

臭氧治疗对破裂型腰椎间盘突出症患者自身体液免疫的影响

黄 晖, 寿康全, 李 坚, 付纳新, 赵 伟, 罗 刚

(三峡大学第三临床医学院 葛洲坝中心医院骨科 443002 湖北省宜昌市)

【摘要】目的:探讨医用臭氧对破裂型腰椎间盘突出症(LDH)患者自身体液免疫水平的影响。**方法:**选取 50 例破裂型 LDH 患者及 50 例健康成年人作为研究对象,比较两组血清中免疫球蛋白 G(IgG)和 M(IgM)含量,并应用医用臭氧微创治疗 LDH 患者,观察血清中 IgG 和 IgM 含量在治疗前后的变化。**结果:**破裂型 LDH 患者血清中 IgG、IgM 含量分别为 $16.04 \pm 2.58 \text{g/L}$ 及 $1.79 \pm 0.45 \text{g/L}$,较健康成年人的 $13.33 \pm 2.67 \text{g/L}$ 、 $0.89 \pm 0.34 \text{g/L}$ 均有显著升高($P < 0.01$);经医用臭氧治疗 3d 后患者的 IgG、IgM 含量分别降至 $14.15 \pm 2.43 \text{g/L}$ 及 $1.43 \pm 0.39 \text{g/L}$,均较治疗前明显降低($P < 0.01$)。**结论:**医用臭氧能够在一定程度上抑制破裂型 LDH 患者的自身体液免疫水平,这可能是其治疗腰椎间盘突出症的作用机制之一。

【关键词】 腰椎间盘突出症;医用臭氧;体液免疫

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2010.11.12

中图分类号:R681.5,R446.6 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2010)-11-0935-03

Application of ozone on autoimmunity of patients with lumbar prolapsed disc/HUANG Hui,SHOU Kangquan,LI Jian,et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord,2010,20(11):935-937

【Abstract】 Objective:To investigate the use of ozone on autoimmunity of patients with lumbar prolapsed disc.**Method:**50 cases with lumbar prolapsed disc and 50 healthy adults were collected.The concentration levels of immunoglobulin G and M in peripheral blood by immunoturbidimetry between patients and healthy ones were compared,then lumbar disc herniation(LDH) patients underwent percutaneous intradiscal ozone-injection (PIOI),and the concentration levels of immunoglobulin G and M of these patients between pre-operation and post-operation were compared.**Result:**The immunoglobulin G and M level in peripheral blood of LDH patients were $16.04 \pm 2.58 \text{g/L}$ and $1.79 \pm 0.45 \text{g/L}$ respectively.Both were significantly higher than that of the healthy adults ($13.33 \pm 2.67 \text{g/L}$ and $0.89 \pm 0.34 \text{g/L}$) ($P < 0.01$).After operation,the levels were $14.15 \pm 2.43 \text{g/L}$ and $1.43 \pm 0.39 \text{g/L}$ for immunoglobulin G and M level respectively,both were significantly lower than those of preoperation ($P < 0.01$).**Conclusion:**Ozone for medical use can inhibit the autoimmunity of patients with lumbar prolapsed disc,which remains one of the mechanisms for managing LDH.

【Key words】 Lumbar disc herniation;Medical ozone;Humoral immunity

【Author's address】 Department of Orthopaedics,Gezhouba Dam Central Hospital,Yichang,443002,China

腰椎间盘突出症(lumbar disc herniation, LDH)是临床上最常见的引起腰背痛的疾病之一,其发病机制有多种解释,自身免疫学说是近年来学界比较认可的一种。经皮腰椎间盘内注射医用臭氧(percutaneous intradiscal medical ozone-injection, PIMO)治疗 LDH 是近年来在我国应用的一项微创治疗技术,经过临床应用证明其具有疗

效好、操作简单、安全性高的特点^[1]。关于其治疗 LDH 的主要机制,目前学界普遍将其归结为氧化蛋白多糖、破坏髓核细胞等作用^[2],而关于臭氧对 LDH 患者自身免疫应答影响的相关研究却鲜有报道。本研究旨在观察臭氧治疗对破裂型 LDH 患者自身体液免疫的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取标准:纳入患者经 CT 或 MRI 扫描证实

第一作者简介:男(1971-),主治医师,研究方向:脊柱外科

电话:(0717)6722885 E-mail:41530161@qq.com

通讯作者:李坚 E-mail:jimmy9240@sina.com

均有与临床定位体征相符的腰椎间盘突出,且经影像学检查证实病变节段髓核均突破纤维环突入椎管内(破裂型)。所有患者均经过至少 8 周保守治疗无效,且近期及手术前后均未使用过肾上腺皮质类激素和免疫抑制剂类药物。排除标准:凡合并有自身免疫性疾病、血液淋巴系统疾病、恶性肿瘤、肝肾疾病及急性慢性传染病,甲状腺功能亢进症、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症及蚕豆病、有出血倾向等和妊娠或哺乳期妇女均被排除。

2006 年 6 月~2009 年 5 月选取符合上述标准的破裂型 LDH 患者 50 例,男 32 例,女 18 例;年龄 28~66 岁,平均 44.5 岁,平均病程 2.5 年。31 例患者表现为腰痛合并一侧或双侧下肢放射性疼痛、麻木,19 例仅表现为下肢疼痛、麻木。病变节段:L4/5 突出 14 例,其中 1 例合并同平面椎管明显狭窄;L5/S1 突出 15 例;L4/5 合并 L5/S1 突出 21 例。

随机选取同期在我院行体检的健康成年人 50 例作为对照组,男 38 例,女 12 例;年龄 29~64 岁,平均 41 岁;经 CT 扫描证实无腰椎间盘突出。

1.2 手术方法

患者取俯卧位,下腹垫软枕。取脊柱中线旁开 8~10cm 处为穿刺点。2%利多卡因局麻。用 21G 多侧孔酒精注射针行侧后方入路穿刺。术中 36 例用 C 型臂 X 线机定位明确进针点,按针尖与皮肤呈 45°角进针,经安全三角区顺利进到 L4/5、L5/S1 椎间隙。其余 14 例用 CT 定点定向,在 CT 引导下穿刺进针,针尖位于椎间隙中后 1/3 区域。定位完毕后将臭氧发生器与医用纯氧氧气瓶连接,设定输出混合气体臭氧浓度为 60 μ g/ml,向病变椎间盘注射浓度为 60 μ g/ml 的臭氧气体 20ml,退针至椎间孔附近时,再向椎旁组织注射浓度为 40 μ g/ml 的臭氧 10~15ml。拔针,消毒包扎,术毕。

1.3 血清免疫球蛋白 G(IgG)和 M(IgM)的测定

LDH 患者于术前、术后 3d 空腹静脉采血样 3ml 置于 EDTA 抗凝管中,在 15min 内离心,1000r/min,收集上清液封闭于 Ep 管内-80℃冰箱保存待检,对照组采集体检时空腹静脉血。采用免疫透射比浊法检测血清中 IgG、IgM 的含量。测定步骤:(1)将校准血清用生理盐水作 2.5 倍、5 倍、10 倍稀释成 3 个不同浓度(即一份样品要按照表 1 操作 3 次,取平均值),按表 1 操作,混匀,37℃孵育 10min,340nm 波长,以空白管调零,测定各

管吸光度。(2)使用多点半对数校准模式,由仪器自动生成校准曲线后根据吸光度读取样品中免疫球蛋白含量。

1.4 统计学方法

用 SPSS 10.0 软件进行统计分析处理。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,组内比较采用配对 t 检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

健康成年人和破裂型 LDH 患者医用臭氧治疗前后血清中 IgG、IgM 含量见表 2。与健康成年人比较,LDH 患者治疗前血清 IgG、IgM 水平明显升高($P < 0.01$);与治疗前比较,治疗后 3d 血清 IgG、IgM 均降低($P < 0.01$)。

3 讨论

Naylor^[3]最早根据椎间盘的特殊解剖结构提出了 LDH 的自身免疫学说,其核心内容是 LDH 患者存在异常的自身免疫状态,表现为外周血免疫球蛋白的异常升高,以 IgG 和 IgM 为主。王葵光和胡有谷^[4]对 43 例 LDH 患者进行免疫学检测发现,LDH 患者外周血中的 IgG、IgM 含量较正常人升高,而 IgA、IgD、IgE 的水平则没有明显变化。为了探究医用臭氧治疗对 LDH 患者外周血免疫球蛋白的影响,本研究选择血清 IgG、IgM 作为检测指标。由于膨出型 LDH 患者外周血中免疫球蛋白的含量与正常人无明显差别^[5],本研究中只纳入

表 1 免疫透射比浊法测定血清 IgG 和 IgM 含量流程表

所加试剂	IgG			IgM		
	U	Ci	B	U	Ci	B
样品(10 倍预稀释)	3	—	—	10	—	—
校准血清	—	3	—	—	10	—
生理盐水	—	—	3	—	—	10
试剂 R	300	300	300	300	300	300

注:表中左侧所加试剂为先后顺序;Ci:i 从 1 到 3,表示稀释成 2.5 倍、5 倍、10 倍三个不同浓度;U:样品管,B:空白管,C:校准管;试剂 R:羊抗人免疫球蛋白(IgG,IgM)稀释抗血清

表 2 健康成年人和破裂型 LDH 患者医用臭氧治疗前后血清 IgG、IgM 含量 ($\bar{x} \pm s$, $n=50$, g/L)

	IgG	IgM
健康成年人	13.33 $\pm$ 2.67	0.89 $\pm$ 0.34
LDH 治疗前	16.04 $\pm$ 2.58 ^①	1.79 $\pm$ 0.45 ^①
LDH 治疗后	14.15 $\pm$ 2.43 ^②	1.43 $\pm$ 0.39 ^②

注:①与健康成年人比较 $P < 0.01$;②与 LDH 治疗前比较 $P < 0.01$

了破裂型(即纤维环已经破裂)LDH 患者作为研究对象。

研究表明,IgG 和 IgM 可与暴露于机体免疫系统的椎间盘抗原形成抗原抗体复合物,吸引大量炎性细胞,造成自身免疫性炎症^[6],引起腰椎间盘突出症患者的腰背痛和坐骨神经痛^[7],抗原暴露越充分,免疫球蛋白的水平越高,自身免疫性炎症越重,产生的临床症状也越重。本研究结果显示,破裂型 LDH 患者外周血中 IgG 和 IgM 含量较健康成年人有显著升高($P<0.01$),再次论证了破裂型 LDH 患者存在自身体液免疫异常这一观点,同时也证明了椎间盘组织的自身抗体主要是 IgG 和 IgM。

臭氧用于治疗 LDH 已有多年,目前学界普遍认为氧化蛋白多糖、破坏髓核细胞等作用是其治疗的主要机制^[2]。但在临床应用中我们发现大多数 LDH 患者在接受臭氧注射治疗后短期内疼痛等临床症状有明显缓解,直腿抬高试验等体征转为阴性,而影像学结果显示突出的椎间盘组织仍然存在,因此仅用臭氧的上述物理消融作用解释其治疗机制难以得到满意答案。

Bocci^[8,9]认为适当浓度的臭氧具有刺激多种免疫调节性细胞因子的产生、抑制人体淋巴细胞过度增殖的功能,可用于治疗溃疡性结肠炎、克隆病等自身免疫性疾病。联系 LDH 发病机制的自身免疫学说和臭氧能够调节机体自身免疫状态的特性,我们认为臭氧治疗 LDH 的机制在于其能够抑制 LDH 患者的自身体液免疫。本研究结果表明,经过医用臭氧注射治疗后 3d,LDH 患者外周血 IgG 和 IgM 含量较治疗前有显著下降($P<0.01$),说明臭氧能够调节 LDH 患者的自身免疫状态,抑制自身免疫性炎症反应的发生和发展,从而达到缓解临床症状的治疗目的。

LDH 患者突出髓核中的蛋白多糖和 I、II 型胶原纤维是其中的自身抗原,在触发自身免疫反应中具有极为重要的始动作用,而臭氧具有强大的氧化作用,能够氧化髓核组织中的蛋白多糖,并且能破坏髓核细胞,造成髓核细胞合成及分泌蛋白多糖功能低下,这样就从源头上切断了自身抗原与免疫系统接触的机会,破坏了已经存在的自身抗原,防止残余自身抗原的继续表达,从而在一定程度上抑制了自身免疫应答。此外臭氧作用于

机体,可诱导其产生包括 IL-10 和转化生长因子(TGF)- β 1 在内的众多免疫抑制性细胞因子^[10,11]。臭氧通过刺激机体生成这一类细胞因子,并通过它们之间的相互作用来影响自身免疫网络,下调 LDH 患者机体中已经存在的过度自身免疫反应,诱导机体对自身髓核的免疫耐受,从而抑制自身免疫反应的产生和发展,达到临床治疗效果。

本研究从自身体液免疫的角度来探究臭氧微创治疗 LDH 的作用机制和原理。结果显示,破裂型 LDH 患者在经过臭氧治疗后短期内外周血 IgG 和 IgM 含量即有显著降低,表明抑制自身体液免疫异常可能是医用臭氧治疗 LDH 的机制之一。

4 参考文献

1. 何晓峰,曾庆乐,陈勇,等.经皮穿刺 O₂-O₃ 混合气体注射术治疗腰椎间盘突出症[J].中华放射学杂志,2003,37(9):827-830.
2. 李荣,顾丽莉.臭氧用于治疗腰椎间盘突出症[J].中国药物与临床,2007,7(4):299-300.
3. Naylor A.Enzymic and immunological activity in the intervertebral disc[J].Orthop Clin N Am,1975,6(3):51-53.
4. 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):258-262.
5. 周泽美,周志雄.免疫球蛋白 IgG 及 IgM 含量与腰椎间盘突出症病理分型的相关性 [J]. 中国临床康复,2003,7 (14):2040-2041.
6. Goldie I. Granulation tissue in the ruptured intervertebral disc [J].Acta Orthop Stand,1959,22(6):302-303.
7. Macnab I. The Mechanism of Spondylogenic pain in Cervical Pain[M].London:Oxford Pergamon Press,1971.89-95.
8. Bocci V.Biological and clinical effects of ozone:has ozone therapy a future in medicine [J]?Br J Biomed Sci,1999,56(4):270-279.
9. Bocci V. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance?Implications for the therapy of human immunodeficiency virus infection and several other diseases medical hypotheses [J].Br J of Biomed Sci,1996,46(1):150-154.
10. Larini A, Bocci V. Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells[J].Toxicol In Vitro,2005,19(1):55-61.
11. Bocci V.Ozone as a bioregulator:pharmacology and toxicology of ozone therapy today [J].J Biol Regul Homeost Agents, 1996,10(2-3):31-53.

(收稿日期:2010-07-05 修回日期:2010-09-03)

(英文编审 蒋欣/刘思麒)

(本文编辑 李伟霞)