

网络出版时间: 2017-10-16 9:20 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20171016.0920.011.html>

## 鞘内注射 SAHA 对 M 型瞬时受体电位通道 2 介导小鼠慢性炎性痛的影响

尹盼盼<sup>1</sup>, 鲁显福<sup>1</sup>, 杨志来<sup>1</sup>, 张 蓉<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探讨鞘内注射辛二酰苯胺异羟肟酸(SAHA)对 M 型瞬时受体电位通道 2(TRPM2)介导小鼠慢性炎性痛的影响。方法 将雄性野生型(WT)小鼠和 TRPM2<sup>-/-</sup>小鼠各 32 只,按随机对照原则分为 8 组:WT 对照组(WT CON 组)、WT 溶媒组(WT DMSO 组)、WT 炎性痛组(WT CFA 组)、WT 炎性痛+SAHA 组(WT SAHA 组)、TRPM2<sup>-/-</sup>对照组(TRPM2<sup>-/-</sup> CON 组)、TRPM2<sup>-/-</sup>溶媒组(TRPM2<sup>-/-</sup> DMSO 组)、TRPM2<sup>-/-</sup>炎性痛组(TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组)、TRPM2<sup>-/-</sup>炎性痛+SAHA 组(TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA 组),每组 8 只。采用完全弗氏佐剂(CFA)40  $\mu$ l 于小鼠左后肢足底皮下注射建立慢性炎性痛模型,WT 和 TRPM2<sup>-/-</sup>的 SAHA 组于造模后 3~9 d 行为学测试后鞘内注射 50 mg/kg 的 SAHA,WT CON 组、WT CFA 组、TRPM2<sup>-/-</sup> CON 组、TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组 4 组注射等量生理盐水。WT 和 TRPM2<sup>-/-</sup>的 DMSO 组鞘内注射与 SAHA 等体积的 DMSO。分别测定小鼠的机械刺激伤害感受阈、辐射热刺激伤害感受阈及足爪的肿胀度。结果 TRPM2<sup>-/-</sup>小鼠在未造模前表现出正常的疼痛行为学反应,与 WT 小鼠差异无统计学意义。WT 和 TRPM2<sup>-/-</sup>小鼠鞘内注射 DMSO,其疼痛行为学指标与未注射前差异无统计学意义。WT CFA 组的机械刺激伤害感受阈和热刺激伤害感受阈均明显低于 WT CON 组( $P < 0.001$ ),WT SAHA 组在给予 SAHA 干预后,各种疼痛阈值显著升高,与 WT CFA 组比较差异有统计学意义( $P < 0.001$ );TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组机械刺激伤害感受阈和辐射热刺激伤害感受阈均明显高于 WT CFA 组,与 TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA 组比较差异无统计学意义。WT CFA 组足爪肿胀度造模后明显升高,与 WT CON 组、WT SAHA 组比较均差异有统计学意义( $P < 0.001$ );TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组足爪肿胀度明显低于 WT CFA 组( $P < 0.001$ ),与 TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA 比较差异无统计学意义。结论 TRPM2 参与小鼠慢性炎性痛的发生发展,鞘内注射 SAHA 可能改善 TRPM2 介导的慢性炎性痛。

**关键词** 慢性炎性痛;瞬时受体电位通道 2;辛二酰苯胺异羟肟酸

2017-07-21 接收

基金项目:国家自然科学基金青年基金(编号:81500949)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学第一附属医院麻醉科,合肥 230022<sup>2</sup>六安市人民医院麻醉科,六安 237000

作者简介:尹盼盼,女,硕士研究生;

鲁显福,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail: lxf0001@126.com

中图分类号 R 441.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)12-1795-05

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.12.011

瞬时感受器电位 2(transient receptor potential melastatin 2, TRPM2)是瞬时受体电位蛋白家族中的  $Ca^{2+}$  通透的非选择性阳离子通道,广泛存在于脑组织、脾、心、肺、胰腺  $\beta$  细胞、小胶质细胞、背根神经节和免疫细胞(如中性粒细胞、巨噬细胞、单核细胞)<sup>[1-2]</sup>,参与免疫和炎症性反应中<sup>[3-6]</sup>。炎症是一种常见的病理情况,在组织炎症时,病变部位可产生慢性持续性疼痛和痛觉过敏,不仅使患者感到不适或痛苦,并且可造成诸多生理功能障碍和精神疾病,如睡眠失调、抑郁症、注意力下降等。大量研究<sup>[4-7]</sup>证实 TRPM2 在炎性疼痛的发生过程中具有重要作用,但其上游调节机制目前尚未明确。表观遗传学是指对染色质进行可逆的化学修饰,并不改变染色体 DNA 序列的一种调节方式,乙酰化/去乙酰化是一种重要的表观遗传学修饰方式,与疼痛密切相关,主要作用于转录后调节水平。越来越多的证据表明抑制组蛋白乙酰化的药物在动物模型中具有镇痛作用,所以该研究中应用 II 类组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)抑制剂辛二酰苯胺异羟肟酸(suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA),通过 TRPM2<sup>-/-</sup>小鼠初步探究 TRPM2 在慢性炎性痛中的作用,及鞘内注射 SAHA 对 TRPM2 介导小鼠慢性炎性痛的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** C57BL/6J 品系的 WT 小鼠,雄性  $\delta$ ~8 周,18~22 g,由安徽医科大学动物实验动物中心提供;TRPM2<sup>-/-</sup>小鼠,雄性  $\delta$ ~8 周,18~22 g,浙江大学第一附属医院麻醉科方向明教授馈赠。所有小鼠置于 18~25  $^{\circ}$ C 室温下,相对湿度为 40%~60%,自由摄食饮水。

**1.1.2 主要仪器材料** 电子 Von Frey 压力测痛

仪、热辐射测痛仪、足趾容积测量仪(美国 IITC 公司);戊巴比妥钠(北京化学试剂公司);完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)、内含 0.1% 灭活结核杆菌、SAHA(美国 Sigma 公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 实验分组及建模方法** 雄性 WT 小鼠及 TRPM2<sup>-/-</sup>小鼠各 32 只,所有操作经过安徽医科大学实验动物伦理委员会审批。在测定基础伤害感受阈值后,分别随机分为 4 组共 8 组,即:WT 对照组(WT CON 组)、WT 溶媒组(WT DMSO 组)、WT 炎性痛组(WT CFA 组)、WT 炎性痛 + SAHA 组(WT SAHA 组);TRPM2<sup>-/-</sup>对照组(TRPM2<sup>-/-</sup> CON 组)、TRPM2<sup>-/-</sup>溶媒组(TRPM2<sup>-/-</sup> DMSO 组)、TRPM2<sup>-/-</sup>炎性痛组(TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组)、TRPM2<sup>-/-</sup>炎性痛 + SAHA 组(TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA 组),每组 8 只。由于相关研究<sup>[8]</sup>已经证明正常小鼠鞘内注射 SAHA 对小鼠的疼痛行为学没有明显影响,因此未作分组。WT CFA 组和 TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组采用 CFA 40  $\mu$ l 于小鼠左后肢足底皮下注射,WT 和 TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA 组于造模 3 d 后给予 50 mg/kg SAHA 鞘内注射,而 WT 和 TRPM2<sup>-/-</sup> DMSO 组采用与 SAHA 等体积的量于正常小鼠鞘内注射,连续注射 9 d。每组均在术后 9 d 连续观察小鼠的一般状态,术后第 3 天开始进行行为学测定。

**1.2.2 观察小鼠状态和活动度** 造模后每天观察小鼠的精神状态及左足的变化情况,如足趾有无红、肿,注射部位有无感染或渗液等。让小鼠自由活动,观察其步态和左后肢姿势,及是否存在舔咬肢体、运动障碍等情况。

**1.2.3 机械刺激伤害感受阈值测定** 安静环境下,将小鼠置于底为 0.5 cm  $\times$  0.5 cm 孔径的铁丝网的透明有机玻璃箱中,适应 30 min,待安静后,将电子 von Frey 压力测痛仪垂直正确安置在测定架上,空载条件下调零,以恒定速率连续递增的压力触及小鼠左足底跖侧皮肤至抬腿或主动缩足,观察最大折力数据(用 g 表示),即为机械缩足阈值<sup>[9]</sup>。每只小鼠测定 3 次,取平均值,两次间隔 5 min。

**1.2.4 辐射热刺激伤害感受阈值测定** 安静环境中,将小鼠放置在底部为光滑玻璃的有机玻璃观察室内,适应 30 min,待小鼠安静后,使辐射热源的红外光束聚焦于小鼠左后肢足底皮肤的中心,直至小鼠出现缩爪反应,缩爪反应时间即小鼠缩爪潜伏期。设定切断时间为 20 s,以免小鼠被烫伤。每只小鼠测定 3 次,取平均值,两次刺激间隔 5 min。

**1.2.5 足爪肿胀度测定** 造模前,用足趾容积测量仪测定每只小鼠左后足的容积,作为基础值。从造模后第 1 天开始每天测定该足爪的容积,直到第 9 天为止。每只小鼠每次测量 3 次,取平均值。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较采用 *t* 检验,组内比较采用重复测量资料方差分析(repeated measures data of ANOVA)。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 小鼠日常行为变化** WT CFA 组与 TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组建模后小鼠健康状况良好,饮食基本正常,探索、直立等自主活动明显减少,患肢出现保护性动作,如经常舔足,刺激左足掌会出现快速的趋避反应。

**2.2 机械刺激伤害感受阈值变化** WT CON 组与 TRPM2<sup>-/-</sup> CON 组小鼠机械痛阈值比较差异无统计学意义;正常的 WT 和 TRPM2<sup>-/-</sup> 小鼠在给予 DMSO 注射后其机械刺激阈值的变化与未注射前比较差异无统计学意义。WT CFA 组小鼠左足爪的机械痛阈值在造模后逐渐降低,并在第 3 天达到最低值,维持 5~8 d 左右,明显低于 WT CON 组( $P < 0.001$ );经 SAHA 处理后,小鼠的机械痛得到明显缓解( $P < 0.001$ )。TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组小鼠的机械痛阈值明显低于 TRPM2<sup>-/-</sup> CON 组,但仍显著高于 WT CFA 组( $P < 0.001$ ),表明 TRPM2 在小鼠的炎性疼痛的发生过程中发挥重要作用。TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组小鼠的机械痛阈值与 TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA 组比较差异无统计学意义,表明 SAHA 可能是通过 TRPM2 发挥其缓解机械痛的作用(表 1)。

**2.3 热刺激伤害感受阈值变化** WT CON 组与 TRPM2<sup>-/-</sup> CON 组小鼠热辐射痛阈值比较差异无统计学意义;正常的 WT 和 TRPM2<sup>-/-</sup> 小鼠在给予 DMSO 注射后其热辐射痛阈值的变化与未注射前比较差异无统计学意义。WT CFA 小鼠热辐射痛阈值造模后呈下降趋势,于第 3 天达最低值,与 WT CON 组比较,表现出明显的热痛觉过敏( $P < 0.001$ );在 SAHA 组,疼痛明显减轻。TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组的热辐射痛阈值在造模后仍显著高于 WT CFA 组( $P < 0.001$ ),与 TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA 组比较差异无统计学意义,表明 TRPM2 在小鼠的炎性疼痛的发生过程中发挥重要作用,并且 SAHA 可能是通过 TRPM2 发挥其缓解热辐射痛的作用(表 2)。

表1 各组小鼠机械刺激伤害感受阈值变化( $n=8 \bar{x} \pm s$ )

组别	术前1 d	术后1 d	术后3 d	术后5 d	术后7 d	术后9 d
WT CON	7.99 ± 0.21	8.23 ± 0.37	8.04 ± 0.25	8.01 ± 0.17	8.12 ± 0.18	8.31 ± 0.40
WT DMSO	7.95 ± 0.24	8.09 ± 0.28	8.02 ± 0.26	8.06 ± 0.28	8.04 ± 0.25	8.18 ± 0.21
WT CFA	8.05 ± 0.26	3.63 ± 0.46*	1.93 ± 0.40*	2.38 ± 0.56*	3.15 ± 0.72*	3.55 ± 0.49*
WT SAHA	8.17 ± 0.28	3.82 ± 0.63	2.24 ± 0.33	5.01 ± 0.23 <sup>#</sup>	6.07 ± 0.35 <sup>#</sup>	6.37 ± 0.39 <sup>#</sup>
TRPM2 <sup>-/-</sup> CON	8.06 ± 0.37	7.91 ± 0.61	8.00 ± 0.35	7.93 ± 0.27	7.97 ± 0.23	8.12 ± 0.24
TRPM2 <sup>-/-</sup> DMSO	8.11 ± 0.38	8.06 ± 0.37	8.20 ± 0.25	8.09 ± 0.25	8.02 ± 0.20	8.06 ± 0.19
TRPM2 <sup>-/-</sup> CFA	8.06 ± 0.23	4.49 ± 0.51 <sup>#</sup>	3.96 ± 0.29 <sup>#</sup>	5.37 ± 0.31 <sup>#</sup>	5.97 ± 0.31 <sup>#</sup>	6.14 ± 0.28 <sup>#</sup>
TRPM2 <sup>-/-</sup> SAHA	7.96 ± 0.40	4.63 ± 0.39	4.29 ± 0.38	5.64 ± 0.38	6.23 ± 0.54	6.78 ± 0.40
F 值	0.472	145.824	456.846	340.216	171.272	184.994
P 值	0.851	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

与 WT CON 组比较: \*  $P < 0.001$ ; 与 WT CFA 组比较: <sup>#</sup>  $P < 0.001$ 表2 各组小鼠热刺激伤害感受阈值变化( $n=8 \bar{x} \pm s$ )

组别	术前1 d	术后1 d	术后3 d	术后5 d	术后7 d	术后9 d
WT CON	12.25 ± 0.42	12.38 ± 0.55	12.35 ± 0.71	12.66 ± 0.65	12.03 ± 0.63	12.13 ± 0.60
WT DMSO	12.38 ± 0.40	12.72 ± 0.56	12.22 ± 0.70	12.49 ± 0.60	12.53 ± 0.70	12.82 ± 0.71
WT CFA	12.18 ± 0.85	4.62 ± 0.66*	3.05 ± 0.41*	5.07 ± 1.24*	6.59 ± 0.65*	6.84 ± 0.59*
WT SAHA	12.21 ± 0.57	4.73 ± 0.62	3.06 ± 0.21	9.41 ± 0.88 <sup>#</sup>	10.61 ± 0.46 <sup>#</sup>	11.03 ± 0.49 <sup>#</sup>
TRPM2 <sup>-/-</sup> CON	12.26 ± 0.40	12.57 ± 0.38	12.16 ± 0.81	12.74 ± 0.25	12.67 ± 0.48	12.62 ± 0.55
TRPM2 <sup>-/-</sup> DMSO	12.46 ± 0.48	12.46 ± 0.52	12.67 ± 0.72	12.39 ± 0.45	12.43 ± 0.53	12.32 ± 0.46
TRPM2 <sup>-/-</sup> CFA	12.60 ± 1.27	9.36 ± 0.94 <sup>#</sup>	9.60 ± 1.00 <sup>#</sup>	10.43 ± 0.60 <sup>#</sup>	12.06 ± 0.87 <sup>#</sup>	12.28 ± 0.89 <sup>#</sup>
TRPM2 <sup>-/-</sup> SAHA	12.25 ± 0.98	9.17 ± 0.58	9.38 ± 0.66	11.82 ± 0.66	12.14 ± 0.62	12.25 ± 0.40
F 值	0.317	180.002	304.426	93.823	84.740	80.699
P 值	0.943	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

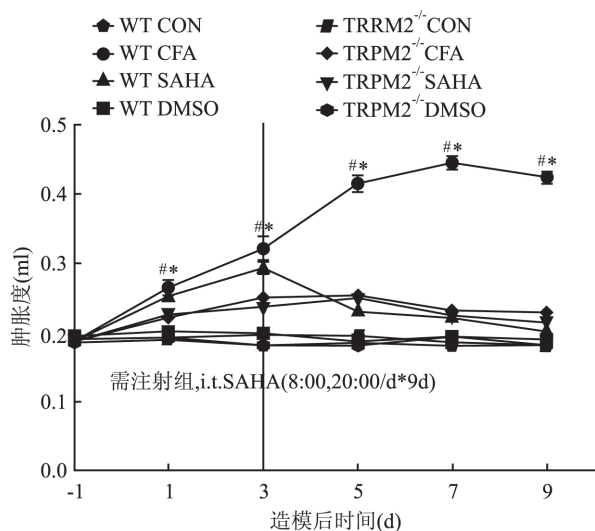
与 WT CON 组比较: \*  $P < 0.001$ ; 与 WT CFA 组比较: <sup>#</sup>  $P < 0.001$ 

图1 各组小鼠足爪肿胀度变化趋势

与 WT CON 组比较: \*  $P < 0.001$ ; 与 TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA 组比较: <sup>#</sup>  $P < 0.001$ 

**2.4 左后肢足爪肿胀度变化** 造模后数小时,小鼠左足即出现明显的红肿现象。其中 WT CFA 组的足爪肿胀度明显高于 WT CON 组和 WT DMSO 组 ( $P < 0.001$ )。SAHA 处理后,小鼠的足爪肿胀度与 WT CFA 组相比有显著缓解 ( $P < 0.001$ )。而 TR-

PM2<sup>-/-</sup> CFA 组的足爪肿胀度明显低于 WT CFA 组 ( $P < 0.001$ )。与 TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA 组比较差异无统计学意义。表明 TRPM2 在小鼠炎症痛的炎症反应方面发挥了重要作用,而 SAHA 可能是通过调节 TR-PM2 来缓解炎症疼痛(图1)。

### 3 讨论

大量研究<sup>[7,10]</sup>已经证明,TRPM2 作为 TRP 家族的一种非选择性阳离子通道,可以增加  $Ca^{2+}$  内流,提高细胞兴奋水平,从而促进巨噬细胞合成和释放各种炎症因子,以及激活中性粒细胞对化学趋化物的反应,加重炎症反应。Haraguchi et al<sup>[7]</sup>研究也证明,TRPM2 可以通过促进趋化因子配体 2 的生成,趋化中性粒细胞的渗透从而增强促伤害性炎症反应。在各种致炎物质导致的炎症痛和外周神经损伤的神经病理性痛中发挥重要作用。本实验中,通过建立慢性炎症痛小鼠模型,比较 TRPM2<sup>-/-</sup> 小鼠和野生型小鼠的行为学差异,结果显示在造模前,TR-PM2<sup>-/-</sup> CON 组小鼠无论是机械刺激伤害感受阈值、热刺激伤害感受阈值还是足爪肿胀度与 WT CON 组比较均差异无统计学意义,表明 TRPM2 基

因缺失小鼠在未致炎时表现出正常的疼痛行为学反应;致炎后,WT CFA 组机械刺激伤害感受阈值和热刺激伤害感受阈值与 WT CON 组比较均明显降低,足爪肿胀度则明显高于 WT CON 组,而 TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组各种行为学变化与 WT CFA 组相比有明显减轻,说明 TRPM2 参与介导了小鼠慢性炎性痛的发生,其基因缺失可以减轻小鼠的疼痛反应。近期研究<sup>[11]</sup>证明功能性的 TRPM2 主要在脊髓的背根神经节神经元上表达,虽然 TRPM2 也在大脑的其他神经元和组织表达,但其并不参与急性机械刺激和热伤害刺激疼痛信号的形成。所以在造模后,TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组的机械伤害感受阈值和热刺激伤害感受阈值与 TRPM2<sup>-/-</sup> CON 组比较明显下降,急性炎症阶段可能与直接激活初级感觉神经元上的瞬时受体电位 A1 有关,后期阈值降低可能由其他致炎因素引起,说明慢性炎性疼痛产生的机制复杂,不完全由 TRPM2 介导引起。

近年来,对于病理性疼痛的研究<sup>[12]</sup>越来越聚焦于表观遗传调节上,并且证实了病理性疼痛的发生发展确实与表观遗传调节有关。表观遗传学是指染色质进行可逆性的化学修饰及高级结构的重塑,以达到调节基因的活动,主要调节机制包括组蛋白乙酰化/去乙酰化、组蛋白磷酸化/去磷酸化以及 DNA 甲基化/去甲基化等。其中组蛋白的乙酰化和去乙酰化修饰是基因表达调控最主要的驱动力,这一可逆过程主要是由组蛋白乙酰基转移酶和 HDACs 共同参与调节。基于酵母种系发育中的不同 HDACs 结构同源性分析,真核生物 HDACs 被分为 4 类:Ⅰ类(HDAC1、2、3 和 8)、Ⅱ类(Ⅱa:HDAC4、5、7、9;Ⅱb:HDAC6 和 10)、Ⅲ类(sirtuin1-7)、Ⅳ类(HDAC11)。研究<sup>[13]</sup>证明Ⅱ类组蛋白去乙酰化酶与炎性痛有着密切关系。本课题组前期实验<sup>[14]</sup>已初步显示,鞘内注射 HDACs 抑制剂如丙戊酸钠和选择性的沉默调节蛋白 2 抑制剂,均能减轻慢性炎性痛的痛觉过敏。SAHA 作为Ⅰ类和Ⅱ类 HDACs 特异性的抑制剂,本实验中,在给予 SAHA 干预后,WT SAHA 组的疼痛行为学变化及足爪肿胀度均得到显著改善,且差异有统计学意义,说明 SAHA 可能通过改变组蛋白乙酰化水平,调控下游分子靶点,改善了小鼠的疼痛反应;而 TRPM2 基因缺失小鼠给予 SAHA 处理后行为学没有明显变化,说明鞘内注射 SAHA 改善疼痛反应可能是通过调节 TRPM2 离子通道起作用,由于 WT SAHA 组和 TRPM2<sup>-/-</sup> CFA 组的行为学均有所改善,SAHA 和 TRPM2 也可能是通

过不同的机制平行抑制 CFA 诱导的炎性痛,两者之间的联系还需要通过观察相关目的基因指标变化来证实。

综上所述,本研究结果证实了 TRPM2 参与介导慢性炎性痛的发生发展,鞘内注射 SAHA 可以显著改善正常小鼠的疼痛行为,对 TRPM2 基因缺失小鼠的疼痛行为改善不明显,通过观察行为学改变,SAHA 可能是通过调节 TRPM2 发挥镇痛作用,本研究不足之处就在于未深入观察相关目的基因在转录和蛋白水平的变化。在接下来的实验中会深入探讨 TRPM2 参与慢性炎性痛的详细机制,及其与表观遗传调控的关系。

### 参考文献

- [1] Nazroglu M, Çelik Ö, Özgül C, et al. Melatonin modulates wireless (2.45 GHz)-induced oxidative injury through TRPM2 and voltage gated Ca(2+) channels in brain and dorsal root ganglion in rat [J]. *Physiol Behav*, 2012, 105(3): 683-92.
- [2] Sun L, Yau H Y, Wong W Y, et al. Role of TRPM2 in H(2)O(2)-induced cell apoptosis in endothelial cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43186.
- [3] Miyake T, Shirakawa H, Kusano A, et al. TRPM2 contributes to LPS/IFNγ-induced production of nitric oxide via the p38/JNK pathway in microglia [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 444(2): 212-7.
- [4] Zhong Z, Zhai Y, Liang S, et al. TRPM2 links oxidative stress to NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1611.
- [5] Kashio M, Sokabe T, Shintaku K, et al. Redox signal-mediated sensitization of transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) to temperature affects macrophage functions [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(17): 6745-50.
- [6] So K, Haraguchi K, Asakura K, et al. Involvement of TRPM2 in a wide range of inflammatory and neuropathic pain mouse models [J]. *J Pharmacol Sci*, 2015, 127(3): 237-43.
- [7] Haraguchi K, Kawamoto A, Isami K, et al. TRPM2 contributes to inflammatory and neuropathic pain through the aggravation of pronociceptive inflammatory responses in mice [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(11): 3931-41.
- [8] Bai G, Wei D, Zou S, et al. Inhibition of class II histone deacetylases in the spinal cord attenuates inflammatory hyperalgesia [J]. *Mol Pain*, 2010, 6: 51.
- [9] 汤黎黎, 陈家骅, 鲁显福, 等. 脊髓水平 TRPM8 激活参与疼痛-瘙痒共病的研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 49(11): 1562-5.
- [10] Chung M K, Asgar J, Lee J, et al. The role of TRPM2 in hydrogen peroxide-induced expression of inflammatory cytokine and chemokine in rat trigeminal ganglia [J]. *Neuroscience*, 2015, 297: 160-9.
- [11] Nazroglu M, Özgül C, Çelik Ö, et al. Aminoethoxydiphenyl borate

- and flufenamic acid inhibit  $\text{Ca}^{2+}$  influx through TRPM2 channels in rat dorsal root ganglion neurons activated by ADP-ribose and rotenone[J]. *J Membr Biol*, 2011, 241(2):69–75.
- [12] Uchida H, Matsushita Y, Ueda H. Epigenetic regulation of BDNF expression in the primary sensory neurons after peripheral nerve injury: implications in the development of neuropathic pain[J]. *Neuroscience*, 2013, 240: 147–54.
- [13] Poralla L, Stroth T, Erben U, et al. Histone deacetylase 5 regulates the inflammatory response of macrophages[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(9):2162–71.
- [14] 高洁, 鲁显福, 陈家骅, 等. 丙戊酸钠参与脊髓水平疼痛-瘙痒调控的研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2015, 50(10): 1418–21.

## Effect of intrathecal injection of SAHA on chronic inflammatory pain in mice mediated by transient receptor potential melastatin 2

Yin Panpan, Lu Xianfu, Yang Zhilai, et al

(Dept of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract Objective** To explore the effect of intrathecal injection of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) on chronic inflammatory pain in mice mediated by transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2). **Methods** 32 specific pathogen free (SPF) male wild type (WT) mice and 32 TRPM2<sup>-/-</sup> male mice were randomly divided into 8 groups: WT control group (WT CON), WT solvent group (WT DMSO), WT inflammatory pain group (WT CFA), WT inflammatory pain + SAHA group (WT SAHA), TRPM2<sup>-/-</sup> control group (TRPM2<sup>-/-</sup> CON), TRPM2<sup>-/-</sup> solvent group (TRPM2<sup>-/-</sup> DMSO), TRPM2<sup>-/-</sup> inflammatory pain group (TRPM2<sup>-/-</sup> CFA), and TRPM2<sup>-/-</sup> inflammatory pain + SAHA group (TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA) ( $n = 8$  each). Inflammatory pain model was induced by intraplantar injection with 40  $\mu\text{l}$  of complete Freund's adjuvant (CFA) into the plantar surface of the left hind paw. WT SAHA group and TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA group received intrathecal injection of SAHA 50 mg/kg each morning after nociceptive testing. The mice received the same volume saline treatment in the WT CON group, WT CFA group, TRPM2<sup>-/-</sup> CON group and TRPM2<sup>-/-</sup> CFA group. The WT DMSO group and TRPM2<sup>-/-</sup> DMSO group received intrathecal injection of the same volume DMSO treatment with SAHA group. The 50% paw withdrawal threshold, the paw withdrawal thermal latency and paw edema were measured after injection of CFA, respectively. **Results** The TRPM2<sup>-/-</sup> mice showed normal sensitivity to mechanical and thermal stimuli compared with WT mice. After receiving intrathecal injection DMSO in WT and TRPM2<sup>-/-</sup> mice, the changes of behavior had no significant difference compared with CON group. In WT mice, the 50% paw withdrawal threshold and paw withdrawal thermal latency in WT CFA was attenuated compared with that in WT CON, WT SAHA group ( $P < 0.001$ ); The paw edema of WT CFA group was significantly higher than that in WT CON, WT SAHA group ( $P < 0.001$ ). In TRPM2<sup>-/-</sup> mice, the 50% paw withdrawal threshold and paw withdrawal thermal latency were significantly higher than that in WT CFA group ( $P < 0.001$ ), and there were no significant difference in the behavioral responses between TRPM2<sup>-/-</sup> CFA and TRPM2<sup>-/-</sup> SAHA group. The paw edema of inflammatory pain group was significantly lower than that in WT inflammatory pain group ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** The chronic inflammatory pain development is mediated by TRPM2, and intrathecal injection of SAHA may improve the expression of TRPM2 in the chronic inflammatory pain.

**Key words** chronic inflammatory pain; transient receptor potential melastatin 2; suberoylanilide hydroxamic acid