

电针对糖尿病神经痛大鼠脊髓星形胶质细胞活化的影响

王涵芝^{1,2} 瞿思颖^{1,2} 邵昭霞^{1,2} 费雪瑜^{1,2} 邵晓梅^{1,2,3} 何晓芬^{1,2,3} 方剑乔^{1,2,3} 蒋永亮^{1,2,3}

1.浙江中医药大学第三临床医学院 杭州 310053 2.浙江省针灸神经病学研究重点实验室

3.浙江中医药大学针灸研究所

摘要: [目的] 观察电针(electroacupuncture, EA)对糖尿病神经痛(diabetic neuropathic pain, DNP)大鼠 L4~L6 脊髓星形胶质细胞活化的影响。[方法] 将 26 只雄性 SD 大鼠随机分为正常组(6 只)和高脂高糖饲养组(20 只),高脂高糖饲养组大鼠采用高脂高糖饲养联合单次链脲佐菌素注射建立 DNP 模型。将造模成功的大鼠分为 DNP 模型组、EA 组,每组 6 只。EA 组造模后 7 周开始以 EA 针刺“足三里”“昆仑”,每次 30min,1 次/d,持续 1 周,余组仅予相同固定,不作干预。各组于造模前和造模后 5、7、8 周分别测量大鼠机械缩足反射阈值(paw withdrawal threshold, PWT)。造模后 8 周处死大鼠,以免荧光法检测大鼠 L4~L6 脊髓星形胶质细胞活化的标志物胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)和 N-甲基-D-天冬氨酸受体 2B 亚基磷酸化(phospho-N-methyl-D-aspartic acid receptor 2B subunit, p-NR2B)的表达。[结果] 与正常组比较,造模后 7 周 DNP 模型组大鼠 PWT 明显降低($P<0.01$),出现痛觉过敏;造模后 8 周,EA 组 PWT 较 DNP 模型组明显升高($P<0.01$)。造模后 8 周,DNP 模型组 L4~L6 脊髓背角 GFAP 和 p-NR2B 阳性表达高于正常组($P<0.01$, $P<0.01$),EA 组 L4~L6 脊髓中 GFAP 和 p-NR2B 阳性表达明显低于 DNP 模型组($P<0.01$, $P<0.05$)。[结论] EA 对 DNP 具有镇痛作用,其机制可能是抑制脊髓背角星形胶质细胞活化和下调 p-NR2B 的表达。

关键词: 电针;糖尿病神经痛;大鼠;星形胶质细胞;活化;NR2B

中图分类号: R245.9 文献标识码: A 文章编号: 1005-5509(2019)06-0540-06

DOI: 10.16466/j.issn1005-5509.2019.06.004

Effects of Electroacupuncture on Activation of Astrocyte in Spinal Cord in Rats with Diabetic Neuropathic Pain WANG Hanzhi^{1,2}, QU Siying^{1,2}, TAI Zhaoxia^{1,2}, et al 1.Third Clinical Medical College of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou(310053), China; 2.Key Laboratory of Acupuncture and Neurology of Zhejiang Province; 3.Institute of Acupuncture and Moxibustion of Zhejiang Chinese Medical University

Abstract: [Objective] To observe the effects of electroacupuncture(EA) on the activation of astrocyte in the L4~L6 spinal cord of Sprague Dawley(SD) rats with diabetic neuropathic pain(DNP). [Methods] Twenty six male SD rats were randomly divided into normal group($n=6$) and high fat and high sugar feeding group($n=20$), rats in high fat and high sugar feeding group were induced by high fat and high sugar diet combined with single streptozotocin intraperitoneal injection. Successful modeling rats were furtherly divided into DNP model group and EA group, with 6 rats in each one. The rats in EA group were treated with EA at “Zusanli” and “Kunlun”, 30 minutes per time, once a day for consecutive 1 week. Paw withdrawal threshold(PWT) was measured before model establishment and 5 weeks, 7 weeks and 8 weeks after model establishment. Immunofluorescence was applied to observe positive rate of glial fibrillary acidic protein(GFAP) and phospho-N-methyl-D-aspartic acid receptor 2B subunit(p-NR2B) in spinal cord dorsal horn(SCDH). [Results] Compared with normal group, the PWT was significantly decreased in DNP model group in the 7th week($P<0.01$). Compared with DNP model group, the PWT was significantly increased in EA group in the 8th week($P<0.01$). Compared with normal group, the expression of GFAP and p-NR2B in the SCDH of DNP model group increased in the 8th week($P<0.01$, $P<0.01$); and the expression of GFAP and p-NR2B of EA group decreased, compared with DNP model group, there were significant differences($P<0.01$, $P<0.05$). [Conclusion] The analgesic effect on DNP may be achieved by EA through inhibiting the activation of astrocyte in SCDH and down-regulating the expression of p-NR2B.

Key words: electroacupuncture; diabetic neuropathic pain; rat; astrocyte; activation; NR2B

糖尿病具有多种并发症,糖尿病神经痛(diabetic neuropathic pain, DNP)就是其中一种,其发病率很高^[1],严重影响患者生存质量,目前药物治疗方案有限,而且疗效不佳。DNP 常表现为痛觉敏化^[2],其中中枢敏化是 DNP 发生、维持的主要机制之一,主要涉及

脊髓背角神经元的超兴奋性。有研究表明,星形胶质细胞在 DNP 的发病过程中发挥重要作用^[3],已成为治疗 DNP 的重要靶点,而星形胶质细胞活化的重要标志物之一为胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)。也有研究表明,脊髓背角 N-甲基-D-天

基金项目:浙江省自然科学基金(LQ17H270003);国家自然科学基金(81774389、81804181)

Fund projects: Natural Science Foundation of Zhejiang Province(LQ17H270003); National Natural Science Foundation(81774389, 81804181)

通讯作者:方剑乔, E-mail: fangjianqiao7532@163.com; 蒋永亮, E-mail: jyl2182@126.com

冬氨酸(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDA)受体 2B 亚基磷酸化(phospho-N-methyl-D-aspartic acid receptor 2B subunit, p-NR2B)与 DNP 的产生与维持相关^[4]。

针刺是控制慢性疼痛的主要手段之一,临床随机对照研究证实针刺或电针(electroacupuncture, EA)可有效控制 DNP^[5-7]。已有研究表明,低频 EA 干预 DNP 优于高频^[8],但是其具体机制有待进一步明确。本实验通过建立 DNP 大鼠模型,观察大鼠 L4~L6 脊髓背角星形胶质细胞活化情况及 p-NR2B 表达的变化,为应用 EA 干预 DNP 提供重要的科学依据与理论阐释。

1 材料和方法

1.1 实验动物 清洁级健康雄性 SD 大鼠 26 只购于中国科学院上海实验动物中心[实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2013-0016],35 周龄,体质量(135±15)g,饲养于浙江中医药大学实验动物中心[实验动物使用许可证号:SYXK(浙)2013-0184]。正常组大鼠予以啮齿类动物标准颗粒饲料喂养,高脂高糖饲养组予以高脂高糖饲料喂养,均自由饮水。饲养室温度维持在(24±2)℃,12h 灯光昼夜循环。

1.2 主要仪器与试剂 HANS 200E 型韩氏穴位神经刺激仪购于北京华卫产业开发公司;37450 型动态足底触觉仪为意大利 Ugo Basile 公司产品;激光共聚焦显微镜购于日本 Nikon 公司。兔抗大鼠 GFAP 多克隆抗体购于美国 abcam 公司(批号:GR154650-5);兔抗大鼠 p-NR2B 抗体购于美国 GeneTex 公司(批号:821502001);驴抗兔 Alexa Fluor[®]488 IgG(H+L)二抗购于美国 Jackson Immunolab 公司(批号:138271)。

1.3 造模与分组 以完全随机分组法将大鼠分为正常组(6 只)与高脂高糖饲养组(20 只)。正常组大鼠予以普通饲料喂养,高脂高糖饲养组大鼠予以高脂高糖饲料喂养 5 周,继以腹腔注射 35mg/kg 的链脲佐菌素(streptozotocin, STZ),正常组给予相同剂量的柠檬酸缓冲液腹腔注射。STZ 注射 3d 后检测空腹血糖,血糖稳定且 $\geq 11.1\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的大鼠入选实验。2 周后检测大鼠的机械痛阈,血糖升高和痛阈下降作为 DNP 模型造模成功的标准。高脂高糖饲养组大鼠中 2 只死亡,4 只血糖未升高,2 只痛阈未下降,最终造模成功的大鼠共 12 只。将造模成功的大鼠分为 DNP 模型组和 EA 组,每组 6 只。

1.4 EA 干预 造模成功后开始 EA 干预,采用 0.25mm

×13mm 的毫针,选用双侧“足三里”“昆仑”穴,进针后连接韩氏穴位神经刺激仪。电针参数:频率 2Hz,强度 1mA,干预 15min;2mA 干预 15min,共 30min,1 次/d,持续 1 周。

1.5 痛阈测定 采用动态足底触觉仪检测大鼠机械缩足反射阈值(paw withdrawal threshold, PWT)^[9]。分别于造模前、造模后 5、7 和 8 周进行检测,测量前将大鼠置于塑料盒内适应环境 20min,待大鼠安静后,用金属丝对大鼠足底给予机械刺激。刺激力量从 0g 开始,以 2.5g/s 的速度递增,最大刺激力量为 50g,避免大鼠足底受伤。共检测 5 次,每次检测间隔 5min,去掉最大值和最小值,取余下 3 次的平均值。

1.6 免疫荧光检测大鼠腰段脊髓背角 GFAP、p-NR2B 阳性细胞表达 大鼠经 10%水合氯醛(0.35mL/100g)腹腔麻醉后,以 4℃的 0.9%氯化钠溶液经左心室、升主动脉快速灌注,再以 4%多聚甲醛灌注后快速分离脊髓 L4~L6 节段。将脊髓置于 4%多聚甲醛溶液中固定 6h,经 15%和 30%的蔗糖溶液梯度脱水,液氮快速冷冻后,行 30 μm 冰冻切片。脊髓切片以 TBST 漂洗 5min,漂洗 3 次后,转入 24 孔板,加入 10%驴血清,37℃孵育 1h。分别加入以含 10%驴血清的 TBST 稀释的兔抗大鼠 GFAP 抗体(稀释比例 1:1 000)和含 10%驴血清的 TBST 稀释的兔抗大鼠 p-NR2B 抗体(稀释比例 1:400)。4℃过夜后, TBST 漂洗切片 10min,共漂洗 3 次,加入含 10%驴血清的 TBST 稀释的 Alexa Fluor[®]488 驴抗兔 IgG 二抗(稀释比例 1:400)进行免疫荧光标记,37℃避光孵育 1h, TBST 清洗 3 次。将脊髓切片转移至黏附载玻片上,晾干后滴加抗荧光淬灭封片液,以盖玻片封片,激光共聚焦显微镜下观察并拍片。每只大鼠选用 3 张脊髓切片,采用 Image-Pro Plus 6.0 病理图像分析系统对腰段脊髓背角浅层阳性细胞表达率进行统计。阳性细胞表达率(%)=脊髓背角 I~II 层阳性像素点/脊髓背角 I~II 层总像素点×100%。

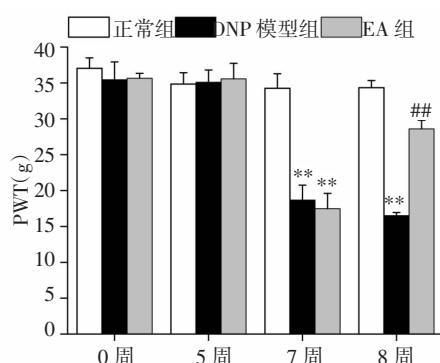
1.7 统计学分析 应用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 PWT 比较 造模前各组大鼠 PWT 差异无统计学意义($P>0.05$),造模第 5 周高脂高糖饲养

后 STZ 注射前, 各组大鼠 PWT 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。造模后第 7 周, 与正常组比较, DNP 模型组和 EA 组大鼠 PWT 明显下降 ($P<0.01$)。造模后第 8

周, 与正常组比较, DNP 模型组大鼠 PWT 明显下降 ($P<0.01$); 与 DNP 模型组比较, EA 组大鼠 PWT 明显升高 ($P<0.01$)。见图 1。



注: 与正常组比较, ** $P<0.01$; 与 DNP 模型组比较, ## $P<0.01$

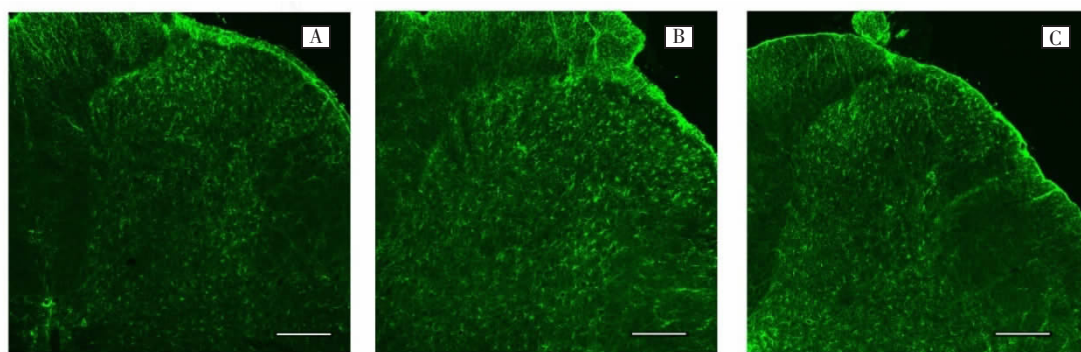
Note: Compared with normal group, ** $P<0.01$; compared with DNP model group, ## $P<0.01$

图 1 各组大鼠 PWT 比较

Fig.1 Comparison of PWT in each group

2.2 各组大鼠腰段脊髓背角 GFAP 表达比较 各组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 GFAP 阳性细胞见图 2。与正常组比较, DNP 模型组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II

层 GFAP 阳性表达率明显升高 ($P<0.01$); 与 DNP 模型组比较, EA 组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 GFAP 阳性细胞表达率明显降低 ($P<0.01$)。见图 3。

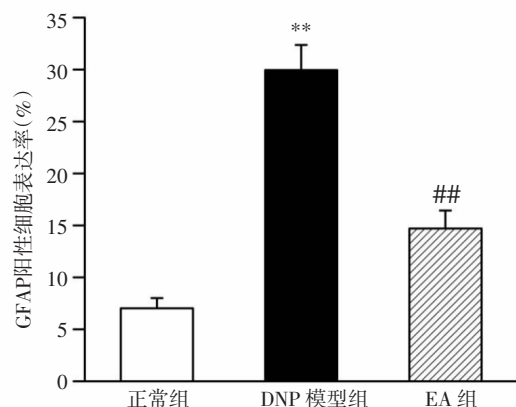


注: A. 正常组; B. DNP 模型组; C. EA 组

Note: A. Normal group; B. DNP model group; C. EA group

图 2 各组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 GFAP 阳性细胞 (100×, 标尺: 100μm)

Fig.2 GFAP positive cells in lumbar spinal cord dorsal horn laminae I ~ II in each group (100×, scale bar: 100μm)



注: 与正常组比较, ** $P<0.01$; 与 DNP 模型组比较, ## $P<0.01$

Note: Compared with normal group, ** $P<0.01$; compared with DNP model group, ## $P<0.01$

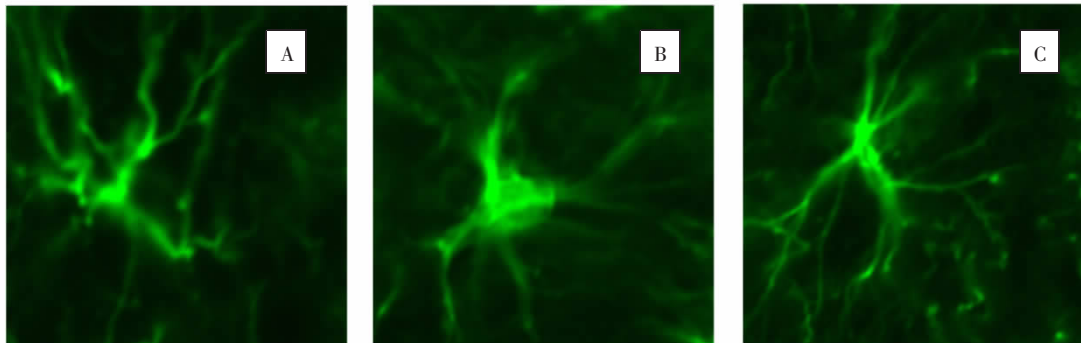
图 3 各组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 GFAP 阳性细胞表达率比较

Fig.3 Comparison of positive ratio of GFAP in lumbar spinal cord dorsal horn laminae I ~ II in each group

从细胞形态学角度观察,正常组大鼠脊髓背角星形胶质细胞呈分支状,细胞胞体小,分支长而细,处于静息状态;DNP 模型组大鼠脊髓背角星形胶质细胞

胞体变大,分支变短,处于激活状态,EA 组大鼠星形胶质细胞虽处于激活状态,但胞体较小。见图 4。

2.3 各组大鼠腰段脊髓背角 p-NR2B 表达比较 各



注:A.正常组;B.DNP 模型组;C.EA 组

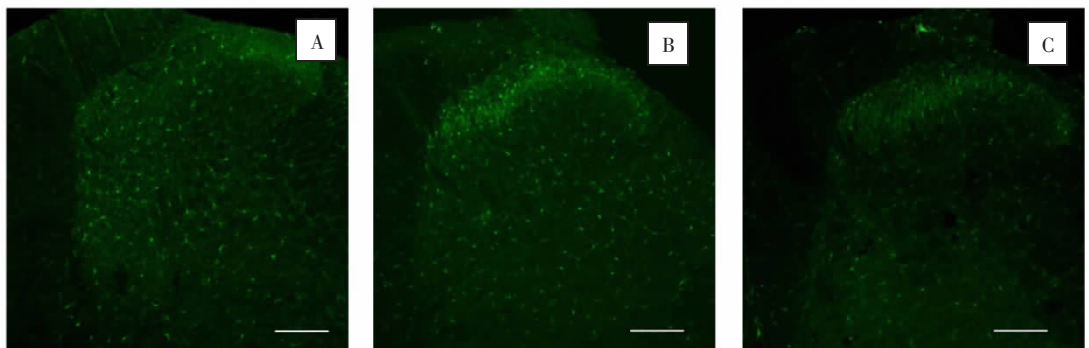
Note: A.Normal group; B.DNP model group; C.EA group

图 4 各组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 GFAP 阳性细胞形态

Fig.4 Morphology of GFAP positive cell in lumbar spinal cord dorsal horn laminae I ~ II in each group

组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 p-NR2B 阳性细胞见图 5。与正常组比较,DNP 模型组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 p-NR2B 阳性细胞表达率明显升高 ($P <$

0.01);与 DNP 模型组比较,EA 组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 p-NR2B 阳性细胞表达率明显降低 ($P <$ 0.05)。见图 6。

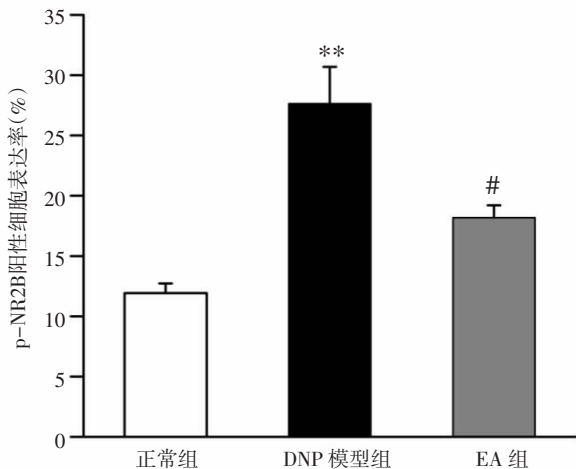


注:A.正常组;B.DNP 模型组;C.EA 组

Note: A.Normal group; B.DNP model group; C.EA group

图 5 各组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 p-NR2B 阳性细胞(100 $\times$,标尺:100 μ m)

Fig.5 P-NR2B positive cells in lumbar spinal cord dorsal horn laminae I ~ II in each group(100 $\times$; scale bar: 100 μ m)



注:与正常组比较,** $P < 0.01$;与 DNP 模型组比较,# $P < 0.05$

Note:Compared with normal group,** $P < 0.01$;compared with DNP model group, # $P < 0.05$

图 6 各组大鼠腰段脊髓背角 I ~ II 层 p-NR2B 阳性细胞表达率比较

Fig.6 Comparison of positive ratio of p-NR2B in lumbar spinal cord dorsal horn laminae I ~ II in each group

3 讨论

近年来,糖尿病患者数量急剧上升,糖尿病并发症已成为糖尿病患者主要死因之一,严重威胁着人类的健康,由此产生的医疗费用也给个人和社会经济等带来了沉重的负担^[10]。临床上大约 50% 的糖尿病患者合并 DNP,而 DNP 是糖尿病周围神经病变中较为严重的一种^[1]。

研究证实,DNP 主要表现为痛觉敏化^[11],而中枢敏化是 DNP 发生、维持的关键机制,涉及脊髓背角神经元的超兴奋性。星形胶质细胞是兴奋性神经递质代谢的重要场所之一,很多细胞因子和生长因子从激活的星形胶质细胞释放,导致细胞周围的化学环境改变,引发中枢敏化。然而,以神经细胞为作用靶点的药物治疗效果常常不够理想。GFAP 是星形胶质细胞活化的标志物之一。多种疼痛动物模型中均可观察到脊髓星形胶质细胞的活化增殖反应和其特性标志物 GFAP 的表达增加^[12-13]。还有研究证实,疼痛模型中伴有星形胶质细胞的形态改变,表现为细胞聚集、胞体变大、分支变多、GFAP 灰度值增强等^[14]。Liddelow 等^[15]发现,疾病状态下静息的星形胶质细胞会转变为具有神经毒性的 A1 表型,后者可以产生大量的炎症因子。注射星形胶质细胞抑制剂氟代柠檬酸能明显减轻由神经损伤和炎症因素引起的痛觉过敏和异常性疼痛^[16-17]。以上研究提示星形胶质细胞在神经病理疼痛发生和发展过程中发挥着重要作用。

NMDA 受体是以谷氨酸为神经递质的离子型受体,其中 NR2B 是 NMDA 受体的调节亚基,在脊髓背角呈选择性高表达。有研究表明,鞘内注射 NMDA 受体 NR2B 亚基特异性拮抗剂艾芬地尔治疗神经痛时,脊髓背角 NR2B 亚基的表达明显降低,提示脊髓背角 NR2B 亚基参与神经痛的形成^[18]。NR2B 亚基磷酸化会影响 NMDA 受体的数量及功能,从而参与中枢敏化^[19]。也有研究表明,脊髓背角 NR2B 亚基的表达量与 DNP 的产生与维持相关^[4,20]。Wang 等^[21]研究表明,NMDA 受体的亚基 NR2B 的表达与星形胶质细胞的活化有着密切的关系。有报道证实,EA 可通过抑制脊髓背角 NR2B 亚基表达,从而提高神经病理性疼痛或炎性疼痛模型的痛阈^[22-23]。也有研究表明,EA 通过抑制脊髓背角 GFAP 活化对神经病理性疼痛产生镇痛作用^[24]。

本实验通过高脂高糖饲养联合腹腔注射 STZ 诱导 DNP 大鼠模型,初步探讨了 EA 对 DNP 模型大鼠

脊髓背角星形胶质细胞活化和 p-NR2B 表达的影响。结果表明,EA 可提高 DNP 大鼠 PWT,免疫荧光显示 DNP 模型组大鼠脊髓背角星形胶质细胞表达明显增多,并且处于高度活化状态;EA 可明显抑制 DNP 模型大鼠脊髓背角星形胶质细胞活化,并且能抑制脊髓背角 p-NR2B 的表达。综上所述,EA 对 DNP 大鼠具有镇痛作用,其可能的机制是抑制脊髓背角星形胶质细胞活化和 p-NR2B 的表达。在未来的研究中将采用免疫荧光双标法检测 GFAP 和 p-NR2B 的共表达,并通过 GFAP 和 NR2B 的特异性激动剂的鞘内注射,进一步观察其对针刺镇痛效应的影响。

参考文献:

References:

- [1] Candrilli S D, Davis K L, Kan H J, et al. Prevalence and the associated burden of illness of symptoms of diabetic peripheral neuropathy and diabetic retinopathy[J]. J Diabetes Complications, 2007, 21(5): 306-314.
- [2] Tavakoli M, Malik R A. Management of painful diabetic neuropathy[J]. Expert Opin Pharmacother, 2008, 9(17): 2969-2978.
- [3] 陈文君, 苗蓓, 周冬梅, 等. 盐酸度洛西汀对糖尿病神经病理痛大鼠脊髓背角星形胶质细胞和小胶质细胞的影响[J]. 基层医学论坛, 2015, 19(22): 3025-3027.
CHEN Wenjun, MIAO Bei, ZHOU Dongmei, et al. Effect of Duloxetine on expression of astrocytes and microglia in spinal dorsal horn in a rat model of diabetic neuropathic pain[J]. Public Medical Forum Magazine, 2015, 19(22): 3025-3027.
- [4] Bai H P, Liu P, Wu Y M, et al. Activation of spinal GABAB receptors normalizes N-methyl-D-aspartate receptor in diabetic neuropathy[J]. J Neurol Sci, 2014, 341(1-2): 68-72.
- [5] 许丰. 针灸治疗糖尿病神经病变临床疗效观察[J]. 中国伤残医学, 2013, 21(4): 198-199.
XU Feng. Clinical observation of acupuncture and moxibustion on diabetic neuropathy[J]. Chinese Journal of Trauma and Disability Medicine, 2013, 21(4): 198-199.
- [6] Garrow A P, Xing M, Vere J, et al. Role of acupuncture in the management of diabetic painful neuropathy (DPN): a pilot RCT[J]. Acupunct Med, 2014, 32(3): 242-249.
- [7] Tong Y, Guo H, Han B. Fifteen-day acupuncture treatment relieves diabetic peripheral neuropathy[J]. J Acupunct Meridian Stud, 2010, 3(2): 95-103.
- [8] He X F, Wei J J, Shou S Y, et al. Effects of electroacupuncture at 2 and 100 Hz on rat type 2 diabetic neuropathic pain and hyperalgesia-related protein expression in the dorsal root ganglion[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2017, 18(3): 239-248.
- [9] 赵文胜, 石慧, 周旭文, 等. 温经通痹汤对坐骨神经损伤大鼠痛阈和脊髓背角 NR2B 表达的影响[J]. 浙江中医药大学

- 学报, 2014, 38(1):17-21.
- ZHAO Wensheng, SHI Hui, ZHOU Xuwen, et al. The value of Wen Jing Tong Bi decoction on pain threshold of sciatica and expression of NR2B in spinal cord [J]. Journal of Zhejiang Chinese Medical University, 2014, 38(1):17-21.
- [10] GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. Lancet, 2017, 390(10100): 1211-1259.
- [11] Talbot S, Couture R. Emerging role of microglial kinin B1 receptor in diabetic pain neuropathy [J]. Exp Neurol, 2012, 234(2): 373-381.
- [12] Romero-Sandoval A, Chai N, Nutile-McMenemy N, et al. A comparison of spinal Iba1 and GFAP expression in rodent models of acute and chronic pain [J]. Brain Res, 2008, 1219: 116-126.
- [13] Hald A, Nedergaard S, Hansen R R, et al. Differential activation of spinal cord glial cells in murine models of neuropathic and cancer pain [J]. Eur J Pain, 2009, 13(2): 138-145.
- [14] Raghavendra V, Tanga F Y, DeLeo J A. Complete Freund's adjuvant-induced peripheral inflammation evokes glial activation and proinflammatory cytokine expression in the CNS [J]. Eur J Neurosci, 2004, 20(2): 467-473.
- [15] Liddelow S A, Guttenplan K A, Clarke L E, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia [J]. Nature, 2017, 541(7638): 481-487.
- [16] Watkins L R, Martin D, Ulrich P, et al. Evidence for the involvement of spinal cord glia in subcutaneous formalin induced hyperalgesia in the rat [J]. Pain, 1997, 71(3): 225-235.
- [17] Clark A K, Gentry C, Bradbury E J, et al. Role of spinal microglia in rat models of peripheral nerve injury and inflammation [J]. Eur J Pain, 2007, 11(2): 223-230.
- [18] Zhang W, Shi C X, Gu X P, et al. Ifenprodil induced antinociception and decreased the expression of NR2B subunits in the dorsal horn after chronic dorsal root ganglia compression in rats [J]. Anesth Analg, 2009, 108(3): 1015-1020.
- [19] Ultenius C, Linderöth B, Meyerson B A, et al. Spinal NMDA receptor phosphorylation correlates with the presence of neuropathic signs following peripheral nerve injury in the rat [J]. Neurosci Lett, 2006, 399(1): 85-90.
- [20] Dang J K, Wu Y, Cao H E, et al. Establishment of a rat model of type II diabetic neuropathic pain [J]. Pain Med, 2014, 15(4): 637-646.
- [21] Wang W, Mei X P, Wei Y Y, et al. Neuronal NR2B-containing NMDA receptor mediates spinal astrocytic c-Jun N-terminal kinase activation in a rat model of neuropathic pain [J]. Brain Behav Immun, 2011, 25(7): 1355-1366.
- [22] 周国斌, 马薇涛, 于卫, 等. 电针对神经病理性疼痛大鼠痛阈及脊髓 NR2B 亚基表达的影响 [J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(12): 2702-2704.
- ZHOU Guobin, MA Weitao, YU Wei, et al. Effect of electroacupuncture on pain threshold and spinal NR2B subunit expression in a rat model of neuropathic pain [J]. J South Med Univ, 2010, 30(12): 2702-2704.
- [23] 梁宜, 方剑乔, 房军帆, 等. 电针对 CFA 大鼠脊髓背角 NR2B 酪氨酸 1472 位点磷酸化的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(10): 1372-1375.
- LIANG Yi, FANG Jianqiao, FANG Junfan, et al. Effect of electroacupuncture on phosphorylation of NR2B at Tyr 1472 site in the spinal dorsal horn of CFA rats [J]. Chin J Integr Trad West Med, 2013, 33(10): 1372-1375.
- [24] Liang Y, Qiu Y, Du J, et al. Inhibition of spinal microglia and astrocytes contributes to the anti-allodynic effect of electroacupuncture in neuropathic pain induced by spinal nerve ligation [J]. Acupunct Med, 2016, 34(1): 40-47.

(收稿日期: 2019-02-28)