

网络出版时间:2024-05-06 13:25:38 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20240429.1133.016

PKC/TRPV1 通路在大鼠三叉神经痛中的病理作用

吴贝贝¹, 沈 莲¹, 王元银¹, 王烈成²

摘要 **目的** 探究蛋白激酶 C (PKC)/瞬时感受器电位香草酸亚型 1 (TRPV1) 通路在大鼠三叉神经痛 (TN) 中的病理作用。**方法** 采用眶下神经慢性收缩术 (ION-CCI) 来创建大鼠 TN 的模型。将大鼠随机分为假手术组 (Sham 组)、CCI 组、CCI + DMSO 组、CCI + GF109203X (双咪唑马来酰亚胺, 一种 PKC 抑制剂) 组。使用 Von Frey 毛刷检测大鼠的机械痛阈。采用 qRT-PCR 及 Western blot 分别检测三叉神经节 (TG) 内 PKC 和 TRPV1 表达量的变化。HE 染色观察 TG 的病理变化。**结果** CCI 组大鼠机械痛阈降低 ($P < 0.05$), 大鼠 TG 内的磷酸化的 PKC (p-PKC) 和 TRPV1 表达显著增加 ($P < 0.05$)。组织病理学结果显示, 与 Sham 组相比, CCI 组观察到 TG 出现明显的炎症细胞浸润增多、神经细胞肿胀等变化。注射 GF109203X 后降低了大鼠 TG 内 PKC 的磷酸化和 TRPV1 的表达, 大鼠机械痛阈升高 ($P < 0.05$), 光学显

微镜下可见 TG 内细胞肿胀和炎症细胞有所减少。**结论** PKC/TRPV1 通路可能参与了大鼠的三叉神经痛。

关键词 PKC; TRPV1; TG; 三叉神经痛; 机械痛阈

中图分类号 R 745.11

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)05-0846-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.05.016

三叉神经痛 (trigeminal neuralgia, TN) 是发生在三叉神经分支的突发、严重、短暂的疾病^[1], 其发病机制存在争议, 目前认为脱髓鞘是 TN 发病的主要原因^[2]。临床上对三叉神经痛的治疗较为棘手, 一线药物卡马西平会有一系列并发症^[3-4], 三叉神经根微血管减压、神经根切断术联合射频热凝术等治疗效果也不满意^[5]。因此, 有必要进一步探讨三叉神经痛的可能发病机制, 以寻找更有效、精准的治疗方法。瞬时感受器电位香草酸亚型 1 (transient receptor potential vanilloid subtype 1, TRPV1) 通道属于 TRPV 家族, 近年来 TRPV1 通道在病理性疼痛领域的作用日益受到关注^[6], 也有研究^[7]表明 TRPV1 在三叉神经性疼痛产生和发展中起着至关重要的作用。然而, TRPV1 的上游调控机制仍不清楚。蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 是一种在外周和中枢神经系统中广泛分布的磷脂和钙依赖性蛋白激

2024-02-20 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: 吴贝贝, 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

etry. The mRNA levels of macrophage mannose receptor (CD206), transforming growth factor- β (TGF- β), interleukin (IL)-1 β and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by qRT-PCR. The expression of CD86 and CD206 was detected by flow cytometry, and Akt/mTOR expression and phosphorylation was detected by Western blot. **Results** ① *In vitro* study showed that the average body weight of the MC group was lower than that of the control group. Compared with the control group, CD206 expression of macrophages decreased in tumor tissue and ascites in the MC group, while the expression of CD86 increased. The Akt and mTOR phosphorylation level of macrophages in the MC group's ascites was lower than that in control group. ② *In vivo* study showed that there was no difference in apoptosis rate among the groups detected by flow cytometry. The mRNA expression level of CD206, TGF- β and the protein expression level of CD206 in MC group were significantly lower than those in the control group, while the mRNA expression of IL-1 β , TNF- α and the protein expression level of CD86 were significantly higher than those in the control group. Compared with the control group, the phosphorylation level of Akt and mTOR in the MC group decreased. **Conclusion** MC promotes M1 polarization of macrophages in ascites to regulate the immune microenvironment of ovarian cancer, which may be related to the Akt/mTOR pathway.

Key words ovarian cancer; immune microenvironment; macrophages; MC; Akt/mTOR

酶,参与细胞内信号的转导^[8]。研究^[9]表明在外周神经系统中,PKC 激活后通过 TRPV1 通道改变细胞兴奋性。该研究建立大鼠三叉神经痛模型,探究 PKC/TRPV1 通路在大鼠的三叉神经痛中的病理作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 HE 染液和 4% 多聚甲醛通用型组织固定液和高速低温组织研磨购自武汉 Servicebio 科技有限公司;PCR 引物来自上海生工生物工程科技有限公司;Von Frey 毛刷(美国 North Coast 公司,NC12775);PrimeScript RT reagent Kit、TB Green Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus)(日本 TaKaRa 生物科技有限公司,RR047A、RR820A);SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,P0012AC);荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Scientific 公司,PIKOREAL 96);PKC 抑制剂 Bisindolylmaleimide I (GF109208X)(上海蓝木化工有限公司,S720801);PKC Antibody(杭州华安生物技术有限公司,YT3752);Phospho-PKC Antibody(杭州华安生物技术有限公司,YT0703);TRPV1 Antibody(美国 Abcam 公司,AB305299)。

1.2 实验动物与模型构建

1.2.1 实验动物 将 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠(2~4 周龄,180~220 g)保持在 22~25℃下,具有 12 h 的光照/黑暗循环。每个笼子里有 6 只大鼠,可以自由进食和饮水。用 Von Frey 毛刷刺激每只大鼠双侧触须,每日 6 次,间隔 1 min。排除不符合条件的大鼠,筛选出符合条件的大鼠(对刺激反应平静)进行实验建模。所有动物实验均按照安徽医科大学研究与教育机构的伦理准则进行(LLSC20190705)。

1.2.2 模型构建 该实验构建 ION-CCI 动物模型,在大鼠腹腔内注射 10% 水合氯醛(0.35 ml/100 g),使其麻醉,碘伏擦拭术区消毒,沿左眼颧弓和鼻骨之间的眶下裂的表皮处切开,使眶下神经暴露,用 2 根线(5-0 号,相距 2 mm)结扎眶下神经使其轻微形变,而不会阻止通过浅表血管的循环。Sham 组的大鼠只显露神经而不结扎。采用 3-0 号线缝合创口,将碘伏涂在伤口表面以防止细菌感染。最后,将大鼠置于温暖的环境中饲养。

1.3 实验分组 在注射抑制剂前将大鼠随机分为 Sham 组和 CCI 组,每组 6 只。采用 Von Frey 毛刷对两组大鼠进行行为学测试,时间在术前 1 天和术后

每 2 天 1 次直到第 16 天,强度从 0.008~2.000 g 不等,每次从最低值开始,进行间隔时间不少于 30 s 且重复 5 次的刺激。每次刺激标准是使细丝刚好弯曲,当毛刷刺激后,大鼠应至少重复出现 2 次阳性反应(迅速缩回头部、避开毛刷刺激/连续搔抓触须垫部/快速抓咬毛刷的攻击行为)。对大鼠在不同时间点的机械痛阈进行记录并统计分析,同时采用 qRT-PCR 及 Western blot 技术检测大鼠术侧 TG 内 PKC 和 TRPV1 的表达变化,使用 HE 染色法观察两组 TG 的组织病理学变化。

在注射抑制剂后将大鼠重新随机分成 CCI 组、CCI + DMSO 组及 CCI + GF109208X 组,每组 6 只。两组药物现配现用,剂量为 0.36 μg/kg,在第 14 天定位注射到 TG 内,采用 Von Frey 毛刷分别测试大鼠注射前 0 h 和注射后(0.5、1.5、3.0 h)术侧触须垫区域的机械痛阈,记录并进行统计分析。采用了 qRT-PCR 和 Western blot 的方法,探究 PKC 和 TRPV1 在各组大鼠 TG 中的表达情况。最后,对各组大鼠的 TG 组织进行 HE 染色,观察其组织病理学改变。

1.4 qRT-PCR 实验 将过量 10% 水合氯醛注入大鼠腹腔,待其死后将术侧 TG 分离出,采用 Tissue RNA Purification Kit Plus 提取 mRNA;将提取的 mRNA 与 PrimeScript RT 试剂盒的混合物进行 cDNA 合成和 PCR 的扩增。运用荧光定量 PCR 仪检测 TG 中 TRPV1 的 mRNA 表达水平,通过计算 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 值,能够获得其相对表达情况。实验所用的基因引物序列如表 1 所示。

表 1 荧光定量 PCR 基因引物序列

目的基因	引物序列(5'-3')
β-actin	F: GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA
	R: GACTCATCGTACTCTGCTTGCTG
TRPV1	F: GCGAGTTCAAAGACCCTGAG
	R: GAGCTGTGTGCCCTTGCTAG

1.5 Western blot 实验 首先采集了不同组大鼠术侧 TG,并将其进行称重和编号。接着,按照每 1 mg 组织加入含 1% PMSF 的 RIPA 裂解液 10 μl 的比例,使用 KZ-III-F 高速低温组织研磨机对组织进行研磨。经过 12 000 r/min,4℃,10 min 的高速离心后,抽吸上清液,并按照一定比例加入载蛋白缓冲液,通过在 100℃下加热 10 min 使蛋白质完全变性,将溶液在 -20℃下保存,直到进行下一步实验。使用 10% SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒来制备凝胶,

上样行 SDS 凝胶电泳将样品中的目的蛋白分离,然后转膜到 PVDF 膜上。经过 TBST 溶液 3 次冲洗和 5% 脱脂牛奶室温振荡封闭后,该实验将 PVDF 膜置于一抗稀释液中 (TRPV1 Antibody 1 : 3 000; Phospho-PKC Antibody 1 : 3 000; PKC Antibody 1 : 3 000),在 4 ℃ 下孵育过夜。最后,该实验将 PVDF 膜冲洗彻底后,置于适当稀释度的二抗中室温孵育 1.2 h。将充分漂洗后的 PVDF 膜放置于显影机内设置条件曝光成像。最后,使用 Image J 软件分析暴露后蛋白条带图的灰度值,以检测 TRPV1、PKC 和 p-PKC 蛋白的相对表达水平。

1.6 HE 染色实验 分离出的大鼠 TG 组织在 PBS 中冲洗干净,立即用 4% 中性多聚甲醛包埋固定 24 h 以上。梯度脱水后石蜡重新包埋。脱蜡后,用苏木精染色 5 min,返蓝液返蓝。之后分别用 85% 和 95% 乙醇脱水 5 min,再用伊红溶液染色 5 min。最后用中性树脂固定组织并晾干,在光镜下观察神经组织的病理变化。

1.7 统计学处理 运用 GraphPad Prism 9.5 对数据进行统计分析,采用双向方差分析测量机械阈值。对于 CCI 组与 Sham 组的 qRT-PCR 和 Western blot 实验数据,使用独立样本 *t* 检验进行分析。对于 CCI 组、CCI + DMSO 组及 CCI + GF109203X 组的 qRT-PCR 和 Western blot 实验数据,则采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ION-CCI 对大鼠的机械疼痛阈值的影响 根据大鼠机械痛阈测定结果得出:CCI 组大鼠在术后第 2 天开始,机械痛阈出现显著下降,而 Sham 组大鼠则保持稳定 [Sham 组: (1.37 ± 0.47) g, CCI 组: (0.80 ± 0.47) g]。第 14 天,CCI 组大鼠的机械痛阈达到最低水平 (0.07 ± 0.02) g,远低于 Sham 组大鼠的 (1.80 ± 0.30) g。如图 1 所示。在术前 1 天,CCI 组大鼠的机械痛阈与 Sham 组相比,差异无统计学意义。

2.2 PKC、p-PKC、TRPV1 在大鼠术侧 TG 中的表达变化

2.2.1 ION-CCI 对大鼠 TG 内 p-PKC 表达的影响 根据 Western blot 结果得出,与 Sham 组相比,CCI 组大鼠在术后第 14 天,PKC 表达差异无统计学意义 ($t = 0.024$),见图 2A。而与 Sham 组相比,p-PKC 蛋白在 CCI 组大鼠的 TG 内呈现显著的高表达 ($t = 19.22, P < 0.01$),如图 2B 所示。

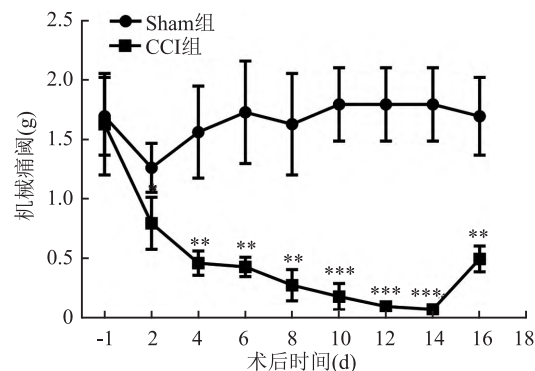


图 1 两组大鼠术侧不同时间点机械痛阈的差异 ($n = 6$)
与 Sham 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

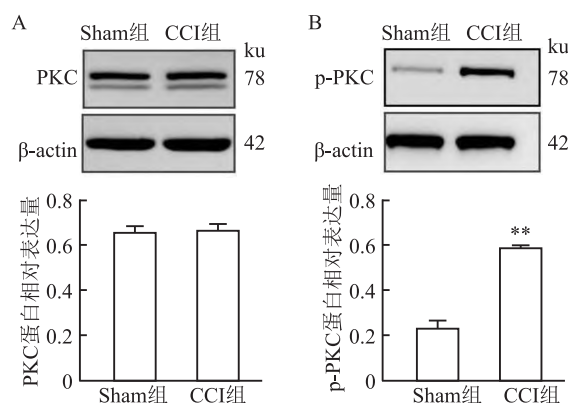


图 2 两组大鼠术侧 TG 中 PKC 及 p-PKC 的表达情况

A: PKC 蛋白在两组大鼠术侧 TG 内表达情况; B: p-PKC 蛋白在两组大鼠术侧 TG 内表达情况; 与 Sham 组比较: * $P < 0.01$

2.2.2 ION-CCI 对大鼠 TG 内 TRPV1 表达的影响

qRT-PCR 结果显示,在术后第 14 天,与 Sham 组相比,TRPV1 mRNA 在 CCI 组大鼠 TG 中呈现出明显的高表达趋势 ($t = 10.69, P < 0.01$),见图 3A。Western blot 结果显示术后第 14 天 TRPV1 蛋白在 CCI 组大鼠 TG 中表达显著高于 Sham 组 ($t = 30.12, P < 0.001$),见图 3B。

2.3 大鼠 TG 组织病理学改变 通过 HE 染色如图 4 观察到,Sham 组神经纤维排列紧密,有少量细胞发生肿胀 (黑色箭头); CCI 组神经纤维排列疏松,多数神经细胞肿胀呈空泡状 (黑色箭头),有淋巴细胞浸润 (蓝色箭头)。

2.4 鞘内注射 PKC 抑制剂对大鼠机械阈值的影响 CCI 术后的第 14 天,将 PKC 抑制剂 GF109203X 通过鞘内注射的方式直接注入大鼠的 TG 区域,观察 GF109203X 是否对 CCI 诱导的痛觉过敏有抑制作用 (图 5)。与 CCI 组和 CCI + DMSO 组相比,CCI + GF109203X 组在给药 0.5 h 后机械阈值开始上升,给药 1.5 h 后机械阈值达到峰值 [CCI

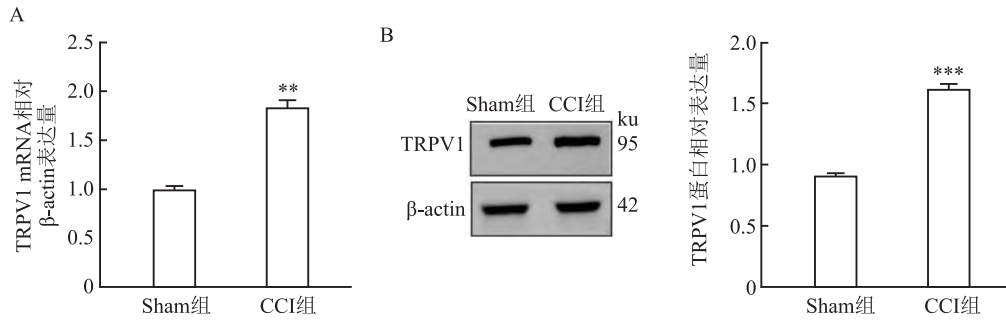


图3 两组大鼠术侧TG中TRPV1的表达情况

A: TRPV1 mRNA在两组大鼠术侧TG内表达情况; B: TRPV1蛋白在两组大鼠术侧TG内表达情况; 与Sham组比较: ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

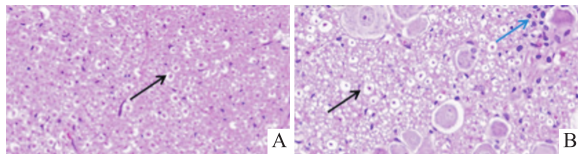


图4 大鼠三叉神经节的病理变化 HE ×20
A: Sham组; B: CCI组

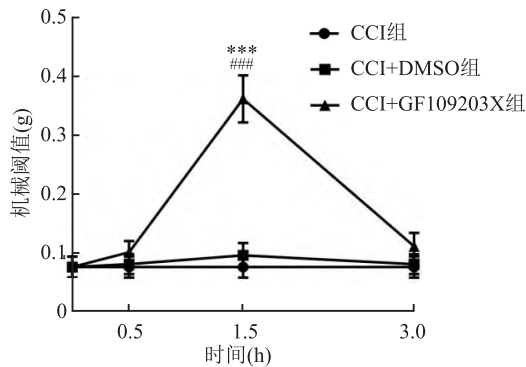


图5 术后第14天注射DMSO或GF109203X大鼠的机械阈值随时间的变化趋势 ($n=6$)

与CCI组比较: *** $P < 0.001$; 与CCI+DMSO组比较: ### $P < 0.001$

组: (0.075 ± 0.02) g, CCI+DMSO组: (0.095 ± 0.01) g, CCI+GF109203X组: (0.36 ± 0.03) g]。CCI+DMSO组与CCI组大鼠机械痛阈差异无统计学意义。这表明在注射PKC抑制剂1.5 h后,可升高疼痛机械阈值,起到降低疼痛的效果。

2.5 注射PKC抑制剂(GF109203X)后对大鼠TG中PKC、p-PKC及TRPV1的表达影响

2.5.1 注射GF109203X对大鼠TG中p-PKC表达的影响 通过Western blot实验结果可以看出,在给药后的1.5 h,与CCI组和CCI+DMSO组相比,CCI+GF109203X组大鼠的TG中PKC蛋白表达差异无统计学意义。与CCI组和CCI+DMSO组相比,给

药后1.5 h, CCI+GF109203X组大鼠TG中p-PKC蛋白表达量明显下降(CCI组 vs CCI+GF109203X组, $t=15.38$, $P < 0.01$; CCI+DMSO组 vs CCI+GF109203X组, $t=14.37$, $P < 0.05$)。CCI+DMSO组与CCI组大鼠TG中PKC、p-PKC表达差异均无统计学意义。见图6。

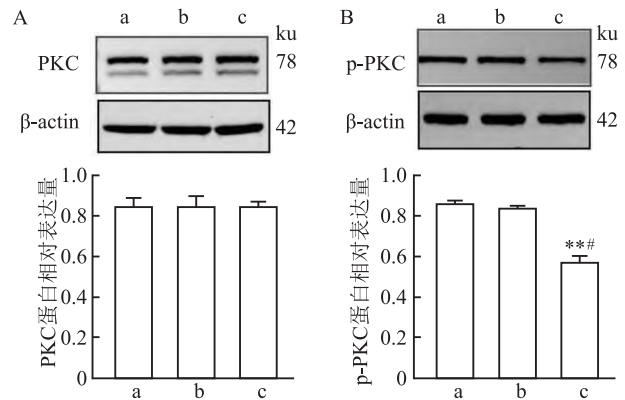


图6 不同组大鼠术侧TG中PKC及p-PKC的表达变化

A: PKC蛋白在各组大鼠术侧TG内表达情况; B: p-PKC蛋白在各组大鼠术侧TG中表达情况; a: CCI组; b: CCI+DMSO组; c: CCI+GF109203X组; 与CCI组比较: ** $P < 0.01$; 与CCI+DMSO组比较: # $P < 0.05$

2.5.2 注射GF109203X对大鼠TG中TRPV1表达的影响 与CCI组和CCI+DMSO组相比, qRT-PCR结果表明,在注入药物后1.5 h, CCI+GF109203X组大鼠TG中TRPV1 mRNA表达量明显下降(CCI组 vs CCI+GF109203X组, $t=8.01$, $P < 0.01$; CCI+DMSO组 vs CCI+GF109203X组, $t=5.372$, $P < 0.05$), 见图7A。Western blot结果显示,此时TRPV1蛋白在CCI+GF109203X组大鼠TG中表达量也明显降低(CCI组 vs CCI+GF109203X组, $t=13.15$, $P < 0.01$; CCI+DMSO组 vs CCI+GF109203X

组, $t = 8.445$, $P < 0.01$), 而 CCI + DMSO 组与 CCI 组大鼠 TG 中 TRPV1 的 mRNA 和蛋白的表达差异均无统计学意义, 见图 7B。

2.6 大鼠 TG 组织病理学变化 HE 染色如图 8 所示, 与 CCI 组和 CCI + DMSO 组相比, CCI + GF109203X 组神经纤维排列更加紧密, 细胞肿胀有所改善(黑色箭头), 炎症反应减轻。

3 讨论

TRP 家族是一种广泛分布于人类和哺乳动物细胞膜或细胞器膜上的一类非选择性阳离子通道。根据氨基酸序列和拓扑结构的差异进行分类, 总共包括 7 个家族: TRPC、TRPV、TRPM、TRPA、TRPP、TRPML 和 TRPN^[10]。在正常情况下, 各种 TRP 通道可以对细胞内和细胞外刺激(如温度、pH 值、渗透压、化学物质、细胞因子以及细胞损伤和钙的消耗)做出反应。TRP 通道蛋白作为感觉神经元上可以感受外界刺激的一类重要的离子通道, 近年来非常受关注。在三叉神经系统中, 已有许多 TRP 离子通道明确表达, 并且在口面部疼痛的转导和发病机制中起到关键功能^[11]。

TRPV1 属于 TRPV 家族, 是迄今为止研究最广泛的成员。该通道在外周神经系统中的神经细胞膜上高表达, 在传递各种伤害性感受中起着关键的作用。TRPV1 激活后可使细胞外钙离子内流, 导致细胞内钙离子浓度增高, 进而介导一系列生理或病理

反应。Xing et al^[12] 研究表明在背根神经节中可通过调节 TRPV1 促进神经性疼痛的发展和维持。此外, TRPV1 mRNA 在 CCI 大鼠的 TG、颈髓和髓质中也表达上调^[13]。以 TRPV1 为靶点的药物治疗可能是治疗口面部疼痛的一种新策略。但 TRPV1 的药理学靶向尚未在临床上取得成功, 因此, 靶向使通道致敏或者靶向调节并保持该通道正常功能的分子不但可能有助于避免这些有害影响, 还可同时提供镇痛作用。

PKC 作为细胞中的第二信使, 与炎症性疼痛和神经性疼痛密切相关。磷酸化的 PKC(p-PKC) 可活化相应的下游参与调节代谢、炎症反应、基因表达、细胞增殖、迁移、分化和凋亡等, 从而在神经病理性疼痛中发挥多种重要的作用。Cui et al^[14] 在神经病理性疼痛模型中, 显示 PKC 能够将 TRPV1 受体从传入神经末梢运输至伤害性感受器的质膜, 从而增强对疼痛的敏感性。

在该实验中, 检测术后 14 d 大鼠 TG 内 PKC 和 p-PKC 的表达, 显示 CCI 组 p-PKC 表达量显著升高, 这表明 ION-CCI 手术激活了 TG 内 PKC 的磷酸化。同时也检测到 TRPV1 的表达也有明显的升高。在鞘内注射 PKC 抑制剂 GF109203X 1.5 h 后大鼠的机械痛阈显著升高, p-PKC 和 TRPV1 的表达均下降。除此之外, 注射 PKC 的抑制剂还可以逆转大鼠 TG 内神经细胞的肿胀, 使炎症细胞浸润减少。由此推断 PKC 可能是 TRPV1 的上游物质之一, PKC/

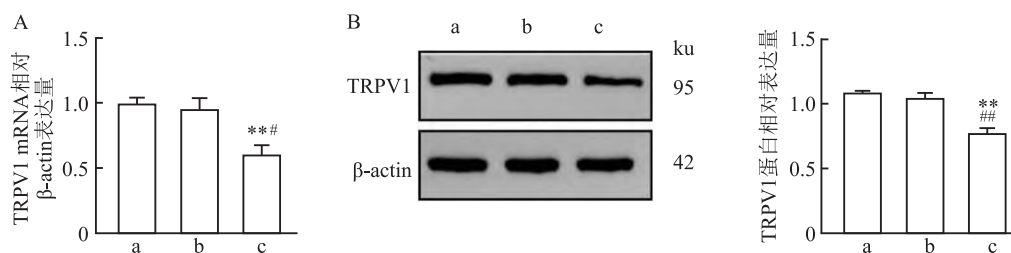


图7 不同组大鼠术侧 TG 中 TRPV1 的表达变化

A: TRPV1 mRNA 在三组大鼠术侧 TG 内表达变化; B: TRPV1 蛋白在三组大鼠术侧 TG 内表达变化; a: CCI 组; b: CCI + DMSO 组; c: CCI + GF109203X 组; 与 CCI 组比较: ** $P < 0.01$; 与 CCI + DMSO 组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

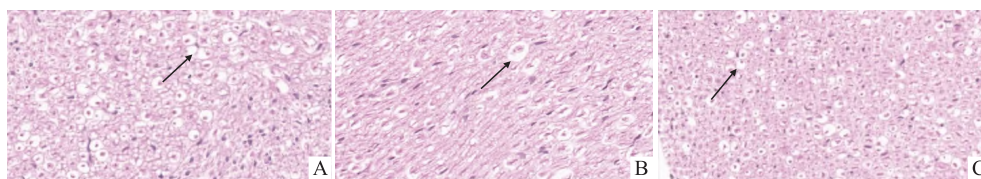


图8 大鼠三叉神经节的病理变化 HE × 20

A: CCI 组; B: CCI + DMSO 组; C: CCI + GF109203X 组

TRPV1 通路参与了大鼠的三叉神经痛。

综上所述,PKC/TRPV1 信号通路与大鼠 TN 的发生发展密切相关,干预该信号通路能为 TN 的治疗提供新靶向。但目前 PKC/TRPV1 通路介导 TN 的具体机制尚不十分清楚,后续实验将进一步深入探究 PKC/TRPV1 通路在 TN 发生和发展过程中的具体关联因素,为 TN 的治疗研究提供新的思路。

参考文献

- [1] Scholz J, Finnerup N B, Attal N, et al. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: Chronic neuropathic pain [J]. *Pain*, 2019, 160(1): 53–9.
- [2] Chen Q, Yi D I, Perez J N J, et al. The molecular basis and pathophysiology of trigeminal neuralgia [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(7): 3604.
- [3] Eide P K. Familial occurrence of classical and idiopathic trigeminal neuralgia [J]. *Neurol Sci*, 2022, 434: 120101.
- [4] 胡婷婷, 何帆, 刘明政, 等. miR-30b 在三叉神经痛模型大鼠中的表达及作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(7): 1078–83.
- [5] Allam A K, Sharma H, Larkin M B, et al. Trigeminal neuralgia: diagnosis and treatment [J]. *Neurol Clin*, 2023, 41(1): 107–21.
- [6] Li F, Wang F. TRPV1 in pain and itch [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1349: 249–73.
- [7] 周开升, 赵光海, 南伟, 等. TRPV1 通道在病理性疼痛中的研究进展 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2021, 27(11): 841–4.
- [8] Li X, Yuan J, Yu X, et al. Effect of PKC/NF-KB on the regulation of P2X(3) receptor in dorsal root ganglion in rats with sciatic nerve injury [J]. *Pain Res Manag*, 2020, 2020: 7104392.
- [9] Liu C, Miao R, Raza F, et al. Research progress and challenges of TRPV1 channel modulators as a prospective therapy for diabetic neuropathic pain [J]. *Eur J Med Chem*, 2023, 245 (Pt 1): 114893.
- [10] Luo Y, Suttle A, Zhang Q, et al. Transient receptor potential (TRP) ion channels in orofacial pain [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(6): 2836–50.
- [11] Liu Y, Lyu Y, Wang H. TRP channels as molecular targets to relieve endocrine-related diseases [J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9: 895814.
- [12] Xing F, Gu H, Niu Q, et al. MZF1 in the dorsal root ganglia contributes to the development and maintenance of neuropathic pain via regulation of TRPV1 [J]. *Neural Plast*, 2019, 2019: 278217.
- [13] Demartini C, Greco R, Zanaboni A M, et al. Antagonism of transient receptor potential ankyrin Type-1 channels as a potential target for the treatment of trigeminal neuropathic pain: Study in an animal model [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3320.
- [14] Cui W, Wu H, Yu X, et al. The calcium channel $\alpha 2\delta 1$ subunit: Interactional targets in primary sensory neurons and role in neuropathic pain [J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 699731.

Pathological role of PKC/TRPV1 pathway in trigeminal neuralgia in rats

Wu Beibei¹, Shen Lian¹, Wang Yuanyin¹, Wang Liecheng²

(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 investigate the pathological role of detect protein kinase C (PKC)/ transient receptor potential vanilloid subtype 1 (TRPV1) pathway in trigeminal neuralgia (TN) in rats. **Methods** The infraorbital nerve-chronic constriction injury (ION-CCI) was used to establish a rat model of TN. The rats were randomly divided into Sham group, CCI group, CCI + DMSO group and CCI + GF109203X (a PKC inhibitor) group. The mechanical pain threshold of the rats was measured using a Von Frey brush. qRT-PCR and Western blot were used to detect PKC and TRPV1 in the trigeminal ganglion (TG). HE staining was used to observe the pathological changes of TG. **Results** The mechanical pain threshold significantly decreased ($P < 0.05$), and the expression of phosphorylated PKC (p-PKC) and TRPV1 in TG significantly increased in the CCI group ($P < 0.05$). Histopathological results showed that compared with the Sham group, the CCI group observed significant changes in TG such as increased inflammatory cell infiltration and nerve cell swelling. Injection of GF109203X effectively reduced the phosphorylation of PKC and the expression of TRPV1 in the TG of rats, and the mechanical pain threshold of the rats increased ($P < 0.05$). Under the light microscope, cell swelling and inflammatory cells in the TG were reduced.

Conclusion PKC/TRPV1 pathway may be involved in trigeminal neuralgia in rats.

Key words PKC; TRPV1; TG; trigeminal neuralgia; mechanical pain threshold