

低能量激光对大鼠背根神经节持续受压后痛觉敏感及 TRPV4 表达的影响*

洪艺根¹ 高文双¹ 贾磊¹ 魏慧¹ 曲玉娟¹ 岳寿伟^{1,2}

摘要

目的:观察低能量激光对大鼠背根神经节持续受压(chronic compression of the dorsal root ganglion, CCD)后痛觉敏感及脊髓背角内 TRPV4 表达及分布的影响。

方法:选取健康雄性 Wistar 大鼠 36 只,分为空白组、CCD 组、激光组各 12 只,各组均给予常规饲养。激光组在 CCD 后第 4 天经皮肤给予 L4/L5 脊髓节段处 810nm 低能量激光治疗 7 天,输出功率 150mw, 10min/次。并于术前,术后第 4、7、11 天,分别测量各组大鼠机械刺激缩爪反应阈值和热缩爪潜伏期,观察机械痛阈和热痛阈的变化。同时,利用 Western Blot 检测各组术后 11 天 TRPV4 在脊髓背角中蛋白表达的变化,利用免疫荧光技术检测各组术后 11 天 TRPV4 阳性细胞分布。

结果:与空白组相比,CCD 组在术后第 4、7、11 天,机械痛阈和热痛阈均降低($P<0.01$),与 CCD 组相比,激光组在术后第 7、11 天时,机械痛阈和热痛阈明显增高($P<0.01$)。与空白组相比较,CCD 组大鼠脊髓背角中 TRPV4 表达显著上调($P<0.01$),TRPV4 阳性细胞数目升高;给予低能量激光治疗后,激光组脊髓背角 TRPV4 的蛋白表达较 CCD 组显著下调($P<0.01$),TRPV4 阳性细胞数目低于 CCD 组($P<0.01$)。

结论:低能量激光治疗可降低 CCD 后大鼠脊髓背角中 TRPV4 蛋白表达,减少阳性细胞数目,影响 TRPV4 对神经病理性疼痛的中枢敏化的作用,缓解 CCD 后所致的痛觉敏感。

关键词 低能量激光;背根神经节持续受压;脊髓背角;TRPV4

中图分类号:R454.2,R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2021)-02-0129-06

The effect of low-level laser on the pain sensitivity and the expression of TRPV4 after chronic compression of the dorsal root ganglion in rats/HONG Yigen, GAO Wenshuang, JIA Lei, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2021, 36(2): 129—134

Abstract

Objective: To observe the effect of low-level laser on the pain sensitivity and the expression and distribution of TRPV4 in the dorsal horn of the spinal cord after continuous compression of the dorsal root ganglia (CCD) in rats.

Method: Thirty-six healthy male Wistar rats were divided into three groups, blank group, CCD group and laser group. In the laser group, 810nm low-level laser, output power 150mW, 10min/time, was given to L4/L5 spinal cord segment through skin on the 4th day after CCD for 7 days. Before and on the 4th, 7th and 11th day after operation, the mechanical withdrawal threshold and the thermal withdrawal latency were measured. On the 11th day after operation, Western Blot was used to detect the protein expression of TRPV4 in spinal dorsal horn, and the distribution of TRPV4 positive cells was detected by immunofluorescence technique.

Result: Compared with the blank group, the mechanical withdrawal threshold and the thermal withdrawal laten-

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2021.02.001

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81772436、81972155)

1 山东大学齐鲁医院康复科,济南,250012; 2 通讯作者

第一作者简介:洪艺根,男,硕士研究生,住院医师; 收稿日期:2019-12-24

cy in the CCD group decreased on the 4th day significantly($P<0.01$), with no changes through 7th to 11th day after operation. The mechanical withdrawal threshold and the thermal withdrawal latency in the laser group decreased as the same as in CCD group on the 4th day significantly($P<0.01$). They increased gradually and significantly on the 7th and 11th day ($P<0.01$), but still less than before operation($P<0.01$). Compared with the blank group, the expression of TRPV4 in the dorsal horn of the spinal cord and the number of TRPV4 positive cells in the CCD group was significantly up-regulated ($P<0.01$), but they are nearly the same with the blank group in the laser group.

Conclusion: Low-level laser treatment can reduce the expression of TRPV4 protein and reduce the number of TRPV4 positive cells in spinal dorsal horn of rats after CCD, reduce the number of TRPV4 positive cells, so as to lower the central sensitization of TRPV4 to neuropathic pain, and alleviate the pain sensitivity caused by CCD.

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

Key word low-level laser; chronic compression of the dorsal root ganglion; dorsal root ganglion; TRPV4

椎间盘突出等引起的脊神经根受压导致的疼痛是临床上常见的神经病理性疼痛,是严重影响生存质量的健康问题,在世界范围内造成了高昂的健康成本和经济损失^[1]。目前存在多种研究其发病机制的动物模型,其中背根神经节持续受压模型(chronic compression of the dorsal root ganglion, CCD)能有效地模拟椎间盘突出压迫神经根所致的神经病理性疼痛,是一种常见的神经病理性疼痛模型。CCD后的大鼠能够产生痛觉敏感和异常疼痛。瞬时感受器电位离子通道4(transient receptor potential vanilloid 4, TRPV4),是一种多觉型感受器,具有热、机械敏感性等^[2]特点,多分布于动物的脑、肾、肺、背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)等组织。相关研究表明,TRPV4在大鼠背根神经节持续受压后神经病理性疼痛的产生与传导方面起重要作用^[3-5]。神经病理性疼痛发病机制非常复杂,目前针对性的治疗手段较局限,继续深入研究其疼痛发病机制并寻找更有效的治疗靶点显得尤为重要。

低能量激光具有安全、无创等优点,近年来已经广泛应用于临床,具有良好的镇痛作用^[6],在对颈肩痛、腰背痛等方面都有较好的疗效^[7-8]。激光镇痛作用可能与其改善血管通透性,释放内源性阿片类药物、下调致痛物质(如炎症因子等)有关^[9]。有相关研究表明,低能量激光治疗可下调牙槽神经损伤后大鼠瞬时感受器电位离子通道1(transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1)表达,改善大鼠三叉神经疼痛症状^[10]。TRPV1与TRPV4为同源四聚体,同属TRP家族一员。本实验采用低能量激光

照射治疗大鼠CCD后疼痛,通过对大鼠机械痛阈和热痛阈以及脊髓背角TRPV4含量与阳性细胞分布的观察,探讨大鼠神经根受压后低能量激光镇痛的疗效以及其作用机制,为进一步探索低能量激光治疗的镇痛效应和指导临床治疗提供参考依据。现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

健康清洁级雄性Wistar大鼠共36只,2月龄,体重170—180g,由山东大学动物实验中心提供。实验试剂及仪器:兔抗TRPV4多克隆抗体(1:1000, Abcam, Cambridge, UK),山羊抗兔二抗(1:5000, 中杉金桥, 中国),兔抗 β -Tubulin抗体(1:1000, CST, USA), Andy Fluor 594 荧光二抗(Gene Co-pocia, USA), HRP 化学发光试剂盒(1:1, USA)。BME-404型电子式机械测痛仪, BME-410C型自动热痛刺激仪(中国医科院)。

1.2 分组与治疗

将36只大鼠按随机数字表法分为3组,空白组、CCD组、激光组各12只。各组均常规饲养。激光组大鼠于术后第4天开始低能量激光治疗,大鼠轻微麻醉后放入木笼中,采用低能量激光器(SUNDOM-3001B, 北京三顿, 810nm 波长)在垂直方向经皮使用,作用于L4/L5脊髓节段处,距离皮肤3—5cm,输出功率为150mw,每次10min,每天治疗1次,持续7天。

1.3 背根神经节持续受压模型制备

依Xue-Jun S等^[1]提出并适当修改后的模型,以10%水合氯醛麻醉大鼠,剃毛,消毒背部皮肤,定位两侧髂棘连线正中偏右,切开皮肤并向上延长约2cm,剪开深筋膜并分离椎旁肌肉,充分暴露右侧L4及L5椎间外孔,将直径0.63mm“L”形棒的长端,沿L4及L5椎间外孔的前壁与脊柱成角约30°并向上插入椎间孔内。术毕,生理盐水清洗,依次缝合,注射青霉素预防感染。术后大鼠无肢体瘫痪与感觉缺失。

1.4 行为学测定

1.4.1 机械痛阈的测量:机械刺激法测定缩爪反应阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT),保障室内温暖、安静明亮,将大鼠置于半透明玻璃笼内,适应环境后,透过底部金属网格,以BME-404型电子式机械测痛仪进行测试。方法:以针刺端垂直刺激大鼠足底第三、四趾间皮肤,大鼠出现舔足或缩爪时视为阳性,记录刺激数值(G),保证每次刺激间隔5min,连续测量5次后,取平均值。

1.4.2 热痛阈的测量:热辐射法测定热缩爪潜伏期(thermal withdrawal latency, TWL)。保障室内温暖、安静明亮,将大鼠置于半透明玻璃笼内,适应环境后,采用BME-410C自动热痛刺激仪进行测试。方法:以小型聚光灯产生一定强光,将光辐射焦点对准大鼠足跖底中部,当大鼠出现抬腿回避时为TWL。设置自动切断时间为30s,以防组织烫伤。保证间隔5min,连续测3次,取平均值。热刺激强度在整个实验过程中保持一致。

1.5 Western Blot免疫印迹法

10%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,开胸,以预冷生理盐水快速灌注,冰上快速取出L4与L5节段脊髓备用。将脊髓组织从中间纵切取右侧,充分研磨后加入总蛋白提取液,静置15min,4℃、12000r/min离心15min,取上清按1:4加入上样缓冲液,置于99℃10min变性,-20℃保存备用。取蛋白样品于聚丙烯酰胺凝胶(5%浓缩胶,10%分离胶)上电泳分离后,将蛋白转印至PVDF膜上,用脱脂牛奶封闭后进行一抗(TRPV4 1:1000)孵育,4℃摇床上过夜。次日TBST洗膜3遍,二抗(山羊抗兔二抗,1:5000)孵育后,加入化学发光试剂,FcluroChem9900成像系统显影。采用Quantity one 软件进行光密度分析。

1.6 免疫荧光检测

10%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,以预冷生理盐水灌注后,用4%多聚甲醛灌注,冰上取L4与L5节段脊髓,按1:10体积以上加入4%多聚甲醛过夜。脱水,常规石蜡包埋,切片厚度5μm。脱蜡复水,PBS清洗,用枸橼酸缓冲液,92—98℃,15min抗原修复。一抗(TRPV4 1:200)孵育,置于4℃湿盒内过夜。PBS清洗后,加荧光二抗(Andy Fluor 594 1:200)37℃,30min,再次PBS清洗,DAPI染核37℃,30min,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(圆形、椭圆形或梭形的高荧光信号细胞,荧光信号分布于胞质及胞膜上)。

1.7 统计学分析

采用SPSS 21版本统计学软件进行统计分析,所有数据均采用均数±标准差形式表示,组间比较采用单因素方差比较,组间两两比较采用LSD检验,组内比较采用配对t检验, $P<0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 大鼠背根神经节持续受压后机械痛阈及热痛阈变化

各组分别于术前及背根神经节持续受压后4d、7d、11d测量大鼠机械刺激缩爪反应阈值和热缩爪潜伏期,由表1—2可知各组术前痛阈差异无显著性意义($P>0.05$),空白组各时间段痛阈差异无显著性意义($P>0.05$);术后第4天,与空白组相比,CCD组机械痛阈和热痛阈明显降低($P<0.01$),且CCD组这一变化持续到术后11天;激光组术后第4天机械痛阈与热痛阈较术前明显降低($P<0.01$),经低能量激光治疗后痛阈较前升高($P<0.01$);相比于CCD组,激光组机械痛阈和热痛阈在术后第7、11天明显增高($P<0.01$)。

2.2 大鼠背根神经节持续受压11天后脊髓背角TRPV4蛋白表达变化

术后11d行为学测试后,空白组、CCD组与激光组各随机抽取6只取材。与空白组比较,术后11d,CCD组脊髓背角TRPV4表达升高,差异有显著性意义($P<0.01$),经低能量激光治疗后,激光组脊髓背角

表1 各组不同时间机械痛阈比较 ($\bar{x}\pm s, G$)

组别	术前	4d	7d	11d
空白组	35.42±1.74	34.70±2.07	35.14±1.75	35.91±1.43
CCD组	34.74±1.54	20.66±1.59 ^①	20.19±1.12 ^①	20.73±1.54 ^①
激光组	34.32±1.47	20.26±1.40	24.55±1.46 ^{②③}	30.50±0.92 ^{②③}

①与空白组相比 $P < 0.01$; ②与CCD组相比 $P < 0.01$; ③与治疗前相比 $P < 0.01$

表2 各组不同时间热痛阈比较 ($\bar{x}\pm s, s$)

组别	术前	4d	7d	11d
空白组	16.21±1.33	15.46±1.88	16.46±1.73	16.30±1.22
CCD组	15.50±0.85	9.31±0.89 ^①	10.00±0.76 ^①	10.46±0.86 ^①
激光组	17.42±1.81	9.54±0.83	13.64±1.10 ^{②③}	15.19±1.39 ^{②③}

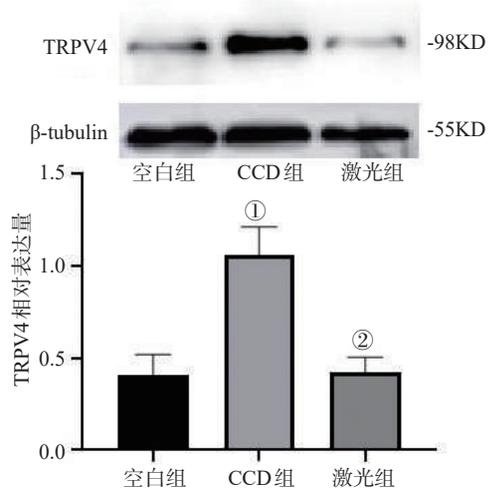
①与空白组相比 $P < 0.01$; ②与CCD组相比 $P < 0.01$; ③与治疗前相比 $P < 0.01$

中TRPV4的蛋白表达较CCD组显著下调, 差异有显著性意义($P < 0.01$), 见图1。

2.3 大鼠背根神经节持续受压后脊髓背角TRPV4阳性细胞数目变化

术后11天, 对余下的空白组、CCD组及激光组各6只进行取材。空白组、CCD组及激光组均有TRPV4阳性细胞, 胞质及胞膜上均存在荧光信号。每个脊髓标本选取5张不连续切片, 每张切片取一个脊髓背角I、II、III、IV层区相同位置高倍视野($\times 400$), 每只5张取均值后统计脊髓背角TRPV4阳性细胞数目。与空白组相比较, CCD组大鼠TRPV4阳性细胞数较显著上调($P < 0.01$), 而经低能量激光治疗后, 激光组脊髓背角内TRPV4阳性细胞数目明显低于CCD组($P < 0.01$)。见图2。

图1 Western Blot检测各组大鼠脊髓背角TRPV4蛋白表达

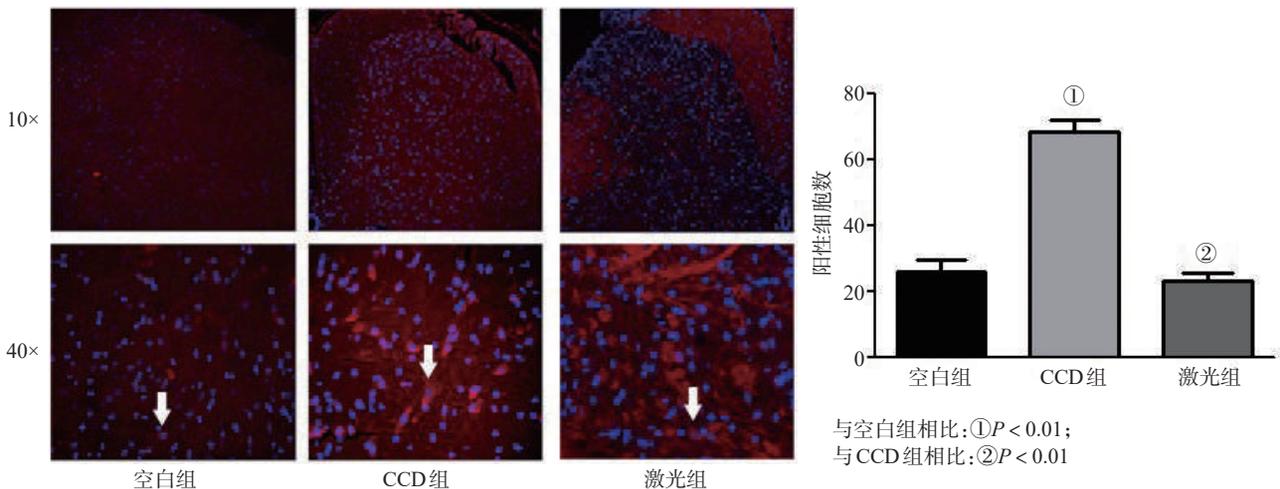


与空白组相比: ① $P < 0.01$; 与CCD组相比: ② $P < 0.01$

3 讨论

神经病理性疼痛是一种由多种症状组成的复杂疼痛综合征, 包括感觉丧失、异常感觉、自发疼痛和对刺激诱发疼痛(痛觉过敏和痛觉超敏)反应的改变^[12-13]。椎间盘突出症合并坐骨神经痛是最常见的神经病理性疼痛之一, 是引起腰痛和坐骨神经痛的常见原因, 主要由腰神经根机械性变形和局部炎症引起^[14]。背根神经节持续受压模型是一种常见的神经病理性疼痛模型, 可以很好地模拟临床上由椎间

图2 术后11天, 各组脊髓背角TRPV4阳性细胞数目比较



箭头所指为阳性细胞。

盘突出等导致的根性神经痛现象。CCD模型通过对背根神经节的慢性压迫,使局部缺血、水肿,伤害性刺激信号经A δ 及C类纤维传入脊髓背角,进而释放神经生长因子、谷氨酸、P物质等递质,作用于相应的受体,可增高DRG神经元的兴奋性,产生异常疼痛和痛觉敏感。本课题组前期研究发现,在CCD后第4天,大鼠机械痛阈值明显下降^[15],CCD后大鼠脊髓背角内TRPV4表达量升高,这一变化可持续到1周后,且脊髓背角内TRPV4阳性细胞数增加,TRPV4参与介导CCD后神经病理性疼痛的中枢敏化,对CCD后神经病理性疼痛的产生与传导有重要作用^[16]。然而神经病理性疼痛由于其潜在机制的研究尚不够充分,目前临床上针对其相关治疗方法较局限。

激光照射能改善局部组织的血供和营养,加速脑内类吗啡样物质的释放,使致痛物质(如缓激肽,5-羟色胺,组织胺等)代谢加快等^[17],还可以抑制疼痛刺激引起的神经冲动、减缓疼痛刺激的传导速度、频率和强度等,并能够激活下行抑制系统,减少传入中枢的疼痛信息,降低疼痛反应性,起到疼痛缓解的作用^[18]。有学者证明,低能量激光治疗可下调颞下颌关节损伤后大鼠局部P物质及TRPV1表达,明显改善大鼠疼痛症状^[19]。相关研究证明,低能量激光经皮肤作用于脊髓,可影响脊髓局部蛋白的表达,Oliveira等^[20]学者研究表明,低能量激光照射可抑制大鼠背根神经节中胶质细胞的激活,同时降低IL-1 β 、FKN等炎症因子的表达水平,减轻大鼠的痛觉过敏。Mojarad等^[21]通过研究发现,低能量激光照射可抑制脊髓损伤后大鼠IL-6的表达,改善脊髓损伤后大鼠神经病理性疼痛的症状。Song等^[22]利用波长为810nm的低能量激光作用于脊髓损伤后的大鼠,能促进大鼠脊髓损伤的恢复,调节炎症损伤微环境,在激光照射第7天后脊髓中IL-4、TNF- α 等的表达显著下调,同时还可调节巨噬细胞/小胶质细胞极化,促进神经元存活等。

本文初步观察了波长为810nm低能量激光对CCD后大鼠镇痛效应的研究,结果显示,CCD组机械痛阈、热痛阈较空白组明显降低,TRPV4表达及阳性细胞数明显高于空白组。经激光治疗7天后,与CCD组相比较发现,激光组机械痛阈和热痛阈均

升高,脊髓背角中TRPV4的蛋白表达及阳性细胞数较CCD组下调。因此,低能量激光照射可能影响脊髓背角TRPV4的表达。而脊髓背角是痛觉传导通路的重要环节,可接收初级感觉神经元的伤害性刺激,其痛觉传入纤维末梢多止于脊髓背角I、II、III、IV层^[23],并传导至丘脑和大脑,经加工整合之后产生痛觉,因此,脊髓背角常作为疼痛治疗的靶点。TRPV4作为TRP家族的一个成员,广泛分布于大脑、脊髓、外周神经系统等,在生理和病理过程中发挥重要作用,包括渗透调节、痛觉信号传导等^[24]。TRPV4是一种多觉感受器,可被低渗透压和剪切应力、热>27 $^{\circ}$ C、低pH值和花生四烯酸代谢物等激活,还可被钉红、小干扰RNA等阻断或抑制。有相关研究表明,选择性TRPV4通道拮抗剂HC-067047可抑制TRPV4表达,影响小鼠糖尿病疼痛性神经病变,改善小鼠疼痛症状^[25]。本课题组前期研究表明,TRPV4参与介导CCD后神经病理性疼痛的中枢敏化,对CCD后神经病理性疼痛的产生与传导有重要作用,疼痛抑制剂钉红经鞘内注射作用于大鼠脊髓背角,可部分逆转CCD后痛觉过敏,部分降低脊髓背角TRPV4基因及蛋白表达。综上所述,我们推测,低能量激光照射可抑制脊髓背角中TRPV4的表达,进而影响TRPV4对神经病理性疼痛的中枢敏化的作用,改善CCD后大鼠的痛觉敏感,减轻大鼠疼痛症状。本研究仅阐述了低能量激光对大鼠脊髓背角内TRPV4表达的影响,对其相关的上下游分子机制仍需做进一步探讨。

参考文献

- [1] Dagenais S, Caro J, Haldeman S. A systematic review of low back pain cost of illness studies in the United States and internationally[J]. The Spine Journal, 2008, 8(1):8—20.
- [2] Smith PL, Maloney KN, Pothan RG, et al. Bisandrographolide from andrographis paniculata activates TRPV4 Channels[J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(40): 29897—29904.
- [3] Zhang Y, Wang YH, Ge HY, et al. A transient receptor potential vanilloid 4 contributes to mechanical allodynia following chronic compression of dorsal root ganglion in rats [J]. Neuroence Letters, 2008, 432(3):222—227.
- [4] 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]. *Neuroscience Letters*, 2013, 534(Complete):344—350.
- [5] 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.
- [6] Huang Z, Ma J, Chen J, et al. The effectiveness of low-level laser therapy for nonspecific chronic low back pain: a systematic review and meta-analysis[J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2015, 17(1):360.
- [7] Tomazoni SS, Costa LDCM, Guimarães LS, et al. Effects of photobiomodulation therapy in patients with chronic nonspecific low back pain: protocol for a randomised placebo-controlled trial[J]. *BMJ Open*, 2017, 7(10):e017202.
- [8] Rubira A P F D A, Rubira MC, Rubira L D A, et al. Comparison of the effects of low-level laser and pulsed and continuous ultrasound on pain and physical disability in chronic non-specific low back pain: a randomized controlled clinical trial[J]. *Advances in Rheumatology*, 2019, 59(1): 57.
- [9] Hagiwara S, Iwasaka H, Hasegawa A, et al. Pre-irradiation of blood by gallium aluminum arsenide (830 nm) low-level laser enhances peripheral endogenous opioid analgesia in rats[J]. *Anesthesia & Analgesia*, 2008, 107(3):1058—1063.
- [10] Martins DO, Santos FM, Britto LRG, et al. Neurochemical effects of photobiostimulation in the trigeminal ganglion after inferior alveolar nerve injury[J]. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 2017, 31(1):147—152.
- [11] Xue-Jun S, San-Jue H, Greenquist KW, et al. Mechanical and thermal hyperalgesia and ectopic neuronal discharge after chronic compression of dorsal root ganglia[J]. *Journal of Neurophysiology*, 1999, 82(6):3347—3358.
- [12] Jensen TS, Gottrup H, Sindrup SH, et al. The clinical picture of neuropathic pain[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2001, 429(1):1—11.
- [13] Baron R. Mechanisms of Disease: neuropathic pain: a clinical perspective[J]. *Nature Clinical Practice Neurology*, 2006, 2(2):95—106.
- [14] Liu Chenglong, Zhang Fei, Liu Haihua, et al. NF- κ B mediated CX3CL1 activation in the dorsal root ganglion contributes to the maintenance of neuropathic pain induced in adult male Sprague Dawley rats[J]. *Acta Cirurgica Brasileira*, 2018, 33(7):619—628.
- [15] 张晓, 曲玉娟, 贾磊, 等. 大鼠脊髓背角 TRPV4 在背根神经节持续受压致神经病理性疼痛中的作用[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 31(2):156—160.
- [16] 曲玉娟, 张, 晓, 魏慧, 等. 大鼠背根神经节持续受压后脊髓背角 TRPV4 蛋白表达及分布的变化[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 31(2):151—155.
- [17] Jan Magnus Bjordal, Mark IJohnson, Vegard Iversen, et al. Low-level laser therapy in acute pain: a systematic review of possible mechanisms of action and clinical effects in randomized placebo-controlled trials[J]. *Photomedicine and Laser Surgery*, 2006, 24(2):158—168.
- [18] Toida M, Watanabe F, Goto K, et al. Usefulness of low-level laser for control of painful stomatitis in patients with hand-foot-and-mouth disease[J]. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery*, 2003, 21(6):363.
- [19] de Freitas Rodrigues A, de Oliveira Martins D, Chacur M, et al. The effectiveness of photobiomodulation in the management of temporomandibular pain sensitivity in rats: behavioral and neurochemical effects[J]. *Lasers in Medical Science*, 2019: 1—7.
- [20] Oliveira ME, Santos FM, Bonifácio RP, et al. Low level laser therapy alters satellite glial cell expression and reverses nociceptive behavior in rats with neuropathic pain[J]. *Photochem Photobiol Sci*, 2017, 16(4):547—554.
- [21] Mojarad N, Atousa J, Mahmoud Y. The role of low level laser therapy on neuropathic pain relief and interleukin-6 expression following spinal cord injury: An experimental study[J]. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 2018, 87:60—70.
- [22] Song JW, Li K, Liang ZW, et al. Low-level laser facilitates alternatively activated macrophage/microglia polarization and promotes functional recovery after crush spinal cord injury in rats[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1):620.
- [23] 贾磊, 魏慧, 张杨, 等. 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[J]. *中国康复医学杂志*, 2019, 34(11):1285—1291.
- [24] Darby WG, Grace MS, Baratchi S, et al. Modulation of TRPV4 by diverse mechanisms[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2016, 78:217—228.
- [25] Dias FC, Alves VS, Matias DO, et al. The selective TRPV4 channel antagonist HC-067047 attenuates mechanical allodynia in diabetic mice[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2019, 856: 172408.