

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.23.023

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240906.1533.004\(2024-09-06\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240906.1533.004(2024-09-06))

疼痛的神经环路研究相关技术应用进展*

王建业^{1,2}, 边艳琴^{1,2}, 向 峥^{1,2}, 裴少强^{1,2}, 程意伟^{1,2}, 沈 军^{1,2}, 肖连波^{1,2△}

(1. 上海中医药大学附属光华医院, 上海 200052; 2. 上海市中医药研究院中西医结合关节炎研究所, 上海 200052)

[摘要] 疼痛是一种与真实或潜在的组织损伤相关的不适感和情感体验, 或类似相关感觉的体验。然而, 疼痛远非单纯的生理感觉, 其背后涉及复杂的情感和神经调节机制。疼痛神经环路为复杂生物学系统, 涵盖末梢神经元至大脑皮质、丘脑、杏仁核、脊髓背角等中枢神经系统的多层次结构, 参与感知、传导和调控疼痛信号, 牵涉多种分子和细胞水平的相互作用, 构建全面的疼痛感知过程。近年来, 疼痛神经环路研究领域运用多种科学技术工具, 为深入理解和治疗疼痛提供了理论和技术支持。该文通过对不同技术在疼痛神经环路方面的应用进行梳理, 旨在为相关领域的学者提供全面的研究现状, 为临床疼痛研究及治疗提供新的思路。

[关键词] 疼痛; 神经环路; 调节机制; 技术应用; 综述

[中图法分类号] R402 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)23-3651-06

Advances in application of techniques related to study of neural circuits in pain*

WANG Jianye^{1,2}, BIAN Yanqin^{1,2}, XIANG Zheng^{1,2}, PEI Shaoqiang^{1,2},
CHENG Yiwei^{1,2}, SHEN Jun^{1,2}, XIAO Lianbo^{1,2△}

(1. Affiliated Guanghua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200052, China; 2. Arthritis Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai Municipal Academy of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200052, China)

[Abstract] Pain is an uncomfortable and emotional experience associated with, or similar to, real or potential tissue damage. However, far from being a purely physiological sensation, pain involves complex emotional and neuromodulatory mechanisms. The pain neural circuit is a complex biological system, covering the multi-level structure of the central nervous system from peripheral neurons to the cerebral cortex, thalamus, amygdala and dorsal horn of the spinal cord, participating in the perception, conduction, and regulation of pain signals, involves multiple molecular and cellular interactions to build a comprehensive pain perception process. In recent years, the field of pain neural circuit research has used a variety of scientific and technological tools to provide the theoretical and technical support for the in-depth understanding and treatment of pain. This article aims to provide a comprehensive research status quo for the scholars in related fields and new ideas for clinical pain research and treatment by combing the application of different technologies in the study of pain neural circuits.

[Key words] pain; neural circuits; regulatory mechanisms; technology application; review

长期以来, 疼痛是医学领域面临的重大挑战, 管理疼痛的方法往往存在个体差异、药物滥用等问题^[1]。临床研究中实施的疼痛神经生理学调查大多数评估的是小纤维或脊髓丘脑束损伤, 而不是直接起源于疼痛的神经机制, 也不能客观量化疼痛^[2]。神经环路由多个神经元组成, 这些神经元通过突触相互通信, 形成复杂的信息流路径, 它们是揭示疼痛信号的传递和调控机制的关键^[3]。复杂的疼痛环路由多个

水平的神经系统组件参与调节, 多种调节因子共同编码疼痛大脑回路中的神经活动。常见的疼痛神经环路包括脊髓-脑干背角调制系统、内源性痛觉调制系统、杏仁核-下丘脑环路、丘脑-脑干调制通路、大脑皮质-亚皮质通路、脑干-脊髓介质系统、下行抑制系统、间脑-边缘系统、脊髓-脑干-丘脑-边缘系统、内源性酰胺系统。因此, 深入探索神经环路对于制订更有效的疼痛治疗策略尤为重要。本文从组织结构成像、神经

* 基金项目: 上海市“科技创新行动计划”自然科学基金(22ZR1453000, 22ZR1453100); 上海市进一步加快中医药传承创新发展三年行动计划[ZY(2021-2023)-0201-06]; 上海市“科技创新行动计划”医学创新研究专项面上项目(21Y11921500)。△ 通信作者, E-mail: xiao_lianbo@163.com。

元成像及信息传递、神经介质分子活动等不同层面,全面阐述了目前疼痛神经环路研究领域涉及的各项技术,为人体疼痛研究提供全新方法与途径。

1 神经血管成像的组织光透明

生物组织混浊特性限制了光在生物组织中的穿透深度,进而影响了光在深层组织的成像能力。组织光透明则从组织改性的角度,通过物理或化学手段,减少组织对光的衰减,使组织变得对光“透明”,从而有效提升光学成像在离体组织或活体动物的应用能力^[4]。透明的组织可以让光线透过并达到深层结构,从而在显微镜下或其他光学成像技术下对组织的内部结构、细胞和分子进行观察和研究^[5]。目前可用于大组织标本透明的代表性方法主要分为两类:一类是基于有机溶剂的光透明方法,其透明能力强、透明速度快,但会引起组织收缩,荧光保存能力差;另一类是基于水溶性试剂的光透明方法,荧光兼容性较好,但透明速度慢、透明效果差且多有膨胀,对成像系统有更高的要求^[6]。ZHU 等^[7]引入 2-甲基六亚甲基四胺(2-Methylhexamethylenediamine, MXDA),并开发了一种快速、高效、亲脂性强的水性透明方法,称为基于 MXDA 的水性透明系统。ZHAO 等^[8]发明另一种用于在突触分辨率下成像皮质结构的颅骨光学透明窗,结合双光子显微镜技术可以重复成像小鼠的神经元、小胶质细胞和微血管等组织结构,应用于研究关键时期树突棘的可塑性,以及实现激光消融后树突和小胶质细胞的可视化。使用组织光透明技术开发大脑地图集可以促进细胞活动、细胞类型和神经连接体的映射,进而深入了解大脑功能和病理,有望彻底改变人类神经科学的研究^[9]。WANG 等^[10]通过组织光透明手段获取透明背根神经节和脊髓标本的三维图像,从而可视化分析正向调控功能域结合因子 1(positive regulatory domain I binding factor 1, PRDIBF1)的表达和分布。周围神经损伤会增加背根神经节中 PRDIBF1 的表达水平,抑制 Kv4.3 通道转录,敲除 PRDIBF1 可以上调 Kv4.3 的表达,降低受伤的背根神经节神经元的兴奋性,缓解周围神经损伤引起的痛觉过敏。

2 单细胞多组学

单细胞多组学用于同时对单个细胞的多个分子组分进行高通量测量和分析。这些分子组分可以包括基因表达、蛋白质表达、代谢产物、表观遗传修饰等^[11]。与基于多通道分子读出的单组学数据比较,它能够揭示细胞的功能和调控网络,以及它们在疾病发展中发挥的作用。通过对单细胞基因组和转录组数据的综合分析来测量基因型-表型相关性,可以揭示基因组改变与疾病相关过程中靶基因转录结果之间的联系,整合来自多个组学层的信息,包括 DNA、RNA 和蛋白质数据,提高识别细胞群、细胞轨迹或谱系追踪及新的/罕见的细胞类型的准确性^[12]。WANG

等^[13]运用单细胞 RNA 测序发现,周围神经损伤后体感神经元的单细胞转录组改变调节了基因表达模式并产生了新神经元类型。心肌营养素样细胞因子 1(cardiotrophin like cytokine factor 1, CLCF1)参与外周神经损伤引起的神经性疼痛超敏反应,结果表明靶向 CLCF1 可能是治疗神经性疼痛的一个潜在策略。KUPARI 等^[14]从 3 个印度恒河猴身上收集了背根神经节组织标本,选取 4 742 个背根神经节细胞,通过单细胞测序,绘制猴神经元的转录组图谱。随后将与人类慢性疼痛相关的基因组位点映射到灵长类动物的感觉神经元类型上,进行相关性分析,以确定慢性疼痛的细胞起源。经过多组学深入研究发现,与慢性疼痛相关的神经元主要存在 2 种类型,这些神经元广泛分布在具有不同遗传易感性的疼痛疾病之间,表明不同疼痛状况之间既具有独特性,也存在共享机制。

3 荧光显微光学切片断层成像技术

荧光显微光学切片断层成像技术通过结合荧光显微镜和光学切片成像,能够在三维空间内获取生物标本的高分辨率荧光显微图像,并通过图像堆叠和处理方法实现对标本内部结构和分子分布的三维可视化,以研究生物标本的结构、功能、代谢和相互作用^[15]。LI 等^[16]开发了一种微型光学切片断层扫描系统,可以提供整个小鼠大脑的微米级断层扫描。利用微型光学切片断层扫描可获得整个高尔基体染色小鼠脑的三维结构数据集,同时神经元的形态、空间位置和神经突起的痕迹可以清晰区分。通过实时染色,同步获取全脑内细胞构筑信息,可以同时从细胞水平获取每个神经元的解剖坐标^[17],通过病毒特异标记,实现对特定类型神经元的突触前结构信息获取,解析带有突触信息的神经元投射模式^[18],进而推动对整个神经环路及其功能的理解。CAI 等^[19]运用该技术结合钙成像、行为学等实验方法,发现了一条新的脊髓-皮质直接通路。该通信路径由脊髓投射神经元和脊髓-皮质接受神经元构成。通过在脊髓背角与大脑皮质之间形成突触连接,脊髓投射神经元和脊髓-皮质接受神经元实现了信息的直接传递,使得脊髓-皮质接受神经元能够对伤害性刺激做出迅速反应,传导痛觉信息。这项发现揭示了另一条大脑处理痛觉的神经传导通路机制,为理解痛觉传递过程提供了新的视角。

4 神经环路示踪病毒工具系统

神经环路示踪病毒是一种用于研究神经回路连接和信息传递的分子工具,经过基因工程改造,使其能够在神经系统中选择性地标记、追踪和操作特定类型的神经元,其主要是为了实现以下多个目标。(1)标记特定神经元类型:通过选择性地操纵病毒载体的外壳蛋白,可以使病毒具有对特定神经元类型的亲和性,从而实现对特定神经环路的标记。(2)可视化神经回路连接:病毒可以携带荧光标记或其他可视化标记,从而使研究人员能够在活体组织中直观地观察神

经元的连接和投射。(3)追踪神经元活动:某些神经环路示踪病毒工具系统还可以被设计成能够表达光敏蛋白,以便激活或抑制特定神经元群体,并研究其对神经环路功能的影响^[20-21]。目前,常用于神经环路研究的病毒工具主要包括伪狂犬病毒(pseudorabies virus, PRV)、单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)、狂犬病毒(rabies virus, RV)、水疱性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)、腺相关病毒(adenovirus, AAV)等。HAN 等^[22]研发出的一种高滴度腺相关病毒 AAV11,可作为与 AAV2-retro 互补的强大逆行病毒示踪剂发挥作用,用于研究神经元与星形胶质细胞的连接。PRV 作为示踪剂可感染神经元并在神经环路中逆行转运。研究发现,PRV531 和 PRV724 作为两种新的逆行跨突触示踪剂,可用于绘制中枢神经系统(central nervous system, CNS)和周围神经系统(peripheral nervous system, PNS)的神经环路^[23]。延髓尾侧腹外侧核(caudal ventrolateral medulla, cVLM)被认为是参与疼痛调控的重要脑区。GU 等^[24]利用病毒示踪技术结合光/化学遗传学,主要聚焦于 cVLMTH 神经元的下游通路,深入探索 cVLMTH 神经元如何发挥镇痛作用。结果显示,cVLM 通过 cVLM-LC-SC 通路发挥疼痛调节作用,靶向 cVLM 可能是有效的镇痛疗法。丘脑作为痛觉信息传导的中枢站,负责接收并整合来自脊髓和脑干等疼痛信号核团的刺激信息,最终通过丘脑-皮质连接对疼痛信息进行区分和加工^[25-26]。组织损伤和抑郁状态均可能引起疼痛过敏,ZHU 等^[27]以小鼠足底炎症和神经结扎作为组织损伤疼痛模型,运用病毒示踪、在体多通道/光纤记录和双光子钙成像等先进技术手段,识别了两个离散的谷氨酸能神经环路:(1)从后丘脑核(POGlu)到初级体感皮质谷氨酸能神经元(S1Glu)的投射介导组织损伤引起的痛敏。(2)从副束状丘脑核(PFGlu)到前扣带皮质 γ -氨基丁酸(GABA)含有神经元再到谷氨酸能神经元(ACCGABA \rightarrow Glu)的途径介导与抑郁状态相关的痛敏。研究结果显示,不同的丘脑皮质回路 POGlu \rightarrow S1Glu 和 PFGlu \rightarrow ACCGABA \rightarrow Glu 分别是与组织损伤和抑郁样状态相关的异常性疼痛,这为不同病因引起的病理性疼痛环路基础提供独特见解。

5 神经递质荧光探针

神经递质荧光探针是用于实时监测神经递质分子在生物系统中活动的分子工具。这些探针通常是荧光染料或标记分子,可以与特定类型的神经递质相互作用并发出荧光信号,从而允许研究人员在活体细胞、组织或动物模型中观察神经递质的释放、扩散和互动。通过荧光强度变化,可以推断神经递质在不同时间和空间的浓度水平,能够以高时空分辨率进行实时检测大脑内多种神经递质在睡眠、运动、疼痛等生理和病理过程中的动态变化^[28-30]。中脑腹侧被盖区

(the ventral tegmental area, VTA)中的多巴胺(dopamine, DA)神经元接受来自大脑多个区域的输入。VTA 中的 DA 神经元在疼痛和快感缺失样行为中有重要调节作用,VTA-DA 通路的变化可能是促进疼痛诱发抑郁样行为的潜在驱动因素^[31]。WANG 等^[32]通过保留性神经损伤(spared nerve injury, SNI)引起的慢性疼痛-快感缺失共病模型小鼠,将 DA 荧光探针与光遗传记录结合,综合机械刺激和糖水刺激数据,发现不同的 DA 受体在痛感觉和痛情绪中具有不同的作用,这为慢性疼痛与快感缺失共病提供了新的机制认识。

6 光遗传学

光遗传是一种利用光敏感蛋白质与光脉冲相互作用来调控生物体内特定细胞或神经元活动的方法。通过基因工程手段,将光敏感蛋白质基因导入生物体中的特定细胞,使这些细胞能够在受到光刺激时发生特定的功能改变^[33],精确地控制细胞活动状态,从而研究其在生理和病理过程中的作用。光遗传技术通常包括光遗传激活和光遗传抑制 2 种方式,分别使用不同类型的光敏感蛋白质来实现,最常用的光遗传蛋白质包括光激活的蓝光感受器和光抑制的黄光感受器。通过适当的光刺激,这些蛋白质可以调控细胞的膜电位,从而控制细胞的兴奋性或抑制性活动,同时发挥治疗神经病理性疼痛的作用^[34-35]。CAI 等^[36]利用光遗传刺激特定的脑回路,研究雄性大鼠杏仁核环路如何调节疼痛等负性和正性情绪行为,发现激活臂旁核到中央杏仁核(central amygdala, CeA)通路模拟疼痛信号并不改变疼痛敏感性本身,但激活基底外侧杏仁核向 CeA 通路则会抑制基础和敏化疼痛。NAJJAR 等^[37]在对结肠活动性炎症患者的研究发现,结肠上皮细胞是痛觉神经元的直接调节因子。上皮细胞的光遗传学激活诱发神经放电和疼痛样行为抑制上皮细胞产生相反的作用,降低对结肠扩张的反应和炎症超敏反应。SUN 等^[38]发现 GABA 能脑干外侧臂旁核(lateral parabrachial nucleus, LPBN)神经元的光遗传激活不影响基础性疼痛感知,但会缓解类似神经病理性疼痛的行为。谷氨酸能 LPBN 神经元的光遗传激活或 GABA 能 LPBN 神经元的抑制在原始小鼠中引发类似神经病理性疼痛的行为。抑制谷氨酸能 LPBN 神经元既改善基础性疼痛感知又缓解类似神经病理性疼痛的高灵敏度。

7 膜片钳电生理技术

膜片钳电生理技术常用于研究神经元膜电位、离子通道活性和突触传递。通过在单个神经元的细胞膜上形成一个微小膜片,将微管放置在神经元的细胞膜上,形成一个高电阻密封,以记录通过“单一”离子通道中通过细胞膜的不同离子通量所引起的微小电流电压变化^[39],实现对细胞内外电流的记录和控制。这项技术可以提供关于神经元电生理特性的详细信

息,包括膜电位、动作电位、离子通道的激活和失活、膜电流等^[40-42]。瞬时受体电位锚蛋白 1(transient receptor potential ankyrin 1, TRPA1)是一种离子通道蛋白,主要分布在感觉神经末梢,特别是与疼痛感知相关的神经末梢,如皮肤、肠道和气道等。TRPA1 是一种非选择性阳离子通道,可以被多种化学物质激活,包括辣椒素、挥发性酸、环氧化物等。一旦受到化学刺激,TRPA1 通道激活会导致神经末梢的兴奋性增加,产生疼痛信号传递,进而引发痛觉感知。证据表明,TRPA1 是治疗疼痛的潜在靶点^[43-45]。MARCOTTI 等^[46]通过膜片钳电生理记录,发现了 Sigma-1 受体拮抗剂对人 TRPA1 通道的质膜表达和功能有明显抑制作用。在表达 TRPA1 的小鼠感觉神经元中,Sigma-1 受体拮抗剂减少了对 TRPA1 激动剂的内向电流和动作电位的放电。同时在奥沙利铂神经病变的小鼠试验模型中,Sigma-1 受体拮抗剂的全身治疗通过涉及 TRPA1 的机制阻止疼痛症状的发生。调控 TRPA1 通道可能成为治疗神经病理性疼痛的新方法。LIU 等^[47]运用膜片钳电生理技术,在 Slack^{-/-}小鼠脊髓 SOM⁺神经元中 Kcnt1 基因的表达部分,缓解了 Slack^{-/-}小鼠的机械痛灵敏度,降低了脊髓 SOM⁺神经元的 AP 放电率。脊髓 SOM⁺神经元中 Slack 通道缺失,通过增加脊髓背根神经节和 SOM⁺神经元中的小神经元兴奋性来引起小鼠机械性痛觉过敏,但并不影响热痛觉和冷痛觉。

8 自由活动神经元超微成像技术

自由活动神经元超微成像技术是通过结合高分辨率的显微镜成像技术和明显的神经元荧光标记,从而使研究者能够在动物体内实时监测神经元的活动(如电活动和钙信号),以更好地理解神经元的功能、相互作用及在不同生理和病理状态下的变化。KONDO 等^[48]将一个优化的 AAV 载体表达系统与 nVistaTM 神经元超微成像系统结合在一起,展示了自然状态下非人灵长类动物的大脑运动皮质神经元在 nVistaTM 神经元超微成像系统的活动状态。LIU 等^[49]利用 nVistaTM 神经元超微成像系统对神经回路的研究,发现了在触觉性痛觉下,脊髓伤害性感觉神经元的募集在触觉驱动的前馈脊髓-皮质-脊髓敏化回路中非常重要。操纵体感皮质中的皮质脊髓神经元(corticospinal neurons,CSN)可选择性地损伤对轻触的行为反应,而不会影响对有毒刺激的反应,这表明了上述神经元在触觉感知中的作用。皮质脊髓束(corticospinal tract,CST)的双侧病变导致轻触灵敏度降低,对无害低压刺激的反应降低,进一步支持了 CST 参与触觉处理。体感皮质中的 CSN 由触觉刺激激活,其皮质投射促进背角深处胆囊收缩素中间神经元的光触觉诱发活动,从而在神经病理性疼痛条件下导致触觉异位症。这些研究结果揭示了皮质对脊髓正常状态及病理触觉感觉过程的直接调控,同时为神

经病理性疼痛的治疗策略开辟新视角。HUA 等^[50]发现全身麻醉(general anesthesia,GA)可以激活小鼠 CeA 中独特的 GABA 能神经元群(CeAGA)。研究人员运用 Inscopix nVista3.0 神经元成像系统对 CeAGA 活动进行实时监测,发现它投射到大脑中的区域非常广泛,可以有效抑制大脑中许多疼痛处理中心的神经激活。通过光遗传学激活 CeAGA 能够强效抑制跨感觉模式下由疼痛引发的反射和自我康复行为,并消除神经病理性疼痛诱导的过度痛觉敏化。相反,抑制 CeAGA 活动会加剧疼痛,产生强烈的厌恶感。CeAGA 具有深远的镇痛作用,可以改善急性和慢性神经疼痛感觉,并能抑制疼痛处理的感官和情感方面。对 CeAGA 的识别和理解作为 GA 诱导的镇痛机制提供新的见解,有望为改善外科手术期间的疼痛及靶向镇痛药物的开发提供新方向。

9 小结与展望

目前,疼痛研究已从低水平单一神经递质的探索拓展为对神经环路各分子相互连接和信息传递结构的精细化研究。多种先进技术手段的引入为疼痛研究提供了前所未有的深度和广度,使疼痛的神经环路及调节机制变得愈发清晰。不同疼痛的神经环路需要合理运用不同研究手段,如利用荧光显微光学切片断层成像技术探索脊髓-皮质通路,神经环路示踪病毒 PRV531、PRV724 可绘制 CNS 和 PNS 的神经环路,神经递质荧光探针用于观察 VTA-DA 通路变化等,这进一步提高了疼痛神经环路机制研究的精确度。然而,这些技术方法也存在缺点,如技术应用复杂、对象有局限性、数据处理困难、难以运用于临床等。尽管这些先进技术为疼痛研究带来了前所未有的深度和广度,但仍需要更多跨学科的合作解决面临的诸多问题。未来,融会贯通不同领域的研究技术手段,并与临床实践相结合,将成为推动疼痛研究的首要任务。这种多领域的学科整合有望进一步揭开疼痛机制的奥秘,为疼痛治疗策略的拓展提供更为广阔的前景。

参考文献

- [1] HOBELMANN J G, HUHN A S. Comprehensive pain management as a frontline treatment to address the opioid crisis[J]. *Brain Behav*, 2021,11(11):e2369.
- [2] LEFAUCHEUR J P. Clinical neurophysiology of pain[J]. *Handb Clin Neurol*, 2019,161:121-148.
- [3] LUO L. Architectures of neuronal circuits[J]. *Science*, 2021,373(6559):eabg7285.
- [4] ZHAO S, TODOROV M I, CAI R, et al. Cellular and molecular probing of intact human or-

- gans[J]. *Cell*, 2020, 180(4):796-812.
- [5] INYUSHIN M, MESHALKINA D, ZUEVA L, et al. Tissue transparency in vivo[J]. *Molecules*, 2019, 24(13):2388.
- [6] 欧毅超, 冯展鹏, 武广森, 等. 6 种光学透明化方法在大鼠脑组织块的透明效果比较[J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(4):7-14.
- [7] ZHU J, YU T, LI Y, et al. MACS: rapid aqueous clearing system for 3D mapping of intact organs[J]. *Adv Sci*, 2020, 7(8):1903185.
- [8] ZHAO Y J, YU T T, ZHANG C, et al. Skull optical clearing window for in vivo imaging of the mouse cortex at synaptic resolution[J]. *Light Sci Appl*, 2018, 7:6.
- [9] UEDA H R, ERTURK A, CHUNG K, et al. Tissue clearing and its applications in neuroscience[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2020, 21(5):298.
- [10] WANG C, PAN Y, ZHANG W, et al. Positive regulatory domain i-binding factor 1 mediates peripheral nerve injury-induced nociception in mice by repressing Kv4.3 channel expression[J]. *Anesthesiology*, 2021, 134(3):435-456.
- [11] FLYNN E, ALMONTE-LOYA A, FRAGIA-DAKIS G K. Single-cell multiomics[J]. *Annu Rev Biomed Data Sci*, 2023, 6:313-337.
- [12] LEE J, HYEON D Y, HWANG D. Single-cell multiomics: technologies and data analysis methods[J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(9):1428-1442.
- [13] WANG K, WANG S, CHEN Y, et al. Single-cell transcriptomic analysis of somatosensory neurons uncovers temporal development of neuropathic pain[J]. *Cell Res*, 2021, 31(8):939-940.
- [14] KUPARI J, USOSKIN D, PARISIEN M, et al. Single cell transcriptomics of primate sensory neurons identifies cell types associated with chronic pain[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):1510.
- [15] DENG L, CHEN J, LI Y, et al. Cryo-fluorescence micro-optical sectioning tomography for volumetric imaging of various whole organs with subcellular resolution[J]. *iScience*, 2022, 25(8):104805.
- [16] LI A, GONG H, ZHANG B, et al. Micro-optical sectioning tomography to obtain a high-resolution atlas of the mouse brain[J]. *Science*, 2010, 330(6009):1404-1408.
- [17] TIAN J, REN M, ZHAO P, et al. Dissection of the long-range projections of specific neurons at the synaptic level in the whole mouse brain[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(40):e2202536119.
- [18] SUN Q, LI X, REN M, et al. A whole-brain map of long-range inputs to GABAergic interneurons in the mouse medial prefrontal cortex[J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(8):1357-1370.
- [19] CAI B, WU D, XIE H, et al. A direct spino-cortical circuit bypassing the thalamus modulates nociception[J]. *Cell Res*, 2023, 33(10):775-789.
- [20] HUI Y, ZHENG X, ZHANG H, et al. Strategies for targeting neural circuits: how to manipulate neurons using virus vehicles[J]. *Front Neural Circuits*, 2022, 16:882366.
- [21] LIU Q, WU Y, WANG H, et al. Viral tools for neural circuit tracing[J]. *Neurosci Bull*, 2022, 38(12):1508-1518.
- [22] HAN Z, LUO N, MA W, et al. AAV11 enables efficient retrograde targeting of projection neurons and enhances astrocyte-directed transduction[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):3792.
- [23] JIA F, LV P, MIAO H, et al. Optimization of the fluorescent protein expression level based on pseudorabies virus bartha strain for neural circuit tracing[J]. *Front Neuroanat*, 2019, 13:63.
- [24] GU X, ZHANG Y Z, O'MALLEY J J, et al. Neurons in the caudal ventrolateral medulla mediate descending pain control[J]. *Nat Neurosci*, 2023, 26(4):594-605.
- [25] WANG H, DONG P, HE C, et al. Incerta-thalamic circuit controls nociceptive behavior via cannabinoid type 1 receptors[J]. *Neuron*, 2020, 107(3):538-551.
- [26] DENG J, ZHOU H, LIN JK, et al. The parabrachial nucleus directly channels spinal nociceptive signals to the intralaminar thalamic nuclei, but not the amygdala[J]. *Neuron*, 2020, 107(5):909-923.
- [27] ZHU X, TANG H D, DONG W Y, et al. Distinct thalamocortical circuits underlie allodynia induced by tissue injury and by depression-like states[J]. *Nat Neurosci*, 2021, 24(4):542-553.
- [28] 张庆娥, 郑建丽, 李敏, 等. 盐城地区 4 429 例孕妇脊髓性肌萎缩症携带者筛查及产前诊断[J]. *重庆医学*, 2023, 52(5):734-736.

- [29] LI H, LIU Y, LI X, et al. Design, synthesis and application of a dual-functional fluorescent probe for reactive oxygen species and viscosity [J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2021, 246:119059.
- [30] MEI J, TIAN H. Most recent advances on enzyme-activatable optical probes for bioimaging [J]. *Aggregate*, 2021, 2(2):e32.
- [31] MARKOVIC T, PEDERSEN C E, MASSALY N, et al. Pain induces adaptations in ventral tegmental area dopamine neurons to drive anhedonia-like behavior [J]. *Nat Neurosci*, 2021, 24(11):1601-1613.
- [32] WANG X Y, JIA W B, XU X, et al. A glutamatergic DRN-VTA pathway modulates neuropathic pain and comorbid anhedonia-like behavior in mice [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):5124.
- [33] 唐艺恒, 翁阳, 陈泽群, 等. 纳米光遗传探针的发展与应用 [J]. *激光与光电子学进展*, 2023, 60(13):11-32.
- [34] KUSHIBIKI T, ISHIHARA M. Application of optogenetics in gene therapy [J]. *Curr Gene Ther*, 2018, 18(1):40-44.
- [35] LIU K, WANG L. Optogenetics: therapeutic spark in neuropathic pain [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2019, 19(4):321-327.
- [36] CAI Y Q, WANG W, PAULUCCI-HOLT-HAUZEN A, et al. Brain circuits mediating opposing effects on emotion and pain [J]. *J Neurosci*, 2018, 38(28):6340-6349.
- [37] NAJJAR S A, ALBERS K M. Pain in inflammatory bowel disease: optogenetic strategies for study of neural-epithelial signaling [J]. *Crohn's Colitis* 360, 2021, 3(3):otab040.
- [38] SUN L, LIU R, GUO F, et al. Parabrachial nucleus circuit governs neuropathic pain-like behavior [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):5974.
- [39] GABRIEL R, BORELAND A J, PANG Z P. Whole cell patch clamp electrophysiology in human neuronal cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2023, 2683:259-273.
- [40] HILL C L, STEPHENS G J. An introduction to patch clamp recording [J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2188:1-19.
- [41] LOVISOLO D. Patch clamp: the first four decades of a technique that revolutionized electrophysiology and beyond [J]. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 2023, 186:1-28.
- [42] KODIROV S A. Whole-cell patch-clamp recording and parameters [J]. *Biophys Rev*, 2023, 15(2):257-288.
- [43] NAERT R, LOPEZ-REQUENA A, TALAVERA K. TRPA1 expression and pathophysiology in immune cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21):11460.
- [44] SOUZA M A D, NASSINI R, GEPPETTI P, et al. TRPA1 as a therapeutic target for nociceptive pain [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2020, 24(10):997-1008.
- [45] LI J, ZHANG H, DU Q, et al. Research progress on TRPA1 in diseases [J]. *J Membr Biol*, 2023, 256(4):301-316.
- [46] MARCOTTI A, FERNANDEZ-TRILLO J, GONZALEZ A, et al. TRPA1 modulation by Sigma-1 receptor prevents oxaliplatin-induced painful peripheral neuropathy [J]. *Brain*, 2023, 146(2):475-491.
- [47] LIU Y, ZHANG F F, SONG Y, et al. The slack channel deletion causes mechanical pain hypersensitivity in mice [J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15:811441.
- [48] KONDO T, SAITO R, OTAKA M, et al. Calcium transient dynamics of neural ensembles in the primary motor cortex of naturally behaving monkeys [J]. *Cell Rep*, 2018, 24(8):2191-2195.
- [49] LIU Y, LATREMOLIERE A, LI X, et al. Touch and tactile neuropathic pain sensitivity are set by corticospinal projections [J]. *Nature*, 2018, 561(7724):547-550.
- [50] HUA T, CHEN B, LU D, et al. General anesthetics activate a potent central pain-suppression circuit in the amygdala [J]. *Nat Neurosci*, 2020, 23(7):854-868.

(收稿日期:2023-11-26 修回日期:2024-08-11)

(编辑:张芃捷)