

· 综 述 ·

大鼠疼痛模型研究进展*

沈立姿, 房立丛, 于津鹏, 朱晓鹏, 胡远艳, 长孙东亭 综述, 罗素兰[△] 审校

(海南大学热带生物资源教育部重点实验室/海南大学海口市海洋药物重点实验室, 海口 570228)

关键词: 大鼠; 疼痛模型; 研究进展

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.10.035

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)10-1166-04

疼痛是实际的或潜在的组织损伤所引起的一种不愉快的感觉也是一种预警机制,防止机体遭受压迫或进一步损伤。疼痛包括机体受到伤害性刺激后的痛感觉和所做出的痛反应。按疼痛的发病机制,可分为生理性疼痛和病理性疼痛两种,而后者又可分为炎性疼痛和神经病理性疼痛。1994年,国际疼痛研究协会^[1](IASP)将之定义为“一种与组织损伤或潜在的与损伤相关的不愉快的主观感觉和情感体验”。

疼痛并不是单一的感觉,它有复杂的发病机制^[2-3]。虽然止痛药可以缓解不同类型的疼痛,但它的作用机制是千差万别的。因此,用单一的动物模型评价某种镇痛药药效是不完善的。炎症性痛是由于局部炎症灶内钾离子、氢离子的积聚和炎症介质的刺激引起的。神经源性疼痛是由于疾病或外周、中枢神经损伤引起的疼痛综合征,是外周和中枢敏感化的结果。并且是临床上常见的疼痛,其发病机制比较复杂,治疗效果不尽理想。有报道统计美国约有1%的人患神经性疼痛,在当今世界这是一个相当可观的数字,已引起科学家的注意。动物模型被广泛地用于模仿各种疾病,并且用于研究各种临床疾病的发病机制。尽管不同的动物模型都有其局限性,但如同临床上疼痛的症状不完全相同,动物模型亦各有其特点,发生机制也不完全相同。本文将从物理刺激,化学刺激,神经疼痛3个方面为大家介绍几种大鼠疼痛模型及其研究进展。

1 物理刺激法

物理刺激主要是指机械、热、电等外界刺激引起机体产生一系列的反应。痛觉过敏是指皮肤对机械刺激产生过度敏感的现象,也是神经损伤后的一个特征重复性的伤害刺激可以导致持续性的疼痛,因此在实验过程中可以通过测量疼痛的阈值来间接量化疼痛的程度,使疼痛程度变成一个直观的数字。

1.1 大鼠机械痛觉测试 将实验大鼠放置在有机玻璃观察格中,观察格则放在顶部有网眼的金属架上,以方便 von Frey 测试。从而测定大鼠机械性缩足反射阈值(MWT)^[4]。大鼠适应环境半小时,待大鼠不再四处张望、探究,较安静后,实验者用 von Frey 测试探针缓慢地轻柔地刺激大鼠待测后肢足底中部,使探针弯曲,持续几秒钟观察大鼠的缩足反应,大鼠若由于刺激而出现快速的缩足反应,则标记为阳性反应,若由于身体活动引起大鼠的缩足反应则不算在内。反复测量找到出现50%阳性反应时的压力值,这个值就是该只大鼠的MWT。Harry等^[5]利用此方法确定了 α -芋螺毒素可以明显增高神经结扎模型大鼠的机械痛阈值。 α -芋螺毒素能选择性抑制N型 Ga^{2+} 通道从而减轻特异性疼痛有望被开发成治疗慢性疼痛的药物。

1.2 大鼠热痛觉测试 大鼠适应性喂养,室内环境保持在25℃左右,将热板仪的温度设置在保持54℃左右。大鼠被放置在有密闭可拆卸的透明有机玻璃缸内的热板仪上记录其出现舔后足或跳跃反应的时间。Casarrubea等^[6]确定此模型可用于镇痛药物的筛选也可用于增强学习能力,记忆能力等药物的研究。笔者实验室曾应用此模型筛选出一些有镇痛活性的芋螺毒素。

1.3 大鼠切口疼痛模型的建立 取清洁级SD大鼠麻醉,碘伏消毒大鼠一侧后足,用手术刀在大鼠足底做一长约5mm的纵向切口,用镊子夹起足底肌肉,并在切口左右纵向切割,动作轻柔保证其起止附着点的完整,用丝线缝合皮肤,并给予青霉素粉针,造模成功^[7]。本模型制作简单,伤害直观,为术后镇痛药物的研究和开发提供了条件。Grzegorz等^[8]通过实验确定 μ O-芋螺毒素可以提高切口疼痛模型大鼠的机械痛阈值,并且不会阻碍伤口的愈合。Sylvia等^[9]确定脊髓部位的 γ 氨基丁酸(GABA)可以调节本模型大鼠痛觉过敏。笔者对上述3种物理刺激模型简单的进行了比较,见表1。

2 化学刺激法

许多刺激性化学物质接触皮肤黏膜或注入体内,均能引起炎性疼痛反应,可用作疼痛模型的制作,可用于研究疼痛生理及筛选镇痛药物。

2.1 大鼠足底炎性疼痛模型的建立 实验环境25℃,将大鼠放置在特制鼠笼里,大鼠右后足可伸出鼠笼,实验者左手固定大鼠右后足。用1mL注射器抽取100 μ L的5%甲醛溶液注射到大鼠有后足足底皮下,制作甲醛疼痛模型。王静捷等^[10]酵母蔗糖制作本模型,发现Zyosan表现出比Formalin更稳定的,可靠地热痛觉过敏和机械痛觉过敏,并有明显的水肿。Seungkyu等^[11]通过实验确定 ω -芋螺毒素FVIA作用于N型 Ca^{2+} 通道,可以减少甲醛诱发的伤害性行为的累计时间,并且对与炎性疼痛和中枢致敏密切相关的第二时相更为有效。Yan等^[12]也是利用本模型通过鞘内给药的方法确定 ω -芋螺毒素SO-3也具有镇痛作用,并且有剂量效应。

甲醛诱导的炎性痛可表现为两个时相,第一时相为皮下注射甲醛后立即表现出的疼痛行为,是由甲醛直接刺激神经末梢所引起;第二时相为皮下注射甲醛约20min后发生的疼痛行为,是由于局部慢性炎症导致的伤害性信息持续传入引起的。大鼠在两个时相所表现出的痛反应是频繁的舔注射足。两个时相之间有一个10~15min的相对稳定期,这一时间内实验大鼠很少表现伤害性反应行为,较为安静。

* 基金资助:国家高技术研究发展计划(863计划)基金资助项目(2012AA021706);国家国际科技合作专项基金资助项目(2011DFR31210);长江学者和创新团队发展计划基金资助项目(IRT1123);海南省重点科技计划项目(ZDXM20110040)。作者简介:沈立姿(1986~),硕士,主要从事海洋药物的研究。[△] 通讯作者, Tel:(0898)66289538; E-mail:luosulan2003@163.com。

表 1 物理刺激模型特点简明比较

类别	机械痛	热痛	切口痛
适用动物	大鼠	大鼠,小鼠	大鼠
机理	瞬间刺激	持续的灼烧	手术后中枢敏感化
疼痛部位	身体表皮	身体表皮	身体深层组织
优点	简单,疼痛直观,数量化,对实验动物损伤小	简单,疼痛直观,数量化,适用广泛	重复性好,周期短,效果明显
缺点	主观因素较大,不同的实验人员有不同的标准	判断标准不统一,易造成混淆	对大鼠身体有伤害性,易造成术后感染
刺激类型	物理刺激	物理刺激	物理刺激
适用范围	可作为多种模型造模成功的判断指标	用于镇痛药物的筛选和增强学习能力,记忆力等药物的研究	用于研究外科手术所引起的中枢敏感化的发病机制,寻找术后疼痛的治疗方案

表 2 化学刺激模型特点简明比较

类别	足底炎性痛	佐剂型关节炎	偏头痛
致病因子	强酸、强碱、钾离子、缓激肽、甲醛、酵母、血小板凝聚因子	CFA	硝酸甘油在体内转化成的 NO
刺激类型	化学刺激	化学刺激	化学刺激
疼痛类型	病理性疼痛	病理性疼痛	病理性疼痛
给药部位	足底	足底	皮下
优点	造模简单,病变直观,实验周期短。两种疼痛类型:急性痛和炎性痛	与炎症引起的慢性、持续性疼痛的临床表现极相似,是研究关节炎性疼痛良好的动物模型	病理及生化数据稳定,有重复性,并且造模成功后临床表现与人类偏头痛发作时有相似性
缺点	不易确定药物的作用时相	CFA 注射后易于流出,使造模失败,因此可用拇指轻按注射点片刻	造模成功评价指标主观因素较大,易造成实验误差
适用范围	可用于多种镇痛药物的筛选,并为药物作用机理的研究提供了保障	用于研究、评价、防治类风湿性关节炎药物的常用动物模型之一,二者有病变关节肿胀,细胞免疫功能异常等相似的病理表现	本模型的建立为偏头疼发病机制的研究和药物作用靶点的筛选药效评价提供了有力的保障

2.2 大鼠关节炎模型的建立 大鼠以 40 mg/kg 水合氯醛麻醉,将 0.1 mL 的完全弗氏佐剂(CFA)注射到大鼠后足跖皮下,约 4 h 后可出现原发性病变,注射点附近出现红肿。此现象可持续 5 d 而 7 d 后大鼠四肢的关节和脚掌部位会出现肿胀等继发性病变。陆继娣等通过实验确定中药熏蒸可以降低本模型大鼠血液和关节中的致炎因子白细胞介素的含量,并且存在剂量效应。Ekberg 等^[13]确定出 μ O-型芋螺毒素 MrVIB 选择性阻断感觉神经元的 Nav 1.8 通道,对不引起运动障碍的慢性疼痛有效,同时也可以提高本模型大鼠的痛阈值。Toru 等^[14]利用 Zymosan 成功制作了大鼠关节炎疼痛模型,并确定在关节腔内注射骨形成蛋白 7(BMP-7),通过提高 BMP-7 的水平和减少白细胞介素 1 β (IL-1 β)的水平,从而对炎症性关节炎模型的软骨退变起到保护作用。

2.3 偏头痛大鼠模型的建立 取 SD 大鼠硝酸甘油注射剂,注射剂量按照 15 mg/kg 进行皮下注射,实验大鼠 2 只耳朵红肿,且不停的左右甩头,用前肢抓挠头部毛发,烦躁,来回走动,用头部轻顶鼠笼,此现象持续 2~3 h 后,大鼠安静的趴窝在鼠笼中,活动明显减少,模型制作成功。赵永烈等^[15]通过本模型从组织学上确定芎芷地龙汤可以减少由硝酸甘油诱导的 c-fos 的表达,增加五羟色胺的表达,减少三叉神经脊束核神经细胞的兴奋性,激活五羟色胺下行镇痛系统,并且可持续较长时间,增高痛阈,阻止痛觉信息的传递,从而起到镇痛作用。彭成等人检测出在本模型大鼠的脑组织 c-fos 和 c-jun 基因表达异常。

笔者对上述 3 种化学刺激模型简单的进行了比较,见表 2。

3 神经病理性痛模型

神经源性疼痛是由于疾病或外周、中枢神经损伤引起的疼痛综合征,是外周和中枢敏感化的结果,其中脊髓敏感化起着十分重要的作用。机体的中枢或外周神经组织损伤后神经系统的结构和功能发生病理性改变,从而引起痛觉异常和痛觉过敏。

3.1 大鼠坐骨神经分支选择性损伤型神经病理痛模型(SNI)的建立 实验室温度保持在 25 ℃,实验大鼠采用腹腔给药的方式进行麻醉,大鼠俯卧置于手术台上,右后腿剪毛,消毒,用手术剪剪开腿部皮肤^[16],逐层分离皮下脂肪、浅筋膜,双手执眼科镊钝性分离股二头肌,使坐骨神经主干暴露在视野内,结扎并剪断其分支胫神经、腓总神经,保留并避免损伤腓肠神经,逐层缝合肌肉和皮肤,并在缝合前和缝合后在伤口处涂抹青霉素粉针剂,以防止手术后的感染。姜艳华等^[17]利用本模型确定米诺环素可通过减少标记小胶质细胞(OX-42)的表达进一步抑制脊髓小胶质细胞的激活,最终达到减轻痛觉超敏和痛觉过敏的现象,并确定米诺环素具有剂量效应。Metz 等^[18]研究发现 SNI 模型大鼠的神经元树突比假手术大鼠的树突更长,分支也更多。

3.2 大鼠坐骨神经慢性挤压伤病理性痛模型(CCI)的建立 实验室温度保持在 25 ℃,实验大鼠采用腹腔给药的方式进行麻醉,大鼠俯卧置于手术台上,右后腿剪毛,消毒,用手术剪剪

表 3 神经病理性疼痛模型特点比较

类别	SNI	CCI	SNL	骨癌疼痛模型
发病原因	胫神经、腓总神经受损	坐骨神经受到压迫	大鼠损伤脊神经	肿瘤细胞破坏骨质层,中枢敏化
疼痛类型	神经病理性疼痛	神经病理性疼痛和炎性疼痛	神经病理性疼痛	慢性疼痛可转变为急性钝痛
造模成功后大鼠状况	手术侧后肢稍呈外翻状,趾间距变窄,无运动障碍	手术侧脚趾并拢背屈,脚掌向外翻,行走时脚掌不负重,明显跛行	手术侧后肢稍呈外翻状,趾间距变窄,无运动障碍	手术侧后肢稍呈外翻状,不负重
病痛程度检测	热刺激和机械刺激痛阈值	热刺激和机械刺激痛阈值	热刺激和机械刺激痛阈值	监测放射性物质、定量测量矿物质含量和组织学检查确定骨损伤程度
是否易造成大鼠死亡及死亡原因	不易	不易	较易;脊髓损伤	容易;癌细胞转移
实验环境要求	无菌	无菌	无菌	无菌
优点	神经损伤稳定,直观,重复性好,实验步骤简单,快捷,损伤相对较小,疼痛重复性好	可使用不同材料挤压神经具有神经病理性疼痛和炎性疼痛双重成分	利于确定受损神经的种类	实验动物易于获得,模型专属性强,评价方法成熟
缺点	实验要求高,对实验动物身体有损伤,腓肠神经易受损	手术结扎力度不同,对大鼠神经损伤也不同,容易造成实验误差	损伤较大,操作复杂,较易损伤脊髓,不利于大量制备疼痛模型	造模时间长,大鼠机械痛敏和痛觉超敏与肿瘤在骨髓腔的发展程度相关
适用范围	与神经病理性疼痛的临床表现相似。因此本模型可用于研究初级神经元的损伤和临近部位初级传入神经元的变化	疼痛症状和行为与人体周围神经损伤造成的神经病理性慢性痛的表现很相似被广泛地用于研究痛觉调节机制和镇痛药物筛选	本模型有利于在脊髓水平研究星形胶质细胞和小胶质细胞变化	本模型与癌症患者的临床表现极为相似,它的建立为骨癌疼痛发病机制的研究和药物作用靶点的筛选药效评价提供了有力的保障

开腿部皮肤,逐层分离皮下脂肪、浅筋膜,双手执眼科镊钝性分离股二头肌,使坐骨神经主干暴露在视野内,用镊子将坐骨神经主干轻轻剥离,在坐骨神经干上每间隔约 1 mm 用 3-0 铬制羊肠线做 4 个结扎,在结扎时保持力度一致,结扎强度以不完全阻断血管为宜,结扎时可见肢体轻微抽动。逐层缝合肌肉和皮肤,并在缝合前和缝合后在伤口处涂抹青霉素粉剂,以防止手术后的感染。在本模型的发展过程中,也有人用不同材料如羊肠线、丝线、PE 套管等对大鼠坐骨神经进行挤压,最终确定羊肠线和丝线经生理盐水浸泡后使用效果稳定,并且羊肠线更适用于此模型的制备^[19]。Narmatha 等^[20]通过不同的给药部位确定 α -芋螺毒素 Vc 1.1 可以提高大鼠的痛阈值。并且通过不同的给药部位(手术侧后肢,对侧后肢)确定其对大鼠的受损神经有修复作用。Richard 等^[21]认为用未成年大鼠制作 CCI 模型机械痛更易诱发炎性痛,并与人类新生儿神经损伤后的临床表现一致,保障研究人员进一步探索神经痛的发病机制和治疗方法。Joseph 等^[22]研究表明,ZZ-204G 是一种作用于 a9a10 受体的小分子拮抗剂,是一种新型结构的镇痛剂。在治疗慢性炎症和神经性疼痛方面有潜在的应用前景。笔者实验室就采用此模型对芋螺毒素的镇痛活性进行筛选,先建立大鼠的 CCI 模型,喂养 1 周后对合格大鼠做鞘内置管作为中枢给药的给药途径。

3.3 大鼠脊神经结扎模型的(SNL)建立 实验人员将大鼠麻醉,让其俯卧在手术台上,大鼠背部褪毛消毒,将腰部位置垫高,左手用镊子拉起大鼠 L5-L6 脊椎间的皮肤,右手用手术剪将其剪开,作一皮肤纵切口,钝性分离皮下的肌肉,使 L5-L6 关节突暴露在手术视野内,无菌条件下切除关节突,轻轻地分离 L5-L6 脊神经,用丝线结扎 L6 的背根神经节,逐层缝合肌

肉和皮肤,并在缝合前和缝合后在伤口处涂抹青霉素粉剂,以防止手术后的感染。Aldric 等^[23]通过实验确定芋螺毒素 MV II A 和 con-G 可以明显提高脊神经结扎模型大鼠的痛阈值,con-G 降低周围神经痛的效果要强于甲醛模型的疼痛。

3.4 大鼠骨癌疼痛模型的建立 Medhurst 等^[24]将乳腺肿瘤细胞在培养基上扩大培养,用胰蛋白酶溶液降解,离心,用平衡盐溶液洗涤沉淀,在离心洗涤 2 次,最后肿瘤细胞会悬浮于盐溶液中,备用。大鼠麻醉后,在胫骨上段开一小口,先在胫骨干骺端穿刺打孔,再注入肿瘤细胞混悬液,用医用骨蜡封堵针孔,建立大鼠胫骨骨癌模型。有些研究者曾用前列腺肿瘤细胞成功制作大鼠骨癌疼痛模型,并确定肿瘤可以激活脊髓神经胶质细胞释放 IL-1 β 和其他物质使痛觉过敏^[25]。Anton 等^[26]确定作用于 N-型电压敏感性钙离子通道的 ω -芋螺毒素来考诺太与吗啡合用对骨癌疼痛模型大鼠有协同镇痛作用。Wala 等^[27]的研究表明,ZZ1-61c 是作用于 a9a10 胆碱受体,有独特拮抗作用的新型化合物,对预防和减弱化疗导致的神理性疼痛有潜在的研究价值,因此它为避免胆碱受体激动剂的毒性提供了有效的治疗方法。笔者对上述 4 种神经病理性痛模型简单的进行了比较,见表 3。

4 讨论

疼痛是机体受到损害后一种保护性反应,也是某些疾病的一种症状,可使人感到痛苦。某些长期剧烈的疼痛对机体已成为一种难以忍受的折磨,使人们生活质量下降,对工作生活不利,这引起了科研人员的广泛关注。镇痛药物的研究是目前医学中最活跃的领域之一,由于疼痛的发病机制不同,因此各种疼痛模型的制备显得尤为重要。目前,笔者实验室正在选用上述模型,对被誉为“海洋药物宝库”的海南产芋螺毒素进行镇痛

活性筛选,和药效评价,已筛选到镇痛作用强大、作用靶点清楚、无成瘾性的新型芋螺毒素先导药物,为下一步原创新型镇痛药物的研发奠定了坚实的基础。

参考文献:

- [1] Luis R, Harald B, Helge R, et al. Chronic pain and sensory changes after augmentation mammoplasty: long term effects of preincisional administration of methylprednisolone[J]. *Pain*, 2006, 124(1/2): 92-99.
- [2] Ji RR, Kohno T, Moore KA, et al. Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanism[J]. *Trends Neurosci*, 2003, 26(12): 696-705.
- [3] Herrero JF, Laird JM, Lopez-Garcia JA. Wind-up of spinal cord neurones and pain sensation: much ado about something[J]. *Prog Neurobiol*, 2000, 61(2): 169-203.
- [4] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel M, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. *Neurosci Meth*, 1994, 53(1): 55-63.
- [5] Harry K, Adams DJ, Callaghan B, et al. A novel mechanism of inhibition of high-voltage activated calcium channels by α -conotoxins contributes to relief of nerve injury-induced neuropathic pain[J]. *Pain*, 2011, 152(2): 259-266.
- [6] Casarrubea M, Sorbera F, Santangelo A, et al. Learning influence on the behavioral structure of rat response to pain in hot-plate[J]. *Behav Brain Res*, 2011, 225(1): 177-183.
- [7] Souza AH, Lima MC, Drewes CC, et al. Antiallodynic effect and side effects of Phal1b, a neurotoxin from the spider *Phoneutria nigriventer*; comparison with α -conotoxin MVIIA and morphine[J]. *Toxicon*, 2011, 58(8): 626-633.
- [8] Grzegorz B, Zhang MM, Brad RG, et al. Synthetic μ O-Conotoxin MrVIB Blocks TTX-Resistant Sodium Channel Nav1.8 and Has a Long-Lasting Analgesic Activity[J]. *Biochemistry*, 2006, 45(23): 7404-7414.
- [9] Sylvia R, Mirjam A, Peter KZ, et al. Peripheral and spinal GABAergic regulation of incisional pain in rats[J]. *Pain*, 2011, 153(1): 129-141.
- [10] 王静捷,陈雯,黄宇光,等. Zymosan 足底炎性疼痛大鼠模型的建立及其脊髓背角 COX-2 表达水平变化[J]. *北京医学*, 2010, 32(8): 644-647.
- [11] Seungkyu L, Yoonji K, Seung KB, et al. Analgesic effect of highly reversible ω -conotoxin FVIA on N type Ca^{2+} channels[J]. *Mol Pain*, 2010, 97(6): 1-12.
- [12] Yan LD, Liu YL, Zhang L, et al. Spinal antinociception of synthetic omega-conotoxin SO-3, a selective N-type neuronal voltage-sensitive calcium channel blocker, and its effects on morphine analgesia in chemical stimulus tests in rodent[J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 636(1/3): 73-81.
- [13] Ekberg J, Jayamanne A, Vaughan CW, et al. μ O-conotoxin in MrVIB selectively blocks Nav1.8 sensory neuron specific sodium channels and chronic pain behavior without motor deficits[J]. *PNAS*, 2006, 103(7): 17030-17035.
- [14] Toru T, Takeshi M, Kunikazu T, et al. BMP-7 inhibits cartilage degeneration through suppression of inflammation in rat zymosan-induced arthritis[J]. *Cell Tissue Res*, 2011, 344(2): 321-332.
- [15] 赵永烈,王玉来,高颖,等. 芎芷地龙汤对偏头痛模型大鼠脑组织痛觉传导通路 c-fos 和 5-HT 蛋白表达的影响[J]. *中医杂志*, 2011, 52(10): 868-870.
- [16] Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain[J]. *Pain*, 2000, 87(2): 149-158.
- [17] 姜艳华,王秋石,马虹. 脊髓小胶质细胞激活对 SNI 模型大鼠神经病理性疼痛的影响[J]. *中国医科大学学报*, 2008, 37(5): 589-592.
- [18] Metz AE, Yau HJ, Centeno MV, et al. Morphological and functional reorganization of rat medial prefrontal cortex in neuropathic pain[J]. *PNAS*, 2009, 106(7): 2423-2428.
- [19] 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 模型比较[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(4): 555-557.
- [20] Narmatha S, Bruce L, Ken G, et al. Alpha-conotoxin Vc1.1 alleviates neuropathic pain and accelerates functional recovery of injured neurones[J]. *Brain Res*, 2005, 1059(2): 149-158.
- [21] Richard FH, Suellen MW, Mota PM. The ontogeny of neuropathic pain: Postnatal onset of mechanical allodynia in rat spared nerve injury(SNI) and chronic constriction injury(CCI) models[J]. *Pain*, 2005, 115(3): 382-389.
- [22] Joseph RH, Linda PD, Cheryl D, et al. The novel small molecule $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptor antagonist ZZ-204G is analgesic[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 670(2/3): 500-508.
- [23] Aldric H, Jacqueline S. Antinociceptive effects of the marine snail peptides conantokin-G and conotoxin MVIIA alone and in combination in rat models of pain[J]. *Neuropharmacology*, 2009, 56(2): 556-563.
- [24] Medhurst SJ, Walker K, Bowes M, et al. A rat model of bone cancer pain[J]. *Pain*, 2002, 96(122): 129-140.
- [25] Zhang RX, Liu B, Wang L, et al. Spinalglial activation in a new rat model of bone cancer pain produced by prostate cancer cell inoculation of the tibia[J]. *Pain*, 2005, 118(1/2): 125-136.
- [26] Anton K, Lucia A, Elizabeth DW, et al. Intravenous injection of lecanotide, an omega conotoxin; synergistic antihyperalgesic effects with morphine in a rat model of bone cancer pain[J]. *Pain Med*, 2011, 12(6): 923-941.
- [27] Wala EP, Crooks PA, McIntosh JM. Novel small molecule $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic receptor antagonist prevents and reverses chemotherapy-evoked neuropathic pain in rats[J]. *Anesth Analg*, 2012, 5(18): 1.