



• 学术动态 •

靶向肌肉神经重建可预防和逆转神经离断后大鼠的疼痛行为

摘要 靶向肌肉神经重建 (targeted muscle reinnervation, TMR) 技术是一种预防或减轻残肢痛的干预措施。与早期 TMR 相比, 伤后较长时间 TMR 的效果较差。由于在 TMR 中控制断端神经疼痛缓解的机制尚不清楚, 所以该研究使用了一个临床前模型作为机制研究的平台。在保留性神经损伤 (spared nerve injury, SNI) 之后, 大鼠接受 TMR、单纯神经瘤切除术或损伤部位的假手术。干预措施在 SNI 后立即或延迟 (3 或 12 周) 进行。疼痛行为通过对机械刺激 (针、von Frey 和动态刷) 和冷热刺激 (丙酮和辐射热) 的敏感性来衡量。SNI 对所有机械刺激和寒冷产生超敏反应, 并且在假手术后持续存在。SNI 时行 TMR 可阻止大鼠疼痛行为的发生, 3 周后行 TMR 可使大鼠疼痛行为恢复至基础水平。相比之下, SNI 术后 3 周行神经瘤切除术较 TMR 对痛觉过敏的改善更明显, 但在术后 12 周时无明显效果。此模型中, 在伤后 3 周内进行 TMR 可以减轻神经切断引起的疼痛表型, 伤后 12 周延迟 TMR 未能缓解疼痛行为。该研究重现了截肢手术的临床经验, 证明该模型用于研究 TMR 镇痛机制的有效性。

一、研究背景

靶向肌肉神经重建 (targeted muscle reinnervation, TMR) 是截肢手术的一种神经处置方法。其初始目的是控制生物电假体, 但对截肢后疼痛和神经瘤有作用。一项多中心队列研究表明, 在截肢后 2 周内接受 TMR 的病人中, 49.2% 完全无残肢痛, 45.3% 无幻肢痛。而普通截肢 (无 TMR) 病人中, 无残肢痛和幻肢痛的比例分别为 19.5% 和 21.5%。此外, TMR 病人服用的阿片类药物数量显著较少, 另外两项研究也证明了类似的早期 TMR 在缓解疼痛方面的疗效。目前 TMR 也越来越多地用于治疗神经病理性疼痛。

在 TMR 中, 神经远端被切除, 近端与小的运动分支吻合。例如, 在肱骨截肢术中, 正中神经被包裹在肱骨的运动分支上。考虑到神经修复和再生, 预计 TMR 手术可能导致神经瘤形成和相关疼痛增加。TMR 有意地将神经与不匹配的大尺寸进行匹配, 而忽略了模态匹配, 即大型混合运动感觉神经与微小的肌肉运动分支相连。与神经瘤切除 (neuroma excision, NE) 或 NE 移位术相比, 假设 TMR 是有效果的, 因为它使神经“有地方可去, 有事可做”。然而, 临床研究提供的机会有限, 无法探讨 TMR 后截肢病人疼痛减轻的机制。并且在临床应用中, 在截肢后 6~12 周进行的 TMR 疗效可能不如截肢时进行 TMR。因此, 需要了解 TMR 相关疼痛缓解

的机制, 以提高其缓解神经损伤后疼痛的功效。

既往的 TMR 动物模型评估了截肢时神经轴突组织形态计量学和皮质的记录。但没有测量疼痛, 因为大多数经过验证的动物疼痛行为测量都需要存在受影响的肢体。在该研究中使用大鼠胫神经和腓总神经切断的保留性神经损伤 (spared nerve injury, SNI) 模型不仅模拟截肢, 而且模拟主要神经切除和由此产生的神经性疼痛的一般情况。此外, 评估了 TMR 手术时机对损伤的影响, 这对临床应用具有关键意义。

二、研究方法

1. 动物分组

成年雄性 SD 大鼠被随机分配到不同的干预组。干预手术 (即 TMR、NE 或假手术) 的时机因评估不同假设而有所不同。Sham 组: SNI 后 3 周后进行假 TMR 手术; 神经瘤切除术-3 (NE-3): SNI 术后 3 周后 NE; 靶向肌肉神经重建-3 (TMR-3): SNI 术后 3 周后 TMR; 神经瘤切除术-12 (NE-12): SNI 术后 12 周后 NE; 靶向肌肉神经重建-12 (TMR-12): SNI 术后 12 周后 TMR; 即刻靶向肌肉神经重建 (iTMR): SNI 术后即刻 TMR。

2. 疼痛行为测量

将大鼠单独置于 1/4 英寸网格上的透明塑料围栏 (13 cm×25 cm×25 cm) 中进行测试。所有大鼠在实验室内适应 1 h。所有的行为测试均由一个对



干预组不知情的研究人员进行。所有刺激均应用于手术的左外侧足底和未手术的右外侧足底。主要监测的疼痛行为学指标包括 von Frey 测试、针测试、动态刷测试、Hargreaves 测试、丙酮测试。在 SNI 后 1 周和干预前即刻进行疼痛行为学评分。若大鼠的疼痛行为与基线水平相比无明显变化,则排除其进一步干预。

3. 神经刺激

NE-3 组大鼠在 NE 术后 3~7 周观察是否发生神经再支配。暴露原结扎部位近端腓总神经和胫神经,对神经分支进行刺激。采用神经刺激器 (check-point surgical, cleveland, OH) 分别刺激每条神经,产生振幅为 0.05 mA、持续时间为 100 μ s 的单个脉冲。以刺激腓肠神经作为阴性对照。记录肌颤的出现作为对刺激的反应。

三、研究结果

1. TMR 可减轻已建立的创伤性神经病理性疼痛

SNI 后 3 周,大鼠被随机分配接受 TMR、假手术或 NE,并在这些干预后 1、3、6 和 12 周进行行为学比较。假手术组为暴露损伤坐骨神经和切断运动支的对照组。NE 组可以鉴别神经瘤切除和运动支切断的效果,与 TMR 组比较,可以揭示 TMR 对神经吻合的具体效果。在 SNI 后,3 组的机械痛觉过敏(针)、点状机械过敏(von Frey)、动态机械过敏(动态刷)和冷过敏(丙酮)迅速发展至相当的水平。在 TMR-3 组中,痛觉过敏在干预后 1 周迅速恢复至基线水平。同样,von Frey 阈值增加至基线水平,并在 1、3、6 和 12 周时显著高于假手术组。动态机械过敏(动态刷)反应在 1 周时也迅速下降,与假手术组和 NE 相比保持降低,直到 6 周后效果消退。TMR 组 1 周后冷刺激反应也下降了 36%,且在干预后 6 周仍较假手术组改善。相比之下,与假手术相比,NE 手术在干预后 3 周和 6 周仅在痛觉过敏方面减轻了疼痛行为。其他行为测量不受 NE 的影响。SNI 不会产生任何热过敏。这些发现表明,在 SNI 后 3 周进行的 TMR 快速逆转了疼痛表型。与假手术组相比,NE 组的痛觉过敏有所改善,但在第 3 周和第 6 周时,痛觉过敏较基线时升高,在机械超敏和痛觉超敏方面,第 3 周和第 6 周时的情况与假手术组和基线时相似。

使用 Dunnett 检验进行二次分析,比较每个时间点的治疗结果与前 SNI 基线。结果表明,对于针和 von Frey 试验,只有 TMR-3 使干预后所有时间点的疼痛行为恢复至基线水平。冷刺激测试中,只有 TMR-3 在第 6 周和第 12 周时恢复至基线水平。

NE 组 von Frey 阈值在 12 周时恢复至基线水平,动态刷测试在 3 周和 6 周时达到基线水平。对健侧足部的分析显示,疼痛行为与基线相比有微小变化。

2. 术后神经再生与疼痛行为改变相关

为了评估 NE 组随时间推移疼痛行为改善的可能因素,在其他亚组大鼠中,采用直接神经刺激法,通过刺激切断部位近端胫神经和腓总神经,确定其是否成功再生到远端断端。在 NE 后 3~4 周 ($n=3$),3 条胫神经和 3 条腓总神经中各有 2 条出现肌肉收缩,表明功能神经支配重建。对于所有大鼠,神经刺激表明至少一条神经是连续的。所有 3 只大鼠的腓肠神经刺激均未引起任何肌肉收缩,证实神经被充分隔离以进行单独刺激。另一组中,在干预后 6~7 周的较晚时间点 ($n=5$),刺激使 5 条腓总神经中的 2 条和 5 条胫神经中的 4 条产生了运动反应。观察到对刺激无反应的神经近端位于伤口内,因此它们不指向切口远端。这些发现以及再生纤维的组织学证据表明,早在 NE 术后 3 周,神经再生就足以与远端建立连续性,前提是神经端彼此相对。NE 术后近端切口位置为未控制变量。并且 NE-3 组的疼痛行为表现出随时间推移而改善的趋势,甚至在 12 周时的 von Frey 阈值以及 3 周和 6 周时的动态刷测试中恢复基线水平。

TMR-3 组于术后 3~4 周进行神经刺激,7 例胫神经吻合中 5 例出现股二头肌神经再生,7 例腓总神经吻合中 6 例出现半膜肌收缩。相比之下,在 TMR-12 组中均没有出现收缩。在干预后 3~4 周,对 TMR-3 和 TMR-12 对合的免疫组织化学分析显示,轴突跨越对合(β -tubulin III 染色),没有大体神经瘤形成,并存在再生标志物 Gap43。定性分析显示,与 TMR-12 组相比,TMR-3 组的 β -tubulin III 和 Gap43 染色较多,这证实了神经刺激的结果,即 TMR-12 组的神经再支配减少。

3. 即刻 TMR 可防止除冷超敏反应外的疼痛行为发展

接下来,进一步探讨了 TMR 在其他两种临床相关情况下是否有效:在神经病理性疼痛发生之前受伤时进行的 TMR,以及 TMR 应用于已确定的慢性神经病理性疼痛。为了回答这个问题,评估另外两组大鼠:在 SNI 时进行的 TMR(即刻 TMR, iTMR)和在 SNI 后 12 周进行的 TMR(TMR-12)。将这些干预措施与 SNI 后 3 周进行的 TMR(TMR-3)进行比较。iTMR 防止了痛觉过敏和机械超敏反应的发生。与基线相比,12 周时 iTMR 组的动态机械超敏反应增加,但与 TMR-3 无差异。在 1 周



和 6 周时, iTMR 的冷超敏反应比基线增加, 但与 TMR-3 相比无显著差异。TMR-12 组在所有评估中均未显示疼痛行为减少, 但动态机械超敏反应在 6 周时间点与基线和 TMR-3 相似。这些数据表明, 即刻和早期 (损伤后 3 周) 干预均可预防或减轻疼痛行为。相比之下, 受伤后 12 周的干预效果微乎其微。此外, 在 iTMR 和 TMR-12 组中, 对侧足部相对于基线的变化较小。进一步研究发现, SNI 后延迟 12 周的神经瘤切除对疼痛行为没有影响。

最后, 将 NE-12 与 TMR-12 进行比较, 以确定神经瘤在 12 周后持续疼痛行为中的任何相对作用。这表明不同干预措施之间无显著差异。Dunnett 检验进行二次分析表明, 在针、von Frey 阈值和丙酮测试的所有时间点, 两种治疗均未能逆转 SNI 诱导的疼痛行为。

四、讨论

该研究测试了 TMR 对啮齿类动物主要神经损伤后顽固性疼痛表型的镇痛效果。研究结果表明, 在伤后即刻或伤后 3 周进行 TMR 可逆转或显著降低点状机械过敏、痛觉过敏和冷过敏。这些疼痛行为的变化发生迅速, 且影响至少持续 12 周。然而, 当 TMR 延迟至 SNI 术后 12 周时, 机械超敏反应和冷超敏反应仍较基线升高, 反映了 TMR 对慢性截肢病人的效果较差。这些发现有助于验证该模型是一个合适的平台, 可用于对 TMR 导致的伤害性通路变化进行机制探索。此外, 该模型将有助于评估干预措施的改进, 从而扩大其临床适用性和疗效。

以假手术和 NE 作为 TMR 的对照。首先, 考虑到肌肉反应的变化, 因为分离用于缝合的运动神经会影响对刺激的运动反应。第二, 切断结扎和神经瘤可以消除任何压迫型损伤, 因此 TMR 组和 NE 组之间的唯一区别是切断的近端神经是否直接吻合。与运动支的吻合提供了直接的运动神经再生靶点, 并能立即接触到对再生至关重要的神经营养因子。NE 组切断的神经能再生, 但未接触到神经再生的靶点。然而, 近端刺激显示, NE 组的许多神经最终找到了远端神经残端, 并成功地再支配了远端肌肉。在 NE-3 组中, 神经再支配的时间与痛觉超敏和机械超敏的轻度改善相关。这些结果表明, 在 iTMR 和 TMR-3 组中, 神经瘤切除并不是观察到的疼痛行为快速变化的重要组成部分。

相比之下, NE 组疼痛行为的后期减少突出了神经再支配与疼痛行为减少之间的联系。神经再支配与再生的作用已在神经病理性疼痛模型中得到了

很好的研究。SNI 后, 再生过程在近端切断神经中继续, 导致神经瘤紊乱和与疼痛行为相关的自发传入纤维活动。如果 SNI 后通过用 Sema-3A 治疗神经来阻断再生和自发传入, 则机械超敏反应和异常性疼痛得到改善; 而冷超敏反应仍不能恢复正常。同样, 在既有紊乱的神经瘤再生又有部分神经再支配的结扎模型中, 阻断再生也会减少疼痛行为。这些观察结果表明, 无神经支配的再生在一定程度上驱动了机械超敏反应和超敏痛觉类型的疼痛行为, 而另一个过程可能维持冷超敏反应。

TMR 会产生较差的感觉再生环境, 其次是显著的大小不匹配和感觉运动不匹配。神经大小的不匹配会影响到运动和感觉纤维束逃逸, 而混合的运动或感觉-运动神经吻合明显有利于运动再生。对运动再生和神经再生的支持与 TMR 的最初目的是一致的, 即产生与假体通信的强运动信号。事实上, 研究中的活体内神经刺激证实了运动神经再生的发生。在 NE 组中, 感觉-感觉匹配是可能的, 这进一步支持了影响 TMR 和 NE 疼痛行为的不同机制。在 TMR 中, 有运动再生和神经再生, 但感觉纤维和神经元发生了什么尚不清楚, 这将是研究的关键组成部分。

在 TMR-12 组中观察到无变化的疼痛行为反映了在截肢后较久才进行 TMR 的临床观察结果, 且神经损伤在减轻或预防截肢相关疼痛方面效果较差, 其机制可能与神经再生减少有关。Holmes 等的研究发现, 将结扎 12 个月的坐骨神经分支修复为健康神经时, 仅再生 35% 的运动单位。考虑到 TMR 的大小不匹配, 如果在 12 周时进行干预, 可能有一定比例的纤维必须实现神经再生, 并且不再达到阈值。另一个关键因素是随着时间的推移, 疼痛逐渐集中, 可能会降低任何外周干预的疗效。在复杂性区域疼痛综合征的大鼠模型中, 早期外周给予伤害性受体拮抗剂时, 对疼痛的改善有效, 但在后期不再有效。随着时间的推移, 作为自发传入活动的关键发生器的外周神经可能向背根神经节发生转变。需要开展更多工作来确定疗效丧失背后的机制。

更惊人的发现之一是 TMR 后疼痛行为减轻的速度。TMR 后 1 周内, 大鼠疼痛行为恢复至 SNI 前基线水平。相比之下, NE 组未出现相同的快速反应。因此, 建立对合有助于快速反应, 而不仅仅是切除神经瘤。相比之下, 慢性疾病完全缺乏这种快速反应, 且随着受伤时间的推移, 自发活动和疼痛不再相关。在慢性压迫性神经损伤后早期阻断自

发活动,可使其余神经损伤的自发活动降低至正常水平,并且在阻断失去作用后仍能保持正常水平。然而,伤后10天应用阻断剂仅降低了阻断期间的敏感性。这些发现进一步支持早期干预的关键性,并与12周后应用TMR时疗效丧失相关。

自发传入活动可由外周损伤和背根神经节神经元敏化引起。早期阻断神经损伤部位的自发活动可防止神经元敏化。预防致敏可能是TMR早期应用的另一个重要组成部分。一旦神经元过度兴奋,TMR对其外周轴突的作用可能对维持自发活动和相关疼痛无关。

该模型的局限性:在将其应用于截肢相关疼痛时,与截肢相关的变化(如皮肤变薄和残端炎症)也可能导致截肢病人的疼痛,但在模型中没有出现;另外,神经必须结扎,这除了造成轴突切断外,还

会造成压迫损伤。在手指截肢的情况下,烧灼和牵引神经切除术已经足够,但通常的做法是在截肢前结扎较大的神经,因为它们的神经周围血管系统会带来血肿风险。

未来的工作需要研究TMR在外周和中枢诱导的伤害性过程变化。使用SNI和早期TMR建立的模型显示了对疼痛行为发展的预防。一个特别的挑战是,在临床和该模型中观察到,延迟TMR不能逆转疼痛行为,因此该模型可用于确定克服这一局限性的因素,以扩大可能从TMR获益的临床人群。

(Roth E, Linehan A, Weihrauch D, *et al.* Targeted muscle reinnervation prevents and reverses rat pain behaviors after nerve transection. *Pain*, 2023, 164(2):316-324. 复旦大学附属华东医院,胡军译,郑拥军校)

· 消 息 ·

2024年《中国疼痛医学杂志》征稿与征订

《中国疼痛医学杂志》是由中华人民共和国教育部主管,北京大学和中华医学会疼痛学分会共同主办的专业性学术期刊。报道有关疼痛基础研究和临床诊疗的综合性学术刊物。现已被中文核心期刊(北京大学图书馆)、中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊、世界期刊影响力指数(WJCI)报告等国内权威的文献检索系统收录。《中国疼痛医学杂志》诚邀您投稿、订阅。

投稿:来稿可在杂志官网在线投稿<http://casp.ijournals.cn>,请署真实姓名、工作单位、职称,附单位介绍信(信中须注明未“一稿两投”、署名无争议、对文章内容的真实性负责、无泄密内容)。投稿时请注明通信作者、提供伦理审查批号及证明、基金资助信息,以及详细的通信地址、邮编、联系电话、E-mail等。衷心希望《中国疼痛医学杂志》成为您了解疼痛医学发展和发表科研成果的平台之一。

订购:邮发代号:82-832,本刊为月刊,大16开本,80页,每册定价32.00元,全年12期,共384.00元。欢迎在当地邮局订阅或直接联系编辑部订阅。

编辑部地址:北京市海淀区学院路38号,北京大学医学部《中国疼痛医学杂志》编辑部

杂志官网:<http://casp.ijournals.cn>

联系电话:010-82801712; 010-82801705

电子邮箱:pain1712@126.com

联系人:赵磊



doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2024.02.002

• 特约综述 •

丘脑-边缘系统参与急性疼痛慢性化的研究进展 *

韦东方^{1,2,3} 周 瑜^{1,2,3} 潘翔宇^{1,2,3} 曹君利^{1,2,3,4} △

(¹ 徐州医科大学 江苏省麻醉学重点实验室, 徐州 221004; ² 江苏省麻醉与镇痛应用技术重点实验室, 徐州 221004; ³ 国家药品监督管理局麻醉精神药物研究与评价重点实验室, 徐州 221004; ⁴ 徐州医科大学附属医院 麻醉科, 徐州 221002)

摘 要 疼痛是一种复杂的感觉和情绪情感体验。急性疼痛避免机体过度受伤, 而持续或反复发作的疼痛可能会发展为慢性疼痛。慢性疼痛的发病率逐年上升, 影响了超过 15% 的世界人口, 严重增加了社会经济负担。近年来, 随着脑成像技术的进步, 急性疼痛慢性化的神经回路机制得到广泛的研究。本文从神经影像学 and 动物实验模型相结合的角度, 阐述了疼痛的感觉-识别 (丘脑) 和情绪-情感 (边缘系统) 相关大脑区域在急性疼痛慢性化中的潜在变化, 为开发理想的慢性疼痛治疗方案提供见解。

关键词 急性疼痛慢性化; 神经影像学; 感觉系统; 丘脑-边缘系统

The research progress on the involvement of the thalamic limbic system in the chronicity of acute pain *WEI Dong-fang^{1,2,3}, ZHOU Yu^{1,2,3}, PAN Xiang-yu^{1,2,3}, CAO Jun-li^{1,2,3,4} △

(¹ Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China; ² Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesia and Analgesia Application Technology, Xuzhou 221004, China; ³ NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Narcotic and Psychotropic Drugs, Xuzhou 221004, China; ⁴ Department of Anesthesiology, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, China)

Abstract Pain represents a complex sensory and emotional phenomenon. Acute pain acts as a physiological warning, indicating the necessity to prevent severe injury, while persistent or recurrent pain has the potential to evolve into a chronic condition. The yearly incidence of chronic pain is steadily increasing, impacting over 15% of the global populace and imposing a substantial socioeconomic burden. In recent years, with the advancement of brain imaging technology, extensive research has been conducted to explore the neural circuit mechanisms that modulate the chronicity of acute pain. This article, from the perspective of combining neuroimaging and animal experimental models, elaborated on the potential changes in the sensory perception (thalamus) and emotional processing (limbic system) related brain regions of pain in acute pain chronicity, in order to provide insights for the development of optimal therapeutic strategies for chronic pain.

Keywords the chronicity of acute pain; neuroimaging; sensory system; thalamic-limbic system

疼痛是一种与实际或潜在的组织损伤相关的不愉快的感觉和情绪体验, 或与此相似的经历^[1]。急性疼痛是机体防御潜在有害刺激的基石, 然而持续或反复发作 3 个月以上的疼痛被定义为慢性疼痛, 是当今社会重要的健康问题, 也是导致功能障碍

的主要原因^[2]。其发病率及流行率在全球范围内上升, 影响到超过 15% 的世界人口和 30% 的美国人口^[3]。虽然对急性疼痛的管理和治疗已见成效, 但慢性疼痛病人的需求在很大程度上没有得到满足, 超过 30% 的慢性疼痛病人将他们的疼痛程度描述为

* 基金项目: 科技创新 2030 (2021ZD0203100); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (KYCX23_2953)

△ 通信作者 曹君利 caojl0310@aliyun.com