

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.22.007

补肝肾腰方对于腰椎间盘突出退变模型组织中 bFGF、TGF- β 1、BMP-3 表达影响的实验研究 *

杨柏琦¹ 齐素兰^{1Δ} 马金叶² 郭中华¹ 史栋梁¹

(1 河南省中医院骨科一科 河南 郑州 450000; 2 河南省中医院老年病科 河南 郑州 450000)

摘要 目的:探讨补肝肾腰方对大鼠腰椎间盘突出退变模型中碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、骨形态发生蛋白-3(BMP-3)表达的影响。**方法:**取 SD 大鼠 90 只,随机分为正常对照组、假手术组、模型组、低、中、高剂量补肝肾腰方组,每组各 15 只,正常对照组不予处理,假手术组仅暴露椎间盘而不做椎间盘穿刺,余四组制备大鼠腰椎间盘突出退变模型,造模成功后,分别给予低、中、高剂量补肝肾腰方组低、中、高剂量补肝肾腰方药液灌胃;正常对照组、假手术组、模型组给予等量生理盐水灌胃,检测各组干预前、20 d 后、40 d 后椎间盘 TGF- β 1、bFGF mRNA 及 BMP-3 含量。**结果:**与正常对照组及假手术组相比,模型组及补肝肾腰方各剂量组干预前 TGF- β 1、bFGF mRNA 及 BMP-3 的表达均上升($P<0.05$),干预 20 d、40 d 后补肝肾腰方各剂量组 TGF- β 1、bFGF mRNA 及 BMP-3 的表达上升($P<0.05$)。与模型组相比,补肝肾腰方各剂量组干预前 TGF- β 1、bFGF mRNA 及 BMP-3 的含量未见明显变化($P>0.05$),干预 20 d 后补肝肾腰方各剂量组 TGF- β 1、bFGF mRNA 及 BMP-3 的表达均下降($P<0.05$),干预 40 d 后补肝肾腰方高剂量组与中剂量组 TGF- β 1、bFGF mRNA 及 BMP-3 的表达下降更为明显($P<0.05$),低剂量组中 TGF- β 1、bFGF mRNA 及 BMP-3 的表达也下降($P<0.05$)。干预 40 d 后补肝肾腰方高剂量组、中剂量组较低剂量组 TGF- β 1、bFGF mRNA 及 BMP-3 的表达下降更为明显($P<0.05$)。**结论:**补肝肾腰方能降低大鼠腰椎间盘突出退变模型中 bFGF、TGF- β 1、BMP-3 的表达,促使退变的椎间盘修复,且呈剂量依赖性。

关键词:补肝肾腰方;腰椎间盘突出退变;bFGF;TGF- β 1;BMP-3

中图分类号:R681.53;R243 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)22-4235-06

Experimental Study on the Effect of Bugan Jianyao Decoction on the Expression of bFGF, TGF- β 1 and BMP-3 in the Tissue of Lumbar Disc Degeneration Model*

YANG Bai-qi¹, QI Su-lan^{1Δ}, MA Jin-ye², GUO Zhong-hua¹, SHI Dong-liang¹

(1 First Department Orthopedics, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, 450000, China;

2 Department of Geriatrics, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan, 450000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of Bugan Jianyao Decoction on the expression of basic fibroblast growth factor (bFGF), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and bone morphogenetic protein-3 (BMP-3) in rat model of lumbar disc degeneration. **Methods:** A total of 90 SD rats were randomly divided into normal control group, sham operation group, model group, low, medium and high dose Bugan Jianyao Decoction groups, with 15 rats in each group. The normal control group was not treated. The sham operation group only exposed the intervertebral disc without intervertebral disc puncture. The remaining four groups prepared rat lumbar intervertebral disc degeneration model. After successful modeling, the low, medium and high doses of Bugan Jianyao Decoction groups were given low, medium and high doses of Bugan Jianyao Decoction by gavage. The normal control group, sham operation group and model group were given the same amount of normal saline. The contents of TGF- β 1, bFGF mRNA and BMP-3 in intervertebral disc were detected before intervention, 20 d, 40 d after intervention. **Results:** Compared with the normal control group and the sham operation group, the expression of TGF- β 1, bFGF mRNA and BMP-3 in the model group and each dose group of Bugan Jianyao Decoction increased before intervention ($P<0.05$). After 20 d and 40 d of intervention, the expression of TGF- β 1, bFGF mRNA and BMP-3 in each dose group of Bugan Jianyao Decoction increased($P<0.05$). Compared with the model group, there was no significant change in the content of TGF- β 1, bFGF mRNA and BMP-3 in each dose group of Bugan Jianyao Decoction before intervention ($P>0.05$). After 20 d of intervention, the expression of TGF- β 1, bFGF mRNA and BMP-3 in each dose group of Bugan Jianyao Decoction decreased ($P<0.05$). After 40 d of intervention, the expression of TGF- β 1, bFGF mRNA and BMP-3 in the high dose group and the middle dose group of Bugan Jianyao Decoction decreased more significantly ($P<0.05$). The expression of TGF- β 1, bFGF mRNA and BMP-3 in the low-dose group also

* 基金项目:2023 年度河南省中医药科学研究专项(2023ZY2097)

作者简介:杨柏琦(1995-),男,硕士,住院医师,研究方向:骨与关节疾病,E-mail: baiqi950703@163.com

Δ 通讯作者:齐素兰(1969-),女,本科,副主任医师,研究方向:骨与关节疾病,E-mail: qisulan888@163.com

(收稿日期:2023-05-10 接受日期:2023-05-31)

decreased ($P<0.05$). After 40 d of intervention, the expression of TGF- β 1, bFGF mRNA and BMP-3 in the high-dose group and the middle-dose group was significantly lower than that in the low-dose group ($P<0.05$). **Conclusion:** Bugan Jianyao Decoction can reduce the expression of bFGF, TGF- β 1 and BMP-3 in the model of lumbar intervertebral disc degeneration in rats, and promote the repair of degenerative intervertebral disc in a dose-dependent manner.

Key words: Bugan Jianyao decoction; Lumbar disc degeneration; bFGF; TGF- β 1; BMP-3

Chinese Library Classification(CLC): R681.53; R243 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)22-4235-06

前言

腰椎间盘突出性病变(LDDD)是骨科的常见病,是引起下腰痛和急性下肢神经根性疼痛的重要原因,此病病程长,病情反复发作,严重者可丧失劳动能力^[1]。LDDD 发病率逐年上升,给患者和社会带来一定负担,此病缺乏特异性的治疗措施,各种临床方法疗效参差不齐^[2]。祖国传统中医药对于此类疾患具有明显的治疗作用,临床研究显示补肝肾腰方可有效治疗 LDDD,其疗效确切^[3],但作用机制至今尚未被揭示。有研究显示, LDDD 是在多种因素共同作用下发生的,性别、年龄、遗传、环境、创伤、营养不足、炎症因子等均与 LDDD 发生息息相关^[4,5],但是具体影响因素及作用机制尚未清晰。近年来有研究显示,碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)因子与椎间盘的生长发育、修复及退变等过程密切相关^[6,8],其中骨形态发生蛋白-3(BMP-3)作为 TGF- β 的超家族成员,也在椎间盘的生长发育以及修复过程中发挥重要作用^[9-11]。基于此,本研究旨在探讨补肝肾腰方对大鼠腰椎间盘突出退变模型中 bFGF、TGF- β 1、BMP-3 表达的影响,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

(1)动物:5-6 月龄 SD 大鼠 90 只,均为雄性,体重 200~230 g,平均体重(216 ± 3.6)g,实验动物由河南中医药大学中药药科学院动物实验中心提供。(2)药物与试剂:补肝肾腰方药物组成:白芍药 30 g、熟地黄 25 g、当归 15 g、杜仲 15 g、川芎 12 g、炒酸枣仁 10 g、延胡索 10 g、全蝎 3 g、甘草 5 g、蜈蚣 1 条,由河南省中医院药房提供。荧光 PCR 板(Thermo Fisher Scientific 公司),TGF- β 1 免疫组织化学检测试剂(今品化学技术(上海)有限公司),BMP-3 酶联免疫试剂盒(武汉菲恩生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 药物制备 取补肝肾腰方 10 剂加水 4000 mL,先后煎煮 2 次,每次先武火煮 45 min,再文火煮 15 min,合并煎液,静置 24 h,离心过滤,取上清液后浓缩得药液约 600 mL,灌装灭菌后备用,生药浓度约 2.14 g/mL(中剂量组),低、高剂量组生药浓度分别稀释至 1.07 g/mL、4.28 g/mL。

1.2.2 动物分组与造模 在恒温恒湿环境下,将大鼠分笼喂养 10 d 后,按照体重进行排序,随机分为正常对照组、假手术组、模型组、低、中、高剂量补肝肾腰方组,每组各 15 只。正常对照组大鼠不做处理,假手术组大鼠仅手术暴露椎间盘,不做椎间盘穿刺,模型组、低、中、高剂量补肝肾腰方组大鼠行腰椎纤维环穿刺法,制备大鼠椎间盘退变模型^[12]。向 SD 大鼠腹腔注射 10%水合氯醛(按 3 mL/kg 的比例),大鼠角膜反射消失即为麻

醉成功,将麻醉后的大鼠背部脱毛备皮、清洁,俯卧位四肢固定于固定板,生理盐水清洗手术区域,约 2 cm $\times$ 4 cm,碘伏消毒铺巾。取右侧旁正中切口,纵行切开约 1.5~2.0 cm 的切口,皮肤拉钩,逐层钝性分离,在背肌与腹外斜肌之间剪开,平大鼠髂嵴水平于右前外侧方暴露 L4/5 椎间隙,执 20G 穿刺针,与脊柱矢状面呈 0°~60°,平行于软骨终板进针行全层穿刺(深度约为 2-3 mm)。成功后逐层缝合切口,关闭皮肤。两周后,脱颈处死后取出 L4/5 椎间盘组织,制作常规切片,染色后在光学显微镜下对比各组大鼠的椎间盘组织;观察到造模组均存在明显针刺现象,纤维环与髓核界限模糊,组织排列紊乱且炎症细胞浸润即判定大鼠椎间盘退变模型制备成功。术后大鼠饲养环境同术前,每日观察大鼠伤口有无感染、步态及进食情况等。

1.2.3 给药方案 正常对照组、假手术组以及模型组给予生理盐水灌胃,剂量为 1 mL/200 g,2 次/1d。参照不同动物等效剂量的折算系数^[13],计算各组大鼠补肝肾腰方灌胃剂量。分别给予低、中、高剂量补肝肾腰方组低、中、高剂量补肝肾腰方药液灌胃,其中低剂量为 1 mL/200 g(含生药 1.07 g),中剂量为 1 mL/200 g(含生药 2.14 g),高剂量为 1 mL/200 g(含生药 4.28 g),2 次/1d。连续 40 d。

1.3 观察指标

在造模成功后(即实验干预前)和 20 d 后、40 d 后,各组随机选取 5 只大鼠,水合氯醛腹腔麻醉后,完整取出 L4/5 椎间盘组织。分别用 10%浓度的甲醛溶液固定一部分腰椎间盘组织 24 h,清水持续冲洗 1 h 后,经过梯度乙醇脱水、二甲苯后透明、浸蜡、石蜡包埋后,用免疫组化法检测 TGF- β 1 的表达;分别取一部分腰椎间盘组织装入塑料管中,然后放置于冰上保存,随后及时将标本放入液氮中保存,根据试剂盒中的说明书进行 bFGF mRNA 的 PCR 检测;分别取一部分腰椎间盘组织装入塑料管中,-80℃ 保存。按照 BMP-3 酶联免疫试剂盒说明书进行 BMP-3 浓度的检测。

1.4 统计学方法

以 SPSS20.0 软件分析数据。符合正态分布且具备方差齐性计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验;等级资料采用秩和检验;检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠不同时间点 TGF- β 1 表达情况

正常对照组与假手术组相比,干预前、20 d、40 d 后两组椎间盘组织中 TGF- β 1 表达未见差异($P>0.05$)。与正常对照组及假手术组相比,模型组及补肝肾腰方各剂量组干预前 TGF- β 1

的表达均上升($P<0.05$),干预 20 d、40 d 后补肝肾腰方各剂量组 TGF- $\beta 1$ 的表达上升($P<0.05$)。与模型组相比,补肝肾腰方各剂量组干预前 TGF- $\beta 1$ 的含量未见差异($P>0.05$),干预 20 d 后补肝肾腰方各剂量组 TGF- β 的表达均下降($P<0.05$),干预 40 d 后补肝肾腰方高剂量组与中剂量组 TGF- $\beta 1$ 的表达下降更为明显($P<0.01$),而低剂量组 TGF- $\beta 1$ 表达也下降($P<0.05$)。补

肝肾腰组之间相比,干预前、20 d 后补肝肾腰方各剂量组之间的 TGF- $\beta 1$ 表达含量未见差异($P>0.05$),干预 40 d 后补肝肾腰方高剂量组、中剂量组较低剂量组 TGF- $\beta 1$ 的表达下降更为明显($P<0.05$),而高剂量组与中剂量组两组间未见差异($P>0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 各组大鼠不同时间点 TGF- $\beta 1$ 表达情况($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Expression of TGF- $\beta 1$ in each group at different time points($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Before intervention	20 d after intervention	40 d after intervention
Normal control group	5	11.51 $\pm$ 0.17	11.54 $\pm$ 0.16 ⁱ	11.57 $\pm$ 0.14 ⁱ
Sham operation group	5	11.49 $\pm$ 0.12 ^a	11.58 $\pm$ 0.14 ^a	11.64 $\pm$ 0.22 ^a
Model group	5	19.93 $\pm$ 0.17 ^b	21.74 $\pm$ 0.37 ^{ck}	23.68 $\pm$ 0.42 ^{cs}
Low-dose Bugan Jianyao Decoction group	5	19.84 $\pm$ 0.15 ^{bde}	18.58 $\pm$ 0.35 ^{cegy}	17.06 $\pm$ 0.28 ^{cy}
Medium-dose Bugan Jianyao Decoction group	5	19.74 $\pm$ 0.24 ^{bde}	18.37 $\pm$ 0.26 ^{cegy}	15.57 $\pm$ 0.29 ^{efhz}
High-dose Bugan Jianyao Decoction group	5	19.75 $\pm$ 0.31 ^{bde}	18.39 $\pm$ 0.34 ^{cegy}	15.51 $\pm$ 0.30 ^{efhz}
F value		9037.036	10749.279	12948.108
P value		0.000	0.000	0.000

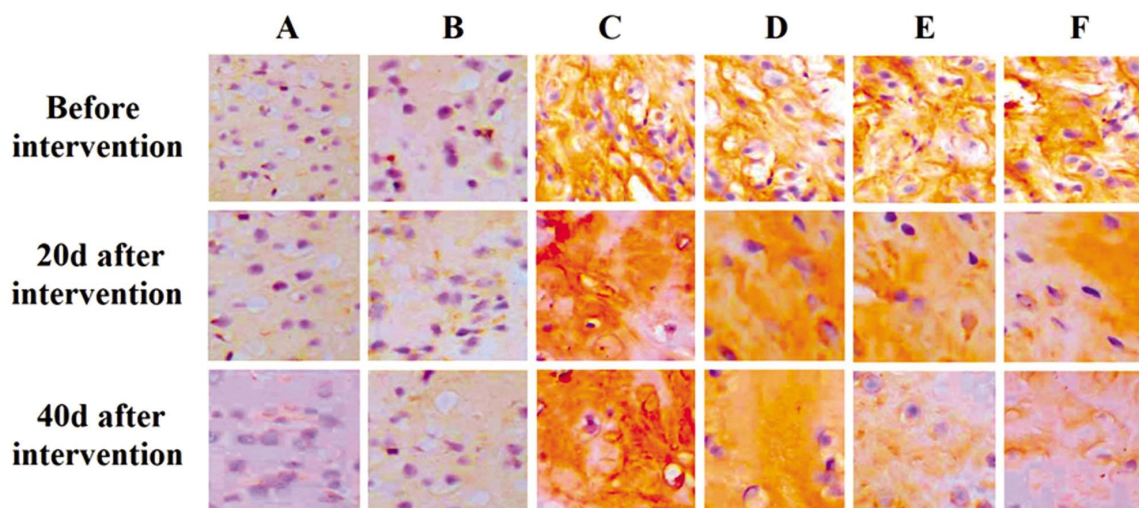


图 1 各组大鼠腰椎间盘 TGF- $\beta 1$ 表达的免疫组化图($\times 200$)

Fig.1 Immunohistochemistry of TGF- $\beta 1$ expression in lumbar intervertebral disc of rats in each group($\times 200$)

Note: A: Normal control group; B: Sham operation group; C: Model group; D: Low-dose Bugan Jianyao Decoction group; E: Medium-dose Bugan Jianyao Decoction group; F: High-dose Bugan Jianyao Decoction group.

2.2 各组大鼠不同时间点 bFGF mRNA 表达情况

正常对照组与假手术组相比,干预前、20 d、40 d 后两组椎间盘组织中 bFGF mRNA 表达未见差异($P>0.05$)。与正常对照组及假手术组相比,模型组及补肝肾腰方各剂量组干预前 bFGF mRNA 的表达均上升($P<0.05$),干预 20 d、40 d 后补肝肾腰方各剂量组 bFGF mRNA 的表达上升($P<0.05$)。与模型组相比,补肝肾腰方各剂量组干预前 bFGF mRNA 含量未见差异($P>0.05$),20 d 后补肝肾腰方各剂量组 bFGF mRNA 的表达均下降($P<0.05$),干预 40 d 后补肝肾腰方高剂量组与中剂量组 bFGF mRNA 的表达下降更为明显($P<0.01$),而低剂量组 bFGF mRNA 表达也下降($P<0.05$)。补肝肾腰组之间相比,干预前、20 d 后补肝肾腰方各剂量组之间的 bFGF mRNA 表达含

量未见差异($P>0.05$),干预 40 d 后补肝肾腰方高剂量组、中剂量组较低剂量组 bFGF mRNA 的表达下降更为明显($P<0.05$),而高剂量组与中剂量组两组间未见差异($P>0.05$)。见表 2、图 2、图 3。

2.3 各组大鼠不同时间点 BMP-3 表达情况

正常对照组与假手术组相比,干预前、20 d、40 d 后两组椎间盘组织中 BMP-3 的表达未见差异($P>0.05$)。与正常对照组及假手术组相比,模型组及补肝肾腰方各剂量组干预前 BMP-3 的表达均上升($P<0.05$),干预 20 d、40 d 后补肝肾腰方各剂量组 BMP-3 的表达上升($P<0.05$)。与模型组相比,补肝肾腰方各剂量组干预前 BMP-3 的未见差异($P>0.05$),干预 20 d 后补肝肾腰方各剂量组 BMP-3 的表达均下降($P<0.05$),干预 40 d 后补

肝健腰方高剂量组与中剂量组 BMP-3 的表达下降更为明显 ($P<0.01$), 而低剂量组 BMP-3 表达也下降 ($P<0.05$)。补肝健腰组之间相比, 干预前、20 d 后补肝健腰方各剂量组之间的 BMP-3 表达未见差异 ($P>0.05$), 干预 40 d 后补肝健腰方高剂量组、中剂量组较低剂量组 BMP-3 的表达下降更为明显 ($P<0.05$), 而高剂量组与中剂量组两组间未见差异 ($P>0.05$)。见表3。

表 2 各组大鼠不同时间点 bFGF mRNA 表达情况($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Expression of bFGF mRNA in each group at different time points ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Before intervention	20 d after intervention	40 d after intervention
Normal control group	5	1.72 $\pm$ 0.26	1.76 $\pm$ 0.31 ⁱ	1.71 $\pm$ 0.14 ⁱ
Sham operation group	5	1.79 $\pm$ 0.15 ^a	1.81 $\pm$ 0.42 ^a	1.77 $\pm$ 0.26 ^a
Model group	5	2.73 $\pm$ 0.21 ^b	3.79 $\pm$ 0.23 ^{ck}	4.97 $\pm$ 0.31 ^{cx}
Low-dose Bugar Jianyao Decoction group	5	2.81 $\pm$ 0.35 ^{bdg}	2.47 $\pm$ 0.41 ^{cegy}	2.39 $\pm$ 0.34 ^{cy}
Medium-dose Bugar Jianyao Decoction group	5	2.78 $\pm$ 0.13 ^{bdg}	2.39 $\pm$ 0.37 ^{cegy}	2.16 $\pm$ 0.36 ^{efhz}
High-dose Bugar Jianyao Decoction group	5	2.86 $\pm$ 0.28 ^{bdg}	2.45 $\pm$ 0.13 ^{cegy}	2.11 $\pm$ 0.22 ^{efhz}
F value		13756.138	12078.306	15719.085
P value		0.000	0.000	0.000

Note: Compared with the normal control group, $P_a>0.05$, $P_b<0.01$; Compared with sham operation group, $P_c<0.05$; Compared with model group, $P_d>0.05$, $P_e<0.05$, $P_f<0.01$; Pairwise comparison between each group of Bugar Jianyao Decoction, $P_g>0.05$, $P_h<0.05$; Compared with before intervention within each group, $P_i>0.05$, $P_k<0.05$, $P_x<0.01$, $P_y<0.05$, $P_z<0.01$.

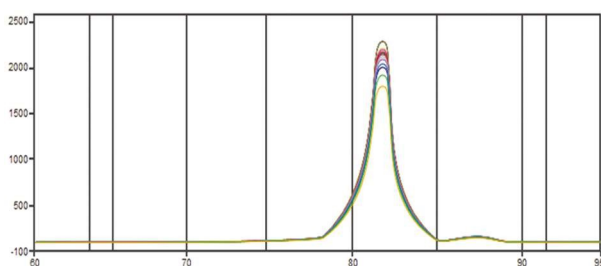


图 2 bFGF mRNA 溶解曲线图
Fig.2 bFGF mRNA dissolution curve

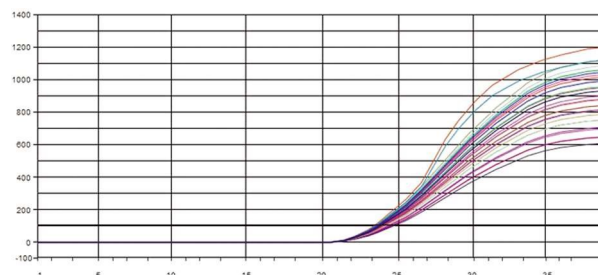


图 3 bFGF mRNA 扩张曲线图
Fig.3 bFGF mRNA expansion curve

表 3 各组大鼠不同时间点 BMP-3 表达情况($\bar{x} \pm s$, %)

Table 3 Expression of BMP-3 in each group at different time points ($\bar{x} \pm s$, %)

Groups	n	Before intervention	20 d after intervention	40 d after intervention
Normal control group	5	1.27 $\pm$ 0.19	1.23 $\pm$ 0.23 ⁱ	1.30 $\pm$ 0.12 ⁱ
Sham operation group	5	1.26 $\pm$ 0.31 ^a	1.23 $\pm$ 0.27 ^a	1.24 $\pm$ 0.34 ^a
Model group	5	3.49 $\pm$ 0.28 ^b	4.17 $\pm$ 0.16 ^{ck}	5.97 $\pm$ 0.32 ^{cx}
Low-dose Bugar Jianyao Decoction group	5	3.51 $\pm$ 0.18 ^{bdg}	3.10 $\pm$ 0.16 ^{cegy}	2.89 $\pm$ 0.35 ^{cy}
Medium-dose Bugar Jianyao Decoction group	5	3.37 $\pm$ 0.26 ^{bdg}	3.08 $\pm$ 0.30 ^{cegy}	2.14 $\pm$ 0.28 ^{efhz}
High-dose Bugar Jianyao Decoction group	5	3.46 $\pm$ 0.17 ^{bdg}	3.12 $\pm$ 0.27 ^{cegy}	2.08 $\pm$ 0.22 ^{efhz}
F value		14176.048	15517.247	20718.017
P value		0.000	0.000	0.000

Note: Compared with the normal control group, $P_a>0.05$, $P_b<0.01$; Compared with sham operation group, $P_c<0.05$; Compared with model group, $P_d>0.05$, $P_e<0.05$, $P_f<0.01$; Pairwise comparison between each group of Bugar Jianyao Decoction, $P_g>0.05$, $P_h<0.05$; Compared with before intervention within each group, $P_i>0.05$, $P_k<0.05$, $P_x<0.01$, $P_y<0.05$, $P_z<0.01$.

3 讨论

LDDD 是由于年龄、负重、遗传、炎性因子等多种因素造成的, 病理机制复杂, 表现为椎间盘的退行性变, 甚至突出、脱垂, 以及关节突的关节软骨与韧带的退行性改变^[14-16]。补肝健腰方

的提出者仇湘中教授认为腰椎间盘突出是由 "肝虚络痹" 导致, 因此提出 "补肝通络" 的观点, 其通过多项实验表明, 补肝健腰方可以较好的修复椎间盘退变, 起到镇痛、抗炎的作用^[3,17,18]。该方中熟地黄滋阴补血; 白芍敛阴以养血; 当归补血且活血, 肝主藏血, 三药合用以达到养肝血的目的; 川芎行气活

血,与上3味药合用,补血活血,补而不腻;杜仲补益肝肾,强壮腰膝;全蝎、蜈蚣通络止痛,两药合用增加镇痛之功;延胡索活血行气止痛;酸枣仁为引经之药;甘草调和诸药^[19]。

研究发现,炎症反应参与了LDDD的发生及进展,炎症反应可诱发椎间盘组织新生血管的长入,而炎症反应和血管增生可导致椎间盘基质的分解以及椎间盘细胞的凋亡,进而导致椎间盘结构和功能变化^[20,21]。作为与LDDD关系密切的NF- κ B信号通路,其在炎症反应及免疫调控方面发挥着重要作用,炎症因子TNF- α 、IL-1能够作为活化因子来激活经典NF-KB信号通路,诱导炎症-免疫反应,伴随着炎症-免疫反应的进展,椎间盘细胞逐渐凋亡、基质分解,正常组织丧失^[22,23]。多项实验表明TGF- β 1、bFGF因子与椎间盘的生长以及修复密切相关,具有双向调节的作用^[24,25]。TGF- β 1是分化后的TGF- β 超家族的一员,TGF- β 超家族属于信号分子,具有各种各样的调节功能,在正常细胞外基质合成中扮演着重要的作用;其不仅可促进骨的吸收与合成,也可以促进椎间盘软骨细胞再生、抑制髓核细胞凋亡,调控炎症因子,从而延缓椎间盘退变^[26-28]。作为纤维细胞生长因子家族中的一员,bFGF可促进体外培养的软骨细胞增生和基质合成,由软骨细胞分泌的基质金属蛋白酶增加,促进椎间盘的基质降解导致椎间盘发生退变^[29],而有实验证明向椎间盘内注射bFGF能减少椎间盘形态结构的破坏,保持髓核内常髓核细胞核II型胶原的含量,使髓核处于富水状态^[30]。BMPs属于TGF- β 的超家族成员,是一组具有类似结构高度保守的功能蛋白^[31],多项相关研究得出BMPs在骨骼的生长发育以及损伤后修复过程中发挥重要作用,还参与调控多种组织细胞生长发育以及凋亡、迁移、侵袭的过程^[32,33]。本实验结果显示,低剂量组、中剂量组及高剂量组大鼠椎间盘组织中的bFGF、TGF- β 1、BMP-3含量明显表达上升,表明bFGF、TGF- β 1、BMP-3参与了椎间盘退变的进展。而正常对照组与假手术组TGF- β 1、bFGF mRNA、BMP3的表达始终未见差异($P>0.05$);模型组、补肝肾腰方各剂量组在补肝肾腰方干预前,椎间盘退变组织中TGF- β 1、bFGF mRNA、BMP3的表达明显上升;补肝肾腰方各剂量组在补肝肾腰方干预后,TGF- β 1、bFGF mRNA、BMP3的表达较模型组下降,尤其高、中剂量组在40d时较前明显下降。提示补肝肾腰方可能通过下调TGF- β 1、bFGF、BMP-3的表达,起到对腰椎间盘的修复作用,且高、中剂量补肝肾腰方作用更为明显。

综上所述,TGF- β 1、bFGF、BMP-3的异常表达与LDDD疾病进展关系密切,补肝肾腰方可促使TGF- β 1、bFGF、BMP-3的表达下调,具有修复退变椎间盘的作用,且呈剂量依赖性。

参考文献(References)

- [1] Mohd Isa IL, Teoh SL, Mohd Nor NH, et al. Discogenic Low Back Pain: Anatomy, Pathophysiology and Treatments of Intervertebral Disc Degeneration[J]. Int J Mol Sci, 2022, 24(1): 208
- [2] 孙凯,朱立国,魏戌,等. 中药复方及单体成分延缓椎间盘退行性病变的作用机制研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(9): 2400-2408
- [3] 仇湘中,蒋盛昶,张信成,等. 补肝肾腰方治疗腰椎间盘突出症疗效及对血清TNF- α 的影响[J]. 中医药导报, 2015, 21(14): 35-37
- [4] 廖鹏,郭静如. 腰椎间盘突出症的病理生理及椎间盘退变的影响因素[J]. 中国运动医学杂志, 2002, 21(4): 413-417
- [5] Qiu MG, Zhou SG, Lin SS, et al. Early effect of standalone oblique lateral interbody fusion vs. combined with lateral screw fixation of the vertebral body on single-level lumbar degenerative disc disease: A pilot study[J]. J Back Musculoskelet Rehabil, 2023, 36(3): 709-719
- [6] 蒋盛昶,邓咪朗,仇湘中,等. 不同剂量补肝肾腰方对大鼠腰椎间盘退变组织bFGF mRNA表达的影响[J]. 湖南中医杂志, 2021, 37(3): 166-168
- [7] 冯帅华,刘仁,吴官保,等. 补肾活血汤对D-半乳糖致腰椎间盘退变大鼠模型IL-1 β 、TGF- β 1表达的影响[J]. 中医导报, 2018, 24(4): 11-13, 17
- [8] Xiao L, Gao D, Zhang Y, et al. Codelivery of TGF- β 1 and anti-miR-141 by PLGA microspheres inhibits progression of intervertebral disc degeneration[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1): 17
- [9] Hingert D, Barreto Henriksson H, et al. BMP-3 Promotes Matrix Production in Co-cultured Stem Cells and Disc Cells from Low Back Pain Patients[J]. Tissue Eng Part A, 2020, 26(1-2): 47-56
- [10] Venkatesan JK, Schmitt G, Speicher-Mentges S, et al. Effects of Recombinant Adeno-Associated Virus-Mediated Overexpression of Bone Morphogenetic Protein 3 on the Chondrogenic Fate of Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal Cells [J]. Hum Gene Ther, 2022, 33(17-18): 950-958
- [11] Zeng HB, Dong LQ, Huang YL, et al. USF2 reduces BMP3 expression via transcriptional activation of miR-34a, thus promoting osteogenic differentiation of BMSCs [J]. J Bone Miner Metab, 2021, 39(6): 997-1008
- [12] 张震,刘海全,林一峰,等. 补肾壮督散水煎液对大鼠腰椎间盘退变的影响及其机制[J]. 山东医药, 2017, 57(16): 33-35
- [13] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学(第四版)[M]人民卫生出版社, 2010: 1698
- [14] Li R, Zhang W, Xu Y, et al. Vertebral endplate defects are associated with bone mineral density in lumbar degenerative disc disease[J]. Eur Spine J, 2022, 31(11): 2935-2942
- [15] Wu J, Chen Z, Wang H, et al. The Influence of Roussouly Type on the Prevalence, Subtype, and Distribution Characteristics of Modic Changes in Patients with Lumbar Degenerative Disc Disease [J]. World Neurosurg, 2023, 169: e102-e109
- [16] Biczko A, Bereczki F, Koch K, et al. Genetic variants of interleukin 1B and 6 are associated with clinical outcome of surgically treated lumbar degenerative disc disease [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2022, 23(1): 774
- [17] 袁清照,胥莺,杨莹,等. 名老中医仇湘中验方补肝肾腰方的制剂研究[J]. 湖南中医杂志, 2022, 38(3): 175-179
- [18] 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
- [19] 陈云鹏,杨利学,李智彬,等. 补益肝肾法干预椎间盘退变的基础研究进展[J]. 河北中医, 2020, 42(5): 796-800
- [20] Gong Y, Qiu J, Jiang T, et al. Maltol ameliorates intervertebral disc degeneration through inhibiting PI3K/AKT/NF- κ B pathway and regulating NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis [J]. Inflammopharmacology, 2023, 31(1): 369-384
- [21] Jia J, Nie L, Liu Y. Butyrate alleviates inflammatory response and NF- κ B activation in human degenerated intervertebral disc tissues[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 78: 106004

- [22] 陈敏,赵凯,王娟,等. 骨碎补总黄酮抑制 NF- κ B 信号通路干预大鼠椎间盘退变[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(17): 2654-2659
- [23] 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
- [24] 吴红,王岚,杨玉涛,等. TGF- β 1/Smad2/3 信号通路在椎间盘退变中的作用[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(9): 4236-4240
- [25] 方明,王兴武. Notch 1 信号通路调节成骨因子影响腰椎间盘钙化机制研究[J]. 中国骨伤, 2023, 36(5): 473-479
- [26] Pan D, Zhang Z, Chen D, et al. Morphological Alteration and TGF- β 1 Expression in Multifidus with Lumbar Disc Herniation [J]. Indian J Orthop, 2020, 54(1): 141-149
- [27] 杨振,马允,刘颖杰,等. 针刺八髎穴联合推拿对腰椎间盘突出症患者免疫功能及血清 MMP-3、TGF- β 1、PGE2 水平的影响[J]. 吉林中医药, 2021, 41(5): 685-688
- [28] 曹泰辉,赵静,原野,等. p-P38MAPK 与 TGF- β 1 在腰椎间盘退变组织中的表达研究 [J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2016, 19(10): 1410-1413
- [29] 潘媚,朱义芳,巫娟. 血管内皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子在腰椎间盘突出组织中的表达及意义 [J]. 贵州医科大学学报, 2022, 47(8): 887-891
- [30] 孙焱,李大鹏,黄永辉. 椎间盘内注射碱性成纤维细胞生长因子对大鼠腰椎间盘针刺退变的预防作用 [J]. 江苏大学学报 (医学版), 2013, 23(2): 103-107
- [31] Cunningham ME, Kelly NH, Rawlins BA, et al. Lumbar spine intervertebral disc gene delivery of BMPs induces anterior spine fusion in lewis rats[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 16847
- [32] 郭圣峰,孙立. 骨生长因子在骨修复中的研究进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(1): 173-177
- [33] 朱文潇,王向阳,刘永辉,等. 平乐三七接骨丸对桡骨骨折兔模型转化生长因子 - β / 骨形态发生蛋白信号通路表达的影响 [J]. 陕西中医, 2022, 43(9): 1175-1179

(上接第 4328 页)

- [17] 朱红恩. 少腹逐瘀汤配合针灸治疗子宫内位症痛经 39 例[J]. 河南中医, 2016, 36(2): 331-332
- [18] Sun Y, Wang Q, Wang M, et al. CHIP induces ubiquitination and degradation of HMGB1 to regulate glycolysis in ovarian endometriosis[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 80(1): 13
- [19] 高巍,张莉,翟丽丽,等. IL-6、TNF- α 、VEGF、MCP-1 因子在子宫内位症患者血清中的表达及临床意义 [J]. 宁夏医科大学学报, 2016, 38(6): 696-698
- [20] Machairiotis N, Vasilakaki S, Thomakos N. Inflammatory Mediators and Pain in Endometriosis: A Systematic Review [J]. Biomedicines, 2021, 9(1): 54
- [21] 张腾飞,茅菲,赵建龙. 少腹逐瘀汤治疗子宫内位症对患者子宫内位受容性及血清 RBP4、HMGB1、MCP-1、RANTES 的影响[J]. 中药材, 2021, 44(1): 210-214
- [22] 毛海燕,陈元欢,武权生,等. 加味少腹逐瘀汤对子宫内位症寒凝血瘀证盆腔疼痛神经血管生成的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(12): 141-147
- [23] 吴修红,杨恩龙,杨新鸣,等. 少腹逐瘀汤对寒凝血瘀型子宫内位症大鼠激素及其受体的影响 [J]. 中药材, 2015, 38(6): 1251-1253
- [24] 梁家仪,李长东,张为远. Wnt/ β -连环蛋白信号通路的激活 / 抑制对小鼠在位子宫内位及子宫内位症模型的影响[J]. 中华医学杂志, 2012, 92(19): 1352-1356
- [25] 耿杨柳,冉鹏宁,徐香. Wnt/ β -catenin 通路抑制剂 Wnt-C59 抑制子宫内位症子宫内位干细胞的增殖 [J]. 中南医学科学杂志, 2022, 50(2): 194-197
- [26] 凌静,甄玉花,张明子,等. Wnt/ β -catenin 通路调控子宫内位症、子宫腺肌病上皮间质转化和中药干预策略及机制[J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(15): 2181-2186
- [27] 刘儒彪,刘义,于岚,等. 靶向 siRNA 阻断 Wnt/ β -catenin 信号通路对子宫内位症患者在位子宫内位基质细胞 VEGF、MMP-9 表达的影响[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2016, 45(1): 6-11, 26