

## · 基础研究 ·

## 电针“夹脊穴”对退变腰椎间盘突出模型兔背根神经节 Netrin-1 及其受体表达影响

周 婷<sup>1</sup> 邹 璟<sup>2</sup> 黄国付<sup>1,3</sup>

**摘要 目的** 观察电针“夹脊穴”对退变腰椎间盘突出模型兔椎间盘和神经根形态、神经轴突导向因子 (Netrin-1) 及其受体表达的影响。**方法** 25 只雄性新西兰大白兔按随机数字表法分为正常组、假模型组、模型组、模型+电针组和模型+假电针组, 每组 5 只。除正常组外, 其余各组以持续轴向加压 L4 椎间盘制备兔腰椎间盘突出模型, 其中假模型组不予加压。造模成功后对模型+电针组电针 L4、L5 双侧“夹脊穴”; 模型+假电针针刺后接入电针, 不予电刺激; 正常组、模型组和假模型组予以相同的捆绑, 不予电针治疗, 干预时间为 20 min/次, 1 次/天, 6 次/周, 共 4 周。造模术后评估各组大白兔的疼痛程度; 治疗结束后, MRI 观察各组大白兔椎间盘变化情况; Western Blot 检测背根神经节 (DRG) 中 Netrin-1 及其受体的表达; 电镜观察各组大白兔神经根的形态结构变化。**结果** 干预后, 与正常组比较, 模型组大白兔一般情况不佳; 疼痛程度总分及各项评分升高 ( $P<0.01$ ); 造模节段椎间盘内髓核信号强度降低, 椎间隙变窄; 相应节段 DRG 中 Netrin-1 蛋白表达下降, 其受体非协调性分子 5 同源蛋白 B (UNC5B) 蛋白表达下降, 结肠癌缺失基因 (DCC) 表达升高 ( $P<0.01$ ); 神经根组织结构破坏严重, 神经纤维排列紊乱。与模型组比较, 模型+电针组一般情况改善明显; 疼痛程度总分及各项评分降低 ( $P<0.05$ ); 造模节段椎间盘高度正常, 髓核信号增强; DRG 中 Netrin-1 蛋白表达水平升高, 其受体 UNC5B 蛋白表达水平升高, DCC 蛋白表达水平下降 ( $P<0.01$ ); 神经根结构尚完整, 损伤情况明显改善。与模型+电针组比较, 模型+假电针组一般情况改善不明显; 疼痛程度总分及各项评分升高 ( $P<0.05$ ); 造模节段椎间盘内髓核信号较低; DRG 中 Netrin-1 蛋白表达水平下降, 其受体 UNC5B 蛋白表达水平下降, DCC 蛋白表达水平升高 ( $P<0.01$ ); 神经根结构破坏。**结论** 电针可调节 DRG 中 Netrin-1 蛋白及其相关受体的表达, 抑制 DRG 神经纤维内向生长, 以改善腰椎间盘突出大白兔的疼痛程度、椎间盘及神经根形态结构。

**关键词** 电针; 兔; 椎间盘退变; 背根神经节; 神经轴突导向因子-1; 结肠癌缺失基因; 非协调性分子 5 同源蛋白 B

**Effect of Electroacupuncture at "Jiaji" (EX-B2) on the Expression of Ganglion Conduction Protein 1 and Its Receptor in Dorsal Root Ganglion of Rabbits with Degenerative Lumbar Intervertebral Disc** ZHOU Ting<sup>1</sup>, ZOU Jing<sup>2</sup>, and HUANG Guo-fu<sup>1,3</sup> <sup>1</sup> College of Acupuncture-Moxibustion and Orthopedics, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan (430065); <sup>2</sup> Department of Acupuncture, Wuhan Hospital of Integrative Medicine, Wuhan (430030); <sup>3</sup> Department of Chinese Medicine, Longgang District Maternity & Child Healthcare Hospital of Shenzhen City, Guangdong (518172)

**ABSTRACT Objective** To observe the effects of electroacupuncture at Jiaji (EX-B2) on the morphology of intervertebral disc and nerve root, and the expressions of neurodirecting factor 1 (Netrin-1) and its receptor in rabbits with degenerative lumbar intervertebral disc. **Methods** Twenty-five male New Zealand rabbits were divided into normal group, sham-model group, model group, model+electroacupuncture group and model+sham-

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No.82074517, No.81774392)

作者单位: 1. 湖北中医药大学针灸骨伤学院 (武汉 430065); 2. 武汉市中西医结合医院针灸科 (武汉 430030); 3. 深圳市龙岗区妇幼保健院中医科 (广东 518172)

通讯作者: 黄国付, Tel: 0755-89205754, E-mail: 531529128@qq.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20230318.139

electroacupuncture group according to random digit table, 5 rats in each group. Except normal group, the rabbit model of lumbar intervertebral disc degeneration was prepared by continuous axial compression of L4 intervertebral disc in the rest 4 groups. No pressure was given to rabbits in sham-model group. After successful modeling, rabbits in the model + electroacupuncture group were intervened with electroacupuncture, and bilateral L4 and L5 Jiaji (EX-B2) were selected, once a day for 20 min. Rabbits in the model+sham electroacupuncture were connected with electroacupuncture, but with no electroacupuncture stimulation. The same binding was performed to rabbits in normal, model, and sham model groups with no electroacupuncture. Six days consisted of a course of treatment for a total of 4 treatment courses. After modeling the pain degree of rabbits in each group was evaluated. After treatment the changes of intervertebral disc in each group were observed by MRI. The expressions of Netrin-1 and its receptor in dorsal root ganglion (DRG) were detected by Western Blot. And the morphological and structural changes of nerve roots in each group were observed under electron microscope.

**Results** After the intervention, as compared with the normal group, the general condition of rabbits in the model group was not so good. The total pain score and various scores increased ( $P<0.01$ ). The signal intensity of the nucleus pulposus in the modeled segmental intervertebral disc decreased and the intervertebral space narrowed. The Netrin-1 protein expression in the DRG of corresponding intervertebral disc decreased, its expression of the receptor UNC5B protein decreased, and the deleted colorectal cancer (DCC) protein expression increased ( $P<0.01$ ). The structure of nerve root tissue was severely damaged with disordered arrangement of nerve fibers. Compared with the model group, the general condition of the model+electroacupuncture group was significantly improved. The total pain score and various scores decreased ( $P<0.05$ ). The disc height of the mold level was normal and the signal of nucleus pulposus was enhanced. The expression level of Netrin-1 protein was elevated in DRG. The expression level of its receptor UNC5B protein also increased, and the expression level of DCC protein decreased ( $P<0.01$ ). The nerve root structure was intact, and the injury was significantly improved. Compared with the model+electroacupuncture group, the general condition of the model+sham-electroacupuncture group was not significantly improved. The total pain score and various scores increased ( $P<0.05$ ). The signal in the intervertebral disc was lower. Netrin-1 protein expression in DRG decreased, the expression level of its receptor UNC5B protein decreased, and DCC protein expression increased ( $P<0.01$ ), and the nerve root structure was destructed. **Conclusion** Electroacupuncture regulated the expressions of Netrin-1 protein and related receptors in DRG, and inhibited the inward growth of DRG nerve fibers, thus improving the pain degree, morphology and structure of intervertebral disc and nerve root in rabbits with lumbar intervertebral disc degeneration.

**KEYWORDS** electroacupuncture; rabbit; intervertebral disc degeneration; dorsal root ganglion; neurodirecting factor 1; deleted colorectal cancer; uncoordinated-5-homolog B

随着人口老龄化, 椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IDD) 的患病率成比例上升。腰痛与腰椎间盘突出密切相关, 是发达国家致残的三大原因之一, 且全球受影响的人数正在逐年增加<sup>[1-3]</sup>。IDD 是导致背根神经节 (dorsal root ganglion, DRG) 退变的主要原因, 受压迫的背根神经节可导致剧烈疼痛, 当前治疗策略以物理、药物、手术治疗为主, 一定程度上能够缓解疼痛<sup>[1, 3]</sup>, 但不能逆转椎间盘变性, 重建脊柱的机械功能<sup>[4]</sup>。研究表明, DRG 中神经轴突导向因子 -1 (neurodirecting factor 1, Netrin-1) 在轴突引导和细胞迁移方面具有双向作用<sup>[5]</sup>, 其双向作用取决于靶细胞的受体, 其与结肠癌缺失基因 (deleted colorectal cancer, DCC) 结合对轴突及神经纤维的再生起促进作用, 与非协调

性分子 5 同源蛋白 B (uncoordinated-5-homolog B, UNC5B) 结合抑制轴突及神经纤维的再生<sup>[6, 7]</sup>。对此机制的研究是目前临床研究的重要问题, 本团队前期研究发现电针可以通过调节 DRG 内 Netrin-1 的表达, 从而抑制神经纤维的内向生长, 达到缓解疼痛的效果<sup>[8, 9]</sup>, 且早期干预疗效更为显著。本研究旨在通过观察电针“夹脊穴”对退变腰椎间盘突出兔的疼痛程度、椎间盘及神经根的形态、Netrin-1 蛋白及其受体表达的影响, 进一步探讨电针治疗腰椎间盘突出退变的可能机制。

## 材料与方法

1 动物与分组 25 只 6 月龄清洁级雄性新西兰大白兔, 重量 3~4 kg, 由武汉市万千佳兴生物科技有限公司提供, 许可证号为 SCXK (鄂) 2018-

0022、SCXK(鄂)2018-0011。饲养环境:架式单笼饲养,温度 23~27℃,相对湿度 52%~56%,昼夜恒定。适应性喂养 3 周后将大白兔随机分为正常组、假模型组、模型组、模型+电针组、模型+假电针组,每组 5 只。实验遵守中华人民共和国科学技术部[2006]398 号《关于善待实验动物的指导性意见》要求。本实验已通过湖北中医药大学实验动物伦理委员会批准(No.HUCMS202209010)。

2 药物 10% 水合氯醛(Phygene 公司,批号:PH1818);0.9% 氯化钠溶液(四川科伦药业股份有限公司,批号:H20083400);注射用青霉素钠[山东圣旺药业股份有限公司,批号:兽药字(2014)150061248];1% 碘伏消毒液(青岛海氏海诺英诺威消毒有限公司,批号:Q/370285HNW)。

3 主要试剂及仪器 2.5% 戊二醛电镜固定液(Alfa Aesar 中国化学有限公司,批号:ST1140),RIPA 裂解液(上海碧云天生物技术有限公司,批号:P0013B),Anti-Netrin-1 antibody(货号:SAB2501160),Anti-UNC5B antibody(货号:ab104871),Anti-DCC antibody 货号:SAB2105672),兔多抗 GAPDH(货号:AB-P-R 001),均为杭州贤至生物有限公司,HRP 标记羊抗兔二抗(货号:BA1054,武汉博士德生物工程有限公司)。造模器(定制于湖北东风世星汽车零部件股份有限公司),电钻(型号:JIZ-SH09-10C6910JE,上海锐奇工具股份有限公司),无菌针灸针(0.35×25 mm,苏州医疗用品厂有限公司),电针仪(HANS-200A,南京济生医疗科技有限公司),Signa HDx 3.0T 磁共振器(美国 GE),透射电镜(日本 HITACHI),BCA 蛋白浓度测定试剂盒(型号:P0010,上海碧云天生物技术有限公司),电泳仪电源(型号:DYY-7C,北京六一仪器厂),电转仪(型号:DYCZ-40,北京六一仪器厂),pH 计(型号:LP115,德国 Metter-Toledo GmbH),酶标仪(型号:mμ.IISKANMK3,美国 Thermo),离心机(型号:HI650,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),X 光胶片[型号:6535876,锐珂(厦门)医疗器材有限公司]。

#### 4 方法

4.1 造模方法 参照文献[10],采用椎体间轴向加压制备退变腰椎间盘突出模型。模型组、模型+电针组和模型+假电针组 10% 水合氯醛(1 mL/kg)耳缘静脉麻醉,麻醉成功后备皮,将大白兔俯卧固定于操作台,四肢自然屈曲放松施术部位肌肉,将直径 1.5 mm 的克氏针消毒后于 L4、L5 椎旁两侧约 2 cm

处水平进针,垂直于脊柱刺入,克氏针抵达椎体骨面,以相应椎体近尾端作为穿刺点,使用电钻将克氏针钻出至椎体对侧,安装造模器,持续轴向施加 200 N 的压力。术后青霉素(4×10<sup>6</sup>U)臀部肌肉注射抗感染,1 次/天,注射 5 天后根据伤口情况判断是否继续抗感染。假模型组操作步骤同上,安装造模器后不予加压。模型制备过程中模型组和模型+电针组各有 1 只因克氏针穿过椎管损伤脊髓导致下肢瘫痪,模型+假电针组 1 只死亡。剔除后补齐样本量。

4.2 干预方法 造模成功后拆除造模装置,参考《实验针灸学》<sup>[11]</sup>中“实验动物针灸穴位”实施干预,模型+电针组予电针干预,将大白兔捆绑于兔台,选取 L4、L5 双侧“夹脊穴”,使用 0.35×25 mm 一次性针灸针直刺 5~8 mm,施以平补平泻手法后双侧均接以电针仪(调频波 2 Hz/15 Hz,刺激强度 1~2 mA)。模型+假电针组针刺后接入电针,不予电刺激。治疗期间,正常组、模型组和假模型组予以相同时间的捆绑,不予电针治疗。20 min/次,1 次/天,6 次/周,共 4 周。正常组自然喂养,不予特殊处理。

#### 5 指标检测及方法

5.1 一般情况比较 由同一实验人员分别在适应性喂养、造模和电针治疗期间观察并记录各组大白兔的精神、饮食、皮毛、二便及活动情况。

5.2 疼痛程度评估 参照文献[12]并结合本实验的模型特征对大白兔进行疼痛程度评估,分别从切口外观、移动步态、体重、无刺激时一般行为和对刺激的反应 5 个评估项目进行,根据其严重程度按无、轻、中、重分别记录为 0、1、2、3 分,评分越高表示疼痛程度越重。

5.3 MRI 检测椎间盘信号强度变化 取材前 1 天,各组大白兔麻醉后,轴向拉伸大白兔脊柱并固定于检查台,采用 Signa HDx 3.0T 磁共振器对各组大白兔于行腰椎矢状位扫描,观察相应节段和邻近节段椎间盘信号强度及椎间盘高度变化。

5.4 神经根形态学观察 取部分神经根组织,2.5% 戊二醛固定 3 h,0.1 mol/L 磷酸缓冲液漂洗,酒精梯度脱水后包埋过夜,切片(50~80 nm),采用 3% 醋酸铀-枸橼酸铅双染色,在透射电镜下观察神经根的形态结构。

5.5 Western Blot 检测 DRG 中 Netrin-1 及其受体的表达 取少量碎块组织提取蛋白,制备电泳胶、电泳分离、电转移、转膜、封闭,稀释相应的一抗(1:1000),4℃ 孵育过夜,洗膜,标记二抗(1:50000),室温摇床孵育 2 h,洗膜,显影、定影,冲洗胶片,

使用 BandScan 分析条带灰度值。

6 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件进行统计分析, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 数据符合正态分布且方差齐, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验。不符合正态分布使用非参数秩和检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 结 果

1 各组大白兔一般情况比较 适应性喂养期间各组大白兔精神良好, 皮毛光泽, 饮食、二便及活动正常。造模期间, 正常组大白兔一般情况良好; 假模型组一般情况总体较好; 模型组、模型 + 电针组和模型 + 假电针组精神欠佳, 皮毛无光泽, 饮食减少, 二便减少或异常, 活动量减少。治疗期间, 模型组一般情况未见明显改善; 与模型组比较, 模型 + 电针组可见较为明显的改善; 与模型 + 电针组比较, 模型 + 假电针组一般情况改善不明显。

2 各组大白兔疼痛程度评分 (表 1) 正常组疼痛程度评分为 0; 假模型组疼痛表现较轻微; 与正常组比较, 模型组疼痛程度总分及各项评分升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 模型 + 电针组疼痛程度总分及各项评分降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型 + 电针组比较, 模型 + 假电针组疼痛程度总分及各项评分升高 ( $P < 0.05$ )。

3 各组大白兔 IVD 信号强度比较 正常组和假模型组造模节段椎间盘内髓核表现为均匀的高信号, 呈亮白色; 与正常组比较, 模型组造模节段椎间盘内髓核信号强度降低, 呈黑色, 且椎间隙变窄; 与模型组比较, 模型 + 电针组髓核信号强度较高, 呈灰白色, 椎间盘高度正常。与模型 + 电针组比较, 模型 + 假电针组髓核表现为灰黑色低信号。

4 各组大白兔 DRG 中 Netrin-1 蛋白及其受体表达比较 (图 1, 表 2) 正常组与假模型组退变腰椎间盘相应节段 DRG 中 Netrin-1 及其受体 DCC 和 UNC5B 蛋白量表达比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与正常组比较, 模型组 DRG 中 Netrin-1

和 UNC5B 蛋白表达下降, DCC 蛋白表达升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 模型 + 电针组 DRG 中 Netrin-1 和 UNC5B 蛋白表达水平明显上调, DCC 表达下降 ( $P < 0.01$ ); 与模型 + 电针组比较, 模型 + 假电针组 DRG 中 Netrin-1 和 UNC5B 蛋白表达水平下降, DCC 蛋白表达水平升高 ( $P < 0.01$ )。

5 各组大白兔神经根结构比较 (图 2) 正常组和假模型组 DRG 中有髓神经纤维的横切面呈同心圆形断面分布, 形态规则, 髓鞘结构完好, 排列整齐, 致密有序。与正常组比较, 模型组中可见髓鞘形态结构破坏, 髓鞘肿胀, 部分降解, 细胞质水肿, 形态增大, 神经纤维排列紊乱; 与模型组比较, 模型 + 电针组大白兔神经根损伤明显改善, 部分髓鞘可保留环状结构, 神经纤维的紊乱程度较轻; 与模型 + 电针组比

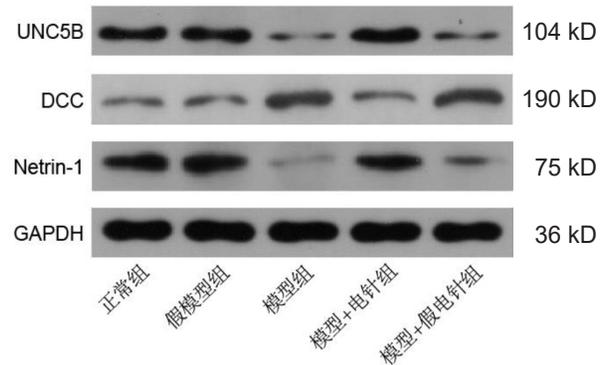


图 1 各组大白兔 DRG 中 Netrin-1 蛋白及其受体表达水平比较

表 2 各组大白兔 DRG 中 Netrin-1 蛋白及其受体表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别       | n | Netrin-1                 | DCC                      | UNC5B                    |
|----------|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 正常       | 5 | 1.00 ± 0.00              | 1.00 ± 0.00              | 1.00 ± 0.00              |
| 假模型      | 5 | 1.04 ± 0.08              | 1.03 ± 0.07              | 0.97 ± 0.03              |
| 模型       | 5 | 0.54 ± 0.14*             | 1.79 ± 0.25*             | 0.45 ± 0.08*             |
| 模型 + 电针  | 5 | 0.90 ± 0.05 <sup>△</sup> | 1.12 ± 0.15 <sup>△</sup> | 0.65 ± 0.10 <sup>△</sup> |
| 模型 + 假电针 | 5 | 0.60 ± 0.18 <sup>▲</sup> | 1.66 ± 0.21 <sup>▲</sup> | 0.42 ± 0.06 <sup>▲</sup> |

注: 与正常组比较, \* $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>△</sup> $P < 0.01$ ; 与模型 + 电针组比较, <sup>▲</sup> $P < 0.01$

表 1 各组大白兔疼痛程度评分比较 [分,  $M (IQR)$ ]

| 组别       | n | 总分                     | 切口外观                   | 移动步态                   | 体重                     | 无刺激时一般行为               | 对刺激的反应                 |
|----------|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 正常       | 5 | 0.0 (0.0)              | 0.0 (0.0)              | 0.0 (0.0)              | 0.0 (0.0)              | 0.0 (0.0)              | 0.0 (0.0)              |
| 假模型      | 5 | 3.0 (3.5)              | 1.0 (1.0)              | 1.0 (1.0)              | 0.0 (1.0)              | 1.0 (1.0)              | 1.0 (0.0)              |
| 模型       | 5 | 9.0 (4.5)*             | 2.0 (1.5)*             | 2.0 (1.5)*             | 2.0 (0.5)*             | 2.0 (1.0)*             | 2.0 (0.5)*             |
| 模型 + 电针  | 5 | 4.0 (2.5) <sup>△</sup> | 1.0 (1.0) <sup>△</sup> | 1.0 (0.5) <sup>△</sup> | 1.0 (1.0) <sup>△</sup> | 1.0 (0.5) <sup>△</sup> | 1.0 (0.0) <sup>△</sup> |
| 模型 + 假电针 | 5 | 9.0 (1.0) <sup>▲</sup> | 2.0 (1.0) <sup>▲</sup> | 2.0 (0.5) <sup>▲</sup> | 2.0 (1.0) <sup>▲</sup> | 2.0 (0.0) <sup>▲</sup> | 2.0 (1.0) <sup>▲</sup> |

注: 与正常组比较, \* $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ ; 与模型 + 电针组比较, <sup>▲</sup> $P < 0.05$

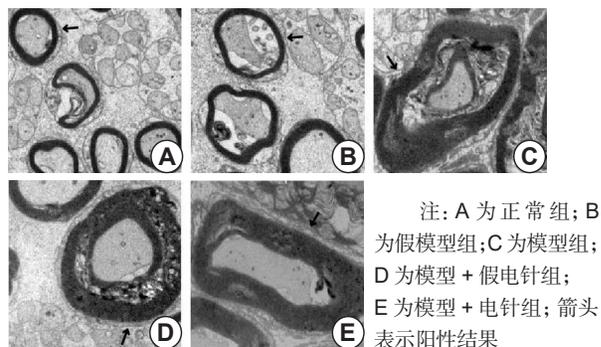


图 2 各组大白兔神经根结构比较 (透射电镜,  $\times 1\,000$ )

较, 模型 + 假电针组有髓神经纤维髓鞘降解、模糊, 环状结构消失。

## 讨 论

IDD 属中医学“腰痛”“经筋病”等范畴, 其病机总为不通则痛或不荣则痛。现代医学认为腰椎间盘突出压迫刺激神经根是腰痛的主要原因<sup>[14]</sup>。夹脊穴位于督脉与足太阳经之间, 既从属于两经, 又与脏腑相系, 具有调节气血阴阳, 转输各经经气的作用<sup>[15]</sup>。现代解剖学发现, 夹脊穴下有脊神经的前支、后支和交感神经干, 电针夹脊穴能够刺激神经, 释放大量的神经递质, 达到镇痛的效果<sup>[16, 17]</sup>。且相关研究表明, 电针具有即刻镇痛效应, 其镇痛效应能够维持较长的时间<sup>[18]</sup>。本研究在团队前期研究基础上, 进一步探讨电针对腰椎间盘突出所致腰痛的镇痛效应。

DRG 是由向心感觉纤维细胞构成的膨大神经节, 能够接收来自感受器的神经冲动。作为感觉传导和调节的关键结构, DRG 与疼痛传递和持续的神经性疼痛状态密切相关, 这使得 DRG 成为神经调节的新靶点<sup>[19-21]</sup>。研究表明, DRG 刺激是临床治疗躯干和四肢慢性顽固性疼痛的有效干预措施, 能够较大幅度地持续缓解疼痛, 且对于疼痛伴有感觉异常者更佳<sup>[22-24]</sup>。Netrin-1 是一种双向轴突导向因子, 在感觉神经元的细胞体以及运动和感觉神经元的轴突中表达<sup>[5]</sup>。Netrin-1 的双向作用取决于靶细胞的受体, 其可通过与 DCC 受体或 Neogenin 受体结合促进神经纤维长芽和延伸; 通过与 UNC5B 受体结合抑制神经纤维长芽和延伸<sup>[25-27]</sup>。这些数据表明 DCC 受体可以促进外周轴突和神经再生, 而 UNC5B 受体抑制外周轴突和神经再生。基于此, Netrin-1 信号传导被认为在周围神经的调节中起着重要的作用<sup>[6]</sup>。

Netrin-1 在啮齿动物脊髓中表现出一致的表达水平<sup>[28]</sup>。研究发现, 腰椎间盘突出退变后, 其相应节段 DRG 中 Netrin-1 蛋白表达水平下降, 而电针能够上

调 Netrin-1 的表达水平。由于神经元中 Netrin-1 的受体 UNC5B 在神经元中表达较高而 DCC 受体表达较低<sup>[29]</sup>, 故认为 Netrin-1 与高表达的 UNC5B 受体结合能够抑制神经内向生长, Netrin-1 的大量表达是防止 DRG 损伤的生物基础。椎间盘发生退变后, Netrin-1 的抑制作用被削弱, 导致纤维环外层神经内向生长或 DRG 神经纤维向退变椎间盘纤维环外层生长, 诱发盘源性腰痛。而电针能上调 Netrin-1 的表达, 抑制椎间盘有髓神经纤维内向生长, 从而达到缓解疼痛的效果。为进一步验证, 本研究观察了电针对 DRG 中 Netrin-1 的受体 UNC5B 和 DCC 表达的影响。结果发现, 模型组中 DCC 受体表达上调, UNC5B 受体表达下调, 而电针能够抑制 DCC 受体表达, 上调 UNC5B 受体表达。此外, 本研究中, 电针治疗后大白兔一般情况、疼痛程度、IVD 信号强度和神经根形态结构变化情况与 DRG 中 Netrin-1 蛋白及其受体表达水平变化一致。因此, 笔者判断电针能够改善 IDD 大白兔的一般情况, 缓解疼痛, 减轻神经损伤程度, 其机制可能与电针调节 DRG 中 Netrin-1 蛋白及其相关受体的表达, 抑制 DRG 神经纤维内向生长有关。相关研究表明, 电针治疗能够增强损伤相应脊髓节段中 Netrin-1 蛋白的表达, 影响轴突及神经修复再生的微环境, 促进周围神经的修复与再生, 与本研究类似<sup>[30]</sup>。

综上, 电针“夹脊穴”可能通过上调 Netrin-1 及其受体 UNC5B 的表达, 抑制其受体 DCC 的表达, 进而抑制椎间盘有髓神经纤维内向生长, 缓解 IDD 及损伤, 促进神经根形态结构的修复。这为临床治疗 IDD 相关疾病提供了一定的参考价值。然而, IDD 机制复杂, 本团队今后将开展更为严谨科学的研究, 深入探讨电针“夹脊穴”干预 IDD 的作用机制。

利益冲突: 无。

## 参 考 文 献

- [1] Murray CJ, Vos T, Lozano R, et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010[J]. *Lancet*, 2012, 380 (9859): 2197-2223.
- [2] Wu PH, Kim HS, Jang IT. Intervertebral Disc Diseases PART 2: a review of the current diagnostic and treatment strategies for intervertebral disc disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (6): 2135.
- [3] Risbud MV, Shapiro IM. Role of cytokines in intervertebral disc degeneration: pain and disc

- content[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014, 10 ( 1 ): 44–56.
- [ 4 ] Xin J, Wang Y, Zheng Z, et al. Treatment of intervertebral disc degeneration[J]. *Orthop Surg*, 2022, 14 ( 7 ): 1271–1280.
- [ 5 ] Dun XP, Parkinson DB. Role of Netrin-1 signaling in nerve regeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 ( 3 ): 491.
- [ 6 ] Bu G, Hou S, Ren D, et al. Increased expression of netrin-1 and its deleted in colorectal cancer receptor in human diseased lumbar intervertebral disc compared with autopsy control[J]. *Spine ( Phila Pa 1976 )*, 2012, 37 ( 25 ): 2074–2081.
- [ 7 ] Keleman K, Dickson BJ. Short- and long-range repulsion by the Drosophila Unc5 netrin receptor[J]. *Neuron*, 2001, 32 ( 4 ): 605–617.
- [ 8 ] 刘逸阳, 邹璟, 黄国付. 电针对退变腰椎间盘兔模型 M-ENK、 $\beta$ -内啡肽、Netrin-1 表达的影响及相关性研究 [J]. *针灸临床杂志*, 2022, 38 ( 3 ): 61–66.
- [ 9 ] 王科, 邹璟, 黄国付. 夹脊电针对兔退变腰椎间盘感觉神经 DRG Netrin-1 表达的影响 [J]. *辽宁中医杂志*, 2022, 49 ( 7 ): 193–196.
- [ 10 ] Huang GF, Zou J, Shi J, et al. The effect of electroacupuncture on the extracellular matrix synthesis and degradation in a rabbit model of disc degeneration[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014; 731395.
- [ 11 ] 李忠仁主编. 实验针灸学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 314–319.
- [ 12 ] Haddad Pinho R, Luna SPL, Esteves Trindade PH, et al. Validation of the rabbit pain behaviour scale ( RPBS ) to assess acute postoperative pain in rabbits ( *Oryctolagus cuniculus* ) [J]. *PLoS One*, 2022, 17 ( 5 ): e0268973.
- [ 13 ] 王昆秀, 邹璟, 汪敏, 等. 电针“夹脊穴”对压力诱导腰椎间盘退变模型兔髓核细胞超微结构的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2023, 43 ( 3 ): 323–329.
- [ 14 ] Lewis RA, Williams NH, Sutton AJ, et al. Comparative clinical effectiveness of management strategies for sciatica: systematic review and network meta-analyses[J]. *Spine J*, 2015, 15 ( 6 ): 1461–1477.
- [ 15 ] 卫彦, 朱久宇, 寇吉友, 等. 电针夹脊穴配合艾灸治疗肌萎缩侧索硬化 17 例 [J]. *中国针灸*, 2018, 38 ( 6 ): 613–615.
- [ 16 ] 李林, 袁坤, 张立恒, 等. 电针夹脊穴治疗腰椎间盘突出症临床随机对照观察 [J]. *中华中医药学刊*, 2013, 31 ( 3 ): 630–632.
- [ 17 ] 刘洋, 卫彦, 寇吉友主编. 实用腧穴解剖学 [M]. 北京: 科学出版社, 2017: 308–328.
- [ 18 ] 张慧, 胡幼平, 吴佳, 等. 电针少阳经穴对急性偏头痛即时镇痛作用时效规律研究 [J]. *中国针灸*, 2015, 35 ( 2 ): 127–131.
- [ 19 ] Hogan QH. Labat lecture: the primary sensory neuron: where it is, what it does, and why it matters? [J]. *Reg Anesth Pain Med*, 2010, 35 ( 3 ): 306–311.
- [ 20 ] Krames ES. The role of the dorsal root ganglion in the development of neuropathic pain[J]. *Pain Med*, 2014, 15 ( 10 ): 1669–1685.
- [ 21 ] Esposito MF, Malayil R, Hanes M, et al. Unique characteristics of the dorsal root ganglion as a target for neuromodulation[J]. *Pain Med*, 2019, 20 ( Suppl 1 ): S23–S30.
- [ 22 ] Liem L, Russo M, Huygen F J, et al. A multicenter, prospective trial to assess the safety and performance of the spinal modulation dorsal root ganglion neurostimulator system in the treatment of chronic pain[J]. *Neuromodulation*, 2013, 16 ( 5 ): 471–482.
- [ 23 ] Deer TR, Grigsby E, Weiner RL, et al. A prospective study of dorsal root ganglion stimulation for the relief of chronic pain[J]. *Neuromodulation*, 2013, 16 ( 1 ): 67–72.
- [ 24 ] Liem L, Russo M, Huygen FJ, et al. One-year outcomes of spinal cord stimulation of the dorsal root ganglion in the treatment of chronic neuropathic pain[J]. *Neuromodulation*, 2015, 18 ( 1 ): 41–48, 48–49.
- [ 25 ] Ko SY, Dass CR, Nurgali K. Netrin-1 in the developing enteric nervous system and colorectal cancer[J]. *Trends Mol Med*, 2012, 18 ( 9 ): 544–554.
- [ 26 ] Paradisi A, Mehlen P. Netrin-1, a missing link between chronic inflammation and tumor progression[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9 ( 7 ): 1253–1262.
- [ 27 ] Lai WSK, Correia JP, Kennedy TE. Netrins: versatile extracellular cues with diverse functions[J]. *Development*, 2011, 138 ( 11 ): 2153–2169.
- [ 28 ] Manitt C, Colicos MA, Thompson KM, et al. Widespread expression of netrin-1 by neurons and oligodendrocytes in the adult mammalian spinal cord[J]. *J Neurosci*, 2001, 21 ( 11 ): 3911–3922.
- [ 29 ] Park JI, Seo IA, Lee HK, et al. Netrin inhibits regenerative axon growth of adult dorsal root ganglion neurons *in vitro*[J]. *J Korean Med Sci*, 2007, 22 ( 4 ): 641–645.
- [ 30 ] 王瑞辉, 杜旭, 王孟林, 等. 电针对坐骨神经损伤大鼠神经生长导向因子 Netrin-1 的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2013, 24 ( 6 ): 1510–1512.

(收稿: 2022-12-24 在线: 2023-04-24)

责任编辑: 段碧芳

英文责编: 张晶晶