

【实验研究】

基于Micro-CT技术分析淫羊藿苷和朝藿定C对糖皮质激素性骨质疏松症小鼠骨组织微结构的影响

刘亚林¹, 黄 觅^{1*}, 冯 晶², 夏 平², 王 瑛^{3, 4}, 魏孝义³, 邱 玲¹

1. 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430061

2. 武汉市中西医结合医院, 湖北 武汉 430022

3. 广东省应用植物学重点实验室, 中国科学院华南农业植物分子分析与遗传改良重点实验室, 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650

4. 赣南师范大学, 江西 赣州 341000

摘要:目的 应用Micro-CT技术观察淫羊藿苷和朝藿定C对糖皮质激素性骨质疏松症(GIOP)小鼠模型骨组织骨量、骨微结构的影响。方法 8周龄C57/BL6雄性小鼠随机分为4组: 对照组、模型组、淫羊藿苷(200 mg/kg)组和朝藿定C(200 mg/kg)组, 除对照组外, 其他3组小鼠im地塞米松5 mg/kg, 0.125 mg/次, 每周3次, 制备GIOP模型, 对照组im等体积的生理盐水, 造模同时, 每天ig给药1次, 连续60 d后取材, 采用micro-CT方法对胫骨近端骨微结构进行三维分析; HE染色病理切片观察胫骨近端骨组织病理形态。**结果** 骨量参数: 与对照组比较, 模型组骨矿物质含量(BMC)、骨矿物质密度(BMD)、组织矿物含量(TMC)、组织矿物质密度(TMD)均显著下降($P < 0.05, 0.01$); 与模型组比较, 淫羊藿苷组、朝藿定C组BMC、BMD、TMC、TMD指标均显著提高($P < 0.05$); 其中朝藿定C组各指标均较淫羊藿苷组显著升高($P < 0.05$)。与对照组比较, 模型组相对骨体积(BV/TV)、骨小梁数量(Tb.N)、骨小梁厚度(Tb.Th)指标均显著下降($P < 0.05$), 骨小梁分离度(Tb.Sp)、结构模型指数(SMI)均显著提高($P < 0.05$); 与模型组比较, 淫羊藿苷、朝藿定C组BV/TV、Tb.N、Tb.Th显著升高, Tb.Sp、SMI显著下降($P < 0.05$), 其中朝藿定C组各指标均较淫羊藿苷组改善显著($P < 0.05$)。HE染色病理切片示, 模型组骨小梁数目明显减少, 稀疏断裂, 大部分不能连接成网状, 骨髓腔明显增大, 骨小梁结构出现较大的空白区域; 淫羊藿苷及朝藿定C组小鼠骨小梁明显宽厚, 数目也显著增加, 骨小梁断裂较少, 骨小梁光滑, 接近对照组, 其中朝藿定C组增加较淫羊藿苷组明显。**结论** 地塞米松诱导的骨质疏松小鼠模型成功建立, 朝藿定C和淫羊藿苷抗骨质疏松活性明显, 主要通过增加骨量和改善骨小梁微结构来最终提高骨强度, 其中朝藿定C抗骨松作用更强; Micro-CT技术与传统的检测方法相比, 在中药干预GIOP骨微结构参数分析上具有便捷、高效, 经济, 图像多维、全面, 准确的优势。

关键词: Micro-CT; 朝藿定C; 淫羊藿苷; 糖皮质激素性骨质疏松症; 骨组织微结构

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2020)09-1733-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.09.010

Effects of icariin and epimedium C on microstructure of bone tissue in glucocorticoid osteoporosis model mice based on Micro-CT technique

LIU Yalin¹, HUANG Mi¹, FENG Jing², XIA Ping², WANG Ying³, WEI Xiaoyi^{3, 4}, QIU Ling¹

1. Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, China

2. Wuhan Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Wuhan 430022, China

3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Applied Botany, Key Laboratory of South China Agricultural Plant Molecular Analysis and Genetic Improvement, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China

4. Gannan Normal University, Ganzhou, 341000, China

Abstract: Objective Micro-CT technique was used to observe the effects of icariin and epimedin C on bone mass and bone

收稿日期: 2019-12-29

基金项目: 湖北省自然科学基金资助项目(2018CFB695); 广东省应用植物学重点实验室开放课题(AB2018027); 中国科学院华南农业植物分子分析与遗传改良重点实验室开放课题(KF202002)

第一作者: 刘亚林(1993—), 在读硕士, 研究方向为骨脊柱外科方向。E-mail: 2274244166@qq.com

*通信作者: 黄 觅(1981—), 博士研究生, 副主任医师, 研究方向为骨质疏松。E-mail: 16091322@qq.com

microstructure in the mouse model of glucocorticoid osteoporosis (GIOP). **Methods** Totally 40 C57/BL6 male mice of 8-week-old were randomly divided into four groups: control group, model group, icariin (200 mg/kg) group, and epimedin C (200 mg/kg) group. Except the control group, the other three groups were injected with dexamethasone 5 mg/kg, 0.125mg/time, three times a week, and the control group was injected with physiological saline of equal volume. At the same time, the drugs were gave by gavage once a day, and the samples were taken after 60 days. The microstructure of the proximal tibia was analyzed using Micro-CT method. The histopathology of the proximal tibia was observed by HE staining. **Results** Bone mass parameters: Compared with the control group, the BMC, BMD, TMC, and TMD indexes of the model group decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with the model group, the BMC, BMD, TMC and TMD indexes of the icariin group and the epimedin C group increased significantly. The index of epimedin group C was higher than that of icariin group. Bone microstructure parameters: compared with the control group, the indexes of BV/TV, TB.N, TB.SP and SMI in the model group decreased significantly, TB.SP and SMI increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the model group, the indexes of BV/TV, TB.N and TB.Th in the icariin group and epimedin C group increased, and the indexes of TB.SP and SMI decreased significantly ($P < 0.05$). After HE staining pathological section in the model group, the number of bone trabeculae was significantly reduced, with sparse and broken pattern; most of them could not be connected into a network; the bone marrow cavity was significantly increased; the bone trabeculae structure appeared a large blank area. In the icariin and epimedin C group, similar to the control group, the bone trabeculae were obviously wider and thicker; the number was also noticeably increased; the bone trabeculae were less broken; the bone trabeculae were smooth. Moreover, epimedin C group increased more obviously than the icariin group. **Conclusion** Dexamethasone induced osteoporosis mouse model was established successfully. The anti-osteoporosis activity of epimedin C and icariin was obvious, and bone mass and bone trabecular microstructure were significantly improved, leading to the improvement of bone strength. Among them, epimedin C had stronger anti-osteoporosis effect. Compared with the traditional detection method, Micro-CT technology was convenient and efficient in the evaluation of GIOP bone microstructure parameters of traditional Chinese medicines.

Key words: Micro-CT; epimedin C; Icariin; glucocorticoid osteoporosis; bone tissue microstructures

随着临床中糖皮质激素在各种炎症、风湿及免疫相关疾病的普遍应用,其副作用也日益凸显,其中最严重的副作用之一就是会导致骨质疏松^[1],即糖皮质激素性骨质疏松症(glucocorticoid osteoporosis, GIOP)。GIOP是继发性骨质疏松症最常见的类型之一,研究其发病机制以及治疗药物,越来越受到人们的重视,我国传统中草药防治骨质疏松的历史由来已久,特别是淫羊藿,其抗骨质疏松作用已被广泛应用于临床。研究表明,淫羊藿抗骨质疏松成分中淫羊藿苷和朝藿定C单体的含量较高^[2-3]。以往GIOP的形态学评价方法多为组织形态学、形态计量学等,随着影像学的进步,能更为准确、高效反映骨组织结构的微型计算机层析成像(Micro-CT)技术,越来越多地应用于GIOP的研究中^[4]。本课题组前期利用波尼松龙诱导的斑马鱼骨质疏松模型评价了淫羊藿苷和朝藿定C单体的抗骨质疏松活性。从骨微结构角度评价淫羊藿苷和朝藿定C单体抗骨质疏松作用强弱,尚未见研究报道。

本研究采用micro-CT方法对胫骨近端骨小梁结构进行了三维分析;结合HE染色观察了胫骨近端骨组织病理形态;分析淫羊藿苷和朝藿定C单体对GIOP小鼠模型骨量、骨微结构的影响,将这一新的体视学检测方法运用于中药药物治疗评价

中,以期GIOP的中医药治疗及中草药活性成分筛选提供参考依据,为GIOP的药效学评价提供新途径。

1 材料

1.1 实验动物

8周龄C57/BL6雄性小鼠40只,由华中科技大学同济医学院实验动物中心供应并饲养,实验动物生产许可证号SCXK-(鄂)20160009,遵循动物伦理,平均体质量为 (20 ± 2.1) g,所有小鼠生长环境一致,湿度恒定(约50%),室温稳定(维持23~25℃),饲料、饮水等均统一配备,保持室内良好通风。

1.2 药物及主要试剂

朝藿定C(批号110642-44-9,质量分数98.30%)、淫羊藿苷(批号489-32-7,质量分数99.50%),成都普思生物科技有限公司。地塞米松(上海恒斐生物科技有限公司,批号SD9530);苏木素染液(贝索生物);伊红、二氨基联苯胺(DAB)显色剂(研域化学试剂有限公司)。

1.3 实验仪器

Micro-CT扫描仪(Bruker SkyScan 1276,中科院水生所斑马鱼研究中心);DM1000LED倒置荧光显微镜(Leica公司)。

2 方法

2.1 动物造模及药物干预

C57/BL6 雄性小鼠随机分为4组:对照组、模型组、淫羊藿苷(200 mg/kg)组和朝藿定 C(200 mg/kg)组,每组 10 只。参照文献方法^[5],除对照组外,其他3组小鼠 im 地塞米松 5 mg/kg,0.125 mg/次,每周3次,对照组 im 等体积的生理盐水。造模同时,药物干预组分别以 200 mg/kg^[6]ig 给予淫羊藿苷、朝藿定 C,对照组和模型组 ig 等量生理盐水,各组均每天给药1次,连续 60 d,两月后对小鼠进行颈椎脱臼法处死,逐层分离骨组织肌肉,取小鼠右下肢。

2.2 检测方法及观测指标

2.2.1 骨组织微结构体视学检测 各组小鼠处死后迅速取出右侧胫骨,去除附着的软组织,然后将骨组织置于 4% 多聚甲醛溶液中固定。将标本放入样品杯中固定好,在相同条件(扫描电压 70 kV,扫描电流 200 μ A,层距 14.80 μ m,平面分辨率 300 ms,连续扫描约 808 层)下扫描。扫描完成后,选取胫骨近端膨大处及骨干区域作为感兴趣区(ROI),设定三维重建阈值后对各标本 ROI 行三维重建,利用机载软件分析,主要检测参数如下:(1)骨密度参数:骨矿物质含量(Bone Mineral Content, BMC)、骨矿物质密度(Bone Mineral Density, BMD)、组织矿物质含量(Tissue Mineral Content, TMC)、组织矿物质密度(Tissue Mineral Density, TMD);(2)骨结构参数:

ROI 体积(Total Volume, TV)、相对骨体积(BV/TV)、骨小梁数量(Trabecular Number, Tb.N)、骨小梁分离度(trabecular separation/apacing, Tb.Sp)、骨小梁厚度(Trabecular Thickness, Tb.Th)、结构模型指数(Structure Model Index, SMI)。

2.2.2 骨组织病理学检测 Micro-CT 扫描检测完成后将小鼠右侧胫骨组织放于 4% 多聚甲醛内固定,经过脱水、石蜡包埋、切片等程序后用苏木素-伊红染色,在 olympus BX53 倒置显微镜下观察小鼠胫骨近端组织病理变化,并拍照记录。

2.2.3 统计学方法 数据采用 SPSS Statistics V21.0 统计软件进行方差分析及检验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 Micro-CT 骨量及骨微结构参数

与对照组比较,模型组 BMC、BMD、TMC、TMD 均显著下降($P < 0.05$ 、 0.01);与模型组比较,淫羊藿苷组、朝藿定 C 组 BMC、BMD、TMC、TMD 指标均显著提高($P < 0.05$);其中朝藿定 C 组各指标均较淫羊藿苷组显著升高($P < 0.05$)。结果见表 1。

与对照组比较,模型组 BV/TV、Tb.N、Tb.Th 指标均显著下降($P < 0.05$),Tb.Sp、SMI 均显著提高($P < 0.05$);与模型组比较,淫羊藿苷、朝藿定 C 组 BV/TV、Tb.N、Tb.Th 显著升高,Tb.Sp、SMI 显著下降($P < 0.05$),其中朝藿定 C 组各指标均较淫羊藿苷组改善显著($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 1 不同组别小鼠胫骨 Micro-CT 骨量参数分析($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Analysis of bone mass parameters of tibia Micro-CT in different groups of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	BMD/(mg·cm ⁻³)	TMD/(mg·cm ⁻³)	BMC/g	TMC/g
对照	—	197±21	658±32	0.85±0.08	0.48±0.05
模型	—	99±15**	346±21**	0.41±0.05*	0.24±0.05**
淫羊藿苷	200	154±11#	579±29#	0.56±0.04#	0.36±0.03#
朝藿定 C	200	191±11#△	604±37#△	0.81±0.03#△	0.45±0.03#△

与对照组比较:* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$;与模型组比较:# $P < 0.05$;与淫羊藿苷组比较:△ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; △ $P < 0.05$ vs icariin group

表 2 不同组别小鼠胫骨 Micro-CT 骨微结构参数分析($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Analysis of bone microstructural parameters of tibia Micro-CT in different groups of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	BV/TV/%	SMI	Tb.N/mm ⁻¹	Tb.Th/mm	Tb.Sp/mm
对照	—	33.51±2.11	1.28±0.10	3.38±0.33	0.10±0.01	0.67±0.19
模型	—	18.54±1.56*	2.36±0.12*	1.69±0.30*	0.07±0.01*	0.86±0.23*
淫羊藿苷	200	26.92±1.60#	1.74±0.10#	2.81±0.27#	0.08±0.00#	0.61±0.17#
朝藿定 C	200	33.43±1.41#△	1.36±0.11#△	3.21±0.18#△	0.11±0.02#△	0.58±0.21#△

与对照组比较:* $P < 0.05$;与模型组比较:# $P < 0.05$;与淫羊藿苷组比较:△ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; △ $P < 0.05$ vs icariin group

3.2 Micro-CT 三维图像

模型组较对照组 Tb.N 明显减少,稀疏、断裂,形态细小、不连续,呈扭曲或断裂状等,靠近生长板的初级和次级网状骨小梁几乎消失(图1A、B),骨皮质薄,骨髓腔增大(图1C)。淫羊藿苷、朝藿定C组与模型组比较,骨小梁数量、宽度、长度、形态和分布部分恢复、密度和联结性增加,但还不能恢复到对照组水平(图1A、B),其中朝藿定C组干预后较淫羊藿苷组皮质骨面积增加,骨髓腔缩小,基本恢复到对照组水平(图1C)。

3.3 骨组织形态学影响

小鼠胫骨近端 HE 染色病理切片显示,模型组 Tb.N 明显减少,骨小梁稀疏断裂,大部分不能连接成网状,骨髓腔明显增大,骨小梁结构出现较大的空白区域,提示地塞米松诱导的骨质疏松小鼠模型建立成功;淫羊藿苷及朝藿定C组小鼠骨小梁明显宽厚,数目也显著增加,骨小梁断裂较少,骨小梁光滑,接近对照组,其中朝藿定C组作用较淫羊藿苷组明显,见图2。

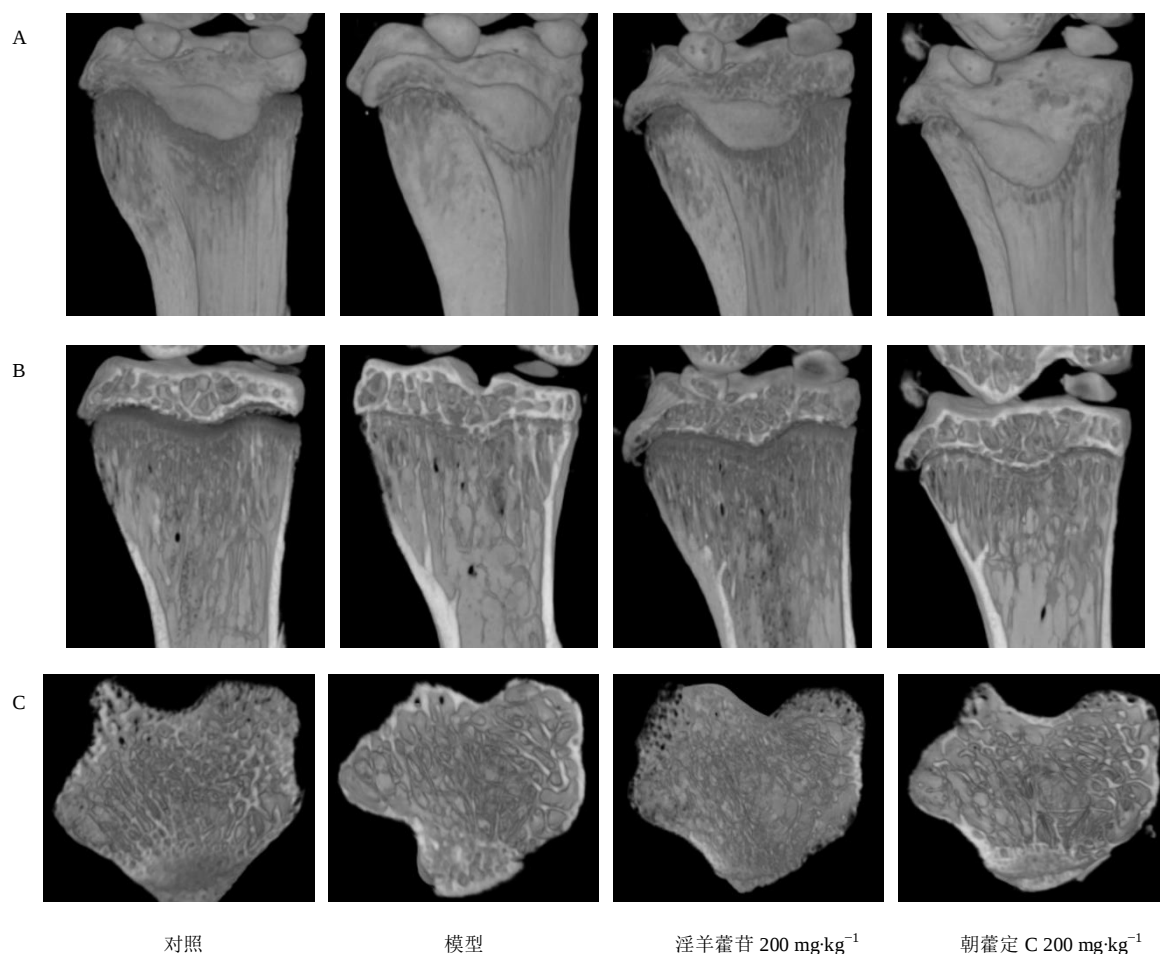


图1 各组小鼠胫骨近端 Micro-CT X-Z 三维图(A)、X-Z 三维剖面图(B)、X-Y 三维剖面图(C)

Fig. 1 Three-dimensional (A) view and three-dimensional cross-section (B) of proximal tibia Micro-CT X-Z, and three-dimensional cross-section of the proximal humerus Micro-CT X-Y (C) of each group of mice

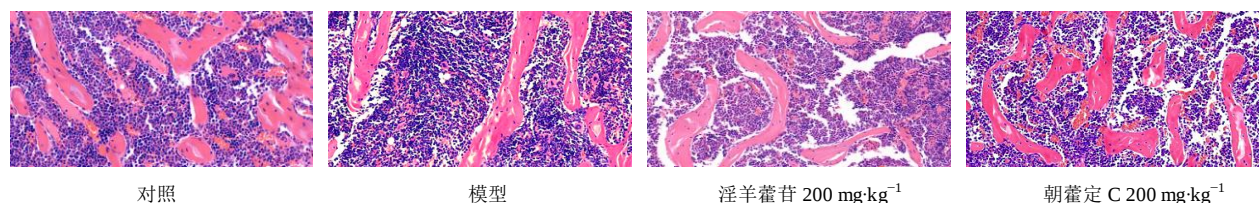


图2 各组小鼠骨组织 HE 染色

Fig. 2 HE staining of bone tissue in each group of mice.

4 讨论

4.1 淫羊藿苷和朝藿定C中药活性单体干预GIOP

淫羊藿始载于《神农本草经》,应用历史悠久,具有极高的药用价值。具有补肾壮阳、祛风除湿和强筋健骨的功效,是补肾助阳的经典药物,主治腰酸腿痛、四肢拘挛、筋骨痿软等症^[7]。古人常用淫羊藿医治骨痿、骨痹、腰痛等疾病,其也是临床治疗骨质疏松的常用中药。GIOP作为常见继发性骨质疏松症,发病率位于第3位^[8]。相关循证医学证据发现,西药在治疗GIOP中都不可避免存在副作用^[9-10],与此同时,中医却呈现出治疗GIOP的独特优势,传统壮骨草药淫羊藿在我国古代就作为治疗骨痿、骨痹的药物而在临床上广泛应用。近年来对中草药淫羊藿治疗骨质疏松症方面的研究也日渐增多,大量基础医学研究表明,其在GIOP的医治方面具有广阔的发展空间^[11],现代药理研究表明,淫羊藿在抗骨质疏松方面显示出良好的药物活性,其主要抗骨质疏松活性成分中以淫羊藿苷及朝藿定C单体的含量较高,可以显著改善骨代谢指标,有效纠正骨代谢异常^[12-13]。

《中国药典》2015版中记载,作为淫羊藿药材的有淫羊藿、朝鲜淫羊藿、箭叶淫羊藿、巫山淫羊藿和柔毛淫羊藿5种之多,在药典中淫羊藿苷是作为鉴定草药标准的主要天然成分^[14]。然而各地的淫羊藿饮片成分含量却不尽相同,特别是巫山淫羊藿,作为草本药材单列,原因是巫山淫羊藿的主要成分是朝藿定C,而淫羊藿苷含量却较少。有研究者^[15]对产自川陕豫的9种习惯入药的淫羊藿叶中的主要成分朝藿定C和淫羊藿苷的含量进行考察,表明大部分品种朝藿定C量大于淫羊藿苷,而且研究显示,这两种成分目前都对抗骨质疏松的作用明确^[16-17],但对于其防治骨质疏松症的有效活性成分的疗效的强弱,药典以及目前的相关研究甚少。特别是对于常见的继发性骨质疏松症之一的GIOP。在前期研究中,本课题组也借助骨组织病理学检测发现,草药淫羊藿主要活性成分中淫羊藿苷、朝藿定C单体在波尼松龙诱导的斑马鱼骨质疏松模型中确有抗骨质疏松作用,其中朝藿定C作用强弱与浓度成正相关^[18],中药活性单体的研究有利于揭示中药药理活性的作用机制,故本实验分别用淫羊藿苷、朝藿定C中药单体对GIOP小鼠模型进行干预,从骨组织微结构和骨组织病理学特征方面进一步直观准确评价淫羊藿苷及朝藿定C单体的抗骨质疏松活性及作用

强弱。为淫羊藿抗骨质疏松药理机制的进一步研究提供参考。

实验结果表明,淫羊藿苷及朝藿定C均在提高骨量方面效果显著,BMC和BMD两项指标与模型组比较显著升高,说明淫羊藿苷、朝藿定C中药单体可提升骨量,从而增加骨密度。在改善骨小梁结构上也具有显著作用,表明淫羊藿苷、朝藿定C单体在改善骨质疏松方面还表现在对骨小梁的形态进行重建上,其中朝藿定C单体抗骨质疏松作用较为显著。

4.2 Micro-CT技术在中药干预GIOP小鼠模型研究中的应用

4.2.1 Micro-CT骨量及骨微结构参数在本实验中的应用分析 在骨量指标中,BMC、BMD是最能代表骨含量的参数,本实验结果显示,与对照组比较,模型组BMC、BMD、TMC、TMD均显著下降,说明地塞米松造模2个月后小鼠骨量丢失显著,造模成功。在骨微结构中,Tb.N代表了ROI中单位骨组织与非骨组织的交点数量的平均值,发生骨质疏松时,Tb.N的值减少;Tb.Sp表示骨小梁之间的髓腔平均宽度,其增加提示骨吸收增加,发生骨质疏松风险增大^[19]。本实验中药物干预组和模型组比较,Tb.N和Tb.Sp均显著升高,说明中药药物干预2月后对小鼠的骨小梁数量和密度均造成巨大影响。其中朝藿定C组较淫羊藿苷组以上指标改变更为显著,差异具有统计学意义。Tb.Th代表骨小梁平均厚度,发生骨质疏松时,Tb.Th值减小;SMI作为描述小梁结构组成中板层结构和杆状结构比例的参数,发生骨质疏松症时,骨小梁从板状向杆状转变,SMI数值增加^[20]。本实验中模型组较对照组SMI有明显提高,提示骨小梁的形态变化是激素性骨质疏松症骨量丢失骨密度下降后同时发生的又一特征性病理改变。

4.2.2 Micro-CT技术在骨质疏松症药效学评价中的优势分析 骨质疏松症是日益增长的老年人口中的一个主要的健康问题。本病的特点是骨密度降低,骨组织恶化,骨脆性增加,导致骨折风险增加^[21-22]。骨小梁的数量、密度和空间构象等显微结构影响着骨的生物力学特性,因此测量骨显微结构的改变可以更直接地反映骨质疏松的情况^[23]。常见的临床影像学方法是基于骨密度测量来评估这种疾病,但是它们不能发现松质骨微结构的恶化,难以完整体现其病理特征。加之中草药成分复杂,故针对中药及中药活性单体治疗GIOP的药效学评价需要更加全面和精准的评价方法。为了检测这

些变化,通常我们对模型动物组织行骨活检进行组织病理学检查,本实验中我们对小鼠胫骨骨组织行HE染色病理切片处理,但这只能给出三维结构的二维表示,而且在制作标本过程中存在有创、繁琐等缺陷^[24]。比其更为准确、高效反映骨组织结构Micro-CT技术可从静态、动态参数定性和定量分析骨量、骨微结构,主要包括药物对单位面积(二维结构)或单位体积(三维结构)骨量、骨组织结构、骨矿密度、骨有机物含量、骨生物力学性能的影响,这些指标能定量阐明药物是否对GIOP动物模型的骨量、骨组织微结构、改善骨脆性、降低骨折危险性等有疗效^[25]。而且Micro-CT是一种体外无损伤测量技术,更加适用于药物治疗后骨小梁结构的三维分析,目前,它被认为是骨形态和微结构分析的参考标准^[26]。故本实验采取基于Micro-CT技术的药效学评价方式即是基于以上考量。

Micro-CT技术最短3.9 s的扫描周期使采集图像速度更快,高达2.8 μm 的扫描精度,每个重建断层高达8 000×8 000像素,单次可扫描1 600个断层^[27],CT扫描定位精准,操作简便,使检测指标误差更小,能获得真正各项同性的容积图像,提高了图像空间分辨率^[28],在本实验中可以从扫描图像中清晰直观地看到淫羊藿苷和朝藿定C活性单体干预GIOP动物模型后骨微结构的改变情况:松质骨的骨小梁数量、宽度、长度部分恢复,密度和联结性增加,皮质骨面积增加,骨髓腔缩小,基本恢复到对照组水平,这使得实验分析更加便捷高效。本实验采用了最新的Bruker Skyscan1276扫描,采集数据精度更高,后期统计分析结果也更加精准。根据实验结果显示,成功造模后,Micro-CT扫描检测分析所得的模组型、淫羊藿苷组以及朝藿定C组小鼠骨量和骨微结构指标的变化趋势,与传统骨组织形态学检测(HE染色)结果相符合,说明了Micro-CT技术在中药干预GIOP小鼠模型药效学评价中具有科学性。而且不需对样品进行特殊处理,可同时对活体和离体样本进行扫描分析^[29],较传统的检测方式可重复性较高,更加方便经济。

地塞米松诱导的骨质疏松小鼠模型成功建立,朝藿定C和淫羊藿苷抗骨质疏松活性明显,主要通过增加骨量和改善骨小梁微结构来最终提高骨强度,其中朝藿定C抗骨松作用更强;Micro-CT技术与传统的检测方法相比,在中药干预GIOP骨微结构参数分析上具有便捷、高效,经济,图像多维、全面,准确的优势,作为GIOP的药效学评价新途径值

得推广应用。

感谢中国科学院水生生物研究所斑马鱼研究中心对本研究的支持,本文无利益冲突。

参考文献

- [1] Buckley L, Guyatt G, Fink H A, et al. 2017 American college of rheumatology guideline for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis [J]. Arthritis Rheumatol, 2017, 69(8): 1521-1537.
- [2] 郭青, 吴晓燕, 宁青, 等. 淫羊藿茎叶中5种黄酮类成分分析及质量评价 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 2028-2032.
- [3] 徐艳琴, 陈建军, 葛菲, 等. 淫羊藿药材质量评价研究现状与思考 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 661-666.
- [4] McLaughlin F, Mackintosh J, Hayes B P, et al. Glucocorticoid-induced osteopenia in the mouse as assessed by histomorphometry, microcomputed tomography, and biochemical markers [J]. Bone, 2002, 30(6): 924-930.
- [5] 安丽萍, 任广凯, 石力强, 等. 鹿骨多肽对地塞米松诱导的骨质疏松大鼠骨微结构的影响 [J]. 中草药, 2016, 47(22): 4030-4034.
- [6] Chen G, Wang C, Wang J, et al. Antiosteoporotic effect of icariin in ovariectomized rats is mediated via the Wnt/beta-catenin pathway [J]. Exp Ther Med, 2016, 12(1): 279-287.
- [7] Wei H, Zili L, Yuanlu C, et al. Effect of icariin on bone formation during distraction osteogenesis in the rabbit mandible [J]. Int J Oral Maxillofac Surg, 2011, 40(4): 413-418.
- [8] Odén A, McCloskey E V, Kanis J A, et al. Burden of high fracture probability worldwide: secular increases 2010-2040 [J]. Osteoporos Int, 2015, 26(9): 2243-2248.
- [9] 严红梅, 张振海, 孙娥, 等. 中药治疗骨质疏松症的研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(8): 1174-1178.
- [10] Hsu E, Nanes M. Advances in treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis [J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2017, 24(6): 411-417.
- [11] 李建国, 谢兴文, 李鼎鹏, 等. 淫羊藿提取物淫羊藿苷在细胞水平防治骨质疏松症的研究概况 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(1): 132-135.
- [12] 许静, 张晶晶, 郭非非, 等. 淫羊藿黄酮类主要成分促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞增殖分化作用及机制的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 113-120.
- [13] 蒋俊, 崔莉, 孙娥, 等. 基于淫羊藿黄酮类化合物的体内代谢阐述其抗骨质疏松药效物质基础 [J]. 中草药, 2014, 45(5): 721-729.

- [14] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [15] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [16] 路宇仁, 陈映冰, 崔元璐, 等. 淫羊藿苷药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17): 209-220.
- [17] Huang M, Wang Y, Peng R. Icariin alleviates glucocorticoid-induced osteoporosis through EphB4/Ephrin-B2 axis [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020: 2982480.
- [18] 黄 觅, 冯 晶, 钟再选, 等. 相同摩尔浓度下淫羊藿苷及朝藿定 C 单体在斑马鱼骨质疏松模型中的活性研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(8): 986-990.
- [19] Ma J X, He W W, Zhao J, et al. Bone microarchitecture and biomechanics of the necrotic femoral head [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 13345.
- [20] Neldam C A, Lauridsen T, Rack A, et al. Application of high resolution synchrotron micro-CT radiation in dental implant osseointegration [J]. J Craniomaxillofac Surg, 2015, 43(5): 682-627.
- [21] 中华医学会风湿病学分会. 糖皮质激素诱导的骨质疏松诊治的专家共识 [J]. 中华风湿病学杂志, 2013, 17(6): 363-368.
- [22] 纪宗斐, 张卓君, 鲍春德, 等. 糖皮质激素相关骨质疏松的流行病学调查 [J]. 中华风湿病学杂志, 2014, 18(8): 520-524.
- [23] Perilli E, Le V, Ma B, et al. Detecting early bone changes using *in vivo* micro-CT in ovariectomized, zoledronic acid-treated, and sham-operated rats [J]. Osteoporos Int, 2010, 21(8):1371-1382.
- [24] Sharma A K, Toussaint N D, Masterson R, et al. Deterioration of cortical bone microarchitecture: critical component of renal osteodystrophy evaluation [J]. Am J Nephrol, 2018, 47(6): 376-384.
- [25] Mohsin S, Kaimala S, Sunny J J, et al. Type 2 diabetes mellitus increases the risk to hip fracture in postmenopausal osteoporosis by deteriorating the trabecular bone microarchitecture and bone mass [J]. J Diabetes Res, 2019, 2019: 3876957.
- [26] Burghardt A J, Link T M, Majumdar S. High-resolution computed tomography for clinical imaging of bone microarchitecture [J]. Clin Orthop Relat Res, 2011, 469(8): 2179-2193.
- [27] Kim J E, Yi W J, Heo M S, et al. Three-dimensional evaluation of human jaw bone microarchitecture: correlation between the microarchitectural parameters of cone beam computed tomography and micro-computer tomography [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol, 2015, 120(6):762-770.
- [28] Ding M, Day J S, Burr D B, et al. Canine cancellous bone microarchitecture after one year of high-dose bisphosphonates [J]. Calcif Tissue Int, 2003, 72(6): 737-744.
- [29] Cheung A M, Adachi J D, Hanley D A, et al. High-resolution peripheral quantitative computed tomography for the assessment of bone strength and structure: a review by the Canadian Bone Strength Working Group [J]. Curr Osteoporos Rep, 2013, 11(2): 136-146.