

• 论 著 •

枕神经电刺激对慢性偏头痛模型大鼠疼痛相关行为的影响 *

毛静瑞^{1,2} 李 扬^{1,2} 刘颖璐² 孟凡超^{1,2} 刘若卓² 韩 珣^{2△} 于生元^{2△}

(¹解放军医学院, 北京 100853; ²中国人民解放军总医院第一医学中心神经内科医学部, 北京 100853)

摘 要 **目的:** 探究枕神经电刺激 (occipital nerve stimulation, ONS) 对慢性偏头痛 (chronic migraine, CM) 模型大鼠疼痛相关行为的影响。**方法:** 采用炎症汤 (inflammatory soup, IS) 刺激大鼠硬脑膜模型, 采用随机数字表法将雄性 SD 大鼠分成慢性偏头痛模型大鼠组 (CM 组)、枕神经电刺激干预慢性偏头痛模型大鼠组 (ONS + CM 组)、对照组 (Con 组), 每组 7 只。对 CM 组和 ONS + CM 组大鼠连续 14 天输注 IS 刺激硬脑膜, 每日 1 次, 第 15 天对 ONS + CM 组进行 ONS, 基线及第 1、5、9、14 次 IS 输注后 24 h 及 ONS 术后 24 h 测量大鼠头面部多部位机械痛阈及其他疼痛相关行为。机械痛阈采用 von Frey 测定, 其他疼痛相关行为采用 CinePlex[®] 行为分析系统, 采集大鼠 15 min 的行为数据。**结果:** 重复 IS 刺激硬脑膜可使大鼠头面部机械痛阈下降并维持在较低水平, ONS 可逆转这种痛阈降低; ONS 可逆转因重复 IS 刺激引起的大鼠水平运动总距离、探索行为及冻结行为的改变。**结论:** ONS 可改善 CM 模型大鼠痛觉超敏现象, 并可逆转部分疼痛相关行为的改变。

关键词 枕神经电刺激; 慢性偏头痛; 头痛; 中枢敏化

Effect of occipital nerve stimulation on pain related behaviors in a rat model of chronic migraine *

MAO Jingrui^{1,2}, LI Yang^{1,2}, LIU Yinglu², MENG Fanchao^{1,2}, LIU Ruozhuo², HAN Xun^{2△}, YU Shengyuan^{2△}

(¹Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; ²Department of Neurology, the First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

Abstract **Objective:** To examine the effect of occipital nerve stimulation (ONS) on pain related behaviors in a rat model of chronic migraine (CM), and to explore the underlying mechanism of ONS in migraine. **Methods:** Twenty-one male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into control (Con) group, inflammatory soup group (CM), inflammatory soup + occipital nerve stimulation group (ONS + CM), 7 animals in each group. A classic CM rat model was established by repeated dural infusions of IS. The ONS + CM cohort was implanted bilaterally with electrodes to produce ONS. Periorbital, prefrontal and occipital mechanical threshold were evaluated with von Frey filaments and other pain related behaviors were tested. **Results:** There is no baseline differences in pain related behaviors among the Con, CM and ONS + CM group. After the CM animal model was established, animal model displayed behavioral results similar to those experienced by migraineurs. Specifically, there was a decrease in routine physical activity and increase in freezing episodes. Also, the animals demonstrated mechanical allodynia in the periorbital, prefrontal and occipital region. They were ameliorated by the treatment of ONS. **Conclusion:** ONS improves mechanical allodynia and some pain related behaviors in a rat model of CM.

Keywords occipital nerve stimulation; chronic migraine; headache; central sensitization

偏头痛是一种持续 4~72 小时的中重度单侧搏动性头痛, 常伴恶心呕吐、畏光畏声, 以及自主

神经、精神、感觉和运动功能的障碍, 我国偏头痛发病率高达 9.3%^[1]。慢性偏头痛 (chronic migraine,

* 基金项目: 国家自然科学基金 (81901134); 解放军总医院院内转化项目 (ZH19002)

△ 通信作者 于生元 yusy1963@126.com; 韩珣 hanxun301@163.com



CM)在一般人群中的患病率为1%~3%,每年有2.5%的偏头痛病人发展为CM,CM发作至少15天并持续不少于3个月,且每月头痛性质为偏头痛的天数不少于8天,严重影响病人的生活和工作^[2]。目前临床上治疗偏头痛主要是药物治疗,在最近对8500多名慢性偏头痛病人的研究中,坚持口服药物6个月预防治疗的病人仅为25%,能坚持口服药物12个月的病人不到14%^[3]。因此亟待发展有效、安全和持久的CM非药物治疗方法。

枕神经电刺激(occipital nerve stimulation, ONS)是一种备受关注的非药物治疗方法,本团队^[4]前期的一项纳入110名受试者进行关于评估经皮ONS治疗偏头痛的研究中发现其可显著减少偏头痛病人的头痛持续时间,证实ONS是治疗偏头痛的有效办法。植入式ONS是一种安全而相对有效治疗慢性疼痛的方法,其植入技术难度不高,易于开展,因其长期持续治疗对慢性顽固性疼痛的治疗比经皮神经电刺激更为有效^[5]。张德仁等^[6]曾报道1例植入式ONS成功治疗顽固性枕神经痛。多项国外临床试验探究了植入式ONS治疗CM病人的有效性及安全性。Schwedt等^[7]提出ONS对慢性头痛的缓解率大于50%。Saper等^[8]发表了ONS治疗CM的前瞻性多中心随机单盲对照研究,结果表明ONS缓解CM病人头痛发作有效率为39%。Silberstein等^[9]进行ONS治疗CM的多中心随机双盲对照研究结果发现治疗组和对照组比较无差异。关于ONS治疗CM长期效应的研究发现其可降低头痛发作天数和缓解头痛强度^[10]。目前的临床研究对ONS治疗CM的有效性存在争议,且ONS治疗的机制尚不清楚。本研究采用经证实的CM模型来探究ONS是否改变了大鼠头面部疼痛阈值及伴随哪些相关行为学的改变,为进一步探究ONS治疗CM的临床实用性及ONS作用机制探索提供思路。

方 法

1. 实验材料

实验动物:雄性SPF级Sprague-Dawley(SD)大鼠21只,体重180~220 g,购自北京斯贝福生物技术有限公司[许可证号SCXZ(京2019-0010)],饲养于中国人民解放军总医院SPF级动物房,温度22~25℃、湿度40%~60%、12 h/12 h明暗光照周期、食物和水充足。本实验过程通过中国人民解放军总医院医学伦理委员会审核,严格遵守动物实验伦理相关规定(伦审第S2021-349-02号)。

主要实验仪器设备及耗材: von Frey 针刺痛觉测试套件(Anesthesio, 美国);在体多通道神经数据采集系统(Plexon, 美国);25 μl 微量注射器(上海高鸽,平头);给药套管套装(瑞沃德,62001、62101、62201、62501)。

主要试剂及配制:5-HT(Sigma-Aldrich, H9523);前列腺素E2(麦克林, P860711);组胺(Sigma-Aldrich);缓激肽(麦克林, B860429);PBS磷酸盐缓冲液(Solarbio, P1010)。用PBS溶液溶解5-HT、前列腺素E2、组胺、缓激肽粉末,其终浓度分别为2 mM、0.2 mM、2 mM、2 mM,配制成炎症汤(inflammatory soup, IS)溶液。

2. 实验方法

实验分组及流程:21只SD大鼠采用随机数字表法分成慢性偏头痛模型大鼠组(CM组)、枕神经电刺激干预慢性偏头痛模型大鼠组(ONS+CM组)、对照组(Con组),每组7只。待大鼠适应环境1周后制备CM模型,在置管术恢复7天后首先测定基线痛阈,再用Cineplex®行为分析系统采集大鼠基线行为数据15 min。第1、5、9、14次IS输注后24 h先进行头面部机械痛阈测定及采集大鼠15 min行为数据,再进行下次IS输注。于第14次IS输注后24 h进行ONS术,术后恢复24 h后测定大鼠头面部机械痛阈及采集大鼠行为数据15 min。

CM模型制备:三组大鼠均以3%戊巴比妥钠50 mg/kg腹腔注射麻醉。备皮、固定及消毒。做颅顶部切口,暴露颅骨。于距前囟+1.5 mm、横向+1.5 mm处钻一直径为0.9 mm圆孔(避免划破硬脑膜)。将给药导管置于孔上,用牙科水泥固定(见图1),缝合切口,碘伏消毒。术后给予头孢地尼分散片(10 mg/kg)灌胃3日,以预防术后感染发生。每只大鼠在同等条件下单笼饲养,自由进食水。术后恢复7天后,CM组和ONS+CM组大鼠开始每日通过给药导管输注10 μl IS刺激硬脑膜,连续输注14天,Con组给予等量PBS缓冲液。

ONS:IS输注14天后,ONS+CM组大鼠禁食过夜,次日手术。刺激电极灭菌消毒。大鼠以4%异氟烷吸入麻醉成功后固定于操作台,备皮、消毒。于枕骨上缘至第3颈椎做正中切口,暴露手术视野,使用眼科镊钝性分离肌肉,暴露枕神经。将刺激电极分别放置于两侧枕神经(见图2),切口敷以矿物油保持组织湿润。ONS:2/100 Hz,1 mA,刺激5 min,间隔1 min,共刺激3次(15 min),电流强度以引起大鼠枕部局部肌肉收缩最小强度值为上限。缝合及术后同前。CM组和Con组均进行同样的手术且将电



图1 输注IS导管置管术

Fig. 1 Implantation of the cannula used to infuse IS



图2 枕神经刺激电极放置术

Fig. 2 Electrode implantation to produce ONS

极放置于枕神经上但未进行通电。

多部位分析头面部机械痛阈：疼痛阈值检测均在IS输注后24 h和ONS后24 h测定，由von Frey纤维丝测试大鼠双侧眼眶周围、前额及枕部皮肤。纤维丝刻度范围为0.16~26 g (0.16 g、0.4 g、0.6 g、1.0 g、1.4 g、2 g、4.0 g、6.0 g、8.0 g、10.0 g、15.0 g、26 g)。阳性反应为出现前爪强烈的拨去纤维丝、头部快速回缩、甩头或尖叫中任何一种。数据采用up-and-down法计算疼痛阈值记为此次测试的疼痛阈值。无论检测疼痛阈值还是硬脑膜给药，均需要大鼠充分适应环境平静的状态下进行。

其他疼痛相关行为分析：本实验需在正常光线且安静的环境中进行，于每次IS输注后24 h以及ONS干预后24 h测定，采用CinePles studio V3记录大鼠行为15 min，采用CinePles Editor V3分析视频数据。

观察指标：①水平运动总距离 (moving distance, MD)；②探索行为 (exploration behavior, EB)：两后爪着地，两前爪向上或趴于笼壁，触须及口有嗅探动作；③冻结行为 (freezing episode, FE)：四只爪子与地板接触，触须不动；④面部梳理行为 (facial grooming)：两前爪轻柔快速接触面部区域的行为模式；⑤身体梳理行为 (body grooming)：两前爪、舌头或门牙接触到面部以外的身体区域；⑥同侧后爪面部梳理：置管同侧后爪强烈抓挠头面部或置管处；⑦同侧后爪身体梳理：置管同侧后爪强烈抓挠头面部以外的身体其他区域。

3. 统计学分析

本研究数据使用SPSS 26.0 (IBM, Armonk, New York, USA) 统计软件进行数据分析，对数据进行正态性检验；对服从或近似服从正态分布的计量资料，采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 进行描述，对前后测量资料，使用重复测量方差分析法，事先进行球形检验，未通过球形检验时使用Green-House校正法分别分析组别、时间的主效应及交互效应，后使用组单因素方差分析进行差异分析（两两比较使

用LSD法）和单因素重复测量方差分析、配对样本t检验分析组别及时间的简单效应。对未服从正态分布的计量资料，使用中位数（上四分位数、下四分位数）进行描述，使用广义估计方程分析法分析组别、时间的主效应及交互效应，后使用非参数Kruskal-Wallis检验和Frideman检验、符号秩检验分析组别及时间的简单效应。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义，本研究均为双侧检验。图片用Graphpad prism (ver.8.0.1) 软件绘制。

结 果

1. 三组大鼠不同时间点头面部机械痛阈的变化

眶周机械痛阈的变化：基线、第1次、第5次IS输注后三组大鼠的眶周机械痛阈无显著差异。第9次、第14次IS输注后三组大鼠间出现显著差异 ($P < 0.001$)，ONS + CM组和CM组机械痛阈分别较Con组显著下降。给予ONS后24 h，ONS + CM组较CM组机械痛阈显著升高 ($P < 0.05$)，但两组仍显著小于Con组（见图3）。

前额机械痛阈的变化：基线、第1次IS输注后三组大鼠前额机械痛阈无显著差异，第5次IS输注后CM组较Con组显著下降 ($P < 0.05$)，第9次、第14次IS输注后三组大鼠出现显著差异 ($P < 0.001$)，ONS + CM组和CM组分别较Con组显著下降。给予ONS后24 h，ONS + CM组较CM组显著升高 ($P < 0.01$)，与Con组无显著差异（见图4）。

枕部机械痛阈的变化：基线、第1次、第5次IS输注后三组大鼠的枕部机械痛阈无显著差异。第9次、第14次IS输注后三组大鼠间出现显著差异，ONS + CM组和CM组分别较Con组显著下降 ($P < 0.01$, $P < 0.001$)。给予ONS后24 h，三组间无显著差异（见图5）。

2. 三组大鼠不同时间点水平运动总距离变化

时间和组别均对大鼠MD有显著影响且两者之

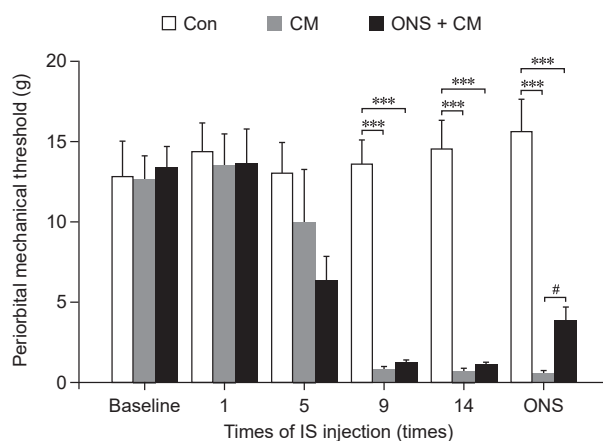


图3 三组大鼠不同时间点眶周机械痛阈比较
*** $P < 0.001$, 与 Con 组相比; # $P < 0.05$, 与 CM 组相比

Fig. 3 Comparison of periorbital mechanical threshold among three groups of rats at different time
*** $P < 0.001$, compared with group Con; # $P < 0.05$, compared with group CM.

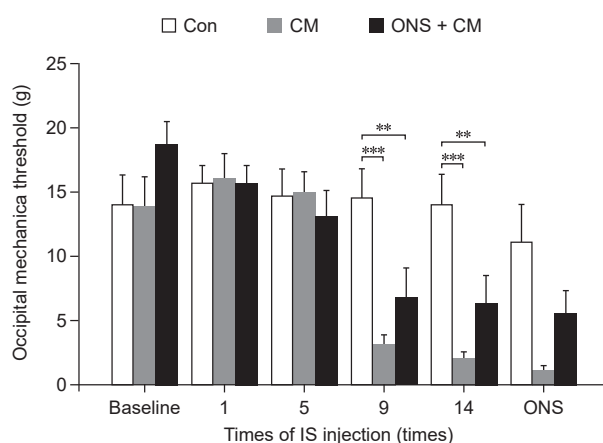


图5 三组大鼠不同时间点枕部机械痛阈比较
** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与 Con 组相比

Fig. 5 Comparison of occipital mechanical threshold among three groups of rats at different time
** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with group Con.

间相互影响 ($F_{\text{组别}} = 5.095$; $F_{\text{时间}} = 53.555$; $F_{\text{交互}} = 5.095$; $P_{\text{组别}} = 0.001$; $P_{\text{时间}} = 0.001$; $P_{\text{交互}} = 0.001$, 均成立)。①基线、第1次IS输注后三组大鼠的MD差异无统计学意义;第5次、第9次、第14次IS输注后ONS + CM组和CM组均较Con组显著下降;ONS干预后,ONS + CM组较CM组显著增加,但显著低于Con组,CM组仍显著低于Con组(见表1、图6)。②ONS + CM组和CM组MD均随IS输注次数增加而减少,在第5次输注后出现显著下降且持续至第14次输注后,ONS后ONS + CM组MD较ONS前显著增加,但处于第5次和第9次

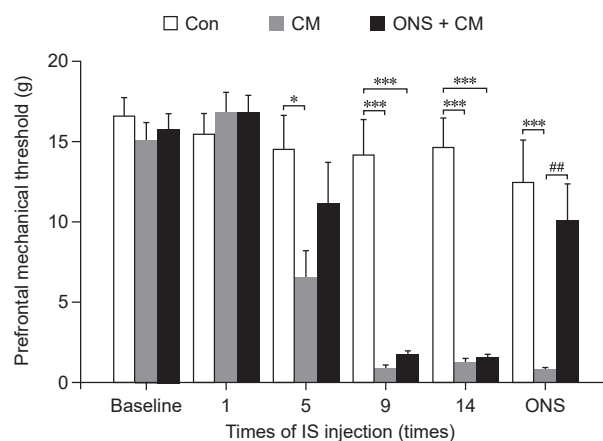


图4 三组大鼠不同时间点前额机械痛阈比较
* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, 与 Con 组相比; ## $P < 0.01$, 与 CM 组相比

Fig. 4 Comparison of prefrontal mechanical threshold among three groups of rats at different time
* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, compared with group Con; ## $P < 0.01$, compared with group CM.

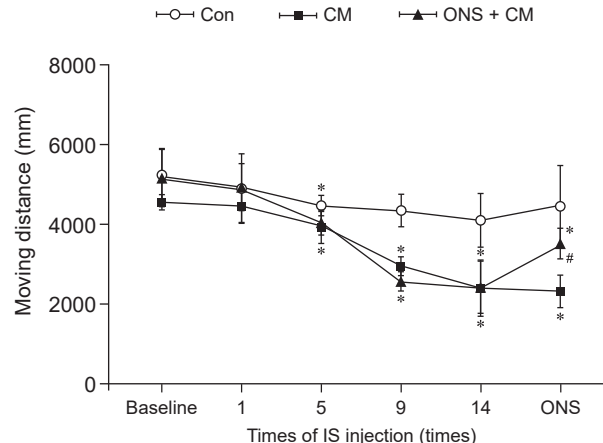


图6 三组大鼠不同时间点水平运动总距离变化
* $P < 0.05$, 与 Con 组相比; # $P < 0.05$, 与 CM 组相比

Fig. 6 Comparison of moving distance among three groups of rats at different time
* $P < 0.05$, compared with group Con; # $P < 0.05$, compared with group CM.

IS输注期间水平,未恢复至基线水平;CM在假手术前后MD无明显差异。Con组大鼠MD在第5、9、14次输注IS后均较基线明显下降,但其两两之间无显著差异,且假手术前后该组大鼠MD也无明显差异(见补充表1)。

3. 三组大鼠不同时间点探索行为变化

时间和组别均对大鼠EB有显著影响且两者之间相互影响 ($F_{\text{组别}} = 37.458$; $F_{\text{时间}} = 38.718$; $F_{\text{交互}} = 4.266$; $P_{\text{组别}} = 0.001$; $P_{\text{时间}} = 0.001$; $P_{\text{交互}} = 0.001$, 均成立)。①基线、第1次、第5次IS输注后三组大鼠的EB差异无统计学意义;第9次、第14次IS



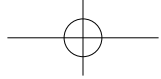
表 1 三组大鼠不同时间点水平运动总距离比较
Table 1 Comparison of moving distance (MD) among three groups of rats at different time

组别 Group	基线 Baseline	第 1 次注射 IS 后 After-1st injection	第 5 次注射 IS 后 After-5th injection	第 9 次注射 IS 后 After-9th injection
ONS + CM (<i>n</i> = 7)	5129.26 ± 763.87	4883.96 ± 656.43	4041.23 ± 302.73*	2549.49 ± 471.61*#
CM (<i>n</i> = 7)	4542.56 ± 87.22	4443.19 ± 143.35	3942.07 ± 408.24*	2910.17 ± 236.02*
Con (<i>n</i> = 7)	5178.93 ± 654.27	4917.89 ± 849.64	4451.53 ± 272.55	4341.49 ± 409.11
<i>F</i> -组别简单效应 <i>F</i> -group effect-simple	2.581	1.255	4.606	42.347
<i>P</i> -组别简单效应 <i>P</i> -group effect-simple	0.103	0.309	0.024	0.001
组别 Group	第 14 次注射 IS 后 After-14th injection	ONS 干预后 24 h After-ONS 24 h	<i>F</i> -时间简单效应 <i>F</i> -time effect-simple	<i>P</i> -时间简单效应 <i>P</i> -time effect-simple
ONS + CM (<i>n</i> = 7)	2362.34 ± 715.10*	3506.61 ± 364.14*#	26.131	0.001
CM (<i>n</i> = 7)	2394.77 ± 666.54*	2323.61 ± 415.05*	45.763	0.001
Con (<i>n</i> = 7)	4081.09 ± 686.75	4478.29 ± 1010.04	2.428	0.058
<i>F</i> -组别简单效应 <i>F</i> -group effect-simple	14.220	18.454		
<i>P</i> -组别简单效应 <i>P</i> -group effect-simple	0.001	0.001		

球形检验 $W = 0.256$, $P = 0.083$, * $P < 0.05$, 与 Con 组相比; # $P < 0.05$, 与 CM 组相比
Mauchly's Test of Sphericity $W = 0.256$, $P = 0.083$, * $P < 0.05$, compared with group Con; # $P < 0.05$, compared with group CM.

补充表 1 不同时间点三组大鼠水平运动总距离比较
Table S1 Comparison of moving distance (MD) among three groups of rats at different time

不同时间点 Different time		ONS + CM 组 ONS + CM group (<i>n</i> = 7)		CM 组 CM group (<i>n</i> = 7)		Con 组 Con group (<i>n</i> = 7)	
		<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Pair 1	基线-第 1 次注射 IS 后 Baseline-After-1st injection	0.996	0.357	1.557	0.171	0.797	0.456
Pair 2	基线-第 5 次注射 IS 后 Baseline-After-5th injection	3.003	0.024	3.463	0.013	2.734	0.034
Pair 3	基线-第 9 次注射 IS 后 Baseline-After-9th injection	9.991	0.001	20.98	0.001	2.622	0.039
Pair 4	基线-第 14 次注射 IS 后 Baseline-After-14th injection	5.831	0.001	9.19	0.001	2.575	0.042
Pair 5	基线-ONS 干预后 24 h Baseline-After-ONS 24 h	4.652	0.003	13.009	0.001	1.324	0.234
Pair 6	第 1 次注射 IS 后-第 5 次注射 IS 后 After-1st injection-After-5th injection	2.583	0.042	4.002	0.007	1.195	0.277
Pair 7	第 1 次注射 IS 后-第 9 次注射 IS 后 After-1st injection-After-9th injection	11.509	0.001	16.273	0.001	2.228	0.067
Pair 8	第 1 次注射 IS 后-第 14 次注射 IS 后 After-1st injection-After-14th injection	5.782	0.001	8.492	0.001	3.014	0.024
Pair 9	第 1 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-1st injection-After-ONS 24 h	4.411	0.005	11.14	0.001	0.761	0.476
Pair 10	第 5 次注射 IS 后-第 9 次注射 IS 后 After-5th injection-After-9th injection	5.956	0.001	4.914	0.003	0.467	0.657
Pair 11	第 5 次注射 IS 后-第 14 次注射 IS 后 After-5th injection-After-14th injection	6.575	0.001	4.756	0.003	1.198	0.276
Pair 12	第 5 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-5th injection-After-ONS 24 h	2.824	0.030	5.999	0.001	-0.08	0.939
Pair 13	第 9 次注射 IS 后-第 14 次注射 IS 后 After-9th injection-After-14th injection	0.420	0.689	2.016	0.09	1.521	0.179
Pair 14	第 9 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-9th injection-After-ONS 24 h	-3.814	0.009	3.518	0.013	-0.318	0.761
Pair 15	第 14 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-14th injection-After-ONS 24 h	-4.264	0.005	0.216	0.836	-1.056	0.332



输注后 ONS + CM 组和 CM 组均较 Con 组显著下降; ONS 干预后, ONS + CM 组较 CM 组显著增加, 但显著低于 Con 组, CM 大鼠仍显著低于 Con 组 (见表 2、图 7)。(2) ONS + CM 组和 CM 组大鼠 EB 随 IS 输注次数增加而减少, 在第 9 次 IS 输注后出现差异性下降且持续至第 14 次输注后, ONS 后 ONS + CM 组 EB 较 ONS 前显著增加, 但处于第 5 次和第 9 次 IS 输注期间水平, 未恢复至基线水平; CM 在假手术前后 EB 无明显差异。Con 组大鼠 EB 在第 9、14 次输注 IS 后均较基线明显下降, 但其两两之间比较无明显差异, 且假手术前后该组大鼠 EB 也无明显差异 (见补充表 2)。

4. 三组大鼠不同时间点冻结行为变化

时间和组别均对大鼠 FE 有显著影响且两者之间存在相互作用 (对主效应和交互效应: $\chi^2_{\text{组别}} = 183.339$; $\chi^2_{\text{时间}} = 554.776$; $\chi^2_{\text{交互}} = 558.831$; $P_{\text{组别}} = 0.001$; $P_{\text{时间}} = 0.001$; $P_{\text{交互}} = 0.001$, 均成立)。(1) 基线、第 1 次、第 5 次 IS 输注后三组大鼠的 FE 差异无统计学意义; 第 9 次、第 14 次 IS 输注后 ONS + CM 组和 CM 组均较 Con 组显著增加; ONS 干预后, ONS + CM 组较 CM 组显著减少, 但显著高于 Con 组, CM 大鼠 FE 仍显著高于 Con 组 (见表 3、图 8)。(2) ONS + CM 组和 CM 组大鼠 FE 随 IS 输注次数增加而增加, 在第 9 次 IS 输注后出现显著增加且持续至第 14 次 IS 输注后, ONS 后 ONS + CM 组 FE 较 ONS 前显著减少, 但处于第 5 次和第 9 次 IS 输注期间水平, 未恢复至基线水平; CM 在假手术前后 FE 无明显差异。Con 组大鼠 FE 在第 9、14 次输注 IS 后均较基线明显增加, 但其两两之间比较无明显差异, 且假手术前后该组大鼠 FE 也无明显差异 (见补充表 3)。

5. 三组大鼠不同时间点面部梳理行为、身体梳理行为均无显著差异 ($P > 0.05$, 见表 4、5)。三组大鼠不同时间点同侧后爪面部梳理、同侧后爪身体梳理均无显著差异 ($P > 0.05$, 见表 6、7)。

讨 论

本研究通过重复 IS 刺激硬脑膜建立了 CM 模型, 探讨了 ONS 对 CM 模型大鼠疼痛相关行为的影响。本研究结果表明, ONS 能够逆转 CM 模型大鼠头面部多部位机械痛阈降低、水平运动总距离及探索行为减少、冻结行为增多的改变。在第 1 次、第 5 次 IS 输注后 24 h 大鼠头面部机械痛阈未下降, 第 9 次 IS 输注后 24 h 大鼠头面部机械痛阈降低且

可维持在较低阈值。

偏头痛的发病目前认为主要涉及三叉神经血管系统 (trigemino-vascular system, TVS) 激活的神经源炎症^[11]。重复 IS 输注刺激硬脑膜可以作用于脑膜及血管伤害性感受器, 进而三叉神经通路激活, 模拟头痛发作。随着头痛慢性化, TVS 外周和中枢神经元兴奋性及敏感度增强, 产生痛觉敏化。临床中也观察到高达 79% 的偏头痛病人常在日常活动 (如梳头、剃须、洗脸、戴眼镜或耳环) 时感觉疼痛, 尤其是头痛同侧的头皮和眶周, 该现象称为痛觉超敏^[12]。痛觉敏化的机制尚未清楚, 涉及外周敏化和中枢敏化, 外周敏化的产生主要是支配硬脑膜和颅内血管的三叉神经周围突的敏化, 在偏头痛发作期间降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP)、前列腺素 E₂ (PGE₂)、一氧化氮等炎症介质持续刺激硬脑膜及血管伤害性感受器, 改变伤害感受器的细胞膜静息电位水平, 使得感受器对平时无反应或者轻微反应的机械刺激产生强烈应答导致痛觉超敏现象^[11]。中枢敏化主要涉及三叉神经脊束核尾侧亚核 (trigeminal nucleus caudalis, TNC)、丘脑后核及丘脑腹后内侧核等脑区, 该脑区敏化的神经元自发放电增多, 导致皮肤感受野扩大, 对头面部以外皮肤的日常活动或非伤害性刺激均会产生响应^[11], 此时可能出现痛觉超敏现象。另外中枢敏化与突触可塑性相关, 涉及中央导水管周围灰质、岛叶、前额叶皮质等脑区神经元突触发生功能及结构可塑性改变, 而使痛觉超敏现象持续存在且感受野扩大。

偏头痛病人不同的临床症状可以反映痛觉敏化的不同: ①偏头痛发作时病人需避免咳嗽、弯腰等使颅内压增高的活动, 可引起头痛一过性加剧 (外周敏化); ②偏头痛发作时非伤害性碰触头面部皮肤可引起头面部痛觉超敏现象, 病人常拒绝佩戴首饰、口罩、帽子等 (TNC 区敏化)^[13]; ③偏头痛发作间期触摸躯干四肢皮肤引起该处痛觉超敏现象, 病人常避免他人接触或穿紧身衣裤 (丘脑敏化)^[13]。本研究表明, 对已经出现痛觉超敏现象的大鼠行 ONS 后头面部的机械痛阈下降有所改善。ONS 是一种用于治疗慢性疼痛的神经调制方法^[4], 但 ONS 治疗偏头痛的临床疗效存在差异。药物治疗方法通常在偏头痛病人出现痛觉超敏现象前使用效果更好^[12], 当偏头痛病人出现痛觉超敏现象后治疗效果欠佳。ONS 治疗 CM 的机制尚不清楚, 但可能与周围神经、上段颈髓及与三叉神经脊束核复合体 (trigemino-cervical complex, TCC) 有关, TCC 由三叉神经脊束核



表 2 三组大鼠不同时间点探索行为比较

Table 2 Comparison of exploration behavior (EB) among three groups of rats at different time

组别 Group	基线 Baseline	第 1 次注射 IS 后 After-1st injection	第 5 次注射 IS 后 After-5th injection	第 9 次注射 IS 后 After-9th injection
ONS + CM (<i>n</i> = 7)	40.14 ± 3.44	41.29 ± 6.58	41.86 ± 8.30	12.00 ± 5.80*
CM (<i>n</i> = 7)	46.43 ± 8.24	44.29 ± 6.80	35.00 ± 12.73	14.00 ± 4.44*
Con (<i>n</i> = 7)	46.43 ± 6.29	44.57 ± 13.83	41.86 ± 7.93	35.29 ± 10.23
<i>F</i> -组别简单效应 <i>F</i> -group effect-simple	2.317	0.248	1.121	22.15
<i>P</i> -组别简单效应 <i>P</i> -group effect-simple	0.127	0.783	0.348	0.001
组别 Group	第 14 次注射 IS 后 After-14th injection	ONS 干预后 24 h After-ONS 24 h	<i>F</i> -时间简单效应 <i>F</i> -time effect-simple	<i>P</i> -时间简单效应 <i>P</i> -time effect-simple
ONS + CM (<i>n</i> = 7)	12.00 ± 8.47*	28.29 ± 5.44**	33.128	0.001
CM (<i>n</i> = 7)	13.14 ± 6.01*	14.14 ± 3.93*	27.598	0.001
Con (<i>n</i> = 7)	34.00 ± 9.45	34.14 ± 11.07	1.993	0.108
<i>F</i> -组别简单效应 <i>F</i> -group effect-simple	16.339	13.253		
<i>P</i> -组别简单效应 <i>P</i> -group effect-simple	0.001	0.001		

P* < 0.05, 与 Con 组相比; *P* < 0.05, 与 CM 组相比
P* < 0.05, compared with group Con; *P* < 0.05, compared with group CM.

补充表 2 不同时间点三组大鼠探索行为比较

Table S2 Comparison of exploration behavior (EB) among three groups of rats at different time

不同时间点 Different time		ONS + CM 组 ONS + CM group (<i>n</i> = 7)		CM 组 CM group (<i>n</i> = 7)		Con 组 Con group (<i>n</i> = 7)	
		<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	<i>t</i>	<i>P</i>
Pair 1	基线-第 1 次注射 IS 后 Baseline-After-1st injection	-0.668	0.529	0.568	0.590	0.301	0.774
Pair 2	基线-第 5 次注射 IS 后 Baseline-After-5th injection	-0.473	0.653	1.810	0.120	1.218	0.269
Pair 3	基线-第 9 次注射 IS 后 Baseline-After-9th injection	9.908	0.001	8.097	0.000	3.911	0.008
Pair 4	基线-第 14 次注射 IS 后 Baseline-After-14th injection	8.387	0.001	9.771	0.000	2.770	0.032
Pair 5	基线-ONS 干预后 24 h Baseline-After-ONS 24 h	4.475	0.004	9.936	0.000	2.423	0.052
Pair 6	第 1 次注射 IS 后-第 5 次注射 IS 后 After-1st injection-After-5th injection	-0.136	0.897	1.559	0.170	0.350	0.738
Pair 7	第 1 次注射 IS 后-第 9 次注射 IS 后 After-1st injection-After-9th injection	7.940	0.001	19.299	0.000	1.349	0.226
Pair 8	第 1 次注射 IS 后-第 14 次注射 IS 后 After-1st injection-After-14th injection	8.442	0.001	7.213	0.000	1.647	0.151
Pair 9	第 1 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-1st injection-After-ONS 24 h	3.731	0.010	9.906	0.000	1.680	0.144
Pair 10	第 5 次注射 IS 后-第 9 次注射 IS 后 After-5th injection-After-9th injection	14.980	0.001	4.402	0.005	1.251	0.258
Pair 11	第 5 次注射 IS 后-第 14 次注射 IS 后 After-5th injection-After-14th injection	5.428	0.002	3.527	0.012	1.825	0.118
Pair 12	第 5 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-5th injection-After-ONS 24 h	3.505	0.013	3.878	0.008	1.468	0.192
Pair 13	第 9 次注射 IS 后-第 14 次注射 IS 后 After-9th injection-After-14th injection	0.000	1.000	0.231	0.825	0.227	0.828
Pair 14	第 9 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-9th injection-After-ONS 24 h	-4.830	0.003	-0.061	0.953	0.155	0.882
Pair 15	第 14 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-14th injection-After-ONS 24 h	-7.158	0.001	-0.378	0.718	-0.036	0.973

尾侧亚核和上颈段脊髓背侧角组成,收集来自不同皮肤、肌肉、硬脑膜和内脏三叉神经和枕神经分布区的传入冲动^[14]。朱品欢等^[15]在偏头痛模型大鼠中观察到C₁~C₂后角小胶质细胞明显被激活。姚军等^[16]通过临床观察发现C₂和C₁脊神经节阻滞治疗颈源性头痛时可以改善以枕部、顶部、颞部疼痛为主病人的疼痛程度。ONS 是否能通过枕神经传入影响C₂后角小胶质细胞而发挥镇痛作用将是一个研究热点。在一项临床研究中,对8例正在进行ONS干预的病人进行PET扫描发现TCC区神经元明显被激活^[8]。考虑可能是ONS暂时干扰TNC区敏化,这将有助于我们在下一步实验中对ONS作用机制

进一步研究。目前最为认可的ONS作用理论是疼痛闸门控制机制,传导外周触觉的A_β纤维兴奋能抑制传导痛温觉的C纤维传递兴奋信号,这两类纤维都可把兴奋性刺激传至脊髓后角的T细胞,同时也与其周围胶质细胞发生突触联系。胶质细胞能抑制传入T细胞的疼痛刺激向上传递,而从A_β纤维或C纤维而来的刺激分别增强或抑制胶质细胞对疼痛传导的抑制作用^[17]。Vincent等^[18]研究证明与未受ONS干预的大鼠相比,ONS干预后大鼠颈静脉血和眼球血中的CGRP表达显著降低,因此ONS作用是否与GGRP有关,待进一步研究。

本研究结果证明,CM模型大鼠水平运动总距

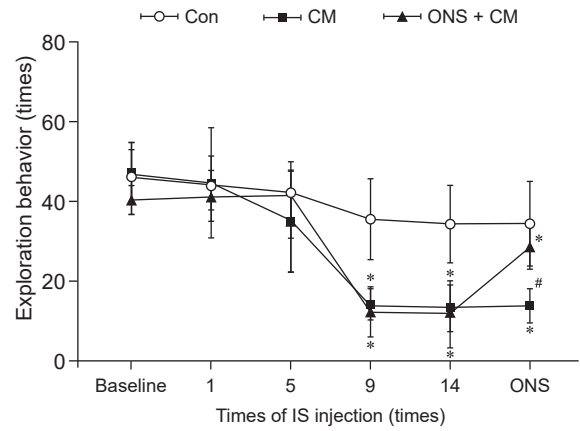


图7 三组大鼠不同时间点探索行为变化
**P* < 0.05, 与 Con 组相比; #*P* < 0.05, 与 CM 组相比
Fig. 7 Comparison of exploration behavior among three groups of rats at different time
**P* < 0.05, compared with group Con; #*P* < 0.05, compared with group CM.

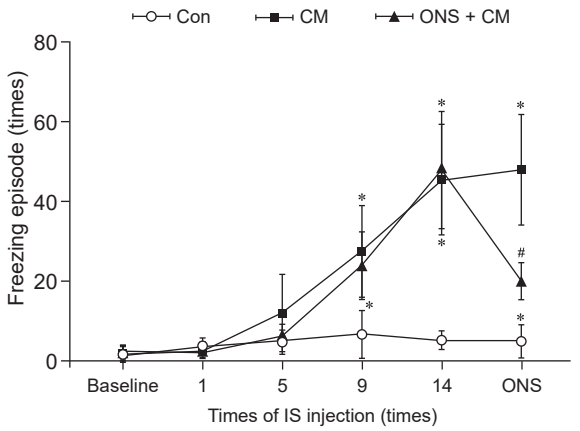


图8 三组大鼠不同时间点冻结行为变化
**P* < 0.05, 与 Con 组相比; #*P* < 0.05, 与 CM 组相比
Fig. 8 Comparison of freezing episode among three groups of rats at different time
**P* < 0.05, compared with group Con; #*P* < 0.05, compared with group CM.

表3 三组大鼠不同时间点冻结行为比较

Table 3 Comparison of freezing episode among three groups of rats at different time

组别 Group	基线 Baseline	第 1 次注射 IS 后 After-1st injection	第 5 次注射 IS 后 After-5th injection	第 9 次注射 IS 后 After-9th injection
ONS + CM (<i>n</i> = 7)	1.00 (0.00, 2.00)	2.00 (1.00, 3.00)	5.00 (2.00, 12.00)	20.00 (17.00, 32.00)*
CM (<i>n</i> = 7)	1.00 (0.00, 3.00)	2.00 (0.00, 4.00)	9.00 (4.00, 16.00)	21.00 (19.00, 41.00)*
Con (<i>n</i> = 7)	1.00 (0.00, 1.00)	3.00 (1.00, 6.00)	2.00 (0.00, 13.00)	4.00 (1.00, 14.00)
χ ² -组别简单效应 χ ² -group effect-simple	1.338	0.904	3.349	13.526
<i>P</i> -组别简单效应 <i>P</i> -group effect-simple	0.512	0.636	0.187	0.001
组别 Group	第 14 次注射 IS 后 After-14th injection	ONS 干预后 24 h After-ONS 24 h	χ ² 时间简单效应 χ ² -time effect-simple	<i>P</i> -时间简单效应 <i>P</i> -time effect-simple
ONS + CM (<i>n</i> = 7)	44.00 (37.00, 64.00)*	18.00 (15.00, 24.00)*#	31.763	0.001
CM (<i>n</i> = 7)	41.00 (33.00, 57.00)*	53.00 (41.00, 60.00)*	29.857	0.001
Con (<i>n</i> = 7)	5.00 (3.00, 6.00)	5.00 (2.00, 7.00)	12.799	0.025
χ ² -组别简单效应 χ ² -group effect-simple	13.457	16.657		
<i>P</i> -组别简单效应 <i>P</i> -group effect-simple	0.001	0.001		

**P* < 0.05, 与 Con 组相比; #*P* < 0.05, 与 CM 组相比
**P* < 0.05, compared with group Con; #*P* < 0.05, compared with group CM.



补充表 3 不同时间点三组大鼠冻结行为比较
Table S3 Comparison of freezing episode among three groups of rats at different time

不同时间点 Different time		ONS + CM 组 ONS + CM group (<i>n</i> = 7)		CM 组 CM group (<i>n</i> = 7)		Con 组 Con group (<i>n</i> = 7)	
		<i>Z</i>	<i>P</i>	<i>Z</i>	<i>P</i>	<i>Z</i>	<i>P</i>
Pair 1	基线-第 1 次注射 IS 后 Baseline-After-1st injection	-1.511	0.131	-0.171	0.865	-2.032	0.042
Pair 2	基线-第 5 次注射 IS 后 Baseline-After-5th injection	-2.207	0.027	-2.028	0.043	-1.892	0.058
Pair 3	基线-第 9 次注射 IS 后 Baseline-After-9th injection	-2.375	0.018	-2.366	0.018	-2.032	0.042
Pair 4	基线-第 14 次注射 IS 后 Baseline-After-14th injection	-2.366	0.018	-2.366	0.018	-2.388	0.017
Pair 5	基线-ONS 干预后 24 h Baseline-After-ONS 24 h	-2.366	0.018	-2.366	0.018	-2.375	0.018
Pair 6	第 1 次注射 IS 后-第 5 次注射 IS 后 After-1st injection-After-5th injection	-1.866	0.062	-2.197	0.028	-0.734	0.463
Pair 7	第 1 次注射 IS 后-第 9 次注射 IS 后 After-1st injection-After-9th injection	-2.384	0.017	-2.366	0.018	-1.016	0.310
Pair 8	第 1 次注射 IS 后-第 14 次注射 IS 后 After-1st injection-After-14th injection	-2.371	0.018	-2.366	0.018	-1.480	0.139
Pair 9	第 1 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-1st injection-After-ONS 24 h	-2.366	0.018	-2.366	0.018	-1.403	0.161
Pair 10	第 5 次注射 IS 后-第 9 次注射 IS 后 After-5th injection-After-9th injection	-2.371	0.018	-2.375	0.018	-0.542	0.588
Pair 11	第 5 次注射 IS 后-第 14 次注射 IS 后 After-5th injection-After-14th injection	-2.366	0.018	-2.366	0.018	0.000	1.000
Pair 12	第 5 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-5th injection-After-ONS 24 h	-2.366	0.018	-2.366	0.018	-0.954	0.340
Pair 13	第 9 次注射 IS 后-第 14 次注射 IS 后 After-9th injection-After-14th injection	-2.366	0.018	-1.690	0.091	-0.763	0.445
Pair 14	第 9 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-9th injection-After-ONS 24 h	-0.845	0.398	-1.859	0.063	-0.507	0.612
Pair 15	第 14 次注射 IS 后-ONS 干预后 24 h After-14th injection-After-ONS 24 h	-2.201	0.028	-0.677	0.498	-0.258	0.796

表 4 三组大鼠不同时间点面部梳理行为比较
Table 4 Comparison of facial grooming behavior among three groups of rats at different time

组别 Group	基线 Baseline	第 1 次注射 IS 后 After-1st injection	第 5 次注射 IS 后 After-5th injection	第 9 次注射 IS 后 After-9th injection	第 14 次注射 IS 后 After-14th injection	ONS 干预后 24 h After-ONS 24 h
ONS + CM (<i>n</i> = 7)	12.14 ± 2.61	11.71 ± 3.04	13.00 ± 5.86	15.14 ± 3.34	7.29 ± 4.89	8.14 ± 5.27
CM (<i>n</i> = 7)	9.71 ± 5.06	9.43 ± 5.53	11.57 ± 8.83	14.14 ± 7.90	6.14 ± 3.63	9.14 ± 5.37
Con (<i>n</i> = 7)	9.86 ± 2.41	10.29 ± 2.75	12.14 ± 3.58	15.71 ± 6.47	8.29 ± 4.35	10.00 ± 2.52

表 5 三组大鼠不同时间点身体梳理行为比较
Table 5 Comparison of body grooming behavior among three groups of rats at different time

组别 Group	基线 Baseline	第 1 次注射 IS 后 After-1st injection	第 5 次注射 IS 后 After-5th injection	第 9 次注射 IS 后 After-9th injection	第 14 次注射 IS 后 After-14th injection	ONS 干预后 24 h After-ONS 24 h
ONS + CM (<i>n</i> = 7)	6.57 ± 3.41	5.57 ± 3.26	6.86 ± 4.45	5.86 ± 6.15	3.00 ± 5.07	5.29 ± 4.39
CM (<i>n</i> = 7)	7.71 ± 5.12	6.86 ± 5.30	4.29 ± 4.75	8.43 ± 7.63	1.57 ± 2.51	6.29 ± 7.27
Con (<i>n</i> = 7)	7.57 ± 1.27	4.57 ± 3.05	7.00 ± 5.83	6.57 ± 3.64	8.43 ± 8.32	7.71 ± 2.93

表 6 三组大鼠不同时间点同侧后爪面部梳理行为比较
Table 6 Comparison of ipsilateral hindpaw facial grooming among three groups of rats at different time

组别 Group	基线 Baseline	第 1 次注射 IS 后 After-1st injection	第 5 次注射 IS 后 After-5th injection	第 9 次注射 IS 后 After-9th injection	第 14 次注射 IS 后 After-14th injection	ONS 干预后 24 h After-ONS 24 h
ONS + CM (n = 7)	0 (0, 0)	0 (0, 1)	1 (0, 3)	0 (0, 0)	0 (0, 1)	0 (0, 2)
CM (n = 7)	1 (0, 1)	2 (1, 6)	1 (0, 3)	2 (0, 9)	0 (0, 0)	1 (0, 4)
Con (n = 7)	0 (0, 2)	0 (0, 2)	0 (0, 1)	0 (0, 1)	0 (0, 1)	0 (0, 1)

表 7 三组大鼠不同时间点同侧后爪身体梳理行为比较
Table 7 Comparison of ipsilateral hindpaw body grooming among three groups of rats at different time

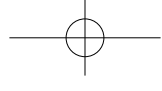
组别 Group	基线 Baseline	第 1 次注射 IS 后 After-1st injection	第 5 次注射 IS 后 After-5th injection	第 9 次注射 IS 后 After-9th injection	第 14 次注射 IS 后 After-14th injection	ONS 干预后 24 h After-ONS 24 h
ONS + CM (n = 7)	0 (0, 2)	0 (0, 1)	2 (0, 2)	0 (0, 1)	0 (0, 2)	0 (0, 7)
CM (n = 7)	0 (0, 2)	2 (0, 3)	0 (0, 3)	1 (0, 1)	0 (0, 1)	0 (0, 2)
Con (n = 7)	0 (0, 2)	1 (0, 2)	0 (0, 0)	0 (0, 1)	0 (0, 1)	0 (0, 2)

离和探索行为减少而冻结行为增加的改变，在前期 IS 输注后 24 h 大鼠的上述行为无明显改变，后期多次 IS 输注后 24 h 大鼠水平运动总距离和探索行为减少，冻结行为增加，该种行为改变发生在大鼠头面部机械痛阈维持于较低阈值，即痛觉超敏现象持续存在时，这可能是 CM 组及 ONS + CM 组大鼠因痛觉超敏现象而产生回避运动行为。同样临床上病人偏头痛发作时也伴有“不愿活动、喜休息、喜保持固定姿势”的行为样改变，仅低头或转头等日常活动就会加剧偏头痛，因此，在偏头痛发作时病人可因回避头部活动而出现回避运动的行为^[19]。运动回避尤其是头部运动回避的机制涉及脑膜、颅内血管或前庭器官，已知脑膜血管周围神经源性炎症是偏头痛发作的一部分，脑膜刺激通常会导致运动不耐受，特别是引起头部颠簸的活动，这可能是由于痛觉超敏结构的易感性增加所致^[19]。CM 病人活动度降低，这可能导致长期运动回避行为的迹象，类似于本研究的实验结果。病人因害怕而避免引起或加重疼痛的运动因素，长期回避运动会导致慢性肌肉骨骼痛、慢性腰痛和纤维肌痛^[20]，而疼痛反过来又维持和加剧慢性疼痛，这又是一个全新的研究领域。

本研究结果表明，Con 组大鼠也出现水平运动总距离和探索行为减少而冻结行为增加的改变。实际操作中，Con 组大鼠每日也受到了导管给药操作的应激，只是在应激后没有持续的头痛，这种温和的应激对于大鼠产生了一定程度的影响，并且由于给药管的固定问题，需要大鼠笼饲养，这种缺乏社交的饲养环境对于大鼠来说也是一种负面事件。另外，在大鼠抑郁行为检测的实验中也发现抑郁会导致运动总距离缩短，探索行为减少^[21]。有关情绪障

碍的研究高度一致地报道了在偏头痛人群中重症抑郁的患病率增高。情感障碍是偏头痛慢性化转变的一项危险因素^[22]。在本研究中大鼠水平运动总距离、探索行为改变出现在痛觉超敏现象持续存在即大鼠发生偏头痛慢性化之后，因此大鼠行为结果变化的影响因素是否涉及抑郁等情绪障碍有待进一步探索。本研究表明，ONS 不仅可以改善 CM 模型大鼠的痛觉超敏现象，还可以逆转其他疼痛相关行为的改变，其中常用于评价动物模型抑郁行为的探索行为、运动距离也发生变化。近年来偏头痛逐渐被认为是一种脑功能障碍疾病，基于全脑体素的形态测量研究显示偏头痛病人皮质体积显著减少^[23]，与情绪障碍相关的脑区常涉及前额叶皮质、岛叶、海马等大脑皮质。因此，ONS 是否可通过影响大脑皮质而引起 CM 大鼠疼痛相关行为改变有待进一步研究。

本研究不足之处：本研究表明单次 ONS 可以改善 CM 模型大鼠疼痛相关行为改变，但单次 ONS 效果的持续时间及多次 ONS 是否会更有效仍待研究。下一步将采用植入式电极来探究不同模式 ONS 的治疗效果。另外，三组大鼠不同时间点同侧后爪面部梳理行为、同侧后爪身体梳理行为无显著差异，但 Melo-Carrillo 等^[24]的研究表明输注 IS 后 45 min 内该组大鼠较对照组大鼠同侧后爪梳理行为显著增加。分析本研究与此不一致的原因：①本团队前期实验表明单次给予 IS 后 30 min，面部机械痛阈显著下降，3 h 降至最低，5~6 h 恢复至初始水平，则每次输注 IS 相当于 CM 背景上的更剧烈的急性发作，所以 IS 注射后即刻单侧梳理行为增加，而在 IS 注射后的 24 h 该行为在三组间无明显差异；②考虑多次重复 IS 注射后大鼠冻结行为增加活动度减



少, 单侧梳理行为受影响。因此我们将在后续实验中增加检测行为的时间点, 进一步探究出现不同实验结果的原因。

综上所述, 目前临床研究提示 ONS 是一种治疗 CM 的可行方法, 但 ONS 治疗 CM 的机制未明。本研究表明 ONS 可改善 CM 大鼠头面部机械痛阈降低、水平运动总距离和探索行为减少、冻结行为增加的现象, 进一步证实了 ONS 改善 CM 的有效性, 可采用该动物模型进一步探索 ONS 发挥作用的机制。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 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):881-888.
- [2] Schwedt TJ. Chronic migraine[J]. BMJ, 2014, 348: g1416.
- [3] Hepp Z, Dodick DW, Varon SF, *et al.* Persistence and switching patterns of oral migraine prophylactic medications among patients with chronic migraine: a retrospective claims analysis[J]. Cephalalgia, 2017, 37(5):470-485.
- [4] Liu YL, Dong Z, Wang RF, *et al.* Migraine prevention using different frequencies of transcutaneous occipital nerve stimulation: a randomized controlled trial[J]. J Pain, 2017, 18(8):1006-1015.
- [5] 向军, 常鹏飞, 刘坤. 神经电刺激治疗慢性疼痛研究进展 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2008, 14(2):105-108.
- [6] 张德仁, 肖礼祖, 张强, 等. 植入式周围神经电刺激治疗顽固性枕神经痛 (附 1 例报道) [J]. 中国疼痛医学杂志, 2009, 15(2):122-123.
- [7] Schwedt TJ, Dodick DW, Trentman TL, *et al.* Response to occipital nerve block is not useful in predicting efficacy of occipital nerve stimulation[J]. Cephalalgia, 2007, 27(3):271-274.
- [8] Saper JR, Dodick DW, Silberstein SD, *et al.* Occipital nerve stimulation for the treatment of intractable chronic migraine headache: ONSTIM feasibility study[J]. Cephalalgia, 2011, 31(3):271-285.
- [9] Silberstein SD, Dodick DW, Saper J, *et al.* Safety and efficacy of peripheral nerve stimulation of the occipital nerves for the management of chronic migraine: results from a randomized, multicenter, double-blinded, controlled study[J]. Cephalalgia, 2012, 32(16):1165-1179.
- [10] Miller S, Watkins L, Matharu M. Long-term outcomes of occipital nerve stimulation for chronic migraine: a cohort of 53 patients[J]. J Headache Pain, 2016, 17(1):68.
- [11] Strassman AM, Raymond SA, Burstein R. Sensitization of meningeal sensory neurons and the origin of headaches[J]. Nature, 1996, 384(6609):560-564.
- [12] Burstein R, Collins B, Jakubowski M. Defeating migraine pain with triptans: a race against the development of cutaneous allodynia[J]. Ann Neurol, 2004, 55(1):19-26.
- [13] Burstein R, Cutrer MF, Yarnitsky D. The development of cutaneous allodynia during a migraine attack clinical evidence for the sequential recruitment of spinal and supraspinal nociceptive neurons in migraine[J]. Brain, 2000, 123 (Pt 8):1703-1709.
- [14] García-Magro N, Martín YB, Negredo P, *et al.* The greater occipital nerve and its spinal and brainstem afferent projections: a stereological and tract-tracing study in the rat[J]. J Comp Neurol, 2018, 526(18):3000-3019.
- [15] 朱品欢, 燕兰云, 徐欢, 等. P2Y₁₄ 受体可能参与小胶质细胞介导的偏头痛的中枢敏化 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2020, 26(11):814-820.
- [16] 姚军, 郭小俊, 李前进, 等. 颈 2、颈 1 脊神经节阻滞治疗颈源性头痛的临床观察 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2008, 14 (1):51-52.
- [17] Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory[J]. Science, 1965, 150(3699):971-979.
- [18] Vincent MB, Ekman R, Edvinsson L, *et al.* Reduction of calcitonin gene-related peptide in jugular blood following electrical stimulation of rat greater occipital nerve[J]. Cephalalgia, 1992, 12(5):275-279.
- [19] Martins IP, Gouveia RG, Parreira E. Kinesiophobia in migraine[J]. J Pain, 2006, 7(6):445-451.
- [20] Stronks DL, Tulen JH, Busmann JB, *et al.* Interictal daily functioning in migraine[J]. Cephalalgia, 2004, 24(4):271-279.
- [21] Mattioli L, Funari C, Perfumi M. Effects of rhodiola rosea L. extract on behavioural and physiological alterations induced by chronic mild stress in female rats[J]. J Psychopharmacol, 2009, 23(2):130-142.
- [22] Lipton RB. Tracing transformation: chronic migraine classification, progression, and epidemiology[J]. Neurology, 2009, 72(5 Suppl):S3-S7.
- [23] Su M, Yu SY. Chronic migraine: a process of dysmodulation and sensitization[J]. Mol Pain, 2018, 14: 1744806918767697.
- [24] 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.