

强啡肽通过大鼠脊髓中的 κ 受体引起镇痛

谢国玺 韩济生 (北京医学院生理教研室, 北京 100083)

摘要 大鼠脊髓蛛网膜下腔注射(ith)强啡肽 5 nmol 引起强烈的镇痛作用, 后者可被 sc 纳洛酮 10 mg/kg 所部分对抗。反复 ith 强啡肽造成大鼠对强啡肽镇痛的耐受, 这时 ith κ 受体激动剂 EKC 的镇痛作用明显减弱, 吗啡的镇痛不受影响。另一方面, 对吗啡镇痛发生耐受的大鼠, ith 强啡肽仍然具有镇痛作用。

关键词 强啡肽; 镇痛; 药物耐受; 纳洛酮;
吗啡; 乙基酮环唑新; 内啡肽受体; 脊髓

强啡肽(dynorphin)是近年从猪垂体⁽¹⁾和

1983年8月1日收稿

1983年10月20日修回

肠道中⁽²⁾分离提纯的一种由 17 个氨基酸组成的内源性阿片肽。体外豚鼠回肠标本的生物测定表明, 强啡肽有极强的阿片活性⁽³⁾, 并可能是 κ 型阿片受体的特异的内源性配基⁽⁴⁾。本实验室在 1982 年首次报告强啡肽在大鼠脊髓中有强烈的镇痛作用⁽⁵⁾。本文采用脊髓蛛网膜下腔微量注射(ith)的技术, 进一步研究强啡肽在大鼠脊髓内镇痛的特点, 并通过交叉耐受和纳洛酮阻断等方法探讨强啡肽通过何种阿片受体亚型发挥镇痛作用。

Tab 1. Analgesic effect of intrathecal injection of dynorphin. $\bar{x} \pm SD$

Groups	Rats	Basal TFL(s)	Change of tail flick latency (%)					
			10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min
NS 15 μl	7	5.4±0.7	-5±17	5±34	6±35	-2±27	5±34	5±35
Morp 40 nmol	8	5.2±1.0	109±60***	116±64***	99±51***	107±54***	99±59***	79±56***
Dyn 2.5 nmol	9	5.1±0.6	48±59**	61±56**	55±61*	43±43**	36±46*	25±44*
Dyn 5 nmol	7	5.6±0.5	113±52***	90±64***	90±60***	65±68**	41±56*	38±54*

*p>0.05, **p<0.05, ***p<0.01 as compared with normal saline (NS) group.

材料和方法

人工合成的强啡肽(dynorphin₁₋₁₇)：由美国斯坦福大学药理系 Avram Goldstein 教授提供。乙基酮环唑新(ethylketocyclazocine, EKC)：由美国 Wellcome 实验室张宽仁博士提供。盐酸纳洛酮(naloxone-HCl)：美国 Endo Laboratories 出品。盐酸吗啡(morphine-HCl)：沈阳制药厂出品。

用体重 200±20 g ♂大鼠，在乙醚麻醉下于枕骨下缘依次切开皮肤、肌肉、寰枕后膜、硬脊膜和蛛网膜，向脊髓蛛网膜下腔插一外径 0.61 mm 的 PE-10 型聚乙烯管，插入 7.5 cm，抵达腰膨大上缘。大鼠清醒后 24 h 开始实验。

室温 20±1 °C。用辐射热测试大鼠甩尾反应潜伏期(tail flick latency, TFL)。每 5 min 测痛 1 次，连测 3 次，取平均值为基础 TFL。导管内注入 10 μl 药液(溶于生理盐水中)分别含强啡肽 2.5, 5 nmol, EKC 100 nmol 或吗啡 40 nmol，随后以 5 μl 生理盐水冲下管内药液。对照组注射 15 μl 生理盐水。1 min 注射完毕。然后每 10 min 测痛 1 次，共 6 次。所测值与基础 TFL 相比，用变化%表示。为避免尾部皮肤灼伤，以 TFL 升高 150% 为测痛上限。

为造成大鼠对药物的急性耐受，每 0.5 h 给 ith 1 次吗啡(40 nmol)或强啡肽(5 nmol) 5 μl，共 5-6 次。

实验数据用 $\bar{x} \pm SD$ 表示。组间差异的显著性用 t 检验法(双尾)判定。

结 果

强啡肽 ith 对基础痛阈的影响 大鼠 ith 强啡肽 2.5 nmol, 10 min 后 TFL 升高 48±59% (鼠数 n=9)；注射 5 nmol, 10 min 后 TFL 升高 113±52% (n=7)，其作用与吗啡 40 nmol 相似(表 1)。因此要得到相同的镇痛作用，ith 强啡肽的剂量(mole 数)约为吗啡的 1/8。ith 强啡肽后，约 1/3 鼠后肢和尾部的肌张力下降，但这种变化与镇痛效果可以分离存在，两者之间并无平行关系。ith 强啡肽 10 min 后，大鼠的肛温平均下降 0.8 °C，以后逐渐回升。

纳洛酮对 ith 强啡肽所引起镇痛作用的影响 大鼠 sc 不同剂量纳洛酮，5 min 后 ith 强啡肽 5 nmol，吗啡 40 nmol 或 EKC 100 nmol，注射后 10 min 测痛，结果见表 2。纳洛酮

Tab 2. Naloxone reversal of analgesic effect induced by intrathecal injection of morphine, ethylketocyclazocine or dynorphin. Number of rats in parentheses. $\bar{x} \pm SD$

Naloxone sc (mg/kg)	% Change of tail flick latency			
	Morphine (40 nmol)	Ethylketo- cyclazocine (100 nmol)	Dynorphin (5 nmol)	
0(NS)	93±50(8)	94±63(9)	97±56(9)	
0.5	66±59(10)*	—	—	
1	32±52(8)**	83±49(8)*	112±51(8)*	
2	—	23±14(5)***	—	
10	—	—	51±64(8)*	

*p>0.05, **p<0.05, ***p<0.01 as compared with normal saline (NS) group.

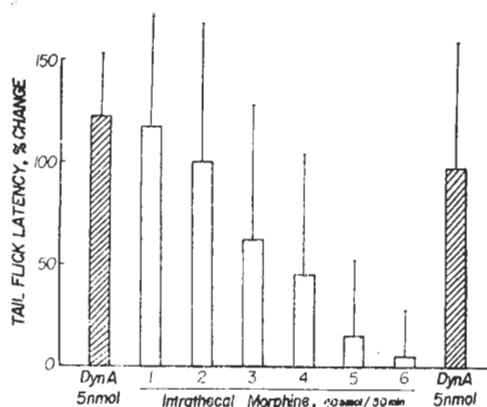


Fig 1. Analgesic effect of intrathecal dynorphin in morphine-tolerant rats. Intrathecal dynorphin before and 10 min after morphine tolerance. Morphine (40 nmol) injections at intervals of 30 min.

1 mg/kg 不能阻断强啡肽或 EKC 的镇痛作用，但可将吗啡的镇痛作用降低 66% (与 sc 生理盐水组相比, $p < 0.05$); 纳洛酮 2 mg/kg 可将 EKC 的镇痛作用翻转 76% (与相对对照值相比, $p < 0.01$); 将纳洛酮的剂量增加到 10 mg/kg, 也只能将强啡肽的镇痛翻转 47% ($p > 0.05$)。

急性吗啡耐受大鼠 ith 强啡肽的镇痛作用

7 只大鼠 ith 5 nmol 强啡肽, 10 min 后 TFL 升高 $122 \pm 31\%$ 。待痛阈恢复正常后, 每 0.5 h 给 ith 1 次吗啡 40 nmol, 共 6 次, 每次 ith 完毕 10 min 后测得 TFL 升高% 分别为 117 ± 54 , 99 ± 68 , 61 ± 65 , 38 ± 59 , 18 ± 36 和 7 ± 22 , 表明大鼠对 ith 吗啡的镇痛作用产生了急性耐受。这时再 ith 强啡肽 5 nmol, 10 min 后 TFL 升高 $97 \pm 61\%$, 与吗啡耐受前相同剂量强啡肽的镇痛作用差异不显著(图 1)。表明强啡肽镇痛与吗啡镇痛无交叉耐受现象。

大鼠多次 ith 强啡肽引起的耐受及其与 EKC 的交叉耐受 12 只大鼠每 0.5 h 给 ith 1 次强啡肽 5 nmol, 共 5 次。每次 ith 后 10 min, TFL 升高% 分别为 107 ± 49 , 91 ± 59 , 40 ± 51 , 21 ± 51 和 4 ± 33 , 表明大鼠对强啡肽产生了耐受。这时 ith EKC 100 nmol, TEL 仅升高 $9 \pm 30\%$ 。另一组 7 只正常大鼠, ith 100 nmol EKC,

TFL 升高 $82 \pm 40\%$, 两组差异 $p < 0.01$, 表明强啡肽与 EKC 镇痛发生交叉耐受。给强啡肽耐受的大鼠 ith 吗啡 40 nmol, TFL 升高 $73 \pm 69\%$ ($n = 9$)。与对照组的相应值($105 \pm 63\%$, $n = 9$)比较, $p > 0.05$, 提示强啡肽与吗啡镇痛不发生交叉耐受。

讨 论

脑内强啡肽含量很高⁽⁸⁾, 但阿片样活性极强的强啡肽脑内注射后并不引起镇痛^(5,7) 或只引起微弱的镇痛作用⁽⁸⁾。

脊髓的背侧灰质也含有大量强啡肽⁽⁹⁾, 它与镇痛的关系值得研究。我们首先报道, 给大鼠 ith 强啡肽, 可引起强烈而持久的镇痛作用⁽⁵⁾, 提示强啡肽在脊髓水平对疼痛调制起着重要作用。给小鼠脊髓内注射强啡肽也观察到明确的镇痛作用⁽¹⁰⁾。有人^(11,12)在大鼠身上重复了我们的实验, 得到相似的结果。ith 强啡肽后有部分动物发生下肢不同程度的瘫软。但我们注意到下肢运动障碍与甩尾阈延长两者可以分离存在。有报告大剂量强啡肽可使 4/6 的动物发生下肢运动障碍, 小剂量强啡肽不引起运动障碍但仍可产生镇痛⁽¹¹⁾, 说明两者之间并不存在因果联系。Tung 和 Yaksh⁽¹³⁾同样在大鼠脊髓蛛网膜下腔注射强啡肽, 并没有观察到镇痛效应。他们的实验是在插管术后一周开始的。本实验室注意到插管术后 24–48 h 注射强啡肽的镇痛作用最明显, 随着时间的延长, 强啡肽的镇痛作用减弱。是否由于结缔组织的增生妨碍了强啡肽由蛛网膜下腔进入脊髓, 目前尚难肯定。

脊髓中存在着 μ 、 δ 、 κ 等各类阿片受体⁽¹⁴⁾。强啡肽通过哪类阿片受体发挥镇痛作用? 有待解决。Goldstein 等根据生物鉴定和放射受体测定结果认为强啡肽是内源性的 κ 受体激动剂⁽⁴⁾。本文应用了交叉耐受实验加以分析。已知吗啡和 EKC 分别是 μ 受体和 κ 受体的激动剂。给强啡肽耐受的动物注射 EKC 不再引起镇痛, 而注射吗啡仍有镇痛效果; 反之, 给

吗啡耐受的动物注射强啡肽，仍显示明显的镇痛作用。说明强啡肽的镇痛作用不是通过 μ 受体，而是通过 κ 受体完成的。第二种检验是观察强啡肽对于纳洛酮阻断的敏感性。已知纳洛酮阻断 μ 受体的作用极强而阻断 κ 受体的作用较弱⁽¹⁵⁾。Goldstein等在离体实验中发现纳洛酮阻断强啡肽的作用为阻断吗啡强度的1/13⁽³⁾，我们的实验结果表明，sc纳洛酮1mg/kg即可将吗啡的镇痛削弱2/3，而10mg/kg纳洛酮只能使强啡肽的镇痛削弱约1/2，这对强啡肽通过 κ 受体而镇痛是一个有力支持。

参 考 文 献

- 1 Goldstein A, Fischli W, Lowney LI, Hunkapiller M, Hood L. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7219
- 2 Tachibana S, Araki K, Ohya S, Yoshida S. *Nature* 1982; 295: 339
- 3 Goldstein A, Tachibana S, Lowney LI, Hunka-
- 4 Chavkin C, James IF, Goldstein A. *Science* 1982; 215: 413
- 5 Han JS, Xie CW. *Life Sci* 1982; 31: 1781
- 6 Goldstein A, Ghazarossian VE. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 6207
- 7 Tulunay FC, Jen MF, Chang JK, Loh HH, Lee NM. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 219: 296
- 8 Herman B, Leslie FM, Goldstein A. *Life Sci* 1980; 27: 883
- 9 Botticelli LJ, Cox BM, Goldstein A. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7783
- 10 Piercy MF, Varner K, Schroeder LA. *Eur J Pharmacol* 1982; 80: 283
- 11 Przewlocki R, Shearman GT, Herz A. *Neuropeptides* 1983; 3: 233
- 12 Goldstein A. In: Meienhofer J, Udenfriend S, eds. *The peptides: analysis, synthesis, biology*; vol 7. NY: Academic Press, in press
- 13 Tung AS, Yaksh TL. *Brain Res* 1982; 247: 75
- 14 Yaksh TL. *Pain* 1981; 11: 293
- 15 Gilbert PE, Martin WR. *J Pharmacol Exp Ther* 1976; 198: 66

Acta Pharmacologica Sinica 1984 Dec; 5 (4): 231-234

DYNORPHIN : ANALGESIC EFFECT VIA KAPPA RECEPTORS IN SPINAL CORD OF RATS

XIE Guo-xi, HAN Ji-sheng

(Dept Physiology, Beijing Medical College, Beijing 100083)

ABSTRACT Intrathecal injection of 5 nmol of dynorphin into the spinal subarachnoid space of rats produced a strong and long-lasting analgesic effect, which was partially reversed only by a large dose (10 but not 1 mg/kg, sc) of naloxone. Rats made tolerant to dynorphin by repeated intrathecal injections showed a diminished analgesic response to the kappa agonist ethylketocyclazocine, with an unaffected analgesic response to the mu agonist morphine.

Moreover, the analgesic effect of dynorphin was almost fully retained in rats made tolerant to morphine. These results indicate that the analgesic effect of dynorphin in the spinal cord of rats is mediated by kappa opioid receptors.

KEY WORDS dynorphin; analgesia; drug tolerance; naloxone; morphine; ethylketocyclazocine; endorphin receptors; spinal cord