

· 临床研究 ·

腰椎间盘突出症经椎间孔镜治疗术后残留腰腿痛的分子机制研究

杨坤¹, 陈子龙¹, 陈衍熙¹, 任利军¹, 侯雷²

(1. 安徽省界首市人民医院中医科, 安徽 界首 236500; 2. 贵州中医药大学第二附属医院风湿免疫科, 贵州 贵阳 550003)

【摘要】 目的: 探讨低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 和瞬时受体电位香草酸 1 (transient receptor potential vanillate 1, TRPV1) 通路在包含型 (contained type, CT) 和非包含型 (non-contained type, NCT) 腰椎间盘突出症 (lumbar disc herniation, LDH) 经椎间孔镜髓核摘除术后腰腿痛残留中发挥的作用。方法: 选取 2021 年 7 月至 2022 年 10 月收治的单节段 LDH 患者 68 例, 男 44 例, 女 24 例; 年龄 26~67 (43.63 \pm 11.94) 岁; 病程 4~36 (18.91 \pm 10.34) 个月; 身体质量指数 (24.45 \pm 4.00) kg \cdot m⁻²; L_{3,4} 节段 7 例, L_{4,5} 节段 32 例, L₅S₁ 节段 29 例; 均采用经皮椎间孔镜髓核摘除手术治疗, 并据术中观察椎间盘纤维环外层的完整性分为包含型组 (CT 组) 和非包含型组 (NCT 组) 各 34 例。收集同期采用脊柱侧弯矫形或椎体骨折开放手术治疗的 17 例作为对照组, 男 12 例, 女 5 例; 年龄 21~65 (39.41 \pm 12.80) 岁; 身体质量指数 (24.86 \pm 4.11) kg \cdot m⁻²。采用实时荧光定量 PCR 法检测髓核 HIF-1 α 、TRPV1 mRNA 相对表达量。采用 ELISA 法检测髓核神经激肽 1 受体 (neurokinin 1 receptor, NK1R)、神经生长因子 (nerve growth factor, NGF)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 及血清 P 物质 (substance P, SP)、降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 蛋白含量。采用压力测痛仪检测患者腰腿痛阈值。分别采用视觉模拟评分 (visual analog scale, VAS) 刻度和 Oswestry 功能障碍指数 (Oswestry disability index, ODI) 评估患者腰腿痛程度和腰椎功能。评价患者术后腰腿痛残留率。结果: 各组髓核 HIF-1 α 、TRPV1 mRNA 相对表达量和 NK1R、NGF、VEGF 含量及术前血清 SP、CGRP 水平比较, NCT 组均高于 CT 组 ($P < 0.05$), CT 组均高于对照组 ($P < 0.05$)。术后 7 d 时, 两 LDH 组血清 SP、CGRP 水平及腰腿痛 VAS、腰椎 ODI 均较术前降低 ($P < 0.05$), 且 NCT 组均高于 CT 组 ($P < 0.05$), NCT 组腰腿痛 VAS、腰椎 ODI、腰腿痛阈值术前与术后 7 d 差值均低于 CT 组 ($P < 0.05$)。NCT 组术后 7 d 腰腿痛残留率高于 CT 组 ($P < 0.05$)。结论: HIF-1 α 和 TRPV1 通路促进髓核 NGF、VEGF、NK1R 及血清神经肽 SP、CGRP 过量产生, 可能导致非包含型腰椎间盘突出症较高的术后腰腿痛残留率。

【关键词】 非包含型腰椎间盘突出症; 腰腿痛阈值; 术后残留症状; 神经肽

中图分类号: R681.5+3

DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.20230558

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Molecular mechanism of residual lumbago and leg pain after transforaminal endoscopic treatment of lumbar disc herniation

YANG Kun¹, CHEN Zi-long¹, CHEN Yan-xi¹, REN Li-jun¹, HOU Lei² (1. Department of TCM, Jiesshou People's Hospital of Anhui province, Jiesshou 236000, Anhui, China; 2. Department of Rheumatology and Immunology, the Second Hospital Affiliated to Guizhou University of TCM, Guiyang 550003, Guizhou, China)

ABSTRACT Objective To observe the residual of lumbago and leg pain with contained type (CT) and non-contained type (NCT) lumbar disc herniation (LDH) after transforaminal endoscopic treatment, and to explore the role of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and transient receptor potential vanillate 1 (TRPV1) pathway. **Methods** A total of 68 single-segment LDH patients were selected from July 2021 to October 2022, including 44 males and 24 females; aged 26 to 67 years old with an average of (43.63 \pm 11.94) years old; course of disease was 4 to 36 (18.91 \pm 10.34) months; body mass index was (24.45 \pm 4.00) kg \cdot m⁻²; there were 7 cases of L_{3,4} segments, 32 cases of L_{4,5} segments, and 29 cases of L₅S₁ segments. All of them were performed with percutaneous intervertebral endoscopic extraction of nucleus pulposus and were divided into contained group (CT group) and non-contained group (NCT group) with 34 cases respectively according to the integrity of outer layer of fibrous an-

基金项目: 贵州省科技厅科技计划项目 (编号: 20201Y383); 阜阳市卫生健康委员会科研项目 (编号: FY2021-186)

Fund program: Science and Technology Program of Guizhou Provincial Science and Technology Department (No. 20201Y383)

通讯作者: 侯雷 E-mail: houleigzzydx@126.com

Corresponding author: HOU Lei E-mail: houleigzzydx@126.com

nulus observed during operation. A total of 17 patients who underwent open surgery for scoliosis or vertebral fracture were selected as control group, including 12 males and 5 females; aged 21 to 65 years old with an average of (39.41±12.80) years old; body mass index was (24.86±4.11) kg·m⁻². The relative mRNA expression quantity of HIF-1 α , TRPV1 in nucleus pulposus were measured by quantitative real-time PCR. The contents of neurokinin 1 receptor (NK1R), nerve growth factor (NGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) in nucleus pulposus and the serum substance P (SP) and calcitonin gene-related peptide (CGRP) were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The threshold of lumbar tenderness was detected by a pressure pain meter. The degree of lumbago and lumbar function were evaluated by visual analog scale (VAS) and Oswestry disability index (ODI) separately. The residual rate of postoperative lumbago and leg pain was assessed. **Results** The mRNA relative expression quantity of HIF-1 α and TRPV1, and the contents of NK1R, NGF and VEGF in nucleus pulposus, and the levels of serum SP and CGRP before surgery in the NCT group were higher than those in the CT group ($P<0.05$), and those in the CT group were higher than the control group ($P<0.05$). At day 7 after surgery, the serum SP and CGRP levels, lumbago and leg pain VAS scores and lumbar ODI index in two LDH groups were lower than before surgery ($P<0.05$), and those in the NCT group were higher than the CT group ($P<0.05$), and the threshold of lumbar tenderness in the NCT group was lower than the CT group ($P<0.05$). The differences of lumbago and leg pain VAS scores, lumbar ODI index and lumbar tenderness threshold between preoperative and postoperative 7 days in the NCT group were lower than those in the CT group ($P<0.05$). The residual rate of lumbago and leg pain at 7 days after surgery in the NCT group was higher than that in the CT group ($P<0.05$).

Conclusion HIF-1 α and TRPV1 pathway promoted the excessive production of NGF, VEGF, NK1R in nucleus pulposus and serum neuropeptides SP and CGRP, which may lead to the higher residual rate of lumbago and leg pain with non-contained lumbar disc herniation postoperative.

KEYWORDS Non-contained type lumbar disc herniation; Threshold of lumbar tenderness; Postoperative residual symptom; Neuropeptide

腰椎间盘突出症(lumbar disc herniation, LDH)术后残留症状是指患者接受手术治疗后仍残留腰腿痛或麻木症状。据报道, LDH 术后残留不同程度腰腿疼痛症状的发生率高达 40%~75%^[1-3]。LDH 不同髓核突出类型影响髓核中致痛物质表达的差异^[4], 其中, 非包含型(non-contained type, NCT)LDH 髓核突破纤维环全层后激活低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 诱导髓核周围新生血管和无鞘神经纤维形成可能是加重 LDH 术后残留腰腿疼痛症状的重要因素之一^[2,5-7]。瞬时受体电位香草酸 1 (transient receptor potential vanillate 1, TRPV1)及神经肽 P 物质(substance P, SP)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)在 LDH 神经病理性疼痛的发生与维持中发挥作用^[8]。而 HIF-1 α 和 TRPV1 基因是否在不同髓核突出类型 LDH 术后残留疼痛症状的产生和维持中发挥作用尚未阐明。本研究观察包含型(contained type, CT)和非包含型 LDH 患者经椎间孔镜髓核摘除术后腰腿痛残留情况, 探讨 HIF-1 α 和 TRPV1 通路在其中发挥的作用。

1 资料与方法

1.1 病例选择

1.1.1 诊断标准 符合《腰椎间盘突出症诊疗指南》^[9]中 LDH 的诊断标准, 不同程度下腰痛及下肢放射痛, 直腿抬高试验及神经根牵拉试验阳性, 影像学检查显示椎间盘突出节段与症状和体征相符。

1.1.2 纳入标准 符合诊断标准; 经影像学检查结

合症状和体征可明确单个责任节段椎间盘突出者; 经保守治疗 ≥ 3 个月症状无改善或加重, 符合经皮椎间孔镜手术治疗的指征并适宜该手术方式; 病程 ≤ 3 年; 腰痛视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS)^[1] ≥ 5 分; 自愿参加研究并签署知情同意书。

1.1.3 排除标准 既往有 LDH 手术史; 合并 II 度及以上腰椎滑脱、骨折、结核、侧弯, 强直性脊柱炎及肿瘤者; 伴有缺血缺氧性心肺疾病者; 伴有其他急慢性疼痛病史者, 如周围神经病变; 伴有严重心脑血管、肝、肾及内分泌疾病等手术禁忌证者。

1.2 临床资料

选取 2021 年 7 月至 2022 年 10 月收治的符合入选标准并初次采用经皮椎间孔镜髓核摘除手术治疗的单节段 LDH 患者 68 例, 男 44 例, 女 24 例; 年龄 26~67(43.63±11.94)岁; 病程 4~36(18.91±10.34)个月; 身体质量指数(24.45±4.00) kg·m⁻²; L_{3,4} 节段 7 例, L_{4,5} 节段 32 例, L₅S₁ 节段 29 例。即把术中发现椎间盘纤维环外层完整的包含型 LDH 患者 34 例作为 CT 组, 把术中发现椎间盘纤维环外层破裂的非包含型 LDH 患者 34 例作为 NCT 组。收集同期采用脊柱侧弯矫形或椎体爆裂性骨折开放手术治疗并排除既往患有典型 LDH 下腰痛病史的 17 例作为对照组, 男 12 例, 女 5 例; 年龄 21~65(39.41±12.80)岁; 身体质量指数(24.86±4.11) kg·m⁻²; 腰椎爆裂性骨折 9 例, 脊柱侧弯矫形 8 例。3 组性别、年龄、身体质量指数比较($\chi^2=0.471$, $F=0.843$, 0.276), 差异均无统计学意义($P>0.05$)。两 LDH 组性别、年龄、身体质量指

数、病程、突出节段比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。本研究已获医院伦理委员会批准(批号:ZY2020002)。

1.3 治疗方法

LDH 患者均行经皮椎间孔镜髓核摘除术,所有手术由同一团队完成。患者取俯卧位或侧卧位,采用 0.5%利多卡因注射液局部逐层浸润麻醉,在 C 形臂 X 线机透视下定位手术节段和穿刺进针点,经皮向患侧椎间孔方向穿刺。C 形臂 X 线机正侧位透视见穿刺针位于下位椎体上关节突尖部,在抵椎间盘后取出穿刺针内芯并置入导丝,扩皮,逐级插入套管、导棒,骨性组织予环钻扩孔。正位透视见工作套管位于椎弓根内侧缘连线,侧位透视位于病变椎间盘后缘,置入内镜,在 0.9%生理氯化钠溶液持续冲洗下仔细辨认病变及周围组织解剖结构,使用神经剥离器仔细分离神经根周围粘连组织,牵开神经根,显露椎间盘,使用适宜型号髓核钳摘除对神经根和硬膜囊造成压迫的突出髓核及游离组织,射频电极止血。探查神经根内侧及下方无压迫并随水压波动良好,询问患者患肢症状,确保患肢感觉、运动功能改善和直腿抬高试验阴性后彻底冲洗、止血,撤出工作套管,放置引流管,缝合伤口。术后均予预防感染、脱水消肿治疗。

1.4 观察项目与方法

1.4.1 髓核 HIF-1 α 和 TRPV1 mRNA 相对表达量
采用实时荧光定量 PCR 法。取各组超低温研磨髓核组织 50 mg,使用 RNAiso Plus (Trizol 法)试剂盒(上海新睿生物科技有限公司,货号 9109)提取总 RNA,检测 RNA 纯度和浓度。使用 PrimeScrip™ RT Master Mix(perfect Real Time)逆转录试剂盒(上海新睿生物科技有限公司,货号 RR036A)按说明书配制 20 ml 逆转录反应体系合成 cDNA。使用 Power SYBR™ Green PCR Master Mix 试剂盒(上海新睿生物科技有限公司,货号 4367659)配制 PCR 扩增反应体系,使用 ABI ViiA7 实时荧光定量 PCR 仪进行 PCR 反应。PCR 反应体系:SYBR Premix EX Taq10 μ l,上、下游

引物各 1 μ l,cDNA 2 μ l,加 dd H₂O 至 20 μ L。PCR 反应条件:50 $^{\circ}$ C 预变性 2 min,95 $^{\circ}$ C 变性 2 min,95 $^{\circ}$ C 退火 15 s,60 $^{\circ}$ C 延伸 60 s,循环 40 次。以 GAPDH 为内参,2^{- $\Delta\Delta$ C_t}法计算目的基因相对表达量。所有引物委托上海生工生物公司设计合成,PAGE 纯化。引物序列见表 2。

1.4.2 髓核神经激肽 1 受体(neurokinin 1 receptor,NK1R)、神经生长因子(nerve growth factor,NGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)及血清 SP、CGRP 蛋白含量 采用 ELISA 法。取各样本髓核组织 10 mg,按髓核组织与 1 \times PBS 液质量比值为 1:9 使用超声均浆仪在冰浴条件下制作 10%组织均浆液,BCA 法检测各样本总蛋白浓度。取各样本髓核 10%组织均浆液及各组术前 1 d 和各 LDH 组术后 7 d 晨起肘静脉血,离心后取上清液,按照人 ELISA 法 NGF、VEGF 试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司,货号 E-H0112,E-H0015),NK1R、SP、CGRP 试剂盒(天津科维诺生物科技有限公司,货号 20201107,20210706,20211010)说明书加样、加液,使用南京德铁酶标仪检测各样本吸光度,绘制标准曲线,计算各样本蛋白浓度。

1.4.3 临床疗效评价 各 LDH 组术前和术后 7 d 评估腰疼痛阈值、腰腿痛 VAS 和腰椎 Oswestry 功能障碍指数(Oswestry disability index,ODI):(1)采用压力测痛仪检测腰部压痛点疼痛阈值^[10]。在腰椎间盘突出责任节段周围寻找最强程度压痛点,间歇 2 min 用压力测痛仪按压痛点,以引起疼痛为度,读取测痛仪显示数值,检测 2 次取平均值。(2)采用 VAS 评估腰腿痛程度。VAS 刻度尺直线段从 0 开始至 10 cm 为止,共 11 个刻度值,0 分为无痛,10 分为疼痛无法忍受。(3)采用 ODI 问卷表评估腰椎功能^[11]。ODI 量表由腰腿疼痛程度和因疼痛影响提举重物、行走、站立、坐立、睡眠及社会生活能力等 10 个方面问题组成,每个问题为 0~5 分,ODI=实际得分/(5 \times 回答问题个数) \times 100%,ODI 越高表示由疼痛引起的腰椎功能障碍越严重。

表 1 两组腰椎间盘突出患者临床资料比较

Tab.1 Comparison of clinical data between two LDH groups

组别	例数	性别/例		年龄($\bar{x}\pm s$)/岁	身体质量指数($\bar{x}\pm s$)/(kg \cdot m ²)	病程($\bar{x}\pm s$)/月	突出责任节段/例		
		男	女				L _{3,4}	L _{4,5}	L ₅ S ₁
CT 组	34	21	13	43.29 \pm 12.27	24.14 \pm 4.04	17.15 \pm 10.27	4	14	16
NCT 组	34	23	11	43.97 \pm 11.78	24.76 \pm 3.99	20.68 \pm 10.26	3	18	13
检验值		$\chi^2=0.258$		$t=-0.232$	$t=-0.637$	$t=-1.418$	$\chi^2=1.008$		
P 值		0.612		0.817	0.526	0.161	0.683		

注:CT 组,包含型腰椎间盘突出症组;NCT 组,非包含型腰椎间盘突出症组

表 2 引物序列表
Tab.2 Primer sequence table

基因名称	引物序列(5'-3')	扩增产物长度(bp)
HIF-1 α	上游引物:CCACTGCCACCACTGATGAA	116
	下游引物:GTGAGGCTGTCCGACTTTGA	
TRPV1	上游引物:TGAAGTGGACCACCTGGAACAC	132
	下游引物:TGTCTGCCTGAAACTCTGCTTGA	
GAPDH	上游引物:ACCACAGTCCATGCCATCACT	140
	下游引物:CCATCACGCCACAGTTTCC	

1.4.4 术后腰腿痛残留率 术后 7 d 时,评估患者腰、腿痛 VAS 并依据改良 MACNAB^[12] 制定的 Macnab 标准评定疗效:优,腰腿痛症状消失,腰腿痛 VAS 0~1 分;良,轻度腰腿痛,腰腿痛 VAS 1.5~3 分;可,中度腰腿痛,腰腿痛 VAS 3.5~5 分;差,腰腿痛仍为重度,腰腿痛 VAS 5.5~10 分。依据患者腰腿痛 VAS 平均值评定疗效为“可”和“差”者判定为术后腰腿痛残留。腰腿痛残留率=(可例数+差例数)/总例数 $\times 100\%$ 。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 26.0 软件对数据行统计学分析。年龄、身体质量指数、病程、HIF-1 α 和 TRPV1 mRNA、NK1R、NGF、VEGF、SP 和 CGRP、腰压痛阈值及腰椎 ODI 等定量资料经 Shapiro-Wilk 正态性检验,符合或近似正态分布用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,若方差齐,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,手术前后比较采用配对样本 *t* 检验,3 组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验,若方差不齐,采用 Tamhane's *T2* 检验。腰腿痛 VAS 非正态分布定量资料用中位数 *M* (*Q1*, *Q3*) 表示,两组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,手术前后比较采用 Wilcoxon 符号秩检验。性别、突出节段、疗效例数等定性资料用例表示,采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组髓核 HIF-1 α 和 TRPV1 mRNA 相对表达量比较

CT 组 HIF-1 α 、TRPV1 mRNA 的相对表达量均高于对照组 ($P<0.05$),且均低于 NCT 组 ($P<0.05$)。见表 3。

2.2 各组髓核 NK1R、NGF、VEGF 蛋白含量比较

CT 组 NK1R、NGF、VEGF 蛋白含量均高于对照组 ($P<0.05$),且均低于 NCT 组 ($P<0.05$)。见表 4。

2.3 各组 SP 和 CGRP 水平比较

术前,CT 组 SP、高于对照组 (6.97 ± 0.95) $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$,

表 3 各组患者髓核 HIF-1 α 和 TRPV1 mRNA 相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 Comparison of HIF-1 α and TRPV1 mRNA relative expression levels in nucleus pulposus between each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	HIF-1 α	TRPV1 mRNA
对照组	17	0.67 \pm 0.13	1.93 \pm 0.27
CT 组	34	0.82 \pm 0.77 ^a	2.38 \pm 0.42 ^a
NCT 组	34	0.98 \pm 0.16 ^b	3.00 \pm 0.61 ^b
<i>F</i> 值		28.344	38.103
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与 CT 组比较,^b $P<0.05$

表 4 各组患者髓核 NK1R、NGF、VEGF 蛋白含量比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.4 Comparison of protein contents of NK1R,NGF and VEGF in nucleus pulposus between each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	NK1R/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	NGF/ $(\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	VEGF/ $(\text{ng}\cdot\text{L}^{-1})$
对照组	17	0.97 \pm 0.20	1.50 \pm 0.59	78.71 \pm 6.19
CT 组	34	2.03 \pm 0.59 ^a	2.71 \pm 0.64 ^a	90.89 \pm 11.17 ^a
NCT 组	34	3.20 \pm 0.82 ^b	3.65 \pm 0.73 ^b	117.89 \pm 17.27 ^b
<i>F</i> 值		138.228	59.433	70.347
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与 CT 组比较,^b $P<0.05$

CGRP 高于对照组 (2.78 ± 0.83) $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$,且均低于 NCT 组 ($F=321.209, 301.793, P<0.001$)。术后 7 d,两 LDH 组 SP、CGRP 水平均较术前降低 ($P<0.001$),且 CT 组均低于 NCT 组 ($P<0.05$),NCT 组 SP、CGRP 术前与术后 7 d 差值均高于 CT 组 ($P<0.05$)。见表 5。

2.4 两 LDH 组腰压痛阈值、腰腿痛 VAS、腰椎 ODI 及差值比较

术前 NCT 组腰腿痛 VAS、腰椎 ODI 与 CT 组比较,差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。术后 7 d,两 LDH 组腰腿痛 VAS、腰椎 ODI 均较术前降低 ($P\leq 0.001$),且腰压痛阈值均较术前升高 ($P<0.001$)。术后 7 d NCT 组腰腿痛 VAS、腰椎 ODI 均高于 CT 组 ($P<0.05$),腰压痛阈值低于 CT 组 ($P<0.05$)。NCT 组腰腿痛 VAS、腰椎 ODI、腰压痛阈值术前与术后 7 d 差值均低于 CT 组 ($P<0.05$)。见表 6、表 7。

2.5 两 LDH 组腰腿痛残留率比较

术后 7 d 时,NCT 组腰腿痛残留率高于 CT 组 ($P<0.05$)。见表 8。

3 讨论

3.1 LDH 髓核中 HIF-1 α 过量表达对 NGF 和

表 5 两组腰椎间盘突出症患者术中和术后 7 d 的 SP 与 CGRP 相对表达水平及差值比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.5 Comparison of SP and CGRP levels and the difference between two LDH groups before and 7 days after operation($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	SP			CGRP		
		术前	术后 7 d	术前与术后 7 d 差值	术前	术后 7 d	术前与术后 7 d 差值
CT 组	34	13.71±2.74	9.49±1.61 ^a	4.22±3.03	7.60±1.57	4.52±1.97 ^b	3.08±2.62
NCT 组	34	20.67±3.06	11.59±2.67 ^c	9.08±4.06	12.73±2.18	7.41±2.82 ^d	5.31±2.81
<i>t</i> 值		-9.890	-3.930	-5.596	-11.141	-4.888	-3.393
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001

注:与术前比较,^a*t*=-8.117,^b*t*=-6.840,^c*t*=-13.037,^d*t*=-11.020,*P*<0.001

表 6 两组腰椎间盘突出症患者手术前后 7 d 腰压痛阈值、腰腿痛 VAS、腰椎 ODI 比较

Tab.6 Comparison of lumbar tenderness threshold, lumbago and leg pain VAS scores and lumbar ODI index between two LDH groups before and 7 days after operation

组别	例数	腰压痛阈值($\bar{x}\pm s$)/N		腰痛 VAS[<i>M</i> (<i>Q</i> 1, <i>Q</i> 3)]/分		腿痛 VAS[<i>M</i> (<i>Q</i> 1, <i>Q</i> 3)]/分		腰椎 DOI($\bar{x}\pm s$)	
		术前	术后 7 d	术前	术后 7 d	术前	术后 7 d	术前	术后 7 d
CT 组	34	29.70±9.51	47.14±6.15 ^a	7.00(6.75,8.00)	2.00(1.00,4.00) ^b	6.50(6.00,8.00)	2.00(1.00,3.00) ^c	0.49±0.09	0.22±0.07 ^d
NCT 组	34	26.67±7.58	36.79±7.76 ^e	7.00(7.00,8.00)	5.00(2.00,7.00) ^f	7.00(6.00,8.00)	3.00(1.75,5.00) ^g	0.52±0.08	0.42±0.15 ^h
检验值		<i>t</i> =1.454	<i>t</i> =6.089	<i>Z</i> =-1.028	<i>Z</i> =-2.907	<i>Z</i> =-0.449	<i>Z</i> =-2.170	<i>t</i> =-1.393	<i>t</i> =-6.994
<i>P</i> 值		0.151	<0.001	0.304	0.004	0.653	0.030	0.168	<0.001

注:与术前比较,^a*t*=15.556,^b*Z*=-5.108,^c*Z*=-5.151,^d*t*=-13.290,^e*t*=15.007,^f*Z*=-4.400,^g*Z*=-4.960,*P*<0.001;^h*t*=-3.504,*P*=0.001

表 7 两组腰椎间盘突出症患者腰压痛阈值、腰腿痛 VAS、腰椎 ODI 术前与术后 7 d 差值比较

Tab.7 Comparison of the difference of lumbar tenderness threshold, lumbago and leg pain VAS scores and lumbar ODI index between two LDH groups before and 7 days after operation

组别	例数	腰压痛阈值($\bar{x}\pm s$)/N	腰痛 VAS[<i>M</i> (<i>Q</i> 1, <i>Q</i> 3)]/分	腿痛 VAS[<i>M</i> (<i>Q</i> 1, <i>Q</i> 3)]/分	腰椎 ODI($\bar{x}\pm s$)
CT 组	34	17.44±6.54	5.00(3.00,6.00)	5.00(4.00,5.00)	0.28±0.12
NCT 组	34	10.13±3.93	3.00(0.00,5.00)	4.00(2.00,5.00)	0.11±0.18
检验值		<i>t</i> =5.587	<i>Z</i> =-2.899	<i>Z</i> =-2.535	<i>t</i> =4.695
<i>P</i> 值		<0.001	0.004	0.011	<0.001

表 8 两组腰椎间盘突出症患者术后 7 d 腰腿痛残留率比较

Tab.8 Comparison of residual rate of lumbago and leg pain at 7 days after operation between two LDH groups

组别	例数	改良 Macnab 标准评价结果/例				残留率/ %
		优	良	可	差	
CT 组	34	10	15	5	4	26.5
NCT 组	34	5	10	7	12	55.9
χ^2 值						6.071
<i>P</i> 值						0.014

VEGF 水平的影响

髓核是人体中处于生理缺氧环境承担高压力的最大无血管组织,HIF-1 α 可在正常椎间盘低水平表达^[7]。本研究结果显示,各 LDH 组髓核 HIF-1 α mRNA 水平均高于对照组。可能因为随着髓核突出

纤维环,局部炎症反应促使髓核细胞活动性增强,髓核细胞的有效氧张力并非增加,由细胞缺氧引起的氧化应激反应激活了 HIF-1 α 过量表达^[13]。本研究中还发现,NCT 组髓核 HIF-1 α mRNA 和 NGF、VEGF 水平均高于 CT 组。可能因为非包含型 LDH 髓核全层突破纤维环后髓核所承受的纵向压力骤降,突出髓核细胞的适应性存活机制增加了 HIF-1 α 的过量产生^[14]。此外,全层突破纤维环的髓核失去纤维环的免疫屏障作用而与硬膜外周组织直接接触,局部免疫反应能启动对髓核组织的重吸收机制,包括髓核 HIF-1 α 启动周围组织靶基因 NGF、VEGF 过量产生,促进纤维环外层破裂口和后纵韧带新生血管形成加速巨噬细胞吞噬进程,NGF、VEGF 还同时促进髓核周围组织无鞘神经纤维和小囊式神经末梢伤害性感受器的广泛生成^[5,7]。

3.2 LDH 髓核中 TRPV1 过量表达对 SP、CGRP 和 NK1R 水平及疼痛信息传递的影响

本研究中, NCT 组髓核 TRPV1 mRNA、NK1R 和术前血清 SP、CGRP 水平均高于 CT 组。TRPV1 广泛分布于背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)和脊髓背角的初级传入神经元中。在椎间盘纤维环全层破裂后, 突出髓核中的 HIF-1 α 可促进活性氧激活蛋白激酶 C 直接增加 TRPV1 的磷酸化水平, 促进其转录^[15]。此外, 在突出髓核周围来源于 DRG 的 A δ 纤维和无髓鞘 C 纤维神经元中, HIF-1 α 的下游基因 NGF 与 DRG 细胞膜上的神经生长因子受体结合也可激活 TRPV1 的转录^[5]。TRPV1 的激活可引起其下游内源性致痛物质 SP、CGRP 等神经肽的过量释放^[8]。而且, 在 DRG 神经元中 NK1R 和 TRPV1 共位表达, SP 与其受体 NK1R 结合能扩大细胞间隙增加炎症因子外渗和激活 TRPV1, 促进神经源性炎症, 提高 DRG 神经元的兴奋性, 促进外周疼痛信号的传导^[16-17]。SP 受体 NK1R 的激活还在 LDH 疼痛中枢敏化的维持中发挥重要作用^[18], 如位于肽能初级传入末端突触前的 TRPV1 受体的激活可诱导脊髓背角神经元的产生放电频率依赖性的去极化效应, 促进中枢疼痛信号的传导^[16]。CGRP 在充当伤害性信息传递质时对神经元的兴奋性亦有影响。在 DRG 受压后, TRPV1 在神经胶质细胞激活中发挥作用^[8], 胶质细胞激活可通过 A δ 和 C 纤维改变脊髓背角神经元的兴奋性, 增加脊髓背角 CGRP 的表达, 通过诱导免疫细胞驱化引起神经炎性疼痛^[20-21]。

3.3 LDH 患者神经肽 SP、CGRP 水平对术后腰腿痛残留及腰椎功能的影响

本研究术前 NCT 组 SP、CGRP 水平均高于 CT 组, 但 NCT 组腰压痛阈值、腰腿痛 VAS、腰椎 ODI 与 CT 组比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$), 可能因为 TRPV1 及神经肽 SP、CGRP 长期处于高水平表达, 外周及中枢伤害感受器能对其产生脱敏效应, 提高了疼痛阈值^[22]。本研究结果还显示, 术后 7 d 时, NCT 组 SP、CGRP 水平及术前与术后差值均高于 CT 组, 腰腿痛 VAS 仍高于 CT 组, 且腰压痛阈值低于 CT 组; NCT 组腰压痛阈值、腰腿痛 VAS、ODI 术前与术后差值均低于 CT 组; NCT 组腰腿痛术后残留率高于 CT 组。可能因为 NCT 型 LDH 髓核周围及椎间孔水平后纵韧带的新生血管和神经纤维密度和分布均较 CT 型更加稠密和广泛, 因此 NCT 型 LDH 髓核及周围组织经手术清理后能引起 SP、CGRP 水平的骤然下降, 然而, NCT 型 LDH 术后髓核周围仍残留较多的无鞘新生神经纤维无法彻底清除^[2, 23], 这

些残留的神经纤维反而在术中遭到机械性损伤和破坏, 神经纤维的残端和伤害性感受器广泛暴露, 局部炎症反应仍可加剧激活 TRPV1 的转录, 促进 SP、CGRP 持续产生并经新生血管扩散持续发挥外周和中枢效应, 引起疼痛信号的传导^[17, 20]。

3.4 本研究的局限性

事实上难以获取绝对正常的人体髓核组织作为对照; 纳入样本量较少, 未来需要纳入大样本量进行研究; 本研究随访时间较短, 未能充分排除手术创伤对患者疼痛感受的影响; 神经肽水平与患者焦虑、抑郁等情绪变化存在一定关联, 情绪因素也可能是影响患者疼痛感受客观评价的混杂因素, 未来研究需进一步证实。

综上所述, LDH 患者可能通过 HIF-1 α /TRPV1 通路促进髓核 NGF、VEGF、NK1R 及血清神经肽 SP、CGRP 过量产生引起腰腿疼痛的发生与维持并导致了非包含型 LDH 术后较高腰腿痛残留率。

参考文献

- [1] 李俊杰, 梁舒涵, 吴从俊, 等. 壮腰祛瘀方治疗腰椎间盘突出术后残留症状的临床研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2020, 28(2): 24-28.
LI J J, LIANG S H, WU C J, et al. Clinical study of *Zhuangyao Quyu* Decoction in treating residual symptoms after operation of lumbar disc herniation[J]. Chin J Tradit Med Traumatol Orthop, 2020, 28(2): 24-28. Chinese.
- [2] 黎广平, 崔冠宇, 吴佳源, 等. 粘连性与非粘连性腰椎间盘突出症患者椎间盘组织病理学特点比较[J]. 山东医药, 2016, 56(32): 46-48.
LI G P, CUI G Y, WU J Y, et al. Comparison of histopathological characteristics of intervertebral discs between patients with adhesive and non-adhesive lumbar disc herniation[J]. Shandong Med J, 2016, 56(32): 46-48. Chinese.
- [3] 王雷, 李宏九, 李无阴, 等. 针药结合治疗腰椎间盘突出症开放减压术后残余疼痛的疗效观察[J]. 中国中医急症, 2022, 31(7): 1245-1248.
WANG L, LI H J, LI W Y, et al. Efficacy observation of traditional Chinese medicine combined with acupuncture on residual pain after open decompression for lumbar disc herniation[J]. J Emerg Tradit Chin Med, 2022, 31(7): 1245-1248. Chinese.
- [4] 王峰, 崔玉蓬. 腰椎间盘突出症患者椎间盘组织炎症因子、TGF- β 1、PGE2 表达及意义[J]. 山东医药, 2016, 56(32): 56-58.
WANG F, CUI Y P. Expression and significance of inflammatory factors, TGF- β 1 and PGE2 in intervertebral disc tissue of patients with lumbar disc herniation[J]. Shandong Med J, 2016, 56(32): 56-58. Chinese.
- [5] ZHANG S, HU B, LIU W, et al. The role of structure and function changes of sensory nervous system in intervertebral disc-related low back pain[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2021, 29(1): 17-27.
- [6] 蔡少康, 尹晶, 夏杨, 等. 经皮椎间盘旋切术结合臭氧治疗腰椎间盘突出术后“疼痛反跳”现象及远期镇痛疗效的临床分析[J]. 中国疼痛医学杂志, 2016, 22(6): 470-473.
CAI S K, YIN J, XIA Y, et al. Clinical analysis of "pain rebound"

- after percutaneous discectomy combined with ozone treatment for lumbar disc herniation and its long-term analgesic effect[J]. *Chin J Pain Med*, 2016, 22(6):470-473. Chinese.
- [7] LIN W P, WANG X J, WANG C R, et al. Polymorphism in the hypoxia-inducible factor 1alpha gene may confer susceptibility to LDD in Chinese cohort[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e73158.
- [8] WANG J, ZHOU F, ZHANG S S, et al. Participation of transient receptor potential vanilloid 1 in the analgesic effect of duloxetine for paclitaxel induced peripheral neuropathic pain[J]. *Neurosci Lett*, 2022, 773:136512.
- [9] 中华医学会骨科学分会脊柱外科学组, 中华医学会骨科学分会骨科康复学组. 腰椎间盘突出症诊疗指南[J]. *中华骨科杂志*, 2020, 40(8):477-487.
CHINESE ORTHOPAEDIC ASSOCIATION OF SPINAL SURGERY GROUP, CHINESE ORTHOPAEDIC ASSOCIATION OF ORTHOPAEDIC REHABILITATION GROUP. Clinical practice guideline for diagnosis and treatment of lumbar disc herniation[J]. *Chin J Orthop*, 2020, 40(8):477-487. Chinese.
- [10] 赵颀, 朱纯正, 杨欢, 等. 压力痛阈测试在腰椎间盘突出症中的应用研究[J]. *中国骨伤*, 2020, 33(5):435-439.
ZHAO Q, ZHU C Z, YANG H, et al. Application of pain pressure threshold test in lumbar intervertebral disc herniation study[J]. *China J Orthop Traumatol*, 2020, 33(5):435-439. Chinese.
- [11] FIBANK J, PYNSENT P. The Oswestry disability index[J]. *Spine*, 2000, 25:2940-2953.
- [12] MACNAB I. Negative disk exploration: an analysis of the causes of nerve-root involvement in sixty-eight patients[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1971, 53:891-903.
- [13] KWON W K, MOON H J, KWON T H, et al. The role of hypoxia in angiogenesis and extracellular matrix regulation of intervertebral disc cells during inflammatory reactions[J]. *Neurosurgery*, 2017, 81(5):867-875.
- [14] KIM J W, AN H J, YEO H, et al. Activation of hypoxia-inducible factor-1 α signaling pathway has the protective effect of intervertebral disc degeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21):11355.
- [15] RISTOIU V, SHIBASAKI K, UCHIDA K, et al. Hypoxia-induced sensitization of transient receptor potential vanilloid 1 involves activation of hypoxia-inducible factor-1 alpha and PKC[J]. *Pain*, 2011, 152(4):936-945.
- [16] ZHAO L, ZHUANG J G, ZANG N, et al. Prenatal nicotinic exposure upregulates pulmonary C-fiber NK1R expression to prolong pulmonary C-fiber-mediated apneic response[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2016, 290:107-115.
- [17] SANTOS F M, SILVA J T, ROCHA I R C, et al. Non-pharmacological treatment affects neuropeptide expression in neuropathic pain model[J]. *Brain Res*, 2018, 1687:60-65.
- [18] CHEN W L, MCROBERTS J A, ENNES H S, et al. cAMP signaling through protein kinase A and Epac2 induces substance P release in the rat spinal cord[J]. *Neuropharmacology*, 2021, 189:108533.
- [19] NAZARIAN A, GU G, GRACIAS N G, et al. Spinal N-methyl-D-aspartate receptors and nociception-evoked release of primary afferent substance P[J]. *Neuroscience*, 2008, 152(1):119-127.
- [20] TAKEUCHI H, KAWAGUCHI S, OHWADA O, et al. Plasma neuropeptides in patients undergoing lumbar discectomy[J]. *Spine*, 2007, 32(2):E79-E84.
- [21] ZHANG Y, XU X, TONG Y X, et al. Therapeutic effects of peripherally administrated neural crest stem cells on pain and spinal cord changes after sciatic nerve transection[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1):180.
- [22] IFTINCA M, DEFAYE M, ALTIER C. TRPV1-targeted drugs in development for human pain conditions[J]. *Drugs*, 2021, 81(1):7-27.
- [23] WABER-WENGER B, FORTERRE F, KUEHNI-BOGHENBOR K, et al. Sensory innervation of the dorsal longitudinal ligament and the meninges in the lumbar spine of the dog[J]. *Histochem Cell Biol*, 2014, 142(4):433-447.

(收稿日期:2023-10-19 本文编辑:朱嘉)