

A 型肉毒毒素应用于神经性疼痛的研究

陶广林¹, 马善新², 廖 娟¹

(1. 广西医科大学第一附属医院康复医学科, 广西 南宁 530021;

2. 深圳大学总医院康复医学科, 广东 深圳 518055)

摘要:神经性疼痛是一种慢性疾病, 治疗较难, 是目前临床上比较棘手的问题。A 型肉毒毒素(BTX-A)目前用于治疗与疼痛相关的各种临床疾病, 其作用机制是阻断神经肌肉接头处的乙酰胆碱递质释放, 指导突触连接的形成和细化。既往研究已证实 BTX-A 对突触小泡融合的抑制作用可以阻断其它疼痛相关神经递质的释放。越来越多的证据表明, BTX-A 的镇痛作用是通过神经元和胶质细胞介导的, 尤其是小胶质细胞的介导作用, 可通过减少在小胶质细胞中磷酸化的 ERK1/2, NF- κ B 和 p38 直接与 TLR2 相互作用来发挥其抗炎效果。此外, BTX-A 可能对星形胶质细胞的作用不大, 需要通过小胶质细胞中的功能性 TLR4 来完全激活星形胶质细胞中 TLR2 的活性, 并强调这两种细胞之间相互作用的重要性。本文现对 BTX-A 对脊髓神经胶质细胞之间的相互作用及神经病变的发展影响进行综述。

关键词:肉毒毒素; 神经性疼痛; 小胶质细胞; 神经元; 星形胶质细胞

中图分类号: R741

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2020.09.009

文章编号: 1006-1959(2020)09-0024-06

Study on the Application of Botulinum Toxin A in Neuropathic Pain

TAO Guang-lin¹, MA Shan-xin², LIAO Mei¹

(1. Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China;

2. Department of Rehabilitation Medicine, Shenzhen University General Hospital, Shenzhen 518055, Guangdong, China)

Abstract: Neuropathic pain is a chronic disease that is difficult to treat and is currently a clinically difficult issue. Botulinum toxin type A (BTX-A) is currently used to treat various clinical diseases related to pain, and its mechanism of action is to block the release of acetylcholine transmitters at the neuromuscular junction and guide the formation and refinement of synaptic connections. Previous studies have confirmed that the inhibitory effect of BTX-A on synaptic vesicle fusion can block the release of other pain-related neurotransmitters. There is increasing evidence that the analgesic effect of BTX-A is mediated by neurons and glial cells, especially the microglial cells, by reducing phosphorylation in microglia ERK1/2, NF- κ B and p38 directly interact with TLR2 to exert their anti-inflammatory effects. In addition, BTX-A may have little effect on astrocytes. It is necessary to fully activate the activity of TLR2 in astrocytes by functional TLR4 in microglia, and emphasize the mutual importance of the role interaction between these two cells. This article now reviews the effects of BTX-A on the interaction between spinal glial cells and the development of neuropathy.

Key words: Botulinum toxin; Neuropathic pain; Microglia; Neurons; Astrocytes

肉毒杆菌毒素(botulinum toxin, BTX)是由肉毒梭菌在生长繁殖过程中产生的一种细菌外毒素, 根据毒素抗原性的不同将其分为 7 种类型(A-G), 其中 A 型为常用的医用剂型。已有研究表明 A 型肉毒毒素(BTX-A)因其抑制神经末梢释放乙酰胆碱引起肌肉松弛麻痹的药理作用, 从而广泛应用于神经肌肉过度活跃性疾病(neuromuscular hyperactivity disorder, NHD)。近年来随着研究深入, 研究者们发现 BTX-A 在外周神经去敏化镇痛机制, 并将其广泛应用至各种慢性疼痛中。最新研究显示 BTX-A 能逆向轴突运输至中枢神经系统发挥作用, 这可能为 BTX-A 治疗中枢敏化从而缓解慢性疼痛提供理论依据^[1]。本文旨在综述中枢神经性疼痛的发生机制, 探讨 BTX-A 对中枢神经痛的作用机理。

1 BTX-A 对神经性疼痛的治疗作用

神经性疼痛大多是由神经损伤引起的, 其发生

机制涉及大量的病理生理反应参与。已有临床和实验研究表明^[2-3], 神经免疫因子能显著影响疼痛发展的过程。慢性疼痛发生和持续发展的机制目前尚未完全明确。根据国际疼痛研究协会提供的数据, 有 1/5 的欧洲人患有各种各样的慢性疼痛, 可能与其的生活方式及缺乏对这些疾病的适当治疗有关。治疗神经性疼痛是临床上比较棘手的问题, 尽管已有许多药物及非药物干预手段应用于临床, 但效果并不理想。常用的药物包括非甾体类抗炎药、抗抑郁药、抗惊厥药和阿片类药物^[4], 但过量使用增加了药物副作用的风险, 也降低了止痛效果, 且这种疗效丧失的机制仍未明了, 仍需要寻找更有效的止痛药物治疗。BTX-A 是产自肉毒杆菌的 7 种不同肉毒毒素类型之一, 是人体已知的最毒物质被广泛应用于临床, 由于其药效有独特的作用, 其使用率在不断上升^[5]。BTX-A 是通过分裂蛋白质 SNAP-25 阻止乙酰胆碱的释放^[6], 不仅能抑制乙酰胆碱的释放, 还能抑制其他神经递质和神经肽的释放, 如 P 物质和降钙素基因相关肽(CGRP)的释放^[7], 其毒素还可以通过感觉纤维阻断自主传导系统, 减少大部分作用于痛觉感受器的物质^[8]。因此, 在临床上被应用于神经性疼痛的治疗。

基金项目: 广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题(编号: Z20190845)

作者简介: 陶广林(1978.11-), 男, 广西玉林人, 本科, 主管技师, 主要从事肌肉骨骼及神经康复工作

通讯作者: 马善新(1986.5-), 男, 广西南宁人, 硕士, 主治医师, 主要从事肌肉骨骼及神经康复工作

BTX-A 于 1989 年首次被美国食品和药物管理局列入药物清单。1 年后,美国神经病学学会研究报告指出,应用 BTX-A 在治疗眼睑痉挛、面部痉挛、震颤、多汗症和皱纹美容等^[9]方面疗效显著。自 2004 年首次提出 BTX-A 注射治疗能缓解人类神经性方面的疼痛后,该药很快成功用于治疗多种类型的疼痛,如偏头痛^[10]、顽固性关节痛^[9]、小纤维神经病变导致的疼痛^[11]和三叉神经痛^[12]。目前,BTX-A 的用法已经扩展到许多医学领域,包括泌尿系、胃肠病学和外科领域^[13]。在康复领域则用降低于局部升高的肌张力和改善幻肢复杂区域疼痛综合征^[14]。许多学者认为,当广泛使用止痛药物治疗无效时,使用 BTX-A 治疗则是一种新的治疗策略,尤其是对神经性疼痛方面的治疗^[15]。研究发现^[16],BTX-A 还能增强吗啡的镇痛作用,并在长期治疗后能阻止吗啡药物对疼痛的耐受性。尽管该药已广泛应用于临床,但其作用机制尚未完全清楚,有可能是神经胶质相互作用在神经性疼痛的发生和发展中起着至关重要的作用。

2 BTX-A 的镇痛作用机制

外周感觉神经元通过上行通路传递伤害感受信息,进入脊髓背角,再从脊髓传递到以上结构(如脑干、丘脑、躯体感觉皮质、岛叶皮质和前扣带回皮质)。应用人类大脑成像和转基因小鼠的研究表明,神经病变在很大程度上与感觉通路内的某些物质长期塑性变化有关^[17]。在神经系统中,神经活动是由突触释放神经递质介导的。在静息状态下,突触小泡被传递到质膜上,与膜内新合成的蛋白融合后发生本构性胞吐作用^[18]。相反,胞外的调控活动受到钙信号的严格控制,而钙信号仅存在于钙浓度正在升高的已激活的神经元中。当神经末梢动作电位产生时,电压门控钙通道打开引起细胞质内钙水平的升高,在这一过程中促使囊泡融合的可能性显著增加^[9]。体内研究表明^[19],快速调节的胞外活动需要一种名为可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体(SNARE)的超家族成员的蛋白相互作用,SNARE 是一种小的细胞质外露膜蛋白。在调控胞吐过程中,相关的 SNARE 包括 synaptobrevin/VAMP(位于突触小泡膜上)、syntaxin-1、SNAP-25 及其类似物 SNAP-23(位于质膜上),创建了一个复杂的代表融合所需的最小机制。当钙离子浓度升高时(钙离子通过电压门控钙通道流入),被突触蛋白检测到,触发突触小泡融合,导致神经递质释放。囊泡和诱捕蛋白以形成一个强大的四螺旋束来共同推动融合的进行^[20]。因此,在神经性疼痛的情况下,SNARE 复合体是神经细胞间伤害性传播的关键步骤。由于神经递质通过囊泡调控的胞外释放受到抑制,导致突触神经传导阻滞。

Intiso D 等^[21]首次描述 BTX-A 参与疼痛调节的机制,研究这种毒素对福尔马林给药后引起炎症性疼痛的影响。BTX-A 通过 SNAP-25 作用,强烈抑制神经递质和神经肽释放谷氨酸^[21]、P 物质^[22]和 CGRP^[7]。福尔马林注射致炎后,足部单次皮下注射 BTX-A 可以减少足部肿胀和对疼痛的过敏反应,这种效果可能与前感受因子受到抑制有关。Ochoa Vargas DC 等^[23]使用小鼠炎症疼痛模型证明 BTX-A 不仅作用于外周神经系统还可作用于中枢神经系统。BTX-A 的镇痛作用同时也在其它炎症性疼痛模型中得到证实^[24],认为关节内注射 BTX-A 是治疗关节炎的一种很有前景的方法。在内脏疼痛模型中也研究了 BTX-A 的作用机制,如在乙酸诱导的大鼠膀胱疼痛模型中静脉注射 BTX-A 可引起镇痛效果^[25]。BTX-A 在许多神经性疼痛的临床研究中也观察到类似有益的作用^[8,15],可能与 BTX-A 通过抑制神经元神经递质的分泌而减轻神经性疼痛有关。另有研究显示^[16],在吗啡长期治疗神经性疼痛后,联合使用 BTX-A 能提高吗啡对镇痛的敏感性。这些数据表明 BTX-A 不仅是一种有效的镇痛药,而且还可以作为多模态疼痛治疗的一个组成部分。

既往研究表明^[25],使用放射性物质标记了的 BTX-A 注射入猫的腓肠肌中,在给药后 24~38 h 内可在脊柱中检测到。Caleo M 等^[26]认为,BTX-A 通过逆行转运和跨细胞作用机制,不仅作用于局部注射区域,还能对偏远的投射区域起作用。Marinelli 等^[27]利用小鼠神经病变模型证明 BTX-A 注射液能从给药部位转移到坐骨神经和脊髓。Intiso D 等^[21]认为,BTX-A 的镇痛作用与中枢敏化过程的调节相关,而对急性疼痛没有影响,它的作用机制是抑制周围神经末梢神经递质的释放,减少周围神经敏化。在此过程中,脊髓传导输入受到抑制,中枢敏化减少,间接提示其在此过程中的镇痛作用。然而,亦有学者^[26]认为 BTX-A 通过抑制背角小胶质细胞活化后,来进一步抑制脊髓背角的中枢敏化,抑制神经细胞间的信号传递,从而减轻外周炎症或神经损伤所引起的痛觉超敏和触诱发痛。外周神经注射 BTX-A 有可能获得进入中枢神经系统的通路,并直接抑制神经递质释放进入脑后角神经元。有研究者认为足底注射 BTX-A 不仅缓解了神经性疼痛,还恢复了神经损伤后导致的神经免疫平衡的紊乱^[15]。BTX-A 除了改变神经元的功能外,还能影响脊髓小胶质细胞的功能,然而,它以直接还是以间接的方式进行调节尚不清楚。Piotrowska A 等^[28]的最新体外研究揭示了 BTX-A 的镇痛作用,不仅抑制了神经元的敏化,还可能抑制了小胶质细胞的敏化,从而双重抑制中枢敏化,持久地缓解神经病理性疼痛。

3 神经胶质细胞在 BTX-A 诱导镇痛中的作用

BTX-A 能同时影响神经元细胞中的 SNAP-25 和 -23;然而,最近有学者提出 BTX-A 也能分裂星形胶质细胞和小胶质细胞中的 SNAP 物质^[29]。在中枢神经系统内,胶质细胞似乎在神经内稳态中起着关键作用^[2]。神经胶质细胞主要有两种类型:大胶质细胞(包括星形神经胶质,少突胶质细胞和放射状细胞,贝格曼细胞和 Müller 细胞)和小胶质细胞。在生理条件下,大胶质细胞占细胞的 70%,小胶质细胞仅占细胞^[3]的 5%~20%。神经胶质细胞是神经组织的重要组成部分,在多方面的合成、释放和吸收中起着至关重要的作用。星形胶质细胞和小胶质细胞在神经病变进展中的作用是众所周知的。然而,其它大胶质细胞(少突胶质细胞和放射状细胞)的作用尚不明确。基于神经元中存在受体、离子通道、转运体和胞内信号的级联,因此在神经性疼痛下,激活的星形胶质细胞和小胶质细胞在突触传递中发挥作用^[30]。神经胶质细胞还能通过缝隙连接^[31]和突触^[32]与邻近神经元起作用。

星形胶质细胞是神经系统中最丰富的细胞群体,通过调节突触间隙中的神经递质、离子和蛋白质的浓度,来维持周围环境的稳态。在周围神经病变中,小胶质细胞激活 4 d 后,星形胶质细胞相继被激活,并持续到损伤后 12 周或更长时间,因此提示星形胶质细胞与疼痛的持续存在有关^[30]。BTX-A 对星形胶质细胞的直作用尚不清楚,通过体外细胞培养研究证实,星形胶质细胞同时具有 mRNA 和 SNARE(SNAP-25、SNAP-23)的蛋白^[28]。上述研究数据与 Marinelli S 等^[27]的研究结果有很好的相关性,认为通过清除 c 端上的 9 个氨基酸残基,特异性地裂解固定在细胞膜上的 25 kDa 突触体相关蛋白(SNAP-25)。这种分裂导致非功能性 SNARE 复合体的形成,从而阻断突触传递并产生镇痛作用,且 BTX-A 不影响促伤害因子(IL-1 β 、IL-6、IL-18 和 NOS2)或抗伤害因子(IL-1RA、IL-10 和 IL-18BP)在脂多糖刺激的星形胶质细胞中的培养^[28]。BTX-A 不影响 MAPK、p38 和 ERK1/2 的激活或 NF- κ B 通路在脂多糖处理的原发性星形胶质细胞的培养。此外, BTX-A 可能对星形胶质细胞只有轻微的直接影响。

另有研究显示^[16],BTX-A 的分子作用机制与小胶质细胞相关。小胶质细胞是高度动态的免疫细胞,负责维持中枢神经系统的稳态^[33],能在神经性疼痛下动态调节神经功能,是第一个在周围神经损伤后被脊髓激活的细胞类型^[34],并且持续活跃数周^[33]。有研究证明^[21],小胶质细胞活化的抑制剂(如二甲胺四环素、丙戊茶碱和戊羟乙基乙酰胺)可能在很大程度上限制神经性疼痛的发展,其作用机理是由于小胶

质细胞活化减少,从而抑制大量细胞因子的分泌^[35]。Hatch MN 等^[16]和 Ondo WG 等^[6]研究表明,在神经损伤后给予 BTX-A 一次性足底内给药,可以减少神经病变大鼠的疼痛,同时减少脊髓小胶质细胞的激活。同时,BTX-A 除了对神经元功能有影响外,还能影响小胶质细胞的活化;因此,这些非神经元细胞参与的 BTX-A 作用也应予以考虑。虽然体内研究表明 BTX-A 能影响小鼠神经性疼痛模型中小胶质细胞的激活^[18,36],但尚不清楚这是直接还是间接发生的。Hepp R 等^[29]研究表明,在小胶质细胞中,SNAP-25 被 SNAP-23 取代,SNAP-23 在结构和功能上类似于 SNAP-25,并与多个突触结合蛋白紧密结合,它是普通膜融合机高亲和受体的重要组成部分,是输液囊对接融合的重要调节剂。Piotrowska A 等^[28]的体外细胞培养研究证实,在小胶质细胞中 SNAP-23 (而不是 SNAP-25)同时存在 mRNA 和蛋白。因此,在 BTX-A 对小胶质细胞的影响中,是 SNAP-23 起了重要作用。

研究表明^[15],BTX-A 注射液可以促使坐骨神经损伤后的神经免疫变化。BTX-A 能防止 LPS 诱导的前伤害因子(IL-1、IL-18 和 NOS2)通过细胞内途径激活并增加小胶质细胞 TLR2 及其转导蛋白 MyD88 的表达。这些研究结果类似于 BTX-A 通过阻断 ERK 和 p38 的激活,从而抑制 RAW264.7 巨噬细胞中 LPS 上调 NO 的生成^[37]。

MAPK 家族成员(即 p38 和 ERK1/2)的抑制作用导致动物模型中神经病变发生率降低、前伤害感受因子下调及阿片类药物的效率提高^[38]。Piotrowska A 等^[39]研究表明,BTX-A 降低了小胶质细胞中 LPS 诱导的 p38 和 ERK1/2 的活化。此外,NF- κ B 在伤害感受和小胶质细胞的激活途径中起重要的作用。Jurga AM 等^[40]的研究显示,BTX-A 可降低经过 LPS 处理过的小胶质细胞中的 NF- κ B 的磷酸化。研究表明小白菊内酯是 NF- κ B 强有力的抑制剂,可减少神经性疼痛的症状。此外,它会加强吗啡的镇痛作用和降低由小胶质细胞(如 IL-1 β 、IL-18 和 NOS2)产生的前伤害因子的水平^[38]。

在众多小胶质细胞表达的受体中,TLR 受体家族(尤其是 2 亚型和 4 亚型)是小胶质细胞激活和神经损伤之间可能存在的联系,说明了这些细胞在神经病变发展中的重要作用^[40]。TLR 是一类重要的病原识别受体,激活这些受体可启动直接抗菌路径及表达共刺激因素,并通过 NF- κ B 释放细胞因子或 MAPK 信号通路。TLR 家族不仅能识别病原相关分子模式(PAMPs),还能识别危险分子相关分子模式(DAMPs),这是神经损伤的产物^[41]。研究显示^[40],TLR2 或 TLR4 诱导小鼠神经损伤后促使小胶质细

胞活化减少,从而导致神经性疼痛的症状减少。BTX-A 可以通过 TLR2 感知,但不能通过 TLR4 感知^[37]。同时 BTX-A 还能提高经过 LPS 刺激后小胶质细胞中 TLR2 的水平。已有研究证明 TLR4 的激活是通过适配器蛋白二聚体(MyD88 或 TRIF)介导的,但 TLR2 的激活仅通过 MyD88 介导^[42]。在小胶质细胞中,BTX-A 通过 LPS 防止 MyD88 水平的下调^[28]。最近,有学者提出 TLR 信号与 SNARE 蛋白之间的相互作用,Nair-Gupta P 等^[43]研究表明 myd88 依赖性 TLR 信号参与树突状细胞吞噬体上 SNAP-23 的磷酸化,磷酸化的 SNAP-23 蛋白稳定 SNARE 复合物,导致与内体循环室融合,最终形成交叉表达。小胶质细胞是天生的免疫细胞,在中枢神经系统中负责早期控制感染和招募适应性免疫系统细胞以清除病原体^[44]。因此,小胶质细胞 TLR/MyD88/NF- κ B 的级联导致 SNAP-23 的减少。最近研究表明^[45],与星形胶质细胞相比,小胶质细胞的特点是通过提高 LPS 的反应来增加 TLR 物质的表达。此外,还发现星形胶质细胞对 TLR2 激动剂的反应完全依赖于小胶质细胞中功能性 TLR4 的存在。LPS 激活了的 TLR4 可以诱导 TLR2 的合成^[46]。Piotrowska A 等^[28]在 LPS 刺激的星形胶质细胞中进行 BTX-A 治疗后,除了观察到有 SNAP-23 和 SNAP-25 表达的现象外,其余均无表达。总之,BTX-A 发挥其抗炎作用是通过抑制信号通路(如 NF- κ B p38 和 ERK1/2)激活小胶质细胞,且可直接与 TLR2 相互作用,因此,TLR2 是 BTX-A 的另一个重要分子靶点。基于目前的研究假设星形胶质细胞中 TLR2 的充分激活需要小胶质细胞中功能性 TLR4 的存在,强调了中枢神经系统中那些细胞类型之间的重要交叉。

4 总结

BTX-A 在中枢神经系统中的作用有待进一步研究,以便于了解神经性疼痛的病理生理学。BTX-除了对神经元的功能有影响外,还能影响小胶质细胞的激活;因此,这些非神经元细胞参与 BTX-A 的作用机制也应被视其为镇痛作用的重要组成部分,但 BTX-A 可能只对星形胶质细胞有轻微的影响。因此,在神经性疼痛的背景下,BTX-A 是中枢神经系统神经胶质相互作用的一个强大的调制器。对于应用 BTX-A 治疗神经性疼痛的更多研究是有必要的,因为对于使用其它止痛药物没有积极反应的病人来说,它可能是一个有吸引力的选择。

参考文献:

- [1]Wu C,Xie N,Lian Y,et al.Central antinociceptive activity of peripherally applied botulinum toxin type A in lab rat model of trigeminal neuralgia[J].Springerplus,2016(5):431.
- [2]Mika J,Zychowska M,Popielek-Barczyk K,et al.Importance

of glial activation in neuropathic pain [J].Eur J Pharmacol, 2013,716(1-3):106-119.

- [3]Safarpour Y,Jabbari B.Botulinum toxin treatment of pain syndromes-an evidence based review [J].Toxicon,2018 (147):120-128.

[4]Hatch MN,Cushing TR,Carlson GD,et al.Neuropathic pain and SCI: Identification and treatment strategies in the 21st century[J].J Neurol Sci,2017(384):75-83.

[5]Wu T,Song H,Dong Y,et al.Intra-articular injections of botulinum toxin a for refractory joint pain:A systematic review and meta-analysis[J].Clin Rehabil,2017,31(4):435-443.

[6]Ondo WG,Simmons JH,Shahid MH,et al.Onabotulinum toxin-A injections for sleep bruxism:A double-blind,placebo-controlled study[J].Treatment,2018,90(7):e559-e564.

[7]Wang J,Casals-Diaz L,Zurawski T,et al.A novel therapeutic with two SNAP-25 inactivating proteases shows long-lasting anti-hyperalgesic activity in a rat model of neuropathic pain[J].Neuropharmacology,2017,118(8):223-232.

[8]Burstein R,Zhang XC,Levy D,et al.Selective inhibition of meningeal nociceptors by botulinum neurotoxin type A:Therapeutic implications for migraine and other pains[J].Cephalalgia, 2014(34):853-869.

[9]Hoeij FB,Tack JF,Pandolfino JE,et al.Complications of botulinum toxin injections for treatment of esophageal motility disorders[J].Dis Esophagus,2017,30(1):1-5.

[10]Cho SJ,Song TJ,Chu MK.Treatment Update of Chronic Migraine[J].Curr Pain Headache Rep,2017,21(6):26.

[11]Sousa EJS,Sousa GC,Baia VF,et al.Botulinum toxin type A in chronic neuropathic pain in refractory leprosy[J].Arq Neuropsiquiatr,2019,77(5):346-351.

[12]Castillo-álvarez F,Hernando de la Bárcena I,Marzo-Sola ME.Botulinum toxin in trigeminal neuralgia [J].Med Clin(Barc), 2017,148(1):28-32.

[13]Arbizu RA,Rodriguez L.Use of Clostridium botulinum toxin in gastrointestinal motility disorders in children [J].World J Gastrointest Endosc,2015,7(5):433-437.

[14]Alviar MJM,Hale T,Dungca M.Pharmacologic interventions for treating phantom limb pain [J].Cochrane Database Syst Rev, 2016,10(10):CD006380.

[15]Zychowska M,Rojewska E,Makuch W,et al.Participation of pro- and anti-nociceptive interleukins in botulinum toxin A-induced analgesia in a rat model of neuropathic pain [J].Eur J Pharmacol,2016(791):377-388.

[16]Vacca V,Marinelli S,Luvisetto S.Botulinum toxin A increases analgesic effects of morphine, counters development of morphine tolerance and modulates glial activation and μ opioid receptor expression in neuropathic mice[J].Brain Behav Immun,2013(32): 40-50.

[17]Tsuda M,Koga K,Chen T,et al.Neuronal and microglial mechanisms for neuropathic pain in the spinal dorsal horn and anterior cingulate cortex[J].J Neurochem,2017,141(4):486-498.

[18]Choi BJ,Imlach WL,Jiao W,et al.Minature Neurotransmis-

- sion Regulates *Drosophila* Synaptic Structural Maturation [J]. *Neuron*, 2014, 82(3): 618–634.
- [19] Südhof TC, Rothman JE. Membrane fusion: Grappling with SNARE and SM proteins [J]. *Science*, 2009, 323(5913): 474–477.
- [20] Pantano S, Montecucco C. The blockade of the neurotransmitter release apparatus by botulinum neurotoxins [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71(5): 793–811.
- [21] Intiso D, Basciani M, Santamato A, et al. Botulinum Toxin Type A for the Treatment of Neuropathic Pain in Neuro-Rehabilitation [J]. *Toxins (Basel)*, 2015, 7(7): 2454–2480.
- [22] Welch MJ, Purkiss JR, Foster KA. Sensitivity of embryonic rat dorsal root ganglia neurons to *Clostridium botulinum* neurotoxins [J]. *Toxicon*, 2000, 38(2): 245–258.
- [23] Ochoa Vargas DC. Efficacy of Botulinum toxin A for the treatment of Bladder pain syndrome: A systematic review [J]. *Actas Urol Esp*, 2018, 42(3): 152–162.
- [24] Drinovac Vlah V, Bach-Rojecky L. Antinociceptive action of botulinum toxin type A in carrageenan-induced mirror pain [J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2016, 123(12): 1403–1413.
- [25] Wiegand H, Erdmann G, Wellhoner HH. 125I-Labelled botulinum a neurotoxin: Pharmacokinetics in cats after intramuscular injection [J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 1976 (292): 161–165.
- [26] Caleo M, Restani L. Direct central nervous system effects of botulinum neurotoxin [J]. *Toxicon*, 2018(147): 68–72.
- [27] Marinelli S, Vacca V, Ricordy R, et al. The Analgesic Effect on Neuropathic Pain of Retrogradely Transported botulinum Neurotoxin A Involves Schwann Cells and Astrocytes [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47977.
- [28] Piotrowska A, Popielek-Barczyk K, Pavone F, et al. Comparison of the Expression Changes after Botulinum Toxin Type A and Minocycline Administration in Lipopolysaccharide-Stimulated Rat Microglial and Astroglial Cultures [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017(7): 147.
- [29] Hepp R, Perraut M, Chasserot-Golaz S, et al. Cultured glial cells express the SNAP-25 analogue SNAP-23 [J]. *Glia*, 1999, 27(2): 181–187.
- [30] Zhang Y, Chen J, Ji H, et al. Protective effects of Danshen injection against erectile dysfunction via suppression of endoplasmic reticulum stress activation in a streptozotocin-induced diabetic rat model [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2018, 18(1): 343.
- [31] Roh DH, Yoon SY, Seo HS, et al. Intrathecal injection of carbenoxolone, a gap junction decoupler, attenuates the induction of below-level neuropathic pain after spinal cord injury in rats [J]. *Exp Neurol*, 2010, 224(1): 123–132.
- [32] Panatier A, Vallée J, Haber M, et al. Astrocytes are endogenous regulators of basal transmission at central synapses [J]. *Cell*, 2011, 146(5): 785–798.
- [33] Popielek-Barczyk K, Mika J. Targeting the microglial signaling pathways: New insights in the modulation of neuropathic pain [J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(26): 2908–2928.
- [34] Tanga FY, Raghavendra V, DeLeo JA. Quantitative real-time RT-PCR assessment of spinal microglial and astrocytic activation markers in a rat model of neuropathic pain [J]. *Neurochem Int*, 2004, 45(2–3): 397–407.
- [35] Mika J, Osikowicz M, Makuch W, et al. Minocycline and pentoxifylline attenuate allodynia and hyperalgesia and potentiate the effects of morphine in rat and mouse models of neuropathic pain [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 560(2–3): 142–149.
- [36] Mika J, Rojewska E, Makuch W, et al. The effect of botulinum neurotoxin A on sciatic nerve injury-induced neuroimmunological changes in rat dorsal root ganglia and spinal cord [J]. *Neuroscience*, 2011(175): 358–366.
- [37] Kim YJ, Kim JH, Lee KJ, et al. Botulinum Neurotoxin Type A Induces TLR2-Mediated Inflammatory Responses in Macrophages [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0120840.
- [38] Popielek-Barczyk K, Kolosowska N, Piotrowska A, et al. Parthenolide relieves pain and promotes M2 microglia/macrophage polarization in rat model of neuropathy [J]. *Neural Plast*, 2015(2015): 676473.
- [39] Piotrowska A, Kwiatkowski K, Rojewska E, et al. Maraviroc reduces neuropathic pain through polarization of microglia and astroglia—Evidence from in vivo and in vitro studies [J]. *Neuropharmacology*, 2016(108): 207–219.
- [40] Jurga AM, Rojewska E, Piotrowska A, et al. Blockade of toll-like receptors (TLR2, TLR4) attenuates pain and potentiates buprenorphine analgesia in a rat neuropathic pain model [J]. *Neural Plast*, 2016(2016): 5238730.
- [41] Liu T, Gao YJ, Ji RR. Emerging role of Toll-like receptors in the control of pain and itch [J]. *Neurosci Bull*, 2012, 28(2): 131–144.
- [42] Kigerl KA, Rivero JP, Dietrich WD, et al. Pattern recognition receptors and central nervous system repair [J]. *Exp Neurol*, 2014 (258): 5–16.
- [43] Nair-Gupta P, Baccarini A, Tung N, et al. TLR signals induce phagosomal MHC-I delivery from the endosomal recycling compartment to allow cross-presentation [J]. *Cell*, 2014, 158(3): 506–521.
- [44] Beauvillain C, Donnou S, Jarry U, et al. Neonatal and adult microglia cross-present exogenous antigens [J]. *Glia*, 2008, 56(1): 69–77.
- [45] Holm TH, Draeby D, Owens T. Microglia are required for astroglial toll-like receptor 4 response and for optimal TLR2 and TLR3 response [J]. *Glia*, 2012, 60(4): 630–638.
- [46] Lin Y, Lee H, Berg AH, et al. The lipopolysaccharide-activated Toll-like receptor (TLR)-4 induces synthesis of the closely related receptor TLR-2 in adipocytes [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(32): 24255–24263.

收稿日期: 2020-02-19; 修回日期: 2020-03-03

编辑/肖婷婷