

基于 c-JNK/CXCL1 信号通路研究椎间盘丸对腰椎间盘突出症大鼠脊髓炎症的抑制作用

牛辉¹, 鲍朝辉¹, 张文明¹, 高乾坤¹, 周献伟¹, 杨浣¹, 刘鸣²(1. 河南省洛阳正骨医院脊柱外三科, 河南郑州 450009; 2. 郑州大学第一附属医院骨科, 河南 郑州 450000)

摘要: **目的** 观察椎间盘丸对腰椎间盘突出症大鼠脊髓炎症的抑制作用, 并探讨其通过 c-Jun 氨基末端激酶(c-JNK)/趋化因子配体 1(CXCL1)信号通路的作用机制。**方法** 将 85 只大鼠随机选取 70 只建立腰椎间盘突出症大鼠模型。将模型复制成功的 60 只大鼠随机分为模型组, 椎间盘丸低、高剂量组, 阳性对照组, 每组 15 只; 剩余 15 只为假手术组。模型复制 2 h 后, 椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组分别灌胃 1.85、3.70 g·kg⁻¹椎间盘丸溶液和 0.77 mg·kg⁻¹美洛昔康溶液, 假手术组和模型组灌胃生理盐水。干预 7 d 后, 观察实验大鼠的一般情况, 测定痛反应阈值, 酶联免疫吸附法(ELISA)测定脊髓背角组织白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)水平, HE 染色观察大鼠背根神经节组织病理学变化, Western Blot 法检测脊髓背角组织离子钙接头蛋白(Iba-1)、c-JNK、p-c-JNK、CXCL1 蛋白相对表达水平。**结果** 与假手术组比较, 模型组干预 1 d 与 7 d 痛阈明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 与模型组比较, 椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组干预 1 d 与 7 d 痛阈均明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与假手术组比较, 模型组 IL-6、IL-1 β 水平均明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 与模型组比较, 椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组 IL-6、IL-1 β 水平均降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。假手术组大鼠背根神经节中神经元细胞核位于中央, 核仁清晰, 胞质内有排列均匀的颗粒状物尼氏小体, 无细胞肿胀及炎性细胞浸润; 模型组大鼠背根神经节中神经元细胞核不规则, 核仁不清晰, 胞质中尼氏小体排列不均匀, 细胞明显肿胀, 神经元细胞胞浆呈空泡样变化; 椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组有所改善。与假手术组比较, 模型组 Iba-1、p-c-JNK、CXCL1 蛋白相对表达水平均明显升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组 Iba-1、p-c-JNK、CXCL1 蛋白相对表达水平均降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。c-JNK 蛋白相对表达水平组间比较的差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 椎间盘丸对腰椎间盘突出症大鼠脊髓炎症具有抑制作用, 且可能是通过抑制 c-JNK/CXCL1 信号通路发挥作用。

关键词: 腰椎间盘突出症; 椎间盘丸; 脊髓炎症; c-Jun 氨基末端激酶/趋化因子配体 1(c-JNK/CXCL1)信号通路; 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)05-0655-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.05.009

The Inhibitory Effect of *Zhuijianpan* Pills on Spinal Cord Inflammation in Rats with Lumbar Disc Herniation Based on c-JNK/CXCL1 Signaling Pathway

NIU Hui¹, BAO Chaohui¹, ZHANG Wenming¹, GAO Qiankun¹, ZHOU Xianwei¹, YANG Guang¹, LIU Ming²
(1. The Third Department of Spine Surgery, Luoyang Orthopedic Hospital of Henan Province, Zhengzhou 450009 Henan, China; 2. Department of Orthopedics, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000 Henan, China)

Abstract: Objective To observe the inhibitory effect of *Zhuijianpan* pills on spinal cord inflammation in rats with lumbar disc herniation, and to explore its mechanism of action through the c-Jun N-terminal kinase (c-JNK)/

收稿日期: 2020-11-04

作者简介: 牛辉, 男, 硕士研究生, 副主任医师, 研究方向: 脊柱外科。Email: shenke_688@163.com。

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题(2018ZY2022); 河南省医学科技攻关计划项目(LHGJ20190178)。

chemokine(C-X-X motif) ligand 1(CXCL1) signaling pathway. **Methods** Seventy rats were randomly selected from 85 rats to establish a lumbar disc herniation rat model. 60 rats were successfully modeled and randomly divided into model group, low-dose group, high-dose group, and positive control group. Each group included 15 rats, the remaining 15 rats were assigned to sham operation group. Two hours after modeling, low-dose group, high-dose group and positive control group were intragastrically administered with 1.85, 3.70 g · kg⁻¹ *Zhuijianpan* pills solution and 0.77 mg · kg⁻¹ meloxicam solution, respectively. The sham operation group and model group were given normal saline. After 7 days of intervention, we observed the general conditions of the experimental rats and measured the pain threshold. The levels of IL-6 and IL-1 β in the spinal dorsal horn tissue were measured by ELISA. HE staining was used to observe the histopathological changes of rat dorsal root ganglia, and western blot was also applied to detect the relative expression levels of Iba-1, c-JNK, p-c-JNK, and CXCL1 proteins in the spinal dorsal horn tissue. **Results** Compared with the sham operation group, the pain threshold of the model group at 1st, 7th day after intervention obviously increased and with a statistically significant difference ($P < 0.01$). Compared with the model group, the pain threshold of the low-dose group, high-dose group and positive control group at 1st, 7th day after intervention obviously reduced and with a statistically significant difference ($P < 0.01$). Compared with the sham operation group, the IL-6 and IL-1 β levels of the model group were increased, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). Compared with the model group, the levels of IL-6 and IL-1 β in the low-dose group, high-dose group and positive control group were decreased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The nucleus of neurons in the dorsal root ganglion of rats in the sham operation group was located at the cell center, the nucleolus was clear. Granular nissl bodies were evenly arranged in the cytoplasm. Cell swelling and inflammatory cell infiltration were not found. However, the nucleus of neurons in the dorsal root ganglion of the model rats was irregular and the nucleolus was not clear. The arrangement of nissl bodies in the cytoplasm became disorganized, the cells were obviously swollen, and the cytoplasm of neurons showed vacuolar changes. The low-dose group, high-dose group and positive control group had improved cellular morphology. Compared with the sham operation group, the relative expression levels of Iba-1, p-c-JNK, and CXCL1 proteins in the model group were increased remarkably ($P < 0.01$). Compared with the model group, the relative expression levels of Iba-1, p-c-JNK and CXCL1 proteins in the low-dose group, high-dose group and positive control group were decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). There was no significant difference in the relative expression level of c-JNK protein among the groups ($P > 0.05$). **Conclusion** *Zhuijianpan* pills have inhibitory effects on spinal cord inflammation in rats with lumbar disc herniation, and may play the effect by inhibiting c-JNK/CXCL1 signaling pathway.

Keywords: Lumbar disc herniation; *Zhuijianpan* pills; spinal cord inflammation; c-Jun N-terminal kinase/chemokine(C-X-C motif) ligand 1(C-JNK/CXCL1) signaling pathway; rats

腰椎间盘突出症在临床上是一种常见的骨伤科疾病,有患病率高、病程长、易复发的特点^[1]。腰椎间盘突出症由腰神经根机械性压迫以及髓核局部炎症造成,炎性介质经传入纤维传入脊髓背角神经元,同时激活胶质细胞并诱导炎症因子和趋化因子释放,从而导致神经病理性疼痛的发生^[2-3]。

椎间盘丸组方为黄芪、桂枝、细辛、当归、白芍、延胡索、威灵仙、五加皮、续断、牛膝、甘草。以黄芪、当归、白芍、断续、甘草补虚,桂

枝、细辛解表,延胡索活血化瘀,威灵仙、五加皮去风湿,牛膝活血化瘀,诸药共用,具有温通经脉、养血散寒止痛的功效,临床治疗效果显著,可用于椎间盘突出、骨质增生等导致的腰腿痛^[4]。但是,其在腰椎间盘突出症中发挥作用的机制尚不清楚。因此,本研究通过建立腰椎间盘突出症大鼠模型,观察椎间盘丸对腰椎间盘突出症大鼠脊髓炎症的作用,并探讨 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, c-JNK)/趋化因子配体 1[chemokine

(C-X-C motif) Ligand 1, CXCL1]信号通路在椎间盘丸治疗腰椎间盘突出症大鼠脊髓炎症中发挥的作用, 以期为临床治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SD 大鼠, 雄性, SPF 级, 8 周龄, 体质量(220±20)g, 购自河南省实验动物中心, 动物生产许可证号: SCXK(豫)2017-0001, 实验动物质量合格证号: 41003100001718。所有大鼠实验前于室温 23~25℃、湿度 60%~65%环境下, 人工 12 h 昼/12 h 夜循环照明, 自由摄食及饮水。

1.2 药物及试剂 椎间盘丸, 河南省洛阳正骨医院, 批号: Z20120252; 美洛昔康胶囊, 湖北海亚生物科技有限公司, 批号: 1310140411, 纯度>99%; 白细胞介素 6 (Interleukin-6, IL-6) 和白细胞介素 1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 酶联免疫吸附测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒, 美国 R&D 公司, 批号分别为: 24956、24924; BCA 蛋白浓度测定试剂盒, 美国 Thermo 公司, 批号: SJ256263; ECL 发光液, 美国 Millipore 公司, 批号: 1705102; 兔抗大鼠离子钙接头蛋白 (ionized calcium binding adaptor molecule 1, Iba-1)、兔抗大鼠 c-JNK、p-c-JNK、CXCL1 单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG, 美国 Abcam 公司, 批号分别为: ab178846、ab129377、ab278617、ab206411、ab172730。

1.3 仪器 大鼠固定器, 自制; EP601C 痛阈测定仪, 上海益联医学仪器发展有限公司; ST-360 酶标仪, 上海科华生物工程股份有限公司; Avanti JXN-30/26 智能型高效离心机, 美国贝克曼库尔特有限公司; JXFSTPRP-CL 冷冻研磨仪, 上海净信实业发展有限公司; CX23(S1/S2)生物正置显微镜, 日本奥林巴斯公司; FluorChem R 多功能成像分析系统, 美国 Protein Simple 公司。

1.4 模型复制及分组 从 85 只大鼠中随机选取 70 只复制腰椎间盘突出大鼠模型^[9]。以 3% 戊巴比妥钠按 40 mg·kg⁻¹ 腹腔注射进行麻醉, 0 号线结扎大鼠尾根部, 切断尾巴, 切开椎间盘, 取直径 2~3 mm 髓核约 50 mg 放入 50 μ L 生理盐水中, 搅拌混匀成髓核混悬液备用。用 9 号腰椎穿刺针, 以 L₄~L₅ 棘突间隙作为穿刺点, 进行硬膜外穿刺, 注入 20 μ L 大鼠自体髓核混悬液, 逐层缝合, 在伤口处擦红霉素眼膏。模型复制后若大鼠出现精神萎靡, 活动减少, 饮食、饮水较正常减少, 行走速度变慢, 步幅

减小和频率降低, 对其两侧后足进行痛阈检测时存在痛觉过敏, 则模型复制成功。将模型复制成功的 60 只大鼠随机分为模型组, 椎间盘丸低、高剂量组, 阳性对照组, 每组各 15 只。剩余 15 只为假手术组, 假手术组手术操作同上, 但不注射髓核混悬液, 只注射等量生理盐水。

1.5 给药方法 18 g 椎间盘丸和 7.5 mg 美洛昔康胶囊分别溶于 20 mL 生理盐水中, 制成椎间盘丸溶液和美洛昔康溶液。灌胃剂量按照黄继汉等^[6]的研究和动物体等效剂量换算表计算。椎间盘丸低剂量组灌胃 1.85 g·kg⁻¹ 椎间盘丸溶液; 椎间盘丸高剂量组灌胃 3.70 g·kg⁻¹ 椎间盘丸溶液; 阳性对照组灌胃 0.77 mg·kg⁻¹ 美洛昔康溶液; 假手术组和模型组灌胃生理盐水, 各组每天灌胃 1 次, 连续干预 7 d。

1.6 各组大鼠痛阈测定 各组大鼠给药干预 1 d 和干预 7 d, 分别进行 1 次痛阈测定。将各组大鼠放入自制的固定器中, 使大鼠后肢和尾部伸出固定器外, 头部及上半身保留一定的活动度。大鼠固定并稳定 30 min 后开始进行实验。用 EP601C 痛阈测定仪测痛, 无关电极放在大鼠右后肢, 测痛电极放在距大鼠尾根部约 2.5 cm 处。以引起大鼠甩尾反应的电流强度 (mA) 为痛反应阈值。将间隔 1 min 的 2 次痛反应阈值的平均值作为一次痛阈。

1.7 组织取材 痛阈测定后, 各组随机选取 5 只大鼠, 采集其 L₄~L₆ 节段脊髓背角组织, 研磨成匀浆, 以离心半径 8 cm, 5 000 r·min⁻¹, 离心 15 min, 取上清液-20℃保存, 以便检测 IL-6 和 IL-1 β 的浓度。剩余所有大鼠全部处死, 采集其 L₆ 节段脊髓背角组织, 置于 4% 多聚甲醛中固定备用; 余脊髓背角组织液氮速冻后置于-80℃中备用。

1.8 ELISA 法测定脊髓背角组织中 IL-6、IL-1 β 水平 取保存在-20℃的脊髓背角上清液, 测定 IL-6、IL-1 β 浓度, 按照 ELISA 试剂盒说明书加样, 用全自动酶标仪测定 450 nm 处的吸光度 (A) 值, 通过绘制标准曲线得出 IL-6 和 IL-1 β 的浓度。

1.9 HE 染色法观察大鼠背根神经节组织病理学变化 取 4% 多聚甲醛中固定备用的脊髓背角组织, 常规脱水, 石蜡包埋、切片, 厚 4~5 μ m; HE 染色, 光学显微镜下观察大鼠背根神经节组织病理学变化。

1.10 Western Blot 法检测脊髓背角组织 Iba-1、c-JNK、p-c-JNK、CXCL1 蛋白相对表达水平 取保存于-80℃的大鼠脊髓背角组织, 液氮速冻后快速研磨, 加入蛋白提取裂解液, 冰上裂解, 离心取上

清用 BCA 蛋白定量试剂盒进行定量。100 °C 水浴使蛋白变性, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 电转至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 洗膜后分别加入 1:1 000 稀释的一抗, 4 °C 孵育过夜; 洗膜后加入 1:4 000 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG, 室温孵育 1 h; 洗膜后加入 ECL 发光液显影, 用 ImageJ 软件分析图像。以 β -actin 为内参, 以相应蛋白条带灰度值/ β -actin 蛋白条带灰度值表示 Iba-1、c-JNK、p-c-JNK、CXCL1 蛋白的相对表达量。

1.11 统计学处理方法 采用 SPSS 24.0 统计学软件分析数据, 计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两样本比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况 假手术组大鼠皮毛顺滑有光泽, 活动饮食均正常; 模型组大鼠皮毛粗糙无光泽, 精神萎靡, 饮食及活动减少, 行走速度减慢, 步幅减小和频率降低, 体质量减轻; 椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组大鼠皮毛逐渐恢复光泽, 食欲变好, 活动增加, 体质量明显增加。

2.2 各组大鼠不同干预时间痛阈比较 见表 1。与假手术组比较, 模型组干预 1 d 与 7 d 痛阈明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组干预 1 d 与 7 d 痛阈均明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。由此可见, 椎间盘丸能够减轻腰椎间盘突出大鼠的痛阈。

2.3 各组大鼠脊髓背角组织 IL-6、IL-1 β 水平 见表 2。与假手术组比较, 模型组 IL-6、IL-1 β 水平明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组 IL-6、IL-1 β 水平均降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。由此可见, 椎间盘丸能够降低腰椎间盘突出大鼠脊

表 1 各组大鼠不同干预时间痛反应阈值 ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

Table 1 The pain response threshold of rats in each group at different time ($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

组别	大鼠的痛反应阈值/mA	
	1 d	7 d
假手术组	0.05 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01
模型组	0.35 \pm 0.04**	0.34 \pm 0.03**
椎间盘丸低剂量组	0.27 \pm 0.04**	0.21 \pm 0.03**
椎间盘丸高剂量组	0.26 \pm 0.04**	0.14 \pm 0.02**
阳性对照组	0.25 \pm 0.03**	0.10 \pm 0.01**

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ** $P < 0.01$

表 2 各组大鼠脊髓背角组织 IL-6、IL-1 β 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

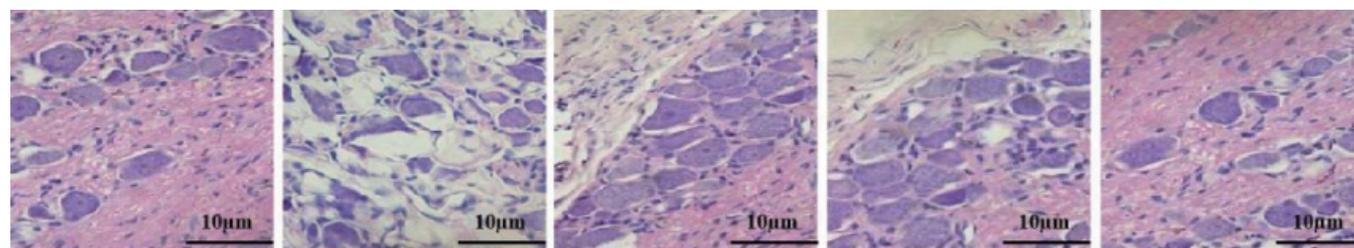
Table 2 The levels of IL-6 and IL-1 β in the spinal dorsal horn tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	IL-6/(pg·mg ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mg ⁻¹)
假手术组	44.53 \pm 5.63	21.33 \pm 3.42
模型组	96.65 \pm 10.37**	46.65 \pm 5.12**
椎间盘丸低剂量组	78.83 \pm 8.53*	39.47 \pm 4.58*
椎间盘丸高剂量组	66.19 \pm 7.46**	32.73 \pm 4.12**
阳性对照组	54.74 \pm 6.79**	26.73 \pm 3.51**

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

髓背角组织 IL-6、IL-1 β 水平, 抑制炎症反应。

2.4 大鼠背根神经节组织病理学变化 见图 1。HE 染色结果显示, 假手术组大鼠背根神经节中神经元细胞核位于中央, 核仁清晰, 胞质内有排列均匀的颗粒状物尼氏小体, 无细胞肿胀及炎性细胞浸润。模型组大鼠背根神经节中神经元细胞核不规则, 核仁不清晰, 胞质中尼氏小体排列不均匀, 细胞明显肿胀, 神经元细胞胞浆呈空泡样变化。椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组大鼠背根神经节中神经元细胞可见少量核偏移, 细胞核边缘较模型组清



A. 假手术组

B. 模型组

C. 椎间盘丸低剂量组

D. 椎间盘丸高剂量组

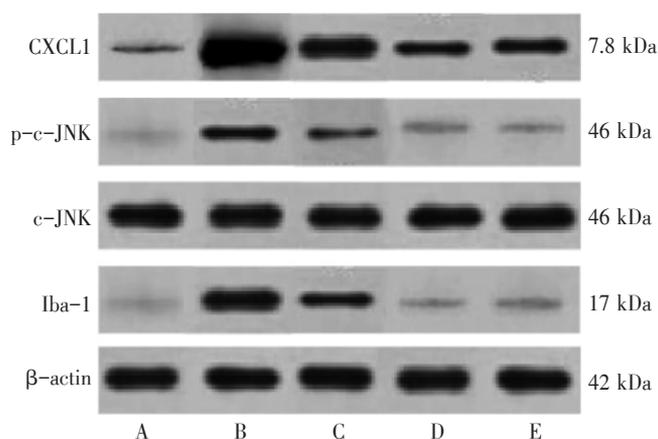
E. 阳性对照组

图 1 各组大鼠神经根组织病理学变化(HE 染色, $\times 400$)

Figure 1 Histopathological changes of rat nerve roots in each group(HE staining, $\times 400$)

晰，密度较均匀，核仁较为清晰，胞浆内尼氏小体分布较为均匀，高剂量组的改善作用较明显。由此可见，椎间盘丸能够改善大鼠背根神经节组织损伤。

2.5 各组大鼠脊髓背角组织 Iba-1、c-JNK、p-c-JNK、CXCL1 蛋白相对表达水平 见图 2、表 3。与假手术组比较，模型组 Iba-1、p-c-JNK、CXCL1 蛋白相对表达水平均明显升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，椎间盘丸低、高剂量组和阳性对照组 Iba-1、p-c-JNK、CXCL1 蛋白相对表达水平均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。各组 c-JNK 蛋白相对表达水平组间比较的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。由此可见，椎间盘丸可以下调 Iba-1、p-c-JNK 和 CXCL1 的表达，从而调控 c-JNK/CXCL1 通路，发挥镇痛作用。



注：A. 假手术组；B. 模型组；C. 椎间盘丸低剂量组；D. 椎间盘丸高剂量组；E. 阳性对照组

图 2 各组大鼠脊髓背角组织 Iba-1、c-JNK、p-c-JNK、CXCL1 蛋白表达条带

Figure 2 Expression bands of Iba-1, c-JNK, p-c-JNK, CXCL1 proteins in the spinal dorsal horn tissue of rats in each group

表 3 各组大鼠脊髓背角组织 Iba-1、c-JNK、p-c-JNK、CXCL1 蛋白相对表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Table 3 Relative expression levels of Iba-1, c-JNK, p-c-JNK, CXCL1 proteins in the spinal dorsal horn tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	Iba-1	c-JNK	p-c-JNK	CXCL1
假手术组	0.35 ± 0.04	1.01 ± 0.10	0.37 ± 0.04	0.62 ± 0.07
模型组	0.98 ± 0.11**	1.02 ± 0.10	0.79 ± 0.08**	1.24 ± 0.13**
椎间盘丸低剂量组	0.78 ± 0.08*	1.02 ± 0.11	0.68 ± 0.07*	0.97 ± 0.10**
椎间盘丸高剂量组	0.51 ± 0.06**	1.01 ± 0.10	0.48 ± 0.05**	0.79 ± 0.08**
阳性对照组	0.49 ± 0.05**	1.03 ± 0.11	0.49 ± 0.06**	0.81 ± 0.09**

注：与假手术组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，*** $P < 0.01$

3 讨论

腰椎间盘突出症经常发生于中年男性，随着年龄增长，体内纤维环逐渐溶解，髓核含水量减少，弹性降低，一旦受到外力刺激，纤维环容易破裂，髓核突出于盘外，神经根容易受到压迫，导致腰椎间盘突出症出现，引起腰痛或坐骨神经痛；另外，髓核突出于盘外，暴露在机体免疫系统中，激发神经系统自身免疫反应和炎症反应，分泌炎症因子，引起神经病理性疼痛等^[7-8]。目前，临床治疗腰椎间盘突出症的药物主要包括激素类、非甾体类和阿片类药物，但这些药物治疗后，不良反应较重^[9]。有研究^[10]表明，椎间盘丸具有抑制并延缓椎间盘退变的作用。因此，本研究探讨了椎间盘丸在腰椎间盘突出症大鼠脊髓炎症中的作用，为其临床应用提供理论依据。

研究^[4]发现，椎间盘丸联合其他治疗方法能够有效缓解腰椎间盘突出症导致的腰痛、腿痛，并且促进椎间盘突出物的重吸收。孟璐等^[11]研究发现在腰痛病治疗前期，服用椎间盘丸能够有效缓解疼痛。

IL-6 和 IL-1 β 均参与免疫反应与炎症反应，其水平高低与疼痛程度有关^[12]。参与中枢神经系统免疫与炎症反应的小胶质细胞上存在炎症因子与趋化因子的受体，能够增强脊髓对伤害性刺激的反馈，引起痛觉过敏^[13-14]。虞思聪等^[15]研究发现，腰椎间盘突出症疼痛大鼠体内 IL-6 和 IL-1 β 浓度明显上升，注射药物治疗，其痛觉过敏被抑制，体内 IL-6 和 IL-1 β 水平也被抑制。本研究与以上研究结果一致，椎间盘丸低剂量组和高剂量组痛反应阈值明显降低，IL-6、IL-1 β 水平降低，背根神经节组织病理学变化明显改善。

当细胞受到缺血、疼痛等外界刺激时，促进 c-JNK 磷酸化，并由细胞质转移至细胞核中，调控下游基因的表达，释放致痛物质，c-JNK 表达增强，可以激活小胶质细胞，合成并分泌炎症因子与趋化因子，引起持续性疼痛^[16-17]。小胶质细胞的特异性标志物是 Iba-1，伴随着 Iba-1 蛋白的上调，小胶质细胞被激活^[18]。研究^[19]表明在关节内注射 CXCL1 趋化因子能够引起机械性的痛觉过敏，注射 c-JNK 抑制剂则使疼痛得到明显缓解。研究^[20]发现 p-c-JNK 和 Iba-1 蛋白的表达与机械性痛阈和热痛阈变化趋势一致，且鞘内注射羟考酮和米诺环素能够降低 p-c-JNK 和 Iba-1 蛋白的表达，提示这两种药物通过抑制 c-JNK 的磷酸化来抑制小胶质细胞的激活，从而发

挥镇痛作用。徐昕等^[21]在鞘内注射氯胺酮,降低了脊髓背角组织 Iba-1、CXCL1 蛋白的相对表达水平,表明 c-JNK /CXCL1 通路在减轻腰椎间盘突出症导致的腰腿痛中发挥重要作用。本研究结果与以上结果相符,椎间盘丸低、高剂量组 Iba-1、p-c-JNK、CXCL1 蛋白相对表达水平明显低于模型组,提示椎间盘丸可以通过调控 c-JNK/CXCL1 通路发挥镇痛作用。

综上所述,椎间盘丸能够抑制腰椎间盘突出症大鼠脊髓炎症,可能是通过抑制 c-JNK/CXCL1 信号通路发挥调控作用,为临床治疗腰椎间盘突出症奠定了基础。

参考文献:

- [1] EZELDIN M, LEONAARDI M, PRINCIOITTA C, et al. Percutaneous ozone nucleolysis for lumbar disc herniation[J]. *Neuroradiology*, 2018, 60(11): 1231-1241.
- [2] SHENOY K, STEKAS N, DONNALLY C J, et al. Retrolisthesis and lumbar disc herniation: a postoperative assessment of outcomes at 8-year follow-up[J]. *Spine J*, 2019, 19(6): 995-1000.
- [3] HINCAPIÉ C A, TOMLINSON G A, CÔTÉ P, et al. Chiropractic care and risk for acute lumbar disc herniation: a population-based self-controlled case series study[J]. *Eur Spine J*, 2018, 27(7): 1526-1537.
- [4] 范亚朋, 李道通. 椎管内外三联疗法联合椎间盘丸治疗腰椎间盘突出症临床研究[J]. *新中医*, 2020, 52(5): 126-129.
- [5] 朱伟卿, 凌卓彦, 孙永明, 等. Toll样受体4调节硫化氢引起腰椎间盘突出症模型鼠中枢痛敏的机制[J]. *中华实验外科杂志*, 2020, 37(3): 513-516.
- [6] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [7] JI D, XING W, LI F, et al. Correlation of EYS polymorphisms with lumbar disc herniation risk among Han Chinese population[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7(9): e890.
- [8] 陈晓彦, 李滋平. 针药相须治疗腰椎间盘突出症经验[J]. *中国针灸*, 2019, 39(9): 977-980.
- [9] 张在青, 陈波. 导管破膜并精确注射中西药物联合康复治疗腰椎间盘突出症的疗效[J]. *黑龙江医学*, 2020, 44(7): 869-871.
- [10] 黄勇, 周英杰, 柴旭斌, 等. 椎间盘丸联合经皮椎间孔镜治疗腰椎间盘突出症的临床研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(10): 12-14, 18.
- [11] 孟璐, 张虹, 席世珍. 椎间盘丸联合芪伸腰舒丸、加味益气丸治疗肝肾亏虚型腰痛病的用药规律研究[J]. *海峡药学*, 2019, 31(2): 104-106.
- [12] 张卓, 贾炳学, 张杰, 等. IL-1 β 与多发伤患者严重程度及全身炎症反应并发症关系研究[J]. *新疆医科大学学报*, 2020, 43(11): 1466-1470.
- [13] SEKI S, SEKIGUCHI M, KONNO S I. Association between neurotrophic factor expression and pain-related behavior induced by nucleus pulposus applied to rat nerve root[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2018, 43(1): E7-E15.
- [14] SONG J, YING Y, WANG W, et al. The role of P2X7R/ERK signaling in dorsal root ganglia satellite glial cells in the development of chronic postsurgical pain induced by skin/muscle incision and retraction(SMIR)[J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 69: 180-189.
- [15] 虞思聪, 吴林峰, 李晓瑶. 鞘内注射CCR2受体拮抗剂对腰椎间盘突出症大鼠疼痛及脊髓炎症因子的影响[J]. *江苏医药*, 2018, 44(5): 481-483.
- [16] WANG Q, YUAN X, LI B, et al. Roles of SP600125 in expression of JNK, RANKL and OPG in cultured dental follicle cells[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(3): 3073-3081.
- [17] LIU D, JIN X, ZHANG C, et al. Sevoflurane relieves hepatic ischemia-reperfusion injury by inhibiting the expression of Grp78[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(5): BSR20180549.
- [18] 杨毅, 韩晨阳, 郭丽, 等. 1-甲基色氨酸对大鼠脑缺血再灌注模型小胶质细胞活化的干预作用[J]. *中国现代应用药理学*, 2018, 35(12): 26-31.
- [19] JACOBSEN H E, KHAN A N, LEVINE M E, et al. Severity of intervertebral disc herniation regulates cytokine and chemokine levels in patients with chronic radicular back pain[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2020, 28(10): 1341-1350.
- [20] 李晓倩, 张再莉, 马虹. 鞘内注射盐酸羟考酮下调脊髓小胶质细胞中c-JNK/CXCL1信号减弱坐骨神经结扎大鼠的神经病理性痛[J]. *中国医师杂志*, 2016, 18(4): 527-531, 535.
- [21] 徐昕, 唐丽玮, 金丹, 等. 氯胺酮对腰椎间盘突出根性痛大鼠脊髓炎症因子的影响及机制[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(18): 2119-2121.

(编辑: 修春)