

• 论 著 •

电针对背根神经节持续受压模型大鼠机械痛阈及 TRPV1、SP、CGRP 表达的影响 *

魏周园¹ 郑雨¹ 江民健¹ 池恒愉¹ 康玉蓉¹ 何晓芬^{1,2,3} 李晓宇^{1,2,3} 周姝婷^{1,2,3}杜俊英^{1,2,3} 邵晓梅^{1,2,3} 方剑乔^{1,2,3} 蒋永亮^{1,2,3} [△]⁽¹⁾ 浙江中医药大学第三临床医学院康复医学院, 杭州 310053; ⁽²⁾ 浙江省针灸神经病学研究重点实验室, 杭州 310053; ⁽³⁾ 浙江中医药大学, 杭州 310053)

摘 要 目的: 观察电针对背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 持续受压 (chronic compression of dorsal root ganglion, CCD) 模型大鼠机械刺激缩足反射阈值 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 及 DRG 瞬时受体电位香草酸亚型 1 (transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1)、P 物质 (substance P, SP)、降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 表达的影响。**方法:** 41 只雄性 SD 大鼠使用简单随机抽样方法分为假手术组 (11 只)、模型组 (15 只)、电针组 (15 只), 电针组取大鼠患侧“足三里”“昆仑”穴进行治疗, 每日 1 次, 共 7 天。检测各组大鼠不同时间点患侧 MWT, 采用免疫荧光法检测大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 阳性细胞表达情况, 免疫印迹法检测大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 蛋白表达变化。**结果:** 造模后第 1 天电针治疗前, 与假手术组相比, 模型组和电针组大鼠 MWT 显著降低 ($P < 0.01$); 电针治疗后第 1、3、5、7 天, 电针组大鼠患侧 MWT 显著高于同期模型组 ($P < 0.01$)。与假手术组相比, 模型组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、SP、CGRP 阳性细胞数表达均升高 ($P < 0.05$); TRPV1 和 SP、TRPV1 和 CGRP 阳性细胞共表达数升高 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 电针组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、SP、CGRP 表达均降低 ($P < 0.05$); TRPV1 和 SP、TRPV1 和 CGRP 阳性细胞共表达数降低 ($P < 0.05$)。与假手术组相比, 模型组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 蛋白表达升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 经电针干预后, 电针组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。**结论:** 电针治疗可促使 MWT 升高, 有效抑制 CCD 大鼠痛觉敏化, 其镇痛机制可能与下调 DRG 中 TRPV1、SP 和 CGRP 的表达有关。

关键词 电针; 针刺镇痛; 瞬时受体电位香草酸亚型 1; P 物质; 降钙素基因相关肽

Effects of electroacupuncture on mechanical pain threshold and TRPV1, SP, and CGRP expression in rats with chronic compression of the dorsal root ganglion model *WEI Zhou-yuan¹, ZHENG Yu¹, JIANG Min-jian¹, CHI Heng-yu¹, KANG Yu-rong¹, HE Xiao-fen^{1,2,3}, LI Xiao-yu^{1,2,3}, ZHOU Shu-ting^{1,2,3}, DU Jun-ying^{1,2,3}, SHAO Xiao-mei^{1,2,3}, FANG Jian-qiao^{1,2,3}, JIANG Yong-liang^{1,2,3} [△]⁽¹⁾ The Third Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; ⁽²⁾ Key Laboratory of Acupuncture and Neurology of Zhejiang Province, Department of Neurobiology and Acupuncture Research, Hangzhou 310053, China; ⁽³⁾ Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Abstract Objective: To observe the effect of electroacupuncture on the mechanical withdrawal threshold (MWT) and the expression of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1), substance P (SP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) in dorsal root ganglion (DRG) of rats with chronic compression of dorsal root ganglion (CCD). **Methods:** Forty-one SD rats were randomly divided into three group: sham group ($n = 11$), model (CCD) group and electroacupuncture (CCD + EA) group ($n = 15$). The CCD + EA group was treated with

* 基金项目: 浙江省自然科学基金 (LY22H270006、ZCLY24H2701、LQ24H270003); 国家中医药管理局科技司-浙江省共建项目重点课题 (GZY-ZJ-KL-24073); 浙江中医药大学附属医院专项 (2022FSYYZZ09)

[△] 通信作者 蒋永亮 jyl2182@126.com



electroacupuncture at Zusanli and Kunlun points on the affected side of the rats, once a day for 7 days. MWTs were detected at different time points on the ipsilateral side of rats in each group. The expression of TRPV1, CGRP and SP-positive cells in the ipsilateral DRG was detected by immunofluorescence. The expression of TRPV1, CGRP, and SP protein in DRG of the affected side were detected using Western Blotting. **Results:** On the first day after modeling, before electroacupuncture intervention, the MWT of the CCD group and the CCD + EA group was significantly lower than that of the sham group ($P < 0.01$). From the first day to the seventh day after electroacupuncture intervention, compared with the CCD group, the MWT of rats in the CCD + EA group was significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the sham group, the expression of TRPV1, SP and CGRP-positive cells in the DRG of the model group increased ($P < 0.05$). The number of TRPV1/SP and TRPV1/CGRP co-localized positive cells also increased ($P < 0.05$). Compared with the CCD group, the expressions of TRPV1, SP, and CGRP in the DRG of the rats in the CCD + EA group were significantly decreased ($P < 0.05$). The number of TRPV1/SP and TRPV1/CGRP co-localized positive cells also decreased ($P < 0.05$). Compared with the sham group, the expression of TRPV1, CGRP, and SP proteins in the ipsilateral DRG of the CCD group rats was increased ($P < 0.01$). Compared with the CCD group, the expression of TRPV1, CGRP, and SP proteins in the ipsilateral DRG of the CCD + EA group rats decreased after intervention ($P < 0.01$). **Conclusion:** Electroacupuncture treatment can increase MWT and effectively inhibit pain sensitization in CCD rats. The analgesic mechanism may be related to the down-regulation of TRPV1, SP, and CGRP expression in the ipsilateral DRG.

Keywords electroacupuncture; acupuncture analgesia; transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1); substance P (SP); calcitonin gene-related peptide (CGRP)

腰椎间盘突出压迫神经根导致的根性痛是临床上常见、多发的一类神经痛^[1],主要表现为下肢放射性痛麻,具有慢性炎症疼痛和神经病理性疼痛的双重特性^[2]。近年来,随着人们生活方式的改变,其发病呈现年轻化,严重影响病人生活质量^[3]。目前其治疗主要为手术治疗和保守治疗^[4],然而手术治疗具有风险,且复发后再次手术的治疗风险更高,其中 10%~40% 的手术病人依然会复发慢性腰腿痛(即腰椎术后疼痛综合征),其本身又引发了一个巨大的全球性健康问题^[5],因此寻求有效的治疗方法,提高病人的生活质量具有十分重要的临床意义。

目前已有多种研究腰椎间盘突出压迫神经根发病机制的相关动物模型,其中背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)持续受压(chronic compression of dorsal root ganglion, CCD)大鼠模型能够较好地模拟临床上腰椎间盘突出引起的神经疼痛症状,是典型的神经病理性疼痛模型^[6]。DRG 是传递外周疼痛信号的第一级神经感受器^[7],瞬时受体电位香草酸亚型 1 (transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1)在伤害性感受感觉的传递和调节中起重要作用,DRG 中 TRPV1 上调,可引起痛觉敏化^[8],TRPV1 离子通道的激活可调节 P 物质(substance P, SP)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)的表达^[9],因此 TRPV1、CGRP 和 SP 在神

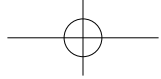
经病理性疼痛产生中发挥着至关重要的作用。

电针作为一种有效、简便、无毒副作用的治疗方式,越来越受到人们的关注。有临床研究表明电针治疗可有效缓解腰椎间盘突出压迫神经根导致的根性痛^[10],然而目前尚缺乏电针通过调控 TRPV1 通路参与 CCD 的相关研究。基于此,本研究建立模拟与临床症状相似的 CCD 模型,观察电针“足三里”“昆仑”穴对 CCD 模型大鼠机械刺激缩足反射阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT)及 DRG 中 TRPV1、SP、CGRP 表达的影响,拟从外周敏化角度阐述电针治疗 CCD 的部分机制,以期进一步推动电针用于腰椎间盘突出症等神经病理性疼痛的临床治疗。

方 法

1. 实验对象

清洁级雄性大鼠 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 41 只,重量 180~200 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司,许可证号[SCXK(沪)2022-0004],由浙江中医药大学实验研究中心饲养,许可证号[SYXK(浙)2021-0012]。按啮齿类动物标准饲料喂养,饮水,12 h 循环灯光,室温(23±2)℃,恒定湿度,均遵循动物伦理操作,通过浙江中医药大学动物伦理委员



会审核（伦理审批号 IACUC-20240401-08）。

主要试剂：豚鼠抗 TRPV1 多克隆抗体（以色列 Alomone，产品货号：ACC-030-GP）；兔抗 CGRP 多克隆抗体（美国 Cell Signaling Technology，产品货号：14959s）；兔抗 SP 多克隆抗体（北京博奥森生物公司，产品货号：bs-0065R）；山羊抗豚鼠 IgG H&L (Alexa Fluor® 488)（美国 Abcam，产品货号：ab150185）；山羊抗兔 IgG H&L (Alexa Fluor® 594) 预吸附二抗（美国 Abcam，产品货号：ab150084）。

仪器设备：荧光显微镜（德国蔡司 Image M2）；恒温手术台（美国 Harvard 公司）；韩氏穴位神经刺激仪（中国联创科技南京济生医疗科技有限公司，HANS-200A）；von Frey 触觉纤维丝（美国 Stoelting）；华佗牌一次性针灸针（中国苏州医疗用品厂有限公司，0.18 mm×13 mm）；L 型不锈钢丝（定制）。

2. 方法

（1）分组：使用简单随机抽样方法将 41 只 SD 大鼠随机分为假手术组 (Sham) 11 只、模型组 (CCD) 15 只、电针组 (CCD + EA) 15 只。CCD 组和 CCD + EA 组需剔除死亡及造模失败的大鼠：CCD 组死亡 1 只，造模失败 3 只；CCD + EA 组死亡 2 只，造模失败 2 只。

（2）CCD 模型的建立：按既往文献方法建模^[6,11]，大鼠予以 3% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔麻醉，剔除背部的毛发，消毒剔除毛发的部分，沿后背正中线剪开皮肤，于 L₄、L₅ 脊椎左侧 0.5~0.7 cm 纵向开口，钝性分离皮肤，暴露中间的 L₄、L₅ 椎间孔，然后用 1 根长约 1 cm，直径 0.6 cm 的 L 型不锈钢丝紧贴椎间孔上缘以与背部正中线成 30°，以及与脊柱侧面水平线成 10° 向头背方向插入 L₅ 椎间孔，当 L 型钢棒长端触及 DRG 时，可见大鼠术侧后肢肌肉手术侧出现轻微的、短暂的抽动，提示钢棒触及 DRG 神经根，插入位置正确，继续插入钢棒直至钢棒长端完全进入椎间孔，短端置于椎间孔外，L₄ 同上述 L₅ 操作后，依次缝合伤口肌肉、皮肤，腹腔注射青霉素预防伤口感染，放在保温台上待其苏醒后，放入笼中。假手术组大鼠暴露椎间孔后缝合肌肉和皮肤，其余操作同上。造模后 1 天电针干预前，MWT 下降 30% 为造模成功^[12]。

（3）电针干预：造模 24 h 内检测大鼠患侧 MWT 后予以电针干预治疗，使用束缚袋固定，将大鼠轻轻放入束缚袋中，确保头部和四肢可以自由活动，但身体不能大幅度移动^[13]。参照大鼠穴位图

谱^[14]及《实验针灸学》中“足三里”“昆仑”穴位的定位，采用一次性针灸针，进针后针柄连接韩式穴位神经刺激仪输出端，治疗参数^[15,16]：频率 2 Hz，时间 30 min，强度 1 mA，连续治疗 7 天。

（4）MWT 检测^[17]：采用触觉纤维丝检测大鼠造模前、造模后第 1 天电针前及电针后即刻、电针后第 3、5、7 天六个时间点 MWT。大鼠适应环境 30 min 后，用纤维丝轻触大鼠左后肢，至纤维丝弯曲成 S 形，若大鼠出现缩抬足、舔足、甩足则被认为是阳性反应，力量从 4 g 开始，若 MWT > 26 g，则直接取 26 g 为最终结果，测量环境保持安静，温度适宜。

（5）免疫荧光法：电针治疗 7 天后，经心脏灌注，取出患侧 L₄、L₅ DRG，每组 5 只，即刻放入 4% 多聚甲醛固定 4 h，15% 蔗糖脱水 12 h，30% 蔗糖脱水 48 h，脱水后将组织包在锡纸中，使用液氮速冻后放入 -80℃ 的冰箱中保存。组织包埋后，冰冻切片厚度 10 μm，使用贴片法将组织贴于载玻片上，用 TBST 溶液漂洗，切片上滴加 10% 的山羊血清放入 37℃ 恒温箱封闭 1 h，孵育一抗 TRPV1 (1:200)、SP (1:100)、CGRP (1:800)，放入 4℃ 冰箱孵育过夜，第 2 天复温 1 h，TBST 溶液清洗。孵育二抗山羊抗豚鼠 IgG H&L (Alexa Fluor® 488) (1:200)，山羊抗兔 IgG H&L (Alexa Fluor® 594) (1:400)，37℃ 恒温箱避光孵育 1 h。TBST 溶液清洗后，待载玻片风干后封片，在荧光显微镜下观察并拍摄组织切片。通过 Image J 软件统计 DRG 中 TRPV1、SP、CGRP 阳性细胞数和阳性细胞直径，阳性细胞数统计数量为每组 5 只，每组选取 3 只统计阳性细胞直径。

（6）免疫印迹检测：电针治疗 7 天后，取出患侧 L₄、L₅ DRG，每组 5 只，收集至 EP 管中，加入 RIPA 裂解液，放入组织破碎仪中进行匀浆，4℃ 12,000 r/min，20 min 离心取上清液，BCA 法测定蛋白浓度后，于 -80℃ 的冰箱中保存。根据 20 μg 蛋白上样量计算蛋白样本体积，并加入 2x loading buffer，98℃ 加热 5 min。将变性后蛋白于 5%~10% SDS-PAGE 胶上进行电泳，5% 脱脂奶粉封闭，分别用兔抗 TRPV1 (1:1000)、CGRP (1:1000)、SP (1:500) 一抗抗体 4℃ 摇床孵育过夜，加入稀释好的 HRP-羊抗兔 IgG (1:5000) 室温孵育 2 h，加入 ECL 显色剂后进行拍照，使用 Image J 图像软件进行灰度分析，β-actin 作为内参。检测 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 的表达变化。

3. 统计学分析

实验数据采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示，

使用 GraphPad Prism 8.0 软件分析实验结果, 多组间比较采用单因素或双因素方差分析, 单因素方差分析后组间采用 Dunnett's 多重比较检验; 双因素方差分析后组间采用 Tukey's 多重比较检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同时间点各组大鼠患侧 MWT 比较

造模前各组大鼠患侧 MWT 差异无统计学意义。术后 24 h, 模型组大鼠患侧 MWT 显著低于同期假手术组 ($P < 0.01$), 上述结果与既往文献中的结果报道一致, 提示 CCD 大鼠模型成功建立^[12,18,19]。电针治疗后第 1、3、5、7 天, 电针组大鼠患侧 MWT 显著高于同期模型组 ($P < 0.01$, 见图 1)。

2. 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP 阳性细胞数比较

与假手术组对比, 模型组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP 阳性细胞数表达升高 ($P < 0.01$), TRPV1 和 CGRP 阳性细胞共表达数升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 电针组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP 阳性细胞数表达减少 ($P < 0.01$), TRPV1 和 CGRP 阳性细胞共表达数减少 ($P < 0.05$, 见图 2)。

3. 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、SP 阳性细胞数比较

与假手术组相比, 模型组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、SP 阳性细胞数表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 且 TRPV1 和 SP 阳性细胞共表达数升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 电针组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、SP 阳性细胞数表达降低 ($P < 0.01$), TRPV1 和 SP 阳性细胞共表达数降低 ($P < 0.05$, 见图 3)。

4. 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 阳性细胞直径比较

为了观察电针是否会对细胞直径产生影响, 本研究分析了大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 阳性细胞直径 (见图 4), 可见 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 阳性细胞主要表达于中小直径细胞, 且各组患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 阳性细胞直径分布差异无统计学意义。

5. 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 蛋白表达情况

采用免疫印迹方法 (见图 5), 与假手术组相比, 模型组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 蛋白表达升高 ($P < 0.01$), 与模型组相比, 经电针干预后, 电针组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 蛋白

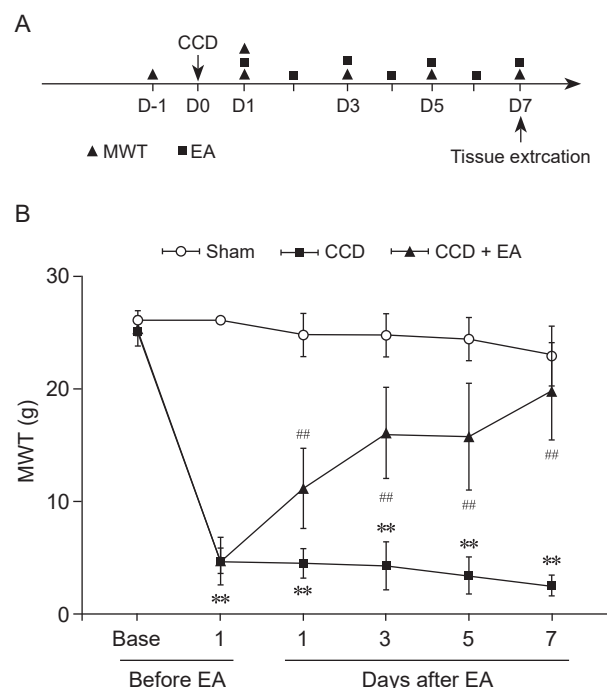


图 1 各组大鼠患侧 MWT 变化 ($n = 11$, $\bar{x} \pm SD$) (A) 时间流程图; (B) 各组大鼠不同时间点患侧 MWT 比较

** $P < 0.01$, 与假手术组相比; ## $P < 0.01$, 与模型组相比

Fig. 1 MWT on the affected side of rats in each group ($n = 11$, $\bar{x} \pm SD$)

(A) Time flow diagram; (B) Comparison of MWT on the affected side in rats from different groups at various time points

** $P < 0.01$, compared with sham group; ## $P < 0.01$, compared with CCD group.

表达明显降低 ($P < 0.01$)。结果表明, 电针可抑制 CCD 大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 蛋白表达。

讨 论

随着现代生活方式改变, 腰椎间盘突出等引起的腰痛、坐骨神经痛在临床上的发病率越来越高, 且发病趋于低龄化, 因其病程长, 病情常反复, 给病人生活质量和身心健康带来了影响, 因此对其的防治是目前的热点。脊神经根受到伤害性刺激和炎症损伤, 是引起腰椎间盘突出合并坐骨神经痛的主要诱因。CCD 模型是一种能够较好地模拟腰椎间盘突出症引起的腰痛和坐骨神经痛的模型。目前临床中治疗腰椎间盘突出症的方法多为手术治疗, 但因其治疗成本高且手术风险较大, 并发症多, 因此进一步推动针灸等保守治疗方法在腰椎间盘突出症临床

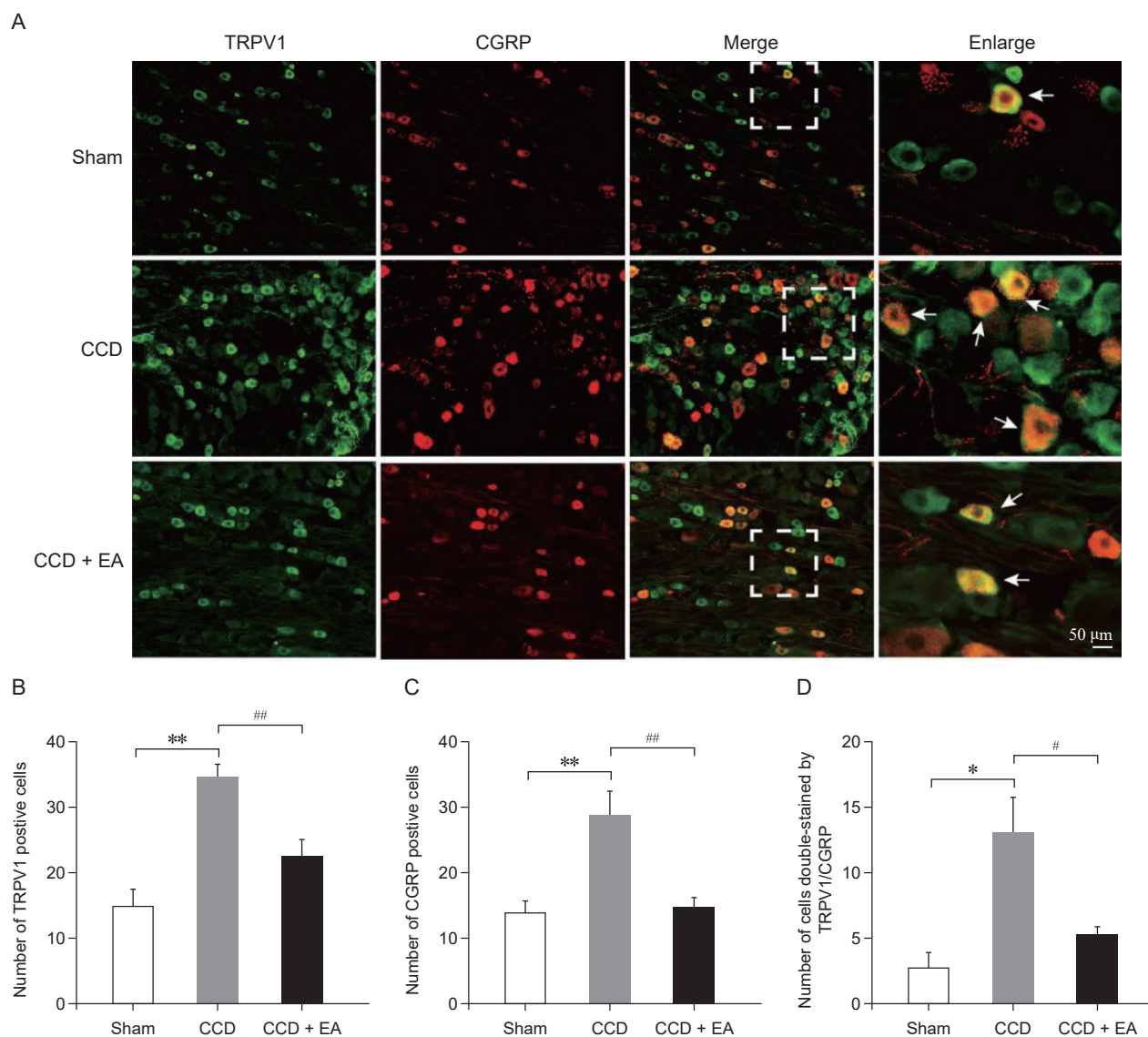


图 2 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP 阳性细胞计数情况 ($n = 5$, $\bar{x} \pm SD$)

(A) 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP 免疫荧光图 (比例尺为 $50 \mu\text{m}$)，绿色荧光是 TRPV1 阳性反应物，红色荧光是 CGRP 阳性反应物，白色箭头所指 TRPV1/CGRP 阳性共表达；(B-D) 电针干预后，通过免疫荧光分别分析三组大鼠患侧 DRG 中的 TRPV1、CGRP 阳性细胞数以及 TRPV1/CGRP 阳性细胞共标数。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与假手术组相比；# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与模型组相比

Fig. 2 The counts of TRPV1-positive and CGRP-positive cells in the DRG ($n = 5$, $\bar{x} \pm SD$)

(A) Immunofluorescence images of TRPV1 and CGRP in the DRG of rats in each group (Scale bar = $50 \mu\text{m}$); Green fluorescence indicates TRPV1-positive reactants, and red fluorescence indicates CGRP-positive reactants, white arrows indicate co-expression of TRPV1/CGRP; (B-D) Following electroacupuncture intervention, the number of TRPV1-positive and CGRP-positive cells, as well as the number of TRPV1/CGRP co-labeled cells, were analyzed in the ipsilateral DRG of the three groups of rats using immunofluorescence.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with CCD group.

上的应用具有重要的临床价值和社会意义。因此，在本研究中首先建立 CCD 模型，探究电针治疗 CCD 的部分机制。研究结果显示，与假手术组相比，模型组大鼠患侧 MWT 降低，提示 CCD 模型制备成功。

既往研究表明 DRG 位于脊髓背角和脊神经之

间的初级神经元，可将外周感觉传入中枢。DRG 上表达 TRPV1 等多种通道或受体，可被内外源物理因子及机械刺激激活^[20]，从而放大疼痛反应，参与神经病理性疼痛发生与维持^[21,22]。TRPV1 受体参与不同类型的慢性疼痛^[23]。有研究表明，外周皮下或脊髓鞘内给予 TRPV1 特异性拮抗剂，不仅可以阻

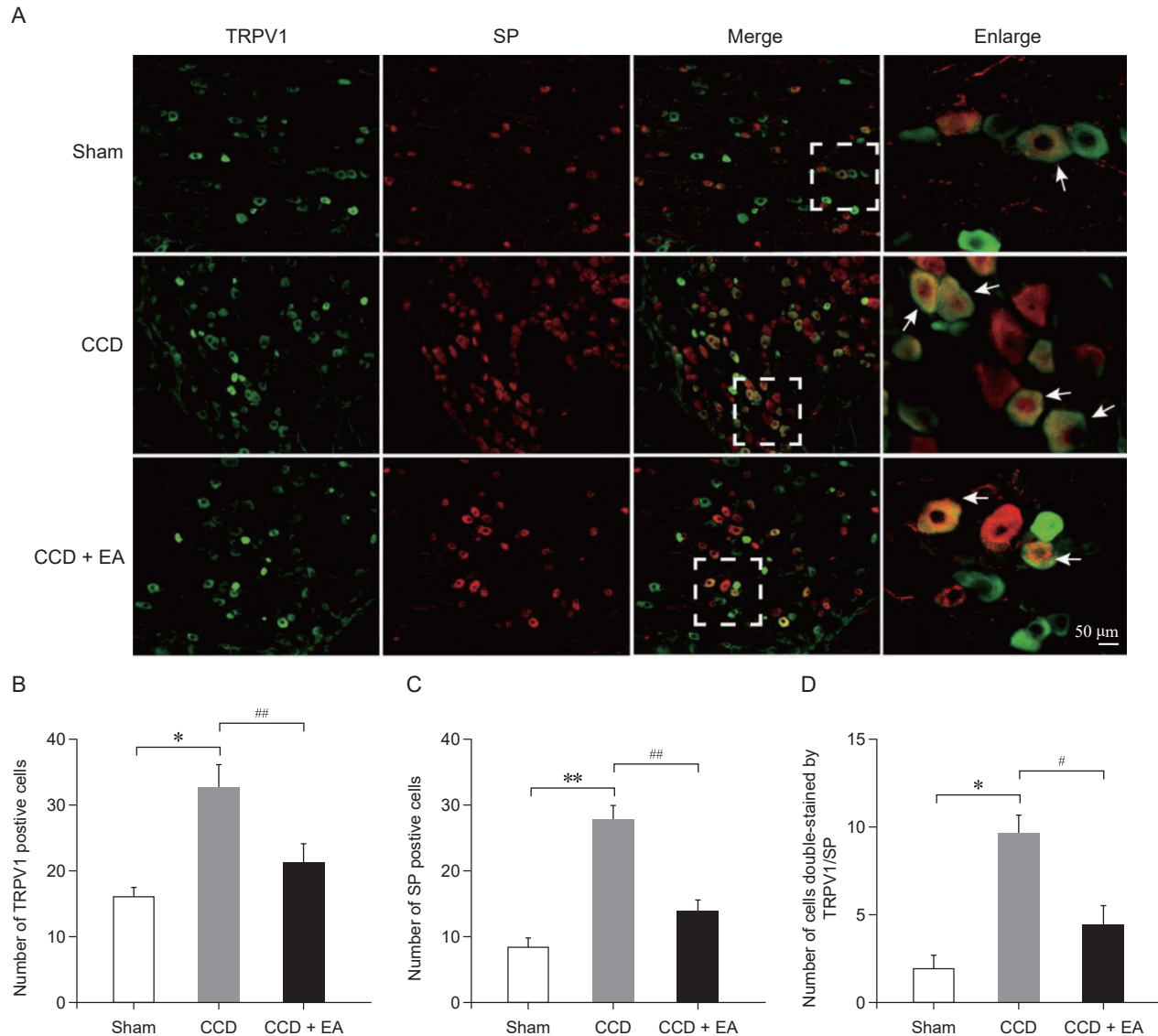


图 3 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、SP 阳性细胞计数情况 ($n = 5$, $\bar{x} \pm SD$)

(A) 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、SP 免疫荧光图 (比例尺为 $50 \mu\text{m}$)；绿色荧光是 TRPV1 阳性反应物，红色荧光是 SP 阳性反应物，白色箭头所指 TRPV1/SP 阳性共表达；(B-D) 电针干预后，通过免疫荧光分别分析三组大鼠患侧 DRG 中的 TRPV1、SP 阳性细胞数以及 TRPV1/SP 阳性细胞共标数。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与假手术组相比；# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与模型组相比

Fig. 3 The counts of TRPV1-positive and SP-positive cells in the DRG ($n = 5$, $\bar{x} \pm SD$)

(A) Immunofluorescence images of TRPV1 and SP in the DRG of rats in each group (Scale bar = $50 \mu\text{m}$); Green fluorescence indicates TRPV1-positive reactants, and red fluorescence indicates SP-positive, white arrows indicate co-expression of TRPV1/SP; (B-D) Following electroacupuncture intervention, the number of TRPV1-positive and SP-positive cells, as well as the number of TRPV1/SP co-labeled cells, were analyzed in the ipsilateral DRG of the three groups of rats using immunofluorescence.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with CCD group.

断 CFA 模型的热痛敏，而且也阻断了机械痛敏，说明 TRPV1 不仅介导热痛敏，也介导了机械痛敏^[24]。DRG 神经元包括有髓轴突的大神经元群和可进一步细分为神经肽能和非肽能的中小神经元，CGRP 是神经肽能神经元亚群的最佳标志物，主要支配伤害性感受器^[25]，SP 也是一种神经肽，其信号传导促

进各种炎症和慢性疼痛模型中痛觉敏化^[26]。TRPV1 可促进 CGRP、SP 的合成和释放^[27-29]，TRPV1 通道激活可促进 CGRP 和 SP 的释放增加^[30]，使用 TRPV1 拮抗剂可抑制 TRPV1 表达和 SP 释放^[31]。本研究结果显示，CCD 大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、SP、CGRP 阳性细胞数和蛋白表达均升高，表明

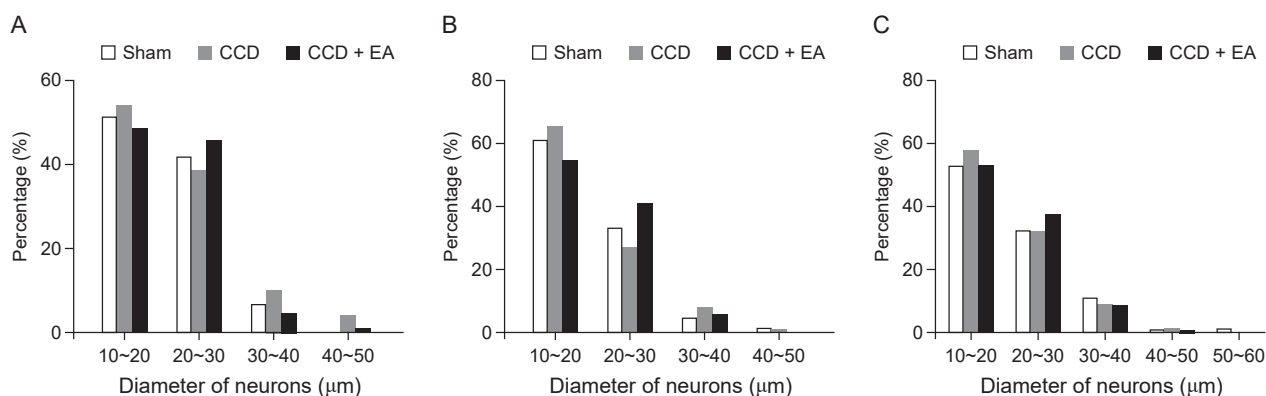


图4 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 阳性细胞直径比较 ($n = 3$)

电针干预后, 通过免疫荧光分析三组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1 (A)、CGRP (B)、SP (C) 阳性细胞直径, 各组间差异无统计学意义。

Fig. 4 Comparison of the diameters of TRPV1, CGRP, and SP-positive cells in the dorsal root ganglia of rats in different groups ($n = 3$)

Following electroacupuncture intervention, the diameters of TRPV1 (A), CGRP (B), and SP (C) positive cells in the DRG of rats in the three groups were analyzed using immunofluorescence. No statistically significant differences were observed among the groups.

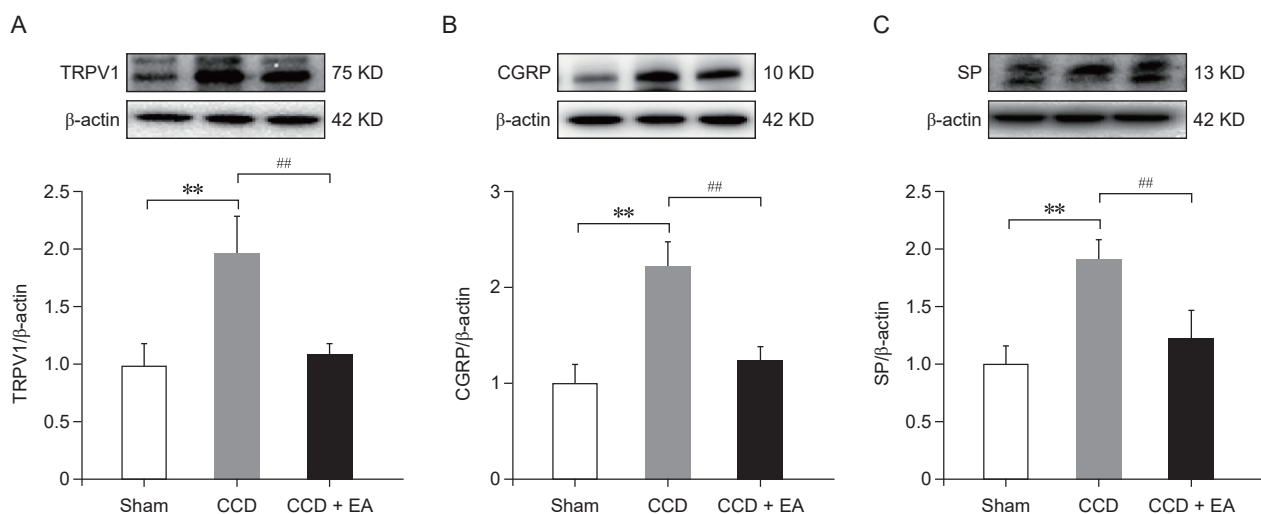


图5 各组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 蛋白表达情况 ($n = 6, \bar{x} \pm SD$)

通过免疫印迹法检测假手术组、模型组、电针组大鼠患侧 DRG 中 TRPV1 (A)、CGRP (B)、SP (C) 蛋白表达的代表图及统计图。

** $P < 0.01$, 与假手术组相比; $^{##}P < 0.01$, 与模型组相比

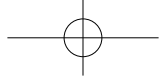
Fig. 5 Changes in protein expression of TRPV1, CGRP, and SP in the rat's affected DRG in different groups ($n = 6, \bar{x} \pm SD$)

The protein expression of TRPV1 (A), CGRP (B), and SP (C) in the affected sides of rats in the sham group, CCD group, and CCD + EA group was detected using Western Blot.

** $P < 0.01$, compared with sham group; $^{##}P < 0.01$, compared with CCD group.

TRPV1、SP、CGRP 参与 CCD 的疼痛形成过程, 与上述报道相一致; 此外免疫荧光双标结果显示, CCD 模型大鼠患侧 DRG 中 TRPV1/SP、TRPV1/CGRP 阳性细胞共表达数升高, 免疫荧光双标结果给 TRPV1 与神经肽的神经元共定位变化的分析提供了形态学基础, 提示 TRPV1 可能促进 CGRP、SP 的释放, 进而参与 CCD 的疼痛形成过程。

本研究观察到电针刺激可使 CCD 模型大鼠 MWT 升高, 提示电针可以缓解 CCD 诱发的神经病理性疼痛, 改善 CCD 术后的感觉功能障碍, 表明电针具有很好的镇痛作用, 与既往研究一致^[32]。针灸可以通过多种方式刺激穴位, 产生不同的治疗效果。从治疗点(刺激点)的选择、针刺刺激的强度等多个方面表明电针具有多条传入通路的反馈调节



功能^[33]。在本研究中,选择了“足三里”和“昆仑穴”作为治疗穴位,这两个穴位已被证明是治疗下肢疼痛的常用穴位^[34]。研究表明电针“足三里”和“昆仑穴”可逆转 TRPV1 的激活从而减少 DRG 神经元中的 Nav 电流减轻疼痛^[35],电针刺激穴位点可使神经纤维中 TRPV1 的表达显著减少,但对非穴位经络和非经络刺激无明显变化^[36],电针可通过减少 CGRP 的释放抑制 TRPV1 通路的激活产生镇痛作用^[37,38]。本研究结果显示,电针干预后可显著下调 CCD 大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、SP、CGRP 的阳性细胞数表达和蛋白表达,提示电针“足三里”和“昆仑穴”能减弱 CCD 大鼠痛觉敏化状态,其机制可能与降低 TRPV1、SP、CGRP 表达水平有关。此外,电针干预对 CCD 大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP、SP 的阳性细胞形态分布未见明显变化,提示电针对细胞的形态无影响。

在本研究中,虽然观察到电针可有效下调 CCD 大鼠患侧 DRG 中 TRPV1、CGRP 和 SP 的表达,但也存在以下不足:电针对 CCD 模型大鼠热痛阈的干预有待研究,电针是否通过下调 TRPV1 的表达进而下调 CGRP 和 SP 的表达有待进一步验证。临床上腰椎间盘突出症病人的疼痛可能还与 DRG 受压引起的炎症发生有关,电针对 CCD 大鼠患侧 DRG 炎症因子表达的影响值得进一步探究。

综上所述,电针可缓解 CCD 模型大鼠疼痛,其机制可能与其下调 DRG 中 TRPV1、SP、CGRP 的表达有关。本研究为电针缓解 CCD 模型疼痛提供了实验依据,有助于进一步推动电针用于腰椎间盘突出症等神经病理性疼痛的临床治疗。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] 罗茂权,杨丽梅,宋星慧. 针灸治疗坐骨神经痛的作用机制的研究进展 [J]. 广西医学, 2023, 45(12):1483-1488, 1503.
- [2] 侯吴琼,宗瑛,周方婷,等. 恒古骨伤愈合剂对背根节压迫模型大鼠的镇痛作用及机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(24):30-41.
- [3] Ge CY, Hao DJ, Yan L, *et al.* Intradural lumbar disc herniation: a case report and literature review[J]. Clin Interv Aging, 2019, 14:2295-2299.
- [4] Huang R, Meng Z, Cao Y, *et al.* Nonsurgical medical treatment in the management of pain due to lumbar disc prolapse: a network meta-analysis[J]. Semin Arthritis Rheu, 2019, 49(2):303-313.
- [5] Kurt E, Noordhof RK, van Dongen R, *et al.* Spinal cord stimulation in failed back surgery syndrome: an integrative review of quantitative and qualitative studies[J]. Neuromodulation, 2022, 25(5):657-670.
- [6] Kim YI, Na HS, Kim SH, *et al.* Cell type-specific changes of the membrane properties of peripherally-axotomized dorsal root ganglion neurons in a rat model of neuropathic pain[J]. Neuroscience, 1998, 86(1):301-309.
- [7] 宋学军. 疼痛信号外周神经转导的分子生物学机制 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2016, 22(1):2-7.
- [8] 陶金,王涛,朱杰,等. 小鼠背根神经节慢性压迫引起的痛敏化机制 [J]. 解剖学报, 2019, 50(2):152-157.
- [9] Marek-Jozefowicz L, Nedoszytko B, Grochowska M, *et al.* Molecular mechanisms of neurogenic inflammation of the skin[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(5):5001.
- [10] 谢雨辰,赵翊,许辉,等. 电针环跳穴、阳陵泉穴联合针刺治疗腰椎间盘突出症坐骨神经痛病人的效果分析 [J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2023, 7(4): 88-91.
- [11] 周方婷,宗瑛,侯吴琼,等. 白脉软膏调控神经活动配体-受体及 HIF-1 信号通路改善背根神经节慢性压迫大鼠慢性疼痛的作用及机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(23):6457-6474.
- [12] Xia T, Cui Y, Shi H, *et al.* The effect of NR2B subunit palmitoylation at the spinal level after chronic dorsal root ganglia compression in rats[J]. Anesth Analg, 2014, 119(5):1208-1214.
- [13] Liu Q, Xiong CK, Liu BY, *et al.* Improved Suspension Fixation Using Rat Jacket in Rat Acupuncture Experiments [M]. 1940-087X, 2023.
- [14] 实验动物常用穴位名称与定位第 2 部分:大鼠 [J]. 针刺研究, 2021, 46(4):351-352.
- [15] Han JS. Acupuncture: neuropeptide release produced by electrical stimulation of different frequencies[J]. Trends Neurosci, 2003, 26(1):17-22.
- [16] Yu X, Zhang F, Chen B. Effect of transcutaneous electrical acupuncture point stimulation at different frequencies in a rat model of neuropathic pain[J]. Acupunct Med, 2017, 35(2):142-147.
- [17] Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations[J]. Annu Rev Pharmacol, 1980, 20:441-462.
- [18] Song XJ, Hu SJ, Greenquist KW, *et al.* Mechanical and thermal hyperalgesia and ectopic neuronal discharge after chronic compression of dorsal root ganglia[J]. J Neurophysiol, 1999, 82(6):3347-3358.
- [19] Lin XY, Yang J, Li HM, *et al.* Dorsal root ganglion compression as an animal model of sciatica and low back pain[J]. Neurosci Bull, 2012, 28(5):618-630.
- [20] 刘莉莉. 鼻内针刺治疗变应性鼻炎临床疗效及基于“TRPV1/SP”炎性机制研究 [D]. 北京:北京中医药大学, 2019.
- [21] Fang X, Shi XH, Huang LB, *et al.* Upregulation of P2X3 receptors in dorsal root ganglion of TRPV1 knock-

- out female mice[J]. *Sheng Li Xue Bao*, 2014, 66(4): 431-437.
- [22] Cheng RD, Tu WZ, Wang WS, *et al*. Effect of electroacupuncture on the pathomorphology of the sciatic nerve and the sensitization of P2X₃ receptors in the dorsal root ganglion in rats with chronic constrictive injury[J]. *Chin J Integr Med*, 2013, 19(5):374-379.
- [23] 刘风雨, 万有. 诺贝尔生理学或医学奖的明星分子 TRPV1 受体参与慢性疼痛 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2021, 27(10):733-736.
- [24] Yu L, Yang F, Luo H, *et al*. The role of TRPV1 in different subtypes of dorsal root ganglion neurons in rat chronic inflammatory nociception induced by complete Freund's adjuvant[J]. *Mol pain*, 2008, 4:61.
- [25] Priestley JV, Michael GJ, Averil L S, *et al*. Regulation of nociceptive neurons by nerve growth factor and glial cell line derived neurotrophic factor[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2002, 80(5):495-505.
- [26] Sahbaie P, Shi X, Guo TZ, *et al*. Role of substance P signaling in enhanced nociceptive sensitization and local cytokine production after incision[J]. *Pain*, 2009, 145(3):341-349.
- [27] Lázár BA, Jancsó G, Oszlács O, *et al*. The insulin receptor is colocalized with the TRPV1 nociceptive ion channel and neuropeptides in pancreatic spinal and vagal primary sensory neurons[J]. *Pancreas*, 2018, 47(1):110-115.
- [28] Wang J, Zhou F, Zhang S, *et al*. Participation of transient receptor potential vanilloid 1 in the analgesic effect of duloxetine for paclitaxel induced peripheral neuropathic pain[J]. *Neurosci Lett*, 2022, 773: 136512.
- [29] Puttfarcken PS, Han P, Joshi SK, *et al*. A-995662[(R)-8-(4-methyl-5-(4-(trifluoromethyl)phenyl)oxazol-2-ylamino)-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-2-ol], a novel, selective TRPV1 receptor antagonist, reduces spinal release of glutamate and CGRP in a rat knee joint pain model[J]. *Pain*, 2010, 150(2):319-326.
- [30] Wedel S, Mathoor P, Rauh O, *et al*. SAFit2 reduces neuroinflammation and ameliorates nerve injury-induced neuropathic pain[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1):254.
- [31] Lian Z, Qi H, Liu X, *et al*. Ambient ozone, and urban PM(2.5) co-exposure, aggravate allergic asthma via transient receptor potential vanilloid 1-mediated neurogenic inflammation[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 243:114000.
- [32] Wu Q, Zheng Y, Yu J, *et al*. Electroacupuncture alleviates neuropathic pain caused by SNL by promoting M2 microglia polarization through PD-L1[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 123:110764.
- [33] Chen Y, Li D, Li N, *et al*. Role of nerve signal transduction and neuroimmune crosstalk in mediating the analgesic effects of acupuncture for neuropathic pain[J]. *Front Neurol*, 2023, 14:1093849.
- [34] Wu Q, Chen J, Yue J, *et al*. Electroacupuncture improves neuronal plasticity through the A2AR/cAMP/PKA signaling pathway in SNL rats[J]. *Neurochem Int*, 2021, 145:104983.
- [35] Lu KW, Hsu CK, Hsieh CL, *et al*. Probing the effects and mechanisms of electroacupuncture at ipsilateral or contralateral ST36-ST37 acupoints on CFA-induced Inflammatory Pain[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:22123.
- [36] Abraham TS, Chen ML, Ma SX. TRPV1 expression in acupuncture points: response to electroacupuncture stimulation[J]. *J Chem Neuroanat*, 2011, 41(3):129-136.
- [37] Manni L, Florenzano F, Aloe L. Electroacupuncture counteracts the development of thermal hyperalgesia and the alteration of nerve growth factor and sensory neuromodulators induced by streptozotocin in adult rats[J]. *Diabetologia*, 2011, 54(7):1900-1908.
- [38] 徐晨曦, 胡瑞斌, 高昕妍, 等. 电针对多囊卵巢综合征小鼠机械痛阈及 TRPV1 和 CGRP 表达的影响 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2023, 29(1):12-19.

《中国疼痛医学杂志》编辑部

地址: 北京市海淀区学院路 38 号, 北京大学医学部

联系电话: 010-82801712; 010-82801705

电子邮箱: pain1712@126.com

杂志官网: <http://casp.ijournals.cn> 在线投稿

微信公众平台号: 中国疼痛医学杂志 (cjpm1712)

