雷公藤甲素调节cGAS/STING信号通路对坐骨神经痛大鼠的改善作用及机制Δ

闫改霞*，林淑霞，孟　燕，张慧宇，景彦林#（山西大同大学中医药健康服务学院，山西 大同　037009）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）13-1594-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.13.09

摘　要　目的　探究雷公藤甲素（TP）对坐骨神经痛大鼠的改善作用及机制。**方法**　制备坐骨神经痛大鼠模型，然后将大鼠随机分为模型组（生理盐水），吲哚美辛组（阳性对照，7.5 mg/kg），低、高剂量TP干预组（分别记为TP-L组、TP-H组，50、100 μg/kg TP）和高剂量TP+干扰素基因刺激因子（STING）激活剂干预组（TP-H+DMXAA组，100 μg/kg TP+25 mg/kg DMXAA），每组12只；另取12只不结扎的大鼠作为假手术组（生理盐水）。腹腔注射给药/生理盐水14 d后，检测大鼠机械刺激缩足反射阈值（PWT）、热刺激缩足反射潜伏期（PWL）；观察大鼠坐骨神经病理学改变、坐骨神经元形态及小胶质细胞数；检测大鼠坐骨神经中白细胞介素1β（IL-1β）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）水平及环磷酸鸟苷-腺苷酸合成酶（cGAS）、STING mRNA及其蛋白表达。**结果**　与假手术组比较，Model组大鼠PWT、PWL均显著降低/缩短（$P<0.05$），尼氏体数量显著减少（$P<0.05$）；小胶质细胞数、坐骨神经病理学评分，IL-1β、TNF-α水平，cGAS、STING mRNA及其蛋白表达水均显著增加/升高（$P<0.05$）；坐骨神经损伤严重。与Model组比较，吲哚美辛组、TP-L组、TP-H组大鼠各指标变化与上述相反（$P<0.05$），坐骨神经损伤减轻。STING激活剂DMXAA减弱了TP对坐骨神经痛大鼠小胶质细胞活性和炎症反应的抑制作用（$P<0.05$）。**结论**　TP可能通过下调cGAS/STING信号通路，降低小胶质细胞活性和炎症反应，从而改善大鼠坐骨神经痛。

关键词　雷公藤甲素；坐骨神经痛；cGAS/STING信号通路；小胶质细胞；炎症反应

Improvement effect and mechanism of triptolide on sciatica rats by regulating cGAS/STING signaling pathway

YAN Gaixia, LIN Shuxia, MENG Yan, ZHANG Huiyu, JING Yanlin (College of Traditional Chinese Medicine Health Service, Shanxi Datong University, Shanxi Datong 037009, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the improvement effect and mechanism of triptolide (TP) on sciatica rats. **METHODS** Sciatica rat model was prepared and then randomly divided into model group (normal saline), indomethacin group (positive control, 7.5 mg/kg), TP low-dose and high-dose groups (TP-L group and TP-H group, 50, 100 μg/kg TP), and high-dose TP+stimulator of interferon gene (STING) activator group (TP-H+DMXAA group, 100 μg/kg TP+25 mg/kg DMXAA), with 12 rats in each group. Another 12 unligated rats were selected as sham operation group (normal saline). After 14 days of intraperitoneal administration, the paw mechanical withdrawal threshold (PWT) and paw withdrawal thermal latency (PWL) were detected; the pathological changes, morphology of sciatic nerve and the number of microglia in sciatic nerve were observed. The levels of interleukin-1β (IL-1β) and tumor necrosis factor-α (TNF-α), mRNA and protein expression levels of cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase (cGAS) and STING in sciatic nerve were detected. **RESULTS** Compared with sham operation group, PWT and PWL of rats in model group were obviously reduced and shortened, the number of Nissl bodies was obviously decreased, while the number of microglia, sciatic neuropathology score, the levels of IL-1β and TNF-α, mRNA and protein expressions of cGAS and STING were obviously increased ($P<0.05$), and sciatic nerve injury was serious. Compared with model group, the changes of various indexes in indomethacin group, TP-L group and TP-H group were opposite to the above ($P<0.05$), and sciatic nerve injury was reduced. STING activator DMXAA weakened the inhibitory effect of TP on the activity of microglia and inflammatory response in sciatica rats ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** TP may reduce the activity of microglia and inflammatory response by down-regulating the cGAS/STING signaling pathway, thus alleviating sciatica in rats.

KEYWORDS　triptolide; sciatica; cGAS/STING signaling pathway; microglia; inflammation reaction

坐骨神经痛是由于各种原因导致的坐骨神经通路及其分布区失调而引起的神经病理性疼痛，是临床常见的症状，其发病率逐渐上升[1]。患者主要出现腰背部、臀部直至下肢的放射性疼痛，且这种疼痛可能会对患者的

Δ **基金项目**　山西省基础研究计划（自由探索类）项目（No. 20210302123478）

＊**第一作者**　讲师，副主任医师，硕士。研究方向：针刺临床及机制。E-mail：yangaixia2023@126.com

＃**通信作者**　副教授，副主任医师，硕士。研究方向：针药结合治疗不孕症。E-mail：m13008080301@163.com

生活质量和心理健康产生消极影响[2]。现阶段，临床上主要采用镇静剂、止痛剂等对坐骨神经痛进行药物镇痛和手术治疗，但这些治疗方式均存在一定的副作用，且外科手术存在创伤大、恢复慢、复发率高等缺点[3]。研究发现，小胶质细胞是中枢神经系统神经胶质细胞的主要组成部分，当周围神经受到损伤时，小胶质细胞被激活，进一步促进肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）的分泌，以及激活多种信号通路途径，参与神经炎症及疼痛的发生[4－6]。因此，探寻新的安全有效、副作用小的天然药物抑制小胶质细胞活化，治疗坐骨神经痛成为临床研究的重点。

雷公藤甲素（triptolide，TP）是从中药雷公藤根部提取分离到的一种天然化合物，属于二萜类成分。研究发现，TP具有抗炎、抗氧化、抗癌、免疫抑制等药理作用，对各种神经退行性疾病和神经炎症类疾病具有治疗作用[7]。此外，TP还可减少外周神经损伤引起的神经性疼痛[8]。但关于TP对坐骨神经痛的相关影响及其机制尚不明确。环磷酸鸟苷-腺苷酸合成酶（cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase，cGAS）/干扰素基因刺激因子（stimulator of interferon gene，STING）信号通路是免疫系统中常见的经典信号通路之一，能够识别细胞质中的异常DNA，进而诱导炎症因子的表达，与多种神经退行性疾病和神经炎症密切相关[9]。Morozzi等[10]研究发现，周围神经损伤后，cGAS/STING信号通路在大鼠的坐骨神经中上调；抑制该信号通路后，小鼠脊髓的小胶质细胞活化减少，坐骨神经痛改善。基于此，本研究建立坐骨神经痛大鼠模型，予以TP干预，观察TP对坐骨神经痛的改善作用，并基于cGAS/STING信号通路探讨其可能机制，为TP的进一步开发利用提供参考。

1　材料

1.1　主要仪器

本研究所用的主要仪器有PL-200型热刺痛仪（成都泰盟软件有限公司）、Leica CM1860型冰冻切片机[徕卡显微系统（上海）贸易有限公司]、AiMco Austar43型荧光显微镜[埃美特（厦门）科技有限公司]、SpectraMax iD5型酶标仪（陕西科仪科技有限公司）。

1.2　主要药品与试剂

本研究所用的主要药品与试剂有TP对照品（上海源叶生物科技有限公司，批号B20709，纯度≥98%），STING激活剂DMXAA、吲哚美辛对照品（美国MedChemExpress公司，批号分别为HY-10964、HY-14397，纯度均不低于98%），IL-1β酶联免疫吸附检测（ELISA）试剂盒（武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司，批号E-EL-R0012），TNF-α ELISA试剂盒、苏木精-伊红（HE）染色试剂盒、尼氏染色液、反转录试剂盒（上海信裕生物科技有限公司，批号分别为XY9R1393、XY97070、XY90020DK、XY90206DYA），兔源离子钙结合适配器分子1（ion calcium-binding adapter molecule 1，IBA1）、cGAS单克隆抗体和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗（美国Santa Cruz公司，批号分别为sc-32725、sc-515777、sc-2004），兔源STING单克隆抗体（美国Cell Signaling Technology公司，批号3337）。

1.3　动物

本研究所用的动物为SPF级SD大鼠，共72只，体重200～240 g，雄性，由北京维通利华实验动物技术有限公司提供，动物生产许可证号为SCXK（京）2021-0011。大鼠饲养于山西省大同市经济技术开发区第一医药园区，使用许可证号为SYXK（晋）2023-0001。本次实验已得到山西大同大学伦理委员会批准（编号：2021025），并符合动物保护和利用的相关规定。实验前所有大鼠饲养于室温20～25 ℃、相对湿度40%～60%的动物房内。饲养期间大鼠自由摄食、饮水，适应性饲养7 d。

2　方法

2.1　坐骨神经痛模型的建立、动物分组与药物处理

参考文献[11]方法，采用结扎法构建大鼠坐骨神经痛模型。随机选取60只大鼠，腹腔注射戊巴比妥钠（30 mg/kg）进行麻醉，于左侧后肢股骨近中段斜切，暴露、分离出大鼠坐骨神经。在其分叉前游离出0.5 cm左右，用4-0的羊肠线绕坐骨神经主干做疏松的单结扎环，且使其刚好能沿神经滑动，松紧适度。之后进行缝合，消毒。术后动物单笼饲养，3 d内注射青霉素进行抗感染治疗，0.1 mL/d。剩余12只大鼠除不结扎外，其余操作与前述相同，记为假手术组（Sham组）。术后2 d观察大鼠行为，若大鼠出现激惹行为且机械刺激缩足反射阈值（paw mechanical withdrawal threshold，PWT）及热刺激缩足反射潜伏期（paw withdrawal thermal latency，PWL）检测结果异常，则说明造模成功[12]。

将造模成功的60只大鼠采用随机数字表法分为坐骨神经痛模型组（Model组）、吲哚美辛组（阳性对照，7.5 mg/kg[13]）、低剂量TP干预组（TP-L组，50 μg/kg TP）、高剂量TP干预组（TP-H组，100 μg/kg TP[14]）和高剂量TP+STING激活剂干预组（TP-H+DMXAA组，100 μg/kg TP+25 mg/kg DMXAA[15]），每组12只。各给药组大鼠腹腔注射相应药物，每日1次，共14 d；Sham组、Model组大鼠每日腹腔注射等体积生理盐水，共14 d。

2.2　大鼠PWT检测

末次给药2 h后，采用Von Frey针刺实验检测大鼠双侧后足PWT，具体操作如下：将大鼠置于底部为细钢丝网格的笼子中，用不同规格的Von Frey探针垂直于皮肤缓慢直刺后足掌，用力使Von Frey探针弯曲6～8 s，当后足缩回时，记录此时的纤维丝刺激强度值，即为PWT（g）。

2.3 大鼠PWL检测

PWT检测完毕10 min后，采用局部热刺痛的方式检测大鼠足底的PWL，具体操作如下：设定热刺痛仪的温度为55 ℃，待大鼠适应后（静止时）将热刺痛源置于其后足脚掌，记录大鼠后肢缩起或出现舔足的时间，即为PWL（s）。若超过40 s无反应则停止刺激，结果按40 s计。

2.4 大鼠坐骨神经病理学改变观察

采用HE染色法进行观察。PWL与PWT检测完后，脱颈处死所有大鼠。解剖分离大鼠的左侧坐骨神经。随机选取6只大鼠的坐骨神经组织（剩余大鼠的坐骨神经组织进行冻存），经多聚甲醛固定后制备组织切片（厚度16 μm）。经常规HE染色后，在光镜下观察大鼠坐骨神经组织的病理学变化，并对病理学改变进行评分：0分——神经细胞结构正常，无损伤；1分——有少量神经纤维的轴突或髓鞘损伤，损伤面积<2%；2分——有部分神经纤维的轴突或髓鞘损伤，损伤面积为2%～5%；3分——有明显的神经纤维轴突或髓鞘损伤，损伤面积>5%[16]。

2.5 大鼠坐骨神经元形态观察

采用尼氏染色法进行观察。取“2.4”项下每组剩余的部分坐骨神经冰冻切片，经乙醇梯度脱水后，放入尼氏染色液中浸染25 min，再次乙醇脱水后二甲苯透明、封片。在显微镜下观察大鼠坐骨神经元的形态，并使用Image-Pro plus图像处理软件计数5个不同视野的尼氏体数量，取平均值。

2.6 大鼠坐骨神经中小胶质细胞数检测

采用免疫荧光染色法进行检测。取“2.5”项下每组用剩的坐骨神经切片，用磷酸盐缓冲液（PBS）冲洗、Triton渗透，并用牛血清蛋白封闭后，加入IBA1（稀释比例1∶100）抗体在4 ℃下孵育过夜。之后加入相应二抗，室温孵育2 h，在荧光显微镜下观察切片，染成红色的细胞为阳性细胞（即为IBA1蛋白标记的小胶质细胞）。采用Image J软件对阳性细胞进行计数。

2.7 大鼠坐骨神经中IL-1β、TNF-α水平检测

采用ELISA法进行检测。取“2.4”项下冻存的部分坐骨神经，在冰上制备组织悬液。取部分组织悬液，根据IL-1β、TNF-α ELISA试剂盒说明书操作，分别检测大鼠坐骨神经中IL-1β、TNF-α水平。

2.8 大鼠坐骨神经中cGAS、STING mRNA表达检测

采用RT-qPCR法进行检测。取“2.7”项下每组剩余的坐骨神经组织悬液，加入Trizol试剂提取总RNA，采用反转录试剂盒将RNA反转录为cDNA，并以cDNA为模板进行PCR扩增。PCR扩增条件如下：95 ℃预变性5 min；95 ℃变性1 min，60 ℃扩增/延伸40 s，循环40次；72 ℃再延伸2 min，结束反应。引物序列由生工生物工程（上海）股份有限公司设计并合成，详见表1。以β-actin为内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算大鼠坐骨神经中cGAS、STING mRNA的相对表达量。

表1 引物设计与扩增产物长度

基因名称	引物序列（5′→3′）	扩增产物长度/bp
cGAS	上游引物：AGGAAGGAGCCAGACAAGC	211
	下游引物：CATCAAATTCATTAGGAGCAGA	
STING	上游引物：AGAATCCGAAGAGGGAAAC	127
	下游引物：CAGTAGGGAGGGACGAGGT	
β-actin	上游引物：ACATCCGTAAAGACCTCTATGCC	223
	下游引物：TACTCCTGCTTGCTGATCCAC	

2.9 大鼠坐骨神经中cGAS、STING蛋白表达检测

采用Western blot法进行检测。取“2.4”项下剩余的冻存坐骨神经，用RIPA裂解液提取组织总蛋白。采用BCA法测定蛋白浓度，蛋白经变性后，进行12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（电压100 V，电泳时间3 h）分离并转膜（电压100 V，转膜时间1～2 h），然后用牛血清白蛋白封闭2 h；滴加cGAS、STING、GAPDH一抗稀释液（稀释比例均为1∶1 000），4 ℃下孵育过夜；洗膜后，加入相应二抗，常温孵育2 h。使用ECL发光液进行显影，凝胶图像处理系统分析目标蛋白的灰度值，以目标蛋白与内参蛋白（GAPDH）条带的灰度值比值作为目标蛋白的表达水平。

2.10 统计学方法

采用GraphPad Prism 7.0软件进行统计分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 TP对大鼠PWT、PWL的影响

如表2所示，与Sham组比较，Model组大鼠PWT、PWL均显著降低/缩短（$P<0.05$）。与Model组比较，吲哚美辛组、TP-L组、TP-H组大鼠PWT、PWL均显著增加/延长（$P<0.05$），且TP的作用具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与TP-H组比较，TP-H+DMXAA组大鼠PWT、PWL均显著降低/缩短（$P<0.05$）。

表2 各组大鼠PWT、PWL的比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$）

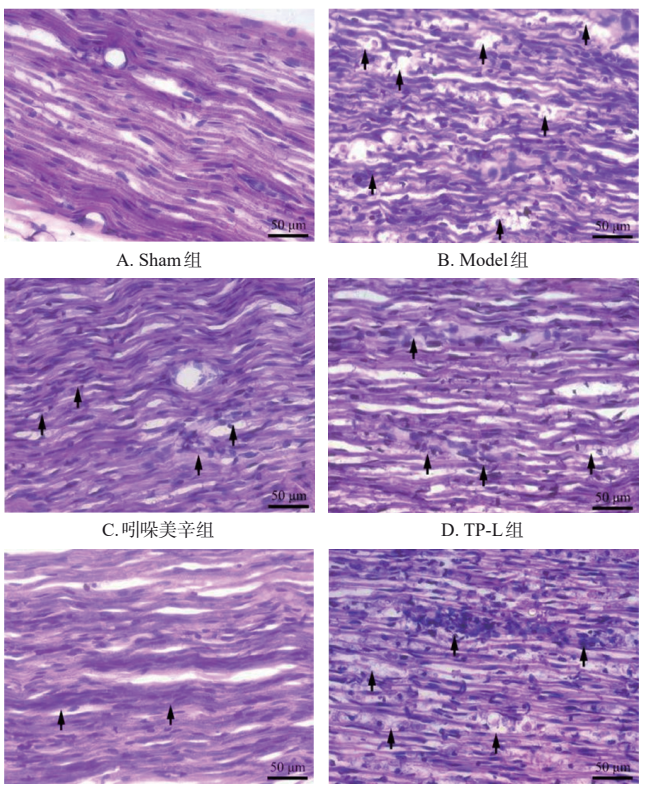
组别	PWT/g	PWL/s
Sham组	9.87±1.04	14.57±1.24
Model组	3.20±0.40[a]	6.02±0.51[a]
吲哚美辛组	7.92±0.66[b]	11.30±1.05[b]
TP-L组	5.84±0.32[b]	8.73±0.58[b]
TP-H组	8.86±0.73[bc]	12.79±1.10[bc]
TP-H+DMXAA组	4.38±0.47[d]	7.53±0.56[d]

a：与Sham组比较，$P<0.05$；b：与Model组比较，$P<0.05$；c：与TP-L组比较，$P<0.05$；d：与TP-H组比较，$P<0.05$。

3.2 TP对大鼠坐骨神经病理学改变的影响

如图1、表3所示，Sham组大鼠坐骨神经的髓鞘分布均匀，结构完整，神经纤维排列紧密有序，轴突具有良好的连续性。Model组大鼠的坐骨神经髓鞘、轴突、神经纤维等均发生不同程度的形状改变，髓鞘和轴突几乎不可见，神经纤维结构不规则，排列疏松，坐骨神经病理学评分较Sham组显著升高（$P<0.05$）。与Model组比较，吲

哚美辛组、TP-L组、TP-H组大鼠坐骨神经的髓鞘、神经纤维、轴突等的变形程度有所减轻，神经纤维排列更加紧密，坐骨神经病理学评分显著降低（$P<0.05$），其中吲哚美辛组、TP-H组大鼠的坐骨神经修复情况更为明显；与TP-L组比较，TP-H组大鼠坐骨神经病理学评分显著降低（$P<0.05$）。与TP-H组比较，TP-H+DMXAA组大鼠坐骨神经的髓鞘、神经纤维、轴突出现损伤，神经纤维排列疏松，坐骨神经病理学评分显著升高（$P<0.05$）。



A. Sham组　B. Model组
C. 吲哚美辛组　D. TP-L组
E. TP-H组　F. TP-H+DMXAA组

注：箭头所指为神经纤维损伤。

图1　各组大鼠坐骨神经病理学变化的显微图（HE染色）

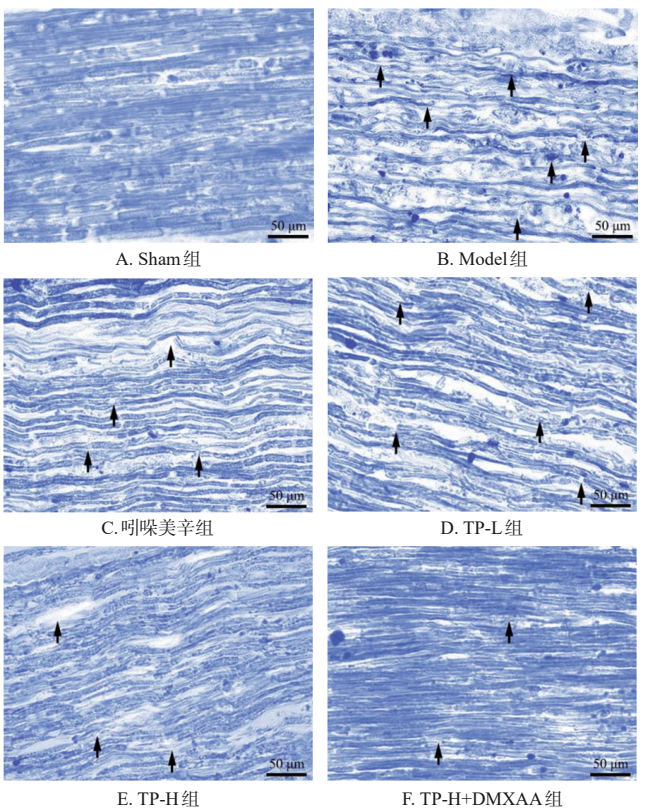
表3　各组大鼠坐骨神经病理学评分、尼氏体数量和小胶质细胞数比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	病理学评分/分	尼氏体数量/个	小胶质细胞数/个
Sham组	0	26.41±1.23	8.36±0.96
Model组	2.76±0.15[a]	10.21±0.58[a]	32.45±2.74[a]
吲哚美辛组	1.76±0.24[b]	22.06±1.02[b]	14.26±1.73[b]
TP-L组	1.97±0.26[b]	15.69±0.96[b]	21.04±1.85[b]
TP-H组	1.04±0.19[bc]	22.35±1.06[bc]	12.34±1.40[bc]
TP-H+DMXAA组	2.32±0.30[d]	13.21±0.71[d]	25.87±2.02[d]

a：与Sham组比较，$P<0.05$；b：与Model组比较，$P<0.05$；c：与TP-L组比较，$P<0.05$；d：与TP-H组比较，$P<0.05$。

3.3　TP对大鼠坐骨神经元形态的影响

如表3、图2所示，Sham组大鼠坐骨神经元形态完整、清晰，可见清晰尼氏体，呈蓝紫色。Model组大鼠坐骨神经元形态结构不完整，尼氏体溶解，神经元出现肿胀，染色不均，坐骨神经中尼氏体数量显著减少（$P<0.05$）。与Model组比较，吲哚美辛组、TP-L组、TP-H组大鼠坐骨神经中尼氏体数量显著增加（$P<0.05$），且较为清晰，其中吲哚美辛组、TP-H组大鼠坐骨神经中尼氏体增多较为明显。与TP-H组比较，TP-H+DMXAA组大鼠坐骨神经中尼氏体数量显著减少（$P<0.05$），神经元结构损伤严重。



A. Sham组　B. Model组
C. 吲哚美辛组　D. TP-L组
E. TP-H组　F. TP-H+DMXAA组

注：箭头所指为尼氏体。

图2　各组大鼠坐骨神经元形态观察的显微图（尼氏染色）

3.4　TP对大鼠坐骨神经中小胶质细胞数的影响

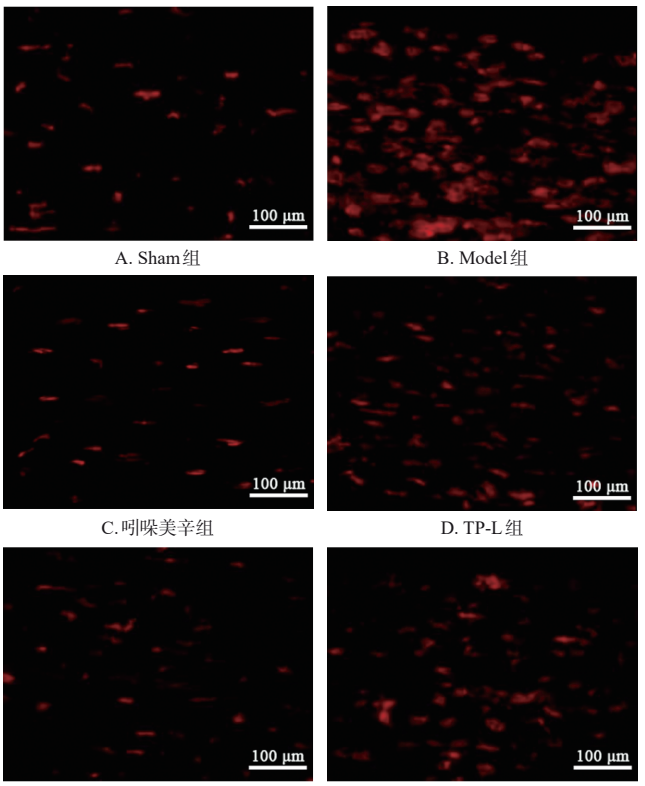
如表3、图3所示，与Sham组比较，Model组大鼠坐骨神经中小胶质细胞数显著增加（$P<0.05$）。与Model组比较，吲哚美辛组、TP-L组、TP-H组大鼠坐骨神经中小胶质细胞数均显著减少（$P<0.05$），且TP的作用具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与TP-H组比较，TP-H+DMXAA组大鼠坐骨神经中小胶质细胞数显著增加（$P<0.05$）。

3.5　TP对大鼠坐骨神经中IL-1β、TNF-α水平的影响

如表4所示，与Sham组比较，Model组大鼠坐骨神经中IL-1β、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。与Model组比较，吲哚美辛组、TP-L组、TP-H组大鼠坐骨神经中IL-1β、TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$），且TP的作用具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与TP-H组比较，TP-H+DMXAA组大鼠坐骨神经中IL-1β、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。

3.6　TP对大鼠坐骨神经中cGAS、STING mRNA及其蛋白表达水平的影响

如图4、表5所示，与Sham组比较，Model组大鼠坐骨神经中cGAS、STING mRNA及其蛋白表达水平均显



A. Sham组　B. Model组

C. 吲哚美辛组　D. TP-L组

E. TP-H组　F. TP-H+DMXAA组

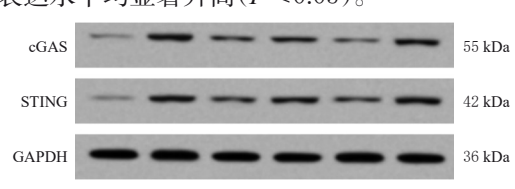
图3　各组大鼠坐骨神经中小胶质细胞观察的显微图（免疫荧光染色）

表4　各组大鼠坐骨神经中IL-1β、TNF-α水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$，ng/L）

组别	IL-1β	TNF-α
Sham组	8.23±0.96	73.24±10.40
Model组	25.48±2.21[a]	168.95±13.37[a]
吲哚美辛组	12.43±1.38[b]	96.78±9.80[b]
TP-L组	17.33±1.22[b]	137.22±14.68[b]
TP-H组	9.85±0.74[bc]	84.69±10.45[bc]
TP-H+DMXAA组	19.76±1.86[d]	139.50±15.36[d]

a：与Sham组比较，$P<0.05$；b：与Model组比较，$P<0.05$；c：与TP-L组比较，$P<0.05$；d：与TP-H组相比，$P<0.05$。

著升高（$P<0.05$）。与Model组比较，吲哚美辛组、TP-L组、TP-H组大鼠坐骨神经中cGAS、STING mRNA及其蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$），且TP的作用具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与TP-H组比较，TP-H+DMXAA组大鼠坐骨神经中cGAS、STING mRNA及其蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。



A：Sham组；B：Model组；C：吲哚美辛组；D：TP-L组；E：TP-H组；F：TP-H+DMXAA组。

图4　各组大鼠坐骨神经中cGAS、STING蛋白表达的电泳图

表5　各组大鼠坐骨神经中cGAS、STING mRNA及其蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	cGAS		STING	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
Sham组	1.00±0.00	0.23±0.02	1.00±0.00	0.17±0.02
Model组	1.76±0.18[a]	0.76±0.08[a]	2.14±0.21[a]	0.72±0.07[a]
吲哚美辛组	1.29±0.13[b]	0.36±0.04[b]	1.59±0.16[b]	0.31±0.03[b]
TP-L组	1.54±0.15[b]	0.58±0.06[b]	1.89±0.19[b]	0.54±0.05[b]
TP-H组	1.22±0.12[bc]	0.31±0.03[bc]	1.50±0.15[bc]	0.25±0.03[bc]
TP-H+DMXAA组	1.60±0.16[d]	0.65±0.07[d]	1.96±0.20[d]	0.61±0.06[d]

a：与Sham组比较，$P<0.05$；b：与Model组比较，$P<0.05$；c：与TP-L组比较，$P<0.05$；d：与TP-H组比较，$P<0.05$。

4　讨论

研究发现，TP不仅能够抑制脊髓小胶质细胞中脊髓神经结扎损伤诱导的神经性疼痛，还能在体外诱导大鼠坐骨神经中神经营养因子的表达，促进受体神经移植后的神经再生[17－18]。IBA1是小胶质细胞的特异性标志物，抑制IBA1标记的小胶质细胞活化有助于减轻大鼠坐骨神经痛[11]。本研究结果显示，经吲哚美辛和TP处理后，模型大鼠的PWL显著延长，PWT显著增加，小胶质细胞数以及IL-1β、TNF-α水平和坐骨神经病理学评分均显著降低；大鼠坐骨神经的髓鞘、神经纤维、轴突等的变形程度有所减轻，神经纤维排列更加紧密，尼氏体数量增多。这说明TP抑制了坐骨神经痛大鼠的小胶质细胞活化和炎症反应，修复了坐骨神经损伤。

cGAS/STING信号通路是一条与免疫炎症密切相关的信号通路。当细胞受到应激或损伤时，cGAS、STING表达增强，该通路被激活，可增强与免疫和炎症等相关的多个基因的表达，如*IL-1β*、*TNF-α*，最终诱导炎症反应的发生，其在神经炎症和脑损伤等方面的作用受到了广泛关注[19]。Wu等[20]研究发现，cGAS/STING信号通路的激活能够促进脂多糖诱导的小胶质细胞M1极化，促进机械性异常性疼痛的发生发展。本研究发现，Model组大鼠坐骨神经中cGAS、STING mRNA及其蛋白表达水平较Sham组显著升高，说明坐骨神经损伤诱导了cGAS/STING信号通路的活化；TP干预后大鼠坐骨神经中cGAS、STING mRNA及其蛋白表达水平均显著降低，表明TP可抑制cGAS/STING信号通路激活，这可能是TP改善坐骨神经痛的潜在机制。为了验证上述推测，本研究使用STING激活剂DMXAA与高剂量TP联合干预模型大鼠，结果发现，DMXAA减弱了TP对坐骨神经痛大鼠小胶质细胞活性和炎症反应的抑制作用。这说明TP可能通过下调cGAS/STING信号通路降低小胶质细胞活性，减轻大鼠的坐骨神经痛。

综上所述，TP可能通过下调cGAS/STING信号通路降低小胶质细胞活性和减轻炎症反应，进而改善大鼠坐骨神经痛，但其更多的作用机制还需进一步研究。

参考文献

[1] GADJRADJ P S, ULLAH K, HÄRTL R. Sciatica: predicting who would undergo surgery and who not[J]. J Spine Surg, 2022, 8(4): 406-408.

[2] AGUILAR-SHEA A L, GALLARDO-MAYO C, SANZ-GONZÁLEZ R, et al. Sciatica. Management for family physicians[J]. J Family Med Prim Care, 2022, 11(8): 4174-4179.

[3] BAILEY C S, RASOULINEJAD P, TAYLOR D, et al. Surgery versus conservative care for persistent sciatica lasting 4 to 12 months[J]. N Engl J Med, 2020, 382(12): 1093-1102.

[4] LU X, CHEN L H, JIANG C, et al. Microglia and macrophages contribute to the development and maintenance of sciatica in lumbar disc herniation[J]. Pain, 2023, 164(2): 362-374.

[5] KWON H S, KOH S H. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes [J]. Transl Neurodegener, 2020, 9(1): 42.

[6] LI P, WANG Y X, YANG G, et al. Sanguinarine attenuates neuropathic pain in a rat model of chronic constriction injury[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 3689829.

[7] GAO J, ZHANG Y F, LIU X H, et al. Triptolide: pharmacological spectrum, biosynthesis, chemical synthesis and derivatives[J]. Theranostics, 2021, 11(15): 7199-7221.

[8] TU L C, SU P, ZHANG Z R, et al. Genome of *Tripterygium wilfordii* and identification of cytochrome P_{450} involved in triptolide biosynthesis[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 971.

[9] GULEN M F, SAMSON N, KELLER A, et al. cGAS-STING drives ageing-related inflammation and neurodegeneration[J]. Nature, 2023, 620(7973): 374-380.

[10] MOROZZI G, ROTHEN J, TOUSSAINT G, et al. STING regulates peripheral nerve regeneration and colony stimulating factor 1 receptor (CSF1R) processing in microglia [J]. iScience, 2021, 24(12): 103434.

[11] 郑雪花, 邹剑芬, 黄善敏, 等. 夏天无对坐骨神经痛大鼠巨噬细胞和小胶质细胞活性的影响[J]. 江西中医药, 2022, 53(3): 58-62.
ZHENG X H, ZOU J F, HUANG S M, et al. Effects of *Corydalis decumbens* pers on the activation of macrophage and microglia in sciatica rats[J]. Jiangxi J Tradit Chin Med, 2022, 53(3): 58-62.

[12] 胡焓, 冯丹, 田佳玉, 等. 天麻素对坐骨神经痛模型大鼠TNF-α/STAT3通路及痛觉敏感性的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(18): 2209-2215.
HU H, FENG D, TIAN J Y, et al. Effects of gastrodin on TNF-α/STAT3 pathway and pain sensitivity in sciatica model rats[J]. Chin J Immunol, 2022, 38(18): 2209-2215.

[13] 胡滨, 王大斌, 郑洁. 曲马多对坐骨神经痛大鼠脊髓c-Jun、c-fos表达及星形胶质细胞活化的影响[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(4): 950-955.
HU B, WANG D B, ZHENG J. Effects of tramadol on the expression of c-Jun and c-fos in spinal cord and the activation of astrocytes in rats with sciatica[J]. Chin J Gerontol, 2023, 43(4): 950-955.

[14] 郭刚, 李长文, 王文辉, 等. 雷公藤甲素联合脉冲射频疗法对脊神经结扎大鼠Wnt/β-catenin信号通路及其炎性因子的影响[J]. 医学研究生学报, 2019, 32(12): 1270-1275.
GUO G, LI C W, WANG W H, et al. Effects of combined treatment with triptolide and pulsed radiofrequency on Wnt/β-catenin signaling pathway and inflammatory factors in SNL rats[J]. J Med Postgrad, 2019, 32(12): 1270-1275.

[15] CORRÊA L A, BITTENCOURT J V, MAINENTI PAGNEZ M A, et al. Neural management plus advice to stay active on clinical measures and sciatic neurodynamic for patients with chronic sciatica: study protocol for a controlled randomized clinical trial[J]. PLoS One, 2022, 17(2): e0263152.

[16] 刘静静, 陈登俊, 汪贻华, 等. 双羟萘酸布比卡因用于大鼠坐骨神经阻滞的效果[J]. 中华麻醉学杂志, 2021, 41(10): 1242-1246.
LIU J J, CHEN D J, WANG Y H, et al. Efficacy of bupivacaine pamoate for sciatic nerve block in rats[J]. Chin J Anesthesiol, 2021, 41(10): 1242-1246.

[17] ZHANG Z Q, JI S M, YANG L Y, et al. Triptolide alleviates neuropathic pain by inhibiting the activation of microglial toll-like receptor 3[J]. J Integr Neurosci, 2022, 21(6): 150.

[18] WANG Y, ZHANG S, LI Z J, et al. The effects of triptolide on the cellular activity of cryopreserved rat sciatic nerves and nerve regeneration after allotransplantation[J]. Int J Neurosci, 2020, 130(1): 83-96.

[19] LIU J L, CHEN H Y, LIN X Y, et al. Melatonin suppresses cyclic GMP-AMP synthase-stimulator of interferon genes signaling and delays the development of hearing loss in the C57BL/6J presbycusis mouse model [J]. Neuroscience, 2023, 517: 84-95.

[20] WU W Y, ZHANG X W, WANG S, et al. Pharmacological inhibition of the cGAS-STING signaling pathway suppresses microglial M1-polarization in the spinal cord and attenuates neuropathic pain[J]. Neuropharmacology, 2022, 217: 109206.

（收稿日期：2024-01-24　修回日期：2024-05-24）

（编辑：林　静）