· 药理 ·

乌头汤改善下行抑制系统损伤以缓解神经病理性疼痛的作用机制

毛志云[1,2]，许琼虹[2]，朱春燕[2*]，林娜[1,2*]
（1. 首都医科大学，北京 100069；2. 中国中医科学院 中药研究所，北京 100700）

［摘要］ **目的**：明确乌头汤（Wutoutang，WTT）对神经病理性疼痛（neuropathic pain，NP）小鼠的镇痛药效，并探索其对下行抑制系统的影响机制。**方法**：ICR 小鼠随机分为假手术组，模型组，普瑞巴林（pregabalin，PGB）组，WTT 高（WTT-H），中（WTT-M），低（WTT-L）剂量组。除假手术组只剥离但不结扎外，其余各组均对 L5 脊神经进行结扎，随后分别以生理盐水，12.60，6.30，3.15 $g \cdot kg^{-1}$ WTT 及 0.025 $g \cdot kg^{-1}$ PGB 对各组小鼠进行灌胃，持续 21 d。采用 Von Frey 法检测 WTT 的镇痛药效；酶联免疫吸附法（ELISA）检测下行抑制系统关键脑区前扣带回皮质（anterior cingulate cortex，ACC）及延髓头端腹内侧核（rostral ventromedial medulla，RVM）中的脑源性神经营养因子（brain derived neurotrophic factor，BDNF）和 5-羟色胺（5-hydroxytryptarnjne，5-HT）的蛋白表达水平；蛋白免疫印迹法（Western blot）分析磷酸化细胞外信号调节激酶（phosphorylated-extracellular signal-regulated kinase，p-ERK）和突触后致密蛋白-95（postsynaptic density protein-95，PSD-95）的蛋白表达量。**结果**：给药第 21 天，与假手术组比较，模型组小鼠机械痛敏阈值明显降低（$P<0.01$），且其 RVM 和 ACC 核团内 5-HT 和 BDNF 的表达水平也明显下降（$P<0.05$），而 p-ERK 和 PSD-95 蛋白表达却明显升高（$P<0.05$）；与模型组比较，WTT 组小鼠机械痛敏阈值显著回升（$P<0.01$），5-HT 和 BDNF 表达量明显提高（$P<0.05$），同时 p-ERK 和 PSD-95 蛋白表达有所抑制。**结论**：WTT 能缓解小鼠 NP，且可能是通过调节下行抑制系统中 RVM 和 ACC 内 5-HT，BDNF，p-ERK 和 PSD-95 的蛋白表达水平而发挥作用。

［关键词］ 乌头汤；神经病理性疼痛；下行抑制系统；脊神经结扎
［中图分类号］ R22；R24；R285.5；R264 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2018)05-0082-06
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.2018050082
［网络出版地址］ http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171212.1735.006.html
［网络出版时间］ 2017-12-13 13:13

Mechanism of Wutoutang in Alleviating Neuropathic Pain by Improving Damages of Descending Inhibitory System

MAO Zhi-yun[1,2], XU Qiong-hong[2], ZHU Chun-yan[2*], LIN Na[1,2*]
(1. *Capital Medical University*, *Beijing* 100069, *China*;
2. *Institute of Chinese Materia Medica*, *China Academy of Chinese Medical Sciences*, *Beijing* 100700, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To clarify the analgesic effects of Wutoutang (WTT) on neuropathic pain (NP) mice and explore the mechanism of its effect on the descending inhibitory system. **Method**: ICR mice were randomly divided into the Sham operation group, spinal cord ligation (SNL) group, pregabalin (PGB) group, WTT high, middle and low dose (WTT-H, WTT-M and WTT-L) groups. The L5 spinal nerve was stripped in mice of Sham group, and was stripped and then tightly ligated in other groups. After that, the mice were gavaged with

［收稿日期］ 20171020(013)
［基金项目］ 国家自然科学基金项目(81603322，81630107，81573878)
［第一作者］ 毛志云，在读硕士，从事中药药理研究，Tel：010-64014411-2869，E-mail：13691164405@163.com
［通信作者］ * 林娜，博士，研究员，从事中药药性理论和中药药理研究，Tel：010-64014411-2869，E-mail：linna888@163.com；
* 朱春燕，博士，助理研究员，从事中药药理研究，Tel：010-64014411-2869，E-mail：xijiangyue3013@163.com

saline, 12.60, 6.30 and 3.15 g·kg^{-1}WTT, and 0.025 g·kg^{-1}prebahrain respectively for 21 days. The analgesic efficacy of WTT was identified by the Von Frey method; the protein expression levels of brain derived neurotrophic factor (BDNF) and 5-hydroxytryptarnjne (5-HT) in key brain regions of descending inhibitory system, the anterior cingulate cortex (ACC) and the rostral ventromedial medulla (RVM) for example, were detected in each group by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); and the protein expression levels of phosphorylated-extracellular signal-regulated kinase (p-ERK) and postsynaptic density protein-95 (PSD-95) were analyzed by Western blot assay. **Result**: At day 21 of administration, the mechanical pain threshold value was significantly decreased in model group as compared with the Sham operation group ($P<0.01$), and the expression levels of 5-HT and BDNF in RVM and ACC were also decreased ($P<0.05$), while the proteinexpression levels of p-ERK and PSD-95 were elevated ($P<0.05$). Themechanical pain threshold valuein WTT groups was significant higher than that in SNL group ($P<0.01$), and both the mentioned 5-HT and BDNF expression levels were increased ($P<0.05$), while the protein expression levels of p-ERK and PSD-95 were inhibited by WTT. **Conclusion**: WTT can alleviate NP in mice, and the mechanismmay be associated with regulating the expression levels of 5-HT, BDNF, p-ERK and PSD-95 proteins in RVM and ACC of descending inhibitory system.

[**Key words**] Wutoutang; neuropathic pain; descending inhibitory system; spinal nerve ligation

神经病理性疼痛(neuropathic pain, NP)是一种由疾病或躯体感觉系统损伤引发的慢性难治性痛[1],主要症状表现为自发性疼痛或痛觉过敏,其人群患病率高达 8%[2]。传统的抗炎症性疼痛药物对 NP 的治疗药效并不理想,而专门针对 NP 的一线药物如普瑞巴林则存在副作用大、药效持续时间短等缺点,这使得 NP 的有效治疗面临巨大的挑战[3]。

下行抑制系统是外周损害性信息向中枢神经系统传导及中枢镇痛信号下传的重要结构。传统的下行抑制系统起源于中脑导水管周围灰质(periaqueductal gray, PAG),经过延髓头端腹内侧核(rostral ventromedial medulla, RVM)下行投射神经元的中继,对脊髓背角浅层的脊髓-丘脑投射神经元产生抑制作用,发挥其镇痛功能[4]。前扣带回皮质(anterior cingulate cortex, ACC)作为边缘系统中最大的结构之一,是参与痛情绪处理的重要脑区[5]。大量研究显示,下行抑制系统内 5-HT[6], P 物质[7]在 NP 镇痛中具有显著疗效。

乌头汤(Wutoutang, WTT)源于张仲景《金匮要略》,由制川乌、黄芪、麻黄、芍药和炙甘草组成,具有散寒除湿,除痹止痛的功效。越来越多的临床研究表明 WTT 除了能缓解慢性炎症疼痛[8-9]外,对三叉神经痛[10]等 NP[11]具有良好的疗效,但相关机制尚不明确。本研究拟采用脊神经结扎(spinal nerve ligation, SNL)小鼠模型,观察 WTT 治疗 NP 的药效及特点,并以下行抑制系统为切入点进行相关作用机制探索。

1 材料

1.1 动物 雄性 8 周龄清洁级的 ICR 小鼠,购自维通利华生物科技有限责任公司,许可证号 SYXK(京)2015-0041,动物标准饲养,温度控制的环境(23 ± 1) ℃,相对湿度(55 ± 5)%,保持 12 h 明暗周期,自由摄食饮水。本研究获得中国中医科学院中药研究所实验动物伦理委员会批准[中药科服字(2013) D12]。

1.2 药物与试剂 所有药材均购于北京同仁堂药房,经中国中医科学院胡世林教授鉴定均为正品,符合 2015 年版《中国药典》规范。普瑞巴林胶囊(重庆赛维药业有限公司,国药准字 H20130073);5-羟色胺(5-HT) 酶联免疫吸附(ELISA)测定试剂盒,小鼠脑源性神经因子(BDNF)ELISA 测定试剂盒(盛世中方生物技术有限公司,货号分别为 E-EL-0033C, E-EL-M0203C);Minute 总蛋白提取试剂盒(美国 Invent 公司,货号 SD-001/SN-002);BCA 蛋白浓度测定试剂盒,增强化学发光法(ECL)试剂盒(碧云天生物技术有限公司,货号分别为 P0010S, P0018);脱脂奶粉(美国 BD 公司,货号 232100);p-ERK1/2抗体,PSD95 抗体(美国 Abcam 公司,货号分别为 ab50011, ab76115);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(美国 EarthOx 公司,货号 E021010)。

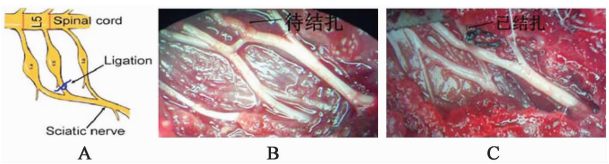
1.3 仪器 VonFrey 型针刺痛觉测试套件(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);MK3 型全自动酶标仪(Thermo 公司);TD5A-WS 型低速台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);Powerpac™ Basic 型电

泳仪,Mini Trans-Blot® Cell 型转移电泳槽(美国 Bio-Rad 公司);Fusion FX5 型凝胶成像仪(法国 Vilber 公司)。

2 方法

2.1 药品 WTT 水煎液,制备方法为将黄芪 13.5 g,白芍 3.5 g,炙甘草 13.5 g,麻黄 13.5 g,制川乌9 g,加 10 倍体积蒸馏水,熬煮 1.5 h,滤出上清,再加入 8 倍体积蒸馏水,熬煮 1 h,滤出上清,将 2 次上清液混合,浓缩至 500 mL(生药含量 0.5 g·mL^{-1}),-4 ℃保存备用。

2.2 分组和模型构建 在动物适应性喂养 3 d,且体质量达到 28 g 时,进行基础痛域检测,排除异常个体。以随机分组的方式,将动物分为假手术组,模型组,普瑞巴林组,WTT 高、中、低剂量组,并开始 SNL 模型的构建[12]。假手术组在以水合氯醛麻醉后,仅暴露并拔除第 6 腰椎横突,分离第 6,5,4 脊神经,后缝合。其余各组小鼠,均以水合氯醛麻醉,解剖镜下暴露第 6 腰椎横突并拔除,分离第 6,5,4 脊神经,以 6 号眼科线对第 5 脊神经进行结扎,后缝合。模型构建见图 1。



A. 第 5 脊神经结扎模式;B. 第 5 脊神经待结扎实体;C. 第 5 脊神经已结扎实体

图 1 小鼠 SNL 模型构建

Fig. 1 Construction of mice SNL model

2.3 给药 模型构建后把制好的 WTT 分别按高剂量 0.01 mL·g^{-1},中剂量 0.005 mL·g^{-1},低剂量组 0.002 5 mL·g^{-1}的量给 WTT 组小鼠进行灌胃给药(临床人用剂量等效剂量换算),普瑞巴林组给予 0.025 g·kg^{-1}普瑞巴林,每天给药 1 次,持续 21 d,假手术组及模型组灌胃等量的生理盐水。

2.4 取材 第 21 天取脑组织,先将异戊烷放入 -80 ℃冰箱降温,然后把脑组织放入异戊烷中浸泡1 ~2 min,取出,-80 ℃冰箱存放,用于核团总蛋白的提取。

2.5 机械痛敏检测方法 按 Chaplan 等[13]报道的"Up-Down"法,将小鼠置于金属网上,盖以透明的有机玻璃罩(110 mm×90 mm×210 mm)。首先让小鼠适应环境约 60 min,待小鼠的各种探究活动基本消失后,用一系列标准化的 Von Frey 尼龙丝刺激小鼠手术侧后肢足底外侧,使 Von Frey 尼龙丝弯成 S 形,持续 6 ~8 s,观察缩足反应。首先使用 0.16 尼龙丝进行刺激,直至找到引起缩足反应的最细的纤维,其结果记为第 1 次,此后按照"Up-Down"法再测 5 次,共记录 6 次结果。根据下列公式计算小鼠的 50% 缩足阈值(50% withdrawal threshold)[13],50% 缩足阈值 = ($10^{[x+k\&]}$)/10 000(x 为最后一次刺激强度;k 为不同刺激方式的系数;& 为各刺激强度取对数后间距的平均值,& = 0.224)。

2.6 检测方法 提取脑组织相关的神经核团总蛋白,采用 ELISA 检测 BDNF 和 5-HT 的表达,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 p-ERK 和 PSD95 的表达。

2.6.1 ELISA 检测 RVM 和 ACC 组织中 BDNF 和 5-HT 的表达 将各组脑组织进行由前至后的冠状面冰冻切片,收集 RVM 和 ACC 组织,采用 Minute 总蛋白提取试剂盒提取 RVM 和 ACC 总蛋白,离心取上清,在各孔中加入对照品或样品各 100 μL,37 ℃孵育 90 min,倒去孔内液体,加入生物素化抗体工作液 100 μL,37 ℃孵育 60 min,洗涤 3 次,加入酶结合物工作液 100 μL,37 ℃孵育 30 min,洗涤 5 次,加入底物 90 μL,37 ℃孵育 15 min 左右,加入终止液 50 μL,立即在 450 波长处测量吸光度 A。

2.6.2 Western blot 检测 RVM 和 ACC 组织中 p-ERK,PSD95 蛋白表达 将各组脑组织进行由前至后的冠状面冰冻切片,收集 RVM 和 ACC 组织,采用 Minute 总蛋白提取试剂盒提取 RVM 和 ACC 总蛋白,离心取上清,采用 BCA 试剂盒定量变性后上样。用 8% 十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离总蛋白,采用湿转法转移至聚偏氟乙烯膜上,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,加入 p-ERK,PSD95 抗体(1∶1 000)孵育 24 h,TBST 洗涤 3 次,加入相应的二抗(1∶40 000),室温孵育 2 h,ECL 法显影,以目的蛋白灰度值/内参灰度值表示蛋白相对表达量,GAPDH 作为蛋白内参标化。

2.7 统计学分析 采用 Graphpad Prism 5 软件进行统计学分析,各组所得数据采用单因素方差分析(one-way ANOVA)-tukey 检验,所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,$P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 WTT 对 SNL 小鼠机械痛敏的影响 根据第 0 天的 50% 缩爪阈值对小鼠进行了随机分组。第 21 天灌胃后 1,24 h,与假手术组比较,模型组的 50% 缩爪阈值组显著降低($P < 0.01$),表明 SNL 小鼠具

有持续的痛敏症状;与模型组比较, WTT 3 个给药组灌胃后 1 h 均能不同程度减轻机械痛敏症状,其中高剂量组减轻最明显($P<0.01$),且能将这一作用维持到给药后 24 h($P<0.01$),2 个时间点的强度接近,均比普瑞巴林组的作用明显($P<0.01$),结果表明 WTT 具有较稳定而持久的镇痛作用。见表 1。

表 1　乌头汤对 SNL 小鼠机械痛敏的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

Table 1　Analgesic effect of Wutoutang on SNL mice($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	剂量/ g·kg^{-1}	50% 缩足阈值/g		
		第 0 天	第 21 天给药后 1 h	第 21 天给药后 24 h
假手术	–	0.830 ± 0.069	0.524 ± 0.005	0.511 ± 0.006
模型	–	0.857 ± 0.048	0.017 ± 0.002$^{2)}$	0.017 ± 0.002$^{2)}$
乌头汤	12.60	0.890 ± 0.044	0.518 ± 0.019$^{4)}$	0.486 ± 0.012$^{4)}$
	6.30	0.837 ± 0.058	0.076 ± 0.011$^{4)}$	0.044 ± 0.002
	3.15	0.944 ± 0.099	0.032 ± 0.005	0.033 ± 0.003
普瑞巴林	0.025	0.873 ± 0.038	0.275 ± 0.009$^{4)}$	0.047 ± 0.016

注:与假手术组比较$^{1)}$ $P<0.05$,$^{2)}$ $P<0.01$;与模型组比较$^{3)}$ $P<0.05$,$^{4)}$ $P<0.01$(表 2 ~ 3 同)。

3.2　WTT 对 SNL 小鼠 RVM 和 ACC 内 5-HT 和 BDNF 的蛋白表达的影响　第 21 天,在 ACC, 与假手术组比较,模型组内 BDNF 及 5-HT 的表达水平显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,WTT 显著提高了 BDNF 表达水平($P<0.01$),并具有提高 5-HT 表达水平的趋势;在 RVM,与假手术组比较, 模型组内 BDNF 及 5-HT 的表达水平显著降低($P<0.01$),与模型组比较, WTT 显著提高了 BDNF 及 5-HT 的表达水平($P<0.05$)。提示下行抑制系统,特别是 ACC 及 RVM 是 WTT 治疗 NP 的关键脑神经核团靶点之一。见表 2。

表 2　乌头汤对 SNL 小鼠 RVM 和 ACC 内 5-HT 和 BDNF 的蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 2　Wutoutang regulates expression levels of 5-HT and BDNF proteins in RVM and ACC of SNL mice($\bar{x}\pm s, n=5$)　ng·g^{-1}

组别	剂量/ g·kg^{-1}	BDNF		5-HT	
		ACC	RVM	ACC	RVM
假手术	–	43.41 ± 2.94	57.33 ± 4.80	55.81 ± 6.42	73.65 ± 6.89
模型	–	27.80 ± 2 750$^{2)}$	29.56 ± 3.02$^{2)}$	30.04 ± 2.25$^{2)}$	46.29 ± 3.52$^{1)}$
乌头汤	12.60	38.30 ± 3.07$^{4)}$	46.87 ± 4.23$^{3)}$	45.77 ± 4.22	74.44 ± 7.55$^{3)}$

3.3　WTT 对 SNL 小鼠 RVM 和 ACC 内 p-ERK 和 PSD95 蛋白表达量的影响　第 21 天,在 ACC 内,与假手术组比较, 模型组内 p-ERK 蛋白表达量显著升高($P<0.01$),与模型组比较,WTT 显著降低了 p-ERK 蛋白表达量($P<0.05$);相似地,与假手术组比较,模型组内 PSD95 蛋白表达量显著升高($P<0.01$),与模型组比较,WTT 对 PSD95 蛋白表达量也显著缓解($P<0.01$);在 RVM 内,与假手术组比较, 在模型组内 p-ERK 及 PSD95 蛋白的表达均具有升高的趋势,与模型组比较,WTT 具有缓解 p-ERK及 PSD95 表达水平升高的趋势,但不具有可比性。见表 3,图 2。

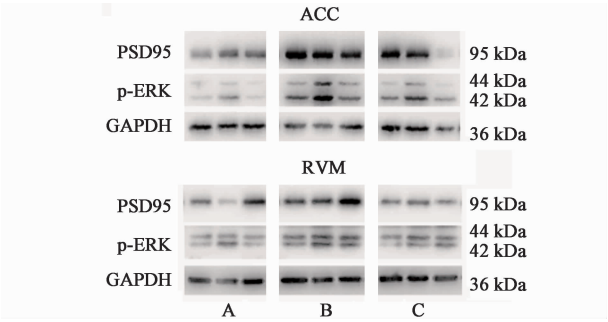
表 3　乌头汤调节 SNL 小鼠 RVM 和 ACC 内 p-ERK 和 PSD95 蛋白表达量的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3　Wutoutang regulates expression of p-ERK and PSD95 proteins in RVM and ACC of SNL mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/ g·kg^{-1}	pERK/GAPDH		PSD95/GAPDH	
		ACC	RVM	ACC	RVM
假手术	–	0.36 ± 0.07	0.74 ± 0.34	0.89 ± 0.12	0.44 ± 0.10
模型	–	2.88 ± 0.88$^{2)}$	0.98 ± 0.39	4.03 ± 0.76$^{2)}$	0.75 ± 0.13
乌头汤	12.60	0.98 ± 0.12$^{3)}$	0.78 ± 0.33	1.44 ± 0.29$^{4)}$	0.27 ± 0.03$^{4)}$

4　讨论

NP 是一种公认的难治性慢性疼痛,患者需要长期治疗。现有一线药物虽然具有镇痛效果显著的优势,但是,长期高剂量用药给患者带来严重的副反应



A. 假手术组;B. 模型组;C. 乌头汤组

图 2　乌头汤调节 SNL 小鼠 RVM 和 ACC 内 p-ERK 和 PSD95 蛋白表达量的影响

Fig. 2　Wutoutang regulates expression of p-ERK and PSD95 proteins in RVM and ACC of SNL mice

及耐药性风险。WTT 中制川乌行气止痛,温经散寒;麻黄散寒达表,发汗祛湿,行气止痛;黄芪益气利湿,并助麻黄通阳之功,芍药配甘草开痹而通血脉,使阴阳宣通,气血畅行。诸药合用有散寒除湿,除痹止痛之功效[14]。因此,WTT 在临床多应用于炎症性疼痛等慢性疼痛,被证明具有药效稳定的优点,适合长期服用[9]。本组的前期研究显示,在 SNL 模型中,自给药第 17 天起,普瑞巴林的镇痛效果具有缓慢下降的趋势,这可能与普瑞巴林的临床耐药性相关。因此,本研究以中药复方 WTT 为研究对象,探索持续给药状态下,镇痛效果更稳定的治疗手段,研究结果的应用及转化将有助于减轻 NP 患者临床用药中的弊端。

为保证研究的科学性及可重复性,首先,在动物模型的选取上,本研究采用 NP 研究领域国际认可的 SNL 模型。相较于坐骨神经慢性压迫、坐骨神经部分结扎以及坐骨神经分支选择损伤等 NP 模型,SNL 具有痛敏症状稳定、持续,动物个体差异小的特点[12],有利于研究的重复。其次,笔者选用 NP 一线药物普瑞巴林做为阳性药,以保证研究体系的客观和科学。在剂量的选择上,笔者设定了 WTT 低、中、高 3 个剂量,分别等效于 WTT 应用于炎症性疼痛临床治疗的 1/2 倍,1 倍及 2 倍等效剂量。在此研究平台内,笔者发现,针对 NP 动物模型,中剂量 WTT 虽有一定的镇痛效果,但高剂量的药效更为稳定及持续。在普瑞巴林药效开始出现衰减的阶段,即第 21 天,高剂量的 WTT 镇痛效果及药效持续时间均显著高于普瑞巴林[15],即针对炎症性疼痛临床 2 倍剂量的 WTT 在 NP 治疗中具有突出的优点,本研究初步阐述了 WTT 在炎症性及 NP 两种慢性疼痛中用药剂量的差异,并将进一步指导 WTT 在 NP 中的临床应用。

药理研究表明,WTT 的主要药效靶点具有阶段性。在病理急性期,WTT 以脊髓胶质细胞为靶点,参与脊髓中枢敏化的调控[16];而病理后期,当外周及脊髓的炎症反应消失后,WTT 是否可以调控 NP 在脑神经核团内的中枢敏化及下行抑制尚属未知。因此,本研究针对下行抑制系统,进一步发掘 WTT 的药理机制。

下行抑制系统是机体最重要的镇痛单元。而 RVM 及 ACC 是下行抑制系统重要的组成部分。RVM 接受多个脑神经核团的上位调节,并向脊髓背角浅层发出下行投射,参与外周伤害性信息向中枢传递的调控[17]。而 ACC 是脑边缘系统的重要组成部分,通过激活脑干的 5-HT 能下行疼痛调控系统从而在慢性痛的发生、发展和调控中发挥重要作用[18]。在整个下行抑制系统中,5-HT 是重要的神经递质[19],在维持机体内源下行抑制系统的完整性中起到重要作用,并受到 BDNF 表达量的密切调控[20-22]。本研究显示,WTT 对 ACC 及 RVM 内 5-HT 的病理性降低具有显著的缓解效果,提示在 NP 病理的后期,WTT 可以对下行抑制系统的异常进行调控,并解释其药效稳定而持续的特点。

近年来,大量研究表明,下行抑制系统内兴奋性传入神经元的异常激活在 NP 病理中具有重要意义。而传入神经元兴奋性的改变与 PSD95[23],p-ERK[24]的表达量改变密切相关。本研究显示,WTT 对 ACC 及 RVM 内 PSD95 及 p-ERK 表达量的异常升高亦有显著的缓解效果,这提示了 WTT 针对下行抑制系统的调节可能不仅仅停留于对 5-HT 能神经元的功能性调控,其对上传疼痛信号的兴奋性神经元的抑制以及中枢敏化的调节,也是达到镇痛效果的途径。

本研究中,以 NP 病理晚期为研究对象,发掘 WTT 的镇痛效果并初步探索其脑神经机制。笔者发现,在 NP 的脑中枢阶段, WTT 具有良好的镇痛药效。并进一步在下行抑制系统的重要核团,即 ACC 及 RVM 内,阐明 WTT 对 5-HT,BDNF,p-ERK 和 PSD-95 的蛋白表达的有效调控。

[参考文献]

[1] Jesen T S, Baron R, Haanpaa M, et al. A new definition of neuropathic pain [J]. Pain, 2011, 152 (3): 2204-2205.

[2] Gustorff B, Dorner T, Likar R, et al. Prevalence of

self-reported neuropathic pain and impact on quality of life: a prospective representative survey [J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2008, 52(1):132-136.

[3] Kerstman E, Ahn S, Battu S, et al. Neuropathic pain [J]. Hosp Med, 2012, 61(11):760-766.

[4] Hammond D L. *Control Systems for Nociceptive Afferent Processing*[M]. New York:Springer, 1986:363-390.

[5] Price D D. Psychological and neural mechanisms of the affective dimension of pain[J]. Science, 2000, 288(5472):1769-1772.

[6] 杨宇, 陈梦, 张美琴,等. 内源性下行抑制易化系统与5-羟色胺对脊髓伤害感受性信息的调制[J]. 中国卫生产业, 2014(9):20-21.

[7] 王晓琳. P 物质参与小鼠中枢内源性下行抑制系统镇痛效应的形态学研究[D]. 西安:第四军医大学, 2007.

[8] 王丹华, 刘春芳, 谭淑芳,等. 乌头汤对大鼠的镇痛作用及初步机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10):109-112.

[9] WANG C, LIU C, WAN H, et al. Wu-Tou decoction inhibits chronic inflammatory pain in mice: participation of $TRPV_1$ and $TRPA_1$ ion channels[J]. Biomed Res Int, 2015, doi: 10.1155/2015/328707.

[10] 白光辉, 张建华. 加减乌头汤治疗三叉神经痛 28 例[J]. 现代中西医结合杂志, 2003, 12(4):385-385.

[11] 周红, 何秀云, 邹清芳. 乌头汤治疗转移性骨癌疼痛 48 例疗效观察[J]. 四川中医, 2013(5):92-93.

[12] Kim S H, Chung J M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat [J]. Pain, 1992, 50(3): 355-363.

[13] Chaplan S R, Bach F W, Pogrel J W, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. J Neurosci Methods, 1994, 53(1):55-63.

[14] 程伟,韦云. 浅谈疼痛的中医辨证[J]. 中国中医基础医学杂志,2013,19(5):497-498.

[15] ZHANG Y Q, WANG C, GUO Q Y, et al. Molecular mechanisms of the analgesic action of Wu-tou decoction on neuropathic pain in mice revealed using microarray and network analysis [J]. Acta Pharmacol Sin, 2017, doi: 10.1038/aps.2017.110.

[16] ZHOU J, LIN W, CHEN H, et al. TRESK contributes to pain threshold changes by mediating apoptosis *via* MAPK pathway in the spinal cord[J]. Neuroscience, 2016, doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.10.039.

[17] 黄章翔, 俞卫锋. 延髓头端腹内侧核团 P2X7 受体参与骨癌痛:下行易化作用机制研究[C]//2011 中华医学会全国麻醉学术年会论文集. 北京:2012 年.

[18] 方芳, 邵晓梅, 沈醉,等. 神经病理痛模型大鼠前扣带皮层不同水平磷酸化细胞外信号调节激酶表达差异比较[J]. 解剖学报, 2014,5(5):610-615.

[19] 门凌, 张洪钦. 治偏痛胶囊治疗偏头痛的疗效及对血浆 5-羟色胺的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13):336-339.

[20] Constandil L, Aguilera R, Goich M, et al. Involvement of spinal cord BDNF in the generation and maintenance of chronic neuropathic pain in rats[J]. Brain Res Bull, 2011, 86(5/6):454-459.

[21] Marcol W, Kotulska K, Larysz-Brysz M, et al. BDNF contributes to animal model neuropathic pain after peripheral nerve transection[J]. Neurosurg Rev, 2007, 30 (3):235-243.

[22] Mattson M P, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders [J]. Trends Neurosci, 2004, 27(10):589-594.

[23] TAO F, TAO Y X, MAO P, et al. Role of postsynaptic density protein-95 in the maintenance of peripheral nerve injury-induced neuropathic pain in rats [J]. Neuroscience, 2003, 117(3):731-739.

[24] Garg G, Adams J D. Treatment of neuropathic pain with plant medicines[J]. Chin J Integr Med, 2012, 18(8): 565-570.

[责任编辑　邹晓翠]