·如意珍宝丸临床与基础研究专题·

［编者按］ 如意珍宝丸源自藏族药经典名方珍宝丸，由短穗兔耳草、珍珠母、红花、肉豆蔻、毛诃子、荜茇、肉桂、藏木香、人工麝香、沉香、诃子、决明子等30味药材组成，具有清热、醒脑开窍、舒筋通络、干黄水等功效，是藏族医学治疗白脉病的首选药物，在三叉神经痛、偏头痛、带状疱疹后神经痛等神经病理性疼痛、关节性疼痛及中风后遗症的治疗中具有良好的临床疗效。然而，其临床疗效特点、优势环节、药效物质与作用机制均不明确。围绕上述关键科学问题，特别编发该专题，内容包括：通过前瞻性的多中心、随机、双盲、安慰剂、平行对照临床试验，证实了如意珍宝丸对初、早期膝骨关节炎患者的西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数（WOMAC）评分、视觉模拟（VAS）评分应答率、WOMAC疼痛评分、WOMAC功能评分和中医证候评分均具有良好的临床疗效，填补了该品种治疗膝骨关节炎循证证据的不足；采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱法，定性解析了如意珍宝丸所含化学成分及其入血、入脑成分，为诠释其多成分、多靶点、多层次的协同作用机制奠定了数据基础；采用Ⅳ型胶原酶丘脑腹后外侧核区显微注射的方式，成功制备了小鼠卒中后中枢痛模型，并基于此开展了系列药理学实验研究，不仅明确了如意珍宝丸可有效缓解其继发性损伤和中枢痛，还证实了该品种对卒中后痛觉过敏和脊髓中枢敏化的减轻药效，进而从神经炎症角度阐释了如意珍宝丸修复神经-血管单元及调控趋化因子信号轴的作用机制；从“药效-靶标-成分-药动”多维关联视角，系统解析了如意珍宝丸在血浆或脑脊液中暴露量较高、且对神经病理性疼痛具有较强干预作用的主要效应物质甘草酸、没食子酸、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷、芹菜素，相关结果为如意珍宝丸效应物质基础的明晰及其质量标准的制定提供了可靠的实验证据。上述临床与基础研究内容有助于明确如意珍宝丸的独特疗效优势、揭示其物质基础与机体生命活动的交互作用及规律，也为解析藏族药复杂体系的作用模式提供了良好示范。该专题期冀为同行提供有价值的信息，促进民族医药的传承与发展。

如意珍宝丸干预卒中后中枢痛小鼠痛觉过敏及脊髓中枢敏化的药效特点及神经炎症机制

黄奥晴[1,2]，王文丽[2]，刘莹[2]，王海苹[3]，朱春燕[2*]，林娜[1,2*]
（1. 广州中医药大学 科技创新中心，广州 510405；
2. 中国中医科学院 中药研究所，北京 100700；3. 金诃藏药股份有限公司，西宁 810003）

［摘要］ **目的：**明确如意珍宝丸（RYZBW）干预卒中后中枢痛（CPSP）小鼠痛觉过敏及脊髓中枢敏化的药效特点及神经炎症机制。**方法：**SPF级雄性8周龄ICR小鼠，分为假手术组（Sham）、模型组（CPSP）、如意珍宝丸低（RYZBW-L）、中（RYZBW-M）、高（RYZBW-H）剂量组和普瑞巴林组（PGB）。在第1天进行丘脑腹后外侧核Ⅳ型胶原酶注射以构建CPSP模型。第14~17天进行灌胃给药，其中Sham及CPSP给予等体积生理盐水，RYZBW-L/M/H组给予0.303、0.607、1.214 g·kg^{-1}如意珍宝丸，PGB给予0.046 g·kg^{-1}普瑞巴林；分别于第0、3、4、7、10、14、17天进行机械痛敏检测，第18天取脊髓L_5段采用免疫炎症芯片检测炎症因子、酶联免疫吸附测定法（ELISA）检测CXC型趋化因子配体16（CXCL16）、免疫组化法检测降钙素基因相关肽（cGRP）、荧光双标分析CXCL16、树突状细胞标记物CD11c、巨噬细胞标记物CD68、小胶质细胞标记物TMEM119、内皮细胞标记物CD31、CXCR6及T细胞标记物CD3的表达情况。**结果：**与Sham组比较，CPSP组在第3~17天的机械痛阈值显著低于Sham组，具有稳定的痛觉过敏症状。第7天PGB组的机械痛阈值显著高于CPSP组，具有明显镇痛效果（$P<0.01$）。第10~17天，RYZBW-H组的机械痛阈值明显高于CPSP组，展现出稳定的镇痛效果（$P<0.05$）。第17天，如意珍宝丸的镇痛效果呈量效相关（$R^2=0.303\ 7$）；第4~17天，RYZBW-H组机械痛阈值与时间正相关（$R^2=0.111\ 5$），上述结果提示RYZBW的镇痛呈时效相关。第17天CPSP小鼠脊髓背角内中枢敏化标志物cGRP表达量相比于Sham组明显增加（$P<0.05$），RYZBW以剂量依赖的方式将其下调（$R^2=0.500\ 8$），提示如意珍宝丸显著抑制CPSP导致的脊髓中枢敏化。第17天的脊髓炎症芯片结果显示，与CPSP组比较，

［收稿日期］ 2024-09-08
［基金项目］ 青海省中央引导地方科技发展资金项目（2023ZY025）；中国中医科学院中药研究所技术研发项目（20230301）；国家科技重大专项—重大新药创制项目（2019ZX09731-002）
［第一作者］ 黄奥晴，在读硕士，从事中药药性与中药药理学研究，E-mail：huangaoqing0606@163.com
［通信作者］ * 朱春燕，博士，从事中药药性与中药药理学研究，E-mail：xijiangyue3013@163.com；
* 林娜，博士，研究员，从事中药药性与中药药理学研究，E-mail：linna888@163.com

RYZBW-H组抑制CXCL16表达(P<0.01)。基于独立重复样品的ELISA结果表明,如意珍宝丸对CXCL16的蛋白脊髓表达的抑制呈剂量依赖性(R^2=0.250 4);免疫荧光双标结果显示,与Sham组比较,CPSP组CD11c阳性的树突细胞内CXCL16表达量增加,CD68阳性细胞数量增加(P<0.05),与CPSP组比较,RYZBW将其下调:CD31阳性的内皮细胞、CD68阳性的巨噬细胞、TMEM119阳性的小胶质细胞内,CXCL16表达量均增加,TMEM119阳性的小胶质细胞细数量、胞体面积均显著增加(P<0.05);CD3阳性的T细胞数量(P<0.05)及其中CXCR6表达量增加。如意珍宝丸以剂量依赖性抑制内皮细胞、巨噬细胞的激活,减少小胶质细胞、T细胞浸润(R^2=0.691 4,R^2=0.551 5,R^2=0.653 2,R^2=0.180 6,R^2=0.287 5,R^2=0.298 6,R^2=0.511 6)。**结论**:RYZBW可有效缓解CPSP小鼠卒中后中枢痛痛觉过敏及脊髓中枢敏化,其机制与调控CXCL16-CXCR6配体-受体、抑制小胶质细胞及巨噬细胞浸润及激活、树突状细胞、内皮细胞及T细胞活化有关。

［**关键词**］ 如意珍宝丸;卒中后中枢痛;小胶质细胞;巨噬细胞;树突状细胞

［**中图分类号**］ R2-0;R33;R742;R24 ［**文献标识码**］ A ［**文章编号**］ 1005-9903(2024)24-0036-11

［**doi**］ 10.13422/j.cnki.syfjx.20241743

［**网络出版地址**］ https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20241025.1941.002

［**网络出版日期**］ 2024-10-28 10:08:34

Pharmacodynamic Characteristics and Neuroinflammatory Mechanisms of Ruyi Zhenbaowan in Treating Nociceptive Hypersensitivity and Central Sensitisation of Spinal Cord in Mouse Model of Central Post-stroke Pain

HUANG Aoqing, WANG Wenli, LIU Ying, WANG Hai ping, ZHU Chunyan*, LIN Na*

(1. *Science and Technology Innovation Center*, *Guangzhou University of Chinese Medicine*, *Guangzhou* 510405, *China*; 2. *Institute of Chinese Materia Medica*, *China Academy of Chinese Medical Sciences*, *Beijing* 100700, *China*; 3. *Arura Tibetan Medicine Co. Ltd.*, *Xining* 810003, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To clarify the pharmacodynamic characteristics and neuroinflammatory mechanisms of Ruyi Zhenbaowan (RYZBW) in treating nociceptive hypersensitivity and central sensitisation of spinal cord in the mouse model of central post-stroke pain (CPSP). **Method**: SPF-grade male ICR mice of 8 weeks old were assigned into the sham operation (Sham), model (CPSP), low-, medium-, and high-dose (0.303, 0.607 1.214 g·kg^{-1}) RYZBW (RYZBW-L, RYZBW-M, and RYZBW-H, respectively), and pregabalin (PGB, 0.046 g·kg^{-1}, positive control) groups. The rat model of CPSP was established by injection of type Ⅳ collagenase into the ventral posterior lateral nucleus of the thalamus on day 1. Rats were administrated with corresponding drugs or normal saline (Sham and CPSP groups) by gavage from day 14 to day 17. The mechanical pain sensitivity test was performed on days 0, 3, 4, 7, 10, 14, 17. On day 18, the L_5 segment of spinal cord was collected for the detection of inflammatory cytokines by immunoinflammatory microarray, CXC chemokine ligand 16 (CXCL16) by enzyme-linked immunosorbent assay, and calcitonin gene-related peptide (cGRP) by immunohistochemistry. In addition, fluorescence dual-labeling was employed to determine the expression levels of CXCL16, the dendritic cell marker CD11c, the macrophage marker CD68, the microglia marker TMEM119, the endothelial cell markers CD31 and CXCR6, and the T cell marker CD3. **Result**: Compared with the Sham group, the mechanical pain threshold of the CPSP group was significantly lower than that of the Sham group from day 3 to day 17, with stable hyperalgesia symptoms. On the 7th day, the mechanical pain threshold of the PGB group was significantly higher than that of the CPSP group, with significant analgesic effect (P<0.01). On days 10-17, the mechanical pain threshold of the RYZBW-H group was significantly higher than that of the CPSP group, showing a stable analgesic effect (P<0.05). On the 17th day, the analgesic effect of RYZBW was dose-effect correlated (R^2=0.303 7). From day 4 to day 17, the mechanical pain threshold of RYZBW-H group was positively correlated with time (R^2=0.111 5). The above results suggested that the analgesia of RYZBW was time-dependent. On the 17 th day, the expression of central sensitization marker cGRP

in the spinal dorsal horn of CPSP mice was significantly increased compared with the Sham group (P<0.05), and RYZBW down-regulated it in a dose-dependent manner (R^2=0.500 8), suggesting that RYZBW significantly inhibited the central sensitization of the spinal cord caused by CPSP. The results of spinal cord inflammation chip on the 17th day showed that compared with CPSP group, RYZBW-H group inhibited CXCL16 expression (P<0.01).The results of ELISA based on independent repeated samples showed that RYZBW inhibited the expression of CXCL16 protein in spinal cord in a dose-dependent manner (R^2=0.250 4). The results of immunofluorescence double labeling showed that compared with Sham group, the expression of CXCL16 in CD11c positive dendritic cells in CPSP group increased, and the number of CD68 positive cells increased (P<0.05). Compared with CPSP group, RYZBW down-regulated it: the expression of CXCL16 in CD31 positive endothelial cells, CD68 positive macrophages and TMEM119 positive microglia increased, and the number and cell body area of TMEM119 positive microglia increased significantly (P<0.05). The number of CD3 positive T cells (P<0.05) and the expression of CXCR6 in CD3 positive T cells were increased. RYZBW inhibited the activation of endothelial cells and macrophages in a dose-dependent manner, and reduced the infiltration of microglia and T cells (R^2=0.691 4, R^2=0.551 5, R^2=0.653 2, R^2=0.180 6, R^2=0.287 5, R^2=0.298 6, R^2=0.511 6). **Conclusion:** RYZBW can effectively alleviate nociceptive hypersensitivity and central sensitisation of the spinal cord in CPSP mice by regulating CXCL16-CXCR-6, inhibiting the infiltration and activation of microglia and macrophages, and the activation of dendritic cells, endothelial cells, and T cells.

[**Keywords**] Ruyi Zhenbaowan; central post-stroke pain; microglia; macrophages; dendritic cells

脑卒中后中枢性疼痛(CPSP)是一种继发于脑卒中后的中枢性神经病理性疼痛,是以自发性疼痛、触诱发痛与痛觉过敏等典型症状为主的临床综合征[1-2]。CPSP的高患病率和疾病负担仍需要关注其有效治疗的研究,以期改善患者疼痛全周期的康复状态和生活质量[3-4]。目前,临床中治疗常用药物为阿米替林、普瑞巴林及度洛西汀等,不仅镇痛效果非常有限,且具有耐药性及戒断风险[5-7]。因此,寻求一种积极有效的针对神经性疼痛尤其是卒中后中枢痛的治疗方式很有必要。

研究显示,中枢敏化是CPSP的标志性病理过程,而中枢敏化的形成与神经炎症密切相关。在CPSP病理状态下,传入的神经兴奋信号及外周炎症因子、细胞激活脊髓胶质细胞;进而,活化脊髓胶质细胞释放促炎细胞因子、趋化因子和神经肽,改变神经元的兴奋性及可塑性、导致中枢敏化的形成[8-11]。因此,抑制神经炎症反应是治疗卒中后中枢痛的重要手段。

藏族药经典名方如意珍宝丸(RYZBW)处方源自第司·桑杰嘉措著的《藏医医诀补遗》中,由珍珠母、红花、沉香等30味药材组成,具有清热、醒神开窍、舒筋通络、治疗干黄水的功效,是藏医治疗白脉病的有效药物。临床研究也显示如意珍宝丸可有效治疗脑梗死、脑出血、周围性面瘫、三叉神经痛等神经系统疾病[12-14]。课题组前期对如意珍宝丸干预卒中后中枢痛小鼠模型的作用特点和机制开展了系列研究,证实如意珍宝丸可发挥稳定的镇痛、抗炎效果;并初步从神经-血管单元角度阐释如意珍宝丸干预卒中后中枢痛急性期的药理机制[15-21]。但其何以对卒中后中枢痛慢性期能发挥优势药效,其关键作用途径及神经炎症角度相关机制如何,仍需进一步阐明。基于此,本研究以小鼠丘脑腹后外侧核注射Ⅳ型胶原酶构建CPSP模型[22],以一线药物普瑞巴林为阳性药,通过对核心症状-痛觉过敏及关键病机-脊髓中枢敏化的评价,明确RYZBW的药效特点;进一步,通过免疫炎症芯片,从神经炎症的角度,明确RYZBW干预CPSP脊髓神经炎症的主要药理靶标;通过神经炎症及其受体与主要神经炎症细胞的共定位及定量分析,明确RYZBW调控CPSP脊髓神经炎症的药理途径。相关研究将为RYZBW的临床应用完善理论基础、提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 108只SPF级雄性8周龄ICR小鼠,体质量(35±2) g,购于北京大学医学部(实验动物部),实验动物使用许可证号SYXK(京)2021-0017。饲养于中国中医科学院医学实验中心,合格证号SCXK(京)202100013,空调控温,室温23~25 ℃,相对湿度70%~80%,日光灯控明,模拟正常昼夜节律交替,自由摄食饮水。本实验中涉及操作均符合中国中医科学院医学实验中心伦理委员会要求和标

准(伦理号ERCCACMS21-2406-01)。

1.2 药物与试剂 RYZBW(金诃藏药股份有限公司,货号01221026);普瑞巴林(PGB,辉瑞公司,货号AL7186);Ⅳ型胶原酶、CD3抗体(美国Thermo Fisher公司,货号分别为2522439、14-00322-82);异氟烷(深圳瑞沃德生命科技有限公司,货号R510-22-10);曲拉通X-100(北京普利莱基因技术有限公司,货号A1009);CXC型趋化因子配体16(CXCL16)抗体、CD31抗体(中国Protenitech公司,货号分别为60123-1-Ig、28083-1-AP);CXC趋化因子受体6型(CXCR6)抗体(美国Immunoway公司,货号YT5398);跨膜蛋白119(TMEM119)抗体、Ly6G+Ly6C抗体(英国Abcam公司,货号分别为ab209064、ab25377);CD68抗体(中国爱博泰克公司,货号A6554);CD11c抗体(美国Cell Signaling Technology公司,货号#97585S);山羊抗小鼠594、山羊抗大鼠488、山羊抗兔488二抗(美国Earthox公司,货号分别为E032410-01、E032240-01、W032220-01);Luminex试剂盒(美国Bio-Rad公司,货号12009159);CXCL6酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号E-EL-M0270c)。

1.3 仪器 68505型脑立体定位仪(深圳瑞沃德生命科技有限公司);210B1210型冰冻切片机(美国Thermo Scientific公司);FV1000型激光扫描共聚焦显微镜(日本Olympus公司);X-200型Luminex液相芯片仪、CIN-0269-01型磁力板(美国Luminex公司);Sigma 3K15型台式高速冷冻离心机(德国Sigma公司);CRYOSTAR NX70型冰冻切片机(英国Epredia公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药 将108只雄性ICR小鼠随机分为6组,即假手术组(Sham)、模型组(CPSP)、PGB组(0.046 g·kg^{-1},相当于临床2倍等效剂量),RYZBW低剂量(RYZBW-L)组(0.303 g·kg^{-1},相当于临床0.5倍等效剂量)、中剂量(RYZBW-M)组(0.607 g·kg^{-1},相当于临床1倍等效剂量)、高剂量(RYZBW-H)组(1.214 g·kg^{-1},相当于临床2倍等效剂量)。所有药物均经粉碎后用生理盐水配制,并等分成2份,于模型构建后第4天根据体质量以10 mL·kg^{-1}的体积配制药物溶液。即RYZBW-L、RYZBW-M、RYZBW-H组灌胃质量浓度分别为15.17、30.34、60.7 g·L^{-1},Sham组、CPSP组小鼠灌胃等体积生理盐水,每日2次,共给药14 d。

2.2 动物模型的制备 动物适应性饲养3 d。进行基础机械痛阈值检测。采用小鼠VPL立体定位注射Ⅳ型胶原酶[14],建立CPSP模型。在常温下,异氟烷呼吸麻醉小鼠,将小鼠俯卧位固定在立体定向仪上,定位右侧丘脑腹后外侧核(VPL),坐标为前囟前1.4 mm,中线右旁1.5 mm。用微量进样器垂直进针,缓慢注射,持续时间10 min,进针深度3.6 mm。注射后停针10 min,缝合。每只动物注射浓度为0.2 UI·μL^{-1}的Ⅳ型胶原酶(0.2 μL·min^{-1}),Ⅳ型胶原酶用生理盐水配制,Sham组小鼠注射同体积生理盐水。

2.3 检测方法

2.3.1 up-down法检测小鼠机械痛 按照经典Von Frey检测方法[23],分别在模型构建第0、3、4、7、10、14、17天,第1次给药后2 h使用0.008~0.4 g的Von Frey纤维针刺激小鼠左后足脚掌部位,以纤维针轻微弯曲变形为结果判定标准,持续6~7 s,小鼠出现缩足、抖足、舔足等行为记为阳性反应。循环6轮,每轮间隔时间不低于5 min,进行左足机械痛阈值检测,记录数据并计算机械痛阈值。检测前将小鼠放置于有机玻璃盒静息30 min。

2.3.2 免疫组化法检测小鼠脊髓组织中CGRP表达情况 冰冻切片室温晾干,甲醇固定,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,加入内源性过氧化物酶阻断剂,抗原修复,PBS洗涤。BSAT室温封闭,添加一抗CGRP(1∶400)孵育。PBST洗涤,滴加酶标羊抗小鼠免疫球蛋白G(IgG)聚合物100 μL孵育,PBST洗涤,DAB显色液显色,封片。显微镜下镜检,图像采集分析。

2.3.3 Luminex液相悬浮芯片技术检测小鼠脊髓炎症因子 取Sham、CPSP、PGB及RYZBW-H组小鼠脊髓,提取蛋白并定量。根据Luminex试剂盒的说明书方法使用Luminex上机进行检测。检测指标包括CC趋化因子配体(CCL)1、CCL2、CCL3、CCL4、CCL5、CCL7、CCL11、CCL12、CCL17、CCL19、CCL20、CCL22、CCL24、CCL27、CXC趋化因子配体(CXCL)1、CXCL5、CXCL10、CXCL11、CXCL12、CXCL13、CXCL16、CX3C趋化配体(CX3CL)1、白细胞介素(IL)-1β、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-16、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、γ干扰素(IFN-γ)。

2.3.4 ELISA检测核心靶点CXCL16表达量 采用BCA法进行总蛋白浓度检测,根据ELISA说明书方法检测CXCL16的表达量。

2.3.5 免疫荧光检测小鼠脊髓组织CXCL16、CD11c、CD68、TMEM119、CD31、CXCR6及CD3表达 各组小鼠通过心脏灌流法进行取材，4%多聚甲醛固定，梯度蔗糖处理。组织包埋，制作冠状面冰冻切片。PBS清洗，5% BSAT封闭，分别孵育鼠抗CXCL16（1∶200）、兔抗CXCR6（1∶100）；PBST清洗，次日分别孵育兔抗CD68（1∶200）、CD11c（1∶200）、CD31（1∶5 000）、TMEM119（1∶100），和大鼠抗CD3（1∶100）、Ly6G（1∶200）；PBST清洗，滴加荧光羊抗鼠594、羊抗兔488和羊抗大鼠488（1∶400）避光孵育；滴加DAPI溶液（1∶1 000），PBST清洗，抗荧光淬灭剂封片。使用激光共聚焦显微镜镜下观察采集图像，Image J软件进行图像分析。

2.4 统计学分析 采用GraphPad Prism 9软件对数据进行统计学分析，所有数据均用$\bar{x} \pm s$表示，组间比较采用单因素方差分析，$P<0.05$为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对CPSP小鼠慢性期机械痛阈的影响 造模第3天与Sham组比较，各手术组小鼠50%缩足阈值均显著降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$），出现痛觉过敏症状，与CPSP组小鼠比较，第7天阳性药PGB组小鼠的50%缩足阈值显著升高达到峰值，镇痛效果最佳（$P<0.01$），但随后逐渐降低；第7~14天RYZBW-H组小鼠的50%缩足阈值稳定且显著升高（$P<0.05$，$R^2=0.250\ 4$），第10天药效达到最佳效果，且在第17天时与Sham组阈值无显著区别，说明痛敏症状逐渐消失。提示PGB在小鼠脑卒中后中枢痛镇痛过程中前期效果良好但后期改善不明显，而RYZBW-H可有效改善CPSP小鼠痛觉过敏，且在给药后7 d达到最佳镇痛效果，具备良好的慢性镇痛作用。见表1。

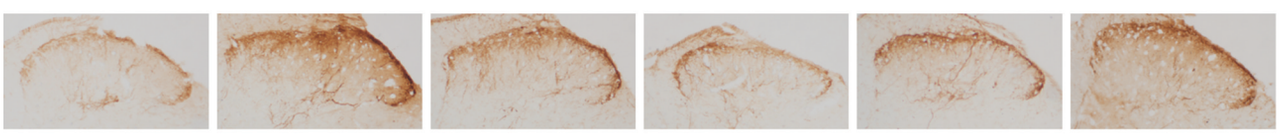
表1 如意珍宝丸对CPSP小鼠慢性期50%缩足阈值的影响（$\bar{x}\pm s$，n=8）

Table 1 Effect of Ruyi Zhenbaowan on 50% foot-shrinkage threshold in CPSP mice（$\bar{x}\pm s$，n=8） g

组别	剂量/g·kg^{-1}	第0天	第3天	第4天	第7天	第10天	第14天	第17天
Sham组		0.16±0.10	0.15±0.09	0.10±0.04	0.11±0.04	0.14±0.06	0.11±0.04	0.11±0.05
CPSP组		0.16±0.13	0.04±0.04[1)]	0.02±0.01	0.02±0.01	0.02±0.00	0.02±0.01	0.02±0.01
PGB组	0.046	0.13±0.12	0.03±0.01[3)]	0.06±0.05	0.08±0.05[4)]	0.06±0.06	0.07±0.05	0.04±0.02
RYZBW-H组	1.214	0.16±0.13	0.04±0.04[3)]	0.06±0.03	0.07±0.03	0.11±0.10[3)]	0.10±0.09[4)]	0.11±0.11[4)]
RYZBW-M组	0.607	0.14±0.07	0.03±0.01[3)]	0.06±0.05	0.04±0.04	0.04±0.02	0.05±0.04	0.04±0.01
RYZBW-L组	0.303	0.15±0.11	0.05±0.06[4)]	0.02±0.01	0.03±0.01	0.02±0.01	0.02±0.00	0.02±0.01

注：与Sham组比较[1)]$P<0.05$，[2)]$P<0.01$；与CPSP组比较[3)]$P<0.05$，[4)]$P<0.01$（表2-表8同）

3.2 对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中cGRP的影响 与Sham组比较，CPSP组小鼠脊髓中cGRP表达明显增加，差异具有统计学意义（$P<0.05$），与CPSP组比较，RYZBW-H、RYZBW-M组cGRP表达量明显下调，且存在剂量依赖性，差异具有统计学意义（$P<0.05$，$P<0.01$，$R^2=0.500\ 8$）。提示如意珍宝丸对CPSP诱导的小鼠脑卒中后中枢痛模型有抑制作用。见图1、表2。



A B C D E F

注：A.Sham组；B.CPSP组；C.PGB组；D.RYZBW-H组；E.RYZBW-M组；F.RYZBW-L组（图2-图6同）

图1 RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中cGRP表达的影响（免疫组化，×100）

Fig. 1 Effect of RYZBW on expression of cGRP in spinal cord tissues of CPSP mice in chronic phase（IHC，×100）

3.3 对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中炎症因子的影响 结果显示，与Sham组比较，其余各组各炎症因子水平差异均无统计学意义；与CPSP组比较，RYZBW-H组CXCL16含量显著降低（$P<0.01$）；RYZBW各剂量组中CXCL16含量与RYZBW的剂量存在相关性（$R^2=0.250\ 4$）。见表3、表4。

3.4 对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中树突状细胞、内皮细胞及巨噬细胞趋化的影响 与Sham组比较，CPSP组CXCL16$^+$CD11c$^+$表达量显著升高（$P<0.01$），与CPSP组比较，RYZBW-H组CXCL16$^+$CD11c$^+$表达量显著降低（$P<0.01$），提示RYZBW能抑制CPSP小鼠脊髓中树突状细胞活化。与Sham组比较，CPSP

表2 RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中cGRP的影响（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Table 2 Effect of RYZBW on cGRP in spinal cord tissues of CPSP mice（$\bar{x}\pm s$，n=5）

组别	剂量/g·kg^{-1}	cGRP/10^{6}像素
Sham组		48.23±1.24
CPSP组		63.10±2.74[1)]
PGB组	0.046	54.74±3.88[3)]
RYZBW-H组	1.214	52.70±1.74[3)]
RYZBW-M组	0.607	56.89±1.13[4)]
RYZBW-L组	0.303	58.85±4.51

组CXCL16$^+$CD31$^+$表达增加（P<0.05），与CPSP组比较，RYZBW-H组CXCL16$^+$CD31$^+$表达明显降低（P<0.05），且存在剂量依赖性（R^2=0.691 4），提示RYZBW能够抑制CPSP小鼠脊髓中内皮细胞的活化。结果显示，与Sham组比较，CPSP组CXCL16$^+$CD68$^+$表达量明显增加（P<0.05），CXCL16$^-$CD68$^+$数量明显增加（P<0.05）；与CPSP组比较，RYZBW-L/M/H组CXCL16$^+$CD68$^+$表达量降低，且呈量效相关性（R^2=0.551 5），RYZBW-H组CXCL16$^-$CD68$^+$数量显著降低（P<0.01），提示RYZBW能够抑制CPSP小鼠脊髓中巨噬细胞浸润。见图2-图4、表5。

表3 RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中炎症因子的影响（$\bar{x}\pm s$，n=4）

Table 3 Effect of RYZBW on inflammatory factors in spinal cord tissues of CPSP mice（$\bar{x}\pm s$，n=4） ng·L^{-1}

组别	剂量/g·kg^{-1}	CCL20	IL-1β	CXCL5	TNF-α	GM-CSF	CX3CL1	CCL1
Sham组		8.74±2.90	12.32±4.84	39.56±4.00	61.22±4.30	0.38±0.10	231.9±7.53	2.52±0.28
CPSP组		8.91±1.56	14.40±4.08	37.57±8.26	64.41±11.53	0.45±0.10	259.3±19.99	2.37±0.52
PGB组	0.046	6.23±0.91	14.20±4.39	41.48±5.10	53.94±6.35	0.40±0.11	275.9±47.27	2.18±0.43
RYZBW-H组	2.426	7.55±0.98	10.99±1.60	34.50±4.12	52.39±5.92	0.50±0.10	274.8±15.05	2.29±0.07

组别	剂量/g·kg^{-1}	CXCL13	IL-16	IFN-γ	CXCL10	IL-2	CXCL11	IL-6
Sham组		91.68±13.03	138.30±13.32	9.04±0.85	459.90±40.13	2.24±0.36	171.90±33.73	3.69±0.86
CPSP组		254.90±356.50	127.20±36.15	8.85±1.63	416.00±81.11	1.10±0.49	178.50±24.49	3.87±0.73
PGB组	0.046	125.90±83.92	106.30±16.22	7.10±0.56	409.60±36.85	1.62±0.16	174.40±71.14	3.56±0.35
RYZBW-H组	2.426	234.20±149.40	126.40±15.26	8.00±0.36	395.30±58.66	1.73±0.22	168.90±0.00	3.65±0.44

组别	剂量/g·kg^{-1}	IL-4	CCL7	CCL12	CCL2	CCL22	CCL5	IL-10
Sham组		5.19±0.63	5.10±0.54	1.45±0.55	40.45±8.58	7.90±1.48	13.83±2.94	73.68±21.19
CPSP组		5.50±0.85	4.78±0.45	3.59±2.74	38.29±3.60	8.44±0.87	18.68±7.25	62.72±10.56
PGB组	0.046	5.66±0.74	5.04±0.88	2.68±1.32	30.45±5.59	8.16±2.25	13.83±3.89	60.76±18.98
RYZBW-H组	2.426	4.64±0.88	4.75±0.43	6.23±5.47	35.52±6.22	7.63±0.68	15.45±1.28	59.72±3.82

组别	剂量/g·kg^{-1}	CXCL1	CCL27	CCL17	CCL19	CXCL16	CXCL12	CCL24
Sham组		13.08±2.92	451.40±129.40	47.64±5.23	77.00±8.10	15.96±8.14	116.50±10.44	1 684.00±532.00
CPSP组		13.74±7.42	457.00±129.60	45.67±1.21	83.11±22.38	25.81±5.73	116.60±7.79	2 175.00±412.50
PGB组	0.046	10.43±2.75	385.80±33.71	45.02±9.50	73.61±21.83	15.96±3.52	117.90±13.38	1 784.00±698.30
RYZBW-H组	2.426	13.91±1.63	417.80±38.00	50.81±2.69	109.70±26.59	13.72±4.28[4)]	132.20±21.64	1 936.00±267.20

组别	剂量/g·kg^{-1}	CCL11	CCL4	CCL3
Sham组		35.54±18.10	19.41±2.89	4.81±0.96
CPSP组		27.46±16.56	18.76±0.99	3.78±0.53
PGB组	0.046	21.33±12.51	18.64±2.14	3.69±1.09
RYZBW-H组	2.426	25.31±4.45	17.90±1.50	3.75±0.80

3.5 对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中小胶质细胞数量、胞体面积和CXCL16表达的影响 与Sham组比较，CPSP组CX3CL16$^+$TMEM119$^+$的小胶质细胞数量及胞体面积明显增加（P<0.05），CX3CL16$^+$TMEM119$^+$双阳性面积即小胶质细胞上CXCL16的表达量明显增加（P<0.05）；与CPSP组比较，RYZBW剂量依赖性降低CXCL16$^+$TMEM119$^+$双阳标记面积（R^2=0.285）、小胶质细胞数量（R^2=0.653 2）和胞体面积（R^2=0.180 6）。上述结果提示，CPSP导致丘脑小胶质细胞活化并向患处聚集，而RYZBW对此具有显

表4 RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中CXCL16蛋白表达的影响（$\bar{x}\pm s$，n=9）

Table 4 Effect of RYZBW on CXCL16 protein expression in spinal cord tissues of CPSP mice（$\bar{x}\pm s$，n=9）

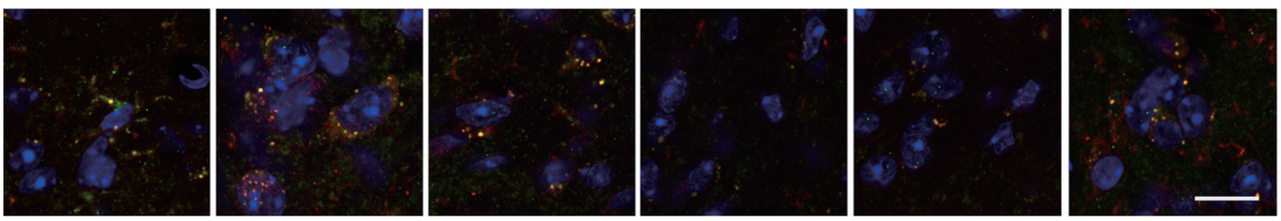
组别	剂量/g·kg^{-1}	CXCL16/ng·L^{-1}
Sham组		14 089±2 077
CPSP组		16 513±3 761
PGB组	0.046	14 761±3 352
RYZBW-H组	1.214	11 273±3 414[4)]
RYZBW-M组	0.607	14 030±1 125
RYZBW-L组	0.303	14 432±2 403

著抑制效果，这可能与RYZBW对小胶质细胞CXCL16的表达抑制相关。见图5、表6。

3.6 对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中T细胞趋化的影响 与Sham组比较，CPSP组CXCR6$^+$CD3$^+$的T细胞的数量明显增加，差异具有统计学意义（P<0.05）；与CPSP组比较，RYZBW-H组CXCR6$^+$CD3$^+$数量明显降低（P<0.05），各剂量组之间存在剂量依赖性（R^2=0.511 6）；CXCR6$^+$CD3$^+$双阳性面积即T细胞上CXCR6的表达量显著降低，差异具有统计学意义（P<0.01），且存在剂量依赖性（R^2=0.298 6）。见图6、表7。

4 讨论

CPSP等常见并发症是长期影响卒中患者预后及生存质量的重大临床问题[24-25]。已知脑继发损伤及脊髓中枢敏化是CPSP的关键病理过程，而神经血管单元病变是上述关键病理过程的核心病机，也是CPSP药物研发的关键[18]。阿米替林及普瑞巴林是CPSP临床常用药物。然而，上述药物并非针对CPSP关键病机设计，其合理性、有效性及安全性备受质疑[26-27]。藏医将人体经络分为代表神经的白脉与代表血管的黑脉。在此理论指导下的药物

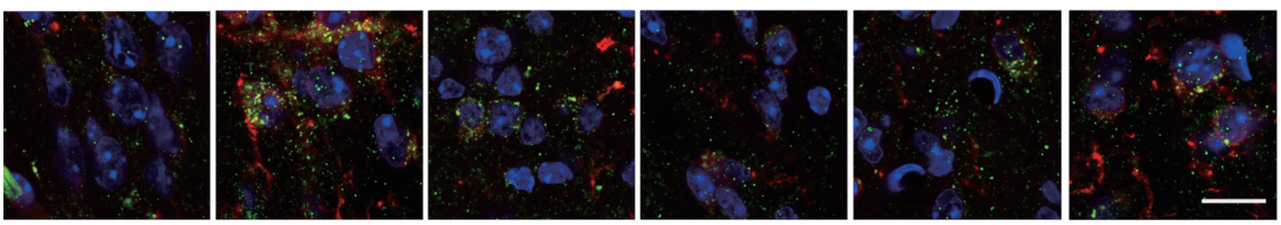


A B C D E F

注：蓝：PADI；绿：CD11c；红：CXCL16

图2 RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中CXCL16$^+$CD11c$^+$细胞表达量的影响（免疫荧光，×180）

Fig. 2 Effect of RYZBW on expression of CXCL16$^+$CD11c$^+$ cells in spinal cord tissues of CPSP mice in chronic phase detected（IF，×180）

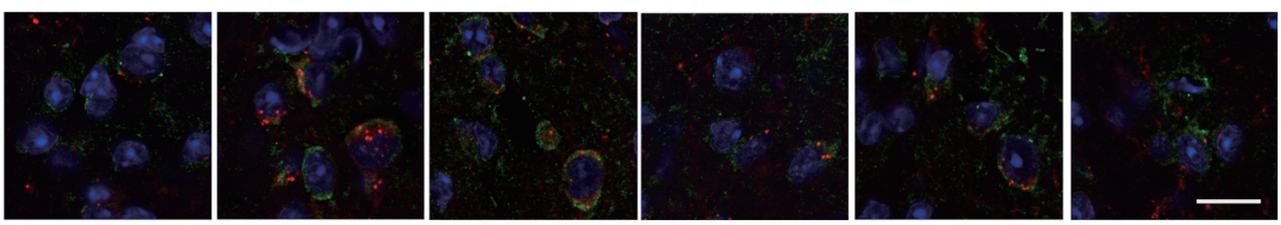


A B C D E F

注：蓝：PADI；绿：CD31；红：CXCL16

图3 RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中CXCL16$^+$CD31$^+$细胞表达量的影响（免疫荧光，×180）

Fig. 3 Effect of RYZBW on expression of CXCL16$^+$CD31$^+$ cells in spinal cord tissues of CPSP mice in chronic phase（IF，×180）



A B C D E F

注：蓝：PADI；绿：CD68；红：CXCL16

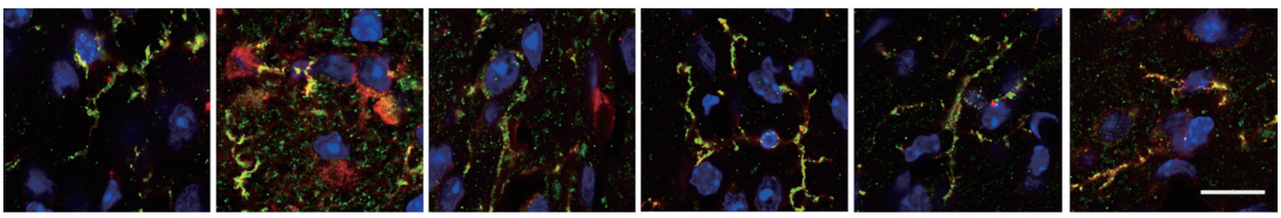
图4 RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织CXCL16$^+$CD68$^+$细胞表达量的影响（免疫荧光，×180）

Fig. 4 Effect of RYZBW on expression of CXCL16$^+$CD68$^+$ cells in spinal cord tissues of CPSP mice in chronic phase（IF，×180）

表5　RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中CXCL16$^+$CD11c$^+$、CXCL16$^+$CD31$^+$、CXCL16$^+$CD68$^+$的表达及CXCL16$^-$CD68$^+$数量的影响（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Table 5　Effect of RYZBW on expression of CXCL16$^+$CD11c$^+$, CXCL16$^+$CD31$^+$, CXCL16$^+$CD68$^+$ and number of CXCL16$^-$CD68$^+$ cells in spinal cord tissues of CPSP mice（$\bar{x}\pm s$，n=5）

组别	剂量/g·kg^{-1}	CXCL16$^+$CD11c$^+$ /10^{3}像素	CXCL16$^+$CD31$^+$ /10^{3}像素	CXCL16$^+$CD68$^+$表达量 /10^{2}像素	CXCL16$^-$CD68$^+$数量 /个
Sham组		1.51±0.12	1.51±0.20	5.45±1.21	9.20±4.62
CPSP组		2.47±0.40$^{2)}$	3.18±0.34$^{1)}$	1.75±3.98$^{1)}$	31.53±8.20$^{1)}$
PGB组	0.046	2.36±0.21	1.62±0.13$^{3)}$	1.19±1.34$^{4)}$	28.70±8.89
RYZBW-H组	1.214	1.57±0.37$^{4)}$	1.57±0.29$^{3)}$	6.53±1.36$^{3)}$	15.10±7.34$^{4)}$
RYZBW-M组	0.607	1.82±0.56	1.81±0.18$^{3)}$	9.71±2.10$^{3)}$	19.00±9.80
RYZBW-L组	0.303	1.83±0.55	2.42±0.27$^{3)}$	1.26±3.45$^{3)}$	19.60±5.46



A　B　C　D　E　F

注：蓝：PADI；绿：TMEM119；红：CXCL16

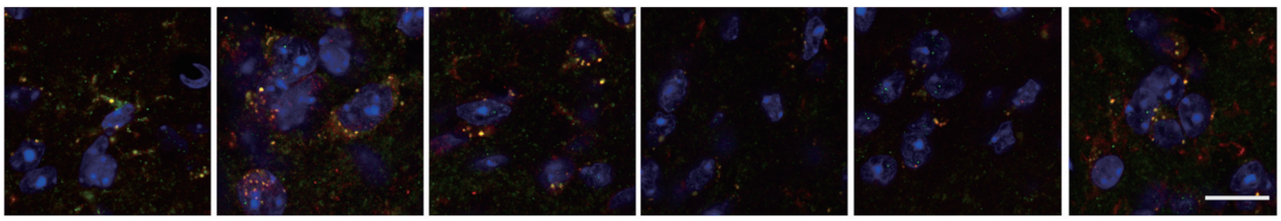
图5　RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织CX3CL16$^+$TMEM119$^+$细胞表达量的影响（免疫荧光，×180）

Fig. 5　Effect of RYZBW on expression of CX3CL16$^+$TMEM119$^+$ cells in spinal cord tissues of CPSP mice in chronic phase detected（IF，×180）

表6　RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织中CX3CL16$^+$TMEM119$^+$小胶质细胞数量、胞体面积和表达量的影响（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Table 6　Effect of RYZBW on number, cytosolic area and expression of CX3CL16$^+$TMEM119$^+$ microglia in spinal cord tissues of CPSP mice（$\bar{x}\pm s$，n=5）

组别	剂量/g·kg^{-1}	数量/个	胞体面积/10^{3}像素	表达量/10^{3}像素
Sham组		14.80±2.39	2.50±0.30	1.10±0.12
CPSP组		28.60±2.70$^{1)}$	4.46±0.82$^{1)}$	2.29±0.49$^{1)}$
PGB组	0.046	21.60±2.70$^{3)}$	3.26±0.22$^{3)}$	1.45±0.19$^{3)}$
RYZBW-H组	1.214	16.60±2.41$^{3)}$	3.04±0.42$^{3)}$	1.28±0.16$^{3)}$
RYZBW-M组	0.607	19.20±1.64$^{3)}$	3.30±0.38$^{3)}$	1.39±0.31$^{3)}$
RYZBW-L组	0.303	24.80±2.17	3.45±0.39$^{4)}$	1.62±0.21$^{3)}$



A　B　C　D　E　F

注：蓝：PADI；绿：CXCR6；红：CD3

图6　RYZBW对CPSP小鼠慢性期脊髓组织CXCR6$^+$CD3$^+$细胞表达量的影响（免疫荧光，×180）

Fig. 6　Effect of RYZBW on expression of CXCR6$^+$CD3$^+$ cells in spinal cord tissues of CPSP mice in chronic phase detected by immunofluorescence（IF，×180）

RYZBW，协同调控黑-白脉，有效干预CPSP[14,28]。然而，尚缺乏证据以证明RYZBW是否能针对性地干预CPSP关键病理过程及病机，这限制了RYZBW的临床应用。

表 7　RYZBW 对 CPSP 小鼠慢性期脊髓组织中 CXCR6⁺CD3⁺的数量及表达量及影响（$\bar{x}\pm s$，n=5）

Table 7　Effect of RYZBW on number and expression of CXCR6⁺CD3⁺ in spinal cord tissues of CPSP mice（$\bar{x}\pm s$，n=5）

组别	剂量 /g·kg⁻¹	CXCR6⁺CD3⁺表达量 /10³像素	CXCR6⁺CD3⁺ 数量/个
Sham 组		1.38±0.21	1.32±0.31
CPSP 组		1.76±0.57	2.31±0.19[1)]
PGB 组	0.046	1.37±0.32	1.59±0.19[3)]
RYZBW-H 组	1.214	1.05±0.12[4)]	1.56±0.34[3)]
RYZBW-M 组	0.607	1.29±0.30	1.86±0.23
RYZBW-L 组	0.303	1.33±0.11	2.14±0.15

前期研究表明，在小鼠卒中发作后第 4 天，临床 4 倍等效剂量的 RYZBW 可显著改善继发性神经损伤、抑制中枢痛的形成[16-18,29]。具体地，RYZBW 以剂量依赖的方式调控 CX3CL1-CX3CR1 及 CCL2 信号轴，募集非典型单核细胞修复血管，并同时抑制典型单核细胞的浸润及小胶质细胞的激活，重建血脑屏障、抑制神经损伤。与此相对应地，本研究针对卒中发作后的慢性期展开，在整体症状及脊髓病理层面，证明 RYZBW 与普瑞巴林相比具有显著优势，可剂量依赖性地改善痛觉过敏并抑制脊髓中枢敏化。值得注意的是，在对 CPSP 的长期干预中，RYZBW 的量效区间为临床 0.5~2 倍等效剂量，提示需要针对 CPSP 急、慢性期进行更加合理的用药。

中枢敏化是慢性疼痛标志性的病理过程。前期，课题组证实 RYZBW 可通过 CXCL10-CXCR3 信号轴有效抑制由外周神经传入所诱发的中枢敏化[20]。本研究则从 CXCL6-CXCR6 信号轴探索 RYZBW 对丘脑诱发中枢敏化的调控。既往研究表明，CXCL16 分子参与背根神经节内外周敏化、脊髓背角内中枢敏化过程，或为干预慢性疼痛的药靶分子[30-32]，但其致痛机制不明。CXCL16 最广为报道的生物功能，是通过其高表达与 T 细胞上的 CXCR6，调控 T 细胞与内皮、巨噬、小胶质、树突细胞之间的相互作用，参与神经炎症过程[33-36]。本研究结果显示，CPSP 病理状态下，CXCL16 的表达上调广泛发生于负责抗原呈递的树突及巨噬细胞，血管内皮细胞及小胶质细胞中。且上述细胞出现病理性聚集及激活的现象；而 CXCR6 的表达上调出现于 T 细胞，且伴随 T 细胞病理性聚集。RYZBW 有效调抑制 CXCL16 及 CXCR6 在上述细胞中的表达上调并抑制其病理性聚集，有效控制了 CPSP 小鼠脊髓内的神经炎症微环境（如意珍宝丸干预卒中后中枢痛小鼠痛觉过敏及脊髓中枢敏化的神经炎症机制见图 7）。

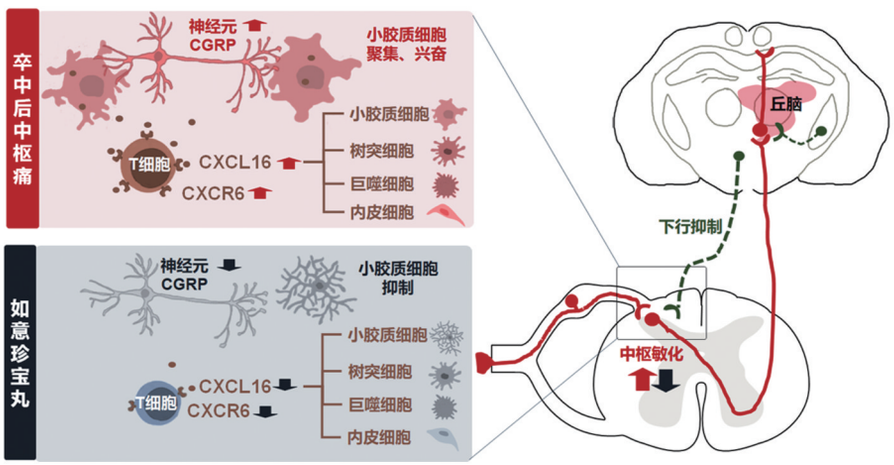


图 7　RYZBW 干预卒中后中枢痛小鼠痛觉过敏及脊髓中枢敏化的神经炎症机制

Fig. 7　neuroinflammatory mechanisms of nociceptive hypersensitivity and central sensitisation of spinal cord in RYZBW intervening in post-stroke centrally pained mice

综上所述，本研究以 CPSP 小鼠为研究对象，对接临床 CPSP 急、慢性期的病理特点及干预目标，创新性地发现，在 CPSP 急性期，RYZBW 在临床 1~4 倍等效区间内，剂量依赖性地修复神经-血管单元，遏制丘脑继发性神经损伤、抑制中枢痛的形成；在 CPSP 慢性期，RYZBW 在临床 0.5~2 倍等效区间内，剂量依赖性地抑制脊髓中枢敏化，持续镇痛；机制层面，RYZBW 有效调控急性丘脑 CX3CL1-CX3CR1 及 CCL2 信号轴、慢性脊髓 CXCL16-CXCR6 信号轴，差异性地调控免疫炎症细胞与脑血管屏障细胞之间的相互作用，协调全过程修复神经血管单元、抑制神经炎症并有效缓解 CPSP。本研

究将为RYZBW治疗CPSP提供更确切的用药建议及证据。

［利益冲突］ 本文不存在任何利益冲突。

［参考文献］

［1］ 贾捷登，谢西梅. 针刺治疗脑卒中后中枢性疼痛作用机制研究进展[J]. 针灸临床杂志，2023，39(11)：107-111.

［2］ 朱晓菁，陈燕灵. 卒中后中枢性神经痛影响因素[J]. 智慧健康，2024，10(5)：175-177，181.

［3］ 王陇德，彭斌，张鸿祺，等.《中国脑卒中防治报告2020》概要[J]. 中国脑血管病杂志，2022，19(2)：136-144.

［4］ 白洁如，王宇，张伊菲，等. 针刺治疗卒中后中枢性疼痛作用机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报，2024，10(27)：1-11.

［5］ VERGNE-SALLE P，BERTIN P. Chronic pain and neuroinflammation[J]. Joint Bone Spine，2021，88(6)：105222.

［6］ MULLA S M，WANG L，KHOKHAR R，et al. Management of central poststroke pain：Systematic review of randomized controlled trials[J]. Stroke，2015，46(10)：2853-2860.

［7］ 王旭东，黄佩文，方有莉，等. 基于循证医学方法评价普瑞巴林超适应证用药情况[J]. 实用药物与临床，2024，27(8)：578-584.

［8］ 孙兆祺，徐晓玉，刘志华. 针灸治疗卒中后丘脑痛选穴规律研究[J]. 世界中医药，2024，19(17)：2609-2615，2620.

［9］ 刘莹，王文丽，张国鑫，等. 双氢青蒿素和普瑞巴林联用对神经病理性疼痛小鼠的干预作用及炎症调控机制[J]. 中国中药杂志，2024，49(6)：1570-1578.

［10］ 梁婷钧，张国鑫，刘莹，等. 双氢青蒿素调控神经-小胶质细胞缓解神经病理性疼痛[J]. 中国实验方剂学杂志，2023，29(10)：73-82.

［11］ 刘莹，张国鑫，姚雪敏，等. 基于gpr37介导的炎症消散研究瘀血痹片对炎症性疼痛小鼠的干预作用[J]. 中国中药杂志，2024：1-10.

［12］ LING S S，PAN R H，ZHAN L C，et al. Ruyi Zhenbao pills for patients with motor and sensory dysfunction after stroke：A double-blinded，randomized placebo-controlled clinical trial[J]. Chin J Integr Med，2022，28(10)：872-878.

［13］ 舒惠蓉. 藏药如意珍宝丸联合阿昔洛韦治疗周围性面瘫的临床效果[J]. 中国民族医药杂志，2023，29(12)：13-14.

［14］ 增太吉. 三叉神经痛采用藏药如意珍宝丸治疗的价值[J]. 世界最新医学信息文摘，2019，19(68)：242-243.

［15］ LIU Y，ZHANG G，ZHU C，et al. The analgesic effects of Yu-Xue-Bi tablet（YXB）on mice with inflammatory pain by regulating LXA4-FPR2-TRPA1 pathway[J]. Chin Med，2024，19(1)：104.

［16］ 贾可欣，仲格嘉，朱春燕，等. 如意珍宝丸对小鼠丘脑出血后中枢痛的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(16)：82-89.

［17］ 胥明珠，李怀平，马兆臣，等.“药效-靶标-成分-药动”多维关联模式下的如意珍宝丸药效物质基础辨识[J]. 中国实验方剂学杂志，2024，doi：10.13422/j.cnki.syfjx.20250261.

［18］ 王文丽，张国鑫，刘莹，等. 如意珍宝丸干预出血性脑卒中小鼠继发性脑损伤及中枢痛的作用及免疫炎症机制[J]. 中国实验方剂学杂志，2024，doi：10.13422/j.cnki.syfjx.20240644.

［19］ 李佳豪，田聪敏，池宏宇，等. 瘀血痹片通过抑制外周炎症缓解慢性炎性痛小鼠痛觉过敏及足肿胀[J]. 中国实验方剂学杂志，2021，27(10)：31-37.

［20］ YANG C，HU Z，DROLKAR G，et al. Tibetan medicine Ruyi Zhenbao pill ameliorates neuropathic pain by inhibiting the CXCL10-CXCR3 pathway in spinal cord of spinal nerve ligation model[J]. J Ethnopharmacol，2024，323：117653.

［21］ ZHANG G，TIAN C，LIANG T，et al. The analgesic properties of Yu-Xue-Bi tablets in the inflammatory pain mice：By the inhibition of CCL3-mediated macrophage transmigration into the spinal cord[J]. J Ethnopharmacol，2022，289：115051.

［22］ 张艳玲，陈康宁，邵淑琴，等. 采用Ⅳ型胶原酶构建大鼠脑出血模型[J]. 第三军医大学学报，2002，12：1394-1395.

［23］ ZHANG Z L，WANG Z T，SHI J，et al. Tetrandrine attenuates SNI-induced mechanical allodynia by inhibiting spinal CKLF1[J]. Neuropharmacology，2023，238：109673.

［24］ 王宁宁，王丽琨，伍国锋. 小胶质细胞在脑出血后继发性脑损害中的双重作用[J]. 中国脑血管病杂志，2020，17(8)：491-496.

［25］ 陶毅航，雷静，尤浩军. 卒中后中枢性疼痛的病理生理机制及治疗[J]. 中国疼痛医学杂志，2023，29(5)：371-375.

［26］ LA PORTA C，LARA-MAYORGA I M，NEGRETE R，et al. Effects of pregabalin on the nociceptive，emotional and cognitive manifestations of neuropathic pain in mice[J]. Eur J Pain（London，England），2016，20(9)：1454-1466.

［27］ HONG J S W，ATKINSON L Z，AL-JUFFALI N，et

al. Gabapentin and pregabalin in bipolar disorder, anxiety states, and insomnia: Systematic review, Meta-analysis, and rationale [J]. Mol Psychiatry, 2022, 27(3): 1339-1349.

[28] 武慧超,梁军,毛萌,等. 藏药治疗脑缺血性疾病的实验研究进展[J]. 环球中医药,2019, 12(9): 1434-1439.

[29] 陈可点, 马兆臣, 蔡冰冰, 等. 基于UHPLC-Q exactive orbitrap HRMS的如意珍宝丸体内外成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, doi:10. 13422/j. cnki. syfjx. 20241443.

[30] WANG X Q, ZHOU W J, HOU X X, et al. Trophoblast-derived CXCL16 induces M2 macrophage polarization that in turn inactivates NK cells at the maternal-fetal interface[J]. Cell Mol Immunol, 2018, 15(12): 1038-1046.

[31] BAO N, FU B, ZHONG X, et al. Role of the CXCR6/CXCL16 axis in autoimmune diseases[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 121: 110530.

[32] MA A, YANG S, WANG Y, et al. Increase of serum CXCL16 level correlates well to microembolic signals in acute stroke patients with carotid artery stenosis[J]. Clinica Chimica Acta, 2016, 460: 67-71.

[33] 王少冰, 杨波, 韩德平, 等. 树突状细胞与中枢神经系统炎症性疾病[J]. 现代免疫学, 2008, 28(1): 83-86.

[34] DE VLAMINCK K, VAN HOVE H, KANCHEVA D, et al. Differential plasticity and fate of brain-resident and recruited macrophages during the onset and resolution of neuroinflammation[J]. Immunity, 2022, 55(11): 2085-2102.

[35] SPILJAR M, KUCHROO V K. Metabolic regulation and function of T helper cells in neuroinflammation [J]. Semin Immunopathol, 2022, 44(5): 581-598.

[36] TAKATA F, NAKAGAWA S, MATSUMOTO J, et al. Blood-brain barrier dysfunction amplifies the development of neuroinflammation: Understanding of cellular events in brain microvascular endothelial cells for prevention and treatment of BBB dysfunction[J]. Front Cell Neuro, 2021, 15: 661838.

[责任编辑　孙丛丛]