

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2013.10.008

• 特约综述 •

B 族维生素的镇痛和神经保护作用

徐 妮 宋学军[△]

(北京大学神经科学研究所 北京大学疼痛医学中心, 北京 100191)

摘 要 B 族维生素在生物代谢过程中扮演了重要的角色, 人们逐渐发现其在镇痛方面的作用, 临床上用以辅助治疗多种慢性疼痛, 包括坐骨神经痛, 三叉神经痛等。自 2002 年我们首先发现并连续报道了较大剂量的 B 族维生素 (B₁/B₆/B₁₂) 可以通过调节感觉神经元异常钠离子通道的功能状态缓解神经病理性疼痛。我们的最新研究指出 B 族维生素在短暂性缺血引发的脊髓损伤的发生发展过程中不仅具有镇痛作用还有神经保护作用。

关键词 B 族维生素; 镇痛; 神经保护; 神经病理性疼痛

B 族维生素是指在细胞代谢中扮演重要角色的 8 种水溶性维生素, 包括维生素 B₁、核黄素、烟酸、泛酸、维生素 B₆、生物素、叶酸、维生素 B₁₂。以往 B 族维生素被认为是单一的维生素 (如同维生素 C、维生素 D 一样), 之后的研究^[1]表明它们是存在于相同食物, 但完全不同的维生素。维生素 B₁ (硫胺) 是维持碳水化合物代谢和神经功能的基础物质。硫胺缺乏会导致脚气病和韦 - 科二氏综合症。脚气病的症状涉及心血管、肌肉、胃肠道与神经系统。韦 - 科二氏综合症与大量摄取乙醇有关, 乙醇可以减少硫胺在肠道的吸收, 增加其在肾脏的排出。患者的症状可以从轻微的混乱到昏迷, 病理改变局限在中枢神经系统^[2]。吡哆醛、吡哆醇、吡哆胺是维生素 B₆ 的 3 种自然存在形式, 其生化功能都依赖于代谢为通用的辅酶形式——磷酸吡哆醛。此辅酶在代谢的多个方面起关键性作用, 因此维生素 B₆ 对于生长、认知发育、情感低落、免疫功能、疲劳和类固醇激素活性都有很重要的影响。但是, 长时间大量摄入维生素 B₆ 会导致神经的不可逆受损, 主要受损靶点是外周神经系统。维生素 B₁₂ 参与神经细胞周围的髓鞘的合成与维持以及红细胞合成。维生素 B₁₂ 是由细菌合成的, 在动物组织中发现维生素 B₁₂ 在细胞分裂和生长中起关键作用, 与叶酸关系密切^[2]。

本文主要讨论维生素 B₁、B₆、B₁₂ 及其复合应用的镇痛及神经保护作用。

1. B 族维生素的镇痛作用

1.1 B 族维生素与急性疼痛

维生素 B₁、B₆、B₁₂ 的镇痛和抗炎作用在实验动物的急性疼痛模型中三十年前就已经得到证实。由电、化学、热等不同性质刺激引起的实验动物急性、短暂的疼痛可以被维生素 B 明显减轻^[3-6]。临床上 B 族维生素也有很好的镇痛效果, 可以用来辅助治疗腰背痛、头痛、坐骨神经痛以及三叉神经痛等^[7,8]。

1.2 B 族维生素与神经病理性疼痛

1.2.1 B 族维生素有效抑制外周神经以及感觉神经元损伤所致疼痛

直到 2002 年, B 族维生素对神经病理性疼痛的可能疗效一直没有被发现。我们首先并连续报道了较大剂量的 B 族维生素 (B₁/B₆/B₁₂) 在大鼠的慢性背根节压迫 (chronic compression of dorsal root ganglion, CCD), 坐骨神经慢性缩窄性损伤 (chronic constriction injury, CCI), 以及脊髓缺血性损伤模型中可以抑制神经病理性疼痛^[9-17]。大鼠腹腔内注射维生素 B₁、B₆、B₁₂ 可以选择性地抑制热痛过敏现象。反复使用复合 B 族维生素可以产生的镇痛效果。但 B 族维生素对机械痛过敏 (触诱发痛) 以及正常的痛觉感受无影响。这一研究揭示了 B 族维生素在神经病理性疼痛中的重要作用, 提示并支持临床上可以使用 B 族维生素治疗损伤、炎症、变性以及神经系统功能紊乱造成的神经病理性疼痛。

1.2.2 B 族维生素可以抑制痛性糖尿病周围神经病变

糖尿病周围神经病变是糖尿病终末期并发症之一, 也是糖尿病患者最常见、最复杂和最严重的并

[△] 通讯作者 songxuejun@bimu.edu.cn

发症之一^[18]。15% ~ 30% 糖尿病周围神经病变的患者伴有疼痛^[19]。

有报道^[20]显示维生素 B₁、B₆ 和 B₁₂ 可以减轻糖尿病周围神经病变的一些症状。一项长达 12 周的双盲随机试验显示,采用苯磷硫胺(维生素 B₁ 的脂溶性衍生物,具有高生物利用度)复合维生素 B₆/B₁₂ 的组合治疗糖尿病周围神经病变,可以显著提升患者腓神经的传导速度^[21]。

一项临床随机单盲研究发现维生素 B₁₂ 在治疗痛性糖尿病神经病变时比去甲替林更加有效^[22]。在成功构造出糖尿病神经病变模型之后,关于痛性糖尿病周围神经病变的研究越来越多:研究人员运用链唑霉素(streptozocin, STZ)化学诱导的方法制作糖尿病神经病变模型,4周过后确认触诱发痛产生,测量血糖和体重之后注射维生素 B₁/B₆/B₁₂ 的混合药物,结果显示复合维生素 B 有效减轻糖尿病神经病变大鼠触诱发痛,降低福尔马林诱发的痛觉过敏,逆转糖尿病神经病变中的神经传导速率降低^[23]。

晚期糖基化终末产物的积累会引发下游众多病理效应,导致微血管病变。实验显示使用苯磷硫胺可以减少组织晚期糖基化终末产物。一个长达 6 周的临床实验显示 300 mg 或者 600 mg 的苯磷硫胺可以有效减轻神经性症状^[24]。

1.3 B 族维生素的镇痛机制

B 族维生素镇痛的机制尚不清楚,但现有的研究提出了几种可能的解释:① B 族维生素与轴突传导有关,进而产生即刻的镇痛效果。有研究^[25]显示:维生素 B₁ 在神经传导和兴奋的过程中扮演重要的角色。维生素 B₁₂ 可以选择性阻断感觉神经的传导^[26];② 持续的镇痛效果归因于维生素 B 与脊髓受体的相互作用。这些受体或者与内源性阿片肽有关,抑或非阿片类抑制性的神经递质系统(如:血清素系统、 γ -氨基丁酸系统有关^[27-30]。研究^[31]显示,在缺乏维生素 B₁₂ 的蝙蝠中,突触前膜高亲和力的 GABA 运输系统的能力减弱。从缺乏维生素 B₁ 的大鼠小脑中分离出的突触小体的标本中发现血清素的摄取显著下降,而体内注射 B 族维生素能逆转这一现象^[32];③ 谷氨酸与钙离子通道对于神经传递至关重要,在小鼠大脑皮层、海马细胞中发现维生素 B₆ 能显著降低谷氨酸和钙离子水平^[33];④ 对于变性、退化的神经, B 族维生素可以通过重建、修复神经功能来缩短痛觉过敏的持续时间。在 B 族维生素丰富的培养环境中可观察到显著的轴突生长^[34];⑤ B 族维生素的镇痛效果可能与 cGMP 信号通路有关。B 族维生素可以强有力地激活可溶性鸟苷酸环化酶,在各种

不同的组织中增加 cGMP 的合成^[35]。cGMP 在伤害性信号处理过程中具有镇痛作用^[36]。研究^[37]显示维生素 B₁ 通过激活鸟苷酸环化酶,进而可能激发中枢或者外周的 L-精氨酸/NO/cGMP 信号通路产生镇痛效果。我们的研究进一步提供了相关证据:鞘内注射维生素 B₁ 的镇痛作用可以被 cGMP-PKG 信号通路抑制剂逆转^[11];⑥ 我们发现维生素 B₁ 可以通过减弱 Nav 1.7 和增强 Nav 1.8 钠离子电流来降低受损 DRG 神经元的兴奋性,从而抑制中枢敏化和痛过敏^[16]。在 CCD 大鼠模型中,维生素 B₁ 无论是体内腹腔注射还是体外灌注都可以抑制 DRG 神经元的过度兴奋;神经元的过度兴奋与中枢敏化密切相关,会引发神经病理性疼痛。同时我们观察到一个很有意思的现象:DRG 神经元对于维生素 B₁ 的作用敏感性不同,中、小神经元相对大神经元更加敏感。我们知道,自发激活的 A β 纤维以及 DRG 中大神经元的过度兴奋与机械的触诱发痛密切相关。这个差异为 B 族维生素可以抑制热痛过敏,而不能抑制触诱发痛这个现象提供了一种可能的解释。电压门控钠离子通道是镇痛的一个重要的靶点,干扰该离子通道的表达可以有效地抑制神经病理性疼痛^[38-41]。在 DRG 的小神经元细胞中,维生素 B₁ 还可以逆转压迫 DRG 所诱导的 TTX 不敏感钠离子电流密度的减少,而未影响 TTX 敏感钠离子电流^[16]。

我们最近研究发现在大鼠脊髓损伤缺血再灌注损伤模型(spinal cord ischemia reperfusion injury, SCII)中, B 族维生素可以减少 GABA 能抑制性神经元的凋亡,这显然也有助于抑制疼痛^[17]。在许多病理情况下都会有 GABA 抑制性神经元的凋亡,如周围神经损伤、脊髓损伤和脊髓缺血^[42-44]。GABA 是脊髓中主要的内源性抑制性神经递质。当脊髓损伤造成 GABA 抑制性神经元凋亡和/或功能减退时,痛觉感受神经元的兴奋性也会加强,导致脊髓中枢敏化引发神经病理性疼痛。维生素 B₁ 和 B₆ 是 GABA 合成的辅酶,以二者作为药物治疗可以提高 GABA 系统的功能,削弱中枢敏化导致的神经病理性疼痛^[45,46]。谷氨酸脱羧酶(glutamic acid decarboxylase, GAD)是 GABA 合成的限速酶,具有两种不同型 GAD65 和 GAD67^[47]。免疫组化的研究^[48]结果显示 GAD65 和 GAD67 广泛分布在脊髓,特别是脊髓背角的第 II 板层。GAD65 主要在轴突末端参与合成 GABA,而 GAD67 主要在胞体的胞质中合成 GABA。我们的研究^[17]发现 B 族维生素可以阻止 SCII 诱导的 GAD65 的表达下调以及尼氏小体的消失,提示 B 族维生素可以恢复 GABA 能神经元的

功能,从而抑制神经病理性疼痛。

1.4 B 族维生素镇痛加强作用

两种镇痛药物混合使用常被作为一种治疗方法,这样既可以提高镇痛效果,又可以减少不良反应。研究表明,B 族维生素可以有效地增强双氯芬酸以及其他非甾体抗炎药物的镇痛作用。实验^[49]用大鼠尾部压力实验证明 B 族维生素复合物可以增强非甾体类抗炎药物—双氯芬酸对角叉胶诱导产生的痛觉过敏的抑制作用。加巴喷丁,一种 GABA 的结构类似物,是一种新型的抗惊厥、抗癫痫药物,还具有好的镇痛效果,但在治疗神经病理性疼痛剂量时存在不良反应。将 B 族维生素与加巴喷丁合用具有显著的镇痛效果,并证明二者具有协同作用^[50]。

2. B 族维生素的神经保护作用

近期神经病理性疼痛被重新定义为“损伤或者疾病影响躯体感觉系统所引发的疼痛^[51]”这就意味着躯体感觉神经损伤之后就会诱发神经病理性疼痛,如果我们可以从源头上保护神经不受到损伤,就可能阻止疼痛的发生、发展。

研究^[52]显示 B 族维生素,特别是维生素 B₆、B₁₂ 可以保护神经元免受特定的伤害。例如维生素 B₆ 及其相关复合物(吡哆醛磷酸)能显著促进大鼠不同脑区高细胞密度培养的神经元存活。同时吡哆醛磷酸通过增强能量产物的形成以及减少胞外谷氨酸进而保护海马区的神经元免受缺乏葡萄糖所引发的损伤^[53]。在大鼠的视网膜中,B 族维生素可以削弱谷氨酸所诱发的神经毒性^[54]。其中,维生素 B₆ 及其相关复合物可以保护视网膜神经元免受兴奋性中毒损伤(如局部缺血造成的损伤)^[55]。在体外实验^[56]中发现维生素 B₁₂ 在大脑皮层中通过抑制钙离子内流来降低谷氨酸诱导的神经毒性。脊髓缺血会造成长久性的神经病理性疼痛,目前还没有能有效阻止或者减少脊髓损伤以及治疗神经病理性疼痛的药物。我们的最新研究指出,B 族维生素在短暂性缺血引发的脊髓损伤的发生发展过程中具有镇痛作用和神经保护作用^[17]。在 SCII 大鼠脊髓损伤缺血再灌注损伤模型上,腹腔注射 B 族维生素复合物(B₁/B₆/B₁₂)可以显著减轻热痛敏现象,有效抑制 SCII 诱导的辣椒素受体-1 的激活及 c-Fos 蛋白的表达,同时,显著减弱星形胶质细胞和小胶质细胞在脊髓的激活。SCII 可以诱导 GAD65 和 GAD67 的表达下降,而二者是继发的神经病理性疼痛的关键因素。腹腔注射 B 族维生素可以逆转 SCII 诱导的 GAD65(谷氨酸脱氢酶在轴突末端催化合成 GABA)表达下调,但对于 GAD67 没有效果。在神经保护方面, β -III-微管

蛋白以及尼氏体下调是神经元损伤的标志。神经损伤会诱导二者的表达下调。在实验之初,通过检测脊髓中 β -III-微管蛋白的表达以及计量脊髓背角第 I、II 板层尼氏体的数量来确定 SCII 导致的脊髓神经元的损伤程度。蛋白质印迹实验显示 SCII 导致 β -III-微管蛋白的表达量明显下降,尼氏染色结果显示尼氏体数量减少。反复腹腔注射 B 族复合维生素可以明显反转 SCII 诱导的 β -III-微管蛋白表达下调以及尼氏体的消失。

临床上为了完成某些特定手术,常常需要暂时阻断血供,这种情况下如果恰当地使用 B 族维生素,可以在一定程度上起到保护中枢神经元免受损伤的作用,继而避免可能因此诱发的神经病理性疼痛。

3. 总结与展望

中国和全世界有半数以上的成年人饱受不同程度的疼痛折磨,其中神经病理性疼痛是临床上最顽固、最难以治疗的慢性疼痛。慢性疼痛的研究和治疗自 20 世纪末开始逐渐受到全世界的高度重视,但目前慢性疼痛尚不能有效控制,缺乏有效的治疗措施。B 族维生素由于其低毒性、廉价而被广泛看好,可视作极具潜力的治疗或辅助治疗神经病理性疼痛的药物,同时其神经保护作用也可以在某些特定条件下譬如某些需要暂时阻断血液供应的手术时保护神经元免受或减轻因缺血造成的损伤。B 族维生素的镇痛和神经保护机制仍不清楚,需要进一步深入研究,为临床更好更广泛地使用 B 类维生素提供充分的理论依据。

参 考 文 献

- [1] Charlyn ME. Vitamin B: new research. Cornell University: Nova Biomedical Books, 2008:7.
- [2] 库姆斯,张丹参,杜冠华. 维生素:营养与健康基础. 第 3 版. 北京:科学出版社,2009:322~323,369,385,449.
- [3] Eschalier A, Aumaitre O, Decamps A, *et al.* A comparison of the effects of vitamin B12 and aspirin in three experimental pain models in rats and mice. *Psychopharmacology (Berl)*, 1983, 81:228~231.
- [4] França DS, Souza ALS, Almeida KR, *et al.* B vitamins induce an antinociceptive effect in the acetic acid and formaldehyde models of nociception in mice. *Eur J Pharmacol*, 2001, 421:157~164.
- [5] Fu QG, Carstens E, Stelzer B, *et al.* B vitamins suppress spinal dorsal horn nociceptive neurons in the

- cat. *Neurosci Lett*, 1988, 95:192 ~ 197.
- [6] Bartoszyk G, Wild A. Additive antinociceptive effects of vitamins B1, B6 and B12 in the writhing test and antinociception in the heat coil test. *Neurosci Lett*, 1989, 101:96 ~ 100.
- [7] Mäder R, Deutsch H, Siebert GK, *et al.* Vitamin status of inpatients with chronic cephalgia and dysfunction pain syndrome and effects of a vitamin supplementation. *Int J Vitam Nutr Res*, 1987, 58:436 ~ 441.
- [8] Mark J. A guide to the vitamins. Lancaster: MTP Press, 1975;73.
- [9] Song XJ, Xu DS, Wang ZB. Protein kinase G mediates B-vitamins induced inhibition of thermal hyperalgesia in rats with spinal ganglia compression. *Soc Neurosci. Abstr*, 2002, 28:126.
- [10] Song XJ, Gan Q, Wang ZB. Analgesia of B vitamins in pain and hyperalgesia after primary sensory neurons injury. 7th International Conference on the Mechanisms and Treatment of Neuropathic Pain. November 4 ~ 6, 2004, The Fairmont Southampton Princess, Bermuda.
- [11] Song XJ, Wang ZB. Activation of cGMP-PKG Signaling pathway mediates thiamine induced-inhibition of thermal hyperalgesia in rats with primary sensory neuron injury. *FASEB J*, 2003, 439:7.
- [12] Wang ZB, Song XJ. Antinociceptive effects of thiamine and cyanocobalamin in rats with primary sensory neurons injury. *FASEB J*, 2003, 439:8.
- [13] Wang ZB, Song XJ. Treatment of pain and hyperalgesia due to sensory neurons injury using bvitamins in rats. *Anesthesiology*, 2003, 99:A949.
- [14] Gonzalez D, Wang ZB, Song XJ. Oral administration of thiamine, pyridoxine, and cyanocobalamin inhibits hyperalgesia following primary sensory neuron injury in the rat. *J Chiropr Educ*, 2003, 17:10.
- [15] Wang ZB, Gan Q, Rupert RL, *et al.* Thiamine, pyridoxine, cyanocobalamin and their combination inhibit thermal, but not mechanical hyperalgesia in rats with primary sensory neuron injury. *Pain*, 2005, 114:266 ~ 277.
- [16] Song XS, Huang ZJ, Song XJ. Thiamine suppresses thermal hyperalgesia, inhibits hyperexcitability, and lessens alterations of sodium currents in injured, dorsal root ganglion neurons in rats. *Anesthesiology*, 2009, 110:387 ~ 400.
- [17] Yu CZ, Liu YP, Liu Su, *et al.* Systematic administration of B vitamins attenuates neuropathic hyperalgesia and reduces spinal neuron injury following temporary spinal cord ischemia in rats. *Eur J Pain*, 2013, in press.
- [18] Abbott CA, Malik RA, van Ross ERE, *et al.* Prevalence and characteristics of painful diabetic neuropathy in a large community-based diabetic population in the UK. *Diabetes Care*, 2011, 34:2220 ~ 2224.
- [19] Jensen TS, Backonja MM, Jiménez SH, *et al.* New perspectives on the management of diabetic peripheral neuropathic pain. *Diab Vasc Dis Res*, 2006, 3:108 ~ 119.
- [20] Abbas ZG, Swai AB. Evaluation of the efficacy of thiamine and pyridoxine in the treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy. *East Afr Med J*, 1997, 74:803 ~ 808.
- [21] Stracke H, Lindemann A, Federlin K. A benfotiamine-vitamin B combination in treatment of diabetic polyneuropathy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 1996, 104:311 ~ 316.
- [22] Talaei A, Siavash M, Majidi H, *et al.* Vitamin B12 may be more effective than nortriptyline in improving painful diabetic neuropathy. *Int J Food Sci Nutr*, 2009, 60:71 ~ 76.
- [23] Jolivalt CG, Mizisin LM, Nelson A, *et al.* B vitamins alleviate indices of neuropathic pain in diabetic rats. *Eur J Pharmacol*, 2009, 612:41 ~ 47.
- [24] Shakher J, Stevens MJ. Update on the management of diabetic polyneuropathies. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2011, 4:289.
- [25] Itokawa Y, Cooper JR. Ion movements and thiamine: II. The release of the vitamin from membrane fragments. *Biochim Biophys Acta*, 1970, 196:274 ~ 284.
- [26] Takeshige C, Ando Y, Ando M. Effects of vitamin B12 and aldosterone on the conduction of sensory and motor nerve impulse. *Vitamin*, 1971, 44:272 ~ 282.
- [27] Bernstein AL. Vitamin B6 in clinical neurology. *Ann N Y Acad Sci*, 1990, 585:250 ~ 260.
- [28] Heaton EB, Savage DG, Brust JC, *et al.* Neurologic aspects of cobalamin deficiency. *Medicine (Baltimore)*, 1991, 70:229 ~ 245.
- [29] Leklem JE. Modern nutrition in health and disease. 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1999:413 ~ 421.
- [30] Misra AL, Vadlamani NL, Pontani RB. Differential effects of opiates on the incorporation of [14C] thiamine in the central nervous system of the rat. *Experientia*, 1977, 33:372 ~ 374.
- [31] Brennan MJ, Cantrill RC, Warner SJ, *et al.* Amino acid transmitter transport in nerve endings from

- normal and vitamin B12 deficient fruit bats. *Brain Res*, 1980, 200:213 ~ 215.
- [32] Plaitakis A, Nicklas WJ, Berl S. Thiamine deficiency selective impairment of the cerebellar serotonergic system. *Neurology*, 1978, 28:691 ~ 691.
- [33] Dakshinamurti K, Sharma SK, Geiger JD. Neuroprotective actions of pyridoxine. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1647: 225 ~ 229.
- [34] Fujii A, Matsumoto H, Yamamoto H. Effect of vitamin B complex on neurotransmission and neurite outgrowth. *Gen Pharmacol*, 1996, 27:995 ~ 1000.
- [35] Vesely DL. B complex vitamins activate rat guanylate cyclase and increase cyclic GMP levels. *Eur J Clin Invest*, 1985, 15:258 ~ 262.
- [36] Vocci FJ, Petty SK, Dewey WL. Antinociceptive action of the butyryl derivatives of cyclic guanosine 3' 5' -monophosphate. *J Pharmacol Exp Ther*, 1978, 207:892 ~ 898.
- [37] Abacio lu N, Demir S, Çakici , *et al*. Role of guanylyl cyclase activation via thiamine in suppressing chemically-induced writhing in mouse. *Arzneimittelforschung*, 2000, 50:554 ~ 558.
- [38] Cummins TR, Sheets PL, Waxman SG. The roles of sodium channels in nociception: Implications for mechanisms of pain. *Pain*, 2007, 131:243 ~ 257.
- [39] Dong XW, Goregoaker S, Engler H, *et al*. Small interfering RNA-mediated selective knockdown of Nav1.8 tetrodotoxin-resistant sodium channel reverses mechanical allodynia in neuropathic rats. *Neuroscience*, 2007, 146:812 ~ 821.
- [40] Joshi SK, Mikusa JP, Hernandez G, *et al*. Involvement of the TTX-resistant sodium channel Nav1.8 in inflammatory and neuropathic, but not post-operative, pain states. *Pain*, 2006, 123:75 ~ 82.
- [41] Lai J, Gold MS, Kim CS, *et al*. Inhibition of neuropathic pain by decreased expression of the tetrodotoxin-resistant sodium channel, Nav1. 8. *Pain*, 2002, 95:143 ~ 152.
- [42] Zhang AL, Hao JX, Seiger Å, *et al*. Decreased GABA immunoreactivity in spinal cord dorsal horn neurons after transient spinal cord ischemia in the rat. *Brain Res*, 1994, 656:187 ~ 190.
- [43] Eaton MJ, Plunkett JA, Karmally S, *et al*. Changes in GAD-and GABA-immunoreactivity in the spinal dorsal horn after peripheral nerve injury and promotion of recovery by lumbar transplant of immortalized serotonergic precursors. *J Chem Neuroanat*, 1998, 16:57 ~ 72.
- [44] Gwak YS, Crown ED, Unabia GC, *et al*. Propentofylline attenuates allodynia, glial activation and modulates GABAergic tone after spinal cord injury in the rat. *Pain*, 2008, 138:410 ~ 422.
- [45] Liu J, Wolfe D, Hao S, *et al*. Peripherally delivered glutamic acid decarboxylase gene therapy for spinal cord injury pain. *Mol Ther*, 2004, 10:57 ~ 66.
- [46] Liu W, Liu Z, Liu LI, *et al*. A novel human foamy virus mediated gene transfer of GAD67 reduces neuropathic pain following spinal cord injury. *Neurosci Lett*, 2008, 432:13 ~ 18.
- [47] Erlander MG, Tillakaratne NJ, Feldblum S, *et al*. Two genes encode distinct glutamate decarboxylases. *Neuron*, 1991, 7:91 ~ 100.
- [48] Mackie M, Hughes DI, Maxwell DJ, *et al*. Distribution and colocalisation of glutamate decarboxylase isoforms in the rat spinal cord. *Neuroscience*, 2003, 119:461 ~ 472.
- [49] Bartoszyk GD, Wild A. B-vitamins potentiate the antinociceptive effect of diclofenac in carrageenin-induced hyperalgesia in the rat tail pressure test. *Neurosci Lett*, 1989, 101:95 ~ 100.
- [50] Reyes-García G, Medina-Santillán R, Rocha-González HI, *et al*. Synergistic interaction between spinal gabapentin and oral B vitamins in a neuropathic pain model. *Proc West Pharmacol Soc*, 2003, 46:91 ~ 94.
- [51] Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, *et al*. Neuropathic pain redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology*, 2008, 70:1630 ~ 1635.
- [52] Geng MY, Saito H, Katsuki H. Effects of vitamin B6 and its related compounds on survival of cultured brain neurons. *Neurosci Res*, 1995, 24:61 ~ 65.
- [53] Geng MY, Saito H, Nishiyama N. Protective effects of pyridoxal phosphate against glucose deprivation-induced damage in cultured hippocampal neurons. *J Neurochem*, 1997, 68:2500 ~ 2506.
- [54] Kaneda K, Kikuchi M, Kashii S, *et al*. Effects of B vitamins on glutamate-induced neurotoxicity in retinal cultures. *Eur J Pharmacol*, 1997, 322:259 ~ 264.
- [55] Wang XD, Kashii S, Zhao L, *et al*. Vitamin B6 protects primate retinal neurons from ischemic injury. *Brain Res*, 2002, 940:36 ~ 43.
- [56] Hung KL, Wang CC, Huang CY, *et al*. Cyanocobalamin, vitamin B12, depresses glutamate release through inhibition of voltage-dependent Ca^{2+} influx in rat cerebrocortical nerve terminals (synaptosomes). *Eur J Pharmacol*, 2009, 602:230~237.