

# 腰痹通胶囊对大鼠腰椎神经根压迫致腰椎间盘突出模型 药效及炎性因子的影响

唐朝辉, 曹亮, 丁岗, 王振中, 萧伟\*

(江苏康缘药业股份有限公司, 江苏连云港 222001)

**[摘要]** **目的:**建立大鼠腰椎间盘突出模型,观察腰痹通胶囊(YBT)对该模型药效及血清炎性因子的影响。**方法:**利用硅胶片模拟腰椎间盘突出,压迫大鼠L<sub>5</sub>神经根,建立大鼠腰椎间盘突出动物模型,并随机分为模型组、阳性药组(腰痛宁胶囊0.16 g·kg<sup>-1</sup>)和YBT治疗3个剂量(0.17, 0.34, 0.68 g·kg<sup>-1</sup>)组,另设正常组,给药30 d后,检测大鼠左后肢压痛阈、血清肿瘤坏死因子-α(TNF-α),白介素-1β(IL-1β),白介素-6(IL-6)及神经根病理变化。**结果:**成功复制大鼠腰椎间盘突出模型。与正常对照组比较,模型组大鼠左后肢压痛阈明显降低( $P < 0.05$ ),血清TNF-α, IL-1β, IL-6含量明显升高( $P < 0.01$ )、神经根有明显病变;YBT 0.34, 0.68 g·kg<sup>-1</sup>剂量组可以显著提高模型大鼠左后肢压痛阈、降低血清3种炎性因子含量( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )、改善神经根病变。**结论:**腰痹通胶囊可以改善腰椎间盘突出动物模型的症状及神经根病变,其机制可能与抑制炎性因子释放有关。

**[关键词]** 腰痹通胶囊; 腰椎间盘突出症; 炎性因子

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)05-0155-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015050155

## Efficiency and Influence of Inflammatory Cytokines by Yaobitong Capsule in Rat Lumbar Disc Herniation

**Model** TANG Zhao-hui, CAO Liang, DING Gang, WANG Zhen-zhong, XIAO Wei\* (Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., Lianyungang 222001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Yaobitong capsule (YBT) on inflammatory cytokines and pain in the rat lumbar disc herniation model (RLDH). **Method:** The model of lumbar disc herniation (LDH) was established by compressing silica gel pieces on the L<sub>5</sub> nerve root of rat. All the rats were randomized into model group, positive group (Yaotongning capsules, 0.16 g·kg<sup>-1</sup>) and YBT treatment groups (0.17, 0.34, 0.68 g·kg<sup>-1</sup>). After administration for 30 d, the mechanical pain thresholds of left hind limb, serum tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-6 (IL-6) levels and pathological change in the nerve root of rats were detected respectively. **Result:** The model of LDH in rats was successfully established. Compared with normal control group, the mechanical pain thresholds of the model rats were decreased significantly ( $P < 0.05$ ), the serum TNF-α, IL-1β, IL-6 levels were increased significantly ( $P < 0.01$ ), and the obvious lesion was observed in nerve root. In the 0.34, 0.68 g·kg<sup>-1</sup> dose of YBT groups, the mechanical pain thresholds were increased significantly, the serum TNF-α, IL-1β, IL-6 levels reduced significantly ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), and the pathological change was improved obviously in the nerve root. **Conclusion:** YBT could improve the symptoms and nerve root lesions in rats with LDH, which may be related with inhibition of inflammatory cytokines.

**[Key words]** Yaobitong capsule; lumbar disc herniation; inflammatory cytokines

腰椎间盘突出症(lumbar disc herniation)是因 椎间盘变性,纤维环破裂,髓核突出刺激或压迫神经

**[收稿日期]** 20140507(006)

**[基金项目]** 国家科技部重大新药创制“现代中药创新集群与数字制药技术平台”(2013ZX09402203)

**[第一作者]** 唐朝辉,工程师,理学硕士,从事中药、天然药物临床前药理毒理研究, Tel:025-86587930-8105, E-mail:kuanbinger@163.com

**[通讯作者]** \*萧伟, Tel:0518-85521956, E-mail:wzhzh-nj@vip.tom.com

根、马尾神经所形成的机械压迫和化学物质释放引起的炎症反应,是腰腿痛最常见的原因之一<sup>[1]</sup>,也是一种临床的常见病、多发病,约占下腰痛患者的20%左右<sup>[2]</sup>。临床上大多数患者可经非手术治疗得到缓解或治愈,也就是说非手术治疗当作为本病的首选方法<sup>[3-4]</sup>。传统中医药对本病的认识和治疗已经比较成熟,并取得了良好的临床疗效,并具有其独特优势。中药内服以辨证施治为原则,针对不同的证候采用不同的组方,临床上取得了满意的治疗效果<sup>[5]</sup>。

腰痹通胶囊原方源于中国中医研究院首席研究员、中国中医骨伤科研究所孙树椿主任医师在长期临床实践中有效治疗腰椎间盘突出症的经验总结,由三七、川芎、延胡索、白芍、牛膝、狗脊、熟地黄、独活8味中药经现代化工艺研制而成,全方具有活血化瘀、祛风除湿、行气止痛之功能,临床用于治疗腰椎间盘突出症具有良好的效果<sup>[6]</sup>。本研究拟通过考察腰痹通胶囊对腰椎神经根压迫模型大鼠的影响和对其作用机制的研究,为其临床功效提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF级SD大鼠,70只,雄性,180~220g,由苏州工业园区艾尔麦特科技有限公司提供,合格证号SCXK(浙)2009-0001。动物饲养于屏障级动物房。自由进食和饮水,人工照明(12h光照/12h黑暗),温度和湿度分别保持在20~25℃和(55±5)%。

**1.2 材料** 腰痹通胶囊(三七、狗脊、熟地黄、独活均为3.35份,川芎、延胡索、白芍、牛膝均为4.45份,以上8味,取三七半量粉碎成细粉,剩余三七与延胡索、川芎、独活粉碎成粗粉,乙醇渗漉,渗漉液浓缩至浸膏;剩余白芍等4味加水浸透后煎煮滤过,滤液浓缩至适量,加入乙醇量达60%后冷藏滤过,滤液浓缩至适量,加入乙醇量达80%,冷藏滤过,滤液浓缩至浸膏,合并后加入三七细粉,干燥粉碎后加入适量辅料,混匀并制成颗粒,装入胶囊即得。成品0.42g/粒,相当于2.5g生药材,以人参皂苷R<sub>g1</sub>含量作为质控指标),江苏康缘药业股份有限公司,120212;腰痛宁胶囊(0.3g/粒,承德颈复康药业集团有限公司,批号191191);注射用青霉素钠(山东鲁抗医药股份有限公司,B100908)。

CMC-Na(国药集团化学试剂有限公司,批号F20050302),水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号20100111),甲醛溶液(上海久亿化学试剂有限公司,批号20090912),硅胶片(厚度1mm,佛

山市鑫益橡胶制品有限公司);大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白介素(IL)-1 $\beta$ ,IL-6 ELISA试剂盒(EBioscience公司,批号86759036,84370014,86598028)。

**1.3 仪器** YLS-3E型电子压痛仪(山东益延科技),52A型医用低速离心机(安新县白洋离心机厂),METTLER-AL204型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],DK-8B型电热恒温水槽(上海精宏实验设备有限公司),M2e型酶标仪(Molecular Devices公司),RM-2245型转轮切片机(Leica公司),BX46型显微镜(Olympus公司)。

## 2 方法

### 2.1 造模及分组给药

**2.1.1 造模** 动物正常适应性饲养3d后用于正式实验。根据参考文献方法<sup>[7-8]</sup>,随机取50只大鼠,用10%的水合氯醛3mL·kg<sup>-1</sup>将大鼠腹腔注射麻醉,手术区碘伏消毒,以腰椎L<sub>5,6</sub>为中心取背正中切口,切开皮肤(长约3cm)、皮下组织,从左侧棘突上钝性分离椎旁肌,暴露横突,咬除钳咬除横突及其附带的椎板部分,并切除左侧部分L<sub>5,6</sub>的椎板和上下关节突。将硅胶片(2mm×2mm×1mm,约7mg)置于左侧L<sub>5</sub>神经根出硬膜囊的交界处,部分塞进椎间孔,逐层缝合。再随机取10只大鼠作为假手术组:手术操作同造模组,植入物改为与硅胶片大小相当的肌肉组织。剩余10只大鼠作为正常对照组,动物正常饲养,不做处理。造模完成后,各手术大鼠肌肉每只注射青霉素钠1.6万单位,连续注射3d。

**2.1.2 分组及给药** 除正常组和假手术组外,其余造模动物按体重随机分为5组,即:模型组、腰痛宁组(0.16g·kg<sup>-1</sup>,根据“不同动物等效剂量的折算系数”表计算,相当于临床等效剂量)、腰痹通高、中、低剂量组(0.68,0.34,0.17g·kg<sup>-1</sup>,分别相当于临床等效剂量的2,1,0.5倍),每组10只。分组后即开始给药,其中正常组、假手术组和模型组给予0.5%CMC-Na溶液,其余给药组给予相应的药物,给药体积均为10mL·kg<sup>-1</sup>,每日ig给药1次,连续给药30d。

### 2.2 观察指标

**2.2.1 机械刺激痛阈值测定** 给药前和末次给药1h后,分别测定大鼠左后肢压痛阈:测定时大鼠左后肢露于圆筒外,待其安静后,将大鼠的左侧后肢放于电子压痛仪上测定痛阈值。

**2.2.2 炎性细胞因子测定** 末次给药1h后,眼眶取血,室温放置30min后,常规分离血清,ELISA法

检测 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6。

**2.2.3 组织病理分析** 脱颈椎处死大鼠,取手术操作部位腰椎,骨钳剪取造模部位神经根及周围组织,放入中性缓冲福尔马林固定液内固定,梯度乙醇脱水,石蜡包埋,切片脱蜡后常规 HE 染色,光学显微镜下观察。

**2.3 数据分析** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,量反应资料统计方法采用单因素方差分析进行组间显著性检验,统计软件用 SPSS 17.0。 $P < 0.05$  为有统计学意义。

表 1 腰痹通胶囊对大鼠压痛阈和体重的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effects of Yaobitong capsules on mechanical pain thresholds and body weight in rats( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	痛阈/g		体重/g	
		初始	最终	初始	最终
正常	-	244 $\pm$ 110	413 $\pm$ 120	279 $\pm$ 18	422 $\pm$ 26
假手术	-	204 $\pm$ 107	429 $\pm$ 134	279 $\pm$ 16	424 $\pm$ 23
模型	-	228 $\pm$ 109	284 $\pm$ 106 <sup>1)</sup>	283 $\pm$ 20	428 $\pm$ 29
腰痛宁	0.16	233 $\pm$ 132	400 $\pm$ 129 <sup>2)</sup>	280 $\pm$ 20	402 $\pm$ 30
YBT	0.68	233 $\pm$ 136	428 $\pm$ 114 <sup>3)</sup>	280 $\pm$ 17	425 $\pm$ 26
	0.34	242 $\pm$ 131	405 $\pm$ 131 <sup>2)</sup>	271 $\pm$ 19	411 $\pm$ 28
	0.17	244 $\pm$ 115	362 $\pm$ 102	274 $\pm$ 17	416 $\pm$ 26

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.01$ (表 2 同)。

**3.2 对血清炎症因子的影响** 腰椎间盘突出模型对照组大鼠血清 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  和 IL-6 与正常组相比均明显升高( $P < 0.01$ )。腰痹通胶囊 3 个给药剂量组均能不同程度抑制血清中 3 种炎症因子的升高趋势( $P < 0.01, P < 0.05$ ),提示药物具有抑制腰椎间盘突出模型大鼠炎症因子释放的作用。见表 2。

表 2 腰痹通胶囊对大鼠血清炎症因子的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effects of Yaobitong capsules on inflammatory factors in serum of rats( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	TNF- $\alpha$ / $ng \cdot L^{-1}$	IL-1 $\beta$ / $ng \cdot L^{-1}$	IL-6/ $ng \cdot L^{-1}$
正常	-	101.86 $\pm$ 44.16	276.50 $\pm$ 52.28	88.27 $\pm$ 23.62
假手术	-	105.72 $\pm$ 43.33	309.70 $\pm$ 46.59	75.25 $\pm$ 19.72
模型	-	361.34 $\pm$ 104.87 <sup>1)</sup>	413.62 $\pm$ 65.48 <sup>1)</sup>	183.51 $\pm$ 53.79 <sup>1)</sup>
腰痛宁	0.16	194.08 $\pm$ 61.70 <sup>3)</sup>	328.03 $\pm$ 63.66 <sup>3)</sup>	90.50 $\pm$ 23.02 <sup>3)</sup>
YBT	0.68	125.62 $\pm$ 47.90 <sup>3)</sup>	315.13 $\pm$ 65.14 <sup>3)</sup>	82.60 $\pm$ 21.09 <sup>3)</sup>
	0.34	165.33 $\pm$ 57.43 <sup>3)</sup>	330.35 $\pm$ 62.20 <sup>3)</sup>	141.06 $\pm$ 17.21 <sup>2)</sup>
	0.17	276.43 $\pm$ 75.47	347.14 $\pm$ 41.13 <sup>2)</sup>	166.65 $\pm$ 14.80

**3.3 对组织病理的影响** 由病理检查结果可知:正常组和假手术组大鼠切片,神经纤维无空泡变性;轴索无明显变性,无炎细胞浸润;间质无水肿,无炎细

### 3 结果

**3.1 对压痛阈和体重的影响** 与正常组相比,各手术造模组的初始痛阈无显著性差异。模型组大鼠最终痛阈与正常组比较明显降低( $P < 0.05$ ),腰痹通胶囊高、中剂量组大鼠痛阈与模型组比较有显著升高( $P < 0.01, P < 0.05$ ),提示腰痹通胶囊具有一定的镇痛作用。从药物对体重的影响来看,腰痹通胶囊用药 30 d 对大鼠体重无明显影响。见表 1。

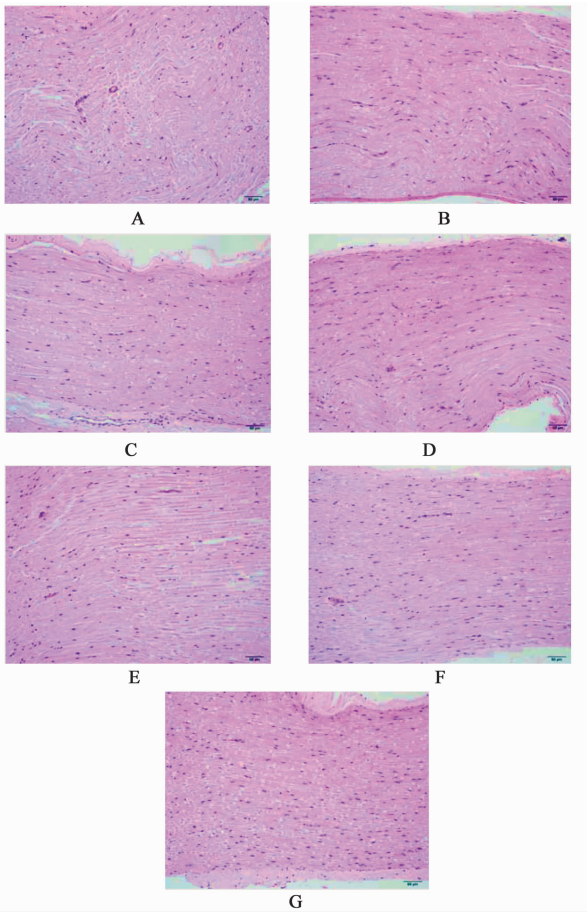
胞浸润;模型组大鼠神经细胞空泡变性,其间有轻度炎症和异物巨细胞反应。与模型组相比,腰痹通胶囊组大鼠神经细胞病变均有不同程度的改善,其中腰痹通高、中剂量组病变改善较显著。见图 1。

### 4 讨论

腰腿痛是腰椎间盘突出症患者的常见症状,但导致腰腿痛的发生机制目前尚未完全明确。普遍接受的学说有神经根机械压迫、炎性化学刺激、自身免疫等。其中神经根机械性压迫曾被一度认为是其唯一的病理因素<sup>[9]</sup>。随着研究的不断深入,现阶段人们普遍认为突出物对神经根的直接压迫可造成神经根结构性损害,同时影响神经根局部供血及营养,代谢物产生堆积,最终导致神经根传导功能下降,进而导致腰腿痛等症状的产生<sup>[10-11]</sup>。

突出的髓核可以使神经根及其周围组织产生无菌性炎症反应,释放炎症细胞因子。研究表明,腰椎间盘突出症患者的椎间盘组织可以自发产生相当数量的金属蛋白酶,IL-6, IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  等炎症细胞因子<sup>[12]</sup>。这些炎症因子在神经根周围产生炎症反应,引起化学性神经根炎,而导致疼痛及其他症状。

传统医学中并无腰椎间盘突出症的名称及明确记载,但按照其发病和临床表现可归为“腰痛、痹



A. 正常组; B. 假手术组; C. 模型组; D. 腰痛宁 0.16 g·kg<sup>-1</sup>组; E~G. 腰痹通 0.68, 0.34, 0.17 g·kg<sup>-1</sup>组

图1 腰痹通胶囊对大鼠神经根组织病理的影响(HE, ×400)  
Fig.1 Effects of Yaobitong capsules on pathological changes in nerve root of rats (HE, ×400)

症”等范畴<sup>[13]</sup>。目前,一般将其分为寒湿型、湿热型、瘀血型和肝肾亏虚型。根据其病因病机,腰痹通胶囊采用三七、川芎、延胡索等药物,以活血化瘀为主,辅以行气和血,疏通经络、滋阴养血之品,在活血止痛,改善局部缺血的同时又加强了健骨生筋的作用,从而达到了标本兼治的目的<sup>[14]</sup>。

本研究采用灭菌硅胶片植入大鼠神经根与硬膜囊交界处,模拟机械压迫和无菌性炎性刺激的病因,从而诱发一系列病变,以建立动物模型。研究结果表明,一方面腰痹通胶囊配方药性较温和,不含毒剧药材,长期服用后大鼠体重无下降趋势;另一方面,药物可以抑制在疼痛发生和维持中起到关键作用的促炎性细胞因子 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  和 IL-6 的释放,从而抑制神经根部位炎症反应的发展,减轻其结构性损伤,进而达到改善疼痛症状的作用。本研究验证了

腰痹通胶囊的疗效,并探讨了其发挥药效的可能途径,为临床应用提供了理论依据。

[参考文献]

[1] 吴在德,吴肇汉. 外科学[M]. 7版. 北京:人民卫生出版社,2008:849-854.

[2] 雷龙鸣,黄锦军,庞军,等. 加用弹压手法推拿治疗腰椎间盘突出症50例临床观察[J]. 辽宁中医杂志, 2010,37(3):523-524.

[3] 刘羽. 腰椎间盘突出症保守和手术治疗的疗效分析[J]. 临床医学,2009,29(4):33-34.

[4] Atlas S J, Keller R B, Chang Y, et al. Surgical and nonsurgical management of sciatica secondary to a lumbar disc herniation: five-year outcomes from the maine lumbar spine study [J]. Spine, 2001, 26(10): 1179-1187.

[5] 曾朝辉. 腰痛I号方治疗腰椎间盘突出症(寒湿阻络型)的临床疗效观察[D]. 长沙:湖南中医药大学,2010.

[6] 周一敏,蒙剑. 腰痹通胶囊治疗腰椎间盘突出症57例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 287-288.

[7] 李晨光,侯丽娟,王拥军. 腰痛宁对腰椎间盘突出模型大鼠比目鱼肌 BDNF 和 NT-3 蛋白表达的影响[J], 中国中医骨伤科杂志, 2009, 17(4): 8-10.

[8] Seiji Ohtori, Kazuhisa Takahashi, Yasuchika Aoki. Spinal neural cyclooxygenase-2 mediates pain caused in a rat model of lumbar disk herniation[J]. J Pain, 2004, 5(7):385-391.

[9] Mixter W J, Barr J S. Rupture of the intervertebral disc with involvement of the spinal canal [J]. New Eng J Med, 1934(211): 210.

[10] 王洪伟. 腰椎间盘突出症疼痛发生机制的研究进展[J]. 中国矫形外科学杂志, 2011, 19(7): 568-571.

[11] Igarashi A, Kikuchi S, Konno S. Correlation between inflammatory cytokines released from the lumbar facet joint tissue and symptoms in degenerative lumbar spinal disorders [J]. J Orthop Sci, 2007, 12(2): 154-160.

[12] Grumbled M, Virri I, Tolonen I, et al. A controlled immunohistochemical study of inflammatory cells in disc herniation tissue [J]. Spine, 1994, 19(24): 2745-2751.

[13] 国家中医药管理局. 中医辨证诊断疗效标准[S]. 南京:南京大学出版社, 1994: 202.

[14] 梁伟斌. 平衡火罐合腰痹通胶囊治疗腰椎骨关节疾病疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(35): 4371-4372.

[责任编辑 聂淑琴]