

·基础研究·

# 电针调控背根神经节巨噬细胞浸润改善紫杉醇诱导神经病理痛的机制研究

向宏春<sup>1</sup>,张虹<sup>2</sup>,李静<sup>1</sup>,龙漫<sup>1</sup>,李煜<sup>3</sup>,蔡国伟<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>华中科技大学同济医学院附属协和医院,湖北武汉430022;

<sup>2</sup>湖北科技学院,湖北咸宁437100;

<sup>3</sup>华中科技大学同济医学院基础医学院,湖北武汉430030

\*通信作者:蔡国伟,E-mail:cgw645@163.com

收稿日期:2023-04-03;接受日期:2023-08-05

基金项目:国家自然科学基金项目(81774410,81973949);湖北省自然科学基金项目(2021CFB268)

DOI:10.3724/SP.J.1329.2023.06007

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



**摘要 目的:**观察电针双侧足三里穴对紫杉醇诱导神经病理痛小鼠模型背根神经节(DRG)巨噬细胞标记物CD68、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达的影响,探讨电针调控紫杉醇诱导神经病理痛的机制。**方法:**选择成年C57小鼠30只,采用随机数字表法分为对照组、模型组、电针组,每组10只。模型组、电针组在第1、3、5、7天分别通过腹腔注射2 mg/kg紫杉醇进行造模;对照组注射相同体积的溶媒。造模结束后(第9天),电针组给予电针双侧足三里穴治疗,频率15 Hz,强度1 mA,30 min/次,1次/d,共7 d。采用“up and down”法测定足底机械阈值(PWMT);采用苏木精和伊红(HE)染色观察各组DRG组织的病理特征;采用免疫荧光染色法检测DRG组织MCP-1和CD68免疫阳性面积百分比;采用Western blot法检测DRG组织CD68、MCP-1、iNOS和IL-1 $\beta$ 蛋白表达水平;采用透射电镜观察DRG组织巨噬细胞超微结构。**结果:**① PWMT:与对照组同一时间点比较,模型组第8、11、13、15天PWMT明显降低( $P<0.05$ );与模型组同一时间点比较,电针组第11、13、15天PWMT明显升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。② DRG组织病理学特征:炎症细胞形态为近圆形,颜色为蓝紫色,对照组有少量的炎症细胞,模型组聚集浸润状态的炎症细胞数量增加,电针组聚集浸润状态的炎症细胞数量较少。③ DRG组织MCP-1、CD68免疫阳性面积百分比:与对照组比较,模型组DRG组织MCP-1、CD68免疫阳性面积百分比明显升高( $P<0.05$ );与模型组比较,电针组DRG组织MCP-1、CD68免疫阳性面积百分比明显降低( $P<0.05$ )。④ DRG组织MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白表达水平:与对照组比较,模型组DRG组织MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白表达水平明显升高( $P<0.05$ );与模型组比较,电针组DRG组织MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白表达水平明显下降( $P<0.05$ )。⑤ DRG组织巨噬细胞超微结构:对照组DRG组织巨噬细胞形态呈近圆形,有圆钝形突起;模型组DRG组织巨噬细胞形态呈扁平状,有伪足,胞体比对照组大;电针组DRG组织巨噬细胞的形态呈近圆形,胞体比对照组大。**结论:**电针双侧足三里穴可改善紫杉醇诱导的神经病理痛小鼠疼痛程度,其机制可能是电针通过下调DRG中MCP-1表达,抑制巨噬细胞在DRG组织中的浸润,减少DRG组织中IL-1 $\beta$ 、iNOS和CD68炎症因子释放,从而发挥镇痛作用。

**关键词** 神经病理痛;电针;紫杉醇;足三里穴;背根神经节;巨噬细胞

**引用格式:**向宏春,张虹,李静,等.电针调控背根神经节巨噬细胞浸润改善紫杉醇诱导神经病理痛的机制研究[J].康复学报,2023,33(6):521-527.

XIANG H C, ZHANG H, LI J, et al. Mechanism of electroacupuncture mediated macrophages infiltration on dorsal root ganglion to alleviate paclitaxel-induced neuropathic pain [J]. Rehabil Med, 2023, 33(6):521-527.

DOI:10.3724/SP.J.1329.2023.06007

化疗所致的周围神经病变(chemotherapy induced peripheral neuropathy, CIPN)是由于化疗药物[如紫杉醇(paclitaxel)和奥沙利铂等]产生的神经毒性引起的周围神经病变<sup>[1]</sup>。紫杉醇是治疗癌症(如乳腺癌、肺癌和卵巢癌等)的有效化疗药物,但是会导致CIPN,介导疼痛性神经病变,导致患者临床用药剂量减少,甚至停药<sup>[2-3]</sup>。目前已知的紫杉醇作用机制是稳定微管、阻断有丝分裂并促进细胞死亡<sup>[4]</sup>。有研究表明,紫杉醇可诱导背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)的表达增加,使巨噬细胞募集到DRG,巨噬细胞释放炎症因子[如白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )等]介导紫杉醇诱导和维持外周痛觉超敏反应<sup>[5]</sup>。虽然紫杉醇对周围神经系统的毒性严重影响患者生活质量,但在临床上紫杉醇仍然是常用的化疗药物<sup>[6]</sup>。因此,改善使用紫杉醇患者的生活质量具有重要的意义。

有研究采用紫杉醇诱导的神经病理痛模型,电针双侧足三里可促进脾脏、脊髓背角 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体( $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor,  $\alpha 7$ nAChR)表达,降低脾脏、脊髓背角肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )释放,从而改善模型小鼠的机械痛觉过敏<sup>[7]</sup>。本研究以紫杉醇诱导疼痛模型小鼠为研究对象,观察电针对小鼠DRG组织中MCP-1、IL-1 $\beta$ 、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)表达和巨噬细胞浸润的影响,探讨电针对紫杉醇诱导周围神经病理痛的调控机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物分组

选择健康雄性SPF级成年C57小鼠30只,体重20~25 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006,合格证号:1100112211044731865。饲养条件为白光(8:00—20:00)和暗光(20:00—8:00)交替,室温(23 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,湿度50%左右,普通小鼠饲料,自由饮水进食。采用随机数字表法将小鼠分为对照组、模型组、电针组,每组10只。本研究实验方案经华中科技大学实验动物伦理委员会批准[审批号:[2019]伦审字(S1866号)]。

### 1.2 主要试剂与仪器

紫杉醇(美国MedChemExpress公司);1:1 000

小鼠源IL-1 $\beta$ 抗体(美国R&D Systems公司,生产批号:MAB5011);1:1 000兔源iNOS抗体(英国Abcam公司,生产批号:178945),1:10 000小鼠源 $\beta$ -actin抗体(美国Santa Cruz Biotechnology公司,产品批号:sc-47778);1:200小鼠源CD68抗体(英国Abcam公司,生产批号:ab955);兔源MCP-1抗体(美国Protein-tech公司,产品批号:26161-1-AP);Von Frey纤维丝测痛仪(美国IITC Life Science公司);18 mm $\times$ 0.15 mm一次性无菌针灸针(苏州华佗医疗器械有限公司);冰冻切片机(德国徕卡公司);正置荧光显微镜(日本奥林巴斯公司);PVDF膜(美国Millipore公司),电泳仪、电泳槽、转膜槽(北京六一仪器厂);ECL显色液(上海雅酶生物医药科技有限公司,型号:Omni-ECL<sup>TM</sup>)。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 造模方法** 紫杉醇溶液按照说明书由5%二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、40%聚乙二醇300(polyethylene glycol 300, PEG300)、5% Tween 80和无菌0.9% NaCl溶液配制而成,注射用紫杉醇浓度为0.5 mg/mL。在第1、3、5、7天分别通过腹腔注射2 mg/kg紫杉醇进行造模,最终总注射剂量为8 mg/kg;对照组注射相同体积的溶媒。

**1.3.2 治疗方法** 电针治疗使用电针仪(华佗牌),取双侧足三里(ST 36),在4次紫杉醇腹腔注射结束后(第9天)开始电针治疗,频率15 Hz,强度1 mA,30 min/次,1次/d,共治疗7 d。电针组治疗时采用自制的固定装置束缚小鼠后再进行电针治疗,保证小鼠无痛苦挣扎。对照组、模型组和电针组采用同样的束缚固定方法。

### 1.3.3 观察指标

**1.3.3.1 机械痛觉阈值** 采用“up and down”法测定足底机械阈值(paw withdrawal mechanical threshold, PWMT)<sup>[8]</sup>。检测前,所有小鼠在痛行为学测试前适应测试环境30 min,然后测试基线机械痛觉阈值。具体如下:将Von Frey纤维丝垂直抵在小鼠后爪足底,使纤维弯曲5 s,小鼠后爪快速缩回或小鼠舔爪,即痛觉阳性行为。当观察到阳性反应行为时,使用下1个较低阈值的Von Frey纤维丝,当没有出现阳性反应时,使用前1个较高阈值的Von Frey纤维丝,反复进行5次测试并记录。5 min后再重复上述测试并记录,取2轮测试平均值为足底机械阈值。在造模第0天(即基线)、第8天造模结束后以及第11、13、15天电针治疗后3 h进行检测。

**1.3.3.2 DRG组织病理学特征观察** 采用苏木精和伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察各组DRG组织的病理特征。具体如下:行为学检测完成后,通过腹腔注射2%戊巴比妥钠(0.3 mL/100 g)深度麻醉后进行取材。取3只麻醉后的小鼠,切开胸腔暴露心脏,经左心室灌注37℃生理盐水、4%多聚甲醛进行组织固定,冰上快速完整剥离腰段双侧DRG组织,一侧用于冰冻切片的免疫荧光染色,一侧用于石蜡切片的HE染色。把DRG组织放在10%福尔马林缓冲液中固定48 h,再进行常规石蜡包埋。石蜡包埋的组织切片厚度约为5 μm, HE染色,用显微镜在400倍视野下拍照并获取图片。

**1.3.3.3 DRG组织CD68和MCP-1免疫阳性面积百分比检测** ①采用4%多聚甲醛溶液固定腰段DRG组织8 h,分别用20%和30%蔗糖溶液在4℃冰箱梯度沉底。②用OCT包埋DRG组织进行冰冻切片,厚度20 μm。③用0.01 mol/L磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)(pH 7.4)洗涤玻片3次,用驴血清配制的封闭液(10%)室温封闭1 h,然后用0.01 mol/L PBS洗涤3次,滴加抗体CD68(1:200)和MCP-1(1:200)后,在湿盒4℃孵育过夜。④用0.01 mol/L PBS洗涤玻片3次,滴加相应的荧光二抗,室温避光孵育1 h。⑤结束后滴加0.01 mol/L PBS(pH 7.4)冲洗,再滴加4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride, DAPI)避光孵育5 min。⑥用0.01 mol/L PBS洗涤3次,滴加适量的抗荧光淬灭封裱剂,加上盖玻片封片。⑦荧光显微镜下用200倍视野观察和拍照获取图片。⑧采用ImageJ软件打开免疫荧光染色图片,以DAPI染色为参考,圈取DRG组织的轮廓,根据CD68和MCP-1免疫阳性信号,获得CD68和MCP-1免疫阳性面积百分比。

**1.3.3.4 DRG组织CD68、MCP-1、iNOS和IL-1β蛋白表达水平检测** 每组随机选取4只小鼠,深度麻醉后,完整分离腰段双侧第3~5节段DRG组织,分别用液氮冻存备用。①各组取小鼠DRG组织,用RIPA强裂解液充分匀浆裂解后高速离心(12 000 r/min)取上清液。②BCA试剂盒测上清液浓度。③加入蛋白上样缓冲液,加热到95℃使蛋白变性。④对蛋白样品进行电泳分离,用300 mA恒流将蛋白转到PVDF膜。⑤室温条件下用5%脱脂牛奶封闭60 min,分别加入CD68、MCP-1、IL-1β、iNOS和β-actin一抗(1:1 000)在4℃冰箱孵育过

夜。⑥第2天用0.01 mol/L TBST洗涤5 min,共5次。加入辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗(1:3 000)孵育1 h,0.01 M TBST洗涤5 min,共5次。⑦用增强型化学发光液(enhanced chemi-luminescence, ECL)对蛋白条带显色,暗室曝光成像。⑧采用ImageJ软件对蛋白条带进行灰度分析,以β-actin为内参蛋白,目的蛋白与内参蛋白的比值(%)即为目的蛋白表达水平。

**1.3.3.5 DRG组织巨噬细胞超微结构观察** 每组随机选取3只小鼠,深度麻醉后,经心脏灌注生理盐水,于冰上快速断头处死小鼠,完整分离腰段双侧第3~5节段DRG组织,立即放入电镜固定液(2.5%戊二醛)中室温固定2 h,在4℃冰箱保存。①用0.1 mol/L PBS(pH 7.4)漂洗3次(每次15 min),0.1 mol/L PBS配制1%锇酸在室温(20℃)固定2 h,0.1 mol/L PBS漂洗3次,乙醇梯度脱水。②脱水后的组织依次放入丙酮:环氧树脂(2:1)、丙酮:环氧树脂(1:1)和环氧树脂3种渗透剂,共渗透3次,在37℃温箱渗透,12 h/次。③加入包埋剂环氧树脂,在60℃恒温箱聚合48 h。④切片使用超薄切片机(德国徕卡公司,型号:UC7)进行切片,切片厚度为60~80 nm。⑤铀铅染色液双染色,室温染色约15 min,室温干燥过夜。⑥采用透射电子显微镜(日本日立公司,型号:HT7800)观察,在1 000或1 500倍视野下进行拍照并获取图片。

## 1.4 统计学方法

采用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。计量资料服从正态分布以( $\bar{x} \pm s$ )表示,组内多时间点比较采用重复测量方差分析;组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用Bonferroni检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组治疗前后PWMT比较

与对照组同一时间点比较,模型组第8、11、13、15天机械痛觉阈值明显降低( $P < 0.05$ )。与模型组同一时间点比较,电针组第11、13、15天机械痛觉阈值明显升高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

### 2.2 3组小鼠DRG组织病理学特征

HE染色图显示,对照组有少量的炎症细胞,形态为近圆形、颜色为蓝紫色;模型组炎症细胞数量增加,呈浸润聚集状态,形态为近圆形、颜色为蓝紫色;电针组聚集浸润状态的炎症细胞数量较少,形态为近圆形、颜色为蓝紫色。见图1。

表1 3组治疗前后PWMT比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Comparison of PWMT in three groups before and after treatment ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	第0天	第8天	第11天	第13天	第15天
对照组	10	1.01±0.11	0.87±0.25	0.89±0.21	0.83±0.22	0.87±0.26
模型组	10	0.95±0.18	0.17±0.16 <sup>1)</sup>	0.20±0.19 <sup>1)</sup>	0.18±0.17 <sup>1)</sup>	0.23±0.22 <sup>1)</sup>
电针组	10	0.97±0.19	0.19±0.17 <sup>1)</sup>	0.45±0.14 <sup>2)</sup>	0.50±0.18 <sup>2)</sup>	0.53±0.19 <sup>2)</sup>

注:与对照组同一时间点比较,1)  $P<0.05$ ;与模型组同一时间点比较,2)  $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group at the same time, 1)  $P<0.05$ ; compared with the model group at the same time, 2)  $P<0.05$ .

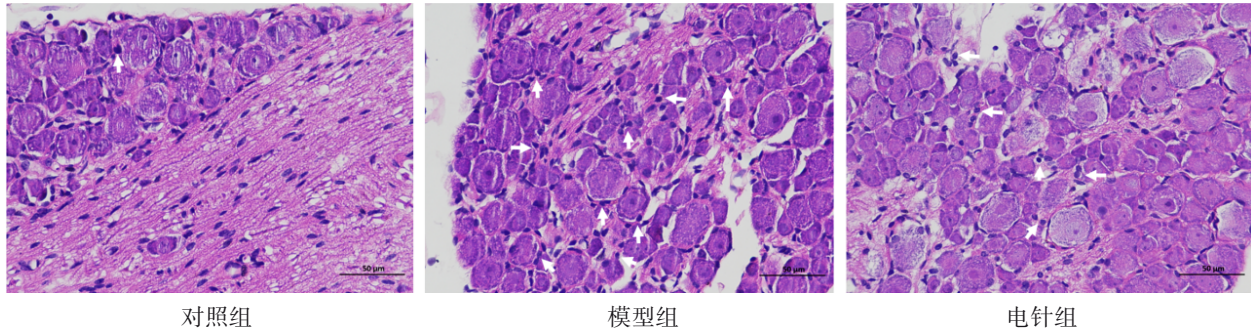


图1 3组DRG组织HE染色图( $\times 400$ )

Figure 1 HE staining of DRG tissue in three groups ( $\times 400$ )

### 2.3 3组DRG组织MCP-1、CD68免疫阳性面积百分比比较

与对照组比较,模型组DRG组织MCP-1、CD68免疫阳性面积百分比明显升高,差异具有统计学意义

( $P<0.05$ );与模型组比较,电针组DRG组织MCP-1、CD68免疫阳性面积百分比明显降低,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见图2、图3和表2。

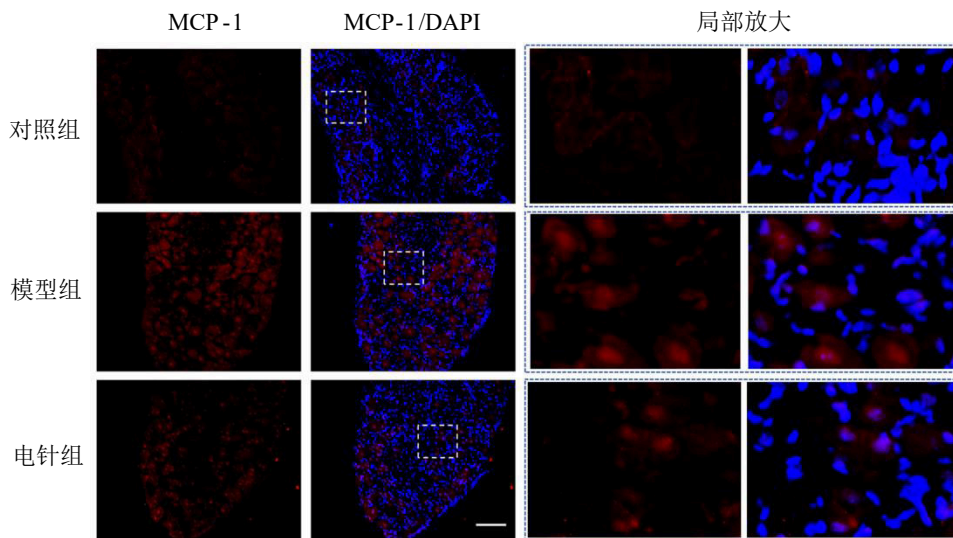


图2 3组DRG组织MCP-1免疫荧光染色图( $\times 200$ )

Figure 2 Immunofluorescence staining of MCP-1 in DRG tissues in three groups ( $\times 200$ )

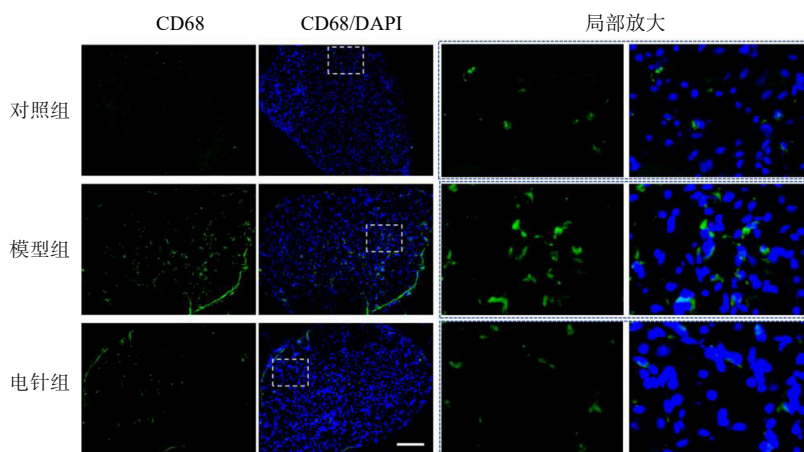


图3 3组DRG组织CD68免疫荧光染色图(×200)

Figure 3 Immunofluorescence staining of CD68 in DRG tissues in three groups (×200)

表2 3组DRG组织MCP-1、CD68免疫阳性面积百分比比较( $\bar{x}\pm s$ ) %

Table 2 Comparison of MCP-1 and CD68 immunopositive areas of DRG tissues in three groups ( $\bar{x}\pm s$ ) %

组别	n	MCP-1	CD68
对照组	3	12.26±3.10	0.68±0.12
模型组	3	23.77±4.61 <sup>1)</sup>	1.93±0.13 <sup>1)</sup>
电针组	3	12.87±2.03 <sup>2)</sup>	1.16±0.15 <sup>2)</sup>

注:与对照组比较,1)  $P<0.05$ ;与模型组比较,2)  $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, 1)  $P<0.05$ ; compared with the model group, 2)  $P<0.05$ .

### 2.4 3组DRG组织MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白表达水平比较

与对照组比较,模型组DRG组织MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白表达水平明显升高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,电针组DRG组织MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白表达水平明显

下降,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见图4和表3。

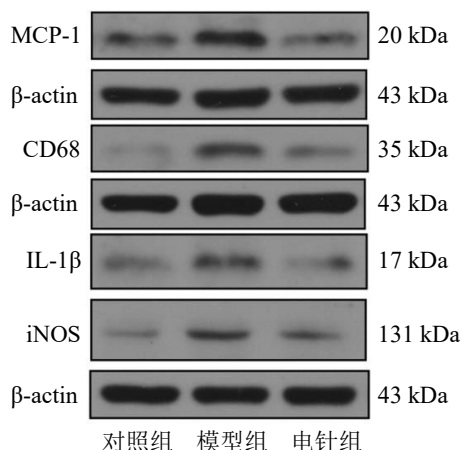


图4 3组DRG组织MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白条带图

Figure 4 Protein band figure of MCP-1, CD68, IL-1 $\beta$  and iNOS in DRG tissues in three groups

表3 3组DRG组织MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Comparison of protein expression level of MCP-1, CD68, IL-1 $\beta$  and iNOS of DRG tissues in three groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	MCP-1	CD68	IL-1 $\beta$	iNOS
对照组	4	101.54±2.81	101.67±19.35	103.18±13.28	104.34±18.61
模型组	4	189.76±23.62 <sup>1)</sup>	234.98±48.75 <sup>1)</sup>	183.41±23.39 <sup>1)</sup>	201.63±13.85 <sup>1)</sup>
电针组	4	80.61.15±20.87 <sup>2)</sup>	119.15±4.79 <sup>2)</sup>	94.37±13.76 <sup>2)</sup>	141.76±8.22 <sup>2)</sup>

注:与对照组比较,1)  $P<0.05$ ;与模型组比较,2)  $P<0.05$ 。

Note: Compared with the control group, 1)  $P<0.05$ ; compared with the model group, 2)  $P<0.05$ .

### 2.5 3组DRG组织巨噬细胞超微结构

透射电镜观察结果显示,对照组DRG组织巨噬细胞形态呈近圆形,有圆钝形突起;模型组DRG组

巨噬细胞形态呈扁平状,有伪足,胞体比对照组大;电针组DRG组织巨噬细胞的形态呈近圆形,胞体比对照组大。见图5。

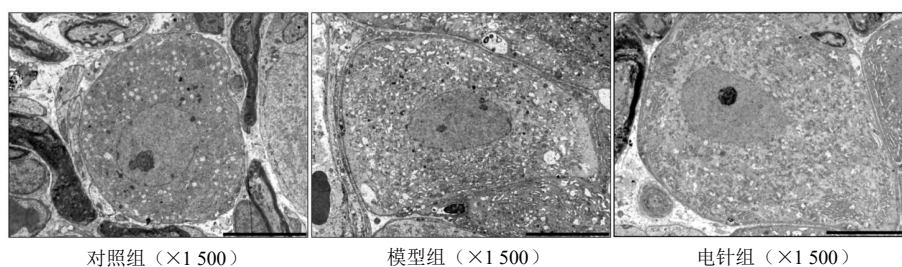


图5 3组DRG组织巨噬细胞超微结构比较

Figure 5 Ultrastructure images of macrophages in DRG tissues in three groups

### 3 讨论

#### 3.1 电针“足三里”可改善紫杉醇诱导神经病理痛模型小鼠疼痛程度

化疗诱发的周围神经病变是化疗药常见的毒副作用<sup>[9]</sup>。本研究采用反复紫杉醇腹腔注射模型研究化疗药所致周围神经病变的机制,通过疼痛行为学观察模型动物的伤害性痛觉敏化现象。造模结束后(即第8天)的行为学结果显示,与对照组比较,模型组小鼠机械痛觉阈值明显下降,表明紫杉醇可诱导小鼠的伤害性痛觉敏化。本研究结果显示,与模型组同一时间点比较,电针组第11、13、15天机械痛觉阈值明显升高,提示电针足三里可改善紫杉醇诱导神经病理痛模型小鼠的疼痛行为。这可能与以下原因有关:中医学认为化疗药物所致疼痛病机主要为“不通则痛”。化疗药物虽可杀死部分肿瘤细胞,但也会影响正常机体气机运行,使邪留局部脏腑经络,引起局部疼痛。足三里穴为扶正祛邪之要穴,针刺足三里可以疏通经络,调理脏腑,理气行滞,调节机体回归阴阳平衡状态,从而减轻疼痛程度。

#### 3.2 电针改善紫杉醇诱导的周围神经病理痛可能与调控DRG巨噬细胞浸润和炎症因子表达有关

本研究结果显示,在紫杉醇诱导的神经病理痛小鼠模型中DRG组织有大量巨噬细胞浸润,MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白相对表达量明显升高;与模型组比较,电针组DRG组织巨噬细胞浸润明显减少,MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白表达水平明显下降,提示电针改善紫杉醇诱导的周围神经病理痛可能与调控DRG巨噬细胞浸润和炎症因子表达有关。疼痛的发生与神经元的活动、炎症反应等诸多方面密切相关,巨噬细胞是神经病理痛反应的重要靶点,在紫杉醇诱导的神经病理痛模型中,巨噬细胞浸润DRG组织且释放大炎症因子<sup>[10]</sup>,导致周围传入感觉神经致敏,参与介导疼痛的发生和疼痛持续状态<sup>[11]</sup>。电针双侧足三里穴可抑制巨噬细胞在DRG组织浸润,抑制MCP-1、CD68、IL-1 $\beta$ 和iNOS蛋白表达,从而改善模型小鼠的疼痛程度。这与

ZHAO等<sup>[12]</sup>研究结果一致。此外,紫杉醇可使大量巨噬细胞浸润DRG,DRG中炎症因子IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 表达水平明显增加,通过RIP3/MLKL途径启动神经元坏死性凋亡,介导神经性疼痛<sup>[10]</sup>。MCP-1是一种趋化因子,在炎症条件下调控单核细胞/巨噬细胞的迁移和浸润,在神经性疼痛中起重要作用<sup>[13]</sup>;炎症因子(如IL-1 $\beta$ 、iNOS和IL-6)可介导伤害性神经元的兴奋性,参与疼痛的发生和维持<sup>[14]</sup>。电针足三里穴可抑制IL-1 $\beta$ 、iNOS和IL-6等炎症因子的表达,使DRG组织交感神经-感觉神经耦合作用减弱,从而发挥抗炎镇痛作用<sup>[15]</sup>。这与本研究发现针刺足三里穴可通过抑制巨噬细胞浸润以及炎症因子表达,改善紫杉醇诱导神经病理痛的观点相似。

### 4 小结

电针足三里穴治疗可有效改善紫杉醇诱导的疼痛小鼠模型的疼痛程度,其效应机制可能是通过抑制DRG中MCP-1表达,下调巨噬细胞浸润,减少IL-1 $\beta$ 、iNOS和CD68等促炎因子分泌,从而发挥镇痛效应,但是作用机制仍需要进一步研究。

### 参考文献

- [1] SANKARANARAYANAN I, TAVARES-FERREIRA D, HE L, et al. Meteorin alleviates paclitaxel-induced peripheral neuropathic pain in mice [J]. *J Pain*, 2023, 24(4): 555-567.
- [2] KAUR S, MUTHURAMAN A. Ameliorative effect of gallic acid in paclitaxel-induced neuropathic pain in mice [J]. *Toxicol Rep*, 2019, 6: 505-513.
- [3] LEE J H, KIM B, KO S G, et al. Analgesic effect of SH003 and *Trichosanthes kirilowii* maximowicz in paclitaxel-induced neuropathic pain in mice [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2022, 44(2): 718-730.
- [4] WU Z Z, TORO G, XU G Y, et al. Paclitaxel inhibits KCNQ channels in primary sensory neurons to initiate the development of painful peripheral neuropathy [J]. *Cells*, 2022, 11(24): 4067.
- [5] ZHANG H M, LI Y, DE CARVALHO-BARBOSA M, et al. Dorsal root ganglion infiltration by macrophages contributes to paclitaxel chemotherapy-induced peripheral neuropathy [J]. *J Pain*, 2016, 17(7): 775-786.
- [6] XU Y H, JIANG Z S, CHEN X W. Mechanisms underlying paclitaxel-induced neuropathic pain: channels, inflammation and

- immune regulations [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 933: 175288.
- [7] 庞莉娜, 兰艳艳, 王志福, 等. 电针足三里对紫杉醇诱导神经性疼痛小鼠脾脏及脊髓背角 $\alpha 7nAChR$ 调控炎症的机制研究[J]. *康复学报*, 2022, 32(5): 426-433.
- PANG L N, LAN Y Y, WANG Z F, et al. Mechanism of inflammation regulation of  $\alpha 7nAChR$  in spleen and spinal dorsal horn of mice with paclitaxel-induced neuropathic pain by electroacupuncture on Zusanli acupoint [J]. *Rehabil Med*, 2022, 32(5): 426-433.
- [8] XIANG H C, LIN L X, HU X F, et al. AMPK activation attenuates inflammatory pain through inhibiting NF- $\kappa$ B activation and IL-1 $\beta$  expression [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 34.
- [9] SU C J, ZHANG J T, ZHAO F L, et al. Resolvin D1/N-formyl peptide receptor 2 ameliorates paclitaxel-induced neuropathic pain through the activation of IL-10/Nrf2/HO-1 pathway in mice [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1091753.
- [10] MA D Y, WANG X L, LIU X, et al. Macrophage infiltration initiates RIP3/MLKL-dependent necroptosis in paclitaxel-induced neuropathic pain [J]. *Mediators Inflamm*, 2022, 2022: 1567210.
- [11] WOOD M J, MILLER R E, MALFAIT A M. The genesis of pain in osteoarthritis: inflammation as a mediator of osteoarthritis pain [J]. *Clin Geriatr Med*, 2022, 38(2): 221-238.
- [12] ZHAO Y X, YAO M J, LIU Q, et al. Electroacupuncture treatment attenuates paclitaxel-induced neuropathic pain in rats via inhibiting spinal Glia and the TLR4/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *J Pain Res*, 2020, 13: 239-250.
- [13] LIAO M F, HSU J L, LU K T, et al. Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) can attenuate neuropathic pain by suppressing monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) expression, through upregulating the early microRNA-122 expression in the dorsal root Ganglia [J]. *Cells*, 2020, 9(7): 1669.
- [14] DOMOTO R, SEKIGUCHI F, TSUBOTA M, et al. Macrophage as a peripheral pain regulator [J]. *Cells*, 2021, 10(8): 1881.
- [15] WANG Y L, ZHU H Y, LYU X Q, et al. Electroacupuncture Zusanli (ST36) relieves somatic pain in colitis rats by inhibiting dorsal root ganglion sympathetic-sensory coupling and neurogenic inflammation [J]. *Neural Plast*, 2023, 2023: 9303419.

## Mechanism of Electroacupuncture Mediated Macrophages Infiltration on Dorsal Root Ganglion to Alleviate Paclitaxel-Induced Neuropathic Pain

XIANG Hongchun<sup>1</sup>, ZHANG Hong<sup>2</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, LONG Man<sup>1</sup>, LI Man<sup>3</sup>, CAI Guowei<sup>\*</sup>

<sup>1</sup> Affiliated Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430022, China;

<sup>2</sup> Hubei University of Science and Technology, Xianning, Hubei 437100, China;

<sup>3</sup> School of Basic Medicine, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430030, China

\*Correspondence: CAI Guowei, E-mail: cgw645@163.com

**ABSTRACT Objective:** To observe the effects of electroacupuncture (EA) at bilateral Zusanli acupoint (ST 36) on the expressions of macrophage marker CD68, monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in dorsal root ganglion (DRG) of mouse model with paclitaxel-induced neuropathic pain, and to explore the mechanism of EA in regulating paclitaxel-induced neuropathic pain. **Methods:** A total of 30 adult C57 mice were randomly divided into control group, model group and EA group, with 10 mice in each group. The model group and the EA group received intraperitoneal injection of 2 mg/kg paclitaxel on the 1st, 3rd, 5th and 7th day, respectively, while the control group was injected with the same volume of solvent. After injection (at the 9th day), the EA group received electroacupuncture at bilateral Zusanli acupoint (ST 36) with frequency of 15 Hz, intensity of 1 mA, 30 minutes a time, once a day, lasting for seven days. The "up and down" method was used to measure paw withdrawal mechanical threshold (PWMT); the hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe pathological characteristics of DRG tissues; immunofluorescence staining was used to detect the percentage of MCP-1 and CD68 immunopositive area in DRG tissues; Western blot method was used to detect the protein expression level of CD68, MCP-1, iNOS and IL-1 $\beta$  in DRG tissues, and transmission electron microscope was used to observe the ultrastructure of macrophages in DRG tissues. **Results:** (1) PWMT: compared with the control group at the same time, PWMT in the model group decreased significantly at the 8th, 11th, 13th and 15th days ( $P < 0.05$ ); compared with the model group at the same time, PWMT in the EA group increased significantly at the 11th, 13th and 15th days, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). (2) Histopathological features of DRG tissues: the inflammatory cells are nearly round in shape and blue-purple in color. There were a small number of inflammatory cells in the control group, the number of inflammatory cells in the aggregating and infiltrating state increased in the model group, and there were fewer inflammatory cells in the EA group. (3) The percentage of MCP-1 and CD68 immunopositive areas in DRG tissues: compared with the control group, the percentage of MCP-1 and CD68 immunopositive areas in DRG tissues in the model group increased significantly ( $P < 0.05$ ); compared with the model group, the percentage of MCP-1 and CD68 immunopositive areas in DRG tissues in the EA group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). (4) The protein expression level of MCP-1, CD68, IL-1 $\beta$  and iNOS in DRG tissues: compared with the control group, the protein expression level of MCP-1, CD68, IL-1 $\beta$  and iNOS in DRG tissues in the model group increased significantly ( $P < 0.05$ ); compared with the model group, the relative protein expressions of MCP-1, CD68, IL-1 $\beta$  and iNOS in the DRG tissues in the EA group decreased significantly ( $P < 0.05$ ). (5) Ultrastructure of macrophages in DRG tissues: the shape of macrophages in DRG tissues in the control group was nearly round, with round and blunt processes; the shape of macrophages in DRG tissue in the model group was flat, cells with pseudopodia, and the cell bodies were larger than those in the control group; the shape of macrophages in DRG tissues in the EA group was nearly round, and the cell bodies were larger than those in the control group. **Conclusion:** EA at bilateral Zusanli acupoint (ST 36) can relieve neuropathic pain induced by paclitaxel in mice, and its mechanism may be that EA plays an analgesic role by down-regulating the expression of MCP-1 in DRG, inhibiting the infiltration of macrophages in DRG tissue, and reducing the release of IL-1 $\beta$ , iNOS and CD68 inflammatory factors in DRG tissue.

**KEY WORDS** neuropathic pain; electroacupuncture; paclitaxel; Zusanli acupoint (ST 36); dorsal root ganglion; macrophage

**DOI:** 10.3724/SP.J.1329.2023.06007