



• 论 著 •

## 鞘内注射纳洛酮对术后痛大鼠 IFN- $\gamma$ 表达的影响 \*

张 瑜<sup>1</sup> 赵 军<sup>1</sup> 喻文立<sup>1</sup> 曹君利<sup>2</sup> 胡 南<sup>3</sup> 杜洪印<sup>1△</sup>

(<sup>1</sup>天津医科大学一中心临床学院麻醉科, 天津 300192; <sup>2</sup>徐州医科大学江苏省麻醉与镇痛应用技术重点实验室, 徐州 221004; <sup>3</sup>天津医科大学附属肿瘤医院麻醉科, 天津 300060)

**摘 要** **目的:** 观察鞘内注射不同剂量纳洛酮对术后痛大鼠干扰素- $\gamma$  (interferon, IFN- $\gamma$ ) 表达的影响。**方法:** 采用 SPF 级健康雄性 SD 大鼠行鞘内置管造模, 将造模成功的 144 只大鼠按随机数字表法分为 6 组 ( $n = 24$ ): 生理盐水组 (C 组)、术后痛组 (P 组)、小剂量纳洛酮组 (N1 组, 1 ng/kg)、大剂量纳洛酮组 (N2 组, 100 ng/kg)、术后痛 + 小剂量纳洛酮组 (PN1 组, 1 ng/kg) 和术后痛 + 大剂量纳洛酮组 (PN2 组, 100 ng/kg)。P 组、PN1 和 PN2 组于右足跖肌切口制备术后痛模型。各组于鞘内给药前 24 h ( $T_0$ )、给药 1 h ( $T_1$ )、6 h ( $T_2$ )、24 h ( $T_3$ )、48 h ( $T_4$ )、72 h ( $T_5$ ) 检测机械缩足反射阈值 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 和热缩足反射潜伏期 (thermal withdrawal latency, TWL)。各组在  $T_0$ 、 $T_2$ 、 $T_3$ 、 $T_5$  分别取 6 只大鼠处死, 取海马、外周血 (血浆), 以 ELISA 法检测 IFN- $\gamma$  浓度。**结果:** 术后痛模型可引起大鼠血浆 IFN- $\gamma$  水平显著降低, 随着痛阈的恢复, IFN- $\gamma$  水平逐渐接近生理状态。单纯小剂量纳洛酮鞘内给药 6 h 内, 与生理盐水组相比 IFN- $\gamma$  水平轻度增高。大剂量纳洛酮在给药后 24 h 内, 与生理盐水组相比 IFN- $\gamma$  水平轻度降低; 小剂量纳洛酮可减弱术后痛引发的 IFN- $\gamma$  水平降低, 大剂量纳洛酮可增强术后痛导致的 IFN- $\gamma$  水平降低。**结论:** 鞘内注射不同剂量纳洛酮可影响术后痛大鼠血浆 IFN- $\gamma$  的表达, 进而参与机体免疫调节, 而海马 IFN- $\gamma$  水平在上述干预条件下始终维持稳定。**关键词** 海马; 外周血; 干扰素- $\gamma$ ; 纳洛酮; 术后痛; 炎症因子

### Effect of intrathecal injection of naloxone on IFN- $\gamma$ expression in rats with postoperative pain \*

ZHANG Yu<sup>1</sup>, ZHAO Jun<sup>1</sup>, YU Wenli<sup>1</sup>, CAO Junli<sup>2</sup>, HU Nan<sup>3</sup>, DU Hongyin<sup>1△</sup>

(<sup>1</sup>Department of Anesthesiology, The First Center Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300192, China; <sup>2</sup>Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesia Application Technology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China; <sup>3</sup>Department of Anesthesiology, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China)

**Abstract** **Objective:** To observe the effect of intrathecal naloxone given of different doses on IFN- $\gamma$  expression in rats with postoperative pain. **Methods:** One hundred and forty-four healthy male rats, were successfully catheterized and randomly divided into 6 groups ( $n = 24$ ): saline group (C), postoperative pain group (P), low-dose naloxone group (N1, 1 ng/kg), high-dose naloxone group (N2, 100 ng/kg), postoperative pain + low-dose naloxone group (PN1, 1 ng/kg), postoperative pain + high-dose naloxone group (PN2, 100 ng/kg) rats. Postoperative pain models were established with right plantar muscle incision in group P, group PN1 and group PN2. Both mechanical withdrawal threshold (MWT) and thermal withdrawal latency (TWL) were measured for each group at 6 separate time points: 24 h before intrathecal administration ( $T_0$ ), 1 h ( $T_1$ ), 6 h ( $T_2$ ), 24h ( $T_3$ ), 48 h ( $T_4$ ) and 72 h ( $T_5$ ) after intrathecal administration. Six rats from each time point ( $T_0$ ,  $T_2$ ,  $T_3$ ,  $T_5$ ) were decapitalized. Hippocampus and plasma were harvested for IFN- $\gamma$  measurement via ELISA. **Results:** Postoperative pain caused a significant decrease in plasma IFN- $\gamma$  level and subsequently a gradual restoration as MWT and TWL recovered close to the physiological value. Intrathecal low-dose naloxone admin-

\* 基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (81701081); 天津市卫生局科技基金重点项目 (2015KR17); 天津医科大学肿瘤医院科研项目 (14 2.3)

△ 通信作者 杜洪印 duhongyin2019zy@sina.com



istration alone caused a 6 h slight rise in plasma IFN- $\gamma$  level, conversely high-dose intrathecal administration alone brought about a decrease for as long as 24 h compared to group C; Low-dose naloxone intrathecal administration significantly attenuated the suppression of plasma IFN- $\gamma$  level induced by postoperative pain, whereas high-dose naloxone administration enhanced the suppression of plasma IFN- $\gamma$  level induced by postoperative pain. **Conclusion:** Intrathecal administration of naloxone regulates IFN- $\gamma$  level via regulating pain threshold in rats with postoperative pain, and thus helps in immune protection, however hippocampal IFN- $\gamma$  level remains stable during the above interventions.

**Keywords** hippocampus; peripheral blood; interferon (IFN- $\gamma$ ); naloxone; postoperative pain; inflammatory factor

根据世界卫生组织成员国数据统计, 每年有接近 2.4 亿人接受各种类型的手术, 其中接近 86% 的病人术后出现中到重度疼痛, 其对术后免疫系统的干扰受到广泛关注<sup>[1]</sup>。研究证实, 疼痛作为强烈的伤害性刺激通过应激反应显著抑制免疫功能, 进而影响术后病人预后和转归<sup>[2]</sup>。因此, 术后疼痛作为重要的免疫抑制因素应进行深入和系统的研究。

干扰素- $\gamma$  (interferon, IFN- $\gamma$ ) 是激活的 NK 细胞和 T 细胞产生的免疫活性因子, 在中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 还有部分由小胶质细胞分泌<sup>[3]</sup>。血浆中 IFN- $\gamma$  在细胞免疫以及肿瘤免疫反应中起关键作用<sup>[4]</sup>, 而在 CNS 中, 特别是海马, IFN- $\gamma$  与许多脑功能紊乱的发生发展密切相关, 其可诱导 CNS 小胶质细胞过度反应<sup>[5]</sup>并参与认知功能障碍的发展<sup>[6]</sup>。因而, IFN- $\gamma$  是机体免疫状态的重要评估指标。一项慢性疼痛研究显示, 关节痛病人血浆 IFN- $\gamma$  水平下降, 而有效镇痛后 IFN- $\gamma$  水平显著提升, 提示慢性疼痛存在免疫抑制作用<sup>[7]</sup>。而术后急性疼痛对 IFN- $\gamma$  表达的影响尚未见报道。

纳洛酮作为经典阿片受体拮抗剂, 主要通过拮抗  $\mu$  受体逆转阿片物质的镇痛并参与解毒作用。很多研究也显示, 纳洛酮的生物学作用与剂量相关, 小剂量纳洛酮不抑制阿片药物镇痛作用, 并可增强其镇痛效果, 且具有稳定胃肠功能及降低呼吸抑制的积极作用<sup>[8,9]</sup>。然而, 不同剂量纳洛酮鞘内单独应用对术后痛介导的免疫抑制影响及其机制尚未见报道。本研究观察不同剂量纳洛酮鞘内给药对术后痛大鼠海马和血浆 IFN- $\gamma$  表达的影响, 从中枢及外周整体评估免疫状态并揭示其内在机制, 为改善术后痛介导的免疫抑制提供研究依据。

## 方 法

### 1. 实验材料

本实验动物进行的研究行为均严格遵守相关动物保护及使用规定。SPF 级健康雄性 SD 大鼠, 6~8

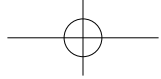
周龄, 体质量 180~220 g, 购自徐州医科大学实验动物中心, 每笼 5 只饲养, 自然照明, 自由摄食、饮水。参照 Størkson 等<sup>[10]</sup>的方法, 对 152 只大鼠行 L<sub>5-6</sub> 间隙鞘内置管, 置入 PE10 导管 (宁波安来软件科技有限公司)。大鼠苏醒后 24 h 观察其活动情况, 剔除 8 只运动功能障碍大鼠, 随后鞘内注射 2% 利多卡因 20  $\mu$ l, 大鼠出现双后肢麻痹为置管造模成功共 144 只, 采用随机数字表法分为 6 组: 生理盐水组 (C 组)、术后痛组 (P 组)、小剂量纳洛酮组 (N1 组, 1 ng/kg)、大剂量纳洛酮组 (N2 组, 100 ng/kg)、术后痛 + 小剂量纳洛酮组 (PN1 组, 1 ng/kg)、术后痛 + 大剂量纳洛酮组 (PN2 组, 100 ng/kg), 每组 24 只。

### 2. 方法

术后痛组 (P 组) 于右足跖肌切口制备术后痛模型。于鞘内置管后 7 天, 参照 Brennan 等<sup>[11]</sup>的方法制备术后痛模型。吸入七氟醚麻醉后右足底近端 0.5 cm 处向趾部作一长约 1 cm 切口, 切开皮肤筋膜, 用眼科镊挑起足底跖肌并纵向切割, 但保持肌肉起止及附着完整, 皮肤缝合, 切口以青霉素药液冲洗。制备术后痛模型前 20 min 时, N1 组、PN1 组鞘内给予纳洛酮 (批号: h20093199, 国药集团国瑞药业有限公司) 1 ng/kg, N2 组、PN2 组鞘内给予纳洛酮 100 ng/kg, 各组所用药液均以生理盐水稀释至 50  $\mu$ l, C 组和 P 组给予等容量生理盐水。各组于造模前 24 h (T<sub>0</sub>)、术后 1 h (T<sub>1</sub>)、6 h (T<sub>2</sub>)、24 h (T<sub>3</sub>)、48 h (T<sub>4</sub>)、72 h (T<sub>5</sub>) 检测机械缩足反射阈值 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 和热缩足反射潜伏期 (thermal withdrawal latency, TWL), 各组在 T<sub>0</sub>、T<sub>2</sub>、T<sub>3</sub>、T<sub>5</sub> 分别取 6 只大鼠即刻断头处死, 取海马、外周血 (血浆), 以 ELISA 法检测 IFN- $\gamma$  表达。

### 3. MWT 的测定

将一透明有机玻璃箱 (22 cm×22 cm×12 cm) 置于 30 cm 高的金属筛网 (1 cm×1 cm) 上, 待大鼠在箱中适应 30 min 后, 采用电子 von Frey 纤维丝



(IITC 公司, 美国), 垂直刺激大鼠右后足与附近第 3、4 趾间皮肤, 每次持续 4~6 s。大鼠出现抬足或舔足行为视为阳性反应, 并记录此时的刺激强度, 每次间隔 15 s 以上, 共刺激 5 次, 计算其平均值为 MWT。

#### 4. TWL 的测定

将有机玻璃箱置于 3 mm 厚玻璃板上, 大鼠在箱中自由活动 30 min 以适应测试环境和温度。室温稳定在 24~26℃。采用 Model 390 Heated Base 热痛刺激仪 (IITC 公司, 美国) 照射大鼠足底紧贴玻璃板部位, 具体同 MWT 测定部位。记录照射开始至大鼠出现抬足或舔足时间, 照射时间不超过 20 s, 以防止组织损伤。测定 5 次, 每次间隔至少 5 min, 取最后 3 次刺激的平均值为 TWL。

#### 5. IFN- $\gamma$ 含量测定

取大鼠海马或外周血 (血浆), 置于含 1 ml 浓度为 0.2 mol/L 的醋酸溶液匀浆器中匀浆。煮沸 10 min, 4℃、3500 rpm 离心半径 13.5 cm, 离心 10 min。取上清放入试管中冰冻、干燥、浓缩后 PBS 等容, 待测液 -80℃ 保存, 采用 ELISA 法 (试剂盒购自上海蓝基生物科技有限公司提供, 检测限 20 pg/ml~480 pg/ml) 测定 IFN- $\gamma$  含量, ELX800 酶标仪由美国 Bio-Tek 公司提供。

#### 6. 统计学分析

采用 SPSS 17.0 软件进行分析, 正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm SD$ ) 表示, 组间和组内比较采用双因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 1. 鞘内给予小剂量纳洛酮可提高大鼠 MWT, 大剂量纳洛酮可降低大鼠 MWT

术前各组 MWT 比较差异无统计学意义。与 C 组相比, P 组术后 1~72 h MWT 降低 ( $P < 0.05$ ), 表明术后痛模型建立后 72 h 内大鼠始终处于机械痛致敏状态; N1 组术后 1、6 h MWT 升高 ( $P < 0.05$ ), 表明单独给予纳洛酮可升高大鼠机械痛阈值, 产生镇痛作用; 与 C 组相比, PN1 组 6~72 h MWT 降低 ( $P < 0.05$ ), 术后 1 h 差异无统计学意义, 而与 P 组相比, PN1 组术后 1、6 h MWT 升高 ( $P < 0.05$ ), 表明小剂量纳洛酮可在术后 6 h 内有效升高术后痛大鼠机械痛阈值, 产生镇痛作用; 与 C 组相比, N2 组术后 1、6 h MWT 降低, 表明大剂量纳洛酮可降低大鼠机械痛阈值, 产生痛敏, 但 N2 组 MWT 始

终显著高于 P 组, 表明此作用远低于术后痛产生的致敏程度。与 P 组相比, PN2 组在术后 24 h 的机械痛阈更低, 表明给予大剂量纳洛酮可能加重术后急性切口疼痛 (见图 1A)。

### 2. 鞘内给予小剂量纳洛酮可提高大鼠 TWL, 大剂量纳洛酮可降低大鼠 TWL

术前各组 TWL 比较差异无统计学意义。与 C 组相比, P 组术后 1~72 h TWL 缩短 ( $P < 0.05$ ), 表明术后痛模型建立后 72 h 内大鼠始终处于热痛致敏状态; N1 组 TWL 术后 1~6 h 延长 ( $P < 0.05$ ), 表明单独给予小剂量纳洛酮即可产生针对热辐射的镇痛作用; 与 P 组相比, PN1 组术后 1~6 h TWL 延长 ( $P < 0.05$ ), 表明在术后 6 h 内小剂量纳洛酮具有镇痛效果; 与 C 组相比, N2 组术后 1~6 h TWL 缩短, 表明大剂量纳洛酮可降低大鼠热辐射痛阈值, 产生痛敏, 但 N2 组 TWL 始终显著高于 P 组, 表明此作用远低于术后痛产生的致敏程度。与 P 组相比, PN2 组在术后 24 h 的热辐射痛阈更低, 表明大剂量纳洛酮造成急性术后痛模型大鼠更强的痛敏状态 (见图 1B)。

### 3. 术后痛模型鞘内给予纳洛酮对中枢海马 IFN- $\gamma$ 表达无显著影响

各组组内、组间各时点海马 IFN- $\gamma$  表达比较差异均无统计学意义 (见图 2), 表明术后痛模型、鞘内给予纳洛酮对中枢海马 IFN- $\gamma$  表达无显著影响。

### 4. 术后痛模型鞘内给予纳洛酮对血浆 IFN- $\gamma$ 产生影响

术前各组 IFN- $\gamma$  比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与 C 组相比, P 组术后各时点血浆 IFN- $\gamma$  表达下调, 6 h 为下调程度最低点, 72 h 为下调幅度最低点, 提示术后痛模型可使大鼠 72 h 内血浆 IFN- $\gamma$  表达下调, 随着时间的延长, IFN- $\gamma$  水平逐渐接近生理状态。与 C 组相比, N1 组在鞘内给药后 6 h, 血浆 IFN- $\gamma$  水平升高, 提示小剂量纳洛酮注射后 6 h 内可促进 IFN- $\gamma$  表达上调。与 C 组相比, N2 组在鞘内给药后 24 h 内, 血浆 IFN- $\gamma$  表达下调, 提示大剂量纳洛酮在给药后 24 h 内, 可抑制 IFN- $\gamma$  表达; 与 C 组相比, PN1 组术后 72 h 内各时点血浆 IFN- $\gamma$  表达下调, 但与 P 组相比, PN1 组术后 72 h 内各时点血浆 IFN- $\gamma$  表达上调, 提示术后痛模型 + 小剂量纳洛酮也可使 IFN- $\gamma$  水平降低, 但下降幅度明显低于术后痛模型组。与 C 组相比, PN2 组术后 72 h 内各时点血浆 IFN- $\gamma$  表达下调, 但与 P 组相比, PN2 组术后 72 h 内各时点血浆 IFN- $\gamma$  表达也下调, 提示术后痛模型 + 大剂量纳洛酮显著抑制 IFN- $\gamma$  表达, 下降幅度显著高于术

后痛模型组。以上结果表明,两种剂量纳洛酮都参与了生理状态及术后痛模型大鼠 IFN- $\gamma$  水平的调节,但作用相反,鞘内小剂量纳洛酮可上调血浆 IFN- $\gamma$  水平,而大剂量纳洛酮则产生相反结果(见图3)。

## 讨 论

有报道小剂量纳洛酮及其类似物纳曲酮<sup>[12]</sup>可兴奋内源性阿片生长因子,增加内源性阿片释放<sup>[13]</sup>,如脑啡肽等,增强阿片类药物镇痛作用<sup>[14,15]</sup>。本研究结果表明,鞘内注射 1 ng/kg 纳洛酮可使切口痛大鼠术后 6 h 内 MWT 升高、TWL 延长,产生显著的镇痛效果。小剂量纳洛酮可能通过局部下调 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  及 IL-6 等促炎因子表达及上调抗炎标志物 IL-10 的表达抑制神经炎症反应参与疼痛缓解<sup>[13]</sup>。本研究与既往报道不同的是,小剂量纳洛酮

不依赖外源性阿片类药物,单独应用即可对术后痛大鼠产生显著镇痛效果。另外,本研究单纯鞘内注射小剂量纳洛酮,与生理盐水组相比也表现出了提升痛阈的积极作用,再次证实这一点。然而,单纯鞘内注射大剂量纳洛酮后,显著降低了术后 1~6 h 大鼠疼痛阈值,而术后痛模型大鼠术前给予 100 ng/kg 纳洛酮后,大鼠出现持续大于 24 h 的疼痛加剧,提示高剂量纳洛酮给药存在致痛敏作用,这与 Brennum 等和 Corder 等<sup>[16,17]</sup>研究结论一致。有研究显示高剂量纳洛酮可通过抑制内源性阿片系统,导致痛觉过敏的再次出现<sup>[17,18]</sup>。手术损伤后中枢敏化可被伤害性疼痛刺激所诱发的  $\mu$ -opioid 受体固有活性物质所掩盖,可长达数月。但此时的中枢敏化仍然存在,由于 MOR<sub>CA</sub> 的抑制而形成动态平衡,故称为潜在高敏。术后晚期炎症消退阶段,给予高剂量  $\mu$  阿片受体拮抗剂(纳洛酮/纳曲酮)可通过抑制 MOR<sub>CA</sub>

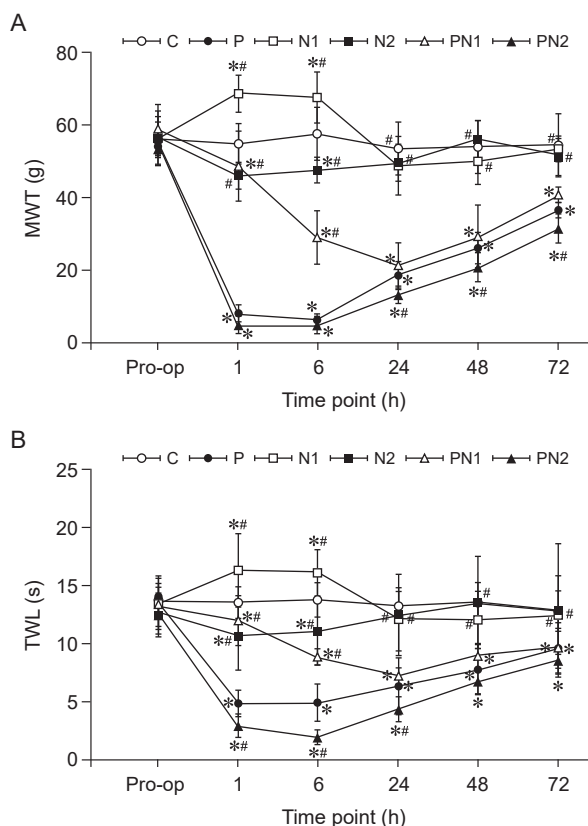


图1 大鼠各时点 MWT 和 TWL 比较 ( $n=6$ ,  $\bar{x} \pm SD$ )  
(A) 各时点 MWT; (B) 各时点 TWL

\* $P < 0.05$ , 与 C 组相比; # $P < 0.05$ , 与 P 组相比

Fig. 1 Comparison of MWT and TWL at different time points in 6 groups of rats ( $n=6$ ,  $\bar{x} \pm SD$ )

(A) MWT level at different time points; (B) TWL level at different time points

\* $P < 0.05$ , compared with group C, # $P < 0.05$ , compared with group P.

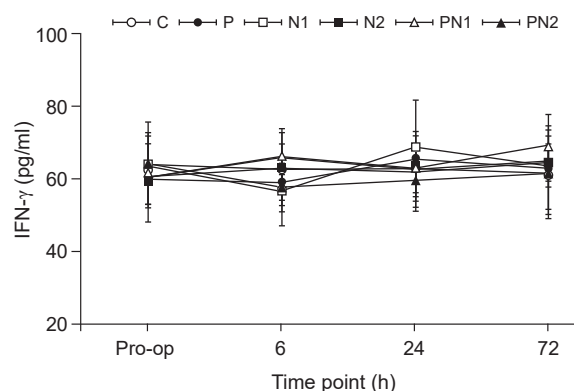


图2 大鼠各时点海马 INF- $\gamma$  比较 ( $n=6$ ,  $\bar{x} \pm SD$ )

Fig. 2 Hippocampal INF- $\gamma$  expression at different time points in 6 groups of rats ( $n=6$ ,  $\bar{x} \pm SD$ )

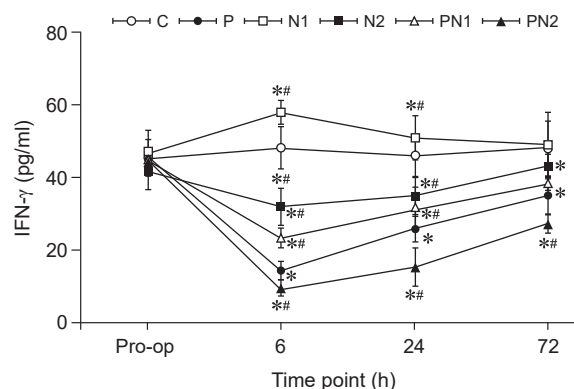


图3 大鼠各时点血浆 INF- $\gamma$  表达比较 ( $n=6$ ,  $\bar{x} \pm SD$ )

\* $P < 0.05$ , 与 C 组相比; # $P < 0.05$ , 与 P 组相比

Fig. 3 Plasma INF- $\gamma$  expression at different time points in 6 groups of rats ( $n=6$ ,  $\bar{x} \pm SD$ )

\* $P < 0.05$ , compared with group C; # $P < 0.05$ , compared with group P.



的内源性镇痛机制，导致伤害性刺激的潜在高敏复现，从而出现痛敏的临床表现。潜在高敏的存在可能是慢性术后疼痛的激痛点，需引起重视<sup>[17]</sup>。本研究结果提示鞘内高剂量纳洛酮可引发术后疼痛加剧，而鞘内小剂量纳洛酮则可以缓解术后疼痛，提高痛阈。

本研究还探讨了术后痛模型不同剂量纳洛酮，对中枢海马及外周血浆 IFN- $\gamma$  表达水平的影响。结果发现，术后痛模型、鞘内不同剂量纳洛酮对中枢海马的 IFN- $\gamma$  水平均未产生显著影响。其可能原因为 CNS 具有完整的血脑屏障，可使 CNS 免于外界环境损伤因素的伤害。CNS 内完善的免疫抗炎机制，例如细胞水平 T、B 调节细胞和 M2 型少突胶质细胞的免疫调节作用<sup>[19-21]</sup>；以及分子水平 IL-10 和 miR124 和基因水平等一系列调节机制，是维持 CNS 免疫稳态的关键因素<sup>[22]</sup>。因此，本研究认为在术后痛模型、鞘内给予不同剂量纳洛酮，海马 IFN- $\gamma$  水平始终维持生理水平，可能受上述中枢免疫平衡机制的自主调节，但具体机制尚需进一步研究。

本研究还发现，术后疼痛显著抑制血浆 IFN- $\gamma$  表达，随疼痛阈值降低而下降；术后 72 h 疼痛自然缓解，痛阈提升，IFN- $\gamma$  水平回升。本研究证实，鞘内纳洛酮对血浆 IFN- $\gamma$  可产生双向调节，鞘内小剂量纳洛酮可改善术后痛大鼠的疼痛程度，明显上调术后痛对 IFN- $\gamma$  的抑制；单纯鞘内注射小剂量纳洛酮与对照组比较也可提高痛阈并增加外周 IFN- $\gamma$  的表达，而后随着痛阈回降 IFN- $\gamma$  的表达也逐渐向生理值降低。有报道称小剂量纳曲酮可促进 NK 细胞分泌 IFN- $\gamma$ ，增强免疫<sup>[13]</sup>，与本实验鞘内小剂量纳洛酮的结果一致。可能原因为，疼痛作为不愉快伤害性刺激感受会增加机体应激引发免疫细胞的抑制，本课题组前期研究证实<sup>[23]</sup> 术后痛引发疼痛阈值下降，外周血中 NK 细胞数量也随之下降，并且 NK 细胞是 IFN- $\gamma$  的重要细胞来源，这可能是本研究术后痛 IFN- $\gamma$  表达下降的原因之一。有文献报道术后合理镇痛可加速 NK 细胞活性恢复<sup>[24]</sup>，另外，腔镜手术后小剂量纳洛酮可增加术后 NK 细胞水平和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T-cell ratio<sup>[25]</sup>。本研究术后痛大鼠通过给予鞘内小剂量纳洛酮很可能通过显著改善疼痛，提升疼痛阈值，进而降低疼痛介导的应激负荷，改善 NK 和 T 细胞数量和活性发挥上调 IFN- $\gamma$  表达和提高机体免疫的作用。其次，文献证实小剂量阿片受体拮抗剂引发反射性 CNS 内源性阿片物质增加（如  $\beta$ -内啡肽<sup>[26]</sup> 和脑啡肽<sup>[27]</sup> 等），后者在 CNS 通过阿片受体介导应激反应降低和外周免疫细胞功

能增强。

然而，鞘内大剂量纳洛酮则使大鼠术后疼痛明显加剧，痛阈下降，增强术后痛介导的 IFN- $\gamma$  的表达抑制。单纯鞘内给予大剂量纳洛酮也明显下调生理状态疼痛阈值和 IFN- $\gamma$  表达。此结果与小剂量纳洛酮在本实验中的作用完全相反。有文献支持大剂量静脉应用纳曲酮（纳洛酮类似物）可引发多方位的免疫抑制<sup>[21]</sup>，其中包括免疫因子的表达不足，支持本实验结果。既往研究提示，疼痛作为强应激因子是免疫抑制的独立因素，CNS 内源阿片系统在免疫调节中发挥积极作用。结合本研究结果认为，大剂量纳洛酮加剧疼痛，降低疼痛阈值，进而通过增加应激负荷和 CNS 内阿片系统相关免疫调控机制<sup>[26,27]</sup>，抑制外周 IFN- $\gamma$  表达。

本研究的不足之处在于，血浆中 IFN- $\gamma$  表达可来自体内多种器官，但具体来源无法确定，血浆与全身各器官 IFN- $\gamma$  表达的相互调控机制研究还需进一步研究证实。

综上所述，从本研究结果综合分析得出，鞘内注射不同剂量纳洛酮可影响术后痛大鼠血浆 IFN- $\gamma$  的表达，进而参与机体免疫调节，而海马 IFN- $\gamma$  水平在上述干预条件下始终维持稳定。疼痛阈值的调节涉及复杂的中枢痛觉整合和神经调控机制，后续实验可以增加中枢阿片系统作用部位（如海马、下丘脑<sup>[26,27]</sup> 等处）的内源性阿片肽表达水平检测，以及外周 IFN- $\gamma$  产生细胞如 NK 细胞和 T 细胞数量和功能状态检测等实验内容，进一步探讨不同剂量纳洛酮对术后痛免疫状态影响的机制。本研究通过检测中枢海马及外周血的 IFN- $\gamma$  表达，从整体水平揭示术后痛和鞘内纳洛酮干预下中枢和外周免疫状态的不同。外周 IFN- $\gamma$  在术后痛和鞘内纳洛酮应用后所表现出的变化规律提示，应尽量避免应用大剂量纳洛酮鉴于其增加痛敏和抑制免疫的作用；而可以考虑应用小剂量纳洛酮作为术后镇痛和提升外周免疫水平的辅助用药，其临床价值有待大样本临床研究证实。

## 参 考 文 献

- [1] Romero RP, Hortal FJ, Riesgo M. Treatment of post-operative pain in heart surgery[J]. Rev Esp Anesthesiol Reanim, 2002, 49(9):474-484.
- [2] Page GG. Immunologic effects of opioids in the presence or absence of pain[J]. J Pain Symptom Manage, 2005, 29(5 Suppl):S25-S31.
- [3] Monteiro S, Roque S, Marques F, et al. Brain interfer-

- ence: Revisiting the role of IFN $\gamma$  in the central nervous system[J]. *Prog Neurobiol*, 2017, 156:149-163.
- [4] Ge Y, Wei F, Du G, *et al*. The association of sex-biased ATRX mutation in female gastric cancer patients with enhanced immunotherapy-related anticancer immunity[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1):240.
- [5] Kim M, Kim SO, Lee M, *et al*. Tetramethylpyrazine, a natural alkaloid, attenuates pro-inflammatory mediators induced by amyloid  $\beta$  and interferon- $\gamma$  in rat brain microglia[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740:504-511.
- [6] Flood L, Korol SV, Ekselius L, *et al*. Interferon- $\gamma$  potentiates GABAA receptor-mediated inhibitory currents in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons[J]. *J Neuroimmunol*, 2019, 337:577050.
- [7] Singh JA, Noorbaloochi S, Knutson KL. Cytokine and neuropeptide levels are associated with pain relief in patients with chronically painful total knee arthroplasty: a pilot study[J]. *BMC Musculoskelet Disord*. 2017,18(1):17.
- [8] 邢准, 孟凌新, 姚鹏, 等. 吗啡伍用纳络酮对大鼠胃肠道组织胃动素的影响 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2008, 14(6):345-347.
- [9] Cosgrave D, Vencken S, Galligan M, *et al*. The effect of a low-dose naloxone infusion on the incidence of respiratory depression after intrathecal morphine administration for major open hepatobiliary surgery: a randomised controlled trial[J]. *Anaesthesia*, 2020, 75(6):747-755.
- [10] Storkson RV, Kjorsvik A, Tjolsen A, *et al*. Lumbar catheterization of the spinal subarachnoid space in the rat[J]. *J Neurosci Methods*, 1996, 65(2):167-172.
- [11] Brennan TJ, Vandermeulen EP, Gebhart GF. Characterization of a rat model of incisional pain[J]. *Pain*, 1996, 64(3):493-501.
- [12] Krieter P, Chiang CN, Gyaw S, *et al*. Pharmacokinetic interaction between naloxone and naltrexone following intranasal administration to healthy subjects[J]. *Drug Metab Dispos*, 2019, 47(7):690-669.
- [13] Ekelem C, Juhasz M, Khera P, *et al*. Utility of naltrexone treatment for chronic inflammatory dermatologic conditions: a systematic review[J]. *JAMA Dermatol*, 2019, 155(2):229-236.
- [14] Firouzian A, Gholipour Baradari A, Alipour A, *et al*. Ultra-low-dose naloxone as an adjuvant to patient-controlled analgesia (PCA) with morphine for post-operative pain relief following lumbar discectomy: a double-blind, randomized, placebocontrolled trial[J]. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2018, 30(1):26-31.
- [15] Firouzian A, Gholipour Baradari A, Ehteshami S, *et al*. The effect of ultra-low-dose intrathecal naloxone on pain intensity after lumbar laminectomy with spinal fusion: a randomized controlled trial[J]. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2020, 32(1):70-76.
- [16] Brennum J, Kaiser F, Dahl JB. Effect of naloxone on primary and secondary hyperalgesia induced by the human burn injury model[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2001, 45(8):954-960.
- [17] Corder G, Doolen S, Donahue RR, *et al*. Constitutive  $\mu$ -opioid receptor activity leads to long-term endogenous analgesia and dependence[J]. *Science*, 2013, 341(6152):1394-1399.
- [18] Springborg AD, Jensen EK, Kreilgaard M, *et al*. High-dose naloxone: Effects by late administration on pain and hyperalgesia following a human heat injury model. A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial with an enriched enrollment design[J]. *PLoS One*, 2020, 15(11):e0242169.
- [19] Anderton SM, Liblau RS. Regulatory T cells in the control of inflammatory demyelinating diseases of the central nervous system[J]. *Curr Opin Neurol*, 2008, 21(3):248-254.
- [20] Zhou R, Luo YB, Zeng QM, *et al*. Regulatory B cells and its role in central nervous system inflammatory demyelinating diseases[J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1884.
- [21] Wei Y, Chen J, Cai GE, *et al*. Rosmarinic acid regulates microglial m1/m2 polarization via the pdpk1/akt/hif pathway under conditions of neuroinflammation[J]. *Inflammation*, 2021, 44(1):129-147.
- [22] Leavitt RJ, Acharya MM, Baulch JE, *et al*. Extracellular vesicle-derived miR-124 resolves radiation-induced brain injury[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(19):4266-4277.
- [23] 张瑜, 赵军, 赵洪伟, 等. 鞘内注射吗啡混合芬太尼对切口痛大鼠海马 NK 细胞水平的影响 [J]. 中华麻醉学杂志, 2017, 37(10):1238-1242.
- [24] Beilin B, Shavit Y, Hart J, *et al*. Effects of anesthesia based on large versus small doses of fentanyl on natural killer cell cytotoxicity in the perioperative period[J]. *Anesth Analg*, 1996, 82(3):492-497.
- [25] Lin Y, Miao Z, Wu Y, *et al*. Effect of low dose naloxone on the immune system function of a patient undergoing video-assisted thoracoscopic resection of lung cancer with sufentanil controlled analgesia-a randomized controlled trial[J]. *BMC Anesthesiol*, 2019, 19(1):236.
- [26] Sarkar DK, Zhang C, Murugan S, *et al*. Transplantation of  $\beta$ -endorphin neurons into the hypothalamus promotes immune function and restricts the growth and metastasis of mammary carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(19):6282-6291.
- [27] Gao N, Wang AJ, Yang YZ, *et al*. Opioid receptor mediated modulation of intrahippocampal enkephalin induced cellular immune function[J]. *Sheng Li Xue Bao*, 1999, 51(1):106-110.