



中国疼痛医学杂志

CHINESE JOURNAL OF PAIN MEDICINE

1995年创刊

月刊

第21卷

第1期

2015年1月15日出版

主 管

中华人民共和国教育部

主 办

北京大学 中华医学会疼痛学分会

主 编

韩济生

常务副主编

樊碧发

编辑部主任

肖 军

编辑、出版

中国疼痛医学杂志编辑部

地址：北京市海淀区学院路38号

北京大学医学部

邮编：100191

电话：(010) 82801712 82801705

传真：(010) 82801712

电邮：pain1712@126.com

网址：http://casp.ijournals.cn

广告经营许可证号

京海工商广字第0299号

印 刷

北京市北方华天彩色印刷有限公司

发 行

国内：北京报刊发行局

邮发代号：82-832

订 购

全国各地邮电局

定 价

每册15.00元

中国标准连续出版物号

ISSN 1006-9852

CN 11-3741/R

如有印刷质量问题，请向

本刊编辑部调换

目 次

卷首语

主编寄语 韩济生(1)

特约综述

慢性疼痛的研究模型、外周和脊髓机制及

临床治疗进展 宋 莉 宋学军(2)

国外医学动态

证实癌症患者存在神经病理性疼痛：NeuPSIG 分级系统在

临床实践和临床研究中的应用(8)

论 著

cAMP-PKA 信号通路介导大鼠骨癌痛的

产生和维持 贺端端 郭向阳(10)

脊髓背角 P2Y₁₂ 受体 /P38MAPK 参与 MRS2395 对

CCI 大鼠的镇痛作用 曾俊伟 刘晓红 蒋 慧等(15)

神经病理性疼痛引起成年大鼠空间记忆损害和内侧面额叶的

NMDA 受体 NR2B 亚基下调表达 刘树珍 于剑锋(21)

α_2 肾上腺素受体在神经病理性疼痛大鼠脊髓

背角中的表达 周俊飞 蔡 捷 姜 红等(28)

星形胶质细胞在降钙素中枢镇痛机制中的

作用 李海英 肖 智 李树法等(33)

半月神经节高电压脉冲射频治疗原发性三叉神经痛的

疗效 申 颖 孟 岚 王 涛等(38)

CT 引导经黄韧带颈后路注射臭氧联合胶原酶治疗

颈椎间盘突出症的疗效分析 赵家贵 朱本藩 宋 阳等(43)

不同方法臂丛神经阻滞手法松解治疗粘连性

肩关节炎的临床研究 高飞宇 支满霞(47)

综 述

一种疼痛调控的新手段：经颅直流电

刺激 王 静 万 有 李小俚(51)



星状神经节阻滞技术的临床应用 卢光 易晓斌 陶蔚等 (56)

人体痛阈测定方法及其应用研究进展 毕海金 吴国程 陈红云等 (60)

腰椎间盘突出症动物模型的研究进展 李慧莹 单志婧 翟志超等 (64)

科研简报

颈脊神经联合副神经阻滞治疗痉挛性斜颈 王志剑 张达颖 张学学 (67)

背根神经节射频热凝对老年带状疱疹后遗神经痛疗效的影响 金文哲 任婷婷 李仁淑等 (69)

多点射频联合臭氧注射治疗颈椎间盘突出症的疗效观察 王晓英 魏辉 陈红帆等 (72)

临床病例报告

三叉神经痛温控射频热凝术后化脓性脑膜炎治疗体会 张飞娥 徐灵军 (74)

塞来昔布与普瑞巴林以递增剂量联合治疗膝骨性关节炎疼痛的临床效果 柯雪茹 雷波 方锐等 (75)

体位复位经皮椎体后凸成形术治疗骨质疏松性椎体骨折 于珂 沈红卫 (77)

复方苦参注射液联合硫酸吗啡缓释片治疗中重度癌痛的临床观察 元建华 赵清梅 廖燕等 (79)

国际译文

延髓头端腹内侧区的 P2X7 受体参与骨癌痛：下行易化机制 (9)

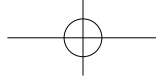
消息

疼痛科建设高峰论坛通知 (42)

内镜与微创脊柱技术国际研讨会会议通知 (55)

欢迎广大读者参与评审“韩济生疼痛医学论文奖” (71)

封面图采用自本期第 56 页
本期责任编辑 樊碧发 李勇杰



CHINESE JOURNAL OF PAIN MEDICINE

Monthly Started in 1995 Volume 21 , Number 1 Jan. 15 , 2015

Responsible Institution

Ministry of Education P . R . C

Sponsors

Peking University

Society for Pain Medicine, Chinese

Medical Association

Editor-in-Chief

HAN Ji-Sheng

Executive Editor-in-chief

FAN Bi-Fa

Managing Director

XIAO Jun

Editing

Editorial Board of Chinese Journal
of Pain Medicine

38 Xue Yuan Road, Haidian District,
Beijing 100191

Tel: (010) 82801712 82801705

Fax: (010) 82801712

E-mail: pain1712@126.com

http: // casp. ijournals. cn

Printing

Beijing Northern Huatian color Printing
limited company

Distributor

Beijing Newspapers and Periodicals
Bureau

No: 82 - 832

Mail-order

Post office all over the country

Price

RMB 15.00 Yuan (domestic)

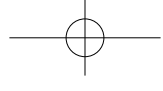
CSSN

ISSN 1006 - 9852

CN 11 - 3741/R

Contents in Brief

- Activation of cAMP-PKA signaling pathway contributes to induction and maintenance of bone cancer pain**
HE Duan-Duan, GUO Xiang-Yang.....(10)
- P2Y₁₂ receptor/P38MAPK in spinal dorsal horn are involved in analgesia of neuropathic pain by MRS2395**
ZENG Jun-Wei, LIU Xiao-Hong, JIANG Hui, et al.....(15)
- Neuropathic pain induces spatial memory impairment and low expression of NMDA receptor NR2B subunit in medial prefrontal cortex in adult rats**
LIU Shu-Zhen, YU Jian-Feng(21)
- Expression of Alpha 2 adrenergic receptor subtypes in dorsal horn neurons of rats under neuropathic pain conditions**
ZHOU Jun-Fei, CAI Jie, JIANG Hong, et al.....(28)
- Role of astrocyte in calcitonin supraspinal mechanism of analgesic action**
LI Hai-Ying, XIAO Zhi, LI Shu-Fa, et al.....(33)
- The clinical efficacy of high-voltage pulsed radiofrequency on Gasserian ganglion for treating idiopathic trigeminal neuralgia**
SHEN Ying, MENG Lan, WANG Tao, et al(38)
- The efficacy of treatment of cervical disc herniation by posterior ligament flava injection of ozone and collagenase under CT-guidance**
ZHAO Jia-Gui, ZHU Ben-Fan, SONG Yang, et al(43)
- Clinical study of manipulation releasing scapulohumeral periarthritis under brachial plexus block with different medicines**
GAO Fei-Yu, ZHI Man-Xia.....(47)



《中国疼痛医学杂志》征稿简则

《中国疼痛医学杂志》(Chinese Journal of Pain Medicine)由北京大学、中华医学会疼痛学会主办,中国科学院韩济生院士担任主编。本刊报道有关疼痛学科基础和临床的研究性质的文章。主要读者对象是:国内临床各疼痛相关科室的医务人员和从事疼痛医学基础研究、教学的工作者。本刊的宗旨是:根据“基础与临床结合、普及与提高并重”的原则,通过报道有关疼痛学科基础与临床研究的最新进展,促进我国疼痛医学的健康发展以及与国际相关学术团体和单位的合作与交流。本刊设有专题论坛、论著、国外医学动态、综述、科研简报、临床病例报告、国际译文等栏目。主要刊登未公开发表过的研究论文、专题讲座,以及与疼痛相关的“医、教、研结合”的工作介绍、学术交流及学术会议情况等(含国际疼痛杂志论文的节译文)。本刊现为中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、中国中文核心期刊、中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊收录。

一、写作要求

1. 论著:主要刊登疼痛学领域具有创新性、高水平的基础和临床实验研究性论文。全文不超过5400字,内容包括:题目(不超过25个汉字)、中文摘要(结构为:目的、方法、结果、结论;300字以内)及相应的英文摘要、关键词、正文、图表、致谢和参考文献(一般不超过15篇)。作者英文名用汉语拼音,姓全部大写,名的首字母大写(字间用连字符连接,如ZHOU Xiao-Hong);单位(列第一作者及通讯作者单位)英文名用英译名,城市用汉语拼音,并注明邮政编码;关键词3~5个,各词间用“;”隔开。

正文包括:①前言 应说明本文的起源:简要回顾本文所关注的科学问题的历史,并在此基础上逻辑性地提出本文要解决的问题及其新意;需引用参考文献,尤其是近2~3年内的研究成果。②方法 详细描述实验设计方法、样本(病例)的纳入及排除标准和方法、实验过程及数据采集方法、统计学处理方法(数据描述要合理,方法选择要得当)。常规实验方法从简,改进处及新方法需详述;动物和试剂、药品及测试仪器应注明品种、型号及来源。③结果 语言描述力求简洁,重点突出;图表力求自明。④讨论 应以本文研究的结果为主线,从正反两方面充分整合与本文主题相关的文献,进行科学分析与推理,向读者展示本文的意义和局限(及可能的研究方向);切忌简单罗列各种实验结果,或讨论与结果不相干的内容。

其他:①图和表 图表题目、内容及注释用中、英文表达;其设计要简洁、自明、美观;照片图须清晰,形态学照片标尺标在右下角,局部特指应在图中用箭头指出,一图多幅要在左上角标明A、B、C、D;只用三线表表达统计学描述与推断结果(非原始数据)。②致谢 含对给予本研究帮助的人士表示谢意以及资助基金来源(并注明项目批号)。③参考文献 主要引用近期文献(2~3年内)和重要文献。期刊格式为:序号,作者[列前3人,以逗号分隔,多于3人加“等”(et al.)],文题,刊名,年,卷,起页~止页;书籍格式为:序号,作者,书名,版次,出版地,出版社,出版年,起页~止页。此外,文中提到某些作者的重要工作而限于文献条数不能正式引用时,可指出该工作发表的年份(如“Vogt等,1992”)。

2. 综述:总结某一领域中的重要研究成果,评论研究现状,着重于尚未解决的问题,分析未来发展方向,提出今后的工作目标。叙述性综述的写作时尽量减少由于作者偏好所产生的选择性偏倚。

3. 科研简报:简要报道疼痛领域的最新科研成果(3600字以内,包括图表)。

4. 临床病例报告:详细介绍疼痛临床中少见病例的诊疗过程;以及对临床常见病例的诊疗新方法;简要介绍疼痛临床中的规范治疗(1800字以内)。

二、投稿要求

来稿请署真实姓名、工作单位、职称;附单位介绍信(须注明未“一稿两投”、署名无争议、对文章内容的真实性负责、无泄密内容)。投稿时请注明通讯作者、提供基金资助信息,以及通讯地址、邮编、联系电话、Email地址。稿件经评审未录用者,将及时通知作者,但原稿一律不退。稿件录用与否的信息查询(及在线电子投稿)请登录网址:<http://casp.ijournals.cn>。稿件录用刊登后,作者可获赠当期杂志2册。

编辑部地址:北京市海淀区学院路38号,北京大学医学部《中国疼痛医学杂志》编辑部,邮编100191。电话:010-82801712;传真:010-82801705;邮箱:pain1712@126.com;QQ群:222950859 微信公众平台微信号:pain1712。



doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.001

• 卷首语 •

主编寄语

韩济生

回顾刚刚辞去的 2014 年，我们欣喜地看到，在广大读者、作者和编者们的共同努力下，年初预定的目标已基本实现：

加快出版速度，增加每期版面：从编辑部收到稿件之日起，到作者得到编辑部初步答复为止，2014 年平均周期已缩短到 26 天。这一进展来自多个方面，主要是增加了每期的版面，由 64 页加至 80 页，已成为新的常态。其中第 4 期增至 96 页。总体发表论文数在以往基础上增加了 45 篇。

增加编审专家，提高出版质量：编辑部增加了编委中的新生力量，加强了编审队伍，这是加速出版流程的重要因素。编委们在忙碌工作中额外做出奉献，值得尊重和致敬！在多项改进中我们特别重视图表的质量，尽量达到“不解自明”，已收到一定效果。

加强读编联系，扩大杂志影响：在 2014 年发布的 2013 年中国科技期刊引证报告中，本刊影响因子又有提高（达到 1.42）。为继续扩大杂志影响，我们及时引入各种信息交流工具，加强与读者、作者的联系，如 QQ 群、微信公众平台等。

新年伊始，本刊将结束 20 年的办刊历程，开始进入第 21 卷，为此我们提出如下愿景：

- 1. 定格蓝色封面，加强图案设计：**以往我们采用每一季度一种封面色彩，提醒一个新的季度开始。通过征求意见，多数读者对蓝色情有独钟，这不仅是由于 2014 年“APEC 蓝”带给人们特殊的兴奋心情，也由于蓝色带给疼痛患者的安宁心态，我们很高兴接受了这个建议，蓝色封面将成为我们疼痛杂志的常态色调。至于蓝色背景上承载的每期不同的图案，通常是从本期发表论文已有的图中选用。我们愿借此机会向作者提出邀请：如果你的论文获得刊登通知，而你又有一些新的设想，也可以为此设计一些艺术图片，供编辑部选作封面参考。
- 2. 优化特约综述，增设指南规范：**2013 年开始的“特邀综述”，受到读者普遍欢迎，拟予保留，并扩大征稿范围，进一步提高其质量。今年还拟增加一个栏目，发表各项指南、共识或规范，希望相关专家与编辑部联系踊跃投稿。
- 3. 强调知己知彼，明确创新亮点：**在论文写作中一个基本要求，是在引言中说明进行这一研究的目的（社会需求或理论依据），现状（国内外文献），明确说出本文创新点。如无此内容，将不予入选。
- 4. 加强作编联系，增加优稿来源：**在 1995 年本刊创办初期我们就提出，疼痛医学是我国一个新兴学科，疼痛医学专业杂志不仅具有学术交流的主要职责，也有培养学术队伍的神圣使命。这一点至今尚有现实意义。每一篇论文从审稿到修改到接受，是编者与作者交流的漫长过程，作者与编者均可由此获得教益和提高。编辑部将适时举办学习班，使广大读者作者有机会分享这些宝贵经验。此外，2015 年首届中国疼痛医学杂志“韩济生疼痛医学论文奖”评奖活动即将实施，希望作者、读者踊跃参与，为促进我国疼痛医学学术发展、繁荣，提升《中国疼痛医学杂志》的知名度与国际影响力而努力。

以《中国疼痛医学杂志》为平台，展示我国疼痛医学的发展，百尺竿头更进一步，为民除痛事业大有可为！



doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.002

• 特约综述 •

慢性疼痛的研究模型、外周和脊髓机制及 临床治疗进展

宋莉^{1Δ} 宋学军^{2,3Δ}

(¹四川大学华西医院疼痛科, 成都 640041; ²北京大学神经科学研究所; ³北京大学医学部疼痛学中心, 北京 100191)

摘要 各种原因引起的慢性疼痛特别是神经病理性疼痛是最具挑战的临床医疗和公众健康问题, 给患者及其家庭乃至社会带来沉重的精神和经济负担。慢性疼痛治疗手段繁多但疗效却并不满意, 究其原因主要是对慢性疼痛的发生发展机制认识尚不足, 且已知的科研成果尚未转化为临床治疗手段。本文简要总结和讨论目前常用的研究神经病理性疼痛和炎性疼痛的动物模型、疼痛机制以及慢性疼痛的药物和非药物治疗措施等。

关键词 慢性疼痛; 动物模型; 神经机制; 临床治疗

慢性疼痛是威胁健康最主要的原因之一, 并且导致劳动能力的丧失。来自欧美国家的流行病学调查均显示, 成年人慢性疼痛的发生率可以高达 30% 左右^[1,2]。慢性疼痛还可伴随焦虑、抑郁以及饮食和睡眠障碍等, 严重影响疼痛患者的生活质量^[3], 给患者本人及其家庭和社会带来严重负担。本文将简述目前研究慢性疼痛(主要包括神经病理性疼痛和炎症性疼痛)常用的动物模型、慢性疼痛的发生发展机制, 以及慢性疼痛的药物和非药物治疗的相关研究进展。

一、研究神经病理性疼痛和炎症性疼痛的动物模型

对于慢性疼痛机制的研究多来自于动物模型, 因此复制与临床慢性疼痛高度一致的动物模型尤为重要。现将近年来常用的研究慢性疼痛动物模型简述如下:

1. 坐骨神经慢性压扎模型 (Chronic Constriction Injury, CCI)

Bennett 和 Xie 于 1988 年报道了 CCI 大鼠模型^[4], 该模型比较好地模拟了临床神经病理性疼痛的一些基本特征。该模型的广泛应用对促进神经病理性疼痛的研究起到了重要作用。CCI 模型的制作方法: 暴露出大鼠大腿中上 1/3 部位坐骨神经干, 用 4-0 羊肠线环绕神经干分别做 4 个轻度结扎环, 间距大约 1 mm, 结扎松紧度以引起小腿肌肉轻度收缩颤动反应为参考指标, 术后 3~5 天, 大鼠出现痛反应, 表现为对热刺激、冷刺激和机械性刺激的痛觉过敏以及自发痛, 但伤肢自噬现象较少。大鼠痛行为可

在 5~7 天达高峰, 持续 2 个月以上。动物对羊肠线特异性的免疫反应, 引起神经干肿胀, 出现神经压迫和部分神经干切断, 可能也是导致继发的神经病理性疼痛的原因之一。该模型在术后 2 周左右神经损伤远端的有髓鞘纤维几乎全部脱髓鞘, 但无髓鞘纤维完整。损伤近端神经纤维正常, 无背根神经节 (Dorsal root ganglion, DRG) 神经元死亡。

2. 脊神经结扎模型 (Spinal Nerve Ligation, SNL)

Kim 和 Chung 在 1992 年报道了 SNL 模型^[5], 其方法是在大鼠 L₄~S₁ 水平切取一侧椎旁肌肉, 切除 L₆ 横突, 分离 L₄~L₆ 脊神经, 用 3-0 丝线分别结扎 L₅ 和 L₆ 脊神经, 或仅结扎 L₅ 脊神经。术后大鼠可出现异常步态, 后肢轻度外翻、足趾紧收。术后 12~20 小时, 术侧后肢即可出现机械痛敏并持续 10 周左右, 热痛敏可在手术后 1 天出现, 术后 3 天已非常明显, 可持续 5 周左右。该模型的优点是结扎部位和结扎强度变异小, 个体差异仅来自于大鼠的生物学变异, 尽可能排除了实验误差, 脊髓损伤和非损伤节段完全分开, 有利于比较损伤和非损伤脊髓节段的初级传入是否及如何参与疼痛发生和持续慢性化的机制。但该模型制作相对复杂, 比较容易发生感染。

3. 糖尿病所致疼痛模型 (Diabetes-induced Pain)

Courteix 和 Eschalier 在 1994 年报道了糖尿病所致疼痛的大鼠模型^[6], 其方法是在大鼠腹腔内注射链尿佐菌素 (Streptozocin, 75 mg/kg), 4 周后测定大

Δ 通讯作者 song_li76@163.com; songxuejun@bjmu.edu.cn.

鼠尾静脉血的血糖浓度大于 14 mmol/L 为糖尿病模型成功, 4 周后大鼠可出现机械痛阈的下降。抗抑郁药物阿米替林、氯米帕明、地昔帕明以及可乐定、利多卡因可以缓解糖尿病所致疼痛, 但是阿司匹林和吗啡对于糖尿病所致疼痛无明显镇痛作用。

4. 背根神经节慢性压迫模型 (Chronic Compression of the Dorsal root ganglion, CCD)

Hu 和 Song 等在 1998 和 1999 年报道了 CCD 模型^[7,8], 其方法是金属棒 (L 型) 置于 L₄ 和 L₅ 椎间孔, 直接挤压椎间孔组织并压迫 DRG, 术后 1 天即出现明显痛行为, 表现为对机械和热刺激的痛觉过敏, 并伴有自发痛, 主要表现为术侧后肢的抬足舔足活动等, 无术侧肢体自噬现象, 大鼠痛行为持续 6 ~ 8 周左右。没有任何运动障碍和相应下肢足部变形、溃疡或畸形。CCD 模型的优点在于完全保留了外周初级神经传入和传出的功能, DRG 神经元胞体受直接持续压迫和炎症的刺激。这是一个直接损伤 DRG 胞体及其邻近组织的模型。这个模型较好地模拟了临床因为椎旁组织炎症和 / 或压迫造成的疼痛及其病理生理变化。

5. 背根神经部分切断模型 (Partial Dorsal Rhizotomy, PDR)

Song 等在 2003 年报道了 PDR 模型^[9], 其方法是在大鼠 T₁₂ ~ L₃ 做一纵行切口, 分离棘突和椎旁肌肉, 暴露 L₁ 和 L₂ 横突, L₁ 和 L₂ 椎板开窗后暴露 L₄ 和 L₅ 背根至 DRG 并接近脊髓, 纵向切开硬脑膜 5 mm, 在显微镜下分离 L₄ 和 L₅ 背根, 仔细分离 L₄ 和 L₅ 的神经根丝, 正常情况下每个背根有 4 根神经根丝, 切断头端的两根, 而保留尾端的两根。大鼠在术后 1 天就表现为热刺激的痛觉过敏, 且痛行为持续 4 周左右, 但是 PDR 所致痛觉过敏的程度一般轻于 CCI 和 CCD。

6. 骨癌痛模型

Medhurst 等在 2002 年报道了大鼠胫骨骨髓腔内接种大鼠乳腺癌细胞, 术后 7 ~ 14 天大鼠开始表现出患肢负重减少、机械性痛觉过敏和痛觉超敏等痛行为, 且痛行为的发生与注入的肿瘤细胞数呈剂量依赖性。术后 14 天 X 线片显示胫骨骨质显著破坏。组织学发现术后 14 天可见肿瘤细胞充填骨髓腔, 引起骨小梁广泛破坏。

7. 福尔马林 (Formalin) 致痛模型

Hunskar 和 Hole 在 1987 年报道了福尔马林所致小鼠炎性痛的模型^[11], 其方法是将 1% 福尔马林 20 μ l 注射至小鼠后足背部皮下, 观察小鼠舔爪的时

间。福尔马林所致的痛行为学分为两个时相, 即第一相 (早期相) 和第二相 (晚期相)。第一相: 福尔马林注射后 0 ~ 5 min, 是对伤害性刺激直接反应的痛行为; 第二相: 福尔马林注射后 20 ~ 30 min, 是对前列腺素所致炎性反应的痛行为。

8. 福氏佐剂 (CFA) 致痛模型

CFA 关节腔内注射是常用的慢性炎性痛模型。Malcangio 和 Bowery 曾报道 CFA 骨关节炎性痛模型^[12]。其方法是将 0.5 ml CFA 注入大鼠后肢关节腔内。CFA 注入后 4 小时, 大鼠便出现局部红肿的炎性反应, 并逐渐出现痛行为学的改变, 表现为热刺激痛觉过敏和行为的异常, 大鼠痛行为的改变可持续至 28 天。组织学表现为脊髓水平 P 物质和钙基因相关肽 (CGRP) 的升高。此外, Yang 和 Mao-Ying 曾报道 CFA 骨炎性痛模型^[13]。其方法是将 CFA 注射入胫骨骨髓腔内。术后 2 天出现痛行为学, 表现为机械刺激和热刺激痛觉过敏。术后 2 天的组织学表现为核固缩和裂解, 大量中性粒细胞浸润, 明显的纤维蛋白渗出。术后 14 天的组织学表现为骨的纤维化形成。而非甾体类消炎镇痛药塞来昔布 (Celebrex) 可以显著抑制骨炎性痛大鼠的痛行为。

二、慢性疼痛的发生机制

当发生外周炎症或神经损伤时, 躯体感觉通路被激活, 可导致外周和中枢发生一系列的复杂变化。其中外周敏化和中枢敏化是损伤后超敏感性疼痛的主要原因。

1. 外周敏化

炎症或损伤导致组织内炎症介质释放, 同时伴有伤害性感受器阈值的降低, 这一现象称为外周敏化 (Peripheral Sensitization)^[14]。外周敏化反应了信号传导通道的阈值、动力学以及膜兴奋性的改变。这些改变反应了外周伤害性感受器传导通道的直接激活, 自体敏化的产生, 以及对刺激物如炎症介质的敏感化。比如: 辣椒素受体 1 (TRPV1) 的自体敏化包括钙离子内流后激活外周末梢神经胞浆内的蛋白激酶 C (PKC), PKC 继而促使 TRPV1 的磷酸化, 从而导致 TRPV1 对 43°C 到 38°C 区间的温度刺激的反应阈值降低。异体敏化是前列腺素 E₂ (PGE₂)、缓激肽、5-羟色胺 (5-HT) 以及神经生长因子等有敏化作用的物质通过 G 蛋白-偶联或酪氨酸激酶受体激活细胞内激酶磷酸化, 从而增加电压门控钠离子通道如 Nav1.7、Nav1.8 (一种感觉神经元特异性的钠通道) 的开放^[15]。

2. 脊髓中枢敏化

除了外周末梢伤害性感受器敏化外, 脊髓背角



伤害性突触信息传递增强也直接导致了痛觉敏感,这种现象称为中枢敏化(Central Sensitization)^[14]。强刺激从感受器传入到脊髓会立刻引起痛感觉,这种痛感觉会随伤害性刺激的存在而持续存在,且强刺激的传入可以对脊髓背角感觉形成过程进行活性依赖的功能性调节,导致疼痛的长时间持续增强,甚至在外周的伤害性刺激已经不存在的情况下,脊髓中枢仍然对来自外周的刺激产生过度反应,这就是因为发生了中枢敏化^[16]。外周伤害性感受器的传入激发神经元兴奋性增加,释放兴奋性氨基酸和神经肽类神经递质,作用于脊髓神经元突触后受体,突触后受体的激活引起细胞膜特性改变和细胞内信号传导级联反应。这一过程包括蛋白激酶(PKA和PKC)、钙/钙调依赖蛋白激酶(CaMK)、以及丝裂原激活蛋白激酶(MAPKs)的激活等。通过磷酸化的NMDA和AMPA/红藻氨酸受体,丝氨酸/苏氨酸和酪氨酸激酶可以通过改变通道的动力学和突触后膜上受体的插入增加膜的兴奋性。细胞兴奋性和突触可塑性的增强使得传入脊髓背根神经节的阈下刺激信号增强,从而对伤害和非伤害性刺激的反应增强,而且这一改变并不仅限于激活的突触局部,可延伸至突触周围,当发生外周损伤之后,低阈值的传入刺激作用于损伤区或超出损伤组织以外的“正常区域”均可导致疼痛的发生,分别称作诱发痛和继发性痛觉过敏。中枢敏化是炎性痛和神经病理性疼痛中痛觉过敏的主要病理基础。伤害感受信息传入后离子通道磷酸化以及受体的激活和内在化等,可即刻启动调节突触传递。但是中枢敏化的长期存在主要是由于脊髓背角神经元的转录发生持续性的改变。比如:发生外周炎症后支配炎性组织的被敏化的传入纤维首先启动中枢可塑性的改变。数小时后,脊髓背角神经元可诱导产生环氧酶2(COX2),导致脊髓PGE₂的合成,PGE₂可改变突触前后膜的兴奋性。来源于外周炎症的体液信号介导中枢COX2的产生,并通过中枢神经系统(CNS)局部产生的白介素如IL-1 β 等发挥作用。外周神经损伤后,由于损伤纤维的电压门控离子通道的表达、分布以及活性发生改变所致异位活性增加导致中枢敏化的发生。初级感觉神经元表型的改变或转换导致突触传递的中枢功能改变。背根神经节细胞除了在结构水平表达的神经递质改变以外,背根神经节细胞的亚群也会发生新的表达,这些新的表达不同于正常表达的神经递质,比如P物质或脑源性神经营养因子(BDNF)。P物质正常情况下只在伤害感受器才有表达,当发生炎症或神经损伤后P物质

同样会在低阈值神经元中表达,这意味着正常情况下只有伤害感受器才会激发的中枢敏化,当发生神经损伤/炎症后,粗纤维A β -纤维的传入也会导致中枢敏化的发生^[17,18]。

关于外周敏化和中枢敏化的机制研究虽然已经取得了重大进展,但还不完全清楚。需要知道的一个最新进展是:Song研究组最近几年来一系列重要的研究工作对神经病理性和癌性疼痛提出了一个崭新的机制:即神经损伤和强烈的应急性刺激如肿瘤侵犯神经、反复 μ -受体激活(阿片类药物长期使用)等可以激活一些在神经发育过程中起关键作用,但在成熟的神经系统并不再发挥重要作用的分子;这些分子因此在神经病理性疼痛的发生发展过程中发挥至关重要的作用。目前发现的这类分子包括EphrinB-EphB和WNT信号通路^[19-23]。

三、慢性疼痛的治疗

慢性疼痛往往原因复杂多样,慢性疼痛患者除了疼痛之外,还常常伴有认知、情感和行 为障碍等方面的问题。因此慢性疼痛患者往往需要多种治疗方法同时应用。

1. 药物治疗

药物治疗是慢性疼痛治疗最基本、最常用的方法。

(1) 非甾体类消炎镇痛药(Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, NSAIDs)

NSAIDs在治疗炎症相关的急慢性疼痛综合征中有重要作用。其主要机制^[24]是抑制环氧酶(COX)的活性,从而抑制前列腺素的合成,而达到镇痛的效果。环氧酶至少有两种异构体:一种是结构酶COX1,COX1全身多处组织中均有表达,其作用是维持消化道、血小板、肾脏的正常功能;另一种是诱导酶COX2,COX2在大多数细胞中低水平表达,在炎性部位因为细胞因子和细菌产物(脂多糖)的影响,COX2表达上调。局部损伤或炎性反应增加COX2的活性,致体内前列腺素水平增加,PGE₂可以增加外周感受器对各种致痛和炎性因子(如生长抑素、缓激肽和组胺)的敏感性而引起痛觉过敏,同时前列腺素能促进疼痛信号在脊髓的传导,对中枢神经系统的刺激能增加COX2的表达,研究显示COX2抑制剂作用于外周和中枢均可减轻炎症介导的疼痛。NSAIDs的抗炎镇痛作用除了抑制COX外,还有其他机制:降低超氧自由基、抑制粘附分子表达、减少NO合酶的生成、降低前炎症细胞因子水平,调节淋巴细胞活性和细胞膜功能的改变。

传统的、非选择性NSAIDs,如吲哚美辛、布洛芬、双氯芬酸钠、酮洛酸等,在治疗浓度对



COX1 和 COX2 均有抑制作用, 因此存在消化道、肾脏和血小板的不良反 应^[25]。近年来研究发现选择性 COX2 抑制剂(塞来昔布、帕瑞昔布、依托考昔等)则减少了传统 NSAIDs 的不良反 应而保留其抗炎镇痛的作用^[26]。将 NSAIDs 与阿片类药物联合应用可增加阿片类药物的镇痛效果, 降低阿片耐受的发生。

(2) 阿片类镇痛药

阿片类药物广泛应用于各种急慢性疼痛的治疗, 其镇痛机制^[24]是通过结合并激活位于中枢神经系统的阿片受体, 减少由初级传入神经向高级神经中枢的信息传递, 同时减轻疼痛刺激信号加工的过程, 产生镇痛效应。常用的阿片类药物包括: 吗啡、羟考酮、氢吗啡酮、芬太尼、舒芬太尼等。长效的阿片类药物为吗啡缓释片、羟考酮缓释片、芬太尼透皮贴剂等。阿片类药物可以通过许多途径给药, 包括: 口服、胃肠外、直肠、舌下、透皮和经粘膜等。阿片类药的不良反 应主要包括: 便秘、恶心、呕吐、嗜睡、瘙痒、头晕、尿潴留、谵妄、认知障碍、呼吸抑制等^[14]。

(3) 抗惊厥药

自 20 世纪 60 年代, 抗惊厥药首次用于治疗疼痛以来, 目前已广泛的用于治疗各种慢性神经病理性疼痛, 特别是对撕裂样、烧灼样和麻木样痛。抗惊厥药物的镇痛机制^[24]主要是通过抑制神经元的异常放电来实现的。近年来, 一些新的抗惊厥药物用于治疗各种神经病理性疼痛, 临床常用的抗惊厥药物包括: 卡马西平、奥卡西平、加巴喷丁、普瑞巴林、托吡酯、左乙拉西坦、唑尼沙胺、和拉莫三嗪八种。其中加巴喷丁和普瑞巴林临床使用剂量安全、不良反 应较小, 且没有药物间相互作用, 广泛用于临床治疗各种神经病理性疼痛和非神经病理性疼痛^[14]。

(4) 抗抑郁药

抗抑郁药与抗惊厥药联合应用已成为神经病理性疼痛的一线治疗药物。在慢性疼痛治疗中, 抗抑郁药主要通过以下机制产生直接镇痛作用^[24]: ①通过作用于中脑下行到脊髓背角的去甲肾上腺素能和 5-HT 能系统, 调节疼痛在脊髓中枢的整合; ②抑制神经细胞膜上钠离子通道的通透性, 对神经源性疼痛产生直接的镇痛作用。同时抗抑郁药可增强阿片类药物的镇痛效果, 减轻患者疼痛的相关症状改善食欲和睡眠, 通过对患者抑郁状态的治疗提高患者的疼痛耐受性。常用的抗抑郁药物包括: 阿米替林、多虑平、氟西汀、文拉法辛、度洛西汀等^[14]。

2. 神经调节治疗

神经调节疗法主要通过阻滞、刺激甚至破坏外周和 / 或中枢神经达到镇痛效果

(1) 神经传导阻滞 (Nerve Conduction Blocking)

局部注射局麻药物的神经阻滞疗法广泛的应用于各种急性痛、慢性非癌性痛、癌痛和其他疼痛性疾病, 具有镇痛疗效确切、起效快、无胃肠道不良反 应、安全等优点, 是疼痛治疗的主要方法之一。神经阻滞的作用机制主要是阻断介导神经冲动传导的钠离子通道, 从而阻断了疼痛的传导通路。这种神经阻断作用, 可能因此阻断了疼痛信息的恶性循环, 改善了局部血液循环等。神经阻滞治疗的部位包括: 脑神经及其分支、神经节、神经丛、神经干及其分支、交感神经节、骶管、硬膜外以及蛛网膜下腔等。

(2) 周围神经刺激 (Peripheral Nerve Stimulation, PNS)

对外周神经进行反复电刺激可导致伤害感受器的 C 纤维无法激活, 并抑制脊髓背角的活性, 这种对外周神经的影响可能是由于电刺激阻碍了细胞膜去极化, 从而阻止了轴突的传导^[27]。PNS 可用于治疗多种顽固性疼痛, 其中包括单神经病变、坐骨神经痛、转移性疾病、反射性交感神经营养不良、灼性痛、截肢后残肢痛以及枕神经痛等。PNS 患者选择的标准包括^[24]: ①疼痛部位局限于单一的神经分布, ②使用局麻药阻滞外周神经后疼痛症状可缓解, ③无外科可纠正的损害如卡压综合征、肿瘤等, ④心理或精神评估结果满意。已有的非随机对照研究显示: PNS 治疗后, 患者的疼痛缓解的有效率为 31% ~ 100%^[25]。PNS 植入电刺激最常见的并发症为: 感染和电极移位。

(3) 经皮神经电刺激 (Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation, TENS) 和经皮穴位电刺激 (Transcutaneous Electrical Accupoint Stimulation, TEAS)

TENS 是一种外周刺激, 即将电极贴于皮肤表面作为一种医疗手段用于疼痛及康复治疗。其作用机制目前有两种学说: 一是 Melzack 和 Wall 提出的闸门控制学说^[28], 在脊髓背角内的胶质 (SG) 细胞有一种类似闸门的神经机制, 它能减弱或增强来自外周上传到中枢的神经冲动。TENS 可引起粗纤维的兴奋, 激活 SG 细胞, 从而抑制同节段细纤维传入的伤害感受信号对脊髓背角投射神经元 (T 细胞) 的兴奋作用; 二是 TENS 可使中枢释放多种镇痛物质, 其中以内源性阿片肽最为重要^[29]。韩济生研究团队证实, 低频 (2 Hz) 电刺激可使中枢释放内啡肽和脑啡肽, 而高频 (100 Hz) 刺激则引起强啡肽释放增加, 当 2 Hz 和 100 Hz 交替刺激时, 三种阿片肽同时释放, 从而引起全身性的镇痛作用^[29]。韩济生等不仅对针刺镇痛的神经化学机理提出了迄今



为止最好的诠释,而且在针刺机制研究的基础上,结合现代医学和中国传统医学研究成果,首创了TEAS,即将刺激电极贴于皮肤表面的有关特殊穴位(Accupoint)作为一种医疗手段用于疼痛及康复治疗。韩氏针刺仪已经成为国际行业标准(ISO)。TENS/TEAS不仅有明显的镇痛效果,且可以改善局部组织微循环,促进神经再生作用,是一种无创、无痛苦、使用方便、适应证广泛、不受人限制甚至可以用于儿科患者及精神或智力障碍患者的非药物镇痛方法,已应用于临床很多领域^[30]。

(4) 脊髓电刺激(Spinal Cord Stimulation, SCS)

在不断拓展的慢性疼痛治疗领域,神经电刺激是非常重要的治疗方法。1967年成功完成了第一例鞘内放置导联的脊髓电刺激,在之后40年中,这种技术在临床应用方面经历了缓慢但显著的变革和扩展。SCS镇痛是通过电极适当地刺激产生疼痛的目标神经,从而产生麻木样的感觉来覆盖疼痛区域,达到镇痛的目的^[24]。其主要的适应证是各种慢性顽固性的神经病理性疼痛。目前有关SCS的机制存在多种理论:①门控机制的激活,脊髓-丘脑通路的传导阻断,脊髓以上机制的激活;②某些神经介质的激活或释放,最为显著的是抑制性神经递质GABA和甘氨酸释放增加,兴奋性氨基酸-谷氨酸和天门冬氨酸释放减少;③增加外周血管疾病时的局部血供,伴有或不伴有交感神经系统的调节^[31,32]。

常见的并发症包括:①神经纤维变;②电极移位;③电极在体内放置过久纤维组织包裹电极和电极附近的瘢痕组织增生而使刺激的强度发生变化。

(5) 深部脑区刺激(Deep Brain Stimulation, DBS)

DBS是通过影像学的引导和定位,将电极植入中脑导水管周围灰质(PAG)或感觉丘脑(即丘脑的腹后外侧核)。PAG的DBS缓解疼痛的机制可能为:刺激PAG能够释放产生与疼痛减轻有关的甲硫氨酸脑啡肽,激活内源性阿片系统^[24];而感觉丘脑DBS的基本原理与SCS的闸门控制理论相似。DBS的适应证包括:背部手术失败综合征,持续的伤害性疼痛状态以及周围神经病变^[14]。而对带状疱疹后神经痛以及丘脑或脊髓损伤所致的疼痛则疗效欠佳^[14]。DBS缓解慢性疼痛的总有效率为60%~80%,大约50%的疼痛患者可获得长期的缓解^[14]。对于其他镇痛治疗无效的慢性疼痛患者来说,DBS可以作为一项有效的镇痛方法以改善其生存质量的。

(6) 运动皮层刺激(Motor Cortex Stimulation, MCS)

MCS是通过核磁共振(MRI)及电生理技术的引导,将电极放置在中央前回的表面。与DBS不同的是,MCS仅对于神经病理性疼痛有效,尚无数据显示其对于慢性伤害性疼痛比如腰背痛有效。MCS主要用于两类疼痛综合征的治疗:中风后中枢痛和三叉神经神经病理性疼痛^[24]。MCS同DBS一样也是通过应用电刺激而不是靠破坏神经组织来影响病人对于疼痛的感受。MCS的并发症也同DBS相似。

3. 微创介入治疗

椎管内药物输注技术、射频技术、低温等离子技术、激光技术、医用臭氧技术、硬膜外腔镜技术、椎间孔镜技术、椎体成型技术等均属于微创介入术。在此我们仅对鞘内药物输注和射频热凝术作一简述。

(1) 鞘内药物输注

鞘内药物输注主要用于传统的阿片类药物疗效不佳、无效或者无法耐受全身用药不良反应的慢性重度顽固性疼痛。鞘内药物输注的优点在于阿片类药物用量显著减少,可在不影响运动、感觉和交感神经功能的情况下产生明显的镇痛效应,因而与传统的治疗方法相比,其不良反应的发生率降低^[24]。目前所使用的鞘内药物输注主要是通过全植入式程序化注药泵实施,价格昂贵。常用的药物包括:吗啡、氢吗啡酮、局麻药、可乐定等。齐考诺肽是一种新型的鞘内应用的非阿片类镇痛药物,该药是一种N-型电压敏感性钙通道阻滞剂,可与吗啡联合鞘内输注,用于其他治疗方法不能耐受或不能控制的慢性顽固性疼痛^[33]。鞘内药物输注的手术并发症包括:感染、出血、脑脊液漏、导管堵塞移位以及注药泵移位。药物的不良反应包括阿片类药物相关的不良反应:便秘、恶心呕吐、尿潴留、皮肤瘙痒、镇静、呼吸抑制、吗啡耐受等。

(2) 射频热凝

周围感觉神经存在两类不同直径的神经纤维,一是细的、但有髓鞘的A δ 纤维和无髓鞘的C纤维,主要为痛温觉的传递,对热耐受性差,当温度在60 $^{\circ}$ C时就易受到破坏;另一类是A α 、A β 纤维(粗纤维,直径较细纤维大)主要负责传递触觉信息,对热耐受性较好,即使温度在75~80 $^{\circ}$ C仍能保持其传导功能。射频热凝治疗疼痛即根据这一原理^[24]:将神经组织局部加热至70~75 $^{\circ}$ C,使其传导痛温觉的A δ 和C纤维破坏而传导触觉的A α 、A β 纤维功能保存,既可缓解疼痛又可保留触觉。目前在连续射频的基础上有人提出了脉冲射频技术,其机制尚不清楚,可能为①激活脊髓及脊髓以上机制;②引起脊髓的长时程抑制;③激活脊髓背角参与疼痛信息加工的神经元^[24]。射频热凝治疗适用于一些

药物治疗无效或者药物副作用不能耐受的慢性顽固性疼痛, 包括: 三叉神经痛、肋间神经痛、颈腰脊神经后支引起的疼痛等。常见的治疗部位包括: 半月神经节、蝶颞神经节、背根神经节、肋间神经、交感神经等^[14]。

参考文献

- [1] Frieszem CH, Willweber-Strumpf A, Zenz MW. Chronic pain in primary care: German figures from 1991 and 2006. *BMC Public Health*, 2009, 9:299.
- [2] Bouhassira D, Lanteri-Minet M, Attal N, *et al.* Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain*, 2008, 136:380 ~ 387.
- [3] Breivik H, Collett B, Ventafridda V, *et al.* Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *Eur J Pain*, 2006, 10:287 ~ 333.
- [4] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 1988, 33:87 ~ 107.
- [5] Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 1992, 50:355 ~ 363.
- [6] Courteix C, Bardin M, Chantelauze C, *et al.* Study of the sensitivity of the diabetes-induced pain model in rats to a range of analgesics. *Pain*, 1994, 57:153 ~ 160.
- [7] Hu SJ. An experimental model for chronic compression of dorsal root ganglion produced by intervertebral foramen stenosis in the rat. *Pain*, 1998, 77:15 ~ 23.
- [8] Song XJ, Hu SJ, Greenquist KW, *et al.* Mechanical and thermal hyperalgesia and ectopic neuronal discharge after chronic compression of dorsal root ganglia. *Journal of neurophysiology*, 1999, 82:3347 ~ 3358.
- [9] Song XJ, Vizcarra C, Xu DS, *et al.* Hyperalgesia and neural excitability following injuries to central and peripheral branches of axons and somata of dorsal root ganglion neurons. *Journal of neurophysiology*, 2003, 89: 2185 ~ 2193.
- [10] Medhurst SJ, Walker K, Bowes M, *et al.* A rat model of bone cancer pain. *Pain*, 2002, 96:129 ~ 140.
- [11] Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, 1987, 30:103 ~ 114.
- [12] Malcangio M, Bowery NG. Calcitonin gene-related peptide content, basal outflow and electrically-evoked release from monoarthritic rat spinal cord in vitro. *Pain*, 1996, 66:351 ~ 358.
- [13] Yang CJ, Wang XW, Li X, *et al.* A rat model of bone inflammation-induced pain by intra-tibial complete Freund's adjuvant injection. *Neuroscience letters*, 2010, 490:175 ~ 179.
- [14] Ballantyne JC. The massachusetts general hospital handbook of pain management [Book]. 3rd ed. 2006.
- [15] Jordt SE, McKemy DD, Julius D. Lessons from peppers and peppermint: the molecular logic of thermosensation. *Current opinion in neurobiology*, 2003, 13:487 ~ 492.
- [16] Siddall PJ, Cousins MJ. Persistent pain as a disease entity: implications for clinical management. *Anesthesia and analgesia*, 2004, 99:510 ~ 520.
- [17] Woolf CJ, Salter MW. Neuronal plasticity: increasing the gain in pain. *Science*, 2000, 288:1765 ~ 1769.
- [18] Woolf CJ. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*, 2011, 152:S2 ~ 15.
- [19] Song XJ, Zheng JH, Cao JL, *et al.* EphrinB-EphB receptor signaling contributes to neuropathic pain by regulating neural excitability and spinal synaptic plasticity in rats. *Pain*, 2008, 139:168 ~ 180.
- [20] Liu WT, Li HC, Song XS, *et al.* EphB Receptor Signaling in Mouse Spinal Cord Contributes to Physical Dependence on Morphine. *FASEB J*, 2009, 23:90 ~ 98.
- [21] Liu S, Liu WT, Liu YP, *et al.* Blocking EphB1 Receptor Forward Signaling in Spinal Cord Relieves Bone Cancer Pain and Rescues Analgesic Effect of Morphine Treatment in Rodents. *Cancer Research*, 2011, 71:4392 ~ 4402.
- [22] Liu S, Liu YP, Song WB, *et al.* EphrinB-EphB receptor signaling contributes to bone cancer pain via Toll-like receptor and proinflammatory cytokines in rat spinal cord. *Pain*, 2013, 154:2823 ~ 2835.
- [23] Zhang YK, Huang ZJ, Liu S, *et al.* WNT signaling underlies the pathogenesis of neuropathic pain in rodents. *The Journal of Clinical Investigation*, 2013, 123: 2268 ~ 2286.
- [24] Fishman SM, Ballantyne JC, Rathmell JP. *Bonica's Management of Pain*[Book]. 2010.
- [25] Kenny GN. Potential renal, haematological and allergic adverse effects associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Drugs*, 1992, 44 Suppl 5:31 ~ 36.
- [26] Gajraj NM. Cyclooxygenase-2 inhibitors. *Anes Anal*, 2003, 96:1720 ~ 1738.
- [27] Ignelzi RJ, Nyquist JK, Tighe WJ Jr. Repetitive electrical stimulation of peripheral nerve and spinal cord activity. *Neurol Res*, 1981, 3:195 ~ 209.
- [28] Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms, a new theory. *Science*, 1965, 150: 971 ~ 979.
- [29] Wang Y, Zhang Y, Wang W, *et al.* Effects of synchronous or asynchronous electroacupuncture stimulation with low versus high frequency on spinal opioid release and tail flick nociception. *Exp Neurol*, 2005, 92:156 ~ 162.
- [30] 宋莉, 刘慧, 王泉云. 经皮神经电刺激(TENS)的研究新进展. *中国疼痛医学杂志*, 2006, 12:300 ~ 302.
- [31] Manchikanti L, Boswell MV, Singh V, *et al.* Comprehensive evidence-based guidelines for interventional techniques in the management of chronic spinal pain. *Pain Physician*, 2009, 12:699 ~ 802.
- [32] Hord ED, Cohen SP, Cosgrove GR, *et al.* The predictive value of sympathetic block for the success of spinal cord stimulation. *Neurosurgery*, 2003, 53:626 ~ 632.
- [33] Alicino I, Giglio M, Manca F, *et al.* Intrathecal combination of ziconotide and morphine for refractory cancer pain: a rapidly acting and effective choice. *Pain*, 2012, 153:245 ~ 249.

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.003

· 国外医学动态 ·

证实癌症患者存在神经病理性疼痛： NeuPSIG 分级系统在临床实践和临床研究中的应用

1. 概述和流行病学

疼痛是癌症常见的症状之一。大约 50% 的患者因疼痛而就诊，而高达 75% 的患者在癌症晚期或进展期会遭受疼痛折磨。癌症患者通常经历两种不同的疼痛，平均 20% 来源于神经病理性疼痛；然而，当该定义被扩展到包括混合性的神经病理性—伤害性疼痛时，大约 40% 为神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP)。

癌症患者的神经病理性疼痛将造成止痛药物需求增加（尤其是强阿片类和辅助止痛药），体能、认知和社会功能下降，对日常生活造成更大的影响。不幸的是，癌性疼痛治疗不足的情况十分常见，这与多种因素有关，包括对使用阿片类药物的恐惧、疼痛评估不够、对潜在的病理生理学机制认识不足等。这一点与非癌性神经病理性疼痛的治疗不足非常相似。认定癌症患者中神经病理痛的困难在癌痛 Edmonton 分级系统的发展中可以发现。在该系统最初的版本中，将癌性疼痛分为“伤害性”，“神经病理性”，“混合性”以及其他类型。更新版本减少了分类类型，仅是在临床意见的基础上判断是否存在神经病理性疼痛即可。

癌症患者神经病理性疼痛的分类和诊断一直不清晰。癌症和非癌症人群的神经病理性疼痛都存在健康状况较差和残疾的情况，这说明神经病理性疼痛存在与病因无关的内在缺点。因此，能有效地评估和诊断癌症患者的神经病理性疼痛极其重要，这是改进治疗方法和结果的前提。在本篇专题综述中，我们检验了当前癌症患者神经病理性疼痛评估方法的可靠性，并且提议通过改变现有指南，制定出用于证实癌症患者确实存在神经病理性疼痛的标准化评估方案。

2. 现有神经病理性疼痛评估方法的可靠性

尽管 1994 年就有了神经病理性疼痛的定义，但直到最近，其诊断的标准才达成一致。2008 年，Treede 等将神经病理性疼痛的定义修订为：由躯体感觉神经系统的损伤或疾病而直接造成的疼痛。这一定义在 2011 年被国际疼痛学研究协会所采纳。Treede 等还制定了分级系统，对是否存在神经病理性疼痛进行确定性评判。这种神经病理性疼痛分级系统包括四

项特定的标准。

标准 1：伴有明显的神经解剖分布的疼痛。标准 2：具有确定的影响躯体感觉系统的损伤或疾病病史。标准 3：诊断性测试证实局限于损伤神经分布范围内的阳性或阴性感觉体征。标准 4：进一步诊断性测试证实导致神经病理性疼痛的损伤或疾病。

满足标准 1 和 2 为可疑神经病理性疼痛。如再加上满足标准 3 或 4 则“很可能”是神经病理性疼痛。如果同时满足标准 3 和 4，则可确诊为神经病理性疼痛。这一评分系统已在欧盟神经科学协会 (European Federation of Neurological Societies) 和国际疼痛学研究协会的神经病理性疼痛学组 (Neuropathic Pain Special Interest Group, NeuPSIG) 修订的神经病理性疼痛评估指南中采纳。在两者的指南中，病史和床旁体格检查仍是关键的评估标准。目前仍没有标准的神经病理性疼痛分级系统实施指南，尤其是标准 3 的评估标准。这也是该分级系统不为临床和科研广泛采纳的原因。

根据 NeuPSIG 的指南，躯体感觉功能的评估应该包括触觉、振动觉、冷、热和疼痛觉，但该指南没有给出这些测试的具体实施方法。Geber 等在最近发表的一篇病例报道中，将神经病理性疼痛分级系统用于非癌性疼痛的评估，文中标准 1 和 2 的满足条件比较明确，但并未描述如何确认感觉异常 (标准 3)。

3. NeuPSIG 分级系统应用于癌性疼痛

(1) 步骤 1：识别疼痛的分布区域 (标准 1)

在空白人体图上画出疼痛的分布区域，分析其是否符合神经解剖学分布。疼痛的分布或痛觉过敏可以延伸至周围神经主要支配区域之外（考虑到牵涉性疼痛或中枢敏化的存在），但需与潜在疾病的表现一致。

(2) 步骤 2：建立病因学和疼痛分布区域之间的联系

为了发现提示躯体感觉系统的损伤或疾病的病史，有必要通过区分疾病相关性、治疗相关性或伴随疾病相关性原因，以明确疼痛的病因。对于神经病理性癌痛 (neuropathic cancer pain, NCP)，常可发现局部肿瘤的增长侵袭及或压迫神经组织的病史。例如，恶性肿瘤脊髓压迫为疾病相关性病因的病史，而接受具

表 1 NCP 感觉异常的评估

神经生物学疼痛机制	躯体感觉检查的发现	临床评估方法
阴性感觉现象	敏感性降低, 对…	用棉签头或软刷轻触 (触觉减退) 用音叉振动 (触觉减退) 检查者拇指深压 (痛觉减退) 用牙签刺 (痛觉减退) 引起疼痛的低温和高温圆筒或试管 (痛觉减退)
阳性感觉现象	敏感性增加, 对…	用棉签头或软刷轻触 (触诱发痛) 用牙签刺 (痛觉过敏) 引起疼痛的低温和高温圆筒或试管 (痛觉过敏) 检查者拇指深压 (痛觉过敏)

有神经毒性药物的化疗 (如紫杉烷和铂) 为治疗相关性病因的病史。癌症患者或治疗期间存在躯体感觉系统的损伤或疾病 (如糖尿病性神经病变) 为伴随疾病病因的病史。

(3) 步骤 3: 明确感觉异常 (标准 3)

感觉异常应该与疼痛分布相一致。因此, 有必要在另外一张人体图上来画出感觉异常区域。表 1 描述了为测试感觉异常的不同方法。只需存在一项感觉异常即可满足标准 3。部分或全部神经损伤导致的传入神经阻滞的感觉体征是神经病理痛所特有的, 因此需对感觉异常进行描述。神经病理性疼痛和伤害性疼痛均可引起感觉敏化, 因此, 出现感觉敏化并不能说明躯体感觉系统存在损伤或疾病, 但却可为疼痛机制和 / 或替代诊断提供有用的信息。患者可采用自身对照的方法, 在镜像对侧的非疼痛部位 (或接近的相应皮节区) 重复进行感觉测试,

比较身体两侧的感觉测试结果。

(4) 步骤 4: 进一步诊断性测试发现损伤或疾病 (标准 4)

如果病史中无影像学资料, 可进一步行诊断性的影像学检查, 如磁共振、CT、实验室检查以及皮肤或神经活检, 以明确是否存在躯体感觉系统损伤。

4. 未来的研究方向

本综述强调, 癌症患者神经病理性疼痛目前仍缺乏统一的诊断标准, 今后仍需进一步研究公认的 NCP 分类系统。本文提出了将 NeuPSIG 分级系统应用于癌痛患者的标准化流程。需要明确的是, NCP 是癌症损伤躯体感觉神经系统的直接后果。今后的研究需区分癌症患者存在的是 NCP 还是神经病理性疼痛 (即疼痛与癌症治疗有关还是与伴随疾病有关)。

(Matthew R. Mulvey, Pain, 2014, 155:859 ~ 863. 康维锦 陈辉译 马辉校)

• 国际译文 •

延髓头端腹内侧区的 P2X7 受体参与骨癌痛: 下行易化机制

大约 70% ~ 90% 的癌症晚期或癌症转移的患者都经受着严重的慢性疼痛折磨。癌症痛一个重要的来源就是癌症骨转移导致的骨癌痛。延髓头端腹内侧区 (RVM) 是疼痛的内源性下行调制系统的重要组成部分。以往研究表明, RVM 介导的下行易化系统参与慢性痛的发病机制。本研究的目的在于, 探索 RVM 中胶质细胞的 P2X7 受体 (P2X7R) 在骨癌痛发病机制中的作用。方法: (1) 建立大鼠胫骨骨癌痛模型; (2) 采用 Western blotting 或免疫荧光染色方法, 检测小胶质细胞、星形胶质细胞、神经元标志物以及 P2X7R 的表达; (3) 大鼠 RVM 脑区注射 P2X7R 的抑制剂亮蓝 G (BBG), 或注射 P2X7R 的小干扰 RNA (siRNA), 测定大鼠痛行为和小胶质细胞活化程度; (4) 检测脊髓 5-HT 和 Fos 的表达。由于有文献报道 RVM 内的 5-HT 参与调节脊髓的伤害性感受, 实验同时检测脊髓 5-HT 和 Fos 的表达。结果: (1) RVM 中活化的小胶质细胞表达 P2X7R。骨癌痛模型大鼠术后 3 d 至 14 d, RVM 小胶质细胞的标志物 (Iba1 和 OX42) 表达上调, 说明 RVM 小胶质细胞明显活化。免疫双标结果显示, P2X7R 主要表达在小胶质细胞 (而不是星形胶质细胞或神经元内) 内。在骨癌痛术后 3 d 至 14 d, P2X7R 表达显著上调。(2) 抑制 RVM 内的 P2X7R 减轻骨癌痛。RVM 内注射 P2X7R 的抑制剂 (亮蓝 G, BBG) 或 siRNA, 不仅抑制小胶质细胞的活化, 还能够减轻大鼠的骨癌痛。此结果提示, RVM 内活化小胶质细胞表达的 P2X7R 参与骨癌痛。(3) 抑制 RVM 内的 P2X7R 降低脊髓 5-HT 水平和 Fos 的表达。RVM 内注射 P2X7R 抑制剂 BBG 或 siRNA, 明显降低脊髓的 5-HT 水平和 Fos 的表达。提示激活 RVM 内 P2X7R 可以促进脊髓 5-HT 的释放。结论: RVM 内活化小胶质细胞表达的 P2X7R, 通过下行易化系统上调脊髓的 5-HT 水平, 进而参与骨癌痛的发病机制。

(Huang ZX, et al. Pain, 2014, 155: 783 ~ 791. 张钰译, 刘风雨校)



doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.004

• 论 著 •

cAMP-PKA 信号通路介导大鼠骨癌痛的产生和维持*

贺端端 郭向阳[△]

(北京大学第三医院麻醉科, 北京 100191)

摘要 目的: 探讨 cAMP-PKA 信号通路在大鼠骨癌痛发生发展中的作用。**方法:** 雌性 SD 大鼠 52 只, 随机分为 5 组: 正常组 ($n = 8$), 假手术组 ($n = 8$), 骨癌痛组 ($n = 12$), 骨癌痛 + 生理盐水组 ($n = 8$) 和骨癌痛 + PKA 抑制剂组 ($n = 16$)。各组于造模前 3 天、1 天以及造模后 1、3、5、7、10、14 天分别测定热缩足阈值和机械缩足阈值。PKA 抑制剂 Rp-cAMPS (1 mmol/ 20 μ l) 分别于造模后早期 (3、4、5 天) 和造模后后期 (7、8、9 天) 经鞘内注射 (每天 1 次)。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测大鼠背根神经节 (DRG) 和脊髓中 cAMP 的浓度和 PKA 的活性。**结果:** 造模后, 大鼠 DRG 和脊髓中 cAMP 的浓度显著增高, PKA 的活性明显增强, 与假手术组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。早期和后期给予 PKA 抑制剂 Rp-cAMPS 治疗, 均能显著延迟或抑制骨癌诱发的热痛敏和机械痛敏 ($P < 0.01$)。**结论:** 骨癌显著增强 DRG 和脊髓中 cAMP-PKA 信号通路的活性, 该信号通路的异常活动在骨癌痛的产生和维持中起着重要作用, 抑制该信号通路的激活能有效减轻骨癌痛。

关键词 骨癌痛; 感觉神经元; 脊髓; 环磷酸腺苷; 蛋白激酶 A

ACTIVATION OF cAMP-PKA SIGNALING PATHWAY CONTRIBUTES TO INDUCTION AND MAINTENANCE OF BONE CANCER PAIN*

HE Duan-Duan, GUO Xiang-Yang[△]

(Department of Anesthesiology, The Third Affiliated Hospital, Peking University, Beijing 100191)

Abstract Objective: To explore the role of cAMP-PKA signaling pathway in development of bone cancer pain in rats. **Methods:** Female SD rats ($n = 52$) were randomly divided into 4 groups: normal ($n = 8$); sham ($n = 8$); Tumor cell implantation (TCI) ($n = 12$), TCI + saline ($n = 8$), and TCI+ PKA inhibitor ($n = 16$). Thermal hyperalgesia and mechanical allodynia were tested at -3, -1, 1, 3, 5, 7, 10, and 14 postoperative day. PKA inhibitor Rp-cAMPS (1 mmol/ 20 μ l) were intrathecally injected on 3, 4 and 5 postoperative day (early phase) or 7, 8, and 9 postoperative day (late phase), respectively. The concentration of cAMP and activity of PKA in DRG and spinal cord (SC) were measured by ELISA. **Results:** TCI treatment significantly increased concentration of cAMP and the activity of PKA in both DRG and SC ($P < 0.01$). Spinal administration of a PKA inhibitor Rp-cAMPS in the protocol of the early phase or late phase significantly prevented and/or suppressed TCI-induced thermal hyperalgesia and mechanical allodynia ($P < 0.01$). **Conclusion:** Bone cancer induces activation of cAMP-PKA in the primary sensory neurons and spinal cord. Activation of cAMP-PKA signaling pathway may play an important role in the induction and maintenance of bone cancer pain. Inhibition of cAMP-PKA signaling pathway results in reduction of bone cancer pain.

Key Words Bone cancer pain; Sensory neuron; Spinal cord; cAMP; PKA

* 基金项目: 国家自然科学基金 (81320108012)

[△] 通讯作者 xyg42@yahoo.com.cn



疼痛是癌症患者最常见最痛苦的伴随症状,发生率为14%~100%,其中超过50%的癌性疼痛为中到重度^[1]。虽然世界卫生组织推荐的著名“阶梯疗法”已被广泛接受应用于癌痛治疗,癌痛的研究也从未中断,但仍有50%的患者疼痛不能得到有效控制^[2]。癌症痛严重影响患者的生活质量,同时给患者家庭和社会带来了巨大的精神和经济负担。

探讨癌症痛的产生与发展机制,寻找有效的控制癌症痛的方法,是亟待解决的问题。在各种类型的癌症痛中,尤以骨癌痛最普遍。骨癌可以是原发性癌症,但更常见于乳腺癌,肺癌,前列腺癌等的转移。骨癌痛是一种机制独特且复杂的慢性疼痛。它兼具炎性痛和神经病理性疼痛的特点^[3,4]。近年来研究发现,环磷酸腺苷(cAMP)-蛋白激酶A(PKA)信号通路广泛参与了伤害性信息的调控和痛觉过敏的形成。cAMP-PKA信号通路不仅介导了炎症介质引起的外周痛觉敏化^[5,6],还参与了神经病理性疼痛的调节^[7-9]。然而,cAMP-PKA信号通路在骨癌痛中的作用至今还不清楚,国内外尚未见相关报道。本研究应用分子生物学手段,检测cAMP-PKA信号通路在骨癌痛过程中的变化及变化规律,同时利用药物干预手段,探讨该信号通路在骨癌痛发生发展过程中的作用。

方 法

1. 实验动物及分组

雌性SD大鼠(180~200g),购自北京大学医学部实验动物中心。实验动物饲养于12h/12h昼夜交替的独立环境中,室温维持在23±1℃,自由饮水和摄食,在适应环境1周后进行实验。实验随机分为五组:正常组($n=8$),假手术组($n=8$),骨癌痛组($n=12$),骨癌痛+生理盐水组($n=8$)和骨癌痛+PKA抑制剂组($n=16$)。

2. 模型制备

本实验采取胫骨骨髓腔接种肿瘤细胞(Tumor cell implantation, TCI)的方法来制作骨癌痛模型。具体方法如下,抽取荷瘤鼠(腹腔植入Walker256细胞购自ATCC公司)(LLC-WRC 256, ATCC® CCL-38™, USA)的腹水,1000 rpm离心5分钟,弃上清,然后用无菌的PBS漂洗(1000 rpm×5 min)2~3遍,最后用PBS调整细胞浓度至 1×10^5 个/ μ l,置于冰盒内备用。另取一部分调整好浓度的细胞在沸水中水浴10 min,作为灭活细胞。参照文献^[10,11],大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉后,取仰卧位固定。在右侧胫骨中上1/3处,用75%酒精消毒,沿胫骨长轴切开皮肤,切口约1 cm,分离肌肉,暴

露胫骨骨面。用1 ml注射器的针头在骨面上钻一小孔,然后用20 μ l的微量注射器经小孔进入胫骨骨髓腔,缓慢注入5 μ l肿瘤细胞,假手术组注入等体积的灭活细胞。注射完毕后留针约30 s,然后拔出微量注射器。针孔处用无菌骨蜡封闭,在伤口处涂抹适量青霉素粉,然后缝合。整个手术过程均按照无菌要求进行。

3. 药物及给药方法

PKA抑制剂Rp-cAMPS(1 mmol, Sigma, St. Louis, MO, USA)分别于造模后3、4、5天(早期干预)或7、8、9天(晚期干预)简短异氟醚吸入麻醉下鞘内注射20 μ l,每天1次,连续3天,鞘内注射剂量参照文献^[7]进行选择,并通过预实验结果确定。鞘内注射选择L₅₋₆椎间隙进针,右手持50 μ l微量注射器与脊柱成70~80°方向进针,通过椎间隙触到骨质后,减小15°继续缓慢推进,有轻微落空感或回抽见少量脑脊液,大鼠出现甩尾或后腿突然抽动,为穿刺成功,注药。骨癌痛+生理盐水组在相同的时间点注射等体积的生理盐水。

4. 热痛敏检测

以大鼠对热辐射刺激的缩足潜伏期作为反映热痛敏的指标。在安静恒温的环境中,将大鼠置于22 cm×12 cm×12 cm的有机玻璃盒中,底部为光滑透明玻璃板,适应30 min后,用热辐射刺激仪(美国II TC公司生产的336爪/尾刺激痛觉测试计)照射大鼠后肢足底。当大鼠抬足回避时停止照射,并记录照射的时间,该时间即为大鼠的缩足潜伏期(paw withdrawal latency, PWL)。为了防止大鼠足底烫伤,将PWL的上限设置为20 s,如果超过20 s大鼠仍未抬足,热刺激将自动终止,并记录为20 s。每只脚照射3次,每次间隔5~6 min。热辐射强度设定在能引起正常大鼠在9~15 s内缩足的强度。在整个实验过程中,维持相同的热刺激强度。

5. 机械痛敏检测

以大鼠的机械缩足阈值来反映其机械痛敏行为。在安静恒温的环境中,将大鼠置于底部为镂空的金属网格的有机玻璃盒子(30 cm×20 cm×15 cm)中,适应30 min后,用电子von Frey(美国II TC公司生产的2390ELECTROVONFREY测痛计)垂直刺激大鼠后肢足底中部的皮肤。刺激时间为1~2 s,当大鼠缩足时,记录显示屏上显示的数字(单位:克)。每只脚分别刺激6个不同的部位,每次刺激间隔大约30 s,将6次的数值平均,得到的数值即为刺激强度。

6. 胫骨放射学检测

将大鼠的胫骨置于放射成像系统(Digital diagnost VM)下进行拍照。X线强度为30 KVp,时

间为 12 ms。并参照文献^[10]，对骨破坏程度进行评分。0分：正常骨结构；1分：有小的骨质破坏的病灶，数量少于3个；2分：有超过3个的骨质破坏病灶，同时伴有髓质骨的缺失；3分：髓质骨缺失，同时伴有皮质骨的损伤；4分：非皮质骨全部缺损；5分：双侧的皮质骨全部缺损，发生骨折。

7. 胫骨病理学检测

大鼠在麻醉状态下，用4%的多聚甲醛经升主动脉进行全身灌注。灌注后取下手术侧胫骨，置于10%的EDTA中进行脱钙处理。两周后，将脱钙的胫骨进行常规的石蜡包埋，切片厚度(5 μm)，HE染色，镜下观察肿瘤的生长状况及骨质破坏状况。

8. cAMP 浓度和 PKA 活性检测

大鼠深麻醉下，快速取出L₄、L₅背根节及腰膨大，-80℃保存。根据酶联免疫吸附法(ELISA)的原理，分别使用cAMP免疫检测试剂盒(Cayma Chemical, MI, USA)和PKA免疫检测试剂盒(R&D, MN, USA)检测大鼠背根神经节(DRG)和脊髓中的cAMP浓度和PKA活性。具体方法参照试剂盒的说明书。

9. 统计学分析

应用SPSS 15.0统计软件进行统计。统计分析采用方差分析(one-way ANOVA)。胫骨X线评分的比较应用秩和检验，实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

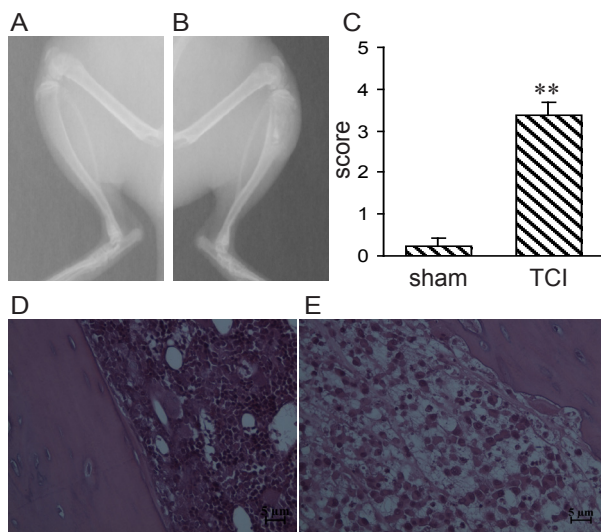


图1 造模后14天大鼠胫骨放射学检查和组织病理学检查
A: 假手术组大鼠胫骨X线表现; B: 模型组大鼠胫骨X线表现;
C: 骨组织破坏评分; D: 假手术组大鼠胫骨HE染色表现; E: 模型组大鼠胫骨HE染色表现。放大倍数: 400×(D和E)。与假手术组相比, ** $P < 0.01$, $n = 4$ 。

Fig. 1 The tibia radiological and histopathological examination in rat sat 14 postoperative day

结 果

1. TCI后胫骨的组织学和影像学变化

放射学检测显示，在造模后第14天，胫骨中上部均有明显的骨质疏松的表现，同时骨皮质有明显的缺损，骨内结构不清晰(见图1B)，骨破坏程度评分显著增高(见图1C)，而假手术组未见明显的骨质破坏，骨皮质呈连续状，边界光滑、清晰，骨髓腔内未见明显异常(见图1A)。胫骨组织病理学检测显示，在模型组中，肿瘤植入后第14天，骨髓腔内充满了核大深染的肿瘤细胞，肿瘤细胞呈活跃生长状态，骨皮质和骨髓质均出现显著的破坏(见图1E)，假手术组骨髓腔内为正常的骨髓细胞，骨皮质连续、完整，未见骨结构的损伤与变化(见图1D)。

2. TCI后DRG和脊髓组织中cAMP和PKA的变化及变化规律

ELISA检测结果显示，肿瘤细胞植入后，大鼠手术侧DRG和脊髓组织中cAMP的浓度和PKA的活性随时间依赖性增高(见图2A和2B)。DRG

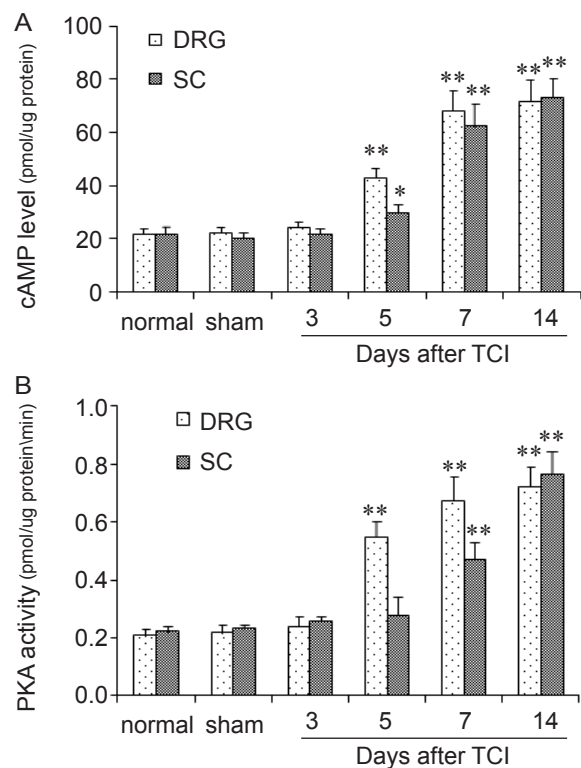


图2 造模后，大鼠背根神经节(DRG)和脊髓(SC)中cAMP浓度和PKA活性的变化趋势
与假手术组相比, * $P < 0.05$; 与假手术组相比, ** $P < 0.01$, $n = 4$ 。

Fig. 2 The change of the concentration of cAMP and the activity of PKA in both DRG and SC in rats with bone cancer pain.

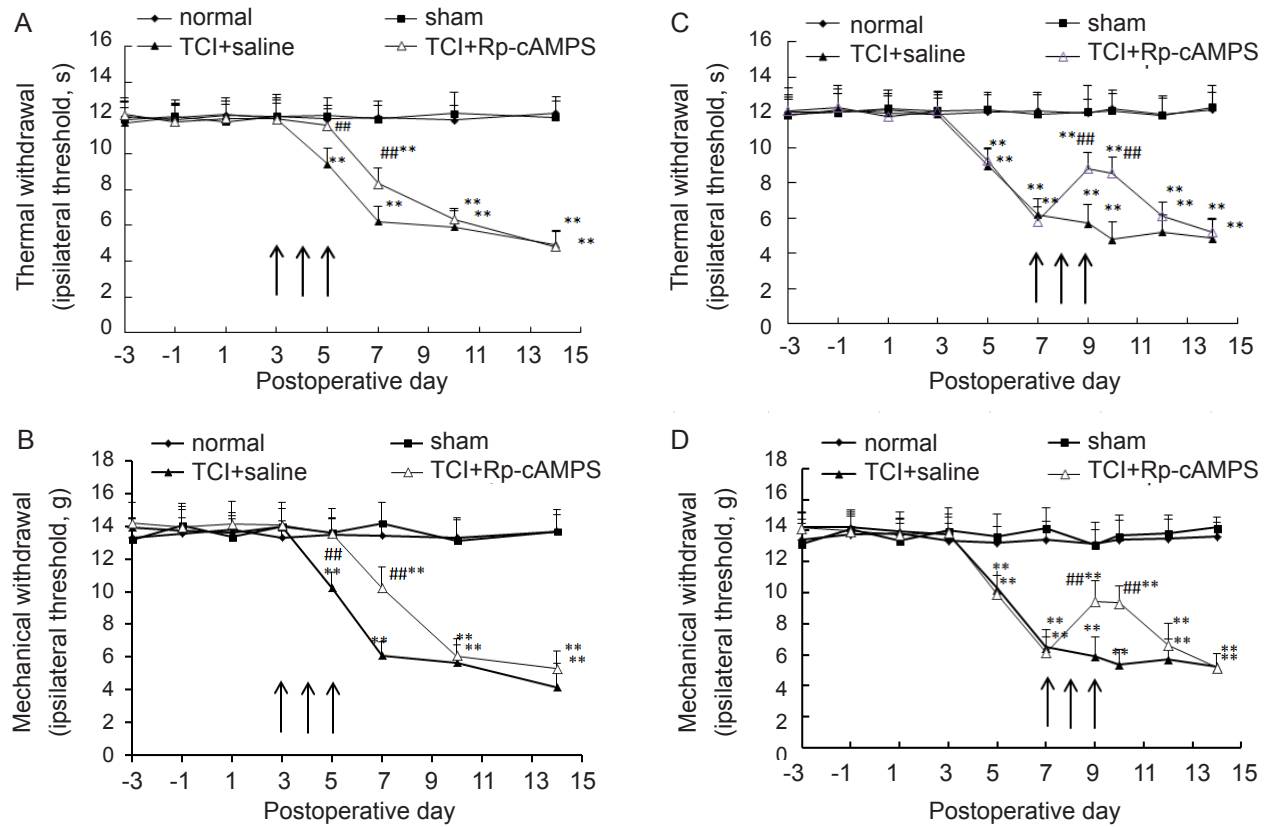


图3 PKA 抑制剂 Rp-cAMPS 对大鼠骨癌痛的影响
 A: 早期 (术后 3、4、5 天) 鞘内注射抑制剂对大鼠热痛敏的影响; B: 早期 (术后 3、4、5 天) 鞘内注射抑制剂对大鼠机械痛敏的影响;
 C: 后期 (术后 7、8、9 天) 鞘内注射抑制剂对大鼠热痛敏的影响; D: 后期 (术后 7、8、9 天) 鞘内注射抑制剂对大鼠机械痛敏的影响。
 箭头表示给药的时间。与假手术组相比, * $P < 0.05$; 与假手术组相比, ** $P < 0.01$; 与 TCI+saline 组相比, # $P < 0.05$; TCI+saline 组相比, ## $P < 0.01$; $n = 8$ 。

Fig. 3 The influence of PKA inhibitor Rp-cAMPS on bone cancer pain in rats

和脊髓中 cAMP 的浓度和 PKA 的活性在正常组与假手术组之间差异无统计学意义。在 DRG 中, cAMP 的浓度和 PKA 的活性从术后第 5 天起开始逐渐增高, 于术后第 7~14 天达到高峰; 在脊髓中, cAMP 的浓度和 PKA 的活性则从术后第 5~7 天起开始逐渐升高, 于术后第 14 天达到高峰, 与假手术组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

3. 鞘内注射 PKA 抑制剂对骨癌痛的产生和维持的影响

为了进一步探讨 cAMP-PKA 信号通路在骨癌痛中的作用, 我们使用外源性的 PKA 抑制剂 Rp-cAMPS 来抑制该信号通路。行为学检测结果显示, 从 TCI 后第 5 天起, 手术侧热缩足反应潜伏期开始下降, 到第 7 天已明显降低 ($P < 0.01$), 并随着时间的推移进一步降低 (见图 3A 和 3C); 机械缩足阈值也呈相同的变化趋势 (见图 3B 和 3D)。在注射灭活细胞的假手术组中, 各时间点的变化均与基础值无明显差别 ($P > 0.05$)。早期 (术后第 3、4、5 天) 鞘内注射

Rp-CAMPS (1 mmol, 每天一次, 连续 3 天) 显著延迟了痛行为的产生时间, 抑制剂组大鼠痛觉过敏行为出现的时间比生理盐水组推迟了 2 天, 同时, 疼痛的强度也比生理盐水组显著降低 ($P < 0.01$)。后期 (术后第 7、8、9 天) 给予 PKA 抑制剂 (1 mmol, 每天 1 次, 连续 3 天), 显著减轻因 TCI 导致的热痛敏和机械痛敏, 而且其镇痛作用可以持续到停药后 2 天 (见图 3)。以上结果提示 cAMP-PKA 信号通路可能在骨癌痛的产生和维持过程中均具有重要作用。

讨论

cAMP-PKA 信号通路参与多种病理状态下痛觉过敏的形成与维持。研究表明, cAMP-PKA 信号通路的激动剂或抑制剂能分别增强或抑制损伤的 DRG 中 A β 神经元的自发性放电活动^[12]。在神经损伤^[13]或外周炎症^[14]时, A β 神经元的自发性放电活动可以导致中枢敏化, 产生触诱发痛。PKA 通过增加突触部位 NMDA 受体表达增强 NMDA 受体功能, 参

与炎性刺激引起的中枢敏化^[15]。急性分离 DRG 细胞能激活 DRG 细胞内的 cAMP-PKA 信号通路, 而该信号通路的持续激活是维持 DRG 神经元过度兴奋和痛觉过敏的重要因素^[8]。慢性压迫 DRG, 可以诱发 cAMP 依赖的痛觉过敏和 DRG 神经元过度兴奋^[9]。此外, cAMP-PKA 信号通路参与炎症刺激诱发的痛觉过敏^[16]和 DRG 神经元^[17]及周围神经末梢高兴奋性^[18]。而背根节和外周神经在没有损伤和应激的前提下, 激活 cAMP-PKA 通路对感觉神经元兴奋性很少有即刻的效应^[7]。

在本研究中, 我们观察到, 胫骨接种肿瘤细胞后, 随着肿瘤的生长, 手术侧 DRG 和脊髓组织中 cAMP 的浓度显著增多, PKA 的活性也显著增强, 而且, 其变化趋势与肿瘤诱导的痛行为学改变在时间上密切相关, 这表明 cAMP-PKA 信号通路的激活很可能与肿瘤诱导的骨癌痛有关。为了进一步证明该信号通路对骨癌痛发生发展的调控作用, 我们使用了外源性抑制剂 Rp-cAMPS 来阻断 cAMP-PKA 信号通路的活动。结果发现, 无论是早期(疼痛产生前, 术后第 3、4、5 天)还是后期(疼痛产生后, 术后第 7、8、9 天)给予抑制剂, 都能有效且持久的缓解大鼠因骨肿瘤而产生的痛过敏。这表明, cAMP-PKA 信号通路的激活对骨癌痛的产生和维持均起着重要的调控作用。在骨癌痛的发生发展过程中, 无论是早期肿瘤源性的炎性分泌物如前列腺素, 细胞因子等对初级传入神经末梢的刺激, 还是晚期因肿瘤生长而导致的神经损伤, 都会诱发初级传入神经元中 cAMP-PKA 信号通路的激活, 导致神经兴奋性异常增强, 脊髓中枢敏化, 从而产生痛过敏^[5]。因此, 阻断 cAMP-PKA 信号通路的异常活动, 可以有效的抑制骨癌痛。

本研究通过分子生物学和行为学检测, 证实初级感觉神经元和脊髓中 cAMP-PKA 信号通路激活在大鼠骨癌痛的产生和发展中起着重要的作用; 干扰该信号通路, 能有效缓解因骨肿瘤而引起的疼痛。这为临床上治疗骨癌痛提供了一个新的潜在的靶点。

参考文献

- [1] [No authors listed] NIH State-of-the-Science Statement on symptom management in cancer: pain, depression, and fatigue. NIH Consens State Sci Statements, 2002, 19:1 ~ 29.
- [2] Azevedo São Leão, Ferreira K, Kimura M, *et al.* The WHO analgesic ladder for cancer pain control, twenty years of use. How much pain relief does one get from using it? Support Care Cancer, 2006, 14: 1086 ~ 1093.
- [3] Goblirsch MJ, Zwolak P, Clohisy DR. Advances in understanding bone cancer pain. J Cell Biochem, 2005, 96: 682 ~ 688.
- [4] Goblirsch MJ, Zwolak PP, Clohisy DR. Biology of bone cancer pain. Clin Cancer Res, 2006, 12: 6231s ~ 6235s.
- [5] Malmberg AB, Brandon EP, Idzerda RL, *et al.* Diminished inflammation and nociceptive pain with preservation of neuropathic pain in mice with a targeted mutation of the type I regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase. J Neurosci, 1997, 17: 7462 ~ 7470.
- [6] Lewin MR, Walters ET. Cyclic GMP pathway is critical for inducing long-term sensitization of nociceptive sensory neurons. Nat Neurosci, 1999, 2: 18 ~ 23.
- [7] Song XJ, Wang ZB, Gan Q, *et al.* cAMP and cGMP contribute to sensory neuron hyperexcitability and hyperalgesia in rats with dorsal root ganglia compression. J Neurophysiol, 2006, 95: 479 ~ 492.
- [8] Zheng JH, Walters ET, Song XJ. Dissociation of dorsal root ganglion neurons induces hyperexcitability that is maintained by increased responsiveness to cAMP and cGMP. J Neurophysiol, 2007, 97:15 ~ 25.
- [9] Huang ZJ, Li HC, Cowan AA, *et al.* Chronic compression or acute dissociation of dorsal root ganglion induces cAMP-dependent neuronal hyperexcitability through activation of PAR2. Pain, 2012, 153: 1426 ~ 1437.
- [10] Medhurst SJ, Walker K, Bowes M, *et al.* A rat model of bone cancer pain. Pain, 2002, 96: 129 ~ 140.
- [11] Liu S, Liu WT, Liu YP, *et al.* Blocking EphB1 receptor forward signaling in spinal cord relieves bone cancer pain and rescues analgesic effect of morphine treatment in rodents. Cancer Res, 2011, 71: 4392 ~ 4402.
- [12] Hu SJ, Song XJ, Greenquist KW, *et al.* Protein kinase A modulates spontaneous activity in chronically compressed dorsal root ganglion neurons in the rat. Pain, 2001, 94: 39 ~ 46.
- [13] Liu CN, Wall PD, Ben-Dor E, *et al.* Tactile allodynia in the absence of C-fiber activation: altered firing properties of DRG neurons following spinal nerve injury. Pain, 2000, 85: 503 ~ 521.
- [14] Ma QP, Woolf CJ. Basal and touch-evoked fos-like immunoreactivity during experimental inflammation in the rat. Pain, 1996, 67: 307 ~ 316.
- [15] Yang X, Yang HB, Xie QJ, *et al.* Peripheral inflammation increased the synaptic expression of NMDA receptors in spinal dorsal horn. Pain, 2009, 144: 162 ~ 169.
- [16] Aley KO, Levine JD. Role of protein kinase A in the maintenance of inflammatory pain. J Neurosci, 1999, 19: 2181 ~ 2186.
- [17] Evans AR, Vasko MR, Nicol GD. The cAMP transduction cascade mediates the PGE2-induced inhibition of potassium currents in rat sensory neurones. J Physiol, 1999, 516: 163 ~ 178.
- [18] Taiwo YO, Bjerknes LK, Goetzl EJ, *et al.* Mediation of primary afferent peripheral hyperalgesia by the cAMP second messenger system. Neuroscience, 1989, 32: 577 ~ 580.

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.005

脊髓背角 P2Y₁₂ 受体 /P38MAPK 参与 MRS2395 对 CCI 大鼠的镇痛作用*

曾俊伟^{1, 2Δ} 刘晓红^{1, 2} 蒋慧^{1, 2} 田虹^{1, 2} 陈远寿^{1, 2}(¹ 遵义医学院基础医学院生理学教研室; ² 贵州省麻醉与器官功能保护重点实验室, 遵义 563000)

摘要 目的: 观察鞘内注射 P2Y₁₂ 受体拮抗剂 MRS2395 对慢性坐骨神经结扎 (chronic constriction injury, CCI) 大鼠机械痛阈及脊髓背角 P2Y₁₂ 受体、P2X₄ 受体和 P38MAPK 表达变化的影响, 探讨 P2Y₁₂ 受体参与神经病理性疼痛的相关机制。**方法:** 成年 SD 大鼠随机分为 3 组 ($n = 8$): 假手术组、CCI 模型 vehicle 组 (鞘内注射 0.005% DMSO 生理盐水)、MRS2395 处理组 (CCI + 鞘内注射 MRS2395 100 pmol/L)。CCI 及 MRS2395 处理组大鼠均于鞘内置管 7 天之后行坐骨神经结扎, 连续 14 天鞘内注射 0.005% DMSO 生理盐水、MRS2395 (100 pmol/L), 每天 2 次, 在术前 1 天、术后第 1、3、5、7、10、14 天测定给药 1 h 后机械缩足反射阈值 (mechanical withdraw threshold, MWT); 在第 7、14 天处死大鼠, 取脊髓背角, 免疫印迹观察 P2Y₁₂ 受体、P2X₄ 受体和 P38 MAPK 表达变化。**结果:** 大鼠 CCI 术后 1 天即可出现机械痛敏; 与假手术组相比, CCI 组第 1、3、5、7、10、14 天 MWT 明显降低 ($P < 0.01$); 与 CCI 组相比, MRS2395 处理组术后第 1、3、5、7 天 MWT 明显升高 ($P < 0.01$); 术后 10 天和 14 天 MWT 升高较缓 ($P < 0.05$)。与假手术组相比, CCI 组第 7、14 天背角 P2X₄ 受体、P2Y₁₂ 受体和 P38 MAPK 表达明显上调 ($P < 0.05$); 与 CCI 组相比, MRS2395 处理组第 7、14 天 P2Y₁₂ 受体和 P38 MAPK 表达上调均明显减弱 ($P < 0.05$); MRS2395 处理组不影响 CCI 组第 7 天 P2X₄ 受体表达, 但可以明显抑制 CCI 组第 14 天 P2X₄ 受体表达上调 ($P < 0.05$)。各组大鼠脊髓背角 P2Y₁₂ 受体和 P2X₄ 受体表达之间存在正相关。**结论:** 鞘内注射 P2Y₁₂ 拮抗剂 MRS2211 可以明显抑制 CCI 大鼠机械痛敏症状; 而且脊髓背角 P2X₄ 受体和 P38 MAPK 表达下调。这提示 P2Y₁₂ 受体拮抗剂可能通过影响脊髓背角小胶质细胞 P2X₄ 受体和 P38 MAPK 表达, 在脊髓水平发挥镇痛作用。

关键词 神经病理性疼痛; P2Y₁₂ 受体; 小胶质细胞

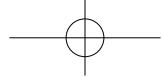
P2Y₁₂ RECEPTOR/P38MAPK IN SPINAL DORSAL HORN ARE INVOLVED IN ANALGESIA OF NEUROPATHIC PAIN BY MRS2395*

ZENG Jun-Wei^{1, 2Δ}, LIU Xiao-Hong^{1, 2}, JIANG Hui^{1, 2}, TIAN Hong^{1, 2}, CHEN Yuan-Shou^{1, 2}(¹ Department of Physiology, Zunyi Medical College; ² Guizhou Key Laboratory of Anesthesia and Organ Protection, Zunyi 563000)

Abstract Objective: The aim of this study is to investigate the effect of intrathecally injected selective P2Y₁₂ receptor antagonist MRS2395 on mechanical withdraw threshold (MWT) and the expression of P2Y₁₂ receptor, P2X₄ receptor and P38MAPK in dorsal horn of rats with chronic constriction injury (CCI) of the sciatic nerve. **Methods:** All the SD rats were randomized into three groups ($n = 8$): sham group (sham operation, intrathecal normal saline), CCI + DMSO group (CCI + intrathecal 0.005% DMSO in saline), CCI + MRS2395 group (intrathecal 100 pmol/L MRS2395). SD rats in all groups were intrathecally cathetered on 7 days before operation. For the ligated rats, MRS2395 (10 ul) or 0.005% DMSO in saline (10 ul) were intrathecally administered twice per day for 14 days. Mechanical allodynia of the plantar surface of the hindpaw was tested on 1 day before surgery and at 1h after intrathecal injection on 1, 3, 5, 7, 10 and 14 d after surgery in all rats.

* 基金项目: 国家自然科学基金 (31000497, 31460266); 遵义医学院重点学科项目 (No: XZXK-20120702); 教育部科学技术重点项目 (2012125)

Δ 通讯作者 junweizeng@sohu.com



The expression of P2Y₁₂ receptor, P2X₄ receptor and P38MAPK in dorsal horn of the three groups rats were examined by western blot on 7 and 14 days after surgery. **Results:** MWT in CCI group were significantly lower than those in sham group within post-operative day ($P < 0.05$). Repeated intrathecal administration of MRS2395 markedly suppressed this decrease in MWT after nerve injury ($P < 0.01$ at 1, 3, 5, 7 post-operative days; $P < 0.05$ at 10 and 14 days). Western blot showed that the expression of P2Y₁₂ receptor, P2X₄ receptor and P38MAPK was markedly enhanced in the ipsilateral dorsal horn on 7 days ($P < 0.01$) and 14 days ($P < 0.01$) after nerve injury. Repeated intrathecal administration of MRS2395 markedly suppressed the increased expression of P2Y₁₂ receptor and P38MAPK on 7 days ($P < 0.01$) and 14 days ($P < 0.01$) after nerve injury. Intrathecal administration of MRS2395 produced no changes in the increased P2X₄ receptor expression at 7 days after nerve injury. However, administration of MRS2395 significantly suppressed the increased P2X₄ receptor expression at 14 days after nerve injury ($P < 0.01$). **Conclusion:** Intrathecal injection of the specific P2Y₁₂ antagonist MRS2395 attenuated tactile allodynia and the increased expression of P2Y₁₂ receptor, P2X₄ receptor and P38MAPK in CCI rats. Our findings indicate that activation of P2Y₁₂ receptor in dorsal horn microglia may be a critical event in the pathogenesis of neuropathic pain and suggest that blocking microglial P2Y₁₂ receptors might be a viable therapeutic strategy for treating neuropathic pain.

Key words Neuropathic pain; P2Y₁₂ receptor; Microglial

小胶质细胞是中枢神经系统内主要的免疫细胞,对于中枢神经系统内部微环境变化及其敏感,在外伤、感染、出血、癫痫以及一些神经系统退行性疾病的发展中都起到非常重要的作用^[1]。近年研究注意到,脊髓背角小胶质细胞表达有许多神经递质的受体,参与了神经损伤导致的病理性疼痛。对小胶质细胞激活机理的阐明有助于为研发新型镇痛药物奠定必须的理论基础,为顽固性神经性疼痛的治疗提供新的思路。ATP、ADP及其P2嘌呤受体在传递伤害性信息,促进中枢痛敏的过程中发挥了重要作用^[2-4]。其中,在脊髓背角小胶质细胞表达P2X₄、P2Y₁₂嘌呤受体^[4],鞘内分别注射P2X₄受体拮抗剂或P2Y₁₂受体拮抗剂,均可以减轻神经病理性疼痛大鼠的热痛敏和机械痛敏^[5-7]。ATP与细胞表面的P2X₄受体结合,引起Na⁺、Ca²⁺内流,激活P38MAPK等信号途径。近年发现,在大鼠皮层小胶质细胞,P2X₄受体和P2Y₁₂受体作为两种膜受体,一起参与了小胶质细胞膜的边缘波动和趋化行为,单独的P2X₄受体和P2Y₁₂受体均无法完成此效应^[8]。然而,在脊髓背角,P2X₄受体和P2Y₁₂嘌呤受体之间是否存在类似的相互调节作用,P2X₄受体的易化是否参与了P2Y₁₂受体对神经病理性疼痛中的调控?因此,本研究观察鞘内注射P2Y₁₂受体拮抗剂MRS2395对慢性坐骨神经结扎(CCI)大鼠机械痛阈及脊髓背角小胶质细胞P2Y₁₂受体、P2X₄受体和P38MAPK表达变化的影响,探讨P2X₄受体和P2Y₁₂受体之间是否存在相互作用,共同参与神经

病理性疼痛的发生与维持。研究不同嘌呤受体亚型之间的相互作用,将有助于寻找在P2受体蛋白分子上可能存在的能够调节受体激活的氨基酸序列或特殊结构域,开发针对性强、镇痛效果良好但副作用小的新型药物提供理论基础。

方 法

1. 实验动物及分组

健康成年雄性SD大鼠24只,体质量200~250g,购自第三军医大学实验动物中心,实验前禁食12h,自由饮水。24只大鼠自由随机分为3组:假手术组(Sham组)、CCI模型vehicle组(CCI+鞘内注射0.005% DMSO生理盐水,B组)、CCI模型MRS2395处理组(CCI+100 pmol/L MRS2395)。假手术组大鼠仅暴露坐骨神经不进行结扎。其余大鼠在鞘内置管7天后进行坐骨神经结扎,术后分别给予含0.005% DMSO的生理盐水或100 pmol/L MRS2395。

2. 主要药品和仪器

MRS2395购自Sigma,溶于DMSO中,使用前以生理盐水稀释;兔P2Y₁₂受体、山羊P2X₄受体和山羊P38MAPK一抗购自abcam;小鼠Beta-actin单克隆抗体购自novus,PE-10导管来自美国健康医疗仪器国际公司;vonFrey纤维丝购自中国医学科学院生物工程研究所。电泳仪、电泳槽、TRANS-BLOT SD半干电转移系统为美国BioRad产品。

3. 鞘内置管

大鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 3 ml/kg, 麻醉后, 在 L₃₋₄ 间隙作长约 3 cm 的皮肤纵切口, 切开并分离 L₄ 棘突两侧肌肉, 切除 L₄ 棘突和邻近椎板, 暴露 L₄ 与 L₃ 棘突间隙, 25 G 针穿破黄韧带及硬脊膜, 见脑脊液溢出。经破口处插入 PE-10 导管 2 cm, 18 G 硬膜外穿刺针在大鼠皮下穿一隧道, 导管的另一端送至颈背部, 外露 2 cm 固定, 外口封闭, 防止脑脊液外溢。术后 3 天肌注青霉素抗感染。术后第 2 天, 经 PE-10 导管注入 2% 盐酸利多卡因 (20 μl), 大鼠两后足瘫软, 30 分钟左右恢复, 即鞘内置管成功。

4. CCI 模型制作

参照 Bennett 的方法建立大鼠左后肢 CCI 模型^[9]。大鼠鞘内置管 7 天后, 腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 3 ml/kg, 麻醉后俯卧位固定; 在股骨外侧上方纵向切开皮肤, 顺肌纹钝性分离肌肉, 暴露坐骨神经, 用 5.0 铬制羊肠线轻度结扎左坐骨神经干, 共结扎 4 道, 结扎间距约为 1 mm; 结扎强度以引起小腿肌肉轻度颤动为宜。术后 3 天肌注青霉素抗感染。

5. 行为学测定

各组大鼠于术前 1 天和术后第 1、3、5、7、10、14 天测定机械痛阈值: 大鼠置于底部为金属网的有机玻璃箱内, 采用 von-Frey 丝垂直刺激大鼠后肢足底 5 s, 刺激力量以触丝弯曲为准。采用 up-down 法测定机械痛阈, 选择 8 根 von-Frey 丝, 标度分别为 0.6、1、2、4、6、8、10 和 15 g, 大鼠出现抬足或舔足行为则为阳性反应, 记录时间。测定首先从 2 g 开始, 当该力度的刺激不能引起抬足或舔足行为, 则给予大一级力度的刺激; 如出现抬足或舔足行为则给予小一级力度的刺激, 直至出现第 1 次阳性反应和阴性反应的骑跨, 再连续测定 4 次, 平均值为阈值。最大力度为 15 g, 每次刺激间隔 30 s。

6. 免疫印迹

各组大鼠在 CCI 术后 7 天和 14 天时间点, 乙醚麻醉后处死。沿棘突切开皮肤除棘突和椎板, 小心取出损伤侧脊髓背角 (L₄₋₆), 提取各组细胞总蛋白, 考马斯亮蓝法测定蛋白浓度, 每孔蛋白上样量 50 μg, 行 SDS-PAGE 电泳, 半干转仪将凝胶中的蛋白转移至 PVDF 膜上, 6% 脱脂奶粉封闭 2 h, 分别加入兔 P2Y₁₂ 受体一抗 (1:500)、山羊 P2X₄ 受体 (1:500) 和山羊 P38MAPK 一抗 (1:500), 各标本同时加入山羊抗 β-actin 单抗 (1:2000), 4 °C 孵育过夜。PBS 洗膜, 加入抗羊 HRP-IgG (1:2500), 室温反应 1 h。加化学发光显色试剂, X 射线曝光显影, β-actin 为内参照, 扫描分析软

件系统 (LabworksTM Analysis Software, 美国) 分析数据, 以每个条带的积分光密度 (integrated optical density, IOD) 值与相对应的 β-actin 的 IOD 值之比表示蛋白的相对表达水平。

7. 统计分析

数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, 使用 SPSS 16.0 统计软件, 组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), $P < 0.05$ 表示差异有显著性。P2X₄ 及 P2Y₁₂ 受体表达, 采用 pearson 相关性检验, $P < 0.05$ 表示二者具有相关性。

结 果

1. 鞘内注射 MRS2395 对 CCI 大鼠 MWT 的影响

鞘内注射生理盐水对 sham 组大鼠行为学变化没有明显影响。CCI 术后, 大鼠出现结扎侧患足足趾并拢背屈、舔舐、悬空等神经痛表现, 但运动功能没有明显障碍。鞘内注射 MRS2395 (100 pmol/L) 的大鼠, 其结扎侧后足的足趾背屈、舔舐等自发神经痛行为减轻。对坐骨神经损伤侧 MWT 值进行分析, 结果表明, 与 sham 组相比, CCI 组在术后 1 天即出现 MWT 明显下降, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), CCI 大鼠在术后 1、3、5、7、10 和 14 天, MWT 维持在稳定的低水平, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$); 与 CCI 组相比, MRS2395 处理组鞘内注射 MRS2395 后, 术后 1、3、5 和 7 天, MWT 明显延长 ($P < 0.01$); 在术后 10 和 14 天, MWT 延长逐渐降低, 但仍具有统计学意义 ($P < 0.05$)。对坐骨神经未损伤侧 MWT 值进行分析, 结果表明, 在坐骨神经结扎前 1 天, 结扎后 1、3、5、7、10、14 天内, sham 组、CCI 组和 MRS2395 处理组 MWT 始终稳定于基础水平, 差异无统计学意义。

2. 鞘内注射 MRS2395 对 CCI 大鼠脊髓背角 P2Y₁₂ 受体表达的影响

sham 组大鼠脊髓背角, P2Y₁₂ 受体表达处于低水平。与 sham 组相比, CCI 大鼠第 7 天脊髓背角 P2Y₁₂ 受体表达水平明显上调 ($P < 0.01$), 在 14 天仍处于较高水平 ($P < 0.01$)。MRS2395 处理组第 7 天、14 天与 CCI 组第 7 天、14 天相比, P2Y₁₂ 受体表达水平明显下降, 具有统计学意义 ($P < 0.01$)。此外, MRS2395 处理组第 7 天与 sham 组相比不具有统计学意义, 但 MRS2395 处理组第 14 天与 sham 组相比, 具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3. 鞘内注射 MRS2395 对 CCI 大鼠脊髓背角 P2X₄ 受体表达的影响

sham 组大鼠脊髓背角, P2X₄ 受体表达处于低水平。与 sham 组相比, CCI 第 7 天脊髓背角 P2X₄ 受体表达水平明显增加 ($P < 0.01$), 在第 14 天, P2X₄ 受体表达水平进一步增加 ($P < 0.01$)。与 CCI 组 7 天相比, MRS2395 处理组 7 天 P2X₄ 受体表达没有明显变化; 但 MRS2395 处理组 14 天与 CCI 组 14 天相比, P2X₄ 受体表达水平明显下降 ($P < 0.01$), 具有统计学意义 ($P < 0.01$)。MRS2395 处理组 7、14 天与 sham 组相比, P2X₄ 受体表达上调具有统计学意义 ($P < 0.01$)。所有大鼠脊髓背角 P2X₄ 及 P2Y₁₂ 受体表达水平之间正相关, pearson 相关系数为 0.727, $P < 0.05$ 。

4. 鞘内注射 MRS2395 对 CCI 大鼠脊髓背角 P38MAPK 表达的影响

sham 组大鼠脊髓背角, P38MAPK 表达处于低水平。与 sham 组相比, CCI 组在 7 天 P38MAPK

表达水平明显增加 ($P < 0.01$), 在 14 天脊髓背角 P38MAPK 表达水平略下降, 但与 sham 组相比, 仍具有统计学意义 ($P < 0.01$)。与 CCI 组 7 天相比, MRS2395 处理组 7 天时 P38MAPK 表达水平明显下调 ($P < 0.01$)。与 CCI 组 14 天相比, MRS2395 处理组 14 天时 P38MAPK 表达水平也同样下调 ($P < 0.01$)。此外, 与 sham 组相比, MRS2395 处理组 7 天 P38 MAPK 表达水平增加, 有统计学意义 ($P < 0.05$), 在 14 天脊髓背角 P38 MAPK 表达水平进一步上调, 有统计学意义 ($P < 0.01$)。

讨 论

“嘌呤受体”分为 P1 (腺苷) 和 P2 (腺嘌呤核苷酸) 两类受体。迄今为止已发现七型配体门控的 P2X (P2X₁₋₇) 受体及九型 G 蛋白耦联的 P2Y 受

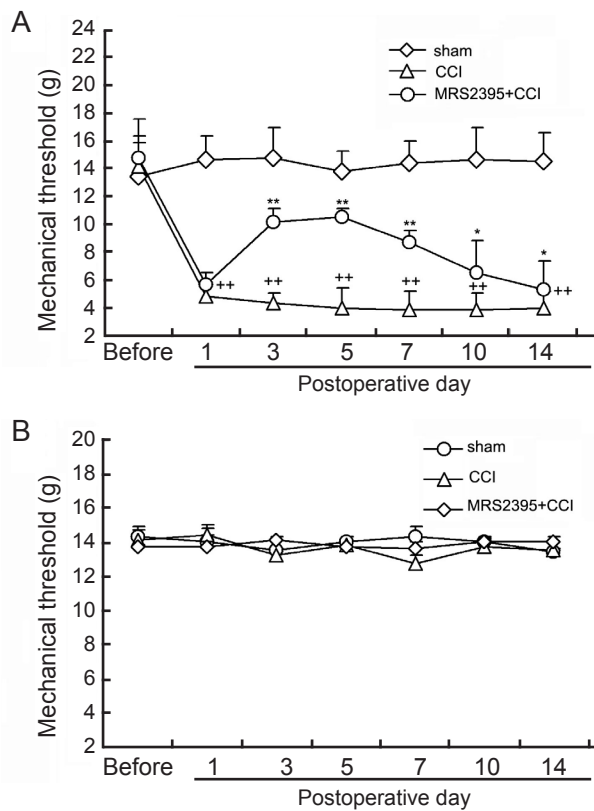


图 1 鞘内注射 MRS2395 后各组大鼠机械痛阈的变化 ($n = 8, \bar{x} \pm SD$)
 A: 各组大鼠患侧 MWT 的变化, 与 sham 组相比, $^{**}P < 0.01$; 与 CCI 相比, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。
 B: 各组大鼠健侧 MWT 的变化, 各组之间无差异
Fig. 1 Comparison of mechanical stimulation pain threshold of rats in every group at different time ($n=8, \bar{x} \pm SD$)
 A: The changes of MWT on the ipsilateral side after nerve injury. Compared with sham, $^{**}P < 0.01$; Compared with CCI, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$
 B: The changes of MWT on the contralateral side after nerve injury.

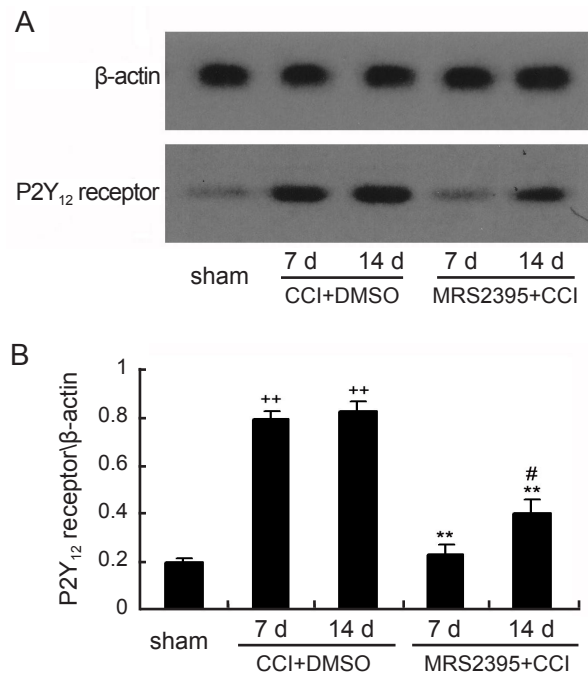


图 2 免疫印迹检测各组大鼠脊髓背角 P2Y₁₂ 受体表达
 A: 免疫印迹检测各组 P2Y₁₂ 受体蛋白表达。
 B: Western 印迹结果直方图分析。CCI+DMSO 组第 7、14 天与 sham 组相比, $^{**}P < 0.01$; MRS2395 + CCI 组第 7、14 天分别与 CCI+DMSO 组第 7、14 天相比, $^{**}P < 0.01$, MRS2395+CCI 组第 14 天与 sham 组相比, $^{#}P < 0.05$; ($n = 8, \bar{x} \pm SD$)。
Fig. 2 Western blots showed the expression of P2Y₁₂ receptor in rat dorsal horn in every group at different time
 A: Western blots from dorsal horn tissue showed immunoreactive for P2Y₁₂ receptor and β-actin.
 B: Quantification of Western blot data. The graphs show the level of P2Y₁₂ receptor and expressed as a ratio of naive. Compared with sham, $^{**}P < 0.01$, $^{#}P < 0.05$; Compared with CCI+DMSO, $^{**}P < 0.01$

体 (P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆, P2Y₁₁, P2Y₁₂, P2Y₁₃, P2Y₁₄, P2Y₁₅)。其中, P2X₄ 和 P2Y₁₂ 受体均高选择性表达于脊髓背角小胶质细胞, 参与了伤害性信息传递^[2-5]。Kobayashi 等人实验观察到, 100pM 的 MRS2395 可明显减轻坐骨神经部分横断大鼠的机械痛敏和热痛敏症状^[4]。此外, 既往实验观察到, 100pM MRS2395 较 1, 10pM MRS2395 更能抑制 CCI 大鼠的热痛敏症状^[10]。因此, 本实验鞘内注射 100pM MRS2395, 观察其对 CCI 大鼠机械痛阈及脊髓背角 P2Y₁₂ 受体、P2X₄ 受体和 P38MAPK 表达的影响。结果表明, CCI 术后, 大鼠形成稳定的机械痛敏症状, 鞘内注射 MRS2395, 机械痛阈升高最为明显主要表现在 1~7 天, 7 天后, 机械痛阈升高有所降低, 这说明 MRS2395 的镇痛效应主要表现在神经痛早期, 在后期镇痛效应有所减弱。在神经未损伤侧, 机械痛阈始终维持于基础水平, 无明显变化, 这提示 MRS2395 并不影响大

鼠基础痛阈。此外, CCI 大鼠坐骨神经损伤侧脊髓背角 P2Y₁₂、P2X₄ 受体和 P38MAPK 表达均明显上调。鞘内注射 MRS2395 后 P2Y₁₂ 受体、P2X₄ 受体和 P38MAPK 表达均明显下调。

以往文献报道, 在 CCI 模型大鼠, 脊髓背角小胶质细胞激活在第 7 天最为明显, 星形胶质细胞激活在第 14 天最为明显^[11-13]。本实验观察到, CCI 7 天 P2X₄ 受体表达上调, 在第 14 天小胶质细胞进一步升高。伤害性信息到达脊髓时, 神经元或星形胶质细胞释放 ATP, 作用于小胶质细胞 P2X₄ 受体, P2X₄ 受体表达升高, 胞外大量 Ca²⁺ 内流, 促进 P38MAPK 激活和 BDNF 释放, 后者促进背角神经元去极化, 参与中枢痛敏的形成与维持^[2]。在第 14 天小胶质细胞 P2X₄ 受体表达上调进一步升高, 这有可能是源于背角神经元兴奋性升高, 星形胶质细胞广泛激活, 释放大量的神经活性物质, 进一步促进小胶质细胞 P2X₄ 受体表达上调。本实验观

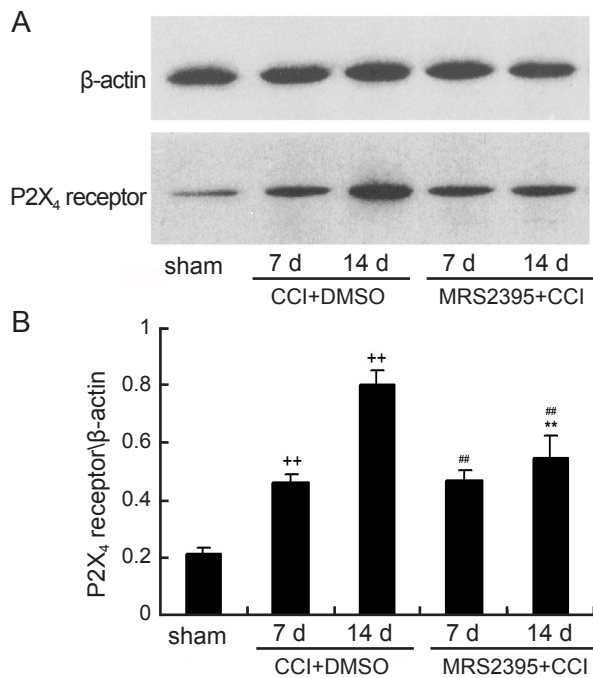


图 3 免疫印迹检测各组大鼠不同时间点脊髓背角 P2X₄ 受体表达变化

A: 免疫印迹检测各组 P2X₄ 受体蛋白表达。
B: Western 印迹结果直方图分析。CCI 组第 7、14 天与 sham 组相比, ⁺⁺*P* < 0.01; MRS2395 处理组第 7、14 天与 CCI 组第 7、14 天相比, ^{**}*P* < 0.01; MRS2395+CCI 组第 7、14 天与 sham 组相比, ^{##}*P* < 0.01, (*n* = 8, $\bar{x} \pm SD$)。

Fig. 3 Western blots showed the expression of P2X₄ receptor in rat dorsal horn in every group at different time.

A: Western blots from dorsal horn tissue showed immunoreactive for P2X₄ receptor and β-actin.
B: Quantification of Western blot data. The graphs show the level of P2X₄ receptor and expressed as a ratio of naive. Compared with sham, ⁺⁺*P* < 0.01, ^{##}*P* < 0.01; Compared with CCI, ^{**}*P* < 0.01; Compared with sham.

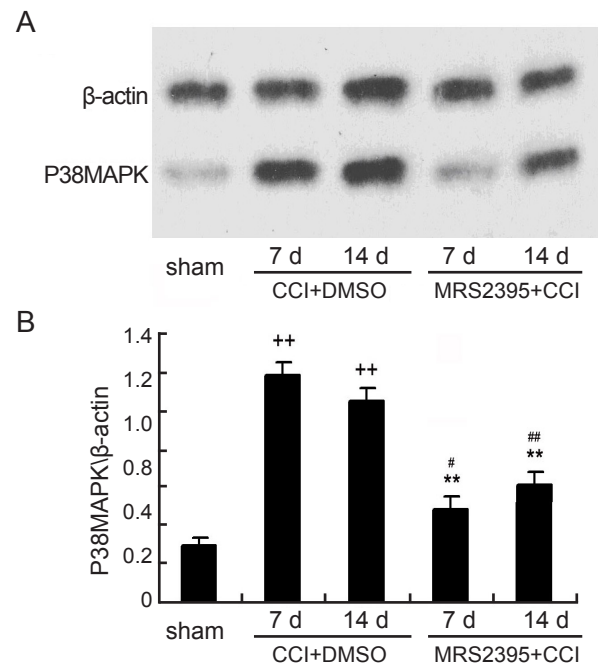


图 4 免疫印迹检测各组大鼠脊髓背角 P38MAPK 表达变化

A: 免疫印迹检测各组 P38MAPK 表达。
B: Western 印迹结果直方图分析。CCI 组第 7、14 天与 sham 组相比, ⁺⁺*P* < 0.01; MRS2395+CCI 组第 7、14 天与 CCI 组第 7、14 天相比, ^{**}*P* < 0.01; MRS2395+CCI 组第 7、14 天与 sham 组相比, [#]*P* < 0.05, ^{##}*P* < 0.01 (*n* = 8, $\bar{x} \pm SD$)。

Fig. 4 Western blots showed the expression of P38MAPK in rat dorsal horn in every group at different time.

A: Western blots from dorsal horn tissue showed immunoreactive for P38MAPK receptor and β-actin.
B: Quantification of Western blot data. The graphs show the level of P38MAPK and expressed as a ratio of naive. Compared with sham, ⁺⁺*P* < 0.01, [#]*P* < 0.05, ^{##}*P* < 0.01; Compared with CCI, ^{**}*P* < 0.01

观察到,鞘内注射 MRS2395,抑制 P2Y₁₂ 受体激活后,对 CCI 7 天小胶质细胞 P2X₄ 受体表达没有明显影响,但可以显著下调 CCI 第 14 天 P2X₄ 受体表达,这说明 P2Y₁₂ 受体阻断后不直接影响 P2X₄ 受体表达,但有可能影响背角神经元和星形胶质细胞释放 ATP、ADP 之外的其它神经活性物质,如谷氨酸、P 物质、白介素 -1、白介素 -6 等物质,刺激小胶质细胞 P2X₄ 受体表达上调。本实验中, P2Y₁₂ 与 P2X₄ 受体表达存在相关性,因此,初步推测, P2Y₁₂ 受体和 P2X₄ 受体之间可能存在间接的相互调节作用。此外,实验观察到,鞘内注射 MRS2395 在 CCI 早期表现出良好的镇痛效应,但其对 P2X₄ 受体表达的抑制作用主要体现在 CCI 后期,这体现出 MRS2395 虽然抑制了 ATP、ADP 之外的神经活性物质诱导 P2X₄ 受体表达上调的过程,但对于广泛的背角神经元兴奋性升高和星形胶质细胞激活并没有明显抑制作用,因此, MRS2395 在 CCI 后期镇痛效应并不明显。

P38 丝裂原活化蛋白激酶 (P38 mitogen activated protein kinase, P38MAPK) 的活化介导了多种细胞的炎症反应、增殖、分化、凋亡等过程。在脊髓背角, P38MAPK 主要表达于小胶质细胞,而不是神经元和星形胶质细胞。在外周神经损伤、糖尿病神经痛模型,损伤侧脊髓背角 P38MAPK 磷酸化增强^[14,15]。本实验观察到,鞘内注射 MRS2395,抑制 P2Y₁₂ 受体激活,在 CCI7 天脊髓背角 P38MAPK 表达水平明显减弱,这表明 P2Y₁₂ 受体激活后其下游信号有可能促进 P38MAPK 表达上调及磷酸化。在 CCI14 天, MRS2395 抑制 P38MAPK 表达上调的作用减弱,这可能是由于在 CCI 后期,背角神经元兴奋性升高,星形胶质细胞广泛激活,释放大量神经活性物质作用于小胶质细胞,参与 P38MAPK 表达上调所致。根据文献报道, P2Y₁₂ 受体激活后与 Gi/o 蛋白藕连,可以抑制腺苷酸环化酶的活性,使胞内 cAMP 水平降低;但 ADP 激活 P2Y₁₂ 受体的瞬间胞内 cAMP 水平上调并伴有 PKA 的激活,随后扩血管物质激活的磷酸蛋白 (vasodilator-stimulated phosphoprotein, VASP) 的 Ser153 位点磷酸化; P2Y₁₂ 受体与 Gi 蛋白结合, β γ 亚单位可激活磷脂酰肌醇 3- 激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), 随后进一步激活 PKB、Rap1b 和钾通道,诱发胞内多种信号传导途径。PI3K 产生的脂类第二信 PI-3,4,5-P2 和 PI-3,4,5-P3 等均能与蛋白激酶 B (PKB) 和磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 (PDK) 的 AH/PH 结构在培养的大鼠和小鼠皮层小胶质细胞, ADP 通过

P2Y₁₂ 受体途径诱发胞内钙离子浓度升高^[17,18]。但 P2Y₁₂ 受体活化后促进 P38MAPK 通路激活的关键信号分子有哪些,还需要下一步实验分析。但值得一提的是,小胶质细胞 P2X₄ 受体表达升高,胞外大量 Ca²⁺ 内流,也可以促进 P38MAPK 激活^[2]。因此本实验尚不能完全排除同时存在另一种可能性,即 P2Y₁₂ 受体激活后通过 P2X₄ 受体途径间接促进 P38MAPK 表达上调及磷酸化。

综上所述, P2Y₁₂ 受体参与了坐骨神经损伤造成的大鼠机械痛敏。小胶质细胞 P2Y₁₂ 受体激活后促进 P2X₄ 受体和 p38MAPK 表达上调,参与中枢痛敏的维持,这可能是 P2Y₁₂ 受体在脊髓水平参与伤害性信息传递的机制之一。有关 P2Y₁₂ 受体拮抗剂的研究将为研究神经病理性疼痛的治疗提供了新思路。

参 考 文 献

- [1] Benarroch EE. Microglia: Multiple roles in surveillance, circuit shaping, and response to injury. *Neurology*, 2013, 81: 1079 ~ 1088.
- [2] Beggs S, Trang T, Salter MW. P2X₄R⁺ microglia drive neuropathic pain. *Nat Neurosci*, 2012, 15: 1068 ~ 73.
- [3] Tozaki-Saitoh H, Tsuda M, Miyata H, *et al.* P2Y₁₂ receptors in spinal microglia are required for neuropathic pain after peripheral nerve injury. *J Neurosci*, 2008, 28: 4949 ~ 4956.
- [4] Kobayashi K, Yamanaka H, Fukuoka T, *et al.* P2Y₁₂ receptor upregulation in activated microglia is a gateway of p38 signaling and neuropathic pain. *J Neurosci*, 2008, 28: 2892 ~ 2902.
- [5] Kobayashi K, Yamanaka H, Yanamoto F, *et al.* Multiple P2Y subtypes in spinal microglia are involved in neuropathic pain after peripheral nerve injury. *Glia*, 2012, 60: 1529 ~ 1539.
- [6] Ohsawa K, Irino Y, Nakamura Y, *et al.* Involvement of P2X₄ and P2Y₁₂ receptors in ATP-induced microglial chemotaxis. *Glia*, 2007, 55: 604 ~ 616.
- [7] Andó RD, Méhész B, Gyires K, *et al.* A comparative analysis of the activity of ligands acting at P2X and P2Y receptor subtypes in models of neuropathic, acute and inflammatory pain. *Br J Pharmacol*, 2010, 159: 1106 ~ 1117.
- [8] Katagiri A, Shinoda M, Honda K, *et al.* Satellite glial cell P2Y₁₂ receptor in the trigeminal ganglion is involved in lingual neuropathic pain mechanisms in rats. *Mol Pain*, 2012, 8: 23.
- [9] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 1988, 33: 87 ~ 107.

(下转第 27 页)

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.006

神经病理性疼痛引起成年大鼠空间记忆损害和内侧前额叶的 NMDA 受体 NR2B 亚基下调表达*

刘树珍 于剑锋[△]

(潍坊医学院麻醉学系, 潍坊医学院山东省医药卫生临床麻醉学重点实验室, 潍坊 261053)

摘要 目的: 探讨神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 引起的成年大鼠的空间记忆障碍与内侧前额叶 (medial prefrontal cortex, mPFC) NMDA 受体 NR2B 亚基表达的关系。**方法:** 选择健康的 Wistar 雄性大鼠 50 只, 随机分为 5 组 (每组 10 只), 分别为假手术组 (sham operated group, SO 组), 神经病理性疼痛模型组 (neuropathic pain group, NP 组), 生理盐水组 (NS 组), Ro25-6981 组 (Ro 组) 和 CX546 组 (CX 组)。其中, NS 组、Ro 组和 CX 组是在 NP 模型基础上分别在 mPFC 区注射生理盐水、Ro25-6981 和 CX546。采用单侧坐骨神经主干慢性压迫法 (chronic constriction injury, CCI) 制备 NP 模型。SO 组和 NP 组分别于术后第 7 d、14 d、21 d 和 28 d 测量机械缩足阈 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 和热缩足潜伏期 (thermal withdrawal latency, TWL)。术后第 21 ~ 28 d, 进行八臂迷宫实验。术后第 24 d, 利用立体脑定位仪将生理盐水、Ro25-6981 或 CX546 分别注射到 mPFC, 制备成 NS 组、Ro 组或 CX 组动物模型。迷宫实验完成后立即处死大鼠, 通过 RT-PCR、免疫荧光和 Western Blotting 方法测定内侧前额叶的 NR2B 亚基 mRNA 和蛋白表达水平。**结果:** 与 SO 组比较, NP 组的 MWT 和 TWL 降低 ($P < 0.05$)。与 SO 组比较, NP 组的空间记忆功能明显减退 ($P < 0.05$)。与 NS 组比较, Ro 组的空间记忆功能明显减退 ($P < 0.05$), CX 组的空间记忆功能明显改善 ($P < 0.01$)。与 SO 组比较, NP 组与 NS 组的 NR2B 亚基 mRNA 和蛋白表达均明显降低 ($P < 0.05$)。与 NS 组比较, Ro 组的 mRNA 和蛋白表达明显降低 ($P < 0.05$), 而 CX 组的 mRNA 和蛋白表达明显升高 ($P < 0.01$)。**结论:** NP 所致空间记忆障碍可能与 mPFC 区的 NR2B 亚基下调表达有关。

关键词 内侧前额叶; 神经病理性疼痛; 空间记忆损害; N-甲基-D-天冬氨酸受体 2B 亚基

NEUROPATHIC PAIN INDUCES SPATIAL MEMORY IMPAIRMENT AND LOW EXPRESSION OF NMDA RECEPTOR NR2B SUBUNIT IN MEDIAL PREFRONTAL CORTEX IN ADULT RATS*

LIU Shu-Zhen, YU Jian-Feng[△]

(Department of Anesthesiology, Weifang Medical University, Weifang 261053)

Abstract Objective: To evaluate the relationship of spatial memory impairment induced by neuropathic pain (NP) and expression of NMDA receptor NR2B subtype in medial prefrontal cortex (mPFC) in adult rats.
Methods: 50 healthy male Wistar rats were randomly divided into 5 groups ($n = 10$): sham operated group (SO group), neuropathic pain group (NP group), the normal saline group (NS group), Ro25-6981 group (Ro group) and CX546 group (CX group). NS, Ro and CX groups were based on NP group. The NP model of the chronic constriction injury of the sciatic nerve stem was used. Mechanical withdrawal threshold (MWT) and thermal withdrawal latency (TWL) were measured in SO and NP groups 7th, 14th, 21st and 28th day after injury. 21st ~ 28th day after injury eight-arm radial maze task was detected to evaluate the spatial memory. 24th day after injury normal saline, Ro25-6981 or CX546 was injected in mPFC of NP group by stereotaxic apparatus to prepare NS group, Ro group or CX group. Once maze task was finished, rats were killed to

* 基金项目: 国家自然科学基金 (81241041), 山东省自然科学基金 (ZR2012HM077), 山东省高等学校科技计划项目 (J12LL01), 山东省医药卫生科技发展计划项目 (2011HZ113), 潍坊医学院前沿探索重点研究基金 (K11TS1002)

[△] 通讯作者 yujf@wfmc.edu.cn



measure the expression of NR2B subtype mRNA and protein in mPFC by RT-PCR, immunofluorescence and Western Blotting methods. **Results:** Compared with SO group, MWT and TWL in NP group were both reduced ($P < 0.05$). Compared with SO group, spatial memory in NP group was declined significantly ($P < 0.05$). Compared with NS group, spatial memory in Ro group was declined significantly ($P < 0.05$), CX group was improved significantly ($P < 0.01$). Compared with SO group, expression of NR2B subunit mRNA and protein in NP group and NS group was reduced significantly ($P < 0.05$). Compared with NS group, expression of NR2B mRNA and protein in Ro group was reduced significantly ($P < 0.05$), CX group was increased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion:** Spatial memory impairment induced by NP may be associated with the low expression of NR2B subunit in mPFC.

Keywords Medial prefrontal cortex; Neuropathic pain; Spatial memory impairment; NR2B

神经病理性疼痛 (neuropathic pain, NP) 是由于外周或中枢神经系统受到损伤或产生病变而导致的一种慢性疼痛。尽管病因未明, 一项针对 275 名慢性持续性疼痛患者的认知功能的研究表明, 有超过半数的受试者 (54%) 出现一种以上的认知功能问题, 主要症状为难以集中注意力、解决问题和推理能力差、精神错乱、定向力障碍以及反应时间长^[1]。另一项临床研究同样表明, 慢性疼痛可能使注意力下降, 妨碍记忆的过程^[2]。实验研究也表明, 疼痛可以导致大鼠在决策方面的认知功能障碍^[3]。NP 大鼠模型可出现内侧前额叶 (medial prefrontal cortex, mPFC) 脑区皮层结构重排, 这可能有助于确定慢性疼痛相关的认知障碍的细胞基础, 而且也初步证实了疼痛相关的神经元的形态学变化^[4]。显然, 了解慢性疼痛引起认知功能损伤的机制对于解除患者的疼痛症状、改善生活质量具有重要意义。

大量研究表明, NMDA 受体 (N-methyl-D-aspartate receptor, NR) 在慢性疼痛的产生和维持方面起关键作用^[5], 其中, NMDA 受体 2B (NMDA receptor 2B, NR2B) 亚基是 NR 参与疼痛调节的主要亚基^[6]。已经明确, NMDA 受体 NR2B 亚基在脊髓水平对慢性疼痛的发生和发展过程中起到了重要作用^[7,8]。一般认为, mPFC 参与脑的许多复杂过程, 例如决策、情绪调节等。而 NMDA 受体参与突触可塑性和学习记忆的过程, 其中 NR2B 亚基也是功能性亚基^[9,10]。但在 mPFC 脑区内的 NR2B 亚基表达水平对慢性疼痛条件下认知功能的影响仍不明确。本研究检测了常见的单侧坐骨神经干压迫导致的 NP 大鼠模型的空间记忆改变和 mPFC 脑区 NR2B 的表达水平。

方 法

1. 动物分组与模型的建立

选择健康的 Wistar 雄性大鼠 50 只 (购自山东

鲁抗医药股份有限公司), 体重在 280 ~ 320 g, 随机分为 5 组 ($n = 10$): 假手术组 (sham operation group, SO 组); 神经病理疼痛模型组 (neuropathic pain group, NP 组), 即结扎坐骨神经主干组 (均结扎右侧); 在 NP 模型的 mPFC 注射生理盐水组 (normal saline 组, NS 组); 在 NP 模型的 mPFC 注射 Ro25-6981 组 (Ro 组); 在 NP 模型的 mPFC 注射 CX546 组 (CX 组)。Ro25-6981, 一种 NMDA 受体亚单位 NR2B 选择性拮抗剂。CX546, 一种新型的安帕金药物, 即阳性的谷氨酸受体亚型 AMPA 受体调节剂。参考先前的文献描述的方法^[11] 制备 NP 模型。简要过程如下: 常规暴露右侧坐骨神经干, 并以 4-0 铬制肠线轻微结扎神经干 4 个部位, 每个部位间隔 1 mm。结扎的强度以大鼠刚好出现同侧的骨骼肌纤颤为准。分层缝合并包扎切口。对 SO 组, 除了不结扎神经外, 其他操作同 NP 组。

2. 痛阈检测

假手术组和神经病理疼痛组大鼠分别于术后第 7、14、21 和 28 d 检测右侧后爪底面的压痛觉和热痛觉, 即机械性缩足阈 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 和热痛阈, 即热缩足潜伏期 (thermal withdrawal latency, TWL)。以电子测痛仪 (Electronic Von Frey 2390, 美国 IITC 公司) 测定 MWT, 单位是 g。PL-200 热刺痛仪 (成都泰盟生物科技公司) 测定 TWL, 单位是 s。设定热刺痛仪的刺激强度为 100 档, 但以 20 s 作为刺激的最长时限, 以免灼伤大鼠。为保证检测的准确度, 痛阈检测由同一位实验人员完成。每只大鼠重复检测 6 次, 间隔 10 min 以上, 并取其平均值。

3. 内侧前额叶药物注射

术后第 24 天, 在异戊烷全麻状态下, 采用立体脑穿刺术对 NP 组大鼠进行药物干预试验。以大鼠脑立体定位仪 (ST-5ND-C 型, 成都仪器厂) 固定大鼠头部, 以 Hamilton 微量进样器 (型号 1 μ l)

穿刺 NP 组大鼠 mPFC 脑区。穿刺位点和注药位点参考《大鼠脑立体定位图谱》(第 3 版, George Paxinos、Charles Watson 著, 诸葛启钊 主译)。穿刺位点的坐标是: 前囟前 3.5 mm, 旁开 1 mm, 深 3.5 mm。注入 0.5 μ l 生理盐水、相同体积的 1 μ M Ro25-6981 或 25 μ M CX546, 分别制备生理盐水组、Ro25-6981 组和 CX546 组动物模型。

4. 八臂放射迷宫实验检测大鼠的空间记忆功能

八臂迷宫的每个单体(臂)长 42 cm, 宽 14 cm, 高 23 cm, 入口设有可移动挡板, 中央区是八边形空白区, 空白区上方盖有可移动透明玻璃板, 玻璃板上喷涂 Y 型黑色粗大标志线, 标志线作为各个迷宫入口的主要外部定位信号。迷宫上方安有摄像头, 同步记录大鼠的活动轨迹, 以便于电脑分析。依照先前文献描述的方法检测大鼠的空间记忆功能^[12]。简要过程如下: 迷宫实验前 1 周(第 14 ~ 20 d), 减少大鼠的食物供应, 在实验开始时将 SO 组和 NP 组大鼠体重降至正常体重的 85%, 实验期间亦维持正常体重的 85%。在第 21 ~ 23 d, 对大鼠进行适应性训练, 在随机选取的第 1、2、4、7 臂远端的食物杯中投放少量食物颗粒, 让大鼠自由进入各个臂探索食物, 以吃净食物为准, 将大鼠取出。每天训练 2 次, 分别开始于 10:00 am 和 3:00 pm, 每次时程以 10 min 为限, 即使吃净食物亦将大鼠取出。第 24 d, 按上述方法制备 NS 组、Ro 组和 CX 组。继续对所有大鼠进行训练。对于本实验, 迷宫实验成绩以训练 7 天后(第 28 d)的检测为准。记录各组大鼠入臂情况。大鼠进入有食物的臂并吃掉食物记录为 1 次正确的选择(appropriate choice, AC), 重复进入 1 次已经吃光食物的臂均记录为 1 次工作记忆错误(working memory error, WME), 进入不放食物的臂记录为 1 次参考记忆错误(reference memory error, RME)。WME 和 RME 次数之和为总的记忆错误(total memory error, TE)次数。WME、RME 和 TE 均以相对值表示(以 AC+WME+RME 之和作为分母)。通常认为, 工作记忆代表短期记忆, 参考记忆代表长期记忆。

5. RT-PCR 检测 mPFC 部位 NR2B mRNA 表达

在记忆功能检测完后, 立即用 20% 水合氯醛(400 mg/kg 体重)腹腔麻醉大鼠($n = 5$), 断头, 在冰上迅速取大脑内侧前额叶组织, 加入 Trizol 提取 mRNA, 做 RT-PCR。引物序列(5' \rightarrow 3'): NR2B, Sense: GCTCCAAAGCCCCATCATT; Antisense: AGGCACCGTGTCCGTGTCCGTATCC。 β -actin, Sense: CCTGTGGCATCCATGAAACTAC;

Antisense: GCTAGGAGCCAGGGCAGTAA。反应体系的条件为: (95 $^{\circ}$ C, 3 min) \times 1, (95 $^{\circ}$ C, 10 s; 60 $^{\circ}$ C, 10 s; 72 $^{\circ}$ C, 20 s) \times 35, (72 $^{\circ}$ C, 5 min) \times 1, (4 $^{\circ}$ C, ∞)。ImageJ 软件处理 PCR 凝胶图像, 将目的条带与 β -actin 条带的比值作为目的基因的相对表达强度。

6. Western Blotting 检测 mPFC 区 NR2B 蛋白表达水平

在记忆功能检测完后, 立即用 20% 水合氯醛(400 mg/kg 体重)腹腔麻醉大鼠($n = 5$), 断头, 取右侧 mPFC 组织于 EP 管中, 加入 RIPA(一种组织裂解液)和 PMSF(一种防腐剂), 剪刀剪碎, 并用电动匀浆器(PRO200)匀浆, 置于冰上 0.5 h, 然后以 12000 g 离心 1 h, 取含全组织蛋白的上清液, 并用酶标仪测出各个样本的浓度。取 30 μ g 蛋白做聚丙烯酰胺凝胶电泳, 然后转膜, 封闭, 4 $^{\circ}$ C 孵育兔抗 NR2B IgG(1:500)和小鼠抗 β -actin 单克隆抗体 IgG2a 一抗(1:5000)过夜, 山羊抗兔二抗(1:1000)室温 2 h, 最后电化学发光, 得到蛋白表达条带。一抗和二抗均购自 santa cruz 公司, 发光液和 PVDF 膜均购自 Millipore 公司, 北京君意东方电泳设备有限公司 JY300C 电泳系统。ImageJ 软件处理 Western Blotting 图像, 将目的条带与 β -actin 条带的比值作为目的基因的相对表达强度。

7. 免疫荧光组织化学检测 mPFC 区 NR2B 表达水平

在记忆功能检测完后, 立即用 20% 水合氯醛(400 mg/kg 体重)腹腔麻醉大鼠($n = 5$), 开胸暴露心脏, 将针头自心尖穿过左心室插入主动脉, 经左心室-主动脉插管以 100 ml 生理盐水快速冲洗血液, 再以 4% 多聚甲醛约 300 ml 内固定 1 h, 开颅取内侧前额叶组织后固定 3 ~ 4 h, 投入 30% 蔗糖(0.01 M PBS 溶解)中, 直到组织块沉底, 经 OCT 包埋, 切片, 加入兔抗 NR2B IgG 一抗(1:50) 4 $^{\circ}$ C 孵育 48 h。山羊抗兔 IgG Alexa Fluor 488 标记荧光二抗(1:50)避光 4 $^{\circ}$ C 孵育 12 h。60% 甘油封片, 立即置于荧光显微镜下观察并拍照。Ipm 32 图像分析软件分析荧光图片, 每张图片选取相同部位一个视野, 每个视野 30 个细胞, 计算平均荧光密度值。

8. 统计学方法

数据用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析, 计量资料均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 两组大鼠之间的痛阈比较采用重复测量数据方差分析, 组内基因表达量的比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 痛阈的改变 假手术组 (SO 组) 大鼠术侧足底无明显诱发痛现象, 且各个时间点测得的 TWL 和 MWT 趋于稳定。神经病理疼痛组 (NP 组) 较假手术组 (SO 组) 在各个时间点测得的机械痛阈和热痛阈明显降低 ($P < 0.05$)。该项资料说明 NP 模型制备成功 (见表 1、2)。

2. 空间记忆功能改变

在单侧慢性坐骨神经干压迫术后 28 天, 与假手术组 (SO 组) 比较, 神经病理疼痛组 (NP 组) 的相对工作记忆错误 (WME)、相对参考记忆错误 (RME) 及相对总记忆错误 (TE) 均升高, 空间记忆功能减低 ($P < 0.05$)。与生理盐水组 (NS 组) 比较, Ro25-6981 组 (RO 组) WME、RME 及 TE 均升高, 空间记忆功能减低 ($P < 0.05$); 而 CX546 组 (CX 组) WME、RME 及 TE 均降低, 空间记忆功能改善 ($P < 0.01$, 见表 3)。

3. RT-PCR 法检测各组大鼠 mPFC 区 NR2B 表达的改变

在单侧慢性坐骨神经干压迫术后 28 天, 与假手术组 (SO 组) 比较, 神经病理疼痛组 (NP 组)

表达降低 ($P < 0.05$)。与生理盐水组 (NS 组) 比较, Ro25-6981 组 (RO 组) 表达降低 ($P < 0.05$); 而 CX546 组 (CX 组) 表达升高 ($P < 0.01$, 见图 1)。

4. Western Blot 方法检测各组大鼠 mPFC 区 NR2B 蛋白表达的改变 在单侧慢性坐骨神经干压迫术后 28 天, 与假手术组 (SO 组) 比较, 神经病理疼痛组 (NP 组) 表达降低 ($P < 0.05$)。与生理盐水组 (NS 组) 比较, Ro25-6981 组 (RO 组) 表达降低 ($P < 0.05$); 而 CX546 组 (CX 组) 表达升高 ($P < 0.01$, 见图 2)。

5. 免疫荧光组织化学检测各组大鼠 mPFC 区 NR2B 表达水平 在单侧慢性坐骨神经干压迫术后 28 天, 与假手术组 (SO 组) 比较, 神经病理疼痛组 (NP 组) 表达降低 ($P < 0.05$)。与生理盐水组 (NS 组) 比较, Ro25-6981 组 (RO 组) 表达降低 ($P < 0.05$); 而 CX546 组 (CX 组) 表达升高 ($P < 0.01$, 见图 3)。

讨 论

本实验表明, 单侧坐骨神经的慢性压迫引起的

表 1 2 组大鼠在 CCI 术后不同时间的热缩足潜伏期 (s, $n = 10$)

Table 1 Thermal withdrawal latency in 2 groups during different time after CCI (s, $n = 10$)

组别 Group	术后 Postoperative			
	7 天 7 th d	14 天 14 th d	21 天 21 st d	28 天 28 th d
SO	8.35 ± 1.11	8.42 ± 1.14	8.23 ± 0.17	8.28 ± 0.83
NP	5.98 ± 0.83*	4.37 ± 0.61*	5.48 ± 1.33*	6.08 ± 1.10*

* $P < 0.05$, 与 SO 组相比较, compared with SO group

表 2 2 组大鼠在 CCI 术后不同时间的机械缩足阈值 (g, $n = 10$)

Table 2 Mechanical withdrawal threshold in 2 groups during different time after CCI (g, $n = 10$)

组别 Group	术后 Postoperative			
	7 天 7 th d	14 天 14 th d	21 天 21 st d	28 天 28 th d
SO	61.35 ± 7.12	60.82 ± 7.10	59.78 ± 9.85	60.62 ± 4.40
NP	27.57 ± 4.79*	13.80 ± 3.48*	17.75 ± 4.45*	29.70 ± 3.30*

* $P < 0.05$, 与 SO 组相比较, compared with SO group

表 3 各组大鼠相对空间记忆功能改变 ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$)

Table 3 Changes in relative spacial memory of 5 groups ($n = 10$, $\bar{x} \pm SD$)

组别 Group	相对工作记忆错误 Relative WME	相对参考记忆错误 Relative RME	相对总记忆错误 Relative TE
SO	0.09 ± 0.01	0.16 ± 0.01	0.25 ± 0.02
NP	0.16 ± 0.01*	0.33 ± 0.02*	0.48 ± 0.03*
NS	0.18 ± 0.03	0.32 ± 0.01	0.50 ± 0.02
Ro	0.36 ± 0.01 [#]	0.52 ± 0.02 [#]	0.87 ± 0.01 [#]
CX	0.12 ± 0.02 ^{##}	0.24 ± 0.03 ^{##}	0.36 ± 0.04 ^{##}

* $P < 0.05$, 与 SO 组相比较, compared with SO group

[#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, 与 NS 组比较, compared with NS group

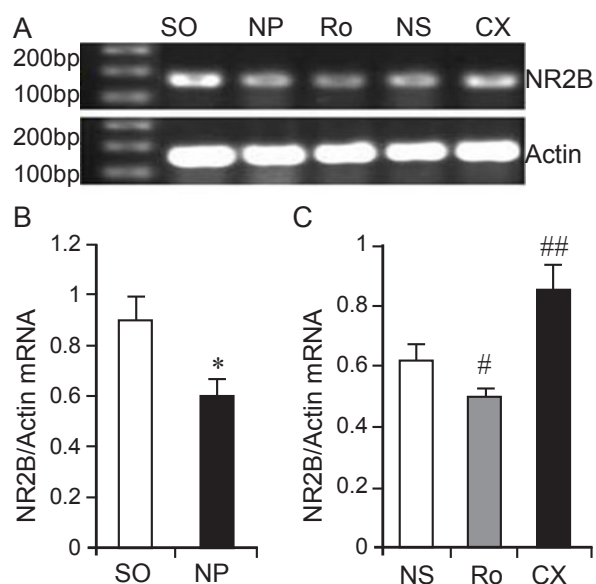


图 1 RT-PCR 法检测 5 组大鼠 mPFC 部位 NR2B 的 mRNA 表达水平。A 表示 NR2B mRNA 的琼脂糖电泳图像。β-actin 是内参基因。B 显示 NR2B mRNA 在 SO 组和 NP 组的相对表达量。C 显示 NR2B mRNA 在 NS 组、Ro 组和 NP 组的相对表达量。* $P < 0.05$, 与 SO 组比较。# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与 NS 组比较。

Fig. 1 Expression level of NR2B mRNA in mPFC in 5 groups measured by RT-PCR. A, electrophotogram of Sepharose of NR2B mRNA expression. β-actin is used as endogenous control. B, relative expression of NR2B mRNA in SO and NP group. C, relative expression of NR2B mRNA in NS, Ro and CX group. * $P < 0.05$, compared with SO group. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with NS group.

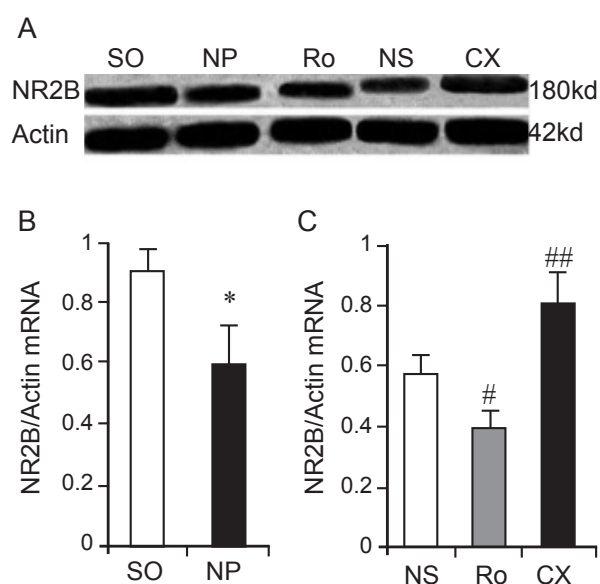


图 2 Western Blotting 方法检测各组大鼠 mPFC 区 NR2B 蛋白表达水平。A 表示 NR2B 的 Western Blotting 条带。β-actin 是内参基因。B 显示 NR2B 蛋白在 SO 组和 NP 组的相对表达量。C 显示 NR2B 蛋白在 NS 组、Ro 组和 NP 组的相对表达量。* $P < 0.05$, 与 SO 组比较。# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与 NS 组比较。

Fig. 2 Expression level of NR2B protein in mPFC in 5 groups measured by Western Blotting. A, electrophotogram of SDA-PAGE of NR2B mRNA expression. β-actin is used as endogenous control. B, relative expression of NR2B protein in SO and NP group. C, relative expression of NR2B protein in NS, Ro and CX group. * $P < 0.05$, compared with SO group. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with NS group.

神经病理性疼痛表现为大鼠机械痛阈和热痛阈的持续性改变。在术后约 1 个月，神经病理性疼痛模型大鼠出现了空间记忆损害和内侧前额叶脑区 NR2B 表达水平下降。而 NR2B 选择性拮抗剂，Ro25-6981 能够使 NP 大鼠的空间记忆损害进一步加重；一种被认为是改善记忆的药物，CX546 则能够部分逆转这种减退。这些结果都提示，神经病理性疼痛引起的前额叶皮层工作记忆的损害可能需要 NR2B 的参与。已有研究表明，神经病理性疼痛模型大鼠的脊髓背角 NR2B 蛋白表达水平较假手术组显著增高^[13]。尽管在 CFA 炎性疼痛模型的脊髓背角 NR2B 蛋白表达水平并没有发生明显变化，但 NR2B 的磷酸化水平明显高于假手术组^[14]。这提示脊髓部位的 NR2B 在慢性疼痛的产生和维持过程中起了重要作用，但 NR2B 在不同性质的慢性疼痛中所起的作用可能不完全相同。

在脊髓以上水平，前扣带回和岛叶皮质区的 NR2B 在中枢性痛敏的形成中起到重要作用^[15]。而本实验主要对神经病理性疼痛大鼠内侧前额叶脑区进行了初步的研究，发现内侧前额叶脑区在慢性疼

痛条件下出现了 NR2B 的表达下降。通过在内侧前额叶脑区注射 NR2B 选择性拮抗剂 Ro25-6981 和 AMPA 受体调节剂 CX546，前者使神经病理性疼痛大鼠内侧前额叶脑区 NR2B 的表达进一步下降、空间记忆功能进一步减退；而后者使大鼠内侧前额叶脑区 NR2B 的表达升高，空间记忆得到改善，这提示内侧前额叶脑区可能出现了包含 NMDA 受体 NR2B 亚基在内的各种亚基构成比或数量发生了改变，继而引起 NMDA 受体介导的突触重塑，这可能是神经病理性疼痛大鼠空间记忆损害的分子基础。值得注意的是，这跟上述脊髓水平 NR2B 蛋白表达水平的研究结果并不一致。目前，这种 NR2B 部位差异性表达的原因尚不清楚，或许与不同的信号通路活性改变有关。而 NR2B 的活化水平，包括其磷酸化水平的变化也有待于进一步的研究。

先前的研究表明，NR2B 亚基在学习、记忆、疼痛、突触可塑性等生理功能中都发挥作用。海马 CA1 区 NR2B 参与突触可塑性与记忆的形成^[16,17]。前扣带回 NR2B 参与突触重塑并对恐惧记忆的形成

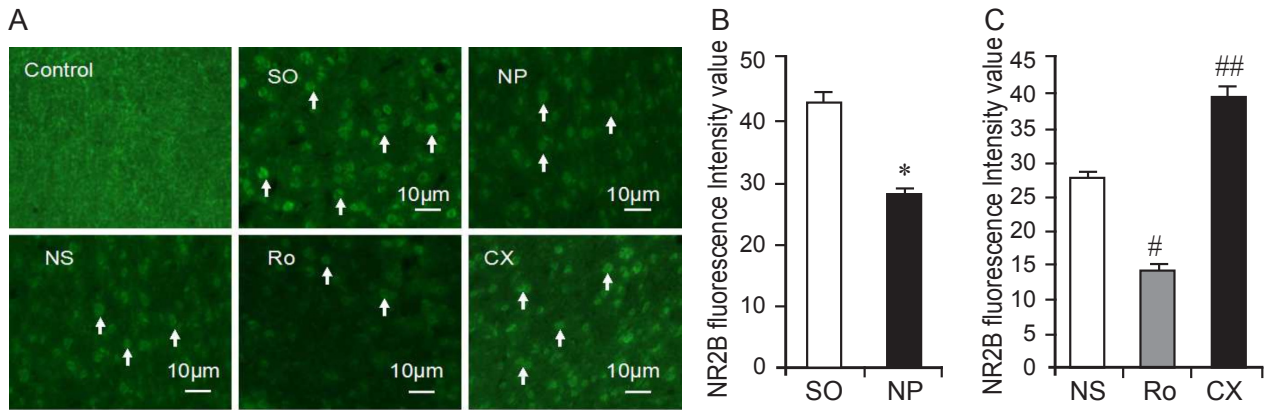


图3 免疫荧光组织化学检测各组大鼠 mPFC 区 NR2B 表达水平。A 表示 NR2B 免疫阳性细胞 (↑) 的免疫荧光强度。B 显示 NR2B 免疫阳性细胞在 SO 组和 NP 组的荧光强度值。C 显示 NR2B 免疫阳性细胞在 NS 组、Ro 组和 NP 组的荧光强度值。* $P < 0.05$, 与 SO 组比较。# $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与 NS 组比较。标尺=10 μm 。

Fig. 3 Expression level of NR2B protein in mPFC in 5 groups measured by immunofluorescence. A, immunofluorescence intensity value of NR2B-immunopositive cells (↑). B, immunofluorescence intensity value of NR2B-immunopositive cells in SO and NP group. C, immunofluorescence intensity value of NR2B-immunopositive cells in NS, Ro and CX group. * $P < 0.05$, compared with SO group. # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with NS group. Scale, bar=10 μm .

成起到重要作用^[18]。也有研究发现, NR2B 过度表达的小鼠, 其学习、记忆能力明显增强, 这说明 NR2B 对于成长过程中学习记忆的形成至关重要^[19]。

神经病理性疼痛对不同的脑区功能也有不同的影响。先前的研究已经明确海马是参与学习和记忆的重要中枢^[20], 海马作为情绪反应、学习和记忆中枢, 与慢性疼痛的发病机制有着密切关系^[21]。另一研究表明, 在大鼠杏仁核注射 Ro25-6981 能够削弱大鼠已形成的恐惧条件反射^[22]。本研究和其他研究提示内侧前额叶脑区可能对包括空间记忆在内的认知功能也有明显影响。早在 1848 年美国佛蒙特州的铁路工人 Gage 所遭遇的意外事故已经表明内侧前额叶脑区在参与情绪调节上发挥着重要作用^[23]。内侧前额叶脑区在疼痛调制、工作记忆和情绪记忆中起着重要的作用^[24]。最新的研究发现神经病理性疼痛模型大鼠的空间记忆受损与海马-前额叶皮层的纤维连接减少有关^[25]。

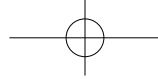
综上所述, 本研究提示神经病理性疼痛引起的内侧前额叶皮质的 NR2B 下调表达可能与空间记忆损害有关。本研究支持 NR2B 亚基是改善慢性疼痛症状的一个有效靶点。

参考文献

[1] McCracken LM, Iverson GL. Predicting complaints of impaired cognitive functioning in patients with chronic pain. *J Pain Symptom Manage*, 2001, 21: 392 ~ 396.
 [2] Dick BD, Rashid S. Disruption of attention and working

memory traces in individuals with chronic pain. *Anesth Analg*, 2007, 104:1223 ~ 1229.

[3] Pais-Vieira M, Mendes-Pinto MM, Lima D, *et al*. Cognitive impairment of prefrontal-dependent decision-making in rats after the onset of chronic pain. *Neuroscience*, 2009, 161:671 ~ 679.
 [4] Metz AE, Yau HJ, Centeno MV, *et al*. Morphological and functional reorganization of rat medial prefrontal cortex in neuropathic pain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106:2423 ~ 2428.
 [5] Mao J, Price DD, Hayes RL, *et al*. Differential roles of NMDA and non-NMDA receptor activation in induction and maintenance of thermal hyperalgesia in rats with painful peripheral mononeuropathy. *Brain Res*, 1992, 598: 271 ~ 278.
 [6] Xiao C, Huang Y, Dong M, *et al*. NR2B-selective conantokin peptide inhibitors of the NMDA receptor display enhanced antinociceptive properties compared to non-selective conantokin. *Neuropeptides*, 2008, 42: 601 ~ 609.
 [7] Liao GY, Wagner DA, Hsu MH, *et al*. Evidence for direct protein kinase-C mediated modulation of N-methyl-D-aspartate receptor current. *Mol Pharmacol*, 2001, 59:960 ~ 964.
 [8] Ikeda H, Stark J, Fischer H, *et al*. Synaptic amplifier of inflammatory pain in the spinal dorsal horn. *Science*, 2006, 312:1659 ~ 1662.
 [9] Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 1993, 36: 31 ~ 39.
 [10] Malenka RC, Nicoll RA. NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms.



- Trends Neurosci, 1993, 16: 521 ~ 527.
- [11] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 1988, 33: 87 ~ 107.
- [12] Terry AV, Gearhart DA, Warner S, *et al.* Protracted effects of chronic oral haloperidol and risperidone on nerve growth factor, cholinergic neurons, and spatial reference learning in rats. *Neuroscience*, 2007, 150:413 ~ 424.
- [13] Zhang W, Shi CX, Gu XP, *et al.* Ifenprodil induced antinociception and decreased the expression of NR2B subunits in the dorsal horn after chronic dorsal root ganglia compression in rats. *Anesth Analg*, 2009, 108: 1015 ~ 1020.
- [14] Guo W, Zou S, Guan Y, *et al.* Tyrosine phosphorylation of the NR2B subunit of the NMDA receptor in the spinal cord during the development and maintenance of inflammatory hyperalgesia. *J Neurosci*, 2002, 22 : 6208 ~ 6217.
- [15] Wei F, Wang GD, Kerchner GA, *et al.* Genetic enhancement of inflammatory pain by forebrain NR2B overexpression. *Nat Neurosci*, 2001, 4:164 ~ 169.
- [16] Tang YP, Shimizu E, Dube GR, *et al.* Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature*, 1999, 401:63 ~ 69.
- [17] Liu L, Wong TP, Pozza MF, *et al.* Role of NMDA receptor subtypes in governing the direction of hippocampal synaptic plasticity. *Science*, 2004, 304: 1021 ~ 1024.
- [18] Zhao MG, Toyoda H, Lee YS, *et al.* Roles of NMDA NR2B subtype receptor in prefrontal long-term potentiation and contextual fear memory. *Neuron*, 2005, 47: 859 ~ 872.
- [19] Khan AM, Curras MC, Dao J, *et al.* Lateral hypothalamic NMDA receptor subunits NR2A and/or NR2B mediate eating: immunochemical/behavioral evidence. *Am J Physiol*, 1999, 276: 880 ~ 891.
- [20] Szamosi A, Levy-Gigi E, Kelemen O, *et al.* The hippocampus plays a role in the recognition of visual scenes presented at behaviorally relevant points in time: evidence from amnesic mild cognitive impairment (aMCI) and healthy controls. *Cortex*, 2012, 49:1892 ~ 1900.
- [21] Zhu J, Wei X, Liu J, *et al.* Interaction of glia activation and neurotransmission in hippocampus of neuropathic rats treated with mirtazapine. *Exp Clin Psychopharmacol*, 2009, 17:198 ~ 203.
- [22] Walker DL, Davis M. Amygdala infusions of an NR2B-selective or an NR2A-preferring NMDA receptor antagonist differentially influence fear conditioning and expression in the fear-potentiated startle test. *Learn Mem*, 2008, 15: 67 ~ 74.
- [23] Damasio H, Grabowski T, Frank R, *et al.* The return of Phineas Gage: clues about the brain from the skull of a famous patient. *Science*, 1994, 264: 1102 ~ 1105.
- [24] Devoize L, Alvarez P, Monconduit L, *et al.* Representation of dynamic mechanical allodynia in the ventral medial prefrontal cortex of trigeminal neuropathic rats. *Eur J Pain*, 2011, 15:676 ~ 682.
- [25] Cardoso-Cruz H, Lima D, Galhardo V. Impaired spatial memory performance in a rat model of neuropathic pain is associated with reduced hippocampus-prefrontal cortex connectivity. *J Neurosci*, 2013, 33: 2465 ~ 2480.

(上接第 20 页)

- [10] 闵娅兰, 刘晓红, 肖智, 等. 鞘内注射 MRS2395 对慢性坐骨神经结扎大鼠脊髓背角 Iba1 表达的影响. *临床麻醉学杂志*, 2012, 28: 81 ~ 84.
- [11] Dieb W, Hafidi A. Astrocytes are involved in trigeminal dynamic mechanical allodynia: potential role of D-serine. *J Dent Res*, 2013, 92: 808 ~ 813.
- [12] Tsuda M, Shigemoto-Mogami Y, Koizumi S, *et al.* P2X₄ receptors induced in spinal microglia gate tactile allodynia after nerve injury. *Nature*, 2003, 424: 778 ~ 783.
- [13] 王佳, 梁宜, 杜俊英, 等. 星形胶质细胞与神经病理性痛的相关性研究进展. *中国疼痛医学杂志*, 2013, 19: 177 ~ 179.
- [14] Koda M, Furuya T, Kato K, *et al.* Delayed granulocyte colony-stimulating factor treatment in rats attenuates mechanical allodynia induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve. *Spine*, 2014, 39: 192 ~ 197.
- [15] Cheng KI, Wang HC, Chuang YT, *et al.* Persistent mechanical allodynia positively correlates with an increase in activated microglia and increased P-p38 mitogen-activated protein kinase activation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pain*, 2014, 18: 162 ~ 173.
- [16] 曾俊伟, 刘爱东, 刘晓红. P2Y₁₂ 受体与神经系统疾病研究进展. *神经解剖学杂志*, 2010, 26: 448 ~ 450.
- [17] Visentin S, Nuccio CD, Bellenchi GC. Different patterns of Ca²⁺ signals are induced by low compared to high concentrations of P2Y agonists in microglia. *Purinergic Signal*, 2006, 2: 605 ~ 617.
- [18] Light AR, Wu Y, Huguen RW, *et al.* Purinergic receptors activating rapid intracellular Ca increases in microglia. *Neuron Glia Biol*, 2006, 2: 125 ~ 138.

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.007

α₂ 肾上腺素受体在神经病理性疼痛大鼠脊髓背角中的表达 *

周俊飞¹ 蔡捷² 姜红² 邢国刚² 冯艺¹ 姜陆洋^{1△}

(¹北京大学人民医院 麻醉与疼痛医学科, 北京 100044; ²北京大学神经科学研究所, 基础医学院神经生物学系; 教育部和国家卫生与计划生育委员会 神经科学重点实验室, 北京 100191)

摘要 目的: 研究 α₂ 肾上腺素受体 (α₂-AR) 不同亚型在神经病理性疼痛大鼠中的表达变化规律及其在神经病理性疼痛形成中作用。方法: 雄性 6 周龄 SD 大鼠分为对照组、假手术组和保留性脊神经损伤模型组 (spared nerve injury, SNI 组)。采用蛋白质免疫印迹法 (Western blot 法) 和 RT-PCR 法测定 α_{2A}-AR、α_{2B}-AR 和 α_{2C}-AR 在腰膨大段脊髓背角中的表达。结果: (1) 在蛋白水平三个亚型在正常大鼠均有表达, 主要是以 α_{2A}-AR 为主; (2) 与正常组和假手术组比较, SNI 神经病理性疼痛组 α_{2A}-AR 的蛋白表达明显下调 (P < 0.01, n=6), 而 α_{2B}-AR 和 α_{2C}-AR 蛋白表达则没有明显的变化 (P > 0.05, n = 6)。 (3) 在 mRNA 水平, 三个亚型在三组表达没有明显的变化 (P > 0.05, n = 5)。结论: 在神经病理性疼痛条件下, 脊髓背角 α_{2A}-AR 受体亚型明显下调, α_{2B}-AR 和 α_{2C}-AR 没有明显变化, 表明这种下调仅发生在翻译水平而非转录水平。α_{2A}-AR 下调可能在外周神经损伤所引起的神经病理性疼痛中发挥作用。

关键词 α₂ 肾上腺素受体; 神经病理性疼痛; Western blot

EXPRESSION OF ALPHA 2 ADRENERGIC RECEPTOR SUBTYPES IN DORSAL HORN NEURONS OF RATS UNDER NEUROPATHIC PAIN CONDITIONS*

ZHOU Jun-Fei¹, CAI Jie², JIANG Hong², XING Guo-Gang², FENG Yi¹, JIANG Lu-Yang^{1△}

(¹Department of Anesthesia and Pain Medicine, Peking University People's Hospital, Beijing 100044; ²Neuroscience Research Institute and Department of Neurobiology, Peking University; Key Laboratory for Neuroscience of the Ministry of Education and National Health & Family Planning Commission, Beijing 100191)

Abstract Objective: To investigate the dynamic expression and distribution of Alpha 2 adrenergic receptor subtypes in the rat's spinal dorsal horn neurons (SDH) under neuropathic pain conditions. **Methods:** Six weeks old male SD rats were randomly divided into normal control group (naive, n = 6), sham-operated group (n = 6) and SNI (spared nerve injury) group (n = 6). The expression of protein and mRNA level of three alpha 2 adrenergic receptor subtypes (α_{2A}-AR, α_{2B}-AR, and α_{2C}-AR) which performed on L₄₋₆ lumbar enlargement SDH neurons were measured by Western blot and RT-PCR methods. **Results:** (1) All three alpha 2 adrenergic receptor subtypes expression was found by Western Blot at protein level in SDH neurons in all groups. The Alpha 2A adrenergic subtype distribution was dominated in normal rats. (2) The expression of Alpha 2A was decreased significantly under neuropathic conditions at protein level but no changes were found in sham-operated and normal control groups. There were no changes of Alpha 2B and 2C subtypes expression in all groups at protein level. (3)The RT-PCR results showed that Alpha adrenergic subtypes mRNA expression did not change under neuropathic conditions. **Conclusion:** The down-regulation of Alpha 2A in the spinal dorsal horn occurs after peripheral nerve ligation. The down-regulation was performed at protein expressing level but not at the transcription level. The dorsal horn adrenergic receptor down-regulation may play an important role in the development of neuropathic pain.

Key words Alpha 2 Adrenergic Receptor; Neuropathic Pain; Western blot

* 基金项目: “神经病学疼痛大鼠脊髓后角细胞 α₂ 受体增殖的实验研究” 2011 年度国家自然科学基金委主任基金项目, 项目编号: 81150021

△ 通讯作者 jiangly1018@hotmail.com

神经病理性疼痛是由于躯体感觉系统的损伤或疾病所引起的疼痛^[1]，其可以由外伤、手术、感染等引起。神经病理性疼痛多为慢性病程，疼痛强烈，严重影响患者的睡眠，长期的慢性疼痛还会引发患者的情绪和认知障碍^[2,3]，产生抑郁、焦虑和认知功能下降，严重影响患者和家庭的生活质量，并给社会带来沉重的医疗负担。

目前，临床上已经有多种 α_2 -肾上腺素受体(α_2 -adrenergic receptor, α_2 -AR)激动剂如可乐定等用于各种神经病理性疼痛的治疗。通过联合阿片类药物或者单独鞘内给予 α_2 -AR激动剂可以缓解慢性疼痛达数月^[4]。这些药物具有良好的镇痛效应，同时还可以增强阿片类药物和局麻药物的镇痛效应^[5]、产生阿片节约效应(opiate-sparing effect)^[6,7]，提高镇痛效果、减少各种不良反应发生。

α_2 -AR属于G蛋白偶联受体超家族。 α_2 -AR通过Gi蛋白降低细胞内腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)的活性或直接调节 Na^+/H^+ 反向转运体、 Ca^{2+} 通道或 K^+ 通道等离子通道的活性来发挥作用^[8]。 α_2 -AR有三个亚型即 α_{2A} -AR、 α_{2B} -AR和 α_{2C} -AR^[9]。

α_2 -AR在中枢神经系统和外周神经系统都有广泛的存在，其在突触前和突触后均有分布^[10]。目前尚未有关于 α_2 -AR不同亚型在神经病理性疼痛大鼠脊髓背角表达的相关研究。我们推测 α_2 -AR镇痛作用的机制可能是在神经病理条件下，其不同亚型在脊髓背角神经元中表达发生了变化。本实验拟应用Western blot和RT-PCR的方法从蛋白表达水平和mRNA水平研究在保留性脊神经损伤模型下脊髓背角 α_2 -AR表达的变化，从而为更深入的研究 α_2 -AR镇痛作用的分子机制打下基础。

方 法

1. 主要试剂

兔抗鼠 α_{2A} 、 α_{2B} 和 α_{2C} 抗体购自美国Abcam公司、BCA蛋白定量试剂盒购自CWbio公司、HRP标记的羊抗兔IgG购自天德悦生物科技有限责任公司、ECL购自Millipore公司。

2. 实验动物及分组

6周龄成年雄性健康SD大鼠(北京维通利华实验动物技术有限公司提供)，SPF级，体重200~220g于北京大学人民医院实验动物中心预检3~5日，随机分为对照组(Naive)、假手术(Sham)组和保留性脊神经损伤模型(Spared Nerve Injury, SNI)手术组。对照组不做任何处理，假手术组仅

分离坐骨神经，手术组行SNI手术。实验动物的饲养环境为： $21\pm 1^\circ\text{C}$ ，模拟昼夜照明周期为12:12h，标准鼠料饲养，自由摄食水。本实验经北京大学人民医院伦理委员会批准。

3.SNI神经病理性疼痛大鼠模型和假手术组大鼠的制备及行为学测定

参照Decosterd等的方法^[11,12]，SD大鼠经腹腔注射戊巴比妥钠(50mg/kg)麻醉后取俯卧位。在无菌条件下，暴露坐骨神经及三个分支：腓肠神经、胫神经和腓总神经。4~0丝线结扎后切断2~4mm腓总神经和胫神经，防止再生，保留腓肠神经不受损伤。整个过程用生理盐水冲洗，减少血液等对神经的刺激。假手术组大鼠仅做相应手术切口，暴露坐骨神经及分支后缝合创口，不进行丝线结扎和神经切断。

术后14天用von Frey纤维丝(Stoelting, Wood Dale, IL, USA)测定SNI手术组大鼠术侧缩足阈值，以术侧缩足阈值 $\leq 4\text{g}$ 为造模成功，进入下一步实验。

4.Western Blot法检测 α_2 -AR的三个亚型表达

术后14天对照组、假手术组和经行为学测定造模成功的SNI组大鼠麻醉后，迅速处死，取出腰膨大段脊髓背角，BCA法蛋白定量，SDS-PAGE电泳分离蛋白，湿法转移将蛋白条带转移至PVDF膜上，5%脱脂奶粉封闭3h，一抗(α_{2A} ，购自Abcam, Lot号: ab65833; α_{2B} ，购自Abcam, Lot号: ab151727; α_{2C} ，购自Abcam, Lot号: ab46536)孵育过夜，用5%脱脂奶粉-TBST稀释二抗，山羊抗兔IgG(H+L)HRP，ECL加到膜上后反应3~5min，胶片曝光：10s~5min(曝光时间随不同光强度而调整)，显影2min，定影。图像分析系统使用GS800扫描仪和Image J2x 2.1.4.6分析软件进行光密度分析。

5.RT-PCR检测

提取组织样本中总RNA。取5 μl RNA用1%琼脂糖凝胶进行电泳，以检测RNA的完整性。用DNase I试剂盒对RNA中残留的基因组DNA进行消化处理。扩增程序为：95 $^\circ\text{C}$ 10min，(95 $^\circ\text{C}$ 15sec, 60 $^\circ\text{C}$ 60sec) $\times 45$ 个循环。根据RT-PCR原始检测结果，计算出各样品的目的基因相对定量结果，即其他各个样品相对于对照样品(以对照组1样本为对照样本)，目的基因mRNA转录水平的差异。

α_{2A} -AR上游引物序列5'-TTCGTGGTGTGT-TGGTTCCCGT-3'；

α_{2A} -AR下游引物序列5'-CGGAAGTCGTG-GTTGAAAATGG-3'；

α_{2B} -AR上游引物序列5'-TTGACCAGCCGC-

TCACTCCG-3' ;

α_{2B} -AR 下游引物序列 5' -GATGAGAGTAGC
CACTAGGATGTCGG-3'

α_{2C} -AR 上游引物序列 5' -GGTGTGTACCTG-
GCACTGGACGT-3'

α_{2C} -AR 下游引物序列 5' -GAAGGAGATGA-
CAGCCGAGATGAG -3'

β -actin 上游引物序列 5' -GGAGATTACTGC-
CCTGGCTCCTA-3'

β -actin 下游引物序列 5' -GACTCATCGTAC-
TCCTGCTTGCTG-3'

6. 数据处理及统计学分析

使用 Prism 5.0 软件对实验的结果进行数据的处理和统计分析。实验数据的统计结果以均数 ± 标准误 ($\bar{x} \pm SEM$) 表示。组间数据的差异应用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 认为有显著性差异。

结 果

1. 对照组大鼠的 α_2 -AR 的三个亚型表达

从本实验的结果 (见表 1) 可以看出在正常大鼠腰膨大段脊髓背角 α_2 -AR 的三个亚型均有表达, 且主要是以 α_{2A} -AR 亚型为主 ($n = 6$)。 α_{2B} -AR 和 α_{2C} -AR 在正常大鼠脊髓背角仅少量表达 ($n = 6$)。

2. 术后 14 天 Western Blot 法检测各组动物 α_{2A} -AR、 α_{2B} -AR 和 α_{2C} -AR 亚型的表达变化

与对照组 (Naive 组) 相比, 假手术组 (Sham 组) α_{2A} -AR 的 western blot 检测结果没有显著性差异。而 SNI 手术组 α_{2A} -AR 的 Western Blot 检测结果与对照组相比显著下降 ($P < 0.05, n = 6$), 表明在神经病理性疼痛条件下, α_{2A} -AR 的表达有明显的下调 (见图 1)。

与对照组 (Naive 组) 相比, 假手术组 (Sham 组) 和 SNI 手术组 α_{2B} -AR、 α_{2C} -AR 的 Western Blot 检测结果均没有显著性差异 ($P > 0.05, n = 6$, 见图 2、3)。

3. 各组 SDH 细胞 α_{2A} -AR、 α_{2B} -AR 和 α_{2C} -AR mRNA 水平 RT-PCR 检测结果

与对照组 (Naive 组) 相比, 假手术组 (Sham 组) 和 SNI 手术组 α_{2A} -AR、 α_{2B} -AR 和 α_{2C} -AR 的

mRNA 检测结果均没有显著性差异 ($P > 0.05, n = 5$, 见表 2)。

讨 论

目前已经有关于 α_2 -AR 在神经损伤后变化的研究, 但是不同的研究结果不尽相同。例如在脊神经结扎模型下, 关于 α_2 -AR 的变化, 一项运用 RT-PCR 方法的研究显示, 在 L_5/L_6 脊神经结扎模型 (SNL) 一周后, 背根神经节中 α_{2A} -AR mRNA 是上调的 [13], 而另一些研究则显示为下调 [14]。一项关于交感维持性疼痛 (sympathetically maintained pain, SMP) 的实验中 [15], 实验组结扎坐骨神经, 对照组通过外周注射角叉胶诱导急性炎症反应。结果显示, 实验组大鼠背根神经节 α_{2A} -AR mRNA 显著增加, 而炎症组大鼠背根神经节 α_{2A} -AR mRNA

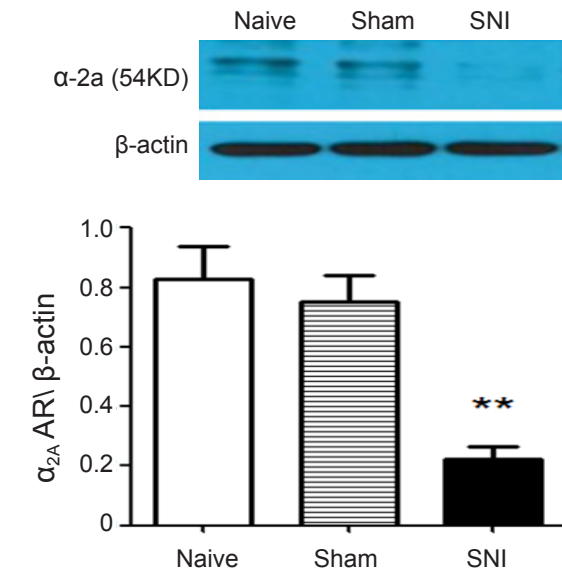


图 1 各组大鼠 α_{2A} -AR 表达的差异。各组大鼠 α_{2A} -AR 蛋白表达灰度值比较, 右上图为大鼠腰膨大段脊髓 α_{2A} -AR Western blot 检测结果原始图 (** $P < 0.01$, 与对照组相比, $n = 6$ 。Naive, 空白对照组; Sham, 假手术组; SNI, 手术组)。

Fig.1 The expression of α_{2A} -AR in SDH by Western Blot Method. The expression of α_{2A} -AR in SDH neurons in sham and SNI groups compared with naive group (Western blot).The top right is the original α_{2A} -AR expression by Western blot imaging figure in three groups. (** $P < 0.01$, Compared with in control group).

表 1 Western Blot 法测定正常大鼠脊髓背角, α_2 -AR 三个亚型蛋白的相对表达量 (采用 α_2 -AR 与内参 β -Actin 比值表示) 比较 ($n = 6$)

Table 1 The α_2 -adrenergic receptor subtypes expression in SDH from normal control group by Western Blot Method. Values expressed as the ratio of α_2 -AR/ β -Actin ($n = 6$)

AR Subtype	α_{2A} -AR	α_{2B} -AR	α_{2C} -AR
α_2 -AR/ β -Actin	0.83 ± 0.11	$0.14 \pm 0.03^{**}$	$0.33 \pm 0.02^*$

* $P < 0.05, **P < 0.01$, compared with α_{2A} -AR.

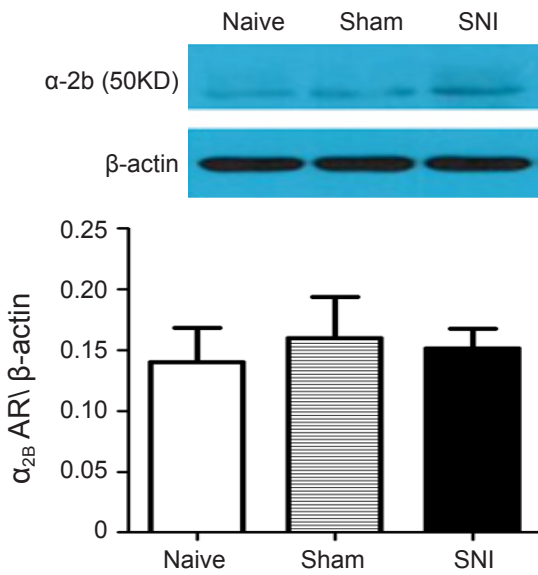


图2 各组大鼠 α_{2B} -AR 表达的差异。各组大鼠 α_{2B} -AR 蛋白表达灰度值比较，右上图为大鼠腰膨大段脊髓 α_{2B} -AR Western blot 检测结果原始图 (** $P > 0.05$ ，与对照组相比， $n = 6$ ，Naive，对照组；Sham，假手术组；SNI，手术组)。
Fig.2 The expression of α_{2B} -AR in SDH by Western Blot Method. The expression of α_{2B} -AR in SDH neurons in sham and SNI groups compared with naive group (Western blot). The top right is the original α_{2B} -AR expression by Western blot imaging figure in three groups.

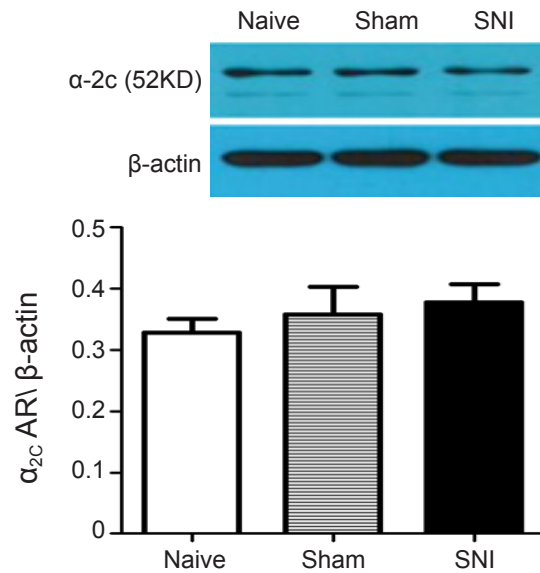


图3 各组大鼠 α_{2C} -AR 表达的差异。各组大鼠 α_{2C} -AR 蛋白表达灰度值比较，右上图为大鼠腰膨大段脊髓 α_{2C} -AR Western blot 检测结果原始图 (** $P > 0.05$ ，与对照组相比， $n = 6$ ，Naive，对照组；Sham，假手术组；SNI，手术组)。
Fig.3 The expression of α_{2C} -AR in SDH by Western Blot Method. The expression of α_{2C} -AR in SDH neurons in sham and SNI groups compared with naive group (Western blot). The top right is the original α_{2C} -AR expression by Western blot imaging figure in three groups.

表 2 RT-PCR 检测大鼠腰膨大段脊髓 α_2 -AR 三个亚型 (α_{2A} , α_{2B} , α_{2C}) mRNA 相对表达量的差异。与对照组相比，假手术组和 SNI 组在 mRNA 水平表达无差异 ($n = 6$)

Table 2 The Quantitative Real-Time PCR results of α_2 -AR subtypes (α_{2A} , α_{2B} , α_{2C}) mRNA expression in sham and SNI groups compared with in control group ($n = 6$)

AR Subtype	Naive	Sham	SNI	
mRNA/ β -Actin	α_{2A} -AR	0.87 ± 0.14	0.94 ± 0.04	0.76 ± 0.06
	α_{2B} -AR	1.15 ± 0.34	1.29 ± 0.08	0.92 ± 0.08
	α_{2C} -AR	1.15 ± 0.28	1.38 ± 0.33	0.89 ± 0.10

则没有增加。

同样，关于 α_2 -AR 在神经病理条件下的蛋白表达，不同的研究亦得出了不同的结论。一些研究显示，在神经损伤条件下， α_{2A} -AR 在损伤神经的周围和背根神经节出现增加^[16]，而另外的研究则显示，在神经病理条件下， α_{2A} -AR 的表达是下调的^[17]。Ma 等^[18]的研究显示，脊神经结扎后 α_{2C} -AR 通过与 TRPV-1 (一种伤害感受功能的指标) 免疫激活共表达，结果显示在中等和大型背根神经节神经元中， α_{2C} -AR 的表达出现上调。另外的研究则得出相反的结论，即神经损伤后， α_{2C} -AR 的表达是下降的^[19] 或不变的^[20]。另一项研究则提示在脊神经损伤后，在脊髓背角中总的 α_2 -AR 并没有显著地变化，而只是去甲肾上腺素激活的 [35S]GTP γ S 结

合增加，即激动剂诱导的 G 蛋白偶联增加^[21]。

通过这些研究可以发现，在神经病理性疼痛条件下， α_2 肾上腺素受体不同亚型的 mRNA 和蛋白表达出现了不同的变化。这些不一致的结果可能与其选择的动物来源和种系、不同的动物模型和不同的实验方法和条件有关。亦可能与取材的部位有关。有些实验取材来自于背根神经节^[22]，而另一些来自脊髓^[23]，可能 α_2 -AR 在不同的部位、不同的神经元中和神经纤维中均有不同的表达。目前尚未见到针对 SNI 神经病理性疼痛大鼠脊髓背角 α_2 -AR 表达的研究，我们的实验结果显示在正常大鼠的腰膨大段脊髓背角中 α_2 -AR 的三个亚型均有表达，并且是以 α_{2A} -AR 亚型为主。在神经病理性疼痛大鼠脊髓背角 α_{2A} -AR 蛋白的表达有明显的下调，而

α_{2B} -AR 和 α_{2C} -AR 的蛋白表达无明显的变化；在 mRNA 水平 α_2 -AR 三个亚型均没有明显的变化。这说明神经病理性疼痛对 α_2 -AR 表达的影响主要是通过影响翻译水平而实现的。

根据我们的实验结果， α_{2A} -AR 的表达明显下调，与 SNI 大鼠的痛觉过敏呈反向变化，这提示可能 α_{2A} -AR 亚型在神经病理性疼痛中起着主要作用。推测其可能的机制为，在慢性神经病理性疼痛条件下，由于 α_{2A} -AR 的减少，从而使得 α_{2A} -AR 对痛觉的调制作用减弱。内源性的 α_{2A} -AR 下调，亦可能经此途径而影响 α_2 -AR 对痛觉的调制作用，从而产生痛觉过敏，痛觉超敏和自发性疼痛等神经病理性疼痛的特有表现。

通过对 α_2 -AR 不同亚型在神经病理性疼痛条件下的表达和对不同亚型镇痛机制的深入研究，可以预见通过合成针对 α_2 -AR 特异性亚型的高选择性的激动剂可以产生更强的镇痛效果并减少非选择性 α_2 -AR 激动剂具有的心动过缓、低血压和过度镇静等不良反应。

参考文献

- [1] Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, *et al.* Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology*, 2008,70:1630 ~ 1635.
- [2] Lee DM, Pendleton N, Tajar A, *et al.* Chronic widespread pain is associated with slower cognitive processing speed in middle-aged and older European men. *Pain*, 2010, 151:30 ~ 36.
- [3] Oei TP, Boschen MJ. Clinical effectiveness of a cognitive behavioral group treatment program for anxiety disorders: a benchmarking study. *J Anxiety Disord*, 2009, 23:950 ~ 957.
- [4] Hassenbusch SJ, Gunes S, Wachsman S, *et al.* Intrathecal clonidine in the treatment of intractable pain: a phase I/II study. *Pain medicine (Malden, Mass)*, 2002, 3:85 ~ 91.
- [5] Yoshitomi T, Kohjitani A, Maeda S, *et al.* Dexmedetomidine enhances the local anesthetic action of lidocaine via an alpha-2A adrenoceptor. *Anesth Analg*, 2008, 107: 96 ~ 101.
- [6] Binder W, Mousa SA, Sitte N, *et al.* Sympathetic activation triggers endogenous opioid release and analgesia within peripheral inflamed tissue. *Eur J Neurosci*, 2004, 20:92 ~ 100.
- [7] Gulati A, Bhalla S, Matwyshyn G, *et al.* Determination of adrenergic and imidazoline receptor involvement in augmentation of morphine and oxycodone analgesia by clonidine and BMS182874. *Pharmacology*, 2009, 83: 45 ~ 58.
- [8] Pertovaara A. The noradrenergic pain regulation system: A potential target for pain therapy. *Eur J Pharmacol*, 2013.
- [9] Gyires K, Zadori ZS, Torok T, *et al.* alpha(2)-Adrenoceptor subtypes-mediated physiological, pharmacological actions. *Neurochem Int*, 2009, 55:447 ~ 453.
- [10] Gentili F, Pignini M, Piergentili A, *et al.* Agonists and antagonists targeting the different alpha2-adrenoceptor subtypes. *Curr Top Med Chem*, 2007, 7:163 ~ 186.
- [11] Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain*, 2000, 87: 149 ~ 158.
- [12] Arsenaault A, Sawynok J. Perisurgical amitriptyline produces a preventive effect on afferent hypersensitivity following spared nerve injury. *Pain*, 2009, 146:308 ~ 314.
- [13] Cho HJ, Kim DS, Lee NH, *et al.* Changes in the alpha 2-adrenergic receptor subtypes gene expression in rat dorsal root ganglion in an experimental model of neuropathic pain. *Neuroreport*, 1997,8:3119 ~ 3122.
- [14] Lee DH, Liu X, Kim HT, *et al.* Receptor subtype mediating the adrenergic sensitivity of pain behavior and ectopic discharges in neuropathic Lewis rats. *J Neurophysiol*, 1999, 81:2226 ~ 2233.
- [15] Shi TS, Winzer-Serhan U, Leslie F, *et al.* Distribution and regulation of alpha(2)-adrenoceptors in rat dorsal root ganglia. *Pain*, 2000, 84:319 ~ 330.
- [16] Maruo K, Yamamoto H, Yamamoto S, *et al.* Modulation of P2X receptors via adrenergic pathways in rat dorsal root ganglion neurons after sciatic nerve injury. *Pain*, 2006, 120:106 ~ 112.
- [17] Lee DH, Liu X, Kim HT, *et al.* Receptor subtype mediating the adrenergic sensitivity of pain behavior and ectopic discharges in neuropathic Lewis rats. *J Neurophysiol*, 1999, 81:2226 ~ 2233.
- [18] Ma W, Zhang Y, Bantel C, *et al.* Medium and large injured dorsal root ganglion cells increase TRPV-1, accompanied by increased alpha2C-adrenoceptor co-expression and functional inhibition by clonidine. *Pain*, 2005, 113:386 ~ 394.
- [19] Shi TS, Winzer-Serhan U, Leslie F, *et al.* Distribution and regulation of alpha(2)-adrenoceptors in rat dorsal root ganglia. *Pain*, 2000, 84:319 ~ 330.
- [20] Birder LA, Perl ER. Expression of alpha2-adrenergic receptors in rat primary afferent neurones after peripheral nerve injury or inflammation. *J Physiol*, 1999, 515: 533 ~ 442.
- [21] Bantel C, Eisenach JC, Dufflo F, *et al.* Spinal nerve ligation increases alpha2-adrenergic receptor G-protein coupling in the spinal cord. *Brain Res*, 2005, 1038: 76 ~ 82.
- [22] Cho HJ, Kim DS, Lee NH, *et al.* Changes in the alpha 2-adrenergic receptor subtypes gene expression in rat dorsal root ganglion in an experimental model of neuropathic pain. *Neuroreport*, 1997, 8:3119 ~ 3122.
- [23] Bantel C, Eisenach JC, Dufflo F, *et al.* Spinal nerve ligation increases alpha2-adrenergic receptor G-protein coupling in the spinal cord. *Brain Res*, 2005,1038:76 ~ 82.

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.008

星形胶质细胞在降钙素中枢镇痛 机制中的作用*

李海英^{1△} 肖智^{2△} 李树法³ 向菲⁴ 王青¹

(¹贵阳市第一人民医院内分泌科, 贵阳 550002; ²遵义医学院医学与生物医学研究中心, 遵义 563003;

³临沂市人民医院内分泌科, 临沂 276000; ⁴贵阳市第二人民医院内分泌科, 贵阳 550081)

摘要 目的: 观察降钙素(sCT)对神经病理性疼痛大鼠中脑导水管周围灰质(PAG)星形胶质细胞D-丝氨酸(D-Ser)释放的影响,明确星形胶质细胞在sCT镇痛中作用机制。**方法:** 72只雄性SD大鼠建立坐骨神经结扎神经病理性疼痛大鼠模型后,随机分为6组($n = 12$):正常组、CCI组、sCT组、射氟代柠檬酸(FCA)组、苯甲酸钠(SB)组和7-氯犬尿酸(CK)组。除正常组及CCI组外大鼠均腹腔内sCT。*von Frey*纤维检测其机械痛阈值(MWT),ELISA法检测其PAG中D-Ser水平。**结果:**建模后大鼠MWT下降,给予腹腔注射sCT后,D-Ser水平和MWT显著上升(P 均 < 0.001);PAG注射FCA或SB,分别引起sCT治疗大鼠D-Ser水平和MWT下降或上升(P 均 < 0.001);PAG注射CK引起sCT治疗大鼠MWT下降($P < 0.001$),D-Ser水平无变化。**结论:** sCT引起神经病理性疼痛大鼠PAG星形胶质细胞活化,D-Ser释放增加,增强NMDA受体功能产生镇痛作用。

关键词 降钙素;星形胶质细胞;D-丝氨酸;中脑导水管周围灰质;神经病理性疼痛

ROLE OF ASTROCYTE IN CALCITONIN SUPRASPINAL MECHANISM OF ANALGESIC ACTION*

LI Hai-Ying^{1△}, XIAO Zhi^{2△}, LI Shu-Fa³, XIANG Fei⁴, WANG Qing¹

(¹Department of Endocrinology, The First People's Hospital of Guiyang City, Guiyang 550002; ²Research Center for Medicine & Biology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003; ³Department of Endocrinology, The People's Hospital of Linyi City, Linyi 276000; ⁴Department of Endocrinology, The Second People's Hospital of Guiyang City, Guiyang 550081)

Abstract Objective: To observe the astrocyte activation, D-serine release in midbrain periaqueductal gray (PAG) of neuropathic pain rats after intraperitoneal injection of salmon calcitonin (sCT) and elucidate the role of astrocytes activation in the analgesic mechanism of sCT. **Methods:** Male Sprague-Dawley (SD) rats neuropathic pain model were established on the right sciatic nerve chronic constriction injury (CCI) and randomly divided into 6 groups ($n = 12$): normal, CCI, sCT, fluorocitrate (FCA), sodium benzoate (SB) and 7-chlorokynurenate (CK). Rats of all groups had a intraperitoneal injection of sCT except normal and CCI groups. Mechanical withdrawal thresholds (MWT) were tested by electronic *von Frey* anesthesiometer and levels of D-serine were measured by ELISA assay. **Results:** In CCI group, the hind-paw MWT was decreased gradually compared with normal group ($P < 0.001$). SB (150 $\mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$) could significantly elevated MWT ($P < 0.001$) and D-serine level in sCT-treated rats ($P < 0.001$). But the antinociceptive effect of sCT was attenuated significantly by FCA (1.2 $\mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$) and CK (3.6 $\mu\text{g}/0.3 \mu\text{l}$) pretreatment ($P < 0.001$). The D-serine level in sCT-treated rats decreased or unchanged by FCA or CK, respectively. **Conclusions:** sCT produces a long lasting analgesic effect on neuropathic pain via potentiating the function of astrocyte and increases D-serine level in the PAG of neuropathic pain rats.

Key words Calcitonin; Astrocyte; D-serine; Periaqueductal gray; Neuropathic pain

* 基金项目: 贵州省贵阳市科技计划项目(2011103)

△ 通讯作者 haiyingli666@163.com; 1643255058@qq.com

既往认为,哺乳动物体内无D-丝氨酸(D-serine, D-Ser)存在。随后研究发现哺乳动物(大鼠)大脑星形胶质细胞中有D-Ser和D-Ser消旋酶(serine racemase, SR)存在,且活化的星形胶质细胞可释放D-Ser,近年发现除了星形胶质细胞(主要),神经元也可以释放D-Ser^[1]。合成和降解D-Ser的酶分别是SR和D-氨基酸氧化酶(D-amino acid oxidase, DAAO)。D-serine可以作为共激动剂(co-agonist),与N-甲基-D-门冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate, NMDA)的NR1亚基的“甘氨酸位点”进行结合,是调节NMDA受体活性及神经毒性的关键因子,因此胶质细胞通过突触小泡形式释放D-Ser与NMDA受体作用实现对神经元功能的调节^[2]。

中脑导水管周围灰质(periaqueductal gray, PAG)接受来自外周的疼痛信息,同时也接受高位中枢的疼痛调制信息,是机体内源性镇痛系统的关键结构,近年发现,PAG也是机体下行性疼痛易化系统的关键结构。兴奋性神经递质谷氨酸(glutamate, Glu)及其受体在疼痛调制中作用重大。脊髓和外周,Glu水平的提高和/或NMDA受体的活化可产生致痛作用,而在脊髓上结构,Glu水平的提高和/或NMDA受体的活化可产生镇痛作用。研究证实:大鼠PAG中微量注射NMDA产生强大的镇痛作用,而NMDA受体拮抗剂D-AP7可减弱此镇痛作用,说明PAG中NMDA受体的活化将产生镇痛作用^[3]。如前所述,D-Ser是NMDA受体甘氨酸位点的激动剂,其激动作用强于Gly。Martins研究发现^[4]:PAG微量注射Gly可剂量依赖的提高大鼠甩尾反射阈值,产生镇痛作用,那么很有可能PAG中D-ser的增多也可以产生镇痛作用。结合前期研究^[5]:对慢性神经病理性疼痛(CCI模型)大鼠PAG微量注射鲑鱼降钙素(salmon calcitonin, sCT)后,CCI大鼠疼痛行为缓解,机械痛阈(mechanical withdrawal thresholds, MWT)和热痛阈上调,那么sCT在PAG的镇痛机制是否也包含D-Ser的介入呢?本研究将通过腹腔注射sCT后,观察PAG中D-Ser水平变化以及其变化对sCT镇痛作用的影响。

方 法

1. 材料

(1) 动物: 雄性清洁级SD大鼠72只, 体重110~220 g, 由遵义医学院实验动物中心提供, 合格证号: SYXK(黔)2011-003。在安静、温度24±2℃、湿度60%±5%、明暗各12 h (8AM-

8PM)周期环境中饲养, 每笼4~5只。大鼠自由饮食和饮水。随机分为正常组、CCI组、sCT组、氟代柠檬酸(flurocitrate, FCA)组、7-氯犬尿酸(7-chlorokynurenate, CK)组、苯甲酸钠(sodium benzoate, SB)组, 每组12只。建模后14 d, 每组大鼠各随机取6只, ELISA法检测PAG中D-Ser水平, 余下6只继续观察机械痛阈变化, 直到建模后21 d。sCT组大鼠从CCI手术后1 d开始, 每日给予sCT(2 μg/(kg.d), i.p.), 直到手术后21 d实验结束。FCA组、7-CK组和苯甲酸钠组取CCI建模并经sCT腹腔注射14 d大鼠, 分别在大鼠PAG微量注射FCA(1.2 μg/0.3 μl)、SB(150 μg/0.3 μL)和7-CK(3.6 μg/0.3 μL), 观察大鼠机械痛阈以及D-Ser水平变化。本实验严格按照国际疼痛学会(IASP)关于应用动物进行疼痛研究的伦理纲要进行操作。

(2) 试剂: sCT(美国Sigma公司), 溶于0.001N醋酸, 终浓度1 μg/ml; FCA(美国Sigma公司), 溶于生理盐水, 终浓度4 mg/ml; SB(美国Sigma公司)溶于生理盐水, 终浓度500 mg/ml; 7-CK(美国Sigma公司)溶于含5%二甲基亚砜(DMSO)的PBS溶液, 终浓度12mg/ml; 脑立体定位仪(日本Narishige公司); 微量进样器(5 μl, 宁波镇海玻璃仪器厂); D-serine酶联免疫分析试剂盒(上海恒远生物科技有限公司); 酶标仪(芬兰, Labsystems Multiskan MS 352型); 洗板机(芬兰 Thermo Labsystems, AC8型); 电子Von Frey测痛仪(2390系列, 美国IITC Life Science)

2. 方法

(1) CCI模型建立: 4%水合氯醛(10 ml/kg, i.p.), 麻醉成功后, 大鼠俯卧位固定, 参照Bennett和Xie^[6]以及Tanck^[7]的方法建立坐骨神经慢性压迫性损伤大鼠模型(CCI), 在伤口给予青霉素钠盐粉预防感染, 手术后每2只大鼠为一笼饲养, 麻醉清醒后自由摄取水和食物。密切观察生命体征和伤口愈合情况。

(2) 机械痛阈的检测: 大鼠右足掌机械刺激反应阈值采用电子Von Frey测痛仪。安静环境中, 将大鼠置于半透明的有机玻璃笼(20 cm×20 cm×25 cm)中, 底为0.5 cm×0.5 cm孔径的有机玻璃板。测试前让大鼠适应环境30 min左右, 用测痛仪垂直刺激大鼠后肢足底中部, 每次刺激持续2 s, 出现缩足反应时的读数为机械痛阈, 重复3次, 取平均值。

(3) 中脑导水管周围灰质微量注射方法: FCA组、苯甲酸钠组、CK组大鼠在CCI手术后第7 d给予4%水合氯醛麻醉(10ml/kg, i.p.), 麻醉成功后, 将大鼠俯卧位置于脑立体定位仪上, 切开头皮暴露

颅骨, 钻孔。PAG 的坐标为: 前囟后 7.80 mm, 中线旁开 0.60 mm, 颅骨表面下 4.5 mm。插入外直径 0.8 mm 的不锈钢插管, 用牙科磷酸锌水门丁固定插管。给予青霉素钠盐 (溶于 2 ml 无菌盐水) 腹腔注射预防感染和脱水。手术结束后放入笼中保温, 直到麻醉苏醒。插管完成后, 每日观察大鼠的一般情况, 生命体征以及运动功能变化, 如果出现神经系统功能障碍 (瘫痪、呼吸异常、插管脑脊液漏) 等, 排除在实验组。注射药物前用自制的布袋轻度固定大鼠, 用微量进样器连接注射针头后给予注射, 注射针头长于导管 1 mm。每次注射 0.3 μ l, 2 min 内注射完毕, 留针 1 min, 确保药物的完全扩散。整个实验结束时, 通过微量进样器注入 2% Evans Blue, 确定注射部位并与大鼠脑图谱^[8] 对比, 只有注射部位位于 PAG 的大鼠数据才纳入统计处理。

(4) ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) 方法: ELISA 法定量检测 PAG 中 D-Ser 含量, 将机械痛阈检测完成后大鼠, 快速断头后在冰盘上迅速摘取中脑, 取 PAG 组织约 200 mg, 加入一定量的 PBS, pH 7.4, 用液氮迅速冷冻保存备用。标本融化后仍然保持 2 ~ 8 $^{\circ}$ C 的温度。加入 4 $^{\circ}$ C 预冷的组织匀浆液 2 ml, 匀浆机匀浆后 4 $^{\circ}$ C, 3000 r/min 离心 15 min, 小心收集上清液 1 ml, 进行总蛋白定量 (BCA 蛋白分析试剂盒)。ELISA 法定量检测 PAG 中 D-Ser 含量。严格按照酶联免疫分析试剂盒使用说明书操作。反应终产物在酶标仪以 450 nm 计数光密度 (OD 值), 利用计算机软件做出标准曲线, 求的 D-Ser 蛋白含量。

3. 统计学分析

所有计量资料均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, 采用 SPSS 17.0 统计软件分析。两组间差异显著性检验采用两独立样本的 *t* 检验, 多组均数间显著性比较用 AVONA 以及 post hoc Turkey 分析及作图。

结 果

1. 腹腔注射 sCT 对神经痛大鼠机械痛阈的影响

检测时间点为 CCI 手术前 (0 h) 以及手术后 (2、4、7、10、12、14、18 和 21 d)。大鼠建立 CCI 模型后, MWT 从手术后 2 d 开始下降, 显著低于正常组 ($P < 0.001$), 手术后第 14 d 达到最低值。给予腹腔注射 sCT 后, 在手术后各观察时间点, 其 MWT 均高于同时间点 CCI 组 ($P < 0.001$)。

2. 微量注射氟代柠檬酸、苯甲酸钠和 7- 氯犬尿酸对 sCT 镇痛作用的影响

取建模后 14 d 经 sCT 治疗的 CCI 大鼠, 在

PAG 微量注射给予药物。PAG 微量注射 FCA 后, CCI 大鼠 MWT 比注射前显著下降 ($P < 0.001$), 40 min 观察结束后仍未恢复注射前水平; PAG 微量注射 SB 后 5 min, 大鼠 MWT 比注射前显著上升 ($P < 0.001$), 维持时间大约 30 min; PAG 微量注射 7-CK 后 5 min, 大鼠 MWT 比注射前显著下降 ($P < 0.001$), 维持时间大于 30 min。

3. ELISA 检测各组大鼠 PAG 中 D-Ser 水平

手术后 14 d, CCI 大鼠 PAG 中 D-Ser 水平比正常组升高 ($P < 0.01$); sCT 组大鼠 PAG 中 D-Ser 水平比 CCI 组显著升高 ($P < 0.001$); FCA 组大鼠在 PAG 微量注射 FCA 后, 其 PAG 中 D-Ser 水平比 sCT 组显著降低 ($P < 0.001$); PAG 微量注射 SB 后, 其 PAG 中 D-Ser 水平比 sCT 组显著升高 ($P < 0.001$); PAG 微量注射 7-CK 后, 其 PAG 中 D-Ser 水平与 sCT 组无明显变化。

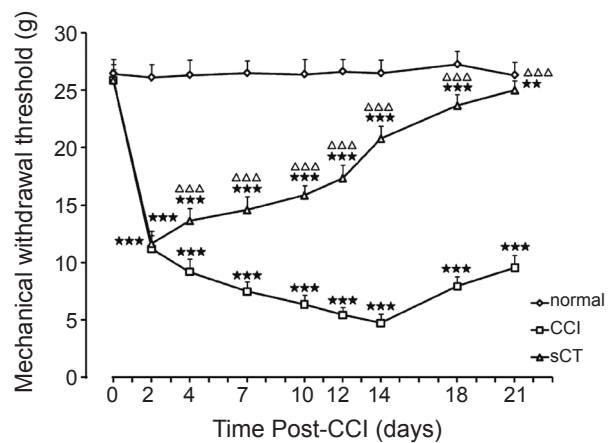


图 1 sCT 对神经性疼痛大鼠机械痛阈的影响

Fig. 1 Effect of calcitonin on mechanical withdrawal threshold of CCI rats. *** $P < 0.001$ compared with normal group; ** $P < 0.01$ compared with normal group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ compared with CCI group

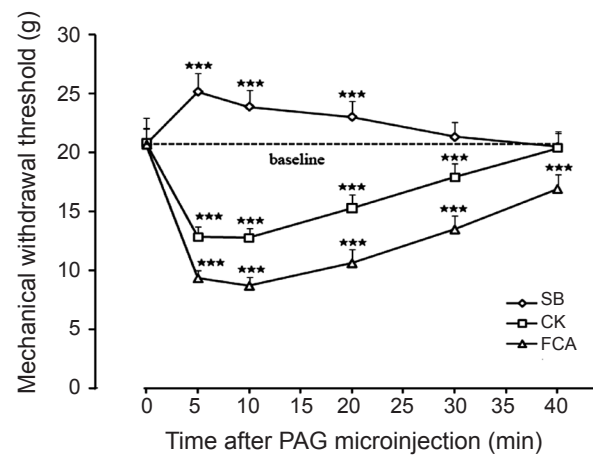


图 2 PAG 微量注射药物对 CCI 大鼠机械痛阈的影响

Fig. 2 Effects of intra-PAG injection of FCA, SB and CK on sCT-treated CCI rats. *** $P < 0.001$ compared with simple sCT-treated CCI rats (baseline).

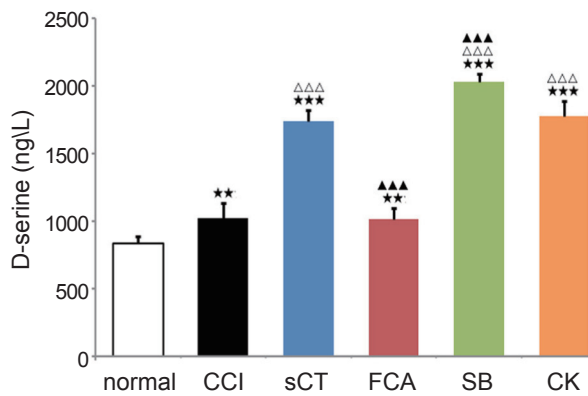


图2 大鼠 PAG 中 D-serine 水平
 Fig. 2 Levels of D-serine in PAG.
 *** $P < 0.001$ compared with normal group; ** $P < 0.01$ compared with normal group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ compared with CCI group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ compared with sCT group;

讨论

神经胶质细胞与神经元之间存在双向的信息联系，神经元通过神经递质对胶质细胞功能进行调节，同样胶质细胞也通过合成和释放前列腺素、兴奋性氨基酸、细胞因子、ATP 以及一氧化碳 (NO) 等胶质递质 (gliotransmitter) 影响周围神经元的活动，参与神经元功能的调节。

研究表明，神经元 NMDA 受体 NR1 亚基上存在一个‘甘氨酸’位点，该结合必须被结合后，谷氨酸才能开放 NMDA 受体耦联离子通道。D-Ser 是该位点的激动剂。脑中胶质细胞 (包括星形胶质细胞和小胶质细胞) 和神经元中的 D-Ser 消旋酶 (SR) 可以将 L-serine 转化为 D-Ser。在 Glu、AMPA 或海人酸等作用下，星形胶质细胞可以释放 D-Ser 激活 NMDA 受体，参与 NMDA 受体对突触传递和突触可塑性的调节，因此 D-Ser 可能参与 NMDA 受体介导神经发育、学习记忆、血压调节以及阿尔茨海默病、精神分裂症等疾病的发病机制。

神经元 NMDA 受体的活化在神经病理性疼痛的形成和维持中有关键作用^[9]：在外周和脊髓，NMDA 受体的活化可促进疼痛的形成和维持，相反在脊髓上结构，NMDA 受体的活化可产生镇痛作用，因此 D-Ser 也在中枢神经系统不同水平参与 NMDA 受体对疼痛的调制过程可能产生不同的作用。在背根神经节初级传入神经末梢神经元，外源性给予 D-Ser 可共激活突触前 NMDA 受体，促进 Glu 的释放和兴奋性突触后电流 (excitatory postsynaptic currents, EPSCs) 加大，参与神经病理性疼痛的调制^[10]。在退行性骨关节炎的慢性痛患者脑脊液中 D-Ser 含量增

加，调节 D-Ser 水平可以对退行性骨关节炎慢性痛进行镇痛治疗^[11]。临床对神经病理性疼痛可采用加巴喷丁 (gabapentin) 或普瑞巴林 (pregabalin) 镇痛治疗，研究发现以上两种药物均能降低胞内 D-Ser 水平，提示加巴喷丁和普瑞巴林可能通过调节 D-Ser 水平间接抑制 NMDA 受体功能，最终产生临床镇痛作用^[12]。本研究中发现，CCI 大鼠 PAG 中 D-Ser 水平提高，经过腹腔注射 sCT 后，神经病理性疼痛大鼠 PAG 组织中 D-Ser 水平进一步升高，神经痛症状缓解，提示 sCT 可能通过促进 PAG 中星形胶质细胞 D-Ser 的释放，增大了 NMDA 受体的功能产生镇痛作用。

星形胶质细胞活化后释放多种胶质递质参与疼痛调制。D-Ser 是一种重要的胶质递质。在体和离体动物实验均发现，鞘内或脊髓直接给予 D-Ser，均可产生促痛作用。但在脊髓上结构，D-Ser 介入疼痛调制的研究较少。近来有研究提示在 CCI 大鼠，PAG 中 GFAP 免疫阳性增强，提示星形胶质细胞介入 PAG 对神经病理性疼痛的调制过程^[13]。在脊髓上结构，延髓头端腹内侧区 (rostroventromedial medulla, RVM) 星形胶质细胞的活化可促进机体疼痛下行易化系统，给予氟代柠檬酸后也可以产生镇痛作用^[14]；但 PAG 中星形胶质细胞活化对疼痛的调制作用如何，未见文献报道。

FCA 抑制顺乌头酸酶，干扰细胞内三羧酸循环，对星形胶质细胞活化有特异性的抑制作用，采用给予 FCA 抑制星形胶质细胞的活化达到镇痛的研究较多，例如通过抑制背根神经节卫星细胞活化，对炎症性疼痛产生镇痛^[15]；在脊髓背角，给予氟代柠檬酸预处理后可增强眼镜蛇镇痛素 (najanalgesin) 的镇痛作用^[16]，也可以通过下调脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 的表达产生镇痛^[17]。加入 FCA 后可抑制腹腔注射 sCT 引起的 PAG 中 D-Ser 水平和大鼠机械痛阈升高，sCT 对神经病理性疼痛的镇痛作用被削弱，说明 PAG 中星形胶质细胞活化和 D-Ser 释放在 sCT 镇痛机制中的重要作用。DAAO 是 D-氨基酸氧化酶，能够对 D-Ser 降解。最近有研究提示，对神经痛和炎症痛大鼠给予口服 DAAO 抑制剂 SUN 后，SUN 剂量依赖性的减轻了大鼠神经痛症状以及热痛敏，其减轻症状的最大限度与大鼠脑和血浆中 D-Ser 上升水平有关^[18]。本研究发现，给予 PAG 微量注射 DAAO 抑制剂 SB 后，大鼠 PAG 中 D-Ser 水平及机械痛阈提高。给予 NMDA 受体的甘氨酸位点阻断剂 7-CK 后，sCT 的镇痛作用减弱，说明 NMDA 受体上的 Gly 位点参与了 sCT 的镇痛过程。

早期研究认为, 降钙素的镇痛作用可能与中枢 5-HT 能神经传递有关^[19]。本研究从多个角度证实 PAG 中星形胶质细胞活化后释放 D-Ser 在 sCT 镇痛机制中的重要作用。研究证实, 生理状态下 NMDA 受体的甘氨酸位点没有完全饱和, 可以被外源性或星形胶质细胞活化释放 D-serine 进一步激活。结合前期实验, 在神经病理性疼痛大鼠 PAG 神经元, 给予 sCT 后促进 PAG 神经元 Glu 的释放, 我们认为, sCT 在对神经病理性疼痛镇痛过程中, 一方面促进神经元 Glu 释放直接参与镇痛, 另一方面 Glu 水平的提高促进星形胶质细胞活化并释放 D-Ser 间接参与对机体内源性镇痛系统的促进作用, 可见 PAG 中星形胶质细胞可以作为神经病理性疼痛镇痛研究的一个重要靶点。

参考文献

- [1] Yasuda E, Ma N, Semba R. Immunohistochemical evidences for localization and production of D-serine in some neurons in the rat brain. *Neurosci Lett*, 2001, 299: 162 ~ 164.
- [2] Henneberger C, Papouin T, Oliet SH, *et al.* Longterm potentiation depends on release of D-serine from astrocytes. *Nature*, 2010, 463: 232 ~ 236.
- [3] Jacquet YF. The NMDA receptor: central role in pain inhibition in rat periaqueductal gray. *Eur J Pharmacol*, 1988, 154:271 ~ 276.
- [4] Martins MA, Carobrez AP, Tonussi CR. Activation of dorsal periaqueductal gray by glycine produces long lasting hyponociception in rats without overt defensive behaviors. *Life Sci*, 2008, 83:118 ~ 121.
- [5] 李树法, 向菲, 张韬威, 等. 降钙素的镇痛作用及其对中脑导水管周围灰质中降钙素受体表达的影响. *中华内分泌代谢杂志*, 2011, 27: 113 ~ 117.
- [6] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 1988, 33:87 ~ 107.
- [7] Tanck EN, Kroin JS, McCarthy RJ, *et al.* Effects of age and size on development of allodynia in a chronic pain model produced by sciatic nerve ligation in rats. *Pain*, 1992, 51: 313 ~ 316.
- [8] Paxinos, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Amsterdam: Academic Press, 2007:12.
- [9] Zhou HY, Chen SR, Pan HL. Targeting N-methyl-D-aspartate receptors for treatment of neuropathic pain. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2011, 4:379 ~ 388.
- [10] Yan X, Jiang E, Gao M, *et al.* Endogenous activation of presynaptic NMDA receptors enhances glutamate release from the primary afferents in the spinal dorsal horn in a rat model of neuropathic pain. *J Physiol*, 2013, 591: 2001 ~ 2019.
- [11] Sethuraman R, Lee TL, Tachibana S. D-serine regulation: a possible therapeutic approach for central nervous diseases and chronic pain. *Mini Rev Med Chem*, 2009, 9: 813 ~ 819.
- [12] Singh NS, Paul RK, Torjman MC, *et al.* Gabapentin and (S)-pregabalin decrease intracellular D-serine concentrations in PC-12 cells. *Neurosci Lett*, 2013, 535: 90 ~ 94.
- [13] Mor D, Bembrick AL, Austin PJ, *et al.* Anatomically specific patterns of glial activation in the periaqueductal gray of the sub-population of rats showing pain and disability following chronic constriction injury of the sciatic nerve. *Neuroscience*, 2010, 166: 1167 ~ 1184.
- [14] Roberts J, Ossipov MH, Porreca F. Glial activation in the rostroventromedial medulla promotes descending facilitation to mediate inflammatory hypersensitivity. *Eur J Neurosci*, 2009, 30: 229 ~ 241.
- [15] Souza GR, Talbot J, Lotufo CM, *et al.* Fractalkine mediates inflammatory pain through activation of satellite glial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013:1 ~ 30.
- [16] Liang Y, Jiang W, Zhang Z, *et al.* Behavioral and morphological evidence for the involvement of glial cells in the antinociceptive effect of najanalgesin in a rat neuropathic pain model. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35: 850 ~ 854.
- [17] Zhang X, Xu Y, Wang J, *et al.* The effect of intrathecal administration of glial activation inhibitors on dorsal horn BDNF overexpression and hind paw mechanical allodynia in spinal nerve ligated rats. *J Neural Transm*, 2012, 119:329 ~ 336.
- [18] Hopkins SC, Zhao FY, Bowen CA, *et al.* Pharmacodynamic effects of a d-amino Acid oxidase inhibitor indicate a spinal site of action in rat models of neuropathic pain. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, 345: 502 ~ 511.
- [19] Yoshimura M. Analgesic mechanism of calcitonin. *J Bone Miner Metab*, 2000, 18: 230 ~ 233.

《中国疼痛医学杂志》编辑部, 北京海淀区学院路 38 号, 100191

电话: 010-82801712; 传真: 010-82801705

邮箱: pain1712@126.com

投稿请登录: <http://casp.ijournals.cn> 在线投稿

QQ 群: 222950859 微信公众平台微信号: pain1712

半月神经节高电压脉冲射频治疗原发性三叉神经痛的疗效*

申颖¹ 孟岚¹ 王涛^{2△} 罗芳^{1△}

(首都医科大学附属北京天坛医院¹疼痛中心; ²神经外科, 北京 100050)

摘要 目的: 探讨半月神经节高电压脉冲射频治疗原发性三叉神经痛的疗效及安全性。**方法:** 60例保守治疗无效的原发性三叉神经痛患者随机分为两组, 分别接受半月神经节标准电压和高电压脉冲射频治疗, 比较两组的疗效及副作用。**结果:** 术后6月有效率标准电压组(41%)明显低于高电压组(69%) ($P = 0.037$); 术后1年有效率标准电压组降至19%, 显著低于高电压组(69%) ($P = 0.000$)。两组脉冲射频治疗后均未发现明显副作用。**结论:** 高电压脉冲射频治疗三叉神经痛患者安全有效, 这种非毁损的技术将为三叉神经痛患者提供又一治疗选择。

关键词 三叉神经痛; 治疗; 射频; 脉冲

THE CLINICAL EFFICACY OF HIGH-VOLTAGE PULSED RADIOFREQUENCY ON GASSERIAN GANGLION FOR TREATING IDIOPATHIC TRIGEMINAL NEURALGIA

SHEN Ying¹, MENG Lan¹, WANG Tao^{2△}, LUO Fang^{1△}

(Department of ¹Pain; ²Neurosurgery, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050)

Abstract Objective: To investigate the effectiveness and safety of high-voltage pulsed radiofrequency (PRF) on Gasserian ganglion for treating idiopathic trigeminal neuralgia (TN). **Methods:** Sixty idiopathic TN patients were randomly assigned into two groups (30 in each group), which were treated with CT-guided standard- or high-voltage pulsed radiofrequency of Gasserian ganglion respectively. The efficacy and side effects were compared between two groups after treatment. **Results:** The effective rates in the standard-voltage and high-voltage PRF groups were 41% and 69%, respectively, at 6 months after operation ($P = 0.037$). The effective rate in the standard-voltage group was decreased to 19% one year after operation, while in the high-voltage group remained at 69% ($P = 0.000$). No significant side effects were found in both groups. **Conclusion:** High-voltage PRF is an effective and safe method for idiopathic TN treatment. This non-destructive technique can be another choice for TN treatment.

Keywords: Trigeminal neuralgia; Treatment; Radiofrequency; Pulsed

1998年, Sluijter描述了一种新型的射频模式——脉冲射频(Pulsed radiofrequency, PRF)^[1]。PRF是由射频仪发射出脉冲频率为2 Hz、输出电压为45 V、频率为500 kHz的高频交流电, 电流持续作用时间20 ms, 间歇期480 ms^[1]。射频电流在组织附近形成高电压所产生的热量在脉冲的间歇期得以消散, 这样电极尖端温度不超过42℃, 因此不会导致局部组织变性^[1]。目前, 对于三叉神经痛, 多数学者认为PRF的疗效不及射频热凝术(Radiofrequency

thermocoagulation, RFTC)^[2-4]。能否通过改良PRF的术中参数、改进PRF剂量以提高PRF的疗效成为研究的热点之一。

我们近来报道, PRF治疗三叉神经痛的疗效与术中输出电压呈正相关^[5, 6]。Teixeira等^[7]提出间盘内高电压(60 V)PRF治疗可有效降低腰间盘源性疼痛的程度。然而, 高电压PRF治疗三叉神经痛的疗效能否高于标准电压PRF未见随机对照研究报道。目前尚无高电压PRF治疗三叉神经痛的疗效报告,

* 首都临床特色应用研究专项资助项目, 项目编号: Z131107002213061

△ 通讯作者 wtao@rocketmail.com; 13611326978@163.com

本研究通过手动模式升高输出高压与标准电压模式比较,观察治疗三叉神经痛的疗效,为临床治疗提供更好的选择。

方 法

1. 一般资料

60例2012年1月至2012年10月来天坛医院麻醉疼痛科保守治疗无效、重度、原发性三叉神经痛进入本研究。患者随机等分为两组,标准电压PRF组和高电压PRF组,每组30例。研究方案获得北京天坛医院伦理委员会批准。所有患者签署知情同意书。

纳入标准:18岁以上,头MRI除外肿瘤等继发性三叉神经痛。术前疼痛数字评分(numeric rating scales, NRS)大于7,经口服卡马西平及类固醇激素行神经阻滞不能控制疼痛。

排除标准:血常规、肝肾功能、血糖、凝血功能、心电图、胸片检查不正常、穿刺部位有感染、既往有精神系统疾病、麻醉药物滥用史、曾接受过射频热凝术、化学毁损术、球囊压迫术、 γ 刀、周围支切断术或者微血管减压术等侵入性治疗的患者。

2. 手术

(1) 穿刺入路:60例患者全部采用前侧入路穿刺法。

(2) 体位:患者仰卧于CT扫描床上,头枕后放垫,下颌微内收,持续监测血压、心率、心电图和脉搏血氧饱和度。将PMG-230型疼痛治疗发生器(Baylis Medical Inc., Montreal, Canada)的负极板贴至患者上背部皮肤。

(3) 穿刺过程:面部消毒铺巾,于患侧口角外侧水平线与眼外眦垂线的交点为穿刺点,2%利多卡因行局部浸润麻醉,先紧贴上颌第二磨牙骨面进针,以骨面为导向,到达蝶骨翼突外侧板,调整针的方向,沿骨面上前后滑动,寻找卵圆孔外口,CT(医用X射线CT机,型号SOMATOM, SIEMENS公司,德国)颅底薄层(2 mm/层)扫描三维重建,证实穿刺针(裸区为5 mm、长10 cm、21-gauge射频治疗套管针)(型号PMF-21-100-5, Baylis公司,加拿大)的针尖准确到达卵圆孔(见图1)。取出针芯,插入射频电极(型号PMK-21-100, Baylis公司,加拿大)行电刺激定位。50 Hz电刺激进行感觉阈值的测定,0.1~0.3 V能够诱发出三叉神经相应分布区域内刺痛感,并覆盖疼痛部位;2 Hz电刺激进行运动阈值的测定,0.1~0.3 V能够诱发出下

颌的运动,根据患者的感觉及运动情况小幅度调整穿刺针的深度和方向,保证穿刺部位准确。

(4) 脉冲射频治疗:标准电压PRF组和高电压PRF组分别接受自动模式标准参数或手动模式高电压PRF治疗,120 s,两次。高电压组术中逐渐升高输出电压,直至达到每例患者能够耐受、无明显不适的最高电压。治疗后观察1月,PRF效果欠佳的患者改行传统的RFTC等其他治疗。

3. 数据记录

①术中资料;②NRS:疼痛数字评分表(Numerical Rating Scale)用来评价疼痛程度;③卡马西平用量卡马西平是治疗三叉神经痛的一线药物,随剂量增大副作用显著增加;④副作用;⑤有效率有效患者例数/完成随访总例数 $\times 100\%$ 。记录术前一般资料:年龄、性别、病程、疼痛部位(左/右、受累分支)、术前NRS、卡马西平用量;术中资料:进行50 Hz和2 Hz测试定位时刺激电压、手术时间、输出电压、组织电阻;术后资料:1天、1周、2周、1月、3月、6月和1年时NRS、卡马西平用量。计算有效率=有效患者例数/完成随访总例数 $\times 100\%$ 。

4. 统计学处理

用SPSS 20.0统计软件,正态分布的计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示,组间比较用独立样本 t 检验,计数资料采用卡方检验;非正态分布的计量资料用中位数(最小值~最大值)表示,组间比较用两独立样本非参数检验(Mann-Whitney U检验), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。



图1 螺旋CT引导下穿刺针进入患侧卵圆孔
Fig. 1 3-D reconstruction of the skull base show the needle (direction of the arrow) entering the ipsilateral foramen ovale.

结 果

1. 患者一般情况

60 例患者中有标准电压 PRF 组 27 例, 高电压 PRF 组 26 例患者完成 1 年的随访。两组患者术前一般资料、术中行 50 Hz 和 2 Hz 测试定位时刺激电压、组织电阻、手术时间均无显著差异, 但标准电压 PRF 组输出电压明显低于高电压 PRF 组 ($P = 0.000$, 见表 1)。

2. 两组患者治疗效果的比较

标准电压 PRF 组 16 (53%) 例患者无效、卡马西平不能减量遂改行传统的射频热凝术, 术后疼痛均缓解无需辅助药物。高电压 PRF 组 8 例 (28%) 无效, 其中 7 例改行射频热凝术、1 例改行微血管减压术后 NRS 均降至 0 停药卡马西平; 1 例车祸死亡被排除。术后 1 月, 标准电压 PRF 组 14 (47%) 患者有效, 而高电压 PRF 组 21 (72%) 患者有效, 标准电压 PRF 组其中 5 例患者 NRS = 0。9 例患者 NRS 降低 $\geq 50\%$ 。疼痛减轻的患者中 1 例术后 3 月电话中断而失访, 2 例术后 1 ~ 2 月要求改行 RFTC 被排除。11 (41%) 例患者 6 月时效果满意, 其中 5 例疼痛完全缓解逐渐停用卡马西平, 另 6 例 NRS 减轻 50% 以上卡马西平明显减量。该 11 例有效的患者中 6 例于术后 7-11 月复发, 1 年有效率降为 19%, 见表 2。高电压 PRF 组其中 14 例患者 NRS = 0 停药卡马西平, 7 例患者 NRS 降低 $\geq 50\%$ 仅小剂量 200 (100 ~ 300) mg 卡马西平即控制疼痛。疼痛减轻的患者中 3 例术后 1-2 月要求改行 RFTC 被排除。随访 1 年无 1 例复发 (见表 2)。术后 3 个月和术后 6

个月, 标准电压 PRF 组有效率为 41% 高电压 PRF 组为 69%。

3. 安全性研究

所有患者术中及术后未观察到 PRF 相关的严重并发症。术后每组各 1 例患者 24 小时内出现轻 - 中度头痛, 经服用非甾类消炎镇痛药物可以控制, 标准电压 PRF 组 1 例患者术后出现恶心、呕吐, 对症治疗 2 小时后缓解。

两组仅接受 PRF 治疗的患者在 1 年的观察期内均无三叉神经支配区域麻木、感觉减退等副作用发生。无效病例改行射频热凝术后均出现三叉神经支配区感觉减退和轻度咀嚼肌力弱, 1 例改行微血管减压术后无神经毁损并发症。

讨 论

射频治疗包括传统的 RFTC 和新颖的 PRF 技术。传统的 RFTC 广泛应用于慢性疼痛的治疗已经 30 多年, 通过高频电流产生热效应可使神经组织蛋白变性阻断疼痛信号传导, 虽然治疗三叉神经痛的有效率高, 但是一种破坏性治疗, 只能控制疼痛的症状不能治疗疼痛的原因, 而且三叉神经毁损后的副作用显著降低患者的生活质量。

PRF 这一新型疼痛治疗概念的提出仅仅 10 余年, 通过调理神经^[8,9]而非毁损神经的技术已成功地应用于治疗许多疼痛性疾病^[10,11]。PRF 具有的优势有望成为三叉神经痛理想的治疗方法。然而, 研究报道 PRF 治疗三叉神经痛虽然没有明显的副作用, 但是目前疗效并不满意^[2-4]。

表 1 患者术前及术中临床资料的比较

Table 1 Comparison of preoperative and intraoperative general data ($\bar{x} \pm SD$)

	标准电压 PRF 组 Standard-voltage PRF group	高电压 PRF 组 High-voltage PRF group
患者例数 Patient No.	30	30
年龄 (岁) Age (year)	63.5 ± 13.0	60.5 ± 11.9
男 (%) Male (%)	14(46.7)	13(43.3)
病程 (年) Disease duration (year)	5.8 ± 3.6	5.1 ± 4.4
受累分支 Branches affected		
上颌神经 Maxillary nerve	4	2
下颌神经 Mandibular nerve	10	13
上、下颌神经 Maxillary & mandibular nerve	16	15
左 / 右侧 Left- /right-side	13/17	14/16
术前卡马西平剂量 (mg/day) Dosage of preoperative carbamazepine (mg/day)	656.7 ± 289.7	700.0 ± 381.0
术前 NRS Preoperative NRS	8(7-10)	8(7-10)
PRF 输出电压 (伏) PRF output voltage (v)	36.3 ± 5.6	71.5 ± 8.0***
组织电阻 (欧) Tissue resistance (Ω)	256.7 ± 22.2	251.5 ± 34.4
50 Hz 刺激电压 (伏) 50 Hz stimulating voltage (v)	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.2)
2 Hz 刺激电压 (伏) 2 Hz stimulating voltage (v)	0.1 (0.1-0.2)	0.1 (0.1-0.2)
手术时间 (分) Surgery duration (min)	32.2 ± 10.7	31.5 ± 9.2

NRS, numeric rating scales; PRF, pulsed radiofrequency
与标准电压 PRF 组比较 Compared with those in group PRF, *** $P < 0.001$

PRF 的电场主要分布在穿刺针的前方^[12], 距离针尖 0.1 ~ 0.2 mm 处电场即可迅速衰减^[7], 因此要求穿刺非常准确。然而, 我们近年来在 CT 引导下准确地穿刺到半月神经节 PRF 治疗原发三叉神经痛 6 月的有效率也仅为 35%^[3], 1 年的有效率更低。因此, 除了准确地穿刺, 还应探讨其他提高 PRF 疗效的方法。关于 PRF 的参数研究动物实验中已经报道了不同的治疗时间对于疗效的影响^[13], 目前尚无定论, 临床上尚未对于 PRF 剂量的效果进行正式的评价。

研究^[8] 猜测 PRF 治疗椎间盘源性疼痛的原因是 PRF 产生的电场而不是热刺激对神经的作用。我们最近的研究指出, 采用加拿大 Baylis 疼痛治疗发生器标准 PRF 术中患者接受的输出电压不同 (27 ~ 50 V), 治疗有效组患者的术中输出电压明显高于治疗效差组^[5]。该结果支持是 PRF 的电场效应而非温度效应是治疗三叉神经痛的重要机制。Teixeira 等^[7] 初步报道 8 例腰间盘源性疼痛患者经高电压 (60 V) PRF 治疗后 NRS 明显降低。目前尚无高电压 PRF 治疗三叉神经痛的疗效报道。

本研究采用 Baylis 疼痛治疗发生器的手动 PRF 模式, 可以手动升高输出电压。为了防止神经损伤, 温度高限设为 42℃。高电压组术中输出电压的升高程度以患者能够耐受、无任何不适为标准。本研究发现, 采用手动模式调节输出电压可达到 71.5 ± 8.0 V, 远远高于标准电压 PRF 输出电压 36.3 ± 5.6 V。根据物理学原理, 电场强度等于电压的平方除以电阻, 当电阻不变时, 电压的变化决定电场强度变化。因此, 本研究中高电压 PRF 即为高

电场效应 PRF。

本研究结果发现, 高电压 PRF 治疗三叉神经痛可使 69% 的患者获得 1 年的满意疗效, 远高于标准电压 PRF 组治疗三叉神经痛 6 月 (41%) 及 1 年 (19%) 的有效率, 也远远高于 Erdine 等^[2] 报道的采用 Radionics 公司的射频发生器进行输出电压为 45 V PRF 治疗三叉神经痛的疗效。本研究中两组患者除术中输出电压不同外术前、术中可能影响预后的各参数均具有可比性, 提示高电压是疗效提高的原因。

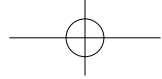
研究报道标准参数 PRF (输出电压 45 V) 治疗三叉神经痛术后无明显副作用发生^[2-5], 与之相同, 本研究中标准电压组未见副作用。本研究发现, 不升高设定温度、只升高输出电压的高电压 PRF 术后同样无副作用发生。提示, 只要温度控制在 42℃ 以下、适当升高 PRF 输出电压并不增加神经组织的损伤。组织病理学研究^[14] 表明, 42℃ PRF 作用于大鼠背根神经节和坐骨神经后, 可发生短暂的神经内膜水肿, 轴突超微结构损伤、膜和线粒体形态异常、微管和微丝瓦解、有髓轴突发生髓磷脂结构破坏。但是临床上并无明显的副作用出现, 可能 PRF 的治疗疼痛的作用远大于其对神经组织的轻微损伤。

本研究提示, 尽管高电压 PRF 治疗三叉神经痛无明显的副作用且疗效优于标准电压 PRF, 其近期有效率 (69%) 尚不及 RFTC^[15]。本研究中高电压 PRF 治疗无效的患者经 RFTC 或微血管减压术后疼痛均得到满意控制。因此安全、无副作用的高电压 PRF 有望成为保守治疗无效的三叉神经痛的首选经皮介入技术, 治疗无效的患者不影响再选择其他侵入性治疗。

表 2 两组治疗后有效率的比较
Table 2 Comparison of the effective rates after treatment

时间点 Time point	标准电压 PRF 组 Standard-voltage PRF group				高电压 PRF 组 High-voltage PRF group			
	例数 Case number	疼痛缓解 NRS=0	NRS 降低 >50% decreased NRS >50%	有效率 Effective rate	例数 Case number	疼痛缓解 NRS=0	NRS 降低 >50% decreased NRS >50%	有效率 Effective rate
术后 1 天 One day postoperation	30	0	13	43%	30	4	12	53%
术后 1 周 One week postoperation	30	0	15	50%	30	3	14	57%
术后 2 周 Two weeks postoperation	30	4	10	47%	30	6	12	60%
术后 1 月 One month postoperation	30	5	9	47%	29	14	7	72%*
术后 3 月 Three months postoperation	27	5	6	41%	26	14	4	69%*
术后 6 月 Six months postoperation	27	5	6	41%	26	14	4	69%*
术后 1 年 One year postoperation	27	4	1	19%	26	14	4	69%***

NRS, 疼痛数字评分 Numeric Rating Scales.
与标准电压 PRF 组比较 compared with those in group PRF, *P < 0.05, ***P < 0.001



本研究仅报道了半月神经节高电压 PRF 治疗三叉神经痛 1 年有效率, 远期疗效有待随访; 该技术对其他类型神经病理性疼痛疗效如何也有待研究。而且, PRF 的输出电压与疗效的相关性、最佳的输出电压、高电场效应对靶组织的影响及其机制等问题仍需深入的系列研究。

参 考 文 献

- [1] Sluijter ME, Cosman E, Rittman W, *et al.* The effect of pulsed radiofrequency fields applied to the dorsal root ganglion—a preliminary report. *Pain Clin*, 1998, 11:109 ~ 117.
- [2] Erdine S, Ozyalcin NS, Cimen A, *et al.* Comparison of pulsed radiofrequency with conventional radiofrequency in the treatment of idiopathic trigeminal neuralgia. *Eur J Pain*, 2007, 11: 309 ~ 313.
- [3] Luo F, Shen Y, Wang T, *et al.* 3D CT-Guided Pulsed Radiofrequency Treatment for Trigeminal Neuralgia. *Pain Pract*, 2014, 14: 16 ~ 21.
- [4] 罗芳, 申颖, 孟岚, 等. CT 引导下半月神经节脉冲射频治疗重度原发三叉神经痛. *中国疼痛医学杂志*, 2014, 20: 314 ~ 317.
- [5] Luo F, Meng L, Wang T, *et al.* Pulsed radiofrequency treatment for idiopathic trigeminal neuralgia: A retrospective analysis of the causes for ineffective pain relief. *Eur J Pain*, 2013, 17: 1189 ~ 1192.
- [6] 程灏, 孟岚, 申颖, 等. 影响脉冲射频治疗原发三叉神经痛患者疗效的因素. *中国疼痛医学杂志*, 2014, 20:467 ~ 471.
- [7] Teixeira A, Sluijter ME. Intradiscal High-Voltage, Long-Duration Pulsed Radiofrequency for Discogenic Pain: A Preliminary Report. *Pain Medicine*, 2006, 7: 424 ~ 428.
- [8] Cahana A, Zundert J, Macrea L, *et al.* Pulsed radiofrequency: current clinical and biological literature available. *Pain Med*, 2006, 7: 411~ 423.
- [9] Rehman SU, Khan MZ, Hussain R, *et al.* Pulsed radiofrequency modulation for lingual neuralgia. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 2012, 50: e4 ~ 5.
- [10] Shabat S, Leitner J, Folman Y. Pulsed radiofrequency for the suprascapular nerve for patients with chronic headache. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2013, 25: 340 ~ 343.
- [11] Van Boxem K, van Bilsen J, de Meij N, *et al.* Pulsed radiofrequency treatment adjacent to the lumbar dorsal root ganglion for the management of lumbosacral radicular syndrome: a clinical audit. *Pain Med*, 2011, 12: 1322 ~ 1330.
- [12] Sluijter ME. Radiofrequency, Part 1. Meggen, Switzerland: Flivopress; 2001.
- [13] Tanaka N, Yamaga M, Tateyama S, *et al.* The effect of pulsed radiofrequency current on mechanical allodynia induced with resiniferatoxin in rats. *Anesth Analg*, 2010, 111: 784 ~ 790.
- [14] Podhajsky RJ, Sekiguchi Y, Kikuchi S, *et al.* The histologic effects of pulsed and continuous radiofrequency lesions at 42 degrees C to rat dorsal root ganglion and sciatic nerve. *Spine(Phila PA 1976)*, 2005, 30: 1008 ~ 1013.
- [15] Son BC, Kim HS, Kim IS, *et al.* Percutaneous radiofrequency thermocoagulation under fluoroscopic image-guidance for idiopathic trigeminal neuralgia. *J Korean Neurosurg Soc*, 2011, 50: 446 ~ 452.

· 消 息 ·

疼痛科建设高峰论坛通知

随着临床疼痛学科迅猛发展, 疼痛医学受到越来越多学者和专家的关注, 疼痛科的学科建设和管理也提到一定的高度; 为此, 延续多年的“疼痛科主任峰会”将更名为“疼痛科建设高峰论坛”, 并将于 2015 年 5 月 22 日至 24 日在山西省太原市召开。

韩济生院士担任本次大会主席, 大会执行主席由樊碧发教授担任; 本次大会将邀请国内相关专家进行专题讲座, 并就热点问题与代表进行共同讨论; 欢迎与会专家撰写相关论文并进行学术交流。

本次会议的主要内容有:

1. 疼痛科医师规范化培训; 2. 疼痛科核心疾病的思考; 3. 疼痛科核心技术的探讨; 4. 疼痛科临床路径初探;
5. 疼痛科科研思路; 6. 多学科多中心合作机制; 7. “韩济生疼痛医学论文奖”颁奖活动; 8. 疼痛学科的科研设计、学科热点、临床动态、论文写作等; 9. 科研基金申报: 如何提高国家自然科学基金、省市级科研基金申报的成功率等。

报名方法:

回执传真 01082801705 或者发回到学会邮箱 casp82801712@126.com

联系单位及地址: 北京市海淀区学院路 38 号 邮编: 100191

联系人及电话: 任莉梅 010-82801705/82801712; 13910566182

相关稿件请发至 Email: casp82801712@126.com

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.010

CT 引导经黄韧带颈后路注射臭氧联合胶原酶治疗颈椎间盘突出症的疗效分析

赵家贵 朱本藩 宋阳 赵丽 陈家骅[△]
(安徽医科大学第一附属医院疼痛科, 合肥 230022)

摘要 目的: 观察 CT 引导下采用颈后路注射臭氧联合胶原酶治疗颈椎间盘突出症的临床疗效和影像学变化。**方法:** 回顾性分析 248 例颈椎间盘突出症患者, 124 例采用注射胶原酶治疗 (A 组), 同期 124 例患者采用注射臭氧联合胶原酶治疗 (B 组)。采用视觉模拟疼痛评分 (visual analogue scale, VAS) 作为疼痛程度评价指标, 改良 Macnab 标准评估治疗效果。术后 6 月突出物缩小程度评价影像学改变情况。**结果:** 两组患者术后 1 天、3 天、7 天、1 个月、3 个月、6 个月 VAS 评分较术前均有明显降低 ($P < 0.05$), 术后臭氧联合胶原酶组较单纯胶原酶组 VAS 明显降低 ($P < 0.05$)。6 个月后两组患者优良率分别为 82.3% 和 93.6%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 6 个月后两组具有明显影像学改变者分别为 83.7% 和 95.4%, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** CT 引导颈后路注射臭氧联合胶原酶髓核溶解术是治疗颈椎间盘突出症有效的方法之一。

关键词 颈椎间盘突出症; 臭氧; 胶原酶

THE EFFICACY OF TREATMENT OF CERVICAL DISC HERNITATION BY POSTERIOR LIGAMENT FLAVA INJECTION OF OZONE AND COLLAGENASE UNDER CT-GUADENCE

ZHAO Jia-Gui, ZHU Ben-Fan, SONG Yang, ZHAO Li, CHEN Jia-Hua[△]

(Department of Pain, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective: To observe the clinical efficacy and the change of image after the treatment of cervical disc herniation through ligament flava posterior injection of ozone and collagenase under CT. **Methods:** 248 patients, who were diagnosed as cervical disc herniation by MRI or CT, were divided into Group A and B. The injection of collagenase was used in Group A ($n = 124$). Ozone combined with collagenase was used in Group B ($n = 124$). Visual analogue scale(VAS) was adopted to assay the degree of pain, improved Macnab criteria was selected to evaluate the clinical efficacy and decreased degree of the protrution size was utilized to evaluate the change of image after 6 months. **Results:** Compared with pre-operation, VAS scores were decreased significantly from 1st day to 6 months after treatment in two groups ($P < 0.05$). Compared with in Goup A, VAS scores were remarkably reduced in Group B after treatment ($P < 0.05$). The excellent and good rate was 82.3% in Group A and 93.6% in Group B at 6 month after treatment and the differences between them were statistically significant ($P < 0.05$). The changed image degree was statistically significant after 6 months in two groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** CT-guided injection of ozone and collagenase is an effective procedure for treating cervical disc herniation.

Key words Cervical disc herniation; Ozone; Collagenase

颈椎间盘突出症是一种临床常见疾病, 多系因颈椎间盘退变、纤维环破裂, 致髓核后凸压迫脊髓或神经根而出现的一系列临床综合征。传统骨科手术治疗, 创伤大, 风险高, 术后恢复时间长, 且大多数患者具有畏惧手术的心理。微创介入治疗因其创伤小、费用低、术后恢复时间短、并发症少等优

点, 得到临床广泛应用。目前常用的微创治疗方法有胶原酶、射频、臭氧、等离子、激光、旋切等^[1]。胶原酶化学溶解术作为疼痛科基本治疗手段之一, 经过长期临床实践, 已被证明具有确切疗效, 对于颈椎间盘突出症患者, 目前主要采取颈前路及椎旁后外入路穿刺方法^[2, 3], 而经黄韧带颈后路穿刺行

[△] 通讯作者 chenjihua001@sina.com

髓核化学溶解术鲜有报道。与颈前路及椎旁后外入路穿刺方法相比，经黄韧带颈后路穿刺所经过的解剖结构相对简单，且穿刺针可直达突出物靶点。本院疼痛科自 2007 年 6 月至 2013 年 9 月采用 CT 引导颈后路注射臭氧联合胶原酶溶核术治疗颈间盘突出症，患者术后临床症状有效缓解，影像学变化明显，效果满意。

方 法

1. 一般资料

共计 248 例颈间盘突出症患者，将其随机分为胶原酶组 (A 组) 及臭氧联合胶原酶组 (B 组)，两组患者在年龄、性别、病程等方面无统计学差异。其中胶原酶组 (A 组) 共计 124 例，男 72 例，女 52 例；年龄 29 ~ 74 岁，平均年龄 58 岁；病程为 2 个月至 15 年不等；其中神经根型 74 例，脊髓型 50 例，C₃₋₄ 椎间盘突出 5 例，C₄₋₅ 椎间盘突出 17 例，C₅₋₆ 椎间盘突出 48 例，C₆₋₇ 椎间盘突出 54 例。臭氧联合胶原酶组 (B 组) 共计 124 例，其中男 64 例，女 60 例；年龄 35 ~ 86 岁，平均年龄 62 岁；病程为 3 周至 12 年不等；其中神经根型 68 例，脊髓型 56 例，C₃₋₄ 椎间盘突出 7 例，C₄₋₅ 椎间盘突出 21 例，C₅₋₆ 椎间盘突出 50 例，C₆₋₇ 椎间盘突出 46 例。所有患者均经症状、体征及 CT 或 MRI 检查确诊为颈间盘突出症。

2. 入选和排除标准

(1) 入选标准：术前颈椎 MRI 或 CT 显示为 C₃₋₄、C₄₋₅、C₅₋₆ 或 C₆₋₇ 椎间盘突出，临床表现为一侧或双侧颈肩部、上肢疼痛或 (和) 麻木，或步态不稳，行走有踩棉花感等。影像学检查和临床表现

一致。(2) 排除标准：受压节段颈髓内缺血、软化或严重脊髓损伤，颈椎管骨性狭窄、严重颈椎骨质增生，椎间盘突出钙化；严重心肺疾病不能耐受微创手术者、凝血功能异常者、臭氧使用禁忌等。

3. 仪器与药物

注射用胶原酶：上海乔源生物制药有限公司生产，600 U/支。得宝松：先灵葆雅公司生产，1 ml/支。医用臭氧发生器：德国 herrman 公司生产。

4. 方法

(1) 术前准备：所有患者入院后完善术前常规化验、检查，做好术前各项评估及术前护理宣教。

(2) 治疗方法：B 组患者于 CT 室扫描床取俯卧位，开放静脉，连接心电监护仪，在颈部放置金属标记框，术前常规 CT 薄层 (2 mm) 扫描，根据病变间隙突出物位置、大小，设计穿刺路径，确定穿刺角度及深度 (见图 1)。常规消毒、铺巾、局麻，根据设计穿刺路径，将多功能脊柱穿刺针 (专利号：ZL 2005 2 0018756.5，专利人：陈家骅) 缓慢穿刺达至预定位置，CT 扫描证实穿刺针位置理想 (见图 2)，缓慢注入浓度为 30 μg/ml 的臭氧，每次 1 ml，间隔 1 分钟，共计 5 ml，臭氧注射后常规扫描，显示硬膜外腔臭氧显影清楚，且可分离硬膜囊及突出物粘连，观察 10 分钟后，再缓慢注入 2% 利多卡因 1 ml 与得宝松 1 ml 及生理盐水 3 ml 的局麻药复合液共计 5 ml 进行局麻药试验，每次注射 1 ml，间隔 1 分钟。严密观察患者生命体征及上肢感觉、运动功能 20 分钟，做好各种急救准备，如患者生命体征平稳，四肢运动功能与局麻药试验前相同，无局麻药渗入蛛网膜下腔现象，则可继续缓慢注射胶原酶 1200 U (2 ml)，注射完毕，拔出穿

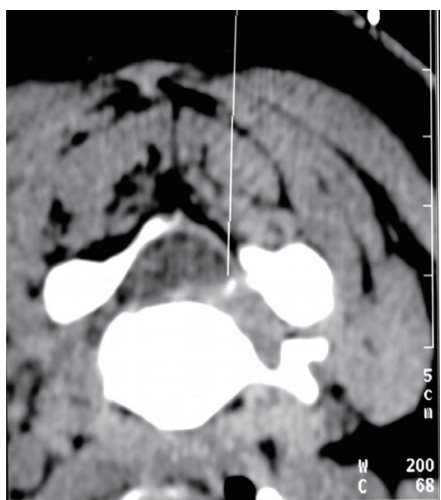


图 1 设计穿刺路径
Fig.1 The direction and distance of designed needle

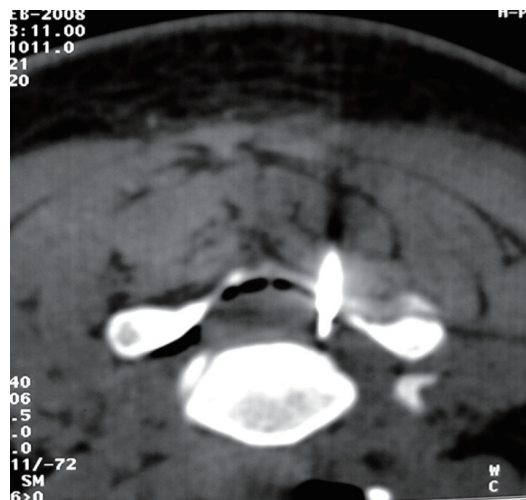


图 2 术中穿刺针的位置及臭氧扩散的情况
Fig.2 The position of needle and ozone diffusion during operation

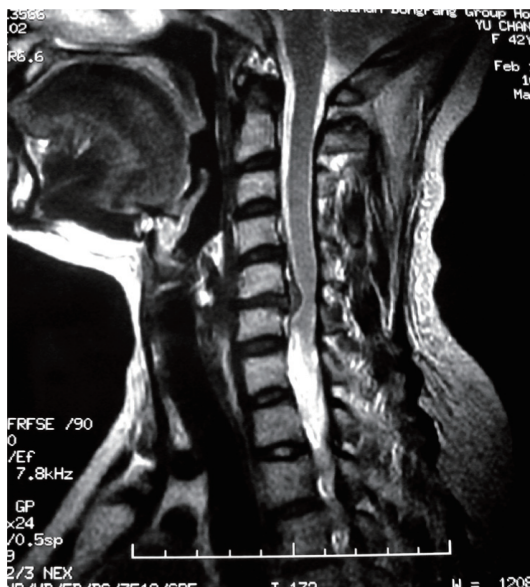


图3 术前 MRI 图像
Fig.3 The image of MRI before treatment



图4 术后6月复查 MRI 图像
Fig.4 The image of MRI after 6 months of treatment

刺针，无菌敷料覆盖，监测生命体征 10 分钟，将患者安全护返病房。A 组患者除不注射臭氧外，其余均与 B 组相同。

(3) 术后处理：术后患者俯卧位 6 小时，绝对卧床 3 天，3 天后可带颈托下床活动，治疗上给予常规脱水、营养神经等治疗 3 天。

5. 疗效评价指标

视觉模拟疼痛评分 (visual analogue scale, VAS) 评分标准为：0 分为无疼痛，1~3 分为轻度疼痛，4~6 分为中度疼痛，7~10 分为重度疼痛。

改良 Macnab 疗效评定标准如下。优：症状完全消失，恢复原来的工作和生活；良：有轻微症状，活动轻度受限，对工作生活无影响；可：症状减轻，活动受限，影响正常工作和生活；差：治疗前后无差别，甚至加重。

突出物缩小程度评价：根据椎间盘突出指数计算椎间盘突出物缩小率。椎间盘突出指数 [4] (index of vertebral disc herniation, IDH)，即突出物的矢状径 × 横径 / 椎管的矢状径 × 横径。突出物的缩小率 = (治疗前 IDH - 随访时 IDH) / 治疗前 IDH × 100%。突出物缩小程度的评定标准如下。重度：突出物缩小率 ≥ 50%；中度：25% ≤ 突出物缩小率 < 50%；轻度：突出物缩小率 < 25%；无改变：突出物无缩小。明显缩小率 = (重度缩小例数 + 中度缩小例数) / 病例数 × 100%。

观察患者术前、术后 1 天、3 天、7 天、1 个月、3 个月、6 个月 VAS 评分，术后 6 个月改良 Macnab 疗效，并在术后 6 个月复查 MRI 或 CT 对突出物缩

小程度进行评价。

6. 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件对数据进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示，采用重复测量资料的方差分析，计数资料采用 χ^2 检验， $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

A、B 两组患者均在 CT 引导下完成了相应的治疗，其中 A 组有 1 例患者在穿刺到位后针尾有脑脊液溢出，B 组有 1 例患者出现局麻药试验阳性，两例患者均终止治疗，1 周后再次实施治疗，治疗过程顺利。两组患者治疗过程中均无神经、脊髓损伤、出血及感染等并发症发生，A、B 两组患者在治疗后 1 天、3 天、7 天、1 个月、3 个月、6 个月时的 VAS 评分均较治疗前有明显下降 ($P < 0.05$)，且 B 组患者在治疗后 3 个月、6 个月的 VAS 评分较 A 组明显降低 ($P < 0.01$ ，见表 1)。两组患者术后 6 个月进行优良率分别为 A 组 82.3%、B 组 93.6%，两组之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$ ，见表 2)。术后 6 个月复查 CT 或 MRI，B 组明显缩小者为 95.4%，A 组明显缩小者占 83.7%，两者相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$ ，见表 3)。

讨 论

臭氧是一种强氧化剂，将其注入突出的椎间盘髓核组织可以迅速氧化髓核组织内的蛋白多糖，使髓核渗透压降低，水分丢失，发生变性、干涸、坏死、

萎缩, 从而降低椎间盘的压力, 消除或缓解椎间盘突出组织对神经根的机械性压迫^[5]。臭氧还具有抗炎和镇痛作用, 通过拮抗炎症介质及扩张血管改善局部血液循环达到抗炎效果, 同时通过直接作用于椎间盘表面及周围组织的神经末梢达到解除疼痛的目的。有动物实验^[6]显示, 臭氧注入椎间盘1个月左右, 可使髓核体积缩小, B组患者6个月后影像学变化较A组明显, 考虑可能跟臭氧的此种作用有关。笔者认为, 注射一定浓度和容量的臭氧可使突出物与受压的神经根或硬膜囊分离, 起到分离粘连的作用, 另外臭氧可在突出物内弥散或通过破损的纤维环弥散和扩散到椎管内、椎间孔或椎旁, 可起到气体造影的作用。臭氧还可以氧化局部引起神经根水肿的炎症因子^[7], 此种作用也可能是导致B组患者术后VAS变化较A组明显的原因。另外臭氧还具有消毒杀菌的作用, 可极大地降低术后椎间盘感染的发生率。

治疗术后1天、3天和7天VAS评分显著下降, 考虑得益于得宝松强力的抗炎作用, 使神经根周围水肿减轻从而使疼痛症状迅速缓解, 因为得宝松为复方倍他米松注射液, 其组分为二丙酸倍他米松及倍他米松磷酸钠, 其速释成分为可溶性的倍他米松磷酸钠起效迅速, 给药后1小时即可达到血浆峰浓度, 可迅速缓解根性疼痛症状, 其缓释成分为二丙酸倍他米松, 该成分微溶, 吸收缓慢, 逐渐代谢, 可持久而有效缓解神经根周围炎症^[8]。

胶原酶的化学名称为胶原蛋白水解酶, 是从微生物的发酵液中提取的一种酶制剂, 具有生物作用

的专一性, 它能在生理PH和温度条件下特异地水解天然胶原蛋白的三维螺旋结构, 使其发生断裂而进一步被分解, 人体椎间盘髓核的主要组分是胶原蛋白, 将胶原酶注入病变的椎间盘内或突出物内, 使胶原纤维溶解分解, 从而使突出物减小或消失, 消除对神经组织的压迫, 从而消除临床症状。

国内学者郑宝森等, 在影像引导下行颈椎旁后外入路穿刺注射胶原酶治疗颈椎间盘突出症, 认为此穿刺技术具有较高的安全性且疗效肯定^[3], 有文献报道经黄韧带硬膜外穿刺存在一定的危险性^[9-11]。我科采用经黄韧带颈后入路穿刺方法治疗颈椎间盘突出症248例, 至今未发生神经根损伤、脊髓损伤, 硬膜外血肿、感染、胶原酶进入蛛网膜下腔等严重不良反应, A组有1例患者在穿刺到位后针尾有脑脊液溢出, 考虑可能系穿刺刺擦伤硬脊膜所致, 密切观察没有发现神经根及脊髓损伤体征。B组1例患者出现局麻药试验阳性, 考虑可能系注射臭氧分离突出物与硬膜囊粘连时, 导致硬脊膜“撕裂”, 局麻药渗入蛛网膜下腔, 而导致局麻药实验阳性, 遂放弃注射胶原酶, 一周后待硬膜囊破口愈合后, 再次实施相关手术, 手术顺利, 术后恢复良好。局麻药试验是注射胶原酶前的必需的程序, 是防止胶原酶误入蛛网膜下腔的有效保障。在出现硬脊膜“撕裂伤”时, 因引起破损较小, 此时可能不会有脑脊液从针尾溢出, 但局麻药试验却为阳性。

臭氧联合胶原酶溶核术治疗颈椎间盘突出症具有创伤小、操作简便、见效快、费用低、并发症少、术

表 1 两组患者治疗前后 VAS 评分
Table 1 Comparison of VAS between two groups

组别 Group	术前 Pre-operation	术后 After operation					
		1 d	3 d	7 d	1 month	3 months	6 months
A	8.46±1.02	2.56±1.34*	2.95±1.42*	2.51±1.24*	2.05±1.12*	1.98±1.16*	1.72±1.05*
B	8.51±0.95	1.68±1.05*#	1.72±1.25*#	1.65±1.13*#	1.32±0.95*#	1.05±0.84*##	0.85±0.74*##

*P < 0.05, 与术前比较, Compared with pre-operation
#P < 0.05, ##P < 0.01, 与 A 组比较, Compared with in Group A

表 2 术后 6 月两组治疗结果比较
Table 2 Comparison of the clinical efficacy between two groups after 6 months

组别 Group	例数 n	优 Excellent	良 Good	可 Moderate	差 Poor	优良率 (%) Efficacy rate
A	124	65	37	9	13	82.3
B	124	89	27	5	3	93.6*

*P < 0.05, 与 A 组比较, Compared with in Group A, $\chi^2=7.43$

表 3 两组影像学变化结果比较
Table 3 Comparison of the image between two groups

组别 Group	例数 n	重度缩小 High-grade	中度缩小 Middle-grade	轻度缩小 Low-grade	无缩小 No change	明显缩小 (%) Marked
A	124	72	32	11	9	83.7
B	124	85	33	4	2	95.4*

*P < 0.05, 与 A 组比较, Compared with in Group A, $\chi^2=8.42$

(下转第 50 页)

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.011

不同方法臂丛神经阻滞手法松解治疗 粘连性肩关节囊炎的临床研究

高飞宇 支满霞[△]

(中国中医科学院望京医院麻醉科, 北京 100102)

摘要 目的: 探讨脉络宁复合液臂丛神经阻滞手法治疗粘连性肩关节囊炎的临床疗效。**方法:** 粘连性肩关节囊炎患者 50 例随机均分为脉络宁组 (M 组) 与倍他米松组 (B 组) 各 25 人, 分别采取脉络宁复合液和复方倍他米松注射液臂丛神经阻滞手法松解治疗粘连性肩关节囊炎。观察治疗前后的肩关节疼痛评分和肩关节活动度。**结果:** 治疗后 3 个月脉络宁组与倍他米松组肩部疼痛与肩关节功能活动改善较治疗前差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 脉络宁组优于倍他米松组, 两组间治疗效果比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** ① 脉络宁复合液和复方倍他米松注射液行臂丛神经阻滞手法松解都能有效缓解粘连性肩关节囊炎患者的肩部疼痛症状, 改善肩关节活动功能。② 治疗后 3 个月随访疗效观察, 脉络宁组优于倍他米松组, 远期疗效稳定。③ 脉络宁复合液行臂丛神经阻滞手法松解治疗粘连性肩关节囊炎避免了激素带来的不良反应, 值得在临床上推广使用。

关键词 粘连性肩关节囊炎; 脉络宁复合液; 激素; 臂丛神经阻滞; 手法松解

CLINICAL STUDY OF MANIPULATION RELEASING SCAPULOHUMERAL PERIARTHRITIS UNDER BRACHIAL PLEXUS BLOCK WITH DIFFERENT MEDICINES

GAO Fei-Yu, ZHI Man-Xia[△]

(Department of Anesthesiology, Wangjing Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102)

Abstract Objective: To evaluate the clinical effect of Mailuoning complex fluid for manipulation relieving scapulohumeral periartthritis under brachial plexus block. **Methods:** Fifty patients who had scapulohumeral periartthritis were randomly divided into M group ($n = 25$) and B group ($n = 25$). The M group patients took the Mailuoning complex fluid and the B group took the treatment of compound betamethasone for brachial plexus block to treat scapulohumeral periartthritis with manipulation. The fraction of shoulder pain and shoulder activity were observed before and after treatment. **Results:** The pain of both groups decreased significantly and the shoulder activity of all patients significantly improved 3 months later compared with pretreatment ($P < 0.05$). The therapy eutic effect of M was significantly better than B. **Conclusion:** ① The therapy of the injecting Mailuoning complex fluid under brachial plexus block supplemented with manipulation to cure frozen shoulder had good effect on easing pain, improving shoulder activity. ② The Mailuoning complex fluid has longer effect of easing pain and improving shoulder activity than the treatment by hormone. ③ Mailuoning complex liquid had the advantages of stable long-term efficacy and less side effects of the hormone, especially for diabetes and hypertension patients. It should be promoted in clinic.

Key words Frozen shoulder; Mailuoning complex fluid; Hormone; Brachial plexus block; Manipulation release

粘连性肩关节囊炎 (the frozen shoulder, scapulohumeral periartthritis) 是肩周肌、肌腱、韧带、滑囊及关节囊的慢性损伤性无菌性炎症, 以活动时疼痛、功能受限为其临床特点, 严重影响患者的健康

状况和生活质量。粘连性肩关节囊炎的治疗分为手术治疗和非手术治疗。臂丛神经阻滞手法松解是非手术治疗粘连性肩关节囊炎的重要手段^[1], 其具有无痛、肌松且可以充分松解关节活动的粘连挛缩

[△] 通讯作者 zhimanx@msn.com

组织的优点,所用药物多为糖皮质激素。虽然应用糖皮质激素治疗粘连性肩关节囊炎在临床上取得了良好的疗效^[2],但是对合并有糖尿病、胃溃疡、结核病等患者不能使用激素治疗。为此,临床上需要寻找一种药物来治疗粘连性肩关节囊炎,而活血化淤类中药在临床上得到了良好的临床效果^[3]。为进一步探讨疗效,笔者进行了临床研究,现报道如下。

方 法

1. 一般资料

选择2009年~2010年本院疼痛门诊符合本研究入选标准的粘连性肩关节囊炎患者50例,按区组随机法分为脉络宁组(M组)和倍他米松组(B组)两组,每组25例。治疗组平均年龄(49.5±4.2)岁,治疗前视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)积分(5.7±1.2),肩关节功能Melle^[4]评分法积分(11.6±1.9)。对照组平均年龄(47.3±5.5)岁,治疗前VAS评分法积分(5.8±1.4),肩关节功能Melle评分法积分(11.4±1.9)。经 t 检验, $P>0.05$,两组资料具有可比性。

病例纳入标准:①符合粘连性肩关节囊炎诊断标准者②年龄在27(含)~65(含)岁之间,性别不限③自愿加入本试验并签署知情同意书。

病例排除标准:①有明显心、脑、肝、肾、内分泌及血液系统等疾病②精神病患者③妊娠和哺乳期患者④同时接受其他治疗,可能会干扰疗效观察者。

2. 治疗方法

治疗药物:治疗组所用药物是由脉络宁注射液5 ml、5%碳酸氢钠5 ml与2%利多卡因10 ml配制,简称脉络宁复合液。对照组药物:复方倍他米松注射液1 ml、0.9%氯化钠9 ml与2%利多卡因10 ml配制。

治疗方法:患者均采用肌间沟入路行臂丛神经阻滞,待上臂及肩关节周围阻滞完善后,即行手法松解。①手法松解术:助手固定患侧肩胛骨,术者一手保护患者肩关节,一手握住患者肘部,将患肢向头部屈曲,沿头侧慢慢向床面按压,直至将上肢贴于床面,臂上举达180°;然后让患者坐于靠椅上,再将上肢外展90°,内收使肘关节达胸骨中线,掌心搭于对侧肩,内旋使手指触及对侧肩胛骨,外旋使手指触及对侧耳轮,若听到“咔咔”声或撕裂声,提示粘连已被松解。治疗后嘱患者继续功能锻炼。②功能训练:松解到位后嘱患者每天坚持自主功能锻炼训练1个月,每天3次,每次10~20分钟,肩关节活动幅度以引起可以忍受的疼痛为限。一般

每周治疗1次,每次注射药液20 ml,治疗3次为1个疗程。治疗期间,不得加用其他任何药物与治疗方法,但治疗前正在使用的药物,不必停药,可继续使用。

3. 观测指标与方法

两组患者在治疗前、三次治疗后(治疗后)和治疗后3个月随访进行视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)积分评定和肩关节功能Melle评分法评定。

(1)VAS评分法积分:VAS“0”积分为0分,“1~3”为2分,“4~6”为4分,“7~9”为6分,“10”为8分,0分为无痛,分数越低疼痛程度越轻。

(2)肩关节功能评定,参照何继永主编《外科疾病诊断标准》的Melle^[4]评分法进行量化评价。0分为肩关节功能正常,分数越低功能越好。①外展上举:<30°为3分;30°~90°为2分;90°~120°为1分;>120°为0分。②肩中立位外旋:<0°为3分;0°~20°为2分;>20°为1分。③手到颈项:不能为3分;“困难”为2分;“较容易”为1分;正常为0分。④后伸内旋:不能为3分;S₁水平为2分;T₁₂水平为1分;T₁₂水平以上为0分。⑤手到嘴:完全喇叭征为3分;部分喇叭征为2分;肩内收0°~40°为1分;肩内收0°为0分。

4. 疗效判定标准

参考《中药新药临床研究指导原则》制定的慢性软组织损伤的疗效判定标准并根据国家中药管理局1994年修订的《中医病症诊断疗效标准》^[2]计算疗效指数。计算公式(尼莫地平法)为:疗效指数: $n = [(治疗前积分 - 治疗后积分) \div 治疗前积分] \times 100\%$ 。根据疗效指数进行疗效评定。

治愈: $n \geq 95\%$ 症状、体征完全消失,肩关节活动自如。显效: $70\% \leq n < 95\%$ 症状、体征完全消失,仅持重物时有轻微酸痛和不适感。有效: $30\% \leq n < 70\%$ 疼痛与压痛均减轻,肩关节活动范围较治疗前加大。无效: $n < 30\%$ 症状、体征无变化,功能活动无改善。

5. 不良反应纪录

记录下患者在治疗过程中出现不良反应。

6. 统计学方法

所得数据应用SPSS 13.0统计软件进行处理。计量资料以($\bar{x} \pm SD$)表示,满足正态分布的分析采取配对 t 检验;偏态分布的分析采用非参数配对秩和检验。计数资料及等级资料分析采取 χ^2 检验和秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组治疗后疗效经等级资料两样本比较的秩和检验, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 见表 1)。

2. VAS 评分治疗组患者治疗后 3 个月较治疗后积分有进一步的降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 倍他米松组患者治疗后 3 个月较治疗后积分有降低, 经统计学处理差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗后 3 个月 VAS 评分脉络宁组低于倍他米松组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 见表 2)。

3. 肩关节功能 Melle 评分治疗组治疗后 3 个月肩关节功能继续改善, 积分进一步降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 倍他米松组患者治疗后 3 个月疗效基本稳定, 积分经统计学处理差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗后 3 个月 Melle 评分脉络宁组低于倍他米松组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 见表 3)。

4. 治疗中对照组有 1 例患者出现食欲和体重增加, 倍他米松组未发现任何不良反应, 两组均无脱落病例。

讨 论

粘连性肩关节囊炎是一种好发于 40 ~ 65 岁中老年人的常见病, 主要症状是逐渐加重的肩部疼痛和肩关节活动受限。该病有一定自愈性, 但病程漫长, 常达数年之久, 严重影响患者的日常生活和工作, 给患者带来极大痛苦。临床有手术治疗和非手术治疗。非手术疗法应用激素是治疗粘连性肩关节

囊炎的重要手段之一, 但是文献报道大量应用激素治疗可发生股骨头无菌性坏死、柯兴氏综合征、神经纤维萎缩、大面积皮肤鳞状损害、脂肪肝等多种医源性疾病, 尤其股骨头无菌性坏死发生率越来越高, 其激素作用就占 53.5%^[5]。为减少激素的不良反应, 本院采用中西医结合的方法, 应用脉络宁复合液进行臂丛神经阻滞下手法松解治疗肩周炎, 将中药制剂脉络宁、2% 利多卡因与 5% 碳酸氢钠配伍使用收到了很好的疗效。中成药脉络宁注射液由牛膝、玄参、麦冬、金银花和石斛等组成, 具有活血化瘀、滋阴养血、疏通经络、改善局部微循环、清热解毒之功效; 2% 利多卡因能够解除肌肉痉挛和血管收缩, 改善血液循环状态, 并促进炎症、水肿的吸收。慢性疼痛、炎症等伤害性刺激可使局部氢离子增加, 组织 pH 值降低。当 pH 值低于 6 时, 可加重患者疼痛, 因此在药液中加入 5% 碳酸氢钠将药液 pH 值调至 7.0, 使局部的 pH 值升高, 降低局部氢离子浓度, 减轻 H⁺ 对局部组织的刺激^[6], 另外, pH 值升高对于胶质反应性增生具有一定的抑制作用, 抑制瘢痕的生成^[7], 利于粘连松解, 并能使利多卡因的起效时间明显缩短, 作用时间显著延长, 加快炎症水肿的吸收, 使患者症状迅速缓解。三药复合, 相辅相成, 能够高效快速的发挥活血化瘀、抗炎止痛, 促进炎症的吸收的作用。

本院应用激素和脉络宁复合液在臂丛神经阻滞下配合手法松解治疗粘连性肩关节囊炎进行了临床对照研究, 充分发挥中医药的优势, 根据脉络宁的

表 1 两组间治疗后疗效比较 [n (%)]

Table 1 Comparison of efficacy between groups after treatment

组别 Group	n	治愈 Cure	显效 Excellent	有效 Effective	无效 Ineffective
脉络宁组 M group	25	18 (72) *	5 (20) *	1 (4)	1 (4)
倍他米松组 B group	25	15 (60)	5 (20)	3 (12)	2 (8)

* $P > 0.05$, 与对照组比较, compared with control group

表 2 两组患者治疗前后与治疗后 3 个月 VAS 评分比较 ($\bar{x} \pm SD$)

Table 2 Comparison of VAS scores between groups after treatment and 3 months after treatment

组别 Group	n	治疗前 Post-treatment	治疗后 3 个月 3 months after treatment	差值 Difference
脉络宁组 M group	25	1.68 ± 0.38	0.96 ± 1.17* [△]	0.72 ± 0.98
倍他米松组 B group	25	1.76 ± 0.20	1.68 ± 1.11	0.08 ± 1.47

* $P < 0.01$, 与治疗前比较, compared with Post-treatment; [△] $P < 0.05$, 与对照组比较, compared with control group

表 3 两组患者治疗后与治疗后 3 个月肩关节功能 Melle 评分比较 ($\bar{x} \pm SD$)

Table 3 Comparison of scores in Melle between two groups after treatment and 3 months after treatment

组别 Group	n	治疗前 Post-treatment	治疗后 3 个月 3 months after treatment	差值 Difference
脉络宁组 M group	25	2.64 ± 0.99	1.92 ± 1.25* [△]	0.72 ± 1.02
倍他米松组 B group	25	3.92 ± 1.41	4.32 ± 1.52	0.40 ± 1.29

* $P < 0.01$, 与治疗前比较, compared with after Post-treatment; [△] $P < 0.05$, 与对照组比较, compared with control group



药理作用, 将其用于治疗粘连性肩关节囊炎^[3], 收到了较好的临床效果。本研究结果表明, 脉络宁组与倍他米松组综合疗效分别具有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明脉络宁复合液在改善粘连性肩关节囊炎症状与体征方面与激素治疗同样有效, 在治疗后随访中发现有 1 例患者出现食欲和体重增加的症状, 所以定治疗 3 次为 1 个疗程, 可降低医源性疾病的发生。通过试验证明脉络宁比激素的使用人群更广泛, 而且能有效地避免激素的不良反应。在治疗后的随访过程中发现脉络宁复合液比激素组的远期疗效更好, 根据 3 个月的随访记录, 脉络宁组疗程结束后 3 个月与疗程结束时镇痛和肩关节功能活动方面组内比较, 差异分别具有统计学意义 ($P < 0.05$), 肩关节疼痛分数进一步降低, 肩关节活动度继续改善; 而倍他米松组在疗程结束后 3 个月与疗程结束时镇痛和肩关节功能活动方面组内比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。两组远期疗效组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明脉络宁复合液的远期疗效优于激素。与本院前期研究报道中关于脉宁复合液治疗腰突症的远期疗效的观察相一致的^[8]。

经此次临床试验得出结论: 脉络宁复合液能有效缓解粘连性肩关节囊炎患者的肩部疼痛症状, 改善肩关节活动功能, 并具有良好的远期疗效。与注射激素相比, 脉络宁复合液的综合效果、改善肩部疼痛效果和改善肩关节活动功能效果无明显差异。但 3 个月随访结果显示脉络宁复合液具有远期疗效

(上接第 46 页)

后卧床时间短等优点, 易被患者所接受, 本组结果显示其对治疗颈椎间盘突出症是一种安全有效的方法。

参考文献

- [1] 郭新军, 朱卉敏, 王衡. 颈椎间盘突出症微创治疗. 颈腰痛杂志, 2010, 31:65~68.
- [2] 魏俊, 温新院, 付敏, 等. CT 介入下颈前路靶向注射胶原酶治疗颈椎间盘突出症分析. 中国疼痛医学杂志, 2011, 17:604~606.
- [3] 史可梅, 郑宝森, 马文庭, 等. 颈椎旁后入路注射胶原蛋白酶对颈椎间盘突出症患者的疗效. 中华麻醉学杂志, 2008, 28:305~307.
- [4] Thlander U, Fagerlund M, Friberg S, *et al.* Describing the size of lumbar disc herniations using computed tomography a comparison of different size index calculations and their relation to sciatica. *J Spine*, 1994, 19:1979~1984.
- [5] 肖越勇. 合理选择联合介入技术使椎间盘突出症微创治疗达到个体化或间盘化. 中国疼痛医学杂志, 2005, 11:320.

稳定等优点, 能够免除激素的不良反应。因此应用脉络宁复合液行臂丛阻滞下手法松解治疗粘连性肩关节囊炎具有良好的推广前景, 将取得良好的社会效益, 值得在临床上推广使用。

参考文献

- [1] 白和平, 李晓斌, 孟宪涛, 等. 肩周封闭治疗肩关节周围炎 36 例临床观察. 白求恩医学院学报, 2008, 6: 14.
- [2] 王伟, 徐绍林. 神经阻滞下手法松解粘连型肩周炎 148 例. 人民军医, 2009, 52:51.
- [3] 支满霞, 李兵. 神经阻滞下手法松解配合鞘内注射药物治疗肩周炎中. 国疼痛医学杂志, 2000, 6:281.
- [4] 何继永. 外科疾病诊断标准. 北京: 北京科学技术出版社, 2001:57.
- [5] 陈卫衡, 张强. SARS 并发股骨头坏死的发病特点分析及临床意义. 中国骨伤, 2004, 17:388~390.
- [6] Du, Rubin A, Klepper S Klepper, *et al.* Calciun influx and activation of calpain I mediate acute reactive gliosis in injured spinal cord. *Exp Neuro*, 1999, 157:96~105.
- [7] 高元朝, 支满霞, 李莉. 硬膜外注射脉络宁复合液对脊髓内星形胶质细胞反应性增生的作用. 中国疼痛医学杂志, 2008, 14:32~35.
- [8] Zhi MX, Zhang GB, Hou JC, *et al.* Peridural Injection of Mailuoning Compound Liquor for Treatment of Prolapse of Lumbar Intervertebral Disc in 100 Cases. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2009, 29:6~8.
- [6] 俞志坚, 何晓峰, 李彦豪. 医用臭氧治疗腰椎间盘突出症. 中国医学影像技术, 2004, 20:598~600.
- [7] Muto M, Andreula C, Leonardi M. treatment of herniated lumbar disc by intradiscal and intraforaminal oxygen-ozon e(O_2-O_3) injection. *neuroradiol*, 2004, 31:183~189.
- [8] Manchikanti L, Cash KA, Pampati V, *et al.* The effectiveness of fluoroscopic cervical interlaminar epidural injections in managing chronic cervical disc herniation and radiculitis: preliminary results of a randomized, double-blind, controlled trail. *Pain Physician*, 2010, 13:223~236.
- [9] Hodges SD, Castleberg RL, Miller T, *et al.* Cervical epidural steroid injection with intrinsic spinal cord damage. Two case reports. *Spine*, 1998, 23:2137~2142.
- [10] Reitman CA, Watters W 3rd. Subdural hematoma after cervical epidural steroid injection. *Spine*, 2002, 27:174~176.
- [11] Beckman WA, Mendez RJ, Paine GF, *et al.* Cerebellar hernia-tion after cervical transforminal epidural injection. *Reg Anesth Pain Med*, 2006, 31:282~285.

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.012

· 综述 ·

一种疼痛调控的新手段：经颅直流电刺激*

王静¹ 万有² 李小隼^{1△}¹北京师范大学脑与认知科学研究院, 认知神经科学与学习国家重点实验室, 北京 100875;²北京大学基础医学院神经生物学系, 北京大学神经科学研究所教育部和卫生部重点实验室, 北京 100191)

摘要 经颅直流电刺激是一种新型的非侵入性神经调控技术。微弱的直流电, 通过颅骨作用于大脑皮层, 提高或降低皮层的活动兴奋性。经颅直流电刺激可调节健康志愿者的疼痛阈值, 改善术后疼痛, 并能减轻慢性疼痛患者的疼痛。在机制研究基础上, 细化和选定合适的刺激参数是今后的研究方向。

关键词 经颅直流电刺激; 疼痛; 慢性痛; 神经调控技术

神经调控 (neuromodulation) 是控制急性疼痛和慢性疼痛, 特别是难治性慢性疼痛的一种重要手段和有效的替代疗法。目前, 侵入性的大脑神经调控手段, 如深部电刺激 (deep brain stimulation, DBS)、运动皮层刺激 (motor cortex stimulation, MCS) 和非侵入性的大脑神经调控手段, 如反复经颅磁刺激 (repeated transcranial magnetic stimulation, rTMS) 都已取得显著的成果。

近年来, 一种新型的非侵入性方法, 经颅直流电刺激 (transcranial direct current stimulation, tDCS), 由于其安全、简便、经济、方便操作等显著优点, 受到广大临床和科研工作者的关注。该方法也同样在疼痛研究领域取得了一定的成果。本文旨在介绍 tDCS 及其在疼痛研究中, 包括对健康志愿者痛阈值, 术后急性疼痛和临床中慢性疼痛调控的研究进展, 并对今后的研究方向加以论述和展望。

1. tDCS 及其刺激模式与安全性

tDCS 的刺激模式: tDCS 是指通过微弱的直流电刺激大脑皮层。tDCS 的刺激器由一组电池供电, 产生直流电。刺激器的阳极和阴极分别通过导线连接两个导电橡胶电极, 在进行刺激时, 为了增强导电性, 会将浸有低浓度盐水的海绵套, 包裹在橡胶电极上, 用可调节的固定带, 将阳极电极固定于某个大脑区域对应的颅骨位置上, 将阴极电极置于远离阳极电极的不相关区域 (见图 1)。刺激过程中, 使电流从阳极流出, 阴极流入, 形成一个环路, 从

而形成该脑区的阳极刺激模式。如果调换两个电极的放置位置, 则形成阴极刺激模式。通常, tDCS 的电流刺激强度为 1 ~ 2 mA, 刺激时间从 5 min 到 20 min 不等。tDCS 的对照假刺激模式是施以短暂的通电, 时间为 30 s, 使被试产生类似真刺激的刺痛等感觉。

tDCS 的安全性: tDCS 与其他调控手段相比, 安全性较高, 这是因为 tDCS 并不直接激发动作电位, 无类似 TMS 诱发癫痫发作的危险; tDCS 最常见的不良反应是在刺激过程中, 头皮会伴有轻微刺痛、刺痒以及轻微头晕的感觉。这些反应会在刺激后几小时内消失, 并且无任何远期的副作用, 具有较高的安全性; 另外, 真假 tDCS 刺激不能被受试者轻易区别, 因为 tDCS 刺激器不像 TMS 刺激器产

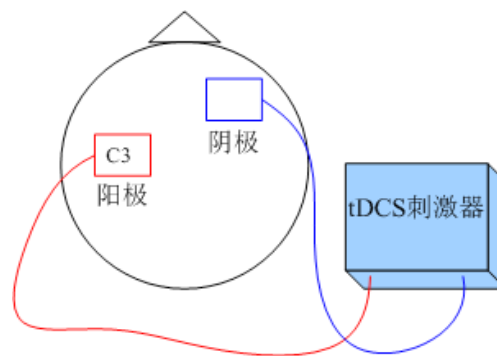
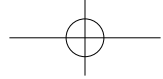


图 1 tDCS 阳极刺激左侧初级运动皮层示意图。阳极电极放置于脑电 10-20 系统中的 C3 电极位置, 阴极电极放置于对侧眶上区。

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (81230023; 61273063); 国家杰出青年科学基金 (661025019)

△ 通讯作者 xiaoli@bnu.edu.cn



生响声。tDCS 无声的特点, 使得对照实验更加真实可信^[1]。

2. tDCS 对健康志愿者疼痛阈值的调控

tDCS 可以影响健康志愿者的疼痛感觉。研究显示对多个不同大脑区域进行 tDCS 调控都可改变疼痛阈值。

tDCS 刺激初级运动皮层对痛阈的影响: 初级运动皮层 (primary motor cortex, M1) 是 tDCS 调控疼痛的常用靶区。这与 TMS 和 MCS 控制疼痛的常用靶部位一致。研究结果显示, 阳极刺激具有提高疼痛阈值, 降低疼痛感知的作用^[1]。对大脑运动皮层进行刺激, 可使得对侧躯体的疼痛阈值提高; 与 TMS 刺激运动皮层相反, 阴极 tDCS 刺激运动皮层, 同样可以提高痛阈值^[2]。然而, 一些多模态的疼痛研究结果似乎提示, 阳极刺激和阴极刺激对不同类型的疼痛具有偏向性。阳极 M1 主要调控热痛和冷痛^[3], 而阴极刺激则更倾向于调制机械痛感觉^[2]。此外, 有报道显示, 不论阳性刺激或阴极刺激 M1, 对健康者的热痛均无作用^[4]; 我们最近的实验也显示出同样结果, 由于这些实验的参数不同, 统计方法也不同, 因此, tDCS 刺激 M1 对疼痛的调控作用尚不能下结论, 还有待于采用大样本, 多中心, 均一参数的实验来进一步验证。

tDCS 刺激背外侧前额叶皮层对痛阈及痛情绪的影响: 除了初级运动皮层外, 背外侧前额叶皮层 (dorsal lateral prefrontal cortex, DLPFC) 也是 tDCS 在疼痛研究中另一个常用的靶点。阳极刺激 DLPFC 提高痛阈值, 从而减轻疼痛^[5], 这个效应可能是降低了疼痛的情绪成分, 因为影像学的结果表明 DLPFC 主要参与疼痛情绪成分。进一步的研究显示, 阳极刺激 DLPFC 后, 疼痛图片引起的不舒服感减轻, 同时伴有皮层脑电的 beta 频段活动增强, 而 alpha 频段的功率降低^[6]。tDCS 刺激初级运动皮层后, 也同样发现疼痛导致的不愉快感减弱, 提示痛情绪的降低很可能并不是 DLPFC 的特异效应, 而是疼痛感觉降低产生的伴随效果。痛情绪的改变, 是疼痛减轻的原因还是疼痛减轻所致则需单独影响痛情绪的方法来进一步研究, 如 tDCS 对催眠术诱导的疼痛情绪的影响。

tDCS 刺激初级感觉皮层对痛阈的影响: 疼痛作为一种基本感觉, 离不开初级感觉皮层的参与。研究者发现, 用 tDCS 的阴极刺激模式作用于初级感觉皮层 (primary somatosensory cortex, S1), 可以降低对侧肢体的疼痛感觉^[7], 这与初级感觉皮层活动参与疼痛加工的机制一致。另一研究还发

现, 阴极刺激 S1 能够提高对侧温度觉, 包括冷觉和热觉的阈值^[8], 但是对热痛和机械痛阈并没有影响。这里需要提醒的是, 由于 S1 的 tDCS 刺激位置在 M1 后侧几厘米, 通常使用的 tDCS 电极是 5 cm×7 cm, 面积较大。因此, 无法排除部分电极覆盖 M1 的可能性。这种情况可以解释阴极 tDCS 刺激 S1 无效果的现象。

综上所述, tDCS 刺激多个脑区都可调控疼痛。这从另一角度表明了, 疼痛感觉是多个脑区共同参与的网络活动。从这一点上来说, tDCS 不仅是神经调控手段, 更是一种安全的非侵入性的研究工具, 它能够检验和验证脑区的参与功能, 给疼痛的脑影像学结果, 提供干预性证据。

3. tDCS 对术后疼痛的作用

相比正常健康者痛阈的调控研究, tDCS 对术后疼痛的研究较少。有研究发现 tDCS (2 mA, 20 min) 后, 可以降低腹部手术后的疼痛及睡眠中的疼痛, 但是并不影响病人的疼痛评分^[9]。同课题组的另一个结果发现, 关节手术后, 给予运动皮层每次 20 min, 共 4 次 tDCS 刺激后, 阿片受体的药物使用量降低^[10]。最新的一个随机对照实验发现, 单次 tDCS (1 mA, 20 min) 在 DLPFC 作用后, 不论是阴极刺激还是阳极刺激, 腰椎手术后病人的吗啡用量和病人的视觉评分法都没有改变^[11]。这种差别可能来自于刺激的时程和强度, 此实验的刺激强度和时长较前两者少; 同时, 这可能与疼痛类型有关, 躯体疼痛和内脏疼痛不同。这些前期的结果都提示我们, 应用 tDCS 时, 其参数需要特定。

4. tDCS 对慢性痛的作用

慢性痛是指组织损伤后, 不论原发损伤是否痊愈, 疼痛长时间持续。在临床上把大于三个月以上的疼痛诊断为慢性疼痛, 这是临床上常见的异常性疼痛。与急性痛不同, 慢性痛状态下, 大脑多个脑区发生了可塑性的改变。tDCS 对于慢性痛的应用非常重要, 在这方面已经开展了大量的研究, 并取得颇有价值的结果。

tDCS 刺激运动皮层对慢性痛的作用: 多数研究发现, tDCS 刺激运动皮层可以改善慢性痛病人的疼痛。Fregni 早在 2006 年的双盲随机对照实验中发现, 给予外伤性脊髓损伤的慢性痛病人 M1 区 2 mA, 20 min 的 tDCS, 连续 5 天后, 患者的疼痛减轻, 焦虑和抑郁症状改变^[12]。在对慢性炎症痛的患者 (纤维肌痛) 的实验中, 同样发现, 此参数的 tDCS 可以改善患者的疼痛^[13]。纤维肌痛患者疼痛减轻, 伴随睡眠潜伏期缩短和睡眠效能提高^[14]。



对于治疗效果来说, 维持时间效果也是一个重要环节。tDCS 的后效应持续时间很长。tDCS 运动皮层 10 天后, 对纤维肌痛患者的疼痛改善作用可持续长达 60 天^[15]。以上这些结果表明, tDCS 刺激运动皮层是控制慢性痛, 特别是纤维肌痛, 非常有效的手段。短期效果和远期效果都较明显。

在其他的疼痛类型上, tDCS 运动皮层也显示具有控制疼痛的作用, 包括截肢后疼痛、颜面痛和慢性盆腔痛。在一个多病种的研究中, tDCS 对三叉神经痛、中风后疼痛综合症、后背痛等均有控制疼痛作用^[16]。

将 tDCS 与其他神经调控手段的结合是最新的进展之一。tDCS 与经皮电刺激 (transcutaneous electrical nerve stimulation, TENS) 联合, 控制慢性疼痛的效果大于单独使用 tDCS 的效果^[17]。tDCS 与行为调控的手段结合也有良好的效果。

近期的一些研究结果发现, tDCS 初级运动皮层对慢性神经病理性疼痛和慢性炎症痛并没有显现出改善和缓解疼痛的效果。经仔细研究这些结果后发现, 其中有三篇文章采用了单次 tDCS 刺激^[18]; 这三个研究, 对慢性炎症痛或神经病理性疼痛患者的疼痛均采用单次 tDCS, 患者的疼痛并没有改变。众所周知, 大脑皮层的活动, 在慢性痛时发生了错误适应的可塑性改变, 致使疼痛一直持续。可以想象, 单次的微弱电流刺激, 对于改变这种已经稳定的异常变化, 其作用是微弱的。提示, tDCS 的抗痛效果依赖于 tDCS 刺激的时间、强度与皮层可塑性变化强度之间的关系。而另一篇阴性结果的文章也印证了这样的作用, 对平均病史为 21.3 年的脊髓损伤后疼痛病人, 连续 5 天 tDCS 运动皮层后 (2 mA, 20 分钟), 没有监测到明显的改善作用^[19]。

在 O' Connell 报道的阴性结果中, 慢性腰背痛患者的病程长短不等 (>20 年及 <5 年), tDCS 的刺激次数也是随机不等^[20]。但文章中也提到, 部分患者的阳性刺激和对照假刺激有差异。是否这部分患者的病程较短且刺激次数较多? 文章中没有提供更多的关于病史和时程与疼痛的信息。在这些阴性结果报道中, 从行为学指标上, tDCS 未改变疼痛的程度。然而电生理的实验结果显示, 即使是单次 tDCS 也可以改变皮层的电活动。tDCS 可降低慢性痛患者增强的 theta 频段的活动, 减小运动皮层的兴奋性。综合以上结果, 行为学的阴性结果极有可能是因为采用了相对于可塑性改变较弱的刺激参数。以上结果告诉我们, 在确定 tDCS 对于慢性疼痛无改善效果作用的结论前, 需要仔细考虑皮层可

塑性变化的程度和选用的 tDCS 参数的大小。

tDCS 刺激 DLPFC 对慢性痛的作用: 相比较初级运动皮层的研究, DLPFC 的研究较少。目前的结果显示 tDCS 刺激 DLPFC 对慢性疼痛的缓解作用弱于 M1 的作用, 说明 tDCS 治疗疼痛具有位置特异性。采用 tDCS 刺激 DLPFC, 慢性纤维肌痛患者的疼痛并没有被缓解, 与此同时, 睡眠质量被破坏^[14]。另一研究发现, 刺激 DLPFC 的缓解疼痛效应, 可持续 30 天^[15]。tDCS 作用在 DLPFC 虽然也可以降低疼痛, 但是持续时间较短, 而且依赖较长的刺激时间。

5. tDCS 的作用机制

tDCS 的一般机制: 不同的 tDCS 刺激模式对大脑的调控作用不同。目前研究认为, 阳极刺激可以增加皮层活动的兴奋性, 而阴极刺激则是抑制皮层活动的兴奋性。阳极刺激后神经元的放电频率增加, 皮层诱发电位的幅度增高; 阴极刺激后神经元的放电频率减少, 皮层诱发电位的幅度降低^[21]。因此, tDCS 能够双向调控大脑的活动。近些年来, 神经影像学 with tDCS 的结合为了解 tDCS 的作用机制提供了很多的依据。尽管 tDCS 最初被认为是调控大脑皮层的活动, 然而很多影像学的结果发现, tDCS 不仅影响电极下皮层的活动, 而且还可以改变远距离深部脑区的活动。例如 tDCS 作用于初级运动皮层后, 丘脑核团、小脑以及梭状回的活动增强; 此外, 大脑的网络功能活动也受到 tDCS 的调节, 1 mA, 20 min 或 2 mA, 20 min tDCS 均可引起功能网络重组。2 mA 阳极 tDCS 刺激 DLPFC 后, 默认网络和额顶网络中电极下的脑区与其他相联区域的功能连接增强^[22]。需要指出的是, 影像学的研究结果并未发现与细胞水平上一致的极性依赖的现象, 阴极刺激后局部脑血流量并没有降低, 有些脑区包括刺激电极下的脑区反而是增强, 这可能与 BOLD 信号反映的是多个神经元及突触活动的净变化有关。

tDCS 的作用范围与电极的大小、电流强度和参考电极位置等有关。单位面积下的电流强度较大, 皮层兴奋性的变化越大, 尽管相同的电流密度对局部及远距离脑区的影响存在特别大的个体差异。Chang-Hwan Im 等人采用计算机建模的方法系统的比较了不同电极放置方式对皮层电场的影响, 结果发现最常用的 5 cm×7 cm 的 M1 — 对侧眶上区电极放置方式的最大电场主要位于大脑前额区, M1 — 颅外 (三角肌, 颊肌) 放置方式的最大电场则位于运动皮层, 而 M1 — 三角肌与 M1 — 颊肌之间无明显区别, 说明真电极与参考电极之间距离足够大时, 就不再影响作用范围^[23]。tDCS 对大脑活动的



影响,不只局限于即刻的短期效应。tDCS的调控效果会一直持续到刺激结束后数小时甚至数天,即为“后效应”。目前认为,后效应的持续时间与电流强度、刺激时间以及刺激次数有关^[1]。

tDCS镇痛的机制:虽然目前对于tDCS调控疼痛背后的机制尚不清楚,但是前期的相关实验结果,还是为我们提供了一些线索。

局部血流变化研究发现,1 mA的tDCS阳极刺激模式,作用于初级运动皮层10分钟,可激活健康受试者同侧和对侧的运动皮层^[24]。在兴奋运动皮层的作用方面,阳极tDCS与TMS的作用相似,提示tDCS的镇痛机制与TMS的镇痛机制一致,即通过兴奋运动皮层,进而激活下行抑制系统,减轻疼痛。另一项研究发现,阳极tDCS后,运动皮层与丘脑之间的功能连接增强,进一步表明阳极tDCS运动皮层的镇痛机制很可能是激活丘脑髓板内核群等下行抑制系统。此外,阳极tDCS初级运动皮层减少双侧的前额叶扣带回,岛叶以及外侧前额叶皮层区域的局部脑血流量^[24]。这些脑区都是痛矩阵的组成成分,参与疼痛的加工,特别是疼痛的情绪成分,因此,阳极tDCS运动皮层的镇痛作用还与抑制疼痛的情绪成分有关。

有意思的是阴极tDCS刺激初级运动皮层后,与阳极刺激一样,双侧运动皮层被激活^[24]。这一结果可以解释阴极tDCS和阳极tDCS作用初级运动皮层均可提高痛阈的作用。神经递质水平的研究结果显示,培高利特(Pergolide),一种具有多巴胺能特性的长效麦角衍生物,可以增强阴极刺激的作用效果,降低疼痛感觉及延迟后效应时间和疼痛诱发电位的N2成分幅度的作用,表明多巴胺参与阴极刺激的镇痛作用^[25]。

阴极tDCS刺激初级感觉皮层的镇痛作用则很可能与抑制疼痛感觉信息的加工相关。阴极tDCS作用于初级体感皮层后,感觉诱发电位的N20成分及痛觉诱发电位的N2成分幅度降低^[26]。初级感觉皮层是负责疼痛感觉成分的主要区域,N2则是反应体感皮层兴奋性的指标。因此,阴极tDCS的镇痛机制可能是初级体感皮层的兴奋性降低、疼痛加工抑制和痛阈值增高。

6. 研究展望

tDCS是否可以有效控制急性或慢性疼痛,是整个研究的最终目标。然而,在这个目标之前,还有很多问题值得探讨。从目前的研究结果来看,tDCS对急性痛和慢性痛的作用尚存争论。究其原因来说,源于对tDCS的潜在机制尚不清楚,刺激

参数(包括位置、强度、时间和次数)选择的随意性。因此,在把tDCS作为控制慢性疼痛的手段前,有待于明确tDCS对大脑活动的调节机制。如利用动物实验,研究tDCS对局部靶脑区的电生理活动特性的影响,以及对远距离脑区活动的影响。

与外,tDCS的调控效果与大脑背景可塑性变化程度有关。由于大脑疼痛矩阵网络可塑性的个体差异,因此今后的研究需要结合脑影像学的方法,如脑电图和功能核磁共振等。通过这些方法,确定大脑异常活动的区域及其可塑性变化的程度后,使tDCS特异性靶定在这个区域,并根据可塑性变化的程度选用相应的参数。

tDCS与其他调控手段的结合以增强tDCS的效果,也是今后研究的一个方向。例如将tDCS与TMS结合,可以通过tDCS提高兴奋性后,再应用TMS兴奋某一脑区,以增强调控作用。另外,针刺治疗是我国传统医学控制疼痛十分有效的方法,将外周电刺激和皮层电刺激结合是否会产生叠加效应,也是值得探索的方向。

参考文献

- [1] Nitsche MA, Cohen LG, Wassermann EM, *et al.* Transcranial direct current stimulation: State of the art 2008. *Brain Stimul*, 2008, 1:206 ~ 223.
- [2] Bachmann CG, Muschinsky S, Nitsche MA, *et al.* Transcranial direct current stimulation of the motor cortex induces distinct changes in thermal and mechanical sensory percepts. *Clin Neurophysiol*, 2010, 121:2083 ~ 2089.
- [3] Borckardt JJ, Bikson M, Frohman H, *et al.* A pilot study of the tolerability and effects of high-definition transcranial direct current stimulation (HD-tDCS) on pain perception. *J Pain*, 2012, 13:112 ~ 120.
- [4] Csifcsak G, Antal A, Hillers F, *et al.* Modulatory effects of transcranial direct current stimulation on laser-evoked potentials. *Pain Med*, 2009, 10:122 ~ 132.
- [5] Boggio PS, Zaghi S, Lopes M, *et al.* Modulatory effects of anodal transcranial direct current stimulation on perception and pain thresholds in healthy volunteers. *Eur J Neurol*, 2008, 15:1124 ~ 1130.
- [6] Boggio PS, Zaghi S, Fregni F. Modulation of emotions associated with images of human pain using anodal transcranial direct current stimulation (tDCS). *Neuropsychologia*, 2009, 47:212 ~ 217.
- [7] Antal A, Brepohl N, Poreisz C, *et al.* Transcranial direct current stimulation over somatosensory cortex decreases experimentally induced acute pain perception. *Clin J Pain*, 2008, 24:56 ~ 63.
- [8] Grundmann L, Rolke R, Nitsche MA, *et al.* Effects of transcranial direct current stimulation of the primary

- sensory cortex on somatosensory perception. *Brain Stimul*, 2011, 4:253 ~ 260.
- [9] Borckardt JJ, Romagnuolo J, Reeves ST, *et al.* Feasibility, safety, and effectiveness of transcranial direct current stimulation for decreasing post-ERCP pain: a randomized, sham-controlled, pilot study. *Gastrointest Endosc*, 2011, 73:1158 ~ 1164.
- [10] Borckardt JJ, Reeves ST, Robinson SM, *et al.* Transcranial direct current stimulation (tdcs) reduces postsurgical opioid consumption in total knee arthroplasty (TKA). *Clin J Pain*, 2013, 29:925 ~ 928.
- [11] Dubois PE, Ossemann M, de Fays K, *et al.* Postoperative analgesic effect of transcranial direct current stimulation in lumbar spine surgery: a randomized control trial. *Clin J Pain*, 2013, 29:696 ~ 701.
- [12] Fregni F, Boggio PS, Lima MC, *et al.* A sham-controlled, phase II trial of transcranial direct current stimulation for the treatment of central pain in traumatic spinal cord injury. *Pain*, 2006, 122:197 ~ 209.
- [13] Fregni F, Gimenes R, Valle AC, *et al.* A randomized, sham-controlled, proof of principle study of transcranial direct current stimulation for the treatment of pain in fibromyalgia. *Arthritis Rheum*, 2006, 54:3988 ~ 3998.
- [14] Roizenblatt S, Fregni F, Gimenez R, *et al.* Site-specific effects of transcranial direct current stimulation on sleep and pain in fibromyalgia: a randomized, sham-controlled study. *Pain Pract*, 2007, 7:297 ~ 306.
- [15] Valle A, Roizenblatt S, Botte S, *et al.* Efficacy of anodal transcranial direct current stimulation (tDCS) for the treatment of fibromyalgia: results of a randomized, sham-controlled longitudinal clinical trial. *J Pain Manag*, 2009, 2:353 ~ 361.
- [16] Antal A, Terney D, Kühnl S, *et al.* Anodal transcranial direct current stimulation of the motor cortex ameliorates chronic pain and reduces short intracortical inhibition. *J Pain Symptom Manage*, 2010, 39:890 ~ 903.
- [17] Boggio PS, Amancio EJ, Correa CF, *et al.* Transcranial DC stimulation coupled with TENS for the treatment of chronic pain: a preliminary study. *Clin J Pain*, 2009, 25:691 ~ 695.
- [18] Jensen MP, Sherlin LH, Askew RL, *et al.* Effects of non-pharmacological pain treatments on brain states. *Clin Neurophysiol*, 2013, 124:2016 ~ 2024.
- [19] Wrigley PJ, Gustin SM, McIndoe LN, *et al.* Long standing neuropathic pain following spinal cord injury is refractory to transcranial direct current stimulation: a randomized controlled trial. *Pain*, 2013, 154:2178 ~ 184.
- [20] O'Connell NE, Cossar J, Marston L, *et al.* Transcranial direct current stimulation of the motor cortex in the treatment of chronic nonspecific low back pain: a randomized, double-blind exploratory study. *Clin J Pain*, 2013, 29:26 ~ 34.
- [21] Nitsche MA, Paulus W. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol*, 2000, 527:633 ~ 639.
- [22] Keiser D, Meindl T, Bor J, *et al.* Prefrontal Transcranial Direct Current Stimulation Changes Connectivity of Resting-State Networks during fMRI. *J Neurosci*, 2011, 31:15284 ~ 15293.
- [23] Im C-H, Park J-H, Shim M, *et al.* Evaluation of local electric fields generated by transcranial direct current stimulation with an extracephalic reference electrode based on realistic 3D body modeling. *Phys Med Biol*, 2012, 57:2137 ~ 2150.
- [24] Lang N, Siebner HR, Ward NS, *et al.* How does transcranial DC stimulation of the primary motor cortex alter regional neuronal activity in the human brain? *Eur J Neurosci*, 2005, 22:495 ~ 504.
- [25] Terney D, Bergmann I, Poreisz C, *et al.* Pergolide increases the efficacy of cathodal direct current stimulation to reduce the amplitude of laser-evoked potentials in humans. *J Pain Symptom Manage*, 2008, 36:79 ~ 91.
- [26] Antal A, Brepohl N, Poreisz C, *et al.* Transcranial direct current stimulation over somatosensory cortex decreases experimentally induced acute pain perception. *Clin J Pain*, 2008, 24:56 ~ 63.

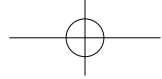
· 消 息 ·

内镜与微创脊柱技术国际研讨会会议通知

脊柱微创技术得到飞速发展，为脊柱相关性疾病提供了有效、安全的治疗手段。为了促进国内脊柱微创技术的进一步提升，定于2015年5月9日~13日在北京举行“内镜与微创脊柱技术国际研讨会”。研讨会由首都医科大学宣武医院北京功能神经外科研究所主办，北京西典门诊承办，将邀请十余位国外著名脊柱微创医学专家和国内知名专家授课，就脊柱内镜技术、脊柱微创治疗和新技术等热点问题进行广泛和深入的交流。同时，会议期间将安排两天时间举办慢性疼痛诊断和治疗讲习班。参加者将授予国家级继续教育 I 类 10 学分。欢迎国内神经外科、骨科、疼痛科、麻醉科、神经内科和康复科等相关专业的人员参加。

会议具体议程及相关信息将在近期发布，敬请关注！

联系人：陶蔚、刘强、何智超 电话：13552977114, 13801221406 邮箱：forum@jspmfm.com



星状神经节阻滞技术的临床应用

卢光¹ 易晓斌² 陶蔚¹ 朱宏伟¹ 刘敏¹ 胡永生¹ 李勇杰^{1Δ}
(¹首都医科大学宣武医院功能神经外科, 北京功能神经外科研究所, 北京 100053;
²美国圣路易斯华盛顿大学医学院, 疼痛中心, 美国 MO 63110)

摘要 作为疼痛治疗的一项基本技能, 星状神经节阻滞技术以其广泛的适应症越来越普遍的应用于临床。然而这种看似简单的临床诊疗技术, 实则背后蕴藏很多机理和风险。近年来, 随着国内外对星状神经节阻滞技术的深入研究, 特在此与大家一起梳理并展望, 使其更精准和安全的应用于临床。

关键词 星状神经节; 星状神经节阻滞术; 疼痛治疗

自上世纪 20 年代星状神经节阻滞术 (stellate ganglion block, SGB) 广泛应用于临床以来, 其已经成为疼痛治疗领域的一项基本技能。然而, 由于星状神经节 (stellate ganglion, SG) 毗邻重要结构若误伤或者药物误入可致严重并发症, 尚有一些疼痛医生对于适应证把握不当而致其滥用; 加之近年来穿刺引导技术的日益成熟, 以及有关穿刺靶点、进针深度和注射药物等细节的深入研究; 因此, 有必要将 SGB 技术重新与大家梳理, 使其更精准和安全的应用于临床。

1. 星状神经节的解剖和生理

熟悉并掌握 SG 的解剖位置和周围毗邻结构对于一个安全和成功的 SGB 术而言是必要的^[1] (见图 1)。SG 属于全身交感神经系统的一部分, 80% 情况下由颈下神经节和胸 1 神经节融合而成, 其外形是一个较大的椭圆形结构 (2.5 cm×1 cm×0.5 cm), 与脊髓长轴平行; 它通常位于 C₇~T₁ 水平骨性结构前方 0.5 cm, 软组织和颈长肌将其和骨性结构分开。其前方是锁骨下动脉和椎动脉, 后方是 C₇ 横突基底部、第 1 肋骨颈和椎前筋膜, 内后侧为颈长肌, 外侧是斜角肌群, 前下方是胸膜顶和肺尖; 其它毗邻的重要结构有气管、食管、甲状腺和甲状腺下动脉, 喉返神经、膈神经和臂丛神经等。但亦存在解剖变异的问题, 如 7~10% 的人群中椎动脉位于 C₆ 横突孔之外走行, 约 50~70% 人群中食管位于气管后方偏左位置, 尚有部分人群存在食管憩室等情况, 误穿均可能导致严重并发症可能^[2]。

SG 的节前纤维起自 T₁₋₂。其发出的分支包括: 灰交通支至 C₇、C₈ 和 T₁, 随臂丛分布于血管、汗腺、

骨和关节等; 颈下神经沿锁骨下动脉后方和气管前方下行, 分布于主动脉弓, 加入心深丛; 较大的椎动脉神经沿椎动脉后侧上行, 与椎动脉前侧的节后纤维共同形成椎动脉丛, 并沿椎动脉、基底动脉至大脑后动脉, 并与颈内动脉丛汇合; 锁骨下动脉丛由 SG 发出的分支包绕锁骨下动脉所形成, 并延伸到达腋动脉的第一段。因此, 阻滞 SG 可致其分布区域的交感神经纤维支配的心血管运动、腺体分泌、肌肉紧张、支气管收缩及痛觉传导受到抑制, 用来治疗头颈部、上肢、肩部、心脏和肺部的一些疾病。

2. 星状神经节阻滞技术

(1) 穿刺方法: 目前, 临床上常用的 SGB 穿刺方法 3 有: 盲穿法, X 线和超声引导下 SGB。

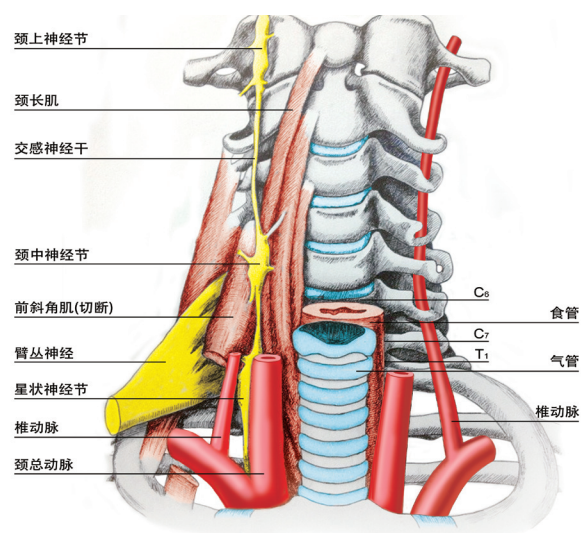


图 1 星状神经节解剖位置和毗邻结构
(声明: 彩图版权所有, 引用请注明出处)

Δ 通讯作者 lyj8828@vip.sina.com

盲穿法作为经典的穿刺方法已经应用了很多年,通常是在 C₆ 水平穿刺和注射局麻药物,但这种阻滞方法究竟是阻滞了交感干还是 SG 并不明确^[3];因从解剖角度而言, C₆ 水平更靠近颈中神经节,而非 SG^[4]。就穿刺入路而言,盲穿法通常可分为侧入路和气管旁(前入路)两种入路。侧入路适用于肥胖,脖子短或颈椎融合手术后解剖结构不清的患者;气管旁入路则更广泛的应用于临床,通常以环状软骨做为 C₆ 的外部解剖定位标志^[5],在颈动脉的内侧进针,当针尖触及 C₆ 横突前结节(Chassaignac's tubercle)时,回撤 1~5 mm 后,回吸无血、脑脊液和空气,即可注射药物^[6]。但这种穿刺方法存在一些不利之处:首先,Chassaignac's 结节非常小,其头端到尾端的距离仅为 6 mm,针尖很容易滑过此结节而穿刺到椎动脉^[6]。另外,盲穿法会产生相关的各种并发症,比如药物误注入血管内,血肿形成和暂时性喉返神经麻痹等^[3]。

X 线引导下 SGB 术通常有 C-臂和 CT 引导下穿刺两种方式。穿刺方法与盲穿法类似,不同之处在于 X 线引导下可以精确识别 Chassaignac's 结节^[6],提高了穿刺的精确性。C-臂引导下穿刺相对于盲穿法而言,虽可减少了一些并发症的发生,但对于胸膜和肺仍有损伤的可能性,尤其在合并有肺气肿的患者在 C₇ 水平穿刺时;CT 引导下穿刺则提供更高的图像分辨率,并可精确计划穿刺路径,其并发症的发生率仅 1.7%^[1]。两种方式的缺陷在于 X 线下不能完全鉴别出位于颈长肌和椎前筋膜间的组织间隙,此外血管结构(颈动脉、椎动脉和甲状腺下动脉)和软组织结构(甲状腺和食管)在 X 线下并不清晰可见,因此存在穿刺损伤的风险^[6]。

1995 年 Kapral 等首先报道了超声引导下的 SGB 术^[7]。近年来随着现代超声技术发展,较小的周围神经及其分支可更为清晰地观察到,因此超声引导下 SGB 术得以广泛应用。动态实时超声优点在于对于监测和引导穿刺针的定位和给药情况观察更为精确^[6];与前两种穿刺方法相比较而言,其定位更精确,局麻药物的用量更少(5 ml),Horner 综合征的出现更快,操作的安全性也更高^[3,8],极大的提高了穿刺的成功率。此外,避免了操作者和患者接触射线,可直接观察到肌肉,肌腱,韧带,神经,血管和骨骼表面^[6];避免损伤重要的组织结构如血管,可能存在的食管憩室,甲状腺,气管等。缺点是相对耗时,对于骨和深层组织观察有限^[6]。有关超声引导下 SGB 术最优穿刺入路目前尚没有达成共识,但临床上许多操作者推崇侧入路方式^[9]。对

于初学者尚需要掌握超声下的解剖,获得理想穿刺目标影像的超声技术,以及与传统穿刺不同的新的入路方式,这需要更多的实践和经验。

(2) 穿刺靶点,药物用量和穿刺深度:根据 SG 解剖,临床一般会选择 C₆ 或者 C₇ 水平穿刺。然而在 C₇ 水平盲穿时,容易出现气胸或者椎动脉损伤等并发症,因此我们通常选择 C₆ 的 Chassaignac's 结节做为穿刺靶点^[10]。具体到三种穿刺技术的靶点位置有所区别:盲穿法和 X 线引导下穿刺靶点相同,X 线引导下针尖可以更精确地到达 Chassaignac's 结节,但是这个骨性标志仅仅是 SG 的替代标志,一般来说这个标志更靠近颈中神经节。而超声引导下 SGB 一般将椎前筋膜做为其穿刺靶点,此筋膜位于椎体之前,横突、颈长肌、头长肌和前斜角肌的前方^[11]。

事实上,临床我们行 SGB 术时,针尖的位置只要临近 SG 即可,因为我们所注射的局麻药液会沿着邻近的组织结构扩散^[1]。通常,我们所用的局麻药物为 1~2% 利多卡因或者 0.25~0.5% 布比卡因,如果注射 3 ml 时可以扩散至 C₆~C₇ 范围,5 ml 时可扩散至 C₄~T₁ 范围,10 ml 时则可扩散至 C₄~T₁ 范围,而在给予 15 ml 时,则认为用量偏大,并不增加阻滞效果,反而可能会增加并发症的几率。

如前所述,临床上往往存在针尖很容易滑过 Chassaignac's 结节等意外情况,因此穿刺进针的深浅亦显得尤为重要。Cha 等^[10]用超声测量了从皮肤到 C₆ 横突的进针深度,以便于提高传统盲穿法临床穿刺的安全性。其结果为:此深度平均值为男性 9.5±2.7 mm (左侧)和 9.7±2.5 mm (右侧),女性 8.0±2.2 mm (左侧)和 8.2±2.0 mm (右侧)。最后认为无论男女,其进针深度的平均值不应超过 10 mm,最大的深度值是 16.6 mm。

(3) 阻滞疗效的判定:有关 SGB 阻滞疗效的判定,临床除了对于疼痛缓解程度的判定外,主要还是对于交感功能的测试。Malmqvist 等^[12]界定了一个严格的 SGB 术成功的标准(其中 4 个符合算为阻滞成功):① Horner 综合征;② 皮肤温度升高 ≥ 34℃;③ 皮肤血流量增加 ≥ 50%(激光多普勒血流仪测定);④ 尺侧皮肤阻抗反应消失;⑤ 桡侧皮肤阻抗反应消失。并且对 54 例 SGB 手术患者进行了观察研究,但仅有 15 例患者满足了这个严格标准,认为临床上我们行 SGB 术存在相对较高比例的不完全交感神经阻滞。Yamazaki 等^[13]以脉搏血氧仪的灌注指数(perfusion index, PI) 随着时间的变化来验证 SGB 术的有效性。得出的结论为:在 SGB 阻滞有效的 21 例患者中,他们均观察到了治疗侧耳垂和上肢 PI 的



增加,而在对侧则没有。并且 PI 的改变与临床症状的改善和皮肤微循环血流量的改变呈正相关,提示 PI 在验证 SGB 的疗效可能是个有用的指标。

亦有研究证实 SGB 术后疗效尚与疾病的分型,病史的长短和行 SGB 术的早晚相关。Schürmann 等^[14]对复杂区域疼痛综合征 I 型 (type I complex regional pain syndrome, CRPS-I) 患者 SGB 术前和术后交感神经功能测试来评估 SGB 术后效果,其评估手段主要是利用激光多普勒血流仪评判交感刺激的血管收缩反应,并通过监测临床参数比如表面温度的改变 (温度记录),疼痛缓解的程度 (visual analogue score, VAS 评分),以及 Horner 综合征来验证评估的准确性。其研究清楚地阐明了 SGB 术后尽管肢体温度升高是明确的,并真实的出现了 Horner 综合征,但交感神经阻滞也可能是不完全的;而相反,即使患者有完全的交感神经阻滞, SGB 术后镇痛率也仅略高于 50%,证明所治疗的 CRPS-I 型患者中存在非交感神经依赖性疼痛 (sympathetically independent pain, SIP) 和交感维持性疼痛 (sympathetically maintained pain, SMP) 亚型;并认为对于 SGB 术的临床评估并不可靠,基于 SGB 术后疼痛缓解的 SMP 的证据并没有定论。Ackerman 等^[15]利用激光多普勒血流仪对 CRPS-I 型患者 SGB 术前和术后手的灌注进行了研究,以验证 SGB 疗效;并认为手的灌注与复杂区域疼痛综合征 (complex regional pain syndrome, CRPS) 病史的长短存在反比关系,而 SGB 的疗效与最早开始行 SGB 术的时间呈正相关。最早行 SGB 术之前,病史持续超过 16 周和 / 或患侧与正常侧手部皮肤灌注相比下降 22% 均对 SGB 术后疗效有不利的影

响。有关药物对于疗效的影响,Price 等^[16]做了一个有趣的双盲对照研究,把 CRPS 患者分为两组行 SGB 或腰交感神经阻滞术 (Lumbar Sympathetic Block, LSB),第一组所用药物为局麻药,第二组为盐水对照,结果两组患者在 30 分钟内都出现了疼痛的缓解,但是局麻药组有一个更持久的镇痛效果。Kulkarni 等^[17]用 0.5 mg/kg 氯胺酮作为阻滞的辅助用药,对 20 例上肢外周血管疾病患者行 SGB 术,发现患肢温度明显上升的患者所获得的疼痛缓解更持久。

3. SGB 的适应证和禁忌证

SGB 术是一种选择性的交感阻滞技术,其范围涵盖同侧的头、颈、上肢和上胸部,主要用于诊断和治疗与交感神经功能相关的上述区域的血管病变,交感系统病变,灼性神经痛和带状疱疹等病变^[18-19]。

目前大家所明确和公认的 SGB 术的适应证有:

① CRPS-I 型和 II 型^[3,20],传统上 SGB 被认为是一种诊断和治疗 CRPS 的重要手段,4th 版美国 CRPS 的诊断和治疗的指南中,以 SGB 为代表的交感神经阻滞术被列为一线的诊断和治疗手段^[21];②膝状神经节病变;③头面部和颈部的带状疱疹或带状疱疹后遗神经痛^[22];④上肢血管病^[23],包括:雷诺氏病, Buerger' s 病,动脉栓塞,糖尿病血管病变等;⑤急性的药物误注射入动脉内^[23];⑥上肢的冻伤;⑦顽固性心绞痛;⑧长 Q ~ T 综合征,室速^[24];⑨奎宁中毒 (奎宁:在国外主要治疗上下肢肌肉痉挛,国内主要治疗疟疾);⑩上肢或手部的多汗症;⑪其它与颈交感相关的疾病,反射性交感神经营养不良,乳腺癌或 Pancoast 肿瘤压迫引起的颈交感征^[17]等;⑫头痛:如偏头痛^[25],丛集性头痛^[26]等,其机理可能是稳定了异常的交感神经功能或抑制血管壁的炎性反应,虽然目前不能完全阐明 SGB 术治疗头痛的机理,但其仍然被认为是有效的^[27];⑬其它尚有些争议的适应证包括^[18]:突聋,视网膜动脉痉挛等。

SGB 禁忌症有:①抗凝治疗 / 凝血机制障碍;②对侧气胸或肺叶切除;③近期发生的急性心梗;④青光眼 (相对禁忌证);⑤房室传导阻滞 (相对禁忌证)。

4. SGB 并发症和穿刺失败可能的原因分析

(1) SGB 并发症:由于 SG 周围毗邻结构复杂且重要,在临床操作中,穿刺针所经过的结构,药液的扩散,加之如有解剖结构变异等情况,难免会出现一些并发症,简要概括如下:①感染:很少见;②出血和血肿:损伤颈动脉、椎动脉和甲状腺下动脉可引起出血或者形成血肿,甲状腺下动脉通常更容易损伤,血肿出现的比例可达 25%^[4],大的血肿常有生命危险,如咽后壁血肿可压迫气管引起呼吸窘迫;③气胸;④喉返神经阻滞或损伤:50% 机率,通常持续时间较为短暂,几个小时后可消失,如持续声嘶可能有损伤;若患者存在异物感,通常是由于阻滞了喉上神经的外支或者喉返神经所致^[4];⑤膈神经阻滞或损伤:行 SGB 术患者几乎 100% 都会出现膈神经阻滞,因此严重的 COPD 患者,对侧肺切除或对侧膈肌瘫痪不可行 SGB 术;同时也不主张同时行双侧的 SGB 术;⑥部分或完全臂丛神经阻滞:可出现同侧上肢麻木无力;⑦高位椎管内注射:可误注射药液入硬膜外、硬膜下或者蛛网膜下腔,引起血压下降,心动过缓,呼吸抑制,意识丧失和昏迷;⑧误注射药液入血管,比如椎动脉,即使量很少,即刻就可出现抽搐,甚至心脏骤停^[8];另需注意的是要把注射器中空气排尽,如空气误入

椎动脉可引起中风；⑨气管和食管损伤，相对少见；⑩对循环的影响：既可因患者紧张而引起血压上升，又可因颈动脉体的减压反射而引起血压下降；患者出现气胸，呼吸窘迫，高位椎管内阻滞，相邻结构的损伤也可引起血流动力学改变，如注射药物剂量大或部位不对，把心交感（特别是 $T_1 \sim T_5$ ）阻滞可产生低血压，心动过缓，心输出量下降，甚至心跳骤停。另外，需要强调的是 Horner's 综合征既是 SGB 的一种并发症，也是我们衡量阻滞成功与否的标准之一；Horner's 综合征出现，通常表明阻滞位置较好，但在此基础上如患者的止痛效果欠佳，可能是支配上肢或手的交感纤维不是来自星状神经节，而来自 T_2, T_3 交感纤维，解决方法行 T_2, T_3 交感神经阻滞术。

(2) 穿刺失败可能的原因的分析：由于椎动脉向上走行时经过了 C_7 椎体横突的前方，而在 C_6 水平则进入了横突孔内。因此，在临床上我们通常选择 C_6 横突的 Chassaignac's 结节做为穿刺的靶点。与其相对应的体表标志则通常选择环状软骨水平。但临床效果往往不尽如人意，盲穿法的失败率可达 30%^[28]；而通常用于验证 SGB 有效性的临床征象在许多患者身上也是模棱两可的^[13]。究其原因而言，可能存在适应证选择不合适，解剖变异，穿刺靶点定位不精确或者选择错误，操作者的失误，以及用于定位体表标志的与实际穿刺靶点的差异等情况。Cha 等^[29]的研究证实：由于肥胖患者颈部皮肤存在皱褶，导致在标准 SGB 体位下，30% 病例中我们所触及到的 C_6 横突并不是实际的 C_6 横突。Park 等^[5]的研究发现：通常我们所认为的环状软骨基本与 C_6 横突水平一致是在颈部处于“中间位”的情况下，而我们在行 SGB 术时颈部通常处于“伸展位”；随后通过颈部 X 平片对于 48 名患者解剖情况进行了研究，认为在“中间位”情况下环状软骨平均水平要低于 C_6 横突最低点的平均水平（男性低 23.3 mm，女性低 5.2 mm），而在“伸展位”时在男性和女性存在差异，男性低 4.8 mm，女性则高 14.4 mm；并认为这也许可以解释为何 SGB 术存在明显的失败率。

综上所述，一种看似简单的临床诊疗技术，实则背后蕴藏很多机理和风险，我们应该熟知 SG 的解剖和毗邻结构，明确 SGB 手术的适应症和禁忌症，掌握盲穿法这项基本技术，并尽可能的应用影像引导技术指导临床操作，以精确靶点位置，减少药液注射，最大可能的避免严重并发症的产生。此外，从远期角度而言，反复阻滞 SG，甚至射频毁

损对于神经的结构和功能造成了不同程度的影响和破坏，这是一种竭泽而渔的方式；令人欣慰的是近年来神经调控技术蓬勃发展，也让我们有理由期待未来治疗手段的变革。

参考文献

- [1] Kastler A, Aubry S, Saille N, *et al.* CT-guided stellate ganglion blockade vs. radiofrequency neurolysis in the management of refractory type I complex regional pain syndrome of the upper limb. *Eur Radiol.* 2013 May, 23:1316 ~ 1322.
- [2] Soneji N, Peng PW. Ultrasound-guided pain interventions-a review of techniques for peripheral nerves. *Korean J Pain*, 2013, 26:111 ~ 124.
- [3] Yoo SD, Jung SS, Kim HS, *et al.* Efficacy of ultrasonography guided stellate ganglion blockade in the stroke patients with complex regional pain syndrome. *Ann Rehabil Med*, 2012, 36:633 ~ 639.
- [4] Peng P, Narouze S. How I do it - Stellate Ganglion Block. http://www.asra.com/Newsletters/May_10.pdf (accessed 14/11/2010).
- [5] Park JS, Kim KJ, Lee YW, *et al.* Estimation of Stellate Ganglion Block Injection Point Using the Cricoid Cartilage as Landmark Through X-ray Review. *Korean J Pain*, 2011, 24:141 ~ 145.
- [6] Soneji N, Peng PW. Ultrasound-guided pain interventions-a review of techniques for peripheral nerves. *Korean J Pain*, 2013, 26:111 ~ 24.
- [7] Kapral S, Krafft P, Gosch M, *et al.* Ultrasound imaging for stellate ganglion block: direct visualization of puncture site and local anaesthetic spread. A pilot study. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*. 1995, 20:323 ~ 328.
- [8] Rastogi S, Tripathi S. Cardiac arrest following stellate ganglion block performed under ultrasound guidance. *Anaesthesia*, 2010, 65:1042.
- [9] Gofeld M, Bhatia A, Abbas S, *et al.* Development and validation of a new technique for ultrasound-guided stellate ganglion block. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, 2009, 34: 475 ~ 479.
- [10] Cha YD, Lee MH, Yoon YH, *et al.* Depth by ultrasound from skin surface to the C_6 transverse process while applying pressure. *Pain Med*, 2011, 12:1026 ~ 1031.
- [11] Nix CM, Harmon DC. Avoiding intravascular injection during ultrasound-guided stellate ganglion block. *Anaesthesia*, 2011, 66:134 ~ 135.
- [12] Malmqvist EL, Bengtsson M, Sörensen J. Efficacy of stellate ganglion block: a clinical study with bupivacaine. *Reg Anesth*, 1992, 17:340 ~ 347.
- [13] Yamazaki H, Nishiyama J, Suzuki T. Use of perfusion index from pulse oximetry to determine efficacy of stellate ganglion block. *Local Reg Anesth*, 2012, 5:9 ~ 14.
- [14] Schürmann M, Gradl G, Wizgal I, *et al.* Clinical and

(下转第 63 页)

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.014

人体痛阈测定方法及其应用研究进展

毕海金 吴国程 陈红云 周庆辉[△]
(第二军医大学长海医院中医系, 上海 200433)

摘要 痛阈可分为压痛阈、温度痛阈、电痛阈、激光痛阈、化学痛阈和缺血痛阈等, 不同测量方法各有利弊。痛阈测定是疼痛研究的常用方法, 对痛阈准确、客观的测量在疾病的诊断、治疗效果的评定和预后的判断中起着重要作用。疼痛是一种主观感觉, 目前常用的痛阈测定方法大都是以患者自诉出现疼痛时测得的数值作为痛阈, 因此痛阈的测量实际上只是一种半客观的测量指标。痛阈的测量受受试者年龄、性别、生理心理状态等多种因素的影响。参考动物实验中动物痛阈的客观性测量, 可以在人体上用人体自身无法控制的特定反射作为痛阈测量的指标, 或者可以将受试者痛阈测量结果结合人体的一些化验指标综合评价, 使痛阈的测量更加准确客观。

关键词 疼痛; 痛阈; 人体; 人体痛阈; 测量; 影响因素

疼痛是临床上常见的一种症状。疼痛程度的评估对疾病的诊断、治疗效果的评定和预后的判断起着重要作用, 但疼痛只是患者的主观感受, 疼痛的临床评价以主观测定法为主, 通过患者的主观感觉来测定疼痛的程度, 如视觉模拟量表、语言评价量表、数字评价量表及疼痛问卷等, 缺乏客观、准确的评估方法。痛阈通常是指一种能够引起人体痛觉的刺激强度^[1]。人体痛阈一般可分为两种: 一种是当人体感受到疼痛时的最小刺激强度, 称为痛感觉阈, 即我们常说的痛阈; 一种是人体所能忍受的最大的刺激强度, 称为耐痛阈。人体痛阈的测定是疼痛研究常用的方法, 痛阈测量方法的准确性和可靠性直接影响到实验结果的评定。

1. 人体痛阈的测定方法

人体痛阈的测量大致可以用两种计量方法: 一种是测量人体能够忍受疼痛的时间, 一种是测量人体能够忍受的疼痛强度。根据测定方式的不同, 人体痛阈可分为压痛阈、温度痛阈、电痛阈、化学痛阈、激光痛阈和缺血痛阈等, 分别采用不同的测量仪器和测量方法。

(1) 压痛阈的测量: 压痛阈通常用压力测痛仪来进行测量, 如美国 IITC 公司生产的 2390 型 Von Frey 检测仪、美国 Wagner Instruments 公司生产的 FDK20 手持式压力测痛仪、香港 YISIDA 公司生产的 DS2 压力测痛仪, 以及各个研究单位自行研制的测痛仪。压力测痛仪通常由液晶显示器的主体、探棒及一个表面积为 1 cm² 的橡胶圆形探头组成, 通

常以 kg/cm² 为测试结果的单位^[2]。测量时, 选取测定点, 将测痛仪探头垂直放在测痛点上, 缓慢稳定加压, 当受试者感觉疼痛时, 停止加压 (也可以由受试者本人停止加压)。此时, 显示器上的读数即为受试者的痛阈。测量完毕后按下归零按钮, 再进行下一部位或下一受试者的测量。这种测量方法具有评估快速有效、对照组易控制、节省时间、数据较完整等优势, 但个体差异较大。

(2) 温度痛阈的测量: 温度痛阈是一种可控制的、重复性好、较为客观的测评方法。其特异性高, 能够测评感觉传导神经, 特别是传导热痛和冷痛的细感觉传导神经的 A δ 和 C 纤维^[1]。温度痛阈分为冷痛阈和热痛阈两种, 其测量方法也不同。①冷痛阈的测量: 将非优势手放入 0.1 ~ 2℃ 的冰水中, 水没至手腕处, 手不要碰到容器的底部。每 10 秒询问一次, 共记录两个痛阈值: 一个是当受试者感觉疼痛的时候, 记录时间; 另一个是当受试者不能忍受时即刻将手拿出, 并记录时间。两者分别表示痛阈和耐痛阈。当手在容器中时, 应将水不断搅拌, 避免体温引起局部水温度改变影响测量效果, 最长测量时间为 3 min^[3]。②热痛阈的测量: 热痛阈测量要用到热痛阈测定仪, 国内现在使用的主要是 Medoc TSA-2001 型热痛阈测定仪。此仪器由温度控制器、反馈性可控 Pehier 传感头以及显示器组成。温度控制器是靠水温的调节控制温度的升高和降低。反馈性可控 Peltier 传感器连于温度控制器, 其大小为 46 mm × 30 mm, 测试时固定在受试者的

[△] 通讯作者 jcimzqh@163.com

测试部位。温度以每秒 1.5 °C 的速度从 32 °C 开始上升,受试者一旦感觉到热引起的痛,就按一下鼠标键,此时刺激温度即刻停止上升,显示器自动记录下此时的温度^[4]。受试者感觉由温觉转变为痛觉的温度为热疼痛感觉阈,当受试者不能忍受时的温度即为热疼痛耐受阈。该仪器具有较高的可信度和敏感度。

(3) 电痛阈的测量:通过电流刺激引起疼痛来测量痛阈,能引起疼痛的最小的电流值为电痛阈。电极的大小和位置对测试结果的影响很大,在测量时应标准化。通常采用北京海淀电子仪器厂生产的 WQ-9E 型痛阈测定仪。电流的频率分为高频和低频,通常选用低频。波形通常为方波,因为方波电流的上升与下降速率极高,刺激强度(波幅)瞬时内便可达最大值或下降为零,而且方波的波型规则,便于测量和计算^[5]。电痛阈的测量还可以使用上海医疗器械高技术公司生产的 G6805-2 多用治疗仪。受试者取仰卧位,针刺部位用 75% 酒精常规消毒,毫针进针后,接通电针导线,以 1 Hz 频率的连续波,0.5 ms 的波宽,60 V 的电压进行刺激。测试者逐渐开大输出旋钮并询问和观察患者的反应,记录患者开始有轻微刺痛感觉时的电流值,即为电针的痛阈^[6]。电痛阈测量方法具有以下特点:①方法简便,设备简单,不受测量部位限制;②组织损伤小;③对每个个体而言痛阈基本恒定;④通过调节波宽和量程人为地控制电流大小,可达到较高精确度。

(4) 化学痛阈的测量:最常用的是钾离子测痛法,即使钾离子在电流的作用下透入皮肤,刺激神经末梢引起疼痛。可使用华东师范大学科教仪器厂生产的 EP601C 痛阈测试仪。将浸有钾离子的纱布和电极片束缚在小腿部固定位置上,仪器输出端输出直流电流,电流强度由弱到强,逐渐增加,电流表指示也由小变大。当被试者感到微痛时,立即报告,记录此时的电流毫安数,作为痛阈^[7,8]。

(5) 激光痛阈的测量:激光痛阈的测定部位通常为前臂屈侧,刺激因子是氩激光,对皮肤组织的损伤较小。将氩激光器的石英纤维(0.2 mm)与皮肤的距离调节至皮肤上的激光束为 1 cm 直径。从激光刺激开始时记时。受试者刚刚感觉到疼痛的时间为疼痛感觉阈。受试者要求中止刺激的时间为疼痛耐受阈。规定的最长刺激时间是 30 s。禁止在同一部位重复试验^[9]。

(6) 局部缺血性痛阈的测量:这种方法的原理是缺血能够诱发疼痛,通过此种方法也可对痛阈进行测量。首先让受试者把右手举过头顶,再用血压计袖带扎紧右臂,扎紧后运动一下右手,然后加压

至 200 mmHg,至受试者不能忍受疼痛时,记录时间。此时间即为受试者疼痛忍耐时间^[10]。

2. 人体痛阈的影响因素

人体痛阈受多种因素的影响,如性别、年龄、心理和生理状态,甚至是基因和环境因素^[11]。在做实验的时候不能不加以考虑以排除各种影响因素对实验数据的影响,以达到更好的准确性。

(1) 性别对人体痛阈的影响:男女之间的痛阈有显著的差异。许多因素被认为与痛阈性别差异的产生以及女性广泛存在的慢性疼痛状态有关,性激素等生理因素被认为是主要的机制之一^[12]。一份基于 172 篇文献的回顾性研究指出男性和女性对于冷痛和缺血性疼痛有相似的痛阈,但女性的压痛阈明显低于男性^[13]。肖文斌等^[14]对健康成人内脏和体表痛阈的研究结果显示:女性的内脏感觉阈和痛阈明显低于男性,体表对疼痛的敏感性高于男性。

(2) 年龄对人体痛阈的影响:随着年龄的增高,痛阈会发生改变。普遍认为随着年龄增大,痛阈会升高。张卫等^[15]通过对 90 例进行全麻下子宫肌瘤剔除或子宫全切手术患者术前的痛阈测定,认为老年患者耐痛阈会升高。一项纳入 25 篇文献的 Meta 分析提出两个看似相反的观点:年龄的增长可能钝化了疼痛感,但是却增加了疼痛不适的主诉^[16]。

(3) 心理生理状态对人体痛阈的影响:痛阈与心理状态有着密切的关系。吴乐贤^[17]通过对新疆地区 1500 例人流手术的研究,认为新疆地区上午 10 至 11 时人体的痛阈高,可能与患者的心理状态有一定关系。Chiu 等^[18]对 424 名受试者的研究结果显示,情绪极度消沉、睡眠不足及医院焦虑和抑郁量表值中焦虑值偏高均与痛阈下降相关。赵巍峰等^[19]对 20 例抑郁症患者和 30 例正常人的研究发现,抑郁症无疼痛症状患者痛阈降低,抑郁、焦虑水平与疼痛敏感性有关。郑直等^[7]通过对 6 名受试者的自身对照研究得出催眠静息状态时的痛阈明显提高。张卫等^[20]通过对 105 例术前患者进行痛阈测定,认为术前高度焦虑状态可导致妇科手术患者耐痛阈降低。

3. 人体痛阈测定在疼痛研究中的应用

痛阈测定可以用作评估疼痛的方法。凡是能引起疼痛的方式都可以作为痛阈测量的方法,常用的是压痛阈、温度痛阈、电痛阈测定几种方法。这几种方法的优点是测量简单,对人体没有太大的损害。在这些测试方法中,可以让患者自己增加刺激量至出现疼痛后关闭刺激,再由测试者记录痛阈。这样的测试患者参与更直接,能够使测量更客观、更准确,但自行操作仍然是半主观性的测量方法。激光



痛阈可以划归到温度痛阈中，都是温度上升至受试者刚刚感觉到疼痛时测得痛阈，只是热源不同。局部缺血性痛阈的测量需要造成局部缺血，在具体操作中要避免因压力过大造成的机械性损伤，以及缺血时间过长所造成的缺血性损伤和再灌注损伤。因此局部缺血性痛阈的测量只限于青壮年受试者，婴幼儿、老年人以及身体状况不佳的患者难以承受其损伤。

目前使用的痛阈测量方法，几乎都是以患者自诉出现疼痛时测得的数值作为痛阈。但是疼痛是一种主观感觉，在进行痛阈测定的过程中，有的受试者自己也难以表达出何时出现疼痛，或者是什么样的感觉才可以算作疼痛。因此痛阈只是一种半客观的测量指标。人可以表达自己的体验，这是大多数痛阈测定方法的基础，也说明大多数痛阈测定方法是以受试者主观感受为测定基础的。而在动物实验中，由于动物无法用语言表达，只能根据动物的肢体反应来进行痛阈的测定^[21, 22]。如用辐射热照射鼠尾皮肤致痛，以连续测3次（每次间隔1 min）测得的甩尾潜伏期的平均值作为痛阈，甩尾潜伏期指由热辐射开始到甩尾以逃避辐射热刺激的时间^[23]；或加热小鼠足下热板，以引起小鼠舔后足或后足跳跃所需潜伏期作为痛阈指标^[24]。这些在动物身上的测定，虽然也是动物对痛觉的主观感受，但由于是以动物对痛觉的特定反应为基础，这些反应大多是以动物天性为基础的，动物本身无法控制，如果忽略动物个体的差异，这种特定的肢体活动更加客观。如缩腿反应可作为衡量关节痛存在以及关节疼痛实验评分的客观指标^[25]。

用无法控制的特定反射作为痛阈测量的指标更客观，如利用人类感痛性屈曲反射（nociceptive flexion reflex, NFR；由RI和RII两个反射组成）阈值与痛阈的密切关系，应用电子刺激系统与肌电记录系统建立NFR痛阈测定法，对受试者进行主观痛阈、RI及RII反射阈的测定。NFR不受受试者的控制，因此NFR的RI及RII反射阈可以作为痛阈测量的一种客观指标。

在疼痛研究中，对受试者痛阈测量结果的分析应结合人体的一些其他指标综合考虑。可以引发疼痛的伤害性刺激是一种应激刺激，可以引起机体各种生理和生化指标发生改变。因此，除了对受试者进行痛阈的测量以外，还应观察儿茶酚胺、脑啡肽、内啡肽等与疼痛相关的生化指标，以及心率、血压、心率变异性、皮肤电阻等生理指标的变化^[26]。如周杰芳等^[6]同时测量电针感觉阈与痛阈，朱海等^[8]同

时测量躯体感觉阈值、痛觉感受阈值、疼痛视觉模拟评分，以及肾上腺素、去甲肾上腺素、 β -内啡肽水平。

4. 结语

人体痛阈受受试者年龄、性别、生理和心理状态等多种因素的影响，不同的痛阈测量方法各有利弊，其信度和效度也受仪器和实验方法等各方面因素的影响。压痛阈测定快速有效，数据易于处理，但是个体差异较大，干扰因素较多；温度痛阈的测定特异性较高，能有效评定感觉神经的传导；电痛阈测定对组织损伤小，精确度较高；激光痛阈测定，定位准确，但不能在同一部位重复测量；化学痛阈测定，测量精确，但操作复杂。实验设计时要尽可能控制影响因素，使受试者处在同一生理状态下，根据年龄、性别进行分组统计分析，或实验前进行心理量表评估来排除心理因素的影响。

人体痛阈的测定常用于痛觉感知和止痛效果评估的研究中，但是痛阈的半主观性及不确定性仍是疼痛研究中痛阈测量应用的一个重要障碍。已有且常用的一些痛阈测量方法如压痛阈、温度痛阈、电痛阈，只能部分反映痛阈，测得的数值只能是半客观的痛阈，需要改进的地方还有很多。痛阈的测量，还有待发展新的测量方法，或者与其他客观的检测方法结合应用。

参考文献

- [1] 杨敏, 姚树桥, 张长杰. 痛阈的检测及影响因素. 中国康复理论与实践, 2009, 15:603~605.
- [2] 陈祚, 李超, 郭铁成, 等. 健康人压痛阈特点的初步研究. 中国康复医学杂志, 2010, 25:858~863.
- [3] Reborn C, Breimhorst M, Buniatyan D, et al. The efficacy of acupuncture in human pain models: a randomized, controlled, double-blinded study. Pain, 2012, 153:1852~1862.
- [4] 王宁华, 许云影. 穴位 TENS 对正常年轻人热痛阈特异性抑制作用的研究. 中华物理医学与康复杂志, 2002, 22:70~74.
- [5] 王宁华. 疼痛定量评定的进展. 中国临床康复, 2002, 6: 2738~2739.
- [6] 周杰芳, 靳瑞. 急慢性疼痛患者电针感觉阈和痛阈的调查分析. 中国疼痛医学杂志, 2005, 11:88~90.
- [7] 郑直, 王立伟, 左传涛, 等. 正常人清醒和催眠状态下痛阈的自身对照研究. 上海精神医学, 2005, 17: 331~333.
- [8] 朱海, 陆智杰, 缪雪蓉, 等. 初产妇焦虑状态与痛阈关系对分娩镇痛的影响. 第二军医大学学报, 2011, 32: 1382~1384.
- [9] Olausson B, Sagvik J. Pain threshold changes following

- acupuncture, measured with cutaneous argon laser and electrical tooth pulp stimulation, a comparative study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2000, 24: 385 ~ 395.
- [10] Das Gupta E, Zailinawati AH, Lim AW, *et al*. Are Indians and females less tolerant to pain? An observational study using a laboratory pain model. *Med J Malaysia*, 2009, 64: 111 ~ 113.
- [11] Nielsen CS, Stubhaug A, Price DD, *et al*. Individual differences in pain sensitivity: genetic and environmental contributions. *Pain*, 2008, 136: 21 ~ 29.
- [12] Palmeira CC, Ashmawi HA, Posso Ide P. Sex and pain perception and analgesia. *Rev Bras Anesthesiol*, 2011, 61: 814 ~ 828.
- [13] Racine M, Tousignant-Laflamme Y, Kloda LA, *et al*. A systematic literature review of 10 years of research on sex/gender and experimental pain perception - part 1: are there really differences between women and men?. *Pain*, 2012, 153: 602 ~ 618.
- [14] 肖文斌, 刘玉兰, 赵丽莉. 性别对健康成人内脏和体表痛阈的影响. *中国疼痛医学杂志*, 2003, 9(1): 11 ~ 14.
- [15] 张卫, 路辉, 阚全程, 等. 不同年龄妇科患者痛阈测试及其临床意义. *医学与哲学(临床决策论坛版)*, 2008, 29: 46 ~ 48.
- [16] Lautenbacher S. Experimental approaches in the study of pain in the elderly. *Pain Med*, 2012, 13 Suppl 2: S44 ~ 50.
- [17] 吴乐贤. 新疆地区上午 10 点至 11 点人体的痛阈高. *医学信息*, 2011, 24: 625 ~ 626.
- [18] Chiu YH, Silman AJ, Macfarlane GJ, *et al*. Poor sleep and depression are independently associated with a reduced pain threshold. Results of a population based study. *Pain*, 2005, 115(3): 316 ~ 321.
- [19] 赵巍峰, 杨文辉, 梁救宁, 等. 抑郁症患者的痛阈及其相关因素研究. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2009, 18: 484 ~ 486.
- [20] 张卫, 常琰子, 阚全程, 等. 术前焦虑状态对妇科手术患者痛阈和耐痛阈的影响. *中华麻醉学杂志*, 2009, 29: 210 ~ 211.
- [21] 毛应启梁, 任典寰, 米文丽, 等. 电针联合西乐葆缓解大鼠胫骨癌痛. *中西医结合学报*, 2008, 6: 830 ~ 835.
- [22] 祁德波, 李为民. 电针对慢性内脏痛觉敏感大鼠延髓头端腹内侧核 c-fos 蛋白和 NR1 受体表达的影响. *中西医结合学报*, 2012, 10: 416 ~ 423.
- [23] 王丽华, 马颖哲, 杨成军, 等. 青龙木叶皂苷的镇痛作用及其机制. *吉林大学学报(医学版)*, 2005, 31: 855 ~ 857.
- [24] 徐丽君, 胡永红, 陆付耳, 等. 一贴灵贴剂镇痛作用的实验研究. *中西医结合学报*, 2005, 3: 303 ~ 306.
- [25] 刘红香, 熊亮, 罗非, 等. 大鼠踝关节疼痛试验评分指标的改进. *中国疼痛医学杂志*, 1998, 4: 173 ~ 178.
- [26] 周密, 王震虹, 王祥瑞, 等. 急性疼痛及电针镇痛评估系统的临床研究. *上海针灸杂志*, 2007, 26: 21 ~ 24.

(上接第 59 页)

- physiologic evaluation of stellate ganglion blockade for complex regional pain syndrome type I. *Clin J Pain*, 2001, 17:94 ~ 100.
- [15] Ackerman WE, Zhang JM. Efficacy of stellate ganglion blockade for the management of type 1 complex regional pain syndrome. *South Med J*, 2006, 99:1084 ~ 1088.
- [16] Price D, Long S, Wilsey B, *et al*. Analysis of peak magnitude and duration of analgesia produced by local anesthetics injected into sympathetic ganglia of complex regional pain syndrome patients. *Clin J Pain*, 1998, 14:216 ~ 226.
- [17] Kulkarni KR, Kadam AI, Namazi IJ. Efficacy of stellate ganglion block with an adjuvant ketamine for peripheral vascular disease of the upper limbs. *Indian J Anaesth*, 2010, 54:546 ~ 551.
- [18] Hempel V. The stellate ganglion blockade. *Anaesthesiol*, 1993,42:119 ~ 128.
- [19] Chaturvedi A, Dash HH. Sympathetic blockade for the relief of chronic pain. *J Indian Med Assoc*, 2001, 99:698 ~ 703.
- [20] Melis M, Zawawi K, al-Badawi E, *et al*. Complex regional pain syndrome in the head and neck: a review of the literature. *J Orofac Pain*, 2002, 16:93 ~ 104.
- [21] Harden RN, Oaklander AL, Burton AW, *et al*. Complex regional pain syndrome: practical diagnostic and treatment guidelines, 4th edition. *Pain Med*, 2013,14:180 ~ 229.
- [22] Makharita MY, Amr YM, El-Bayoumy Y. Effect of early stellate ganglion blockade for facial pain from acute herpes zoster and incidence of postherpetic neuralgia. *Pain Physician*, 2012, 15:467 ~ 474.
- [23] Kulkarni KR, Kadam AI, Namazi IJ. Efficacy of stellate ganglion block with an adjuvant ketamine for peripheral vascular disease of the upper limbs. *Indian J Anaesth*, 2010, 54:546 ~ 551.
- [24] Vaseghi M, Zhou W, Shi J, *et al*. Sympathetic innervation of the anterior left ventricular wall by the right and left stellate ganglia. *Heart Rhythm*, 2012, 9:1303 ~ 1309.
- [25] Higa S. Migraine and nerve block. *Nihon Rinsho*. 2001, 59:1717 ~ 1721.
- [26] Albertyn J, Barry R, Odendaal CL. Cluster headache and the sympathetic nerve. *Headache*, 2004, 44:183 ~ 185.
- [27] Masuda Y, Okamoto K. Management and treatment of headache in the pain clinic. *Nihon Rinsho*, 2005, 63: 1802 ~ 1807.
- [28] Janik JE, Hoefl MA, Ajar AH, *et al*. Variable osteology of the sixth cervical vertebra in relation to stellate ganglion block. *Reg Anesth Pain Med*, 2008, 33:102 ~ 108.
- [29] Cha YD, Lee SK, Kim TJ, *et al*. The neck crease as a landmark of Chassaignac's tubercle in stellate ganglion block: anatomical and radiological evaluation. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2002, 46: 100 ~ 102.

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.015

腰椎间盘突出症动物模型的研究进展

李慧莹 单志婧 翟志超 刘金锋[△]
(哈尔滨医科大学附属第二医院疼痛科, 哈尔滨 150086)

摘要 腰椎间盘突出症 (lumbar intervertebral disc herniation, LIDH) 是临床常见病与多发病, 其基本病理变化为椎间盘退变、突出、压迫神经。目前椎间盘退变的病因及发病机制尚不清楚, 治疗方法多种多样, 疗效不一。动物实验研究可为临床合理治疗提供依据, 所以建立一种可靠的 LIDH 动物模型可以为研究 LIDH 发病机制、探索研究各种治疗方法提供良好的实验载体, 对临床疼痛治疗有重要意义。本文对近年来腰椎间盘突出症动物模型的研究现状及进展作一综述。

关键词 腰椎间盘突出症; 动物模型; 研究进展

腰椎间盘突出症 (lumbar intervertebral disc herniation, LIDH) 目前为临床常见病, 且反复发作, 发病率约为 20% ~ 30%^[1]。然而这种疾病的实质早在 1934 年 Mixer 与 Barr 发表的《累及椎管的椎间盘破裂》中进行了阐述, 由于椎间盘有不同程度的退行性改变后, 在外力因素的作用下, 椎间盘的纤维环破裂, 髓核组织从薄弱处突出累及椎管, 导致相邻脊神经根遭受刺激或压迫, 从而产生临床症状。如今, 在近 80 年研究进程中, LIDH 的临床治疗方法多种多样, 如保守治疗、微创治疗及手术治疗等^[2]。但因本病发病机制尚不明确, 应用目前治疗方法虽有不同程度的缓解, 但仍未发现能够根治本病的方法, 这可能与缺乏和人类高相关性及其可比性的 LIDH 动物模型有一定的关系。那么建立一种理想的 LIDH 动物模型对于研究本病发病机制具有重要意义, 同时也为探索各种治疗方法提供良好的实验载体。

一、腰椎间盘突出症的动物模型

(一) 椎间盘退变模型

由于椎间盘退变是导致 LIDH 发病最基本的病因, 所以为了科学性地模拟 LIDH 患者的椎间盘退变, 探索安全有效的临床治疗方法, 学者们不断探索建立合理可靠的 LIDH 动物模型。

1. 针刺损伤建模: Young-Joon Kwon 等^[3] 选用新西兰白兔为研究对象, 选择背部正中中线旁开 3 ~ 4 cm 作为进针点, 在影像引导下使用 18 G 穿刺针, 通过经皮环状穿刺的方法, 将针尖分别定位于 L₂₋₃ 和 L₄₋₅ 椎间盘中心来进行穿刺干预, 操作后拔除, 由此来诱发椎间盘退变。术后第 4 周和第 6 周通过在放射线侧位引导下, 测量被穿刺间盘下降的高度, 由此指标来证明了第 4 周椎间盘出现退行

性改变。在 2013 年, Jacobs L 等在研究氨基葡萄糖对椎间盘退变的影响时, 同样选用新西兰白兔, 通过纤维环环状穿刺, 建立椎间盘退变模型。另外, 任东风等^[4] 通过纤维环部分或全层针刺方法建立大鼠腰椎间盘突出模型, 并通过椎间盘造影 CT 成像和组织学检查, 确认椎间盘内破裂模型成立。

针刺损伤纤维环的动物模型能够模拟人类纤维环损伤, 髓核退变、突出的过程, 此方法损伤较小, 出血量较少, 操作相对简单, 重复性好。但观察周期较长, 模型建立成功标准不一, 针尖刺入深度标准也不统一, 所以针刺损伤建模存在一定局限性。

2. 手术损伤建模: 吕存贤等^[5] 选用成年日本大耳白兔, 取后正中切口从腰 3 棘突至腰 6 棘突, 依次剥离后显露棘突、椎板和关节突, 切除腰 3 ~ 6 棘间、棘上韧带及两侧关节突关节外 1/2, 造成椎间不稳。术后 1 周, 创口愈合后, 每只兔子背部压 1/10 体重的物体加以异常应力, 以促进造模。造模 2 个月后模型组动物出现纤维环断裂, 髓核向后突出, 终板软骨钙化层增厚, 透明软骨变薄和软骨细胞坏死增多等退变表现。此种建模方法证实脊柱动、静力平衡失调 (椎间不稳), 加上异常应力刺激, 可稳定地诱发出兔腰椎间盘突出退变模型。通过手术方式来建立椎间盘退变模型, 优点在于建模时间相对较短, 而缺点在于此建模过程损伤较严重, 出血量较大, 操作较复杂, 并可能破坏椎间盘及髓核周围的固有组织, 所以不能排除创伤因素的影响, 存在一定的局限性。

为进一步模拟人体椎间盘退变, 2004 年沈为栋等通过以兔为对象, 于左腹下取旁正中切口, 通过钝性分离到达 L₆ ~ L₇ 椎间前方的前纵韧带及椎间隙, 使用自制的 LIDH 动物病理模型造模器, 将部分椎间

[△] 通讯作者 mzliujf2004@126.com

盘组织推入后纵韧带的前方,造成右侧和中央型椎间盘突出模型。此种模型更接近人体椎间盘突出病理状态,也极大程度的保留了椎管及周围的组织结构和内环境的完整性。此方法操作简单、成功率高、可重复性强,可做为较理想动物模型的造模方法。

另外,2005年Cinotti等通过损伤终板来建立模型,称为终板损伤法,即通过椎体钻一斜行的孔洞直达软骨终板和髓核来制作椎间盘退变模型。急性终板损伤可引起髓核压力降低和应力重新分布,从而导致椎间盘退变。这种方法通过终板损伤来建立椎间盘突出症的动物模型,由于破坏终板程度不易掌握,损伤后可立即出现一些变化,如Schmorl结节、局部出血及续发周围肉芽组织形成等而影响观察。此法创伤较大,有一定死亡率,目前很少用。

3. 其他方法建模:化学损伤法,即通过直接化学损伤椎间盘达到椎间盘退变进而出现椎间盘突出症方法。目前有对木瓜凝乳蛋白酶、软骨素酶ABC的研究。由于木瓜凝乳蛋白酶可选择性破坏蛋白多糖,造成髓核蛋白黏稠度下降,纤维环层状排列松弛,进而椎间盘细胞形态发生改变,使脊柱生物力学稳定性降低^[6]。近年,Hoogendoorn等^[7]将软骨素酶ABC 0.25 u/ml注入山羊腰椎间盘内,12周时发现所有研究指标均出现了退变信号,之后,再将不同剂量软骨素酶ABC注射入未进行干预的山羊腰椎间盘内,在注射后12周进行椎间盘的重量、MRI及组织学等检测,结果显示椎间盘退变程度与注射的软骨素酶ABC浓度呈正相关。

随着分子生物学研究水平的日益提高,基因方面的改变为椎间盘突出症动物造模提供了新的思路。Li B1等^[8]对于胰岛素样生长因子1(IGF-1)及其受体(IGF1R)在椎间盘突出方面进行研究,由于此基因可以调节细胞外基质合成,并在维持正常椎间盘功能上起重要作用。以大鼠作为研究对象,实验发现减少IGF1R的表达会导致大鼠椎间盘加速的退化。另外,Hamrick MW等^[9]剔除小鼠氯化筒箭毒碱(GDF-8)基因,发现可引起肌骨骼生长的负调控,导致肌肉量与骨密度增加,蛋白多糖含量降低,椎体终板骨化,出现椎间盘突出迹象。目前,基因技术小鼠LIDH模型对模拟人类椎间盘突出症是否可行尚存争议,有待进一步研究。

(二) 单纯炎性刺激型模型

在退行性改变的基础上,由于椎间盘发生不同程度的变性,可能会出现髓核突出并刺激神经根引起疼痛症状,所以一部分动物模型采用髓核组织直接或间接刺激神经根的方式建立炎性痛模型。

Zhu LG等^[10]将大鼠自体尾椎髓核组织手术包埋于臀部肌肉中,造成局部免疫炎性反应模型,以此建模观察血液中IgG、IgM、IL-1beta和IL-8水平,结果显示模型组IgG、IgM、IL-1beta、IL-8显著增高,证明髓核组织可以引起炎性反应。这类模型仅说明了髓核所造成的自身免疫性炎症,却脱离了髓核原来所依赖的内环境,与临床相差比较大。ZHANG Jin-jun等^[11]选用清洁雄性SD大鼠,通过改良建模方式,进行左侧L₅椎板切除术,显露左侧L₅背根神经节,显微镜下使用注射针将背侧神经根与背根神经节之间的神经外膜刺破,然后使用玻璃解剖针纵向切开神经外膜,创建一个2~3 cm的切口,之后取鼠尾髓核5 mg,覆盖在L₅背根神经节处,由于髓核为胶冻样物质,粘着力较强,故不需要其他固定,随后逐层缝合。结果发现这种建模方式与其他传统建模方式相比,能够减少手术创伤,并在疼痛行为学的表现上更加稳定,大鼠出现活动频繁、易激惹、马尾神经传导速度减慢等表现,表明髓核本身是引起神经根炎性刺激的主要原因之一。另外,Cho HK等^[12]将大鼠尾椎髓核移植到L₅背根神经节旁,避免产生直接压迫,由此建立模型,此模型对机械痛阈进行监测,发现机械痛阈明显降低,在疼痛行为学表现稳定。此类模型方法简单、创伤小、成功率高、重复性强、观察指标明确、对实验条件要求不高,它可以成为研究髓核诱导神经性疼痛机制的较为理想的实验模型。

(三) 压迫型模型

传统的观点认为,突出的椎间盘组织压迫腰神经根是造成腰腿痛的主要原因。压迫型动物模型,即通过手术将植入物置于指定位置,压迫刺激动物的神经根,来模仿人类LIDH突出髓核压迫神经根所致的腰背痛及下肢放射痛症状,从而研究疼痛发生的机制和治疗的方法。

1. 单纯压迫型:一种建模方式是选用一些自制特定的模型,通过植入来进行对神经根的压迫。王拥军等^[13]通过微型硅胶球压迫大鼠L₅和C₅神经根,建立了“慢性神经根损伤模型”,通过去除硅胶球,模拟临床“手术摘除椎间盘减压法”,建立了神经根损伤减压模型。之前也有人应用带有缺口的塑料管套在猪的腰神经根上作为慢性压迫模型,这些虽然可以模拟椎间盘突出神经根受压模型,但并非真正椎间盘组织压迫作用于神经根,与体内真实情况有所不同,存在一些不足之处。

2. 压迫与炎性刺激共存型:一种建模方法是选择椎间盘髓核等自体组织作为植入物,来对神经根进行压迫。Kim SJ等^[14]取SD大鼠尾部椎间盘组



织,放置在L₅靠近背根神经节处,直接压迫神经根,术中发现神经根充血、水肿。通过行为学、热痛域和机械痛域监测来确定建模的成败,以此模型来研究LIDH的大鼠mRNA表达IL-8的水平。这类模型主要模拟的是椎管内背根神经节受压的病理解剖基础,对根性神经痛的机制进行在体研究。随着临床经验不断丰富,特别是影像学发展,人们注意到椎间盘突出程度及对神经根造成压迫程度与患者症状并不一致。另外,Rongrong Jiang等^[15]取SD大鼠两节尾椎间盘,包括上下终板,并用注射器将上下终板刺穿,使用7号手术线将尾椎间盘塑形并放入生理盐水中保存,之后,从大鼠背部正中开皮,暴露脊柱并移除终板,将尾椎间盘移植到左侧靠近L₄₋₅的肌肉上。通过这种建模方式来研究LIDH在中医刮痧治疗过程中IL-1的变化。

目前,还有一些学者将自制特定植入模型及自体组织同时应用,来建立压迫与炎性刺激共存的模型。Sasaki N等^[16]通过手术移除左侧L₅部分椎板,暴露出左侧L₅神经根和背根神经节,将一特制L型不锈钢杆向椎间孔方向以压迫神经根,之后将尾椎髓核取出放置神经根上,建立起炎症刺激及机械压迫模型,与其他模型相比这种模型更接近临床LIDH。Ming Wei等人^[17]通过建立腰椎间盘突出症大鼠来诱发坐骨神经痛的模型,使用特制的硬膜外导管插入,来模拟机械压迫L₅背根神经节及临近硬膜,并移植自体髓核建立炎症刺激模型。此模型不仅可以进行行为学及免疫组化对炎症因子的研究,而且实验者还通过此导管注射蛇床子素进行治疗(据文献报导^[18],应用蛇床子素有多种药理学作用),这样既对坐骨神经痛进行干预,又建立了一种给药途径,成为较新的动物模型。

目前,使用压迫与炎性刺激共存的方法进行建模,能够较贴切的模拟人类腰椎间盘突出症的发病机制。此类模型可以较好的诱导出大鼠神经行为的改变,对大鼠损伤小,更加接近于临床,为进一步探索椎间盘突出症的发病机制与防治提供了较好的动物模型。

二、研究现状与展望

迄今为止,国内外的学者通过动物模型从多个角度对腰椎间盘突出症进行模拟、重现。为腰椎间盘突出症的研究提供了不同的参考模型,但均不够理想。我们目前对理想的动物模型要求是与人类椎间盘退变及突出具有较高的相似性和可比拟性。将目前现有及未来预想的腰椎间盘突出症动物模型总结起来,理想模型应该具有以下条件:①能够再现椎间盘退行性病变的客观规律;②动物模型重复性好,可调控性高;

③所选择动物的解剖和生理特点尽可能与人类相似;④周期短、损伤小、投入小、干扰因素少;⑤能够使动物模型进行临床操作提供更大的可能性。虽然目前椎间盘突出模型的制备方法取得了重大进展,但未达到以上理想模型所具条件,实验所得数据离临床应用仍有不少差距。所以我们要继续探索,制备科学、可靠和高效的理想动物模型,为研究人类椎间盘突出症提供更加可靠的实验依据。

参考文献

- [1] Tamer Orief, Yasser Orz, Walid Attia, *et al.* Spontaneous resorption of sequestered intervertebral disc herniation. *World Neurosurg*, 2012, 77:1 ~ 7.
- [2] 刘德敏, 侯伟光. 微创治疗腰椎间盘突出症的临床研究进展. *中国疼痛医学杂志*, 2013, 19:241 ~ 243.
- [3] Young-Joon Kwon. Resveratrol has anabolic effects on disc degeneration in a rabbit model. *J Korean Med Sci*, 2013, 28: 939 ~ 945.
- [4] 任东风, 侯树勋, 彭宝淦. 腰椎间盘内破裂模型的建立. *中国疼痛医学杂志*, 2006, 12: 353 ~ 356.
- [5] 吕存贤, 吴永琴. 异常应力负荷及椎间失稳建立实验性兔腰椎间盘退变模型. *浙江中西医结合杂志*, 2011, 21: 161 ~ 164.
- [6] Lu DS, Luk KD, Lu WW, *et al.* Spinal flexibility increase after chymopapain injection is dose dependent: a possible alternative to anterior release in scoliosis. *Spine*, 2004, 29:123 ~ 128.
- [7] Hoogendoorn RJ, Wuisman PI, Smit TH, *et al.* Experimental intervertebral disc degeneration induced by chondroitinase ABC in the goat. *Spine*, 2007, 32:1816 ~ 1825.
- [8] Li B1, Zheng XF, Ni BB, *et al.* Reduced expression of insulin-like growth factor 1 receptor leads to accelerated intervertebral disc degeneration in mice. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2013, 26:337 ~ 347.
- [9] Hamrick MW, Pennington C, Byron CD. Bone architecture and disc degeneration in the lumbar spine of mice lacking GDF-8 (myostatin). *J Orthop Res*, 2006, 21:1025 ~ 1032.
- [10] Zhu LG, Chen X, Yu J, *et al.* Effect of removing dampness and promoting diuresis method on IgG, IgM and IL-1beta, IL-8 in serum of rats with autoimmunity induced by nucleus pulposus. *Zhongguo Gu Shang*, 2011, 24:327 ~ 331.
- [11] ZHANG JJ, SONG W, LUO WY, *et al.* Autologous nucleus pulposus transplantation to lumbar 5 dorsal root ganglion after epineurium dissection in rats: a modified model of non-compressive lumbar herniated intervertebral disc. *Chinese Medical Journal*, 2011, 124: 2009 ~ 2014.

(下转第 68 页)

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.016

• 科研简报 •

颈脊神经联合副神经阻滞治疗痉挛性斜颈

王志剑 张达颖[△] 张学学

(南昌大学第一附属医院疼痛科, 南昌 330006)

痉挛性斜颈 (Spasmodic Torticollis, ST) 病因和发病机制尚未完全明了, 表现为局限性肌张力障碍致颈部肌肉不随意性持续强直或阵挛性收缩产生头颈部的异常姿势, 常伴有受累肌肉疼痛。Claypool^[1] 和 Castelon^[2] 报道 ST 患病率分别为 1.2/10 万人和 5.4/10 万人。由于 ST 的病因、病理尚未完全明确, 故目前仍缺乏特异性治疗手段。2006 年至 2012 年我们采用神经阻滞术对收入我科住院的 5 例 ST 患者进行治疗, 临床观察报告如下。

方 法

1. 一般资料

本组男 3 例, 女 2 例; 年龄 10 ~ 44 岁; 病程 10 天 ~ 6 月; 2 例为侧屈型, 头颈部过中线以矢状面分别向左、右侧屈; 3 例为旋转型, 头颈部过中线以矢状面向右水平旋转; 5 例皆伴颈项部轻 - 中度疼痛。入院后均行颅脑及颈椎磁共振检查, 无异常发现, 同时排外精神性斜颈。

2. 治疗方法

左右侧屈型各 1 例, 行屈向侧颈丛 (C_{2,3})、颈椎旁神经 (C_{4,6}) 及副神经阻滞; 右旋转型 3 例, 行右侧颈椎旁神经 (C_{3,6}) 及颈丛 (C_{3,4}) 阻滞, 联合左侧副神经阻滞。神经阻滞用药配方: 2% 利多卡因 3 ~ 4 ml、复方倍他米松 7 mg/1 ml 或地塞米松 5 mg/1 ml、维生素 B₆ 0.2 g/2 ml、维生素 B₁₂ 0.5 mg/1 ml、生理盐水 10 ~ 11 ml; 每点阻滞用药为 3 ~ 5 ml。每 7 天治疗 1 次, 2 次为 1 疗程, 共治疗 1 ~ 2 疗程。

3. 疗效评定

所有病例于治疗前及疗程完成后第 3 天通过 Tsui^[3] 评分来判断 ST 临床严重程度。总分 T=A×B+C+D。A 为头的歪斜程度: A=1+2+3, 1- 扭转度 (无扭转为 0, <15° 为 1, 15 ~ 30° 为 2, >30° 为 3), 2- 倾斜度 (无倾斜为 0, 轻度为 1, 中度为 2, 重度

为 3), 3- 前后屈曲 (无屈曲为 0, 轻度为 1, 中度为 2, 重度为 3)。B 为头的歪斜时间 (间歇为 1, 持续为 2)。C 为肩的抬举 (轻度、间歇为 1, 轻度、持续或重度、间歇为 2, 重度、持续为 3)。D 为头的震颤或抽动, D= 程度 × 时间 (程度: 轻度为 1, 重度为 2; 时间: 偶尔为 1, 连续为 2)。最大得分为 25 分, 评分越高表示斜颈程度越重。同时采用视觉模拟评分 (visual analogue scale, VAS) 评估患者疼痛程度。使用 10cm 评分尺, 0= 无痛, 10= 最严重的疼痛。出院随访 6 月至 1 年观察斜颈复发情况 (Δ T=T 治疗前 - T 随访时; 复发标准: Δ T/T 治疗前 >50%。)

4. 统计学分析

计量数据用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, 采用配对样本 *t* 检验进行统计分析, *P* < 0.01 表示具有统计学意义。

结 果

本组治疗前及疗程完成后第 3 天评估疗效见表。与治疗前比较, 治疗后 Tsui 评分显著降低 (*P* < 0.01), 表明治疗后斜颈程度总体改善; 治疗后 VAS 分值较治疗前明显降低 (*P* < 0.01, 见表 1), 说明治疗后斜颈患者伴随的疼痛程度亦明显减轻。

随访 6 月至 1 年, 除 1 例于疗程完成后评估无效的患者 (曾转往康复科行运动疗法、物理治疗及中药熏蒸治疗近 1 月, 斜颈仍无明显改善) 外, 其余 4 例患者均未见复发。所有病例每次治疗后未出现如局麻药中毒、感染、血肿形成等不良反应。

表 1 治疗前及疗程完成后第 3 天 Tsui 评分和 VAS 结果 (*n*=15)

	Tsui 分值	VAS 分值
治疗前	8.80 ± 2.28	4.80 ± 0.45
治疗后	2.60 ± 3.13*	0.60 ± 0.55 [#]

与治疗前比较, **P* < 0.01, [#]*P* < 0.01.

[△] 通讯作者 zdy@medmail.com.cn

讨 论

ST 亦称颈肌张力障碍 (cervical dystonia), 诊断主要依据临床症状与体征 (特征性的斜颈表现), 并排除中枢神经系统、颅神经、颈髓和颈部周围软组织等病变引起的继发性颈肌张力障碍和假性颈肌张力障碍。目前临床主要有口服药物治疗如抗胆碱药 (安坦)、苯二氮卓类 (氯硝安定)、肌松剂 (巴氯芬、乙哌立松)、多巴胺拮抗剂 (氟哌啶醇) 等; 肉毒素局部注射治疗 ST, 文献报道总显效率 53% ~ 90%, 明显好转在 40% 左右^[4], 且绝大多数患者均仅能维持 3 ~ 6 个月^[5]。

外科手术治疗方面, 包括选择性颈部肌肉切除和神经切断术, 立体定向靶点破坏颅内某些神经核团, 椎管内颈神经前后根切断术等^[6], 由于外科手术疗效有不确定因素、风险相对较大, 临床一般不作为首选治疗。

颈部不同肌肉的异常收缩导致不同型别的斜颈, 临床上根据斜颈姿态及受累肌肉可以将 ST 分为侧屈型 (屈向侧的胸锁乳突肌、头夹肌、颈夹肌及肩胛提肌); 旋转型 (面部旋向侧的头夹肌、颈夹肌和对侧的胸锁乳突肌); 前屈型 (双侧胸锁乳突肌和前斜角肌); 后仰型 (双侧头、颈夹肌、头、颈半棘肌和多裂肌) 和混合型 (主要责任肌要针对个体表现, 结合局部解剖、肌电图等予以辨认)。主要受累肌肉神经支配: 副神经、C_{2,3} 前支配胸锁乳突肌; C_{1,8} 后支配头夹肌、颈夹肌、头半棘肌、颈半棘肌和多裂肌; C_{3,5} 前支配肩胛提肌。

我们针对侧屈型和旋转型 ST 主要责任肌的支

配神经 (颈脊神经和副神经), 选择相应的神经阻滞术阻断疼痛刺激的传导, 改善局部血液循环及组织代谢, 解除局部肌紧张和痉挛, 以达到纠正颈项部肌肉的阵挛性或强直性不自主收缩, 并消除局部疼痛的目的。本组 5 例病人疼痛均得到明显缓解, 4 例斜颈 Tsui 评分显著改善, 表明针对 ST 主要责任肌群支配神经行阻滞治疗, 不失为临床治疗 ST 的一个安全有效方法。在临床上强调明确诊断为前提, 仔细甄别受累肌群及其神经支配, 选择个性化的阻滞方案。对阻滞治疗效果不佳者, 可考虑必要的外科治疗。

参 考 文 献

- [1] Claypool DW, Duane DD, Ilstrup DM, *et al.* Epidemiology and outcome of cervical dystonia (Spasmodic Torticollis) in Rochester, Minnesota. *Mov Disord*, 1995, 10:608 ~ 614.
- [2] Castelon KE, Trender-Gerhard I, Kamm C, *et al.* Service-based survey of dystonia in Munich. *Neuroepidemiology*, 2002, 21:202 ~ 206.
- [3] Tsui J KC, Eisen A, Stoessl AJ. Double blind study of botulinum toxin in spasmodic torticollis. *Lancet*, 1986, 2:245.
- [4] Gary EB, Laura M, Michael J. Botulinum a toxin for the treatment of adult-onset spasmodic torticollis. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 1991, 87:28.
- [5] Brashear A. Treatment of cervical dystonia with botulinum toxin. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2004, 15:122.
- [6] 姬绍先, 陈信康, 周国俊, 等. 痉挛性斜颈的临床分型和手术治疗. *立体定向和功能神经外科杂志*, 2004, 6:341 ~ 344.
- [12] Cho HK1, Cho YW, Kim EH, *et al.* Changes in pain behavior and glial activation in the spinal dorsal horn after pulsed radiofrequency current administration to the dorsal root ganglion in a rat model of lumbar disc herniation: laboratory investigation. *J Neurosurg Spine*. 2013, 19:256 ~ 63.
- [13] Wang YJ, Zhou CJ, Shi Q, *et al.* Aging delays regeneration process after sciatic nerve injury in rats. *Journal of Neurotrauma*, 2007, 24: 885 ~ 894.
- [14] Kim SJ, Park SM, Cho YW, *et al.* Changes in expression of mRNA for interleukin-8 and effects of interleukin-8 receptor inhibitor in the spinal dorsal horn in a rat model of lumbar disc herniation. *Spine*, 2011, 36: 2139 ~ 2146.
- [15] Rongrong Jiang, Guihua, Xu Rongrong Jiang, *et al.* Effect of scraping therapy on Interleukin-1in serum of rats with lumbar disc herniation. *J Tradit Chin Med*, 2013, 33: 109 ~ 111.
- [16] Sasaki N, Sekiguchi M, Kikuchi S, *et al.* Anti-nociceptive effect of bovine milk-derived lactoferrin in a rat lumbar disc herniation model. *Spine*, 2010, 35: 1663 ~ 1667.
- [17] Ming Wei, Sui-Lin Mo Neel R. Nabare, *et al.* Modification of rat model of sciatica induced by lumbar disc herniation and the antiinflammatory effect of osthole given by epidural catheterization. *Pharmacology*, 2012, 90: 251 ~ 263.
- [18] Xu X, Zhang Y, Qu D, *et al.* Osthole induces G2/M arrest and apoptosis in lung cancer A549 cells by modulating PI3K/Akt pathway. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, Mar 29:30 ~ 33.

(上接第 66 页)

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.017

背根神经节射频热凝对老年带状疱疹后遗神经痛疗效的影响

金文哲^{1, 2#} 任婷婷^{1#} 李仁淑¹ 张广建¹ 邱德来^{2△}

(¹ 延边大学附属医院疼痛科, 延吉 133000; ² 延边大学细胞功能研究中心、延边大学医学部生理学与病理生理学教研室, 延吉 133000)

Ma Ke 等^[1] 胸神经脉冲射频治疗带状疱疹后神经痛 (postherpetic neuralgia, PHN) 取得了良好的疗效, Kim 等^[2] 背根神经节脉冲射频明显缓解了 PHN 患者的疼痛, 凌地洋等^[3] 选择性背根神经节脉冲射频联合普瑞巴林、袁燕等^[4] 经皮背根神经节脉冲射频联合加巴喷丁治疗 PHN, 迅速缓解了患者的疼痛症状, 改善了睡眠质量。PHN 是一种顽固性神经病理性疼痛性疾病, 背根神经节脉冲射频同传统射频比较, 哪一种方法更有效呢? 为了评价两种方法的疗效, 本研究收集了 60 例带状疱疹后神经痛患者分两组做了比较, 为 PHN 的治疗提供新的治疗思路和理论依据。

方 法

1. 一般资料

本研究已获本院伦理委员会批准, 并与患者及家属签署知情同意书。选择 2012 年 01 月~2013 年 08 月我院疼痛科收治的 PHN 患者 60 例, 男性 31 例, 女性 29 例, 年龄 65~88 岁。随机分成 2 组, A 组 30 例为背根神经节脉冲射频治疗组, B 组 30 例为背根神经节射频毁损组。

2. 入选标准

① 年龄 ≥ 65 岁; ② 病史 ≥ 1 个月患者; ③ VAS 评分 ≥ 6 ; ④ 病变部位在 T₁₋₁₂ 神经支配区患者; ⑤ 胸椎 MRI 检查, 无明显病变者。排除标准: ① 微皮损型带状疱疹患者; ② 合并严重心、肺、肾功能不全患者; ③ 合并凝血功能障碍患者; ④ 合并智能障碍配合欠佳患者; ⑤ 全身或椎管内外感染性疾病患者。

3. 治疗方法

按照卢振和^[5]等的操作方法, 患者取俯卧位, 胸廓下垫枕, 使胸椎变平。旋转调节 DSA 投照器, 至需要治疗平面的椎体下终板前后缘重叠在一起,

采用 15° 角的患侧斜位投照, 将看到原来的横突基底部变小。穿刺点标志于横突基底部凹线的相应皮肤上。患者清醒局麻下, 采用 10 cm 射频穿刺针沿预定穿刺路径推进。沿下关节突边缘滑过, 用前后位和侧位 X 线透视检查针尖的位置, 直至针尖投影在椎间孔的后缘上。X 线前后位检查, 针尖位于肋骨下椎体外缘, 即椎间孔外缘。注射造影剂后, 前后位和侧位 X 线透视沿硬膜外腔扩散, 准确定位 (见图 1、2)。所用射频仪为北京北琪医疗科技有限公司 R-2000B 射频温控热凝器, 感觉刺激电刺激阈值达到 0.4 V 以下出现疼痛反应, 运动刺激无肌肉抽搐, 注入 2% 利多卡因 2 ml 后, A 组接受脉冲射频治疗, 其参数为: 治疗温度 42℃, 频率 2 Hz, 脉宽 20 ms, 电压 26~56 V, 时间 60 s, 连续 3 次。B 组接 80℃ 连续射频治疗 3 次, 每次 60s。

4. 评价指标

采用视觉模拟评分法 (visual analogue score, VAS) 评分法, 对患者的疼痛情况进行评分, 0 分为无痛, 10 分为最难以忍受的疼痛。随访时间点为: 治疗后 1 周、1 个月、6 个月。

5. 统计学处理

采用 SPSS 14.0 软件包进行统计学处理, 所有数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 治疗前后比较采用配对 *t* 检验, 不服从正态分布数据采用非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

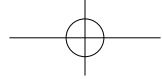
结 果

A, B 分别代表是背根神经节脉冲射频治疗组和背根神经节射频毁损组。两组患者的性别、年龄、病变部位 (左/右)、病程、治疗前视觉模拟评分 VAS 差异均无显著性 (见表 1)。

两组分别与治疗前相比, VAS 评分均下降 ($P <$

共同第一作者

△ 通讯作者 dlqiu@ybu.edu.cn



0.05)。治疗后的各时间点,与A组比较,B组治疗效果较好($P < 0.05$,见表2)。

讨 论

带状疱疹后神经痛(postherpetic neuralgia, PHN)是带状疱疹最常见的并发症,以顽固的持续性隐痛伴阵发性剧痛为临床特征,临床治愈困难。从国内、外临床疼痛医学上看,PHN老年患者发病率高^[6],是公认的世界级疼痛性疾病。有20%~50%的带状疱疹患者会发生PHN,发病率随年龄的增加而增加^[7]。

研究表明,PHN可能是一种以神经系统的病理改变为基础的神经病理性疼痛^[8]。PHN患者的感觉传入通路的外周和中枢神经系统存在多种病理改变,提示可能存在多种疼痛机制^[9]。PHN可能的外周机制和中枢机制包括^[10]:伤害性感受器病理性敏感化;神经干持续性炎症反应;交感神经异常活动;脊髓背角神经元的敏化;脊髓抑制性神经元的功能下降;传入脊髓的Aβ纤维长芽等引起脊髓和脑中枢的敏化等等。Rowbotham等^[11]研究后认为感觉传入小纤维(包括感觉伤害器)的活性增高、异常放电引起中枢的过度兴奋是触觉异常性疼痛的主要形成机制之一。

背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)是脊神经后根上的神经节,为痛觉传导的初级神经元,DRG已成为神经病理性疼痛的发病机制及其治疗的研究重点^[12,13]。一些研究表明,急性或慢性神经损伤所触发的DRG神经元的兴奋性变化,DRG与脊髓背角神经元之间突触联系的重塑以及有关胶质细胞功能的变化在神经病理性疼痛的发病机制中具有十分关键的作用,DRG已成为神经病理性疼痛治疗研究的重要靶区^[12-17]。对DRG解剖细节的掌握已成为影响PHN等难治性病理性神经痛介入疗效的重要因素。

胸部脊神经根共12对,从脊髓发出腹侧和背侧神经根,在椎弓根内侧向外下方向横行,在背根节稍下方合成脊神经。脊神经的周围部分表面覆以从硬膜延续而来的神经外膜,位于蛛网膜下隙的神经根直到后根节附近都存在着脑脊液,神经根从同节段椎体与相邻下一节段椎体形成的椎间孔穿出椎管外。胸部背根神经节射频热凝时非常重要的一点是针尖要放在能精确区别运动根和感觉根的解剖位置,我们的临床实践是:针尖准确到达椎间孔处,注入造影剂后如图1、2在硬膜外腔扩散,刺激阈值很小时(0.3V以下)就能诱发出疼痛反应,且临床效果更佳。

Ricardo Vallejo等^[18]认为,在三叉神经痛、颈椎、腰椎小关节病变、骶髂关节疼痛的治疗上,射频热凝术优于脉冲射频。相比之下,脉冲射频可能通过调理神经功能,用于其他神经性疼痛(如神经病理性疼痛)上将更有价值。然而,本研究结果显示,对于PHN的治疗,胸部背根神经节射频热凝效果优于脉冲射频,且未出现气胸、误穿蛛网膜下隙及脊髓、神经根损伤、肌力下降等并发症,仅有神经射频区域轻度麻木现象,说明在影像设备引导下合理应用射频热凝毁损治疗胸背部带状疱疹后神经痛是相对安全的。胸部背根神经节射频热凝治疗相应支配区带状疱疹后神经痛的镇痛机制有待于进一步研究。

我们在治疗PHN实践中体会,PHN的疼痛机理非常复杂,不同的病理生理机制可产生各自特异的感

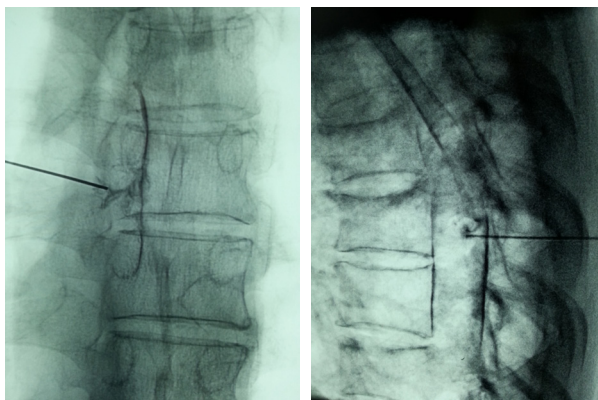


图1 注入造影剂后胸椎正位像造影剂沿硬膜外侧间隙扩散

图2 注入造影剂后胸椎侧位像造影剂沿硬膜外前、后间隙扩散

表1 两组患者一般资料比较

组别	性 别		部 位		年龄(岁)	VAS 评分
	男	女	左侧	右侧		
脉冲射频治疗组	16	14	14	16	68.8 ± 8.7	7.68 ± 0.98
射频损毁组	15	15	16	14	67.5 ± 9.5	7.57 ± 0.86

表2 两组患者观察期VAS评分比较

组别	治疗前	治疗后一周	治疗后一个月	治疗后六个月
脉冲射频治疗组	7.68 ± 0.98	4.31 ± 1.68*	3.71 ± 1.39*	3.67 ± 1.26*
射频损毁组	7.57 ± 0.86	2.16 ± 1.22**	2.08 ± 1.25**	2.06 ± 1.18**

* $P < 0.05$, 与治疗前比较; ** $P < 0.05$, 与A组比较。

觉症状, 而同一患者可能同时存在几种作用机制, 并且在疾病发展过程中产生疼痛的机制和症状还可发生变化, 因而导致部分患者经各种治疗, 包括药物治疗、物理治疗、神经阻滞、神经毁损, 疼痛也无法缓解, 生存质量下降, 甚至有自杀的病例。因此, 我们主张神经阻滞治疗尽可能在出现带状疱疹后立即进行 (最好是 3 天内), 早期治疗不仅可以止痛, 还有助于修复被病毒破坏的组织, 预防带状疱疹后神经痛的发生, 且皮损愈合后不留色素沉着及瘢痕^[19]。

参考文献

- [1] Ke M, Yinghui F, Yi J, *et al*. Efficacy of pulsed radiofrequency in the treatment of thoracic postherpetic neuralgia from the angulus costae:a randomized, double-blinded, controlled trial. *Pain Physician*, 2013, 16:15 ~ 25.
- [2] Kim YH, Lee CJ, Lee SC, *et al*. Effect of pulsed radiofrequency for postherpetic neuralgia, *Acta Anaesthesiol Scand*, 2008, 52:1140 ~ 1143.
- [3] 凌地洋, 王哲银, 卢振和, 等. 选择性背根神经节脉冲射频联合普瑞巴林治疗带状疱疹后神经痛的临床观察. *中国疼痛医学杂志*, 2013, 19:587 ~ 590.
- [4] 袁燕, 申文, 刘功俭, 等. 背根神经节脉冲射频联合药物治疗带状疱疹后遗神经痛的临床疗效分析. *中国疼痛医学杂志*, 2012, 18:473 ~ 475.
- [5] 卢振和, 高崇荣, 宋文阁. 射频镇痛治疗学. 第一版. 郑州: 河南科学技术出版社, 2008, 82 ~ 83.
- [6] Johnson RW. Herpes zoster and postherpetic neuralgia:a review of the effects of vaccination. *Aging Clin Exp Res*, 2009, 21:236 ~ 243.
- [7] Wu CL, Marsh A, Dworkin RH. The role of sympathetic nerve blocks in herpes zoster and postherpetic neuralgia. *Pain*, 2000, 87:121 ~ 129.
- [8] Oaklander AL. Pathology of Shingles. *Arch- Neurol*, 1999, 56:1292 ~ 1294.
- [9] Bowsher D. Pathophysiology of postherpetic neuralgia. *Neurology*, 1995, 45(Suppl8):56 ~ 57.
- [10] Baron R. Neuropathic pain. The long path from mechanism to mechanism-based treatment. *Anaesthetist*, 2000, 49: 378 ~ 386.
- [11] Rowbotham MC, Fields HL. The relationship of pain, allodynia and Thermal sensation in post-herpetic neuralgia. *Brain*, 1996, 119:347 ~ 354.
- [12] Vranken JH. Mechanisms and treatment of neuropathic pain. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem*, 2009, 9:71 ~ 78.
- [13] Malik K, Benzon HT. Radiofrequency applications to dorsal root ganglia:a literature review. *Anesthesiology*, 2008, 109:527 ~ 542.
- [14] Inoue K. The mechanism and control of neuropathic pain. *Clin Neurol*, 2009, 49:779 ~ 782.
- [15] Cao JL, Ruan JP, Ling DY. Activation of peripheral ephrinBs/EphBs signaling induces hyperalgesia through a MAPKs mediated mechanism in mice. *Pain*, 2008, 139:617 ~ 631.
- [16] Obata K, Noguchi K. Contribution of primary sensory neurons and spinal glial cells to pathomechanisms of neuropathic pain. *BrainNerve*, 2008, 60:483 ~ 492.
- [17] Simopoulos TT, Kraemer J, Nagda JV, *et al*. Response to pulsed and continuous radiofrequency lesioning of the dorsal root ganglion and segmental nerves in patients with chronic lumbar radicular pain. *Pain Physician*, 2008, 11:137 ~ 144.
- [18] Ricardo vallejo, Ramsin M, Benyamin, *et al*. Radiofrequency vs pulse radiofrequency:The end of the controversy. *Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management*, 2010, 14:128 ~ 132.
- [19] 金文哲, 金哲虎, 康吉龙, 等. 神经阻滞治疗对伴有神经痛的早期带状疱疹疗效影响. *临床皮肤科杂志*, 2008, 37:262 ~ 263.

· 消 息 ·

欢迎广大读者参与评审“韩济生疼痛医学论文奖”

根据“韩济生疼痛医学论文奖”章程实施细则, 入选论文的提名将由专家评审委员会评审和读者投票产生, 我刊读者可以参与“韩济生疼痛医学论文奖”入选论文提名; 入选论文的评分中, 读者推荐人数将占有相应的分值。评审条件:

- (1) 研究成果(论文)属原始创新, 能推进我国疼痛医学学术发展;
- (2) 论文作者具有良好的学风和科学道德;
- (3) 获奖论文将从 2014 年 1 ~ 12 期《中国疼痛医学杂志》的所有论著中评选产生。

“韩济生疼痛医学论文奖”评审章程和评选细则以及投票结果将刊登在中华医学会疼痛学分会官网和《中国疼痛医学杂志》官网, 请关注。

中华医学会疼痛学分会网址: <http://www.casp.org.cn>
《中国疼痛医学杂志》网址: <http://casp.ijournals.cn>

多点射频联合臭氧注射治疗颈椎间盘突出症的疗效观察

王晓英 魏辉 陈红帆 李娟娟 曹正培
(江西省九江市第一人民医院疼痛科, 九江 332000)

颈椎间盘突出症相关性疼痛、肢体麻木严重的影响了患者的生活质量, 药物、神经阻滞、物理治疗等效果欠佳; 开放性手术的治疗亦有诸多顾虑, 而微创介入手术的发展, 使得此类疾患的治疗趋于合理。新技术如射频、臭氧等治疗也多集中于小关节源性疼痛的处理^[1], 针对椎间盘源性疼痛的临床研究少见^[2], 本研究即通过射频联合臭氧技术, 观察颈椎间盘突出症的治疗效果及安全性。

方 法

1. 一般资料

(1) 病例入选标准: 根据患者的症状、体征、影像资料确诊颈椎间盘突出症引起的神经根型颈椎病, 经保守治疗无效的患者 50 例。年龄 27 ~ 72 岁。男 23 例, 女 27 例。单间盘 38 例, 双间盘 11 例, 三间盘 1 例。VAS 评分 4 ~ 9 分。

(2) 病例排除标准: 合并严重其它脏器疾病; 凝血功能障碍者; 脊髓型颈椎病; 骨性椎管狭窄; 未控制的代谢性疾病; 孕妇; 合并心理性疾病或认知功能障碍的患者。

2. 治疗方法

患者术前半小时使用抗生素, 取仰卧位, 颈下垫圆柱形软枕, 充分后仰, 用治疗巾固定。在数字减影机 (DSA) 透视下充分显示病变椎间盘及相邻椎体。①经颈前入路, 用食指与中指将气管与血管鞘分开, 用 1% 的利多卡因 2 ml 局麻后, 用 9.7 cm 长, 尖端 5 mm 射频针透视下穿刺病变椎间盘, 靠近突出物靶点位置, 用欧乃派克 0.1 ~ 0.2 ml 椎间盘造影, 侧位能显示造影剂经椎间盘破裂处流到椎体后缘与突出物周围, 正位显示造影剂从椎间盘突出侧流出。②采用北琪 B-2000 射频仪行射频治疗, 确定阻抗在 150 ~ 300 欧姆的髓核组织中, 经感觉和运动诱发无神经症状, 根据突出物的大小及破裂程度行不同时间和温度的射频。盘内责任间盘

给予 60°、70°、80° 各 60" ; 90°, 90" *2; 95°, 90" *2。③将穿刺针, 以突出物靶点左右旁开 5 mm 进行调整 (见图 1)。再次射频。较前时间缩短一半。如激惹征明显, 可适当降低温度, 以患者耐受为宜。④用 5 ml 注射器于臭氧发生器 (德国卡特) 抽取 40 ug/ml 浓度的臭氧 5 ml, 循环抽吸、氧化。⑤碘伏消毒穿刺点, 压迫穿刺点 10 min, 术后平卧 2 ~ 4 小时后, 脱水、镇痛、营养神经等对症治疗。起床戴软颈围。

3. 疗效评价指标

术后 3 天、1 月、3 月采用 Macnab 标准评定疗效^[3]。(优: 症状完全消失, 恢复原来的工作和生活; 良: 有稍微症状, 活动轻度受限, 对工作生活无影响; 可: 症状减轻, 活动受限, 影响正常工作和生活; 差: 治疗前后无差别, 甚至加重)。

4. 统计学方法

本研究计量资料用 *t* 检验, 等级资料采用秩和检验。P < 0.05 时有显著性差异, 具有统计学意义。

结 果

所有患者均局麻下配合完成手术。术后 3 天优良率达 84% (42/50), 术后 1 月优良率 90% (45/50), 术后 3 月优良率 92% (46/50)。全组患者均未出现疼痛麻木加剧、肌无力、血肿及感染等并发症 (见表 1)。

讨 论

颈椎间盘突出导致的神经根型颈椎病是临床上最为常见的脊柱疾病。椎间盘纤维破裂髓核突出, 刺激压迫神经根、血管或脊髓等组织, 出现颈肩或上肢的疼痛、麻木、无力的情况。因 C₄₋₅、C₅₋₆、C₆₋₇ 是活动最多、承受应力最大之处, 故此处病变最多。凸出的髓核压迫刺激神经根产生无菌性炎症, 受压的脊神经根缺血, 产生剧烈疼痛。

射频技术是通过射频针尖的裸端汽化椎间盘髓

△ 通讯作者

表 1 手术后不同时间疗效比较

术后时间	优	良	可	差	优良率
3天	20	22	7	1	84%
1月	33	12	5	0	90%
3月	40	6	4	0	92%

注：术后三天，一月，三月相比较， $P=0.0001$ ， $P<0.05$ 。



图 1 穿刺示意图

核组织，使胶原蛋白分子螺旋结构收缩，使髓核体积缩小，达到减压的目的。同时射频热效益又达到炎症因子、致痛因子、窦椎神经疼痛感受器的灭活和水肿的消除^[4]。臭氧是一种强氧化剂，它能氧化、破坏髓核细胞，导致髓核失水萎缩，从而能减轻髓核对神经的压迫^[5]，减轻射频治疗引起的炎性反应。同时具有消炎、止痛的作用，在治疗椎间盘源性疼痛中具有很好效果^[6]。臭氧量的注射压力及剂量控制到位，特别是后方有破裂的，控制在 4 ml 以内。先行射频后给予臭氧注射方法与宋文阁等研究一致^[7]，可避免对射频神经检测的影响。通过联合应用扩大了微创手术的适应症，提高了微创手术的疗效。减少了副作用，同时也能有效的预防椎间盘内的感染机会。

通过对术后定期随访（1个月、3个月），未出现不良反应及并发症，原有症状未复发。通过多点射频和臭氧消融的联合，突出物萎缩变小，神经根的机械压迫得到缓解，患者的症状也很好的得以缓解^[8]。术中椎间盘造影阳性率达 100%，同时有效的复制疼痛或激惹征出现。若造影剂阴性或射频温度达 80° 仍无疼痛复制，应该重新调整针尖位置，直至疼痛复制为止，这是手术有效的关键^[9]。本组患者根据突出的靶点左右增加了一个射频点位，是为了增大对突出物的辐射面积，使突出物萎缩的范围扩大，同时也可更大范围的修复纤维环。使患者椎间盘减压更有效。根据观察术中激惹征明显的，术后症状改善更明显。为了减少热损伤及终板炎的发生，适当减少了射频时

间。回顾 1 例效果差的患者，女，50 岁，行手术治疗术后，手臂麻木疼痛症状缓解，但出现心慌、头晕症状，严重焦虑，考虑更年期症状，给予抗焦虑、对症，持续治疗 20 余天，缓解。因此我们认为围术期对患者的评估及宣教与沟通非常重要，消除紧张、恐惧心理。更年期妇女谨慎选择^[10]。针对椎间盘射频后椎间隙高度的改变及高温对终板的远期影响还有待进一步观察和研究。对于术后的残余症状，还可采取一些联合治疗，颈部硬膜外灌注、颈交感神经阻滞等改善周围血运，降低炎症刺激。

根据临床的疗效观察，该方法对颈椎间盘突出症引起的神经根型颈椎病有效且安全，效果良好。

参考文献

- [1] Derivation of a Clinical Decision Guide in the Diagnosis of Cervical Facet Joint Pain. Archives of Physical Medicine and Rehabilitation, 2014, 95:1695 ~ 1705.
- [2] Pulsed RF of cervical nerve root for the treatment of cervical radicular pain: a prospective and randomized study. The Journal of Pain, 2014, 15:99.
- [3] Macnab I. Negative disc exploration: an analysis of the causes of nerve root involvement in 68 patients. J Bone Joint Surg (Am), 1971, 53:891 ~ 903.
- [4] 王晓宁, 侯树勋, 吴文闻, 等. 射频消融髓核成形术治疗椎间盘突出症初步报告. 中国脊柱脊髓杂志, 2004, 14:99 ~ 101.
- [5] Ozone (O₃) elicits neurotoxicity in spinal cord neurons (SCNs) by inducing ER Ca²⁺ release and activating the CaMKII/MAPK signaling pathway. Toxicology and Applied Pharmacology, 2014, 280:493 ~ 501.
- [6] Ozone-augmented percutaneous discectomy: A novel treatment option for refractory discogenic sciatica. Clinical Radiology, 2014, 69:1280 ~ 1286.
- [7] 伍建平, 赵序利, 谢珺田, 等. 靶点射频热凝联合臭氧注射治疗腰椎间盘突出症的临床研究. 中国疼痛医学杂志, 2010, 16:204 ~ 206.
- [8] 刘琳, 林明奎. 双极脉冲射频热凝术联合医用臭氧注射治疗腰椎间盘突出所致腰椎管狭窄症的临床疗效. 实用疼痛学杂志, 2013, 4:97 ~ 100.
- [9] 陈富强. 突出物靶点射频消融联合臭氧盘内外注射治疗腰椎间盘突出症的临床研究. 中国疼痛医学杂志, 2010, 16:269 ~ 271.
- [10] 刘娜, 吴大胜. 射频消融联合臭氧髓核溶解术与微创治疗颈椎间盘突出症的疗效对比研究. 中国疼痛医学杂志, 2012, 1:63.

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.019

• 临床病例报告 •

三叉神经痛温控射频热凝术后化脓性脑膜炎治疗体会

张飞娥[△] 徐灵军

(长治医学院附属和平医院疼痛科, 长治 046000)

三叉神经痛 (trigeminal neuralgia) 是最常见的脑神经疾病, 以一侧面部三叉神经分布区内反复发作的阵发性剧烈痛为主要表现。温控射频热凝术是治疗三叉神经痛的临床疗效较确切的微创治疗手段。三叉神经痛温控射频热凝术后合并化脓性脑膜炎 (purulent meningitis) 是较少见的并发症。现报道本院三叉神经痛患者温控射频热凝术后化脓性脑膜炎治疗体会。

方 法

1. 一般资料

患者, 男性, 39岁, 因左面部阵发性电击样疼痛2年加重6月入院。患者2年前出现左面部阵发性电击样疼痛, 吃饭、说话、洗脸可诱发疼痛, 疼痛主要位于左侧面部上、下颌区, 发作持续时间约1~2分钟, 间歇期不定, 疼痛时不伴有恶心、头痛, 诊断为三叉神经痛(左II、III支), 口服卡马西平, 200 mg, 4次/日, 疼痛可缓解, 患者无法耐受药物治疗。查体: 左面部上颌区、下颌区疼痛, 扳机点存在, 鼻腔无脓性分泌物, 副鼻窦无压痛, 角膜反射正常, 眼球活动正常, 视力正常, 咀嚼肌肌力正常。视觉模拟评分 (visual analogue scale, VAS) 评分7分。辅助检查: 血常规: 白细胞: $6.4 \times 10^9/L$, 中性粒细胞百分比 (%): 0.689。肝功能、肾功能正常。胸片: 双肺未见异常变化。心电图: 窦性心律。头颅CT: 未见异常。

2. 治疗

积极术前准备, 入院后第三日在全麻下行三叉神经感觉根温控射频热凝术, 常规消毒铺无菌单, 采用 Hartel 前入路穿刺, 穿刺成功, 拔出针芯, 有脑脊液自穿刺针溢出, 且患者口腔有少量血性分泌物, 测试成功后, 连续热凝, $75^\circ C$, 每次60 s, 共3次, 手术结束后患者无不适, 左面部疼痛消失。术后2小时内预防性使用头孢唑啉钠 2.0 g, 并辅以甘露醇、七叶皂苷钠脱水消肿治疗。术后第1日, 患者

左面部疼痛消失, VAS 评分 0 分, 左侧上、下颌区、舌左侧感觉麻木, 双侧角膜反射正常, 眼球活动正常, 视力正常。术后第2日上午患者出现上呼吸道感染症状, 全身肌肉疼痛, 乏力, 中午患者出现体温 $39^\circ C$, 伴有头痛, 查体: 颈软无抵抗, 病理征 (-), 当时怀疑颅内细菌性感染, 使用甘露醇加用抗生素头孢唑啉钠 2.0 g, 物理降温, 肌注柴胡、安痛定各 2 ml, 3 小时后患者体温略下降, 头痛症状加重。查体: 颈部略强直, Brudzinski 征 (+), Kernig 征 (+)。急查血常规: 白细胞: $12.3 \times 10^9/L$, 中性粒细胞百分比 (%): 0.803。高度怀疑化脓性脑膜炎, 行腰椎穿刺术, 测颅压 $190 \text{ mmH}_2\text{O}$, 脑脊液微浑浊, 作脑脊液常规、生化、培养和药敏检查。脑脊液生化结果: 葡萄糖: 1.54 mmol/L , 总蛋白: 1.67 g/L , 氯测定: 116.1 mmol/L 。脑脊液常规结果: 淡黄色微浑, 潘氏实验: 2^+ , 脑脊液白细胞计数: $2400 \times 10^6/L$ 。脑脊液涂片未见结核分枝杆菌和隐球菌, 确诊为化脓性脑膜炎。使用头孢曲松钠 4.0 g, 1 次/日, 甘露醇 250 ml, 4 次/日, 地塞米松 10 mg, 1 次/日, 用药后约 6 小时头痛缓解, 体温恢复正常。治疗 2 日后复查血常规: 白细胞: $12.1 \times 10^9/L$, 中性粒细胞百分比 (%): 0.717, 未再出现高热和头痛症状。治疗 1 周后再次行腰椎穿刺术复查: 颅压 $120 \text{ mmH}_2\text{O}$, 脑脊液外观清亮, 其余指标均在正常范围, 复查血常规, 结果正常, 停用甘露醇和地塞米松, 继续静脉注射头孢曲松钠 4.0 g, 1 次/日, 治疗共 10 日患者所有检查结果恢复正常, 痊愈出院。

结 果

术后患者左上、下颌区疼痛消失, 伴左侧面部轻度麻木, 双侧眼球活动正常, 角膜反射正常。出院后 1 个月随访, 患者未再出现头痛、呕吐及体温升高等症状。

[△] 通讯作者 zfe6509xy@aliyun.com

(下转第 76 页)

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.020

塞来昔布与普瑞巴林以递增剂量联合治疗膝骨性关节炎疼痛的临床效果

柯雪茹¹ 雷波¹ 方锐^{2Δ} 王明春¹

(新疆医科大学附属中医医院¹麻醉科; ²关节外科, 乌鲁木齐 830000)

本研究旨在观察塞来昔布与普瑞巴林分别以逐渐递增的剂量方式联合用于缓解膝骨关节炎(KOA)患者疼痛程度及改善日常功能的有效性及安全性, 为治疗膝骨性关节炎提供新思路 and 手段。

方 法

1. 纳入标准及排除标准

(1) 纳入标准: ①临床症状及影像学改变符合美国风湿病协会标准, 确诊为膝骨关节炎患者。②视觉模拟评分(VAS)评分≥4分。(2) 排除标准: ①伴有全身炎症或自身免疫性疾病者。②有重要脏器功能不全者。③既往有上消化道溃疡或出血者。④有普瑞巴林、塞来昔布或磺胺类药物过敏者。

2. 试验设计

试验共纳入 81 例 KOA 患者, 将所有患者随机分为 A、B 两组, A 组 41 例, B 组 40 例。具体治疗方案为: A 组固定塞来昔布剂量 100 mg/天, 普瑞巴林起始量 75 mg/天, 每天评估患者 VAS 评分, 若上一个 24 小时 VAS 评分在 3 分以上, 普瑞巴林以 75 mg/天递增, 最大剂量不超过 300mg/天; B 组固定普瑞巴林剂量 75 mg/天, 塞来昔布起始量 100 mg/天, 每天评估 VAS 评分, 若患者上个 24 小时 VAS 评分在 3 分以上塞来昔布以 100 mg/天递增, 最大量不超过 400 mg。整个试验共进行 21 天, 在治疗开始前 24 小时采用 VAS 评分及 WOMAC (Western Ontario McMaster University Osteoarthritis Index) 评分量表评估两组患者临床症状及日常活动状况。治疗开始后记录两组患者每天的 VAS 评分, 根据 CTCAE4.02 量表记录药物不良反应的种类、分级; 在治疗第 21 天再次进行最终 VAS 评分及 WOMAC 评分。

3. 有效性和安全性评价

将疼痛(VAS 评分)降低的幅度至少大于三分之一及所需时间定义为主要终点指标, 次要终点指标为 WOMAC 评分及最终 VAS 评分。采用 CTCAE

4.02 量表评估药物安全性。

4. 统计学分析

主要终点指标采用生存分析 Kaplan-Meier 曲线, 多因素分析采用 COX 回归模型。次要终点指标采用 *t* 检验。

结 果

1. 主要终点指标结果

A 组和 B 组患者 VAS 评分降低的人数和比例分别为 29 (70.7%) 和 25 (62.5%), A 组和 B 组患者达到主要终点指标的时间分别为 9 (6.7 ~ 11.3) 天和 14 (10.1 ~ 18.0) 天(见图 1), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。A 组患者达到主要终点指标所需的普瑞巴林平均剂量为 170 mg/天, B 组患者达到主要终点指标所需的塞来昔布量为 200 mg/天。COX 回归模型显示基础 VAS 评分对主要终点指标影响显著 ($OR = 0.77, 95\% CI: 0.64-0.76, P 值 = 0.017$)。

2. 次要终点指标结果

A、B 两组患者最终 VAS 评分均数分别为 2.9 和 3.8 ($P < 0.05$), A、B 两组患者最终 WOMAC 评分无统计学意义。两组患者药物主要不良反应为恶心、腹痛和头晕, 差异无统计学意义。

讨 论

OA 的疼痛机制复杂, 没有任何一种机制能够完全解释。目前的研究认为 OA 疼痛是多种机制共同参与的结果。塞来昔布是目前临床用于治疗骨关节炎(OA)疼痛的一线用药, 它是特异性环氧酶-2 (COX-2) 抑制剂, 能够抑制中枢神经系统前列腺素的产生而抑制疼痛。但由于非甾体类抗炎药物镇痛效果存在天花板效应, 且随剂量增加和使用时间的延长不良反应也随之增加而限制了其临床使用。

普瑞巴林是一种新型的治疗神经病理性疼痛的药物, 它能与电压门控钙通道的 2-亚单位结合减少兴奋性异常的神经元突触前膜钙内流, 从而使兴奋

Δ 通讯作者 email.xjfr@163.com

性神经递质释放减少，有止痛、抗焦虑、抗惊厥的作用，目前已经被广泛用于神经病理性疼痛的治疗。

研究结果显示，与增加塞来昔布的剂量相比，增加普瑞巴林的剂量达到VAS降低基础值的三分之一以上所需时间更短（平均为9天），最终VAS降低更明显（VAS为2.9）。此结果表明以塞来昔布为基础，根据患者疼痛程度逐渐增加普瑞巴林的剂量能够更好更快的缓解KOA患者疼痛。这一方面可能与普瑞巴林能够抑制兴奋性递质释放，降低脊髓背角神经元的兴奋性，有效缓解痛觉过敏有关，另一方面普瑞巴林具有抗焦虑、改善患者睡眠的作用，能够减轻患者因疼痛而产生的焦虑情绪，对减轻疼痛感受也起到一定辅助作用，这是非甾体类抗炎药所不具备的。

本研究显示在整个短期（21天）的研究中，患者依从性较强。两组患者对普瑞巴林均有较好的耐受性，主要的不良反应是眩晕和外周水肿，严重程度均为1~2级，随着普瑞巴林剂量增加未见严重不良反应发生，与以往文献报道基本一致。因此普瑞巴林的使用一方面弥补了非甾体类药物的天花板效应，另一方面也在一定程度避免了增加非甾体类抗炎药剂量引起消化道出血和肾功能损害的不良事件。

虽然在临床中观察到A组患者日常活动状况

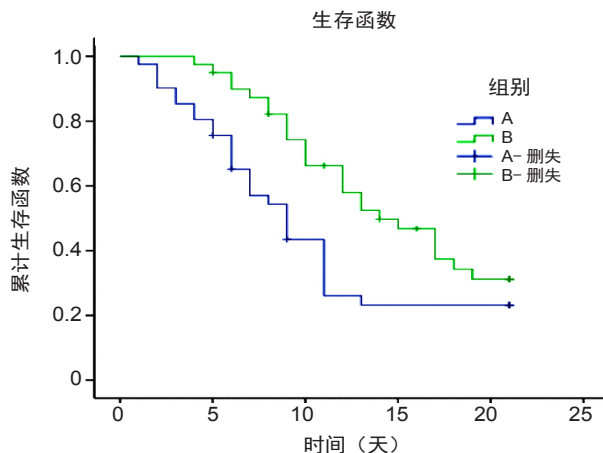


图1 两组患者Kaplan-Merier曲线比较

改善优于B组，但统计学结果显示两组患者最终WOMAC评分无显著性差异，可能与样本量偏小统计学无法显示其差异有关。

OA疼痛机制复杂，单一用药效果有限，如何联合不同镇痛机制的药物，以达到最大临床有效性及安全性是临床医生面临的课题。本研究表明，以非甾体类药物为基础，根据患者疼痛程度，逐渐调整普瑞巴林剂量能够有效缓解骨关节炎患者疼痛程度，且安全性高，为OA疼痛治疗提供新的思路。

(上接第74页)

讨论

三叉神经痛温控射频热凝术是一种三叉神经感觉根（或半月神经节）损毁术，常用于治疗原发性三叉神经痛，疗效较好，一般能够术后立即止痛。化脓性脑膜炎是由化脓性细菌感染所致的脑脊膜炎，是中枢系统常见的化脓性感染。临床表现主要为感染症状如发热和寒战或上呼吸道感染，脑膜刺激征，表现为颈项强直，Kernig征和Brudzinski征阳性，老年人症状可不明显，颅压增高，可表现为剧烈头痛、呕吐和意识障碍，腰穿时可检测到明显的颅内压增高，部分患者可能出现偏瘫和失语以及皮疹，相关辅助检查血常规白细胞增高，以中性粒细胞为主。脑脊液检查：外观混浊或米汤样。压力持续增高(>180 mmH₂O，若压力>400 mmH₂O，提示脑水肿，并有发生脑疝的可能性。脑脊液细胞数增多，白细胞数为(0.25~10)×10⁹/L，一般在(1-10)×10⁹/L范围内，以中性粒细胞为主。蛋白含量>0.45 g/L，多在1~5 g/L。糖含量减少，常<2.2 mmol/L。

结合治疗经过，本例患者引起化脓性脑膜炎的最可能的原因是，在穿刺过程中穿刺针误入口腔，造成穿刺针污染。且随后穿破了梅克尔囊，使细菌进入脑膜内，引起脑膜炎。

三叉神经痛温控射频热凝术穿刺过程污染是造成颅内感染的最直接和最常见的原因。为预防和避免再次出现类似的并发症，行三叉神经痛温控射频热凝术应注意以下几点：①严格无菌操作，充分消毒，如发现穿刺针污染迹象（如口腔血性分泌物），及时更换穿刺针，并重新局部消毒。②精确定位，谨慎操作。术前准备过程中以及穿刺前精确定位，确定穿刺路径，同时注意固定患者头部，减少穿刺次数。③在术前、术中、术后密切观察患者病情变化，注意监测体温、血常规及神经系统体征的变化，以便及时发现异常，如有体温升高或出现神经病理征时要及时行必要的实验室检查，尽早明确诊断，一旦确诊颅内感染，早期、足量使用有效的抗菌药物，积极治疗，避免发生严重后果。

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.021

体位复位经皮椎体后凸成形术治疗 骨质疏松性椎体骨折

于珂¹ 沈红卫^{2Δ}(山东省青岛市市立医院¹骨科; ²神经内科, 青岛 266011)

骨质疏松性椎体压缩骨折 (Osteoporotic vertebral compression fracture, OVCF) 是一种发生在老年, 尤其是老年女性患者中的常见病。经皮椎体后凸成形术 (Percutaneous kyphoplasty, PKP) 作为一种安全有效的微创手术, 能够迅速缓解病椎引发的疼痛, 已被广泛应用于该病的治疗之中, 被临床医生及患者所接受。而术中体位复位对 PKP 顺利进行并提高 PKP 的手术效果也有着不可忽视的重要作用。我院自 2008 年 2 月以来, 采用体位复位结合 PKP 治疗 OVCF 45 例, 获得了令人满意的疗效, 报道如下。

方 法

1. 一般资料

本组 45 例患者中, 男 17 例, 女 28 例, 年龄 59 ~ 79 岁, 平均 68.7 岁。均有轻微外伤史, 如坐矮凳歪倒臀部着地, 晾晒衣物时弯腰扭伤, 甚至打喷嚏时突然弯腰等, 所有患者术前均有不同程度的胸背痛或腰痛, 改变体位可诱发或加重疼痛, 活动受限, 生活难以自理, 均需专人陪护。无脊髓或神经根压迫症状及体征。发病至入院病程 3 天至 20 天, 平均 6.5 天。查体均有伤椎屈伸活动疼及棘突叩痛。所有患者均行 X 线片、MRI 及 CT 检查。X 线片上可见病变椎体呈楔形变及双凹形变。所有病变椎体在 MRI 的 T1 加权像上呈低信号, T2 加权像及脂肪抑制序列像 (STIR) 呈界限清晰高信号区域, 为新发的椎体压缩骨折。术前均测定骨密度, 采用双能 X 线吸收法测定腰椎骨密度, 平均值为 -3.85 SD, 结合 X 线表现, 确诊为骨质疏松症。45 例患者共有 47 个压缩骨折椎体接受手术, 分布如下: T₉2 个, T₁₀3 个, T₁₁8 个, T₁₂15 个, L₁15 个, L₂3 个, L₃1 个。

CT 和 MR 检查排除椎体占位性病变、椎间盘病变、椎管狭窄、椎管内占位等硬膜囊、神经根受压造成疼痛, 最终明确患者疼痛均来源于胸腰椎。实验室及全身检查证实患者无明显手术禁忌症。

2. 手术方法

麻醉采用气管插管全麻, 腰椎可采用硬膜外麻醉, 少数压缩较轻能够耐受疼痛者采用局部浸润麻醉。麻醉成功后, 患者俯卧位, 胸部及骨盆、股部加垫使胸腰段适度背伸, 将床向上对折摇起约 30 ~ 60°, 保持胸腰段过伸。同时作胸 - 骨盆带持续牵引, 重量每侧 10 ~ 20 kg, 术者用双手叠掌在患者脊椎椎体骨折节段背部稍加力按压数次, C 型臂 X 线机透视可见骨折椎体已部分复位。然后常规消毒, 铺无菌巾, C 型臂 X 线机透视监测下经双侧或单侧椎弓根或椎弓根旁穿刺, 至椎体后缘前方约 3 mm 处, 依次放置导针, 各种套管, 建立工作通道, 经通道将可扩张球囊导入椎体至前 3/4 处。单球囊双侧交替扩张椎体或单侧扩张使压缩椎体进一步复位, 将调配好的骨水泥注入推杆, 待骨水泥处于拉丝期后期或团状期早期, 经工作套管缓慢推入椎体, 透视监测至充填接近椎体边缘时停止。依次拔出套管, 避免拖尾, 待骨水泥固化后, 停止牵引, 手术床放平, 患者改平卧位。。

3. 术后处理方法

术后平卧 6 h、12 h 后坐起, 1 ~ 2 天下地活动, 观察患者症状、体征改变以及是否有并发症发生。术后给予钙剂, 活性维生素 D 及密盖息等抗骨质疏松药物治疗。

4. 疗效评估方法

(1) 术前、术后与随访时对患者进行视觉模拟评分法 (visual analogue score, VAS)。(2) 测量术前术后骨折椎体高度, 矢状面 Cobb's 角。(3) 选取相同例数采用非体位复位常规行 PKP 的患者作为对照组, 测量两组患者术前术后骨折椎体高度, 矢状面 Cobb's 角。

5. 统计学分析

应用 SAS 8.0 软件进行统计分析。术前、术后与随访时的比较, 体位复位组与对照组的比较均采用配对 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

Δ 通讯作者 shw593@163.com

结果

1. 所有患者手术过程顺利，椎弓根穿刺成功率100%，术后疼痛症状消失或明显缓解，术后1~2天下地活动，生活质量明显提高，术后住院6~12天（平均8天）。未出现肺栓塞等严重并发症，1例患者术中出现一过性神经根激惹症状，1例患者少量骨水泥椎管内渗漏，2例椎体侧方渗漏，均无神经功能障碍。术后随访10~18个月（平均13个月），全部患者得到随访，无脱标病例，所有患者胸背部疼痛症状无复发，X线片未见手术椎体恢复高度再丢失。

2. VAS 评分

术前评分为 8.1 ± 1.4 ，术后为 2.5 ± 1.0 ，有显著性差异 ($P < 0.01$)，随访时为 2.2 ± 0.6 ，与术后无明显变化 ($P > 0.05$)。

3. 椎体高度及 Cobb's 角

伤椎前缘高度值 = 伤椎前缘高度 / 伤椎上下椎体高度平均值 $\times 100\%$ ，由术前的 (18.6 ± 3.2)% 恢复至术后的 (65.2 ± 8.1)%，有显著性差异 ($P < 0.01$)。Cobb's 角 ($^{\circ}$) 术前为 (18.20 ± 10.28)，术后 (7.40 ± 6.26)，有显著性差异 ($P < 0.01$)。

4. 体位复位组与对照组的对比 (见表1)。

可进一步减少骨水泥注射压力，从而减少了术中术后并发症。本组病例 (PKP+ 体位复位) 与对照组 (PKP) 经统计学比较，在椎体高度恢复及 Cobb 角矫正方面是有优势的 (见表1)。查阅文献，有作者在行 PKP 前利用体位进行复位，发现椎体高度恢复率和后凸畸形矫正率均较好。还有作者认为术中采取过伸手法，使压缩楔形变的椎体恢复一定的高度，改善脊柱后凸畸形是必要的。

当然，体位复位只有结合 PKP 才能达到使椎体高度恢复最大化的效果，PKP 是基础，通过球囊扩张恢复伤椎高度，矫正后凸畸形，更重要的是通过向伤椎内灌注骨水泥增加伤椎支撑力而达到即刻稳定脊柱、缓解疼痛的治疗效果。PKP 的良好效果不可否认。

麻醉选择建议首选全麻，伴有心肺疾患麻醉风险较大者可选局麻，腰椎椎体骨折可选硬膜外麻醉，局麻止痛效果差，操作中患者有时疼痛较重，难以配合手术，体位复位时不能做到过伸，因而影响手术效果。

骨水泥渗漏是 PKP 手术中的常见并发症。绝大多数的骨水泥渗漏不会引起明显的临床症状，但少数情况可导致神经根和脊髓损伤。术中应严格按照规定程序操作，准确掌握骨水泥的注入时机和骨水

表 1 体位复位组与对照组手术前后患椎后凸矫正情况 ($\bar{x} \pm SD$)

分组	例数	伤椎数	伤椎前缘高度值 (%)		伤椎 Cobb 角 ($^{\circ}$)	
			术前	术后	术前	术后
体位复位组	45	47	18.6 ± 3.2	$65.2 \pm 8.1^*$	18.20 ± 10.28	$7.40 \pm 6.26^*$
对照组	45	48	19.2 ± 2.9	$56.5 \pm 6.2^{*#}$	18.71 ± 9.85	$10.31 \pm 5.67^{*#}$

* $P < 0.05$, 与术前相比; # $P < 0.05$, 与体位复位组对比

讨论

查阅以往文献，对于老年 OVCF 采用经皮椎体成形术 (PVP) 或 PKP 的治疗方法中，多简单地采用俯卧位，没有或较少提及体位复位这一历史悠久的方法，多数作者强调通过球囊扩张，挤压上下终板使伤椎高度恢复，后凸畸形矫正。但我们在实际操作中却发现，首先复位效果不够，有的压缩骨折椎体压缩接近 IV 度，仅采用球囊扩张能达到 II 度就已经很理想了，继续扩张有突破终板或椎体侧壁及球囊压力过高破裂的风险；其次球囊扩张完毕后必须撤出才可灌注骨水泥，一旦失去了球囊的支撑，已经获得的复位马上再次丢失。而通过体位进行过伸复位后，可以预先获得一定程度的复位，降低了 PKP 复位的难度及球囊破裂的危险，复位效果也比较理想，球囊撤出后，通过过伸体位维持，复位再丢失少，压缩椎体恢复可以达到 I 度甚至解剖复位，

泥注入量，术中骨水泥注入应在透视动态监测下进行，骨水泥接近椎体边缘时立即停止，如椎体前壁有裂隙，可采取分次注射的方法，即用高粘度的骨水泥封堵裂隙，待凝固后再注入弥散能力较好的骨水泥。骨水泥的注射量目前没有统一标准，有文献称 2 ml 的骨水泥即可恢复所有椎体的强度，骨水泥注射量与术后疗效无显著性相关，建议临床医生不必寻求大量的骨水泥注入，而应当力求手术的安全。

术后临近椎体骨折早已受到医生及学者的关注，国内文献称利用有限元方法分析证明注入较小剂量骨水泥，椎体成形术不足以引起由于应力集中而造成相邻椎体骨折可能性增加。另外适当的抗骨质疏松药物治疗也是非常必要的预防方法。

总之，体位复位结合经皮椎体后凸成形术是治疗骨质疏松性椎体压缩骨折的理想方法之一，较单纯 PKP 具有痛苦小，复位效果好的优点，严格规范操作，采取积极的预防措施，可有效避免严重并发症的发生。

doi:10.3969/j.issn.1006-9852.2015.01.022

复方苦参注射液联合硫酸吗啡缓释片治疗 中重度癌痛的临床观察

元建华¹ 赵清梅^{2Δ} 廖燕¹ 李建旺¹ 彭大为¹ 王美清¹⁽¹⁾海口市人民医院肿瘤科,海口 570208; ⁽²⁾四川绵阳四〇四医院肿瘤科,绵阳 621000

癌痛是晚期癌症患者常见症状,目前已被广泛看作癌症患者的第五生命体征。癌痛不仅引起患者躯体的不适,同时从心理、生理、精神和社会等多方面干扰和破坏患者的生存质量。即使在发达的国家,仍50%~80%的癌痛患者没有得到明显缓解。因此有效的止痛治疗尤为重要。癌痛治疗的目的在于使癌症患者自身减轻所承受的巨大痛苦,改善消极的心理状态,提高生活质量的基础上延长患者的生命。2010年6月至2011年12月我科应用复方苦参注射液联合硫酸吗啡缓释片(美施康定)治疗中重度癌痛160例,现报告如下。

方 法

1. 入选标准

所有患者均经病理组织学或细胞学确诊为恶性肿瘤;按照数字评分法(numerical rating scales, NRS)为中、重度疼痛;年龄 ≥ 18 岁;治疗前1个月内未行特殊抗肿瘤治疗(包括双磷酸盐治疗);观察前1天未使用止痛药物治疗;无阿片类药物滥用史。主要排除对复方苦参注射液过敏者;治疗过程中需接受抗肿瘤治疗者;合并心、肺、肾等严重原发性疾病、有精神病史者。

2. 一般资料

2010年6月至2011年12月海口市人民医院住院160例癌痛患者,其中男94例,女66例,年龄35~85岁,中位年龄64岁。用随机数字法将160例中重度癌痛的癌症患者随机分组,治疗组80例,中度疼痛54例,重度疼痛26例;对照组80例,中度疼痛56例,重度疼痛24例。两组患者在年龄、病情、疼痛程度等一般状况无统计学差异。

3. 治疗方法

治疗组患者给予美施康定(北京萌蒂制药有限公司,国药准字H10980062)30 mg/12 h;复方苦

参注射液(山西振东制药股份有限公司,国药准字Z14021231)20 ml加入生理盐水200 ml中静滴,1次/天。按TIME原则给予剂量滴定。每日评估疼痛程度,出现爆发痛时用即释吗啡片解救,每日爆发痛 ≥ 3 次,则增加下次用药剂量,剂量滴定按以下方法:疼痛评分 ≥ 7 ,剂量增加50%~100%,疼痛评分4~6,剂量增加25%~50%,疼痛评分 ≤ 3 ,增加剂量25%,若疼痛评分持续 ≤ 3 ,则不继续加量,滴定时间3天。对照组患者口服美施康定,初始剂量、剂量滴定方法、滴定时间及处理爆发痛方法同治疗组。

4. 疗效标准

(1)采用NRS评分法:由患者自我评估疼痛程度。评分0为无痛;1~3为轻度疼痛;4~6为中度疼痛;7~10为重度疼痛。治疗1周后由医生评估疼痛缓解程度:疼痛减轻 $< 25\%$ 为无缓解,疼痛减轻25%~49%为轻度缓解,疼痛减轻50%~74%为中度缓解,疼痛减轻75%~99%为明显缓解,疼痛缓解100%为完全缓解。疼痛缓解率=中度缓解+明显缓解+完全缓解。

(2)生活质量评价:参照简明疼痛调查表(BPI)中文版记录有关QOL的项目分数。用一般活动、睡眠、正常工作、行走能力、情绪、社交及娱乐7个指标进行评价,每个指标分为0~10分,0分指无影响,10分指完全影响。

5. 统计学方法

采用SPSS 13.0软件进行数据分析,计数资料采用 χ^2 检验,计量资料以 $(\bar{x} \pm SD)$ 表示,采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 镇痛疗效分析

本研究共入组160例中重度癌痛,其中8例(对

Δ 通讯作者 yuan200908@sina.com

照组 5 例、治疗组 3 例) 患者于用药 3 天内因不耐受美施康定的副反应而退出。治疗组疼痛缓解率 90.94% 显著高于对照组疼痛缓解率 80.0%，差异有统计学意义 ($\chi^2=6.7, P<0.05$, 见表 1)。

2. 生活质量

治疗后两组评价 QOL 各项指标评分均低于基线水平, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。治疗组在一般活动、正常工作、情绪、睡眠、行走能力、娱乐方面, 因疼痛导致的干扰小于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$, 见表 2)。

表 1 两组镇痛效果比较 (例)

组别	无缓解	轻度缓解	中度缓解	明显缓解	完全缓解	疼痛缓解率
治疗组	1	6	10	39	21	90.9%
对照组	3	12	20	28	12	80.0%

表 2 治疗前后生活质量得分 ($\bar{x}\pm SD$)

	治疗组 ($n=77$)		对照组 ($n=75$)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
一般活动	8.4±0.6*	3.8±0.5 [△]	8.8±0.5*	5.5±0.8
正常工作	4.6±0.7*	2.0±0.3 [△]	4.7±0.6*	2.9±1.0
情绪	4.7±0.4*	1.6±0.5 [△]	4.4±0.5*	2.1±0.6
睡眠	4.3±0.5*	1.3±0.3 [△]	4.7±0.5*	2.3±0.7
行走能力	4.8±0.4*	1.9±0.7 [△]	4.5±0.5*	2.8±0.8
社交	4.2±0.3*	1.7±0.3	4.6±0.5*	2.2±0.8
娱乐	5.1±0.5*	1.76±0.5 [△]	5.4±0.8*	2.9±0.6

注: 两组治疗前和治疗后自身对比, * $P<0.05$; 治疗组与对照组比较, [△] $P<0.05$

表 3 两组不良反应比较 (例)

不良反应	治疗组	对照组
便秘	10	16
恶心	6	10
呕吐	5	6
头晕	8	13
嗜睡	4	7
排尿困难	5	7
其他	2	4

棘手问题。有效的止痛治疗, 尤其对中晚期癌症病人, 是世界卫生组织癌症综合规划中四项重点之一。目前控制癌痛的药物多种多样。一般而言, 西药作用机制明确、迅速、高效、持久、剂量易于掌握, 但其毒副作用大, 而中药作用机制不甚明确、较弱、起效较慢、剂量不太易于掌握, 但毒副作用小而轻。因此, 两者联合应用能达到扬长避短、增效减毒、标本兼治的作用。

研究表明, 苦参素的抗癌机制主要包括以下几方面: ①抑制肿瘤细胞增殖。②诱导肿瘤细胞分化和凋亡, 苦参碱不仅能抑制细胞增殖并促进其良性分化, 还能诱导肿瘤细胞的凋亡。③抑制肿瘤细胞转移。④通过免疫机制增强其抗肿瘤活性。复方苦

3. 不良反应

两组均有止痛药常见的不良反应, 治疗组不良反应比对照组症状明显减轻 (见表 3)。研究中未出现精神错乱、幻觉、肌张力异常、癫痫发作和呼吸抑制等严重不良反应。

讨 论

癌痛是癌症患者尤其是中晚期癌症患者的主要症状之一, 处理好癌痛成为临床医师所面临的一个

参注射液具有良好的镇痛作用, 镇痛强度与杜冷丁相似, 可使小鼠痛阈值显著升高, 对癌症引起的轻中度疼痛具有一定的疗效。本组研究显示: 治疗组疼痛缓解率 90.9%, 而对照组为 80.0%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 这说明复方苦参注射液联合美施康定对中重度癌痛具有很好的治疗作用。两组治疗后的 QOL 均较治疗前明显改善, 治疗组的一般活动、正常工作、情绪、行走能力、睡眠、娱乐均较对照组明显改善。

综上所述, 美施康定用于治疗中重度癌痛安全、有效、方便, 加用复方苦参注射液后, 减少了美施康定的副反应, 明显改善了患者的 QOL, 是治疗中重度癌痛的理想方案, 值得临床推广应用。