·基础研究·

消退素 D1 对突出髓核所致根性神经痛的影响

刘志华　左玲　苗贵申　王珺楠　杨聪娴　傅志俭　孙涛

【摘要】 **目的**　研究消退素 D1 对突出髓核所致根性神经痛的影响及内在机制。**方法**　选取 56 只雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠,按照随机数字表法分为假手术组、模型组、消退素 D1 10 ng 组、消退素 D1 100 ng 组,每组 14 只,建立非压迫性椎间盘突出症模型。术后 1 d、2 d、3 d,假手术组和模型组分别注射磷酸盐缓冲液(PBS)10 μl,消退素 D1 10 ng 组和消退素 D1 100 ng 组分别注射含有消退素 D1 10 ng 和 100 ng 的 PBS 10 μl。于术前 1 d 及术后连续 7 d 分别检测各组大鼠术侧后肢 50%缩足阈值(PWT)。术后 7 d,取大鼠脊髓组织经酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测肿瘤坏死因子(TNF-α)、白介素 1β(IL-1β)和白介素 10(IL-10)的蛋白表达量,采用蛋白质印记 Western blot 法检测脊髓组织中细胞外信号调节激酶(ERK)核转录因子 NF-κB/p65(NF-κB/p65)的含量变化。**结果**　术后 1 d 至 7 d,模型组大鼠 50% PWT 较假手术组明显降低($P<0.05$);术后 3 d、4 d、5 d、6 d、7 d,消退素 10 ng 组与模型组比较,50% PWT 显著升高($P<0.05$);术后 2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d,消退素 100 ng 组与模型组比较,50% PWT 显著升高($P<0.05$)。与假手术组比较,模型组大鼠 TNF-α 和 IL-1β 的蛋白表达水平明显升高($P<0.05$),IL-10 的表达水平明显降低($P<0.05$);与模型组比较,消退素 10 ng组和消退素 100 ng 组的 TNF-α 和 IL-1β 的蛋白表达水平明显降低($P<0.05$),IL-10 的表达水平明显升高($P<0.05$),且消退素 100 ng 组的蛋白含量下降更显著($P<0.05$)。与假手术组比较,模型组 p-ERK、NF-κB/p65 蛋白水平明显升高($P<0.05$);与模型组比较,消退素 10 ng 组和消退素 100 ng 组 p-ERK 及 NF-κB/p65 蛋白水平明显降低($P<0.05$),且消退素 100 ng 组降低的更明显($P<0.05$)。**结论**　消退素 D1 通过调节炎症介质表达及 p-ERK 和 NF-κB/p65 通路的活性,促进神经根炎症的消退,为治疗腰椎间盘突出症提供了新的思路。

【关键词】　消退素;　腰椎间盘突出症;　根性神经痛;　ERK;　NF-κB/p65

基金项目:国家自然科学基金(81271232);山东省科技发展计划(2014GSF118130);国家临床重点专科建设项目经费资助

The effect of Resolvin D1 on the radicular pain induced by herniated nucleus pulposus

Liu Zhihua, Zuo Ling, Miao Guishen, Wang Junnan, Yang Congxian, Fu Zhijian, Sun Tao. Department of Pain Management, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China

Corresponding author: Sun Tao, Email: suntaosdph@163.com

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the analgesic effect of Resolvin D1 (RvD1) on radicular pain induced by herniated nucleus pulposusand its underlying mechanism. **Methods**　Fifty-six male rats were randomly divided intoa sham group, a model group, a 10 ng group anda 100 ng group, each of 14. The rat model of non-compressive lumber disc herniation was established in all except the sham group. The former two groups were then injected with 10 μl of phosphate buffer solution (PBS) while the latter 2 groups were injected with 10 μl of PBS containing 10 and 100 ng of RvD1 respectively daily for three successive days. The rats' 50% paw withdrawal threshold (PWT) was evaluated 1 day before and on 7 successive days after surgery. On day 7 the rats' spinal cords were removed to assess the expression of tumor necrosis factor-α(TNF-α), interlukin-1β(IL-1β) and interlukin-10 (IL-10) using ELISA methods. The levels of ERK and NF-κB/p65 were measured using Western blotting. **Results**　Theaverage 50%PWT of the model group decreased significantly from day 1 to day 7 compared with the sham group, but was significantly lower thanthe RvD1 10 ng group from day 3 to day 7. Moreover the 50%PWT in the RvD1 100 ng group increased significantlyfrom day 2 to day 7 compared with the model group ($P<0.05$). The average expression of both TNF-α and IL-1β of the model group was upregulated significantly and that of IL-10 decreased significantly compared with the sham group. Compared with the model group, the expression of TNF-α and IL-1β decreased significantly ($P<0.05$) and the level of IL-10 was significantlyup-regulated ($P<0.05$) both in the RvD1 10 ng group and 100 ng group. Moreover, the changes were larger in the RvD1 100 ng group ($P<0.05$). Compared with the sham group, the levels of

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2016.11.005

作者单位:250021 济南,山东大学附属省立医院疼痛科

通信作者:孙涛,Email:suntaosdph@163.com

p-ERK and NF-κB/p65 in the model group were significantly up-regulated ($P<0.05$). Compared with the model group, intrathecal injection of RvD1 (10 ng or 100 ng) significantly decreased the expressions of p-ERK and NF-κB/p65 ($P<0.05$). Moreover, the decrease wasgreater in the RvD1 100 ng group ($P<0.05$). **Conclusions** RvD1 might alleviate the radicular inflammation and pain byregulating the balance of inflammatory mediators and activation of p-ERK and NF-κB/p65 pathways. It may offer novel therapeutic approaches for the management of lumbar disc herniation.

【**Key words**】 Resolvin D1; Lumbar disc herniation; Radicular pain; ERK; NF-κB/p65

Fund program: National Natural Science Foundation of China (grant 81271232); Science and Technology Development Plan of Shandong Province (grant 2014GSF118130); China's National Key Clinical Specialist Construction Program

腰椎间盘突出症发病的多源性越来越受到人们的重视,除了机械压迫外,化学物质刺激、化学介质介导的炎性反应、椎间盘免疫反应及疼痛感受器致敏均参与到腰痛的发生中[1]。有研究表明,突出髓核所致的神经炎症及免疫反应,在根性神经痛的发生中发挥了重要作用,将髓核组织覆盖于神经根和背根神经节可以导致神经根炎性改变和痛觉过敏[2-3]。外周和中枢神经系统在受到刺激或损伤后,所释放的炎症介质如肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)和白细胞介素 1β(interleukin-1beta, IL-1β)均参与了疼痛的发生与发展[4-6]。除了炎性介质,核转录因子 κB/p65(nuclear factor-κB/p65, NF-κB/p65)、p-细胞外信号调节激酶(extracellular-signal regulated protein kinase, ERK)等通路受到激活后,在神经病理性疼痛的发生中也发挥了重要作用,其能够调节神经元可塑性及细胞因子的释放过程[7-8]。

消退素是一种由 ω-3 多不饱和脂肪酸衍生的新型促炎症消退介质[9]。新近一些研究发现,消退素不仅在哮喘、脓毒症及牙周病等炎性疾病中显示出良好的抗炎促消退作用,在术后痛和关节炎等疼痛模型中也显现出明显的镇痛效应[10]。然而消退素对于根性神经痛的作用却鲜有报道。本研究拟在建立非压迫性腰椎间盘突出症模型的基础上,采用鞘内给药的方式,通过检测大鼠机械痛阈、脊髓组织中炎性因子释放及 p-ERK和 NF-κB/p65 通路的表达情况,来探索消退素对于髓核组织所致神经根炎症及根性神经痛的抗炎及镇痛效应,为治疗腰椎间盘突出症及根性神经痛提供新的思路。

材料与方法

一、实验试剂及仪器

主要实验试剂包括消退素 D1(美国 Cayman 公司),TNF-α、IL-1β 及白细胞介素 10(interleukin 10, IL-10)酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immune sorbent assay, ELISA)试剂盒(美国 R&D 公司),兔抗大鼠细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)一抗及兔抗大鼠 p-ERK 一抗(美国 Cell Signalling 公司),兔抗大鼠核转录因子 κB/p65 一抗(英国 Abcam 公司),小鼠抗兔二抗、小鼠抗大鼠二抗(上海依科赛公司)。主要实验设备包括 SpectraMax M2 型 ELISA 酶标仪(美国 MD 公司),LAS4000mini 化学发光成像仪(日本 Fuji 公司)。

二、实验动物及分组

选取成年雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠 56 只,体重 220~250 g,由山东大学动物实验中心提供,分笼饲养,室温(22±1)℃,相对湿度 40%~60%,12 h/12 h 昼夜节律,本研究严格遵守山东大学动物使用和保护规定,并通过山东大学附属省立医院伦理委员会审核。

三、鞘内置管、分组及模型制作

1. 鞘内置管:参照 Kawakami 等[11]的置管方法,腹腔注射水合氯醛(300 mg/kg)麻醉大鼠后,做背部正中切口暴露 L_{2-3}椎间孔,将 PE-10 导管经椎间孔向尾端置入至腰膨大部位,椎旁及皮下固定导管并缝合伤口。全麻恢复后经导管注入 2%利多卡因10 μl,大鼠出现双下肢麻痹,即表示置入导管位置正确。术后将大鼠单笼饲养,排除感染及神经损伤的大鼠。按照随机数字表法将置管成功的大鼠随机分为假手术组、模型组、消退素 D1 10 ng 组、消退素 D1 100 ng 组,每组 14 只。

2. 非压迫性腰椎间盘突出症模型:参照 You 等[12]的方法建立模型,大鼠经腹腔水合氯醛(300 mg/kg)麻醉后,以两侧髂嵴连线中点做 25~30 mm 正中纵行切口,行右侧 L_5 下关节突、L_6 上关节突及 L_5 半椎板切除术,暴露右侧 L_5 背根神经节及神经根。在大鼠尾近根部行纵行切口,暴露 2 个椎间隙,切开纤维环取出髓核组织(约 0.5 mg),将取出的自体髓核组织混合物覆盖于右侧 L_5 背根神经节及神经根,注意不要造成机械压迫。假手术组大鼠仅暴露相应的手术部位,不做髓核处理。

四、药物处理及给药方法

1.药物处理:消退素 D1 是以溶解在无水乙醇中的液体形式提供的,应用前在避光条件下,通过缓慢的氮

表 1　各组大鼠术侧 50% PWT 不同时间点变化情况(g,$\bar{x}\pm s$)

分组	例数	术前 1 d	术后 1 d	术后 2 d	术后 3 d	术后 4 d	术后 5 d	术后 6 d	术后 7 d
假手术组	14	20.16±1.72	19.98±1.86	19.00±1.86	19.68±1.78	18.89±2.27	20.22±1.75	19.77±1.97	20.32±1.91
模型组	14	19.90±1.90	4.92±1.58[a]	1.80±0.94[a]	2.18±1.16[a]	1.36±0.67[a]	1.77±1.00[a]	1.81±1.04[a]	1.67±1.02[a]
消退素 D1 10 ng 组	14	19.52±2.09	4.37±1.76[a]	3.29±1.51[a]	5.45±1.41[ab]	6.99±1.32[ab]	7.47±1.46[ab]	8.15±0.98[ab]	8.57±1.50[ab]
消退素 D1 100 ng 组	14	19.58±1.74	4.42±2.06[a]	4.40±1.00[ab]	7.81±2.14[ab]	11.01±1.58[ab]	12.90±1.45[ab]	13.43±1.68[ab]	14.53±2.19[ab]

注:与假手术组同时间点比较,[a]$P<0.05$;与模型组术后同时间点比较,[b]$P<0.05$

气气流挥发无水乙醇,并立即加入磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline,PBS)。

2.给药方法:术后 1 d、2 d、3 d,假手术组和模型组分别经导管注射 PBS 10 μl,消退素 D1 10 ng 组和消退素 D1 100 ng 组分别经导管注射含有消退素 D1 10 ng 和 100 ng 的 PBS 10 μl。

五、检测指标

1. 行为学指标检测:术前 1 d 及术后连续 7 d,观察并测定各组术侧 50%缩足阈值(50% paw withdrawal threshold,PWT)。用不同刺激力的 von Frey 纤毛机械刺激针,采用"Up-Down"方法,测定大鼠 50% PWT,大鼠后肢产生迅速撤回、畏缩等现象,视为阳性反应[13]。

2. 炎症相关因子蛋白含量测定:术后 7 d,取大鼠术侧 L_{4-6}腰膨大节段脊髓背角,按照重量体积比向各组织中加入预冷生理盐水,用 1 ml 匀浆器将样本制成 10%组织匀浆,9200 r/min 条件下离心 10 min,取上清液备用。按照 TNF-α、IL-1β 和 IL-10 ELISA 试剂盒说明书严格进行操作,将标准品浓度与样品对应的吸光值绘制成标准曲线,计算 TNF-α、IL-1β 和 IL-10 的蛋白含量。

3. ERK、NF-κB/p65 蛋白半定量测定:术后 7 d,经腹腔水合氯醛麻醉并处死大鼠,取术侧 L_{4-6}腰膨大节段脊髓背角,液氮条件下研磨组织,加入蛋白裂解液并离心,提取上清液测定蛋白浓度。提取的蛋白样品等量上样(20 μg),进行 10%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰氨凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gelelectrophoresis,SDS-PAGE),再将凝胶上的蛋白样品转移到电转膜上。将电转膜置于含有 5%脱脂奶粉和 0.1% Tween20 的洗涤缓冲液(tris buffered saline with tween,TBST)中室温下封闭 1 h,加入相应一抗(p-ERK为 1∶500、t-ERK 为 1∶500、NF-κB/p65 为 1∶500、GAPDH 为 1∶1000)于 4 ℃摇床条件下孵育过夜,洗膜 3 次后,加入相应二抗(1∶5000)于室温下摇床孵育 1 h,再洗膜 3 次,加发光试剂并应用化学发光成像仪进行条带显影。所得蛋白条带应用 Quantity one 软件计算条带灰度值,并与假手术组的平均灰度值比较,计算出蛋白条带的相对灰度值。

六、统计学方法

本研究采用 SPSS 20.0 版统计学软件对数据进行分析,所得计量资料以($\bar{x}\pm s$)形式表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用邦弗朗尼(Bonferroni)事后检验方法,$P<0.05$表示差异有统计学意义。

结　　果

一、行为学指标检测

术前各组大鼠右侧 50% PWT 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。术后模型组与假手术组比较,各时间点的 50% PWT 均显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$);术后 3 d、4 d、5 d、6 d、7 d,消退素 10 ng 组与模型组比较,50% PWT 升高,差异有统计学意义($P<0.05$);术后 2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d,消退素 100 ng 组与模型组比较,50% PWT 显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。详见表 1。

二、术后 7 d 各组大鼠脊髓背角 TNF-α、IL-1β 和 IL-10 的蛋白表达水平

与假手术组比较,模型组大鼠 TNF-α 和 IL-1β 的蛋白表达水平明显升高,IL-10 的表达水平明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相比,消退素 D1 10 ng 组和消退素 D1 100 ng 组的 TNF-α 和 IL-1β的蛋白表达水平明显降低,IL-10 的表达水平明显升高($P<0.05$),且消退素 D1 100 ng 组 TNF-α、IL-1β 降低和 IL-10 升高的较消退素 D1 10 ng 组更显著($P<0.05$)。详见表 2。

表 2　术后 7 d 各组大鼠脊髓背角 TNF-α、IL-1β 和 IL-10 蛋白水平(pg/mg,$\bar{x}\pm s$)

分组	例数	TNF-α	IL-1β	IL-10
假手术组	7	158.99±16.28	261.42±18.16	365.47±20.17
模型组	7	283.65±21.51[a]	600.75±43.31[a]	205.36±34.73[a]
消退素 D1 10 ng 组	7	238.02±15.79[ab]	474.27±37.87[ab]	261.70±5.98[ab]
消退素 D1 100 ng 组	7	196.41±7.53[abc]	370.11±27.51[abc]	310.77±15.39[abc]

注:与假手术组比较,[a]$P<0.05$;与模型组比较,[b]$P<0.05$;与消退素 D1 10 ng 组比较,[c]$P<0.05$

三、术后 7 d 各组大鼠脊髓背角 p-ERK 和 NF-κB/p65 蛋白含量变化情况

与假手术组比较,模型组 p-ERK、NF-κB/p65 蛋白水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,消退素 D1 10 ng 组和消退素 D1 100 ng 组 p-ERK及 NF-κB/p65 蛋白水平明显降低($P<0.05$),且

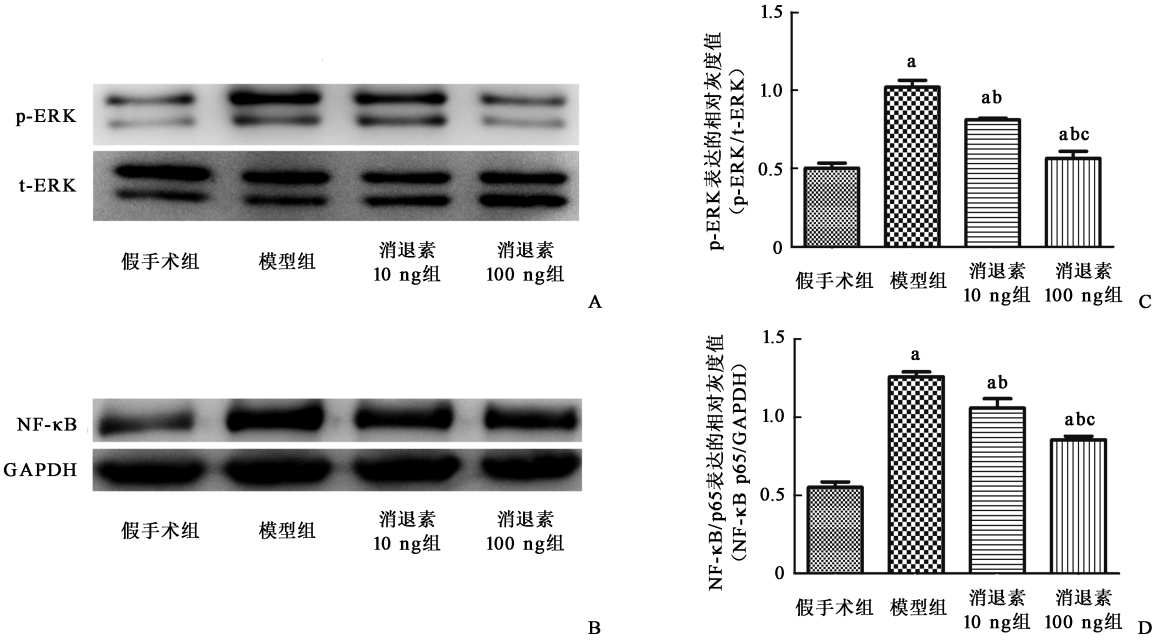
消退素 100 ng 组降低更明显($P<0.05$)。详见图 1。

讨　论

髓核一旦突出于纤维环、暴露于机体的免疫系统,将会激发神经系统强烈的自身免疫反应和炎症改变,引起白细胞的活化和渗透、炎症细胞因子释放以及神经细胞变性,最终导致神经病理性疼痛的发生[3]。在本研究观察的时间段内,模型建立后大鼠出现右足蜷缩、畏惧着地、患肢自觉抬起的现象,且患侧足底机械痛阈明显下降,这表明大鼠出现了机械痛觉过敏,进一步证实了髓核组织在腰椎间盘突出所致根性神经痛中的重要作用。

外周或中枢神经系统受到刺激或损伤后,释放大量的炎性相关介质,如 TNF-α、IL-1β。本研究中,将自身髓核组织覆盖于大鼠背根神经节,引起大鼠 50% PWT 降低,检测到脊髓组织中 TNF-α 和 IL-1β 释放增加,IL-10 释放减少,表明模型诱发了大鼠的神经根炎症反应。研究证实,于背根神经节(dorsal root ganglion,DRG)处应用 TNF-α 能引起明显的痛觉过敏[14],而 TNF-α 基因沉默治疗或 TNF-α 抑制剂能明显减轻机械痛敏[4]。在神经损伤处注射 IL-1β 能引起机械痛觉过敏现象[6],而应用 IL-1β 抗体能明显减轻神经病理性疼痛[5]。抗炎因子 IL-10 能促进抗炎程序的启动,是重要的炎症调节介质,并且具有显著的镇痛效应。大脑腹外侧眶皮质注射 IL-10 能有效改善神经损伤大鼠的痛觉过敏[15]。结合以往研究及本实验结果可推测,在突出髓核所致根性神经痛的发生和发展过程中,炎性介质的释放和失衡发挥了重要作用。

本研究中,通过鞘内注射消退素 D1,模型大鼠的机械痛觉过敏现象得到明显改善,脊髓中炎症因子 TNF-α 和 IL-1β 的水平明显降低,且抗炎因子 IL-10 的释放水平显著增加。消退素,作为一种新型的内源性抗炎促消退介质,具有阻碍白细胞浸润、下调炎症介质、促进凋亡的中性粒细胞及细胞碎片的吞噬摄取等功效,在炎症早期促进炎症的及时消退[16]。消退素对于炎性疾病如哮喘、脓毒症、牙周病及视网膜病变等,显示出了良好的抗炎促消退作用。此外,新近研究发现,消退素在一些炎性和神经病理性疼痛的大鼠模型中也发挥了显著的镇痛效应[10,17]。在一项关于完全性弗式佐剂(complete Freund's adjuvant,CFA)诱导的关节炎模型的研究中,Bang 等[18]发现注射消退素 D1 能够减轻大鼠的机械痛觉过敏现象。有研究还发现,消退素 D1 不仅能降低大鼠的痛觉过敏,还能减少炎症因子TNF-α和 IL-1β 的释放[19]。近期有研究表明,消退素 D1 能显著减弱大鼠的术后痛[20]。此外,消退素 D1 还能有效降低慢性胰腺炎所造成的机械痛觉过敏,并减少炎症因子 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的释放[21]。因此,本研究推测,消退素 D1 可能是通过降低促炎因子释放、提高抗炎因子水平来减轻突出髓核所致的神经根炎症及根性神经痛。



注:与假手术组比较,[a]$P<0.05$;与模型组比较,[b]$P<0.05$;与消退素 D1 10 ng 组比较,[c]$P<0.05$;其中图 1A 为术后 7 d 各组大鼠p-ERK、t-ERK 蛋白条带图;图 1B 为术后 7 d 各组大鼠 NF-κB/p65 蛋白条带图;图 1C 为术后 7 d 各组大鼠 p-ERK 蛋白表达情况比较;图 1D 为术后 7 d 各组大鼠 NF-κB/p65 蛋白表达情况比较

图 1　术后 7 d 各组大鼠术侧脊髓背角 NF-κB/p65、p-ERK、t-ERK 的蛋白含量

p-ERK 活性是组织损伤后神经元被激活的特殊标志。研究发现,慢性压迫性神经损伤(chronic constrictive nerve injury,CCI)模型大鼠脊髓背角中的 p-ERK 显著升高,应用 p-ERK 抑制剂能有效降低大鼠的疼痛反应[8]。近期有研究发现,消退素 D1 减轻术后痛可能是通过阻断 p-ERK 通路实现的[20]。关节炎大鼠应用消退素 D1 能有效减轻机械痛觉过敏,并抑制炎症因子(TNF-α、IL-1β、IL-6)的释放,可能是通过对 p-ERK 通路的抑制实现的[10]。本研究结果显示,鞘内给予消退素 D1 能显著抑制大鼠脊髓背角中 p-ERK 的活性,推测消退素 D1 减轻非压迫性腰椎间盘突出症大鼠的机械痛敏和根性神经痛、调节炎症因子的释放,可能与抑制脊髓背角中的 p-ERK 通路有关。

NF-κB/p65 在神经病理性疼痛的发生中发挥了重要作用,并且能够调节神经元可塑性及细胞因子的释放[7,22]。研究发现,在佐剂诱导的大鼠关节炎模型中,NF-κB/p65 的激活参与了外周炎症及痛觉过敏的发生及发展[23]。在神经损伤大鼠模型及炎性疼痛大鼠模型中,抑制 NF-κB 通路的 p65 亚单位,能明显减轻大鼠的慢性疼痛[24]。近来一项研究发现,应用消退素 D1 能够减少佐剂诱导的关节炎大鼠脊髓及背根神经节中炎症介质 TNF-α 和 IL-1β 的释放,这可能与抑制 NF-κB的活性有关[19]。本研究结果发现,鞘内注射消退素 D1 能够明显抑制非压迫性腰椎间盘突出症大鼠脊髓背角中 NF-κB/p65 的活性,提示消退素减轻大鼠根性神经痛可能与抑制脊髓背角 NF-κB/p65 的活性有关。

综上所述,鞘内注射消退素 D1 能够显著减轻非压迫性腰椎间盘突出症大鼠的根性神经痛症状,这可能与消退素 D1 下调炎症因子、上调抗炎因子表达,抑制脊髓背角 p-ERK 和 NF-κB/p65 的活性有关。然而,消退素对于根性神经痛的抗炎镇痛作用机制仍不是十分明确,需要更进一步的实验加以证实和探索,未来可通过基因敲除或通路阻断剂来进一步验证可能参与的具体通路,为腰椎间盘突出症和根性神经痛的治疗提供新的思路和方法。

参 考 文 献

[1] Molinos M, Almeida CR, Caldeira J, et al. Inflammation in intervertebral disc degeneration and regeneration[J]. J R Soc Interface, 2015, 12(104):20141191. DOI: 10.1098/rsif.2015.0429.

[2] Li Y, Xi C, Niu M, et al. Contralateral neuropathology in dorsal root ganglia in a rat model of noncompressive disc herniation[J]. Neurosci Lett, 2011, 493(1-2):49-54. DOI: 10.1016/j.neulet.2011.02.018.

[3] Cuéllar JM, Borges PM, Cuéllar VG, et al. Cytokine expression in the epidural space: a model of noncompressive disc herniation-induced inflammation[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2013, 38(1):17-23. DOI: 10.1097/BRS.0b013e3182604baa.

[4] Ogawa N, Kawai H, Terashima T, et al. Gene therapy for neuropathic pain by silencing of TNF-alpha expression with lentiviral vectors targeting the dorsal root ganglion in mice[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e92073. DOI: 10.1371/journal.pone.0092073.

[5] Yano R, Ma L, Nagai J, et al. Interleukin-1β plays key roles in LPA-induced amplification of LPA production in neuropathic pain model [J]. Cell Mol Neurobiol, 2013, 33(8):1033-1041. DOI: 10.1007/s10571-013-9970-3.

[6] Nadeau S, Filali M, Zhang J, et al. Functional recovery after peripheral nerve injury is dependent on the pro-inflammatory cytokines IL-1beta and TNF: implications for neuropathic pain[J]. J Neurosci, 2011, 31(35):12533-12542. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2840-11.2011.

[7] Sun T, Luo J, Jia M, et al. Small interfering RNA-mediated knockdown of NF-kappaBp65 attenuates neuropathic pain following peripheral nerve injury in rats[J]. Eur J Pharmacol, 2012, 682(1-3): 79-85. DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.02.017.

[8] Wang H, Li Y, Dun L, et al. Antinociceptive effects of oxymatrine from Sophora flavescens, through regulation of NR2B-containing NMDA receptor-ERK/CREB signaling in a mice model of neuropathic pain[J]. Phytomedicine, 2013, 20(11):1039-1045. DOI: 10.1016/j.phymed.2013.04.012.

[9] Serhan CN. Pro-resolving lipid mediators are leads for resolution physiology[J]. Nature, 2014, 510(7503):92-101. DOI: 10.1038/nature13479.

[10] Xu ZZ, Zhang L, Liu T, et al. Resolvins RvE1 and RvD1 attenuate inflammatory pain via central and peripheral actions[J]. Nat Med, 2010, 16(5):592-597. DOI: 10.1038/nm.2123.

[11] Kawakami M, Tamaki T, Hayashi N, et al. Possible mechanism of painful radiculopathy in lumbar disc herniation[J]. Clin Orthop Relat Res, 1998, 6(1):241-251. DOI: 10.1213/01.ANE.0000180197.32577.9B.

[12] You C, Zhu K, Liu X, et al. Tumor necrosis factor-alpha-dependent infiltration of macrophages into the dorsal root ganglion in a rat disc herniation model[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2013, 38(23):2003-2007. DOI: 10.1097/BRS.0b013e3182a84701.

[13] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. J Neurosci Methods, 1994, 53(1):55-63. DOI: 10.1016/0165-0270(94)90144-9.

[14] Zhang JM, Li H, Liu B, et al. Acute topical application of tumor necrosis factor alpha evokes protein kinase A-dependent responses in rat sensory neurons[J]. J Neurophysiol, 2002, 88(3):1387-1392. DOI: 101152/ja.00020.2002.

[15] Shao Q, Li Y, Wang Q, et al. IL-10 and IL-1β mediate neuropathic-pain like behavior in the ventrolateral orbital cortex[J]. Neurochem Res, 2015, 40(4):733-799. DOI: 10.1007/s11064-015-1521-5.

[16] Serhan CN, Chiang N, Dalli J, et al. Lipid mediators in the resolution of inflammation[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2015, 7(2): a016311. DOI: 10.1101/cshperspect.a016311.

[17] Ji RR, Xu ZZ, Strichartz G, et al. Emerging roles of resolvins in the resolution of inflammation and pain[J]. Trends Neurosci, 2011, 34(11):599-609. DOI: 10.1016/j.tins.2011.08.005.

[18] Bang S, Yoo S, Yang TJ, et al. Resolvin D1 attenuates activation of sensory transient receptor potential channels leading to multiple antinociception[J]. Br J Pharmacol, 2010, 161(3):707-720. DOI: 10.

1111/j.1476-5381.2010.00909.x.

[19] Lima-Garcia JF, Dutra RC, da Silva K, et al. The precursor of resolvin D series and aspirin-triggered resolvin D1 display anti-hyperalgesic properties in adjuvant-induced arthritis in rats[J]. Br J Pharmacol, 2011, 164(2): 278-293. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01345.x.

[20] Huang L, Wang CF, Serhan CN, et al. Enduring prevention and transient reduction of postoperative pain by intrathecal resolvin D1[J]. Pain, 2011, 152(3): 557-565. DOI: 10.1016/j.pain.2010.11.021.

[21] Quan-Xin F, Fan F, Xiang-Ying F, et al. Resolvin D1 reverses chronic pancreatitis-induced mechanical allodynia, phosphorylation of NMDA receptors, and cytokines expression in the thoracic spinal dorsal horn[J]. BMC Gastroenterol, 2012, 12(2): 148. DOI: 10.1186/1471-230X-12-148.

[22] 叶永贤, 赵佳丽, 沙漠, 等. 恩再适对坐骨神经慢性压迫性损伤大鼠痛觉过敏及其基因表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2015, 37(3): 224-227. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.03.019.

[23] Luo JG, Zhao XL, Xu WC, et al. Activation of spinal NF-kappaB/p65 contributes to peripheral inflammation and hyperalgesia in rat adjuvant-induced arthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(4): 896-906. DOI: 10.1002/art.38328.

[24] Sun T, Song WG, Fu ZJ, et al. Alleviation of neuropathic pain by intrathecal injection of antisense oligonucleotides to p65 subunit of NF-kappaB[J]. Br J Anaesth, 2006, 97(4): 553-558. DOI: 10.1093/bja/ael209.

(修回日期:2016-10-08)
(本文编辑:凌　琛)

·短篇论著·

窄谱红、蓝光与常规烧伤疗法联合治疗烧伤残余创面的疗效观察

徐刚　练慧斌　主父中印　罗艺　鞠海宾　周杰　刘森

深度烧伤创面愈合早期常反复出现水疱,容易破溃,形成难以愈合的烧伤残余创面,特别是大面积烧伤患者,更易出现多处残余创面,恢复缓慢,既增加了医务人员的工作量,也给患者带来较大的经济负担和身心痛苦。有研究指出,烧伤残余创面的病因是多方面的,而目前临床尚无特效治疗方法[1]。2013 年 6 月至 2014 年 6 月,扬州大学临床医学院烧伤整形科采用窄谱红、蓝光结合常规烧伤疗法(浸浴和创面外用莫匹罗星)治疗烧伤残余创面患者 15 例,取得了较好的疗效。报道如下。

一、资料与方法

(一)一般资料

入选标准:①年龄 18 岁~65 岁;②深 II°烧伤,总烧伤面积≤30%总体表面积(total body surface area, TBSA),残余创面面积≤10%TBSA;③治疗时间超过 1 个月的残余创面,无全身侵袭性感染;④无严重的心、肺、肝、肾及造血系统合并症;⑤签署知情同意书。

排除标准:①有心、肝、肾等重要脏器基础疾病的患者;②哺乳期、孕期的妇女;③化学烧伤、电烧伤、糖尿病等并发慢性创面;④对窄谱红、蓝光过敏者。

选取 2013 年 6 月至 2014 年 6 月符合上述纳入和排除标准的烧伤残余创面患者 30 例,按随机数字表法分为试验组和对照组,每组患者 15 例。2 组患者的例数、性别、年龄、烧伤创面大小等一般资料经统计学分析,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,详见表 1。

表 1　2 组患者一般资料

组别	例数	性别(例)		平均年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	平均创面面积(cm^2, $\bar{x}\pm s$)
		男	女		
试验组	15	10	5	36.2±11.9	19.4±3.5
对照组	15	11	4	35.9±12.7	21.2±3.2

(二)治疗方法

2 组患者均进行常规浸浴治疗(隔日 1 次),浸浴结束后创面给予清创,外涂莫匹罗星软膏,再用单层凡士林油纱布覆盖,外以多层干燥无菌纱布覆盖包扎,每日更换敷料 1 次。试验组在此基础上行窄谱红、蓝光局部照射治疗。

窄谱红、蓝光治疗采用深圳产 Carnation 88C 型一体式高能窄谱红、蓝光治疗仪(三光源)。红光波长范围为(640±10)nm,蓝光波长范围为(460±10)nm;光功率为红光≥60 W,蓝光≥60 W,功率可调;功率密度 300 mW/cm^2;光源治疗面积≥500 cm^2;工作模式为脉冲/连续;蓝光治疗剂量为≥45 J/cm^2,红光治疗剂量为≥65 J/cm^2。照射前要求患者戴好防护眼镜,照射前揭去创面外层敷料,仅留最内层的凡士林纱布,将仪器光源平面对准患者创面部位,垂直距离 15~20 cm,窄谱红光、蓝光同时照射 20 min,每日照射 2 次,连续治疗 14 d。

(三)评定指标

于治疗前和治疗 14 d 后测量 2 组患者的创面面积,计算创面愈合率,创面愈合率(%)=(治疗前创面面积-治疗后创面面积)/治疗前创面面积×100%。于治疗第 3、7、14 天窄谱红、蓝光治疗结束后采用疼痛数字评价量表(numerical rating scale,

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2016.11.006
作者单位:225000 扬州,扬州大学临床医学院烧伤整形科
通信作者:刘森,Email:xugun2004@126.com