

• 实验研究 •

止痛 I 号酊剂外用对大鼠脊髓及脑组织 β -内啡肽、P 物质的影响张海波^{1*} 曲鑫¹ 张敏妮² 朱燕娟¹ 刘泽鸿¹ 吴万垠¹

(1. 广东省中医院, 广东省广州市越秀区大德路 111 号, 510120; 2. 广州市海珠区石溪中医院)

基金项目: 加拿大泰瑞·福克斯癌症科研基金资助项目

* 通讯作者: haibozh@yahoo.com.cn, 13724123615

[摘要] 目的 探讨止痛 I 号酊剂外用镇痛的可能作用机制。方法 Wistar 大鼠 20 只随机分为治疗组和对照组各 10 只, 治疗组给予止痛 I 号酊剂, 对照组给予 75% 医用酒精, 两组均按 0.3 ml/只, 涂擦大鼠后足及整个大腿, 20 min 1 次, 连续 6 次; 最后一次给药 30 min 后, 右侧后肢脚掌注射 5% 甲醛溶液 0.1 ml, 测量大鼠足跖厚度及周长的变化情况, 并通过免疫组化法观察大鼠脊髓 L4-5 节段及大鼠脑组织 P 物质(SP)及 β -内啡肽含量情况。结果 两组大鼠致炎后足跖厚度与周长均较致炎前明显增加($P < 0.05$); 致炎后治疗组足跖厚度与周长低于对照组($P < 0.05$)。治疗组脑和脊髓组织中的 β -内啡肽含量均高于对照组($P < 0.05$); 治疗组脊髓组织中的 SP 含量低于对照组($P < 0.05$), 而两组大鼠脑组织中 SP 的含量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 止痛 I 号酊剂外用具有良好的抗炎镇痛作用, 其机制可能与提升脑和脊髓中抗伤害性感受递质 β -内啡肽含量, 减低伤害性感受递质 SP 产生有关。

[关键词] 疼痛; 止痛 I 号酊剂; P 物质; β -内啡肽

Effect of Pain-Relieving Formula I Tincture on β -Endorphin and Substance-P in Spinal Cord and Brain in Rats

ZHANG Haibo¹, QU Xin¹, ZHANG Minni², ZHU Yanjuan¹, LIU Yihong¹, WU Wanyin¹

(1. Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangdong Province 510120; 2. Shixi TCM Hospital of Haizhu District, Guangzhou City)

ABSTRACT Objective To research the possible analgesic mechanism of Pain-Relieving Formula I Tincture for external use.

Methods Twenty Wistar rats were randomized into the treatment group and control group, with 10 in each. Pain-Relieving Formula I Tincture and 75% alcohol was applied topically on the hind feet and entire thighs of rats in the treatment group and control group respectively, 0.3 ml per rat, 20 min once for 6 times continuously. The right hind feet of rats were injected with 5% formalin solution 0.1 ml and the paw thickness and perimeters were measured 30 min after the last administration. The contents of substance-P (SP) and β -endorphin in spinal cord segments L4-5 and brain were observed by immunohistochemistry.

Results The hind paw thickness and perimeters were significantly increased in both groups after proinflammation ($P < 0.05$). The hind paw thickness and perimeters in the treatment group were lower than those in the control group after proinflammation ($P < 0.05$). The content of β -endorphin in spinal cord and brain in the treatment group was higher than that in the control group ($P < 0.05$). The content of SP in spinal cord in the treatment group was lower than that in the control group ($P < 0.05$). There was no significant difference between groups in the content of SP in the brain tissue ($P > 0.05$). **Conclusion** Pain-Relieving Formula I Tincture has a better anti-inflammatory and analgesic effect. Its analgesic mechanism may be related to increasing the content of antinociceptive neurotransmitter β -endorphin in the brain and spinal cord and decreasing the content of nociceptive neurotransmitter SP.

Keywords pain; Pain-Relieving Formula I Tincture; substance-P; β -endorphin

据统计目前全世界癌症患者中 30%~50% 伴有不同程度的疼痛, 晚期癌症者高达 60%~90%^[1]。目前西医镇痛疗效虽然比较确切, 但长期使用毒副作用大, 依赖性强, 并受患者耐受性的限制, 致使部分患者镇痛效果欠佳。我们前期对癌

痛“瘀血癌毒”、“久痛入络”的基本病机, 精选 8 种中药组成止痛 I 号外用酊剂, 经临床及动物实验研究证实具有较强的镇痛作用^[2], 但作用机制尚不清楚。因此, 本研究通过动物实验对其可能的镇痛作用机制进行了初步的探讨。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级、健康 Wistar 大鼠 20 只,雌雄各半,体重 200~300 g,由南方医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:0079862。实验前所有动物在实验动物房正常饲养 3 天以上,以适应环境。

1.2 药物及试剂

止痛 I 号酊剂药物组成:延胡索 80 g,血竭 8 g,丹参 80 g,红花 80 g,乌药 80 g,土鳖虫 20 g,重楼 80 g,冰片 10 g。药物均购自广东省中医院中药房,制作方法:将上述药物混合,加入 75% 酒精(广东省广临县胜林葡萄糖药业有限公司,批号:20101101)至高出药物表面 10 cm。浸泡 30 天后,以纱布过滤,取滤液备用。

甲醛溶液,广州维格斯生物科技有限公司生产,批号:1211201。戊巴比妥钠,上海西唐生物技术有限公司生产,批号:wS20100401。

1.3 主要仪器

OLYMPUS CX41 普通光学显微镜, JUN-GRM-2035 恒冷箱切片机(德国美康生产), OLYMPUS BX-60 万能显微摄像机。

1.4 处理方法

采用信封法随机将大鼠分为治疗组和对照组各 10 只,雌雄各半,治疗组给予止痛 I 号酊剂,对照组给予 75% 医用酒精,两组均按 0.3 ml/只,涂擦大鼠后足及整个大腿,20 min 1 次,连续 6 次;最后一次给药 30 min 后,右侧后肢脚掌注射 5% 甲醛溶液 0.1 ml,60 min 后腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉。

1.5 观察指标及方法

①测量足跖厚度及周长。②取 L4—5 节脊髓和下丘脑,采用免疫组化 ABC 法^[3]观察大鼠脊髓 L4—5 节段及脑组织 P 物质(SP)阳性表达以及 β -内啡肽含量情况,应用平均光密度值(OD)分析法,以 IPP 6.0 图像数据分析软件进行结果分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计分析软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,对变量分布进行正态性检验,服从正态分布时,用独立样本 t 检验或 F 检验;非正态分布或方差不齐采用非参数统计方法。

2 结果

2.1 两组大鼠致炎前后足跖厚度与周长比较

表 1 示,两组大鼠致炎后足跖厚度与周长均较致

炎前明显增加($P<0.05$);致炎后治疗组足跖厚度与周长低于对照组致炎后($P<0.05$);治疗组足跖厚度与周长致炎后增长值低于对照组($P<0.05$)。

表 1 两组大鼠致炎前后足跖厚度与周长比较(mm, $\bar{x}\pm s$)

组别	时间	鼠数	厚度	周长
对照组	致炎前	10	4.37 $\pm$ 0.33	23.93 $\pm$ 1.46
	致炎后	10	7.89 $\pm$ 0.15*	31.02 $\pm$ 0.98*
	增长值	10	3.52 $\pm$ 0.13	7.10 $\pm$ 1.50
治疗组	致炎前	10	4.59 $\pm$ 0.35	25.07 $\pm$ 1.00
	致炎后	10	7.62 $\pm$ 0.10* Δ	28.91 $\pm$ 1.02* Δ
	增长值	10	3.03 $\pm$ 0.18 Δ	3.84 $\pm$ 1.20 Δ

注:与本组致炎前比较,* $P<0.05$;与对照组致炎后比较, $\Delta P<0.05$;与对照组增长值比较, $\Delta P<0.05$

2.2 两组大鼠脊髓及脑组织中 β -内啡肽含量比较

两组大鼠的脊髓及脑组织可见 β -内啡肽的阳性反应,但治疗组 β -内啡肽阳性表达细胞数较多,胞浆褐色深染,呈强阳性反应,而对照组则呈弱阳性反应。表 2 示,治疗组在脑和脊髓组织中的 β -内啡肽含量均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 两组大鼠脊髓及脑组织 β -内啡肽含量比较(OD 值, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	脊髓	脑组织
对照组	10	0.112 $\pm$ 0.029	0.068 $\pm$ 0.023
治疗组	10	0.173 $\pm$ 0.039*	0.114 $\pm$ 0.019*

注:与对照组比较,* $P<0.05$

2.3 两组大鼠脊髓及脑组织中 SP 含量比较

两组大鼠的脊髓及脑组织均可见 SP 的阳性表达,但对照组 SP 阳性表达细胞数较多,胞浆褐色深染,呈强阳性反应,而治疗组则呈弱阳性反应。表 3 示,在脊髓组织中治疗组的 SP 含量低于对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组大鼠脑组织中 SP 的含量比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 3 两组大鼠脊髓及脑组织 SP 含量比较(OD 值, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	脊髓	脑组织
对照组	10	0.177 $\pm$ 0.026	0.113 $\pm$ 0.035
治疗组	10	0.110 $\pm$ 0.027*	0.098 $\pm$ 0.043

注:与对照组比较,* $P<0.05$

3 讨论

现代医学认为癌性疼痛发生是由于肿瘤压迫神经及临近组织,引起组织缺血、坏死;癌细胞浸润到淋巴组织,引起肥大细胞释放致炎和致痛化学物质如组织胺、5-羟色胺、缓激肽、前列腺素等,刺激感觉神经末梢引起疼痛^[4];癌细胞浸润到内脏和血管,引

起内脏梗阻,动脉闭塞,静脉瘀血肿胀,刺激胸壁、内脏包膜及血管壁神经感受器而致痛。另一方面由于癌组织大量消耗营养物质,引起机体大量代谢物质的堆积而致痛。

SP 属于速激肽家族,是广泛分布于细神经纤维内的一种神经肽。在负责调节情绪的脑区(杏仁核、导水管周围灰质和下丘脑等)比较丰富,同时在初级感觉神经元的胞体及神经纤维上有较高表达,其主要作用是传递痛觉信息^[5-6]。 β -内啡肽属于内源性阿片肽,是机体抗痛系统的组成部分,具有生理意义,现代研究证实有多种神经递质参与了癌痛过程,其中 P 物质属于初级伤害性感受递质,该递质与接受神经元上的受体结合,将痛觉传入脑内, β -内啡肽属于抗伤害感受递质,能提高患者的痛阈^[7-8]。

我们针对癌痛的基本病机“瘀血癌毒”、“久痛入络”,选取延胡索、乌药、土鳖虫、血竭、丹参、红花、重楼、冰片等具有温通行气、活血化瘀及芳香走窜功效之药,制成止痛 I 号外用酊剂。全方以延胡索为君,功能活血、散瘀、理气、止痛,善治全身各部位疼痛,《本草纲目》称其“专治一身上下诸痛,用之中的,妙不可言”,为治痛之要药;土鳖虫破血逐瘀、通经;血竭活血散瘀止痛,丹参、红花重在活血、养血通经,共为臣药;乌药可加强行气之功,重楼有清热解毒共为佐药;冰片性善走窜开窍,无往不达,芳香之气能避一切邪气,旨在通络,促进诸药透皮吸收,且具止痛之功为佐使之药。全方合用,既体现了中药外用的局部用药特色,又兼顾癌痛的整体病机。本研究结果显示,治疗组致炎后足跖厚度与周长低于对照组

致炎后($P<0.05$),治疗组在脑和脊髓组织中的 β -内啡肽含量均高于对照组($P<0.05$),在脊髓组织中治疗组的 SP 含量低于对照组($P<0.05$)。提示止痛 I 号酊剂的镇痛机制之一可能是作用于周围性疼痛感觉神经末梢,减少了伤害性感受递质 SP 的产生。同时本制剂中的药物可能经皮吸收后兴奋中枢性 β -内啡肽能受体,使抗伤害性感受递质 β -内啡肽的含量增加,从而提高了痛阈,起到镇痛作用。

参考文献

- [1] Elliott AM, Smith BH, Penny KI, et al. The epidemiology of chronic pain in the community[J]. Lancet, 1999, 354(9186):1248-1252.
- [2] 张海波. 中药止痛 I 号外用治疗癌性疼痛的临床与实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2011.
- [3] 巴迎春, 王延华, 李明. 用免疫组化 ABC 法做好脑片的体会[J]. 四川解剖学杂志, 2006, 14(1): 58-59.
- [4] 倪家骧. 癌痛的诊断与治疗[J]. 继续医学教育, 2005, 19(3): 62-66.
- [5] 司马蕾, 厉建春, 蔡淑呈, 等. P 物质和降钙素基因相关肽在骨癌痛—吗啡耐受模型中的表达[J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(8): 562-563.
- [6] 王昆, 谢广茹. 临床癌症疼痛治疗学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2003: 16-18.
- [7] Chemow B, Lake CR, Teich S, et al. Hemorrhagic hypotension increase plasma beta-endorphin concentrations in the nonhuman primate [J]. Crit Care Med, 1986, 14(5): 505-507.
- [8] 王妙苗, 王杰军. 癌痛的发生机制及其相关药物治疗的研究现状[J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16(7): 663-665.

(收稿日期: 2013-03-21; 修回日期: 2013-05-20)

[编辑: 邓 媛]

中华中医药学会第 11 次全国中医难治病学术研讨会征文通知

为了深入探讨和交流中医药在防治各种难治病方面的新经验、新方法、新思路,由中华中医药学会主办、北京聚医杰医药科学研究院承办的“第十一届全国中医难治病学术研讨会”定于 2013 年 9 月下旬在江西井冈山市召开,现通知如下:

一、征稿内容:1. 中医药治疗难治病有哪些优势和特色疗法;2. 如何发挥中医难治病研究专家协作组的作用或工作建议;3. 中医药在防治肿瘤、心脑血管病、糖尿病、肝病、肾病、脾胃病、痛风、风湿类风湿、失眠重症、不孕不育证等难治病重点病种方面的经验和民间疗法;4. 其他方面。二、征文要求:文稿在 3000 字左右,须打印并附 500 字文摘和 200 字以内的作者简介,每位作者限投一稿。同时将文稿的电子版发送至 Email: 100036-98@163.com 三、其他:1. 本次会议将评选“全国中医药防治难治病优秀学术论文”,由中华中医药学会颁发优秀论文证书。2. 补充一批热心于中医难治病研究的优秀中医参加中华中医药学会难治病研究专家协作组,请各级医疗机构推荐具有副高以上职称或在难治病研究方面有特长的优秀中医参加专家协作组,也欢迎符合条件的中医人员自荐参加;3. 会议结束后,经考核合格者将授予国家级继续教育 I 类学分。四、投稿时限:请在 2013 年 9 月 10 日前将参会申请、报名费 200 元、交流论文、个人技术简介、参加专家协作组的报名申请、二寸彩色登记像片 4 张邮寄至北京 100036-98 信箱“第 11 届难治病学术研讨会”会务组叶续宗收,邮编 100036,会议报到通知将在 9 月上旬发出。联系电话:010-63772051、18611174565。详情登录 www.cacm.org.cn 或 www.zgtsyl.com