

• 基础研究 •

大鼠骶髂关节传入神经通路的实验研究

洪盾¹, 顾海锋², 方向前², 陈海啸¹, 范顺武²

(1. 台州医院脊柱外科, 浙江 台州 317000; 2. 浙江大学附属邵逸夫医院骨科)

【摘要】 目的: 通过逆行神经追踪法研究大鼠骶髂关节的传入神经通路。方法: 30 只雄性 Sprague-Dawley 大鼠随机分成非交感神经切除组(A 组)和交感神经切除组(B 组), 每组 15 只, 交感神经切除组切除左侧 L₁ 以下椎旁交感干。两组左侧骶髂关节注入 30% 的辣根过氧化物酶(HRP) 20 μl, 72 h 后取出双侧的 L₁-S₁ 背根神经节(DRG), TMB 法染色后在光学显微镜下观察 HRP 阳性神经元细胞并计数。结果: 两组左侧 L₁、L₂ 背根神经节内 HRP 阳性神经元差异有显著性意义($P < 0.05$), B 组 HRP 阳性神经元明显减少; 左侧 L₃-S₁ 背根神经节内 HRP 阳性神经元差异无显著性意义($P > 0.05$)。结论: L₁-S₁ 神经节含有支配同侧骶髂关节的传入神经元, 同侧椎旁交感干可能是骶髂关节到 L₁-L₂ 神经节重要的传入神经旁路, 而不是到 L₃-L₅ 神经节的传入旁路或重要的传入旁路。

【关键词】 骶髂关节; 神经支配; 背根神经节; 辣根过氧化物酶

Experimental study on afferent pathways of rat sacroiliac joint HONG Dun*, GU Hai-feng, FANG Xi-anqian, CHEN Hai-xiao, FAN Shun-wu.* Department of Spinal Surgery, Taizhou Hospital, Taizhou 317000, Zhejiang, China

ABSTRACT Objective: To investigate afferent pathways of rat sacroiliac joint with neural retror tracing technique **Methods:** Thirty male Sprague-Dawley rats were randomly divided into sympathectomy group (group A, of which left paravertebral sympathetic trunk were cut down) and unsympathectomy group (group B). 20 μl 30% horseradish peroxidase (HRP) was injected into left sacroiliac joints in two groups. After 72 hours, bilateral L₁-S₁ dorsal root ganglia (DRG) were harvested and processed by TMB method, in which HRP-positive neurons were observed and counted under light microscope. **Results:** There were significant differences in the number of HRP positive neurons in left L₁, L₂ DRG between group A and group B ($P < 0.05$). HRP positive neurons in group B obviously decrease than group A. However, there was no significant differences in left L₃-S₁ DRG were observed between group A and group B ($P > 0.05$). **Conclusion:** Afferent neurons of govern same side sacroiliac joint were included by L₁-S₁ DRG. The same side paravertebral sympathetic trunk might be an important neural pathway between sacroiliac joint and L₁, L₂ DRG. However, it might be not a key bypass from sacroiliac joint to L₃-S₁ DRG.

Key words Sacroiliac joint; Innervation; Dorsal root ganglion; Horseradish peroxidase

骶髂关节病变是引起下腰痛的重要原因, 远至足部的牵涉痛提示其复杂的神经支配^[1]。神经免疫学的发展, 使用高灵敏度的神经追踪剂有助于研究外周组织和中枢神经系统之间的神经通路, 而含初级感觉神经元的背根神经节是感觉传入的重要部位。本实验大鼠骶髂关节注射辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)后, 通过比较同侧椎旁交感神经干切除后背根神经节(dorsal root ganglia, DRG)内 HRP 阳性神经元数量的改变, 分析骶髂关节的传入神经通路。

1 材料与方

1.1 实验动物及分组 30 只清洁雄性 Sprague-Dawley 大鼠, 体重 250~300 g, 由浙江省医学科学院动物实验中心提

供。大鼠随机分交感神经切除组(sympathectomy group)和非交感神经切除组(unsympathectomy group), 每组 15 只。交感神经切除组大鼠腹腔内注射苯巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉后仰卧固定, 外科无菌操作下, 腹部正中切口约 2 cm, 切开腹膜, 将肠道向上方牵引, 显露出腹主动脉, 注意保护腹主动脉及分支, 低倍手术显微镜下显露并切除腹主动脉外侧 L₁ 以下至尽可能远的左侧椎旁交感干, 用 0 号线缝合腹部切口。非交感神经切除组实验同上处理, 但切开腹膜后未作其他处理, 仅缝合切口。

1.2 实验方法

1.2.1 左侧骶髂关节穿刺注入 HRP 腹部切口缝合后, 大鼠取俯卧位, 外科无菌操作下左骶髂关节背侧纵切口 1.5 cm, 显露出骶髂关节背侧肌肉。无菌生理盐水将 HRP(Sigma 公司)

稀释成 30% 溶液。于髂嵴中点上约 3~ 5 mm 处用溶液微量进样器的针头先轻触髋关节外侧的髂骨翼,并逐渐内移至刺入有韧性感髋关节约 3 mm,注入 20 μl 浓度 30% HRP。

1.2.2 大鼠的灌注、取材和固定 72 h 后大鼠在苯巴比妥钠麻醉下,经主动脉穿刺先用磷酸缓冲液(PBS, pH 7.4, 4℃) 100~ 150 ml 灌注冲洗血管床,然后用含 4% 多聚甲醛和 0.1% 戊二醛的 0.1 mol PBS 500 ml 滴注,持续 1 h,先快后慢。

1.2.3 取材、固定 先切开并显露出左侧髋关节,观察有无 HRP 外渗和穿刺失误。结果交感神经切除组有 4 只出现外渗和穿刺失误,非交感神经切除组有 3 只出现外渗和穿刺

失误,这些大鼠均处死而不取样。

显微镜下取出双侧 L₁- S₁ DRG。取材后置于 4% 多聚甲醛和 0.1% 戊二醛的 PBS 内继续固定 2~ 4 h,后移入含 30% 蔗糖的 0.1 mol PBS 中过夜。

1.2.4 冰冻切片及染色 冰冻切片机切片,片厚 20 μm,隔 2 片取 1 片,每个 DRG 切片 6~ 8 片,用多聚赖氨酸预处理的玻片贴片,TMB 法 HRP 成色反应。

1.3 结果判定和数据收集 先于 10 倍显微镜下选取切片满意的 3 张切片,然后观察 HRP 阳性的神经元并计数,40 倍光学显微镜下 HRP 阳性的神经元内含黑色颗粒(CoCl₂)。见图 1,2。

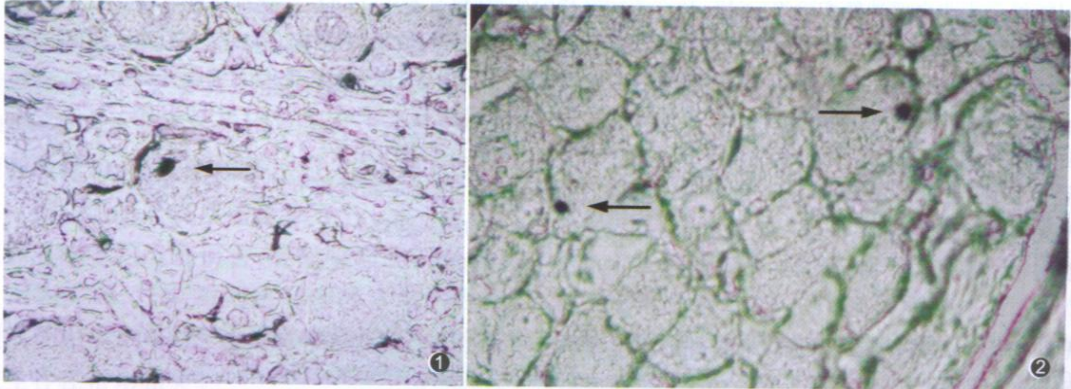


图 1 左侧大鼠 L₄ DRG 内 HRP 阳性神经元,光学显微镜 TMB 染色×40。箭头所示:神经元内黑色颗粒(CoCl₂) 图 2 左侧大鼠 S₁ DRG 内 HRP 阳性神经元,光学显微镜 TMB 染色×40。箭头所示:神经元内黑色颗粒(CoCl₂)

Fig. 1 HRP-positive neurons in the left L₄ DRG of rat, TMB staining×40, light microscope. Arrow: black particles (CoCl₂) in neuron Fig. 2 HRP-positive neurons in the left S₁ DRG of rat, TMB staining×40, light microscope. Arrow: black particles (CoCl₂) in neuron

1.4 统计学方法 比较交感神经切除组和非交感神经切除组 L₁- S₁ DRG 内 HRP 阳性神经元改变。统计采用 Wilcoxon 法, P < 0.05 为差异有显著性意义,统计软件使用 SPSS 10.0。

2 结果

2.1 HRP 阳性神经元计数 右侧 DRG 内未见 HRP 阳性神经元;左侧 DRG 内 HRP 阳性神经元计数(表 1, 2)。

2.2 统计分析 Wilcoxon 法显示,交感神经切除组和非交感神经组相比较,左侧 L₁ 和 L₂ DRG 内 HRP 阳性神经元减少

表 2 非交感神经切除组左侧 DRG 内 HRP 阳性神经元计数(单位:个)

Tab. 2 The number of HRP-positive neurons in the left DRG of the unsympathetic group (unit: pieces)

Number	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₅	L ₆	S ₁	Total
1	9	0	3	16	5	6	9	48
2	11	3	0	6	13	9	3	45
3	2	12	0	3	6	9	7	39
4	3	7	3	0	22	13	0	48
5	6	18	6	1	9	6	5	51
6	8	2	0	3	7	11	9	40
7	2	3	9	6	9	7	0	36
8	13	4	6	3	6	0	0	32
9	1	6	3	0	3	8	3	24
10	3	4	5	6	9	3	4	34
11	8	5	6	6	6	9	3	43
12	7	10	3	9	15	12	5	61
Total	73	74	44	59	110	93	48	501

差异有显著性(P < 0.05)。左侧 L₃- S₁ DRG 内 HRP 阳性神经元差异无显著性(P > 0.05)。

2.3 结果 同侧 L₁- S₁ DRG 含有支配髋关节的传入神经元,是多节段神经支配;同侧椎旁交感干可能是髋关节到 L₁- L₂ 的 DRG 重要神经传入旁路,而不是到 L₃- L₅ DRG 的传入旁路或重要的传入旁路。

表 1 交感神经切除组左侧 DRG 内 HRP 阳性神经元计数(单位:个)

Tab. 1 The number of HRP positive neurons in the left DRG of the sympathetic group (unit: pieces)

Number	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₅	L ₆	S ₁	Total
1	3	2	6	12	9	6	3	41
2	7	4	8	3	15	12	6	55
3	2	2	0	7	6	9	7	33
4	3	3	3	9	7	11	6	42
5	4	2	6	6	10	7	3	38
6	5	4	0	0	6	9	2	26
7	0	5	6	1	6	3	0	21
8	8	0	3	3	8	9	6	37
9	2	0	5	0	9	6	2	24
10	1	1	6	3	9	3	5	28
11	0	2	3	0	4	9	3	21
Total	35	25	46	44	89	84	43	366

3 讨论

骶髂关节疾病有 15% ~ 30%^[2] 引起下腰痛。骶髂关节性疼痛不仅引起臀部和腰部疼痛,而且还可以出现腹股沟、膝部甚至足部的疼痛^[1]。这容易混淆诊断,所以一些下肢放射痛患者早期诊断腰椎间盘突出症,选择性椎间孔封闭却没有任何效果,在以后随访中诊断骶髂关节疼痛,并通过骶髂关节封闭得到满意的效果^[3]。广泛的牵涉痛域可能和骶髂关节损伤的部位、邻近组织的损伤以及骶髂关节复杂的神经支配有关。

Murata 等^[4] 在骶髂关节神经免疫研究中表明骶髂关节背腹侧由不同的 DRG 支配。但实验过程中切开了骶髂关节韧带及附着肌肉,可能损伤了传入神经通路,影响了结果的真实性。而本实验中采用骶髂关节背侧穿刺的方法,虽然有 23.3% 的失败率,但避免了对骶髂关节传入神经通路的损伤。

骶髂关节的神经主要分布于骶髂关节韧带、滑膜以及附着于韧带上的肌肉,主要支配神经是骶丛和脊神经背支。DRG 主要包含初级传入感觉神经元。椎旁交感干包含节后交感神经元以及节前、节后神经纤维的通路。HRP 可被感觉神经末梢吸收后,沿着神经轴突逆行,到达 DRG 中的感觉神经元^[5]。所以 DRG 中支配骶髂关节的初级传入神经元是 HRP 染色神经元。

研究中 L₁-S₁ 的 DRG 内出现 HRP 阳性神经元。同侧椎旁交感干切除后, L₁-S₁ 的 DRG 内 HRP 阳性神经元出现

显著减少。而同侧椎旁交感干切除后, L₃-L₅ 的 DRG 内 HRP 阳性神经元差异无显著性统计学意义。

这表明这些 HRP 阳性神经元的轴突和受体分布于骶髂关节的韧带和滑膜。椎旁交感干切除后神经元的数量改变说明骶髂关节可能有其他的传入神经通路: ①交感神经末梢分布于骶髂关节周围,吸收 HRP 后逆行传入,经同侧椎旁交感干,通过交通支到达 L₁-L₂ 的 DRG; ②骶髂关节周围的躯体感觉神经末梢吸收 HRP,通过交通支,以及同侧椎旁交感干传入 L₁-L₂ 的 DRG 内。

参考文献

- Slipman CW, Jackson HB, Lipetz JS, et al. Sacroiliac joint pain referral zones. Arch Phys Med Rehabil, 2000, 81(3): 334-338.
- Yin W, Willard F, Carreiro J, et al. Sensory stimulation guided sacroiliac joint radiofrequency neurotomy: Technique based on neuroanatomy of the dorsal sacral plexus. Spine, 2003, 28(20): 2419-2425.
- Irwin RW, Harris MB. Concomitant sacroiliac joint pain in patients with lumbar disc herniation: Case series. J Surg Orthop Adv, 2004, 13(4): 224-227.
- Murata Y, Takahashi K, Yamagata M, et al. Origin and pathway of sensory nerve fibers to the ventral and dorsal sides of the sacroiliac joint in rats. J Orthop Res, 2001, 19(3): 379-383.
- Swett JE, Torigoe Y, Elie VR, et al. Sensory neurons of the rat sciatic nerve. Exp Neurol, 1991, 114(1): 82-103.

(收稿日期: 2005-06-14 本文编辑: 王宏)

中国康复医学会颈椎病专业委员会第 9 次学术年会 征文通知

为了加深对颈椎病认识,提高诊治康复水平,展现现代康复技术,中国康复医学会主办,中国康复医学会颈椎病专业委员会、第二军医大学附属长海医院、上海中医药大学脊柱病研究所、上海中医药大学附属龙华医院承办的“中国康复医学会颈椎病专业委员会第 9 次学术年会”拟定于 2006 年 10 月在上海召开。会议正在征文,现将具体征文事宜通知如下:

1. 征文内容 ①颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症康复研究进展; ②关于颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症的“围手术期”治疗; ③颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症基础与应用研究进展; ④颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症手术治疗进展; ⑤颈椎病、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症的非手术(中药、针灸、推拿、导引等)治疗进展; ⑥脊柱相关疾病研究进展(椎体骨质疏松、椎体不稳、骨质疏松性骨折、脊柱肿瘤等)。

2. 来稿要求 ①来稿请寄全文或 1200 字左右中、英文摘要(或中文摘要)1份,建议使用电子版,请自留底稿,恕不退稿。来稿提供工作单位、详细地址、邮政编码及电话(有条件请提供 E-mail)。②来稿地址:上海市宛平南路 725 号 77 信箱脊柱病研究所 王拥军 李晨光收。③邮编:200032 电话及传真:021-54232267。④E-mail: yjwang88@hotmail.com; light7711@yahoo.com.cn。⑤被录用论文将编入学术交流会议论文集,优秀论文将在大会报告,并授予优秀论文奖。⑥提交论文的参会代表可获得论文证书及国家级继续教育学分 12 分。⑦截稿日期:2006 年 7 月 31 日。