

前扣带皮层区域磷酸激酶 Czeta 在弗氏安全佐剂致炎性痛大鼠情绪反应中的作用

杜俊英[△], 温存[△], 邵晓梅, 房军帆, 梁宜, 方剑乔^{*}

(浙江中医药大学 第三临床医学院 针灸神经生物学实验室, 杭州 310053)

【摘要】 目的 观察 CFA 致炎性痛模型大鼠的情绪反应, 探讨前扣带皮层 (ACC) 磷酸激酶 Czeta (PKC-zeta) 与炎性痛大鼠情绪反应的关系。方法 24 只清洁级雄性 SD 大鼠随机分为空白对照组和模型对照组。足底皮下注射弗氏完全佐剂建立慢性炎性痛模型。动态观察各组大鼠造模前 (base)、造模后 3、7、14、21 和 28 d 的体重和痛阈变化; 观察造模后 14、21、28 d 所有大鼠在高架 O 迷宫中的总运动距离、开放臂运动距离、开放臂进入次数和开放臂停留时间百分比。观察造模后 14、29 d 所有大鼠在旷场中的总运动距离、中央象限运动距离、中央象限进入次数和中央象限停留时间。采用免疫印迹法检测造模后 14 d 和 29 d 健侧和患侧 ACC 区域 PKCzeta 蛋白表达。结果 各个时间点两组大鼠体重差异无显著性 ($P > 0.05$)。造模前, 两组大鼠痛阈差异无显著性 ($P > 0.05$); 造模后 1 d, 模型对照组大鼠痛阈显著降低 ($P < 0.05$), 且在整个实验过程中均显著低于空白对照组 ($P < 0.05$)。与空白对照组比较, 模型对照组大鼠于模后 28 d 开放臂运动距离和开放臂停留时间百分比显著减少 ($P < 0.05$), 于模后 29 d 中央象限运动距离和中央象限进入次数明显减少 ($P < 0.05$)。造模后 29 d, 模型对照组大鼠患侧 ACC 区域 PKCzeta 蛋白表达明显多于空白对照组 ($P < 0.05$)。且开放臂运动距离、开放臂停留时间百分比、中央象限运动距离、中央象限进入次数与患侧 PKCzeta 蛋白表达变化呈负相关。结论 CFA 诱导的慢性炎性痛大鼠可出现异常情绪行为; 慢性炎性痛情绪样行为可能与 ACC 区域 PKCzeta 的高表达相关。

【关键词】 炎性痛; 情绪; 前扣带皮层; 磷酸激酶 Czeta; 弗氏安全佐剂; 大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2016)04-0414-08

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2016.04.015

The role of PKCzeta-expression in the anterior cingulate cortex in emotional response to complete Freund's adjuvant-induced inflammatory pain

DU Jun-ying[△], WEN Cun[△], SHAO Xiao-mei, FANG Jun-fan, LIANG Yi, FANG Jian-qiao^{*}

(Department of Neurobiology and Acupuncture Research, The Third Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

【Abstract】 Objective To observe the emotional response to inflammatory pain model induced by complete Freund's adjuvant (CFA), and to explore the relationship between phosphate kinase C (PKC) zeta in the anterior cingulate cortex (ACC) and emotional response to inflammatory pain. **Methods** Twenty-four healthy 2-month old female Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group and model group. The inflammatory pain model was established by injecting subcutaneously with 0.1 ml CFA into the right hind paw of rats. To observe the dynamical changes of body weight

【基金项目】 浙江省自然科学基金项目 (编号: LQ15H270003); 浙江省医药卫生科技计划项目 (编号: 2015KYB281); 浙江中医药大学校级科研基金项目 (编号: 2014ZR08); 浙江中医药大学附属第三医院医药卫生科研计划项目 (编号: ZS14ZA01)。

【作者简介】 杜俊英 (1984-), 女, 助理研究员, 研究方向: 针灸调控痛情绪的效应及机制研究。Email: dujunying0706@163.com。温存 (1990-), 女, 硕士研究生, 专业: 针灸推拿学。Email: 1140121113@qq.com。△ 共同第一作者

【通讯作者】 方剑乔 (1961-), 男, 教授, 研究方向: 针灸镇痛与免疫调节的相关性研究。Email: fangjianqiao7532@163.com

and pain threshold before modeling, and at 3, 7, 14, 21, and 28 days after modeling. Detecting the total distance, distance in open arm, the number of times entering into the open arm, percentage of time spent in open arm of elevated O maze were measured at 14, 21, 28 days after modeling. The total distance, distance in the central quadrat, the number of times entering the central quadrat, and time spent in the central quadrat of open field were determined at 14 and 29 days after modeling. The protein expression of PKCzeta in the ACC was detected by Western blot at 14 and 29 days after CFA-injection. **Results** There were no significant differences of body weight between the control and model groups ($P > 0.05$). Compared with the control group, the pain threshold of rats in the model group was significantly decreased at 1, 3, 7, 14, 21, and 28 days after CFA-injection ($P < 0.05$), the distance in open arm and percentage of time spent in open arm of the model group were markedly reduced at 28 days after modeling ($P < 0.05$), distance in the central quadrat and the number of times entering into the central quadrat of model group were significantly decreased at 29 days after modeling ($P < 0.05$), and the protein expression of PKCzeta in ipsilateral ACC was increased at 29 days after CFA-injection ($P < 0.05$). There was a negative correlation between distance in open arm and protein expression of PKCzeta in the ipsilateral ACC, percentage of time spent in open arm and protein expression of PKCzeta in the ipsilateral ACC, distance in the central quadrat and protein expression of PKCzeta in ipsilateral ACC, the number of times entering into the central quadrant and protein expression of PKCzeta in the ipsilateral ACC, respectively. **Conclusions** Abnormal emotional behavior may occur in rats with chronic inflammation pain induced by CFA-injection. This pain emotion behavior may be associated with high protein expression of PKCzeta in the ipsilateral anterior cingulate cortex.

[Key words] Inflammatory pain; Emotion; Anterior cingulate cortex; Complete Freund's adjuvant; PKCzeta; Rat
Corresponding author: FANG Jian-qiao. E-mail: fangjianqiao7532@163.com

疼痛是一种与组织损伤或潜在的损伤相关的不愉快的主观感觉和情感体验。根据这个定义可以看出疼痛是由互不相同而又互相联系的多种成分组成:分辨成分(sensory discriminative)-感觉,动机成分(affective motivational)-情绪和评估成分(cognitive evaluational)-认知。分辨成分-疼痛感觉的研究已经取得长足的进展,但动机成分-痛情绪的研究相对滞后。越来越多的证据表明慢性疼痛病人经历的痛情绪折磨比疼痛本身更严重^[1, 2]。因此,近年对疼痛相关情绪的机制研究成为临床和基础研究的热点。

研究认为内侧痛传导系统通路疼痛导致的不良情绪的信息处理相关^[3]。前扣带皮层是内侧痛传导系统通路的重要组成部分,是痛情绪处理的高级中枢。神经科学研究发现谷氨酸在焦虑情绪中起着重要的调节作用^[4],PKC 作为谷氨酸活化的关键物质,在情绪反应中的作用也逐渐被发现,已有文献报道,敲除 PKCgamma 和 PKCepsilon 基因能够抑制焦虑样情绪反应^[5, 6],PKCzeta 作为非典型 PKC 家族的一员是否与情绪样变化相关,目前未见报道。本研究通过动态观察 CFA 诱导的慢性炎性痛不同时期痛阈和相关情绪反应变化情况,明确慢性炎性痛诱导痛情绪的时间;同时观察前扣带皮层 PKCzeta 的蛋白表达情况,探讨慢性炎性痛诱导痛情绪的可能中枢机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选用清洁级雄性 SD 大鼠 24 只,体重 280 ~ 300 g,2 月龄。均购于中国科学院上海实验动物中心【SCXK(沪)2013-0016】,由浙江中医药大学实验动物中心饲养。饲养期间给予啮齿类动物标准颗粒饲料(由实验动物中心提供)及自由饮水,12 h 循环灯光,恒定湿度,室温(23 ± 2)℃。实验大鼠饲养及组织取材均于浙江中医药大学实验动物中心实验设备内进行【SYXK(浙)2013-0184】。本实验所有操作均符合中华人民共和国《实验动物管理条例》。

1.1.2 仪器与试剂

弗氏完全佐剂(CFA, Sigma 公司,美国),PKCzeta(Abcam, 美国), GAPDH(CST, 美国), von Frey 丝套件(Thermo, 美国),旷场(瑞沃德,中国),高架 O 迷宫(瑞沃德,中国), Smart 3.0 分析软件(Panlab, 美国), Image Quant LAS4000(Thermo, 美国), Image Quant TL(Thermo, 美国), Western 及 IP 细胞裂解液(碧云天,中国), 0.45 μm PVDF 膜(Bio-Rad, 美国), 兔抗大鼠 PKCzeta(#ab59364, Abcam), 兔抗大鼠 HRP 标记的 GAPDH(#3683, Cell Signaling Technology), 制胶器(Bio-Rad, 美国), 电泳仪(Bio-Rad, 美国), 快速凝胶转印仪(Bio-Rad, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模

所有大鼠随机分为空白对照组和模型对照组各 12 只,模型对照组:通过左后足底皮下注射 0.1 mL 弗氏完全佐剂(Complete Freund's adjuvant, CFA)建立慢性炎性痛模型。

1.2.2 机械痛阈

机械痛阈测量时间固定在 9:00–17:00,环境温度 23°C 左右。开始前,先将大鼠放置于特定的铁丝网上(UGO),盖以透明的有机玻璃罩($20\text{ cm} \times 20\text{ cm} \times 15\text{ cm}$),适应环境直至大鼠安静(即停止梳理毛发和探索性活动),大约 15 min 左右。按照 Chaplan 等^[7]创建的经典 von-Frey 刺激丝(Stoelting Co, Thermo)(力量分别是 0.4、0.6、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、15.0 g 和 26.0 g)Up-Down 方法测量机械缩腿阈作为痛阈。首先从 4.0 g 开始,将 one-Frey 刺激丝垂直刺向大鼠左后足底中央区域皮肤(避开足垫),垂直用力使 one-Frey 刺激丝弯曲成 S 形。刺激时间每次持续 $\leq 8\text{ s}$,间隔时间 $> 2\text{ min}$ 。若大鼠出现缩足/舔足反应为阳性反应,以“X”表示,换大一号力量的 one-Frey 刺激丝继续刺激;反之则以“O”表示,换小一号力量的 one-Frey 刺激丝继续刺激;测量 6 次,可得到如“OXXOXO”的序列,以 $(10[X_f + \kappa\delta])/10\ 000$ 的公式计算痛阈。其中 δ 为 0.231, κ 值根据“O”、“X”表获得, X_f 为最后一根 von Frey 刺激丝的对数值。

1.2.3 旷场实验

操作间保持较暗的光线,避免直射光线,恒定温度(23°C 左右),安静条件下进行。测试之前先将待测实验大鼠放入实验环境中 2 h 以适应环境。开始时将实验大鼠头部背对实验者轻轻放入旷场实验箱正中象限中,进行摄像,记录 10 min 的大鼠活动情况。用 Smart 3.0 软件进行数据分析:分析时将旷场划为 16 个格子,中间 4 格为中央象限,其他 12 格为周围象限,分析实验动物在旷场的总运动距离、中央象限运动距离、中央象限进入次数和中央象限停留时间。每只大鼠测量前均用 10% 酒精清洗以消除上一次大鼠留下的信息(如气味、大便、小便等)。

1.2.4 高架 0 迷宫

环境要求及适应条件同旷场实验。开始时将实验大鼠迅速轻放置于闭合臂和开放臂的交界,要求实验大鼠头面向开放臂。记录 5 min 大鼠在高架 0 迷宫中的活动情况。用 Smart 3.0 软件进行数据分

析:分析时将高架 0 迷宫分成 4 个臂,2 个为闭合臂,2 个为开放臂。观察并计算实验大鼠高架 0 迷宫总运动距离、开放臂运动距离、开放臂进入次数和开放臂停留时间百分比。每只大鼠测量前均用 10% 酒精清洗以消除上一次大鼠留下的信息(如气味、大便、小便等)。

1.2.5 免疫印迹法检测 ACC 区域 PKC ζ 蛋白表达

各组大鼠于造模后 14、29 d 检测完行为学指标后,以 0.35 mL / 0.2 kg 的 10 % 水合氯醛腹腔麻醉,冰冻生理盐水(4°C)灌注,参照 Paxinos-Watson 大鼠脑立体定位图谱快熟取得左右两侧 ACC 放入 Western 及 IP 细胞裂解液冰上超声粉碎,其中功率为 200 W,工作 2 s,间隔 6 s,15 次;15 000 g 离心取上清液,BCA 法定量蛋白浓度,取 20 μg 蛋白上样,以 5% ~ 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白(80 V, 30 min,再 150 V,90 min),然后通过半干转印法将蛋白转印至 PVDF 膜(0.45 μm , Bio-Rad),10% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,分别用兔抗大鼠 PKC ζ 、兔抗大鼠 HRP 标记的 GAPDH 一抗孵育过夜(4°C),HRP 标记的山羊抗兔二抗孵育 1 h(室温),ECL 试剂盒显色,采用 Image Quant LAS4000 系统拍照,Image Quant TL 系统计算条带的平均光密度值,其中 GAPDH 为内部对照。

1.3 统计分析

实验数据以均数 $\pm$ 标准误($\bar{x} \pm s\bar{x}$)表示,采用 SPSS13.0 软件包进行统计分析。机械痛阈、旷场实验和高架 0 迷宫实验数据采用重复测量方差分析;其他实验数据采用独立样本 t 检验,均以 $P < 0.05$ 为差异显著的标准。采用 Pearson 法进行相关分析。

2 结果

2.1 各组大鼠体重变化情况

我们动态观察了空白对照组和模型对照组大鼠造模前、造模后 3、7、14、21 d 和 28 d 体重变化,结果如图 1 所示,在整个实验的各个时间点,两组大鼠体重未见明显差异($P > 0.05$)。

2.2 von Frey 刺激丝 up-down 法观察慢性炎性痛大鼠造模后不同时间点痛阈变化情况

我们动态观察各组大鼠造模前、造模后 1、3、7、14、21 d 和 28 d 的患侧足跖痛阈变化。造模前,空白对照组和模型对照组大鼠患侧足跖痛阈差异无显著性,具有可比性($P > 0.05$)。造模后 1 d,模型对照组大鼠患侧足跖痛阈明显低于同期空白对照组

($P < 0.01$), 提示成功诱发 CFA 大鼠患侧足跖痛觉异常; 造模后 3、7、14、21 d 和 28 d, 模型对照组大鼠患侧足跖痛阈均显著低于空白对照组大鼠 ($P < 0.01$) (详见图 2)。

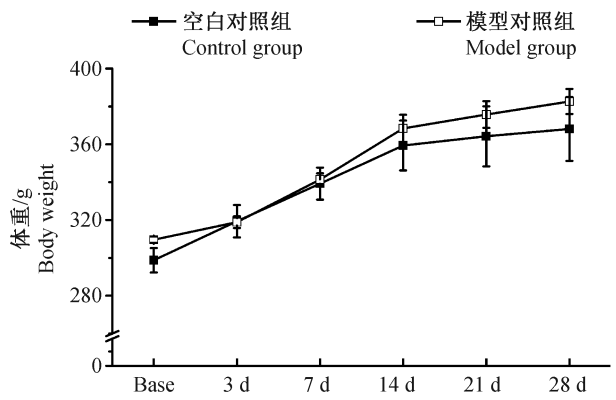
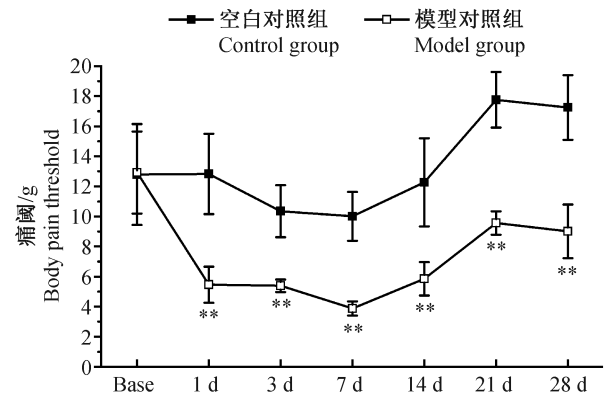


图 1 各组大鼠痛阈体重变化情况 ($\bar{x} \pm s, g$)
Fig. 1 Changes of the body weight of rats in each group at different time-points ($\bar{x} \pm s, g$)



注: 与空白对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 2 各组大鼠痛阈变化情况 ($\bar{x} \pm s, g$)
Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.
Fig. 2 Changes of the pain threshold of rats in each group at different time-points ($\bar{x} \pm s, g$)

2.3 高架 O 迷宫实验观察慢性炎性痛大鼠造模后不同时间点的行为学变化情况

我们采用高架 O 迷宫实验观察慢性炎性痛大鼠造模后 14、21 d 和 28 d 的行为学变化情况, 观察 5 min 内实验大鼠在高架 O 迷宫中的总运动距离, 开放臂运动距离, 开放臂进入次数和开放臂停留时间百分比。结果如图 3 显示, 造模后 14、21 d, 空白对照组和模型对照组大鼠的总运动距离、开放臂运动距离、开放臂进入次数和开放臂停留时间百分比差异均无显著性 ($P > 0.05$); 造模后 28 d, 模型组大鼠开放臂运动距离和开放臂停留时间百分比显著小

于空白对照组 ($P < 0.05$), 两组大鼠总运动距离和开放臂进入次数无差异 ($P > 0.05$)。

2.4 旷场实验观察慢性炎性痛大鼠造模后不同时间点的行为学变化情况

我们采用旷场实验观察造模后 14、29 d 的焦虑情绪行为情况, 观察 10 min 内实验大鼠在旷场中的总运动距离, 中央象限运动距离, 中央象限进入次数和中央象限停留时间。结果如图 4 显示, 造模后 14 d, 空白对照组和模型对照组大鼠的总运动距离、中央象限运动距离、中央象限进入次数和中央象限停留时间百分比差异均无显著性 ($P > 0.05$); 造模后 29 d, 模型组大鼠中央象限运动距离和中央象限进入次数显著小于空白对照组 ($P < 0.05$), 中央象限停留时间减少但与空白组差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.5 慢性炎性痛大鼠造模后不同时间点的 ACC 区域 p-PKCzeta 蛋白表达情况

我们采用免疫印迹法观察慢性炎性痛大鼠造模后 14、29 d 健侧和患侧 ACC 区域 PKCzeta 蛋白表达情况, 结果如图 5 所示。造模后 14 d, 空白对照组和模型对照组大鼠健侧和患侧 ACC 区域 PKCzeta 蛋白表达差异无显著性 ($P > 0.05$)。造模后 29 d, 与空白对照组比较, 模型对照组大鼠患侧 ACC 区域 PKCzeta 蛋白表达明显增多 ($P < 0.05$), 其健侧 PKCzeta 蛋白表达差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.6 慢性炎性痛大鼠情绪样变化与患侧 ACC 区域 PKCzeta 的相关分析

为了探讨患侧 ACC 区域 PKCzeta 蛋白变化与慢性炎性痛情绪样变化是否相关, 我们分别将实验大鼠开放臂运动距离与 PKCzeta 蛋白表达、开放臂停留时间百分比与 PKCzeta 蛋白表达、中央象限运动距离与 PKCzeta 蛋白表达、中央象限进入次数与 PKCzeta 蛋白表达进行了相关分析检测, 结果如图 6 所示。开放臂运动距离与 PKCzeta 蛋白表达之间的 Pearson 相关系数为 $-0.467, P < 0.01$; 开放臂停留时间百分比与 PKCzeta 蛋白表达之间的 Pearson 相关系数为 $-0.413, P < 0.05$; 中央象限运动距离与 PKCzeta 蛋白表达之间的 Pearson 相关系数为 $-0.570, P < 0.01$; 中央象限进入次数与 PKCzeta 蛋白表达之间的 Pearson 相关系数为 $-0.543, P < 0.01$ 。结果提示 PKCzeta 蛋白表达变化与开放臂运动距离、开放臂停留时间百分比、中央象限运动距离、中央象限进入次数均呈负相关, 相关性比较强。

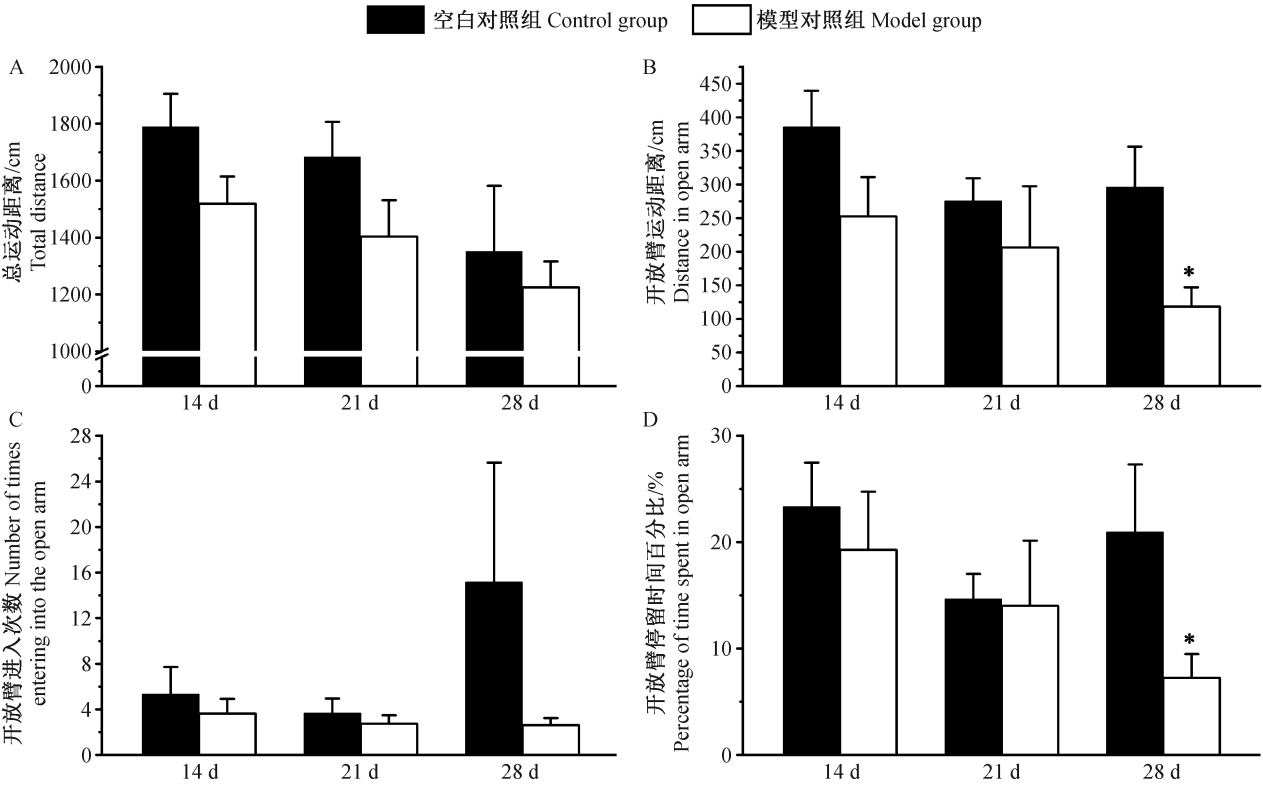


图 3 各组大鼠高架 O 迷宫行为学变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 3 Changes of the results of elevated zero maze test of the rats in each group at different time-points

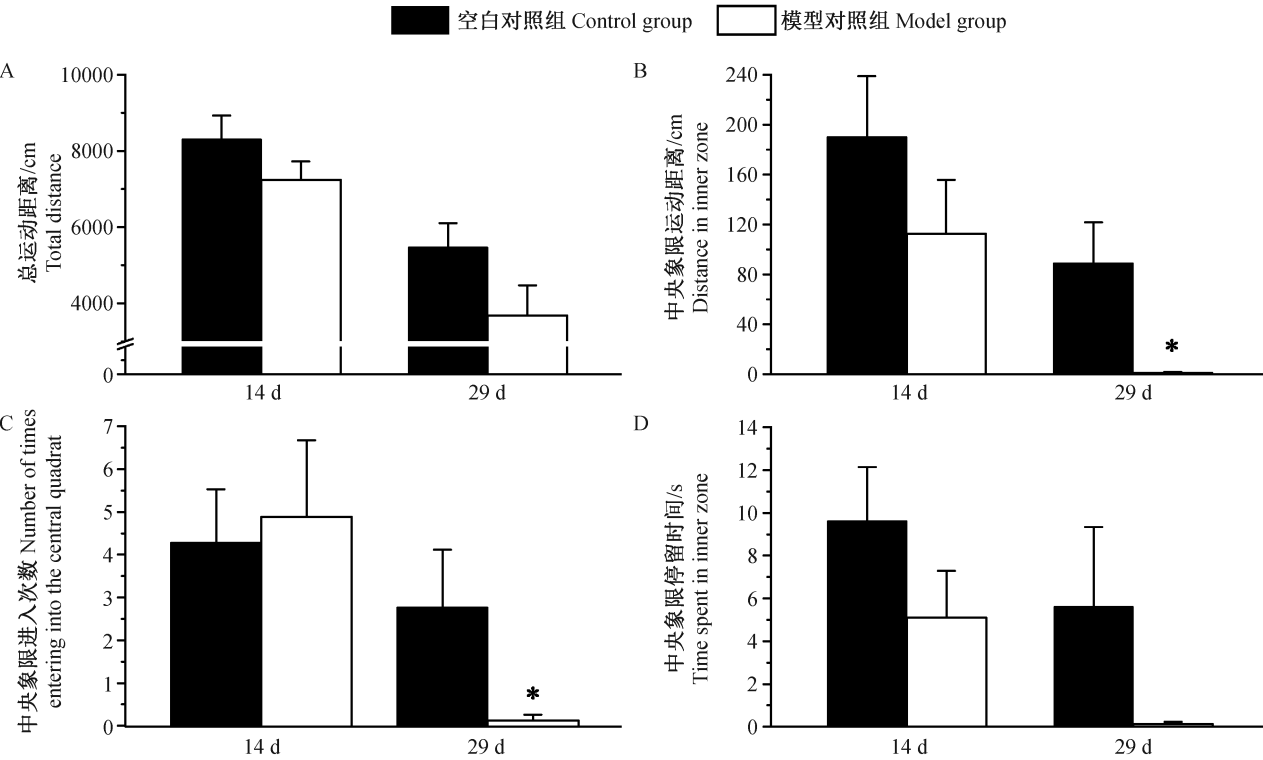


图 4 各组大鼠旷场行为学变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 4 Changes of the results of open field test of rats in each group at different time-points

因此,患侧 ACC 区域 PKCzeta 蛋白表达变化与慢性炎症痛情绪样变化密切相关。

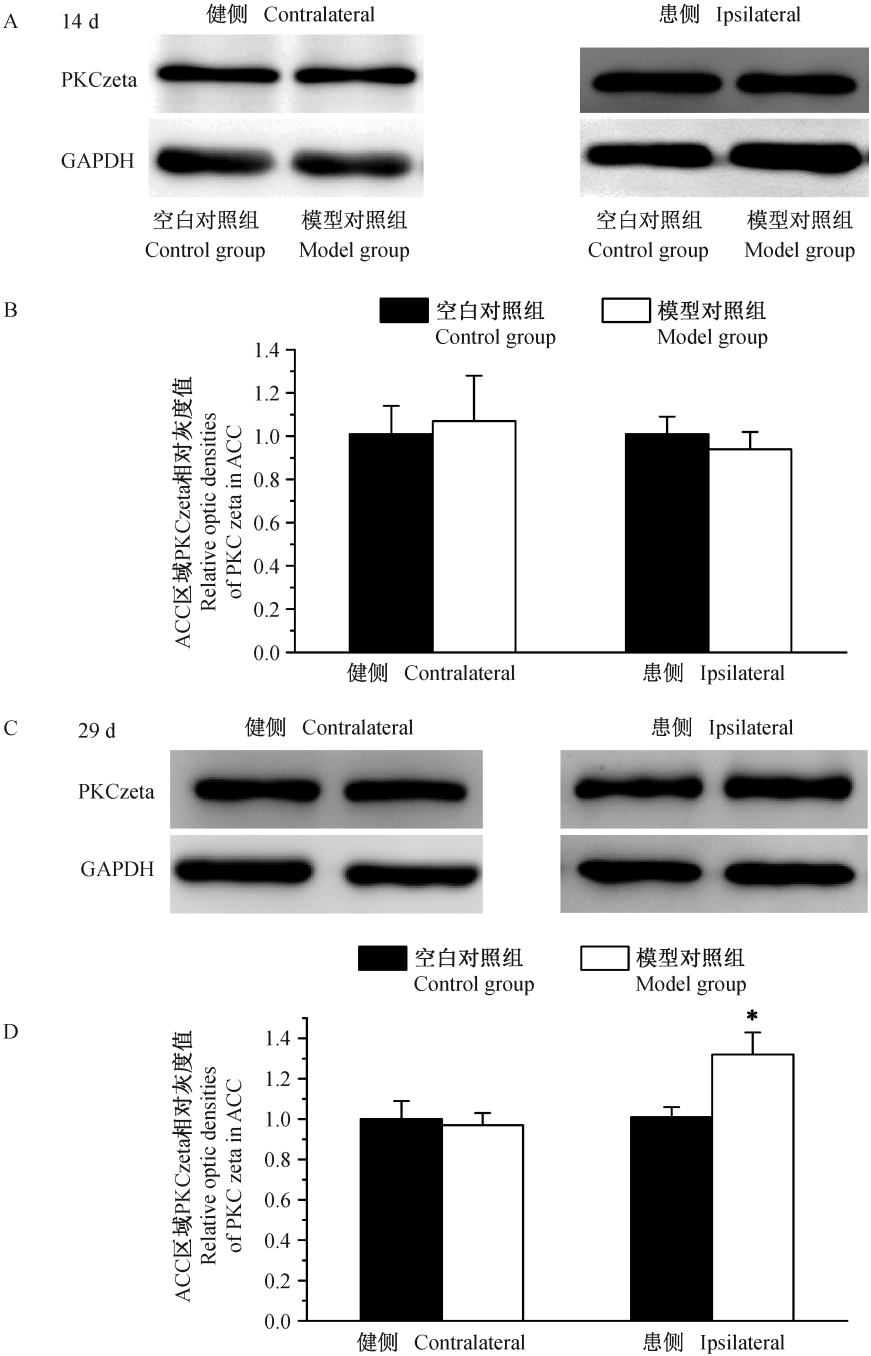


图5 各组大鼠 ACC 脑区 PKCzeta 变化情况 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 5 Changes of the PKCzeta protein expression in ACC of rats in each group at different time-points

3 讨论

疼痛包含感觉成分和情绪成分。痛的感觉成分编码伤害性刺激的性质、躯体定位、强度和空间特性;痛的情绪成分编码痛情绪、唤醒以及引起逃避行为时的强迫及指向特性。情绪折磨被认为是疼痛的基本特性。常用的痛感觉成分检测方法为冷、热、机

械痛阈,常用的痛情绪成分观察方法为旷场、O 迷宫等。基于对疼痛认识的不断深入,基础研究者开始采用情绪测量方法和手段观察常见慢性疼痛模型的相关不良情绪及可能机制。通过足底皮下或关节腔内注射弗氏完全佐剂建立的炎性痛动物模型是最常见的慢性疼痛模型之一,其造模简单,易于复制,广受研究者喜爱,常用于

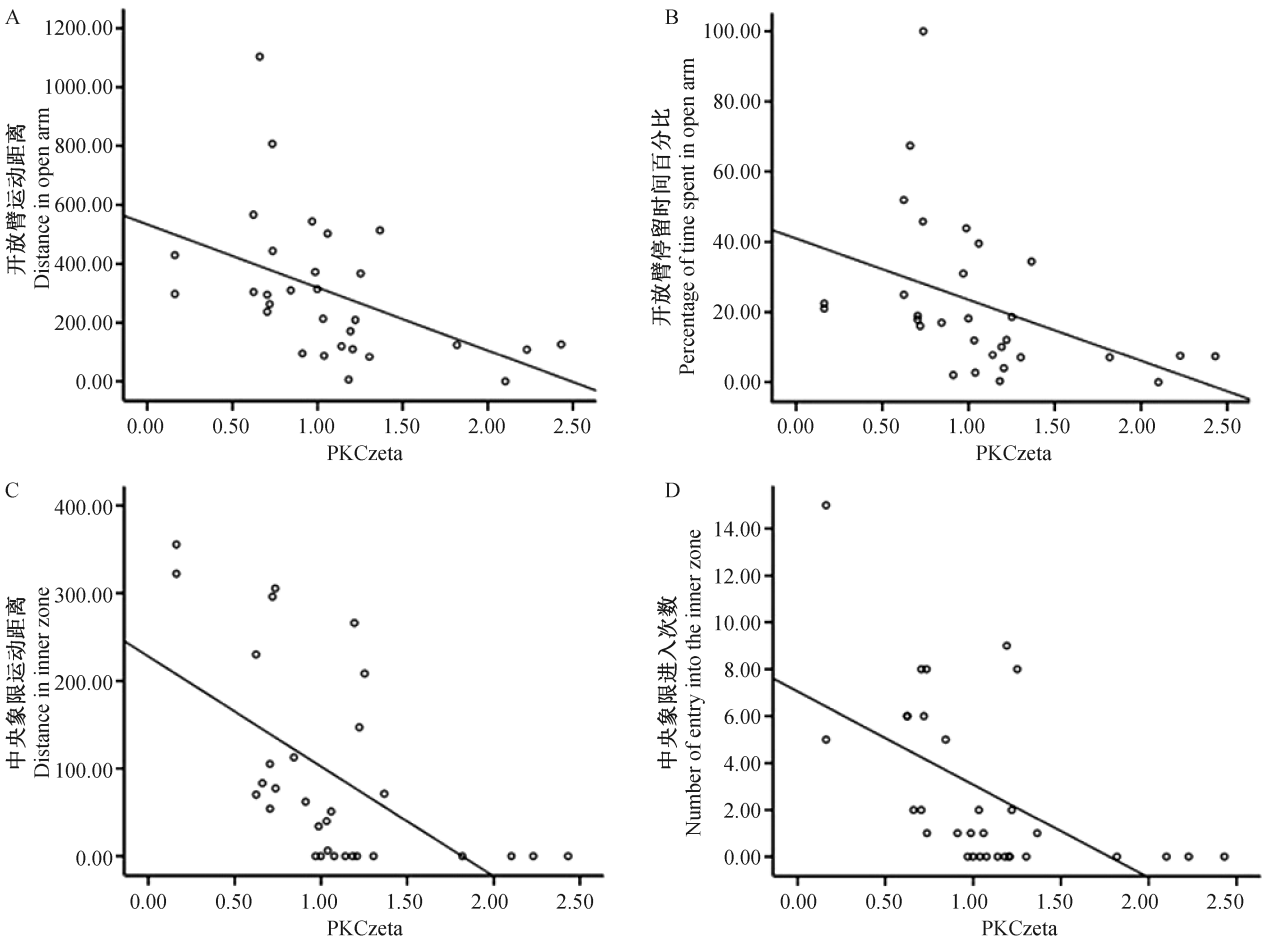


图6 慢性炎性痛情绪样行为与患侧 PKCzeta 蛋白表达的相关分析

Fig. 6 Correlation analysis between the chronic inflammation-induced pain emotion and PKCzeta protein expression in the ipsilateral ACC

慢性炎性痛痛感觉治疗及机制研究。过往研究认为,慢性炎性痛模型不会诱导痛情绪,但近年来,有研究指出弗氏完全佐剂诱导的慢性炎性痛模型伴有痛情绪反应,且开始采用慢性炎性痛模型探讨痛情绪的相关机制。Borges 等^[8]采用关节腔内注射弗氏完全佐剂诱导的炎性痛大鼠模型中发现,造模后 14 d 和 28 d,模型大鼠埋珠个数明显增多;造模后 28 d,模型大鼠开放臂停留时间百分比明显减少,强迫游泳不动时间明显增多。Grégoire 等^[9]采用相似的方法在造模后 21 d 也观察到模型大鼠的痛情绪反应。Parent 等^[10]也观察到弗氏完全佐剂造模后 28 ~ 30 d,模型大鼠的痛情绪行为:其社会交互活动减少、在开放臂停留时间百分比及进入次数减少、进入中央象限的次数减少。Narita 等^[11]采用相同试剂减半足底注射建立炎性痛大鼠模型也在造模后 28 d 观察到模型大鼠的痛情绪反应。我们课题组也在造模后 28 d 观察到弗氏完全佐剂诱导的慢性炎性痛

模型的痛情绪行为。因此,CFA 诱导的慢性炎性痛大鼠模型可出现痛情绪行为。

大量研究证实,ACC 是疼痛处理的关键脑区^[12]。ACC 不仅直接接受丘脑传入的伤害性信息,间接接受躯体感觉中枢(S1 和 S2)的信息,同时还汇集了来自杏仁核、海马等部位的信息,这种广泛的联系及特殊的位置是 ACC 参与痛情绪调节的解剖基础。早期临床研究发现,切除 ACC 能有效解除疼痛患者的不良情绪反应(如焦虑、抑郁)。近年来实验研究观察到发现化学损毁 ACC 的头端,可抑制福尔马林条件位置回避痛情绪动物模型的痛情绪反应^[13-14]。

蛋白激酶 C(PKC)广泛分布于大脑的各个区域,在调节神经元兴奋性、神经递质释放、基因表达长期改变和突触可塑性变化中起着重要作用^[15]。PKC 家族至少包括 11 个亚型,其中 8 个为典型 PKC 家族,包括 PKCα、PKCβ1、PKCβ2、PKCγ、

ma、PKC delta、PKCepsilon、PKCtheta、PKCeta; 3 个为非典型 PKC 家族, 其中 PKCzeta 因其与人的 PKC δ 和鼠的 PKC λ 结构相似, 共同组成非典型 PKC 家族^[16]。目前大量的研究证明, 中枢 PKC 的活化与不良情绪有关^[15, 17-18]。有学者报道焦虑症患者和实验大鼠的大脑组织中均观察到 PKC 活性增加^[17-18]。亦有文献报道, 组氨酸三核苷酸结合蛋白 1 (Hint1) 敲除诱发的情绪异常小鼠中观察到 PKC γ 的表达增加, 认为 PKC γ 与小鼠焦虑和压力相关情绪相关。Bowers 等^[19]采用高架十字迷宫、黑白箱等观察 PKC γ 基因突变小鼠的焦虑情绪行为, 研究结果显示, PKC γ 基因突变小鼠进入开放臂的次数增多, 在开放臂的停留时间延长, 结果提示, PKC γ 与小鼠的焦虑行为相关。Van Kolen 等^[20]报道前额叶皮质 PKCepsilon 的兴奋性与焦虑样情绪相关。那么, PKCzeta 是否焦虑抑郁情绪相关, 目前未见报道。本实验研究观察到, 造模后 28 d 模型组大鼠开放臂运动距离和开放臂停留时间百分比显著减少; 造模后 29 d 中央象限运动距离和中央象限进入次数明显减少, 患侧 ACC 区域 PKCzeta 蛋白表达明显增多; 同时, 开放臂运动距离、开放臂停留时间百分比、中央象限运动距离、中央象限进入次数与患侧 PKCzeta 蛋白表达变化呈负相关。所以我们认为, 慢性炎性痛情绪行为可能与 ACC 区域 PKCzeta 的高表达相关。

参 考 文 献

- [1] Bair MJ, Robinson RL, Katon W, et al. Depression and pain comorbidity: a literature review [J]. Arch Intern Med, 2003, 163(20): 2433-2445.
- [2] Doan L, Manders T, Wang J. Neuroplasticity underlying the comorbidity of pain and depression [J]. Neural Plast, 2015, 2015: 504691.
- [3] Vogt BA, Sikes RW. The medial pain system, cingulate cortex, and parallel processing of nociceptive information [J]. Prog Brain Res, 2000, 122: 223-235.
- [4] Bergink V, van Megen HJ, Westenberg HG. Glutamate and anxiety [J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2004, 14(3): 175-183.
- [5] Barbier E, Wang JB. Anti-depressant and anxiolytic like behaviors in PKC δ /HINT1 knockout mice associated with elevated plasma corticosterone level [J]. BMC Neurosci, 2009, 10: 132.
- [6] Xiao Z, Jaiswal M, Deng PY, et al. Requirement of phospholipase C and protein kinase C in cholecystokinin-mediated facilitation of NMDA channel function and anxiety-like behavior [J]. Hippocampus, 2012, 22(6): 1438-1450.
- [7] 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.
- [8] Borges G, Neto F, Mico JA, et al. Reversal of monoarthritis-induced affective disorders by diclofenac in rats [J]. Anesthesiology, 2014, 120(6): 1476-1490.
- [9] Grégoire S, Wattiez AS, Etienne M, et al. Monoarthritis-induced emotional and cognitive impairments in rats are sensitive to low systemic doses or intra-amygdala injections of morphine [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 735: 1-9.
- [10] Parent AJ, Beaudet N, Beaudry H, et al. Increased anxiety-like behaviors in rats experiencing chronic inflammatory pain [J]. Behav Brain Res, 2012, 229(1): 160-167.
- [11] Narita M, Kaneko C, Miyoshi K, et al. Chronic pain induces anxiety with concomitant changes in opioidergic function in the amygdala [J]. Neuropsychopharmacology, 2006, 31(4): 739-750.
- [12] Fuchs PN, Peng YB, Boyette-Davis JA, et al. The anterior cingulate cortex and pain processing [J]. Front Integr Neurosci, 2014, 8: 35.
- [13] Cao H, Gao YJ, Ren WH, et al. Activation of extracellular signal-regulated kinase in the anterior cingulate cortex contributes to the induction and expression of affective pain [J]. J Neurosci, 2009, 29(10): 3307-3321.
- [14] Yan N, Cao B, Xu J, et al. Glutamatergic activation of anterior cingulate cortex mediates the affective component of visceral pain memory in rats [J]. Neurobiol Learn Mem, 2012, 97(1): 156-164.
- [15] MacDonald JF, Kotecha SA, Lu WY, et al. Convergence of PKC-dependent kinase signal cascades on NMDA receptors [J]. Curr Drug Targets, 2001, 2(3): 299-312.
- [16] Mochly-Rosen D, Das K, Grimes KV. Protein kinase C, an elusive therapeutic target? [J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11(12): 937-957.
- [17] Szabo ST, Machado-Vieira R, Yuan P, et al. Glutamate receptors as targets of protein kinase C in the pathophysiology and treatment of animal models of mania [J]. Neuropsychopharmacology, 2009, 56(1): 47-55.
- [18] Arnsten A, Manji H. Mania: a rational neurobiology [J]. Future Neurol, 2008, 3(2): 125-131.
- [19] Bowers BJ, Collins AC, Tritto T, et al. Mice lacking PKC γ exhibit decreased anxiety [J]. Behav Genet, 2000, 30(2): 111-121.
- [20] Van Kolen K, Pullan S, Neefs JM, et al. Nociceptive and behavioural sensitisation by protein kinase C epsilon signalling in the CNS [J]. J Neurochem, 2008, 104(1): 1-13.

[收稿日期] 2015-12-15