

缓激肽、离子通道与炎症性疼痛

刘伯一, 张海林*

(河北医科大学基础医学院药理学教研室, 河北 石家庄 050017)

摘要: 机体损伤或发生炎症时, 受损或者发炎的组织释放诸多炎症介导因子。缓激肽是一种重要的炎症介导因子, 在介导炎症性疼痛方面发挥重要作用。众所周知, 痛觉的产生依赖于痛觉感受器表面分布的诸多离子通道的参与。近年来的研究显示, 缓激肽在调控这些痛觉相关离子通道的功能与表达方面发挥重要作用, 因此本文就缓激肽对痛觉相关离子通道调控作用的研究进展进行总结, 并探讨治疗炎症性疼痛的未来方向。

关键词: 缓激肽; 离子通道; 炎症性疼痛

中图分类号: R963

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 10-1066-06

Bradykinin modulates ion channel in inflammatory pain

LIU Bo-yi, ZHANG Hai-lin*

(Department of Pharmacology, School of Basic Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract: Injury or inflammation induces release of a range of inflammatory mediators. Bradykinin is one of the most important inflammatory mediators and plays a crucial role in mediating inflammatory pain. It is well known that multiple ion channels located in the nociceptors participate in pain sensation. Recent studies demonstrate an important role of bradykinin in regulating the function and expression of pain-related ion channels. This paper summarizes the recent advances in the understanding of the role of bradykinin in modulation of the channels and discusses future possibilities in the treatment of inflammatory pain.

Key words: bradykinin; ion channel; inflammatory pain

外周感觉神经系统中, 感受和传递痛觉信息的初级感觉神经元的外周部分称为痛觉感受器, 在形态学上是无特化的游离神经末梢。当人体受到痛觉刺激后, 由这些痛觉感受器兴奋产生的神经冲动会经外周感觉神经纤维传至三叉或背根神经节, 经换元后传至脊髓的背角, 然后经一定的上传通路传至大脑中枢部位, 从而引起伤害性感受和疼痛。痛觉感受器的一个最明显特点就是能被受损组织、炎症以及代谢性应激情况下所释放的炎症介导因子所增敏, 其中这些炎症介导因子包括: 缓激肽、神经生长因子、ATP、前列腺素以及质子等。当机体产生炎症后, 由

炎症部位所释放的炎症介导因子会启动一系列信号转导通路, 激活或增敏位于痛觉感受器末端表面的相关离子通道或某些促离子型受体, 使痛觉感受器兴奋, 产生动作电位, 从而引起疼痛。

在参与炎症性疼痛产生的众多炎症介导因子中, 缓激肽是其中重要的一种炎症介导因子。它是由激肽原在机体遭受组织损伤、缺氧、炎症等病理刺激时, 在激肽释放酶的作用下转化而成的。缓激肽作用非常广泛, 它除了参与平滑肌收缩、腺体分泌等作用外, 还能增敏感觉神经元并引发炎症反应, 尤其在痛觉产生过程中具有重要意义。炎性痛、类风湿痛以及由缺氧引发的痛觉都伴有缓激肽浓度的升高^[1]。

虽然缓激肽是目前已知的最强致痛物质及重要的炎症介导因子, 但目前对其引发炎症性疼痛的确切分子机制并没有得到完全阐明。众所周知, 痛觉与

收稿日期: 2009-03-04.

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目 (30730031); 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 资助项目 (2006AA02Z183).

*通讯作者 Tel: 86-311-86265562, Fax: 86-311-86057291,

E-mail: zhanghl@hebmu.edu.cn

感觉神经元的兴奋性密切相关, 而神经元兴奋性又受到存在于其表面的众多离子通道和一些促离子型受体的调控。因此本文拟对由缓激肽所引发的与炎症性疼痛密切相关的离子通道及促离子型受体的调控作用进行总结。

1 TRPV1 通道

TRPV1 通道属于瞬时感受器电位离子通道(transient receptor potential ion channel, TRP) 家族的一员, 是由 Caterina 等^[2]于 1997 年在大鼠的背根神经节中首次克隆的。TRPV1 是一种非选择性阳离子通道, 但对二价离子(如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等) 的通透性要明显大于一价离子(如 Na^{+} 、 K^{+} 等)^[3]。TRPV1 通道蛋白的组织分布非常广泛, 尤其在外周感觉神经系统中具有较多分布^[3]。目前研究表明, TRPV1 通道蛋白可被多种外源或内源性介质增敏或激活, 这些介质主要包括辣椒素、热 ($> 42\text{ }^{\circ}\text{C}$)^[2]、酸性或碱性 pH 值^[4]等。TRPV1 的主要生理功能是感受热、痛等伤害性刺激。基因敲除实验证实, TRPV1 通道的敲除能明显缓解小鼠的炎症性热痛过敏, 并且小鼠对炎症性疼痛表现的不敏感^[5], 因此人们认为 TRPV1 与炎症疼痛过程密切相关^[6]。

研究表明, TRPV1 通道的功能与表达水平可被多种炎症介导因子所调控, 而缓激肽在其中扮演重要角色。早在 1999 年, Cesare 等^[7]就发现缓激肽可以增敏在背根神经元中的一种可被热温度 ($> 42\text{ }^{\circ}\text{C}$) 激活的内向离子电流, 而这种内向离子电流其实就是由 TRPV1 通道所介导的。而 Cesare 等^[8]的研究进一步表明, 缓激肽的这种增敏 TRPV1 通道的效应可以被佛波酯(PMA) 直接激活蛋白激酶 C(PKC) 所模拟。而且在背根神经元中, 他们又观察到了缓激肽能够引发 $\text{PKC}\epsilon$ 从胞浆到胞膜的转位, 这表明 $\text{PKC}\epsilon$ 在缓激肽增敏 TRPV1 通道的作用中可能起到关键作用。Sugiura 等^[9]的实验结果又进一步证实, 缓激肽 B_2 受体所介导的磷脂酶 C(PLC) / $\text{PKC}\epsilon$ 信号通路在其增敏 TRPV1 通道过程中发挥了重要作用。而接下来的一系列分子生物学实验证据显示, $\text{PKC}\epsilon$ 能够磷酸化位于 TRPV1 通道上 502 位与 800 位的丝氨酸位点, 从而引起通道的增敏^[10]。而最近的研究又将缓激肽等炎症介导因子调控 TRPV1 通道的作用从 $\text{PKC}\epsilon$ 进一步推向了由下游支架蛋白 AKAP79/150 所构成的通道-激酶信号复合物^[11]。

当人们逐渐发现细胞膜磷脂 PIP_2 对离子通道的重要调控作用后, Chuang 等^[12]针对缓激肽对 TRPV1

通道的增敏作用, 又从 PIP_2 与通道结合情况的角度对缓激肽增敏 TRPV1 通道的现象提出了完全不同的解释。他们的实验证明, 如果使用 PIP_2 的抗体或者外源性给予 PLC 来降低细胞膜 PIP_2 水平, 同样能达到增敏 TRPV1 通道的作用, 因而缓激肽可能通过激动 B_2 受体, 激活 PLC, 水解 PIP_2 之后, 产生增敏 TRPV1 通道的作用。因此 Chuang 等推断 PIP_2 对 TRPV1 通道应该具有抑制作用, 在正常情况下, 通道在 PIP_2 的抑制作用下不开放, 但是当缓激肽等炎症介导因子作用于其相应受体, 引发 PLC 激活, 水解 PIP_2 之后, 便去除 PIP_2 对 TRPV1 通道原先的抑制作用, 从而使通道增敏。虽然 Chuang 等随后又通过生化实验进一步指出了 PIP_2 与 TRPV1 通道的作用部位位于通道 C 末端的某一位点^[13], 然而上述结论的得出仍具有一定的间接性。随后更为直接的电生理实验证据显示, 在膜内面向外膜片钳模式记录下, PIP_2 对 TRPV1 通道具有直接激活作用而不是抑制作用^[14]。因此目前在利用 PIP_2 解释缓激肽等炎症介导因子对 TRPV1 通道的增敏作用方面还存在很多的争论^[15]。

缓激肽除了能对 TRPV1 通道具有增敏作用外, 有些实验证据还显示缓激肽甚至能直接激活 TRPV1 通道。Shin 等^[16]的研究显示, 缓激肽能在一定比例(约 10%) 的背根神经元中引起明显的内向离子电流, 而这种电流能被 TRPV1 通道的特异性阻断剂 capsaizepine 所阻断, 进一步的实验证据显示, 缓激肽能通过 PIP_2 /磷脂酶 A_2 /脂氧化酶信号途径激活 TRPV1 通道。随后 Wu 和 Pan^[17]的实验表明, 缓激肽对 TRPV1 通道的这种直接激活作用, 是缓激肽引发背根神经元兴奋性增高的重要原因。因此由缓激肽所引发的 TRPV1 通道的激活与增敏现象很有可能参与了其所引发的炎症性疼痛过程。

2 TRPA1 通道

TRPA1 与 TRPV1 类似, 同属于 TRP 通道家族, 是由 Story 等^[18]在 2003 年首次发现的。TRPA1 通道最主要的生物学特征就是感知多种化学刺激物以及环境污染物的刺激, 这些物质包括异硫氰酸盐^[19]、丙烯醛、细胞内碱化^[20]和过氧化物^[21]等。据最近的一项研究证实, 经典的福尔马林致痛反应是由 TRPA1 通道所介导的。在这项研究中, McNamara 等^[22]发现福尔马林能够引起背根神经元中 TRPA1 通道的开放, 并且如果在整体动物水平使用 TRPA1 通道的特异性阻断剂, 或者对 TRPA1 通道实施基因敲除后, 均能显著抑制福尔马林所引起动物的双相痛觉过程。因此

TRPA1 通道在痛觉产生方面所发挥的功能与作用也正在被人们所逐渐认识^[23]。

在外周感觉神经元中, TRPA1 仅在部分 TRPV1 通道阳性表达的神经元中有分布^[18], 而且 TRPA1 基因敲除后能显著降低缓激肽所引发的小鼠热痛过敏现象, 并且明显降低缓激肽对其感觉神经元的兴奋作用^[24]。关于缓激肽对 TRPA1 通道的调控作用, Bandell 等^[25]发现, 缓激肽能通过其 B₂受体和 PLC 而激活表达于 CHO 细胞中的 TRPA1 通道。而在背根神经元中, Wang 等^[26]的实验又发现, 缓激肽可通过其 B₂受体激活 PLC 与 PKA 两条信号通路达到增敏 TRPA1 通道的作用, 而且缓激肽的这一增敏作用在整体动物行为学测试中也得到了验证。因此 TRPA1 通道在介导缓激肽所引发的炎症性疼痛方面很可能发挥重要作用。

虽然目前越来越多的实验证据显示 TRPV1 与 TRPA1 通道在介导缓激肽 (或其他炎症介导因子) 所引发的炎症性疼痛方面发挥着重要作用, 然而上述通道基因敲除后的小鼠仍能表现出对缓激肽相当的敏感性, 因此说明肯定还存在其他机制 (或离子通道), 与 TRPV1 与 TRPA1 通道一起共同参与了缓激肽所引发的炎症性痛觉作用^[27]。

3 P2X₃受体

P2X 是一类由 ATP 介导的促离子型受体, 目前已经有 7 种不同的 P2X 亚单位 (P2X₁₋₇) 被成功克隆。P2X 受体具有两次跨膜结构域, 构成对 Ca²⁺具有较高通透性的非选择性阳离子通道^[28]。在 P2X 受体家族的 7 个成员中, P2X₃受体在感觉神经系统, 尤其是在对辣椒素敏感的痛觉感受器中具有较广泛的分布^[29]。在背根神经元中, 由 P2X₃受体所介导的电流强度非常明显, 并且相比其他 P2X 成员, P2X₃受体的表达最为丰富^[29]。动物行为学实验证据显示, 如果将 α , β -meATP (ATP 的一种类似物) 注射入动物后脚掌, 能够引发实验动物明显的痛觉行为^[30], 而 P2X 受体的非选择性阻断剂 TNP-ATP 或 P2X₃受体特异性阻断剂 A317491 在整体动物水平上均表现出拮抗 ATP 或福尔马林所引发疼痛的效应^[31, 32]。此外, P2X₃受体基因敲除后, 动物对 ATP 及福尔马林引发疼痛的行为学表现则会明显降低, 因此说明 P2X (以 P2X₃为主) 受体在疼痛过程中具有重要作用^[33, 34]。一项人体试验数据显示, 由 ATP 所引发疼痛的效应在炎症情况下要明显增高^[35], 而缓激肽作为一种重要的炎症介导因子, 很可能参与了上述作用。有实验证据显示,

缓激肽的确能够增敏 P2X₃受体所介导的内向离子电流, 而这种作用又能被 PMA 所模拟, 因此缓激肽的这种作用是由 PKC 所介导的。而点突变试验则进一步将 PKC 磷酸化的作用锁定在 P2X₃的苏氨酸残基上^[36]。因此缓激肽对 P2X₃受体的增敏作用为研究炎症性疼痛的分子机制又提供了新的方向。

4 Na⁺通道

电压依赖性钠通道 (VGSC 或 Na_v) 介导细胞外 Na⁺的快速涌入, 在可兴奋细胞动作电位的产生与传递方面至关重要。到目前为止共发现 9 种 VGSC 的亚型 (Na_v1.1–1.9)^[37], 其中 Na_v1.7、Na_v1.8 和 Na_v1.9 广泛分布于外周的痛觉感受器神经元 (包括背根神经元), 与痛觉的产生密切相关^[38]。Na_v1.8 和 Na_v1.9 为一类对 TTX 不敏感的 VGSC, 其功能可被多种炎症介导因子所调节。Amaya 等^[39]发现, Na_v1.9 基因被敲除后, 能明显降低小鼠对缓激肽引发自发性疼痛的反应, 并能取消缓激肽所引发小鼠热痛觉过敏的现象。而 Maingret 等^[40]的实验发现, 当将含有缓激肽、ATP、组胺、PGE-2 和去甲肾上腺素的“炎症汤” (inflammatory soup) 给予背根神经元后, 能显著增强 Na_v1.9 通道电流强度, 并提高神经元兴奋性。因而缓激肽等炎症介导因子对 Na_v1.9 通道的增强作用很可能导致了炎症过程中痛觉感受器兴奋性的增高, 引发炎症性疼痛。

5 AMPA 和 NMDA 受体

谷氨酸为脑与脊髓内主要的兴奋型神经递质, 可通过一系列促离子型或促代谢型受体发挥其突触后效能, 其中 AMPA 和 NMDA 受体均属于促离子型谷氨酸受体。近来已有证据显示在痛觉感受器存在的背根神经元中也有 AMPA 和 NMDA 受体的广泛表达^[41]。而与上述结果相一致的是, 如果动物局部注射谷氨酸或 NMDA, 则会引发受试动物的疼痛行为, 而这种疼痛能被 NMDA 受体阻断剂所缓解。而由炎症或福尔马林实验所引起的动物自发性疼痛与痛觉过敏的现象亦能被外周给予的 NMDA 受体阻断剂有效抑制^[42, 43]。在炎症过程中, 外周神经的 NMDA 受体表达含量会增加, 很可能进一步加强痛觉反应^[44]。因此局部应用 NMDA 受体特异性拮抗剂来缓解或预防疼痛可能成为今后疼痛治疗研究的一个重要方向。

相比外周感觉神经系统而言, 中枢神经系统中的 AMPA 和 NMDA 受体在疼痛中的作用早已受到广泛关注。有研究显示, 在脊髓背角神经元中有缓激肽 B₂受体的表达, 并且缓激肽通过激活 B₂受体能够增

敏脊髓背角神经元中的 NMDA 和 AMPA 受体活性, 而且如果将缓激肽注入动物脊髓, 将会引发由 NMDA 受体介导的痛觉过敏现象^[45]。而进一步的研究又揭示缓激肽能够增敏 NMDA 和 AMPA 受体活性的原因来源于缓激肽对信号通路中多种激酶的激活, 这些能被缓激肽活化的激酶包括 PKC、PKA 以及胞外信号调节激酶 (ERK); 而如果应用缓激肽 B₂ 受体及其下游激酶的阻断剂, 均能不同程度地降低缓激肽引发动物热痛过敏的现象^[46]。因此这些研究提示, 如果利用激肽释放酶抑制剂或缓激肽受体的阻断剂来抑制炎症情况下缓激肽的释放或其生物作用, 或开发一些其下游信号通路的特异性阻断剂, 则很有可能成为缓解、治疗炎症性疼痛的有效新方法。

6 酸敏感通道

炎症反应的一项重要特征就是引起周围组织发生酸化, 而酸化后的细胞外 pH 值甚至可以达到 5.4 左右。有实验证据显示, 组织酸化可以直接引发持续性疼痛, 并且还和炎症过程中的痛觉过敏现象有关, 而引起上述现象的重要原因之一就是由于裂解细胞释放的 H⁺ 直接打开了一种去极化阳离子通道—酸敏感通道 (ASIC)^[47]。在感觉神经元中, 酸敏感通道的表达含量会因炎症的产生而增多, 并且有实验证实这种现象是由包括缓激肽在内的众多炎症介导因子所引起的^[48]。此外, 这些炎症介导因子的混合物还能够增强酸敏感通道的电流强度, 增加酸敏感通道阳性表达神经元的数量, 并最终导致感觉神经元兴奋性增高^[49]。因此人们目前认为酸敏感通道在炎症性疼痛中具有重要作用。

7 KCNQ/M 型钾通道

在背根神经元中人们已经发现有 KCNQ/M 型钾通道的存在^[50]。M 通道电流是一种具有电压及时间依赖性、慢激活、慢去活、非失活的外向钾离子电流, M 电流与可兴奋细胞的兴奋性密切相关。在神经细胞中, M 电流能起到稳定细胞膜静息电位, 减少去极化, 造成超极化的作用。当 M 电流被抑制后, 细胞膜易发生去极化, 使细胞容易爆发动作电位。M 电流可受到多种 G_q 蛋白偶联受体的抑制性调节, 因此在引发神经系统兴奋性的过程中具有重要作用^[51]。近期的一项研究发现背根神经元中的 M 电流介导了由蛋白酶活化受体-2 (一种 G_q 蛋白偶联受体) 激活所引发的大鼠炎症性疼痛^[52]。在这项研究中, 研究人员发现作为 PAR-2 激动剂的胰蛋白酶 (炎症介导因子的一种) 能够明显抑制背根神经元中的 M 电流, 并引

发细胞膜明显去极化。并且在整体动物实验中, M 通道的特异性抑制剂 XE991 能够模拟由 PAR-2 激动剂所引发的动物疼痛反应, 而其特异性增强剂瑞替加滨则能有效对抗由福尔马林或角叉菜胶所引发的炎症性疼痛^[50, 53]。早已有研究报道缓激肽通过其 B₂ 受体能够抑制大鼠颈上神经元中的 M 电流, 并且引发神经元兴奋性增高^[54]。虽然目前暂无缓激肽能够调节背根神经元 M 电流的任何报道, 但缓激肽很有可能通过这一信号途径引发痛觉感受器兴奋的增高, 从而参与炎症性疼痛的产生, 因而 M 型钾通道及其信号调控通路很可能成为研究炎症性疼痛机制及其治疗的崭新领域。

8 展望

离子通道和促离子型受体能直接调节神经系统的兴奋性, 在痛觉反应过程中至关重要。缓激肽作为一种重要的炎症介导因子, 参与了对许多与炎症性疼痛有关的离子通道和促离子型受体的调节作用。目前缓激肽受体阻断剂对炎症性疼痛的治疗已处于临床试验阶段, 并且表现出了一定的治疗作用。一些离子通道的特异性阻断剂 (例如 TRPV1 阻断剂 SB-705498^[23]) 或增强剂 (例如 M 通道增强剂瑞替加滨^[53]) 也表现出了明显的缓解炎症性疼痛及镇痛的药理作用。因此深入了解缓激肽及其他炎症介导因子所引发的信号转导途径对痛觉相关离子通道及促离子型受体的调控作用无疑对研究炎症性疼痛的产生机制具有广泛的指导意义, 而且也能为今后研究开发治疗炎症疼痛的新药物与新手段提供极大帮助。

References

- [1] Leeb-Lundberg LM, Marceau F, Muller-Esterl W, et al. International union of pharmacology. XLV. Classification of the kinin receptor family: from molecular mechanisms to pathophysiological consequences [J]. *Pharmacol Rev*, 2005, 57: 27-77.
- [2] Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway [J]. *Nature*, 1997, 389: 816-824.
- [3] Pingle SC, Matta JA, Ahern GP. Capsaicin receptor: TRPV1 a promiscuous TRP channel [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2007, (179): 155-171.
- [4] Dhaka A, Uzzell V, Dubin AE, et al. TRPV1 is activated by both acidic and basic pH [J]. *J Neurosci*, 2009, 29: 153-158.
- [5] Caterina MJ, Leffler A, Malmberg AB, et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin

- receptor [J]. *Science*, 2000, 288: 306–313.
- [6] Caterina MJ, Julius D. The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway [J]. *Annu Rev Neurosci*, 2001, 24: 487–517.
- [7] Cesare P, McNaughton P. A novel heat-activated current in nociceptive neurons and its sensitization by bradykinin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 15435–15439.
- [8] Cesare P, Dekker LV, Sardini A, et al. Specific involvement of PKC-epsilon in sensitization of the neuronal response to painful heat [J]. *Neuron*, 1999, 23: 617–624.
- [9] Sugiura T, Tominaga M, Katsuya H, et al. Bradykinin lowers the threshold temperature for heat activation of vanilloid receptor 1 [J]. *J Neurophysiol*, 2002, 88: 544–548.
- [10] Numazaki M, Tominaga T, Toyooka H, et al. Direct phosphorylation of capsaicin receptor VR1 by protein kinase Cepsilon and identification of two target serine residues [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 13375–13378.
- [11] Zhang X, Li L, McNaughton PA. Proinflammatory mediators modulate the heat-activated ion channel TRPV1 via the scaffolding protein AKAP79/150 [J]. *Neuron*, 2008, 59: 450–461.
- [12] Chuang HH, Prescott ED, Kong H, et al. Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns (4,5)P2-mediated inhibition [J]. *Nature*, 2001, 411: 957–962.
- [13] Prescott ED, Julius D. A modular PIP2 binding site as a determinant of capsaicin receptor sensitivity [J]. *Science*, 2003, 300: 1284–1288.
- [14] Stein AT, Ufret-Vincenty CA, Hua L, et al. Phosphoinositide 3-kinase binds to TRPV1 and mediates NGF-stimulated TRPV1 trafficking to the plasma membrane [J]. *J Gen Physiol*, 2006, 128: 509–522.
- [15] Rohacs T, Nilius B. Regulation of transient receptor potential (TRP) channels by phosphoinositides [J]. *Pflugers Arch*, 2007, 455: 157–168.
- [16] Shin J, Cho H, Hwang SW, et al. Bradykinin-12-lipoxygenase-VR1 signaling pathway for inflammatory hyperalgesia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 10150–10155.
- [17] Wu ZZ, Pan HL. Role of TRPV1 and intracellular Ca^{2+} in excitation of cardiac sensory neurons by bradykinin [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 293: R276–283.
- [18] Story GM, Peier AM, Reeve AJ, et al. ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures [J]. *Cell*, 2003, 112: 819–829.
- [19] Jordt SE, Bautista DM, Chuang HH, et al. Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1 [J]. *Nature*, 2004, 427: 260–265.
- [20] Fujita F, Uchida K, Moriyama T, et al. Intracellular alkalization causes pain sensation through activation of TRPA1 in mice [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118: 4049–4057.
- [21] Bessac BF, Sivula M, von Hehn CA, et al. TRPA1 is a major oxidant sensor in murine airway sensory neurons [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118: 1899–1910.
- [22] McNamara CR, Mandel-Brehm J, Bautista DM, et al. TRPA1 mediates formalin-induced pain [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 13525–13530.
- [23] Patapoutian A, Tate S, Woolf CJ. Transient receptor potential channels: targeting pain at the source [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2009, 8: 55–68.
- [24] Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, et al. TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents [J]. *Cell*, 2006, 124: 1269–1282.
- [25] Bandell M, Story GM, Hwang SW, et al. Noxious cold ion channel TRPA1 is activated by pungent compounds and bradykinin [J]. *Neuron*, 2004, 41: 849–857.
- [26] Wang S, Dai Y, Fukuoka T, et al. Phospholipase C and protein kinase A mediate bradykinin sensitization of TRPA1: a molecular mechanism of inflammatory pain [J]. *Brain*, 2008, 131: 1241–1251.
- [27] Katanosaka K, Banik RK, Giron R, et al. Contribution of TRPV1 to the bradykinin-evoked nociceptive behavior and excitation of cutaneous sensory neurons [J]. *Neurosci Res*, 2008, 62: 168–175.
- [28] Surprenant A, North RA. Signaling at purinergic P2X receptors [J]. *Annu Rev Physiol*, 2009, 71: 333–359.
- [29] Donnelly-Roberts D, McGaraughty S, Shieh CC, et al. Painful purinergic receptors [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 324: 409–415.
- [30] Bland-Ward PA, Humphrey PP. Acute nociception mediated by hindpaw P2X receptor activation in the rat [J]. *Br J Pharmacol*, 1997, 122: 365–371.
- [31] Honore P, Mikusa J, Bianchi B, et al. TNP-ATP, a potent P2X3 receptor antagonist, blocks acetic acid-induced abdominal constriction in mice: comparison with reference analgesics [J]. *Pain*, 2002, 96: 99–105.
- [32] Jarvis MF, Burgard EC, McGaraughty S, et al. A-317491, a novel potent and selective non-nucleotide antagonist of P2X3 and P2X2/3 receptors, reduces chronic inflammatory and neuropathic pain in the rat [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 17179–17184.
- [33] Souslova V, Cesare P, Ding Y, et al. Warm-coding deficits

- and aberrant inflammatory pain in mice lacking P2X3 receptors [J]. *Nature*, 2000, 407: 1015–1017.
- [34] Cockayne DA, Dunn PM, Zhong Y, et al. P2X2 knockout mice and P2X2/P2X3 double knockout mice reveal a role for the P2X2 receptor subunit in mediating multiple sensory effects of ATP [J]. *J Physiol*, 2005, 567: 621–639.
- [35] Hamilton SG, Warburton J, Bhattacharjee A, et al. ATP in human skin elicits a dose-related pain response which is potentiated under conditions of hyperalgesia [J]. *Brain*, 2000, 123: 1238–1246.
- [36] Paukert M, Osteroth R, Geisler HS, et al. Inflammatory mediators potentiate ATP-gated channels through the P2X(3) subunit [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276: 21077–21082.
- [37] Yu FH, Catterall WA. Overview of the voltage-gated sodium channel family [J]. *Genome Biol*, 2003, 4: 207.
- [38] Cummins TR, Sheets PL, Waxman SG. The roles of sodium channels in nociception: implications for mechanisms of pain [J]. *Pain*, 2007, 131: 243–257.
- [39] Amaya F, Wang H, Costigan M, et al. The voltage-gated sodium channel Na(v)1.9 is an effector of peripheral inflammatory pain hypersensitivity [J]. *J Neurosci*, 2006, 26: 12852–12860.
- [40] Maingret F, Coste B, Padilla F, et al. Inflammatory mediators increase Nav1.9 current and excitability in nociceptors through a coincident detection mechanism [J]. *J Gen Physiol*, 2008, 131: 211–225.
- [41] Petrenko AB, Yamakura T, Baba H, et al. The role of *N*-methyl-*D*-aspartate (NMDA) receptors in pain: a review [J]. *Anesth Analg*, 2003, 97: 1108–1116.
- [42] Davidson EM, Carlton SM. Intraplantar injection of dextrorphan, ketamine or memantine attenuates formalin-induced behaviors [J]. *Brain Res*, 1998, 785: 136–142.
- [43] Jackson DL, Graff CB, Richardson JD, et al. Glutamate participates in the peripheral modulation of thermal hyperalgesia in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 1995, 284: 321–325.
- [44] Carlton SM, Coggeshall RE. Inflammation-induced changes in peripheral glutamate receptor populations [J]. *Brain Res*, 1999, 820: 63–70.
- [45] Wang H, Kohno T, Amaya F, et al. Bradykinin produces pain hypersensitivity by potentiating spinal cord glutamatergic synaptic transmission [J]. *J Neurosci*, 2005, 25: 7986–7992.
- [46] Kohno T, Wang H, Amaya F, et al. Bradykinin enhances AMPA and NMDA receptor activity in spinal cord dorsal horn neurons by activating multiple kinases to produce pain hypersensitivity [J]. *J Neurosci*, 2008, 28: 4533–4540.
- [47] Waldmann R, Champigny G, Bassilana F, et al. A proton-gated cation channel involved in acid-sensing [J]. *Nature*, 1997, 386: 173–177.
- [48] Voilley N, de Weille J, Mamet J, et al. Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors [J]. *J Neurosci*, 2001, 21: 8026–8033.
- [49] Mamet J, Baron A, Lazdunski M, et al. Proinflammatory mediators, stimulators of sensory neuron excitability via the expression of acid-sensing ion channels [J]. *J Neurosci*, 2002, 22: 10662–10670.
- [50] Passmore GM, Selyanko AA, Mistry M, et al. KCNQ/M currents in sensory neurons: significance for pain therapy [J]. *J Neurosci*, 2003, 23: 7227–7236.
- [51] Delmas P, Brown DA. Pathways modulating neural KCNQ/M (Kv7) potassium channels [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2005, 6: 850–862.
- [52] Linley JE, Rose K, Patil M, et al. Inhibition of M current in sensory neurons by exogenous proteases: a signaling pathway mediating inflammatory nociception [J]. *J Neurosci*, 2008, 28: 11240–11249.
- [53] Munro G, Erichsen HK, Mirza NR. Pharmacological comparison of anticonvulsant drugs in animal models of persistent pain and anxiety [J]. *Neuropharmacology*, 2007, 53: 609–618.
- [54] Jones S, Brown DA, Milligan G, et al. Bradykinin excites rat sympathetic neurons by inhibition of M current through a mechanism involving B2 receptors and G alpha q/11 [J]. *Neuron*, 1995, 14: 399–405.