

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2024.10.007

• 综 述 •

基于病毒载体的神经病理性疼痛靶向基因治疗 *

张魏怡 栾 永 宋辛叶[△]

(大连医科大学附属第一医院麻醉科, 大连 116014)

摘 要 神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 是由躯体感觉系统的损害或疾病导致的疼痛, 严重影响病人的生理和心理健康。但目前的治疗效果往往并不理想。基因治疗是一种新兴的治疗策略, 在诸多研究中已经证实病毒载体介导的基因治疗能够缓解 NP。因此, 本文根据 NP 的病理生理机制作为理论依据, 讨论了基于病毒载体缓解 NP 的基因治疗, 并对不同靶点的基因治疗进行归纳。对未来 NP 的研究方向提供了有益的参考和治疗思路。

关键词 神经病理性疼痛; 病毒载体; 基因治疗

Targeted gene therapy for neuropathic pain based on viral vectors *ZHANG Wei-yi, LUAN Yong, SONG Xin-ye[△]

(Department of Anesthesiology, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116014, China)

Abstract Neuropathic pain (NP) is defined as pain resulting from lesions or diseases of the somatosensory system, significantly impacting patients' physiological and psychological well-being. However, current treatment effect is often not ideal. As an emerging treatment strategy, gene therapy has been showed in various studies to alleviate NP via virus vector-mediated approaches. Therefore, based on the pathological and physiological mechanisms of NP, this article focuses on discussing gene therapy based on viral vectors to alleviate NP and summarizes gene therapy targeting different targets. This provides useful references and treatment insights for future research directions in the field of NP.

Keywords neuropathic pain; virus vector; gene therapy

国际疼痛学会将神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 定义为由躯体感觉系统的损害或疾病导致的疼痛^[1]。NP 容易致使病人产生烦躁和抑郁等一系列心理问题, 对病人的生活质量造成了较大的影响。NP 的药物治疗包括阿片类药物、局部麻醉药、抗抑郁药和抗惊厥药。但长期大量使用, 伴随了较多的不良反应, 如药物依赖、呼吸抑制和胃肠道问题, 以至于不能高效地管理疼痛。因此, 针对 NP 的治疗还需要进一步的探索。

NP 的产生涉及到了多种病理生理机制。针对其发生机制, 运用基因手段可能获得良好的治疗效果。基因治疗是将遗传物质转移到靶细胞, 纠正错误、突变的基因或者特异位点修饰来治疗和预防疾病。病毒载体作为主要的基因递送系统, 利用自然能力将外源基因递送到宿主靶细胞^[2]。不仅有较高

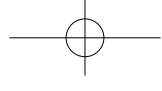
的转染效率, 还表达稳定。在许多领域, 基因治疗已经进行了多项临床实验。在疼痛领域, 临床前研究已将病毒载体携带治疗基因用于缓解 NP, 这些研究为之后的临床试验提供一些可行的方案, 也奠定了坚实的基础。然而, 该领域还存在着诸多挑战, 其中, 免疫源性一直是主要障碍。本文将概述目前已用于 NP 治疗的病毒载体种类、携带疼痛相关基因及其用于临床治疗的局限性。

一、NP 机制概述

NP 不是由组织伤害激活的神经末梢产生的, 而是由神经本身的损伤或病变引起的, 可影响 7%~10% 的人群。分为外周 NP (如糖尿病神经病变、带状疱疹后神经痛^[3]、创伤性神经病变、艾滋病病毒感染) 和中枢 NP (如卒中后疼痛、脊髓损伤后疼痛)。神经元的兴奋性和突触效力增加, 都是疼

* 基金项目: 国家自然科学基金 (31971243)

[△] 通信作者 宋辛叶 0461sxy@163.com



痛传递信号的关键，它们都可能成为治疗疼痛的潜在靶标。神经损伤后，数百个影响神经功能的基因被上调或下调，这可以影响神经元的兴奋性，以及转导和传递特性。神经损伤后，背根神经节和受损伤的轴突末梢上的钠离子通道表达增加，神经纤维自发放电，与疼痛极具相关性。某些钾离子和钙离子通道也在 NP 中发挥着作用。损伤后的神经，也许会造成神经传递障碍，这就等同切断了神经与末端器官之间的联系，而神经营养因子能够作为其中的信号分子参与调控。在脊髓上行通路和下行抑制通路中，伤害性信号的传递受到细胞内因子，例如谷氨酸能、 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 能、血清素能、肾上腺素能、神经激肽、香草素受体、炎症细胞因子和转录因子的调控。

二、病毒载体的基因治疗

1. 基因治疗的概述

将遗传物质有效转移到靶细胞中，用于治疗疾病的方法称为基因疗法。基因疗法是一种特殊管理疼痛的工具，根据启动子、转基因、载体来调节合适的治疗策略。基因治疗将可以调整的基因靶向递送到细胞核产生蛋白质产物，为病人提供遗传信息，从而达到治疗疾病或者预防疾病的目的^[4]。基因治疗的方法包括所需基因的基因替换、对功能不正常的突变基因失活、编辑病人基因组和将外源基因引入靶细胞防止疾病的产生。

2. 病毒载体

现如今，已经拥有了许多病毒载体递送基因的方法。病毒对基因转导提供较高的传递效率，比物理化学转染方法更加有效，并且单次剂量就足以长时间维持，基本不会对非靶细胞产生毒性。病毒载体去除非必须或者有害的基因，保留必须的结构序列，这种复制缺陷病毒颗粒通过病毒表面蛋白与靶细胞相应受体结合，引发细胞内吞作用，进而根据宿主转录机制进行长期的基因表达^[5]。

病毒载体拥有天然感染细胞的能力，可以将治疗基因运送至靶细胞，这使得病毒载体在治疗过程中极具吸引力^[6]。治疗 NP 较为常见的病毒载体包括：逆转录病毒 (retrovirus, RV)、腺病毒 (adenovirus, AdV)、腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV)、单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus, HSV)、慢病毒 (lentivirus, LV)。病毒载体分为整合型病毒载体 (如 RV、LV、AAV、疱疹病毒) 和非整合型病毒载体 (如 AdV)。整合型病毒载体本身没有复制能力，整合到人类染色体才能稳定存在，基因传递到了每个子细胞；其外源基因的表达受插入位点的影响，还可

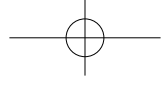
改变宿主细胞生长特性^[7]。非整合型病毒载体避免了插入诱变，但是因不整合到 DNA 中，在细胞分裂过程中易丢失。

(1) RV 载体：RV 属于包膜 RNA 病毒。RV 载体是将 RV RNA 基因组的核心部分 (gag、pol、env) 大部分或全部除去，不影响其他部分的活性。保留病毒颗粒的包装信号，缺失病毒颗粒包装蛋白基因，使载体不能提供 RV 复制所需要的蛋白质，从而感染细胞不能复制病毒^[8]。RV 载体的包装容量大于 AAV 载体，但小于 HSV 载体。RV 载体作为基因转移成熟的工具，能够有效感染多种细胞类型，将载体携带的外源基因整合到分裂的靶细胞基因组中，因而可以在子细胞中传递，进行长期外源基因的表达。但 RV 载体只转导分裂细胞，并且整合后可能会导致插入诱变而引发癌变。

(2) AdV 载体：AdV 载体以双链无包膜 DNA 形式存在，基因组含 35~36 kb，通过受体介导的内吞作用进入细胞内，然后 AdV 基因组转移至细胞核内，保持在染色体外，不整合到宿主细胞基因组中。瞬间表达、转基因效率高、时间长、遗传稳定性、易于大规模生产和大量包装 DNA 是其优点^[9]。但载体衣壳蛋白含量丰富，通常引起较强的免疫应答，可能导致炎症反应，限制了在体内的基因表达持续时间。

(3) AAV 载体：利用天然存在的 AAV 改造后形成的人工转基因载体是 AAV 载体。AAV 是一类单链线状 DNA，自然复制缺陷的非包膜病毒，是非致病性的细小病毒，与人类任何疾病无关。AAV 载体传递的基因整合到病人基因组中，在体内具有极高的感染效率 and 安全性^[10]。将基因插入到唯一的病毒元件，反向末端重复序列 (病毒剩余部分；是基因组复制和包装到衣壳中所需)，可能是免疫原性不强的原因。AAV 载体容量小于 5 kb，限制了治疗基因的长度，因此需要考虑调控元件来选择合适的递送基因。

(4) HSV 载体：HSV 是包膜的双链 DNA 病毒。HSV 载体在周围神经系统的感觉神经元中具有天然的嗜神经性和神经侵袭性，可通过皮肤或者黏膜传播，进行轴突运输，逆行转运，将基因递送到背根神经节神经元中，最终治疗 NP。HSV 基因组中去除即刻早期基因的突变体，使载体正常运输到互补细胞中高滴度繁殖，不会进入到非互补细胞的裂解周期，在体内建立一个持续存在的潜伏状态^[11]。HSV 还具有大包装容量，并且克服了插入诱变的局限性，容易培养治疗所需滴度。



(5) LV 载体: LV 是 RNA 病毒, 属于逆转录病毒科的一个属。LV 载体可以将外源基因整合到病人的染色体上, 达到持久性表达的效果。LV 载体的优点包括低免疫原性、广泛的组织嗜性、稳定整合到宿主基因组中。第一代 LV 载体存在很大一部分艾滋病病毒基因组, 有辅助基因 (vif、vpr、vpu and nef; 不是生长所必需) 和调控基因 (tat and rev; 复制所必需)。第二代 LV 载体去除了辅助基因, 提高了安全性。第三代 LV 载体是将 LV 成分分开构建到两个质粒上, 降低恢复野生型病毒的可能。LV 载体来自人类免疫缺陷病毒-1, 递送基因到背根神经节中具有高效传导, 是探索 NP 治疗有前景的方式。

三、基于病毒载体治疗 NP

1. 神经递质

谷氨酸脱羧酶 (glutamic acid decarboxylase, GAD) 是一种催化谷氨酸转化为 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 的酶。GABA 是中枢神经系统最主要的抑制性神经递质, 对调节疼痛感知至关重要^[12]。在 NP 的情况下, GAD 的活性可能减少, 导致 GABA 的产生下降, 从而减弱了抑制性信号, 增强了疼痛信号的传递。GABA 的增加能够提高抑制性突触传递, 这意味着在疼痛通路中, 传递疼痛信号的神经元被更多抑制。这会导致疼痛信号的上行传导通路减少。GABA 的增加还能减少中枢神经系统的整体兴奋性, 病人对疼痛的感知将会减少^[13,14]。GABA 不仅在疼痛信号的上行传导通路中起作用, 还涉及到疼痛的下行抑制途径。例如, 脊髓水平的 GABA 能神经元可以抑制痛觉信息上行传递, 而大脑中的 GABA 能神经元可以激活下行抑制途径, 减少疼痛感知。

在基因治疗中, 通过向受损的神经系统组织或特定的疼痛通路介导 GAD 基因 (GAD65 或 GAD67: 是合成抑制性神经递质 GABA 的酶) 的表达, 可以增加该区域 GABA 的产生, 从而减轻疼痛。这种策略可能特别适用于因 GABA 能系统功能障碍而遭受慢性疼痛的病人。Tadokoro 等^[15] 将携带 GAD65 的 AAV 载体靶向递送在坐骨神经损伤小鼠模型中, 实现了 2~3 个月的长效镇痛。并且小鼠、猪和非人灵长类在载体递送后长达 2~13 个月中没有检测到不良反应 (如运动无力、感觉丧失)。另一项研究使用了 HSV 载体来评估 GAD67 在外周艾滋病病毒 gp120 诱导的大鼠 NP 中的治疗潜力。结果表明, 皮下接种表达 GAD67 的 HSV 载体能够减轻艾滋病病毒相关 NP 中的机械性痛觉过敏。此外 GAD67 的抗痛觉过敏作用可能通过恢复 GABA

能递质传递功能实现。GAD67 对重建 GABA 能递质传递功能起到关键作用。结果提示 GAD67 可能作为一种治疗 NP 的目标, 为开发与艾滋病病毒相关的周围 NP 的治疗方法提供了新思路^[16]。目前对 GAD 基因治疗的安全性和有效性的研究仍然是在进行中的, 特别是在临床应用上。

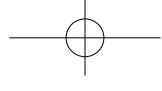
2. 阿片类受体/肽

背根神经节中的阿片类受体/内源性阿片类配体与疼痛初级传入神经元反应调节密切相关, 是疼痛回路调节的基础。直接调控内源性阿片类肽用于镇痛, 降低了外源性阿片类药物耐受的机会, 可减少阿片类药物的用量。在有害的刺激下, 脊髓背角内脑啡肽能神经元通路兴奋释放脑啡肽, 抑制了谷氨酸能神经元的传递, 降低痛觉感受^[17]。病毒载体多携带由前脑啡肽在神经元中编码的内源性阿片类肽 (如脑啡肽、强啡肽和 β -内啡肽), 参与多种神经系统调节机制。例如, 编码 μ 阿片受体和前脑啡肽基因组合的 HSV 载体递送到小鼠脊神经结扎模型中, 进而增强神经损伤后外周 μ 阿片受体表达, 通过对初级传入信号传导的影响来减少 NP 相关行为。研究结果显示, 增加阿片受体和内源性阿片类配体脑啡肽的初级传入表达可以减轻机械性异常性疼痛和热痛觉过敏^[18]。

Nav1.7 是一种电压门控钠离子通道, 它在调节疼痛感知中起着关键作用。特别是在周围神经系统中, Nav1.7 的表达增强与一些疼痛症状的出现有关。脑啡肽与阿片受体结合可能导致钠通道的磷酸化, 从而改变其功能, 减少钠离子的流动性, 降低神经细胞的兴奋性。Chattopadhyay 等^[19] 发现在糖尿病大鼠中, 脑啡肽的持续产生减少了大鼠疼痛的伤害行为。在痛性糖尿病神经病变中, 体内 HSV 载体装载的脑啡肽阻止了背根神经节中 Nav1.7 表达的增加。靶向递送内源性阿片类药物作用于阿片受体, 增强外周阿片类镇痛, 对逆转 NP 是有益的^[20]。HSV 递送方式的应用提供了一种可转化的治疗策略。

3. 细胞因子

神经损伤后免疫细胞释放抗炎因子 (白细胞介素-10、白细胞介素-4、肿瘤坏死因子 α), 来预防和阻断信号分子介导的疼痛通路。这些细胞因子在疼痛的调控中发挥着复杂且互相关联的作用。通过调节这些因子的活动, 可以为疼痛治疗提供新的策略。Park 等编码了白细胞介素-10 和/或白细胞介素-4 的 LV 载体对脊髓损伤后 NP 进行治疗。结果证明, 与对照组相比, 抗炎细胞因子的组合显著



减轻了机械和热超敏反应,并促进了轴突再生^[21]。另外也有证据证明,HSV作为载体编码白细胞介素-10在糖尿病模型中,减少了糖尿病神经病变导致的疼痛^[22]。

脊髓的星形胶质细胞活化可以释放神经营养因子,它具有保护神经的作用。神经营养因子被发现能够对中枢敏化产生影响。中枢敏化是指在持续痛觉刺激下,脊髓和大脑的痛觉神经元变得更加敏感,导致疼痛感知的增强和持久化。神经营养因子能够通过调节神经元的活动来影响中枢敏化的过程,从而在减轻疼痛方面显示出潜在的治疗作用^[23]。Kim等^[24]使用AAV载体进行传递基因,通过经孔硬膜外注射法成功地将AAV载体递送到靶向的脊神经节细胞中。通过Western印迹等实验技术,验证了重组AAV病毒表达的标记蛋白是成功表达的。研究中同时使用了GAD65、白细胞介素-10和神经营养因子三个基因进行治疗。结果表明,三个基因的同时表达有明显的协同效应,能够显著减轻神经痛症状,调节神经细胞活性,显著优于任何两个基因的组合。表明同时靶向多个基因进行联合治疗也能够取得更好的效果。全身应用药物进行疼痛治疗,能够产生较多不良反应,而靶向细胞因子的治疗,最大程度减少了不良反应的发生。

4. 离子通道或受体

各种离子通道、受体在神经损伤后表现出过度兴奋状态,促进疼痛信号传导,并且在背根神经节中显示上调。离子通道阻滞剂和受体阻滞剂由于在选择性方面受到抑制,会脱靶产生不良反应。而选择特定的疼痛通道和受体进行基因阻滞,能够增加特异性和减少不良反应。通过基因沉默敲低技术降低离子通道的过度兴奋、抑制介导疼痛的受体的编码或者直接下调炎症因子^[25]。RNA在NP的研究方面具有广阔的前景。

背根神经节中使用RNA干扰可能是潜在的治疗方式,例如小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)和短发夹RNA(short hairpin RNAs, shRNA)参与基因沉默现象。钠离子通道(Nav1.3、Nav1.7、Nav1.8和Nav1.9)作为兴奋性细胞静息电位和动作电位的基础,被认为是镇痛治疗的潜在研究靶点。SCN9A是编码Nav1.7的一种基因。将siRNA-SCN9A直接转染到神经元细胞中可以使Nav1.7的表达下调,但siRNA具有不稳定性并且容易降解。Fu等^[26]在显微镜下注射LV-siSCN9A作用在化疗药物长春新碱诱导的NP大鼠中。通过Western印迹和定量PCR技术,与对照组相比,LV-siSCN9A组的Nav1.7

mRNA和蛋白表达水平显著降低。行为学实验证实,LV-siSCN9A组的机械戒断阈值和热戒断潜伏期同样显著降低。Toll样受体7在背根神经节的神经元中表达。脊神经损伤或坐骨神经的慢性缩窄性损伤导致Toll样受体7在mRNA和蛋白水平上的表达显著增加。He等^[27]将表达Toll样受体7 shRNA的AAV注射到背根神经节中,减轻了小鼠的机械性、热超敏反应。通过直接阻断疼痛靶点是精准治疗的优势。

四、临床研究与局限性

病毒载体已经在疫苗、癌症、中枢神经系统疾病和关节炎方面用于临床试验。临床前研究已经证实,HSV载体转移基因到背根神经节中可以减轻NP。例如,HSV载体转导脑啡肽已在临床试验^[28]。

病毒载体体会引发免疫介导的排斥反应、基因错误插入、遗传毒性和细胞毒性等风险。例如,RV病毒身为整合载体进行随机整合,有插入突变和重排的潜在危险。AAV病毒具有多种血清型(衣壳),人类体内可能会有预先存在的抗体,这也许是基因治疗的障碍^[29]。基因治疗临床病例中,由于载体整合,抑癌基因失活或原癌基因被激活可造成癌变^[30]。考虑每种病毒载体与疾病可能会产生的风险和益处,设计无害且无不良反应的基因疗法是成功的关键。

五、结论

NP的基因治疗是一个高度专业化的领域,涉及将特定的基因传递到病人的体内,以改变疼痛信号的传递、处理或感知。基于病毒载体的方法是通过使用改造后的病毒将治疗基因传递到目标细胞。这些病毒载体已经被设计为无法复制或引起疾病,但可以高效地将遗传物质运送到宿主细胞中。总体而言,根据NP的机制精准进行靶向的基因治疗展现出了显著的疗效潜力,这在多项前沿研究中已经得到了体现。尽管如此,我们仍需警觉于此类治疗策略的复杂性和潜在风险。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Bannister K, Sachau J, Baron R, *et al.* Neuropathic pain: mechanism-based therapeutics[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2020, 60:257-274.
- [2] Shirley JL, de Jong YP, Terhorst C, *et al.* Immune responses to viral gene therapy vectors[J]. *Mol Ther*, 2020, 28(3):709-722.
- [3] 曾永芬,金毅.带状疱疹后神经痛发病危险因素研究进展[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2020, 26(8):603-608.

- [4] Li X, Le Y, Zhang Z, *et al.* Viral vector-based gene therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9):7736.
- [5] Kibaly C, Loh HH, Law PY. A mechanistic approach to the development of gene therapy for chronic pain[J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2016, 327:89-161.
- [6] Zhao Z, Anselmo AC, Mitragotri S, *et al.* Mitragotri, Viral vector-based gene therapies in the clinic[J]. *Bioeng Transl Med*, 2022, 7(1):e10258.
- [7] High KA, Roncarolo MG. Gene therapy[J]. *N Engl J Med*, 2019, 381(5):455-464.
- [8] Miller AD. Retroviral vectors[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1992, 158:1-24.
- [9] Sosnovtseva AO, Stepanova OV, Stepanenko AA, *et al.* Recombinant adenoviruses for delivery of therapeutics following spinal cord injury[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:777628.
- [10] Mendell JR, Al-Zaidy SA, Rodino-Klapac LR, *et al.* Current clinical applications of in vivo gene therapy with AAVs[J]. *Mol Ther*, 2021, 29(2):464-488.
- [11] Mody PH, Pathak S, Hanson LK, *et al.* Herpes simplex virus: a versatile tool for insights into evolution, gene delivery, and tumor immunotherapy[J]. *Virology (Auckl)*, 2020, 11:1178122X20913274.
- [12] Sarasa SB, Mahendran R, Muthusamy G. A brief review on the non-protein amino acid, gamma-amino butyric acid (GABA): its production and role in microbes[J]. *Curr Microbiol*, 2020, 77(4):534-544.
- [13] Li J, Zhang X, Xu C, *et al.* Intrathecally administered pizotifen alleviates neuropathic and inflammatory pain in mice by enhancing GABAergic inhibition[J]. *Neurosci Lett*, 2022, 775:136545.
- [14] 张秉宸, 马克涛, 罗淑. 中脑导水管周围灰质腹外侧区中 γ -氨基丁酸受体在疼痛调节中作用的研究进展 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2023, 29(10):759-765.
- [15] Tadokoro T, Bravo-Hernandez M, Agashkov K, *et al.* Precision spinal gene delivery-induced functional switch in nociceptive neurons reverses neuropathic pain[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(8):2722-2745.
- [16] Kanda H, Kanao M, Liu S, *et al.* HSV vector-mediated GAD67 suppresses neuropathic pain induced by perineural HIV gp120 in rats through inhibition of ROS and Wnt5a[J]. *Gene Ther*, 2016, 23(4):340-348.
- [17] Bai Y, Li MY, Ma JB, *et al.* Enkephalinergic circuit involved in nociceptive modulation in the spinal dorsal horn[J]. *Neuroscience*, 2020, 429:78-91.
- [18] Klein AH, Mohammad HK, Ali R, *et al.* Overexpression of micro-opioid receptors in peripheral afferents, but not in combination with enkephalin, decreases neuropathic pain behavior and enhances opioid analgesia in mouse[J]. *Anesthesiology*, 2018, 128(5):967-983.
- [19] Chattopadhyay M, Mata M, Fink DJ. Continuous delta-opioid receptor activation reduces neuronal voltage-gated sodium channel (Nav1.7) levels through activation of protein kinase C in painful diabetic neuropathy[J]. *J Neurosci*, 2008, 28(26):6652-6658.
- [20] Piotrowska A, Starnowska-Sokół J, Makuch W, *et al.* Novel bifunctional hybrid compounds designed to enhance the effects of opioids and antagonize the pronociceptive effects of nonopioid peptides as potent analgesics in a rat model of neuropathic pain[J]. *Pain*, 2021, 162(2):432-445.
- [21] Park J, Decker JT, Smith DR, *et al.* Reducing inflammation through delivery of lentivirus encoding for anti-inflammatory cytokines attenuates neuropathic pain after spinal cord injury[J]. *J Control Release*, 2018, 290:88-101.
- [22] Thakur V, Gonzalez M, Pennington K, *et al.* Viral vector mediated continuous expression of interleukin-10 in DRG alleviates pain in type 1 diabetic animals[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2016, 72:46-53.
- [23] Kotliarova A, Sidorova YA. Glial cell line-derived neurotrophic factor family ligands, players at the interface of neuroinflammation and neuroprotection: focus onto the glia[J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15:679034.
- [24] Kim D, Kim KR, Kwon Y, *et al.* AAV-mediated combination gene therapy for neuropathic pain: GAD65, GDNF, and IL-10[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2020, 18: 473-483.
- [25] Wang L, Yang JW, Lin LT, *et al.* Acupuncture attenuates inflammation in microglia of vascular dementia rats by inhibiting miR-93-mediated TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020:8253904.
- [26] Fu B, Zhu R. Analgesia effect of lentivirus-siSCN9A infected neurons in vincristine induced neuropathic pain rats[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2):12498-12508.
- [27] He L, Han G, Wu S, *et al.* Toll-like receptor 7 contributes to neuropathic pain by activating NF- κ B in primary sensory neurons[J]. *Brain Behav Immun*, 2020, 87:840-851.
- [28] Wolfe D, Wechuck J, Krisky D, *et al.* A clinical trial of gene therapy for chronic pain[J]. *Pain Med*, 2009, 10(7):1325-1330.
- [29] Klamroth R, Hayes G, Andreeva T, *et al.* Global seroprevalence of pre-existing immunity against AAV5 and other AAV serotypes in people with hemophilia A[J]. *Hum Gene Ther*, 2022, 33(7-8):432-441.
- [30] Kitsou K, Lagiou P, Magiorkinis G. Human endogenous retroviruses in cancer: oncogenesis mechanisms and clinical implications[J]. *J Med Virol*, 2023, 95(1): e28350.