

通络散结酊对大鼠炎症痛及骨癌痛模型镇痛的疗效观察

Tongluo Sanjie tincture relieves inflammatory and bone cancer pain in rats: an observation of outcome

俞珊¹, 毛应启梁², 魏品康¹, 施俊¹, 彭海东¹, 李峻¹

(1. 第二军医大学长征医院中医科, 上海 200003; 2. 复旦大学针刺原理教研室, 上海 200032)

[摘要] **目的:** 观察通络散结酊(主要组成为天南星、半夏、山慈菇及威灵仙)对大鼠炎症痛模型、骨癌痛模型的镇痛作用。

方法: 通过 Wistar 大鼠右踝部注射完全弗氏佐剂(CFA)0.1 ml 建立炎症痛模型, 造模 24 h 后应用通络散结酊及扶他林乳剂 7 d, 动态观察大鼠体质量和进食水量、右踝周径及屈/伸踝关节疼痛试验评分的变化。通过 Wistar 大鼠右胫骨髓腔内注射 Walker-256 肿瘤细胞 3×10^4 建立骨癌痛模型, 造模 12 d 后应用通络散结酊及扶他林乳剂 14 d, 动态观察大鼠体质量和进食水量、及丙酮刺激缩足反应时间的变化。**结果:** 炎症痛大鼠造模后第 2 天即出现明显的右踝关节肿胀, 屈/伸踝关节疼痛试验评分及右踝周径较空白组明显增加($P < 0.05$); 与模型组相比, 通络散结酊和扶他林乳剂外用均可明显减小大鼠屈/伸关节疼痛试验评分及踝周径($P < 0.05$), 两种药物作用效果无显著差异。骨癌痛大鼠造模第 12 天出现缩足反应时间较空白组明显缩短($P < 0.05$), 通络散结酊和扶他林乳剂外用 7 d 内均可明显延长骨癌痛大鼠缩足反应时间, 较模型组有显著差异($P < 0.05$), 用药 14 d 后, 通络散结酊仍有很好的效果, 而扶他林乳剂效果低于用药 7 d 时($P < 0.05$)。**结论:** 通络散结酊对炎症痛及骨癌痛均有镇痛作用, 且在扶他林乳剂效果不佳的骨癌痛晚期仍有镇痛作用。

[关键词] 通络散结酊; 关节痛; 骨癌痛; 疼痛模型

[中图分类号] R 286.11 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2006)06-0684-03

我科魏品康教授经过长期临床经验总结, 研制出以化痰通络散结为法的中药外用止痛复方制剂通络散结酊(主要组成为天南星、半夏、山慈菇及威灵仙), 用于临床治疗急慢性疼痛尤其是慢性疼痛有较好的疗效, 在治疗癌痛方面也表现出一定的效果。目前认为癌痛有炎症反应的参与^[1], 非类固醇抗炎药不仅可以通过消除炎症反应镇痛, 也被证实对骨癌痛有一定的治疗作用^[2]。故本研究利用注射 CFA 及 Walker-256 细胞建立两种动物疼痛模型, 选取外用非类固醇抗炎药扶他林乳剂作为对照, 以观察通络散结酊对癌痛的镇痛作用。

1 材料和方法

1.1 药物、试剂、细胞株及动物 通络散结酊, 由天南星、半夏、山慈菇及威灵仙组成(比例 2:2:1:1), 均购自雷允上药房, 产地明确, 经第二军医大学药学院生药学教研室鉴定。将各药材研粉, 药粉按 100 g/100 ml 比例加入 75% 乙醇, 密闭浸泡, 充分混合, 30 d 后过滤药渣, 取上清备用, 含生药量 2.54 g/ml。扶他林乳剂: 由北京诺华制药有限公司出品, 批号 05162。完全弗氏佐剂(CFA)购自 Sigma 试剂公司。Walker-256 肿瘤细胞购自上海医药工业研究院。8 周龄雌性 Wistar 大鼠 80 只, 150~180 g, 购自中国科学院实验动物中心。清洁条件下饲养。

1.2 分组与给药 大鼠分别用于建立炎症痛模型和骨癌痛模型, 各 40 只, 骨癌痛大鼠需以丙酮法^[3]进行筛选(右足缩足反应时间 3~20 s)。大鼠称量后随机各分为 4 组, 分别为空白对照组(以下简称空白组)、模型组、阳性对照组(以下简称对照组)、治疗组, 每组 10 只。空白组及模型组涂擦生理盐水, 0.5 ml/只; 对照组涂擦扶他林乳剂, 0.5 g/只; 治疗组涂擦散结酊, 0.5 ml/只, 均 4 次/d。炎症痛模型造模 24 h 后右踝部涂药, 给药 7 d。骨癌痛模型在出现明显痛敏反应(如

大鼠缩足反应时间较空白组明显缩短, 并出现舔足, 时常抬起右足等反应^[4])后右后肢脱毛处涂药, 给药 14 d。

1.3 模型的制备 炎症痛模型: 造模参考刘红香等^[5]方法, 消毒大鼠右外踝周围皮肤, 模型组、对照组及治疗组注入 CFA 0.1 ml^[6], 空白组注入等量生理盐水。

骨癌痛模型: 造模方法根据 Medhurst 等^[7]报道的方法改进, 大鼠右后肢脱毛后, 消毒, 弯曲膝关节以 1 ml 针头从胫骨近端向远端钻入, 到达骨髓腔后, 以 100 μ l 注射器, 注入 Walker-256 肿瘤细胞 30 μ l, 共计 3×10^4 个细胞, 以骨蜡封针孔, 腹腔注射硫酸庆大霉素 0.2 ml 预防感染。

1.4 观察指标 炎症痛模型: 观察造模前至用药 7 d 大鼠的体质量、进食水量、右踝周径(绕线法)及屈/伸踝关节疼痛试验评分^[6]。屈/伸踝关节疼痛试验评分标准同刘红香等^[6]方法, 背屈和(跖屈)大鼠右侧踝关节, 每隔 5 s 进行 1 次, 各 5 次。出现嘶叫或短促而明显的缩腿反应则评分为 1; 无反应评分为 0。两种指标的总评分为 0~10。

骨癌痛模型: 观察造模前至用药 14 d 大鼠的体质量、进食水量及右足缩足反应时间变化。骨癌痛模型在实验结束时处死大鼠取右后肢, 行病理学检测。

缩足反应时间的确定: 室温保持于(20 \pm 1) $^{\circ}$ C, 吸取 20 μ l 丙酮, 滴于大鼠右足掌, 记录出现缩足反应的时间, 每隔 5 min 进行 1 次, 共 5 次, 取平均值。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 11.0 统计软件包进行统计分析, 数值变量采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料比较采用方差分析。

2 结果

2.1 炎症痛模型 (1) 各组大鼠进食水量无差别, 体质量缓慢

增加。(2)模型组、对照组及治疗组大鼠踝部周径逐渐增大,明显大于空白组($P < 0.05$);给药后对照组和治疗组踝周径缩小明显早于模型组($P < 0.05$),对照组与治疗组比较无差异,见表 1。(3)造模后,模型组、对照组和治疗组较空白组

屈/伸踝关节疼痛评分明显增加($P < 0.05$),给药后,对照组及治疗组疼痛评分较模型组明显降低($P < 0.05$),仍高于空白组($P < 0.05$),对照组与治疗组比较无差异,见表 2。

表 1 炎症模型各组大鼠右踝周径变化

($n = 10, \bar{x} \pm s, d/cm$)

组别	造模前	造模后 2 d	治疗后		
			4 d	6 d	8 d
空白组	2.44 ± 0.06	2.47 ± 0.03	2.47 ± 0.03	2.49 ± 0.02	2.54 ± 0.04
模型组	2.45 ± 0.27	3.21 ± 0.23*	3.38 ± 0.24*	3.32 ± 0.18*	3.06 ± 0.14*
对照组	2.45 ± 0.13	3.26 ± 0.27*	3.23 ± 0.35*	3.14 ± 0.18*△	2.77 ± 0.16*△
治疗组	2.49 ± 0.18	3.27 ± 0.27*	3.22 ± 0.27*	3.07 ± 0.22*△	2.70 ± 0.11*△

* $P < 0.05$ 与空白组比较;△ $P < 0.05$ 与模型组比较

表 2 炎症模型各组大鼠屈/伸踝关节疼痛评分变化

($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	造模前	造模后 2 d	治疗后			
			2 d	4 d	6 d	8 d
空白组	0.75 ± 0.71	1.88 ± 1.13	2.00 ± 0.76	0.63 ± 0.74	0.50 ± 0.53	0.38 ± 0.52
模型组	0.50 ± 0.53	5.75 ± 1.91*	5.63 ± 1.41*	6.00 ± 1.93*	5.38 ± 1.69*	4.63 ± 2.26*
对照组	0.63 ± 0.52	5.50 ± 2.27*	3.50 ± 1.41*△	3.75 ± 1.91*△	3.00 ± 1.07*△	2.50 ± 1.07*△
治疗组	0.63 ± 0.74	5.63 ± 2.13*	3.25 ± 1.28*△	3.38 ± 1.30*△	2.88 ± 1.13*△	1.75 ± 0.71*△

* $P < 0.05$ 与空白组比较;▲ $P < 0.05$ 与模型组比较

2.2 骨癌痛模型 (1)模型组、对照组及治疗组大鼠逐渐消瘦,进食水减少,后有所恢复。期间大鼠死亡 5 只,至实验结束,空白组、模型组、对照组及治疗组分别剩余 10 只、8 只、8 只、9 只。

(2)造模前各组大鼠体质量无差异;造模后除空白组外其余各组体质量逐渐降低;给药后各组体质量均有增加,治疗组接近空白组,高于模型组($P < 0.05$),而对照组最低($P < 0.05$),见图 1。

(3)造模前各组右足缩足反应时间无差别;造模后模型组、对照组及治疗组时间较空白组明显缩短($P < 0.05$);给药 7 d,对照组及治疗组的时间明显长于模型组($P < 0.05$),治疗组长于对照组($P < 0.05$);给药 14 d 时,治疗组时间进一步延长,接近空白组,对照组虽长于模型组,但短于给药 7 d 时($P < 0.05$),见图 2。

(4)H-E 染色结果:模型组骨髓腔内有大量核大深染的肿瘤细胞,部分肿瘤细胞坏死,骨小梁凌乱,部分骨皮质破坏,其间可见死骨,而正常组骨小梁排列整齐,无明显异常细胞浸润,见图 3。

3 讨论

癌症疼痛(cancer pain)^[9]是指癌症、癌症相关性病变及抗癌治疗所致的疼痛,通常为慢性疼痛,会对患者的生活质量造成严重的影响并且严重干扰抗癌治疗。在对肿瘤治疗进行综合疗效评价的今天,控制癌症疼痛越来越受到医学界的高度重视。目前现代医学治疗癌痛主要采用 WHO 推荐的“三阶梯”止痛疗法^[10],但受长期使用镇痛剂的不良反应及

患者耐受性的限制,致使部分患者止痛效果欠佳。因此众多医家把视线投向了中医药疗法,以寻求使用方便、不良反应小的药物。

我科魏品康教授总结长期临床经验提出,痰浊积聚,邪毒内陷,阻滞经络气血运行是疼痛的主要病机,在治疗上以消痰通络散结为主,长期实践研制出止痛的外用中药复方制剂通络散结酊,由天南星、半夏、山慈菇及威灵仙组成。在临床观察中发现,该药对于癌痛亦有一定的疗效。骨转移是癌痛最常见的原因,文献表明,在骨癌痛早期存在炎症反应^[1],目前的骨癌痛模型能够部分模拟人类的骨癌痛^[11]。故本实验以 CFA 诱导的炎症痛和 Walker-256 肿瘤细胞诱导的骨癌痛模型来研究通络散结酊的镇痛作用,并作为临床用药的指导。

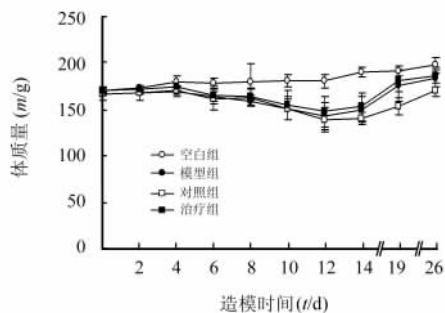


图 1 骨癌痛模型各组大鼠质量变化

造模 12 d 时,与空白组相比,其余各组大鼠体质量均明显降低($P < 0.01$);造模 19、26 d 时,治疗组接近空白组($P > 0.05$),高于模型组($P < 0.05$),而对照组最低($P < 0.05$); $n = 10, \bar{x} \pm s$

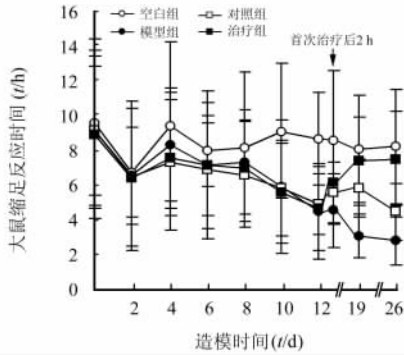


图2 骨癌痛模型各组大鼠缩足反应时间变化

造模 12 d 时,模型组、对照组和治疗组大鼠缩足反应时间明显短于空白组 ($P < 0.05$);首次治疗后 2 h 空白组、对照组和治疗组大鼠缩足反应时间明显长于模型组 ($P < 0.05$),对照组和治疗组仍短于空白组 ($P < 0.05$);造模 19 d 时,空白组、对照组和治疗组大鼠缩足反应时间明显长于模型组 ($P < 0.05$),空白组和治疗组明显长于对照组 ($P < 0.05$);造模 26 d 时,空白组和治疗组明显长于模型组 ($P < 0.05$),空白组和治疗组明显长于对照组 ($P < 0.05$); $n = 10, \bar{x} \pm s$

本实验表明,扶他林乳剂对炎症痛有较好的疗效,在骨癌痛早期有一定镇痛作用,但在炎症反应已不是主要原因的骨癌痛晚期镇痛作用不明显。通络散结酊对炎症痛和骨癌痛均有较好的镇痛作用,也说明通络散结酊可能通过消除炎症反应,减轻炎性肿胀而镇痛,但不仅限于拮抗炎症反应。由于癌痛是多种因素共同起作用的结果,通络散结酊的镇痛作用还可能与其他机制的参与。而动物模型结果与人的情况还有很大差距,因此对通络散结酊的镇痛作用和机制还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Patrick W, Mantyh, Denis R, et al. Molecular mechanism of cancer pain [J]. Nature Reviews Cancer, 2002, 3:201-209.
- [2] 孙燕,罗爱伦主编. 麻醉药品临床使用与规范化管理培训教材[M]. 北京:卫生部医教司编,2004:42-54.
- [3] De la Calle JL, Mena MA, Gonzalez-Escalada JR, et al. Intrathecal transplantation of neuroblastoma cells decreases heat hyperalgesia and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain[J]. Brain Res Bull, 2002, 59:205-211.
- [4] Wang LX, Wang ZJ. Animal and cellular models of chronic pain [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2003, 55:949-965.
- [5] 刘红香,许伟,罗非,等. 改进的大鼠单发佐剂性关节炎模型的建立和实验观察[J]. 中国疼痛医学杂志,1996,2:223-228.
- [6] 王瑞辉,杨介宾. 电针对佐剂关节炎大鼠 IL-1 和 IL-6 活性的影响[J]. 陕西中医学报,2001, 24:43.
- [7] Medhurst SJ, Walker K, Bowes M, et al. A rat model of bone cancer pain[J]. Pain,2002,96:129-140.
- [8] 刘红香,熊亮,罗非,等. 大鼠踝关节疼痛试验评分指标的改进[J]. 中国疼痛医学杂志,1998,4:173-178.
- [9] 江澄川主编. 疼痛的基础与临床[M]. 上海:上海医科大学出版社,2001:493-494.
- [10] 王昆,谢茹广主编. 临床癌症疼痛治疗学[M]. 北京:人民军医出版社,2003: 26-73.
- [11] 项红兵,杨辉,安珂,等. 骨癌痛模型和相关疼痛病理机制研究进展[J]. 临床麻醉学杂志,2005,21:350-352.

[收稿日期] 2005-11-25 [修回日期] 2006-05-18
[本文编辑] 贾泽军

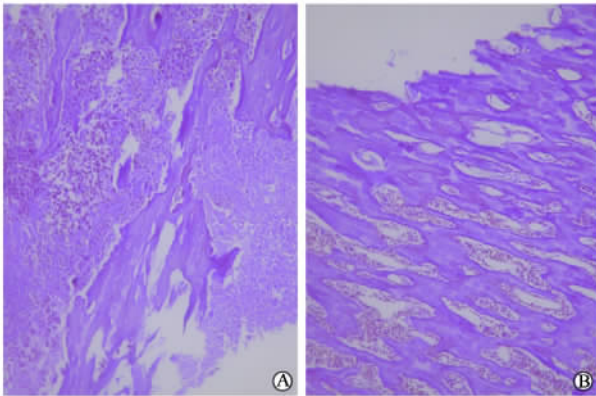


图3 骨癌痛模型组(A)及空白组(B)大鼠右侧胫骨 H-E 染色(×40)