



• 论 著 •

触液核 NGF/ERK 信号通路参与 CCI 大鼠 神经病理性疼痛 *

李光玲¹ 张励才^{2△}

(¹ 江南大学附属医院 无锡市第四人民医院麻醉科, 无锡 214000; ² 江苏省麻醉学重点实验室 徐州医科大学, 徐州 221002)

摘 要 目的: 观察神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 在坐骨神经慢性压迫性损伤 (chronic constriction injury, CCI) 大鼠触液核的表达以及拮抗触液核 NGF 对 CCI 大鼠痛行为学和触液核 p-ERK 表达的影响。方法: 侧脑室注射 CB-HRP 逆行示踪触液核, 结合免疫荧光双标观察正常大鼠是否表达 NGF 和 p-ERK。第一步: SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重 200~300 g, 按数字表法随机分为 5 组 (每组 6 只): sham 组, CCI 1、3、7、14 天组。术前 1 天、术后 1 天、3 天、7 天、14 天测定机械痛阈 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 和热痛阈 (thermal withdrawal latency, TWL) 后处死并取触液核进行 Western Blot 观察 NGF 和 p-ERK 的表达变化情况。第二步: 将 SD 大鼠随机分为 6 组 ($n=6$): CCI + NGF 抗体组、CCI + PBS 组、CCI + 对照抗体组、sham + NGF 抗体组、sham + PBS 组、sham + 对照抗体组。CCI 大鼠术后第 6 天在立体定位仪下侧脑室分别注射 NGF 抗体、PBS 及对照抗体, 测定 MWT 和 TWL 后处死并取触液核进行 Western Blot 观察 p-ERK 的表达变化情况。结果: 正常大鼠触液核表达 NGF 和 p-ERK, CCI 组大鼠的 MWT 和 TWL 明显低于 sham 组, 侧脑室注射 NGF 抗体后 CCI + NGF 抗体组大鼠的痛阈较 CCI + PBS 组和 CCI + 对照抗体组明显提高, 并且其 p-ERK 表达较其他两组明显降低。结论: 触液核 NGF/ERK 信号通路可能参与了大鼠神经病理性疼痛, 侧脑室注射 NGF 抗体可能通过拮抗触液核 NGF/ERK 信号通路减轻大鼠神经病理性疼痛。

关键词 触液核; 神经生长因子; ERK; 神经病理性疼痛; 坐骨神经慢性压迫性损伤

NGF/ERK pathway of the cerebrospinal fluid-contacting nucleus participates in neuropathic pain of CCI rats *

LI Guang-Ling¹, ZHANG Li-Cai^{2△}

(¹ Department of Anesthesiology, The Affiliated Hospital of Jiangnan University, The Fourth People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214000, China; ² Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China)

Abstract Objective: To investigate the expression of nerve growth factor (NGF) in cerebrospinal fluid-contacting nucleus (CSF-CN) in neuropathic pain rats, the effect of intracerebroventricular injection of NGF antibody on pain behavior and the expression of p-ERK in the CSF-CN of chronic constriction injury (CCI) rats. **Methods:** We first labeled the distal CSF-CN using CB-HRP, combined with double-labeled immunofluorescence technique to verify whether NGF and p-ERK was expressed in normal rats. Male Sprague-Dawley rats weighing 200-300 g were randomly assigned into five groups (6 in each group), sham group, CCI day 1, day 3, day 7 and day 14 group, through the method of random number table. The expression of NGF and p-ERK were observed by Western blot after the mechanical withdrawal threshold (MWT) and thermal withdrawal latency (TWL) were measured on day 1 before and day 1, day 3, day 7, and day 14 after CCI. We next randomly assigned the rats into

* 基金项目: 国家自然科学基金 (81371243); 江苏省自然科学基金 (BK2012580)

△ 通讯作者 licaizhang001@163.com



six groups: CCI + NGF antibody, CCI + PBS, CCI + control IgG, sham + NGF antibody, sham + PBS, sham + control IgG. NGF antibody, PBS or control IgG was injected in lateral ventricle in each rat on day 6 of CCI. After MWT and TWL were tested, the CSF-CN portion of rat brain was isolated to observe the expression of p-ERK. **Results:** NGF and p-ERK were expressed in CSF-CN of normal rats. The MWT and TWL of CCI rats were significantly lower than those in sham rats. The pain threshold of rats in CCI + NGF antibody group was significantly higher than that in CCI + PBS group and CCI + control antibody group, and the expression of p-ERK was significantly lower than that in the other two groups. **Conclusion:** The NGF/ERK pathway in the CSF-CN may be involved in the modulation of neuropathic pain. Intracerebroventricular injection of NGF antibody may alleviate neuropathic pain in CCI rats by antagonizing NGF/ERK signaling pathway.

Key words Cerebrospinal fluid-contacting nucleus (CSF-CN); Nerve growth factor (NGF); ERK; Neuropathic pain; Chronic constriction injury (CCI)

神经病理性疼痛是由外周或中枢神经系统的直接损伤引起的慢性疼痛，以痛觉过敏、痛觉超敏和自发性疼痛为特点，给病人带来极大痛苦，严重影响人类健康^[1]。目前对神经病理性疼痛的治疗主要采用非甾体消炎镇痛药、阿片类药物及抗抑郁药和抗惊厥药等治疗，但由于其具体的机制仍然不明，药物治疗效果不佳^[2]。所以进一步明确神经病理性疼痛的发病机制对于临床治疗有重要意义。近年来研究发现触液核 (the cerebrospinal fluid-contacting nucleus, CSF-CN) 参与了神经病理性疼痛的发生和发展，进一步明确其具体分子机制，将为神经病理性疼痛的治疗提供新的方法。

在与疼痛相关的一些脑区中，CSF-CN 是本实验室发现的一个与疼痛信号调节通路密切相关的脑区。触液核由一类特殊的神经元组成。本实验室利用霍乱毒素亚单位 B-辣根过氧化物酶复合物 (CB-HRP) 逆行示踪成功标记发现其主要由胞体位于中脑导水管腹侧面的脑实质内，长突起伸入脑脊液的神经元组成，该神经元被称为“远位触液神经元”。触液核可能在脑-脑脊液的信息传递、物质交换或功能调控中起重要作用^[3,4]。我们之前的研究发现 CSF-CN 在疼痛的发生及发展中起着重要作用。触液核中的 ASIC3 和 P 物质参与了炎性痛^[5,6]。触液核中的 Wnt5a 在坐骨神经慢性压迫性损伤 (chronic constriction injury, CCI) 引起的神经病理性疼痛的模型中上调^[7]。

神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 是最早发现的神经营养因子家族成员，有促进交感和感觉神经元成活分化和成熟的作用^[8]。NGF 已经被发现在急性痛和慢性痛的产生和痛觉过敏中起着非常重要的作用。在大量的动物炎性痛模型中，NGF 的表达明显上调^[9,10]。全身应用 NGF 抗体可以减轻 CFA 引起的痛觉过敏^[11]。在小鼠骨癌模型中，早期应用 NGF 抗体可以减少骨癌引起的骨质破坏并

且可以减轻骨癌痛^[12]。在神经病理性疼痛模型中，CCI 手术后 NGF 在背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 及脊髓背角上调^[13]。抗 NGF 抗体全身用药可以减轻神经病理性痛觉过敏和异常性疼痛^[14]。这些研究都证明了 NGF 参与了疼痛的调节，但是其具体机制仍然不明确。NGF 与其受体 TrkA 结合后主要通过激活细胞分裂素活化蛋白激酶/细胞外调节激酶 (MEK/ERK) 信号途径发挥其作用。但是其在神经病理性疼痛情况下具体通过何种胞内分子信号通路发挥作用仍不明确。目前关于 NGF 在神经病理性疼痛中的作用研究主要集中于 DRG 和脊髓水平，脊髓上水平的研究很少。本研究的目的是观察在大鼠 CCI 模型下触液核 NGF 的表达情况，明确触液核 NGF 是否参与了神经病理性疼痛及 NGF 抗体是否可以通过抑制 NGF/ERK 信号通路发挥其镇痛作用，有利于从高位中枢水平发现 NGF 参与疼痛的分子机制。

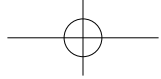
方 法

1. 试剂及器材

CB-HRP (Sigma, 美国)，山羊源 CB 一抗 (Sigma, 美国)，兔源 NGF 一抗 (Abcam, 美国)，兔源 p-ERK1/2 一抗，兔源 ERK1/2 一抗 (Abcam, 美国)，驴抗兔 FITC，驴抗山羊 FITC (Life, 美国)。

2. 实验分组

雄性 SD 大鼠 200~300 g，由徐州医科大学实验动物中心提供，在 12 h 光照/黑暗交替、23±1℃ 的安静环境中静养 (自由进食水) 5 天以上。第一步：将实验动物随机分为 5 组：sham 组、CCI 1 天组、CCI 3 天组、CCI 7 天组、CCI 14 天组 ($n=6$)。第二步：实验动物随机分为 6 组：CCI + NGF 抗体组、CCI + PBS 组、CCI + 对照抗体组、sham + NGF 抗体组、sham + PBS 组、sham + 对照抗体组 ($n=6$)。



3. 模型建立

大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (30 mg/kg) 麻醉, 将其固定于手术台上, 手术区备皮消毒。下肢背侧沿肌肉纹理走行做斜行切口, 经股二头肌肌间行钝性分离至暴露坐骨神经主干, 用铬制羊肠线做间距为 1 mm 的 4 道结扎, 结扎线松紧度以不影响神经外膜的血运为宜, 然后逐层缝合, 手术野消毒。sham 组不做铬肠线结扎, 其余方法同上。

4. 行为学测定

(1) 热痛阈 (thermal withdrawal latency, TWL): 大鼠置于 3 mm 厚的玻璃板上, 按 Hargreaves 法用热痛敏刺激仪照射大鼠足底。照射开始至大鼠出现抬腿回避的时间为 TWL。自动切断时间为 30 s, 以防止组织损伤。热刺激强度在整个实验过程中保持一致。每只测定 5 次, 每次间隔 5 min, 取后 3 次比较平稳的数据算平均值为 TWL 值。于术前 1 天、术后 1、3、7、14 天检测。

(2) 机械痛阈 (mechanical withdrawal threshold, MWT): 将一透明玻璃箱 (22 cm × 12 cm × 22 cm) 置于金属筛网上, 待大鼠在有机玻璃箱中适应 15 min 后, 用 von Frey 纤维丝垂直刺激大鼠左后肢足底中部, 持续时间 ≤ 6 s, 大鼠出现抬足或舔足行为视为阳性反应, 否则为阴性反应。测定首先从 2 g 开始, 当该力度的刺激不能引起阳性反应, 则给予相邻大一级力度的刺激; 如出现阳性反应则给予相邻小一级力度的刺激, 如此连续进行, 直至出现第一次阳性和阴性反应的骑跨, 再连续测定 4 次。最大力度为 26 g, 大于此值时记为 26 g。每次刺激间隔 30 s。

5. 大鼠侧脑室注射 CB-HRP

取材前 48 h, 用 10% 水合氯醛 (300 mg/kg) 腹腔注射麻醉大鼠, 固定于脑立体定位仪, 参照 Paxinos 和 Warson 《大鼠脑立体坐标图谱》坐标: (Brega: 1.2 mm ± 0.4 mm, Deep: 3.2 mm ± 0.4 mm, Right to median sagittal plane: 1.4 mm ± 0.2 mm), 每只单侧侧脑室注射 30%CB-HRP (北京协和医科大学解剖学教研室) 3 μl, 留针 15 min, 在适宜、避强光的环境中喂养 48 h。

6. 免疫荧光

大鼠用 10% 水合氯醛 (300 mg/kg 体重) 腹腔注射麻醉后, 行左心室-主动脉插管依次灌注生理盐水 150 ml 和 4% 多聚甲醛溶液 350 ml 固定。取大脑组织后, 放入 4% 多聚甲醛溶液中 4℃ 后固定过夜; 转入 30% 蔗糖溶液中 4℃ 脱水至组织沉淀, 冰冻冠状切片, 片厚 40 μm, 取相应脑干区域的切

片。切片收集在 0.01 mol/L PBS 中, 经 0.01 mol/L PBS 冲洗 3 次 × 5 min。选取完整切片至 24 孔孵育板中, 加入含 0.1% Triton-100 的 3% 牛血清封闭液, 室温封闭 2 h; 切片加入 Anti-CB 和 Anti-NGF 一抗 (1:500) 混合抗体或 Anti-CB 和 Anti-p-ERK (1:500) 一抗混合抗体孵育 48 h, 再加入 FITC 标记的驴抗羊和 FITC 标记的驴抗兔 (1:400) 孵育 1 h。上述各步骤间用 0.01 mol/L 的 PBS 充分漂洗。贴片、甘油封片, 激光共聚焦显微镜 (LSCM, LeiCa TCS SP2, Germany) 避光下对脑组织切片进行观察并摄片。

7. Western Blot

将动物断头处死后迅速取出触液核, 以 1:10 的比例加入细胞裂解液和蛋白酶抑制剂, 超声下裂解细胞后, 4℃ 12 000 rpm 离心 30 min, 取上清。BCA 法测定样品的蛋白含量, 10% 聚丙烯酰胺凝胶分离蛋白, 电泳后将蛋白转移到 PVDF 膜。5% 的脱脂奶粉溶液于封闭 1 h, 兔抗 NGF、兔抗 p-ERK、兔抗 ERK、小鼠抗 β-actin 4 度孵育过夜, TBST 缓冲液冲洗 3 次, 加入相应二抗, 室温孵育 1 h, TBST 缓冲液冲洗 3 次。用 Image J 软件进行相对灰度值分析。

8. 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件对数据进行统计分析。多组比较采用 one-way ANOVA, 两两比较采用 *q* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 行为学表现

在神经病理性疼痛条件下, CCI 组大鼠在 CCI 后出现术侧后足轻度内收、后足外翻和跛行。对照组大鼠术前和术后 MWT/TWL 值未见明显变化 (*P* > 0.05)。CCI 后 3 天, CCI 大鼠 MWT/TWL 值显著降低, 低于术前的基础值 (*P* < 0.05)。与术前比较, CCI 大鼠 MWT/TWL 值持续降低至术后 14 天 (*P* < 0.01), 并在第 7 天达到峰值 (见图 1A, B)。

2. NGF 和 ERK 在正常大鼠触液核的分布

在激光共聚焦显微镜下, 图 2 可见红色荧光标记的 CB-HRP 细胞即远位触液神经元, 红色荧光主要存在于胞体和突起, 呈圆形或椭圆形, 远位触液神经元胞体主要集中分布于触液核所在部位。NGF 标记细胞呈绿色荧光, 与触液神经元共表达呈黄色荧光。图 3 可见红色荧光标记的 CB-HRP 细胞即远位触液神经元, p-ERK 标记细胞呈绿色荧光, 与触液神经元共表达呈黄色荧光。

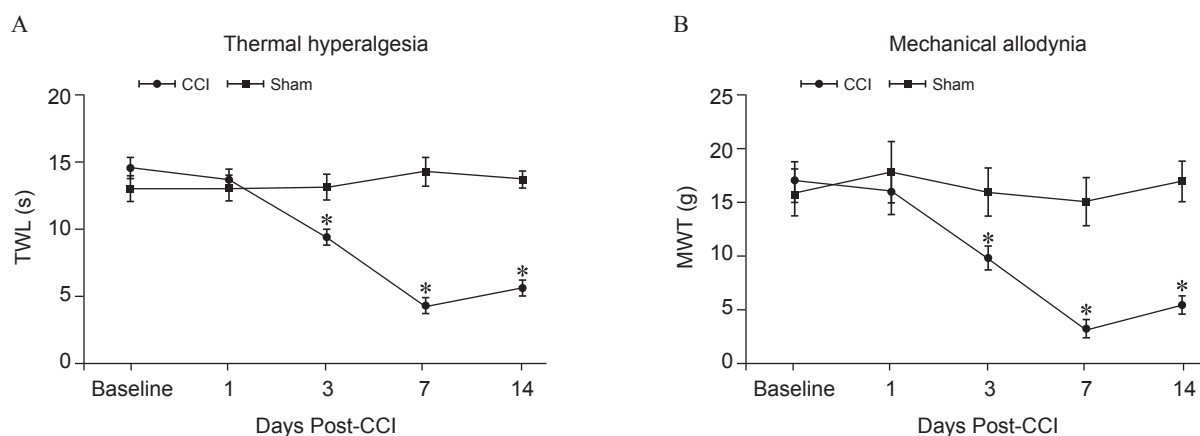


图1 CCI大鼠痛行为学测试
(A) 热痛阈测试; (B) 机械痛阈测试 * $P < 0.01$, 与术前1天相比

Fig. 1 Assessment of behavioral tests in CCI rats

(A) Time course of values for TWL; (B) Time course of values for MWT. * $P < 0.01$, compared with the baseline of rats.

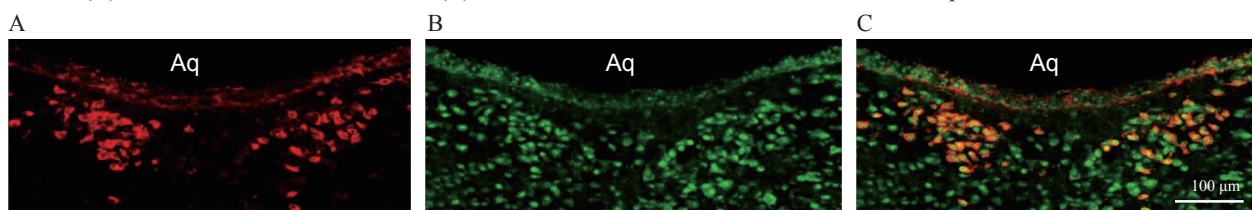


图2 正常大鼠触液神经核 NGF 和 CB-HRP 荧光双标
CB-HRP 标记神经元 (红色); (B) 同一部位 NGF 标记神经元 (绿色); (C) 同一部位 CB-HRP/NGF 双重标记神经元 (黄色) Scale bar = 100 μm

Fig. 2 Dual labeling of neurons with CB-HRP/NGF in normal rats

(A) CB-HRP positive neurons (red); (B) The same section showed NGF positive neurons (green); (C) The same section showed CB-HRP/NGF double labeled neurons (yellow). Scale bar = 100 μm

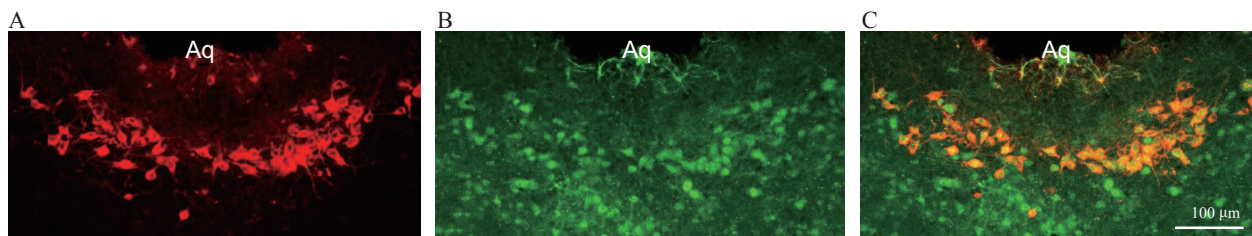


图3 正常大鼠触液神经核 ERK 和 CB-HRP 荧光双标
(A) CB-HRP 标记神经元 (红色); (B) 同一部位 p-ERK 标记神经元 (绿色); (C) 同一部位 CB-HRP/p-ERK 双重标记神经元 (黄色) Scale bar = 100 μm

Fig. 3 Dual labeling of neurons with CB-HRP/p-ERK in normal rats

(A) CB-HRP positive neurons (red); (B) The same section showed p-ERK positive neurons (green); (C) The same section showed CB-HRP/p-ERK double labeled neurons (yellow). Scale bar = 100 μm

3. CCI大鼠触液核中的 NGF 表达上调

由于前一步实验证明了 NGF 在正常大鼠的触液核中有表达, 进一步研究其是否参与了神经病理性疼痛。Western Blot 结果发现大鼠触液核内 NGF 于 CCI 第3天明显上升, 并持续至第14天 (见图4)。

4. 侧脑室注射 NGF 抗体可以减轻神经病理性疼痛大鼠的痛行为

触液核的 NGF 在 CCI 术后明显提高, 因此

NGF 很有可能在慢性神经病理性疼痛的发病机制中起着重要作用。为了进一步明确本研究的假设, 采用侧脑室注射 NGF 抗体。结果发现, 侧脑室注射 NGF 抗体 (10 $\mu\text{g}/\text{i.c.v.}$) 24 h 后, MWT/TWL 值均提高 (见图5)。

5. 侧脑室注射 NGF 抗体下调 CCI 大鼠触液核 p-ERK 的表达

MAPK 信号转导通路被发现参与了 NGF 的胞

内信号转导^[15]。本研究假设触液核 NGF 可能是通过 ERK 信号通路的激活发挥了其致痛作用。因此检测 NGF 抗体是否影响触液核 p-ERK 的表达,结果发现,在侧脑室注射 NGF 抗体 24 h 后,触液核 p-ERK 的表达较对照组明显降低,因此触液核 NGF/ERK 信号通路可能参与了神经病理性疼痛(见图 6)。

讨 论

临床上检测脑脊液可以诊断疾病,一些静脉注射无效的药物治疗,经脑脊液途径给药即可产生明显疗效。

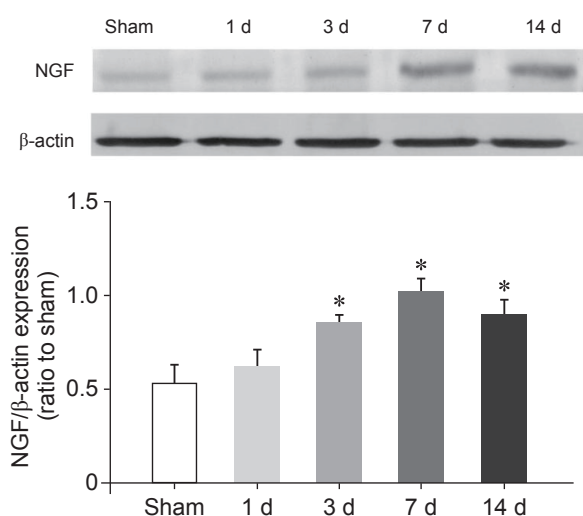
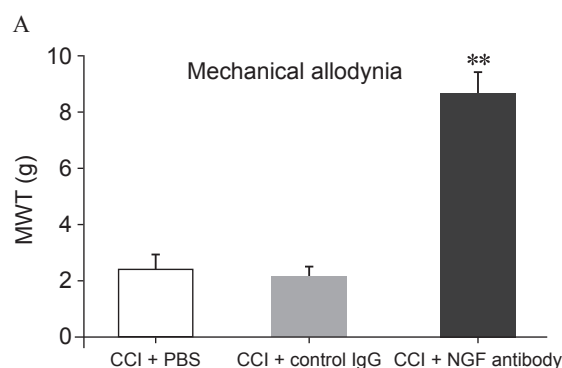


图 4 CCI 大鼠触液神经核 NGF 的表达 ($n = 6$)

* $P < 0.05$, 与 sham 组相比

Fig. 4 Western blotting of NGF in CSF-CN ($n = 6$)

* $P < 0.05$, compared with group sham.



效。然而,由于脑-脑脊液屏障和血-脑屏障的存在,这些药物是如何发挥作用的呢?有理由推测,在脑-脑脊液之间可能存在一种特殊的信息传递结构基础。本课题组通过侧脑室注射 CB-HRP 示踪发现 CSF-CN 主要位于脑干内中脑导水管的腹侧面,远位触液神经元胞体位于脑实质内,长突起伸入脑脊液及脉管系统,具备穿越血-脑屏障和脑-脑脊液屏障的结构基础。既往研究发现触液核与吗啡依赖、痛觉调制等中枢神经系统疾病密切相关^[5,7]。神经损伤后,受损的神经元、痛觉感受器以及下行调控系统出现大量变化,继而发展为神经病理性疼痛。本课题组近年来研究表明 CSF-CN 可能与疼痛信号的转导及调控相关,如触液核通过致痛物质 P 物质、ASIC3、Wnt5a 参与了疼痛^[5,7],靶向毁损触液核,CCI 大鼠及炎性痛大鼠痛行为状明显减轻^[16]。

研究发现 NGF 在炎性痛及神经病理性疼痛中发挥作用,在外周神经损伤模型中,NGF 在背根神经节及脊髓背角上调^[17]。NGF 抗体可以减轻 CCI 大鼠的痛觉过敏,并且不产生耐受^[18]。目前关于 NGF 的研究主要在脊髓以下水平,大脑高级中枢研究很少。本研究采用了形态学手段,免疫荧光双标证实了触液核有 NGF 表达。结合行为学检测和 Western Blot 半定量分析发现 CCI 大鼠触液核 NGF 表达量于 CCI 后第 3 天开始明显上升并持续至第 14 天;采用侧脑室注射 NGF 抗体可以减弱触液核中 NGF 介导的痛行为。MAPK 信号转导通路被发现参与了 NGF 的胞内信号转导^[19]。因此为了进一步明确 NGF 参与疼痛的分子机制,检测侧脑室注射 NGF 抗体后触液核 ERK 表达情况的变化。结果发现,

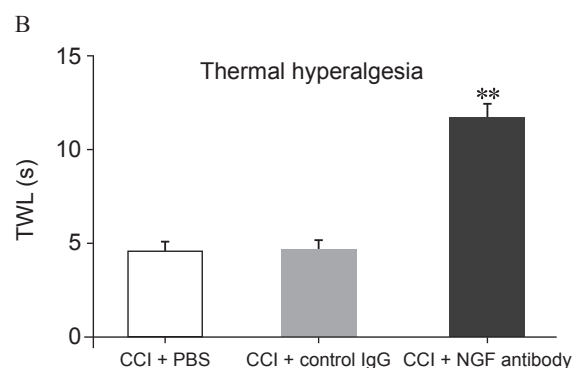


图 5 侧脑室注射 NGF 抗体对 CCI 大鼠机械痛阈和热痛阈行为学的影响 ($n = 6$)

机械痛阈和热痛阈在侧脑室注射 NGF 抗体 24 h 后测量

** $P < 0.01$, 与 CCI + PBS 组相比

Fig. 5 The effect of intracerebroventricular injection of NGF antibody on the MWT and TWL in the CCI rats ($n = 6$)

MWT and TWL were determined 24 h after NGF antibody administration (i.c.v.)

** $P < 0.01$, compared with group CCI + PBS.

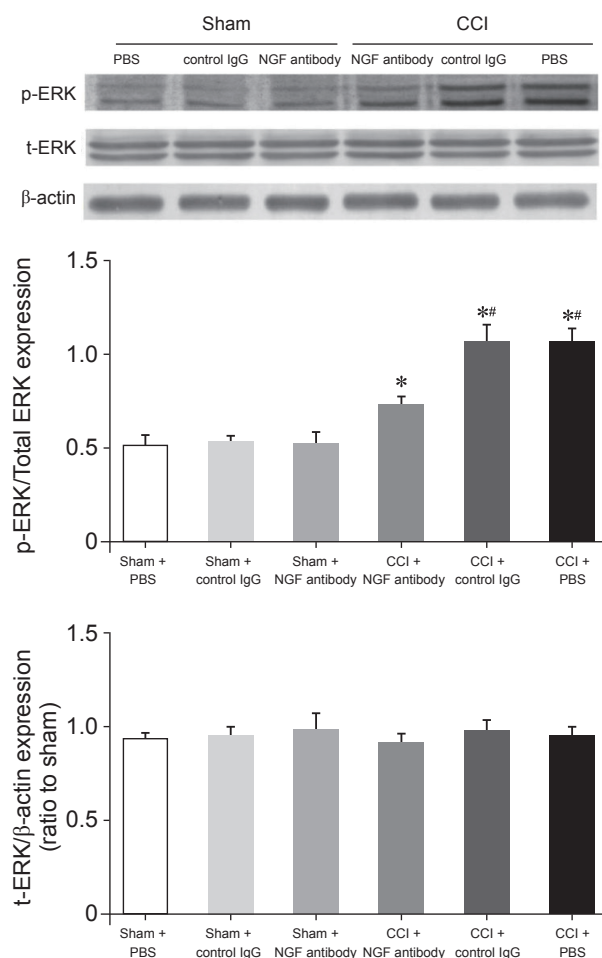


图6 CCI大鼠触液神经核ERK的表达($n=6$)
* $P < 0.05$, 与 sham + PBS 组相比, # $P < 0.05$, 与 CCI + PBS 组相比

Fig. 6 Western blotting of ERK in CSF-CN ($n=6$)
* $P < 0.05$, compared with group sham + PBS, # $P < 0.05$, compared with group CCI + PBS.

NGF 抗体组大鼠 ERK 表达量较溶媒组明显降低。因此侧脑室注射 NGF 抗体很有可能通过抑制触液核 NGF/ERK 信号通路发挥其镇痛作用。

神经病理性疼痛机制复杂,多个脑区被认为参与了疼痛的发生与调控。触液核是脑内的新发现核团,对其功能的研究很少。本研究表明触液核可能是参与神经病理性疼痛行成与维持的核团之一。本研究中,经脑脊液途径拮抗大鼠触液核内部的 NGF 可以明显减轻大鼠的痛行为。触液核不仅在脑与脑脊液之间,更参与了中枢与外周之间的信息传递,可能还具有强大的摄取、转运及内分泌功能。因此,可以以触液核为靶点,研究神经病理性疼痛的发病机制,开发从脑脊液途径的药理学干预措施,为神经病理性疼痛的治疗提供新思路。

参考文献

- [1] Bouhassira D, Attal N. The multiple challenges of neuropathic pain[J]. *Neurosci Lett*, 2019,702:6-10.
- [2] 查磊琼,彭志友,冯智英. 神经病理性疼痛药物治疗新靶点研究进展[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2018, 24(6):402-406.
- [3] Vigh B, Manzanoe Silva MJ, Frank CL, *et al*. The system of cerebrospinal fluid-contacting neurons. Its supposed role in the nonsynaptic signal transmission of the brain[J]. *Histol Histopath*, 2004, 19:607-628.
- [4] Zhang LC, Zeng YM, Ting J, *et al*. The distributions and signaling directions of the cerebrospinal fluid contacting neurons in the parenchyma of a rat brain[J]. *Brain Res*, 2003, 989:1-8.
- [5] Wang XY, Yan WW, Zhang XL, *et al*. ASIC3 in the cerebrospinal fluid-contacting nucleus of brain parenchyma contributes to inflammatory pain in rats[J]. *Neurol Res*, 2014, 36(3):270-275.
- [6] Lu XF, Geng XJ, Zhang LC, *et al*. Substance P expression in the distal cerebrospinal fluid-contacting neurons and spinal trigeminal nucleus in formalin-induced the orofacial inflammatory pain in rats[J]. *Brain Res Bull*, 2009, 78(4-5):139-144.
- [7] Wang JF, Zhang SM, Li L, *et al*. Involvement of Wnt5a within the cerebrospinal Fluid-contacting nucleus in nerve injury-induced neuropathic pain[J]. *Int J Neurosci*, 2015, 125(2):147-153.
- [8] Crowley C, Spencer SD, Nishimura MC, *et al*. Mice lacking nerve growth factor display perinatal loss of sensory and sympathetic neurons yet develop basal forebrain cholinergic neurons[J]. *Cell*, 1994, 76(6):1001-1011.
- [9] Donnerer J, Schuligoi R, Stein C. Increased content and transport of substance P and calcitonin gene-related peptide in sensory nerves innervating inflamed tissue: evidence for a regulatory function of nerve growth factor in vivo[J]. *Neuroscience*, 1992, 49(3):693-698.
- [10] Aloe L, Tuveri MA, Levi-Montalcini R. Studies on carrageenan-induced arthritis in adult rats: presence of nerve growth factor and role of sympathetic innervation[J]. *Rheumatol Int*, 1992, 12(5):213-216.
- [11] Woolf CJ, Safieh-Garabedian B, Ma QP, *et al*. Nerve growth factor contributes to the generation of inflammatory sensory hypersensitivity[J]. *Neuroscience*, 1994, 62(2):327-331.
- [12] McCaffrey G, Thompson ML, Majuta L, *et al*. NGF blockade at early times during bone cancer development attenuates bone destruction and increases limb use[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(23):7014-7023.
- [13] 郑璐,伍源,李君,等. 紫杉醇诱导的大鼠神经病理性疼痛中外周及中枢神经系统 NGF 动态变化[J]. 中