

邵昭霞,费雪瑜,瞿思颖,等. 电针对糖尿病神经痛大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白的干预作用[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(1): 43-48.

Tai ZX, Fei XY, Qu SY, et al. Intervention effect of electroacupuncture on NF-κB p65 at spinal cord dorsal horn in diabetic neuropathic pain rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(1): 43-48.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.01.007

电针对糖尿病神经痛大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白的干预作用

邵昭霞^{1,2,3}, 费雪瑜^{1,2,3}, 瞿思颖¹, 王涵芝¹, 陈卢杭^{1,2,3}, 蒋永亮^{1,2,3},
方剑乔^{1,2,3*}, 何晓芬^{1,2,3*}

(1. 浙江中医药大学第三临床医学院康复医学院, 杭州 310053; 2. 浙江省针灸神经病学研究重点实验室, 杭州 310053; 3. 浙江中医药大学针灸研究所, 杭州 310053)

【摘要】 目的 观察电针对糖尿病神经痛 (diabetic neuropathic pain, DNP) 大鼠脊髓背角核转录因子 κB (nuclear factor kappa B, NF-κB) p65 蛋白的干预作用, 以探讨电针对糖尿病神经痛的部分镇痛机制。**方法** 将 30 只 SD 大鼠用完全随机分组法分为正常组 (normal group) 和造模型, 分别用常规饲料和高脂高糖饲料喂养 5 周, 喂养 5 周后造模组大鼠予以单次腹腔注射链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ)。将造模组中糖尿病神经痛模型成功的大鼠再进一步随机分为模型组 (DNP group) 和模型+电针组 (DNP+EA group)。穴位选取双侧“足三里、昆仑穴”, 频率为 2 Hz, 强度为 1 mA 干预 15 min 后 2 mA 干预 15 min, 于第 7 周开始, 每天 1 次, 干预 7 次。观察各组大鼠的血糖、机械痛阈及热痛阈变化。采用苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察大鼠坐骨神经形态的变化, 采用免疫印记法检测大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白的表达水平。**结果** 高脂高糖喂养 5 周后予以 STZ 单次腹腔注射 2 周后大鼠血糖上升, 机械痛阈、热痛阈下降, 表明大鼠 DNP 模型造模成功; 电针可上调 DNP 大鼠的机械痛阈和热痛阈, 但对血糖没有明显的干预作用。HE 染色结果显示 DNP 大鼠坐骨神经有髓神经纤维排列紊乱, 轴索肿胀, 髓鞘密度不均匀, 空泡变性, 电针干预对 DNP 大鼠坐骨神经形态无明显的作用。免疫印迹结果显示: DNP 大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白表达明显增多, 电针可下调 DNP 大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白表达。**结论** 低频电针对 DNP 模型大鼠有良好的镇痛效果, 其作用可能与其抑制糖尿病 DNP 大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白表达有关。

【关键词】 糖尿病神经痛; 电针; 脊髓背角; 核转录因子 κB p65

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020) 01-0043-06

Intervention effect of electroacupuncture on NF-κB p65 at spinal cord dorsal horn in diabetic neuropathic pain rats

TAI Zhaoxia^{1,2,3}, FEI Xueyu^{1,2,3}, QU Siying¹, WANG Hanzhi¹, CHEN Luhang^{1,2,3},
JIANG Yongliang^{1,2,3}, FANG Jianqiao^{1,2,3*}, HE Xiaofen^{1,2,3*}

(1. Third Clinical Medical College and Rehabilitation Medical College of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China. 2. Key Laboratory of Acupuncture and Neurology of Zhejiang Province, Hangzhou 310053. 3. Institute of Acupuncture and Moxibustion, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053)

Corresponding author: FANG Jianqiao. E-mail: fangjianqiao7532@163.com; HE Xiaofen. E-mail: zjhxfl986@163.com

【基金项目】 国家自然科学基金 (81774389, 81804181), 浙江省自然科学基金 (LQ17H270003)。
Funded by National Natural Science Foundation of China (81774389, 81804181), and Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (LQ17H270003).

【作者简介】 邵昭霞, 女, 在读硕士研究生, 主要从事针刺镇痛研究。Email: txx201803@163.com

【通信作者】 何晓芬, 女, 硕士, 实验师, 主要从事针刺镇痛研究。Email: zjhxfl986@163.com;
方剑乔, 男, 教授, 博士生导师。主要从事针刺镇痛及免疫相关性疾病的研究。Email: fangjianqiao7532@163.com。
* 共同通信作者

【Abstract】 Objective To investigate the effects of electroacupuncture on NF- κ B p65 expression in the spinal cord dorsal horn of rats with diabetic neuropathic pain. **Methods** Thirty SD rats were randomly divided into the normal and model groups. The rats in the model group were fed a high-fat and high-sugar diet for 5 weeks, then intraperitoneally injected with streptozotocin (STZ). The model diabetic neuropathic pain rats were further randomly divided into the diabetic neuropathic pain (DNP) model group and the diabetic neuropathic pain model + EA (DNP + EA) group. Two hertz of electroacupuncture was administered at the Zusanli and Kunlun ipsilateral acupoints for 7 consecutive days. Changes occurred in the fasting blood glucose, paw withdrawal threshold and paw withdrawal latency. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the morphological changes in the sciatic nerve in the rats, and western blotting was used to detect the NF- κ B p65 protein expression in the spinal cord dorsal horn in rats. **Results** After 5 weeks on the high-fat and high-sugar diet followed by a single intraperitoneal injection of STZ, the fasting blood glucose increased, and the paw withdrawal threshold and latency decreased, indicating that the DNP model was successfully established. Electroacupuncture increased the paw withdrawal threshold and latency in the DNP rats but did not significantly affect the fasting blood glucose. HE staining result showed disordered arrangement of the myelinated nerve fibers, axonal swelling, uneven density of the myelin sheath and vacuolar degeneration of the sciatic nerve in the DNP rats. Electroacupuncture intervention did not significantly affect the sciatic nerve morphology in the DNP rats. Western blotting showed significantly increased NF- κ B p65 protein expression in the spinal cord dorsal horn of the DNP rats, and electroacupuncture downregulated the NF- κ B p65 protein expression in the spinal cord dorsal horn of the DNP rats. **Conclusions** Low frequency electroacupuncture has a good analgesic effect on the DNP model rats, possibly related to its inhibiting NF- κ B p65 expression in the spinal cord dorsal horn.

【Keywords】 diabetic neuropathic pain; electroacupuncture; spinal cord dorsal horn; NF- κ B

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

糖尿病神经痛 (diabetic neuropathic pain, DNP) 是糖尿病最常见的并发症之一,其发病机制尚不明确,有研究表明其与代谢、细胞信号通路以及相关神经递质的改变等因素有关,严重影响患者生活质量,且缺乏有效的治疗手段^[1]。寻找有效治疗糖尿病神经痛的方法,是糖尿病并发症防止领域亟待解决的问题。核转录因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 是一种蛋白质复合物,其在炎症反应、氧化应激以及各种疾病的发生发展过程中都发挥着重要作用^[2]。NF- κ B p65 是 NF- κ B 家族最重要的成员,也是最常见的活化形式;有研究表明,NF- κ B p65 在大鼠 DNP 的发生过程起着重要作用^[3]。目前电针被广泛用于治疗各种慢性疼痛,它能有效控制糖尿病神经痛^[4-5],且有研究表明在大脑中动脉闭塞模型中,电针能下调梗死灶周围组织中 NF- κ B p65 的表达^[6]。但电针干预 DNP 是否通过下调脊髓 NF- κ B p65 来起到干预糖尿病神经痛的作用尚有待明确。因此,本实验选取高脂高糖饲养联合链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 腹腔注射诱导的糖尿病神经痛模型,探讨电针对糖尿病神经痛的镇痛作用是否与有效干预 DNP 大鼠脊髓背角 NF- κ B p65 蛋白表达有关。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选用 6 周龄健康雄性 SPF 级 SD 大鼠 30 只,体重 (180 ± 20) g,购自中国科学院上海实验动物中心【SCXK(沪)2013-0016】,由浙江中医药大学动物实验研究中心饲养【SYXK(浙)2013-0184】。自由饮水,昼夜明暗周期 12 h/12 h。所有实验操作均符合实验动物伦理学要求(伦理审批号为: IACUC-20180319-13)。

1.1.2 试剂与仪器

链脲佐菌素 (Sigma, S0130), 兔抗 NF- κ B p65 抗体 (CST, 8242), 山羊抗兔二抗 (CST, 7074), RIPA 裂解液 (碧云天, P0013B), BCA 蛋白定量试剂盒 (Thermo, 23227), SDS 上样缓冲液 (碧云天, P0015B), ECL 发光显色液 (碧云天, P0018), 足底热辐射测痛仪 (意大利 UGO BASILE, 37360), 动态足底测痛仪 (意大利 UGO BASILE, 37450), 罗氏卓越型血糖仪 (Roche ACCU-CHEK Performa)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与造模

将 30 只大鼠,随机分为正常组 (normal group, n

=8)和造模组($n=22$)。正常组用啮齿类动物标准颗粒饲料饲养,造模组用高脂高糖饲料喂养(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;购自浙江省医学科学院实验动物中心),喂养5周后禁食16 h,造模组以小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ, 35 mg/kg)腹腔注射1次,正常组仅腹腔注射相同剂量的柠檬酸缓冲液。于STZ注射后2周即第7周分别测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、热痛阈(paw withdrawal latency, PWL)、机械痛阈(paw withdrawal threshold, PWT), $FBG \geq 11.1$ mmol/L 并且痛阈下降 $\geq 15\%$ ^[7]的造模组大鼠入选糖尿病神经痛模型。其余未达到此标准者则予以剔除。将造模成功的糖尿病神经痛模型大鼠再随机分为糖尿病神经痛组(DNP group, $n=9$)和糖尿病神经痛+电针组(DNP+EA group, $n=9$)。

1.2.2 空腹血糖测定

分别于0周(base)、5周(5 weeks)、7周(7 weeks)、8周(8 weeks)这4个时间点检测大鼠的FBG。大鼠禁食8 h后尾静脉取血用罗氏卓越型血糖仪及其配套试纸测定各组大鼠的FBG。

1.2.3 机械痛阈测定

参照寿升芸等^[7]测定大鼠机械痛阈方法,采用动态足底触觉仪检测各组大鼠0周(base)、5周(5 weeks)、7周(7 weeks)、8周(8 weeks)这4个时间点的PWT,每只大鼠连续测量5次,每次测量间隔5 min,去除最大值和最小值,最终取3次的平均值作为大鼠机械痛阈。

1.2.4 热痛阈测定

参照项璇儿等^[8]测定大鼠PWL的方法,采用足底热辐射测痛仪检测各组大鼠0周(base)、5周(5 weeks)、7周(7 weeks)、8周(8 weeks)这4个时间点的PWT。连续测量5次,每次间隔5 min,去除最大值和最小值,取3次平均值作为大鼠热痛阈。

1.2.5 电针干预

电针干预方法:大鼠固定后,参照华兴邦大鼠穴位图谱,选取双侧足三里(膝关节后外侧,在腓骨小头下5 mm)、昆仑穴(后肢外踝与跟腱之间的凹陷中),采用0.25 mm $\times$ 1 mm针灸针,进针后用LH-202H韩氏穴位暨神经刺激仪连接两穴位,电针频率为2 Hz、强度为1 mA 干预15 min后2 mA 干预15 min,共30 min。电针干预于第7周开始,每天1

次,共7次。Normal组大鼠和DNP组大鼠仅给予和DNP+EA组相同的固定。

1.2.6 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察坐骨神经的变化

大鼠用戊巴比妥腹腔注射麻醉,开胸暴露心脏,先经生理盐水(4℃预冷)快速灌注,再4%多聚甲醛灌注后取出大鼠坐骨神经中段(距近心端3 mm,远心端2 mm)置于2.5%的戊二醛溶液中固定。再经脱水、透明、石蜡包埋、切片、染色、脱水及封固等步骤后观察。

1.2.7 免疫印迹法检测大鼠脊髓背角NF- κ B p65蛋白的表达

大鼠用戊巴比妥腹腔注射麻醉,经生理盐水(4℃预冷)快速灌注后,参照杜俊英等^[9]提取脊髓的方法,剪断脊柱两旁的肋骨,剪取第四腰椎节段以上约5 cm左右的脊柱,用50 mL注射器冲出脊髓。留取腰膨大部分,从正中分开成左右两侧,用刀片切取脊髓背角。用RIPA裂解液提取脊髓背角总蛋白,BCA法测定蛋白浓度,加入SDS上样缓冲液后在100℃条件下变性3 min。通过SDS-PAGE电泳转印至PVDF膜上。5%脱脂奶粉中封闭1 h后于兔抗NF- κ B p65一抗(1:1000)稀释液中孵育过夜,洗涤后与山羊抗兔二抗(1:5000)摇床孵育2 h。与ECL发光显色液反应显影,利用LAS4010凝胶成像仪采集图像,图片用Image J分析。

1.3 统计学分析

实验数据以均数 $\pm$ 标准误($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用One-way ANOVA方差分析;组间两两比较采用LSD检验; $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

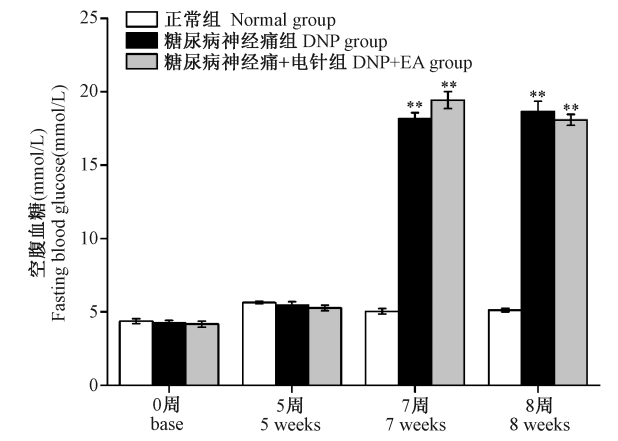
2.1 各组大鼠血糖变化情况

如图1所示,各组大鼠基础(base)血糖及高脂高糖喂养5周(5 weeks)血糖均无明显差异;高脂高糖喂养5周后予以STZ单次腹腔注射2周后即第7周(7 weeks),DNP组及DNP+EA组大鼠血糖明显上升($P < 0.01$; $P < 0.01$);电针干预1周(8 weeks)对DNP大鼠血糖无明显作用。

2.2 各组大鼠机械痛阈变化情况

如图2所示,各组大鼠基础(base)机械痛阈及高脂高糖喂养5周(5 weeks)机械痛阈均无明显差异;高脂高糖喂养5周后予以STZ单次腹腔注射2周后

即第 7 周(7 weeks), DNP 组及 DNP+ EA 组大鼠机械痛阈明显下降($P<0.01$; $P<0.01$); 电针干预 1 周(8 weeks)能上调 DNP 大鼠的机械痛阈($P<0.01$)。

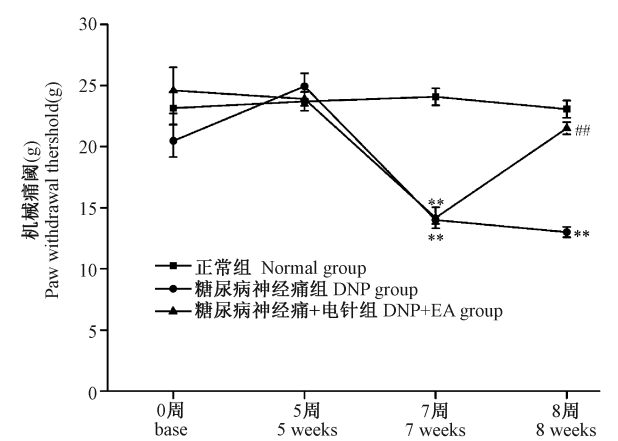


注:与正常组相比, $**P<0.01$ 。

图 1 各组大鼠空腹血糖变化情况

Note. $**P<0.01$, vs the Normal group.

Figure 1 Changes of fasting blood glucose in rats of each group



注:与正常组相比, $**P<0.01$, 与糖尿病神经痛组相比, $###P<0.01$ 。

图 2 各组大鼠机械痛阈变化情况

Note. $**P<0.01$, vs the Normal group. $###P<0.01$, vs the DNP group.

Figure 2 Changes of paw withdrawal threshold in rats of each group

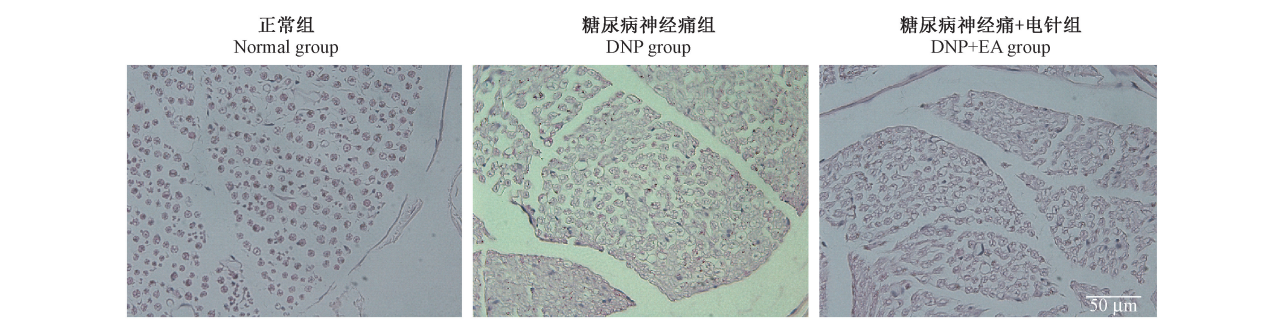
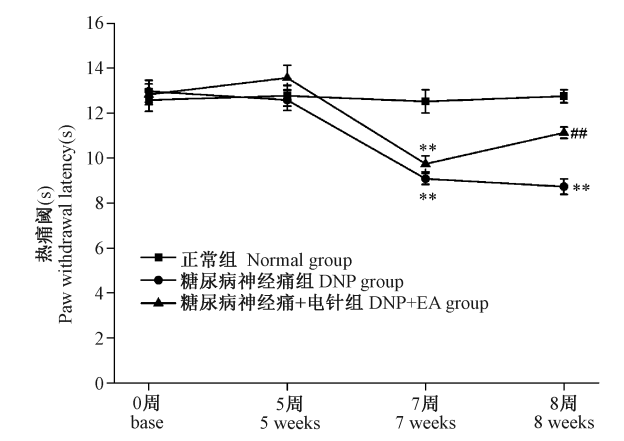


图 4 各组大鼠坐骨神经变化($\times 40$)

Figure 4 Changes of sciatic nerve in rats of each group ($\times 40$)

2.3 各组大鼠热痛阈变化情况

如图 3 所示, 各组大鼠基础 (base) 热痛阈及高脂高糖喂养 5 周(5 weeks) 热痛阈均无明显差异; 高脂高糖喂养 5 周后予以 STZ 单次腹腔注射 2 周后即第 7 周(7 weeks), DNP 组及 DNP+ EA 组大鼠热痛阈明显下降($P<0.01$; $P<0.01$); 电针干预 1 周(8 weeks)能上调 DNP 大鼠的热痛阈($P<0.01$)。



注:与正常组相比, $**P<0.01$, 与糖尿病神经痛组相比, $###P<0.01$ 。

图 3 各组大鼠热痛阈变化情况

Note. $**P<0.01$, vs the Normal group. $###P<0.01$, vs the DNP group.

Figure 3 Changes of paw withdrawal latency in rats of each group

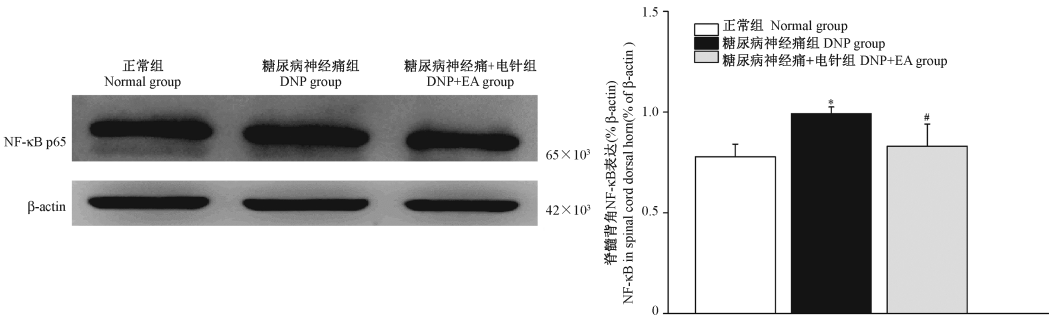
2.4 各组大鼠坐骨神经变化情况

HE 染色观察各组大鼠坐骨神经的变化情况。如图 4 所示, 正常组: 坐骨神经有髓神经纤维排列紧密, 轴索排列整齐, 髓鞘结构完整; DNP 组: 坐骨神经有髓神经纤维排列紊乱, 轴索肿胀, 髓鞘密度不均匀, 空泡变性。DNP+EA 组: 坐骨神经有髓神经纤维排列紊乱, 轴索肿胀。

2.5 各组大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白表达的变化

采用免疫印迹法检测大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白的表达。如图 5 所示,与正常组相比,DNP 大

鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白表达增多($P < 0.05$),电针干预能下调 DNP 大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白的表达($P < 0.05$)。



注:与正常组相比,* $P < 0.05$,与糖尿病神经痛组相比,# $P < 0.05$ 。
Figure 5 各组大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白变化
Note.* $P < 0.05$, vs. the Normal group.# $P < 0.05$, vs. the DNP group.

Figure 5 Changes of NF-κB p65 in the spinal cord dorsal horn of rats in each group

3 讨论

糖尿病神经痛是糖尿病常见的并发症^[10],既有痛觉过敏、痛觉超敏、自发痛等神经病理性疼痛的一般表现^[11],也会引起不同程度的抑郁、焦虑、失眠等,严重影响患者的生存质量^[12]。链脲佐菌素能针对性的损伤胰岛 β 细胞从而使胰腺减少胰岛素分泌,因此被广泛应用于诱导糖尿病模型^[13]。本研究采用高脂高糖饲料喂养 5 周联合单次腹腔注射 STZ 建立糖尿病神经痛大鼠模型,大鼠出现血糖明显上升,机械痛阈和热痛阈下降,坐骨神经有髓神经纤维排列紊乱,轴索肿胀,髓鞘密度不均匀,空泡变性。大量研究表明,电针对不同类型的疼痛都具有良好的镇痛效果^[8,14-15],但不同频率的电针对不同性质的疼痛的镇痛效应不同。100 Hz 的高频电针对于完全弗氏佐剂所致的炎性痛镇痛效应最好^[8]、2/100 Hz 对于骨癌痛大鼠的镇痛效应最佳^[14]、而 2 Hz 低频电针对于脊神经结扎神经病理痛大鼠镇痛效应最佳^[15]。我们前期研究发现,电针干预糖尿病神经痛存在 2 Hz 低频电针优于 100 Hz 高频电针的优势^[16],故本研究采用 2 Hz 低频电针对糖尿病神经痛大鼠进行干预,结果显示低频电针可明显提高 DNP 大鼠的机械痛阈和热痛阈,表明低频电针能有效缓解糖尿病神经痛。

NF-κB 家族主要有 p50/p105 (NF-κB1)、p50/p100 (NF-κB2)、c-Rel、p65 (RelA)、RelB 五种蛋白组成,其中 p65 是 NF-κB 家族中最主要的功能蛋

白。NF-κB 在药物引起的神经痛模型大鼠脊髓背角表达上升,说明 NF-κB 参与了神经病理痛^[17]。在本研究中免疫印记结果显示,DNP 模型大鼠脊髓背角 NF-κB p65 蛋白较正常组大鼠增多。在高血糖的状态下,NF-κB 活性持续升高,引起神经炎症反应,激活小胶质细胞和神经胶质细胞,这进一步增加了炎性介质的释放,释放的神经介质促进了神经纤维对疼痛刺激敏感的敏感程度^[18]。免疫印记结果显示电针能降低糖尿病神经痛大鼠脊髓背角中升高的 NF-κB p65 蛋白,表明低频电针对 DNP 的干预作用可能与其对有效抑制脊髓背角 NF-κB p65 蛋白表达有关。综上,低频电针能有效改善糖尿病神经痛,与其抑制脊髓背角 NF-κB p65 蛋白的表达有关,表明了低频电针在糖尿病神经痛临床中有较好的应用前景,为电针治疗糖尿病神经痛提供了部分理论依据。

参 考 文 献(References)

[1] Gonçalves NP, Vægter CB, Andersen H, et al. Schwann cell interactions with axons and microvessels in diabetic neuropathy [J]. Nat Rev Neurol, 2017, 13(3): 135-147.
[2] Xia Y, Shen S, Verma IM. NF-κb, an active player in human cancers [J]. Cancer Immunol Res, 2014, 2(9): 823-830.
[3] Liu P, Yuan HB, Zhao S, et al. Activation of gabab receptor suppresses diabetic neuropathic pain through toll-like receptor 4 signaling pathway in the spinal dorsal horn [J]. Mediators Inflamm, 2018, 2018: 6016272.
[4] Zhou YF, Ying XM, He XF, et al. Suppressing pkc-dependent

- membrane P2X3 receptor upregulation in dorsal root ganglia mediated electroacupuncture analgesia in rat painful diabetic neuropathy [J]. *Purinergic Signal*, 2018, 14(4): 359-369.
- [5] Garrow AP, Xing M, Vere J, et al. Role of acupuncture in the management of diabetic painful neuropathy (DPN): A pilot rct [J]. *Acupunct Med*, 2014, 32(3): 242-249.
- [6] Liu W, Wang X, Zheng Y, et al. Electroacupuncture inhibits inflammatory injury by targeting the mir-9-mediated nf-kappab signaling pathway following ischemic stroke [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(2): 1618-1626.
- [7] 寿升芸, 魏骏骏, 何晓芬, 等. 低频电针对 2 型糖尿病神经痛大鼠 DRG P2X3 受体的抑制作用 [J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(1): 54-59.
- Shou SY, Wei JJ, He XF, et al. Inhibitory effect of low frequency electroacupuncture on the P2X3 receptor in dorsal root ganglion of rats suffering from type II diabetic neuropathic pain [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2017, 25(1): 54-59.
- [8] 项璇儿, 杜俊英, 方剑乔, 等. 电针对 CFA 致炎性痛大鼠热痛和机械痛优效频率观察及机制初探 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2016, 40(12): 891-897, 922.
- Xiang XE, Du JY, Fang JQ, et al. Frequency-dependent, analgesia effect of electroacupuncture on hyperalgesia and allodynia in a rat of inflammatory pain [J]. *J Zhejiang Chin Med Univ*, 2016, 40(12): 891-897, 922.
- [9] 杜俊英, 方剑乔, 梁宜, 等. 大鼠脊髓提取改良法 [J]. *中华病理学杂志*, 2011, 40(2): 115-116.
- Du JY, Fang JQ, Liang Y, et al. Improved spinal cord extraction in rats [J]. *Chin J Pathol*, 2011, 40(2): 115-116.
- [10] 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 Diabetes Complications*, 2007, 21(5): 306-314.
- [11] Tavakoli M, Malik RA. Management of painful diabetic neuropathy [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2008, 9(17): 2969-2978.
- [12] Gore M, Brandenburg NA, Dukes E, et al. Pain severity in diabetic peripheral neuropathy is associated with patient functioning, symptom levels of anxiety and depression, and sleep [J]. *J Pain Symptom Manage*, 2005, 30(4): 374-385.
- [13] Goyal SN, Reddy NM, Patil KR, et al. Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes-a clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 244: 49-63.
- [14] 施任怡, 付桃芳, 蔡杨乾, 等. 电针抗骨癌痛大鼠吗啡耐受效应及其对蓝斑核 μ 阿片受体内存的调控 [J]. *针刺研究*, 2019, 44(3): 161-169.
- Shi RY, Fu TF, Cai YQ, et al. Electroacupuncture intervention relieves pain possibly by promoting MOR endocytosis in locus coeruleus in bone cancer pain rats with morphine tolerance [J]. *Acupunct Res*, 2019, 44(3): 161-169.
- [15] 周杰, 陈贞羽, 龚杰, 等. 不同参数组合电针对 SNL 大鼠镇痛效应观察及对下丘脑内啡肽的影响 [J]. *中国医药导报*, 2017, 14(23): 18-21.
- Zhou J, Chen ZY, Gong J, et al. Analgesic effect of electroacupuncture with different parameters combination on SNL and endorphin expression of hypothalamus in rats [J]. *Chin Med Her*, 2017, 14(23): 18-21.
- [16] He XF, Wei JJ, Shou SY, et al. Effects of electroacupuncture at 2 and 100 HZ on rat type 2 diabetic neuropathic pain and hyperalgesia-related protein expression in the dorsal root ganglion [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2017, 18(3): 239-248.
- [17] Xu J, Wang W, Zhong XX, et al. Express: Methylcobalamin ameliorates neuropathic pain induced by vincristine in rats: Effect on loss of peripheral nerve fibers and imbalance of cytokines in the spinal dorsal horn [J]. *Mol Pain*, 2016, 12: pii: 1744806916657089.
- [18] Tan Y, Ichikawa T, Li J, et al. Diabetic downregulation of nrf2 activity via erk contributes to oxidative stress-induced insulin resistance in cardiac cells in vitro and in vivo [J]. *Diabetes*, 2011, 60(2): 625-633.

[收稿日期] 2019-07-30