

平衡针灸对肩周炎模型兔转化生长因子 $\beta 1$ 、前列腺素 E-2、羟脯氨酸影响的实验研究

袁红 陈榕 黄大鹏 武燕 王颖 王文远 陈锋

【摘要】 目的 探讨平衡针对家兔肩关节周围炎症治疗的作用及机制。方法 家兔随机分为空白组、模型组和平衡针治疗组。采用持续机械劳损加冰敷造成肩周炎家兔模型,观察模型兔关节运动及患侧关节周围组织的病理变化并检测血浆和患侧局部组织中的转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)和前列腺素-E2 (prostaglandin E-2, PGE-2)及羟脯氨酸(hydroxyproline, HYP)的含量。结果 采用单因素 ANOVA,统计结果用 LSD 进行分析,得出平衡针组家兔肱二头肌中转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)及冈上肌中前列腺素-E2 (prostaglandin E-2, PGE-2)含量均较模型组明显降低,统计学差异极显著($P < 0.01$)。结论 平衡针通过降低模型兔肩关节周围组织中转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)、前列腺素-E2 (prostaglandin E-2, PGE-2)及炎性组织中羟脯氨酸(hydroxyproline, HYP)的含量,实现消除水肿、镇痛、抗炎作用,值得在临床推广和应用。

【关键词】 平衡针; 肩关节周围炎; 转化生长因子- $\beta 1$; 前列腺素-E2; 羟脯氨酸

【中图分类号】 R245.3 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.01.011

Experimental research of balance acupuncture on rabbit's peri-arthritis of shoulder model for the influence of transforming growth factor beta 1, prostaglandin E-2 and hydroxyproline YUAN Hong, CHEN Rong, HUANG Da-peng, et al. College of Acumox and Tuina, Beijing university of Chinese medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: YUAN Hong, E-mail: yuanhong1109@sina.com

【Abstract】 Objective Explore the effects and mechanism of rabbit scapulohumeral peri-arthritis (SP) model treated by balanced acupuncture. **Methods** Rabbits were divided into a blank group, a model group and a balanced acupuncture group. Establish the rabbit SP model by using persistent mechanical strain and ice compress. Observing the activities of rabbit sp model and the pathological change of tendon of the tissue around the shoulder joint. Test the content of transforming growth factor- $\beta 1$, prostaglandin E2 and hydroxyproline in plasma and local tissue. **Results** Use Single factor ANOVA to analyse the experimental data, the results showed that compared with model group, rabbit in the balanced acupuncture group presented both TGF- $\beta 1$ in biceps and PGE-2 in supraspinatus muscle significantly lower, the difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion** Balanced acupuncture by reducing the content of interleukin-1 β , transforming growth factor- $\beta 1$ and prostaglandin E2 in the tissue around the shoulder joint of rabbit SP model and hydroxyproline in the inflammatory tissue to make the effects of eliminating edema, analgesia and anti-inflammatory. Balanced acupuncture by reducing the content of anti-pain factors and inflammatory factors to improve the organization and adhesion of the local pathological tissue of rabbit SP model, then effectively treat the local and systemic syndromes. So it is valuable for widespread applying in clinic treatment.

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2007CB512700)

作者单位:100029 北京中医药大学针灸推拿学院

作者简介:袁红(1962 -),女,硕士,教授。研究方向:针刺作用机理研究。E-mail:yuanhong1109@sina.com

【Key words】 Balance Acupuncture; Scapulohumeral Periarthritis; Transforming growth factor- β 1; Prostaglandin E-2; Hydroxyproline

肩周炎是肩关节囊及周围韧带、肌腱、滑膜囊等肩关节周围软组织的退行性病变引起的肩部酸痛及肩关节活动受限、强直的临床综合征^[1-2]。肩周炎根据其临床表现、发病特点及发病年龄又可称为“漏肩风”、“五十肩”，是临床常见病和多发病，属于中医“痹证”范畴。

平衡针是王文远教授在中医学理论指导下，经过长期、反复的临床摸索，总结出来的一种全新的针刺方法，强调人体的自我平衡修复功能，最大的特点在于单穴治疗法^[3-7]，例如：肩周炎的治疗采用肩痛穴，穴名通俗化，快速针刺 3 秒完成，强调针感的效应，并取得镇痛、改善肢体运动功能的即时效应^[8]，临床上深受肩周炎患者的好评。

本实验从这一角度出发，选用肩周炎家兔为模型，采用组织形态学和酶联免疫法、肌腱生化法等方法，观察平衡针干预对肩周炎模型兔的血浆和局部组织炎性因子，致痛因子和局部病变组织的形态学等变化，试图探讨平衡针治疗肩关节周围炎的作用机理，为临床上平衡针治疗肩周炎提供可靠的实验依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与分组

雄性新西兰家兔 30 只，体重 2500 ± 200 g，清洁级，北京维通利华实验动物技术有限责任公司提供 [合格证号：SCXK(京)2010-0002]，随机将家兔分为 3 组，每组 10 只。(1)空白对照组：不做任何处理；(2)模型组：造肩周炎模型但不给予治疗处理；(3)平衡针治疗组：造成肩周炎模型后给予平衡针治疗处理。

1.2 仪器与试剂

水平摇床(ZD-9556,江苏太仓市实验设备厂)；韩氏穴位神经刺激仪(LH202H,北京华卫产业开发公司)；毫针(规格:0.35 mm × 25 mm,苏州医疗用品厂有限公司)。

1.3 家兔肩周炎模型复制

除空白对照组外，其余两组家兔右肩部外侧脱毛，面积为 6 cm × 6 cm。家兔俯卧位固定，后肢和左前肢与兔台固定，右前肢上臂与水平摇床固定。摇床摇动频率为 240 次/分，振幅为 1.5 cm 平行摇动肩关节。每天持续固定摇晃 6 小时，连续 3 天，每

次摇晃后即刻用自制冰袋外敷家兔右肩部，将兔固定于兔盒中，冰块融化时及时更换新冰袋。每天持续 6 小时，连续 3 天^[9-11]。

1.4 治疗

平衡针治疗组：平衡针治疗在造模结束后次日开始进行。每天 1 次，7 次为一个疗程，每个疗程中间休息 1 天，共治疗 3 个疗程，于造模后第 24 天取材。家兔左侧“肩痛”穴(注：平衡针左病治右，右病治左，因而用的是左侧肩痛穴，此穴位于腓骨小头下 1 cm 处)，针刺方法为：先在施针处常规消毒，继以 1 寸针灸针从“肩痛”穴直刺进针，入针 1 ~ 1.5 cm，主要运用提插法，观察家兔腿部有强烈的触电样抽搐感时，迅速出针不留针^[12]，其余两组不做治疗同步饲养。

1.5 取材

造模后第 24 天，用 10% 水合氯醛将所有家兔麻醉，腹主动脉取血 6 ~ 8 mL，离心，分离血浆，-70℃ 冰箱保存，待测。剥取造模侧肩关节内滑膜，取下肱二头肌、冈上肌、冈上肌肌腱、滑膜囊及周围组织，用生理盐水冲洗，20% 多聚甲醛溶液中固定 1 周，以做病理组织切片 HE 染色。

1.6 指标检测

(1)局部肩关节滑膜组织病理切片的制备与组织形态学观察；(2)血浆和肌肉内转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)，前列腺素(prostaglandin E-2, PGE-2)含量的测定(双抗夹心 ELISA 法)；(3)肌腱生化法检测冈上肌腱羟脯氨酸(hydroxyproline, HYP)。

1.7 统计处理

用统计软件 SPSS 17.0 对数据资料进行统计分析，计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示，各组数据均服从正态分布，方差齐，采用单因素方差分析(one way ANOVA)，组间比较采用 LSD，以 $P < 0.05$ 为差异显著，以 $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 实验结果

模型组和平衡针治疗组家兔在造模后第二天出现患侧肩关节轻微活动不利，之后肩关节受限情况日益加重，造模期间每次摇床捆绑、冰敷结束后，呈“扒地”状态，不能直立。患侧肢体在造模后几小时内仍然不能恢复活动，呈“前肢外翻”状态，肩关

节活动受限,其它肢体可在数分钟后迅速恢复直立和活动。

2.1 肩周炎家兔肩关节周围组织形态学改变

2.1.1 肩关节周围组织的肉眼观察 空白组:肩关节形态正常,未见肿胀及关节腔积液;肩周炎模型组:肩关节周围组织充血肿胀明显,周围肌肉有肥厚、机化、黏连,打开关节腔时有大量黄色积液流出;平衡针治疗组:肩关节周围组织肿胀减轻,周围肌肉肥厚和黏连情况有所缓解,打开关节腔时见少量黄色积液流出。

2.1.2 肩关节周围组织光镜下观察(肩关节滑膜及冈山肌肌腱病理组织切片 HE 染色) 空白对照组:滑膜细胞多为 1 层,偶见 2~3 层,在皱襞较多处滑膜细胞可达 5~6 层。滑膜细胞深层结构疏松,可见少量毛细血管;肌腱的外膜由结缔组织包绕,最外层上皮细胞为立方细胞 1~2 层,排列整齐,腱纤维排列整齐。肩周炎模型组:滑膜细胞多为 1~2 层,毛细血管较多。肌腱的外膜上皮细胞排列不整齐,上皮细胞增多可达 4~5 层,上皮深层下行纤维增多,结构致密,滑膜和肌腱均未见明显炎细胞浸润。平衡针治疗组:滑膜细胞排列基本同空白组。肌腱的外膜(腱鞘脏层)上皮细胞增生,但较模型组少,多为 2~3 层。上皮下结缔组织也较致密。

2.2 TGF- β 1 含量测定结果

2.2.1 血浆中 TGF- β 1 含量测定结果 各组数据均服从正态分布,方差齐,组间比较采用 LSD 法。空白组家兔血浆中 TGF- β 1 有少量表达,模型组家兔血浆中 TGF- β 1 含量比空白组明显升高,统计学差异极显著($P=0.007, P<0.01$)。平衡针组家兔血浆中 TGF- β 1 含量较模型组略有降低,但无统计学差异,详见表 1。

2.2.2 肱二头肌中 TGF- β 1 含量测定结果 各组数据均服从正态分布,方差齐,组间比较采用 LSD 法。空白组家兔肱二头肌中 TGF- β 1 有少量表达,模型组家兔肱二头肌中 TGF- β 1 含量比空白组明显升高,统计学差异极显著($P=0.003, P<0.01$)。平衡针组家兔肱二头肌中 TGF- β 1 含量较模型组明显降低,统计学差异极显著($P=0.005, P<0.01$),详见表 1。

表 1 家兔血浆及肱二头肌中 TGF- β 1 的含量比较($\bar{x} \pm s, \text{ng/ml}$)

组别	血浆 TGF- β 1	肱二头肌 TGF- β 1
空白组($n=10$)	13.27 \pm 4.19	14.34 \pm 7.71
模型组($n=9$)	28.93 \pm 10.40 ^a	31.81 \pm 5.51 ^a
平衡针组($n=9$)	26.98 \pm 1.37	23.44 \pm 0.86 ^b

注:与空白组相比,^a $P<0.01$,与模型组相比,^b $P<0.01$

2.3 PGE-2 含量测定结果

2.3.1 血浆 PGE-2 含量测定结果 各组数据均服从正态分布,方差齐,组间比较采用 LSD 法。空白组家兔血浆中 PGE-2 有少量表达,模型组家兔血浆中 PGE-2 含量比空白组明显升高,统计学差异极显著($P=0.003, P<0.01$)。而平衡针组家兔血浆中 PGE-2 含量较模型组升高,无统计学差异,详见表 2。

2.3.2 冈上肌中 PGE-2 含量测定结果 各组数据均服从正态分布,方差齐,组间比较采用 LSD 法。空白组家兔冈上肌中 PGE-2 有少量表达,模型组家兔冈上肌中 PGE-2 含量比空白组明显升高,统计学差异极显著($P=0.004, P<0.01$)。而平衡针组家兔冈上肌中 PGE-2 含量较模型组降低明显,统计学差异极显著($P=0.002, P<0.01$),详见表 2。

表 2 家兔血浆及冈上肌中 PGE-2 的含量比较($\bar{x} \pm s, \text{pg/ml}$)

组别	血浆 PGE-2	冈上肌 PGE-2
空白组($n=10$)	19.50 \pm 5.20	20.82 \pm 5.78
模型组($n=9$)	45.71 \pm 15.69 ^a	48.97 \pm 17.95 ^a
平衡针组($n=9$)	50.31 \pm 2.73	27.591 \pm 1.66 ^b

注:与空白组相比,^a $P<0.01$,与模型组相比,^b $P<0.01$

2.4 冈上肌腱的 HYP 含量测定结果

各组数据均服从正态分布,方差齐,组间比较采用 LSD 法。空白组家兔冈上肌腱中 HYP 正常表达,模型组家兔冈上肌腱中 HYP 含量比空白组明显升高,统计学差异极显著($P=0.005, P<0.01$)。而平衡针组家兔冈上肌腱中 HYP 含量较模型组明显降低,统计学差异显著($P=0.002, P<0.05$),详见表 3。

表 3 家兔冈上肌腱中 HYP 的含量($\bar{x} \pm s$, ug/g 肝湿重)

组别	n	HYP
空白组	10	63.99 ± 9.95
模型组	9	121.53 ± 23.44 ^a
平衡针组	9	100.81 ± 6.85 ^b

注:与空白组相比,^a $P < 0.01$,与模型组相比,^b $P < 0.05$

3 讨论

本实验基本模拟了人体肩关节周围炎的肩关节活动受限、肩周软组织无菌性炎症的病理改变。通过平衡针的治疗发现,平衡针组家兔在治疗一个疗程后关节受限均有不同程度改善,家兔活动能力增强,初步分析可能与平衡针对伴有疼痛的外伤性肩周炎治疗有关。

TGF- β ^[13-15]是一种高度多效性、多功能性的生长与分化因子,它广泛地调节脊椎动物和非脊椎动物的生长、发育、炎症、修复和免疫等许多生物学过程。在炎症与修复中的作用是 TGF- β 最重要的作用之一。PGE-2 是重要的炎性致痛物质,炎症的全过程中都存在着 PGE-2 的合成与释放。肩周炎与局部组织的过度劳损有关,劳损过程中,局部组织的氧化代谢增强,细胞膜通透性增加,线粒体膨胀,溶酶体释放大量的炎性致痛物质,如 PGE-2,五羟色胺,缓激肽等,造成肩周软组织无菌性炎症和疼痛^[9,11]。HYP 和总蛋白等是参与胶原疤痕形成的主要物质^[11],因此在此实验中选择了 TGF- β 1、PGE-2、HYP 作为检测指标,来观察模型复制的情况和平衡针治疗后肩周炎家兔的抗炎能力的变化趋势。

本实验结果揭示:(1)平衡针对肩周炎模型兔的炎症的改善主要集中在局部病变的组织,分析平衡针对全身和局部的炎症缓解的干预机制可能为:通过减少促炎因子和抗炎因子的释放一定程度上抑制无菌炎症的发生,从而解除或减轻血管的痉挛程度,改善肩周炎模型兔局部组织的瘀血、充血状态。(2)平衡针对肩周炎模型兔的局部病变组织中的致痛因子的表达有显著抑制作用,因此平衡针对肩周炎模型兔的局部病变组织有良好的镇痛作用;分析平衡针对局部组织镇痛效果的干预机制可能为:可通过兴奋粗纤维、抑制 PGE-2 和其他内源性啡样物质的分泌和合成等来达到镇痛、消炎、消肿,促进血液循环的功用,对肩周炎模型兔治疗有

积极作用。(3)平衡针治疗可明显缓解肩周炎模型兔的局部病变组织的机化和黏连;分析平衡针改善局部组织的机化黏连的机制可能为:通过抑制局部组织中 HYP 的分泌和合成使得参与胶原疤痕形成物质的减少从而使局部病理组织的持续机化和黏连有所减轻,改善肩周炎局部病理组织的无菌性炎症和疼痛,进而改善肩关节的活动度。综上,平衡针能有效地改善肩周炎所导致的局部和全身的症状,并且在抑制局部致痛因子的表达和改善肩关节活动障碍方面效果较为突出。

参 考 文 献

- [1] 刘立艳,徐静. 针灸推拿治疗肩周炎的研究进展[J]. 哈尔滨医药,2008,28(6):50-52.
- [2] 齐秋俊,秦华. 针灸推拿治疗肩周炎研究进展(综述)[J]. 中医中药,2009,8(4):109-111.
- [3] 刘圣,王保卫,杨洪,等. 针刺肩痛穴治疗肩周炎临床疗效观察[J]. 中华中医药学刊,2007,25(2):282.
- [4] 杨仲岐. 针刺肩痛穴治疗肩周炎 50 例[J]. 湖南中医学院学报,2000,20(2):66.
- [5] 王文远,张利芳. 针刺肩痛穴治疗外伤性肩周炎 3850 例[J]. 中医外治杂志,2008,17(3):48-49.
- [6] 王文远,孙永慧,齐迎春,等. 肩痛穴平衡针灸治疗偏瘫性肩关节周围炎 168 例[J]. 中国临床康复,2005,(41):67,72.
- [7] 王飞,王翔,魏素英. 平衡针刺肩痛穴治疗肩周炎 60 例疗效分析[J]. 中国民间疗法,1995,(5):10.
- [8] 王文远. 针刺肩痛穴治疗肩周炎技术[J]. 中国社区医师,2007,23(3):33.
- [9] 熊昌源,毕学薇,沈林,等. 兔肩周炎的模型复制及相关生化指标测定[J]. 中国骨伤,1995,9(4):11-14.
- [10] 王晨遥,方剑桥,邵晓梅,等. 肩髃穴电针对肩关节周围炎家兔模型的干预作用[J]. 浙江中医药大学学报,2007,31(4):478-482.
- [11] 熊昌源,毕学薇,刘松林,等. 持续机械劳损加冰敷复制实验性兔肩关节周围炎的病理学观察[J]. 中医药研究,1995,(5):52-54.
- [12] 王俊生,卫文婷,王颖. 平衡针治疗肩周炎的回溯性研究[J]. 中华中医药杂志,2010,25(9):1451-1455.
- [13] 刘纯杰,张兆山. 转化生长因子 β 的生物学特性、功能及其临床应用前景[J]. 生物技术通讯,2001,12(4):42-44.
- [14] 王春阳. 细胞因子在软组织损伤修复中的作用[J]. 广州体育学院,2005,25(3):81-82.
- [15] 鄢飞,鲍同柱. 转化生长因子- β 与软组织创伤愈合的研究进展[J]. 中国民康医学,2008,20(8):77-79.

(收稿日期:2014-04-16)

(本文编辑:董历华)