DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2019.04.003

外源性脑源神经营养因子降低糖尿病大鼠痛阈的机制研究*

于 婷[1] 成洪聚[1] 辛 青[1] 许 飞[2] 李 雷[3△]
([1] 济宁医学院基础医学院,济宁 272067;[2] 济宁医学院附属济宁市第一人民医院,济宁 272011;
[3] 济宁医学院临床医学院,济宁 272013)

摘 要 目的 探讨外源性脑源神经营养因子(BDNF)及其高亲和力受体酪氨酸激酶受体 B(TrkB)对糖尿病周围神经病变(DPN)大鼠的痛觉过敏症状的作用及其机制。**方法** 利用链脲佐菌素(STZ)建立 DPN 模型大鼠,将 DPN 模型大鼠随机分为 BDNF 组、TrkB Fc 组和 DPN 组,每组 16 只,鞘内置管给予不同药物,BDNF 组给予 BDNF,TrkB 组给予 BDNF + TrkB Fc(由 TrkB 受体的细胞外配体结合结构域组成的合成融合蛋白),DPN 组给予 DMSO 溶剂。用 von Frey 纤维检测机械痛觉阈值,用热痛仪检测热痛觉阈值。用荧光实时定量 PCR 检测大鼠背根神经节(DRG)组织 BDNF 和 TrkB 的 mRNA 表达,蛋白印迹检测 BDNF 和 TrkB 蛋白表达。用全细胞膜片钳电流钳检测 DRG 神经元静息电位水平、阈电流强度及动作电位频率。**结果** 与 DPN 组相比较,BDNF 组鞘内注射 BDNF 升高机械痛觉和热痛觉阈值,并且降低 DRG 神经元的过度兴奋,这些效应可被预先给予 TrkB Fc 所阻断,差异具有统计学意义(均 $P<0.05$)。与 DPN 组相比较,鞘内给予 BDNF 对 DRG 中 BDNF 和 TrkB 表达无显著影响,差异不具有统计学意义(均 $P>0.05$)。**结论** 外源性 BDNF 通过降低 DRG 神经元的过度兴奋缓解 DPN 大鼠的疼痛症状,BDNF 可能是潜在的治疗糖尿病性神经病理性疼痛的新型药物。

关键词 脑源性神经营养因子;酪氨酸激酶受体 B;背根神经节;神经元;糖尿病神经病变
中图分类号:R 587.1 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-9760(2019)08-238-06

Study on the mechanism of exogenous brain-derived neurotrophic factor in relieving pain symptoms of diabetic rats

YU Ting[1], *CHENG Hongju*[1], *XIN Qing*[1], *XU Fei*[2], *LI Lei*[3]
([1] *College of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining* 272067, *China*;
[2] *Jining No. 1 People's Hospital & the Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining* 272011, *China*;
[3] *College of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining* 272013, *China*)

Abstract: ***Objective*** To investigate the role of exogenous brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its high-affinity tropomyosin-receptor-kinase B (TrkB) in rats with peripheral neuropathy (DPN). ***Methods*** The intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) was used to establish the DPN rat model. The DPN rats were randomly divided into BDNF group, TrkB group and DPN group. There are 16 rats in each group. The intrathecal tube was used to give different drugs. BDNF group was given BDNF. TrkB group was given BDNF + TrkB Fc (a synthetic fusion protein consisting of the extracellular ligand-binding domain of the TrkB receptor). And DPN group was given DMSO solvent. The mechanical pain threshold was measured with von Frey filaments and the thermal threshold was measured with a plantar analgesia tester. The expression of BDNF and TrkB mRNA in dorsal root ganglion (DRG) tissues was detected by real-time PCR. The expression of BDNF and TrkB protein was detected by Western blotting. The whole-cell current clamp recording was performed to determine resting potential, rheobase and action potential frequency of DRG neurons. ***Results***

*[基金项目]济宁市科技助推新旧动能转换计划(2017SMNS004);济宁市科技发展计划(2014jnyx05)
△[通信作者]李雷,E-mail:iampolkers@163.com

Compared with DPN group, intrathecal administration of BDNF dramatically elevated mechanical and thermal thresholds as well as inhibited hyperexcitability of DRG neurons. These effects were blocked by pretreatment with TrkB Fc. Compared with DPN group, intrathecal administration of BDNF did not affect the expression of BDNF and TrkB in DRG. ***Conclusion*** Exogenous BDNF relieved pain symptoms of DPN rats by reducing hyperexcitibility of dorsal root ganglion neurons which might be the potential treatment of painful diabetic neuropathy.

Keywords: Brain-derived neurotrophic factor; Tropomyosin-receptor-kinase B; Neuron; Dorsal root ganglion; Diabetic neuropathy

糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropath, DPN)是糖尿病的常见并发症,严重降低糖尿病患者的生活质量。DPN 主要累及双下肢的进展性痛觉过敏[1]。背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)作为初级感觉传入神经元聚集的部位,是疼痛信号传递的关键途径[2]。越来越多的证据表明,DRG 初级感觉神经元的兴奋性增强引起 DPN 中疼痛信号的产生[3]。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)通常在一些小型和中型 DRG 神经元中表达和合成,并且可以从 DRG 释放以支持神经元发育或参与疼痛感知[4]。BDNF 主要与存在于大型和中型 DRG 神经元的高亲和力受体即酪氨酸激酶受体 B(TrkB)结合[5]。研究显示在糖尿病大鼠的 DRG 中 BDNF 表达升高[6],并且抗 BDNF 抗体可以使糖尿病大鼠 DRG 神经元中电压门控钾电流密度下降的状态趋向正常[7]。目前,尚无报道 BDNF 是否以及如何调节在 DPN 进展过程中 DRG 神经元的兴奋性。本研究采用链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)建立 DPN 大鼠模型,探讨外源性 BDNF 对 DPN 大鼠痛觉过敏作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂与仪器 STZ、BDNF、TrkBFc、多聚赖氨酸均购自美国 Sigma 公司;TRIZOL、胶原酶、胎牛血清购自美国 Invitrogen 公司;BCA 蛋白测定试剂盒购自上海碧云天生物技术公司;兔抗 BDNF 单克隆 IgG、兔抗 TrkB 单克隆 IgG 购自美国 Abcam 公司;山羊抗兔 IgG-HRP、山羊抗小鼠 IgG-HRP 购自美国 Sahta Craz Biutechholgg 公司;荧光化学成像仪购自瑞士 Bucher Biotec 公司;Epc-9 放大器和 Patch-master 软件购自德国 HEKA 公司。

1.1.2 实验动物和导管植入 雄性 Wistar 大鼠(10 周龄,实验开始时体重 200 ~ 250g)购自山东省实验动物中心。腹腹腔注射 3% 戊巴比妥钠(1ml/kg 体重)麻醉大鼠。无菌条件下于大鼠腰部 L6 和骶骨 S1 椎骨之间的间隙做一切口,将无菌聚乙烯导管(PE-10,长 15.0cm,购自美国 Instech Laboratories Incorporation 公司)通过切口插入蛛网膜下腔,导管的尖端固定在 L4 腰椎水平,导管末端由皮下穿行至大鼠颈部固定。通过鞘内注射 10μl 12% 利多卡因来确认导管放置位置。只有在利多卡因注射后 30s 内出现后爪可逆性麻痹的大鼠视为成功插入导管。

1.2 方法

1.2.1 DNP 大鼠模型的建立 禁食 12h 后,成功插入导管的大鼠一次性腹腔注射 STZ(55mg/kg 新鲜溶解于 0.1mol/L 柠檬酸缓冲液,pH4.5)。3d 后每周检测 1 次尾静脉血糖浓度。只有在整个实验过程中血糖浓度≥20mmol/L 的大鼠作为 DNP 模型大鼠。

1.2.2 动物分组和鞘内给药 将 BDNF 和 TrkB Fc 以最终浓度的 1000 倍溶于二甲基亚砜(DMSO)中,并分装冻存。在使用前将储存液在无菌 0.9% 氯化钠溶液中稀释。STZ 注射后 3d,将 48 只糖尿病大鼠随机分成 3 组(n = 16),并且给予不同药物 6 周:TrkB 组(在 BDNF 5μg/20μl/d 鞘内给药前 30min 给予 TrkB Fc 5μg/20μl/d),BDNF 组(BDNF 5μg/20μl/d 鞘内给药)和 DPN 组(DMSO 0.022μg/20μl/d 鞘内给药)在最后一次鞘内给药后第 6 天测试机械痛觉阈值和热痛觉阈值。

1.2.3 机械痛觉和热痛觉阈值测定 采用单育法行为测试。使用 Von Frey 纤维和热痛仪分别测量左右后爪对机械和热刺激的阈值。采用一系列标准 von Frey 纤维刺激大鼠后爪的足底中间区域,压力足以使细丝弯曲 5s,被测试后爪的快速撤回视为阳性反应。根据文献方法[8]计算 50% 爪回缩阈值。采用对热刺激的缩足阈值来评价热痛觉过敏。

将大鼠置于恒温 30℃的薄玻璃平台上。用由高强度灯泡(10W)产生加热速率 0.95℃/s 的加热灯来加热目标后爪。记录从热刺激开始直到后爪回缩的时间。设定 30s 的自动终止时间以防止后爪受到损伤。

1.2.4 DRG 组织收集　完成行为测试后,通过腹腔注射 3%戊巴比妥钠(1ml/kg)麻醉并处死动物。从每只动物中取出双侧 L4-6 DRG。将来自每组 8 只大鼠一侧的 DRG 用于实时定量 PCR,另一侧的 DRG 用于蛋白印迹测定。分离每组 8 只大鼠两侧的 DRG,用于膜片钳记录。

1.2.5 BDNF 和 TrkB mRNA 表达检测　用 TRIzol 提取来自 DRG 组织的总 RNA。使用 cDNA 合成试剂盒进行逆转录。由上海生工生物工程有限公司设计并合成引物(表 1)。使用 Maxima SYBR Green qPCR Master Mix 试剂盒在 iQ5 实时定量 PCR 检测系统上进行实时定量 PCR。计算循环阈值(Ct)值,并使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法相对于内参 GAPDH 的水平计算 BDNF 和 TrkB 基因的标准化表达水平。

表 1　引物序列

基因名称	引物序列	产物长度
BDNF	上游 5′-GAT GCC AGT TGC TTT GTC TTC-3′	102bp
	下游 5′-TAA AAT CTC GTC TCC CCA ACA-3′	
TrkB	上游 5′-AAG ATC CTG GTG GCC GTG AAG A-3′	125bp
	下游 5′-CGG CTT CGC GAT GAA AGT CCT T-3′	
GAPDH	上游 5′-GGC ACA GTC AAG GCT GAG AAT G-3′	113bp
	下游 5′-ATG GTG GTG AAG ACG CCA GTA-3′	

1.2.6 蛋白印迹检测 BDNF 和 TrkB 蛋白表达　将 DRG 组织匀浆后提取蛋白,并使用 BCA 蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度。将含有 50μg 蛋白质的样品加载到 10% SDS 凝胶上,通过电泳分离并转移到硝酸纤维素(NC)膜上。用兔抗 BDNF 单克隆 IgG(1∶1000),兔抗 TrkB 单克隆 IgG(1∶2000)和小鼠抗 β-actin 单克隆 IgG(1∶1000)分别在水平摇床上 4℃孵育膜 12h。洗膜后分别用相应的二抗即山羊抗兔 IgG-HRP(1∶2000)或山羊抗小鼠 IgG-HRP(1∶3000)孵育膜 2h。使用化学发光检测试剂盒在荧光化学成像仪中显现免疫反应性条带。BDNF 和 TrkB 的蛋白表达水平用与 β-actin 的光密度比率表示。

1.2.7 细胞培养和膜片钳记录　在无菌条件下取出大鼠的 DRG 组织,用 0.5%胰蛋白酶和 1%胶原酶消化 DRG 1h,分解成单细胞。将细胞重悬于由 10%胎牛血清组成的 DMEM / F-12 培养液中并置于含有多聚赖氨酸(0.1mg/ml)预包被的玻璃盖玻片上,保存在 37℃ 5% CO_2 培养箱中,在接种 24h 内进行记录。使用 EPC-9 放大器和 Patch-master 软件进行全细胞电压钳记录。用电阻 4MΩ 至 6MΩ 的玻璃微电极与细胞建立高阻(1GΩ ~ 10GΩ)封接。本研究均选取小直径(膜电容≤20pF)的 DRG 神经元进行兴奋性测定。电极内液成分(mmol/L)为:140 KCl,4 NaCl,10 HEPES,10 EGTA,0.5 $CaCl_2$,1 $MgCl_2$,用 KOH 调节 pH 7.4。细胞外液成分(mmol/L)为:140 NaCl,5 KCl,1.8 $CaCl_2$,1 $MgCl_2$,10 HEPES,10 Glucose,用 NaOH 调节 pH 7.4。将细胞保持在 0pA,记录静息电位(resting membrane potential,RMP)。通过施加一系列持续 5ms 的去极化电流(从 0pA 开始以每次增加 10pA 的幅度逐渐升高)来触发第 1 个动作电位(action potential,AP)以测量阈电流强度。通过施加一持续较长时间的去极化电流(阈电流强度的 2 倍,持续 1s)以触发细胞产生连续 AP,计数 AP 的频率。

1.3 统计学方法

计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS19.0 软件统计分析,数据均符合正态分布且方差齐,用单因素方差分析组间差异,然后用 Student-Newman-Keuls 进行各组间的两两比较。$P<0.05$ 为差异具有显著性。

2　结果

2.1 一般情况观察

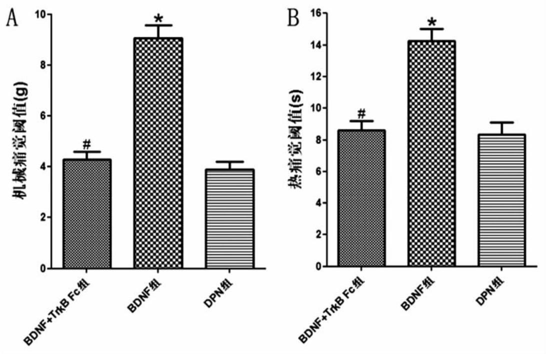
3组大鼠体重改变值和血糖改变值比较分析,注射 BDNF 和 TrkB Fc 对体重血糖的影响不大。见表2。

表 2　3 组间体重改变值及血糖改变值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	体重/g	血糖/mmol · L^{-1}
BDNF + TrkB Fc 组	45 ± 5.8	20.3 ± 0.31
BDNF 组	37 ± 4.9	21.5 ± 0.34
DPN 组	51 ± 6.0	19.2 ± 0.28
F 值	2.34	1.61
P	>0.05	>0.05

2.2　BDNF 和 TrkB Fc 对大鼠机械痛觉和热痛觉阈值的影响

3 组大鼠机械痛觉阈值（F 值 = 57.0，$P < 0.05$）及热痛觉阈值（F 值 = 22.1，$P < 0.05$）存在统计学差异。相较于鞘内注射 DMSO 溶剂的 DPN 大鼠，鞘内注射 BDNF 可以升高机械痛觉阈值和热痛觉阈值，表现出一定的镇痛作用。预先给予 TrkB Fc 可以阻断 BDNF 对机械痛觉阈值（$P < 0.05$）和热痛觉阈值（$P < 0.05$）的效应。见图 1。

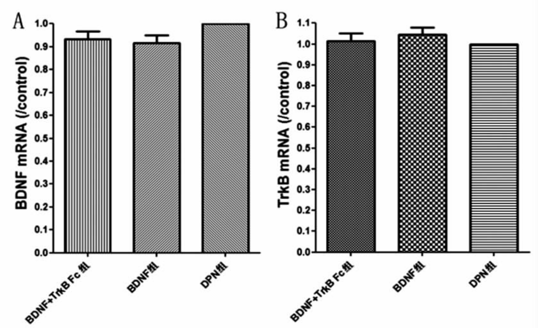


注：A 为机械痛觉阈值（n = 16）；B 为热痛觉阈值（n = 16）；与 DPN 组相比，$^*P < 0.05$；与 BDNF 组相比，$^\#P < 0.05$

图 1　各组大鼠机械痛觉和热痛觉阈值比较

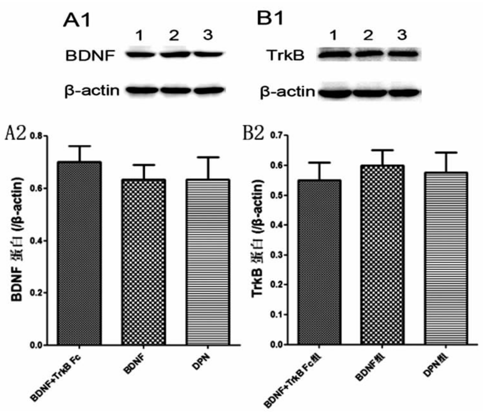
2.3　BDNF 和 TrkB Fc 对大鼠 DRG 组织 BDNF 和 TrkB mRNA 及蛋白表达水平的影响

实时定量 PCR 结果显示，鞘内注射 BDNF 和 TrkB Fc 对 DPN 大鼠的 BDNF mRNA（F 值 = 2.5，$P > 0.05$）和 TrkB mRNA（F 值 = 0.58，$P > 0.05$）表达无显著影响。见图2。与 BDNF 和 TrkB mRNA 表达结果类似，鞘内注射 BDNF 和 TrkB Fc 对 DPN 大鼠的 BDNF 蛋白（F 值 = 0.31，$P > 0.05$）和 TrkB 蛋白（F 值 = 0.23，$P > 0.05$）表达无显著影响。见图3。



注：A 为 BDNF mRNA 表达统计图（n = 8）；
B 为 TrkB mRNA 表达统计图（n = 8）

图 2　各组大鼠 DRG 组织 BDNF 和 TrkB mRNA 表达

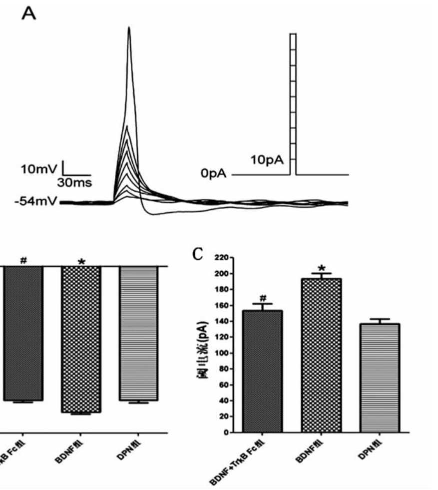


注：A_1 为 BDNF 及 β-actin 蛋白条带
A_2 为 BDNF 蛋白表达统计图（n = 8）
B_1 为 TrkB 及 β-actin 蛋白条带
B_2 为 TrkB 蛋白表达统计图（n = 8）

图 3　各组大鼠 DRG 组织 BDNF 和 TrkB 蛋白表达

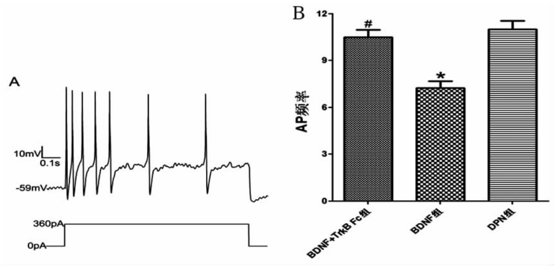
2.4　BDNF、TrkB Fc 对 DRG 神经元兴奋性影响

3 组大鼠 DRG 神经元的 RMP（F 值 = 9.5，$P < 0.05$）、阈电流水平（F 值 = 16.4，$P < 0.05$）及 AP 频率（F 值 = 18.2，$P < 0.05$）存在统计学差异。鞘内注射 BDNF 可以降低 DPN 大鼠的 DRG 神经元兴奋性，表现为 RMP 向超极化方向偏移（$P < 0.05$），阈电流水平升高（$P < 0.05$），以及 AP 频率降低（$P < 0.05$）。预先应用 TrkB Fc 可阻断 BDNF 对 RMP（$P < 0.05$）、阈电流水平及 AP 频率（$P < 0.05$）的效应。见图 4、图 5。



注：A 为一个小直径 DRG 神经元（膜电容 16.8pF）记录到的单个动作电位及刺激电流。B 为 DRG 神经元静息电位统计图（n = 24 分别来自各组的 8 只动物）。C 为 DRG 神经元阈电流统计图（n = 24 分别来自各组的 8 只动物）。与 DPN 组相比，$^*P < 0.05$；与 BDNF 组相比，$^\#P < 0.05$

图 4　各组大鼠 DRG 神经元静息电位、阈电流



注：A 为一个小直径 DRG 神经元（膜电容 18.5pF）记录到的单个动作电位及刺激电流。B 为 DRG 神经元动作电位频率统计图（n = 24 分别来自各组的 8 只动物）与 DPN 组相比，$^{*}P<0.05$；与 BDNF 组相比，$^{\#}P<0.05$

图 5　各组大鼠 DRG 神经元动作电位频率

3　讨论

DPN 以周围神经系统结构和功能改变为主要特点，随着病程进展，损害逐渐加重，症状由初期的痛觉过敏进展为感觉缺失，是导致糖尿病患者截肢的重要原因。由于发病机制不明，除严格控制血糖外，缺乏有效治疗药物。糖尿病神经病变早期，初级感觉神经元的兴奋性增强，引起机械痛觉和热痛觉阈值的下降[9-10]，即通常状态不产生伤害性信号的刺激出现过度反应，动物实验表现出痛觉行为。BDNF 通过 TrkB 在 DRG 的初级感觉神经元中发挥神经调节作用以控制疼痛信号传导，本实验采用向 DPN 大鼠鞘内注射 BDNF 的方式，证实 BDNF 减轻了糖尿病神经病变的痛觉过敏症状。

一般认为感受伤害性刺激的神经元（主要为小直径的 DRG 神经元）的静息电位通常维持在超极化状态，需要较强的去极化电流才可以产生动作电位，因此只有较强的（具有潜在损害的）机械、热或化学刺激才能使感受伤害性刺激的神经元兴奋。在本实验中，DPN 大鼠的 DRG 神经元兴奋性较强，表现为 RMP 向去极化方向偏移，诱发出第 1 个动作电位的阈电流强度较低，动作电位频率较高。同时 DPN 大鼠对机械刺激和热刺激的缩足阈值较低。电生理实验结果与行为实验结果均与以往的研究[9-10]相符。

BDNF 参与生理状态下的疼痛调节[11-12]，并且在不同的疼痛模型中发挥作用，如炎症引起的痛觉过敏[13]，完全弗氏佐剂引起的热痛觉过敏[14]，L5 前根切断模型的机械性痛觉过敏[15]和脊髓神经结扎模型的痛觉过敏[16]。以往的研究显示，外源性 BDNF 可以降低正常大鼠的 DRG 神经元中电压门控钾电流密度，抗 BDNF 抗体可以使糖尿病大鼠 DRG 神经元中电压门控钾电流密度下降的现象趋向正常[7]。本文结果显示连续鞘内注射 BDNF 6 周显著升高 DNP 大鼠的机械痛觉和热痛觉阈值，并且降低了 DNP 大鼠 DRG 神经元的兴奋性，表现为 RMP 向去极化方向偏移，诱发出第 1 个动作电位的阈电流强度下降，动作电位频率升高。提示 BDNF 通过降低 DNP 大鼠 DRG 神经元的兴奋性起到减轻机械痛觉和热痛觉过敏的作用。BDNF 的以上效应均可以被预先给予 TrkB Fc 所阻断，考虑 BDNF 主要通过与 TrkB 受体结合从而发挥镇痛作用。以往研究大多针对内源性 BDNF 在疼痛发生发展过程中的作用，本实验通过鞘内注射外源性的 BDNF，不仅验证了 BDNF 参与疼痛信号的调节，而且提出了 BDNF 作为镇痛药物的可能性。

有研究显示在糖尿病大鼠的 DRG 中 BDNF mRNA 水平增加[6]，糖尿病状态下内源性 BDNF 表达增多，可能在疼痛信号调节过程中发挥相应作用。另外 BDNF 的生物学功能也可能由于 TrkB 受体表达及功能改变而受到影响。外源性 BDNF 可能对 DRG 组织 BDNF 及 TrkB 受体的表达产生调节作用，但本实验结果显示鞘内给予 BDNF 和 TrkB Fc 对 DPN 大鼠 BDNF 和 TrkB 的表达无影响，可能与药物剂量较小或给药时程过短有关。

综上所述，外源性 BDNF 通过降低 DRG 神经元的过度兴奋缓解 DPN 大鼠的疼痛症状，BDNF 可能是潜在的治疗糖尿病性神经病理性疼痛的新型药物，为治疗糖尿病神经病变提供了新思路。

参考文献：

[1]　Yang XY, Sun L, Xu P, et al. Effects of salvianolic scid A on plantar microcirculation and peripheral nerve function in diabetic rats[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 665(1/2/3): 40-46. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.03.054.

[2]　Ferhatovic L, Banozic A, Kostic S, et al. Expression of calcium/calmodulin-dependent protein kinase Ⅱ and pain-related behavior in rat models of type 1 and type 2 diabetes[J]. Anesth Analg, 2013, 116(3): 712-721. DOI: 10.1213/ANE.0b013e318279b540.

[3]　Serra J, Bostock H, Solà R, et al. Microneurographic identification of spontaneous activity in C-nociceptors in neuropathic pain states in humans and rats[J]. Pain, 2012, 153(1): 42-55. DOI: 10.1016/j.pain.2011.08.015.

[4] Ernsberger U. Role of neurotrophin signalling in the differentiation of neurons from dorsal root ganglia and sympathetic ganglia[J]. Cell Tissue Res, 2009, 336(3): 349-384. DOI:10.1007/s00441-009-0784-z.

[5] Chao MV. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways[J]. Nat Rev Neurosci, 2003, 4(4): 299-309. DOI: 10.1038/nrn1078.

[6] Fernyhough P, Diemel LT, Brewster WJ, et al. Altered neurotrophin mRNA levels in peripheral nerve and skeletal muscle of experimentally diabetic rats[J]. J Neurochem, 1995, 64(3):1231-1237.

[7] Cao XH, Byun HS, Chen SR, et al. Reduction in voltage-gated K^+ channel activity in primary sensory neurons in painful diabetic neuropathy: role of brain-derived neurotrophic factor[J]. J Neurochem, 2010, 114(5): 1460-1475. DOI:10.1111/j.1471-4159.2010.06863.x.

[8] Xu X, Liu Z, Liu H, et al. The effects of galanin on neuropathic pain in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Eur J Pharmacol, 2012, 680(1-3): 28-33. DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.01.011.

[9] Sun W, Miao B, Wang XC, et al. Gastrodin inhibits allodynia and hyperalgesia in painful diabetic neuropathy rats by decreasing excitability of nociceptive primary sensory neurons[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e39647. DOI:10.1371/journal.pone.0039647.

[10] Todorovic SM, Jevtovic-Todorovic V. Targeting of CaV3.2 T-type calcium channels in peripheral sensory neurons for the treatment of painful diabetic neuropathy[J]. Pflugers Arch, 2014, 466(4):701-706. DOI:10.1007/s00424-014-1452-z.

[11] Yajima Y, Narita M, Usui A, et al. Direct evidence for the involvement of brain-derived neurotrophic factor in the development of a neuropathic pain-like state in mice[J]. J Neurochem, 2005, 93(3): 584-594. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2005.03045.x.

[12] Todorovic SM, Jevtovic-Todorovic V. Targeting of CaV3.2 T-type calcium channels in peripheral sensory neurons for the treatment of painful diabetic neuropathy[J]. Pflugers Arch, 2014, 466(4):701-706. DOI:10.1007/s00424-014-1452-z.

[13] Groth R, Aanonsen L. Spinal brain-derived neurotrophic factor (BDNF) produces hyperalgesia in normal mice while antisense directed against either BDNF or trkB, prevent inflammation-induced hyperalgesia[J]. Pain, 2002, 100(1/2):171-181.

[14] Zhang HH, Zhang XQ, Xue QS, et al. The BDNF/TrkB signaling pathway is involved in heat hyperalgesia mediated by Cdk5 in rats[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e85536. DOI:10.1371/journal.pone.0085536.

[15] Chen HS, Zhou ZH, Li M, et al. Contribution of brain-derived neurotrophic factor to mechanical hyperalgesia induced by ventral root transection in rats[J]. Neuroreport, 2013, 24(4): 167-170. DOI: 10.1097/WNR.0b013e32835d4b97.

[16] Zhang X, Xu Y, Wang J, et al. The effect of intrathecal administration of glial activationinhibitors on dorsal horn BDNF overexpression and hind paw mechanical allodynia in spinalnerve ligated rats[J]. J Neural Transm, 2012, 119(3): 329-336. DOI: 10.1007/s00702-011-0713-7.

(收稿日期　2017-03-08)

(本文编辑:石俊强)

· 简讯 ·

《济宁医学院学报》影响因子创历史新高

据 2018 年中国科技期刊引证报告统计结果显示:《济宁医学院学报》影响因子 0.849;中国学术期刊影响因子年报也显示:《济宁医学院学报》影响因子 0.595,期刊影响力指数 197.34。

万方数据及知网两家权威数据库期刊评价结果均显示:《济宁医学院学报》的多项期刊评价指标连续 9 年不断攀升,2018 年创历史新高。

本刊编辑部