

化瘀止痛方对骨转移癌骨质破坏影响的研究

邓博^{1,2*}, 贾立群², 高福云², 李环², 叶晓兰⁵, 许灿龙¹

(1. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; 2. 中日友好医院, 北京 100029)

[摘要] 目的: 研究评价中药外用对骨癌疼痛模型的止痛和骨保护作用。方法: 大鼠左后肢胫骨接种转移性大鼠乳腺癌细胞株 MRMT-1 细胞以制成骨癌疼痛模型按体重将动物分为模型组、唑来膦酸组和中药组; 同时设假手术组。中药组于造模后 2~21 d 用 3% 化瘀止痛方浸剂浸泡后肢, 60 min/次, Bid; 以唑来膦酸为阳性对照 30 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 于造模后第 5, 7, 9, 12, 14, 16, 19 天 ip, 造模后第 19 天检测痛行为双足负重差值, 第 21 天测定胫骨标本骨密度。结果: 与模型组比较, 中药组和唑来膦酸组的双足负重差值降低, 胫骨骨质破坏明显改善, 骨密度增高。结论: 外用中药化瘀止痛方可有效治疗骨癌疼痛, 减轻骨转移所致的溶骨性骨质破坏。

[关键词] 骨转移癌疼痛; 中药; 化瘀止痛; 骨密度

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0145-02

骨是恶性肿瘤远处转移的好发器官, 在全部恶性肿瘤中远处转移的机会仅次于肺和肝。有 75%~95% 的晚期癌和转移癌患者都有癌症疼痛^[1-2], 大部分癌症疼痛尚未得到有效控制, 严重影响患者的生活质量。骨癌痛是癌症痛的典型代表, 也是肿瘤发生骨转移时最常见的症状之一^[3]。控制骨转移的发生发展是当今肿瘤临床研究的重要课题。

1 材料与方

1.1 细胞培养 MRMT-1 转移性大鼠乳腺癌细胞株, 由日本东北大学加龄医学研究所中心引进。传代培养条件: RPMI1640 培养液, 含 10% 胎牛血清、1% 谷氨酰胺和 2% 青/链霉素 (均为 Gibco)。置 CO₂ 培养箱 (MCO-15AC, SANYO) 内, 5% CO₂, 37 °C 静置培养; 造模当天用 0.1% 胰蛋白酶 (Sigma - Aldrich) 和 0.1% EDTA 的混合溶液进行消化, 无 Ca²⁺, Mg²⁺ 的 Hank's 液洗, 调节细胞密度至 1 × 10⁶/mL。

1.2 动物分组 SPF 级 (Specific pathogen free condition) 雌性 SD 大鼠 32 只 [北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK (京) 2007-0001], 体重 (160 ± 10) g, 饲养在中日友好医院临床研究所清

洁级动物室 [实验动物使用许可证 SYXK (京) 2005-0019]。按照体重随机分为假手术组、模型组、唑来膦酸组和中药组, 每组 8 只。

1.3 骨转移癌疼痛模型的建立 根据 Medhurst 方法造模^[4]: 0.45% 戊巴比妥钠 (10 mL · kg⁻¹, ip) 麻醉下, 逐层切开皮肤肌肉, 取胫骨内侧面膝关节以下约 5 mm 处, 穿刺入骨髓腔; 用微量注射器吸取癌细胞悬液 3 μL (癌细胞数约为 3 × 10³), 缓慢注射于胫骨骨髓腔内; 骨蜡封闭针孔, 缝合肌肉和皮肤。假手术组骨髓腔内注射等体积 Hank's 液。

1.4 给药 化瘀止痛方组成: 延胡索、乳香、姜黄、白芥子、莪术、冰片; 比例: 5: 2: 2: 2: 1: 1; 由北京康仁堂药业制成配方颗粒。按说明溶于去离子水中制成 3% 浸剂, 造模后第 2~21 天浸泡后肢, 60 min/次, Bid。唑来膦酸 (Novartis): 用注射用水配制成 3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶液, 造模后第 5, 7, 9, 12, 14, 16, 19 天, ip, 30 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[5]。

1.5 痛行为学检测 造模后第 19 天进行, 使用大鼠失能测量仪 (2Biological) 测量双足负重值, 根据公式计算双侧负重量差值: 两侧后肢负重差值 = 对照侧负重量 - 手术侧负重量

1.6 骨矿物质含量和骨密度 造模后第 21 天取材, 使用 Prodigy 双能 X 线骨密度仪 (General Electric) 对整个胫骨进行扫描, 用该系统配备的小动物软件计算骨矿物质含量 (BMC) 和骨密度 (BMD)。

1.7 数据统计 数据使用 SPSS 15.0 软件分析, 计量资料采用方差分析进行组间比较。方差不齐的计量资料、等级资料及频数资料, 采用秩和检验进行分析。

[收稿日期] 20100110(002)

[基金项目] [基金项目] “十一五” 国家科技支撑计划资助项目 (2008BA153B023); 国家自然科学基金资助项目 (30772858)

[通讯作者] * 邓博, 博士后研究员, 主治医师, 研究方向, 肿瘤分子药理学, Tel: 13581510718, E-mail: reckondeng@hotmail.com

2 结果

2.1 痛行为学检测 双侧后肢负重差异评价机械性痛觉过敏,结果见表 1。假手术组双侧后肢负重则较为平衡;其余各组均出现双侧下肢负重不平衡的情况($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组双侧后肢负重差值比较,相对于假手术组,各组负重差值均明显升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);相对模型组,中药组有降低趋势。

表 1 造模 19 天各组大鼠双侧后肢负重情况比较($\bar{x} \pm s, n = 8$) g

组别	左后肢 负重	右后肢 负重	双侧后肢 负重差值
假手术	78.34 ± 8.08	81.12 ± 13.81	2.76 ± 14.61 ⁴⁾
模型	58.76 ± 4.47 ²⁾	99.25 ± 6.52	40.53 ± 10.99
唑来膦酸	61.38 ± 24.77 ²⁾	93.51 ± 14.65	34.64 ± 10.12
化瘀止痛方	64.36 ± 17.26 ²⁾	87.06 ± 2.90	20.21 ± 14.35

注:(左后肢)与右后肢比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。采用双因素方差分析比较组间双侧后肢负重差值,与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

2.2 BMC 和 BMD 检测 结果见表 2。与假手术组相比,模型组 BMD 明显降低($P < 0.01$);与模型组相比,各组 BMD 明显升高($P < 0.01$)。唑来膦酸组明显升高($P < 0.01$),中药组明显升高($P < 0.05$)。与模型组相比,唑来膦酸组 BMC 明显升高($P < 0.05$),中药组有改善趋势。

表 2 造模 21 d 各组大鼠胫骨 BMD 和 BMC($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	BMD/g · cm ⁻²	BMC/g
假手术	0.130 ± 0.015 ⁴⁾	2.55 ± 1.18
模型	0.120 ± 0.007	2.48 ± 0.85
唑来膦酸	0.142 ± 0.005 ⁴⁾	3.55 ± 0.17 ³⁾
化瘀止痛方	0.134 ± 0.009 ³⁾	2.60 ± 0.89

3 讨论

骨转移的发生提示患者的病情已经进入晚期,

应进行多学科的综合治疗。外用中药通过体表直接起效,不干扰化疗在体内代谢,更易为现代医学理论体系所接受。目前关于外用中药对骨转移癌影响的研究多是建立在个人经验或临床观察的基础上,缺乏采用经典动物模型评价的报道。本研究选取了临床上常用而又有较多文献报道的化瘀止痛法,观察其对乳腺癌骨转移大鼠模型的影响。

BMC 和 BMD 是常用的评价骨吸收-骨形成作用强度的指标,广泛用于包括骨转移肿瘤在内的骨病研究。与模型组相比,中药化瘀止痛方组 BMD 明显升高,BMC 改善。通过行为学检查证实中药对癌性骨痛模型大鼠具有良好的止痛效果,且与骨保护作用的强度不完全一致,说明这些药物的止痛作用一方面是通过抑制骨质破坏实现的,而另一方面则是直接作用于神经系统,拮抗伤害感受器从而起到止痛作用。

[参考文献]

- [1] Clohisy D R, Mantyh P W. Bone cancer pain[J]. Cancer, 2003, 97(3 Suppl):866.
- [2] Rosen L S, Gordon D H, Dugan W J, et al. Zoledronic acid is superior to pamidronate for the treatment of bone metastases in breast carcinoma patients with at least one osteolytic lesion [J]. Cancer, 2004, 100(1): 36.
- [3] Portenoy R K, Lesage P. Management of cancer pain[J]. Lancet, 1999, 353(9165):1695.
- [4] Medhurst S J, Walker K, Bowes M, et al. A rat model of bone cancer pain[J]. Pain, 2002, 96(1/2):129.
- [5] Walker K, Medhurst S J, Kidd B L, et al. Disease modifying and anti-nociceptive effects of the bisphosphonate, zoledronic acid in a model of bone cancer pain[J]. Pain, 2002, 100(3):219.

[责任编辑 聂淑琴]