

大鼠脊神经结扎后脊髓背角神经元及突触数量的变化

黄小丽¹, 彭彬², 郭洋², 向宇², 杨正伟²
(川北医学院, 1. 组织学与胚胎学教研室; 2. 形态学研究室, 四川 南充 637000)

【摘要】目的: 探讨腰 5(L₅)脊神经结扎(SNL)后 7 d 和 28 d 大鼠脊髓背角内神经元及突触数量的改变与意义。**方法:** 将 29 只 3 月龄雄性 SD 大鼠随机分为 L₅ 单侧 SNL 组(16 只)和假手术组(13 只), 术前 1 d 开始到术后 28 d 内每隔 4 d 测定大鼠双侧后足的机械痛阈值(PWT)。术后 7 d 和 28 d 取 L₅ 节段脊髓制作石蜡包埋切片, 分别用尼氏法染色和突触素的免疫组织化学染色显示神经元和突触, 采用体视学技术-光学体视框-估计单位长度 L₅ 节段脊髓背角内神经元及其突触的数量。**结果:** 与假手术组相比, SNL 组大鼠手术侧相对于对侧未手术侧的 PWT 下降百分比更为显著, SNL 手术侧 L₅ 节段脊髓背角内突触的数量及突触与神经元数量之比在术后 7 d 没有显著改变, 但在术后 28 d 分别显著增加了 23.5% 和 17.4%。**结论:** SNL 诱导的神经病理性疼痛(NP)的突触结构可塑性变化需要长期发展, 这一延迟性神经重塑可能是慢性疼痛维持的结构基础。**【关键词】** 神经病理性疼痛; 体视学; 脊髓背角; 神经元; 突触**【中图分类号】** R329 **【文献标志码】** A

Numerical changes of neurons and synapses in the rat spinal dorsal horn after spinal nerve ligation

HUANG Xiao-li¹, PENG Bin², GUO Yang², XIANG Yu², YANG Zheng-wei²
(1. Department of Histology and Embryology; 2. Morphometric Research Laboratory, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To explore the change and its significance of the numbers of neurons and synapses in the rat spinal dorsal horn at 7 and 28 days after L₅ spinal nerve ligation (SNL). **Methods:** 29 male SD rats aged 3 months were randomly divided into two groups: L₅ unilateral SNL group (16 animals) and sham-operated group (13 animals). The mechanical withdrawal thresholds (PWT) of bilateral hind paws were measured every 4 days, starting from 1 day before the operation until 28 days post-operation. 7 and 28 days post-operation, L₅ segment of the spinal cord was removed. Paraffin-embedded sections were prepared and stained with Nissl's method and synaptophysin immunohistochemistry to mark neurons and synapses (presynaptic axon terminals). The numbers of neurons and synapses (per unit length of the spinal cord) in the L₅ spinal cord dorsal horn were estimated with the stereological optical disector. **Results:** The percentage reductions of PWT on the operation side were significantly lower in the SNL group than in the sham-operated group. Compared with the contralateral non-operated side, the number of synapses and the numerical ratio of synapses to neurons were unchanged on the operation side in the SNL group at 7 days, and significantly increased by 23.5% and 17.4% respectively at 28 days. **Conclusion:** SNL-induced changes in the synaptic plasticity associated with neuropathic pain (NP) require prolonged development. This delayed neural remodeling may constitute the structural underpinnings of chronic pain maintenance.

【Key words】 Neuropathic pain; Stereology; Spinal dorsal horn; Neuron; Synapse

NP 是创伤或疾病累及躯体感觉神经系统后直接导致的以自发性疼痛、痛觉过敏和痛觉超敏为特征的慢性疼痛综合症, 其机制复杂, 目前尚无有效的治疗措施。脊髓背角胶状质区(substantia gelatinosa, SG)被称为疼痛“闸门控制理论”的核心区域, 是伤害性信息传入通路的中转站, 更是疼痛信息传递和整合的初级中枢, 在 NP 的发生与发展过程中发挥着关键性的作用。因此, 课题组主要围绕脊髓背角展开研究。神经损伤后, 脊髓背角伤害性感觉神经元兴奋性增强, 痛觉信息可持续放大, 从而导致中

枢性痛觉敏感化。中枢敏化是 NP 的主要机制之一,主要表现为突触传递效率的长时程增强效应(long-term potentiation, LTP)。突触数量的可塑性改变是 LTP 效应的表现形式之一。本课题组前期视光学测量结果表明^[1-2],在坐骨神经慢性缩窄性损伤模型(CCI)或切断后 28 d,脊髓背角内突触数量显著性增加,这为中枢敏化 LTP 机制的存在提供了定量证据。但目前尚不清楚在其它 NP 模型如 SNL 大鼠中脊髓背角内突触数量会有着怎样的变化趋势。因此,本研究拟建立 L₅ SNL 模型,运用视光学技术——光学体视框估计术后 7 d(NP 的急性期)及 28 d(NP 的慢性期)脊髓背角内神经元及其突触数量的变化趋势,为脊髓背角内突触在 NP 发生发展的不同时期所起的作用提供形态定量证据。

1 材料与方法

1.1 动物分组及模型制备

川北医学院实验动物中心提供正常成年清洁级 SD 大鼠(3 月龄)29 只,体质量 180~220 g,雌雄各半。所有动物均单笼饲养,室内温维持在 20~25 ℃,自然光照明,自由饮水与摄食^[3]。实验过程中对动物的所有处理均符合本院伦理委员会关于实验动物伦理学要求和对清醒动物研究实验性疼痛的道德准则^[4]。

29 只实验大鼠随机分为两组:单侧(左右两侧交替进行)SNL 组($n=13$)和单侧(左右两侧交替进行)假手术组($n=16$)。SNL 组大鼠用 10 %水合氯醛(35 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠,俯卧位手术台固定其四肢及头部。逐层剪开皮肤肌肉,暴露 L₅ 横突,剪掉术侧横突,暴露 L₄ 与 L₅ 部位脊神经。用镊子轻轻分离 L₅ 脊神经(手法轻柔,避免损伤神经),然后用 4-0 丝线紧结扎^[5],对侧不做任何处理。假手术组的手术步骤同上,同上暴露并分离 L₅ 脊神经但不结扎。

1.2 50%缩腿阈值检测

两组大鼠分别于术前 1 d 及术后 1、4、7、14、21、28 d 按照改良版的“up and down”法^[6]双盲法测定所有动物双侧后足的 50%PWT:将大鼠放在一个间距适合的铁丝网架上,用透明可视塑料观察框将其罩住,先让大鼠适应环境至少 15 min,然后用动态足底触觉仪(Dynamic Plantar Aesthesiometer; Ugo Basile, 37450, Italy)交替刺激大鼠手术侧和未手术侧后足底,初始刺激力度为 10 g,后续依次增加 4 g(即 14、18、20……50 g),每个力度重复刺激 4 次,每次 6~8 s。4 次刺激中一旦有 1 次出现阳性反应(抬足缩腿),则重复该刺激 2 次,6 次刺激中有 50%

阳性反应(3 次)的刺激力度为该大鼠该侧后足的 50%缩腿阈值。

1.3 组织处理与切片制备

分别于术后 7 d 与 28 d 取大鼠 L₅ 节段脊髓:7 d 时随机从 SNL 组和假手术组分别抽选 7 只和 6 只,28 d 时取 SNL 组和假手术组 9 只和 7 只。实验结束后取材前,采用腹腔注射法麻醉大鼠(10 %水合氯醛,50 mg/kg),经心脏灌注生理盐水及 4 %多聚甲醛各 250 mL,打开椎板将脊髓腰膨大取出并尽量保留 L₄、L₅ 和 L₆ 脊神经根,置于 4 %多聚甲醛溶液中后固定 48 h 后,换入 70%乙醇中保存。包埋前切取 L₅ 节段脊髓组织块:以 L₄、L₅ 脊神经根之间的中线为 L₅ 节段脊髓的上边界、以 L₅、L₆ 之间的中线作为下边界。将所取 L₅ 节段脊髓组织块进行石蜡(JUNG-Histowax, Cambridge Instruments GmbH, Nussloch)包埋,用半自动石蜡切片机(RM2145, Leica Instruments GmbH, Nussloch)连续切取 50 张 14 μm 厚的脊髓横截面切片,从中等距随机(每 10 张抽选 1 张,第 1 张的序号从 1~10 中随机确定)抽选 5 张切片采用突触素(synaptophysin)免疫组化染色以显示突触素颗粒,从剩下的切片中,另等距随机抽取 3 张用于甲苯胺蓝染色显示神经元。

免疫组化染色步骤按照说明书进行^[7-8],简述如下:在枸橼酸缓冲液(pH 6.0)中煮沸 15 min 进行热抗原修复,抗突触素单克隆抗体(1:200, Millipore 公司)4 ℃孵育 48 h,室温下 DAB 显色 5 min,苏木精复染 4 min。

甲苯胺蓝染色步骤^[7-8]:常规脱蜡至水,双蒸水洗涤,切片入 57 ℃的 0.01%甲苯胺蓝中染色 30 min,常规脱水、透明、中性树胶封片。

1.4 体视学定量研究

1.4.1 脊髓背角横截面的面积 脊髓背角横切片的平均面积(横断面积: A)估计:采用 Visopharm(丹麦)的体视学图像系统及 Olympus BX51 型光学显微镜,观察整个脊髓横断面切片,先在×10 物镜下勾出手术侧或未手术侧脊髓横切面内脊髓背角区域,然后在电脑屏幕上叠加 10×10 个测点,每个测点的面积为 24 020.99 μm²。计数落在所勾选的背角内的测点的数量,所计数的测点数乘以每个测点的面积即得该侧脊髓背角的切面积。每只大鼠的 5 张切片脊髓背角面积的平均值作为该只大鼠该侧脊髓背角横断面的平均面积(A)。

单位长度(mm)脊髓背角的体积 V:将如上估计的 A 乘以 1 mm 长,即得 1 mm 长脊髓背角的体积 V(mm³)。

1.4.2 单位长度 L_5 脊髓背角内突触的数量 单位体积脊髓背角内突触的数量(数密度 N_v):利用体视学图像系统根据光学体视框估计^[9-12]。先在低倍镜下勾选脊髓背角区域作为抽选视野区域,然后在 $\times 100$ 油镜下观察突触素免疫组化染色切片,视野上叠加2个面积为 57.02 m^2 的长方形测框^[8]。从脊髓背角区域的最左上角抽选第一个测试视野,然后以 200 m 为间距在上述勾选区域内等距随机抽选视野^[7-8]。从切片上表面向下 0.5 m 的光学切片平面开始,手动调节向下连续聚焦观察 3 m 厚(体视框高度)的切片组织,根据光学体视框计数法则^[8]计数体视框(每个体视框的体积为 $57.023=210.06\text{ m}^3$)内的突触素颗粒的数量。每只大鼠每侧计数到的突触总数量除以所用体视框的总体积(等于体视框个数乘以每个体视框的体积),即得 N_v 。单位长度(1 mm) L_5 脊髓背角内突触的数量(N)估计:把 N_v (上述)乘以 V (上述),然后再乘以压缩系数(反映组织处理过程中的切片压缩) $0.57^{[12-13]}$ 即得 N ,即校正了切片压缩的单位长度新鲜(处理前)脊髓背角内突触的总数。

1.4.3 单位长度 L_5 脊髓背角内的神经元数量 单位体积脊髓背角内神经元的数量(N_v):如上所述观测甲苯胺蓝染色切片(每只大鼠3张),根据光学体视框估计单位体积脊髓背角内神经元核仁(即神经元)的数量。神经元计数区域的总面积设定为脊髓背角面积的 7% ,视野上测框的面积设定为 $45.12\times 33.97\text{ m}^2$,体视框高度为 7 m 。

单位长度(1 mm) L_5 脊髓背角内神经元的数量(N):把所估计的 N_v 乘以 V 和压缩系数(上述)即得 N 。

1.4.4 脊髓背角内突触与神经元数量之比 单位长度脊髓背角内突触的总数除以单位长度脊髓背角内神经元的总数,即得脊髓背角内突触与神经元数量之比。

1.5 统计学分析

利用SPSS13.0统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,组内比较采用配对样本 t 检验,组间比较采用独立样本 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 50%PWT

SNL组大鼠:与对侧未手术侧相比,手术侧的PWT术后1 d无下降,但术后4~28 d降低了 $25\%\sim 40\%(P<0.05)$;假手术组:与对侧未手术侧相比,手术侧在术后4、7 d分别降低了 22% 和 16%

($P<0.05$),而其他时间段内的PWT均无显著性下降。SNL组于术后7 d和14 d时,手术侧较对侧PWT下降的百分比低于假手术组($P<0.05$)。见图1。

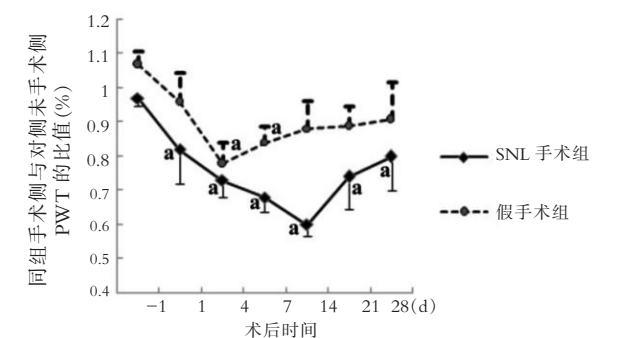


图1 50%缩腿阈值(PWT)随时间变化趋势

X轴:术后时间;Y轴:同组手术侧与对侧未手术侧PWT的比值(%);虚线为假手术组;实线为手术组;①a同组动物手术侧与对侧未手术侧比较, $P<0.05$; ②a手术组与假手术组手术侧比较, $P<0.05$ 。

2.2 突触与神经元的数量及其比值

与对侧未手术侧相比,SNL组手术侧术后7 d单位长度(mm) L_5 节段脊髓背角内的突触数量增加无统计学差异($t=0.11, P=0.06$);术后28 d,突触数量增加了 $23.5\%(t=0.01, P=0.008)$ 。与对侧未手术侧相比,SNL组手术侧 L_5 节段脊髓背角内突触和神经元数量之比在术后7 d无显著增加($t=0.14, P=0.17$),在术后28 d则增加了 $17.4\%(t=0.03, P=0.01)$ 。见图2及表1。

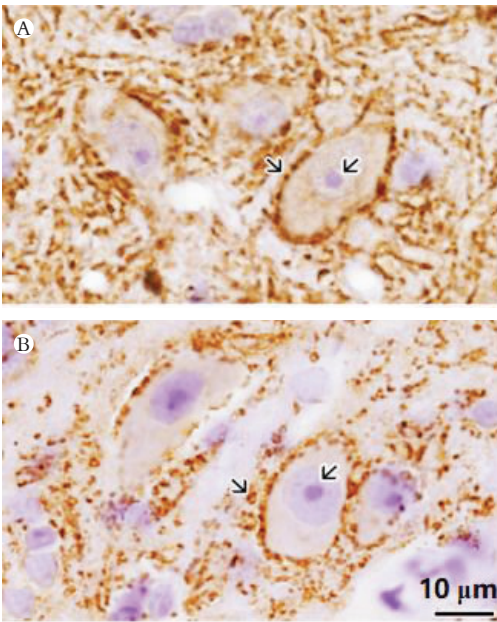


图2 SNL组大鼠 L_5 节段脊髓背角石蜡切片突触素免疫组织化学染色

A. 手术侧;B. 未手术侧;神经元细胞核核仁。突触素颗粒。

表 1 L₅ 腰段脊髓背角的体视学测量结果($\bar{x} \pm s$)

参数	术后 7 d				术后 28 d			
	假手术组(<i>n</i> =6)		脊神经结扎组(<i>n</i> =7)		假手术组(<i>n</i> =7)		脊神经结扎组(<i>n</i> =9)	
	手术侧	未手术侧	手术侧	未手术侧	手术侧	未手术侧	手术侧	未手术侧
脊髓背角的横断面积(mm ²)	0.440±0.046	0.425±0.051	0.455±0.019	0.459. ±0.035	0.455±0.032	0.451±0.039	0.446±0.014	0.451±0.016
单位长度(1 mm)脊髓背角的突触数量(×10 ⁶)	6.43±0.67	6.56±0.66	6.86±0.31	6.51±0.57	6.20±0.78	6.02±0.88	7.47±053 ^①	6.05±0.54
单位长度(1 mm)脊髓背角的神经元数量(×10 ³)	51.51±2.62	49.52±3.81	57.02±3.63	53.53±3.01	48.41±4.11	46.32±3.44	53.82±3.24	53.43±2.91
突触与神经元数量之比	125.23±9.41	135.17±9.22	130.35±12.41	123.32±10.18	130.33±11.43	132.28±15.11	142.21±12.22 ^①	121.43±11.26

① *P*<0.05,与同组未手术侧比较。

3 讨论

本研究观察到在 NP 模型中,机械痛阈值在造模后早期(1~14 d)即迅速下降并达到低值,随后在 14~28 d 逐渐恢复。然而本研究结果却显示,突触层面的结构重塑呈现不同的时间模式。在疼痛急性加剧期(7 d),突触数量增加并未呈现显著性差异。但引入注目的是,在慢性期(28 d),突触的数量及突触与神经元数量之比均呈现显著增加,说明 SNL 诱导的 NP 大鼠 L₅ 节段脊髓背角发生了显著的网络结构重组。这种时间上的不同步性则提示了,早期剧烈的痛觉超敏行为可能主要源于快速的神经元功能重塑和突触效能的变化,如离子通道功能异常、神经递质释放失调以及突触传递的即时性增强^[14-16],这些改变足以在结构尚未大规模改变的情况下驱动疼痛。而晚期(28 d)出现的突触数量及突触与神经元数量之比显著性增加,则可能代表了神经系统对持续性疼痛或初始损伤的一种更深层次的结构适应性反应^[14-16]。这种迟发的结构重塑更可能与疼痛的慢性维持、神经网络状态的巩固相关,而非驱动早期疼痛的发生或初始恢复。它可能为疼痛通路的持续异常活动提供了稳定的解剖学基础。因此,结果可能提示了 NP 发展过程中“功能可塑性先于大规模结构可塑性”的模式^[17-19]。区分这两种可塑性形式对于理解疼痛的时相机制和开发节段特异性治疗策略(急性期靶向功能调控,慢性期靶向结构重塑)具有重要的意义。未来研究需要在更精细的时间点结合电生理和分子生物学手段,进一步阐明突触效能变化于结构重塑之间的动态关联及其在疼痛不同节段的确切作用。值得注意的是,本研究发现的 28 d 突触显著性增加现象,与此前 CCI 及坐骨神经切断术模型在相同时间点(28 d)的结果高度一致^[1-2]。这种跨模型的同步性强烈提示:神经损伤后 28 d 可能是突触结构重塑的关键时间窗口,与疼痛慢性化进程密切相关。

导致突触数量增加的一个主要原因可能是脊髓背角内部重构,即外周神经受损后背角神经元的树突棘数量增加^[20-21],与既有轴突终末形成新的突触,或吸引新形成的轴突终末形成突触,从而导致突触的数量增加^[20-21]。第二个原因可能是外周传入纤维芽生^[22-24],即损伤的传入纤维芽生与脊髓背角原本接受无害感觉传入神经元形成新的突触连接,从而导致突触数量增加。尽管芽生会形成新的突触,但近年来的研究却表明^[25],这一芽生现象极为有限,可能并不占据主导,突触总数量的增加主要来源可能是大量神经元自身树突棘的广泛新生^[21-22],这可能解释临床上利用神经阻滞镇痛术为什么效果不甚理想。

至于为什么突触数量在早期(7 d)增加不明显,可能是因为新突触的形成是突触连接的形成和重排的神经生物学过程,常伴随着基因转录和蛋白质合成,该过程需要一定的时间。另一方面,可能是 P2Y12 介导小胶质细胞选择性修剪消除冗余性突触^[26],导致抑制性突触数量减少,从而掩盖了兴奋性突触数量增加,导致总突触数量增加不明显。课题组的前期研究^[3]表明,在同样条件下,同样的时间点,小胶质细胞数量的改变与突触数量的变化呈现相反的结果,即小胶质细胞数量在 7 d 显著性增加了 210%,到 28 d 逐渐减少为 120%。

为提供突触素颗粒空间定位基准,实现突触定量的精准化,实验过程中,我们同步染色神经元与突触标志物(突触素),并同时计算了突触与神经元数量之比,有效排除了损伤后神经元凋亡或增生对突触绝对数量的混淆效应,从而揭示真实的结构重塑动态。如本文研究结果显示,28 d 突触绝对数量与突触与神经元数量之比的同步显著增加,确证了神经网络连接密度的实质性提升,而非神经元数量波动的假象。

本研究估计的突触和神经元的数量是单位长度 L₅ 节段脊髓背角内的数量,不是整个脊髓背角内的

总数量。L₅ 节段脊髓没有明显的边界,无法定义整个节段。我们可以假设,实验状态下的脊髓不会变长,因此单位长度大鼠脊髓背角内的突触及神经元数量可以反映整个脊髓节段内的突触及神经元数量;成熟(3 月龄)大鼠脊髓背角(神经组织)内神经元的数量不变,因此本文估计的突触数与神经元数量之比,也佐证了突触总数的变化情况。

大鼠脊髓组织在石蜡包埋切片的过程中,组织体积会发生变化,主要是切片面积的缩小和切片厚度的压缩^[27]。鉴于观测了整个脊髓横断面,对数量估计(单位长度脊髓背角内突触或神经元的数量)的校正,只需要考虑切片压缩。本文的校正借用了课题组实验室前期研究的同样组织处理后的切片(14 μm 脊髓石蜡包埋 HE 染色切片)压缩数据^[12-13]。

参考文献

[1] Peng B, Lin JY, Shang Y, *et al.* Plasticity in the synaptic number associated with neuropathic pain in the rat spinal dorsal horn: a stereological study[J]. *Neuroscience Letters*, 2010, 486 (1): 24—28.

[2] Lin JY, Peng B, Yang ZW, *et al.* Number of synapses increased in the rat spinal dorsal horn after sciatic nerve transection: a stereological study[J]. *Brain Research Bulletin*, 2011, 84 (6): 430—433.

[3] 黄小丽, 谭川, 林菁艳, 等. 体视学研究 SNL 模型大鼠脊髓背角胶质细胞数量的动态变化[J]. *神经解剖学杂志*, 2016, 32 (5): 629—634.

[4] Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals [J]. *Pain*, 1983, 16 (2): 109—110.

[5] Ho K, Mo C. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat [J]. *Pain*, 1992, 50 (3): 355—363.

[6] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, *et al.* Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 1994, 53 (1): 55—63.

[7] 黄小丽. 脊神经结扎大鼠脊髓背角结构可塑性的体视学研究 [D]. 南充: 川北医学院, 2015.

[8] 黄小丽, 彭彬, 杨正伟. 大鼠脊髓厚石蜡切片的免疫组化染色及防脱片体会 [J]. *中国体视学与图像分析*, 2014, 19 (2): 210—214.

[9] Gundersen HJ. Stereology of arbitrary particles. A review of unbiased number and size estimators and the presentation of some new ones, in memory of William R. Thompson [J]. *Journal of Microscopy*, 1986, 143 (Pt 1): 3—45.

[10] Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, *et al.* The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled

intercepts and their use in pathological research and diagnosis [J]. *APMIS*, 1988, 96 (10): 857—881.

[11] 杨正伟. 生物组织形态定量研究基本工具: 实用体视学方法 [M]. 北京: 科学出版社, 2012.

[12] 彭彬, 林菁艳, 杨正伟. 光镜下突触数——阳性突触素颗粒数的体视学估计 [J]. *川北医学院学报*, 2013, 28 (3): 211—216.

[13] 林菁艳, 彭彬, 杨正伟, 等. 石蜡包埋与切片染色对大鼠脊髓腹膨大体积的影响 [J]. *重庆医科大学学报*, 2010, 35 (12): 1856—1858.

[14] Todd AJ. Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn [J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2010, 11 (12): 823—836.

[15] Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of neuropathic pain [J]. *Neuron*, 2006, 52 (1): 77—92.

[16] Jensen TS, Finnerup NB. Neuropathic pain: Peripheral and central mechanisms [J]. *European Journal of Pain Supplements*, 2009, 3 (S2): 33—36.

[17] Cooke SF. Plasticity in the human central nervous system [J]. *Brain*, 2006, 129 (7): 1659—1673.

[18] Ichikawa H, Sato T, Kano M, *et al.* Masseteric nerve injury increases expression of brain-derived neurotrophic factor in microglia within the rat mesencephalic trigeminal tract nucleus [J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2011, 31 (4): 551—559.

[19] Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain [J]. *Science*, 2000, 288 (5472): 1765—1769.

[20] Benson CA, King JF, Reimer ML, *et al.* Dendritic spines and pain memory [J]. *The Neuroscientist*, 2024, 30 (3): 294—314.

[21] Stratton HJ, Khanna R. Sculpting dendritic spines during initiation and maintenance of neuropathic pain [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2020, 40 (40): 7578—7589.

[22] Araque A, Parpura V, Sanzgiri RP, *et al.* Tripartite synapses: Glia, the unacknowledged partner [J]. *Trends in Neurosciences*, 1999, 22 (5): 208—215.

[23] Corkrum M, Covelo A, Lines J, *et al.* Dopamine-evoked synaptic regulation in the nucleus accumbens requires astrocyte activity [J]. *Neuron*, 2020, 105 (6): 1036—1047. e5.

[24] Lezmy J, Arancibia-Cárcamo IL, Quintela-López T, *et al.* Astrocyte Ca²⁺-evoked ATP release regulates myelinated axon excitability and conduction speed [J]. *Science*, 2021, 374 (6565): eabh2858.

[25] Zhang Y, Chen Y, Liedtke W, *et al.* Lack of evidence for ectopic sprouting of genetically labeled Abeta touch afferents in inflammatory and neuropathic trigeminal pain [J]. *Molecular Pain*, 2015, 11: 18.

[26] Wang C, Yue H, Hu Z, *et al.* Microglia mediate forgetting via complement-dependent synaptic elimination [J]. *Science*, 2020, 367 (6478): 688—694.

[27] 杨正伟. 组织处理致组织体积变化对体视学估计影响的校正 [J]. *川北医学院学报*, 2025, 40 (8): 955—967.

(收稿日期: 2025—02—16 修回日期: 2025—07—27)