

低频电针对 2 型糖尿病神经痛大鼠 DRG P2X3 受体的抑制作用

寿升芸, 魏骏骏, 何晓芬, 吴媛媛, 方剑乔*, 蒋永亮*

(浙江中医药大学第三临床医学院, 杭州 310053)

【摘要】 目的 观察低频电针(electroacupuncture, EA)对 2 型糖尿病神经痛(diabetic neuropathic pain, DNP)模型大鼠的痛阈以及 L5 背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)的 P2X3 受体表达的影响。**方法** 实验一:将 50 只 SD 大鼠随机分为对照组 8 只和造模组 42 只。造模组给予高脂高糖饮食联合小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ, 35 mg/kg)腹腔注射建立大鼠 DNP 模型,对照组以常规饲料喂养并予以相同剂量的柠檬酸缓冲液注射。造模组中模型成功的大鼠进一步分为模型组(DNP group)与低频电针治疗组(DNP + EA group)。电针治疗选用双侧“足三里”、“昆仑”穴,频率 2 Hz,强度 1 mA 治疗 15 min,后 2 mA 治疗 15 min,每日 1 次,共治疗 7 次。观察大鼠高脂高糖饲养 0.5 周的胰岛素敏感指数(insulin sensitivity index, ISI)及 0.5、7 周空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)水平变化;采用动态足底触觉仪检测大鼠高脂高糖饲养 0.5、7 周及电针 3、5、7 d 6 个时间点双侧足缩腿阈(paw withdrawal thresholds, PWTs)的变化;采用免疫荧光法测定 L5 DRG P2X3 受体表达。实验二:将 DNP 造模成功的大鼠分为电针组(EA + Vehicle group)和 P2X3 激动剂组(EA + $\alpha\beta$ -meATP group)。电针干预同上。EA + $\alpha\beta$ -meATP group 于每次电针干预前在大鼠足趾下注射 $\alpha\beta$ -meATP(0.6 μ mol/L, 100 μ L)。EA + vehicle group 大鼠注射等剂量的 PBS 缓冲液,其余干预相同。检测机械痛阈。**结果** ①与对照组大鼠比较,模型组大鼠高脂高糖饲养 5 周后 ISI 均明显降低($P < 0.01$),高脂高糖饲养 7 周后 FPG 明显升高($P < 0.01$),说明成功建立 2 型糖尿病模型(造模成功率为 69.04%);②PWTs:与对照组比较,模型组大鼠双侧 PWTs 明显降低($P < 0.01$),说明 2 型 DNP 造模成功;与模型组比较,低频电针治疗组大鼠在治疗后各时间点均出现双侧 PWTs 的显著增加($P < 0.01$);而与电针组比较,P2X3 激动剂组双侧 PWTs 均明显降低($P < 0.01$)。③免疫荧光法检测结果显示:与对照组比较,模型组大鼠 L5 DRG P2X3 阳性细胞表达明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,低频电针治疗组大鼠 L5 DRG P2X3 阳性细胞表达均明显减少($P < 0.01$)。**结论** 低频电针能通过下调 L5 DRG P2X3 受体有效改善 2 型 DNP。

【关键词】 2 型糖尿病, 神经痛; 电针; P2X3

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017) 01-0054-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2017.01.010

Inhibitory effect of low frequency electroacupuncture on the P2X3 receptor in dorsal root ganglion of rats suffering from type II diabetic neuropathic pain

SHOU Sheng-yun, WEI Jun-jun, HE Xiao-fen, WU Yuan-yuan, FANG Jian-qiao*, JIANG Yong-liang*

(The Third Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of low frequency electroacupuncture on the P2X3 receptor expression in dorsal root ganglion (DRG) of rats with type II diabetic neuropathic pain. **Methods** Part 1: Fifty normal SD rats were randomly divided into normal group (8 rats) and model group (42 rats). The rat model of type II diabetic neuropathic

【基金项目】 国家自然科学基金(编号:81303039);教育部高等学校博士学科点专项科研基金(编号:20133322120001);浙江省博士后基金(编号:BSH1302083);国家中医药管理局重点学科(针灸学)建设经费资助(国中医药发[2009]30号)。

【作者简介】 寿升芸(1990-),女,硕士研究生,专业:针灸推拿学。E-mail: 502901943@qq.com

【通讯作者】 蒋永亮(1981-),男,副研究员,研究方向:针灸镇痛与免疫相关性疾病的研究。E-mail: jyl2182@126.com;方剑乔(1961-),男,教授,研究方向:针灸镇痛与免疫相关性疾病的研究。E-mail: fangjianqiao7532@163.com。

pain was generated by high fat and high sugar diet with a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ, 35 mg/kg). 2 Hz electroacupuncture was administered at ipsilateral acupoints Zusanli and Kunlun for consecutive 7 days. Insulin sensitivity index (ISI) was measured at 0 w and 5 w, and fasting plasma glucose (FPG) was measured at 0 w, 5 w, and 7 w. Paw withdrawal threshold (PWT) was measured by mechanical pain threshold, and P2X3 receptor was determined by immunofluorescence. Part 2: Twelve rats with diabetic neuropathic pain (DNP) were divided into EA + vehicle group (6 rats) and EA + $\alpha\beta$ -meATP group (6 rats). Rats in the two groups received the same EA treatment as Part 1. Rats in the EA + $\alpha\beta$ -meATP group were injected with P2X3 receptor agonist $\alpha\beta$ -meATP (0.6 $\mu\text{mol/L}$, 100 μL) into the ventral surface of each hind paw every time before EA treatment. Rats in the EA + vehicle group received the same dose of vehicle (PBS buffer) as a control. Pain threshold of the rats were measured. **Results** ① Compared with the normal group, the ISI levels of the rats in DNP group was significantly decreased after 5 weeks of the high-fat high-sugar diet ($P < 0.01$). Two weeks after STZ injection, the fasting plasma glucose levels in the rats receiving STZ were significantly elevated ($P < 0.01$). The type 2 diabetes model was established with a successful rate of 69.04%. ② PWTs: The PWTs of rats in DNP group were reduced compared with rats in the normal group ($P < 0.01$), indicating that the type 2 DNP model was successfully established. Compared with the PWTs of DNP-controlled rats, the 2 Hz electroacupuncture significantly increased bilateral PWT of rats subjected to DNP from day 3 after treatment ($P < 0.01$). P2X3 receptor agonist $\alpha\beta$ -meATP greatly reduced bilateral PWT of EA-treated DNP rats compared with that of the EA + vehicle group ($P < 0.01$). ③ The immunofluorescence essay showed that P2X3 receptor expression in bilateral L5 DRGs in the DNP group was significantly increased as compared with that in the normal group ($P < 0.01$). The increases were inhibited by 2 Hz EA in L5 DRGs compared with the DNP group ($P < 0.01$). **Conclusions** 2Hz electroacupuncture can effectively treat the type II diabetic neuropathic pain by decreasing the expression of L5 DRG P2X3 receptors in rats.

[Key words] Type II diabetic neuropathic pain; Electroacupuncture; P2X3

Corresponding author: JIANG Yong-liang, E-mail: jyl2182@126.com; FANG Jian-qiao, E-mail: fangjianqiao7532@163.com

据 WHO 统计,目前全球共有 3.47 亿人罹患糖尿病^[1],糖尿病是继肿瘤、心脑血管疾病之后第三位威胁人类健康的慢性非传染性疾病。而糖尿病神经病理痛(diabetic neuropathic pain, DNP)作为糖尿病最常见的并发症之一,其发病率高达 32.7%^[2],主要表现为自发性烧灼样疼痛、痛觉过敏和痛觉超敏,严重影响了患者的生存质量。目前临床上 DNP 的药物治疗效果不稳定且毒、副作用明显。因此,寻找能有效控制 DNP 且毒副作用少的方法,并阐明其机理,是糖尿病并发症防治中的一个重要问题。

电针(electroacupuncture, EA)能减轻神经病理痛,且低频电针的镇痛效果优于高频电针的现象^[3]。研究表明背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)P2X3 受体水平表达上调在大鼠 DNP 发生中起着重要的作用^[4]。电针可能通过下调 DRG P2X3 受体的功能与表达减轻坐骨神经慢性压榨性损伤(chronic constriction injury, CCI)诱导的神经病理痛^[5]。但关于电针治疗 DNP 是否也与调节 DRG P2X3 受体有关尚不明确,其作用机理有待阐述。因此,本实验拟通过观察低频电针对 2 型 DNP 模型大鼠的痛阈干预以及对 L5 背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)的 P2X3 受体表达的影响,探讨电针

治疗 DNP 的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用 SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只,体重(150 $\pm$ 10)g,购自中国科学院上海实验动物中心【SCXK(沪)2008-0016】,由浙江中医药大学动物实验研究中心饲养[SYXK(浙)2013-184]。饲养期间正常大鼠给予啮齿类动物标准颗粒饲料(由实验动物中心提供),造模大鼠给予高脂高糖饲料,均自由饮水,昼夜明暗周期:12 h/12 h。

1.2 造模与分组

将 50 只 SD 大鼠用完全随机分组法分为对照组($n=8$)与造模组($n=42$)。对照组以普通饲料喂养。造模组以高脂高糖饲料(72.5% 普通饲料 + 10% 猪油 + 10% 蔗糖 + 2% 胆固醇 + 0.5% 胆酸钠 + 5% 蛋黄粉)喂养 5 周诱发胰岛素抵抗。于实验开始前即 0 周、高脂高糖喂养 5 周后测大鼠空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG),并取血测空腹胰岛素(fasting plasma insulin, FINS)评估胰岛素敏感性,胰岛素敏感指数(insulin sensitive index, ISI)下降的大鼠继以小剂量链脲佐菌素(streptozotocin,

STZ, 35 mg/kg) 腹腔注射 1 次, 对照组仅给予相同剂量的柠檬酸缓冲液注射。于 7 周分别测 FPG 和大鼠痛阈, 血糖稳定且 ≥ 11.1 mmol/L, 同时痛阈下降 $\geq 15\%$ 者入选实验, 表示大鼠糖尿病神经病理痛模型 (diabetic neuropathic pain, DNP) 制备成功。造模成功的大鼠将进一步随机分为模型组 (DNP group, $n = 8$) 和低频电针治疗组 (DNP + EA group, $n = 9$)。其余未达到此标准者予以剔除。

1.3 电针干预

低频电针治疗组: 大鼠固定后, 电针治疗取双侧“足三里”、“昆仑”穴 (参照华兴邦大鼠穴位图谱), 采用 0.25 mm $\times$ 13 mm 毫针, 进针后连接韩氏穴位暨神经刺激仪, 频率 2 Hz, 强度先 1 mA 治疗 15 min, 后 2 mA 治疗 15 min, 共 30 min。电针治疗于高脂高糖饲养第 7 周, 每天 1 次, 共治疗 7 次。对照组、模型组仅给予同低频电针治疗组相同的固定。

1.4 空腹血糖的测定

分别于高脂高糖饲养 0、5、7 周这 3 个时间点将大鼠于前天晚上 8 点禁食不禁水, 进行剪尾取血, 采用罗氏卓越型血糖仪 (Roche ACCU-CHEK Performa) 测定空腹血糖值 (FPG, mmol/L)。

1.5 胰岛素测定

分别于高脂高糖饲养 0 周、5 周这两个时间点, 将大鼠禁食不禁水 12 h 后, 眼眶取血约 2 mL, 室温静置约 30 min, 于 4℃、3500 r/min 离心 10 min, 取上清液血清, 采用双抗体夹心 ELISA 法测定胰岛素浓度, 根据不同浓度标准血清的 A_{450} 值作标准曲线, 计算待测标本血清胰岛素浓度。胰岛素敏感性指数的计算: 胰岛素敏感性指数 (insulin sensitivity index, ISI) = $1 / (\text{空腹血糖} \times \text{空腹胰岛素}) = 1 / (\text{FPG} \times \text{FINS})$, 此值为非正态分布, 故计算时取其自然对数。

1.6 机械痛阈测定

分别于高脂高糖饲养 0、5、7 周及电针治疗 3、5、7 d 这 6 个时间点, 采用动态足底触觉仪检测大鼠双侧足趾缩腿阈 (paw withdrawal thresholds, PWT), 取双侧平均值作为大鼠机械痛觉异常的指标, 即机械痛阈。测量前, 将大鼠置于塑料盒内适应环境 10 min。待大鼠安静后 (停止梳理毛发和探索性活动), 将连于机械泵上的类 Von Frey 丝的金属丝 (0.5 mm) 置于大鼠后足中央, 避开足垫; 启动机械泵, 金属丝即以恒定速度自动上台, 对大鼠足底施加机械刺激。刺激力量从 0 g 开始以 2.5 g/s 递增 (Ramp = 20 sec), 直至大鼠产生缩腿反应; 最大刺

激力量为 50 g, 以免大鼠足爪受损; 连续测量 5 次, 去最大、最小值, 取 3 次平均值, 每次间隔 5 min。

1.7 免疫荧光方法检测 L5 DRG P2X3 阳性细胞表达情况

(1) 样本采集

大鼠用 10% (0.35 mL / 100 g) 水合氯醛腹腔麻醉, 开胸暴露心脏, 生理盐水 (4℃ 预冷) 经左心室、升主动脉快速灌注, 直至流出液为澄清液体, 再缓慢推注 4% 多聚甲醛 150 mL, 随后用 500 mL 4% 多聚甲醛溶液先快后慢滴注, 快速取出大鼠 L5 DRG, 4% 多聚甲醛溶液中后固定 3 h, 15%、30% 蔗糖溶液梯度脱水, 液氮速冻, -80℃ 保存备用。

(2) 免疫荧光单标法检测大鼠 L5 DRG 的 P2X3 阳性细胞表达情况

L5 DRG 进行冰冻切片 (14 μm), 将切片贴于涂有多聚赖氨酸的载玻片上, PBS 洗 10 min $\times$ 3 次; 滴加 10% 山羊血清 37℃ 孵育 1 h 以封闭非特异性位点; 加兔抗大鼠 P2X3 抗体 (1:2000) 4℃ 孵育过夜; PBS 洗 10 min $\times$ 3 次, 滴加 Alexa Fluor® 488 山羊抗兔 IgG (H + L) 37℃ 孵育 (避光) 1 h (1:800), PBS 洗 10 min $\times$ 5 次 (避光), 擦干玻片后滴加抗荧光猝灭剂封片, 荧光显微镜下观察并拍片。

1.8 检测 P2X3 激动剂 $\alpha\beta$ -meATP 对低频电针镇痛作用的影响

该部分为验证实验, 进一步验证低频电针对 DNP 的镇痛作用是否与下调 DRG P2X3 受体有关。动物来源以及造模方法同上。将模型成功的 12 只 DNP 大鼠随机分为电针组 (EA + vehicle group, $n = 6$) 和 P2X3 激动剂组 (EA + $\alpha\beta$ -meATP group, $n = 6$)。电针干预同上。EA + $\alpha\beta$ -meATP 组于每次 EA 治疗前于大鼠足趾下注射 $\alpha\beta$ -meATP (0.6 $\mu\text{mol/L}$, 100 μL)。EA + Vehicle 组注射等剂量的 PBS 缓冲液, 其余干预同前。检测机械痛阈。

1.9 统计学处理

实验数据以均数 $\pm$ 标准误 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较用 ANOVA 检验; 组间两两比较采用 LSD 检验; 两组比较用独立样本 T 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠 STZ 注射前不同时间点胰岛素敏感指数变化

与对照组比较, 造模组大鼠 ISI 均降低 ($P <$

0.01)。见表 1。

2.2 大鼠 STZ 注射前后不同时间点空腹血糖变化

与对照组比较,STZ 注射 3 d 及 STZ 注射 2 周后造模组大鼠 FPG 均升高($P < 0.01$)。见表 2。

2.3 低频电针对 DNP 大鼠痛阈的影响

与对照组比较,造模后模型组大鼠 PWT 降低($P < 0.01$);与模型组比较,低频电针治疗组大鼠 PWT 升高($P < 0.01$)。见图 1。

表 1 大鼠 STZ 注射前 ISI 变化($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Changes of ISI in the rats before STZ injection

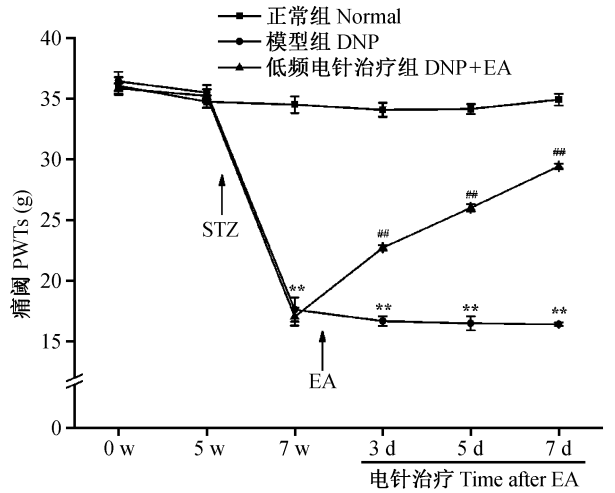
时间(周)	对照组	造模组
Time (Week)	Normal group	Model group
0	-4.50 ± 0.08	-3.93 ± 0.12
5	-4.22 ± 0.25	-5.08 ± 0.07 **

注:与对照组比较:** $P < 0.01$ 。(下表同)。
Note. ** $P < 0.01$, versus the normal group. (The same as in the following tables)

表 2 大鼠 STZ 注射前 FPG 变化($\bar{x} \pm s$,mmol/L)

Tab.2 Changes of FPG in the rats before STZ injection

时间(周)	对照组	造模组
Time (Week)	Normal group	Model group
0	4.84 ± 0.17	4.89 ± 0.08
5	5.85 ± 0.19	5.69 ± 0.08
7	6.20 ± 0.30	21.90 ± 0.77 **



注:与对照组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:** $P < 0.01$ 。

图 1 低频电针对 DNP 大鼠 PWT 的影响

Note: ** $P < 0.01$, versus the normal group;
$P < 0.01$, versus the DNP group.

Fig.1 Effects of 2 Hz electroacupuncture on bilateral paw withdrawal thresholds of the DNP rats.

2.4 大鼠 L5 DRG P2X3 受体阳性细胞表达情况

如图 2 所示,与对照组比较,模型组大鼠 L5 DRG 中 P2X3 受体表达增多($P < 0.01$);与模型组

比较,低频电针治疗组大鼠 L5 DRG 中 P2X3 受体表达减少($P < 0.01$)。

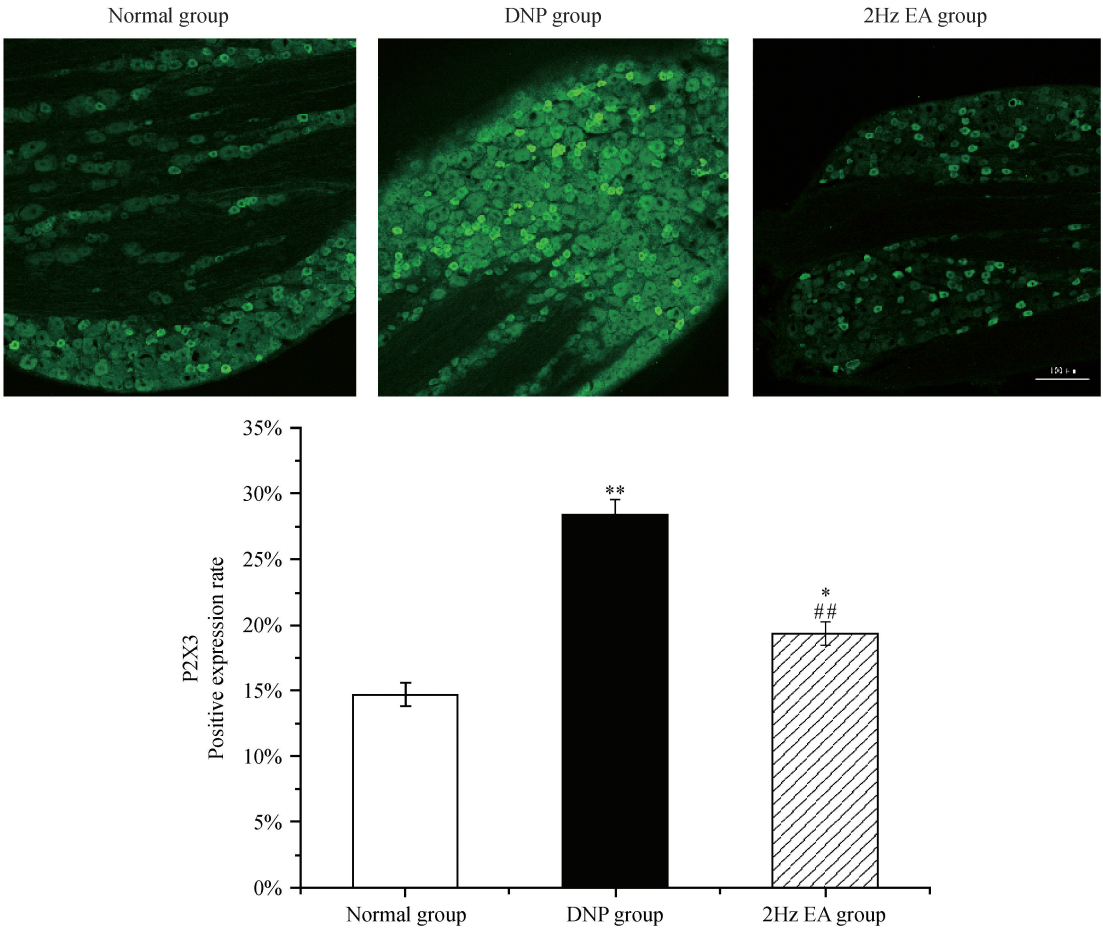
2.5 P2X3 受体激动剂 $\alpha\beta$ -meATP 对低频电针镇痛作用的影响

与电针组比较,P2X3 激动剂组大鼠双侧 PWT 降低($P < 0.01$)。见图 3。

3 讨论

糖尿病是严重危害人类健康的慢性疾病之一,目前全球糖尿病患者超过 7 亿,而 2 型糖尿病占了 90% [6]。2 型糖尿病后期常出现神经病变、眼部病变、肾脏病变以及心血管病变等,这些并发症比糖尿病本身更进一步危害着人类的健康。神经病理痛是 2 型糖尿病常见并发症,因其顽固、难治而越来越受到人们的关注。目前临床一线用药抗惊厥药、三环类抗抑郁药疗效不稳定且存在严重毒副作用,长期应用受到限制;传统的非甾体类、吗啡类镇痛药物常常难以凑效 [7]。针刺是控制慢性疼痛的主要手段之一 [8],在治疗 DNP 方面有良好的应用前景,电针作为针刺的主要手段已开始用于治疗 DNP [9, 10],但由于临床系统观察较少、作用机理不明确,目前 DNP 治疗在针灸临床所占比例不高,有必要开展针灸治疗 DNP 的机制研究,促进针灸更好地治疗 DNP。本实验首次开展低频电针对 DNP 大鼠的 DRG P2X3 受体干预作用研究。

2 型糖尿病的发病机理主要为胰岛素抵抗与胰岛功能受损,而胰岛素抵抗则为其始动因素 [11]。本实验采用的高脂高糖饲养联合小剂量 STZ 注射造模法是目前最符合人类 2 型糖尿病临床特征的方法,具有方法简单、成本低廉、模型稳定等优点,适合糖尿病本身及其多种并发症的研究 [12, 13]。该方法通过高糖高脂饮食诱导大鼠胰岛素抵抗,联合注射低剂量 STZ 损伤胰岛功能,进而引起血糖升高,模拟了 2 型糖尿病的临床发病过程 [14-16]。已有研究表明 [17] 高脂高糖饲养联合小剂量 STZ 注射成功制备 2 型糖尿病后 2 周可诱发神经病理痛,从而制备 DNP 模型。而本实验中高脂高糖饲养大鼠 5 周后,造模组大鼠胰岛素敏感指数明显下降,说明诱发了胰岛素抵抗,再予以腹腔注射 STZ(35 mg/kg)后,空腹血糖明显上升,成功建立 2 型糖尿病模型。STZ 注射 2 周后,造模组大鼠出现机械痛阈明显下降,表明 2 型糖尿病诱发了神经病理痛,与以往建立的 DNP 模型相似 [17]。对 DNP 大鼠进行电针治疗,结



注:与对照组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:## $P < 0.01$ 。

图2 大鼠 L5 DRG P2X3 受体阳性细胞的表达

Note. ** $P < 0.01$, versus the normal group; ## $P < 0.01$, versus the DNP group.

Fig.2 P2X3 receptor positive expression cells in L5 DRG of the DNP rats

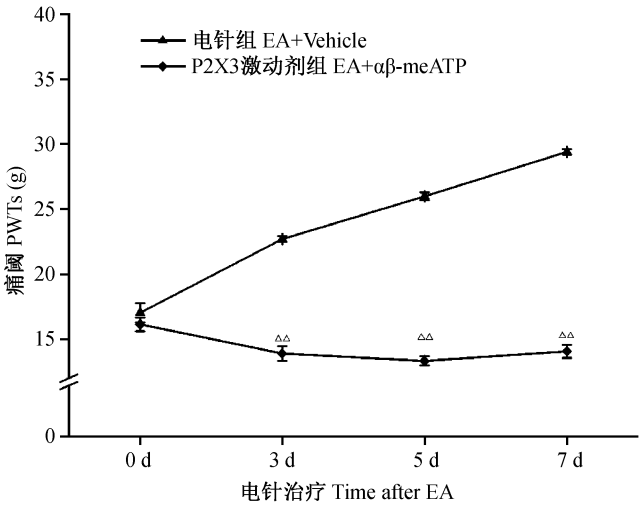
果显示低频电针治疗后,低频电针治疗组大鼠的机械痛阈值明显高于模型组($P < 0.01$),说明低频电针能够明显改善 DNP。

DNP 与周围感觉神经兴奋性增强有关,涉及多种离子通道、受体在背根神经节神经元上的表达、功能上调^[4,18-19]。嘌呤受体 P2X 家族是当前生物医学研究领域的热点,激活后可使 Ca^{2+} 、 Na^{+} 、 K^{+} 通过,其中 P2X3 受体高选择性地表达于感受伤害性信息的中小 DRG 神经元上^[20,21],参与多种神经病理痛过程^[5,22-25]。研究显示,在链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)诱导的大鼠 DNP 模型中,P2X3 受体介导的 DRG 神经元快反应电流增强,细胞膜 P2X3 受体表达上调^[4],而 P2X3 受体拮抗剂 PPADS、TNP-ATP 均能抑制 DNP 大鼠痛敏反应^[4,22];用 siRNA 干扰 P2X3 受体基因表达也能减轻 P2X3 受体激动剂 $\alpha\beta\text{-meATP}$ 引起的大鼠痛敏反

应^[26]。在本实验中,我们也发现 DNP 模型大鼠 DRG P2X3 受体表达明显高于对照组。这些结果表明 DRG 神经元 P2X3 受体在 DNP 中起着重要作用。

Tu 等^[5]在 CCI 诱导的神经病理痛模型中发现电针能够提高模型大鼠的机械痛阈和热痛阈,并减少 DRG P2X3 受体的表达,减弱 P2X3 受体激动剂诱发的电流改变,表明电针能通过抑制 DRG P2X3 受体的功能和表达参与 CCI 神经病理痛的镇痛过程。但目前尚不清楚电针干预 DNP 是否存在同样的机制。在本研究中,我们发现 2 Hz 电针在降低 DNP 大鼠痛阈的同时,可进一步降低模型大鼠 DRG P2X3 受体的表达水平,且 2 Hz 电针对 DNP 大鼠的镇痛作用能被 P2X3 受体激动剂 $\alpha\beta\text{-meATP}$ 拮抗,以上结果表明低频电针对 DNP 的干预作用与其抑制 DRG 神经元 P2X3 受体的表达有关。

本研究通过观察低频电针对 DNP 大鼠的干预



注：与电针组比较； $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

图 3 P2X3 受体激动剂对电针干预 DNP 大鼠 PWT 的影响

Note. $\Delta\Delta P < 0.01$, versus the EA + vehicle group.

Fig.3 Effect of P2X3 agonist on the analgesic effect of electroacupuncture on bilateral paw withdrawal thresholds of the DNP rats

作用和对 DRG P2X3 受体的调控效应,并进行 P2X3 受体激动剂的验证实验,发现低频电针对 DNP 具有良好的治疗作用,与其下调 DRG P2X3 受体密切相关。本研究阐释了电针治疗 DNP 的部分机制,同时也为电针治疗 DNP 提供了科学依据。

参 考 文 献

[1] World Health Organization. Fact sheet No. 312. Available from <http://www.who.int>. Accessed 13 January 2013.

[2] Candrilli SD, Davis KL, Kan HJ, et al. Prevalence and the associated burden of illness of symptoms of diabetic peripheral neuropathy and diabetic retinopathy [J]. J Diab Complicat, 2007, 21 (5) : 306 – 314.

[3] 孙瑞卿, 王贺春, 王韵, 等. 不同频率的电针对大鼠神经源性痛的治疗作用 [J]. 中国应用生理学杂志, 2002, 18 (2) : 128 – 131.

[4] Xu GY, Li GW, Liu NG, et al. Mechanisms underlying purinergic P2X3 receptor mediated mechanical allodynia induced in diabetic rats [J]. Mol Pain, 2011, 7 : 60.

[5] Tu WZ, Cheng RD, Cheng B, et al. Analgesic effect of electroacupuncture on chronic neuropathic pain mediated by P2X3 receptors in rat dorsal root ganglion neurons [J]. Neurochem Int, 2012, 60 (4) : 379 – 386.

[6] 陈嘉, 张永斌, 桑传兰, 等. SD 大鼠 2 型糖尿病模型的建立及相关指标的测定 [J]. 动物医学进展, 2012, 33 (6) : 91 – 95.

[7] Li J. Pharmacotherapy of diabetic peripheral neuropathy [J]. Clin Med J, 2012, 10 (4) : 49 – 51.

[8] Berman BM, Langevin HM, Witt CM, et al. Acupuncture for chronic low back pain [J]. N Engl J Med, 2010, 363 (5) : 454 – 461.

[9] 严洁, 朱兵. 针灸治疗糖尿病周围神经病变的研究 [M]. 针灸基础与临床, 2010, 湖南科学技术出版社, p422.

[10] 金泽, 张边防, 尚丽霞, 等. 电针配合穴位注射治疗糖尿病周围神经病 [J]. 中国针灸, 2011, 31 (7) : 613 – 616.

[11] Spady DK, Dletschy SM. Dietary saturated triacylglycerols suppress hepatic low density lipoprotein receptor activity in the hamster [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1985, 82 : 4526 – 4530.

[12] 刘德慧, 邢翔飞. 2 型糖尿病大鼠模型的特点及评价 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16 (12) : 212 – 214.

[13] Rodrigues Filho OA, Fazan VP. Streptozotocin induced diabetes as a model of phrenic nerve neuropathy in rats [J]. J Neurosci Methods, 2006, 151 : 131.

[14] Negis Y, Aytan N, Ozer N, et al. The effect of tocopheryl phosphates on atherosclerosis progression in rabbits fed with a high cholesterol diet [J]. Arch Physiol Biochem, 2006, 450 (1) : 63 – 66.

[15] 杨架林, 李果, 刘优萍, 等. 长期高脂饮食加小剂量链脲佐菌素建立人类普通 2 型糖尿病大鼠模型的研究 [J]. 中国实验动物学报, 2003, 11 (3) : 138 – 141.

[16] 郭啸华, 刘志红, 李恒, 等. 高糖高脂饮食诱导的 2 型糖尿病大鼠模型及其肾病特点 [J]. 中国糖尿病杂志, 2002, 10 (5) : 290 – 294.

[17] Dang JK, Wu Y, Cao H, et al. Establishment of a rat model of type II diabetic neuropathic pain [J]. Pain Med, 2014, 15 : 637 – 646.

[18] Chattopadhyay M, Mata M, Fink DJ. Continuous delta-opioid receptor activation reduces neuronal voltage-gated sodium channel (NaV1.7) levels through activation of protein kinase C in painful diabetic neuropathy [J]. J Neurosci, 2008, 28 (26) : 6652 – 6658.

[19] Hong S, Wiley JW. Early painful diabetic neuropathy is associated with differential changes in the expression and function of vanilloid receptor 1 [J]. J Biol Chem, 2005, 280 (1) : 618 – 627.

[20] Chen CC, Akopian AN, Sivilotti L, et al. A P2X purinoceptor expressed by a subset of sensory neurons [J]. Nature, 1995, 377 (6548) : 428 – 431.

[21] Shi L, Zhang HH, Hu J, et al. Purinergic P2X receptors and diabetic neuropathic pain [J]. Acta Physiol Sin, 2012, 64 (5) : 531 – 542.

[22] Migita K, Moriyama T, Koguchi M, et al. Modulation of P2X receptors in dorsal root ganglion neurons of streptozotocin-induced diabetic neuropathy [J]. Neurosci Lett, 2009, 452 (2) : 200 – 203.

[23] Chen Y, Li GW, Wang C, et al. Mechanisms underlying enhanced P2X receptor-mediated responses in the neuropathic pain state [J]. Pain, 2005, 119 (1 – 3) : 38 – 48.

[24] Burnstock G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission [J]. Physiol Rev, 2007, 87 (2) : 659 – 797.

[25] Wang W, Gu J, Li YQ, et al. Are voltage-gated sodium channels on the dorsal root ganglion involved in the development of neuropathic pain? [J]. Mol Pain, 2011, 7 : 16.

[26] Dorn G, Patel S, Wotherspoon G, et al. siRNA relieves chronic neuropathic pain [J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32 (5) : 49.