

· 基础研究 ·

电针对糖尿病神经痛模型大鼠脊髓背角 p-ERK 和 p-CREB 的影响

马黎倩¹ 王晓翔¹ 张坤龙¹ 马益琪¹ 胡群祺¹ 康玉蓉¹ 王涵芝¹ 瞿思颖¹ 郑崧沐¹
李斯苒¹ 邵晓梅^{1,2,3} 蒋永亮^{1,2,3} 方剑乔^{1,2,3} 何晓芬^{1,2,3}

¹浙江中医药大学第三临床医学院、康复医学院,杭州 310053; ²浙江省针灸神经病学研究重点实验室,杭州 310053; ³浙江中医药大学针灸研究所,杭州 310053

通信作者:何晓芬,Email:zjhxf1986@163.com

【摘要】 目的 观察电针对糖尿病神经痛大鼠脊髓背角磷酸化细胞外信号调节蛋白激酶(p-ERK1/2)和磷酸化环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(p-CREB)表达的影响。**方法** 从 30 只健康雄性 SD 大鼠中随机选择 8 只作为正常组,其余 22 只采用单次大剂量腹腔注射链脲佐菌素法建立糖尿病神经痛模型,共 16 只大鼠造模成功,将其分为模型组和电针组,每组 8 只。电针组于链脲佐菌素注射后 15 d 开始电针干预,每日 1 次,每次 30 min,干预 1 周,穴位选择双侧“后三里”和“昆仑”穴。链脲佐菌素注射前、注射后 7 d、14 d、21 d,观察并记录大鼠的体重、空腹血糖、热痛阈变化,采用免疫印迹法检测大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 表达,采用免疫荧光法检测 p-CREB 阳性细胞数与神经元共表达情况。**结果** 链脲佐菌素注射后 7 d、14 d、21 d,与正常组比较,模型组大鼠体重下降($P<0.05$)、空腹血糖升高($P<0.015$)。链脲佐菌素注射后 7 d,与正常组比较,模型组大鼠热痛阈无显著变化;链脲佐菌素注射后 14 d、21 d,模型组大鼠热痛阈下降($P<0.05$)。与模型组比较,链脲佐菌素注射后 21 d,电针组大鼠热痛阈显著升高($P<0.05$)。免疫印迹结果显示,与正常组比较,模型组大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 蛋白表达显著升高($P<0.05$);与模型组比较,电针组大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 蛋白表达显著降低($P<0.05$)。免疫荧光结果显示,与正常组比较,模型组大鼠脊髓背角 p-CREB 阳性细胞数升高($P<0.05$);与模型组比较,电针组大鼠脊髓背角 p-CREB 阳性细胞数降低($P<0.05$);糖尿病神经痛模型大鼠脊髓背角 p-CREB 与神经元存在共表达。**结论** 电针可有效缓解糖尿病神经痛,其机制可能与抑制大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 的蛋白表达有关。

【关键词】 电针; 糖尿病神经痛; 脊髓背角; 磷酸化环磷酸腺苷反应元件结合蛋白

基金项目:国家自然科学基金(81804181,81774389);浙江省自然科学基金(LY22H270006);浙江省大学生创新创业训练计划(202010344015,S202110344037);浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划(2020R410012)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.08.002

Effect of electroacupuncture on expression of p-ERK and p-CREB in the spinal dorsal horn of diabetic neuropathic pain rats

Ma Liqian¹, Wang Xiaoxiang¹, Zhang Kunlong¹, Ma Yiqi¹, Hu Qunqi¹, Kang Yurong¹, Wang Hanzhi¹, Qu Siying¹, Zheng Yinmu¹, Li Siyi¹, Shao Xiaomei^{1,2,3}, Jiang Yongliang^{1,2,3}, Fang Jianqiao^{1,2,3}, He Xiaofen^{1,2,3}

¹The Third Clinical Medical College and Rehabilitation Medical College of Zhejiang Traditional Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; ²Zhejiang Key Laboratory of Acupuncture and Neurology, Hangzhou 310053, China; ³Institute of Acupuncture and Moxibustion of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

Corresponding author: He Xiaofen, Email: zjhxf1986@163.com

【Abstract】 Objective To observe any effect of electroacupuncture (EA) on the expression of phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinase (p-ERK1/2) and phosphorylated cyclic adenosine monophosphate response element binding protein (p-CREB) in the spinal dorsal horns of diabetics experiencing neuropathic pain. **Methods** Eight rats were randomly selected from 30 healthy male Sprague-Dawley rats as the normal group (N), and the remaining twenty-two rats were treated with a single high-dose intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) to establish a neuropathic pain model. The rats modeled successfully were randomly divided into a model group (M, $n=8$) and an EA group ($n=8$). In the EA group, electroacupuncture was applied at the bilateral Hou san li and Kunlun acupoints starting on the 15th day after the STZ injection. The daily sessions lasted 30 minutes for 1 week. Body weight (BW), fasting blood glucose (FBG) and paw withdrawal latency (PWL) were observed before the STZ injection and on the 7th, 14th,

and 21st days afterward. The expression of p-ERK1/2 and p-CREB in the dorsal horns of the rats' spinal cords was detected using western blotting. The count of p-CREB-positive cells in the dorsal horns and their co-localization with neurons was detected using immunofluorescence. **Results** In comparison with the N group, the average BW of the M group on the 7th, 14th and 21st days after the STZ injection was significantly lower, while the average FBG was significantly higher. There was no significant difference between the M and N groups in the average PWL on the 7th day after the STZ injection, but it had decreased significantly in the M group on the 14th and 21st days. Compared with the M group, the average PWL of the EA group was significantly longer on the 21st day after the injection. The expression of p-ERK1/2 and p-CREB protein in the spines of the M group was significantly higher than in the N group. p-CREB positive cells were more numerous in the M group compared with the N group, while in the EA group they were fewer. P-CREB was co-located with neurons in the spinal dorsal horn. **Conclusion** EA can alleviate neuropathic pain effectively, perhaps by inhibiting the expression of p-ERK1/2 and p-CREB in the dorsal horns of the spinal cord.

【Key words】 Electroacupuncture; Acupuncture; Diabetic neuralgia; Spinal dorsal horns; Phosphorylated cyclic adenosine monophosphate response element binding protein

Funding: National Natural Science Foundation of China (81804181 and 81774389); Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LY22H270006); Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students in Zhejiang Province (projects 202010344015 and S202110344037); Science and Technology Innovation Program for College Students in Zhejiang Province (2020R410012)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.08.002

1 型糖尿病是由于患者自身无法生产足够的胰岛素或根本无法生产胰岛素所致,糖尿病神经痛是糖尿病患者的常见并发症,严重影响患者的情绪、睡眠和睡眠质量,目前临床上尚缺乏有效的治疗方法^[1-2]。电针具有针刺和电疗的双重优点,在多种疼痛模型的研究中,均表现出了优异疗效和良好的安全性^[3-8]。有研究报道,电针在治疗糖尿病周围神经病变方面具有显著优势^[9-10]。本课题组前期研究表明,与 100 Hz 高频电针相比,2 Hz 低频电针治疗糖尿病神经痛的效果更好,但其机制需进一步研究^[11]。

脊髓背角在疼痛的传递过程中扮演着重要角色^[12]。近年来,有研究发现,糖尿病神经痛大鼠模型脊髓背角中的磷酸化细胞外信号调节蛋白激酶(phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinase, p-ERK)和磷酸化环磷酸腺苷反应元件结合蛋白(phosphorylated cyclic adenosine monophosphate response element binding protein, p-CREB)表达显著上升^[13-15]。为进一步明确电针治疗糖尿病神经痛的相关机制,本研究通过单次大剂量腹腔注射链脲佐菌素建立糖尿病神经痛大鼠模型,观察电针对糖尿病神经痛大鼠热痛阈的干预作用,及其对脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 蛋白表达的影响,报道如下。

材料与方法

一、实验动物

选用成年健康 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠 30 只,体重(180±20)g,购于上海斯莱克实验动物有限公司[SCXK(沪)2017-0005],于浙江中医药大学动物实验中心[SYXK(浙)2018-0012]适应环境及饲养。自

由饮水,并采用啮齿类动物标准颗粒饲料饲喂,室温(23±2)℃,恒定湿度,昼夜明暗灯光 12 h 交替,所有实验操作均严格遵照实验动物伦理学要求(伦理审批号 IACUC-20190805-04)。

二、主要试剂与仪器

1. 主要试剂:链脲佐菌素(美国 Sigma 公司);兔抗 p-ERK 抗体(美国 CST 公司);兔抗 p-CREB 抗体(美国 CST 公司);小鼠抗 Neu 抗体(美国 abcam 公司);β-actin(美国 CST 公司);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗(美国 CST 公司);驴抗兔 Alexa Fluor488 IgG(H+L)二抗(美国 Jackson 公司);驴抗小鼠 Alexa Fluor594 IgG(H+L)二抗(美国 Thermo 公司);二奎啉甲酸法(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒(美国 Thermo 公司);十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)上样缓冲液(中国碧云天公司);增强化学发光法(enhanced chemiluminescence, ECL)显色液(中国碧云天公司)。

2. 主要仪器:足底热测痛仪(意大利 UGO 公司);罗氏卓越型血糖仪(德国 Roche Diagnostics GmbH 公司);HANS-200E 型韩氏穴位神经刺激仪(中国南京产);M4 多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);快速凝胶转印仪(美国 Bio-Rad 公司);Image Quant LAS4000 型凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司);NX50 型冰冻切片机(德国 Thermo 公司);Image.M2 型蔡司显微镜(德国 ZEISS 公司)。

三、动物分组和造模

从 30 只健康雄性 SD 大鼠中随机选取 8 只作为正常组,其余 22 只禁食 16 h 后,予以链脲佐菌素腹腔注射(65 mg/kg),正常组大鼠予以等体积柠檬酸缓冲液

腹腔注射。链脲佐菌素注射后 3 d,取模型组大鼠尾静脉血,测定空腹血糖,空腹血糖 ≥ 16.7 mmol/L,视为糖尿病模型造模成功^[16],未达到这一标准的大鼠不予采用。链脲佐菌素注射后 2 周,痛阈下降 15%的大鼠,视为糖尿病神经痛模型造模成功^[11]。最终 16 只大鼠造模成功,将其分为模型组和电针组,每组 8 只。

四、电针干预

电针组大鼠于链脲佐菌素注射 15 d 后开始电针干预,大鼠“后三里”和“昆仑”穴参照《实验针灸学实验指导》定位^[17]。用 0.25 mm $\times$ 1 mm 毫针刺入大鼠双侧“后三里”和“昆仑”穴,进针后针柄连接 HANS-200E 型韩氏穴位神经刺激仪,刺激频率 2 Hz、强度 1~2 mA、连续波,每次 30 min,每日 1 次,持续 7 d。正常组和模型组大鼠予以电针组大鼠相同的固定。

五、空腹血糖与体重测量

链脲佐菌素注射前和注射后 7 d、14 d、21 d,各组大鼠禁食 8 h 后,取尾静脉血,采用血糖仪及其配套试纸测定 3 组大鼠的空腹血糖,并测量大鼠体重。

六、热痛阈测定

链脲佐菌素注射前和注射后 7 d、14 d、21 d,进行热痛阈检测。将各组大鼠放置于透明塑料箱中适应 30 min,待大鼠安静后,用足底热测痛仪进行检测,打开热辐射源刺激大鼠足部,记录大鼠缩足时间。设置 20 s 为每次刺激最高时长,以防大鼠足部受伤,每次测量间隔 5 min,共检测 3 次,计算平均值。

七、免疫印迹法检测大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 蛋白表达

大鼠经 3%戊巴比妥腹腔麻醉后,用 4 ℃预冷的生理盐水经心脏快速灌注,用注射器冲出脊髓后,切取腰膨大部分,并分离双侧脊髓背角。将脊髓背角组织加入到细胞裂解液中研磨并离心,吸取上清液,经 BCA 法检测蛋白浓度。上清液中加入 2x SDS 上样缓冲液后,100 ℃变性 5 min。脊髓背角蛋白经 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 电泳,并转印至孔径大小为 0.45 μ m 的聚偏二氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 上,用 5% 的脱脂奶粉封闭 1 h,将条带放入稀释后的兔抗 p-ERK1/2 一抗 (1 : 1000) 或兔抗 p-CREB 一抗 (1 : 1000) 中,4 ℃孵育过夜。洗膜 3 次,每次 10 min,加入稀释后的

山羊抗兔二抗 (1 : 5000) 于摇床室温孵育 2 h。重复漂洗后与 ECL 显色液反应 1 min 显影,经 LAS 4000 凝胶成像仪采集图像,用 Image J 软件分析条带灰度值。

八、免疫荧光法观察大鼠脊髓背角 p-CREB 荧光强度

参照杜俊英等^[18]的方法提取脊髓。大鼠经 3%戊巴比妥腹腔麻醉后,先使用 4 ℃预冷的生理盐水经心脏快速灌注,继以 4 ℃预冷的多聚甲醛快速灌注,用注射器冲出脊髓后,放入 4%多聚甲醛溶液中固定 4 h,依次经 15%和 30%的蔗糖溶液脱水至组织沉底,再放入液氮快速冷冻后,存放于-80 ℃冰箱保存。将大鼠腰段脊髓行 30 μ m 冰冻切片,切片前包埋,切片后漂洗 6 次,每次 10 min,用 10%驴血清封闭 1 h 后,加入兔抗 p-CREB 一抗 (1 : 800) 和小鼠抗 Neu 一抗 (1 : 400),4 ℃孵育过夜。次日 37 ℃复温 1 h 后,漂洗 6 次,每次 10 min,加入驴抗兔 Alexa Fluor488 IgG (H+L) 二抗 (1 : 400) 和驴抗小鼠 Alexa Fluor594 IgG (H+L) 二抗 (1 : 400),37 ℃恒温孵育 1 h 后再次重复漂洗,晾干后滴加抗荧光淬灭液封片。每组选取 3 只大鼠,每只大鼠取 3~5 张切片,在蔡司显微镜下观察脊髓背角切片并拍摄,通过 Image J 软件进行图像分析,统计每只大鼠脊髓背角 p-CREB 阳性细胞数。

九、统计学分析

采用 SPSS 22.0 版软件进行统计学处理。数据采用 ($\bar{x}\pm s$) 形式表示,组间比较采用单因素方差分析,方差齐者继以最小显著差异法 (least significant difference, LSD) 进行两两比较,方差不齐者以 Dunnett's 法进行两两比较。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠不同时间点的体重变化

链脲佐菌素注射前,各组大鼠体重比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。链脲佐菌素注射后 7 d、14 d、21 d,与正常组比较,模型组和电针组大鼠体重显著降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。详见表 1。

二、各组大鼠不同时间点的空腹血糖变化

链脲佐菌素注射前,各组大鼠空腹血糖水平比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。链脲佐菌素注射后 7 d、14 d、21 d,与正常组比较,模型组和电针组大鼠

表 1 各组大鼠不同时间点的体重变化 (g, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	注射前	7 d	14 d	21 d
正常组	8	196.75 $\pm$ 12.50	255.00 $\pm$ 9.68	299.75 $\pm$ 8.76	337.13 $\pm$ 13.31
模型组	8	194.75 $\pm$ 11.34	209.38 $\pm$ 7.33 ^a	206.13 $\pm$ 7.12 ^a	208.00 $\pm$ 5.56 ^a
电针组	8	196.88 $\pm$ 10.10	211.88 $\pm$ 9.22 ^a	208.50 $\pm$ 13.09 ^a	208.50 $\pm$ 11.71 ^a

注:与正常组同时点比较,^a $P<0.05$

表 2 各组大鼠不同时间点的空腹血糖变化 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	注射前	7 d	14 d	21 d
正常组	8	6.23±0.39	5.83±0.71	5.86±0.48	6.39±0.73
模型组	8	5.65±0.85	21.58±3.30 ^a	20.41±6.26 ^a	28.13±5.50 ^a
电针组	8	5.60±1.14	22.51±3.91 ^a	21.46±6.36 ^a	25.00±4.74 ^a

注:与正常组同时时间点比较,^a $P<0.05$

表 3 各组大鼠不同时间点的热痛阈变化 (s, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	注射前	7 d	14 d	21 d
正常组	8	12.94±1.10	12.93±1.04	13.21±0.99	12.65±0.66
模型组	8	13.01±0.88	13.33±0.84	7.27±1.10 ^a	7.69±0.95 ^a
电针组	8	13.28±0.68	13.39±0.49	8.88±2.53 ^a	10.12±0.88 ^b

注:与正常组同时时间点比较,^a $P<0.05$;与模型组同时时间点比较,^b $P<0.05$

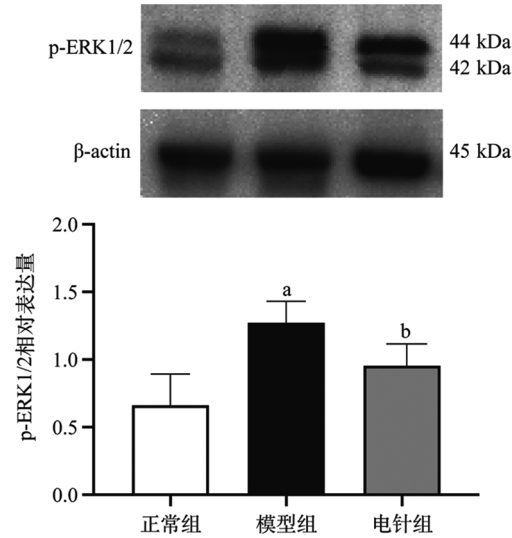
空腹血糖水平显著增高,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。详见表 2。

三、各组大鼠不同时间点的热痛阈变化

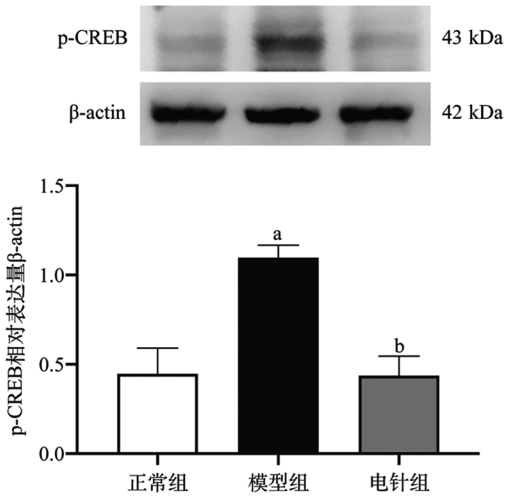
链脲佐菌素注射前,各组大鼠热痛阈比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。链脲佐菌素注射后 7 d,各组大鼠热痛阈比较,差异亦无统计学意义 ($P>0.05$)。链脲佐菌素注射后 14 d、21 d,与正常组比较,模型组大鼠热痛阈显著降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。链脲佐菌素注射后 21 d,与模型组比较,电针组大鼠热痛阈显著升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。详见表 3。

四、各组大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 蛋白表达水平比较

链脲佐菌素注射后 21 d,与正常组比较,模型组大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 蛋白表达量显著升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$);与模型组比较,电针组大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 蛋白表达量显著降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。详见图 1、图 2。



注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$
图 1 各组大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 蛋白表达比较



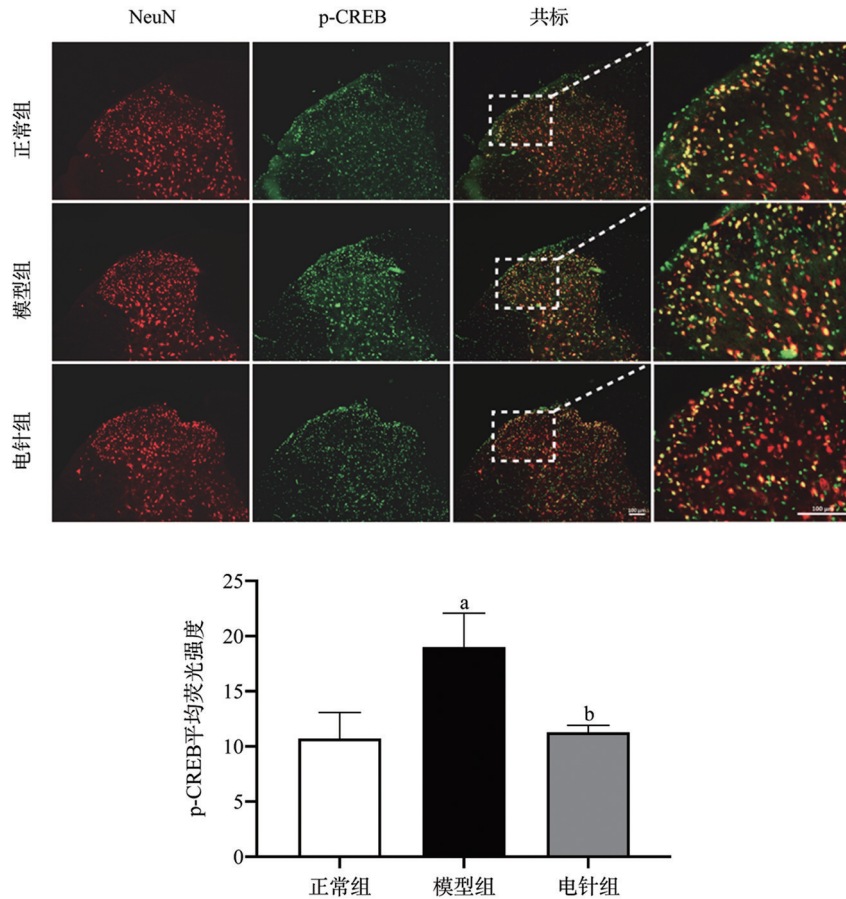
注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$
图 2 各组大鼠脊髓背角 p-CREB 蛋白表达比较

五、各组大鼠脊髓背角 p-CREB 免疫荧光结果

链脲佐菌素注射后 21 d,与正常组比较,模型组大鼠脊髓背角 p-CREB 阳性细胞数显著升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$);与模型组比较,电针组大鼠脊髓背角 p-CREB 阳性细胞数显著降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。可见脊髓背角 p-CREB 与神经元存在共表达。详见图 3。

讨 论

链脲佐菌素是目前使用较广泛的糖尿病动物模型化学诱导剂^[19-20]。本实验结果表明,腹腔注射链脲佐菌素 7 d 后,大鼠空腹血糖上升、体重下降,热痛阈在链脲佐菌素注射 14 d 后显著下降,表明链脲佐菌素可成功诱导糖尿病神经痛。电针对神经病理痛形成和发展中涉及的多个环节进行调控,从而起到治疗作用^[21]。“后三里”作为针灸治疗糖尿病的常用穴位,对糖尿病及其多种并发症有良好的治疗作用,“昆仑”穴在治疗疼痛上也颇具优势^[22-23]。故本实验选取



注:与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

图3 各组大鼠脊髓背角 p-CREB 阳性细胞数比较($\times 100 \mu\text{m}$)

“后三里”和“昆仑”穴作为靶标治疗穴位,结果显示电针此二穴可使糖尿病神经痛模型大鼠热痛阈升高,有效缓解糖尿病神经痛。

脊髓背角的浅层,特别是边缘层和胶质层,是中枢神经系统疼痛调节相关信息的重要区域^[24]。ERK 是丝裂原活化蛋白激酶家族的关键成员之一^[25],包括 ERK1 和 ERK2。神经损伤引起的神经元 ERK1/2 激活对痛觉过敏的诱导至关重要,因此 ERK1/2 被认为是治疗神经性疼痛的靶点^[26]。ERK1/2 可促进 CREB 磷酸化,参与疼痛调节^[27-29]。CREB 是位于细胞核内的转录因子,是一种高度选择性结合环磷酸腺苷反应元件的核蛋白^[30-31]。p-CREB 广泛存在于脊髓背角神经元细胞,参与多种类型疼痛的形成和维持,在中枢敏化中发挥重要作用^[32-35]。

本实验免疫印迹结果显示,模型组大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 表达增多,而电针连续干预 7 d 后,大鼠脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 表达下调。免疫荧光结果显示,脊髓背角 p-CREB 与神经元存在共表达,模型组大鼠脊髓背角 p-CREB 阳性细胞数较正常组显著增多,经电针连续干预 7 d 后,大鼠脊髓背角

p-CREB 阳性细胞数显著减少。

本实验结果显示,采用电针刺激糖尿病神经痛模型大鼠“后三里”和“昆仑”穴,可有效缓解其疼痛,抑制脊髓背角 p-ERK1/2 和 p-CREB 表达,其机制有待进一步证实。在后续研究中,将开展电针对糖尿病神经痛模型大鼠其他疼痛相关部位及疼痛物质调控作用的研究。

参 考 文 献

- [1] Chen GQ, Mou CY, Yang YQ, et al. Exercise training has beneficial anti-atrophy effects by inhibiting oxidative stress-induced MuRF1 upregulation in rats with diabetes [J]. Life Sci, 2011, 89(1-2): 44-49. DOI: 10.1016/j.lfs.2011.04.018.
- [2] 张雨辰, 张雅琴. 糖尿病类型及并发症的研究进展 [J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(2): 958-960. DOI: 10.13417/j.gab.040.000958.
- [3] 杨欢, 郑小兰, 徐国海, 等. 电针治疗糖尿病神经病理性疼痛机制的研究进展 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2015, 21(11): 855-858. DOI: 10.3969/j.issn.1006-9852.2015.11.012.
- [4] 卫哲, 祝力骋. 督脉电针对脊髓损伤后 MAPK/ERK1/2 信号通路的影响 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2020, 42(1): 8-12. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.01.003.

- [5] 叶佳瑜,蒋永亮,颜思思,等.低频电针对选择性神经损伤大鼠神经痛维持期脊髓背角 PKA-TRPV1 通路及痛敏递质的干预作用[J].中华物理医学与康复杂志,2017,39(7):481-485. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2017.07.001.
- [6] 程瑞动,叶祥明,杨婷,等.电针治疗对神经病理性疼痛中嘌呤能受体的影响及其作用机制研究[J].中华物理医学与康复杂志,2019,41(1):13-17. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2019.01.003.
- [7] 李杨乐,杨锋,樊静杰,等.电针对膝骨性关节炎大鼠脊髓背角 CB2R、p-P38 和 p-ERK 表达的影响[J].中国中医药信息杂志,2022,29(7):60-66. DOI: 10.19879/j.cnki.1005-5304.202110198.
- [8] 方剑乔,房军帆,梁宜,等.电针即刻镇痛效应及其对脊髓 p-ERK1/2 的调控[J].中国针灸,2012,32(11):1007-1011. DOI: 10.13703/j.0255-2930.2012.11.019.
- [9] 张浩,张宏利,李晓华.针刺治疗糖尿病周围神经病变临床研究进展[J].按摩与康复医学,2021,12(24):66-69. DOI: 10.19787/j.issn.1008-1879.2021.24.021.
- [10] 刘鑫淼,江红.针灸治疗糖尿病性周围神经病变的研究进展[J].实用中医内科杂志,2019,33(12):96-98. DOI: 10.13729/j.issn.1671-7813.z20190567.
- [11] He XF, Wei JJ, Shou SY, et al. Effects of electroacupuncture at 2 and 100 Hz on rat type 2 diabetic neuropathic pain and hyperalgesia-related protein expression in the dorsal root ganglion[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2017, 18(3):239-248. DOI: 10.1631/jzus.B1600247.
- [12] Prescott SA, Ma Q, Koninck YD. Normal and abnormal coding of somatosensory stimuli causing pain[J]. Nat Neurosci, 2014, 17(2):183-191. DOI: 10.1038/nn.3629.
- [13] Liu P, Guo WY, Zhao XN, et al. Intrathecal baclofen, a GABA_B receptor agonist, inhibits the expression of p-CREB and NR2B in the spinal dorsal horn in rats with diabetic neuropathic pain[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2014, 92(8):655-660. DOI: 10.1139/cjpp-2013-0463.
- [14] 刘朋.激活 GABA_B 受体对糖尿病神经痛大鼠脊髓背角 p-CREB 和 NR2B 受体表达的影响[D].石家庄:河北医科大学,2013.
- [15] 王月静,姚宏波,张萌,等.鞘内注射 M₁-ERK2-shRNA 腺病毒对糖尿病神经痛小鼠的影响[J].解剖学报,2019,50(5):565-569. DOI: 10.16098/j.issn.0529-1356.2019.05.004.
- [16] 乔鸿飞,张巧俊,袁海峰,等.超短波对糖尿病大鼠溃疡创面碱性成纤维细胞生长因子表达的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2015,37(9):653-657. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.09.003.
- [17] 余曙光,徐斌.实验针灸学[M].北京:人民卫生出版社,2012.
- [18] 杜俊英,方剑乔,梁宜,等.大鼠脊髓提取改良法[J].中华病理学杂志,2011,40(2):115-116. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2011.02.013.
- [19] 崔雅忠,杨丹,张倩,等.STZ 诱导的 2 型与 1 型糖尿病大鼠模型的对比研究[J].医学研究杂志,2018,47(5):36-38. DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.05.009.
- [20] Goyal SN, Reddy NM, Patil KR, et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes - a clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics[J]. Chem Biol Interact, 2016, 244:49-63. DOI: 10.1016/j.cbi.2015.11.032.
- [21] 孙嘉璐,吕宁.电针治疗神经病理痛机制的研究进展[J].复旦学报(医学版),2021,48(3):398-403. DOI: 10.3969/j.issn.1672-8467.2021.03.019.
- [22] 崔晶晶.后三里穴深透刺激对慢性炎性痛模型大鼠镇痛作用的差异及机制研究[D].北京:中国中医科学院,2019.
- [23] 王镜宇,张学成,朱永政,等.基于数据挖掘探析昆仑穴主治病症和配伍规律[J].山东中医杂志,2021,40(12):1287-1296. DOI: 10.16295/j.cnki.0257-358x.2021.12.002.
- [24] Silva RD. A comprehensive reference morphological and neurochemical organization of the spinal dorsal horn[J]. Neuroscience, 2008, 155(1):279-310. DOI: 10.1016/B978-012370880-9.00163-8.
- [25] Wen X, Jiao L, Tan H. MAPK/ERK pathway as a central regulator in vertebrate organ regeneration[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3):1464. DOI: 10.3390/ijms23031464.
- [26] Kondo M, Shibuta I. Extracellular signal-regulated kinases (ERK) 1 and 2 as a key molecule in pain research[J]. J Oral Sci, 2020, 62(2):147-149. DOI: 10.2334/josnusd.19-0470.
- [27] Lavoie H, Gagnon J, Therrien M. ERK signalling: a master regulator of cell behaviour, life and fate[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(10):607-632. DOI: 10.1038/s41580-020-0255-7.
- [28] 李艳荣,兰顺领,晋倩.有氧运动对大鼠海马和额叶皮层 ERK/CREB/BDNF 信号通路的影响[J].韶关学院学报,2019,40(6):87-91. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5348.2019.06.018.
- [29] 陆颖,朱俐,高永静.丝裂原活化蛋白激酶在疼痛信号调制中的作用[J].基础医学与临床,2007,27(8):948-952. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2007.08.026.
- [30] Ma W, Hatzis C, Eisenach JC. Intrathecal injection of cAMP response element binding protein (CREB) antisense oligonucleotide attenuates tactile allodynia caused by partial sciatic nerve ligation[J]. Brain Res, 2003, 988(1-2):97-104. DOI: 10.1016/S0006-8993(03)03348-1.
- [31] 胡计婵,杨建平,刘磊,等.骨痛痛大鼠脊髓背角 pCREB 表达的变化[J].中国疼痛医学杂志,2010,16(5):285-288. DOI: 10.3969/j.issn.1006-9852.2010.05.008.
- [32] Shuklas N, Ray S. The molecular base of development to tolerance for morphine analgesia, expression of CREB and p-CREB protein in dorsal horn of spinal cord of rats: a new insight to explain the tolerance to opioid analgesia[J]. Indian J Clin Anat Physiol, 2017, 4(2):163-168. DOI: 10.18231/2394-2126.2017.0041.
- [33] 李丽辉,黄强民,刘琳,等.精准针刺刺激点联合拉伸对大鼠前扣带皮层 CREB 表达及其磷酸化的影响[J].中国疼痛医学杂志,2019,25(2):87-93. DOI: 10.3969/j.issn.1006-9852.2019.02.003.
- [34] Pricet J, Inyang E. Commonalities between pain and memory mechanisms and their meaning for understanding chronic pain[J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2015, 131:409-434. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2014.11.010.
- [35] 韩曼,刘晓华,王少兰,等.辣椒素对大鼠脊髓背角中磷酸化环磷酸腺苷反应元件结合蛋白表达的影响[J].新乡医学院学报,2020,37(12):1114-1117. DOI: 10.7683/xyxyxb.2020.12.003.

(修回日期:2022-06-02)

(本文编辑:凌琛)