

李倩,李玲玲,李爽,等. 脊髓 A1 型星形胶质细胞在外周炎性痛中的动态变化 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(5): 578-584.

Li Q, Li LL, Li S, et al. Changes in spinal A1 astrocyte polarization during peripheral inflammatory pain [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(5): 578-584.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.05.003

脊髓 A1 型星形胶质细胞在外周炎性痛中的动态变化

李倩,李玲玲,李爽,黄楚天,周君梅*

(上海市儿童医院,上海交通大学附属儿童医院中心实验室,上海 200040)

【摘要】 目的 研究外周炎性痛小鼠痛行为以及脊髓 A1 型星形胶质细胞的动态变化,为阐明炎性痛的病理机制提供实验基础及理论依据。**方法** 雄性 C57BL/6 小鼠 16 只,分为对照组 8 只和炎性痛组 8 只。小鼠右侧足底注射完全弗氏佐剂(CFA)建立外周炎性痛模型,对照组右侧足底注射相同体积生理盐水。在造模前以及造模后第 1、3、5、7 天检测小鼠机械刺激缩足阈值(MWT)和辐射热刺激缩爪潜伏期(PWL)的变化。以逆转录聚合酶链反应检测 A1、A2 型星形胶质细胞标志物在炎性痛不同时程脊髓内的动态表达变化。用免疫荧光法检测小鼠脊髓背角 GFAP 形态以明确星形胶质细胞激活,同时统计脊髓背角 A1 型星形胶质细胞标志物 C3 与 GFAP 共定位水平。**结果** 炎性痛小鼠造模后患侧 MWT、PWL 均明显下降,小鼠出现机械性痛觉超敏与热痛觉过敏;且在造模后第 3 天,脊髓背角 GFAP 表达开始升高,表达量为 1.84 ± 0.10 vs 1.08 ± 0.22 ($P < 0.05$);炎性痛第 7 天,A1 型星形胶质细胞标志物 Serpin1、H2-T23 的 mRNA 水平均显著升高 ($P < 0.05$),A2 型星形胶质细胞标志物 S100a10、Ptx3 的 mRNA 水平降低 ($P < 0.05$);炎性痛组小鼠脊髓背角星形胶质细胞内 C3 的表达增加 ($P < 0.05$)。**结论** 炎性痛小鼠脊髓反应性星形胶质细胞向 A1 型极化增加,提示 A1 型星形胶质细胞可能参与了炎性痛的发生发展。

【关键词】 炎性痛;A1 型星形胶质细胞;反应性星形胶质细胞;脊髓;小鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021)05-0578-07

Changes in spinal A1 astrocyte polarization during peripheral inflammatory pain

LI Qian, LI Lingling, LI Shuang, HUANG Chutian, ZHOU Junmei*

(Department of Central Laboratory, Shanghai Children's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200040, China)

Corresponding author: ZHOU Junmei. E-mail: zhoujm@shchildren.com.cn

【Abstract】 Objective Chronic inflammatory pain is a common disease that severely disrupts the quality of life of patients. The latest research shows that reactive astrocytes can be polarized to two different phenotypes, A1 and A2 astrocytes. Type A1 astrocytes can secrete pro-inflammatory cytokines and promote neuroinflammation, and type A2 astrocytes can secrete neurotrophic factors and promote tissue repair. This paper aimed to study pain behavior and changes to A1 astrocytes in the spinal cord of mice with peripheral inflammatory pain, to elucidate the pathological mechanisms of peripheral inflammatory pain. **Methods** A total of 16 male C57BL/6 mice were divided into the control group and inflammatory pain group (eight mice per group). The inflammatory pain model was established by injection of complete Freund's adjuvant (CFA) into the plantar surface of the right hind paw. The control group were injected with an equivalent volume of saline. The mechanical withdrawal threshold (MWT) and the radiant heat stimulating paw withdrawal latency

【基金项目】 国家自然科学基金(81500946)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China(81500946).

【作者简介】 李倩(1985—),女,副研究员,博士,研究方向:神经生物学。Email:liq2024@shchildren.com.cn

【通信作者】 周君梅(1972—),女,研究员,博士,研究方向:生物学。Email:zhoujm@shchildren.com.cn

(PWL) of mice were measured before and 1, 3, 5 and 7 days after the CFA injection. Reverse transcription polymerase chain reaction was used to detect the expression of A1 and A2 astrocyte markers. Immunohistochemistry was used to detect the expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in the spinal dorsal horn to identify the process of astrocyte activation. Finally, the co-localization of A1 astrocyte marker C3 and GFAP in the spinal dorsal horn was detected. **Results** The ipsilateral MWT and PWL had both significantly decreased after CFA injection, indicating that the mice developed mechanical hyperalgesia and thermal hyperalgesia. At the third day after CFA injection, the expression levels of spinal GFAP were significantly increased compared to the day 0 (D0) group (1.84 ± 0.10 vs. 1.08 ± 0.22 , respectively, $P < 0.05$). On the 7th day after CFA injection, the mRNA levels of A1 astrocyte markers *Serp1* and *Lcn2* were increased vs. the D0 group ($P < 0.05$), and mRNA levels of A2 astrocyte markers *S100a10* and *Ptx3* were decreased vs. the D0 group ($P < 0.05$). The co-expression of C3 and GFAP in the spinal dorsal horn was increased in the CFA vs. D0 group ($P < 0.05$).

Conclusions The reactive astrocytes in the spinal dorsal horn of mice with inflammatory pain were polarized to type A1, suggesting that A1 astrocytes may be involved in the development of inflammatory pain.

【Keywords】 inflammatory pain; A1 astrocyte; reactive astrocyte; spinal cord; mice

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

外周炎性痛是外周局部组织炎性病变或损伤时引起的疼痛不适^[1]。长期的炎性痛限制肢体活动、干扰患者情绪,严重影响患者生活质量。

炎性痛的神经机制复杂,外周伤害性信号沿感觉传入神经持续传入中枢,可使脊髓内产生以胶质细胞激活、促炎性细胞因子升高为特征的神经炎症反应,引起神经元敏化,疼痛信号级联放大,导致感觉超敏与痛觉过敏等异常^[2]。星形胶质细胞作为中枢神经系统内数量最多的一类细胞,对神经炎症的发生发展至关重要。当外周受到伤害性刺激时,脊髓星形胶质细胞可被激活,数量增生、形态肥大,称为反应性星形胶质细胞^[3]。最新研究表明反应性星形胶质细胞可向 A1 和 A2 两种不同的表型极化,A1 型星形胶质细胞可分泌促炎性细胞因子,诱导神经炎症以及神经元功能损害,具有神经毒性;A2 星形胶质细胞可分泌神经营养因子,促进神经元和组织修复,具有神经保护性^[4]。但在外周炎症导致的炎性痛过程中,脊髓 A1、A2 两种反应性星形胶质细胞的动态变化,尚不清楚。本研究旨在探讨脊髓 A1、A2 型星形胶质细胞在炎性痛小鼠脊髓中的动态变化,为进一步阐明外周炎性痛的机制提供可能线索。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

34 只 6 ~ 8 周龄成年雄性清洁级 C57BL/6 小鼠,体重 25 ~ 30 g,由上海灵畅生物科技有限公司提供【SCXK(沪)2018-0003】。实验动物由上海交通大学实验动物科学部饲养【SCXK(沪)2018-0021】,昼夜各半循环照明,湿度恒定,温度控制在 22 ~ 25℃。

所有操作均符合上海交通大学附属儿童医院实验动物管理及伦理委员会要求(审批号:LLSC2020074)。

1.1.2 主要试剂与仪器

CFA (F5881-10 mL, Sigma); GFAP 抗体 (MAB360, MERCK); C3 抗体 (ab200999, Abcam); FITC-donkey anti mouse 抗体 (715-095-150, Jackson); Cy3-donkey anti rabbit 抗体 (711-165-152, Jackson)。von Frey 弗莱毛 (Stoelting, 美国); IITC 热辐射痛觉测量仪 (Life Science Instruments, 美国); ND2000 自动分光光度计 (Thermo, 美国); 荧光实时定量 PCR 仪 (Roche, 瑞士) 激光共聚焦显微镜 (Leica, 德国)。

1.2 方法

1.2.1 模型建立

外周炎性痛小鼠模型制备:抓取小鼠右后爪,足底注射完全弗氏佐剂 20 μ L。对照组小鼠足底注射相同体积的生理盐水。

1.2.2 动物分组与给药方法

将 16 只小鼠随机分为足底炎性痛组 (CFA 组) 和对照组 (Saline 组),每组 8 只。

1.2.3 行为学实验

分别在造模前 1 d、造模后第 1、3、5、7 天测定小鼠的机械刺激缩足阈值 (mechanical withdraw threshold, MWT) 和辐射热刺激缩爪潜伏期 (paw withdrawal latency, PWL)。MWT 具体方法如下:将动物放在铺有铁丝网的塑料笼中,并在测试前连续 2 ~ 3 d 使其适应。在测试日,将小鼠置于笼中适应至少 30 min。然后,在测试过程中使用 von Frey 弗莱毛 (0.02、0.04、0.07、0.16、0.4、0.6、1.0 和 1.4 g) 垂直刺激后爪的足底正中。采用 Dixon 介绍的 Up-and-Down 法计算小鼠的 50% MWT^[5]。PWL 具

体方法如下:将小鼠分别放置在铺有玻璃板的透明塑料笼中,连续 2 ~ 3 d 的适应期。在测试前 1 d 禁水,测试当天适应至少 30 min 后,将辐射热隔玻璃板施加到后爪足底表面,直到小鼠将其爪子从玻璃板上抬起。缩爪潜伏期为从施加辐射热开始到小鼠缩爪的时间,截止时间设置为 20 s^[6]。

1.2.4 用免疫荧光法测定脊髓 GFAP、C3 表达

分别在造模前以及造模后第 7 天各取材 3 只小鼠,采用 1%戊巴比妥钠 50 mg/kg 腹腔注射麻醉后灌流固定取材,取脊髓腰膨大段组织,经 20% 及 30% 蔗糖梯度脱水沉底后,进行冰冻切片。脊髓切片采用漂片法进行免疫荧光染色,依次进行封闭、一抗孵育 4℃ 过夜(抗 GFAP 一抗 1:800,抗 C3 一抗 1:200)、漂洗、荧光二抗 37℃ 孵育 1 h(FITC 或 Cy3 标记的二抗 1:300)、封片,激光共聚焦显微镜观察采集结果。

1.2.5 用 RT-PCR 法检测星形胶质细胞标志物表达

分别在造模前以及造模后第 1、3、7 天,每个时间点取材 3 只小鼠,采用 1%戊巴比妥钠 50 mg/kg 腹腔注射麻醉后新鲜取材脊髓腰膨大段组织,采用 RNA 提取试剂盒提取脊髓组织的总 RNA。用分光光度计检测 RNA 浓度,取 RNA 1 μg 采用逆转录实验将 RNA 逆转录成 cDNA。

PCR 引物: GFAP 上游引物 5'-CACCTACAGGAAATTGCTGGAGG-3',下游引物 5'-CCACGATGTTCTCTTGAGGTG-3'; Lcn2 上游引物 5'-ATGTCACCTCCATCCTGGTCAG-3',下游引物 5'-GCCACTTGACATTTGTAGCTCTG-3'; Serping1 上游引物 5'-TTGCCTGTGTCCACCAAGCACT-3',下游引物 5'-GCTGCTTCATACAGGCTCTGA-3'; H2-T23 上游引物 5'-GTGGCTCCATAGATACCTACGG-3',下游引物 5'-GGTGATGTCAGCAGGGTAGAAG-3'; S100a10 上游引物 5'-GACAAAGGAGGACCTGAGAGTG-3',下游引物 5'-CTCTGGAAGCCCACTTTGCCAT-3'; Ptx3 上游引物 5'-CGAAATAGACAATGGACTTCATCC-3',下游引物 5'-CATCTGCGAGTTCTCCAGCATG-3'。按照说明书,PCR 反应体系中加入上下游引物,逆转录产物 cDNA,以 SYBR Green 作为荧光标记物,进行实时定量 PCR 反应。结果以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示靶基因的表达水平。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 12.0 统计软件进行分析,计量资料以平均值 ± 标准误 ($\bar{x} \pm s\bar{x}$) 表示,行为学数据分析采用双因素方差分析,分子实验数据采用 *t* 检验或

单因素方差分析,组间多重比较采用 Bonferroni 检验, $P < 0.05$ 为差异显著,具有统计学意义。

2 结果

2.1 CFA 炎性痛小鼠行为学变化

使用雄性 C57BL/6 小鼠成功建立了 CFA 炎性痛小鼠模型。造模前 CFA 组与对照组小鼠 MWT 分别为 (0.78 ± 0.06) , (0.76 ± 0.04) ,二者无统计学差异 ($P > 0.05$)。造模后第 7 天,CFA 组与对照组小鼠 MWT 分别为 (0.24 ± 0.06) , (0.74 ± 0.07) 。与对照组相比,CFA 组 MWT 在造模后第 1、3、5、7 天均具有显著性差异 ($P < 0.05$)。而对照组造模前以及造模后各时间点均无显著性差异 ($P > 0.05$) (见图 1A)。

造模前 CFA 组与对照组 PWL 分别为 (10.16 ± 0.58) , (10.33 ± 1.01) ,二者无统计学差异 ($P > 0.05$)。造模后第 1 天 CFA 组小鼠造模侧 PWL 显著下降,造模后第 7 天,CFA 组与对照组 PWL 分别为 (3.59 ± 0.58) , (10.36 ± 0.81) 。与对照组相比,CFA 组 PWL 在造模后第 1、3、5、7 天均具有显著性差异 ($P < 0.05$)。而对照组各时间点均无显著性差异 ($P > 0.05$) (见图 1B)。

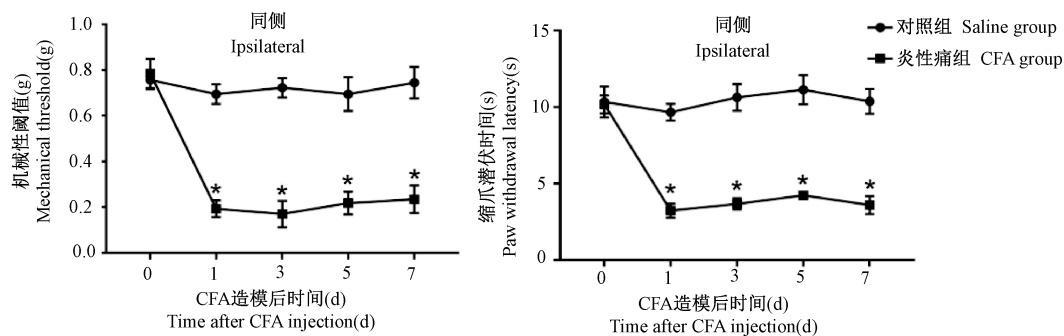
2.2 CFA 炎性痛小鼠脊髓星形胶质细胞激活过程

RT-PCR 实验发现,与造模前相比,CFA 炎性痛造模后第 3 天脊髓内反应性星形胶质细胞标志物 GFAP、Lcn2 的 mRNA 相对表达水平分别为 (1.84 ± 0.10) , (4.64 ± 0.61) ,较造模前升高 ($P < 0.05$)。造模后第 7 天,GFAP、Lcn2 的 mRNA 相对表达水平分别为 (2.05 ± 0.20) , (5.43 ± 0.34) ,与造模前相比具有显著性差异 ($P < 0.05$) (见图 2)。表明 CFA 炎性痛小鼠脊髓星形胶质细胞激活。

免疫荧光实验发现,与造模前相比,CFA 组造模后第 7 天脊髓背角 GFAP 信号水平显著升高,可以看到星形胶质细胞数量增多、形态肥大 (见图 3)。

2.3 CFA 炎性痛小鼠脊髓 A1、A2 型星形胶质细胞标志物表达变化

RT-PCR 实验发现,CFA 组造模后第 7 天脊髓内 A1 型星形胶质细胞标志物 Serping1、H2-T23 的 mRNA 相对表达水平分别为 (2.54 ± 0.12) , (2.31 ± 0.12) ,与造模前 D_0 相比有显著升高 ($P < 0.05$,见图 4A,4B)。A2 型星形胶质细胞极化标志物 S100a10、Ptx3 的 mRNA 相对表达水平明显下降,且在造模后第 7 天分别为 (0.57 ± 0.15) , (0.40 ± 0.04) ,较造模前均有显著差异 ($P < 0.05$,见图 4C,4D),提示 CFA 炎性痛小鼠脊髓反应性星形胶质细胞向 A1 亚型极化。

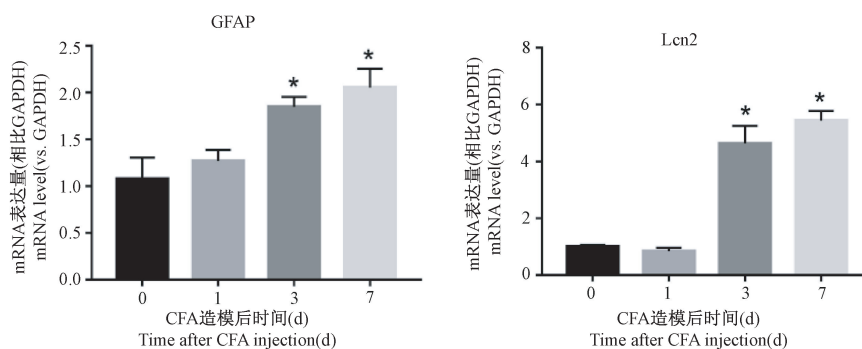


注:与对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图1 CFA 炎性痛小鼠机械刺激缩足阈值(MWT)和辐射热刺激缩爪潜伏期(PWL)变化($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Note. Compared with Saline group, * $P < 0.05$.

Figure 1 Time course of the mechanical withdraw threshold(MWT) and the paw withdrawal latency(PWL) in mice treated with CFA or saline($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

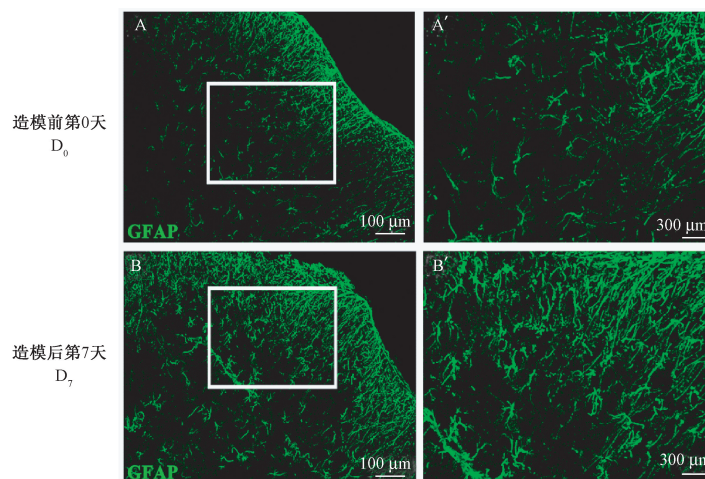


注:与造模前相比, * $P < 0.05$ 。(下图同)

图2 CFA 炎性痛小鼠脊髓反应性星形胶质细胞标志物 GFAP、Lcn2 表达变化($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Note. Compared with D_0 , * $P < 0.05$. (The same in the following figures)

Figure 2 RT-PCR analysis showing the time courses in expression changes of the GFAP and Lcn2 in the spinal cord of CFA-treated mice($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



注:A', B': A、B 框内局部放大图片。

图3 CFA 炎性痛小鼠造模前及造模后第 7 天脊髓背角 GFAP 表达($n = 3$)

Note. A', B'. Partially enlarged picture of A and B.

Figure 3 Confocal images show the GFAP immunoreactivity in the ipsilateral spinal dorsal horn of CFA-treated mice before and 7 days after CFA injection($n = 3$)

2.4 A1 型星形胶质细胞标志物 C3 的表达

免疫荧光实验发现, CFA 组在造模后第 7 天脊髓背角内 A1 型星形胶质细胞标志物 C3 相对荧光

强度为 (1.74 ± 0.08) , C3 与 GFAP 的共定位信号相对荧光强度为 (4.46 ± 0.38) , 水平较造模前显著升高 ($P < 0.05$, 见图 5)。

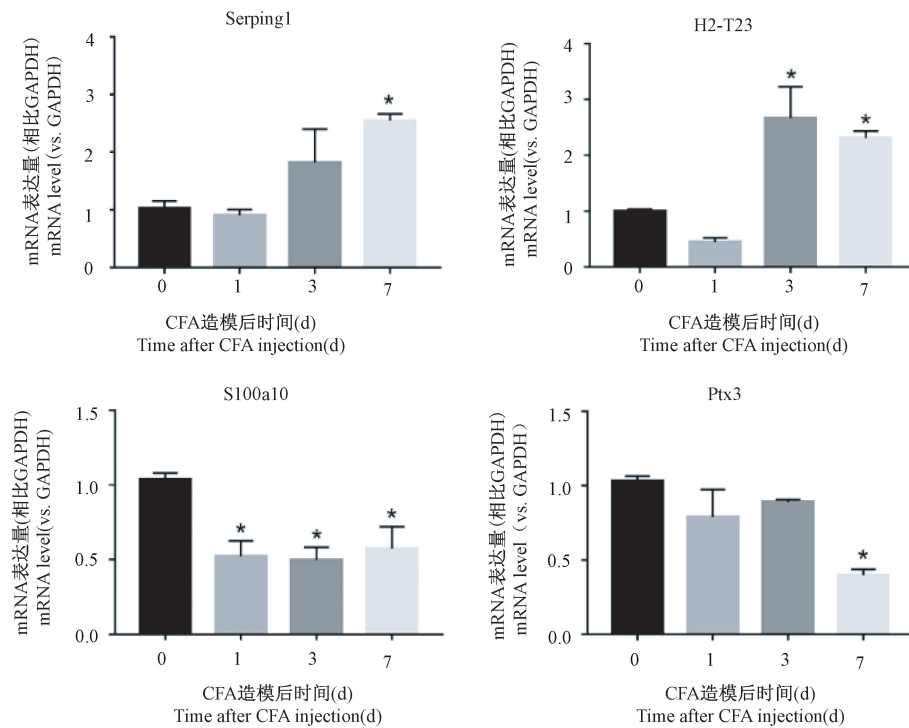
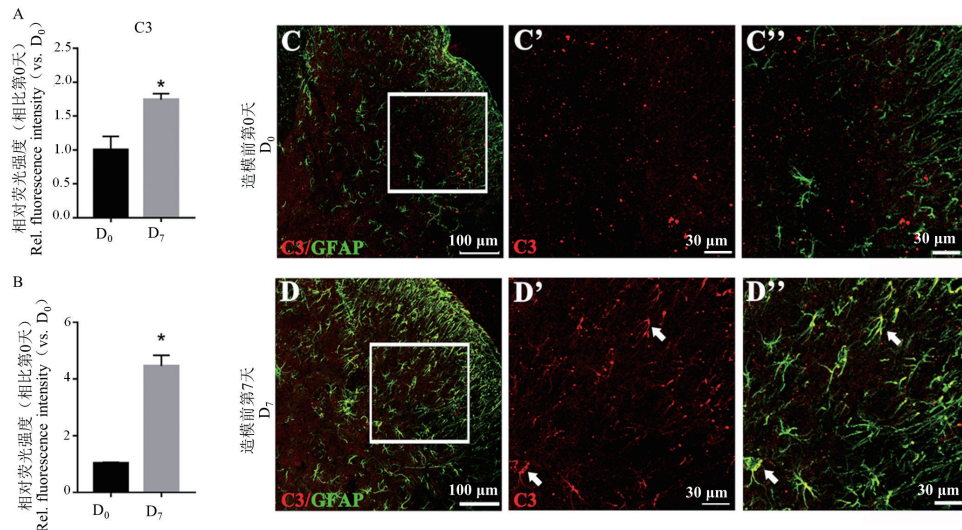


图 4 CFA 炎性痛小鼠脊髓 A1 型星形胶质细胞标志物 Serping1、H2-T23 以及 A2 型星形胶质细胞标志物 S100a10、Ptx3 表达变化 ($\bar{x} \pm s \bar{x}$, $n=3$)

Figure 4 RT-PCR analysis showing the time courses in expression changes of the A1 astrocyte maker Serping1, H2-T23 and the A2 astrocyte maker S100a10, Ptx3 in the spinal cord of CFA-treated mice ($\bar{x} \pm s \bar{x}$, $n=3$)



注: C', D': C, D 框内局部放大 C3 信号; C'', D'': C, D 框内局部放大图片。

图 5 CFA 炎性痛小鼠造模前与造模后第 7 天脊髓背角 A1 型星形胶质细胞标志物 C3 表达以及 GFAP 共标变化 ($\bar{x} \pm s \bar{x}$, $n=3$)

Note. C', D'. Locally amplified C3 signal in frame C and D. C'', D''. Locally enlarged picture in frame C and D.

Figure 5 Confocal images show the GFAP immunoreactivity (green) and C3 (red) in the ipsilateral spinal cord dorsal horn of CFA-treated mice at D0 and D7 after injection ($\bar{x} \pm s \bar{x}$, $n=3$)

3 讨论

外周炎性痛是最常见的临床症状之一,常伴发于局部损伤以及关节肌肉炎症等病理过程,持续存在的炎性痛,可干扰患者情绪,继发新的精神疾病^[7]。CFA 诱导的足底炎性痛具有造模简单、行为学稳定等优点,且疼痛持续时间可长达 2 月,是被广泛使用的炎性痛模型^[8]。本研究发现,小鼠 CFA 注射后 1 d,注射区域即出现明显充血、肿胀,在造模后第 1、3、5、7 天,造模侧 PWL 及 MWT 均显著降低,与对照组相比具有统计学差异,此结果与以往研究结果相一致^[9]。

在慢性痛的发生发展中,脊髓内神经炎症是公认的病理机制之一^[10]。星形胶质细胞与小胶质细胞激活生成的细胞因子、趋化因子可作用于神经元表面受体,使神经元兴奋性增高,促进痛行为维持^[11]。有研究表明,炎性痛患者脑脊液中促炎性细胞因子水平升高,关节炎模型小鼠脊髓内胶质细胞激活^[12-13]。在本研究中,CFA 炎性痛小鼠在造模后第 3 天,脊髓内反应性星形胶质细胞标志物表达升高,而形态学结果显示背角星形胶质细胞增生肥大,进一步证实脊髓内存在星形胶质细胞激活。

在炎症等刺激下,反应性星形胶质细胞可向 A1 和 A2 两种不同的表型极化。A1 型星形胶质细胞可释放伤害性信号分子,同时因其正常的吞噬、营养等功能降低,进而加剧了神经元的功能损害^[14-15]。目前,关于 A1 型星形胶质细胞在神经退行性疾病中的报道最多,如阿尔茨海默病、帕金森病^[16-17],而其在慢性痛中的相关报道比较有限。有研究发现,神经病理性疼痛模型大鼠脊髓背角中,A1 型反应性星形胶质细胞明显增加^[18]。本研究通过 RT-PCR、免疫荧光等方法发现 CFA 小鼠脊髓内 A1 型星形胶质细胞标志物表达升高,表明炎性痛小鼠脊髓存在 A1 型星形胶质细胞极化。

关于诱导 A1 型星形胶质细胞极化的分子机制,目前有研究证实小胶质细胞激活后释放的 IL-1 α 、TNF 和 C1q 可在直接体外诱导星形胶质细胞激活并向 A1 表型极化^[19]。除此以外,有研究在术后痛大鼠模型上证实,小胶质细胞可通过下调 CXCR7/PI3K/Akt 信号通路诱导脊髓反应性星形胶质细胞向 A1 表型极化^[20]。而在本研究中所使用的 CFA 炎性痛小鼠模型,大量文献证实其在造模后早期即存在脊髓小胶质细胞激活^[21]。炎性痛早期脊髓背角小胶质细胞被激活,促使星形胶质细胞激活并向 A1 型反应性星形胶质细胞极化,进而参与脊

髓神经炎症反应,促进炎性痛的发生发展。提示,A1 型星形胶质细胞可能成为外周炎性痛治疗的干预靶点。

参 考 文 献 (References)

- [1] Ronchetti S, Migliorati G, Delfino DV. Association of inflammatory mediators with pain perception [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 1445-1452.
- [2] Matsuda M, Huh Y, Ji RR. Roles of inflammation, neurogenic inflammation, and neuroinflammation in pain [J]. *J Anesth*, 2019, 33(1): 131-139.
- [3] Li Q, Liu S, Li L, et al. Spinal IL-36 γ /IL-36R participates in the maintenance of chronic inflammatory pain through astroglial JNK pathway [J]. *Glia*, 2019, 67(3): 438-451.
- [4] Li T, Chen X, Zhang C, et al. An update on reactive astrocytes in chronic pain [J]. *J Neuroinflamm*, 2019, 16(1): 140.
- [5] Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations [J]. *Annu Rev Pharmacol*, 1980, 20: 441-462.
- [6] Hargreaves K, Dubner R, Brown F, et al. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia [J]. *Pain*, 1988, 32(1): 77-88.
- [7] 邵芳冰, 房军帆, 王思思, 等. 慢性炎性痛模型大鼠诱发焦虑抑郁样情绪行为观察 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(2): 167-174.
- [8] Shao FB, Fang JF, Wang SS, et al. Observation of the anxiety and depression-like behavior induced by chronic inflammatory pain in rats [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(2): 167-174.
- [9] Abboud C, Duveau A, Bouali BR, et al. Animal models of pain: diversity and benefits [J]. *J Neurosci Methods*, 2021, 348: 108997.
- [10] Han K, Zhang A, Mo Y, et al. Islet-cell autoantigen 69 mediates the antihyperalgesic effects of electroacupuncture on inflammatory pain by regulating spinal glutamate receptor subunit 2 phosphorylation through protein interacting with C-kinase 1 in mice [J]. *Pain*, 2019, 160(3): 712-723.
- [11] Ji RR, Nackley A, Huh Y, et al. Neuroinflammation and central sensitization in chronic and widespread pain [J]. *Anesthesiology*, 2018, 129(2): 343-366.
- [12] Gajtkó A, Bakk E, Hegedüs K, et al. IL-1 β Induced cytokine expression by spinal astrocytes can play a role in the maintenance of chronic inflammatory pain [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 543331.
- [13] Bas DB, Su J, Sandor K, et al. Collagen antibody-induced arthritis evokes persistent pain with spinal glial involvement and transient prostaglandin dependency [J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(12): 3886-3896.
- [14] Bjurström MF, Giron SE, Griffis CA. Cerebrospinal fluid cytokines and neurotrophic factors in human chronic pain populations: a comprehensive review [J]. *Pain Pract*, 2016, 16(2): 183-203.
- [15] 虞子宁, 张丽梅, 黄志华, 等. A1/A2 反应性星形胶质细胞在缺血性脑卒中的作用 [J]. *赣南医学院学报*, 2020, 40(5): 445-450.

- Yu ZN, Zhang LM, Huang ZH, et al. The role of A1/A2 reactive astrocyte in ischemic stroke [J]. J Gannan Med Univ, 2020, 40(5): 445–450.
- [15] Li X, Li M, Tian L, et al. Reactive astrogliosis; implications in spinal cord injury progression and therapy [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 9494352.
- [16] King A, Szekely B, Calapkulu E, et al. The increased densities, but different distributions, of both C3 and S100A10 immunopositive astrocyte-like cells in Alzheimer's disease brains suggest possible roles for both A1 and A2 astrocytes in the disease pathogenesis [J]. Brain Sci, 2020, 10(8): 503–519.
- [17] Hinkle JT, Dawson VL, Dawson TM. The A1 astrocyte paradigm; new avenues for pharmacological intervention in neurodegeneration [J]. Mov Disord, 2019, 34(7): 959–969.
- [18] 李立, 姚文龙, 张传汉. A1 型星形胶质细胞在神经病理性疼痛大鼠脊髓的表达特点 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2020, 26(8): 579–583.
- Li L, Yao WL, Zhang CH. The expression of A1 reactive astrocytes in spinal cord in rats with neuropathic pain [J]. Chin J Pain Med, 2020, 26(8): 579–583.
- [19] Liddelow SA, Guttenplan KA, Clarke LE, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia [J]. Nature, 2017, 541(7638): 481–487.
- [20] Li T, Liu T, Chen X, et al. Microglia induce the transformation of A1/A2 reactive astrocytes via the CXCR7/PI3K/Akt pathway in chronic post-surgical pain [J]. J Neuroinflamm, 2020, 17(1): 211.
- [21] Lu Y, Cao DL, Ma LJ, et al. TRAF6 contributes to CFA-induced spinal microglial activation and chronic inflammatory pain in mice [EB/OL]. [2021-03-10]. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10571-021-01045-y.pdf>

[收稿日期] 2021-03-31