

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.04.006

天麻素通过下调 Nav1.6 通道表达缓解糖尿病神经病理性疼痛的研究 *

聂雨泽¹ 王 燕² 杨 帆² 杨 艳² 孙 薇^{2Δ}

(1 空军军医大学基础医学院 陕西 西安 710038; 2 空军军医大学第二附属医院疼痛生物医学研究所 陕西 西安 710038)

摘要 目的:探究天麻素对 II 型糖尿病神经病理性痛的镇痛作用以及天麻素对背根神经节 Nav1.6 通道的表达调控作用。**方法:**将 60 只雄性 SD 大鼠随机分为空白对照组、糖尿病组和天麻素处理组(10 mg·kg⁻¹·d⁻¹)。通过高脂饮食喂养 4 周,低剂量腹腔注射 STZ (30 mg·kg⁻¹) 的方法构建 II 型糖尿病神经病理性痛大鼠模型,利用痛行为学检测观察各组大鼠的机械刺激足缩反应阈值变化,采用免疫荧光组织化学及 Western blot 方法观察各组大鼠背根神经节上 Nav1.6 通道的表达变化。**结果:**与空白对照组相比,糖尿病模型大鼠出现显著的机械刺激疼痛阈值下降 ($P<0.05$),且模型组大鼠背根神经节神经元上的 Nav1.6 通道表达上调 ($P<0.05$)。与糖尿病组相比,连续腹腔注射天麻素 3 天、7 天、14 天后,模型动物的疼痛明显缓解 ($P<0.05$),另外天麻素可以翻转背根神经节上 Nav1.6 通道的高表达 ($P<0.05$)。**结论:**天麻素可能通过降低 Nav1.6 通道的表达来缓解 II 型糖尿病神经病理性疼痛,从而为天麻素缓解糖尿病神经病理性疼痛提供新的理论依据。

关键词:糖尿病神经病理性疼痛;天麻素;Nav1.6 通道;背根神经节

中图分类号:R-33;R587.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)04-629-05

Gastrodin Alleviated Diabetic Neuropathic Pain via Downregulating the Expression of Nav1.6 in Rats*

NIE Yu-ze¹, WANG Yan², YANG Fan², YANG Yan², SUN Wei^{2Δ}

(1 School of Basic Medicine, Airforce Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

2 Institute for Biomedical Sciences of Pain, Tangdu Hospital, Airforce Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the inhibitory effect of gastrodin on allodynia in diabetic neuropathic pain and its mechanisms. **Methods:** 144 male SD rats were randomly divided into three groups: control group, diabetes group and gastrodin treatment group (10 mg·kg⁻¹·d⁻¹). Type II Diabetic rats were fed high fat diet for 4 weeks and intraperitoneally injected with low-dose streptozotocin (STZ) (30 mg·kg⁻¹). The paw withdrawal mechanical threshold (PWMT) was detected to reflect the pain behavioral changes. The expression of Nav1.6 was observed by immunofluorescence histochemistry and Western blot analysis. **Results:** Compared with control rats, type II diabetic rats showed significant pain sensitization and lower PWMT ($P<0.05$). Upregulated expression of Nav1.6 channel was detected on dorsal root ganglion (DRG) neurons from these painful diabetic rats ($P<0.05$). After continuous injection of gastrodin for 3 days, 7 days and 14 days, the allodynia of diabetic rats was significantly relieved ($P<0.05$). Moreover, gastrodin could reverse the overexpression of Nav1.6 on dorsal root ganglion neurons ($P<0.05$). **Conclusion:** Gastrodin could alleviate diabetic neuropathic pain by downregulating the overexpression of Nav1.6. This research may provide new data for clinical therapy in diabetic neuropathic pain.

Key words: Diabetic neuropathic pain; Gastrodin; Nav1.6 channel; Dorsal root ganglion

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)04-629-05

前言

糖尿病神经病变是糖尿病的主要并发症之一,病变可累及中枢及外周神经系统。有研究证明 I 型和 II 型糖尿病患者中,周围神经病变的比例分别为 66 %和 59 %,这种外周神经病变不但损害了外周神经的胞体还影响了外周神经的自发活动,临

床表现主要为疼痛、感觉异常、自主神经功能紊乱以及运动功能障碍等^[1]。因其病因复杂,目前仍缺少有效的治疗措施。近年来,许多研究发现中药单体在治疗缓解神经病理性疼痛中发挥重要作用。而我们前期的研究发现,天麻素可以明显改善链脲菌素(Streptozocin, STZ)诱导的糖尿病神经病理性疼痛^[2]。

天麻素(Gastrodin, GAS)是一种提取自中草药天麻的单

* 基金项目:唐都医院科技创新发展基金项目(2019QYTS005);陕西省重点研发计划项目(2020SF-164);

唐都医院苗子人才资助计划项目;国家自然科学基金项目(31300919)

作者简介:聂雨泽(1999-),男,本科生,主要研究方向:疼痛生物医学,E-mail: 1365005524@qq.com

Δ 通讯作者:孙薇(1982-),女,博士,讲师,主要研究方向:疼痛的神经机制研究,

E-mail: fmmusunwei@163.com,电话:13991361261

(收稿日期:2020-07-23 接受日期:2020-08-18)

体, 又称对羟基苯甲醇-O- β -D-吡喃葡萄糖苷, 其分子式为 $C_{13}H_{18}O_7$, 分子量为 286.28。天麻素具有多种药理作用, 被广泛应用于临床, 它具有抗惊厥、镇痛、镇静等作用。天麻素可通过抑制小胶质细胞的炎性因子表达、减少谷氨酸堆积、抑制神经元异常放电等发挥神经元的保护作用^[3-5]。然而涉及天麻素缓解神经病理性疼痛的机制研究较少, 我们前期的工作证实天麻素能够通过增大背根神经节(Dorsal root ganglion, DRG)伤害性感受神经元的 A 型钾电流, 降低神经元兴奋性来发挥镇痛作用。但是天麻素是否对 DRG 神经元上其他的兴奋性介质发挥作用仍未可知。因此为了进一步探索 GAS 缓解糖尿病神经病理性疼痛的作用机制, 本研究拟选用高脂饮食辅助 STZ 注射诱导 II 型糖尿病神经病理性痛大鼠模型, 观察 DRG 神经元上 Nav1.6 的表达变化; 模型鼠腹腔注射 GAS, 观察其对动物疼痛阈值的影响以及对 DRG 神经元上 Nav1.6 表达的影响, 为 GAS 缓解糖尿病神经病理性疼痛提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 将 60 只健康成年雄性 SD 大鼠 (空军军医大学实验动物中心提供, 体重 180-200 g), 随机分为 3 组: 空白对照组 (Control 组)、糖尿病组 (Diabetes 组) 和天麻素处理组 (Diabetes + GAS 组)。饲养期间保持动物自由饮食和饮水, 昼夜交替间隔 12 小时。

1.1.2 主要试剂、试药及仪器 链脲菌素 (Sigma, 美国), 兔抗 Nav1.6 抗体 (Alomone, 以色列), 鼠源 anti-NF-200 的一抗 (Sigma, 美国), 山羊抗兔二抗 Cy3、山羊抗小鼠二抗 FITC (Sigma, 美国), 天麻素注射液 (昆明制药厂), Von Frey 机械刺激测试纤维丝 (Ugo, 美国), 冰冻切片机 (Leica, 德国), FV1000 激光共聚焦显微镜 (Olympus, 日本)。

1.2 方法

1.2.1 糖尿病动物模型制备 SD 大鼠给与高糖、高脂饲料 (27% 蔗糖、13% 化猪油、7% 蛋黄粉以及 53% 正常基础饲料) 喂养 4 周后, 给大鼠禁食 24 小时, 之后腹腔注射 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ STZ (避光条件下, 按浓度 1% 溶于冰的 0.1 M 柠檬酸缓冲液, pH=4.2)^[6]。STZ 注射后第 3 天, 取大鼠尾尖血用便携式血糖仪 (罗氏, 美国) 检测血糖, 血糖大于 $16.6\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[7] 即认为是 2 型糖尿病大鼠。随后对这些 II 型糖尿病大鼠进行痛行为学检测, 出现疼痛阈值降低的动物用于后续研究。

本研究将实验用 SD 大鼠随机分为 3 组: Control 组 (对照组)、Diabetes 组 (糖尿病组) 以及 Diabetes + GAS ($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) 组 (处理组)。

1.2.2 机械刺激足缩反应阈值 (Paw withdrawal mechanical threshold, PWMT) 在行为检测前, 动物提前 1 周开始适应实验环境。将一个 $20\text{ cm}\times 20\text{ cm}\times 25\text{ cm}$ 的透明的有机玻璃箱放置于顶部为铁丝网的 30 cm 高的金属架子上, 且将待测大鼠置于箱中。一般大鼠放置 15 分钟后, 开始以不同刺激强度 (1、2、4、6、8、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60 g) 的机械刺激纤维丝 (Von Frey) 刺激大鼠两侧足底, 刺激强度由小到大, 每个强度反复刺激 10 次 (每次间隔 5 秒), 将出现缩足反射 5 次以上的刺激克数定为机械刺激的反映的阈值 (PWMT)。如果 60 g

Von Frey 刺激大鼠足底仍不出现缩足反射, 则认为大鼠无痛反应, 机械刺激阈值 $< 1\text{ g}$ 均以 1 g 计。

1.2.3 免疫荧光组织化学染色 STZ 注射后 7 天, 出现明显的痛觉敏化后, 动物腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉后, 先用生理盐水 300 mL, 及 4% 多聚甲醛 400 mL 灌注。取 L3-L5 的 DRG 先置 4% 多聚甲醛后固定 2 小时, 后放入 30% 蔗糖溶液沉糖。随后冰冻切片 ($12\text{ }\mu\text{m}$) 后, 1% 牛血清封闭, 使用兔源 anti-Nav1.6 的一抗 (Alomone, 以色列, 1:200), 鼠源 anti-NF-200 的一抗 (Sigma, 美国, 1:200), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 小时, 使用山羊抗兔 Cy3, 山羊抗小鼠 FITC 的荧光二抗 (Sigma, 美国, 1:200), 孵育 3 小时, 最后抗荧光淬灭封片剂封片和激光共聚焦显微镜下采集图像, 并用 image J 进行平均光密度值分析。

1.2.4 免疫印迹分析 (Western blot) 新鲜的 DRG 组织加入裂解液, 匀浆, 离心收集上清后进行蛋白定量以确保每个蛋白样品的上样量一致, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 将电泳后的凝胶取出裁好, 同 NC 膜、滤纸按顺序放置在半干转装置中, 之后用 PBST 漂洗, 再用 5% 的脱脂牛奶室温封闭 1 小时, 加 anti-Nav1.6 的一抗 (Alomone, 以色列, 1:400), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜。漂洗后加入二抗, 室温孵育 2 小时, PBST 漂洗, 最后化学发光法显色, 用 image J 对条带进行灰度值分析。

1.2.5 图象分析及数据统计 利用 SPSS 25.0 软件对实验数据进行统计分析, 文中结果用均数 $\pm$ 标准误 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用两样本非配对 t 检验方法。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 高脂饮食糖尿病大鼠出现明显的神经病理性疼痛表现

高脂饮食的大鼠在腹腔注射 STZ 后第 3 天后即可出现血糖增高 (Fig.1 A, $P < 0.05$), 外周血血糖水平达到糖尿病诊断标准, 即大于 $16.6\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 平均血糖 (27.92 ± 1.95) $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。腹腔注射 STZ 3 天后动物双足均陆续出现 PWMT 值下降, STZ 注射后第 7 天 PWMT 趋于稳定, 第 14 天大鼠的双后足仍有明显的痛觉敏化现象 (图 1 B, C, $P < 0.01$)。

2.2 糖尿病大鼠 DRG 神经元的 Nav1.6 通道表达增高

大鼠通过高脂饮食 + STZ 注射诱导 II 型糖尿病, 造模成功后 (7-14 天), 对大鼠的背根神经节进行免疫荧光组织化学染色和 Western blot 分析。免疫反应的强弱用平均光密度值表示, 反应越强平均值越大。与正常对照组相比, 糖尿病组大鼠的背根神经节上 Nav1.6 的平均光密度值明显增高 (图 2 A, B, $0.08 \pm 0.002/\text{pixel}$, $P < 0.01$)。Western blot 结果显示糖尿病组 DRG 上 Nav1.6 的表达水平明显高于对照组 (图 2 C, D, $P < 0.05$)。

2.3 GAS 可以缓解糖尿病神经病理性疼痛

大鼠通过高脂饮食 + STZ 注射诱导 II 型糖尿病, STZ 注射后第 3 天, 筛选出现疼痛敏化的大鼠, 腹腔给予 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的 GAS 注射, 连续注射 7 天, 分别观察 GAS 注射第 3 天、5 天以及 7 天的 PWMT 值。研究发现, GAS 可以有效缓解糖尿病神经病理性疼痛。连续注射 GAS 3 天后, 大鼠双侧后足的 PWMT 明显升高 (图 3 B, C, $P < 0.05$), 给药第 14 天, 大鼠双侧后足的 PWMT 接近正常阈值水平 (图 3 B, C, $P < 0.01$)。而 GAS 对糖尿病大鼠的血糖没有影响 (图 3 A, $P > 0.05$)。

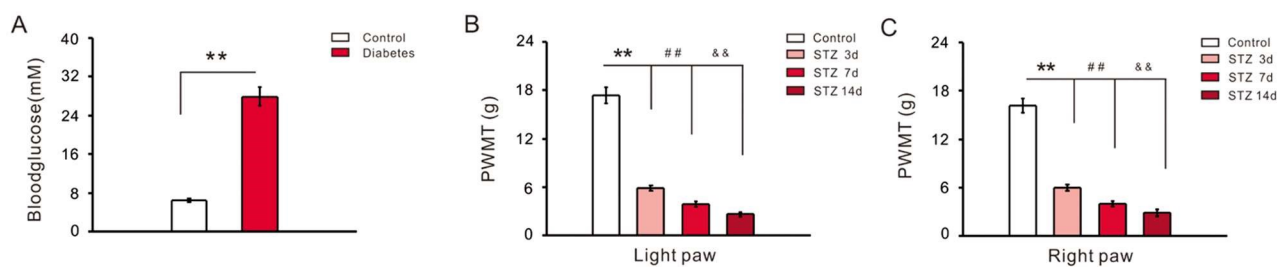


图1 高脂饮食+STZ注射诱导的Ⅱ型糖尿病大鼠血糖升高并出现痛觉敏化现象

Fig.1 Hyperglycemia and allodynia were detected in type II diabetic rats induced by high-fat diet +STZ injection

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$, ** $P < 0.01$, compared between control group ($n=20$) and STZ 3d group ($n=22$); ## $P < 0.001$, compared between control group ($n=20$) and STZ 7d group ($n=22$); && $P < 0.001$, compared between control group ($n=20$) and STZ 14d group ($n=22$).

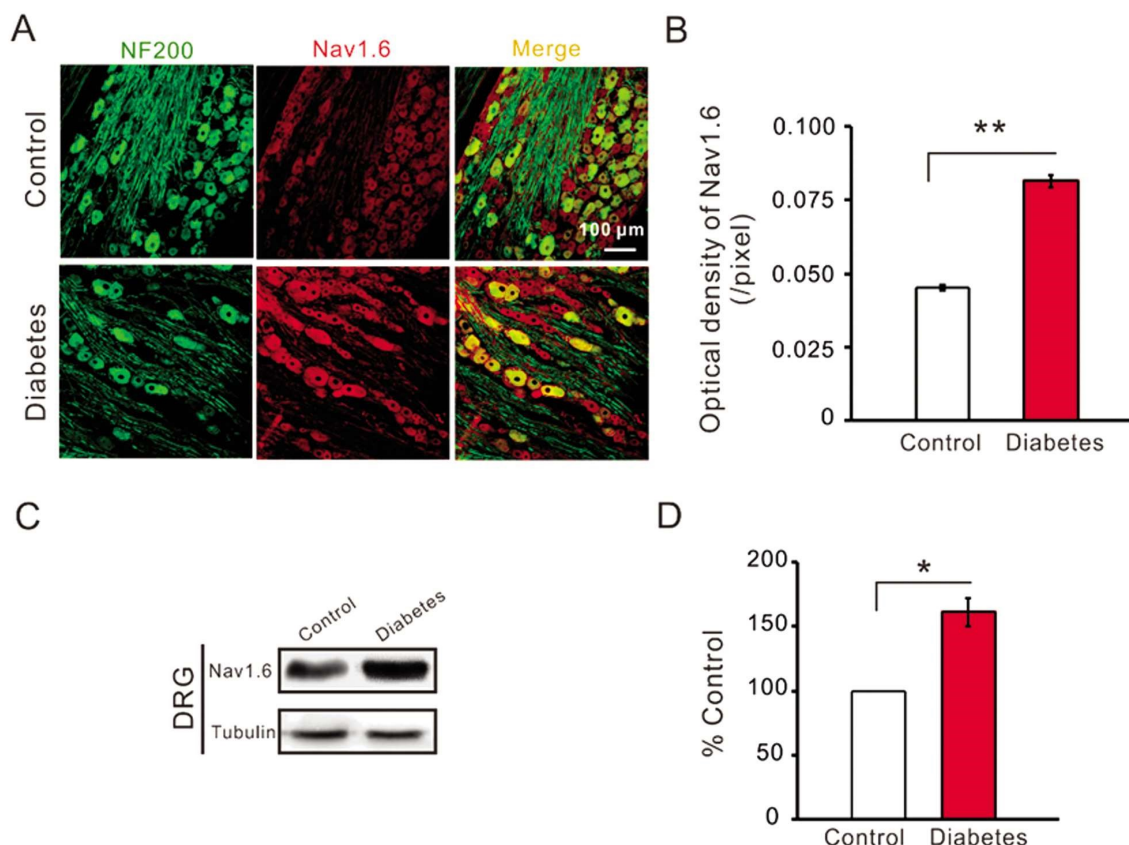


图2 糖尿病神经病理痛组大鼠 DRG 神经元上 Nav1.6 通道表达增高

Fig.2 The expression of Nav1.6 on DRG neurons was increased in diabetic neuropathic pain group

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$, scale bar: 100 μm, ** $P < 0.01$, compared between control group ($n=4$) and diabetes group ($n=4$). * $P < 0.05$, compared between control group ($n=5$) and diabetes group ($n=5$).

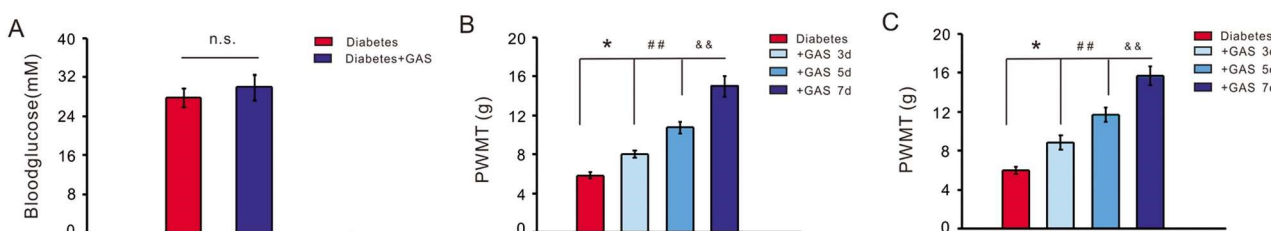


图3 天麻素连续注射3天、7天、14天,糖尿病神经病理痛组大鼠的痛觉敏化明显缓解

Fig.3 After continuous injection of gastrodin for 3 days, 7 days and 14 days, the allodynia of diabetic rats was significantly relieved

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$, * $P < 0.05$, compared between diabetes group ($n=7$) and diabetes + GAS 3d group ($n=7$); ## $P < 0.001$, compared between diabetes group ($n=7$) and diabetes + GAS 7d group ($n=7$); && $P < 0.001$, compared between diabetes group ($n=7$) and diabetes + GAS 14d group ($n=7$).

2.4 GAS 下调糖尿病大鼠 DRG 神经元的 Nav1.6 通道的表达

GAS 注射第7天, 对大鼠的背根神经节进行免疫荧光组

织化学染色。与糖尿病组相比,注射 GAS 的糖尿病大鼠,其背根神经节上 Nav1.6 的平均光密度值明显降低(图 4 A, B, 0.051

± 0.007 / pixel, $P < 0.01$)。提示 GAS 可以抑制糖尿病引起的 Nav1.6 的表达水平明显下降(图 4 C, D, $P < 0.05$) Nav1.6 高表达。Western blot 结果显示天麻素处理组 DRG 上

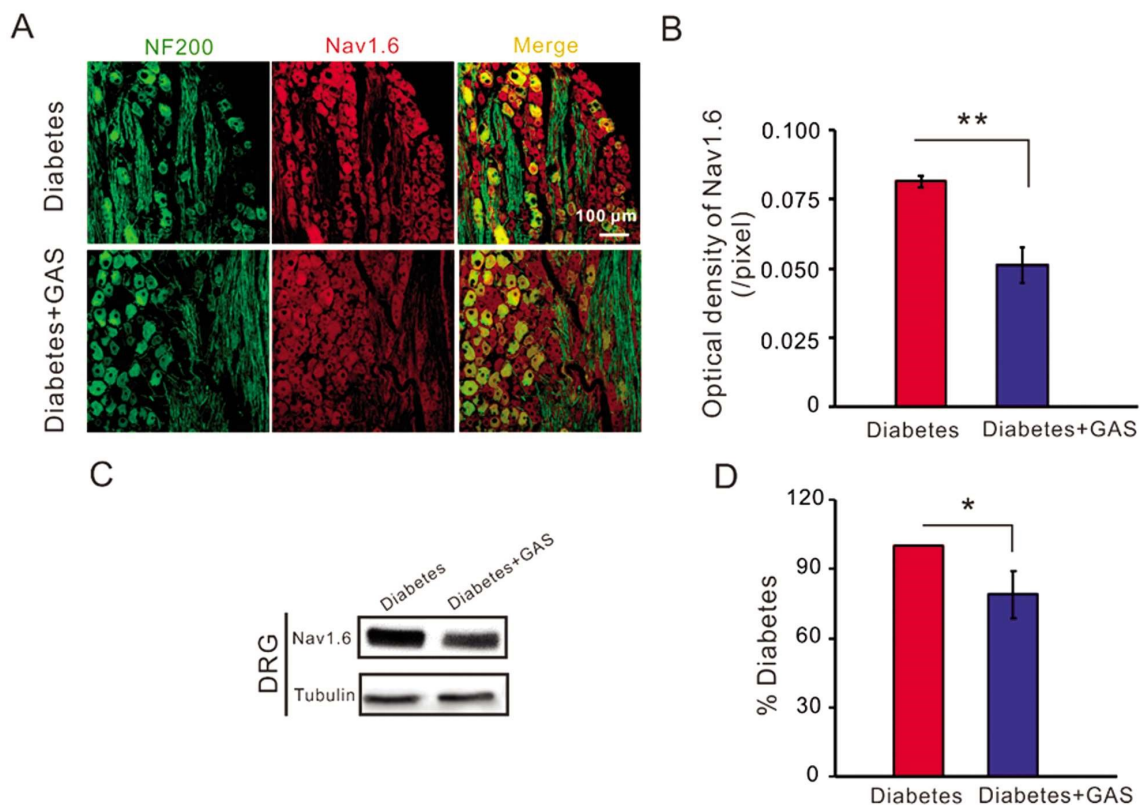


图 4 天麻素能够下调糖尿病神经病理性痛组大鼠 DRG 神经元上 Nav1.6 通道的高表达

Fig.4 Gastrodin could reverse the overexpression of Nav1.6 on diabetic DRG neurons

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm \text{SEM}$, scale bar: 100 μm , ** $P < 0.01$, compared between diabetes group ($n=4$) and diabetes + GAS group ($n=4$).

* $P < 0.05$, compared between diabetes group ($n=5$) and diabetes + GAS group ($n=5$).

3 讨论

糖尿病患者约 40-50 %会出现神经病变, 这种病变可累及中枢及外周神经系统, 其中以外周的更为常见。糖尿病神经病变多表现为疼痛、自主运动功能失常等, 其危害严重、难以根治, 给患者的生活带来巨大的负担^[8]。而糖尿病神经病理性疼痛是糖尿病神经病变的一种常见表型, 其病因复杂, 目前缺少有效的治疗方法, 因此糖尿病神经病理性疼痛的防治以及新的治疗药物的研发将是我们亟待解决的重要问题。

在本研究中通过高脂饮食 + 低剂量 STZ 注射的方法构建动物模型。高糖、高脂喂养大鼠 4 周后, 腹腔注射 STZ (30 mg·kg⁻¹), 注射后 3-14 天, 约 85 % 的大鼠出现高血糖。进一步检测高血糖大鼠对机械刺激的敏感性, 其中 97 % 的高血糖大鼠出现机械刺激感觉异常和痛觉过敏, 这种疼痛一直持续整个测试阶段。上述结果与既往报道相一致^[6,9], 表明高脂饮食 + STZ 诱导的糖尿病动物模型可以成功地模拟了糖尿病神经病理性疼痛的病理生理过程。

糖尿病神经病理性疼痛的发生机制错综复杂, 涉及神经系统的外周敏化、上行传导功能增强、离子通道表达改变以及中枢敏化等多个方面, 既往研究发现在 STZ 诱导的糖尿病神经病理性痛大鼠模型上, DRG 的小直径神经元上的 TTX 不敏感的钠电流^[7]、T 型钙、L 型钙电流增大^[10], 而钙依赖性钾电流、

4-AP 敏感的钾电流以及 TEA 敏感的钾电流减小^[2,11]。发现 db/db 小鼠 (II 型糖尿病模型鼠) 的 DRG 上 Nav1.6 通道表达增高^[12]。我们前期的工作也相继发现糖尿病大鼠模型伤害性神经元上 TTX 敏感的和 TTX 不敏感的持续性钠电流增大, DRG 小细胞及其发出的神经纤维上 Nav1.7 和 Nav1.8 通道表达增高, C 类神经纤维传导速度减慢^[13]。大量研究均已证实, 在糖尿病神经病理性疼痛发生中离子通道也发生改变。因此 DRG 神经元上离子通道的表达变化在疼痛的外周敏化以及疼痛信号的上行传导增强过程中发挥至关重要的作用, 而本研究则聚焦 II 型糖尿病大鼠的神经病理性疼痛, 进一步观察外周神经元上 Nav1.6 通道在疼痛发生过程中的表达变化。

由 SCN8A 编码的 Nav1.6 通道蛋白丰富表达在神经元、轴突起始段和郎飞氏结上^[14]。Nav1.6 是一种对 TTX 敏感的电压依赖性钠离子通道, Nav1.6 在外周神经元以及有髓鞘、无髓鞘的轴突上均有表达, 该通道参与调控机械性感受神经元的兴奋性变化, Nav1.6 通道从失活状态恢复到激活状态的速度较快, 这些特性决定了它在维持较高频率的放电中起到更为关键的作用^[15]。Nav1.6 的基因突变会导致多种神经系统疾病, 如震颤、肌张力障碍、共济失调、过早死亡及癫痫性脑病等^[16,17]。在既往的疼痛研究中, 发现 CFA 诱导的炎性痛模型、背根神经节压迫所致的神经病理性痛模型上 Nav1.6 通道表达均增高; Nav1.6 通道参与重复放电的发生, 在背根神经节压迫所致神经元兴奋

性增高中也发挥重要作用^[18,19]。诸多研究表明上调 Nav1.6 可增加神经兴奋性,参与神经病理性疼痛。而本研究的结果显示在高脂饮食 + STZ 诱导的 II 型糖尿病及神经病理性疼痛情况下,大鼠 DRG 神经元上 Nav1.6 通道的表达显著增高。

越来越多的研究发现中药单体在缓解神经病理性疼痛中发挥作用。有研究发现左旋延胡索乙素可以通过双向调控多巴胺受体缓解神经损伤所致的神经病理性疼痛及慢性炎性痛^[20,21]。丹参酮 II A 可通过调节内质网应激通路影响糖尿病神经病理性疼痛^[22];此外,我们前期的研究也发现 GAS 对糖尿病神经病理性疼痛具有明显的镇痛作用,且呈剂量依赖性,其半数有效剂量 EC₅₀ 为 7.87±0.18 mg;这种镇痛作用可能基于 GAS 降低糖尿病诱发的神经元的高频放电,增大辣椒素 (capsaicin) 阳性细胞的 A 型钾电流,减小瞬时性钠电流产生^[2]。本研究在前期工作的基础上进一步观察了 GAS 对 II 型糖尿病神经病理性痛大鼠 DRG 上 Nav1.6 通道表达的影响。

天麻素是中草药天麻的主要有效成份,它在神经保护方面发挥着重要的作用。天麻素具有多种药理学作用,有研究显示在中枢神经系统短暂的局灶性脑缺血时,GAS 可以通过减少谷氨酸积累发挥神经保护作用;可通过抑制小胶质细胞的炎性因子表达来发挥抗炎作用;另外,GAS 能够改善学习记忆,GAS 通过促进 mPFC 神经元自噬,增加 Beclin-1、LC3-I、LC3-II、Bax 蛋白的表达来提高大鼠空间记忆能力,从而有效治疗创伤后应激障碍引起的记忆及情感障碍^[23-26]。在脑缺血再灌注小鼠模型上,GAS 对海马新生神经元具有保护作用^[27];此外,GAS 能够通过调控 Wnt/Nrf2 通路发挥抗氧化、抗炎和抗凋亡等的神经保护作用^[28];在外周神经损伤模型上,GAS 可通过抑制背根神经节的 p-ERK1/2 通路激活以减轻 CCI 模型大鼠的神经病理性痛^[29];天麻素注射液联合甲钴胺治疗后能缓解糖尿病患者的外周神经病变^[30]。为了进一步阐释 GAS 对外周神经病理性疼痛的作用机制,本研究进一步观察了 GAS 对 II 型糖尿病神经病理性痛大鼠 DRG 上 Nav1.6 通道表达的影响,发现 GAS 可以明显的下调糖尿病模型组 DRG 神经元上 Nav1.6 通道的高表达,并缓解糖尿病神经病理性疼痛。

综上所述,本研究以高脂饮食 + STZ 注射诱导的 II 型糖尿病神经病理性痛为切入点,发现绝大多数的模型动物出现了明显的机械刺激痛觉敏化,病变引起大鼠背根神经节细胞上 Nav1.6 通道表达增高。而天麻素可以明显缓解糖尿病神经病理性疼痛,这种镇痛作用可能是通过翻转 Nav1.6 通道的过表达产生。上述研究结果表明,天麻素可能通过抑制 Nav1.6 通道表达缓解糖尿病神经病理性疼痛,从而为糖尿病神经病理性疼痛的治疗提供新的理论支持。

参考文献(References)

- [1] Tracy J A, Dyck P J. The spectrum of diabetic neuropathies [J]. Phys Med Rehabil Clin N Am, 2008, 19(1): 1-26
- [2] Sun W, Miao B, Wang X C, et al. Gastrodin inhibits allodynia and hyperalgesia in painful diabetic neuropathy rats by decreasing excitability of nociceptive primary sensory neurons [J]. PLoS One, 2012, 7(6): e39647
- [3] 夏烈新,陈立铭,彭晓艳,等.天麻素对癫痫大鼠海马神经元 IL-1 β 、TNF- α 及 IL-10 的影响 [J]. 临床神经病学杂志, 2017, 30(03): 209-212
- [4] 张枫戈,洪仕君,赵丽萍,等.天麻素对神经系统保护作用及其机制的研究进展[J]. 河南科技大学学报(医学版), 2019, 37(03): 236-240
- [5] 田慧,张丹参.天麻素神经保护机制的研究进展 [J]. 神经药理学报, 2013, 3(05): 58-64
- [6] 桑延霞,张军民.膳食联合 STZ 诱导胰岛胰岛素抵抗的 2 型糖尿病大鼠模型的建立[J]. 广东药科大学学报, 2019, 35(06): 789-792
- [7] Hong S, Morrow T J, Paulson P E, et al. Early Painful Diabetic Neuropathy Is Associated with Differential Changes in Tetrodotoxin-sensitive and -resistant Sodium Channels in Dorsal Root Ganglion Neurons in the Rat [J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(28): 29341-29350
- [8] Sloan G, Shillo P, Selvarajah D, et al. A new look at painful diabetic neuropathy[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 144: 177-191
- [9] Kumar N P, Annamalai A R, Thakur R S. Antinociceptive property of Emblica officinalis Gaertn (Amla) in high fat diet-fed/low dose streptozotocin induced diabetic neuropathy in rats [J]. Indian J Exp Biol, 2009, 47(9): 737-742
- [10] Jagodic M M, Pathirathna S, Nelson M T, et al. Cell-specific alterations of T-type calcium current in painful diabetic neuropathy enhance excitability of sensory neurons [J]. J Neurosci, 2007, 27(12): 3305-3316
- [11] Cao X H, Byun H S, Chen S R, et al. Reduction in voltage-gated K⁺ channel activity in primary sensory neurons in painful diabetic neuropathy: role of brain-derived neurotrophic factor [J]. J Neurochem, 2010, 114(5): 1460-1475
- [12] Ren Y S, Qian N S, Tang Y, et al. Sodium channel Nav1.6 is up-regulated in the dorsal root ganglia in a mouse model of type 2 diabetes[J]. Brain Res Bull, 2012, 87(2-3): 244-249
- [13] Sun W, Miao B, Wang X C, et al. Reduced conduction failure of the main axon of polymodal nociceptive C-fibres contributes to painful diabetic neuropathy in rats[J]. Brain, 2012, 135(Pt 2): 359-375
- [14] Tzoumaka E, Tischler A C, Sangameswaran L, et al. Differential distribution of the tetrodotoxin-sensitive rPN4/NaCh6/Scn8a sodium channel in the nervous system[J]. J Neurosci Res, 2000, 60(1): 37-44
- [15] Bennett D L, Clark A J, Huang J, et al. The Role of Voltage-Gated Sodium Channels in Pain Signaling [J]. Physiol Rev, 2019, 99(2): 1079-1151
- [16] Wagnon J L, Barker B S, Ottolini M, et al. Loss-of-function variants of SCN8A in intellectual disability without seizures[J]. Neurol Genet, 2017, 3(4): e170
- [17] Meisler M H, Helman G, Hammer M F, et al. SCN8A encephalopathy: Research progress and prospects [J]. Epilepsia, 2016, 57(7): 1027-1035
- [18] Fukuoka T, Kobayashi K, Noguchi K. Laminae-specific distribution of alpha-subunits of voltage-gated sodium channels in the adult rat spinal cord[J]. Neuroscience, 2010, 169(3): 994-1006
- [19] Xie W, Zhang J, Strong J A, et al. Role of Nav1.6 and Navbeta4 Sodium Channel Subunits in a Rat Model of Low Back Pain Induced by Compression of the Dorsal Root Ganglia [J]. Neuroscience, 2019, 402: 51-65
- [20] Zhou H H, Wu D L, Gao L Y, et al. L-Tetrahydropalmatine alleviates mechanical hyperalgesia in models of chronic inflammatory and neuropathic pain in mice[J]. Neuroreport, 2016, 27(7): 476-480

- and Kupffer cell in immune regulation after orthotopic liver transplantation in rats[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, (48): 8-16
- [9] Y. Feng, Z. Han, Z. Feng, et al. Approaching treatment for immunological rejection of living-donor liver transplantation in rats [J]. *BMC Gastroenterology*, 2020, 20(1)[Epub ahead of print]
- [10] X. Chen, Q. Yang, X. Li, et al. Inhibition of autophagy prolongs recipient survival through accelerating CD8⁺T-cell apoptosis in a rat liver transplantation model[J]. *Journal of Hepatology*, 2019, 70(1): e829
- [11] S. Lee, A.C. Charters, J. Chandler, et al. A technique for orthotopic liver transplantation in the rat [J]. *Transplantation*, 1973, 16 (6): 664-669
- [12] N. Kamada, R.Y. Calne. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage [J]. *Transplantation*, 1979, 28(1): 47-50
- [13] 许勇刚, 翁明哲, 张金彦, 等. 单人建立大鼠原位肝移植模型的手术体会[J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(16): 3026-3028, 3044
- [14] 陈强星, 李坤, 孔伟浩, 等. 单人直视下改良建立大鼠原位肝移植模型[J]. *中华肝脏外科手术学电子杂志*, 2017, 6(2): 127-133
- [15] 李善宝, 李蕾, 宋方彬, 等. 单人直视下改良建立大鼠原位肝移植模型的体会[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(14): 2601-2605, 2636
- [16] G.A.-O. Oldani, A. Peloso, F. Slits, et al. The impact of short-term machine perfusion on the risk of cancer recurrence after rat liver transplantation with donors after circulatory death [J]. *PLoS One*, 2019, 25;14(11): e0224890
- [17] G. Ren, X. Yuan, X. Zhao, et al. Characterization and evolution of intestine injury at the anhepatic phase in portal hypertensive rats[J]. *Exp Ther Med*, 2018 16(6): 4765-4771(1792-0981 (Print))
- [18] Y. Harihara, K. Sanjo, Y. Idezuki. A modified cuff technique for suprahepatic vena cava anastomosis in rat liver transplantation [J]. *Transplantation*, 1992, 53(3): 707-709
- [19] F. Tan, Y. Chen Z Fau - Zhao, T. Zhao Y Fau - Liang, et al. Novel technique for suprahepatic vena cava reconstruction in rat orthotopic liver transplantation[J]. *Microsurgery*, 2005, 25(7): 556-560
- [20] L. Yang, J. Lu, Y. Wang, et al. A Rat Model of Orthotopic Liver Transplantation Using a Novel Magnetic Anastomosis Technique for Suprahepatic Vena Cava Reconstruction. [J]. *J Vis Exp*, 2018 19; (133): 56933
- [21] H. Wang, J. Li C Fau - Hu, H. Hu J Fau - Xu, et al. Effect of different suprahepatic vena cava reconstruction methods on the hemodynamics of rats after liver transplantation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e72695
- [22] Y. Shi, W. Zhang, Y. Deng, et al. Magnetic ring anastomosis of suprahepatic vena cava: novel technique for liver transplantation in rat[J]. *Transpl Int*, 2015, 28(1): 89-94
- [23] S. Wolfensohn. A review of the contributions of cross-discipline collaborative European IMI/EFPIA research projects to the development of Replacement, Reduction and Refinement strategies [J]. *Altern Lab Anim*, 2018, 46(2): 91-102
- [24] Sneddon., L. Auid-Orcid., L.G. Halsey, et al. Considering aspects of the 3Rs principles within experimental animal biology[J]. *J Exp Biol*, 2017, 220 (Pt 17): 3007-3016
- [25] H. Combrisson. Animal experiment, can we replace? [J]. *Transfus Clin Biol*, 2017, 24(3): 93-95

(上接第 633 页)

- [21] Liu Y Y, Wang T X, Zhou J C, et al. Dopamine D1 and D2 receptors mediate analgesic and hypnotic effects of l-tetrahydropalmatine in a mouse neuropathic pain model[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2019, 236(11): 3169-3182
- [22] Kong D, Guo Z, Yang W, et al. Tanshinone II A Affects Diabetic Peripheral Neuropathic Pain via Spinal Dorsal Horn Neuronal Circuitry by Modulating Endoplasmic Reticulum Stress Pathways[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2020, 128(1): 59-65
- [23] 孟德姣, 黄玲, 何慧敏, 等. 天麻素抑制脂多糖诱导的 BV-2 小胶质细胞炎症反应及机制研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(06): 1020-1023
- [24] Deng C K, Mu Z H, Miao Y H, et al. Gastrodin Ameliorates Motor Learning Deficits Through Preserving Cerebellar Long-Term Depression Pathways in Diabetic Rats[J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1239
- [25] Chen L, Liu X, Wang H, et al. Gastrodin Attenuates Pentylentetrazole-Induced Seizures by Modulating the Mitogen-Activated Protein Kinase-Associated Inflammatory Responses in Mice [J]. *Neurosci Bull*, 2017, 33(3): 264-272
- [26] Lei X, Yuan Y, Zou Q. The role and mechanism of gastrodin in the medial prefrontal cortex autophagy of PTSD rats [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13(5): 989-994
- [27] 何珊珊, 李锐, 吴迪, 等. 天麻素对脑缺血再灌注小鼠海马新生神经元的保护作用[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(32): 6241-6244
- [28] Liu C M, Tian Z K, Zhang Y J, et al. Effects of Gastrodin against Lead-Induced Brain Injury in Mice Associated with the Wnt/Nrf2 Pathway[J]. *Nutrients*, 2020, 12(6): 1805
- [29] 徐敏, 刘勇军, 闵闯, 等. 天麻素对神经病理性疼痛大鼠的镇痛作用及其机制研究[J]. *临床医学工程*, 2014, 21(07): 837-839
- [30] 褚国锋. 天麻素注射液与甲钴胺联合治疗糖尿病周围神经病变的临床疗效[J]. *内蒙古中医药*, 2016, 35(15): 81