

# 补肾活血汤调控炎症小体改善大鼠椎间盘退变的实验研究

李明洋<sup>1</sup> 冯帅华<sup>2</sup> 蒋佳豪<sup>1</sup> 李泽湘<sup>1</sup> 王镇远<sup>1</sup> 罗阳骞<sup>1</sup> 杨届<sup>2△</sup> 吴官保<sup>2△</sup>

**[摘要]** 目的:观察补肾活血汤对退变椎间盘中 NLRP3/Caspase-1 炎症小体的影响并探究补肾活血汤改善腰椎间盘突出退变的作用机制。方法:SD 大鼠 70 只(雌雄各半),随机分为 3 组:I 组 50 只进行椎间盘退变模型建立,II 组 10 只作为空白组(A 组),III 组 10 只作为假手术组(B 组)。验证造模成功后,I 组取 44 只大鼠随机分为模型组 8 只(C 组)、抑制剂组 18 只(D 组,Caspase-1 抑制剂灌胃)及中药组 18 只(E 组,补肾活血汤灌胃)。各组于喂养 2 周后随机处死组内半数大鼠取出其 L<sub>3/4</sub> 至 L<sub>5/6</sub> 椎间盘组织,4 周后将剩余大鼠全部处死取 L<sub>3/4</sub> 至 L<sub>5/6</sub> 椎间盘组织,样本行苏木精-伊红(HE)染色,Western Blot 法检测 NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平,PCR 检测 NLRP3、Caspase-1 基因表达水平,ELISA 法测定 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  蛋白含量。结果:与空白组比较,模型组 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  各项指标均显著高于空白组,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与模型组比较,中药组 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  各项指标均显著低于模型组,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。结论:补肾活血汤可以通过抑制椎间盘内 NLRP3/Caspase-1 炎症小体起到治疗或延缓椎间盘退变的作用。

**[关键词]** 补肾活血汤;炎症小体;椎间盘退变

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2023)01-0001-06

## Experimental Study on Bushen Huoxue Decoction Regulating Inflammasome in Improving Intervertebral Disc Degeneration in Rats

LI Mingyang<sup>1</sup> FENG Shuaihua<sup>2</sup> JIANG Jiahao<sup>1</sup> LI Zexiang<sup>1</sup>  
WANG Zhenyuan<sup>1</sup> LUO Yangqian<sup>1</sup> YANG Jie<sup>2△</sup> WU Guanbao<sup>2△</sup>

<sup>1</sup> Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

<sup>2</sup> Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, China.

**Abstract Objective:** To observe the efficacy of Bushen Huoxue decoction on NLRP3/Caspase-1 inflammasome in degenerative intervertebral discs and explore the mechanism of Bushen Huoxue decoction in improving lumbar intervertebral disc degeneration. **Methods:** 70 SD rats (half male and half female) were randomly divided into three groups, 50 rats in group I were used to establish the intervertebral disc degeneration model, 10 rats in group II were used as the blank group (group A), and 10 rats in group III were used as the sham operation group (group B). After verifying the successful modeling, 44 rats in group I were randomly divided into model group (group C,  $n=8$ ), inhibitor group (group D, Caspase-1 inhibitor gavage,  $n=18$ ), and traditional Chinese medicine group (group E, Bushen Huoxue decoction gavage,  $n=18$ ). After feeding for 2 weeks, half of the rats in each group were killed, and their L<sub>3/4</sub> to L<sub>5/6</sub> intervertebral disc tissues were taken out. After

4 weeks, all the remaining rats were killed, and the L<sub>3/4</sub> to L<sub>5/6</sub> intervertebral disc tissues were taken out. The samples were stained with HE, the expression levels of NLRP3 and Caspase-1 proteins were detected by Western Blot, the expression levels of NLRP3 and Caspase-1 genes were detected by PCR, and the protein contents of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  were detected by ELISA. **Results:** Compared with the blank group, all the indexes of NLRP3, Caspase-1, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  in the model group were significantly higher than those in the blank group ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, all the indexes of NLRP3, Caspase-1, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  in the traditional

基金项目:湖南省自然科学基金面上项目(2022JJ30025)

长沙市自然科学基金面上项目(kq2202475)

湖南省中医药科研计划项目(2021094)

湖南省中医药研究院联合基金重点项目(202016)

湖南省中医药科研计划项目(201902)

<sup>1</sup> 湖南中医药大学(长沙, 410208)

<sup>2</sup> 湖南省中医药研究院附属医院

△通信作者 E-mail: 593557170@qq.com(杨届)

yhywgb@126.com(吴官保)

Chinese medicine group were significantly lower than those in the model group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Bushen Huoxue decoction can treat or delay intervertebral disc degeneration by inhibiting NLRP3/Caspase-1 inflammasome in the intervertebral disc.

**Keywords:** Bushen Huoxue decoction; inflammasome; intervertebral disc degeneration

炎症是引起椎间盘退变(Intervertebral Disc Degeneration, IVDD)的重要因素<sup>[1-2]</sup>。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (Nucleotide-Binding Oligomerization Domain-Like Receptor Protein 3, NLRP3)与半胱天冬酶 1(Cysteiny Aspartate Specific Proteinase-1, Caspase-1)形成 NLRP3/Caspase-1 炎症小体,调控多种炎性因子发生、成熟与释放,加速椎间盘退变<sup>[3-4]</sup>。本实验研究前期发现,补肾活血汤可降低椎间盘内多种炎性因子含量<sup>[5-6]</sup>,但对其上游通路作用机制不明确,因此本研究旨在探究补肾活血汤对退变椎间盘中 NLRP3/Caspase-1 的影响,为补肾活血汤治疗椎间盘退变提供分子水平上的实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

清洁级 12 周龄健康 SD 大鼠 70 只,雌雄各半,体重为 200~250 g,采购于湖南斯莱景达实验动物有限公司,许可证号为 SCXK(湘)2019-0004,动物伦理批号为 2021-0067,于湖南省中医药研究院北院区实验动物中心饲养,许可证号为 SYXK(湘)2020-0008。

### 1.2 实验药物及试剂

补肾活血汤组成为:熟地黄 15 g,杜仲 10 g,枸杞子 10 g,补骨脂 15 g,菟丝子 10 g,当归 10 g,没药 10 g,山茱萸 10 g,肉苁蓉 10 g,独活 10 g,红花 6 g。以上药物均由湖南省中医药研究院附属医院药剂科提供并煎制,制备方法为常规煎制,4℃保存备用。

Caspase-1 抑制剂(Apex Bio Technology,美国):根据试剂使用说明书,将 Caspase-1 抑制剂粉末溶于二甲基亚砜(DMSO)溶解剂中,得到浓度为 100 mg/mL 的 Caspase-1 抑制剂储存溶液。用无菌生理盐水稀释 Caspase-1 抑制剂储存溶液获得终浓度为 0.1 mg/mL 的 VX-765 使用溶液,4℃保存备用。

Tris、APS、SDS、TEMED、PBST 缓冲液、丽春红、RIPA 裂解液、蛋白磷酸酶抑制剂、SuperECL Plus 超敏发光液(abiowell,中国),蛋白酶抑制剂(北京金泰宏大),显影液、定影液(上海佳信),NLRP3 抗体(ABclonal),Caspase-1 抗体、 $\beta$ -actin、HRP 山羊抗鼠抗体 IgG、HRP 山羊抗兔抗体 IgG(proteintech,美国),IL-1 $\beta$ 试剂盒、TNF- $\alpha$ 试剂盒(武汉华美生物)。

### 1.3 实验仪器

TS-1 摇床(江苏其林贝尔),H1650R 台式冷冻离

心机(湖南湘仪),DYY-6C 电泳仪(北京六一),DYCZ-24DN 电泳槽(北京六一),DYCZ-40D 转膜仪(北京六一),GL-88B 旋涡混合器(江苏其林贝尔),JB-13 磁力搅拌器(中国雷磁),PHS-3C 精密 pH 计(中国雷磁),JJ224BC 电子天平(美国双杰),BioPrep-24 生物样品均质仪(杭州奥盛),ChemiScope6100 化学发光成像系统(中国勤翔),PW-812 全自动酶标洗板机(深圳汇松科技),MB-530 多功能酶标分析仪(深圳汇松科技),DHP-500 电热恒温培养箱(北京市永光明医疗仪器)。

### 1.4 方法

**1.4.1 造模方法** 造模方法采用经典椎间盘退变造模方法<sup>[7]</sup>:经腹腔纤维环穿刺法。具体步骤:大鼠称重,使用 3%戊巴比妥钠,按照 0.2 mL/100 g 腹腔注射麻醉,在无菌条件下从右侧后腹膜入路,切口从 12 肋下致髂嵴上缘,约 5 cm,依次切开组织,显露 L<sub>2</sub>~L<sub>6</sub> 椎间盘,根据髂嵴水平线为 L<sub>5/6</sub> 椎间盘,确定 L<sub>3/4</sub> 至 L<sub>5/6</sub> 3 个连续椎间盘节段,使用 21G 穿刺针沿椎体右前侧纤维环分别对 L<sub>3/4</sub> 至 L<sub>5/6</sub> 3 个椎间盘进行穿刺,方向向椎间盘中心,深度限制在 5 mm,留置 5 s,术后逐层缝合创口,术后连续 3 d 大腿肌肉注射青霉素,每只大鼠  $4 \times 10^4$  U/d。

**1.4.2 分组方法** 70 只大鼠随机分为 I 组 50 只、II 组 10 只、III 组 10 只,3 组均雌雄各半。I 组按照上述造模方法进行造模,II 组不进行任何操作,常规喂养。III 组进行与 I 组同样的手术操作,但不对椎间盘进行穿刺。造模 1 周后,从 I 组随机选取雌雄各 3 只大鼠,II 组和 III 组各随机选取雌雄各 1 只大鼠,处死取出其 L<sub>3/4</sub> 至 L<sub>5/6</sub> 椎间盘,行苏木精-伊红(HE)染色验证造模是否成功。造模成功后,将 I 组剩余 44 只大鼠随机分为 C 组 8 只, D 组 18 只, E 组 18 只,均雌雄各半;II 组大鼠改称为 A 组 8 只,III 组大鼠改称为 B 组 8 只。最终得到 A 组(空白组)8 只, B 组(假手术组)8 只, C 组(模型组)8 只, D 组(抑制剂组)18 只, E 组(中药组)18 只。

**1.4.3 干预方法** 根据人与动物体表面积换算公式,计算出 D 组每只大鼠每日 2 mL 抑制剂灌胃, E 组每只大鼠每日 2 mL 补肾活血汤灌胃, A、B、C 组每只大鼠每日 2 mL 生理盐水灌胃。整个灌胃过程分为 2 周与 4 周。

**1.4.4 标本制作方法** 取样共 2 次。第 1 次在灌胃 2 周后,各组分别随机抽取组内半数大鼠处死,取出其

L<sub>3/4</sub>至L<sub>5/6</sub>椎间盘;第2次于灌胃4周后,将剩余所有大鼠用同样方式进行处死取材。取出的椎间盘一部分经固定、脱钙、脱水、透明、石蜡包埋、切片处理后,行HE染色,在光学显微镜下观察其组织结构;另一部分则暂时放置于-80℃用于后续相关指标检测。

1.5 实验室指标测定

于每次取样后第2日开展相关指标测定。采用Western Blot法检测椎间盘组织中NLRP3、Caspase-1蛋白表达水平;ELISA法测定IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 蛋白含量;PCR检测NLRP3、Caspase-1基因表达水平。

1.6 统计学方法

采用SPSS 22.0统计软件进行统计分析。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 形式表示,组间比较先检验资料的正态性和方差齐性,符合条件者采用 $t$ 检验(两组间)或单因素方差分析(多组间), $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 椎间盘组织病理变化

HE结果显示:造模后Ⅱ组、Ⅲ组可见纤维环完整,排列整齐,髓核饱满,髓核脊索细胞丰富;Ⅰ组可见纤维环破裂,排列紊乱不齐,髓核皱缩,髓核脊索细胞减少(见图1)。灌胃2周后,A组、B组HE染色与造模后相比无明显改变;C组纤维环破裂且排列紊乱不齐,髓核皱缩,髓核脊索细胞较少;D组、E组纤维环可见重建趋势,髓核较C组饱满,且髓核脊索细胞更多见(见图2)。灌胃4周后,A、B组仍无明显病理改变;C组纤维环结构紊乱,正常髓核细胞较少,可见髓核细胞无核且形态不规则,呈空泡状,髓核内可见血管增生;D组、E组纤维环逐渐恢复完整,正常髓核细胞增多(见图3)。

2.2 椎间盘组织中NLRP3及Caspase-1蛋白表达水平

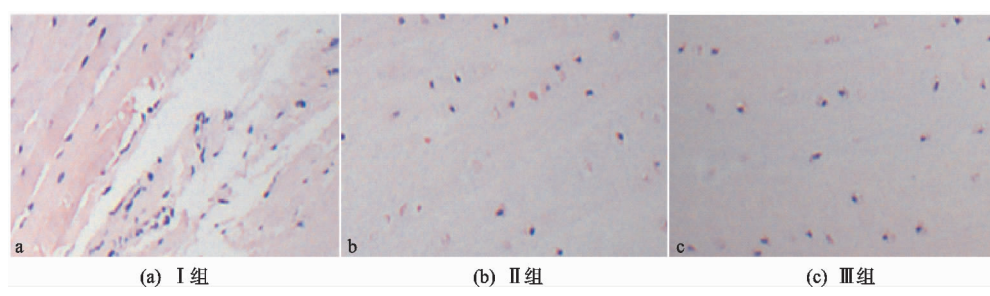


图1 造模后各组椎间盘组织形态结构(HE,×400)

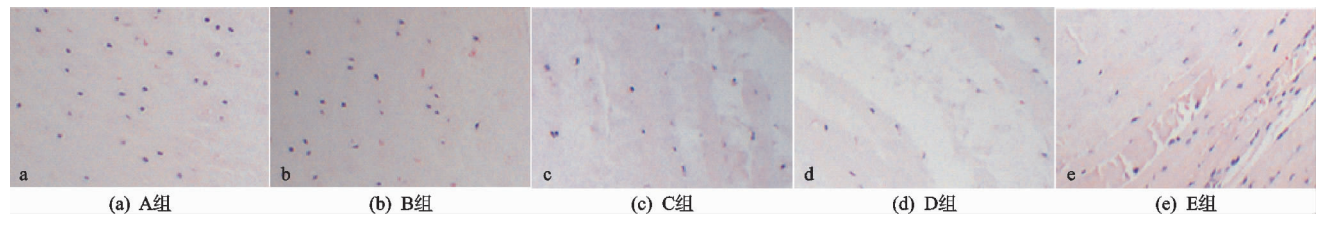


图2 灌胃2周后各组椎间盘组织形态结构(HE,×400)

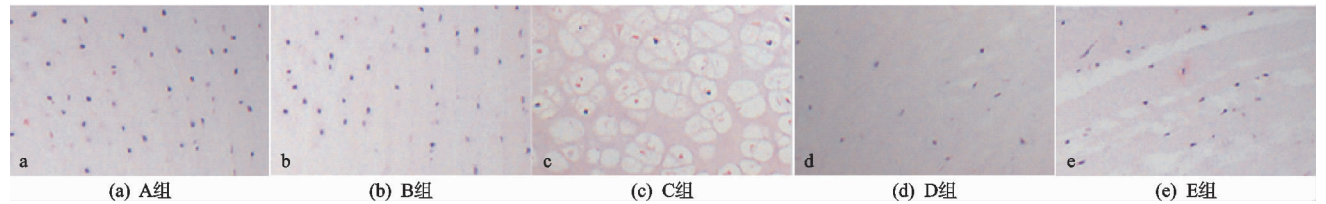


图3 灌胃4周后各组椎间盘组织形态结构(HE,×400)

Western Blot结果显示,灌胃2周后(见图4),A、B组中NLRP3、Caspase-1蛋白含量极少,且两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ );与A组比较,C组中NLRP3和Caspase-1蛋白含量均显著高于A组( $P<0.01$ );与C组比较,D、E两组NLRP3和Caspase-1蛋白含量均显著低于C组( $P<0.01$ );D、E两组比较,D组中NLRP3和Caspase-1蛋白含量均显著低于E组( $P<0.01$ )。灌胃4周后各组间差异有统计学意义,与灌胃2周各组的差异一致(均为 $P<0.01$ ),见图5。D组2周和4周的结果相比较,4周NLRP3和

Caspase-1蛋白含量均显著低于2周( $P<0.01$ ),E组2周和4周相比,得到与D组2周和4周比较的结论相同( $P<0.01$ ),见表1。

2.3 椎间盘组织中IL-1 $\beta$ 及TNF- $\alpha$ 蛋白含量

ELISA法结果显示,灌胃2周后(见图6),A、B组中IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 蛋白的样品终浓度较低,且两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ );与A组比较,C组中IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 蛋白的样品终浓度显著高于A组( $P<0.01$ );与C组比较,D、E两组中IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 蛋白的样品终浓度显著低于C组( $P<0.01$ );D、E两

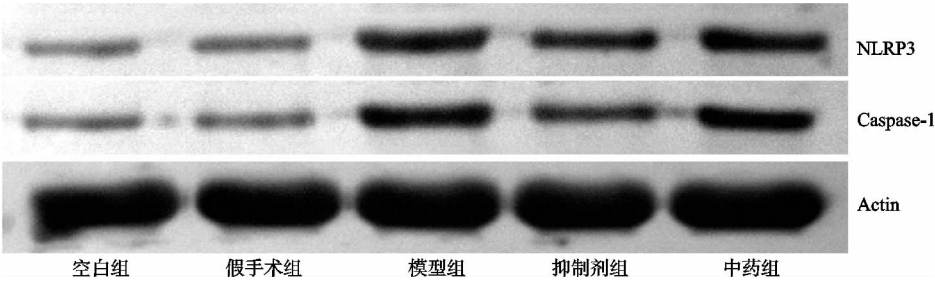


图 4 灌胃 2 周椎间盘中 NLRP3 和 Caspase-1 蛋白含量 Western Blot 法结果

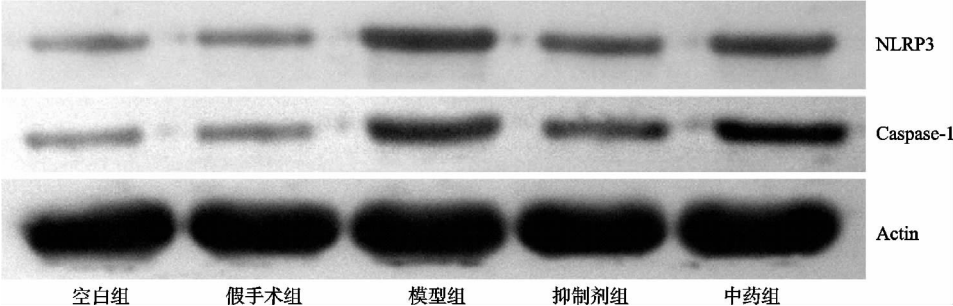


图 5 灌胃 4 周椎间盘中 NLRP3 和 Caspase-1 蛋白含量 Western Blot 法结果

表 1 椎间盘中 NLRP3 和 Caspase-1 蛋白含量相对灰度(±s)

组别	动物数 /只	NLRP3		Caspase-1	
		2 周	4 周	2 周	4 周
空白组	4	0.08±0.01	0.08±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01
假手术组	4	0.08±0.01	0.08±0.01	0.08±0.01	0.08±0.01
模型组	4	0.36±0.01 <sup>1)</sup>	0.37±0.01 <sup>1)</sup>	0.44±0.01 <sup>1)</sup>	0.46±0.01 <sup>1)</sup>
抑制剂组	9	0.33±0.01 <sup>2)</sup>	0.20±0.01 <sup>2)4)</sup>	0.27±0.01 <sup>2)</sup>	0.22±0.01 <sup>2)4)</sup>
中药组	9	0.35±0.01 <sup>2)3)</sup>	0.25±0.01 <sup>2)3)4)</sup>	0.37±0.01 <sup>2)3)</sup>	0.34±0.01 <sup>2)3)4)</sup>

注:相同实验周期内,1)与空白组比较, $P<0.01$ ;2)与模型组比较, $P<0.01$ ;3)与抑制剂组比较, $P<0.01$ 。4)同组中同一指标不同实验周期比较, $P<0.01$ 。

组比较,D 组中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  蛋白的样品终浓度均显著低于 E 组( $P<0.01$ )。灌胃 4 周后各组间差异有统计学意义,与灌胃 2 周各组的差异一致(均为  $P<0.01$ ),见图 7。D 组 2 周和 4 周的结果相比较,4 周 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  蛋白的样品终浓度均低于 2 周,其中 IL-1 $\beta$  差异更显著( $P<0.01$ ),TNF- $\alpha$  的差异同样有统计学意义( $P<0.05$ )。E 组 2 周和 4 周相比,同样表现为 4 周时的浓度低于 2 周,且差异均较为显著( $P<0.01$ ),见表 2。

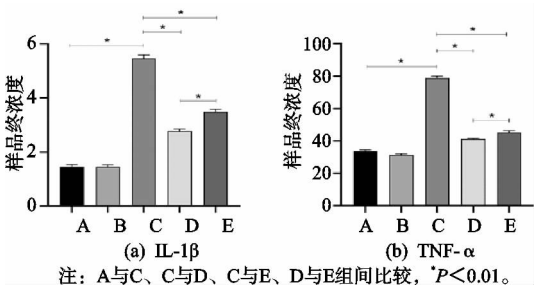


图 7 灌胃 4 周后椎间盘 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  蛋白含量 ELISA 法结果

两项指标的 mRNA 相对表达量均显著高于 A 组( $P<0.01$ );与 C 组比较,D、E 两组的结果均显著低于 C 组( $P<0.01$ );D、E 两组比较,D 组的结果显著低于 E 组( $P<0.01$ )。灌胃 4 周后各组间差异有统计学意义,与灌胃 2 周的差异一致(均为  $P<0.01$ ),见图 9。D 组 2 周和 4 周的结果比较,4 周的结果低于 2 周( $P<0.05$ );E 组 2 周和 4 周的结果比较,差异均有统计学意义,其中 NLRP3 mRNA 相对表达量 4 周低于 2 周( $P<0.05$ ),Caspase-1 mRNA 相对表达量 4 周低于 2 周更为显著( $P<0.01$ ),见表 3。

3 讨论

炎症反应对机体多种疾病的发生发展起着至关重

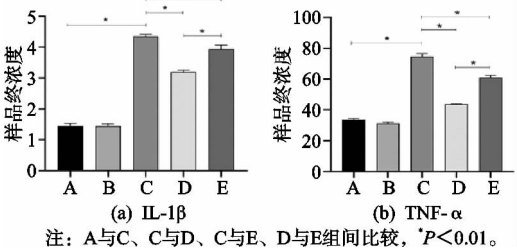


图 6 灌胃 2 周后椎间盘 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  蛋白含量 ELISA 法结果

**2.4 椎间盘组织中 NLRP3、Caspase-1 基因表达水平**  
对椎间盘中 NLRP3 和 Caspase-1 mRNA 进行 PCR 检测,结果显示灌胃 2 周后(见图 8),A、B 两组间的差异无统计学意义( $P>0.05$ );与 A 组比较,C 组

表 2 椎间盘中 IL-1β 和 TNF-α 蛋白终浓度(̄±s)

组别	动物数 /只	IL-1β		TNF-α	
		2 周	4 周	2 周	4 周
空白组	4	1.45±0.08	1.46±0.08	33.60±0.85	33.61±0.86
假手术组	4	1.45±0.07	1.45±0.08	31.42±0.71	32.09±0.46
模型组	4	4.35±0.07 <sup>1)</sup>	5.46±0.13 <sup>1)</sup>	74.74±1.88 <sup>1)</sup>	78.85±1.21 <sup>1)</sup>
抑制剂组	9	3.20±0.06 <sup>2)</sup>	2.78±0.08 <sup>2)4)</sup>	43.70±0.40 <sup>2)</sup>	41.11±0.49 <sup>2)5)</sup>
中药组	9	3.94±0.12 <sup>2)3)</sup>	3.48±0.10 <sup>2)3)4)</sup>	61.01±1.31 <sup>2)3)</sup>	45.30±0.97 <sup>2)3)4)</sup>

注:相同实验周期内,1)与空白组比较, $P<0.01$ ;2)与模型组比较, $P<0.01$ ;3)与抑制剂组比较, $P<0.01$ 。同组中同一指标不同实验周期比较,4) $P<0.01$ ;5) $P<0.05$ 。

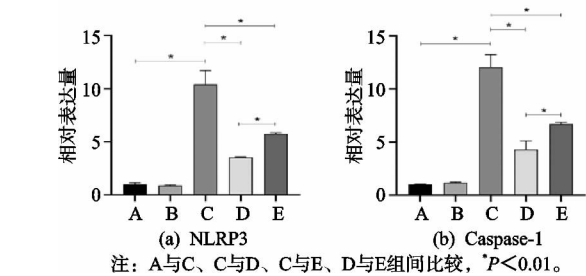


图 8 灌胃 2 周后椎间盘 NLRP3 和 Caspase-1 mRNA

相对表达量 PCR 结果

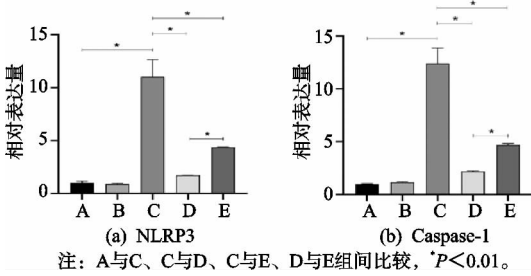


图 9 灌胃 4 周后椎间盘 NLRP3 和 Caspase-1 mRNA

相对表达量 PCR 结果

表 3 椎间盘中 NLRP3 和 Caspase-1 mRNA 相对表达水平(̄±s)

组别	动物数 /只	NLRP3		Caspase-1	
		2 周	4 周	2 周	4 周
空白组	4	1.01±0.12	1.02±0.11	1.00±0.04	1.07±0.09
假手术组	4	0.87±0.07	0.89±0.07	1.17±0.06	1.19±0.07
模型组	4	10.42±1.31 <sup>1)</sup>	11.03±1.62 <sup>1)</sup>	12.02±1.20 <sup>1)</sup>	12.41±1.46 <sup>1)</sup>
抑制剂组	9	3.52±0.04 <sup>2)</sup>	1.72±0.01 <sup>2)5)</sup>	4.23±0.83 <sup>2)</sup>	2.17±0.09 <sup>2)5)</sup>
中药组	9	5.74±0.12 <sup>2)3)</sup>	4.39±0.01 <sup>2)3)5)</sup>	6.66±0.18 <sup>2)3)</sup>	4.70±0.14 <sup>2)3)4)</sup>

注:相同实验周期内,1)与空白组比较, $P<0.01$ ;2)与模型组比较, $P<0.01$ ;3)与抑制剂组比较, $P<0.01$ 。同组中同一指标不同实验周期比较,4) $P<0.01$ ;5) $P<0.05$ 。

要的作用,这其中又以 IL-1β、TNF-α 等炎性因子为代表<sup>[8]</sup>。研究发现 NLRP3 与 Caspase-1 等形成 NLRP3/Caspase-1 炎症小体能够介导 IL-1β、IL-18、TNF-α 等炎性因子的发生、成熟与释放,导致短时间内机体细胞炎性因子大量增多,形成炎症级联反应加重炎症,进而加速、加重病情发展<sup>[3-4,9]</sup>,所以控制炎症反应是目前临床用以治疗大多数疾病的重要手段。一项关于腰椎间盘突出变的实验中发现,在退变初期的椎间盘中检测到 NLRP3 和 IL-1β、IL-18 的表达明显升高,且三者之间的表达正相关,表明其在炎症反应过程中具有协同作用,产生正反馈调节而加强炎症反应<sup>[10]</sup>。本实验研究前期发现,通过抑制 IL-1β、TNF-α 的表达,椎间盘退变情况得以改善<sup>[6,11]</sup>,证实炎症反应参与了椎间盘退变。此外,近年来研究发现,NLRP3 不仅可以介导炎症反应,还可以介导细胞焦亡(Pyroptosis),而在焦亡过程中又会伴随着多种炎性因子的大量、迅速分泌释放<sup>[12]</sup>。细胞焦亡在分子机制层面包括典型的、非典型的和特殊的三种途径<sup>[13]</sup>,其中典型的细胞焦亡途径主要是由 NLRP3/Caspase-1 炎症小体

所介导<sup>[14]</sup>。所以,通过调控 NLRP3/Caspase-1 炎症小体通路治疗椎间盘退变是当下比较有针对性的研究思路。

腰椎间盘突出属于中医“腰痛”“痹证”范畴,本病常与风、寒、湿、瘀、虚有关。通常是风寒湿三气夹杂而至,当人体正虚或外伤致瘀时,趁势而入,彼此互为影响,合而为病。从病因来看人体内在的正虚是本病发病的关键所在,该病主要是中老年人发病为多,该年龄段的人群正值正气虚衰之时,因此从发病年龄也可看出正虚是该病发生的一个非常重要的因素。正虚目前比较公认的主要病因是肾虚。根据这一主要病因,通过中医辨证论治的思维,临床常以补肝肾强腰膝、活血止痛为治法,选用清代赵濂所著《伤科大成》中补肾活血汤一方予以加减治疗。临床治疗结果显示,运用补肾活血汤治疗腰椎间盘突出引起的腰腿痛,具有很好的疗效。补肾活血汤中,杜仲、肉苁蓉、菟丝子等温壮肾督阳气,强筋壮骨;熟地黄、枸杞等补肝肾益精血,精充骨强自可驱邪外出;当归、红花、没药活血通络,疏通经络;独活祛风散湿通络,善祛下焦和筋骨间之风寒湿

邪,搜剔筋骨风寒达到止痛之效。纵观全方,祛邪扶正,标本兼顾,具有补肝肾、强筋骨、祛风湿、止痹痛、活血通络之功。同时,现代药理研究表明,熟地黄、牛膝、杜仲等可提高人体免疫力,并能强壮腰肌,有利于巩固腰椎稳定性,恢复腰椎正常弧线;独活、当归、红花、没药等均有抗炎镇痛作用,研究表明当归镇痛作用强度为乙酰水杨酸钠的17倍,有利于促使渗出物及致痛物质吸收,促进炎症消散<sup>[15]</sup>。由此可见补肾活血汤加减治疗或延缓腰椎间盘突出退变具有可靠的中医基础理论和现代药理学依据。

本实验通过对大鼠进行腰椎间盘突出造模,检测NLRP3/Caspase-1炎症小体相关指标,发现模型组NLRP3/Caspase-1炎症小体相比空白组得到广泛激活,证实NLRP3/Caspase-1炎症小体参与了椎间盘退变的过程。通过药物干预,检测NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 等炎症因子相关指标,发现经药物干预后,这些炎症因子相比模型组均得以控制,同时观察到椎间盘的退变得以恢复,说明补肾活血汤可以抑制炎症因子的表达而起到治疗椎间盘退变的作用。此外,笔者还对药物不同服用周期达到的效果进行比较,发现在短期内(2周),补肾活血汤可以快速且显著降低炎症因子的含量,同时,随着服药周期延长(4周),对炎症因子的抑制效果也更为明显,这说明补肾活血汤不仅可以快速控制炎症,且延长服药周期可以使效果更好。

综上所述,补肾活血汤可以通过抑制NLRP3/Caspase-1炎症小体通路,减少炎症因子含量而减轻炎症反应,从而起到治疗椎间盘退变的作用,且治疗效果与服药周期正相关。

## 参考文献

- [1] LEUNG V Y, CHAN D, CHEUNG K M. Regeneration of intervertebral disc by mesenchymal stem cells: potentials, limitations, and future direction[J]. *Eur Spine J*, 2006, 15 (Suppl 3): S406-S413.
- [2] ANDRADE P, HOOGLAND G, GARCIA M A, et al. Elevated IL-1 $\beta$  and IL-6 levels in lumbar herniated discs in patients with sciatic pain[J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(4): 714-720.
- [3] 刘琦, 周星, 周联, 等. NLRP3炎症小体在慢性疾病中的研究进展[J]. *转化医学电子杂志*, 2017, 4(3): 66-72.
- [4] CHEN Z H, JIN S H, WANG M Y, et al. Enhanced NLRP3, caspase-1, and IL-1 $\beta$  levels in degenerate human intervertebral disc and their association with the grades of disc degeneration[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2015, 298 (4): 720-726.
- [5] 冯帅华, 姚红艳, 吴官保, 等. 补肾活血法对去势大鼠腰椎间盘组织中TNF- $\alpha$ 影响的实验研究[J]. *湖南中医杂志*, 2015, 31(11): 158-161.
- [6] 冯帅华, 刘仁, 吴官保, 等. 补肾活血汤对D-半乳糖致腰椎间盘突出退变大鼠模型IL-1 $\beta$ 、TGF- $\beta$ 1表达的影响[J]. *中医药导报*, 2018, 24(4): 11-13.
- [7] 王文轩, 朱立国, 董博, 等. 体内椎间盘退变动物模型的研究进展[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2020, 28(11): 85-88.
- [8] 张潇潇, 姜宏, 张志刚, 等. 肿瘤坏死因子与腰椎间盘突出退变的相关性研究进展[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2017, 25 (12): 79-82.
- [9] MARTINON F, BURNS K, TSCHOPP J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-1 $\beta$ [J]. *Mol Cell*, 2002, 10(2): 417-426.
- [10] 陈红峰, 吴小涛. NLRP3炎症小体、IL-1和IL-18在突出腰椎间盘突出组织中的表达及意义[J]. *实用临床医药杂志*, 2013, 17(9): 40-43.
- [11] 刘仁, 吴官保, 冯帅华, 等. 补肾活血汤对腰椎间盘突出大鼠TNF- $\alpha$ 表达的影响[J]. *湖南中医杂志*, 2017, 33(3): 144-145.
- [12] 李晓辰, 邢润麟, 张农山, 等. “易层”贴敷抑制NLRP3炎症小体激活改善膝关节炎的实验研究[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(3): 741-745.
- [13] 张皓博, 赵宇楠, 杨学军. 细胞焦亡在椎间盘退变中的作用及治疗意义[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(9): 1445-1451.
- [14] CHAO-YANG G, PENG C, HAI-HONG Z. Roles of NLRP3 inflammasome in intervertebral disc degeneration[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, 29(6): 793-801.
- [15] BREWSTER J L, DE VALOIR T, DWYER N D, et al. An osmosensing signal transduction pathway in yeast[J]. *Science*, 1993, 259(5102): 1760-1763.

(收稿日期: 2022-07-13)