

TLR7 通过 NF- κ B 炎症通路调控 ION-CCI 模型大鼠 三叉神经痛的机制

张宏伟¹, 沈 莲¹, 吴贝贝¹, 王元银¹, 王烈成²

摘要 目的 研究 Toll 样受体 7 (TLR7) 在 SD 大鼠三叉神经疼痛中的作用, 并初步探讨 TLR7 在疼痛过程中通过激活核因子- κ B (NF- κ B) 通路介导相关炎症因子的作用机制。方法 采用眶下神经缩窄术 (ION-CCI) 建立大鼠三叉神经痛 (TN) 模型。通过实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 及免疫印迹法 (Western blot) 检测三叉神经节 (TG) 内 TLR7 表达变化。经灌胃给药方式向 ION-CCI 大鼠给予 TLR7 抑制剂羟基氯喹 (HCQ), 检测抑制后 TG 内 TLR7 及其下游信号通路 NF- κ B 亚基 p65、p-p65 及炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 表达的变化。结果 结扎眶下神经所致的三叉神经损伤后, 大鼠 TG 内的 TLR7 表达增加 ($P < 0.05$)。在给予 TLR7 抑制剂后, 大鼠 TG 内 TLR7 和 TNF- α 、IL-1 β 表达降低, 并且 p65

核内移位和磷酸化减弱, NF- κ B 信号通路激活被抑制, ION-CCI 诱导的雄性 SD 大鼠的机械疼痛得到缓解 ($P < 0.05$)。

结论 TG 内 TLR7 通过激活初级感觉神经元中的 NF- κ B 介导炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的表达参与调控神经病理性疼痛。

关键词 Toll 样受体 7; NF- κ B; 三叉神经痛; 炎症因子

中图分类号 R 745. 11

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)08-1334-07
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.08.015

三叉神经痛 (trigeminal neuralgia, TN) 是发生在三叉神经分布区可引起剧烈的面部疼痛。卡马西平作为 TN 的一线药物治疗^[1-2], 长期使用具有药物依赖性和相关并发症的发生^[3]。因此, 需要对这种病理机制不明且痛感强烈的疾病有更好的治疗方案。Toll 样受体 7 (Toll-like receptor 7, TLR7) 是 Toll 样家族成员之一, 通过增加感觉神经元的兴奋性参与疼痛和瘙痒^[4-5]。TLR7 在受损背根神经节中表达水平升高并促进神经性疼痛^[6-7], 但 TLR7 是否参与三叉神经病理性疼痛尚不清楚。有证据^[8]表明, 核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 在神

2023-06-05 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81271162)

作者单位: 安徽医科大学¹ 口腔医学院、² 基础医学院, 合肥 230032

作者简介: 张宏伟, 女, 硕士研究生;

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

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

Dul group (Dulaglutide 0.6 mg/kg) with 6 mice in each group. The drug was administered by intraperitoneal injection. After drug intervention for 24 h, the body weight and kidney weight of mice were recorded, and kidney tissue and serum samples were collected. The pathological changes in kidney tissue were observed by HE staining. The serum urea nitrogen (BUN) and creatinine (CRE) levels were detected by the kit. The levels of cytokines interleukin (IL-6), tumor necrosis factor (TNF- α) and IL-1 β in the kidney were detected by qRT-PCR. The contents of macrophage marker F4/80 and myeloperoxidase (MPO) in kidney were determined by immunohistochemistry. **Results** Compared with Control group, mice in LPS group lost weight and increased kidney weight ($P < 0.001$). Moreover, the levels of BUN and CRE increased ($P < 0.001$, $P < 0.01$). Meanwhile, the mRNA levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α increased ($P < 0.05$). There was obvious pathological damage in kidney tissue. In addition, macrophage and neutrophil infiltration increased in LPS group ($P < 0.001$). Compared with LPS group, mice in LPS + Dul group gained weight and lost kidney weight ($P < 0.05$, $P < 0.001$). Moreover, the levels of BUN and CRE in LPS + Dul group decreased ($P < 0.01$). The renal histological scores were reduced ($P < 0.05$). In addition, the levels of IL-6, IL-1 β and TNF- α in kidney tissue decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Moreover, the infiltration of macrophages and neutrophils in kidney was reduced ($P < 0.01$). **Conclusion** Dulaglutide has a protective effect on LPS-induced sepsis AKI, which may be related to reduce the expression of inflammatory mediators and decrease the infiltration of inflammatory cell.

Key words dulaglutide; sepsis; acute kidney injury; inflammation; lipopolysaccharide

经性疼痛发生中起关键作用。哺乳动物 NF- κ B 家族由 5 种转录因子组成: p65 (也称为 RelA)、RelB、c-Rel、p105/p50 和 p100/p52, 其中 RELA (p65)-p50 异二聚体最常被检测到, 并且负责最多的转录活性^[9]。同时, 炎症因子如 TNF- α 、IL-1 β 也是产生和维持神经病理性疼痛的原因^[10]。

该研究建立大鼠 TN 模型, 通过检测 TLR7、p65、p-p65 及炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β) 水平的变化验证 TLR7 通过激活感觉神经元中的 NF- κ B 而调控神经病理性疼痛。

1 材料与方法

1.1 主要试剂、仪器 Von Frey hair 纤毛刺激丝购自美国 Stoelting 科技有限公司 (货号: N5210); 高速低温组织研磨仪购自武汉赛维尔生物科技有限公司 (货号: KZ-III-F); 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 仪购自美国 BIO-RAD 公司 (货号: 9700); PrimeScript RT reagent Kit、TB Green Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) 购自日本 TaKaRa 生物科技有限公司; qRT-PCR 引物购自上海生工生物工程科技有限公司; SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; TLR-7 抑制剂 Hydroxychloroquine Sulfate 购自上海蓝木化工公司 (货号: NSC 4375); TLR7 Antibody 购自美国 Affinity Biosciences 公司 (货号: DF6173); Phospho-NF- κ B p65 Antibody 购自合肥千俞生物科技有限公司 (货号: S536); NF- κ B p65 Antibody 购自上海磐超生物科技有限公司 (货号: YM3111); TNF- α Antibody 购自武汉赛维尔生物科技有限公司 (货号: GB11188); IL-1 β Antibody 购自北京博奥森生物科技有限公司 (货号: BS-0812R)。

1.2 实验动物及 TN 模型的构建

1.2.1 实验动物 选用由安徽医科大学实验动物中心提供的成年雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体重 (180~200) g, 常规饲料饲养, 饲养温度控制在 (23~28) °C, 12 h/12 h 明暗交替光照, 自由饮水饮食。动物实验通过安徽医科大学实验动物伦理委员会批准 (批号: LLSC20190705)。

1.2.2 TN 模型的构建 选用颧骨下入路眶下神经缩窄术 (infraorbital nerve-chronic constriction injury, ION-CCI) 建立 TN 动物模型。为了最大限度地减少行为结果测量的个体内和个体间的变异性, 实验分组前对大鼠适应性训练一周, 剔除对 Von Frey 纤毛

刺激丝反应过于敏感或迟钝的大鼠。大鼠称重后腹腔注射 10% 水合氯醛, 剂量按每 100 g 体质量 0.35 ml 计算。

待大鼠睫毛反射消失后, 在左侧眶下颧弓和鼻骨结合处、大鼠触须垫下方作一长约 6 mm 切口, 用血管钳钝性分离肌肉周边筋膜, 再用玻璃分针分离眶下神经使其暴露出 3 mm 左右。手术组 (CCI 组) 大鼠用两根 5-0 缝合线结扎眶下神经, 结扎线前后间距约 2~3 mm。结扎时注意力度适中, 使眶下神经受到压迫直径略微变细, 但未阻断其传导及血液循环为宜。结扎完成后用 3-0 缝合线缝合皮肤创口。假手术 (Sham) 组大鼠使用同样的操作手法, 仅暴露眶下神经无需结扎。

1.3 实验分组

1.3.1 TLR7 在 TN 大鼠三叉神经节 (trigeminal ganglion, TG) 中的表达 将 SD 大鼠随机分成 2 组, 即 CCI 组及 Sham 组, 6 只/组。采用 Von Frey hair 纤毛刺激丝分别测试大鼠术前 1、0 d 和术后 8 个时间点 (1、3、5、7、9、12、14、16 d) 术侧触须垫区域的机械痛阈, 记录阈值并对大鼠不同时间点的机械痛阈进行统计分析。通过 qRT-PCR 及免疫印迹法 (Western blot) 检测术侧三叉神经节 (TG) 内 TLR7 和 NF- κ B p65、p-p65 及炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β) 表达变化。

1.3.2 抑制 TLR7 表达后对 TN 大鼠的影响 将眶下神经损伤后的 SD 大鼠随机分成 3 组, 即 CCI 组、CCI + NS 组 (CCI + 生理盐水组) 及 CCI + 羟基氯喹 (hydroxychloroquine, HCQ) 组, 6 只/组。CCI 组造模当天 (0 d) 开始灌胃给药, 药物现配现用, 连续 14 d, 每天给药 1 次, 剂量为 100 mg/kg。使用 Von Frey hair 纤毛刺激丝进行机械痛阈测定。通过 qRT-PCR 和 Western blot 方法对各组大鼠 TG 中 TLR7 和 NF- κ B p65、p-p65 及炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β) 表达量进行检测及对比。

1.4 机械痛阈测定和阳性标准判定 术后或每次 HCQ 给药后 4 h, 使用 Von Frey hair 纤毛刺激丝进行机械痛阈测定。每日测定机械痛阈时间为上午 10:00—12:00, 将大鼠置于安静环境中用 Von Frey hair 纤毛刺激丝刺激大鼠术侧触须垫 (刺激强度从小到大依次进行, 分别为 (0.008、0.02、0.04、0.07、0.16、0.40、0.60、1.00、1.40、2.00 g), 每根毛刷重复刺激 5 次, 每次刺激间隔时间大于 30 s, 刺激标准是使纤维细丝刚好弯曲, 直到某一毛刷激发大鼠重复出现阳性反应 3 次。

动物的阳性行为主要包括:①快速缩头、躲避毛刷避开刺激;②连续搔抓触须垫部;③快速抓咬毛刷的攻击行为。此时记录该毛刷所对应的克数即为机械痛阈。

1.5 qRT-PCR 将大鼠采用10%水合氯醛腹腔注射过量麻醉致死,麻醉剂量以每100g体质量0.7ml的比例计算,采集大鼠术侧TG,采用Tissue RNA Purification Kit Plus提取mRNA;PrimeScript™ RT Reagent Kit、TB Green Premix Ex Taq™ II进行cDNA的合成和PCR的扩增;荧光定量PCR仪检测TG中TLR7及炎症因子TNF-α、IL-1β的表达情况。使用2^{-ΔΔCt}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 基因引物序列

目的基因	引物序列(5'-3')
β-actin	F: GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA
	R: GACTCATCGTACTCTGCTTGCTG
TLR-7	F: GGTATGCCACCGAATCTAACGACTC
	R: GCCAATCTCGCAGGGACAGTTG
TNF-α	F: ATGGGCTCCCTCTCATCAGTTCC
	R: CCTCCGCTTGGTGGTTTGCTAC
IL-1β	F: AATCTCACAGCAGCATCTCGACAAG
	R: TCCACGGGCAAGACATAGGTAGC

1.6 Western blot 以上述同样方法采集不同组大鼠术侧TG组织编号称重后,每1mg组织加入含1%PMSF的10μlRIPA裂解液,置于KZ-III-F高速低温组织研磨仪中研磨。于4℃、12000r/min条件下离心10min,吸取上清液并且按照比例加入蛋白上样缓冲液,100℃加热10min使蛋白充分变性,放置于-20℃下保存待用。使用10%SDS-PAGE凝胶配制试剂盒制备凝胶,上样行SDS凝胶电泳后将目的蛋白转移到PVDF膜上,TBST溶液漂洗3次,每次约10min后,将PVDF膜置于5%脱脂牛奶中,室温下摇床封闭2h。置于一抗稀释液中(TLR-7 Antibody 1:3000; Phospho-NF-κB p65 Antibody 1:3000; NF-κB p65 Antibody 1:3000; TNF-α Antibody 1:3000; IL-1β Antibody 1:3000)4℃下孵育过夜。PVDF膜充分漂洗后置于已稀释好的二抗室温孵育1.2h。将PVDF膜充分漂洗后放置于显影机内设置条件曝光成像,最后使用Image J软件对曝光后的蛋白条带图灰度值进行统计分析,检测TLR7和NF-κB p65、p-p65及炎症因子(TNF-α、IL-1β)蛋白的相对表达水平。

1.7 统计学处理 应用GraphPad Prism 8.0对数

据进行统计分析。机械痛阈测定结果采用双因素方差分析,CCI组及Sham组两组间qRT-PCR实验及Western blot实验数据比较采用独立样本t检验,CCI组、CCI+NS组及CCI+HCQ组qRT-PCR实验和Western blot实验数据采用单因素方差分析,以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学实验结果 由Von Frey hair 纤毛刺激丝检测不同组大鼠机械痛阈测定结果显示:术后3~16d CCI组大鼠的机械痛阈均低于Sham组大鼠,见图1。术后3d CCI组大鼠机械痛阈即开始降低(t=1.581, P<0.05),于造模后14d疼痛达到最高峰(t=13.572, P<0.001)。CCI组术前及术后0、1d机械痛阈与Sham组比较,差异无统计学意义。

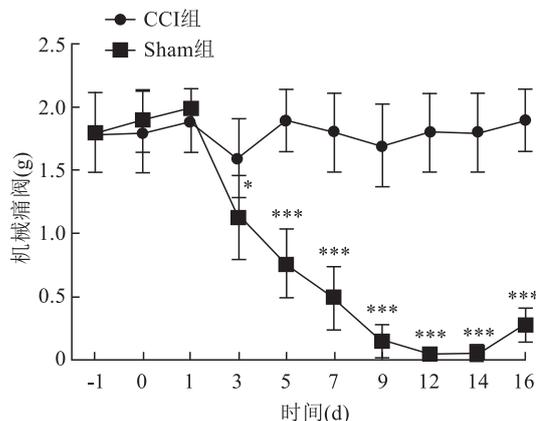


图1 两组大鼠术侧不同时间点机械痛阈的变化与Sham组比较: * P<0.05, *** P<0.001

2.2 TLR7、NF-κB p65、p-p65 及 TNF-α、IL-1β 在大鼠术侧 TG 中的表达变化

2.2.1 术后 TLR7 表达量变化 qRT-PCR 结果显示术后第14天 CCI组大鼠TG中TLR7 mRNA表达较Sham组升高(t=6.724, P<0.01),见图2A。Western blot 结果显示术后第14天 CCI组大鼠TG中TLR7蛋白表达较Sham组升高(t=8.27, P<0.01),见图2B。

2.2.2 术后 p65 及 p-p65 表达量变化 Western blot 结果显示术后第14天 CCI组大鼠p65表达量与Sham组相比差异无统计学意义(t=0.533, P>0.05),见图3A。术后第14天 CCI组大鼠TG中p-p65蛋白表达较Sham组升高(t=3.785, P<0.05),见图3B。

2.2.3 术后 TNF- α 、IL-1 β 表达量变化 qRT-PCR 结果显示术后第 14 天 CCI 组大鼠 TG 中 IL-1 mRNA 表达较 Sham 组升高 ($t = 16.64, P < 0.001$), 见图 4A。Western blot 结果显示术后第 14 天 CCI 组大鼠 TG 中 IL-1 蛋白表达较 Sham 组升高 ($t = 4.411, P < 0.05$), 见图 4B。qRT-PCR 结果显示术后第 14 天 CCI 组大鼠 TG 中 TNF- α mRNA 表达较 Sham 组升高 ($t = 15.38, P < 0.001$), 见图 4C。Western blot 结

果显示术后第 14 天 CCI 组大鼠 TG 中 TNF- α 蛋白表达较 Sham 组升高 ($t = 4.605, P < 0.01$), 见图 4D。

2.3 HCQ 对不同组大鼠机械痛阈的表达的影响 给药后第 0~5 天, 机械痛阈组间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。术后第 7 天, 与 CCI 组比较, CCI + HCQ 组机械痛阈有所升高 ($F = 9.941, P < 0.01$); 术后第 9 天 CCI + HCQ 组机械痛阈提高 ($F = 35.943, P < 0.001$)。CCI 组与 CCI + NS 组大鼠

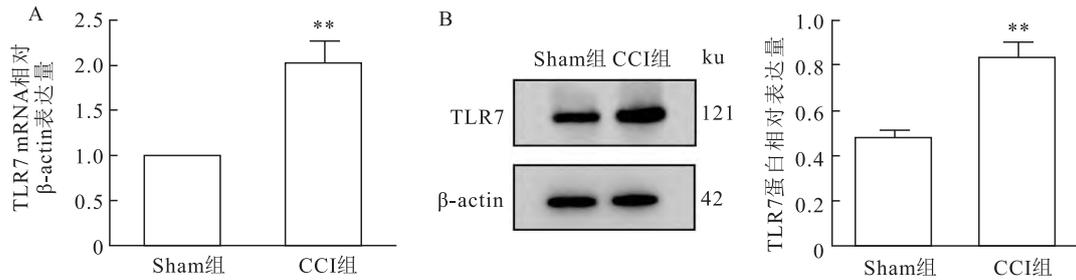


图2 TLR7 在 CCI 组大鼠术侧 TG 中的表达变化

A: TLR7 在两组大鼠术侧 TG 内 mRNA 表达; B: TLR7 在两组大鼠术侧 TG 内蛋白表达; 与 Sham 组比较: ** $P < 0.01$

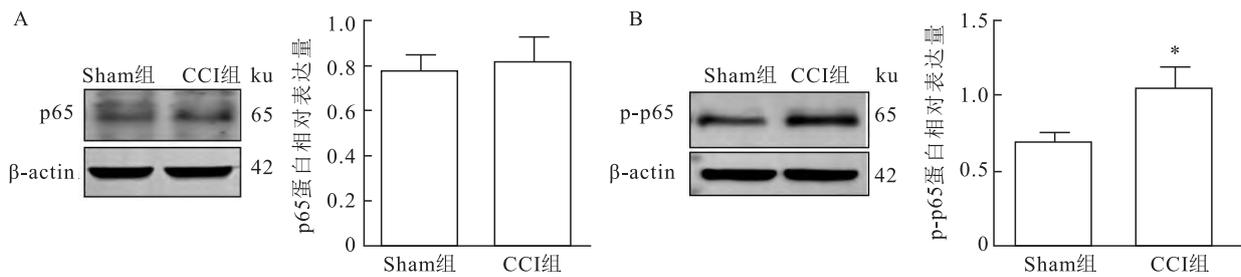


图3 p65 及 p-p65 在 CCI 组大鼠术侧 TG 中的表达变化

A: p65 在两组大鼠术侧 TG 内蛋白表达; B: p-p65 在两组大鼠术侧 TG 内蛋白表达; 与 Sham 组比较: * $P < 0.05$

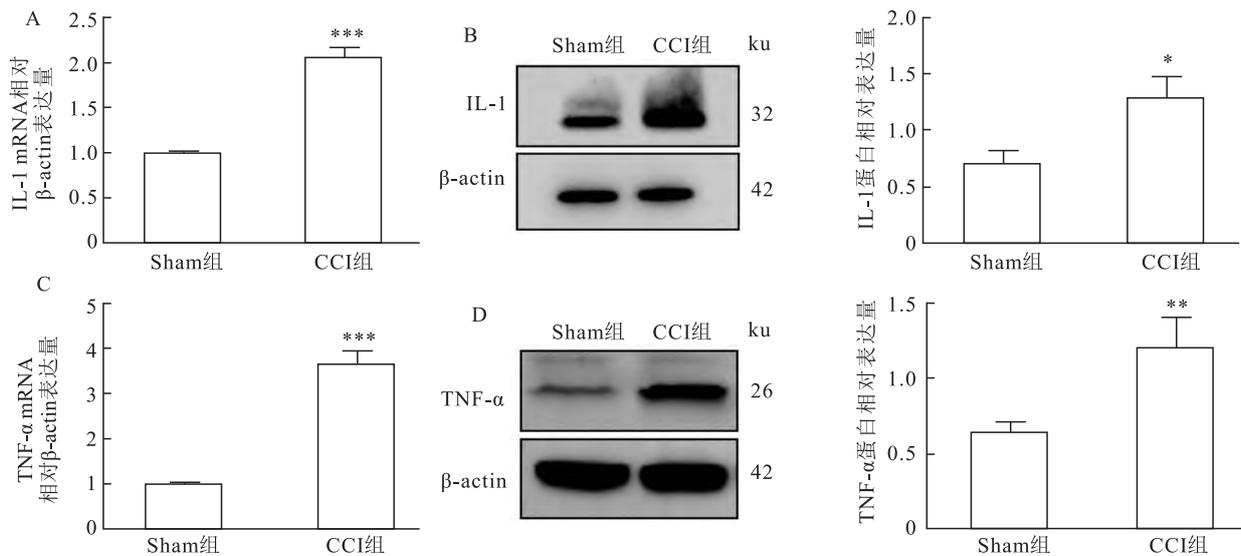


图4 IL-1 及 TNF- α 在 CCI 组大鼠术侧 TG 中的表达变化

A: IL-1 在两组大鼠术侧 TG 内 mRNA 表达; B: IL-1 在两组大鼠术侧 TG 内蛋白表达; C: TNF- α 在两组大鼠术侧 TG 内 mRNA 表达; D: TNF- α 在两组大鼠术侧 TG 内蛋白表达; 与 Sham 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

机械痛阈差异无统计学意义,见图5。行为学结果表明,抑制TLR7可提高降低的机械痛阈,对眶下神经缩窄性损伤引起的TN有减轻作用。

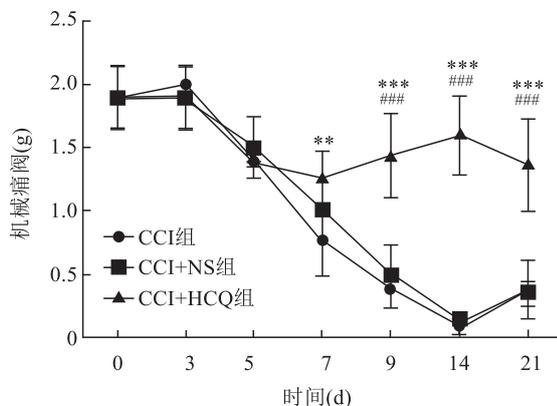


图5 各组大鼠在给予TLR7抑制剂HCQ后不同时间点机械痛阈的变化

与CCI组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与CCI+NS组比较: ### $P < 0.001$

2.4 HCQ对大鼠TG中p-65、p-p65及TNF- α 、IL-1 β 表达的影响

2.4.1 HCQ对TLR7表达量变化影响 与CCI组及CCI+NS组相比,qRT-PCR结果显示,给药后第14天CCI+HCQ组大鼠TG中TLR7 mRNA表达下

降($F = 40.79, P < 0.001$),见图6A。Western blot结果显示,给药后第14天,与CCI组及CCI+NS组相比,CCI+HCQ组大鼠TG中TLR7蛋白表达下降($F = 6.394, P < 0.05$),见图6B。

2.4.2 HCQ对p65及p-p65表达量变化影响

Western blot结果显示给药后第14天与CCI组及CCI+NS组相比,CCI+HCQ组大鼠TG中p65蛋白表达无统计学差异($F = 0.162, P > 0.05$),见图7A。与CCI组及CCI+NS组相比,Western blot结果显示给药后第14天CCI+HCQ组大鼠TG中p-p65表达下降($F = 6.835, P < 0.05$),见图7B。

2.4.3 HCQ对TNF- α 、IL-1 β 表达量变化影响

与CCI组及CCI+NS组相比,qRT-PCR结果显示术后第14天CCI+HCQ组大鼠TG中IL-1 β mRNA表达下降($t = 43.74, P < 0.001$),见图8A。Western blot结果显示给药后第14天CCI+HCQ组大鼠TG中IL-1 蛋白表达下降($F = 13.58, P < 0.01$),见图8B。CCI组及CCI+NS组相比,qRT-PCR结果显示给药后第14天CCI+HCQ组大鼠TG中TNF- α mRNA表达下降($t = 12.57, P < 0.01$),见图8C。Western blot结果显示给药后第14天CCI+HCQ组大鼠TG中TNF- α 蛋白质表达下降($F = 5.291, P < 0.05$),见图8D。

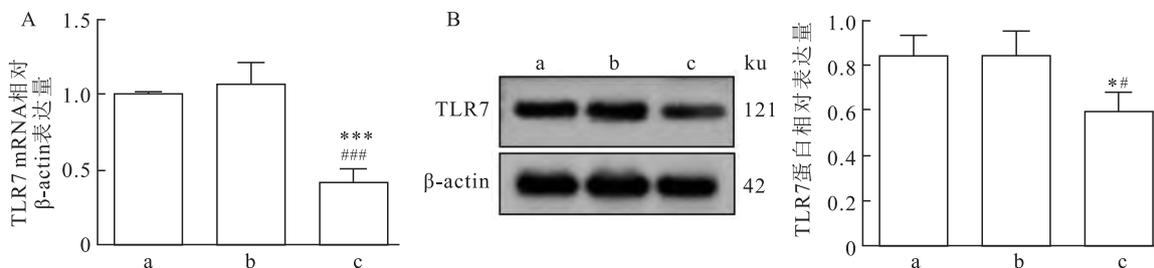


图6 TLR7在不同组大鼠术侧TG中的表达变化

A:TLR7在各组大鼠术侧TG内mRNA表达;B:TLR7在各组大鼠术侧TG内蛋白表达;a:CCI组;b:CCI+NS组;c:CCI+HCQ组;与CCI组比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$;与CCI+NS组比较: # $P < 0.05$, ### $P < 0.001$

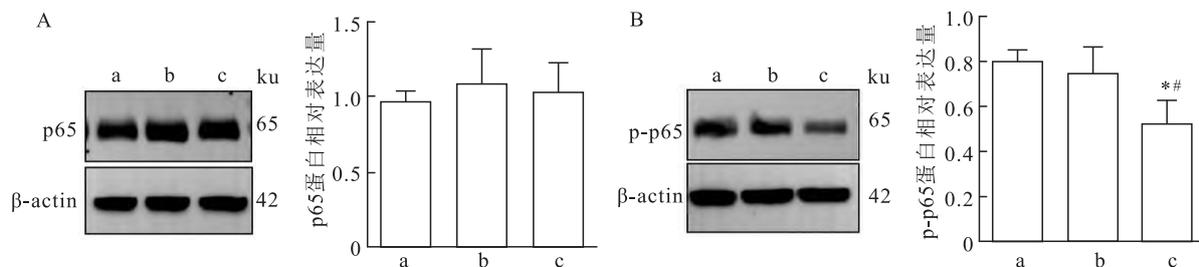


图7 p65及p-p65在不同组大鼠术侧TG中的表达变化

A:p65在各组大鼠术侧TG内蛋白表达;B:p-p65在各组大鼠术侧TG内蛋白表达;a:CCI组;b:CCI+NS组;c:CCI+HCQ组;与CCI组比较: * $P < 0.05$;与CCI+NS组比较: # $P < 0.05$

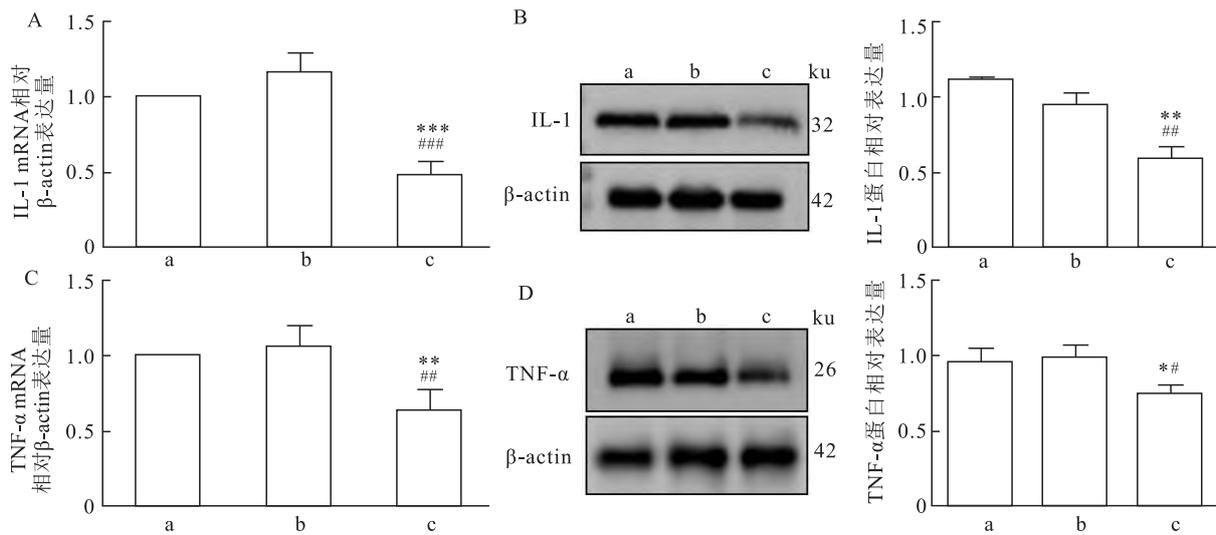


图8 IL-1及TNF- α 在不同组大鼠术侧TG中的表达变化

A:IL-1在各组大鼠术侧TG内mRNA表达;B:IL-1在各组大鼠术侧TG内蛋白表达;C:TNF- α 在各组大鼠术侧TG内mRNA表达;D:TNF- α 在各组大鼠术侧TG内蛋白表达;a:CCI组;b:CCI+NS组;c:CCI+HCQ组;与CCI组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$;与CCI+NS组比较:# $P < 0.05$,## $P < 0.01$,### $P < 0.001$

3 讨论

Toll样受体(TLRs)家族通过识别病原体相关分子模式和危险相关分子模式、在感染性病原体入侵或组织损伤时启动炎症信号级联反应信号,在先天免疫反应中发挥关键作用。TLRs在中枢神经系统(CNS)的非神经元和神经元细胞类型中表达,调节疼痛和瘙痒的信号加工过程^[11]。鉴于慢性疼痛患病率以及受影响人群的痛苦,深入了解神经系统中的TLR信号将为临床疼痛的治疗开辟新的途径。

TLR7表达于背根神经节(DRG)神经元,结扎第四腰(L4)脊神经(SNL)所致周围神经损伤或坐骨神经慢性损伤后,小鼠背根神经节TLR7在mRNA和蛋白水平的表达显著增加。通过向同侧L4 DRG微量注射表达TLR7 shRNA的腺相关病毒(AAV)5来阻断这种增加,减轻SNL诱导的雄性和雌性小鼠的机械、热和冷痛过敏^[7]。TLR7/8均通过MyD88发出信号,包括IL-1受体相关激酶-4(IRAK-4)的募集,分别通过NF- κ B和IRF7介导IFN的产生,促进促炎细胞因子的信号转导^[12]。Toll样受体7(TLR7)通过其识别ssRNA的能力触发抗病毒免疫反应。TLR7蛋白的蛋白水解裂解是其在体内区室中功能成熟所必需的。结构研究表明,TLR7的N和C端结构域在裂解后连接并参与配体结合。羟基氯喹(hydroxychloroquine, HCQ)是一种抗疟药物,已被研究其抗病毒作用。HCQ可增加酸性细胞

器的pH值,据报道可有效抑制内体TLR7活化^[13]。

越来越多的数据表明,将受体介导的信号转移到细胞核以调节促痛因子和抗痛因子的NF- κ B与神经性疼痛的过程有关^[10]。NF- κ B在周围神经损伤后在DRG神经元中被激活,相关研究表明^[14]鞘内注射NF- κ B抑制剂(PDTC),减少促炎细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 和IL-6)和神经生长因子在DRG中的表达,缓解神经性疼痛。此外,有学者^[15]发现在腰椎间盘突出症(LDH)诱导的神经性疼痛中出现DRG中的NF- κ B激活,而p65抑制剂PDTC对NF- κ B的下调显著减轻LDH诱导的大鼠机械异常性疼痛和热痛觉过敏。

本实验结果表明,与Sham组相比,CCI组术后第3天机械痛阈开始降低,术后第14天达到最低值;术后第14天CCI组TG中TLR7 mRNA及蛋白表达升高,提示TLR7参与了TN的发生。为进一步了解TLR7表达变化对TN大鼠的影响,在CCI术后第1天后,当大鼠TN模型稳定构建时,对CCI+HCQ组及CCI+NS组大鼠经灌胃方式给予HCQ或生理盐水,连续给药14 d。实验结果显示HCQ抑制TLR7后,TN大鼠机械痛阈升高,TG内TLR7表达降低。此外,p-p65、TNF- α 、IL-1 β 的表达量也下降,缓解CCI诱导的TN,从而确定了TLR7可能是TN潜在的治疗靶点。TLR7虽然参与了TN,然而TLR7抑制剂HCQ抑制CCI诱导的TLR7/NF- κ B通路的激活,这一交错分子途径的更多细节,仍需要完成更

严格和详细的实验设计。

综上所述,TLR7 是 TN 潜在的治疗靶点,该实验为 TN 的相关病因机制探究和临床治疗提供了新方向。

参考文献

- [1] Araya E I, Claudino R F, Piovesan E J, et al. Trigeminal neuralgia: basic and clinical aspects[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2020, 18(2): 109–19.
- [2] 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.
- [3] Pergolizzi J V Jr, Gharibo C, Magnusson P, et al. Pharmacotherapeutic management of trigeminal neuropathic pain: an update[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2022, 23(10): 1155–64.
- [4] Adhikarla S V, Jha N K, Goswami V K, et al. TLR-mediated signal transduction and neurodegenerative disorders[J]. *Brain Sci*, 2021, 11(11): 1373.
- [5] Liu T, Gao Y J, Ji R R. Emerging role of Toll-like receptors in the control of pain and itch[J]. *Neurosci Bull*, 2012, 28(2): 131–44.
- [6] Helley M P, Abate W, Jackson S K, et al. The expression of Toll-like receptor 4, 7 and co-receptors in neurochemical sub-populations of rat trigeminal ganglion sensory neurons[J]. *Neuroscience*, 2015, 310: 686–98.
- [7] He L, Han G, Wu S, et al. Toll-like receptor 7 contributes to neuropathic pain by activating NF- κ B in primary sensory neurons[J]. *Brain Behav Immun*, 2020, 87: 840–51.
- [8] Do T M, Unis G D, Kattar N, et al. Neuromodulators for atypical facial pain and neuralgias: a systematic review and meta-analysis[J]. *Laryngoscope*, 2021, 131(6): 1235–53.
- [9] Giridharan S, Srinivasan M. Mechanisms of NF- κ B p65 and strategies for therapeutic manipulation[J]. *J Inflamm Res*, 2018, 11: 407–19.
- [10] Chu L W, Cheng K I, Chen J Y, et al. Loganin prevents chronic constriction injury-provoked neuropathic pain by reducing TNF- α /IL-1 β -mediated NF- κ B activation and Schwann cell demyelination[J]. *Phytomedicine*, 2020, 67: 153166.
- [11] Lacagnina M J, Watkins L R, Grace P M. Toll-like receptors and their role in persistent pain[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 184: 145–58.
- [12] 年悬悬,李军英,张家友,等. Toll 样受体激动剂佐剂的研究进展[J]. *中国生物制品学杂志*, 2021, 34(9): 1132–8.
- [13] Cenac C, Ducatez M F, Guéry J C. Hydroxychloroquine inhibits proteolytic processing of endogenous TLR7 protein in human primary plasmacytoid dendritic cells[J]. *Eur J Immunol*, 2022, 52(1): 54–61.
- [14] Yu H M, Wang Q, Sun W B. Silencing of FKBP51 alleviates the mechanical pain threshold, inhibits DRG inflammatory factors and pain mediators through the NF- κ B signaling pathway[J]. *Gene*, 2017, 627: 169–75.
- [15] Liu C, Zhang F, Liu H, et al. NF- κ B mediated CX3CL1 activation in the dorsal root ganglion contributes to the maintenance of neuropathic pain induced in adult male Sprague Dawley rats[J]. *Acta Cir Bras*, 2018, 33(7): 619–28.

Mechanism of TLR7 regulating trigeminal neuralgia in ION-CCI model rats through NF- κ B inflammatory pathway

Zhang Hongwei¹, Shen Lian¹, Wu Beibei¹, Wang Yuanyin¹, Wang Liecheng²

(¹Stomatological College, ²School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To study the role of Toll-like receptor 7 (TLR7) in trigeminal nerve pain in SD rats, and to explore the mechanism of TLR7 mediating related inflammatory factors through the activation of NF- κ B pathway during the process of pain. **Methods** The rat model of trigeminal neuralgia (TN) was established by infraorbital nerve constriction injury (ION-CCI). The expression of TLR7 in trigeminal ganglion (TG) was detected by qRT-PCR and Western blot. Hydroxychloroquine (HCQ), an inhibitor of TLR7, was given to ION-CCI rats by intragastric administration. The expression of TLR7 and its downstream signal pathway NF- κ B subunit p65, p-p65 and inflammatory factors (TNF- α , IL-1 β) in TG were detected. **Results** After trigeminal nerve injury induced by ligation of infraorbital nerve, the expression of TLR7 in TG of rats significantly increased. After administration of TLR7 inhibitor, the expression of TLR7, TNF- α and IL-1 β in TG decreased, the translocation and phosphorylation of p65 nucleus decreased, the activation of NF- κ B signal pathway was inhibited, and the mechanical pain induced by ION-CCI was relieved in male SD rats. **Conclusion** TLR7 in TG regulates neuropathic pain by activating NF- κ B signal pathway in primary sensory neurons and mediating the expression of inflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β .

Key words Toll-like receptor 7; NF- κ B; trigeminal neuralgia; inflammatory factors