



血清 TLR4 及 TLR9 作为化疗所致神经病理性疼痛生物学标记物的研究 *

罗清甜^{1,2} 李朴朴³ 李 楠² 肖礼祖² 熊东林² 蒋昌宇^{2,Δ} 廖 翔^{2,Δ}

(¹ 深圳大学生物医学工程学院, 广东省生物医学信息检测和超声成像重点实验室, 深圳 518000;
² 华中科技大学协和深圳医院² 疼痛科; ³ 肿瘤科, 深圳 518000)

摘 要 目的: 研究化疗病人血清中 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 及 Toll 样受体 9 (toll-like receptor 9, TLR9) 的表达水平能否作为化疗所致神经病理性疼痛 (chemotherapy-induced neuropathic pain, CINP) 的外周生物学标记物及两者对 CINP 病人疼痛程度的评估价值。**方法:** 选取 2021 年 11 月至 2022 年 1 月本院收治的 70 例正在或既往接受化疗的肿瘤病人作为研究对象, 根据病人是否存在化疗所致神经病理性疼痛分为 CINP 组 ($n = 23$) 和无 CINP 组 ($n = 47$), 比较两组一般资料, 并通过 ELISA 方法检测血清 TLR4 和 TLR9 浓度。**结果:** 与无 CINP 组比较, CINP 组血清 TLR4 和 TLR9 浓度较高。血清 TLR4 作为 CINP 标记物的诊断指标, ROC 曲线下面积为 0.723 ($P = 0.003$), 最佳临界值为 20.99 ng/ml, 敏感性为 60.87%, 特异性为 72.34%。血清 TLR9 作为 CINP 诊断指标, ROC 曲线下面积为 0.776 ($P = 0.000$), 最佳临界值为 22.54 ng/ml, 敏感性为 73.91%, 特异性为 78.72%。另外, CINP 病人疼痛程度与血清 TLR4 和 TLR9 浓度均呈显著正相关 ($r = 0.637, P = 0.0011; r = 0.628, P = 0.0013$)。Logistic 回归分析显示, 血清 TLR4、TLR9 是化疗病人发生 CINP 的影响因素。**结论:** CINP 病人血清 TLR4、TLR9 呈高水平表达状态, 血清 TLR4、TLR9 有望成为诊断 CINP 的外周生物学指标。血清 TLR4、TLR9 表达水平与 CINP 病人疼痛程度有关, 对临床镇痛药物的使用具有指导意义。

关键词 化疗所致神经病理性疼痛; 血清; Toll 样受体 4; Toll 样受体 9

Serum TLR4 and TLR9 as biomarkers for chemotherapy-induced neuropathic pain *

LUO Qingtian^{1,2}, LI Pupu³, LI Nan², XIAO Lizu², XIONG Donglin², JIANG Changyu^{2,Δ}, LIAO Xiang^{2,Δ}

(¹ Guangdong Key Laboratory for Biomedical Measurements and Ultrasound Imaging, School of Biomedical Engineering, Shenzhen University Health Science Center, Shenzhen 518000, China; ² Department of Pain Medicine; ³ Department of Oncology, Huazhong University of Science and Technology Union Shenzhen Hospital, Shenzhen 518000, China)

Abstract Objective: To study whether the expression levels of toll-like receptor 4 (TLR4) and toll-like receptor 9 (TLR9) in serum of patients who received chemotherapy can be used as peripheral biological markers of chemotherapy-induced neuropathic pain (CINP) and their value in assessing the degree of pain in patients with CINP. **Methods:** Seventy tumor patients who were receiving or had received chemotherapy in our hospital from November 2021 to January 2022 were selected as the research object. According to the presence or absence of CINP, Patients were divided into CINP group ($n = 23$) and no CINP group ($n = 47$). The general data of the two groups were compared, and the concentrations of serum TLR4 and TLR9 were detected by ELISA. **Results:** Serum TLR4 and TLR9 concentrations were higher in the CINP group compared with the no CINP group. The area under the ROC curve for serum TLR4 as a diagnostic indicator of CINP marker was 0.723 ($P = 0.003$), with a cut-off value 20.99 ng/ml, sensitivity of 60.87% and specificity of 72.34%. The area under the ROC curve for serum TLR9 as a diagnostic indicator of CINP was 0.776 ($P = 0.000$), with a cut-off value of 22.54 ng/ml, sensitivity of 73.91% and specificity of 78.72%. In addition, the degree of pain in CINP patients was significantly

* 基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金 (2021A1515110799); 深圳市南山区卫生健康委科研计划项目 (NS2021077)

Δ 通信作者 蒋昌宇 changyujiang@email.szu.edu.cn; 廖翔 digitalxiang@163.com



and positively correlated with both serum TLR4 and TLR9 concentrations ($r = 0.637$, $P = 0.0011$; $r = 0.628$, $P = 0.0013$). Logistic regression analysis showed that serum TLR4 and TLR9 were influential factors in the development of CIMP in chemotherapy patients. **Conclusion:** Patients with chemotherapy-induced neuropathic pain showed high levels of serum TLR4 and TLR9 expression, and serum TLR4 and TLR9 are expected to be peripheral biological indicators for the diagnosis of CIMP. The expression levels of serum TLR4 and TLR9 are related to the degree of pain in patients with CIMP and have implications for the use of clinical analgesic drugs.

Keywords chemotherapy-induced neuropathic pain; serum; toll-like receptor 4; toll-like receptor 9

化疗所致的神经病理性疼痛 (chemotherapy-induced neuropathic pain, CIMP) 是化疗最常见的不良反应之一。CIMP 作为典型的神经病理性疼痛, 临床表现为针刺样痛、电击样痛、烧灼样痛、触碰痛及麻痹感, 其发病早期不易被察觉, 一旦形成将严重影响病人生活质量, 并常导致化疗剂量的改变, 甚至化疗的中止^[1]。因此, 寻找早期诊断 CIMP 及评估 CIMP 疼痛程度的客观生物学指标对合理指导镇痛药物的使用, 保证化疗的完整执行具有重要的临床意义。然而, 目前相关研究在国内外鲜有报道。因此, 本研究拟通过收集临床样本, 基于发病机制探寻诊断 CIMP 及评估 CIMP 疼痛程度的客观生物学指标, 为 CIMP 的防治提供科学线索。

CIMP 的主要发病机制包括轴突变性、离子通道的改变、线粒体功能障碍等, 同时与某些炎性介质如细胞因子的释放有关^[2]。Toll 样受体 (toll-like receptors, TLRs) 是一类由 14 个确定受体组成的蛋白质家族, 在先天免疫系统中发挥着关键作用^[3]。TLRs 及其配体之间的相互作用可触发炎症信号级联, 导致细胞因子的产生和适应性免疫反应的启动^[3]。TLRs 被证实存在于小胶质细胞、星形胶质细胞、卫星胶质细胞及感觉神经元等细胞中表达^[4]。研究表明这些细胞中 TLRs 激活诱导的免疫反应可导致神经病理性疼痛发生^[4]。其中, TLRs 家族成员 TLR4 (toll-like receptor 4) 和 TLR9 (toll-like receptor 9) 在动物模型中被证实与 CIMP 的发生密切相关^[5,6]。然而, 由于临床样本较难获取, 病人神经系统中 TLR4、TLR9 表达水平不易被检测。研究表明, 外周血 TLR4、TLR9 可作为某些疾病如子痫前期和急性胰腺炎的疾病诊断生物学指标^[7,8]。因此, 外周血中 TLR4、TLR9 的表达水平是否能成为反映 CIMP 的潜在生物学指标值得我们探讨。虽然人们已经认识到 TLR4、TLR9 参与动物模型 CIMP 的病理生理过程, 但迄今为止关于化疗后病人血清中 TLR4、TLR9 水平与 CIMP 的关系国内外尚无报道。因此, 本研究通过观察化疗所致神经病理性疼痛和化疗后

无神经病理性疼痛病人血清中 TLR4、TLR9 表达水平, 评估血清 TLR4、TLR9 对 CIMP 的诊断价值, 旨在为早期防治 CIMP 提供新的依据。

方 法

1. 一般资料

本研究通过华中科技大学协和深圳医院伦理委员会审查批准, 科研伦理审查编号 (KY-2022-010)。所有病人均已签署研究项目研究知情同意书。选取 2021 年 11 月至 2022 年 1 月本院肿瘤科收治的 70 例正在或既往接受口服或静脉用神经毒性化疗药物的肿瘤病人作为研究对象, 其中男 38 例, 女 32 例, 年龄 < 60 岁 40 例, ≥ 60 岁 30 例。根据病人是否存在 CIMP, 将其分为 CIMP 组 ($n = 23$) 和无 CIMP 组 ($n = 47$)。

纳入标准: 正在或既往接受口服或静脉用神经毒性化疗药物的恶性肿瘤病人; 各项指标检查均于入院 24 小时内完成; 临床资料完整。

评估标准: 符合《慢性疼痛分类目录和定义》中的慢性癌症治疗后疼痛的相关诊断标准^[9], 并结合 DN4 问卷 (douleur neuropathique 4, DN4)^[10] 对神经病理性疼痛进行评估, 总分 10 分, 大于或等于 4 分可诊断为 CIMP; 数字疼痛评估量表^[11] 评估过去 24 小时内最剧烈的疼痛 (0 为无痛; 10 为最严重的疼痛)。

排除标准: 伴有严重心、肝、肺、肾疾病; 合并严重感染、糖尿病的病人; 妊娠及哺乳期妇女; 患有其他自身免疫性疾病、病毒性肝炎或者 HIV 感染病人; 使用免疫抑制剂治疗病人; 存在精神异常、认知障碍。

2. 方法

通过病案系统收集病人入院时临床资料, 包括年龄、性别、体重指数 (body mass index, BMI)、肿瘤类型、肿瘤分期、神经毒性化疗药物、接受的其他肿瘤治疗、结束化疗的时间、开始化疗的时间。所有病人均于清晨空腹下抽取 3 ml 肘静脉血, 3000 r/min



离心 10 min, 分离血清, 取上层清液-80℃ 冷存待检。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清样本中的 TLR4、TLR9, 试剂盒 (ml027583, ml057770) 均由上海酶联生物科技有限公司提供。检测严格按照试剂盒说明书操作。比较两组一般资料, 外周血清 TLR4、TLR9 浓度。采用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析 TLR4、TLR9 对 CINP 的诊断价值, 并寻找最佳临界值。

3. 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件分析。计量资料符合方差齐性且服从正态分布采用均数 ± 标准误 ($\bar{x} \pm SEM$) 描述, 两组之间比较采用 *t* 检验; 计数资料采用百分率表示, 等级资料多组间采用 Kruskal-Wallis H 检验; 相关性采用 Pearson 相关性分析; CINP 的影响因素采用 Logistic 回归分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. 两组病人一般资料及血清 TLR4、TLR9 水平比较

两组病人年龄、性别、BMI、肿瘤类型、化疗药物、肿瘤分期、接受的其他肿瘤治疗、结束化疗的时间、化疗开始时间等比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。CINP 组血清 TLR4、TLR9 水平均显著高于无 CINP 组 ($P < 0.05$, 见表 1)。

2. 血清 TLR4、TLR9 水平对 CINP 的诊断价值

绘制 ROC 曲线, 结果显示, 血清 TLR4 作为 CINP 标记物诊断 CINP 的 ROC 曲线下面积为 0.723 ($P = 0.003$), 最佳临界值为 20.99 ng/ml, 敏感性为 60.87%, 特异性为 72.34%。血清 TLR9 作为 CINP 标记物诊断 CINP 的 ROC 曲线下面积为 0.776 ($P = 0.000$), 最佳临界值为 22.54 ng/ml, 敏感性为

表 1 两组一般资料及 TLR4、TLR9 水平比较

Table 1 Comparison of general information and TLR4 and TLR9 levels between the two groups

临床指标 Clinical indicators	例数 <i>n</i>	组别 Group		<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
		CINP 组 (<i>n</i> = 23) CINP group	无 CINP 组 (<i>n</i> = 47) No CINP group		
性别 Gender					
男 Male	38	9 (23.7)	29 (76.3)	3.125	0.077
女 Female	32	14 (43.8)	18 (56.2)		
年龄 (岁) Age (Years)					
20-39	6	1 (16.7)	5 (83.3)	3.327	0.344
40-59	34	14 (41.2)	20 (58.8)		
60-79	27	8 (29.6)	19 (70.4)		
≥ 80	3	0 (0.0)	3 (100.0)		
体重指数 (kg/m ²) BMI (kg/m ²)					
≤ 18.5	4	3 (75.0)	1 (25.0)	4.973	0.174
18.5-23.9	47	14 (29.8)	33 (70.2)		
24.0-27.0	16	6 (37.5)	10 (62.5)		
28.0-32.0	3	0 (0.0)	3 (100.0)		
肿瘤类型 Cancer type					
乳腺癌 Breast	11	4 (36.4)	7 (63.6)	1.876	0.866
结直肠癌 Colorectal	25	7 (28.0)	18 (72.0)		
卵巢癌 Ovarian	6	3 (50.0)	3 (50.0)		
肺癌 Lung	8	2 (25.0)	6 (75.0)		
恶性黑色素瘤 Malignant melanoma	4	2 (50.0)	2 (50.0)		
其他 Other	16	5 (31.2)	11 (68.8)		
神经毒性化疗药 Neurotoxic chemotherapy type					
紫杉醇 Paclitaxel	36	14 (38.9)	22 (61.1)	2.268	0.519
奥沙利铂 Oxaliplatin	27	8 (29.6)	19 (70.4)		
顺铂 Cisplatin	4	1 (25.0)	3 (75.0)		
其他 Other	3	0 (0.0)	3 (100.0)		

临床指标 Clinical indicators	例数 <i>n</i>	组别 Group		<i>t</i> / χ^2	<i>P</i>
		CINP 组 (<i>n</i> = 23) CINP group	无 CINP 组 (<i>n</i> = 47) No CINP group		
其他肿瘤治疗 Other cancer treatment received					
放疗 Radiotherapy	2	0 (0.0)	2 (100.0)	3.998	0.550
手术 Surgery	21	8 (38.1)	13 (61.9)		
靶向治疗 Targeted therapy	14	4 (28.6)	10 (71.4)		
联合治疗 Combination therapy	26	8 (30.8)	18 (69.2)		
内分泌治疗 Endocrine therapy	2	0 (0.0)	2 (100.0)		
无 Without other cancer treatment	5	3 (60.0)	2 (40.0)		
肿瘤分期 Tumor stage					
I	4	2 (50.0)	2 (50.0)	0.872	0.928
II	5	2 (40.0)	3 (60.0)		
III	18	6 (33.3)	12 (66.7)		
IV	28	8 (28.6)	20 (71.4)		
不清楚 Unknown	15	5 (33.3)	10 (66.7)		
结束化疗时间 Years since completing treatment					
目前正在化疗 Currently on chemotherapy	55	18 (32.7)	37 (67.3)	0.151	0.927
刚结束 Completed chemotherapy just ended	10	3 (30.0)	7 (70.0)		
结束 1 年以上 Completed chemotherapy ≥ 1 year ago	5	2 (40.0)	3 (60.0)		
化疗开始时间 Years since treatment started					
开始半年 Half a year	19	7 (36.8)	12 (63.2)	0.269	0.966
开始 1 年 1 year	31	10 (32.3)	21 (67.7)		
2~5 年 2-5 years	16	5 (31.2)	11 (68.8)		
≥ 6 年 ≥ 6 years	4	1 (25.0)	3 (75.0)		
TLR4 (ng/mL)		45.6±10.6***	18.4±0.5	3.665	< 0.001
TLR9 (ng/mL)		46.2±9.4***	20.2±0.5	3.970	< 0.001

****P* < 0.001, 与无 CINP 组相比; ****P* < 0.001, compared with no group CINP.

73.91%, 特异性为 78.72%, 见图 1。

3. 病人血清 TLR4、TLR9 水平与 CINP 病人疼痛评分的关系

Pearson 相关性分析结果显示, 血清 TLR4 水平与 CINP 病人疼痛评分呈显著正相关性 (*r* = 0.637, *P* = 0.0011), 血清 TLR9 水平与 CINP 病人疼痛评分呈显著正相关 (*r* = 0.628, *P* = 0.0013), 见图 2。

4. CINP 影响因素的 Logistic 回归分析

以 CINP 为因变量, 以 TLR4、TLR9 为自变量, 行 Logistic 回归分析, 矫正年龄、性别、化疗时间后, 结果显示, 高水平 TLR4、TLR9 均为 CINP 的风险因素 (*P* < 0.05, 见表 2)。

讨 论

当前, 癌症仍是全球死亡的主要原因^[12]。化疗药物是阻止癌症进展的有效工具^[13]。然而, 化疗诱发的周围神经病理性疼痛让广大化疗病人痛苦不堪, 常导致化疗药物的减量甚至化疗的中止, 限制

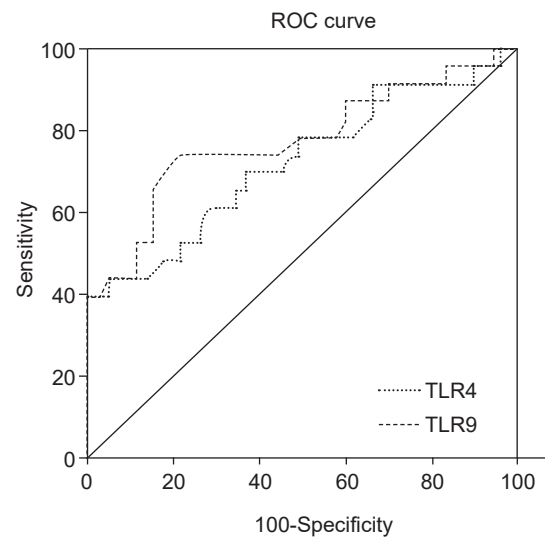


图 1 血清 TLR4、TLR9 诊断化疗所致神经病理性疼痛的 ROC 曲线
Fig. 1 ROC curves of serum TLR4 and TLR9 for the diagnosis of chemotherapy-induced neuropathic pain

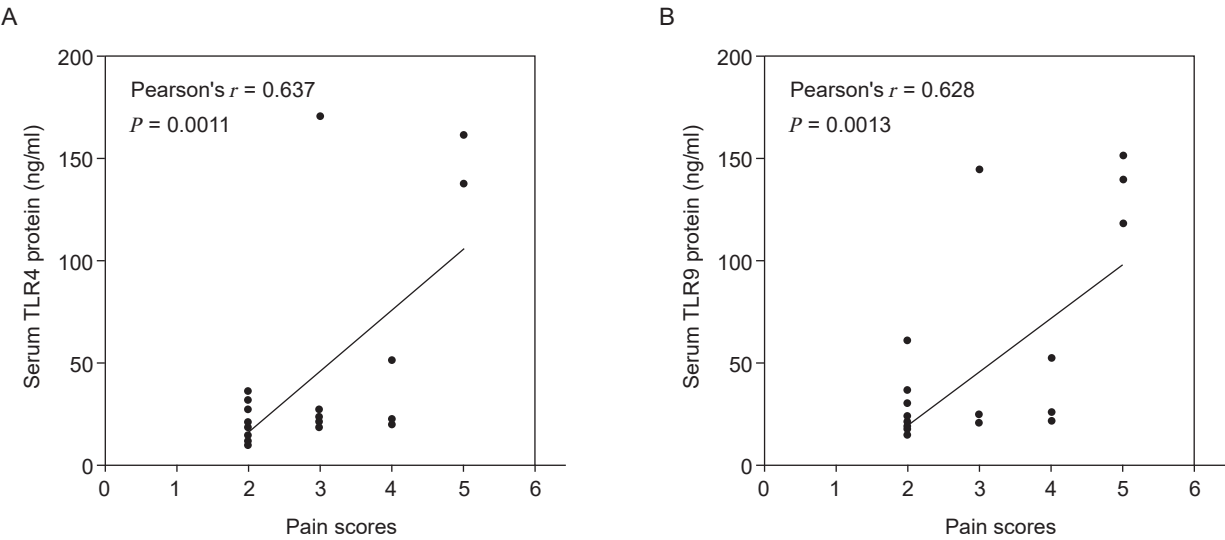


图 2 血清 TLR4 (A) 和 TLR9 (B) 蛋白水平与 CINP 病人疼痛评分的相关性分析
Fig. 2 Correlation analysis of serum TLR4 (A) and TLR9 (B) protein levels with pain scores in patients with CINP (Pearson's correlation)

表 2 化疗所致神经病理性疼痛的影响因素
Table 2 Factors influencing chemotherapy-induced neuropathic pain

变量 Variables	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95% CI
TLR4	0.229	0.019	146.265	0.000	1.258	1.212-1.306
TLR9	0.470	0.035	176.813	0.000	1.600	1.493-1.715

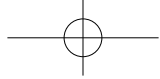
肿瘤的根治性治疗，影响病人整体生存^[1]。因此，临床中急需找寻早期即可判断 CINP 风险及疼痛程度的指标，从而合理指导镇痛药物的使用，保证化疗的完整执行。

CINP 发生的病理生理机制较为复杂，除了化疗药物本身造成的神经轴突变性及神经元线粒体功能损伤外，神经炎症反应在疼痛发生中同样发挥了重要的作用^[14]。研究表明，化疗诱导的细胞因子释放可能与化疗药激活 TLRs，特别是 TLR4、TLR9 有关^[5,15]。TLR4 和 TLR9 作为先天免疫反应中的重要成员，与配体结合后活化，激活核转录因子 NF- κ B 通路，促进炎症因子的表达，诱导促炎细胞因子如 TNF- α 、IFN- β 、IL-6 及 IL-1 α 等分泌^[16]，这个过程可导致免疫细胞的募集和激活以及神经炎症的发展^[17]。Xu 等^[18]研究发现，脊髓损伤后神经病理性疼痛病人中外周血 TLR4、TNF- α 、IL-6 的表达水平较无神经病理性疼痛病人显著升高，提示外周血 TLR4 引起免疫激活可能与神经病理性疼痛的发生密切相关。本研究发现，化疗后 CINP 组病人血清 TLR4 水平较对照组显著升高，且随疼痛程度增加，其水平随之增加，说明 TLR4 可用于诊断 CINP 及评估疼痛程度。而血清 TLR4 在其他疾病如

子痫前期^[19]和主动脉瘤病^[8]中作为生物学标记物的诊断价值也得到了证实。

研究证实 TLR9 信号与疼痛性疾病有关：在关节炎小鼠模型中，TLR9 可能是中性粒细胞胞外陷阱引起关节痛觉过敏发生的关键^[20]；Luo 等^[5]研究发现，TLR9 的全身缺失影响了紫杉醇注射后小鼠背根神经节中巨噬细胞的浸润，从免疫调控的角度指出 TLR9 可能通过炎症反应促进雄性小鼠紫杉醇 CINP 的发生。本研究发现，化疗后 CINP 组病人血清 TLR9 水平较对照组显著升高，TLR9 作为 CINP 的生物学标记物的敏感性和特异性较高，且随疼痛程度增加，其水平也随之增加，充分说明 TLR9 可作为诊断 CINP 的重要指标及疼痛程度的评估指标，为临床镇痛药物的使用提供依据。另外，TLR9 作为 CINP 诊断标记物的 ROC 曲线下面积、敏感性和特异性均高于 TLR4，提示其临床价值高于 TLR4。研究表明，血清 TLR9 对急性胰腺炎也具有诊断和预后分析价值^[7]，可能与其激活炎症反应有关。

值得一提的是，化疗后 CINP 和无 CINP 两组病人的化疗开始时间及结束化疗时间两个参数差异无统计学意义，本研究在尽可能排除化疗开始时间及结束化疗时间对结果影响的基础上，发现血清高



水平 TLR4、TLR9 是 CIMP 的风险因素并对 CIMP 具有较好的诊断价值。这提示在病人初次接受化疗后血清高水平 TLR4、TLR9 对 CIMP 的发生可能有较好的预测价值, 早期检测血清 TLR4、TLR9 水平可能对早期预测和防治 CIMP 的发生有重要的意义, 但仍需进一步前瞻性研究验证。

综上所述, 在本研究中我们发现病人血清 TLR4、TLR9 可能是用于诊断 CIMP 的潜在生物学标志物, 值得临床推广应用, TLR9 可能更适合作为诊断 CIMP 的指标。今后的研究中, 为明确血清 TLR4、TLR9 在 CIMP 发生发展中的作用, 尚需进行化疗病人的长期随访。此外, 为验证血清 TLR4、TLR9 对 CIMP 的预测及诊断价值, 仍需大样本、多中心的临床研究支持。

利益冲突声明: 作者声明本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Colvin LA. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: where are we now?[J]. Pain, 2019, 160 Suppl 1(Suppl 1):S1-S10.
- [2] 巴茜远, 郝悦, 肖礼祖, 等. 化疗所致神经病理疼痛机制的研究进展 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2021, 27(5):367-371.
- [3] Fitzgerald KA, Kagan JC. Toll-like receptors and the control of immunity[J]. Cell, 2020, 180(6):1044-1066.
- [4] Lacagnina MJ, Watkins LR, Grace PM. Toll-like receptors and their role in persistent pain[J]. Pharmacol Therapeut, 2018, 184:145-158.
- [5] Luo X, Huh Y, Bang S, *et al.* Macrophage Toll-like receptor 9 contributes to chemotherapy-induced neuropathic pain in male mice[J]. J Neurosci, 2019, 39(35): 6848-6864.
- [6] Illias AM, Yu KJ, Hwang SH, *et al.* Dorsal root ganglion toll-like receptor 4 signaling contributes to oxaliplatin-induced peripheral neuropathy[J]. Pain, 2021, 163(5):923-935.
- [7] Demirtas E, Korkmaz İ, Cebecioğlu K, *et al.* Serum TLR9 and NF-κB biochemical markers in patients with acute pancreatitis on admission[J]. Emerg Med Int, 2020, 2020:1264714.
- [8] Li T, Jing JJ, Sun LP, *et al.* Serum Toll-like receptor 4: a novel and promising biomarker for identification of aortic aneurysmal diseases[J]. Clin Chim Acta, 2018, 483:69-75.
- [9] 宋学军, 万有, 樊碧发, 等. 慢性疼痛分类目录和定义 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2021, 27(1):2-8.
- [10] Bouhassira D, Attal N, Alchaar H, *et al.* Comparison of pain syndromes associated with nervous or somatic lesions and development of a new neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4)[J]. Pain, 2005, 114(1-2): 29-36.
- [11] Downie WW, Leatham PA, Rhind VM, *et al.* Studies with pain rating scales[J]. Ann Rheum Dis, 1978, 37(4):378-381.
- [12] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-249.
- [13] Kaiser J. When less is more[J]. Science, 2017, 355 (6330):1144-1146.
- [14] Boyette-Davis JA, Hou S, Abdi S, *et al.* An updated understanding of the mechanisms involved in chemotherapy-induced neuropathy[J]. Pain Manag, 2018, 8(5):363-375.
- [15] Park HJ, Stokes JA, Corr M, *et al.* Toll-like receptor signaling regulates cisplatin-induced mechanical allodynia in mice[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2014, 73(1):25-34.
- [16] Taguchi T, Mukai K. Innate immunity signalling and membrane trafficking[J]. Curr Opin Cell Biol, 2019, 59:1-7.
- [17] Kumar V. Toll-like receptors in the pathogenesis of neuroinflammation[J]. J Neuroimmunol, 2019, 332:16-30.
- [18] Xu J, E XQ, Liu HY, *et al.* Tumor necrosis factor-alpha is a potential diagnostic biomarker for chronic neuropathic pain after spinal cord injury[J]. Neurosci Lett, 2015, 595:30-34.
- [19] Litang Z, Hong W, Weimin Z, *et al.* Serum NF-κBp65, TLR4 as biomarker for diagnosis of preeclampsia[J]. Open Med (Wars), 2017, 12:399-402.
- [20] Schneider AH, Machado CC, Veras FP, *et al.* Neutrophil extracellular traps mediate joint hyperalgesia induced by immune inflammation[J]. Rheumatology (Oxford), 2021, 60(7):3461-3473.