

糖痹康对糖尿病大鼠坐骨神经 NGF 蛋白及 NGF mRNA 表达的影响

吕翠岩^{1,2}, 李秋明³, 毛颖秋⁴, 刘铜华^{1,2*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078;
3. 长春中医药大学, 长春 130117; 4. 北京中医药大学科研试验中心, 北京 100029)

[摘要] 目的:观察中药复方糖痹康对糖尿病大鼠坐骨神经神经生长因子(nerve growth factor, NGF)蛋白及 NGF mRNA 表达的影响。方法:采用高脂饲料和小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱发 2 型糖尿病大鼠动物模型,造模成功后随机分为模型组、甲钴胺组(1.97 mg·kg⁻¹)、糖痹康高、中、低剂量组(分别为生药 4.175, 8.35, 16.7 g·kg⁻¹),另设 10 只雄性 SD 大鼠为正常组,模型组和正常组给予蒸馏水,用不同剂量的糖痹康灌胃,并与甲钴胺对照,16 周后取大鼠一侧坐骨神经,用免疫组化法检测坐骨神经中 NGF 蛋白的表达及采用 RT-PCR 方法检测坐骨神经组织中 NGF mRNA 的表达。结果:与正常组比较,模型组 NGF 蛋白及 NGF mRNA 表达显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,糖痹康中、高剂量组能升高 NGF 蛋白及 NGF mRNA 表达($P < 0.01$),糖痹康低剂量组能升高 NGF mRNA 表达($P < 0.05$)。结论:中药复方糖痹康能够促进糖尿病周围神经病变大鼠坐骨神经 NGF mRNA 的转录和蛋白的表达。

[关键词] 糖痹康; 糖尿病; 周围神经病变; 坐骨神经; 神经生长因子

[中图分类号] **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)05-0157-05

[doi] 10.11653/syfy2014050157

Effect of Chinese Herbal Compound Tangbikang on Expressions of NGF Protein and NGF mRNA of Diabetic Rats' Sciatic Nerve

LV Cui-yan^{1,2}, LI Qiu-ming³, MAO Ying-qiu⁴, LIU Tong-hua^{1,2*}

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
2. Dongfang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China;
3. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China;
4. Research Test Center of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Chinese herbal compound Tangbikang (TBK) on the expressions of nerve growth factor (NGF) protein and NGF mRNA of diabetic rats' sciatic nerve. **Method:** Streptozotocin (STZ) and feeding high fat forage induced diabetic rats were randomly divided into diabetic model group, Mecobalamin group, TBK high dose group, TBK middle dose group, TBK low dose group and SD normal male rats ($n = 10$). Normal control group and model group were daily gavaged with distilled water, TBK groups

[收稿日期] 20131013 (018)

[基金项目] 国家重大新药创制项目(2012ZX09102201-001);教育部博士点基金立项课题(20110013130001);北京中医药大学自主选题项目(2013-JYBZZ-XS-150);北京中医药大学创新团队项目(2011-CXTD-19);教育部中医养生学重点实验室资助;北京市中医养生学重点实验室资助

[第一作者] 吕翠岩,博士研究生,副主任医师,从事中医药防治糖尿病及并发症的临床及基础研究,E-mail:cuiyanlv2012@163.com
[通讯作者] * 刘铜华,博士生导师,教授,主任医师,从事中医药防治糖尿病及并发症的临床及基础研究,Tel:010-64286642,E-mail:thliu@tom.com

were given TBK with different dose (4.175, 8.35, 16.70 g · kg⁻¹). Mecobalamin (1.97 mg · kg⁻¹) was used as the control medicine. Rats' unilateral sciatic nerve were taken out at the 16th week, immunohistochemical method was used to detect the expressions of NGF protein of sciatic nerve, and the expressions of NGF mRNA were detected by semi-quantitative RT-PCR. **Result:** Compared with normal group, the expressions of NGF protein and NGF mRNA of model group were significantly decreased ($P < 0.01$), Compared with the model group, high and middle dose TBK group significantly increased the expressions of NGF protein and NGF mRNA ($P < 0.01$) and low dose TBK group significantly increased the expressions of NGF mRNA ($P < 0.05$). **Conclusion:** Chinese herbal compound TBK could promote the expressions of NGF and NGF mRNA of diabetic peripheral neuropathy rats' sciatic nerve.

[**Key words**] Tangbikang; diabetes mellitus; peripheral neuropathy; sciatic nerve; nerve growth factor

近年来,中医药治疗糖尿病周围神经病变(DPN)研究不断深入,取得了较大进展^[1-3]。糖痹康的主要功效能提高链脉佐菌素(STZ)诱导的 DPN 大鼠周围神经传导速度,改善神经病理,对 DPN 有一定的保护作用,升高血清过氧化物歧化酶(superoxide dismutase ,SOD)、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase ,NOS)、一氧化氮(nitric oxide ,NO)含量,降低坐骨神经晚期糖基化终产物(advanced glycation end products,AGEs)的含量,减轻氧化应激造成的周围神经损害,具有抗氧化应激的作用。为了进一步探讨糖痹康防治 DPN 的作用机制,本实验观察了糖痹康对糖尿病大鼠坐骨神经 NGF 蛋白和 NGF mRNA 表达的影响。

1 材料

1.1 动物 选取 SPF 级 SD 雄性大鼠 60 只,体重(160 ± 10)g(6 周龄),动物生产许可证号 SCXK(京)2004-0009,购自北京维通利华动物实验中心。

1.2 药物及试剂 糖痹康[主药为黄芪、女贞子、桂枝、黄芩、黄连等,由北京中医药大学中药学院提供,其组方及制备工艺已成功申报发明专利(专利申请号 200810167551.1)];甲钴胺片(国药准字 H20030812,卫材药业),高脂饲料(北京华阜康生物科技有限公司),Trizol 试剂盒(Invitrogen 公司);PCR 引物:生工生物工程(上海)有限公司;M-MLV 反转录试剂盒(Takara 公司),Real-time PCR 扩增试剂盒(北京泽平生物技术有限公司),agarose(Promega 公司);DEPC(Sigma 公司),100 bp DNA Ladder(北京全式金生物技术有限公司)。

1.3 仪器 罗氏活力型血糖仪(Accu-Chek),7500 型 Real-Time PCR 仪(美国 ABI),BX40 光学显微镜(日本 Olympus),CamERC5s 照相系统(德国蔡司 ZEISS),稳压稳流电泳仪(美国 Bio-Rad),数码凝胶成像系统(Binta 公司),Image-Pro Plus Analysis Soft

ware 计算机图像分析系统,4 ℃ 低温高速离心机(Thermo 美国),BS224S 电子天平(德国 Sartouris),核酸紫外分光光度计(德国 Biophotometer)。

2 方法

2.1 模型建立及分组 动物适应性喂养 1 周后,随机选取 10 只为正常组,普通饲料喂养;其余喂养高脂饲料,8 周后 STZ 造模,予 35 mg · kg⁻¹腹腔内注射^[4]。72 h 后用血糖仪测尾尖血血糖,选持续血糖水平 ≥ 16.7 mmol · L⁻¹ 以上视为糖尿病模型,随机为模型组、甲钴胺组、糖痹康低、中、高剂量组,每组 10 只。

2.2 给药 造模成功,血糖稳定 3 d 后开始灌胃。糖痹康低、中、高剂量组分别按成人剂量 5,10,20 倍给药,即分别为生药 4.18,8.35,16.7 g · kg⁻¹。甲钴胺组按成人剂量 10 倍给药,即 1.97 mg · kg⁻¹。实验期间大鼠自由饮食饮水,连续给药 16 周。

2.3 指标检测

2.3.1 体重、血糖检测 分别在给药前和给药后的 4,8,12,16 周末,禁食 6 h,称其体重及尾静脉取血测空腹血糖。

2.3.2 检测大鼠坐骨神经 NGF 蛋白表达 16 周末取 2 cm 左右大鼠坐骨神经,放入 4% 多聚甲醛(不含 DEPC)固定,石蜡包埋,4 μm 切片,采用 SABC 免疫组化法,一抗稀释比为 1:50,显色后中性树脂封片。

2.3.3 实时荧光定量检测大鼠坐骨神经 NGF mRNA 表达 一部分大鼠坐骨神经经 DEPC 溶液处理后置入液氮冻存,待测 NGF mRNA。NGF 引物序列:上游引物 5'-CACTCTGAGGTGCATAGCGT-3';下游引物 5'-GCTTCAGGGACAGAGTCTCC-3',125 bp;参照基因 GAPDH 上游引物:5'-CAACTCCCTCAAG ATTGTCAGCAA-3',下游引物:5'-GGCATGGACTG TGTCATGA-3',128 bp。用 Trizol 提取获取大鼠坐

骨神经组织总 RNA,核酸紫外分光光度计测定经稀释的 RNA 提取物的吸光度(A)和浓度,判断 RNA 纯度,计算 RNA 浓度。经 25 μL 反转录体系:RNA 3 μL,Oligo(dT)1 μL,dd H₂O(DEPC 处理) 9.5 μL,以上首先 70 ℃ 孵育 5 min,然后迅速放在冰上。5 × Buffer 5 μL, dNTP (10 mmol · L⁻¹) 5 μL, Ribonuclease inhibitor 0.5 μL, M-MLV RT 1 μL。以上 42 ℃ 孵育 60 min,然后 70 ℃ 10 min,将所得的 cDNA 与引物 1(10 μmol · L⁻¹) 0.5 μL,引物 2(10 μmol · L⁻¹) 0.5 μL,SYBR mix10 μL,dd H₂O 7.5 μL 加入 20 μL Real- Time PCR 体系,94 ℃ 预变性 2 min, 94 ℃ 15 s, 60 ℃ 60 s, 40 个循环,72 ℃ 10 min。

2.4 统计学方法 数据采用 SPSS 16.0 统计软件

包处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组以上的组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般情况 STZ 注射 72h 后,大鼠逐渐出现不同程度的采食量增加,尿量明显增多,消瘦,精神不振,体毛色泽枯黄,缺乏光泽,竖毛弓背,活动明显迟缓,反应迟钝。后期还相继出现多种糖尿病并发症,如溃疡、白内障等,在甲钴胺组 and 中药糖痹康各治疗以上情况组均有不同程度的改善。

3.2 体重 与正常组比较,干预 8,12 周后,模型组大鼠体重有所降低($P < 0.05$);在干预 16 周后,模型组大鼠体重显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,干预 16 周后,糖痹康低、中剂量及甲钴胺组体重显著升高($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 不同时间点糖痹康对糖尿病大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	干预前体重	干预后体重			
			4 周	8 周	12 周	16 周
正常	-	411.12 ± 16.12	430.75 ± 34.70	467.25 ± 58.50	486.13 ± 18.69	514.13 ± 10.99
模型	-	435.40 ± 15.23	425.60 ± 15.07	414.55 ± 32.77 ¹⁾	408.20 ± 36.79 ¹⁾	354.80 ± 24.96 ²⁾
甲钴胺	1.97 × 10 ⁻³	426.11 ± 50.76	430.89 ± 33.80	429.22 ± 28.13	434.11 ± 29.16 ¹⁾	466.33 ± 30.55 ^{1,4)}
糖痹康	4.18	427.33 ± 19.73	438.00 ± 21.81	448.60 ± 36.82	457.44 ± 38.85	482.56 ± 36.15 ⁴⁾
	8.35	416.90 ± 45.89	423.10 ± 47.73	442.90 ± 59.48	450.11 ± 70.67	484.70 ± 32.46 ⁴⁾
	16.70	409.89 ± 56.39	427.56 ± 48.35	429.00 ± 63.20	445.33 ± 65.47	447.77 ± 79.96

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

3.3 血糖检测 与正常组比较,干预前及干预后各时间点模型组大鼠血糖均显著升高($P < 0.01$);经药物干预后,各组大鼠与模型组相比血糖均有不同程度的下降,其中甲钴胺组($P < 0.05$)和糖痹康低

剂量组($P < 0.01$)在干预 16 周后血糖有显著性差异,糖痹康中和高剂量组干预后各时间点血糖均有显著性差异($P < 0.01$ 及 $P < 0.05$)。见表 2。

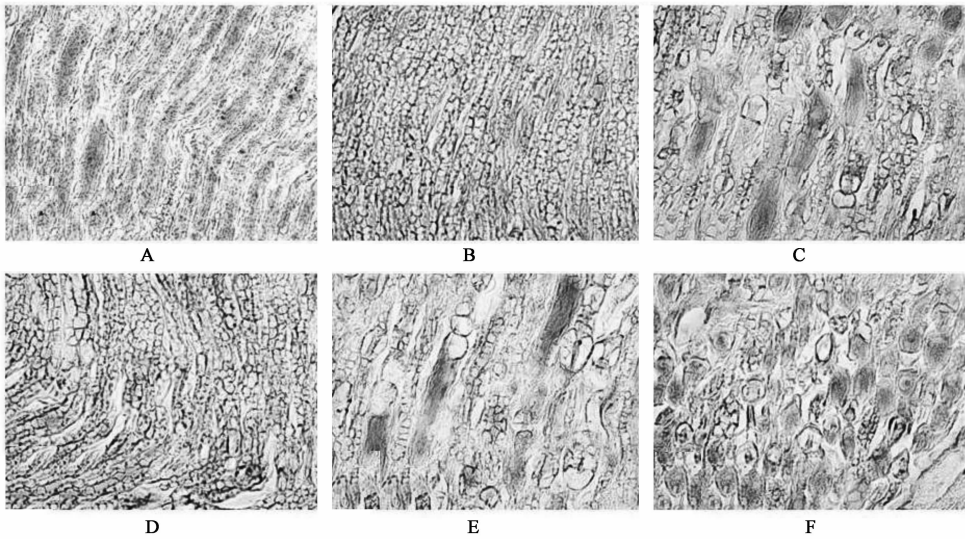
3.4 对大鼠坐骨神经组织 NGF 蛋白表达的影响

表 2 不同时间点糖痹康对糖尿病大鼠血糖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	干预前血糖	干预后血糖			
			4 周	8 周	12 周	16 周
正常	-	5.72 ± 0.48	5.88 ± 0.83	6.09 ± 0.32	6.28 ± 0.51	6.45 ± 0.46
模型	-	20.48 ± 2.02 ²⁾	22.16 ± 1.65 ²⁾	22.06 ± 1.67 ²⁾	22.47 ± 1.04 ²⁾	23.88 ± 0.87 ²⁾
甲钴胺	1.97 × 10 ⁻³	21.27 ± 1.85 ²⁾	21.03 ± 1.79 ²⁾	19.42 ± 2.39 ²⁾	20.29 ± 2.19 ²⁾	21.02 ± 1.92 ^{2,3)}
糖痹康	4.18	23.19 ± 1.60 ²⁾	21.28 ± 0.92 ²⁾	20.30 ± 2.37 ²⁾	20.36 ± 2.41 ²⁾	19.93 ± 2.21 ^{2,4)}
	8.35	21.04 ± 1.97 ²⁾	19.42 ± 2.40 ^{2,4)}	16.97 ± 1.82 ^{2,4)}	16.33 ± 1.78 ^{2,3)}	15.94 ± 1.78 ^{2,4)}
	16.70	21.59 ± 1.26 ²⁾	19.42 ± 1.25 ^{2,4)}	12.99 ± 1.91 ^{2,4)}	10.68 ± 2.20 ^{2,4)}	9.74 ± 2.15 ^{1,3)}

如表 3 及图 1 所示,NGF 主要分布于细胞浆中,其在正常大鼠的坐骨神经中呈强阳性表达(99.74 ± 10.60,图 1A);而与正常组相比,糖尿病模型大鼠坐骨神经中 NGF 的表达显著降低(71.01 ± 2.56, $P < 0.01$,图 1B);给予甲钴胺治疗后,与模型组相比 NGF 的含量显著升高(94.91 ± 22.76, $P < 0.05$,图

1C);而给予低剂量治疗后,NGF 在坐骨神经中呈弱阳性表达,与模型组无显著性差异(63.95 ± 7.17,图 1D);给予中剂量及高剂量治疗后,NGF 在坐骨神经中的含量显著升高,呈强阳性表达,均与模型组有显著性差异(107.33 ± 17.99 及 101.29 ± 13.83, $P < 0.01$,图 1E,F)。



A. 正常组;B. 模型组;C. 甲钴胺 1.97 mg·kg⁻¹组;D. 糖痹康 4.18 g·kg⁻¹组;E. 糖痹康 8.35 g·kg⁻¹;F. 糖痹康 16.70 g·kg⁻¹

图 1 大鼠坐骨神经石蜡切片 NGF 蛋白表达(免疫组织化学染色,×400)

3.5 糖痹康对大鼠坐骨神经组织 NGF mRNA 表达的影响 如表 3 所示,与正常组比较,模型组大鼠坐骨神经 NGF mRNA 表达显著降低($P<0.01$);甲钴胺组和糖痹康低剂量组与模型组比较 NGF mRNA 的表达升高($P<0.05$),糖痹康中、高剂量组与模型组比较 NGF mRNA 的表达显著升高($P<0.01$)。

表 3 糖痹康对糖尿病大鼠坐骨神经 NGF 阳性反应区及 NGF mRNA 表达的($\bar{x}\pm s,n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	NGF 阳性反应区 A	NGF mRNA
正常	—	99.74±10.60	1.13±0.24
模型	—	71.01±2.56 ²⁾	0.19±0.08 ²⁾
甲钴胺	1.97×10 ⁻³	94.91±22.76 ³⁾	0.54±0.20 ³⁾
糖痹康	4.18	63.95±7.17	0.70±0.24 ³⁾
	8.35	107.33±17.99 ⁴⁾	1.00±0.28 ⁴⁾
	16.70	101.29±13.83 ⁴⁾	0.86±0.26 ⁴⁾

4 讨论

中药复方糖痹康是在传统经方黄芪桂枝五物汤(《金匱要略》)基础上,结合现代研究和多年临床验证,不断优化处方所得,其组方及制备工艺已成功申报发明专利(专利申请号:200810167551.1)。

Aauda H 等研究表明在 DM 患者中,中枢神经营养因子尤其是 NGF 的缺乏是导致 DPN 的重要原因之一^[5]。NGF 由肌肉及角质化细胞产生,能诱导神经递质的合成、蛋白磷酸化、甲基化以及类似 ras 蛋白的基因表达所需酶的合成,是维持神经元正常功能所必需^[6]。NGF 是一种多肽物质,主要存在于交感神经元及部分感觉神经元所分布的靶区域内的

细胞组织内,其生物学活性主要是维持交感和感觉神经的功能;能诱导神经递质的合成、蛋白磷酸化、甲基化以及类似 RaS-蛋白的基因表达所需酶的合成,能有选择的营养交感神经节神经元和周围神经的小纤维感觉神经元。刘京升等^[7]研究证实,NGF 对周围神经有明显的保护作用,对感觉神经元也有很好的神经营养作用。高志峰等^[8]在对糖尿病大鼠的研究中发现,外源性鼠 NGF 可提高靶组织 NGF 含量,并通过轴索逆向转运作用,使得背根神经节和脊髓等部位的 NGF 增多,有助于轴突的生长和再生、神经元的存活及损伤修复。NGF 的缺乏还可以引起应激性蛋白激酶对神经丛的异常磷酸化,导致神经轴突的运转异常。通过 NGF 的应用能够预防、稳定或改善较小纤维神经病变引起的缺损和症状,并可降低热、痛阈值^[9]。

本研究结果显示,糖尿病大鼠坐骨神经 NGF 蛋白及 NGF mRNA 表达均显著下调,中药糖痹康可显著上调糖尿病大鼠坐骨神经 NGF 蛋白及 NGF mRNA 表达。由此推测,糖痹康对糖尿病周围神经病变的神经保护作用有可能与其上调大鼠坐骨神经中 NGF 蛋白及 NGF mRNA 表达有关。

[参考文献]

[1] 王佳,刘铜华.糖痹康对糖尿病周围神经病变大鼠坐骨神经传导速度的影响[J].中国中医基础医学杂志,2010,16(3):209.
[2] 穆晓红,刘铜华,秦灵灵,等.从血液流变学和坐骨神经传导速度评价中药糖痹康对大鼠糖尿病周围神经病变的影响[J].中华中医药杂志,2012,27(2):378.

6 味山姜属中药对胃实寒证大鼠胃组织 PDE,cAMP,cGMP,cAMP/cGMP 的影响

黄燕琼¹,秦华珍^{2*},柳俊辉²,王晓倩²,刘磊²,余腾飞²,刘颖²,李文强²,谭喜梅²
(1. 广西中医药大学附属瑞康医院,南宁 530011; 2. 广西中医药大学,南宁 530001)

〔摘要〕 目的:研究高良姜、草豆蔻、红豆蔻、大高良姜、建砂仁、益智 6 味山姜属中药对胃实寒证模型大鼠胃组织磷酸二酯酶(PDE)、环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP)、cAMP/cGMP 的影响,揭示 6 味山姜属中药所含挥发油与温中散寒功效的相关性。方法:实验分 2 批进行,第 1 批取 SD 雄性大鼠 160 只分为 16 个组:模型Ⅰ组,模型Ⅱ组,阳性对照组,高良姜、草豆蔻、红豆蔻 3 味药物各个挥发油高、低剂量组、去挥发油水液高、低剂量组;第 2 批除了观察药为大高良姜、建砂仁、益智挥发油高、低剂量组、去挥发油水液高、低剂量组外,其余分组均同第 1 批。采用灌服 2~3 ℃寒凉药(石膏、知母、黄柏、龙胆草,给药剂量为 36 g·kg⁻¹,2 次/d)加冷冻的方法制造大鼠胃实寒证模型;分别予以 6 味药物挥发油、去挥发油水液,低剂量组给药剂量为 20 g·kg⁻¹,高剂量组给药剂量为 60 g·kg⁻¹,阳性对照药选用附子水煎液,剂量为 8 g·kg⁻¹;每隔 12 h 给药 1 次,连续给药 3 次。测定大鼠胃组织 PDE,cAMP,cGMP 含量,计算 cAMP/cGMP。结果:①对磷酸二酯酶(PDE)的影响:与正常组相比,第 1,2 批模型组胃组织中 PDE 明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),分别为 32.27,52.80 nmol·L⁻¹。高良姜、草豆蔻、红豆蔻、大高良姜、益智的挥发油高、低剂量组对于模型组大鼠胃中 PDE 有显著的降低作用($P<0.05$ 或 $P<0.01$),大高良姜去挥发油高剂量组对其也有一定的降低作用,但无显著性差异;②对 cAMP,cGMP 及 cAMP/cGMP 的影响:与空白组比较,第 1,2 批模型组胃组织中 cAMP 的浓度明显降低($P<0.05$),分别为 0.68,0.81 nmol·L⁻¹。6 味中药挥发油高、低剂量组与模型组相比,cAMP 浓度均明显升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),cGMP 无明显变化,cAMP/cGMP 增大($P<0.05$ 或 $P<0.01$);高良姜、草豆蔻、建砂仁去挥发油高剂量组对 cAMP 浓度也有一定的影响,但无显著性差异。结论:6 味中药所含挥发油可升高胃组织中 cAMP 的含量、cAMP/cGMP 及降低 PDE 的含量,其中部分中药的去挥发油高剂量组也有相似的影响,揭示了 6 味山姜属中药所含的挥发油与温中散寒功效有密切的相关性,且发现此 6 味药的去挥发油提取液对部分检测指标也有良好的改善作用,揭示其功效也与其所含的其他成分有关。

〔关键词〕 山姜属;挥发油;去挥发油水液;胃实寒证;磷酸二酯酶;环磷酸腺苷;环磷酸鸟苷
〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2014)05-0161-05
〔doi〕 10.11653/syfy2014050161

〔收稿日期〕 20130619(015)
〔基金项目〕 广西教育厅课题(201012MS144);广西中医学院课题(P2009043)
〔第一作者〕 黄燕琼,硕士,主管药师、从事中药理论与中药开发,Tel:18677057142,E-mail:26017473@qq.com
〔通讯作者〕 * 秦华珍,博士,教授、从事中药理论与中药药效研究,Tel:13807816597,E-mail:qinhuazhen@126.com

[3] 张宏,刘铜华. 糖痹康对高糖损伤人脐静脉内皮细胞的保护作用 [J]. 中华中医药期刊, 2012, 30 (6):1248.

[4] 吴晏,韩静,黄黎明,等. 高脂喂养合并小剂量链脉佐菌素建立 2 型糖尿病大鼠模型 [J]. 中国实验动物学报, 2012,20(2):11.

[5] Auda H, Terada M, Maeda K, et al. Diabetic neuropathy and nerve regeneration [J]. Prog Neurobiol, 2003,69(4):229.

[6] Quattrini C, Jeziorska M, Boulton A J, et al. Reduced vascular endothelial growth factor expression and intra-epidermal nerve fiber loss in human diabetic neuropathy [J]. Diabetes Care,2008,31 (1): 140.

[7] 刘京生,孙正义,王宏沛. 白介素-1 和神经生长因子对周围神经再生的影响 [J]. 中国临床康复,2002,6 (18):26961.

[8] 高志峰,冯艺,鞠辉,等. 神经生长因子在糖尿病神经病理性疼痛大鼠脊髓和背根神经节中的表达 [J]. 临床麻醉学杂志, 2009, 25(2): 147.

[9] Dyck P J, Peroulka S, Rusk C, et al. Intradermal recombinant human nerve growth factor induces pressure allodynia and lowered heat-pain threshold in human [J]. Neurology,1997,48:501.

〔责任编辑 聂淑琴〕