

本文引用:郑吉云,邵先舫,张峻峰,潘晓彦,李 岗,夏新华,闫 蕾.治伤巴布剂影响辣椒素受体表达的机制探讨[J]. 湖南中医药大学学报, 2022,42(10): 1650-1655.

治伤巴布剂影响辣椒素受体表达的机制探讨

郑吉云¹,邵先舫²,张峻峰¹,潘晓彦²,李 岗^{2*},夏新华^{1*},闫 蕾³

(1.湖南中医药大学,湖南 长沙 410208;2.湖南中医药大学附属常德医院,湖南 常德 415000;

3.成都中医药大学,四川 成都 610000)

[摘要] **目的** 探讨治伤巴布剂影响辣椒素受体(vanilloid receptor 1, VR1)表达的机制。**方法** SD 大鼠随机分成 4 组,分别为:正常组、模型组、治伤巴布剂组、云南白药膏组,每组 9 只,每组分 3 个亚组。正常组大鼠足底贴敷空白膏剂;其余 3 组大鼠采用经典福尔马林溶液进行造模,造模成功后用所需膏剂对应外敷于各组大鼠足底。各组大鼠的 3 个亚组分别给予足底连续贴敷相应膏药 1、3、7 d。在 3 个时间点取 L3~L6 节段背根神经节(dorsal root ganglia, DRG),运用 RT-PCR、Western blot 检测各组大鼠在 3 个时间点 DRG 中 VR1 的表达水平,运用免疫组化法检测各组大鼠在 3 个时间点足底肌肉中神经生长因子(nerve growth factor, NGF)以及 DRG 中 p-p38MAPK 蛋白的表达水平。**结果** 与模型组相比,治伤巴布剂组和云南白药膏组中不同时间点 VR1 的 mRNA 和蛋白水平均下降($P<0.05$),足底肌肉中 NGF 水平和 DRG 中 p-p38MAPK 蛋白水平均下降($P<0.05$);与云南白药膏组比较,治伤巴布剂组不同时间点 VR1 的 mRNA 和蛋白水平均下降($P<0.05$),足底肌肉中 NGF 水平和 DRG 中 p-p38MAPK 蛋白水平均下降($P<0.05$)。**结论** 治伤巴布剂通过 NGF/p38MAPK/VR1 信号通路产生镇痛作用,并且镇痛效果优于云南白药膏。

[关键词] 治伤巴布剂;p38MAPK;福尔马林炎性疼痛;辣椒素受体;背根神经节;大鼠

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.10.010

Mechanism of Zhishang Cataplast on the expression of vanilloid receptor 1

ZHENG Jiyun¹, SHAO Xianfang², ZHANG Junfeng¹, PAN Xiaoyan², LI Gang^{2*}, XIA Xinhua^{1*}, YAN Lei³

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The Affiliated Changde Hospital of

Hunan University of Chinese Medicine, Changde, Hunan 415000, China; 3. Chengdu University of Chinese

Medicine, Chengdu, Sichuan 610000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the mechanism of Zhishang Cataplast on the expression of vanilloid receptor 1 (VR1). **Methods** SD rats were randomly divided into 4 groups: normal group, model group, Zhishang Cataplast group, Yunnan Baiyao Plaster group, with 9 rats for each, which were further divided into 3 subgroups. Blank plasters were applied to the soles of normal group rats; for the remaining 3 groups of rats, classic formalin solution was used to build molds and the required plasters were then applied to the soles. Three subgroups of rats in each group were given continuous plasters for 1 d, 3 d, and 7 d. The dorsal root ganglia (DRG) of L3~L6 segment were taken at three time points; the expression levels of VR1 in the DRG of each group of rats at three time points were detected by RT-PCR and Western blot; and we detected the expression levels of nerve growth factor (NGF) and p-p38MAPK protein in the plantar muscle of each group of rats at three time points by immunohistochemistry. **Results** Compared with model group, there was significant decrease in mRNA and protein levels of VR1 in different time points on average ($P<0.05$),

[收稿日期] 2022-07-10

[基金项目] 湖南省中医药管理局重点项目(201738)。

[第一作者] 郑吉云,男,硕士研究生,研究方向:中医骨伤学。

[通信作者] *李 岗,男,博士,硕士研究生导师,E-mail:956379862@qq.com;夏新华,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:xiaxinhua001@163.com。

and also in the NGF levels in plantar muscles and p-p38MAPK protein levels in DRG ($P<0.05$) in Zhishang Cataplastm group and Yunnan Baiyao Plaster group. Compared with Yunnan Baiyao Plaster group, there was significant decrease in the mRNA and protein levels of VR1 at different time points ($P<0.05$), and in the NGF levels in plantar muscles and p-p38MAPK protein levels in DRG ($P<0.05$) for Zhishang Cataplastm group. **Conclusion** Zhishang Cataplastm may produce analgesic effects through NGF/p38MAPK/VR1 signaling pathway, and the analgesic effect is better than that of Yunnan Baiyao Plaster.

[**Keywords**] Zhishang Cataplastm; p38MAPK; inflammatory pain of formalin; vanilloid receptor 1; dorsal root ganglia; rats

由常德市第一中医医院名老中医祖传秘方——“治伤散”改良而来的治伤巴布剂,由血壳、虎杖、见风消组成,具有行血散瘀、行气通经、活络止痛的功用,主要用于腰肌劳损、急慢性软组织损伤、关节扭伤、关节炎等疾病导致的疼痛。

辣椒素受体(vanilloid receptor 1, VR1)是属于非选择性阳离子通道家族的门控性阳离子通道,打开后可以让阳离子快速从胞外进入胞内,引起一系列效应^[1-3],其中包括炎性疼痛的生理和病理变化。现有研究^[4-10]发现炎性介质对其影响的机制有以下几个方面:(1)通过花生四烯酸代谢物等通道激动剂来激活 VR1;(2) 增加在感觉神经细胞膜上的 VR1;(3)使 VR1 磷酸化。HELLIWELL 等^[11]研究表明,在炎性疼痛过程中 VR1 的介导发挥着重要的作用,VR1 广泛存在于大鼠背根神经节(dorsal root ganglia, DRG)中;CATERINA 等^[12]培育出对炎性疼痛反应降低的 VR1 基因敲除小鼠,但对伤害性刺激有正常反应。因此,在一些具有伤害性的刺激中,尤其是在伤害性热刺激所致的痛敏中的传递中,VR1 起到关键的作用,甚至痛觉的产生必需依赖 VR1^[13]。

p38MAPK 信号转导通路,是产生和保持疼痛的通路,其与疼痛敏感化密切相关^[14]。进一步探究 p38MAPK 在疼痛敏感化机制中的作用,为疼痛敏感化疾病提供新的治疗靶点,是本次实验研究的目标之一。现有研究表明^[15],NGF、MAPK 信号通路、VR1 三者与炎性疼痛形成密切相关,MAPK 信号通路参与了 VR1 的表达,其作用机制与干预 VR1 基因的转录与翻译、蛋白的合成有关。

为了探究其镇痛作用和镇痛机制,本实验利用福尔马林足底炎性疼痛大鼠模型,进行治伤巴布剂与云南白药膏的对比实验研究,并论述其镇痛作用和镇痛机制,探究治伤巴布剂是否通过调控 NGF/p38MAPK/VR1 信号通路影响 VR1 的转录和翻译,从而影响疼痛的表达。

1 材料

1.1 实验动物

健康雄性 SD 大鼠共 36 只,体质量 250~280 g,由湖南斯莱克景达动物实验中心提供(SPF 级),合格证号:SCXK(湘)2019-0004。于长沙维尔生物科技有限公司动物实验中心内饲养。大鼠均采用无菌颗粒饲料饲养,自由饮水,环境温度稳定在 20~25℃,室内通风良好,定时更换垫料。

1.2 药物

治伤巴布剂(湖南中医药大学附属常德医院药剂科,湘药制备号:Z20220594000)药方组成:血壳 60 g、虎杖 15 g、见风消 10 g;云南白药膏(云南白药集团股份有限公司,批号:ZCA2126,国药准字:Z20073015)。

1.3 试剂及仪器

VR1 抗体、 β -actin 抗体(美国 Proteintech 公司,批号:66983-1-Ig、66009-1-Ig);山羊抗鼠 IgG(美国 Proteintech 公司,批号:SA00001-1);还原型 5XSDS 上样缓冲液、15 mol/L Tris·HCl(pH 8.8)、1.0 mol/L Tris·HCl(pH 6.8)、10% APS、10% SDS、TEMED、PBST 缓冲液、30% Acr/Bic、电泳液缓冲液、转膜缓冲液、10x 丽春红染液、脱脂奶粉、RIPA 裂解液、蛋白磷酸酶抑制剂、Super ECL Plus 超敏发光液(中国 Abiowell 公司,货号:AWB0055、AWB0073、AWB0074、AWB0093、AWT0047、AWB0068、AWI0130、AWB0020、AWB0083、AWC0114、AWB0225、AWB0004、AWB0136、AWH0650、AWB0005);蛋白酶抑制剂(北京金泰宏达生物科技有限公司,货号:583794);BSA(盐城赛宝生物科技有限公司,货号:52724);显影液、定影液(上海佳信科技有限公司,货号:BW-61、BW-62);由北京擎科生物科技有限公司合成引物。

H1650R 型台式冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);DYY-6C 型电泳仪、DYCZ-24DN 型电泳槽、DYCZ-40D 型转膜仪(北京六一生物科技

有限公司);JB-13 型磁力搅拌器、PHS-3C 型精密 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司);BioPrep-24 型生物样品均质仪(杭州奥盛仪器有限公司);ChemiScope6100 型化学发光成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 动物造模、分组及给药

36 只雄性 SD 大鼠,随机分为正常组($n=9$)和造模组($n=27$)。抽取 5%福尔马林 0.1 mL 注入造模组大鼠左侧后足底皮下建立大鼠炎性疼痛模型^[16],正常组注射相应体积的生理盐水。将造模成功的大鼠随机分成模型组、治伤巴布剂组及云南白药膏组。治伤巴布剂组以治伤巴布剂(3 cm×3 cm)外敷于大鼠左后足足底;云南白药膏组则予以云南白药膏(3 cm×3 cm)外敷于大鼠左后足,正常组和模型组分别于足底贴敷空白膏剂(3 cm×3 cm)各组大鼠分为 3 个亚组,分别连续贴敷相应膏药 1、3、7 d。

2.2 各组大鼠的痛行为观察及分级评价^[17]

经造模后分别在 1、5、15、30、45、60、90、120 min 时间点观察各组大鼠疼痛反应,按下述标准进行疼痛分级并记录:0 分为注射福尔马林一侧后足与对侧后足均接触底面,行走自如;1 分为两侧后足均接触底面,但注射侧在行走时轻微跛行;2 分为两侧后足均接触底面,行走时中心偏向健侧,出现明显跛行;3 分为注射侧后足轻触底面,不敢负重,行走时抬起;4 分为注射侧后足抬起,悬空状态;5 分为大鼠出现舔、咬、抖动注射侧后足。

2.3 各组大鼠组织标本的取材与处理

造模成功后对各组大鼠分别在 3 个时相点(1、3、7 d)进行标本取材,在各时相点分别取 3 只。用 4%的 PA 固定,取出大鼠左后足底肌肉组织和 L3~L6 节段 DRG;冻存样分两份,L4 用于 Western blot 检测、L5 用于 RT-PCR 检测^[18-19]。

2.4 RT-PCR 检测大鼠 DRG 中 VR1 的 mRNA 表达水平

取 0.02 g 组织裂解,离心取上层液在 260 nm 与 280 nm 处测其吸光度值,并计算其浓度和纯度,并将取得的总 mRNA 为模板,逆转录 cDNA。本实验选用 GAPDH 为内参,数据处理:采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法,计算 mRNA 的相对表达量。各基因引物序列详见表 1。

表 1 各基因引物序列表

名称	正向	反向	长度/bp
GAPDH	ACAGCAACAGGCTGGTGGAC	TTTGAGGGTGCAGCGAACTT	252 bp
VR1	GCCAGAGGATGCTGAGGTTT	GTTCCCTAAGCAGACCACCC	105 bp

2.5 Western blot 检测大鼠 DRG 中 VR1 的蛋白表达水平

取 0.025 g 组织裂解离心后取 200 μ L 蛋白上清,加入 50 μ L 5×loading buffer 混匀,将样品上样电泳后与经一抗(VR1;TRPV1 Monoclonal antibody (1:2000)); β -actin;Beta Actin Monoclonal antibody (1:5000)孵育的 NC 膜放入转膜缓冲液中进行转膜,后将 NC 膜与 1:5000 稀释后的 HRP goat anti-mouse IgG 室温孵育 90 min。显色曝光后用 quantity one 专业灰度分析软件进行分析。

2.6 免疫组化法检测大鼠足底肌肉中 NGF 以及 DRG 中 p-p38MAPK 蛋白的表达水平

包埋处理大鼠肌肉组织及 DRG,将组织切成 4~6 μ m 的薄片,脱蜡、热修复抗原及灭活内源性酶后分别滴加经 1:200 稀释的重组 Anti-NGF、Anti-p-p38MAPK 抗体,4 $^{\circ}$ C 过夜后滴加 50~100 μ L 抗-兔-IgG 抗体-HRP 多聚体,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min。滴加适当显色剂及染色液后树胶封片,于 40×10 倍显微镜下采集图片。采集的图片经 Image J 软件分析后得出平均 IOD,将所得数据录入 SPSS 数据分析软件处理。

2.7 统计学方法

采用统计学软件 SPSS 19.0 进行分析,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,采用方差分析。数据符合正态分布且方差齐者,使用单因素方差分析,两两比较采用 ANOVA 分析;方差不齐则用秩和检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠疼痛行为学表现比较

模型组、治伤巴布剂组和云南白药膏组大鼠出现躁动尖叫并撕咬左后足等典型的双相伤害性行为反应,提示造模成功。疼痛反应呈典型的双相变化,即注射后即刻开始,持续 3~5 min 的急性疼痛时相(第一时相),5~10 min 的静息期,和随后出现的可持续 40~60 min 的继发性疼痛时相(第二时相)。正常组无上述行为,疼痛反应积分为 0。详见图 1。

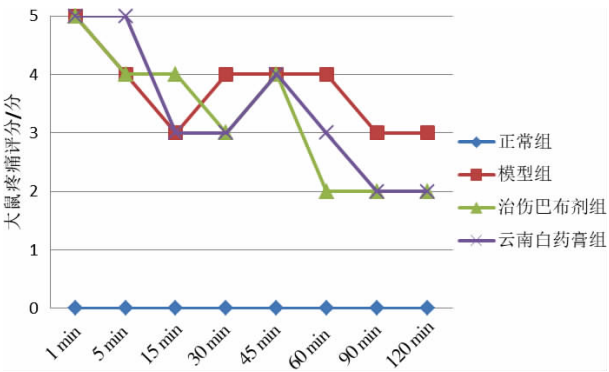


图 1 注射福尔马林后不同时间各组大鼠疼痛评分折线图

3.2 各组大鼠 DRG 中 VR1 mRNA 水平

与正常组比较,模型组大鼠在 3 个时间点 DRG 中 VR1 mRNA 水平增加($P<0.05$);与模型组比较,治伤巴布剂组和云南白药膏组大鼠在 3 个时间点 DRG 中 VR1 mRNA 水平降低($P<0.05$);与云南白药膏组比较,治伤巴布剂组大鼠 DRG 中 VR1 mRNA 水平 1、3、7 d 降低。详见表 2。

表 2 4 组大鼠 DRG 中 VR1 mRNA 相对表达水平的比较($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	1 d	3 d	7 d
正常组	1.19±0.25	0.96±0.15	1.11±0.19
模型组	4.62±0.43**	3.27±0.45**	4.03±0.48**
治伤巴布剂组	3.67±0.55** ^{###△△}	2.50±0.40** ^{###△△}	2.62±0.22** ^{###△△}
云南白药膏组	3.70±0.26** ^{###}	2.94±0.22** ^{###}	3.22±0.30** ^{###}
<i>F</i> 值	124.343	87.085	136.374
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000

注:与正常组相比,** $P<0.05$;与模型组相比,^{###} $P<0.05$;与云南白药膏组相比,^{△△} $P<0.05$ 。

3.3 各组大鼠 DRG 中 VR1 蛋白表达比较

与正常组比较,模型组大鼠在 3 个时间点 DRG 中 VR1 蛋白表达水平增加($P<0.05$);与模型组比较,治伤巴布剂组和云南白药膏组大鼠在 3 个时间点 DRG 中 VR1 蛋白表达水平降低($P<0.05$);与云南白药膏组相比,治伤巴布剂组大鼠 DRG 中 VR1 蛋白表达水平在 1、3、7 d 降低($P<0.05$)。详见表 3、图 2。

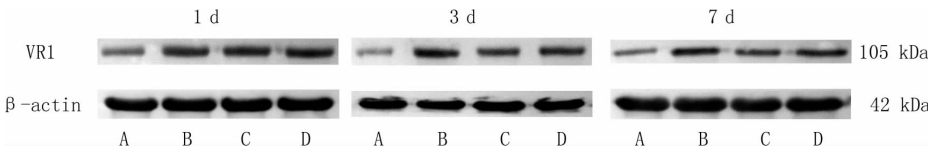


图 2 各组大鼠 DRG 中 VR1 蛋白表达电泳图

注:A.正常组;B.模型组;C.治伤巴布剂组;D.云南白药膏组。

表 3 4 组大鼠 DRG 中 VR1 条带灰度分析结果($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	1 d	3 d	7 d
正常组	0.13±0.20	0.16±0.06	0.13±0.03
模型组	0.59±0.15**	0.55±0.08**	0.57±0.08**
治伤巴布剂组	0.27±0.08** ^{###△△}	0.29±0.09** ^{###△△}	0.24±0.06** ^{###△△}
云南白药膏组	0.28±0.10** ^{###}	0.33±0.10** ^{###}	0.27±0.05** ^{###}
<i>F</i> 值	11.366	11.734	31.353
<i>P</i> 值	0.003	0.003	0.000

注:与正常组相比,** $P<0.05$;与模型组相比,^{###} $P<0.05$;与云南白药膏组相比,^{△△} $P<0.05$ 。

3.4 各组大鼠足底肌肉中 NGF 及 DRG 中 p-p38MAPK 相对表达量比较

与正常组比较,模型组大鼠足底肌肉中 NGF 及 DRG 中 p-p38MAPK 在 3 个时间点相对表达量增加($P<0.05$);与模型组比较,治伤巴布剂组和云南白药膏组中大鼠足底肌肉中 NGF 及 DRG 中 p-p38MAPK 在 3 个时间点相对表达量降低($P<0.05$);与云南白药膏组相比,治伤巴布剂组大鼠足底肌肉中 NGF 相对表达量在 3、7 d 降低,1 d 增加 ($P<0.05$),DRG 中 p-p38MAPK 相对表达量在 3 d 降低,1、7 d 增加($P<0.05$)。详见表 4、表 5 和图 3、图 4。

表 4 4 组大鼠足底肌肉中 NGF 相对表达量比较($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	1 d	3 d	7 d
正常组	1.92±0.81	3.83±0.82	2.46±0.16
模型组	48.4±7.67**	38.82±16.04**	47.50±4.33**
治伤巴布剂组	6.14±1.6** ^{###△△}	7.11±2.12** ^{###△△}	7.37±1.59** ^{###△△}
云南白药膏组	5.18±3.51** ^{###}	12.83±2.14** ^{###}	7.85±2.98** ^{###}
<i>F</i> 值	78.681	11.340	174.149
<i>P</i> 值	0.000	0.003	0.000

注:与正常组相比,** $P<0.05$;与模型组相比,^{###} $P<0.05$;与云南白药膏组相比,^{△△} $P<0.05$ 。

4 讨论

中医学认为疼痛产生的原因分为“不通则痛”。“不通则痛”指当正气虚弱或实邪阻滞,导致人体的气血在经络中运行受阻,此时应行气活血来散淤通经、活络止痛,炎性疼痛则属于“不通则痛”。治伤巴

表 5 4 组大鼠 DRG 中 p-p38MAPK 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	1 d	3 d	7 d
正常组	3.22±0.75	3.73±1.94	2.24±0.74
模型组	5.50±0.61**	6.93±0.93**	5.79±0.75**
治伤巴布剂组	4.62±1.10** ^{###} ^{△△}	4.09±2.75** ^{###} ^{△△}	4.76±2.16** ^{###} ^{△△}
云南白药膏组	4.06±1.51** ^{###}	5.17±2.72** ^{###}	1.58±0.66** ^{###}
F 值	1.896	1.264	7.764
P 值	0.209	0.350	0.009

注:与正常组相比,** $P<0.05$;与模型组相比,^{###} $P<0.05$;与云南白药膏组相比,^{△△} $P<0.05$ 。

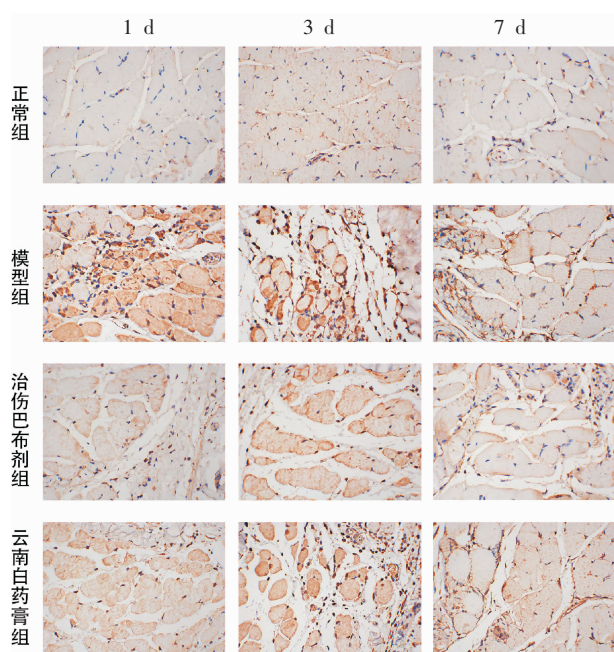


图 3 各组大鼠足底肌肉中 NGF 相对表达病理图片(光镜,×400)

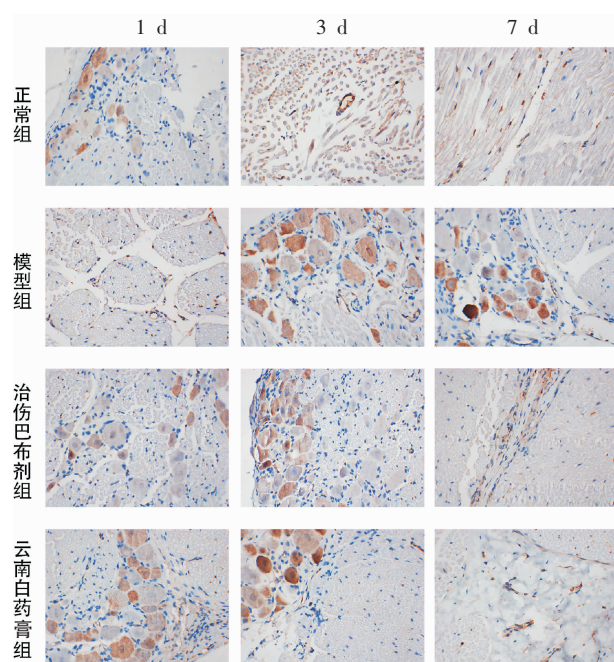


图 4 各组大鼠 DRG 中 p-p38MAPK 的相对表达病理图片(光镜,×400)

布剂属于外敷中药制剂,主要由血壳、虎杖、见风消组成,临床将其用于治疗急慢性腰肌损伤和其他软组织损伤、关节扭伤、关节炎等疾病导致的疼痛,以发挥其通络止痛的治疗作用。

本研究通过治伤巴布剂外敷干预炎性疼痛大鼠模型,在 1、3、7 d 取材,检测大鼠 VR1 蛋白和 mRNA 表达水平以及 NGF 和 p-p38MAPK 蛋白的表达量;以往的研究^[20]表明 p-p38MAPK 蛋白的表达量与 VR1 蛋白表达量呈正相关。本研究表明,与模型组比较,治伤巴布剂组和云南白药膏组大鼠 DRG 中 VR1 的蛋白和 mRNA 表达水平在 1、3、7 d 降低($P<0.05$);与云南白药膏组比较,治伤巴布剂组大鼠 DRG 中 VR1 的蛋白和 mRNA 表达水平在 1、3、7 d 降低($P<0.05$)。免疫组化检测结果显示,与正常组比较,模型组大鼠足底肌肉中 NGF 及 DRG 中 p-p38MAPK 相对表达量在 1、3、7 d 增加($P<0.05$);与模型组比较,治伤巴布剂组和云南白药膏组中大鼠足底肌肉中 NGF 及 DRG 中 p-p38MAPK 相对表达量在 1、3、7 d 降低($P<0.05$),与云南白药组相比,治伤巴布剂组大鼠足底肌肉中 NGF 相对表达量在 3、7 d 降低,1 d 增加($P<0.05$),DRG 中 p-p38MAPK 相对表达量在 3 d 降低,1、7 d 增加($P<0.05$)。

根据以上结果,我们可以得出以下结论:(1)治伤巴布剂镇痛作用是通过 NGF/p38MAPK/VR1 信号通路调控 VR1 蛋白的表达实现的;(2)云南白药膏组的 VR1 的蛋白和 mRNA 表达水平出现不匹配现象,可能存在其他通路影响 VR1 的翻译,但从结果来看,治伤巴布剂对于 VR1 转录与翻译的抑制作用均强于云南白药膏组;(3)治伤巴布剂对于 NGF 的释放具有抑制作用;(4)根据大鼠 DRG 中 p-p38MAPK 相对表达量比较结果,与治伤巴布剂比较,云南白药膏与 p38MAPK 信号转导通路相关性更强。本研究以炎症反应为出发点,揭示了治伤巴布剂对于炎性疼痛镇痛的作用机制可能是通过调控 NGF/p38MAPK/VR1 信号通路影响 VR1 的转录和翻译,为指导临床用药及中医中药的应用提供新思路。

本实验还有许多不足:(1)本研究有待大样本实验验证;(2)炎性疼痛反应还受存在相互联系的 JAK/STAT、mTOR 及多条重要信号通路的调控^[21-22],治伤巴布剂是否通过这些途径发挥了作用,本研究

未能明确,这需要在在今后的研究中继续探索与研究。

参考文献

- [1] CATERINA M J, SCHUMACHER M A, TOMINAGA M, et al. The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway[J]. *Nature*, 1997, 389(6653): 816-824.
- [2] GUDEN D S, TEMIZ-RESITOGLU M, SENOL S P, et al. mTOR inhibition as a possible pharmacological target in the management of systemic inflammatory response and associated neuroinflammation by lipopolysaccharide challenge in rats[J]. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2021, 99(9): 921-934.
- [3] 徐秀琦,李光,张广钦.天然产物中镇痛活性成分对 TRPV1 通道的调控作用[J].*药学研究*,2022,41(4):259-263.
- [4] 黄亚坤. TRPV1 通道在不同浓度福尔马林致痛小鼠行为学中的作用[D].汕头:汕头大学,2020.
- [5] KIM S R, BOK E, CHUNG Y C, et al. Interactions between CB (1) receptors and TRPV1 channels mediated by 12-HPETE are cytotoxic to mesencephalic dopaminergic neurons[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2008, 155(2): 253-264.
- [6] 刘茜,胡四平.趋化因子在炎性疼痛中作用的研究进展[J].*齐齐哈尔医学院学报*,2022,43(2):178-183.
- [7] CHUNG M K, LEE J, DURAES G, et al. Lipopolysaccharide-induced pulpitis up-regulates TRPV1 in trigeminal Ganglia[J]. *Journal of Dental Research*, 2011, 90(9): 1103-1107.
- [8] PREMKUMAR L S, SIKAND P. TRPV1: A target for next generation analgesics [J]. *Current Neuropharmacology*, 2008, 6 (2): 151-163.
- [9] JESKE N A, POR E D, BELUGIN S, et al. A-kinase anchoring protein 150 mediates transient receptor potential family V type 1 sensitivity to phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate [J]. *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2011, 31(23): 8681-8688.
- [10] LIU D L, WANG W T, XING J L, et al. Research progress in transient receptor potential vanilloid 1 of sensory nervous system[J]. *Neuroscience Bulletin*, 2009, 25(4): 221-227.
- [11] HELLIWELL R J A, MCLATCHIE L M, CLARKE M, et al. Capsaicin sensitivity is associated with the expression of the vanilloid (capsaicin) receptor (VR1) mRNA in adult rat sensory Ganglia[J]. *Neuroscience Letters*, 1998, 250(3): p. 177-180.
- [12] CATERINA M J, LEFFLER A, MALMBERG A B, et al. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor[J]. *Science*, 2000, 288(5464): 306-313.
- [13] 吴一筭,童志前,万有.温度感受器 TRPV1 调节疼痛[J].*生物化学与生物物理进展*,2021,48(12):1392-1397.
- [14] 刘祎,景明夷,白艾灵,等.择时针刺对炎性疼痛模型 P2X7-/-小鼠穴区成纤维细胞 p38MAPK 表达的影响[J].*世界科学技术-中医药现代化*,2021,23(4):1293-1298.
- [15] 李琳慧,何阳梅,周志刚,等.基于 NGF/p38 MAPK/TRPV1 信号通路探讨热敏灸治疗膝关节炎的外周敏化效应机制[J].*中华中医药杂志*,2022,37(3):1379-1383.
- [16] ZYGMUNT M, ŚLUSARCZYK M, JANKOWSKA A, et al. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity of purine-2, 6-dione-based TRPA1 antagonists with PDE4/7 inhibitory activity[J]. *Pharmacological Reports*, 2022: 1-16.
- [17] 臧一阳,林彩虹,王源增,等.衰老小鼠的痛觉变化及相关机制的研究[J].*解剖学研究*,2022,44(3):245-252, 257.
- [18] 李丽梅,郑宝森,张志利,等.背根神经节解剖及其参与神经病理性疼痛机制的研究进展[J].*中国疼痛医学杂志*,2022,28(7):531-540.
- [19] KIM W Y, HORBINSKI C, SIGURDSON W, et al. Proteasome inhibitors suppress formation of polyglutamine-induced nuclear inclusions in cultured postmitotic neurons[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2004, 91(5): 1044-1056.
- [20] 董莹,韩金玉,孙珊,等. p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路在炎性痛大鼠吗啡耐受形成中的作用[J].*神经解剖学杂志*,2020, 36(5):536-540.
- [21] NAILWAL N P, DOSHI G M. Role of intracellular signaling pathways and their inhibitors in the treatment of inflammation[J]. *Inflammopharmacology*, 2021, 29(3): 617-640.
- [22] 陈李圳,王晓宇,何伟,等.不同针灸刺激的镇痛作用与神经传入特征[J].*中华中医药杂志*,2022,37(5):2622-2626.

(本文编辑 苏维)