

小鼠岛叶皮质 5 型代谢型谷氨酸受体对神经病理性疼痛的调控作用

涂可¹, 邱欣彤^{2,3}, 杨日升^{2,3}, 侯立朝^{1,4*}, 陈涛^{2*}

(空军军医大学: 1. 西京医院麻醉与围术期医学科, 2. 基础医学院人体解剖学教研室暨梁詠璐脑研究中心,
3. 基础医学院学员一旅, 西安 710032; 4. 厦门大学附属翔安医院, 厦门 361101)

【摘要】 目的: 通过保留性神经损伤(SNI)模型, 探索神经病理性疼痛发生后, 岛叶皮质(IC)中 FOS 蛋白和 5 型代谢型谷氨酸受体(mGluR5)及其下游分子的表达变化, 并观察对岛叶皮质局部应用 mGluR5 激动剂 DHPG 和拮抗剂 MPEP 对动物疼痛行为的影响。方法: 将健康成年的雄性 C57BL/6 小鼠随机分为 SNI 组和假手术组(Sham 组), SNI 组采用 SNI 模型制造神经病理性疼痛模型。造模后通过机械痛行为学检测造模是否成功, 通过免疫荧光染色检测岛叶皮质 FOS 蛋白的表达变化, 通过 Western Blot 检测小鼠 IC 中 mGluR5 和下游分子 p-ERK 与 PI3K 的表达变化; 通过埋管注射的方式向实验组与假手术组 IC 内给予 mGluR5 拮抗剂 MPEP 与激动剂 DHPG, 观察两种药物对小鼠机械性痛行为的影响。结果: SNI 术后, 小鼠的机械性痛的痛阈出现明显下降, 并可维持至术后 4 周。免疫荧光组织化学染色结果显示: 与假手术组相比, SNI 组小鼠在术后 1、2 周 IC 中 FOS 蛋白表达增加($P < 0.05$)。Western Blot 检测岛叶皮质 mGluR5 及其下游分子 p-ERK、PI3K 的表达结果显示: 术后 SNI 组 mGluR5 表达水平相比假手术组增高($P < 0.05$), SNI 组 p-ERK 表达水平相比假手术组增高($P < 0.05$), 而 PI3K 仅在第 2 周时出现升高($P < 0.05$)。IC 内置管给予 MPEP 后假手术组小鼠痛阈出现下降($P < 0.05$), 而给予 DHPG 后 SNI 组的痛阈出现升高($P < 0.05$)。结论: 小鼠 IC 中 mGluR5 参与神经病理性疼痛的发生或调控, 并且 IC 中 mGluR5 表现出抑制性作用。在 SNI 后 mGluR5 出现保护性增高, 而 mGluR5 激动剂 DHPG 可起到镇痛作用。

【关键词】 神经病理性疼痛; 5 型代谢型谷氨酸受体; 岛叶皮质; DHPG; MPEP; 小鼠

DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2018.04.003

The regulatory effect of metabotropic glutamate receptor 5 in insular cortex to neuropathic pain in mice

Tu Ke¹, Qiu Xintong^{2,3}, Yang Risheng^{2,3}, Hou Lichao^{1,4*}, Chen Tao²

(1. Department of Anesthesiology and Perioperative Medicine, Xijing Hospital, 2. Department of Human Anatomy and K. K. Leung Brain Research Centre, 3. The Student No. 1 Brigade, Academy of Basic Medicine, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 4. Xiang'an Hospital, Xiamen University, Xiamen 361101, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the change of FOS protein and metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) and its downstream molecules expression in insular cortex (IC) after spared nerve injury (SNI) induced neuropathic pain. And to observe the influence of application of mGluR5 antagonist MPEP or agonist DHPG into IC to pain behavior. **Methods:** Healthy adult male C57BL/6 mice were randomly divided into two groups: SNI group and Sham group. SNI group mice received a spared nerve injury operation. A mechanical pain behavior test was carried out to investigate whether the surgery was succeeded or not. FOS expression in IC was quantified through immunofluorescent staining. And the expression level of mGluR5 and its downstream molecules p-ERK and PI3K were quantified through Western Blot.

基金项目: 国家自然科学基金项目(81671095, 31371126), 厦门大学校长基金(20720170106), 陕西省科技攻关课题(2016YFJH2-04)

* 通讯作者: 陈涛 电话: 18792979709, E-mail: chtkkl@fmmu.edu.cn

侯立朝 电话: 17859706309, E-mail: lchou@xah.xmu.edu.cn

Through cannulas inserted in bilateral IC, DHPG or MPEP was injected into IC. Mechanical pain test was then performed to observe the influence of DHPG or MPEP to pain threshold. **Results:** After SNI, model animal showed a significant decrease in the pain threshold. Immunofluorescent staining showed that FOS-ir neurons in IC were increased after SNI operation ($P < 0.05$). Western Blot showed that, compared with Sham group, SNI group IC mGluR5 expression increased after surgery ($P < 0.05$) and p-ERK expression also increased after surgery ($P < 0.05$). However, PI3K expression only increased in the 2nd week after SNI surgery ($P < 0.05$). Through cannulas inserted in bilateral IC, DHPG or MPEP was injected into IC. The pain threshold of Sham group decreased after injection of MPEP ($P < 0.05$), while the pain threshold of SNI group increased after injection of DHPG ($P < 0.05$). **Conclusion:** Mice mGluR5 in IC is involved in the occurring or regulation of neuropathic pain and showed an inhibitory effect. There was a protective increase in mGluR5 after SNI, while mGluR5 agonist DHPG showed an analgesic effect.

【Key words】 neuropathic pain; mGluR5; insular cortex; DHPG; MPEP; mouse

神经病理性疼痛的人群发病率高达 7% ~ 10%^[1],严重影响患者的健康及生活质量。神经病理性疼痛属于一种慢性疼痛,表现为异常痛、自发痛、感觉异常和痛觉过敏等临床症状。造成神经病理性疼痛的常见病因包括机械损伤、病毒感染、化疗及放疗、神经递质功能障碍、缺血性神经损害等^[2]。

岛叶皮质(insular cortex, IC)属于边缘系统的一部分,是皮层疼痛信息网络的重要组成部分之一。大脑皮层是否参与神经病理性疼痛的形成及调控是近年的研究热点,并且已有文献报道前皮质扣带回(anterior cortical cingulate, ACC)、前额叶皮质(pre-frontal cortex, PFC)和岛叶皮质参与了神经病理性疼痛的中枢敏化^[3-5]。然而,有关岛叶皮质介导中枢敏化的具体分子机制,目前尚无大量报道。

代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptors, mGluRs)属于G蛋白偶联受体,根据各亚型间序列同源程度可将其分为3组:第I组包括mGluR1和mGluR5,第II组包括mGluR2和mGluR3,第III组由mGluR4、mGluR6、mGluR7和mGluR8组成^[6]。目前针对皮层mGluRs在伤害性感受与慢性疼痛中的作用报道较少,mGluRs是如何参与突触传递以及突触可塑性尚不清楚。目前已有研究报道,不同脑区的mGluR5可对神经病理性疼痛产生正向或负向调控^[7-9]。本实验以小鼠岛叶皮质mGluR5为着手点,通过免疫荧光染色、Western Blot、疼痛行为学等方法,探究岛叶皮质mGluR5对神经病理性疼痛的调控效应。

材料和方法

1 材料

动物本实验所采用动物购买自空军军医大学实

验动物管理中心,为健康成年雄性C57BL/6小鼠,年龄为6~8周龄,体重在20g~25g之间。动物饲养房间从早7点到晚7点开灯,室温20℃~22℃之间,湿度40%~70%之间,保持通风,并给予正常饮食饮水。

主要试剂:DHPG(Tocris),MPEP(Tocris),兔抗小鼠FOS IgG(Abcam),兔抗小鼠mGluR5 IgG(Abcam),兔抗小鼠PI3K IgG(Cell Signal),兔抗小鼠p-ERK IgG(Abcam),Alexa594标记的驴抗兔IgG二抗(Invitrogen公司),HRP标记的羊抗兔IgG二抗(Abcam)。

2 方法

2.1 小鼠神经病理性疼痛模型的制备 采用保留性神经损伤(spared nerve injury, SNI)制备神经病理性疼痛模型。对小鼠进行称重并使用2%戊巴比妥钠麻醉(i. p. 5 ml/kg)。将小鼠以侧卧位固定于手术台中央,手术台下设置加热板,温度设定为恒定37℃。用剪毛器去除左后肢大腿外侧毛发,使用碘伏消毒小鼠手术部位。从大腿中央做切口,撕开筋膜,钝性分离肌肉组织,暴露出坐骨神经的三个分支:腓总神经、腓肠神经、胫神经。使用细线结扎并剪断腓总神经和胫神经,保留腓肠神经。假手术仅切开皮肤,分离肌肉暴露神经,但不做损伤处理。之后逐层缝合肌肉、筋膜和皮肤,碘伏消毒切口,将小鼠置于加热板上复苏。

2.2 机械痛阈的检测 将小鼠放置于下方为金属网的塑料笼子中,测试之前让小鼠在笼中静置15~30 min,痛阈计算方法采用Dixon的Up-and-Down测量法^[10,11]:共需8根von Frey纤毛,分别为0.008、0.02、0.04、0.07、0.16、0.4、0.6和1.0 g。从0.16 g为起点,将其垂直刺向小鼠足底,稍微用力使其弯曲成S形,持续不超过10 s。若小鼠对该强度

刺激针反应为阴性(记为 O),则取相邻更高强度的针再次测试,若反应为阳性(记为 X),则取相邻更低强度的针再次测试,相邻测试时间间隔 10 s 以上,以使小鼠从前一次的刺激中恢复。

出现一次 OX 或 XO 替后,再进行 4 轮测试,记录最后一次测试所用针对应数值及最后 6 轮测试的 X、O 排列组合。查表得出系数 k,带入公式“50% g threshold = $[10^{(X_f + k\delta)}] / 1000$ ”计算即可得出该足底痛阈,其中 X_f 为最后一根 von Frey 针上所标数值, $\delta = 0.347$ (适用于小鼠)。

2.3 免疫荧光染色检测 FOS 表达 用 2% 戊巴比妥钠麻醉小鼠(i. p. 5 ml/kg),以含 4% 多聚甲醛的 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液(phosphate buffer, PB)灌注固定小鼠,用含 30% 蔗糖的 PB 溶液中脱水,进行脑组织冠状面冰冻切片,厚度 30 μm ;将切片用含有 0.3% Triton X-100 和 10% 驴血清的 PBS 中室温封闭 1 h;之后用兔抗 FOS IgG 抗体(1:500)室温孵育过夜;切片漂洗 3×10 min 后,加入以 1:1000 的比例稀释后的 Alexa594 标记的驴抗兔 IgG 抗体中,室温孵育 5 h;封片后在共聚焦显微镜(Olympus 公司,型号 FV1000)下观察。

FOS 表达的量化分析:统计 Bregma 前 0.98 ~ 1.18 mm 范围内岛叶皮质无颗粒细胞(agranular insular cortex, AI)区 FOS 阳性神经元的个数,取 6 张切片 FOS 计数的平均值为该小鼠岛叶皮质 FOS 表达水平。

2.4 Western Blot 检测 mGluR5 及其下游分子表达

用 2% 戊巴比妥钠麻醉小鼠(i. p. 5 ml/kg),断颈处死后取出脑组织,在体视显微镜下分离岛叶皮质组织;将组织按照 10 mg:100 μl 的比例加入 RIPA 裂解液中(含有磷酸酶及蛋白酶抑制剂),进行组织匀浆,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下,12000 r/min 转速离心 20 min,提取上清至新的 EP 管中,弃置沉淀;采用 BCA 法定量,各组取 30 μg 蛋白上样进行 SDS-PAGE 分离,采用湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后加入到以 1:500 比例用 TBST 稀释的一抗,室温孵育 2 h,再置入 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中孵育 12 h;孵育结束后取出 PVDF 膜, TBST 摇洗 3×10 min,加入用 TBST 稀释的 HRP 标记的羊抗兔二抗(1:2000),室温下孵育 2 ~ 3 h;孵育结束后 TBST 洗膜 3 次,滴加 ECL 发光液后在凝胶成像仪下发光。

2.5 岛叶皮质内埋管及注射药物 将小鼠用 2% 戊巴比妥钠麻醉(i. p. 5 ml/kg),并固定于立体定位仪上,剪去小鼠颅顶皮肤,用 3% 双氧水擦除颅骨表

面骨膜。使用定位仪对双侧岛叶皮质进行颅骨表面定位,使用球形波针进行钻孔,孔洞直径约为 1 mm。金属导管(瑞沃德公司,型号 62003, C = 5 mm)埋入坐标为 Bregma 点前 1.1 mm,旁开 3.0 mm,深度 3.2 mm。埋入后用牙科水泥固定。用 5 μl 的微量注射器注射药物,设定速度为 0.1 $\mu\text{l}/\text{min}$,每侧泵入 0.5 μl 用生理盐水稀释的 5 mmol/L DHPG、5 mmol/L MPEP 或生理盐水。

统计学处理:采用 SPSS 17.0 统计软件,结果以均数加减标准误($\bar{x} \pm \text{SEM}$)表示,用 t 检验进行组间比较, $P < 0.05$ 即有统计学差异。

结 果

1 神经病理性疼痛发生后岛叶皮质神经元 FOS 蛋白的表达增加

我们使用行为学检测了 SNI 组小鼠和 Sham 组小鼠在术后的痛阈变化趋势,证实我们采用的 SNI 模型可以导致小鼠的机械痛阈显著降低($P < 0.001$),并可维持至术后 4 周(Fig. 1A)。我们选取术后 2 周的 SNI 及 Sham 小鼠,对其岛叶皮质的 FOS 蛋白进行免疫荧光染色,以反应该区域的神经元活性。结果显示:假手术小鼠岛叶皮质 FOS 表达水平很低,而 SNI 小鼠岛叶 AI 区 FOS 阳性细胞数量明显增多($P < 0.05$, Fig. 1B-D),该结果说明神经病理性疼痛发生后,岛叶皮质神经元活性增高,提示岛叶皮质参与了神经病理性疼痛的发生或调控。

2 神经病理性疼痛发生后岛叶皮质 mGluR5 及其下游分子表达或磷酸化水平增加

有研究发现,岛叶皮质的长时程抑制(long term depression, LTD)在慢性疼痛发生后消失^[12],而岛叶皮质的 LTD 为 GluR5 依赖^[13],这提示我们, mGluR5 可能是岛叶皮质调控慢性疼痛的一个关键分子。细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)与磷脂酰肌醇三激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)是 mGluR5 重要的下游通路,已有研究发现 mGluR5 激活会增加下游 ERK1/2 的磷酸化水平,而磷酸化的 ERK 可通过影响环磷腺苷效应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)的磷酸化影响基因转录^[14,15]。同时 mGluR5 可通过 Homer2 对 PI3K 起到正向调控作用^[16]。为了研究岛叶皮质 mGluR5 及其下游分子在神经病理性疼痛中的作用,我们选取假手术小鼠及 SNI 术后 1 周、2 周小鼠,使用 Western Blot 检测岛叶皮质

mGluR5 及其下游分子的表达情况,结果显示:术后 1、2 周 SNI 组小鼠岛叶皮质 mGluR5 相比 Sham 组均有明显升高 ($P < 0.05$), mGluR5 下游分子 p-ERK 表达增高 ($P < 0.05$), PI3K 仅在第 2 周时出现升高 ($P <$

0.05, Fig. 2)。该结果提示,岛叶皮质的 mGluR5 可能参与了神经病理性疼痛的调控,而 ERK 与 PI3K 通路的激活可能是其调节作用的内在机制。

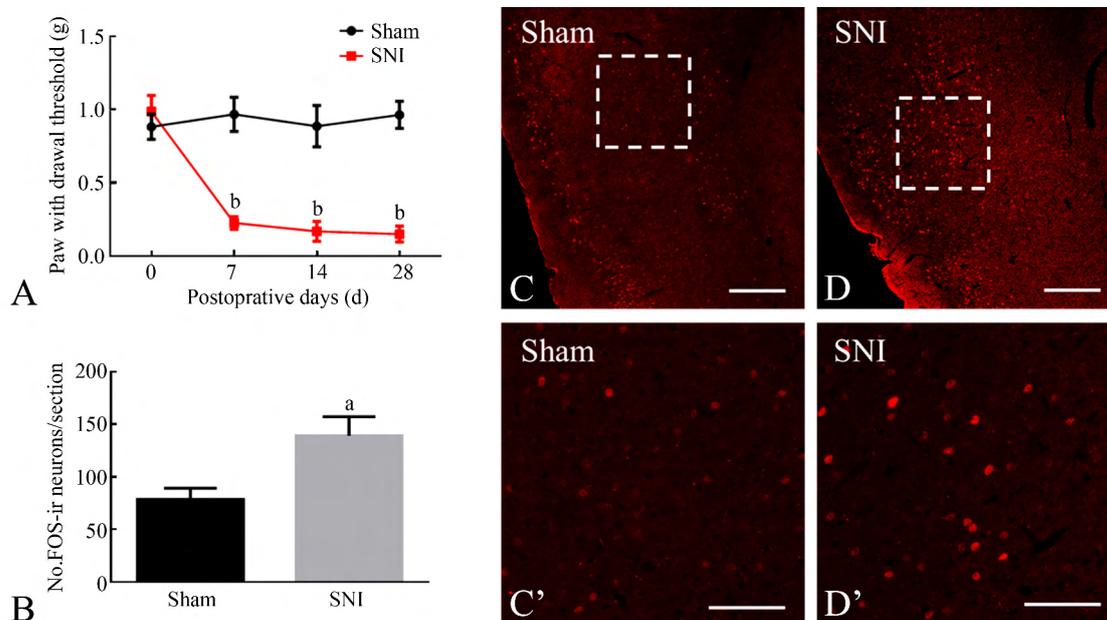


Fig. 1 Fluorescence microscope analysis of IC FOS expression in Sham and SNI mice. A: The trend of paw withdrawal threshold of mice after SNI or Sham operation, $n = 6$. B: Histogram of FOS expression, $n = 5$. C: Low power field of FOS immunostaining in Sham group. C': High power field of FOS immunostaining in Sham group. D: Low power field of FOS immunostaining in SNI group. D': High power field of FOS immunostaining in SNI group. $^a P < 0.05$ vs Sham; $^b P < 0.001$ vs Sham. Bar = 250 μm in C, D; 80 μm in C', D'.

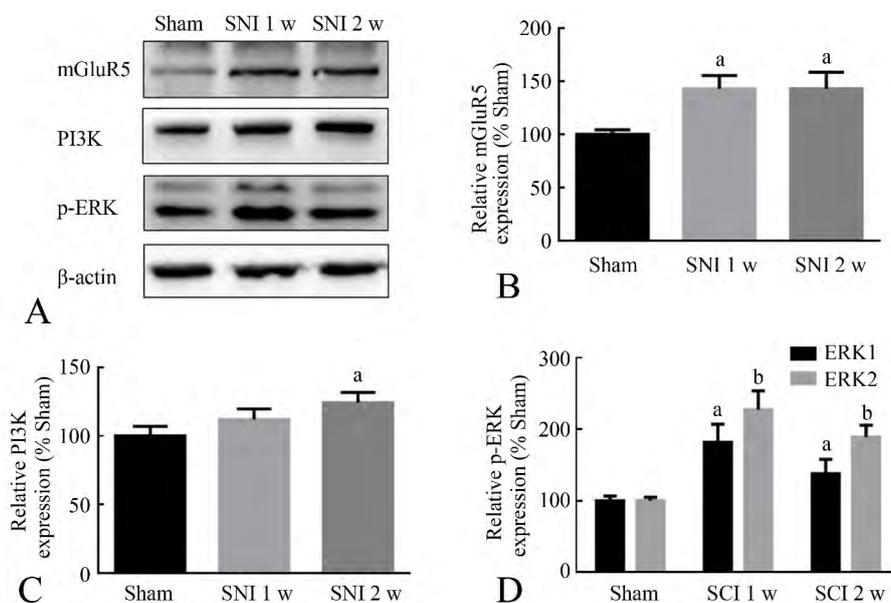


Fig. 2 The variation trend of mGluR5 and its downstream molecules expression. A: The expression of mGluR5, PI3K, p-ERK in Sham group and SNI group measured by Western Blot. B: Histogram of mGluR5 expression. C: Histogram of PI3K expression. D: Histogram of p-ERK expression. $n = 5$. $^a P < 0.05$ vs Sham, $^b P < 0.01$ vs Sham; $^c P < 0.001$ vs Sham.

3 岛叶皮质埋管注射 DHPG 可缓解神经病理性疼痛

二甲基六苯基乙炔基盐酸吡啶 [2-Methyl-6-(phenylethynyl) pyridine hydrochloride, MPEP] 是 mGluR5 的高选择性非竞争性拮抗剂, 二氢苯氧基甘氨酸 (dihydroxyphenylglycine, DHPG) 是 I 组 mGluRs 的选择性激动剂, 可同时激动 mGluR1 与 mGluR5。为了观察激动或拮抗岛叶皮质 mGluR5 对神经病理性疼痛的影响, 我们预先在小鼠岛叶皮质中埋置给药导管, 选取 SNI 或 Sham 术后 2 周的小鼠, 先通过

疼痛行为学检测小鼠机械痛阈的基础值, 之后通过预留的导管, 插入注射内管, 将生理盐水、5 $\mu\text{mol/L}$ 的 MPEP 或 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 DHPG 注射入双侧岛叶皮质中, 并通过疼痛行为学观察到: 给予生理盐水不会导致 SNI 组及 Sham 组小鼠痛阈变化 ($P > 0.05$), 而 DHPG 会导致 SNI 组小鼠痛阈上升 ($P < 0.05$), MPEP 则会导致 Sham 组痛阈下降 ($P < 0.05$, Fig3)。该结果说明, 激动岛叶皮质中 mGluR5 会缓解神经病理性疼痛, 而拮抗 mGluR5 则会导致疼痛发生。

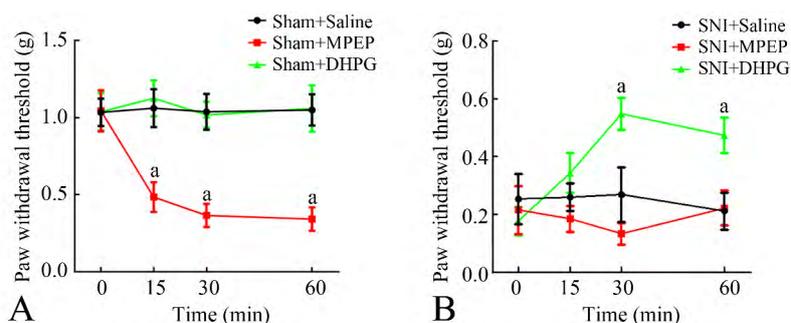


Fig. 3 The influence of DHPG and MPEP to the pain threshold of Sham or SNI mice. A: The variation trend of pain threshold after IC application of MPEP or DHPG in Sham mice. B: The variation trend of pain threshold after IC application of MPEP or DHPG in SNI mice. $n = 6$. ^a $P < 0.05$ vs Sham + Salin or SNI + Saline.

讨 论

神经病理性疼痛的发病机制复杂, 中枢敏化是其重要的发病机制之一^[3, 17]。IC 与 ACC 同样属于边缘系统。IC 接受多种信息的传入, 包括味觉、内脏及躯体的感觉刺激, 并可对这些信息刺激做出反应^[18]。现有研究发现, 吻侧 IC 参与调节与情绪相关的生理变化, 并接受从丘脑内侧核输入与痛觉有关的情感成分^[19]。而尾侧 IC 接受来自腹后下核和腹侧后核的痛觉和热感知传入神经^[20]。最近一项跟踪人类慢性疼痛演变过程的研究发现, 在许多与疼痛相关的区域中, 尾侧 IC 的激活程度最符合慢性疼痛的进展^[21]。在 IC 的子区尾侧颗粒细胞区 (caudal granular IC, CGIC) 已被证明是参与维持持续性疼痛的一个关键的部位, 损伤 CGIC 可以长期缓解大鼠的痛觉过敏现象^[22]。而我们在本实验中发现, SNI 后小鼠尾侧岛叶 AI 区 FOS 蛋白表达水平明显上升, 同时岛叶皮质的 mGluR5 也在神经病理性疼痛发生后出现升高。

岛叶皮质 mGluRs 是否参与神经病理性疼痛的调控, 目前尚无报道。近年研究发现, 不同类型的

mGluRs 在大脑痛觉相关核团中有广泛表达, 并且与伤害性感受与慢性疼痛的形成、维持密切相关^[23-26]。Liu 等^[12]通过 MED64 多通道场电位记录系统在幻肢痛小鼠模型上发现, 岛叶皮质的长时程抑制 LTD 效应受损, 而 I 组代谢型谷氨酸受体选择性激动剂 DHPG 可修复受损的 LTD, 而岛叶皮质的 LTD 为 mGluR5 依赖^[13]。这提示我们慢性疼痛发生时岛叶皮质呈去抑制状态, 而激动 mGluR5 可以逆转该现象。我们通过行为学发现, 岛叶局部应用 DHPG 可以针对神经病理性疼痛起到镇痛效应, 证实了 mGluR5 在岛叶皮质中对疼痛的负向调节作用。

目前针对神经病理性疼痛的治疗, 三环抗抑郁药 (tricyclic antidepressive agents, TCAs)、加巴喷丁、普瑞巴林、去甲肾上腺素和 5 羟色胺再摄取抑制剂 (serotonin reuptake inhibitors, SNRIs) 是治疗的一线药物, 而阿片类药物为二线药物^[27, 28]。然而, 高频的使用上述药物治疗可能导致多种中枢神经系统副作用^[29, 30]。而 mGluR5 作为治疗神经病理性疼痛性的靶点, 具有副作用小、无成瘾性等优点。因此, DHPG 作为临床上神经病理性疼痛的对症治疗药物, 具有良好的临床应用前景。

参 考 文 献

- [1] van Hecke O, Austin SK, Khan RA, *et al.* Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies [J]. *Pain*, 2014, 155: 654–662.
- [2] 于生元. 神经病理性疼痛[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2013, 13: 741–743.
- [3] Stanwell P, Siddall P, Keshava N, *et al.* Neuro magnetic resonance spectroscopy using wavelet decomposition and statistical testing identifies biochemical changes in people with spinal cord injury and pain [J]. *Neuroimage*, 2010, 53: 544–552.
- [4] 王 舰. 神经病理性痛刺激导致岛叶-杏仁基底外侧核通路发生的可塑性变化及机制研究[D]. 第四军医大学, 2016.
- [5] 张 明. 岛叶吻侧无颗粒细胞层大麻素受体1抑制神经病理性痛小鼠机械性诱发痛行为及其机制[D]. 第四军医大学, 2016.
- [6] Dietrich D, Beck H, Kral T, *et al.* Metabotropic glutamate receptors modulate synaptic transmission in the perforant path: pharmacology and localization of two distinct receptors [J]. *Brain Res*, 1997, 767: 220–227.
- [7] Chung G, Young KC, Yun YC, *et al.* Upregulation of prefrontal metabotropic glutamate receptor 5 mediates neuropathic pain and negative mood symptoms after spinal nerve injury in rats [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 9743.
- [8] Peterson CD, Kitto KF, Akgun E, *et al.* Bivalent ligand that activates mu opioid receptor and antagonizes mGluR5 receptor reduces neuropathic pain in mice [J]. *Pain*, 2017, 158: 2431–2441.
- [9] Vincent K, Cornea VM, Jong YJ, *et al.* Intracellular mGluR5 plays a critical role in neuropathic pain [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10604.
- [10] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, *et al.* Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. *J Neurosci Methods*, 1994, 53: 55–63.
- [11] Dixon WJ. The up-and-down method for small samples [J]. *J Am Stat Assoc*, 1965, 60: 967–978.
- [12] Liu MG, Zhuo M. Loss of long-term depression in the insular cortex after tail amputation in adult mice [J]. *Mol Pain*, 2014, 10: 1.
- [13] Liu MG, Koga K, Guo YY, *et al.* Long-term depression of synaptic transmission in the adult mouse insular cortex in vitro [J]. *Eur J Neurosci*, 2013, 38: 3128–3145.
- [14] Mao L. The scaffold protein homer1b/c links metabotropic glutamate receptor 5 to extracellular signal-regulated protein kinase cascades in neurons [J]. *J Neurosci*, 2005, 25: 2741–2752.
- [15] Karim F, Wang CC, Gereau RT. Metabotropic glutamate receptor subtypes 1 and 5 are activators of extracellular signal-regulated kinase signaling required for inflammatory pain in mice [J]. *J Neurosci*, 2001, 21: 3771–3779.
- [16] Cozzoli DK, Goulding SP, Zhang PW, *et al.* Binge drinking upregulates accumbens mGluR5-Homer2-PI3K signaling: functional implications for alcoholism [J]. *J Neurosci*, 2009, 29: 8655–8668.
- [17] Li XY, Ko HG, Chen T, *et al.* Alleviating neuropathic pain hypersensitivity by inhibiting PKMzeta in the anterior cingulate cortex [J]. *Science*, 2010, 330: 1400–1404.
- [18] Craig AD. How do you feel-now? The anterior insula and human awareness [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10: 59–70.
- [19] Jasmin L, Burkey AR, Granato A, *et al.* Rostral agranular insular cortex and pain areas of the central nervous system: a tract-tracing study in the rat [J]. *J Comp Neurol*, 2004, 468: 425–440.
- [20] Frot M, Mauguier F. Dual representation of pain in the operculo-insular cortex in humans [J]. *Brain*, 2003, 126: 438–450.
- [21] Lamm C, Decety J, Singer T. Meta-analytic evidence for common and distinct neural networks associated with directly experienced pain and empathy for pain [J]. *Neuroimage*, 2011, 54: 2492–2502.
- [22] Inui K, Tsuji T, Kakigi R. Temporal analysis of cortical mechanisms for pain relief by tactile stimuli in humans [J]. *Cereb Cortex*, 2006, 16: 355–365.
- [23] Ferraguti F, Shigemoto R. Metabotropic glutamate receptors [J]. *Cell Tissue Res*, 2006, 326: 483–504.
- [24] Chiechio S, Nicoletti F. Metabotropic glutamate receptors and the control of chronic pain [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2012, 12: 28–34.
- [25] Palazzo E, Marabese I, de Novellis V, *et al.* Supraspinal metabotropic glutamate receptors: a target for pain relief and beyond [J]. *Eur J Neurosci*, 2014, 39: 444–454.
- [26] Li W, Neugebauer V. Differential changes of group II and group III mGluR function in central amygdala neurons in a model of arthritic pain [J]. *J Neurophysiol*, 2006, 96: 1803–1815.
- [27] Attal N, Cruccu G, Baron R, *et al.* EFNS guidelines on the pharmacological treatment of neuropathic pain: 2010 revision [J]. *Eur J Neurol*, 2010, 17: 1113–1188.
- [28] Dworkin RH, O'Connor AB, Audette J, *et al.* Recommendations for the pharmacological management of neuropathic pain: an overview and literature update [J]. *Mayo Clin Proc*, 2010, 85: S3–S14.
- [29] Siddall PJ, Cousins MJ, Otte A, *et al.* Pregabalin in central neuropathic pain associated with spinal cord injury: a placebo-controlled trial [J]. *Neurology*, 2006, 67: 1792–1800.
- [30] Norrbrink C, Lundeberg T. Tramadol in neuropathic pain after spinal cord injury: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Clin J Pain*, 2009, 25: 177–184.

(收稿日期: 2018 - 04 - 20)