

[DOI]10.12016/j.issn.2096-1456.2018.12.003

· 基础研究 ·

咬合干扰对大鼠三叉神经脊束核内胶质细胞的影响

刘存瑞^{1,2}, 曹焱¹, 徐啸翔¹, 谢秋菲¹

1. 北京大学口腔医学院·口腔医院修复科·颌功能诊疗研究中心·国家口腔疾病临床研究中心·口腔数字化医疗技术和材料国家工程实验室·口腔数字医学北京市重点实验室,北京(100081); 2. 北京大学国际医院口腔科,北京(102206)

【摘要】 目的 观察不同强度咬合干扰去除前后,大鼠三叉神经脊束核内星形胶质细胞及小胶质细胞活化的变化情况,探讨星形胶质细胞及小胶质细胞与咬合干扰致大鼠咀嚼肌机械痛觉敏感的关系。**方法** 选用雄性Sprague Dawley大鼠(200~220g),通过在大鼠右上第一磨牙粘固不同厚度金属冠的方法建立咬合干扰模型。实验分为假干扰组、0.4mm咬合干扰组、0.4mm咬合干扰6d去除组、0.2mm咬合干扰组、0.2mm咬合干扰6d去除组,共5组,每组12只大鼠。分别于建模后3、5、7、14d各取3只脑干组织切片进行免疫荧光检测,胶质纤维酸性蛋白(Glial fibrillary acidic protein, GFAP)标记星形胶质细胞;III型补体受体(Complement receptor type 3, OX-42)标记小胶质细胞,半定量方法评价星形胶质细胞和小胶质细胞的形态变化。**结果** ①假干扰组中星形胶质细胞和小胶质细胞均未见明显活化;②0.4mm咬合干扰组3~7d星形胶质细胞和小胶质细胞表现为轻至中度活化;14d时星形胶质细胞活化有所减弱,与假干扰组相比仍有轻度活化,而小胶质细胞活化不明显。0.2mm咬合干扰组星形胶质细胞和小胶质细胞活化变化趋势与0.4mm咬合干扰组相似,但是相同时间点0.4mm咬合干扰组胶质细胞活化程度较0.2mm咬合干扰组强;③0.4mm咬合干扰6d去除组咬合干扰去除后胶质细胞活化即减弱,14d时星形胶质细胞仍有明显活化,而小胶质细胞活化不明显;0.2mm咬合干扰6d去除组胶质细胞活化变化的趋势与0.4mm咬合干扰6d去除组相似。**结论** 咬合干扰可以引起星形胶质细胞和小胶质细胞的活化,星形胶质细胞的活化持续时间较长。胶质细胞活化程度与咬合干扰强度之间具有一定的关系。

【关键词】 咬合干扰; 星形胶质细胞; 小胶质细胞; 疼痛; 机械痛敏

【中图分类号】 R782.6 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 2096-1456(2018)12-0766-07

【引用著录格式】 刘存瑞,曹焱,徐啸翔,等.咬合干扰对大鼠三叉神经脊束核内胶质细胞的影响[J].口腔疾病防治,2018,26(12):766-772.

Influence of occlusal interferences on the activation of trigeminal-spinal nucleus astroglia and microglia in rats LIU Cunrui^{1,2}, CAO Ye¹, XU Xiaoxiang¹, XIE Qiufei¹. 1. Department of Prosthodontics; Center for Oral Functional Diagnosis, Treatment, and Research; Peking University School and Hospital of Stomatology & National Clinical Research Center for Oral Diseases & National Engineering Laboratory for Digital and Material Technology of Stomatology & Beijing Key Laboratory of Digital Stomatology, Beijing 100081, China; 2. Department of Stomatology, Peking University International Hospital, Beijing 102206, China

Corresponding author: XIE Qiufei, Email: xieqiuf@163.com, Tel: 0086-10-82195360

【Abstract】 Objective To investigate the morphological changes in microglia and astroglia before and after the re-

【收稿日期】 2018-05-08; **【修回日期】** 2018-07-02

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81271174)

【作者简介】 刘存瑞,住院医师,博士, Email: liucunrui@pku.edu.cn

【通信作者】 谢秋菲,主任医师,博士, Email: xieqiuf@163.com, Tel: 0086-10-82195360

removal of occlusal interferences in rats and to further understand whether astroglia and microglia activation is involved in experimental occlusal interference-induced masticatory muscle pain. **Methods** Male Sprague-Dawley rats (200-220 g) were used. Crowns of two heights (0.2 mm and 0.4 mm) were bonded to the right maxillary first molars to establish experimental rat models of occlusal interference. The rats were randomly assigned to one of five groups of twelve rats each: sham-occlusal interference control group, 0.4 mm occlusal interference group, 6-day removal of 0.4 mm occlusal interference group, 0.2 mm occlusal interference group, and 6-day removal of 0.2 mm occlusal interference group. The rats were sacrificed by transcardiac perfusion after deep anesthetization on days 3, 5, 7, and 14. Brain stem sections were obtained and processed for immunofluorescence staining of GFAP and OX-42. Expression levels were semiquantitatively analyzed. **Results** ① Based on the markers OX-42 and GFAP, trigeminal-spinal nucleus (Vsp) microglia and astroglia showed no activation in the sham-occlusal interference control group. ② In the 0.4 mm and 0.2 mm occlusal interference groups, Vsp microglia and astroglia showed mild to moderate activation after 3-7 days of occlusal interference. Vsp astroglia remained activated on day 14, but Vsp microglia did not. At the same time point, the 0.4 mm occlusal interference group had greater activation than the 0.2 mm occlusal interference group. ③ In the 6-day removal of 0.4 mm and 0.2 mm occlusal interference groups, microglia and astroglia activation decreased after removal of the occlusal interference. Vsp astroglia remained activated on day 14, but microglia showed no activation. **Conclusion** Microglia and astrocyte activation is induced in the Vsp after experimental occlusal interference. The astrocytes remained activated for longer than the microglia. The glia activation level is closely related to the intensity of occlusal interference.

【Key words】 Occlusal interference; Microglia; Astrocyte; Pain; Mechanical hyperalgesia

疼痛是当今困扰人类的一大难题,流行病学研究结果表明,成年人中慢性疼痛的发病率高达30%左右^[1-3],人群中约22%的人在过去半年内至少出现过一次口颌面疼痛^[4],而咀嚼肌疼痛是口颌面疼痛中较常见的一种。有学者研究发现咬合干扰与咀嚼肌疼痛之间具有密切的关系^[5-7],但具体的机制尚不完全清楚。其中胶质细胞在慢性疼痛的产生和维持中的作用是近年来研究的热点之一。1994年Garrison等^[8]通过实验最早发现了胶质细胞参与疼痛的过程,他在外周神经损伤模型中发现了胶质细胞的活化,给予拮抗剂抑制胶质细胞的活化后痛敏也得到了抑制。随后越来越多的研究表明,胶质细胞主导的神经炎症和神经免疫反应在病理性疼痛的发生和维持中发挥着重要的作用^[9-10]。进一步研究发现临床上大部分能够缓解神经痛的药物均具有阻断胶质细胞活化的作用,并且胶质细胞活化抑制剂也具有对抗痛觉过敏和痛觉超敏的作用^[11]。然而目前大部分关于慢性疼痛的研究都来自于躯体疼痛模型中脊髓水平的研究。虽然三叉神经脊束核(trigeminal-spinal nucleus, Vc)在口颌面疼痛中的作用与脊髓背角在躯体疼痛中的作用非常类似。但是不能直接将脊髓水平的研究结果直接应用于口腔颌面

部。本课题组前期研究发现咬合干扰可以导致大鼠三叉神经脊束核内小胶质细胞和星形胶质细胞的活化,并推测三叉神经脊束核小胶质细胞和星形胶质细胞的持续活化可能是咬合干扰致大鼠咀嚼肌慢性疼痛的中枢机制之一^[12-13]。但是咬合干扰去除后胶质细胞的活化情况变化如何?不同程度咬合干扰引起的胶质细胞的活化程度是否存在差异?这些都尚未见研究。

本研究主要通过免疫荧光染色的方法标记星形胶质细胞和小胶质细胞的形态和表型的变化,观察不同强度咬合干扰(0.2 mm和0.4 mm)6 d去除前后,不同时间点胶质细胞的活化情况,进一步探讨胶质细胞在咬合干扰致大鼠咀嚼肌机械痛觉敏感中的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物及试剂

健康雄性SD(Sprague-Dawley)大鼠,初始体质量为200~220 g,饲养条件:24 h昼夜,室温25℃,自由饮水、饮食,由北京大学医学部实验动物科学部提供。胶质纤维酸性蛋白(Glial fibrillary acidic protein, GFAP)(Abcam,美国);Ⅲ型补体受体(Complement receptor type 3, OX-42)(Abcam,美国);异硫氰

酸荧光素(Fluorescein isothiocyanate, FITC)(北京中杉金桥生物技术有限公司,中国)。

1.2 方法

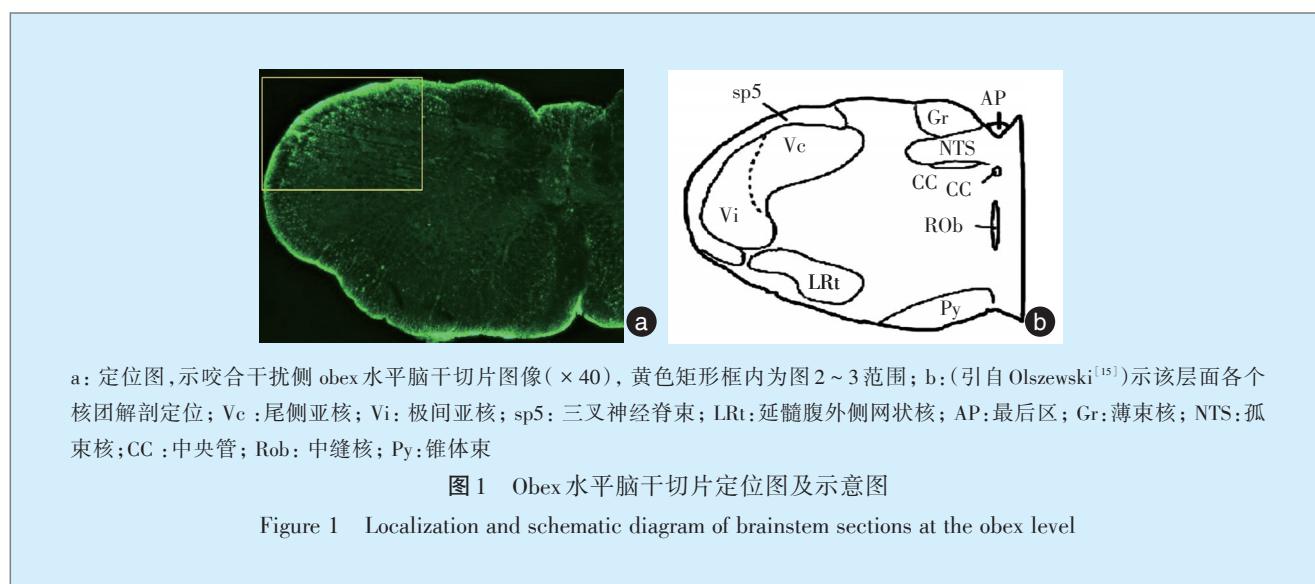
1.2.1 实验动物分型 实验动物随机分为①假干扰组:进行假干扰操作,全麻下于大鼠右上第一磨牙粘接不影响咬合的金属带环;②0.4 mm 咬合干扰组:全麻下于大鼠右上第一磨牙粘接0.4 mm 厚度金属冠,整个实验过程不去除;③0.4 mm 咬合干扰6 d 去除组:全麻下于大鼠右上第一磨牙粘接0.4 mm 厚度金属冠,粘接后6 d 去除咬合干扰;④0.2 mm 咬合干扰组:全麻下于大鼠右上第一磨牙粘接0.2 mm 厚度金属冠,整个实验过程不去除;⑤0.2 mm 咬合干扰6 d 去除组:全麻下于大鼠右上第一磨牙粘接0.2 mm 厚度金属冠,粘接后6 d 去除咬合干扰;共5组,每组12只大鼠。分别于建模后3、5、7、14 d 取脑干组织切片行免疫荧光检测。

1.2.2 实验动物灌注取材 实验动物以1%(质量分数)戊巴比妥钠溶液过量麻醉后,剪开胸腔后迅速进行左心室灌注。先用250 mL 温热0.1 mol/L PBS 溶液快速灌注,冲净血液,待右心房流出液体变清后,用4℃下保存的4%多聚甲醛固定液(PFA)溶液约100 mL 进行快速灌注,使PFA能迅速渗透到全身组织,最后用约200 mL 4% PFA 溶液缓慢灌注固定组织,时间约30 min。取脑干及颈髓以obex 为中心头向2 mm,尾向5 mm 组织块,放入

4% PFA 溶液后于摇床上振荡固定4~6 h,转移至组织保护液中置于4℃冰箱内保存过夜。组织冰冻包埋剂固定后于-20℃下冰冻切片,厚度为30 μm,每隔3片取一片置于0.1 mol/L PBS 溶液多孔皿中,4℃冰箱内保存组织漂片备用。

1.2.3 免疫荧光染色标记 取出4℃冰箱内保存的组织漂片进行洗片(0.1 mol/L PBS 浸泡3次,其中前2次5 min,第3次10 min),置于4%山羊血清室温下封闭60 min,然后OX-42、1:300、4℃下孵育过两夜或GFAP、1:800、4℃下孵育过两夜,再次洗片后FITC-羊抗小鼠IgG 1:200室温孵育90 min后洗片,再用0号勾线笔挑取切片贴于载玻片上,自然风干,最后滴加防淬灭荧光封片剂后放置盖玻片,荧光显微镜下观察,留取照片。

1.2.4 评价方法 免疫荧光染色切片于显微镜下观察,确定obex 水平切片(图1)。参考Colburn等^[14]对脊髓胶质细胞活化的分级标准,对各组实验动物obex 水平切片中星形胶质细胞和小胶质细胞的活化程度分别进行评价:基础染色(0):胶质细胞分布均匀,分枝细长广泛;轻度活化(+):胶质细胞数量稍增多或染色轻度增强,细胞分枝状均匀分布;中度活化(++):胶质细胞胞体增大,染色增加,突起变短增粗,部分细胞出现交叠;重度活化(+++):胶质细胞胞体肥大,染色较强,突起短而粗,细胞间重叠分布,成团块状。

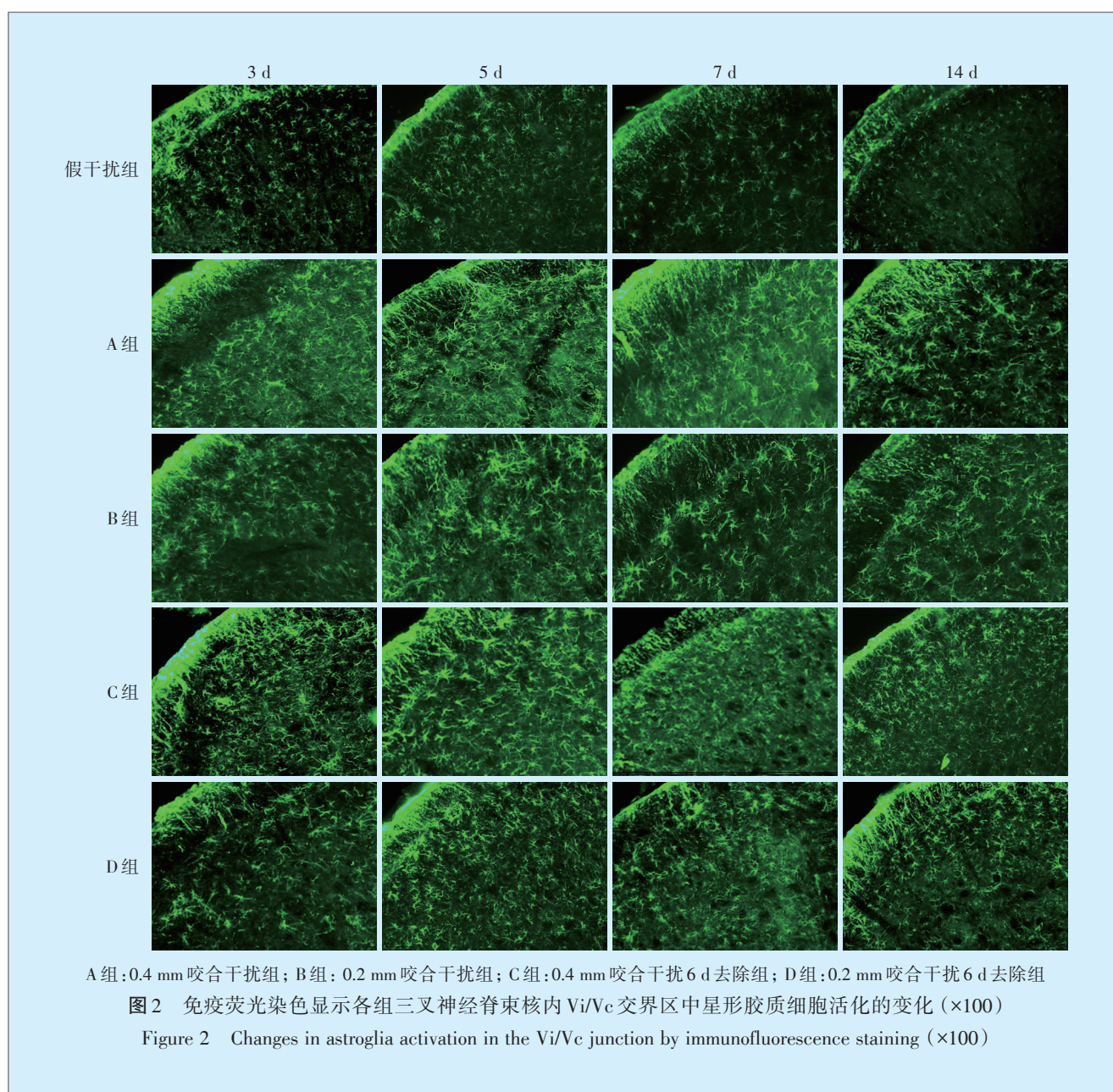


2 结果

2.1 不同时间点星形胶质细胞形态学变化

假干扰组:星形胶质细胞的胞浆和突起内可

见GFAP 阳性表达,细胞轮廓清楚,细胞周围可见散在突起。低倍镜下GFAP 染色阳性细胞广泛均匀分布,三叉神经脊束核背侧可见染色相对明



显。活化程度评价为基础染色(0)。

0.4 mm 咬合干扰组:咬合干扰后 3~7 d, Vi/Vc 交界区星形胶质细胞染色明显增强,与假干扰组相比,细胞胞体明显肥大,突起增多变粗,部分细胞发生重叠(图2),大部分表现为中度活化(++)。14 d 时活化有所减弱,与假干扰组相比仍有轻度活化。

0.2 mm 咬合干扰组:咬合干扰后星形胶质细胞的活化状况的变化趋势与 0.4 mm 咬合干扰组类似,但相同时间点 0.4 mm 咬合干扰组活化程度较 0.2 mm 咬合干扰组强,染色更深。

0.4 mm 咬合干扰 6 d 去除组:咬合干扰后 3~7 d, 与假干扰组相比,可见 Vi/Vc 交界区中星形胶质细

胞染色增强,部分星形胶质细胞表现为活化型,与基础状态相比,细胞胞体增大,突起增多变粗,偶尔可见细胞重叠分布。咬合干扰去除后(7 d)与咬合干扰去除前(5 d)相比,染色有所减弱,细胞重叠减少,活化程度有所减轻。14 d 时星形胶质细胞活化程度进一步减弱,但与假干扰组相比仍有明显的活化。

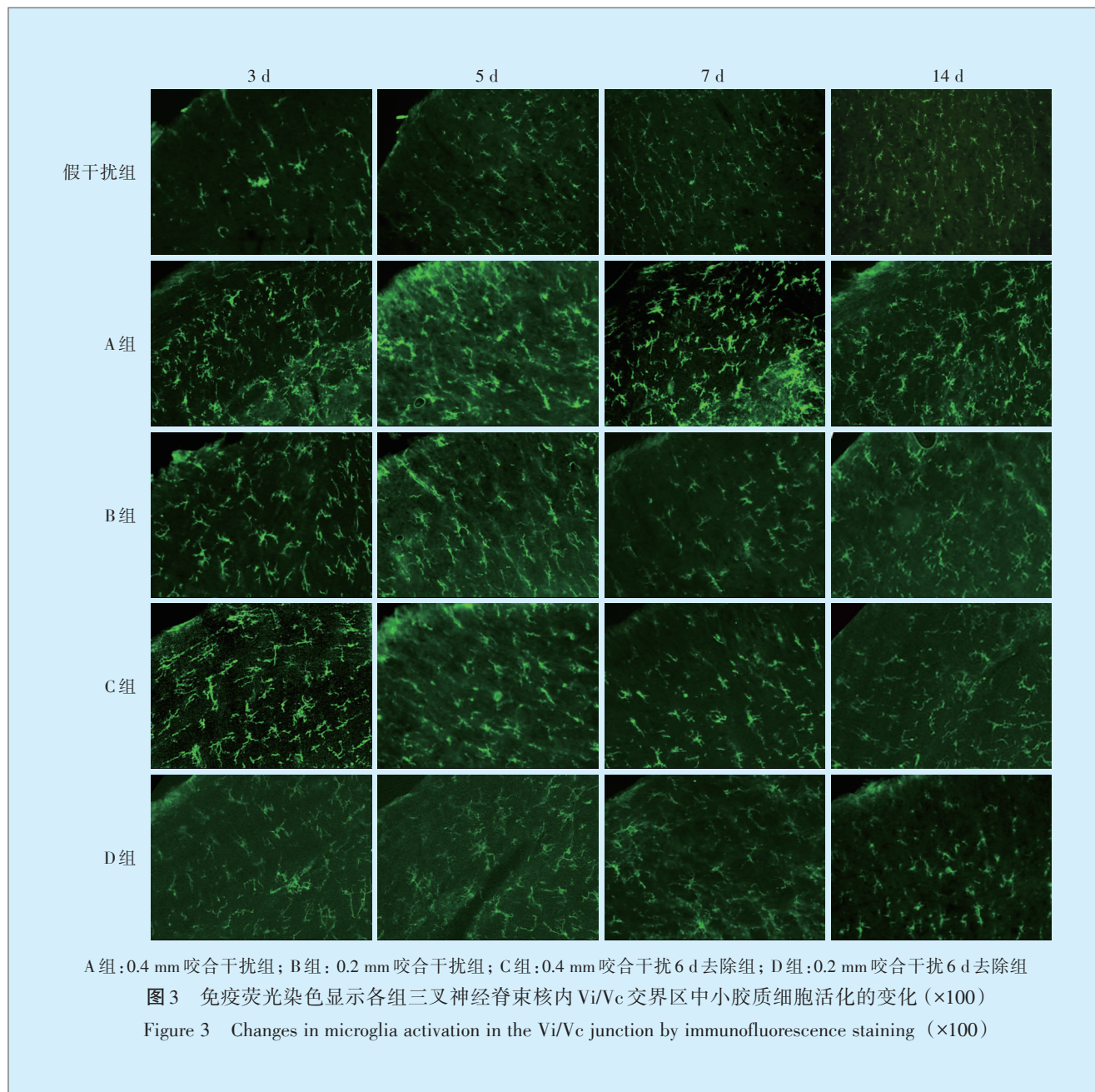
0.2 mm 咬合干扰 6 d 去除组:与 0.4 mm 咬合干扰 6 d 去除组类似,咬合干扰后星形胶质细胞出现活化,逐渐增强,6 d 咬合干扰去除后活化程度开始减弱,14 d 时仍有轻度活化。相同时间点 0.4 mm 咬合干扰 6 d 去除组星形胶质细胞活化程

度较0.2 mm咬合干扰6 d去除组强。

2.2 不同时间点小胶质细胞形态学变化

假干扰组:OX-42染色阳性细胞广泛均匀分布

于脑干组织切片中,小胶质细胞由细小的胞体向周围伸出爪样突起,表现为分枝状,呈基础状态(图3)。



0.4 mm咬合干扰组:咬合干扰后3~7 d三叉神经脊束核Vi/Vc交界区小胶质细胞可见染色增强,与基础状态相比,可见胞体增大,突起变粗增多,染色加深。14 d时小胶质细胞形态及染色强度与假干扰组相比类似,活化不明显。

0.2 mm咬合干扰组:小胶质细胞活化情况变化趋势与0.4 mm咬合干扰组相似,但相同时间点

0.4 mm咬合干扰组小胶质细胞活化程度较0.2 mm咬合干扰组稍有增强。

0.4 mm咬合干扰6 d去除组:咬合干扰去除前小胶质细胞活化情况的变化与0.4 mm咬合干扰组类似,咬合干扰去除后小胶质细胞活化强度有所减弱,14 d时小胶质细胞活化程度与假干扰组相似,大部分细胞处于基础状态。

0.2 mm 咬合干扰 6 d 去除组:小胶质细胞活化情况变化趋势与 0.4 mm 咬合干扰 6 d 去除组类似,但相同时间点 0.4 mm 咬合干扰 6 d 去除组较 0.2 mm 咬合干扰 6 d 去除组有所增强,而 14 d 时两组小胶质细胞大部分表现为基础状态。

2.3 不同时间点星形胶质细胞及小胶质细胞形态学变化的半定量分析结果

假干扰组不同时间点星形胶质细胞及小胶质细胞的活化状态为基础染色(0)。其余各组胶质细胞形态学变化结果见表 1 和表 2。

表 1 各组大鼠不同时间点星形胶质细胞 GFAP 表达半定量分析

Table 1 Semiquantitative analysis of GFAP expression in astrocytes at different time points in each group

时间	A			B			C			D		
	1#	2#	3#	1#	2#	3#	1#	2#	3#	1#	2#	3#
3 d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5 d	+	++	++	+	++	+	++	+	++	+	++	++
7 d	++	++	++	++	++	+	++	+	+	++	+	+
14 d	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0

注 1#、2#、3#:动物编号; A:0.4 mm 咬合干扰组; B:0.2 mm 咬合干扰组; C:0.4 mm 咬合干扰 6 d 去除组; D:0.2 mm 咬合干扰 6 d 去除组

表 2 各组大鼠不同时间点小胶质细胞 OX-42 表达半定量分析

Table 2 Semiquantitative analysis of OX-42 expression in microglia at different time points in each group

时间	A			B			C			D		
	1#	2#	3#	1#	2#	3#	1#	2#	3#	1#	2#	3#
3 d	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+
5 d	+	+	++	+	+	+	++	+	+	+	+	+
7 d	++	+	++	+	++	+	+	++	+	+	+	+
14 d	+	0	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0

注 1#、2#、3#:动物编号; A:0.4 mm 咬合干扰组; B:0.2 mm 咬合干扰组; C:0.4 mm 咬合干扰 6 d 去除组; D:0.2 mm 咬合干扰 6 d 去除组

3 讨论

近年来越来越多关于脊髓内胶质细胞的研究表明其在慢性疼痛产生和维持过程中发挥着重要的作用^[16-17]。Garrison 等^[18]发现星形胶质细胞活化程度的标志分子胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的免疫反应活性与痛觉敏化成正比。活化状态下的小胶质细胞其表面特异性分子 OX-42 表达显著增加^[19]。大部分研究结果主要来源于躯体性疼痛研究模型。Vc 在口腔颌面疼痛中的作用与脊髓背角在躯体疼痛中的作用非常类似。Vc 是接受口腔颌面部组织刺激的主要部位,并且来自肌肉的伤害性刺激可以投射到 Vi/Vc 交界区。实验中选取了具有代表性的 obex 水平切片进行分析,正是 Vi/Vc 交界区的部位^[20]。实验中发现单侧咬合干扰后双侧胶质细胞均出现活化,与咬合干扰模型中行为学研究结果相符合^[5]。

本实验中发现咬合干扰后 3 d 开始,双侧胶质细胞出现活化,咬合干扰去除后活化程度减轻。

与前期研究双侧咀嚼肌机械反应阈值随咬合干扰时间的变化相符合^[5]。星形胶质细胞和小胶质细胞的活化变化存在差异。小胶质细胞咬合干扰去除后出现减轻,至 14 d 观察结束时基本恢复至假干扰组水平,而星形胶质细胞咬合干扰去除后虽然活化程度也有所减轻,但至 14 d 观察终点时仍保持活化状态,推测星形胶质细胞在慢性疼痛的维持中发挥更重要的作用^[10, 21]。但是具体的机制有待进一步实验研究进行探索。

实验中比较发现,相同时间点胶质细胞的活化程度 0.2 mm 咬合干扰组比 0.4 mm 咬合干扰组轻,其中星形胶质细胞活化程度的差异较为明显。提示不同咬合干扰强度对胶质细胞活化的程度具有一定的影响。本课题组前期 Cao 等^[12]发现咬合干扰模型中大鼠咀嚼肌机械刺激反应阈值与咬合干扰严重程度具有相关性。Oda 等^[22]也发现不同程度咬合干扰(0.5 mm 和 0.75 mm)可以引起人大脑不同程度的激活。

胶质细胞的活化指的是在外周组织或神经受到伤害性信息刺激后,胶质细胞在结构和功能上发生显著的变化,并表达各种分子物质,由生理状态下的“静息状态”转变为主动发挥各种功能的“活化状态”^[23],利用GFAP和OX-42免疫荧光标记染色可以观察到胶质细胞形态和表型的变化,提示活化的持续时间和恢复时间,而GFAP和OX-42的受体与刺激引起的基因转录和胞内信号通路没有直接的关系,他们只是细胞内级联的产物,能在一定程度上代表细胞曾经出现过功能活化,但不能完全代表其功能活性,并且实验中采用免疫荧光染色标记的方法不能定量分析胶质细胞的活化程度,具有一定的局限性。

参考文献

- [1] Baldini A, Nota A, Cozza P. The association between occlusion time and temporomandibular disorders[J]. *J Electromyogr Kinesiol*, 2015, 25(1): 151-154.
- [2] Friessem CH, Willweber-Strumpf A, Zenz MW. Chronic pain in primary care. German figures from 1991 and 2006[J]. *BMC Public Health*, 2009, 9(8): 299.
- [3] Wei DY, Yuan Ong JJ, Goadsby PJ. Cluster headache: epidemiology, pathophysiology, clinical features, and diagnosis[J]. *Ann Indian Acad Neurol*, 2018, 21(Suppl 1): S3-S8.
- [4] Chin Jen Sem JP, Van Der Leeden M, Visscher CM, et al. Prevalence, course, and associated factors of pain in the temporomandibular joint in early rheumatoid arthritis: results of a longitudinal cohort study[J]. *J Oral Facial Pain Headache*, 2017, 31(3): 233-239.
- [5] 刘存瑞,徐啸翔,曹焯,等.咬合干扰时间因素对大鼠咀嚼肌机械痛觉敏感的影响[J].*北京大学学报(医学版)*, 2016, 48(1): 51-56.
- [6] Van Hecke O, Torrance N, Smith BH. Chronic pain epidemiology and its clinical relevance[J]. *Br J Anaesth*, 2013, 111(1): 13-18.
- [7] Ji RR, Xu ZZ, Gao YJ. Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(7): 533-548.
- [8] Garrison CJ, Dougherty PM, Carlton SM. GFAP expression in lumbar spinal cord of naive and neuropathic rats treated with MK-801[J]. *Exp Neurol*, 1994, 129(2): 237-243.
- [9] Zhang ZJ, Jiang BC, Gao YJ. Chemokines in neuron-glia cell interaction and pathogenesis of neuropathic pain[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(18): 3275-3291.
- [10] Iwata K, Katagiri A, Shinoda M. Neuron-glia interaction is a key mechanism underlying persistent orofacial pain[J]. *J Oral Sci*, 2017, 59(2): 173-175.
- [11] Zhang J, Mense S, Treede RD, et al. Prevention and reversal of latent sensitization of dorsal Horn neurons by glial blockers in a model of low back pain in male rats[J]. *J Neurophysiol*, 2017, 118(4): 2059-2069.
- [12] Cao Y, Xie QF, Li K, et al. Experimental occlusal interference induces long-term masticatory muscle hyperalgesia in rats[J]. *Pain*, 2009, 144(3): 287-293.
- [13] Cao Y, Li K, Fu KY, et al. Central sensitization and MAPKs are involved in occlusal interference-induced facial pain in rats[J]. *J Pain*, 2013, 14(8): 793-807.
- [14] Colburn RW, Deleo JA, Rickman AJ, et al. Dissociation of microglial activation and neuropathic pain behaviors following peripheral nerve injury in the rat[J]. *J Neuroimmunol*, 1997, 79(2): 163-175.
- [15] Olszewski J. On the anatomical and functional organization of the spinal trigeminal nucleus[J]. *J Comp Neurol*, 1950, 92(3): 401-413.
- [16] Hossain MZ, Unno S, Ando H, et al. Neuron-Glia crosstalk and neuropathic pain: involvement in the modulation of motor activity in the orofacial region[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(10): 2051-2067.
- [17] 高永静,纪如荣.星形胶质细胞调节慢性疼痛的分子机制[J].*中国疼痛医学杂志*, 2013(9): 545-552.
- [18] Garrison CJ, Dougherty PM, Kajander KC, et al. Staining of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in lumbar spinal cord increases following a sciatic nerve constriction injury[J]. *Brain Res*, 1991, 565(1): 1-7.
- [19] Miller TR, Wetter JB, Jarvis MF, et al. Spinal microglial activation in rat models of neuropathic and osteoarthritic pain: an autoradiographic study using [³H]Ppk11195[J]. *Eur J Pain*, 2013, 17(5): 692-703.
- [20] Wang H, Wei F, Dubner R, et al. Selective distribution and function of primary afferent nociceptive inputs from deep muscle tissue to the brainstem trigeminal transition zone[J]. *J Comp Neurol*, 2006, 498(3): 390-402.
- [21] Hald A, Nedergaard S, Hansen RR, et al. Differential activation of spinal cord glial cells in murine models of neuropathic and cancer pain[J]. *Eur J Pain*, 2009, 13(2): 138-145.
- [22] Oda M, Yoshino K, Tanaka T, et al. Identification and adjustment of experimental occlusal interference using functional magnetic resonance imaging[J]. *BMC Oral Health*, 2014, 14(10): 124.
- [23] Milligan ED, Watkins LR. Pathological and protective roles of glia in chronic pain[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10(1): 23-36.

(编辑 罗燕鸿,刘曙光)