

· 基础研究 ·

正骨散对实验性损伤局部软组织炎性细胞的影响

齐越峰¹, 卢建秋², 赵兴玮¹, 韩静²

(1.北京市丰盛中医骨伤专科医院,北京 100034;2.北京中医药大学中心实验室)

【摘要】目的:探讨正骨散在细胞水平对急性软组织损伤的修复机制。**方法:**40只新西兰大耳白兔,采用重锤打击法建立急性软组织损伤动物模型,造模后随机分为:正常组(A),模型组(B),赋形剂(凡士林)组(C),正骨散组(D)。造模24h后损伤局部涂药,每日1次,用药4d后损伤部位取材进行病理组织学观察,Elisa法测定白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF α)的含量;放免法测定血栓素(TXB₂)和6-酮前列腺素F1 α (6-keto-PGF1 α)含量。**结果:**A组肌组织结构正常,横纹清晰;B组与C组肌纤维肿胀、断裂或明显坏死,间质中度或重度出血、瘀血、水肿和大量炎细胞浸润;D组肌纤维肿胀、间质出血、瘀血、水肿、炎细胞浸润则明显减轻,可见血管和成纤维细胞增生。D组IL-1 β 、TNF α 、TXB₂以及TXB₂/6-keto-PGF1 α 比值均明显低于B组和C组;6-keto-PGF1 α 显著高于B组和C组;各组IL-6无明显变化。**结论:**正骨散可促进炎症的吸收与炎性细胞因子的稀释和转运,并能迅速地促进组织的修复与再生,其抗炎镇痛作用与IL-6关系不大。

【关键词】 软组织损伤; 中草药; 外用药

Effect of Zhenggu powder (正骨散) on the inflammatory cell factor of soft tissue in experimental acute injury QI Yue-feng, LU Jian-qiu, ZHAO Xing-wei, HAN Jing. Fengsheng Orthopaedics and Traumatology Hospital of TCM of Beijing, Beijing 100034, China

ABSTRACT Objective: To probe the recovery mechanism of Zhenggu powder (ZGP) on acute soft tissue injury in cell levels. **Methods:** Forty rabbits which established animal model of acute soft tissue injury with hammer hitting, were divided randomly into normal group (A), model group (B), vaseline group (C) and ZGP group (D). Injured part was applied external drug daily after model was made. All animals were killed after using drug for 4 days. The local tissue of injured part was taken pathologic study, and was measured the content of IL-1 β , IL-6, TNF α by ELISA method and TXB₂, 6-keto-PGF1 α by RIA method. **Results:** Muscular tissue of group A was normal. But that of group B and C was aberrant, such as swelling and broken of muscular fiber or infiltration of inflammatory cell. Such histological change of group D was lightly and hyperplasia of blood vessel was found. The contents of IL-1 β , TNF α , TXB₂ and TXB₂/6-keto-PGF1 α in group D were lower than that of group B and group C. On the contrary, the contents of 6-keto-PGF1 α in the group D were higher than that of group B and group C. The difference of content of IL-6 between groups was not obvious. **Conclusion:** ZGP could promote not only the dilution and the transportation of inflammatory cell factors, but also the repair and the regeneration of the injured tissue structures. The therapeutic effect of ZGP was not relative to IL-6.

Key words Soft tissue injuries; Drugs, Chinese herbal; External application drugs

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2008, 21(10): 774-775 www.zggszz.com

正骨散为治疗急性软组织损伤的外用方剂,具有活血化瘀、消肿止痛的作用,临床上广泛应用于急性软组织损伤和骨折的早中期治疗,疗效显著。本文主要研究了其对急性软组织损伤家兔损伤组织的病理组织学和炎症细胞因子的影响作用,籍以探讨正骨散在细胞水平对急性软组织损伤的修复机制。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 正骨散:为北京市丰盛中医骨伤专科医院院内制剂,批准文号:京药制字 Z2005005。由红花、骨碎补、续

断、栀子、血竭、儿茶、乳香、没药、防风等13味中药组成。上述诸药碎成细粉,过120目筛,混匀。取白凡士林适量加热融化,放冷至50℃左右,加入上述细粉搅匀,即可备用,生药含量0.32g/g。IL-1 β 试剂盒:RapidBio公司产品,批号11070566。IL-6试剂盒:RapidBio公司产品,批号11030511。TNF试剂盒:RapidBio公司产品,批号11070577。6-keto-PGF1 α 试剂盒:解放军总医院科技发展中心产品,批号0509。TXB₂试剂盒:解放军总医院科技发展中心产品,批号0509。

1.2 实验动物 新西兰大耳白兔,雌雄各半,体重2~2.5kg,合格证号:SCXK(京)2005-0004,由中国药品生物制品检定所提供。饲养于北京中医药大学实验动物中心,室温18~25℃,

基金项目:北京市优秀人才培养专项经费资助项目(编号:200301)

表 1 正骨散软膏对炎症细胞因子的影响(鼠数=10, $\bar{x} \pm s$, pg/mg)
Tab.1 Influence of ZGP on inflammatory cell factor(rats=10, $\bar{x} \pm s$, pg/mg)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF α	6-keto-PGF1 α	TXB ₂	TXB ₂ /6-keto-PGF1 α
正常组(A)	21.54 \pm 7.13**	645.28 \pm 18.52	91.58 \pm 17.52**	1 008.14 \pm 37.40**	34.46 \pm 23.31**	1.32 \pm 0.28**
模型组(B)	169.31 \pm 47.19	687.71 \pm 2.61	409.01 \pm 65.39	324.35 \pm 45.63	963.88 \pm 358.94	3.04 \pm 1.29
赋形剂组(C)	178.27 \pm 41.11	688.32 \pm 2.36	429.56 \pm 50.07	332.01 \pm 115.18	1 029.93 \pm 322.16	3.55 \pm 1.87
正骨散组(D)	92.80 \pm 7.27**	672.52 \pm 5.62	185.81 \pm 33.66**	837.41 \pm 290.44**	339.25 \pm 122.86**	0.41 \pm 0.12**

注:与模型组相比** $P < 0.01$

Note: Compared with model group, ** $P < 0.01$

相对湿度 40%~60%。

1.3 实验仪器 酶标仪:Bio-Rad 公司产品,型号 2550;低速离心机:上海安亭科学仪器厂产品,型号 DDL-5;放射免疫 γ 计数器:上海核福光电仪器有限公司产品,型号 SN-682。

1.4 实验造模 采用重锤打击法致急性软组织损伤动物造模,用 Na₂S 配置的脱毛剂将右后肢脱毛,24 h 后选择无皮肤损伤的家兔,使其侧卧固定,将一长 60 cm、直径 3.5 cm 内壁光滑的硬塑料管下口垂直对准脱毛部位,将一重 200 g、直径 3.0 cm 的砝码置于塑料管上口,让其自由落下,打在家兔大腿内侧根部肌肉丰厚处,连续打击 25 次。24 h 后剔除骨折、皮肤损伤的动物,余作为实验用动物。

1.5 实验分组 共 4 组,每组 10 只。按体重从大到小的顺序编号,按随机数字法分为:正常组(A),模型组(B),赋形剂(凡士林)组(C),正骨散组(D)。

1.6 剂量设置及给药 正骨散软膏临床剂量:浓度 40%,用量为 0.16 g/cm²,最大用药面积为 10 cm²。A 组和 B 组不予用药;C 组右后肢涂抹 3 cm \times 5 cm 的凡士林软膏;D 组右后肢涂抹 3 cm \times 5 cm 的 40%正骨散软膏;C、D 组在造模后 24 h 开始涂药,纱布覆盖,胶布固定,每日 1 次,第 4 天处死所有动物。

1.7 观察指标与方法

1.7.1 病理组织学观察 切取右后肢打击中心部位 1 cm³ 皮肤和肌肉组织,常规脱水、二甲苯透明、石蜡包埋,组织切片(厚度 6 μ m)、Weil 染色,光学显微镜观察肌纤维机构变化。评分标准:0 分,完全恢复,同正常组织;1 分,肌纤维肿胀,肌组织内瘀血、水肿、出血灶明显减轻或大部分消失,血管增生,肌纤维增生,与正常软组织相比较已基本恢复正常;2 分,肌纤维肿胀,肌纤维间出血、水肿、出血灶稍有减轻或部分消失,纤维间炎症细胞明显,与对照组相比较略有减轻;3 分,肌纤维肿胀,肌纤维间出血伴严重瘀血,大量炎症细胞存在,肌纤维变性等。

1.7.2 炎症细胞因子的观察 在受打击中心部位剪取肌肉组织 100 mg 加入生理盐水 5 ml,匀浆,取上清,Elisa 法测定白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子 α (TNF α)的含量;剪取肌肉组织 300 mg 加入含 20%乙醇的生理盐水 2 ml,匀浆,取上清,放免法测定血栓素(TXB₂)和 6-酮前列腺素 F1 α (6-keto-PGF1 α)含量。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 11.0 软件统计包,计量资料以

$\bar{x} \pm s$ 表示,进行单因素方差分析,组间比较 t 检验。

2 结果

2.1 病理组织学观察 A 组肌组织结构正常,横纹清晰,未见增生、萎缩及炎性坏死性改变,病理评分 1.09 \pm 0.55;B 组病理评分 2.71 \pm 0.48,C 组病理评分 2.75 \pm 0.46,两组均可见肌纤维肿胀、断裂或明显坏死,间质中度或重度出血、瘀血、水肿和大量炎细胞浸润;D 组肌纤维肿胀、间质出血、瘀血、水肿、炎细胞浸润则明显减轻或大部分消失,且见血管和成纤维细胞增生,病理评分 1.00 \pm 0.53。D 组与 B、C 组比较病理评分均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 炎症细胞因子的观察 D 组 IL-1 β 、TNF α 含量以及 TXB₂、TXB₂/6-keto-PGF1 α 比值均明显低于 B、C 组($P < 0.01$),但 6-keto-PGF1 α 浓度显著高于 B 组和 C 组($P < 0.01$),和 A 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

3 讨论

模型组中 IL-1 β 、TNF α 、TXB₂ 升高,6-keto-PGF1 α 浓度降低,表明损伤局部血小板聚集,微循环障碍,组织缺氧而出现瘀血表现;TXB₂/6-keto-PGF1 α 失衡提示局部血管收缩,血流减慢和黏滞性增高^[1]。正骨散治疗组的 IL-1 β 、TNF α 、TXB₂ 均有明显下降,6-keto-PGF1 α 明显升高,TXB₂/6-keto-PGF1 α 与正常组差异不明显,提示局部微循环改善,组织供氧增多,炎症吸收和组织再生能力增强。从实验结果上看,正骨散可改善损伤组织的血液供应,促进炎症的吸收与炎性细胞因子的稀释和转运,能明显降低炎症细胞因子的含量,抑制或缩短创伤局部的无菌性炎症反应炎症过程,促进炎症的吸收与好转,而达到消肿的目的。同时由于其抗炎作用,降低了毛细血管通透性,改善局部血液供应,一方面减缓炎性渗出物对末梢神经的刺激,另一方面加速局部致痛因子的转运和破坏而达到镇痛的目的。正骨散治疗后上述炎性细胞因子的变化阻止了血小板的聚集、血管收缩及血栓形成,有利于血管扩张,因而具有活血化痰,促进新陈代谢,增强组织修复的能力。IL-6 水平无明显变化,提示正骨散抗炎镇痛作用与 IL-6 关系不大。

参考文献

[1] 乔普林,王健瑞,马广昊,等. 针刀疗法对 L₅ 横突综合征兔浆血栓素 B₂ 及 6-酮-前列腺素水平的影响. 中国骨伤,2004,17(5):257-259.

(收稿日期:2008-06-24 本文编辑:李为农)