DOI:10.16016/j.1000-5404.201607069

槲皮素减轻坐骨神经慢性缩窄性损伤大鼠的神经病理性疼痛及其相关机制

司海超,司小萌,刘 展 (473009 河南 南阳,河南省南阳市中心医院麻醉科)

[摘要] **目的** 探究槲皮素对坐骨神经慢性缩窄性损伤(chronic constriction injury,CCI)模型大鼠神经病理性疼痛的影响及其机制。**方法** 构建CCI大鼠模型,用不同浓度槲皮素干预,通过行为学实验检测机械缩足反射阈值(MWT)和热缩足反射潜伏期(TWL),ELISA试剂盒检测大鼠脊髓中炎性因子的表达,Western blot和qRT-PCR分别检测iNOS、COX-2和Wnt3a、β-catenin的蛋白以及mRNA的表达。**结果** 与对照组相比,模型组大鼠MWT和TWL值明显下降($P<0.05$),脊髓TNF-α、IL-1β,疼痛相关分子iNOS、COX-2,WNT通路Wnt3a、β-catenin蛋白水平均显著上升($P<0.05$),而槲皮素使模型组大鼠MWT和TWL值显著提高,TNF-α和IL-1β,iNOS和COX-2,Wnt3a和β-catenin水平均显著下降($P<0.05$),并呈现一定的剂量依赖效应。而Wnt/β-catenin通路激活剂可阻断槲皮素对CCI大鼠的作用。**结论** 槲皮素可能通过抑制Wnt/β-catenin通路及其下游靶分子COX-2和iNOS的表达减轻CCI大鼠的神经病理性疼痛。

[关键词] 槲皮素;坐骨神经慢性缩窄性损伤;神经病理性疼痛
[中图法分类号] R441.1;R651.3;R971.1 [文献标志码] A

Effects and mechanism of quercetin on neuropathic pain in chronic constriction injury rats

Si Haichao, Si Xiaomeng, Liu Zhan (Department of Anesthesiology, Nanyang Centeral Hospital, Nanyang, Henan Province, 473009, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effects of quercetin (Que) on neuropathic pain in rats after chronic constriction injury (CCI), and investigate its underlying mechanisms. **Methods** A total of 80 SD rats were randomly divided into control ($n=8$), sham operation ($n=18$), and CCI model group ($n=56$). In 7 d after model establishment, Que was given intragastrically at 30, 50 and 100 mg/kg. Before and in 3, 7, 14, 21 and 28 d after treatment, the mechanical withdrawal threshold (MWT) and thermal withdrawal latency (TWL) were determined by behavioral test in neuropathic pain rat models of CCI. Spinal production of TNF-α and IL-1β was quantified by ELISA kits. The protein and mRNA expression levels of iNOS, COX-2, Wnt3a and β-catenin were determined by qRT-PCR and Western blotting, respectively. **Results** Compared with control and sham operation group, the MWT and TWL were decreased significantly in the CCI group ($P<0.05$), while the spinal contents of TNF-α and IL-1β, the expression levels of the pain associated molecules iNOS and COX-2, and WNT pathway molecules, Wnt3a and β-catenin were all up-regulated ($P<0.05$). However, Que treatment also markedly increased the MWT and TWL, inhibited the production of TNF-α and IL-1β, and suppressed the expression of iNOS, COX-2, Wnt3a and β-catenin ($P<0.05$), in a dose-dependent manner. Whereas, the activator of Wnt/β-catenin pathway could block the effect of Que to the CCI rats. **Conclusion** Que may alleviate neuropathic pain in CCI rats by inhibiting Wnt/β-catenin signal pathway and downstream molecules COX-2 and iNOS.

[**Key words**] quercetin; chronic constriction injury; neuropathic pain

Corresponding author: Si Haichao, E-mail: stanley1018@163.com

[通信作者] 司海超,E-mail:stanley1018@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20161108.1446.001.html

神经病理性疼痛是由于外周或中枢神经损伤或功能紊乱引起的慢性疼痛,其发病机制复杂,涉及多个受体、神经递质及信号通路的相互作用,尚缺乏有效的治疗措施[1]。槲皮素是一种多羟基黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗抑郁等作用[2]。近年来,有研究发现槲皮素能有效减轻慢性神经疼痛[3],但其镇痛机制还尚未明确。因此,本研究通过建立坐骨神经慢性缩窄性损伤(chronic constriction injury,CCI)大鼠模型,探究槲皮素对神经病理性疼痛的影响及其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF 级雄性 SD 大鼠 80 只(8~10 周,体质量 180~220 g),由河南省实验动物中心提供。所有动物实验均获得南阳市中心医院动物伦理委员会的批准。槲皮素(Que,纯度(98.5,索莱宝科技,北京)。2390 型 Electronic von Frey 触觉测痛仪,Ⅱ T336 型甩尾足底测试仪(Ⅱ TC,美国);鼠抗 iNOS、COX-2、Wnt3a、β-catenin 多克隆抗体,β-actin 鼠抗单克隆抗体,羊抗鼠二抗(HRP)(Abcam,英国);ELISA 试剂盒(TNF-α,IL-1β),BCA 试剂盒(碧云天,南京)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型的建立 参照 Bennett[4] 方法建立 CCI 模型。将 SD 大鼠根据体质量从小到大排列按随机数字表分为正常组(control,$n=8$),假手术组(sham,$n=18$)和模型组(CCI,$n=56$)。实验前大鼠适应环境 1 周,室温 22~24℃,保证 12 h 明暗交替光照,自由饮水摄食。将 CCI 大鼠腹腔注射 4% 的水合氯醛(400 mg/kg)麻醉,俯卧位固定,于右侧大腿外侧中下 1/3 处平行股骨处分离肌肉皮肤,在坐骨神经干近分叉处 5 mm,用 4-0 丝线做 4 道结扎,间距 1~2 mm,以神经微下陷,肢体不抽搐为准。Sham 组只分离神经,不结扎。所有动物缝合肌肉皮肤后肌注青霉素 4×10^4 IU 以预防感染。分别于术前 1 d 及术后 1、3、7、14、21 d 检测大鼠机械缩足反射阈值(mechanical withdrawal threshold, MWT)。术后 7 d MWT 较基础痛阈下降 40% 以上者视为 CCI 模型成功,可以进行后续实验。

1.2.2 药物治疗 手术后 7 d,将 SD 大鼠分为假手术组(Sham+Veh),假手术+槲皮素组[Sham+Que(50 mg/kg)],CCI 组(CCI+Veh),CCI+槲皮素组[CCI+Que(30 mg/kg),CCI+Que(50 mg/kg),CCI+Que(100 mg/kg)],分别灌胃给药,并在给药 3、7、14、21、28 d 后检测其机械缩足反射阈值和热缩足反射潜伏期(thermal withdrawal latency, TWL)水平。

为了验证 Wnt/β-catenin 通路的作用,在给药 3 d 后,CCI 组及 CCI+Que 组大鼠尾静脉注射 SB216763(50 μg/kg, 溶于 DMSO,Wnt/β-catenin 通路激活剂)。

各组大鼠于给药后 7 d 完成行为学测定后断头处死,取术侧 L_4~L_6 脊髓组织,立即置于液氮中,后转移至 -70 ℃冰箱内保存,用于后续实验。

1.2.3 行为学检测 MWT:置大鼠于透明的有机玻璃箱,底部为铁丝网,实验前使之适应 15 min,手持压力传感器垂直刺激大鼠后肢足底中部皮肤,匀速而缓慢地增加力度,若大鼠出现缩足、舔足、甩尾等则为阳性反应,记录此时电子显示器上的数值,单位为 g,每次间隔 5 s,连续 10 次,左右两后肢足底交替测试,诱发 4~6 次缩足反应作为 50% 反应率,其压力值即为阈值。

TWL:置大鼠于底部为厚玻璃板的有机玻璃箱,实验前使之适应 15 min,用卤素投光灯照射大鼠后肢足底中部皮肤,记录从照射开始至大鼠出现抬腿、回避,时间即为 TWL,每次间隔 5 min,左右两侧交替进行,每只测 3 次,第 1 次数值波动较大,取后 5 次的平均值。

1.2.4 ELISA 检测炎性因子水平 取各组脊髓组织用微量研磨器磨碎制成匀浆液,将匀浆液进行 30 倍稀释,按 ELISA 试剂盒说明检测 TNF-α 和 IL-1β 的水平。

1.2.5 Western blot 检测蛋白表达 取各组脊髓组织,提取总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,煮沸 5 min 变性后,进行 SDS-PAGE 电泳,上样量为 80 μg。然后以 150 mA 3 h 转 PVDF 膜。3% 脱脂奶粉封闭抗原 1 h 后,一抗孵育(均为 1∶1 000),4 ℃过夜,用 TBST 洗膜,每次 5 min,共 3 次。加入二抗室温孵育 1 h,TBST 洗膜,每次 5 min,共 3 次,加入 ECL 显色液曝光显影。

CCI 手术后 7 d,将 SD 大鼠分为假手术组(Sham+Veh),CCI 组(CCI+Veh),槲皮素组[CCI+Que(100 mg/kg)],Wnt 激动剂组(CCI+SB216763),槲皮素+Wnt 激动剂组(CCI+Que+SB216763),分别灌胃给药,14 d 后处死,取术侧 L_4~L_6 脊髓组织,按照上述方法检测 iNOS、COX-2、β-catenin 的蛋白水平。

1.2.6 RT-PCR 检测 mRNA 表达 取各组脊髓组织,TRIzol 法提取细胞总 RNA,并检测其纯度以及完整性。反转录合成 cDNA,以 cDNA 为模板,进行 PCR 扩增,2%~3% 琼脂糖凝胶上电泳,依据 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算各组 mRNA 的相对表达量。引物由上海生工生物工程公司合成,序列见表 1。

表 1 引物序列与产物长度

基因	引物序列	产物长度(bp)
iNOS	上游:5′-CCCTTCCGAAGTTTCTGGCAGCAGC-3′	497
	下游:5′-GGGTGTCAGAGTCTTGTGCCTTTGG-3′	
COX-2	上游:5′-CTGTATCCCGCCCTGCTGGTG-3′	282
	下游:5′-ACTTGCGTTGATGGTGGCTGTCTT-3′	
Wnt3a	上游:5′-GGCATCTGTGGCTGCAGCAGCCG-3′	338
	下游:5′-CGGTGCTTCTCCACCACCATCTCCG-3′	
β-catenin	上游:5′-GACATGGCCATGGAACCAGAC-3′	324
	下游:5′-GATGAGCAGCATCAAACTGTGTAG-3′	
β-actin	上游:5′-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3′	539
	下游:5′-CTCCTTAATGTCACGCACGATTTC-3′	

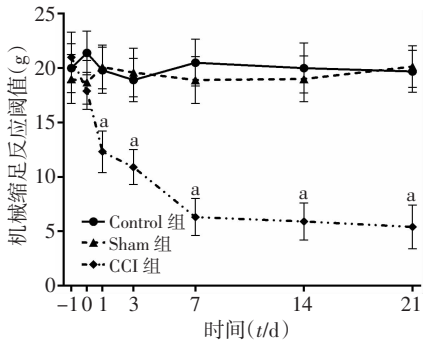
1.3 统计学分析

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析,多组间比较采用方差分析,各组均数间两两比较采用 SNK-q 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 神经病理性疼痛模型的建立

MWT 测定结果显示,手术造模以后,随着时间的增长,正常组(Control)与假手术组(Sham)的 MWT 比较差异无统计学意义。而与 Control 组相比,模型组(CCI)大鼠的 MWT 在各个时间点均显著缩短($P<0.05$,图 1),并在术后第 7 天数值达到平台期,较基础痛阈下降约 50%。结果表明手术诱发了大鼠的机械性痛觉超敏,CCI 模型成功,可用于后续实验。



a:$P<0.05$,与 Control 组比较

图 1 CCI 手术对大鼠机械缩足反射阈值的影响

2.2 槲皮素提高 CCI 大鼠 MWT 和 TWL 值

MWT 与 TWL 结果显示,槲皮素对 Sham 组小鼠的 MWT 与 TWL 并无明显影响。用药后 7 d,槲皮素显著提高了 CCI 大鼠的 MWT 和 TWL 值($P<0.05$,表 2),并呈现时间与剂量依赖的效应。结果表明,槲皮素显著提高 CCI 大鼠的机械痛阈和热痛阈。

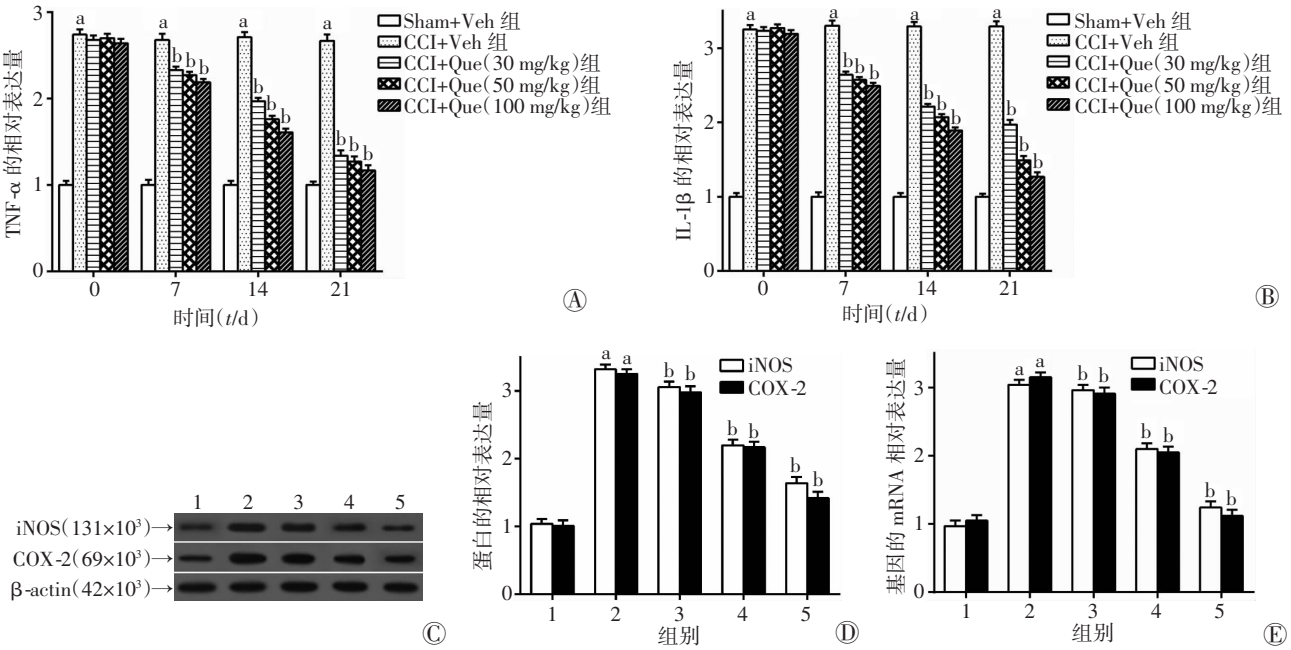
2.3 槲皮素降低 CCI 大鼠炎性因子及疼痛相关分子的表达

Western blot 与 qRT-PCR 检测结果显示,用药后 7 d,槲皮素显著降低了 CCI 大鼠脊髓中炎性因子 TNF-α 和 IL-1β 的水平,并呈现时间与剂量依赖效应($P<0.05$,图 2A、B)。另外,脊髓中 iNOS 与 COX-2 水平在 CCI 模型中显著升高,而槲皮素则显著降低其水平,并呈现剂量依赖效应($P<0.05$,图 2C~E)。结果表明,槲皮素降低 CCI 大鼠脊髓炎性因子及疼痛相关分子的表达。

表 2 各组大鼠不同时间机械痛阈和热痛阈的比较($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别(mg/kg)	基础值	给药后				
		3 d	7 d	14 d	21 d	28 d
MWT (g)						
Sham + Veh	23.5 ± 1.6	22.3 ± 1.8	21.9 ± 1.7	21.7 ± 1.9	22.2 ± 1.5	23.3 ± 1.9
Sham + Que (50)	22.7 ± 1.4	23.2 ± 1.6	22.2 ± 1.4	20.8 ± 2.1	23.1 ± 1.6	22.0 ± 1.1
CCI + Veh	10.3 ± 1.4^{b}	9.8 ± 0.7^{b}	6.7 ± 0.6^{b}	5.3 ± 0.8^{b}	5.2 ± 0.8^{b}	5.0 ± 0.8^{b}
CCI + Que (30)	11.5 ± 1.0^{b}	12.7 ± 1.0^{abc}	13.6 ± 0.8^{abc}	15.4 ± 0.8^{abc}	16.8 ± 1.2^{abc}	18.7 ± 1.2^{abc}
CCI + Que (50)	10.4 ± 1.1^{b}	13.7 ± 0.8^{abc}	14.3 ± 0.6^{abc}	16.0 ± 1.1^{abc}	17.2 ± 0.9^{abc}	19.0 ± 1.4^{abc}
CCI + Que (100)	10.4 ± 1.3^{b}	14.2 ± 1.5^{abc}	16.4 ± 1.6^{abc}	17.8 ± 1.4^{abc}	19.7 ± 1.3^{abc}	21.2 ± 1.4^{abc}
TWL(s)						
Sham + Veh	16.3 ± 1.1	17.9 ± 0.7	16.7 ± 0.6	17.2 ± 0.8	16.6 ± 0.8	16.9 ± 0.8
Sham + Que (50)	15.1 ± 1.5	16.2 ± 0.8	17.1 ± 0.7	16.4 ± 0.9	15.9 ± 0.9	16.8 ± 0.7
CCI + Veh	7.3 ± 1.1^{b}	6.9 ± 0.9^{b}	5.7 ± 0.6^{b}	5.2 ± 0.8^{b}	4.6 ± 0.8^{b}	4.7 ± 0.8^{b}
CCI + Que (30)	7.2 ± 0.5^{b}	8.6 ± 0.6^{abc}	9.4 ± 0.5^{abc}	10.2 ± 0.6^{abc}	11.7 ± 0.4^{abc}	12.7 ± 0.7^{abc}
CCI + Que (50)	6.9 ± 0.8^{b}	8.2 ± 0.5^{abc}	9.4 ± 0.7^{abc}	11.2 ± 0.8^{abc}	12.8 ± 0.5^{abc}	14.4 ± 0.4^{abc}
CCI + Que (100)	7.3 ± 0.9^{b}	9.2 ± 0.4^{abc}	10.9 ± 0.4^{abc}	12.2 ± 0.9^{abc}	13.1 ± 0.6^{abc}	15.4 ± 0.5^{abc}

a:$P<0.05$, 与基础值比较; b:$P<0.05$, 与 Sham + Veh 组比较; c:$P<0.05$, 与 CCI + Veh 组比较



A:TNF-α 的相对表达;B:IL-1β 的相对表达;C:Western blot 检测结果;D:半定量分析结果;E:qRT-PCR 检测结果 1:Sham + Veh 组;2: CCI + Veh 组;3: CCI + Que (30 mg/kg)组;4: CCI + Que(50 mg/kg)组;5: CCI + Que (100 mg/kg)组 a:$P<0.05$,与 Sham + Veh 组比较;b:$P<0.05$,与 CCI + Veh 组比较

图 2 槲皮素对 CCI 大鼠炎性因子和 iNOS、COX-2 表达的影响

2.4 槲皮素抑制 Wnt/β-catenin 通路的激活

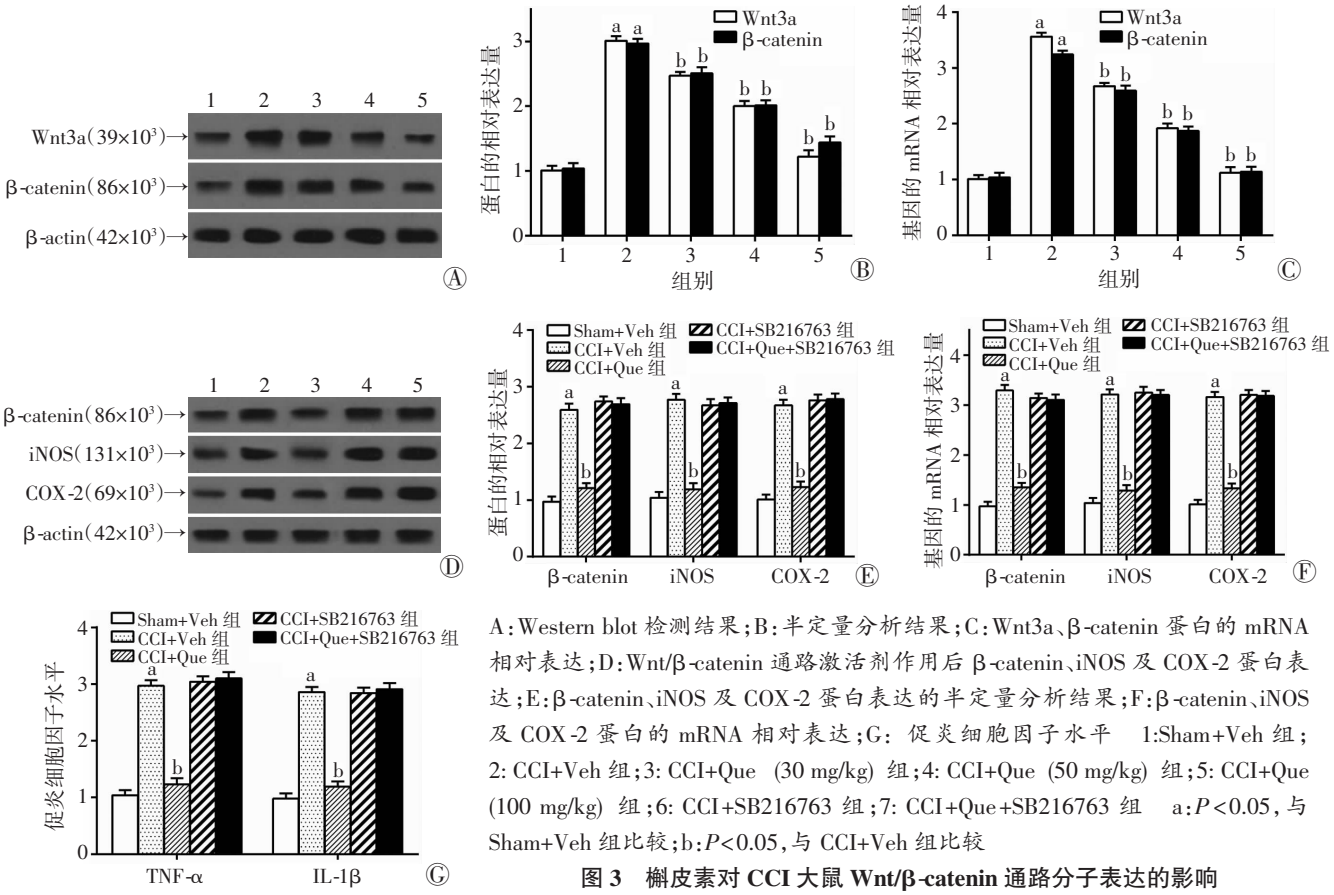
Western blot 与 qRT-PCR 检测结果显示,用药后 7 d,槲皮素显著降低了 Wnt3a 和 β-catenin 的水平,并呈现剂量依赖效应(图 3A ~ C),而 Wnt 激动剂 SB216763 处理后抑制了槲皮素的作用,显著提高了大鼠脊髓中 β-catenin、iNOS 与 COX-2 的水平(图 3D ~ F)。另外,SB216763 使槲皮素降低的大鼠脊髓炎性因子的水平显著上升($P<0.05$,图 3G)。结果表明,槲皮素可能通过抑制 Wnt/β-catenin 通路降低 CCI 大鼠脊髓中炎性因子和疼痛相关分子的表达。

3 讨论

神经病理性疼痛的发生机制复杂,多种因素参与其中。近年来研究发现,脊髓小胶质细胞是神经病理性疼痛的重要参与者。神经损伤可以导致脊髓小胶质细胞异常激活,小胶质细胞激活后,产生大量细胞因子、炎性介质、神经生长因子和自由基等,进而增强脊髓背角神经元的兴奋性,过量的这些物质积聚在脊髓背角,使病理性疼痛进一步发展和持续[5-6]。本研究发现,CCI 模型大鼠的机械痛阈和热痛阈在术后明显下降,至 7 d 之后降至最低,符合神经病理性疼痛模型的痛敏规律。

槲皮素作为一个典型的黄酮类化合物,具有抗病毒、降糖降压、免疫调节及心血管保护作用等生物活性[2]。近年来,有研究表明,槲皮素对酒精诱导的神经损伤小鼠具有保护作用[7]。槲皮素已经被发现能够提高小鼠的痛阈[8],但其机制少见报道。本研究证明,槲皮素作用于 CCI 大鼠后,显著升高了大鼠的机械痛阈和热痛阈,说明槲皮素能够缓解 CCI 大鼠神经病理性疼痛,并呈现一定的剂量依赖效应。

激活的胶质细胞释放的炎症因子直接作用于神经病理性疼痛的病理生理过程。已知在慢性坐骨神经缩窄性损伤模型中,炎症因子 TNF-α 和 IL-1β 的表达水平显著升高[9],与本实验结果一致。高浓度的 TNF-α 在中枢可以被看作是一种神经毒性多肽,可以在中枢诱导氧自由基生成,过度表达 TNF-α 的小鼠可发生严重的炎症、脑病和神经退行性病变[10]。本研究发现,槲皮素能显著降低 CCI 大鼠炎性因子的表达水平。NO 是一种新的神经递质和炎症递质,由一氧化氮合酶催化生成,分为内皮型一氧化氮合酶(eNOS/NOS3)、神经元型 NOS(nNOS/NOS1)、诱导型 NOS(iNOS/NOS2)。NO 具有极强扩张血管和增加血管通透性的作用,从而在炎症反应中起重要作用,并能增强痛觉感受和传导的敏感性,过高浓度的 NO 会导致脊髓



A:Western blot 检测结果;B:半定量分析结果;C:Wnt3a、β-catenin 蛋白的 mRNA 相对表达;D:Wnt/β-catenin 通路激活剂作用后 β-catenin、iNOS 及 COX-2 蛋白表达;E:β-catenin、iNOS 及 COX-2 蛋白表达的半定量分析结果;F:β-catenin、iNOS 及 COX-2 蛋白的 mRNA 相对表达;G: 促炎细胞因子水平 1:Sham+Veh 组;2: CCI+Veh 组;3: CCI+Que (30 mg/kg) 组;4: CCI+Que (50 mg/kg) 组;5: CCI+Que (100 mg/kg) 组;6: CCI+SB216763 组;7: CCI+Que+SB216763 组 a:$P<0.05$,与 Sham+Veh 组比较;b:$P<0.05$,与 CCI+Veh 组比较

图 3 槲皮素对 CCI 大鼠 Wnt/β-catenin 通路分子表达的影响

中枢疼痛的增强和炎性反应[11]。动物实验结果显示,COX-2 作为疼痛相关基因的一种,在神经病理性疼痛模型中过表达[12]。因此,给予选择性 COX-2 抑制剂能够有效地抑制神经病理性疼痛的发展[13]。本实验结果表明,槲皮素使 CCI 大鼠脊髓组织 iNOS 与 COX-2 的表达水平均显著下降,并呈现一定的剂量依赖效应。

神经系统发育过程中,对神经轴突再生等起重要调节作用的 WNT 蛋白家族,在神经病理性疼痛的发病机制中扮演重要角色。WNT 信号通路的激活能够刺激促炎因子 TNF-α 和 IL-1β 的产生,加重神经病理性疼痛的进展[14]。另外,COX-2 作为 Wnt/β-catenin 通路下游的靶分子[15],能够通过调节 iNOS 的表达影响细胞功能[16]。有研究表明,在 CCI 大鼠鞘内注射 WNT 通路抑制剂能有效降低大鼠的机械痛敏和热痛敏[17]。另外,槲皮素通过抑制 WNT 通路调节抑制癌细胞的迁移和黏附[18]。本实验结果表明,槲皮素可能通过抑制 Wnt/β-catenin 通路降低 CCI 大鼠脊髓中炎性因子和疼痛相关分子 iNOS 和 COX-2 的表达。抑制 NF-κB 信号通路能有效地减轻 CCI 大鼠的神经病理性疼痛[19]。而有研究发现槲皮素通过抑制 NF-κB 通路减轻大鼠神经损伤[20]。在众多癌症中,NF-κB 通路能够调节 Wnt5A 的表达[21],因此我们推测,槲皮素可能通过抑制 NF-κB 与 Wnt 通路之间相互作用从而缓解大鼠神经病理性疼痛,但其具体机制还需进一步的实验研究。

综上所述,本实验通过构建 CCI 大鼠模型,探究了槲皮素对神经病理性疼痛的影响,结果表明槲皮素可能通过抑制 Wnt/β-catenin 通路抑制疼痛相关分子的表达,从而缓解 CCI 大鼠的神经病理性疼痛。本研究深入阐明了槲皮素缓解神经病理性疼痛的机制,为治疗神经病理性疼痛提供了新的思路。

参考文献:

[1] Jarvis M F, Boyce-Rustay J M. Neuropathic pain: models and mechanisms[J]. Curr Pharm Des, 2009, 15(15): 1711-1716. DOI: 10.2174/138161209788186272

[2] 孙涓, 余世春. 槲皮素的研究进展[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(3): 85-88.

[3] Azevedo M I, Pereira A F, Nogueira R B, *et al*. The antioxidant effects of the flavonoids rutin and quercetin inhibit oxaliplatin-induced chronic painful peripheral neuropathy[J]. Mol

Pain, 2013, 9: 53. DOI:10.1186/1744-8069-9-53

[4] 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. DOI: 10.1016/0304-3959(88)90209-6

[5] Ji R R, Berta T, Nedergaard M. Glia and pain: is chronic pain a gliopathy? [J]. PAIN, 2013, 154(Suppl 1): S10 – S28. DOI:10.1016/j.pain.2013.06.022

[6] Kiguchi N, Kobayashi Y, Kishioka S. Chemokines and cytokines in neuroinflammation leading to neuropathic pain[J]. Curr Opin Pharmacol, 2012, 12(1):55 – 61. DOI: 10.1016/j.coph.2011.10.007

[7] Raygude K S, Kandhare A D, Ghosh P, *et al*. Evaluation of ameliorative effect of quercetin in experimental model of alcoholic neuropathy in rats[J]. Inflammopharmacology,2012,20(6):331 – 341. DOI:10.1007/s10787-012-0122-z

[8] 龚珊, 张玉英, 俞光第,等. 槲皮素镇痛作用的观察[J]. 中草药, 1996, 10:612 – 613.

[9] 胡传银, 陈小萍, 赵云涛. 岩藻聚糖硫酸酯对大鼠神经病理性疼痛的镇痛作用及其机制[J]. 解剖学杂志, 2014,37(2):188 – 191. DOI:10.3969/j.issn.1001-1633.2014.02.015

[10] Dai Z K, Lin T C, Liou J C, *et al*. Xanthine derivative KMUP-1 reduces inflammation and hyperalgesia in a bilateral chronic constriction injury model by suppressing MAPK and NFkappaB activation[J]. Mol Pharm, 2014, 11(5):1621 – 1631. DOI:10.1021/ mp5000086

[11] Huang S H, Wu S H, Lee S S, *et al*. Fat Grafting in Burn Scar Alleviates Neuropathic Pain *via* Anti-Inflammation Effect in Scar and Spinal Cord[J]. PLoS One, 2015, 10(9):e0137563. DOI:10.1371/ journal.pone.0137563

[12] Fu E S, Zhang Y P, Sagen J, *et al*. Transgenic inhibition of glial NF-kappa B reduces pain behavior and inflammation after peripheral nerve injury[J]. Pain, 2010, 148(3):509 – 518. DOI:10.1016/j.pain.2010.01.001

[13] 周国斌, 李红英, 吉锦泉, 等. COX 抑制剂对神经病理性疼痛大鼠镇痛效果及机制[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(10):1764 – 1766.

[14] Itokazu T, Hayano Y, Takahashi R, *et al*. Involvement of Wnt/beta-catenin signaling in the development of neuropathic pain[J]. Neurosci Res, 2014, 79:34 – 40. DOI: 10.1016/j.neures.2013.12.002

[15] Araki Y, Okamura S, Hussain S P, *et al*. Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the Wnt and ras pathways[J]. Cancer Res, 2003, 63(3):728 – 734.

[16] Hori M, Kita M, Torihashi S, *et al*. Upregulation of iNOS by COX-2 in muscularis resident macrophage of rat intestine stimulated with LPS[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001, 280(5):G930 – G938.

[17] Xu Z, Chen Y, Yu J, *et al*. TCF4 Mediates the Maintenance of Neuropathic Pain Through Wnt/beta-Catenin Signaling Following Peripheral Nerve Injury in Rats[J]. J Mol Neurosci, 2015, 56(2):397 – 408. DOI:10.1007/s12031-015-0565-y

[18] Mojsin M, Vicentic J M, Schwirtlich M, *et al*. Quercetin reduces pluripotency, migration and adhesion of human teratocarcinoma cell line NT2/D1 by inhibiting Wnt/beta-catenin signaling[J]. Food Funct, 2014, 5(10):2564 – 2573. DOI:10.1039/c4fo00484a

[19] Chu L W, Chen J Y, Yu K L, *et al*. Neuroprotective and anti-inflammatory activities of atorvastatin in a rat chronic constriction injury model[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2012, 25(1): 219 – 230. DOI: 10.1177/039463201202500124

[20] Gholami M, Khayat Z K, Anbari K, *et al*. Quercetin ameliorates peripheral nerve ischemia-reperfusion injury through the NF-kappa B pathway[J]. Anat Sci Int,2016. [Epub ahead of print]. DOI:10.1007/ s12565-016-0336-z

[21] Du Q, Geller D A. Cross-Regulation Between Wnt and NF-kappaB Signaling Pathways [J]. For Immunopathol Dis Therap, 2010, 1(3):155 – 181. DOI:10.1615/ForumImmunDisTher.v1.i3

(**收稿**:2016-07-09;**修回**:2016-09-05)

(编辑 张 维)