

☆ 思路与方法 ☆

工具病毒载体在针刺镇痛相关脑环路
机制研究中的应用

马 翠, 叶钰娟, 严兴科

(甘肃中医药大学针灸推拿学院, 兰州 730101)

【摘要】 针刺镇痛临床疗效确切,但其中枢脑环路机制尚未完全阐明,工具病毒载体技术为针刺镇痛中枢环路机制研究提供了有效手段。本文简述了工具病毒载体的分类及特性,以及近年来工具病毒载体及其携带的功能元件光/化学遗传学技术在疼痛及针刺镇痛研究中的应用概况。目前,在针刺镇痛中枢机制研究中,工具病毒结合化学遗传学技术主要用于研究前喙扣带皮层→腹外侧中脑导水管周围灰质(rACC→vIPAG)、前扣带回皮层→丘脑(rACC→Th)及腹外侧中脑导水管周围灰质→海马(vIPAG→HPC)等神经环路机制;工具病毒结合光遗传学技术主要用于研究内侧前额边缘下皮层→伏隔核(IL→NAc)等神经环路。工具病毒及光/化学遗传学技术既可靶向性、精确性地标记特定神经元或神经环路,又能动态、实时监测神经网络功能,为针刺镇痛脑环路机制研究带来了新的实验手段和突破口。

【关键词】 工具病毒;针刺镇痛;光遗传学;化学遗传学;脑环路

Application of virus vector tools for acupuncture analgesia related brain circuits research

MA Cui, YE Yu-juan, YAN Xing-ke (College of Acupuncture-Moxibustion and Massage, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730101, China)

【ABSTRACT】 The clinical efficacy of acupuncture analgesia is definite, but its mechanisms of the central nervous system have not yet been fully elucidated. The virus vector technique provides an effective means for the study of the central nervous system mechanism of acupuncture analgesia. We, in this article, briefly introduced the classification and characteristics of virus vectors, reviewed and analyzed their application and their functional components carried by and optical/chemical genetics technologies they carry in pain and acupuncture analgesia research in recent years. At present, in the research on the central mechanism of acupuncture analgesia, the viral vectors combined with chemical genetics technology is mainly used to explore the neural circuit mechanisms such as rostral anterior cingulate cortex (rACC) →ventrolateral periaqueductal gray (rACC→vIPAG), rACC→thalamus (rACC→Th) and ventrolateral periaqueductal gray→hippocampus (vIPAG→HPC). The viral vectors combined with optogenetics technology is mainly used to explore the neural circuits from the prefrontal infralimbic cortex to the nucleus accumbens (IL→NAc). The viral vectors and optical/chemical genetics technology can not only target and accurately mark the specific neurons or neural circuits, but also dynamically and real-time monitor the function of neural networks, bringing new experimental means and breakthroughs for the research of acupuncture analgesia mechanism of the brain circuits.

【KEYWORDS】 Virus vector tool ; Acupuncture analgesia ; Optogenetics ; Chemical genetics ; Brain circuits

工具病毒载体是指利用基因工程技术对病毒进行改造,成为外源基因运送的载体,其通过感染细胞,将外源基因带入细胞,并进行长期的基因表达^[1]。大脑核团间神经网络连接图谱的绘制有利于大脑功能的解析,当前在神经环路研究领域,工

具病毒载体扮演着重要的角色,其是神经环路示踪的主要工具,同时也是重要的基因运载工具^[2]。工具病毒载体可实现在全脑水平上解析多个脑区、多种类型神经元之间的投射关系,还可对神经元树突棘等精细结构进行详细描绘^[3]。近年来,工具病毒

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20230566

引用格式:马翠,叶钰娟,严兴科.工具病毒载体在针刺镇痛相关脑环路机制研究中的应用[J].针刺研究,2025,50(1):116-122.

项目来源:2023年度甘肃省省级重点人才项目(No.2023-20);2021年甘肃省科技计划项目(No.21JR1RA266);国家自然科学基金项目(No.81460744)

通信作者:严兴科,E-mail: yanxingke@126.com

载体在针灸基础研究领域得到较多的应用,并逐渐扩展到针刺镇痛中枢机制的研究中。工具病毒载体可结合光遗传学、化学遗传学技术,靶向、精确、动态、实时地调控大脑特定类型神经元及神经环路的结构和功能^[4],为针刺镇痛脑机制研究提供了有效的工具和手段。

针刺治疗疼痛类疾病疗效显著、运用广泛,能显著改善患者的疼痛症状^[5-6]。针刺镇痛的中枢环路机制研究是当前针灸实验研究中创新成果最多、影响力最大的领域。据此,本文以工具病毒载体为出发点,综述近年来工具病毒载体应用于针刺镇痛的研究概况,并探讨针刺镇痛研究领域中的应用工具病毒载体的技术特色和优势,以期为今后针刺镇痛中枢机制研究提供新思路。

1 工具病毒载体分类及特征

目前,应用于神经环路标记的工具病毒载体多由嗜神经病毒改造而来,根据工具病毒的遗传背景、形态及其生活史等基本性质,可将常用的工具病毒分为3大类,不同种属的病毒具有其各自的特征,见表1。

1.1 α疱疹病毒科

α疱疹病毒科主要包括伪狂犬病毒(PRV)^[7]和单纯疱疹病毒1型(HSV-1)-129^[8]。这类病毒具有在神经元中复制的能力,同时具有细胞毒性。因此,当其感染神经元一定时间后,神经元可发生病变、凋亡,甚至造成实验动物的死亡^[9]。α疱疹病毒科的PRV和HSV-1-129能够跨多级突触,可对神经元进行特异性追踪,但无法确定神经网络的连接级数^[9]。

1.2 弹状病毒科

弹状病毒科主要包括狂犬病毒(rRV)^[10]和水疱性口炎病毒(VSV)^[11]。低细胞毒性和低免疫原性

是rRV的明显特性,当感染神经元5~12 d,内外源基因能够被高效表达,同时神经元的形态和功能正常;超过5~12 d,感染的神经元会出现变性和凋亡,但实验动物正常存活^[12]。VSV感染神经元后,在极短时间内可高丰度地表达目的蛋白。

1.3 假病毒载体

假病毒载体主要包括腺相关病毒(AAV)、逆转录病毒和慢病毒^[13]。AAV、逆转录病毒和慢病毒这类病毒不能在神经元中复制,不具备跨突触能力,但其可以介导外源性基因表达。因此,这类病毒一般常被用作表达外源基因的载体^[9]。其中,AAV是目前神经环路示踪中应用最广泛的病毒,具有毒性低、感染能力强、基因表达持久、适用于多种动物等特点^[14]。

2 工具病毒载体携带的功能元件

神经环路研究中,病毒载体常与光遗传学、化学遗传学技术相结合,特异性调控神经元的功能^[15]。

2.1 光遗传学

2.1.1 光遗传学简介

光遗传学技术结合了光学技术与现代遗传学技术,能够对细胞中的基因进行在体调控,属于神经调控技术^[15]。光遗传学技术主要通过病毒转染和基因修饰,将光敏感蛋白表达在特定细胞或组织区域内,然后其可被特定波长的光激活,从而调控神经元的兴奋或抑制^[16-17]。兴奋性光敏感通道蛋白包括光敏感通道蛋白(ChR2),当473 nm蓝光照射光敏感蛋白ChR2,通道开放,钠离子内流,细胞膜去极化,神经元兴奋。抑制性光敏感通道蛋白包括法老氏单胞菌盐视紫红质(NpHR),当589 nm黄光照射光敏感蛋白NpHR,通道打开,氯离子内流,细胞膜超极化,神经元抑制^[18]。

表1 工具病毒载体分类及特征

Table 1 Classification and characteristics of virus vector tools

分类	病毒名称	基因组类型	跨突触能力	特征	局限性
α疱疹病毒科	伪狂犬病毒	球形双链DNA	逆向跨多级突触	可在神经元中复制	具有细胞毒性
	单纯疱疹病毒	球形双链DNA	顺向跨多级突触		
弹状病毒科	狂犬病毒	负链RNA	逆向跨多级突触	低细胞毒性、低免疫原性	无
	水疱性口炎病毒	负链RNA	顺向跨多级突触		
假病毒载体	腺相关病毒	单链DNA	不跨突触	介导外源性基因表达	不能在神经元中复制
	逆转录病毒	单链RNA			
	慢病毒	单链RNA			

2.1.2 光遗传学在疼痛神经环路研究中的应用

近年来,光遗传学技术被广泛运用到疼痛的神经环路机制研究中,极大地促进了疼痛效应机制研究的发展。Smith等^[19]利用光遗传学技术证实前扣带皮层(ACC)到伏隔核(NAc)的谷氨酸(Glu)能神经元投射(ACC^{Glu}→NAc^{Glu})参与了疼痛和镇痛的转变过程。Gan等^[20]采用病毒示踪和光遗传学技术观察到,初级运动皮层(M1)到NAc神经环路可通过M1第6层神经元到中背侧丘脑(Th)通路,特异性调节神经性疼痛的感觉和厌恶情绪成分,可用于缓

解疼痛。孟浅^[21]利用光遗传学抑制初级感觉皮层(S1)Glu能神经元投射到背外侧纹状体(cDLS)的γ-氨基丁酸(GABA)能神经元(S1^{Glu}→cDLS^{GABA})神经环路,可缓解慢性炎性痛小鼠的焦虑样行为,但对小鼠的炎性痛敏无影响。Singh等^[22]研究显示,编码感觉疼痛信息的S1到ACC存在神经投射,利用光遗传学抑制S1^{Glu}→ACC神经环路可有效缓解急性和慢性疼痛所致的厌恶行为。其他基于光遗传学技术揭示的与疼痛相关的神经环路见表2。

表2 光遗传学技术在疼痛神经环路研究中的应用

Table 2 Application of optogenetics in the study of pain neural circuits

神经环路	神经元类型	动物模型	光遗传学作用	结果
背内侧丘脑→ACC ^[23]	Glu能神经元	神经病理性痛	激活	诱导疼痛相关厌恶反应
PFC→NAc ^[24]	-	神经病理性痛	激活	缓解痛觉过敏和厌恶情绪
腹侧被盖区→NAc ^[25]	多巴胺能神经元	神经病理性痛	抑制	镇痛
PBN→中央杏仁核 ^[26]	Glu能神经元	炎性痛	激活	诱导焦虑、抑郁
基底外侧杏仁核→中央杏仁核 ^[27]	Glu能神经元	炎性痛	激活	镇痛;诱导条件位置偏好
中央杏仁核→终纹床核 ^[27]	GABA能神经元	直肠扩张模型	激活	加剧内脏痛

注:ACC为前扣带皮层,PFC为前额叶皮层,NAc为伏隔核,PBN为臂旁核,Glu为谷氨酸,GABA为γ-氨基丁酸。

2.2 化学遗传学

2.2.1 化学遗传学简介

化学遗传学技术可通过对生物大分子物质进行改造,使其能和先前无法识别的小分子进行相互作用,从而实现对神经元活动的调控^[28]。G蛋白偶联受体(GPCRs)是目前已被成功改造的大分子物质之一^[29]。基于GPCRs改造的,只由特定药物激活的受体(DREADDs)技术是目前应用最广泛的化学遗传学技术^[30]。DREADDs可以通过病毒载体导入到靶标细胞中,从而被特定化合物叠氮平-N-氧化物(CNO)激活或抑制^[15]。一般来说,人M3毒蕈碱型DREADD受体(hM3Dq)与CNO结合后可引起神经元兴奋;人M4毒蕈碱型DREADD受体(hM4Di)与CNO结合后,可抑制神经元^[31]。

2.2.2 化学遗传学在疼痛神经环路研究中的应用

Yin等^[32]研究显示,自背内侧前额叶皮层的Glu能神经元(dmPFC^{Glu})可投射到腹外侧中脑导水管周围灰质(vIPAG),采用化学遗传学激活dmPFC^{Glu}→vIPAG神经环路,导致小鼠疼痛和焦虑样行为的产生。Liang等^[33]研究显示,自Th室旁核后部的Glu能神经元(pPVT^{Glu})可投射到腹内侧前额叶皮层(vmPFC),利用化学遗传学激活pPVT^{Glu}→vmPFC

神经环路可导致疼痛产生,抑制该神经环路可减轻慢性疼痛小鼠的疼痛感受。Alhadef等^[34]利用化学遗传学证实,表达饥饿敏感的下丘脑刺鼠相关蛋白→臂旁核(PBN)神经元的活动阻断了机体对炎性疼痛的行为反应,且PBN中的神经肽Y1受体信号传导可能是疼痛抑制的靶标。其他基于化学遗传学技术揭示的与疼痛相关的神经环路见表3。

3 工具病毒载体及其携带的功能元件在针刺镇痛研究中的应用

近年来,工具病毒载体在针灸基础研究领域得到较多的应用,并逐渐扩展到针刺镇痛中枢机制的研究中,为针刺镇痛脑机制研究提供了有效的工具和手段。

3.1 工具病毒结合化学遗传学用于针刺镇痛的研究

3.1.1 前喙扣带皮层→腹外侧中脑导水管周围灰质(rACC→vIPAG)

Zhu等^[39]在前喙扣带皮层(rACC)中注射顺行示踪病毒,观察到自rACC的Glu能神经元(rACC^{Glu})可投射到vIPAG,利用化学遗传学特异性地激活输出到vIPAG的rACC^{Glu},可诱导小鼠产生痛觉过敏和焦虑样行为,化学遗传学抑制该神经

表3 化学遗传学技术在疼痛神经环路研究中的应用
Table 3 Application of chemogenetics in the study of pain neural circuits

神经环路	神经元类型	疼痛类型	化学遗传学作用	结果
内侧隔区→rACC ^[35]	胆碱能神经元	炎性痛	抑制	缓解疼痛及负性情绪
腹侧被盖区→海马齿状回 ^[36]	多巴胺能神经元	神经病理痛	激活	改善空间记忆缺损
蓝斑→PFC ^[37]	去甲肾上腺素能神经元	神经病理痛	激活	增加痛敏感、产生焦虑厌恶
ACC→NAc ^[38]	Glu能神经元	神经病理痛	抑制	诱导厌恶

注:rACC为前喙扣带皮层,PFC为前额叶皮层,ACC为前扣带皮层,NAc为伏隔核,Glu为谷氨酸。

元,可减少神经病理性疼痛小鼠的痛觉和焦虑样症状。同时他们观察到电针“足三里”“三阴交”能显著减轻神经病理痛模型小鼠的痛觉过敏和焦虑样行为,化学遗传学激活 rACC^{Glu}→vIPAG 神经环路可阻断电针对神经病理痛小鼠的镇痛作用,但不影响慢性疼痛诱导的焦虑情绪,表明电针“足三里”“三阴交”可通过调控 rACC^{Glu}→vIPAG 神经环路发挥对神经病理性疼痛的治疗作用。

3.1.2 rACC→Th

Shen等^[40]向rACC内注射能特异性标记Glu能神经元的顺行示踪病毒,观察到rACC^{Glu}可投射到Th,化学遗传学激活向Th输出的rACC^{Glu},可诱导大鼠产生焦虑样行为;反之,化学遗传学抑制该神经元,可缓解完全弗氏佐剂(CFA)诱导的炎性痛大鼠的焦虑样行为。同时他们观察到电针“足三里”“三阴交”能有效减少CFA诱导的大鼠焦虑样行为,而化学遗传学激活rACC^{Glu}→Th神经环路有效阻断了电针对CFA大鼠慢性疼痛诱导的焦虑样行为的影响,表明电针可能通过调节rACC^{Glu}→Th神经环路干预慢性疼痛诱导的焦虑样行为。

3.1.3 vIPAG

Zhu等^[41]利用病毒载体结合化学遗传学技术,观察到电针可缓解慢性坐骨神经损伤模型和膝关节骨关节炎模型小鼠的机械痛和热痛,发挥镇痛作用,化学遗传学抑制vIPAG中GABA能神经元(vIPAG^{GABA})可发挥与电针相同的作用。而化学遗传学激活vIPAG^{GABA}和抑制vIPAG中的Glu能神经元(vIPAG^{Glu})可有效逆转电针的镇痛作用。特异性敲除vIPAG^{GABA}上的大麻素受体1(CB1)消除了电针对疼痛超敏反应的影响,而特异性敲除vIPAG^{Glu}上的CB1受体仅减弱了电针效应的一小部分。

3.2 工具病毒结合光遗传学用于针刺镇痛的研究

刘会^[42]利用工具病毒及光遗传学技术观察到电针“足三里”可通过激活内侧前额边缘下皮层(IL)和NAc的兴奋性Glu能神经元(IL^{Glu}、NAc^{Glu})而降

低神经病理痛小鼠的热痛阈值,发挥镇痛效应,同时可改善小鼠的条件性位置偏爱,产生奖赏效应;光遗传学激活IL^{Glu}→NAc^{Glu}神经环路可发挥与电针同等的镇痛效应,表明电针可以通过调节IL^{Glu}→NAc^{Glu}神经环路,从而产生镇痛作用。

4 工具病毒载体用于针刺镇痛中枢机制研究的优势分析

4.1 靶向性和精确性

蛋白质、染料、肽类标记物等方法是传统针灸神经结构研究中常用的方法,其中使用最多的神经示踪剂是辣根过氧化物酶和霍乱毒素亚单位B^[43],这些方法存在不能特异性标记神经元、信号间接、跨突触后信号衰减严重等问题。因此,在针刺镇痛研究中应用传统神经示踪剂仅可简单描绘出大脑核团间的神经投射关系,从形态学方面提供神经结构信息,但无法靶向性、精确地标记特定类型神经元^[1],难以直接证明神经环路与针刺镇痛效应间的因果关系。病毒载体及其携带的光遗传学和化学遗传学功能元件技术的出现扭转了这一局面。将病毒载体用于针刺镇痛脑环路研究,不仅可在全脑水平上阐明大脑核团间的神经投射关系,从结构方面证实特定大脑核团间神经环路的存在,还可精确操控特定类型神经元及神经环路^[44-45],从功能方面解析神经元兴奋或抑制状态与实验动物痛阈及其他行为学之间的相关性,直接验证特定神经环路与针刺镇痛效应机制间的因果关系。Li等^[46]采用重组病毒和光遗传学技术,在小鼠背根神经节(DRG)注射AAV5-TRPV1-ArchT-eGFP病毒,并采用532 nm绿色激光照射注射病毒载体的小鼠,验证了DRG神经元参与镇痛的效应。

4.2 动态性和实时监测性

病毒载体等新兴神经技术的发展为更加精准地描述神经环路在疼痛和情绪调控中的作用、精细地调节和观察神经投射及神经递质的释放,提供了

有效的技术平台。这些技术可在体、实时监测针刺干预对神经元的调控作用,并实现对神经环路的激活与抑制;进一步通过观察激活或抑制前后实验动物行为学改变,明确针刺镇痛的中枢机制^[47]。针刺治疗慢性疼痛所需疗程较长,具有重复针刺的累积效应,与离体脑片观察技术相比,病毒示踪技术及光遗传学、化学遗传学技术可在体、实时观察针刺的累积效应及神经递质的变化趋势。此外,利用在体病毒示踪及光遗传学、化学遗传学技术可直接观察同一小鼠针刺前后痛阈及焦虑抑郁样行为学等实验指标的变化,可避免实验动物个体间的差异,缩小实验误差,提高实验数据的科学性和精确性^[48]。

5 讨论

当前,针刺镇痛研究领域的主要研究方向是针刺镇痛的中枢环路机制研究,大脑核团间神经元相互投射构成了神经环路的基本形态。如上文所述,工具病毒载体及其携带的功能元件已作为有效的科研工具,被广泛应用于针刺镇痛研究领域。为更好地将工具病毒及光遗传学、化学遗传学技术应用到针刺镇痛研究领域,笔者认为研究前要先了解其基本原理,明确不同病毒载体、不同光敏蛋白的特性及优缺点,同时需注意实验过程中的安全性,明确该技术存在的问题及相关的解决方案,在保证实验人员安全的前提下,根据实验的具体要求进行相关设计。如在利用光遗传、化学遗传学技术的过程中,需重视其存在的潜在危害和缺陷:①没有激光刺激或配体激活的光敏感蛋白和GPCRs等外源性蛋白具有一定的细胞毒性和生物活性^[49-50];②光遗传学技术在使用激光刺激组织时会产生热量,对细胞造成影响^[51];③化学遗传学技术在使用配体去激活GPCRs时,配体的代谢产物会产生不同的不良反应^[52-53]。此外,在设计实验时可将多种技术相结合,如可将光遗传学技术与神经电生理技术相结合,通过光遗传学技术靶向、实时地调控特定神经环路功能状态的同时,可结合神经电生理技术及时记录实验动物脑区神经的自发电信号和受光遗传调控后诱发的神经电信号变化^[54]。

综上所述,工具病毒、光遗传学、化学遗传学等神经生物学相关技术在针刺镇痛研究中已变得越来越重要。利用病毒载体标记神经环路结构,调控其功能,从神经元、基因、蛋白及神经环路等层面多维度评价针刺镇痛的效果,是目前揭示针刺镇痛效应机制最有效的手段之一。在针刺镇痛研究中应

用病毒载体,有助于针刺镇痛效应机制的进一步挖掘,为今后针刺镇痛中枢机制研究提供新的方向。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 徐雨.腺病毒载体与慢病毒载体在基因编辑鸡中的效率比较研究[D].南宁:广西大学,2020.
XU Y. Comparative study on the efficiency of adenovirus vector and lentivirus vector in gene editing chickens (in Chinese)[D]. Nanning: Guangxi University, 2020.
- [2] 靳森.工具病毒系统的建立及其在神经环路解析中的应用[D].北京:中国科学院大学,2016.
JIN S. Establishment of tool virus system and its application in neural loop analysis (in Chinese)[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2016.
- [3] 韩增鹏,施祥玮,应敏,等.神经环路示踪工具病毒的研究进展[J].分析化学,2019,47(10):1639-1650.
HAN Z P, SHI X W, YING M, et al. Tools for neural circuit tracing based on neurotropic viruses (in Chinese)[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2019, 47(10): 1639-1650.
- [4] 陈宜张.光遗传学研究[J].科学,2014,66(4):21-26.
CHEN Y Z. Optogenetics (in Chinese)[J]. Science, 2014, 66(4): 21-26.
- [5] LI X Y, ZHU Y C, SUN H J, et al. Electroacupuncture inhibits pain memory and related anxiety-like behaviors by blockading the GABA_B receptor function in the midcingulate cortex[J]. Mol Neurobiol, 2023, 60(11): 6613-6626.
- [6] SU H, CHEN H Y, ZHANG X, et al. Electroacupuncture ameliorates pain in cervical spondylotic radiculopathy rat by inhibiting the CaMKII/CREB/BDNF signaling pathway and regulating spinal synaptic plasticity[J]. Brain Behav, 2023, 13(10): e3177.
- [7] 李碧,朱玲,周远成,等.伪狂犬病毒神经传导研究[J].病毒学报,2014,30(3):333-337.
LI B, ZHU L, ZHOU Y C, et al. Studies on neuronal tracing with pseudorabies virus (in Chinese)[J]. Chinese Journal of Virology, 2014, 30(3): 333-337.
- [8] ZHANG G R, ZHAO H, ABDUL-MUNEER P M, et al. Neurons can be labeled with unique hues by helper virus-free HSV-1 vectors expressing Brainbow[J]. J Neurosci Methods, 2015, 240: 77-88.
- [9] 张志建,靳森,朱续涛,等.利用嗜神经病毒跨突触追踪神经网络研究进展[J].生命科学,2014,26(6):634-644.
ZHANG Z J, JIN S, ZHU X T, et al. Advancement in neurotropic virus-mediated trans-synaptic neural circuit tracing (in Chinese)[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2014, 26(6): 634-644.
- [10] WICKERSHAM I R, SULLIVAN H A, SEUNG H S. Axonal and subcellular labelling using modified rabies viral vectors[J]. Nat Commun, 2013, 4: 2332.
- [11] HAVRANEK K E, REYES BALLISTA J M, HINES K M, et al. Untargeted lipidomics of vesicular stomatitis virus-

- infected cells and viral particles[J]. *Viruses*, 2021, 14(1): 3.
- [12] OSAKADA F, MORI T, CETIN A H, et al. New rabies virus variants for monitoring and manipulating activity and gene expression in defined neural circuits[J]. *Neuron*, 2011, 71(4): 617-631.
- [13] BLESSING D, DÉGLON N. Adeno-associated virus and lentivirus vectors: a refined toolkit for the central nervous system[J]. *Curr Opin Virol*, 2016, 21: 61-66.
- [14] ZHENG C X, WANG S M, BAI Y H, et al. Lentiviral vectors and adeno-associated virus vectors: useful tools for gene transfer in pain research[J]. *Anat Rec*, 2018, 301(5): 825-836.
- [15] 刘一寒, 崔晶晶, 李宇清, 等. 条件性基因编辑动物和病毒载体在针灸实验中的应用前景[J]. *针刺研究*, 2023, 48(3): 299-304.
- LIU Y H, CUI J J, LI Y Q, et al. Application prospect of conditional gene editing animals and viral vectors in experimental research of acupuncture (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2023, 48(3): 299-304.
- [16] BERNDT A, LEE S Y, WIETEK J, et al. Structural foundations of optogenetics: Determinants of channelrhodopsin ion selectivity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(4): 822-829.
- [17] BOYDEN E S. Optogenetics and the future of neuroscience [J]. *Nat Neurosci*, 2015, 18(9): 1200-1201.
- [18] MAZZITELLI M, MARSHALL K, PHAM A, et al. Optogenetic manipulations of amygdala neurons modulate spinal nociceptive processing and behavior under normal conditions and in an arthritis pain model[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 668337.
- [19] SMITH M L, ASADA N, MALENKA R C. Anterior cingulate inputs to nucleus accumbens control the social transfer of pain and analgesia[J]. *Science*, 2021, 371(6525): 153-159.
- [20] GAN Z, GANGADHARAN V, LIU S, et al. Layer-specific pain relief pathways originating from primary motor cortex[J]. *Science*, 2022, 378(6626): 1336-1343.
- [21] 孟浅. 躯体感觉皮层神经环路调控疼痛伴焦虑样行为的研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2019.
- MENG Q. Study on the regulation of pain and anxiety-like behavior by neural circuits in somatosensory cortex (in Chinese)[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2019.
- [22] SINGH A, PATEL D, LI A N, et al. Mapping cortical integration of sensory and affective pain pathways [J]. *Curr Biol*, 2020, 30(9): 1703-1715.
- [23] MEDA K S, PATEL T, BRAZ J M, et al. Microcircuit mechanisms through which mediodorsal thalamic input to anterior cingulate cortex exacerbates pain-related aversion[J]. *Neuron*, 2019, 102(5): 944-959.
- [24] LEE M, MANDERS T R, EBERLE S E, et al. Activation of corticostriatal circuitry relieves chronic neuropathic pain[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(13): 5247-5259.
- [25] ZHANG H X, QIAN Y L, LI C, et al. Brain-derived neurotrophic factor in the mesolimbic reward circuitry mediates nociception in chronic neuropathic pain [J]. *Biol Psychiatry*, 2017, 82(8): 608-618.
- [26] CAI Y Q, WANG W, PAULUCCI-HOLTHAUZEN A, et al. Brain circuits mediating opposing effects on emotion and pain[J]. *J Neurosci*, 2018, 38(28): 6340-6349.
- [27] JOHNSON A C, LATORRE R, LIGON C O, et al. Visceral hypersensitivity induced by optogenetic activation of the amygdala in conscious rats[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2018, 314(3): G448-G457.
- [28] SONG J W, PATEL R V, SHARIF M, et al. Chemogenetics as a neuromodulatory approach to treating neuropsychiatric diseases and disorders[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(3): 990-1005.
- [29] BENBADIS S R, GELLER E, RYVLIN P, et al. Putting it all together: Options for intractable epilepsy: an updated algorithm on the use of epilepsy surgery and neurostimulation [J]. *Epilepsy Behav*, 2018, 88S: 33-38.
- [30] 晏僖, 杨小枫. 化学遗传学技术在癫痫治疗中的探索与展望 [J]. *临床神经外科杂志*, 2021, 18(2): 229-232.
- YAN X, YANG X F. Exploration and prospects of chemogenetics in treatment of epilepsy (in Chinese) [J]. *Journal of Clinical Neurosurgery*, 2021, 18(2): 229-232.
- [31] 陈丹丹, 周瑜, 翟晓静, 等. 基于光遗传学与化学遗传学技术的疼痛脑环路研究进展[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2022, 28(1): 7-20.
- CHEN D D, ZHOU Y, ZHAI X J, et al. Recent advances of brain circuit dissection in animal models of pain based on optogenetics and chemogenetics (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Pain Medicine*, 2022, 28(1): 7-20.
- [32] YIN J B, LIANG S H, LI F, et al. dmPFC-vIPAG projection neurons contribute to pain threshold maintenance and antianxiety behaviors[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(12): 6555-6570.
- [33] LIANG H Y, CHEN Z J, XIAO H, et al. nNOS-expressing neurons in the vmPFC transform pPVT-derived chronic pain signals into anxiety behaviors [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2501.
- [34] ALHADEFF A L, SU Z W, HERNANDEZ E, et al. A neural circuit for the suppression of pain by a competing need state[J]. *Cell*, 2018, 173(1): 140-152.
- [35] JIANG Y Y, SHAO S, ZHANG Y, et al. Neural pathways in medial septal cholinergic modulation of chronic pain: distinct contribution of the anterior cingulate cortex and ventral hippocampus[J]. *Pain*, 2018, 159(8): 1550-1561.
- [36] XIA S H, HU S W, GE D G, et al. Chronic pain impairs memory formation via disruption of neurogenesis mediated by mesohippocampal brain-derived neurotrophic factor signaling [J]. *Biol Psychiatry*, 2020, 88(8): 597-610.
- [37] HIRSCHBERG S, LI Y, RANDALL A, et al. Functional dichotomy in spinal- vs prefrontal-projecting locus coeruleus modules splits descending noradrenergic analgesia from

- ascending aversion and anxiety in rats [J]. *eLife*, 2017, 6: e29808.
- [38] GAO S H, SHEN L L, WEN H Z, et al. The projections from the anterior cingulate cortex to the nucleus accumbens and ventral tegmental area contribute to neuropathic pain-evoked aversion in rats [J]. *Neurobiol Dis*, 2020, 140: 104862.
- [39] ZHU X X, XU Y L, SHEN Z, et al. Rostral anterior cingulate cortex-ventrolateral periaqueductal gray circuit underlies electroacupuncture to alleviate hyperalgesia but not anxiety-like behaviors in mice with spared nerve injury [J]. *Front Neurosci*, 2021, 15: 757628.
- [40] SHEN Z, ZHANG H Y, WU Z M, et al. Electroacupuncture alleviates chronic pain-induced anxiety disorders by regulating the rACC-thalamus circuitry [J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 615395.
- [41] ZHU H, XIANG H C, LI H P, et al. Inhibition of GABAergic neurons and excitation of glutamatergic neurons in the ventrolateral periaqueductal gray participate in electroacupuncture analgesia mediated by cannabinoid receptor [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 484.
- [42] 刘会. 前额皮层-伏隔核神经环路在针刺缓解慢性痛奖赏效应中的作用[D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.
LIU H. The role of prefrontal cortical-nucleus accumbens neural circuit in relieving the reward effect of acupuncture on chronic pain (in Chinese)[D]. Shanghai: Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [43] 王佳, 崔晶晶, 哈丽娟, 等. 神经示踪技术用于实验针灸研究的回顾[J]. *针刺研究*, 2019, 44(12): 926-932.
WANG J, CUI J J, HA L J, et al. Review on application of neural tracing technique to experimental research of acupuncture (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2019, 44(12): 926-932.
- [44] 刘瑞. 外侧臂旁核神经环路在神经病理性疼痛和焦虑情绪中的环路机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
LIU R. Study on the loop mechanism of lateral parabrachial nucleus in neuropathic pain and anxiety (in Chinese) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2021.
- [45] 陶斯珏. 基于工具病毒系统优化的海马神经结构环路解析[D]. 武汉: 华中科技大学, 2022.
TAO S J. Analysis of hippocampal neural structure circuits based on tool virus system optimization (in Chinese) [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2022.
- [46] LI B, YANG X Y, QIAN F P, et al. A novel analgesic approach to optogenetically and specifically inhibit pain transmission using TRPV1 promoter [J]. *Brain Res*, 2015, 1609: 12-20.
- [47] 张悦, 王俊英, 李少源, 等. 常用工具病毒在针刺脑效应研究中的应用前景[J]. *中国针灸*, 2021, 41(2): 205-209.
ZHANG Y, WANG J Y, LI S Y, et al. Application prospect of common viral tracers in study on brain effect of acupuncture (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2021, 41(2): 205-209.
- [48] KIM S, KIM N, LEE J S, et al. Dynamic Fas signaling network regulates neural stem cell proliferation and memory enhancement [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(17): eaaz9691.
- [49] HILGER D, MASUREEL M, KOBILKA B K. Structure and dynamics of GPCR signaling complexes [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25(1): 4-12.
- [50] MIYASHITA T, SHAO Y R, CHUNG J, et al. Long-term channelrhodopsin-2 (ChR2) expression can induce abnormal axonal morphology and targeting in cerebral cortex [J]. *Front Neural Circuits*, 2013, 7: 8.
- [51] JIANG J W, CUI H X, RAHMOUNI K. Optogenetics and pharmacogenetics: principles and applications [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2017, 313(6): R633-R645.
- [52] MANVICH D F, WEBSTER K A, FOSTER S L, et al. The DREADD agonist clozapine N-oxide (CNO) is reverse-metabolized to clozapine and produces clozapine-like interoceptive stimulus effects in rats and mice [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3840.
- [53] JENDRYKA M, PALCHAUDHURI M, URSU D, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic actions of clozapine-N-oxide, clozapine, and compound 21 in DREADD-based chemogenetics in mice [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 4522.
- [54] 何俏颖, 沈醉, 余丽娇, 等. 光遗传学联合神经电生理技术推动针刺镇痛研究的可行性分析[J]. *针刺研究*, 2018, 43(8): 476-479, 491.
HE Q Y, SHEN Z, SHE L J, et al. Feasibility of joint application of techniques of optogenetics and neuroelectrophysiology to research of acupuncture analgesia (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2018, 43(8): 476-479, 491.

收稿日期:2023-07-07 修回日期:2023-08-13

网络首发:2024-07-22

编辑:秦田雨