

氧化苦参碱的镇痛作用对钙通道和 γ -氨基丁酸的影响

吕晓强¹ 杨 丽¹ 邓扬鸥² 吴世星¹ 刘永刚³

摘要 目的 通过建立神经病理性疼痛模型,观察氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)的镇痛作用,探讨 OMT 的镇痛作用与高压电压依赖性钙通道(high voltage-dependent calcium channels, HVDCCs) mRNA 表达及与 γ -氨基丁酸(GABA)含量变化的关系。**方法** C57 BL/6 小鼠共 66 只,随机分成假手术组、模型组、OMT 组,每组 22 只。建立部分坐骨神经结扎神经病理性疼痛模型,采用 up and down 方法测定小鼠足底机械缩足反应阈值(MWT);利用实时荧光定量 PCR(real-time PCR)方法分别检测脑、脊髓组织中各 HVDCCs mRNA 的表达;使用 ELISA 试剂盒测定脑、脊髓组织中 GABA 含量。**结果** 与 0 天比较,模型组第 7、10、14 天结扎侧左后足 MWT 降低($P < 0.05$);与假手术组比较,模型组小鼠第 7 天结扎侧左后足 MWT 显著降低($P < 0.05$);与 0 天比较,OMT 组术后第 7 天给药前 MWT 降低($P < 0.05$),给药后 MWT 则升高($P < 0.05$)。与假手术组比较,模型组脑组织中 Cav1.2、Cav1.3、Cav2.1 及 Cav2.3 mRNA 水平明显升高,Cav2.2 mRNA 明显降低($P < 0.05$),而脊髓组织中 Cav1.2、Cav1.3 mRNA 水平明显升高,Cav2.1、Cav2.2、Cav2.3 mRNA 明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,OMT 组脑组织中 Cav1.2、Cav1.3、Cav2.1 及 Cav2.3 mRNA 水平明显降低,Cav2.2 mRNA 明显升高($P < 0.05$),而脊髓组织中 Cav1.3 mRNA 水平明显降低,Cav2.1、Cav2.2、Cav2.3 mRNA 明显升高($P < 0.05$)。与假手术组比较,模型组脑组织中 GABA 含量下降($P < 0.05$);与模型组比较,OMT 组脑组织中 GABA 含量升高($P < 0.05$);在脊髓组织中,各组 GABA 的含量变化比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 氧化苦参碱对神经病理性疼痛有抑制作用,其镇痛作用可能与 HVDCCs 有关,其中 Cav2.2 可能直接影响 GABA 神经递质的释放。

关键词 氧化苦参碱;神经病理性疼痛;钙通道; γ -氨基丁酸

The Analgesia of Oxymatrine Affecting Calcium Channel and GABA Release LU Xiao-qiang¹, YANG Li¹, DENG Yang-ou², WU Shi-xing¹, and LIU Yong-gang³ 1 Department of Pharmacology, School of Basic Medical Science, Key Laboratory of Ministry of Education for TCM Viscera-state Theory and Applications, Ministry of Education of China (Province-Ministry Co-construct), Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang (110847), China; 2 Department of Carder Clinics, First Hospital of China Medical University, Shenyang (110001), China; 3 Department of Pharmacy, Guangdong Province Corps Hospital, Chinese People's Army Force, Guangzhou (510507), China

ABSTRACT Objective To explore the analgesia of oxymatrine (OMT) affecting high voltage-dependent calcium channels (HVDCCs) and GABA release under neuropathic pain condition. **Methods** Totally 66 C₅₇BL/6 mice were randomly divided into the sham-operation group, the model group, and the OMT group, 22 in each group. Neuropathic pain models were established by partial sciatic nerve ligation (PSNL). Hind paw plantar mechanical response threshold (MWT) was measured by up-and-down method with Von-Frey filament. mRNA expression of HVDCCs in brains and spinal cords was detected with Real-time PCR and concentration of GABA was determined using ELISA kit. **Results** Compared with day 0,

基金项目: 国家自然科学基金(青年科学基金)资助项目(No. 81102901);教育部留学回国人员科研启动基金(教外司留[2012]940号);辽宁省自然科学基金资助项目(No. 201102151)

作者单位: 1. 辽宁中医药大学基础医学院药理教研室, 辽宁中医药大学省部共建中医脏象理论及应用教育部重点实验室(沈阳 110847); 2. 中国医科大学附属第一医院干诊科(沈阳 110001); 3. 武警广东省总队医院药剂科(广州 510507)

通讯作者: 杨 丽, Tel: 024-31207194, E-mail: yanglidyo@hotmail.com

DOI: 10.7661/CJIM.2015.05.0603

the left hind paw MWT was decreased on day 7, 10, and 14 in the model group ($P < 0.05$). Compared with the sham-operation group, the left hind paw MWT was significantly reduced in the model group on day 7 ($P < 0.05$). The MWT of PSNL ipsilateral hind paw was decreased on day 7 before OMT administration, when compared with day 0 ($P < 0.05$), and increased after OMT administration ($P < 0.05$). Compared with the sham-operation group, mRNA levels of Cav1.2, Cav1.3, Cav2.1, and Cav2.3 in brain tissues were increased and those of Cav2.2 were decreased significantly in the model group ($P < 0.05$). In spinal cord tissues, mRNA levels of Cav1.2 and Cav1.3 were increased, but those of Cav2.1, Cav2.2, and Cav2.3 were decreased significantly in the model group, when compared with those of the sham-operation group ($P < 0.05$). Compared with the model group, mRNA levels of Cav1.2, Cav1.3, Cav2.1, and Cav2.3 in brain tissues were decreased, and those of Cav2.2 were increased significantly in the OMT group ($P < 0.05$). In spinal cord tissues of the OMT group, mRNA levels of Cav1.3 decreased and those of Cav2.1, Cav2.2, and Cav2.3 increased significantly with statistical difference, when compared with those of the model group ($P < 0.05$). Compared with the sham-operation group, GABA levels in brain tissues decreased in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, GABA levels in brain tissues increased in the OMT group ($P < 0.05$). There was no statistical difference in GABA levels of spinal cord tissues among these groups ($P > 0.05$). Conclusions OMT had analgesic effect on neuropathic pain, which might be probably related to HVDDCs. Cav2.2 might directly affect GABA release.

KEYWORDS oxymatrine; neuropathic pain; calcium channel; GABA

钙通道(calcium channels)广泛分布于机体的各种组织中,并且在不同的组织或同一组织的不同部位其钙通道的类型及生理功能各不相同^[1]。高电压依赖性钙通道(high voltage-dependent calcium channels, HVDDCs)包括 Cav1 和 Cav2 家族。其中 Cav1 即 L-型钙电流通道, Cav2 家族包括 Cav2.1, Cav2.2 和 Cav2.3 即 P/Q-, N-和 R-型钙电流通道^[2],对突触传递及神经递质释放的调控起着重要的作用^[3]。近期研究发现 HVDDCs 与疼痛有着密切的关系,通过给予大鼠 N 型钙通道阻滞剂(ω -芋螺毒素)可以抑制疼痛,起到很好的镇痛效果^[4]。 γ -氨基丁酸(GABA)是中枢神经系统的一种重要的抑制性神经递质,具有能改善脑机能、抗惊厥、治疗癫痫^[5]、参与镇痛^[6]等。有文献报道,氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)对冰醋酸刺激法、热板法、坐骨神经部分结扎法等所致小鼠疼痛反应有抑制作用^[7,8],说明氧化苦参碱有镇痛作用。本实验通过建立部分坐骨神经结扎(partial sciatic nerve ligation, PSNL)模型,运用实时荧光定量 PCR(real-time PCR)法和酶联免疫分析法(ELISA),观察 OMT 对神经病理性疼痛的镇痛作用,测定 HVDDCs mRNA 表达水平以及组织中 GABA 含量的变化,进一步探讨氧化苦参碱的镇痛作用机制及其与钙通道和 GABA 的相关性。

材料与方法

1 动物 C₅₇BL/6 小鼠共 66 只,体重 20~24 g,

雌雄兼用。所有动物实验均按照辽宁中医药大学实验动物管理条例施行,由辽宁长生生物技术有限公司提供,动物合格证号 SCSK(辽)2010-0001。

2 药物及试剂 OMT(纯度为 99.2%,陕西森弗生物技术有限公司,批号 SF110806);生理盐水(沈阳志鹰制药厂,批号 11012204);乙醚(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号 050506);ELISA 试剂盒(购自沈阳鼎国生物技术有限公司,批号 DRE30492);RNAiso Plus[宝生物工程(大连)有限公司,批号 BK5006];Prime Script™ RT reagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real time)试剂盒[宝生物工程(大连)有限公司,批号 AK2001];SYBR Premix Ex Taq™[宝生物工程(大连)有限公司,批号 AK2405];引物委托生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物序列见表 1。

3 仪器 Von-frey 纤毛(美国 North Coast Medical Inc.);BioSpec-nano 超微量紫外分析系统(日本岛津);Mx3000P 型 Real-time PCR 仪(美国 Agilent);台式高速冷冻离心机(上海力申科学仪器有限公司);Anthos2010 型酶标仪(奥地利);恒温振荡器(国华)SHA-C。

4 分组、建立模型及给药方法 将实验动物随机分为假手术组、模型组及 OMT 组,每组 22 只。参照 Seltzer Z 等^[12]的方法建立 PSNL。小鼠麻醉后,于左股骨中部作纵向切口分离股二头肌,暴露坐骨神经,

表 1 引物序列		
基因	序列	引物长度 (bp)
GAPDH ^[9]	上游 5'-TAGACAAAATGGTGAAGGTCGG-3' 下游 5'-AGTTGAGGTCAATGAAGGGGT-3'	126
Cav1.2 ^[10]	上游 5'-TGCTGTGTCTGACCCTGAAG-3' 下游 5'-CGCTCTTCCGGAAGGGAATA-3'	141
Cav1.3 ^[10]	上游 5'-AACTTTCCGCTCGGTGGCTGT-3' 下游 5'-TCGGGCATCAGTCTCTTGGGAG-3'	111
Cav2.1 ^[11]	上游 5'-CAAAGGTACCACCAACGCC-3' 下游 5'-TGGTCATGCTCAGATCTGTCC-3'	108
Cav2.2 ^[9]	上游 5'-AGCCCTCAGATCCCAGCA-3' 下游 5'-GCCCTCTTCTTGCCCTCT-3'	124
Cav2.3 ^[10]	上游 5'-GACCCTAGCTCTATGCGACG-3' 下游 5'-GCCGCGACTTGTAAGTGT-3'	115

用带 1/2 弧度反向切头的细针带 5.0 的硅处理线牢固结扎神经背端的 1/2 ~ 2/3 处。假手术组操作与模型组相同,但不结扎神经。最后分层缝合皮肤,分笼饲养观察。比较结扎侧左后足与未结扎侧右后足、模型组与假手术组的机械性缩足反应阈值(MWT),发现术后 7 天结扎侧左后足的 MWT 显著降低,确定神经性疼痛模型建立成功,成功率为 100%。假手术组和模型组小鼠腹腔注射生理盐水,OMT 组小鼠腹腔注射氧化苦参碱(150 mg/kg)^[13] [根据人与动物间等效剂量比较换算公式计算,公式:小鼠的剂量 mg/kg × 0.02 kg(小鼠的标准体重) = 人的临床剂量 mg/kg × 70 kg(人的标准体重) × 0.0026,人的临床剂量为 16.48 mg/kg],且分别于指标检测及组织取样前 30 min^[13] 给予。

5 检测指标及方法

5.1 MWT 检测 选取假手术组、模型组及 OMT 组,每组 10 只小鼠,以不同折力的 Von Frey 纤毛刺激小鼠后足底,用 up and down 法^[14] 分别检测结扎前(0 天)、结扎后第 3、7、10、14 天小鼠左后足底及给药前后 MWT。计算 MWT ED₅₀(g)^[15]。

5.2 HVDCCs mRNA 水平检测 采用实时荧光定量 PCR 法(real-time PCR)^[16] 检测 HVDCCs mRNA 水平。选取假手术组、模型组及 OMT 组,每组 5 只小鼠,分别取出全脑和脊髓(腰椎段)组织,放入液氮于 -80 ℃ 冷冻保存备用。利用 RNAiso Plus 试剂盒提取各组织中的总 RNA,用超微量紫外分析系统测定总 RNA 浓度。利用 Prime Script RT Reagent Kit With gDNA Eraser 试剂盒,向 0.2 mL PCR 反应管中加入 5 μL 反应体系 T₁(去除基因组 DNA 的反应混合液)和 5 μL 总 RNA(200 μg/L)模板,运用

PCR 仪去除基因组 DNA,反应条件为:42 ℃,2 min,4 ℃ 保存。再将已经去除基因组 DNA 的 RNA 模板与 10 μL 反应体系 T₂(逆转录反应混合液)一起加入 0.2 mL PCR 反应管中,将总 RNA 逆转录成 cDNA,逆转录反应条件为:37 ℃,15 min;85 ℃,5 s;4 ℃ 保存。选用 SYBR Premix Ex TaqTM 试剂盒,将 2 μL cDNA 模板和 23 μL 反应体系 T₃(含 SYBR 荧光物质的反应混合液)加入 0.2 mL PCR 反应管,使 cDNA 进行循环扩增,Real-time PCR 仪反应条件为 95 ℃,2 min;95 ℃,30 s;60 ℃,30 s(40 个循环),检测结果用 MxPro 软件进行分析。

5.3 GABA 含量检测 采用酶联免疫分析法(ELISA)。选取假手术组、模型组及 OMT 组,每组 7 只小鼠,分别取出全脑和脊髓组织(腰椎段)并称重(约 20 mg),剪碎,倒入玻璃匀浆管中,加 200 μL PBS 溶液进行匀浆。匀浆液离心(4 ℃,2 500 r/min,20 min),取上清液备用。按照组别,每个样品做 3 个复孔,根据试剂盒说明书操作,最后利用酶标仪在 450 nm 波长处检测各孔吸光度(A)值。

6 统计学方法 所得数据通过 SPSS 17.0 统计软件处理,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内比较用 Student's *t*-test 检验,组间比较采用方差分析,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组 MWT 结果比较(表 2) 与 0 天比较,模型组结扎后第 7、10、14 天左右后足 MWT 降低,差异有统计学意义(*P* < 0.05);与假手术组比较,模型组小鼠第 7 天左右后足 MWT 降低显著,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。与 0 天比较,OMT 组左后足结扎术后第 7 天给药前的 MWT 降低,给药后的 MWT 升高,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

2 各组脑及脊髓组织 HVDCCs mRNA 表达结果比较(表 3、4) 与假手术组比较,模型组脑组织中 Cav1.2、Cav1.3、Cav2.1 及 Cav2.3 mRNA 水平明显升高,Cav2.2 mRNA 明显降低(*P* < 0.05),而脊髓组织中 Cav1.2、Cav1.3 mRNA 水平明显升高,Cav2.1、Cav2.2、Cav2.3 mRNA 明显降低(*P* < 0.05)。与模型组比较,OMT 组脑组织中 Cav1.2、Cav1.3、Cav2.1 及 Cav2.3 mRNA 水平明显降低,Cav2.2 mRNA 明显升高(*P* < 0.05),而脊髓组织中 Cav1.3 mRNA 水平明显降低,Cav2.1、Cav2.2、Cav2.3 mRNA 明显升高(*P* < 0.05),Cav1.2 mRNA 水平差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 2 各组 MWTED₅₀(g)结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>		0 天	3 天	7 天	10 天	14 天	
假手术	10	左后足	1.102 ±0.115	1.021 ±0.120	0.987 ±0.146	0.857 ±0.069	0.937 ±0.230	
		右后足	0.963 ±0.166	0.957 ±0.086	1.003 ±0.150	1.222 ±0.124	1.046 ±0.084	
模型	10	左后足	1.137 ±0.085	0.920 ±0.231	0.627 ±0.064 * Δ	0.860 ±0.091 Δ	0.896 ±0.069 Δ	
		右后足	0.991 ±0.096	0.994 ±0.123	0.919 ±0.087	1.060 ±0.097	1.067 ±0.114	
OMT	10	给药前	左后足	1.417 ±0.163	1.014 ±0.242	0.927 ±0.099▲	0.971 ±0.100	0.968 ±0.115
			右后足	1.258 ±0.188	1.184 ±0.124	1.245 ±0.148	0.910 ±0.097	1.346 ±0.327
	10	给药后	左后足	—	1.132 ±0.382	1.333 ±0.109○	1.037 ±0.148	1.202 ±0.189
			右后足	—	1.082 ±0.207	1.092 ±0.127	1.041 ±0.102	1.656 ±0.432

注:与假手术组同期比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组左后足 0 天比较,[△] $P < 0.05$;与 OMT 组 0 天同侧组内比较,[▲] $P < 0.05$;与 OMT 组给药前 7 天同侧比较,[○] $P < 0.05$

表 3 各组脑组织中 HVDCCs mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Cav1.2	Cav1.3	Cav2.1	Cav2.2	Cav2.3
假手术	5	1.003 ± 0.023	1.009 ± 0.037	1.013 ± 0.046	1.021 ± 0.059	0.988 ± 0.022
模型	5	1.445 ± 0.155 [*]	1.644 ± 0.303 [*]	1.816 ± 0.364 [*]	0.828 ± 0.038 [*]	1.078 ± 0.036 [*]
OMT	5	0.959 ± 0.043 [△]	0.696 ± 0.068 [△]	1.384 ± 0.353 [△]	1.078 ± 0.152 [△]	0.822 ± 0.073 [△]

注:与假手术组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$

表 4 各组脊髓组织中 HVDCCs mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

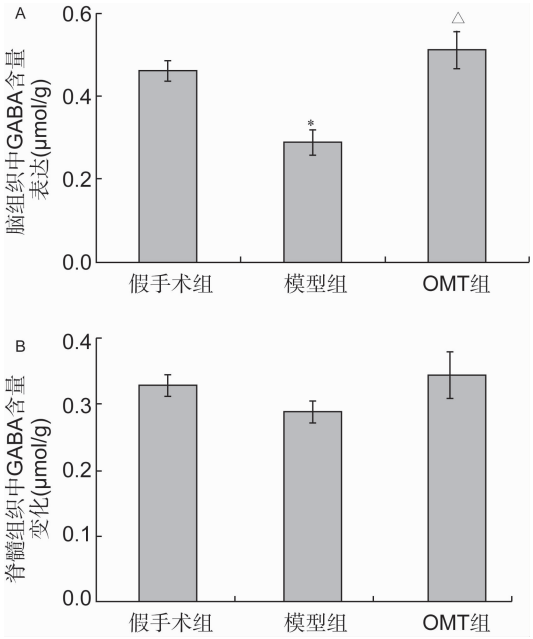
组别	n	Cav1.2	Cav1.3	Cav2.1	Cav2.2	Cav2.3
假手术	5	1.003 ± 0.022	1.000 ± 0.026	1.007 ± 0.044	1.018 ± 0.025	1.004 ± 0.025
模型	5	1.226 ± 0.094 [*]	1.655 ± 0.117 [*]	0.707 ± 0.132 [*]	0.837 ± 0.077 [*]	0.761 ± 0.072 [*]
OMT	5	1.266 ± 0.077	1.142 ± 0.154 [△]	1.389 ± 0.246 [△]	1.598 ± 0.209 [△]	1.251 ± 0.219 [△]

注:与假手术组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$

3 各组 GABA 含量比较(图 1) 术后 7 天,与假手术组比较,模型组脑组织中 GABA 含量下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,OMT 组 GABA 含量升高($P < 0.05$)(图 1A)。各组脊髓组织中 GABA 含量比较(图 1B),差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

讨 论

近年来,神经系统的高电压依赖性钙通道与疼痛关系成为研究的热点。全身给予 L-型钙通道阻滞剂-尼莫地平(nimodipine)可以对抗糖尿病大鼠痛觉过敏反应^[17],N-型钙通道亚基基因敲除小鼠对神经性疼痛的反应性降低^[18],缺少 α_{1E} 亚基的 R-型钙通道基因的小鼠可以对抗福尔马林引起的炎症疼痛^[19]。表明 L-、N-、R-型 HVDCCs 与疼痛呈相关性,特别是临床上已应用齐考诺肽(ziconotide)N-型钙通道阻滞药来抑制癌症的慢性疼痛^[20],说明 N-型钙通道阻滞剂在疼痛治疗中有重要地位^[21]。本实验中发现部分坐骨神经结扎所致的神经病理性疼痛可引起脑组织中 Cav1.2、Cav1.3、Cav2.1、Cav2.3 mRNA 表达水平升高,Cav2.2 mRNA 表达水平降低;引起脊髓组织中 Cav1.2、Cav1.3 mRNA 表达水平升高,Cav2.1、Cav2.2、Cav2.3 mRNA 表达水平降低,证明了高电压依赖性钙通道与神经病理性疼痛的重要相



A 为脑组织中 GABA 含量变化;B 为脊髓组织中 GABA 含量变化;与假手术组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$

图 1 各组不同组织中 GABA 含量比较

关性。OMT 显著抑制了由部分坐骨神经结扎所造成的神经病理性疼痛,翻转了模型组大脑、脊髓组织中各 HVDCCs mRNA 表达水平,表明氧化苦参碱能够抑制神经病理性疼痛并且对各 HVDCCs mRNA 表达有

影响。

GABA 为突触前神经末梢释放的神经递质,由突触小泡与前膜融合释放到突触间隙,并与突触后膜 GABA 受体相结合而发挥中枢抑制性作用,而胞浆内 Ca^{2+} 浓度升高,可促进小泡内递质的释放^[22]。由本实验结果可知,OMT 能够使神经病理性疼痛状态下大鼠组织中 GABA 的含量升高,这一结果与文献报道一致^[23]。当选择性阻断 N-型钙离子通道时,突触囊泡染料 FM1-43 释放受到明显抑制,提示在神经末梢突出 N-型钙离子通道参与调控神经递质的胞裂外排^[24]。由 Real-time PCR 结果可知,部分坐骨神经结扎使 Cav2.2 mRNA 表达量降低,而 OMT 使疼痛状态下动物的 N-型钙通道 mRNA 的表达增加,并且氧化苦参碱对大鼠组织中 N-型钙通道 mRNA 的表达和 GABA 的影响呈相同变化趋势,因此推测,在神经病理疼痛状态下,氧化苦参碱可能作用于 N-型钙离子通道,使钙通道开放, Ca^{2+} 内流增加,从而促使突触前 GABA 神经递质释放增加,发挥其抑制性神经递质的作用而起到镇痛的作用。氧化苦参碱镇痛作用的分子机制还有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Spedding M, Paoletti R. Classification of calcium channel and sites of drugs modifying channels function[J]. Pharmacol Rev, 1992, 44(3): 363-376.
- [2] Yaksh TL. Calcium channels as therapeutic targets in neuropathic pain[J]. J Pain, 2006, 7(Suppl 1): S13-S30.
- [3] Catterall WA, Few AP. Calcium channel regulation and presynaptic plasticity[J]. Neuron, 2008, 59(6): 882-901.
- [4] Adams DJ, Callaghan B, Berecki G. Analgesic conotoxins: block and G protein-coupled receptor modulation of N-type (Cav2.2) calcium channels[J]. Br J Pharmacol, 2012, 166(2): 486-500.
- [5] 张辉, 徐满英. γ -氨基丁酸作用的研究进展[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2006, 40(3): 267-268.
- [6] Enna SJ, McCarron KE. The role of GABA in the mediation and perception of pain[J]. Adv Pharmacol, 2006, 54(1): 1-27.
- [7] 刘芬, 刘洁, 陈霞, 等. 氧化苦参碱的镇痛作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2005, 31(6): 883-885.
- [8] 吕晓强, 邓扬鸥, 杨丽, 等. 氧化苦参碱镇痛作用及其阿片受体非相关性[J]. 中华中医药杂志(原中国医药学报), 2014, 29(2): 564-567.
- [9] Motagally MA, Lukewich MK, Chisholm SP, et al. Tumor necrosis factor α activates nuclear factor κB signaling to reduce N-type voltage-gated Ca^{2+} current in postganglionic sympathetic neurons[J]. J Physiol, 2009, 587(Pt 11): 2623-2634.
- [10] Liu J, Tu H, Zhang D, et al. Changes of calcium channel mRNA, protein and current in NG108-15 cells after cell differentiation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 423(1): 55-59.
- [11] Grimm C, Holter NI, Draguhn A, et al. Compensatory increase in P/Q-calcium current-mediated synaptic transmission following chronic block of N-type channels[J]. Neurosci Lett, 2008, 442(1): 44-49.
- [12] Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury[J]. Pain, 1990, 43(2): 205-218.
- [13] 姜静, 冯建伟, 陈靖, 等. 氧化苦参碱的镇痛作用[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(6): 50-52.
- [14] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. J Neurosci Methods, 1994, 53(1): 55-63.
- [15] Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1980, 20: 441-462.
- [16] 刘立萍, 任艳玲, 李然, 等. JNK 通路对左归丸含药血清调控 MC3T3 成骨细胞 Runx2 mRNA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 143-146.
- [17] Gupta M, Singh J, Sood S, et al. Mechanism of antinociceptive effect of nimodipine in experimental diabetic neuropathic pain[J]. Methods Find Exp Clin Pharmacol, 2003, 25(1): 49-52.
- [18] Saegusa H, Kurihara T, Zong S, et al. Suppression of inflammatory and neuropathic pain symptoms in mice lacking the N-type Ca^{2+} channel[J]. EMBO J, 2001, 20(10): 2349-2356.
- [19] Saegusa H, Kurihara T, Zong S, et al. Altered pain responses in mice lacking $\alpha 1\text{E}$ subunit of the voltage-dependent Ca^{2+} channel[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(11): 6132-6137.
- [20] Smith MT, Cabot PJ, Ross FB, et al. The novel N-type calcium channel blocker, AM336, produces potent dose-dependent antinociception after intrathecal dosing in rats and inhibits substance P release in rat spinal cord slices[J]. Pain, 2002, 96(1-2): 119-127.
- [21] Terlau H, Olivera BM. Conus venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides[J]. Physiol Rev, 2004, 84(1): 41-68.
- [22] 严振国, 施雪筠主编. 解剖生理学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2004: 420-422.
- [23] 耿群美, 李兰城, 贾晓英. 苦参碱、氧化苦参碱对小白鼠脑中递质 γ -氨基丁酸和甘氨酸含量的影响[J]. 内蒙古医学杂志, 1993, 13(1): 3-4.
- [24] Reuter H. Measurements of exocytosis from single presynaptic nerve terminals reveal heterogeneous inhibition by Ca^{2+} -channel blockers[J]. Neuron, 1995, 14(4): 773-779.

(收稿: 2014-04-16 修回: 2015-02-09)