



doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2023.10.0008

偏头痛动物模型研究进展

陶禹¹ 孙玉芳¹ 张园² 陶金^{1△}

(¹ 苏州大学基础医学与生物科学学院生理学与神经生物学系, 苏州 215123; ² 苏州大学附属第二医院老年医学科, 苏州 215004)

摘要 偏头痛是一种原发性头痛, 临床表现为反复发作, 单侧或双侧搏动样疼痛, 已成为第七大致残疾病。近年来偏头痛病人数量急剧上升, 但尚未有特异性靶向药物或者有效的临床治疗方法, 全球约有15%的人受偏头痛的困扰。理想的动物模型可以在很大程度上模拟偏头痛的生理病理学发病机制, 极大地推动了对偏头痛的研究进展。本文将从理论依据、造模方法、观测指标、模型特点以及研究应用等方面对常用的偏头痛动物模型进行总结与讨论, 以期对偏头痛的发病机制相关研究的动物模型选择提供参考。

关键词 偏头痛; 动物模型; 造模方法; 模型评价

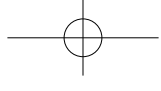
依据国际头痛分类第3版(The International Classification of Headache Disorders 3rd edition, ICHD-3), 偏头痛临床特征为单侧颞部周期性反复发作的中重度搏动性头痛, 是常伴随有恶心、呕吐、畏光畏声及感觉运动障碍等一系列症状的慢性神经系统致残性疾病, 每次发作可持续4~72小时^[1,2]。

最新的流行病学统计数据显示, 全球偏头痛病人占比已超过14%, 国内患病率低于平均水平, 但也已经达到了9.3%, 其中女性病人占比远高于男性, 占总数的70%以上。偏头痛具有一定的家族聚集性, 其遗传率为42%, 我国研究显示遗传率为46.0%~52.1%。此外, 如果偏头痛频繁发作且没有得到及时有效的治疗, 有可能导致继发性的疾病, 如焦虑症、脑梗死、癫痫、高血压等。偏头痛由于其高患病率、高致残率以及高发作频率, 被世界卫生组织列为第七大致残原因, 且患病人数仍在增长^[3,4]。偏头痛往往造成病人长时间的剧烈疼痛, 严重地影响了他们的工作学习效率和生活质量, 造成严重的心理压力, 乃至给家庭和社会带来较大的经济负担^[5,6]。迄今为止, 偏头痛暂无特效药物, 其临床治疗主要依赖于服用阿片类、曲坦类和非甾体抗炎类等镇痛药物, 国外也出现了一些降钙素相关基因肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)受体拮抗剂类药物, 如乌布吉泮(ubrogepant)^[7]和瑞美吉泮(rimegepant)^[8]。这些药物虽然能在短时间内有效缓解偏头痛, 但不能从根源上治疗偏头痛, 反而会带来一些严重的不良反应, 包括呼吸抑制、心绞痛、药物耐受及依赖等^[9,10]。近年来, 国际上开发出了CGRP单克隆

抗体治疗法^[11,12], 尽管其能有效缓解偏头痛症状, 但是其不良反应不明确, 价格昂贵, 治疗效果有限且难以保存与运输, 并不能解决偏头痛治疗的难题^[13]。因此, 明确偏头痛的具体发病机制迫在眉睫, 亟需寻找新的偏头痛药物靶点并开发更为安全有效的药物。在对偏头痛的病理生理机制进行研究时, 选择合适的动物模型是一个最基础, 却又举足轻重的环节。

实验性动物模型可以模拟人类疾病的临床表现和发病机制, 可大批量的复制和收集样品, 有助于减少后续临床试验的风险。然而, 由于偏头痛的发病机制暂不明确, 众多学者基于一定的理论基础提出了不同的假说, 其中主要分为三种, 分别为血管源性学说、皮质扩散性抑制(cortical spreading depression, CSD)学说、三叉神经血管学说, 并据此建立了不同的偏头痛动物模型^[14]。早期的研究较为片面地认为偏头痛是原发性血管疾病或者原发性神经疾病。随着研究的不断深入, 目前主流的观点认为偏头痛是神经和血管相互作用而引起的, 偏头痛的先兆发生由CSD引起, 随后三叉神经血管系统被激活, 促使痛觉信号上传至大脑的同时刺激了血管活性物质的释放, 共同形成偏头痛的病症^[9]。然而, 单一的理论学说并不能全面反映偏头痛发病机制, 这些模型也有各自的优劣, 所以要根据自己的实验目的与侧重点, 针对性地选择合适的模型。也有一些研究在发现偏头痛潜在的病理生理机制或者新的治疗药物后, 在不同的偏头痛模型中加以重复来验证其普适性^[15]。本文对这些经典偏头痛

△ 通信作者 陶金 taoj@suda.edu.cn



动物模型进行综述,为研究人员选择与应用一个简便而有效的动物模型提供一定的帮助,也为研究偏头痛的发病机制、药物开发、疾病预防和临床诊疗奠定基础。

一、基于血管源性学说的动物模型

该学说是最早提出的阐释偏头痛发病机制的学说,认为偏头痛是一种原发性血管疾病,颅内血管的异常搏动是诱导偏头痛的根本原因。偏头痛先兆期的非疼痛症状由血管异常收缩导致部分神经元供血不足缺氧而引起,而发作期的疼痛症状由随后血管扩张压迫并触发血管壁神经末梢上的压力型伤害性感受器、释放痛觉相关神经递质与血管活性物质而引起^[16,17]。此外,由于血管异常搏动的程度不同,所产生的症状也会有所差异。

1. 在体血管扩张模型

(1) 理论依据:直接或间接刺激待研究的血管,模拟偏头痛急性发作时的血管舒张状态,并通过静脉注射药物研究其对血管舒张状态的影响。

(2) 造模方法:将犬^[18]或猫^[19]等大型动物麻醉后,切断其迷走神经,引起颈外动脉血管舒张,改变其血流量与氧饱和度。随后暴露颈外动、静脉吻合处,灌注不同药物。过程中需要通过气管插管与人工呼吸维持动物呼吸,并记录动物的体温、心率、血压等生命体征以保证其存活。

近年来,经 Villalón 等进一步改良^[20,21],建立了大鼠封闭颅窗模型来模拟偏头痛的急性发作。将大鼠麻醉并固定于脑立体定位仪上,留置左股静脉和左股动脉,分别用于静脉给药和监测平均动脉压。随后钻薄一小块覆盖硬脑膜动脉的顶骨,直至用预冷的生理盐水刺激时硬脑膜动脉清晰可见。手术后让大鼠恢复 1 h 以上,在距离待研究血管约 200 μm 的颅窗表面放置一个双极刺激电极,并用 50 μA 逐步递增至 200 μA 的电流,以 5 Hz, 1 ms 的刺激程序持续刺激 10 s,直至血管直径舒张到最大。在血流动力学稳定至少 60 min 后,测定硬脑膜动脉直径和平均动脉压的基线值,并通过左股静脉注射不同药物,测定药物对这两个指标的影响。

(3) 观测指标:本模型中,动物一直处于麻醉状态,无法观察行为学指标,主要以动脉血流量峰值作为评判标准,以检验不同偏头痛治疗药物对血管收缩能力的影响。

(4) 模型特点:该模型应用范围较为有限,主要适用于在认为偏头痛是由血管扩张引起的基础上,筛选已有药物对血管收缩能力的调节作用。其优点是便于同时研究多个血管,对比药物对不同血

管作用的特异性。但其缺点也很明显,该模型不适用于寻找新的偏头痛治疗靶点,对偏头痛的理解也较为片面,动物生理状态也很难做到十分稳定。此外,使用大型动物的经济成本也较高,并且尽管在灌注不同药物时间要先用生理盐水冲洗,但并不能完全消除前一种药物的影响。

(5) 研究应用:有研究通过该模型证实了口服氟西汀抑制辣椒素诱导的颈外血管扩张,这种抑制作用可以部分解释其潜在的预防抗偏头痛作用^[18]。此外,选择性腺苷 A_{2A} 受体拮抗剂一定程度上可以预防硬脑膜动脉扩张,有治疗偏头痛的潜力^[20,21]。

2. 硝酸甘油型偏头痛模型

(1) 理论依据:硝酸甘油是一种脂溶性的神经递质一氧化氮 (nitric oxide, NO) 供体,易于通过血脑屏障,可以直接刺激血管平滑肌,导致血管扩张。在偏头痛病人发作期,外周血液中 NO 及其代谢产物亚硝酸盐的含量都会显著上升,而使用一氧化氮合成酶抑制剂则可以缓解病人的偏头痛相关症状。目前已有研究证实,硝酸甘油产生的 NO 可以直接激活第二信使环磷酸鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP),并通过调控下游信号通路引起颅内、外血管的扩张,激活伤害性感受神经元,诱导偏头痛的发作。此外,NO 还可以促使降 CGRP 从脑血管周围的三叉神经末梢释放,引起神经源性炎症反应与脑血管过度扩张,从而参与偏头痛的发作。临床上静脉注射硝酸甘油也容易引起病人短期的剂量依赖性头痛症状,且硝酸甘油周期性重复给药可以引起持续性的痛觉敏化。

(2) 造模方法:该模型以小鼠和大鼠为实验动物,通常采用腹腔注射硝酸甘油的方式造模,若实验动物为大鼠,亦可采用皮下注射和静脉注射法造模^[22,23],而依据注射方法的不同,该模型又可分为急性模型与慢性模型。

急性偏头痛模型通常采用大鼠后颈部皮下注射法^[24,25],选取 300 g 左右的 SD 大鼠,以 10 mg/kg 的剂量单次注射硝酸甘油制剂。其配方为:30% 无水乙醇,30% 丙二醇和 5 mg/ml 的硝酸甘油,以双蒸水定容,注射时可用生理盐水稀释硝酸甘油制剂。

慢性偏头痛模型以 Pradhan 等的小鼠腹腔注射法为例^[26,27],选取体重为 20~30 g 的 C57 小鼠,以 10 mg/kg 的剂量腹腔注射硝酸甘油制剂,连续 9 天。注射硝酸甘油制剂后如需进行其他药物干预,则至少间隔 15 min 后方可给药。大鼠腹腔注射法一般选取 300 g 左右的 SD 大鼠,同样以 10 mg/kg 的剂量,按实验需求连续注射多日。



(3) 观测指标: 小鼠可在注射硝酸甘油制剂 2 h 后采用 von Frey 法和热板法检测其后爪的机械痛和热痛阈值, 造模成功的小鼠机械痛和热痛阈值降低, 体重增长放缓, 活动减少, 出现畏光等偏头痛相关症状。大鼠也会出现机械痛和热痛阈值降低的现象, 同时于给药后的 1 h 内可以观察到明显的频繁挠头、双耳发红、竖毛等不安的行为表现, 并在约 3 h 后减少活动, 恢复平静。急性偏头痛模型大鼠还会出现在注射后 30 min 内出现双耳变红、爬笼次数增加、前肢频繁挠头等行为^[24]。

(4) 模型特点: 该模型造模方法简便、成本较低、对实验技术与条件要求低, 同时与人类偏头痛症状相似性高, 病理状态稳定, 适用性强, 因此成为最为常用的偏头痛模型之一。该模型行为学改变较为明显, 成功率高, 很容易实现短期内大量造模并剔除造模失败的个体, 并可根据实验设计延长注射天数, 维持偏头痛症状。然而, 无论是哪种注射方法, 硝酸甘油都不能特异性的影响颅内血管, 而是对全身血管都起效, 因此所产生的症状与病理状态的改变可能并非与偏头痛相关。此外, 由于硝酸甘油用量较高, 可能会引起脑内 Fos 基因的非特异性激活, 对于判断大脑中参与偏头痛的脑区较为不利^[28,29]。

(5) 研究应用: 饶怡菲等^[25]采用硝酸甘油急性偏头痛模型证实天麻-钩藤可能通过影响代谢途径从而实现缓解偏头痛的作用。Alarcón-Alarcón 等^[30]采用硝酸甘油慢性偏头痛模型发现该模型存在性别二态性, 即相同的造模程序下, 雌性小鼠机械痛敏持续天数比雄性小鼠更久, 而瞬时受体电位离子通道 8 (transient receptor potential melastatin 8, TRPM8) 可能是导致雄性小鼠更容易从偏头痛症状中恢复的原因之一。

二、基于皮质扩散性抑制学说的动物模型

皮质扩散性抑制学说主要是针对偏头痛先兆提出, 该学说认为偏头痛发作时, 引起脑血流变化的并非血液中的某些物质, 而是神经系统的作用。在受到外界因素的刺激后, 神经细胞内外离子浓度发生变化, 产生一系列短暂的去极化过程, 并由刺激部位沿着皮层向顶部和额部以每分钟 3~5 mm 的速度呈波浪式的扩散传播, 引起脑部血流量的改变, 从而产生早期的偏头痛症状^[31]。早期的功能性磁共振成像 (functional magnetic resonance imaging, fMRI) 数据也证实偏头痛病人脑部的血流改变是沿着视觉皮质扩散的^[32]。

1. 皮质刺激模型理论依据

对皮质直接进行电、化学、机械刺激均可以引起 CSD, 并可能激活三叉神经传入系统, 延缓脑膜

中血液流动速度, 介导同侧脑膜血浆蛋白外渗。由于该模型需要在颅骨多处钻孔并埋置电极, 手术难度较大, 用小鼠造模易损伤脑组织, 因此目前主要用发育成熟的成年大鼠 (2 个月龄以上, 体重一般 > 300 g) 造模。

2. 造模方法

(1) 电刺激法^[15]: 选取 300 g 左右的 SD 大鼠, 麻醉后固定于脑立体定位仪上, 并维持正常的体温、心率等生理指标。然后暴露颅骨, 用颅骨钻分别于前囟前方 1~3 mm, 旁侧 2~4 mm 处和前囟后方 7~8 mm, 旁侧 1~2 mm 处钻孔, 平行插入两个电极到皮质向下 1 mm 处。可以设置一个记录孔, 通过将玻璃电极 (电极内液为 0.5 M 醋酸钠溶液), 插入到皮层向下 0.9 mm 处或置于皮层表面来记录皮层稳定电位和脑皮质电图, 以避免电极插入时诱发的 CSD。在电刺激前 1 h 破坏硬脑膜以避免电刺激硬脑膜造成的干扰并保证电刺激时动物状态稳定。给予 1 mA, 300 ms 方波脉冲刺激以诱发 CSD。

(2) 化学刺激法^[33,34]: 目前氯化钾化学刺激模型使用较多。选取 200~250 g 的 SD 大鼠, 麻醉后固定并暴露颅骨, 于前囟后方 6 mm, 旁侧 5 mm 处钻开一加药孔; 于前囟前 3 mm, 旁侧 2 mm 处钻开一记录孔, 避免损伤皮质。记录电极设置方法同上。接下来用纤维针戳破给药孔中的硬脑膜, 暴露一小块皮质, 并滴加浓度为 1 M 的氯化钾溶液, 30 s 后用棉球吸出剩余溶液。也可依据实验需求采用其他化学药物 (如 N-甲基-D-天冬氨酸, 10 mM) 进行刺激^[35], 相应的药品用量也需进行调整。

(3) 机械刺激法^[36]: 选取 300 g 左右的 SD 大鼠, 麻醉固定后暴露颅骨, 可将颅骨磨薄并加入硅油以增加其透明度。随后于前囟后方 3.5~4 mm, 旁侧 5.5~6 mm 处钻开一记录孔; 于记录孔前或后 2~3 mm 处钻开一针刺孔, 避免损伤皮层。记录电极设置方法同上。用针尖端直径 0.1 mm, 锥度 10.5 的无菌钢针进行机械刺激, 刺入深度为 1 mm, 持续 1~2 s, 注意避开血管, 尽量减小对硬脑膜的损伤。

3. 观测指标

主要以记录电极所采集到的电生理数据为判断造模是否成功的指标, 数据包括 CSD 出现的持续时间、幅度、频率等。

4. 模型特点

该模型可以较好的模拟偏头痛先兆症状的发病机制, 尤其是皮质电生理活动, 模型稳定性与可重复性高, 造模成本较低。其缺点主要在于动物处于麻醉状态, 无法检测或观察行为学变化, 无法模拟偏头痛的



痛觉信息加工过程,对于记录设备的要求也较高。

5. 研究应用

Andreou 等^[15]通过电刺激引起 CSD 证实了单脉冲经颅磁刺激可以阻断体内皮质扩张性抑制,这可能是磁刺激治疗偏头痛的机制之一。Yurauchi 等^[33]同时采用化学刺激和机械刺激引起 CSD,发现阻断 β -肾上腺素能受体可以调节 CSD 相关的脑血流反应,并有助于对偏头痛的预防。

三、基于三叉神经血管学说的动物模型

该学说是目前认可度最高的学说,该学说认为三叉神经血管系统 (trigeminal vascular system, TGVS) 中的血管、神经和神经递质相互影响共同导致了偏头痛的发作。当脑膜受到伤害性刺激后,脑膜周围的伤害性感受器被激活,痛觉信息传入到三叉神经节并通过三叉神经脊束核传入到感觉皮质,产生痛觉反应;另一方面,三叉神经在受到伤害性刺激后会释放 CGRP、P 物质等,促使血管扩张,血浆内含物外渗,引发神经源性炎症,从而导致反复发作的偏头痛^[37]。

1. 硬脑膜刺激模型

(1) 理论依据:偏头痛的痛觉信息主要由颅内外的痛敏组织内的伤害性感受器在受到刺激后传入到三叉神经,并最终传入到皮质产生痛觉。硬脑膜是颅内主要的痛敏组织,其中的血管周围分布有大量来自于三叉神经节眼支的神经末梢,偏头痛发作时硬脑膜的血管扩张,产生炎症介质和机械压力,直接激活伤害性感受器并传入到三叉神经节^[38,39]。因此可以采用电刺激或化学刺激^[40]的方法直接刺激硬脑膜产生炎症从而诱导偏头痛发作。该模型需要在不破坏硬脑膜的前提下进行脑部手术,因此文献中大多使用大鼠造模而较少使用小鼠进行造模。

(2) 造模方法:电刺激法^[41-43]是目前最常用的硬脑膜刺激模型,一般选择电刺激硬脑膜上矢状窦区域。选取 300 g 左右的成年 SD 大鼠,麻醉后固定于脑立体定位仪上。随后在大鼠颅骨表面前凶前 4 mm 和后 6 mm 处各钻开一小孔,避免破坏硬脑膜,避免造成大量出血。将两个电极分别垂直插入到小孔中,电极底部与硬脑膜接触,并在颅骨表面用牙科水泥固定电极。术后 3 天使大鼠恢复并进行适应性训练,然后连续 7 天以频率 20 Hz,脉宽 0.25 ms,电流 2.5~3.5 mA (或电压 3~6 V) 的方波脉冲进行电刺激,每次刺激时间为 2 h。为了避免刺激电流/电压过大,可先将刺激频率调为 1 Hz,并将能引起大鼠节律性颤头或者胡须颤动的最小电流/电压设置为刺激电流/电压。化学刺激法:选取 300 g 左右的 SD 大鼠,麻醉固定后,在前凶后凶连

线中点右侧 5 mm 处钻开一小孔,避免破坏硬脑膜并埋置导管以牙科水泥固定。待大鼠恢复后,单次向导管内缓慢注入 10 μ l 炎症汤进行化学刺激即可引起急性偏头痛^[44],其配方为:1 mM 的缓激肽、5-HT、1 组胺和 0.1 mM 的前列腺素 E2,溶于 PBS 中。若需要引起大鼠慢性偏头痛,则需要每日向导管内加入 10 μ l 炎症汤,连续刺激 7 天^[45]。

(3) 观测指标:造模后大鼠眶周机械痛阈值下降,出现明显的频繁甩头、颤动、过度理毛等行为,血浆中的 CGRP 和 P 物质含量上升^[46]。

(4) 模型特点:符合目前的主流学说,对实验设备要求较低,可以依据实验需求通过增加刺激天数以延长造模时间,大鼠在清醒状态下可以较好的表现出行为学变化。其缺点主要是手术复杂,钻孔时容易破坏硬脑膜,短期内无法大量复制。由于电极和套管埋置较浅,因此在刺激或饲养过程中,动物的应激挠头和生活活动很容易造成电极和套管掉落从而导致造模失败,也可能导致其他非痛觉相关脑区的间接激活。

(5) 研究应用:Cao 等^[41]采用电刺激硬脑膜引起偏头痛,并证实了电刺激降低了三叉神经节小直径神经元的 A 型钾通道电流,增加了 P/Q 型和 T 型钙通道电流,从而导致神经元兴奋性提高。也有研究报道在化学刺激硬脑膜急性偏头痛模型中,电针刺可以调节 $A\sigma$ 纤维来起到镇痛的作用^[44]。而另一项研究发现化学刺激硬脑膜引起的慢性偏头痛大鼠肠道中,菌群分布和微生物代谢途径发生了改变,乳酸杆菌显著减少而色氨酸相关代谢物显著增加,这可以用作辅助诊断偏头痛的生物标记^[45]。

2. 三叉神经节刺激模型

(1) 理论依据:三叉神经是支配头面部的感觉神经,有证据表明在偏头痛发作时,三叉神经系统处于异常兴奋的状态,三叉神经脊束核尾侧的 c-Fos 免疫阳性细胞数量也明显上升。因此可以使用电刺激、化学刺激或机械刺激的方法,直接激活三叉神经节,从而模拟偏头痛的发作。同皮质刺激模型类似,由于需要埋置电极至颅以下较深处,大多选择成年大鼠进行造模以避免较大的组织损伤。

(2) 造模方法:以电刺激三叉神经节法为例^[47,48],选取 300 g 左右的 SD 大鼠,麻醉后固定于脑立体定位仪上。随后暴露颅骨,于前凶后方 3.7 mm,左右侧各约 2.9~3.1 mm 处分别钻一小孔,正下方对应左右两侧三叉神经节。垂直向两侧小孔中插入电极尖端至硬脑膜下 9.2~9.7 mm 处,为防止电极松动,可在颅骨表面用牙科水泥固定电极。在牙科



水泥凝固后,用 1.2 mA, 5 Hz, 5 ms 的方波脉冲刺激两侧三叉神经节,持续 5 min,也可适当调整电流大小和持续时间。如需实现慢性偏头痛模型,则连续每日都需要进行 1 次电刺激。

(3) 观测指标:大鼠眶周机械痛阈值下降,口鼻处分泌物增加,血液中 CGRP 水含量上升。电刺激后短时间内大鼠可能会出现过度理毛、节律性颤抖、频繁甩头、躁动不安等异常行为。

(4) 模型特点:该模型符合目前的主流学说,许多行为学表现与临床病人相似,也很容易通过动物的行为表现判断出造模是否成功。其缺点主要在于三叉神经节中还包含传递非伤害性刺激和运动信号的神经元,并且模型采用逆行激活三叉神经节的方式,并非直接刺激伤害性感受器,因此该模型的中枢信号的处理过程缺乏特异性与准确性。同时由于电极埋入的位置过深,两个电极直接对脑组织造成了较大的机械损伤,可能会产生包括脑出血、炎症反应、神经修复等一系列生理病理过程,不利于中枢机制的研究。较大的脑组织损伤也有可能导致动物出现狂躁、发疯或呆滞等异常表现,易与偏头痛症状相混淆,因此需要实验人员有极高的操作技术以尽量减少对脑组织的损伤。

(5) 研究应用:有文献报道,选择性抑制 5-HT₇ 受体可以部分减少电刺激三叉神经节引起的 CGRP 释放,从而说明 5-HT₇ 受体可能在偏头痛的病理生理过程中起作用^[48]。

四、基于其他学说的动物模型

1. 基因工程鼠模型

(1) 理论依据:该模型基于偏头痛基因学说,主要针对一种常染色体显性遗传的家族性偏瘫型偏头痛进行研究。家族性偏瘫型偏头痛是一种单基因遗传病,主要有三个亚型,分别与三种离子通道编码基因的突变有关。I 型由与编码电压门控钙离子通道蛋白 $\alpha 1$ 亚基 (Cav2.1) 的基因 CACNA1A 相关,II 型与编码阳离子通道 Na^+/K^+ -ATP 酶转运亚 $\alpha 2$ 基的基因 ATP1A2 相关,III 型与编码电压门控钠离子通道蛋白 $\alpha 1$ 亚基 (Nav1.1) 的基因 SCN1A 相关^[49]。可以通过导入不同的基因培育对应的偏头痛动物模型。

(2) 造模方法:目前对于 I 型家族性偏瘫型偏头痛模型应用较多,可将对应的带有突变位点的致病基因 CACNA1A (192Q/192Q) 导入到小鼠中,繁育并鉴定出纯合子小鼠作为偏头痛模型^[50]。

(3) 观测指标:小鼠头面部机械痛阈值下降,可能会出现畏光、头痛、单侧肢体无力的症状。

(4) 模型特点:该模型可以很好的模拟家族性

偏瘫型偏头痛的症状,而其他模型无法做到控制相应的基因发生突变。但是,基因工程小鼠的培育较为复杂,需要花费大量的时间成本和经济成本去繁育并筛选出纯合子小鼠,无法短时间内大批量复制模型。该模型还有一个缺陷就是,家族性偏瘫型偏头痛可能并非由单一基因突变引起的,同时还可能存在其他未发现的致病基因,因此该模型应用范围非常局限。

(5) 研究应用:Vecchia 等^[51]对携带 CACNA1A (192Q/192Q) 致病基因的小鼠进行一系列的研究后发现其抑制性和兴奋性皮质神经元 Cav2.1 通道的表达模式发生改变,影响了抑制性和兴奋性突触传递并导致皮质兴奋性-抑制性平衡失调,这可能是家族性偏瘫型偏头痛的发病机制之一。

2. 5-HT 耗竭模型

(1) 理论依据:该模型主要基于神经递质学说,早期的研究发现偏头痛病人血浆中 5-HT 水平下降,而尿液中 5-HT 代谢物水平上升。随着研究的深入,目前已证实全脑内低水平的 5-HT 含量是诱发偏头痛的关键因素之一^[52,53]。5-HT 是中枢神经系统中一种重要的抑制性神经递质,在偏头痛早期,血小板大量聚集并释放 5-HT,使脑部血管紧张性收缩,血管壁通透性增加,血流量减少并释放炎症介质引起血管周围炎症,出现先兆症状;随后,聚集的血小板逐渐减少,5-HT 被大量分解,血管收缩作用降低,从而导致脑血管异常扩张,引发偏头痛症状^[54]。该模型利用单胺类神经递质抑制剂利血平耗竭 5-HT,并通过鼠血凝块注射法引起局部血管痉挛共同诱导偏头痛。

(2) 造模方法:以小鼠为例^[55],连续 14 天皮下注射利血平 (10 mg/kg),每日 1 次。于第 14 天将小鼠麻醉,经颅骨穿刺向每只小鼠大脑皮质注射 2 μl 的鼠血凝块。

(3) 观测指标:小鼠在注射利血平后出现闭目、进食量减少、腹泻、体温下降等常见的利血平不良反应,在注射鼠血凝块后进一步出现挠头、翻滚、烦躁乃至抽搐等症状。

(4) 模型特点:该模型经济成本较低,符合偏头痛病人体内 5-HT 水平降低、痛阈下降的特点。然而该模型动物致死率极高,可重复性差,造模周期长,皮质注射难度较高,理论基础也较为片面。此外,利血平不良反应较多,也会影响儿茶酚胺类神经递质(如多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素等)含量,这些神经递质的生理病理作用也要纳入考虑。随着对偏头痛病理机制的认识加深,该模型已经很少被采用。

(5) 研究应用:段浩博等^[56]发现清脑镇痛胶囊可以降低利血平致偏头痛模型大鼠血浆和中脑组

织中前列环素 E2、肿瘤坏死因子 α 以及白介素 1β 的含量,从而缓解偏头痛症状。

五、总结与展望

偏头痛是一种非常复杂的头部疾病,并含有较多的情绪成分,其具体的发病机制至今不明是阻碍其临床治疗发展的主要原因之一。目前用于研究偏头痛的动物模型数量较多,其中使用较多有硝酸甘油模型和硬脑膜刺激模型,其他模型也各有优劣,因此需要依据自己的研究内容进行模型的选择。单一的偏头痛模型并不能完全模拟偏头痛的病症,尤其是反复发作和单侧发作的特点,往往只能反应偏头痛的部分病理生理机制,研究过程中可采取在不同模型中重复验证的方法进一步证实研究结论。同时,动物对于痛觉的敏感程度个体差异性较大,研究人员对于动物行为的判断也带有较多的主观色彩,保证动物模型的规范性、稳定性和适用性也是一个重大的挑战。随着现在光遗传学技术运用的推广和神经环路机制研究的加深,未来也可能出现能更好地复现人类偏头痛的动物模型,为偏头痛的预防与治疗相关研究提供更加有效、可靠的基础条件。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition[J]. Cephalalgia, 2018, 38(1):1-211.
- [2] Dodick DW. Migraine[J]. Lancet (London, England), 2018, 391(10127):1315-1330.
- [3] Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Lancet (London, England), 2018, 392(10159):1859-1922.
- [4] Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015[J]. Lancet (London, England), 2016, 388(10053):1545-1602.
- [5] Goadsby PJ, Holland PR, Martins-Oliveira M, *et al.* Pathophysiology of migraine: a disorder of sensory processing[J]. Physiological reviews, 2017, 97(2):553-622.
- [6] Ashina M, Buse DC, Ashina H, *et al.* Migraine: integrated approaches to clinical management and emerging treatments[J]. Lancet (London, England), 2021, 397(10283):1505-1518.
- [7] Dodick DW, Lipton RB, Ailani J, *et al.* Ubrogapant for the treatment of migraine[J]. New Engl J Med, 2019, 381(23):2230-2241.
- [8] Croop R, Lipton RB, Kudrow D, *et al.* Oral rimegepant for preventive treatment of migraine: a phase 2/3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Lancet (London, England), 2021, 397(10268):51-60.
- [9] 中国医师协会神经内科医师分会,中国研究型医院学会头痛与感觉障碍专业委员会.中国偏头痛诊治指南(2022版)[J].中国疼痛医学杂志,2022,28(12):881-898.
- [10] 黄建花,陈玉柱,佟菲,等.偏头痛持续状态的诊断及治疗策略进展[J].中国疼痛医学杂志,2021,27(1):60-63.
- [11] de Vries T, Villalón CM, MaassenVanDenBrink A. Pharmacological treatment of migraine: CGRP and 5-HT beyond the triptans[J]. Pharmacol Ther, 2020, 211:107528.
- [12] Al-Hassany L, Goadsby PJ, Danser AHJ, *et al.* Calcitonin gene-related peptide-targeting drugs for migraine: how pharmacology might inform treatment decisions[J]. Lancet Neurol, 2022, 21(3):284-294.
- [13] Hovaguimian A, Roth J. Management of chronic migraine[J]. BMJ, 2022, 379: e067670.
- [14] Charles A. The pathophysiology of migraine: implications for clinical management[J]. Lancet Neurol, 2018, 17(2):174-182.
- [15] Andreou AP, Holland PR, Akerman S, *et al.* Transcranial magnetic stimulation and potential cortical and trigeminothalamic mechanisms in migraine[J]. Brain, 2016, 139(Pt 7):2002-14.
- [16] Dalkara T, Nozari A, Moskowitz MA. Migraine aura pathophysiology: the role of blood vessels and microembolisation[J]. Lancet Neurol, 2010, 9(3):309-317.
- [17] Moreno-Ajona D, Chan C, Villar-Martínez MD, *et al.* Targeting CGRP and 5-HT_{1F} receptors for the acute therapy of migraine: a literature review[J]. Headache, 2019, 59 Suppl 2:3-19.
- [18] Muñoz-Islas E, González-Hernández A, Lozano-Cuenca J, *et al.* Inhibitory effect of chronic oral treatment with fluoxetine on capsaicin-induced external carotid vasodilatation in anaesthetised dogs[J]. Cephalalgia, 2015, 35(12):1041-1053.
- [19] Villalón CM, Centurió D. Cardiovascular responses produced by 5-hydroxytryptamine: a pharmacological update on the receptors/mechanisms involved and therapeutic implications[J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2007, 376(1-2):45-63.
- [20] Haanes KA, Labastida-Ramírez A, Chan KY, *et al.* Characterization of the trigeminovascular actions of several adenosine A(2A) receptor antagonists in an in vivo rat model of migraine[J]. J Headache Pain, 2018, 19(1):41.
- [21] Labastida-Ramírez A, Rubio-Beltrán E, Haanes KA, *et al.* Effects of two isomethopene enantiomers in isolated human blood vessels and rat middle meningeal artery-



- potential antimigraine efficacy[J]. *J Headache Pain*, 2019, 20(1):47.
- [22] 张天浩, 黄露, 戴鸥, 等. 基于 5-HT_{1B} 受体的川芎挥发油抗偏头痛研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(3):174-177, 271.
- [23] Casili G, Lanza M, Filippone A, *et al*. Dimethyl fumarate alleviates the nitroglycerin (NTG)-induced migraine in mice[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1):59.
- [24] 王亚飞, 徐峰. 蜂毒穴位注射对急性偏头痛大鼠行为学以及血浆降钙素基因相关肽、P 物质含量的影响 [J]. *世界中西医结合杂志*, 2021, 16(11):2014-2017.
- [25] 饶怡菲, 温芝琪, 李军茂, 等. 天麻钩藤药对治疗急性偏头痛模型大鼠的代谢组学分析 [J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(11):2572-2575.
- [26] Pradhan AA, Bertels Z, Akerman S. Targeted nitric oxide synthase inhibitors for migraine[J]. *Neurotherapeutics*, 2018, 15(2):391-401.
- [27] Bertels Z, Mangutov E, Conway C, *et al*. Migraine and peripheral pain models show differential alterations in neuronal complexity[J]. *Headache*, 2022, 62(7):780-791.
- [28] Jing F, Zhang Y, Long T, *et al*. P2Y₁₂ receptor mediates microglial activation via RhoA/ROCK pathway in the trigeminal nucleus caudalis in a mouse model of chronic migraine[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1):217.
- [29] 章正祥, 曹克刚, 范吉平, 等. 多巴胺、硝酸甘油诱导的血管舒缩异常大鼠神经肽表达和中脑 c-fos 免疫反应性 [J]. *医学研究杂志*, 2013, 42(3):24-27.
- [30] Alarcón-Alarcón D, Cabañero D, de Andrés-López J, *et al*. TRPM8 contributes to sex dimorphism by promoting recovery of normal sensitivity in a mouse model of chronic migraine[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):6304.
- [31] 赵博, 禹爱梅, 邹玉安. 皮层扩散性抑制的研究进展 [J]. *神经药理学报*, 2022, 12(3):28-33.
- [32] Bhaskar S, Saeidi K, Borhani P, *et al*. Recent progress in migraine pathophysiology: role of cortical spreading depression and magnetic resonance imaging[J]. *Eur J Neurosci*, 2013, 38(11):3540-3551.
- [33] Kurauchi Y, Haruta M, Tanaka R, *et al*. Propranolol prevents cerebral blood flow changes and pain-related behaviors in migraine model mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 508(2):445-450.
- [34] 杨梦丽. KCl 刺激枕叶皮层对小鼠脑血流量、组织学和行为学的影响 [D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2019.
- [35] Akcali D, Sayin A, Sara Y, *et al*. Does single cortical spreading depression elicit pain behaviour in freely moving rats?[J]. *Cephalalgia*, 2010, 30(10):1195-1206.
- [36] Zhang X, Levy D, Kainz V, *et al*. Activation of central trigeminovascular neurons by cortical spreading depression[J]. *Ann Neurol*, 2011, 69(5):855-865.
- [37] 王雅娟, 肖哲曼. 偏头痛三叉神经血管学说的研究进展 [J]. *卒中与神经疾病*, 2022, 29(5):491-496.
- [38] Dyhring T, Jansen-Olesen I, Christophersen P, *et al*. Pharmacological profiling of K_{ATP} channel modulators: an outlook for new treatment opportunities for migraine[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(2):225.
- [39] Dong X, Hu Y, Jing L, *et al*. Role of phosphorylated extracellular signal-regulated kinase, calcitonin gene-related peptide and cyclooxygenase-2 in experimental rat models of migraine[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2):1803-1809.
- [40] Melo-Carrillo A, Lopez-Avila A. A chronic animal model of migraine, induced by repeated meningeal nociception, characterized by a behavioral and pharmacological approach[J]. *Cephalalgia*, 2013, 33(13):1096-1105.
- [41] Cao JP, Zhang Y, Wu L, *et al*. Electrical stimulation of the superior sagittal sinus suppresses A-type K⁺ currents and increases P/Q- and T-type Ca²⁺ currents in rat trigeminal ganglion neurons[J]. *J Headache Pain*, 2019, 20(1):87.
- [42] 陈健, 吕新勇, 孙晓萍, 等. 电刺激大鼠上矢状窦区硬脑膜后血浆与脑组织中降钙素基因相关肽、P 物质和前列腺素 E2 释放差异 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2014, 28(3):329-333.
- [43] Zhao L, Liu L, Xu X, *et al*. Electroacupuncture inhibits hyperalgesia by alleviating inflammatory factors in a rat model of migraine[J]. *J Pain Res*, 2020, 13:75-86.
- [44] Qu Z, Liu L, Yang Y, *et al*. Electro-acupuncture inhibits C-fiber-evoked WDR neuronal activity of the trigeminocervical complex: neurophysiological hypothesis of a complementary therapy for acute migraine modeled rats[J]. *Brain Res*, 2020, 1730:146670.
- [45] Miao S, Tang W, Li H, *et al*. Repeated inflammatory dural stimulation-induced cephalic allodynia causes alteration of gut microbial composition in rats[J]. *J Headache Pain*, 2022, 23(1):71.
- [46] 董钊, 姜磊, 于生元. 电刺激大鼠上矢状窦旁硬脑膜后血浆降钙素基因相关肽和 P 物质的变化 [J]. *中国康复理论与实践*, 2011, 17(4):334-336.
- [47] 刘婷, 沈飞飞, 韦俊超, 等. 头痛宁对电刺激三叉神经节大鼠脑膜血流与 CGRP 的影响 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2010, 16(4):220-223.
- [48] Wang X, Fang Y, Liang J, *et al*. Selective inhibition of 5-HT₇ receptor reduces CGRP release in an experimental model for migraine[J]. *Headache*, 2010, 50(4):579-587.
- [49] Riant F, Roos C, Roubertie A, *et al*. Hemiplegic migraine associated with PRRT2 variations: a clinical and genetic study[J]. *Neurology*, 2022, 98(1):e51-e61.
- [50] Chanda ML, Tuttle A H, Baran I, *et al*. Behavioral evidence for photophobia and stress-related ipsilateral head pain in transgenic Cacna1a mutant mice[J]. *Pain*, 2013, 154(8):1254-1262.
- [51] Vecchia D, Tottene A, van den Maagdenberg AM, *et al*. Mechanism underlying unaltered cortical inhibitory synaptic transmission in contrast with enhanced excit-



- atory transmission in Cav2.1 knockin migraine mice[J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 69(100):225-234.
- [52] 张洪淞, 刘擎. 5-HT、VIP、 β -EP 水平与反复偏头痛的相关性分析 [J]. *医学理论与实践*, 2022, 35(12): 2111-2113.
- [53] Lin YK, Liang CS, Lee JT, *et al*. Association of suicide risk with headache frequency among migraine patients with and without aura[J]. *Front Neurol*, 2019, 10:228.
- [54] Nawrot J, Napierała M, Kaczerowska-Pietrzak K, *et al*. The anti-serotonin effect of parthenolide derivatives and standardised extract from the leaves of *stizolophus balsamita*[J]. *Molecules*, 2019, 24(22):4131.
- [55] 王晶, 吴莎, 许永崧, 等. 芎附方对利血平致偏头痛模型小鼠的药效学研究 [J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(12):2970-2973.
- [56] 段浩博, 包雪鸮, 胡杨, 等. 清脑止痛胶囊对利血平致偏头痛模型大鼠的影响 [J]. *中国实验诊断学*, 2017, 21(8):1415-1419.

• 国际译文 •

腹侧海马 CA1 锥体神经元编码伤害性信息

海马作为边缘系统的重要结构, 在疼痛感知和疼痛慢性化中起关键作用。既往研究表明, 腹侧海马 CA1 (ventral hippocampal CA1, vCA1) 与焦虑、压力和恐惧等负面情绪密切相关, 但 vCA1 神经元如何编码伤害性信息尚不清楚。该研究者结合在体多通道电生理记录以及光遗传学和化学遗传学等方法, 探讨 vCA1 神经元在急性疼痛和慢性疼痛中如何编码伤害性信息。主要结果: (1) 在正常大鼠, 2.0 g VFH 纤维丝以及毛刷几乎不引起缩足反应, 为非伤害性刺激 (innocuous stimuli)。针扎和激光热刺激引起缩足反应, 为伤害性刺激 (noxious stimuli)。在 vCA1 中记录到 126 个锥体神经元。根据对足底刺激的反应, 分为 3 类: 抑制性反应神经元、兴奋性反应神经元和中性反应神经元。与非伤害性刺激相比, 更大比例的 vCA1 锥体神经元对伤害性刺激表现为抑制性反应, 并且抑制幅度更明显。尽管表现为兴奋性反应的神经元数量较少, 与非伤害性刺激相比, 更多的 vCA1 锥体神经元对伤害性刺激表现为兴奋性反应, 但幅度变化无明显差异。(2) 通过解码正常大鼠 vCA1 锥体神经元对不同刺激的反应, 研究者发现, 刺激后 vCA1 锥体神经元的抑制反应和兴奋性反应对编码感觉模态都是必要的。(3) vCA1 的锥体神经元如何参与神经病理痛大鼠的伤害性信息编码? 研究者在部分坐骨神经分支选择性损伤模型 (spared nerve injury, SNI) 上进行解析。神经病理性疼痛的一个标志是触诱发痛 (allodynia), 例如非伤害性刺激 (2.0 g VFH 纤维丝) 引起伤害性缩足反应, 其反应几乎等同于伤害性针扎反应。vCA1 的锥体神经元的自发活动在 sham 组和 SNI 组之间无明显差异。然而, SNI 组对 2.0 g VFH 刺激有抑制反应的锥体神经元的比例明显大于 sham 组。在 SNI 组, 针对 2.0 g VFH 刺激和针扎刺激有抑制反应的锥体神经元的比例无明显差异。在 sham 组和 SNI 组, 对针扎刺激有兴奋性反应的锥体神经元的比例均明显高于对 2.0 g VFH 刺激。此结果表明, vCA1 锥体神经元亚群, 对足底刺激表现出抑制性或兴奋性反应, 并与大鼠的编码刺激模式有关。功能异质性 vCA1 锥体神经元进一步识别神经病理性疼痛: 抑制反应神经元的比例和幅度与伤害性反应密切相关, 导致混淆编码非伤害性和伤害性刺激; 而兴奋反应神经元仍然帮助编码刺激属性。(4) 通过解码 SNI 大鼠 vCA1 锥体神经元对不同刺激的反应, 研究者发现, SNI 组 vCA1 锥体神经元的抑制性反应不能区分编码非伤害性和伤害性刺激, 导致触诱发痛。vCA1 锥体神经元的兴奋性反应, 对编码感觉模态还是必要的。(5) 局部场电位促进脑区神经活动的协调。静息状态下 vCA1 的功率谱密度分析显示, SNI 组 Delta 和 Theta 频段的能量明显高于 sham 组。在 sham 组, 针扎刺激比 2.0 g VFH 诱发更高的 Theta 增强, 而两种刺激在 SNI 组均诱发了强大的 Theta 激活。进一步的分析发现, 诱发的 vCA1 神经元活动的 Theta 调节增强与痛觉有关。(6) 光遗传抑制 vCA1 锥体神经元, 诱导正常动物出现触诱发痛行为。化学遗传学激活 vCA1 锥体神经元, 缓解神经病理性疼痛大鼠的触诱发痛。结论: 腹侧海马 CA1 锥体神经元编码伤害性信息。痛觉抑制和兴奋神经元的功能异质性是神经系统编码感觉信息的新范式。

(Wang Y, Liu N, Ma L, *et al*. Ventral hippocampal CA1 pyramidal neurons encode nociceptive information. *Neurosci Bull*, 2023. doi:10.1007/s12264-023-01086-x. 北京大学神经科学研究所, 刘风雨 译)