

HMGB1 在三叉神经痛中的作用

沈 莲¹, 吴贝贝¹, 王烈成², 王元银¹

摘要 目的 构造大鼠三叉神经痛(TN)模型探索三叉神经节(TG)内高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)的表达情况及 HMGB1 对疼痛影响的可能机制。**方法** 采用眶下神经缩窄术构造大鼠 TN 模型,分为手术组(CCI组)和空白组(Sham组),机械痛阈检测鉴定模型构建是否成功;实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)及 Western blot 检测 Sham 组及 CCI 组大鼠术侧 TG 中 HMGB1、Toll 样受体 4(TLR4)、核因子 κ B(NF- κ B)mRNA 和蛋白表达量;连续两周每天腹腔注射 50 mg/kg HMGB1 抑制剂甘草酸(GL),以生理盐水(NS)作为对照,分为 CCI 组、CCI + NS 组、CCI + GL 组;RT-qPCR 及 Western blot 检测 CCI 组、CCI + NS 组、CCI + GL 组大鼠术侧 TG 中 HMGB1、TLR4、NF- κ B mRNA 和蛋白表达量。**结果** 大鼠术侧机械痛阈持续降低($P < 0.05$),TN 模型构造成功,大鼠眶下神经受到慢性压迫性损伤,术侧 TG 中的 HMGB1、TLR4、NF- κ B mRNA 及蛋白表达量升高($P < 0.05$);腹腔注射 GL 后,术侧 TG 中的 HMGB1、TLR4、NF- κ B 降低($P < 0.05$)。**结论** HMGB1 与 TN 有关,HMGB1 可能通过 TLR4/NF- κ B 通路调控 TN。

关键词 三叉神经痛;HMGB1;甘草酸;眶下神经缩窄术;TLR4;NF- κ B

中图分类号 R 745.11

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)03-0436-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.011

三叉神经痛(trigeminal neuralgia, TN)是一种常见的神经病理性疼痛^[1],严重影响患者的生活质量,其发病机制目前仍不明确。临床上治疗 TN 的方法主要有药物治疗、手术治疗、伽马刀放射治疗、中医治疗等^[2],但大多数效果不佳或副作用大。因此, TN 的靶向治疗一直是临床上巨大的挑战。高迁移率族蛋白 B1(high-mobility group box-1, HMGB1)

是一种高度保守的核蛋白,因其在聚丙烯酰胺凝胶电泳中速度快而得名^[3]。HMGB1 作为一种损伤相关模式分子参与级联反应并成为神经痛的研究热点,目前已在骨癌疼痛及坐骨神经痛中有相关研究^[3-4]。HMGB1 由胶质细胞或神经元释放后,与 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)结合激活下游核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)通路,进而引起背根神经痛^[5]。而 HMGB1 在 TN 中研究甚少,该研究通过眶下神经缩窄术构造大鼠 TN 模型探索 HMGB1 对 TN 的作用,以期对 TN 的靶向治疗提供方向。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要材料和仪器 PCR 引物由上海生工生物工程股份有限公司提供; Von Frey 毛刷(美国 North Coast 公司,货号:NC12775); Tissue RNA Purification Kit Plus(上海奕杉生物科技有限公司,货号:RN002plus); PrimeScriptTM RT 试剂盒及 TB Green Premix Ex Tag II(日本 TaKaRa 生物科技有限公司,货号:RR047A、RR820A); HMGB1 抑制剂 Glycyrrhizin(美国 MedChemexpress 生物科技公司,货号:HY-N0184); SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,货号:P0012AC); HMGB1 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号:10829-1-AP); TLR4 抗体、NF- κ B p65 抗体、NF- κ B p-p65 抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,货号:AF7017、AF5006、AF2006,); 水合氯醛(上海麦克林生化股份科技有限公司,货号:C804539); 超微量分光光度计(美国 Thermo Scientific 公司,型号:NanoDrop 2000/2000c); 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司,型号:9700); 高速低温组织研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司,型号:KZ-III-F)。

1.1.2 实验动物 选取体质量 200 g 左右的成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,共 50 只,维持型饲料饲养,可自由饮水和摄食,饲养间温度 25 °C, 12 h 昼夜交替。术前 3 d 对大鼠使用 Von-frey 毛刷刺激丝进行适应性训练,剔除反应迟钝或敏感大鼠。所需

2024-01-17 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81971236)

作者单位:¹ 安徽医科大学口腔医学院,安徽医科大学附属口腔医院,安徽省口腔疾病研究重点实验室 合肥 230032

² 安徽医科大学基础医学院生理学教研室 合肥 230032

作者简介:沈 莲,女,硕士研究生;

王烈成,男,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: wangliecheng@ahmu.edu.cn;

王元银,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: wyy1970548@sohu.com

实验动物由安徽医科大学实验动物中心提供,实验遵循动物实验伦理(伦理学批号:LLSC20190705)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 将SD大鼠随机分为4组:空白(Sham)组、手术(chronic constriction injury, CCI)组、CCI+生理盐水(normal saline, NS)组及CCI+甘草酸(glycyrrhizin, GL)组。第1部分实验探索HMGB1在TN大鼠三叉神经节(trigeminal ganglion, TG)中的表达及其可能机制,组别为CCI组和Sham组,每组10只。第2部分实验探索HMGB1抑制剂GL对三叉神经痛的影响,组别为CCI组、CCI+NS组及CCI+GL组,每组10只。

1.2.2 大鼠模型建立 使用0.1 mg/ml的水合氯醛按每100 g注射0.35 ml的剂量对雄性SD大鼠予以全身麻醉,术区碘伏消毒,CCI组大鼠行眶下神经缩窄术,即大鼠左侧颧弓前1/3下方靠鼻旁做5 mm斜行切口,血管钳钝性分离肌肉和筋膜,用玻璃分针分离出眶下神经,5-0外科线结扎眶下神经,两结扎处线相距约2 mm,松紧度适宜,保证仅眶下神经受压迫,而不阻断血流。用3-0外科线缝合皮肤,术区涂布金霉素眼膏预防感染。Sham组大鼠除眶下神经不结扎,其余处理方式同CCI组。其中CCI+GL组自手术第1天起每天予以50 mg/kg腹腔注射1次GL,连续2周。GL按每100 mg溶于50 ml NS比例配置,混匀,现配现用。CCI+NS组自术后第1天起每天予以等量NS腹腔注射,连续2周。按上述进行实验分组,每组大鼠5只用于机械痛阈测定,剩余大鼠在术后第14天,予以过量水合氯醛处死,收集大鼠术侧TG, -80℃冰箱保存,用于后续实验。

1.2.3 机械痛阈测定 为了减少干扰因素,测试前先将大鼠置于安静环境中适应0.5 h,在术前1 d及术后第0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20天检测各组大鼠术侧的机械阈值,使用Von-frey毛刷刺激丝由小到大的强度顺序对大鼠进行机械痛阈检测。每个强度的毛刷刺激丝重复10次,每次间隔30 s。大鼠出现如下任一反应称为阳性反应:快速缩头、逃避或攻击、搔抓刺激部位或洗脸的动作。10次刺激中有6次及6次以上阳性反应时,此时毛刷所对应的数值为该只大鼠此时的机械疼痛阈值,其余情况按顺序更换大一号强度刺激丝测定大鼠机械痛阈。

1.2.4 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)检测TG中HMGB1、TLR4和NF- κ B p65 mRNA表达 使用Tissue RNA Purification Kit Plus试剂盒提取mRNA;使用超微量分光光度仪检测样本浓度和纯度,保留

A260/A280在1.9~2.0间的样本,使用Prime-Script™ RT进行cDNA合成, TB Green Premix Ex Taq II进行PCR的扩增;荧光定量PCR仪检测TG中HMGB1、TLR4及NF- κ B p65的mRNA表达情况,使用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 计算其相对表达水平。实验所用荧光定量PCR基因引物序列见表1。

表1 qRT-PCR基因引物列表

目的基因	引物序列(5'-3')
HMGB1	F: AAAGGAGATCCTAAGAAGCCGA R: TCATAACGAGCCTTGTCAGCC
TLR4	F: CCAGGTGTGAAATTGAGACAATTG R: AAGCTGTCCAATATGGAACCC
NF- κ B	F: GTATTGCTGTGCCCTCCCGA R: CAAGCCTGTTTGAGATCTG
β -actin	F: TCGTATGTTGCCCTAGACTTCG R: GTTGGCATAGAGCTCTTACGG

1.2.5 Western blot检测TG中HMGB1、TLR4和NF- κ B p65及其磷酸化p65(p-p65)蛋白表达 收集大鼠术侧TG组织,称重后加入RIPA裂解液,配平,置于高速低温组织研磨仪按4℃、12 000 r/min研磨15 min,直至组织成匀浆,吸取上清液至EP管中,加入蛋白上样缓冲液,100℃加热10 min使蛋白充分变性, -80℃冰箱保存。制备凝胶,恒压80 V上样电泳,恒流260 mA转至PVDF膜上,置于5%脱脂奶粉中,室温下摇床封闭2 h。封闭完成后, TBST摇床洗膜5次。一抗稀释后,将PVDF膜置于一抗HMGB1抗体(1:1 000), TLR4抗体(1:1 000), NF- κ B p65抗体(1:1 000), NF- κ B p-p65抗体(1:1 000)稀释液中,4℃摇床孵育过夜, TBST漂洗PVDF膜,置于二抗稀释液辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(1:1 000)中室温孵育2 h,再次漂洗,配置显影液,曝光成像,使用ImageJ进行图像处理。

1.3 统计学处理 实验数据采用Graphpad Prism 8.0软件进行统计分析;实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 来表示;机械痛阈测定结果采用双因素方差分析,多组间数据比较采用单因素方差分析,两组数据比较采用独立样本t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 机械痛阈测试结果 术前1 d及术后0 d, CCI组与Sham组大鼠的机械阈值差异无统计学意义($t = 0.63, 0.01, P > 0.05$)。从术后第2天开始, CCI组大鼠机械痛阈较Sham组降低($t = 4.34, 6.63, 7.36, 6.99, 8.14, 8.75, 9.10, 9.83, 8.30, 8.64$, 均 P

<0.01);在术后第14天,CCI组大鼠机械疼痛阈值达到最低值($t = 7.81, P < 0.001$);在术后第20天,CCI组大鼠机械痛阈仍处于较低水平,提示大鼠TN模型构造成功。见图1。

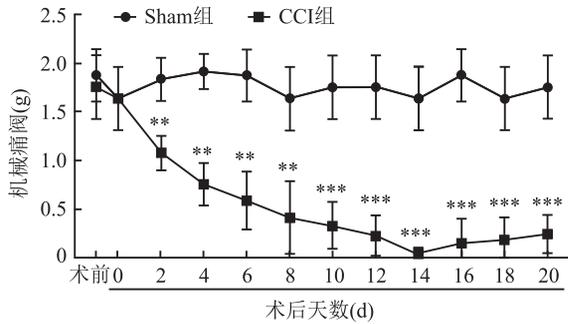


图1 Sham组和CCI组大鼠不同时间点术侧机械痛阈的比较与Sham组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.2 HMGB1在Sham组及CCI组大鼠TG中mRNA和蛋白表达量的变化

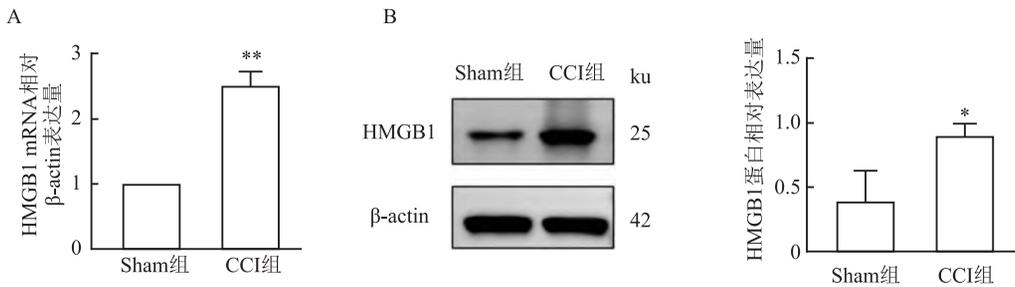


图2 Sham组和CCI组大鼠术后14d术侧TG中HMGB1的mRNA和蛋白表达的比较

A:两组大鼠术侧TG中HMGB1 mRNA表达;B:两组大鼠术侧TG中HMGB1蛋白表达;与Sham组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

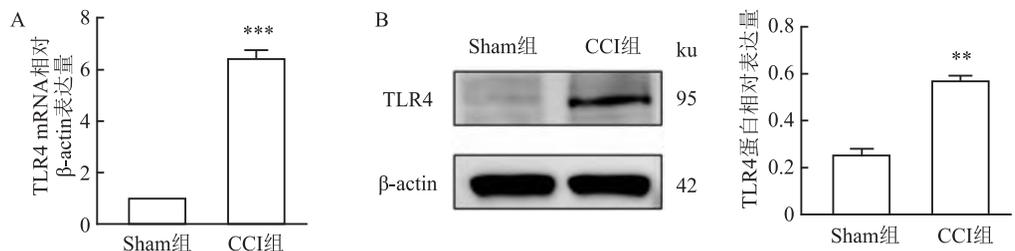


图3 Sham组和CCI组大鼠术后14d术侧TG中TLR4的mRNA和蛋白表达的比较

A:两组大鼠术侧TG中TLR4 mRNA表达;B:两组大鼠术侧TG中TLR4蛋白表达;与Sham组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

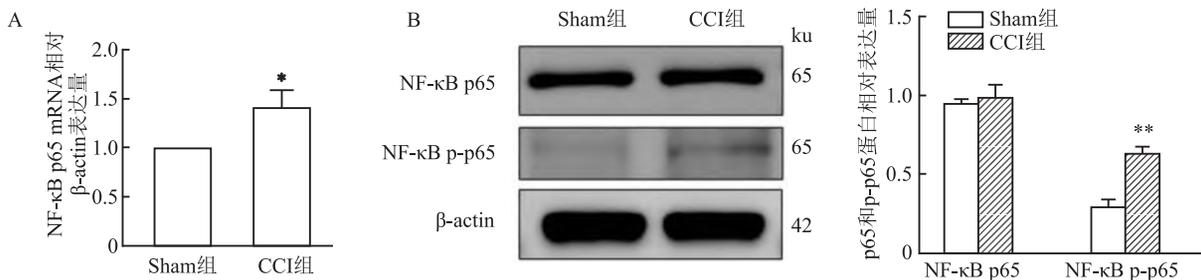


图4 Sham组和CCI组大鼠术后14d术侧TG中NF-κB p65及p-p65的mRNA和蛋白表达的比较

A:两组大鼠术侧TG中NF-κB p65 mRNA表达;B:两组大鼠术侧TG中NF-κB p65和p-p65蛋白表达;与Sham组比较: * $P < 0.05$, ** $P <$

0.01

blot检测结果显示,术后第14天,CCI组大鼠术侧TG中HMGB1的mRNA和蛋白表达量较Sham组升高($t = 11.42, 3.37$,均 $P < 0.05$)。见图2。

2.3 TLR4在Sham组及CCI组大鼠TG中mRNA和蛋白表达量的变化

RT-qPCR和Western blot检测结果显示,术后第14天,CCI组大鼠术侧TG中TLR4的mRNA和蛋白的表达量较Sham组升高($t = 31.07, 10.61$,均 $P < 0.01$)。见图3。

2.4 NF-κB p65和p-p65在Sham组及CCI组大鼠TG中mRNA和蛋白表达量的变化

RT-qPCR结果显示,术后第14天CCI组大鼠术侧TG中p65的mRNA的表达量较Sham组升高($t = 4.43, P < 0.05$)。见图4A。Western blot结果显示术后第14天,CCI组大鼠术侧TG中p65的蛋白表达量较Sham组差异无统计学意义($t = 0.11, P > 0.05$);CCI组大鼠术侧TG中p-p65的蛋白表达量较Sham组升高($t = 10.81, P < 0.01$)。见图4B。

2.5 HMGB1 抑制剂 GL 对大鼠术侧机械痛阈的影响 在术后的第 0~4 天,三组大鼠机械痛阈均下降且差异无统计学意义($P > 0.05$)。在术后的第 6 天开始,CCI + GL 组大鼠术侧机械痛阈开始高于 CCI 组和 CCI + NS 组($t_{CCI} = 3.42, t_{CCI+NS} = 3.57$, 均 $P < 0.05$);CCI 组与 CCI + NS 组大鼠术侧机械痛阈差异无统计学意义。在术后第 10 天,CCI + GL 组大鼠术侧机械痛阈开始升高,而 CCI 组与 CCI + NS 组仍继续下降($t_{CCI} = 4.03、4.92、5.40、6.42、6.82、6.55, t_{CCI+NS} = 4.51、4.92、6.11、6.34、5.78、5.63$, 均 $P < 0.01$)。见图 5。行为测试结果表明,抑制 HMGB1 表达可以提高大鼠 TN 模型中术侧的机械痛阈。

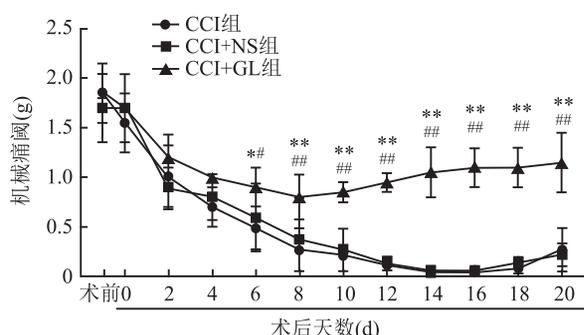


图 5 各组大鼠的术侧机械阈值的比较

与 CCI 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 CCI + NS 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.6 GL 对 HMGB1 的 mRNA 和蛋白表达量的影响 RT-qPCR 和 Western blot 检测结果显示,与 CCI 组及 CCI + NS 组相比,在术后第 14 天,CCI + GL 组大鼠术侧 TG 中 HMGB1 的 mRNA 和蛋白表达量降低($t_{CCI} = 4.53、33.13, t_{CCI+NS} = 4.83、6.60$, 均 $P < 0.01$)。见图 6。CCI 组与 CCI + NS 组大鼠术侧 TG 中 HMGB1 表达差异无统计学意义($t = 1.74、1.93$, $P > 0.05$)。表明 GL 成功抑制大鼠 HMGB1 的 mRNA 和蛋白表达。

2.7 GL 对 TLR4 的 mRNA 和蛋白表达量的影响 RT-qPCR 和 Western blot 检测结果显示,与 CCI 组和 CCI + NS 组相比,在术后第 14 天,CCI + GL 组大鼠术侧 TG 中 TLR4 的 mRNA 和蛋白表达量降低($t_{CCI} = 25.23、17.60, t_{CCI+NS} = 4.83、23.99$, 均 $P < 0.01$)。CCI 组与 CCI + NS 组大鼠术侧 TG 中 TLR4 的 mRNA 和蛋白表达量差异无统计学意义($t = 0.03、2.76$, 均 $P > 0.05$)。见图 7。

2.8 GL 对 NF- κ B p65 及 p-p65 的 mRNA 和蛋白表达量的影响 RT-qPCR 结果显示,与 CCI 组及 CCI + NS 组相比,在术后第 14 天,CCI + GL 组大鼠术侧 TG 中 p65 mRNA 表达量降低($t_{CCI} = 14.48, t_{CCI+NS} = 3.91$, 均 $P < 0.05$)。见图 8A。Western blot 检测结果显示,在术后第 14 天,CCI + GL 组大鼠术侧 TG 中 p-p65 蛋白表达量降低($t_{CCI} = 30.66, t_{CCI+NS}$

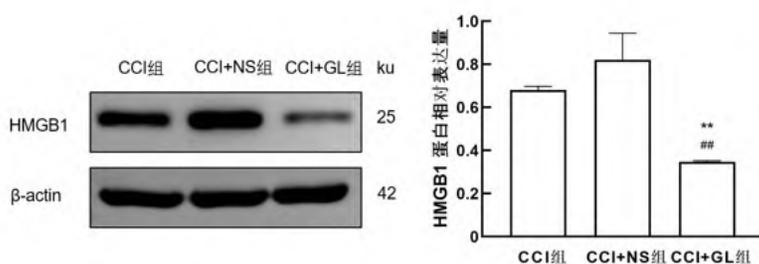


图 6 各组大鼠术后 14 d 术侧 TG 中 HMGB1 的 mRNA 和蛋白表达的比较

A:HMGB1 mRNA 在各组大鼠术侧 TG 中表达;B:HMGB1 蛋白在各组大鼠术侧 TG 中表达;与 CCI 组比较: ** $P < 0.01$;与 CCI + NS 组比较: ## $P < 0.01$

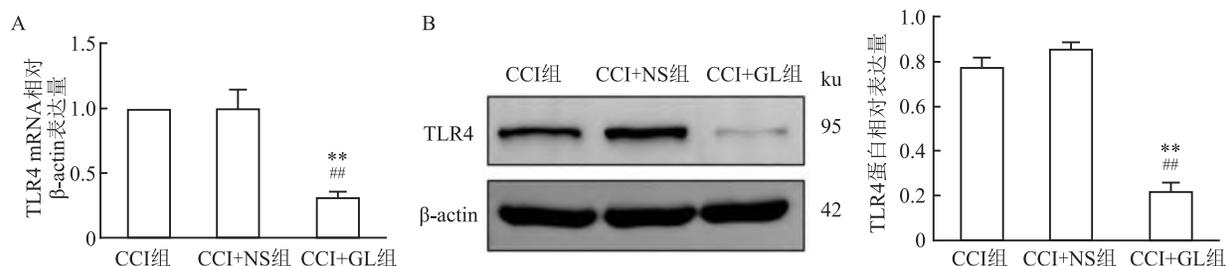


图 7 各组大鼠术后 14 d 术侧 TG 中 TLR4 的 mRNA 和蛋白表达的比较

A:TLR4 mRNA 在各组大鼠术侧 TG 中表达;B:TLR4 蛋白在各组大鼠术侧 TG 中表达;与 CCI 组比较: ** $P < 0.01$;与 CCI + NS 组比较: ## $P < 0.01$

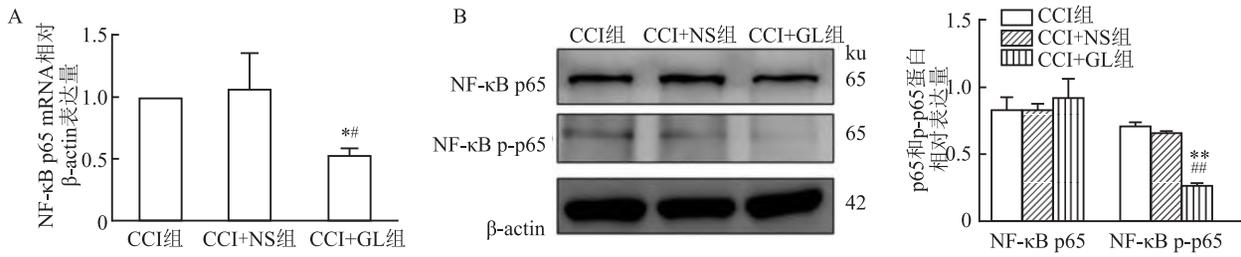


图8 各组大鼠的术侧TG中NF-κB p65及p-p65的mRNA和蛋白表达的比较

A: NF-κB p65 mRNA 在各组大鼠术侧TG中表达; B: NF-κB p65及p-p65蛋白在各组大鼠术侧TG中表达; 与CCI组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与CCI+NS组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

= 35.46, 均 $P < 0.01$), 而 p65 蛋白无统计学差异; CCI 组与 CCI + NS 组大鼠术侧 TG 中 p-p65 蛋白表达差异无统计学意义 ($t = 0.29, P > 0.05$)。见图 8B。

3 讨论

目前原发性 TN 发病机制不明确,核磁共振影像学显示三叉神经受到压迫性损伤,因此推测三叉神经可能由于受到血管压迫,引起神经脱髓鞘改变,进而引起神经过度兴奋从而导致神经痛^[6]。本研究采用大鼠眶下神经缩窄术模拟神经压迫性损伤,构造 TN 大鼠疼痛模型,行为学测试^[7]显示经眶下神经缩窄术后大鼠术侧机械阈值降低,提示造模成功。

HMGB1 是 HMG 蛋白中研究最广泛的蛋白之一,它由带正电荷的 A 盒和 B 盒以及带负电荷的酸性末端组成,其氨基酸残基 89 ~ 108 段可与 TLR4 结合,促进炎症反应和基因转录。HMGB1 在受损的脊髓背角和周围神经疼痛模型中均上调,提示 HMGB1 可能在慢性疼痛的发生和维持中起到至关重要的作用^[5]。研究^[8]显示在空白组小鼠鞘内注射重组 HMGB1 抗体可引起疼痛超敏反应,而坐骨神经结扎组小鼠给予抗 HMGB1 抗体鞘内注射可显著逆转部分机械痛觉超敏反应。本研究中,眶下神经缩窄术组大鼠机械痛阈升高,同时术侧 TG 中 HMGB1 的 mRNA 和蛋白表达量均升高,与前人研究结果一致^[9]。GL 是甘草的根和茎的主要活性成分,已广泛用于肝炎、肿瘤等疾病的治疗。GL 具有抗炎护肝等作用,是一种天然的 HMGB1 抑制剂^[10]。研究^[11]显示,在脂多糖激活的 BV2 小胶质细胞中 HMGB1 表达量升高,而 GL 可以抑制 HMGB1 表达量升高。在本研究中,连续两周腹腔注射 HMGB1 抑制剂 GL 后,大鼠术侧机械痛阈虽然在

术后的前 8 d 降低,但较对照组降低幅度减缓,且仍高于对照组,同时从第 10 天开始,机械痛阈上升。以上结果提示, HMGB1 与 TN 有关,抑制 HMGB1 可以缓解 TN 的疼痛。

TLR4 是 Toll 样受体 (TLRs) 家族之一,在星形胶质细胞和小胶质细胞等多种细胞表面表达,与神经痛发生密切相关^[12]。当损伤的神经元或者胶质细胞将 HMGB1 释放到细胞外后,可与 TLR4 结合,启动炎症转导通路,激活 NF-κB 通路,核因子 κB 磷酸化入核增加^[13]。在胶原抗体诱导的小鼠关节炎模型中, TLR4 基因敲除小鼠鞘内注射重组 HMGB1 后没有出现明显的机械痛阈升高^[14]。本研究分子学检测结果表明, GL 可以使得 HMGB1、TLR4、NF-κB p65 磷酸化降低。因此推测 HMGB1 可能通过 TLR4/NF-κB 通路调控疼痛的发展。

综上所述,大鼠 TN 模型中 HMGB1 上调, GL 可以抑制 HMGB1 上调, HMGB1 可能通过 TLR4/NF-κB 调控 TN。因此, HMGB1 可能是治疗 TN 的一个潜在的分子靶点,后续将继续探索 HMGB1 的致痛机制,为 TN 的治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Patra D P, Turcotte E L, Krishna C, et al. Microvascular decompression technique for trigeminal neuralgia using a vascular clip [J]. World Neurosurg, 2021, 154: 1.
- [2] Yang L, Cheng H. Surgical technique management of microvascular decompression for trigeminal neuralgia [J]. Ideggyogy Sz, 2022, 75(11-12): 369-75.
- [3] Chen R, Kang R, Tang D. The mechanism of HMGB1 secretion and release [J]. Exp Mol Med, 2022, 54(2): 91-102.
- [4] Yang H, Zeng Q, Silverman H A, et al. HMGB1 released from nociceptors mediates inflammation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(33): e2102034118.
- [5] Rodríguez-Palma E J, Velázquez-Lagunas I, Salinas-Abarca A B, et al. Spinal alarmin HMGB1 and the activation of TLR4 lead to

- chronic stress-induced nociceptive hypersensitivity in rodents[J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 952:175804.
- [6] Bendtsen L, Zakrzewska J M, Heinskou T B, et al. Advances in diagnosis, classification, pathophysiology, and management of trigeminal neuralgia[J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(9):784–96.
- [7] 张 瑶, 刘亚军, 李 芳, 等. 三叉神经痛模型大鼠的三叉神经节中 JAK/STAT3 通路的活化[J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55(10):1487–90.
- [8] Morioka N, Miyauchi K, Miyashita K, et al. Spinal high-mobility group box-1 induces long-lasting mechanical hypersensitivity through the toll-like receptor 4 and upregulation of interleukin-1 β in activated astrocytes[J]. *J Neurochem*, 2019, 150(6):738–58.
- [9] Sato F, Nakamura Y, Ma S, et al. Central high mobility group box-1 induces mechanical hypersensitivity with spinal microglial activation in a mouse model of hemi-Parkinson's disease[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 145:112479.
- [10] Ren Q, Jiang X, Paudel Y N, et al. Co-treatment with natural HMGB1 inhibitor glycyrrhizin exerts neuroprotection and reverses Parkinson's disease like pathology in Zebrafish[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 292:115234.
- [11] Sun X, Zeng H, Wang Q, et al. Glycyrrhizin ameliorates inflammatory pain by inhibiting microglial activation-mediated inflammatory response *via* blockage of the HMGB1-TLR4-NF- κ B pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 369(1):112–9.
- [12] Piao Y, Gwon D H, Kang D W, et al. TLR4-mediated autophagic impairment contributes to neuropathic pain in chronic constriction injury mice[J]. *Mol Brain*, 2018, 11(1):11.
- [13] Zhao E, Bai L, Li S, et al. Dexmedetomidine alleviates CCI-induced neuropathic pain *via* inhibiting HMGB1-mediated astrocyte activation and the TLR4/NF-kappaB signaling pathway in rats[J]. *Neurotox Res*, 2020, 38(3):723–32.
- [14] Agalave N M, Larsson M, Abdelmoaty S, et al. Spinal HMGB1 induces TLR4-mediated long-lasting hypersensitivity and glial activation and regulates pain-like behavior in experimental arthritis[J]. *Pain*, 2014, 155(9):1802–13.

The role of HMGB1 in trigeminal neuralgia

Shen Lian¹, Wu Beibei¹, Wang Liecheng², Wang Yuanyin¹

(¹College & Hospital of Stomatology, Anhui Medical University, Anhui Provincial Key Laboratory of Oral Disease Research, Hefei 230032; ²Dept of Physiology, School of Basic Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To construct a rat model of trigeminal neuralgia (TN) to explore the expression of high-mobility group box-1 (HMGB1) in the trigeminal ganglion (TG) and the possible mechanism of HMGB1's effect on pain. **Methods** TN model was constructed by infraorbital nerve constriction and divided into operation group (CCI group) and Sham group, and the success of the model construction was determined through mechanical pain threshold assessment. Real time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) and Western blot were used to detect high mobility group protein B1 (HMGB1), Toll receptor 4 (TLR4), and Nuclear Factor Kappa B (NF- κ B) mRNA and protein expression in the ipsilateral trigeminal ganglion (TG) of the Sham and CCI rats. 50 mg/kg HMGB1 inhibitor glycyrrhizin (GL) was injected intraperitoneally every day for two weeks, and normal saline (NS) was used as control. The patients were divided into CCI group, CCI + NS group and CCI + GL group. HMGB1, TLR4, and NF- κ B mRNA and protein expression in the ipsilateral trigeminal ganglion (TG) were detected by RT-qPCR and Western blot in CCI group, CCI + NS group, and CCI + GL group. **Results** The mechanical threshold on the operated side of the rat continued to decrease ($P < 0.05$), and mechanical pain threshold identification model was successfully constructed. After chronic compressive injury to the infraorbital nerve in rats, HMGB1, TLR4, and NF- κ B mRNA and protein expression in TG on the operated side increased ($P < 0.05$); After administration of HMGB1 inhibitor Glycyrrhizin, HMGB1, TLR4, NF- κ B showed a decrease ($P < 0.05$). **Conclusion** HMGB1 is associated with TN, and HMGB1 may be involved in the pathogenesis of TN through TLR4/NF- κ B signaling pathway.

Key words trigeminal neuralgia; HMGB1; glycyrrhizin; suborbital nerve constriction surgery; TLR4; NF- κ B