·基础研究·

中药治疗对大鼠坐骨神经损伤后神经生长因子蛋白表达的影响

尹宗生 顾玉东 顾映红 朱腾方

【摘要】 目的 研究党参、丹参、黄芪、生地等单味中药及复方神肌再生冲剂对大鼠坐骨神经损伤后神经生长因子(nerve growth factor,NGF)蛋白表达的影响。方法 雄性 SD 大鼠 108 只,按手术先后随机分成党参、丹参、黄芪、生地、复方神肌再生冲剂和对照组 6 组,每组 18 只。按取材时间分为术后 2、4、8 周 3 个时间组(每组 6 只)。显露大鼠右侧坐骨神经,于坐骨结节远端 0.8 cm 处造成坐骨神经挤压伤。根据分组,术后每天给予不同的中药灌胃,对照组给予生理盐水灌胃。术后不同时间取紧邻挤压伤部位的远端坐骨神经干,应用免疫组织化学和图像分析的方法研究神经组织中 NGF 的表达并进行定量分析。结果 术后 4、8 周组,丹参和复方神肌再生冲剂组,坐骨神经组织中的 NGF 蛋白高表达。结论 大鼠坐骨神经损伤后用中药丹参和复方神肌再生冲剂治疗,可促进坐骨神经组织 NGF 蛋白表达。

【关键词】 神经生长因子; 坐骨神经; 单方(中药); 复方(中药); 基因表达

The effect of chinese herbs on nerve growth factor (NGF) protein expression after sciatic nerve injury at rats

*YIN Zong-sheng**, *GU Yu-dong*, *GU Ying-hong*, *et al*. * *Department of Orthopedics*, *First Affiliated Hospital*, *Anhui Medical University*, *Hefei* 230022, China

【**Abstract**】 **Objective** To determine the effect of Chinese single herbs including Dangseng, Dansheng, Huangqi, Shengdi and compound Chinese herbs on the expression of NGF protein after sciatic nerve injuries at rats. **Methods** One hundred and eight SD male rats were randomly divided into six groups: Dangsheng group, Dansheng group, Huangqi group, Shengdi group, compound herbs group and control group, with 18 in each. Each group was subdivided equally into 3 groups according to the different postoperative interval: 2,4,8weeks. The right sciatic nerve were exposed and crushed at the site 0.8 cm distal to sciatic notch. After surgery the rats were fed with different Chinese herbs at the experimental group and normal saline at the control group. At various interval after surgery, the sciatic nerve stump immediately distal to the crushed site was harvested. Immunohistochemistry and image analysis were done to evaluate the expression of NGF. **Results** The NGF expression in the sciatic nerve was higher in the Dansheng group and compound herbs group than that in control group at the fourth and eighth weeks after surgery. **Conclusion** Chinese herbs Dansheng and compound Chinese herbs can increase the expression of NGF protein after sciatic nerve injuries at rats.

【**Key words**】 Nerve growth factors; Sciatic nerve; Single drug prescriptions; Composite(TCD); Gene expression

中药促进周围神肌再生的研究时有报告[1,2]。华山医院的研究结果表明,中药复方神肌再生冲剂具有促进神肌再生的作用[3]。为了明确该复方神肌再生冲剂中各单味中药促进神经再生的作用及机理,我们设计了本实验。应用免疫组织化学的方法,研究复方神肌再生冲剂和其中各单味中药,对损伤后大鼠坐骨神经组织 NGF 蛋白表达的影响。

材料与方法

一、中药与动物

1. 中药:单味中药按体重(kg)给药,大鼠的用药剂量为成人用量的 50 倍。正常成人按 60 kg 计算,每日党参、丹参、黄芪和生地的用量均为 10 g。大鼠按 250 g 计算,单味中药的每日用量为 2 g。

2. 动物和分组:健康 SD 大鼠 108 只,雄性,体重 230 ~ 250 g,SPF 级(由复旦大学医学院实验动物部提供)。按用药的不同分为 6 组:党参组、丹参组、黄芪组、生地组、复方冲剂组和对照组,每组 18 只大鼠。按术后取材时间每组分为 3 个时间组,每组 6 只大鼠。

二、动物模型、标本和切片的制作

用质量浓度为 1% 硫苯妥钠(0.5 ml/100g)给大鼠作腹腔注射麻醉。取右侧为手术侧。臀部斜切口,显露坐骨神经。于坐骨结节远端 0.8 cm、坐骨神经分出支配大腿肌肉分支的近端,用带卡扣的无齿显微持针器夹住坐骨神经,合拢卡扣 30 s,造成神经挤压伤[4]。

作者单位:230022 安徽医科大学第一附属医院骨科(尹宗生);复旦大学华山医院手外科(顾玉东);复旦大学医学院病理教研室(顾映红、朱腾方)

万方数据

术后各组大鼠分笼饲养。术后每天按不同实验组给予相应的中药汤剂 2 ml 灌胃。于术后 2、4、8 周，麻醉下取紧邻挤压伤部位远端坐骨神经干 0.6 cm，迅速置入质量分数为 4% 的多聚甲醛溶液固定。常规石蜡切片，厚度为 4 μm。

三、NGF 蛋白表达的免疫组织化学方法及步骤

1. 方法及步骤：(1) 切片常规脱蜡至水；(2) 用质量浓度为 0.6% 过氧化氢-甲醇；(3) 滴加正常山羊血清(二抗的同源血清)；(4) 滴加兔抗人神经生长因子(兔抗人 NGF)，对照组以 0.01MPBS 替代；(5) 滴加生物素化的羊抗兔 IgG；(6) DAB 显色，苏木素复染。

2. 结果观察：NGF 蛋白阳性信号呈棕黄色，细胞结构呈蓝色。

四、NGF 蛋白表达的定量分析

应用 Axioplan 2 图像分析系统(Carl Zeiss 公司，德国)对免疫组织化学的结果进行分析。每个实验动物取切片 6 张，每组 6 个动物共取切片 36 张。放大 400 倍视野下。观察、记录并计算以下指标：(1) 坐骨神经横截面的总面积(μm^2)；(2) NGF 阳性信号面积(μm^2)；(3) 阳性信号面积/总面积的百分比(简称：阳性信号面积百分比)；(4) 阳性信号的平均灰度；(5) 平均灰度指数(average of grey index)。

平均灰度指数 = 阳性信号面积百分比 × 平均灰度

应用平均灰度指数表示 NGF 蛋白表达的强弱，定量分析和比较不同单味中药对大鼠坐骨神经损伤后 NGF 蛋白表达的影响。

结　果

一、中药治疗后 2 周坐骨神经 NGF 蛋白表达

中药治疗后 2 周，不同中药组之间坐骨神经 NGF 蛋白表达量的差异无显著意义($P > 0.05$)；各中药组坐骨神经 NGF 蛋白表达量与对照组相比，差异也无显著意义($P > 0.05$)。

二、治疗后 4 周坐骨神经 NGF 蛋白表达(表 1)

复方神肌再生冲剂和丹参治疗坐骨神经损伤 4 周后，坐骨神经组织 NGF 蛋白呈现高表达。丹参组与对照组相比($t = 3.50$，$P = 0.002$，$P < 0.01$)；复方神肌再生冲剂组与对照组相比($t = 4.25$，$P = 0.0007$，$P < 0.01$)，两者差异均有极显著意义。

党参治疗组，坐骨神经 NGF 蛋白表达在治疗后 4 周开始升高，与对照组相比差异有较弱的统计学意义($t = 2.17$，$P = 0.045$)。其它中药组与对照组相比差异均无显著意义。

三、治疗后 8 周坐骨神经 NGF 蛋白表达(表 1)

中药治疗后 8 周，丹参组和复方神肌再生冲剂组 NGF 蛋白处于高表达状态，2 组平均灰度指数分别为 1 893.62 ± 155.63 和 2 301.65 ± 147.41。丹参组与对照组相比，两者差异有显著意义($t = 3.32$，$P = 0.002$，$P < 0.06$)。复方神肌再生冲剂组与对照组相比，两者差异有显著意义($t = 5.44$，$P < 0.001$)。黄芪、生地组 NGF 表达分别与对照组相比差异均无显著意义。

表 1　中药治疗后 4 周、8 周 NGF 蛋白表达($\bar{x} \pm s$)

组别	4 周平均灰度指数	8 周平均灰度指数
党参组	1 246.21 ± 91.18	1 916.49 ± 410.00
丹参组	1 877.32 ± 203.06	1 893.62 ± 155.63
黄芪组	754.40 ± 157.38	1 272.82 ± 174.98
生地组	1 055.61 ± 124.56	1 019.78 ± 179.46
复方冲剂组	1 970.97 ± 203.57	2 301.65 ± 147.41
对照组	878.76 ± 146.92	1 187.32 ± 141.23

讨　论

一、研究中药治疗周围神经损伤的现状

有关用药物治疗神经损伤的基础研究和临床应用研究已较多。研究的药物主要有 4 类：(1) 各种神经营养因子 如神经生长因子、脑源性神经营养因子[5]和睫状神经营养因子；(2) 促进神经生长的药物 如白细胞介素-6(IL-6)；(3) 皮质类固醇；(4) 维生素类。西药治疗神经损伤存在 2 个问题，即价格昂贵和副作用明显。

现代药理学研究证实中药对中枢神经系统疾病及损伤有一定的治疗作用[6]。近年来，有关中药治疗周围神经损伤的研究时有报道[2]。学者们采用各种现代研究手段对中药治疗周围神经损伤进行了形态学和分子水平的研究，是一个良好的开始[3]。但存在两方面的不足：(1) 研究的范围局限，内容零星不系统，没有形成明确的研究方向；(2) 目前研究所使用的中药配方多为中药的验方。其配方的组成和配方中各单味中药的配伍比例是延袭传统的经验，缺乏科学的依据，因此，用药存在较大的盲目性。

二、复方神肌再生冲剂及其中单味中药对损伤神经再生的影响

复方神肌再生冲剂是在动物实验研究的基础上研制成功的，经研究证实，具有促进神经再生的功效[3]。根据中医理论，该中药配方具有活血化瘀，益气补肾的功效。

本实验应用免疫组织化学方法，对复方神肌再生冲剂及其各单味中药成份对损伤后大鼠坐骨神经组织

万方数据

神经生长因子蛋白表达的影响进行了系统的研究。

免疫组织化学的研究结果表明：中药丹参和复方神肌再生冲剂治疗大鼠坐骨神经损伤，对坐骨神经 NGF 蛋白表达有明显的促进作用。

丹参和复方神肌再生冲剂组，坐骨神经 NGF 的表达在治疗 2 周后开始升高；2 周至 4 周，坐骨神经 NGF 蛋白表达迅速上升；然后，上升的速度减慢，于治疗后 8 周达到最高峰。治疗后 4、8 周，NGF 的表达与对照组比较有明显的增加。

参 考 文 献

1 邵水金，单宝枝，余安胜，等. 电针、中药对大鼠坐骨神经损伤后 SFI 及肌肉影响观察. 中国针灸，1998，4：249-251.

2 陈德松，蔡佩琴，袁伟，等. 五种药物对小鼠周围神经再生影响的实验研究. 手外科杂志，1989，5：159-161.

3 方有生，陈德松，顾玉东. 党参黄芪丹参等复方中草药合剂对周围神经再生影响的实验研究. 中华手外科杂志，1998，14：181-183.

4 Galloway EB, Jensen RL, Dailey AT, et al. Role of topical steroids in reducing dysfunction after nerve injury. Laryngoscope, 2000, 110：1907-1910.

5 Ho PR, Coan GM, Cheng ET, et al. Repair with collagen tubules linked with brain-derived neurotrophic factor and ciliary neurotrophic factor in a rat sciatic nerve injury model. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1998, 124：761-766.

6 李泓，李光浩. 补阳还五汤治疗中风的研究进展. 中成药，1997，19：42-44.

（收稿日期：2002-11-06）

（本文编辑：郑忆柳）

·临床经验·

肘管综合征 45 例手术治疗的疗效分析

李小峰 王宇飞

肘管综合征是尺神经在肘部尺神经沟内受卡压而产生的一系列症状。如尺神经支配区感觉障碍、手部无力、骨间肌及拇收肌萎缩、爪形手畸形、手指内收及外展受限等症状。1995 年 ~ 2002 年 1 月，我院共收治 45 例，均行尺神经松解、筋膜下前置术，疗效较满意。

一、资料与方法

1. 一般资料：本组共 45 例，男 38 例，女 7 例；年龄 8 ~ 66 岁，平均 46 岁。左侧 14 例，右侧 31 例，均为单侧发病。致病原因：肘部软组织损伤 10 例，肘部骨折 8 例，肘管内尺神经半脱位 3 例，创伤性肘关节炎 8 例，肘外翻畸形 14 例，尺神经沟内肿物 2 例。病程为 2 ~ 63 个月，平均 24 个月。

2. 临床症状：45 例均主诉环、小麻指木，24 例诉手部无力，精细动作不灵活。局部检查：45 例环指尺侧半及小指刺痛觉减退或消失。36 例手内在肌萎缩（+ ~ + +），23 例 4 ~ 5 指轻度爪形手畸形。15 例 2 ~ 5 指内收外展受限。3 例触摸肘部出现触电似的放射痛。肘部尺神经 Tinel 试验均阳性。26 例肌电图检查结果：尺神经肘部上下 5 cm 运动神经传导速度均减慢（10 ~ 26 m/s），复合运动动作电位（CMAP）的波幅下降，潜伏期延长。

按 Machinnin 和 Dellon 推荐的分期标准，本组中轻度 12 例，中度 25 例，重度 8 例。

3. 手术方法：臂丛或局部麻醉下手术，作肘内侧弧形切口长 10 ~ 12 cm，逐层切开进入尺神经沟。术中发现尺侧腕屈肌形成的弓状韧带卡压神经 26 例、尺神经沟内骨质增生 11 例、肘管内腱鞘囊肿压迫 3 例、骨折后骨性突起瘢痕索条卡压神经 5 例。

45 例的尺神经质地均变硬，外膜增厚；13 例的神经受压处变细。尺神经作外膜松解术后前置于深筋膜下浅层，并缝合固定于浅筋膜，防止尺神经滑脱，止血后逐层缝合切口。术后石膏托固定肘关节于功能位 2 周。

4. 结果：术后第 1 天，26 例环小指麻木减轻。术后随访 2 至 63 个月。按中华医学会手外科学会上肢部分功能评定试用标准评定[1]：优 19 例，良 13 例，差 3 例，优良率 91.4%。

二、讨论

本组术后恢复差的 3 例，其原因是属于重度尺神经卡压或因误诊、漏诊所致。本组 1 例，因右手小指麻木伴握力差，曾被误诊为颈椎病，经保守治疗无效。2 个月后症状加重，来我院就诊，经检查诊断为肘外翻畸形，肘管综合征（重度）。术中见尺神经紧贴于骨壁，神经呈索条状，作神经内、外松解后行前置术。术后 18 个月随访，手部感觉虽已恢复，握力有所增强，但肌肉萎缩无明显改善。另 2 例也为重度肘管综合征，术中所见同上，故疗效差。

我们采用的是尺神经松解术、筋膜下前置术。皮下前置位置较浅，神经容易再度被卡压；而肌内前置术如分离肌肉时粗糙易出血，常导致神经床有广泛的瘢痕，造成新的卡压。我们选择筋膜下前置法。

参 考 文 献

1 潘达德，顾玉东，侍德，等. 中华医学会手外科学会上肢部分功能试用标准. 中华手外科杂志，2000，16：130-135.

（收稿日期：2002-11-11）

（本文编辑：蔡佩琴）

作者单位：041000 山西省临汾市人民医院骨科

万方数据