

ERK-TRPV4途径参与大鼠背根神经节持续受压后痛觉敏感的脊髓中枢敏化机制的研究*

贾磊¹ 魏慧¹ 张杨¹ 怀娟¹ 岳寿伟^{1,2}

摘要

目的:探讨ERK-TRPV4途径参与大鼠背根神经节持续受压(CCD)后痛觉敏感的脊髓中枢敏化的机制。

方法:选取SPF级雄性Wistar大鼠共42只,随机分为空白对照组6只,CCD手术组36只(包括术后2d、4d、7d、10d和14d,每组6只,以及免疫荧光组6只)。利用免疫共沉淀检测正常大鼠脊髓背角中ERK与TRPV4的相互联系。利用免疫组织化学染色法,观察ERK与TRPV4的分布情况。制备CCD模型,利用western blot技术检测空白对照组及术后2d、4d、7d、10d及14d,手术侧及对侧脊髓背角ERK和TRPV4蛋白表达的变化。利用免疫荧光技术观察术后4d脊髓背角中ERK和TRPV4阳性细胞数目、神经元的形态及阳性神经元比率的变化。

结果:CCD术后第2天至第10天,手术侧脊髓背角中ERK及TRPV4表达明显升高($P<0.01$)。同时,手术侧脊髓背角中ERK和TRPV4阳性细胞数目、共同阳性表达细胞数及阳性神经元细胞比率均高于非手术侧($P<0.01$)。脊髓背角阳性神经元分布于灰质第I至IV层,手术侧的神经元树突棘生成增加,胞体增大。

结论:ERK-TRPV4通路参与了CCD后痛觉敏感的脊髓中枢敏化机制。

关键词 背根神经节持续受压;痛觉敏感;脊髓;中枢敏化

中图分类号:R441.1,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2019)-11-1285-07

A study on ERK-TRPV4 pathway in the central sensitization mechanism of the spinal cord with allodynia after chronic compression of the dorsal root ganglion in rats/JIA Lei, WEI Hui, ZHANG Yang, et al. //Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2019, 34(11): 1285—1291

Abstract

Objective: To investigate the role of ERK-TRPV4 pathway in central sensitization mechanism of the spinal cord after chronic compression of the dorsal root ganglion (CCD) in rats.

Method: Forty-two SPF male Wistar rats were randomly divided into control group (6 rats) and CCD group (36 rats, including 6 rats in each subgroup: 2 days, 4 days, 7 days, 10 days and 14 days after operation respectively, and 6 rats in fluorescence subgroup). Immunoprecipitation was used to observe the interaction between ERK and TRPV4 in the spinal dorsal horn of normal rats. Immunohistochemical staining was used to observe the distribution of ERK and TRPV4. After CCD models were established, western blot was used to detect the ERK and TRPV4 protein expression of control group and CCD group in the dorsal horn of the spinal cord on the operative side and contralateral side. Four days after the operation, the number of ERK and TRPV4 positive cells, morphological changes of neurons and the ratio of positive neurons in the dorsal horn of the spinal cord were observed and compared.

Result: From day 2 to day 10 after CCD, ERK and TRPV4 expression in spinal dorsal horn were significantly increased ($P<0.01$). The number of ERK and TRPV4 positive cells, the number of common positive expres-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2019.11.004

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81772436)

1 山东大学齐鲁医院康复科,山东省济南市,250012; 2 通讯作者

作者简介:贾磊,女,博士; 收稿日期:2019-07-02

sion cells and the ratio of positive neurons in the dorsal horn of the spinal cord on the operative side were all higher than those on the non-operative side ($P<0.01$). The positive neurons of spinal dorsal horn were distributed in layers I to IV of gray matter, and the formation of dendritic spines and cell bodies on the surgical side were increased.

Conclusion: ERK-TRPV4 pathway is involved in the sensitization mechanism of spinal cord after CCD.

Author's address Rehabilitation Department of Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, 250012

Key word chronic compression of dorsal root ganglion; allodynia; spinal cord; central sensitization

2011年,国际疼痛研究学会对神经病理性疼痛的定义进行了更新,指出神经病理性疼痛为躯体感觉系统的损害或疾病导致的疼痛^[1-5],以异常疼痛、痛觉敏感和自发性疼痛为主要特征^[6-7]。目前研究可知的疾病发病机制也是多种多样^[8]。大鼠背根神经节持续受压(chronic compression of dorsal root ganglion, CCD)后,大鼠出现了机械痛敏、热痛敏及异常疼痛的行为学表现^[9-10]。

背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)神经元是第一级感觉神经元^[6],DRG神经元可以对感觉传入信号进行增敏^[8]。随后,位于脊髓背角的第二级感觉神经元被激活,在脊髓水平对外周伤害性刺激做出相应反应并逐级上传^[11]。脊髓及其以上痛觉相关神经元的兴奋性异常升高或者突触传递增强即脊髓的中枢敏化^[8,12]。

细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)与瞬时感受器电位离子通道家族中的香草素受体亚家族中TRPV4(transient receptor potential vanilloid receptor 4)共同参与了多种病理性疼痛的发生机制,如原发性三叉神经痛、颞下颌关节功能紊乱引起的咀嚼痛及骨关节炎疼痛等^[13-14]。本研究拟探讨ERK-TRPV4途径是否参与大鼠背根神经节持续受压所致痛觉敏感的脊髓中枢敏化机制,为治疗神经病理性疼痛寻找新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

SPF级、健康成年雄性Wistar大鼠,体重约150—180g。共42只大鼠,随机分为空白对照组6只,CCD手术组36只(包括术后2d、4d、7d、10d、14d,每组6只,以及免疫荧光组6只)。

实验动物由山东大学实验动物中心提供,所有动物实验已经通过了山东大学实验动物伦理委员会

的批准。

1.2 实验主要试剂

总蛋白提取试剂盒(上海贝博生物);Western-Blot一抗:兔抗大鼠TRPV4多克隆抗体(1:800, Abcam, USA),兔抗大鼠ERK多克隆抗体(1:2000, CST, USA),兔抗大鼠anti-P-ERK多克隆抗体(1:1000, CST, USA), β -Tubulin兔抗大鼠一抗(1:2000, CST, USA);辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(1:8000, 北京中杉金桥生物技术有限公司);免疫组化及免疫荧光一抗:小鼠抗大鼠NeuN多克隆抗体(1:300, Abcam, USA),兔抗大鼠TRPV4多克隆抗体(1:200, Abcam, USA),兔抗大鼠ERK多克隆抗体(1:500, CST, USA),兔抗大鼠P-ERK多克隆抗体(1:200, CST, USA),小鼠抗大鼠ERK多克隆抗体(1:500, CST, USA);超敏型二步法检测试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司);488—荧光标记的驴抗小鼠—IgG(H+L)(1:400, Invitrogen, USA),594—荧光标记的驴抗兔—IgG(H+L)(1:400, Invitrogen, USA)。组织裂解液(上海碧云天生物科技公司),琼脂糖蛋白珠 Protein A-agarose(美国 Santa Cruz Biotechnology公司)。

1.3 动物模型的制作

大鼠CCD模型的制作方法:大鼠称重后按照0.3ml/100g体重腹腔注射10%水合氯醛。背部全部剃毛,消毒皮肤后盖无菌洞巾。切开皮肤,定位于两侧髂棘连线的中点,纵形切口约2cm,右侧浅筋膜三角外上方剪开深筋膜,拨开鼠尾提肌,钝性分离腰背部各肌肉,暴露L4和L5对应节段的椎间外孔。选用形状类似“U”形的不锈钢棒,一端稍长,约4cm,另一端稍短,约3cm,钢棒直径为0.63mm,其一端沿L4和L5的椎间外孔的前壁与脊柱形成的夹角,30°至45°斜向上插入椎间孔,其另一端露于椎间孔外。术后冲洗切口,逐层缝合。观察大鼠的行为,未

出现自残、感觉完全缺失以及无法行走等现象^[15]。

1.4 Western Blot免疫印迹检测

腹腔注射10%水合氯醛(0.3ml/100g)麻醉大鼠,预冷生理盐水快速灌注,冰上快速取出L4及L5节段脊髓,BCA法测定蛋白浓度,每组蛋白样本加入1/4倍体积5×上样缓冲液,95℃,10min使蛋白变性,取适量蛋白样品进行SDS-PAGE凝胶电泳,蛋白转印至0.22nm PVDF膜上后,5%脱脂牛奶封闭。一抗孵育,4℃摇床上过夜。洗膜液清洗3次(每次15min),二抗室温孵育1.5h,洗膜液清洗3次(每次15min)后,滴加化学发光试剂,采用美国通用公司AI600成像系统显影,采用ImageJ软件进行结果分析。

1.5 免疫共沉淀

使用组织裂解液,提取脊髓背角的组织总蛋白后,采用Protein A-agarose结合法,分别用anti-TRPV4抗体和anti-ERK抗体与之反应,进行免疫共沉淀结合。阴性对照组为同源IgG,沉淀后的复合物利用蛋白印记法进行分析,分别观察各组中是否存在所需目的蛋白。

1.6 免疫组化染色

大鼠麻醉后,行心脏灌注,快速脉冲式推注100mL预冷的生理盐水,随后缓慢均匀推注100mL 4%多聚甲醛。取L4及L5节段脊髓,浸入4%多聚甲醛4℃过夜,组织脱水、浸蜡、包埋,制作石蜡切片(4μm)。脱蜡复水后进行抗原修复,滴加过氧化物阻断剂,PBS清洗后置于湿盒,一抗4℃孵育过夜。超敏型二步法滴加增敏剂和二抗,DAB显色、苏木素染核、1%盐酸酒精分化后,脱水透明。使用中性树胶封片,采用DMRXA全自动明场/荧光显微镜拍照。

1.7 免疫荧光双标

取材、制作石蜡切片、脱蜡复水和抗原修复的实验方法同上述免疫组织化学染色法。抗原修复后,滴加5%驴血清室温封闭1h,滴加一抗混合液,置于湿盒4℃过夜。PBS再次清洗后加荧光二抗,37℃孵育30min。PBS清洗,滴加含有防荧光淬灭剂的DAPI染剂封片,采用DMRXA全自动明场/荧光显微镜和Q550A图像分析系统采集图像,用IPP6.0图像分析软件进行分析,统计阳性细胞数目。

1.8 统计学分析

所得数据采用GraphPad Prism 7软件进行数

据分析。Western Blot检测结果的组间比较采用单因素方差分析。免疫荧光分析结果采用配对 t 检验进行比较。数据采用均数±标准差形式表示, $P<0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 TRPV4和ERK在脊髓背角的蛋白表达变化

CCD术后第2、4、7、10及14天进行取材。发现手术侧第2天至第10天,脊髓背角中TRPV4表达明显升高($n=6, P<0.01$),并伴随着ERK及P-ERK的表达升高($n=6, P<0.01$)。而对侧蛋白表达无明显变化($n=6, P=0.2632$)。见图1。

2.2 脊髓背角组织免疫共沉淀

分别使用anti-TRPV4和anti-ERK抗体,发现脊髓背角中ERK可被TRPV4抗体沉淀,而TRPV4亦可被ERK抗体沉淀。阴性对照均未出现TRPV4和ERK显影,表明本实验未发现非特异性结合。见图2。

2.3 脊髓背角组织中NeuN、TRPV4和ERK分布

免疫组织化学染色法结果表明,NeuN标记的神经元,TRPV4和ERK标记的细胞在脊髓背角的灰质第I、II、III和IV层均有分布。见图3。

2.4 CCD后ERK和TRPV4在脊髓背角的阳性细胞数的变化

手术侧及对侧的脊髓背角中均存在ERK和TRPV4的阳性细胞。每组选取6张不连续切片,观察各组高倍视野并计数ERK和TRPV4的阳性细胞数目。与对侧相比,手术侧ERK和TRPV4阳性细胞数目均明显较多($n=6, 各P<0.01$),进而分析两者共表达的细胞数,手术侧明显高于对侧($n=6, P<0.01$)。见图4。

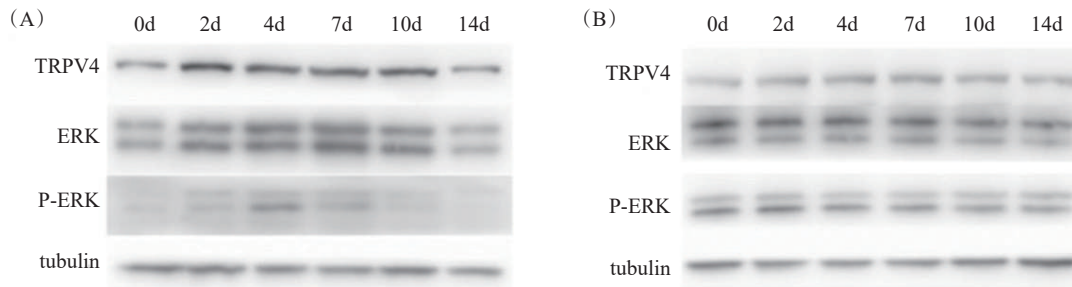
2.5 CCD大鼠脊髓背角阳性神经元的变化

NeuN神经元标记物标记脊髓背角的神经元细胞,手术侧NeuN标记神经元细胞形态表现为树突棘生成增加,胞体增大。神经元细胞质及细胞核内ERK和TRPV4均有表达。手术侧表达NeuN-ERK和NeuN-TRPV4的阳性神经元百分比明显高于对侧($n=6, 各P<0.01$)。见图5。

3 讨论

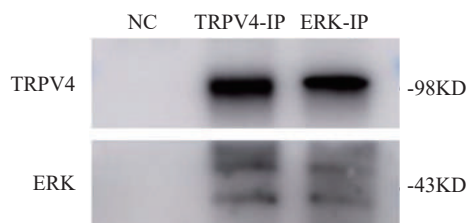
周围神经损伤可引起神经性疼痛,并使外周丝

图1 CCD后TRPV4和ERK在脊髓背角的蛋白表达变化



(A)手术侧脊髓背角大鼠背根神经节持续受压后第2至第10天,TRPV4表达升高,且伴随ERK及P-ERK的表达升高(n=6, *P<0.05)。(B)对侧无明显变化。

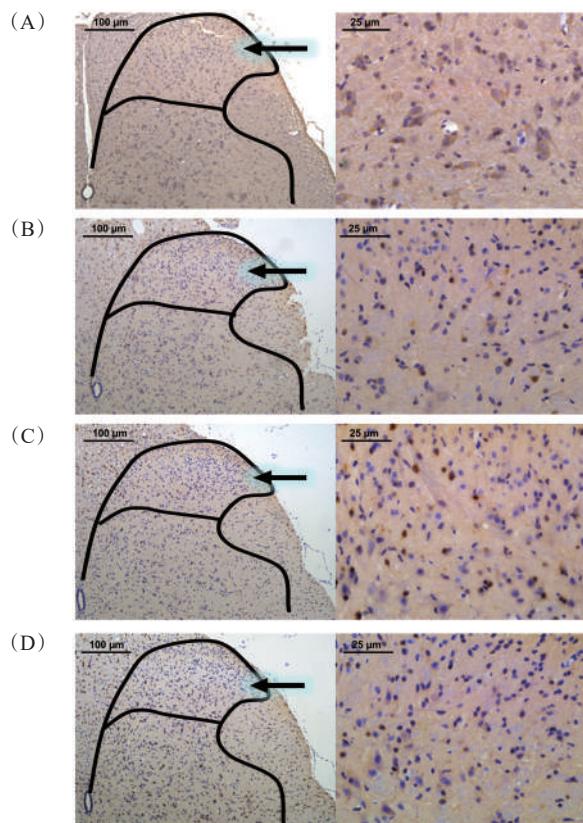
图2 脊髓背角组织免疫共沉淀



ERK可被TRPV4抗体沉淀,TRPV4亦可被ERK抗体沉淀。其中NC组均未出现显影,表明本实验未发现非特异性结合。

裂原活化蛋白激酶家族(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)激活,MAPKs家族包含了三类主要的成员,即细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)、p38和c-JNK,其中ERK可以诱导多种基因转录,并将细胞外刺激转化为细胞内翻译和转录反应,在外周敏化和中枢敏化中均发挥重要作用^[16-18]。TRPV4是钙离子高渗透性阳离子通道,表达于细胞膜、细胞质和细胞核中。前期研究证实,CCD后DRG神经元中TRPV4被激活,神经元兴奋性增加,产生大量持久的异位放电,靶向抑制DRG神经元中ERK的表达,TRPV4的表达及功能均受到抑制,伴随着神经元中钙离子浓度明显降低,ERK-TRPV4通路参与CCD后大鼠的痛觉敏感的外周敏化机制^[19-20]。随后在大鼠CCD术后,给予鞘内注射靶向抑制ERK的慢病毒干扰后,DRG及脊髓背角的TRPV4的表达均明显受到抑制,且痛觉敏感得到明显缓解^[20]。我们推测CCD所致的痛敏机制中,ERK-TRPV4通路不仅参与背根神经节的外周敏化机制,还涉及脊髓的中枢敏化机制。

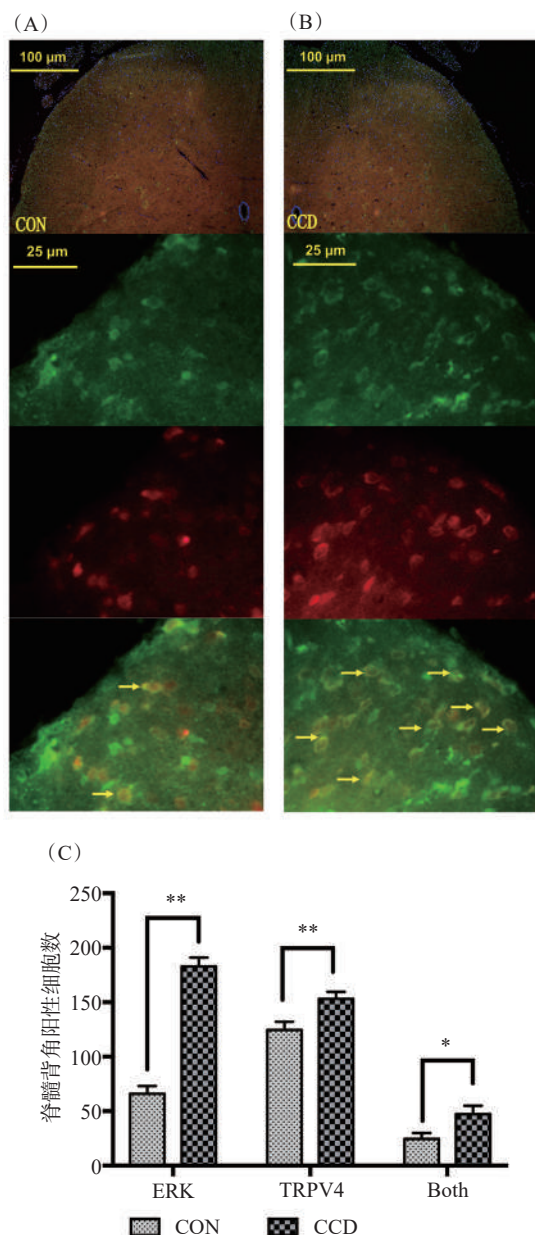
图3 正常大鼠脊髓背角组织中蛋白的分布



(A)——(D)大鼠脊髓背角免疫组织化学染色法,分别为NeuN、TRPV4、ERK及P-ERK标记的细胞,均在大鼠脊髓背角中表达及分布,黑色箭头所指区域为脊髓背角灰质第I、II、III和IV层。

当周围神经受到刺激,以及炎症或神经损伤所导致的慢性疼痛发生时,外周信号传导至脊髓背角痛敏神经元,形成异常的突触连接^[7,21]。同时,组织炎症和损伤等引起脊髓中许多分子信号变化,包括

图4 CCD后脊髓背角阳性细胞数的变化(免疫荧光染色)



(A)对侧(CON)的脊髓背角中ERK和TRPV4标记的阳性细胞。(B)手术侧(CCD)的脊髓背角中ERK和TRPV4标记的阳性细胞。(C)统计高倍视野中阳性细胞数目。手术侧TRPV4和ERK阳性细胞数目明显高于对侧,进而分析共表达阳性细胞的细胞数,手术侧明显高于对侧($n=6$, $**P<0.01$, $*P<0.05$)。标尺:100μm低倍镜($\times 100$), 25μm高倍镜($\times 400$)。488绿色荧光为ERK标记,594红色荧光为TRPV4标记;黄色箭头:共表达阳性细胞。

信号通路中蛋白表达、离子通道的表达及其细胞内的分布定位、细胞核转录因子的表达等的改变,破坏了中枢神经系统的兴奋—抑制动态平衡,使得神经元兴奋性和突触可塑性处于异常模式从而导致脊髓

敏化^[7,11,22-27]。我们发现,脊髓背角中ERK和TRPV4的蛋白表达均明显上调,两者蛋白表达的变化趋势,与前期行为学检测机械痛敏和热痛敏的变化趋势相一致^[9,18]。利用anti-TRPV4抗体和anti-ERK抗体,通过免疫共沉淀的方法,将大鼠脊髓背角组织蛋白中直接关联的蛋白特异性结合,发现ERK和TRPV4均为阳性结果,表明在脊髓背角组织中两者直接关联,推测两者在发挥生物学效应时亦存在密切联系。

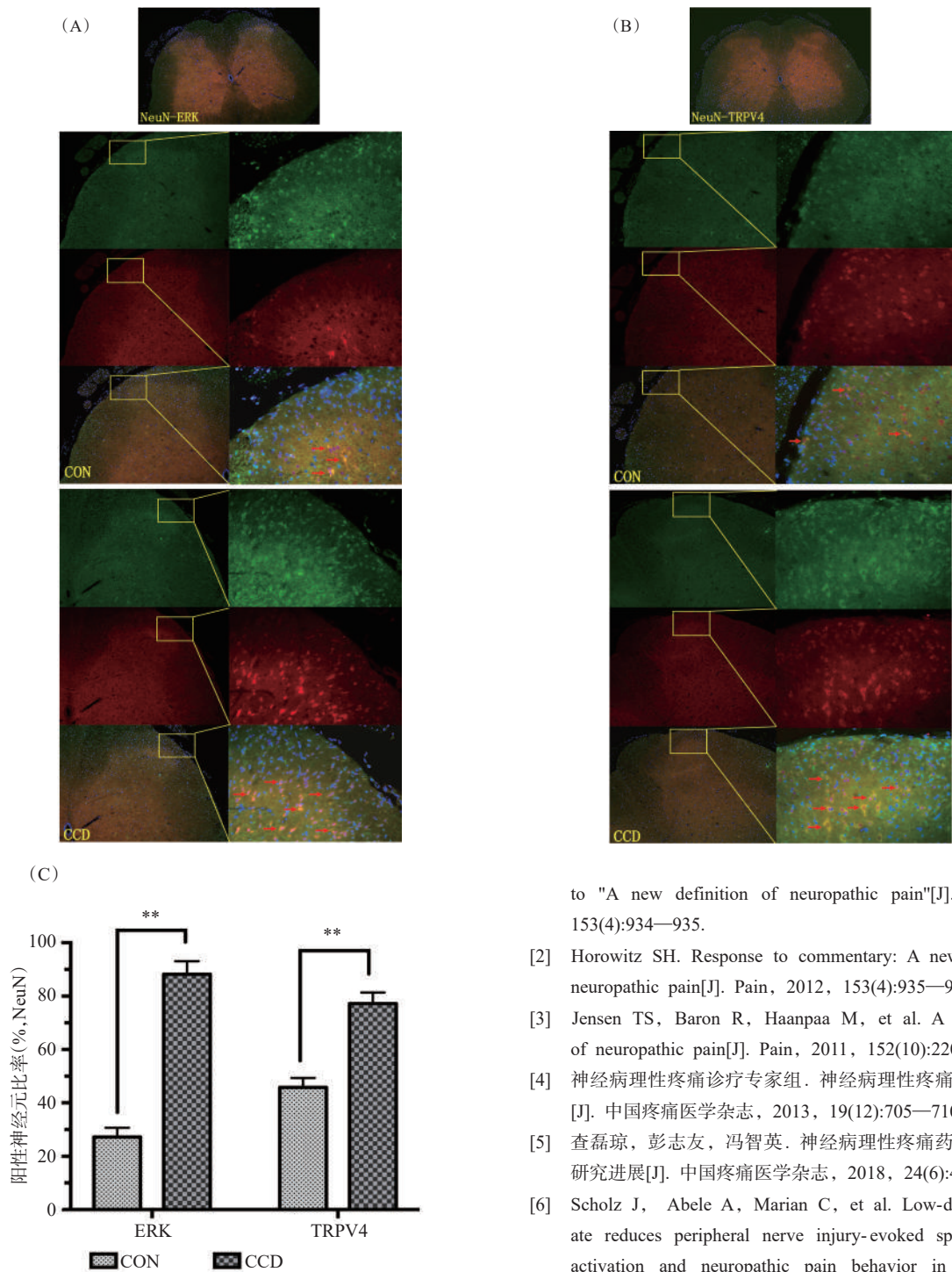
背根神经节神经元是传递外周感觉信息至脊髓和脊髓上中枢的第一级感觉神经元^[28-29],其发出的A β 类纤维、A δ 类纤维和C类纤维,分别传递低阈值感觉信号、快痛信号和慢痛信号,止于脊髓背角第I至IV层^[30]。背根神经节持续受压后的疼痛信号以及所引起的炎症刺激可使脊髓背角中感觉传入区域的神经元异常兴奋,神经元的形态及其树突棘的密度亦发生改变,同时被激活的神经细胞数目增多,这些变化均为脊髓中枢敏化的表现^[7-8,30-31]。采用NeuN特异性神经元标记物标记脊髓背角神经元细胞,观察NeuN标记的感觉传导区的神经元分布及形态。我们发现,NeuN-ERK和NeuN-TRPV4阳性神经元主要分布于脊髓背角I至IV层中,而与对侧相比,手术侧相应区域的神经元形态和数目均发生了改变,阳性神经元胞体体积变大、树突棘的生成增多、标记ERK和TRPV4的阳性神经元数目增加,表明脊髓背角中感觉传导神经元被激活。形态学和蛋白表达的变化均与脊髓的中枢敏化机制密切相关,可能是由于痛觉信号激活了ERK-TRPV4通路,进而引起脊髓背角中相应功能区域神经元的兴奋性异常增高,伴随着特定蛋白的阳性表达异常增加,我们可以推断ERK-TRPV4通路参与了大鼠痛觉敏感的脊髓中枢敏化机制。但是,ERK-TRPV4通路在神经病理性疼痛脊髓中枢敏化中的具体作用仍需进一步研究。

总之,脊髓中枢敏化机制在大鼠持续受压所致痛觉敏感的发生及发展过程中发挥了不可或缺的重要作用,而ERK-TRPV4通路参与了痛敏的脊髓中枢敏化机制,这一发现为今后探索神经病理性疼痛的产生和发展机制,提供了新的思路和方向。

参考文献

- [1] Oaklander AL, Wilson PR, Moskovitz PA, et al. Response

图5 ERK 和 TRPV4在脊髓背角的阳性神经元的变化 (免疫荧光染色)



(A)(B)NeuN标记神经元(绿色荧光),手术侧NeuN标记神经元细胞树突棘生成增加,胞体较大(与对侧相比);神经元细胞质及细胞核内ERK和TRPV4(红色荧光)均有表达。(C)与对侧(CON)相比,手术侧(CCD)表达ERK-NeuN和TRPV4-NeuN的阳性神经元百分比明显增加(n=6, **P<0.01)。标尺:100μm低倍镜(×100),25μm高倍镜(×400),红色箭头:阳性神经元细胞。

to "A new definition of neuropathic pain"[J]. Pain, 2012, 153(4):934—935.

[2] Horowitz SH. Response to commentary: A new definition of neuropathic pain[J]. Pain, 2012, 153(4):935—935.

[3] Jensen TS, Baron R, Haanpaa M, et al. A new definition of neuropathic pain[J]. Pain, 2011, 152(10):2204—2205.

[4] 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.

[5] 查磊琼, 彭志友, 冯智英. 神经病理性疼痛药物治疗新靶点研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2018, 24(6):402—406.

[6] Scholz J, Abele A, Marian C, et al. Low-dose methotrexate reduces peripheral nerve injury-evoked spinal microglial activation and neuropathic pain behavior in rats[J]. Pain, 2008, 138(1):130—142.

[7] 崔东, 李泽华, 宋学军. 慢性疼痛的脊髓机制[J]. 中国疼痛医学杂志, 2017, 23(9):641—647.

[8] Landerholm AH, Hansson PT. Mechanisms of dynamic me-

- chanical allodynia and dysesthesia in patients with peripheral and central neuropathic pain[J]. *Eur J Pain*, 2011, 15(5): 498—503.
- [9] Wei H, Zhang Y, Fan ZZ, et al. Effects of colchicine-induced microtubule depolymerization on TRPV4 in rats with chronic compression of the dorsal root ganglion[J]. *Neurosci Lett*, 2013, 534:344—350.
- [10] Wang J, Wang XW, Zhang Y, et al. Ca^{2+} influx mediates the TRPV4-NO pathway in neuropathic hyperalgesia following chronic compression of the dorsal root ganglion[J]. *Neurosci Lett*, 2015, 588:159—165.
- [11] 宋学军. 疼痛信号外周神经转导的分子生物学机制[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2016, 22(1):2—7.
- [12] Latremoliere A, Woolf CJ. Central Sensitization: A generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity[J]. *J Pain*, 2009, 10(9):895—926.
- [13] Chen Y, Kanju P, Fang Q, et al. TRPV4 is necessary for trigeminal irritant pain and functions as a cellular formalin receptor[J]. *Pain*, 2014, 155(12):2662—2672.
- [14] Chen Y, Williams SH, McNulty AL, et al. Temporomandibular joint pain: A critical role for Trpv4 in the trigeminal ganglion[J]. *Pain*, 2013, 154(8):1295—1304.
- [15] 范真真, 曲玉娟, 魏慧, 等. 瞬时感受器电位离子通道4在大鼠背根神经节持续受压后异位放电中的作用[J]. *中国康复医学杂志*, 2013, 28(3):193—197.
- [16] Ellis A, Bennett DLH. Neuroinflammation and the generation of neuropathic pain[J]. *Brit J Anaesth*, 2013, 111(1): 26—37.
- [17] Chang LD, Cooper MS, Clark VP. Imaging biomarkers and the role of neuroinflammation in neuropathic pain[J]. *J Neuroimmune Pharm*, 2013, 8(3):448—451.
- [18] Qu YJ, Jia L, Zhang X, et al. MAPK pathways are involved in neuropathic pain in rats with chronic compression of the dorsal root ganglion[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016:6153215.
- [19] Zhang Y, Wang YH, Ge HY, et al. A transient receptor potentialvanilloid 4 contributes to mechanical allodynia following chronic compression of dorsal root ganglion in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 432(3):222—227.
- [20] Jia L, Zhang Y, Qu YJ, et al. Gene therapy by lentivirus-mediated RNA interference targeting extracellular-regulated kinase alleviates neuropathic pain in vivo[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(5):8110—8119.
- [21] Jergova S, Kolesar D, Cizkova D. Expression of c-Fos in the parabrachial nucleus following peripheral nerve injury in rats[J]. *Eur J Pain*, 2008, 12(2):172—179.
- [22] Liu S, Liu YP, Huang ZJ, et al. Wnt/Ryk signaling contributes to neuropathic pain by regulating sensoryneuron excitability and spinal synaptic plasticity in rats[J]. *Pain*, 2015, 156(12):2572—2584.
- [23] Xu N, Wu MZ, Deng XT, et al. Inhibition of YAP/TAZ activity in spinal cord suppresses neuropathic pain[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(39):10128—10140.
- [24] Bourinet E, Francois A, Laffray S. T-type calcium channels in neuropathic pain[J]. *Pain*, 2016, 157(Suppl 1):S15—22.
- [25] Grace PM, Hutchinson MR, Maier SF, et al. Pathological pain and the neuroimmune interface[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(4):217—231.
- [26] Jergova S, Gajavelli S, Pathak N, et al. Recombinant neural progenitor transplants in the spinal dorsal horn alleviate chronic central neuropathic pain[J]. *Pain*, 2016, 157(4): 977—989.
- [27] Vowles KE, McEntee ML, Julnes PS, et al. Rates of opioid misuse, abuse, and addiction in chronic pain: a systematic review and data synthesis[J]. *Pain*, 2015, 56(4): 569—576.
- [28] Krames ES. The dorsal root ganglion in chronic pain and as a target for neuromodulation: a review[J]. *Neuromodulation*, 2015, 18(1):24—32.
- [29] Liem L, van Dongen E, Huygen FJ, et al. The dorsal root ganglion as a therapeutic target for chronic pain[J]. *Region Anesth Pain M*, 2016, 41(4):511—519.
- [30] 刘靖芷. 背根神经节参与疼痛机制研究进展[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2018, 18(10):705—708.
- [31] Kuner R. Central mechanisms of pathological pain[J]. *Nat Med*, 2010, 16(11):1258—1266.