

· 实验研究 ·

氯吡格雷对疼痛-抑郁共病小鼠海马组织炎性因子及小胶质细胞的影响

杨天保 王梓竹 刁寒冰 潘志强 高巨

【摘要】 目的 研究氯吡格雷对疼痛-抑郁共病模型小鼠行为学、海马组织炎性因子及小胶质细胞的影响。方法 选择 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 24 只, 8 周龄, 体重 23~27 g。采用随机数字表法将小鼠分为三组: 假手术组(C 组)、保留坐骨神经损伤(SNI)组(S 组)和 SNI+氯吡格雷组(L 组), 每组 8 只。C 组手术过程与制备 SNI 模型一致, 但不损伤神经, 保持神经完整; S 组制备 SNI 模型; L 组在制备 SNI 模型后 21 d 起给予氯吡格雷 10 mg/kg 灌胃, 连续 14 d。于术前 1 d、术后 7、14、21、28、35 d 检测机械缩足反射阈值(MWT)。于术后 35、37 d 分别进行悬尾实验(TST)和强迫游泳实验(FST), 并计算不动时间。行为学实验后处死小鼠, 取右侧海马组织, 采用 ELISA 法检测 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 浓度, 采用 RT-PCR 法检测 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达量, 采用免疫荧光染色法检测小胶质细胞数量。结果 与 C 组比较, S 组和 L 组术后 7、14、21、28、35 d MWT 明显降低, TST 和 FST 不动时间明显延长, 海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度和 mRNA 表达量明显升高, 小胶质细胞数量明显增多($P < 0.05$)。与 S 组比较, L 组术后 28、35 d MWT 明显升高, TST 和 FST 不动时间明显缩短, 海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度和 mRNA 表达量明显降低, 小胶质细胞数量明显减少($P < 0.05$)。结论 氯吡格雷可以降低疼痛-抑郁共病小鼠海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度和 mRNA 表达量, 减轻炎症反应, 减少小胶质细胞数量, 改善慢性神经病理性痛和抑郁。

【关键词】 氯吡格雷; 神经病理性痛; 抑郁; 海马组织; 炎性因子; 小胶质细胞

Effect of clopidogrel on inflammatory cytokines and microglial in mice with comorbidity of pain and depression YANG Tianbao, WANG Zizhu, DIAO Hanbing, PAN Zhiqiang, GAO Ju. Jiangsu Province Key Laboratory of Anesthesiology, Xuzhou Medical University, Xuzhou 221004, China
Corresponding author: GAO Ju, Email: gaoju_003@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the effects of clopidogrel on behavioral, content of inflammatory cytokines, and microglial in mice with comorbidity of pain and depression. **Methods** Twenty-four male pathogen-free C57BL/6J mice, aged 8 weeks, weighing 23–27 g, were selected. The mice were randomly divided into three groups: sham group (group C), spared nerve injury (SNI) group (group S), and SNI + clopidogrel group (group L), 8 mice in each group. The surgical procedure in group C was consistent with the SNI model, but the nerve and maintained nerve integrity were not damaged. Group S was prepared with the SNI model, and group L was given clopidogrel 10 mg/kg since 21 days after the SNI model was prepared for 14 days continuously. Mechanical withdrawal threshold (MWT) was detected 1 day before surgery, 7, 14, 21, 28, and 35 days after surgery. The tail suspension test (TST) and forced swim test (FST) were performed 35 and 37 days after surgery, and the motionless time was calculated. Then the mice were killed, and the right hippocampal tissue was harvested to detect the concentration of IL-1 β , IL-6, and TNF- α by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the expression of IL-1 β , IL-6, and TNF- α mRNA by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), and the number of microglia by immunofluorescence staining. **Results** Compared with group C, MWT were significantly decreased 7, 14, 21, 28, and 35 days after operation, the immobility time of TST and FST were significantly prolonged, the concentrations and mRNA expressions of IL-1 β , IL-6, and TNF- α were significantly increased, and the number of microglia were significantly increased in groups S and L ($P < 0.05$). Compared with group S, MWT were significantly increased 28 and 35 days after operation, the immobility time of TST and FST were significantly shortened, the concentrations and mRNA expressions of IL-1 β , IL-6, and TNF- α were significantly decreased, and the number of microglia was significantly reduced in group L ($P < 0.05$). **Conclusion** Clopidogrel

DOI: 10.12089/jca.2024.06.013

基金项目: 江苏省卫生健康委员会医学科研项目面上项目(M2021105)

作者单位: 221004 徐州医科大学江苏省麻醉学重点实验室(杨天保、王梓竹、刁寒冰、潘志强); 徐州医科大学扬州临床学院 江苏省苏北人民医院麻醉科(高巨)

通信作者: 高巨, Email: gaoju_003@163.com

can reduce the concentrations and mRNA expressions of IL-1 β , IL-6, and TNF- α , inhibit the inflammatory reaction, reduce the number of activated microglia, and improve the and chronic neuropathic pain and depression in mice with comorbidity of pain and depression.

【Key words】 Clopidogrel; Neuropathic pain; Depression; Hippocampus; Inflammatory cytokine; Microglial

疼痛已成为继心脑血管疾病、肿瘤之后第三大健康问题,严重影响人们的健康和生活质量。在临床环境中,慢性疼痛经常与抑郁症等精神障碍并存^[1]。小胶质细胞激活引起的炎性因子浸润是疼痛抑郁共病的可能机制^[2]。P2Y₁₂R 是体内小胶质细胞过度激活介导疼痛和炎症所必需的^[3-4]。氯吡格雷是一种有效的靶向血小板 P2Y₁₂ 的抗血栓口服药^[5],可以通过抑制脊髓小胶质细胞 P2Y₁₂R 产生镇痛作用^[6]。慢性痛动物模型的海马组织中,炎性因子水平明显升高^[7],因此,聚焦海马组织的研究很可能成为治疗疼痛抑郁共病的新途径。本研究探讨氯吡格雷对疼痛抑郁共病模型小鼠行为学、海马组织炎性因子及小胶质细胞的影响。

材料与方法

实验动物 选择 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 24 只,8 周龄,体重 23~27 g。本实验研究经徐州医科大学实验动物福利与应用委员会批准(202303T004),并严格按照美国国立卫生研究院《实验动物使用指南》执行。所有小鼠饲养于徐州医科大学动物中心,在 21~23 ℃、湿度 40%~50%、光/暗循环 12 h 条件下单独饲养,自由饮食水。

保留坐骨神经损伤模型制备 采用保留坐骨神经损伤(spared nerve injury, SNI)建立疼痛抑郁共病小鼠模型^[8]。使用 2.5%异氟醚对小鼠进行麻醉,切开小鼠左大腿的皮肤和肌肉,钝性分离由腓肠神经、腓总神经和胫骨神经组成的坐骨神经。结扎腓总神经和胫总神经,在结扎远端约 2 mm 处横切神经。皮肤缝合后用碘伏消毒。

实验分组与处理 采用随机数字表法将小鼠分为三组:假手术组(C组)、SNI组(S组)和SNI+氯吡格雷组(L组),每组 8 只。C组手术过程与制备 SNI 模型一致,但不损伤神经,保持神经完整性;S组制备 SNI 模型;L组在术后 21 d 起给予氯吡格雷 10 mg/kg 灌胃^[6,9],连续 14 d。

机械缩足反射阈值 采用机械缩足反射阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT)来反映小鼠的机械痛阈值。于术前 1 d、术后 7、14、21、28、35 d 使用 von Frey 纤维丝测定小鼠的 50% MWT。将小

鼠单独放置于 10 cm×10 cm×15 cm 的玻璃框中,框底部位为铁丝网。每只小鼠实验前适应环境 30 min,使其保持安静状态。从 0.07 g 纤维丝开始,刺激小鼠左足底跖部,测试时纤维丝弯成“S”形并保持约 5 s,当小鼠出现缩足、抬足、舔足等行为,则为阳性反应。从出现阴性、阳性变化开始后再刺激 4 次,每次刺激间隔 1 min 左右。最终根据“up-down”法计算得出 50% MWT^[10]。

悬尾实验 于术后 35 d 进行悬尾实验(tail suspension test, TST),用胶带将小鼠分别悬挂在距离桌子表面约 50 cm,胶带放置在离尾巴尖端约 1 cm 的地方。实验前 1 d 每只小鼠悬挂在悬挂架上保持平衡一段时间,以帮助小鼠适应悬挂环境。实验时每只小鼠只测试 1 次,持续 6 min。如果小鼠在空中出现停止挣扎或者仅有轻微的肢体运动,则被认为不动。从侧面录像测试,记录最后 5 min 内小鼠不动时间。

强迫游泳实验 于术后 37 d 进行强迫游泳实验(forced swim test, FST),将小鼠单独放置在一个盛有高 30 cm 水(水温 25 ℃左右)的圆柱形透明容器(直径 20 cm,高度 50 cm)中强迫游泳。实验前 1 d 每只小鼠在水中游泳一段时间,以帮助小鼠适应水中环境。实验时对每只小鼠测试 6 min,对测试过程进行录像和分析。当小鼠漂浮在水中,不挣扎,只做一些必要的动作来保持头部浮出水面,则考虑为不动,记录最后 5 min 内小鼠不动时间。

ELISA 法 行为学实验结束后处死小鼠,每组选择 4 只小鼠,取右侧海马组织,采用 ELISA 试剂盒在 450 nm 读取最终反应产物在酶标仪上的光密度值。根据标准曲线吸光度读数,测定 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 浓度。

RT-PCR 法 行为学实验结束后处死小鼠,每组选择 4 只小鼠,采用 RNA 分离试剂盒,在小鼠右侧海马组织中分离出总 RNA。总 RNA 浓度由分光光度计测定。取 RNA 800 ng,采用逆转录试剂盒进行逆转录,合成 cDNA。随后,将 cDNA 稀释 15 倍,取稀释液 5 μ l 与试剂混合后,在实时 PCR 仪中进行实时 PCR。PCR 反应条件如下:95 ℃ 预变性 60 s, 95 ℃ 变性 10 s, 60 ℃ 退火 20 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 循环

40 次。以 GAPDH 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析法计算 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 相对表达量,引物序列见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

基因	扩增引物序列
IL-1 β	上游 5'-CCTGCAGCTGGAGAGTGTGGAT-3'
	下游 5'-TGTGCTCTGCTGTGAGGTGCT-3'
IL-6	上游 5'-GGAGCCACCAAGAACGATA-3'
	下游 5'-CAGGTCTGTGGGAGTGCTA-3'
TNF- α	上游 5'-CTCAAGCCCTGGTATGAGCC-3'
	下游 5'-GGCTGGGTAGAGAACGGATG-3'
GAPDH	上游 5'-GTGCCAGCCTCGTCTCATAG-3'
	下游 5'-GAACTGCCCCTGGGTAGAGT-3'

免疫荧光染色 行为学实验结束后,将小鼠深度麻醉,经心灌注磷酸盐缓冲液去血液,然后再注入 4%多聚甲醛(溶于 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液中, pH 7.4)。取出小鼠脑组织,使用 4%多聚甲醛后固定 1~3 h,随后转入 30%蔗糖溶液,4 °C 脱水 3 d。用冰冻切片机将组织切成 30 μ m 薄片,所有切片均保存在 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH 7.4)中,用于免疫荧光组织化学染色。冰冻切片用 5%驴血清的 0.1% Triton X-100 溶液常温封闭 2 h,再孵育小胶质细胞特异性标记物 Iba-1 抗体 4 °C 过夜(稀释比 1:200),在 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液中洗涤 3 次(每次 10 min)后,常温避光孵育 FITC 偶联的 IgG,采用荧光显微镜($\times 10$ 倍)和 CCD 扫描相机拍照海马区,记录小胶质细胞数量,各组取 3 张,随机选择 3 个视野,取平均值计数。

统计分析 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。正态分布计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 2 三组小鼠不同时点 MWT 的比较($\bar{g}, \bar{x}\pm s$)

组别	只数	术前 1 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 21 d	术后 28 d	术后 35 d
C 组	8	0.97 \pm 0.27	0.80 \pm 0.13	0.89 \pm 0.20	0.93 \pm 0.19	0.98 \pm 0.21	0.92 \pm 0.16
S 组	8	0.96 \pm 0.18	0.03 \pm 0.01 ^a	0.04 \pm 0.02 ^a	0.04 \pm 0.02 ^a	0.05 \pm 0.02 ^a	0.05 \pm 0.02 ^a
L 组	8	0.92 \pm 0.26	0.03 \pm 0.01 ^a	0.04 \pm 0.02 ^a	0.05 \pm 0.02 ^a	0.38 \pm 0.08 ^{ab}	0.33 \pm 0.11 ^{ab}

注:与 C 组比较,^a $P<0.05$;与 S 组比较,^b $P<0.05$ 。

结 果

MWT 与 C 组比较,术后 7、14、21、28、35 d S 组和 L 组 MWT 明显降低($P<0.05$)。与 S 组比较,术后 28、35 d L 组 MWT 明显升高($P<0.05$)。术前 1 d 三组 MWT 差异无统计学意义(表 2)。

不动时间 与 C 组比较,S 组和 L 组 TST 和 FST 不动时间明显延长($P<0.05$)。与 S 组比较,L 组 TST 和 FST 不动时间明显缩短($P<0.05$)(表 3)。

海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度 与 C 组比较,S 组和 L 组海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度明显升高($P<0.05$)。与 S 组比较,L 组海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度明显降低($P<0.05$)(表 4)。

海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α mRNA 表达量 与 C 组比较,S 组和 L 组海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α mRNA 表达量明显升高($P<0.05$)。与 S 组比较,L 组海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α mRNA 表达量明显降低($P<0.05$)(表 5)。

海马组织小胶质细胞数量 与 C 组比较,S 组和 L 组海马组织小胶质细胞数量明显增多($P<0.05$)。与 S 组比较,L 组海马组织小胶质细胞数量明显减少($P<0.05$)(图 1)。

讨 论

慢性疼痛是当今世界面临的重要医学问题,临床上慢性疼痛患者并发抑郁的风险较正常人高 4.9 倍,疼痛抑郁共病的机制及治疗方法成了公共卫生领域重要的拓展研究方向。SNI 模型在开始的第 3 天即可表现出明显的热痛和机械性痛敏,在第 35 天可诱导动物出现稳定的抑郁样行为^[11]。因此,本研究采用 SNI 小鼠模型模拟神经病理性痛诱发的疼痛抑郁共病模型。本研究结果显示,术后 7、14、21、28、35 d SNI 小鼠 MWT 明显降低,且术后 35、37 d 的抑郁行为实验中,小鼠 FST、TST 不动时间明显延长,表明疼痛抑郁共病模型制备成功。

表 3 三组小鼠 TST 和 FST 不动时间的比较($s, \bar{x} \pm s$)

组别	只数	TST 不动时间	FST 不动时间
C 组	8	92.5±27.0	81.1±25.4
S 组	8	186.4±29.6 ^a	191.0±23.9 ^a
L 组	8	121.0±14.6 ^{ab}	113.6±16.1 ^{ab}

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 S 组比较,^b $P < 0.05$ 。

表 4 三组小鼠海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度的比较($pg/ml, \bar{x} \pm s$)

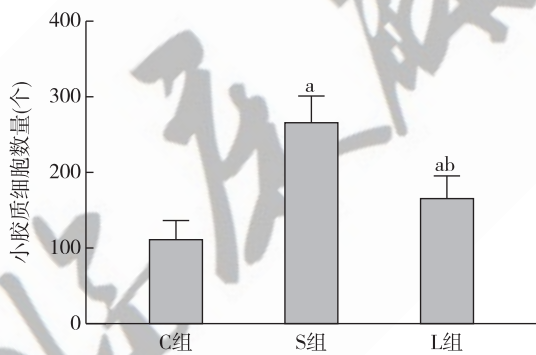
组别	只数	IL-1 β	IL-6	TNF- α
C 组	4	58.3±5.2	60.1±11.1	71.4±1.8
S 组	4	103.4±7.8 ^a	123.3±5.7 ^a	153.9±3.3 ^a
L 组	4	71.5±5.7 ^{ab}	89.5±3.3 ^{ab}	91.3±5.2 ^{ab}

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 S 组比较,^b $P < 0.05$ 。

表 5 三组小鼠海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α mRNA 表达量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	IL-1 β	IL-6	TNF- α
C 组	4	0.62±0.27	0.70±0.06	0.73±0.14
S 组	4	1.29±0.16 ^a	1.54±0.28 ^a	1.33±0.23 ^a
L 组	4	1.00±0.16 ^{ab}	0.98±0.23 ^{ab}	0.93±0.07 ^{ab}

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 S 组比较,^b $P < 0.05$ 。



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 S 组比较,^b $P < 0.05$ 。

图 1 三组小鼠海马组织小胶质细胞数量的比较

抑郁症的临床表现、发病率和患病率因性别而异,女性抑郁症的发病率约为男性的 2~3 倍^[12]。在小胶质细胞介导的疼痛信号转导中也同样存在性别差异,并且雌激素波动会影响疼痛信号转导^[13]。因此,本实验研究选择雄性小鼠作为研究对

象,避免高雌激素水平对实验结果造成的偏移。

P2Y₁₂R 主要表达在小胶质细胞上,上调 P2Y₁₂R 可诱导神经性疼痛或癌痛的发生^[14-15]。氯吡格雷是一种靶向 P2Y₁₂R 的抗血栓药,具有 P2Y₁₂R 非依赖性作用,能够减轻炎症反应。氯吡格雷的活性代谢产物需要在肝脏中转化,临床上氯吡格雷给药需要连续数天才能达到治疗效果。大鼠应用氯吡格雷 10 mg/kg 可以有效地减轻神经病理性疼痛^[6]。本实验研究于术后 21 d 起,连续 14 d 给予氯吡格雷,以便功能性抑制 P2Y₁₂R。本实验研究结果显示,连续 14 d 给予氯吡格雷 10 mg/kg 灌胃不仅有效地减轻 SNI 诱导的机械痛觉过敏,并且改善了小鼠抑郁样行为。

中枢神经系统固有免疫细胞如小胶质细胞、星形胶质细胞等在抑郁症的发生发展中发挥着非常重要的作用^[16]。周围神经损伤可诱导小胶质细胞激活并增加 TNF- α 表达,尤其是在海马组织和其他情绪调节区域,激活的小胶质细胞会释放炎症因子,加剧抑郁症的进展^[17]。考虑到海马组织炎症会导致抑郁,本实验研究探讨了氯吡格雷对 SNI 模型小鼠海马组织小胶质细胞激活的影响,结果显示,SNI 小鼠海马组织 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度和 mRNA 表达量明显升高,使用氯吡格雷治疗后,这些炎症因子浓度和 mRNA 表达量均明显降低。

在糖尿病外周神经病变和坐骨神经损伤的动物模型中,脊髓和大脑不同区域的小胶质细胞有着不同程度的激活^[18-19]。内脏痛后前额叶皮层 Toll 样 4 型受体的表达增加^[20]以及神经损伤后前扣带皮层小胶质细胞的激活^[21],提示大脑中小胶质细胞在调节疼痛敏感性和神经炎症中起着关键的作用。本实验研究结果显示,SNI 术后小鼠海马组织小胶质细胞数量较假手术小鼠明显增加,进一步提示海马组织小胶质细胞的激活与神经病理性痛相关。

本实验研究尚有许多不足之处:星形胶质细胞可以通过释放各种介质迁移和活化小胶质细胞^[22],而本实验研究仅探讨了氯吡格雷对小胶质细胞的影响,缺少对星形胶质细胞的研究;氯吡格雷通过哪种信号通路产生作用的机制以及是否会影响雌性小鼠的疼痛及抑郁样行为,有待进一步的探究。

综上所述,氯吡格雷可以降低疼痛-抑郁共病小鼠 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 浓度和 mRNA 表达量,减轻炎症反应,减少小胶质细胞数量,改善慢性神经病理性痛和抑郁,为治疗疼痛-抑郁共病提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Alhalal EA, Alhalal IA, Alaida AM, et al. Effects of chronic pain on sleep quality and depression: a cross-sectional study. *Saudi Med J*, 2021, 42(3): 315-323.
- [2] Yin N, Yan E, Duan W, et al. The role of microglia in chronic pain and depression: innocent bystander or culprit. *Psychopharmacology (Berl)*, 2021, 238(4): 949-958.
- [3] Tozaki-Saitoh H, Tsuda M, Miyata H, et al. P2Y12 receptors in spinal microglia are required for neuropathic pain after peripheral nerve injury. *J Neurosci*, 2008, 28(19): 4949-4956.
- [4] Liu M, Yao M, Wang H, et al. P2Y12 receptor-mediated activation of spinal microglia and p38MAPK pathway contribute to cancer-induced bone pain. *J Pain Res*, 2017, 10: 417-426.
- [5] Wang Y, Meng X, Wang A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in CYP2C19 loss-of-function carriers with stroke or TIA. *N Engl J Med*, 2021, 385(27): 2520-2530.
- [6] Yu T, Zhang X, Shi H, et al. P2Y12 regulates microglia activation and excitatory synaptic transmission in spinal lamina II neurons during neuropathic pain in rodents. *Cell Death Dis*, 2019, 10(3): 165.
- [7] Zhang LQ, Zhang W, Li T, et al. GLP-1R activation ameliorated novel-object recognition memory dysfunction via regulating hippocampal AMPK/NF- κ B pathway in neuropathic pain mice. *Neurobiol Learn Mem*, 2021, 182: 107463.
- [8] Bourquin AF, Stveges M, Pertin M, et al. Assessment and analysis of mechanical allodynia-like behavior induced by spared nerve injury (SNI) in the mouse. *Pain*, 2006, 122(1-2): e1-e14.
- [9] Kong D, Tan R, Gao Y, et al. Arterial baroreflex dysfunction promotes neuroinflammation by activating the platelet CD40L/nuclear factor κ B signaling pathway in microglia and astrocytes. *Neurochem Res*, 2023, 48(6): 1691-1706.
- [10] Ji YW, Shen ZL, Zhang X, et al. Plasticity in ventral pallidal cholinergic neuron-derived circuits contributes to comorbid chronic pain-like and depression-like behaviour in male mice. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 2182.
- [11] Mecca CM, Chao D, Yu G, et al. Dynamic change of endocannabinoid signaling in the medial prefrontal cortex controls the development of depression after neuropathic pain. *J Neurosci*, 2021, 41(35): 7492-7508.
- [12] Bekker MH, van Mens-Verhulst J. Anxiety disorders: sex differences in prevalence, degree, and background, but gender-neutral treatment. *Gend Med*, 2007, 4 Suppl B: S178-S193.
- [13] Han J, Fan Y, Zhou K, et al. Uncovering sex differences of rodent microglia. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 74.
- [14] Hu JL, Zhang WJ. The role and pharmacological properties of P2Y12 receptor in cancer and cancer pain. *Biomed Pharmacother*, 2023, 157: 113927.
- [15] Inoue K. The role of ATP receptors in pain signaling. *Neurochem Res*, 2022, 47(9): 2454-2468.
- [16] Song AQ, Gao B, Fan JJ, et al. NLRP1 inflammasome contributes to chronic stress-induced depressive-like behaviors in mice. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 178.
- [17] Barcelon EE, Cho WH, Jun SB, et al. Brain microglial activation in chronic pain-associated affective disorder. *Front Neurosci*, 2019, 13: 213.
- [18] Xu N, Tang XH, Pan W, et al. Spared nerve injury increases the expression of microglia M1 markers in the prefrontal cortex of rats and provokes depression-like behaviors. *Front Neurosci*, 2017, 11: 209.
- [19] 简娇敏, 纪健, 陈冲, 等. 星型胶质细胞和小胶质细胞在 1 型糖尿病小鼠外周神经病变中的作用. *临床麻醉学杂志*, 2020, 36(11): 1111-1115.
- [20] Tramullas M, Finger BC, Moloney RD, et al. Toll-like receptor 4 regulates chronic stress-induced visceral pain in mice. *Biol Psychiatry*, 2014, 76(4): 340-348.
- [21] Kim SK, Hayashi H, Ishikawa T, et al. Cortical astrocytes rewire somatosensory cortical circuits for peripheral neuropathic pain. *J Clin Invest*, 2016, 126(5): 1983-1997.
- [22] Kwon YH, Kim J, Kim CS, et al. Hypothalamic lipid-laden astrocytes induce microglia migration and activation. *FEBS Lett*, 2017, 591(12): 1742-1751.

(收稿日期:2023-07-03)