

- alternifolia* by unfolding its characteristics[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2023, 24(7): 554-573.
- [9] 李婷, 李丽娟, 彭一桓, 等. 绿花白千层精油化学成分及宫颈炎活性研究[J]. *中南药学*, 2023, 21(11): 2880-2886.
- [10] 刘胜帅, 薛楠楠, 段银祥, 等. 绿花白千层叶油的 GC-MS 分析及其体外抑菌、抗炎活性研究[J]. *中国药学杂志*, 2019, 54(16): 1292-1298.
- [11] 王雨佳, 王梦如, 赵健铤, 等. 美廉净凝胶对宫颈炎的药效学探究[J]. *中成药*, 2021, 43(2): 484-488.
- [12] 李军茂. 复方杏香兔耳风抗宫颈炎的药效物质基础及作用机制研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2021.
- [13] 王立阳. 加味二号活络膏对大鼠急性软组织损伤疗效观察及损伤组织 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、PGE-2 的影响研究[D]. 成都: 成都体育学院, 2022.
- [14] Yang D, Xu K, Xu X, et al. Revisiting prostaglandin E2: a promising therapeutic target for osteoarthritis[J]. *Clin Immunol*, 2024, 260: 109904.
- [15] Zheng M, Liu Y, Zhang G, et al. The applications and mechanisms of superoxide dismutase in medicine, food, and cosmetics[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(9): 1675.
- [16] 刘智明, 王晓琳, 周建红, 等. 解毒活血方调控 NF- $\kappa$ B/NLRP3/Caspase-1 促进大鼠胸主动脉损伤血管再内皮化[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(23): 56-63.
- [17] Zhang Y, Liang X, Bao X, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4) inhibitors: current research and prospective[J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 235: 114291.
- [18] Wang Y, Sadike D, Huang B, et al. Regulatory T cells alleviate myelin loss and cognitive dysfunction by regulating neuroinflammation and microglial pyroptosis via TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B pathway in LPC-induced demyelination[J]. *J Neuroinflammation*, 2023, 20(1): 41.
- [19] Kim H J, Kim H, Lee J H, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4): new insight immune and aging[J]. *Immun Ageing*, 2023, 20(1): 67.
- [20] Wei X, Zhang F, Cheng D, et al. Free heme induces neuroinflammation and cognitive impairment by microglial activation via the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 16.
- [21] Abderrahmen M, Ahmed Reda B, Adriana Cristina U, et al. 1, 8- Cineol (eucalyptol) disrupts membrane integrity and induces oxidative stress in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(7): 1388.

## 鞍叶羊蹄甲抗神经痛有效部位对巨噬细胞极化的作用

李可欣<sup>1,2</sup>, 刘汉福<sup>1\*</sup>, 孙河<sup>1</sup>, 姜北<sup>1</sup>, 王金达<sup>2\*</sup>, 沈磊<sup>1,2\*</sup>

(1. 云南省滇西抗病原植物资源筛选研究重点实验室, 云南大理 671000; 2. 大理大学药学院, 云南大理 671000)

**摘要:** 目的 研究鞍叶羊蹄甲抗神经痛有效部位(乙醇提取物正丁醇萃取部位, nbEEBb)对巨噬细胞极化的影响。方法 体内制备小鼠坐骨神经部分结扎模型, 分为假手术组、模型组和 nbEEBb 高、低剂量组(1、0.5 g/kg), 测定机械痛阈值, HE 染色和电镜观察神经组织损伤; 免疫组化和 Western blot 法检测坐骨神经中巨噬细胞极化(F4/80、CD86、CD206)。体外诱导巨噬细胞极化, ELISA 法检测炎症因子(NO、iNOS、TNF- $\alpha$ 和 IL-6)水平, RT-qPCR 法检测 *Arg-1* mRNA 表达。结果 体内实验结果显示, nbEEBb 可升高神经痛小鼠机械痛阈值, 减轻坐骨神经损伤, 减少坐骨神经中 F4/80 标记的巨噬细胞数量并抑制巨噬细胞极化为 CD86 标记的 M1 型和 CD206 标记的 M2 型。体外实验结果显示, nbEEBb 可抑制 LPS 诱导巨噬细胞极化为 M1 型后释放的 NO、iNOS、TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平, 但上调了 IL-4 诱导巨噬细胞极化为 M2 型后细胞内 *Arg-1* mRNA 表达。结论 nbEEBb 可能通过影响巨噬细胞极化来减轻神经痛中的外周痛觉敏化, 其在体内能减少巨噬细胞浸润入外周神经, 并抑制其极化为 M1 型和 M2 型; 在体外能抑制巨噬细胞极化为 M1 型, 促进其极化为 M2 型。

**关键词:** 鞍叶羊蹄甲; 神经痛; 坐骨神经部分结扎; 外周痛觉敏化; 巨噬细胞极化

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-0990-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.040

收稿日期: 2025-06-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(82460726); 云南省教育厅科学研究基金项目(2024J0838)

作者简介: 李可欣(2002—), 女, 研究方向为药理学。E-mail: kexin310520@163.com

共同第一作者: 刘汉福(1997—), 女, 硕士, 研究方向为药理学。E-mail: 1119836438@qq.com

\*通信作者: 沈磊(1981—), 男, 博士, 教授, 研究方向为药理学。E-mail: shenlei@dali.edu.cn

王金达(1982—), 女, 硕士, 工程师, 研究方向为药理学。E-mail: wangjinda1982@126.com

神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 是由躯体感觉神经系统损伤或疾病直接引发的慢性疼痛综合征<sup>[1]</sup>, 其特点为自发痛、痛觉敏化, 难以治愈, 复发率高<sup>[2]</sup>。痛觉敏化是 NP 维持的核心机制, 分为中枢痛觉敏化和外周痛觉敏化, 均由免疫细胞激活并释放炎症因子所诱导<sup>[3]</sup>。活化的小胶质细胞促进了中枢痛觉敏化, 而激活的外周免疫细胞促进了外周痛觉敏化, 其中巨噬细胞是调控外周神经免疫的核心细胞<sup>[4]</sup>。

目前治疗 NP 的一线药物主要针对神经元异常电位, 而对痛觉敏化作用很弱。民族药具有独特的理论体系和可靠的临床药效, 是治疗难治性疾病的一种策略。鞍叶羊蹄甲 *Bauhinia brachycarpa* Benth 是豆科羊蹄甲属植物, 在白族和彝族的用药记载中均发现其可用于安神、止痛<sup>[5-6]</sup>。课题组前期研究发现, 鞍叶羊蹄甲具有治疗 NP 的潜力, 能升高 NP 模型动物的机械痛阈值和热痛阈值, 且最有效部位为其乙醇提取物的正丁醇萃取部位 (nbEEBb), 该部位能通过调节小胶质细胞功能抑制中枢痛觉敏化<sup>[7-8]</sup>, 但是否影响 NP 中的外周痛觉敏化尚不明确。因此, 本实验拟探讨 nbEEBb 对巨噬细胞极化的影响, 以期了解其对外周痛觉敏化的作用, 从而全面地了解 nbEEBb 治疗 NP 的作用机制。

## 1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠, 体质量 18~22 g, 购自北京斯贝福生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2024-0001], 饲养于大理大学实验动物中心屏障系统 [实验动物使用许可证号 SYXK (滇) 2024-0001], 环境温度 (23±2) °C, 相对湿度 50%~60%, 光暗周期 12 h/12 h, 饲养期间小鼠自由饮水进食。动物实验按照大理大学实验动物福利伦理委员会的相关规定进行, 并已通过伦理审查 (批准号 2024PZ116)。

1.2 细胞 小鼠巨噬细胞 RAW264.7 购自武汉普诺赛生命科技有限公司, 培养于高糖 DMEM 培养基, 实验时细胞均为未分化上皮细胞型。

1.3 药物与试剂 样品采自云南大理漾濞县, 经大理大学药学院张德全教授鉴定为豆科羊蹄甲属植物鞍叶羊蹄甲 *Bauhinia brachycarpa* Benth, 保存在云南省滇西抗病原植物资源筛选研究重点实验室。牛血清白蛋白 (BSA, 批号 GC305010); 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒 (批号 G1076) 购自武汉赛维尔生物科技有限公司; ECL 化学发光试剂盒、

CCK-8 试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂 (批号 111423240115、508E013、21362908) 均购自上海碧云天生物技术有限公司; 胎牛血清 (FBS)、DMEM 高糖培养基 (批号 2168090RP、8121499) 均购自美国 Grand Island Biological 公司; 脂多糖 (LPS)、白介素 (IL) -4 (批号 12171104、012149) 均购自美国 PeproTech 公司; RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、PCR 检测试剂盒 (批号 7E603H2、017E2291DA、027E2232EF) 均购自南京诺唯赞生物科技有限公司; 一氧化氮 (NO) 检测试剂盒 (批号 20211008) 购自北京百瑞极生物科技有限公司; 肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ )、IL-6、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 检测试剂盒 (批号均为 Jan2022) 均购自上海酶联生物科技有限公司; 兔抗鼠 F4/80 抗体 (批号 J9MMIAA4) 购自上海爱必信生物科技有限公司; 兔抗鼠 CD86 抗体 (批号 P17099) 购自美国 ProMab Biotechnologies 公司; 兔抗鼠 CD206 抗体 (批号 1) 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 兔抗鼠  $\beta$ -tubulin 抗体 (批号 1109034) 购自杭州斯达特生物科技有限公司。

1.4 仪器 Varioskan LUX 型多功能酶标仪、ND-2000 型超微量核酸蛋白测定仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); GelView 6000Pro II 型多功能图像工作站 (广州博鹭腾生物科技有限公司); Mini-Protein 型垂直电泳槽和电泳仪、785BR15145 型 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司); HT7800 型透射电子显微镜 (日本 HITACHI 公司); CKX41 型相差显微镜 (日本 Olympus 公司)。

## 2 方法

2.1 样品制备 参考文献 [8] 的方法制备鞍叶羊蹄甲的乙醇粗提物冻干粉, 取适量冻干粉, 用水将其分散, 经正丁醇溶剂萃取和冷冻干燥后获得 nbEEBb。

### 2.2 体内实验

2.2.1 分组、造模及给药 将 40 只 C57BL/6 小鼠随机分为假手术组、模型组和 nbEEBb 高、低剂量组, 每组 10 只。模型组和 nbEEBb 各剂量组小鼠采用坐骨神经部分结扎法诱导建立神经痛模型, 腹腔注射戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 进行麻醉, 固定并暴露坐骨神经干, 用 8-0 丝线对坐骨神经 1/3~1/2 横径的部分实施结扎; 假手术组小鼠仅暴露坐骨神经, 不结扎。术后每只小鼠独立饲养。手术第 4 天开始灌胃给药, nbEEBb 高、低剂量组分别灌胃给予 1、0.5 g/kg nbEEBb, 给药体积 20

mL/kg, 每天1次, 连续7 d; 假手术组和模型组小鼠灌胃给予等体积0.5%羧甲基纤维素钠。

2.2.2 机械缩足反射阈值(PWMT)测定 参考文献[8]的方法, 使用Von Frey纤维丝垂直刺激小鼠左后肢足底中心区域测定机械缩足反射阈值(paw withdrawal mechanical threshold, PWMT)。阳性反应的判定为小鼠抬足或舔足, 测试间隔为30 s, 连续10次。当阳性反应次数 $\geq 7$ 次时, 该刺激强度为PWMT。PWMT的测定时间点为术前1 d及术后第3、7、10天。

2.2.3 取材 末次PWMT测定后行颈椎脱臼法处死小鼠, 暴露坐骨神经, 于结扎部位两侧近端和远端各取5 mm的坐骨神经段。部分坐骨神经置于中性通用型固定液中固定24 h, 用于HE染色观察和免疫组化检测。另一部分坐骨神经置于电镜固定液中固定24 h, 用于电镜检查。

2.2.4 HE染色 取部分固定于中性通用型固定液中的坐骨神经, 依次经梯度乙醇脱水, 二甲苯透明化处理, 包埋于石蜡中, 制备石蜡切片, 进行常规HE染色后, 于显微镜下观察坐骨神经病理改变。

2.2.5 免疫组化检测坐骨神经 F4/80、CD86、CD206表达 取坐骨神经组织石蜡块, 制备石蜡切片, 经乙醇脱水后进行抗原修复, 3%双氧水阻断内源性过氧化物酶, 血清封闭, 然后加入一抗 F4/80、CD86、CD206 于4℃孵育过夜, 再加入HRP标记的二抗室温孵育, DAB显色, 苏木素复染细胞核, 封片后于显微镜下观察, 拍照。以阳性区域面积百分比为指标进行组间差异比较。

2.2.6 透射电镜观察 取于电镜固定液中固定的坐骨神经, 转入1%锇酸溶液中避光室温固定2 h, 梯度乙醇脱水, 丙酮脱水和树脂包埋。切片后经2%醋酸铀和2.6%枸橼酸铅避光染色, 室温干燥过夜。最后于透射电子显微镜下采集图像。

2.2.7 Western blot法检测坐骨神经 F4/80、CD86、CD206蛋白表达 取坐骨神经置于含蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液中, 匀浆裂解, 4℃、12 500 r/min离心20 min, 收集上清液, 即总蛋白, BCA法测定样品蛋白浓度, 然后将变性后的蛋白加入到分离胶中进行电泳, 再经转膜、封闭、孵育一抗(F4/80、CD86、CD206、 $\beta$ -tubulin)和二抗后, 避光, 于多功能图像工作站进行化学发光显影, 以 $\beta$ -tubulin为内参标准化F4/80、CD86和CD206蛋白表达。

## 2.3 体外实验

2.3.1 M1型巨噬细胞模型建立及给药 取对数生长期的RAW264.7细胞, 以 $5 \times 10^5$ 个/mL的密度接种于96孔板中, 每孔100  $\mu$ L, 培养24 h后分为正常组、LPS组和LPS+nbEEBb 0.1、0.03 g/L组, 弃培养基, 正常组和模型组加入含0.2% BSA的无酚红高糖DMEM培养基, 给药组分别加入含0.1、0.03 g/L nbEEBb的0.2% BSA无酚红高糖DMEM培养基, 继续培养24 h。正常组更换为含0.2% BSA的无酚红高糖DMEM培养基, 模型组和给药组更换为含1  $\mu$ g/mL LPS的培养基以诱导巨噬细胞分化为促炎症M1型, 继续孵育24 h。CCK8法检测细胞活力, 用Griess法或ELISA试剂盒检测细胞上清液中炎症因子水平。

2.3.2 M2型巨噬细胞模型建立及给药 取对数生长期的RAW264.7细胞, 以 $3.5 \times 10^5$ 个/mL的密度接种于24孔板中, 每孔500  $\mu$ L, 培养24 h后分为正常组、IL-4组和IL-4+nbEEBb 0.1、0.03 g/L组, 按“2.3.1”项下方法给药, 然后加入含20 ng/mL IL-4的培养基以诱导巨噬细胞分化为抑炎症M2型, 继续孵育24 h。CCK8法检测细胞活力, RT-qPCR法检测细胞内精氨酸酶-1(Arg-1)mRNA表达。

2.3.3 CCK-8法检测细胞活力 细胞按“2.3.1”“2.3.2”项下方法处理后, 每孔加入10% CCK-8溶液, 37℃孵育1 h, 用酶标仪测定450 nm波长处的光密度(OD)值。以去除空白孔OD值后的每孔OD值计算细胞活力, 公式为细胞活力 =  $(OD_{\text{实验组}} - OD_{\text{空白孔}}) / (OD_{\text{正常组}} - OD_{\text{空白孔}})$ 。

2.3.4 ELISA法和Griess法检测iNOS、IL-6、TNF- $\alpha$ 、NO水平 细胞按“2.3.1”项下方法处理后, 收集各组细胞培养基, 1 000 r/min离心20 min, 吸取上清, 按照ELISA试剂盒说明书检测上清液中iNOS、IL-6和TNF- $\alpha$ 水平, 按照ND试剂盒说明书采用Griess法检测上清液中NO水平。

2.3.5 RT-qPCR法检测细胞Arg-1 mRNA表达 细胞按“2.3.2”项下方法处理后, 收集各组细胞, TRIzol法提取细胞总RNA, 测定RNA浓度, 按照反转录试剂盒说明书操作, 将RNA逆转录为cDNA。按照PCR检测试剂盒说明书操作, 加入特异性引物后进行PCR反应以扩增目的片段, 每孔重复3次, 以平均 $C_t$ 值作为每孔的最终 $C_t$ 值, 每组设6个复孔。以GAPDH为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算Arg-1 mRNA相对表达。引物序列见表1。

表 1 引物序列

基因	引物序列
Arg-1	正向 5'-AGCTCTGGGAATCTGCATGCT-3'
	反向 5'-ATGTACACGATGCTTTGGCAGATAG-3'
GAPDH	正向 5'-AGGTCGCTGTGAACGGATTG-3'
	反向 5'-GGGCTCGTTGATGGCAACA-3'

2.4 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理, 数据以平均数±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 2 组间比较采用 Tukey's 法。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

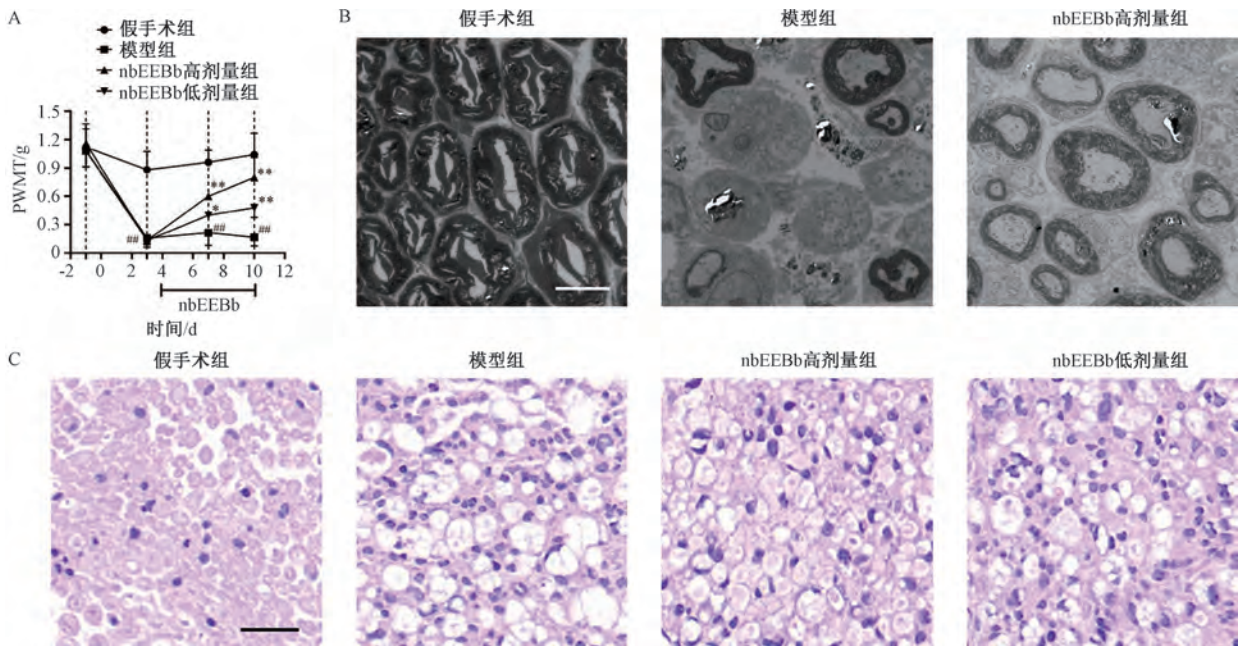
### 3 结果

3.1 nbEEBb 对神经痛小鼠 PWMT 及坐骨神经病理的影响 术后第 3 天, 与假手术组比较, 模型组小鼠 PWMT 值降低 ( $P<0.01$ ), 表明神经痛模型制备成功; 给予 nbEEBb (1、0.5 g/kg) 后, 术后第 7 天和第 10 天, 与模型组比较, nbEEBb 各剂量组小鼠 PWMT 升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 并呈剂

量依赖性, 提示 nbEEBb 能缓解神经痛小鼠的疼痛, 见图 1A。

通过透射电镜观察坐骨神经超微结构, 如图 1B 所示, 假手术组神经排列紧密, 髓鞘完整, 未见髓鞘碎片; 模型组神经排列疏松, 间隙显著增大, 出现明显的髓鞘结构破坏和髓鞘厚度变薄的现象, 并可见较多髓鞘碎片; 与模型组比较, nbEEBb 高剂量组神经排列相对紧凑, 髓鞘厚度有所增加, 碎片数量相对减少。

通过 HE 染色观察坐骨神经组织形态, 如图 1C 所示, 假手术组神经细胞排列紧密, 结构完整, 形态正常; 模型组神经损伤明显, 神经细胞排列紊乱, 核浓染细胞增多; nbEEBb 高剂量组神经损伤改善明显, 核浓染细胞数量有所减少; nbEEBb 低剂量组神经损伤恢复和核浓染细胞数量介于模型组与高剂量组之间。



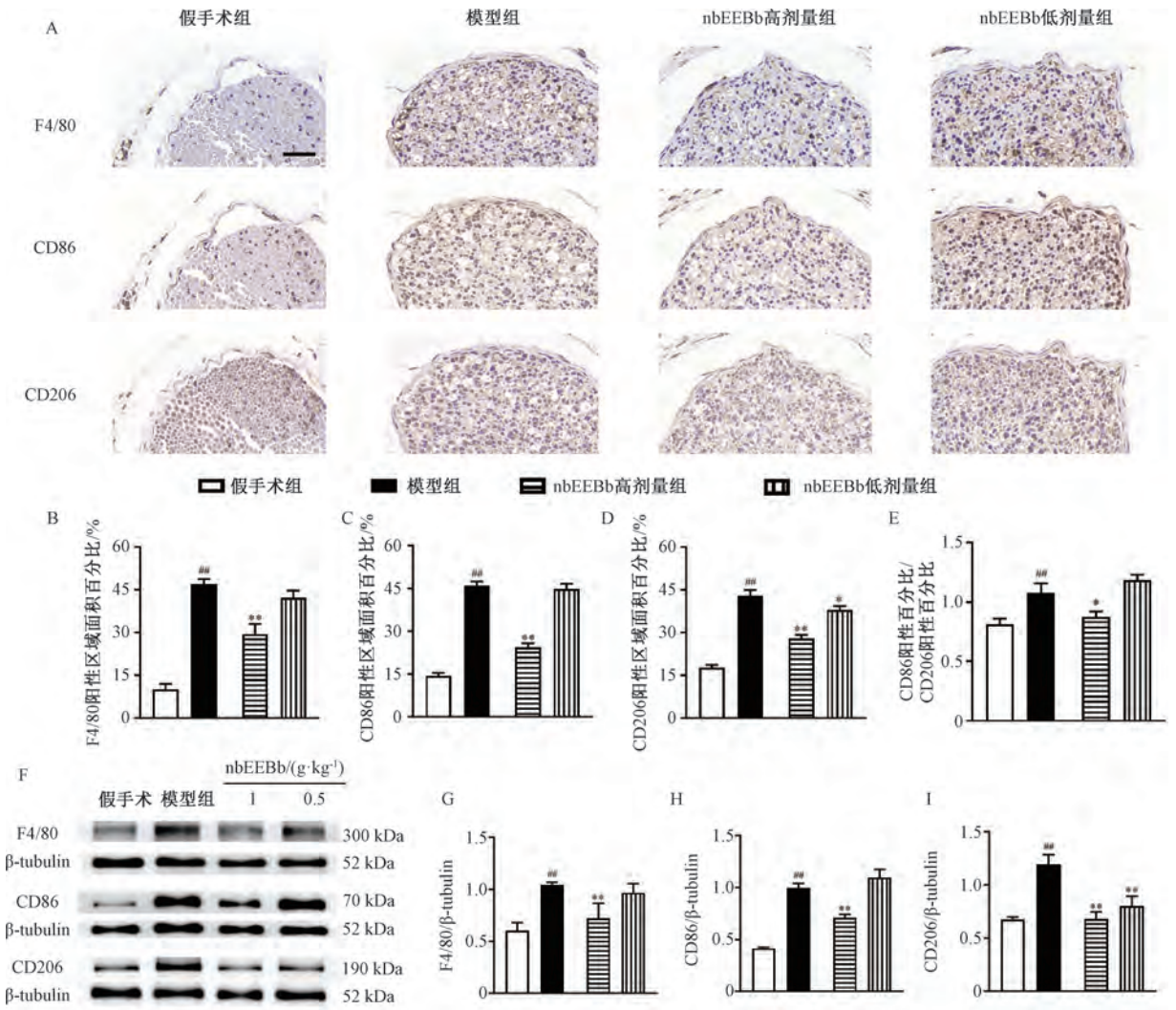
注: A 为各组小鼠 PWMT 值随时间变化的趋势 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ ), 其中 0 d 为手术当天; B 为各组小鼠坐骨神经电镜图, 标尺 5  $\mu\text{m}$ ; C 为各组小鼠坐骨神经 HE 染色图, 标尺 20  $\mu\text{m}$ 。与假手术组比较,  $^{###}P<0.01$ ; 与模型组比较,  $^*P<0.05$ ,  $^{**}P<0.01$ 。

图 1 nbEEBb 对神经痛小鼠 PWMT 和坐骨神经形态的影响

3.2 nbEEBb 对神经痛小鼠坐骨神经巨噬细胞的影响 本实验采用 F4/80 标记小鼠总的巨噬细胞, CD86 标记 M1 促炎症型巨噬细胞, CD206 标记 M2 抑炎症型巨噬细胞。免疫组化和 Western blot 结果均显示, 与假手术组比较, 模型组小鼠坐骨神经 F4/80、CD86、CD206 蛋白表达增加 ( $P<0.01$ ), 表明 M1 型和 M2 型巨噬细胞表达均增强。与模型组比较, nbEEBb 高剂量组小鼠坐骨神经 F4/80、

CD86、CD206 蛋白表达均减少 ( $P<0.01$ ), 低剂量组 CD206 蛋白表达减少 ( $P<0.05$ )。进一步分析 CD86/CD206 比值, 发现 nbEEBb 高剂量组 CD86/CD206 比值较模型组降低 ( $P<0.05$ )。以上结果表明, nbEEBb 能减少巨噬细胞进入神经, 抑制巨噬细胞极化为 M1 型和 M2 型, 但对 M1 型的抑制程度强于 M2 型。结果见图 2。

3.3 nbEEBb 对体外培养巨噬细胞极化的影响 加



注：A为各组小鼠坐骨神经F4/80、CD86、CD206蛋白免疫组化图，标尺20 μm，观察区域均为神经内膜包裹的神经；B~E为各组小鼠坐骨神经F4/80、CD86、CD206、CD86/CD206阳性区域面积百分比比较 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )；F为各组小鼠坐骨神经F4/80、CD86、CD206蛋白条带图；G~I为各组小鼠坐骨神经F4/80、CD86、CD206蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )。与假手术组比较，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

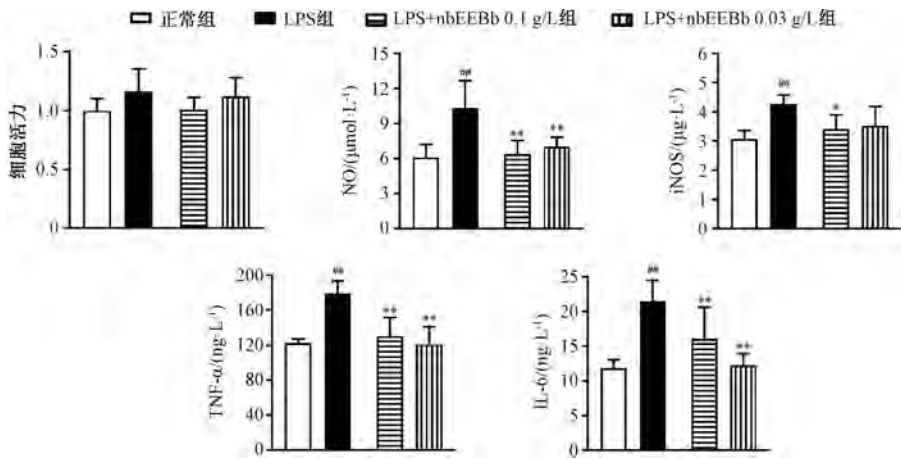
图2 nbEEBb对神经痛小鼠坐骨神经中巨噬细胞极化的影响

入LPS、IL-4和nbEEBb (0.1、0.03 g/L)均对细胞活力无明显影响 ( $P > 0.05$ )。与正常组比较，LPS组上清液促炎因子NO、iNOS、TNF- $\alpha$ 和IL-6水平均升高 ( $P < 0.01$ )；与LPS组比较，nbEEBb 0.1 g/L组NO、iNOS、TNF- $\alpha$ 和IL-6水平均降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )，nbEEBb 0.03 g/L组NO、TNF- $\alpha$ 和IL-6水平均降低 ( $P < 0.01$ )。结果见图3。

IL-4能刺激巨噬细胞极化为M2型，与正常组比较，IL-4组细胞内M2型标志物Arg-1 mRNA表达升高 ( $P < 0.05$ )；与IL-4组比较，nbEEBb 0.1 g/L组进一步升高Arg-1 mRNA表达 ( $P < 0.01$ )。结果见图4。

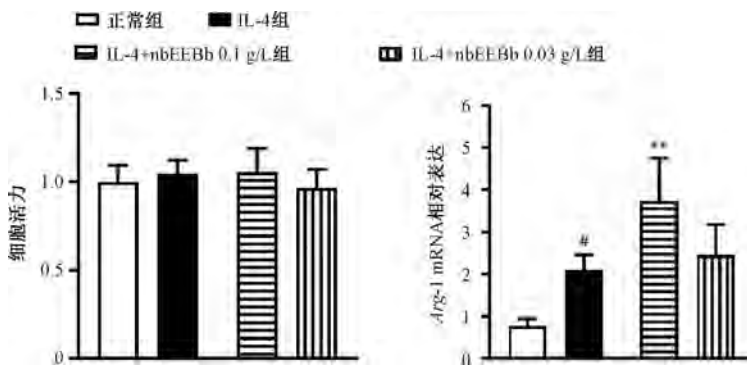
#### 4 讨论

外周痛觉敏化作为NP发生的初始关键环节<sup>[9]</sup>，主要表现为外周伤害性感受器的兴奋性增强<sup>[10]</sup>。这一过程与离子通道表达上调<sup>[11]</sup>、炎症介质释放以及免疫细胞激活<sup>[12]</sup>密切相关。免疫系统在外周痛觉敏化中扮演着核心角色，神经损伤后，外周免疫细胞被迅速募集至损伤部位，通过释放促炎细胞因子和趋化因子<sup>[13]</sup>直接或间接敏化伤害性感受器。同时，免疫细胞还可通过调节神经-免疫相互作用<sup>[14]</sup>，进一步加剧外周敏化。巨噬细胞是极其重要的外周免疫细胞，在NP发生时被募集到损伤部位，经过免疫微环境的调控极化为促炎症M1型或抗炎M2型<sup>[15]</sup>。损伤早期，巨噬细胞主



注：与正常组比较，<sup>#</sup> $P < 0.01$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

图3 nbEEBb对LPS诱导的RAW264.7细胞上清液中炎症因子水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 8$ )



注：与正常组比较，<sup>#</sup> $P < 0.05$ ；与IL-4组比较，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

图4 nbEEBb对IL-4诱导的RAW264.7细胞内Arg-1 mRNA表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

要极化为M1型，通过释放促炎因子激活卫星胶质细胞，并促进背根神经中环磷酸腺苷依赖的蛋白激酶A通路活化来增强神经元兴奋性；同时通过激活补体系统和促进活性氧生成等途径进一步扩大神经炎症反应<sup>[16]</sup>。而在损伤修复期，巨噬细胞主要极化为M2型<sup>[17]</sup>，通过分泌抗炎因子抑制过度炎症反应<sup>[18]</sup>，促进组织修复<sup>[19]</sup>。

本实验在明确nbEEBb能升高神经痛小鼠疼痛阈值和减轻神经组织损伤的基础上，探讨了其对损伤坐骨神经中巨噬细胞极化的影响。结果显示，nbEEBb能减少巨噬细胞数量且抑制细胞极化为M1型，从而减少巨噬细胞释放促炎因子，减轻外周痛觉敏化；同时，nbEEBb对M2型巨噬细胞也具有抑制作用，部分削弱机体自身的损伤修复机制。分析发现，nbEEBb能降低CD86/CD206比值，说明该有效部位对M1型的抑制作用强于M2型。

本研究进一步探讨nbEEBb对体外培养巨噬细胞极化的影响。NO、iNOS、TNF- $\alpha$ 和IL-6均为M1

型巨噬细胞的标志物<sup>[19]</sup>，通过招募炎性细胞和刺激更多炎症因子释放来促进炎症反应。Arg-1为M2型巨噬细胞的标志物，通过促进L-精氨酸的水解来消耗精氨酸（体内NO产生的主要来源），间接抑制iNOS的活性，减少NO的生成，从而抑制炎症反应<sup>[20]</sup>。与体内实验结果一致的是，nbEEBb能抑制巨噬细胞极化为M1型从而减少促炎因子分泌；不一致的是nbEEBb能促进巨噬细胞极化为M2型来产生抗炎作用。体内和体外实验结果不一致，原因可能与体内参与NP发生发展的调控网络更为复杂有关，这些调控机制不仅仅是巨噬细胞功能的直接体现，更是不同免疫细胞的相互作用，免疫细胞与神经元相互调节的体现。同时，体外实验所用nbEEBb浓度不影响总的巨噬细胞数量，而体内实验所用nbEEBb剂量已经明显抑制受损神经中总的巨噬细胞数量，这也会减少巨噬细胞极化为M2型的数量。

综上所述，nbEEBb能影响巨噬细胞极化，特别是抑制细胞极化为M1型，从而减轻其介导的神

经炎症反应。本研究为全面了解鞍叶羊蹄甲治疗 NP 的机制提供了一定的数据支持,有助于开发该民族药的药用价值。

参考文献:

[ 1 ] Marinelli S, Coccorello R. From the gender gap to neuroactive steroids; exploring multiple cases to further understand neuropathic pain[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 8577.

[ 2 ] Finnerup N B, Kuner R, Jensen T S. Neuropathic pain: from mechanisms to treatment[J]. *Physiol Rev*, 2021, 101(1): 259-301.

[ 3 ] Shen Y, Lin P. The role of cytokines in postherpetic neuralgia[J]. *J Integr Neurosci*, 2025, 24(4): 25829.

[ 4 ] Yu X, Liu H, Hamel K A, et al. Dorsal root ganglion macrophages contribute to both the initiation and persistence of neuropathic pain[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 264.

[ 5 ] 云南省楚雄彝族自治州卫生局药品检验所. 彝药志[M]. 四川: 四川民族出版社, 1983: 116-117.

[ 6 ] 姜 北, 肖朝江. 白族特色药用植物现代研究与应用[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2021: 525.

[ 7 ] 陈亚男, 刘汉福, 肖朝江, 等. 鞍叶羊蹄甲对三叉神经痛模型大鼠的镇痛作用[J]. *中成药*, 2022, 44(6): 1970-1973.

[ 8 ] Chen Y N, Liu H F, Sun H, et al. Antinociceptive effect of ethanolic extract of *Bauhinia brachycarpa* Benth on neuropathic pain model induced by partial sciatic nerve ligation[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 295: 115412.

[ 9 ] Gao N, Li M, Wang W, et al. The dual role of TRPV1 in peripheral neuropathic pain: pain switches caused by its sensitization or desensitization[J]. *Front Mol Neurosci*, 2024, 17: 1400118.

[ 10 ] Donnelly C R, Jiang C, Andriessen A S, et al. STING controls nociception via type I interferon signalling in sensory neurons[J]. *Nature*, 2021, 591(7849): 275-280.

[ 11 ] Tassou A, Richebe P, Rivat C. Mechanisms of chronic postsurgical pain[J]. *Reg Anesth Pain Med*, 2025, 50(2): 77-85.

[ 12 ] Liu X G. Normalization of neuroinflammation: a new strategy for treatment of persistent pain and memory/emotional deficits in chronic pain[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 5201-5233.

[ 13 ] Cristiano C, Giorgio C, Cocchiari P, et al. Inhibition of C5aR1 as a promising approach to treat taxane-induced neuropathy[J]. *Cytokine*, 2023, 171: 156370.

[ 14 ] Filtjens J, Roger A, Quatrini L, et al. Nociceptive sensory neurons promote CD8 T cell responses to HSV-1 infection[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2936.

[ 15 ] Liu C, Liu D, Zhang X, et al. Nanofibrous polycaprolactone/amniotic membrane facilitates peripheral nerve regeneration by promoting macrophage polarization and regulating inflammatory microenvironment[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 121: 110507.

[ 16 ] Chen Y, Mateski J, Gerace L, et al. Non-coding RNAs and neuroinflammation: implications for neurological disorders[J]. *Exp Biol Med*, 2024, 249: 10120.

[ 17 ] Fu S P, Chen S Y, Pang Q M, et al. Advances in the research of the role of macrophage/microglia polarization-mediated inflammatory response in spinal cord injury[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1014013.

[ 18 ] Zhong Y, Gu L, Ye Y, et al. JAK2/STAT3 axis intermediates microglia/macrophage polarization during cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Neuroscience*, 2022, 496: 119-128.

[ 19 ] Ydens E, Amann L, Asselbergh B, et al. Profiling peripheral nerve macrophages reveals two macrophage subsets with distinct localization, transcriptome and response to injury[J]. *Nat Neurosci*, 2020, 23(5): 676-689.

[ 20 ] Yang L, Zheng C, Xia Y F, et al. 3'-Diindolylmethane enhances macrophage efferocytosis and subsequently relieves visceral pain via the AhR/Nrf2/Arg-1-mediated arginine metabolism pathway[J]. *Phytomedicine*, 2023, 116: 154874.