

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)02-0066-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.02.013



塔里木马鹿鹿茸多肽对骨质疏松性骨折模型大鼠的影响*

吕秀华¹, 马芹², 陈伟^{2Δ}

(1. 新疆生产建设兵团第八师石河子市检验检测中心, 新疆 石河子 832000; 2. 新疆华世丹药物研究有限责任公司, 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要:目的 探讨塔里木马鹿鹿茸多肽对骨质疏松性骨折模型大鼠骨愈合的促进作用。方法 将60只SD大鼠随机分为假手术组(等体积生理盐水), 模型组(等体积生理盐水), 鹿茸多肽组(0.4 mg/kg)及鹿茸多肽低、中、高剂量组(2, 4, 8 mg/kg), 各10只。以卵巢去势术联合股骨中段闭合骨折法复制骨质疏松性骨折大鼠模型。于建模成功后第2天开始于骨折部位皮下注射相应药物或生理盐水, 每日1次, 连续30 d。末次给药24 h后, 采用X射线摄片拍摄大鼠右股骨, 评估骨折愈合情况。测定血清骨钙素、碱性磷酸酶(ALP)水平; 称子宫质量及体质量, 并计算子宫系数; 称定左侧股骨质量, 计算骨灰重系数, 测定骨钙、骨磷含量; 采用四点弯曲法测定左侧股骨骨痂生物力学指标(刚度、弹性模量、极限强度)。结果 假手术组大鼠骨结构正常清晰, 模型组大鼠骨折部位愈合程度较低, 骨折线较清晰, 骨痂少。鹿茸多肽低、中、高剂量组大鼠骨折部位愈合良好, 从低剂量组到高剂量组骨折线逐渐模糊, 形成的骨痂逐渐增多。与模型组比较, 鹿茸多肽组及鹿茸多肽低、中、高剂量组大鼠血清ALP水平、刚度及弹性模量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 鹿茸多肽组及鹿茸多肽中、高剂量组大鼠骨钙含量、极限强度均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 鹿茸多肽高剂量组大鼠血清骨钙素水平显著升高($P < 0.01$)。结论 塔里木马鹿鹿茸多肽能通过抑制骨吸收、促进骨形成和增强骨矿化, 同时优化骨痂生物力学性能, 促进模型大鼠骨折愈合, 具有作为骨质疏松性骨折治疗药物的开发潜力。

关键词:塔里木马鹿; 鹿茸多肽; 去卵巢大鼠骨折模型; 骨质疏松性骨折

Effects of Antler Polypeptide from Tarim Red Deer on Osteoporotic Fracture Model Rats

LYU Xiuhua¹, MA Qin², CHEN Wei^{2Δ}

(1. Shihezi City Inspection and Testing Center, Eighth Division of Xinjiang Production and Construction Corps, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 2. Xinjiang Huashidan Pharmaceutical Research Co., Ltd., Urumqi, Xinjiang 830011, China)

Abstract: Objective To investigate the promoting effect of antler polypeptide from Tarim red deer on bone healing in osteoporotic fracture model rats. **Methods** 60 SD rats were randomly divided into sham operation group (equal volume of normal saline), model group (equal volume of normal saline), cervus and cucumis polypeptide group (0.4 mg/kg), and low-, medium-, and high-dose antler polypeptide groups (2, 4, 8 mg/kg), with 10 rats in each group. The ovariectomy, combined with mid-shaft femoral closed fracture method was used to replicate the osteoporotic fracture rat model. From the 2nd day after successful modeling, corresponding drugs or equal volume of normal saline were administered via subcutaneous injection near the fracture site once daily for 30 consecutive days. 24 h after the last administration, X-ray radiography of the right femur was performed to assess fracture healing. Serum levels of osteocalcin and alkaline phosphatase (ALP) were measured; the uterine mass and body mass were measured to calculate the uterine coefficient. The left femur was measured to calculate the bone ash weight coefficient and the content of bone calcium and bone phosphorus. The four-point bending test was used to measure the biomechanical indicators (stiffness, elastic modulus, ultimate strength) of the callus in the left femur. **Results** The bone structure in the sham operation group was normal and clear. The model group showed low healing degree at the fracture site, relatively clear fracture lines, and little callus. The fracture sites in the low-, medium-, and high-dose antler polypeptide groups exhibited good healing quality; from the low-dose to the high-dose group, the fracture lines gradually blurred and callus formation significantly increased. Compared with the model group, serum ALP level, stiffness, and elastic modulus in the cervus and cucumis polypeptide and the low-, medium-, and high-dose antler polypeptide groups were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Bone calcium content and ultimate strength in the cervus and cucumis polypeptide and the medium- and high-dose antler polypeptide groups were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Serum osteocalcin level in the high-dose antler polypeptide group was significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** Antler polypeptide from Tarim red deer can promote fracture healing in osteoporotic fracture model rats by inhibiting bone resorption, promoting bone formation, enhancing bone

*基金项目: 新疆维吾尔自治区兵团科技计划项目[2023CB002]。

第一作者: 吕秀华, 女, 硕士研究生, 主管药师, 研究方向为药物分析及质量控制, (电子信箱)1054885172@qq.com。

Δ通信作者: 陈伟, 男, 硕士研究生, 高级工程师, 研究方向为药物分析及药理作用, (电子信箱)285239579@qq.com。

mineralization, and optimizing the biomechanical properties of the callus, demonstrating potential for development as a therapeutic agent for osteoporotic fractures.

Key words: Tarim red deer; antler peptide; ovariectomized rat fracture model; osteoporotic fracture

随着全球老龄化程度加剧,骨质疏松症已成为世界范围内严峻的公共健康问题。据统计,我国50岁及以上人群中骨质疏松症发生率为19.2%,其中中老年女性高达32.1%^[1]。骨质疏松性骨折是由骨质疏松症所致的创伤性骨折,多见于绝经后女性,该病不仅会降低患者的生活质量,提高病死率,还会加重医疗负担。因此,探寻有效防治骨质疏松性骨折的方法具有重要的临床意义。鹿茸为传统名贵中药材,其主要活性成分鹿茸多肽近年来在中药药理学研究中备受关[2]。塔里木马鹿 *Cervus elaphus yarkandensis* 为鹿茸重要来源之一,主要包括沙雅县、尉犁县和且末县3个地方种群^[3],其中,沙雅县马鹿鹿茸性状、鹿茸多肽(主要包含42, 26, 13 kD三类肽链)含量及对成骨细胞增殖的促进作用均优于其他产区^[3-6]。现代药理学研究证实,鹿茸多肽含神经生长因子(NGF)、表皮生长因子(EGF)和胰岛素样生长因子(IGF)等生物活性因子,具有促进成骨细胞增殖、调节骨代谢等药理作用^[7-9]。基础实验表明,鹿茸多肽能提高绝经后骨质疏松症模型大鼠的骨密度,改善骨小梁微结构^[10]。目前,关于塔里木马鹿鹿茸多肽治疗骨质疏松性骨折的效果及作用机制的研究仍较少。基于此,本研究中拟探究鹿茸多肽对去卵巢所致骨质疏松性骨折愈合模型大鼠骨折愈合的促进作用,为塔里木马鹿鹿茸资源开发、临床应用提供理论依据。现报道如下。

1 材料与方

1.1 仪器、试剂、药材及动物

仪器:DLSB-10120型低温冷却循环泵(郑州长城科工贸有限公司);SHZ-DⅢ型循环水式真空泵(上海东玺制冷仪器设备有限公司);BS-830型全自动生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);Model 680型酶标仪(美国Bio Rad公司);UltraFocus DXA型X射线双能骨密度仪(美国Foxitron Bioptics公司);克氏针(河南万瑞德医疗器械销售有限公司,规格为1.5 mm);3-30KS型低温离心机(德国Sigma公司);SevenEasy S20型pH计、XS204型电子天平(精度为0.1 mg),均购自德国Mettler Toledo公司。

试剂:BCA蛋白质定量试剂盒(天根生化科技(北京)有限公司,批号为PA121221);碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(批号为22-0220)、钙检测试剂盒(批号为23-0315),均购自新疆利康祥运生物科技有限公司;骨钙素酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号为20227235)、总磷检测试剂盒(批号为20221463),均购

自碧云天生物技术有限公司,鹿瓜多肽注射液(哈尔滨誉衡药业股份有限公司,批号为20221011);戊巴比妥钠(德国Merck公司,批号为20221029);乙醚(成都市科隆化学品有限公司,批号为2022103101);注射用青霉素钠(合肥都邦生物制药有限公司,批号为20220921);无水乙醇(天津富宇精细化工有限公司,批号为20220728);无水乙酸钠(NaAc,天津市福晨化学试剂厂,批号为2018110218);冰醋酸(HAc,天津市鑫铂特化工有限公司,批号为20191008)。

药材:塔里木马鹿茸(头茬茸)收购于新疆阿克苏地区沙雅县海楼镇(东经E82°78',北纬N41°22'),原药材经石河子大学李鹏教授鉴定为鹿科动物马鹿未骨化或稍骨化密生茸毛的幼角,药材存放于新疆华世丹药物研究有限责任公司标本室。

动物:SPF级健康SD大鼠90只,雌性,5周龄,体质量230~260 g,由新疆医科大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号SCXK(新)2023-0001,实验动物使用许可证号SYXK(新)2024-0001。本实验经新疆华世丹药物研究有限责任公司动物伦理委员会批准(批件号:20230007-HSD)。饲养于新疆华世丹药物研究有限责任公司SPF级动物房,温度(25±1.5)°C,相对湿度30%~35%,12 h/12 h明暗交替,自由饮食,适应性饲养2周。

1.2 方法

鹿茸多肽制备^[5]:采集3只同龄塔里木马鹿的新鲜鹿茸(编号S1-S3);按传统加工方式处理。将处理后的鹿茸样品锯成小段,研磨成粉,称定质量,按每1 g加入20 mL, 25 mol/L的NaAc-HAc标准缓冲溶液(取NaAc 5.1 g,加HAc 20 mL,再加水稀释至250 mL,摇匀,调pH至3.5,即得),冰浴,搅拌浸提12 h;4 °C下12 000 r/min离心20 min,取上清,抽滤,得鹿茸总多肽粗提液,以2倍量乙醇沉淀,除杂蛋白,取上清液,50 °C浓缩,得鹿茸多肽样品。

鹿茸多肽含量测定:按BCA蛋白质定量试剂盒说明书操作。以标准牛血清蛋白溶液,绘制标准曲线,以酶标仪,在570 nm波长处测定不同鹿茸样品多肽含量。结果样品编号S1、S2、S3鹿茸多肽含量分别为(5.39±0.85)mg/g、(4.59±0.68)mg/g、(4.93±0.74)mg/g,样品间含量差异较小,且以S1样品含量最高,故选取S1样品进行后续实验。

分组、建模及给药:取75只大鼠腹腔注射3%戊巴比妥钠溶液(30 mg/kg)麻醉,分离双侧卵巢,缝合切

口,以复制骨质疏松症大鼠模型^[9-13]。另取15只大鼠作为假手术对照,仅暴露卵巢不切除。切口处涂抹青霉素粉剂,术后连续腹腔注射青霉素(40万单位)3 d,预防感染。术后12周大鼠腰椎(L₁-L₅)、双侧股骨及股骨颈的骨密度分别显著低于假手术对照($P < 0.05$)(见表1)即为建模成功。取大鼠,腹腔注射3%戊巴比妥钠溶液(30 mg/kg)麻醉,剥开右下肢股骨中段外侧皮肤,采用闭合骨折模型打击器致股骨中段骨折,用克氏针固定,缝合切口,以复制骨质疏松性骨折大鼠模型^[14-17]。术后连续腹腔注射青霉素(40万单位)3 d,预防感染。取50只建模成功大鼠,随机分为模型组(等体积生理盐水),鹿瓜多肽组(0.4 mg/kg)及鹿茸多肽低、中、高剂量组(2, 4, 8 mg/kg),各10只。于建模成功后第2天开始于骨折部位旁皮下注射相应药物或生理盐水,每日1次,连续30 d^[18]。

表1 大鼠不同部位骨骼骨密度测量值结果($\bar{X} \pm s, g/cm^2, n = 6$)
Tab. 1 Results of bone mineral density measurements of different bone sites in rats ($\bar{X} \pm s, g/cm^2, n = 6$)

分类	腰椎	左股骨颈	左股骨	右股骨颈	右股骨
假手术	0.203 ± 0.007	0.214 ± 0.010	0.204 ± 0.012	0.204 ± 0.018	0.202 ± 0.015
去卵巢模型	0.195 ± 0.003	0.186 ± 0.013	0.182 ± 0.010	0.176 ± 0.017	0.178 ± 0.018
t值	2.572	4.180	3.450	2.770	2.509
P值	0.028	0.002	0.006	0.020	0.031

观察指标:1)骨折部位愈合情况。末次给药24 h后,以X射线摄片拍摄大鼠右股骨,评估骨折愈合情况。2)血清生化指标及子宫系数。颈总动脉取血,置离心管中静置15 min,3 000 r/min离心10 min,收集血清。采用全自动生化分析仪测定血清骨钙素、ALP。处死大鼠,完整摘取子宫并称定质量,计算子宫系数(子宫系数 = 子宫质量/体质量 × 100%)。3)股骨成分。取大鼠左侧股骨,测定其骨灰重系数(骨灰重系数 = 骨灰质量/骨干质量 × 100%),骨钙、骨磷含量。4)生物力学指标采用四点弯曲法测定左股骨骨痂生物力学指标(刚度、弹性模量、极限强度)。

1.3 统计学处理

采用SPSS 21.0统计学软件分析。计量数据以 $\bar{X} \pm s$ 表示,两组间比较行t检验,多组间比较行方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨折愈合情况

假手术组大鼠骨结构正常清晰。与假手术组比较,模型组大鼠股骨骨折部位愈合程度较低,骨折线仍较清晰,骨痂少。与模型组比较,鹿瓜多肽组大鼠愈合程度高,骨折部位状况明显改善;鹿茸多肽低、中、高剂量组大鼠骨折部位愈合良好,从低剂量组到高剂量组骨折线逐渐模糊,骨痂逐渐增多。详见图1。

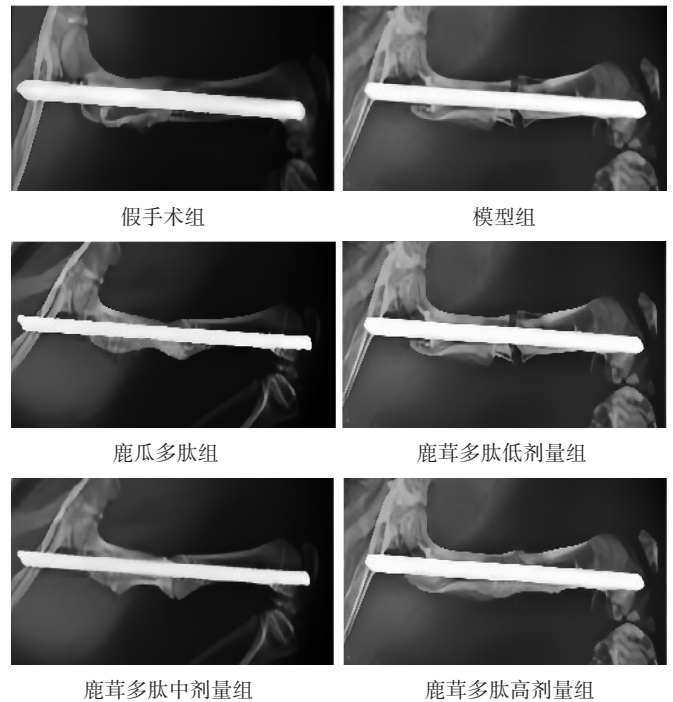


图1 X射线摄片

Fig. 1 X-ray radiographs

表2 各组大鼠血清生化指标及子宫系数比较($\bar{X} \pm s, n = 10$)
Tab. 2 Comparison of serum biochemical indicators and uterine coefficient among different groups ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	ALP(金氏单位/100 mL)	血清骨钙素(ng/mL)	子宫系数(%)
假手术组	12.68 ± 0.62	2.77 ± 0.17	2.54 ± 0.13
模型组	17.13 ± 1.00 ^{**}	2.26 ± 0.13 ^{**}	0.32 ± 0.10 ^{**}
鹿瓜多肽组	14.29 ± 1.66 [#]	2.35 ± 0.11	0.33 ± 0.06
鹿茸多肽低剂量组	15.03 ± 1.63 [#]	2.38 ± 0.19	0.32 ± 0.12
鹿茸多肽中剂量组	14.77 ± 1.82 [#]	2.45 ± 0.13	0.30 ± 0.07
鹿茸多肽高剂量组	13.95 ± 2.38 [#]	2.59 ± 0.17 [#]	0.36 ± 0.07

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。表3、表4同。

Note: Compared with those in the sham operation group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with those in the model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ (for Tab. 2 - 4).

2.2 血清生化指标及子宫系数

与假手术组比较,模型组大鼠血清ALP水平显著升高,血清骨钙素水平和子宫系数均显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,鹿瓜多肽组和鹿茸多肽低、中、高剂量组大鼠血清ALP水平均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);鹿茸多肽高剂量组大鼠血清骨钙素水平显著升高($P < 0.01$)。详见表2。

2.3 股骨成分指标

与假手术组比较,模型组大鼠骨灰重系数及骨钙、骨磷含量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,鹿瓜多肽组和鹿茸多肽中、高剂量组大鼠骨钙含量均显著升高($P < 0.05$)。详见表3。

表3 各组大鼠左侧股骨成分指标比较($\bar{X} \pm s, n = 10$)

Tab. 3 Comparison of composition indexes in the left femur among different groups ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	骨灰重系数(%)	骨钙(mg/g)	骨磷(mg/g)
假手术组	0.638 ± 0.007	164.4 ± 11.9	72.1 ± 2.9
模型组	0.619 ± 0.008*	139.2 ± 5.5**	68.7 ± 3.1
鹿茸多肽组	0.621 ± 0.005	152.9 ± 6.1#	71.2 ± 3.0
鹿茸多肽低剂量组	0.616 ± 0.014	145.1 ± 9.5	70.6 ± 3.5
鹿茸多肽中剂量组	0.621 ± 0.007	153.5 ± 12.2#	72.1 ± 3.2
鹿茸多肽高剂量组	0.623 ± 0.011	154.4 ± 10.9#	71.2 ± 4.5

表4 各组大鼠左股骨骨痂生物力学指标比较($\bar{X} \pm s, n = 10$)

Tab. 4 Comparison of biomechanical indexes of callus in the left femur among different groups ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	刚度(N/mm)	弹性模量(GPa)	极限强度(MPa)
假手术组	284.0 ± 26.0	9.32 ± 0.20	171.1 ± 7.3
模型组	396.0 ± 17.5**	14.43 ± 0.65**	150.3 ± 4.3**
鹿茸多肽组	376.9 ± 14.9#	12.76 ± 0.45##	162.5 ± 6.4#
鹿茸多肽低剂量组	361.4 ± 16.0#	12.98 ± 0.55##	160.9 ± 9.8
鹿茸多肽中剂量组	352.2 ± 28.3#	12.04 ± 0.40##	163.0 ± 4.1#
鹿茸多肽高剂量组	346.7 ± 27.1##	11.23 ± 0.48##	168.9 ± 5.8##

2.4 骨生物力学指标

与假手术组比较,模型组大鼠刚度、弹性模量均显著升高,极限强度显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,鹿茸多肽组和鹿茸多肽低、中、高剂量组大鼠刚度、弹性模量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);鹿茸多肽组和鹿茸多肽中、高剂量组大鼠极限强度均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。详见表4。

3 讨论

本研究结果表明,鹿茸多肽能通过抑制骨吸收(降低ALP)、促进骨形成(提高骨钙素水平)和增强骨矿化(增加骨钙含量),同时优化骨痂生物力学性能,促进骨折愈合,表明鹿茸多肽具有骨质疏松性骨折治疗药物的开发潜力。与相关研究^[9-10,19]相比,本研究具有明显优势,首先,不仅能模拟绝经后骨质疏松症,更能直接研究骨质疏松最严重的并发症,即骨折的愈合过程,模型复制过程更复杂,也更接近临床实际情况;其次,聚焦于鹿茸多肽,将药效物质精确到多肽水平,这为后续的作用机制深度挖掘和产品开发奠定了更坚实的科学基础;最后,本研究在作用机制研究方面结合了生化指标和功能性指标,形成了从微观代谢到宏观功能的完整性研究。

综上所述,鹿茸多肽能改善骨质疏松性骨折模型大鼠的骨成分和骨痂生物力学指标,促进骨折愈合。本研究为鹿茸多肽作为促进骨质疏松性骨折愈合的潜在药物,以及新疆塔里木马鹿鹿茸的开发和利用提供了参考。但本研究仍存在以下局限性:鹿茸多肽的具体分子机制(如对成骨细胞分化或破骨细胞活性的调控)尚未明确;仅采用皮下注射给药,未探索口服或其他给药

途径的潜在差异;未能评估长期疗效及安全性。未来研究还需结合转录组学或蛋白组学技术解析其作用靶点,优化给药方案,并开展临床前毒理学及转化医学研究。

参考文献

- [1] 杨华盛,黄恒炜,陈宇杰. 绝经后骨质疏松症与人体成分指标相关性初探[J]. 中国中医骨伤科杂志,2023,31(12):34-37.
- [2] 杨敏,杨春,刘莹,等. 鹿茸多肽药理作用的研究进展[J]. 特产研究,2019,41(4):108-112.
- [3] 帕尔哈提·萨依提. 塔里木马鹿遗传资源调查情况[J]. 当代畜禽养殖业,2015,36(6):37-38.
- [4] 吕秀华. 新疆产塔里木马鹿茸多肽分析及抗骨质疏松作用研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学,2015.
- [5] 陈伟,范文玺,吕秀华,等. 新疆不同产区塔里木马鹿鹿茸对比研究[J]. 中国现代应用药学,2018,35(1):85-88.
- [6] 吕秀华,周凡,马芹. 不同产地和采收期塔里木马鹿茸多肽的含量测定[J]. 中国药理学杂志,2015,50(14):1233-1236.
- [7] 钟礼伦,彭颖君,林志东,等. 鹿茸对骨代谢的影响及相关研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2020,26(12):1861-1863.
- [8] 张小锋,蒋涛,卞胡伟,等. 鹿茸主要活性成分防治骨质疏松症的分子机制研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2023,29(6):897-901.
- [9] 潘黛安. 鹿茸蛋白的结构表征及改善肾阳虚大鼠骨质疏松的作用机制研究[D]. 长春:长春中医药大学,2023.
- [10] 曲雷鸣,龚伟. 鹿茸干预去卵巢骨质疏松症模型大鼠的实验评价[J]. 实验动物与比较医学,2019,39(1):52-55.
- [11] 苏辉,闫炳翰,王若冲,等. 补肾壮骨方干预去卵巢骨质疏松模型大鼠骨代谢及骨密度的变化[J]. 中国组织工程研究,2023,27(28):4507-4512.
- [12] 高远航,柴仪,刘烁炜,等. 淫羊藿总黄酮联合黄芪多糖对骨质疏松性骨折模型大鼠骨折愈合的影响[J]. 中国药业,2024,33(5):38-42.
- [13] 胡广,关智宇,张开伟. 三七总皂苷干预去势骨质疏松性骨折模型大鼠的作用机制[J]. 中国组织工程研究,2021,25(2):172-177.
- [14] 孔令岩,柴仪,李倩,等. 淫羊藿总黄酮和黄芪多糖配伍对骨质疏松大鼠的保护作用[J]. 中国中医骨伤科杂志,2021,29(4):24-26.
- [15] 龚庆,赵文海,宋秋莹,等. 鹿茸多肽对去卵巢大鼠骨质疏松预防作用的研究[J]. 中国实验诊断学,2017,21(5):890-893.
- [16] 陈沙,王桂云,李荣慧,等. 雌性大鼠手术去势骨质疏松症模型建立及评价[J]. 湖南中医药大学学报,2020,40(11):1315-1319.
- [17] 崔云鹏,曹永平,刘恒,等. 卵巢切除对SD大鼠骨折骨痂形态的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2015,21(1):8-12.
- [18] 刘松鑫,宫瑞泽,陆雨顺,等. 不同品种、规格鹿茸的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中草药,2020,51(3):806-811.
- [19] 安玉兰,曹昌霞,田玉梅,等. 金匱肾气丸合补中益气汤加减治疗绝经后骨质疏松症的疗效及对免疫炎症因子的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(6):69-75.

(收稿日期:2024-12-30;修回日期:2025-09-03)