

• 论 著 •

## P2Y<sub>14</sub> 受体可能参与小胶质细胞介导的偏头痛的中枢敏化 \*

朱品欢 燕兰云 徐 欢 万 琪<sup>△</sup>

(南京医科大学第一附属医院神经内科, 南京 210029)

**摘 要 目的:**“炎性汤”(IS)诱导的偏头痛大鼠模型中探索颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 内 P2Y<sub>14</sub> 受体和小胶质细胞表达情况, 以及其对中枢敏化产生的影响。**方法:**42 只雄性 SD 大鼠随机分为 7 组, 每组 6 只: 生理盐水 (NS) 组、“炎性汤”4 天 (IS4d) 组、“炎性汤”7 天 (IS7d) 组、PPTN 预防组、预防对照组、PPTN 治疗组和治疗对照组。纤维丝测定大鼠眶周痛阈值, Western Blot 检测颈髓后角 P2Y<sub>14</sub> 和小胶质细胞表达情况, 免疫荧光检测小胶质细胞数量及形态变化。**结果:**IS4d 和 IS7d 组大鼠眶周痛阈值较 NS 组明显下降, PPTN 预防组和治疗组眶周痛阈值下降程度均小于各自对照组。Western Blot 和免疫荧光结果示, P2Y<sub>14</sub> 受体和小胶质细胞在各组变化趋势与眶周痛阈值一致。**结论:**P2Y<sub>14</sub> 受体可能通过激活小胶质细胞从而参与偏头痛的中枢敏化。

**关键词** 小胶质细胞; P2Y<sub>14</sub> 受体; 偏头痛; 中枢敏化

### P2Y<sub>14</sub> receptor could be involved in microglia-mediated migraine central sensitization \*

ZHU Pin-Huan, YAN Lan-Yun, XU Huan, Wan Qi<sup>△</sup>

(Department of Neurology, First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

**Abstract Objective:** The purpose of our study was to explore the expression of P2Y<sub>14</sub> receptor and the activation of microglia in C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> of spinal cord after injection of inflammatory soup (IS) in migraine rats, and to analyze their influence on central sensitization. **Methods:** Forty-two male SD rats were randomly divided into seven groups with six in each group: normal saline (NS) group, inflammatory soup 4 days (IS4d) group, inflammatory soup 7 days (IS7d) group, PPTN prevention group, prevention control group, PPTN treatment group, and treatment control group. Filaments were used to determine the periorbital pain threshold of rats, and Western Blot was used to detect the expression of P2Y<sub>14</sub> and microglia in the dorsal horn of cervical spinal cord. Meanwhile, immunofluorescence was used to detect the quantity and morphology of microglia. **Results:** Compared with NS group, the periorbital pain threshold of IS4d group and IS7d group was significantly decreased, while the decrease degree of periorbital pain threshold of PPTN prevention group and the PPTN treatment group was much lower than their corresponding control groups. Western Blot and immunofluorescence results showed that the variations of P2Y<sub>14</sub> receptor and microglia in each group were consistent with the change of periorbital pain threshold. **Conclusion:** P2Y<sub>14</sub> receptor could be involved in migraine central sensitization by activating microglia.

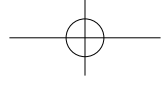
**Key words** Microglia; P2Y<sub>14</sub> receptor; Migraine; Central sensitization

偏头痛是一种常见的、多因素的、致残的、复发的、具有遗传特点的慢性神经血管性头痛, 其病情特征为反复发作、一侧或双侧搏动性的剧烈头痛

且多发生于偏侧头部<sup>[1]</sup>。我国偏头痛病人女性居多, 与男性之比约为 3:1。根据最新的全球疾病负担显示, 在 50 岁以下的人群中偏头痛已跃居致失能性

\* 基金项目: 国家自然科学基金 (81600970)

<sup>△</sup> 通讯作者 qi\_wan@126.com



疾病排行榜第一位<sup>[2]</sup>。其持续存在严重影响病人的生活质量,因此深入探究偏头痛的发病机制对其预防及治疗有重要的临床意义。

近年来,小胶质细胞与偏头痛之间的关系受到越来越多的关注。小胶质细胞作为中枢神经系统内重要的免疫效应细胞,细菌感染、周围神经创伤、癌症、脊髓创伤等因素均可使其激活<sup>[3]</sup>。一方面,小胶质细胞在中枢神经系统损伤后发挥呈递抗原、吞噬病原体、分泌多种细胞因子和神经修复作用;另一方面,也能分泌一些炎症因子、谷氨酸、NO等加重炎症反应,引起继发损伤<sup>[4]</sup>。研究已证实在反复硬脑膜炎性汤(inflammatory soup, IS)刺激诱导的慢性偏头痛模型中,三叉神经脊束尾核(trigeminal nucleus caudalis, TNC)小胶质细胞明显活化且对大鼠痛觉超敏的调控有重要作用<sup>[5]</sup>。在周围神经损伤后,P2Y<sub>6</sub>、P2Y<sub>11</sub>、P2Y<sub>12</sub>、P2Y<sub>13</sub>和P2Y<sub>14</sub>mRNAs在同侧脊髓小胶质细胞内的含量均出现不同程度的上调<sup>[6-8]</sup>,这表明P2Y家族的受体可能在激活脊髓小胶质细胞导致神经疼痛的过程中起到一定作用。P2Y<sub>14</sub>作为一种抑制环磷酸腺苷合成的Gi(inhibitory adenylate cyclase G protein, Gi)蛋白偶联受体,能够被4,7-二取代的二萘酸衍生物(4,7-disubstituted 2naphthoic acid derivative, PPTN),一种P2Y<sub>14</sub>受体的高亲和力和竞争性拮抗剂所抑制<sup>[9,10]</sup>。

本研究参考了文献<sup>[11-13]</sup>,在大鼠横窦区硬脑膜上连续给予IS,建立偏头痛大鼠模型。观察IS与PPTN对实验大鼠眶周痛觉阈值及颈髓C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>后角P2Y<sub>14</sub>受体、小胶质细胞与偏头痛中枢敏化之间的关系,以此来更好地了解偏头痛的产生和发展过程。

## 方 法

### 1. 实验动物及分组

清洁级6周龄成年雄性SD大鼠42只,体重180~220 g,购自南京医科大学医药实验动物中心,许可证号SYXK(Su)2015-0015。饲养环境温度控制在21~22℃,保持12 h/12 h明暗间隔的人工昼夜节律,自由摄食和饮水。对实验动物进行的所有研究行为均严格遵照国际疼痛学会(International Association for the Study of Pain, IASP)的相关动物保护及使用规定,并获得南医大实验动物中心动物伦理委员会批准。大鼠采用随机数字表法分为:(A)生理盐水(NS)组、(B)“炎性汤”4天(IS4d)组、(C)“炎性汤”7天(IS7d)组、(D)PPTN治疗组、(E)PPTN治疗对照组、(F)PPTN预防组、(G)PPTN预

防对照组,每组6只。其中A、B、C组为干预前组,这三组相互比较以明确炎性汤IS对大鼠偏头痛中枢敏化的影响。D、E、F、G组为干预后组,D、E两组相互比较以明确PPTN治疗对大鼠偏头痛中枢敏化的影响,F、G两组相互比较以明确PPTN预防对大鼠偏头痛中枢敏化的影响。

### 2. 方法

(1)手术准备及硬脑膜给药:实验大鼠在动物房饲养3天后开始进行造模。以10%水合氯醛0.4 ml/100 g腹腔注射大鼠,待其麻醉后,将大鼠固定于立体定位仪上,依次剪开皮肤及软组织暴露颅骨。骑跨人字缝用牙科钻钻开颅骨(3 mm×3 mm),暴露横窦。置入PE10软管(宁波安来公司),软管末端开口于横窦区硬脑膜,用钻开的颅骨重新覆盖暴露的横窦,并将PE10管固定于颅骨上,打火机封闭PE10管另一端。术后将被手术大鼠单笼饲养并监测其状态及眶周痛阈值,经观察得知术后第4天大鼠眶周痛觉阈值基本恢复至基础水平。于术后第4天开始经PE10软管给药。将大鼠放入有给药窗的固定器中,暴露PE10管,剪去被打火机封闭的一端,待其安静后,给予无菌IS 10 μl(IS包含2 mmol/L组胺、5-羟色胺、缓激肽及0.2 mmol/L前列腺素E<sub>2</sub>,稀释于无菌的PBS中)或无菌NS 10 μl或无菌P2Y<sub>14</sub>抑制剂PPTN 10 μl,5 min匀速给完(IS药物及PPTN均购自Sigma公司)。IS4d组和IS7d组从术后第5天起于每日固定时间经PE10管给予IS一次,分别给予4天和7天。NS组则在每日相应时间经PE10管给予与IS相同体积的无菌NS。PPTN预防组在术后第4天固定时间经PE10管给予PPTN一次,术后第5~11天于固定时间依次给予PPTN及IS各1次,连续7天。预防对照组则在相应时间经PE10管给予与PPTN相同体积的无菌NS。根据前期实验可知,大鼠硬脑膜给予IS后第3天出现痛觉超敏,故PPTN治疗组在术后第5~7天于每天固定时间经PE10管给予IS一次,连续3天,术后第8~11天于每天固定时间经PE10管依次给予IS及PPTN各1次,连续4天。治疗对照组则在相应时间经PE10管给予与PPTN相同体积的无菌NS。

(2)眶周痛觉阈值测定:按参考文献<sup>[14]</sup>方法,每天相同时间点将大鼠置于透明固定器中,安静30 min后,用von Frey纤维丝悬于大鼠一侧眶周皮肤上,相互垂直,从最小克数0.008 g(Log值1.65)开始刺激眶周皮肤,逐步增加至最大克数300 g。以纤维丝弯曲90°为标准,并在刺激部位停留2 s,刺激5次为一循环,每次刺激之前间隔3 s。若在

5 次刺激中有 3 次及以上出现大鼠用前爪拨开纤维丝、发动攻击或缩头缩爪等行为表现, 则判定该大鼠出现痛觉超敏, 并记录此时刺激克数为疼痛阈值。若刺激克数达到 300 g, 但仍未出现上述痛觉超敏表现, 则将 300 g 记为其痛阈值。实验表明, 出现痛觉超敏的大鼠, 其疼痛阈值多在 15 g 以下。

(3) Western Blot: 将颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 组织剪切成小块, 加入适量的冰冷 PBS 洗涤 2 次后称重。每 20 mg 组织加入 100  $\mu$ l 裂解液和相应的磷酸酶抑制剂, 每个试管加入 2 个直径 2 mm 的磁珠, 将其放入组织匀浆机中, 60 Hz, 300 s。充分裂解后, 将试管放入离心机中, 12 000 r 离心 15 min。取上清。将上清液煮沸 5 min, 然后将收集到的蛋白进行 SDS-PAGE 处理。在室温下用 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭液室温孵育 PVDF 膜, 置于摇床轻柔摇晃 1 h; 在 4℃ 条件下, 分别用一抗 Iba-1(1:2000)、P2Y14(1:2000) 和内参  $\beta$ -actin (1:2000) 置于摇床孵育过夜; TBST 清洗 3 次, 每次 5 min; 二抗孵育: 按说明书稀释相应二抗, 室温孵育置于摇床轻柔摇晃 2 h; TBST 清洗 8 次, 每次 8 min; 将 ECL、发光液 A 液和 B 液混合 (1:1), 均匀覆于膜后, 置于 Bio-Rad 凝胶成像系统成像; Western blot 条带经 Image J 软件进行灰度扫描分析。

(4) 免疫荧光: 以 10% 水合氯醛 0.4 ml/100 g 腹腔注射麻醉大鼠, 经左心室插管至升主动脉, 以 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液冲洗血液后, 取脊髓颈段 (C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>) 置于 4% 多聚甲醛中固定 2 h, 随后依次置于 20%、30% 蔗糖溶液脱水直至颈髓组织沉底。包埋组织并连续冠状切片, 片厚 15  $\mu$ m。加入 0.3% Triton-X100 及 10% BSA 中室温封闭 60 min。加入

相应的一抗山羊抗大鼠 Iba-1 (1:100, Abcam), 4℃ 过夜。后加入荧光二抗 FITC 荧光素标记的驴抗山羊 IgG (1:600, Abcam), 贴片、滴加抗淬灭剂、封固, 在激光共聚焦显微镜下观察结果 ( $\times 20$  倍和  $\times 40$  倍)。

### 3. 统计学分析

采用 GraphPad Prism 5.0 统计软件, 实验数据结果均以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm SD$ ) 表示计量资料, 两组间比较用  $t$  检验, 多组比较用单因素或两因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1. 反复硬脑膜炎症能诱导大鼠眶周痛觉超敏

术前各组大鼠眶周痛阈值均维持在同一基础水平, 颅骨手术后各组大鼠眶周痛阈值会出现短暂性下降, 但均于术后第 4 天恢复至基础值 (见图 1)。NS 组与空白组之间眶周痛阈值之间的差异无统计学意义 (见图 2)。自给药第 3 天开始, 与 NS 组和空白组相比, IS4d 和 IS7d 组大鼠眶周痛阈值明显降低至痛觉超敏水平以下 ( $P < 0.001$ , 见图 2)。

### 2. 小胶质细胞在偏头痛形成早期起促进作用

已有研究表明小胶质细胞参与偏头痛的早期发展<sup>[5]</sup>。因此, 根据文献<sup>[11-13]</sup>建立了 SD 大鼠偏头痛模型, 以推进本研究。由图 2 可知, 与 NS 组相比, IS4d 组和 IS7d 组的大鼠眶周痛阈值显著降低, 特别从第 3 天起 ( $P < 0.001$ , 见图 2), 且 IS4d 组和 IS7d 组的下降趋势基本一致, 这表明偏头痛大鼠模型造模是成功的。之后用 Western Blot 方法检测了颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 节段中小胶质细胞特异性蛋白 Iba-1 的表达情况, 并将各组中 Iba-1/ $\beta$ -actin 的比值进行统计

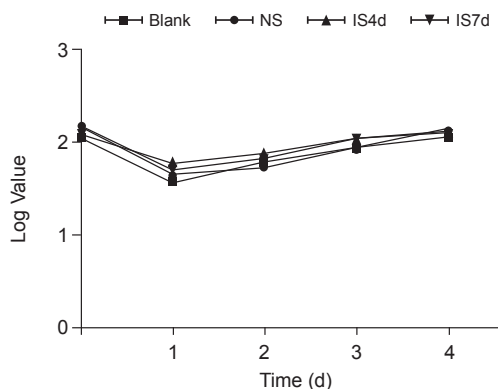


图 1 术后不同时间大鼠眶周痛阈值

Fig. 1 Periorbital pain threshold of rats at different time after operation

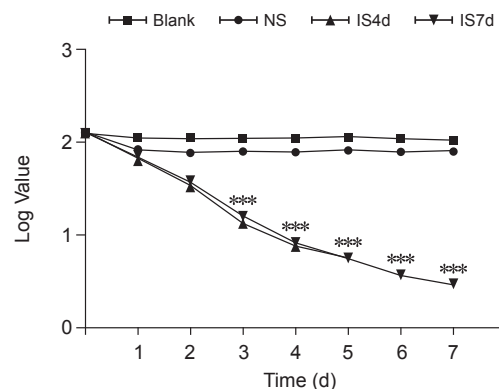


图 2 不同给药时间大鼠眶周痛阈值

Fig. 2 Periorbital pain threshold of rats with different administration time

\*\*\* $P < 0.001$ , 与 NS 组相比; \*\*\* $P < 0.001$ , compared with NS group.

学分析。发现 Iba-1 的表达量在 IS4d 组和 IS7d 组显著上升，而在 NS 组中则没有这种现象 ( $P < 0.001$ ，见图 3)，其中 IS4d 组 Iba-1 蛋白的含量较 IS7d 组更高 ( $P < 0.001$ ，见图 3)。免疫荧光结果也证实了这一现象 ( $P < 0.01$ ， $P < 0.05$ ，见图 4)。这之前的研究结果相符<sup>[5]</sup>，即小胶质细胞在偏头痛早期阶段起作用。

3. P2Y14 受体与小胶质细胞表达量变化趋势一致

在检测小胶质细胞特异性蛋白 Iba-1 的含量后，随即检测了颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 组织中 P2Y14 受体的含量。其中 P2Y14 蛋白存在两条条带，对其进行了统一分析。本研究发现 IS4 组 P2Y14 受体水平最高，IS7 组次之，NS 组最低 ( $P < 0.001$ ，见图 5)，这与我们之前发现的 Iba-1 蛋白的变化趋势相同。这说明，P2Y14 蛋白可能与小胶质细胞之间存在一定的相关性。

4. PPTN 可减少 P2Y14 受体和小胶质细胞的表达量并减轻痛觉超敏的程度

据文献报道，PPTN 经注射后将在 30 min 以后发挥作用<sup>[10]</sup>，因此本研究在硬脑膜给予 IS 的前

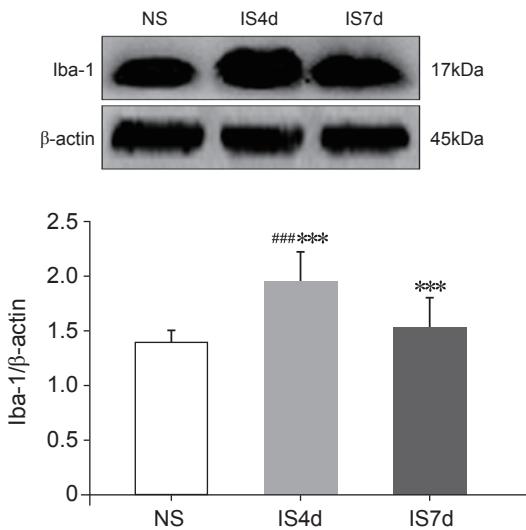


图 3 NS 组、IS4d 组和 IS7d 组颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 节段 Iba-1 蛋白表达情况

Fig. 3 Iba-1 protein expression in C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> segment of cervical spinal cord in NS group, IS4d group and IS7d group \*\*\* $P < 0.001$ , 与 NS 组相比, ### $P < 0.001$ , 与 IS7d 组相比; \*\*\* $P < 0.001$ , compared with NS group, ### $P < 0.001$ , compared with IS7d group.

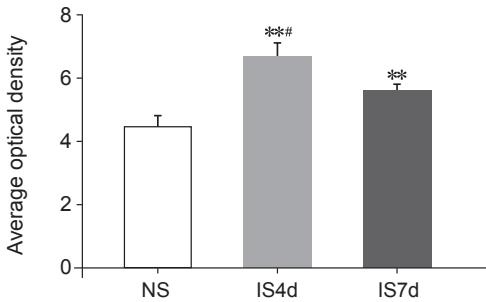
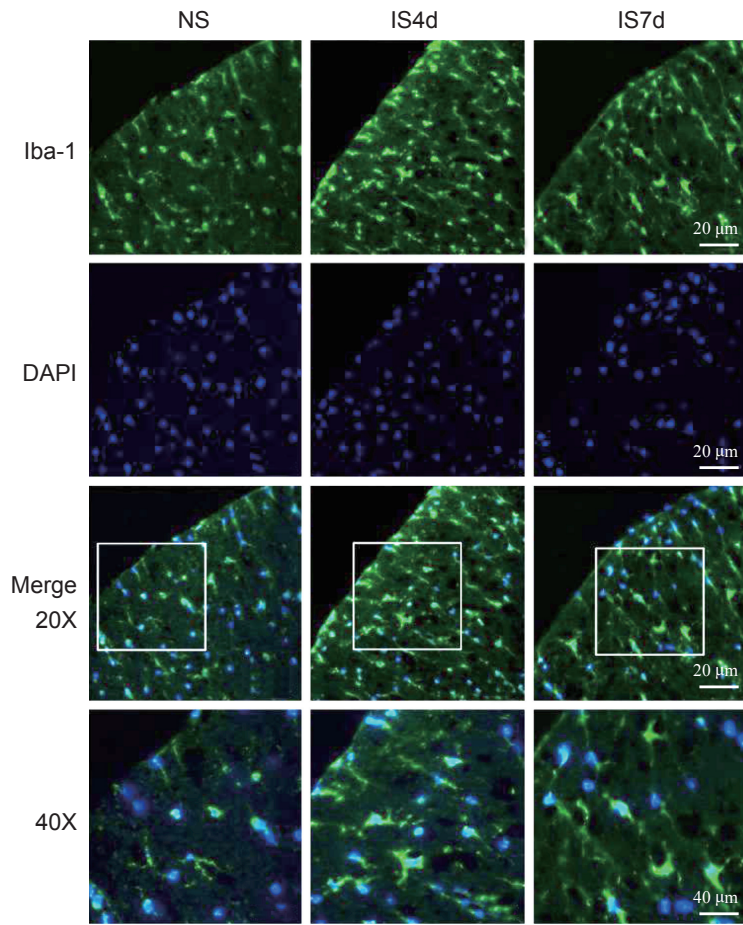


图 4 NS 组、IS4d 组和 IS7d 组颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 节段 Iba-1 免疫荧光检测 (图中前三行标尺为 20 μm，最后一行标尺为 40 μm) \*\* $P < 0.01$ ，与 NS 组相比, # $P < 0.05$ ，与 IS7d 组相比

Fig. 4 The immunofluorescence of Iba-1 in C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> segment of cervical spinal cord in NS group, IS4d group, and IS7d group (the scale bars in the first three lines are 20 μm, and in the last line are 40 μm) \*\* $P < 0.01$ , compared with NS group; # $P < 0.05$ , compared with IS7d group.

1 天在预防组中加入了 PPTN 作为 PPTN 预防组, 或加入 NS 作为预防对照组。从结果可以看出, 与预防对照组相比, PPTN 预防组大鼠眶周痛阈值下降幅度明显减缓, 甚至在给予 PPTN 后第 4 天开始, 预防组的眶周痛阈值缓慢上升 ( $P < 0.05$ , 见图 6A)。同样, 在硬脑膜给予 IS 后第 4 天加入 PPTN, 能有效地减缓偏头痛模型大鼠眶周痛阈值的下降, 与 NS 治疗组相比, PPTN 治疗组眶周痛阈值的减缓效果具有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 见图 6B)。用 Western Blot 检测了各组中 Iba-1/ $\beta$ -actin 和 P2Y14/ $\beta$ -actin 的表达量, 结果发现在 PPTN 预防组和 PPTN 治疗组中含量均明显低于各自相应对照组, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.001$ , 见图 6C、D)。同时, 免疫荧光结果显示, 在使用了 PPTN 预防或治疗后, 大鼠颈髓组织中 Iba-1 的形态和数量与各自对照组相比均有明显的减弱, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ , 见图 7)。

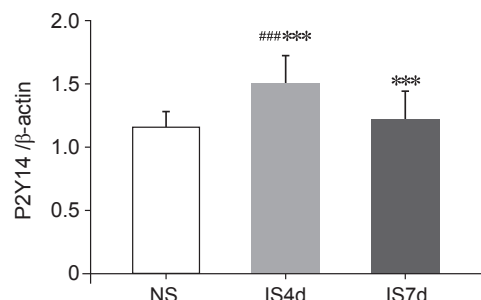
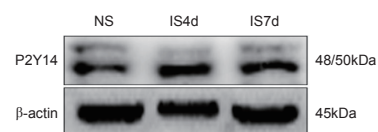


图 5 NS 组、IS4d 组和 IS7d 组颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 节段 P2Y14 受体表达情况

\*\*\* $P < 0.001$ , 与 NS 组相比, ### $P < 0.001$ , 与 IS7d 组相比

Fig. 5 P2Y14 receptor expression in C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> segment of cervical spinal cord in NS group, IS4d group, and IS7d group  
\*\*\* $P < 0.001$ , compared with NS group, ### $P < 0.001$ , compared with IS7d group.

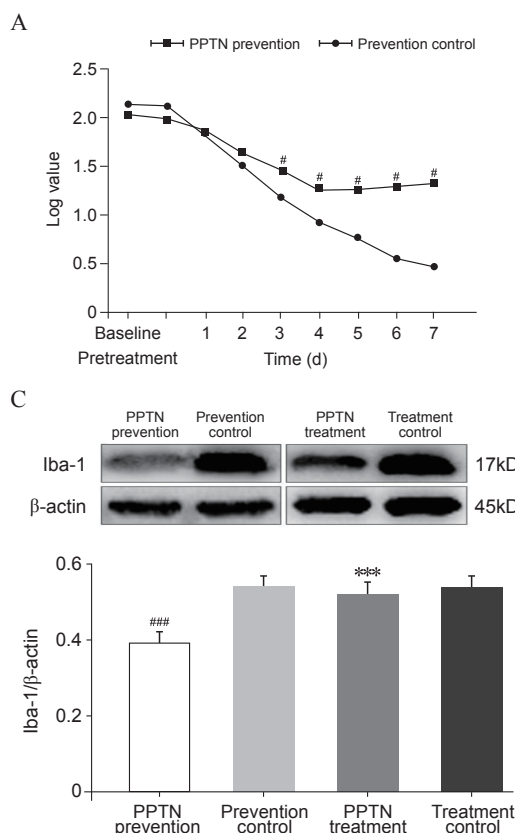


图 6 PPTN 预防组和 PPTN 治疗组对大鼠眶周痛阈值以及颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 节段 Iba-1 和 P2Y14 受体表达的影响  
(A) # $P < 0.05$ , 与预防对照组相比; (B) \* $P < 0.05$ , 与治疗对照组相比; (C, D) ### $P < 0.001$ , 与预防对照组相比, \*\*\* $P < 0.001$ , 与治疗对照组相比

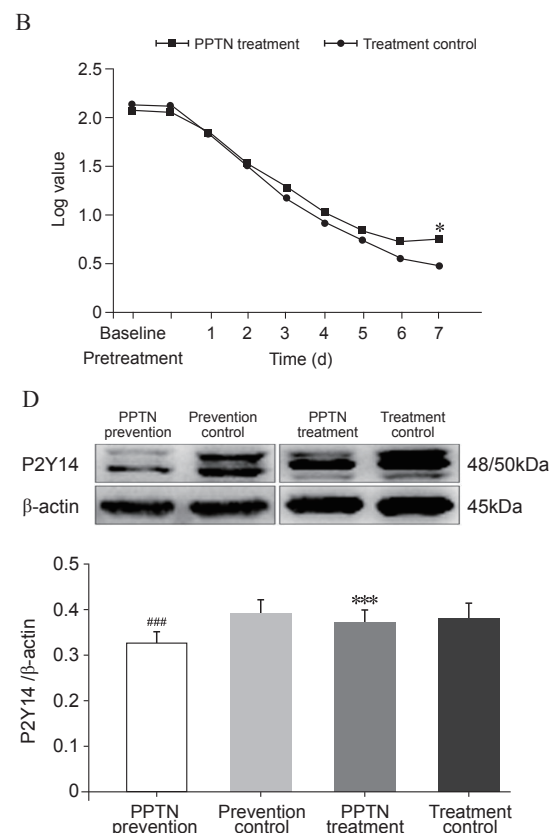
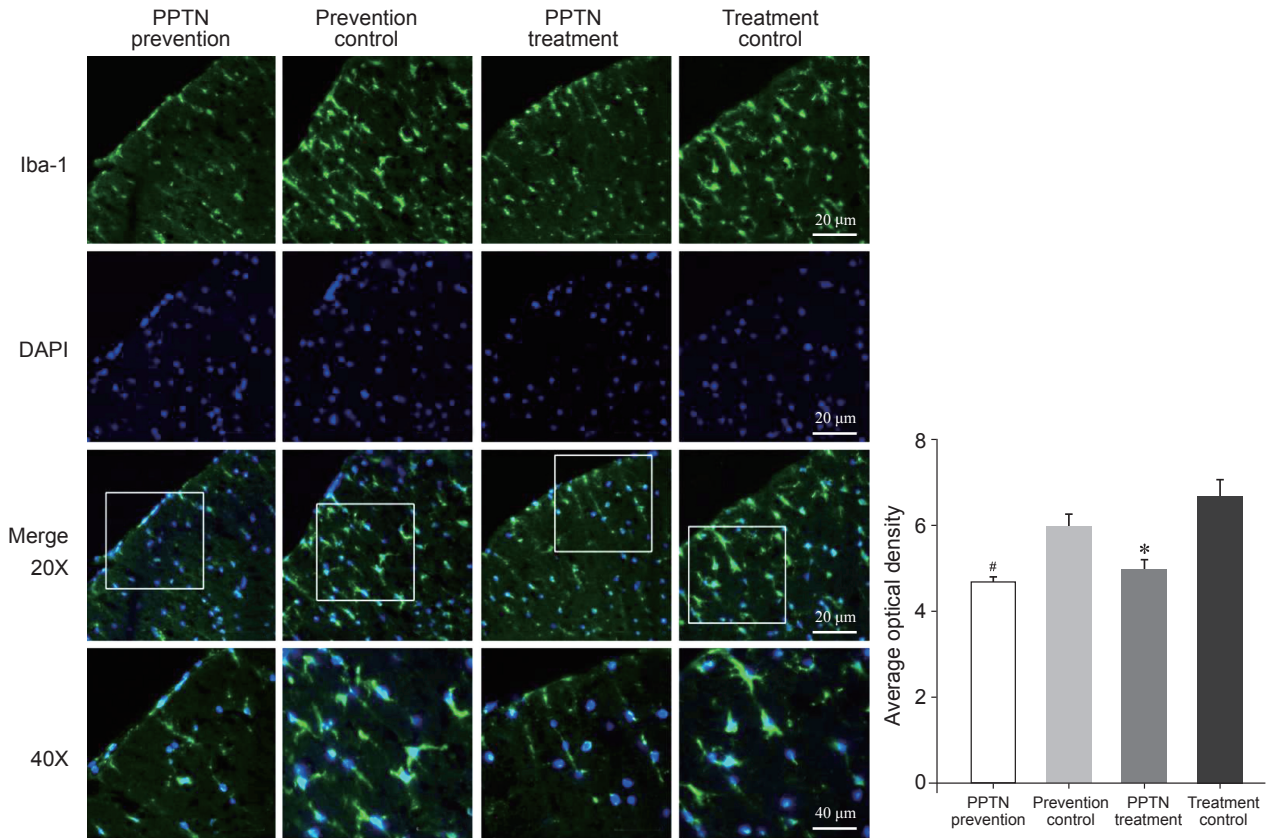


Fig. 6 Periocular pain threshold of rats with different administration time and expression of IBA-1 and P2Y14 receptors in C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> segments of cervical spinal cord in PPTN prevention group, PPTN treatment group, and their respective control groups  
(A) # $P < 0.05$ , compared with prevention control group; (B) \* $P < 0.05$ , compared with treatment control group; (C, D) ### $P < 0.001$ , compared with prevention control group; \*\*\* $P < 0.001$ , compared with treatment control group.



**图 7** PPTN 预防组和 PPTN 治疗组和各自对照组中颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 节段 Iba-1 免疫荧光检测 (图中前三行标尺为 20 μm, 最后一行标尺为 40 μm)  
<sup>#</sup>*P* < 0.05, 与预防对照组相比; <sup>\*</sup>*P* < 0.05, 与治疗对照组相比

**Fig. 7** The immunofluorescence of IBA-1 in C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> segment of cervical spinal cord in PPTN prevention group, PPTN treatment group and their respective control groups (the bar scales in the first three lines are 20 μm, and in the last line are 40 μm)  
<sup>#</sup>*P* < 0.05, compared with prevention control group; <sup>\*</sup>*P* < 0.05, compared with treatment control group.

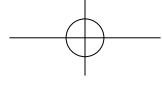
讨 论

偏头痛的治疗一直是世界性的难题, 会对病人的生活产生负面影响, 并导致许多伴随症状, 如头晕、恶心、呕吐等自主神经功能障碍。当中枢神经系统受损时, 小胶质细胞迅速激活, 对外界刺激如迁移、增殖、形态改变、免疫因子和炎症介质的释放等做出反应, 参与细胞碎片的吞噬。现在已经证实, 在中枢神经系统中, 神经元向周围的胶质细胞 (星形胶质细胞和小胶质细胞) 发出信号, 这些神经细胞被激活后, 在病理状态下会引起偏头痛和持续的神经炎症<sup>[3,15]</sup>。

在本研究中, 小胶质细胞确实在偏头痛发展的早期就被激活, Western Blot 结果显示, IS4 组的小胶质细胞中特异性蛋白 Iba-1 的含量明显高于 IS7 组。同样的现象也可以在免疫荧光结果中看到。IS4 组激活的小胶质细胞数量明显高于 IS7 组, 虽然部

分激活的小胶质细胞形态不如 IS7 组饱满, 突触未完全展开, 但均有明显的激活。因此, 这是一个强有力的证据, 证明小胶质细胞只在偏头痛的早期阶段起作用, 其水平在偏头痛的中后期缓慢下降。

研究表明, 小胶质细胞中 P2Y 家族的 8 个受体, 除 P2Y<sub>14</sub> 受体主要与血管性疾病和神经胶质瘤等相关外<sup>[16,17]</sup>, 其余受体均被证实与小胶质细胞和炎性痛觉过敏有关。为了探讨 P2Y<sub>14</sub> 受体、小胶质细胞与偏头痛这三者之间的关系, 本研究检测了实验大鼠 IS4、IS7、NS 组的颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 组织中 P2Y<sub>14</sub> 受体的含量。发现 SD 大鼠偏头痛模型中 P2Y<sub>14</sub> 受体的变化与 Iba-1 的变化趋势一致, 即含量由高到低依次为 IS4 组、IS7 组和 NS 组。也就是说, P2Y<sub>14</sub> 受体在小胶质细胞中表达, 或者两者之间存在对应关系。因此, 我们怀疑 P2Y<sub>14</sub> 受体可能通过小胶质细胞参与偏头痛超敏反应的形成。为了检测 P2Y<sub>14</sub> 受体是否在偏头痛模型中起作用, 本研究加入其抑



制剂 PPTN 对实验大鼠进行了一系列的预防和治疗实验。通过结果发现,在偏头痛模型造模前 1 天加入 PPTN 不仅明显减少了 P2Y<sub>14</sub> 受体和小胶质细胞的表达,还可以有效预防眶周痛阈值的下降,治疗组亦是如此。

Curet 等<sup>[17]</sup>发现,在体外培养的神经胶质瘤 GL261 细胞,其小胶质细胞中的 P2Y<sub>14</sub> 受体含量是上调的,并且在使用了选择性 P2Y<sub>14</sub> 受体激动剂 UDP glucose 后,细胞内出现了一系列与 P2Y<sub>14</sub> 受体增高相关的变化,而由于 GL261 细胞不能单独表达 P2Y<sub>14</sub> 受体,因此他们认为 UDPG 所产生的作用可能是由小胶质细胞介导的。这与本研究存在一定的类似性。在偏头痛痛觉超敏模型中,小胶质细胞内 P2Y<sub>14</sub> 受体含量上调,而使用 PPTN 抑制了 P2Y<sub>14</sub> 受体的表达后,小胶质细胞激活量下降,痛觉超敏程度降低。这些现象均表明,P2Y<sub>14</sub> 受体确实参与了小胶质细胞介导的偏头痛的产生,抑制 P2Y<sub>14</sub> 受体的表达可能通过减少小胶质细胞的活化进而减轻偏头痛痛觉超敏的形成及其疼痛的程度。

综上所述,P2Y<sub>14</sub> 受体与小胶质细胞之间存在一定的对应关系。在经 IS 诱导的偏头痛大鼠模型中,颈髓 C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> 后角小胶质细胞明显被激活,且早期被激活的情况更为明显,后期数量逐渐减少。预先给予 P2Y<sub>14</sub> 受体抑制剂 PPTN 处理能明显抑制痛觉超敏现象及小胶质细胞特异性蛋白 Iba-1 的表达。同时,在实验 SD 大鼠已经出现痛觉超敏现象后再给予 PPTN 亦能减轻痛觉超敏的程度及 Iba-1 的表达。这表明 P2Y<sub>14</sub> 受体确实通过激活小胶质细胞进而参与了偏头痛痛觉超敏的形成,抑制 P2Y<sub>14</sub> 受体可以有效预防偏头痛病人痛觉超敏现象的发生和发展,从而改善病人生活质量。但有关 P2Y<sub>14</sub> 受体究竟是通过何种途径激活小胶质细胞从而参与中枢敏化,还有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] 中华医学会疼痛学分会头面痛学组. 中国偏头痛防治指南 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2016, 22(10):721-727.
- [2] 关欣颖,董欣,万琪. STin2 VNTR 基因多态性与偏头痛易感性 Meta 分析 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2020, 26(7):531-535.
- [3] 王振鹏,王开强. 星形胶质细胞和小胶质细胞介导的神经病理痛研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 10:116-119.
- [4] 张琼,刘文娟. 小胶质细胞特性及其功能的研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2017, 2:216-219.
- [5] 郭永涛,黄琳,武茜,等. 小胶质细胞在偏头痛大鼠中枢敏化过程中的作用 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 15(4):419-422.
- [6] Tozaki-Saitoh H, Tsuda M, Miyata H, *et al.* P2Y<sub>12</sub> receptors in spinal microglia are required for neuropathic pain after peripheral nerve injury[J]. J Neurosci, 2008, 28(19):4949-4956.
- [7] Multiple P2Y subtypes in spinal microglia are involved in neuropathic pain after peripheral nerve injury[J]. Glia, 2012, 60(10):1529-1539.
- [8] Barragán-Iglesias P, Pineda-Farias JB, Cervantes-Durán C, *et al.* Role of spinal P2Y<sub>6</sub> and P2Y<sub>11</sub> receptors in neuropathic pain in rats: possible involvement of glial cells[J]. Mol Pain, 2014, 10(1):29.
- [9] von Kugelgen I, Hoffmann K. Pharmacology and structure of P2Y receptors[J]. Neuropharmacology, 2016, 104:50-61.
- [10] Azroyan A, Cortez-Retamozo V, Bouley R, *et al.* Renal intercalated cells sense and mediate inflammation via the P2Y<sub>14</sub> receptor[J]. PLoS One, 2015, 10(3):0121419.
- [11] Wieseler J, Ellis A, Sprunger D, *et al.* A novel method for modeling facial allodynia associated with migraine in awake and freely moving rats[J]. J Neurosci Methods, 2010, 185:236-245.
- [12] 薛刘军,周志奎,叶青,等. 致炎剂诱发清醒大鼠反复发作头痛及对 PAG 区 c-Fos 表达的影响 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2011, 17(10):616-619.
- [13] 徐花,薛刘军,燕兰云,等. 不同致炎剂诱导大鼠硬脑膜神经源性炎症 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2011, 13:932-935.
- [14] Oshinsky ML, Gommonchareonsiri S. Episodic dural stimulation in awake rats: A model for recurrent headache[J]. Headache, 2007, 47:1026-1036.
- [15] Magni G, Boccuzzi M, Bodini A, *et al.* Basal astrocyte and microglia activation in the central nervous system of familial hemiplegic migraine type I mice[J]. Cephalalgia, 2019, 39(14):1809-1817.
- [16] Li F, Li W, Li X, *et al.* Geniposide attenuates inflammatory response by suppressing P2Y<sub>14</sub> receptor and downstream ERK1/2 signaling pathway in oxygen and glucose deprivation-induced brain microvascular endothelial cells[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 185:77-86.
- [17] Curet MA, Watters JJ. P2Y<sub>14</sub> receptor activation decreases interleukin-6 production and glioma GL261 cell proliferation in microglial transwell cultures[J]. J Neuro-oncol, 2018, 137(1):23-31.