴奋的阈电位, 调节动作电位的产生频率和间期<sup>[13-14]</sup>。许多研究表明, 与三叉神经痛最密切相关且作用最明显的是 $I_A$ <sup>[15-16]</sup>。

在TG神经元中, 我们观察到ATP抑制T型TG神经元的 $I_A$ 电流; 在S型TG神经元中, ATP对 $I_A$ 电流无明显作用; 而在对ATP无反应的TG神经元, ATP对 $I_A$ 电流仍能起到抑制作用。ATP作用于TG神经元时, 可以激活离子通道型的P2X受体和G蛋白耦联的P2Y受体, 进而通过一系列的细胞内信号分子产生不同的效应<sup>[4]</sup>。TG神经元是头面部感觉的初级传入神经元, 主要表达P2X1、P2X2/3、P2X3、P2X4、P2X7、P2Y1、P2Y2、P2Y4、P2Y6、P2Y12受体, 以往的研究表明其中P2X2/3、

P2X3、P2X7、P2Y1、P2Y2、P2Y12与三叉神经病理性痛有关<sup>[17-19]</sup>。我们的实验结果表明, 在T型TG神经元, ATP对 $I_A$ 电流起到抑制作用, 提示ATP可能通过作用于P2X3受体影响K<sub>v</sub>的功能, 抑制 $I_A$ , 从而提高TG神经元的兴奋性, 导致面部痛觉过敏。由于P2X3为非选择性阳离子通道, 当它被ATP激活时, 允许阳离子进入细胞内, 进而使细胞去极化, 这种去极化可能导致K<sub>v</sub>通道的功能受到抑制, 因而表现为 $I_A$ 减小。在S型TG神经元中, ATP对 $I_A$ 电流无明显作用, 提示ATP对 $I_A$ 的快速作用可能不是通过P2X2受体来完成的, 可能S型ATP受体更多在生理条件下起作用<sup>[20]</sup>, 换句话说, 当ATP浓度高于生理范围时, P2X2受体可能并不起作用。在ATP无反应的TG神经元, ATP对 $I_A$ 电流仍能起到抑制作用, 提示除了P2X3受体外, 不能直接作为通道打开的P2Y受体可能也参与了对 $I_A$ 的调节。

已有报道, 在TG中, K<sub>v</sub>通道与其他多种受体及配体之间存在相互作用<sup>[21]</sup>。比如辣椒素降低了 $I_A$ 电流, 这种效应主要通过激活TRPV<sub>1</sub>受体实现。辣椒素通过激活其受体抑制 $I_A$ 电流, 从而提高了TG神经元兴奋性。cAMP和PKC途径并不参与此反应, 而cGMP和钙调节蛋白途径(CaMKII)参与了这种调节。在TG神经元中存在GABA<sub>A</sub>受体, 其可通过不同的致炎介质与K<sub>v</sub>通道发生联系, 从而调节K<sub>v</sub>通道的开放<sup>[16, 22]</sup>。在TG中, 卫星细胞围绕在神经元胞体周围, 它们之间有一定的空间, 而卫星细胞和神经元胞体均可以释放神经递质γ-氨基丁酸(GABA), 当动作电位发生时, 随着钾离子从神经元胞内释放出来并且在卫星细胞和神经元胞体周围积聚, 诱导了GABA的释放, 通过GABA<sub>A</sub>受体影响氯离子通道的开放<sup>[22]</sup>, 提示K<sub>v</sub>通道可以通过与GABA<sub>A</sub>受体的相互作用调节初级传入电信号以及突触前抑制<sup>[23]</sup>, 进而参与疼痛调节。IL-1 $\beta$ 及其受体对电压门控性钾通道作用同样显著, 不仅降低 $I_A$ 还降低 $I_K$ , 对 $I_A$ 降低更为显著, 因而提高了TG神经元的兴奋性<sup>[24]</sup>。另外, 致炎介质如5-羟色胺(5-HT)、前列腺素E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)以及伤害性感受器末梢附近的腺苷的释放, 在痛觉增敏中也起到了重要作用<sup>[25-26]</sup>。近来有学者对TG中的5-HT受体做了研究, 运用5-HT<sub>4</sub>受体激动剂RS67333可以显著降低 $I_A$ , 而这种抑制作用可能与 $I_A$ 阻断剂四氨基吡啶(4-AP)的作用机制相类似, 是G蛋白耦联受体介导的<sup>[27]</sup>。这些结果提示, 电压门控性钾通道K<sub>v</sub>可能还通过与神经递质及受体间的相互作用, 参与了三叉神经痛的调节。

本实验首次发现并讨论了 ATP 通过 P2X3 受体调节  $I_A$  的作用,从而提高 TG 神经元兴奋性,进一步说明三叉神经病理性疼痛发作的多元与复杂性。因此,ATP 与电压门控性钾通道之间可能也存在交互作用,ATP 可以通过激活 P2 受体,通过不同的信号转导途径抑制  $I_A$ 。我们的实验说明,ATP 对分离培养的 TG 神经元上  $I_A$  起到抑制作用,这一作用可能通过 P2X3 受体或 P2Y 受体来完成,但 ATP 对  $I_A$  电流的作用机制目前尚不十分清楚,需要进行深入研究。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] Holton F A, Holton P. The possibility that ATP is a transmitter at sensory nerve endings[J]. *J Physiol*, 1953, 119: 50P-51P.
- [2] Burnstock G. Purinergic nerves[J]. *Pharmacol Rev*, 1972, 24: 509-581.
- [3] North R A. P2X3 receptors and peripheral pain mechanisms[J]. *J Physiol*, 2004, 554(Pt 2): 301-308.
- [4] Burnstock G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission[J]. *Physiol Rev*, 2007, 87: 659-797.
- [5] Liu L, Simon S A. Modulation of  $I_A$  currents by capsaicin in rat trigeminal ganglion neurons[J]. *J Neurophysiol*, 2003, 89: 1387-1401.
- [6] 李娜,李超,樊娟,姜晓钟,李金宝,邓小明,等. 眶下神经结扎后三叉神经节神经元钾电流改变[J]. *生理学报*, 2009, 61: 72-78.
- [7] Luo J, Yin G F, Gu Y Z, Liu Y, Dai J P, Li C, et al. Characterization of three types of ATP-activated current in relation to P2X subunits in rat trigeminal ganglion neurons[J]. *Brain Res*, 2006, 115: 9-15.
- [8] Eriksson J, Bongenhielm U, Kidd E, Matthews B, Fried K. Distribution of P2X3 receptors in the rat trigeminal ganglion after inferior alveolar nerve injury[J]. *Neurosci Lett*, 1998, 254: 37-40.
- [9] Bradbury E J, Burnstock G, McMahon S B. The expression of P2X3 purinoreceptors in sensory neurons; effects of axotomy and glial-derived neurotrophic factor[J]. *Mol Cell Neurosci*, 1998, 12(4-5): 256-268.
- [10] Xiang Z, Xiong Y, Yan N, Li X, Mao Y, Ni X, et al. Functional up-regulation of P2X3 receptors in the chronically compressed dorsal root ganglion[J]. *Pain*, 2008, 140: 23-34.
- [11] Tominaga M, Wada M, Masu M. Potentiation of capsaicin receptor activity by metabotropic ATP receptors as a possible mechanism for ATP-evoked pain and hyperalgesia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 6951-6956.
- [12] Yoshida S, Matsumoto S. Effects of alpha-dendrotoxin on  $K^+$  currents and action potentials in tetrodotoxin-resistant adult rat trigeminal ganglion neurons[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 314: 437-445.
- [13] Hille B. Ionic channels: molecular pores of excitable membranes[J]. *Harvey Lect*, 1986, 82: 47-69.
- [14] Yost C S. Potassium channels: basic aspects, functional roles, and medical significance[J]. *Anesthesiology*, 1999, 90: 1186-1203.
- [15] Liu L, Simon S A. Modulation of  $I_A$  currents by capsaicin in rat trigeminal ganglion neurons[J]. *J Neurophysiol*, 2003, 89: 1387-1401.
- [16] Takeda M, Kitagawa J, Takahashi M, Matsumoto S. Activation of interleukin-1beta receptor suppresses the voltage-gated potassium currents in the small-diameter trigeminal ganglion neurons following peripheral inflammation[J]. *Pain*, 2008, 139: 594-602.
- [17] Staikopoulos V, Sessle B J, Furness J B, Jennings E A. Localization of P2X2 and P2X3 receptors in rat trigeminal ganglion neurons[J]. *Neuroscience*, 2007, 144: 208-216.
- [18] Teixeira J M, Oliveira M C, Nociti F H Jr, Clemente-Napimoga J T, Pelegrini-da-Silva A, Parada C A, et al. Involvement of temporomandibular joint P2X3 and P2X2/3 receptors in carrageenan-induced inflammatory hyperalgesia in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 645(1-3): 79-85.
- [19] Yousuf A, Klinger F, Schicker K, Boehm S. Nucleotides control the excitability of sensory neurons via two P2Y receptors and a bifurcated signaling cascade[J]. *Pain*, 2011, 152: 1899-1908.
- [20] Gever J, Cockayne D, Dillon M, Burnstock G, Ford A. Pharmacology of P2X channels[J]. *Pflugers Arch-Eur J Physiol*, 2006, 452: 513-537.
- [21] Sterner O, Szallasi A. Novel natural vanilloid receptor agonists: new therapeutic targets for drug development[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1999, 20: 459-465.
- [22] Hayasaki H, Sohma Y, Kanbara K, Maemura K, Kubota T, Watanabe M. A local GABAergic system within rat trigeminal ganglion cells[J]. *Eur J Neurosci*, 2006, 23: 745-757.
- [23] Rudomin P, Schmidt R F. Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited[J]. *Exp Brain Res*, 1999, 129: 1-37.
- [24] Takeda M, Tanimoto T, Kadoi J, Nasu M, Takahashi M, Kitagawa J, et al. Enhanced excitability of nociceptive trigeminal ganglion neurons by satellite glial cytokine following peripheral inflammation[J]. *Pain*, 2007, 129(1-2): 155-166.
- [25] Sessle B J. The neurobiology of facial and dental pain: present knowledge, future directions[J]. *J Dent Res*, 1987, 66: 962-981.
- [26] Dray A. Inflammatory mediators of pain[J]. *Br J Anaesth*, 1995, 75: 125-131.
- [27] Tsutsui Y, Ikeda M, Takeda M, Matsumoto S. Excitability of small-diameter trigeminal ganglion neurons by 5-HT is mediated by enhancement of the tetrodotoxin-resistant sodium current due to the activation of 5-HT(4) receptors and/or by the inhibition of the transient potassium current[J]. *Neuroscience*, 2008, 157: 683-696.

[本文编辑] 尹茶