

腰痹通胶囊改善大鼠腰椎间盘突出及其机制研究

唐朝辉^{1,2}, 李娜^{1,2}, 曹亮^{1,2}, 张红^{1,2}, 丁岗^{1,2}, 王振中^{1,2}, 萧伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: **目的** 探讨腰痹通胶囊改善大鼠腰椎间盘突出症以及其自身免疫调节的机制。**方法** 取大鼠自身尾椎髓核, 移植入腰椎神经根部位以建立腰椎间盘突出模型, 并随机分为模型组、腰痛宁胶囊(0.16 g/kg)组和腰痹通胶囊低、中、高剂量(0.17、0.34、0.68 g/kg)组以及对照组、假手术组。给药30 d后, 检测大鼠左后肢压痛阈、血清免疫球蛋白IgG和IgM水平、外周血T淋巴细胞亚群CD4⁺和CD8⁺比例及神经根部位病理变化。**结果** 与模型组比较, 腰痹通胶囊高、中剂量组大鼠痛阈显著升高($P<0.01$ 、 0.05), 同时腰痹通胶囊高剂量组大鼠痛阈增加值明显降低($P<0.01$); 腰痹通胶囊高、中剂量组能显著降低大鼠血清IgG水平($P<0.01$), 同时腰痹通胶囊高剂量组能显著降低大鼠血清IgM水平($P<0.05$); 腰痹通胶囊高、中剂量组能显著降低大鼠CD4⁺含量($P<0.01$ 、 0.05), 同时腰痹通胶囊高剂量组能显著降低大鼠CD4⁺/CD8⁺值($P<0.05$)。组织病理图显示腰痹通胶囊组局部轴索、神经纤维病变均有不同程度的改善, 提示腰痹通胶囊能改善大鼠腰椎间盘突出模型神经根病变。**结论** 腰痹通胶囊可以改善腰椎间盘突出大鼠模型的症状和神经根病变, 其机制可能与调节机体自身免疫状态有关。

关键词: 腰痹通胶囊; 腰椎间盘突出症; 自身免疫

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)10-1086-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.10.003

Improvement of Yaobitong Capsules on prolapse of lumbar intervertebral disc in rats and study on its mechanism

TANG Zhao-hui^{1,2}, LI Na^{1,2}, CAO Liang^{1,2}, ZHANG Hong^{1,2}, DING Gang^{1,2}, WANG Zhen-zhong^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Kanion Pharmaceutical Co., Ltd, Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To study the improvement of Yaobitong Capsules on prolapse of lumbar intervertebral disc in rats and discuss its mechanism about autoimmune regulator. **Methods** The model of prolapse of lumbar intervertebral disc was established by transplant of autologous nucleus pulposus of rats. All the rats were randomly divided into model group, Yaotongning Capsules (0.16 g/kg) group, low-, mid-, and high-dose of Yaobitong Capsule (0.17, 0.34, and 0.68 g/kg) groups, control group, and Sham group. After the administration for 30 d, the mechanical pain thresholds of left hind limb, IgG, IgM levels in serum, the ratio between T-lymphocyte subsets CD4⁺ and CD8⁺ cells in the peripheral blood, and pathological changes in the nerve root of rats were detected, respectively. **Results** Compared with the model group, the mechanical pain thresholds of rats in the mid-, and high-dose of Yaobitong Capsule groups were increased significantly ($P<0.01$, 0.05), and added value of pain threshold of rats in the high-dose of Yaobitong Capsule groups was obviously reduced ($P<0.01$). The IgG levels in serum of rats in the mid-, and high-dose of Yaobitong Capsule groups were decreased obviously ($P<0.01$), and the IgM levels in the high-dose of Yaobitong Capsule groups were also decreased significantly ($P<0.01$). The contents of CD4⁺ in the mid- and high-dose of Yaobitong Capsule groups were obviously reduced ($P<0.01$, 0.05), and CD4⁺/CD8⁺ value in the high-dose of Yaobitong Capsule groups was also reduced significantly ($P<0.05$). The pathological changes indicated that local axonal and nerve fibers of rats in Yaobitong Capsule groups were to some extent improved, and obviously improved in the nerve root. **Conclusion** Yaobitong Capsules can reduce the sensitivity of mechanical pain, improve the symptoms

收稿日期: 2014-07-05

基金项目: 国家重大新药创制项目(2013ZX09402203)

作者简介: 唐朝辉, 男, 工程师, 药理学专业, 理学硕士, 从事中药、天然药物临床前药理毒理研究。Tel: (025)86587930-8105 E-mail: kuanbinger@163.com

*通信作者 萧伟, 男, 教授, 博士生导师, 从事中药新剂型的研究与开发。Tel: (0518) 85521956 E-mail: wzhhz-nj@163.net

and nerve root lesions of rats in the model of prolapse of lumbar intervertebral disc, which can be related with regulating autoimmune abnormalities caused by herniated disc in the body.

Key words: Yaobitong Capsules; prolapse of lumbar intervertebral disc; autoimmune

腰痹通胶囊原方源于中国中医科学院首席研究员、中国中医科学院骨伤科研究所孙树椿主任医师在长期临床实践中有效治疗腰椎间盘突出症的经验总结,由三七、川芎、延胡索、白芍、牛膝、狗脊、熟大黄、独活 8 味中药经现代化工艺研制而成。全方具有活血化瘀、祛风除湿、行气止痛之功效,用于血瘀气滞、脉络闭阻所致腰痛,临床用于治疗腰椎间盘突出症具有良好的效果^[1]。近年来腰痹通胶囊的用量不断增加,其销量已在治疗腰椎间盘突出等疾病的中成药中位于前列。本研究拟通过考察腰痹通胶囊对自体髓核移植型腰椎间盘突出大鼠模型的影响和对其自身免疫机制的研究,为其临床功效提供实验依据。

1 实验材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠, 70 只, 雄性, 180~220 g, 由苏州工业园区艾尔麦特科技有限公司提供, 许可证号 SCXK(浙)2009-0001, 合格证号 0019325, 实验动物使用许可证 SYXK(苏)2010-0010。动物饲养于屏障级动物房, 自由进食和饮水, 人工照明(12 h 光照/12 h 黑暗), 温度保持在 20~25 °C, 湿度保持在(55±5)%。

1.2 试药

腰痹通胶囊, 0.42 g/粒, 江苏康缘药业股份有限公司, 批号 120212; 腰痛宁胶囊, 0.3 g/粒, 承德颈复康药业集团有限公司, 批号 191191; 注射用青霉素钠, 80 万单位/瓶, 山东鲁抗医药股份有限公司, 批号 B100908; 羧甲基纤维素钠(CMC-Na), 国药集团化学试剂有限公司, 批号 F20050302; 水合氯醛, 国药集团化学试剂有限公司, 批号 20100111; 甲醛, 上海久亿化学试剂有限公司, 批号 20090912。

大鼠 IgG ELISA 试剂盒, eBioscience 公司, 批号 81265102; 大鼠 IgM ELISA 试剂盒, eBioscience 公司, 批号 81261303; 大鼠 CD4 和 CD8 抗体, CALTAG Laboratories 公司, 批号分别为 0510、0612。

1.3 实验仪器

YLS-3E 型电子压痛仪, 山东益延科技; MP12001 电子天平, 上海恒平科学仪器有限公司;

Mettler AL204 电子天平, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; 52A 型医用低速离心机, 安新县白洋离心机厂; DK-8B 型电热恒温水槽, 上海精宏实验设备有限公司; FACSCalibur 流式细胞仪, 美国 B-D 公司; M2e 型酶标仪, Molecular Devices 公司; RM-2245 型转轮切片机, Leica 公司; BX46 显微镜, Olympus 公司。

2 实验方法

2.1 造模方法

动物适应性饲养 3 d 后用于正式实验。根据参考文献方法略有改进^[2-4]。随机取 50 只大鼠, 用 10% 水合氯醛 3 mL/kg 将大鼠腹腔注射麻醉, 尾根部橡皮筋扎紧鼠尾, 于扎部位的远心端切断鼠尾, 缝合血管止血。以腰椎 L_{5/6} 为中心取背正中切口, 切开皮肤, 从左侧棘突上钝性分离椎旁肌, 暴露横突, 咬除钳咬除横突及其附带的椎板部分, 并切除左侧部分 L_{5/6} 的椎板和上下关节突。取大鼠两个自体尾椎关节椎间盘组织中的髓核组织合并(约 10 mg), 置于 L_{5/6} 神经根的部位, 对于神经根及硬膜囊不造成压迫, 逐层缝合。再随机取 10 只大鼠作为假手术组, 断尾, 但不植入尾部髓核, 其余同造模组; 对照组取 10 只大鼠, 正常饲养, 不做处理。造模完成后, 各手术大鼠每只 im 青霉素钠 1.6 万单位, 连续注射 3 d。

2.2 分组及给药

造模 3 d 后即开始分组给药, 除对照组和假手术组外, 其余造模大鼠按体质量随机分为 5 组, 每组 10 只, 即模型组、腰痛宁(0.16 g 制剂/kg, 相当于人临床等效剂量)组和腰痹通胶囊低、中、高剂量(0.17、0.34、0.68 g 制剂/kg, 分别相当于人临床等效剂量的 0.5、1、2 倍)组。分组后即开始 ig 给药, 其中对照组、假手术组和模型组给予 0.5% CMC-Na 溶液, 腰痹通胶囊组给与相应药物, 给药体积均为 10 mL/kg。连续给药 30 d。

2.3 观察指标

2.3.1 机械刺激痛阈值测定 给药前和末次给药 1 h 后, 分别测定大鼠左后肢压痛痛阈。测定时大鼠左后肢露于圆筒外, 待其安静后, 将大鼠的左侧后肢放于电子压痛仪上测定痛阈值。

2.3.2 血液分析 末次给药后 1 h 腹主动脉采血, 其中 1 mL 以 EDTA 抗凝后真空采血管保存, 双标法用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺和 CD8⁺, 剩余 3 mL 血样常规分离血清, ELISA 法检测免疫球蛋白 IgG、IgM。

2.3.3 组织病理分析 脱颈椎处死大鼠, 取手术操作部位完整腰椎, 放入福尔马林中固定, 做常规病理切片, 观察损伤的腰椎神经根部病变情况。

2.4 统计方法

结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 量反应资料统计方法采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 组间差异显著性比较采用 *t* 检验, 统计软件使用 SPSS

17.0。

3 实验结果

3.1 对压痛阈的影响

与对照组比较, 各手术造模组的初始痛阈均有一定程度的降低, 但差异无显著性。模型组大鼠最终痛阈与对照组和假手术组比较均明显降低 ($P < 0.01$), 腰痹通胶囊高、中剂量 (0.68、0.34 g/kg) 组大鼠痛阈与模型组比较有显著升高 ($P < 0.01$ 、0.05), 同时腰痛宁胶囊组和腰痹通胶囊高剂量 (0.68 g/kg) 组大鼠痛阈增加值与模型组比较均明显降低 ($P < 0.01$)。提示腰痹通胶囊具有一定的镇痛作用。结果见表 1。

表 1 腰痹通胶囊对大鼠压痛阈的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effects of Yaobitong Capsules on mechanical pain thresholds in rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	初始痛阈/g	最终痛阈/g	痛阈增加值/g
对照	—	317.99 ± 170.19	453.55 ± 107.05	235.56 ± 142.40
假手术	—	304.42 ± 183.24	428.19 ± 97.56	123.77 ± 103.03
模型	—	201.88 ± 114.87	284.50 ± 97.54 ^{△△##}	82.67 ± 71.62
腰痛宁胶囊	0.16	122.91 ± 60.91	437.58 ± 126.46 ^{**}	314.37 ± 117.72 ^{**}
腰痹通胶囊	0.17	179.13 ± 156.33	354.67 ± 163.32	170.24 ± 178.75
	0.34	225.72 ± 174.46	394.04 ± 101.89 [*]	138.32 ± 89.89
	0.68	221.04 ± 158.54	433.24 ± 121.40 ^{**}	212.20 ± 132.61 ^{**}

与对照组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与假手术组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$
^{△△} $P < 0.01$ vs control group; ^{##} $P < 0.01$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$; ^{**} $P < 0.01$ vs model group

3.2 对血清免疫球蛋白 IgG、IgM 的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清 IgG、IgM 水平明显升高 ($P < 0.01$ 、0.05); 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 IgG 水平明显升高 ($P < 0.01$)。腰痹通胶囊高、中剂量 (0.68、0.34 g/kg) 组能显著

降低大鼠血清 IgG 水平 ($P < 0.01$), 同时腰痹通胶囊高剂量 (0.68 g/kg) 组能显著降低大鼠血清 IgM 水平 ($P < 0.05$)。提示腰痹通胶囊具有抑制腰椎间盘突出模型大鼠血清 IgG、IgM 水平升高的作用。结果见表 2。

表 2 腰痹通胶囊对大鼠血清免疫球蛋白 IgG、IgM 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of Yaobitong Capsules on levels of IgG and IgM in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IgG/(×10 ⁶ ng·mL ⁻¹)	IgM/(×10 ⁴ ng·mL ⁻¹)
对照	—	3.97 ± 1.31	4.69 ± 1.28
假手术	—	3.36 ± 0.67	5.01 ± 1.66
模型	—	6.26 ± 1.68 ^{△△##}	5.81 ± 0.93 [△]
腰痛宁胶囊	0.16	4.55 ± 1.80 [*]	5.32 ± 1.77
腰痹通胶囊	0.17	4.27 ± 3.37	5.12 ± 1.00
	0.34	3.97 ± 1.59 ^{**}	4.99 ± 1.58
	0.68	3.61 ± 1.15 ^{**}	4.56 ± 1.14 [*]

与对照组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与假手术组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$
[△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs control group; ^{##} $P < 0.01$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$; ^{**} $P < 0.01$ vs model group

3.3 对外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺的影响
与对照组比较，模型组大鼠血液 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺均显著升高 ($P < 0.05$)；与假手术组比较，模型组大鼠血液 CD4⁺显著升高 ($P < 0.05$)。腰痹通胶囊高、中剂量 (0.68、0.34 g/kg) 组能显

著降低大鼠 CD4⁺含量 ($P < 0.01$ 、0.05)，同时腰痹通胶囊高剂量 (0.68 g/kg) 组能显著降低大鼠 CD4⁺/CD8⁺值 ($P < 0.05$)。提示腰痹通胶囊具有调节腰椎间盘突出模型大鼠对外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺的作用。结果见表 3。

表 3 腰痹通胶囊对大鼠外周血 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effects of Yaobitong Capsules on T-lymphocyte subsets CD4⁺ and CD8⁺ cells in peripheral blood of rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	CD4 ⁺ %	CD8 ⁺ %	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照	—	40.62 ± 4.83	24.14 ± 1.69	1.68 ± 0.16
假手术	—	40.23 ± 6.43	22.61 ± 4.81	1.87 ± 0.55
模型	—	48.35 ± 7.79 ^{△#}	23.03 ± 4.13	2.15 ± 0.50 [△]
腰痛宁胶囊	0.16	40.94 ± 7.32 [*]	25.72 ± 8.05	1.78 ± 0.70
腰痹通胶囊	0.17	43.29 ± 5.99	24.67 ± 6.28	1.86 ± 0.50
	0.34	41.06 ± 4.85 [*]	25.50 ± 8.10	1.78 ± 0.60
	0.68	38.70 ± 3.83 ^{**}	23.33 ± 2.94	1.68 ± 0.28 [*]

与对照组比较：[△] $P < 0.05$ ；与假手术组比较：[#] $P < 0.05$ ；与模型组比较：^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$
[△] $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$; ^{**} $P < 0.01$ vs model group

3.4 对大鼠腰椎神经根组织病理的影响
对照组大鼠腰椎神经根由中央的神经纤维及包裹的神经内膜所组成，神经纤维无空泡变性，轴索无明显变性，间质无水肿，无炎细胞浸润；假手术组个别大鼠局部轴索有轻度或轻度变性，未见明显炎细胞浸润，其他也未见明显病变。模型组大鼠局

部轴索有轻度变性，神经纤维轻微或中度空泡变性，或局部有轻度以中性粒细胞为主的炎细胞浸润；与模型组比较，腰痹通胶囊组局部轴索、神经纤维病变均有不同程度的改善，也未见明显炎细胞浸润等其他病变。提示腰痹通胶囊能改善大鼠腰椎间盘突出模型神经根病变。结果见图 1。

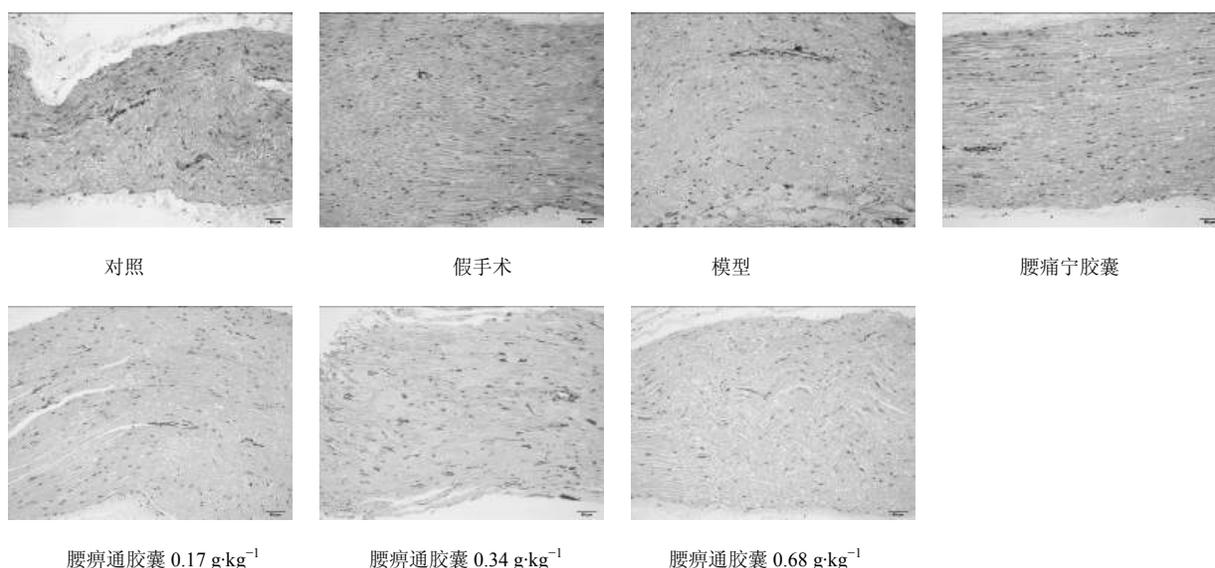


图 1 腰痹通胶囊对大鼠神经根组织病理的影响

Fig. 1 Effects of Yaobitong Capsules on pathological changes in nerve root of rats

4 讨论

腰椎间盘突出症是因椎间盘变性,纤维环破裂,髓核突出刺激或压迫神经根、马尾神经所形成的机械压迫和化学物质释放引起的炎症反应^[5],以不同程度的腰腿疼或麻木,甚至出现下肢活动障碍为主要临床表现的一类临床常见病和多发病^[6],占下腰痛患者的 20%左右^[7]。腰椎间盘突出症的治疗方法包括手术治疗和非手术治疗两大类,其中手术治疗需要有严格的适应症,同时可能带来许多并发症,且术后也有一定的复发率,因而远期疗效较差^[8],真正需要手术治疗的腰椎间盘突出症患者仅占 10%~15%^[9]。因此一般认为非手术疗法是本病的基本疗法^[10]。腰椎间盘突出属于中医“腰腿痛”、“痹症”的范畴,传统中医药对本病的认识和治疗已经比较成熟,具有其独特疗效和作用,在非手术疗法中占有重要地位。中药内服以辨证施治为原则,针对不同的证候采用不同的组方,临床上取得了满意的治疗效果^[11]。

腰腿痛是腰椎间盘突出症患者的常见症状,但导致腰腿痛的发生机制目前尚未完全明确^[12]。目前普遍接受的学说有神经根机械压迫、炎性化学刺激、自身免疫等。其中机械压迫和炎性化学刺激学说认为对神经根部的直接压迫可以造成神经根结构性损伤,可影响神经根局部的供血及供养,代谢产物产生堆积,最终导致神经根传导功能下降,同时压迫局部神经根及周围组织产生无菌性炎症反应,释放炎性细胞因子,从而导致腰腿痛等症^[13-14]。因此本模型采用移植自体髓核放置于腰椎神经根部,模拟机械压迫从而产生一系列病变,以腰腿部肌肉对机械致痛的敏感程度及植入局部病理变化进行综合评价。

自身免疫学说最早由 Naylor 等^[15]提出,认为椎间盘是体内最大的无血管的封闭结构,髓核被纤维环和软骨板紧密包绕,与周围循环隔绝,其营养主要靠纤维环的弥散作用,从而失去了与机体免疫系统接触的机会,故人体髓核组织可能不被机体免疫系统所识别。当椎间盘损伤导致纤维环或后纵韧带破裂,髓核突出,正常椎间盘组织中的 I、II 型胶原、糖蛋白和软骨板作为潜在的自身抗原与机体免疫机制发生接触后,可产生自身免疫应答,继而引发周围组织细胞释放炎症介质,使毛细血管通透性增加,同时产生较强的致痛作用^[16]。有研究表明,IgG、IgM 在突出椎间盘组织中的出现或含量增加,

被认为是椎间盘存在自身免疫反应的结果^[17],临床检测腰椎间盘突出患者的血清和脑脊液,结果显示其外周血和脑脊液中免疫球蛋白的水平和腰腿痛程度相一致^[18]。将猪自体髓核移植于皮下,在植入腔渗出物中 T 淋巴细胞 CD4⁺、CD8⁺的比例显著升高^[19]。CD4⁺和 CD8⁺是 T 淋巴细胞中功能相异的两个亚群,在免疫应答中分别发挥正、负调节作用,来共同维持机体的免疫平衡状态,其比值可以反映机体的免疫平衡状态^[21],研究表明腰椎间盘突出症 T 淋巴细胞亚群的异常改变可分为 CD4⁺/CD8⁺增高和降低两种类型,而纤维环破裂髓核突出型患者 CD4⁺/CD8⁺比值也异常增高^[16,21]。

本研究采用大鼠自体尾椎髓核移植入腰椎神经根部位,模拟纤维环破裂后髓核突出的病理状态,从而引发一系列自身免疫反应及病理变化,以建立动物模型。研究表明,造模后大鼠血清 IgG、IgM 增加, T 淋巴细胞亚群平衡状态打破,腰痹通胶囊可以通过抑制血清 IgG、IgM 水平,调节 T 淋巴细胞 CD4⁺及 CD4⁺/CD8⁺比例来调节此模型的自身免疫状态,从而达到抑制神经根部位病变,减轻其结构性损伤,进而达到治疗作用。本研究验证了腰痹通胶囊的疗效,并探讨了其发挥药效的可能途径,为临床应用提供了理论依据。

参考文献

- [1] 周一敏,蒙 剑. 腰痹通胶囊治疗腰椎间盘突出症 57 例 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 287-288.
- [2] 李晨光,侯丽娟,王拥军. 腰痛宁对腰椎间盘突出模型大鼠比目鱼肌 BDNF 和 NT-3 蛋白表达的影响 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2009, 4(17): 8-10.
- [3] Ohtori S, Takahashi K, Aoki Y. Spinal neural cyclooxygenase-2 mediates pain caused in a rat model of lumbar disk herniation [J]. *J Pain*, 2004, 5(7): 385-391.
- [4] 何睿林. 氯诺昔康和赖氨酸阿司匹林对腰椎间盘突出症自身免疫状态影响的动物实验比较研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2003.
- [5] 吴在德,吴肇汉. 外科学 [M]. 第 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 849-854.
- [6] 姚新苗. 腰椎间盘突出症中医治疗 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 95.
- [7] 雷龙鸣,黄锦军,庞 军,等. 加用弹压手法推拿治疗腰椎间盘突出症 50 例临床观察 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(3): 523-524.
- [8] 赵立军,沈 文,顾宝光. 椎管内外松解法治疗急性腰椎间盘突出症 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 6(2): 414-

- 416.
- [9] 张妙兴. 活络效灵丹加味治疗腰椎间盘突出症的机理研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2008.
- [10] 胡有谷. 腰椎间盘突出症 [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 415.
- [11] 曾朝辉. 腰痛I号方治疗腰椎间盘突出症(寒湿阻络型)的临床疗效观察 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2010.
- [12] 张 诺. 恢刺治疗非急性期腰椎间盘突出症的临床初探 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2006.
- [13] 王洪伟. 腰椎间盘突出症疼痛发生机制的研究进展 [J]. 中国矫形外科学杂志, 2011, 19(7): 568.
- [14] Igarashi A, Kikuchi S, Konno S. Correlation between inflammatory cytokines released from the lumbar facet joint tissue and symptoms in degenerative lumbar spinal disorders [J]. *J Orthop Sci*, 2007, 12(2): 154-160.
- [15] Naylor A, Happy F, Tumer R L, *et al.* Enzymic and immunological activity in the intervertebral disc [J]. *Orthop Clin North Am*, 1975, 6(1): 51-58.
- [16] 王葵光, 胡有谷. 腰椎间盘突出症的自身免疫状态 [J]. 中华骨科杂志, 1994, 14(5): 258-267.
- [17] Habtemariam A, Gronblad M, Virri J, *et al.* Immunocytochemical localization of immunoglobulins in disc herniations [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1996, 21(16): 1864-1869.
- [18] 李 军, 刘 淼, 朱 丽, 等. 腰椎间盘突出症的自身免疫水平与腰腿痛严重程度的关系 [J]. 西安医科大学学报, 2000, 21(2): 150-151.
- [19] Geiss A, Larsson K, Rydevik B, *et al.* Autoimmune properties of nucleus pulposus: an experimental study in pigs [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2007, 32(2): 168-173.
- [20] Stockinger B, Bourgeois C, Kassiotis G. CD4⁺ memory T cells: functional differentiation and homeostasis [J]. *Imumol Rev*, 2006, 211: 39-48.
- [21] 田 鹏, 马信龙, 王 涛, 等. 外周血 T 淋巴细胞与腰椎间盘突出类型及直腿抬高试验的相关性 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 1(2): 347-350.