文章编号:1000-5404(2010)06-0563-05

论著

HIF-1α、VEGF在CIA大鼠模型中的表达与意义

王 雯[1],陈森洲[2],王险峰[2],侯巧燕[1],骆耐香[2],李莎莎[1] (541004 广西 桂林,桂林医学院:病理学教研室[1],微生物学与免疫学教研室[2])

[摘要] **目的** 制备牛Ⅱ型胶原诱导性大鼠关节炎(collagen Ⅱ-induced arthritis, CIA)模型,探讨低氧诱导因子-1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在类风湿关节炎发病中的作用。**方法** 50只SD大鼠,随机分为对照组与模型组。建立CIA模型,动态观察各项关节炎活动指标,于造模第21、28、35、42天取踝关节行HE染色及HIF-1α、VEGF免疫组化染色,分析两者在CIA中的相关性及与关节炎活动指标、滑膜病理学评分之间的关系。**结果** CIA大鼠关节滑膜层和滑膜下层均表达HIF-1α、VEGF二者呈明显正相关,r为0.75($P<0.01$),第21天阳性表达量最高,随病程进展,表达逐渐下降,与滑膜病理学评分、滑膜增生评分及血管生成评分呈显著正相关,r分别为0.4、0.48、0.50($P<0.05$),与炎症浸润评分无明显相关r为0.30($P<0.05$)。**结论** HIF-1α可能通过调控一系列下游靶基因,如VEGF等,促进滑膜增生及血管生成,影响类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的发生、发展。提示抗HIF-1α的靶向治疗有望成为RA治疗与预防的重要手段。

[关键词] 类风湿关节炎;Ⅱ型胶原诱导性关节炎;低氧诱导因子-1α;血管内皮生长因子;滑膜
[中图法分类号] R-332;R392.3;R593.21 **[文献标志码]** A

Expression and significance of HIF-1α and VEGF in rats with collagen Ⅱ-induced arthritis

Wang Wen[1], Chen Senzou[2], Wang Xianfen[2], Hou Qiaoyan[1], Luo Naixiang[2], Li Shasha[1] ([1]Department of Pathology, Affiliated Hospital, Guilin Medical College, Guilin, Guangxi Zhuang Autonomous Region, 541001; [2]Department of Microbiology and Immunology, Guilin Medical College, Guilin , Guangxi Zhuang Autonomous Region, 541004, China)

[Abstract] **Objective** To establish the bovine collagen Ⅱ (CⅡ)-induced arthritis (CIA) rat model, and investigate the role of hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA). **Methods** Totally 50 SD rats were randomly divided into normal group ($n=10$) and 4 model groups ($n=10$ in each group). The model group was subjected to CIA by injecting 1 g/L CⅡ mixed with imcomplete Freund adjuvant into the skin of tail and back of the rats followed by the injection of half of dose in 7 d later. The rats of 4 model groups were sacrificed in 21, 28, 35 and 42 d after the first injection and their ankle joints were removed. The arthritis activity, pathological changes and expressions of HIF-1α and VEGF in the synovium at different time were observed through immunohistochemistry staining. The correlations of HIF-1α and VEGF expressions with the CIA arthritis activity indexes and pathological scores were analyzed. **Results** HIF-1α and VEGF were expressed in both the lining and sublining area of the synovium in CIA and the expressions had positive correlation obviously($r=0.75$, $P<0.01$). The results of immunohistochemical staining showed that the expressions of HIF-1α and VEGF in the synovial membrane were strongest on the 21st day, then declined gradually with the prolonged disease course. The expressions of HIF-1α and VEGF were correlated significantly with total pathological score, synovial hyperplasia score and angiogenesis score($r=0.4$, 0.48, 0.50; $P<0.05$), but not with inflammation score($r=0.3$, $P<0.05$). **Conclusion** HIF-1α may promote the pathogenesis of rheumatoid arthritis, such as synovial hyperplasia and angiogenesis through inducing the expression of its target gene VEGF.

[Key words] rheumatoid arthritis; collagen Ⅱ-induced arthritis; hypoxia-inducible factor-1α; vascular endothelial growth factor; synovium

Supported by the Natural Science Foundation of Guangxi (0575106). Corresponding author: Chen Senzhou, E-mail: senzhou@163.com

[基金项目] 广西自然科学基金(桂科基0575106)
[通信作者] 陈森洲, E-mail: senzhou@163.com

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以多发性、侵蚀性外周关节炎为特点的慢性炎症性自身免疫病,病因尚未明确。动物模型在研究RA发病机制中起着非常重要的作用。Trentham等于1977年首次建立了Ⅱ型胶原诱导性关节炎(collagen Ⅱ-induced arthritis, CIA)动物模型,因其病理变化及免疫学特征与人类RA相似,随着不断完善与验证,已成为研究RA的最佳动物模型。

低氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1 alpha, HIF-1α)是介导细胞对缺氧微环境适应反应的关键性调控因子,表达主要受氧浓度调节。近年来研究发现,HIF-1α在调节缺氧组织血管新生、细胞增殖存活、能量代谢、铁转运等方面具有重要作用,已发现超过60种基因受其调控[1,2]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前发现的最强有力促血管生成因子,直接参与新生血管形成。

RA关节腔为一缺氧微环境,同时,血管翳形成为RA病变中一个重要的病理生理过程。VEGF可直接促进滑膜血管翳形成、加重滑膜炎症及骨与关节软骨的破坏。Tang等[3]通过对肿瘤内皮细胞敲除HIF-1α基因后,抑制了VEGF的表达及实体瘤的血管生长,证实了HIF-1α调控血管发生的功能。HIF-1α通过上调VEGF表达,促进血管生成,可能是其参与RA发病最重要机制之一。本实验通过建立CIA模型,动态观察HIF-1α和VEGF在CIA大鼠滑膜组织中的表达,初步探讨HIF-1α在RA发病过程中的作用及与VEGF之间的关系,为RA的靶向治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

50只雌雄各半健康SPF组SD大鼠(体质量150~180 g),由本院实验动物中心提供,动物许可证号:SCXK桂2007-0001,购入本实验室动物房分笼喂养,每笼5只。每日给予标准饲料,清洁自来水置笼侧自由饮用,适应性饲养1周后进行实验。随机分为A、B、C、D、E组,每组10只,A组为正常对照组,B、C、D、E组为CIA造模组,每组按照随机方式1~10进行编号。牛Ⅱ型胶原(美国Chondrex公司);不完全弗氏佐剂IFA(美国Sigma公司);HIF-1α单克隆抗体(美国Chemicon公司);VEGF单克隆抗体(美国Santa Cruz公司);二抗试剂盒(包括正常山羊封闭血清,生物素化二抗,过氧化物酶结合物以及DAB A、B、C试剂各1支)购自福州迈新公司。

1.2 模型制作

Ⅱ型胶原用0.1 mol/L冰醋酸溶解后,配成2 g/L溶液,置4 ℃冰箱过夜。第2天将搅拌好的Ⅱ型胶原醋酸溶液按1∶1在冰浴中滴加至IFA,充分乳化后,终浓度为1 g/L。大鼠麻醉后,背部剃毛,在尾根部、背部分4~5点皮内注射乳化液0.5 ml,正常对照组同法同部位注射0.5 ml生理盐水,7 d后同法同部位(避开原注射点)半量加强免疫1次。

1.3 动物关节病理标本制作

造模组B、C、D、E组大鼠分别于初次免疫后第21、28、35、42天处死,正常对照组大鼠于注射生理盐水后第42天处死,进行指标检测,取材部位为踝关节。1%戊巴比妥钠(40 mg/kg体质量)腹腔注射后约10 min动物麻醉,将其固定于实验台上,打开胸腔,充分暴露心脏,用钝头1号针头穿刺左心室至主动脉,固定穿刺针,剪开右心耳,穿刺针另外一端接约2 m高处输液器,输液器先接生理盐水,以300 ml生理盐水灌注冲洗血液。待右心耳流出液体变清亮、肺脏与肝脏变白时,换接4%多聚甲醛/0.01 mol/L PBS(pH=7.4)300 ml行内固定灌注,保持灌注速度5 ml/min。待出现四肢剧烈抽搐、尾巴僵硬,灌注固定完毕后,用骨钳剪下动物四肢关节,修剪去除皮毛、肌肉、神经、血管等。将修剪后关节至4%多聚甲醛中固定12 h后,放入10% EDTA(pH=7.0)中脱钙,脱钙液与标本体积保持>10∶1比例。将脱钙液和标本放入46 ℃水浴箱中,隔天换1次脱钙液,用大头针刺扎标本,直到针头可刺入骨密质为止,脱钙时间大约2~3周[4]。脱钙完毕后,将标本脱水透明石蜡包埋,连续切片,片厚3 μm,分别行HE染色,S-P免疫组织化学染色法检测HIF-1α、VEGF蛋白的表达。

1.4 观察指标

1.4.1 大鼠一般状况及体质量测定 造模前后动态观察大鼠体质量、毛发色泽改变、神志、活动状态,食量变化及关节红肿情况,每周定期测量每只大鼠体质量。

1.4.2 关节炎指数[5](arthritis index, AI) 根据大鼠踝关节、跖趾关节、趾关节红肿程度及受影响关节数进行评分。0分:正常;1分:1个关节红肿;2分:2个及2个以上关节红肿;3分:踝关节以下足掌严重红肿;4分:包括踝关节在内的全部足爪红肿且不能负重。四肢分别进行评分,累计总和即为AI。AI>5分为造模成功。

1.4.3 踝关节影像学观察 初次免疫后第21天、第42天经1%戊巴比妥麻醉大鼠后,拍摄踝关节X线片。摄片条件为40kV。

1.4.4 滑膜病理学评分[6] 滑膜细胞增生、滑膜下层炎症程度及血管生成情况。滑膜细胞增生评分:少于3层为0分,3~4层为1分,5~6层为2分,6层以上为3分。炎症程度评分:无淋巴细胞浸润为0分,淋巴细胞聚集为1分,弥漫分布形成淋巴滤泡为2分,形成淋巴滤泡伴生发中心为3分。血管生成评分:无新生血管生成为0分,轻度新生血管生成为1分,中度为2分,重度为3分。以上3项评分累计总和即为病理学总评分。

1.4.5 免疫组织化学染色结果判定及评分 采用半定量记分法判定:①按阳性着色程度评分。0分为无着色,与背景色一致;1分为浅黄色,略高于背景色;2分为棕黄色,明显高于背景色;3分为棕褐色。②按阳性细胞所占比例评分。0分为阴性;1分为10%以下;2分为11%~50%;3分为51%~75%;4分为75%以上。③二者乘积判定阳性结果。HIF-1α阳性细胞为细胞质或胞核呈棕黄色或棕褐色,VEGF阳性细胞为细胞质呈棕黄色或棕褐色。

1.5 统计学处理

全部数据采用SPSS 13.0统计软件进行处理,正态分布资料用$\bar{x} \pm s$表示;多组间均数的比较采用单因素方差分析;半定

量资料两组间比较采用 Mann-Whitney 秩和检验;对两组数据间的相关性进行 Spearman 等级相关分析。

2 结果

2.1 CIA 大鼠模型的建立

模型组 40 只大鼠在首次给药后第 12 天起,有 26 只出现踝、跖趾关节以及趾关节红肿。正常对照组未出现明显关节红肿。造模成功率为 65%(26/40)。

2.1.1 一般情况 造模期间动物无死亡,对照组大鼠随着饲养时间的延长,体质量逐渐增加、精神状态良好、毛发光泽、活动自如。模型组给药 12 d 后开始出现不同程度后足爪红肿、皮温升高、毛发失去光泽、竖毛、脱毛、懒动、聚集、精神怠倦、体质量增长减慢甚至下降、饮食饮水量下降。给药 48 h 后注射部位出现多个炎性小溃疡,红肿明显,逐渐加重并破溃,7 ~ 10 d 破溃处形成硬痂,而后脱落溃疡愈合。模型组体质量增长明显小于对照组大鼠。

2.1.2 CIA 大鼠 AI 及关节肿胀度的变化 随着炎症的发展,AI 值逐渐增加。初次免疫 12 d 及以后各时间点 AI 值与正常组比较差异均有统计学意义($P<0.05$),第 21 天达峰值,之后逐渐下降,42 d 降至最低值,但仍高于正常组。正常对照组 AI 值均小于 1(图 1)。

模型组大鼠初次免疫后第 7 天部分大鼠足趾表面发红,皮温升高,第 12 天开始相继出现后足爪明显肿胀,关节僵硬,活动受限,第 21 天达高峰,随后关节肿胀有所减轻,持续至第 42 天。正常对照组均未见明显肿胀。AI 值与关节肿胀度均提示关节病变从第 21 天开始,持续至第 42 天,且 21 ~ 28 d 关节病变最明显。

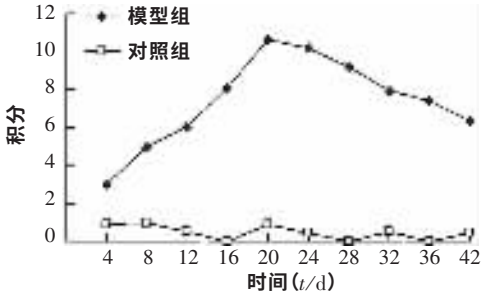
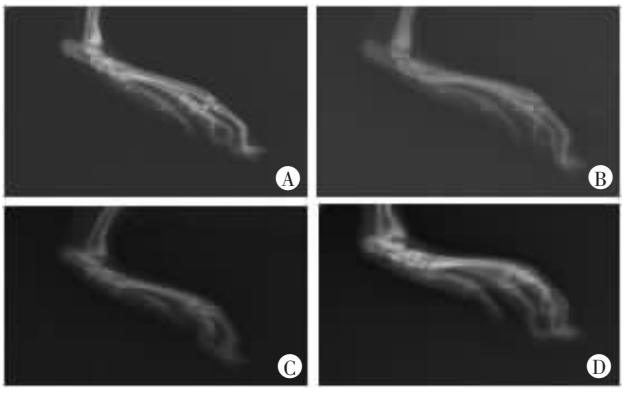


图 1 大鼠关节炎指数平均积分分析

2.1.3 大鼠踝关节 X 线改变 对照组大鼠踝关节软组织无肿胀,骨质无破坏,结构完整,足趾关节间隙清楚。CIA 大鼠免疫后第 21 天,X 线显示踝关节周围软组织肿胀,足趾关节间隙模糊、狭窄及融合等表现。第 42 天踝关节骨骼结构排列紊乱,关节间隙不清,除见囊性骨吸收和骨侵蚀、骨质疏松和新骨形成外,伴有关节僵直。提示 CIA 模型大鼠发生慢性侵蚀性关节炎(图 2)。



A、B 分别为正常对照第 21、42 天左踝关节; C、D 分别为模型组初次免疫后第 21、42 天左踝关节

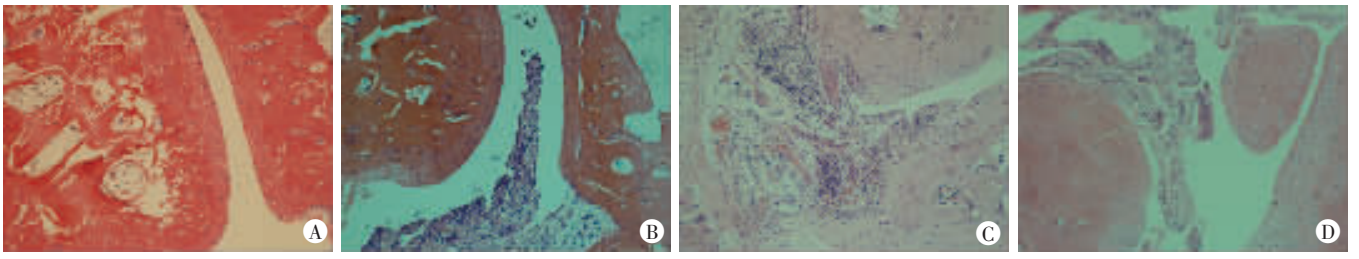
图 2 大鼠踝关节 X 线表现

2.1.4 大鼠踝关节病理学变化 正常大鼠滑膜由 1 ~ 3 层扁平滑膜细胞组成,无炎细胞浸润及血管增生,关节结构完整,软骨层较厚,表面光滑,未见结构破坏(图 3A)。CIA 组大鼠初次免疫后 21 d 时滑膜细胞层数增至 10 ~ 15 层,增生滑膜形成血管翳,炎细胞浸润。可见关节滑膜组织增生,呈绒毛状伸入关节腔内,绒毛内有大量炎细胞浸润(图 3B)。关节滑膜组织增生,血管翳形成,大量炎细胞浸润,关节软骨面损伤,表面透明软骨被破坏,局部纤维化,为纤维结缔组织所取代(图 3C)。42 d 侵蚀软骨及骨质,关节软骨可见坏死脱落、纤维化,新生骨形成,关节腔狭窄,广泛炎细胞浸润,伴有不同程度的软组织水肿,滑膜下层大量纤维增生及新生血管形成,呈肿瘤性侵袭性生长。可见滑膜结缔组织向关节腔内长入,部分取代软骨组织,关节腔内有小片增生骨组织,与关节囊相连(图 3D)。具体病理学评分见表 1。

表 1 各组大鼠滑膜病理学评分(分,$\bar{x} \pm s$)

组别	n	总分	滑膜增生	炎症	血管生成
A 组	10	0.30 ± 0.48	0.20 ± 0.42	0.10 ± 0.32	0.20 ± 0.42
B 组	8	6.25 ± 1.28[a]	2.38 ± 0.74	1.38 ± 0.74	2.50 ± 0.53
C 组	5	5.80 ± 0.84[a]	2.00 ± 0.71	1.40 ± 0.55	2.40 ± 0.55
D 组	7	5.14 ± 1.35[a]	1.43 ± 0.53[b]	1.86 ± 0.69	1.86 ± 0.69
E 组	6	4.50 ± 0.84[a]	1.33 ± 0.52	1.67 ± 0.88	1.50 ± 0.55[c]

a: $P<0.01$,与 A 组比较; b: $P<0.05$,与 B 组比较; c: $P<0.01$,与 B 组比较

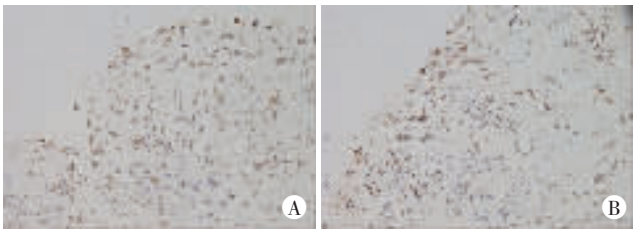


A:对照组(×100);B:模型组 21 d(×100);C:模型组 28 d(×100);D:模型组 42 d(×200)

图 3 大鼠踝关节腔病理学变化 (HE)

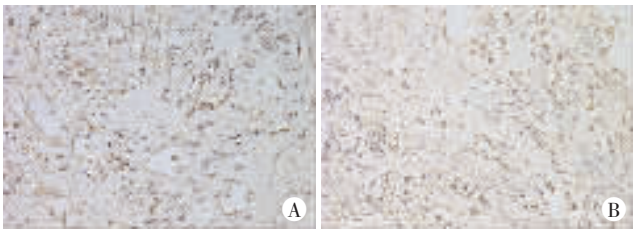
2.2 HIF-1α、VEGF 在 CIA 大鼠滑膜中的表达及与病理学评分的关系

2.2.1 CIA 大鼠滑膜 HIF-1α、VEGF 蛋白的表达 正常对照组均未见 HIF-1α、VEGF 蛋白表达。CIA 模型组 HIF-1α、VEGF 表达增强，HIF-1α 在细胞核及细胞质中均表达，VEGF 表达于细胞浆中。从免疫组化结果可以看出不仅滑膜细胞，滑膜下层巨噬细胞、部分血管内皮细胞、成纤维细胞等也表达 HIF-1α、VEGF。二者均在第 21、28 天滑膜细胞阳性表达量及程度最高，随病程进展，阳性表达量及程度逐渐下降。模型组 HIF-1α、VEGF 蛋白表达进行相关回归分析，呈明显正相关（$r=0.75$，$P<0.01$）见图 4、5，表 2。



A：初次免疫后第 21 天；B：初次免疫后第 42 天

图 4 模型组关节滑膜组织 HIF-1α 免疫组织化学染色结果（S-P ×400）



A：初次免疫后第 21 天；B：初次免疫后第 42 天

图 5 模型组关节滑膜组织 VEGF 免疫组织化学染色结果（S-P ×400）

表 2 各组大鼠滑膜 HIF-1α、VEGF 蛋白表达的免疫组化评分（分，$\bar{x}\pm s$）

组别	n	HIF-1α	VEGF
A 组	10	0.20 ± 0.42	0.30 ± 0.67
B 组	8	8.00 ± 0.76[ab]	8.75 ± 1.39[ac]
C 组	5	7.40 ± 1.67[ab]	7.80 ± 1.48[a]
D 组	7	6.00 ± 0.82[a]	6.00 ± 0.82[a]
E 组	6	5.00 ± 1.26[a]	4.67 ± 0.82[a]

a：$P<0.01$，与 A 组比较；b：$P<0.05$，与 D 组比较；c：$P<0.05$，与 E 组比较

2.2.2 CIA 大鼠 HIF-1α 表达与病理学评分的关系 CIA 大鼠各组 HIF-1α 蛋白表达的免疫组化评分与各组滑膜病理学总评分、滑膜增生评分及血管生成评分均呈明显正相关，r 分别为 0.40、0.48、0.50（$P<0.05$）；与炎症浸润评分无明显相关，r 为 0.30（$P>0.05$）。

3 讨论

CIA 模型在免疫机制、关节病理改变、临床表现和实验室指标上，与人类 RA 最为接近，是目前公认用于研究 RA 的最佳动物模型，我们使用尾跟部皮内注射天然牛Ⅱ型胶原免疫 SD 大鼠，通过影像学、组织形态学等手段进行指标的动态观察，成功构建了 CIA 模型。

RA 主要病理改变为滑膜炎，滑膜细胞增殖具有锚着非依赖性生长、失去接触抑制、凋亡减少及侵蚀性等类似肿瘤生长[7]的特点。滑膜细胞这种类肿瘤样增殖和大量炎症细胞的浸润，导致局部毛细血管氧弥散距离及耗氧量的增加，进而造成一个低氧微环境。这种低氧微环境从 20 世纪 70 年代至今不断被证实，近来使用一种高敏度金属微电极精确测得患者滑液中氧分压为 26 mmHg（波动范围为 18 ~ 33 mmHg，相当于 2% ~4%），而正常人氧分压为 74 mmHg（波动范围为 69 ~ 89 mmHg，相当于 9% ~ 12%），明显低于正常人[8]。国外研究发现，有核细胞缺氧时，均可引发 HIF-1α 的高表达[9]。本实验发现，CIA 大鼠滑膜表达 HIF-1α 明显增强，造模后第 21 ~ 28 天模型组关节肿胀程度最显著，此时 HIF-1α 表达也比其它时间点明显升高，随着发病时间延长，表达量逐渐下降，提示 HIF-1α 在 CIA 大鼠关节病变过程中呈动态表达。且表达与关节炎活动指标及滑膜病理学总评分呈明显正相关，提示滑膜 HIF-1α 表达与 CIA 大鼠关节炎病变密切相关。同时发现，CIA 大鼠中 VEGF 表达显著升高，造模后 21 ~ 28 d 模型组关节肿胀程度最显著，此时 VEGF 的表达也比其它时间点明显升高。且 HIF-1α 与 VEGF 蛋白表达呈显著正相关，提示 HIF-1α 与 CIA 大鼠滑膜血管生成密切相关。同时，CIA 大鼠滑膜 HIF-1α 表达与滑膜增生评分呈明显正相关，提示 HIF-1α 在 RA 滑膜增生中发挥作用，而滑膜增生又可加剧滑膜组织尤其是滑膜衬里层缺氧状态，进一步促进 HIF-1α 表达及滑膜增生。

RA 被认为是“不死的癌症”，特征性表现为对称性、多个周围关节的慢性进行性关节炎病变，晚期患者的关节组织受到严重破坏，常导致功能丧失[10]。据卫生部统计，RA 患者在我国有 500 万人以上，是造成劳动力丧失和致残的主要疾病之一，迫切需要有效的治疗与预防方案。现阶段治疗上仍以多种药物联合应用为主，但传统药物长期服药带来的许多副作用如骨髓抑制、胃肠道反应、肝损害等，使多数患者因其风险/效价比高而无法坚持治疗。本实验结果显示 CIA 大鼠关节滑膜表达 HIF-1α，并与关节炎病情活动、滑膜增生及血管生成密切相关，提示 HIF-1α 很可能在 RA 中通过调控一系列下游靶基因，影响滑膜炎的发生、发展。因此，HIF-1α 在 RA 的发病机制中发挥关键作用，很可能是重要的治疗靶点。可通过对 HIF-1α 进行阻断，从而阻止滑膜炎的发生、发展，基于抗 HIF-1α 的靶向治疗有望成为 RA 治疗与预防的重要手段。

参考文献：

[1] Gaber T, Dziurla R, Tripmacher R, *et al*. Hypoxia inducible factor (HIF) in rheumatology: low O2! See what HIF can do! [J]. Ann Rheum Dis, 2005, 64(7): 971 - 980.

[2] Hashimoto A, Tarner I H, Bohle R M, *et al*. Analysis of vascular gene expression in arthritic synovium by laser-mediated microdissection[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(4): 1094 - 1105.

[3] Tang N, Wang L, Esko J, *et al*. Loss of HIF-1alpha in endothelial cells disrupts a hypoxia-driven VEGF autocrine loop necessary for tumorigenesis[J]. Cancer Cell, 2004, 6(5): 485 - 495.

[4] Serper A, Calt S. The demineralizing effects of EDTA at different concentrations and pH[J]. J Endod, 2002, 28(7): 501 - 502.

[5] Baharav E, Mor F, Halpern M, *et al*. Lactobacillus GG bacteria ameliorate arthritis in Lewis rats[J]. J Nutr, 2004, 134(8): 1964 - 1969.

[6] Tsubaki T, Arita N, Kawakami T, *et al*. Characterization of histopathology and gene-expression profiles of synovitis in early rheumatoid arthritis using targeted biopsy specimens[J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7(4): R825 - R836.

[7] Rudolph E H, Woods J M. Chemokine expression and regulation of angiogenesis in rheumatoid arthritis[J]. Curr Pharm Des, 2005, 11(5): 613 - 631.

[8] Sivakumar B, Akhavani M A, Winlove C P, *et al*. Synovial hypoxia as a cause of tendon rupture in rheumatoid arthritis[J]. J Hand Surg [Am], 2008, 33(1): 49 - 58.

[9] Westra J, Brouwer E, Bos R, *et al*. Regulation of cytokine-induced HIF-1alpha expression in rheumatoid synovial fibroblasts[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1108: 340 - 348.

[10] Ospelt C, Neidhart M, Gay R E, *et al*. Synovial activation in rheumatoid arthritis[J]. Front Biosc, 2004, 9: 2323 - 2334.

（**收稿**：2009-09-23；**修回**：2009-11-05）

（编辑　邓强庭）

文章编号：1000-5404(2010)06-0567-01

经验交流

经颅磁刺激治疗带状疱疹后神经痛的疗效观察

于苏文，郑秀琴　（213003 江苏 常州，解放军102医院神经内科）

[关键词] 经颅磁刺激；神经痛，带状疱疹后

[中图法分类号] R741.05　**[文献标志码]** B

带状疱疹后神经痛（post-herpetic neuralgia, PHN）发生于带状疱疹病毒感染后，在原来皮疹区长期存在的剧烈疼痛[1]。疼痛呈阵发性，持续时间长，严重影响人们正常的工作和生活[2]。本研究应用重复经颅磁刺激（repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS）治疗PHN取得了良好疗效，现报告如下。

1　资料与方法

40例患者系我科2007年6月至2009年2月门诊、住院患者。纳入标准：符合PHN诊断标准，PHN的部位以胸腰背部及手臂为主，均有明确的带状疱疹急性发作史，且皮疹消退≥1个月，疼痛视觉模拟评分（VAS）≥3分。排除标准：严重心肺肝肾功能不全者。

40例患者分为两组。药物治疗组：20例，其中男性13例，女性7例，给予卡马西平（商品名得理多）100～200 mg/次，3次/d；维生素B_1，100 mg/d，肌注；弥可保500 μg/d，静推。根据情况可酌情给予小剂量氟哌噻吨美利曲辛（商品名黛安神）及氯硝安定等对症处理。rTMS组：20例，其中男性12例，女性8例，在药物治疗的基础上，予rTMS治疗。用0.5 Hz低频rTMS刺激带状疱疹疼痛部位的神经根；5 Hz高频rTMS刺激左侧前额叶背外侧皮层（dorsolateral prefrontal cortex，DLPFC）。上述2种刺激均一次连续给予，共7 d，间隔1周后重复上次治疗7 d。两组患者的性别、年龄、病程差异无统计学意义（$P>0.05$）。

疗效评定：采用疼痛视觉模拟评分法（VAS）对患者疼痛程度进行评定，VAS下降≥80%为显效，20%～79%为有效，<20%为无效，VAS上升为恶化。分别在治疗前及治疗后1、2、3周末对疼痛进行评估，并随访3个月，同时监测不良反应。

统计学处理：应用SPSS 11.0统计软件，数据以$\bar{x}\pm s$表示，治疗前后组间比较采用成组t检验；有效性用百分率表示，率的比较采用χ^2检验。

2　结果

2.1　2组治疗前后VAS评分及疗效的比较

如表1所示，rTMS组在第1、2、3周末和药物治疗组在第2、3周末VAS评分与治疗前比较明显下降（$P<0.01$）；治疗后第1、3周末2组的VAS评分比较，差异有统计学意义（$P<0.01$）。rTMS组总有效率为95%（19/20），显著高于药物治疗组65%（13/20，$P<0.01$）。2组在第3周末的卡马西平用量差异有统计学意义（$P<0.01$），rTMS组用量人均减少107 mg/d，随访3个月后，rTMS组疗效稳定、用药剂量基本不变。

表1　药物组与经颅磁刺激组治疗前后VAS比较（$n=20$，$\bar{x}\pm s$）

组别	治疗前	治疗1周末	治疗2周末	治疗3周末
rTMS组	8.15±0.63	5.19±0.64[a]	5.01±0.87[a]	2.78±0.83[a]
药物治疗组	8.19±0.57	8.06±0.49[b]	6.34±0.79[a]	4.44±0.79[ab]

a：$P<0.01$，与治疗前比较；b：$P<0.01$，与rTMS组比较

（下转575页）

[通信作者] 郑秀琴，E-mail：zhengxiuqin1982@163.com