

安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目： 维生素D对坐骨神经慢性压迫性损伤大鼠NF- κ B/CBS-H₂S信号通路的影响
作者： 张琴，蒋中晋，敖胜福
网络首发日期： 2025-08-12
引用格式： 张琴，蒋中晋，敖胜福. 维生素D对坐骨神经慢性压迫性损伤大鼠NF- κ B/CBS-H₂S信号通路的影响[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20250811.1729.004>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

维生素 D 对坐骨神经慢性压迫性损伤大鼠 NF- κ B/CBS-H₂S 信号通路的影响

张 琴, 蒋中晋, 敖胜福

(贵州中医药大学第二附属医院麻醉科, 贵阳 550003)

摘要 目的 探讨维生素 D 对坐骨神经慢性压迫性损伤 (CCI) 大鼠的改善作用以及对核因子 κ B (NF- κ B) /胱硫醚- β -合酶 (CBS) 一硫化氢 (H₂S) 系统的调节作用。**方法** 50 只大鼠按照随机数字表法分为对照组、模型组、维生素 D 组、激活剂组和激活剂+维生素 D 组, 每组 10 只。除对照组外, 其余组大鼠通过结扎坐骨神经建立 CCI 模型, 维生素 D 组大鼠腹腔注射 500 mg/kg 维生素 D, 激活剂组大鼠腹腔注射 NF- κ B 激活剂脂多糖 10 mg/kg, 激活剂+维生素 D 组大鼠腹腔注射 500 mg/kg 维生素 D, 同时注射 10 mg/kg 脂多糖, 对照组和模型组大鼠腹腔注射等量生理盐水, 1 次/天, 连续 2 周。比较各组大鼠热刺激缩足反射潜伏期 (PWTL)、机械缩足阈值 (MWT)、大鼠眼眶静脉血 25-羟维生素 D₃[25 (OH) D₃]水平、H₂S 含量、大鼠 L4-L6 背根神经节降钙素基因相关肽 (CGRP)、前列腺素 E2 (PGE2) 水平、大鼠 L4-L6 段脊髓维生素 D 受体 (VDR)、NF- κ Bp65 和 CBS 蛋白表达量。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠 PWTL 和 MWT、25 (OH) D₃ 水平以及 VDR 蛋白表达量均降低, H₂S 含量、CGRP 和 PGE2 水平以及 NF- κ Bp65 和 CBS 蛋白表达量均升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 维生素 D 组大鼠 PWTL 和 MWT、25 (OH) D₃ 水平以及 VDR 蛋白表达量均升高 ($P < 0.05$), H₂S 含量、CGRP 和 PGE2 水平以及 NF- κ Bp65 和 CBS 蛋白表达量均降低 ($P < 0.05$); 与激活剂组比较, 激活剂+维生素 D 组大鼠 PWTL 和 MWT、25 (OH) D₃ 水平以及 VDR 蛋白表达量均升高, H₂S 含量、CGRP 和 PGE2 水平以及 NF- κ Bp65 和 CBS 蛋白表达量均降低 ($P < 0.05$); 与维生素 D 组比较, 激活剂+维生素 D 组大鼠 PWTL 和 MWT、25 (OH) D₃ 水平以及 VDR 蛋白表达量均降低, H₂S 含量、CGRP 和 PGE2 水平以及 NF- κ Bp65 和 CBS 蛋白表达量均升高 ($P < 0.05$)。**结论** 外源性补充维生素 D 可缓解 CCI 大鼠神经疼痛, 降低痛觉敏感性, 其可能是通过抑制 NF- κ B/CBS-H₂S 信号通路发挥作用。

关键词 坐骨神经慢性损伤; 维生素 D; 疼痛行为学; 疼痛阈值; 受体; NF- κ B/CBS-H₂S 信号通路

中图分类号 R 745.4

文献标识码 A

Effect of vitamin D on NF- κ B/CBS-H₂S signaling pathway in rats with chronic sciatic nerve injury

Zhang Qin, Jiang Zhongjin, Ao Shengfu

基金项目: 贵州省卫生健康委科学技术基金项目 (编号: gzwkj2024-417)

作者简介: 张 琴, 女, 硕士研究生;

蒋中晋, 男, 副主任医师, 通信作者, E-mail: 670934573@qq.com

Abstract Objective To investigate the ameliorative effect of vitamin D on sciatic nerve chronic compression injury (CCI) rats and its regulatory effect on nuclear factor κ B (NF- κ B)/cystathione- β -synthase (CBS)-hydrogen sulfide (H_2S) system. **Methods** Fifty rats were randomly divided into five groups: control group, model group, Vitamin D group, activator group, and activator + vitamin D group, with 10 rats in each group. Except for the control group, the rats in the other groups underwent sciatic nerve ligation to establish the CCI model. The vitamin D group received intraperitoneal injection of 500 mg/kg Vitamin D, the activator group received intraperitoneal injection of 10 mg/kg NF- κ B activator lipopolysaccharide, and the activator + vitamin D group received intraperitoneal injection of 500 mg/kg vitamin D along with 10 mg/kg lipopolysaccharide. The control and model groups received intraperitoneal injection of an equal volume of saline, once per day for 2 weeks. The following parameters were compared among the groups: paw withdraw thermal latency (PWT_L), mechanical withdrawal threshold (MWT), serum 25-hydroxyvitamin D₃ [25(OH)D₃] levels, H_2S content, calcitonin gene-related peptide (CGRP), prostaglandin E₂ (PGE₂) levels, and the expression of vitamin D receptor (VDR), NF- κ Bp65, and CBS proteins in the L4-L6 dorsal root ganglia of rats. **Results** Compared with the control group, the model group showed decreased PWT_L, MWT, 25(OH)D₃ levels and VDR protein expression, while H_2S content, CGRP and PGE₂ levels, and NF- κ Bp65 and CBS protein expression significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the vitamin D group exhibited increased PWT_L, MWT, 25(OH)D₃ levels and VDR protein expression ($P < 0.05$), while H_2S content, CGRP and PGE₂ levels, and NF- κ Bp65 and CBS protein expression significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the activator group, the activator + Vitamin D group showed increased PWT_L, MWT, 25(OH)D₃ levels and VDR protein expression, and decreased H_2S content, CGRP and PGE₂ levels and decreased NF- κ Bp65, CBS protein expression ($P < 0.05$). Compared with the vitamin D group, the activator + vitamin D group showed decreased PWT_L, MWT, 25(OH)D₃ levels and VDR protein expression, while H_2S content, CGRP and PGE₂ levels, and NF- κ Bp65 and CBS protein expression significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Exogenous supplementation of vitamin D can relieve nerve pain and reduce pain sensitivity in CCI rats, possibly by inhibiting NF- κ B/CBS- H_2S signaling pathway.

Key words sciatic nerve chronic injury; vitamin D; pain behavior; the pain threshold; receptors; NF- κ B/CBS-H₂S signaling pathway

Fund program Scientific and Technological Project of Guizhou Health Commission (No.gzwbkj2024-417)

Corresponding author Jiang Zhongjin, Email: 670934573@qq.com

坐骨神经痛是由腰椎间盘突出等引起的外周神经病理性疼痛,表现为阵发性、持续性麻木疼痛,严重影响生活质量。神经病理性疼痛因神经受损而发生,而神经修复困难。寻找有效的治疗药物是当前研究的热点之一。硫化氢(H₂S)作为气体信号分子,参与炎症反应、血管舒缩和伤害信息传递等过程^[1-2]。目前认为内源性 H₂S 主要合成途径之一是通过胱硫醚- β -合酶(cystathionine- β -synthetase, CBS),其主要表达于背根神经节、脊髓等组织中。研究^[3]表明 CBS-H₂S 通路在神经性病理疼痛中发挥重要作用。核因子 κ B(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B)是调节炎症反应的关键信号,研究^[4]发现 NF- κ B 诱导 CBS 表达上调参与糖尿病大鼠机械痛过敏。维生素 D 是体内钙磷代谢的关键信号分子,其与受体结合参与炎症、氧化应激等过程^[5-6]。维生素 D 受体(Vitamin D receptors, VDR)广泛分布于中枢神经系统。文献报道^[7]维生素 D 及 VDR 在调节疼痛中发挥关键作用,可能与影响特定的疼痛信号通路密切相关。然而,目前仅有少量证据表明维生素 D 对神经病理性疼痛的影响,其具体机制仍不明确。因此,本研究旨在探讨维生素 D 是否通过调节 NF- κ B/CBS-H₂S 信号通路在坐骨神经慢性压迫性损伤(chronic constriction injury of the Sciatic Nerve, CCI)大鼠中发挥保护作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物 健康清洁级雄性 SD 大鼠 50 只,8 周龄,体质量 200~220 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号 SCXK(京)2016-0011。饲养期间保持室内温度(22 $\pm$ 2)℃,12 h 明暗交替,自由饮食饮水,空气湿度 50%~60%,适应性饲养 3 d 后进行实验。所有实验均符合贵州中医药大学第二附属医院伦理委员会要求(编号:2403423)。

1.2 主要试剂和仪器 25-羟维生素 D₃[25 (OH) D₃](美国 AdooQ BioScience 公司,货号: A10941-5);前列腺素 E₂(prostaglandin E₂, PGE₂) ELISA 试剂盒和降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP) ELISA 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,货号: ml003859、ml002772);脂多糖(美国 Sigma-Aldrich 公司,货号: L2880-10MG);NF- κ Bp65 蛋白抗体、CBS 蛋白抗体(英国 Abcam 公司,货号: ab16502、ab37880);二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司,货号: ZB2301);Von Frey 测痛仪和光热测痛仪(型号: VF-4、

TF2, 天津市医学科学院生物医学工程研究所); 紫外可见分光光度计 (型号: HD-UV90, 山东潍坊市霍尔德电子科技有限公司)。

1.3 模型制备与实验分组 50 只大鼠随机选取 40 只进行造模, 具体操作如下: 腹腔注射戊巴比妥钠 (15~40 mg/kg) 麻醉, 俯卧位固定于鼠板上, 右后肢大腿中部股骨外缘与股骨平行方向切开皮肤, 分离肌肉筋膜组织和坐骨神经主干, 在神经主干上依次间隔 1 mm 进行结扎, 共结扎 3 处, 当大鼠下肢或足趾轻微抽动时为最佳结扎强度。术后大鼠出现右后肢步态不稳、足趾卷曲, 行走时足部边缘着地、跛行, 则为模型制备成功, 另外 10 只大鼠仅暴露坐骨神经, 不结扎。将造模成功的大鼠随机分为模型组、维生素 D 组、激活剂组和激活剂+维生素 D 组, 每组 10 只, 未进行坐骨神经结扎的 10 只大鼠作为对照组。

1.4 干预方式 造模后第 1 天开始, 维生素 D 组大鼠按照 500 mg/kg 腹腔注射维生素 D, 激活剂组大鼠按照 10 mg/kg 腹腔注射脂多糖 (NF- κ B 激活剂), 激活剂+维生素 D 组大鼠参照维生素 D 组及激活剂组的用量, 腹腔注射维生素 D+脂多糖, 对照组和模型组大鼠腹腔注射等量生理盐水, 1 次/d, 连续 2 周。

1.5 热刺激缩足反射潜伏期 (paw withdraw thermal latency, PWTL) 测定 分别在术前和术后 5、10、14 d 时使用 TF2-光热测痛仪, 将光辐焦点对准大鼠右后肢掌中央照射, 记录从开始照射到大鼠抬起后肢的时间, 实验重复 6 次, 每次间隔 5 min, 取平均值为大鼠热刺激缩足反射潜伏期。

1.6 机械缩足反射阈值 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 测定 分别在术前和术后 5、10 和 14 d 时, 使用电子 Von Frey 测痛仪测量大鼠 MWT, 将测试探头对准术侧后肢, 朝掌中施加垂直向上的压力, 当大鼠用力抬起后肢即为完成 1 次测定, 记录测定仪的数值, 重复测量 6 次, 取平均值为 MWT。

1.7 25(OH)D₃ 含量测定 分别在术前和术后 5、10 和 14 d 时, 采集大鼠眼眶静脉血 2 mL, 分离血清, ELISA 法检测血清中 25(OH)D₃ 水平。

1.8 H₂S 含量测定 分别在术前和术后 5、10 和 14 d 时, 采集大鼠眼眶静脉血 0.1 mL 于抗凝管中, 向其中加入 0.5 mL 0.1% 乙酸锌, 然后再分别加入 0.5 mL N,N-二甲基对苯二胺盐酸盐和三氯化铁, 室温静置 10 min, 再加入 0.5 mL 10% 三氯乙酸和 2.5 mL 蒸馏水, 振荡混匀, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 利用分光光度计测定 670 nm 处的吸光度值, 根据标准曲线计算样本中 H₂S 浓度。

1.9 大鼠背根神经节中痛觉敏感相关物质水平检测 术后 14 d, 迅速剥离大鼠 L4-L6 段背根神经节, 研磨, 4 °C 12 000 r/min 离心 10 min 取上清液, 根据试剂盒说明书测定降钙素基

因相关肽（CGRP）和前列腺素 E2（PGE2）水平。

1.10 蛋白印迹法检测 VDR、NF-κBp65 和 CBS 蛋白表达量 术后 14 d，取大鼠 L4-L6 段脊髓匀浆，4 °C 12 000 r/min 离心 10 min，取上清液，BCA 试剂盒测定蛋白浓度。50 μg 蛋白样品进行电泳和湿转，封闭 1 h 后，VDR、NF-κBp65 和 CBS 蛋白抗体（1:1 000）4 °C 孵育过夜，二抗（1:5 000）室温孵育 1 h，洗膜，ECL 法显色，ImageJ 分析条带灰度值，计算目的蛋白表达量。

1.11 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件进行数据分析，所有数据均符合正态分布，采用（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，多样本均数间比较采用单因素方差分析，事后两两比较采用 LSD-*t* 检验，重复测量资料采用重复测量方差分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PWTL 和 MWT 测定结果 各组大鼠 PWTL 和 MWT 在术前比较，差异无统计学意义（*P*>0.05）。且随时间推移，模型组、维生素 D 组、激活剂组、激活剂+维生素 D 组老鼠的 PWTL 和 MWT 均明显降低。与对照组比较，模型组大鼠 PWTL 和 MWT 在术后各时间点均降低（*P*<0.05）；与模型组比较，维生素 D 组大鼠 PWTL 和 MWT 在术后各时间点均升高（*P*<0.05）；与维生素 D 组比较，激活剂+维生素 D 组大鼠 PWTL 和 MWT 在术后各时间点均降低（*P*<0.05）；与激活剂组比较，激活剂+维生素 D 组大鼠 PWTL 和 MWT 在术后各时间点均升高（*P*<0.05）。见表 1、表 2。

表 1 各组大鼠 PWTL 不同时间点的比较（ $\bar{x} \pm s$ ，*s*，*n*=10）

Tab.1 Comparison of PWTL of rats at different time in each group ($\bar{x} \pm s$, <i>s</i> , <i>n</i> =10)				
Group	Pre-operation	5 days	10 days	14 days
		post-operation	post-operation	post-operation
Control	25.66±3.45	25.80±3.17	24.08±3.14	23.46±3.53
Model	24.78±4.05	18.53±2.13 ^{a*}	15.24±2.22 ^{ab*}	11.66±2.40 ^{abc*}
Vitamin D	25.77±4.28	23.84±2.06 ^{a#}	19.53±2.17 ^{ab#}	16.55±2.41 ^{abc#}
Activator	23.96±3.41	15.22±2.29 ^{a#}	12.74±2.05 ^{ab#}	9.32±2.43 ^{abc#}
Activator+Vitamin D	24.33±4.22	21.44±2.03 ^{aΔ▲}	17.34±2.30 ^{abΔ▲}	14.22±2.15 ^{abcΔ▲}
<i>F</i> value	<i>F</i> _{time effect} =62.560, <i>F</i> _{group effect} =107.300, <i>F</i> _{interaction effect} =5.583			
<i>P</i> value	<i>P</i> _{time effect} <0.001, <i>P</i> _{group effect} <0.001, <i>P</i> _{interaction effect} <0.001			

**P*<0.05 vs Control group; #*P*<0.05 vs Model group; Δ*P*<0.05 vs Vitamin D group; ▲*P*<0.05 vs

Activator group; ^a $P<0.05$ vs same group pre-operation; ^b $P<0.05$ vs 5 days post-operation; ^c $P<0.05$ vs 10 days post-operation.

表 2 各组大鼠 MWT 不同时间点的比较 ($\bar{x}\pm s$, g , $n=10$)

Tab.2 Comparison of MWT of rats at different time in each group ($\bar{x}\pm s$, g , $n=10$)

Group	Pre-operation	5 days	10 days	14 days
		post-operation	post-operation	post-operation
Control	40.47±4.65	42.85±5.24	42.77±5.25	39.71±5.63
Model	40.66±4.12	30.54±4.81 ^{a*}	23.88±4.27 ^{ab*}	19.91±4.42 ^{abc*}
Vitamin D	41.98±4.53	38.19±4.07 ^{a#}	33.40±3.46 ^{ab#}	27.55±4.31 ^{abc#}
Activator	42.62±4.24	25.41±4.76 ^{a#}	19.46±3.57 ^{ab#}	15.99±3.06 ^{abc#}
Activator+Vitamin D	39.99±5.60	34.15±4.33 ^{aΔ▲}	28.19±4.41 ^{abΔ▲}	24.85±3.61 ^{abcΔ▲}
F value	$F_{\text{time effect}}=111.900, F_{\text{group effect}}=73.290, F_{\text{interaction effect}}=10.640$			
P value	$P_{\text{time effect}}<0.001, P_{\text{group effect}}<0.001, P_{\text{interaction effect}}<0.001$			

* $P<0.05$ vs Control group; # $P<0.05$ vs Model group; Δ $P<0.05$ vs Vitamin D group; ▲ $P<0.05$ vs Activator group; ^a $P<0.05$ vs same group pre-operation; ^b $P<0.05$ vs 5 days post-operation; ^c $P<0.05$ vs 10 days post-operation.

2.2 25 (OH) D₃ 水平测定结果 与对照组比较, 模型组大鼠术后各个时间点 25 (OH) D₃ 水平均降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 维生素 D 组大鼠术后各个时间点 25 (OH) D₃ 水平均升高 ($P<0.05$); 与维生素 D 组比较, 激活剂+维生素 D 组大鼠术后各个时间点 25 (OH) D₃ 水平均降低 ($P<0.05$); 与激活剂组比较, 激活剂+维生素 D 组大鼠术后各个时间点 25 (OH) D₃ 水平均升高 ($P<0.05$)。术前各组大鼠血清 25 (OH) D₃ 水平比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠血清 25 (OH) D₃ 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, ng/mL, $n=10$)

Tab.3 Comparison levels of 25(OH)D₃ levels in rat orbital venous blood in each group

($\bar{x}\pm s$, ng/mL, $n=10$)

Group	Pre-operation	5 days	10 days	14 days
		post-operation	post-operation	post-operation
Control	74.26±6.69	77.66±7.25	75.34±7.95	77.80±7.36

Model	77.38±7.52	49.24±5.11 ^{a*}	41.85±5.88 ^{ab*}	33.69±6.55 ^{abc*}
Vitamin D	76.14±7.90	64.79±5.43 ^{a#}	68.96±6.71 ^{ab#}	72.79±5.23 ^{abc#}
Activator	76.89±6.25	36.24±6.51 ^{a#}	29.53±6.22 ^{ab#}	24.90±6.11 ^{abc#}
Activator+Vitamin D	75.83±7.44	56.74±6.85 ^{a△▲}	60.29±6.44 ^{ab△▲}	67.85±6.27 ^{abc△▲}
<i>F</i> value	$F_{\text{time effect}}=117.300, F_{\text{group effect}}=186.100, F_{\text{interaction effect}}=28.970$			
<i>P</i> value	$P_{\text{time effect}}<0.001, P_{\text{group effect}}<0.001, P_{\text{interaction effect}}<0.001$			

* $P<0.05$ vs Control group; # $P<0.05$ vs Model group; △ $P<0.05$ vs Vitamin D group; ▲ $P<0.05$ vs Activator group; ^a $P<0.05$ vs same group pre-operation; ^b $P<0.05$ vs 5 days post-operation; ^c $P<0.05$ vs 10 days post-operation.

2.3 H₂S 含量测定结果 与对照组比较，模型组大鼠术后各个时间点 H₂S 含量均升高（ $P<0.05$ ）；与模型组比较，维生素 D 组大鼠术后各个时间点 H₂S 含量均降低（ $P<0.05$ ）；与维生素 D 组比较，激活剂+维生素 D 组大鼠术后各个时间点 H₂S 含量均升高（ $P<0.05$ ）；与激活剂组比较，激活剂+维生素 D 组大鼠术后各个时间点 H₂S 含量均降低（ $P<0.05$ ）。术前各组大鼠 H₂S 含量比较，差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）。见表 4。

表 4 各组大鼠血清 H₂S 含量比较（ $\bar{x}\pm s$, $\mu\text{mol/L}$, $n=10$ ）

Tab.4 Comparison of H₂S content of rats in every each group ($\bar{x}\pm s$, $\mu\text{mol/L}$, $n=10$)

Group	Pre-operation	5 days	10 days	14 days
		post-operation	post-operation	post-operation
Control	6.28±0.74	6.75±0.65	6.19±0.44	6.80±0.65
Model	6.93±0.55	23.84±2.65 ^{a*}	20.90±2.53 ^{ab*}	15.67±2.33 ^{abc*}
Vitamin D	6.34±0.46	18.45±3.11 ^{a#}	16.78±2.04 ^{ab#}	10.19±2.42 ^{abc#}
Activator	7.19±0.77	26.51±2.19 ^{a#}	23.49±2.36 ^{ab#}	20.31±2.50 ^{abc#}
Activator+Vitamin D	6.81±0.43	20.69±2.15 ^{a△▲}	18.08±2.12 ^{ab△▲}	12.54±2.07 ^{abc△▲}
<i>F</i> value	$F_{\text{time effect}}=424.700, F_{\text{group effect}}=264.600, F_{\text{interaction effect}}=32.140$			
<i>P</i> value	$P_{\text{time effect}}<0.001, P_{\text{group effect}}<0.001, P_{\text{interaction effect}}<0.001$			

* $P<0.05$ vs Control group; # $P<0.05$ vs Model group; △ $P<0.05$ vs Vitamin D group; ▲ $P<0.05$ vs Activator group; ^a $P<0.05$ vs same group pre-operation; ^b $P<0.05$ vs 5 days post-operation; ^c $P<0.05$ vs 10 days post-operation.

2.4 疼痛相关物质水平测定结果 与对照组比较，模型组大鼠 CGRP 和 PGE2 水平均升高

($P<0.05$)；与模型组比较，维生素 D 组大鼠 CGRP 和 PGE2 水平均降低 ($P<0.05$)；与维生素 D 组比较，激活剂+维生素 D 组大鼠 CGRP 和 PGE2 水平均升高 ($P<0.05$)；与激活剂组比较，激活剂+维生素 D 组大鼠 CGRP 和 PGE2 水平均降低 ($P<0.05$)。术前各组大鼠 CGRP 和 PGE2 水平比较，差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 5。

表 5 各组大鼠 CGRP 和 PGE2 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab.5 Comparison of CGRP and PGE2 levels in rats in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Group	CGRP (pg/g)	PGE2 (ng/g)
Control	34.99±4.06	41.95±6.33
Model	133.46±10.87*	125.86±11.44*
Vitamin D	61.85±8.53 [#]	55.25±7.71 [#]
Activator	165.79±11.24 [#]	187.36±14.05 [#]
Activator+Vitamin D	104.67±12.95△▲	87.35±8.67△▲

* $P<0.05$ vs Control group; [#] $P<0.05$ vs Model group; △ $P<0.05$ vs Vitamin D group; ▲ $P<0.05$ vs Activator group.

2.5 蛋白印迹法检测结果

与对照组比较，模型组大鼠术后 NF-κBp65 和 CBS 蛋白表达量均升高，VDR 蛋白表达量降低 (LSD- $t=28.743$ 、 37.477 、 26.175 , $P<0.05$)；与模型组比较，维生素 D 组大鼠术后 NF-κBp65 和 CBS 蛋白表达量均降低，VDR 蛋白表达量升高 (LSD- $t=24.947$ 、 13.156 、 14.322 , $P<0.05$)；与维生素 D 组比较，激活剂+维生素 D 组大鼠术后 NF-κBp65 和 CBS 蛋白表达量均升高，VDR 蛋白表达量降低 (LSD- $t=14.643$ 、 6.336 、 10.371 , $P<0.05$)；与激活剂组比较，激活剂+维生素 D 组大鼠术后 NF-κBp65 和 CBS 蛋白表达量均降低，VDR 蛋白表达量升高 (LSD- $t=29.227$ 、 14.406 、 11.739 , $P<0.05$)。见表 6、图 1。

表 6 各组大鼠 L4-L6 背根神经节中 NF-κBp65、CBS 和 VDR 蛋白表达量比较($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab.6 Comparison of the expressions levels of VDR, NF-κB p65 and CBS protein in the L4-L6 segments of the rat spinal cord among different groups of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Group	NF-κBp65	CBS	VDR
Control	0.15±0.03	0.12±0.02	0.76±0.05
Model	0.68±0.05*	0.65±0.04*	0.23±0.04*

Vitamin D	0.22±0.03 [#]	0.35±0.06 [#]	0.52±0.05 [#]
Activator	0.84±0.06 [#]	0.94±0.07 [#]	0.10±0.04 [#]
Activator+Vitamin D	0.49±0.05 ^{△▲}	0.52±0.06 ^{△▲}	0.31±0.04 ^{△▲}

* $P<0.05$ vs Control group; [#] $P<0.05$ vs Model group; [△] $P<0.05$ vs Vitamin D group group; [▲] $P<0.05$ vs Activator group.

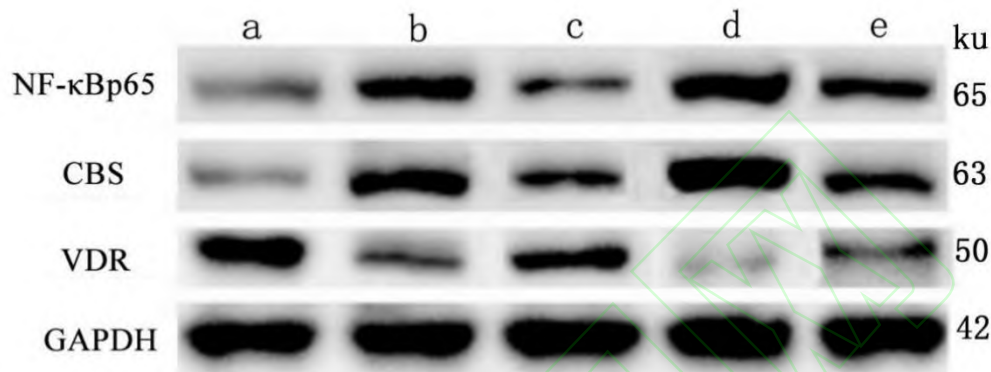


图1 NF-κB p65、CBS 和 VDR 蛋白表达电泳图

Fig.1 Western blot showed the expression of CBS, NF-κB p65 and VDR protein in rats

a: Control group; b: Model group; c: Vitamin D group; d: Activator group; e: Activator + Vitamin D group.

3 讨论

维生素 D 是一种类固醇激素，除参与钙磷代谢平衡外，其与高血压、肥胖症、代谢性和自身免疫性疾病等多种疾病有关^[8]。在大鼠神经系统内的感觉神经元存在大量 VDR 及其代谢酶，提示维生素 D 不足可能影响疼痛感知。研究发现^[9]，外源性补充维生素 D 可显著缓解 CCI 大鼠神经痛，提高疼痛阈值。文献报道^[10]，维生素 D 缺乏与带状疱疹后遗神经痛的严重程度和持续时间具有正相关性。此外，维生素 D 通过降低神经炎症反应可提高慢性神经痛大鼠对疼痛的阈值^[11]。背根神经节是初级感觉神经元胞体汇聚之地，具有传输和调节机体感觉、接受和传导伤害性感受的功能。L4-L6 背根神经节位于腰段，该区域的 DRG 体积较大，且与众多上、下肢脊神经的发源节段有关，这使得它们在神经病理性疼痛中扮演重要角色。本研究结果显示，模型组大鼠术后各时间点 25 (OH) D₃ 水平、PWT 和 MWT 均低于对照组，而维生素 D 组大鼠各时间点 25 (OH) D₃ 水平、PWT 和 MWT 均高于模型组，此结果提示，CCI 大鼠维生素 D 水平降低，而且对疼痛的敏感性增强，外源性补充维生素 D 可降低大鼠对疼痛的敏感性。CGRP 和 PGE2 的表达水平与疼痛关系密切，CGRP

表达增多可导致痛觉敏感性提高,并长时间维持伤害性疼痛及炎症性疼痛状态,加重患者疼痛感^[12]。本研究结果显示,模型组 CGRP 和 PGE2 水平高于对照组,维生素 D 组二者水平均低于模型组。此结果提示维生素 D 可降低 CCI 大鼠疼痛介质的表达水平,缓解大鼠疼痛程度。

NF- κ B 是由 Rel 家族构成的二聚体蛋白,参与多种基因的转录调控,而且对多种疼痛基因的表达和编码具有调节作用。研究^[13-14]表明, NF- κ B 在 CCI 大鼠脊髓中高表达,其诱导神经炎症反应,造成神经性疼痛。在疼痛的传递过程中,细胞外伤害感受信号的转导需要细胞内信号分子的参与, H₂S 作为一种内源性气体信号分子,参与炎症、突触活动以及细胞凋亡等病理生理过程,同时在痛觉调制中发挥重要作用^[15-17]。CBS 是 H₂S 的重要合成酶,主要在神经系统表达,研究^[18-19]表明, CBS 在腰椎间盘突出症大鼠脊髓中高表达且大鼠疼痛阈值降低,当鞘内注射 CBS 抑制剂 AOAA 后可显著性降低神经元的兴奋性并减轻痛觉过敏,说明 CBS-H₂S 信号通路在神经痛的发展中具有重要意义。为进一步探讨维生素 D 缓解 CCI 大鼠神经痛的具体机制,本研究通过腹腔注射脂多糖激活 NF- κ B 表达,同时给予维生素 D 治疗,结果显示,与激活剂组比较,激活剂+维生素 D 组大鼠各时间点 25(OH)D₃ 水平、PWT 和 MWT 升高;术后 CGRP 和 PGE2 的表达水平, NF- κ Bp65 和 CBS 蛋白表达量以及 H₂S 含量均降低, VDR 水平升高,此结果提示维生素 D 可降低 NF- κ Bp65 表达活性,从而抑制 CBS-H₂S 系统,缓解 CCI 大鼠疼痛。

综上所述,维生素 D 可缓解 CCI 大鼠疼痛程度,其可能是通过抑制 NF- κ B/CBS-H₂S 信号通路发挥作用。但是本研究仍存在不足之处,首先对维生素 D 发挥作用的具体机制研究不够深入,其次本研究仅涉及动物模型,缺乏细胞水平的验证,因此本研究需要进一步的补充和完善。

参考文献

- [1] Li Y, Chandra T P, Song X, et al. H₂S improves doxorubicin-induced myocardial fibrosis by inhibiting oxidative stress and apoptosis *via* Keap1-Nrf2[J]. *Technol Health Care*, 2021, 29(S1): 195-209. doi: 10.3233/THC-218020.
- [2] Tian J J, Tan C Y, Chen Q Y, et al. Upregulation of Nav1.7 by endogenous hydrogen sulfide contributes to maintenance of neuropathic pain[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 46(2): 782-94. doi: 10.3892/ijmm.2020.4611.
- [3] Chen H, Ma D, Zhang H, et al. Antinociceptive effects of oleuropein in experimental models

of neuropathic pain in male rats[J]. Korean J Pain, 2021, 34(1): 35-46. doi: 10.3344/kjp.2021.34.1.35.

[4] Baska P, Norbury L J. The role of nuclear factor kappa B (NF- κ B) in the immune response against parasites[J]. Pathogens, 2022, 11(3): 310. doi: 10.3390/pathogens11030310.

[5] Dong B, Zhou Y, Wang W, et al. Vitamin D receptor activation in liver macrophages ameliorates hepatic inflammation, steatosis, and insulin resistance in mice[J]. Hepatology, 2020, 71(5): 1559-74. doi: 10.1002/hep.30937.

[6] Valle M S, Russo C, Malaguarnera L. Protective role of vitamin D against oxidative stress in diabetic retinopathy[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2021, 37(8): e3447. doi: 10.1002/dmrr.3447.

[7] Santos M C Q, da Silva T C B, da Silva F B O, et al. Effects of vitamin D administration on nociception and spinal cord pro-oxidant and antioxidant markers in a rat model of neuropathic pain[J]. Braz J Med Biol Res, 2021, 54(10): e11207. doi: 10.1590/1414-431X2021e11207.

[8] 贾 斌, 梁思敏. 维生素 D₃ 对小鼠支气管哮喘气道炎症和氧化应激反应的作用及其分子机制 [J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(1): 58-63. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.010.

[8] Jia B, Liang S M. The effects and molecular mechanisms of vitamin D₃ on airway inflammation and oxidative stress response in a mouse model of bronchial asthma[J]. Acta Univ Med Anhui, 2024, 59(1): 58-63. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.01.010.

[9] Habib A M, Nagi K, Thillaiappan N B, et al. Vitamin D and its potential interplay with pain signaling pathways[J]. Front Immunol, 2020, 11: 820. doi: 10.3389/fimmu.2020.00820.

[10] Seetan K, Albashir S, Jarrar B, et al. Assessment of serum vitamin D levels in the serum of patients with postherpetic neuralgia and its correlation to pain severity: a cross-sectional comparative study[J]. Int J Clin Pract, 2021, 75(11): e14750. doi: 10.1111/ijcp.14750.

[11] Poisbeau P, Aouad M, Gazzo G, et al. Cholecalciferol (vitamin D₃) reduces rat neuropathic pain by modulating opioid signaling[J]. Mol Neurobiol, 2019, 56(10): 7208-21. doi: 10.1007/s12035-019-1582-6.

[12] Nakatani A, Kunimatsu R, Tsuka Y, et al. High-frequency near-infrared semiconductor laser irradiation suppressed experimental tooth movement-induced inflammatory pain markers in the periodontal ligament tissues of rats[J]. Lasers Med Sci, 2023, 38(1): 109. doi: 10.1007/s10103-023-03761-x.

- [13] Yang H, Wu L, Deng H, et al. Anti-inflammatory protein TSG-6 secreted by bone marrow mesenchymal stem cells attenuates neuropathic pain by inhibiting the TLR2/MyD88/NF- κ B signaling pathway in spinal microglia[J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 154. doi: 10.1186/s12974-020-1731-x.
- [14] Bian J, Zhang B, Zhang Y, et al. FGF 10 inhibited spinal microglial activation in neuropathic pain via PPAR- γ /NF- κ B signaling[J]. Neuroscience, 2022, 500: 52-62. doi: 10.1016/j.neuroscience.2022.07.033.
- [15] Wang J, Zhang N, Liu H Z, et al. H₂S alleviates neuropathic pain in mice by Nrf2 signaling pathway activation[J]. J Mol Neurosci, 2023, 73(6): 456-68. doi: 10.1007/s12031-023-02134-x.
- [16] Guo J, Li G, Yang L. Role of H₂S in pain: Growing evidences of mystification[J]. Eur J Pharmacol, 2020, 883: 173322. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173322.
- [17] Li H, Liu S, Wang Z, et al. Hydrogen sulfide attenuates diabetic neuropathic pain through NO/cGMP/PKG pathway and μ -opioid receptor[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2020, 245(9): 823-34. doi: 10.1177/1535370220918193.
- [18] Huerta de la Cruz S, Rodríguez-Palma E J, Santiago-Castañeda C L, et al. Exogenous hydrogen sulfide restores CSE and CBS but no 3-MST protein expression in the hypothalamus and brainstem after severe traumatic brain injury[J]. Metab Brain Dis, 2022, 37(6): 1863-74. doi: 10.1007/s11011-022-01033-1.
- [19] 王前亮, 严 军, 徐 敏, 等. 硫化氢参与腰椎间盘突出症模型大鼠痛觉高敏[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(10): 1747-50.
- [19] Wang Q L, Yan J, Xu M, et al. H₂S expression in the hyperalgesia of rat lumbar disc herniation model[J]. Chin J Exp Surg, 2017, 34(10): 1747-50.