

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.12.007

大鼠脊髓小胶质细胞 P2X4 的表达和糖尿病病理性神经痛大鼠炎症反应和疼痛阈值的关系 *

李 洁¹ 刘晓宇¹ 毛培军¹ 刘立栋¹ 叶 欣¹ 吴大方² 邵 英^{1Δ}

(1 空军军医大学西京 986 医院内分泌科 陕西 西安 710054; 2 西北大学附属西安市第一医院内分泌科 陕西 西安 710018)

摘要 目的:探究大鼠脊髓小胶质细胞 P2X4 的表达和糖尿病病理性神经痛大鼠炎症反应和疼痛阈值的关系。**方法:**通过高脂饮食结合链脲佐菌素注射诱导糖尿病病理性神经痛大鼠模型并分为 3 组:对照组(正常大鼠,腹腔注射载体柠檬酸盐缓冲液 0.25 mL/kg),模型组(糖尿病病理性疼痛模型,同上注射,n=15)和抑制剂组(大鼠糖尿病病理性模型,过鞘内导管注射米诺环素),共 28 d。通过 MWT 评估对机械刺激的手掌反应。通过双极针电极检测实验大鼠的运动神经传导速速。通过蛋白印迹分析 P2X4 和 BDNF 蛋白表达。通过 RT-PCR 分析炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 和 NLRP3 的 mRNA 表达。通过蛋白印迹分析 p38MAPK 和 p-p38MAPK 的蛋白表达。**结果:**第 2week、4week 和 6week,模型组 MWT 较对照组降低($P<0.05$),抑制剂组 MWT 较模型组升高($P<0.05$)。第 2 week,个实验组大鼠 MNCV 比较无差异($P>0.05$),第 4week 和第 6week,模型组 MNCV 较对照组降低($P<0.05$),抑制剂组 MNCV 较模型组升高($P<0.05$)。模型组 P2X4 和 BDNF 蛋白表达较对照组升高($P<0.05$),抑制剂组 P2X4 和 BDNF 蛋白表达较模型组降低($P<0.05$),模型组 P2X4 和 BDNF mRNA 表达较对照组升高($P<0.05$),抑制剂组 P2X4 和 BDNF mRNA 表达较模型组降低($P<0.05$)。模型组 IL-1 β 、TNF- α 和 NLRP3 的 mRNA 表达较对照组升高($P<0.05$),抑制剂组 IL-1 β 、TNF- α 和 NLRP3 的 mRNA 表达较抑制剂组降低($P<0.05$)。模型组 p-p38MAPK 蛋白表达较对照组升高($P<0.05$),抑制剂组 p-p38MAPK 蛋白表达较模型组降低($P<0.05$),各实验组大鼠 p38MAPK 蛋白表达无差异($P>0.05$)。**结论:**大鼠脊髓小胶质细胞 P2X4-BDNF 信号在 DNP 中起重要作用,并且 P2X4 在 DNP 期间激活的脊髓小胶质细胞中表达升高,抑制小胶质细胞激活能显著降低 P2X4 表达和炎症水平,可防止热痛觉过敏并增加大鼠疼痛阈值。

关键词:脊髓小胶质细胞;P2X4;糖尿病;神经性疼痛;疼痛阈值

中图分类号:R-33; R587.2; R441.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)12-2232-05

The Relationship between the Expression of P2X4 in Rat Spinal Cord Microglia and the Inflammatory Response and Pain Threshold in Rats with Diabetic Pathological Neuralgia*

LI Jie¹, LIU Xiao-yu¹, MAO Pei-jun¹, LIU Li-dong¹, YE Xin¹, WU Da-fang², SHAO Ying^{1Δ}

(1 Department of Endocrinology, Xijing 986 Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710054, China;

2 Department of Endocrinology, Xi'an First Hospital Affiliated to Northwestern University, Xi'an, Shaanxi, 710018, China)

ABSTRACT Objective: To explore the relationship between the expression of P2X4 in spinal cord microglia and the inflammatory response and pain threshold in rats with diabetic pathological neuralgia. **Methods:** The rat model of diabetic pathological neuralgia was induced by high-fat diet combined with streptozotocin injection and divided into 3 groups: control group (normal rats, intraperitoneal injection of vehicle citrate buffer 0.25 mL/kg), model group (diabetic pathological pain model, injected as above, n=15) and inhibitor group (rat diabetic pathological model, injected with minocycline through intrathecal catheter), for a total of 28 days. The mechanical withdrawal threshold is used to evaluate the palm response to mechanical stimuli. The motor nerve conduction velocity of experimental rats was detected by bipolar needle electrodes. The protein expression of P2X4 and BDNF was analyzed by Western blot. The mRNA expression of inflammatory factors IL-1 β , TNF- α and NLRP3 were analyzed by RT-PCR. The protein expression of p38MAPK and p-p38MAPK was analyzed by Western blot. **Results:** In the 2nd week, 4th week and 6th week, the MWT of the model group was lower than that of the control group ($P<0.05$), and the MWT of the inhibitor group was higher than that of the model group ($P<0.05$). In the second week, there was no difference in MNCV of rats in the experimental group ($P>0.05$). In the 4th and 6th weeks, the MNCV of the model group was lower than that of the control group ($P<0.05$), and the MNCV of the inhibitor group was higher than that of the model group ($P<0.05$). The expression of P2X4 and BDNF protein in the model group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and

* 基金项目:陕西省卫生健康委科研基金项目(2018D089);陕西省自然科学基金基础研究计划一般项目(2019JM-422)

作者简介:李洁(1978-),女,硕士,主治医师,研究方向:糖尿病、肠道菌群、神经病变等相关,

电话:18191852533, E-mail:lijie25331832@163.com

Δ 通讯作者:邵英(1978-),女,硕士,主治医师,研究方向:糖尿病并发症等相关方向,电话:15129029558, E-mail:shaoyxian@163.com

(收稿日期:2022-01-09 接受日期:2022-01-31)

the expression of P2X4 and BDNF protein in the inhibitor group was lower than that in the model group ($P<0.05$). The expression of P2X4 and BDNF mRNA in the model group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the expression of P2X4 and BDNF mRNA in the inhibitor group was lower than that in the model group ($P<0.05$). The mRNA expression of IL-1 β , TNF- α and NLRP3 in the model group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the mRNA expression of IL-1 β , TNF- α and NLRP3 in the inhibitor group was lower than that in the inhibitor group ($P<0.05$). The expression of p-p38MAPK protein in the model group was higher than that in the control group ($P<0.05$), and the expression of p-p38MAPK protein in the inhibitor group was lower than that in the model group ($P<0.05$). There was no difference in the expression of p38MAPK protein in each experimental group ($P>0.05$). **Conclusion:** The P2X4-BDNF signal of rat spinal cord microglia plays an important role in DNP, and the expression of P2X4 is increased in spinal microglia activated during DNP. Inhibition of microglia activation can significantly reduce P2X4 expression and inflammation Level, can prevent thermal hyperalgesia and increase the pain threshold of rats.

Key words: Spinal cord microglia; P2X4; Diabetes; Neuropathic pain; Pain threshold

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R587.2; R441.1 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2022)12-2232-05

前言

糖尿病病理性神经性疼痛(Diabetic pathological neuropathic pain,DNP)是糖尿病最常见的慢性并发症之一^[1,2]。其特点是自发性和诱发性疼痛、异常性疼痛和痛觉过度,导致受 DNP 影响的生活质量下降^[3,4]。然而,导致 DNP 的病理变化尚不完全清楚。DNP 的发展取决于两个关键的致病因素:代谢因素和血管因素,主要代谢机制包括高血糖激活的多元醇途径、山梨糖醇和果糖的积累、肌醇减少、非酶蛋白糖基化和氧化应激^[5,6]。血管机制是糖尿病引起的全身微血管损伤的结果,它导致能量和营养缺乏,引起神经细胞缺氧和缺血性损伤^[7,8]。离子型 P2X 嘌呤受体主要在小胶质细胞中表达并介导多种生理和病理生理反应^[9]。离子型 P2X 嘌呤受体亚型 P2X4 分布在脊髓小胶质细胞中,但不在神经元或星形胶质细胞中,是小胶质细胞的关键调节因子^[10,11]。P2X4 诱导小胶质细胞释放脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF),而 BDNF 是一种关键的神经递质,介导小胶质细胞-神经元信号传导,其参与伤害性超敏反应^[12]。P2X4 激活可以刺激小胶质细胞释放 BDNF,这足以诱发神经性疼痛的疼痛超敏反应^[13]。本研究使用链脲佐菌素诱导大鼠发生糖尿病,探讨大鼠脊髓小胶质细胞 P2X4 的表达和糖尿病病理性神经痛大鼠炎症反应和疼痛阈值的关系。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验大鼠 雄性 Sprague-Dawley 无特定病原体大鼠(体重 200-220 g,6-8 周龄)购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。将大鼠单独放入透明塑料盒中,房间保持在 22-24℃,湿度为 50%,光照周期为 12:12 小时,期间可自由获取食物和水,适应环境 1 周。本实验过程均严格按照伦理相关要求。

1.1.2 糖尿病病理性神经痛模型 大鼠 2 型糖尿病模型采用高脂饮食(由 22%脂肪、48%碳水化合物和 20%蛋白质组成,总热值为 44.3 kJ/kg)1 个月后注射低剂量的链脲佐菌素(STZ; 30 mg/kg,ip)。

成模标准:STZ 注射 1 周后,空腹血糖 >7.8 mM 或非空腹血糖 >11.1 mM 的大鼠被认为是 2 型糖尿病模型。

1.1.3 实验分组 根据实验将大鼠随机分为以下三组:对照组(正常大鼠,腹腔注射载体柠檬酸盐缓冲液 0.25 mL/kg, $n=15$),模型组(糖尿病病理性疼痛模型,同上注射, $n=15$),抑制剂组(大鼠糖尿病病理性模型,大鼠麻醉后在背部皮肤准备和消毒后,将聚乙烯导管插入 L4 和 L5 节段之间的蛛网膜下腔,过鞘内导管注射米诺环素, $n=15$),共 28 d。

1.2 方法

1.2.1 行为测试 机械撤退阈值(Mechanical withdrawal threshold, MWT)通过观察使用 von Frey 细丝对机械刺激的戒断反应进行评估。由 von Frey 灯丝施加线性增加的压力,从 0.13 g 开始,一直持续到发生撤退反应或力达到 20.1 g(截止值)。通过直径为 1 mm 的锥形塑料尖端将压力施加到后爪的背面。尖端位于第三和第四跖骨之间,施加力直到大鼠试图收回其爪子(爪子收回阈值压力)。后爪以 2 分钟的间隔交替测试。痛阈以克表示,由不知情的观察者确定。所有测试都是盲目进行的。

1.2.2 运动神经传导速度(motor nerve conduction velocity, MNCV)的测定 大鼠麻醉后实施单次刺激,通过单极针电极从后爪的第一块骨间肌肉记录复合肌肉动作电位,使用直肠探针数字温度计持续监测动物的体温,并使用加热垫将体温保持在 37℃。使用数据采集系统从足底肌肉记录 MNCV 反应。MNCV=(坐骨和胫骨刺激点之间的距离)/(胫骨的坐骨潜伏期)。

1.2.3 从脑组织中提取总蛋白 大鼠麻醉后处死,取出脑组织,将 100 mg 脑组织匀浆并用 10 mL RIPA 裂解缓冲液裂解。通过离心去除碎片,并通过 BCA 试剂盒测定上清液中的蛋白质浓度。

1.2.4 蛋白质印迹 收集大鼠 DRG 组织用于蛋白质印迹分析。将样品置于裂解缓冲液并在冰上孵育 30 min,离心并沉淀 10 min,并收集上清液,进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离。转膜、封闭,0.1% Tween 20 (TBST) 室温下孵育 2 h,与兔抗 P2X4 一抗(1:300)、BDNF、兔抗磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白一起孵育激酶(抗 p-p38MAPK; 1:500 稀释)、兔抗 p38MAPK(1:500)和小鼠抗 β -肌动蛋白(1:800)在相同的缓冲液中 4℃过夜。将膜用 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,与辣根过氧化物酶偶联的二抗(1:1,000;北京中山公司)在室温下孵育 1 小时。在

TBST 中洗涤后,使用增强型化学发光试剂盒(上海浦飞生物科技有限公司)显色并观察。

1.2.5 逆转录 - 定量 PCR 使用 SYBR-Green Supermix、和 Light Cycler 480 系统进行实时扩增,使用从 L4-L5 片段中提取的 4 ng cDNA 和 TRIzol® (美国赛默飞世尔科技)根据制造商的说明。PCR 条件包括 95℃ 15 分钟的初始解链循环,然后是 40 个循环的 95℃ 15 秒(变性)、60℃ 30 秒(退火)和 72℃ 30 秒的扩增循环(延期)。β-actin 量化用作标准化的内部对照。使用 2^{-ΔΔCt} 方法计算 mRNA 水平相对表达量。

1.3 统计分析

使用 SPSS 17.0 软件对数据进行分析,并以平均值±SD 表示。三组之间数据的统计显著性通过单向方差分析检验,两组间比较采用独立样本 t 检验,当 $P<0.05$ 时,差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 行为测试 MWT

第 2 week、4 week 和 6 week,模型组 MWT 较对照组降低($P<0.05$),抑制剂组 MWT 较模型组升高($P<0.05$)(表 1)。

表 1 行为测试 MWT(n=15)
Table 1 Behavioral Test MWT(n=15)

Groups	2 week(g)	4 week(g)	6 week(g)
Control group	14.37±3.58	15.82±4.15	14.65±3.75
Model group	6.71±1.44	4.25±1.25	2.88±0.74
Inhibitor group	10.62±2.08	9.43±1.77	10.47±1.58
<i>F</i>	11.572	9.027	10.337
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 MNCV 的测定

第 2week,个实验组大鼠 MNCV 比较无差异($P>0.05$),第

4week 和第 6week,模型组 MNCV 较对照组降低($P<0.05$),抑制剂组 MNCV 较模型组升高($P<0.05$)(表 2)。

表 2 MNCV 的测定(n=15)
Table 2 Determination of MNCV(n=15)

Groups	2week(m/s)	4week(m/s)	6week(m/s)
Control group	55.27±6.38	57.31±7.41	56.46±6.88
Model group	49.61±3.19	41.58±5.22	35.25±3.14
Inhibitor group	51.83±3.77	53.27±6.38	49.14±4.26
<i>F</i>	10.833	13.496	9.185
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 蛋白印迹分析

模型组 P2X4 和 BDNF 蛋白表达较对照组升高($P<0.05$),

抑制剂组 P2X4 和 BDNF 蛋白表达较模型组降低($P<0.05$) (表3)。

表 3 蛋白印迹分析 P2X4 和 BDNF 蛋白表达(n=15)
Table 3 Protein blot analysis of P2X4 and BDNF protein expression(n=15)

Groups	P2X4	BDNF
Control group	1.05±0.04	1.12±0.08
Model group	1.94±0.16	1.98±0.20
Inhibitor group	1.13±0.10	1.07±0.04
<i>F</i>	8.536	11.449
<i>P</i>	<0.001	<0.001

2.4 RT-PCR 分析 P2X4 和 BDNFmRNA 表达

通过 RT-PCR 分析析 P2X4 和 BDNFmRNA 表达,模型组 P2X4 和 BDNF mRNA 表达较对照组升高($P<0.05$),抑制剂组 P2X4 和 BDNF mRNA 表达较模型组降低($P<0.05$)(表 4)。

2.5 RT-PCR 分析

模型组 IL-1β、TNF-α 和 NLRP3 的 mRNA 表达较对照组升高($P<0.05$),抑制剂组 IL-1β、TNF-α 和 NLRP3 的 mRNA 表达较抑制剂组降低($P<0.05$)(表 5)。

表 4 RT-PCR 分析 P2X4 和 BDNF mRNA 表达(n=15)

Table 4 RT-PCR analysis of P2X4 and BDNF mRNA expression(n=15)

Groups	P2X4	BDNF
Control group	1.02±0.03	1.06±0.05
Model group	1.91±0.17	2.01±0.19
Inhibitor group	1.16±0.12	1.08±0.07
<i>F</i>	11.644	9.825
<i>P</i>	<0.001	<0.001

表 5 RT-PCR 分析炎症因子 mRNA 表达(n=15)

Table 5 RT-PCR analysis of the inflammatory factor mRNA expression(n=15)

Groups	IL-1 β	TNF- α	NLRP3
Control group	1.04±0.04	1.08±0.03	1.01±0.01
Model group	1.95±0.18	1.94±0.17	1.98±0.20
Inhibitor group	1.14±0.08	1.08±0.05	1.05±0.06
<i>F</i>	9.668	13.257	10.411
<i>P</i>	0.024	0.005	0.016

2.6 蛋白印迹分析 p38MAPK 磷酸化

模型组 p-p38MAPK 蛋白表达较对照组升高 ($P<0.05$),抑

制剂组 p-p38MAPK 蛋白表达较模型组降低($P<0.05$),各实验组大鼠 p38MAPK 蛋白表达无差异($P>0.05$)。(表 6)。

表 6 蛋白印迹分析 p38MAPK/p-p38MAPK 表达(n=15)

Table 6 Protein blot analysis of p38MAPK / p-p38MAPK expression(n=15)

Groups	p38MAPK	p-p38MAPK
Control group	1.05±0.06	1.03±0.04
Model group	1.08±0.08	1.96±0.18
Inhibitor group	1.03±0.02	1.06±0.05
<i>F</i>	10.445	12.305
<i>P</i>	0.158	0.003

3 讨论

外周糖尿病神经病变是最常见的并发症。糖尿病性神经病主要是感觉神经障碍。糖尿病性疼痛症状包括痛觉过敏、异常性疼痛和自发性疼痛^[14,15]。DNP 的发展是一个复杂的过程,它会导致细胞环境失调,影响神经系统的能量和营养供应,并对代谢途径、氧化还原状态和渗透压产生负面影响^[16,17]。紊乱的神经细胞微环境诱导神经系统发生适应性变化,导致神经元不可逆的表型、结构和功能损伤,为 DNP 的发展提供了允许条件^[18,19]。脊髓小胶质细胞是中枢神经系统中的免疫效应细胞,在监督和清除有害刺激方面起着至关重要的作用^[20,21]。小胶质细胞被受到威胁的生理稳态激活,进而引起形态、功能、数量和各种因子的释放等一系列变化,从而在神经元和神经胶质细胞的伤害性信号传递中发挥着不可或缺的作用^[22,23]。来自不同神经性疼痛动物模型的越来越多的证据表明,外周神经系统的损伤可导致脊髓中小胶质细胞激活^[24,25]。

本研究通过腹腔注射链脲佐菌素在大鼠中诱导了 DNP,发现对照组大鼠和模型大鼠之间的 MWT 和 MNDV 测量值显著不同,进一步证明了模型的成功生成。另外,在本研究中发现

糖尿病大鼠脊髓中的小胶质细胞激活和 P2X4 表达增加能导致疼痛超敏反应的发展,脊髓中的动态 P2X4 水平与显著改变的疼痛行为一致,说明:从 P2X4 阳性小胶质细胞中释放 BDNF 也足以诱发神经性疼痛的疼痛超敏反应,小胶质细胞激活的药理学米诺环素抑制减弱了痛觉过敏,并降低了 DNP 大鼠脊髓小胶质细胞中 P2X4 和 BDNF 的表达。另外,本研究结果表明脊髓小胶质细胞中的 P2X4-BDNF 信号系统可能调节大鼠 DNP,结合相关研究分析:在这些离子型 P2X 受体亚型中,P2X4 已成为小胶质细胞功能的关键调节因子,并与小胶质细胞 - 神经元信号通路有关^[26,27]。

在本研究中,如蛋白质印迹和 RT-PCR 所示,模型大鼠脊髓中的 P2X4 表达增加。据报道,脊髓中活跃的小胶质细胞会释放无数调节神经元兴奋性的因子,此外,脊髓小胶质细胞中的 P2X4 诱导 BDNF 释放,从而导致脊髓神经元显著去极化^[28]。此外,有研究表明:抑制 p38MAPK 的激活可防止 BDNF 从 P2X4 阳性小胶质细胞中释放,DNP 脊髓小胶质细胞中的 p38 被激活^[29]。本实验结果表明,模型大鼠 P2X4 的上调增加了 BDNF 的释放。此外,Shi S^[30]等研究显示:小胶质细胞激活的药理学抑制了痛觉过敏,并降低了脊髓小胶质细胞中的 P2X4 和

BDNF 水平,说明:脊髓小胶质细胞 P2X4-BDNF 信号可能在 DNP 大鼠的痛觉过敏的发展中发挥重要作用。

炎症细胞因子在神经元损伤中发挥重要作用,尤其是在疼痛性神经病变中,高糖诱导 P2X4 表达的机制尚不完全清楚。NLRP3 炎症小体激活可能调节糖尿病和相关并发症的炎症过程,且 P2X4 受体能够介导促炎细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 的分泌。在本研究中,DNP 大鼠中 P2X4 和 NLRP3 的表达在用米诺环素治疗后显著降低,表明:P2X4 受体参与 DNP 发展是一致的,NLRP3 和 IL-1 β 、TNF- α 上调的发现表明它们干预了炎症因子的激活。米诺环素的给药导致 P2X4、NLRP3 和 IL-1 β 、TNF- α 的表达降低,表明米诺环素通过使 P2X4 受体失活来抑制 NLRP3 和促炎因子 IL-1 β 、TNF- α 的表达。

综上所述,根据本研究的结果证明大鼠脊髓小胶质细胞 P2X4-BDNF 信号在 DNP 中起重要作用,并且 P2X4 在 DNP 期间激活的脊髓小胶质细胞中表达升高,抑制小胶质细胞激活能显著降低 P2X4 表达和炎症水平,可防止热痛觉过敏并增加大鼠疼痛阈值。

参考文献(References)

- [1] Costa ACC, de Lima Benzi JR, Yamamoto PA, et al. Population pharmacokinetics of gabapentin in patients with neuropathic pain: Lack of effect of diabetes or glycaemic control [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2021, 87(Suppl 1): 1981-1989
- [2] Moisset X, Bouhassira D, Avez Couturier J, et al. Pharmacological and non-pharmacological treatments for neuropathic pain: Systematic review and French recommendations [J]. *Rev Neurol*, 2020, 176(5): 325-352
- [3] 景磊,雷静,尤浩军.糖尿病性周围神经病理性疼痛表现、机制及治疗进展[J].*中国疼痛医学杂志*, 2020, 26(9): 649-652
- [4] Liampas A, Rekatsina M, Vadalouca A, et al. Non-Pharmacological Management of Painful Peripheral Neuropathies: A Systematic Review[J]. *Adv Ther*, 2020, 37: 4096-4106
- [5] 景磊,雷静,尤浩军.糖尿病性周围神经病理性疼痛表现,机制及治疗进展[J].*中国疼痛医学杂志*, 2020, 26(9): 4
- [6] Tsuda M. Microglia-Mediated Regulation of Neuropathic Pain: Molecular and Cellular Mechanisms [J]. *Biol Pharm Bull*, 2019, 42: 1959-1968
- [7] Saika F, Kiguchi N, Matsuzaki S, et al. Inflammatory Macrophages in the Sciatic Nerves Facilitate Neuropathic Pain Associated with Type 2 Diabetes Mellitus[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2019, 368: 535-544
- [8] Zhang W, Ma J, Wang S, et al. Tranilast attenuates neuropathic pain during type-2 diabetes by inhibiting hypoxia-induced pro-inflammatory cytokines in Zucker diabetic fatty rat model [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2020: 1-14
- [9] Illes P, Müller CE, Jacobson KA, et al. Update of P2X receptor properties and their pharmacology: IUPHAR Review 30 [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178: 489-514
- [10] Yang R, Li L, Yuan H, et al. Quercetin relieved diabetic neuropathic pain by inhibiting upregulated P2X (4) receptor in dorsal root ganglia [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 2756-2764
- [11] 贺洁宇,陈晓宇,潘爱华.中枢神经系统离子通道受体 P2X7 的研究进展[J].*现代生物医学进展*, 2010, 10(21): 4156-4159
- [12] Zhang PA, Sun Q, Li YC, et al. Overexpression of Purinergic P2X4 Receptors in Hippocampus Rescues Memory Impairment in Rats with Type 2 Diabetes[J]. *Neurosci Bull*, 2020, 36: 719-732
- [13] Yuan H, Ouyang S, Yang R, et al. Osthole alleviated diabetic neuropathic pain mediated by the P2X (4) receptor in dorsal root ganglia[J]. *Brain Res Bull*, 2018, 142: 289-296
- [14] Deng XT, Wu MZ, Xu N, et al. Activation of ephrinB-EphB receptor signalling in rat spinal cord contributes to maintenance of diabetic neuropathic pain[J]. *Eur J Pain*, 2017, 21: 278-288
- [15] Sun L, Li H, Tai LW, et al. Adiponectin regulates thermal nociception in a mouse model of neuropathic pain [J]. *Br J Anaesth*, 2018, 120: 1356-1367
- [16] Xu X, Wen X, He C, et al. Increased NRSF/REST in anterior cingulate cortex contributes to diabetes-related neuropathic pain [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 527: 785-790
- [17] Ma X, Liu S, Liu D, et al. Exercise intervention attenuates neuropathic pain in diabetes via mechanisms of mammalian target of rapamycin (mTOR)[J]. *Arch Physiol Biochem*, 2020, 126: 41-48
- [18] Xu DH, Cullen BD, Tang M, et al. The Effectiveness of Topical Cannabidiol Oil in Symptomatic Relief of Peripheral Neuropathy of the Lower Extremities[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2020, 21: 390-402
- [19] Selvarajah D, Kar D, Khunti K, et al. Diabetic peripheral neuropathy: advances in diagnosis and strategies for screening and early intervention[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7: 938-948
- [20] Ma L, Liu H, Chen G, et al. Sulfasalazine attenuates chronic constriction injury-induced neuroinflammation and mechanical hypersensitivity in rats[J]. *Neurosci Lett*, 2018, 683: 174-180
- [21] Zhou CH, Zhang MX, Zhou SS, et al. SIRT1 attenuates neuropathic pain by epigenetic regulation of mGluR1/5 expressions in type 2 diabetic rats[J]. *Pain*, 2017, 158: 130-139
- [22] Tawfik MK, Helmy SA, Badran DI, et al. Neuroprotective effect of duloxetine in a mouse model of diabetic neuropathy: Role of glia suppressing mechanisms[J]. *Life Sci*, 2018, 205: 113-124
- [23] 王若男,赵德喜,孙晓舟,等.红细胞诱导 BV-2 小胶质细胞制作脑出血吞噬模型的研究[J].*现代生物医学进展*, 2020, 20(6): 1038-1042
- [24] Ueda H. LPA receptor signaling as a therapeutic target for radical treatment of neuropathic pain and fibromyalgia[J]. *Pain Manag*, 2020, 10: 43-53
- [25] 郑明睿,韩一玮,周燕萍,等.小胶质细胞极化与坏死性凋亡在中枢神经系统疾病中的研究进展 [J]. *四川生理科学杂志*, 2020, 42(3): 353-356
- [26] Barragán-Iglesias P, Oidor-Chan VH, Loeza-Alcocer E, et al. Evaluation of the neonatal streptozotocin model of diabetes in rats: Evidence for a model of neuropathic pain [J]. *Pharmacol Rep*, 2018, 70: 294-303
- [27] Wang J, Zhang XN, Fang JN, et al. The mechanism behind activation of the Nod-like receptor family protein 3 inflammasome in Parkinson's disease[J]. *Neural Regen Res*, 2022, 17: 898-904
- [28] Kohno K, Tsuda M. Role of microglia and P2X4 receptors in chronic pain[J]. *Pain Rep*, 2021, 6(1): e864
- [29] Lang X, Zhao N, He Q, et al. Treadmill exercise mitigates neuroinflammation and increases BDNF via activation of SIRT1 signaling in a mouse model of T2DM [J]. *Brain Res Bull*, 2020, 165: 30-39
- [30] Shi S, Yin HJ, Li J, et al. Studies of pathology and pharmacology of diabetic encephalopathy with KK-Ay mouse model[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2020, 26: 332-342