

慢性炎性痛电针镇痛频率优选及其 DRG TRPV1 活化机制研究

项璇儿 邵芳冰 许颖龄 杜俊英 房军帆 方剑乔

(浙江中医药大学第三临床医学院针灸神经生物学实验室,浙江省针灸神经病学研究重点实验室,杭州,310053)

摘要 目的:筛选电针干预慢性炎性痛的优势频率,观察不同频率电针对慢性炎性痛大鼠 DRG p-TRPV1 的干预情况,探讨优势频率电针的 DRG p-TRPV1 活化干预机制。方法:所有实验大鼠完全随机分为空白组、模型组、2 Hz 电针组、100 Hz 电针组和 2/100 Hz 电针组。除空白组外,其余各组均进行 CFA 造模。电针组选用双侧“足三里”和“昆仑”穴,0.5 mA ~ 1.5 mA,30 min/次。采用 Von Frey Hair 检测各组大鼠不同时间点患侧 PWT 和 PWL;采用免疫印迹法检测大鼠 DRG p-TRPV1 的表达。结果:100 Hz 电针对 CFA 大鼠的 PWT 提升最为显著($P < 0.05$),100 Hz、2/100 Hz 电针均能有效提高 CFA 大鼠的 PWL($P < 0.05$, $P < 0.05$);CFA 模型大鼠 L4-6 DRG p-TRPV1 蛋白表达均有上调,其中 L4 水平上调差异无统计学意义($P > 0.05$),L5、L6 水平上升较为显著($P < 0.05$),100 Hz 电针能有效抑制 CFA 大鼠 L5 DRG p-TRPV1 蛋白的过表达($P < 0.05$),对 L4、L6 DRG p-TRPV1 蛋白的过表达虽有下调趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:100 Hz 电针对慢性炎性痛的镇痛效应最佳,这可能与有效下调 CFA 大鼠 L5 DRG p-TRPV1 蛋白的过表达有关。

关键词 电针;频率;优选;炎性痛;镇痛;DRG;TRPV1;活化

Selection of Optimal Analgesic Frequency on Electroacupuncture and Exploration of the Mechanism of DRG TRPV1 Activation for Chronic Inflammatory Pain

Xiang Xuan'er, Shao Fangbing, Xu Yingling, Du Junying, Fang Junfan, Fang Jianqiao

(The Third Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Key Laboratory
of Acupuncture and Neurology of Zhejiang Province, Hangzhou 310053, China)

Abstract Objective: To select the dominant frequency of electroacupuncture (EA) in treating chronic inflammatory pain, to observe the effects of different frequency EA on DRG p-TRPV1 of rats with chronic inflammatory pain, and to explore the mechanism of DRG p-TRPV1 activation by dominant frequency EA. **Methods:** All rats were randomly divided into a control group, a model group, a 2 Hz EA group, a 100 Hz EA group and a 2/100 Hz EA group. Except for the control group, rats of other groups were given CFA hypodermic injection into the plantar surface of the right hind paw of SD rats. In the EA group, Zusanli (ST36) and Kunlun (BL60) acupoints on both sides were selected, 0.5 mA-1.5 mA, 30 mins per time. Von Frey Hair was used to detect the PWT and PWL in the affected side of rats at different time points, and western blot was used to detect the expression of DRG p-TRPV1 in rats. **Results:** 100 Hz EA can effectively improve the PWT of CFA rats ($P < 0.05$), and 100 Hz and 2/100 Hz EA can increase the PWL of CFA rats ($P < 0.05$, $P < 0.05$); the expression of L4-6 DRG p-TRPV1 protein in CFA model rats was up-regulated, and there is no significant difference in L4 level ($P > 0.05$), otherwise L5 and L6 levels were up-regulated significantly ($P < 0.05$). 100 Hz EA can effectively inhibit the overexpression of L5 DRG p-TRPV1 protein in CFA rats ($P < 0.05$). While the overexpression of L4 and L6 DRG p-TRPV1 protein decreased, but there was no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion:** 100 Hz EA has the best analgesic effect on chronic inflammatory pain, which may be related to its effective down-regulation of L5 DRG p-TRPV1 protein expression in CFA rats.

Key Words Electroacupuncture; Frequency; Optimal; Inflammatory pain; Analgesia; DRG; TRPV1; Activation

中图分类号:R245 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.06.002

慢性炎性痛严重影响患者的身心健康,是临床最常见的病症之一。目前慢性炎性痛的治疗常使用抗炎镇痛类药物,而现有的药物治疗存在不良反应大,治疗效果不佳等问题^[1]。

电针作为一种绿色无不良反应的干预手段,具有良好的镇痛效应,已被临床广泛运用于慢性炎性痛的治疗^[2-3]。电针频率是影响电针镇痛效应的重要因素,不同频率适用于不同类型病理性疼痛的治

基金项目:国家自然科学基金项目(81473772,81603690,81873360);浙江省医药卫生重大科技计划项目(WKJ-ZJ-1419)

作者简介:项璇儿(1991.06—),女,博士研究生,研究方向:针灸镇痛与免疫调节的相关性研究,Tel:(0570)86613768,E-mail:xiangxuan-er9167@163.com

通信作者:方剑乔(1961.05—),男,教授,博士生导师,研究方向:针灸镇痛与免疫调节的相关性研究,Tel:(0571)86613760,E-mail:fangjianqiao7532@163.com

疗^[4-5]。因此,筛选电针干预慢性炎性痛的优势频率,可以为临床电针治疗慢性炎性痛提供更优化的治疗方案。

长期以来,慢性炎性痛的机制是国内外研究的热点^[6-7]。背根神经节(Dorsal Root Ganglion, DRG)神经元接受并整合周围神经末梢传出的信号,是痛觉传入的初级感觉神经元^[8-9]。瞬时受体电位香草酸亚型1(Transient Receptor Potential Vanilloid Type1, TRPV1)在外周广泛分布于DRG神经元和三叉神经节(Trigeminal Ganglion, TG)神经元中^[10]。研究表明,DRG TRPV1参与了慢性炎性痛外周敏化的病理进程^[11]。

本研究使用完全弗氏佐剂(Complete Freund's Adjuvant, CFA)诱导的慢性炎性痛模型是用于研究慢性炎性痛最经典的动物模型^[12]。通过观察各组大鼠50%机械缩足阈(Paw Withdrawal Thresholds, PWT)和热缩足潜伏期(Thermal Paw Withdrawal Latencies, PWL),筛选电针干预慢性炎性痛的优势频率。分析各组大鼠DRG p-TRPV1的表达,阐明优势频率电针对慢性炎性痛镇痛效应的外周TRPV1活化机制,以期电针镇痛提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选用清洁级雄性健康Sprague Dawley (SD)大鼠60只,动物合格证书:SCXK(沪)2013-0016,体质量200~240 g;购自中国科学院上海实验动物中心,由浙江中医药大学实验动物中心饲养。饲养期间给予啮齿类动物标准颗粒饲料(由实验动物中心提供)及自由饮食,12 h循环灯光。

1.1.2 试剂与仪器 试剂:CFA(美国Sigma,批号:SLBM9312V);一抗:兔抗大鼠p-TRPV1单克隆抗体(美国Abnova,产品货号:PAB8499);小鼠抗大鼠TrpR单克隆抗体(美国Thermo Scientific,产品货号:MA1-90784);二抗:山羊抗兔(美国Abcam,产品货号:ab6721);山羊抗小鼠(美国Abcam,产品货号:ab97230);BCA蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,产品编号:P0018);其余试剂均为国产分析纯级。

仪器:纤毛机械刺激针(Von Frey Hairs test 触觉纤维丝,美国stoelting);足底热辐射测痛仪(37370,意大利UGO BASILE);韩式穴位神经刺激仪(HANS-200A,联创科技南京济生医疗科技有限公司);电泳-转印系统(美国Bio-Rad公司);全能台式高速冷冻离心机(Sorvall Biofuge Stratos,美国Thermo

Scientific公司);酶标仪(Spectra Max M4,美国美谷分子有限公司);凝胶成像系统(德国GE公司,型号:Image Quant LAS4000型)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 分组:用于本研究的实验大鼠完全随机分为5组:空白组、CFA模型组、2 Hz电针组、100 Hz电针组和2/100 Hz电针组,每组12只(6只用于PWT检测,6只用于PWL检测)。

模型制备:空白组于大鼠右后足底皮下注射0.9%氯化钠溶液,0.1 mL/只,其余各组大鼠于相同部位注射CFA 0.1 mL/只,建立大鼠炎性痛模型。

1.2.2 干预方法 空白组不做任何处理;CFA模型组:仅予以与观察组相同时间的束缚固定。所有电针组于造模后24 h完成患侧PWT和PWL检测后,即刻介入电针治疗。参照华兴邦大鼠穴位图谱,取大鼠双侧“足三里”穴(膝关节后外侧,在腓骨小头下5 mm处)和“昆仑”穴(后肢外踝与跟腱之间的凹陷中)^[12]。采用0.18 mm×13 mm针灸针,进针后用LH-202H韩氏穴位暨神经刺激仪连接双侧“足三里”和“昆仑”穴。治疗参数如下,2 Hz电针组:2 Hz,0.5 mA~1.5 mA(起始强度为0.5 mA,每隔15 min增加0.5 mA),共45 min,1次/d,连续治疗7 d;100 Hz电针组和2/100 Hz电针组:除治疗频率分别为100 Hz和2/100 Hz,其余同2 Hz电针组。

1.2.3 检测指标与方法 PWT检测:采用Von Frey hair检测大鼠基础痛、模后24 h、模后1 d、模后3 d和模后7 d电针治疗后5个时间点PWT作为痛阈指标。选用Von Frey hair套组:0.4 g、0.6 g、1 g、2 g、4 g、6 g、8 g、15 g、26 g。测量时,将大鼠置于铁丝网上透明有机玻璃箱内(20 cm×20 cm×15 cm)。待其安静后,用Von Frey hair刺激大鼠足底区域,至Von Frey hair轻微弯曲并持续5 s。强度从4 g开始,若大鼠出现逃避反应则记为“X”并给予小一级纤维丝刺激,反之记为“O”并给予大一级纤维丝刺激,每次刺激间隔不少于2 min。当出现“OX”或是“XO”组合后,再刺激4次,得一串“O”或“X”组合序列,通过公式 $50\% PWTs(g) = 10^{(xf + k * \delta - 4)}$ 计算出大鼠50% PWTs。xf为序列中最后一根Von Frey丝的对数值,k为所得序列在k值表中相对应的数值, δ 为各个纤维丝力度取log后的均差,在此约为0.231。若连续五次刺激均为“O”则记为26.0 g,反之若刺激均为“X”则记为0.4 g。若计算得出50% PWT大于26.0 g或小于0.4 g,仍以26.0 g或0.4 g作为最大或最小值。测量时间固定

在 9:00-16:00,环境温度:(23 ± 2)℃。

PWL 检测:采用足底热辐射测痛仪检测各组大鼠基础痛、模后 24 h、模后 1 d、模后 3 d 和模后 7 d 电针治疗后 5 个时间点 PWL。测量前,各组大鼠适应环境 3 d。测量时,将大鼠置于玻璃板上的透明有机玻璃箱内,室温保持(25 ± 2)℃,待大鼠安静后(即停止梳理毛发和探索性活动,约 15 min)。将测试仪上的“十”字形标记置于大鼠右后足足底中央并避开足垫,开启仪器用强光照射大鼠右后足足底中央,照射开始至大鼠出现抬腿回避的时间为大鼠的 PWL 测量 5 次,每次间隔 5 min。去除最低值和最高值,取 3 次结果的平均值为测定结果。为防止大鼠热辐射烫伤,将大鼠的 PWL 测定时间上限值设定为 20 s,温度上限值设定为 35℃。

取材及样本处理:于电针治疗后 7 d,以 1%戊巴比妥(40 mg/kg)腹腔注射麻醉大鼠。开胸暴露心脏,经升主动脉快速灌注 4℃生理盐水。取大鼠患侧 L4-6 DRG 放入预冷的 EP 管内,保存于 -80℃冰箱待用。

免疫印迹法测大鼠 L4-6 DRG p-TRPV1 膜蛋白表达组织加入 RIPA 裂解液和膜蛋白提取试剂,使用超声粉碎法提取膜蛋白,BCA 法测膜蛋白浓度。取适量 L4/L5/L6 DRG 膜蛋白,加入 2×上样缓冲液,100℃变性 5 min。蛋白上样为每泳道 20 μg。电泳采用 8% 分离胶和 5% 浓缩胶,电泳参数:分离胶 80 V 恒压,浓缩胶 150 V 恒压。PVDF 膜 15 V 恒压半干转印 45 min。5% 脱脂奶粉室温孵育封闭 1 h,一抗(兔抗大鼠 p-TRPV1(1:1 000),小鼠抗大鼠 Trf 单克隆抗体(1:1 000))4℃孵育过夜。二抗(辣根过氧化物酶标记山羊抗兔抗体(1:10 000),辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠抗体(1:10 000))室温孵育 2 h。ECL 显色,Image Quant LAS 4000 凝胶成像系统拍片,Image Quant TL 软件分析条带的灰度值。

1.3 统计学方法 数据以均数 ± 标准误($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。PWT 和 PWL 数据采用重复测量方差分析,并用多因素方差分析进行各时点比较;免疫印迹数据采用单因素方差分析;组间两两比较,采用 Bonferroni 检验,均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同频率电针对 CFA 大鼠 PWT 的干预情况

由图 1 可见,造模前各组大鼠 PWT 差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。LSD 检验表明,CFA 造模后 24 h 至模后 7 d 电针治疗后,与空白组比较,各

造模组大鼠 PWT 显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 CFA 致慢性炎性痛模型成功建立。模后 1 d 电针治疗后,与模型组比较,各电针观察组大鼠患侧 PWT 显著上升,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 2 Hz 电针组比较,100 Hz 电针组大鼠患侧 PWT 上升更为显著,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。模后 3 d 电针治疗后结果与之相似,与 2 Hz 电针组比较,100 Hz 与 2/100 Hz 电针组大鼠患侧 PWT 上升更为显著,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。模后 7 d 电针治疗后,与模型组比较,100 Hz 电针组大鼠患侧 PWT 有显著上升,差异有统计学意义($P < 0.05$);2 Hz 和 2/100 Hz 电针组大鼠患侧 PWT 虽有上升趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

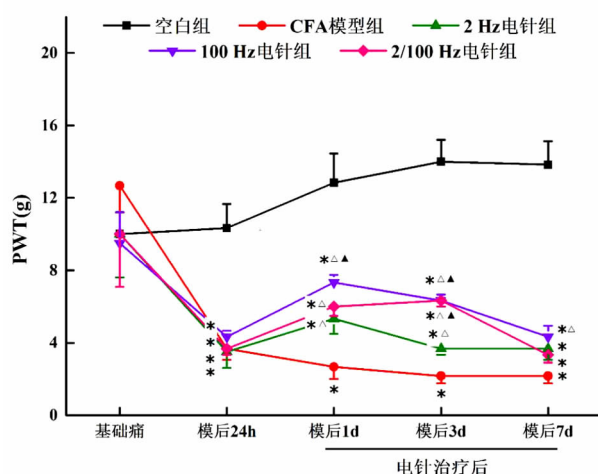


图 1 不同频率电针对 CFA 大鼠不同时间点 PWT 的影响($\bar{x} \pm s, g$)

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与 CFA 模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与 2 Hz 电针组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

2.2 不同频率电针对 CFA 大鼠 PWL 的干预情况

由图 2 可见,造模前各组大鼠 PWL 差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。LSD 检验表明,CFA 造模后 24 h 至模后 7 d 电针治疗后,与空白组比较,各造模组大鼠 PWL 显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 CFA 致慢性炎性痛模型成功建立。模后 1 d 电针治疗后,与模型组比较,100 Hz 和 2/100 Hz 电针组大鼠患侧 PWL 显著上升,差异有统计学意义($P < 0.05$)。模后 3 d 电针治疗后,与模型组比较,各电针观察组大鼠患侧 PWL 显著上升,差异有统计学意义($P < 0.05$)。模后 7 d 电针治疗后,结果与之相似,但与 2 Hz 电针组比较,100 Hz 与 2/100 Hz 电针组大鼠患侧 PWL 上升更为显著,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。

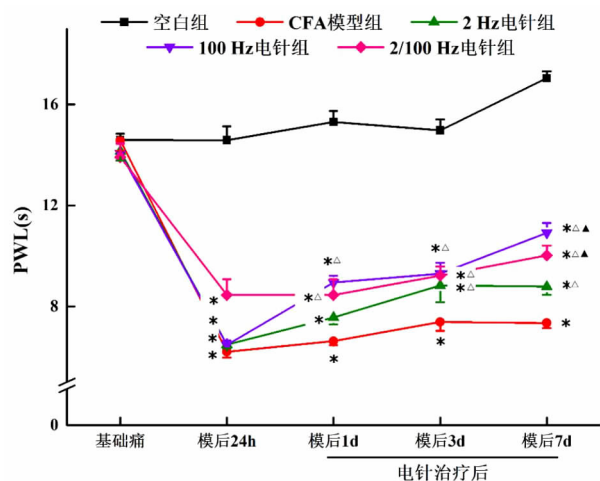


图2 不同频率电针对 CFA 大鼠不同时间点 PWL 的影响 ($\bar{x} \pm s, s$)

注:与空白组比较, * $P < 0.05$; 与 CFA 模型组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 2 Hz 电针组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

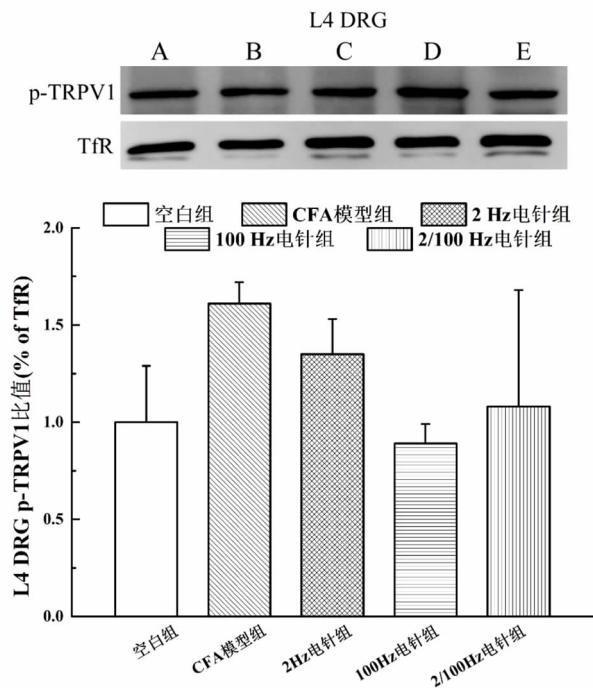


图3 不同频率电针对 CFA 大鼠 L4 DRG p-TRPV1 蛋白表达的干预情况 ($\bar{x} \pm s$)

注:A. 空白组, B. CFA 模型组, C. 2 Hz 电针组, D. 100 Hz 电针组, E. 2/100 Hz 电针组

2.3 不同频率电针对 CFA 大鼠 DRG TRPV1 活化的干预情况

2.3.1 不同频率电针对 CFA 大鼠 L4 DRG TRPV1 活化的干预情况 由图3可见,与空白组比较,CFA模型组大鼠 L4 DRG p-TRPV1 蛋白表达水平有所提升,但差异无统计学意义($P > 0.05$);与 CFA 模型组比较,各电针观察组大鼠 L4 DRG p-TRPV1 蛋白表

达有下降趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

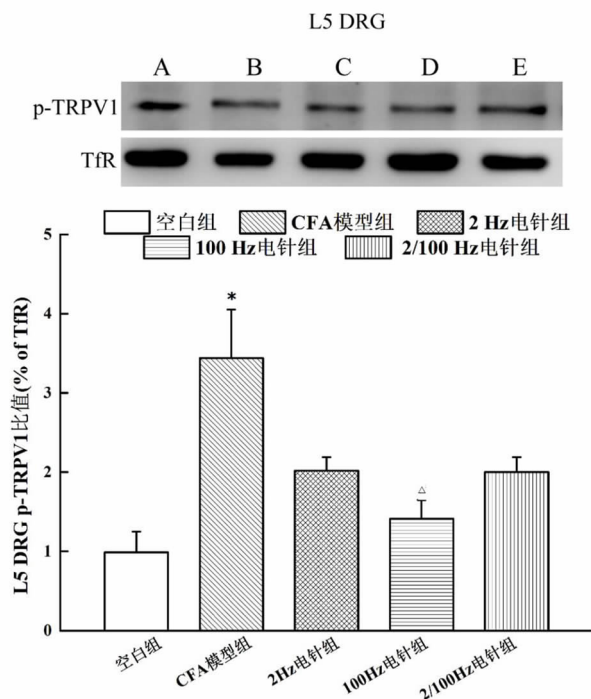


图4 不同频率电针对 CFA 大鼠 L5 DRG p-TRPV1 蛋白表达的干预情况 ($\bar{x} \pm s$)

注:A. 空白组, B. CFA 模型组, C. 2 Hz 电针组, D. 100 Hz 电针组, E. 2/100 Hz 电针组。与空白组比较, * $P < 0.05$; 与 CFA 模型组比较, $\Delta P < 0.05$

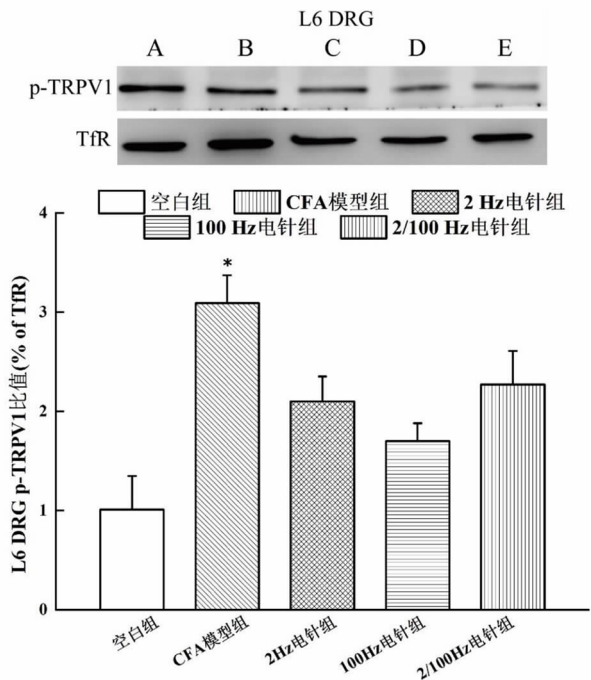


图5 不同频率电针对 CFA 大鼠 L6 DRG p-TRPV1 蛋白表达的干预情况 ($\bar{x} \pm s$)

注:A. 空白组, B. CFA 模型组, C. 2 Hz 电针组, D. 100 Hz 电针组, E. 2/100 Hz 电针组。与空白组比较, * $P < 0.05$

2.3.2 不同频率电针对 CFA 大鼠 L5 TRPV1 活化的干预情况 由图 4 可见,与空白组比较,CFA 模型组大鼠 L5 DRG p-TRPV1 蛋白表达水平显著上升,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 CFA 模型组比较,100 Hz 电针观察组大鼠 L5 DRG p-TRPV1 蛋白表达显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),2 Hz 和 2/100 Hz 电针观察组大鼠 L5 DRG p-TRPV1 蛋白表达虽有下降趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3.3 不同频率电针对 CFA 大鼠 L6 TRPV1 活化的干预情况 由图 5 可见,与空白组比较,CFA 模型组大鼠 L6 DRG p-TRPV1 蛋白表达水平显著上升,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 CFA 模型组比较,各电针观察组大鼠 L6 DRG p-TRPV1 蛋白表达虽有下降趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

大鼠足底注射 CFA 可诱导红、肿、热、痛等显著的炎症反应,导致大鼠出现机械痛觉过敏和热痛觉过敏等现象^[13-14]。本研究中,各造模组大鼠于模后 24 h 出现 PWT、PWL 显著降低,该结果与以往研究结果相一致,提示 CFA 造模成功。

根据“腧穴所在,主治所在”的选穴规律,“足三里”和“昆仑”穴处于病变部位,具有通利关节、舒经活络止痛作用^[15-16]。故本研究选取“足三里”和“昆仑”穴作为治疗主穴。大量研究证明,电针“足三里”和“昆仑”穴对 CFA 诱导的慢性炎性痛有良好的镇痛效应^[17-19]。本研究结果提示,模后 1 d 电针治疗后,各电针组大鼠患侧 PWT 和 PWL 均有提升,其中 100 Hz 电针组大鼠患侧 PWT 和 PWL 上升最为显著;模后 3 d 电针治疗后,100 Hz 和 2/100 Hz 电针组大鼠患侧 PWT 上升较显著,而各电针组大鼠患侧 PWL 上升均显著;模后 7 d 电针治疗后,100 Hz 电针组大鼠患侧 PWT 上升较显著,而 100 Hz 与 2/100 Hz 电针组大鼠患侧 PWL 上升均显著。由此可见:不同时间点 100 Hz 电针治疗均能显著提升大鼠患侧 PWT 和 PWL。该结果与以往研究相一致,即 100 Hz 是治疗慢性炎性痛的优势频率^[19]。

TRPV1 是一种与疼痛密切相关的非选择性阳离子通道。炎症反应状态下,TRPV1 在神经系统疼痛信号传导整合中发挥了重要作用^[20]。磷酸化是 TRPV1 活化的重要形式之一^[21]。在 CFA 诱导的慢性炎性痛模型中,大鼠会出现患侧 DRG p-TRPV1 表达增多的现象^[22]。本研究结果亦发现,慢性炎性痛大鼠 DRG 神经元细胞膜蛋白中的 p-TRPV1 蛋白表达显著增多。已有研究报道,电针对炎性痛大鼠的镇

痛效应可能与其抑制脊髓 TRPV1 mRNA 及蛋白的表达、p-TRPV1 蛋白的表达有关^[19,23]。本研究发现,100 Hz 电针能有效调控慢性炎性痛大鼠 L5 DRG 神经元细胞膜蛋白中的 p-TRPV1 蛋白过表达,但对 L4、L6 节段无显著调控效应。出现该差异的具体机制,仍需后期进一步研究。

综上所述,100 Hz 电针是干预慢性炎性痛的优势频率,其干预作用可能通过下调 CFA 大鼠 L5 DRG p-TRPV1 蛋白的过表达实现。

参考文献

- [1] 刘盈君,方剑乔,张静若,等.电针对慢性炎性痛大鼠镇痛作用及机制研究[J].中国中西医结合杂志,2016,36(6):0690-695.
- [2] 梁宜,杜俊英,房军帆等.电针治疗大鼠骨癌痛的镇痛效应及其对外周阿片受体表达的干预[J].中华中医药杂志,2018,33(11):103-108.
- [3] 庄晨坚,龚杰,周杰,等.不同电针刺激参数对镇痛效应的实验研究进展[J].浙江中医药大学学报,2015,39(12):913-917.
- [4] 付宏伟,阎丽娟,刘阳阳,等.不同电针刺激参数对镇痛效应影响的研究概述[J].上海针灸杂志,2018,37(11):107-111.
- [5] 周杰,陈贞羽,龚杰,等.不同参数组合电针对炎性痛模型大鼠镇痛效果及炎症因子的影响[J].新中医,2018,50(2):1-5.
- [6] Cahill C M, Morinville A, Hoffert C, et al. Up-regulation and trafficking of δ opioid receptor in a model of chronic inflammation: implications for pain control[J]. 2003,101(1-2):0-208.
- [7] 王旭,杜祎康,吴文斌,等.慢性炎性痛诱导小鼠焦虑样行为和前扣带回 TRPC3 和 TRPC6 通道的表达上调[J].神经解剖学杂志,2018,34(3):283-289.
- [8] Abdallah K, Nadeau F, Bergeron F, et al. Adeno-associated virus 2/9 delivery of Cre recombinase in mouse primary afferents[J]. Scientific Reports, 2018,8(1):7321-7329.
- [9] 朱璇,梁玲利,贾树山.离子通道参与化疗痛外周机制的研究进展[J].神经解剖学杂志,2018,34(6):766-770.
- [10] Liao M, Cao E, Julius D, et al. Structure of the TRPV1 ion channel determined by electron cryo-microscopy [J]. Nature, 2013, 504(7478):107-112.
- [11] Fang J Q, Du J Y, Fang J F, et al. Parameter-specific analgesic effects of electroacupuncture mediated by degree of regulation TRPV1 and P2X3 in inflammatory pain in rats[J]. Life Sciences, 2018,200:69-80.
- [12] Beyer A, Schäfer M, Stein C. Antinociceptive effects of dynorphin peptides in a model of inflammatory pain[J]. Pain, 1997,70(2-3):141-147.
- [13] Qin H Y, Sadelain M W, Hitchon C, et al. Complete Freund's adjuvant-induced T cells prevent the development and adoptive transfer of diabetes in nonobese diabetic mice [J]. Journal of Immunology, 1993,150(5):2072-2080.
- [14] Lin H, Wang Z, Shen J, et al. Intravenous anesthetic ketamine attenuates complete Freund's adjuvant-induced arthritis in rats via modulation of MAPKs/NF- κ B[J]. Inflammation Research, 2018(6):147-155.

- (4):329-331 + 343.
- [9] Sikes R W, Vogt B A. Nociceptive neurons in area 24 of rabbit cingulate cortex[J]. *Journal of Neurophysiology*, 1992, 68(5):1720-1732.
- [10] Dupont E, Stevens L, Cochon L, et al. ERK Is Involved in the Reorganization of Somatosensory Cortical Maps in Adult Rats Submitted to Hindlimb Unloading[J]. *PLOS ONE*, 2011, 6(3):e17564.
- [11] Buitrago M M, Luft A R, Thakor N V, et al. Effects of somatosensory electrical stimulation on neuronal injury after global hypoxia-ischemia[J]. *Experimental Brain Research*, 2004, 158(3):336-344.
- [12] G. Watson C. Paxinos. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates [M]. New York: Academic Press, 2013.
- [13] Jones A K P, Brown W D, Friston K J, et al. Cortical and subcortical localization of response to pain in man using positron emission tomography[J]. *Proc Biol Sci*, 1991, 244(1309):39-44.
- [14] Zussy C, Gómez-Santacana, X, Rovira X, et al. Dynamic modulation of inflammatory pain-related affective and sensory symptoms by optical control of amygdala metabotropic glutamate receptor 4[J]. *Molecular Psychiatry*, 2016, 223:509-520.
- [15] Apkarian A V, Bushnell M C, Treede R D, et al. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease[J]. *European Journal of Pain*, 2005, 9(4):463-463.
- [16] Grant JA, Courtemanche J, Rainville P. A non-elaborative mental stance and decoupling of executive and pain-related cortices predicts low pain sensitivity in Zen meditators[J]. *Pain*, 2011, 152(1):150-156.
- [17] Wei F, Qiu C S, Kim S J, et al. Genetic elimination of behavioral sensitization in mice lacking calmodulin-stimulated adenylyl cyclases[J]. *Neuron*, 2002, 36(4):713-726.
- [18] Ji R R, Befort K, Brenner G J, et al. ERK MAP Kinase Activation in Superficial Spinal Cord Neurons Induces Prodynorphin and NK1 Up-regulation and Contributes to Persistent Inflammatory Pain Hypersensitivity[J]. *Journal of Neuroscience the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 2002, 22(2):478.
- [19] Guo SW, Liu MG, Long YL, et al. Region-or state-related differences in expression and activation of extracellular signal-regulated kinases (ERKs) in naïve and pain-experiencing rats[J]. *BMC Neurosci*, 2007, 8:53-65.
- [20] Cao H, Ren W H, Zhu M Y, et al. Activation of glycine site and GluN2B subunit of NMDA receptors is necessary for ERK/CREB signaling cascade in rostral anterior cingulate cortex in rats: Implications for affective pain[J]. *Neuroscience Bulletin*, 2012, 28(1):77-87.
- [21] Maoying Q L, Ren D H, Mi W L, et al. Analgesic effects of electroacupuncture combined with celebrex on rats with tibial cancer pain[J]. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 2008, 6(8):830-835.
- [22] Zhao Z L, Zhao G W, Li H Z, et al. Acupuncture Attenuates Anxiety-Like Behavior by Normalizing Amygdaloid Catecholamines during Ethanol Withdrawal in Rats[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2010, 2011(2):429843.
- [23] Xiao-Mei S, Zui S, Jing S, et al. Strong Manual Acupuncture Stimulation of “Huantiao” (GB 30) Reduces Pain-Induced Anxiety and p-ERK in the Anterior Cingulate Cortex in a Rat Model of Neuropathic Pain[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 2015:1-11.
- [24] Johansen J P, Fields H L, Manning B H. The affective component of pain in rodents: Direct evidence for a contribution of the anterior cingulate cortex[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98(14):8077-8082.
- [25] Du J Y, Fang J Q, Liang Y, et al. Electroacupuncture attenuates mechanical allodynia by suppressing the spinal JNK1/2 pathway in a rat model of inflammatory pain[J]. *Brain Research Bulletin*, 2014, 108:27-36.
- [26] Zhang R, Lao L, Ren K, et al. Mechanisms of Acupuncture-Electroacupuncture on Persistent Pain[J]. *Anesthesiology*, 2014, 120(2):482-503.
- [27] Li Q, Yue N, Liu S B, et al. Effects of Chronic Electroacupuncture on Depression-and Anxiety-Like Behaviors in Rats with Chronic Neuropathic Pain[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 2014:1-10.

(2019-05-10 收稿 责任编辑:徐颖)

(上接第 1353 页)

- [15] 何晓芬, 方剑乔, 蒋永亮, 等. 电针治疗慢性炎性痛的促外周 beta-END 释放作用[J]. *上海针灸杂志*, 2013, 32(5):407-409.
- [16] 余伟佳, 陈波, 陈泽林, 等. 佐剂性关节炎大鼠模型针刺镇痛、抗炎效果影响因素分析[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2017, 19(9):107-109.
- [17] Fang J Q, Du J Y, Liang Y, et al. Intervention of electroacupuncture on spinal p38 MAPK/ATF-2/VR-1 pathway in treating inflammatory pain induced by CFA in rats[J]. *Molecular Pain*, 2013, 9(1):13.
- [18] 项璇儿, 杜俊英, 方剑乔, 等. 电针对 CFA 致炎性痛大鼠热痛和机械痛优效频率观察及机制初探[J]. *浙江中医药大学学报*, 2016, 40(12):891-897 + 922.
- [19] 项璇儿, 杜俊英, 房军帆, 等. 不同病理痛早期电针镇痛频率优选及其脊髓背角 TRPV1 活化机制研究[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(5):1707-1712.
- [20] Ji R R, Samad T A, Jin S X, et al. p38 MAPK Activation by NGF in Primary Sensory Neurons after Inflammation Increases TRPV1 Levels and Maintains Heat Hyperalgesia[J]. *Neuron*, 2002, 36(1):57-68.
- [21] 高峰, 卢伟龙, 王华林, 等. 大鼠背根神经节细胞中 TRPV1 与 cAMP/PKA 通路调控机制研究[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(8):1110-1114.
- [22] Ying-Jun L, Xiao-Xi L, Jian-Qiao F, et al. Involvement of MrgprC in Electroacupuncture Analgesia for Attenuating CFA-Induced Thermal Hyperalgesia by Suppressing the TRPV1 Pathway[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 2018(12):1-13.
- [23] Du J Y, Fang J Q, Liang Y, et al. Electroacupuncture attenuates mechanical allodynia by suppressing the spinal JNK1/2 pathway in a rat model of inflammatory pain[J]. *Brain Research Bulletin*, 2014, 108(1):27-36.

(2019-05-10 收稿 责任编辑:徐颖)