

· 论 著 ·

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.16.002

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220330.1730.008.html>(2022-03-31)

大鼠脊髓内吗啡肽 2 的表达与腰椎间盘突出症 坐骨神经痛的相关性分析^{*}

牛 乐^{1,2}, 王延军¹, 岳江涛², 梅江涛², 贾晓康², 戴先文²

(1. 西安市大兴医院骨科 710016; 2. 西安市长安医院骨科 710016)

[摘要] **目的** 观察腰椎间盘突出症坐骨神经痛(LDHS)大鼠痛行为变化及其与脊髓背角内吗啡肽 2 (EM2)表达变化的关联性。**方法** SD 大鼠随机分为 LDHS 组、假处理组和对照组。LDHS 组采用自体髓核移植法造模,假处理组采用相同的手术过程而未移植髓核,对照组未经任何处理。每组在造模前和造模后 5、10、15、20、25 d 先进行痛行为检测;然后在 LDHS 组痛行为的峰值状态下开展行为药理学实验,即经脊柱鞘内置管后注射不等剂量的 μ 型阿片受体拮抗剂—— β -富纳曲胺(β -FNA)、EM2、内吗啡肽 1(EM1)或吗啡,记录痛觉阈值的变化;最后利用高效液相色谱法和免疫荧光组织化学染色检测脊髓 EM2 的表达变化。**结果** 与假处理组和对照组比较,LDHS 组在造模后 5 d 痛觉阈值显著降低,15 d 时痛觉阈值达到最低点($P<0.05$);LDHS 组鞘内给予 β -FNA 可使疼痛进一步加深,鞘内给予 EM2、EM1 或吗啡均能剂量依赖地产生镇痛作用,但 EM2 镇痛作用比 EM1 和吗啡强;与假处理组和对照组比较,LDHS 大鼠脊髓背角 EM2 的免疫荧光染色强度和脊髓 EM2 的表达水平均显著减低($P<0.05$),痛觉阈值与 EM2 表达量呈显著正相关($r=0.966, P<0.001$)。**结论** LDHS 状态下脊髓水平 EM2 的低表达导致了大鼠下肢疼痛状态的产生。

[关键词] 腰椎退变;阿片肽;下肢痛;中枢神经**[中图法分类号]** R745.4+2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)16-2707-06

Correlation between spinal endomorphin-2 expression and lumbar disc herniation sciatica in rats^{*}

NIU Le^{1,2}, WANG Yanjun¹, YUE Jiangtao², MEI Jiangtao², JIA Xiaokang², DAI Xianwen²

(1. Department of Orthopedics, Xi'an Daxing Hospital, Xi'an, Shaanxi 710016, China;

2. Department of Orthopedics, Xi'an Changan Hospital, Xi'an, Shaanxi 710016, China)

[Abstract] **Objective** To observe the pain behavior change in rat lumbar disc herniation sciatica (LDHS) and its relationship with the expression of endomorphin-2 (EM2) in spinal dorsal horn. **Methods** The SD rats were randomly divided into the LDHS group, sham operation group and control group. The LDHS group adopted the autologous nucleus pulposus transplantation for constructing the model, the sham operation group adopted the same operation process without implantation of nucleus pulposus. The control group had no any treatment. The pain behavior in each group was detected before modeling and on 1, 10, 15, 20, 25 d after modeling. Subsequently, the pharmacological experiment was carried out in the peak value state of pain behavior in the LDHS group, namely, different doses of the μ type opioid receptor antagonist β -FNA, EM2, EM1 or morphine was injected after spinal intrathecal indwelling tube. The pain sense threshold value change was recorded; finally, HPLC and immunofluorescence histochemical staining were used to detect the expression change of spinal EM2. **Results** Compared with the sham operation group and control group, the pain threshold on 5 d after modeling in the LDHS group was decreased significantly and reached the lowest point on 15 d ($P<0.05$). Intrathecal injection of β -FNA in the LDHS group could further deepen pain, and the intrathecal injection of EM2, EM1 or morphine all could generate the analgesic effect by dose dependence, but the analgesic effect of EM2 was stronger than that of EM1; the immunofluorescence staining density and the expression level of spinal EM2 in the LDHS group were significantly decreased ($P<0.05$). The decrease of

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81400991);中国博士后科学基金项目(2014M552650)。 作者简介:牛乐(1984—),主治医师,博士、博士后,主要从事神经病理性痛的中枢神经分子机制的研究。

pain sense threshold value showed the significantly positive correlation with down-regulation of EM2 expression level ($r=0.966, P<0.001$). **Conclusion** In the state of LDHS, the low expression of spinal EM2 contributes to the generation of lower limb pain in rats.

[Key words] lumbar degeneration; opioid peptides; lower limb pain; central nervous system

腰椎间盘突出症坐骨神经痛(lumbar disc herniation sciatica, LDHS)是腰椎间盘突出症最常见的并发症, LDHS 表现为单侧或双侧下肢放射痛, 逐渐加重的放射痛长期折磨患者, 部分患者甚至合并有焦虑和抑郁等精神、心理障碍。传统的外科治疗手段存在创伤大、费用高及风险高等缺点^[1-2]。LDHS 患者的生活质量受到了极大影响, 因此进一步揭示其发病机制, 研制新型镇痛药物及探寻更有效的治疗方法刻不容缓^[3]。内吗啡肽(endomorphin, EM)包括内吗啡肽 2 (endomorphin-2, EM2) 和内吗啡肽 1 (endomorphin-1, EM1) 是吗啡的内源性相似物, 其主要作用于 μ 型阿片受体(mu-opioid receptor, MOR)产生镇痛作用, 与相同量的吗啡比能产生更强的止痛效果, 而极少产生不良反应^[4-5]。以往有学者建立坐骨神经分支选择性损伤(spared nerve injury, SNI)神经病理性痛小鼠模型, 经中枢侧脑室或外周脚趾给药后发现 EM2 和 EM1 能产生比吗啡更强的镇痛作用^[6]。脊髓背角是痛觉信号传递的初级中枢和第一道闸门, 脊髓背角富含 EM2, 其来源于背根节神经元的初级传入纤维。脊髓背角 EM2 在神经病理性痛状态下痛觉信号传递的调控中扮演着极为重要的角色^[7-8]。LDHS 本身就是神经病理性痛, 但既往并无文献报道脊髓 EM2 与 LDHS 的相关性。本研究以 LDHS 大鼠为实验动物模型, 综合利用痛觉行为学、药理行为学、生物化学及形态学等实验方法探寻脊髓背角 EM2 表达量的变化及其与 LDHS 痛觉阈值的关联性, 从一个崭新的角度解释 LDHS 的发病机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本研究所有实验操作均严格遵循善待动物的国际伦理准则^[9]。成年雄性 SD 大鼠(体重 200 g 左右), 来源于西安交通大学实验动物中心(动物使用合格证号: SYXK 陕 2021-008, 动物生产许可证号: SCXK 陕 2021-006)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组

大鼠随机分为 LDHS 组、假处理组和对照组, LDHS 组采用自体髓核移植法造模, 假处理组采用相同的手术过程而未移植髓核, 对照组为空白对照, 未经任何处理。

1.2.2 实验设计

大鼠共计 220 只用于本实验。首先, 对照组、假处理组和 LDHS 组每组各 10 只, 共计 30 只用于痛觉行为学实验; 然后 LDHS 组大鼠共计 10 只, 在造模后 15 d 进行行为药理学实验, 即经脊柱鞘内置管后注射不等剂量 MOR 拮抗剂—— β -富纳曲胺(β -funaltrexamine, β -FNA)、EM2、EM1 或吗啡, 然后记录痛觉阈值的变化; 最后, 180 只用于生化实验和形态学实验, LDHS 组、假处理组和对照组在造模前和造模后 5、10、15、20、25 d 共 6 个时间点(每组各 10 只/时间点), 大鼠被处死后取出脊髓组织, 利用免疫荧光组织化学染色和高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测脊髓 EM2 表达水平的变化。

1.2.3 建立动物模型

LDHS 模型的建立遵照既往造模方法^[10-11], 即经腹腔注射 2% 戊巴比妥(50 mg/kg)浅麻醉大鼠, 取俯卧位, 以 L4~L6 为中心用聚维酮碘消毒皮肤 3 遍, 取后正中纵行 1.5 cm 切口, 逐层分离筋膜层和椎旁肌, 显露 L5~L6 关节突关节, 咬除部分关节突关节及部分 L5 椎板, 显露 L5 背根神经节及神经根。距肛门 1 cm 处断尾并缝合伤口。依次切开尾椎髓核环, 取出直径 3 mm 髓核 3 个, 将取出的髓核压迫于 L5 神经根侧方, 用无菌生理盐水及稀释聚维酮碘液反复冲洗伤口 3 遍, 逐层缝合切口, 最后外用红霉素软膏预防感染。

1.2.4 行为药理学

行为药理学实验只在 LDHS 组进行, 不在对照组和假处理组进行。鞘内置管: 将 2% 戊巴比妥钠(50 mg/kg)注射入腹腔浅麻醉大鼠, 用聚维酮碘消毒局部皮肤 3 遍, 于 L4 棘突取后正中纵形切口 0.5 cm, 钝性分离浅筋膜及椎旁肌, 显露椎骨, 用咬骨钳咬除小部分黄韧带及椎板, 剪开硬脊膜, 将 PE-10 细导管置入蛛网膜下腔, 导管远端直达腰膨大处, 见有脑脊液不断流出即封闭导管外口, 用无菌生理盐水及稀释聚维酮碘液反复冲洗伤口 3 遍, 逐层缝合, 最后外用红霉素软膏预防感染。若大鼠麻醉清醒后双下肢无运动障碍, 且鞘内注入 2% 利多卡因后双下肢 5 s 内瘫痪, 即为鞘内置管成功^[12-13]。鞘内给药: LDHS 组, 鞘内给予吗啡(0.3、1.0、3.0 μ g)、EM1(0.3、1.0、3.0 μ g)、EM2(0.3、1.0、3.0 μ g)或 β -FNA(3.0、10.0 μ g); 溶剂对照组给予等量无菌生理盐水, 然后检测痛

觉阈值变化,同时计算不同剂量吗啡、EM1 或 EM2 的最大镇痛百分比(%)=(给药后最高阈值-给药前阈值)/(造模前阈值-造模后最低阈值)×100%。

1.2.5 痛觉阈值检测

von Frey 纤维丝是国际公认的检测痛觉阈值的经典实验仪器,本研究所使用 von Frey 纤维丝购自美国 Stoelting 公司,将大鼠放置于铁丝网上,用有机玻璃透明罩约束其活动范围。大鼠先适应 15 min,然后用 von Frey 纤维丝刺激足底,刺激的力量强度由小至大,以“g”表示。若出现缩足反射,则该强度被及时记录,该强度重复测量 10 次,若出现 5 次以上缩足反射即认为阳性反应,出现阳性反应的最小强度即为痛觉阈值^[14-15]。痛觉阈值单位为“g”。

1.2.6 免疫荧光染色

将 2%戊巴比妥钠(100 mg/kg)注射入腹腔深麻醉大鼠,开胸显露心脏,剪破右心耳彻底放血,经左心室插管至升主动脉,先用 PBS 快速冲洗掉机体内残存的血液,再用 4%多聚甲醛缓慢灌注固定,时长 30 min。随后取出脊髓腰膨大,将组织块浸入含 30%蔗糖的 PBS,时长 12 h。恒冷箱切片机切取 25 μm 厚的脊髓组织片,组织片被 PBS 漂洗 3 次后,用兔抗 EM2 IgG(美国 Chemicon 公司,货号 AB5104,浓度为 1:200)室温下孵育组织片 12 h;组织片被 PBS 彻底漂洗后,红色荧光素 Cy5 标记的二抗室温孵育组织片 6 h;再次被 PBS 彻底漂洗后利用荧光显微镜摄片观察。

1.2.7 HPLC 定量分析 EM2 表达水平

将 2%戊巴比妥钠(100 mg/kg)注射入腹腔深麻醉大鼠,迅速取出脊髓腰膨大,液氮冻存;将组织块与裂解液混合,超声裂解后超高速离心取上清液;Hypersil ODS 填料色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm,美国 Thermo Electron 公司);柱温为 40℃;进样量为 10 μL;流动相:甲醇-0.1%三乙胺溶液(65:35);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 570 nm^[16]。

1.3 统计学处理

采用 SPSS14.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)比较同一时间点多组数据之间的差异,采用事后比较分析两两之间的差异;利用 Pearson 分析法分析 EM2 表达水平与痛觉阈值的相关性;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 LDHS 大鼠痛觉阈值显著降低,形成了机械性异常疼痛

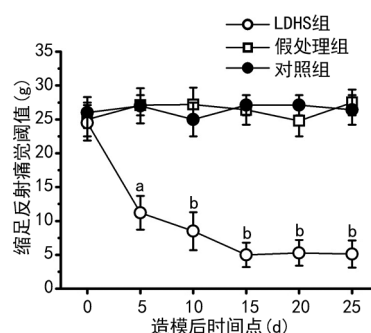
与对照组[(27.0±2.6)g]和假处理组[(27.1±1.5)g]比较,LDHS 组在大鼠自体髓核移植后 5 d 痛觉阈值显著降低[(11.2±2.5)g],15 d 时达到最低值[(5.0±1.8)g],即机械性异常疼痛已显著形成,并且 15 d 后机械性异常疼痛稳固维持($n=10, P < 0.05$);在造模前 3 组之间痛觉阈值无差异;对照组和假处理组痛觉阈值在造模后也无差异,见图 1、表 1。

2.2 LDHS 大鼠拮抗内源性 EM2 加深疼痛,给予外源性 EM2 镇痛作用明显

在 LDHS 组痛觉阈值的最低点,即造模后 15 d 经鞘内给予 β-FNA 能够明显加深疼痛(图 2A);而鞘内给予 EM2 能剂量依赖地产生镇痛作用(图 2B);EM1 或吗啡经鞘内给药后均能剂量依赖性地镇痛(图 2C、D);但在相同剂量情况下,EM2 镇痛作用比 EM1 和吗啡强(图 2E)。

2.3 LDHS 大鼠脊髓 EM2 显著减少,与痛觉阈值的降低呈正相关

与假处理组[(77.6±3.8)ng/mg]和对照组[(78.8±4.6)ng/mg]比较,LDHS 组脊髓 EM2 的表达在造模后 5 d 显著减少[(47.8±5.3)ng/mg],15 d 时减少至最低水平[(18.9±3.6)ng/mg],并在 15 d 一直维持此水平($n=10, P < 0.05$,图 3A)。LDHS 组 EM2 的表达与痛觉阈值呈显著正相关($r=0.966, P < 0.001$,图 3B)。与假处理组和对照组比较,LDHS 组脊髓背角 EM2 染色密度显著减低,EM2 免疫荧光阳性结构集中在脊髓背角浅层(图 3C)。



a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与对照组比较。

图 1 LDHS 大鼠出现了显著的机械性异常疼痛

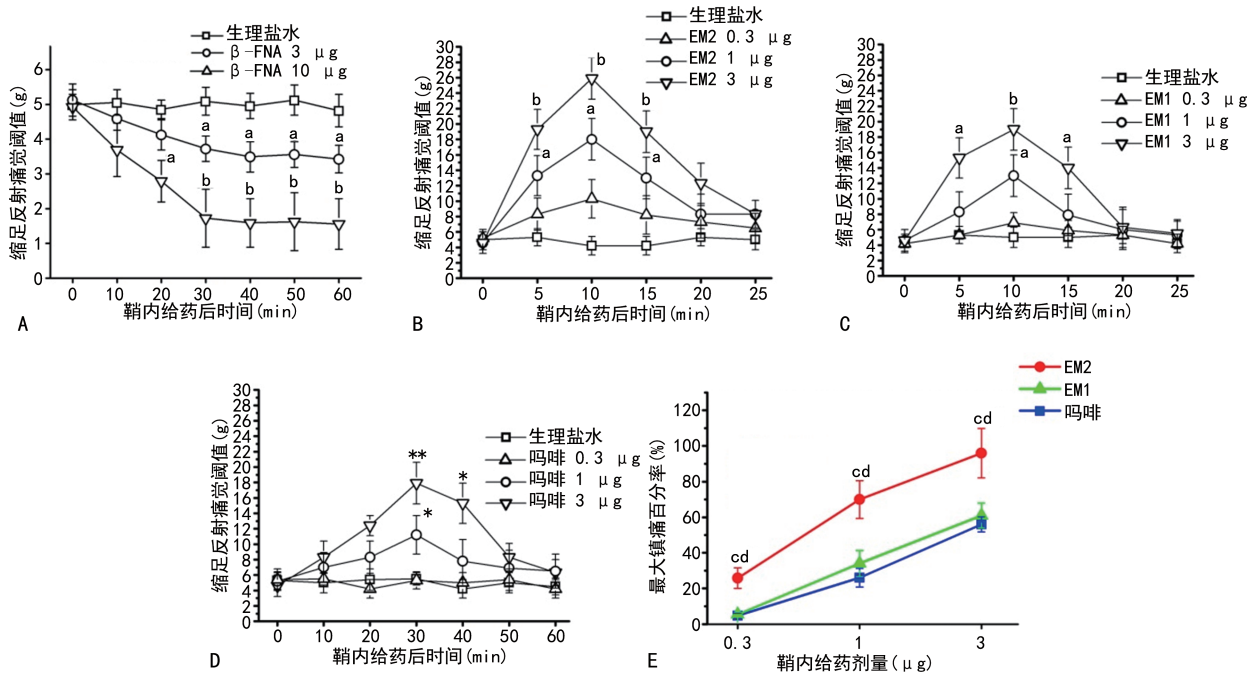
表 1 各组造模前及造模后痛觉阈值比较($\bar{x} \pm s, g, n=10$)

组别	造模前	造模后 5 d	造模后 10 d	造模后 15 d	造模后 25 d
对照组	26.0±2.3	27.0±2.6	25.0±2.5	27.1±1.5	26.4±2.2
假处理组	25.0±2.5	27.1±1.5	27.2±2.5	26.4±2.2	27.5±1.9

续表 1 各组造模前及造模后痛觉阈值比较($\bar{x} \pm s, g, n=10$)

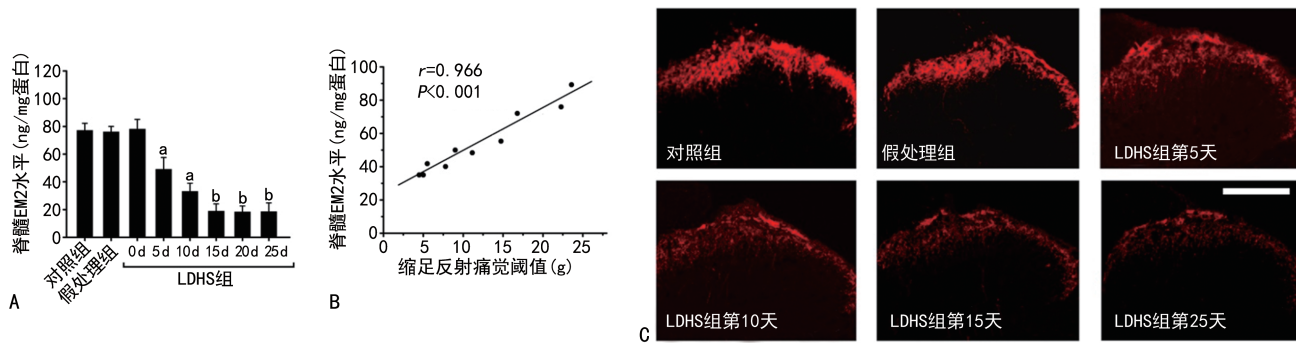
组别	造模前	造模后 5 d	造模后 10 d	造模后 15 d	造模后 25 d
LDHS	24.5±2.6	11.2±2.5 ^a	8.5±2.8 ^b	5.0±1.8 ^a	5.1±2.0 ^b
F_1/P_1	1.236/0.388	86.352/0.000	136.696/0.000	183.633/0.000	205.566/0.000
t/P_3	1.521/0.179	3.549/0.011	8.736/0.000	18.878/0.000	17.356/0.000
t/P_4	1.411/0.189	1.525/0.176	1.336/0.192	1.489/0.185	1.338/0.191

F_1/P_1 值为 3 组同时时间点比较, P_3 值为 LDHS 组与对照组同时时间点比较, P_4 值为假处理组与对照组同时时间点比较; ^a: $P<0.05$, ^b: $P<0.01$, 与对照组比较。



A: 鞘内给予 β -FNA; B: 鞘内给予 EM2; C: 鞘内给予 EM1; D: 鞘内给予吗啡; E: EM2、EM1、吗啡镇痛作用比较; ^a: $P<0.05$, ^b: $P<0.01$, 与生理盐水比较; ^c: $P<0.05$, 与吗啡比较; ^d: $P<0.05$, 与 EM1 比较(E)。

图 2 LDHS 大鼠拮抗内源性 EM2 加深疼痛, 给予外源性 EM2 镇痛作用明显



A: 脊髓组织 EM2 表达量; B: LDHS 组痛觉阈值与脊髓 EM2 表达水平的相关性; C: 脊髓背角 EM2 免疫荧光染色标尺=200 μm ($\times 200$); ^a: $P<0.05$, ^b: $P<0.01$, 与对照组比较。

图 3 LDHS 组脊髓 EM2 表达量显著下调, 与降低的痛觉阈值呈正相关

3 讨论

随着现代社会久坐及弯腰负重工作方式的增多, 腰椎间盘突出症呈年轻化态势且发病率逐年攀升。LDHS 是腰椎间盘突出症最常见和棘手的并发症, 其表现为单侧或双侧下肢放射痛, 逐渐加重的放射痛长期折磨患者, 部分患者甚至伴随有下肢肌力减退及大小便障碍^[1-3]。尽管外科治疗手段日益成熟, 但相当

多的患者考虑到风险高及费用昂贵, 仍要求保守治疗。针对 LDHS 的内科镇痛药为弱阿片类或非甾体类药物, 这些药物长期使用极易产生成瘾性和耐受性, 并且造成各种不良反应^[17-18]。LDHS 患者的生活质量受到了极大影响, 因此进一步揭示其发病机制, 研制新型镇痛药物及探寻更有效的治疗方法刻不容缓^[19]。既往腰部脊髓神经根的病变是 LDHS 研究的

焦点,而本研究从新的角度提出脊髓 EM2 的低表达导致了 LDHS 的产生,为 LDHS 的预防和治疗提供了新的理论意义。

既往研究表明,腰部神经根的机械性受压和炎症变是 LDHS 发病的根本原因,然而近期诸多学者坚信脊髓和大脑的功能异常或病理改变在 LDHS 的发病过程中扮演着至关重要的角色^[20]。脊髓背角是痛觉信号传递的第一道闸门和初级中枢,大脑中的前扣带回皮质和岛叶也与痛觉调控密切相关。有研究在功能性核磁共振检查中发现 LDHS 患者脊髓背角、前扣带回皮质及岛叶处于过度激活和代谢活跃状态^[21]。另有学者发现 LDHS 大鼠脊髓背角神经元的自发放电频率显著增加^[22],表明 LDHS 状况下痛觉信号在脊髓背角的传递出现了强化和扩大。EM 是最新发现的内源性阿片肽,包括 EM2 和 EM1。EM 作为内源性物质,与相同量的吗啡比较能产生更强的镇痛效果,而极少产生不良反应^[4-8]。脊髓背角富含 EM2,其在神经病理性痛的诱发和维持中扮演着极为重要的角色,外周神经结扎或切断可导致脊髓 EM2 的表达显著下调^[23],全身或脊柱鞘内注射 EM2 可对神经病理性痛起到显著的镇痛作用^[24]。鉴于既往无 LDHS 与脊髓 EM2 关联性的文献报道,本研究从新的切入点,即脊髓水平探索 LDHS 的发病机制。本研究建立的 LDHS 大鼠模型其下肢机械性异常疼痛稳定存在,本研究发现 LDHS 大鼠脊髓背角 EM2 的免疫荧光染色强度和脊髓 EM2 的表达水平均显著减低。既往研究表明,在外周神经损伤性痛^[23]、糖尿病性痛^[16]及化疗性痛^[25]等动物模型脊髓背角 EM2 的表达水平显著减少,本研究结果与既往研究结果具有一致性。本研究进一步分析发现 LDHS 大鼠脊髓 EM2 的表达水平与痛觉阈值呈显著正相关,而鞘内给予 β -FNA 可使疼痛进一步加深,这就完全印证了本研究的结论,即 LDHS 大鼠脊髓背角 EM2 的表达水平下调导致内源性镇痛作用的减小,最终强化痛觉信号的传递,导致 LDHS 大鼠痛觉阈值的减低。

杨代军^[6]研究表明,在坐骨神经分支选择性损伤(SNI)神经病理性痛小鼠模型,经中枢侧脑室或外周脚趾给药后 EM2 和 EM1 能产生比吗啡更强的镇痛作用,但 EM2 和 EM1 的镇痛持续时间比吗啡短。本研究在 LDHS 大鼠经脊髓鞘内注射 EM2 能产生比 EM1 或吗啡更强的镇痛作用,同样 EM2 和 EM1 的镇痛持续时间比吗啡短。杨代军^[6]研究与本研究的相似之处:均为建立动物疼痛模型,给药 EM2、EM1 或吗啡进行镇痛研究,并且在镇痛效能和镇痛持续时间方面分析了 EM2、EM1 与吗啡之间的区别。杨代军^[6]研究与本研究的区别之处:(1)杨代军^[6]在实验

中使用各种阿片受体拮抗剂进一步分析了 EM 镇痛的阿片机制,其研究更加深入;而本研究未探索 EM 镇痛的阿片机制。(2)两种动物模型所代表的临床实际意义不同。杨代军^[6]在实验中建立 SNI 神经病理性痛模型,该模型主要模拟急性创伤患者,这些患者由于车祸、高处坠落、战争中枪击或爆炸等原因导致下肢神经出现挫伤或离断,引起下肢剧烈疼痛,疼痛程度较重;而本研究建立了 LDHS 模型,该模型主要模拟中老年腰椎间盘突出症患者,这些患者由于久坐或长期弯腰负重导致腰部劳损和退变,突出之腰椎间盘突出压迫坐骨神经,引起下肢疼痛,疼痛程度属中等。

综上所述,本研究结果不仅对阐明 LDHS 的中枢机制、了解 EM 在病理状态下的作用具有重要的理论意义,而且对开发新一代镇痛药、造福 LDHS 患者均具有重要的理论意义。本研究的局限性:(1)在 LDHS 大鼠模型未观察 EM2 所起镇痛作用的具体阿片机制,需进一步利用各种阿片受体拮抗剂分析 EM2 作用于哪种阿片受体起到镇痛机制;(2)未探索 EM2 所起镇痛作用的具体胞内分子机制,需进一步利用分子生物学及神经电生理膜片钳技术分析 EM2 作用于阿片类受体后产生的细胞内分子机制。

参考文献

- [1] VERHEIJEN E, BONKE C A, AMORIJ E, et al. Epidural steroid compared to placebo injection in sciatica: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Spine J, 2021, 30 (11): 3255-3264.
- [2] 王晓,徐志杰,李海昕,等. 慢性腰痛生物学治疗的研究进展[J]. 中国骨与关节杂志, 2018, 7(6): 449-453.
- [3] OLIVEIRA C B, MAHER C G, FERREIRA M L, et al. Epidural corticosteroid injections for sciatica: an abridged cochrane systematic review and Meta-Analysis[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2020, 45(21): E1405-E1415.
- [4] WANG C L, YANG D J, YUAN B Y, et al. Antiallodynic effects of endomorphin-1 and endomorphin-2 in the spared nerve injury model of neuropathic pain in mice[J]. Anesth Analg, 2017, 125(6): 2123-2133.
- [5] FRICKER L D, MARGOLIS E B, GOMES I, et al. Five decades of research on opioid peptides: current knowledge and unanswered questions [J]. Mol Pharmacol, 2020, 98(2): 96-108.

- [6] 杨代军. 内啡肽对 SNI 模型小鼠的抗神经性疼痛作用的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2018:1-58.
- [7] 赵晓慧. 使用间歇运动对卵巢切除大鼠脊髓背角内啡肽 2 表达的影响[J]. 中国体育科技, 2017,53(3):37-40.
- [8] 谷政慧, 肖扬, 王波, 等. 内啡肽 2 和 μ 型阿片受体在正常猕猴脊髓背角和背根神经节中的分布[J]. 神经解剖学杂志, 2018,34(2):225-229.
- [9] KANNO K, SHIMIZU K, SHINODA M, et al. Role of macrophage-mediated Toll-like receptor 4-interleukin-1R signaling in ectopic tongue pain associated with tooth pulp inflammation[J]. J Neuroinflammation, 2020,17(1):312.
- [10] 师振予, 郭亦杰, 曾嵘, 等. 腰椎间盘突出症大鼠模型的建立及病理动态研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2020,40(1):28-33.
- [11] 赵继荣, 薛旭, 袁毓喆, 等. 基于体素的磁共振形态学腰椎间盘突出症慢性下肢痛模型大鼠的实验研究[J]. 中国医学物理学杂志, 2021,38(7):820-825.
- [12] 虞思聪, 吴林峰, 李晓瑶. 鞘内注射 CCR2 受体拮抗剂对腰椎间盘突出症大鼠疼痛及脊髓炎症因子的影响[J]. 江苏医药, 2018,44(5):481-483.
- [13] 张宇, 李明明, 马民玉. 鞘内注射牛痘疫苗接种家兔炎症皮肤提取物对 腰椎间盘突出大鼠的抗炎镇痛作用[J]. 中国疼痛医学杂志, 2018,24(10):738-742.
- [14] 甘国强, 薛莲. 腰椎间盘突出症模型大鼠的疼痛与抑郁共病情况及氟西汀疗效的实验研究[J]. 颈腰痛杂志, 2021,42(3):365-368.
- [15] 薛旭, 赵继荣, 陈祁青, 等. 基于 VBM 技术的杜仲腰痛丸干预腰椎间盘突出症慢性下肢痛模型大鼠的实验研究[J]. 中药新药与临床药理, 2020,31(12):1401-1407.
- [16] NIU L, DAI G H, HE G L, et al. Decreased spinal endomorphin-2 contributes to mechanical allodynia in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Neurochem Int, 2017,108:372-380.
- [17] COHEN S P, GREUBER E, VOUGHT K, et al. Safety of epidural steroid injections for lumbosacral radicular pain:unmet medical need[J]. Clin J Pain, 2021,37(9):707-717.
- [18] 张振雨. 半导体激光对腰椎间盘突出症坐骨神经痛的疗效及血清炎性因子水平的影响[J]. 颈腰痛杂志, 2019,40(4):483-485.
- [19] KENNEDY D J, ZHENG P Z, SMUCK M, et al. A minimum of 5-year follow-up after lumbar transforaminal epidural steroid injections in patients with lumbar radicular pain due to intervertebral disc herniation[J]. Spine J, 2018,18(1):29-35.
- [20] KREGEL J, MEEUS M, MALFLIET A, et al. Structural and functional brain abnormalities in chronic low back pain:A systematic review[J]. Semin Arthritis Rheum, 2015,45(2):229-237.
- [21] FRITZ H C, MCAULEY J H, WITTFELD K, et al. Chronic back pain is associated with decreased prefrontal and anterior insular gray matter:results from a Population-Based cohort study[J]. J Pain, 2016,17(1):111-118.
- [22] 林志刚, 王建珠, 宋朋飞, 等. 推拿按揉法对腰椎间盘突出症大鼠脊髓背角 NK1R 及场电位的影响[J]. 时珍国医国药, 2020,31(1):253-256.
- [23] BODNAR R J. Endogenous opiates and behavior; 2017[J]. Peptides, 2020,124:170223.
- [24] FEEHAN A K, MORGENWECK J, ZHANG X, et al. Novel endomorphin analogs are more potent and Longer-Lasting analgesics in neuropathic, inflammatory, postoperative, and visceral pain relative to morphine[J]. J Pain, 2017,18(12):1526-1541.
- [25] YANG Y, ZHANG Y G, LIN G, et al. Spinal changes of a newly isolated neuropeptide endomorphin-2 concomitant with vincristine-induced allodynia [J]. PLoS One, 2014,9(2):e89583.

(收稿日期:2021-10-18 修回日期:2022-01-08)