

4 种常用神经病理痛动物模型的评价*

叶佳瑜¹, 颜思思¹, 蒋永亮^{1,2}, 何晓芬^{1,2}, 杜俊英^{1,2}, 陈利芳^{1,2}, 方剑乔^{3△}

(1. 浙江中医药大学第三临床医学院, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学附属第三医院, 浙江 杭州 310005;

3. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘要: 神经病理痛动物模型是研究神经病理痛的基础,能够模拟临床神经病理痛的症状和体征,为神经病理痛的研究提供科学依据。由于神经病理痛发病机制复杂、多样,单一的模型不能完全复制全面的神经病理痛情况,因此需要各种具有临床针对性的理想的神经病理痛动物模型。本文就 4 种常用的神经病理痛模型进行综述,以期对神经病理痛的研究提供参考。

关键词: 神经病理痛; 动物模型; 综述

中图分类号: R-332 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2015)04-0092-04

神经病理痛是由神经系统原发性损害和功能障碍所激发或引起的疼痛,以自发性疼痛、痛觉过敏和痛觉超敏为主要特征^[1],是临床治疗的难点,因此也是基础研究的热点。神经病理痛动物模型是研究神经病理痛的基础,动物模型的制作在神经病理痛的研究中占据重要的地位^[2-3]。目前最常用的神经病理痛动物模型主要包括坐骨神经慢性压榨模型^[4](The chronic constriction injury of the sciatic nerve, CCI)、坐骨神经部分结扎模型^[5](The partial sciatic nerve ligation model, PSL)、脊神经选择结扎模型^[6](The spinal nerve ligation model, SNL)、坐骨神经分支选择性损伤模型^[7](The spared nerve injury model, SNI)等 4 种。就其造模方法、特点、行为学等综述如下。

1 4 种神经病理痛模型的构建方法及特点

1.1 坐骨神经慢性压榨(CCI)模型

CCI 模型模拟的是临床坐骨神经慢性缩窄性损伤。造模方法为在右大腿中部处切开皮肤,钝性分离股二头肌,暴露坐骨神经干,于坐骨神经分支近端处用羊肠线松扎坐骨神经 4 道,每 2 道之间间隔 1mm,结扎强度以伤口周围肌肉产生一个小的短暂性抽搐为宜^[4]。原理是利用羊肠线遇水膨胀的性质,形成对神经慢性机械性压迫、炎症刺激和神经有髓

鞘纤维受压后产生的神经损伤,故导致该模型的疼痛原因应包括炎性痛和神经病理痛^[8]。目前认为^[9-10],临床常见局部慢性痛的病因机制主要分为病灶处机械性刺激、炎性反应持续作用于周围伤害性感受器和外周神经、脊髓的后根或后根神经节细胞损伤这两种。一般情况下,2 种病因同时存在,相互作用。因此 CCI 模型造模后引起的疼痛与临床坐骨神经痛等慢性痛的病因最贴切。另外,CCI 模型操作简便,手术难度小,故受到研究者的青睐。其缺点是造模中最关键的一步——羊肠线结扎受术者的主观影响大,过紧遇水膨胀后易造成内膜水肿、血管淤血;过松则对神经的压迫和损伤不够,故模型的重复性较差。

出于羊肠线的结扎重复性差的考虑,马骋等^[11]对肠线、丝线、PE 套管 3 种材料制备的 CCI 模型进行了比较,研究发现,羊肠线仍是制备 CCI 模型的首选,经过生理盐水浸泡后,能增强结扎手感。另外,林露等^[12]对 CCI 模型进行了改良,采用无菌多孔胶皮包裹坐骨神经干后再行丝线结扎。与传统 CCI 模型相比,此法对神经干的压迫力度更一致,减少了术者的主观影响,同时避免了因神经鞘膜水肿急性期造成丝线对神经干的急性切割。尽管如此,CCI 模型仍需要术者增强手感,熟悉神经结扎度的微小

* 基金项目: 国家自然科学基金(81303038)

收稿日期: 2015-04-28

作者简介: 叶佳瑜(1990-),女,浙江瑞安人,在读硕士研究生,研究方向:针刺镇痛与免疫调节的相关性研究。

△通信作者: 方剑乔, E-mail: fangjianqiao7532@163.com

差别,以保障模型的成功率。

1.2 坐骨神经部分结扎(PSL)模型

PSL模型模拟的是临床坐骨神经受损后引起的灼性痛。造模方法采用在股骨远端关节近股骨转子处切开皮肤,钝性分离股二头肌等肌肉,暴露坐骨神经后,仔细分离出坐骨神经干的背侧和周围组织,用固定钳钳夹坐骨神经背侧部分的神经外膜,同时避免压迫外膜下的结构,用针将硅丝线穿入并紧扎约1/3~1/2厚度的神经干^[5]。坐骨神经痛是临床常见多发的神经病理痛,灼性痛又是坐骨神经痛的主要症状之一^[13],而部分神经损伤是造成灼性痛的主要原因;同时坐骨神经干是神经系统中最粗大的神经,对大鼠坐骨神经进行半结扎较其它神经难度小^[14-15],故PSL模型对研究临床坐骨神经引起的灼性痛具有较大的参考价值和一定的可行性。另外,PSL模型造模也相对简单,与CCI模型相比,需要紧扎神经干,故受术者主观影响较少;不足之处是,术后观察发现PSL模型患足有一定的挛缩现象^[16],若后期要进行相关行为学的检测,需要进一步考虑。

1.3 脊神经选择结扎模型(SNL)模型

SNL模型模拟的是临床腰椎间盘突出症。造模方法选择大鼠脊柱右侧旁开0.5cm处,沿L3-S2垂直切开背部皮肤,钝性分离皮下组织和椎旁肌肉,暴露L4-S2横突。用小咬骨钳咬除L6横突,暴露、分离L4、L5脊神经,用丝线紧扎内侧L5脊神经^[6,17]。SNL模型损伤的仅仅为L5神经丛和后根,故损伤节段与未损节段完全分离,适用于对比损伤和未损伤的脊髓节段来研究烧灼痛机制^[18]。另外,临床上常见的腰椎间盘突出症主要是因为脊髓髓核等发生退行性改变和外力因素的作用下,椎间盘的纤维环破裂,髓核组织从破裂之处突出(或脱出)于后方或椎管内,导致相邻脊神经根遭受刺激或压迫,从而产生一系列临床症状,以腰4-5、腰5-骶1突出最多见^[19-20]。故SNL模型的造模原理符合腰椎间盘突出症的定位和病因,能模型临床腰突症状,是研究腰椎间盘突出症的理想模型。又因为SNL模型术后患足除轻度外翻、足趾紧收外,未见运动缺陷和畸形改变等异常现象^[6],成为近年来兴起的研究痛情绪和痛记忆的主要模型之一^[21]。SNL模型具有高度的可重复性,但较CCI模型、PSL模型相比,手术过程复杂,手术范围大,术后易发感染,成功率较

低。另外,SNL模型不适用于单一周围神经支配的神经病理痛研究。

1.4 坐骨神经分支选择性损伤(SNI)模型

SNI模型是相对较新型的外周神经损伤导致的长时程神经病理痛模型。造模方法是,于大鼠股骨中点下约0.5cm处,即与坐骨神经平行方向切开皮肤,钝性分离股二头肌,暴露坐骨神经干及其远端分支,玻璃分针分离周围粘连组织和坐骨神经的3条分支:胫神经、腓总神经和腓肠神经,用丝线紧紧结扎胫神经和腓总神经,同时在神经干结扎的远端用眼科剪剪掉大约2~4mm神经干^[7]。SNI模型结扎的是坐骨神经的分支,相较以上3种模型而言,神经损伤的位置较低,且保留了其中一支分支,一方面使神经支配的区域定位更精确化,又能保证感觉信号的传入神经途径的完整性,还能对另两分支支配的区域进行一定的神经营养^[12]。同时,SNI模型造模方法简单,可重复性高,故得到了较广泛地运用。其缺点是患足也存在一定的挛缩、外翻现象^[22],且神经损伤导致的痛敏一般认为仅累及机械痛异常^[23],热刺激的缩足潜伏期阈值未见明显^[12,24],故行为学检测局限。但也因为SNI模型大鼠热敏和机械痛敏分离的独特现象,使SNI模型有别于其它3种模型,存在揭示神经病理痛发生的新机制的可能性。

2 不同神经损伤方式的区别与应用

损伤神经的方式存在多种选择,一般包括结扎、结扎后切断、结扎后切断并去除末梢一段神经、双重结扎后切断等4种方法^[7,25-26]。即使相同模型在暴露神经后,用何种方式造成神经损伤也不能一概而论。首先需要指出的是结扎和切断之间存在一定的差异,结扎造成的损伤偏慢性,而切断则以急性为主;结扎后切断、结扎后切断并去除末梢一段神经以及双重结扎后切断均为急性损伤,三者之间的差异不大,后两者为出于防止神经再生续接的考虑。因此,造模时应根据模型的性质和实验时间的长短选择合适的损伤方式,急性切断,慢性结扎,急性短期实验(<14d)可仅切断;急性长期实验(>14d),最好结扎后切断并去除末梢一段神经或双重结扎后切断。

3 4种神经病理痛模型的疼痛行为学、机械痛敏、热痛敏比较

3.1 疼痛行为学

4种神经病理痛模型都存在自卫、过度舔舐患

足、患足承重能力下降等被视为自发性疼痛的行为,偶有累及健侧,造成镜像痛报道^[27-28]。CCI、PSL、SNI 3 种模型还存在患足蜷曲、外翻等形态改变。另有报道称,CCI 模型和 SNL 模型部分大鼠还存在轻中度的自残行为^[11,29]。

3.2 机械痛敏

4 种神经病理痛模型都存在长时程的机械痛敏,包括机械痛觉过敏和超敏现象。其中,PSL 最早出现机械痛敏现象,在神经结扎后的几小时内就表现出对 von Frey 纤维丝刺激的痛觉超敏现象,其后依次为 SNI、CCI、SNL;在对机械刺激的敏感性上,SNI 和 SNL 的敏感性优于 CCI;总体稳定性上来讲,以 SNL 和 SNI 的稳定性最强^[2,26,30-32]。

3.3 热痛敏

普遍认为 CCI、PSL、SNL 3 种神经病理痛模型都存在热痛敏现象^[26,32-34],其中以 CCI 对热刺激的敏感性最优,这可能与 CCI 模型中的炎症反应有关^[29]。一般认为 SNI 对热刺激不敏感,一般只作为评判模型成败与否的参考标准。但也有文献显示^[7,35]SNI 模型同样存在热痛敏现象。所以关于 SNI 模型热痛敏的情况仍需要做进一步的研究。

4 小结

综上所述,CCI、PSL、SNL、SNI 4 种神经病理痛模型造模方法各异,原理也各不同,但主要是通过损伤外周神经来完成模型的制备,也都存在各自的优势和局限性。其中,CCI 模型模拟的是临床坐骨神经慢性缩窄性损伤,且病因学与临床疼痛机制最符合,但模型重复性低;PSL 模型模拟的是临床坐骨神经引起的灼性痛,模型简单,可重复性高,但患足有一定的挛缩现象,不利于相关行为学检测;SNL 模型模拟的是临床腰椎间盘突出症,模型重复性高,同时适用于从损伤和未损伤的不同脊髓节段来进行对比研究,但造模复杂,成功率低,术后易感染,且 SNL 模型不适用于单一周围神经支配的神经病损研究;SNI 模型是相对较新型的外周神经损伤导致的长时程神经病理痛模型,模型简单,可重复性高,机械痛敏和热痛敏分离的现象既是其优点,又是其缺点。故采用何种神经病理痛模型应根据研究的实际情况而定,不能盲目取舍。另外,选择何种神经损伤方式也要做进一步地考虑。由于神经病理痛仍然是当前临床和研究的难度、热点,因此在未来较长时间内,动物模型都将是研究该疾病的重要

手段。加强对这 4 种模型的了解,有助于研究的顺利开展,使其更好地指导临床实践。

参考文献:

- [1] Jensen TS, Baron R, Haanpää M, et al. A new definition of neuropathic pain[J]. Pain, 2011, 152(10):2204-2205.
- [2] Wang LX, Wang ZJ. Animal and cellular models of chronic pain [J]. Advanced Drug delivery Reviews, 2003, 55(8): 949-965.
- [3] 张梦. 疼痛相关疾病动物模型研究概况 [J]. 西部医学, 2014, 26(6):814-816.
- [4] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man[J]. Pain, 1988, 33(1):87-107.
- [5] Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury[J]. Pain, 1990, 43(2):205-218.
- [6] Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat[J]. Pain, 1992, 50(3):355-363.
- [7] Isabelle Decosterd, Clifford J Woolf. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain[J]. Pain, 2000, 87(2):149-158.
- [8] 王红,冯泽国,徐龙河,等. 坐骨神经慢性挤压伤模型大鼠行为学及形态学变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(23):4590-4593.
- [9] 赵英. 慢性疼痛的产生机制 (1)[J]. 中国临床康复, 2005 (6):163.
- [10] Bolay H, Moskowitz MA. Mechanisms of pain modulation in chronic syndromes[J]. Neurology, 2002, 59(2):2-7.
- [11] 马骋,李翠贤,易建良,等. 不同材料制备大鼠神经病理性疼痛 CCI 模型的比较 [J]. 中国药理学通报, 2008, 24(4):555-557.
- [12] 林露,陶国才,易斌. 3 种神经病理性疼痛大鼠模型的评价[J]. 重庆医学, 2011, 40(1):3-6.
- [13] D.Bridges, S.W.N. Thompson, A.S.C.Rice. Mechanisms of neuropathic pain[J]. Neuron, 2006, 52(1):77-92.
- [14] 杨安峰,王平. 大鼠的解剖和组织[M]. 北京:科学出版社, 1980:242.
- [15] 徐建广,顾玉东. 大鼠坐骨神经显微解剖及其意义[J]. 上海医学, 1999, 22(3):154-156.
- [16] 王英伟,卞金俊,邓小明,等. 神经病理性疼痛大鼠背根神经节钠离子通道 β 亚基 mRNA 表达的变化 [J]. 中华麻醉学杂志, 2006, 26(6):555-557.
- [17] Chung JM, Kim HK, Chung K. Segmental spinal nerve ligation model of neuropathic pain[J]. Methods in molecular medicine, 2004, 99:35-45.

- [18] 伍静,师长宏. 神经病理性痛动物模型的研究进展[J]. 西北国防医学杂志,2008,29(1):48-50.
- [19] 段红光. 腰椎间盘突出症的发病机制和诊断 [J]. 中国全科医学,2012,15(12):4227-4230.
- [20] 马力军,王钢. 腰椎间盘突出症的发病机制研究进展[J]. 湖南中医杂志,2013,29(3):125-127.
- [21] Kontinen VK, Kauppila T, Paananen S, et al. Behavioural measures of depression and anxiety in rats with spinal nerve ligation-induced neuropathy[J]. Pain 1999,80(1):341-346.
- [22] 魏小洁,郭曲练,王懿春,等. 大鼠坐骨神经分支选择结扎切断模型的建立及脊髓背脚 N-甲基-D-天冬氨酸受体检测 [J]. 中国现代医学杂志,2008,18(10):1383-1387.
- [23] Pertin M, Allchorne A J, Beggah A T, et al. Delayed sympathetic dependence in the spared nerve injury (SNI) model of neuropathic pain[J]. Molecular Pain,2007,3(1):21-31.
- [24] Shields SD, Eckert WA, Basbaum AI. Spared nerve injury model of neuropathic pain in the mouse:a behavioral and anatomic analysis[J]. The Journal of Pain 2003,4(8):465-470.
- [25] 陈晶,周亮,王亚云,等. 揭示神经病理性疼痛机制:坐骨神经分支选择性损伤模型的研究进展 [J]. 中国临床康复,2005,9(1):139-141.
- [26] 金小高,罗爱林,张广雄. 三种大鼠神经病理性疼痛模型的制备和效果比较 [J]. 临床麻醉学杂志,2005,21(5):338-340.
- [27] Erichsen HK, Blackburn-Munro G. Pharmacological characterisation of the spared nerve injury model of neuropathic pain[J]. Pain,2002,98(1):151-161.
- [28] Shir Y, Campbell JN, Raja SN, et al. The Correlation Between Dietary Soy Phytoestrogens and Neuropathic Pain Behavior in Rats After Partial Denervation [J]. Anesthesia & Analgesia,2002,94(2):421-426.
- [29] 任士飞,张林吉,汪鹏旭,等. 大鼠 SNL 神经性疼痛模型的建立[J]. 实验动物科学,2014,31(2):29-31.
- [30] Smith AK, O Hara C L, Stucky CL. Mechanical sensitization of cutaneous sensory fibers in the spared nerve injury mouse model[J]. Molecular Pain,2013,9(1):61-76.
- [31] Yoon C, Young Wook Y, Heung Sik N, et al. Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain[J]. Pain,1994,59(3):369-376.
- [32] Malmberg AB, Basbaum Kanai Y, Nakazato E ,et al. Involvement of an increased spinal TRPV1 sensitization through its up-regulation in mechanical allodynia of CCI rat[J]. Neuropharmacology,2005,49(7):977-984.
- [33] Malmberg AB, Basbaum AI. Partial sciatic nerve injury in the mouse as a model of neuropathic pain:behavioral and neuroanatomical correlates[J]. Pain,1998,76(1):215-222.
- [34] Vilceanu D, Honore P, Hogan QH, et al. Spinal Nerve Ligation in Mouse Upregulates TRPV1 Heat Function in Injured IB4-Positive Nociceptors [J]. The Journal of Pain,2010,11(6):588-599.
- [35] 王雪莹,郭保霖,刘磊,等. 坐骨神经选择性损伤痛模型小鼠脊髓背角线粒体解偶连蛋白 UCP4 的表达变化[J]. 神经解剖学杂志,2012,28(3):253-258.

(编辑:徐建平)

Assessment in Research on Four Animal Models of Neuropathic pain

YE Jiayu¹, YAN Sisi¹, JIANG Yongliang^{1,2}, HE Xiaofen^{1,2}, DU Junying^{1,2}, CHEN Lifang^{1,2}, FANG Jianqiao^{3△}

(1. The Third Clinical Medical college of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;

2. The Third Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;

3. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: Animal models of neuropathic pain provide pivotal system for preclinical study, for the similarity to clinical neuropathic pain syndromes. However, the complex and various pathogenesis of neuropathic pain call for differential and relevant animal models of neuropathic pain. This article reviews four of the most widely used and promising new models of neuropathic pain. Chronic constriction injury model (CCI), partial spinal ligation model (PSL), and spinal nerve ligation model (SNL) represent three of the best characterized rodent models of peripheral neuropathy. While, spared nerve injury model (SNI) have been widely and recently reported. All of them are established to study the molecular mechanism of pain, especially for neurotransmitter release and signal transduction. Each model is uniquely created with distinct mechanisms, it is therefore essential to report and interpret results in the context.

KEY WORDS: neuropathic pain; animal model; review