

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002952

托烷司琼通过激活大鼠脊髓 $\alpha 7nAChR$ 减轻慢性神经病理性疼痛和 p38MAPK 表达张雨飞¹, 于迪¹, 龚兴瑞², 侯娜³, 蒙臣³, 李清³

(1. 锦州医科大学十堰市太和医院研究生培养基地(湖北医药学院附属医院), 十堰 442000;

2. 湖北文理学院附属襄阳中心医院麻醉科, 襄阳 441021;

3. 十堰市太和医院(湖北医药学院附属医院)麻醉科, 十堰 442000)

【摘要】目的:探索鞘内注射托烷司琼是否通过激活 $\alpha 7$ 烟碱乙酰胆碱受体(alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor, $\alpha 7nAChR$) 减轻坐骨神经分支选择性损伤(spared nerve injury, SNI)大鼠慢性神经病理性疼痛和 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK)表达。**方法:**体质量 180~220 g 的成年雄性 SD 大鼠, 鞘内置管和模型成功后, 采用随机数字表法分为 5 组($n=12$ 只/每组): 假手术组、神经损伤组、托烷司琼组、 $\alpha 7nAChR$ 拮抗剂 methyllycaconitine citrate 组 (MLA 组)、MLA+托烷司琼组。假手术组仅暴露右侧坐骨神经, 神经损伤组、托烷司琼组、MLA 组、MLA+托烷司琼组均制备右侧坐骨神经损伤模型。模型建立后第 14 天分别鞘内给药, 于不同时间点进行疼痛行为学观察和测试。给药 1 h 后处死大鼠取脊髓 L4~6 段, 采用组织免疫荧光染色观察脊髓背角 $\alpha 7nAChR$ 分布和表达情况, Western blot 检测 $\alpha 7nAChR$ 、p-p38 和 p38 蛋白表达量变化。**结果:**与给药前相比, 托烷司琼组和 MLA+托烷司琼组给药后机械缩爪阈值(paw mechanical withdrawal threshold, PMWT)和辐射热缩爪潜伏期(paw thermal withdrawal latency, PTWL)都明显升高, MLA+托烷司琼组均较托烷司琼组低。给药前后 MLA 组 PMWT 和 PTWL 均无明显变化; $\alpha 7nAChR$ 荧光结果显示, 与假手术组阳性面积相比, 神经损伤组明显降低。托烷司琼组和 MLA+托烷司琼组阳性染色都明显较神经损伤组升高; Western blot 结果发现托烷司琼组和 MLA+托烷司琼组 $\alpha 7nAChR$ 蛋白表达较神经损伤组明显增高, 而 p-p38 蛋白表达水平与神经损伤组相比均明显降低。各组 p38 蛋白表达水平均无明显差异。**结论:**鞘内注射托烷司琼可减轻 SNI 大鼠慢性神经病理性疼痛, $\alpha 7nAChR$ 拮抗剂 MLA 可一定程度阻断其疼痛减轻作用。其机制可能与托烷司琼选择性激活 $\alpha 7nAChR$ 从而抑制 p38MAPK 信号通路有关。

【关键词】托烷司琼; 慢性神经病理性疼痛; $\alpha 7$ 烟碱乙酰胆碱受体; p38 丝裂原活化蛋白激酶**【中图分类号】**R745.4**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2021-01-22Tropisetron reduces chronic neuropathic pain and the expression of p38MAPK by activating $\alpha 7nAChR$ in rat spinal cordZhang Yufei¹, Yu Di¹, Gong Xingrui², Hou Na³, Meng Chen³, Li Qing³

(1. Postgraduate Training Basement of Jinzhou Medical University, Taihe Hospital, Hubei University of Medicine;

2. Department of Anesthesiology, Xiangyang Central Hospital, Hubei University of Arts and Science;

3. Department of Anesthesiology, Taihe Hospital, Hubei University of Medicine)

【Abstract】Objective: To explore whether intrathecal injection of tropisetron alleviates chronic neuropathic pain and p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) expression in rats with spared nerve injury (SNI) by activating alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor ($\alpha 7nAChR$). **Methods:** Adult male SD rats weighing 180~220 g were randomly divided into 5 groups ($n=12$ /each group): sham operation group, nerve injury group, tropisetron group, $\alpha 7nAChR$ antagonist methyllycaconitine citrate group (MLA group), and MLA + tropisetron group. The right sciatic nerve was exposed only in the sham operation group, and the right sciatic nerve injury models were made in the nerve injury group, tropisetron group, MLA group and MLA + tropisetron group. On the 14th day after the establishment of the pain model, the drugs were administered intrathecally, and the pain behavior was observed and tested at different

作者介绍: 张雨飞, Email: 1520232406@qq.com,

研究方向: 神经病理性疼痛和围术期麻醉。

通信作者: 李清, Email: liqing8801@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(编号: 81700082);

湖北省自然科学基金资助项目(编号: 2019CFB411)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20211220.1717.008.html>

(2021-12-23)

time. One hour after administration, the rats were sacrificed and the L4~6 segments of spinal cord were removed. The distribution and expression of $\alpha 7nAChR$ in spinal dorsal horn were observed by tissue immunofluorescence staining. Western blot was used to detect the changes of $\alpha 7nAChR$, p-p38 and p38 protein expression. **Results:** The paw mechanical withdrawal

threshold (PMWT) and paw thermal withdrawal latency (PTWL) in tropisetron group and MLA + tropisetron group were significantly higher than those before administration, and that in MLA + tropisetron group was lower than that in tropisetron group. There was no significant change in PMWT and PTWL in MLA group before and after administration. The immunofluorescence results of $\alpha 7nAChR$ showed that the positive area in the nerve injury group was significantly lower than that in the sham operation group. The positive staining in tropisetron group and MLA + tropisetron group was significantly higher than that in nerve injury group. Western blot results showed that the expression of $\alpha 7nAChR$ in tropisetron group and MLA + tropisetron group was significantly higher than that in nerve injury group, while the expression level of p-p38 protein in tropisetron group was significantly lower than that in nerve injury group. There was no significant difference in the expression level of p38 protein among all groups. **Conclusion:** Intrathecal injection of tropisetron can relieve chronic neuropathic pain in SNI rats, and $\alpha 7nAChR$ antagonist MLA can block its pain-relieving effect to some extent. The mechanism may be related to the selective activation of $\alpha 7nAChR$ and inhibition of p38MAPK signal pathway by tropisetron.

[Key words] tropisetron; chronic neuropathic pain; alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor; p38 mitogen-activated protein kinase

各种原因引起的慢性疼痛特别是慢性神经病理性疼痛, 始终威胁着人们的身心健康, 因此探讨其安全有效的治疗措施非常必要^[1]。神经病理性疼痛的产生主要是由于痛觉敏化和脊髓神经的炎症反应^[2]。 $\alpha 7nAChR$ 是细胞膜配体门控离子通道上的一类胆碱能受体, 在中枢神经系统的许多结构中均有表达, 研究表明神经系统中的 $\alpha 7nAChR$ 可以调控痛觉传递和胆碱能抗炎通路^[3]。p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK) 是炎症反应密切相关的信号通路, 在缺氧、应激或各种损伤后被激活^[4]。托烷司琼 (tropisetron) 是 $\alpha 7$ 烟碱乙酰胆碱受体 (alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor, $\alpha 7nAChR$) 激动剂之一, 在临床中常用于治疗术后恶心呕吐。有研究发现鞘内注射托烷司琼可减轻慢性中枢性神经病理性疼痛, 但 $\alpha 7nAChR$ 是否也参与托烷司琼的疼痛调节作用及其机制尚不清楚。本研究拟通过建立大鼠慢性疼痛模型, 初步探讨 $\alpha 7nAChR$ 及 p38MAPK 通路在托烷司琼调节疼痛中的作用与机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物选择 健康清洁级成年雄性 SD 大鼠, 体重 180~220 g, 置于昼夜交替循环条件下, 自由取食饮水。由湖北医药学院实验动物中心提供。本研究符合湖北医药学院动物伦理委员会的伦理学标准。

1.1.2 实验试剂 单克隆鼠 $\alpha 7nAChR$ 抗体 (Santa Cruz 公司); 兔抗鼠 p38 抗体、兔抗鼠 p-p38 抗体、兔抗鼠 GADPH 抗体 (Cell Signaling Technology 公司); 羊抗兔 IgG 和羊抗鼠 IgG (武汉安特捷生物技术有限公司); RIPA 裂解液、ECL 显色剂 (江苏碧云天生物技术研究所); 盐酸托烷司琼 (麦克林生化科技有限公司); $\alpha 7nAChR$ 拮抗剂 MLA (Tocris Bioscience

公司)。

1.2 方法

1.2.1 鞘内置管和模型制备 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (300 mg/kg) 麻醉后, 剃去颈腰部毛发, 俯卧位于平台上, 纵向切开腰骶部皮肤筋膜及肌肉。用 22G 针头沿 L4~5 椎间隙穿刺观察到大鼠甩尾后立即停止, 将一根 PE-10 导管沿针头插入蛛网膜下腔约 2 cm, 可见管内清亮脑脊液流出, 拔出针头封闭导管, 将导管沿皮下隧道穿出固定于大鼠后颈部皮肤, 切口处碘伏消毒逐层缝合。术后单笼饲养, 自由饮水和食物。大鼠清醒 24 h 后, 经导管注射 4% 利多卡因 15 μ L, 若 10 s 内出现双后肢麻痹且 1 h 后恢复正常即可证明置管成功且导管通畅。手术操作均由同一人完成。置管 2 d 后, 参照 Wang Y 等^[5]的研究建立 SNI 大鼠模型, 10% 水合氯醛 (300 mg/kg) 麻醉后, 沿大鼠右后腿股骨下 1 cm 切开, 暴露游离坐骨神经分支, 结扎并切断胫神经和腓总神经, 保留腓肠神经; 假手术组仅暴露游离坐骨神经分支, 不做损伤处理。

1.2.2 实验分组和鞘内注射 按随机数字表法将置管和模型成功的大鼠随机分为 5 组 ($n=12$ 只/每组): 假手术组、神经损伤组、托烷司琼组、 $\alpha 7$ 烟碱乙酰胆碱受体拮抗剂 methyllycaconitine citrate 组 (MLA 组)、MLA+托烷司琼组。SNI 模型术后第 14 天使用微量注射器鞘内注射等体积药物, 托烷司琼组注射 10 μ g/10 μ L 托烷司琼, MLA 组注射 10 μ g/10 μ L MLA, MLA+托烷司琼组注射 10 μ g/10 μ L MLA 1 h 后注射 10 μ g/10 μ L 托烷司琼。每次注射后均用 10 μ L 生理盐水冲管, 避免药物滞留于管内。

1.2.3 疼痛行为学测试 模型手术前 1 天测量基础痛阈, 术后 1、3、7、14 d 以及给药后 0.5、1、2、4、8 h 进行疼痛行为学测试。采用电子自动爪触觉测试仪 (Ugobasile, Comerio) 测机械缩爪阈值 (paw mechanical withdrawal threshold, PMWT); 采用辐射热测痛仪 (BME-410A 型, 中国医学科学院生物医学工程研究所) 测辐射热缩爪潜伏期 (paw thermal withdrawal latency, PTWL)。

1.2.4 脊髓背角组织免疫荧光染色 大鼠鞘内给药 1 h 后, 立即腹腔注射 10% 水合氯醛 (300 mg/kg) 麻醉开胸。心尖部穿刺行主动脉内插管灌注。预冷的生理盐水快速灌注至肝脏发白, 继以预冷的 4% 多聚甲醛 500 mL 灌注固定。取脊髓

L4~6 段,4%多聚甲醛固定,20%蔗糖和 30%蔗糖先后脱水。组织冰冻切片厚度 17 μm 。PBS 漂洗后置入 0.3% Triton X-100(PBS 稀释)通透。5% BSA(PBS 稀释)室温封闭后一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。二抗室温避光孵育 1 h,DAPI 染色后 PBST 漂洗 3 次,滴加防荧光猝灭剂封片后荧光显微镜下观察拍照,采用 Image J 软件分析阳性荧光染色面积。

1.2.5 Western blot 检测 取大鼠脊髓 L4~6 段组织称重,加入裂解液(含蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂)冰上进行匀浆。裂解完全后离心取上清,加上样缓冲液。取 20 μg 样品上样,SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜、封闭。一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。二抗室温摇床孵育后加 ECL 显色,凝胶成像系统扫描成像。采用 Image J 软件对条带灰度值分析计算。

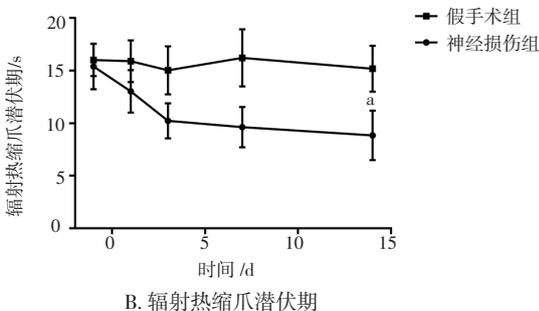
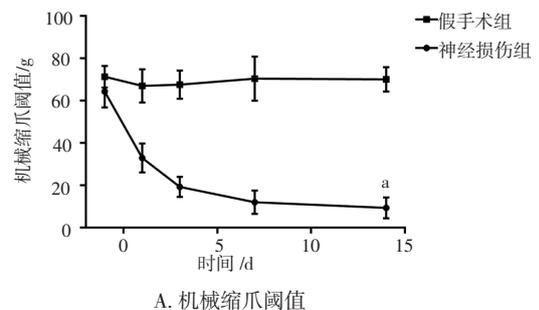
1.3 统计学处理

采用 Graph-Pad Prism 7.0 软件处理。定量资料数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。阈值结果采用重复测量方差分析伴随多元方差分析,多样本均数比较采用单因素方差分析,其两两比较采用 LSD-t 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 术后疼痛行为学变化

假手术组大鼠 PMWT 和 PTWL 与术前比较无统计学意义($F=0.379, P=0.822; F=0.672, P=0.618$)。神经损伤组术后 PMWT 随时间变化,术后第 1 天开始下降,术后第 7 天至第 14 天保持稳定($P=0.000, P=0.000, P=0.000$),时间效应有统计学差异($F=84.34, P=0.000$);神经损伤组术后 PTWL 随时间变化,术后第 3 天开始下降,术后第 7 天至第 14 天保持稳定($P=0.000, P=0.000, P=0.000$),时间效应有统计学差异($F=10.64, P=0.000$)(图 1)。

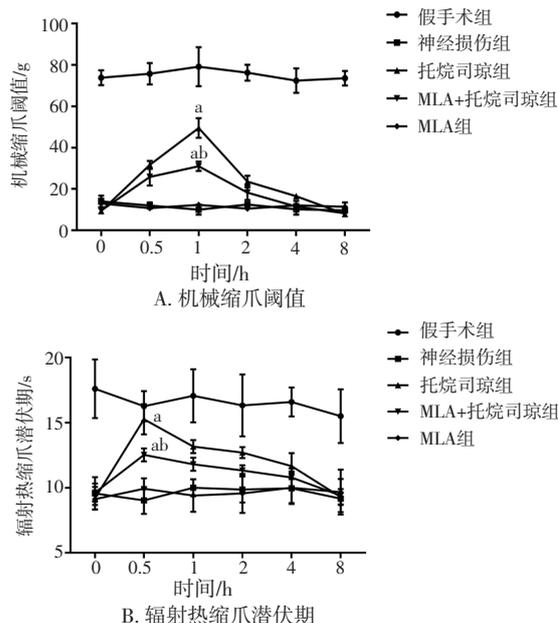


注:a,与假手术组比较, $P=0.000$

图 1 SNI 术后大鼠疼痛行为学变化

2.2 给药后疼痛行为学变化

大鼠 PMWT 随时间变化,时间效应有统计学意义($F=363.4, P=0.000$),且随时间变化趋势不同($F=28.39, P=0.000$)。分别两两比较结果显示,与神经损伤组相比,托烷司琼组 PMWT 给药后 0.5、1、2 h 明显升高($P=0.000, P=0.000, P=0.000$),MLA+托烷司琼组 PMWT 给药后 0.5、1 h 明显升高($P=0.000, P=0.000$),均于 1 h 达到高峰。MLA+托烷司琼组给药后 1 h PMWT 明显低于托烷司琼组($P=0.000$)。给药前后 MLA 组无明显变化($F=0.865, P=0.532$);大鼠 PTWL 也随时间变化,时间效应有统计学意义($F=20.91, P=0.000$),且随时间变化趋势不同($F=3.432, P=0.000$)。两两比较发现,与神经损伤组相比,托烷司琼组给药后 0.5、1、2、4 h PTWL 明显升高($P=0.000, P=0.000, P=0.002, P=0.048$),于 0.5 h 达到高峰。MLA+托烷司琼组给药后 0.5 h 较神经损伤组明显升高($P=0.014$),但仍低于托烷司琼组($P=0.034$)。给药前后 MLA 组无明显变化($F=0.162, P=0.972$)(图 2)。



注:a,与神经损伤组比较, $P=0.000$;b:与托烷司琼组比较, $P=0.000$

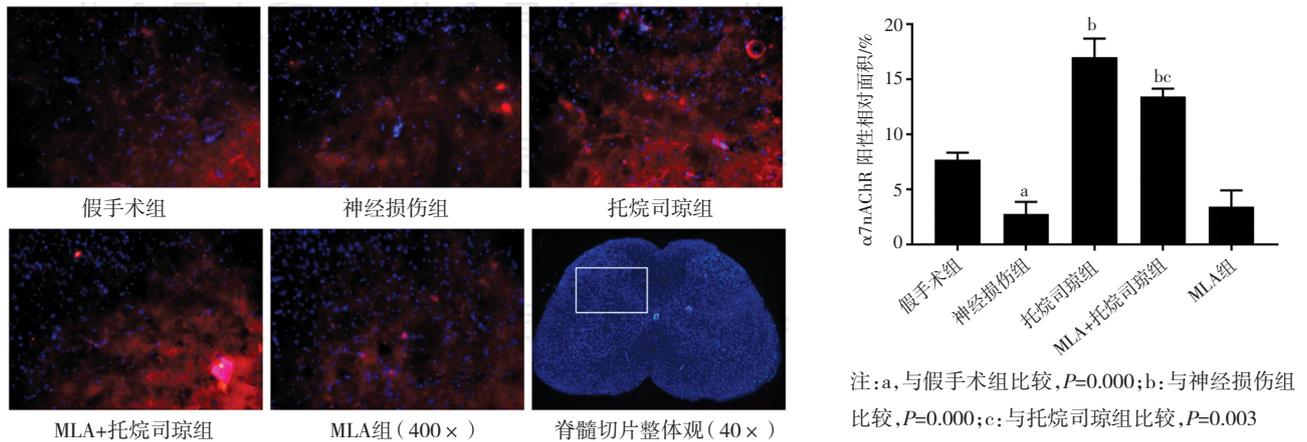
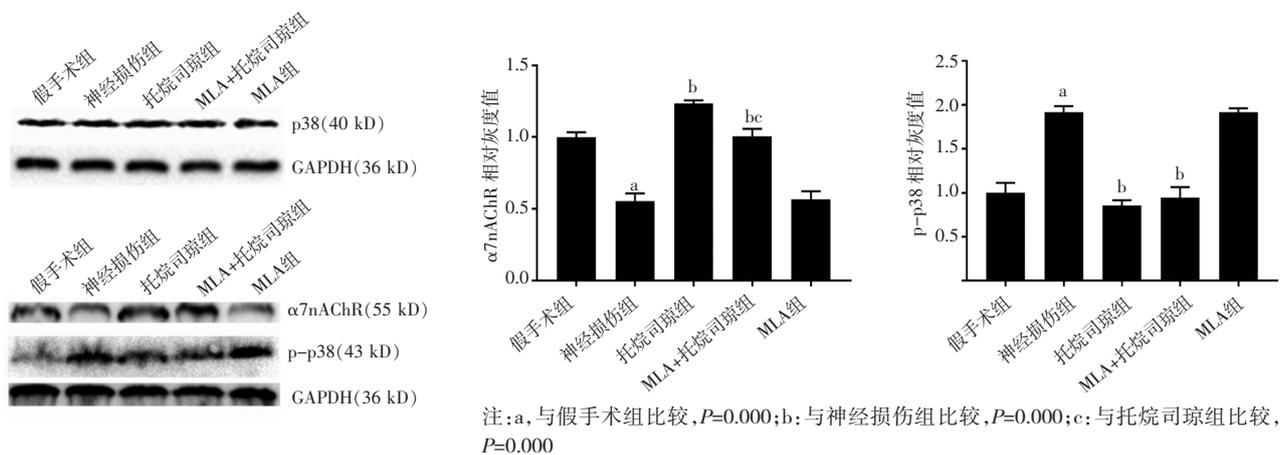
图 2 鞘内注射后大鼠疼痛行为学变化

2.3 大鼠脊髓 $\alpha 7\text{nAChR}$ 免疫荧光染色

$\alpha 7\text{nAChR}$ 在大鼠脊髓背角细胞膜上有表达,呈红色圈状。5 组 $\alpha 7\text{nAChR}$ 阳性染色相对面积差异有统计学意义($F=198.3, P=0.000$);两两比较结果显示,与假手术组相比,神经损伤组术后大鼠同侧脊髓背角 $\alpha 7\text{nAChR}$ 表达明显降低($P=0.000$);与神经损伤组相比,托烷司琼组和 MLA+托烷司琼组脊髓背角内 $\alpha 7\text{nAChR}$ 表达明显升高($P=0.000, P=0.000$),MLA 组无统计学差异($P=0.999$);MLA+托烷司琼组 $\alpha 7\text{nAChR}$ 表达量明显低于托烷司琼组($P=0.003$)(图 3)。

2.4 Western blot 检测 $\alpha 7\text{nAChR}$ 、p-p38 和 p38 表达水平

以 GAPDH 作为内参,各组均有 $\alpha 7\text{nAChR}$ 、p-p38 和 p38 表达。 $\alpha 7\text{nAChR}$ 和 p-p38 相对灰度值分析显示都有统计学意义差异($F=129.4, P=0.000; F=119.3, P=0.000$),各组 p38 表达水平均无明显差异。与假手术组相比,神经损伤组术后 $\alpha 7\text{nAChR}$ 表达量明显降低($P=0.000$),而 p-p38 表达量明显

图 3 组织免疫荧光染色检测大鼠脊髓背角 $\alpha 7nAChR$ 表达和阳性相对面积图 4 Western blot 检测大鼠脊髓 $\alpha 7nAChR$ 、p38 和 p-p38 表达和相对灰度值

增高($P=0.000$)。与 SNI 组相比,托烷司琼组和 MLA+托烷司琼组 $\alpha 7nAChR$ 表达明显升高($P=0.000, P=0.000$), p-p38 表达量明显降低($P=0.000, P=0.000$)。MLA 组 $\alpha 7nAChR$ 和 p-p38 表达与 SNI 组相比均无统计学差异($P=0.999, P=0.999$)。MLA+托烷司琼组 $\alpha 7nAChR$ 表达量明显低于托烷司琼组($P=0.000$)(图 4)。

3 讨论

慢性神经病理性疼痛产生的主要机制是外周神经损伤导致感觉信号由脊髓上传至大脑皮层后对正常或有害刺激产生痛觉超敏或过敏反应,以及持续的神经炎症反应最终引起长时间的慢性疼痛^[2]。本文建立了大鼠坐骨神经分支选择性损伤模型,该模型具有操作简单,损伤程度小和实验可重复性高的特点^[6-7]。实验发现模型术后第 1 天大鼠出现行走困难、拖行、跛行、足外翻,3 d 后可恢复行走功能,并能引起一个迅速发生且持续时间长的机械性超敏反应和热刺激的过敏反应,提示大鼠慢性神经病理性疼痛模型建立成功,且能较好地模拟临床特点。疼痛行为学测试结果表明模型术后 PMWT 和

PTWL 逐渐下降,术后第 7 天和第 14 天保持稳定,因此选择第 14 天作为一个治疗窗。

托烷司琼是目前临床麻醉中常用于治疗术后恶心呕吐的药物。Nasirinezhad F 等^[8]研究发现在脊髓水平注射托烷司琼可减轻慢性中枢神经性疼痛。为了验证其疼痛调节作用,本实验根据丘玥等^[9]的研究和预实验结果,于大鼠 L5~6 椎间隙向头侧鞘内置管并向蛛网膜下腔单次鞘内注射托烷司琼 10 μg ,这与临床麻醉中腰麻镇痛方法类似。结果发现,与神经损伤组相比,托烷司琼组 PMWT 和 PTWL 有明显升高趋势,对机械刺激效应可维持 2 h,而对热刺激维持时间稍长达 4 h 左右。这一结果提示鞘内注射托烷司琼对机械刺激和热刺激痛觉敏化有抑制作用,对热刺激疗效更好,可明显减轻神经病理性疼痛。研究还表明托烷司琼不仅是 5 羟色胺 3 受体(5-hydroxytryptamine 3 receptor, 5-HT₃R)拮抗剂,还是 $\alpha 7nAChR$ 激动剂,这 2 种受体在疼痛调控中都发挥重要作用^[8,10-11]。而 Nasirinezhad F 等^[8]研究发现托烷司琼是通过阻断 5-HT₃R 发挥的镇痛作用。为了探究 $\alpha 7nAChR$ 是否也参与其中,本研究参照细胞和动物实验^[10,12-13],设计在注射托烷司琼 1 h

前加入 $\alpha 7nAChR$ 拮抗剂 MLA 预处理。结果发现 MLA+托烷司琼组 PMWT 和 PTWL 仍有升高,但升高的幅度明显较托烷司琼组低。而单独使用 MLA 时对疼痛无影响。这一结果提示 $\alpha 7nAChR$ 拮抗剂可一定程度阻碍托烷司琼的镇痛作用,可间接说明托烷司琼通过激活 $\alpha 7nAChR$ 减轻了神经病理性疼痛。 $\alpha 7nAChR$ 是细胞膜上配体门控离子通道的一类胆碱能受体,在中枢神经系统的基底前脑、海马、大脑皮层和脊髓以及外周的许多神经节神经元中均有表达^[3]。研究发现,电针刺激通过上调 $\alpha 7nAChR$ 的表达减轻疼痛,并且一种选择性 $\alpha 7nAChR$ 抑制剂 α -Bgtx 可降低电针刺激镇痛作用^[5]。本实验结果显示,神经损伤术后,患侧脊髓背角 $\alpha 7nAChR$ 阳性细胞减少,蛋白表达水平也较假手术组降低。而在鞘内注射托烷司琼 1 h 后同侧脊髓背角阳性细胞显著增多,蛋白表达水平也显著升高,并且 $\alpha 7nAChR$ 拮抗剂预处理可一定程度地逆转托烷司琼的作用,提示 $\alpha 7nAChR$ 可能在神经病理性疼痛调控中发挥作用,是一个重要的作用靶点,这也是首次发现托烷司琼是通过激活 $\alpha 7nAChR$ 从而减轻神经病理性疼痛。

研究发现 p38MAPK 信号通路在缺氧、应激及内毒素和炎症因子存在的条件下可以被激活,其磷酸化和表达水平与炎症反应的程度密切相关,也广泛参与各种类型疼痛的进展过程^[14-15]。为了明确托烷司琼镇痛作用的下游信号通路,本研究选择 p38MAPK 信号通路进行实验。本实验结果显示 SNI 模型术后磷酸化 p38(p-p38)蛋白表达水平增高,p38 总蛋白表达水平基本不变,说明神经损伤可能导致脊髓中细胞损伤和炎症反应增加,进而向疼痛进展。并且鞘内注射托烷司琼后 p-p38 蛋白表达水平显著降低,这表明托烷司琼减少了 p38MAPK 的磷酸化,进而可能减轻脊髓的炎症反应,最终减轻疼痛。然而,本研究发现 $\alpha 7nAChR$ 拮抗剂预处理使 p-p38 蛋白表达水平有轻微增加,但差异不具有统计学意义($P=0.070$)。这说明 p38MAPK 信号通路可能是托烷司琼激活 $\alpha 7nAChR$ 发挥镇痛作用的下游机制,但其中具体联系还需进一步研究。

综上所述,鞘内注射托烷司琼可减轻 SNI 大鼠慢性神经病理性疼痛,其具体作用机制可能是托烷司琼选择性激活 $\alpha 7nAChR$,活化的 $\alpha 7nAChR$ 抑制了 p38MAPK 信号通路,进而阻断疼痛感觉上行传入,最终导致疼痛缓解。本研究对临床慢性神经病理性疼痛的治疗提供了新的理论可行性和实验基础。

参 考 文 献

[1] 李鹏涛,秦颖,肖智. 脊髓 P2X7 受体激活介入曲马多对神

经病理性疼痛的镇痛机制[J]. 医学研究生学报,2018,31(5):459-465.

Li PT, Qin Y, Xiao Z. Activation of spinal P2X7 receptor and analgesic effect of tramadol on neuropathic pain in rats[J]. J Med Postgrad, 2018, 31(5):459-465.

[2] Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, et al. Neuropathic pain[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3:17002.

[3] Hone AJ, McIntosh JM. Nicotinic acetylcholine receptors in neuropathic and inflammatory pain[J]. FEBS Lett, 2018, 592(7):1045-1062.

[4] Svensson CI, Marsala M, Westerlund A, et al. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase in spinal microglia is a critical link in inflammation-induced spinal pain processing[J]. J Neurochem, 2003, 86(6):1534-1544.

[5] Wang Y, Jiang Q, Xia YY, et al. Involvement of $\alpha 7nAChR$ in electroacupuncture relieving neuropathic pain in the spinal cord of rat with spared nerve injury[J]. Brain Res Bull, 2018, 137:257-264.

[6] 文晓娟,张博闻,吴智兵. 常见 SD 大鼠神经病理性疼痛模型研究[J]. 医学信息, 2018, 31(1):49-51.

Wen XJ, Zhang BW, Wu ZB. Study on the neuropathic pain model of common SD rats[J]. Med Inf, 2018, 31(1):49-51.

[7] 沈茜,高进,陈萍. NMDA 受体拮抗剂对神经病理性疼痛大鼠脊髓背角 bFGF 表达的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2016, 41(1):50-55.

Shen Q, Gao J, Chen P. Effect of intrathecal administration of NMDA receptor antagonist on the expression of bFGF in spinal dorsal horn of rat with neuropathic pain[J]. J Chongqing Med Univ, 2016, 41(1):50-55.

[8] Nasirinezhad F, Hosseini M, Karami Z, et al. Spinal 5-HT₃ receptor mediates nociceptive effect on central neuropathic pain; possible therapeutic role for tropisetron[J]. J Spinal Cord Med, 2016, 39(2):212-219.

[9] 丘玥,陈唯韪,王之遥,等. 辛伐他汀对大鼠神经病理性疼痛行为和 RhoA 通路表达的影响[J]. 中国疼痛医学杂志, 2016, 22(7):493-500.

Qiu Y, Chen WY, Wang ZY, et al. The effect of simvastatin on pain behavior and the expression of rho pathway in neuropathic pain rats[J]. Chin J Pain Med, 2016, 22(7):493-500.

[10] Khalifeh S, Fakhouri G, Mehr SE, et al. Beyond the 5-HT₃ receptors: a role for $\alpha 7nACh$ receptors in neuroprotective aspects of tropisetron[J]. Hum Exp Toxicol, 2015, 34(9):922-931.

[11] Fakhouri G, Mousavizadeh K, Mehr SE, et al. From chemotherapy-induced emesis to neuroprotection: therapeutic opportunities for 5-HT₃ receptor antagonists[J]. Mol Neurobiol, 2015, 52(3):1670-1679.

[12] Ji L, Chen YM, Wei HX, et al. Activation of $\alpha 7$ acetylcholine receptors reduces neuropathic pain by decreasing dynorphin A release from microglia[J]. Brain Res, 2019, 1715:57-65.

[13] Huang Q, Mao XF, Wu HY, et al. Bullatine A stimulates spinal microglial dynorphin A expression to produce anti-hypersensitivity in a variety of rat pain models[J]. J Neuroinflammation, 2016, 13(1):214.

[14] Cui Y, Liao XX, Liu W, et al. A novel role of minocycline: attenuating morphine antinociceptive tolerance by inhibition of p38 MAPK in the activated spinal microglia[J]. Brain Behav Immun, 2008, 22(1):114-123.

[15] Zhang T, Zhang N, Zhang R, et al. Preemptive intrathecal administration of endomorphins relieves inflammatory pain in male mice via inhibition of p38 MAPK signaling and regulation of inflammatory cytokines[J]. J Neuroinflammation, 2018, 15(1):320.