

·基础研究·

A型肉毒毒素通过调控大鼠背根神经节神经元中钠离子通道缓解神经病理性疼痛的研究*

陈曦¹ 胡昔权^{1,2} 张丽颖¹ 阙宏俊¹

摘要

目的:观察A型肉毒毒素(BoNT/A)对大鼠L5脊神经前根切断(L5 VRT)疼痛模型大鼠的镇痛效果,研究BoNT/A对未受损的背根神经节(DRG)神经元中不同类型钠通道电流和神经元兴奋性的影响。

方法:建立L5 VRT神经病理性疼痛大鼠模型。实验大鼠分成3组:假手术组(Sham)、VRT+生理盐水注射组(VRT+Saline)、VRT+BoNT/A注射组(VRT+BoNT/A)。造模后第5天给药,测量不同时间点各组大鼠机械撤足阈值和热撤足潜伏期的变化。电生理膜片钳方法观察BoNT/A对DRG神经元中不同类型钠通道电流的影响,电流钳检测神经元动作电位阈值变化情况。

结果:足底皮下注射BoNT/A(7U/kg)可显著缓解L5 VRT介导的机械触痛敏和热痛敏症状($P<0.01$);BoNT/A干预后可显著减小L5 VRT术后DRG神经元中河豚毒素敏感型(TTX-S)和河豚毒素抵抗型(TTX-R)钠通道电流密度($P<0.05$);BoNT/A可升高VRT术后原本下降的神经元动作电位阈值($P<0.05$)。

结论:BoNT/A可减小未损伤DRG神经元中TTX-S和TTX-R钠电流,降低神经元兴奋性,缓解L5 VRT介导的神经病理性疼痛症状。

关键词 A型肉毒毒素;神经病理性疼痛;背根神经节;钠离子通道;神经损伤

中图分类号:R493,R681 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2020)-09-1032-06

Research on analgesic effect of Botulinum neurotoxin type A on neuropathic pain by regulating sodium channels in dorsal root ganglion neurons/CHEN Xi, HU Xiquan, ZHANG Liying, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2020, 35(9): 1032—1037

Abstract

Objective:To investigate the analgesic effect of Botulinum neurotoxin type A (BoNT/A) on neuropathic pain induced by Lumbar 5 ventral root transaction (L5 VRT) and further to observe the effect of BoNT/A on sodium currents and excitability in uninjured dorsal root ganglion (DRG) neurons.

Method:The animal model of neuropathic pain was induced by L5 VRT in adult Sprague-Dawley rats. A single BoNT/A or saline was subcutaneously injected into the hindpaws' plantar surface 5 days after L5 VRT. By using behavioral tests, the effect of BoNT/A on the paw withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of L5 VRT rats was investigated, the effect of BoNT/A on tetrodotoxin-sensitive (TTX-S) and tetrodotoxin-resistant (TTX-R) sodium current densities in DRG neurons of L5 VRT rats was observed by patch clamp, and the threshold of action potential in DRG neurons was recorded as well.

Result:Injection of BoNT/A at 7 U/kg reversed L5 VRT-induced mechanical allodynia and thermal hyperalgesia ($P<0.01$). Administration of BoNT/A significantly decreased the current densities of TTX-S and TTX-R sodium channels in uninjured DRG neurons of L5 VRT rats ($P<0.05$). In addition, BoNT/A significantly increased the

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2020.09.002

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(81871849);国家自然科学基金青年基金项目(81301674)

1 中山大学附属第三医院康复医学科,广东省广州市,510630; 2 通讯作者

第一作者简介:陈曦,男,博士,主治医师; 收稿日期:2020-04-28

threshold of action potential in DRG neurons of L5 VRT rats ($P<0.05$).

Conclusion: Administration of BoNT/A is capable of decreasing current densities of TTX-S and TTX-R sodium channels and increasing the threshold of action potential in uninjured DRG neurons following L5 VRT, thus contributes to its analgesic effect.

Author's address Department of Rehabilitation Medicine, the Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangdong, Guangzhou, 510630

Key word Botulinum neurotoxin type A; neuropathic pain; dorsal root ganglion; sodium channels; nerve injury

神经病理性疼痛是由于外周或中枢神经系统的损伤或功能紊乱所引起的疼痛,以自发性疼痛、痛超敏和痛反应增强为主要特征,发作时疼痛剧烈,且在损伤愈合后数周至数年仍然长期存在,使患者的生活质量严重下降,因此神经病理性疼痛被认为是神经系统的一种疾病^[1]。神经病理性疼痛的机制包括外周敏感化和中枢敏感化。近年来许多研究发现,外周神经损伤后背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)神经元中电压门控钠离子通道(voltage-gated sodium channels, VGSCs)的异常表达对病理性疼痛的发生发展有重要意义。钠离子通道依据对河豚毒素敏感性的不同被划分为河豚毒素敏感型(tetrodotoxin-sensitive, TTX-S)和河豚毒素抵抗型(tetrodotoxin-resistant, TTX-R)两大类型,它们有着不同的特性,在神经病理性疼痛中的表达和变化也有所不同。神经元损伤后钠通道表达增多,应用钠通道阻断剂(如利多卡因等)可显著缓解痛敏行为^[2]。此外,研究发现神经损伤后病理性疼痛的产生和维持并不依赖于损伤的感觉纤维,邻近未损伤的神经纤维可能发挥了更为重要的作用^[3],其机制也有待于进一步研究。

A型肉毒毒素(Botulinum neurotoxin type A, BoNT/A)可显著缓解各种疼痛已在多项动物实验和临床研究中证实^[4-5]。近年来的研究发现,BoNT/A对各种疼痛也有较好疗效,其镇痛机制可能与在外周抑制神经递质释放、减少促炎因子表达等,在中枢作用于脊髓神经元抑制致痛因子如P物质和谷氨酸盐等释放,影响中枢敏化等有关^[6-8]。目前国内外对BoNT/A的镇痛机制研究多在感觉神经损伤模型^[9-10],但我们前期的研究发现,邻近未损伤神经元的异常电活动对神经病理性疼痛的意义也很重要^[11]。BoNT/A能否通过调控未损伤DRG神经元中钠离子通道,进而影响神经元的兴奋性,目前还未见报道。因此,本研究采用选择性L5脊神经前根切断

(lumbar 5 ventral root transection, L5 VRT)疼痛动物模型,在不损伤感觉传导通路的情况下观察BoNT/A的镇痛效果以及对未损伤DRG神经元中不同类型钠通道电流的影响,并进一步研究其对神经元兴奋性的影响,以期深入了解BoNT/A缓解神经病理性疼痛的内在机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

采用成年SPF级雄性Sprague-Dawley (SD)大鼠(150—250g),由中山大学实验动物中心提供。分笼饲养,安静环境,室温保持在 $22\pm 1^\circ\text{C}$ 和50%—60%的湿度,白天—黑夜循环照明。实验动物随机分为假手术组(Sham)、VRT模型+生理盐水(VRT+Saline)组、VRT模型+BoNT/A(VRT+BoNT/A)组,每组7只。本研究方案由中山大学附属第三医院实验动物伦理委员会批准,所有实验步骤都尽量减轻动物的痛苦并按照有关实验动物的使用原则操作。

细胞分离培养及电生理实验所用化合物购自美国Sigma公司;河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)购自江苏泰州康特生物科技有限公司;A型肉毒毒素(保妥适)由美国Allergan公司生产。

1.2 选择性L5脊神经前根切断模型(L5 VRT)的制备

10%水合氯醛(3.5ml/kg)腹腔注射麻醉大鼠后,按照参考文献方法^[12]对大鼠行L5前根切断手术。首先在左侧第4、5腰椎间行半椎板切除术,暴露左半部脊髓后脊膜,直视下看到位于背根外下方的脊神经前根,小心拉出并提起前根,用眼科剪剪去约2—3mm的前根,注意避免损伤背根神经节和背根。生理盐水冲洗切口后,分层缝合肌肉和皮肤。假手术组动物(Sham组)只分离出L5前根,不损伤前根。实验结束后,所有疼痛模型大鼠都通过解剖

以确认L5前根被切断,不符合标准的动物将被从实验中排除。

1.3 痛行为学测试

机械刺激撤足阈值测试采用Chaplan等^[13]描述的“up-down”方法,选用强度递增的von Frey hair,将大鼠放置于底部为金属网的透明玻璃箱内适应15min,通过网孔用不同强度的von Frey hair刺激大鼠足底部皮肤。每次刺激持续2—3s,每一个强度应用10次,间隔时间为5min。大鼠出现快速抬起后爪或舔舐后爪行为表示为阳性反应。计算50%的阳性反应阈值为大鼠的撤足反射阈值。

热刺激撤足潜伏期的测定使用热平板测试仪(Plantar Test 7370,Ugo Basile,意大利)。测试时将可移动的热辐射光源通过透明玻璃板聚焦于大鼠足心皮肤。当大鼠出现撤足反应时,热光源自动切断,计时器自动停止并记录下大鼠的热刺激撤足潜伏期。热刺激强度以照射正常大鼠16s左右出现撤足反应为宜。以5min的间隔对双侧后足各测3次,3次撤足潜伏期的均值用于最后的统计学分析。

1.4 急性分离和培养DRG神经元

分离和培养DRG神经元使用酶消化法^[14]。实验动物在冰袋上小心取出椎间孔中腰4、5背根神经节,分离剪碎后转移到含有胰酶(0.4 mg/ml)和胶原酶(IA, 0.6mg/ml)的DMEM/F12培养基中,35℃振荡消化30min,巴氏吸管吹打分散细胞后离心1000r/min, 5min,吸去上清,加入5ml含10%胎牛血清的DMEM/F12培养基以终止消化,分离上清液后再次离心,然后种在包被多聚赖氨酸的玻片上,放置于温箱内(5% CO₂, 37℃)用于下一步电生理实验。

1.5 电生理实验

将种有DRG神经元细胞的玻片放入置于倒置显微镜上的灌流槽内,持续灌流。在安静环境下调节微操纵仪使电极贴附细胞后给予负压吸引,待细胞达到稳定高阻封接后进行快电容补偿,负压或电击破膜并补偿慢电容,形成全细胞记录模式。使用HEKA EPC10放大器(德国)和配套程序采集和分析数据。使用Sutter P87(美国)拉制仪制作电极电阻为1—3MΩ的玻璃微电极。电流采集的采样频率为5kHz,滤过频率为2kHz。串联电阻和漏电流均给予补偿以减少实验误差。电流钳实验用来记录动

作电位发放阈值的变化。电极内、外液及钠电流记录方法参见文献^[11]。

1.6 统计学分析

统计学分析通过SPSS 20.0软件(SPSS Inc.,美国)进行。多组间的数据比较用单因素方差分析(one-way ANOVA)处理;行为学数据中50%撤足阈值(g)使用配对秩和检验(Wilcoxon signed ranks test)。P<0.05表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 BoNT/A缓解L5 VRT引起的神经病理性疼痛

首先在经典的神经病理性疼痛动物模型L5 VRT上观察BoNT/A能否有效缓解神经病理性疼痛。在L5 VRT造模成功后第5天采用一侧足底注射7 U/kg的BoNT/A,分别在给药后第3天、7天、14天测试大鼠机械触痛阈和热敏痛阈的变化情况。

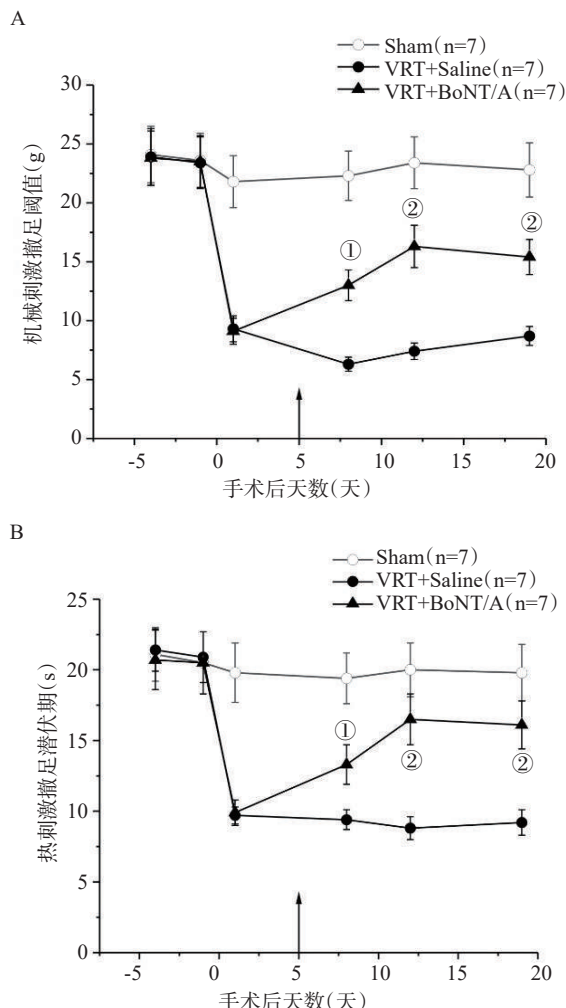
2.1.1 BoNT/A对机械刺激撤足阈值的影响: L5 VRT术后第5天给予BoNT/A(7 U/kg)注射后3天大鼠的50%机械刺激撤足阈值出现显著性上升($P<0.01$),且随时间的延长其缓解疼痛效果逐渐明显,一直可持续到注射后第14天($P<0.001$,与生理盐水注射组比较, $n=7$ /组,图1A),结果表明足底注射BoNT/A可显著减轻L5 VRT介导的机械触痛敏症状。

2.1.2 BoNT/A对热刺激撤足潜伏期的影响: L5 VRT术后第5天给予BoNT/A(7 U/kg)注射后3天大鼠的热刺激撤足潜伏期上升($P<0.01$),7天后显著性上升($P<0.001$),一直可持续到注射后第14天($P<0.001$,与生理盐水注射组比较, $n=7$ /组,图1B),结果表明足底注射BoNT/A可显著减轻L5 VRT介导的热刺激痛敏症状。

2.2 BoNT/A对未损伤DRG神经元中TTX-S和TTX-R钠通道电流的影响

电生理膜片钳实验发现,与假手术组相比,L5 VRT可显著增大未损伤DRG神经元中TTX-S钠通道电流密度($P<0.01$),足底注射BoNT/A 7天后未损伤神经元中TTX-S钠电流密度显著降低($P<0.05$)。同样,与假手术组相比,L5 VRT可显著增大未损伤神经元中TTX-R钠通道电流密度($P<0.01$),足底注射BoNT/A 7天后未损伤神经元中TTX-R钠电流密度显著降低($P<0.05$, $n=8—10$ /组,图2)

图1 足底皮下给药后不同时间点各组大鼠机械触痛阈和热刺激撤足潜伏期比较



注:与 VRT+Saline 比较:① $P<0.01$,② $P<0.001$;箭头:给药时间点

2.3 BoNT/A 对 L5 VRT 术后 DRG 神经元兴奋性的影响

DRG 神经元的异常电活动和兴奋性增高对神经病理性疼痛的发生发展有重要意义。我们进一步使用电流钳观察了足底注射 BoNT/A 后对病理性疼痛模型大鼠 DRG 神经元兴奋性的影响。与假手术组相比, L5 VRT 术后生理盐水注射组动作电位阈值显著下降 ($P<0.001$)。足底注射 BoNT/A 后, 动作电位阈值与生理盐水注射组相比发生了显著升高 ($P<0.05$, $n=8$ /组, 图 3), 提示 BoNT/A 注射后可显著增大神经元动作电位发放的阈值水平, 降低了 VRT 术后 DRG 神经元的高兴奋性。

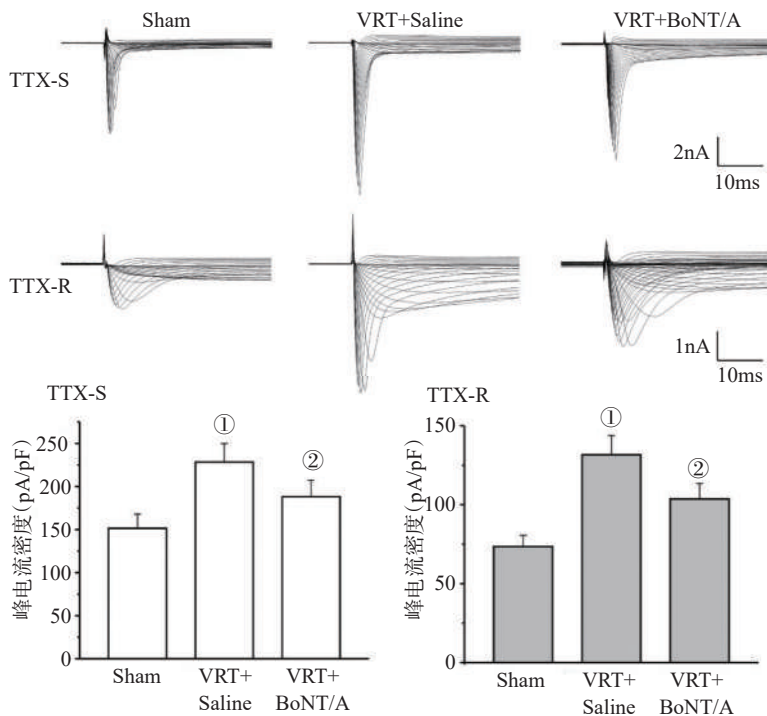
3 讨论

A 型肉毒毒素近年来在临床被广泛用于治疗各种常见疼痛, 研究发现其镇痛机制不依赖于放松肌肉作用。进一步的研究发现, 对疼痛相关因子或离子通道的调控可能在 BoNT/A 的镇痛机制中有重要意义^[14-15]。我们前期的研究发现 BoNT/A 可影响 DRG 神经元中 TTX-R 钠通道亚型 Nav1.8 的蛋白表达和电流^[16]。但 DRG 神经元中存在多种与病理性疼痛相关的钠通道, 探讨其功能性钠电流改变是否能引起神经元兴奋性的变化对研究 BoNT/A 的镇痛机制有重要意义。本研究在神经病理性疼痛模型 (L5 VRT) 上观察了 BoNT/A 的镇痛效果及对未损伤 DRG 神经元中 TTX-S 和 TTX-R 钠通道电流的影响, 并进一步应用膜片钳电生理实验检测了神经元兴奋性的变化, 为深入探究 BoNT/A 的镇痛机制提供了新的思路。

A 型肉毒毒素治疗神经病理性疼痛已在临床上广泛应用。多项研究发现, 局部给予 A 型肉毒毒素对临床常见的偏头痛、紧张性头痛、卒中后肩痛、疱疹后神经痛、糖尿病性神经病变、肌筋膜炎、膝骨性关节炎、腰背痛等有明显的治疗作用^[17-19]。在疼痛动物模型上的研究也发现, 局部注射 BoNT/A 可迅速缓解由慢性坐骨神经挤压伤、脊神经结扎等引起的神经病理性疼痛, 持续时间可达 3 周左右^[20-21]。与前述损伤感觉神经的病理性疼痛模型研究不同, 本实验研究采用选择性损伤运动神经所致神经病理性疼痛模型 (L5 VRT), 在这种模型动物可迅速出现 (术后 24h) 足底对机械刺激和热刺激痛觉过敏的神经病理性疼痛症状, 且持续时间可长达 56 天。并且此疼痛模型未损伤感觉神经传导通路, 可以更好的观察调控未损伤神经元对病理性疼痛的影响。实验结果发现, BoNT/A 可显著升高 L5 VRT 模型大鼠的机械触痛阈和热敏痛阈, 肯定了 BoNT/A 的镇痛效果。

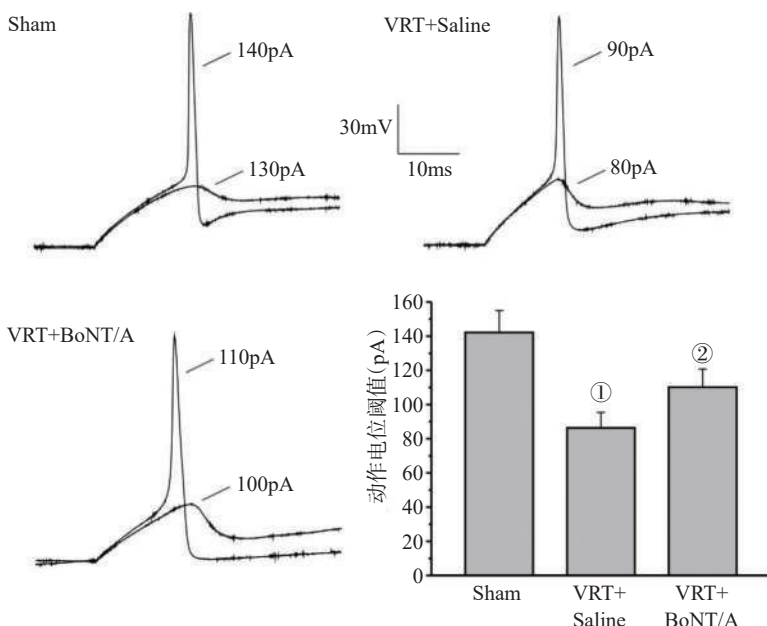
越来越多的研究发现, 神经损伤后, 除了损伤处神经的电生理改变, 邻近区域中未受损 DRG 神经元中的异位放电对神经病理性疼痛的发展也有意义^[3]。神经损伤继发的 Wallerian 变性过程中释放的细胞因子、炎症介质等可作用于邻近未损伤的感觉神经, 介导产生异常自发放电促进慢性病理性疼痛的产生^[22]。我们前期的研究也发现, L5 VRT 后表达增多的肿瘤坏死因子 α 通过调控未损伤神经元中钠

图2 各组大鼠背根神经节(DRG)神经元中TTX-S和TTX-R钠电流密度比较



注:与Sham组比较:① $P<0.01$;与VRT+Saline比较:② $P<0.05$ 。TTX-S:河豚毒素敏感型;TTX-R:河豚毒素抵抗型。

图3 各组大鼠背根神经节(DRG)神经元动作电位阈值比较



注:与Sham组比较:① $P<0.001$;与VRT+Saline比较:② $P<0.05$

离子通道的表达和功能增高了神经元的兴奋性^[11]。近期有研究发现,外周足部应用BoNT/A可经坐骨神

经转运至脊髓^[23],Cai等^[24]也发现在大鼠后肢肌肉注射BoNT/A后可逆行转运到达脊髓的运动神经元中。本研究发现BoNT/A可显著降低VRT后增大的TTX-S和TTX-R钠电流,结合之前的研究,提示BoNT/A足底注射后可能通过从外周足底逆行转运至中枢水平,通过影响疼痛相关因子的释放减小了未损伤DRG神经元中功能性钠通道电流。

外周神经损伤后DRG神经元中钠通道的异常表达可直接影响神经元的兴奋性,对病理性疼痛的发生发展有重要意义^[11,25]。对神经元的电生理学研究发现,TTX-S钠通道亚型Nav1.7和TTX-R钠通道亚型Nav1.8与神经元动作电位发放阈值和高兴奋性密切相关^[26-27]。我们的前期研究也发现,L5 VRT通过增大DRG神经元中TTX-S和Nav1.8钠电流,升高了神经元的电兴奋性^[11],而BoNT/A可下调VRT大鼠DRG神经元中原本升高的Nav1.8蛋白和功能性电流^[16],提示调节TTX-R钠通道亚型Nav1.8可能是BoNT/A的镇痛机制之一。但该研究仅观察了一种钠通道Nav1.8电流的变化,且未观察BoNT/A对神经元电兴奋性的影响。本研究应用了不同的钳制电压方案和河豚毒素来分离并记录了BoNT/A对DRG神经元中更大范围和类型的钠电流的影响,发现BoNT/A具备调控DRG中不同类型钠通道电流的能力,也进一步拓宽了探究BoNT/A镇痛机制的研究空间。为进一步研究BoNT/A改变钠电流后对DRG神经元兴奋性的

影响,我们观察了神经元兴奋性重要指标—动作电位发放阈值的变化。神经损伤后神经元电兴奋性的

增高表现为动作电位阈值的下降,即更容易诱发出动作电位。电流钳实验发现,BoNT/A显著升高了病理性疼痛大鼠的神经元动作电位阈值,表明BoNT/A干预降低了神经元的异位放电和兴奋性。但是,有关BoNT/A镇痛作用的电生理学机制较为复杂,BoNT/A对受损伤DRG神经元中电活动的影响还尚不完全清楚,此外BoNT/A具体是通过何种途径调控了DRG神经元中的钠电流及神经元兴奋性,还需要进一步的研究。

综上所述,BoNT/A可减小未损伤DRG神经元中TTX-S和TTX-R钠电流,降低神经元的兴奋性,显著缓解外周神经损伤引起的神经病理性疼痛。

参考文献

- [1] Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain[J]. *Science*, 2000, 288(5472):1765—1769.
- [2] Lyu YS, Park SK, Chung K, et al. Low dose of tetrodotoxin reduces neuropathic pain behaviors in an animal model[J]. *Brain Res*, 2000, 871(1):98—103.
- [3] Wu G, Ringkamp M, Murinson BB, et al. Degeneration of myelinated efferent fibers induces spontaneous activity in uninjured C-fiber afferents[J]. *J Neurosci*, 2002, 22(17):7746—7753.
- [4] Marinelli S, Luvisetto S, Cobiauchi S, et al. Botulinum neurotoxin type A counteracts neuropathic pain and facilitates functional recovery after peripheral nerve injury in animal models[J]. *Neuroscience*, 2010, 171(1): 316—328.
- [5] Ranoux D, Attal N, Morain F, et al. Botulinum toxin type A induces direct analgesic effects in chronic neuropathic pain[J]. *Ann Neurol*, 2008, 64(3):274—283.
- [6] Hong B, Yao L, Ni L, et al. Antinociceptive effect of botulinum toxin A involves alterations in AMPA receptor expression and glutamate release in spinal dorsal horn neurons[J]. *Neuroscience*, 2017, 357:197—207.
- [7] Matak I, Tékus V, Bölskei K, et al. Involvement of substance P in the antinociceptive effect of botulinum toxin type A: Evidence from knockout mice[J]. *Neuroscience*, 2017, 358:137—145.
- [8] Shi X, Gao C, Wang L, et al. Botulinum toxin type A ameliorates adjuvant-arthritis pain by inhibiting microglial activation-mediated neuroinflammation and intracellular molecular signaling[J]. *Toxicon*, 2020, 178:33—40.
- [9] Favre-Guilmar C, Chabrier PE, Kalinichev M. Bilateral analgesic effects of abobotulinumtoxinA (Dysport®) following unilateral administration in the rat[J]. *Eur J Pain*, 2017, 21(5):927—937.
- [10] 陈彦强, 王永平, 杨同群, 等. 肉毒毒素A对大鼠慢性神经源性疼痛中P物质和炎性反应的影响[J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(11):1517—1524.
- [11] Chen X, Pang RP, Shen KF, et al. TNF- α enhances the currents of voltage gated sodium channels in uninjured dorsal root ganglion neurons following motor nerve injury[J]. *Exp Neurol*, 2011, 227(2):279—286.
- [12] Li L, Xian CJ, Zhong JH, et al. Effect of lumbar 5 ventral root transection on pain behaviors: a novel rat model for neuropathic pain without axotomy of primary sensory neurons[J]. *Exp Neurol*, 2002, 175(1):23—34.
- [13] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. *J Neurosci Methods*, 1994, 53(1):55—63.
- [14] Fan C, Chu X, Wang L, et al. Botulinum toxin type A reduces TRPV1 expression in the dorsal root ganglion in rats with adjuvant-arthritis pain[J]. *Toxicon*, 2017, 133:116—122.
- [15] Matak I, Bölskei K, Bach-Rojecky L, et al. Mechanisms of Botulinum toxin type A action on pain[J]. *Toxins (Basel)*, 2019, 11(8):459.
- [16] 陈曦, 郑淑慧, 胡昔权, 等. A型肉毒毒素调控钠离子通道Nav1.8缓解神经病理性疼痛的作用[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2014, 35(6):801—806.
- [17] Argoff CE. A focused review on the use of botulinum toxins for neuropathic pain[J]. *Clin J Pain*, 2002, 18(6 Suppl):S177—181.
- [18] 刘小变, 周谋望. 肉毒毒素注射治疗脑卒中后肩痛的研究进展[J]. *中国康复医学杂志*, 2017, 32(11): 1292—1296.
- [19] 鲍晓, 谭杰文, 王鸣鸿, 等. A型肉毒毒素用于膝骨性关节炎治疗的临床疗效[J]. *中国康复医学杂志*, 2015, 30(8): 808—810.
- [20] Luvisetto S, Marinelli S, Cobiauchi S, et al. Anti-allodynic efficacy of botulinum neurotoxin A in a model of neuropathic pain[J]. *Neuroscience*, 2007, 145(1):1—4.
- [21] Park HJ, Lee Y, Lee J, et al. The effects of botulinum toxin A on mechanical and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain[J]. *Can J Anaesth*, 2006, 53(5):470—477.
- [22] Wall PD, Devor M. Sensory afferent impulses originate from dorsal root ganglia as well as from the periphery in normal and nerve injured rats[J]. *Pain*, 1983, 17(4):321—339.
- [23] Matak I, Riederer P, Lacković Z. Botulinum toxin's axonal transport from periphery to the spinal cord[J]. *Neurochem Int*, 2012, 61(2):236—239.
- [24] Cai BB, Francis J, Brin MF, et al. Botulinum neurotoxin type A-cleaved SNAP25 is confined to primary motor neurons and localized on the plasma membrane following intramuscular toxin injection[J]. *Neuroscience*, 2017, 352:155—169.
- [25] Zhang XF, Zhu CZ, Thimmapaya R, et al. Differential action potentials and firing patterns in injured and uninjured small dorsal root ganglion neurons after nerve injury[J]. *Brain Res*, 2004, 1009(1—2):147—158.
- [26] Rush AM, Dib-Hajj SD, Liu S, et al. A single sodium channel mutation produces hyper- or hypoexcitability in different types of neurons[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(21):8245—8250.
- [27] Dib-Hajj SD, Rush AM, Cummins TR, et al. Gain-of-function mutation in Nav1.7 in familial erythromelalgia induces bursting of sensory neurons[J]. *Brain*, 2005, 128(Pt 8):1847—1854.