

·基础研究·

聚焦式低强度脉冲超声治疗对大鼠坐骨神经损伤后神经病理性疼痛的影响*

王 彬¹ 刘 焱¹ 廖焯晖¹ 陈茉弦¹ 赵云欣¹ 敖丽娟^{1,2}

摘要

目的:观察聚焦式低强度脉冲超声(focused low-intensity pulsed ultrasound, FLIPUS)对坐骨神经损伤模型(spared nerve injury, SNI)大鼠的镇痛作用,以及对脊髓神经重塑的影响。

方法:建立 SNI 神经病理性疼痛大鼠模型。将 30 只雄性 SD 大鼠随机分成 3 组,假手术组、模型组和治疗组各 10 只。治疗组大鼠造模后第 3 天开始脊髓腰膨大 FLIPUS 治疗,分别于术前、术后 3、10、17、24、30 天测量各组大鼠患侧后爪机械性刺激缩爪阈,采用 Western Blot 与免疫荧光技术检测脊髓神经突起标志物(MAP2)蛋白的表达水平。

结果:SNI 大鼠术后第 3 天开始患侧后爪明显下降且至少维持至术后第 30 天($P < 0.01$),提示出现机械痛觉过敏;FLIPUS 治疗组 SNI 大鼠术后第 10 天机械性刺激缩爪阈开始升高,在术后第 24 和 30 天机械性刺激缩爪阈显著高于模型组($P < 0.01$);SNI 大鼠术后脊髓 MAP2 蛋白表达显著上调($P = 0.004$),而 FLIPUS 治疗可显著降低治疗组脊髓 MAP2 蛋白的表达量($P < 0.01$)。

结论:FLIPUS 可缓解 SNI 诱导的机械痛敏症状,其机制可能与抑制脊髓的神经重塑有关。

关键词 聚焦式低强度脉冲超声;坐骨神经损伤;神经病理性疼痛;神经重塑

中图分类号:R493 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2022)-01-0014-07

Effects of focused low-intensity pulsed ultrasound treatment on neuropathic pain after sciatic nerve injury in rats/WANG Bin, LIU Yao, LIAO Yehui, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2022, 37(1): 14—20

Abstract

Objective: To observe the analgesic effect of focused low-intensity pulsed ultrasound (FLIPUS) on spared nerve injury model (SNI) rats and its effect on spinal nerve remodeling.

Method: Establish a rat model of SNI neuropathic pain. Thirty male SD rats were randomly divided into 3 groups: the sham operation group, the model group and the treatment group (10 rats in each group). The rats in the treatment group started the FLIPUS treatment of spinal lumbar enlargement at the 3rd day after the modeling, and the paw withdrawal threshold of the affected hind paw was measured before and 3, 10, 17, 24, and 30 days after the operation. Western Blot and immunofluorescence techniques were used to detect the level of spinal cord neurite marker (MAP2) protein.

Result: The paw withdrawal threshold of the hind paw on the affected side of SNI rats decreased significantly at the 3rd day after surgery and maintained at least until the 30th day after surgery($P < 0.01$), indicating mechanical hyperalgesia. The paw withdrawal threshold of the SNI rats in the FLIPUS treatment group exhibited increased trend at the 10th day after the operation, and the paw withdrawal threshold was significantly higher than that of the model group at the 24th and 30th day after the operation ($P < 0.01$). The expression of MAP2

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2022.01.004

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(81960421, 82060421)

1 昆明医科大学康复学院,云南省昆明市,650500; 2 通讯作者

第一作者简介:王彬,男,硕士研究生; 收稿日期:2021-04-15

protein in the spinal cord of SNI rats was significantly up-regulated ($P=0.004$), and FLIPUS treatment could significantly reduce the expression of MAP2 protein in the spinal cord of the treatment group ($P<0.01$).

Conclusion: FLIPUS can alleviate the symptoms of mechanical hyperalgesia induced by SNI, and its mechanism may be related to the inhibition of spinal cord nerve remodeling.

Author's address School of Rehabilitation, Kunming Medical University, Yunnan, 650500

Key word focused low-intensity pulsed ultrasound; spared nerve injury; neuropathic pain; nerve remodeling

神经病理性疼痛(neuropathic pain, NP)是一种由躯体感觉系统的损伤或疾病引起的慢性疼痛^[1],以自发性疼痛、超敏和痛觉过敏为特征^[2],严重影响患者的生存质量。NP可继发于中枢神经系统损伤如脊髓损伤、脑卒中,也可由外周神经的创伤、炎症、代谢障碍或自身免疫疾病等引起^[3]。动物研究中多用周围神经包括坐骨神经和腓总神经的压迫性损伤或炎症性损伤模型对NP进行研究。NP可能的机制包括异常的外周敏化和中枢敏化。越来越多的证据表明,神经重塑可能是中枢敏化的主要表现形式,并在NP的产生中发挥重要作用^[4-5]。有研究发现周围神经损伤不仅引起机械敏感性和热敏感性疼痛^[6-7],还可导致脊髓神经元突起数量、突触结构及功能发生变化,表现为轴突或树突的分支生长及数量增多,突触数量增加以及突触敏化现象^[8]。同时神经重塑现象还被证实与NP的维持相关^[9],并且成为药物干预NP的重要靶点之一。微管相关蛋白2(microtubule-associated protein 2, MAP2)是一种富集于神经元树突的静态细胞骨架蛋白,其表达增高与突触重塑的形成高度相关^[10]。有研究表明,可以通过在结构水平抑制MAP2的表达而减少异常的突触重塑,从而减轻脊神经结扎(spinal nerve ligation, SNL)损伤大鼠模型的机械痛敏表现^[11]。也有研究在三叉神经分支横断损伤术后30min发现三叉神经脊束核神经元中MAP2的升高,可能与机械痛敏的早期中枢敏化有关^[12]。

聚焦式低强度脉冲超声(focused low-intensity pulsed ultrasound, FLIPUS)是一种能量强度位于30—500 mW/cm²的机械声波。FLIPUS作为高效、安全的物理因子,已逐渐成为一种新兴的神经系统疾病治疗的手段^[13]。因其在神经调控领域具备无创、可逆、靶向等多方面的优势,针对FLIPUS的疗效与神经调控机制,已在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)、帕金森病(Parkinson's disease,

PD)、癫痫等多种疾病中展开大量研究,并取得一定的进展^[14-17]。然而,FLIPUS治疗神经病理性疼痛的有效性和对神经重塑的影响仍不清楚。因此,本实验将运用FLIPUS对坐骨神经损伤(spared nerve injury, SNI)大鼠模型的腰段脊髓进行神经调控,观察其对模型机械敏感性疼痛的影响,以及轴突或树突标志物MAP2蛋白变化水平,以初步探究FLIPUS对神经病理性疼痛和神经重塑的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本实验采用SPF级成年雄性Sprague-Dawley (SD)大鼠30只,体重200—250g,由昆明医科大学实验动物学部提供,均饲养1周后造模。将所有大鼠饲养在标准的动物房中,自由提供食物和水,保持昼夜12h的光照周期,饲养房间温度(22±1)℃,相对湿度50%—60%。本实验方案已通过昆明医科大学实验动物伦理委员会批准(编号:KM-MU2020352)。所有的操作符合实验动物伦理要求,并在保证实验完成的前提下,尽量减少动物的痛苦和数量。

1.2 实验试剂及仪器

主要实验试剂:异氟烷,BCA蛋白定量试剂盒购于中国碧云天公司,一抗MAP2和β-actin分别购于美国Cell Signaling公司和Abcam公司,一抗NeuN购于美国Abcam公司,荧光二抗抗兔(Alexa Fluor® 488 conjugate)/抗鼠(Alexa Fluor® 594 conjugate)购于中国Biosharp公司。

主要实验仪器:超声发生器(DG4000,中国),低温高速离心(德国),正置荧光显微镜(Olympus Corporation,日本),Von Frey 细丝(North Coast,美国)等。

1.3 动物模型的制备

SNI模型制备采用文献^[18-19]的方法,首先通过

吸入异氟烷将大鼠进行中度麻醉后,将其右下肢大腿脱毛、备皮及消毒,沿右股骨下端正中切开皮肤长约1cm,钝性剥离,暴露右侧坐骨神经及其下缘3个分支(胫神经、腓总神经、腓肠神经),用4—0的铬羊肠线结扎胫神经和腓总神经,间隔约1mm,共结扎3个结,以肌肉和足趾微微颤动为松紧度,保留腓肠神经,随后对肌肉、筋膜和皮肤进行缝合并消毒。假手术组则只暴露右侧坐骨神经及分支2—3min,未结扎,手术后用单一缝线缝合皮肤,并消毒。术后将大鼠放入鼠笼,于温暖、安静环境中喂养。手术全过程由同一人操作。大鼠随机分为3组:假手术组($n=10$,仅暴露神经,不建模)、模型组($n=10$,建立SNI模型)、治疗组($n=10$,建立SNI模型后给予FLIPUS治疗)。

1.4 疼痛行为学测试

大鼠术前1天及术后3、10、17、24、30天进行疼痛阈值的测定,安排在每天上午9:00—12:00时间段。大鼠患侧机械缩爪阈值采用Chaplan等^[20]描述的“上-下”方法,并用冯·弗雷丝(von frey fiber, VFF)检测。测试前将大鼠放入金属网孔的玻璃箱子内,使其适应环境15—30min,直至其在笼内的探究反应结束,安静后进行痛阈测试。痛阈测定区域固定在爪底中央,避开不敏感的爪垫部位。每次刺激持续不超过8s,重复5次刺激,每次刺激时间间隔5min。待大鼠出现抬起后爪、逃避或舔后爪行为记为阳性反应。计算公式: 50% 机械性刺激缩爪阈= $10^{(xf+k\delta)}/10,000$ 。 xf :最后刺激使用力度值; k :刺激系数; δ :相邻刺激力度log值的平均数; xf 和 k 值经查表获取,本研究中 δ 为0.184。

1.5 超声治疗方案

实验于术后第3天开始进行FLIPUS治疗,连续治疗28天,每天治疗1次,每次20min,见图1A。FLIPUS治疗部位选择在大鼠脊髓腰膨大部位(L2—L3椎体棘突处定位)。FLIPUS治疗前,先将大鼠异氟烷轻度麻醉并固定在平板上,腰膨大部位装上声头夹具,加入耦合剂后将直径16mm大小的超声声头放入夹具内。治疗时,大鼠处在安静、光线舒适、温度适宜的环境中。本实验采用信号发生源、功率放大器及超声换能器等设备,FLIPUS刺激参数:脉冲重复频率(pulse repetition frequency, PRF)

800Hz,声头中心频率4MHz,刺激强度650kPa,占空比20%。

1.6 Western Blot

冰上取大鼠脊髓腰膨大部位组织,提取相关蛋白,选用BCA定量法测定蛋白浓度,随后各组取相同量蛋白质进行电泳和转膜,5%脱脂奶粉封闭条带2h, TBST洗3次,每次15min,按1:1000的比例加入MAP2抗体,4℃过夜。次日回收MAP2抗体, TBST洗3次,每次15min,按1:3000比例加入山羊抗兔二抗,室温孵育2h。蛋白条带上滴加曝光液后成像,随后用Image J软件计算灰度值,利用目的条带与内参蛋白条带光密度比值作为结果进行统计分析。

1.7 免疫荧光

取下的脊髓组织用4%多聚甲醛固定48h,依次用10%、20%、30%浓度的蔗糖水脱水24h。OCT包埋组织,放入-80℃超低温冰箱里冰冻组织,采用冰冻切片机切取厚度为10mm组织切片并放入-20℃冰箱里备用。免疫荧光:使用PBS洗3次,每次5min,2%PBST透膜10min,5%山羊血清封闭2h,按照1:300比例加入MAP2抗体及NeuN(1:600)4℃孵育过夜。次日复温,用PBST洗3次,每次10min,按照1:300比例加入抗兔/抗鼠偶联物IgG(H+L),室温避光孵育2h, PBST洗3次,每次10min,加入DAPI复染,盖玻片封片。使用正置荧光显微镜成像,随后用Image J软件计算脊髓后角局部总面积和MAP2免疫反应阳性面积,计算MAP2免疫反应阳性面积占脊髓后角局部总面积的百分比,计算出的表达量作为结果进行统计分析。

1.8 统计学分析

实验所得数据均用均数±标准误表示,并用SPSS 26.0软件进行处理,行为学测量数据选用重复测量方差分析,多组间数据选用单因素方差分析(one-way ANOVA),LSD- t 检验,检验水准为0.05, $P<0.05$ 为差异具有显著性意义。

2 结果

2.1 模型制备成功的判断标椎

本实验采用经典的SNI疼痛模型,由于该模型模拟了人类神经卡压,表现出十分相似的临床症状。术后第1天,神经结扎侧下肢及后爪呈现拖动、

蜷缩、舔脚、自发性抬脚及给予低剂量刺激时出现缩脚现象,此时大鼠SNI疼痛模型制备成功。

2.2 采用VFF检测FLIPUS对机械痛敏的疗效

模型组和治疗组大鼠的机械性刺激缩爪阈从SNI术后第1天开始降低,而在第3天达到最低,分别为 (3.61 ± 0.76) g和 (4.85 ± 1.26) g,与假手术组相比差异均具有显著性意义($P<0.01$);模型组和治疗组两组之间比较无显著性差异($P=0.7854$)。治疗组大鼠术后第10天的机械性刺激缩爪阈开始有升高的趋势,并在术后第24天达 (14.38 ± 2.02) g明显高于模型组 (3.08 ± 0.67) g,且差异具有显著性意义($P=0.0007$),但仍明显低于假手术组 (25.53 ± 1.01) g, $P=0.0008$;在第30天治疗组的机械性刺激缩爪阈 (15.30 ± 1.83) g仍高于模型组 (3.72 ± 0.75) g, $P=0.0002$,但明显低于假手术组 (25.92 ± 0.85) g, $P=0.0004$ 。见表1和图1B。提示FLIPUS能够减轻由SNI诱导的机械痛敏反应。

2.3 采用Western Blot检测FLIPUS对脊髓神经重塑的影响

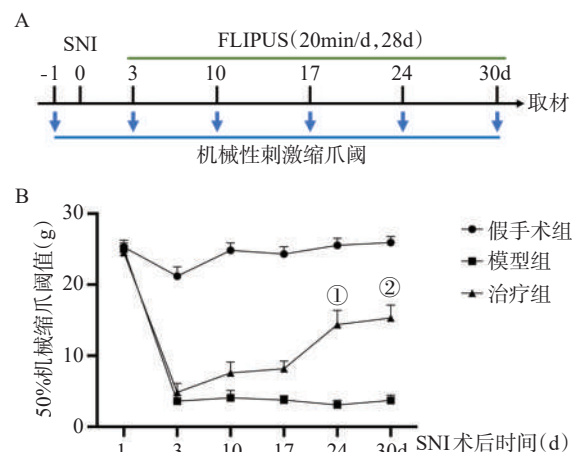
表1 各组大鼠机械性刺激缩爪阈的比较 ($\bar{x}\pm s$,g)					
组别	例数	机械性刺激缩爪阈	组间比较	t值	P值
术后第1天					
假手术组	10	25.28 ± 0.97	假手术组 vs 模型组	0	0.9736
模型组	10	25.00 ± 0.82	假手术组 vs 治疗组	0	0.8180
治疗组	10	24.51 ± 0.90	模型组 vs 治疗组	0	0.9215
术后第3天					
假手术组	10	21.19 ± 1.32	假手术组 vs 模型组	11.54	<0.0001
模型组	10	3.61 ± 0.76	假手术组 vs 治疗组	8.954	<0.0001
治疗组	10	4.85 ± 1.26	模型组 vs 治疗组	0.8413	0.7854
术后第10天					
假手术组	10	24.82 ± 1.06	假手术组 vs 模型组	14.17	<0.0001
模型组	10	3.620 ± 1.01	假手术组 vs 治疗组	9.346	<0.0001
治疗组	10	7.59 ± 1.51	模型组 vs 治疗组	1.931	0.1919
术后第17天					
假手术组	10	24.30 ± 1.03	假手术组 vs 模型组	17.02	<0.0001
模型组	10	3.750 ± 0.63	假手术组 vs 治疗组	10.91	<0.0001
治疗组	10	8.18 ± 1.06	模型组 vs 治疗组	3.604	0.0076
术后第24天					
假手术组	10	25.53 ± 1.01	假手术组 vs 模型组	18.56	<0.0001
模型组	10	3.08 ± 0.67	假手术组 vs 治疗组	4.934	0.0008
治疗组	10	14.38 ± 2.02	模型组 vs 治疗组	5.309	0.0007
术后第30天					
假手术组	10	25.92 ± 0.85	假手术组 vs 模型组	19.58	<0.0001
模型组	10	3.72 ± 0.75	假手术组 vs 治疗组	5.270	0.0004
治疗组	10	15.30 ± 1.83	模型组 vs 治疗组	5.862	0.0002

结果显示,与假手术组 (0.56 ± 0.09) 相比,模型组 (1.15 ± 0.05) 大鼠脊髓神经元突起标志物MAP2蛋白表达显著上调($P=0.004$);经FLIPUS治疗后,神经元突起标志物MAP2蛋白明显减少,治疗组 (0.39 ± 0.06) 神经元突起标志物MAP2蛋白的表达量明显低于模型组,差异具有显著性意义($P<0.01$),但与假手术组无显著性差异($P=0.4007$)。见表2,图2A和2B。提示,FLIPUS可以抑制异常的神经突起生长和重塑。

2.4 采用免疫荧光检测FLIPUS对脊髓神经重塑的影响

与假手术组 (0.12 ± 0.01) 相比,模型组 (0.23 ± 0.01) 大鼠脊髓神经元突起标志物MAP2蛋白表达显著上调($P<0.01$);经FLIPUS治疗后,MAP2蛋白明显减少,FLIPUS治疗组 (0.16 ± 0.01) 神经元突起标志物MAP2蛋白的表达量明显低于模型组,差异具有显著性意义($P<0.01$)。见图3A和3B,表2。

图1 FLIPUS对SNI大鼠机械性刺激缩爪阈的影响

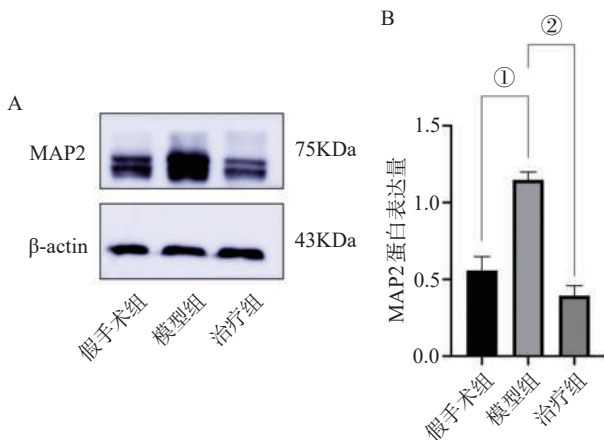


A: FLIPUS治疗流程图;B:不同时间点各组大鼠机械痛敏反应的变化;与假手术组相比,① $P<0.01$;与模型组相比,② $P<0.01$

表2 腰段脊髓MAP2蛋白表达情况 ($\bar{x}\pm s$,n=5)

组别	例数	MAP2蛋白表达情况	组间比较	t值	P值
Western Blot					
假手术组	5	0.56 ± 0.09	假手术组 vs 模型组	5.718	0.0004
模型组	5	1.15 ± 0.05	假手术组 vs 治疗组	1.472	0.4007
治疗组	5	0.39 ± 0.06	模型组 vs 治疗组	9.216	<0.0001
免疫荧光					
假手术组	5	0.12 ± 0.01	假手术组 vs 模型组	10.04	<0.0001
模型组	5	0.23 ± 0.01	假手术组 vs 治疗组	3.995	0.0073
治疗组	5	0.16 ± 0.01	模型组 vs 治疗组	9.557	<0.0001

图2 Western Blot检测各组大鼠腰段脊髓MAP2蛋白的表达



A: Western Blot检测腰段脊髓MAP2表达的蛋白条带, β -actin为内参蛋白条带; B: 组间腰段脊髓MAP2蛋白表达量的比较: ①为假手术组与模型组比较, 模型组MAP2蛋白表达量显著高于假手术组, 差异具有显著性意义 ($P < 0.01$); ②为模型组与治疗组比较, 治疗组MAP2蛋白表达量显著低于模型组, 且差异具有显著性意义 ($P < 0.01$)。

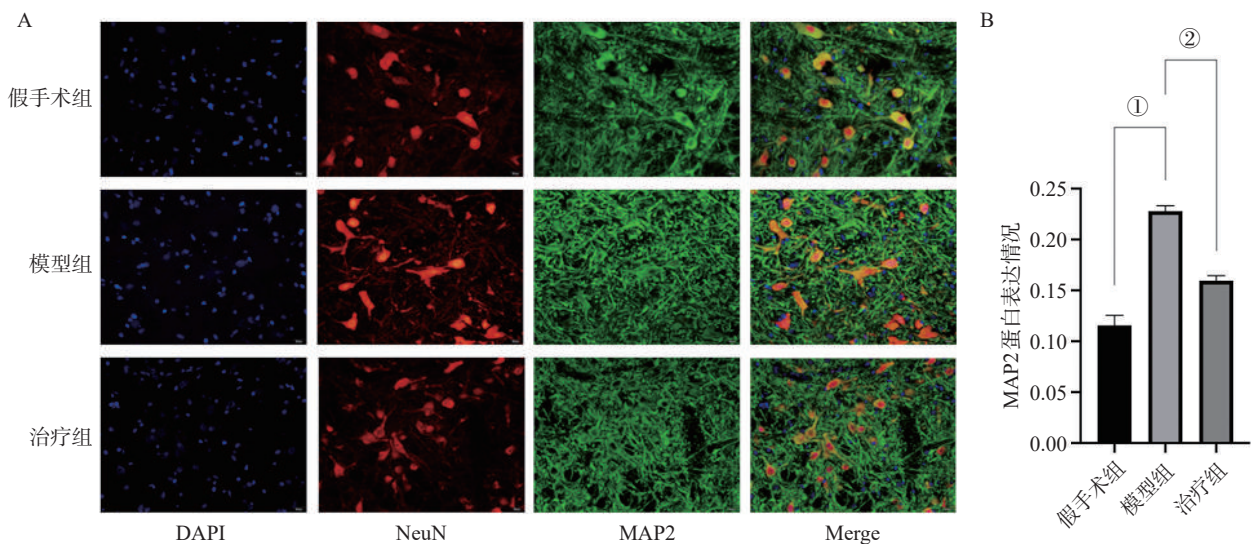
3 讨论

治疗型超声作为一种无创的物理因子治疗方法, 已被广泛应用于临床与研究中^[14-16, 21]。相比传统的超声, 聚焦超声 (focused ultrasound sound, FUS) 采用的是新式的凹面声头, 可以将超声波能量

集中到毫米级直径大小的范围内, 进行无创性靶向治疗^[22]。FUS可分为FLIPUS和聚焦式高强度脉冲超声 (focused high-intensity pulsed ultrasound, FHIPUS)。FHIPUS热效应明显, 临床上主要用于对肿瘤组织的消融; FLIPUS机械效应和空化效应明显, 多用于开放血脑屏障和神经调控。而本研究使用的是FLIPUS。研究表明, FLIPUS可通过外周或中枢神经调控, 起到缓解疼痛的效果^[23-24], 但其缓解疼痛的机制尚不清楚。本研究发现SNI大鼠术后第3天开始患侧后爪机械性刺激缩爪阈明显下降, 提示出现SNI诱导的机械痛觉过敏; FLIPUS治疗后SNI大鼠机械性刺激缩爪阈显著升高, 同时观察到FLIPUS治疗组脊髓MAP2蛋白的表达量较模型组明显下调。提示FLIPUS可缓解SNI诱导的机械痛敏症状, 其机制可能与抑制脊髓的神经重塑有关。

对坐骨神经的2个分支结扎的SNI神经病理性疼痛模型, 术后24h后动物患侧爪底和背外侧可出现长期的机械痛敏和热痛敏反应^[25]。在大鼠SNI模型中机械痛敏反应可维持长达6—15个月, 可以更好地模拟了临床上神经病理性疼痛患者的症状^[26]。本研究在SNI建模后第1天即可观察到机械性痛敏阈值降低的表现, 并维持到术后第30天。经FLIPUS治疗后SNI大鼠于术后第10天机械性刺激缩

图3 免疫荧光检测FLIPUS对SNI大鼠脊髓内神经重塑的影响



A: 通过免疫荧光检测脊髓NeuN、MAP2蛋白及其共表达的荧光显微镜图, DAPI为细胞核染色图, NeuN为神经元染色图, Merge为融合图;

B: 脊髓MAP2表达光密度值的组间比较: ①为假手术组与模型组比较, 模型组的MAP2表达量显著高于假手术组, 差异具有显著性意义 ($P < 0.01$); ②为模型组与治疗组比较, 治疗组的MAP2表达量显著低于模型组, 差异具有显著性意义 ($P < 0.01$)。

爪阈开始升高,在术后第24和30天机械性刺激缩爪阈显著高于模型组,提示FLIPUS作用于脊髓具有良好的镇痛效果。此发现与我们前期研究得出的结论一致。

有证据表明,周围神经损伤后会诱导沿躯体感觉通路的神经回路的功能和结构重塑,这是形成异常感觉的基础^[27]。这种异常的神经重塑可能是神经病理性疼痛发展和维持的重要因素之一。当神经受损时,来自周围未受损的传入神经以发芽再生的形式进入失神经支配的区域,或者受损的神经亦可发生重塑^[28]。而外周神经重塑较为典型的例子是神经瘤,其是神经完全切断后形成特殊的球状末端,可以诱发异常感觉超敏反应,并能通过产生异位活动引起自发性疼痛^[28]。而在中枢神经重塑上,有研究指出周围神经损伤可诱导脊髓内胶质细胞的激活,释放大量趋化因子等介质,进一步诱导神经突触的形成和轴突的重塑,增强了疼痛刺激信息的传导和脊髓内神经网络的联系,引起维持疼痛的超敏反应^[29]。在炎症性疼痛模型和坐骨神经损伤模型的研究中发现,周围神经损伤能诱导脊髓内神经突起发生明显的重塑,增强神经元的兴奋性,这可能是维持慢性长期神经病理性疼痛的机制^[9,30-31]。不仅在脊髓,Rusanescu等^[32]研究发现,在坐骨神经损伤模型中,小脑和脑桥内的神经元均能出现异常的神经重塑,同样对疼痛的维持起到重要的调节的作用。Takeuchi等^[33]同样也证实丘脑中的传入纤维重塑与异位疼痛行为同时发生并持续,这更加说明中枢的神经重塑与神经病理性疼痛相关。López-Álvarez等^[34]在坐骨损伤模型中发现,Treadmill训练可以通过减缓未损伤区域神经重塑的速度,从而减轻痛觉过敏。然而,亦有研究报道疼痛发现时未见疼痛周围及远端出现神经重塑,甚至有研究发现神经元的密度降低,出现神经重塑下调的表现。另外,一些临床研究^[35]认为,神经重塑与疼痛消失和正常感觉的恢复密切相关。因此,到目前为止神经重塑与神经病理性疼痛的相关性尚无明确的定论,还需进一步探究。

MAP2作为一种细胞骨架蛋白,主要在神经元中表达,并执行与神经生长发育相关的诸多功能,如微管的稳定、调节轴突和树突内细胞器的运输以及

对信号转导过程中的调节蛋白进行锚定。因此,其对神经元的生长、突触可塑性和神经元凋亡发挥着重要作用^[36]。Wang等^[37]在SNL疼痛模型中证明了疼痛发生与前扣带回皮质(anterior cingulate cortex, ACC)和杏仁核中MAP2上调相关,并且给予相应治疗后发现是通过CDK5/MAP2—NMDA2B通路,下调了MAP2的表达,在功能和结构水平上逆转了ACC和杏仁核中的神经重塑,最终达到缓解疼痛的作用。本研究采用Western Blot和免疫荧光均发现SNI模型组脊髓MAP2蛋白的表达量显著上调,而经FLIPUS治疗后脊髓MAP2蛋白的表达量明显下调。提示FLIPUS可能通过抑制脊髓的异常神经重塑而缓解SNI诱导的机械痛敏症状。本研究结果进一步为FLIPUS治疗神经病理性疼痛提供了新的研究方向。

综上,本研究采用FLIPUS对大鼠脊髓腰膨大部位进行治疗,可明显改善由SNI模型诱导的机械痛敏症状,并可下调脊髓内突触重塑相关蛋白MAP2的表达,提示FLIPUS缓解疼痛可能是通过调节脊髓内神经重塑而实现的。该结果为治疗神经病理性疼痛提供了新的理论依据。

参考文献

- [1] Bouhassira D. Neuropathic pain: definition, assessment and epidemiology[J]. Rev Neurol (Paris), 2019, 175(1—2): 16—25.
- [2] Um SW, Kim MJ, Leem JW, et al. Pain-relieving effects of mTOR inhibitor in the anterior cingulate cortex of neuropathic rats[J]. Mol Neurobiol, 2019, 56(4): 2482—2494.
- [3] Cavalli E, Mammana S, Nicoletti F, et al. The neuropathic pain: an overview of the current treatment and future therapeutic approaches[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2019, 33: 1—10.
- [4] Meacham K, Shepherd A, Mohapatra DP, et al. Neuropathic pain: central vs. peripheral mechanisms[J]. Curr Pain Headache Rep, 2017, 21(6): 28.
- [5] Wang XY, Zhou HR, Wang S, et al. NR2B-Tyr phosphorylation regulates synaptic plasticity in central sensitization in a chronic migraine rat model[J]. J Headache Pain, 2018, 19(1): 102.
- [6] Lovaglio AC, Socolovsky M, Di Masi G, et al. Treatment of neuropathic pain after peripheral nerve and brachial plexus traumatic injury[J]. Neurol India, 2019, 67(Supplement): S32—S27.
- [7] Inoue K, Tsuda M. Microglia in neuropathic pain: cellular and molecular mechanisms and therapeutic potential[J]. Nat

- Rev Neurosci, 2018, 19(3): 138—152.
- [8] Liu Y, Zhou LJ, Wang J, et al. TNF- α differentially regulates synaptic plasticity in the hippocampus and spinal cord by microglia-dependent mechanisms after peripheral nerve injury[J]. J Neurosci, 2017, 37(4): 871—881.
- [9] Stratton HJ, Khanna R. Sculpting dendritic spines during initiation and maintenance of neuropathic pain[J]. J Neurosci, 2020, 40(40): 7578—7589.
- [10] Kim Y, Jang YN, Kim JY, et al. Microtubule-associated protein 2 mediates induction of long-term potentiation in hippocampal neurons[J]. Faseb J, 2020, 34(5): 6965—6983.
- [11] Lu Y, Ni S, He LN, et al. Annexin A10 is involved in the development and maintenance of neuropathic pain in mice[J]. Neurosci Lett, 2016, 63:1—6.
- [12] Ogawa A, Dai Y, Yamanaka H, et al. Ca²⁺/calmodulin-protein kinase II α in the trigeminal subnucleus caudalis contributes to neuropathic pain following inferior alveolar nerve transection[J]. Exp Neurol, 2005, 192(2): 310—319.
- [13] Kubanek J. Neuromodulation with transcranial focused ultrasound[J]. Neurosurg Focus, 2018, 44(2): E14.
- [14] Souza R, da Silva ICS, Delgado ABT, et al. Focused ultrasound and Alzheimer's disease a systematic review[J]. Dement Neuropsychol, 2018, 12(4): 353—359.
- [15] Martínez-Fernández R, Máñez-Miró JU, Rodríguez-Rojas R, et al. Randomized trial of focused ultrasound subthalamotomy for Parkinson's disease[J]. N Engl J Med, 2020, 383(26): 2501—2513.
- [16] Chen SG, Tsai CH, Lin CJ, et al. Transcranial focused ultrasound pulsation suppresses pentylentetrazol induced epilepsy in vivo[J]. Brain Stimul, 2020, 13(1): 35—46.
- [17] Krishna V, Sammartino F, Rezai A. A review of the current therapies, challenges, and future directions of transcranial focused ultrasound technology: advances in diagnosis and treatment[J]. JAMA Neurol, 2018, 75(2): 246—254.
- [18] Jaggi AS, Jain V, Singh N. Animal models of neuropathic pain[J]. Fundam Clin Pharmacol, 2011, 25(1): 1—28.
- [19] 张爱民, 周增华, 蒋宗滨. 脉冲射频对坐骨神经分支损伤模型大鼠脊髓神经元凋亡的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2018, 33(10): 1156—1161.
- [20] 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.
- [21] 张斌, 倪振洪, 杨鹏, 等. 低强度脉冲超声调控滑膜巨噬细胞极化抑制关节滑膜炎[J]. 第三军医大学学报, 2019, 41(8): 747—756.
- [22] Lee EJ, Fomenko A, Lozano AM. Magnetic resonance-guided focused ultrasound: current status and future perspectives in thermal ablation and blood-brain barrier opening[J]. J Korean Neurosurg Soc, 2019, 62(1): 10—26.
- [23] Toccaceli G, Barbagallo G, Peschillo S. Low-intensity focused ultrasound for the treatment of brain diseases: safety and feasibility[J]. Theranostics, 2019, 9(2): 537—539.
- [24] Prabhala T, Hellman A, Walling I, et al. External focused ultrasound treatment for neuropathic pain induced by common peroneal nerve injury[J]. Neurosci Lett, 2018, 684:145—151.
- [25] Guida F, De Gregorio D, Palazzo E, et al. Behavioral, biochemical and electrophysiological changes in spared nerve injury model of neuropathic pain[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(9):3396.
- [26] Challa SR. Surgical animal models of neuropathic pain: pros and cons[J]. Int J Neurosci, 2015, 125(3): 170—181.
- [27] Nagumo Y, Ueta Y, Nakayama H, et al. Tonic GABAergic inhibition is essential for nerve injury-induced afferent remodeling in the somatosensory thalamus and ectopic sensations[J]. Cell Rep, 2020, 31(12): 107797.
- [28] Kuner R, Flor H. Structural plasticity and reorganisation in chronic pain[J]. Nat Rev Neurosci, 2016, 18(1): 20—30.
- [29] Zhou LJ, Peng J, Xu YN, et al. Microglia are indispensable for synaptic plasticity in the spinal dorsal horn and chronic pain[J]. Cell Rep, 2019, 27(13): 3844—3859.
- [30] Simonetti M, Kuner R. Spinal wnt5a plays a key role in spinal dendritic spine remodeling in neuropathic and inflammatory pain models and in the proalgesic effects of peripheral wnt3a[J]. J Neurosci, 2020, 40(35): 6664—6677.
- [31] Tan AM, Chang YW, Zhao P, et al. Rac1-regulated dendritic spine remodeling contributes to neuropathic pain after peripheral nerve injury[J]. Exp Neurol, 2011, 232(2): 222—233.
- [32] Rusanescu G, Mao J. Peripheral nerve injury induces adult brain neurogenesis and remodelling[J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(2): 299—314.
- [33] Takeuchi Y, Osaki H, Yagasaki Y, et al. Afferent fiber remodeling in the somatosensory thalamus of mice as a neural basis of somatotopic reorganization in the brain and ectopic mechanical hypersensitivity after peripheral sensory nerve injury[J]. eNeuro, 2017, 4(2): 0345-16.2017.
- [34] López-Álvarez VM, Modol L, Navarro X, et al. Early increasing-intensity treadmill exercise reduces neuropathic pain by preventing nociceptor collateral sprouting and disruption of chloride cotransporters homeostasis after peripheral nerve injury[J]. Pain, 2015, 156(9): 1812—1825.
- [35] Taylor KS, Anastakis DJ, Davis KD. Chronic pain and sensorimotor deficits following peripheral nerve injury[J]. Pain, 2010, 151(3): 582—591.
- [36] Sánchez C, Díaz-Nido J, Avila J. Phosphorylation of microtubule-associated protein 2 (MAP2) and its relevance for the regulation of the neuronal cytoskeleton function[J]. Prog Neurobiol, 2000, 61(2): 133—168.
- [37] Wang Y, Li CM, Han R, et al. PCC0208009, an indirect IDO1 inhibitor, alleviates neuropathic pain and co-morbidities by regulating synaptic plasticity of ACC and amygdala[J]. Biochem Pharmacol, 2020, 177:113926.