

文章编号: 1005-0957 (2024) 06-0684-07

• 动物实验 •

基于 SP/NK1R/ β ARRS 通路电针缓解神经性疼痛的实验研究

王功命¹, 刘世敏¹, 王凤娇¹, 梁嘉仪¹, 夏勇¹, 顾意鸣¹, 王珂², 具紫勇¹

(1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437)

【摘要】 目的 观察针刺对坐骨神经慢性缩窄模型(chronic constriction injury, CCI)大鼠疼痛行为及脊髓背角 P 物质(substance P, SP)含量和神经激肽 1 受体(neurokinin 1 receptor, NK1R)、 β -抑制蛋白 1 抗体(β -arrestin 1, β ARR1)蛋白水平的影响。**方法** 将 36 只雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠随机分为假手术组、模型组、电针组 and 手针组, 每组 9 只。暴露模型组、电针组和手针组大鼠左侧股骨中段坐骨神经并进行结扎, 建立坐骨神经慢性缩窄模型; 假手术组暴露坐骨神经但不结扎。造模后第 8 天开始, 电针组和手针组分别对环跳和阳陵泉穴进行干预。测定 4 组大鼠造模后第 0、7、13、21、29 天的机械痛阈、热痛阈及后肢负重分布。采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测 4 组大鼠 L₄~L₆ 腰膨大脊髓背角组织中 SP 含量; 用蛋白质印迹法(Western blotting)检测 4 组大鼠 L₄~L₆ 腰膨大脊髓背角组织中 NK1R 和 β ARR1 蛋白表达。**结果** 造模后第 7 天, 模型组、电针组和手针组大鼠机械痛阈和热痛阈较假手术组降低 ($P < 0.05$), 两后肢负重分布差异较假手术组增加 ($P < 0.05$)。针刺干预后, 造模后第 13、21、29 天, 手针组和电针组大鼠机械痛阈和热痛阈高于模型组 ($P < 0.05$), 两后肢负重分布差异小于模型组 ($P < 0.05$); 造模后第 29 天, 电针组机械痛阈和热痛阈均高于手针组 ($P < 0.05$); 造模后第 21 天, 电针组两后肢负重分布差异小于手针组 ($P < 0.05$)。针刺干预全部结束后, 模型组脊髓背角组织 SP 含量低于假手术组 ($P < 0.05$), 手针组和电针组 SP 含量高于模型组 ($P < 0.05$)。针刺干预全部结束后, 模型组脊髓背角组织 NK1R 和 β ARR1 蛋白表达高于假手术组 ($P < 0.05$), 电针组和手针组 NK1R 和 β ARR1 蛋白表达低于模型组 ($P < 0.05$)。**结论** 针刺可能通过调控脊髓背角 SP 水平及 NK1R 和 β ARR1 蛋白表达对神经病理性疼痛起到镇痛效应。

【关键词】 针刺疗法; 电针; 坐骨神经; 神经痛; 镇痛; 脊髓背角; 大鼠**【中图分类号】** R2-03 **【文献标志码】** A

DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2024.06.0684

Experimental study of electroacupuncture mitigating neuralgia based on the SP/NK1R/ β ARRS signaling pathway

WANG Gongming¹, LIU Shimin¹, WANG Fengjiao¹, LIANG Jiayi¹, XIA Yong¹, GU Yiming¹, WANG Ke², JU Ziyong¹. 1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

[Abstract] Objective To observe the effects of acupuncture on pain behaviors and the levels of substance P (SP) and proteins neurokinin 1 receptor (NK1R) and β -arrestin 1 (β ARR1) in the spinal dorsal horn of rat models of chronic constriction injury (CCI) of the sciatic nerve. **Method** Thirty-six male Sprague-Dawley (SD) rats were randomized into a sham operation group, a model group, an electroacupuncture group, and a manual acupuncture group, with 9 rats in each group. In the model, electroacupuncture, and manual acupuncture groups, the sciatic nerve of rats was exposed and ligated by the middle of the left femur to establish the sciatic nerve CCI model. The sham operation group only received the exposure of the sciatic nerve but not ligation. From day 8 after modeling, the

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81874506)

作者简介: 王功命 (1993—), 男, 2020 级硕士生, Email: 330546233@qq.com

通信作者: 具紫勇 (1979—), 男, 教授, 博士, Email: juziyong@hotmail.com

王珂 (1980—), 男, 研究员, 博士, Email: wangke8430@163.com

electroacupuncture and manual acupuncture groups received the corresponding intervention by selecting Huantiao (GB30) and Yanglingquan (GB34). On days 0, 7, 13, 21, and 29 after modeling, the four groups of rats were assessed for their mechanical pain threshold, thermal pain threshold, and hind-limb weight distribution. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the content of SP in the L₄-L₆ spinal dorsal horn tissue of the four groups of rats; the protein expression of NK1R and β ARR1 in the L₄-L₆ spinal dorsal horn tissue was determined by Western blotting. **Result** On day 7 after modeling, the mechanical and thermal pain thresholds were lower in the model, electroacupuncture, and manual acupuncture groups than in the sham operation group ($P < 0.05$), and their hind-limb weight distribution difference was more significant compared with the sham operation group ($P < 0.05$). After needling interventions, on days 13, 21, and 29 after modeling, the mechanical and thermal pain thresholds were higher in the manual acupuncture and electroacupuncture groups than in the model group ($P < 0.05$), and their hind-limb weight distribution difference was less significant than that in the model group ($P < 0.05$); on day 29 after modeling, the electroacupuncture group had higher mechanical and thermal pain thresholds compared with the manual acupuncture group ($P < 0.05$); on day 21 after modeling, the hind-limb weight distribution difference was less significant in the electroacupuncture group than in the manual acupuncture group ($P < 0.05$). When needling interventions were completed, the SP content in the spinal dorsal horn tissue was lower in the model group than in the sham operation group ($P < 0.05$), and the SP content was higher in the manual acupuncture and electroacupuncture groups than in the model group ($P < 0.05$). When needling interventions finished, the protein expression levels of NK1R and β ARR1 in the spinal dorsal horn tissue were higher in the model group than in the sham operation group ($P < 0.05$), and the expression levels of proteins NK1R and β ARR1 were lower in the electroacupuncture and manual acupuncture groups than in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Acupuncture may play an analgesic role in neuralgia by modulating the SP level and the expression of proteins NK1R and β ARR1 in the spinal dorsal horn.

[Key words] Acupuncture therapy; Electroacupuncture; Sciatic nerve; Neuralgia; Analgesia; Spinal dorsal horn; Rats

神经病理性痛(neuropathic pain, NP)为躯体感觉系统损伤或疾病引起的疼痛,是一种反复发作或持续存在的慢性疼痛综合征^[1]。主要表现为自发性疼痛、痛觉超敏、痛觉过敏和感觉异常(如麻木、刺痛、瘙痒、敏感度减少甚至丧失)^[2]。流行病学调查显示,NP的患病率高达 17.9%,体力劳动者以及农村地区的患病率更高^[3]。与非神经性疼痛相比,慢性神经性疼痛对睡眠、生活质量、焦虑和抑郁症状的影响更大,提示神经性疼痛与更重的疾病负担有关,加之 NP 发病机制的复杂性、多维性,导致其治疗的困难性。针灸作为中医学重要组成部分,已在 183 多个国家和地区开展临床治疗^[4],并以其操作简单、安全方便、经济高效及不良反应少的特点被世界卫生组织推荐为一种替代和补充策略^[5]。针灸已逐渐纳入国际主流医疗体系,并取得了积极成果^[6]。调查表明,神经系统疾病在针灸适应证中占主导地位(40%)^[4],针灸对包括 NP 在内的多种类型的疼痛均有疗效^[7-8]。大量研究证实电针对 NP 的发病机制,以及不同 NP 动物模型的行为学变化都有显著的抑制作用^[9-11],提示针刺可通过调节大脑、脊髓和外周水平

上的各种分子表达来抑制疼痛。越来越多的研究表明针灸是多网络、多层次、多系统和多靶点的综合效应^[12]。针灸治疗 NP 的机理仍未完全阐明。本研究通过建立坐骨神经慢性缩窄模型,观察大鼠腰膨大段脊髓背角组织 P 物质(substance P, SP)含量以及神经激肽 1 受体(neurokinin 1 receptor, NK1R)和 β -抑制蛋白 1 抗体(β -arrestin 1, β ARR1)蛋白水平,探讨电针对 NP 的镇痛效应及其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 36 只,体重 180~220 g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司[SCXK(沪)2013-0016],饲养于上海中医药大学 SPF 级动物中心。动物饲养在温度(21±1)℃及相对湿度 40%~60%的环境中,每日光照 12 h,自由摄食饮水,按需更换垫料。大鼠适应性饲养 1 周后按随机数字表法分为假手术组、模型组、电针组和手针组,每组 9 只。本研究经上海中医药大学动物实验伦理委员会批准

(编号 PZSHUTCM190705022)。

1.2 主要仪器与试剂

戊巴比妥钠(1010N033, 上海博鼎生物科技有限公司);NK1R 抗体(ab228443, 1:1 000, 上海光涵生物科技有限公司); β ARR1 抗体(ab16127, 1:1 000, 上海光涵生物科技有限公司);GAPDH 抗体(ab125247, 1:2 000, 上海光涵生物科技有限公司);羊抗兔、羊抗鼠二抗(1:5 000, 上海光涵生物科技有限公司);SP 酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(上海光涵生物有限公司);电子 von-Frey 触痛仪(ITTC-1443, ITTC 生命科学有限公司);韩氏穴位神经刺激仪(HANS-200E, 南京济生医疗科技有限公司);冷热板测痛仪(YLS-21A, 济南益延科技发展有限公司)。

1.3 模型制备

模型组、电针组 and 手针组均制备大鼠坐骨神经慢性缩窄模型^[13]。腹腔注射 1%戊巴比妥钠 40 mg/(kg·bw)麻醉大鼠后,于股骨左侧中段暴露坐骨神经,用 4-0 号外科缝合线轻度结扎,双结固定,共结扎 4 处,结扎点之间相隔 1 mm 左右,受影响神经长度约 4~5 mm,以大鼠肌肉轻微抽动为度。假手术组仅暴露坐骨神经不进行结扎。所有操作均由同一人完成。以大鼠出现强健且稳定的疼痛超敏反应以及较明显的自发性疼痛(包括反复摇晃、守卫和舔舐)为成模标准^[14]。

1.4 干预方法

造模后第 8 天开始对电针组和手针组进行干预,隔日 1 次,共 11 次。电针组取造模侧环跳和阳陵泉穴,用 0.25 mm×13 mm 毫针直刺,不做任何补泻手法,进针后连接韩氏穴位神经刺激仪,频率 15 Hz,强度 0.5~1.5 mA,电刺激 30 min。手针组取造模侧环跳和阳陵泉穴,用 0.25 mm×13 mm 毫针直刺,不做任何补泻手法,留针 30 min。进行干预的大鼠均在干预开始前 3 d 起每天适应被轻按固定于头套内,其余大鼠均以套袋等同样固定方法进行适应。

1.5 观察指标与检测方法

1.5.1 机械痛阈测定^[15]

4 组大鼠均于造模前及造模后第 0、7、13、21、29 天进行机械痛阈测定。将大鼠放置在测试架上的透明有机玻璃罩内,底部是金属网,适应周围环境 15~30 min。在电子 von-Frey 触痛仪上安装聚丙烯尖端,尖端垂直于后爪的中心区域,并逐渐增加压力,以大鼠

爪子出现退缩动作为准,收爪后记录压力强度。以 3 次测量的压力强度平均值为最终结果。

1.5.2 热痛阈测定^[16]

4 组大鼠均于造模前及造模后第 0、7、13、21、29 天进行热痛阈测试(机械痛阈测试 1 h 后)。将冷热板测痛仪的温度设定在 50 °C,待温度恒定于(50±0.2)°C 后,将大鼠放于热板上的有机玻璃盒内,以大鼠造模侧肢体第一次出现抬爪、抖动、舔舐、缩回甚至大鼠出现跳跃的时间为度,截断时间为 40 s,防止组织损伤。共测量 3 次,每次间隔 6 min,以 3 次测量的热缩足潜伏期平均值为最终结果。

1.5.3 后肢负重分布测定^[17]

4 组大鼠均于造模前及造模后第 0、7、13、21、29 天进行静态失能测试(热痛阈测定 1 h 后)。测试之前,用两个恒重的砝码校准仪器,以确保两秤之间无差异。大鼠进入塑料支架后,引导其转到正确位置,前肢靠在盒子弯曲的一侧,后肢对称站立于两个称重秤上,测量 5 s 之内两后肢的体质量分布,并计算两后肢体质量分布差异。连续测量 3 次,以 3 次测量的后肢负重分布差异的平均值为最终结果^[17]。

1.5.4 腰膨大脊髓背角组织 SP 含量检测

最后一次干预结束后,剪断平双侧髂嵴最高点连线处的脊柱,用活体脊髓吹出法以预冷的 PBS 吹出腰膨大,取 L₄~L₆ 腰膨大在放大镜下使用手术刀分离脊髓背角。采用 ELISA 检测大鼠腰膨大脊髓背角组织的 SP 含量。所有试剂和样品使用前均在室温下制备,样品在试验前解冻后再次离心并按照说明书规范操作。

1.5.5 腰膨大脊髓背角组织 NK1R、 β ARR1 蛋白水平的检测

将腰膨大脊髓背角组织放入蛋白裂解液中,按二喹林甲酸(bicinchoninic acid, BCA)法进行蛋白定量检测。用 SDS-PAGE 电泳分离蛋白质并转移到 PVDF 膜上。用 5%脱脂牛奶封闭 2 h 后,与一抗在 4 °C 的封闭溶液中过夜。冲洗膜,然后在室温下与 TBST 缓冲液中的相应 HRP 标记的二级抗体(1:5 000)孵育 2 h。使用增强化学发光试剂形成条带,并在凝胶成像仪中曝光。使用 ImageJ 软件测量条带的灰度值,并计算用作内部参考的目标蛋白与 GAPDH 的比率。

1.6 统计学分析

应用 SPSS26.0 统计软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料采用均数±标准差表示。采用

重复测量法比较同一组不同时间点测量数据。采用单因素方差分析比较组间差异, 方差齐时采用 LSD 法, 方差不齐时采用 Games-Howell 法进行两两比较。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

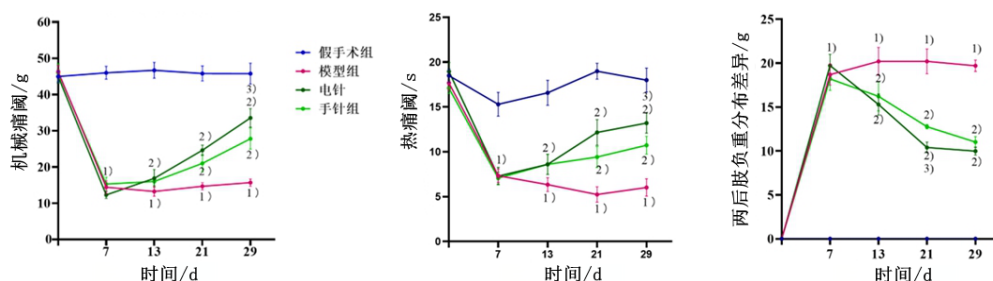
2.1 4 组大鼠机械痛阈、热痛阈和两后肢负重分布差异比较

造模前(造模第 0 天), 4 组大鼠机械痛阈、热痛阈和两后肢负重分布差异比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。造模后第 7、13、21、29 天, 模型组大鼠机械痛阈和热痛阈低于假手术组 ($P < 0.05$), 两后肢负

重分布差异大于假手术组 ($P < 0.05$)。造模后第 13、21、29 天, 手针组和电针组大鼠机械痛阈和热痛阈高于模型组 ($P < 0.05$), 两后肢负重分布差异小于模型组 ($P < 0.05$)。造模后第 29 天, 电针组大鼠机械痛阈和热痛阈高于手针组 ($P < 0.05$)。造模后第 21 天, 电针组大鼠两后肢负重分布差异小于手针组 ($P < 0.05$)。详见图 1。

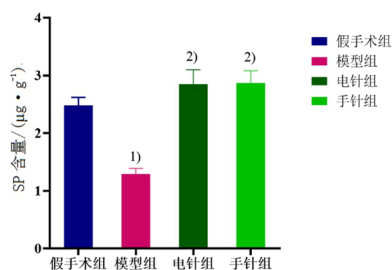
2.2 4 组大鼠腰膨大脊髓背角组织 SP 含量比较

模型组大鼠腰膨大脊髓背角组织 SP 含量低于假手术组 ($P < 0.05$), 手针组和电针组大鼠腰膨大脊髓背角组织 SP 含量高于模型组 ($P < 0.05$)。详见图 2。



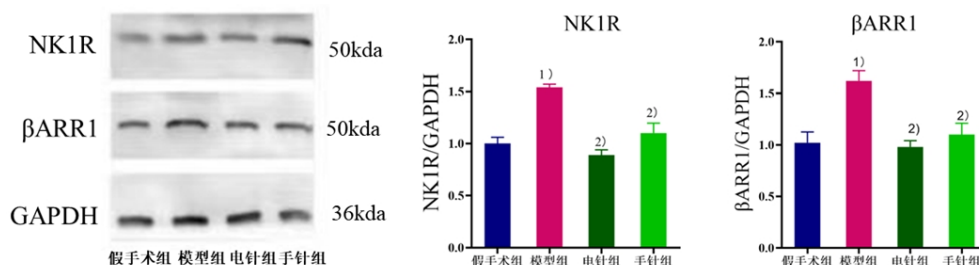
注: 与假手术组比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.05$; 与手针组比较 ³⁾ $P < 0.05$ 。

图 1 4 组大鼠机械痛阈、热痛阈和两后肢负重分布差异比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=9$)



注: 与假手术组比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

图 2 4 组大鼠腰膨大脊髓背角组织 SP 含量比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)



注: 与假手术组比较 ¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较 ²⁾ $P < 0.05$ 。

图 3 4 组大鼠腰膨大脊髓背角组织 NK1R 和 βARR1 蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

3 讨论

神经病理性痛(NP)属中医学“痹证”范畴。《素问·痹论》有记载“痹, 闭也, 血气凝涩不行也。有风

寒湿之痹……痹之为病, 或痛, 或不痛, 或不仁……”, 由此可知, 痹证多由风、寒、湿三气杂至, 侵袭人体所致。本研究针刺和电针干预时选取造模侧环跳和阳陵

泉穴。环跳穴为足少阳胆经和足太阳膀胱经之交会穴,具有疏通经络、调理气血、祛风胜湿、通阳助阳之效^[18]。此外,足少阳主骨所生病,足太阳主筋所生病。阳陵泉穴系胆经之合穴同时也是胆腑之下合穴,亦是八会穴之筋会,具有疏肝利胆、清热利湿、祛风散邪、舒筋活络、缓急止痛之效^[19]。从解剖部位看,针刺环跳穴可刺激闭孔神经、股神经、股外侧皮神经、坐骨神经、马尾神经,针刺阳陵泉穴可刺激腓总神经、腓浅及腓深神经,针刺可改善下肢运动及感觉功能。电针刺激环跳和阳陵泉穴治疗原发性坐骨神经痛疗效明显,且较普通药物治疗的复发率低^[20]。针刺治疗坐骨神经痛时,环跳和阳陵泉穴在 74 个腧穴中应用的频率最高^[21]。治疗此类疾病常采用 2 Hz、100 Hz、2/100 Hz 和 15 Hz 频率的电针刺激,而前 3 个频率的电针疗效已在大量文献中被证实^[22],故本研究采用 15 Hz 电针环跳和阳陵泉穴治疗神经性疼痛,以丰富电针治疗的有效参数范围。

SP 属于速激肽家族,速激肽受体包括 NK1、NK2 和 NK3, P 物质优先结合 NK1 受体^[23], NK1R 是 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs), GPCRs 是最大的受体家族,在人类中有近 1 000 个成员,参与大多数病理生理过程,几乎控制着疼痛传递的所有环节^[24-25]。因此, G 蛋白偶联受体是疼痛或镇痛的重要介质^[26]。虽然 GPCRs 是慢性疼痛的主要治疗靶点,但大多数针对 GPCR 的止痛药在临床试验中都以失败告终,原因不明。属于 G 蛋白偶联受体的 NK1R 受体存在于哺乳动物的神经组织中,介导伤害性感觉、炎症等功能^[27]。疼痛刺激从脊髓背角初级感觉神经元的中枢投射释放 SP;在那里 SP 诱导 NK1R 内吞二级神经元,该二级神经元整合伤害性信号^[28]。arrestin 蛋白家族包括 4 种亚型,其中 arrestin 1 和 4 仅限于视觉系统,arrestin 2 和 3,也被称为 β -arrestin 1 和 2^[29],尽管 β -arrestins 调节许多 GPCR,包括神经肽受体,但它们以能够阻止 β -肾上腺素受体的信号传递而得名^[30]。 β -arrestins 既能终止 GPCR 的质膜信号,也有助于质膜信号的再增敏^[31]。除与多种 GPCRs 相互作用外, β -arrestins 作为支架蛋白,可将受体偶联到网状蛋白和适配器蛋白-2 上,并将受体和配体输送到内吞体内^[32]。内体不仅是 GPCR 运输的通道,更是信号传递的重要部位^[33-34]。 β ARRs 将 GPCR 和丝裂原活化蛋白激酶招募到内体,从而介导内体 GPCR 信号转导^[35-36];GPCR/G 蛋白/ β ARR 复合物也有助于通过内化受体持续传递信号^[37]。最近有

报道称 NK1R/ β ARR 相互作用的选择性抑制剂,可以抑制 SP 诱导的 NK1R 内吞、信号区划、转录和神经元兴奋性,并具有抗伤害作用^[38]。膜锚定药物结合物对 NK1R 的特异性拮抗作用比传统的质膜靶向拮抗剂提供更有效和持久的止痛作用。提示针对内体 GPCR 的治疗靶向为包括慢性疼痛在内的病理生理状况提供了更有效和更有选择性的治疗方法。常规拮抗剂无法有效靶向内体中的 NK1R,而内体中受体在酸性环境中组装了多蛋白信号体,这可能是导致它们失败的原因。基于此,本研究观察了手针和电针对坐骨神经慢性缩窄模型(chronic constriction injury, CCI)大鼠脊髓背角 SP 含量及 NK1R 和 β ARR1 蛋白水平的影响。

本研究结果表明,手针和电针均可明显缓解 CCI 大鼠的机械痛阈、热痛阈和两后肢负重分布差异,且电针的疗效优于手针。模型组大鼠腰膨大脊髓背角组织 NK1R 和 β ARR1 的蛋白表达明显降低与假手术组相比,而电针与手针治疗均显著逆转了这一改变。但是,电针组与手针组相比,两组大鼠脊髓背角 NK1R、 β ARR1 的蛋白表达差异并不明显,说明可能有其他通路参与了电针与手针之间的这种疗效差异。CCI 大鼠脊髓背角 SP 的表达减少,而 NK1R、 β ARR1 的蛋白表达增加,电针和手针干预均逆转了脊髓背角 SP 表达的减少以及 NK1R、 β ARR1 蛋白表达的异常增高。本研究结果中 SP 与其受体 NK1R 的表达趋势不匹配,尽管大多数区域速激肽纤维的分布与各自的结合位点有很好的-一致性,但在某些部位受体与内源性配体之间存在明显的不匹配(如黑质,SP 浓度极高,但 NK1R 的表达却非常低)^[39-40]。出现这种不匹配的原因可能有以下 4 条。技术因素(检测因素);尚未发现的神经激肽受体亚型的存在^[41];速激肽可以远距离扩散并与其受体结合(容量传递)^[42],使得配体神经支配的密度与突触后 NK 受体的密度之间不是强制性;速激肽可以结合所有受体,可能在特定条件下,只要速激肽的浓度足够高,就可以激活除首选受体外的其他受体。除此之外,时间进展也可能是原因之一,在啮齿动物后爪切开模型中,背角 SP 的表达在术后 1 h、3 h、6 h 明显低于对照组,12 h 开始升高,1~3 d 则表达下降^[43]。本实验于造模后 1 个月左右进行脊髓背角组织 SP 含量的检测,这也可能是导致 SP 配受体不匹配的原由。

综上所述,针刺对 CCI 大鼠神经病理性疼痛有较好的镇痛效应,可能是通过抑制脊髓背角 SP 含量及

NK1R 和 β ARR1 蛋白水平而起效。本研究的不足是没有设立假针刺组或阻断剂组来验证针刺的干预效应, 未能证实 CCI 大鼠脊髓背角 SP 与 NK1R 受体之间不同时间点的匹配情况。未来将继续围绕相关分子机制进行分析, 以期能为针刺镇痛的机理研究提供更有力的证据。

参考文献

- [1] SCHOLZ J, FINNERUP N B, ATTAL N, *et al.* The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain[J]. *Pain*, 2019, 160(1): 53-59.
- [2] CAVALLI E, MAMMANA S, NICOLETTI F, *et al.* The neuropathic pain: an overview of the current treatment and future therapeutic approaches[J]. *Int J Immunopath Ph*, 2019, 33: 1681075631.
- [3] VAN HECKE O, AUSTIN S K, KHAN R A, *et al.* Neuropathic pain in the general population: a systematic review of epidemiological studies[J]. *Pain*, 2014, 155(4): 654-662.
- [4] YANG F M, YAO L, WANG S J, *et al.* Current tracking on effectiveness and mechanisms of acupuncture therapy: a literature review of high-quality studies[J]. *Chin J Integr Med*, 2020, 26(4): 310-320.
- [5] LEHMANN H. Acupuncture in ancient China: how important was it really?[J]. *J Integr Med*, 2013, 11(1): 45-53.
- [6] QIAO L, GUO M, QIAN J, *et al.* Research advances on acupuncture analgesia[J]. *Am J Chinese Med*, 2020, 48(2): 245-258.
- [7] 王庆勇, 屈媛媛, 冯楚文, 等. 针刺对神经病理性疼痛的镇痛机制[J]. *中国针灸*, 2020, 40(8): 907-912.
- [8] WRIGHT B D. Acupuncture for the treatment of animal pain[J]. *Vet Clin N Am-Small*, 2019, 49(6): 1029-1039.
- [9] WU J, WANG S, LU Y, *et al.* Shifted hub regions in the brain network of rat neuropathic pain model after electroacupuncture therapy[J]. *J Integr Neurosci*, 2020, 19(1): 65-75.
- [10] WAN J, NAN S, LIU J, *et al.* Synaptotagmin 1 is involved in neuropathic pain and electroacupuncture-mediated analgesic effect[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 968.
- [11] XIA Y Y, XUE M, WANG Y, *et al.* Electroacupuncture alleviates spared nerve injury-induced neuropathic pain and modulates HMGB1/NF- κ B signaling pathway in the spinal cord[J]. *J Pain Res*, 2019, 12: 2851-2863.
- [12] LI N C, LI M Y, CHEN B, *et al.* A new perspective of acupuncture: the interaction among three networks leads to neutralization[J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2019, 2019: 2326867.
- [13] BENNETT G J, XIE Y K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man[J]. *Pain*, 1988, 33(1): 87-107.
- [14] ATTAL N, JAZAT F, KAYSER V, *et al.* Further evidence for 'pain-related' behaviours in a model of unilateral peripheral mononeuropathy[J]. *Pain (Amsterdam)*, 1990, 41(2): 235.
- [15] DEUIS J R, DVORAKOVA L S, VETTER I. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 284.
- [16] ABAD A S S, FALANJI F, GHANBARABADI M, *et al.* Assessment of anti-nociceptive effect of allopurinol in a neuropathic pain model[J]. *Brain Res*, 2019, 1720: 146238.
- [17] NAKAZATO-IMASATO E, KUREBAYASHI Y. Pharmacological characteristics of the hind paw weight bearing difference induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve in rats[J]. *Life Sci*, 2009, 84(17-18): 622-626.
- [18] 高学全, 赵克蕊. 环跳穴浅析[J]. *天津中医药*, 2010, 27(2): 123-124.
- [19] 王民集, 朱江, 杨永清. 中国针灸全书[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2012: 351-352.
- [20] 李银武, 孟凡一. 电针治疗原发性坐骨神经痛的临床疗效观察[J]. *针灸临床杂志*, 2011, 27(9): 28-29.
- [21] 魏辉, 巩昌镇, 田海河, 等. 从经验到证据的临床针灸医学: 现代针灸疗效研究方法探讨(一)[J]. *中医药导报*, 2021, 27(5): 1-8.
- [22] 侯丽婷, 方先海, 刘金锋, 等. 不同频率电针刺激对神经痛模型大鼠脊髓背角 P 物质的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(12): 2267-2270.
- [23] SNIJDELAAR D G, DIRKSEN R, SLAPPENDEL R, *et al.* Substance P[J]. *Eur J Pain*, 2000, 4(2): 121-135.
- [24] GEPPETTI P, VELDHUIS N A, LIEU T, *et al.* G protein-

- coupled receptors: dynamic machines for signaling pain and itch[J]. *Neuron*, 2015, 88 (4) :635–649.
- [25] BASBAUM A I, BAUTISTA D M, SCHERRER G, *et al.* Cellular and molecular mechanisms of pain[J]. *Cell*, 2009, 139 (2) :267–284.
- [26] RETAMAL J S, RAMÍREZ-GARCÍA P D, SHENOY P A, *et al.* Internalized GPCRs as potential therapeutic targets for the management of pain[J]. *Front Mol Neurosci*, 2019, 12 (11) :273.
- [27] SEVERINI C, IMPROTA G, FALCONIERI-ERSPAMER G, *et al.* The tachykinin peptide family[J]. *Pharmacol Rev*, 2002, 54 (2) :285–322.
- [28] STEINHOFF M S, VON MENTZER B, GEPPETTI P, *et al.* Tachykinins and their receptors: contributions to physiological control and the mechanisms of disease[J]. *Physiol Rev*, 2014, 94 (1) :265–301.
- [29] MANTYH P W, DEMASTER E, MALHOTRA A, *et al.* Receptor endocytosis and dendrite reshaping in spinal neurons after somatosensory stimulation[J]. *Science*, 1995, 268 (5217) :1629–1632.
- [30] CHATURVEDI M, MAHARANA J, SHUKLA A K. Terminating G-protein coupling: structural snapshots of GPCR- β -arrestin complexes[J]. *Cell*, 2020, 180 (6) :1041–1043.
- [31] CATTARUZZA F, POOLE D P, BUNNETT N W. Arresting inflammation: contributions of plasma membrane and endosomal signalling to neuropeptide-driven inflammatory disease[J]. *Biochem Soc Transact*, 2013, 41 (1) :137–143.
- [32] DEWIRE S M, AHN S, LEFKOWITZ R J, *et al.* Beta-arrestins and cell signaling[J]. *Annu Rev Physiol*, 2007, 69:483–510.
- [33] IRANNEJAD R, VON ZASTROW M. GPCR signaling along the endocytic pathway[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 27:109–116.
- [34] MURPHY J E, PADILLA B E, HASDEMIR B, *et al.* Endosomes: a legitimate platform for the signaling train[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2009, 106 (42) :17615–17622.
- [35] DEFEA K A, VAUGHN Z D, O'BRYAN E M, *et al.* The proliferative and antiapoptotic effects of substance P are facilitated by formation of a beta-arrestin-dependent scaffolding complex[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2000, 97 (20) :11086–11091.
- [36] DEFEA K A, ZALEVSKY J, THOMA M S, *et al.* Beta-arrestin-dependent endocytosis of proteinase-activated receptor 2 is required for intracellular targeting of activated ERK1/2[J]. *J Cell Biol*, 2000, 148 (6) :1267–1281.
- [37] THOMSEN A, PLOUFFE B, CAHILL T R, *et al.* GPCR-G protein- β -arrestin super-complex mediates sustained G protein signaling[J]. *Cell*, 2016, 166 (4) :907–919.
- [38] JENSEN D D, LIEU T, HALLS M L, *et al.* Neurokinin 1 receptor signaling in endosomes mediates sustained nociception and is a viable therapeutic target for prolonged pain relief[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9 (392) :eaal3447.
- [39] NAKAYA Y, KANEKO T, SHIGEMOTO R, *et al.* Immunohistochemical localization of substance P receptor in the central nervous system of the adult rat[J]. *J Comp Neurol*, 1994, 347 (2) :249–274.
- [40] SHULTS CW, QUIRION R, CHRONWALL B, *et al.* A comparison of the anatomical distribution of substance P and substance P receptors in the rat central nervous system[J]. *Peptides*, 1984, 5 (6) :1097–1128.
- [41] HERKENHAM M. Mismatches between neurotransmitter and receptor localizations in brain: observations and implications[J]. *Neuroscience*, 1987, 23 (1) :1–38.
- [42] LANDGRAF R, NEUMANN I D. Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication[J]. *Front Neuroendocrin*, 2004, 25 (3–4) :150–176.
- [43] GAUTAM M, PRASOON P, KUMAR R, *et al.* Role of neurokinin type 1 receptor in nociception at the periphery and the spinal level in the rat[J]. *Spinal Cord*, 2016, 54 (3) :172–182.