

mTOR 和 JNK 通路调节神经病理性大鼠杏仁核 MCP-1 表达的作用分析*

李耿章¹, 符文红¹, 杨冯睿²

(1. 邵阳学院附属第一医院麻醉科, 湖南邵阳 422001; 2. 南华大学附属第一医院麻醉科, 湖南衡阳 421001)

[摘要] **目的** 探讨哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)和 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)通路对神经病理性疼痛(NP)大鼠杏仁核单核细胞趋化因子-1(MCP-1)表达的调节作用。**方法** 选取 2 月龄无特殊病原体(SPF)级健康雄性 SD 大鼠,采用脊神经结扎(SNL)左侧第 5/6 腰椎(L_{5/6})制备 NP 模型大鼠,假手术组仅暴露 L_{5/6} 脊神经不结扎。实验分为 3 个部分:(1)将 24 只大鼠于 SNL 术前及术后第 7、14 和 21 天(d₀、d₇、d₁₄ 和 d₂₁,各 6 只)取杏仁核,采用 Western blot 检测磷酸化 mTOR(p-mTOR)、磷酸化 JNK(p-JNK)表达情况并分析二者与 MCP-1 水平的相关性;(2)48 只 NP 模型大鼠双侧杏仁核注射不同浓度 mTOR 抑制剂雷帕霉素或 JNK 抑制剂 SP600125(浓度梯度均为 0、0.1、1.0 和 10.0 μmol/L),于 d₂₁ 取杏仁核(每个浓度各 6 只),采用 ELISA 检测 MCP-1 水平,免疫组织化学检测 MCP-1 阳性细胞数;(3)24 只大鼠分为假手术组、模型组及抑制剂组(双侧杏仁核注射 10 μmol/L SP600125 或雷帕霉素 3 μL),于 d₀、d₄、d₇、d₁₄、d₂₁ 共 5 个时间点测定各组的机械痛阈值(MWT)。**结果** 与 d₀ 相比,d₇、d₁₄、d₂₁ NP 模型大鼠杏仁核中 p-mTOR 和 p-JNK 水平均升高(P<0.05),且 d₂₁ 水平最高;进一步分析发现,d₂₁ 的 NP 模型大鼠杏仁核 p-mTOR 和 p-JNK 水平与 MCP-1 水平均呈正相关(r=0.564、0.629,P<0.05)。杏仁核注射 SP600125 或雷帕霉素可降低 MCP-1 表达,与 0 μmol/L 组相比,0.1~10.0 μmol/L 组的 NP 模型大鼠 MCP-1 水平及阳性细胞数均降低,差异有统计学意义(P<0.05),且 10 μmol/L 组 MCP-1 水平及阳性细胞数最低。NP 模型大鼠 d₄、d₇、d₁₄、d₂₁ 杏仁核 MWT 均低于假手术组(P<0.05),经 SP600125 或雷帕霉素治疗后 NP 模型大鼠降低的 MWT 获改善,SP600125 组或雷帕霉素组 d₇、d₁₄、d₂₁ 的 MWT 均高于模型组(P<0.05),但与对照组仍有明显差异(P<0.05)。**结论** NP 大鼠 mTOR 和 JNK 通路激活,抑制 mTOR 和 JNK 通路可达到缓解 NP 大鼠疼痛及上调杏仁核 MCP-1 表达的作用,对于 NP 的治疗有一定意义。

[关键词] 神经病理性疼痛;杏仁核;哺乳动物雷帕霉素靶蛋白;c-Jun 氨基末端激酶;单核细胞趋化因子-1

[中图分类号] R741 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)20-3438-07

Effect of mTOR and JNK pathway on regulating MCP-1 expression in amygdala of neuropathic rats*

LI Gengzhang¹, FU Wenhong¹, YANG Fengrui²

(1. Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Shaoyang College, Shaoyang, Hunan 422001, China; 2. Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the regulation effects of mammalian target of rapamycin (mTOR) and c-Jun amino terminal kinase (JNK) pathways on the expression of monocyte chemokine-1 (MCP-1) in amygdala of neuropathic pain (NP) rats. **Methods** The specific pathogen free (SPF) level healthy male SD rats aged 2 months old were selected and prepared the rat NP model by spinal nerve ligation (SNL) at the 5/6 lumbar vertebra (L_{5/6}) on the left. The sham group only exposed L_{5/6} without ligation. The experiment was divided into the three parts: (1) the amygdala of 24 NP model rats was taken before SNL operation, and on po-

stoperative 7, 14, 21 d (d_0, d_7, d_{14}, d_{21} , each 6 cases). The expression levels of phosphorylated mTOR (p-mTOR) and p-JNK were detected by Western blot and their correlation with the MCP-1 level was analyzed; (2) the bilateral amygdalas in 48 NP model rats were injected with different concentrations of mTOR inhibitor rapamycin or JNK inhibitor SP600125 (all concentration gradients were 0, 0.1, 1.0 and 10.0 $\mu\text{mol/L}$). The amygdala was taken on d_{21} (6 cases at each concentration). The level of MCP-1 was detected by ELISA, and the number of MCP-1 positive cells was detected by immunohistochemistry; (3) 24 rats were divided into the sham group, model group and inhibitor group (bilateral amygdala injection of 10 $\mu\text{mol/L}$ SP600125 or rapamycin, 3 μL). The mechanical pain threshold (MWT) value was measured on d_0, d_4, d_7, d_{14} and d_{21} .

Results The levels of p-mTOR and p-JNK in the amygdala on d_7, d_{14} and d_{21} were increased compared with those on d_0 ($P < 0.05$), moreover which on d_{21} were the highest. Further analysis showed that the levels of p-mTOR and p-JNK in the amygdala on d_{21} were positively correlated with the MCP-1 level ($r = 0.564, 0.629, P < 0.05$). The amygdala injection of SP600125 or rapamycin could decrease the expression of MCP-1, compared with the 0 $\mu\text{mol/L}$ group, the level of MCP-1 and the number of MCP-1 positive cells in the 0.1–10.0 $\mu\text{mol/L}$ groups were decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$), moreover the level of MCP-1 and the number of MCP-1 positive cells in the 10 $\mu\text{mol/L}$ group were the lowest. The values of MWT in the amygdala on d_4, d_7, d_{14}, d_{21} in NP model rats were lower than those in the sham group ($P < 0.05$). After treatment with SP600125 or rapamycin, the decrease of MWT value in NP model rats was improved. The values of MWT on d_7, d_{14} and d_{21} in the SP600125 or rapamycin group were higher than those in the model group ($P < 0.05$), while still had significant difference compared with those in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The mTOR and JNK pathways are activated in NP rats, inhibiting the mTOR and JNK pathways could achieve the effect of relieving pain in the NP rats and up-regulating MCP-1 expression in amygdala, which has a certain significance in treating NP.

[Key words] neuropathic pain; amygdala; mammalian target of rapamycin; c-Jun N-terminal kinase; monocyte chemokine-1

神经病理性疼痛(NP)是临床难治性疾病,杏仁核活动与疼痛行为密切相关^[1-2],抑制杏仁核活动可缓解NP^[3]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,其在调控长时程突触可塑性上发挥重要作用^[4]。mTOR及其下游效应物被发现表达于疼痛处理主要区域的脊髓背根神经节(DRG)和脊髓背角,有助于伤害性信息的传递和调制。研究发现,c-Jun 氨基末端激酶(JNK)是丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)家族成员之一,可在神经损伤后的脊髓星形胶质细胞中持续活化,而JNK抑制剂SP600125可改善脊髓损伤后的NP症状^[5-6]。本课题组前期研究发现,单核细胞趋化因子-1(MCP-1)参与NP状态下杏仁核功能异常,然而,NP状态下杏仁核中mTOR和JNK表达的变化及其与MCP-1关系尚不清楚,故本研究将进行初步探讨,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂

兔抗MCP-1单克隆抗体(批号:sc-4906,美国Santa Cruz公司),磷酸化mTOR(p-mTOR)多克隆抗体(批号:ab45989,美国Abcam公司),磷酸化JNK(p-JNK)单克隆抗体(批号:ab124954,美国Abcam公司),mTOR抑制剂雷帕霉素(批号:HY-10219,美国MCE公司),JNK抑制剂SP600125(批号:420119-5MG,德国Merck公司),MCP-1 ELISA试剂盒(美国RD公司)。

1.1.2 实验动物与分组

选取2月龄200~260 g雄性SD大鼠96只,采用左侧第5/6腰椎(L_{5/6})脊神经结扎(SNL)制备NP模型。实验分为3个部分:(1)将24只大鼠于SNL术前及术后第7、14和21天(d_0, d_7, d_{14} 和 d_{21} ,各6只)取杏仁核,采用Western blot检测p-mTOR、p-JNK表达情况并分析二者与MCP-1水平的相关性;(2)48只NP模型大鼠双侧杏仁核注射不同浓度mTOR抑制剂雷帕霉素(0、0.1、1.0和10.0 $\mu\text{mol/L}$)或JNK抑制剂SP600125(0、0.1、1.0和10.0 $\mu\text{mol/L}$),于术后

21 d(每个浓度各 6 只)取杏仁核,采用 ELISA 检测 MCP-1 水平,免疫组织化学法检测 MCP-1 阳性细胞数;(3)24 只大鼠分为 3 组,即假手术组(仅暴露脊神经而不结扎)、模型组及抑制剂组(双侧杏仁核注射 10 $\mu\text{mol/L}$ SP600125 或雷帕霉素 3 μL),于 d_0 、 d_4 、 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} 共 5 个时间点测定各组机械痛阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT)。本实验所用大鼠购自上海斯莱克公司,饲养于无特殊病原体(SPF)级实验动物中心,明暗时间设定为 12 h:12 h,保持室温 20~22 $^{\circ}\text{C}$,湿度 60%~70%。

1.2 方法

1.2.1 NP 模型制备

采用左侧 L5/6 SNL 制备 NP 模型,简述如下:经 50 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后,俯卧位固定在显微外科装置下,取后正中切口暴露第 4 腰椎(L_4)至第 3 骶椎(S_3)的棘突和椎板,小心地移除左侧 L_6 横突,分离左侧 L_5 和 L_6 脊神经并结扎,随后采用 6-0 丝线连续缝合肌肉和皮肤切口。假手术组大鼠仅暴露 L_5 和 L_6 脊神经,但不结扎。所有大鼠均给予连续 5 d 青霉素腹腔注射(20 万 U/d)。剔除术后出现神经功能缺损的大鼠。

1.2.2 杏仁核 p-mTOR、p-JNK 水平检测

分别于 d_0 、 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} 将大鼠过量麻醉致死,断头取脑,液氮速冻,迅速取出杏仁核,研磨至匀浆,蛋白裂解液提取细胞中的总蛋白,然后采用 Western blot 检测提取的蛋白水平。具体操作如下:每组提取等量蛋白(添加适量的上样缓冲液),水浴锅加热使蛋白变性,将处理好的蛋白样品(每个胶孔上样量为 20 μL 左右)进行常规十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),采用湿转法将凝胶上的蛋白转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜。将膜放置于 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h,之后用配制好的 p-mTOR、p-JNK 一抗(稀释比为 1:1 000)在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中孵育过夜。第 2 天加入二抗室温孵育 1 h,用 TBST 洗涤 3 次后加入电化学发光(ECL)显色液显色,并使用凝胶成像设备进行结果观察和拍照存档。

1.2.3 杏仁核 MCP-1 水平检测

于术后 21 d 取制备好的杏仁核匀浆液,采用 ELISA 试剂盒检测 MCP-1 水平。操作步骤严格遵循试剂盒说明书,在 450 nm 波长下采用 ELx800 型酶标仪检测吸光度(A_{450})值。

1.2.4 杏仁核 MCP-1 阳性细胞数检测

于 d_{21} 将大鼠过量麻醉致死,经升动脉灌注 4% 多聚甲醛 500 mL,迅速取出杏仁核,经包埋剂处

理后,以 20 μm 厚度行横向冰冻切片,直接转移至预冷的显微镜载玻片,经煮沸的柠檬酸缓冲液抗原修复和 3% 过氧化氢消除内源性过氧化物酶活性后,采用稀释比例为 1:200 的 MCP-1 过夜孵育。经相应二抗处理后用二氨基联苯胺(DAB)显色,再经过苏木素复染,镜下观察阳性细胞数目。

1.2.5 MWT 测定

分别于 d_0 、 d_4 、 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} 测定各组大鼠的 MWT。所有的行为测试均在 9:00—14:00 进行。MWT 参照文献[7]采用序贯法进行测定。将大鼠置于透明的塑料盒中适应至少 30 min,采用 0.4、0.6、0.8、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 和 15.0 g 的 von Frey 纤维丝,初始刺激为 2.0 g,垂直刺激左后足跖面,以细丝稍弯曲作为完全受力的标准,每次持续 6 s。当出现左后爪急剧缩回或细丝移开立即退缩为阳性反应,依次增加和减少刺激强度,直至出现第 1 次阳性和阴性(或阴性和阳性)反应的骑跨,再向下连续测定 4 次。不同刺激之间相隔 30 s,以消除前一刺激的影响。最后计算诱发 50% 大鼠缩足反应的刺激强度即 MWT。

1.3 统计学处理

采用 SPSS18.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素分析,组内比较采用重复测量设计的方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SNL 后不同时间点 p-mTOR 水平

Western blot 检测结果显示,与 d_0 相比, d_7 、 d_{14} 、 d_{21} NP 模型大鼠杏仁核中 p-mTOR 水平升高($P < 0.05$),且 d_{21} 水平最高;进一步分析发现, d_{21} 的大鼠杏仁核 p-mTOR 水平与 MCP-1 水平呈正相关($r = 0.629$, $P < 0.05$),见图 1。

2.2 SNL 后不同时间点 p-JNK 水平

Western blot 检测结果显示,与 d_0 相比, d_7 、 d_{14} 、 d_{21} NP 模型大鼠杏仁核中 p-JNK 水平升高($P < 0.05$),且 d_{21} 水平最高;进一步分析发现, d_{21} 的大鼠杏仁核 p-JNK 水平与 MCP-1 水平呈正相关($r = 0.564$, $P < 0.05$),见图 2。

2.3 杏仁核注射 SP600125 对 MCP-1 表达的影响

与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,0.1、1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组大鼠杏仁核 MCP-1 水平及阳性细胞数均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),且 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组大鼠杏仁核 MCP-1 水平及阳性细胞数最低,见图 3、4。

2.4 杏仁核注射雷帕霉素对 MCP-1 表达的影响

与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比, 0.1、1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组大鼠杏仁核 MCP-1 水平及阳性细胞数均降低, 差异

有统计学意义 ($P < 0.05$), 且 10 $\mu\text{mol/L}$ 组大鼠杏仁核 MCP-1 水平及阳性细胞数最低, 见图 5、6。

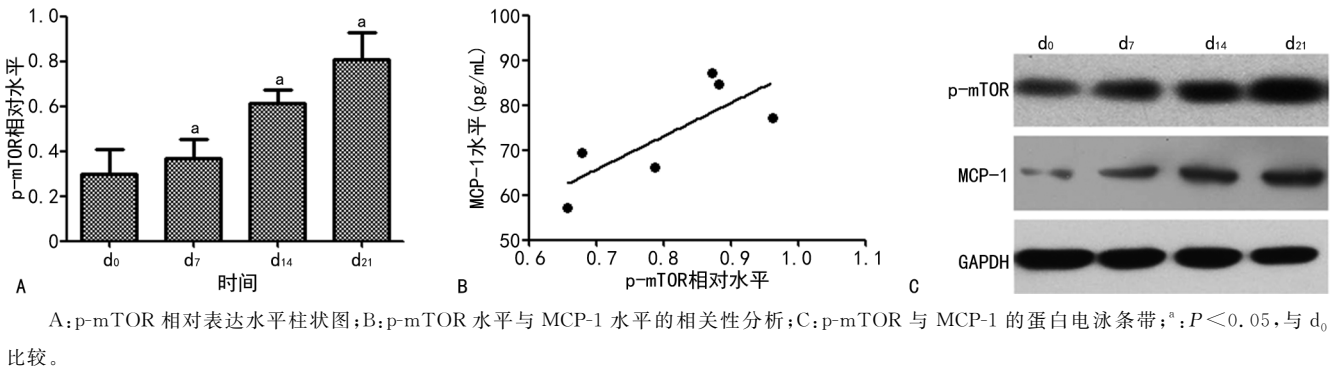


图1 SNL后不同时间点 p-mTOR 水平分析

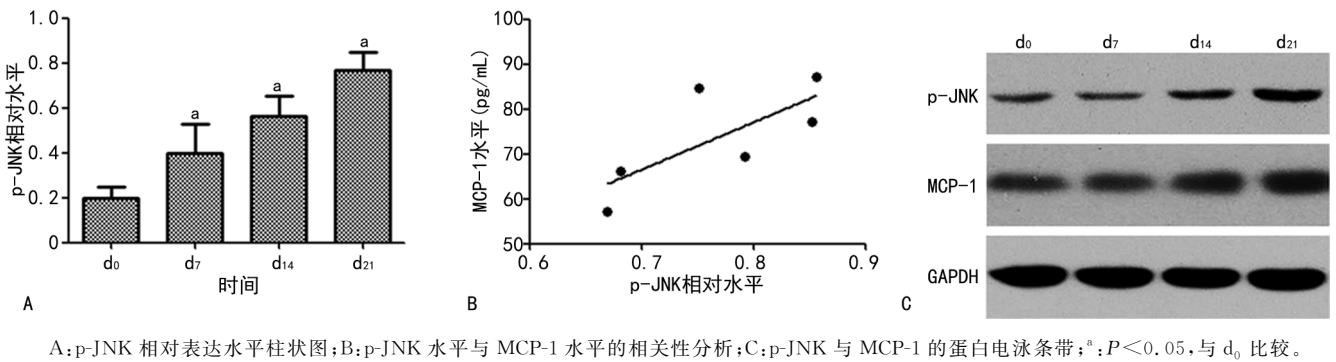
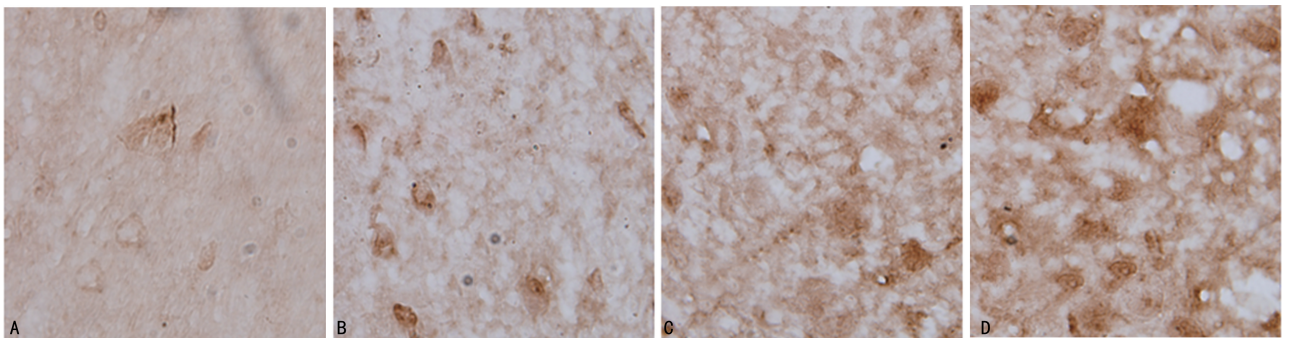


图2 SNL后不同时间点 p-JNK 水平分析



A: 0 $\mu\text{mol/L}$ 组; B: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 组; C: 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 组; D: 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组。

图3 各组杏仁核组织 MCP-1 阳性细胞数目 (免疫组织化学染色, 400 \times)

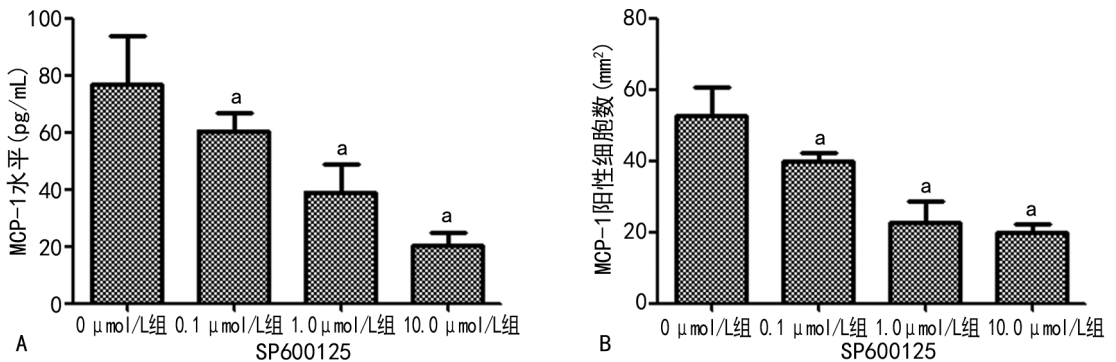
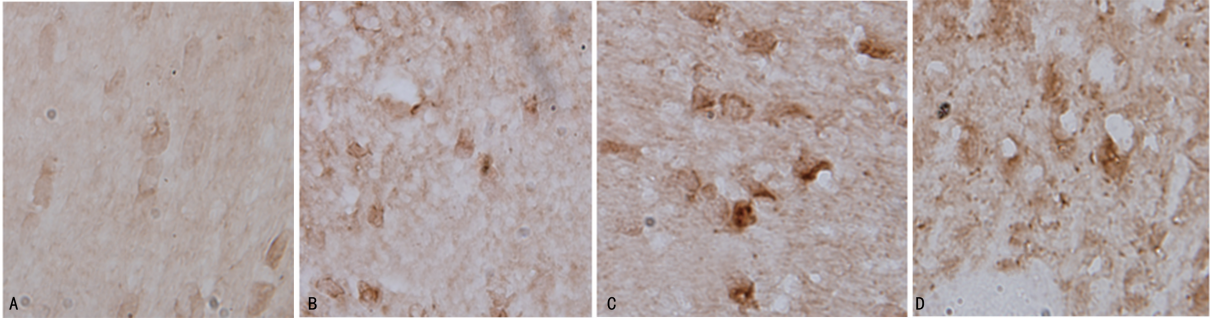


图4 杏仁核注射 SP600125 对 MCP-1 表达的影响

2.5 杏仁核注射 SP600125 对 MWT 的影响

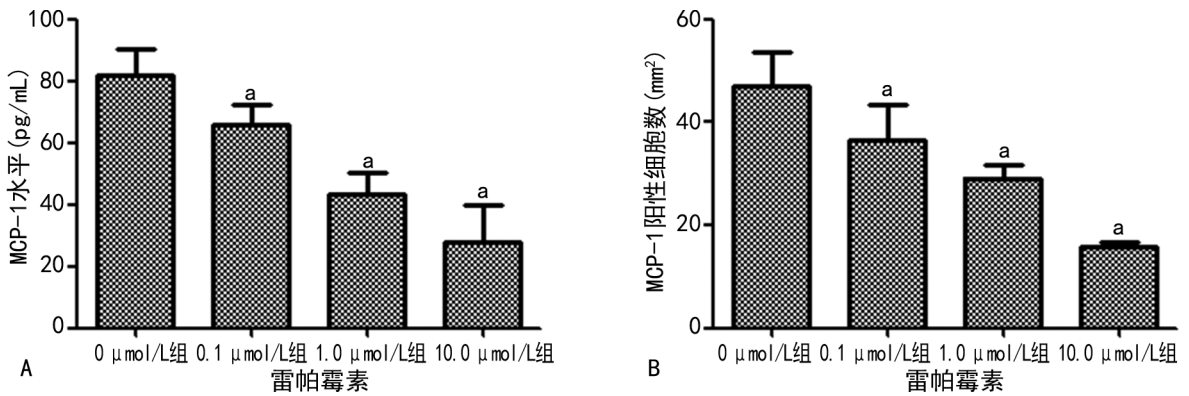
假手术组、模型组和 SP600125 组大鼠 d_0 MWT 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);假手术组大鼠 d_0 、 d_4 、 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} MWT 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);与 d_0 相比,模型组和 SP600125 组 d_4 、

d_7 、 d_{14} 、 d_{21} 的 MWT 均降低($P<0.05$)。模型组 d_4 、 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} 的 MWT 均明显低于假手术组($P<0.05$);经 SP600125 治疗后大鼠降低的 MWT 获改善,SP600125 组 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} 的 MWT 均高于模型组($P<0.05$),但仍低于假手术组($P<0.05$),见图 7。



A:0 $\mu\text{mol/L}$ 组;B:0.1 $\mu\text{mol/L}$ 组;C:1.0 $\mu\text{mol/L}$ 组;D:10.0 $\mu\text{mol/L}$ 组。

图 5 各组杏仁核组织 MCP-1 阳性细胞数目(免疫组织化学染色,400 \times)



A:MCP-1 水平柱状图;B:MCP-1 阳性细胞数柱状图;^a: $P<0.05$,与 0 $\mu\text{mol/L}$ 比较。

图 6 杏仁核注射雷帕霉素对 MCP-1 表达的影响

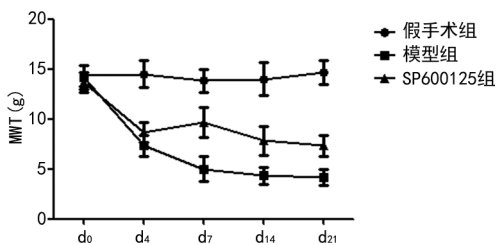


图 7 杏仁核注射 SP600125 对 MWT 的影响

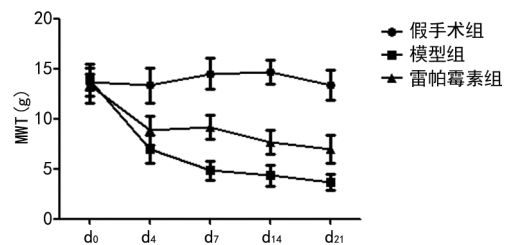


图 8 杏仁核注射雷帕霉素对 MWT 的影响

2.6 杏仁核注射雷帕霉素对 MWT 的影响

假手术组、模型组和雷帕霉素组大鼠 d_0 MWT 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);假手术组大鼠 d_0 、 d_4 、 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} MWT 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);与 d_0 相比,模型组和雷帕霉素组 d_4 、 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} 的 MWT 均降低($P<0.05$)。模型组 d_4 、 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} 的 MWT 均明显低于假手术组($P<0.05$);经雷帕霉素治疗后大鼠降低的 MWT 获改善,雷帕霉素组 d_7 、 d_{14} 、 d_{21} 的 MWT 均高于模型组($P<0.05$),但仍低于假手术组($P<0.05$),见图 8。

3 讨 论

越来越多的证据表明,趋化因子 MCP-1 通过促进趋化因子受体 2(CCR2)活化在慢性疼痛中发挥关键作用。MCP-1 在 DRG 初级感觉神经元中表达,且神经损伤后表达增加^[8]。到目前为止,针对产生痛觉过敏已经提出两种不同的机制:(1)MCP-1 从一部分感觉神经元的中释放出来,刺激周围感觉神经元^[9],在 DRG 中导致这些神经元过度活跃。(2)MCP-1 在 DRG 神经元中央末端释放,诱导小胶质细胞活化,是 NP 发生、发展的重要机制^[10]。然而,MCP-1 不仅在

DRG 中表达, 激活的星形胶质细胞体外也可产生 MCP-1。研究表明, MCP-1 在脱髓鞘病变、机械损伤、轴突横断及局灶性脑缺血后的星形胶质细胞中也表达^[11]。此外, MCP-1 在肿瘤坏死因子- α (TNF- α)刺激后的体外培养星形胶质细胞及脊髓损伤后的脊髓星形胶质细胞中表达升高^[12]。本研究发现 SNL 后, 参与调控 NP 的重要核团杏仁核中的 MCP-1 水平升高, 但导致其 MCP-1 升高的具体机制尚不清楚。

目前有两种 mTOR 作为核心组分与其他不同蛋白形成的复合物, 包括 mTOR 复合物 1 (mTORC1) 和 mTOR 复合物 2 (mTORC2)。在一般情况下, mTORC1 由 raptor、mLST8 和 mTOR 构成, 通过磷酸化下游效应分子来影响其表达, 如 4E-BPs 和 p70 核糖体 S6Ks。mTOR、S6K1 和 4E-BP1 在哺乳动物神经系统中表达, 尤其是在脊髓背角^[13]。由于浅表背角是外周传入神经向中枢神经系统的第一个突触部位, 在调节痛觉和吗啡耐受方面起着重要作用^[14], 故 mTOR 在 SCI 后的机械和热痛觉过敏调控中发挥重要作用。

MCP-1 被证明能通过不同的机制调节疼痛, 尤其对 MCP-1(外周敏化)的外周机制研究较为透彻。如 DRG 神经元释放 MCP-1 可激活邻近伤害感受神经元的 CCR2, 通过激活瞬时受体电位香草酸亚型 1 (TRPV1)通道来提高这些神经元的兴奋性并抑制电压依赖性钾通道^[15]。近年来 MCP-1 的中枢机制也成为研究热点。脊髓注射 MCP-1 可激活野生型脊髓小胶质细胞而不是 CCR2 基因敲除小鼠^[16]。神经损伤引起的脊髓小胶质细胞激活可通过 MCP-1 抗体来缓解。此外, 脊髓小胶质细胞中神经损伤诱导脊髓小胶质细胞中 p38 激活在 CCR2 基因敲除小鼠中较轻^[17]。由于小胶质细胞的激活是 NP 产生的关键, MCP-1 可能通过这种机制增强 NP。

研究发现, JNK 是 MAPK 家族成员之一, 可在神经损伤后的脊髓星形胶质细胞中持续活化, 而 JNK 抑制剂 SP600125 可改善脊髓损伤后的 NP 症状^[5-6]。虽然 JNK 通路和 MCP-1 通路均参与了 NP 的调控, 但杏仁核中 JNK/MCP-1 信号通路是否参与神经病理性疼痛的调控尚未见报道, 本研究对其进行了初步的探讨。

本研究结果表明, SNL 诱导后杏仁核的 p-mTOR、p-JNK 表达持续增强, 且该增强效应呈时间依赖性, 表明在脊髓损伤引发 NP 的过程中, 杏仁核中的 mTOR 和 JNK 途径均被激活。进一步分析显示, d_{12} 的 p-mTOR、p-JNK 表达与 MCP-1 水平呈正相关, 提示

两个途径可能参与了杏仁核中 MCP-1/CCR2 途径的激活。杏仁核注射 p-mTOR、p-JNK 抑制剂发现, MCP-1 水平及阳性细胞数均降低, 提示两条通路的激活可能参与了杏仁核 MCP-1 的释放增多。此外, 采用化学手段抑制两条通路活性可减轻脊髓损伤引起的 NP 症状, 提示两条通路在 NP 治疗中有重要意义, 可作为 NP 防治的靶点。

综上所述, 在 NP 中 mTOR 和 JNK 通路激活, 抑制 mTOR 和 JNK 通路可达到缓解 NP 大鼠疼痛及杏仁核 MCP-1 升高的作用, 对于 NP 的治疗有一定意义。

参考文献

- [1] DEBERRY J J, ROBBINS M T, NESS T J. The amygdala central nucleus is required for acute stress-induced bladder hyperalgesia in a rat visceral pain model[J]. *Brain Res*, 2015(1606):77-85.
- [2] WEI H, SAGALAJEV B, YÜZER M A, et al. Regulation of neuropathic pain behavior by amygdaloid TRPC4/C5 channels [J]. *Neurosci Lett*, 2015(608):12-17.
- [3] LI Z, WANG J, CHEN L, et al. Basolateral amygdala lesion inhibits the development of pain chronicity in neuropathic pain rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e70921.
- [4] WANG J P, ZHANG M Y. Role for target of rapamycin (mTOR) signal pathway in regulating neuronal injury after intracerebral hemorrhage[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(1):145-153.
- [5] TANG J, ZHU C, LI Z H, et al. Inhibition of the spinal astrocytic JNK/MCP-1 pathway activation correlates with the analgesic effects of tanshinone II A sulfonate in neuropathic pain [J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12:57.
- [6] LIU C Y, LU Z Y, LI N, et al. The role of large-conductance, calcium-activated potassium channels in a rat model of trigeminal neuropathic pain[J]. *Cephalalgia*, 2015, 35(1):16-35.
- [7] 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.

- [8] ZHANG H, LI Y, DE CARVALHO-BARBO-SA M, et al. Dorsal root ganglion infiltration by macrophages contributes to paclitaxel chemotherapy-induced peripheral neuropathy [J]. *J Pain*, 2016, 17(7):775-786.
- [9] MATSUBARA K, MATSUSHITA Y, SAKAI K, et al. Secreted ectodomain of sialic acid-binding Ig-like lectin-9 and monocyte chemoattractant protein-1 promote recovery after rat spinal cord injury by altering macrophage polarity [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(6):2452-2464.
- [10] JANELSINS M C, MASTRANGELO M A, ODDO S, et al. Early correlation of microglial activation with enhanced tumor necrosis factor-alpha and monocyte chemoattractant protein-1 expression specifically within the entorhinal cortex of triple transgenic Alzheimer's disease mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2005, 2:23.
- [11] BONIFACIC D, TOPLAK A, BENJAK I, et al. Monocytes and monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) as early predictors of disease outcome in patients with cerebral ischemic stroke [J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2016, 128(1/2):20-27.
- [12] ZHANG X, CHEN C, MA S, et al. Inhibition of monocyte chemoattractant peptide-1 decreases secondary spinal cord injury [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(6):4262-4266.
- [13] MIAO L, LIU Y, HUANG H, et al. mTORC1 is necessary but mTORC2 and GSK3 β are inhibitory for AKT3-induced axon regeneration in the central nervous system [J]. *Elife*, 2016, 5:e14908.
- [14] DÓCS K, HEGYI Z, HOLLÓ K, et al. Selective axonal and glial distribution of monoacylglycerol lipase immunoreactivity in the superficial spinal dorsal Horn of rodents [J]. *Brain Struct Funct*, 2015, 220(5):2625-2637.
- [15] 邹李晶. 趋化因子 MCP-1 对辣椒素受体 (TRPV1) 功能的易化作用及其机制研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2011.
- [16] GAO Y J, ZHANG L, SAMAD O A, et al. JNK-induced MCP-1 production in spinal cord astrocytes contributes to central sensitization and neuropathic pain [J]. *J Neurosci*, 2009, 29(13):4096-4108.
- [17] LIM H, LEE H, NOH K, et al. IKK/NF- κ B-dependent satellite glia activation induces spinal cord microglia activation and neuropathic pain after nerve injury [J]. *Pain*, 2017, 158(9):1666-1677.

(收稿日期:2022-02-21 修回日期:2022-06-13)

(上接第 3437 页)

- [11] 任晓丽, 杨波, 陈锡文, 等. 高蛋氨酸饲料饮食诱导血管内皮细胞损伤大鼠模型建立 [J]. *温州医科大学学报*, 2017, 47(1):47-51.
- [12] 李正欢, 张晓云. 高血压动物模型应用概况与研究进展 [J]. *中华高血压杂志*, 2017, 25(8):727-732.
- [13] 陶燕楠, 杨传华, 杨洁, 等. 高同型半胱氨酸血症与正常高值血压相关性的研究进展 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(11):1645-1647.
- [14] 臧金凤, 赵丕文, 陈梦, 等. 雌激素或雌激素样物质对心血管系统的影响及其作用途径与机制 [J]. *世界中医药*, 2016, 11(6):1131-1136.
- [15] XUE B J, JOHNSON A K, HAY M. Sex differences in angiotensin II and aldosterone-induced hypertension; the central protective effects of estrogen [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2013, 305(5):R459-463.
- [16] ZHEN P P, DUAN J H, ZHAO Q, et al. Phytoestrogen α -zearalanol improves vascular function in ovariectomized hyperhomocysteinemic rats [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 215(2):309-315.
- [17] 曹艳丽, 徐瑞. H 型高血压大鼠模型的建立及评价 [J/CD]. *中华临床医师杂志 (电子版)*, 2017, 11(4):616-621.
- [18] 张志敏, 赵连友, 卢凡, 等. 高同型半胱氨酸对高血压大鼠心肌细胞 GRP78 和 CHOP 表达及左室肥厚的影响 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2014, 7(2):223-226, 228.

(收稿日期:2022-01-16 修回日期:2022-05-22)