

本文引文格式:莫巧明,廖炼炼,廖文彦,等. 壮医针刺对神经病理性疼痛大鼠脊髓背角自噬蛋白表达的干预作用研究[J]. 右江民族医学院学报, 2023, 45(2): 242-246, 258.

【论著与临床报道】

## 壮医针刺对神经病理性疼痛大鼠脊髓背角自噬蛋白表达的干预作用研究

莫巧明<sup>1</sup>, 廖炼炼<sup>1</sup>, 廖文彦<sup>1</sup>, 邹文静<sup>1</sup>, 艾文杰<sup>1</sup>, 梁英业<sup>2</sup>, 田永强<sup>3</sup>

(1. 广西中医药大学附属国际壮医医院, 广西南宁 530201;

2. 广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530023;

3. 广西中医药大学, 广西南宁 530001)

**摘要:**目的 从大鼠脊髓背角自噬蛋白 P62 表达的变化及其相关作用机制探讨壮医针刺对神经病理性疼痛大鼠产生镇痛作用的原理。**方法** 将 SD 大鼠 50 只随机分为正常组、假手术组、模型组、非经非穴组、壮医针刺组, 共 5 组, 每组 10 只。其中除正常组和假手术组外, 其余 3 组以结扎 L5 脊神经建立模型 (SNL 模型) 以模拟神经病理性疼痛。在术前 (0 d)、术后第 1 天、第 14 天对各组大鼠行热痛缩足反应潜伏期 (PWTL) 测定, 于术后第 1 天测定行为学指标后开始对非经非穴组、壮医针刺组进行干预, 连续干预 14 d, 另外 3 组不采取干预措施, 于术后第 14 天行 Western Blot 测定, 检测大鼠 L4-6 脊髓背角 P62 蛋白表达水平, 行 ELISA 测定, 检测大鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$  含量。**结果** 术前各组大鼠热痛缩足反应潜伏期 (PWTL) 的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 术后第 1 天模型组、非经非穴组、壮医针刺组 PWTL 显著降低, 与正常组、假手术组相比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 模型组、非经非穴组、壮医针刺组之间的 PWTL 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 术后第 14 天壮医针刺组 PWTL 高于模型组和非经非穴组 ( $P < 0.01$ )。术后第 14 天, 与正常组、假手术组比较, 模型组大鼠 P62、IL-6、TNF- $\alpha$  蛋白表达水平升高 ( $P < 0.01$ ), 与模型组、非经非穴组比较, 壮医针刺组大鼠 P62、IL-6、TNF- $\alpha$  表达水平下调 ( $P < 0.05$ )。壮医针刺可下调大鼠 P62、IL-6、TNF- $\alpha$  表达水平。**结论** 壮医针刺对 SNL 模型大鼠疼痛状况具有改善作用, 其机制可能是通过激活细胞自噬机制, 从而减少相关炎症因子产生, 减轻其对神经末梢的刺激以缓解疼痛。

**关键词:** 壮医针刺; 神经病理性疼痛; 自噬

**中图分类号:** R246.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-5817(2023)02-0242-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.02.013

### Interventional effects of Zhuang Medicine acupuncture on the expression of autophagy protein in spinal dorsal horn of rats with neuropathic pain

Mo Qiaoming<sup>1</sup>, Liao Lianlian<sup>1</sup>, Liao Wenyan<sup>1</sup>, Zou Wenjing<sup>1</sup>,

Ai Wenjie<sup>1</sup>, Liang Yingye<sup>2</sup>, Tian Yongqiang<sup>3</sup>

(1. Guangxi International Zhuang Medicine Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530201, Guangxi, China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi, China; 3. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi, China)

**基金项目:** 广西自然科学基金项目 (2020GXNSFAA259090); 广西国际壮医医院引进人才科研启动基金项目 (GZ2021RC011); 广西国际壮医医院“青苗工程”培育项目 (20222001)

**第一作者简介:** 莫巧明 (1982-), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 针灸推拿理论与应用研究, E-mail: 494554161@qq.com

**通讯作者简介:** 廖炼炼 (1972-), 男, 本科, 主任医师, 研究方向: 针灸推拿理论与应用研究, E-mail: 3595151421@qq.com

**Abstract:** **Objective** To explore the analgesic effect of Zhuang Medicine acupuncture for rats with neuropathic pain (NPP) by studying the changes in the expression of autophagy protein P62 in the spinal dorsal horn of rats and its related mechanism. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into 5 groups: normal group, sham operation group, model group, non-acupoint group, Zhuang Medicine acupuncture group, with 10 rats in each group. Except for the normal group and sham operation group, the other 3 groups underwent L5 spinal nerve ligation to establish a neuropathic pain model (SNL model). The paw withdrawal thermal latency (PWTL) of rats in each group was measured before operation (day 0), and 1 and 14 days after operation. After measuring the behavioral indexes on the first day after operation, the non-acupoint group and Zhuang Medicine acupuncture group were treated with continuous intervention for 14 days. The other 3 groups did not receive intervention. On postoperative day 14, Western Blot was used to test the expression of P62 protein in the L4-6 spinal dorsal horn of rats, and ELISA was used to measure the serum concentrations of IL-6 and TNF- $\alpha$ . **Results** There was no statistical difference in PWTL rats in each group before operation ( $P > 0.05$ ); on postoperative day 1, PWTL in the model group, non-acupoint group, and Zhuang Medicine acupuncture group significantly decreased, and had statistical differences compared with the normal group and sham operation group. There was no statistical difference in PWTL among the model group, non-acupoint group, and Zhuang Medicine acupuncture group ( $P > 0.05$ ); on the 14th day after operation, Zhuang Medicine acupuncture group showed higher PWTL compared with the model group and non-acupoint group ( $P < 0.01$ ). On postoperative day 14, compared with the normal group and sham operation group, the expression levels of P62, IL-6, and TNF- $\alpha$  proteins were up-regulated in the model group ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group and non-acupoint group, the expression levels of P62, IL-6, and TNF- $\alpha$  proteins were down-regulated in the Zhuang Medicine acupuncture group ( $P < 0.05$ ). Zhuang Medicine acupuncture could down-regulate the expression levels of P62, IL-6, and TNF- $\alpha$  in rats with NPP. **Conclusion** Zhuang Medicine acupuncture has an improvement effect on the pain of SNL model rats, and its mechanism may be associated with reduced production of related inflammatory factors by the activation of cellular autophagy, thereby reducing stimulation in nerve endings to alleviate pain.

**Key words:** Zhuang Medicine acupuncture; neuropathic pain; autophagy

神经病理性疼痛(neuropathic pain, NPP)的发生多由于躯体感觉神经系统的损伤和疾病而直接造成<sup>[1]</sup>。它是由周围或中枢神经系统原发或继发性损害、功能障碍或短暂性紊乱(transitory perturbation)而引起的疼痛<sup>[2]</sup>。临床中常见的NPP主要有外周性和中枢性、急性和慢性、刺激诱发性 and 刺激自发性等3种分类方法<sup>[3]</sup>。慢性疼痛的发病,约1/5是由于NPP引起<sup>[4]</sup>,神经损伤和炎症刺激导致NPP患者受到疼痛的困扰,并存在进一步损害肢体功能的可能,对患者的身心健康和经济状况造成极大的负担。目前,现代医学的常规疗法,如口服药物等<sup>[5]</sup>,虽然能够对NPP具有一定的缓解作用,但长时间使用此类药物可产生多种不良反应。基于此,寻求治疗NPP的有效方法以解除患者的痛苦,减轻社会经济负担成为了医学界当前亟待解决的问题。在传统医学中,外治疗法由于其对疼痛治疗的有效性,且无毒副作用的优势,受到了越来越多的重视<sup>[6-8]</sup>。壮医针刺疗法对于疼痛的治疗效果得到了临床的证实,但目前尚缺乏对于其作用机制的相关研究<sup>[9]</sup>。相关文献指出<sup>[10]</sup>,炎症因子的负面刺激

与NPP的发生发展存在密切关联,而细胞自噬对促炎因子具有抑制作用,相关机制已成为NPP研究的热点。P62是细胞自噬过程中的关键蛋白<sup>[11]</sup>。因此,本研究以上述机制为切入点,运用壮医针刺对NPP大鼠模型进行干预,观察验证壮医针刺疗法对NPP的治疗作用及对自噬标志蛋白P62及炎症因子IL-6、TNF- $\alpha$ 表达水平的影响,从而进一步探寻壮医针刺疗法治疗疼痛的内在机制。

## 1 材料

1.1 实验动物 本实验选取50只成年雄性SD大鼠进行,采购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,大鼠体质量在250~300g之间,生产许可证编号:SCXK(湘)2019-0004,使用许可证编号:SYXK(桂)2019-0001。在实验开始前行7d适应性喂养。大鼠均采取单笼喂养,实验室温度控制在20~25℃之间,空气湿度控制住35%~45%之间。保持环境清洁,大鼠可自由饮用自来水,以普通清洁鼠饲料饲养。

1.2 主要试剂 RIPA细胞裂解液(C1053,北京普利莱基因技术有限公司);BCA蛋白定量试剂盒(BCA

Protein Assay Kit) (E-BC-K318-M, Elabscience); 30% 丙烯酰胺 (PAGE Pre-Solution, A1010, Solarbio); 1 M Tris-HCL 缓冲液 (pH=6.8, T1020, Solarbio); 1.5 M Tris-HCL 缓冲液 (pH=8.8, T1010, Solarbio); Marker (# 26617, Thermo); PVDF 膜 (IPVH00010, Millipore); 封闭专用脱脂奶粉 (P1622, 北京普利莱基因技术有限公司); 牛血清白蛋白 (BSA, A8020, 索莱宝); 超敏发光液 (RJ239676, 赛默飞); 内参一抗: Mouse Anti- $\beta$ -Actin (HC201, TransGen Biotech, 1/2000); 二抗: HRP conjugated Goat Anti-Mouse IgG (H+L) (GB23301, Servicebio, 1/2000); 目的一抗: Rabbit Anti p62 (af5384, Affinity, 1/1000); ELISA 试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司, PI328, PT516)。

1.3 主要仪器 单道可调移液器[0.5~10  $\mu$ L, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; 单道可调移液器[20~200  $\mu$ L, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; 单道可调移液器[100~1000  $\mu$ L, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; 低温高速离心机(5424R, Eppendorf); 电热恒温水浴锅(HH-11-2, 上海助蓝仪器科技有限公司); 全自动酶标仪(SuPerMax 3100, 上海闪谱生物科技有限公司); 紫外分光光度计(NP80, NanoPhotometer); 蛋白垂直电泳仪(DYY-6C, 北京市六一仪器厂); 恒温摇床(TC-100B, 上海领成生物科技有限公司); 全自动样品快速研磨仪(Tiss-12, 上海净信实业发展有限公司); 超高灵敏度化学发光成像系统[Chemi DocTM XRS+, 伯乐生命医学产品(上海)有限公司]; 全自动化学发光图像分析系统(Tanon-5200, 上海天能科技有限公司)。

## 1.2 方法

1.2.1 动物分组及造模方法 将 50 只 SD 大鼠随机分为正常组、假手术组、模型组、非经非穴组、壮医针刺组, 每组 10 只。参照相关文献<sup>[12]</sup>的造模方法, 通过手术结扎 L5 脊神经制作神经病理性疼痛大鼠模型(SNL 模型)。具体操作方法如下: 配制 10% 水合氯醛溶液, 按照 4 mL/kg 体质量的标准腹腔注射麻醉大鼠, 常规备皮消毒, 在两侧髂后上嵴水平连线与脊柱交点左侧, 沿脊柱平行方向切开约 2 cm。分离皮肤、筋膜、肌肉后撑开切口露出 L5 椎体双侧横突, 使用咬骨钳夹断椎体与横突之间的骨骼, 暴露 L5 脊神经, 以 5-0 规格的手术缝合线结扎, 操作过程中应注意避免牵拉脊神经以防止造成额外损伤, 双层结扎以避免结扎线脱落。完成结扎后逐层缝合伤口。模型组、非经非穴组、壮医针刺组均采用上述方法造模, 假手术组则只将脊神经暴露几分钟, 不进行结扎, 余步骤同上。

1.2.2 SNL 模型造模成功标准 依照相关文献<sup>[12]</sup>观

察大鼠造模后若出现患肢有外翻情况, 且大鼠出现跛行、自发性抬足、趾间距变窄, 行走时患肢不敢着地等情况, 并检测大鼠热痛缩足反应潜伏期(PWTL)是否降低, 以判定 SNL 模型是否造模成功。

1.2.3 行为学检测 热痛缩足反应潜伏期(PWTL)测定<sup>[13]</sup>: 在 25  $^{\circ}$ C 室温环境下, 调节热板痛觉测试仪温度至 55  $^{\circ}$ C, 放置大鼠到测试仪封闭透明玻璃盒内, 启动计时器。观察到大鼠开始快速抬足、频繁舔足时停止计时, 记录时间。设定该测试仪的切断时间为 30 s, 以防止大鼠烫伤。连续进行 3 次测定, 间隔时间为 5 min, 将 3 次测定时间数据的平均值作为 PWTL 最终的数值。

1.2.4 干预措施 术后第 1 天开始对非经非穴组和壮医针刺组进行干预。壮医针刺组: 采用 0.16 mm  $\times$  13 mm 针灸针, 针刺模拟手背一环 10 穴(取大鼠前肢第五掌骨桡侧距掌指关节 3 mm 处)、内上桩、内中桩、内下桩、足背一环 7 穴(取大鼠在足背把足背横纹中点至第二、第三足趾跖缘上方纹头之间分 4 等份, 以足背中间点为中心, 以 1 等份为半径沿足背形状作一圆环。在足背圆环上按时钟的 1~12 时刻分成 12 等份, 每时刻处为 1 个穴位, 共 12 个穴位。在 7 时刻处为足背一环 7 穴), 针刺深度 3 mm, 斜刺进针, 留针 30 min。连续干预 10 d, 至第 14 天结束。非经非穴组: 建模成功后每天针刺距离相应穴位 3 mm 处假穴位点, 留针 30 min。连续干预 14 d, 至第 14 天结束。其余组别不做干预, 仅观察至第 14 天。

1.2.5 检测标本取材 完成干预后, 在实验第 14 天完成行为学检测后, 将大鼠注射水合氯醛麻醉后采集静脉血, 无痛处死后取出 L4-6 脊髓背角组织, 放入液氮冷却, 放入 -80  $^{\circ}$ C 冰箱保存。

1.2.6 Western Blot 检测 运用 Western Blot(免疫印迹法)检测大鼠脊髓背角蛋白表达水平。取出大鼠脊髓组织后, 以裂解液裂解细胞, 研磨匀浆放入离心机提取总蛋白。转膜后以免疫反应发光处理, 放入凝胶成像仪进行分析, 分别测出 P62 蛋白及内参蛋白条带灰度值, 得到 P62 蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值的比值即为 P62 的相对表达水平。

1.2.7 ELISA 检测 抽取大鼠静脉血后放入试管, 将试管放入离心机离心提取血清, 按照 ELISA 检测试剂盒步骤说明检测大鼠血清中 IL-6、TNF- $\alpha$  的含量水平。

1.3 统计学方法 采用统计软件 SPSS 22.0 统计分析实验数据, 计量资料用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。多组间比较运用单因素方差分析, 两两组间比较, 方差齐采用 *t* 检验, 方差不齐采用秩和检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 PWTL 检测结果 造模前各组大鼠 PWTL 检测数值差异无统计学意义;术后第 1 天模型组、非经非穴组、壮医针刺组 PWTL 检测数值明显低于正常组、假手术组 ( $P < 0.01$ ),模型组、非经非穴组、壮医针刺组之间 PWTL 检测数值差异无统计学意义;术后第 14 天壮医针刺组 PWTL 检测数值高于模型组和非经非穴组 ( $P < 0.01$ )。见表 1、图 1。

表 1 各组大鼠 PWTL 比较 单位:s

组别	n	术前	术后 1 d	术后 14 d
正常组	10	30.56±1.24	31.32±1.72	31.76±1.21
假手术组	10	30.27±0.87	25.47±1.49	28.69±1.15
模型组	10	31.19±1.06	9.95±0.86 <sup>a</sup>	11.12±0.84 <sup>b</sup>
非经非穴组	10	29.43±0.92	10.06±1.36 <sup>a</sup>	12.38±0.97 <sup>b</sup>
壮医针刺组	10	31.38±1.15	9.83±1.05 <sup>a</sup>	21.74±0.86
F		0.438	540.263	752.794
P		0.780	<0.001	<0.001

注:①表内计量资料数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示。②与正常组、假手术组比较,a: $P < 0.01$ ;与壮医针刺组比较,b: $P < 0.01$ 。

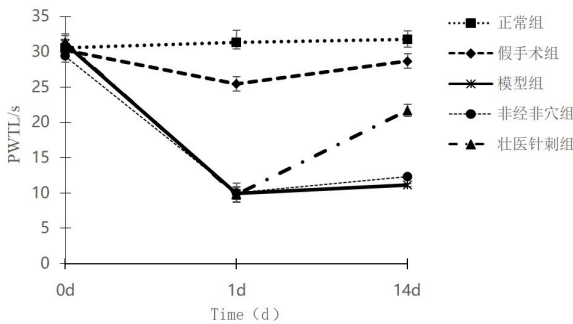


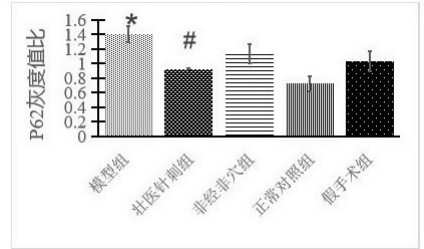
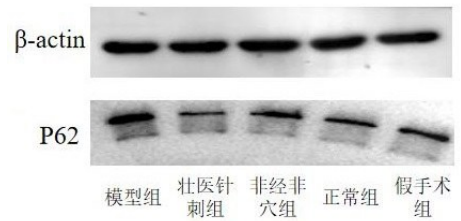
图 1 各组大鼠术前(0 d)、术后第 1 天、第 14 天 PWTL 比较

2.2 大鼠脊髓背角 P62 含量的变化 术后第 14 天,与正常组、假手术组比较,模型组大鼠脊髓背角 P62 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.01$ ),与模型组、非经非穴组比较,壮医针刺组大鼠脊髓背角 P62 蛋白表达水平下调 ( $P < 0.05$ )。见图 2。

2.3 大鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$  含量的变化 造模后第 14 天,正常组大鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$  含量处于低水平,与正常组、假手术组相比较,模型组血清 IL-6、TNF- $\alpha$  含量升高 ( $P < 0.01$ ),与模型组、非经非穴组相比较,壮医针刺组可下调大鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$  含量 ( $P < 0.05$ )。见图 3、图 4。

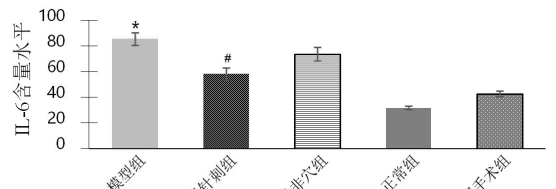
## 3 讨论

壮医认为“疾患并非无中生,乃系气血不均衡”,指出了疼痛治疗的关键在于“通”,“通则不痛”,及时调畅龙路和火路,使局部得到气血滋养是治疗疼痛的指导思想<sup>[14]</sup>。“三道两路”是壮医学理论中所描述的人体



注:与正常组、假手术组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组、非经非穴组比较,# $P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠 P62 蛋白表达变化



注:与正常组、假手术组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组、非经非穴组比较,# $P < 0.05$ 。

图 3 各组大鼠血清 IL-6 含量变化

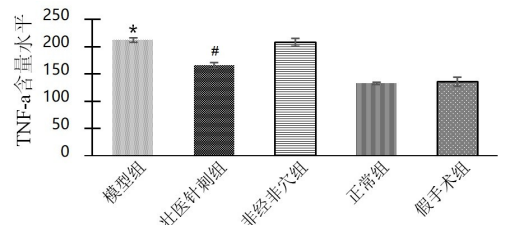


图 4 各组大鼠血清 TNF- $\alpha$  含量变化

基本生理系统,其中两路之中的龙路为人体血液循环系统,火路的作用则与现代医学中人体神经系统相类似<sup>[15]</sup>。两路与疼痛密切相关,两路不通或不荣皆可造成疼痛,具体包含虚实两个方面的病机,涵盖了气血循环不畅、神经通路受阻、病理性因子堵塞、气虚流动及相关神经递质、调节因子异常等情况。疼痛发生时,人体常出现“不通”的病理状态,而气血运行受阻又会导致病变部位出现“不荣”。气与血相互配合,运行流畅是维持人体正常生理状态的重要基础。当毒邪外侵机体,阻滞两路,使机体气血运行不畅,气血失衡,瘀血阻滞龙路、火路,或毒邪未尽,毒瘀互结,阻滞龙路、火路,致使两路道路不通,而发为 NPP。NPP 属龙路病、火路病范畴。大多数患者常常出现明显的持续性烧灼痛、闪电样或撕裂样疼痛,发作时患者常觉寝食不安,

龙、火二路发生疼痛时持续数日或数月不等,部分可缠绵数年<sup>[16]</sup>。该病对患者的身心健康和生活质量具有严重的负面影响。

本研究通过运用壮医针刺疗法刺激手背一环 10 穴、内上桩、内中桩、内下桩、足背环一 7 穴对疼痛模型大鼠进行干预<sup>[17]</sup>。壮医针刺疗法在临床上大量运用环穴,其理论来源<sup>[17]</sup>为壮医针刺选穴的重要理论依据和指导原则“天圆地方”。以方圆对应天地,运用取象比类的思维,将“动”与“衡”的特点体现在配穴处方中,通过动态调整气血以恢复人体的平衡。手背一环 10 穴,为天部穴位,在壮医看来,手部在人体各部位中运动频率最高,联系现代解剖学知识,手部所对应的大脑皮层面积最大,手部神经末梢对针刺刺激的敏感程度也非常高,故通过刺激手背环穴可迅速将刺激信号传入“巧坞”(大脑),从而形成良性反馈,通利三道两路以缓解疼痛。与手背环穴为天部在上相对应,内上桩、内中桩、内下桩三穴为地部穴,又称为“地内三桩”,天地相对共同调节整体气血的流动。足背一环 7 穴为位于足背部,属于足背环穴之一,临床上可治疗腰腿疼痛等位于人体下部的疼痛,且足背部神经末梢亦较为敏感。故本研究所取穴位能够通过整体调节气血达到治疗疼痛的效果。

炎症是人体常见的一种病理状态,在多种疾病中均可出现。炎症对人体的损害是多方面的,可影响多个系统的生理功能,其负面刺激性作用是导致疼痛发生的重要因素,是 NPP 发生发展的重要机制<sup>[18]</sup>。炎症因子对神经系统除具有免疫相关作用外,其对神经细胞的刺激是造成疼痛的重要原因<sup>[19]</sup>。炎症表达和神经损伤是 NPP 的主要病理基础,神经损伤状态下,IL-6、TNF- $\alpha$  等炎症因子从脊髓背角和背根神经节中诱导释放,引起炎症发生,并通过级联放大作用降低神经元兴奋阈值,使外周和中枢的神经感受器致敏,提高痛觉敏感性<sup>[20]</sup>。细胞自噬是一种细胞自我保护性机制,在 NPP 发生发展过程中,自噬机制也参与到其中<sup>[21]</sup>。其对于相关促炎性因子具有清除作用<sup>[21]</sup>,通过自噬小体的吞噬作用,可清除对神经细胞具有负面刺激作用的促炎分子,解除负面刺激作用,从而抑制炎症表达并缓解由此带来的疼痛<sup>[22]</sup>,对细胞也具有保护作用<sup>[23]</sup>。相关研究表明,NPP 发生时常出现自噬调节失衡。在病理性因素的刺激下,人体启动细胞自噬,清除受损细胞器,识别炎症信号,清除有害炎症因子以调控炎症表达水平,抑制炎症刺激以缓解疼痛。相关实验研究也证实了自噬抑制了 SNL 大鼠脊髓背角神经元的凋亡<sup>[24]</sup>。自噬机制调节炎症表达对缓解疼痛起到重要的调节作用,对 IL-6、TNF- $\alpha$  等炎症因子的表达具有抑制作用<sup>[25]</sup>。

P62 是一种重要的自噬标志性蛋白,是自噬机制中的特异性底物。在自噬过程中,P62 首先结合细胞内泛素化蛋白质,然后结合 LC3 II 蛋白,成为自噬复合体,自噬机制活跃则细胞内 P62 蛋白会减少。反之,若自噬机制受到抑制,则 P62 蛋白在细胞内会增多。P62 的表达水平可反映细胞自噬机制的活跃程度,在本研究中,造模后第 1 天,模型组大鼠热痛缩足反应潜伏期(PWTL)较正常组降低,造模后第 14 天,壮医针刺组大鼠热痛缩足反应潜伏期(PWTL)较模型组升高,表明实验造模成功,壮医针刺对 SNL 模型大鼠的疼痛具有改善作用。造模后第 14 天,模型组大鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$  含量较正常组升高,壮医针刺组血清 IL-6、TNF- $\alpha$  较模型组降低,表明造模导致大鼠神经损伤,炎症因子释放增减,激活炎症反应导致疼痛,经壮医针刺干预后炎症因子含量减少,减轻了神经所受到的炎症刺激,使疼痛得以缓解。造模后第 14 天,模型组大鼠脊髓背角组织 P62 蛋白表达较正常组增多,壮医针刺组大鼠脊髓背角 P62 蛋白表达较模型组减少,表明 SNL 模型大鼠细胞内自噬机制被抑制,而壮医针刺干预可增加细胞内自噬活跃水平,壮医针刺可能通过调节细胞自噬以达到缓解疼痛的效果。

综上可以推断,经壮医针刺干预后 SNL 大鼠脊髓背角组织 P62 蛋白表达水平升高,反映出细胞自噬机制被激活,从而减少了炎症因子 IL-6、TNF- $\alpha$  的表达,减轻了神经炎症反应,达到镇痛的效果。

#### 参考文献:

- [1] HAANPÄÄ M, ATTAL N, BACKONJA M, et al. NeuP-SIG guidelines on neuropathic pain assessment[J]. Pain, 2011, 152(1): 14-27.
- [2] 樊碧发. 神经病理性疼痛的诊疗[J]. 现代实用医学, 2010, 22(2): 126-129.
- [3] 郭楠楠, 郭雪娇, 冯智英. 神经病理性疼痛分层治疗进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2022, 28(1): 49-52.
- [4] 岳寿伟, 巩兰兰. 神经病理性疼痛的物理因子治疗进展[J]. 中国康复医学杂志, 2022, 37(1): 5-9.
- [5] 宋佳男, 于海波, 刘玉梅. 神经病理性疼痛的治疗和药物发现现状[J]. 药学学报, 2021, 56(3): 679-688.
- [6] 梁英业. 基于 MiRNA-146a 调控 TLR4 信号通路探讨经推拿对神经病理性疼痛大鼠的镇痛机制[D]. 南宁: 广西医科大学, 2019.
- [7] 梁英业, 唐宏亮, 王雄将, 等. 中医外治法干预肌筋膜疼痛综合征的研究概况[J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(10): 2229-2231.
- [8] 韦斌丽, 唐宏亮, 王雄将, 等. 推拿对神经病理性疼痛大鼠脊髓磷酸化 P38MAPK 表达及炎症因子 IL-1 $\beta$  的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(5): 1245-1248.

(下转第 258 页)

across blood-brain barrier to eradicate latent HIV-1 infection[J]. *Sci Rep*,2019,9(1):3928.

- [26] HUSSAIN W, MAHMOOD T, HUSSAIN J, et al. CRISPR/Cas system; a game changing genome editing technology, to treat human genetic diseases[J]. *Gene*, 2019, 685: 70-75.
- [27] LEE J S, LEE J Y, SONG D W, et al. Targeted PMP22 TATA-box editing by CRISPR/Cas9 reduces demyelinating neuropathy of Charcot-Marie-Tooth disease type 1A in mice[J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(1): 130-140.
- [28] 吕宝北, 赵鹏翔, 张鑫, 等. CRISPR/Cas9 在肿瘤治疗中的研究进展[J]. *生物技术进展*, 2018, 8(3): 191-196.
- [29] UDDIN F, RUDIN C M, SEN T. CRISPR gene therapy:

applications, limitations, and implications for the future [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1387.

- [30] 蒙红毅, 张健民, 李黎, 等. 利用 CRISPR/Cas9 技术构建 PERV 敲除的 PK15 细胞系[J]. *生物技术*, 2018, 28(6): 513-519, 525.
- [31] 王成博, 康巧珍, 丁聪, 等. 利用 CRISPR/Cas9 系统构建稳定敲除 4.1R 基因的 RAW264.7 细胞株[J]. *南方医科大学学报*, 2017, 37(12): 1609-1614.
- [32] 龚美玲, 张琳琳, 郑翠侠. 利用 CRISPR/Cas9 系统对人 A549 肺癌细胞 NRF2 基因的稳定敲除及其功能研究[J]. *中国癌症杂志*, 2019, 29(11): 855-861.

收稿日期: 2022-12-06; 修回日期: 2022-12-21

(上接第 246 页)

- [9] 唐成, 王润生, 黄承军, 等. 壮医经筋针刺治疗腰椎术后切口疼痛疗效观察[J]. *广西中医药*, 2022, 45(6): 34-37.
- [10] 封享兰, 邹高锐, 邓洪波, 等. 自噬在神经病理性疼痛中研究进展[J]. *临床麻醉学杂志*, 2019, 35(1): 87-90.
- [11] 王娇, 张莉, 李颖, 等. 自噬受体蛋白 p62 的表达及功能研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(6): 715-719.
- [12] WANG Q, LIN J, YANG P, et al. Effect of massage on the TLR4 signalling pathway in rats with neuropathic pain[J]. *Pain Res Manag*, 2020, 2020: 8309745.
- [13] HARGREAVES K, DUBNER R, BROWN F, et al. A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia[J]. *Pain*, 1988, 32(1): 77-88.
- [14] 林辰. 中国壮医针刺学[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2014: 223-225.
- [15] 唐汉庆, 黄岑汉, 赵玉峰, 等. 壮医“三道两路”理论的辨析及应用[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(12): 4236-4239.
- [16] 李婕, 黄贵华, 黄瑾明, 等. 概述壮医对带状疱疹后遗神经痛的认识[J]. *广西中医药*, 2012, 35(6): 42-43.
- [17] 吴杏瑶. 壮医针刺治疗瘀血型腰肌劳损的临床研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2018.
- [18] 敖胜福, 种朋贵. 基于炎症信号通路的生物碱治疗神经病理性疼痛的研究进展[J]. *现代药物与临床*, 2022, 37

(5): 1162-1168.

- [19] 苑龙, 李雪松, 孟纯阳, 等. 炎症与神经病理性疼痛关系的研究进展[J]. *中国医师杂志*, 2020, 22(2): 313-317.
- [20] 徐瑞艳, 赵青赞, 任秀花, 等. 糖皮质激素受体激动剂地塞米松对大鼠血清促炎因子 IL-6、TNF- $\alpha$  表达及神经病理性疼痛的影响[J]. *神经解剖学杂志*, 2017, 33(2): 202-208.
- [21] 张冰缘, 郑学良, 姜琳, 等. 自噬与神经性疼痛[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(13): 47-50.
- [22] 王雄将, 梁英业, 卢栋明, 等. 枢经推拿对慢性神经病理性疼痛大鼠 VGLUT2 及炎症因子表达的影响[J]. *广西中医药大学学报*, 2022, 25(4): 39-44.
- [23] 孙玉红, 李锐, 张野. 自噬在神经病理性疼痛中的角色[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2018, 39(2): 161-164.
- [24] 龙炳材, 陈晓红, 唐宏亮, 等. 推拿对神经病理性疼痛大鼠的镇痛作用及其机制[J]. *广西医学*, 2022, 44(17): 2003-2009.
- [25] 曹曼. 加味参苓白术散对腹膜纤维化大鼠自噬相关蛋白(LC3、P62、Beclin-1)和炎症因子(IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$ )的干预作用[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2022.
- [26] 杨根梦, 洪仕君, 王一航, 等. Keap1/Nrf2/p62 和 NLRP3 炎性小体与自噬调节作用的研究进展[J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(3): 103-107.

收稿日期: 2023-02-13; 修回日期: 2023-03-05