

温和灸皮肤神经性 TRPV1 启动机制及 对内脏痛的效应机制研究

郑桂芝¹ 李 晗¹ 吴焕淦^{1,2} 马晓芃² 方臻臻¹ 马 喆¹ 周次利² 施 征² 刘慧荣^{1,2}

(1 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院,上海,200437; 2 上海中医药大学上海市针灸经络研究所,上海,200030)

摘要 目的:围绕体表神经性瞬时电位感受器香草酸亚型1(Neural Transient Receptor Potential Vanilloid 1, nTRPV1)研究温和灸皮肤启动机制和对内脏痛模型的镇痛效果。方法:野生型 C57BL/6 小鼠作为主要研究对象。于8周龄时予130 μg/mL 硝基苯磺酸灌肠(Three Nitrobenzene Sulfonic Acid, TNBS)诱导慢性内脏痛模型小鼠。12周龄时,温和灸组(Moxibustion, Mox)和假温和灸组(Sham Mox)的小鼠足三里穴区接受温和灸刺激,Mox的穴区皮肤温度控制在(45±1)℃,而Sham Mox控制在(37±1)℃。借用腹部撤回反射评分(Abdominal Withdrawal Reflex, AWR)作为疼痛主要观察指标。使用神经纤维素蛋白(Protein Gene Product 9.5, PGP9.5)和TRPV1免疫荧光双标,观察艾灸对于nTRPV1的影响。同时使用TRPV1阻断剂——辣椒平(Capsazepine, CPZ),分别以高、低剂量阻断体表TRPV1,观察Mox的镇痛和体表nTRPV1的表达。另外,又分别使用坐骨神经结扎和树脂毒素(Resiniferatoxin, RTX)阻断皮下nTRPV1,研究Mox的镇痛和体表nTRPV1表达。结果:相对于Sham Mox, Mox显著改善了内脏痛模型小鼠的AWR评分($P < 0.05$)和促进nTRPV1的表达量增加。使用CPZ阻断后, Mox未能引起AWR的改善,但低剂量的CPZ无法抑制Mox引起的nTRPV1的增多。而使用nTRPV1阻断方式后,发现体表的nTRPV1显著减少。Mox不能有效的发挥镇痛效果,而且不能促进nTRPV1的增多。结论:温和灸可能通过影响体表nTRPV1的方式,对内脏痛模型发挥相应的镇痛效果,阻断nTRPV1之后,温和灸镇痛效果消失。

关键词 温和灸;内脏痛;体表神经性TRPV1;镇痛;皮肤启动机制

Effect of Warm Moxibustion on Cutaneous Neuronal TRPV1 and Visceral Pain

Zheng Guizhi¹, Li Han¹, Wu Huang^{1,2}, Ma Xiaopeng², Fang Zhenzhen¹, Ma Zhe¹, Zhou Cili², Shi Zheng², Liu Huirong^{1,2}

(1 Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2 Shanghai Research Institute of Acupuncture and Meridian, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200030, China)

Abstract Objective: To study the relationship between the cutaneous starting mechanism and the analgesia effect of warm moxibustion on visceral pain by the cutaneous neuronal transient receptor potential vanilloid 1 (nTRPV1). **Methods:** SPF wild type C57BL/6 mouse were involved in this study. At the week 8, the visceral pain was modeled by 130 μg/mL TNBS injected into the colon in SPF C57BL/6 wild type mice. During the week 12, mice in the Mox group and Sham Mox group received warm moxibustion on ST-36. The cutaneous temperature was controlled around (45±1)℃ in the Mox group while (37±1)℃ in the Sham Mox group. The analgesia effect of moxibustion was assessed by Abdominal withdrawal reflex (AWR). And nTRPV1 in the cutaneous were observed by immunofluorescence which was marked with protein gene product 9.5 (PGP9.5) and TRPV1. Low and high volume capsazepine (CPZ) inhibiting cutaneous TRPV1 activity were involved to observe the changes of analgesia effect and the nTRPV1 expression. Furthermore, sciatic nerve ligation (SNL) and resiniferatoxin (RTX) inhibiting nTRPV1 activity were used to study the differences of analgesia and nTRPV1 expression respectively. **Results:** Comparing with Sham Mox, Mox significantly reduced the AWR score in the visceral pain mice ($P < 0.05$), and increased the expressions of nTRPV1. After CPZ being involved, the analgesia effect of Mox was inhibited, but low volume CPZ was not able to inhibit the promotion of nTRPV1 by moxibustion. Both SNI and RTX involved were able to inhibit the analgesia and the nTRPV1 of moxibustion. **Conclusion:** Warm moxibustion is able to improve the pain level of visceral pain which may be mediated by the cutaneous nTRPV1. After blocked the TRPV1 in the skin, the analgesia of warm moxibustion disappeared.

Key Words Warm moxibustion; Visceral pain; Cutaneous neuronal TRPV1; Analgesia; The starting mechanism of the skin

基金项目:国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(编号:2015CB554501;2009CB522900);国家自然科学基金项目(编号:81574081);上海市重点学科资助项目(编号:S30304-A9, S30304-A13)

通信作者:吴焕淦(1956—),男,汉族,浙江仙居人,上海中医药大学上海市针灸经络研究所,首席教授,博士研究生导师,主要从事针灸作用的临床与基础研究, E-mail: wuhuang@126.com; 刘慧荣(1976—),女,河北省容城县人,汉族,2004年上海中医药大学毕业,博士研究生导师,研究员,主要从事针灸治疗胃肠疾病的临床和基础研究

中图分类号:R245 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.12.002

慢性内脏疼痛是炎症性肠病和肠易激综合征患者的临床常见症状。与躯体痛研究相比,内脏痛觉的研究还处于初级阶段,各方面机制尚不明确^[1]。针对内脏痛的治疗,全世界学者尝试探索各种方式来治疗此病,我们课题组前期研究证明了艾灸对内脏痛存在调整作用^[1-2]。

一般认为,艾灸通过刺激体表相应腧穴,通过一系列的神经、血液等通路,对相应靶器官发挥调整。所以,艾灸通过影响腧穴位置皮肤组织,进而将此刺激信号传入体内,是艾灸发挥作用的首要途径^[5]。围绕艾灸对皮肤如何产生影响,产生何种影响的研究,称之为艾灸皮肤启动机制。

人体体表的瞬时感受器电位家族(Transient Receptor Potential, TRP)主要扮演着感受外界的不同温度的角色,研究发现 TRP 受体不同亚型可被不同温度激活,如 TRPV1 ≥ 43 °C, TRPV2 ≥ 52 °C, TRPV3 ≥ 33 °C, TRPV4 ≥ 27 °C。巧合的是,朱琏在 1954 年提出温和灸时,就强调温和灸对机体的刺激温度为 42~43 °C^[3]。结合 TRPV1 特异性的激活温度,学术界开展很多围绕温和灸和体表 TRPV1 的研究^[4-6],发现艾灸激活 TRPV1 后,对靶器官存在良性调整作用,而阻断体表的 TRPV1 后作用消失^[7]。

体表 TRPV1 主要分成神经性 TRPV1 (Neuronal TRPV1, nTRPV1) 和非神经性 TRPV1 (Non Neuronal TRPV1, nnTRPV1)^[8]。研究认为 nTRPV1 被激活后,促进细胞外 Ca²⁺ 的内流,可以直接作用于神经末梢,引起神经电冲动,而非 non-neuronal trpv1 可能更多参与与体表各种皮肤疾病的形成^[9]。另有研究发现,使用坐骨神经结扎(Sciatic Nerve Ligation, SNL)和皮下树脂毒素(Resiniferatoxin, RTX)注射,可有效抑制 nTRPV1 的表达^[10]。

本研究假设温和灸刺激皮肤足三里穴区激活 nTRPV1,进而对内脏痛模型小鼠发挥镇痛作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 7 周龄野生型 C57BL/6 小鼠(购于上海斯莱科实验动物公司),饲养于上海中医药大学动物实验中心(温度 21 \pm 1 °C,湿度 50%~70%,12 on/12 off 光照循环)。小鼠购入后置于动物房适应环境 1 周后开始实验。

1.2 主要试剂与仪器 清艾条(0.5 cm \times 10 cm,南阳艾条厂)、三硝基苯磺酸(Three nitrobenzene sulfonic acid, TNBS, 美国 Sigma 公司)、戊巴比妥钠(德国

Merck 公司)、神经纤维丝蛋白抗体(Protein gene product 9.5, PGP9.5, 美国 Abcam 公司)、TRPV1 抗体(美国 Abcam 公司)、辣椒平(Capsazepine, CAP, 加拿大 J&K 公司)、吐温-80(美国 Sigma 公司)、RTX(上海江莱生物科技有限公司)、红外热成像仪(日本 NEC 公司)。

1.3 实验分组 本项实验一共分成 3 个部分:实验一研究艾灸体表温度控制在(45 \pm 1)°C 和(37 \pm 1)°C 温和灸镇痛效果;实验二使用高、低两个剂量的 CPZ 干预后,观察(45 \pm 1)°C 温和灸镇痛效果;实验三使用 SNL 和 RTX 干预后,观察(45 \pm 1)°C 温和灸镇痛效果。

实验一:一共分成 4 组,即空白组(Control)、模型组(Model)、(45 \pm 1)°C 温和灸组(Mox)和(37 \pm 1)°C 温和灸组(Sham Mox)。

实验二:一共分成 5 组,即 Model 组、Mox 组、低剂量 CPZ(LCPZ)组、LCPZ + Mox 组、高剂量 CPZ(HCPZ)组、HCPZ + Mox 组。

实验三:一共分成 5 组,即 Model 组、Mox 组、RTX 组、RTX + Mox 组、SNL 组、SNL + Mox 组。

1.4 模型制备 造模药物配置方案:130 μ gTNBS:5% 的 TNBS 原液 0.1 mL 与 30% 乙醇 38.5 mL 混合。

于小鼠 8 周龄开始造模,实验前小鼠禁食 12 h。使用 0.5% 戊巴比妥钠经腹腔注射后,小鼠完全麻醉后,使用婴儿棉签蘸取少量液体石蜡以润滑、扩张肠道,抽取 0.1 mL 配置好的 TNBS,使用小鼠灌胃针经肛门插入 3 cm,缓慢注入 TNBS 药物(如果有药物溢出,重新吸取益处药物,再次缓慢注入),小鼠于注药后,倒置 10 min,防止药物溢出^[11]。小鼠造模 4 周,于 12 周龄时开始艾灸干预。

1.5 艾灸干预 待小鼠 12 周龄时,将清醒状态的小鼠固定于特殊固定器,使用红外热成像仪测温,将测温点定位于小鼠双腿足三里穴区。点燃艾条后,对准足三里穴区行温和灸。10 min/d,连续 7 d。见图 1。其中 Mox 组的测温点温度控制在(45 \pm 1)°C, Sham Mox 组的测温点温度控制在(37 \pm 1)°C,整个测温过程中,根据红外热像成像仪特有属性(温度不同、色带不同),以保证足三里穴区的温度,是小鼠体表温度最高点。

1.6 辣椒平注射 本实验使用 50% 的二甲亚砷生理盐水溶液作为有效溶剂,配置 0.4 mg/mL 和 4

mg/mL 的不同剂量的 CPZ 药物,每次温和灸干预前 30 min 给予穴区注射,单次注射 100 μ L 的量^[12-13]。

1.7 坐骨神经结扎 于 10 周龄入组小鼠进行双下肢坐骨神经选择性结扎,用 0.5% 戊巴比妥钠腹腔麻醉,下肢剃毛,碘伏消毒,暴露腓窝坐骨神经,用 7-0 尼龙线进行结扎坐骨神经,逐层缝合肌肉皮肤,小鼠臀部注射 20 万 U 的青霉素以防止感染,每天给予伤口碘酒消毒^[14]。

1.8 树脂毒素注射 RTX 溶于 96% 无水乙醇的溶液,浓度为 3 μ g/mL、7 μ g/mL、10 μ g/mL。小鼠给药剂量为 30、70、100 μ g/kg 皮下注射,皮下连续注射 3 d。对于 10 周龄入组小鼠,用 0.5% 戊巴比妥钠麻醉,下肢剃毛,再用 50 μ L 注射器,1 μ L/g/只剂量从低浓度到高浓度连续注射 3 d RTX 溶液^[14]。

1.9 腹部撤回反射评分 小鼠内脏痛的评估方式,采用腹部撤回反射评分(Abdominal Withdrawal Reflex, AWR),于艾灸前 1 d 和艾灸结束后 1 d 进行评分。见图 1。

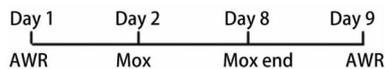


图 1 实验流程图

注:整个治疗周期一共 9 d,第 1、9 天行 AWR 评估,第 2~8 天进行艾灸干预。

在清醒状态下,用布袋包裹小鼠上半身,用婴儿棉签蘸取少量液体石蜡,以润滑、扩张小鼠直肠,插入特制气囊。使用医用胶布包裹送气管道和鼠尾,并置于金属网格平面上,用 8 cm \times 3 cm \times 4 cm 的透明长方体作为密闭器固定住小鼠。小鼠于插入气囊后静置 30 min 后,用血压计连接三通管,用 5 mL 注射器向气囊注入空气,行直肠扩张,判定 AWR 评分。

分别给予 15 mmHg、30 mmHg、45 mmHg、60 mmHg 4 个不同压力等级的结直肠扩张刺激。单次扩张时间 20 s,间隔 30 s,4 个梯度扩张完成后,小鼠休息 5 min 进行下一轮不同等级的直肠扩张,一共重复 3 次,取 3 次平均值作为最终评分值。

1.10 结肠组织病理学观察 将 4% 多聚甲醛溶液固定的实验一的小鼠结肠样本,经脱水、透明、透蜡,石蜡包埋,常规切片后进行 HE 染色,光镜下观察结肠组织病理学变化,以判断造模对肠道组织的影响。

1.11 皮肤组织免疫荧光观察 为了研究 nTRPV1,使用 PGP9.5 特异性的标记皮肤神经末梢纤维组织,与 TRPV1 进行免疫荧光双标,双标区域即为 nTRPV1 的所在位置。小鼠处死后,摘取足三里穴区皮肤组织,直接液氮快速冷冻,皮肤冻存于 -80 $^{\circ}$ C 冰

箱。采用石蜡切片的方式,制成皮肤切片。经烤片、脱蜡、水化、抗原修复、一抗孵育、二抗孵育、封片和拍照。

1.12 统计学方法 本实验所有数据采用均数 \pm 标准差(mean \pm SD)描述。AWR 分析使用单因素方差分析,当方差齐性时,使用 LSD 检验,方差不齐时采用 Dunnett's T3 检验。SPSS 20.0 (IBM, US) 为主要统计软件,当 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肠道组织的病理学观察 8 周龄小鼠接受 TNBS 造模,待 12 周后,予温和灸干预,发现 Model 和 Control 均表现为正常的肠道组织,腺体结构完整、无炎性物质渗出、无脓肿、无炎性反应细胞浸润。同时 Mox 和 Sham Mox 存在相同的表现。见图 2。说明 TNBS 成功诱导肠道炎性反应后诱发的内脏痛模型,肠道组织无黏膜损伤。

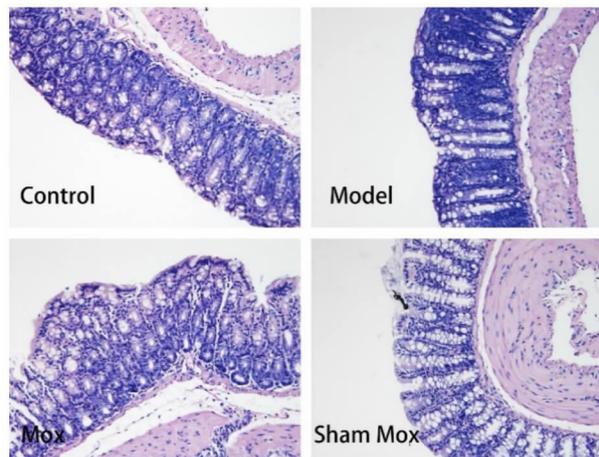


图 2 肠道组织病理切片

注:Control:空白组;Model:模型组;Mox:温度控制在(45 \pm 1) $^{\circ}$ C 的温和灸;Sham Mox:温度控制在(37 \pm 1) $^{\circ}$ C 的温和灸。

2.2 Mox 和 Sham Mox 对内脏痛及皮下 nTRPV1 的影响 TNBS 诱导的慢性内脏痛小鼠,Model 组的 AWR 比 Control 组明显增高($P < 0.05$)。同时,使用 Mox 和 Sham Mox 干预后,小鼠 AWR 评分显著下降,其中 Mox 组对 AWR 的改善更明显。见图 3。突出了 Mox 对内脏痛的改善效果。对各组足三里穴区皮肤 nTRPV1 进行免疫荧光分析,Mox 组明显增多了 nTRPV1 的表达,而 Sham Mox 却没有增多。见图 4。说明超过 TRPV1 激活温度的刺激后,可以促进 nTRPV1 的表达。

2.3 高、低浓度 CPZ 阻断后,Mox 对内脏痛和皮下 nTRPV1 的影响 使用高、低不同浓度的 CPZ 干预后,发现 Mox 不能改善小鼠 AWR 评分,说明在阻断

体表 TRPV1 之后, Mox 对小鼠的镇痛效果消失, 提示 Mox 可能通过激活 TRPV1 后抑制内脏痛。见图 5。值得注意的是, nTRPV1 免疫荧光分析, LCPZ + Mox 依然可以促进 nTRPV1 的表达, 但是 HCPZ + Mox 的 nTRPV1 没有变化。说明低浓度 CPZ 尚不能抑制 Mox 对 nTRPV1 的影响。见图 6。

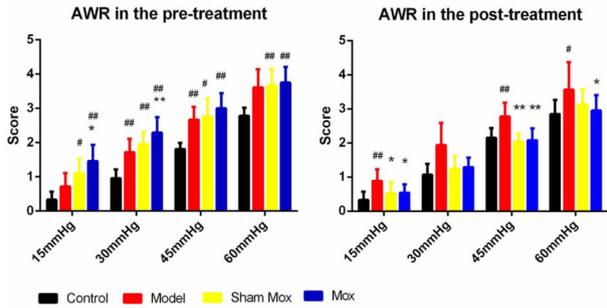


图3 实验一 AWR 评分

注: Control: 空白组; Model: 模型组; Mox: 温度控制在 (45 ± 1) °C 的温和灸; Sham Mox: 温度控制在 (37 ± 1) °C 的温和灸。#: P < 0.05、##: P < 0.01 v. s. Control; *: P < 0.05、*: P < 0.01 v. s. Model。

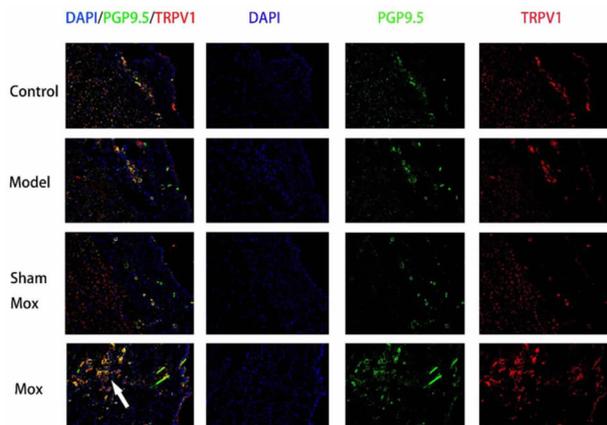


图4 实验一皮肤免疫荧光

注: Control: 空白组; Model: 模型组; Mox: 温度控制在 (45 ± 1) °C 的温和灸; Sham Mox: 温度控制在 (37 ± 1) °C 的温和灸。

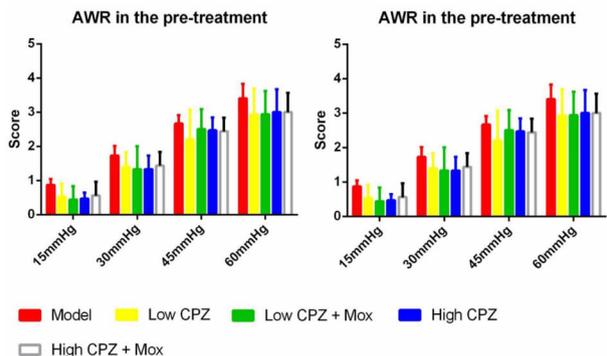


图5 实验二 AWR 评分

注: Model: 模型组; Mox: 温度控制在 (45 ± 1) °C 的温和灸; LCPZ: 0.4 mg/mL 辣椒平; HCPZ: 4 mg/mL 辣椒平。

2.4 SNI 和 RTX 干预后, Mox 对内脏痛和皮下 nTRPV1 的影响 使用 SNI 和 RTX 干预后, 发现 Mox 亦不能改善内脏痛模型的疼痛水平。见图 7。SNI 和 RTX 均可以明显抑制 nTRPV1 的表达, 而且 Mox 不能促进其表达。见图 8。说明在 SNI 和 RTX 抑制了皮下 nTRPV1 的表达, Mox 不能发挥镇痛作用。而且 Mox 也不能促进 nTRPV1 的表达, 提示 Mox 可能通过激活 nTRPV1, 进而发挥镇痛效果。

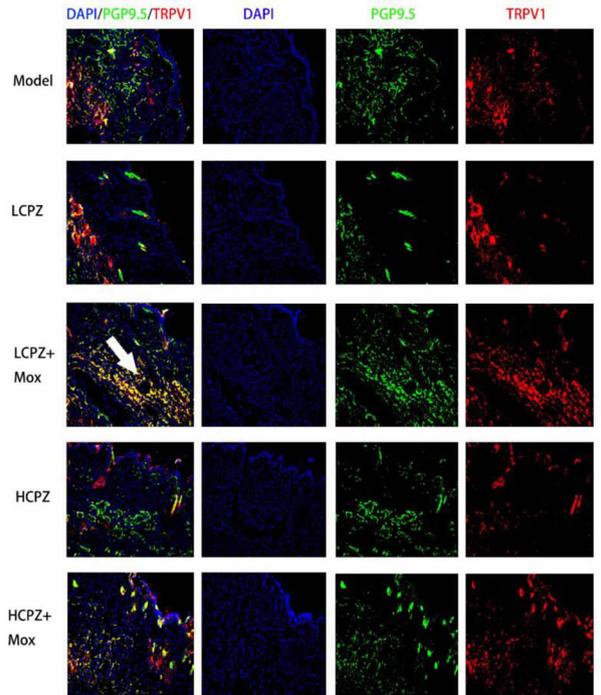


图6 实验二皮肤免疫荧光

注: Model: 模型组; Mox: 温度控制在 (45 ± 1) °C 的温和灸; LCPZ: 0.4 mg/mL 辣椒平; HCPZ: 4 mg/mL 辣椒平。

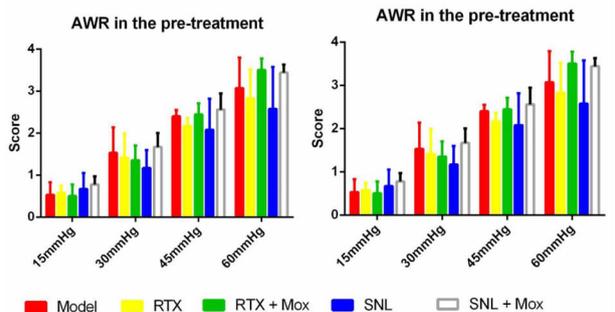


图7 实验三 AWR 评分

注: Model: 模型组; Mox: 温度控制在 (45 ± 1) °C 的温和灸; RTX: 树脂毒素; SNL: 坐骨神经结扎。

3 讨论

本项研究发现 Mox 可以有效对内脏痛模型小鼠发挥镇痛效果, 内脏痛评分 AWR 值明显降低, 同时可以促进皮下 nTRPV1 的表达。使用 CPZ 阻断皮肤 TRPV1, 发现 Mox 不能发挥镇痛作用, 同时 CPZ 有效

的阻断了 Mox 引起的 nTRPV1 的增多。在此基础上,根据体表 TRPV1 分成 nTRPV1 和 mnTRPV1,通过上述研究发现 nTRPV1 在 Mox 皮肤启动机制中扮演更重要的作用, Mox 通过刺激神经末梢的 nTRPV1, 激发神经电紧张, 影响神经中枢, 从而发挥镇痛作用。所以采用特异性阻断 nTRPV1 的方式——SNI 和 RTX, 双重观察 Mox 对 nTRPV1 的影响, 结果发现 Mox 没有镇痛效果且 nTRPV1 并未增多。

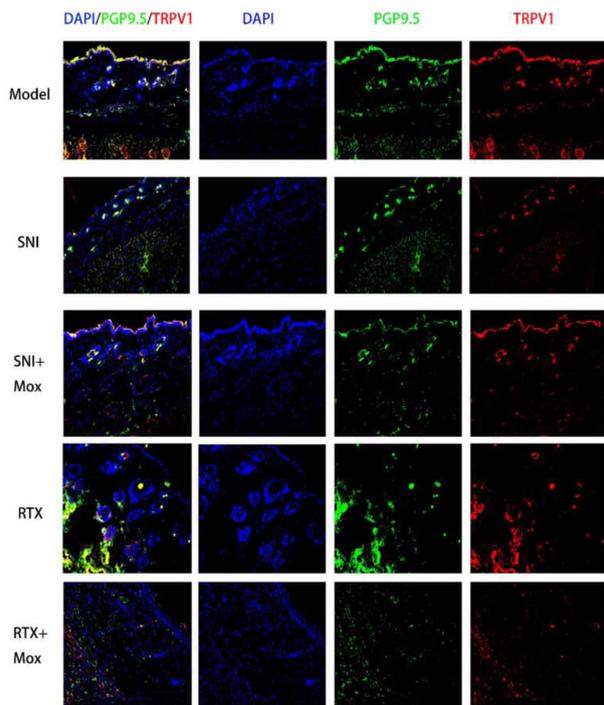


图8 实验三皮肤免疫荧光

注: Model: 模型组; Mox: 温度控制在 $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的温和灸; RTX: 树脂毒素; SNI: 坐骨神经结扎。

过去学术界使用 TRPV1 激动剂, 观察 TRPV1 激活之后, 对疼痛的调整效果^[15-16]。TRPV1 激活之后, 钙离子大量内流, 引起一系列细胞内信号通路激活, 细胞膜渗透压增高, 囊内 TRPV1 激活, 线粒体肿胀, 进而引起神经细胞感觉功能丧失和脱敏^[17]。故认为大于 43°C 温和灸也可能通过此机制调整内脏痛, 此温度是 TRPV1 特有的激活温度。在本项研究中, 我们使用红外热像仪将温度控制在 $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的温和灸为主要干预手段, $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 温和灸作为对照, 以突出激活 TRPV1 后特有的镇痛表现, 结果发现 Mox 确实存在镇痛效果。

过去围绕艾灸皮肤启动机制的研究, 都认为艾灸后可以引起体表 TRPV1 的增多。王玲玲等用温和灸对高脂血症的调整效果, 比较了 38°C 和 45°C 的温和灸, 发现 45°C 在降低三酰甘油和胆固醇方面优于 38°C 灸, 从而可以降低动脉粥样硬化形成的风

险, 并发现 45°C 可以促进 TRPV1 的表达含量增高^[18], 在此基础上使用 CPZ 可以有效阻断艾灸引起的降脂效果^[19]。张承瞬在躯体疼痛模型上也发现了艾灸对 TRPV1 的促进作用, 认为艾灸通过激活 TRPV1, 而发挥镇痛作用^[20]。所以在我们的研究中使用 CPZ 阻断体表 TRPV1, 发现艾灸的镇痛效果消失。

结合已有的研究结果, 我们认为可能艾灸的穴位启动机制和 nTRPV1 联系更为紧密, 通过激活 nTRPV1, 直接可以影响神经中枢。所以我们在实验二的基础上又设计实验三。研究发现, 特异性的阻断 nTRPV1 后, Mox 的镇痛效果消失。同时 Mox 可引起 nTRPV1 增多, Sham Mox 没有促进其表达。使用 CPZ 阻断 TRPV1, Mox 镇痛效果消失, 但是 LCPZ + Mox 依然促进了 nTRPV1 的增多, 可能 CPZ 的浓度太低, 无法抑制 Mox 促进 nTRPV1 的表达。针对 nTRPV1, 使用特异性的阻断方式, 均发现降低了 nTRPV1 的表达, 而且 Mox 不能促进其表达。

本项研究初步探索了艾灸和 nTRPV1 的关系, 认为可能艾灸通过激活 nTRPV1, 影响中枢系统, 调整内脏疼痛。但是依然存在一些问题需要改进。首先针对和肠道内脏痛联系较为紧密的低位中枢, 我们今后将纳入更多的观察指标, 证明 Mox 镇痛分子机制。其次, 现有的检测 nTRPV1 的手段, 可以采用同位素特异性的标记进行定量分析, 但是本课题组缺乏开展同位素研究资质, 且相关单位也不提供技术支持, 导致只能使用免疫荧光的方式, 标记 nTRPV1 做定性分析^[21]。最后, 艾灸通过激活 nTRPV1, 影响中枢神经系统, 其具体通路如何, 需要深入的探索。

综上所述, 本项研究初步探明超过 TRPV1 激活温度的温和灸, 促进皮下 nTRPV1 的表达, 对内脏痛模型小鼠发挥有效的镇痛作用。然而, 当 TRPV1 阻断或是 nTRPV1 抑制后, 温和灸的镇痛效果被明显抑制。说明温和灸通过激活 nTRPV1 的方式, 影响中枢神经系统, 对内脏痛发生调整效果。

参考文献

- [1] Zou W, Lin H, Liu W, et al. Moxibustion relieves visceral hyperalgesia via inhibition of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and heat shock protein(HSP)70 expression in rat bone marrow cells[J]. *Acupunct Med*, 2016, 34(2): 114-119.
- [2] Wang L D, Zhao J M, Huang R J, et al. Study on the Mechanism Underlying the Regulation of the NMDA Receptor Pathway in Spinal Dorsal Horns of Visceral Hypersensitivity Rats by Moxibustion[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 3174608.
- [3] 朱璉. 新针灸学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1954.

- [4] 施睿, 邱悦, 余芝, 等. 不同温度艾灸对施灸局部微循环影响的实验观察[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(5): 1092-1094.
- [5] 林巧云. 不同灸时温灸对高脂血症血管内皮功能的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2012.
- [6] 王家平. 不同灸法对足三里穴位局部温度及 Trp 家族基因表达的影响[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [7] 林静, 王耀帅, 王士超, 等. 不同灸量温灸对高脂血症大鼠穴位局部温度影响的实验观察[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(2): 257-259.
- [8] Anand P, Bley K. Topical capsaicin for pain management: therapeutic potential and mechanisms of action of the new high-concentration capsaicin 8% patch[J]. Br J Anaesth, 2011, 107(4): 490-502.
- [9] Labuz D, Spahn V, Celik M O, et al. Opioids and TRPV1 in the peripheral control of neuropathic pain—Defining a target site in the injured nerve[J]. Neuropharmacology, 2016, 101: 330-340.
- [10] Kun J, Helyes Z, Perkecz A, et al. Effect of surgical and chemical sensory denervation on non-neural expression of the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) receptors in the rat[J]. J Mol Neurosci, 2012, 48(3): 795-803.
- [11] Hughes P A, Brierley S M, Martin C M, et al. Post-inflammatory colonic afferent sensitisation: different subtypes, different pathways and different time courses[J]. Gut, 2009, 58(10): 1333-1341.
- [12] Yang F, Guo J, Sun W L, et al. The induction of long-term potentiation in spinal dorsal horn after peripheral nociceptive stimulation and contribution of spinal TRPV1 in rats[J]. Neuroscience, 2014, 269: 59-66.
- [13] Maione S, De Petrocellis L, de Novellis V, et al. Analgesic actions of N-arachidonoyl-serotonin, a fatty acid amide hydrolase inhibitor with antagonistic activity at vanilloid TRPV1 receptors[J]. Br J Pharmacol, 2007, 150(6): 766-781.
- [14] Kun J, Helyes Z, Perkecz A, et al. Effect of surgical and chemical sensory denervation on non-neural expression of the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) receptors in the rat[J]. J Mol Neurosci, 2012, 48(3): 795-803.
- [15] Derry S, Lloyd R, Moore R A, et al. Topical capsaicin for chronic neuropathic pain in adults[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2009(4): D7393.
- [16] Derry S, Moore R A. Topical capsaicin (low concentration) for chronic neuropathic pain in adults[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2012(9): D10111.
- [17] Kr B. Vanilloid Receptor TRPV1 in Drug Discovery: Targeting Pain and Other Pathological Disorders [M]. US: A JOHN WILEY & SONS, INC., 2010.
- [18] 王桂英, 王耀帅, 卢开信, 等. 不同灸温对高脂血症小鼠胆固醇及“神阙”穴皮肤的影响[J]. 中国针灸, 2016, 36(1): 59-63.
- [19] 周攀, 张建斌, 王玲玲, 等. 不同灸温的艾灸抗炎效应及 TRPV1 作用机制研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2015, 21(9): 1143-1145.
- [20] 张承舜. 穴位局部 TRPV 参与艾灸镇痛的外周调节机制[D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [21] Banvolgyi A, Palinkas L, Berki T, et al. Evidence for a novel protective role of the vanilloid TRPV1 receptor in a cutaneous contact allergic dermatitis model[J]. J Neuroimmunol, 2005, 169(1/2): 86-96.

(2016-12-07 收稿 责任编辑: 洪志强)

(上接第 2514 页)

- [112] 安彩萍, 黄燕, 马晓芃, 等. 隔药灸对克罗恩病肠纤维化大鼠结肠成纤维细胞 CTGF、FN、Smad 表达的影响[J]. 上海针灸杂志, 2014, 33(6): 487-491.
- [113] 王硕硕, 包春辉, 王伟灵, 等. 艾灸对克罗恩大鼠结肠 RoR γ t、Foxp3 调节作用研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2016, 18(3): 368-373.
- [114] Weng ZJ, Wu LY, Lv TT, et al. Regulatory effects of herbal cake-partitioned moxibustion on the expressions of IL-17, IL-23 and their mRNAs in the colon of rats with Crohn's disease[J]. J Acupunct Tuina Sci, 2016, 14(3): 156-163.
- [115] 施征, 张慧, 王晓梅, 等. 艾灸对克罗恩病大鼠结肠黏膜 MCP-1 和 IL-8 蛋白表达的影响[J]. 上海针灸杂志, 2009, 28(9): 497-501.
- [116] 胡国胜, 陈汉平, 侯永健, 等. 艾灸治疗桥本氏甲状腺炎的免疫学观察[J]. 上海针灸杂志, 1990, 9(4): 4-7.
- [117] 胡国胜, 陈汉平, 侯永健, 等. 艾灸对桥本氏甲状腺炎患者外周血 ADCC 活性的作用[J]. 中西医结合杂志, 1991, 11(7): 403-405.
- [118] 胡国胜, 陈汉平, 侯永健, 等. 隔药灸治疗桥本氏甲状腺炎临床观察[J]. 中医杂志, 1992, 43(5): 30-32.
- [119] 王晓燕. 隔药灸治疗慢性淋巴细胞性甲状腺炎[J]. 中国针灸, 2003, 23(1): 6-8.
- [120] 夏勇, 夏鸣喆, 李艺, 等. 隔附子饼灸关元、命门为主对桥本氏甲状腺炎患者甲状腺功能的影响[J]. 中国针灸, 2012, 32(2): 123-125.
- [121] 徐惠芬. 隔药灸加左旋甲状腺素钠治疗慢性淋巴细胞性甲状腺炎[J]. 浙江中西医结合杂志, 2013, 23(6): 459-461.
- [122] 夏勇, 夏鸣喆, 李艺, 等. 艾药并用对桥本氏甲状腺炎患者 TPO-Ab 和 TGAb 的调节[J]. 上海针灸杂志, 2011, 30(12): 807-809.
- [123] 张育瑛, 夏鸣喆, 李艺, 等. 隔附子饼灸对桥本氏甲状腺炎血清特异抗体与甲状腺功能的相关性分析[J]. 上海针灸杂志, 2013, 32(1): 25-27.
- [124] 夏勇, 夏鸣喆, 李艺, 等. 艾灸配合药物改善桥本氏甲状腺炎患者生活质量的观察[J]. 上海针灸杂志, 2012, 31(4): 219-221.
- [125] 张育瑛, 夏勇, 游世晶, 等. 艾药结合治疗 84 例桥本氏甲状腺炎中医证候分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(3): 95-96.

(2016-12-07 收稿 责任编辑: 洪志强)