



寒热性中药成分对 TRPV1 和 TRPM8 通道蛋白基因表达的影响

隋峰, 杨娜, 张畅斌, 杜新亮, 李兰芳, 翁小刚, 郭淑英, 霍海如, 姜廷良*

(中国中医科学院 中药研究所 唐氏中药研究中心, 北京 100700)

[摘要] 目的:探讨寒热中药的成分与 TRP 家族中 TRPV1 和 TRPM8 通道蛋白 mRNA 表达的相关性。方法:原代培养 DRG 神经元,在体外观察中药单体对通道蛋白表达的影响,基因的表达式采用荧光定量 PCR(real time PCR)法检测,数据分析采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法。结果:热性中药的成分(吴茱萸碱、桂皮醛)上调 TRPV1 的表达,下调 TRPM8 的表达,尤以寒负荷后更为明显;寒性中药的成分(黄芩苷、大黄素)上调 TRPM8 的表达,下调 TRPV1 的表达,尤以热负荷后更为明显。结论:对 TRPV1 与 TRPM8 的表达调节可能与中药的寒热药性相关,这可能是寒热性中药临床上发挥寒热调节作用的机制之一。

[关键词] 寒热; DRG 神经元; TRPV1; TRPM8; 荧光定量 PCR

瞬变感受器电位离子通道蛋白(transient receptor potential ion channel protein, TRPs)是近年来发现存在于细胞膜或胞内细胞器膜上的一类非选择性阳离子通道,其编码的蛋白质广泛分布于包括人类在内的哺乳动物不同组织中^[1-2]。TRPV1 和 TRPM8 是目前为止 TRP 通道蛋白中生理病理机制较为明确的家族成员,主要分布在三叉神经节和背根神经节的小型神经元等外周感觉神经元中,可分别被热刺激($>43\text{ }^{\circ}\text{C}$)和冷刺激($<28\text{ }^{\circ}\text{C}$)激活,激活后以钙离子进入的方式将温觉信息出入中枢^[3-5]。近年研究表明,TRPV1 和 TRPM8 作为温觉感受器,与机体寒热感受和温度调节相关^[6-7]。“治寒以热,治热以寒”是中医临床治疗寒热证用药的基本原则,而机体的寒热信息的感知有赖于 TRP 家族中与寒热感受相关的通道蛋白通过蛋白的介导。为此,设想中药调寒、调热的作用及其特点可能与其寒热属性对寒热感受的 TRP 通道蛋白的影响有关。基于此,本研究首次从机体的温觉感受环节入手,在获取高纯度和活度背根节(DRG)神经元的基础上,分别选取临床常用、寒热属性明确的中药,以 TRP 家族成员 TRPV1 和 TRPM8 为关注对象,探讨寒性中

药成分黄芩苷和大黄素及热性中药成分吴茱萸碱和桂皮醛对其的影响,以期发现规律性的联系,为深入揭示中药寒热属性的本质特征奠定基础。

1 材料与方法

1.1 动物和试剂 新生 SD 大鼠购于中国中医科学院基础医学研究所,许可证号 SCXK(军)2002-001;喜树碱(CPT,纯度 $>99\%$,四川黄石飞云制药有限公司);桂皮醛(北京旭东化工厂);黄芩苷、大黄素、吴茱萸碱(中国药品生物制品检定所);Leibovitz's L15 培养基、Neurobasal 培养基、胎牛血清(FBS)、葡萄糖、B27 添加剂、胶原酶 I(Gibco 公司);神经生长因子(NGF)、多聚赖氨酸(PLL)、层黏连蛋白(LN)、胰蛋白酶(trypsin)(Sigma 公司);兔神经生长相关蛋白(GAP)-43 多克隆抗体(Abcam 公司);兔抗鼠二抗(Santa Cruse);Erasol(北京赛百盛基因技术有限公司);RNA-OUT 总 RNA 提取试剂盒、DEPC 处理水(北京天来生物医学科技有限责任公司);M-MLV 逆转录酶(Promega,批号 16644223);M-MLV Reverse RT 5 × Buffer(Promega,批号 19262204);RNAsafe, Oligo(dT)15, dNTP, Real-MasterMix 试剂盒(北京天根生物技术有限公司);目的基因 TRPV1, TRPM8, 内参 GAPDH 的引物均由上海英骏生物技术有限公司合成。

1.2 仪器 DYY-III5 型电泳仪(北京市六一仪器厂);Gene Quant II 型核酸定量仪(英国 Pharmacia Biotech 公司);SYNGENE-GeneGenius 全自动凝胶成像系统(北京百晶生物技术有限公司);900 型超低

[稿件编号] 20090716003

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30672677,30873393);国家重点基础研究发展计划(973)项目(2006CB504701);北京市自然科学基金项目(7092074)

[通信作者] *姜廷良, Tel: (010)84010905



温冰箱(美国 Thermo Forma 公司);IQ5 荧光定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司);Eppendorf-5402F 低温离心机(美国基因仪器公司);BDS260 电热三用水箱(北京医疗设备厂)。

1.3 背根神经节的分离与培养 大鼠乳鼠置于 75% 乙醇消毒后剪除头部,在解剖显微镜下用眼科剪从背部剖开皮肤并沿脊椎将髓腔打开,暴露椎管内的脊髓,用显微镊小心将脊髓两侧的 DRG 从椎管内取出,剔除神经根和包膜后,置于 4 °C L15 培养基中备用。将 DRG 自 L15 培养基移入 0.1% 胶原酶中 37 °C 消化 15 min 后,用吸管小心吸除胶原酶,再换入 0.25% 胰蛋白酶(trypsin)内,37 °C 消化 40 min。1 000 r · min⁻¹ 离心 5 min,小心吸去胰酶消化液,加入 FBS 中止消化,1 000 r · min⁻¹ 离心 5 min,吸除 FBS 换入常规培养基,并用细头吸管反复吹打制成单细胞悬液。细胞计数后,按 1 × 10⁶ 个/mL 接种于预先已包被 PLL 和 LN 的 35 mm 细胞培养皿内,37 °C,5% CO₂ 条件下培养 48 h 后,换入终浓度 20 μmol · L⁻¹ 的 CPT 培养基中。作用 48 h 后,

更换 DRG 常规培养基,每周换液 2 次,在倒置相差显微镜下,观察 DRG 神经元的形态特征^[8]。

1.4 所试药物成分的浓度选择及体外药物处理 根据相关的参考文献及本室以往的研究结果,选择所试成分的试验浓度及作用时间,并在 HepG2 细胞株上进行体外毒性测试;在实验时观察对原代 DRG 神经细胞的活性状态的影响。药物浓度确定后,选取纯化后的细胞随机分组后,加入不同药物,37 °C 刺激组放入 CO₂ 培养箱中继续培养 24 h;39 °C 负荷组在 CO₂ 培养箱中(37 °C)作用 23 h 后,放入 39 °C 温度条件下继续刺激 1 h;19 °C 负荷组在 CO₂ 培养箱中(37 °C)作用 22 h 后,放入 19 °C 温度条件下继续刺激 2 h,将含有药物的培养液吸除,并用 PBS 清洗 3 次,然后提取总 RNA,制备 cDNA,并采用实时荧光定量 PCR 方法进行基因表达的检测。

1.5 引物的设计与合成 从 Genbank 中获取大鼠相关检测指标的基因序列,引物序列及其相关参数见表 1。

表 1 Real-time PCR 所用引物序列及其相关参数

基因	序列(5'-3')	扩增长度/bp	核苷酸区域	序列号
TRPV1	F:ACTAACTGCCAGGAGCTGGA R:GTGTCTATTCTGCCATTGTG	146	450 ~ 595	NM_031982
TRPM8	F:TGCAGGAGAACAACGATCAG R:CTAAGCGAAGACGACGAAGG	104	3 004 ~ 3 107	NM_134371
GAPDH	F:CCTTCATTGACCTCAACTACATG R:CTTCTCCATGGTGGTGAAGAC	212	180 ~ 391	XR_007559

1.6 总 RNA 提取 含细胞的 35 mm 培养皿,每孔加 1 mL 的 RNAout,吹打使细胞全部裂解,转移至新的离心管中;每管加入 0.2 mL 氯仿,振荡器上充分振荡混匀 30 s,室温 15 000 × g 离心 3 min,将上清液转移到另一干净离心管中,加入等体积的异丙醇,振荡器上振荡混匀 30 s 后,4 °C 15 000 × g 离心 5 min;在含 RNA 沉淀的离心管中加入 1 mL 预先用 DEPC 水配制好的 75% 乙醇,振荡 30 s,4 °C 15 000 × g 离心 1 min;小心吸弃上清液,室温放置 10 min,使乙醇挥发,每管加 50 μL DEPC 水溶解 RNA 沉淀,取 10 μL,加无菌水至 1 mL,测定 RNA 含量。

1.7 cDNA 制备 用无菌水稀释总 RNA,使每 1 μL 含总 RNA 0.2 μg,分别取 10 μL 加入到无核酸酶离心管中,加入 10 μmol · L⁻¹ Oligo 2 μL 和 10 μmol · L⁻¹ dNTP 2 μL,70 °C 加热 5 min 后,迅速在冰上冷却

2 min,简短离心收集反应液后,加入 4 μL 5 × First-Strand buffer 和 0.1 mol · L⁻¹ DTT 1 μL;然后再加入 1 μL(200 U) TIANScript M-MLV,用移液器轻轻混匀,42 °C 水浴 50 min,转至 94 °C 水浴 5 min,冰浴 10 min,-20 °C 冰箱保存备用^[8]。

1.8 荧光定量 PCR 操作方法 20 μL PCR 反应体系中含 2 × SYBR Green PCR Master Mix 10 μL,cDNA 2 μL,引物 2 pmol。同时以 GAPDH 作为内参平行对照。IQ5 荧光定量 PCR 仪上进行扩增,扩增条件为 94 °C 5 min 变性,94 °C 30 s,58 °C 30 s,72 °C 30 s,45 个循环,72 °C 延伸 5 min,并做熔点曲线^[9]。

1.9 荧光定量 PCR 数据处理及统计方法 本实验采用荧光定量相对定量的方法,并以 2^{-ΔΔCT} 表示实验结果,该方法是比较经过处理的样品和未经处理的样品目标转录本之间的表达差异(倍数关系)。



该方法应用的前提是目的基因和内参基因的扩增效率一致,故本实验在实验前对目的基因和内参基因的扩增效率进行了比对,其扩增效率基本相同,故可采用此方法进行数据处理和分析,其计算公式: $\Delta\Delta CT = (CT_{Target} - CT_{GAPDH})_X - (CT_{Target} - CT_{GAPDH})_{Control}$, X 表示任意组,Control 表示经 GAPDH 校正后 1 倍量的目标基因表达^[7-8]。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本比较采用方差分析 (ANOVA),两样本间差异分析采用 t 检验, $P < 0.05$ 为显著性差异, $P < 0.01$ 为非常显著性差异。

2 结果

2.1 寒热中药成分在测试温度范围内对 DRG 神经元活性的影响 在所测试药物成分的浓度和温度范围以及作用时间内,DRG 神经元的形态完整,贴壁良好,折光度明显,神经突起相互连接成网络,提示功能状态良好,测试温度和药物成分在所选的范围并未对其活性产生明显影响。

2.2 不同温度条件下寒性中药成分对 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达的影响 37 °C 条件下,大黄素高剂量组可显著增高 TRPM8 的表达 ($P < 0.05$),亦可显著下调 TRPV1 mRNA 表达 ($P < 0.05$) (表 2)。2 种寒性中药的成分对热 (39 °C) 处理后的 DRG 神经元通道表达的影响均较为明显,其中,大黄素的高剂量组对热负荷所致的 TRPV1 表达的升高具有显著的抑制作用 ($P < 0.05$);黄芩苷和 2 种寒性中药的成分对热 (39 °C) 负荷所致 TRPM8 的表达的下降 ($P < 0.01$),大黄素的中、低剂量组与对照组比较也有显著差异 ($P < 0.05$) (表 3)。2 种寒性中药的成分对寒负荷 (19 °C) 所致 TRPV1 表达的下调及 TRPM8 表达的上调均未见显著影响 (表 4)。

表 2 37 °C 下寒性成分对 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	剂量/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$2^{-\Delta\Delta CT}$	
		TRPV1	TRPM8
37 °C 对照	-	1.02 ± 0.27	1.01 ± 0.21
黄芩苷	50	1.05 ± 0.23	1.04 ± 0.23
	25	0.94 ± 0.19	1.09 ± 0.32
	12.5	0.96 ± 0.41	0.97 ± 0.31
大黄素	60	0.66 ± 0.39 ¹⁾	1.24 ± 0.23 ¹⁾
	30	0.84 ± 0.35	1.15 ± 0.19
	15	0.95 ± 0.27	1.07 ± 0.30

注:与 37 °C 对照比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

表 3 39 °C 下寒性成分对 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	剂量/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$2^{-\Delta\Delta CT}$	
		TRPV1	TRPM8
37 °C 对照	-	1.01 ± 0.24	1.02 ± 0.25
39 °C 模型	-	4.44 ± 0.75 ¹⁾	0.68 ± 0.20 ¹⁾
黄芩苷	50	4.01 ± 0.64	0.98 ± 0.24 ³⁾
	25	3.98 ± 0.79	0.84 ± 0.31
	12.5	4.13 ± 0.71	0.72 ± 0.20
大黄素	60	3.74 ± 0.53 ²⁾	0.97 ± 0.35 ³⁾
	30	4.14 ± 0.68	0.91 ± 0.19 ²⁾
	15	4.18 ± 1.01	0.89 ± 0.21 ²⁾

注:与 37 °C 对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与 39 °C 模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

表 4 19 °C 下寒性成分对 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	剂量/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$2^{-\Delta\Delta CT}$	
		TRPV1	TRPM8
37 °C 对照	-	1.01 ± 0.21	1.03 ± 0.23
19 °C 模型	-	0.61 ± 0.17 ¹⁾	2.87 ± 0.90 ¹⁾
黄芩苷	50	0.56 ± 0.18	3.32 ± 0.76
	25	0.59 ± 0.21	3.17 ± 0.58
	12.5	0.60 ± 0.20	3.03 ± 0.57
大黄素	60	0.46 ± 0.24	3.71 ± 0.96
	30	0.49 ± 0.19	3.57 ± 0.91
	15	0.61 ± 0.17	3.70 ± 0.86

注:与 37 °C 对照组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

2.3 不同温度条件下热性中药成分对 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达的影响 37 °C 条件下,热性中药的成分除桂皮醛高、中剂量组上调 TRPV1 表达 ($P < 0.05$) 外,其他成分各剂量组对 TRPV1 表达的影响与对照组相比均未见显著变化;2 种中药成分对 TRPM8 表达的影响不大,但总体看,有下调趋势 (表 5)。2 种热性中药的成分对热处理 (39 °C) 后 DRG 神经元 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达的影响均未见显著变化 (表 6)。2 种热性中药的成分对寒 (19 °C) 处理后的 DRG 神经元 TRPV1 和 TRPM8 表达的影响均较为明显,其中,桂皮醛的高剂量组可显著抑制寒负荷所致 TRPV1 mRNA 表达的下调 ($P < 0.01$),吴茱萸碱高、中剂量组,桂皮醛的中剂量组亦可上调 TRPV1 mRNA 的表达 ($P < 0.05$),而 TRPM8 各组均未见显著变化 (表 7)。

3 讨论

感受内外环境温度是动物体躲避伤害性温度刺



表 5 37 °C 下热性成分对 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	剂量/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$	
		TRPV1	TRPM8
37 °C 对照	-	1.03 ± 0.27	1.02 ± 0.23
吴茱萸碱	15	1.14 ± 0.34	0.84 ± 0.21
	7.5	1.05 ± 0.42	0.89 ± 0.27
	3.75	0.98 ± 0.35	0.99 ± 0.43
桂皮醛	60	1.29 ± 0.26 ¹⁾	0.87 ± 0.34
	30	1.17 ± 0.27 ¹⁾	0.91 ± 0.41
	15	1.05 ± 0.32	0.96 ± 0.47

注:与 37 °C 对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

表 6 39 °C 下热性成分对 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	剂量/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$	
		TRPV1	TRPM8
37 °C 对照	-	1.02 ± 0.25	1.04 ± 0.28
39 °C 模型	-	4.20 ± 1.09 ¹⁾	0.70 ± 0.16 ¹⁾
吴茱萸碱	15	4.37 ± 1.08	0.64 ± 0.18
	7.5	4.29 ± 0.93	0.69 ± 0.21
	3.75	4.14 ± 1.17	0.72 ± 0.19
桂皮醛	60	4.28 ± 0.78	0.65 ± 0.26
	30	4.17 ± 0.95	0.69 ± 0.19
	15	4.15 ± 1.12	0.71 ± 0.24

注:与 37 °C 对照组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

表 7 19 °C 下热性成分对 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	剂量/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	$2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$	
		TRPV1	TRPM8
37 °C 对照	-	1.02 ± 0.25	1.04 ± 0.28
19 °C 模型	-	0.60 ± 0.21 ¹⁾	2.81 ± 0.74 ¹⁾
吴茱萸碱	15	0.86 ± 0.29 ²⁾	2.08 ± 0.61
	7.5	0.84 ± 0.24 ²⁾	2.22 ± 0.79
	3.75	0.72 ± 0.31	2.75 ± 0.96
桂皮醛	60	0.99 ± 0.31 ³⁾	2.24 ± 0.71
	30	0.91 ± 0.30 ²⁾	2.29 ± 0.56
	15	0.78 ± 0.34	2.67 ± 0.71

注:与 37 °C 对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与 19 °C 模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

激和保持体温恒定的重要生理功能,也是机体进行新陈代谢和正常生命活动的必要条件。已有的研究表明,包括人在内的恒温动物均有较为完善的体温调节机制。体温的相对稳定涉及到一个复杂的调节过程,研究显示,在机体的外周和中枢皆分布有接受

寒热信号刺激的温度感受器,在内外环境温度发生变化时,它们可通过特定信号传导通路把温度信息传达到体温调节中枢,经过中枢的精细整合后,再经植物神经系统、躯体神经以及内分泌系统等调节产热过程和散热过程,将体温维持在一定温度范围之内^[9-10]。

TRPV1 和 TRPM8 是目前结构和功能研究最为清楚的 TRP 家族成员,主要表达于背根神经节 (DRG) 和三叉神经节 (TG) 的小型神经元中,可分别被热 (>43 °C) 和凉 (<28 °C) 所激活。激活后通道被打开,以钙离子等阳离子进入的方式将温度感觉信号传入胞内,构成了部分温觉感受器温度信息传递和感受的分子基础^[11-12]。因研究需要,笔者前期选取新生大鼠,通过优化分离、培养、纯化等多个环节的实验条件,获得了活性良好的高纯度 DRG 神经元。

本研究在原有工作的基础上,通过将 DRG 神经元置于不同的温度条件下,在体外模拟相应的生理病理状态,进一步观察寒热性中药成分在基因表达层面上对 TRPV1 和 TRPM8 的调节作用。研究结果显示,部分选自寒热性中药的成分,在不同的温度条件下,对 TRPV1 和 TRPM8 mRNA 表达均有一定的影响,总的来看,来自寒性中药的成分可上调 TRPM8 mRNA 表达,下调 TRPV1 mRNA 的表达,对热负荷后 DRG 神经元 TRP 通道的影响更为明显;来自热性中药的成分则可上调 TRPV1 mRNA 的表达,下调 TRPM8 mRNA 的表达,对寒负荷后 DRG 神经元的 TRP 通道的影响更为显著。本研究中来自寒热性中药的成分对各自寒热属性相反的寒热刺激所致的 TRPM8 和 TRPV1 mRNA 表达的变化具有更为明显的抑制作用,提示来自寒热性中药的成分可能对各自寒热属性相反的病理变化具有一定的逆转和恢复作用,这与中医临床上“寒者热之,热者寒之”的方证相应治疗原则相吻合,从分子水平上揭示了中医药“寒热药性理论”的本质属性,也为传统中医药理论的科学性提供了更为深层的实验依据。

TRPV1 和 TRPM8 作为寒热感受的离子通道蛋白,从基因表达到有生理活性的通道蛋白需经转录翻译、加工、单体聚合等多个环节和步骤。本实验只在 mRNA 层面上进行了研究,其他相关环节的作用和影响,仍需进一步深入研究。



[参考文献]

- [1] Clapham D E. SnapShot: Mammalian TRP channels[M]. Cell, 2007, 129: 220.
- [2] 隋峰,霍海如,姜廷良,等. 痛觉感受相关的TRP通道蛋白研究进展[J]. 中国疼痛医学进展,2009, 15(1):50.
- [3] Caterina M J, Schumacher M A, Tominaga M, et al. The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway[J]. Nature, 1997, 389:816.
- [4] McKemy D D, Neuhauser W M, Julius D, et al. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation[J]. Nature, 2002, 416:52.
- [5] Proudfoot C J, Garry E M, Cottrell D F, et al. Analgesia mediated by the TRPM8 cold receptor in chronic neuropathic pain[J]. Curr Biol, 2006, 16:1591.
- [6] Caterina M J. Transient receptor potential ion channels as participants in thermosensation and thermoregulation[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2007, 292: R64.
- [7] Romanovsky A A. Thermoregulation: Some concepts have changed. Functional architecture of the thermoregulatory system [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2007, 292: R37.
- [8] 隋峰,杜新亮,张畅斌,等. 一种原代培养大鼠DRG神经元的新方法[J]. 中国药理学通报,2009,25(7):971.
- [9] Chango A, Abdennebi-Najar L, Tessier F, et al. Quantitative methylation-sensitive arbitrarily primed PCR method to determine differential genomic DNA methylation in down syndrome [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 349: 492.
- [10] Barbado M, Preisser L, Boisdron-Celle M, et al. Tumor quantification of several fluoropyrimidines resistance gene expression with a unique quantitative RT-PCR method. Implications for pretherapeutic determination of tumor resistance phenotype[J]. Cancer Lett, 2006, 242: 168.
- [11] Rosenzweig M, Kang K, Paul A G. Distinct TRP channels are required for warm and cool avoidance in *Drosophila melanogaster* [J]. PNAS, 2008, 105: 14668.
- [12] Mikhail Y K, Terry A M, Fu Y B, et al. Thermosensitive TRP ion channels mediate cytosolic calcium response in human synoviocytes[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2006, 291: C424.

Effects of ingredients from Chinese herbs with nature of cold or hot on expression of TRPV1 and TRPM8

SUI Feng, YANG Na, ZHANG Changbin, DU Xinliang, LI Lanfang, WENG Xiaogang, GUO Shuying, HUO Hairu, JIANG Tingliang*

(Tang Center for Herbal Medicine Research, Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of the ingredients from Chinese herbs with the nature of cold or hot on the expression of TRPV1 and TRPM8. **Method:** The effects of ingredients from herbs on primary culture DRG neurons are observed *in vitro*. The expression quantity of gene is detected by the method of real time PCR. The $2^{-\Delta\Delta CT}$ method is applied to analyze the data. **Result:** Ingredients from herbs with the nature of cold up-regulate the expression level of TRPV1 and down-regulate that of TRPM8, especially under the temperature condition of 39 °C; while ingredients from herbs with the nature of hot up-regulate the expression level of TRPM8 and down-regulated that of TRPV1, which is more significant under the temperature condition of 19 °C. **Conclusion:** The regulatory changes of TRPV1 and TRPM8 mRNA expression induced by the chemical ingredients might be related to the cold and hot natures of the herbs from which the ingredients are extracted. And this could be one of the therapeutic mechanisms for the treatment of Chinese herbal medicines to cold- and heat-related diseases.

[Key words] cold and hot; DRG neuron; TRPV1; TRPM8; real time PCR

doi: 10.4268/cjcm20101220

[责任编辑 张宁宁]