

本文引用: 何伟, 官菊梅, 唐旭. 火针通过 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 信号通路调节带状疱疹后神经痛大鼠痛觉敏化的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(7): 1271-1279.

## 火针通过 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 信号通路调节带状疱疹后神经痛大鼠痛觉敏化的机制研究

何伟, 官菊梅, 唐旭\*

四川中医药高等专科学校, 四川 绵阳 621000

**[摘要]** **目的** 基于瞬时受体电位香草酸受体 1 (TRPV1)/蛋白激酶 C- $\delta$  (PKC- $\delta$ )/磷酸化 Akt 蛋白 (p-Akt) 信号通路探讨火针疗法对带状疱疹后神经痛 (PHN) 大鼠的潜在作用机制。**方法** 采用香草素受体激动剂 (RTX) 腹腔注射法构建 PHN 大鼠模型。将成功建模的 24 只大鼠随机分为 3 组: 模型组 (RTX)、阳性药物组 (RTX+加巴喷丁)、火针组 (RTX+火针疗法), 每组 8 只。再随机选取 8 只健康大鼠为对照组。采用机械缩足反射阈值 (PWT) 和热缩足反射潜伏期 (TWL) 评估火针疗法对 PHN 大鼠的痛敏程度; 采用 HE 染色评估大鼠脊髓背角组织病理变化; 采用 TUNEL 染色检测脊髓背角 GABA 能神经元细胞凋亡情况; 采用 ELISA 检测大鼠脊髓背角组织中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 的含量; 采用 Western blot 检测各组大鼠脊髓背角组织中关键蛋白 TRPV1、PKC- $\delta$ 、p-Akt 表达。**结果** 与对照组相比, 模型组 PWT 值降低 ( $P<0.05$ ), TWL 值升高 ( $P<0.05$ ), GABA 细胞凋亡数量增多 ( $P<0.05$ ), TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  含量升高 ( $P<0.05$ ), TRPV1、PKC- $\delta$ 、p-Akt 表达升高 ( $P<0.05$ ); 与模型组相比, 阳性药物组和火针组 PWT 值升高 ( $P<0.05$ ), TWL 值降低 ( $P<0.05$ ), GABA 细胞凋亡数量减少 ( $P<0.05$ ), TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  含量降低 ( $P<0.05$ ), TRPV1、PKC- $\delta$ 、p-Akt 表达降低 ( $P<0.05$ ); 阳性药物组与火针组相比, PWT 值、TWL 值、GABA 细胞凋亡数量以及 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、TRPV1、PKC- $\delta$ 、p-Akt 水平差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。**结论** 火针疗法通过抑制 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 信号通路, 减轻 PHN 大鼠炎症反应, 进而缓解 PHN 痛觉敏化。

**[关键词]** 带状疱疹后神经痛; 香草素受体激动剂; 火针; TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 信号通路; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白细胞介素-1 $\beta$ ; 痛觉敏化

[中图分类号] R245

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.07.010

## Mechanism of fire needling on regulating pain sensitization in rats with postherpetic neuralgia via TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt signaling pathway

HE Wei, GUAN Jumei, TANG Xu\*

Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang, Sichuan 621000, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the potential mechanism of action of fire needling therapy on rats with postherpetic neuralgia (PHN) based on the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1)/protein kinase C- $\delta$  (PKC- $\delta$ )/phosphorylated Akt protein (p-Akt) signaling pathway. **Methods** A PHN rat model was established by intraperitoneal injection of vanilloid receptor agonist (resiniferatoxin, RTX). Twenty-four successfully modeled rats were randomly divided into the model group (RTX), positive drug group (RTX+gabapentin), and fire needling group (RTX+fire needle therapy), with eight rats in each group. Another eight healthy rats were

[收稿日期] 2024-12-11

[基金项目] 四川省医学(青年创新)科研课题(Q20217)。

[通信作者]\* 唐旭, 男, 教授, E-mail: txxa7043@163.com。

randomly selected as the control group. Mechanical paw withdrawal threshold (PWT) and paw thermal withdrawal latency (TWL) were employed to evaluate the degree of hyperalgesia in PHN rats treated with fire needling therapy. HE staining was used to assess histopathological changes in the spinal dorsal horn of rats. TUNEL staining was used to examine apoptosis of GABAergic neurons in the spinal dorsal horn of rats. ELISA was used to measure the content of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in the spinal dorsal horn tissue of rats. Western blot was used to measure the expressions of key proteins TRPV1, PKC- $\delta$ , and p-Akt in the spinal dorsal horn tissue of rats in each group. **Results** Compared with the control group, the model group exhibited lower PWT values ( $P<0.05$ ), higher TWL values ( $P<0.05$ ), increased quantity of apoptotic GABA cells ( $P<0.05$ ), elevated levels of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  ( $P<0.05$ ), and increased expressions of TRPV1, PKC- $\delta$ , and p-Akt ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, both the positive drug group and the fire needling group showed increased PWT values ( $P<0.05$ ), decreased TWL values ( $P<0.05$ ), decreased quantity of apoptotic GABA cells ( $P<0.05$ ), decreased levels of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  ( $P<0.05$ ), and decreased expressions of TRPV1, PKC- $\delta$ , and p-Akt ( $P<0.05$ ). There were no statistically significant differences in PWT values, TWL values, quantity of apoptotic GABA cells, and levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TRPV1, PKC- $\delta$ , and p-Akt between the positive drug group and the fire needling group ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Fire needling therapy alleviates the inflammatory response of PHN rats by inhibiting the TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt signaling pathway, thereby relieving pain sensitization in PHN.

[**Keywords**] postherpetic neuralgia; vanilloid receptor agonist; fire needling; TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt signaling pathway; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin-1 $\beta$ ; pain sensitization

带状疱疹后神经痛(postherpetic neuralgia, PHN)是水痘-带状疱疹病毒再激活导致的特征性临床综合征,以神经支配区域簇集性疱疹伴剧烈神经痛为主要表现,其发病机制涉及复杂的神经病理改变,常导致身体功能障碍、情绪障碍等多系统并发症,严重影响患者的生存质量<sup>[1-2]</sup>。现行临床治疗 PHN 主要依赖抗病毒药物、神经营养剂、抗炎药及镇痛剂等综合方案,但约半数患者经规范治疗后仍存在持续 1 个月以上的顽固性疼痛<sup>[3]</sup>。这一现状凸显了开发更有效 PHN 治疗方案的紧迫性。火针疗法在中医学中被称为“燔针”或“大针”,其操作是将针具烧红后迅速刺入特定腧穴或病变部位,通过温热刺激和针刺效应,达到疏通经络、调和气血、祛风散寒、消肿止痛的作用。火针的温热刺激能够促进局部血液循环,改善组织营养,加速炎症吸收,从而缓解疼痛<sup>[4]</sup>。研究发现,火针疗法在机体免疫系统恢复方面充当着重要角色,且具有疼痛缓解快、毒副作用小、PHN 发生率低等优点<sup>[5]</sup>。然而,火针疗法在 PHN 中发挥镇痛作用的机制尚不明确。

瞬时受体电位香草酸受体 1(transient receptor potential vanilloid subfamily member 1, TRPV1)是阳离子通道的一种,具有高钙离子通透性,在神经元凋亡、炎症和痛觉敏化中起关键作用,是神经研究和药物开发的重要靶点<sup>[6]</sup>。近年来,通过抑制背根神经节中的 TRPV1 来缓解神经性疼痛,已成为疼痛管理研

究的热点<sup>[7]</sup>。蛋白激酶 C- $\delta$ (protein kinase C- $\delta$ , PKC- $\delta$ )是一种在神经系统中发挥作用的蛋白激酶,与炎症和神经源性疼痛相关<sup>[8]</sup>。研究显示,PKC- $\delta$  激活能增强 TRPV1 通道活性,提高细胞兴奋性,加剧疼痛信号传递<sup>[9]</sup>。磷酸化 Akt 蛋白(phosphorylated Akt protein, p-Akt)主要在脊髓背角浅层,最新研究显示, Akt 信号通路活化与多种神经痛如髓核突出、坐骨神经痛及子宫内膜异位症的发展有关<sup>[10-12]</sup>。近年有研究表明,靶向调控 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 信号通路可有效缓解 PHN。例如,通过抑制该通路中关键蛋白(包括 TRPV1、PKC- $\delta$  及 p-Akt)的表达,能够显著减轻神经炎症反应并改善痛觉过敏症状<sup>[13]</sup>。这一发现不仅揭示了 PHN 发病的新机制,更为临床治疗提供了潜在的新型分子靶点,提示针对该信号通路的干预策略可能成为 PHN 镇痛治疗的新方向。尽管如此,目前关于 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 通路在 PHN 中的研究仍处于初步阶段,大多数研究集中在通路的激活和部分信号分子的表达变化上,缺乏系统性的机制探讨和有效的药物干预策略<sup>[14-15]</sup>。因此,深入研究该通路在 PHN 中的作用机制,并探索有效的干预手段,对于开发新型 PHN 治疗策略具有重要意义。目前,虽然已有研究关注该通路在 PHN 中的作用,但关于火针疗法对这一通路的影响尚不清楚。因此,本研究通过构建 PHN 大鼠模型,探讨火针疗法对 PHN 大鼠痛觉敏化和 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 信号通路的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

40只SPF级雄性健康SD大鼠购自沈阳药科大学,体质量220~280g。饲养条件:室温20~24℃,相对湿度为45%~65%,光照/黑暗循环为12h,自由获取食物和水。大鼠均饲养1周以适应环境。本研究经四川中医药高等专科学校伦理委员会审批通过(审批号:2024-00154)。

### 1.2 主要试剂与仪器

香草素受体激动剂(resiniferatoxin, RTX)(货号:HY-101323-15,上海延慕实业有限公司);加巴喷丁胶囊(国药准字:H20030662,规格:100mg,江苏恒瑞医药股份有限公司);白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )ELISA检测试剂盒(货号:EK-R30172,上海酶研生物科技有限公司);肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )ELISA检测试剂盒(货号:CB11057-Ra,上海科艾博生物技术有限公司);TRPV1抗体、PKC- $\delta$ 抗体、p-Akt抗体、抗大鼠免疫球蛋白(immunoglobulin G, IgG)、抗 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -Actin)抗体(货号:ab305299、ab182126、ab8805、ab302644、ab8227,英国Abcam公司)。

机械刺激针(型号:stoelting Von Frey 纤维细丝,上海玉研科学仪器有限公司);火针(规格:0.4mm $\times$ 25mm毫火针钨钢合金,扬州市智象医疗用品有限公司);包埋机(型号:ES-300型,上海信裕生物科技有限公司);荧光显微镜(型号:BX53LED,日本Olympus公司)。

### 1.3 PHN大鼠模型构建

随机选取8只健康SD大鼠为对照组。其余32只大鼠采用RTX腹腔注射法建立PHN大鼠模型<sup>[16]</sup>。将RTX溶解于生理盐水混合液中,该混合液由10%乙醇和10% Tween 80生理盐水按体积比1:1混合而成。具体稀释比例为:将Tween 80以1:10的比例溶解于生理盐水中,即每100mL生理盐水中加入10mL Tween 80,充分混匀后备用。大鼠腹腔内注射RTX剂量为200 $\mu$ g/kg。当观察到大鼠热缩足反射潜伏期(thermal withdrawal latency, TWL)显著升高、机械缩足反射阈值(paw withdrawal threshold, PWT)显著降低的现象时,即造模成功<sup>[17]</sup>。其中,8只大鼠在

造模过程中死亡,最终共24只PHN大鼠被纳入本研究。

### 1.4 分组及干预

将成功建模的24只PHN大鼠随机分为3组:模型组(RTX)、阳性药物组(RTX+加巴喷丁)、火针组(RTX+火针),每组8只。阳性药物组大鼠每天腹腔注射100mg/kg加巴喷丁水溶液<sup>[18]</sup>。火针组火针治疗选穴依据主要基于中医经络理论,结合病变神经节段对应的夹脊穴。在本研究中,选取L4~L6夹脊穴进行火针治疗,找准穴位后,将火针针尖和针身加热至红白色,每穴点刺3~4次,深度0.1~1mm,1次/d,共干预2周<sup>[19]</sup>。对照组和模型组大鼠均每天注射同阳性药物组等量的生理盐水。

### 1.5 标本采集

分别于治疗第0、4、8、12、16、20天时进行疼痛行为学检测;疼痛行为学检测结束后,将所有大鼠在舒泰(50mg/kg)麻醉下,快速解剖脊髓背角的L4~L6节段,并用4%多聚甲醛固定;对剥离出的脊髓背角组织进行处理,一部分组织经过石蜡包埋和切片后进行HE染色以及TUNEL染色,另一部分组织将用于进行ELISA检测以及Western blot法检测。

### 1.6 大鼠PWT测试

实验开始前10min,将大鼠置于测试笼内以适应环境。采用系列Von Frey纤维细丝(4、6、8、10、15、26、60、100g)进行PWT检测,操作者轻柔刺激大鼠左后肢足底,每次刺激持续6~8s。当细丝导致大鼠出现快速缩足或舔舐行为时,视为阳性反应。每根细丝重复测试5次,间隔5min。阳性判定标准为:同一刺激强度下出现 $\geq 3$ 次阳性反应,此时记录该细丝对应克数为PWT<sup>[20]</sup>。

### 1.7 大鼠TWL测试

采用55℃恒温热板仪(环境温度25℃)进行TWL测试。将大鼠置于热板表面后立即启动计时器,当观察到后肢出现明显的抬足、舔舐或逃避行为时终止计时,记录TWL值<sup>[21]</sup>。每只大鼠重复测试3次,取平均值,每次间隔5min以避免热敏化效应。

### 1.8 HE染色评估大鼠脊髓背角组织病理变化

采用标准石蜡切片技术处理脊髓背角组织,具体步骤如下:石蜡包埋后制备4 $\mu$ m连续切片;经二甲苯脱蜡及梯度乙醇水化处理;苏木精染色5min,

酸性乙醇分化 5 次,流水冲洗返蓝;伊红复染 3 min;依次经 70%、80%、95%和 100%乙醇脱水;二甲苯透明处理后,中性树胶封片。所有切片均在光学显微镜下进行脊髓背角组织学观察和图像采集。

### 1.9 TUNEL 染色检测脊髓背角 GABA 能神经元细胞凋亡情况

首先,对组织切片进行梯度脱水处理,依次使用二甲苯、100%乙醇、95%乙醇、80%乙醇和纯水;随后用 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  蛋白酶 K 溶液在 37  $^{\circ}\text{C}$  条件下消化 30 min, PBS 缓冲液漂洗 3 次,每次 5 min;接着加入 TUNEL 反应混合液,置于 45  $^{\circ}\text{C}$  湿盒中避光孵育 2 h;最后在荧光显微镜下观察,以细胞核呈现特征性绿色荧光作为凋亡阳性细胞的判定标准。

### 1.10 ELISA 检测大鼠脊髓背角组织中 TNF- $\alpha$ 和 IL-1 $\beta$ 含量

首先,将组织样本充分匀浆后,4  $^{\circ}\text{C}$  条件下 12 000 $\times$ g 离心 15 min,取上清液;随后严格按照商品化 ELISA 试剂盒说明书操作流程,设置标准品孔和样本复孔,依次加入捕获抗体、检测抗体及显色底物;最后使用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度值,通过标准曲线计算炎症因子浓度。实验全程设置质控样本以确保检测可靠性。

### 1.11 Western blot 检测大鼠脊髓背角组织中关键蛋白 TRPV1、PKC- $\delta$ 、p-Akt 表达

具体步骤如下:将样本置于 RIPA 裂解缓冲液中充分匀浆,室温裂解 30 min 后,13 000 $\times$ g 离心 15 min,收集上清液;使用 BCA 法测定蛋白浓度,调整至统一浓度;取等量蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳分离。将蛋白转移至 PVDF 膜;5%脱脂牛奶封闭 1 h 后,4  $^{\circ}\text{C}$  孵育一抗(p-Akt 1:1 000、TRPV1 1:800、PKC- $\delta$  1:500、 $\beta$ -actin 1:2 000)过夜;TBST 洗涤后,室温孵育 HRP 标记二抗 1 h;ECL 化学发光显色,MiniChemi<sup>TM</sup> 成像系统采集图像;ImageJ 软件分析条带灰度值,以  $\beta$ -Actin 为内参进行标准化。

### 1.12 统计学分析

本研究均采用 SPSS 27.0 进行统计分析。所有数据均采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法。以  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 火针对 PHN 大鼠行为学变化的影响

造模成功后,治疗第 8~20 天,与对照组相比,模型组 PWT 值降低( $P<0.05$ )、TWL 值升高( $P<0.05$ );与模型组相比,阳性药物组和火针组 PWT 值升高( $P<0.05$ )、TWL 值降低( $P<0.05$ );阳性药物组与火针组 PWT 值、TWL 值比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。详见表 1—2。

表 1 各组大鼠不同时间点 PWT 值比较( $\bar{x}\pm s, n=8, g$ )

Table 1 Comparison of PWT values at different time points among different groups of rats ( $\bar{x}\pm s, n=8, g$ )

时间	对照组	模型组	阳性药物组	火针组
第 0 天	22.35 $\pm$ 1.34	22.45 $\pm$ 1.65	23.78 $\pm$ 1.04	20.28 $\pm$ 3.01
第 4 天	22.24 $\pm$ 1.57	22.63 $\pm$ 1.80	14.24 $\pm$ 1.46	14.85 $\pm$ 3.41
第 8 天	23.32 $\pm$ 2.56	9.12 $\pm$ 0.32*	12.33 $\pm$ 1.67* $\Delta$	11.84 $\pm$ 0.35* $\Delta$
第 12 天	22.33 $\pm$ 1.41	8.45 $\pm$ 1.75*	13.31 $\pm$ 1.75* $\Delta$	13.05 $\pm$ 0.95* $\Delta$
第 16 天	21.12 $\pm$ 1.74	6.52 $\pm$ 0.36*	15.79 $\pm$ 2.45* $\Delta$	15.44 $\pm$ 1.41* $\Delta$
第 20 天	21.85 $\pm$ 1.64	5.02 $\pm$ 0.60*	17.38 $\pm$ 1.42* $\Delta$	16.98 $\pm$ 1.46* $\Delta$
F 值	1.340	320.480	48.420	16.653
P 值	0.267	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P<0.05$ ;与阳性药物组比较, $\#P<0.05$ 。

表 2 各组大鼠不同时间点 TWL 值比较( $\bar{x}\pm s, n=8, s$ )

Table 2 Comparison of TWL values at different time points among different groups of rats ( $\bar{x}\pm s, n=8, s$ )

时间	对照组	模型组	阳性药物组	火针组
第 0 天	11.99 $\pm$ 1.74	11.06 $\pm$ 1.57	11.66 $\pm$ 1.57	11.26 $\pm$ 1.57
第 4 天	12.27 $\pm$ 1.55	14.30 $\pm$ 1.50	13.70 $\pm$ 1.50	14.10 $\pm$ 1.50
第 8 天	11.58 $\pm$ 0.88	18.01 $\pm$ 0.86*	15.74 $\pm$ 1.01* $\Delta$	16.08 $\pm$ 0.14* $\Delta$
第 12 天	11.85 $\pm$ 0.99	18.19 $\pm$ 1.64*	14.96 $\pm$ 0.67* $\Delta$	15.24 $\pm$ 0.70* $\Delta$
第 16 天	12.23 $\pm$ 1.86	19.45 $\pm$ 0.63*	13.95 $\pm$ 0.31* $\Delta$	14.42 $\pm$ 0.22* $\Delta$
第 20 天	12.12 $\pm$ 0.65	20.11 $\pm$ 3.12*	13.04 $\pm$ 1.32* $\Delta$	13.33 $\pm$ 0.43* $\Delta$
F 值	0.294	31.809	12.312	24.583
P 值	0.914	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P<0.05$ ;与阳性药物组比较, $\#P<0.05$ 。

### 2.2 火针对 PHN 大鼠脊髓背角组织病理变化的影响

与对照组相比,模型组 PHN 大鼠脊髓背角组织中出现神经细胞排列紊乱、炎症细胞浸润以及神经元重度萎缩等现象;与模型组相比,阳性药物组和火针组神经束排列逐渐规则,炎症细胞浸润有所减少,神经元萎缩现象有所减轻,两组形态较为相似。详见图 1。

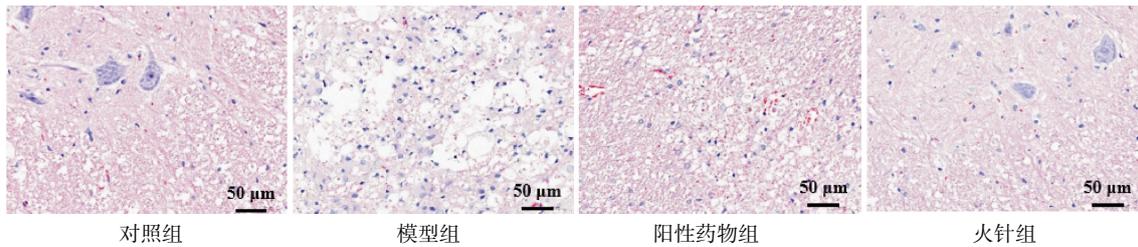


图 1 各组大鼠脊髓背角组织 HE 染色代表性图像(×400)

Fig.1 Representative HE staining images of the spinal dorsal horn tissue in each group of rats (×400)

### 2.3 火针对 PHN 大鼠脊髓背角组织中神经元细胞凋亡的影响

与对照组相比,模型组 PHN 大鼠脊髓背角组织中 GABA 细胞凋亡数量增多( $P<0.05$ );与模型组相比,阳性药物组和火针组脊髓背角组织中 GABA 细胞凋亡数量减少( $P<0.05$ );与阳性药物组相比,火针组脊髓背角中细胞凋亡数量差异无统计学意义( $P>0.05$ )。详见表 3、图 2。

### 2.4 火针对 PHN 大鼠脊髓背角组织中炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 的影响

与对照组相比,模型组大鼠脊髓背角组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  含量升高( $P<0.05$ );与模型组相比,

表 3 各组大鼠脊髓背角组织 GABA 细胞凋亡数量的比较( $\bar{x}\pm s, n=8, \text{个/视野}$ )

Table 3 Comparison of the quantity of apoptotic GABA cells in the spinal dorsal horn tissue among different groups of rats ( $\bar{x}\pm s, n=8, \text{ pcs/field of view}$ )

组别	GABA 细胞凋亡数量
对照组	42.89±21.36
模型组	150.48±35.92*
阳性药物组	71.24±31.25* <sup>△</sup>
火针组	70.07±31.21* <sup>△</sup>
F 值	18.655
P 值	<0.001

注:与对照组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ;与阳性药物组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

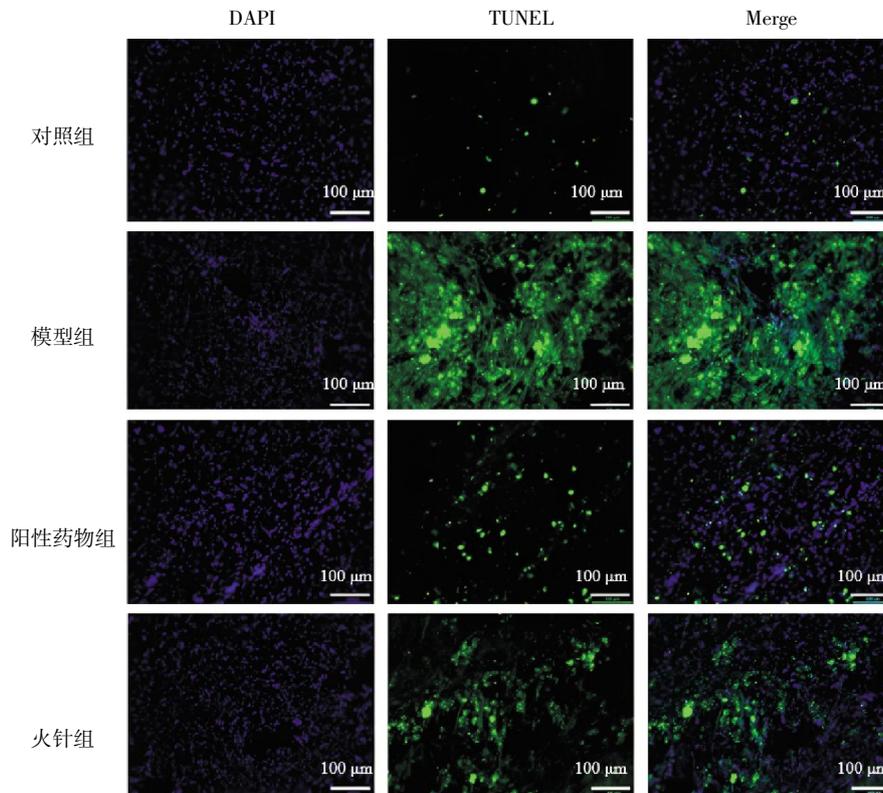


图 2 各组大鼠脊髓背角组织 TUNEL 染色代表性图像(×400)

Fig.2 Representative TUNEL staining images of the spinal dorsal horn tissue in each group of rats (×400)

阳性药物组和火针组大鼠脊髓背角组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  含量降低 ( $P < 0.05$ ); 与阳性药物组相比, 火针组 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  含量差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。详见表 4。

表 4 火针对各组 PHN 大鼠脊髓背角组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平的比较 ( $\bar{x} \pm s, n=8, \mu\text{g/L}$ )

**Table 4** Comparison of levels of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the spinal dorsal horn tissue of PHN rats in each group after fire needling therapy ( $\bar{x} \pm s, n=8, \mu\text{g/L}$ )

时间	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$
对照组	18.65 $\pm$ 1.34	45.34 $\pm$ 2.46
模型组	52.39 $\pm$ 4.09*	98.54 $\pm$ 6.51*
阳性药物组	33.57 $\pm$ 2.14* $\Delta$	65.02 $\pm$ 4.11* $\Delta$
火针组	32.44 $\pm$ 2.39* $\Delta$	63.86 $\pm$ 4.97* $\Delta$
<i>F</i> 值	213.278	174.416
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001

注: 与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ; 与阳性药物组比较, \* $P < 0.05$ 。

## 2.5 火针对 PHN 大鼠脊髓背角组织中 TRPV1、PKC- $\delta$ 和 p-Akt 表达的影响

与对照组相比, 模型组大鼠脊髓背角组织中 TRPV1、PKC- $\delta$  和 p-Akt 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 阳性药物组和火针组脊髓背角组织中 TRPV1、PKC- $\delta$  和 p-Akt 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ); 与阳性药物组相比, 火针组脊髓背角组织中 TRPV1、PKC- $\delta$  和 p-Akt 的蛋白表达差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。详见图 3、表 5。

## 3 讨论

PHN 是带状疱疹最常见的难治性并发症, 其特征性临床表现包括自发性灼痛、痛觉超敏和异常性

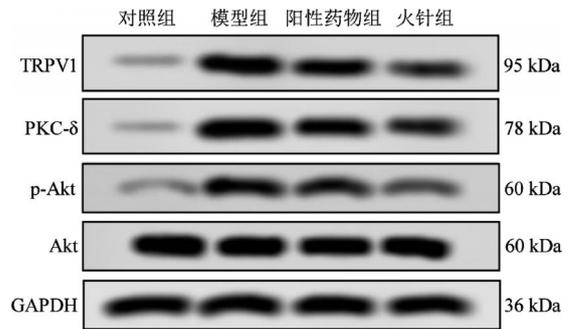


图 3 各组大鼠脊髓背角组织中 TRPV1、PKC- $\delta$  和 p-Akt 相关蛋白免疫印迹图

**Fig.3** Western blot images of TRPV1, PKC- $\delta$ , and p-Akt-related proteins in the spinal dorsal horn in each group of rats

疼痛等神经病理性疼痛症状, 其发病机制主要涉及外周神经损伤后神经元异常兴奋和病毒介导的持续性神经炎症反应<sup>[22]</sup>。临床观察显示, 约 30% 的 PHN 患者疼痛症状可持续超过 1 年, 严重影响患者睡眠质量和日常活动能力<sup>[23]</sup>。当前, 临床防治策略主要包括抗病毒药物、神经阻滞药等综合干预措施, 但传统治疗对近半数患者疗效有限<sup>[24]</sup>。这一现状凸显了开发新型有效治疗方案的迫切需求, 而建立可靠的动物模型是探索 PHN 发病机制和评估新疗法的关键前提。

近年来, 临床研究表明, 针灸疗法在急性和慢性疼痛治疗方面表现出可靠且可重复的疗效, 其治疗过程简便易行, 且治疗效果能够持续数周<sup>[25]</sup>。机制研究表明, 通过在特定的病灶或穴位上采用火针疗法, 可以显著改善甚至完全消除周围神经组织的病理状况, 且能够有效改善一系列症状, 包括水肿、充血、渗出、粘连、钙化以及肌肉挛缩和缺血等问题<sup>[26]</sup>。此外, 火针疗法还可以改善局部血液循环, 增强局部

表 5 各组大鼠脊髓背角组织中 TRPV1、PKC- $\delta$  和 p-Akt 相关蛋白表达的比较 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

**Table 5** Comparison of protein expressions of TRPV1, PKC- $\delta$ , and p-Akt in the spinal dorsal horn among different groups of rats ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

时间	TRPV1 蛋白表达相对值	PKC- $\delta$ 蛋白表达相对值	p-Akt 蛋白表达相对值
对照组	0.35 $\pm$ 0.09	0.23 $\pm$ 0.03	0.35 $\pm$ 0.06
模型组	0.98 $\pm$ 0.04*	0.95 $\pm$ 0.04*	0.93 $\pm$ 0.07*
阳性药物组	0.52 $\pm$ 0.04* $\Delta$	0.56 $\pm$ 0.11* $\Delta$	0.57 $\pm$ 0.08* $\Delta$
火针组	0.48 $\pm$ 0.05* $\Delta$	0.48 $\pm$ 0.14* $\Delta$	0.51 $\pm$ 0.07* $\Delta$
<i>F</i> 值	180.329	83.368	96.970
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ 。

神经组织代谢,调节血清皮质醇水平,并通过自噬减少炎症,进而改善疼痛,降低 PHN 的发生率<sup>[27-28]</sup>。王鑫栋等<sup>[29]</sup>研究表明,PHN 大鼠的 PWT 显著降低、TWL 显著升高,而火针有效减轻 PHN 大鼠疼痛程度。本研究行为学及组织病理分析表明,火针疗法能够显著升高 PWT 值、降低 TWL 值,减少炎症细胞浸润,进而有效保护大鼠神经元,抑制神经细胞凋亡,这提示火针疗法可能成为减轻 PHN 大鼠疼痛的有效技术。脊髓背角是疼痛信号传递、处理和整合的主要中心,在 PHN 中起着关键作用<sup>[30]</sup>。脊髓损伤或炎症引发背角星形胶质细胞的活化,这些细胞进而调控促炎细胞因子如 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的释放,进而提升神经元的兴奋性,引发疼痛的生成和持续<sup>[31-32]</sup>。研究表明,火针疗法可利用其高温作用改善局部炎症反应,促进细胞代谢与修复<sup>[33-34]</sup>;此外,通过调整外周 P 物质、5-羟色胺等涉及疼痛的化学物质表达水平,可以有效减轻 PHN 大鼠的疼痛敏感症状<sup>[26]</sup>。本研究显示,模型组较对照组 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平均明显升高,而火针疗法治疗后 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平均明显降低,提示火针疗法缓解 PHN 可能与炎症反应密切相关。然而,火针疗法对 PHN 模型大鼠的痛觉敏化作用机制仍有待研究。

TRPV1 通道属于 TRPV 家族,在外周神经系统中的神经细胞膜上高表达,近年来在病理性疼痛领域的作用日益受到关注。XING 等<sup>[35]</sup>研究指出,通过调节背根神经节中的 TRPV1,可以有效促进神经性疼痛的发展和持续。PKC 是一个多功能丝氨酸和苏氨酸激酶家族,是调节疼痛处理中神经元信号传导的主要效应器,广泛分布于周围神经系统和中枢神经系统,其中,PKC- $\delta$  是新型 PKC 家族的一员,在生长调节和组织重塑中起关键作用<sup>[36]</sup>。PKC- $\delta$  作为细胞中的第二信使之一,它的激活可以使传入神经元去极化和致敏,以增强有害刺激,而 PKC- $\delta$  抑制剂可以阻断疼痛致敏。研究表明,通过激活 TRPV1 受体,PKC- $\delta$  可以调节伤害感受传递<sup>[37]</sup>,增加感觉神经元的兴奋性,从而促进疼痛的发生和发展<sup>[38]</sup>。CUI 等<sup>[39]</sup>在神经病理性疼痛模型中发现,PKC- $\delta$  能将 TRPV1 受体从神经末梢传输到伤害感受器的质膜上,这一过程能够显著提高机体对疼痛的敏感性。Akt 信号在疼痛的形成和维持中至关重要,参与调节伤害感

受信息的传递,它不仅在 DRG 中表达,而且在脊髓背角的 I~IV 层中表达<sup>[40]</sup>。据报道,在炎症痛觉过敏发生过程中 Akt 信号通路是处于激活状态的<sup>[41]</sup>,而 Akt 在 Ser473 和 Thr308 的磷酸化是 Akt 被激活的标志<sup>[42]</sup>。研究表明,在癌症和免疫细胞中,PKC- $\delta$  能介导 PI3K 激酶激活 Akt(Thr308)以调节细胞存活<sup>[43]</sup>;在糖尿病大鼠中,PKC- $\delta$  通过调节 PI3K 激酶的下游 Akt 信号(Ser473)来调节视网膜神经元细胞凋亡<sup>[44]</sup>。除此之外,王存金等<sup>[42]</sup>研究表明,在神经病理性疼痛过程中,脊髓脊角组织的 p-Akt 水平呈现出显著上升态势,这进一步证实了 p-Akt 在疼痛的脊髓中枢敏化过程中具有重要作用。LU 等<sup>[13]</sup>也在 PHN 大鼠模型中观察到脊髓背角组织中 p-Akt(Ser473)的表达增加,巴多索隆逆转了 p-Akt(Ser473)的表达。因此,TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 信号通路可能成为缓解 PHN 患者痛觉敏化的有效治疗靶点。本研究发现,在 PHN 大鼠的脊髓脊角组织中,TRPV1、PKC- $\delta$  和 p-Akt 的表达水平显著升高,而经过火针治疗后,这种现象得到了显著逆转,这表明火针的镇痛作用可能是通过抑制 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 信号通路的传导来实现的。具体来说,火针可能通过抑制神经细胞膜上 TRPV1 通道的表达或活性,减少钙离子的内流,进而抑制 PKC- $\delta$  介导的伤害感受传递,并最终抑制 Akt 的磷酸化(尤其是 Ser473 和 Thr308 位点),从而阻断 Akt 信号通路的激活。这一系列作用降低了神经元的兴奋性,减轻了疼痛信号的传递。这一发现为火针治疗 PHN 提供了新的分子机制解释,并为开发新型镇痛策略提供了理论依据。

综上所述,火针疗法通过抑制 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 信号通路,缓解 PHN 大鼠神经痛,为 PHN 的治疗提供新靶向。本研究虽然证实了火针疗法对 PHN 的短期镇痛作用,但仍存在以下局限:首先,实验仅观察了火针疗法的即时效果,缺乏对其长期疗效和潜在不良反应的系统评估;其次,虽然检测到 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt 通路相关蛋白的表达变化,但未采用基因编辑技术或药理学干预等方法来确证该通路的因果作用;此外,研究未排除其他可能的镇痛机制(如内源性阿片系统)的参与,这在一定程度上限制了结论的可靠性。未来研究需通过基因编辑技术、特异性激动剂/抑制剂验证 TRPV1/PKC- $\delta$ /p-

Akt 通路的调控机制,设计多靶点对照实验阐明火针疗法的作用特点,并整合多组学技术系统解析其作用网络。

## 参考文献

- [1] NAGEL M A, GILDEN D. Neurological complications of Varicella zoster virus reactivation[J]. *Current Opinion in Neurology*, 2014, 27(3): 356–360.
- [2] TSENG H F, LEWIN B, HALES C M, et al. Zoster vaccine and the risk of postherpetic neuralgia in patients who developed herpes zoster despite having received the zoster vaccine[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2015, 212(8): 1222–1231.
- [3] SCHMADER K. Herpes zoster[J]. *Annals of Internal Medicine*, 2018, 169(12): 897.
- [4] HAYTHORNTHWAITTE J A, CLARK M R, PAPPAGALLO M, et al. Pain coping strategies play a role in the persistence of pain in post-herpetic neuralgia[J]. *Pain*, 2003, 106(3): 453–460.
- [5] LU L B, XIONG J, CHEN Z J, et al. Efficacy and safety of fire needle vs conventional acupuncture in the treatment of postherpetic neuralgia: A protocol for systematic review and meta analysis[J]. *Medicine*, 2020, 99(41): e22563.
- [6] CHEN C C, KE C H, WU C H, et al. Transient receptor potential vanilloid 1 inhibition reduces brain damage by suppressing neuronal apoptosis after intracerebral hemorrhage[J]. *Brain Pathology*, 2024, 34(5): e13244.
- [7] VELDHUIS N A, LEW M J, ABOGADIE F C, et al. N-glycosylation determines ionic permeability and desensitization of the TRPV1 capsaicin receptor[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(26): 21765–21772.
- [8] LI X, YUAN J, YU X, et al. Effect of PKC/NF- $\kappa$ B on the regulation of P2X3 receptor in dorsal root ganglion in rats with sciatic nerve injury[J]. *Pain Research & Management*, 2020, 2020: 7104392.
- [9] LIU C X, MIAO R Y, RAZA F, et al. Research progress and challenges of TRPV1 channel modulators as a prospective therapy for diabetic neuropathic pain[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2023, 245(Pt1): 114893.
- [10] CHOI J I L, KOEHRN F J, SORKIN L S. Carrageenan induced phosphorylation of Akt is dependent on neurokinin-1 expressing neurons in the superficial dorsal horn[J]. *Molecular Pain*, 2012, 8: 4.
- [11] ZHANG L Y, LIU Z H, ZHU Q, et al. Resolvin D2 relieving radicular pain is associated with regulation of inflammatory mediators, Akt/GSK-3 $\beta$  signal pathway and GPR18[J]. *Neurochemical Research*, 2018, 43(12): 2384–2392.
- [12] LIU Y, QIN X Y, LU X F, et al. Effects of inhibiting the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway on the pain of sciatic endometriosis in a rat model[J]. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2019, 97(10): 963–970.
- [13] LU C C, LIN C Y, LU Y Y, et al. CDDO regulates central and peripheral sensitization to attenuate post-herpetic neuralgia by targeting TRPV1/PKC- $\delta$ /p-Akt signals[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2024, 28(6): e18131.
- [14] LI X N, YANG S H, WANG L, et al. Resveratrol inhibits paclitaxel-induced neuropathic pain by the activation of PI3K/Akt and SIRT1/PGC1 $\alpha$  pathway[J]. *Journal of Pain Research*, 2019, 12: 879–890.
- [15] JIN T, LIU X, LI Y, et al. Electroacupuncture reduces ocular surface neuralgia in dry-eyed guinea pigs by inhibiting the trigeminal ganglion and spinal trigeminal nucleus caudalis P2X3R-PKC signaling pathway[J]. *Current Eye Research*, 2023, 48(6): 546–556.
- [16] PAN H L, KHAN G M, ALLOWAY K D, et al. Resiniferatoxin induces paradoxical changes in thermal and mechanical sensitivities in rats: Mechanism of action[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2003, 23(7): 2911–2919.
- [17] 常成, 宋燕. 甘草酸铵对带状疱疹后遗神经痛大鼠 GLP-1R/IL-10/ $\beta$ -内啡肽通路及脊髓背角小胶质细胞活化的影响[J]. *免疫学杂志*, 2022, 38(1): 81–87.
- [18] LUO W J, YANG F, YANG F, et al. Intervertebral foramen injection of ozone relieves mechanical allodynia and enhances analgesic effect of gabapentin in animal model of neuropathic pain[J]. *Pain Physician*, 2017, 20(5): E673–E685.
- [19] 李辞蓉, 华兴邦, 周浩良, 等. 豚鼠针灸穴位图谱的研制[J]. *上海针灸杂志*, 1992, 11(2): 28–30.
- [20] CHAPLAN S R, BACH F W, POGREL J W, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 1994, 53(1): 55–63.
- [21] JAVED H, REHMATHULLA S, TARIQ S, et al. Perineural application of resiniferatoxin on uninjured L3 and L4 nerves completely alleviates thermal and mechanical hypersensitivity following L5 nerve injury in rats[J]. *Journal of Comparative Neurology*, 2020, 528(13): 2195–2217.
- [22] FELLER L, KHAMMISSA R A G, FOURIE J, et al. Postherpetic neuralgia and trigeminal neuralgia[J]. *Pain Research and Treatment*, 2017, 2017(1): 1681765.
- [23] HONDA P T. Treatment of postherpetic neuralgia by bone marrow aspirate injection: A case report[J]. *World Journal of Clinical Cases*, 2023, 11(15): 3619–3624.
- [24] COHEN E J. Commentary on herpes zoster and postherpetic neuralgia[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2021, 73(9): e3218–e3219.

- [25] ESSEX H, PARROTT S, ATKIN K, et al. An economic evaluation of Alexander Technique lessons or acupuncture sessions for patients with chronic neck pain: A randomized trial (ATLAS)[J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0178918.
- [26] 代景娜, 王琳琳, 付利然. 针灸疗法对带状疱疹后遗神经痛患者血清细胞因子和疼痛因子水平的影响[J]. *广州中医药大学学报*, 2020, 37(7): 1292-1297.
- [27] 马子媛, 刁婧文, 马 忠. 火针治疗带状疱疹急性期的临床研究进展[J]. *新疆中医药*, 2015, 33(2): 70-73.
- [28] 普 彬, 陈国廉, 王雨薇. 火针治疗带状疱疹急性期的临床研究进展[J]. *中国医药指南*, 2024, 22(3): 116-118.
- [29] 王鑫栋, 包颖晨, 韦永政, 等. 岭南火针对带状疱疹后神经痛大鼠背根神经节 PKA/TRPV1 通路的影响[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2021, 35(6): 684-690.
- [30] PEIRS C, WILLIAMS S G, ZHAO X Y, et al. Mechanical allodynia circuitry in the dorsal horn is defined by the nature of the injury[J]. *Neuron*, 2021, 109(1): 73-90.
- [31] CHEN Z M, DOYLE T M, LUONGO L, et al. Sphingosine-1-phosphate receptor 1 activation in astrocytes contributes to neuropathic pain[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(21): 10557-10562.
- [32] WANG M L, PAN W, XU Y, et al. Microglia-mediated neuroinflammation: A potential target for the treatment of cardiovascular diseases[J]. *Journal of Inflammation Research*, 2022, 15: 3083-3094.
- [33] 李晶晶, 张 英, 眭明红, 等. 火针对类风湿关节炎大鼠痛阈及 IL-1、TNF- $\alpha$  的影响[J]. *上海针灸杂志*, 2016, 35(5): 583-587.
- [34] 贺前松. 火针治疗腰椎间盘突出坐骨神经痛的疗效及其作用机理[J]. *西南国防医药*, 2019, 29(10): 1016-1018.
- [35] XING F, GU H W, NIU Q, et al. MZF1 in the dorsal root Ganglia contributes to the development and maintenance of neuropathic pain via regulation of TRPV1[J]. *Neural Plasticity*, 2019, 2019(1): 2782417.
- [36] MIAO L N, PAN D, SHI J H, et al. Role and mechanism of PKC- $\delta$  for cardiovascular disease: Current status and perspective[J]. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 2022, 9: 816369.
- [37] CESARE P, DEKKER L V, SARDINI A, et al. Specific involvement of PKC-Epsilon in sensitization of the neuronal response to painful heat[J]. *Neuron*, 1999, 23(3): 617-624.
- [38] FERREIRA J, TRICHÈS K M, MEDEIROS R, et al. Mechanisms involved in the nociception produced by peripheral protein kinase c activation in mice[J]. *Pain*, 2005, 117(1/2): 171-181.
- [39] CUI W Q, WU H Y, YU X W, et al. The calcium channel  $\alpha 2\delta 1$  subunit: Interactional targets in primary sensory neurons and role in neuropathic pain[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2021, 15: 699731.
- [40] CHEN S P, ZHOU Y Q, LIU D Q, et al. PI3K/Akt pathway: A potential therapeutic target for chronic pain[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2017, 23(12): 1860-1868.
- [41] XU Q H, FITZSIMMONS B, STEINAUER J, et al. Spinal phosphoinositide 3-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin signaling cascades in inflammation-induced hyperalgesia[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2011, 31(6): 2113-2124.
- [42] 王存金, 庞 君, 李 莉, 等. 鞘内注射 GDNF 对神经病理性疼痛大鼠脊髓水平 p-Akt 表达的影响[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2014, 20(4): 208-212, 217.
- [43] GROSSONI V C, FALBO K B, KAZANIETZ M G, et al. Protein kinase C delta enhances proliferation and survival of murine mammary cells[J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2007, 46(5): 381-390.
- [44] KIM Y H, KIM Y S, PARK C H, et al. Protein kinase C-delta mediates neuronal apoptosis in the retinas of diabetic rats via the Akt signaling pathway[J]. *Diabetes*, 2008, 57(8): 2181-2190.

(本文编辑 匡静之)