



## 脊髓集落刺激因子1在大鼠吗啡镇痛耐受中的作用

赵昱, 吴军, 安扬, 常青

引用本文:

赵昱, 吴军, 安扬, 等. 脊髓集落刺激因子1在大鼠吗啡镇痛耐受中的作用[J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46(5): 570-573,578.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.05.003>

## 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

### 重组人粒细胞集落刺激因子对缺血缺氧性脑损伤新生大鼠凋亡诱导因子表达的影响

Effect of recombinant human granulocyte colony stimulating factor on the expression of apoptosis inducing factor in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage

蚌埠医学院学报. 2016, 41(12): 1545-1549 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2016.12.002>

### 氯诺昔康联合地佐辛超前镇痛对切口痛大鼠白细胞介素-6及脊髓环氧化酶-2表达的影响

Effect of lornoxicam combined with dezocine preemptive analgesia on the expressions of serum interleukin-6 and cyclooxygenase-2 in spinal cord in rats with incision pain

蚌埠医学院学报. 2015(9): 1152-1154,1155 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.09.003>

### 孟鲁司特钠对支气管肺发育不良大鼠Th1Th2细胞平衡及其相关细胞因子水平的调节作用

Regulating effects of montelukast sodium on Th1Th2 cells balance and related cytokines levels in rats with bronchopulmonary dysplasia

蚌埠医学院学报. 2020, 45(1): 5-8 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.01.002>

### 草苈祛痛方对糖尿病痛风模型大鼠肾脏HMGB1及FOXO3的影响

Effect of Biling Qutong prescription on the levels of HMGB1 and FOXO3 in kidney of diabetic gout model rats

蚌埠医学院学报. 2020, 45(2): 170-173 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.02.009>

### 硫化氢对糖尿病大鼠空间学习记忆和海马组织氧化应激的影响

Effects of hydrogen sulfide on spatial learning and memory and oxidative stress in hippocampus tissue of diabetic rat

蚌埠医学院学报. 2020, 45(4): 447-451 <https://doi.org/10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2020.04.007>

# 脊髓集落刺激因子 1 在大鼠吗啡镇痛耐受中的作用

赵昱, 吴军, 安扬, 常青

**[摘要]** **目的:**观察脊髓集落刺激因子 1(CSF1)在大鼠吗啡镇痛耐受过程中的作用。**方法:**成功鞘内置管 SD 大鼠随机分为 0.9% 氯化钠溶液组(NS 组)、吗啡组(MOR 组)、CSF1R 抑制剂组(PLX3397 组)、CSF1R 抑制剂 + 吗啡组(PLX3397 + MOR 组),各 15 只。MOR 组和 PLX3397 + MOR 组连续 7 d 鞘内注射吗啡 15  $\mu\text{g}$  建立吗啡耐受动物模型,PLX3397 + MOR 组同时灌胃给予 CSF1R 抑制剂 PLX3397(290 mg/kg);NS 组鞘内注射及灌胃给予 0.9% 氯化钠溶液,PLX3397 组鞘内注射 0.9% 氯化钠溶液,灌胃给予 CSF1R 抑制剂 PLX3397。采用 50  $^{\circ}\text{C}$  热水甩尾潜伏期法和机械反射阈值法观察 CSF1 在吗啡的镇痛耐受中作用;应用免疫组织荧光染色法检测脊髓背角小胶质细胞激活标志物 IBA1 表达变化;Western blotting 法检测吗啡对腰段脊髓 CSF1 表达的影响。**结果:**连续 7 d 鞘内注射吗啡,MOR 组大鼠最大镇痛效应百分率(percent of maximal possible potential effect, % MPE)进行性降低( $P < 0.05$ );而与 MOR 组比较,PLX3397 + MOR 组大鼠注射吗啡 3、5、7 d 时 % MPE 均增加( $P < 0.05$ );PLX3397 组与 NS 组各时点 % MPE 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。注射吗啡 7 d 后,MOR 组小胶质细胞标志物 IBA-1 在大鼠腰段脊髓背角表达较 NS 组增加( $P < 0.05$ ),MOR + PLX3397 组大鼠 IBA-1 表达较 MOR 组减少( $P < 0.05$ );MOR 组和 MOR + PLX3397 组大鼠腰段脊髓 CSF1 表达均较 NS 组增加( $P < 0.05$ ),2 组 CSF1 表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论:**脊髓 CSF1 参与吗啡耐受形成,抑制脊髓 CSF1 表达可能为临床治疗吗啡镇痛耐受提供一种新的作用靶点。

**[关键词]** 吗啡;镇痛耐受;集落刺激因子 1;小胶质细胞

**[中图分类号]** R 971.1

**[文献标志码]** A

**DOI:**10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.05.003

## Role of spinal colony-stimulating factor 1 in rats in morphine tolerance to analgesia

ZHAO Yu, WU Jun, AN Yang, CHANG Qing

(Department of Anesthesiology, Heilongjiang Provincial Hospital, Harbin Heilongjiang 150036, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the role of spinal colony-stimulating factor 1 (CSF1) in morphine tolerance to analgesia. **Methods:** Male Sprague-Dawley rats with successful intrathecal catheter were randomly divided into four groups ( $n = 15$ ): 0.9% sodium chloride solution group (NS), morphine group (MOR), CSF1R inhibitor PLX3397 group (PLX3397) and morphine plus PLX3397 group (MOR + PLX3397). A morphine tolerance model of rats was induced by intrathecal injection of 15  $\mu\text{g}$  morphine once daily for 7 consecutive days in MOR and MOR + PLX3397 group. PLX3397 was administered intragastrically in PLX3397 and MOR + PLX3397 group, 0.9% sodium chloride solution was administered intrathecally in NS and PLX3397 group. The role of CSF1 on morphine antinociceptive tolerance was explored by % MPE<sup>TFL</sup> and % MPE<sup>MWT</sup>. Immunohistochemistry assay was applied to detect the expression of IBA-1. Western blotting was used to evaluate the change of spinal CSF1 expression. **Results:** Intrathecal injection of morphine for 7 days, % MPE in MOR group showed progressive decrease, while % MPE in MOR + PLX3397 group were significantly increased as compared with MOR group on day 3, 5, 7 after chronic morphine ( $P < 0.05$ ); There was no significant difference in % MPE between PLX3397 and NS group ( $P > 0.05$ ). on day 7 after chronic morphine, the expression of IBA-1 in MOR group was significantly up-regulated as compared with NS group ( $P < 0.05$ ), while the expression of IBA-1 in MOR + PLX3397 group was significantly down-regulated as compared with MOR group ( $P < 0.05$ ); the expression of CSF1 in MOR and MOR + PLX3397 group was significantly up-regulated as compared with NS group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions:** CSF1 in the spinal cord can be involved in the development of tolerance to morphine-induced analgesia. Inhibition of CSF1 may provide a new therapeutic target for morphine tolerance to analgesia.

**[Key words]** morphine; tolerance to analgesia; colony-stimulating factor 1; microglia

吗啡镇痛耐受是指吗啡的镇痛效能进行性降低,只有不断加大使用剂量才能维持同等镇痛效果,其严重限制了吗啡在临床重度疼痛治疗中的应用。

相关研究<sup>[1]</sup>证实,脊髓内小胶质细胞激活导致的神经炎症反应在吗啡镇痛耐受的形成中发挥重要作用。集落刺激因子 1 (colony-stimulating factor 1, CSF1) 是一种对单核细胞的增殖、分化及维持活性发挥重要作用的细胞因子。研究<sup>[2]</sup>表明,使用 CSF1 受体(CSF1R)拮抗剂可以阻断小胶质细胞的激活。神经病理学疼痛的研究<sup>[3]</sup>发现,感觉神经元中 CSF1

[收稿日期] 2020-04-22 [修回日期] 2021-04-09

[基金项目] 黑龙江省卫生健康委科研课题(2019-136)

[作者单位] 黑龙江省医院 麻醉科,黑龙江 哈尔滨 150036

[作者简介] 赵昱(1981-),博士,主治医师。

缺失可以完全阻断神经损伤诱导的机械性痛觉过敏,并抑制小胶质细胞活化和增殖,相反,鞘内注射 CSF1 可以诱发机械性痛觉过敏和小胶质细胞增殖。但在吗啡耐受机制研究中对 CSF1 的研究仍较少,鉴于吗啡镇痛耐受和神经病理性疼痛有着许多相同的神经生物学机制,推测脊髓 CSF1 可能参与吗啡耐受过程。因此,本文通过鞘内连续注射吗啡建立吗啡镇痛耐受的在体模型<sup>[4]</sup>,旨在探讨吗啡镇痛耐受形成过程中大鼠脊髓 CSF1 的表达变化,以及 CSF1R 拮抗剂是否能够抑制吗啡镇痛耐受的形,以期阐明脊髓 CSF1 在吗啡镇痛耐受中的作用提供实验资料。

## 1 材料与方

### 1.1 材料与试剂

1.1.1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠,体质量(220 ± 10)g,购自哈尔滨医科大学实验动物中心。屏蔽系统环境:光照周期 12 h,光照时间 8:00 - 20:00,温度(23 ± 1)℃,所有操作和动物处理遵循国家卫生机构制定的实验室动物指南。

1.1.2 药物与试剂 盐酸吗啡(沈阳第一制药厂,生产批号:120909);CSF1R 拮抗剂 PLX3397(Selleck 公司,美国)和 IBA-1 兔多克隆抗体(1:400,Wako,日本);荧光素标记羊抗兔二抗(1:1 000,Millipore,美国);CSF1 小鼠单克隆抗体(1:1 000,Millipore,美国); $\beta$ -Tubulin 兔多克隆抗体(1:1 000,Abcam,英国)。

### 1.2 方法

1.2.1 大鼠鞘内置管术 腹腔注射苯巴比妥钠(35 ~ 45 mg/kg)麻醉大鼠。以髂嵴连线确定第 5 腰椎间隙。切开 L<sub>5</sub> 背部皮肤,分离椎旁肌,钳去 L<sub>6</sub> 腰椎部分脊突,暴露出第 5 腰椎间隙。用 8 号针头倾斜 60°角插入椎间隙。大鼠尾部或后肢突然抽动表明针头进入蛛网膜下腔。退出针头,将事先充满 0.9% 氯化钠溶液的 microspinal 导管插入第 5 椎间隙,管腔中有清亮液体反流表明导管进入蛛网膜下腔。将导管朝头端方向插入 2 ~ 2.5 cm,使导管末端位于脊髓腰骶部。封闭导管外口并把皮肤外的导管固定于腰部的皮肤。以 4-0 手术线分层缝合肌肉与皮肤。大鼠术后至少恢复 4 d 后开始实验。术后出现后肢或尾部瘫痪、运动功能障碍的动物从实验中排除并立即注射过量苯巴比妥钠注射致死。实验结束取材时观察导管位置,确定导管末端位置。位置不正确的大鼠行为学数据从该组中排除。

1.2.2 分组与给药 成功鞘内置管 SD 大鼠 60 只,按随机数字表法分为 0.9% 氯化钠溶液组(NS 组)、吗啡组(MOR 组)、CSF1R 抑制剂组(PLX3397 组)、CSF1R 抑制剂 + 吗啡组(PLX3397 + MOR 组),各 15 只。其中 NS 组连续 7 d 鞘内及灌胃给予等容积 0.9% 氯化钠溶液;MOR 组连续 7 d 鞘内给予 15  $\mu$ g 吗啡(20  $\mu$ L);PLX3397 组连续 7 d 鞘内给予等容积 0.9% 氯化钠溶液,灌胃给予 CSF1R 抑制剂 PLX3397(290 mg/kg);PLX3397 + MOR 组连续 7 d 鞘内给予 15  $\mu$ g 吗啡(20  $\mu$ L),并灌胃给予 CSF1R 抑制剂 PLX3397(290 mg/kg)<sup>[5]</sup>。分别于鞘内注射 1、3、5、7 d 进行大鼠疼痛行为学测量,并于注射吗啡 7 d 后断头处死大鼠,Western blotting 法测定腰段脊髓 CSF1 表达,免疫荧光染色法检测腰段脊髓小胶质细胞活化情况。

1.2.3 疼痛行为学测试 (1) 甩尾潜伏期法(tail flick latency, TFL):于给药 30 min 后,用热水(50 ± 0.2)℃甩尾法测定甩尾阈值。待大鼠尾巴迅速甩离水面时用秒表记录从大鼠尾部入水到开始甩尾的时间,此时间为大鼠热水甩尾潜伏期(s)。大鼠尾部在热水中停留最长时间为 15 s(cut-off time),以免对尾部造成损伤。给药前为基础甩尾潜伏期(basal tail flick latency, BL),给药后为实验甩尾潜伏期(test tail flick latency, TL)。按照上述方法连续测定 3 次,每次间隔 2 min。将 3 次潜伏期的平均值作为痛阈值。基础阈值 3 ~ 5 s,阈值超过 5 s 的动物从实验中排除。(2) 机械缩足反射阈值法(mechanical withdrawal threshold, MWT):用 von Frey 纤维丝以 up-down 法推算 50% 机械缩足反射阈值。将一有机玻璃箱(22 cm × 12 cm × 22 cm)置于金属筛网上,待大鼠在有机玻璃箱中适应 15 min 后,用 von Frey 纤维丝垂直刺激大鼠后肢足底中部,持续时间 ≤ 4 s,大鼠出现抬足或舔足行为视为阳性反应,否则为阴性反应。测定首先从 2 g 开始,当该力度的刺激不能引起阳性反应,则给予相邻大一级力度的刺激;如出现阳性反应则给予相邻小一级力度的刺激,如此连续进行,直至出现第一次阳性和阴性反应的骑跨,再连续测定 4 次。最大力度为 15 g,大于此值时记为 15 g。每次刺激间隔 30 s。给药前为基础缩足反射阈值(BL),给药后为实验缩足反射阈值(TL)。每次给药前及给药后 30 min 分别测定阈值,将所得的 BL、TL 带入公式 % MPE = (TL - BL) / (cut-off time - BL) × 100%。以 % MPE<sup>TFL</sup> 和 % MPE<sup>MWT</sup> 作为行为学结果。

1.2.4 Western blotting 法检测脊髓 CSF1 表达 戊巴比妥钠腹腔注射深麻醉后断头处死大鼠 ( $n=4$ ), 迅速分离腰段脊髓 ( $L_4 \sim L_6$  节段) 组织, 液氮速冻后  $-80^\circ\text{C}$  深低温冰箱保存。提取蛋白时, 将组织放入 2 mL 匀浆器中, 按 1 mL/100 mg 比例加入预冷的蛋白提取液 (KeyGEN 全蛋白提取试剂盒), 充分匀浆后冰上裂解 15 min, 转移至洁净 EP 管后  $4^\circ\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液即为蛋白提取液。用 BCA 蛋白质测定试剂盒 (Pierce, 美国) 进行蛋白定量。配制 12% SDS-PAGE 凝胶, 每个泳道上样量均为 100  $\mu\text{g}$ , 120 V 恒压电泳 70 min, 待溴酚蓝染料到达凝胶底部时停止电泳。80 V 恒压湿法转膜 80 min, 将凝胶上的蛋白转移至 0.45  $\mu\text{m}$  孔径 PVDF 膜上, 转膜后使用封闭液室温封闭 1 h, 一抗 (CSF1 小鼠单克隆抗体 1:1 000,  $\beta$ -Tubulin 兔多克隆抗体 1:1 000)  $4^\circ\text{C}$  孵育过夜, 辣根过氧化物酶标记种属特异性二抗 (山羊抗小鼠及山羊抗兔抗体 1:5 000) 室温摇床孵育 1 h, 使用 ECL 化学发光液于荧光和可见光凝胶成像系统 (Alpha Innotech) 显影并进行条带灰度分析, 通过计算目的蛋白条带灰度值与内参照蛋白条带灰度值的比值, 半定量分析目的蛋白表达情况。

1.2.5 免疫荧光染色法检测脊髓小胶质细胞激活疼痛行为学测定结束后, 戊巴比妥钠腹腔注射深

麻醉后断头处死大鼠 ( $n=3$ )。用预冷的 0.9% 氯化钠溶液 100 mL 和 4% 多聚甲醛 400 mL 经左心室灌注固定。将腰段脊髓 ( $L_4 \sim L_6$ ) 即腰膨大取出, 4% 多聚甲醛后固定 2 h 后置入蔗糖溶液梯度脱水。冰冻切片 (LEICA) 切片 (片厚 12  $\mu\text{m}$ )。IBA-1 兔多克隆抗体 (1:400)  $4^\circ\text{C}$  孵育过夜, 荧光素标记羊抗兔二抗 (1:1 000)  $37^\circ\text{C}$  避光孵育 1 h, 各步骤间用 PBS 冲洗 3 次, 5 分钟/次, 50% 甘油封片后荧光显微镜拍片, 并用 Image pro-Plus 6.0 软件进行数据分析。

1.3 统计学方法 采用方差分析和  $q$  检验。

## 2 结果

2.1 CSF1R 拮抗剂对吗啡镇痛耐受的影响 MOR 组和 MOR + PLX3397 组在吗啡注射 1 d 时均产生最大镇痛作用 ( $P < 0.05$ ), 2 组 % MPE<sup>TFL</sup> 和 % MPE<sup>MWT</sup> 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。注射吗啡 3 d 时 MOR 组大鼠开始出现镇痛耐受, 至 7 d 时形成明显耐受, MOR 组 % MPE 进行性降低 ( $P < 0.05$ )。MOR + PLX3397 组大鼠接受吗啡注射后 3、5、7 d 时, 与 MOR 组 % MPE 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。PLX3397 组与 NS 组各时点 % MPE 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (见表 1)。

表 1 4 组大鼠鞘内注射给药后不同时点 % MPE<sup>TFL</sup> 和 % MPE<sup>MWT</sup> 比较 ( $n=15; \bar{x} \pm s; \%$ )

分组	1 d	3 d	5 d	7 d	F	P	MS <sub>组内</sub>
% MPE <sup>TFL</sup>							
NS 组	2.7 $\pm$ 0.4	3.0 $\pm$ 0.6	2.5 $\pm$ 0.5 <sup>□</sup>	2.6 $\pm$ 0.3	3.26	<0.05	0.215
MOR 组	88.3 $\pm$ 4.6 <sup>*</sup>	57.8 $\pm$ 5.4 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	35.7 $\pm$ 6.5 <sup>*<math>\Delta</math>□</sup>	22.1 $\pm$ 3.3 <sup>*<math>\Delta</math>□■</sup>	484.60	<0.01	25.865
PLX3397 组	2.5 $\pm$ 0.2 <sup>#</sup>	2.8 $\pm$ 0.1 <sup>#<math>\Delta</math></sup>	2.6 $\pm$ 0.3 <sup>#</sup>	3.0 $\pm$ 0.4 <sup>#<math>\Delta</math>■</sup>	9.83	<0.01	0.075
MOR + PLX3397 组	89.1 $\pm$ 5.5 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	69.3 $\pm$ 4.4 <sup>*<math>\Delta</math>■</sup>	54.7 $\pm$ 6.6 <sup>*<math>\Delta</math>□■</sup>	43.8 $\pm$ 4.5 <sup>*<math>\Delta</math>□■</sup>	203.21	<0.01	28.355
F	2 872.91	1 531.83	464.20	729.24	—	—	—
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	—	—	—
MS <sub>组内</sub>	12.903	12.223	21.538	7.848	—	—	—
% MPE <sup>MWT</sup>							
NS 组	2.1 $\pm$ 0.6	2.8 $\pm$ 0.3 <sup><math>\Delta</math></sup>	2.5 $\pm$ 0.5 <sup><math>\Delta</math></sup>	3.1 $\pm$ 0.4 <sup><math>\Delta</math>■</sup>	12.73	<0.01	0.215
MOR 组	91.1 $\pm$ 4.4 <sup>*</sup>	54.8 $\pm$ 5.6 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	38.2 $\pm$ 3.1 <sup>*<math>\Delta</math>□</sup>	18.9 $\pm$ 4.8 <sup>*<math>\Delta</math>□■</sup>	675.65	<0.01	20.843
PLX3397 组	1.5 $\pm$ 0.4 <sup>#</sup>	2.2 $\pm$ 0.3 <sup><math>\Delta</math></sup>	2.4 $\pm$ 0.5 <sup><math>\Delta</math></sup>	2.8 $\pm$ 0.2 <sup><math>\Delta</math>□■</sup>	32.87	<0.01	0.135
MOR + PLX3397 组	92.2 $\pm$ 5.5 <sup>*<math>\Delta</math></sup>	70.3 $\pm$ 6.8 <sup>*<math>\Delta</math>■</sup>	59.1 $\pm$ 6.1 <sup>*<math>\Delta</math>□■</sup>	42.6 $\pm$ 4.6 <sup>*<math>\Delta</math>□■</sup>	192.81	<0.01	33.715
F	3 221.15	64.01	66.30	31.64	—	—	—
P	<0.01	<0.05	<0.05	<0.05	—	—	—
MS <sub>组内</sub>	12.533	18.669	11.746	5.269	—	—	—

$q$  检验: 与 NS 组比较 \* $P < 0.05$ ; 与 MOR 组比较 # $P < 0.05$ ; 与 PLX3397 组比较  $\Delta P < 0.05$ ; 与 1 d 比较  $\Delta P < 0.05$ ; 与 3 d 比较  $\square P < 0.05$ ; 与 5 d 比较  $\blacksquare P < 0.05$

2.2 CSF1R 拮抗剂对脊髓小胶质细胞激活的影响

注射吗啡 7 d 后, MOR 组小胶质细胞标志物 IBA-1

在大鼠腰段脊髓背角表达较 NS 组增加 ( $P < 0.05$ ), MOR + PLX3397 组大鼠 IBA-1 表达较 MOR 组减少 ( $P < 0.05$ ), NS 组与 PLX3397 组大鼠腰段脊髓背角 IBA-1 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (见表 2)。

表 2 4 组大鼠 IBA-1 阳性细胞比较 ( $n = 3; \bar{x} \pm s$ )

分组	IBA-1 阳性细胞数
NS 组	4.5 ± 1.1
MOR 组	12.5 ± 2.1*
PLX3397 组	4.1 ± 1.6 <sup>#</sup>
MOR + PLX3397 组	5.2 ± 1.8 <sup>#▲</sup>
<i>F</i>	16.612
<i>P</i>	<0.01
<i>MS</i> <sub>组内</sub>	2.855

*q* 检验:与 NS 组比较 \*  $P < 0.05$ ; 与 MOR 组比较<sup>#</sup>  $P < 0.05$ ; 与 PLX3397 组比较<sup>▲</sup>  $P < 0.05$

2.3 CSF1R 拮抗剂对脊髓 CSF1 表达的影响 注射吗啡 7 d 后, MOR 组和 MOR + PLX3397 组大鼠腰段脊髓 CSF1 表达均较 NS 组增加 ( $P < 0.05$ ), MOR 组和 MOR + PLX3397 组 CSF1 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), NS 组与 PLX3397 组 CSF1 表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (见表 3)。

表 3 4 组大鼠脊髓 CSF1 蛋白表达比较 ( $n = 4; \bar{x} \pm s$ )

分组	相对表达量
NS 组	0.21 ± 0.04
MOR 组	0.85 ± 0.12*
PLX3397 组	0.18 ± 0.05 <sup>#</sup>
MOR + PLX3397 组	0.81 ± 0.08* <sup>▲</sup>
<i>F</i>	86.63
<i>P</i>	<0.01
<i>MS</i> <sub>组内</sub>	0.006

*q* 检验:与 NS 组比较 \*  $P < 0.05$ ; 与 MOR 组比较<sup>#</sup>  $P < 0.05$ ; 与 PLX3397 组比较<sup>▲</sup>  $P < 0.05$

### 3 讨论

本实验结果证实,慢性吗啡处理能激活大鼠脊髓 CSF1 的表达,而给予 CSF1R 拮抗剂,不仅可以明显抑制吗啡镇痛耐受的形成,还可以抑制脊髓背角小胶质细胞的激活。提示脊髓 CSF1 参与吗啡镇痛耐受形成。

吗啡等阿片类药物用于治疗疼痛已有数千年历史。吗啡耐受是慢性吗啡诱导的一种适应性过程,表现为  $\mu$  阿片受体在分子水平以及突触和细胞水平上的复杂变化。现已证实,吗啡可以引起中枢神经系统神经炎症反应<sup>[6]</sup>,这与吗啡镇痛的抑制以及

吗啡诱导的耐受性、依赖性和药物滥用直接相关<sup>[7]</sup>。有研究<sup>[8]</sup>表明,激活的小胶质细胞和星型胶质细胞在吗啡镇痛耐受中发挥重要作用,而抑制胶质细胞激活可以降低吗啡耐受发生。

有研究<sup>[9]</sup>发现,阻断 CSF-1R 信号通路可以有效减轻坐骨神经部分结扎引起的神经病理性疼痛,并能够抑制脊髓内小胶质细胞激活。CSF-1R 是一种受体酪氨酸激酶,在巨噬细胞、破骨细胞、朗格汉斯细胞、非造血细胞和中枢神经系统小胶质细胞上均有表达,CSF-1R 具有两种同源配体,即 CSF-1 和 IL-34,它们在中枢神经系统表达区域呈现出不重叠性,调节小胶质细胞增殖和存活。CSF-1R 的表达随脑发育而显著下降,而 IL-34 和 CSF-1 的表达则维持在较高水平。CSF-1 又称巨噬细胞集落刺激因子,是调控组织巨噬细胞和破骨细胞的主要生长因子。小胶质细胞是广泛分布于中枢神经系统的巨噬细胞,是免疫防御的第一道防线,在炎症反应中被激活。本研究选用的 PLX3397 是一种口服有效的 CSF1R 抑制剂,具有高度选择性及能透过血脑屏障的特点,可用于特异性的小胶质细胞的消除<sup>[5]</sup>。

鉴于吗啡镇痛耐受和神经病理性疼痛有着许多相同的神经生物学机制,本研究发现,慢性吗啡处理可以上调脊髓内 CSF1 表达,以及激活脊髓背角小胶质细胞,而 CSF1R 抑制剂 PLX3397 可以抑制吗啡镇痛耐受的形成,及抑制脊髓背角小胶质细胞的激活,这些结果表明 CSF1 可能介导了吗啡镇痛耐受的形成。在神经病理性痛模型中,脊髓 CSF1 来源于受损感觉神经元分泌已有报道<sup>[3]</sup>,但在吗啡镇痛耐受模型中,导致脊髓内 CSF1 表达增加的细胞来源还有待实验进一步证实。

综上所述,CSF1 介导了慢性吗啡耐受的形成。本文为深入阐明吗啡耐受机制提供了新的实验资料,为防治吗啡耐受提供了新的研究方向。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] WATKINS LR, HUTCHINSON MR, RICE KC, et al. The 'toll' of opioid-induced glial activation: improving the clinical efficacy of opioids by targeting glia [J]. Trends Pharmacol Sci, 2009, 30 (11):581.
- [2] PYONTECK SM, AKKARI L, SCHUHMACHER AJ, et al. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression [J]. Nat Med, 2013, 19 (10):1264.
- [3] GUAN Z, KUHN JA, WANG X, et al. Injured sensory neuron-derived CSF1 induces microglial proliferation and DAPI2-dependent pain [J]. Nat Neurosci, 2016, 19 (1):94.

- [6] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南(2019) [J]. 中华心血管病杂志,2019,10(47):766.
- [7] FANG M, XU X, ZHANG M, *et al.* Quantitation of cytidine-5'-monophospho-N-acetylneuraminic acid in human leukocytes using LC-MS/MS: method development and validation [J]. *Biomed Chromatogr*, 2019, 34(2):e4735.
- [8] GENSIINI GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease [J]. *Am J Cardiol*, 1983, 51(3):606.
- [9] ANTMAN EM, COHEN M, BERNINK PJ, *et al.* The TIMI risk score for unstable angina /non-ST elevation MI: a method for prognostication and therapeutic decision making [J]. *JAMA*, 2000, 284(7):835.
- [10] MORROW DA, ANTMAN EM, CHARLESWORTH A, *et al.* TIMI risk score for ST-elevation myocardial infarction: A convenient, bedside, clinical score for risk assessment at presentation: an intravenous nPA for treatment of infarcting myocardium early II trial substudy [J]. *Circulation*, 2000, 102(17):2031.
- [11] EAGLE KA, LIM MJ, DABBOUS OH, *et al.* A validated prediction model for all forms of acute coronary syndrome: estimating the risk of 6-month postdischarge death in an international registry [J]. *JAMA*, 2004, 291(22):2727.
- [12] BEN AO, JOMAA W, FARAH A, *et al.* Evaluation of the performance of the GRACE risk score in predicting long-term mortality in Tunisian patient presenting with non-ST-elevation acute coronary syndrome [J]. *Arch Cardiovasc Dis Suppl*, 2020, 12(2):226.
- [13] FISCHER C, HÖPNER J, HARTWIG S, *et al.* Participation in disease management programs and major adverse cardiac events in patients after acute myocardial infarction: a longitudinal study based on registry data [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2021, 21(1):18.
- [14] ROSS D, FELDMAN MD. Sex-specific determinants of coronary artery disease and atherosclerotic risk factors: estrogen and beyond [J]. *Can J Cardiol*, 2020, 5(36):706.
- [15] CENKO E, YOON J, KEDEV S, *et al.* Sex differences in outcomes after STEMI: effect modification by treatment strategy and age [J]. *JAMA Inter Med*, 2018, 178(5):632.
- [16] LØNNEBAKKEN MT. Cardiometabolic risk factors and coronary artery disease in women [J]. *J Womens Health (Larchmt)*, 2020, 29(12):1489.
- [17] 高晓津, 杨进刚, 吴超, 等. TIMI 危险评分与 GRACE 风险评分对中国 ST 段抬高型心肌梗死病人院内死亡率的预测价值 [J]. *中国循环杂志*, 2018, 33(6):529.
- [18] ALDERWISH E, SCHULTZ E, KASSAMI Z, *et al.* Comparison of four decision aids for the early diagnosis of acute coronary syndromes in the emergency department [J]. *Emerg Med J*, 2020, 37(1):8.
- [19] CHEN YH, HUANG SS, LIN S, *et al.* TIMI and GRACE risk scores predict both short-term and long-term outcomes in chinese patients with acute myocardial infarction [J]. *Acta Cardiol Sin*, 2018, 34(1):4.
- [20] 唐晓芳, 宋莹, 许晶晶, 等. 女性早发冠心病病人介入治疗的临床特点和远期预后研究 [J]. *中国循环杂志*, 2019, 34(11):1055.

( 本文编辑 刘畅 )

( 上接第 573 页 )

- [4] ZHAO CM, GUO RX, HU F, *et al.* Spinal MCP-1 contributes to the development morphine antinociceptive tolerance in rats [J]. *Am J Med Sci*, 2012, 344(6):473.
- [5] ELMORE MR, NAJAFI AR, KOIKE MA, *et al.* Colony-stimulating factor 1 receptor signaling is necessary for microglia viability, unmasking a microglia progenitor cell in the adult brain [J]. *Neuron*, 2014, 82(2):380.
- [6] MILLIGAN ED, WATKINS LR. Pathological and protective roles of glia in chronic pain [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10(1):23.
- [7] LIU L, COLLIER JK, WATKINS LR, *et al.* Naloxone-precipitated morphine withdrawal behavior and brain IL-1 $\beta$  expression: comparison of different mouse strains [J]. *Brain Behav Immun*, 2011, 25(6):1223.
- [8] SONG P, ZHAO ZQ. The involvement of glial cells in the development of morphine tolerance [J]. *Neurosci Res*, 2001, 39(3):281.
- [9] LEE SH, SHI XQ, FAN A, *et al.* Targeting macrophage and microglia activation with colony stimulating factor 1 receptor inhibitor is an effective strategy to treat injury-triggered neuropathic pain [J]. *Mol Pain*, 2018, 14:1744806918764979.

( 本文编辑 卢玉清 )