

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2026.01.011

电针通过调控脊髓背角 ErbB 亚型干预大鼠炎性痛的机制研究

吴雨欣, 田书心, 吕政仪, 季丁汝, 李星震, 董玥, 赵彬宇, 梁宜[✉], 方剑乔

浙江中医药大学第三临床医学院, 浙江省杭州市滨江区滨文路 548 号, 310053

[摘要] **目的** 观察炎性痛模型大鼠脊髓背角表皮生长因子受体 (ErbB) 不同亚型表皮生长因子受体 1 (ErbB1)、表皮生长因子受体 2 (ErbB2)、表皮生长因子受体 3 (ErbB3) 和表皮生长因子受体 4 (ErbB4) 水平变化, 探讨其介导痛觉过敏的作用机制及电针“足三里”“昆仑”干预的机制。**方法** 分为 5 个部分。实验一将 14 只 SD 大鼠随机分为对照组和炎性痛组, 每组 7 只, 用于观察炎性痛大鼠行为学及脊髓背角 ErbB 不同亚型蛋白表达情况; 实验二将 30 只大鼠随机分为对照 1 组、炎性痛 1 组及 TX1-85-1 低、中、高浓度组, 每组 6 只, 用于观察抑制脊髓 ErbB3 对炎性痛的影响; 实验三将 12 只大鼠随机分为对照病毒组、ErbB3 敲低病毒组, 每组 6 只, 用于观察敲低脊髓背角 ErbB3 对炎性痛的影响; 实验四将 44 只大鼠随机分为对照 2 组、炎性痛 2 组、电针组、假电针组, 每组 11 只, 用于观察电针效应; 实验五将 40 只大鼠随机分为对照 3 组、炎性痛 3 组、电针 1 组、电针+NRG1 组, 每组 10 只, 用于观察激活 ErbB3 对电针效应的影响。采用 SD 大鼠单侧后足足底皮下注射 100 μ l 弗氏完全佐剂的方法制备炎性痛大鼠模型。TX1-85-1 低、中、高浓度组大鼠于造模后 5~7 天鞘内注射 ErbB3 抑制剂 TX1-85-1; ErbB3 敲低病毒组大鼠于造模前 3 周脊髓背角原位注射以腺病毒为载体的短发夹 RNA (shRNA) 包装的 ErbB3 敲低病毒; 各电针组于造模后 1~7 天电针双侧“足三里”“昆仑”, 采用疏密波, 频率 2 Hz/100 Hz, 电流 0.5~1.5 mA, 每次 30 min, 每日 1 次; 电针+NRG1 组大鼠于造模后 5~7 天电针干预后鞘内注射 ErbB3 配体重组人神经调节蛋白-1 (NRG1)。分别于造模后 1、3、5、7 天采用大鼠机械缩足阈值和热缩足潜伏期评价行为学, 采用 Western Blot 法检测脊髓背角 ErbB 各亚型蛋白及其磷酸化水平。**结果** 造模后 1、3、5、7 天, 与对照组比较, 炎性痛组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期降低, 脊髓背角磷酸化 ErbB3 (p-ErbB3) 蛋白表达升高 ($P<0.01$)。造模后 5、7 天, 与炎性痛 1 组比较, TX1-85-1 中、高浓度组大鼠机械缩足阈值和热缩足潜伏期升高, p-ErbB3 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。造模后 1、3、5、7 天, 与对照病毒组比较, ErbB3 敲低病毒组大鼠机械缩足阈值和热缩足潜伏期升高 ($P<0.05$)。造模后 5、7 天, 与炎性痛 2 组和假电针组比较, 电针组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期升高, p-ErbB3 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。造模后 5、7 天, 与电针+NRG1 组比较, 电针 1 组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期升高 ($P<0.05$)。**结论** 脊髓背角 p-ErbB3 参与炎性痛大鼠痛觉过敏; 电针“足三里”“昆仑”可通过抑制大鼠脊髓背角 p-ErbB3 蛋白表达而缓解炎性痛。

[关键词] 炎性痛; 电针; 足三里; 昆仑; 镇痛; 脊髓背角; 表皮生长因子受体

炎性痛作为慢性疼痛中最常见的一种类型, 其发生发展与脊髓背角敏化密切相关, 电针可通过调控神经-免疫网络发挥抗炎镇痛作用^[1-2]。针刺镇痛的效果已被高级别证据肯定, 但其疗效与穴位的选择有直接关系。一项临床研究证实, 针刺治疗可

以显著减轻膝骨关节炎患者关节疼痛, 改善膝关节功能^[3]。然而, 针刺镇痛的效果并非泛化, 其疗效的优劣与穴位的特异性选择有着直接且密切的关系。课题组前期研究^[4]观察到电针“足三里”“昆仑”可有效缓解炎性痛, 但其确切机制尚不完全清楚。表皮生长因子受体 (ErbB) 家族是一类具有酪氨酸激酶活性的跨膜受体蛋白, 包含表皮生长因

基金项目: 国家自然科学基金(82174510)

✉ 通讯作者: liangyiwww@126.com

子受体 1 (ErbB1)、表皮生长因子受体 2 (ErbB2)、表皮生长因子受体 3 (ErbB3) 和表皮生长因子受体 4 (ErbB4) 4 个成员, 在中枢敏化过程中发挥关键作用。其中 ErbB4 激活可增强脊髓背角神经元兴奋性^[5], 可通过调节甘氨酸缓解神经病理性疼痛中的机械性疼痛^[6]; 鞘内注射 ErbB2 抑制剂可逆转骨癌痛诱发的机械痛和热痛^[7]; 在神经损伤和神经病理性疼痛模型中, 脊髓背角和背根神经节中 ErbB3 表达发生变化, 且这一变化与疼痛的发生发展密切相关^[8-9]。基于此, 本文从脊髓背角 ErbB 家族的角度探讨炎性痛大鼠痛觉过敏的可能分子机制及电针足三里、昆仑穴干预的潜在效应。本实验所有操作均符合浙江中医药大学动物伦理学要求 (伦理批准编号 IACUC-20230717-15)。

1 材料与方法

1.1 动物

雄性 SPF 级 SD 大鼠 140 只, 6~8 周龄, 体质量 160~180 g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2022-0004, 实验动物使用许可证号 SYXK (浙) 2021-0012。饲养于浙江中医药大学动物中心, 大鼠自由进食、饮水, 12 h/12 h 循环光照, 室温 23~25℃, 相对湿度 50%~65%。

1.2 主要试剂和仪器

弗氏完全佐剂 (CFA, 货号: F5881), 美国 Sigma 公司; ErbB3 抑制剂 TX1-85-1 (货号: HY-100848), 中国 MCE 生物公司; ErbB3 配体重组人神经调节蛋白-1 (NRG1, 货号: ab55742)、ErbB4 一抗 (货号: ab32375), 美国 Abcam 公司; 异氟烷 (货号: R510-22-10), 深圳市瑞沃德生命科技有限公司; 以腺病毒为载体的短发夹 RNA (shRNA) 包装的 ErbB3 敲低病毒及其对照病毒, 武汉枢密脑科学技术有限公司; ErbB1 一抗 (货号: 2232s)、磷酸化 ErbB3 (p-ErbB3) 一抗 (货号: 4791s)、磷酸化 ErbB4 (p-ErbB4) 一抗 (货号: 4757s)、 β -actin 一抗 (货号: 12262s)、HRP 标记的山羊抗兔二抗 (货号: 7074s)、磷酸化 ErbB1 (p-ErbB1) 一抗 (货号: 2234s), 美国 CST 公司; ErbB2 一抗 (货号: ab214275), 英国 Abcam 公司; 磷酸化 ErbB2 (p-ErbB2) 一抗 (货号: AF3069)、ErbB3 一抗 (货号: DF6144), 美国 Affinity 公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号: P0012), 上海碧云天生物技术有限公司; ECL 试剂盒 (货号: BL520A), 兰

杰柯科技有限公司。

韩氏穴位神经刺激仪 (型号: HANS-200E), 南京济生医疗科技有限公司; 一次性针灸针 (规格: 0.25 mm×13 mm), 苏州医疗用品厂有限公司; von Frey 纤维丝 (型号: NC12775), 美国 Stoelting Co 公司; 足底热辐射测痛仪 (型号: 37370), 意大利 Ugo Basile 公司; 动物专用麻醉机 (型号: R500IE)、立体定位仪 (型号: 68000), 深圳市瑞沃德生命科技有限公司; 电泳仪 (型号: 1645052), 美国 Bio-Rad 公司; 快速湿转仪 (型号: eBlot L1), 美国 GenScript 公司; 全自动酶标仪 (型号: SpectraMax M5), 美国 Molecular Devices 公司; 凝胶成像系统 (型号: FluorChem HD2), 美国 Protein Simple 公司。

1.3 实验一: 炎性痛对大鼠行为学及脊髓背角 ErbB 亚型表达的影响

将 14 只大鼠采用随机数字表法分为对照组和炎性痛组, 每组 7 只。炎性痛组大鼠采用足底注射 CFA 复制炎性痛模型^[10]: 将 100 μ l CFA 原液缓慢注射到大鼠左后爪足底表面, 并按压注射部位约 30 s 以防渗漏。对照组大鼠予同等剂量生理盐水注射。1) 分别于造模后 1、3、5、7 天进行行为学检测。(1) 机械缩足阈值: 评价大鼠患侧足跖机械痛觉。将大鼠置于铁丝网上, 待大鼠安静后, 用 von Frey 纤维丝以不同力度 (1、2、4、6、8、15、26 g) 垂直刺激大鼠左后跖足底中部, 使纤维丝弯曲并持续 5 s, 若大鼠出现快速的缩足、抬足、舔足则为阳性反应, 记为 “X” 并予以相邻小一级力度刺激, 若不抬足则为阴性反应, 则记为 “O” 并予以相邻大一级力度刺激。出现第 1 次阳性反应后, 再刺激 4 次, 记录反应序列, 按照文献 [11] 的方法计算机械缩足阈值。(2) 热缩足潜伏期: 评价大鼠患侧足跖热痛觉。测试环境温度控制在 (25±1)℃。将大鼠置于具有热辐射传导功能的透明有机玻璃板上, 待大鼠安静后, 将足底热辐射测痛仪的发射光源对准大鼠左后足足底中央, 仪器开始启动后立即发射热辐射光线并计时。若大鼠出现躲避热刺激行为, 照射光源和计时立即中断, 记录的时间即为单次热缩足潜伏期。每只大鼠测试 5 次, 每次间隔时间至少 5 min, 且每次照射时长上限为 20 s, 最高温度设定为 35℃。剔除最高值与最低值后取平均值, 所得结果即为大鼠热缩足潜伏期。2) Western Blot 法检测大鼠脊髓背角 ErbB 亚型蛋白表达: 第 7 天行为学检测完成后, 立即腹腔注射 3% 戊巴比妥钠溶液 (1.5 ml/kg) 麻醉大鼠, 迅速取出患侧 L3-L5

脊髓背角组织,裂解后提取总蛋白,采用BCA法测定蛋白浓度后变性。配制8%分离胶、5%浓缩胶进行电泳,并转膜至PVDF膜。用含5%脱脂奶粉的TBST封闭液室温封闭2 h后,分别使用TBST稀释后的ErbB1(1:1000)、p-ErbB1(1:1000)、ErbB2(1:1000)、p-ErbB2(1:1000)、ErbB3(1:1000)、p-ErbB3(1:1000)、ErbB4(1:1000)、p-ErbB4(1:1000)、 β -actin(1:5000)一抗4℃孵育过夜。TBST充分洗涤PVDF膜3次。随后加入TBST稀释后的HRP标记的山羊抗兔二抗(1:5000),室温摇床孵育2 h。使用ECL发光试剂盒显色拍片。用Image-Pro Plus软件分析条带灰度值,蛋白相对表达量=目的蛋白灰度值÷内参蛋白灰度值。

1.4 实验二:抑制脊髓背角ErbB3对炎性痛大鼠行为学及ErbB3蛋白表达的影响

将30只大鼠采用随机数字表法分为对照1组、炎性痛1组和TX1-85-1低、中、高浓度组,每组6只。各组大鼠均于造模前1周进行鞘内置管:采用异氟烷(浓度为2.5%)在500 ml/min的低氧流速下呼吸麻醉大鼠。大鼠呈俯卧位,将PE-10导管的一端置于腰椎蛛网膜下腔L4/L5椎间隙水平,导管另一端从颈部穿出,供验证及给药使用。置管完成后,肌肉注射青霉素(20万单位/支)。置管成功的大鼠在鞘内注射2%利多卡因20 μ l后30 s内出现双下肢瘫痪,30 min后恢复正常。在鞘内置管前和造模前进行机械缩足阈值和热缩足潜伏期检测,以确保鞘内置管对大鼠痛阈无影响。在鞘内置管1周后除对照1组外,其余各组大鼠采用足底注射CFA复制炎性痛模型,方法同上。于造模后5~7天,每天通过置管装置,TX1-85-1低、中、高浓度组大鼠分别鞘内注射0.125、0.25、0.5 μ g/ μ l的TX1-85-1溶液10 μ l。对照1组及炎性痛1组大鼠同期鞘内注射等量生理盐水。于造模前及造模后1、3、5、7天进行行为学检测,第7天行为学检测后采用Western Blot法检测大鼠脊髓背角ErbB3、p-ErbB3蛋白表达,方法同上。

1.5 实验三:敲低脊髓背角ErbB3对炎性痛大鼠行为学及ErbB3蛋白表达的影响

将12只大鼠采用随机数字表法分为对照病毒组、ErbB3敲低病毒组,每组6只。对照病毒组和ErbB3敲低病毒组大鼠进行1次脊髓背角原位病毒注射。采用腹腔注射3%戊巴比妥钠溶液(1.5 ml/kg)麻醉大鼠,ErbB3敲低病毒组大鼠脊髓背角原位注射以腺病毒为载体的shRNA包装的ErbB3敲低病

毒,对照病毒组注射对照病毒。大鼠呈俯卧位固定于配备玻璃微电极微量注射器的立体定位仪上,充分暴露肋脊角区域,小心剪掉L1棘突和部分椎体,暴露脊髓。缓慢下降针尖,直至针尖突破脊髓包膜。注射位点:X轴0.5,Z轴0.3,Y轴为L1棘突下对应的脊髓,在该范围连续注射4个位点,每个位点250 nl,病毒总量为1000 nl,注射速度为20 nl/s。病毒注射3周后,两组大鼠采用足底注射CFA复制炎性痛模型,方法同上。分别于造模前及造模后1、3、5、7天进行行为学检测,第7天行为学检测后采用Western Blot法检测大鼠脊髓背角ErbB3蛋白表达,方法同上。

1.6 实验四:电针对炎性痛模型大鼠疼痛及脊髓背角ErbB3蛋白表达的影响

将44只大鼠采用随机数字表法分为对照2组、炎性痛2组、电针组、假电针组,每组11只。除对照2组外,其余各组大鼠采用足底注射CFA复制炎性痛模型,方法同上。造模后1~7天,电针组和假电针组大鼠取穴:双侧“足三里”和“昆仑”,具体位置参考《实验针灸学》^[12]。操作:用自制布套固定大鼠,使其腿部外展暴露穴位处,局部常规消毒,采用0.25 mm×13 mm一次性针灸针,“足三里”直刺5 mm,“昆仑”针尖向内踝方向与皮肤呈45°~60°角斜刺2~3 mm。同侧“足三里”和“昆仑”连接韩氏穴位神经刺激仪的同一组电极,选用疏密波,频率2 Hz/100 Hz,电流0.5~1.5 mA,每隔10 min增加0.5 mA,共30 min。假电针组大鼠采取相同固定方法,针刺仅破皮,电极不通电,干预时间和次数与电针组相同。两组均每日1次。对照2组和炎性痛2组采取相同固定方法。于造模前及造模后1、3、5、7天进行行为学检测,第7天行为学检测后采用Western Blot法检测大鼠脊髓背角ErbB3、p-ErbB3蛋白表达,方法同上。

1.7 实验五:激活脊髓背角ErbB3对电针效应的影响

将40只大鼠采用随机数字表法分为对照3组、炎性痛3组、电针1组、电针+NRG1组,每组10只。除对照3组外,其余各组大鼠采用足底注射CFA复制炎性痛模型,方法同上。造模后1~7天,电针组和电针+NRG1组大鼠予电针干预,方法同上,每日1次。电针+NRG1组大鼠鞘内注射NRG1溶液(100 ng/ml)10 μ l,NRG1浓度参考文献^[13]中的方法计算,即将NRG1粉末溶解于生理盐水中制备成浓度为1 mg/ml的溶液,于-20℃冰箱中保存。用生理盐水稀释至100 ng/ μ l,现配现用。每次注

射后, 给予 25 μl 无菌生理盐水冲管。对照 3 组、炎性痛 3 组、电针 1 组大鼠注射 10 μl 无菌生理盐水, 其余步骤相同。于造模前及造模后 1、3、5、7 天进行行为学检测。

1.8 统计学方法

采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析。经 Shapiro-Wilk 检验, 所有计量资料均符合正态分布, 采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示。两组间比较采用两独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 Bonferroni 检验。对于涉及“处理方式”(如造模、给药、电针)和“时间点”的行为学数据, 采用双因素方差分析进行处理, 并采用 Tukey's post hoc 检验进行事后两两比较。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 实验一: 炎性痛造模后两组大鼠行为学及脊髓背角 ErbB 亚型表达结果比较

2.1.1 对照组、炎性痛组大鼠不同时间机械缩足阈值和热缩足潜伏期比较 表 1 示, 造模后 1、3、5、7 天, 与对照组同时间比较, 炎性痛组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期降低 ($P<0.01$), 提示足底皮下注射 CFA 成功诱导炎性痛大鼠模型。

2.1.2 对照组、炎性痛组大鼠脊髓背角 ErbB 亚型表达比较 表 2 示, 与对照组比较, 炎性痛组大鼠脊髓背角 p-ErbB3 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 其他蛋白水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。对照组和炎性痛组大鼠脊髓背角 ErbB 亚型蛋白电泳图见图 1。

2.2 实验二: 抑制脊髓背角 ErbB3 后各组大鼠行为学及 ErbB3 蛋白水平比较

2.2.1 各组大鼠机械缩足阈值和热缩足潜伏期比较 表 3 示, 造模后 1、3、5、7 天, 与对照 1 组比较, 炎性痛 1 组和 TX1-85-1 低浓度组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期降低 ($P<0.05$); 造模后 1、

表 1 对照组和炎性痛组大鼠不同时间机械缩足阈值及热缩足潜伏期比较

Table 1 Comparison of paw withdrawal thresholds and paw withdrawal latencies of rats in control group and inflammatory pain group ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	鼠数	机械缩足 阈值/g	热缩足 潜伏期/s
对照组	造模前	7	23.37 $\pm$ 3.64	17.43 $\pm$ 3.24
	造模后 1 天	7	21.96 $\pm$ 6.22	14.23 $\pm$ 2.62
	造模后 3 天	7	22.08 $\pm$ 6.62	15.27 $\pm$ 3.11
	造模后 5 天	7	22.79 $\pm$ 4.84	16.13 $\pm$ 3.71
	造模后 7 天	7	24.69 $\pm$ 5.80	17.40 $\pm$ 3.26
炎性痛组	造模前	7	24.47 $\pm$ 2.95	16.19 $\pm$ 2.10
	造模后 1 天	7	6.05 $\pm$ 2.61 ^{a)}	5.80 $\pm$ 0.92 ^{a)}
	造模后 3 天	7	3.49 $\pm$ 0.86 ^{a)}	7.29 $\pm$ 1.50 ^{a)}
	造模后 5 天	7	3.75 $\pm$ 0.68 ^{a)}	6.86 $\pm$ 0.84 ^{a)}
	造模后 7 天	7	3.88 $\pm$ 1.52 ^{a)}	9.06 $\pm$ 3.17 ^{a)}

注: a) 与对照组同时间比较, $P<0.01$ 。

3 天, 与对照 1 组比较, TX1-85-1 低、中、高浓度组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期降低 ($P<0.05$); 造模后 5、7 天, 与炎性痛 1 组比较, TX1-85-1 中、高浓度组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期升高 ($P<0.05$); 造模后 7 天, 与 TX1-85-1 低浓度组比较, TX1-85-1 中、高浓度组大鼠机械缩足阈值升高 ($P<0.05$)。

2.2.2 各组大鼠脊髓背角 ErbB3、p-ErbB3 蛋白水平比较 表 4 示, 与对照 1 组比较, 炎性痛 1 组大鼠脊髓背角 p-ErbB3 蛋白水平升高 ($P<0.05$); 与炎性痛 1 组比较, TX1-85-1 低、中、高浓度组大鼠 p-ErbB3 蛋白水平降低 ($P<0.05$)。5 组大鼠脊髓背角 ErbB3、p-ErbB3 蛋白电泳图见图 2。

2.3 实验三: 敲低脊髓背角 ErbB3 后两组大鼠行为学及 ErbB3 蛋白水平比较

2.3.1 对照病毒组、ErbB3 敲低病毒组大鼠不同时间机械缩足阈值和热缩足潜伏期比较 表 5 示, 造模后 1、3、5、7 天, 与对照病毒组比较, ErbB3

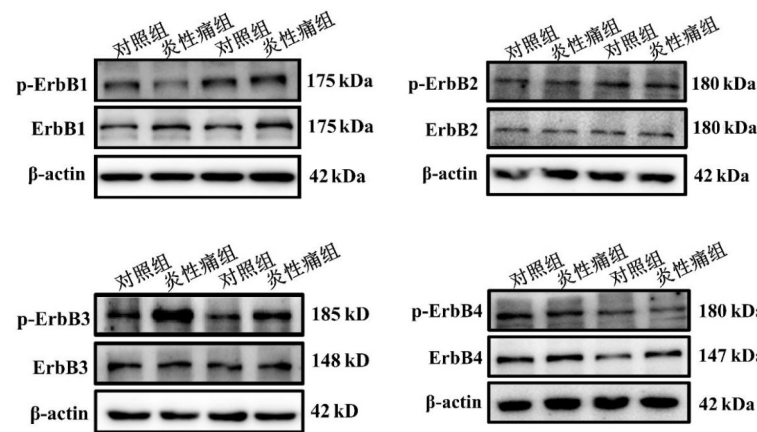
表 2 对照组和炎性痛组大鼠脊髓背角 ErbB 亚型蛋白水平比较

Table 2 Comparison of the protein expression of different ErbB subtypes in the spinal dorsal horn of rats in control group and inflammatory pain group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	ErbB1	p-ErbB1	ErbB2	p-ErbB2	ErbB3	p-ErbB3	ErbB4	p-ErbB4
对照组	7	1.12 $\pm$ 0.37	0.72 $\pm$ 0.29	0.77 $\pm$ 0.22	1.00 $\pm$ 0.27	0.97 $\pm$ 0.19	0.93 $\pm$ 0.36	0.63 $\pm$ 0.23	1.10 $\pm$ 0.19
炎性痛组	7	0.93 $\pm$ 0.11	0.83 $\pm$ 0.18	0.75 $\pm$ 0.24	1.05 $\pm$ 0.26	0.97 $\pm$ 0.15	1.50 $\pm$ 0.35 ^{a)}	0.57 $\pm$ 0.15	1.16 $\pm$ 0.21

注: ErbB, 表皮生长因子受体; ErbB1, 表皮生长因子受体 1; ErbB2, 表皮生长因子受体 2; ErbB3, 表皮生长因子受体 3; ErbB4, 表皮生长因子受体 4; p-ErbB1, 磷酸化表皮生长因子受体 1; p-ErbB2, 磷酸化表皮生长因子受体 2; p-ErbB3, 磷酸化表皮生长因子受体 3; p-ErbB4, 磷酸化表皮生长因子受体 4。

a) 与对照组比较, $P<0.01$ 。



注：ErbB，表皮生长因子受体；ErbB1，表皮生长因子受体1；ErbB2，表皮生长因子受体2；ErbB3，表皮生长因子受体3；ErbB4，表皮生长因子受体4；p-ErbB1，磷酸化表皮生长因子受体1；p-ErbB2，磷酸化表皮生长因子受体2；p-ErbB3，磷酸化表皮生长因子受体3；p-ErbB4，磷酸化表皮生长因子受体4。

图1 对照组和炎性痛组大鼠脊髓背角ErbB亚型蛋白电泳图

Figure 1 Electrophoretogram of ErbB subtype proteins in the spinal dorsal horn of rats in control group and inflammatory pain group

表3 各组大鼠不同时间机械缩足阈值及热缩足潜伏期比较
Table 3 Comparison of mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency among groups of rats at different time points ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	鼠数	机械缩足阈值/g	热缩足潜伏期/s
对照1组	造模前	6	24.24±4.31	16.78±1.96
	造模后1天	6	27.54±3.45	14.72±2.54
	造模后3天	6	21.33±5.69	16.05±2.86
	造模后5天	6	24.67±1.50	15.57±1.35
	造模后7天	6	23.22±6.22	15.82±3.11
炎性痛1组	造模前	6	21.56±6.89	18.85±0.90
	造模后1天	6	5.64±1.66 ^{a)}	7.92±1.73 ^{a)}
	造模后3天	6	3.69±1.24 ^{a)}	8.35±2.43 ^{a)}
	造模后5天	6	2.37±0.83 ^{a)}	6.67±1.05 ^{a)}
	造模后7天	6	2.51±1.67 ^{a)}	7.73±1.16 ^{a)}
TX1-85-1低浓度组	造模前	6	26.00±0.00	16.70±2.62
	造模后1天	6	8.45±3.63 ^{a)}	7.40±2.84 ^{a)}
	造模后3天	6	6.34±3.20 ^{a)}	9.47±1.09 ^{a)}
	造模后5天	6	7.59±2.10 ^{a)}	8.68±3.12 ^{a)}
	造模后7天	6	6.03±1.11 ^{a)}	10.00±1.88 ^{a)}
TX1-85-1中浓度组	造模前	6	24.71±3.15	14.67±3.91
	造模后1天	6	9.30±2.52 ^{a)}	7.97±2.45 ^{a)}
	造模后3天	6	4.90±3.05 ^{a)}	8.62±1.86 ^{a)}
	造模后5天	6	12.00±4.49 ^{b)}	16.32±3.17 ^{b)}
	造模后7天	6	18.41±4.83 ^{b) c)}	14.57±3.99 ^{b)}
TX1-85-1高浓度组	造模前	6	27.41±3.11	14.78±2.91
	造模后1天	6	8.37±2.94 ^{a)}	7.57±3.07 ^{a)}
	造模后3天	6	7.54±3.49 ^{a)}	8.68±1.02 ^{a)}
	造模后5天	6	19.05±8.03 ^{b)}	13.54±3.25 ^{b)}
	造模后7天	6	22.99±7.38 ^{b) c)}	12.72±2.82 ^{b)}

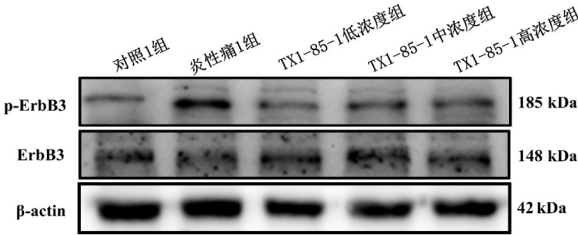
注：a) 与对照1组比较， $P<0.05$ ；b) 与炎性痛1组比较， $P<0.05$ ；c) 与TX1-85-1低浓度组比较， $P<0.05$ 。

表4 各组大鼠脊髓背角ErbB3、p-ErbB3蛋白水平比较
Table 4 Comparison of ErbB3 and p-ErbB3 protein levels in the spinal dorsal horn of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	ErbB3	p-ErbB3
对照1组	6	0.81±0.23	0.86±0.17
炎性痛1组	6	0.77±0.13	1.15±0.25 ^{a)}
TX1-85-1低浓度组	6	0.93±0.15	0.93±0.14 ^{b)}
TX1-85-1中浓度组	6	0.86±0.15	0.89±0.13 ^{b)}
TX1-85-1高浓度组	6	0.83±0.11	0.83±0.15 ^{b)}

注：ErbB3，表皮生长因子受体3；p-ErbB3，磷酸化表皮生长因子受体3。

a) 与对照1组比较， $P<0.05$ ；b) 与炎性痛1组比较， $P<0.05$ 。



注：ErbB3，表皮生长因子受体3；p-ErbB3，磷酸化表皮生长因子受体3。

图2 各组大鼠脊髓背角ErbB3、p-ErbB3蛋白电泳图

Figure 2 Electrophoretograms of ErbB and p-ErbB3 proteins in the spinal dorsal horn of rats in each group

敲低病毒组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期升高 ($P<0.05$)。

2.3.2 对照病毒组、ErbB3敲低病毒组大鼠脊髓背角ErbB3蛋白表达比较 对照病毒组平均ErbB3蛋白水平为 (0.91±0.15)，ErbB3敲低病毒组为 (0.66±0.11)，与对照病毒组比较，ErbB3敲低病

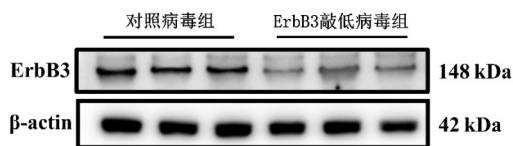
表 5 对照病毒组、ErbB3 敲低病毒组大鼠不同时间机械缩足阈值及热缩足潜伏期比较

Table 5 Comparison of paw mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of rats in control virus group and ErbB3 knockdown virus group at different time points ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	鼠数	机械缩足阈值	热缩足潜伏期
			/g	/s
对照病毒组	造模前	6	24.52±1.62	14.62±0.98
	造模后 1 天	6	5.54±1.36	7.49±0.80
	造模后 3 天	6	5.68±1.79	7.86±1.97
	造模后 5 天	6	3.60±0.78	7.15±1.63
	造模后 7 天	6	3.06±0.75	8.28±1.19
ErbB3 敲低病毒组	造模前	6	24.71±3.15	15.06±1.06
	造模后 1 天	6	8.64±2.67 ^{a)}	13.06±0.61 ^{a)}
	造模后 3 天	6	9.66±3.52 ^{a)}	13.51±1.51 ^{a)}
	造模后 5 天	6	9.03±1.86 ^{a)}	13.98±0.77 ^{a)}
	造模后 7 天	6	10.14±3.87 ^{a)}	14.28±1.02 ^{a)}

注：a) 与对照病毒组比较， $P<0.05$ 。

毒组大鼠脊髓背角 ErbB3 蛋白水平降低 ($P<0.05$)。对照病毒组、ErbB3 敲低病毒组大鼠脊髓背角 ErbB3 蛋白电泳图见图 3。



注：ErbB3，表皮生长因子受体 3。

图 3 对照病毒组、ErbB3 敲低病毒组大鼠脊髓背角 ErbB3 蛋白电泳图

Figure 3 Electrophoretograms of ErbB3 receptors in the spinal dorsal horn of rats in control virus group and ErbB3 knockdown virus group

2.4 实验四：电针干预后各组大鼠行为学及脊髓背角 ErbB3 蛋白水平比较

2.4.1 各组大鼠不同时间机械缩足阈值和热缩足潜伏期比较 表 6 示，造模后 1、3、5、7 天，与对照 2 组比较，炎性痛 2 组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期降低 ($P<0.05$)；造模后 5、7 天，与炎性痛 2 组和假电针组比较，电针组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期均升高 ($P<0.05$)。

2.4.2 各组大鼠脊髓背角 ErbB3、p-ErbB3 蛋白水平比较 表 7 示，与对照 2 组比较，炎性痛 2 组大鼠脊髓背角 p-ErbB3 蛋白水平升高 ($P<0.05$)；与炎性痛 2 组和假电针组比较，电针组大鼠 p-ErbB3 蛋白水平降低 ($P<0.05$)。4 组大鼠患侧脊髓背角 ErbB3、p-ErbB3 蛋白电泳图见图 4。

表 6 各组大鼠不同时间机械缩足阈值及热缩足潜伏期比较

Table 6 Comparison of paw mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of rats among groups at different time points ($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	鼠数	机械缩足阈值/g	热缩足潜伏期/s
对照 2 组	造模前	6	26.00±0.00	17.08±3.41
	造模后 1 天	6	24.46±3.45	13.70±2.42
	造模后 3 天	6	25.41±1.32	14.67±1.61
	造模后 5 天	6	25.41±1.32	15.52±1.54
	造模后 7 天	6	25.41±1.32	17.07±1.69
炎性痛 2 组	造模前	6	21.67±6.31	16.63±1.90
	造模后 1 天	6	6.17±3.90 ^{a)}	5.82±1.01 ^{a)}
	造模后 3 天	6	4.13±1.59 ^{a)}	7.37±1.63 ^{a)}
	造模后 5 天	6	2.47±1.25 ^{a)}	6.67±0.74 ^{a)}
	造模后 7 天	6	3.22±1.73 ^{a)}	7.25±2.08 ^{a)}
电针组	造模前	6	25.51±1.21	17.68±1.28
	造模后 1 天	6	6.57±5.00	7.03±1.75
	造模后 3 天	6	9.13±2.38	10.92±1.23
	造模后 5 天	6	8.31±3.34 ^{b) c)}	10.20±1.55 ^{b) c)}
	造模后 7 天	6	7.28±1.21 ^{b) c)}	11.67±1.95 ^{b) c)}
假电针组	造模前	6	19.34±4.51	14.65±3.03
	造模后 1 天	6	2.56±0.90	6.60±1.84
	造模后 3 天	6	2.70±1.90	9.20±1.31
	造模后 5 天	6	1.66±0.71	6.03±0.96
	造模后 7 天	6	1.68±0.39	7.58±1.44

注：a) 与对照 2 组比较， $P<0.05$ ；b) 与炎性痛 2 组比较， $P<0.05$ ；c) 与假电针组比较， $P<0.05$ 。

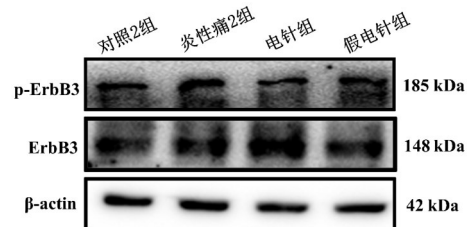
表 7 各组大鼠脊髓背角 ErbB3、p-ErbB3 蛋白水平比较

Table 7 Comparison of ErbB3 and p-ErbB3 protein levels in the spinal dorsal horn of rats in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	ErbB3	p-ErbB3
对照 2 组	11	1.28±0.28	0.46±0.10
炎性痛 2 组	11	1.27±0.30	0.62±0.11 ^{a)}
电针组	11	1.39±0.41	0.49±0.13 ^{b) c)}
假电针组	11	1.41±0.28	0.58±0.11

注：ErbB3，表皮生长因子受体 3；p-ErbB3，磷酸化表皮生长因子受体 3。

a) 与对照 2 组比较， $P<0.05$ ；b) 与炎性痛 2 组比较， $P<0.05$ ；c) 与假电针组比较， $P<0.05$ 。



注：ErbB3，表皮生长因子受体 3；p-ErbB3，磷酸化表皮生长因子受体 3。

图 4 各组大鼠患侧脊髓背角 ErbB3、p-ErbB3 蛋白电泳图

Figure 4 Electrophoretograms of ErbB and p-ErbB3 proteins in the ipsilateral spinal dorsal horn of rats in each group

2.5 实验五：激活脊髓背角 ErbB3 后各组大鼠电针干预效应结果比较

表 8 示，造模后 1、3、5、7 天，与对照 3 组比较，炎性痛 3 组大鼠机械缩足阈值及热缩足潜伏期降低 ($P<0.05$)；与炎性痛 3 组比较，电针 1 组大鼠造模后 3、5、7 天机械缩足阈值及热缩足潜伏期升高，电针+NRG1 组大鼠造模后 3 天机械缩足阈值升高 ($P<0.05$)；与电针+NRG1 组比较，电针 1 组大鼠造模后 5、7 天机械缩足阈值及热缩足潜伏期升高 ($P<0.05$)。

表 8 各组大鼠不同时间机械缩足阈值及热缩足潜伏期比较
Table 8 Comparison of paw mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of rats among groups

at different time points (x̄±s)				
组别	时间	鼠数	机械缩足阈值/g	热缩足潜伏期/s
对照 3 组	造模前	5	22.80±4.44	15.62±1.46
	造模后 1 天	5	22.35±3.02	13.82±2.23
	造模后 3 天	5	20.31±3.73	14.96±2.17
	造模后 5 天	5	21.85±2.65	17.13±1.71
	造模后 7 天	5	23.63±1.32	15.05±2.15
炎性痛 3 组	造模前	5	26.94±2.11	17.58±1.34
	造模后 1 天	5	6.82±2.13 ^{a)}	6.28±0.93 ^{a)}
	造模后 3 天	5	4.74±1.43 ^{a)}	9.48±0.90 ^{a)}
	造模后 5 天	5	4.17±2.42 ^{a)}	9.60±2.08 ^{a)}
	造模后 7 天	5	3.97±1.75 ^{a)}	9.10±2.20 ^{a)}
电针 1 组	造模前	5	23.26±1.58	17.54±2.73
	造模后 1 天	5	12.43±2.36	10.36±2.22
	造模后 3 天	5	15.16±5.35 ^{b)}	16.20±0.87 ^{b)}
	造模后 5 天	5	14.12±3.15 ^{b) c)}	16.83±1.57 ^{b) c)}
	造模后 7 天	5	10.14±2.31 ^{b) c)}	19.20±0.67 ^{b) c)}
电针+NRG1 组	造模前	5	25.43±4.41	17.56±2.73
	造模后 1 天	5	9.95±3.05	9.90±2.86
	造模后 3 天	5	11.07±0.92 ^{b)}	14.64±0.83 ^{b)}
	造模后 5 天	5	3.74±1.38	10.50±0.60
	造模后 7 天	5	3.98±2.24	10.52±1.09

注：a) 与对照 3 组比较， $P<0.05$ ；b) 与炎性痛 3 组比较， $P<0.05$ ；c) 与电针+NRG1 组比较， $P<0.05$ 。

3 讨论

炎性痛作为临床常见且复杂的病症，严重影响患者生活质量，主要表现为机械痛觉异常和热痛觉过敏等痛行为学改变^[14]。针刺镇痛本质上是疼痛区域的伤害性信号与刺激腧穴触发的信号在中枢神经系统痛觉传导通路不同水平上相互作用的结果^[15]。足三里是足阳明胃经的合穴，可激发经气，调节脾胃功能，促进气血生化，使机体正气充足，抵御外邪，增强对慢性炎症的自我修复能力。依据

“经脉所过，主治所及”原则，足阳明胃经主干抵达足部，故而针对足部慢性炎性痛选取足三里。有研究表明^[2, 16]，电针刺激足三里可通过 PROKR2^{Cre}标记的感觉神经元驱动迷走神经-肾上腺轴，使肾上腺释放去甲肾上腺素等物质，激活免疫细胞，进而发挥抑制全身性炎症反应的作用。同时，其对全身气血的调节作用，有助于改善足部血液循环，为炎性损伤组织提供充足的营养物质，促进炎症消散。根据复杂网络与数据挖掘探析炎性痛的针灸处方特点发现，足三里是炎性痛处方中通用核心腧穴之一^[17]。昆仑属于足太阳膀胱经，可疏通足太阳膀胱经气血，有效改善足部气血瘀滞，从而缓解疼痛症状。正如《针灸大全·通玄指要赋》所言，“大抵脚腕痛，昆仑解愈”。根据局部取穴原则，故选取昆仑。课题组前期也已证实，电针足三里配合昆仑能有效缓解炎性痛^[18-20]。本研究结果表明，脊髓背角 ErbB3（而非 ErbB1、ErbB2、ErbB4）在炎性痛痛觉过敏中起关键作用；2 Hz/100 Hz 电针刺激“足三里”“昆仑”可缓解痛觉过敏，其镇痛机制可能与下调脊髓背角 ErbB3 的磷酸化表达有关，且激活 ErbB3 会直接影响电针的镇痛效果。

ErbB 通常以异源二聚体或同源二聚体的形式存在。不同亚型 ErbB 在配体结合和胞内激酶活性方面存在差异。ErbB1 和 ErbB4 既能特异性结合配体，又具备胞内激酶活性，能够直接激活下游信号通路；ErbB2 具有强酪氨酸激酶活性，但因其缺乏能使其激活的配体，常与 ErbB3 或 ErbB4 形成异源二聚体；ErbB3 酪氨酸激酶活性较低主要依靠 ErbB2 的激酶活性发挥作用^[21]。本研究结果表明，在炎性痛大鼠模型中，脊髓背角 p-ErbB3 水平升高，而 ErbB1、ErbB2、ErbB4 及其磷酸化蛋白水平未见明显变化，提示磷酸化 ErbB3 可能在炎性痛的中枢敏化过程中发挥特异性作用。ErbB 受体家族不同成员在疼痛调控中可能具有不同的功能，这与既往研究的结果部分一致。例如，全身性给予 ErbB1 抑制剂可逆转 CFA、坐骨神经损伤和慢性压迫性损伤诱导的机械性异常性疼痛^[22]；β-羟基丁酸通过激活 ErbB3 信号通路改善骨关节炎^[23]；鞘内中和 NRG1 或鞘内注射 ErbB4 抑制剂可以有效缓解热痛觉过敏^[5]。然而，本研究并未观察到大鼠脊髓背角 ErbB4 受体蛋白表达的变化，可能与动物品系以及造模所用药物注射剂量不同有关。

本研究采用 SD 大鼠左足底皮下注射 100 μl CFA 原液建立炎性痛大鼠模型，造模后 7 天脊髓背角

p-ErbB3 蛋白表达升高, 鞘内注射一定浓度的 ErbB3 抑制剂 TX1-85-1, 或敲低脊髓背角 ErbB3 表达可有效缓解炎性痛大鼠患侧足趾机械痛觉过敏和热痛觉异常。尽管 ErbB3 自身酪氨酸激酶活性较弱, 但其可通过与 ErbB2 形成异源二聚体, 增强下游信号通路的激活, 从而调控神经元可塑性和痛觉传递。本研究未观察到 ErbB2 蛋白表达的变化, 可能由于在炎性痛状态下 ErbB2 并非依赖自身磷酸化修饰, 而是通过非磷酸化依赖途径激活, 与 ErbB3 形成异源二聚体, 依赖 ErbB3 的磷酸化传递信号, 未来需进一步检测 ErbB2、ErbB3 二聚体的形成, 以明确其具体作用机制。

本研究结果显示, 2 Hz/100 Hz 电针可有效缓解炎性痛大鼠痛觉过敏, 且具有累积效应, 可降低脊髓背角 p-ErbB3 蛋白表达。NRG1 作为一种重要的神经调节因子, 其表达上调后, 可进一步激活脊髓背角小清蛋白中间神经元表面的 ErbB4 受体, 最终参与介导电针的镇痛效应^[24]。在脊髓损伤模型大鼠中, 电针通过激活 NRG1/ErbB4 促进髓鞘再生修复神经功能恢复后肢运动能力^[25]。在骨癌痛模型大鼠中, 电针可能通过抑制脊髓背角 NRG1/ErbB2-磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 k (Akt) 信号通路, 干扰星形胶质细胞活化缓解癌痛^[26]。此外, 在糖尿病周围神经病变的研究中, 电针可通过上调病变局部坐骨神经 *NRG1* 和 *ErbB2* mRNA 表达, 促进施万细胞存活, 有助于坐骨神经受损部位的修复和再生^[27]。在本研究中, 电针能抑制大鼠脊髓背角 p-ErbB3 蛋白表达, 假电针则无此作用。与此同时, 鞘内注射 ErbB3 抑制剂 TX1-85-1 或敲低 ErbB3 表达可以模拟电针的镇痛作用。为了进一步验证 ErbB3 与电针镇痛的关系, 本研究通过鞘内注射 ErbB3 配体 NRG1, 发现 NRG1 可以消除电针的镇痛作用。

综上所述, 炎性痛模型大鼠机械痛觉过敏和热痛觉异常可能与脊髓背角 ErbB3 磷酸化水平升高有关, 电针“足三里”“昆仑”可有效缓解炎性痛模型大鼠痛觉过敏, 可能是通过抑制脊髓背角 ErbB3 磷酸化表达从而发挥镇痛效应。但对于 ErbB3 作为二聚体发挥功能的具体机制及 ErbB3 受体下游信号传导通路缺乏深入探究。未来研究可聚焦于 ErbB3 与其他 ErbB 受体的二聚化效应及其下游信号通路, 以深化对电针镇痛靶点的理解, 为临床治疗慢性疼痛提供新的理论依据。

参考文献

- [1] CHEN Y, ZHOU Y, LI XC, et al. Neuronal GRK2 regulates microglial activation and contributes to electroacupuncture analgesia on inflammatory pain in mice[J]. *Biol Res*, 2022, 55(1): 5.
- [2] LIU SB, WANG ZF, SU YS, et al. A neuroanatomical basis for electroacupuncture to drive the vagal-adrenal axis[J]. *Nature*, 2021, 598(7882): 641–645.
- [3] TU JF, YANG JW, SHI GX, et al. Efficacy of intensive acupuncture versus sham acupuncture in knee osteoarthritis: a randomized controlled trial[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2021, 73(3): 448–458.
- [4] 周游, 汪雯, 蔡杨乾, 等. 电针对炎性痛大鼠背根神经节卫星胶质细胞活化和 P2X7 受体表达的干预[J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(4): 494–502.
- [5] WANG HS, CHEN WB, DONG ZQ, et al. A novel spinal neuron connection for heat sensation[J]. *Neuron*, 2022, 110(14): 2315–2333.
- [6] YU YY, WEI GH, ZHOU Q, et al. ErbB4 in spinal PV interneurons regulates mechanical allodynia in neuropathic pain via modulation of glycinergic inhibitory tone[J]. *J Pain Res*, 2021, 14: 1643–1651. doi: 10.2147/JPR.S311894.
- [7] JIANG JJ, ZHANG J, YAO P, et al. Activation of spinal neuregulin 1-ErbB2 signaling pathway in a rat model of cancer-induced bone pain[J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(1): 235–244.
- [8] MIZOBUCHI S, KANZAKI H, OMIYA H, et al. Spinal nerve injury causes upregulation of ErbB2 and ErbB3 receptors in rat dorsal root Ganglia[J]. *J Pain Res*, 2013, 6: 87–94. doi: 10.2147/JPR.S40967.
- [9] CALVO M, ZHU N, TSANTOULAS C, et al. Neuregulin-ErbB signaling promotes microglial proliferation and chemotaxis contributing to microgliosis and pain after peripheral nerve injury[J]. *J Neurosci*, 2010, 30(15): 5437–5450.
- [10] JIANG SS, LI Z, HUANG SJ, et al. IRF7 overexpression alleviates CFA-induced inflammatory pain by inhibiting nuclear factor- κ B activation and pro-inflammatory cytokines expression in rats[J]. *Brain Behav Immun*, 2024, 120: 10–20. doi: 10.1016/j.bbi.2024.05.021.
- [11] CHAPLAN SR, BACH FW, POGREL JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. *J Neurosci Methods*, 1994, 53(1): 55–63.
- [12] 郭义. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 234–236.
- [13] LACROIX-FRALISH ML, TAWFIK VL, NUTILE-MCMENEMY N, et al. Neuregulin 1 is a pronociceptive cytokine that is regulated by progesterone in the spinal cord: implications for sex specific pain modulation[J].

- Eur J Pain, 2008, 12(1): 94-103.
- [14] BANIASADI M, MANAHEJI H, MAGHSOUDI N, et al. Microglial-induced apoptosis is potentially responsible for hyperalgesia variations during CFA-induced inflammation [J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(2): 475-485.
- [15] ZHAO ZQ. Neural mechanism underlying acupuncture analgesia[J]. *Prog Neurobiol*, 2008, 85(4): 355-375.
- [16] LIU SB, WANG ZF, SU YS, et al. Somatotopic organization and intensity dependence in driving distinct NPY-expressing sympathetic pathways by electroacupuncture [J]. *Neuron*, 2020, 108(3): 436-450.
- [17] 于文颜, 马良宵, 田园, 等. 融合复杂网络与数据挖掘探析炎性痛的针灸处方特点 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2022, 24(11): 4402-4410.
- [18] ZHOU J, JIN Y, MA RJ, et al. Electroacupuncture alleviates experimental chronic inflammatory pain by inhibiting calcium voltage-gated channel-mediated inflammation [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 7061972. doi: 10.1155/2020/7061972.
- [19] XIANG X, WANG S, SHAO F, et al. Electroacupuncture stimulation alleviates CFA-induced inflammatory pain via suppressing P2X3 expression[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): 3248.
- [20] LIANG Y, FANG JQ, DU JY, et al. Effect of electroacupuncture on activation of p38MAPK in spinal dorsal horn in rats with complete Freund's adjuvant-induced inflammatory pain [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 568273. doi: 10.1155/2012/568273.
- [21] KOVACS E, ZORN JA, HUANG YJ, et al. A structural perspective on the regulation of the epidermal growth factor receptor[J]. *Annu Rev Biochem*, 2015, 84: 739-764. doi: 10.1146/annurev-biochem-060614-034402.
- [22] MARTIN LJ, SMITH SB, KHOUTORSKY A, et al. Epi-regulin and EGFR interactions are involved in pain processing[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(9): 3353-3366.
- [23] CAI ZQ, ZHANG ZM, LENG JR, et al. β -Hydroxybutyrate ameliorates osteoarthritis through activation of the ERBB3 signaling pathway in mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2024, 40(1): 140-153.
- [24] 吴若霖. 脊髓背角 ErbB4 受体在电针治疗 CFA 疼痛小鼠模型的作用[D]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [25] 沈俊. 电针调控 NRG-1/ErbB4 信号通路促进脊髓损伤后髓鞘再生的研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2022.
- [26] 范神栋. NRG1/ErbB2 信号通路在电针干预癌症疼痛中的作用[D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.
- [27] 王晓莉, 覃建阳, 尹昌浩, 等. 电针对糖尿病周围神经病大鼠坐骨神经 Nrg1 和 ErbB2 表达的影响[J]. *针灸临床杂志*, 2014, 30(9): 52-54.

Mechanism of Electroacupuncture Alleviating Inflammatory Pain in Rats by Regulating ErbB Subtypes in the Spinal Dorsal Horn

WU Yuxin, TIAN Shuxin, LYU Zhengyi, JI Dingru, LI Xingzhen, DONG Yue, ZHAO Binyu, LIANG Yi, FANG Jianqiao

The Third School of Clinical Medicine, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, 310053

ABSTRACT Objective To observe the changes in the levels of different subtypes of epidermal growth factor receptor (ErbB), namely ErbB1, ErbB2, ErbB3, and ErbB4, in the spinal dorsal horn of inflammatory pain model rats, and to explore their mechanism of mediating hyperalgesia as well as the intervention mechanism of electroacupuncture at "Zusanli (ST 36)" and "Kunlun (BL 60)". **Methods** The study was divided into five parts. In experiment 1, 14 Sprague Dawley (SD) rats were randomly divided into control and inflammatory pain group (7 rats each group) to observe the pain behavior and the protein expression of different ErbB receptor subtypes in the spinal dorsal horn. In experiment 2, 30 rats were randomly divided into control group 1, inflammatory pain group 1, and low-, medium-, and high-concentration TX1-85-1 groups, with 6 rats in each group, to observe the effect of inhibiting spinal ErbB3 on inflammatory pain. In experiment 3, 12 rats were randomly divided into control virus group and ErbB3 knockdown virus group, with 6 rats in each group, to observe the effect of knocking down ErbB3 in the spinal dorsal horn on inflammatory pain. In experiment 4, 44 rats were randomly divided into control group 2, inflammatory pain group 2, electroacupuncture group, and sham electroacupuncture group, with 11 rats in each group, to observe the effect of electroacupuncture. In experiment 5, 40 rats were randomly divided into control group 3, inflammatory pain group 3, electroacupuncture group 1, and electroacupuncture + NRG1 group, with 10 rats in each group, to observe the effect of activating ErbB3 on electroacupuncture. A rat model of inflammatory pain was established by subcutaneous injection of 100 μ l of complete Freund's adjuvant into the sole of the unilateral hind foot of SD rats. Rats in the low-, medium-, and high-concentration TX1-85-1 groups were intrathecally injected with ErbB3 inhibitor TX1-85-1 on day 5 to day

7 after modeling. Rats in the ErbB3 knockdown virus group were injected with ErbB3 knockdown virus packaged with adenovirus vector-based short hairpin RNA (shRNA) into the spinal dorsal horn in situ 3 weeks before modeling. Rats in each electroacupuncture group received electroacupuncture at bilateral "Zusanli (ST 36)" and "Kunlun (BL 60)" from day 1 to day 7 after modeling, with dense-sparse waves at a frequency of 2 Hz/100 Hz and a current of 0.5–1.5 mA for 30 minutes once a day. Rats in the electroacupuncture + NRG1 group were intrathecally injected with ErbB3 ligand recombinant human neuregulin-1 (NRG1) after electroacupuncture intervention from day 5 to day 7 after modeling. The mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of rats were measured on day 1, 3, 5, and 7 after modeling to evaluate behavior, and Western Blot was used to detect the protein and phosphorylation levels of each ErbB subtype in the spinal dorsal horn. **Results** Compared with the control group, rats in the inflammatory pain group showed decreased mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of rats, and increased expression of phosphorylated ErbB3 (p-ErbB3) protein in the spinal dorsal horn on days 1, 3, 5, and 7 after modeling ($P < 0.01$). On day 5 and day 7 after modeling, compared with the inflammatory pain group 1, the mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of rats in the medium- and high-concentration TX1-85-1 groups increased, and the expression of p-ErbB3 protein decreased ($P < 0.05$). On day 1, 3, 5, and 7 after modeling, compared with the control virus group, the mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of rats in the ErbB3 knockdown virus group increased ($P < 0.05$). On day 5 and day 7 after modeling, compared with the inflammatory pain group 2 and the sham electroacupuncture group, the mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of rats in the electroacupuncture group increased, and the expression of p-ErbB3 protein decreased ($P < 0.05$). On day 5 and day 7 after modeling, compared with the electroacupuncture + NRG1 group, the mechanical withdrawal threshold and thermal withdrawal latency of rats in the electroacupuncture group 1 increased ($P < 0.05$). **Conclusion** The p-ErbB3 in the spinal dorsal horn involved in hyperalgesia in rats with inflammatory pain, and electroacupuncture at "Zusanli (ST 36)" and "Kunlun (BL 60)" can alleviate inflammatory pain by inhibiting the expression of p-ErbB3 protein in the spinal dorsal horn of rats.

Keywords inflammatory pain; electroacupuncture; Zusanli (ST 36); Kunlun (BL 60); analgesia; spinal dorsal horn; ErbB receptor

(收稿日期: 2025-07-13; 修回日期: 2025-09-08)

[编辑: 贾维娜]

广告

《中医杂志(英文版)》欢迎投稿

Journal of Traditional Chinese Medicine [《中医杂志(英文版)》] (ISSN 0255-2922, CN 11-2167/R, 双月刊) 由中华中医药学会与中国中医科学院联合主办, 是我国中医药界具有权威的中医药英文科技期刊, 现发行和交换 90 多个国家和地区。

《中医杂志(英文版)》自 1981 年创刊以来一直坚持正确的办刊宗旨, 国际影响力不断提升。2010 年入选 SCI-E (《科学引文索引》扩刊版), 2011 年获得中国中医科学院自主选题项目资助, 2013 年获得“中国科技期刊国际影响力提升计划”资助, 自 2012 年起连续被评为“中国最具国际影响力学术期刊”, 2023 年再次入选“T1 级中医药英文科技期刊目录”。本刊先后被国际知名文献数据库 MEDLINE、《化学文摘》(CA)、《医学文摘》(EM) 等收录, 是 MEDLINE 收录的第一份中国出版的中医药期刊, 是 SCI 收录的 30 余种全科医学和替代医学期刊中的中国传统医学综合性学术期刊之一。

《中医杂志(英文版)》主要栏目包括循证研究、理论研究、基础研究、临床观察、中药研究、文献研究, 思路与方法、综述等。内容以报道中医药基础、临床研究成果和科研前沿进展为主, 覆盖中医药学科各个领域。欢迎广大专家学者积极投稿。作者可直接登录本刊网站 <http://www.journaltcm.cn> 投稿。

联系邮箱: jtcmen@126.com。联系电话: 010-64089190。

联系地址: 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 邮政编码: 100700。