

早期运动训练对脊髓损伤大鼠痛觉阈值及脊髓后角胶质细胞活化的影响*

李向哲^{1,2} 王 灿³ 方 露⁴ 丁 洁⁴ 王庆华⁵ 董传明⁶ 王 彤⁷ 吴勤峰^{1,2,8}

摘要

目的:观察早期运动训练对T10不完全性SCI大鼠机械性及热刺激痛觉阈值、脊髓后角小胶质细胞和星形胶质细胞活化的影响。

方法:将24只成年雌性SD大鼠随机分为:假手术组(Sham组)、SCI-对照组(SCI-Sed组)和SCI-运动组(SCI-TT组)。SCI-Sed组和SCI-TT组使用改良Allen's法制T10不完全SCI模型,Sham组只暴露脊髓。SCI-TT组于SCI第8天行减重平板训练。于SCI术前、术后第1、7、14、21、28、35天使用Von Frey单丝及热刺激痛觉测试仪对大鼠的痛觉阈值进行评估。SCI 5周后,使用免疫组化技术对所有大鼠L4—5脊髓进行染色,观察脊髓后角小胶质细胞及星形胶质细胞活化情况,并对大鼠痛觉阈值与胶质细胞活化之间的相关性进行分析。

结果:机械性痛觉阈值评估结果显示,SCI术后第1天,SCI-Sed组和SCI-TT组阈值均较Sham组增加($P < 0.05$);之后两组阈值均低于Sham组($P < 0.05$);第21—35天,SCI-TT组阈值明显高于SCI-Sed组($P < 0.05$)。热刺激痛觉阈值结果显示,SCI术后第1天,SCI-Sed组和SCI-TT组痛觉阈值较Sham组均增加($P < 0.05$);SCI 7天后,两组大鼠痛觉阈值均低于Sham组($P < 0.05$);术后14—35天,SCI-TT组痛觉阈值明显高于SCI-Sed组($P < 0.05$)。小胶质细胞及星形胶质细胞免疫组化结果显示,SCI-Sed组和SCI-TT组脊髓后角内的阳性细胞数量多于Sham组($P < 0.05$);而SCI-TT组明显少于SCI-Sed组($P < 0.05$)。相关性分析显示,SCI后第35天,痛觉阈值与脊髓后角胶质细胞活化数量之间呈负相关($P < 0.001$)。

结论:早期运动训练对缓解SCI大鼠NP的发生有一定作用,其机制可能与抑制脊髓后角胶质活化相关。

关键词 脊髓损伤;运动训练;小胶质细胞;星形胶质细胞;神经病理性疼痛

中图分类号:R651.2;R493;R441.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2018)-10-1149-07

Effects of early exercise training on pain threshold and activation of glial cells in spinal dorsal horn in rats with spinal cord injury/LI Xiangzhe, WANG Can, FANG Lu, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2018, 33(10): 1149—1155

Abstract

Objective:To observe the effect of early exercise training on mechanical and thermal sensitivity, and activation of microglia and astrocyte in dorsal horn of T10 incomplete spinal cord injury (SCI) rats.

Method:Totally 24 adult female SD rats were randomly divided into three groups, sham operation group (Sham group), SCI-control group (SCI-Sed group) and SCI-exercise group (SCI-TT group). SCI-Sed group and SCI-TT group used modified Allen's method to produce T10 incomplete SCI model, and Sham group only exposed spinal cord. SCI-TT group underwent body-weight supported treadmill training from 8th day after SCI. The pain threshold was evaluated by Von Frey monofilament and plantar test device before and 1, 7, 14, 21, 28 and 35

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2018.10.004

*基金项目:苏州市科学技术局民生科技项目(SYS201785)

1 苏州科技城医院康复医学中心,苏州,215153; 2 南京医科大学附属苏州医院康复医学中心; 3 苏州市立医院儿童发展中心; 4 南京医科大学第一临床医学院; 5 南通大学实验动物中心; 6 南通大学医学院人体解剖学系; 7 江苏省人民医院康复医学中心; 8 通讯作者
作者简介:李向哲,男,硕士,住院医师; 收稿日期:2017-11-27

days after SCI. 5 weeks after SCI, the L4-5 spinal cord of all rats was stained by immunohistochemistry, and the number of microglia and astrocyte in the dorsal horn of the spinal cord was observed. The correlation between the threshold of pain and the activation of glial cells in rats were also analyzed.

Result: Mechanical pain threshold assessment showed that first days after SCI, the thresholds of SCI-Sed group and SCI-TT group were significantly increased and higher than the Sham group ($P<0.05$), the two groups in follow-up evaluation were significantly lower than Sham group ($P<0.05$), at 21—35 day, SCI-TT group was significantly higher than SCI-Sed group ($P<0.05$). Heat pain threshold showed that first days after SCI, SCI-Sed group and SCI-TT group were higher than Sham group ($P<0.05$), 7th day after SCI, the two groups pain thresholds were lower than those in Sham group ($P<0.05$), 14—35 days after operation, SCI-TT group pain threshold was significantly higher than that of SCI-Sed group ($P<0.05$). The immunohistochemistry showed that the number of microglia and astrocyte in the dorsal horn of spinal cord in SCI-Sed group and SCI-TT group was higher than that in Sham group ($P<0.001$), but that of SCI-TT group was less than that of SCI-Sed group ($P<0.001$). The correlation analysis showed that, at 35 days after SCI, there was a negative correlation between the threshold of pain and the number of activation of glial cells in the dorsal horn of spinal cord ($P<0.001$).

Conclusion: Early exercise training has certain effect on relieving the occurrence of NP in SCI rats, and its mechanism may be related to inhibiting glial activation of spinal dorsal horn.

Author's address Rehabilitation Medicine Center of Suzhou Science & Technology Town Hospital, Suzhou, 215153

Key word spinal cord injury; exercise training; microglia; astrocyte; neuropathic pain

神经病理性疼痛(neuropathic pain, NP)是脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后常见的并发症之一,可表现为自发性疼痛、触诱发痛/痛觉超敏或痛觉过敏等^[1]。SCI后约有53%的患者会出现不同程度的NP,其中76%的NP患者多在损伤1年后出现典型症状^[2]。SCI后疼痛可从多方面损害患者的身心健康,降低生存质量^[2],并可能伴随患者终生,其对学生的影响甚至远超感觉缺失和运动障碍^[3]。虽然目前的诊疗技术和治疗手段不断进展,但鉴于NP发病机制的复杂性,NP的治疗效果仍不尽如人意^[1,4]。

脊髓后角是感觉信息整合的重要区域,其中小直径传入纤维(A δ 纤维和C纤维)多终止于Lamina I-II,参与快痛及慢性疼痛调节^[5];A β 纤维多终止于lamina III-IV^[6],A β 传入纤维阈值降低与机械性痛觉过敏(触觉诱发疼痛)关系密切^[7]。在SCI早期,受损脊髓后角内的小胶质细胞和星形胶质细胞活化增多,促炎细胞因子和前列腺素等释放的增加,以及神经递质比例的失调等多种因素,可能共同促进了脊髓后角神经元及传入纤维的重组与敏化,促使NP的发生^[4,8]。而研究发现^[9-11],早期运动训练不仅可以改善不完全SCI后的运动功能,还可通过调节神

经元兴奋性及异常重塑纤维而有效减轻SCI后的NP程度。延期运动训练则不能够有效逆转SCI后NP或已重塑的异常传入纤维^[12]。由此可见,在SCI早期进行运动干预可能是NP预防性治疗的手段之一。那么早期运动训练是否能够通过抑制脊髓后角胶质细胞的活化而减轻SCI后NP,目前尚不清楚。

本研究拟采用运动训练对SCI大鼠进行早期干预,观察运动训练对T10不完全SCI大鼠机械性痛觉阈值、热刺激痛觉阈值、脊髓后角小胶质细胞及星形胶质细胞活化的影响,探讨早期运动训练对T10不完全SCI大鼠痛觉阈值及脊髓后角胶质细胞活化的影响。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

成年雌性SD大鼠24只[上海西普尔-必凯实验动物有限公司,许可证号:SCXK(沪)2013-0016],体重220—250g,SPF级。所有大鼠均饲养于恒温环境($22\pm 2^{\circ}\text{C}$),湿度50%—60%,自由饮食,自然光照。采用随机数字表法将所有SD大鼠随机分为:假手术组(Sham组)、SCI-对照组(SCI-Sed组)和SCI-运动组(SCI-TT组),每组各8只。

1.2 主要仪器及试剂

NYU脊髓损伤打击器(Model I,美国新泽西州立大学神经科学联合中心实验室提供);减重平板(国家实用新型专利,专利号ZL2009 2 0235390.5);von Frey单丝(von Frey hair, Stoelting, Wood Dale, 美国);热刺激痛觉测试仪(IITC 390, IITC Life Science, Woodland Hills, 美国);石蜡切片机(LeicaRM2135, Nussloch, 德国);rabbit anti-Ionized calcium-binding adaptor molecule [anti-Iba-1](WAKO公司);rabbit anti-Glial Fibrillary Acidic Protein [Anti-GFAP](Abcam公司);HRP标记山羊抗兔二抗(中杉金桥);3-3-diaminobenzidine-4 HCl/H₂O₂(DAB, Vector Laboratories, Burlingame, 美国)。

1.3 SCI模型制作^[9,13-14]

麻醉所有动物(10%水合氯醛溶液, 0.3ml/100g),经常规备皮、消毒、铺巾,以T10棘突为中心切开皮肤约3cm,暴露T10棘突,并使用椎板咬骨钳咬除T10棘突和椎板,充分暴露脊髓。SCI-Sed组和SCI-TT组使用NYU脊髓损伤打击器,采用改良Allen's法制作T10不完全SCI模型(打击头直径:2.5mm,损伤计量:10g×25mm),打击后大鼠出现甩尾及双后肢抽动,提示造模成功^[15];Sham组只暴露脊髓。造模后逐层缝合皮下组织及皮肤,局部消毒。术后予小腿三头肌肌注青霉素钠20万U/d,连续3d。辅助排尿2次/d,直至形成反射性排尿。

1.4 运动训练

训练方式采用减重平板训练。于SCI术后第8天^[9]对SCI-TT组大鼠进行运动训练,跑台设速为6m/min,2次/d,每次20min,5天/周,共训练4周^[15]。于每次训练前排空大鼠膀胱;大鼠体重减重范围为40%—60%,根据大鼠后肢的运动恢复情况,逐渐减小体重支持。

1.5 疼痛评估

1.5.1 机械性痛觉阈值评估:使用von Frey单丝对大鼠后肢脚掌进行无害性机械刺激,观察大鼠的疼痛反应。评估采用Chaplan等^[16]改良的NP评估法。操作前,在室温安静环境中,先将大鼠放置于透明隔笼中适应15min。随后将一系列von Frey细丝(0.4、0.6、1.0、1.4、2.0、4.0、6.0、8.0和15.0g)从2.0g力

度开始垂直刺激大鼠后肢脚掌中部皮肤,每次刺激持续时间为6—8s,依大鼠的反应依次进行评估(up-down法^[17]),大鼠出现缩足或舔足反应记为阳性(X),无反应记为阴性(O),每只大鼠评估时间应小于1min,避免出现刺激过敏。以von Frey单丝刺激强度小于4g时考虑NP的存在^[18]。50%缩足反应阈值的评估时间点:SCI术前、SCI后第1、7、14、21、28、35天。

1.5.2 热刺激痛觉阈值评估:使用热刺激痛觉测试仪进行热刺激痛觉阈值评估。参照Hargreaves等^[19]提供的评估方法进行。评估前将大鼠置于树脂玻璃评估笼中适应15min,每只大鼠评估3次,取缩足反应平均值作为每只大鼠的热刺激痛觉阈值,每次评估间隔10min,热刺激强度设定为20%,最长刺激时间为20s,以防损伤大鼠^[9]。评估时间与机械性痛觉阈值评估相同。

1.6 免疫组化

1.6.1 取材:SCI 5周后,在大鼠深度麻醉下(麻醉方法同前),打开胸腔暴露心脏,使用灌注泵先用0.9%生理盐水250ml进行心脏灌注,之后换用4%多聚甲醛溶液250ml灌注,先快后慢。取出脊髓后,依据神经根分离目标脊髓节段(L4—L5)^[13],4%多聚甲醛4℃后固定过夜,酒精梯度脱水,石蜡包埋。使用石蜡切片机对脊髓节段进行水平横切,切片厚度为5μm。

1.6.2 免疫组化:组织切片经脱蜡水化、过氧化物酶灭活、微波修复、10%封闭液(羊血清原液:0.01M PBS=1:9,体积比)封闭、一抗孵育(anti-Iba-1, 1:1000; Anti-GFAP, 1:800) 4℃过夜后,次日添加二抗(HRP标记山羊抗兔二抗, 1:200,中杉金桥)37℃恒温孵育1h,再经DAB显色,脱水封片,干燥,显微镜下观察,拍照保存。摄片后使用Image-Pro Plus 6.0分别对脊髓后角Iba-1和GFAP阳性标记细胞进行计数分析。

1.7 统计学分析

使用SPSS 20.0软件进行统计学分析。所有数据均采用均值±标准差表示,保留小数点后2位有效数字。缩足反应阈值建立一般线性模型重复测量方差分析,其余数据使用单因素方差分析,若单因素方差分析有显著性差异,再使用POST hoc进行两两

比较。采用 Pearson 相关性分析对第 35 天大鼠痛觉阈值和胶质细胞数量之间的相关性进行分析。设定 $P < 0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果

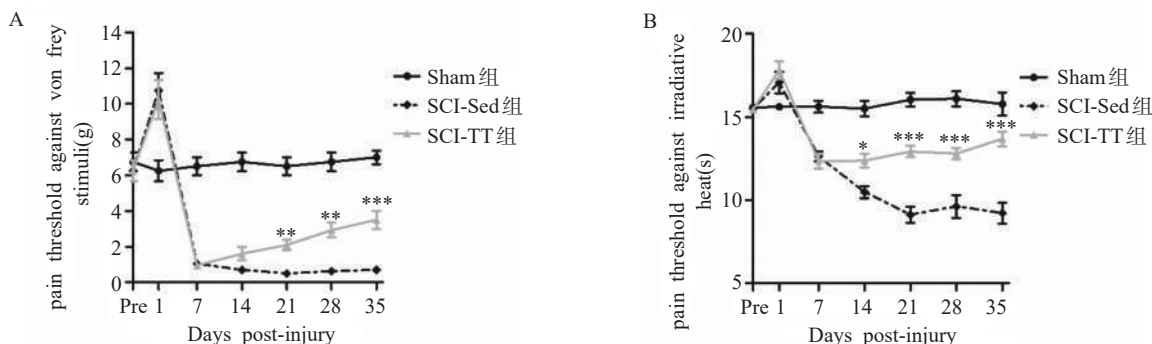
2.1 运动训练对 SCI 大鼠痛觉阈值的影响

三组大鼠的痛觉阈值经重复度量方差分析,在时间主效应上存在差异(机械性痛觉阈值: $F=69.712, P < 0.001$;热刺激痛觉阈值: $F=45.161, P < 0.001$),时间与组别之间存在交互作用(机械性痛觉阈值: $F=21.066, P < 0.001$;热刺激痛觉阈值: $F=18.089, P < 0.001$)。SCI 术后第 1 天,SCI-Sed 组和

SCI-TT 组大鼠痛觉阈值均增加(与 Sham 组相比, $P < 0.001$);之后两组大鼠痛觉阈值均低于 Sham 组($P < 0.001$)。SCI 后第 1—14 天 SCI-Sed 组和 SCI-TT 组大鼠机械性痛觉阈值组间差异无显著性意义($P > 0.05$);术后 21—35 天,SCI-TT 组机械性痛觉阈值明显高于 SCI-Sed 组($P < 0.01$,图 1A)。SCI 后第 1 天和第 7 天,SCI-Sed 组和 SCI-TT 组大鼠热刺激痛觉阈值组间差异无显著性意义($P > 0.05$);术后 14—35 天,SCI-TT 组热刺激痛觉阈值明显高于 SCI-Sed 组($P < 0.001$,图 1B)。

2.2 运动训练对脊髓后角小胶质细胞及星形胶质细胞活化的影响

图 1 各组大鼠痛觉阈值评估结果



A: Von Frey 机械性痛觉阈值折线图; B: 热敏痛觉阈值折线图。SCI-TT 组 v.s. SCI-Sed 组, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

SCI 后 5 周,经 Iba-1 和 GFAP 免疫组化染色,脊髓后角 Iba-1 及 GFAP 阳性小胶质细胞呈黄褐色或黄棕色,活化的小胶质细胞及星形胶质细胞胞体肥大,突起增多,在三组大鼠脊髓 Lamina I-IV 内均有表达(图 2)。计数分析发现,在脊髓灰质后角内,SCI-Sed 组和 SCI-TT 组的 Iba-1⁺及 GFAP⁺细胞数量均明显多于 Sham 组($F < 0.001$);而 SCI-TT 组与 SCI-Sed 组相比,前者经 4 周运动训练后 Iba-1⁺及 GFAP⁺细胞数量明显减少($F < 0.001$,图 2B,图 2C)。

2.3 大鼠后肢痛觉阈值与脊髓后角胶质细胞活化数量的相关性

为进一步分析 SCI 后第 35 天大鼠痛觉阈值与脊髓后角胶质细胞活化数量之间的相关性,我们采用了 Pearson 相关性分析。取本研究中每只大鼠痛觉阈值和胶质细胞计数的平均值进行分析,结果显示,痛觉阈值与脊髓后角胶质细胞活化数量之间呈

负相关,即痛觉阈值越低,小胶质细胞和星形胶质细胞活化数量越多,结果具有显著性意义($F < 0.001$,表 1)。

3 讨论

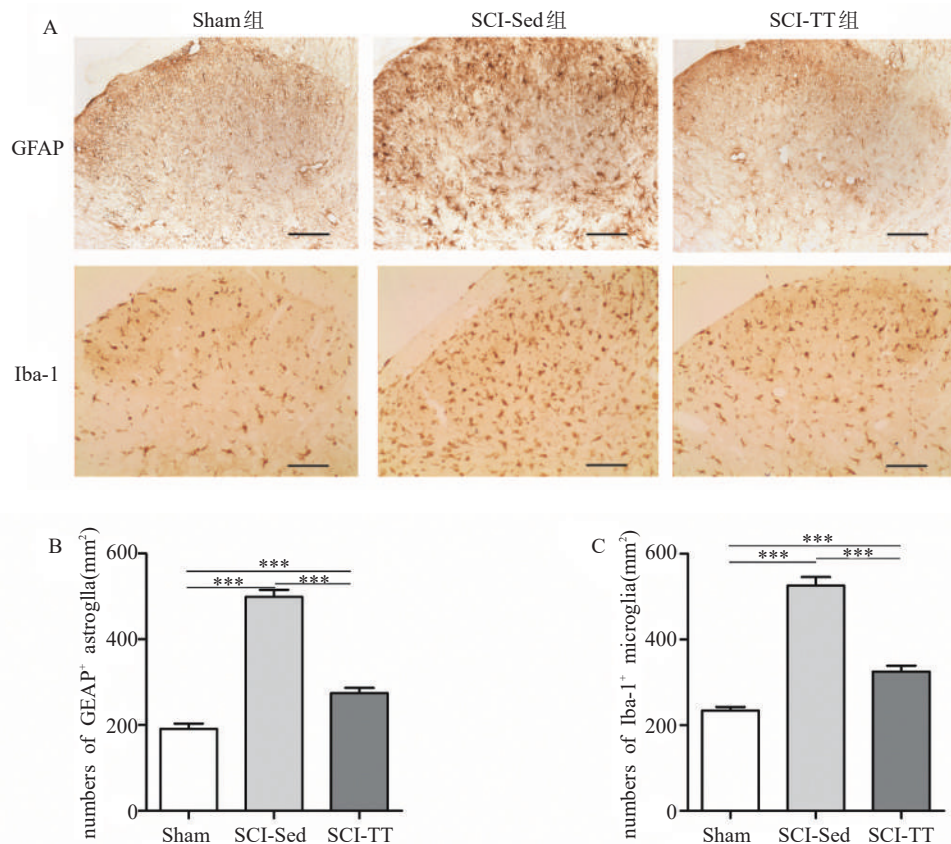
国际疼痛研究协会(International Association for the Study of Pain, IASP)对 NP 的定义为:“由躯体的感觉系统损害或疾病导致的疼痛”^[20]。SCI 后的 NP 可分为:损伤平面处 NP 和/或损伤平面以下 NP,可由脊髓压迫、脊髓缺血、神经根或马尾压迫等导致,表现为电击样、针刺样、钻击样、压榨样或灼烧

表 1 大鼠痛觉阈值与脊髓后角胶质细胞活化数量之间的相关性分析(Pearson 相关系数)

痛觉阈值	小胶质细胞		星形胶质细胞	
	相关系数	P	相关系数	P
机械性痛觉阈值	-0.847	0.000	-0.815	0.000
热刺激痛觉阈值	-0.800	0.000	-0.820	0.000

图2 脊髓后角GFAP及Iba-1免疫组化结果

(×200)



A: 各组脊髓后角GFAP及Iba-1免疫组化图; B: 脊髓后角GFAP⁺细胞计数柱状图; C: 脊髓后角Iba-1⁺细胞计数柱状图。组间两两比较, *** $P < 0.001$ (Bar值=100 μ m)。

样疼痛等^[3-4,21]。其中,损伤平面以下NP多在SCI后数月或数年逐渐出现,是SCI最常见的疼痛类型,对患者的影响往往更为严重,且更令人难以忍受^[2,22]。由于SCI后脊髓上位中枢抑制作用的减弱,脊髓后角内神经元的特性可能发生了改变,包括对外周刺激反应性增加、静息电位活动增加和刺激后放电时间延长等,可能导致了中枢敏化的产生^[4]。此外,小胶质细胞和星形胶质细胞活化后,还可释放一系列生物活性物质(包括炎症因子、趋化因子以及神经营养因子等),并激活相应信号转导通路调节神经元活性,导致脊髓感觉整合区的敏化,以及传入纤维的结构重塑等(如CGRP标记纤维),参与NP的发生与发展^[23-24]。

本研究采用早期运动训练,对不完全性SCI大鼠进行了干预。结果显示,痛觉阈值于SCI后第1

天明显高于正常值,提示SCI后早期脊髓休克,导致脊髓层面对伤害性感觉刺激不敏感;SCI后第7天痛觉阈值迅速下降,可能与SCI早期星形胶质细胞和小胶质细胞的大量活化,以及炎症因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和TGF- β 等)的大量释放密切相关^[25],而运动训练4周可明显升高不完全性SCI大鼠的痛觉阈值。说明早期运动训练具有减轻SCI后NP的可能性,与国内外研究结果一致^[9,26-27]。此外,本研究还发现,SCI后,SCI-Sed组脊髓后角的小胶质细胞和星形胶质细胞活化数量明显增多;而经4周运动训练后,SCI-TT组脊髓后角的小胶质细胞和星形胶质细胞活化数量明显减少。进一步分析显示,SCI后第35天,大鼠痛觉阈值与脊髓后角胶质细胞数量之间存在明显负相关,痛觉阈值越低,胶质细胞活化数量越多。但限于本研究观察时间及样本量,目前尚

不能确定其他时间节点二者之间的相关性。国内外相关研究亦不明确二者之间的相关性。但是,Gwak等^[28]的研究发现,在SCI 2h后小胶质细胞和星形胶质细胞即大量增殖,并持续至SCI后3个月(该研究终点),提示胶质细胞活化是SCI后NP发生与维持的重要因素,而抑制SCI后胶质细胞活化可能是改善NP的有效方法。

Kim等^[13]的研究发现,在SCI早期对不完全性SCI大鼠进行重复经颅磁刺激治疗也可减少损伤平面以下脊髓后角内的小胶质细胞和星形胶质细胞活化数量,并减轻NP程度。并且还有研究发现^[29-30],在SCI早期使用小胶质细胞或星形胶质细胞活化抑制剂,可明显预防SCI后疼痛的发生。说明通过多种途径抑制胶质细胞活化对减轻SCI后NP具有重要意义,但SCI早期运动减轻NP的机制目前尚不清楚。研究显示^[31],对不完全性SCI大鼠进行针灸治疗可显著降低脊髓内超氧阴离子(O_2^-)(具有小胶质细胞活化调节作用)的产生,并抑制活性氧介导的p38MAPK和ERK通路对小胶质细胞的激活作用,减少促炎性细胞因子和前列腺素的释放,减轻SCI后的疼痛反应。运动训练是否通过类似途径抑制胶质细胞活化并改善SCI后NP,仍需进一步研究。

综上所述,早期运动训练可明显升高T10不完全性SCI大鼠的痛觉阈值,抑制损伤平面以下脊髓后角内小胶质细胞和星形胶质细胞的活化。但早期运动通过何种途径抑制脊髓后角内的小胶质细胞和星形胶质细胞活化并改善SCI后NP,以及运动训练减轻NP的疗效维持情况,目前尚不清楚。后续研究应进一步探讨早期运动训练改善SCI后NP的有效性及具体作用途径,为临床早期预防/减轻SCI后NP提供更佳的治疗方案。

参考文献

- [1] Widerström-Noga E. Neuropathic pain and spinal cord injury: phenotypes and pharmacological management[J]. *Drugs*, 2017,77(9):967—984.
- [2] Burke D, Fullen BM, Stokes D, et al. Neuropathic pain prevalence following spinal cord injury: A systematic review and meta-analysis[J]. *European Journal of Pain*, 2017,21(1): 29—44.
- [3] Nakipogluuzer GF, Atçı N, Ozgirgin N. Neuropathic pain in spinal cord injury[J]. *Pain Physician*, 2013,16(3):259—264.
- [4] Siddall PJ, Middleton JW. Spinal cord injury-induced pain: mechanisms and treatments[J]. *Pain Management*, 2015,5(6): 493—507.
- [5] Lorenzo LE, Ramien M, St L M, et al. Postnatal changes in the Rexed lamination and markers of nociceptive afferents in the superficial dorsal horn of the rat[J]. *Journal of Comparative Neurology*, 2008,508(4):592—604.
- [6] Todd AJ. Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn[J]. *Nature reviews. Neuroscience*, 2010,11(12):386—823.
- [7] Kato G, Kawasaki Y, Koga K, et al. Organization of intra- and translaminar neuronal connectivity in the superficial spinal dorsal horn[J]. *Journal of Neuroscience*, 2009,29(16): 5088—5099.
- [8] Naseri K, Saghaei E, Abbaszadeh F, et al. Role of microglia and astrocyte in central pain syndrome following electrolytic lesion at the spinothalamic tract in rats[J]. *Journal of Molecular Neuroscience Mn*, 2013,49(3):470—479.
- [9] Tashiro S, Shinozaki M, Mukaino M, et al. BDNF induced by treadmill training contributes to the suppression of spasticity and allodynia after spinal cord injury via upregulation of KCC2[J]. *Neurorehabilitation & Neural Repair*, 2015,29(7): 677—689.
- [10] Detloff MR, Smith EJ, Molina DQ, et al. Acute exercise prevents the development of neuropathic pain and the sprouting of non-peptidergic (GDNF- and artemin-responsive) c-fibers after spinal cord injury[J]. *Experimental Neurology*, 2014,255(5):38—48.
- [11] Sato G, Osumi M, Morioka S. Effects of wheelchair propulsion on neuropathic pain and resting electroencephalography after spinal cord injury[J]. *Journal of Rehabilitation Medicine*, 2017,49(2):136—143.
- [12] Detloff MR, Quiros-Molina D, Javia AS, et al. Delayed exercise is ineffective at reversing aberrant nociceptive afferent plasticity or neuropathic pain after spinal cord injury in rats[J]. *Neurorehabilitation & Neural Repair*, 2015,30(7): 685—700.
- [13] Kim JY, Choi GS, Cho YW, et al. Attenuation of spinal cord injury-induced astroglial and microglial activation by repetitive transcranial magnetic stimulation in rats[J]. *Journal of Korean Medical Science*, 2013,28(2):295—299.
- [14] Choi DC, Lee JY, Lim EJ, et al. Inhibition of ROS-induced p38MAPK and ERK activation in microglia by acupuncture relieves neuropathic pain after spinal cord injury in rats[J]. *Experimental Neurology*, 2012,236(2):268—282.
- [15] Wu Q, Cao Y, Dong C, et al. Neuromuscular interaction is required for neurotrophins-mediated locomotor recovery following treadmill training in rat spinal cord injury[J]. *PeerJ*, 2016,4:e2025.
- [16] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 1994,53(1):55—63.
- [17] Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations [J]. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 1980,20 (1):441—462.
- [18] Nirogi R, Goura V, Shanmuganathan D, et al. Comparison of manual and automated filaments for evaluation of neuropathic pain behavior in rats[J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2012,66(1):8—13.
- [19] Hargreaves K. A new and sensitive method for measuring

- thermal nociception in cutaneous hyperalgesia[J]. *Pain*,1988,32(1):77—88.
- [20] 神经病理性疼痛诊疗专家组. 神经病理性疼痛诊疗专家共识[J]. *中国疼痛医学杂志*,2013,19(12):705—710.
- [21] Bryce TN, Biering-sørensen F, Finnerup NB, et al. International spinal cord injury pain classification: part I. Background and description. March 6-7, 2009[J]. *Spinal Cord*, 2012,50(6):413—417.
- [22] Siddall PJ, McClelland JM, Rutkowski SB, et al. A longitudinal study of the prevalence and characteristics of pain in the first 5 years following spinal cord injury[J]. *Pain*,2003,103(3):249—257.
- [23] Schomberg D, Miranpuri G, Duellman T, et al. Spinal cord injury induced neuropathic pain: Molecular targets and therapeutic approaches[J]. *Metabolic Brain Disease*,2015,30(3):645—658.
- [24] Echeverry S, Shi XQ, Yang M, et al. Spinal microglia are required for long-term maintenance of neuropathic pain[J]. *Pain*,2017,2017(158):1792—1801.
- [25] Martini AC, Berta T, Forner S, et al. Lipoxin A4 inhibits microglial activation and reduces neuroinflammation and neuropathic pain after spinal cord hemisection[J]. *Journal of Neuroinflammation*,2016,13(1):75.
- [26] Dugan EA, Sagen J. An intensive locomotor training paradigm improves neuropathic pain following spinal cord compression injury in rats[J]. *Journal of Neurotrauma*,2015,32(9):622—632.
- [27] Wang H, Liu N, Zhang YP, et al. Treadmill training induced lumbar motoneuron dendritic plasticity and behavior recovery in adult rats after a thoracic contusive spinal cord injury[J]. *Experimental Neurology*,2015,271:368—378.
- [28] Gwak YS, Kang J, Unabia GC, et al. Spatial and temporal activation of spinal glial cells: role of gliopathy in central neuropathic pain following spinal cord injury in rats[J]. *Experimental Neurology*,2012,234(2):362—372.
- [29] Tateda S, Kanno H, Ozawa H, et al. Rapamycin suppresses microglial activation and reduces the development of neuropathic pain after spinal cord injury[J]. *Journal of Orthopaedic Research*,2016,35(1):93—103.
- [30] Tonkin RS, Bowles C, Perera C, et al. Attenuation of mechanical pain hypersensitivity by treatment with Peptide5, a connexin-43 mimetic peptide, involves inhibition of NLRP3 inflammasome in nerve-injured mice[J]. *Experimental Neurology*,2018,300:1—12.
- [31] Choi DC, Lee JY, Lim EJ, et al. Inhibition of ROS-induced p38MAPK and ERK activation in microglia by acupuncture relieves neuropathic pain after spinal cord injury in rats[J]. *Experimental Neurology*,2012,236(2):268—282.

(上接第1148页)

- [14] 李夏青. 肉毒杆菌毒素的临床应用及其前景[M]. 第1版. 北京:知识产权出版社,2012: 1—200.
- [15] 兰婧, 王红, 白娟, 等. A 型肉毒杆菌神经毒素重链干预大鼠脊髓损伤后蛋白表达的初步研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32 (12) :2125—2132.
- [16] 邓亚南, 刘艳芳, 陈建平, 等. 经大鼠腰骶部鞘内置管给药技术的研究[J]. *中国医学创新*, 2014,11(18):33—35.
- [17] Ulmann L, Rodeau JL, Danoux L, et al. Dehydroepiandrosterone and neurotrophins favor axonal growth in a sensory neuron-keratinocyte coculture model[J]. *Neuroscience*, 2009, 159(2):514—525.
- [18] Roehm PC, Xu N, Woodson EA, et al. Membrane depolarization inhibits spiral ganglion neurite growth via activation of multiple types of voltage sensitive calcium channels and calpain[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2008, 37(2):376—387.
- [19] Bigbee JW, Sharma KV, Chan EL, et al. Evidence for the direct role of acetylcholinesterase in neurite outgrowth in primary dorsal root ganglion neurons[J]. *Brain Res*, 2000, 861(2):354.
- [20] Ma TC, Willis DE. What makes a RAG regeneration associated[J]? *Front Mol Neurosci*, 2015, 8(43):1—13.
- [21] Grafstein B. The nerve cell body response to axotomy[J]. *Exp Neuro*, 1975, 48(2):32—51.
- [22] Tetzlaff W, Alexander SW, Miller FD, et al. Response of facial and rubrospinal neurons to axotomy: changes in mRNA expression for cytoskeletal proteins and GAP-43 [J]. *J Neurosci*, 1991,11(8): 2528—2544.
- [23] Ozon S, Maucuer A, Sobel A. The stathmin family -- molecular and biological characterization of novel mammalian proteins expressed in the nervous system[J]. *Eur J Biochem*, 2010, 248(3):794—806.
- [24] Riederer BM, Pellier V, Antonsson B, et al. Regulation of microtubule dynamics by the neuronal growth-associated protein SCG 10[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1997,94(2): 741—745.
- [25] Wang J, Shan C, Cao W, et al. SCG10 promotes non-amyloidogenic processing of amyloid precursor protein by facilitating its trafficking to the cell surface[J]. *Human Mol Genet*, 2013, 22(24):4888—4900.
- [26] Tararuk T, Ostman N, Li W, et al. JNK1 phosphorylation of SCG10 determines microtubule dynamics and axodendritic length[J]. *Cell Biol*, 2006, 173(2):265—277.
- [27] Morii H, Shiraishiyamaguchi Y, Mori N. SCG10, a microtubule destabilizing factor, stimulates the neurite outgrowth by modulating microtubule dynamics in rat hippocampal primary cultured neurons[J]. *J Neurobiol*, 2006, 66(10):1101—1114.
- [28] Shin JE, Geisler S, Diantonio A. Dynamic regulation of SCG10 in regenerating axons after injury[J]. *Exp Neurol*, 2014,252(3): 1—11.
- [29] 高美玲, 王红, 张彩云, 等. 血清型A 肉毒杆菌神经毒素重链对 Neuro-2a 细胞的促神经突起再生作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2015,31(12): 2221—2227.
- [30] 马文俊, 梁英. A 型肉毒毒素对膝骨性关节炎大鼠模型镇痛效果及机制的实验研究[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32 (6) : 649—653.