

新生大鼠背根神经节机械敏感性离子通道的电生理研究*

张 杨¹ 岳寿伟^{1,3} 万子兵² 隋建峰²

摘要 目的:探讨新生大鼠背根神经节(DRG)的机械敏感性离子通道(MS通道)电生理特性。方法:将新生大鼠 DRG 细胞培养 2—4d 后,应用细胞贴附式和内面向外式膜片钳技术记录细胞膜上的 MS 通道电流,对通道的电生理性质,如压力-电流关系、通道的影响因素和通道在 DRG 细胞上的分布进行了分析。采用的机械刺激方式为负压抽吸。结果:在培养的大鼠 DRG 细胞膜上发现一种对机械刺激敏感的电流,开放压力阈值为-12—-15mmHg, $P_{1/2}=-37\text{mmHg}$ 。压力恒定时,电流恒定;去除压力,电流回到基线水平。在施加压力的 30s 内,电流无明显衰减趋势。同一电位下,随压力的增大,通道活性也增大,但电流的幅度不变。钳制膜电位为-60mV,在-50mmHg 负压下电流的平均幅度为(-3.40±0.13)pA,平均开放概率为 0.448±0.125。该通道对机械刺激的反应可被钆和秋水仙素阻断,河豚毒素可阻断大直径神经元上的外向电流,对小直径细胞无效。阿米洛利对该电流无效。该通道主要存在于中、小直径神经元(≤30μm)上。结论:大鼠 DRG 细胞膜的 MS 通道参与机械信号,特别是伤害性刺激信号的转导,对其电生理性质的研究为理解机械信号转导的机制提供了理论依据。

关键词 机械敏感性离子通道;背根神经节;膜片钳;电生理;大鼠

中图分类号:R337, R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2006)-09-0771-05

Research of electrophysiological properties of mechanosensitive channels in cultured dorsal root ganglion neurons of neonatal rats/ZHANG Yang, YUE Shouwei, WAN Zibing, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2006, 21(9):771—775

Abstract Objective:To explore the electrophysiological properties of mechanosensitive channels in cultured dorsal root ganglion neurons of neonatal rats. **Method:**The mechanosensitive channel current of cultured dorsal root ganglion neurons of neonatal rats was recorded and analyzed using cell-attached and inside-out patch-clamp technique. The membrane stretch was achieved by the application of negative pressure (suction) to a patch electrode. **Result:** One type of MS channels in the membrane patches tested in cultured dorsal root ganglion neurons of neonatal rats was identified. The pressure threshold value was -12—-15mmHg and the half-maximal pressures, $P_{1/2}$, was -37mmHg. Before applying suction, no single-channel current was served. MS channels activated rapidly when suction was applied and then quickly turned off when the suction was released. The channel activity did not decline during sustained application of negative pressure over periods of up to 30s. The channel activity increased as higher pressure was applied to the patch. In cell-attached patches with -60mV of membrane potential and -50mmHg of negative pressure, the average current amplitude was (-3.40±0.13)pA and the average open probability (NPo) was 0.448±0.125. The MS channels were blocked by gadolinium and colchicines. The tetrodotoxin could block the outward currents in the neurons with large diameters, but not in the neurons with small diameters. Amiloride was ineffective. **Conclusion:**The MS channels in cultured DRG neurons play an important role in the mechanotransduction. Its electrophysiological properties can be reference to the research of the mechanics of mechanotransduction.

Author's address Dept. of Rehabilitation Medicine, Qilu Hospital, Shandong University, Ji'nan, 250012

Key words mechanosensitive channels; dorsal root ganglion neurons; patch-clamp; electrophysiology; rat

机械敏感性离子通道 (mechanosensitive channel, MS)参与机械信号的转导过程,是一类随细胞膜张力变化通道开放概率呈现相应变化的离子通道,可将施加在分子膜上的机械力量信号转换成电信号或生化信号^[1]。自从在胚胎鸡骨骼肌细胞和蛙肌肉上发现 MS 通道以来,在许多类型的细胞上都发现了

* 基金项目:国家自然科学基金资助课题(30472006)

1 山东大学齐鲁医院康复科,济南,250012

2 第三军医大学生理学教研室

3 通讯作者:岳寿伟(山东大学齐鲁医院康复科,济南,250012)

作者简介:张杨,女,博士研究生

收稿日期:2006-03-28

MS 通道。1999年, McCarter^[2]首次在大鼠背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)上发现了机械敏感性全细胞电流, 但对其性质仍知之甚少。

机械信号作用于感觉神经的机械感受器, 引起离子通道的开放或关闭, 从而传递信号。背根神经节是躯体感觉初级传入神经元细胞体的聚集处, 可对多种刺激起反应, 如辣椒素、渗透压、温度变化和 pH 值的变化。由于 DRG 特殊的解剖位置和生理结构特点, 易于受到机械压迫刺激, 从而产生根性疼痛。本文采用膜片钳对 DRG 上的 MS 通道进行了研究, 并探讨其与伤害性感觉信号传入的关系。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

清洁级新生 SD 大鼠, 雌雄不拘, 由第三军医大学实验动物中心提供。EGTA、HEPES、秋水仙素、钆(Gd^{3+}), 阿米洛利、L-多聚赖氨酸和神经生长因子(neuronal growth factor, NGF)均为美国 Sigma 公司产品。河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)购自河北水产公司。DMEM/F12 培养基及胎牛血清为 Hyclone 公司。单通道记录时, 正常的电极液和浴液都为(mmol/L): 140NaCl, 5KCl, 2MgCl₂, 5EGTA, 10HEPES, pH7.2 (NaOH 调节), 甘露醇调节渗透压至 320mOsmol/L。盐桥的制备采用高浓度钾溶液: 1mol/L 的 KCl, 1g/L 的琼脂, pH 为 7.4。微电极控制器(PP-83, 日本成茂)、膜片钳放大器(华中科大仪博生命科学仪器有限公司 PC2C)、倒置显微镜(重庆光学仪器厂)、微电极操纵器(SM-21, 日本成茂)、数/模转换器(Digidata1200, 美国)、Pclamp9.0 软件(美国 Axon)。

1.2 细胞培养

1.2.1 取材:取新生 SD 大鼠。先用酒精棉球消毒鼠全身, 用眼科剪剪开椎管, 在解剖显微镜下用显微镊子取出胸腰所有节段的 DRG, 放入加 DMEM/F12 培养液的小烧杯中(烧杯尽量置于冰袋上)。

1.2.2 分散细胞制备:将烧杯中液体转移至一离心管中, 吸出 DMEM/F12, 加入 1.25mg/ml 胰酶 1ml, 混匀后置于 37℃ CO₂ 培养箱中孵育 15min。消化后加入 5% 血清的 DMEM/F12 2ml 终止消化。用吸管反复吹打数次至液体变混。200 目铜网过滤去除未分散的组织块。

1.2.3 接种:1200r/min 离心 15min 后, 弃去上清液, 加入 DMEM/F12, 重新吹打分散细胞。将混均的液体滴至培养皿中事先经多聚赖氨酸(10%)处理的盖玻片上, 置于 CO₂ 培养箱中, 5h 后加满含 15% 胎牛血清, 100μl 青-链霉素和 50ng/ml NGF 的 DMEM/F12

培养液, 再放入 CO₂ 培养箱中, 37℃ 孵育 4d 后进行实验, 2d 换一次培养液。

1.3 实验单通道记录

选用胞体光滑、折光性好, 细胞直径在 7—50μm 的圆形细胞进行膜片钳的单通道记录, 采用标准的膜片钳单通道封接技术^[3]。试验前用浴液冲洗带有细胞的盖玻片, 以消除培养液对记录的影响。玻璃微电极采用外径 1.5mm 玻璃微吸管, 经二次拉制成锥度约 20°、尖端开口直径约 1μm 的微电极, 再经热抛光。电极充灌液经直径为 0.25μm 的微孔滤膜滤过后充灌。充灌后的微电极阻值为 3—8MΩ, 内插入乏极化氯化银电极与膜片钳放大器探头相连。放大器探头反馈电阻为 10GΩ, 低通滤波器频率为 5kHz。在倒置显微镜监视下调节微操纵器使电极与细胞之间形成高阻抗封接, 形成细胞贴附式和内面向外式记录, 调节串联电阻和补偿电容。通常置钳制电位于 -60mV, 以 gap-free 连续采样, 所得资料通过 PC2Cclamp 记录软件输入计算机储存。封接阻抗为 2—6GΩ, 串联电阻在 20MΩ 以下, 液结电位低于 10mV。实验采用采样频率 20kHz, 记录时增益(gain)为 50。实验过程中灌流槽中通以氧饱和的细胞外液灌洗, 调节流速约 2ml/min, 使槽内液体 1min 内完全更新。实验在室温下 20—22℃ 进行。

机械刺激的施加: 在电极固定器上, 通过三通管与一个玻璃针管相连, 通过拔活塞可对细胞产生负压。使用水银压力器来记录所施加的负压的大小^[4]。

1.4 统计学分析

实验数据处理用 pCLAMP9.0 软件包中 Clampfit 程序进行。拟合采用高斯拟合与指数方程拟合。使用 SPSS10.0 软件进行分析, 数据以均数±标准差表示, 采用单因素方差比较组间差异, $P \leq 0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 负压抽吸形成封接

选择折光性强、有较长突起的细胞进行试验。形成封接所需要的负压为(2.7±0.13)mmHg, 封接过程中没有使细胞的形状发生明显的改变, 故认为不会改变 MS 通道的性质。

2.2 压力-电流关系

形成细胞贴附式, 钳制膜电位为 -60mV, 在未施加负压时, 通道的自发性开放很少。逐渐增大所施负压的值, 当负压为 -12—-15mmHg (1mmHg=0.133kPa) 时, 开始出现内向电流。最大负压约为 -50mmHg。压力再加大, 细胞膜就被破坏掉了, $P_{1/2} = -$

37mmHg。压力恒定时,电流恒定;去除负压,电流回到基线水平。在施加负压的30s内,电流无明显衰减趋势(图1)。同一电位下,随压力的增大,通道活性也增大(图2,细胞贴附式结构, $V_m=-60mV$,以-50mmHg压力时的开放概率为最大开放概率,各种压力下DRG神经元MS通道的开放概率与之相比得到的图形,基本符合 Boltmann 分布),但电流的幅度不变(图3,在相同电位,不同负压下DRG神经元MS通道产生的电流幅度相似)。钳制膜电位为-60mV时的平均幅度为 $(-3.40\pm 0.13)pA$ ($n=25$)[图4, -50mmHg负压下DRG神经元MS通道的高斯拟合后的直方图,平均电流为 $(-3.40\pm 0.13)pA$]。

通道的开放概率(open probability, NP_o)是指在某一钳制电位下,通道的总开放时间占通道持续去极化或超极化过程的比值。通道的开放常常被短暂

的关闭所打断,呈猝发样开放(burst)。这种开放有时又可以呈现簇状(cluster),即彼此相隔一定的时间间隔的连续数个burst样开放串。在两串簇状开放之间有较长时间的关闭。在簇状开放期间通道的开放概率比较大,通道在大部分时间是处于开放状态。在本实验中这两种情况并存,无明显差异。在部分簇状开放的膜片上又可见有双级开放,但大部的簇状开放呈单级。细胞贴附式, $V_m=-60mV$,在-50mmHg负压下平均 NP_o 为 0.448 ± 0.125 ($n=35$)(图5)。

2.3 通道的影响因素

2.3.1 TTX可阻断大直径神经元的内向电流,但对小直径神经元无效,该阻断为可逆性的(图6和图7A)。内面向外式结构,膜两侧为平衡溶液, $V_m=-60mV$,施加-40mmHg负压,在浴液和电极液中加入的TTX都为 $1\mu mol/L$

C表示关闭状态,0表示开放状态

图1 DRG神经元在各种负压下单通道电流图

图2 压力-开放概率相关曲线

图3 相同电压下压力-电流相关曲线

图4 DRG神经元MS通道的电流幅度散点图和
高斯拟合的直方图

图5 DRG神经元MS通道的
开放概率图

神经元的开放概率和通道电流幅度不受影响, $NP_o=0.439\pm 0.075$ ($P>0.05$)。洗掉TTX之后,大直径神经元通道的开放恢复正常, $NP_o=0.428\pm 0.093$,与加药前相比, $P>0.05$ 。小直径神经元的 $NP_o=0.436\pm 0.162$ 。根据这种现象,我们可以推测大直径神经元上是TTX敏感型通道,小直径神经元上是TTX不敏感型通道。

图6 大直径神经元和小直径神经元在
加入TTX前后的电流图

2.3.2 钆(Gd^{3+})可阻断通道电流,阿米洛利无效: Gd^{3+} 被认为是机械敏感性离子通道的特异性的阻断剂,可阻断多种组织中的MS通道。由于EGTA也可络合 Gd^{3+} ,所以对照和实验组的溶液中都未加EGTA。在内面向外式结构,加用 Gd^{3+} 之前,膜电位为-60mv,当负压分别为-20mmHg和-40mmHg的 NP_o 分别为 0.0912 ± 0.024 ($n=5$)和 0.438 ± 0.17 ($n=5$)。在浴液和电极液中均加入 $10\mu M Gd^{3+}$, NP_o 分别

形成内面向外式结构后,膜两侧为平衡溶液,施加-40mmHg负压, $V_m=-60mV$,加入TTX之前,大直径($>30\mu m$)神经元和小直径($\leq 20\mu m$)神经元的开放频率没有明显差别, NP_o 分别为 0.432 ± 0.174 ($n=15$)和 0.448 ± 0.137 ($n=20$), $P>0.05$ 。在浴液和电极液中都加入 $1\mu mol/L$ TTX后,大直径神经元几乎测不到通道开放, $NP_o=0.013\pm 0.027$ ($P<0.05$)。小直径神

变为未加药时的 5.92% 和 1.64%, 与加药前相比, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$), 说明 Gd^{3+} 使离子通道丧失了机械敏感性。洗掉 Gd^{3+} 之后, 在加压 -20mmHg 和 -40mmHg 时, 通道的 NPo 分别为未加药时 50.99% 和 50.46%, 与加药前相比, 均 $P < 0.05$, 说明电流可部分恢复, 但与原来的 NPo 仍有差异, 即 Gd^{3+} 的作用为部分性可逆 (图 7B)。

阿米洛利可阻断肾脏、神经元和上皮的机械敏感性离子通道^[4]。内面向外式结构, 浴液和电极液中加入 $200\mu\text{M}$ 阿米洛利。膜电位为 -60mV , 在 -40mmHg 压力下, 加药前、加药中和加药后通道的开放概率变化结果如图 7C, 可见阿米洛利对 NPo 无影响。

2.3.3 破坏细胞骨架的作用, 间隔 20min 重复施加负压测通道的 NPo , 发现不会影响离子通道的压力-开放概率关系。在浴液中加入 $500\mu\text{M}$ 秋水仙素, 孵育 20min 后, 形成细胞贴附式结构, 钳制膜电位为 -60mV , 可见 NPo 变为加药前的 16.6%, 差异有显著性意义 ($P < 0.05$)。洗掉秋水仙素后 20min, 开放概率无明显增加, 说明其作用是不可逆的 (图 7D)。

图 7 药物对 MS 通道 NPo 的影响

注: A、B、C 为内面向外式结构, D 为细胞贴附式结构, 膜电位为 -60mV , 压力为 -40mmHg 。A 浴液和电极液中都加入 $1\mu\text{M}$ TTX; B 浴液和电极液中均加入 $10\mu\text{M}$ Gd^{3+} ; C 浴液和电极液中加入 $200\mu\text{M}$ 阿米洛利; D 浴液中加入 $500\mu\text{M}$ 秋水仙素, 孵育 20min 后。

* 与加药前相比, $P < 0.05$

2.4 离子通道在 DRG 细胞上的分布

本实验使用细胞贴附式和内面向外式结构共记录到 157 例有 MS 通道的膜片, 我们发现该通道多位于小直径 ($\leq 20\mu\text{m}$) (占 $48.2\% \pm 4.76\%$) 和中等直径 ($20-30\mu\text{m}$) (占 $36.3\% \pm 5.28\%$) 神经元上, 而在大直径 ($> 30\mu\text{m}$) 神经元上存在较少 (占 $15.5\% \pm 3.74\%$)。

3 讨论

本研究在新生大鼠背根神经节细胞上得到一种机械敏感性离子通道, 静息状态下无电流, 受压时开放, 去除压力关闭, 无时间延迟性。钆、秋水仙素可阻

断通道开放, 阿米洛利无效, TTX 对部分细胞有效。本研究得到的结果与 Cho 等^[5] 研究得到的低阈值 MS 通道相似, 但本研究的压力阈值更低, 而且, 试验中最大负压只能施加到 -50mmHg , 更大的负压可破坏细胞膜结构, 因此, 不能判断是否也存在与 Cho^[5] 结果中的高阈值通道相似的通道。施加负压的差别可能是由于所使用的仪器的差别。而且, 我们发现的这种通道多分布于中小直径神经元上, 而他们的实验中低阈值 MS 通道多分布在 $10-30\mu\text{m}$ 的神经元上, 二者并不完全相同, 所以不能确定完全是一种通道。此通道电流不可能是人工产生的, 因为压力可重复、可逆的激活此电流, 并可以被钆阻断。在离开细胞的膜片也可以产生 MS 电流, 而此时膜片已不能受到细胞中的第二信使系统的调节, 而且通道电流的产生没有时间上的延迟, 所以 MS 电流是直接被机械刺激激活的。

MS 通道是一大类通道的总称, 表现出不同的机械敏感性和门控动力模式等性质。到现在为止, 还没有对 MS 通道特异的拮抗剂。通常对钆的敏感性被认为是 MS 通道特性, 可阻断许多组织上的 MS 通道。本实验显示, $10\mu\text{mol/L}$ Gd^{3+} 可以使 MS 开放率减小到原来的 1%—6%, 洗去药物后可恢复到原来的 50% 左右, 说明 Gd^{3+} 的作用是部分可逆的。但 Gd^{3+} 对 MS 通道并不是高度选择性的, 钆也可以阻断钙通道, 而且许多 MS 通道对钆并不敏感, 如视束神经元和角膜上皮上的 MS 通道^[6]。TTX 是电压门控性 Na^+ 通道的特异性阻断剂, 在浴液和电极液中都加入 $1\mu\text{mol/L}$ TTX 后, 大直径神经元通道的机械敏

感性消失, 而小直径神经元不受影响, 进一步证明了在此种条件下, 内向电流是 Na^+ 所承载的, 而且不同直径的神经元上的 Na^+ 电流并不完全相同。这与电压门控性 Na^+ 通道相似。Ogata 等^[7] 研究发现在大鼠发育早期, 小直径神经元上主要表达 TTX-R 慢电流, 在大直径神经元上主要为 TTX-S 快电流, 而且其表达会随着发育有先减少后恢复的曲线过程, 而在中等直径的神经元上可同时表达上述两种不同的电流。

阿米洛利也可阻断许多 MS 通道, 如上皮细胞的 MS 钠通道, 神经元上 MS 通道和结肠 DRG 牵张

激活钾通道^[4],但我们的实验中 200 $\mu\text{mol/L}$ 的阿米洛利对通道的开放没有明显的影响,与 Cho 等^[5]的结果相似。说明此种 MS 通道对阿米洛利并不敏感。

细胞骨架一直被认为是 MS 通道是一个重要的调节机制,在目前的研究中,普遍认为破坏细胞骨架,会大大降低 MS 通道的活性^[8]。Zhang 等^[9]的研究显示,事先用荧光标记皮质骨架,对细胞施加负压抽吸时,骨架密度沿抽吸的部位出现梯度下降。在形变期间,密度保持不变,去除负压后迅速恢复。但如对膜片刺激过度,会使细胞-骨架的连接被破坏,在膜上产生囊泡。我们发现在溶液中加入 500 $\mu\text{mol/L}$ 秋水仙素,孵育 20min 后通道的 NPo 大幅度减小,而且洗去药物之后不能恢复,说明秋水仙素已经不可逆地破坏了细胞骨架,从而破坏了细胞的机械敏感性。SU 等^[4]发现,实验膜片上的 MS 通道与完整细胞结构上的相同,认为细胞骨架在实验膜片上依然相连,而且功能正常。溶液中使用 500 $\mu\text{mol/L}$ 秋水仙素和 1mg/ml 细胞菌素 D 后,很少有细胞表现出 MS 通道活性,但仍然存在自发性放电,说明细胞仍然存活,其作用是特异性针对 MS 通道的。Cho 等^[5]的实验也显示破坏细胞骨架会破坏细胞 MS 通道的机械敏感性。基于以上的现象,我们可以认为细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 分子和细胞骨架透过细胞膜的物理联系,使力量局限到细胞骨架成分上,然后直接或间接地与膜蛋白相互作用,使快速的机械振动通过直接的物理联系传到膜通道上。但也存在结果相反的研究,认为破坏细胞骨架可增加 MS 通道对牵张的敏感性^[10]。

DRG 是躯体初级感觉神经元细胞体的聚集处,由大小不同、电生理特征各异的大、中和小神经元组成。一般来说,直径较大的神经元主要是非伤害性感受的 A δ 和 A β 纤维,传导本体感觉和触觉,而直径较小的神经元则为伤害性感受的 A δ 和 C 类纤维,传导痛觉和温度觉^[11]。通常 DRG 的静息膜电位为 -50—-60mV,受到阈上机械刺激后,MS 通道开放,由于 Na⁺ 的电化学梯度大于 K⁺,所以产生内向电流,细胞去极化,兴奋性升高,并可通过电压依赖性的钠通道沿轴突传递。有研究发现炎性疼痛模型大鼠的 DRG 的小直径感觉神经元 (small-diameter sensory neurons, SNS)mRNA 的峰值增加,且投射至炎症肢体的小直径 DRG 神经元中 TTX-R 钠电流明显大于对侧。Yiangou 等^[12]的研究也表明,在机械损伤感觉性神经元的损伤部位, SNS 钠通道的表达增加。这些都说明了 TTX-R 钠电流在疼痛传导中有重要的作用。我们发现的这种 MS 通道主要位于中小直径神

经元上,而且内向电流主要为 TTX-R 钠电流,说明其与伤害性感受器有关,在机械刺激导致的痛觉传入中起一定的作用。

根据前面的研究,我们可以认为,当椎间盘突出、椎管狭窄等因素引起 DRG 直接受压,或者由于周围组织的粘连、水肿等间接压迫 DRG 时,MS 通道开放,神经兴奋性升高,产生电流,并通过电压依赖性的钠通道沿轴突传递,参与痛觉的传入。

总之,机械刺激可使 DRG 神经元膜上的 MS 通道开放,产生电流,传导机械信号。但不清楚在体内是否还有机械刺激导致的化学递质的释放的作用。而且,在椎间盘突出等造成的 DRG 受压、缺血、水肿时,持续的压迫通过细胞骨架对 DRG 神经元膜上的 MS 通道牵拉,也会使之产生一定的改变。这些都需要进一步的研究。

参考文献

- [1] Huang Hayden, Kamm RD, Lee RT. Cell mechanics and mechanotransduction: pathways, peobes, and physiology [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(1): C1—C11.
- [2] McCarter GC, Reichling DB, Levine JD. Mechanical transduction by rat dorsal root ganglion neurons in vitro [J]. *Neuroscience Letters*, 1999, 273(3): 179—182.
- [3] Hamill OP, Mary A, Neher E, et al. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches [J]. *Pfluger Archiv*, 1981, 391(2): 85—100.
- [4] SU X, Wachtel RE, Gebhar GF. Mechanosensitive potassium channels in rat colon sensory neurons [J]. *J Neurophysiol*, 2000, 84(2): 836—843.
- [5] Cho H, Shin J, Shin CY, et al. Mechanosensitive ion channels in cultured sensory neurons of neonatal rats [J]. *J Neuroscience*, 2002, 22(4): 1238—1247.
- [6] Watanabe SI, Tanizakim M, Kaneko A. Two types of stretch-activated channels coexist in the rabbit corneal epithelial cell [J]. *Exp Eye Res*, 1997, 64(6): 1027—1035.
- [7] Ogata N, Tatebayashi H. Ontogenic development of the TTX-sensitive and TTX-insensitive Na⁺ channels in neurons of the rat dorsal root ganglion [J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 1992, 65(1): 93—100.
- [8] Martinac Boris. Mechanosensitive ion channels: molecules of mechanotransduction [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(12): 2449—2460.
- [9] Zhang Y, Gao F, Popov, VL, et al. Mechanically gated channel activity in cytoskeleton-deficient plasma membrane blebs and vesicles from *Xenopus* oocytes [J]. *J Physiol*, 2000, 523(1): 117—130.
- [10] Maingret F, Fosset M, Lesage F, et al. TRAAK is a mammalian neuronal mechano-gated K channel [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(3): 1381—1387.
- [11] Rose RD, Koerber HR, Sedivec MJ, et al. Somal action potential duration differs in identified primary afferents [J]. *Neurosci Lett*, 1986, 63(3): 259—264.
- [12] Yiangyou Y, Birch R, Sangameswaran L, et al. SNS/PN3 and SNS2/NaN sodium channel-like immunoreactivity in human adult and neonate injured sensory nerves [J]. *FEBS Lett*, 2000, 467(2—3): 249—252.