

补肝肾腰方对腰椎间盘突出髓核细胞基质金属蛋白酶 3、蛋白聚糖及信使核糖核酸表达的影响

郑阳¹ 仇湘中^{2△} 黄承军¹ 陈中³ 张信成²

[摘要] 目的:研究补肝肾腰方对基质金属蛋白酶-3(MMP-3)、蛋白聚糖(Aggrecan)蛋白及 mRNA 表达的影响,从而探索其治疗腰椎间盘突出症可能的疗效靶点和作用机制。方法:20 只大鼠随机分组后制备补肝肾腰方含药血清和正常血清,将培养的人体髓核细胞进行分组干预。实验分为 9 组,即空白组,siRNA NC 组,NF- κ B p65 siRNA 阻断组,5%,10%及 20%体积分数正常血清组,5%,10%及 20%体积分数补肝肾腰方含药血清组,在 24 h 和 48 h 时采用实时定量逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测各组髓核细胞 MMP-3、Aggrecan mRNA 表达,采用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测各组 MMP-3、Aggrecan 蛋白表达。结果:正常血清组与补肝肾腰方含药血清组比较,相同体积分数的补肝肾腰方含药血清组 MMP-3 mRNA 转录和蛋白表达均明显降低,Aggrecan mRNA 和蛋白表达明显升高($P < 0.05$),三组补肝肾腰方含药血清组之间比较,以 20%体积分数补肝肾腰方含药血清 MMP-3 的 mRNA 转录和其蛋白表达降低最多,Aggrecan mRNA 和蛋白表达提升最多($P < 0.05$)。补肝肾腰方对 MMP-3、Aggrecan mRNA 转录以及 Aggrecan、MMP-3 蛋白表达水平的影响在 24 h 和 48 h 两个检测时间点差异无统计学意义。结论:补肝肾腰方的疗效与药物浓度有一定相关性,可能是通过抑制 NF- κ B p65 信号通路达到治疗腰椎间盘突出症的效果。

[关键词] 补肝肾腰方;腰椎间盘突出;髓核细胞;基质金属蛋白酶-3;蛋白聚糖

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2024)09-0006-06

DOI: 10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 240902

Effect of Bugan Jianyao Decoction on the Expression of MMP-3, Aggrecan Protein and mRNA in Nucleus Pulpocytes of Lumbar Disc Herniation

ZHENG Yang¹ QIU Xiangzhong^{2△} HUANG Chengjun¹ CHEN Zhong³ ZHANG Xincheng²

¹Liuzhou Traditional Chinese Medical Hospital, Liuzhou 545001, Guangxi China;

²Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, China;

³Chongqing Beibei Traditional Chinese Medical Hospital, Chongqing 400799, China.

Abstract Objective: To explore the effect of Bugan Jianyao decoction on the expression of matrix metalloproteinase-3 (MMP-3), aggrecan protein and mRNA and explore its potential targets and mechanisms of action on the treatment of lumbar intervertebral disc herniation. **Methods:** 20 rats were randomly divided into groups to prepare Bugan Jianyao decoction containing serum and normal serum; human nucleus

pulposus cells (which had passed ethical review) were subjected interventions in groups. The cells were divided into 9 groups: blank group, siRNA NC group, NF- κ B p65 siRNA inhibition group, 5%, 10%, and 20% normal serum group, and 5%, 10%, and 20% serum containing the formula group. At 24 h and 48 h, RT-qPCR was used to detect the expression of MMP-3, aggrecan mRNA in each group of nucleus pulposus cells, and Western Blot was used to detect the expression of MMP-3, aggrecan protein in each group. **Results:** In terms of group, compared with the normal serum

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”(国中医药人教[2016]42 号)

广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项课题

(GZKZ-Z1106)

长沙市科技局项目(kq1901066, kq1907119)

湖南省中医药科研计划项目(202021)

¹ 柳州市中医医院(广西 柳州, 545001)

² 湖南省中医药研究院附属医院

³ 重庆市北碚区中医院

[△]通信作者 E-mail: 18974991366@189. cn

group,the same body weight of the serum containing the formula group showed a significant decrease in MMP-3 mRNA transcription and protein expression,and showed a significant increase in aggrecan mRNA and protein expression ($P<0.05$). Among the three groups of serum containing the formula,the 20% serum group showed the greatest decrease in MMP-3 mRNA transcription and protein expression,and the greatest increase in aggrecan mRNA and protein expression ($P<0.05$). In terms of time;the effect of Bugan Jianyao decoction on the expression of MMP-3,aggrecan mRNA,aggrecan and MMP-3 protein were not significantly different at the two detection time points of 24 h and 48 h. **Conclusion:** The efficacy of Bugan Jianyao decoction is related to the dose of the medicine,and it may achieve therapeutic effects on the treatment of lumbar intervertebral disc herniation by inhibiting the NF- κ B p65 signaling pathway.

Keywords: Bugan Jianyao decoction;lumbar disc herniation;nucleated cells;matrix metalloproteinase-3 (MMP-3);aggrecan

腰椎间盘突出症是一种发病率高达 90% 的常见病,男性较女性重^[1],发病时腰腿疼痛对生活质量造成严重影响^[2],而非手术治疗也能起到良好的疗效^[3-4],其中中医药治疗疗效有目共睹^[5]。补肝肾腰方系全国名老中医药专家、湖南省名中医仇湘中教授经验名方,实验及动物研究发现补肝肾腰方具有抗炎、免疫调节等作用^[6-8]。本研究基于补肝肾腰方对基质金属蛋白酶-3 (MMP-3)和蛋白聚糖(Aggregan)的调控作用,探索补肝肾腰方疗效可能的机制和作用靶点,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

动物数量为 20 只,均为 3 个月龄的雄性 SD (Sprague Dawley)大鼠,体重为 0.18~0.22 kg,均检测合格,合格证号为 SCXK(湘)2019-0004。

1.2 实验标本

在两位手术患者完全知情且同意后,于各自手术过程中,分别摘除椎间盘组织时从中筛选髓核组织,两位患者(患者 1,男,32 岁;患者 2,男,40 岁)术前诊断均为非破裂型腰椎间盘突出症,并且纳入本研究患者均排除冠心病、糖尿病、高脂血症等基础疾病。本研究已通过湖南省中医药研究院附属医院伦理审查(伦理审查编号为 202006718)。

1.3 实验药物

仇湘中教授之经验名方补肝肾腰方,功效主要为补肝肾调本,除痹通络,疏调五脏得以化瘀消痛。药物组方为:当归 15 g,川芎 12 g,白芍 30 g,熟地黄 25 g,炒枣仁 10 g,杜仲 15 g,元胡 10 g,蜈蚣 5 g,全蝎 3 g,甘草 5 g。

1.4 实验方法

1.4.1 补肝肾腰方含药血清和正常血清制备 调取 3 个月龄的 SD 雄性大鼠 20 只,以每只大鼠体重为序进行逐一编号,用随机数字表法一一对其序号展开随机分组,实施随机分组后的大鼠分别入组,分别为补肝肾腰方含药血清组 10 只和空白对照组 10 只。经过计算,每只大鼠获得的等效灌胃剂量为 1 mL/d(含生药 2.08 g);进入补肝肾腰方含药血清组的大鼠以每天 2 倍的等效灌胃剂量进行药液灌胃;空白对照组以相等剂量生理盐水,1 mL/次,2 次/d,连续 7 d 进行灌胃,在第 8 天一次性以全天剂量灌胃,灌胃后等待 1 h,立即配比 10% 的麻醉剂(水合氯醛),在麻醉完全后处死大鼠,处死后立即通过大鼠腹主动脉采血,采血后立即对采得血液离心处理(3 000 r/min,15 min),同组补肝肾腰方含药血清合并,同梯度体积分数含药血清全部汇合(5%,10%,20%),然后统一放到恒温箱内进行水浴(56 ℃),30 min 后取出冷藏保存(-20 ℃),所有补肝肾腰方含药血清在使用前均再次进行过滤处理以达到除菌效果。

1.4.2 髓核细胞的分离 腰椎间盘突出症患者减压手术中取出的椎间盘组织标本经过洗净血渍后放入 10% 的胎牛血清 DMEM 培养基中,放置在冰冻冷藏盒里冷藏,立即带回实验室剪制碎片化处理,得到椎间盘随后用序贯消化法从中获取髓核细胞,在恒温恒湿(37 ℃,95%)CO₂ 培养箱中培养,直到首发初代髓核细胞至第三代髓核的数量变化上升至对数期增长状态,立即对其分组并实施干预。

1.4.3 实验分组及干预 II 型胶原免疫荧光染色情况见图 1(二型胶原荧光为阳性染色,DAPI 染核为蓝色,×400)。

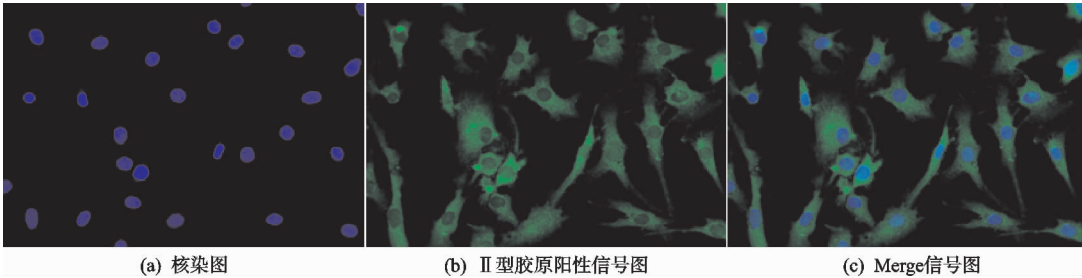


图 1 鉴定髓核细胞(×400)

当髓核细胞(3代)成长进度大于80%时,开始对其进行分组,实验分组方法如下:共9个组,200 μL/平行孔,分别设置5个平行孔/组(96孔培养板,接种密度为 5×10^4 个/cm²),siRNA转染组和NF-κB p65 siRNA转染组以相同方法进行转染,达到特异性阻断NF-κB特异信号通路的目的;正常血清组和补肝肾腰方含药血清组各分3组体积分数梯度递增(5%,10%,20%体积分数),所有组别的培育时间均设定为24 h和48 h,在对应时间点对相关指标进行逐一检测。

空白组为0.5% FBS+DMEM;siRNA NC组为siRNA NC+空白组;siRNA阻断组为NF-κB p65 siRNA阻断+空白组;正常血清组为5%体积分数正常大鼠血清+空白组、10%体积分数正常大鼠血清+空白组和20%体积分数正常大鼠血清+空白组;含药血清组为5%体积分数补肝肾腰方含药血清+空白组、10%体积分数补肝肾腰方含药血清+空白组和20%体积分数补肝肾腰方含药血清+空白组。

1.4.4 指标检测与主要检测步骤 1)采用实时定量逆转录聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测髓核细胞各组MMP-3及Aggrecan mRNA表达。

2)采用Western Blot检测法,分别检测9个组别MMP-3蛋白和Aggrecan蛋白表达情况。

表1 补肝肾腰方24 h和48 h对髓核细胞增殖能力的影响(̄x±s)

组别	24 h	48 h
空白组	0.908 2±0.009 ¹⁾²⁾³⁾	0.917 1±0.006 ¹⁾²⁾³⁾
siRNA NC组	0.915 9±0.005 ¹⁾²⁾³⁾	0.923 0±0.001 ¹⁾²⁾³⁾
siRNA阻断组	1.476 2±0.002 ¹⁾²⁾³⁾	1.482 8±0.006 ¹⁾²⁾³⁾
5%体积分数正常血清组	1.195 2±0.002 ¹⁾²⁾³⁾	1.197 1±0.001 ¹⁾²⁾³⁾
10%体积分数正常血清组	1.193 9±0.001 ¹⁾²⁾³⁾	1.195 4±0.001 ¹⁾²⁾³⁾
20%体积分数正常血清组	1.190 3±0.009 ¹⁾²⁾³⁾	1.195 2±0.007 ¹⁾²⁾³⁾
5%体积分数补肝肾腰方含药血清组	1.214 7±0.013 ²⁾³⁾	1.226 5±0.009 ²⁾³⁾
10%体积分数补肝肾腰方含药血清组	1.362 2±0.025 ¹⁾³⁾	1.376 9±0.010 ¹⁾³⁾
20%体积分数补肝肾腰方含药血清组	1.467 6±0.010 ¹⁾²⁾	1.476 9±0.010 ¹⁾²⁾

注:1)与5%体积分数补肝肾腰方含药血清组比, $P<0.05$;2)与10%体积分数补肝肾腰方含药血清组比, $P<0.05$;3)与20%体积分数补肝肾腰方含药血清组比, $P<0.05$ 。

2.2 补肝肾腰方对髓核细胞 Aggrecan 及 MMP-3 蛋白的影响

补肝肾腰方含药血清组与正常血清组比较,相同体积分数补肝肾腰方组的Aggrecan蛋白表达升高,差异有统计学意义($P<0.05$),MMP-3蛋白表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$);各体积分数正常血清组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);与其余各组比较,siRNA阻断组Aggrecan蛋白表达上调最明显,差异有统计学意义($P<0.05$),MMP-3蛋白表达降低最多,差异有统计学意义($P<0.05$),siRNA阻断组与20%体积分数补肝肾腰方含药血清组之间比较,差异有统计学意义($P<0.05$);不同体积分数补肝肾

1.5 统计学方法

采用SPSS 23.0统计学软件进行统计学分析,以 $\bar{x}\pm s$ 形式描述计量资料,符合正态分布和方差齐性时,或经变量变换后符合上述条件时采用两因素重复测量方差分析,两两比较采用Bonferroni校正,不符合时则采用非参数检验(Kruskal-Wallis H 检验), $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 补肝肾腰方24 h和48 h对髓核细胞增殖能力的影响

24 h和48 h两个时间点检测数据之间相比差异无统计学意义($P>0.05$);补肝肾腰方含药血清组与正常血清组比较,相同体积分数补肝肾腰方组的髓核细胞增殖能力升高,差异有统计学意义($P<0.05$);各体积分数正常血清组间比较差异无统计学意义($P>0.05$);与其他各组比较,siRNA阻断组髓核细胞增殖能力升高最明显,差异有统计学意义($P<0.05$),而siRNA阻断组与20%体积分数补肝肾腰方含药血清组之间比较差异有统计学意义($P<0.05$);不同体积分数补肝肾腰方含药血清间相比存在影响递增差异,以20%体积分数补肝肾腰方含药血清组髓核细胞增殖能力升高最多,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

腰方含药血清间相比存在影响递增差异,以20%体积分数补肝肾腰方含药血清组Aggrecan蛋白表达上调最明显,差异有统计学意义($P<0.05$),MMP-3蛋白表达降低最多,差异有统计学意义($P<0.05$),见图2和表2。

2.3 24 h和48 h补肝肾腰方对髓核细胞 MMP-3 mRNA的影响

24 h和48 h两个时间点检测数据之间相比差异无统计学意义($P>0.05$);补肝肾腰方含药血清组与正常血清组比较,相同体积分数补肝肾腰方组的MMP-3 mRNA转录降低,差异有统计学意义($P<0.05$);各体积分数正常血清组间比较差异无统计学意

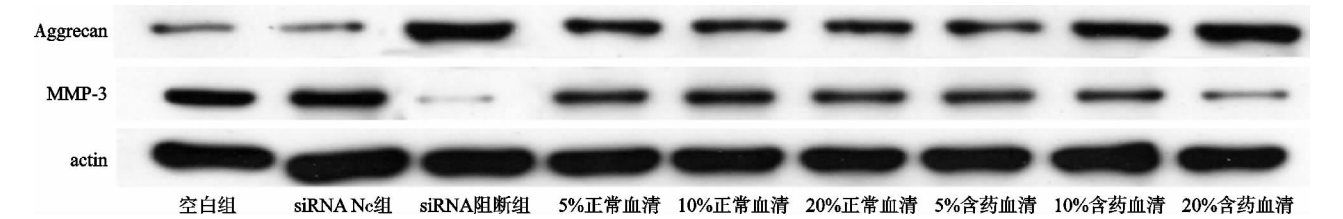


图 2 Aggrecan 及 MMP-3 蛋白表达 Western-Blot 图

表 2 补肝健腰方对髓核细胞 Aggrecan 及 MMP-3 蛋白的影响(̄x±s)

组别	Aggrecan/actin	MMP-3/actin
空白组	0.110 0±0.016 ¹⁾²⁾³⁾	0.332 0±0.022 ¹⁾²⁾³⁾
siRNA NC 组	0.116 0±0.011 ¹⁾²⁾³⁾	0.338 0±0.008 ¹⁾²⁾³⁾
siRNA 阻断组	0.606 0±0.021 ¹⁾²⁾³⁾	0.046 0±0.011 ¹⁾²⁾³⁾
5% 体积分数正常血清组	0.200 0±0.016 ¹⁾²⁾³⁾	0.200 0±0.020 ¹⁾²⁾³⁾
10% 体积分数正常血清组	0.200 0±0.020 ¹⁾²⁾³⁾	0.212 0±0.015 ¹⁾²⁾³⁾
20% 体积分数正常血清组	0.208 0±0.019 ¹⁾²⁾³⁾	0.200 0±0.016 ¹⁾²⁾³⁾
5% 体积分数补肝健腰方含药血清组	0.274 0±0.050 ²⁾³⁾	0.176 0±0.021 ²⁾³⁾
10% 体积分数补肝健腰方含药血清组	0.400 0±0.016 ¹⁾³⁾	0.144 0±0.015 ¹⁾³⁾
20% 体积分数补肝健腰方含药血清组	0.592 0±0.054 ¹⁾²⁾	0.066 0±0.027 ¹⁾²⁾

注:1)与 5% 体积分数补肝健腰方含药血清组比, $P<0.05$; 2)与 10% 体积分数补肝健腰方含药血清组比, $P<0.05$; 3)与 20% 体积分数补肝健腰方含药血清组比, $P<0.05$ 。

义($P>0.05$); 与其他各组比较, siRNA 阻断组 MMP-3 mRNA 降低最明显, 差异有统计学意义($P<0.05$), 而 siRNA 阻断组与 20% 体积分数补肝健腰方含药血清组之间比较, 差异有统计学意义($P<0.05$);

不同体积分数补肝健腰方含药血清组间相比存在影响递增差异, 以 20% 体积分数补肝健腰方含药血清组 MMP-3 mRNA 降低最多, 差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 3。

表 3 24 h 和 48 h 补肝健腰方对髓核细胞 MMP-3 mRNA 的影响(̄x±s)

组别	24 h	48 h
空白组	1.052 3±0.066 ¹⁾²⁾³⁾	1.007 620±0.037 ¹⁾²⁾³⁾
siRNA NC 组	1.095 7±0.062 ¹⁾²⁾³⁾	1.067 800±0.089 ¹⁾²⁾³⁾
siRNA 阻断组	0.264 3±0.007 ¹⁾²⁾³⁾	0.261 880±0.007 ¹⁾²⁾³⁾
5% 体积分数正常血清组	0.836 0±0.032 ¹⁾²⁾³⁾	0.825 300±0.031 ¹⁾²⁾³⁾
10% 体积分数正常血清组	0.855 4±0.138 ¹⁾²⁾³⁾	0.790 500±0.133 ¹⁾²⁾³⁾
20% 体积分数正常血清组	0.834 7±0.093 ¹⁾²⁾³⁾	0.795 780±0.110 ¹⁾²⁾³⁾
5% 体积分数补肝健腰方含药血清组	0.684 2±0.024 ²⁾³⁾	0.653 720±0.022 ²⁾³⁾
10% 体积分数补肝健腰方含药血清组	0.560 9±0.056 ¹⁾³⁾	0.548 280±0.055 ¹⁾³⁾
20% 体积分数补肝健腰方含药血清组	0.314 7±0.083 ¹⁾²⁾	0.303 380±0.065 ¹⁾²⁾

注:1)与 5% 体积分数补肝健腰方含药血清组比, $P<0.05$; 2)与 10% 体积分数补肝健腰方含药血清组比, $P<0.05$; 3)与 20% 体积分数补肝健腰方含药血清组比, $P<0.05$ 。

2.4 24 h 和 48 h 补肝健腰方对髓核细胞 Aggrecan mRNA 的影响

24 h 和 48 h 两个时间点检测数据之间相比差异无统计学意义($P>0.05$); 补肝健腰方含药血清与正常血清比较, 相同体积分数补肝健腰方组的 Aggrecan 蛋白 mRNA 升高, 差异有统计学意义($P<0.05$); 各体积分数正常血清组间比较差异无统计学意义($P>0.05$); 与

其他各组比较, siRNA 阻断组 Aggrecan 蛋白 mRNA 升高最明显, 差异有统计学意义($P<0.05$), siRNA 阻断组与 20% 体积分数补肝健腰方含药血清组之间比较差异有统计学意义($P<0.05$); 不同体积分数补肝健腰方含药血清组间相比存在影响递增差异, 以 20% 体积分数补肝健腰方含药血清组 Aggrecan mRNA 升高最多, 差异有统计学意义($P<0.05$), 见表 4。

表 4 24 h 和 48 h 补肝健腰方对髓核细胞 Aggrecan mRNA 的影响(̄x±s)

组别	24 h	48 h
空白组	0.981 3±0.035 ¹⁾²⁾³⁾	1.008 5±0.058 ¹⁾²⁾³⁾
siRNA NC 组	0.989 3±0.040 ¹⁾²⁾³⁾	1.078 4±0.042 ¹⁾²⁾³⁾
siRNA 阻断组	3.932 5±0.225 ¹⁾²⁾³⁾	3.966 1±0.214 ¹⁾²⁾³⁾
5% 体积分数正常血清组	1.682 2±0.100 ¹⁾²⁾³⁾	1.724 7±0.120 ¹⁾²⁾³⁾
10% 体积分数正常血清组	1.756 4±0.142 ¹⁾²⁾³⁾	1.778 7±0.150 ¹⁾²⁾³⁾

(续表 4)

组别	24 h	48 h
20%体积分数正常血清组	1. 803 4±0. 176 ¹⁾²⁾³⁾	1. 879 5±0. 189 ¹⁾²⁾³⁾
5%体积分数补肝健腰方含药血清组	2. 422 8±0. 097 ²⁾³⁾	2. 463 8±0. 118 ²⁾³⁾
10%体积分数补肝健腰方含药血清组	2. 675 2±0. 226 ¹⁾³⁾	2. 724 8±0. 261 ¹⁾³⁾
20%体积分数补肝健腰方含药血清组	3. 830 4±0. 108 ¹⁾²⁾	3. 847 4±0. 111 ¹⁾²⁾

注:1)与 5%体积分数补肝健腰方含药血清组比, $P<0.05$;2)与 10%体积分数补肝健腰方含药血清组比, $P<0.05$;3)与 20%体积分数补肝健腰方含药血清组比, $P<0.05$ 。

3 讨论

MMP-3 是人体血清中炎症介质的一种,具有降解蛋白多糖聚合体及椎间盘内多种基质成分的功能^[9],可以降解一系列细胞外基质大分子,还可作用于胰岛素样生长因子结合非细胞外基质底物^[10],并且能够降低椎间盘髓核的脱水作用^[11]。同时,MMP-3 是导致关节软骨降解最关键的蛋白酶,与椎间盘组织及周围结构退变存在紧密联系^[12]。研究表明腰椎间盘突出症最关键的致病机制就是炎性反应,椎间盘退变或损伤的严重程度与其 MMP-3 的含量正相关,在 NF- κ B 信号通路的激活下,其活性得到提升,椎间盘突出症患者经治疗症状缓解后,可检测发现体内 MMP-3 含量明显降低,由此达到对间盘组织及周围结构组织的保护效应^[13]。另有研究表明,MMP-3 的含量提升和降低在一定程度上对于腰椎间盘突出症的发病和突出髓核发生的重吸收效应存在双向调节的作用,因此在探索腰椎间盘突出症的发病和治疗过程中,对 MMP-3 的监测和调控对于临床进一步探寻其发病机理和治疗靶点有重要意义^[14]。

Aggrecan 是椎间盘髓核细胞外基质的重要成分,通常以聚合在软骨终板细胞基质内的形式存在,发挥着支撑细胞合成代谢功能的聚合作用^[15],而椎间盘退变首发于椎间盘内外基质^[16],且伴随着椎板软骨的损伤、促炎细胞因子升高、基质降解酶活性增加,从而导致软骨细胞外基质的蛋白多糖活性降低,使其发生大量降解,而其内在损失的蛋白多糖成分便是主要以 Aggrecan 为主。此过程诱发软骨终板退变破坏的发生,最终将导致椎间盘稳态失衡、生物力学平衡破坏等一系列病理改变^[17]。而人体内其他各类影响因素均可以促使髓核细胞合成蛋白多糖的能力受到抑制,从而导致椎间盘退变以致椎间盘突出症的发生,其中已知的因素包括营养供应减少、活性氧增多、生长因子减少等^[18]。椎间盘内 Aggrecan 发生损失后,椎间盘基质的渗透压稳态发生改变,改变将最终引发椎间盘脱水及退变。当椎间盘内在压力增大后且引起软骨终板破裂时,椎间盘组织则通过其破裂处接触椎体,此过程的发生将进一步阻碍椎间盘的营养供应,这又会导致 Aggrecan 的合成抑制而形成一定程度上的恶性循

环,椎间盘退变速度及椎间盘突出症的进展程度均在此循环中加快^[19]。由此不难得知,基于 Aggrecan 这一靶点的调控为目的,寻找其变化与椎间盘突出症治疗过程的关系十分有意义。

仇湘中教授认为椎间盘突出症的中药治疗应当重视肝脏的调治,以“肝虚络痹”为基础理论,以肝为本,从肝施治。肝藏血,主筋,筋骨之动皆与肝之虚实密不可分,二者对于该病的发生发展都极其重要。《素问·痿论》曰“宗筋……利关节”,《内经》云“诸筋者属于节”,由此不难得知,古文通过对筋的论述认为椎间盘应当归属于中医理论中“筋”的范畴,而其退变则与肝络失养、肝脉痹阻有关,虚则不疏,进而不通不荣化为“肝虚络痹”。《素问·长刺节论》云“病在筋,筋挛节痛,不可以行,名曰筋痹”,根据椎间盘突出症所致腰臀腿酸胀疼痛麻木、筋挛不舒、筋疏不畅等不适临床症状,该病可纳于中医痹证中“筋痹”。《素问·举痛论》云“脉泣则血虚,血虚则痛”,此为虚痹之后,血脉充之疲乏,脉虚络痹,进而肝气疏导失司,如此往复,腰之筋亦失去充养,其筋骨失于荣养,阻经络痹,血不达脉充,气不足脉行,通荣皆失所致疼痛。肝沛血充,调达疏泄,则全身筋骨才得以濡养强健。当肝虚发生时,肝血滞肝气郁,气行不顺,血虚不藏不冲,血气之虚相辅相成乃至停滞,皆可致气动不畅,血行不舒,进而气滞血瘀,加之肝作为筋之繁荣的气血封藏之源,若肝所藏精血空亏,加之疏泄失司,气血皆虚,必然导致筋之衰痿,即为肝虚络痹。基于肝虚络痹理论研究椎间盘突出症的中医药疗效,阐明补肝健腰方对其药效的物质基础及作用机制,具有重要的应用前景和科学价值。

本实验研究也证明补肝健腰方对髓核细胞的增殖有促进作用,可延缓髓核细胞退变^[20],可能通过延缓椎间盘退变进而减少椎间盘突出症的发病率并改善其预后。其作用机制之一可能是通过抑制 NF- κ B p65 信号通路,抑制 MMP-3 mRNA 的转录,从而抑制 MMP-3 蛋白的表达,促进 Aggrecan mRNA 的转录进而促进其蛋白的表达,从而延缓髓核细胞退变,从两个方面联合起到抗炎、镇痛、延缓髓核退变的作用。同时,对补肝健腰方低、中、高不同体积分数组的疗效比较表明,随着药物体积分数的增加,其对 NF- κ B p65

信号通路的抑制作用及疗效均相应增强,对Aggrecan的表达促进作用也逐渐增强,说明补肝肾腰方的疗效与药物体积分数有一定相关性。本研究为更全面地阐释补肝肾腰方治疗腰椎间盘突出症可能的作用机制,进一步为寻找中药治疗腰椎间盘突出症的作用靶点提供了实验依据。

参考文献

[1] 王艳丽,宁宇,丁莹,等. 中医非手术疗法治疗腰椎间盘突出症研究进展[J]. 中医药信息,2022,39(1):80-83.

[2] 王艳秋. 中医特色康复护理干预腰椎间盘突出症临床观察[J]. 光明中医,2021,36(22):3867-3869.

[3] 吴春丽,何件根,武亮,等. 中国传统功法干预腰椎间盘突出症的研究进展[J]. 医学理论与实践,2024,37(6):932-934.

[4] 孔博,颜威,刘素君,等. 腰椎间盘突出症非药物保守治疗的研究进展[J]. 上海中医药杂志,2022,56(4):97-101.

[5] 韩涛,朱立国,魏戌,等. 手法治疗腰椎间盘突出症知识图谱可视化分析[J]. 世界中西医结合杂志,2021,16(12):2176-2183.

[6] 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.

[7] 谭旭仪,仇杰,仇湘中,等. 补肝肾腰方对腰椎间盘突出大鼠 NF- κ B 信号通路的影响[J]. 中医药导报,2019,25(10):37-39.

[8] 谭旭仪,赵迪民,仇湘中,等. 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[J]. 中国中西医结合外科杂志,2019,25(5):669-673.

[9] ESER B,ESER O,YUKSEL Y,et al. Effects of MMP-1 and MMP-3 gene polymorphisms on gene expression and protein level in lumbar disc herniation[J]. Genetics and Molecular Research,2016,15(3):15038669.

[10] HOHJOH H,HORIKAWA I,NAKAGAWA K,et al. Induced mRNA expression of matrix metalloproteinases MMP-3, MMP-12, and MMP-13 in the infarct cerebral cortex of photothrombosis model mice[J]. Neuroscience Letters,2020,739:135406.

[11] 李玲慧,魏戌,朱立国,等. 补肾活血方对兔退变椎间盘模

型 MMP-3 表达影响[J]. 辽宁中医药大学学报,2020,22(8):8-11.

[12] SHI B,GUO X,IV A,et al. Correction to: polymorphism of MMP-3 gene and imbalance expression of MMP-3/TIMP-1 in articular cartilage are associated with an endemic osteochondropathy, Kashin-Beck disease[J]. BMC Musculoskeletal Disorders,2022,23(1):148.

[13] 陈胜乐,米盼盼,许雅芳,等. 经皮椎间孔镜对腰椎间盘突出症患者血清炎症因子的影响[J]. 川北医学院学报,2020,35(5):829-831.

[14] 陈志礼,卢锦钊,罗伟华,等. 内热针联合偏振光对腰椎间盘突出症患者腰腿疼痛及血清 MMP-3、MMP-7 的影响[J]. 广东医科大学学报,2021,39(2):164-166.

[15] 羊鹏飞,高鹏,李跃军,等. 骨关节炎患者滑膜组织中基质金属蛋白酶 3 和半乳糖凝集素 3 的表达及相关性[J]. 中国组织工程研究,2019,23(23):3616-3622.

[16] 王昊鹏,屠冠军,丛琳. 聚集蛋白聚糖基因串联重复多态性和肥胖交互作用与中国北方男性腰椎间盘突出症易感性的关系[J]. 中国脊柱脊髓杂志,2021,31(1):63-68.

[17] 刘岩路,胡炜,艾克拜尔·艾拜也都拉,等. 半乳糖凝集素 3 抑制剂对大鼠椎间盘软骨终板细胞基质金属蛋白酶-3、趋化因子(C-C 基元)配体 3 及聚蛋白多糖表达的影响[J]. 脊柱外科杂志,2021,19(3):190-194.

[18] GREER S E,LEE D,DUDLEY A T. Dynamic compression and aggrecan modulate pericellular matrix development in growth plate chondrocytes[J]. The FASEB Journal,2020,34(S1):2370.

[19] HOSHIJIMA M,HATTORI T,AOYAMA E,et al. Roles of interaction between CCN2 and Rab14 in aggrecan production by chondrocytes[J]. International Journal of Molecular Sciences,2020,21(8):2769.

[20] 李瑶,孙中仪,戴健,等. 椎间盘退变 IL-1 β 激活 NF- κ B 信号通路增强 ADAMTS-4 的表达[J]. 中国矫形外科杂志,2021,29(23):2177-2181.

(收稿日期:2024-03-07)