

重复经颅磁刺激对神经病理性疼痛大鼠脊髓内星形胶质细胞的抑制作用

许惊飞 郭铁成

【摘要】 目的 观察低频和高频重复经颅磁刺激(rTMS)对大鼠神经病理性疼痛的疗效及其对大鼠脊髓内星形胶质细胞标志物胶质酸性纤维蛋白(GFAP)的影响,探讨rTMS治疗神经病理性疼痛的机制。**方法** 28只雄性SD大鼠,随机分为假手术组、假治疗组、低频rTMS组(1 Hz)、高频rTMS组(20 Hz),每组7只。假手术组仅暴露游离大鼠坐骨神经,不予结扎;其余3组经手术结扎坐骨神经制作神经病理性疼痛模型。术后第3天开始进行rTMS治疗,连续10 d,刺激疼痛对侧大脑初级运动皮质。并于造模前、rTMS治疗前和治疗后测定疼痛行为学表现、机械痛觉和热痛觉,并于治疗结束后测定腰段脊髓内GFAP的表达。**结果** 造模后3 d,假治疗组、低频rTMS组、高频rTMS组大鼠均出现明显的疼痛行为学表现,热痛潜伏时较假手术组均明显降低($P<0.05$)。rTMS治疗后,高频rTMS组热痛潜伏时较假治疗组升高($P<0.05$),而低频rTMS组无明显变化。与假手术组比较,假治疗组和低频rTMS组损伤侧脊髓背角内GFAP阳性表达细胞数量和染色强度均明显增加($P<0.05$)。与假治疗组比较,高频rTMS组脊髓背角GFAP的表达显著下调($P<0.05$),而低频rTMS无此改变。高频rTMS组大鼠疼痛改善程度与脊髓背角中GFAP的表达呈负相关。**结论** 坐骨神经结扎导致的神经病理性疼痛伴有脊髓背角内星形胶质细胞增殖;高频rTMS可以通过抑制脊髓内星形胶质细胞的增殖和活性而缓解疼痛,低频rTMS则无明显效果。

【关键词】 神经病理性疼痛; 重复经颅磁刺激; 星形胶质细胞; 胶质酸性纤维蛋白; 热痛觉

Inhibition of astrocytes in the spinal cord by repetitive transcranial magnetic stimulation for relieving neuropathic pain Xu Jingfei, Guo Tiecheng. Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding author: Guo Tiecheng, Email: pmr@tjh.tjmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To observe the effects of repeated low and high-frequency transcranial magnetic stimulation (rTMS) on neuropathic pain and the expression of specific activation markers of astrocytes and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the lumbar spinal cord. **Methods** Twenty-eight male Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham-operated group, a sham-rTMS group, a 1 Hz group and a 20 Hz group, with 7 in each group. The rats in the sham-operated group had their sciatic nerve exposed without ligation, while the other groups underwent sciatic nerve ligation to induce neuropathic pain. Three days after the operation, rTMS was applied to the primary motor cortex (M1) contralateral to the pain once a day for 10 consecutive days. Pain-related behavior and thermal pain response were tested before the operation and before and after the course of rTMS therapy. The expression of GFAP in the lumbar spinal cord was examined. **Results** All of the rats which underwent sciatic nerve ligation showed pain-related behavior and significantly decreasing thermal pain latency compared with the sham-operated group. After the rTMS therapy the thermal hyperalgesia was significantly attenuated in the 20 Hz group but not in the 1 Hz group compared with the sham-rTMS group. The expression of GFAP in the dorsal horn of the lumbar spinal cord ipsilateral to the neuropathic pain was significantly increased in the sham-rTMS group and the 1 Hz group compared with the sham-operated group. Compared with the sham-rTMS group, GFAP levels were significantly lower in the 20 Hz group but not in the 1 Hz group. The pain relief in the 20 Hz group was negatively related to the expression of GFAP. **Conclusions** Neuropathic pain induced by peripheral nerve injury is associated with increased activity and proliferation of astrocytes in the dorsal horns of the spinal cord. High-frequency rTMS can relieve neuropathic pain through inhibiting the activity and proliferation of astrocytes in the dorsal horns, but low-frequency rTMS has no clinically significant effect.

【Key words】 Neuropathic pain; Transcranial magnetic stimulation; Astrocytes; Glial fibrillary acidic protein; Thermal pain

神经病理性疼痛 (neuropathic pain) 分为周围性和中枢性神经病理性疼痛, 分别由外周神经或中枢神经病损引起^[1], 常表现为持续性自发痛和痛觉过敏等症状, 可持续到原发损伤愈合后数月甚至数年^[2], 给患者带来极大的痛苦, 严重影响生活质量。

对于周围神经损伤引起的神经病理性疼痛, 神经胶质细胞在脊髓水平起着重要的调节作用。动物实验表明, 大鼠坐骨神经部分结扎后出现明显的疼痛, 结扎 1 d 后损伤侧脊髓背角内星形胶质细胞标志物胶质酸性纤维蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 的表达显著上调, 7~14 d 时更明显^[3], 而抑制胶质细胞的作用可以缓解神经损伤后的机械痛^[4]。由此推测, 星形胶质细胞不仅通过增殖和增强活性参与神经病理性疼痛的形成, 还在疼痛的长期维持中起重要作用^[3,5]。

重复经颅磁刺激 (repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS) 借助脉冲磁场作用于脑组织, 从而改变神经功能。现有的疼痛治疗研究中, 所采用的 rTMS 频率可分为高频 (5~20 Hz) 和低频 (0.2~1.0 Hz), 高频 rTMS 使刺激区皮质兴奋, 而低频 rTMS 则产生抑制作用^[6-7]。自 Migita 等^[8]于 1995 年首次利用 rTMS 刺激运动皮质使 1 例慢性中枢性疼痛患者缓解 30% 以来, 多篇文献报道了高频 rTMS (10 Hz 或 20 Hz) 对于难治性神经病理性疼痛的疗效, 表明疼痛缓解率可达 50%^[9-13]。国内也有学者将 rTMS 用于治疗带状疱疹后神经病理性疼痛, 有效率为 95%^[14]。Kim 等^[15]利用 25 Hz 的 rTMS 刺激大脑皮质治疗脊髓损伤后神经病理性疼痛大鼠 8 周, 疼痛水平显著缓解, 同时脊髓内 GFAP 表达较假治疗组下降 30%, 推测 rTMS 可通过调节脊髓内星形胶质细胞功能而缓解疼痛。但 rTMS 对周围性神经病理性疼痛的治疗机制是否也与星形胶质细胞相关, 目前尚不清楚。

本研究拟采用低频 (1 Hz) 和高频的 rTMS (20 Hz) 治疗坐骨神经结扎引起的神经病理性疼痛大鼠, 观察其疗效及脊髓内 GFAP 的表达, 从而探讨 rTMS 治疗周围性神经病理性疼痛的机制。

材料和方法

一、实验动物及分组

健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 28 只, 体重 250~300 g, 由同济医学院动物中心提供。饲养期间保持周围环境一致, 光-暗周期为 12-12 h, 温度为 (22±2) °C, 湿度保持在 50%~60%, 给予充足的食物和水。采用随机数字法将大鼠分为假手术组、假治疗组、低频

rTMS 组 (1 Hz)、高频 rTMS 组 (20 Hz), 每组 7 只。

二、静息运动阈值 (resting motor threshold, RMT) 的测定

RMT 是指在头部最佳刺激点行 rTMS 刺激时, 有 50% 以上的刺激能诱发相应肌肉产生波幅 ≥ 15 μV 的运动诱发电位反应的刺激强度^[16]。

取 8 只大鼠, 用浓度为 10% 的水合氯醛按 300 mg/kg 体重的剂量进行腹腔内注射麻醉, 根据 Luft 等^[17]的方法测定 RMT。用表面电极在左侧腓肠肌记录, 参考电极置于踝关节, 鼠尾接地线。用 CCY-1 磁刺激仪 (武汉依瑞德公司) 的圆形线圈 (直径 4.5 cm) 进行刺激, 刺激线圈中心位于前凶右侧 0.5 cm, 可以向头尾侧稍微移动以确定最佳刺激点。用单脉冲 TMS 进行刺激, 以不引起 MEP 反应的刺激强度为初始刺激强度, 每个强度刺激 10 次, 以 4% 最大输出强度逐步递增, 刺激间期为 7 s, 直到 10 次刺激都引起阈上反应时, 停止刺激。最后计算 8 只 SD 大鼠正常安静状态下的平均 RMT 为 (45.25±4.13)% 最大输出强度, 取近似值 45% 最大输出强度作为 SD 大鼠的平均 RMT。

三、疼痛模型制作方法

采用 Bennett 等^[18]于 1988 年创立的坐骨神经慢性压迫性损伤模型 (chronic constriction injury of sciatic nerve) 进行疼痛造模, 简称 CCI 模型。本实验选择结扎大鼠左侧坐骨神经。具体方法为: 麻醉大鼠后, 将其俯卧位固定, 大腿皮肤脱毛、消毒, 经大腿侧面切开皮肤, 钝性分离股二头肌和股外侧肌的肌腹, 暴露出坐骨神经及其 3 个分支, 用 4-0 铬制肠线环绕坐骨神经干分别做 4 个轻度结扎环, 间距为 1 mm, 结扎强度以引起小腿肌肉轻度颤动反应为宜, 注意避开血管。假手术组大鼠仅暴露坐骨神经而不结扎, 最后分层缝合, 消毒皮肤。

四、rTMS 治疗方法

于术后第 3 天开始, 对各组右侧大脑初级运动皮质 (M1) 进行 rTMS 治疗, 治疗所用磁刺激仪和刺激线圈与测定静息运动阈值时相同。治疗中, 磁刺激线圈平行放置于 M1 对应的头颅体表投射区, 刺激强度为 90% RMT, 每次共 1600 个脉冲, 其中低频组 rTMS 刺激频率为 1 Hz, 连续刺激, 共 26.7 min; 高频组 rTMS 刺激频率为 20 Hz, 每序列刺激时间为 4 s, 共 20 个序列, 序列间间隔 30 s, 共 10.8 min。每日治疗 1 次, 连续 10 d。假治疗组给予安慰刺激, 即线圈垂直放于头颅表面, 余参数同高频 rTMS 组; 假手术组不进行任何治疗。

五、疼痛行为学评价

在造模前、rTMS 治疗前、rTMS 治疗疗程结束后次日分别评价所有大鼠的自发疼痛行为表现及热痛潜伏时。

1. 自发性疼痛行为学观察:观察大鼠有无自发性疼痛的表现,如过度的舔爪、足趾紧收、损伤侧肢体负重能力降低、跛行、自噬等^[19]。

2. 热痛潜伏时测定:参照 Agren 等^[20]的方法,采用热痛觉测试仪(意大利 UGO Basile 公司 7371 型)测定大鼠损伤侧足底对热刺激的耐受程度。将大鼠置于玻璃板上,盖上树脂玻璃罩,让其适应 15 min 后开始测定。使用 70 W 的辐射灯发出的光源照射其损伤侧后肢的跖面。当大鼠抬起后爪时,辐射灯自动关闭,记录从照射到抬起后爪的时间即热痛潜伏时。为避免皮肤灼伤,辐射灯在 30 s 后自动停止照射。连续测 3 次,每次间隔时间为 5 min,取其平均值作为热痛潜伏时进行统计学分析。

六、免疫组化检查

大鼠经 rTMS 治疗 10 d 并完成疼痛程度评价后,立即经心脏灌注,取 L₄₋₆ 脊髓节段,于 4% 多聚甲醛中后固定 4 h,再用 30% 蔗糖溶液(4 ℃)脱水 24 h。用 Zeiss-HM505 E 型恒冷切片机切成 20 μm 厚的切片,置于 0.01 M PBS 中 4 ℃ 保存待测。所有切片采用链霉素亲和素-生物素酶复合物(SABC)法进行免疫组化染色。所有试剂均购自北京博奥森公司。具体方法为:PBS 漂洗 5 min×3 次,3% H₂O₂ 避光反应 15 min;PBS 漂洗 5 min×3 次;1% Triton X-100 漂洗 30 min;羊血清封闭 30 min;加兔抗 GFAP 的 I 抗(浓度 1:100)后于 4 ℃ 冰箱反应过夜;PBS 漂洗 5 min×3 次;加生物素标记的 II 抗,37 ℃ 温箱中反应 1 h;PBS 漂洗 5 min×3 次;加入 AB 复合物 37 ℃ 温箱中反应 1 h;DAB 显色 3 min;漂片、裱片、晾干,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。阴性对照用 PBS 替代一抗,其余步骤相同。

七、图像分析及统计学方法

随机选取每只大鼠脊髓切片各 3 张,使用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件进行 GFAP 平均光密度测定,计算平均值。所有数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析。各组治疗前后的比较采用配对 *t* 检验,多组间均数的比较用方差齐性检验和单因素方差分析,用 Pearson 相关系数进行相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

结 果

一、疼痛行为学

1. 疼痛行为学观察:造模术后未出现大鼠感染或死亡。rTMS 治疗前,假治疗组、低频 rTMS 组和高频

rTMS 组大鼠安静状态下表现为左足趾紧收,自发抬起左足,左下肢负重能力明显降低,过度的舔拭左爪,跛行,未见自噬现象。治疗后高频 rTMS 自发抬足减少,基本能负重,跛行较治疗前好转。而低频 rTMS 组和假治疗组大鼠负重能力较治疗前无明显改变,跛行仍较明显。假手术组无明显变化。

2. 热痛潜伏时:热痛潜伏时测定结果见表 1。造模前各组大鼠的热痛潜伏时均无统计学差异($P > 0.05$),造模后 rTMS 治疗前,假治疗组、低频 rTMS 组和高频 rTMS 组大鼠损伤侧后肢均出现明显的热痛觉过敏,3 组间热痛潜伏时无差异($P > 0.05$)。与假手术组比较,3 组的热痛潜伏时均明显降低($P < 0.01$)。经 10 d 的 rTMS 治疗,高频 rTMS 组大鼠热痛潜伏时较治疗前显著延长($P < 0.05$),与假治疗组比较有显著差异($P < 0.05$),而假治疗组和低频 rTMS 组治疗前后无显著差异($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠热痛潜伏时测定值(s)

组别	n	造模前	rTMS 治疗前	rTMS 治疗后
假手术组	7	17.41±2.69	16.79±1.88	18.05±1.63
假治疗组	7	17.29±2.58	10.02±1.33 ^a	10.08±1.23
低频 rTMS 组	7	18.47±2.77	9.87±1.65 ^a	9.19±1.60
高频 rTMS 组	7	17.23±2.28	8.82±2.91 ^a	12.84±3.47 ^{bc}

注:各组内与造模前比较,^a $P < 0.01$,各组内与治疗前比较,^b $P < 0.05$,与假治疗组比较,^c $P < 0.05$

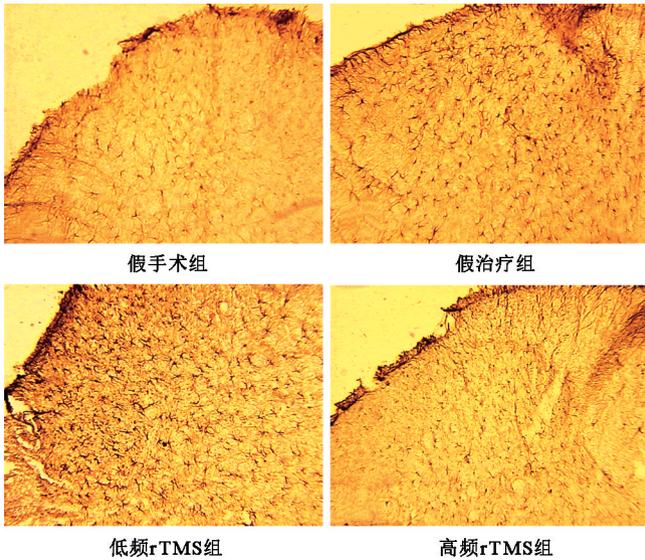
二、脊髓 GFAP 免疫组化结果

光镜下观察 GFAP 免疫组化阳性染色为棕黄色,胞体较小,突起细长,呈放射状,多数突起有细小分支。假手术组损伤侧 L₄₋₆ 脊髓背角内 GFAP 中只有少量表达,主要表达于脊髓背角 I-III 层;假治疗组和低频 rTMS 组可见损伤侧 L₄₋₆ 脊髓背角内 GFAP 阳性表达细胞数量增多,胞体染色明显,突起及其分支增多,GFAP 免疫反应性增强,主要表达在脊髓背角的 I-III 层;与假治疗组比较,高频 rTMS 组损伤侧 L₄₋₆ 脊髓背角内 GFAP 阳性表达细胞数量明显下降,免疫反应性降低,见图 1。

GFAP 染色的平均光密度值显示,与假手术组比较,假治疗组和低频 rTMS 组损伤侧 L₄₋₆ 脊髓背角内 GFAP 染色的平均光密度值有显著性差异($P < 0.05$);与假治疗组比较,高频 rTMS 组 GFAP 染色的平均光密度值有显著性差异($P < 0.05$),而低频 rTMS 组则没有显著差异($P > 0.05$),见图 2。

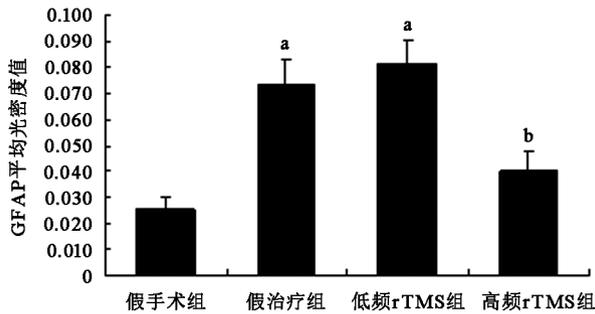
三、疼痛改善程度与脊髓背角中 GFAP 表达的相关性

Pearson 相关分析结果显示,高频 rTMS 组大鼠热痛潜伏时的改变值与疼痛侧相应水平脊髓背角中 GFAP 的表达呈负相关关系($r = -0.877, P = 0.01$)。



注:假手术组 GFAP 在脊髓背角中只有少量表达;假治疗组和低频 rTMS 组中损伤同侧 L₄₋₆ 脊髓背角内 GFAP 表达的数量和免疫反应性明显增加,主要表达在脊髓背角的 I-III 层;高频 rTMS 组 GFAP 的表达较假治疗组明显下降

图 1 rTMS 治疗后各组损伤侧 L₄₋₆ 脊髓背角中 GFAP 免疫组化结果(SABC 染色,×100)



注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与假治疗组比较,^b $P < 0.05$

图 2 损伤侧 L₄₋₆ 脊髓背角内 GFAP 阳性染色平均光密度值比较

讨 论

本研究对大鼠坐骨神经结扎后形成的周围性神经病理性疼痛进行连续 10 d 的 rTMS 治疗,刺激疼痛对侧 M1 区,结果显示高频 rTMS 可明显缓解大鼠的疼痛,热痛潜伏时较治疗前延长约 5 s,而低频 rTMS 组和假治疗组则无上述改变。这表明高频 rTMS 连续治疗可通过提高热痛耐受值缓解周围性神经病理性疼痛,而低频 rTMS 则无此效果,这与已有的相关报道结果相一致,即高频 rTMS(≥ 5 Hz)刺激 M1 区可以缓解疼痛,而低频 rTMS 则无镇痛效果或仅有安慰效应^[10,21]。本实验结果还显示,虽然 20 Hz 的 rTMS 延长了热痛潜伏时,但并未使其恢复至造模前水平或假手术组水平,说明 10 d 的 rTMS 治疗仅能部分缓解神经病理性疼痛的热痛觉过敏症状。

目前认为,星型胶质细胞在脊髓水平对疼痛起着

重要的调节作用,周围神经损伤时,其中枢端可释放相关神经递质,激活神经胶质细胞,导致其释放一氧化氮、前列腺素、兴奋性氨基酸等使疼痛传递神经元兴奋,并可进一步加强初级传入神经元释放致痛物质^[22]。抑制星形胶质细胞的增殖和激活可以缓解疼痛。在坐骨神经损伤前、后皮下注射抑制星形胶质细胞活性的调节剂丙戊茶碱,大鼠没有出现明显的热痛觉过敏,其热痛潜伏时明显高于对照组^[23]。本研究的脊髓切片免疫组化结果显示,损伤侧相应水平脊髓背角内 GFAP 阳性表达细胞数明显增多,主要表达在脊髓背角的 I-III 层,细胞突起及其分支增多,GFAP 免疫反应性明显增强。这与文献报道的单侧周围神经损伤所致的星形胶质细胞激活主要发生在同侧脊髓的浅层相一致^[24-25]。rTMS 治疗后疼痛改善程度与相应水平脊髓背角中 GFAP 的表达呈显著负性相关,进一步证实星形胶质细胞在疼痛的调节中起重要作用。

在本实验中,经 20 Hz 的 rTMS 治疗 10 d 后,损伤侧脊髓背角 GFAP 阳性表达细胞数量较假治疗组明显下降,免疫反应性降低,同时大鼠的机械痛觉过敏和热痛觉过敏症状有所缓解,且疼痛改善程度与疼痛侧相应水平脊髓背角中 GFAP 表达呈显著负相关,表明高频 rTMS 可以通过抑制损伤同侧脊髓背角内星形胶质细胞的活性和增殖而达到镇痛作用。本研究结果与 Kim 等^[15]的研究结果一致。他们采用 25 Hz 的 rTMS 刺激大脑皮质治疗胸段脊髓损伤后疼痛大鼠 8 周,疼痛显著缓解,同时腰段脊髓内 GFAP 表达较假治疗组下降 30%,表明 rTMS 可通过抑制脊髓内星型胶质细胞功能和增殖缓解疼痛。由于 rTMS 可通过促进内啡肽释放而产生镇痛作用^[26],而内啡肽可激活阿片受体调节 GFAP 的阳性表达^[27];高频 rTMS 还可下调背根神经节内一氧化氮的表达^[28],因此推测,rTMS 可能通过内啡肽途径调节脊髓内 GFAP 的表达,并减少背根神经节内致痛物质(如一氧化氮等)的表达而缓解周围神经损伤引起的神经病理性疼痛。

综上所述,高频 rTMS 能缓解周围性神经病理性疼痛,而低频 rTMS 则无确切镇痛效果。rTMS 的镇痛作用与抑制损伤侧脊髓背角内星形胶质细胞的活性和增殖有关,具体的调节通路还有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, et al. Neuropathic pain redefinition and a grading system for clinical and research purposes[J]. Neurology, 2008, 70 (18): 1630-1635. DOI: 10.1212/01.wnl.0000282763.29778.59.

[2] Schaefer C, Sadosky A, Mann R, et al. Pain severity and the economic burden of neuropathic pain in the United States: BEAT Neuropathic Pain Observational Study[J]. Clinicoecon Outcome Res, 2014, 6:

- 483-489. DOI: 10.2147/CEOR.S63323. eCollection 2014.
- [3] Xin, WJ, Weng HR, Dougherty PM. Plasticity in expression of the glutamate transporters GLT-1 and GLAST in spinal dorsal horn glial cells following partial sciatic nerve ligation [J]. *Mol Pain*, 2009, 5 (15): 5. DOI: 10.1186/1744-8069-5-15.
- [4] Ledeboer A, Liu T, Shumilla JA, et al. The glial modulatory drug AV411 attenuates mechanical allodynia in rat models of neuropathic pain [J]. *Neuron Glia Biol*, 2006, 2(4): 279-291. DOI: 10.1017/S1740925X0700035X.
- [5] Gwak YS, Hulsebosch CE. Remote astrocytic and microglial activation modulates neuronal hyperexcitability and below-level neuropathic pain after spinal injury in rat [J]. *Neuroscience*, 2009, 161(3): 895-903. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2009.03.055.
- [6] Lefaucheur J-P, Andre-Obadia N, Antal A, et al. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) [J]. *Clin Neurophysiol*, 2014, 125(11): 2150-206. DOI: 10.1016/j.clinph.2014.05.021.
- [7] Lefaucheur J-P. The use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in chronic neuropathic pain [J]. *Neurophysiol Clin*, 2006, 36 (3): 117-24. DOI: 10.1016/j.neucli.2006.08.002.
- [8] Migita K, Uozumi T, Kazunori A, et al. Transcranial magnetic coil stimulation of motor cortex in patients with central pain [J]. *Neurosurgery*, 1995, 36(5): 1037-9.
- [9] Lefaucheur J-P, Drouot X, Nguyen JP. Interventional neurophysiology for pain control: duration of pain relief following repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex [J]. *Neurophysiol Clin*, 2001, 31(4): 247-252.
- [10] Pleger B, Janssen F, Schwenkrais P, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the motor cortex attenuates pain perception in complex regional pain syndrome type I [J]. *Neurosci Lett*, 2004, 356 (2): 87-90.
- [11] Fregni F, DaSilva D, Potvin K, et al. Treatment of chronic visceral pain with brain stimulation [J]. *Ann Neurol*, 2005, 58(6): 971-972. DOI: 10.1002/ana.20651.
- [12] Hirayama A, Saitoh Y, Kishima H, et al. Reduction of intractable deafferentation pain by navigation-guided repetitive transcranial magnetic stimulation of the primary motor cortex [J]. *Pain*, 2006, 122 (1): 22-27. DOI: 10.1016/j.pain.2005.12.001.
- [13] Hosomi K, Shimokawa T, Ikoma K, et al. Daily repetitive transcranial magnetic stimulation of primary motor cortex for neuropathic pain: A randomized, multicenter, double-blind, crossover, sham-controlled trial [J]. *Pain*, 2013, 154 (7): 1065-1072. DOI: 10.1016/j.pain.2013.03.016.
- [14] 于苏文, 郑秀琴. 经颅磁刺激治疗带状疱疹后神经痛的疗效观察 [J]. *第三军医大学学报*, 2010, 32(6): 567-567. DOI: 10.16016.J.1000-5404.2010.06.033.
- [15] Kim JY, Choi GS, Cho YW, et al. Attenuation of spinal cord injury-induced astroglial and microglial activation by repetitive transcranial magnetic stimulation in rats [J]. *J Korean Med Sci*, 2013, 28(2): 295-299. DOI: 10.3346/jkms.2013.28.2.295.
- [16] Baron R. Mechanisms of disease: neuropathic pain—a clinical perspective [J]. *Nat Clin Pract Neurol*, 2006, 2(2): 95-106.
- [17] Luft AR, Kaelin-Lang A, Hauser TK, et al. Transcranial magnetic stimulation in the rat [J]. *Exp Brain Res*, 2001, 140(1): 112-121.
- [18] 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.
- [19] 刘国凯, 黄宇光, 罗爱伦. 神经病理性疼痛动物模型及其评价 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2005, 10(6): 601-603.
- [20] Agren G, Lundeberg T, Uvnäs-Moberg K, et al. The oxytocin antagonist 1-deamino-2-D-Tyr-(Oet)-4-Thr-8-Orn-oxytocin reverses the increase in the withdrawal response latency to thermal, but not mechanical nociceptive stimuli following oxytocin administration or massage-like stroking in rats [J]. *Neurosci Lett*, 1995, 187(1): 49-52.
- [21] Galhardoni R, Correia GS, Araujo H, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation in chronic pain: a review of the literature [J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2015, 96(4): S156-S172. DOI: 10.1016/j.apmr.2014.11.010.
- [22] Milligan ED, Sloane EM, Watkins LR. Glia in pathological pain: a role for fractalkine [J]. *J Neuroimmunol*, 2008, 198(1): 113-120. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2008.04.011.
- [23] Narita M, Yoshida T, Nakajima M, et al. Direct evidence for spinal cord microglia in the development of a neuropathic pain-like state in mice [J]. *J Neurochem*, 2006, 97(5): 1337-1348. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.03808.x.
- [24] Colburn RW, Rickman AJ, DeLeo JA. The effect of site and type of nerve injury on spinal glial activation and neuropathic pain behavior [J]. *Exp Neurol*, 1999, 157(2): 289-304. DOI: 10.1006/exnr.1999.7065.
- [25] Coyle DE. Partial peripheral nerve injury leads to activation of astroglia and microglia which parallels the development of allodynic behavior [J]. *Glia*, 1998, 23(1): 75-83.
- [26] Amassian VE, Vergara MS, Somasundaram M, et al. Induced pain is relieved by transcranial magnetic stimulation of human parietal lobe through endorphin release [J]. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1997, 103(1): 179-179.
- [27] Xu M, Bruchas MR, Ippolito DL, et al. Sciatic nerve ligation-induced proliferation of spinal cord astrocytes is mediated by κ opioid activation of p38 mitogen-activated protein kinase [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(10): 2570-2581. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3728-06.2007.
- [28] 郭铁成, 许惊飞. 低频和高频重复经颅磁刺激对大鼠神经病理性疼痛及背根神经节内 nNOS 的影响 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2014, 36(11): 823-827. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.011.002.

(修回日期:2016-08-03)

(本文编辑:易浩)