

· 基础研究 ·

神经病理性疼痛大鼠脊髓背角 NF- κ B 及其下游肿瘤坏死因子 α 表达的变化

张丽 傅志俭 孙涛 赵序利 宋文阁 贾明睿 魏广福

【摘要】 目的 观察大鼠脊髓背角中 NF- κ B 及其下游肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 在慢性坐骨神经挤压性损伤 (CCI) 疼痛模型中表达的变化规律。方法 雄性 SD 大鼠 76 只, 随机分为手术组 (CCI 组) 和假手术组 (Sham 组) ($n=38$), 于 CCI 前 1 d, CCI 后 1、4、7、14、21、28 d 各时间点测定机械痛阈及热痛阈后立即处死大鼠, 取脊髓, 采用实时荧光定量 PCR 和免疫荧光双标的方法分别测定 NF- κ B 和 TNF- α 的 mRNA 含量和蛋白表达变化。结果 CCI 组大鼠手术侧机械痛阈及热痛阈明显降低, 脊髓背角中 NF- κ B 水平和 TNF- α 的表达增加, 明显高于对侧和假手术组; NF- κ B 和 TNF- α 的 mRNA 水平于 CCI 后 4 d 开始增加, 分别为术前的 $(1.20 \pm 0.16, 2.32 \pm 0.27)$ 倍, 7 d 达到高峰, 为术前的 $(1.75 \pm 0.20, 3.38 \pm 0.41)$ 倍, 随后 TNF- α 迅速下降, 而 NF- κ B 于 CCI 后 28 d 仍为术前的 (1.15 ± 0.24) 倍, 维持于较高水平 ($P < 0.05$)。术后第 7 天的免疫荧光双标显示 NF- κ B 和 TNF- α 在术侧脊髓后角存在共定位表达。结论 CCI 致大鼠脊髓背角 NF- κ B 活化并上调 TNF- α 的表达, 参与神经病理性疼痛的调控过程。

【关键词】 神经病理性疼痛; 慢性压迫性损伤; NF- κ B; 肿瘤坏死因子 α

Expression of NF- κ B and TNF- α in spinal dorsal horn in a rat model of neuropathic pain ZHANG Li, FU Zhi-jian, SUN Tao, ZHAO Xu-li, SONG Wen-ge, JIA Ming-rui, WEI Guang-fu. Department of Pain Management, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China
Corresponding author: SUN Tao, Email: suntao@medmail.com.cn

【Abstract】 **Objective** To investigate the expressions of NF- κ B and TNF- α in lumbar spinal cord in a rat model of chronic constrictive injury (CCI). **Methods** Seventy-six male SD rats were randomly divided into 2 groups ($n=38$ each): CCI group receiving chronic constriction injury and sham group receiving sham operation as control. The mechanical and thermal nociceptive thresholds were assessed with paw withdrawal latency (PWL) to von Frey filaments and radiant heat at different time points. Five animals were sacrificed at each time point for real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) and another three animals sacrificed at 7 d post-operation for double-immunofluorescence histochemical staining. Lumbar segments of spinal cord were removed. The expressions of NF- κ B and TNF- α in spinal cord were examined by real-time PCR and double-immunofluorescence histochemical technique. **Results** The post-operative thresholds to mechanical and thermal stimuli decreased obviously. As compared with contralateral side and sham group, the expressions of NF- κ B and TNF- α mRNA increased significantly in ipsilateral spinal dorsal horn. Their expressions began to increase at 4 d post-operation and peaked at 7 d. Then TNF- α began to decrease while NF- κ B maintained at a high level throughout the experiment. Double-immunofluorescence histochemical staining revealed extensive co-localization of NF- κ B with TNF- α on ipsilateral side of dorsal horn. **Conclusion** The activation of NF- κ B and its downstream inflammatory mediators may be involved in the regulation of neuropathic pain.

【Key words】 Neuropathic pain; Chronic constrictive injury; NF-kappa B; Tumor Necrosis Factor-alpha

神经病理性疼痛是指由于外周或中枢神经系统

的损伤或功能紊乱引起的疼痛, 常表现为自发性疼痛、痛觉过敏和触发痛, 其发病机制目前尚不完全清楚。有研究表明, 外周神经损伤可通过上调脊髓和背根神经节 (DRG) 中复杂的分子网络机制来诱导神经病理性疼痛的发生和发展^[1]。NF- κ B 是一种具有多向性转录激活功能的调节因子, 能够调控编

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2010.15.016

基金项目: 国家自然科学基金 (30801072); 山东省自然科学基金 (Q2007C14)

作者单位: 250021 济南, 山东大学附属省立医院疼痛科

通信作者: 孙涛, Email: suntao@medmail.com.cn

码多种疼痛相关因子(NO、TNF- α 、IL-1等)的表达^[2]。我们先前工作表明,鞘内注射NF- κ Bp65反义寡核苷酸可以有效减轻CCI引起的神经病理性疼痛^[3]。TNF- α 是NF- κ B信号转导通路中重要的下游促炎性细胞因子,参与神经病理性疼痛的调控^[4]。本研究拟在以往工作基础上应用实时定量PCR(real time-PCR)以及免疫荧光双标染色技术,从mRNA和蛋白水平观察大鼠慢性坐骨神经挤压性损伤(CCI)模型中脊髓背角NF- κ B及TNF- α 表达的动态变化,以探讨NF- κ B信号转导通路在慢性疼痛的发生与发展中的作用规律。

材料与方法

1. 试剂来源:兔抗大鼠NF- κ B单克隆抗体(一抗)购自美国CST公司,小鼠抗大鼠TNF- α 多克隆抗体(一抗),TRITC标记的羊抗兔IgG(二抗)和FITC标记的羊抗小鼠IgG(二抗)均购自美国Santa Cruz公司,Trizol RNA提取试剂盒购自Invitrogen公司,逆转录试剂盒购自Fermentas公司。

2. 实验动物及分组:先取健康雄性SD大鼠70只,体重220~280g,由山东大学医学院实验动物中心提供,随机分为假手术组(Sham组)和手术组(CCI组)($n=35$)。分别于CCI前1d、CCI后1、4、7、14、21和28d测定机械痛阈和热痛阈后处死,每个时间点为5只,取脊髓,将标本迅速入液氮保存备实时定量PCR用;根据实时定量PCR的结果,另取健康雄性SD大鼠6只,随机分组同前,每组3只,于CCI后7d处死大鼠,取脊髓准备制作冰冻切片。

3. 慢性坐骨神经挤压损伤模型(CCI)的建立:参照Bennett和Xie^[5]创建的办法,大鼠腹腔注射10%水合氯醛(300mg/kg)麻醉,常规消毒右下肢,于股骨外侧纵行切开皮肤,钝性分离肌肉,暴露坐骨神经,在接近分叉前游离出约7mm的神经,在显微镜下用4-0铬制肠线松扎4处,间隔为1mm,以不影响神经外膜的血运为原则,结扎时可见肢体轻微抽动,然后逐层缝合,术后肌注青霉素8万U,2次/d。假手术组仅暴露坐骨神经干,不予结扎。

4. 机械痛阈和热痛阈的测定:用von Frey丝(美国Stoelting公司)以up-down法推算50%缩足反射阈值^[6];用BME-410A热痛刺激仪(中国科学院生物医学工程公司)测定大鼠足底部的热缩足反射潜伏期表示热痛阈^[7]。

5. RNA提取和实时定量PCR:取液氮中保存的各时间点脊髓标本,按照Trizol一步法提取组织总

RNA。紫外分光光度计测定浓度和纯度。取总RNA 2 μ g用逆转录试剂盒合成cDNA,再行PCR扩增。RT-PCR引物由上海生工生物工程公司合成,序列如下:NF- κ B:5'GTGCAGAAAGAAGACATTGAGGTG3'(上游),5'AGGCTAGGTCACCGTATGG3'(下游),长度为131bp;TNF- α :5'TGCTGTGCCTCAGCC TCTTC3'(上游),5'TTTGGAACTTCTCCTCTGTG3'(下游),长度为110bp;GAPDH:5'TGGAGAAACCTGCCAAGTATGA3'(上游),5'TGGAAGAATGGGAGTTCCTGT3'(下游),长度为135bp。扩增条件为50 $^{\circ}$ C 2 min, 95 $^{\circ}$ C 10 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 40个循环。95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s。反应在Applied Biosystems 7500 PCR仪上进行。为了控制样本间mRNA质量的变异,同时检测看家基因GAPDH表达。结果采用SDS软件进行 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法相对定量分析。

6. 免疫荧光双标染色:根据实时定量PCR的结果于术后7d将大鼠麻醉(方法同上),经4%多聚甲醛心脏灌注固定后,取L4~L6段脊髓组织置于相同固定液中4h,后转入30%蔗糖4 $^{\circ}$ C过夜,标本沉底后行冰冻切片,片厚为20 μ m。将切片行免疫荧光双标染色,步骤为:切片入0.5% Triton X-100溶液中,37 $^{\circ}$ C温箱孵育30 min。经0.1 mol/L磷酸盐缓冲溶液(PBS)漂洗后切片入15%正常羊血清封闭液,37 $^{\circ}$ C温箱孵育30 min。甩去血清,滴加一抗混合液(浓度为1:50),4 $^{\circ}$ C过夜,以PBS代替一抗作为阴性对照。洗涤后加入二抗混合液(浓度为1:100),37 $^{\circ}$ C温箱避光孵育2 h。PBS洗涤后,封片,荧光显微镜下观察。

7. 统计学分析采用SPSS 13.0统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较采用成组设计的 t 检验,成组设计的多个样本均数的比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 机械痛阈和热痛阈的变化:CCI组大鼠术侧着地时间较健侧明显缩短,且右足蜷曲,跛行,有时出现舔舐,悬空等后肢保护(缩足)现象,而健侧及假手术组均未出现缩足现象。CCI前1d各组痛阈比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。与CCI前比较,CCI组术侧机械性痛阈和热痛阈在术后第1天开始出现下降($P < 0.05$),术后7d机械痛阈下降达到最低($P < 0.01$),术后4d热痛阈下降达到最

低 ($P < 0.01$), 以后逐渐恢复, 但至 28 d 仍处于较低水平 ($P < 0.05$); 与 Sham 组比较, CCI 组术侧术后 1~28 d 机械痛阈和热痛阈下降 ($P < 0.05$); 两组健侧机械痛阈和热痛阈组间及组内比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$), 见表 1。

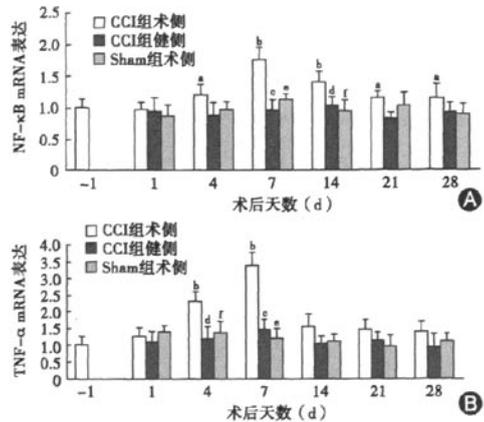
2. 应用实时定量 PCR 的方法检测 NF- κ B 和 TNF- α mRNA 水平的表达变化。NF- κ B mRNA 在正常大鼠脊髓组织中呈低水平表达, 当坐骨神经结扎损伤后, 其术侧脊髓组织中 NF- κ B mRNA 的含量于损伤后 1 d 开始增加, 但并不明显 ($P > 0.05$), 4 d 显著增加 ($P < 0.05$), 为术前的 (1.20 \pm 0.16) 倍, 7 d 达到高峰, 为术前的 (1.75 \pm 0.20) 倍, 与 CCI 组健侧及 Sham 组术侧相比差异均有统计学意义 (均 $P < 0.01$), 术后 28 d 虽有所降低, 但仍维持于较高水平, 为术前的 (1.15 \pm 0.24) 倍 ($P < 0.05$)。TNF- α mRNA 的表达于伤后 1 d 开始增强, 4 d 时为术前的 (2.32 \pm 0.27) 倍, 于 7 d 达到高峰, 为术前的 (3.38 \pm 0.41) 倍, 随后迅速下降, CCI 组术侧 4、7 d 的 TNF- α mRNA 水平均高于与 CCI 组健侧及 Sham 组术侧 ($P < 0.01$), 见图 1。

3. 免疫荧光双标染色显示 NF- κ B 和 TNF- α 的蛋白表达: 实时定量 PCR 显示 NF- κ B 和 TNF- α 于 CCI 后第 7 天表达最多, 故将 CCI 组和 Sham 组术后 7 d ($n=3$) 的大鼠处死, 取材并固定, 做免疫荧光化学染色, 观察 NF- κ B 和 TNF- α 在脊髓后角的共定位表达。CCI 组术侧脊髓后角内 NF- κ B 表达增高, 主要表现为阳性细胞数目增多, 着色变深, 且定位于神经元核, 于同一时间的脊髓后角的神经元胞质内发现 TNF- α 的表达增多, 且与 NF- κ B 定位于同一细胞; 在 CCI 组健侧及假手术组术侧 NF- κ B 和 TNF- α 的表达较少, 两者之间差异无统计学意义 (图 2)。

讨 论

在本研究中, 我们发现 CCI 导致大鼠术侧机械

性痛阈和热痛阈明显降低, 手术组于 CCI 后 4 d 术侧脊髓组织中 NF- κ B 开始逐渐增加, 7 d 达到高峰, 脊髓后角神经元核中见大量 NF- κ B 阳性细胞表达, 表明外周神经损伤时, NF- κ B 信号转导通路被激活, 参与神经病理性疼痛的发展。



A. NF- κ B mRNA 在 CCI 组不同时间点的表达; B. TNF- α mRNA 在 CCI 组不同时间点的表达与术前相比, * $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与 CCI 组健侧相比, ^c $P < 0.01$, ^d $P < 0.05$; 与 Sham 组术侧相比, ^e $P < 0.01$, ^f $P < 0.05$

图 1 实时定量 PCR 结果

NF- κ B 信号转导系统在中枢神经系统中的神经塑形、神经发育及神经变性等过程中具有独特的作用。以往报道证实 NF- κ B 信号转导通路及其下游介质在慢性疼痛的发生与发展中起重要作用。已发现坐骨神经部分损伤后 NF- κ B 在损伤神经和背根神经节处被激活^[8], 参与神经病理性疼痛的启动和发展。损伤神经周围注射 NF- κ B 圈套寡聚核苷酸也可以有效减轻慢性疼痛大鼠模型的痛觉过敏现象^[9-10]。在本研究中, 我们观察到 CCI 导致大鼠术侧机械性痛阈和热痛阈明显降低。手术组于 CCI 后 4 d 术侧脊髓组织中 NF- κ B 表达开始逐渐增加, 7 d 达到高峰, 脊髓后角神经元核中见大量 NF- κ B 阳性

表 1 各组大鼠术侧后肢机械痛阈及热痛阈的比较 ($n=5, \bar{x} \pm s$)

项目	组别	术前 1 d	术后 1 d	术后 4 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 21 d	术后 28 d
机械痛阈 (g)	CCI 组术侧	26.3 \pm 3.2	14.9 \pm 2.9 ^{abc}	7.2 \pm 4.1 ^{abc}	5.6 \pm 3.0 ^{abc}	9.7 \pm 3.0 ^{abc}	11.9 \pm 3.4 ^{abc}	15.6 \pm 2.9 ^{abc}
	CCI 组健侧	27.9 \pm 3.1	26.7 \pm 3.1	25.7 \pm 2.7	22.1 \pm 2.5	25.6 \pm 3.3	28.6 \pm 3.5	26.7 \pm 3.8
	Sham 组术侧	26.4 \pm 2.7	25.4 \pm 4.2 ^{ab}	26.6 \pm 3.4	25.0 \pm 2.1	24.7 \pm 3.0	28.6 \pm 4.3	26.4 \pm 2.5
	Sham 组健侧	27.9 \pm 3.5	26.8 \pm 2.9	28.1 \pm 2.7	25.6 \pm 3.7	27.3 \pm 4.2	26.6 \pm 2.8	26.8 \pm 3.4
热痛阈 (s)	CCI 组术侧	18.5 \pm 2.5	10.1 \pm 2.4 ^{abc}	6.5 \pm 2.4 ^{abc}	7.8 \pm 2.7 ^{abc}	9.5 \pm 3.1 ^{abc}	12.9 \pm 2.5 ^{abc}	16.4 \pm 1.0 ^{abc}
	CCI 组健侧	17.8 \pm 1.9	16.4 \pm 2.0	15.8 \pm 1.6	16.9 \pm 3.1	18.6 \pm 2.5	16.7 \pm 1.7	17.9 \pm 2.3
	Sham 组术侧	18.4 \pm 2.5	16.6 \pm 2.5	17.9 \pm 2.6	18.8 \pm 2.0	19.5 \pm 1.0	17.2 \pm 2.4	19.3 \pm 1.2
	Sham 组健侧	17.8 \pm 1.2	17.2 \pm 1.2	16.9 \pm 1.2	17.4 \pm 1.2	18.2 \pm 1.2	19.2 \pm 1.2	18.1 \pm 1.2

注: 与术前相比, * $P < 0.05$; 与 Sham 组术侧相比, ^b $P < 0.05$; 与 CCI 组健侧相比, ^c $P < 0.05$

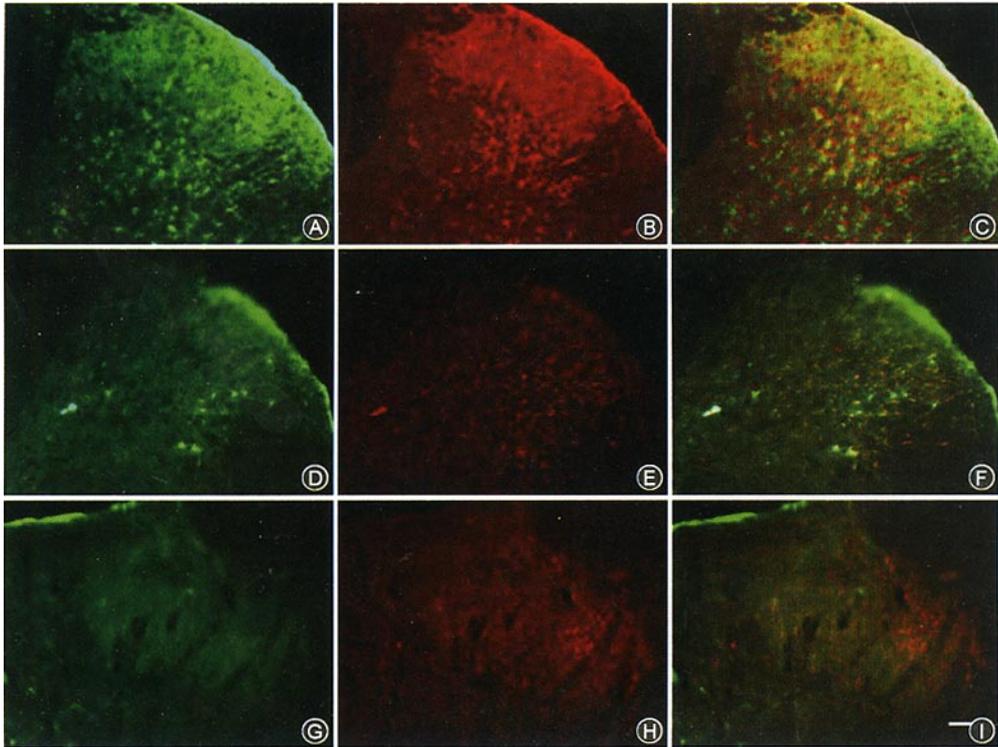


图2 免疫荧光双标显示 NF-κB 和 TNF-α 在术后 7 d 脊髓背角中的表达变化 A:绿色荧光示 TNF-α 在 CCI 组术侧脊髓背角中的表达;B:红色荧光示 NF-κB 在 CCI 组术侧脊髓背角中的表达;C:黄色荧光示二者在 CCI 组术侧脊髓背角中的共表达;D:绿色荧光示 TNF-α 在 Sham 组术侧脊髓背角中的表达;E:红色荧光示 NF-κB 在 Sham 组术侧脊髓背角中的表达;F:黄色荧光示二者在 Sham 组术侧脊髓背角中的共表达;G:绿色荧光示 TNF-α 在 CCI 组健侧脊髓背角中的表达;H:红色荧光示 NF-κB 在 CCI 组健侧脊髓背角中的表达;I:黄色荧光示二者在 CCI 组健侧脊髓背角中的共表达;标尺 = 100 μm

细胞表达,表明外周神经损伤可以激活脊髓背角的 NF-κB 信号转导通路。

NF-κB 活化是机体效应细胞大量释放促炎性细胞因子(TNF-α、IL-6 等),导致组织炎症反应过度和组织损伤的关键环节。我们以往的工作已证实胶质细胞内促炎性细胞因子 IL-6 参与神经病理性疼痛的调控^[11]。而 TNF-α 在外周神经损伤所致的机械性触诱发痛和热痛敏中也具有重要作用^[12]。实验发现坐骨神经周围注射重组大鼠 TNF-α (recombinant TNF-alpha, rrTNF)可引起机械性触诱发痛,鞘内注射 TNF-α 抑制剂能够明显减少脊神经切断所引起的疼痛行为^[13]。本研究发现脊髓后角的神经元胞质内发现 TNF-α 的表达增多,且与 NF-κB 定位于同一细胞,提示 NF-κB 激活后会启动下游促炎性因子 TNF-α 的表达来参与慢性疼痛的调控。TNF-α 是较早释放、具有多种生物学效应的重要促炎性细胞因子。正常情况下 TNF-α 在中枢神

经系统与外周神经系统中的表达很低,分布亦较局限。脊髓损伤时,TNF-α 的表达上调,主要分布于神经元及神经胶质细胞。已有实验表明,外周神经损伤后脊髓背根神经节(DRG)和脊髓背角处 TNF-α 和 TNFR1 表达上调,TNF-α 相关神经元过量表达 TNFR1。坐骨神经表面应用低浓度(1~10 pg/ml) TNF-α 能够导致 Aδ 和 C 传入性感觉纤维异位放电^[14],感觉传入通路中促炎性细胞因子作用于脊髓背角的痛觉传递神经元使其处于超敏化状态,同时通过正反馈效应进一步增强初级传入神经末梢伤害性神经递质的释放,增强突触后背角痛觉传递神经元的敏感性和反应性,使疼痛程度和痛源区域夸大化^[15-16]。TNF-α 除了由 DRG 和脊髓背角合成外,还可从受损部位沿轴突逆向转运,到达 DRG,甚至脊髓背角^[17];TNF-α 亦可通过自分泌的机制导致神经病理性疼痛发生。本研究发现 TNF-α mRNA 的表达于 7 d 达到高峰,随后迅速下降,其下降的具体机制

有待于进一步研究,可能的解释是当细胞因子浓度较高时,有可能产生其自身的抑制剂或者其他分子来抑制其产生,进而减轻炎症反应和疼痛效应^[18];或者可能与 TNFR1 的相互作用有关,过量表达的 TNFR1 与 TNF- α 结合,致游离的 TNF- α 浓度降低^[19]。

外周神经损伤后,大鼠脊髓背角内 NF- κ B 可以通过启动下游的 TNF- α 的转录参与对神经病理性疼痛的调控。而 TNF- α 与 TNFR1 结合,更可进一步激活 NF- κ B,产生正反馈效应,扩大或者加剧慢性疼痛的信号传导。因此 NF- κ B 信号转导通路及其下游促炎性细胞因子在神经病理性疼痛的发生机制中具有重要的调控作用,可能会成为疼痛调控的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Zhang X, Xiao HS. Gene array analysis to determine the components of neuropathic pain signaling. *Curr Opin Mol Ther*, 2005, 7:532-537.
- [2] Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med*, 1997, 336:1066-1071.
- [3] Sun T, Song WG, Fu ZJ, et al. Alleviation of neuropathic pain by intrathecal injection of antisense oligonucleotides to p65 subunit of NF- κ B. *Br J Anaesth*, 2006, 97:553-558.
- [4] George A, Schmidt C, Weishaupt A, et al. Serial determination of tumor necrosis factor-alpha content in rat sciatic nerve after chronic constriction injury. *Exp Neurol*, 1999, 160:124-132.
- [5] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 1988, 33:87-107.
- [6] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods*, 1994, 53:55-63.
- [7] Hargreaves K, Dubner R, Brown F, et al. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*, 1988, 32:77-81.
- [8] Ma W, Bisby MA. Increased activation of nuclear factor kappa B in rat lumbar dorsal root ganglion neurons following partial sciatic nerve injuries. *Brain Res*, 1998, 797:243-254.
- [9] Suzuki M, Inoue G, Gemba T, et al. Nuclear factor-kappa B decoy suppresses nerve injury and improves mechanical allodynia and thermal hyperalgesia in a rat lumbar disc herniation model. *Eur Spine J*, 2009, 18:1001-1007.
- [10] Inoue G, Ochiai N, Ohtori S, et al. Injection of nuclear factor-kappa B decoy into the sciatic nerve suppresses mechanical allodynia and thermal hyperalgesia in a rat inflammatory pain model. *Spine*, 2006, 31:2904-2908.
- [11] 孙涛, 姚尚龙, 宋文阁, 等. 鞘内注射氟代柠檬酸对神经病理性疼痛大鼠的镇痛作用. *中华麻醉学杂志*, 2007, 27:17-21.
- [12] Xu JT, Xin WJ, Zang Y, et al. The role of tumor necrosis factor-alpha in the neuropathic pain induced by Lumbar 5 ventral root transection in rat. *Pain*, 2006, 123:306-321.
- [13] Sweitzer S, Martin D, DeLeo JA. Intrathecal interleukin-1 receptor antagonist in combination with soluble tumor necrosis factor receptor exhibits an antialloodynic action in a rat model of neuropathic pain. *Neuroscience*, 2001, 103:529-539.
- [14] Sorokin LS, Xiao WH, Wagner R, et al. Tumour necrosis factor-alpha induces ectopic activity in nociceptive primary afferent fibres. *Neuroscience*, 1997, 81: 255-262.
- [15] Milligan ED, Mehmert KK, Hinde JL, et al. Thermal hyperalgesia and mechanical allodynia produced by intrathecal administration of the human immunodeficiency Virus-1 (HIV-1) envelope glycoprotein gp120. *Brain Res*, 2000, 861:105-116.
- [16] Schoeniger-Skinner DK, Ledebor A, Frank MG, et al. Interleukin-6 mediates low-threshold mechanical allodynia induced by intrathecal HIV-1 envelope glycoprotein gp120. *Brain Behav Immun*, 2007, 21:660-667.
- [17] Shubayev VI, Myers RR. Axonal transport of TNF-alpha in painful neuropathy: distribution of ligand tracer and TNF receptors. *J Neuroimmunol*, 2001, 114:48-56.
- [18] Zelenka M, Schäfers M, Sommer C. Intraneural injection of interleukin-1 β and tumor necrosis factor-alpha into rat sciatic nerve at physiological doses induces signs of neuropathic pain. *Pain*, 2005, 116:257-263.
- [19] MacEwan DJ. TNF receptor subtype signaling: differences and cellular consequences. *Cell Signal*, 2002, 14:477-492.

(收稿日期:2009-07-18)

(本文编辑:朱瑶)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊有关文稿中法定计量单位的书写要求

本刊法定计量单位具体使用参照 1991 年中华医学会编辑出版部编辑的《法定计量单位在医学上的应用》一书。注意单位名称与单位符号不可混合使用,如 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{天}^{-1}$ 应改为 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$;组合单位符号中表示相除的斜线多于 1 条时,应采用负数幂的形式表示,如 $\text{ng}/\text{kg}/\text{min}$ 应采用 $\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式;组合单位中斜线和负数幂亦不可混用,如前例不宜采用 $\text{ng}/\text{kg} \cdot \text{min}^{-1}$ 的形式。在首次出现不常

用的法定计量单位处用括号加注与旧制单位的换算系数,下文再出现时只列法定计量单位。人体及动物体内的压力单位使用 mm Hg 或 $\text{cm H}_2\text{O}$,但文中首次出现时用括号加注 ($1 \text{ mm Hg} = 0.133 \text{ kPa}$)。正文中时间的表达,凡前面带有具体数据者应采用 d 、 h 、 min 、 s ,而不用天、小时、分钟、秒。量的符号一律用斜体字母。