DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20250624.004
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250624.1639.008

基于海马代谢组学探讨银质针导热疗法对顽固性MPS大鼠的作用机制

盛端阳[1],安松松[1],沈昌玉[1],吕相龙[1],陈云婷[2],黄媛馨[2],沃春新[2],王 林[2]✉
(1.贵州医科大学麻醉学院,贵州 贵阳 550004;2.贵州医科大学附属医院疼痛科,贵州 贵阳 550004)

[摘要] **目的**:通过代谢组学研究顽固性肌筋膜疼痛综合征(myofascial pain syndrome,MPS)大鼠海马差异性代谢产物的异常,探究银质针导热疗法对顽固性MPS大鼠海马的病理学形态改变及代谢产物的影响。**方法**:18只雄性SD大鼠分为正常组、模型组、银质针组,每组6只。对右股内侧肌击打和离心运动复制MPS模型。在造模前1 d、造模第12周、银质针导热治疗后第2周分别检测机械刺激缩足阈值(mechanical withdrawal threshold,MWT)、热缩足潜伏期(thermal withdrawal latency,TWL),并进行肌电图检测、海马组织H&E和Nissl染色观察。通过超高效液相色谱串联质谱技术对海马组织进行代谢组学分析,结合多元统计方法筛选各组之间的差异代谢物及其相关代谢通路。**结果**:与正常组相比,模型组MWT和TWL缩短($P<0.01$);右股内侧肌出现自发电活动及纤颤电位;海马阿蒙氏角(cornu ammonis,CA)1区见结构异常和神经元损伤;海马组织中筛选出79种差异代谢物。与模型组相比,银质针组MWT和TWL明显延长($P<0.01$);自发电位减少;海马CA1区排列结构较为整齐和神经元损伤明显减轻;筛选出25种差异代谢物,其中7种代谢物在通路中得到进一步鉴定和注释。对银质针治疗前后差异代谢物进行KEGG分析,共富集到7条代谢通路,主要涉及甲状腺激素合成、咖啡因代谢、苯丙氨酸代谢和嘌呤代谢等重要代谢通路。**结论**:顽固性MPS大鼠出现海马结构异常及神经元损伤,银质针导热疗法可改善上述损伤,可能涉及调节甲状腺激素合成、咖啡因代谢、苯丙氨酸代谢和嘌呤代谢通路。

[关键词] 肌筋膜疼痛综合征(MPS);银质针导热治疗;海马;代谢组学;肌筋膜触发点
[中图分类号] R245 [文献标志码] A [文章编号] 2097-5953(2026)20-1574-11

Mechanism of silver needle thermotherapy on refractory myofascial pain syndrome rats based on hippocampal metabolomics

SHENG Duanyang[1], AN Songsong[1], SHEN Changyu[1], Lyu Xianglong[1], CHEN Yunting[2], HUANG Yuanxin[2], WO Chunxin[2], WANG Lin[2]✉
(1. *College of Anesthesiology, Guizhou Medical University, Guiyang* 550004, *China*; 2. *Department of Pain Management, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang* 550004)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the National Natural Science Foundation of China* (82060811); *Guizhou Province Science and Technology Plan Project* [*Qianke He Foundation-ZK* (2023) *Key* 044, *Qianke He Foundation-ZK* (2024) *Key* 036]
[*Author*]: *SHENG Duanyang, E-mail*: 1639638779@qq.com; *AN Songsong, E-mail*: 1723192103@qq.com.
[*Correspondence to*]: *WANG Lin, Chief Physician, Professor, Doctoral Supervisor, E-mail*: *guobingbs@sina.com.*
Received: 2025-02-20 *Revised*: 2025-05-28 *JHMU*, 2026;32(20):1574-1584

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective**: To investigate the abnormal differential metabolites in the hippocampus of rats with refractory myofascial pain syndrome (MPS) using metabolomics, and to explore the effects of silver needle thermotherapy on the pathological morphology and metabolite profiles in the hippocampus of refractory MPS rats. **Methods**: A total of 18 male SD rats were divided into three groups: control, model, and silver needle groups, with 6 rats in each group. The MPS model was established by striking the

[基金项目] 国家自然科学基金(82060811);贵州省科技计划项目[黔科合基础-ZK(2023)重点044,黔科合基础-ZK(2024)重点036]
[作者简介] 盛端阳,E-mail:1639638779@qq.com;安松松,E-mail:1723192103@qq.com。
[通讯作者] 王林,主任医师,教授,博士生导师,E-mail:guobingbs@sina.com。
[收稿日期] 2025-02-20 [修回日期] 2025-05-28 网络出版时间:2025-06-25 09:15:42

right medial thigh muscle and inducing eccentric exercise. Mechanical withdrawal threshold (MWT) and thermal withdrawal latency (TWL) were measured on day 1 before modeling, week 12 after modeling, and week 2 after silver needle thermotherapy. Electromyography was performed, and hippocampal tissues were stained with H&E and Nissl staining for morphological observation. Metabolomics analysis of hippocampal tissues was conducted using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and differential metabolites and related metabolic pathways were identified using multivariate statistical methods. **Results**: Compared to the control group, the model group exhibited significantly decreased MWT and TWL ($P<0.01$), spontaneous electrical activity and fibrillation potentials in the right medial thigh muscle, structural abnormalities in the cornu ammonis (CA) 1 region of the hippocampus, and neuronal damage. A total of 79 differential metabolites were identified in the hippocampal tissues. Compared to the model group, the silver needle group showed significantly increased MWT and TWL ($P<0.01$), reduced spontaneous electrical activity, more organized structure in the CA1 region, and significantly reduced neuronal damage. A total of 25 differential metabolites were identified, among which 7 metabolites were further analyzed and annotated in metabolic pathways. KEGG analysis of differential metabolites before and after silver needle therapy revealed 7 enriched metabolic pathways, mainly involved important metabolic pathways such as thyroid hormone synthesis, caffeine metabolism, phenylalanine metabolism, and purine metabolism. **Conclusion**: Rats with refractory MPS exhibit structural abnormalities and neuronal damage in the hippocampus. Silver needle thermotherapy can improve these pathological changes, likely through the regulation of metabolic pathways involved in thyroid hormone synthesis, caffeine metabolism, phenylalanine metabolism, and purine metabolism.

[**Key words**] MPS; Silver needle thermotherapy; Hippocampus; Metabolomics; Myofascial trigger points

肌筋膜疼痛综合征(myofascial pain syndrome, MPS)是一种慢性肌肉骨骼疼痛疾病[1],肌肉和筋膜内触发点(myofascial trigger points,MTrPs)是其主要特征,而且MTrPs在肌肉疼痛患者中发病率高达33%～97%[2]。MTrPs在众多常见疼痛疾病中的检出率很高,并与多种疾病有关,患者在病程中往往会伴随出现一系列症状,如疼痛、抑郁情绪和失眠[3]。此外,该病复发率高,会对患者的学习、生活和工作产生影响,严重影响患者的生活质量[4]。因此,探寻MPS患者的发病机制和有效的治疗靶点是十分重要的。

海马作为边缘系统的核心结构,是大脑情绪调节的关键区域,同时也参与痛觉信息的处理过程。有研究发现慢性疼痛会影响海马体的结构与功能,而海马体的这些改变也会在慢性疼痛病理过程中引发痛觉异常,诱发负性情绪和认知功能障碍等疾病,这表明疼痛与海马密切相关[5]。一项关于海马代谢组学的研究发现慢性偏头痛小鼠海马区呈现明显能量代谢障碍和神经递质失衡,表明海马代谢紊乱可能通过影响突触可塑性和神经炎症加剧偏头痛慢性化[6]。近期研究通过磁共振成像技术对MPS患者的大脑结构进行测量,发现患者普遍存在海马灰质体积萎缩[7],表明了海马区域的结构变化可能与MPS患者的疼痛感知及情绪调节功能障碍有关,这进一步证明了中枢神经系统在MPS机制中的潜在作用。

银质针导热疗法常用于治疗慢性软组织疼痛,尤其对顽固性MPS患者远期疗效明显[8,9]。一项颈源性头痛的治疗研究发现,银质针导热疗法通过调节下丘脑-垂体-肾上腺轴与疼痛阈值,抑制炎症反应(TNF-α、IL-6、IL-1),改善微循环与血管功能,调节神经内分泌与血管活性物质来改善颈源性头痛[10]。但是关于其是否通过对海马调控发挥作用有待进一步研究。本课题组前期研究中发现银质针导热治疗可促进MPS大鼠脊髓5-羟色胺下行抑制性通路功能,降低中枢敏化,发挥镇痛疗效[11],其具体机制尚未明确。代谢组学作为一门新兴学科,聚焦生物标志物研究,已在早期诊断、病理探索、靶点发现和治疗监测等方面展现出重要应用价值。因此,本课题基于超高效液相色谱串联质谱(ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry,UPLC-MS/MS)技术对MPS大鼠海马进行代谢组学研究。本研究旨在反映海马代谢产物的异常,并通过差异性代谢产物来探究银质针治疗的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级成年雄性SD大鼠共30只,体重200～250 g,由贵州医科大学动物实验中心提供,许可证号:SYXK(贵):2023-0002。其中6只SD大鼠作为正常组,剩下24只SD大鼠进行造模。在造模过程中剔除死亡和痛阈值不明显的SD大鼠,最终选择12只造模成功的SD大鼠作为模型组和银质针组(每组6只)。大鼠饲养环境湿度50%～55%、温度(22.0±0.5)℃、12 h昼夜交替。所有实验程序和方案获得贵州医科大学实验动物伦理委员会批准(批准号:2403152)。

1.2 主要仪器和试剂

自制钝性打击器(由贵州医科大学疼痛教研室提供);W132812四通道大鼠跑台(北京东西仪科技有限公司);肌电图仪(NATUS公司);Electric Von Frey电子测痛仪(美国,IITC Life Science Inc);PL-200型热刺痛仪(成都泰盟软件有限公司);YRX160256银质针导热巡检仪(上海曙新科技开发有限公司);Leica DM2500正置显微镜(德国,莱卡);质谱仪(德国,Q Exactive™ HF/Q Exactive™ HF-X),色谱仪(德国,Vanquish UHPLC);色谱柱[美国,Hypesil Gold column (100 mm×2.1 mm,1.9 μm)];低温离心机(美国,D3024R)。戊巴比妥钠(国药集团化学试剂有限公司),H&E染色试剂盒、Nissl染色试剂盒、二甲苯(Solarbio,北京);4% 多聚甲醛(武汉塞维尔生物科技有限公司);甲醇(美国,A456-4);甲酸(美国,A117-50)。

1.3 大鼠MPS模型的建立

采用文献[12,13]中MPS制作模型方法并进行改良,每周实验周期安排如下:第1天,腹腔注射2%戊巴比妥钠溶液(0.2 mL/100 g)麻醉大鼠,取仰卧位固定,暴露右侧股内侧肌,使用打击器以20 cm高度、2.352 J动能进行单次机械打击;第2~4天,每天将大鼠置于−16°倾斜角电动跑台,以16 m/min速度进行60 min离心运动;第5~7天为恢复期,大鼠正常饲养。上述干预持续8周,其余步骤与参考文献中描述的相同。痛阈值降低、触摸右股内侧肌紧张带及质硬膨大结节、肌电图出现局部抽搐反应和自发电位作为MPS模型成功的标准。MPS模型复制成功后筛选出痛阈值较低的大鼠视为顽固性MPS动物模型,从中随机选取6只作为模型组,6只为银质针组进行银质针导热治疗。未干预6只不做任何处理,作为正常组。

1.4 银质针导热治疗

顽固性MPS筛选完成后第1天对银质针组的大鼠进行麻醉,触摸到右股内侧肌肌紧张带或质硬膨大结节区为MTrPs,作为针刺区域。局部消毒后,在大鼠右股内侧肌肌紧张带处刺入2根银质针(针长10 cm,直径0.5 mm),针尖触及股骨表面。银质针导热巡检参数:调节温度110 ℃ 15 min(局部肌组织温度43 ℃),热辐射深度控制在5 mm肌肉层,距离邻近神经血管结构超过3 mm。治疗结束后继续饲养2周。

1.5 检测指标及观察

1.5.1 痛阈值测定 分别在造模前1天(T0)、造模完成后第2天(T1)、银质针导热治疗后第2周(T2)时测定痛阈值。

1.5.1.1 机械刺激缩足阈值(mechanical withdrawal threshold,MWT) 在每次测试开始时,将大鼠单独放入一个玻璃格栅盒中适应15 min。根据Up-Down法[14],使用von Frey纤维检测机械敏感性,将记录到的"XO"值转化为50%的机械阈值[15]。

1.5.1.2 热缩足潜伏期(thermal withdrawal latency,TWL) 热辐射刺激仪器被放置在右后爪足底中央区域,爪撤回反应的潜伏期自动测量并记录。在反射性动作中,热刺激强度为50%,25 s时自动终止,避免组织损伤。每只大鼠重复测量3次,每次间隔5 min,取平均值作为TWL。

1.5.2 肌电图检测 银质针导热治疗2周后检测各组大鼠肌电图。麻醉后,大鼠取仰卧位固定,通过指腹触诊定位右股内侧肌紧张带及质硬结节。将探测电极插入肌紧张带,若诱发局部抽搐反应则确定为触发点,参考电极置于触发点旁4~6 cm处。

1.5.3 H&E和Nissl染色 检测完成后,对大鼠进行2%戊巴比妥钠溶液(0.4 mL/100 g)腹腔注射麻醉致死,取出大脑,将组织分为两部分,一部分置于4%多聚甲醛溶液中,随后乙醇浓度上行脱水及二甲苯透明并行石蜡包埋,以4 μm的厚度制备切片。切片脱蜡后并根据H&E和Nissl试剂盒说明书步骤进行染色。另一部分脑组织剥离出海马组织行液氮速冻,于−80 ℃冰箱中保存,用于代谢组学分析。

1.6 UPLC-MS/MS分析

1.6.1 系统检测 为保障实验质量,采用质量控制(quality control,QC)样本进行系统监控。QC样本由各实验样本等体积混合制备,用于评估色谱-质谱系统稳定性及仪器状态。在实验过程中,每检测10个样本后插入QC样本进行系统校正。

1.6.2 色谱条件 色谱柱:Hypesil Gold column (C_{18}),柱温:40 ℃,流速:0.2 mL/min,流动相A:0.1%甲酸,流动相B:甲醇。色谱梯度洗脱程序:0~1.5 min 2% B相,1.5~3 min 2% B相上升至85% B相,3~10 min上升至100% B相,10~10.1 min 100% B相下降至2% B相,10.1~12 min 2% B相。

1.6.3 质谱条件 质量扫描范围100~1 500 m/z;电喷雾离子源参数:喷雾电压3.5 kV,鞘气流速35 psi,辅助气流速10 L/min,离子传输管温度320 ℃,离子导入射频电压60 V,辅助气加热器温度350 ℃;

采用正负离子模式(positive/negative)采集数据;MS/MS二级扫描采用数据依赖性采集模式。

1.7 统计学处理

采用KEGG数据库(https://www.genome.jp/kegg/pathway.html)对鉴定代谢物进行通路注释。代谢组学数据分析包括:(1)多元统计分析:运用metax软件进行数据标准化处理后,分别进行主成分分析(principal component analysis,PCA)和偏最小二乘法判别分析(partial least squares discriminant analysis,PLS-DA),计算各代谢物的变量重要性投影(variable importance projection, VIP)值;(2)单变量分析:通过t检验计算组间差异显著性(P值)和差异倍数(fold change,FC)。差异代谢物筛选标准为:VIP>1.0, FC>1.2 或 FC<0.833, 且 $P<0.05$[16]。行为学数据采用SPSS 27.0软件处理,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示。用单因素方差分析进行3组及以上比较,方差齐时($P>0.05$)采用LSD检验,方差不齐时($P\leqslant0.05$)采用Dunnett T3检验。方差分析中出现的显著性结果进行了组间的事后多重比较检验,并且对多重比较结果进行Bonferroni校正。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学变化

实验初始(T0)阶段,各组大鼠MWT和TWL差异无统计学意义($P>0.05$)。在模型建立后(T1),与正常组相比,模型组和银质针治疗组的MWT和TWL明显下降($P<0.01$),但2组间差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗干预后(T2),银质针治疗组在MWT和TWL方面较模型组呈现明显改善($P<0.01$),见表1。

表1 各组大鼠右股内侧肌痛阈值(n=6,$\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Pain threshold of the right medial femoral muscle of rats in each group (n=6, $\bar{x}\pm s$)

指标	T0	T1	T2
MWT(g)			
正常组	14.71±0.72	11.90±2.92	11.90±2.92
模型组	14.67±0.71	3.80±1.31$^{\#\#}$	4.36±0.85$^{\#\#}$
银质针组	14.41±0.90	3.16±1.02$^{\#\#}$	9.33±1.55**
TWL(s)			
正常组	15.69±0.62	14.09±1.03	14.83±0.91
模型组	14.86±0.82	9.85±0.56$^{\#\#}$	10.23±0.66$^{\#\#}$
银质针组	14.51±0.76	9.75±0.59$^{\#\#}$	12.29±0.92**

注:MWT:机械刺激缩足阈值;TWL:热缩足潜伏期;与正常组相比,$^{\#\#}P<0.01$;与模型组相比,$^{**}P<0.01$。

2.2 右股内侧肌触诊及肌电图改变

造模后触诊发现各组大鼠右股内侧肌均存在质硬膨大结节。在肌电图检测中,模型组在电极刺激时出现局部抽搐反应及自发电位,证实激痛点形成。静息态检测发现,正常组仅出现低频、低幅不规则微终板电位;模型组呈现高频高幅自发电位,表明模型成功。银质针组自发电位较模型组明显降低,仅偶见波幅升高电位,见图1。

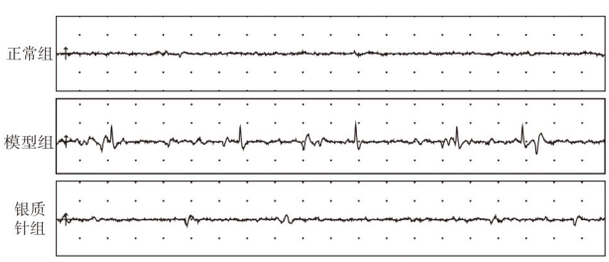


图1 各组大鼠右股内侧肌肌电图检测结果

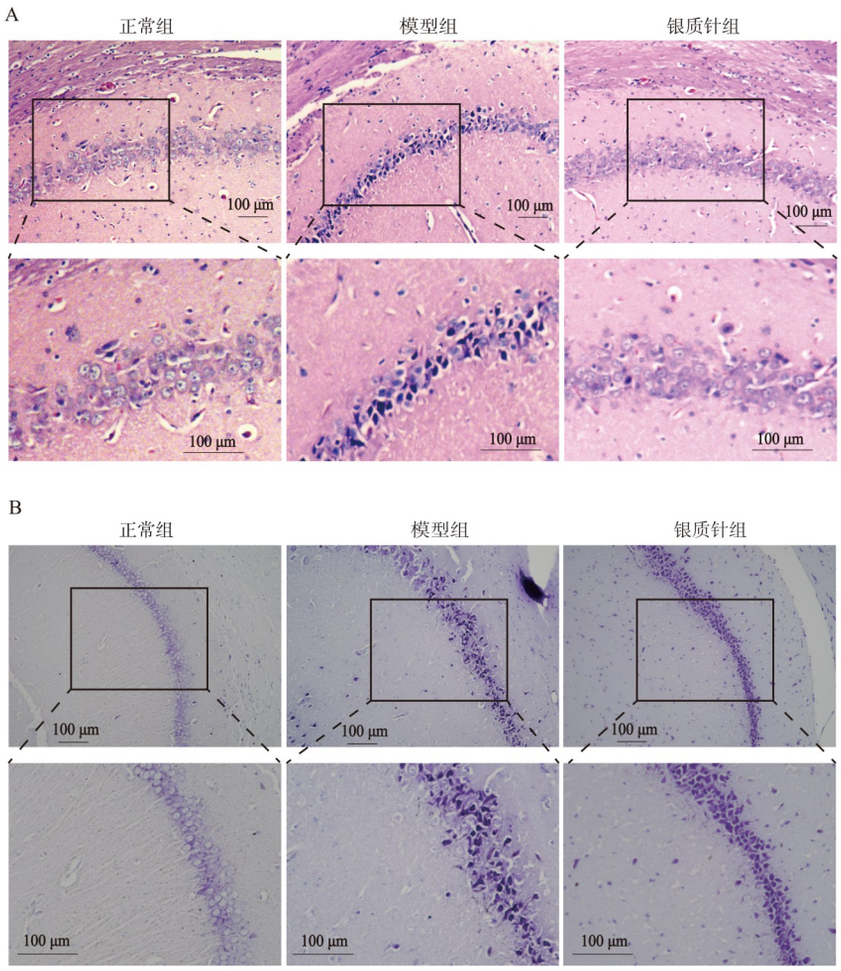
Fig 1 Electromyography detection results of the right medial femoral muscle of rats in each group

2.3 海马病理学分析

海马阿蒙氏角(cornu ammonis,CA)1区H&E和Nissl染色结果显示,正常组神经元排列整齐,细胞体饱满,胞核位于细胞中央,大小适中,尼氏小体染色均匀;模型组可见结构异常,较多神经元核皱缩、固缩染,细胞体积减小,神经元个数减少,尼氏小体固缩、数量减少、排列紊乱,部分尼氏小体破碎、染色深;银质针组形态有所改善,神经元损伤明显减轻,神经元数量趋向正常组,尼氏小体数量增加,排列较整齐,见图2。

2.4 大鼠海马组织代谢物的PCA分析

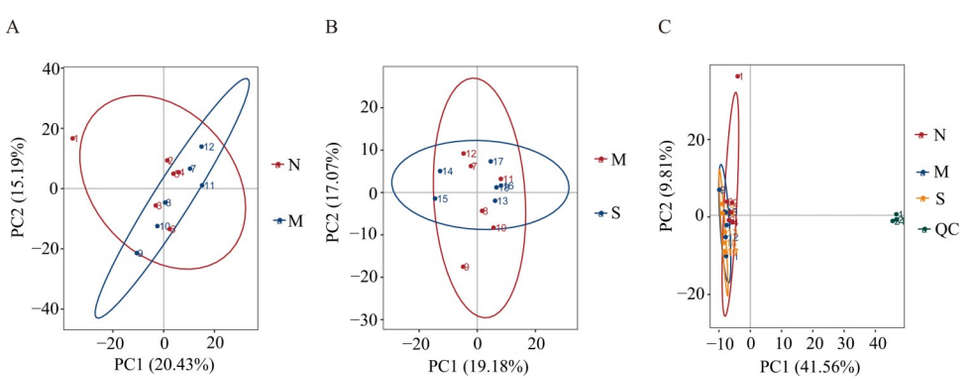
总样本主成分分析图显示,同组样品紧密聚集在一起,表明仪器的稳定性和重复性良好,3组之间初步分离。正常组大鼠和模型组、模型组和银质针组大鼠代谢物间存在分离趋势,说明各组间代谢物有明显差异性,见图3。



A：H&E 染色；B：Nissl染色；比例尺＝100 μm

图 2　各组大鼠海马组织的病理形态学结果

Fig 2　Pathological morphology of hippocampal tissues of rats in each group



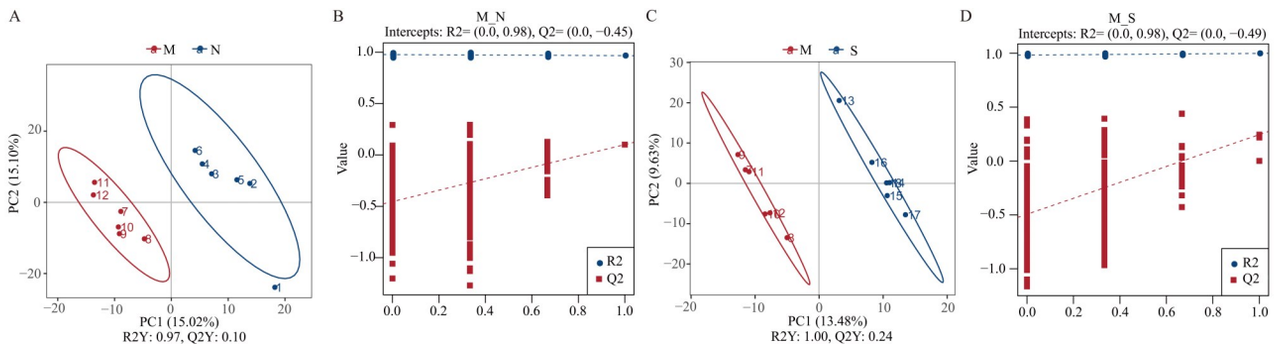
A～C：正常组和模型组、模型组和银质针组、总样本主成分分析图；N：正常组，M：模型组，S：银质针组，QC：质量控制

图 3　各组代谢物的主成分分析图

Fig 3　Principal component analysis of metabolites in each group

2.5　大鼠海马组织代谢物的PLS-DA分析

正常组与模型组、模型组与银质针组无交叉，分离效果好。正常组与模型组PLS-DA模型的R2Y和Q2Y分别为0.97和0.10，模型组与银质针组PLS-DA模型的R2Y和Q2Y分别为1.00和0.24；各组R2Y接近1，表明模型稳定性良好，具有较好的预测能力。截距Q2分别为－0.45和－0.49，小于0，表明模型不存在过拟合现象，处于稳定状态。PLS-DA模型中正常组与模型组明显分离，提示顽固性MPS可引起大鼠海马代谢物发生明显异常改变，见图4。



A、B:正常组和模型组偏最小二乘法判别分析得分散点图及排序验证图;C、D:模型组和银质针组最小二乘法判别分析得分散点图及排序验证图;N:正常组,M:模型组,S:银质针组

图 4　各组偏最小二乘法判别分析得分散点图及排序验证图

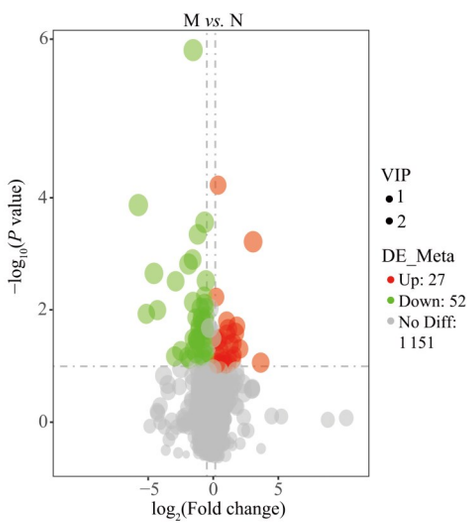
Fig 4　Scatter plots and ranking verification plots of partial least squares discriminant analysis scores for each group

2.6　差异代谢物的筛选结果

PLS-DA模型设定的阈值为VIP＞1.0,FC＞1.2或FC＜0.833且P＜0.05,从所有已鉴定的化合物中筛选差异代谢物。模型组与正常组海马差异代谢物分析比较获得79种显著差异的内源性代谢物,其中27种上调和52种下调。银质针组出现25种代谢物有回调作用,见图5、6。其中7种代谢物在通路中得到进一步鉴定和注释,见表2。

2.7　KEGG代谢通路富集分析

本研究使用KEGG数据库(https://www.genome.jp/kegg/pathway.html)对海马组织的25种差异代谢物进行通路分析,共得到7条代谢通路。银质针组改善MPS大鼠海马结构功能有关通路为甲状腺激素合成、铁死亡、咖啡因代谢、苯丙氨酸代谢、谷胱甘肽代谢、不饱和脂肪酸的生物合成及嘌呤代谢通路,见图7。



N:正常组;M:模型组

图 5　模型组与正常组大鼠代谢物的火山图

Fig 5　Volcano plot of metabolites of rats in the model group and normal group

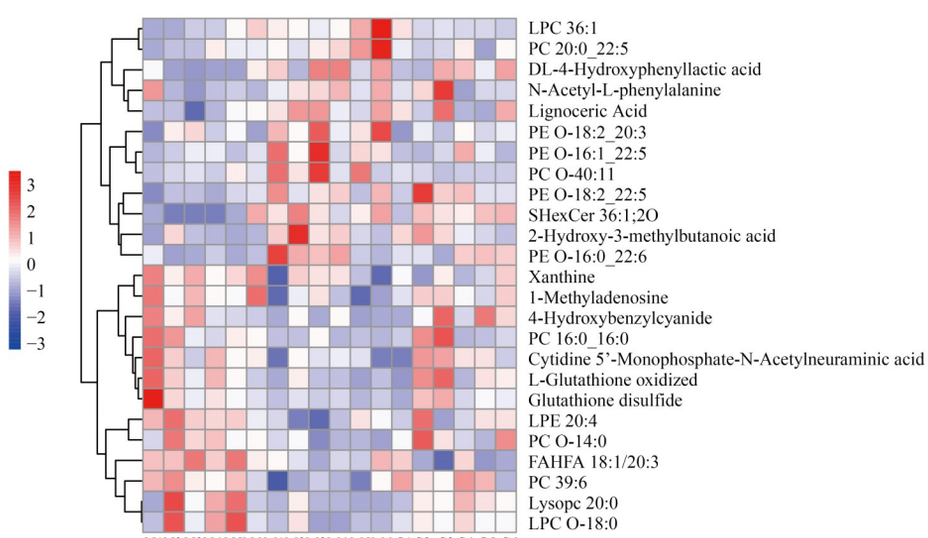


图 6　各组大鼠差异代谢物表达量的热图

Fig 6　Heatmap of differential metabolite expression levels of rats in each group

表 2　大鼠海马差异代谢物的详细信息

Tab 2　Detailed information on differential metabolites in the rat hippocampus

序号	生物标志物	分子式	FC	VIP	变化趋势		化合物归类
					M/N	S/M	
1	PC 39:6	$C_{47}H_{82}NO_8P$	0.594 5	2.079 1	↓*	↑*	-
2	氧化型谷胱甘肽	$C_{20}H_{32}N_6O_{12}S_2$	0.509 7	1.802 0	↓**	↑	有机酸及其衍生物
3	谷胱甘肽二硫醚	$C_{20}H_{32}N_6O_{12}S_2$	0.457 3	1.979 5	↓*	↑	有机酸及其衍生物
4	廿四烷酸	$C_{24}H_{48}O_2$	1.341 0	1.914 1	↑*	↓	脂质和脂质样分子
5	胞苷 5′-单磷酸酯-N-乙酰基神经氨酸	$C_{20}H_{31}N_4O_{16}P$	0.678 5	1.772 3	↓*	↑	核苷、核苷酸和类似物
6	黄嘌呤	$C_5H_4N_4O_2$	0.795 2	2.014 6	↓*	↑	核苷、核苷酸及其类似物
7	N-乙酰-L-苯丙氨酸	$C_{11}H_{13}NO_3$	1.300 1	1.606 5	↑*	↓	有机酸及其衍生物

注：“↑”表示代谢物上调，“↓”表示代谢物下调；N：正常组，M：模型组，S：银质针组；*P<0.05，**P<0.01。

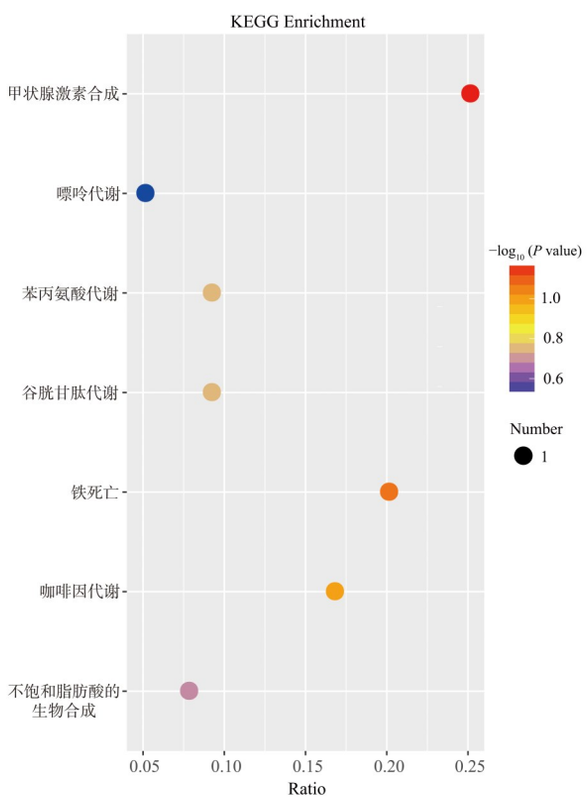


图 7　差异代谢物相关代谢通路的富集分析

Fig 7　Enrichment analysis of differential metabolites related metabolic pathways

3　讨论

MPS是一种常见慢性疾病，局部疼痛是最常见的临床症状，还有许多非疼痛症状，如焦虑抑郁、睡眠障碍和乏力等[17]。顽固性MPS患者会经历长期的疼痛，严重影响患者的工作和生活。不及时治疗或治疗不当会引发严重的功能障碍，最终形成慢性顽固性疼痛[18]。MTrPs的形成或激活被认为是外周和中枢敏化的主要原因[19]。本研究结果发现，动物模型复制成功后，肌电图电极插入紧张带时，均会出现局部抽搐反应和自发电位，这表明大鼠右股内侧肌损伤的部位存在MTrPs的形成及激活。探寻确切有效的治疗方法来减少顽固性MPS患者MTrPs部位伤害性传入和抑制外周敏化，对于防止中枢敏化，缓解患者疼痛并提高生活质量具有重要价值。

海马是位于内侧颞叶的一个复杂结构，主要由CA1、CA2、CA3、CA4和齿状回(dentate gyrus，DG)组成，CA区主要包含锥体神经元，而DG区由颗粒细胞层和苔藓细胞构成[20]。慢性疼痛会导致海马的形态和神经可塑性的变化，尤其是海马齿状回和CA区体积的减少，这是导致慢性疼痛患者出现中枢敏化的重要因素[21,22]。有研究认为肌肉损伤引发的外周敏化是MPS海马病变的原因，因为长期的自发静息电活动和外周痛觉记忆持续输入会导致中枢敏化现象，并引发海马结构的改变[23]，最终诱发患者抑郁情绪体验。而负性情绪会导致个体降低对疼痛的耐受性和增加对疼痛的主观感知，患者对疼痛更加敏感，形成恶性循环[24]。

本实验结果显示，模型组大鼠痛阈值降低，且海马CA1区病理可见结构异常，较多神经元核皱缩和深染，细胞体积减小，神经元数量减少，出现明显坏死部分，表明伴有焦虑抑郁的顽固性MPS大鼠存在海马损伤。而银质针治疗后，海马中CA1区排列结构较为整齐，细胞形态较圆润饱满，神经元损伤明显减轻，神经元形态和数量趋向正常组。表明银质针疗法不仅提高顽固性MPS大鼠痛阈，还有效减轻顽固性MPS大鼠海马神经元损伤，因此可以推测出银质针疗法在临床上有较好的远期疗效可能与中枢调控有关。因此，本研究基于顽固性MPS大鼠海马异常结构，通过非靶向代谢组学分析挖掘银质针导热疗法的潜在中枢机制，结果发现其治疗作用涉及多条代谢通路，如甲状腺激素合成、铁死亡、咖

啡因代谢、苯丙氨酸代谢、谷胱甘肽代谢、不饱和脂肪酸的生物合成、嘌呤代谢通路。其中，甲状腺激素合成、咖啡因代谢、苯丙氨酸代谢和嘌呤代谢通路主要与情绪调节有关，咖啡因代谢和嘌呤代谢通路富集到共同代谢产物。

甲状腺激素通过血脑屏障或脉络丛进入大脑，在大脑的生长发育和功能执行过程中发挥着重要作用[25]。海马体是情绪处理的重要结构，含有丰富的甲状腺激素受体，对甲状腺激素十分敏感[26]。有研究发现甲状腺功能与中枢神经系统的症状（如认知障碍、抑郁症和痴呆症）之间存在关联，而且该研究还发现甲状腺激素对中枢神经系统疾病（如阿尔茨海默病、癫痫、抑郁症和帕金森病）的发病机制有影响[27]。最近研究发现甲状腺功能减退的啮齿动物出现海马锥体细胞和颗粒细胞尺寸减小，神经元迁移异常的现象[28,29]。Maglione等[30]的研究发现三碘甲状腺素补充可能通过调节5-羟色胺的表达来改善阿尔茨海默病小鼠模型中的抑郁样行为，这表明甲状腺激素参与神经递质发生的过程，并具有抗抑郁治疗的功效。有研究发现甲状腺激素通过影响线粒体代谢、氧化应激水平、神经递质平衡及肌肉组织修复能力来参与慢性疼痛的发病机制[31]。在本研究中，甲状腺激素代谢物氧化型谷胱甘肽和谷胱甘肽二硫醚在模型组中明显下调，表明MPS大鼠可能存在甲状腺激素代谢紊乱。银质针治疗后这些代谢物水平出现回调，表明其可能通过干预甲状腺激素代谢途径发挥海马的保护作用来改善MPS患者抑郁样行为。

嘌呤代谢涉及核苷酸的合成，分解和再利用，这一代谢途径的特点是通过各种脱氨酶从核苷酸，核苷和碱基水平脱去氨基，生成黄嘌呤、次黄嘌呤和尿酸。其代谢产物腺苷在调节神经活动、突触可塑性和神经保护中起着重要作用[32]。海马中腺苷受体分为A1、A2A和A2B，其中A2A受体最为丰富，而且A2A受体拮抗剂被广泛应用于治疗抑郁、焦虑和疼痛等疾病[33]。在慢性应激条件下，小鼠海马区嘌呤代谢产物ATP、ADP和AMP的浓度均明显降低，这会引发神经元的死亡和突触功能的退化[34]。咖啡因是一种甲基黄嘌呤生物碱化合物，其代谢物脱甲基氧化后衍生为黄嘌呤和尿酸。这表明其可以作为腺苷A2A受体拮抗剂，因此，咖啡因被广泛用于偏头痛的辅助疗法[35]。Stazi等[36]发现长期咖啡因摄入会改善小鼠AD模型导致的海马神经元丢失减少。此外，Birkinshaw等[37]的研究表明在标准剂量下，抗抑郁药度洛西汀对成人慢性疼痛患者的疼痛缓解、疼痛强度、情绪改善均有治疗效果。Vannabhum等[38]的研究通过LC-MS/QTOF非靶向代谢组学技术比较患有斜方肌肌筋膜疼痛的患者与健康对照之间的代谢产物差异，发现嘌呤代谢通路在患者组中被显著富集。研究还发现嘌呤代谢产物的升高会引发局部组织代谢异常、炎症激活或氧化应激水平升高。本研究中黄嘌呤是嘌呤代谢和咖啡因代谢的共同代谢产物，在模型组中明显下调，而银质针治疗后出现回调。本研究结果表明银质针疗法参与了海马黄嘌呤代谢调控，为评估海马功能及治疗效果提供了依据。

苯丙氨酸代谢通过苯丙氨酸羟化酶转化为酪氨酸，酪氨酸通过酪氨酸羟化酶转化为多巴。而多巴是合成多巴胺、去甲肾上腺素和肾上腺素的前体，这些神经递质在疼痛调控、情绪调节和自主神经功能中具有关键作用[39]。海马结构接收来自脑干核团的投射，如蓝斑核的主要去甲肾上腺素能输入，腹侧被盖区的多巴胺能投射和来自缝核5-羟色胺能支配。抑郁症的发生与多巴胺、去甲肾上腺素和5-羟色胺等单胺类神经递质的异常有关，目前临床上用于治疗抑郁症的一线药物都是在经典的单胺假说下研发的[40]。大脑中高浓度苯丙氨酸与氨基酸转运蛋白L型氨基酸转运体1竞争性结合，会影响芳香族酸和其他中性氨基酸通过非钠依赖性途径穿过血脑屏障进入大脑。这会导致脑蛋白质合成减少和脑内神经递质缺乏，并出现神经毒性效应[41]。在苯丙酮尿症患者的尿液和血浆中可以观察到苯丙氨酸，苯丙酮酸和N-乙酰-L-苯丙氨酸（N-Acetyl-L-phenylalanine，NALP）的异常积累引发海马损伤[42,43]。本实验结果发现，模型组大鼠海马结构出现损伤，苯丙氨酸代谢产物NALP增高，这可能是造成模型组大鼠海马病理性损伤的主要物质。而银质针治疗后NALP出现了回调，这表明银质针疗法可能是通过抑制苯丙氨酸代谢途径减少NALP的产生，增加神经递质的合成发挥抗抑郁和镇痛作用来改善海马病理结构。

虽然本研究通过代谢组学手段系统地揭示了银质针导热疗法对MPS大鼠海马区代谢异常的干预作用，并初步确定了7条关键的代谢通路。但是本研究每组仅6只大鼠，较小的样本量可能限制了代谢物筛选和统计效能，研究结果仍需在更大样本量中进一步验证。而且MPS为复杂的中枢感知调控疾病，其他中枢结构如前额叶皮质、丘脑或脊髓

背角等也可能参与疾病的病理过程，未来可扩展代谢组学分析的脑区范围。本研究通过KEGG分析富集了与治疗相关的通路，但尚未对其中关键代谢物或酶类进行功能验证。未来的研究可以结合转录组与代谢组多组学分析，探究差异代谢物背后的基因表达调控机制，构建更完整的“基因-代谢物-表型”调控网络，并且运用siRNA或CRISPR等分子生物学技术，对富集通路中关键基因或代谢酶进行干扰或过表达实验，验证其在银质针干预过程中的功能作用。

综上所述，本研究结果表明，顽固性MPS大鼠出现海马结构异常和海马神经元损伤，并出现多种代谢通路异常，而银质针导热疗法可以改善这种损伤。银质针导热疗法可能通过调控甲状腺激素合成、咖啡因代谢、苯丙氨酸代谢和嘌呤代谢通路发挥治疗作用，表明银质针导热疗法在临床上有较好的远期疗效，并可能与中枢调控有关。但由于本研究样本量有限且缺乏差异代谢物的验证实验，后续研究将对已鉴定的代谢物进行验证。本研究为该疗法的临床应用提供科学依据和理论支持。

作者贡献度说明：

盛端阳和安松松为并列第一作者。盛端阳：选题、实验操作、论文撰写及修改；安松松：文献检索、资料整合；陈云婷、吕相龙：实验技术指导；安松松、沈昌玉：实验动物饲养、标本采集。王林、沃春新、黄媛馨：指导、论文审阅与修改。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 朱圣芳. 基于数据挖掘分析针灸治疗肌筋膜疼痛综合征研究[D]. 广州：广州中医药大学，2023.
Zhu SF. Research on acupuncture treatment of myofascial pain syndrome based on data mining analysis [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2023.

2 Tsai P, Edison J, Wang C, et al. Myofascial trigger point (MTrP) size and elasticity properties can be used to differentiate characteristics of MTrPs in lower back skeletal muscle[J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 7562.

3 Steen JP, Jaiswal KS, Kumbhare D. Myofascial pain syndrome: An update on clinical characteristics, etiopathogenesis, diagnosis, and treatment [J]. Muscle Nerve, 2025, 71(5): 889-910.

4 Badil Güloğlu S, Tunç S. The assessment of affective temperament and life quality in myofascial pain syndrome patients[J]. Int J Psychiatry Clin Pract, 2022, 26(1): 79-84.

5 胡睿涵，张衙楠，于心同，等. 海马在慢性疼痛发生发展过程中的退行性病变[J]. 生命科学研究，2024，28(5)：383-388.
Hu RH, Zhang YN, Yu XT, et al. Neurodegeneration in the hippocampus during the progression of chronic pain [J]. Life Sci Res, 2024, 28(5): 383-388.

6 Gao J, Wang D, Zhu C, et al. ^{1}H-MRS reveals abnormal energy metabolism and excitatory-inhibitory imbalance in a chronic migraine-like state induced by nitroglycerin in mice[J]. J Headache Pain, 2024, 25(1): 163.

7 Lomer NB, Asalemi KA, Saberi A, et al. Predictors of multiple sclerosis progression: A systematic review of conventional magnetic resonance imaging studies [J]. PloS One, 2024, 19(4): e0300415.

8 陈军，贾伟，董宏然. 银质针针刺治疗慢性软组织疼痛的研究进展[J]. 中国民间疗法，2024，32(4)：116-119.
Chen J, Jia W, Dong HR. Research progress of the treatment of chronic soft tissue pain by acupuncture with silver needles[J]. Chin Naturopa, 2024, 32(4): 116-119.

9 郑宇辰，李向欣，李跃飞，等. 银质针配合温控银针治疗仪治疗腰背肌筋膜炎临床研究[J]. 风湿病与关节炎，2024，13(1)：36-39.
Zheng YC, Li XX, Li YF, et al. Clinical study on the treatment of lumbar and dorsal myofasciitis with silver needle combined with temperature controlled silver needle therapy device[J]. Rheumat Arthritis, 2024, 13(1): 36-39.

10 王明，张杰，杨时雨. 银质针导热疗法治疗颈源性头痛的临床疗效及其机制探讨[J]. 微循环学杂志，2024，34(4)：24-31.
Wang M, Zhang J, Yang SY. Clinical efficacy and mechanism of silver needle heat conduction therapy in the treatment of cervicogenic headache [J]. Chin J Microcircul, 2024, 34(4): 24-31.

11 Lv X, Wo C, Yao J, et al. Silver needle thermal therapy relieves pain, repairs the damaged myofascial fiber, and reduces the expression of 5-HT3 receptors in the spinal cord of rats with myofascial pain syndrome [J]. Neurol India, 2022, 70(Suppl): S288-S295.

12 韩蓓，黄强民，谭树生，等. 大鼠肌筋膜疼痛触发点自发肌电现象和病理组织学研究[J]. 中国运动医学杂志，2011，30(6)：532-535.
Han B, Huang QM, Tan SS, et al. Spontaneous myoelectric phenomenon and histopathology of myofascial trigger points in rats [J]. Chin J Sport Med, 2011, 30(6): 532-535.

13 姚明华，黄强民. 肌筋膜触发点疼痛的实验动物模型研究[J]. 中国运动医学杂志，2009，28(4)：415-418.

Yao MH, Huang QM. Development of experimental mouse model of myofascial trigger points[J]. Chin J Sports Med, 2009, 28(4): 415-418.

14 Modi AD, Parekh A, Pancholi YN. Evaluating pain behaviours: Widely used mechanical and thermal methods in rodents[J]. Behav Brain Res, 2023, 446: 114417.

15 Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1980, 20(1): 441-462.

16 Tsugawa H, Cajka T, Kind T, et al. MS-DIAL: Data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis[J]. Nat Methods, 2015, 12 (6): 523-526.

17 Rezaee H, Behkar A, Tafakhori A, et al. Relationship of myofascial trigger points with related disability, anxiety, and depression in patients with migraine headaches [J]. Head Face Med, 2024, 20(1): 47.

18 Gnasso R, Corrado B, Iommazzo I, et al. Assessment, pharmacological therapy and rehabilitation management of musculoskeletal pain in children with mucopolysaccharidoses: A scoping review[J]. Orphanet J Rare Dis, 2022, 17(1): 255.

19 Fernández-De-Las-Peñas C, Nijs J, Cagnie B, et al. Myofascial pain syndrome: A nociceptive condition comorbid with neuropathic or nociplastic pain[J]. Life (Basel), 2023, 13(3): 694.

20 Shi H, Wang S, Wang X, et al. Hippocampus: Molecular, cellular, and circuit features in anxiety[J]. Neurosci Bull, 2023, 39(6): 1009-1026.

21 Kami K, Tajima F, Senba E. Brain mechanisms of exercise-induced hypoalgesia: To find a way out from "fear-avoidance belief"[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(5): 2886.

22 Wei J, Wang L, Zhang Y, et al. TRIM25 promotes temozolomide resistance in glioma by regulating oxidative stress and ferroptotic cell death *via* the ubiquitination of keap1[J]. Oncogene, 2023, 42(26): 2103-2112.

23 De Tommaso M, Vecchio E, Nolano M. The puzzle of fibromyalgia between central sensitization syndrome and small fiber neuropathy: A narrative review on neurophysiological and morphological evidence[J]. Neurol Sci, 2022, 43(3): 1667-1684.

24 Ma T, Ji Y, Yan L, et al. Gray matter volume abnormality in chronic pain patients with depressive symptoms: A systemic review and meta-analysis of voxel-based morphometry studies[J]. Front Neurosci, 2022, 16: 826759.

25 Liu YY, Brent GA. The role of thyroid hormone in neuronal protection[J]. Compr Physiol, 2021, 11(3): 2075-2095.

26 Naicker M, Naidoo S. Cellular and molecular distribution of thyroid-specific proteins, thyroid-stimulating hormone receptor (TSH-R) and thyroglobulin (TG) in the central nervous system[J]. Neurochem Int, 2022, 155: 105305.

27 Sawicka-Gutaj N, Zawalna N, Gut P, et al. Relationship between thyroid hormones and central nervous system metabolism in physiological and pathological conditions[J]. Pharmacol Rep, 2022, 74(5): 847-858.

28 Richard S, Ren J, Flamant F. Thyroid hormone action during GABAergic neuron maturation: The quest for mechanisms[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2023, 14: 1256877.

29 Rovet JF. Targeting the manifestations of subclinical and overt hypothyroidism within the hippocampus[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2024, 109(10): e1950-e1954.

30 Maglione AV, Do Nascimento BP, Ribeiro MO, et al. Triiodothyronine treatment reverses depression-like behavior in a triple-transgenic animal model of Alzheimer's disease[J]. Metab Brain Dis, 2022, 37(8): 2735-2750.

31 Singh S, George R, Kalladka M, et al. Orofacial pain considerations in autoimmune disorders: Narrative review[J]. Front Oral Maxillofac Med, 2024, 6: 18.

32 赵琳儒, 何盼, 李杰, 等. 柴芩宁神颗粒改善失眠大鼠睡眠作用的海马代谢组学研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(7): 1921-1931.
Zhao LR, He P, Li J, et al. Sleep-improving mechanism of Chaiqin Ningshen Granules in insomnia rats: Based on hippocampal metabonomics[J]. Chin Chin Mater Med, 2022, 47(7): 1921-1931.

33 Vincenzi F, Pasquini S, Contri C, et al. Pharmacology of adenosine receptors: Recent advancements[J]. Biomolecules, 2023, 13(9): 1387.

34 Tomczyk M, Glaser T, Slominska EM, et al. Purine nucleotides metabolism and signaling in Huntington's disease: Search for a target for novel therapies[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(12): 6545.

35 张羽冠, 申乐, 许力, 等. 咖啡因对急慢性疼痛的调控及其可能的机制[J]. 中国医学科学院学报, 2014, 36 (6): 697-700.
Zhang YG, Shen L, Xu L, et al. Regulatory effect of caffeine on the acute and the chronic pain and its possible mechanisms[J]. Acta Acad Med Sin, 2014, 36(6): 697-700.

36 Stazi M, Lehmann S, Sakib MS, et al. Long-term caffeine treatment of Alzheimer mouse models ameliorates behavioural deficits and neuron loss and promotes cellular and molecular markers of neurogenesis[J]. Cell Mol Life Sci, 2021, 79(1): 55.

37 Birkinshaw H, Friedrich CM, Cole P, et al. Antidepressants for pain management in adults with chronic pain: A network meta-analysis [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2023, 5(5): CD014682.

38 Vannabhum M, Harnphadungkit K, Akarasereenont P, et al. Untargeted metabolomics analysis using LC-MSQTOF for metabolite profile comparison between patients with myofascial pain of upper trapezius muscle versus controls[J]. Siriraj Med J, 2022, 74(11): 792-803.

39 Azizi SA. Monoamines: Dopamine, norepinephrine, and serotonin, beyond modulation, "switches" that alter the state of target networks[J]. Neuroscientist, 2022, 28(2): 121-143.

40 Pannu A, Goyal RK. The potential role of dopamine pathways in the pathophysiology of depression: Current advances and future aspects [J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2025, 24(5): 340-352.

41 Elhawary NA, Aljahdali IA, Abumansour IS, et al. Genetic etiology and clinical challenges of phenylketonuria [J]. Hum Genomics, 2022, 16(1): 22.

42 Liu P, Yang Q, Yu N, et al. Phenylalanine metabolism is dysregulated in human hippocampus with Alzheimer′s disease related pathological changes [J]. J Alzheimers Dis, 2021, 83(2): 609-622.

43 Wyse AT, Dos Santos TM, Seminotti B, et al. Insights from animal models on the pathophysiology of hyperphenylalaninemia: Role of mitochondrial dysfunction, oxidative stress and inflammation [J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(6): 2897-2909.

［本文编辑］ 陈思润