

· 研究简报 ·

恩再适对坐骨神经慢性压迫性损伤大鼠痛觉过敏及其基因表达的影响

叶永贤 赵佳丽 沙漠 郭长勇 李广军 刘炎 刘国浚 丁真奇

【摘要】目的 观察恩再适对坐骨神经慢性压迫性损伤(CCI)大鼠痛觉过敏及脊髓核因子- κ B(NF- κ B)、N-甲基 D-天冬氨酸受体 2B 亚基(NR2B)和胰腺炎相关蛋白 I(PAP I)表达的影响。**方法** 选取 104 只 180~220 g 雄性 SD 大鼠,参考 Bennett 和 Xie 的方法结扎大鼠左侧坐骨神经,建立 CCI 模型。按随机数字表法分为对照组和治疗组,每组 52 只。2 组大鼠均在 CCI 术后 24 h 进行封闭给药治疗。治疗组给予恩再适 35 μ l、2%利多卡因 10 μ l 和维生素 B₁₂注射液 5 μ l,加生理盐水至 0.5 ml,于坐骨神经结扎部位进行封闭;对照组仅给予 0.5 ml 生理盐水、利多卡因和维生素 B₁₂混合液进行封闭。分别于术前 1 d、术后 2、4、7、14 和 21 d 各时间点,测定各组大鼠机械缩足反射阈值(MWT)和后爪回缩潜伏期(PWL),然后处死大鼠(每组 8 只),取 L₄₋₆脊髓,分别采用实时定量聚合酶链反应($n=4$)和蛋白质印迹法($n=4$)检测脊髓 NF- κ B、NR2B 和 PAP I 的表达;并在术后 7 d 时采用免疫组织化学染色方法检测 2 组大鼠(每组另 4 只)脊髓 NF- κ B、NR2B 和 PAP I 的免疫反应阳性神经元的表达。**结果** ①对照组术后第 2、4、7、14 和 21 天的 MWT 值[(21.48 $\pm$ 1.09)、(15.99 $\pm$ 0.98)、(8.84 $\pm$ 0.82)、(11.30 $\pm$ 0.62)和(14.21 $\pm$ 0.91)g]分别较组内术前 1 d 时[(26.31 $\pm$ 1.26)g]明显下降,而治疗组对应时间点的 MWT 值[(23.56 $\pm$ 1.03)、(19.08 $\pm$ 0.96)、(14.11 $\pm$ 0.80)、(16.21 $\pm$ 0.66)和(18.33 $\pm$ 0.75)g]均较同时点对照组明显增加($P<0.05$);②对照组术后第 2、4、7、14 和 21 天的 PWL 值[(15.30 $\pm$ 0.77)、(11.46 $\pm$ 0.62)、(6.70 $\pm$ 0.74)、(8.85 $\pm$ 0.69)和(11.22 $\pm$ 0.71)s]分别较组内术前 1 d 时[(18.25 $\pm$ 0.80)s]明显下降,而治疗组对应时间点的 PWL 值[(15.66 $\pm$ 0.65)、(12.67 $\pm$ 0.57)、(9.48 $\pm$ 0.47)、(10.43 $\pm$ 0.49)和(13.08 $\pm$ 0.84)s]与同时点对照组相比,除术后第 2 天组间差异无统计学意义($P>0.05$)外,均明显增加($P<0.01$);③对照组术后脊髓 NF- κ B、NR2B 和 PAP I 的表达较组内术前明显升高($P<0.05$),治疗组脊髓 NF- κ B 和 NR2B 表达较同时点对照组明显降低($P<0.05$),而脊髓 PAP I 表达则明显增加($P<0.05$);④术后第 7 天,治疗组大鼠脊髓 NF- κ B 和 NR2B 的积分光密度(OD)值明显低于对照组($P<0.01$),而其 PAP I 的 OD 值则明显高于对照组($P<0.01$)。**结论** CCI 大鼠痛觉过敏的产生和发展与脊髓 NF- κ B、NR2B 和 PAP I 的表达有关,恩再适封闭治疗改善 CCI 大鼠痛觉过敏可能是通过下调脊髓 NF- κ B 和 NR2B 以及上调 PAP I 的表达实现的。

【关键词】 恩再适; 神经病理性疼痛; 痛觉过敏

神经病理性疼痛(neuropathic pain, NPP)的最新定义是躯体感觉系统的疾病或病变直接引起的疼痛^[1],主要特征为自发性疼痛和诱发性疼痛,其发病率高,病因复杂。本研究通过对坐骨神经慢性压迫性损伤(chronic constriction injury, CCI)大鼠采用恩再适封闭治疗,测定其机械缩足反射阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT)和后爪回缩潜伏期(paw withdrawal latency, PWL),观察恩再适对 CCI 大鼠痛觉过敏的影响;并通过实时定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, qPCR)、蛋白质印迹法(western blotting, WB)及免疫组织化学染色方法,比较大鼠脊髓核因子- κ B(Nuclear factor- κ B, NF- κ B)、N-甲基 D-天冬氨酸受体 2B 亚基(N-methyl-D-aspartic acid receptor 2B, NR2B)和胰腺炎相关蛋白 I(Pancreatitis associated protein I, PAP I)的表达,分析恩再适引起的

NF- κ B、NR2B 和 PAP I 的表达变化在 NPP 治疗中的作用,旨在探讨恩再适改善大鼠痛觉过敏的作用机制。

材料与方法

一、实验动物及分组

清洁级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠(购自厦门大学动物实验中心) 104 只,体重 180~220 g,出生 8~10 周。参考 Bennett 和 Xie^[2]的方法结扎大鼠左侧坐骨神经,建立 CCI 模型。按随机数字表法分为对照组和治疗组,每组 52 只。

2 组大鼠均在 CCI 术后 24 h 进行封闭给药治疗。治疗组给予恩再适(香港威世药业提供)35 μ l、2%利多卡因 10 μ l 和维生素 B₁₂注射液 5 μ l,加生理盐水至 0.5 ml,于坐骨神经结扎部位进行封闭;对照组仅给予 0.5 ml 生理盐水、利多卡因和维生素 B₁₂混合液进行封闭。

二、MWT 和 PWL 的测定

分别于术前 1 d(术前)、术后 2、4、7、14 和 21 d 时,各取 8 只大鼠测定 MWT 和 PWL。采用升降法(up-and-down)^[3]用触觉测量套件(Von Frey 纤维丝)测定 MWT。选取 2、4、6、8、10、15 和 26 g 的力度,用 Von Frey 纤维丝刺激后肢,根据下列公式

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.03.019

基金项目:国家自然科学基金资助项目(NSFC:81371951)

作者单位:363000 漳州,厦门大学附属东南医院骨科(叶永贤、沙漠、郭长勇、李广军、刘炎、刘国浚、丁真奇),药学科(赵佳丽)

通信作者:丁真奇,Email:dzqi@xmu.edu.cn

(1) 计算大鼠 MWT^[4]:

$$MWT = (10^{[\log X_f + k\delta]}) / 10000 \quad (1)$$

其中, X_f 为最后刺激所用力度, k 为不同刺激方式的系数, δ 是指各刺激力度 ($\log$ 值) 相邻间距的平均数, 此处 $\delta = 0.186$ 。

用 BME-410 型热痛刺激仪测定 PWL。将大鼠置于底为 3 mm 厚玻璃板的有机玻璃箱中, 待大鼠安静后, 用热辐射刺激仪 (50 W, 20 V) 发出 5 mm 光斑照射大鼠足底, 电子秒表记录从照射开始至大鼠出现抬腿回避时间即为 PWL, 注意照射时间不超过 30 s, 以免造成组织损伤, 最长记为 30 s。

三、脊髓 NF- κ B 和 NR2B 及 PAP I 表达的测定

1. qPCR 检测: 2 组大鼠于实验预期时间点测定痛阈后各取 4 只断头处死, 取 L₄₋₆ 脊髓组织于匀浆器中加入液氮研磨后, 加入 1 ml Trizol 进行裂解, 使用组织 RNA 提取试剂盒分离提取总 mRNA。初步测定总 mRNA 浓度后, 使用第一链 cDNA 合成试剂盒合成 cDNA 模板, 以反转录后的 cDNA 模板进行 qPCR 反应。运用循环阈值 (cycle threshold, Ct) 分析脊髓 NF- κ B、NR2B 和 PAP I 的相对表达水平。qPCR 引物序列如表 1 所示。

表 1 引物序列

名称	引物序列	产物大小
NF-κB		
上游引物	5'-TCACCAAAGACCCACCTCACC-3'	244 bp
下游引物	5'-CGCACCCGCATTCAAGTCATAGT-3'	
NR2B		
上游引物	5'-CACCTGGAATGGCATGATCG-3'	246 bp
下游引物	5'-TCAGCCACCGCAGAAACAAT-3'	
PAP I		
上游引物	5'- GGAGGAGCAGAAAGATGATGAGAG-3'	197 bp
下游引物	5'- CTGAAACAGGGCATAGCAGTAGG-3'	
β-actin		
上游引物	5'-GCAGATGTGGATCAGCAAGCAG-3'	112 bp
下游引物	5'-TGTCAAAGAAAGGGTGTAACACGC-3'	

2. WB 检测: 2 组大鼠于实验预期时间点测定痛阈后各取 4 只断头处死, 取 L₄₋₆ 脊髓组织于细胞裂解缓冲液中匀浆, 分离提取总蛋白溶液。初步测定总蛋白浓度后, 以 40 μ g 蛋白在聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 胶上电泳分离, 之后转印到聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上。用 5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 在 4 $^{\circ}$ C 条件下一抗孵育过夜 (1:1000), 洗膜后于室温下置入辣根过氧化物酶标记的二抗溶液 (1:10 000) 中孵育 1 h, 最后用超敏 ECL 化学发光试剂盒显像。用 Quantity One 软件分析数据结果。

3. 免疫组织化学: CCI 术后第 7 天 2 组大鼠分别取 4 只用

10% 水合氯醛按 300 mg/kg 腹腔注射麻醉后, 取仰卧位固定, 开胸, 暴露心脏。经升主动脉置管, 剪破右心耳, 灌注生理盐水, 直至从右心耳中流出的生理盐水澄清为止。再灌注 4% 多聚甲醛 400 ml, 取 L₄₋₆ 脊髓, 用 4% 多聚甲醛固定 48 h, 石蜡包埋, 取冠状切片, 片厚 4 μ m。采用美国 Zymed 公司 SP 试剂盒, 兔 Anti-NF- κ B、NR2B 和 PAP I 原液, 经 1:200 稀释后, 按说明书进行免疫组织化学染色。采用 Image pro plus 6.0 图像分析软件获得积分光密度 (integral optical density, IOD) 值来表示免疫组织化学染色的强弱程度。

五、统计学处理

使用 SPSS 16.0 版统计软件进行统计学分析处理, 各组数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组内比较采用单因素方差分析的 LSD 法, 组间比较采用两独立样本的 t 检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠 MWT 和 PWL 的变化

与术前相比, 对照组术侧自术后第 2 天开始出现 MWT 及 PWL 下降, 术后第 7 天下降至最低, 在术后第 14 天仍处于较低水平, 与组内术前比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。与对照组相比, 除治疗组术后第 2 天大鼠 PWL 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) 外, 其余术后各时间点的 MWT 和 PWL 均明显高于对照组 ($P < 0.05$)。详见表 2。

二、各组大鼠脊髓 NF- κ B、NR2B 和 PAP I 表达变化

1. qPCR 检测: qPCR 各引物扩增曲线 Ct 值在 9 ~ 22, 未超过 30, 扩增效率好; 溶解曲线及溶解峰为单峰, 说明反应的特异性高。qPCR 结果准确可靠。如图 1 所示。

术后第 4、7、14 和 21 天, 对照组的脊髓 NF- κ B 及 NR2B mRNA 表达较术前明显增加 ($P < 0.05$), 而治疗组的脊髓 NF- κ B 及 NR2B mRNA 表达较相应时间点对照组显著减少 ($P < 0.05$)。术后第 2、4 和 7 天, 对照组的脊髓 PAP I mRNA 表达较组内术前显著增加 ($P < 0.05$), 而治疗组术后第 7、14 和 21 天的脊髓 PAP I mRNA 表达较相应时间点对照组显著增加 ($P < 0.05$)。详见表 3。

2. WB 检测: 对照组术后第 4、7、14 和 21 天, 脊髓 NF- κ B 和 NR2B 蛋白较组内术前显著增加 ($P < 0.05$), 而治疗组脊髓 NF- κ B 和 NR2B 蛋白表达在相应时间点较对照组显著减少 ($P < 0.05$); 对照组术后第 4 和 7 天, 脊髓 PAP I 蛋白表达较组内术前显著增加 ($P < 0.01$); 治疗组术后第 2、4、7、14 和 21 天的脊髓 PAP I 蛋白表达较对照组同时时间点显著增加 ($P < 0.01$)。详见表 4。

表 2 2 组大鼠不同时间点测定的 MWT 及 PWL 比较 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	术前	术后第 2 天	术后第 4 天	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 21 天
对照组						
MWT (g)	26.31 $\pm$ 1.26	21.48 $\pm$ 1.09 ^a	15.99 $\pm$ 0.98 ^a	8.84 $\pm$ 0.82 ^a	11.30 $\pm$ 0.62 ^a	14.21 $\pm$ 0.91 ^a
PWL (s)	18.25 $\pm$ 0.80	15.30 $\pm$ 0.77 ^a	11.46 $\pm$ 0.62 ^a	6.70 $\pm$ 0.74 ^a	8.85 $\pm$ 0.69 ^a	11.22 $\pm$ 0.71 ^a
治疗组						
MWT (g)	25.95 $\pm$ 1.63	23.56 $\pm$ 1.03 ^b	19.08 $\pm$ 0.96 ^c	14.11 $\pm$ 0.80 ^c	16.21 $\pm$ 0.66 ^c	18.33 $\pm$ 0.75 ^c
PWL (s)	17.76 $\pm$ 0.75	15.66 $\pm$ 0.65	12.67 $\pm$ 0.57 ^c	9.48 $\pm$ 0.47 ^c	10.43 $\pm$ 0.49 ^c	13.08 $\pm$ 0.84 ^c

注: 与组内术前比较, ^a $P < 0.01$; 与对照组同时时间点比较, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$

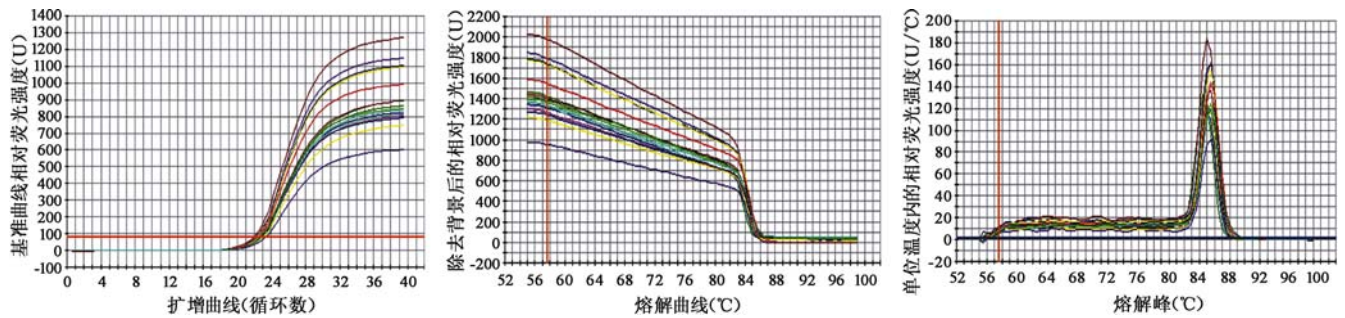


图1 qPCR 扩增曲线和溶解曲线及溶解峰示意图

表3 2 组大鼠不同时间点的脊髓 NF-κB 和 NR2B 及 PAP I mRNA 表达比较($n=4, \bar{x} \pm s$)

组别	术前	术后第 2 天	术后第 4 天	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 21 天
对照组						
NF-κB	0.98 ± 0.12	1.34 ± 0.15	1.61 ± 0.15 ^a	5.26 ± 0.47 ^a	2.58 ± 0.39 ^a	2.50 ± 0.21 ^a
NR2B	1.02 ± 0.25	0.96 ± 0.15	4.16 ± 0.47 ^a	6.41 ± 0.74 ^a	4.70 ± 0.36 ^a	2.57 ± 0.16 ^a
PAP I	0.99 ± 0.14	2.97 ± 0.50 ^a	3.70 ± 0.66 ^a	6.88 ± 0.39 ^a	1.30 ± 0.35	1.21 ± 0.17
治疗组						
NF-κB	0.99 ± 0.11	1.15 ± 0.05	1.20 ± 0.09 ^b	2.88 ± 0.17 ^b	1.73 ± 0.15 ^c	1.56 ± 0.16 ^b
NR2B	1.00 ± 0.20	1.00 ± 0.17	2.53 ± 0.45 ^b	4.25 ± 0.86 ^b	3.50 ± 0.51 ^c	1.60 ± 0.26 ^b
PAP I	1.06 ± 0.14	3.53 ± 0.66	4.26 ± 0.42	12.70 ± 3.44 ^c	7.77 ± 1.91 ^b	1.96 ± 0.25 ^b

注:与组内术前比较,^a $P < 0.01$;与对照组同时时间点比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$ 表4 2 组大鼠不同时间点的脊髓 NF-κB、NR2B 和 PAP I 蛋白表达比较($n=4, \bar{x} \pm s$)

组别	术前	术后第 2 天	术后第 4 天	术后第 7 天	术后第 14 天	术后第 21 天
对照组						
NF-κB	1.01 ± 0.12	1.20 ± 0.10	1.38 ± 0.12 ^a	2.83 ± 0.25 ^a	1.81 ± 0.13 ^a	1.27 ± 0.10 ^b
NR2B	0.99 ± 0.11	2.22 ± 0.15 ^b	3.45 ± 0.24 ^a	5.39 ± 0.29 ^a	3.55 ± 0.34 ^a	2.84 ± 0.21 ^a
PAP I	1.00 ± 0.10	1.21 ± 0.25	2.80 ± 0.20 ^a	3.94 ± 0.33 ^a	1.02 ± 0.09	1.01 ± 0.09
治疗组						
NF-κB	1.00 ± 0.05	1.11 ± 0.08	1.22 ± 0.07 ^c	2.21 ± 0.15 ^d	1.57 ± 0.12 ^c	1.16 ± 0.09 ^c
NR2B	1.01 ± 0.09	1.99 ± 0.11 ^c	2.97 ± 0.16 ^d	4.36 ± 0.38 ^d	2.79 ± 0.23 ^d	2.34 ± 0.21 ^d
PAP I	1.01 ± 0.10	2.03 ± 0.14 ^d	4.07 ± 0.20 ^d	6.37 ± 0.39 ^d	5.44 ± 0.33 ^d	2.41 ± 0.24 ^d

注:与组内术前比较,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;与对照组同时时间点比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

三、免疫组织化学染色

与对照组相比,治疗组脊髓 NF-κB 和 NR2B 免疫反应阳性神经元细胞表达数量和密度明显减少,染色程度明显减弱(图 2);PAP I 免疫阳性神经元细胞表达数量和密度明显增加,染色程度明显增强(图 2)。

2 组大鼠免疫组化染色各项指标的 IOD 值比较具体数据详见表 5,组间比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表5 2 组大鼠免疫组化染色各项指标的 IOD 值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	NF-κB	NR2B	PAP I
对照组	4	19 746.52 ± 1003.98	22 454.24 ± 1217.69	2679.41 ± 245.26
治疗组	4	11 293.80 ± 694.62 ^a	11 391.14 ± 1008.25 ^a	7565.79 ± 517.31 ^a

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$

讨 论

本研究对照组术后 MWT 和 PWL 较组内术前明显降低(见表 2),这与 Chou 等^[5]的研究结果一致;治疗组大鼠 MWT 和 PWL 较对照组同时时间点明显增加(见表 2),说明使用恩再适封闭治疗能够显著改善 CCI 大鼠的痛觉过敏,在 NPP 的治疗中效果良好。

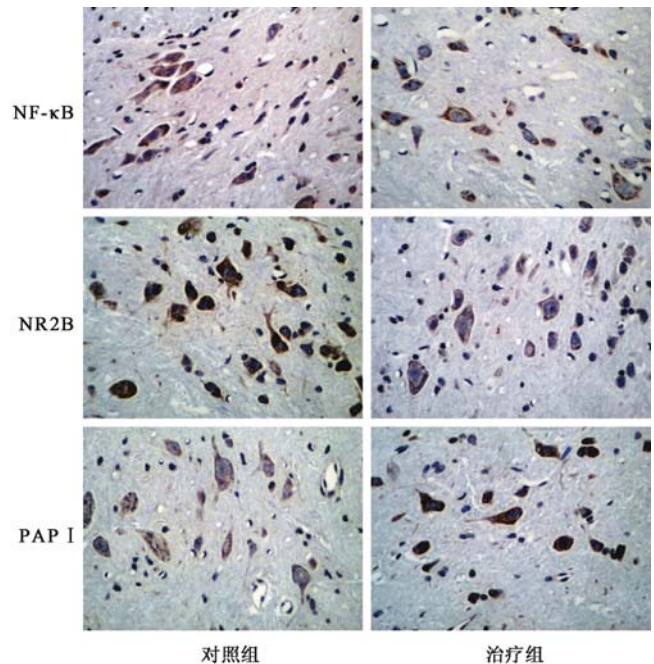


图2 2 组大鼠脊髓背角 NF-κB 和 NR2B 及 PAP I 的表达(免疫组化染色, ×400)

本研究对照组大鼠脊髓 NF- κ B 和 NR2B 的表达均较组内术前显著增加(表 3),这与 Chou 等^[5]和 Kim 等^[6]的研究一致;CCI 术后大鼠脊髓 NF- κ B 和 NR2B 表达的增加与 MWT 和 PWL 的下降同步,表明大鼠脊髓 NF- κ B 和 NR2B 的表达增加是 CCI 术后大鼠痛觉过敏的重要原因。Fang 等^[7]也证实了 NF- κ B 作为机体内重要的核转录因子,可以通过调节促炎性因子,如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 等的表达参与 NPP 的进展。而 Wang 等^[8]的研究也表明,持续高强度的疼痛刺激可以促进 N-甲基 D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDA) 的表达,NR2B 作为 NMDA 受体的调节性亚基,决定着 NMDA 受体的一系列重要特性。

Fang 等^[7,9]通过实验证实,PAP I 在神经系统中可抑制神经元细胞凋亡,促进神经突生长,保护神经系统的功能。本研究结果显示,2 组大鼠脊髓 PAP I 的表达均较组内术前有显著升高($P < 0.05$),且恩再适封闭治疗的大鼠脊髓 PAP I 的表达明显高于对照组(表 3),说明 PAP I 在 CCI 大鼠脊髓的表达增高可能是一种保护神经元的应激性改变,使用恩再适封闭治疗后增加了脊髓 PAP I 的表达并延长其作用时间,从而促进大鼠坐骨神经结扎后引起的神经损伤修复。

本研究中,治疗组大鼠 MWT 和 PWL 的下降与大鼠脊髓 NF- κ B 和 NR2B 的下调及 PAP I 的表达增加一致,说明恩再适在神经病理性大鼠中的治疗作用可能是通过以下机制实现:①它增加了 PAP I 的表达强度并延长其表达时限,促进神经元细胞再生和抑制神经炎症,对于 NPP 引起的神经损伤修复起到非常重要的作用,这种修复作用可能是通过抑制 NF- κ B 入核,从而减少 TNF- α 及 IL-6 的表达,抑制 NPP 的发展^[10];②恩再适减少 NR2B 在大鼠脊髓的表达,既可以抑制 NMDA 神经元型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS) 通路减少痛觉传递^[8],又能减少神经元细胞因子 Ca^{2+} 超载引起的细胞凋亡^[11]。Lima 等^[12]研究报道,在神经系统中存在 NMDA 受体介导 NF- κ B 的活化,从而促进 IL-1 β 和 TNF- α 等的表达,进一步说明恩再适封闭治疗降低 NR2B 的表达同样可以参与调节 NF- κ B 的表达,从而抑制 CCI 大鼠的痛觉过敏。

综上所述,恩再适封闭治疗可明显改善 CCI 大鼠的痛觉过敏,其作用的分子机制是上调 PAP I 以及下调 NR2B 和 NF- κ B 在大鼠脊髓的表达。

参 考 文 献

- [1] Geber C, Baumgartner U, Schwab R, et al. Revised definition of neuropathic pain and its grading system: an open case series illustrating its use in clinic practice[J]. Am J Med, 2009, 122(10):3-12.
- [2] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man[J]. Pain, 1988, 33(1):87-107.
- [3] Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations[J]. Ann Rev Pharmacol Toxicol, 1980, 20(1):441-462.
- [4] 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.
- [5] Chou CW, Wong GT, Lim G, et al. Peripheral nerve injury alters the expression of NF-kappaB in the rat's hippocampus[J]. Brain Res, 2011, 1378(1):66-71.
- [6] Kim Y, Cho HY, Ahn YJ, et al. NMDA receptor antagonists for the treatment of neuropathic Pain[J]. Pain, 2012, 153(5):1022-1029.
- [7] Fang M, Huang JY, Ling SC, et al. Effects of Reg-2 on survival of spinal cord neurons in vitro[J]. Anat Rec, 2010, 293(3):464-476.
- [8] Wang W, Mei XP, Wei YY, et al. Neuronal NR2B-containing NMDA receptor mediates spinal astrocytic c-Jun N-terminal kinase activation in a rat model of neuropathic pain[J]. Brain Behav Immun, 2011, 25(7):1355-1366.
- [9] Fang M, Wang J, Huang JY, et al. The neuroprotective effects of Reg-2 following spinal cord transection injury[J]. Anat Rec, 2011, 294(1):24-45.
- [10] Vassur S, Folch-Puy E, Hlouscheck V, et al. p8 improves pancreatic response to acute pancreatitis by enhancing the expression of the anti-inflammatory protein pancreatitis-associated protein 1[J]. J Biol Chem, 2004, 279(8):7199-7207.
- [11] Matsumura S, Kunori S, Mabuchi T, et al. Impairment of CaMKII activation and attenuation of neuropathic pain in mice lacking NR2B phosphorylated at Tyr1472[J]. Eur J Neurosci, 2010, 32(5):798-810.
- [12] De Sá Lima L, Kawamoto EM, Munhoz CD, et al. Ouabain activates NF- κ B through an NMDA signaling pathway in cultured cerebellar cells[J]. Neuropharmacology, 2013, 73:327-336.

(修回日期:2014-12-30)

(本文编辑:汪 玲)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》,《中华物理医学与康复杂志》对论文中有关实验动物的描述,要求写清楚以下事项:①品种、品系及亚系的确切名称;②遗传背景或其来源;③微生物检测状况;④性别、年龄、体重;⑤质量等级及合格证书编号;⑥饲养环境和实验环境;⑦健康状况;⑧对实验动物的处理方式。

医学实验动物分为四级:一级为普通级;二级为清洁级;三级为无特定病原体(SPF)级;四级为无菌级。卫生部级课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。