·综述·

# A型肉毒毒素在神经病理性疼痛中的治疗作用及机制的研究进展*

史小娟[1] 初 晓[2] 王 琳[1] 李铁山[1,3]

神经病理性疼痛(neuropathic pain, NP)是由躯体感觉系统损害或疾病导致的疼痛,通常表现为触诱发疼痛、痛觉过敏和自发性疼痛[1]。NP是临床最常见的慢性疼痛之一,2019年第7届神经性疼痛国际大会(NeuPSIG)认为普通人群中NP的患病率为3.3%—8.2%。多数神经病理性疼痛患者疼痛可持续数月甚至数年,并常伴有焦虑与抑郁等负面情绪,长期疼痛严重影响患者的生活质量。目前临床治疗NP推荐使用的药物[2—3](包括阿片类镇痛药、抗抑郁药如度洛西汀、抗癫痫药如普瑞巴林、局麻药如利多卡因等)疗效不能达到预期,同时存在头晕、嗜睡、体重增加等副作用,还可能引起药物耐受、成瘾等不良反应。对于NP的治疗依然是临床医生面临的一项医学挑战,同时也是科学研究的热点和难点。故此寻找一种安全有效的NP治疗手段具有重要的科学意义和社会价值。A型肉毒毒素(Botulinum toxin type A, BoNT/A)是由革兰阳性厌氧芽孢肉毒杆菌产生的一种神经外毒素[4]。它被广泛用于治疗肌张力障碍疾病,如眼肌痉挛和面肌痉挛。近年来,随着人们发现其在外周和中枢神经系统都有明显的镇痛效果,其临床应用范畴已由肌痉挛相关性疼痛逐步扩展到慢性偏头痛、神经病理性疼痛等慢性疼痛的治疗[5—6]。尽管目前已有多项研究证实BoNT/A在NP中的良好治疗效果,但对其镇痛的理论依据了解甚少,因此限制了BoNT/A的临床应用。普遍认为NP的发生发展与外周敏化和中枢敏化相关[7],最近的研究表明,NP很可能是由疼痛系统的长期可塑性变化引起的,并且涉及神经元和神经胶质细胞间信号转导途径,其中小胶质细胞的激活在其中起到关键作用[4,8]。本文总结了BoNT/A在神经病理性疼痛中的治疗作用,着重论述在神经病理性疼痛状态下BoNT/A参与调控脊髓小胶质细胞功能变化发挥镇痛效应相关机制的研究进展,为临床医生有效治疗NP提供新思路新方向。

## 1 肉毒毒素简介

肉毒毒素(Botulinum toxin, BoNT)是由革兰阳性厌氧芽孢肉毒杆菌在生长繁殖过程中产生的一种细菌外毒素,根据BoNT毒素抗原性的不同,将其分为A-H型[9]。因BoNT/A能抑制周围运动神经末梢突触前膜乙酰胆碱释放,引起肌肉的松弛性麻痹,注射低剂量的BoNT/A可松弛局部过度活动肌肉的理论被应用于医学界用来治疗面部痉挛和其他肌肉运动紊乱症[10]。1986年,加拿大一位眼科专家发现肉毒毒素可以阻断运动神经和肌肉之间信息传导,使肌肉松弛达到舒展皱纹的效果,很快使其在医美行业的应用迅速扩大。直到1989年,美国FDA正式批准BoNT/A在斜视、面肌痉挛中的应用[11]。后来,人们在偶然中发现BoNT/A可以缓解疼痛症状。据报道在使用BoNT/A治疗痉挛性斜颈时,可以改善此类患者颈部区域疼痛[12]。此外非肌肉疼痛模型的止痛作用在人类患者和动物模型中陆续得到明确的证据。目前,应用BoNT/A的临床指征不断增加,从治疗过度活跃的骨骼肌和平滑肌,到治疗偏头痛、神经病理性疼痛和肌筋膜疼痛综合征[5]。近年来BoNT/A用于NP的研究和治疗也日益得到关注。

## 2 BoNT/A对NP镇痛作用效果研究

### 2.1 动物实验

目前,普遍认为NP的发生发展由外周敏化和中枢敏化介导[7]。神经病理性疼痛中,外周敏化是一重要机制。主要表现为两点:一是为初级感觉神经元动作电位的自动发放,这种异常活性也称为异位放电。二是外界有害的、物理或者化学刺激激活初级传入伤害感受器,伤害感受器释放P物质(SP)和降钙素基因相关肽类物质(CGRP)等。这些物质会导致局部组织水肿并促进释放组胺类、缓激肽及细胞生长因子,产生神经炎性反应[7]。中枢敏化理论是目前人们普遍接受的神经病理性疼痛产生的主要理论基础。中枢敏化主要表现为脊髓背角神经元的异常兴奋性。当外周损伤或遭受强烈的刺激后可形成突触效能增强、去抑制作用、突触可塑性以及神经元与胶质细胞的相互作用达到中枢敏化作用[13]。在20世纪90年代中期,文献中首次报道小胶质细胞参与NP的形成与维持[14],近年来胶质细胞—神经元相互作

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2020.09.025
*基金项目:山东省自然科学基金(ZR2018MH031);青岛大学医学部"临床医学+X"(2017M04)
1 青岛大学附属医院康复二科,山东省青岛市,266071; 2 青岛市立医院; 3 通讯作者
第一作者简介:史小娟,女,硕士研究生;收稿日期:2019-09-29

用致使NP发生已引起日益重视[4,15—16]。活化的小胶质细胞在带状疱疹后遗神经痛、自身免疫性疾病、糖尿病神经病变等疾病中发挥着重要作用[17—18]。

基础实验研究的目的是更好地确定BoNT/A作为镇痛药的作用效果和镇痛机制。许多大鼠或小鼠NP模型被用于模仿人类周围神经损伤和周围神经病变。根据受伤部位的不同,NP动物模型通常被细分为中枢性疼痛模型(主要以脊髓损伤为基础),周围神经损伤模型(主要是坐骨神经或脊神经水平的损伤)和由疾病引起的周围神经病变[19](带状疱疹后神经痛和糖尿病神经病理性疼痛模型,化疗诱导的周围神经病变模型)。在上述的大多数NP动物模型研究中,BoNT/A对NP动物模型的镇痛作用主要是通过测量运动反应和疼痛行为学来研究的。例如,注射一定剂量BoNT/A的大鼠或小鼠比非BoNT/A干预治疗的模型组大鼠或小鼠的舔足和抬足动作显著减少,说明BoNT/A具有改善自发性疼痛的作用。在非痛苦机械刺激或热刺激后,BoNT/A治疗后的NP模型大鼠与未经处理的模型组大鼠相比其降低的机械痛或热痛阈值开始上升,这表明BoNT/A具有改善异常性疼痛的作用;BoNT/A治疗后的大鼠的机械及冷刺激诱发痛阈值开始上升,而模型组则继续维持低水平,提示BoNT/A具有改善机械痛觉过敏和热痛觉过敏的作用。表1显示为BoNT/A对NP动物模型的影响。

**表1 BoNT/A在NP动物模型的镇痛作用**

| 模型 | BoNT/A应用 | 镇痛效果 | 参考文献 |
|---|---|---|---|
| 坐骨神经部分横断大鼠模型 | 伤后14天7U/kg足底注射 | 机械痛敏、热痛敏的恢复 | [20] |
| L5腹侧根横断(VRT)大鼠模型 | 伤后10,20U/kg足底注射 | 双侧恢复降低的后爪撤足阈值 | [21] |
| 链脲佐菌素糖尿病大鼠神经病理性模型 | 伤后3,5 and 7U/kg足底注射或1U/kg鞘内注射 | 单侧足底注射可降低双侧足的机械性痛敏和热痛敏、鞘内注射低剂量镇痛效果提示BoNT/A的中枢作用 | [22] |
| 大鼠慢性缩窄性损伤(CCI)模型 | 20U/kg足底注射 | 可以逆转损伤侧的机械痛觉过敏 | [23] |
| 大鼠L5/16脊神经的结扎模型 | 10U, 20U, 30U or 40U/kg足底注射 | 剂量依赖性减轻机械异常性疼痛 | [24] |
| 紫杉醇诱导的周围神经病变大鼠模型 | 20U/kg足底注射 | 出现双侧镇痛效应 | [25] |

**2.2** 临床试验

BoNT/A在用于缓解治疗神经病理性疼痛症状方面效果显著且持久,迄今无明显毒副作用[26]。最近的研究表明,BoNT/A在许多NP中表现出良好的镇痛效应(如:外伤后或带状疱疹后遗神经痛、三叉神经痛、复杂区域疼痛综合征及糖尿病周围神经性疼痛等)[27]。运用PubMed共检索到4例BoNT/A治疗带状疱疹后遗神经痛、12例BoNT/A治疗三叉神经痛(TN)、5例BoNT/A治疗糖尿病周围神经痛、3例BoNT/A治疗复杂区域疼痛综合征以及3例BoNT/A治疗脊髓损伤后神经病理性疼痛的临床试验研究。最近的一项随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)中,研究者在治疗带状疱疹后遗神经痛患者皮下注射BoNT/A,每点5U,与利多卡因和安慰剂在治疗后第7天和3个月相比,皮下注射BoNT/A在3个月内均取得显著疗效,明显减轻了带状疱疹后遗神经痛的疼痛,也增加了受试者的睡眠时间[28]。Yuan RY等[29]在治疗组糖尿病周围神经痛患者皮内注射50U BoNT/A,与安慰剂组相比,BoNT/A治疗后第7天和第3个月VAS疼痛评分明显下降($P<0.01$)。Shehata HS等[30]在一项RCT中为20例三叉神经痛患者疼痛部位皮下注射BoNT/A或生理盐水,每点5U,治疗结束后治疗组中VAS评分与基线相比下降了6.5分,而安慰剂下降了0.3分。患者的疼痛有明显缓解。关于BoNT/A治疗NP相关的随机试验研究见表2。

**表2 BoNT/A治疗NP的随机临床试验**

| 疼痛状况 | 参与者数量 | BoNT/A应用 | 主要结果 | 参考文献 |
|---|---|---|---|---|
| 脊髓损伤后神经病理性疼痛 | 44 | 皮下注射(200U) | 与安慰剂相比,BoNT/A治疗在注射后4至8周后VAS评分显著下降 | [31] |
| 带状疱疹后遗神经痛 | 60 | 皮下注射5U/点,200U | 与安慰剂相比,BoNT/A治疗后第7天和第3个月VAS疼痛评分明显下降($P<0.01$) | [28] |
| 糖尿病周围神经痛 | 18 | 皮内注射4U/点BoNT/A,50U | 与安慰剂相比,BoNT/A组中,44.4%的参与者在注射后3个月内经历了VAS >/=3的下降 | [29] |
| 复杂区域疼痛综合征 | 9 | 腰椎穿刺注射75U BoNT/A+0.5%布比卡因/0.5%布比卡因 | 与单独接受局部麻醉的患者比,0.5%布比卡因/0.5%布比卡因与BoNT/A治疗后疼痛恢复率显著升高($P<0.02$) | [32] |
| 三叉神经痛 | 27 | 在上颌神经和下颌神经注射100U BoNT/A | BoNT/A治疗后第1周、第2个月和第6个月疼痛强度和疼痛发作频率显著降低。44%的患者在第6个月没有任何疼痛。 | [33] |

## 3 BoNT/A镇痛作用机制研究

### 3.1 BoNT/A周围镇痛机制

BoNT/A是分子量为150kDa同源双链蛋白，轻链(50kDa)与重链(100kDa)通过二硫键非共价连接而成[34]。SNARE复合体包含了三种同源膜蛋白分别是囊泡相关蛋白、突触融合蛋白、和突触相关蛋白(synaptosomal-associated protein 25kD，SNAP-25)或者它的相似物SNAP-23。无论SNARE复合体中的哪一种蛋白被清除，它都足以影响囊泡与突触前膜的融合，从而抑制递质释放，发挥化学去神经作用[9]。BoNT/A的轻链具有$Zn^{2+}$依赖蛋白酶活性，BoNT/A轻链在胞质中可以特异性裂解底物蛋白SNAP-25，重链与细胞膜神经节苷酯及突触囊泡蛋白受体结合，阻断乙酰胆碱在神经肌肉接头处的释放从而减少了肌肉的过度活动，间接有助于缓解疼痛[35]，但这一机制并不能有效地解释BoNT/A对NP的治疗效果。临床报道很多疼痛的减轻常常发生在肌肉痉挛状态改善之前，因此BoNT/A镇痛机制并不仅仅作用于胆碱能神经元[36]，在治疗疼痛方面也有着更为复杂的机制。

目前，主流观点认为BoNT/A通过细胞内吞作用进入细胞质后特异性切割SNAP-25抑制外周感觉神经末梢与疼痛相关的多种神经递质和神经肽(包括SP、谷氨酸和CGRP等)的释放，直接抑制外周敏化，缓解NP[37]。有研究发现[38] BoNT/A切割SNAP-25并不是其发挥作用的唯一步骤。在感觉神经元上存在与疼痛传入纤维有关的瞬态电压感受器阳离子通道1(TRPV1)的表达，TRPV1参与神经系统的信号传导和整合。BoNT/A可以使突触小泡膜表面的TRPV1不能转移至细胞膜表面，TRPV1在细胞质基质中被泛素化，同时突触小泡蛋白被蛋白酶降解，最后导致疼痛信号传导的终止[34,39]。近年来大量证据表明BoNT/A可以导致伤害性信号向脊髓中枢传入减少，进一步导致脊髓中SP、谷氨酸和CGRP等神经递质和调质的释放减少，从而间接抑制中枢敏化，发挥镇痛效应[4—5]。最新研究显示BoNT/A能逆向轴突运输至中枢神经系统发挥作用，这可能为BoNT/A治疗中枢敏化从而缓解神经病理性疼痛提供理论依据。

### 3.2 BoNT/A中枢镇痛机制

**3.2.1** BoNT/A的逆向轴浆运输效应：1974年首次有研究者利用放射标记的BoNT/A动物实验发现局部腓肠肌肌肉注射24—38h后，可以在坐骨神经以及脊髓前根和支配腓肠肌的脊髓节段和邻近脊髓节段检测到放射标记[40]。近年Caleo M等[41]在小鼠单侧视上丘注射BoNT/A后，在对侧视网膜以及同皮层均检测到了被BoNT/A特异性裂解的SNAP-25(c1-SNAP-25)，提示其存在顺向及逆向轴浆运输，并且保持生物活性。Bach-Rojecky[22]在患有糖尿病性神经病的动物中发现BoNT/A单侧足底注射后可以减轻双侧机械疼痛，同时观察到鞘内注射BoNT/A起效更快。该结果支持了BoNT/A外周部位注射后向中枢神经系统逆行轴浆运输的假设并表明中枢神经系统参与了BoNT/A的抗伤害作用。有研究[42]发现在大鼠皮下、后肢肌肉、坐骨神经注射BoNT/A后在脊髓检测到c1-SNAP-25，而用秋水仙碱(微管阻断剂)阻断BoNT/A注射侧坐骨神经的轴浆运输，则无法在脊髓检测到cl-SNAP-25。以上研究解释了外周不同途径注射BoNT/A后在NP模型中逆向轴浆运输到中枢的情况以及远隔部位的播散情况，并阐明BoNT/A逆向轴浆运输在产生中枢镇痛效应中起到重要作用。然而，对于不同注射途径通过轴浆逆向运输的运输效率是否有差异目前尚不清楚。学者发现BoNT/A经逆向轴突运输至中枢神经系统后，可以抑制炎性递质的释放，同时增强中枢神经系统中内生阿片类受体和GABA-A受体的活性，从而直接抑制中枢敏化[43]。此外有证据显示外周注射BoNT/A能到达脊髓传出终端及脊髓内其他细胞(如二级神经元与脊髓胶质细胞)可能与转胞吞、跨突触运动作用有关[44—45]。随着研究深入，人们发现BoNT/A对于这些非神经元细胞的作用也应该被视为一个疼痛缓解的重要因素。

**3.2.2** BoNT/A对脊髓小胶质细胞的影响：在神经病理性疼痛动物模型中，脊髓小胶质细胞活化在神经病理性疼痛的发生和维持中有重要作用。BoNT/A镇痛机制除了可直接调节神经递质或神经肽的释放，还可以作用于脊髓胶质细胞(尤其是脊髓小胶质细胞)持久缓解NP[46—47]。近年来，一些作者提出BoNT/A镇痛作用的分子机制涉及小胶质细胞。Mika等[46]表明单次足底注射BoNT/A能够缓解坐骨神经损伤诱导的神经病理性疼痛行为，同时也可以减少损伤诱导的脊髓小胶质细胞激活。这表明BoNT/A不仅可以抑制神经元的功能，也可以影响脊髓小胶质细胞的活化。与上述结果相一致的是Vacca V等[48]的研究也表明在NP小鼠模型中注射BoNT/A能改善神经痛小鼠手术同侧的机械痛敏和热痛敏，同时可以抑制脊髓背角和腹角小胶质细胞的活化。此外Zychowska等[47]研究表明大鼠坐骨神经损伤后注射BoNT/A可以减少小胶质细胞的活化、恢复神经免疫平衡。

体外细胞培养实验研究提示BoNT/A对胶质细胞内信号转导级联具有抑制作用，并参与多种伤害性因子表达的调控[4,49]。目前已证实p38MAPK在痛觉敏化过程中起重要作用[50]。周围神经损伤激活小胶质细胞内p38 MAPK途径，并且抑制p38MAPK途径的激活抑制异常性疼痛的形成，提示p38MAPK是小胶质细胞内痛觉信息调控的重要分子[51]。Piotrowska等[49]体外实验研究的结果显示BoNT/A能降低脂多糖(lipopolysaccharide，LPS)诱导的小胶质细胞中p38和ERK1/2的活化。Kim等[52]对单核细胞/巨噬细胞系RAW264.7的研究中也得到相似的结果。Toll样受体4(Toll like receptor，TLR-4)是一种膜结合受体，几乎全部表达于

小胶质细胞,经由骨髓分化因子88(MyD88)依赖性和非依赖性信号转导途径诱导NF-kB活性增加,NF-kB被激活后调节炎性因子、转化生长因子等多种免疫分子的基因转录[53—54]。点突变或敲除TLR-4受体大鼠可显著抑制小胶质细胞的活化同时阻断干扰素IL-1β和TNF-α的释放,降低神经损伤后大鼠痛觉敏化[55]。与TLR-4受体相似,TLR-2受体也在小胶质细胞表达并参与小胶质细胞的活化。敲除TLR-2受体的大鼠在脊神经离断后不能形成稳定的痛觉敏化[56]。有文献表明如果敲除小鼠TLR-4受体或TLR-2受体基因或使用TLR-4受体拮抗剂类药物都能一定程度缓解NP,并阻止下游转录因子NF-kB、CREB等的活化及炎症因子等的扩大释放[57]。近年来利用巨噬细胞进行的研究表明BoNT/A可以直接与TLR-2相互作用并抑制TLR-2介导的巨噬细胞炎症反应[52],这提示TLR-2可能是BoNT/A对小胶质细胞作用的分子靶点。此外,SNAP-23表达于小胶质细胞,有研究指出BoNT/A可以降低小胶质细胞内SNAP-23表达[49]。

目前已发现的P2X受体家族有7种亚型,其中P2X2、P2X3、P2X4及P2X7主要参与介导NP发生,其中P2X4受体主要在脊髓小胶质细胞表面表达[58]。Tsuda等[59]首次发现P2X4受体是小胶质细胞参与NP形成的关键受体之一,周围神经损伤可引起ATP释放,通过结合反应,从而使P2X4受体表达上调并使其活化,引起$Ca^{2+}$内流产生痛觉敏化。同时,小胶质细胞中的$Ca^{2+}$内流又会引起MAPK激酶家族中的p38磷酸化,引起NF-κB、CREB等转录因子激活,导致了大量的转录产物释放,导致神经细胞和星型胶质细胞表面受体或离子通道激活,使得脊髓中枢长期敏化状态。Xiao L等[60]发现皮下注射BoNT/A后可明显逆转由L5腹侧根横断引起的NP大鼠疼痛行为和P2X3受体的过度表达。但是其对于P2X4受体的影响目前尚缺乏相关研究。

近年来,一些研究表明,小胶质细胞分泌的各种炎性细胞因子作为与神经—免疫有关的关键分子,可以介导多种原因引起的异常疼痛,如NP的形成与IL-1β、IL-6、TNF-α等关系密切[61]。还有证据表明胶质细胞可以产生抗炎性细胞因子(IL-1RA、IL-10、TGF-β)来调节过度的炎性反应,维持内环境的相对稳态[62],此外Moore等[63]研究发现IL-10还可以通过抑制IL-1β,IL-6,TNF-α的活性减少NP症状中的自发性疼痛和痛觉过敏。有趣的是Zychowska M等[47]研究发现BoNT/A不仅降低背根神经节和脊髓中的伤害感受细胞因子IL-1和IL-18的水平,而且同时增加抗伤害感受细胞因子IL-10和IL-1RA的水平,这一结论似乎对于理解BoNT/A不仅可以缓解NP也能恢复免疫平衡这一观点是非常重要的。

## 4 安全性问题

BoNT/A在治疗局部性肌张力障碍性疾病时所引起的副作用轻微,呈一过性、无全身副作用,只有少数患者表现为眼睑下垂、眉毛下垂、注射部位无力等,并没有发现存在中枢效应的不良反应[64]。大量临床研究均未见BoNT/A用于神经病理性疼痛时引起全身型反应或严重毒副作用,只有少量BoNT/A进入循环系统时可能会使患者体内形成相应的抗体及免疫并发症等问题[31]。此外应注意BoNT/A长期应用的叠加效应及较短时间内大剂量应用的罕见副作用,做好相应的预防措施。总之,BoNT/A最大的优点是单次应用药效持续时间长,不良反应少。此外BoNT/A具有减轻疼痛相关症状,改善运动能力,纠正不良姿势的作用,值得临床进一步推广和应用。

## 5 展望

关于BoNT/A在中枢神经系统作用机制的进一步研究可以提供十分宝贵的信息去帮助理解NP的病理生理学改变。总之,中枢敏化是由多种细胞参与的非常复杂的长期过程,长期以来疼痛都被认为是由于神经系统中的神经元功能障碍所造成的。痛觉信号的传入引起脊髓上的神经元兴奋性的变化,所以也就相应集中在研究神经元功能变化而释放各类递质或活性物质的作用、神经元形成的神经网络之间的相互关联作用,并狭窄地认为在中枢脊髓水平上疼痛的调整机制只是与脊髓中神经元及其神经活性物质有关。小胶质细胞是中枢神经系统中重要的免疫细胞,越来越多研究发现小胶质细胞在NP形成与发展中起重要作用。动物实验表明,周围神经损伤导致脊髓中小胶质细胞的活化,导致促炎因子的分泌和NP的形成。大量文献证据表示BoNT/A不仅可以影响神经元,也可以影响小胶质细胞的激活及其小胶质细胞激活诱发的级联放大反应。因此,BoNT/A作用机制涉及非神经元细胞的参与可以视作镇痛作用的重要成分。基于NP的中枢敏化机制,本文提出BoNT/A不仅抑制神经元的致敏作用,还可以抑制小胶质细胞的敏化,从而双重抑制中枢敏化,持久地缓解NP。但是BoNT/A可能通过哪条信号通路来抑制小胶质细胞激活尚不明确,仍需要未来进一步深入研究。

## 参考文献

[1] 王琛，陈鹏，林兴栋，等. 不同剂量大黄素对神经病理性疼痛慢性压迫性损伤模型行为学的影响[J]. 广东医学，2017，38(23):3549—3553.

[2] 李招胜，林洪，沙漠，等. 神经病理性疼痛的药物治疗研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学，2013，18(9):1076—1080.

[3] 王焕玲，赵美一，刘金锋. 抗抑郁药在治疗神经病理性疼痛的研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志，2019，25:537—540.

[4] Rojewska E，Piotrowska A，Popiolek-Barczyk K，et al. Botulinum toxin type A-a modulator of spinal neuron-glia interactions under neuropathic pain conditions[J]. Toxins (Basel),

2018，10(4):E145.

[5] Matak I，Bolcskei K，Bach-Rojecky L，et al. Mechanisms of botulinum toxin type A action on pain[J]. Toxins(Basel)，2019，11(8):E459.

[6] Sandrini G，DE Icco R，Tassorelli C，et al. Botulinum neurotoxin type A for the treatment of pain: not just in migraine and trigeminal neuralgia[J]. J Headache Pain，2017，18(1):38.

[7] Meacham K，Shepherd A，Mohapatra DP，et al. Neuropathic pain: central vs. peripheral mechanisms[J]. Curr Pain Headache Rep，2017，21(6):28.

[8] 游恩丽，周于然，余守洋，等. 氯胺酮鞘内给药对神经病理性痛大鼠脊髓背角小胶质细胞活化、TNF-α和IL-1β产生的影响[J]. 神经解剖学杂志，2017，33(4):459—463.

[9] 曾巧英. 肉毒神经毒素: 一个老毒素的新密码[J]. 甘肃农业大学学报，2018，53(6):1—9.

[10] Pellett S，Yaksh TL，Ramachandran R. Current status and future directions of botulinum neurotoxins for targeting pain processing[J]. Toxins(Basel)，2015，7(11):4519—4563.

[11] Monheit GD，Pickett A. AbobotulinumtoxinA: A 25-year history[J]. Aesthet Surg J，2017，37:S4—11.

[12] Simpson DM，Hallett M，Ashman EJ，et al. Practice guideline update summary: botulinum neurotoxin for the treatment of blepharospasm，cervical dystonia，adult spasticity，and headache: report of the guideline development subcommittee of the American academy of neurology[J]. Neurology，2016，86(19):1818—1826.

[13] 吕岩. 神经病理性疼痛机制研究进展[C]. 中国医师协会、中国医师协会疼痛科医师分会、《中国疼痛医学杂志》编辑部.2018中国医师协会疼痛科医师分会年会资料汇编.中国医师协会、中国医师协会疼痛科医师分会、《中国疼痛医学杂志》编辑部,2018:68.

[14] Colburn RW，Deleo JA，Rickman AJ，et al. Dissociation of microglial activation and neuropathic pain behaviors following peripheral nerve injury in the rat[J]. J Neuroimmunol，1997，79(2):163—175.

[15] Tsuda M，Koga K，Chen T，et al. Neuronal and microglial mechanisms for neuropathic pain in the spinal dorsal horn and anterior cingulate cortex[J]. J Neurochem，2017，141(4):486—498.

[16] Zhang ZJ，Jiang BC，Gao YJ. Chemokines in neuron-glial cell interaction and pathogenesis of neuropathic pain[J]. Cell Mol Life Sci，2017，74(18):3275—3291.

[17] Caraci F，Merlo S，Drago F，et al. Rescue of noradrenergic system as a novel pharmacological strategy in the treatment of chronic pain: focus on microglia activation[J]. Front Pharmacol，2019，10:1024.

[18] Teixeira JM，Dos Santos GG，Neves AF，et al. Diabetes-induced neuropathic mechanical hyperalgesia depends on P2X4 receptor activation in dorsal root ganglia[J]. Neuroscience，2019，398:158—170.

[19] 吴志伟，宋朋飞，朱清广，等. 神经病理性疼痛动物模型研究进展[J]. 中华中医药学刊，2019，37:1083—1087.

[20] Bach-Rojecky L，Lackovic Z. Antinociceptive effect of botulinum toxin type a in rat model of carrageenan and capsaicin induced pain[J]. Croat Med J，2005，46(2):201—208.

[21] Xiao L，Cheng J，Zhuang Y，et al. Botulinum toxin type A reduces hyperalgesia and TRPV1 expression in rats with neuropathic pain[J]. Pain Med，2013，14(2):276—286.

[22] Bach-Rojecky L，Salkovic-Petrisic M，Lackovic Z. Botulinum toxin type A reduces pain supersensitivity in experimental diabetic neuropathy: bilateral effect after unilateral injection[J]. Eur J Pharmacol，2010，633(1—3):10—14.

[23] Favre-Guilmard 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.

[24] 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.

[25] Favre-Guilmard C，Auguet M，Chabrier PE. Different antinociceptive effects of botulinum toxin type A in inflammatory and peripheral polyneuropathic rat models[J]. Eur J Pharmacol，2009，617(1—3):48—53.

[26] Meng F，Peng K，Yang JP，et al. Botulinum toxin-A for the treatment of neuralgia: a systematic review and meta-analysis[J]. J Pain Res，2018，11:2343—2351.

[27] Oh HM，Chung ME. Botulinum toxin for neuropathic pain: A review of the literature[J]. Toxins(Basel)，2015，7(8):3127—3154.

[28] Xiao L，Mackey S，Hui H，et al. Subcutaneous injection of botulinum toxin a is beneficial in postherpetic neuralgia[J]. Pain Med，2010，11(12):1827—1833.

[29] Yuan RY，Sheu JJ，Yu JM，et al. Botulinum toxin for diabetic neuropathic pain: a randomized double-blind crossover trial[J]. Neurology，2009，72(17):1473—1478.

[30] Shehata HS，El-Tamawy MS，Shalaby NM，et al. Botulinum toxin-type A: could it be an effective treatment option in intractable trigeminal neuralgia?[J]. J Headache Pain，2013，14:92.

[31] Park J，Park HJ. Botulinum toxin for the treatment of neuropathic pain[J]. Toxins(Basel)，2017，9(9):E260.

[32] Carroll I，Clark JD，Mackey S. Sympathetic block with botulinum toxin to treat complex regional pain syndrome[J]. Ann Neurol，2009，65(3):348—351.

[33] Turk Boru U，Duman A，Boluk C，et al. Botulinum toxin in the treatment of trigeminal neuralgia: 6-month follow-up[J]. Medicine，2017，96(39):e8133.

[34] 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.

[35] Rossetto O，Pirazzini m，Bolognese P，et al. An update

on the mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins[J]. Acta Chim Slov，2011，58(4):702—707.

[36] 马文俊，梁英．A型肉毒毒素对膝骨性关节炎大鼠模型镇痛效果及机制的实验研究[J]. 中国康复医学杂志，2017，32(6):649—653.

[37] Binz T，Rummel A. Cell entry strategy of clostridial neurotoxins[J]. J Neurochem，2009，109(6):1584—1595.

[38] Shimizu T，Shibata M，Toriumi H，et al. Reduction of TRPV1 expression in the trigeminal system by botulinum neurotoxin type-A[J]. Neurobiol Dis，2012，48(3): 367—378.

[39] Matak I，Tekus V，Bolcskei 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—45.

[40] Habermann E. 125I-labeled neurotoxin from Clostridium botulinum A: preparation，binding to synaptosomes and ascent to the spinal cord[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol，1974，281(1):47—56.

[41] Caleo M，Antonucci F，Restani L，et al. A reappraisal of the central effects of botulinum neurotoxin type A: by what mechanism?[J]. J Neurochem，2009，109(1):15—24.

[42] Akaike N，Shin MC，Wakita M，et al. Transsynaptic inhibition of spinal transmission by A2 botulinum toxin[J]. J Physiol，2013，591(4):1031—1043.

[43] 杜涛，卢光，李勇杰．A型肉毒毒素在慢性疼痛中的应用进展[J]. 中国疼痛医学杂志，2016，22:936—943.

[44] Marinelli S，Vacca V，Ricordy R，et al. The analgesic effect on neuropathic pain of retrogradely transported botulinum neurotoxin A involves Schwann cells and astrocytes [J]. PLoS One，2012，7(10):e47977.

[45] Restani L，Novelli E，Bottari D，et al. Botulinum neurotoxin A impairs neurotransmission following retrograde transynaptic transport[J]. Traffic，2012，13(8):1083—1089.

[46] Mika J，Rojewska E，Makuch W，et al. The effect of botulinum neurotoxin A on sciatic nerve injury-induced neuroimmunological changes in rat dorsal root ganglia and spinal cord[J]. Neuroscience，2011，175:358—366.

[47] Zychowska M，Rojewska E，Makuch W，et al. Participation of pro- and anti-nociceptive interleukins in botulinum toxin A-induced analgesia in a rat model of neuropathic pain[J]. Eur J Pharmacol，2016，791:377—388.

[48] Vacca V，Marinelli S，Luvisetto S，et al. Botulinum toxin A increases analgesic effects of morphine，counters development of morphine tolerance and modulates glia activation and mu opioid receptor expression in neuropathic mice [J]. Brain Behav Immun，2013，32:40—50.

[49] Piotrowska A，Popiolek-barczyk K，Pavone F，et al. Comparison of the expression changes after botulinum toxin type A and minocycline administration in lipopolysaccharide-stimulated rat microglial and astroglial cultures[J]. Front Cell Infect Microbiol，2017，7:141.

[50] Liu R，Xu X，Xu Y，et al. Pulsed radiofrequency on dorsal root ganglion relieved neuropathic pain associated with downregulation of the spinal interferon regulatory factor 8，microglia，p38MAPK expression in a CCI rat model[J]. Pain Physician，2018，21(4):e307—e322.

[51] Gui Y，Duan S，Xiao L，et al. Bexarotent attenuated CCI-induced spinal neuroinflammation and neuropathic pain by targeting MKP-1[J]. J Pain，2019，DOI: 10.1016/j.jpain.2019.01.007.

[52] Kim YJ，Kim JH，Lee KJ，et al. Botulinum neurotoxin type A induces TLR2-mediated inflammatory responses in macrophages[J]. PLoS One，2015，10(4):e0120840.

[53] Ding F，Li Y，Hou X，et al. Oxymatrine inhibits microglia activation via HSP60-TLR4 signaling[J]. Biomed Rep，2016，5(5):623—628.

[54] Fernandez-Lizarbe S，Montesinos J，Guerri C. Ethanol induces TLR4/TLR2 association，triggering an inflammatory response in microglial cells[J]. J Neurochem，2013，126(2):261—273.

[55] Tanga FY，Nutile-Mcmenemy N，Deleo JA. The CNS role of Toll-like receptor 4 in innate neuroimmunity and painful neuropathy[J]. Proc Natl Acad Sci USA，2005，102 (16): 5856—5861.

[56] Kim D，Kim MA，Cho IH，et al. A critical role of toll-like receptor 2 in nerve injury-induced spinal cord glial cell activation and pain hypersensitivity[J]. J Biol Chem，2007，282(20):14975—14983.

[57] Bettoni I，Comelli F，Rossini C，et al. Glial TLR4 receptor as new target to treat neuropathic pain: efficacy of a new receptor antagonist in a model of peripheral nerve injury in mice[J]. Glia，2008，56(12):1312—1319.

[58] Suurvali J，Boudinot P，Kanellopoulos J，et al. P2X4: A fast and sensitive purinergic receptor[J]. Biomed J，2017，40(5):245—256.

[59] Tsuda M，Shigemoto-Mogami Y，Koizumi S，et al. P2X4 receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury[J]. Nature，2003，424(6950):778—783.

[60] Xiao L，Cheng J，Dai J，et al. Botulinum toxin decreases hyperalgesia and inhibits P2X3 receptor over-expression in sensory neurons induced by ventral root transection in rats[J]. Pain Med，2011，12(9):1385—1394.

[61] Zhao H，Alam A，Chen Q，et al. The role of microglia in the pathobiology of neuropathic pain development: what do we know?[J]. Br J Anaesth，2017，118(4):504—516.

[62] Pozzo ED，Tremolanti C，Costa B，et al. Microglial pro-inflammatory and anti-inflammatory phenotypes are modulated by translocator protein activation[J]. Int J Mol Sci，2019，20(18):E4467.

[63] Moore KW，Rousset F，Banchereau J. Evolving principles in immunopathology: interleukin 10 and its relationship to Epstein-Barr virus protein BCRF1[J]. Springer Semin Immunopathol，1991，13(2):157—166.

[64] 孟玲，林庚庭，王荫椿．A型肉毒毒素临床应用中的副作用[J]. 中国新药与临床杂志，2001，20(6):462—465.