

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.15.005

生骨密骨方对骨质疏松大鼠血清细胞因子水平的影响

常波伦¹, 柴 仪^{1△}, 李 倩², 杨家祥¹, 刘烁炜¹

(1. 河北省中医院, 河北 石家庄 050011; 2. 河北友爱医院, 河北 石家庄 050030)

摘要:目的 探讨生骨密骨方对骨质疏松(OP)大鼠血清雌二醇(E₂)、胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素6(IL-6)的影响及可能的作用机制。方法 选择6个月龄健康清洁级雌性SD大鼠48只,手术摘除其双侧卵巢,随机分为对照组(A组)、雌二醇组(B组)、中药组(C组),每组16只。B组给予戊酸雌二醇片, C组给予生骨密骨方水煎浓缩液(每1 mL含生药1.19 g), A组给予等量生理盐水,连续灌服12周。结果 建模成功后, B组大鼠子宫指数为(112.85±22.63) mg/20 g,与C组的(114.92±21.55) mg/20 g无显著差异($t=0.320, P=0.751>0.05$), B组及C组大鼠子宫指数均高于A组大鼠的(86.45±19.62) mg/20 g($t=7.154, 6.592, P<0.01$); C组大鼠血清中E₂、IGF-1均显著高于A组($t=7.693, 12.853, P<0.01$),与B组无明显差异($t=0.296, 1.251, P=0.769, 0.221>0.05$); C组大鼠血清中IL-6、TNF-α均显著低于A组大鼠($t=10.729, 11.036, P<0.01$),与B组无明显差异($t=0.953, 1.569, P=0.348, 0.127>0.05$)。结论 生骨密骨方可通过改善骨代谢生化指标,降低骨转换率,起到防治骨质疏松的作用。

关键词:生骨密骨方;中药;骨质疏松;细胞因子;大鼠

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)15-0017-03

Effect of Shenggumigu Recipe on the Levels of Serum Cytokines in Rats with Osteoporosis

Chang Bolun¹, Chai Yi¹, Li Qian², Yang Jiaxiang¹, Liu Shuwei¹

(1. Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei, China 050011;

2. Hebei Friendship Hospital, Shijiazhuang, Hebei, China 050030)

Abstract: Objective To investigate the effect of Shenggumigu Recipe on the levels of E₂, IGF-1, TNF-α and IL-6 in the rats with osteoporosis and its possible mechanism. **Methods** Totally 48 healthy and clean female SD rats at age of six months were selected and their bilateral ovaries were removed by surgery, the rats were randomly divided into the control group(group A), E₂ group(group B) and TCM group(group C), 16 cases in each group. Group B was given Estradiol Valerate Tablets, group C was given concentrate decoction of Shenggumigu Recipe(1 mL containing 1.19 g crude drug), and group A was given irrigation of the same amount of normal saline for 12 weeks. **Results** After successful modeling, the uterine index of group B was (112.85±22.63) mg/20 g, which was not significantly different from (114.92±21.55) mg/20 g in group C($t=0.320, P=0.751>0.05$). The uterine indexes in group B and group C were higher than (86.45±19.62) mg/20 g in group A($t=7.154, 6.592, P<0.01$). The levels of E₂ and IGF-1 in group C were significantly higher than those in group A($t=7.693, 12.853, P<0.01$), but which were not significantly different from those in group B($t=0.296, 1.251, P=0.769, 0.221>0.05$). The levels of serum IL-6 and TNF-α in group C were significantly lower than those in group A($t=10.729, 11.036, P<0.01$), but which were not significantly different from those in group B($t=0.953, 1.569, P=0.348, 0.127>0.05$). **Conclusion** Shenggumigu Recipe can reduce bone turnover by improving the biochemical indexes of bone metabolism, so as to achieve the prevention and treatment of osteoporosis.

Key words: Shenggumigu Recipe; traditional Chinese medicine; osteoporosis; cytokine; rats

骨质疏松(osteoporosis, OP)是临床常见的一种全身骨代谢疾病,具有骨量减少及骨组织微结构退变的特征,可伴随骨折和骨脆性增加^[1]。随着人口老龄化的到来,OP患者逐渐增多,已成为全球的健康问题。目前防治OP的药物选择趋势是开发传统中草药合成制剂。河北省中医院自制中药制剂生骨密骨方在防治OP患者临床中有良好疗效,但其作用机制分析尚缺乏研究^[2]。原发性OP症主要发生在老年人群中,中老年绝经后妇女最多见。近年来,随着对OP发病机制的深入研究,发现细胞因子如肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素(IL)等分泌量与OP的形成关系紧密,因此众多学者将OP的研究重点转移到细胞因子上^[3]。本研究中以去卵巢OP

大鼠为研究对象,探讨中药生骨密骨方对OP大鼠模型血清细胞因子水平的影响。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

7170A型生化分析仪(日本日立);Mettler Toledo AL104型天平(中国上海升隆电子科技有限公司)。戊酸雌二醇片(拜耳医药保健有限公司广州分公司,批号为222A,规格为50 μg/kg);生骨密骨方组方为熟地黄、山茱萸、淫羊藿、杜仲、菟丝子、鸡血藤、丹参、续断、鹿角胶、骨碎补、当归、川牛膝、木瓜、独活、水蛭、桑螵蛸、稻芽、饴糖、炙甘草,其水煎浓缩液1 mL含生药1.19 g;试剂盒购自上海劲马生物科技公司(批号为201402435)。

第一作者:常波伦(1993-),男,硕士研究生,主要从事中西医结合骨伤科临床工作,(电子信箱)1031591005@qq.com。

△通信作者:柴仪,博士研究生,副主任医师,副教授,主要从事中西医结合骨伤科临床工作,(电子信箱)290507602@qq.com。

试验动物选择6个月龄健康清洁级雌性SD大鼠48只, 体重为(256.6±35.8)g, 由河北医科大学实验动物中心提供, 许可证号为SCXK(冀)2013-1-003, 本试验符合动物伦理学标准。

1.2 方法

取6个月龄健康清洁级雌性SD大鼠48只, 采用戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔麻醉, 下腹部正中切口作双侧卵巢摘除。术后予以肌肉注射青霉素80万U/只, 连续3d, 每天1次, 预防伤口感染, 术后密切观察, 每周测量体重, 3周后大鼠生长良好, 随机分为对照组(A组)、雌二醇(E₂)组(B组)、中药组(C组), 每组16只。B组给予戊酸雌二醇片灌胃, C组给予生骨密骨方水煎浓缩液(每1 mL含生药1.19 g), A组给予等量生理盐水, 连续灌服12周。

1.3 检测指标

试验结束后, 处死大鼠, 取子宫标本, 用天平称取湿重, 计算子宫指数。取血清进行生化指标检测, 按试剂盒说明书进行, 包括E₂, TNF-α, IL-6及胰岛素样生长因子(IGF)-1。

1.4 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 子宫指数

成功建模后, 3组大鼠体重差异不明显。治疗后, B组大鼠子宫指数为(112.85±22.63)mg/20g, 与C组的(114.92±21.55)mg/20g无显著差异($t=0.320$, $P=0.751 > 0.05$); B组及C组大鼠子宫指数均高于A组大鼠的(86.45±19.62)mg/20g($t=7.154, 6.592$, $P < 0.01$)。

2.1 实验室指标

结果见表1。C组大鼠血清中E₂和IGF-1均显著高于A组大鼠($t=7.693, 12.853$, $P < 0.01$), 与B组大鼠无明显差异($t=0.296, 1.251$, $P=0.769, 0.221 > 0.05$)。C组大鼠血清中IL-6, TNF-α均显著低于A组大鼠($t=10.729, 11.036$, $P < 0.01$), 与B组大鼠无明显差异($t=0.953, 1.569$, $P=0.348, 0.127 > 0.05$)。

3 讨论

OP的特征包括骨吸收增加, 骨量减少, 骨脆性增加, 骨显微结构退化, 临床易发生骨折, 是老年临床常见疾病。随着临床OP患者的增多, 有效防治OP药物的应用开发成为热点^[4]。化学合成药物均有一定不良反应, 人们把传统中草药合成制剂作为首选^[5]。传统单味中药如淫羊藿中总黄酮能改善骨组织的显微结构, 调节骨形成与骨破坏的紊乱状态, 进而有效对抗骨质疏松的发

表1 3组大鼠模型手术前后实验室指标水平比较($\bar{X} \pm s$)

组别	时间	E ₂ (ng/L)	IGF-1(ng/mL)	IL-6(pg/L)	TNF-α(ng/L)
A组	术前	15.86±2.06	359.91±76.35	22.16±4.45	28.85±7.32
	术后	8.13±3.16	235.11±42.67	41.65±7.83	57.83±11.35
B组	术前	15.38±2.15	349.44±82.16	22.61±5.96	26.94±5.68
	术后	14.87±6.32*	347.62±53.16*	26.48±7.30*	32.86±11.58*
C组	术前	15.63±2.57	355.74±76.54	23.58±6.23	25.88±4.61
	术后	14.65±4.83*	326.14±46.89*	25.89±8.53*	31.19±12.47*

注:与A组术后比较, * $P < 0.01$ 。

生;杜仲叶醇提取物具有类激素样作用, 能增进大鼠骨髓生成和增加骨质强度^[6]。自制中药制剂补肾活血方^[7]防治OP疗效良好, 生骨密骨方是在此方基础上进行改进, 临床疗效更确切。方中稻芽和饴糖共用, 健脾益胃, 以防熟地黄、山茱萸、鸡血藤等腻滞脾胃, 又促进骨碎补、续断补肾助阳之功效, 桑螵蛸既缓解水蛭、川牛膝等峻烈之性, 又促进淫羊藿、杜仲补肾壮阳之效。

雌激素是维持骨吸收和骨形成平衡的重要因素, E₂水平降低导致骨形成抑制、骨吸收亢进已得到公认^[8]。OP主要影响TNF-α与IL-6水平, IL-6 mRNA主要在破骨细胞表达^[9]。OP的发病过程是骨重建偏向破骨细胞所致的骨吸收不平衡过程, 细胞因子产生于骨的微环境中, 骨重建过程受到TNF-α及IL-6等细胞因子的调节^[10]。IL-6可刺激破骨细胞前体细胞, 使其分裂、增殖加快, 影响成骨细胞活性。TNF-α是单核细胞和巨噬细胞分泌的细胞因子, 具有抑制骨形成、促进骨吸收的作用^[11]。IGF-1是依赖于生长激素的多肽蛋白, 可通过内分泌、旁分泌和自分泌途径作用于骨, 在骨组织中与其受体结合, 从而参与骨细胞生长、增殖与代谢的调节, 对骨形成有刺激作用^[12]。细胞因子中IL-6及TNF-α都是机体免疫系统调节骨代谢的主要蛋白质因子, IL-6对成骨和破骨细胞的分化、成熟起着重要作用, 而IL-6能更多地活化破骨细胞^[13]。本研究结果显示, 生骨密骨方可防治OP, 分析原因, 可能与生骨密骨方能降低TNF-α和IL-6的阳性表达, 以及提高体内E₂和IGF-1阳性表达有关。当雌激素缺乏时, 能使骨髓单核细胞分泌的细胞因子明显增加, TNF-α和IL-6可促进OP患者体内钙盐丢失, 且TNF-α对成骨细胞的功能有抑制作用, 故E₂水平降低, TNF-α和IL-6水平增加。

本研究结果表明, 生骨密骨方预防及治疗OP效果良好, 且无不良反应, 具有较大的潜力与优势。但还需认识到, 提高E₂与IGF-1的阳性表达, 降低TNF-α与IL-6的阳性表达, 可能只是生骨密骨方防治OP的一个作用机制, 其防治OP作用详尽机制与合理剂量还有待深入研究。

参考文献:

- [1] 王袖和, 王长庆, 朱玉平, 等. 雌激素干预骨质疏松大鼠牙槽骨改建过程中白细胞介素1的表达[J]. 中国组织工程研究,

- 2013, 17(46): 8012-8017.
- [2] 黄明炜, 廖勇敢, 李晓雯, 等. 补肾益骨方治疗2型糖尿病骨质疏松症疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(13): 1397-1398.
- [3] 朱书涛, 刘洋, 张明辉, 等. 去卵巢大鼠骨组织中肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素1 β 及白细胞介素6水平与骨质疏松的关系[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(15): 2206-2211.
- [4] 于伟利, 王世捷, 韩俊丽, 等. 辛伐他汀对骨质疏松大鼠的防治作用[J]. 西安交通大学学报, 2009, 30(5): 605-608.
- [5] 柴仪, 李倩, 刘法敬, 等. 补肾活血方对骨质疏松大鼠血清骨密度及血清标志物的影响[J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8(7A): 69.
- [6] 回连强, 曹春雨, 刘婷, 等. 黔岭淫羊藿总黄酮对抗维甲酸致大鼠骨质疏松作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 170-174.
- [7] 柴仪, 李倩, 田伟明, 等. 自拟补肾活血方对压缩性骨折椎体成形术后骨密度与功能的影响[J]. 中国药业, 2015, 24(3): 14-16.
- [8] 孙丽娟, 陈静. 雌激素替代治疗绝经后骨质疏松的疗效观察[J]. 中国临床康复, 2004, 8(18): 3450.
- [9] 那健, 许永, 马超, 等. 老年骨质疏松的分子生物学发病机制[J]. 中国老年学杂志, 2011, 10(3): 4070-4072.
- [10] 毛海琴, 杜义斌, 徐莹, 等. 骨质疏松颗粒对去卵巢骨质疏松大鼠骨密度及血清细胞因子的影响[J]. 环球中医药, 2015, 8(9): 1081-1084.
- [11] 李学朋, 孟照明, 孟兆亮, 等. 补肾活血方对去卵巢大鼠骨质疏松检测指标的影响[J]. 中国医学创新, 2013, 10(2): 16-18.
- [12] 黄智胜, 白艳甫. 补肾益气壮骨膏对绝经后骨质疏松症患者骨密度及细胞因子的影响[J]. 中医药导报, 2012, 18(3): 25-26.
- [13] 翟文. 大豆异黄酮对女性更年期综合征及骨密度的影响[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(21): 3318-3320.
- (收稿日期: 2017-12-28; 修回日期: 2018-01-22)

· 个案 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.15.006

地榆升白片过敏样反应1例

林惠娥, 郑茹萍

(中国人民解放军第180医院药学科, 福建泉州 362000)

中图分类号: R288; R273

文献标识码: D

文章编号: 1006-4931(2018)15-0019-01

1 临床资料

患者, 女, 59岁, 因“左肩酸痛1年余”来我院就诊。门诊ECT扫描示: 全身多发骨转移, 门诊拟“多发性骨髓瘤”收住放疗科。此次入院为第1次化学治疗, 入院后给予VACD方案, 第1~4天给予酒石酸长春瑞滨注射液10mg, 多柔比星注射剂10mg, 环磷酰胺粉针剂200mg; 第1~4天及第9~12天给予地塞米松注射液20mg。与放射治疗同步, 昂丹司琼止吐, 奥美拉唑钠护胃, 胸腺五肽提高免疫, 增强治疗耐受等处理。入院后血常规检查示白细胞计数(WBC) $4.2 \times 10^9/L$, 化疗后查WBC ($1.9 \times 10^9/L$) 轻微下降, 给予地榆升白片(成都地奥集团天府药业股份有限公司, 批号为150403)400mg, 口服, 每天3次。大约1h后, 患者感皮肤瘙痒、胸闷不适、头晕乏力, 疑为地榆升白成分引起的过敏样反应, 立即停药, 并给予氯雷他定片10mg, 口服, 每晚1次, 静脉注射地塞米松注射液5mg、每日1次抗过敏处理。2h后, 患者诉瘙痒缓解, 胸闷不适、头晕乏力症状明显改善。次日晨起, 患者无瘙痒、胸闷不适、头晕乏力症状。因此, 考虑为地榆升白片引起的过敏样反应。此后, 患者未再使用该药, 直到出院也未再出现上述症状。

2 讨论

地榆升白片是一种由地榆单味药组成的纯中药制剂,

主要成分有皂苷、大黄酚、鞣质等, 具有健脾补肾、益气养血、活血化瘀的功效^[1]。其可减轻骨髓抑制程度, 刺激骨髓造血, 使造血细胞进入增殖状态, 促进分化^[2]; 还可调节T细胞亚群分布, 增加机体免疫力; 同时, 可升高骨髓有核细胞数, 保护骨髓造血细胞DNA免受损伤, 适用于白细胞减少症^[3]。

因其药品说明书中不良反应项为“尚不明确”, 查阅国内外文献, 也未见相关报道。此例患者口服地榆升白片后1h出现皮肤瘙痒、胸闷不适、头晕乏力, 停药后给予抗过敏治疗, 患者症状及体征迅速消失, 此后, 未再使用该药, 上述症状也未再出现, 故考虑为地榆升白片所致过敏样反应可能性较大。因此, 临床使用地榆升白片时应关注此类不良反应, 提高用药安全。

参考文献:

- [1] 龚建益, 段萍. 地榆升白片预防非小细胞肺癌患者化疗后白细胞减少症的临床疗效观察[J]. 临床合理用药杂志, 2010, 3(2): 25-26.
- [2] 赵泽丰, 何希瑞, 张强, 等. 地榆升白片治疗肿瘤化疗后引起的白细胞减少 Meta 分析[J]. 西北药学杂志, 2017, 32(5): 648-652.
- [3] 王秋红. 地榆升白片联合利血平在白细胞减少症治疗中的效果观察[J]. 中国社区医师, 2014, 30(16): 99.

(收稿日期: 2018-01-10)