

补肝肾腰方对腰椎间盘突出症模型神经功能评分及 IL-1 表达的影响

谭旭仪^{1,2}, 赵迪民³, 仇湘中², 仇杰², 蒋盛昶², 张信成², 唐皓²

摘要 目的: 观察补肝肾腰方对大鼠腰椎间盘突出症模型神经功能评分及 IL-1 表达的影响。**方法:** 取 SD 大鼠 100 只, 随机分为正常对照组、假手术组、模型对照组、补肝肾腰方组、塞来昔布组各 20 只, 成功制备大鼠腰椎间盘突出模型, 分别给与补肝肾腰方、塞来昔布灌胃, 检测各组干预前、干预第 1、2、3 周神经功能评分及 IL-1 表达, 并进行对比。**结果:** 干预前, 与模型对照组比较, 补肝肾腰方组、塞来昔布组腰椎间盘突出局部组织 IL-1 表达及神经功能评分无统计学差异 ($P>0.05$)。补肝肾腰方灌胃后第 1、2、3 周, 补肝肾腰方组 IL-1 表达分别为 19.29 ± 0.61 、 14.54 ± 0.23 、 14.01 ± 0.21 , 均较模型对照组下降 ($P<0.05$), 同时, 补肝肾腰方组灌胃后第 1、2、3 周神经功能评分分别为 2.60 ± 0.55 、 2.40 ± 0.5 、 2.20 ± 0.84 , 均较模型对照组下降 ($P<0.05$); 补肝肾腰方组灌胃后第 1、2、3 周以上指标表达均较干预前下降 ($P<0.05$)。**结论:** 补肝肾腰方可降低大鼠腰椎间盘突出症模型突出部位 IL-1 的表达, 改善神经功能评分, 这可能为其治疗腰椎间盘突出症的作用机制。

关键词: 补肝肾腰方; 大鼠; 腰椎间盘突出症; 白介素 1; 神经功能评分

中图分类号: R681.5⁺3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-6948(2019)05-0669-05

doi: 10.3969/j.issn.1007-6948.2019.05.003

Influence of Bugan Jianyao Decoction on IL-1 Expression and Neurological Function Score in Rat Lumbar Disc Herniation TAN Xu-yi, ZHAO Di-min, QIU Xiang-zhong, et al. *Hunan University of TCM, Changsha (410208), China*

Abstract: Objective To observe the influence of Bugan Jianyao Decoction (BJD) on IL-1 and neurological function score in rat lumbar disc herniation. **Methods** Totally 100 rats were randomly divided into normal control group, sham-operated group, model control group, BJD group and Celecoxib group, each group with 20 rats. After rat lumbar disc herniation model was prepared successfully, BJD group were given the BJD intragastric administration, while Celecoxib group was given Celecoxib, normal control group, Sham-operated group, model control group were intragastrically administrated with the same dose of normal saline. IL-1 expression and neurological function score were detected at the moment of the experimental intervention, the intervention of the 1, 2, 3 weeks. **Results** At the moment of the intervention, compared with the model control group, there was no statistically significant that IL-1 expression and neurological function score in lumbar intervertebral disc local tissue of BJD group and Celecoxib group ($P>0.05$). After the intervention of the 1, 2, 3 weeks by BJD, IL-1 expression of BJD group were 19.29 ± 0.61 , 14.54 ± 0.23 , 14.01 ± 0.21 respectively, were decreased than that of model control group ($P<0.05$), meanwhile, neurological function score of BJD group were 2.60 ± 0.55 , 2.40 ± 0.5 , 2.20 ± 0.84 respectively, were decreased than that of model control group ($P<0.05$), after the intervention of the 1, 2, 3 weeks. Meanwhile, IL-1 expression and neurological function score of BJD group were decreased than that at the moment of the intervention when after the intervention of the 1, 2, 3 weeks ($P<0.05$). **Conclusions** Bugan Jianyao Decoction has the effect of reducing IL-1 expression, improving

基金项目: 国家中医药管理局“全国名老中医药专家仇湘中传承工作室建设项目”资助(国中医药人教[2016]42号); 湖南省中医药科研计划重点项目(201710); 湖南省自然科学基金面上项目(2017JJ2170); 湖南省中医药研究院重点课题(201503)

1. 湖南省中医药研究院(长沙 410006)

2. 湖南中医药大学(长沙 410208)

3. 湘潭市中医医院(湘潭 411104)

通信作者: 仇湘中, E-mail: qihu330@sina.com

neurological function score, it may be a mechanism for the treatment of lumbar disc herniation.

Key words: Buganjiyao Decoction; rat; lumbar disc herniation; IL-1; neurological function score

补肝健腰方功效为养血柔肝、活血化瘀、通络止痛,临床上用于腰椎退行性疾病及腰椎间盘突出症。前期实验研究发现,补肝健腰方降低腰椎间盘突出模型大鼠椎间盘核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 信号通路,降低下游产物 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的表达^[1-2],达到对腰椎间盘突出退变的修复作用^[3-4]。临床观察发现,补肝健腰方可降低腰椎间盘突出症(lumbar disc herniation, LDH)患者血清 TNF- α 浓度,具有安全、有效等优势^[5]。本实验观察补肝健腰方对大鼠腰椎间盘突出症模型神经功能评分及 IL-1 表达的影响,探讨补肝健腰方对腰椎间盘突出症的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 3~4 月龄清洁级健康 SD 大鼠 100 只,雄性,体重约 180~220 g (湖南省中医药研究院动物实验室代购)。动物合格证 SCXK (湘) 2016-0012。

1.2 药物 (1) 补肝健腰方,功效为养血柔肝、活血化瘀、通络止痛。药物组成:当归 15 g,川芎 12 g,白芍 30 g,熟地 25 g,炒枣仁 10 g,杜仲 15 g,延胡索 10 g,蜈蚣 4 g,全蝎 3 g,甘草 5 g。由湖南省中医药研究院附属医院药剂科提供,加水煎煮 2 次,制备含补肝健腰方生药,浓度约为 2.15 g/mL。(2) 塞来昔布胶囊(辉瑞制药有限公司,0.2 g/粒),药物批号 16020101407。

1.3 试剂 IL-1 免疫组织化学检测试剂(美国 Santa Cruz 有限公司)。

1.4 分组 根据大鼠体重,随机分为正常对照组、假手术组、模型对照组、补肝健腰方组、塞来昔布组,各 20 只。

1.5 造模 大鼠腰椎间盘突出症动物模型制备方法参考自体髓核回植的方法^[6]。10%水合氯醛腹腔注射麻醉,俯卧位固定。将背部、尾部术区常规备皮,消毒铺巾。先切取 2 个尾椎椎间盘,需包含上下软骨终板。用针刺破椎间盘上下终板,暴露髓核,并用 7 号手术线呈“米”形包绕椎间盘。手术切开皮肤,暴露 L5/L6 椎间隙及 L5 神经根,将预先准备包绕的尾椎椎间盘放入左侧 L5 神经根处,逐层缝合。假手术组大鼠手术暴露 L5/L6 椎间隙及 L5 神经根,不放置椎

间盘。正常对照组不给予任何手术处理。术后连续 3 天将青霉素 80 万 U/(kg·d) 腹腔注射,预防感染。

1.6 干预方法 造模 1 周后,各组给与实验药物灌胃。具体剂量参照大鼠与人的等效剂量折算系数^[7],其中补肝健腰方组大鼠用含补肝健腰方生药浓度约为 2.15 g/mL,灌胃剂量为 11.61 g/kg,1 次/d。塞来昔布组给与塞来昔布胶囊,0.34 g/kg。按照 1 mL/200 g 体重,取生理盐水溶解后灌胃,2 次/d。正常对照组、假手术组、模型对照组则给与生理盐水,1 mL/200 g,1 次/d。

1.7 观察指标及方法 药物干预前(造模成功 1 周)以及干预后第 1、2、3 周,各组随机选取 5 只大鼠,参照 Siegal 神经功能评分方法^[8]进行评分。Siegal 神经功能评分从 0 级至 5 级:0 级正常;1 级甩尾无力;2 级后肢无力,行走时具有轻度困难;3 级后肢无力,行走是具有明显不稳定性;4 级站立不稳,但后肢能够移动;5 级瘫痪,后肢无自主移动。评分越高,提示神经功能越差。对各时间点选择的大鼠采用脱颈法处死,逐层剥离皮肤及肌肉组织,找到 L5 神经根处自体移植包埋的尾椎椎间盘,正常对照组、假手术组则取 L5 神经根对应周围组织。经固定、脱水、包埋、切片、染色等步骤,采用免疫组化法检测该组织 IL-1 表达。

1.8 统计学方法 运用 SPSS17.0 统计学软件进行处理,计量资料采用单因素方差分析及 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 神经功能评分 干预前,与模型对照组比较,补肝健腰方组、塞来昔布组神经功能评分无统计学差异($P > 0.05$),且均高于假手术组。经灌胃治疗第 1、2、3 周,补肝健腰方组、塞来昔布组神经功能评分较模型对照组下降($P < 0.05$),补肝健腰方组、塞来昔布组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。补肝健腰方组、塞来昔布组经灌胃治疗第 1、2、3 周神经功能评分均较干预前下降($P < 0.05$)。提示干预前大鼠腰椎间盘突出模型神经功能评分升高,经补肝健腰方干预后,神经功能评分下降。见表 1。

表 1 各组大鼠神经功能评分结果比较

组别	例数	干预前	第 1 周	第 2 周	第 3 周
正常对照组	20	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
假手术组	20	1.40 ± 0.55	1.40 ± 0.55	1.40 ± 0.55	1.40 ± 0.55
模型对照组	20	3.80 ± 0.45	3.80 ± 0.45	4.00 ± 0.00	4.20 ± 0.45
补肝健腰方组	20	3.60 ± 0.55 ^b	2.60 ± 0.55 ^{ab}	2.40 ± 0.55 ^{ab}	2.20 ± 0.84 ^{ab}
塞来昔布组	20	3.60 ± 0.55 ^b	2.80 ± 0.45 ^{ab}	2.40 ± 0.55 ^{ab}	2.00 ± 0.71 ^{ab}

注：^a与模型对照组比较， $P < 0.05$ ；^b组内与本组干预前比较， $P < 0.05$

2.2 IL-1 表达 模型对照组、补肝健腰方组、塞来昔布组干预前 IL-1 表达较正常对照组呈高表达，经药物干预后，补肝健腰方组、塞来昔布组 IL-1 表达减弱，见图 1~4。干预前，与模型对照组比较，补肝健腰方组、塞来昔布组腰椎间盘突出局部组织 IL-1 表达无统计学差异 ($P > 0.05$)，且均高于假手术组。经灌胃治疗第 1、2、3 周，补肝健

腰方组、塞来昔布组 IL-1 表达均较模型对照组下降 ($P < 0.05$)，补肝健腰方组、塞来昔布组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。补肝健腰方组、塞来昔布组经灌胃治疗第 1、2、3 周 IL-1 表达均较干预前下降 ($P < 0.05$)。提示大鼠腰椎间盘突出局部 IL-1 表达增加，经补肝健腰方干预后，局部 IL-1 表达下降。见表 2。

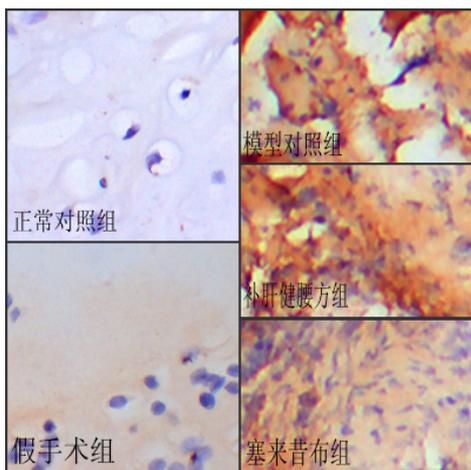


图 1 各组干预前 IL-1 表达情况 (× 400)

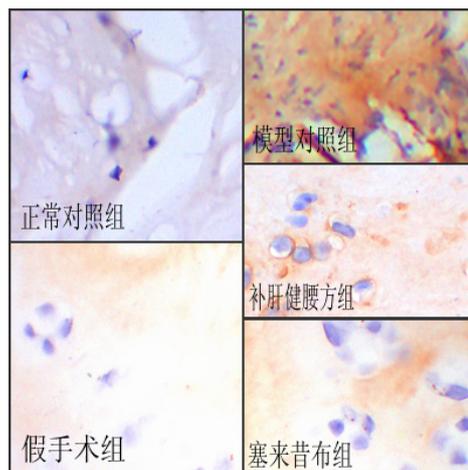


图 2 各组干预第 1 周 IL-1 表达情况 (× 400)

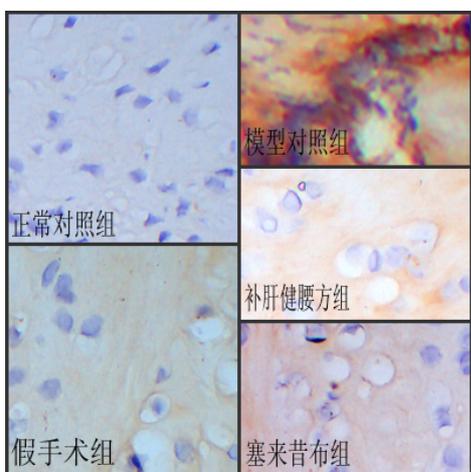


图 3 各组干预第 2 周 IL-1 表达情况 (× 400)

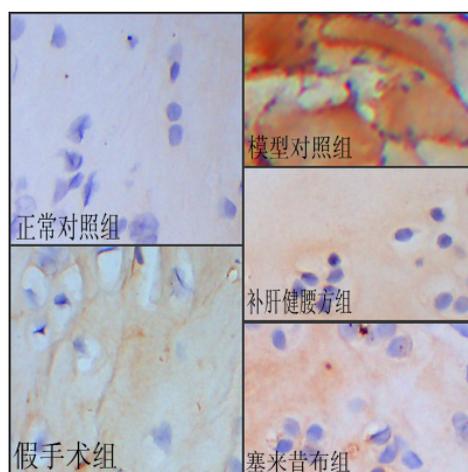


图 4 各组干预第 3 周 IL-1 表达情况 (× 400)

表 2 各组大鼠 IL-1 表达结果比较 (IOD 值)

组别	例数	干预前	第 1 周	第 2 周	第 3 周
正常对照组	20	2.33 ± 0.21	2.45 ± 0.33	2.49 ± 0.14	2.37 ± 0.19
假手术组	20	12.22 ± 0.35	14.35 ± 0.3	13.31 ± 0.20	13.98 ± 0.39
模型对照组	20	43.43 ± 0.49	42.39 ± 0.32	44.97 ± 0.25	45.92 ± 0.36
补肝肾腰方组	20	42.76 ± 0.34	19.29 ± 0.61 ^{ab}	14.54 ± 0.23 ^{ab}	14.01 ± 0.21 ^{ab}
塞来昔布组	20	43.98 ± 0.29	19.46 ± 0.31 ^{ab}	14.28 ± 0.41 ^{ab}	14.32 ± 0.29 ^{ab}

注: 组间时间点比较, ^a与模型对照组比较, $P < 0.05$; ^b组内与本组干预前比较, $P < 0.05$

3 讨论

腰椎间盘突出症是临床上的常见病、多发病,是在椎间盘发生退变的病理基础上,再结合外力等其他因素,发生的纤维环膨出、破裂,髓核突出、脱垂等病理变化。本病可因突出的椎间盘刺激或压迫窦椎神经、脊神经根或马尾神经所引起的腰痛、神经根放射痛等症状的病变^[9]。腰椎间盘突出症具有病程缠绵、易复发等特点,严重影响患者的生活。然而,关于本病的具体发病机制尚未完全阐明,目前认为与椎间盘机械压迫、化学炎症刺激及自身免疫密切相关。其中,化学炎症刺激致椎间盘压迫神经根引起不同程度的炎症反应,诱导如白介素、肿瘤坏死因子等炎性介质刺激神经根,从而产生疼痛等相关症状^[10]。

近年来大量研究表明,炎症相关的信号通路与腰椎间盘突出症关系极为密切。研究发现,腰椎间盘突出症的发病过程中,NF- κ B 信号通路得到激活,上调大量的炎性因子(如 TNF- α 、IL-1、IL-6)的表达,给与 NF- κ B 抑制剂(PDTC)则可抑制信号通路,减少 TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子表达水平,缓解疼痛反应^[11-12]。IL-1 常见的细胞因子,多由单核细胞、内皮细胞、成纤维细胞等细胞产生的,与炎症反应密切相关,参与机体的多种生理及病理反应。研究发现,IL-6 在腰椎间盘突出症椎间盘及邻近组织异常聚集。提示其介导了炎症反应,诱导椎间盘细胞凋亡,加速退变,并导致神经根性疼痛的产生^[13]。而对腰椎间盘突出症应用相关药物及治疗方法,可降低血清 IL-1 表达,达到治疗作用^[14-15]。塞来昔布为非甾体类抗炎药,可抑制环氧酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)来抑制前列腺素生成,可减少 IL-1 等细胞因子表达的作用^[16-17]。

祖国医学中并没有“腰椎间盘突出症”病名,根据发病的特点,认为腰椎间盘突出症属于“腰腿痛”“痹症”“筋病”等范畴。根据椎间盘突出

出症的发病特点,仇湘中提出,本病的核心病机为“肝虚络痹”,治疗应“从肝论治”,处方以经验方补肝肾腰方,取得比较满意的疗效^[15]。该方来源于《医宗金鉴》《医学六要》中“补肝汤”,并结合椎间盘突出症的发病特点化裁而成。补肝肾腰方组方原则补肝肾、通络止痛,药物组成有炒枣仁、当归、白芍、熟地、杜仲、川芎、延胡索、蜈蚣、全蝎、甘草^[18-20]。方中炒枣仁具有有养肝、宁心安神之效;当归补血养肝,和血调经;白芍养血柔肝和营;熟地甘温味厚,而质柔润,长于滋阴养血;杜仲甘温补益,共取补肝肾柔筋之功效。其中熟地、白芍为阴柔之品,配伍川芎、延胡索、蜈蚣、全蝎活血、理气、止痛,则补血而不滞血,和血而不伤血。且蜈蚣、全蝎辛温走窜,通经逐邪,有调达肝经、通络止痛之功,为镇痛、散结之要药,甘草调和诸药。

本研究结果发现,通过自体尾椎椎间盘移植制备的大鼠腰椎间盘突出症动物模型中,局部组织 IL-1 表达增加,神经根功能下降。经补肝肾腰方灌胃干预,IL-1 表达下降,神经功能得到改善与模型对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。提示补肝肾腰方具有降低大鼠腰椎间盘突出症模型突出部位 IL-1 的表达,改善神经功能评分的作用。与之前的研究结果相符。补肝肾腰方治疗腰椎间盘突出症是否从其他信号途径,有待下一步继续研究。

参考文献:

- [1] 仇湘中,刘栋,张信成,等.补肝肾腰方对腰椎间盘突出退变大鼠椎间盘 MMP-3、TIMP-1 表达的影响[J].北京中医药大学学报,2017,40(11):940-945.
- [2] 仇湘中,朱承勋,张信成,等.补肝肾腰方对腰椎间盘突出大鼠椎间盘 TNF- α 及 NF- κ B 表达的影响[J].中国中医骨伤科杂志,2017,25(9):9-11,16.
- [3] 仇湘中,朱承勋,张信成,等.补肝肾腰方对腰椎间盘突出退变大鼠椎间盘 IL-1 β 、IL-6 表达的影响[J].中医药导报,2017,23(24):57-59.
- [4] 仇湘中,张信成,严敏,等.补肝肾腰方对腰椎间盘突出退变大鼠髓核超微结构的影响[J].中医药导报,2015,21(19):19-22.

[5] 仇湘中,蒋盛昶,张信成,等.补肝肾腰方治疗腰椎间盘突出症疗效及对血清 TNF- α 的影响[J].中医药导报,2015,21(14):35-37.

[6] Jiang R, Xu G, Chen H, et al. Effect of scraping therapy on Interleukin-1 in serum of rats with lumbar disc herniation[J]. J Tradit Chin Med,2013, 33(1): 109-113.

[7] 魏伟,吴希美,李元建.药理学实验方法学[M].第4版.北京:人民卫生出版社,2010:1698.

[8] Siegal T, Shohami E, Shapira Y, et al. Indomethacin and dexamethasone treatment in experimental neoplastic spinal cord compression: Part 2. Effect on edema and prostaglandin synthesis[J]. Neurosurgery, 1988, 22(2): 334-339.

[9] 温泽发,牛淑芳,曾令友,等.腰痛六合散熨疗联合针刺治疗血瘀型腰椎间盘突出症[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(7):217-222.

[10] 侯桂红,李倩,谢燕.椎间盘组织中炎症因子水平、MMPs/TIMPs 表达与腰椎间盘突出症的关系研究[J].中国实验诊断学,2018,22(5):791-794.

[11] 易威威,温亚枫,刘浠,等.NF- κ B 抑制剂对脂多糖刺激的退变椎间盘髓核细胞炎症因子表达的影响[J].第三军医大学学报,2017,39(8):755-759.

[12] 周光辉,谢楚莉,薛爱国,等.NF- κ B 通过激活 MKK4-JNK-c-Jun 通路介导大鼠腰椎间盘突出髓核突出引起的疼痛反应[J].解剖学研究,2016,38(6):425-428.

[13] 舒剑臣,唐小穗.P 物质、白介素 6 与腰椎间盘突出症所致腰腿痛的相关性研究[J].中国骨与关节损伤杂志,2013,28(9):825-827.

[14] 陈婷,王爽,孔婧,等.脊仙通痹方对腰椎间盘突出症患者血清 TNF- α 、IL-1 的影响[J].长春中医药大学学报,2017,33(2):282-284.

[15] 朴起范,郭长青,付伟涛,等.针刀疗法对腰椎间盘突出症根性神经痛大鼠血清 IL-1 和 IL-6 的影响[J].安徽中医药大学学报,2014,33(6):42-45.

[16] 朱新杰,蔡明珍.塞来昔布超前镇痛对围术期 IL-1 β 和 IL-2 的作用[J].中国现代医药杂志,2008, 10(1):22-25.

[17] 向登,蒋涛,贺军,等.塞来昔布对不同程度骨关节炎患者 TNF- α 、IL-1 β 及 PGE-2 的影响[J].中国骨与关节损伤杂志,2016,31(5):496-498.

[18] 仇湘中,黎玉林.腰椎间盘突出症的中西药治疗对比观察[J].中国骨伤,1998, 11(3):71.

[19] 仇湘中,刘栋,张信成,等.补肝肾腰方对腰椎间盘突出大鼠椎间盘 MMP-3、TIMP-1 mRNA 表达的影响[J].中医药导报,2018,24(14):21-25.

[20] 赵迪民,仇湘中,谭旭仪,等.仇湘中治疗腰椎间盘突出源性下腰痛经验[J].中医药导报,2018,24(16):128-129.

(收稿:2018-10-10 发表:2019-09-30)

中国中西医结合外科杂志学术编辑委员会名单

学术委员会

主任委员:吴咸中
 副主任委员:崔乃强 王西墨 朴炳奎 金鸿宾 崔公让 陈海龙
 委员:吕文良 林洪生 田在善 瞿全
 特聘委员:汤钊猷 付小兵 邹声泉

编辑委员会

主编:吴咸中
 执行主编:崔乃强
 常务副主编:邱奇
 副主编:孔棣 周振理 齐清会 王丰 屈振亮 张庚扬 尤胜义 白人骁 张亚强 马信龙
 侯玉芬 司呈泉 张静喆 王笑民
 常务编委:张瑾 余剑波 于泳浩 张淑坤 王光霞 于泳浩 刘洪斌 傅强 赵卫川 尚东
 王树声 杨博华 马剑雄 王军 任东林 马东旺 孟庆才 李秀兰 万业达 石承先
 李勇 王玉玲 李兰青 牛凯军 孟革 许玲 侯炜
 编委:宋仲麟 丁洁 李忠廉 崔云峰 王震宇 于向阳 张辉 张大鹏 张莉 王鸣驰
 黄景陶 李钢 李国华 张秀军 万春友 王浩 王琛 王建民 邓廉夫 徐卫国
 韩慧 韩洪秋 刘杰 刘鹏 刘树硕 杨程 邵建东 邵万金 吴红梅 李无阴
 李萍萍 陈柏楠 陈磊 张家衡 宋爱莉 谷福顺 周涛 林丽珠 武彪 赵钢
 胡芳 李金亭 王志敏 顾元龙 贾英杰 高文喜 曹焯民 曹立瀛 曹建春 曹保利
 喻文利 韩瑞发 彭民 窦剑 阙华发 谭志建 鞠上
 编辑部工作人员:徐妍 郜文 石强

对以上专家学者编辑为本刊按期出版所做的指导帮助、支持贡献和辛勤劳动表示衷心的感谢!