

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.35.002
文章编号: 1005-8982 (2018) 35-0006-06

CCL3 对大鼠糖尿病神经病理性疼痛的影响 *

彭志锋, 刘颖, 李晨旭

(山西大同大学医学院 生理教研室, 山西 大同 037009)

摘要: 目的 探讨脊髓趋化因子配体 3 (CCL3) 在链脲佐菌素 (STZ) 诱导大鼠糖尿病神经病理性疼痛模型中的作用。**方法** 将 SD 大鼠随机分成对照组和 STZ 组。STZ 组进一步分为 CCL3 组、IgG2A 组, 以及 A438079 组、PBS 组, STZ 注射前 1 d 经鞘内注射 CCL3 和 A438079, 1 次/d, 持续 7 d。采用免疫组织化学法检测大鼠脊髓背角 (SDH) Iba1 的表达, 实时荧光定量聚合酶链反应检测 CCL3 及其受体 CCR1、CCR5 和 P2X7R mRNA 表达水平, von Frey 细丝法测定大鼠机械痛阈值。**结果** 大鼠腹腔注射 STZ 后机械刺激痛阈降低 ($P < 0.05$)。大鼠 SDH 小胶质细胞数量增加 ($P < 0.05$)。与此同时, STZ 组大鼠 SDH 中 CCL3、CCR5 mRNA 表达增加 ($P < 0.05$)。鞘内注射 CCL3 中和抗体能减轻 STZ 诱导的大鼠机械性痛觉过敏 ($P < 0.05$)。P2X7R 选择性拮抗剂 A438079 能缓解 STZ 所致痛觉过敏 ($P < 0.05$)。**结论** 大鼠 SDH 中 CCL3 和 P2X7R 有助于 STZ 诱导的痛觉过敏。

关键词: 糖尿病; 疼痛; 神经病学表现; 疾病模型, 动物; 链脲佐菌素; 趋化因子配体 3

中图分类号: R364

文献标识码: A

Influence of chemokine CCL3 in spinal cord on diabetic neuropathic pain in rats*

Zhi-feng Peng, Ying Liu, Chen-xu Li

(Department of Physiology, School of Medicine, Shanxi Datong University,
Datong, Shanxi 037009, China)

Abstract: Objective To investigate the role of C-C motif chemokine ligand 3 (CCL3) in streptozotocin (STZ)-induced diabetic neuropathic pain in rats. **Methods** Sprague-Dawley rats were randomly divided into a control group and an STZ group. The rats in the STZ group were injected intraperitoneally with STZ and those in the control group were injected with the same amount of normal saline. The STZ group was further divided into CCL3, IgG2A, A438079 [selective antagonist of purinoceptor P2X7 (P2X7R)] and PBS subgroups; and CCL3, IgG2A, A438079 and PBS were injected intrathecally into the corresponding subgroups once a day from the day before STZ injection for 7 consecutive days. The expression of Iba1 after STZ administration in the spinal dorsal horn (SDH) was detected by immunohistochemistry. The expressions of CCL3, chemokine receptor CCR5 and P2X7R mRNAs were evaluated by qRT-PCR. Mechanical withdrawal threshold was measured after STZ administration by von Frey filament test. **Results** In the STZ group there was a remarkable decrease in paw withdrawal threshold in response to mechanical stimulation ($P < 0.05$), and a significantly increased number of microglia in the SDH ($P < 0.05$). Meanwhile, STZ-treated rats showed a significant increase in the expressions of CCL3 and CCR5 mRNAs in the SDH ($P < 0.05$). Intrathecal administration of the CCL3-neutralizing antibody attenuated the development of STZ-induced mechanical allodynia ($P < 0.05$). A438079 had preventive effect on STZ-induced allodynia ($P < 0.05$). **Conclusions** Our findings suggest a contribution of CCL3 and P2X7R in the SDH to STZ-induced allodynia.

Keywords: diabetes; neuralgia; disease models, animal; streptozotocin; C-C motif chemokine ligand 3

收稿日期: 2018-06-09

* 基金项目: 山西省基础研究项目 (No: 2015021178); 山西大同大学博士科研启动经费 (No: 2014-B-01)

糖尿病神经病理性疼痛是糖尿病常见并发症^[1]。许多证据表明,脊髓背角(spinal dorsal horn, SDH)小胶质细胞激活在病理性疼痛中发挥重要作用^[2-3]。以往研究表明,在脊髓神经损伤模型中小胶质细胞合成和释放趋化因子配体 3(CC-chemokine ligand 3, CCL3)有助于诱导机械异常性疼痛^[4]。大鼠鞘内注射 CCL3 可产生机械痛觉过敏^[5]。CCL3 也可激活其同源受体 CCR5 和 CCR1,鞘内注射 CCR5 拮抗剂可减轻外周神经损伤引起的疼痛过敏^[5]。此外,嘌呤 P2X7 受体(purinoreceptor P2X7 receptors, P2X7R)的表达也可促进 SDH 小胶质细胞释放 CCL3^[6]。然而,脊髓 CCL3 和 P2X7R 在糖尿病神经病理性疼痛模型中的作用未见相关报道。因此,本研究目的是探讨脊髓 CCL3 和 P2X7R 在链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导大鼠糖尿病神经病理性疼痛中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 雄性 SD 大鼠,体重 180 ~ 200 g,购于山西医科大学实验动物中心,动物许可证号:SCXK(晋)2009 ~ 0001。室内温度保持在 25℃左右,湿度约为 50%。12 h 昼/夜循环照明,自由饮水和进食。将 SD 大鼠随机分成对照组和 STZ 组,每组 25 只。根据鞘内注射药物将 STZ 组进一步分为 CCL3 组、IgG2A,以及 A438079 组、PBS 组,每组 5 只。实验前各组大鼠体重、空腹血糖和缩足阈值(paw withdrawal threshold, PWT)比较,差异无统计学意义,具有可比性。

1.1.2 实验仪器和试剂 冷冻切片机(德国 Leica 公司, SM2010), STZ、A438079(P2X7R 拮抗剂)、抗兔 Alexa Fluor 488 购自美国 Sigma 公司, Iba1 抗体(美国 Millipore 公司), CCL3 中和抗体、IgG2A 购自南京多瑞斯科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 大鼠糖尿病模型的复制 用生理盐水配置成 2% STZ,大鼠腹腔单次注射 65 mg/kg STZ^[7]。检测 STZ 腹腔注射 1 周后大鼠尾静脉空腹葡萄糖水平及 1 个月体重变化,对糖尿病发病进行评估。糖尿病大鼠只有空腹血糖浓度 >240 mg/dl 才可用于研究。测空腹血糖前大鼠禁食 12 h,不禁水。对照组大鼠腹腔注射等量生理盐水。

1.2.2 大鼠鞘内插管 采用 1% 戊巴比妥钠(0.06 g/kg)腹腔注射麻醉大鼠,颈后部剪毛、消毒,在两耳连线中央做纵向切口,暴露枕骨寰枕膜,插入 10 号 PE 管

约 6 ~ 7 cm 至蛛网膜下池后固定。术后腹腔注射青霉素钠(8 × 10⁵ u/d),预防感染。STZ 注射前 1 d 通过鞘内注射 CCL3 中和抗体(4 ng/10 μl, 10 μl)或对照 IgG2A,以及 A438079(1 μg/10 μl, 10 μl)或对照 PBS,1 次/d,持续 7 d。

1.2.3 免疫荧光 采用 10% 水合氯醛(150 ~ 200 mg/kg)麻醉大鼠, PBS 心脏灌注,将大鼠腰段脊髓 L5 部分取出,在 4% 多聚甲醛中过夜固定,在 4℃ 冰箱内通过 20% 和 30% 蔗糖溶液脱水,直至标本沉底。用 OCT 包埋脱水的标本,冷冻切片机切片厚约 20 μm。用 30 ml 甲醛、10 ml PBS、500 μl 30% H₂O₂ 封闭 10 min,去除组织中内源性过氧化物酶。兔源多克隆 Iba1 抗体(1 : 1000)室温下孵育 24 h, PBS 洗净后加入荧光标记二抗 Alexa Fluor 488,室温孵育 1 h。采用荧光显微镜(日本奥林巴斯公司, SZ61GFP-D)计数 SDH 中 Iba1 阳性细胞数。

1.2.4 行为学观察 模型复制前,以及复制后 1、3、5、7、14 和 21 d 对大鼠进行 PWT 测定。在行为学测试前,所有动物适应实验室 ≥ 2 h。采用 1.0 ~ 15.0 g von Frey 细丝垂直刺激大鼠后足中央处,持续 5 ~ 10 s,出现明显缩足、舔足及抬足行为为阳性反应,结果重复 3 次,每次间隔 5 min。

1.2.5 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 通过 RNA 提取试剂盒提取大鼠腰段脊髓 L5 背角总 RNA,进行逆转录反应(RNA 样品 14 μl,反应缓冲液 4 μl,酶混合物 2 μl),使用基因特异性引物进行 qRT-PCR 扩增(稀释 cDNA 模板 8 μl, PCR 引物 2 μl, SYBR[®] 绿化染料 10 μl),引物序列见表 1。通过分析软件计算目的基因 Ct,以 GAPDH 为内参;按照文献[8]计算相对基因表达量 = 2^{-(ΔCt_{样品} - ΔCt_{对照})}。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	长度 /bp
Iba1	正向: GATTTCAGGGAGGAAAAGCT	194
	反向: AACCCCAAGTTTCTCCAGCAT	
CCL3	正向: CCACTGCCCTTGCTGTCTCT	135
	反向: GCAAAGCTGCTGTTTCAA	
CCR1	正向: CTAAGATGGCTAGGGCCCAAAT	223
	反向: TCCTGAGGGCCCAACTGTCA	
CCR5	正向: GACCGGTATAGACTGAGCTTAC	242
	反向: ACTCTTGGGATGACACACTGCTGCCTC	
P2XR7	正向: CATGGAAAAGCCGACATTGA	198
	反向: CCACTGCCAAAACCAGGAT	

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组比较用 *t* 检验, 多组比较用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 进一步两两比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 糖尿病模型复制成功

2.1.1 血糖 对照组大鼠血糖 (80 ± 10.5) mg/dl, STZ 腹腔注射 1 周后, 血糖水平增加至 (250.0 ± 30.8) mg/dl, 经 *t* 检验, 差异有统计学意义 ($t = 8.361$, $P = 0.006$)。

2.1.2 体重 饲养 1 个月后, 对照组大鼠体重 (300 ± 40.5) g, STZ 组 (260.0 ± 35.2) g, 经 *t* 检验, 差异有统计学意义 ($t = 4.834$, $P = 0.032$), STZ 组大鼠体重减轻。

2.2 STZ 诱导大鼠 SDH 小胶质细胞激活

生理盐水和 STZ 腹腔注射后 7、14 和 21 d 比较大鼠 PWT, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的 PWT 有差别 ($F = 17.058$, $P = 0.003$); ②对照组与 STZ 组的 PWT 有差别 ($F = 30.735$, $P = 0.000$), 对照组较 STZ 组的 PWT 高。③两组 PWT 变化趋势有差别 ($F = 14.637$, $P = 0.002$)。见表 2 和图 1。

表 2 两组大鼠各时间点 PWT 比较 ($n = 25$, g , $\bar{x} \pm s$)

组别	0 d	7 d	14 d	21 d
对照组	15.0 ± 0.0	10.5 ± 1.2	13.8 ± 0.7	13.0 ± 1.1
STZ 组	15.0 ± 0.0	3.0 ± 0.4	3.9 ± 0.3	7.0 ± 1.4

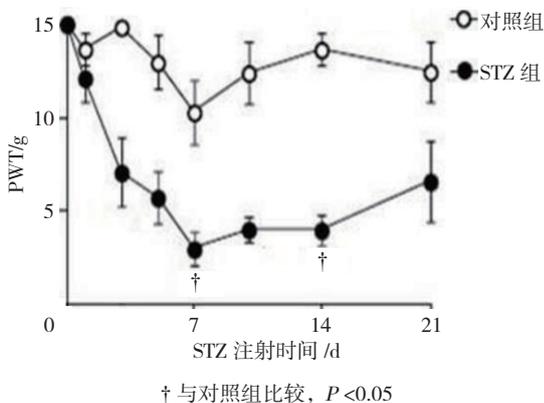


图 1 两组大鼠 PWT 的变化趋势 ($n = 25$, $\bar{x} \pm s$)

对照组大鼠 SDH 中 Iba1 阳性小胶质细胞数 (200.0 ± 10.5) 个; STZ 处理后 1、7 和 14 d 的 Iba1 阳性小胶质细胞数分别为 (194.0 ± 3.0)、(400.0 ± 23.0) 和 (300.0 ± 16.8) 个, 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 16.428$, $P = 0.002$)。进一步两两比较经 LSD-*t* 检验, 与对照组相比, STZ 处理后 7 和 14 d 的 Iba1 阳性小胶质细胞数增加 ($P < 0.05$)。见图 2、3。

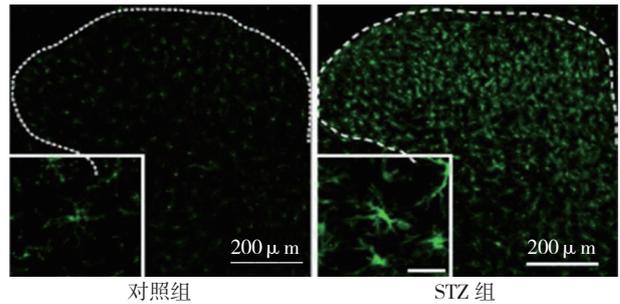
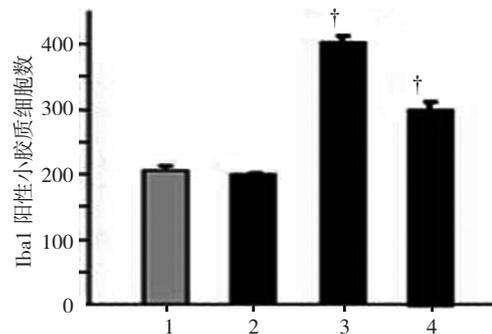


图 2 STZ 处理后大鼠 SDH 中的小胶质细胞 (免疫荧光)



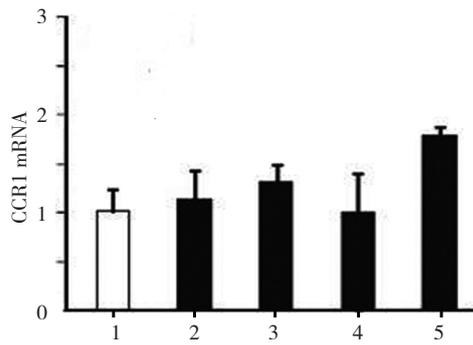
1: 对照组; 2: STZ 组注射后 1 d 天; 3: STZ 组注射后 7 d; 4: STZ 组注射后 14 d。† 与对照组比较, $P < 0.05$

图 3 各组大鼠 Iba1 阳性小胶质细胞数比较 ($n = 25$, $\bar{x} \pm s$)

2.3 CCR1、CCL3 和 CCR5 mRNA 表达的变化

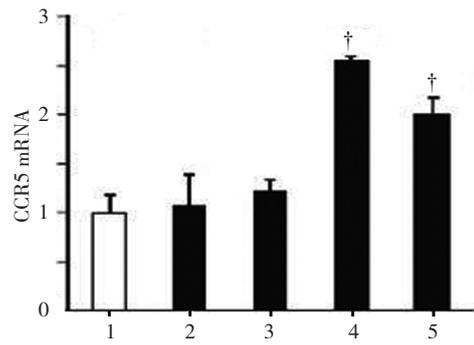
2.3.1 CCR1 mRNA 对照组大鼠 SDH 中 CCR1 mRNA 相对表达量为 (1.0 ± 0.3); STZ 处理 1、3、7 和 14 d 后大鼠 CCR1 mRNA 相对表达量分别为 (1.2 ± 0.5)、(1.4 ± 0.3)、(0.9 ± 0.5) 和 (1.6 ± 0.1), 经单因素方差分析, 差异无统计学意义 ($F = 3.538$, $P = 0.087$)。见图 4。

2.3.2 CCL3 mRNA 对照组大鼠 SDH 中 CCL3 mRNA 相对表达量为 (1.0 ± 0.5); STZ 处理 0、3、7 和 14 天后大鼠 CCL3 mRNA 相对表达量分别为 (1.1 ± 1.3)、(4.0 ± 1.6)、(16.0 ± 1.4) 和 (9.0 ± 0.9), 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 19.846$, $P = 0.000$)。进一步两两比较经 LSD-*t* 检验, 与对照组相比, STZ 处理 7 和 14 天后大鼠 CCL3 mRNA 表达水平升高 ($P < 0.05$)。见图 5。



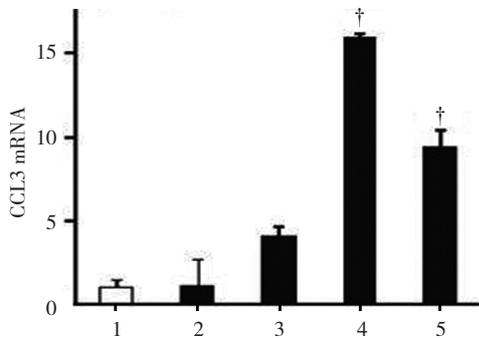
1: 对照组; 2: STZ 组注射后 1 d; 3: STZ 组注射后 3 d; 4: STZ 组注射后 7 d; 5: STZ 组注射后 14 d

图 4 各组大鼠 CCR1 mRNA 表达水平比较
($n=25, \bar{x} \pm s$)



1: 对照组; 2: STZ 组注射后 1 d; 3: STZ 组注射后 3 d; 4: STZ 组注射后 7 d; 5: STZ 组注射后 14 d. † 与对照组比较, $P < 0.05$

图 6 各组大鼠 CCR5 mRNA 表达水平比较
($n=25, \bar{x} \pm s$)



1: 对照组; 2: STZ 组注射后 1 d; 3: STZ 组注射后 3 d; 4: STZ 组注射后 7 d; 5: STZ 组注射后 14 d. † 与对照组比较, $P < 0.05$

图 5 各组大鼠 CCL3 mRNA 表达水平比较
($n=25, \bar{x} \pm s$)

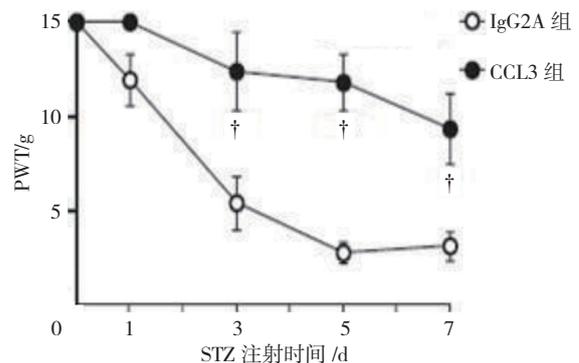
2.3.3 CCR5 mRNA 对照组大鼠 SDH 中 CCR5 mRNA 相对表达量为 (1.0 ± 0.2) ; STZ 处理 1、3、7 和 14 d 后大鼠 CCR5 mRNA 相对表达量分别为 (1.1 ± 0.4) 、 (1.3 ± 0.2) 、 (2.5 ± 0.1) 和 (2.0 ± 0.2) , 经单因素方差分析, 差异有统计学意义 ($F=12.052, P=0.008$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, 与对照组相比, STZ 处理 7 和 14 d 后大鼠 CCR5 mRNA 表达水平升高 ($P < 0.05$)。见图 6。

2.4 CCL3 抗体对 STZ 处理大鼠 PWT 的影响

CCL3 与 IgG2A 鞘内注射后第 0、1、3、5 和 7 天大鼠 PWT 比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的 PWT 有差别 ($F=18.735, P=0.001$); ②两组大鼠 PWT 有差别 ($F=35.836, P=0.000$), CCL3 组较 IgG2A 组的 PWT 高; ③两组 PWT 变化趋势有差别 ($F=16.952, P=0.001$)。见表 3 和图 7。

表 3 IgG2A 组和 CCL3 组大鼠不同时间点的 PWT 比较
($n=5, g, \bar{x} \pm s$)

组别	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d
IgG2A 组	15.0 ± 0.0	12.2 ± 1.4	6.0 ± 1.3	2.6 ± 0.1	10.3 ± 1.5
CCL3 组	15.0 ± 0.0	15.3 ± 0.0	12.5 ± 2.0	5.4 ± 1.2	9.6 ± 0.4



† 与对照组比较, $P < 0.05$

图 7 IgG2A 组和 CCL3 组大鼠 PWT 的变化趋势
($n=25, \bar{x} \pm s$)

2.5 P2X7R 在 STZ 诱导机械性痛觉过敏中的作用

qRT-PCR 结果显示, STZ 处理 7 d 后大鼠 SDH 中 P2X7R mRNA 相对表达量为 (2.2 ± 0.5) , 而对照组为 (1.0 ± 0.1) , 经 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=9.752, P=0.005$), STZ 组大鼠 P2X7R mRNA 表达水平升高。见图 8。

A438079 与 PBS 处理 0、1、3、5 和 7 d 后测量大鼠 PWT 比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点间 PWT 有差别 ($F=20.560, P=0.001$); ②两组大鼠 PWT 有差别 ($F=40.821, P=0.000$), A438079 组较对照组 PWT 值高; ③两组大鼠 PWT 变化趋势有差别 ($F=14.752, P=0.001$)。见表 4 和图 9。

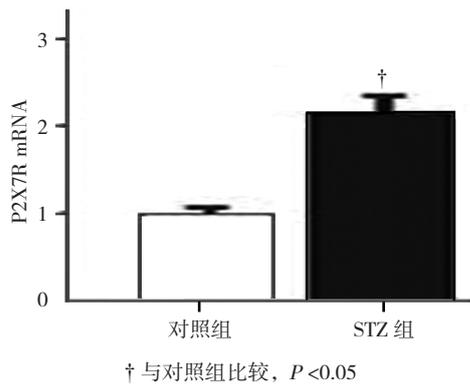


图 8 各组大鼠 P2X7R mRNA 表达水平比较
($n=25$, $\bar{x} \pm s$)

表 4 PBS 组和 A438079 组大鼠不同时间点的 PWT 比较
($n=5$, g , $\bar{x} \pm s$)

组别	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d
PBS 组	14.0 ± 0.0	12.1 ± 0.0	7.3 ± 0.3	5.4 ± 0.5	2.5 ± 0.0
A438079 组	15.0 ± 0.0	14.0 ± 0.0	14.0 ± 0.1	12.0 ± 0.8	11.3 ± 0.7

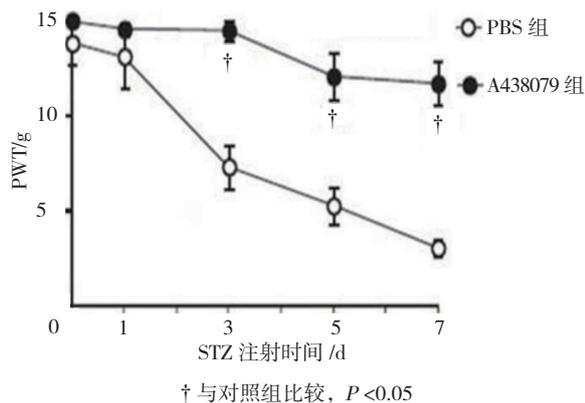


图 9 PBS 组和 A438079 组大鼠 PWT 的变化趋势
($n=5$, g , $\bar{x} \pm s$)

3 讨论

本研究结果显示,鞘内重复给予 CCL3 中和抗体可抑制 STZ 诱导的痛觉过敏,提示 CCL3 在 STZ 处理引起的大鼠机械性痛觉过敏中起关键作用。尽管 STZ 处理大鼠 SDH 中 CCL3 表达上调的细胞类型仍不明确,但是本研究证实,SDH 中 CCL3 表达上调与小胶质细胞增加有关系。此外,免疫荧光结果也显示,STZ 处理后大鼠 SDH 小胶质细胞形态肥大及数量增加,均是小胶质细胞激活的特征。以往研究发现,小胶质细胞可合成和释放 CCL3^[6]。最近一项体外培养大鼠脑切片研究结果表明,脑切片神经元损伤后可诱导小胶质细胞产生 CCL3^[9]。也有研究证实,大鼠创伤性神经损

伤后脊髓小胶质细胞中 CCL3 表达上调^[4]。上述结果均提示,CCL3 可能来源于激活的小胶质细胞。P2X7 受体是一种 2 次跨膜蛋白,包含 595 个氨基酸残基。P2X7R 活化后可促进 IL-1、IL-6、肿瘤坏死因子- α 和一氧化氮等的释放,在炎症、疼痛和神经系统疾病中发挥作用^[10]。此外,P2X7R 活化后也可促进小胶质细胞释放 CCL3^[6]。本研究结果表明,A438079 阻断脊髓 P2X7R 可抑制 STZ 诱导的机械性痛觉过敏,其效果与 CCL3 中和抗体类似。大鼠外伤性神经损伤后,SDH 小胶质细胞中 P2X7 受体表达上调^[11]。因此,小胶质细胞可能是 STZ 处理大鼠 SDH 中 CCL3 的来源。然而,本实验不能排除其他胶质细胞也可能释放 CCL3,因为除了小胶质细胞,星形胶质细胞也可表达 CCL3^[12]。最近研究提示,脊髓星形胶质细胞在化疗所致机械性痛觉过敏发挥作用^[13]。

本研究结果显示,鞘内注射 CCL3 中和抗体或选择性 P2X7R 拮抗剂——A438079 均可抑制 STZ 处理引起的机械痛觉过敏。虽然 CCL3 介导 STZ 诱导机械性痛觉过敏机制不明确,但是 CCL3 可能影响脊髓疼痛信号的传递。研究证实,鞘内注射 CCL3 后,动物可产生机械刺激痛觉过敏的反应^[14]。SDH 中 CCR5 表达明显上调,与之相匹配的是 CCL3 表达。CCR5 在神经病理痛模型痛觉过敏中发挥作用^[10]。神经损伤后脊髓激活的小胶质细胞中也表达 CCR5^[15]。另一方面,STZ 处理大鼠 SDH 中 CCR1 表达缺乏变化。虽然以往研究报道,外伤性神经损伤后脊髓 CCR1 表达上调^[16],但是其差异可能是由于大鼠疼痛模型及检测时间不同。

总之,CCL3 和 P2X7R 在 STZ 诱导的大鼠机械性痛觉过敏中起重要作用。本研究结果不仅为 STZ 诱导周围神经病变提供新的机制,而且为神经病理性疼痛治疗提供新的靶点。

参考文献:

- [1] ZYCHOWSKA M, ROJEWSKA E, PRZEWLOCKA B, et al. Mechanisms and pharmacology of diabetic neuropathy—experimental and clinical studies[J]. Pharmacological Reports, 2013, 65(6): 1601-1610.
- [2] 浦少锋,吴军珍,张昕,等.神经病理性疼痛大鼠脊髓背角小胶质细胞和 γ -氨基丁酸 B 型受体 2 的表达[J].上海医学, 2015(2): 124-128.
- [3] 周于然,李瑛.脊髓小胶质细胞在神经病理性疼痛发生发展过程中的作用机制研究进展[J].山东医药, 2017, 57(11): 105-107.
- [4] MATSUSHITA K, TOZAKISAITOH H, KOJIMA C, et al.

- Chemokine (C-C motif) receptor 5 is an important pathological regulator in the development and maintenance of neuropathic pain[J]. *Anesthesiology*, 2014, 120(6): 1491-1503.
- [5] PADI S S, SHI X Q, ZHAO Y Q, et al. Attenuation of rodent neuropathic pain by an orally active peptide, RAP-103, which potently blocks CCR2-and CCR5-mediated monocyte chemotaxis and inflammation[J]. *Pain*, 2012, 153(1): 95-106.
- [6] KATAOKA A, TOZAKI-SAITOH H, KOGA Y, et al. Activation of P2X7 receptors induces CCL3 production in microglial cells through transcription factor NFAT[J]. *J Neurochem*, 2009, 108: 115-125.
- [7] TSUDA M. Microglia in the spinal cord and neuropathic pain[J]. *Journal of Diabetes Investigation*, 2016, 7(1): 17.
- [8] PENG Z, LI J, LI Y, et al. Downregulation of miR-181b in mouse brain following ischemic stroke induces neuroprotection against ischemic injury through targeting heat shock protein A5 and ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase isozyme L1[J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2013, 91(10): 1349-1362.
- [9] OKAMURA T, KATAYAMA T, OBINATA C, et al. Neuronal injury induces microglial production of macrophage inflammatory protein-1 α in rat corticostriatal slice cultures[J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2012, 90(11): 2127-2133.
- [10] HE W J, CUI J, DU L, et al. Spinal P2X(7) receptor mediates microglia activation-induced neuropathic pain in the sciatic nerve injury rat model[J]. *Behavioural Brain Research*, 2012, 226(1): 163-170.
- [11] 肖智, 李尤艳. P2X7 受体在疼痛调制中作用 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2015, 21(8): 610-613.
- [12] KIM B, JEONG H K, KIM J H, et al. Uridine 5'-diphosphate induces chemokine expression in microglia and astrocytes through activation of the P2Y6 receptor[J]. *Journal of Immunology*, 2011, 186(6): 3701-3709.
- [13] YOON S Y, ROBINSON C R, ZHANG H, et al. Spinal astrocyte gap junctions contribute to oxaliplatin-induced mechanical hypersensitivity[J]. *Journal of Pain*, 2013, 14(2): 205.
- [14] KIGUCHI N, MAEDA T, KOBAYASHI Y, et al. Macrophage inflammatory protein-1 α mediates the development of neuropathic pain following peripheral nerve injury through interleukin-1 β up-regulation.[J]. *Neuroscience Research*, 2010, 149(2): 305-315.
- [15] LOUBOUTIN J P, STRAYER D S. Relationship between the chemokine receptor CCR5 and microglia in neurological disorders: consequences of targeting CCR5 on neuroinflammation, neuronal death and regeneration in a model of epilepsy[J]. *Cns Neurological Disorders Drug Targets*, 2013, 12(6): 815-829.
- [16] KIGUCHI N, KOBAYASHI Y, MAEDA T, et al. CC-chemokine MIP-1 α in the spinal cord contributes to nerve injury-induced neuropathic pain[J]. *Neuroscience Letters*, 2010, 484(1): 17-21.

(童颖丹 编辑)