

顾乐盈,杨妞妞,于康英,等. 白芷在神经病理性疼痛中对 MrgprD-TRPA1 通路的调控作用分析 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(2): 219-229.

GU L Y, YANG N N, YU K Y, et al. Analysis of the regulatory effect of *Angelica dahurica* on the MrgprD-TRPA1 pathway in neuropathic pain [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(2): 219-229.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2024.02.009

白芷在神经病理性疼痛中对 MrgprD-TRPA1 通路的调控作用分析

顾乐盈¹,杨妞妞²,于康英¹,孟雅琴¹,宋绍征^{1*}

(1. 无锡太湖学院健康与护理学院基础医学系,江苏 无锡 214000;

2. 扬州大学医学院,江苏 扬州 225009)

【摘要】 目的 本研究拟通过建立坐骨神经慢性缩窄损伤 (chronic constriction injury, CCI) 小鼠模型,分析和探讨白芷在神经病理性疼痛中的镇痛效果及其对 MrgprD-TRPA1 信号通路的调控作用。方法 无菌外科手术结扎缠绕 30 只小鼠坐骨神经制备 CCI 小鼠模型;VonFrey 实验检测白芷对小鼠机械刺激疼痛行为学变化,热辐射实验评估白芷对小鼠热痛觉过敏情况;Western Blot、免疫荧光、RT-PCR 检测白芷对小鼠 MrgprD 和 TRPA1 蛋白表达水平、DRG 阳性神经元数量、MrgprD 和 TRPA1 mRNA 水平的影响;通过对 HEK293 细胞分别单转染和共转染 MrgprD、TRPA1 质粒后的钙成像实验,分析荧光信号强度差异性。结果 共成功制备了 25 只 CCI 小鼠模型,造模率达到 83.33%(25/30);白芷灌胃的 CCI 小鼠机械性阈值和缩足潜伏时间均显著大于对照组 ($P < 0.05$);白芷灌胃的 CCI 小鼠中 MrgprD 和 TRPA1 蛋白表达水平均显著低于对照组 ($P < 0.05$);白芷灌胃的 CCI 小鼠 DRG 中 MrgprD 和 TRPA1 阳性神经元的数量显著低于对照组 ($P < 0.05$);白芷灌胃的 CCI 小鼠中 MrgprD 和 TRPA1 mRNA 相对表达水平均显著低于对照组 ($P < 0.05$);共转染 MrgprD 和 TRPA1 质粒的 HEK293 细胞中荧光强度显著高于单转染和对照组 ($P < 0.05$)。结论 本研究通过探究白芷在 CCI 小鼠模型中镇痛的效果,证明了 MrgprD-TRPA1 是神经病理性疼痛的重要作用靶点,揭示了白芷可以通过调控 MrgprD-TRPA1 信号转导通路来抑制神经病理性疼痛程度,这为后续开发新型临床镇痛药物及镇痛机制的深入研究奠定了基础。

【关键词】 小鼠;白芷;神经病理性疼痛;MrgprD;TRPA1

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2024) 02-0219-11

Analysis of the regulatory effect of *Angelica dahurica* on the MrgprD-TRPA1 pathway in neuropathic pain

GU Leying¹, YANG Niuniu², YU Kangying¹, MENG Yaqin¹, SONG Shaozheng^{1*}

(1. Department of Basic Medicine, School of Health and Nursing, Wuxi Taihu University, Wuxi 214000, China;

2. School of Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Corresponding author: SONG Shaozheng. E-mail: ssz0610@163.com

【Abstract】 Objective To analyze and explore the analgesic effect of *Angelica dahurica* in neuropathic pain and its regulatory effect on the Mas-related G-protein coupled receptor member D (MrgprD)-transient receptor potential ankyrin 1

【基金项目】 江苏省高校自然科学基金(20KJB360007),江苏省高校“青蓝工程”优秀青年骨干教师项目(苏教师函[2021]11号),国家自然科学基金青年项目(81904212)。

Funded by Jiangsu Provincial Natural Science Foundation for Higher Education Institutions (20KJB360007), Outstanding Young Backbone Teachers Project of the “Blue Project” in Jiangsu Province’s Universities (Su Teacher’s Letter [2021] No. 11), National Natural Science Foundation Youth Program (81904212).

【作者简介】 顾乐盈,硕士,讲师,研究方向:慢性疼痛及中药镇痛机制研究。Email:523724655@qq.com

【通信作者】 宋绍征,博士,副教授,研究方向:生物医药。Email:ssz0610@163.com

(TRPA1) signaling pathway, using a mouse model of sciatic nerve chronic constriction injury (CCI). **Methods** A CCI mouse model was prepared by sterile surgical ligation and wrapping of the sciatic nerve in 30 mice. Pain-related behavioral changes induced by mechanical stimulation were detected by the VonFrey method, and the thermal hyperalgesic effects of *Angelica dahurica* were evaluated by thermal radiation experiments. The effects of *Angelica dahurica* on the protein expression levels MrgprD and TRPA1, the number of dorsal root ganglion (DRG) positive neurons, and mRNA levels of MrgprD and TRPA1 in mice were detected by Western Blot, immunofluorescence, and reverse transcription-polymerase chain reaction, respectively. Differences in fluorescence signal intensity in HEK293 cells after single transfection and co-transfection with MrgprD and TRPA1 plasmids, respectively, were analyzed by calcium imaging experiments. **Results** A total of 25 CCI mouse models were successfully prepared, with a modeling rate of 83.33% (25/30). The mechanical threshold and foot retraction latency were significantly higher in CCI mice treated with *Angelica dahurica* compared with the control group ($P < 0.05$). Expression levels of MrgprD and TRPA1 proteins were significantly lower in CCI mice treated with *Angelica dahurica* than in the control group ($P < 0.05$). The number of MrgprD- and TRPA1-positive neurons in the DRG was significantly lower group ($P < 0.05$) and the mRNA levels of MrgprD and TRPA1 were also significantly lower in CCI mice treated with *Angelica dahurica* than in the control group ($P < 0.05$). The fluorescence intensity was significantly higher in HEK293 cells co-transfected with MrgprD and TRPA1 plasmids than in single-transfected and blank control cells ($P < 0.05$). **Conclusions** This study demonstrated that the MrgprD-TRPA1 pathway is an important target for neuropathic pain, and indicated that *Angelica dahurica* can inhibit neuropathic pain by regulating this signal transduction pathway. These result provide a foundation for further research on the development of new clinical analgesic drugs and analgesic mechanisms.

[Keywords] mouse; *Angelica dahurica*; neuropathic pain; MrgprD; TRPA1

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NPP) 属于一种慢性疼痛,是由于中枢或周围神经系统原发性和继发性受到损伤、功能障碍或短暂性紊乱而造成的疼痛^[1-3]。据有关数据统计分析显示,全球每年该疾病的发生率高达 6.9% ~ 10.0%,给人们的生命健康和生活质量带来了极大的威胁^[4-5]。因此,积极探究 NPP 的形成与调控机制,寻找合理有效的镇痛药物,对今后该病的防治具有重要的临床意义。有研究表明,NPP 发生机制与 G 蛋白耦联受体 (G protein-coupled receptor, GPCR) 具有一定相关性^[6-8],其中 Mas 相关的 G 蛋白耦联受体 D (MrgprD) 是 GPCR 的一种亚型,主要表达于外周伤害性的感觉神经元上,能够感知外界环境中的机械、冷、热等刺激。在之前的研究中,发现 NPP 小鼠 MrgprD 的基因水平和蛋白水平表达都增多,功能也增强,行为学上 MrgprD 基因敲除小鼠在 NPP 的情况下对机械刺激更为敏感,证实了 MrgprD 与 NPP 的相关性^[9]。瞬时受体电位离子通道 A1 (transient receptor potentia vanilloid 1, TRPA1) 是一种温、触觉感受器,属于瞬间非选择性的受体电位阳离子通道,是 trp 通道家族的一员,能够被辣椒素、芥子油、弱酸、甲醛、加热或机体的内源性配体激活,从而使钙离子向细胞内流动,继而引发机体产生症状明显

的神经源性炎症和 NPP^[10]。近年来,有研究发现, MrgprD 可以通过 TRPA1 通路参与 NPP 的产生,这表明 MrgprD 与 TRPA1 在 NPP 产生的调控中密切相关^[11-12]。同时,也通过钙成像、电生理实验发现 TRPA1 阻断剂明显抑制 β -丙氨酸激活 MrgprD 引起的钙内流以及内向电流,验证了 MrgprD 可以通过 TRPA1 通路参与 NPP 的产生,这提示 MrgprD-TRPA1 是 NPP 研究中的重要途径^[9]。因此,在 NPP 的止痛治疗中,有必要着重考虑 MrgprD-TRPA1 通路在 NPP 调控中的形成机制。

中药一直是我国传统医学的瑰宝。白芷既是一种多年生高大草本的伞形科当归属植物,也是一味应用广泛、历史悠久的中药,始载于东汉《神农本草经》,有解表散寒、消肿排脓、祛风止痛、燥湿止带、宣通鼻窍等功效^[13]。目前,白芷在临床上作为镇痛中药的使用越来越广泛。庞心悦等^[14]研究发现,白芷水煎液和总挥发油对疼痛模型大鼠具有明显的镇痛功效;覃文玉等^[15]在醋酸致小鼠扭体实验中发现,应用白芷-川芎药能够明显降低小鼠扭体的次数,具有较好的镇痛作用;郭珺等^[16]研究发现白芷水提液能够抑制辣椒素、福尔马林及热辐射、热浴浸尾诱导的小鼠伤害性疼痛,也证明了白芷水提液具有良好的镇痛作用。以上相关研究提示,白芷

是可作为临床上镇痛治疗的一种有效物质,但是关于其缓解疼痛的具体作用机制尚不明确,尤其是基于 MrgprD-TRPA1 通路的白芷在 NPP 中的镇痛机制尚不清楚。

基于前期的研究基础,以及白芷在疼痛中的潜在作用,本研究拟通过建立坐骨神经慢性缩窄损伤(chronic constriction injury, CCI)小鼠模型,探讨和分析白芷是否能够通过 MrgprD-TRPA1 通路的调控来抑制 CCI 模型引起的坐骨神经痛,以期阐明白芷镇痛的具体机制和今后开发新型临床镇痛药物奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

实验所用 40 只小鼠均为 7 ~ 8 周龄清洁级 C57BL/6J 雄性小鼠,体重为 20 ~ 25 g,购于上海必凯科翼生物科技有限公司【SCXK(沪)2018-0006】。饲养于江南大学实验动物中心【SYXK(苏)2021-0056】,温度为 20 ~ 26 °C,湿度为 40% ~ 70%,24 h 昼夜交替光照循环,自由饮水饮食,颗粒饲料。本实验由江南大学实验动物管理与动物福利伦理委员会审核批准(YXYLL-2019-078),涉及动物实验的相关工作均在江南大学实验动物中心完成。

1.1.2 主要试剂与仪器

白芷水提液(自制),1%戊巴比妥钠(Merck),TRPA1 单克隆抗体(Abcam),MrgprD 抗体(Abcam),TRIzol(美国英杰生命科技有限公司),DMEM(Gibco),胎牛血清(FBS,Gibco),青霉素-链霉素双抗(PS,Hyclone),D-hank's(Hyclone),胰蛋白酶(Dispise),神经生长因子(NGF,Sigma),层黏连蛋白(Sigma), β -alanine(Sigma),Fura-2(Sigma),F127(Sigma),实时荧光定量试剂盒(Roche),MrgprD 质粒、TRPA1 质粒、HEK293 细胞株均保存于本实验,生理盐水、丙酮、异丙醇、氯仿、氯化钠、氯化钾、氯化钙、SDS、甲醛、聚丙烯酰胺等均为国产分析纯,分别购自国药集团化学试剂有限公司、北京索莱宝科技有限公司等。

常规小鼠手术器械,VonFrey 丝测痛笔(Danmic),热辐射仪(Ugo basile),超净工作台(美国赛默飞科技有限公司),二氧化碳细胞培养箱(美国赛默飞科技有限公司),电子天平(上海佑科公司),冰冻切片机(德国徕卡公司),解剖显微镜(日

本尼康公司),IX51 Olympus 荧光倒置显微镜(Olympus),pH 酸度计(德国赛多利斯科学仪器有限公司),实时荧光定量 PCR 仪(Roche),离心机(湖南凯达科学仪器有限公司),金属恒温水浴锅(中国金坛医疗仪器厂),蛋白质电泳仪(美国伯乐公司)。

1.2 方法

1.2.1 CCI 小鼠模型的制备

将小鼠分为 4 组,每组 10 只,其中一组小鼠不作任何处理,其余组小鼠坐骨神经结扎,进行造模。首先将小鼠麻醉,侧卧位保定于动物实验台,通过无菌外科手术沿小鼠右侧的后肢根部中线处进行切开,分离坐骨神经使其暴露。然后在坐骨神经上使用外科手术缝合线仔细缠绕 3 次,基于小鼠腿部反射的力量进行神经结扎,每次结扎 1 mm 左右。最后,术后进行伤口缝合,将小鼠翻身至仰卧位,并保持该体位直至小鼠苏醒,转移至动物房鼠笼内精心照顾和饲养,整个手术过程注意小鼠保温^[4,9]。观察和记录第 1 ~ 10 天小鼠的机械刺激阈值和热辐射缩足潜伏期值变化情况,选择出现最具有显著性差异的 CCI 小鼠进行相关实验操作。

1.2.2 Von Frey 实验检测白芷对小鼠机械刺激疼痛行为学变化

将不作任何处理的小鼠设为正常组,将 CCI 造模成功的小鼠随机分为 3 组,其中将一组给予每只 100 μ L 0.1 mg/g 白芷水提液灌胃设为白芷组^[15]、将一组给予同体积纯水灌胃设为纯水组、将一组未给予任何药物设为空白组。各组小鼠分别进行编号,随机放置,检测前 30 min 将实验小鼠转移至检测的环境,以便适应该实验环境。使用 Von Frey 细丝(0.04 ~ 2 g)对小鼠缩足与否进行测定,首先将 50 cm \times 100 cm 的钢丝网框网格抬高放置,然后将小鼠放置其上,使用 0.4 g Von Frey 细丝以垂直角度在小鼠足底中央处施压 3 s,观察小鼠是否发生缩足反应。若未缩足,则增加 Von Frey 细丝质量再次重复刺激小鼠足底;若缩足,则减少 Von Frey 细丝质量再次重复刺激小鼠足底。每只小鼠两次刺激时间间隔 20 s,记录小鼠恰好发生缩足反应时的 Von Frey 细丝质量,根据 Up-and-Down 法来计算各组小鼠后肢发生 50%缩足的阈值,并进行比较分析其差异显著性。

1.2.3 热辐射实验评估白芷对小鼠热痛觉过敏情况

所有实验小鼠均放置在相同的专用热辐射玻

璃板上,选择小鼠右侧后肢足部作为研究对象,使用 45 °C 热辐射源在各组小鼠的足底表面中心处进行照射,记录从开始照射到小鼠发生明显缩足现象的时间(缩足潜伏时间)。每只小鼠均进行 3 次检测,每次检测间隔时间为 5 min,比较和分析各组小鼠的缩足潜伏时间差异显著性。

1.2.4 Western Blot 检测白芷对小鼠 MrgprD 和 TRPA1 蛋白表达水平

将处理后的 4 组小鼠麻醉,无菌手术剖开皮肤,使腰骶脊柱分离,充分暴露出脊柱盖板,轻轻掀开盖板,置于冰上,沿着脊髓中央剪开脊柱,分别取出第 4 腰椎和第 5 腰椎的 DRG 神经元转移至洁净的 1.5 mL 离心管内,ISL 处理 24 h, PBS 清洗 2 次,使用 200 μ L 蛋白裂解液置于冰上裂解 2 h,转移至 -80 °C 条件下保存 12 h 后,置于 4 °C 解冻,10 000 r/min 离心 30 min,取 200 μ L 上清蛋白液转移至洁净的 0.5 mL 离心管内,加入 50 μ L 5 \times Loading Buffer,充分混匀,沸水浴 5 min,使蛋白质充分变性。按照常规分子生物学方法^[16]进行 5% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)。电泳结束后,使用 PBS 将凝胶转移至预先经乙醇活化的 PVDF 膜上,以 100 V 恒定电压转膜 2 h。取下 PVDF 膜,使用超纯水洗涤 3 次,加入 5% 奶粉-TBS 封闭缓冲液(5% 奶粉,137 mmol/L NaCl, 20 mmol/L Tris, 0.1% Tween-20, pH = 7.6)进行室温孵育 2 h。使用 TBST 缓冲液(137 mmol/L NaCl, 20 mmol/L Tris, 1% Tween-20, pH = 7.6)反复冲洗 PVDF 膜直至奶液完全去除干净,加入一抗(1:1000 稀释),混匀后,置于 4 °C 摇床孵育 4 h,再使用 TBST 缓冲液清洗 3 次,加入酶标二抗(1:250 稀释),混匀后,置于室温摇床孵育 2 h。取出 PVDF 膜,使用 PBS 洗涤 3 次,密闭晾干后,应用凝胶成像系统进行成像,使用 Image J 软件分析条带情况。

1.2.5 免疫荧光技术检测白芷对 DRG 中 MrgprD 和 TRPA1 阳性神经元数量变化

麻醉小鼠,仰卧位固定于小型动物手术台上,暴露小鼠腹部,无菌剪开皮肤以使心脏显露,应用甲醛灌注后,分离小鼠背根神经节(DRG)的神经元,置于含 4% 多聚甲醛的 24 孔细胞培养板内,浸泡 20 min,吸除多聚甲醛,加入 30% 蔗糖溶液,4 °C 过夜。取出 DRG 神经元,加入 OCT 溶液进行包埋后,应用冰冻切片机进行厚度 10 μ m 切片。使用封闭缓冲液(10% FBS + 0.1% Triton X-100 + 0.02% 叠

氮化钠 + PBS)对制成的切片进行封闭,室温孵育 2 h。PBS 洗去封闭液,加入 MrgprD 和 TRPA1 一抗(1:400 稀释),4 °C 孵育 3 h。PBS 洗去一抗,加入荧光信号标记二抗(1:400 稀释),室温孵育 3 h。PBS 洗涤 3 次,封片,使用荧光倒置显微镜观察样本情况。

1.2.6 实时荧光定量 PCR 检测白芷对小鼠 MrgprD 和 TRPA1 的 mRNA 水平

麻醉小鼠,分离获取第 4 腰椎和第 5 腰椎 DRG 神经元,置于装有 1 mL TRIzol 的无酶离心管内,加入 200 μ L 氯仿,研磨后,加入裂解液,充分混匀,4 °C, 10 000 r/min 离心 10 min。取 500 μ L 上清液转移至另一洁净的离心管内,加入 500 μ L 异丙醇,沉淀 RNA,4 °C, 10 000 r/min 离心 10 min,吸取上清加入 500 μ L,混匀后,4 °C, 10 000 r/min 离心 10 min,提取 RNA,加入 DEPC 水溶解、定量。按照实时荧光定量试剂盒操作说明进行 RT-PCR 检测,应用 Primer Premier 5.0 引物设计软件进行荧光定量 PCR 的引物设计,然后由上海生工生物工程有限公司完成引物合成,引物序列详见表 1 所示。以小鼠 GAPDH 基因作为内参,检测各组中小鼠表达 MrgprD 和 TRPA1 的 mRNA 水平,并进行差异显著性统计分析。

表 1 实时荧光定量 PCR 扩增引物序列

Table 1 Primers sequences of Real-time fluorescence quantitative PCR

引物名称 Primer name	引物序列(5' -3') Primer sequence(5' -3')
MrgprD-F	TTTTCAGTGACATTCCTCGCC
MrgprD-R	GCACATAGACACAGAAGGGAGA
TRPA1-F	GTCCAGGGCGCTGTCTATCG
TRPA1-R	CGTGATGCAGAGGACAGAGAT
GAPDH-F	ACCACAGTCCATGCCATCAC
GAPDH-R	ACCACAGTCCATGCCATCAC

1.2.7 HEK293 细胞转染 MrgprD 和 TRPA1 质粒后的钙成像实验

将 HEK293 细胞接种于层黏连蛋白和聚-d-赖氨酸包被的无菌玻璃盖片上进行培养,使用 50 μ L 混合转染液稀释 0.8 μ g 质粒 DNA,与细胞反复吹打混匀后,静置 15 min,然后将混合物转移至无菌的 24 孔细胞培养板内,置于 37 °C、5% 饱和湿度的 CO₂ 培养箱内,培养 6 h 后更换新鲜培养液,再继续培养 24 h。转染类型分为 3 组,分别是单独转染 MrgprD 质粒组、单独转染 TRPA1 质粒组、共转染 MrgprD 和 TRPA1 质粒组。在转染质粒培养后的 HEK293 细

胞中加入 Fura-2/F127 溶液(2 μL Fura-2 + 2 μL F127 + 2 mL HBSS),反复吹打混匀后,置于培养箱内孵育 30 min,进行钙离子成像实验^[17],使用 HCI imaging 软件记录产生的相关信号强弱,观察并保存实验结果。

1.3 统计学分析

使用 Excel 2010 记录相关实验数据,以 SPSS 20.0 统计软件作为数据处理与分析的工具,若数据资料符合正态分布,则计量资料以平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析,方差齐时,组间数据比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

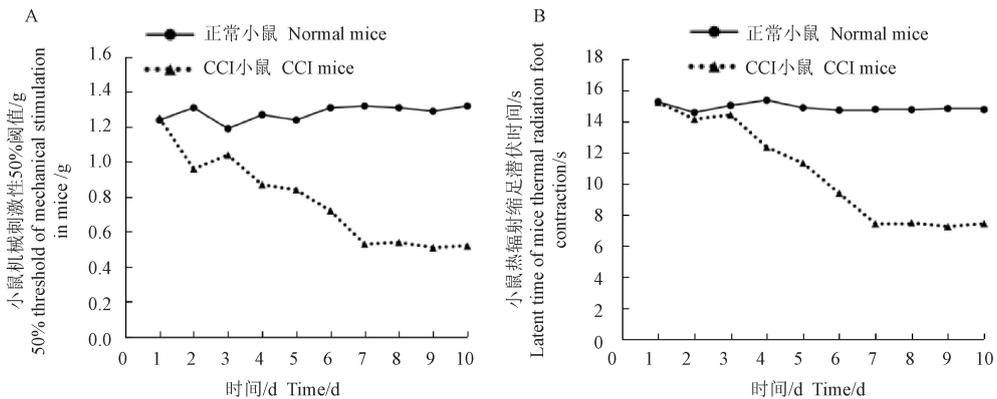


图 1 CCI 小鼠机械刺激性阈值和热辐射缩足潜伏时间变化曲线图

Figure 1 Changes in mechanical stimulation threshold and thermal radiation foot contraction latency time in CCI mice

2.2 白芷镇痛效果分析

经 Von Frey 实验检测,选择小鼠后肢发生 50% 缩足的阈值(g)作为参考指标,通过小鼠机械刺激疼痛行为学变化发现,应用白芷灌胃的 CCI 小鼠机械性阈值显著高于应用纯水灌胃的 CCI 小鼠和未进行灌胃的 CCI 小鼠(1.18 ± 0.11 vs 0.46 ± 0.06 , 0.53 ± 0.07 , $P < 0.05$),具有统计学意义;白芷灌胃的 CCI 小鼠阈值略低于正常小鼠,但是差异不具有显著性($P > 0.05$)。这一结果表明白芷在 CCI 小鼠模型的机械刺激性疼痛中能够起到很好的镇痛效果,且阈值接近于未进行 CCI 造模的正常小鼠(见图 2A)。经热辐射实验评估小鼠热痛觉情况显示,白芷灌胃的 CCI 小鼠缩足潜伏时间明显大于应用纯水灌胃的 CCI 小鼠和未进行灌胃的 CCI 小鼠(13.65 ± 0.14 vs 7.23 ± 0.76 , 7.42 ± 0.81 , $P < 0.05$),具有统计学意义;白芷灌胃的 CCI 小鼠缩足潜伏时间与正常小鼠相比,差异不具有显著性($P > 0.05$),略低于正常小鼠的缩足潜伏时间。这一结果表明白芷在 CCI 小鼠模型的热痛觉中有着较好

2 结果

2.1 CCI 小鼠模型的建立

共选择了 40 只小鼠作为研究对象,其中 10 只不作任何处理作为对照组,另外 30 只小鼠进行坐骨神经结扎处理制备 CCI 模型,其中成功造模小鼠有 25 只,因手术死亡小鼠 2 只,未成功造模小鼠 3 只,造模成功率为 83.33%(25/30)。造模后,从第 7 天开始,CCI 小鼠的机械刺激性疼痛阈值和热辐射缩足潜伏时间出现最显著的差异,其值降低至最低点(0.53 g 和 7.42 s),其在 7 ~ 10 d 基本维持平稳,如图 1 所示。

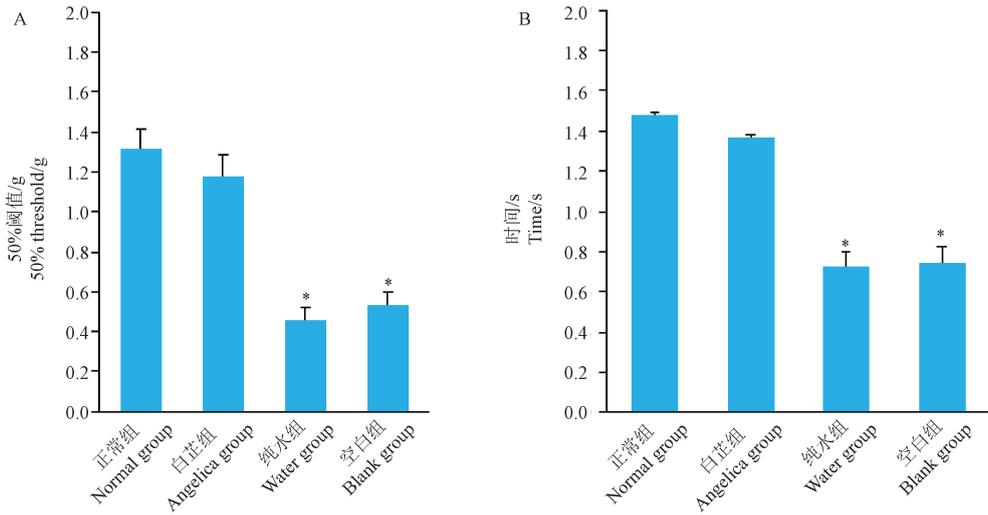
的镇痛效果,且小鼠缩足时间接近于正常小鼠(见图 2B)。

2.3 白芷对小鼠 MrgprD 和 TRPA1 蛋白表达水平的影响分析

如图 3 所示,以小鼠 Actin 蛋白作为内参,进行 Western Blot 检测实验,通过凝胶成像系统的 Image J 软件定量分析显示,白芷灌胃后的 CCI 小鼠中 MrgprD 蛋白表达水平明显低于纯水灌胃后的 CCI 小鼠(0.73 ± 0.11 vs 2.69 ± 0.23 , $P < 0.05$),差异具有显著性;白芷灌胃后的 CCI 小鼠中 TRPA1 蛋白表达水平也明显低于纯水灌胃后的 CCI 小鼠(0.42 ± 0.09 vs 2.03 ± 0.18 , $P < 0.05$),差异具有显著性。结果表明白芷能够显著降低 CCI 小鼠模型中 MrgprD 和 TRPA1 蛋白表达水平,使其表达水平接近且略高于未进行 CCI 造模的正常小鼠,差异不具有显著性($P > 0.05$)。

2.4 免疫荧光检测分析

甲醛灌注后,分离小鼠背根神经节的神经元,经免疫荧光染色实验结果如图 4A 所示,应用 EGFP



注:A: Von Frey 实验检测白芷镇痛效果; B: 热辐射实验评估白芷镇痛效果; 与白芷组相比, * $P < 0.05$ 。(下同)

图 2 白芷在 CCI 小鼠模型中的镇痛效果差异分析

Note. A. The analgesic effect of *Angelica dahurica* was tested by the Von Frey experiment. B. Thermal radiation experiment was used to evaluate the analgesic effect of *Angelica dahurica*. Compared with Angelica group, * $P < 0.05$. (The same in the following figures)

Figure 2 Analgesic effect difference analysis of *Angelica dahurica* in CCI mouse model

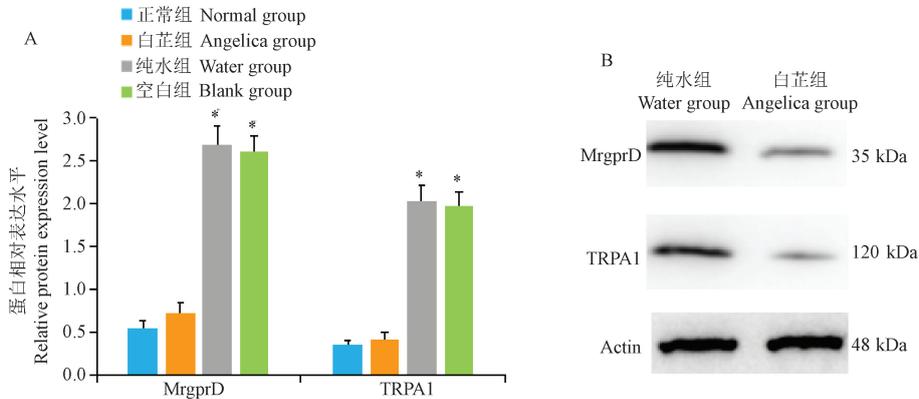


图 3 白芷对小鼠 MrgprD 和 TRPA1 蛋白表达水平的影响

Figure 3 Effect of *Angelica dahurica* on the expression levels of MrgprD and TRPA1 proteins in mice

标记在荧光倒置显微镜下可见小鼠 DRG 中 MrgprD 和 TRPA1 阳性神经元呈现绿色荧光信号, 根据绿色荧光信号与 MrgprD 和 TRPA1 表达水平呈正相关可初步判断阳性神经元数量, 使用 Image J 软件灌胃前后的神经元细胞进行标注, 细胞计数。白芷灌胃后的 CCI 小鼠 DRG 中 MrgprD 和 TRPA1 阳性神经元的数量显著低于纯水灌胃后的 CCI 小鼠 (654 ± 47 vs 1162 ± 63 , $P < 0.05$), 差异具有显著性 (见图 4B)。这一结果说明白芷能够显著降低 MrgprD 和 TRPA1 的表达水平, 从而引起具有 EGFP 信号的神经元数量显著减少。

2.5 RT-qPCR 检测白芷对小鼠 MrgprD 和 TRPA1 mRNA 水平的影响

应用小鼠 GAPDH 基因作为 RT-PCR 检测的内参, 计算各组小鼠中 MrgprD 和 TRPA1 的 mRNA 相对表达水平。根据 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行校准和归一化处理, 其中 $\Delta\Delta CT$ 值 = (目标基因 CT 值 - 内参基因 CT 值) - (校准品 CT 值 - 内参基因 CT 值)。计算 MrgprD mRNA 的相对表达水平差异情况如图 5A 所示, 应用白芷灌胃的 CCI 小鼠中 MrgprD mRNA 相对表达水平显著低于应用纯水灌胃的 CCI 小鼠和未进行灌胃的 CCI 小鼠 (1.23 ± 0.12 vs 3.21 ± 0.24 ,

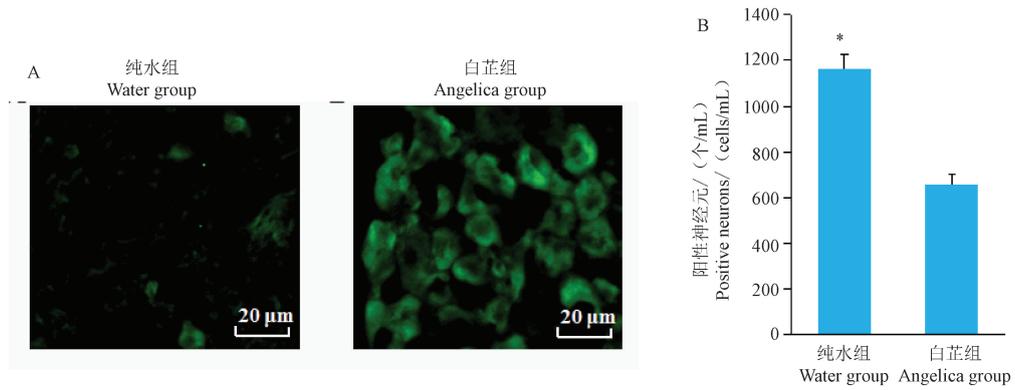


图 4 免疫荧光检测白芷对 NPP 模型(CCI)中 DRG 神经元的影响

Figure 4 Immunofluorescence detection of the effect of *Angelica dahurica* on DRG neurons in a neuropathic pain model (CCI)

$2.96 \pm 0.17, P < 0.05$), 差异具有显著性;白芷灌胃的 CCI 小鼠中 *MrgprD* mRNA 相对表达水平略高于正常小鼠,但是差异不具有显著性($P > 0.05$)。计算 TRPA1 mRNA 的相对表达水平差异情况如图 5B 所示,用白芷灌胃的 CCI 小鼠中 TRPA1 mRNA 相对表达水平显著低于应用纯水灌胃的 CCI 小鼠和未进行灌胃的 CCI 小鼠(1.18 ± 0.09 vs $2.65 \pm 0.16, 2.57 \pm 0.14, P < 0.05$), 差异具有显著性;白芷灌胃的 CCI 小鼠中 TRPA1 mRNA 相对表达水平略高于正常小鼠,但是差异不具有显著性($P > 0.05$)。此外,各小鼠组内进行比较,*MrgprD* mRNA 相对表达水平普遍高于 TRPA1。这一结果表明白芷能够显著降低小鼠 DRG 神经元中的 *MrgprD* 和 TRPA1 mRNA 表达水平,使其表达水平接近于未进行 CCI 造模的正常小鼠。

2.6 HEK293 细胞转染后钙成像实验观察

分别在 HEK293 细胞中单独转染 *MrgprD* 质粒、单独转染 TRPA1 质粒、共转染 *MrgprD* 和 TRPA1 质粒,进行钙离子成像实验并根据 HCI imaging 软件记录数据来计算荧光强度,当荧光比($\Delta F/F_0$) ≥ 0.4 时,表明细胞有反应,其中 F_0 指荧光的基线值, ΔF 指荧光的基线最大值。三个转染组的荧光强度差异显著性分析情况如图 6A 所示,共转染 *MrgprD* 和 TRPA1 质粒的 HEK293 细胞中荧光强度显著高于单转染和对照组,差异具有显著性($P < 0.05$)。同时,共转染 *MrgprD* 和 TRPA1 质粒的 HEK293 细胞经 β -alanine 和 Mustard oil 诱导引起其钙离子内流明显大于未转染质粒的细胞和仅仅单转染 *MrgprD* 质粒的细胞(如图 6B ~ 6D),从而导致该 HEK293 细胞的荧光信号强度较大。

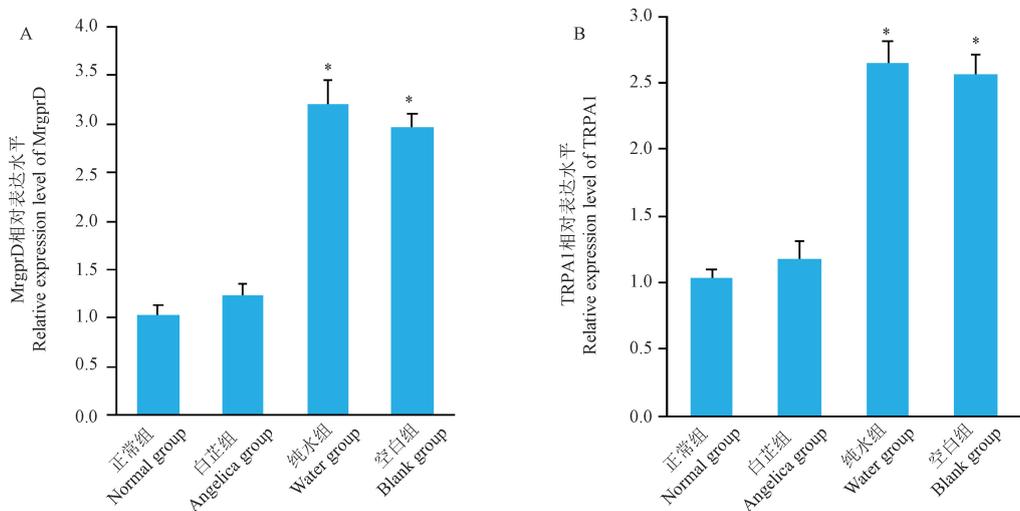
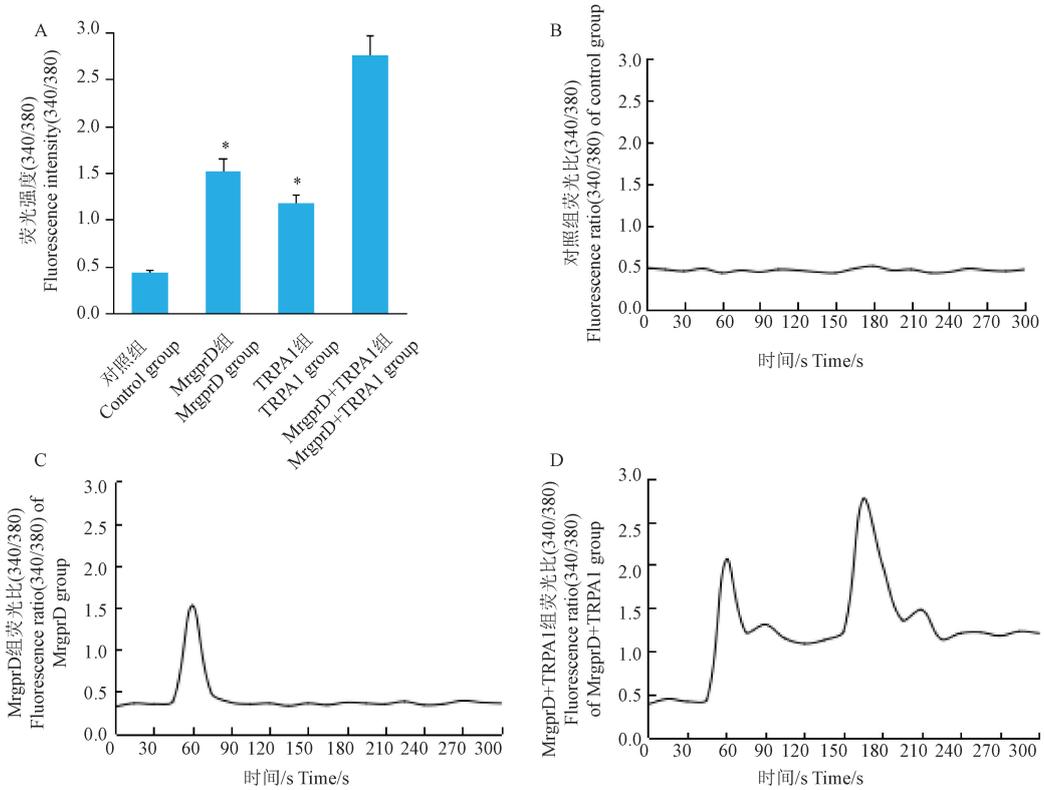


图 5 RT-PCR 检测白芷对小鼠 *MrgprD* 和 TRPA1 mRNA 水平的影响

Figure 5 Effect of *Angelica dahurica* on *MrgprD* and TRPA1 mRNA levels in mice detected by RT-PCR



注: A: HEK293 细胞转染后钙离子内流的荧光强度差异显著性分析; B ~ D: β -alanine 和 Mustard oil 诱导细胞钙成像反应; 与 MrgprD + TRPA1 组相比, * $P < 0.05$ 。

图 6 HEK293 细胞转染后钙离子内流的荧光强度比较

Note. A. Significance analysis of fluorescence intensity differences in calcium ion influx after transfection of HEK293 cells. B ~ D. β -alanine and Mustard oil induce cellular calcium imaging responses. Compared with MrgprD + TRPA1 group, * $P < 0.05$.

Figure 6 Comparison of fluorescence intensity of calcium influx in HEK293 cells after transfection

3 讨论

疼痛是一种令人不愉快的感觉和情绪上的主观感受,常常伴有实质的或潜在的组织和细胞损伤,分为周围性和中枢性两种病理类型^[2,18]。1994 年,国际疼痛研究协会(International Association for the Study of Pain, IASP)将 NPP 定义为“疼痛开始于或起源于外周或中枢神经系统的损伤或功能不良”^[19]。本研究将 30 只小鼠分为 3 组,利用无菌外科手术,分别结扎缠绕小鼠坐骨神经,成功地制备了 25 只 CCI 小鼠 NPP 模型,CCI 造模率达到 83.33%,属于一种周围性 NPP,且 CCI 小鼠模型成功率高于王琛等^[4]、郭珺等^[16] 研究报道,为后续的相关疼痛研究提供了可靠的实验动物模型。

目前,由于 NPP 的病因复杂,临床上关于 NPP 的治疗现状并不能够令人满意,现有的临床药物很难充分有效地缓解疼痛^[20-21]。近年来,随着中医药研究的不断发展,中药止痛逐渐引起了人们的关

注。中药具有药效优良、资源丰富、不良反应发生率低、无成瘾性等优势,在临床上越来越受到重视^[13]。白芷作为一种多年生高大草本,味辛、气芳香、性温,主入阳明,其化学成分主要是香豆素及其衍生物,如欧前胡乙素、当归素、白芷毒素、白当归醚等,是目前临床常用的解热镇痛中药之一^[12-15]。有研究证明,在背部皮下注射蛋白脲诱导的兔高热模型中应用中药白芷,具有明显的解热镇痛作用^[22];在腹腔注射醋酸诱导的小鼠疼痛模型中,应用白芷灌胃后,小鼠扭体次数明显减少,热板实验的疼痛阈值明显升高;此外,还有高小坤^[23]通过白芷挥发油对热刺激疼痛小鼠模型的研究结果也表明,白芷具有较好的镇痛效果。本研究通过 Von Frey 和热辐射实验发现,应用白芷灌胃的 CCI 小鼠机械性阈值显著高于对照组 CCI 小鼠($P < 0.05$),白芷灌胃的 CCI 小鼠缩足潜伏时间明显大于对照组 CCI 小鼠($P < 0.05$),这一结果表明白芷在 CCI 小鼠模型的机械刺激性疼痛和热痛觉中具有较好

的镇痛效果,且机械刺激阈值和小鼠缩足时间均接近于未进行 CCI 造模的正常小鼠,上述这些研究结果与其他相关研究报道文献相一致^[12-15,22-23],进一步证明了白芷能够在 NPP 中发挥良好的镇痛作用。但是,关于白芷镇痛的具体机理目前尚不完全清晰。

全球的 NPP 发病率约 6.9% ~ 10.0%^[24],由于该疾病的临床发病率高且病因复杂,为了更好地防治这一疾病,针对 NPP 的机制有必要进行深入探究。有研究发现,疼痛的产生与 Mrgs 相关受体密切相关,其中 MrgprD 亚型主要在背根神经节神经元中表达,参与痛觉的敏感性调节^[25]。WANG 等^[7]的研究显示,表达 MrgprD 的不同模式伤害性神经元对大多数神经胶质细胞与神经元具有支配作用,从而引起机械和热刺激的兴奋性;CROZIER 等^[25]通过全细胞膜片钳技术研究 DRG 中 MrgprD 阳性神经元的结果显示,缺失 MrgprD 时,神经元兴奋性降低,机械刺激疼痛敏感性下降。此外,目前关于 MrgprD 的临床相关研究主要集中在与瘙痒发生机制领域,然而在 NPP 中 MrgprD 对疼痛产生发挥的作用尚不清楚。因此,本研究通过小鼠坐骨神经慢性压迫 (CCI) 模型研究白芷镇痛过程中 MrgprD 在 NPP 中的水平变化,经 Western Blot 和 RT-PCR 实验,结果显示白芷灌胃的 CCI 小鼠中 MrgprD 表达水平显著低于对照组 ($P < 0.05$);经免疫荧光染色检测,白芷灌胃后的 CCI 小鼠 DRG 中 MrgprD 阳性神经元的数量显著低于对照组 ($P < 0.05$)。这一研究结果与上述国内外其他文献报道相比,不同之处在于应用了免疫学和分子生物学检测技术对与疼痛相关的受体蛋白 MrgprD 表达水平进行了详细的探讨,且结果表明白芷能够显著降低小鼠 DRG 神经元中 MrgprD 表达水平,使其表达水平接近于未进行 CCI 造模的正常小鼠,从而引起具有 EGFP 信号的神经元数量显著减少。同时,这也暗示着 MrgprD 在 NPP 中具有重要的作用,为今后新型镇痛药物研制的靶点选择奠定了基础。

同时,还有大量研究发现 TRPA1 是一种重要的瞬时痛觉感受器电位阳离子通道蛋白,具有广泛的生理功能,可调节细胞内 Ca^{2+} 、传递感觉信息^[26-29]。TRPA1 是目前研究最广泛、机制最清楚的 TRPA 亚家族成员之一,最早于 2003 年在小鼠 DRG 中发现的,能够在温度低于 17 °C 时被激活,可以介导小鼠伤害性冷刺激反应^[30]。近年来,有研究表明 TRPA1 与 G 蛋白偶联受体关联性较大,MrgprD 通过

TRPA1 通路参与 NPP 的产生,MrgprD-TRPA1 轴共同调节细胞内信号,使细胞对外部环境干扰作出整体反应^[30-32]。王地均等^[30]应用荧光定量 PCR、免疫组化和钙成像实验进一步实验证明了 TRPA1 作为冷痛调控通路影响了 MrgprD 表达水平的变化。WILSON 等^[31]研究发现 TRPA1 是感觉神经元和培养细胞中 MrgprD 的下游靶标,是 MrgprD 介导疼痛信号转导和组胺依赖性瘙痒信号通路所必需的。TREVISANI 等^[32]也得出了 TRPA1 参与 MrgprD 信号调控 NPP 产生的类似研究结果。本研究中的结果显示,白芷灌胃后的 CCI 小鼠中 TRPA1 表达水平显著低于对照组 ($P < 0.05$),其降低幅度明显高于王地均等^[30]研究报道的数据资料。白芷灌胃后的 CCI 小鼠 DRG 中 TRPA1 阳性神经元的数量显著低于纯水灌胃后的 CCI 小鼠 ($P < 0.05$),且阳性神经元数量降低值也明显低于 WILSON 等^[31]研究中的阳性神经元。这一结果表明白芷能够显著降低小鼠 DRG 神经元中 TRPA1 表达水平,使其表达水平接近于未进行 CCI 造模的正常小鼠,从而引起具有 EGFP 信号的神经元数量显著减少,镇痛效果显著优于其他相关文献研究报道^[12,14,23,31-32],进一步说明了 TRPA1 在参与 MrgprD 介导 NPP 调控中发挥着重要的作用。

此外,本研究中通过转染 HEK293 细胞钙离子成像实验,结果显示共转染 MrgprD 和 TRPA1 质粒的 HEK293 细胞的钙离子内流和荧光强度显著高于分别单转染 MrgprD、TRPA1 及对照组 ($P < 0.05$)。这一结果提示 HEK293 细胞中 MrgprD 和 TRPA1 之间存在着功能偶联关系,MrgprD 信号的激活需要 TRPA1 的参与。分析原因可能是以往的研究大多认为 G 蛋白偶联受体和下游的 TRP 通道一起参与 NPP 的产生,MrgprD-TRPA1 轴是机体感知有害刺激的一种重要信号传导途径,TRPA1 借助于伤害性刺激传导与 MrgprD 密切联系,通过调控 MrgprD 在 DRG 神经元中的表达水平和促进钙离子内流来影响 NPP 的发生程度,结果证实了 β -alanine 诱导细胞中的 MrgprD 活化至少部分通过 GPCR 介导的 TRPA1 磷酸化来调节 TRPA1 相关功能,这也反向证明了 MrgprD 和 TRPA1 能够在 DRG 神经元上协同表达一致的现象^[10,33]。

综上所述,本研究成功建立了小鼠 CCI 模型,深入探究白芷在 CCI 小鼠模型中镇痛的效果及其机制,证明了 MrgprD-TRPA1 是 NPP 的重要作用靶

点,白芷可以通过调控 MrgprD-TRPA1 信号转导通路来抑制 NPP 程度,这为后续开发新型临床镇痛药物,探索中医药镇痛机制的研究奠定了基础。

参 考 文 献(References)

- [1] PETROIANU G A, ALOUM L, ADEM A. Neuropathic pain: mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1072629.
- [2] 张俊,黄琴,肖彩芝,等. 化疗药物诱导的神经病理性疼痛动物模型研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(3): 402-409.
- ZHANG J, HUANG Q, XIAO C Z, et al. Advances in animal models of chemotherapy-induced peripheral neuropathy pain [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2023, 31(3): 402-409.
- [3] FIORE N T, DEBS S R, HAYES J P, et al. Pain-resolving immune mechanisms in neuropathic pain [J]. *Nat Rev Neurol*, 2023, 19(4): 199-220.
- [4] 王琛,陈鹏,林东升,等. 不同结扎材料对慢性压迫性损伤模型胶质细胞活化的影响 [J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40(8): 1207-1212.
- WANG C, CHEN P, LIN D S, et al. Effects of different materials for partial sciatic nerve ligation on glial cell activation in rat models of chronic constriction injury [J]. *J South Med Univ*, 2020, 40(8): 1207-1212.
- [5] ROSENBERGER D C, BLECHSCHMIDT V, TIMMERMAN H, et al. Challenges of neuropathic pain: focus on diabetic neuropathy [J]. *J Neural Transm*, 2020, 127(4): 589-624.
- [6] KUMARI P, YADAV A, PATEL M, et al. Targeting G protein coupled receptors for alleviating neuropathic pain [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2022, 193(1): 99-117.
- [7] WANG H, ZYLKA M J. Mrgprd-expressing polymodal nociceptive neurons innervate most known classes of substantia gelatinosa neurons [J]. *J Neurosci*, 2009, 29(42): 13202-13209.
- [8] DUSSOR G, ZYLKA M J, ANDERSON D J, et al. Cutaneous sensory neurons expressing the Mrgprd receptor sense extracellular ATP and are putative nociceptors [J]. *J Neurophysiol*, 2008, 99(4): 1581-1589.
- [9] WANG C, GU L, RUAN Y, et al. Pirt together with TRPV1 is involved in the regulation of neuropathic pain [J]. *Neural Plast*, 2018, 2018: 4861491.
- [10] MARCOTTI A, FERNÁNDEZ-TRILLO J, GONZÁLEZ A, et al. TRPA1 modulation by *Sigma-1* receptor prevents oxaliplatin-induced painful peripheral neuropathy [J]. *Brain*, 2023, 146(2): 475-491.
- [11] SHINOHARA T, HARADA M, OGI K, et al. Identification of a G protein-coupled receptor specifically responsive to beta-alanine [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(22): 23559-23564.
- [12] ZHOU F, METZNER K, ENGEL P, et al. Slack potassium channels modulate TRPA1-mediated nociception in sensory neurons [J]. *Cells*, 2022, 11(10): 1693.
- [13] 王蕊,刘军,杨天宇,等. 白芷化学成分与药理作用研究进展 [J]. *中医药信息*, 2020, 37(2): 123-128.
- WANG R, LIU J, YANG D Y, et al. Research progress in chemical constituents and pharmacological action of *Angelica dahurica* [J]. *Inf Tradit Chin Med*, 2020, 37(2): 123-128.
- [14] 庞心悅,景永帅,郑玉光,等. 白芷的化学成分及对神经系统疾病的治疗作用 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(9): 690-691.
- PANG X Y, JING Y S, ZHENG Y G, et al. Chemical constituents of *Angelica dahurica* and its therapeutic effect on nervous system diseases [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2021, 35(9): 690-691.
- [15] 覃文玉,杨丹淇,张源文,等. 白芷-川芎药对镇痛作用研究 [J]. *中国民族民间医药*, 2021, 30(1): 17-19.
- QIN W Y, YANG D Q, ZHANG Y W, et al. Research on analgesic effects of Chuanxiong rhizoma-angelicae dahuricae Radix herb pair [J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharmacy*, 2021, 30(1): 17-19.
- [16] 郭珺,陈丹,朱婵,等. 白芷水提液镇痛作用及其机理研究 [J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2019, 37(4): 103-110.
- GUO J, CHEN D, ZHU C, et al. Analgesic effect and analgesic mechanism of *Angelica dahurica* extracts [J]. *J Guangxi Norm Univ Nat Sci Ed*, 2019, 37(4): 103-110.
- [17] SONG S, LUO Y, LIU Z, et al. Double-gene copromoting expression analysis in tPA/GH transgenic goat mammary epithelial cells and thrombolytic activity of tPA *in vitro* [J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 6484073.
- [18] 李明珠,王文萍,金圣博. 奥沙利铂诱导的神经病理性疼痛大鼠模型研究及其在中医方面应用进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(2): 278-285.
- LI M Z, WANG W P, JIN S B. Rat model of neuropathic pain induced by oxaliplatin and its application in traditional Chinese medicine [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(2): 278-285.
- [19] BIELEWICZ J, KAMIENIAK M, SZYMONIUK M, et al. Diagnosis and management of neuropathic pain in spine diseases [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(4): 1380.
- [20] PERGOLIZZI J V, GHARIBO C, MAGNUSSON P, et al. Pharmacotherapeutic management of trigeminal neuropathic pain: an update [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2022, 23(10): 1155-1164.
- [21] BARON R, DICKENSON A H, CALVO M, et al. Maximizing treatment efficacy through patient stratification in neuropathic pain trials [J]. *Nat Rev Neurol*, 2023, 19(1): 53-64.
- [22] 雷雨恬,黄婷,陈文莉,等. 不同等级川白芷有效成分含量及抗炎镇痛作用对比研究 [J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(1): 105-110.
- LEI Y T, HUANG T, CHEN W L, et al. Comparative study on the anti-inflammatory, analgesic effects and components contents of different grades of *Angelica dahurica* var. *formosana* [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2021, 37(1): 105-110.
- [23] 高小坤. 白芷挥发油镇痛、镇静作用实验研究 [J]. *现代中*

- 中西医结合杂志, 2013, 22(35): 3880-3882, 3888.
- GAO X K. Experimental study on the analgesic and sedative effects of essential oil of *Radix Angelicae Dahuricae* [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2013, 22 (35): 3880 - 3882, 3888.
- [24] HU X, DU L, LIU S, et al. A TRPV4-dependent neuroimmune axis in the spinal cord promotes neuropathic pain [J]. J Clin Invest, 2023, 133(5): e161507.
- [25] CROZIER R A, AJIT S K, KAFTAN E J, et al. MrgD activation inhibits KCNQ/M-currents and contributes to enhanced neuronal excitability [J]. J Neurosci, 2007, 27(16): 4492-4496.
- [26] IANNONE L F, DE LOGU F, GEPPETTI P, et al. The role of TRP ion channels in migraine and headache [J]. Neurosci Lett, 2022, 768: 136380.
- [27] LUO Y, SUTTLE A, ZHANG Q, et al. Transient receptor potential (TRP) ion channels in orofacial pain [J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(6): 2836-2850.
- [28] NAZLROĞLU M, ÖZ A, YLLDLZHAN K. Selenium and neurological diseases; focus on peripheral pain and TRP channels [J]. Curr Neuropharmacol, 2020, 18(6): 501-517.
- [29] ZHANG H, CHEN H. TRPA1 involved in miR-141-5p-alleviated neuropathic pain induced by oxaliplatin [J]. Neuroreport, 2021, 32(3): 284-290.
- [30] 王地均, 金香, 唐宗湘, 等. G 蛋白偶联受体 MrgprD 研究进展及对中医药研究的启示 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(3): 419-423.
- WANG D J, JIN X, TANG Z X, et al. Research progress of G protein coupled receptor MrgprD and its implications for the research of Chinese medicine [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2020, 36(3): 419-423.
- [31] WILSON S R, GERHOLD K A, BIFOLCK-FISHER A, et al. TRPA1 is required for histamine-independent, Mas-related G protein-coupled receptor-mediated itch [J]. Nat Neurosci, 2011, 14(5): 595-602.
- [32] TREVISANI M, SIEMENS J, MATERAZZI S, et al. 4-Hydroxynonenal, an endogenous aldehyde, causes pain and neurogenic inflammation through activation of the irritant receptor TRPA1 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(33): 13519-13524.
- [33] RUAN Y, JIN X, JI H, et al. Water extract of *Notopterygium incisum* alleviates cold allodynia in neuropathic pain by regulation of TRPA1 [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 305: 116065.

[收稿日期] 2023-09-21

《中国比较医学杂志》再次入编《中文核心期刊要目总览》

依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,《中国比较医学杂志》再次入编《中文核心期刊要目总览》2023 年版(即第 10 版)综合性医药卫生类的核心期刊!

《中文核心期刊要目总览》采用定量评价和定性评的学术水平和学术影响进行综合评价,受到学术界的广泛认同。

目前,本刊为中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》等数据库收录。

感谢编委、专家们的帮助与支持,感谢广大作者和读者朋友们的厚爱与信任。本刊编辑部将始终坚守办刊宗旨,不忘初心,严谨办刊,开拓进取,不断创新,向世界一流期刊看齐。

