

本文引用: 潘杰灵, 唐丽亚, 张玉乔, 闪逸仙, 李 武, 李江山. 机械敏感性离子通道 Piezo2 在激痛点炎症诱导机械痛觉过敏中的潜在作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(5): 869-876.

## 机械敏感性离子通道 Piezo2 在激痛点炎症诱导机械痛觉过敏中的潜在作用

潘杰灵<sup>1</sup>, 唐丽亚<sup>1</sup>, 张玉乔<sup>1</sup>, 闪逸仙<sup>2</sup>, 李 武<sup>1\*</sup>, 李江山<sup>1\*</sup>

1. 湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南 长沙 410208; 2. 澳门科技大学中医药学院, 澳门 999078

**[摘要]** **目的** 观察机械敏感性离子通道 Piezo2 在激痛点炎症诱导的机械痛觉过敏中的作用。**方法** 将 30 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、弗氏佐剂组、依托考昔组及 Piezo2 抑制剂组(以下简称抑制剂组), 每组 6 只。除空白组外, 其余 4 组大鼠均造模, 造模部位为左侧股内侧肌。造模完成后, 在弗氏佐剂组大鼠激痛点局部注射 150  $\mu\text{L}$  弗氏完全佐剂(CFA)1 次; 依托考昔组大鼠以 5.5 mg/kg 剂量的依托考昔悬浊液灌胃, 每日 2 次, 连续灌胃 2 d; 抑制剂组大鼠予激痛点组织注射 60  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  抑制剂 1 次, 注射量为 120  $\mu\text{L}$ 。干预前后, 检测激痛点局部机械痛阈和软组织张力。干预 2 周后收集激痛点样本, HE 染色观察其显微结构, ELISA 法检测白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )含量, 免疫组织化学法和 Western blot 法检测 Piezo2 的表达。**结果** 与干预前比较, 干预后弗氏佐剂组机械痛阈、 $D_{0.2\text{kg}}$  值均降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 依托考昔组和抑制剂组均升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。干预后, 与空白组比较, 模型组机械痛阈、 $D_{0.2\text{kg}}$  值均降低( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 弗氏佐剂组机械痛阈、 $D_{0.2\text{kg}}$  值均降低( $P<0.01$ ), 依托考昔组和抑制剂组均升高( $P<0.01$ ); 与弗氏佐剂组比较, 依托考昔组和抑制剂组机械痛阈、 $D_{0.2\text{kg}}$  值均升高( $P<0.01$ )。HE 染色显示: 模型组和弗氏佐剂组肌细胞受损, 局部炎性细胞浸润; 依托考昔组和抑制剂组肌细胞受损明显减轻, 局部炎症细胞减少。与空白组比较, 模型组 IL-1 $\beta$  含量升高( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 弗氏佐剂组 IL-1 $\beta$  含量升高( $P<0.01$ ), 依托考昔组和抑制剂组均降低( $P<0.01$ ); 与弗氏佐剂组比较, 依托考昔组和抑制剂组 IL-1 $\beta$  含量均降低( $P<0.01$ )。与空白组比较, 模型组 Piezo2 表达升高( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 依托考昔组和抑制剂组 Piezo2 表达均降低( $P<0.05$ ), 弗氏佐剂组差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 与弗氏佐剂组比较, 依托考昔组和抑制剂组 Piezo2 表达均降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。**结论** (1) 弗氏完全佐剂能增强激痛点局部炎症反应、肌细胞受损, 依托考昔和 Piezo2 抑制剂可抑制其炎症反应; (2) Piezo2 可能在激痛点组织炎症所致机械痛觉过敏中发挥作用。

**[关键词]** 激痛点; Piezo2; 炎症反应; 外周敏化; 机械痛觉过敏; 弗氏完全佐剂; 依托考昔

**[中图分类号]** R259

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.05.012

## The potential role of mechanosensitive Piezo2 ion channels in myofascial trigger point inflammation-induced mechanical hyperalgesia

PAN Jiuling<sup>1</sup>, TANG Liya<sup>1</sup>, ZHANG Yuqiao<sup>1</sup>, SHAN Yixian<sup>2</sup>, LI Wu<sup>1\*</sup>, LI Jiangshan<sup>1\*</sup>

1. School of Acupuncture-moxibustion, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Faculty of Chinese Medicine, Macau University of Science and Technology, Macau 999078, China

**[Abstract]** **Objective** To observe the effects of Piezo2 on mechanical hyperalgesia induced by myofascial trigger point inflammation. **Methods** Thirty SPF-grade male SD rats were randomly divided into blank group, model group, complete Freund's

**[收稿日期]** 2024-12-03

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(82174526, 82274676, 82374613, 82474669); 湖南省科技创新计划资助项目(2022RC1221)。

**[通信作者]** \* 李江山, 男, 教授, 博士研究生导师, E-mail: 001316@hnucm.edu.cn; 李 武, 男, 教授, 硕士研究生导师, E-mail: 003976@hnucm.edu.cn。

adjuvant (CFA) group, etoricoxib group, and Piezo2 inhibitor group (hereinafter referred to as the inhibitor group), with six rats in each group. Except for the blank group, models were established in the other four groups at the modeling site of the left vastus medialis muscle. After modeling, the rats in the CFA group received a single 150  $\mu\text{L}$  CFA injection at the trigger point. The etoricoxib group was administered 5.5 mg/kg etoricoxib suspension via gavage twice daily for two consecutive days. The inhibitor group received a single 120  $\mu\text{L}$  injection of Piezo2 inhibitor (60  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) at the trigger point tissue. Mechanical pain threshold and soft tissue tension were measured before and after intervention. After two weeks of intervention, trigger point samples were collected for microscopic structural observation by HE staining, measurement of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) levels via ELISA, and analysis of Piezo2 expression using both immunohistochemistry and Western blot. **Results** Compared with before intervention, the mechanical pain threshold and  $D_{0.2\text{kg}}$  value in the CFA group decreased after intervention ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), while those in the etoricoxib group and the inhibitor group increased ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). After intervention, compared with the blank group, the model group showed a decrease in mechanical pain threshold and  $D_{0.2\text{kg}}$  value ( $P<0.01$ ); compared with the model group, the mechanical pain threshold and  $D_{0.2\text{kg}}$  value in the CFA group decreased ( $P<0.01$ ), while those in the etoricoxib group and the inhibitor group increased ( $P<0.01$ ); compared with the CFA group, the mechanical pain threshold and  $D_{0.2\text{kg}}$  value increased in both the etoricoxib group and the inhibitor group ( $P<0.01$ ). HE staining showed that muscle cells were damaged in the model group and CFA group, with local inflammatory cell infiltration; muscle cell damage was significantly alleviated and local inflammatory cells decreased in both the etoricoxib group and the inhibitor group. Compared with the blank group, the IL-1 $\beta$  content in the model group increased ( $P<0.01$ ); compared with the model group, the content of IL-1 $\beta$  increased in the CFA group ( $P<0.01$ ), while those in the etoricoxib group and the inhibitor group decreased ( $P<0.01$ ); compared with the CFA group, the levels of IL-1 $\beta$  decreased in both the etoricoxib group and the inhibitor group ( $P<0.01$ ). Compared with the blank group, the model group showed an increase in Piezo2 expression ( $P<0.01$ ); compared with the model group, the expression of Piezo2 decreased in both the etoricoxib group and the inhibitor group ( $P<0.05$ ), and there was no statistically significant difference in the CFA group ( $P>0.05$ ); Compared with the CFA group, the expression of Piezo2 decreased in both the etoricoxib group and the inhibitor group ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). **Conclusion** (1) CFA can enhance local inflammatory reaction and muscle cell damage in MTrPs, while etoricoxib and the Piezo2 inhibitor can inhibit the inflammatory reaction. (2) Piezo2 may play a role in mechanical hyperalgesia resulted from inflammation in MTrP tissue.

[**Keywords**] myofascial trigger point; Piezo2; inflammatory reaction; peripheral sensitization; mechanical hyperalgesia; Freund's complete adjuvant; etoricoxib

激痛点是位于骨骼肌紧绷带内的僵硬和离散结节,其实质是肌小节的异常收缩<sup>[1]</sup>。一般将激痛点导致的系列症状,如触痛、局部肌肉抽搐、运动功能障碍等,称为筋膜疼痛综合征。研究表明,激痛点的活化与局部炎症病理有关,炎症介质刺激并敏化外周感受通路是激痛点疼痛的关键环节<sup>[2-3]</sup>。机械门控离子通道 Piezo2 主要表达在外周初级感觉神经元、肌梭细胞以及特化的触觉感知细胞<sup>[4]</sup>,介导触觉、本体感觉、机械超敏痛(触摸痛)等<sup>[5]</sup>。研究发现,炎症反应在导致跨膜离子通道形成的信号通路中起着重要作用<sup>[6-7]</sup>,通过 Piezo2 介导机体机械痛觉敏化,如上调 Piezo2 的功能等<sup>[8]</sup>。Piezo2 是否在激痛点组织中高表达,抑制其表达是否会影响激痛点组织炎症反应尚未可知。为阐述这个科学问题,本实验通过观察在 Piezo2 抑制剂的影响下各促炎以及抑炎药物组中激痛点组织白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )

和 Piezo2 的表达情况,探索激痛点组织中 Piezo2 对炎症反应的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

研究对象选取 30 只 SPF 级 SD 大鼠,雄性,体质量 250~280 g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物许可证号为 SYXK(湘):2019-0009,动物合格证号为 430727231100020237。所有动物分笼饲养于湖南中医药大学实验动物中心,每笼 3 只。饲养条件:温度 24~26  $^{\circ}\text{C}$ ,湿度 50%~70%,笼内提供充足的食物和水,12 h 光照交替明暗循环,饲养场所定期消毒。本实验经湖南中医药大学实验动物伦理委员会审批,批准号:LL2021102004。运用随机数字表法将大鼠分为空白组、模型组、弗氏佐剂组、依托考昔组和 Piezo2 抑制剂组(以下简称抑制剂

组),每组6只。除空白组外,其余组别大鼠均造模处理。

## 1.2 主要仪器

呼吸麻醉机(型号:R500,深圳市瑞沃德生命科技有限公司);小动物跑步机(型号:ZS-PT-IV,北京众实迪创科技发展有限公司);钝性击打器(自制);电子测痛仪、软组织张力测定仪(型号:YT-10C、JZL III,天津明通世纪科技有限责任公司);石蜡包埋机(型号:KD-BM II,浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);病理切片机(型号:RM2016,上海徠卡仪器有限公司);组织摊片机(型号:YD-A,金华市益迪医疗设备有限公司);酶标仪[型号:Infinitel F50,帝肯(上海)实验器材有限公司];凝胶成像系统(型号:GelDoc-It310,美国 UVP 公司)。

## 1.3 主要试剂

异氟烷(批号:R510-22,深圳市瑞沃德生命科技有限公司);弗氏完全佐剂[批号:F5881,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司];依托考昔片(批号:200318,规格:60 mg/片,成都苑东生物制药股份有限公司);Piezo2 抑制剂(批号:AS1010, Piezo2 反义寡核苷酸序列:CCACCACAUA AACACCUGCTTGCAGGUGUUUAUGUGGUGTT,上海吉玛制药技术有限公司,已经过前期验证);苏木素-伊红染色试剂盒[批号:abs9217,爱必信(上海)生物科技有限公司];大鼠 IL-1 $\beta$  定量检测试剂盒(批号:YD30206,厦门仑昌硕生物科技有限公司);BCA 蛋白浓度测定 kit(批号:MD913053,北京百奥思科生物医学技术有限公司);中等蛋白分子量 marker[批号:26617,赛默飞世尔科技(中国)有限公司集团];兔来源 Piezo2 抗体(批号:NBP1-78624,美国 Novus Biologicals 公司)。

## 1.4 造模方法与模型评价

激痛点造模与模型评价参考黄强民团队改良并证实的钝性击打结合离心运动的方法<sup>[9]</sup>。造模分为适应期、造模期和恢复期3个阶段。适应期予以适应性喂养1周,然后进入为期8周的造模期,每周第1天予以钝性击打:将大鼠异氟烷吸入麻醉(诱导浓度为3%~4%)并固定在钝性击打器底部(图1A),一助手触诊大鼠左侧股内侧肌,操作者将负重棒的尾端从离地面20 cm高处自由落下击打1次,并完全接触股内侧肌,动能约为2.352 J,待大鼠清醒后放

归饲养笼。第2天进行离心跑台(图1B),跑台设置坡度-16°、速度16 m/min、时间90 min,跑台过程中以机械刺激和声音驱赶大鼠,确保按质按量完成跑台运动。其余5 d正常饲养和观察,不做干预。后面7周重复此操作。恢复期4周不进行任何处理,仅作参考饲养和观察。恢复期结束后,对所有大鼠的造模部位进行造模评价<sup>[10]</sup>:若存在明显的紧张带或膨大结节,触诊可以诱发抽搐反应,则提示造模成功,纳入实验,否则排除。

钝性击打器参考姚明华等<sup>[10]</sup>的方法自制打击装置。如图1C示,整个击打器由一根长50 cm、直径约为2.5 cm、总质量为1 200 g的不锈钢圆柱形负重棒、固定负重棒的“F”字型不锈钢结构以及固定大鼠的底座组成。其中,负重棒的头端用多层棉纱布裹住,便于操作者手持,此外,通过调节打击棒上面的额外负荷改变打击动能的大小,尾端为锥形钝头。“F”字型不锈钢结构下端与底座相连,左侧固定不锈钢圆柱体和其内上下活动的负重棒,保证负重棒垂直落下。

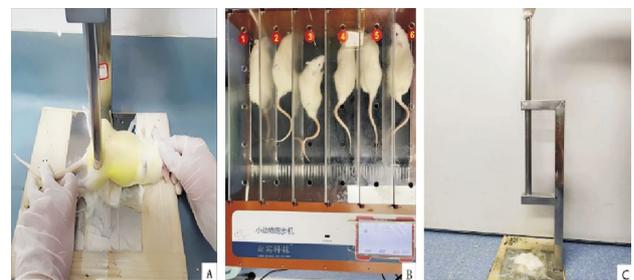


图1 造模方法

Fig.1 Modeling methods

注:A.钝性击打;B.离心运动;C.钝性击打器。

## 1.5 干预方法

空白组仅观察、不做处理,模型组仅做造模处理。弗氏佐剂组和抑制剂组在造模完成后第1天,分别于大鼠激痛点组织注射150  $\mu$ L CFA 1次和60  $\mu$ g/ $\mu$ L抑制剂1次(注射量为120  $\mu$ L)。考虑到依托考昔片是一种高度疏水性的药物,水中溶解度较低,可能会形成较大且不均匀的晶体,在水中结晶时不易溶解,故配制成为悬浊液灌胃。参照尤卓等<sup>[11]</sup>的方法,将60 mg/片的依托考昔片充分研磨后,用无菌蒸馏水将药粉配制成为浓度为1.1 mg/mL的悬浊液,置于4  $^{\circ}$ C冰箱冷藏备用。依托考昔组大鼠于造模完成后第1天以5.5 mg/kg剂量的依托考昔悬浊液灌胃,即每1 kg体质量大鼠灌胃5 mL混悬液,每日2次,连续灌胃2 d。

## 1.6 样本收集

干预 2 周后,检测各组大鼠激痛点的机械痛阈值及软组织张力,检测结束后立即取材。将大鼠异氟烷吸入麻醉(诱导浓度 5%),2~4 min 后观察到大鼠翻正反射消失,止血钳夹尾尖无反应。对大鼠造模部位(左侧股内侧肌)进行触诊,若指下可触及明显的肌肉紧张带或收缩膨大结节,即为需要收集的样本部位,对该部位进行标记。提取样本时,去除该部位的皮肤和皮下筋膜组织,即可暴露激痛点所在部位(肉眼可见局部肌肉呈暗红和苍白色,排列紊乱,有明显粘连),用手术剪剪下该部位的肌肉紧张带即可。

## 1.7 指标检测

**1.7.1 机械痛阈值检测** 待测大鼠适应环境 30 min,助手固定大鼠,暴露左侧股内侧肌。操作者触诊造模部位的肌肉紧张带或收缩结节并标记,用电子测痛仪头部的针尖(根据实验需要选用不同克数的针尖)对准标记区域垂直缓慢施压,使针尖弯曲(不超过 30°),并保持 2 s,当大鼠出现缩腿动作或尖叫时,针尖撤回,电子测痛仪自动记录 1 次测量数值。每只大鼠检测 3 次,每次间隔 10 min,取平均值<sup>[12]</sup>。

**1.7.2 软组织张力检测** 待测大鼠适应环境 30 min,助手固定大鼠,暴露左侧股内侧肌。操作者触诊造模部位的肌肉紧张带或收缩结节并标记。将软组织张力测定仪的检测头对准检测区域,垂直均匀按压约 3 s,然后均匀撤力约 3 s。检测系统自动记录加载卸载时的力量-位移曲线并进行数据分析。取曲线中 0.2 kg 对应位移值  $D_{0.2\text{ kg}}$  作为观察指标,可以较好地反应大鼠肌肉软组织张力情况, $D_{0.2\text{ kg}}$  值与软组织张力呈负相关,即  $D_{0.2\text{ kg}}$  值越小,软组织张力越大。每只大鼠检测 3 次,每次间隔 10 min,取平均值<sup>[13]</sup>。

**1.7.3 激痛点组织 HE 染色** 将组织样本固定、脱水、石蜡包埋、切片烤片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇处理。苏木精溶液染色 5 min,切片以苏木素分化液分化 3 s、苏木素返蓝液返蓝 3 s。切片入 70%和 90%乙醇中脱水各 5 min,伊红染色 3 min,两次无水乙醇脱水各 5 min。两次二甲苯各处理 5 min,中性树脂胶封片后显微成像。

**1.7.4 激痛点组织 IL-1 $\beta$  含量 ELISA 检测** 取适量组织样本于冰上溶解,称重、清洗、剪碎后,加入适量 PBS 溶液碾磨 3~5 min,离心取上清液。检测前将大鼠 IL-1 $\beta$  定量检测试剂盒平衡至室温 20 min。设

置标准品孔和样本孔并加样,按要求滴加各步骤需要的试剂,37 °C 恒温箱孵育、洗板和计算标准曲线。

**1.7.5 激痛点组织 Piezo2 免疫组织化学半定量检测** 将组织样本固定、脱水、石蜡包埋、切片烤片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇处理。将切片置于柠檬酸钠溶液 5 min 以及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 min,滴加 10%山羊血清并孵育。滴加一抗,孵育。滴加反应增强液,孵育。滴加增强酶标羊抗兔 IgG 聚合物,孵育。滴加 DAB 显色液,孵育。滴加苏木精溶液,反应 10~20 s。切片经梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片后显微成像,通过软件 ImageJ 6.0 分析其总光密度值。

**1.7.6 激痛点组织 Piezo2 蛋白定量检测** 取适量组织样本冰上溶解,称重、清洗、剪碎后,加入适量 PBS 溶液碾磨 3~5 min,冰上静置,低温离心,收集上清液。测定蛋白浓度,用裂解液和 SDS 溶液配平,100 °C 加热至蛋白变性。配制 10%分离胶和 5%浓缩胶,上样,80 V 恒压电泳,当 Marker 到达胶底部时即可终止电泳,以冰浴 100 mV 电压转膜 1 h。封闭 1 h,加一抗 4 °C 反应过夜,加二抗室温孵育 1 h。将膜置于凝胶成像系统成像,通过软件 ImageJ 6.0 分析条带灰度值。

## 1.8 统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析,计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。数据符合正态分布时,组内比较采用配对 *t* 检验,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;数据不符合正态分布时,组内比较采用 Wilcoxon 符号秩检验,两组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,多组间比较采用 Kruskal-Wallis 分析。采用 Graphad Prism 9.0 软件绘制统计图。均以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠激痛点组织机械痛阈值比较

干预前,空白组的激痛点组织机械痛阈平均值为 17.967,造模后与空白组比较,模型组、弗氏佐剂组、依托考昔组和抑制剂组的机械痛阈值均降低( $P<0.01$ ),且 4 组间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。干预后,弗氏佐剂组机械痛阈值较治疗前降低( $P<0.05$ ),依托考昔组和抑制剂组均较治疗前升高( $P<0.05$ , $P<0.01$ )。干预后,与空白组比较,模型组机械痛阈值降低( $P<0.01$ );与模型组比较,弗氏佐剂组机械痛阈值降低( $P<0.01$ ),依托考昔组和抑制剂组均

升高( $P<0.01$ );与弗氏佐剂组比较,依托考昔组和抑制剂组机械痛阈值均升高( $P<0.01$ );与依托考昔组比较,抑制剂组机械痛阈值差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与空白组比较,模型组干预前后机械痛阈值差异无统计学意义( $P>0.05$ );与模型组比较,弗氏佐剂组机械痛阈值负向升高( $P<0.01$ ),依托考昔组和抑制剂组机械痛阈值均正向升高( $P<0.05, P<0.01$ );与弗氏佐剂组比较,依托考昔组和抑制剂组机械痛阈值均升高( $P<0.01$ );与依托考昔组比较,抑制剂组机械痛阈值差异无统计学意义( $P>0.05$ )。详见表 1。

表 1 各组大鼠激痛点组织机械痛阈值比较( $\bar{x}\pm s, n=6, N$ )

Table 1 Comparison of mechanical pain threshold of MTrP tissues of rats among different groups ( $\bar{x}\pm s, n=6, N$ )

组别	干预前	干预后	干预前后差值
空白组	17.967±0.500	17.947±1.163	-0.020±1.466
模型组	14.235±0.691**	15.155±0.873**	0.920±1.147
弗氏佐剂组	14.646±0.805**	11.319±1.19●●▲▲	-3.327±1.814▲▲
依托考昔组	13.594±1.495**	16.878±0.832●●▲▲■	3.284±1.294▲▲■
抑制剂组	13.891±1.354**	17.033±0.829●●▲▲■	3.142±1.242▲■

注:与干预前比较,● $P<0.05$ ,●● $P<0.01$ ;与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,▲ $P<0.05$ ,▲▲ $P<0.01$ ;与弗氏佐剂组比较,■ $P<0.01$ 。

## 2.2 各组大鼠激痛点组织 $D_{0.2\text{ kg}}$ 值比较

干预前,与空白组比较,模型组、弗氏佐剂组、依托考昔组和抑制剂组  $D_{0.2\text{ kg}}$  值均降低( $P<0.01$ ),且 4 组间比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。干预后,弗氏佐剂组  $D_{0.2\text{ kg}}$  值较治疗前降低( $P<0.05$ ),依托考昔组和抑制剂组均较治疗前升高( $P<0.05, P<0.01$ )。干预后,与空白组比较,模型组  $D_{0.2\text{ kg}}$  值降低( $P<0.01$ );与模型组比较,弗氏佐剂组  $D_{0.2\text{ kg}}$  值降低( $P<0.01$ ),依托考昔组和抑制剂组均升高( $P<0.01$ );与弗氏佐剂组比较,依托考昔组和抑制剂组  $D_{0.2\text{ kg}}$  值均升高( $P<0.01$ );与依托考昔组比较,抑制剂组  $D_{0.2\text{ kg}}$  值降低( $P<0.01$ )。与空白组比较,模型组干预前后  $D_{0.2\text{ kg}}$  差值差异无统计学意义( $P>0.05$ );与模型组比较,弗氏佐剂组  $D_{0.2\text{ kg}}$  差值负向升高( $P<0.01$ ),依托考昔组和抑制剂组  $D_{0.2\text{ kg}}$  差值均正向升高( $P<0.05, P<0.01$ );与弗氏佐剂组比较,依托考昔组和抑制剂组  $D_{0.2\text{ kg}}$  差值均升高( $P<0.01$ );与依托考昔组比较,抑制剂组  $D_{0.2\text{ kg}}$  差值降低( $P<0.05$ )。详见表 2。

表 2 各组大鼠激痛点组织  $D_{0.2\text{ kg}}$  值比较( $\bar{x}\pm s, n=6, \text{mm}$ )

Table 2 Comparison of the  $D_{0.2\text{ kg}}$  value of MTrP tissues of rats among different groups ( $\bar{x}\pm s, n=6, \text{mm}$ )

组别	干预前	干预后	干预前后差值
空白组	2.775±0.039	2.753±0.111	-0.022±0.083
模型组	2.224±0.053**	2.232±0.047**	0.008±0.089
弗氏佐剂组	2.249±0.116**	2.006±0.106●●▲▲	-0.242±0.152▲▲
依托考昔组	2.181±0.167**	2.585±0.015●●▲▲■	0.404±0.175▲▲■
抑制剂组	2.222±0.044**	2.423±0.116●●▲▲■	0.202±0.136▲■

注:与干预前比较,● $P<0.05$ ,●● $P<0.01$ ;与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,▲ $P<0.05$ ,▲▲ $P<0.01$ ;与弗氏佐剂组比较,■ $P<0.01$ ;与依托考昔组比较,■ $P<0.05$ ,■● $P<0.01$ 。

## 2.3 各组大鼠激痛点组织 HE 染色结果

空白组:镜下可见肌细胞呈规则的多边形,轮廓清晰、排列整齐,无核内移,未见炎症细胞。模型组:镜下肌细胞排列紊乱,可见多个增大圆形的肌细胞(图 2 箭头所示),出现不同程度核内移,炎症细胞浸润。弗氏佐剂组:肌细胞形态极不规则,排列紊乱,细胞间炎症细胞增多。依托考昔组和抑制剂组:细胞形态与排列趋于一致,部分细胞体积增大,炎症细胞减少甚至消失,仍存在核内移。详见图 2。

## 2.4 各组大鼠激痛点组织 IL-1 $\beta$ 含量比较

与空白组比较,模型组 IL-1 $\beta$  含量升高( $P<0.01$ );与模型组比较,弗氏佐剂组 IL-1 $\beta$  含量升高( $P<0.01$ ),依托考昔组和抑制剂组 IL-1 $\beta$  含量均降低( $P<0.01$ );与弗氏佐剂组比较,依托考昔组和抑制剂组 IL-1 $\beta$  含量均降低( $P<0.01$ );与依托考昔组比较,抑制剂组 IL-1 $\beta$  含量差异无统计学意义( $P>0.05$ )。详见表 3。

表 3 各组大鼠激痛点组织 IL-1 $\beta$  含量比较( $\bar{x}\pm s, \text{pg/mL}$ )

Table 3 Comparison of IL-1 $\beta$  content in MTrP tissues of rats among different groups ( $\bar{x}\pm s, \text{pg/mL}$ )

组别	$n$	IL-1 $\beta$ (pg/mL)
空白组	6	13.522±3.086
模型组	6	27.543±2.103**
弗氏佐剂组	6	33.360±2.496▲▲
依托考昔组	6	19.122±4.829▲▲■
抑制剂组	6	21.495±2.695▲▲■

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,▲▲ $P<0.01$ ;与弗氏佐剂组比较,■ $P<0.01$ 。

## 2.5 各组大鼠激痛点组织 Piezo2 表达比较

与空白组比较,模型组 Piezo2 表达升高( $P<0.01$ );

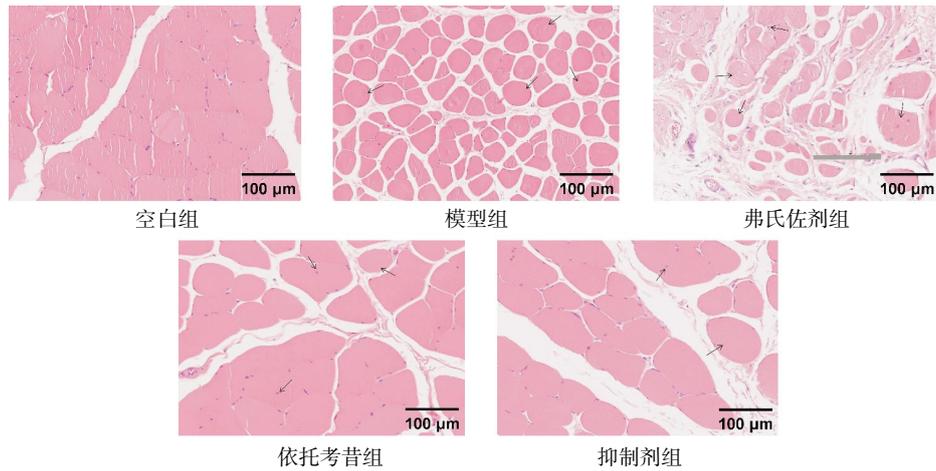


图 2 各组大鼠激痛点组织 HE 染色图( $\times 200$ )

Fig.2 HE staining of MTrP tissues of rats in each group ( $\times 200$ )

与模型组比较,依托考昔组和抑制剂组 Piezo2 表达均降低( $P < 0.05$ ),弗氏佐剂组差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与弗氏佐剂组比较,依托考昔组和抑制剂组 Piezo2 表达均降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );与依托考昔组比较,抑制剂组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。空白组肌细胞呈规则的多边形,大小均匀排列整齐规则,有少量阳性表达;模型组和弗氏佐剂组肌细胞体积增大变圆,阳性表达增多;依托考昔组和抑制剂组肌细胞形态趋于正常,阳性表达减少。详见表 4、图 3。

### 2.6 各组大鼠激痛点组织 Piezo2 蛋白相对表达比较

与空白组比较,模型组 Piezo2 表达升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,依托考昔组和抑制剂组 Piezo2 表达均降低( $P < 0.01$ ),弗氏佐剂组差异无统计学意义( $P >$

表 4 各组大鼠激痛点组织 Piezo2 表达比较( $\bar{x} \pm s$ , IOD)

Table 4 Comparison of Piezo2 expression in MTrP tissues of rats among different groups ( $\bar{x} \pm s$ , IOD)

组别	<i>n</i>	Piezo2
空白组	6	23 076.03 $\pm$ 2 991.16
模型组	6	53 750.51 $\pm$ 11 013.99**
弗氏佐剂组	6	42 177.22 $\pm$ 5 198.64
依托考昔组	6	28 763.24 $\pm$ 4 750.92 <sup>▲</sup> <sup>##</sup>
抑制剂组	6	32 992.36 $\pm$ 2 403.78 <sup>▲</sup> <sup>#</sup>

注:与空白组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>▲</sup> $P < 0.05$ ;与弗氏佐剂组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ 。

0.05);与弗氏佐剂组比较,依托考昔组 Piezo2 表达降低( $P < 0.01$ ),抑制剂组差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与依托考昔组比较,抑制剂组 Piezo2 表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。详见表 5、图 4。

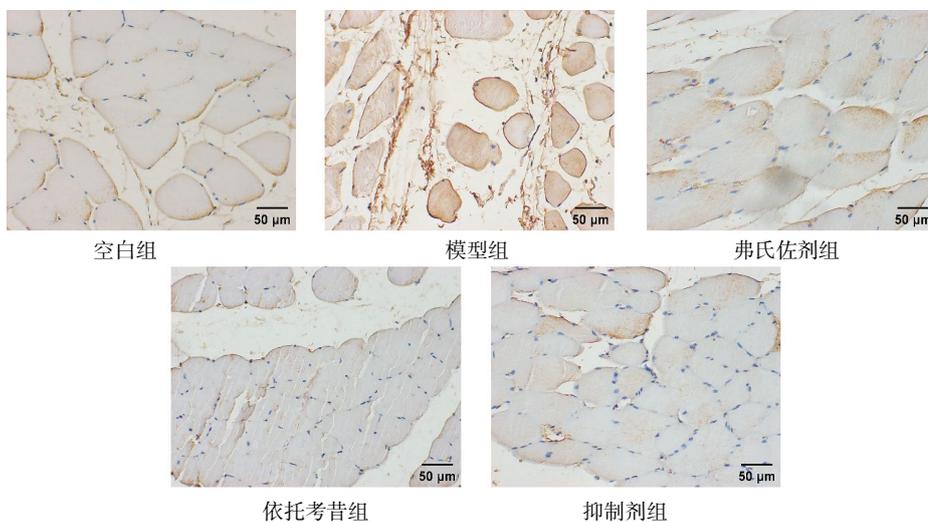


图 3 各组大鼠激痛点组织 Piezo2 免疫组织化学结果( $\times 200$ )

Fig.3 Immunohistochemical results of Piezo2 in MTrP tissues of rats in each group ( $\times 200$ )

表5 各组大鼠激痛点组织 Piezo2 蛋白相对表达比较( $\bar{x}\pm s$ )Table 5 Comparison of Piezo2 relative content in MTrP tissues of rats among different groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	Piezo2
空白组	6	0.221±0.044
模型组	6	0.605±0.081**
弗氏佐剂组	6	0.535±0.080
依托考昔组	6	0.370±0.048 <sup>▲▲#</sup>
抑制剂组	6	0.444±0.068 <sup>▲▲</sup>

注:与空白组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>▲▲</sup> $P<0.01$ ;与弗氏佐剂组比较,<sup>#</sup> $P<0.01$ 。

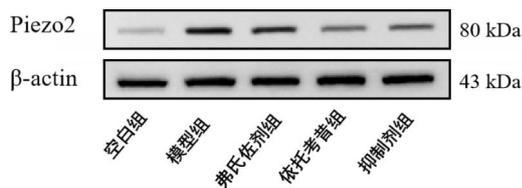


图4 各组大鼠激痛点组织 Piezo2 蛋白电泳条带图

Fig.4 Electrophoretic band patterns of Piezo2 protein in MTrP tissues of rats in each group

### 3 讨论

研究表明,炎性致痛物质刺激并敏化外周感受通路是激痛点疼痛的关键环节<sup>[14]</sup>。组织损伤或产生炎症时,外周感受通路持续受到刺激进而敏化,从而产生机械性痛觉敏化的现象,即放大对疼痛本身的感知,使正常无害的触觉变成剧烈疼痛感觉<sup>[15]</sup>。激痛点的维持是由于持续的肌小节收缩,外周致敏物质释放增加,引起外周伤害性感受器敏化,引发运动终板功能障碍<sup>[16]</sup>。

CFA 激活免疫反应,已被证明可以在小鼠中产生持久的触觉异常性疼痛和热痛敏<sup>[17]</sup>。依托考昔属于高选择性环氧合酶 2(cyclooxygenase-2, COX-2)抑制剂,能够抑制外周和中枢 COX-2 表达,降低体内前列腺素 E2 合成量,进而提升疼痛阈值、降低疼痛敏感性,抑制炎症因子释放<sup>[18]</sup>。促炎介质通过激活炎症细胞,产生炎症介质。IL-1 $\beta$  主要通过中性粒细胞的路径以及单核巨噬细胞的炎性小体激活的方式释放。研究证明,IL-1 $\beta$  可以激活小鼠胚胎成骨细胞前体细胞系中 Piezo1 的表达<sup>[19]</sup>。本研究以激痛点模型大鼠为观察对象,促炎和抑炎药物作为干预手段,观察大鼠激痛点局部的机械痛阈值、 $D_{0.2\text{ kg}}$  值和组织中 IL-1 $\beta$  的含量。结果发现,CFA 可降低激痛点局部机械痛阈值、 $D_{0.2\text{ kg}}$  值,升高组织中 IL-1 $\beta$  含

量;依托考昔可升高其机械痛阈值、 $D_{0.2\text{ kg}}$  值,降低组织中 IL-1 $\beta$  的含量。上述结果说明,CFA 作为促炎药物,可以增加激痛点组织炎症反应、局部疼痛和组织硬度;依托考昔作为抑炎药,可以减轻激痛点组织炎症反应、局部疼痛和组织硬度。

离子通道是细胞膜上大分子蛋白围成的含有水分子的孔道,是神经元、心肌细胞、骨骼肌细胞等兴奋性细胞电活动的物质基础。机械敏感离子通道的开放和关闭受细胞膜或细胞骨架机械力变化的控制和调节,是实现机械信号向细胞电化学信号转换的通道<sup>[20-21]</sup>。Piezo2 离子通道传导疼痛和触觉,并调节本体感觉,在痛觉感受器中广泛表达<sup>[22]</sup>。Piezo2 对于小鼠机械性异常疼痛的发生是必需的,而有害的机械感觉仅部分依赖于该通道<sup>[5]</sup>。研究表明,Piezo2 介导炎症和神经损伤诱导的致敏性机械疼痛,其表达可能受到炎症细胞因子如白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)的调节<sup>[23-24]</sup>。且局部应用 Piezo2 抑制剂可缓解由神经损伤、慢性炎症或长期损伤引起的机械性异常疼痛<sup>[25]</sup>。但 Piezo2 是否在激痛点组织高表达,抑制其表达是否会影响激痛点组织炎症反应尚未可知。

基于此,本研究建立激痛点大鼠模型,在激痛点组织注射药物,Western blot 法和免疫组织化学结果显示,激痛点组织 Piezo2 表达增加,依托考昔组和抑制剂组 Piezo2 表达均降低;加之依托考昔组和抑制剂组的机械痛阈值较模型组升高,说明 Piezo2 可能在激痛点组织炎症所致机械痛觉过敏中发挥作用。然而弗氏佐剂组 Piezo2 表达较模型组差异无统计学意义,可能是 CFA 注射后破坏了激痛点的结构,HE 染色结果也显示弗氏佐剂组的肌细胞受损。

综上所述,弗氏完全佐剂可以增强激痛点局部炎症反应、肌细胞受损,依托考昔和 Piezo2 抑制剂可抑制其炎症反应,Piezo2 可能在激痛点组织炎症所致机械痛觉过敏中发挥作用。

### 参考文献

- [1] ZHANG H, LÜ J J, HUANG Q M, et al. Histopathological nature of myofascial trigger points at different stages of recovery from injury in a rat model[J]. *Acupuncture in Medicine*, 2017, 35(6): 445-451.
- [2] LIU Y, JIN F H, ZHOU L W, et al. Platelet-derived growth factor receptor- $\alpha$  induces contraction knots and inflammatory

- pain-like behavior in a rat model of myofascial trigger points[J]. *Anesthesiology*, 2024, 141(5): 929–945.
- [3] ZHANG Y, DU N Y, CHEN C, et al. Acupotomy alleviates energy crisis at rat myofascial trigger points[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 2020(1): 5129562.
- [4] SZCZOT M, POGORZALA L A, SOLINSKI H J, et al. Cell-type-specific splicing of Piezo2 regulates mechanotransduction[J]. *Cell Reports*, 2017, 21(10): 2760–2771.
- [5] WANG L, ZHOU H, ZHANG M M, et al. Structure and mechanogating of the mammalian tactile channel PIEZO2[J]. *Nature*, 2019, 573(7773): 225–229.
- [6] DUBIN A E, SCHMIDT M, MATHUR J, et al. Inflammatory signals enhance Piezo2-mediated mechanosensitive currents[J]. *Cell Reports*, 2012, 2(3): 511–517.
- [7] RONCHETTI S, MIGLIORATI G, DELFINO D V. Association of inflammatory mediators with pain perception[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 96: 1445–1452.
- [8] PRATO V, TABERNER F J, HOCKLEY J R F, et al. Functional and molecular characterization of mechanoinensitive "silent" nociceptors[J]. *Cell Reports*, 2017, 21(11): 3102–3115.
- [9] 韩 蓓, 黄强民, 谭树生, 等. 大鼠肌筋膜疼痛触发点自发电现象和病理组织学研究[J]. *中国运动医学杂志*, 2011, 30(6): 532–535, 531.
- [10] 姚明华, 黄强民. 肌筋膜触发点疼痛的实验动物模型研究[J]. *中国运动医学杂志*, 2009, 28(4): 415–418.
- [11] 尤 卓, 熊 辉, 吴海金, 等. 蠲痹历节清方对急性痛风性关节炎大鼠的影响及其作用机制[J]. *中医正骨*, 2018, 30(2): 1–6, 15.
- [12] 杨 鑫. BDNF/TrkB 信号通路参与前扣带皮层-脊髓背角环路在抑郁易化神经病理性疼痛中的机制研究[D]. 长沙: 中南大学, 2022.
- [13] 蒋全睿, 刘 丹, 潘杰灵, 等. 不同部位按法对慢性疼痛激痛点大鼠模型的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2023, 46(7): 1008–1019.
- [14] SHAH J P, DANOFF J V, DESAI M J, et al. Biochemicals associated with pain and inflammation are elevated in sites near to and remote from active myofascial trigger points[J]. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 2008, 89(1): 16–23.
- [15] KHAN A, KHAN S, KIM Y S. Insight into pain modulation: Nociceptors sensitization and therapeutic targets[J]. *Current Drug Targets*, 2019, 20(7): 775–788.
- [16] 赵丽萍, 陈艺箔, 王雅倩, 等. 滞动针干预“激痛点”对肌筋膜疼痛综合征模型大鼠中枢镇痛的作用机制[J]. *中国组织工程研究*, 2025, 29(17): 3614–3623.
- [17] 侯必婧, 高 洁, 崔扬帆, 等. R59949 对完全弗氏佐剂诱导的大鼠炎性痛行为的影响[J]. *神经解剖学杂志*, 2024, 40(3): 313–319.
- [18] 邓巧莉, 胡家才, 周 甜, 等. 加味威草胶囊对尿酸性肾病大鼠肾组织 NF- $\kappa$ Bp50、COX-2 蛋白及 mRNA 的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(34): 3774–3777, 3836.
- [19] 吴传彬. Piezo1 通过调节 pSmad3 磷酸化水平影响颞下颌关节骨关节炎的机制研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2023.
- [20] WOO S H, RANADE S, WEYER A D, et al. Piezo2 is required for merkel-cell mechanotransduction[J]. *Nature*, 2014, 509(7502): 622–626.
- [21] MURTHY S E, LOUD M C, DAOU I, et al. The mechanosensitive ion channel Piezo2 mediates sensitivity to mechanical pain in mice[J]. *Science Translational Medicine*, 2018, 10(462): eaat9897.
- [22] SÁNCHEZ-CARRANZA O, CHAKRABARTI S, KÜHNEMUND J, et al. Piezo2 voltage-block regulates mechanical pain sensitivity[J]. *Brain*, 2024, 147(10): 3487–3500.
- [23] FERRARI L F, BOGEN O, GREEN P, et al. Contribution of Piezo2 to endothelium-dependent pain[J]. *Molecular Pain*, 2015, 11: 65.
- [24] LIU M X, LI Y, ZHONG J, et al. The effect of IL-6/Piezo2 on the trigeminal neuropathic pain[J]. *Aging*, 2021, 13(10): 13615–13625.
- [25] LEE W, NIMS R J, SAVADIPOUR A, et al. Inflammatory signaling sensitizes Piezo1 mechanotransduction in articular chondrocytes as a pathogenic feed-forward mechanism in osteoarthritis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(13): e2001611118.

(本文编辑 匡静之)