

依赖性增加, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 青蒿琥酯诱导 RPMI8226 细胞凋亡的作用最明显, 最大凋亡率达 (68.1 \pm 5.9)%, 明显高于对照组。以上结果均表明青蒿琥酯对 RPMI8226 细胞的增殖有显著的抑制作用, 并呈现剂量依赖性。

细胞内外的许多信号刺激可以诱导细胞发生凋亡。研究表明, 细胞凋亡后期的共同途径是 Caspase 的激活。Caspase 酶是凋亡过程的主要调控蛋白, Caspase 3 是 Fas/Apo1 介导的凋亡信号转导途径的关键效应分子, 又是多种凋亡途径共同作用的因子, 其表达水平的高低决定着细胞凋亡程度^[7]。Survivin 也称生存素, 是迄今为止发现的最强的凋亡抑制因子。Survivin 抗凋亡作用已被研究证实, 它不仅通过阻断线粒体细胞色素 C 的释放, 与下游凋亡效应因子 Caspase 3 和 Caspase 7 结合而对其活性产生直接抑制效应, 而且还通过与纺锤体的结合, 间接抑制 Caspase 对纺锤体的水解作用, 有利于保护有丝分裂细胞的完整性, 从而抑制细胞凋亡^[8,9]。

本实验发现, 25、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 青蒿琥酯作用 RPMI8226 细胞 24 h 后, survivin mRNA 表达受抑和 caspase 3 mRNA 表达上调, Caspase 3/7 酶的活性增高, Survivin 蛋白表达降低, 并呈现剂量依赖性, 提示青蒿琥酯诱导 RPMI8226 细胞凋亡与上调 Caspase 3/7 和下调 Survivin 基因表达有关, 可能通过抑制 RPMI8226 细胞 Survivin 基因表达, 解除原先 Survivin 对 Caspase 3/7 活性的抑制, 进而激

活细胞凋亡程序, 诱导癌细胞凋亡。总之, 青蒿琥酯在一定剂量范围内呈剂量依赖性抑制 RPMI8226 细胞增殖, 诱导其凋亡, 提示青蒿琥酯在多发性骨髓瘤中具有潜在治疗价值, 但其详细分子机制尚待深入研究。

参考文献:

- [1] 陈立军, 靳秋月, 于利人, 等. 青蒿素及其衍生物抗肿瘤研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(11): 1754-1755
- [2] 李世辉, 潘 峻, 薛 芳. 青蒿琥酯对骨髓瘤细胞 SP2/0 的作用观察机制的初步探讨 [J]. 中华肿瘤杂志, 2008, 30(1): 16-20
- [3] Sieber S, Gdynia G, Roth W, et al. Combination treatment of malignant B cells using the anti CD20 antibody rituximab and the anti malarial artesunate [J]. *Int J Oncol*, 2009, 35(1): 149-158
- [4] Youns M, Efferth T, Reichling J, et al. Gene expression profiling identifies novel key players involved in the cytotoxic effect of Artesunate on pancreatic cancer cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2009, 78(3): 273-283
- [5] Efferth T, Giaisi M, Merling A, et al. Artesunate induces ROS-mediated apoptosis in doxorubicin-resistant T leukemia cells [J]. *PLoS ONE*, 2007, 2(1): e693
- [6] 陈立军, 姚 丽, 靳秋月, 等. 基因芯片技术分析青蒿琥酯抑癌作用机制 [J]. 中草药, 2008, 39(9): 1359-1364
- [7] Tormanen, Napankangas U. Expression of caspase 3, -6 and -8 and their relation to apoptosis in non-small cell lung carcinoma [J]. *Inter J Cancer*, 2001, 93(2): 192-198
- [8] Andrade F, Roy S, Nicholoso D, et al. Granzyme B directly and efficiently cleaves several downstream caspase substrates: implication for CTL-induced apoptosis [J]. *Immunity*, 1998, 8(4): 451-460
- [9] Sally P, Wheatley and Iain A, McNeish. Survivin: A protein with dual roles in mitosis and apoptosis [J]. *Inter Rev Cytol*, 2005, 247: 35-38.

复方鹿茸健骨胶囊抗骨质疏松作用

李凤才¹, 谢海泉¹, 邱 琳², 刘新宇²

(1 白求恩医科大学制药厂, 吉林 长春 130012; 2 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

摘要:目的 观察复方鹿茸健骨胶囊的抗骨质疏松作用。方法 采用去卵巢或 ig 给予维甲酸造成大鼠骨质疏松模型, ig 给予复方鹿茸健骨胶囊治疗, 观察其对骨质疏松大鼠骨质量、骨长、骨密度、骨强度、骨钙、血钙、骨形态学改变的影响。结果 复方鹿茸健骨胶囊 3.2、1.6、0.8 g/kg ig 给药可明显增加去卵巢或维甲酸所致骨质疏松大鼠骨质量、骨长、骨密度、骨强度; 对去卵巢大鼠血钙及骨钙水平有明显增加作用; 肱骨组织病理学结果显示, 给予复方鹿茸健骨胶囊大鼠骨小梁增粗, 骨皮质厚度增加, 软骨细胞增生活跃, 骺板变宽, 成骨细胞明显活跃, 破骨细胞减少。结论 复方鹿茸健骨胶囊有明显的抗骨质疏松作用。

关键词:鹿茸健骨胶囊; 骨质疏松; 去卵巢; 维甲酸

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)05-0789-03

①收稿日期: 2009-11-27

作者简介: 李凤才(1965—), 男, 吉林长春人, 高级工程师, 主要从事新药研究与开发工作。

Tel: (0431) 85888045 E-mail: xiehaiquan2003@163.com

骨质疏松是以骨量减少和骨组织显微结构受损,继而引起骨脆性和骨折危险性增加为特征的系统性骨骼疾病。由于其广泛性和危害性,骨质疏松已经成为威胁人类生存和影响生活质量的主要疾病之一。祖国医学认为骨质疏松症多由年老体衰、肾虚不足所致,或劳伤久病,药物伤及于肾,肾虚精气亏损,不能充髓养骨,导致骨生长发育不良,甚至脆弱无力,也有因外伤制动,损伤后血凝滞,经络隔阻骨质失养或肢体长期制动气血运行缓慢,造成筋骨濡养不足等引起。复方鹿茸健骨胶囊是长春中医学院附属医院骨科张文泰教授的经验方,多年来临床应用用于治疗骨质疏松症和由此而引起的骨折收到了非常好的效果。全方由鹿茸、制首乌、龟甲、杜仲、紫河车、当归等组成。具有补肾壮骨、调和气血功效,用于腰背酸痛,全身骨痛,脘酸膝软,龟背,自发性骨折,耳聋或耳鸣等,以肾虚为主要临床表现的骨质疏松症。本实验拟观察鹿茸健骨胶囊对大鼠骨质疏松的作用,为临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 药物:复方鹿茸健骨胶囊,由白求恩医科大学制药厂提供,批号 960906,规格:0.36 g/粒(含生药 3 g/g);骨疏康颗粒为辽宁省东港市制药厂产品,批号 951103,12 g/袋。维甲酸为山东良福制药有限公司产品,批号 961208。

公司产品,批号 961208。

1.2 动物:Wistar 大鼠,雄性,150~190 g;雌性 220~260 g,吉林省中医中药研究院动物室提供,动物合格证号为:960101017。

2 方法与结果

2.1 对去卵巢所致雌性大鼠骨质疏松的影响:将雌性大鼠乙醚麻醉,腹位固定,然后在最末肋骨下,距脊椎柱外侧约 2 cm 处,去毛消毒,纵行切开皮肤约 1.5 cm,剥离肌肉组织,结扎输卵管,摘除卵巢,将子宫角送回腹腔中,施青霉素药粉,缝合切口。同法切除另一侧卵巢^[1]。术后,将去卵巢大鼠 60 只随机分 5 组,分别为模型组,骨疏康颗粒组,复方鹿茸健骨胶囊高、中、低剂量组。假手术组为同批大鼠 12 只,行假手术,ig 蒸馏水 10 mL/kg;阳性药组 ig 骨疏康颗粒 2.0 g/kg;复方鹿茸健骨胶囊高、中、低剂量组分别 ig 给药 3.2、1.6、0.8 g/kg(相当于生药量)。每日 1 次,连续 3 个月,末次给药后称体质量,禁食 12 h,不禁水。取血用于血清钙测定。取大鼠前肢胫骨,进行病理组织学观察。取两侧后肢胫骨,剔除软组织,测量胫骨长度,并称胫骨质量,计算平均值。采用北京产 SD-100 型单光子骨密度仪测定左侧胫骨骨密度,用自制强度计测定骨强度值,取右胫骨测定骨钙水平。结果见表 1。

表 1 复方鹿茸健骨胶囊对去卵巢所致骨质疏松大鼠的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of Compound Lurong Jiangu Capsula on ovariectomized osteoporotic rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	骨质量/mg	骨长/cm	骨密度/(g·cm ⁻²)	骨强度/kg	血钙/(mg·L ⁻¹)	骨钙/(mg·g ⁻¹)
假手术	-	705.1 ± 30.8	3.92 ± 0.11	0.351 ± 0.038	7.56 ± 1.00	107.6 ± 9.6 [△]	966.40 ± 170.67 ^{△△△}
模型	-	588.8 ± 55.6 ^{△△△}	3.76 ± 0.09 ^{△△}	0.309 ± 0.036	5.74 ± 1.12 ^{△△△}	98.4 ± 6.3	554.20 ± 137.23
骨疏康颗粒	2.0	655.5 ± 66.7 [*]	3.88 ± 0.08 [*]	0.342 ± 0.037 [*]	7.04 ± 1.07 [*]	106.3 ± 7.1 [*]	625.19 ± 180.59
复方鹿茸健骨胶囊	3.2	674.5 ± 112.1 [*]	3.87 ± 0.17	0.358 ± 0.049 [*]	7.73 ± 0.78 ^{**}	107.0 ± 7.5 [*]	684.70 ± 60.19 [*]
	1.6	656.4 ± 56.7 [*]	3.91 ± 0.09 [*]	0.328 ± 0.032	7.51 ± 1.51 [*]	102.0 ± 5.4	708.60 ± 131.71 [*]
	0.8	640.9 ± 42.6 [*]	3.91 ± 0.14 [*]	0.314 ± 0.047	6.86 ± 1.56	99.0 ± 5.4	604.10 ± 104.99

与假手术组比较: [△]P < 0.05 ^{△△}P < 0.01 ^{△△△}P < 0.001; 与模型组比较: ^{*}P < 0.05 ^{**}P < 0.01 ^{***}P < 0.001

[△]P < 0.05 ^{△△}P < 0.01 ^{△△△}P < 0.001 vs Sham group; ^{*}P < 0.05 ^{**}P < 0.01 ^{***}P < 0.001 vs model group

结果表明,去卵巢大鼠出现明显骨质疏松症状,表现在骨质量减轻,骨长缩短,骨密度和骨强度降低,血钙和骨钙降低;病理组织学表现为骨皮质变薄,骨小梁数量减少并明显变细,成骨细胞数量减少,破骨细胞数量增加。经复方鹿茸健骨胶囊治疗后,大鼠骨质量和骨长度增加,骨密度和骨强度增强,骨钙和血钙水平增加,病理组织学表现为骨小梁增粗、骨皮质厚度增加,软骨细胞增生活跃,骺板变宽。表明复方鹿茸健骨胶囊对去卵巢所致的大鼠骨质疏松有明显的治疗作用。

2.2 对维甲酸所致骨质疏松大鼠的影响:取雄性大鼠,随机分 6 组,分别为对照组、模型对照、骨疏康

颗粒和复方鹿茸健骨胶囊高、中、低剂量组。对照组,每日 ig 蒸馏水;模型组,每日 ig 维甲酸 70 mg/kg;骨疏康颗粒组每日 ig 维甲酸 70 mg/kg,同时 ig 骨疏康颗粒 2.0 g/kg;复方鹿茸健骨胶囊高、中、低剂量组 ig 70 mg/kg 维甲酸,同时 ig 复方鹿茸健骨胶囊 3.2、1.6、0.8 g/kg(相当于生药剂量)^[2]。两周后停止给予维甲酸,继续给药两周。末次给药后 1 h 处死大鼠,取胫骨称质量,测胫骨长度、骨密度和骨强度。取胫骨进行病理学观察。结果见表 2。

结果表明模型组大鼠骨质量、骨长、骨密度和骨强度都明显低于对照组。模型组病理组织学出现明显骨质疏松表现,给予复方鹿茸健骨胶囊的大鼠骨

表 2 复方鹿茸健骨胶囊对维甲酸所致骨质疏松大鼠的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)Table 2 Effect of Compound Lurong Jiangu Capsula on osteoporotic rats induced by retinoic acid ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	骨质量/mg	骨长/cm	骨密度/(g·cm ⁻²)	骨强度/kg
对照	-	436.2±41.9	3.48±0.14	0.413±0.078	5.24±0.69
模型	-	283.1±35.0 ^{△△△}	3.01±0.15 ^{△△△}	0.323±0.051 [△]	3.06±0.63 ^{△△△}
骨质疏松颗粒	2.0	342.9±51.1*	3.29±0.10 ^{**}	0.391±0.055 ^{**}	4.37±0.33 ^{**}
复方鹿茸健骨胶囊	3.2	339.6±32.5 [*]	3.25±0.11 [*]	0.395±0.063 [*]	4.43±0.78 ^{**}
	1.6	333.6±57.4 [*]	3.25±0.16 [*]	0.381±0.101	3.94±0.59 [*]
	0.8	325.2±32.4 [*]	3.21±0.17 [*]	0.370±0.087	3.92±0.75 [*]

与假手术组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ^{△△△} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

[△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ^{△△△} $P < 0.001$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

质量、骨长、骨密度和骨强度均高于模型组, 复方鹿茸健骨胶囊组大鼠病理检查骨皮质变厚, 骨小梁增粗, 破骨细胞减少, 成骨细胞明显活跃。结果表明复方鹿茸健骨胶囊对维甲酸所致的大鼠骨质疏松有良好的治疗作用。

3 讨论

骨质疏松的主要病理特征为骨量减少, 骨组织的显微结构改变及骨折危险频度增加, 它可分为原发性和继发性两种类型。现代研究表明, 绝经后(包括手术绝经)妇女由于性腺功能衰退, 雌激素分泌不足, 可导致骨转换率增加, 骨吸收大于骨形成, 而患骨质疏松症^[3]。本实验用成年雌性大鼠, 摘除卵巢, 模拟了骨质疏松这一动物模型。结果模型组与假手术组比较骨质量、骨长、骨密度、骨强度及血钙和骨钙明显降低, 表明模型成功。给予复方鹿茸健骨胶囊的大鼠, 骨长度、骨密度、骨强度及血钙和骨钙明显高于模型组, 表明复方鹿茸健骨胶囊可抑制或缓解骨质疏松症的发生。

维甲酸是维生素 A 的衍生物, 它可以引起大鼠胫骨骨小梁密度减少, 间隙增大, 胫骨中段骨皮质变薄, 骨髓腔扩大, 而导致大鼠发生骨质疏松症^[4]。复方鹿茸健骨胶囊可使维甲酸造成的骨质疏松大鼠骨质量、骨长、骨强度和骨密度明显高于模型组。表明复方鹿茸健骨胶囊对维甲酸造成的骨质疏松症有治

疗作用。

本实验结果显示, 模型组大鼠骨密度明显降低, 同时骨钙水平也明显降低, 说明骨丢失明显, 实验动物处于骨质疏松状态。给予复方鹿茸健骨胶囊治疗后骨密度、骨钙明显增加, 说明其对骨丢失有明显抑制作用。

骨形态观察是评价骨转换与骨结构的有效手段, 可对骨质疏松进行定性评价。本实验结果显示, 模型组大鼠骨皮质变薄, 骨小梁数量减少并明显变细, 成骨细胞数量减少, 破骨细胞数量增加, 说明实验动物骨吸收明显增强。经复方鹿茸健骨胶囊治疗后, 大鼠骨小梁增粗、骨皮质厚度增加, 软骨细胞增生活跃, 骺板变宽, 破骨细胞减少, 成骨细胞明显活跃。说明复方鹿茸健骨胶囊对骨吸收有明显抑制作用, 对骨形成有明显促进作用, 对骨质疏松症有明显的治疗作用。

参考文献:

- [1] 沈霖, 杜靖远, 杨家玉, 等. 青娥丸加味对大鼠卵巢切除诱导的实验性骨质疏松症的影响[J]. 中医研究, 1994, 7(2): 19
- [2] 谭正怀, 雷玉兰, 李白嘉, 等. 补天生力胶囊治疗老年性骨质疏松的药理研究[J]. 中成药, 1996, 18(1): 29.
- [3] 张世斌. 骨质疏松症及其诊断与防治[J]. 中国老年学杂志, 1996, 16(专刊): 2
- [4] 吴波, 徐冰, 黄添友, 等. 维 A 酸致大鼠骨质疏松模型与机理研究[J]. 药理学报, 1996, 31(4): 241

紫苏总黄酮的抗炎作用研究

郎玉英^{1,2}, 张琦^{1,3}

(1 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2 浙江省中西医结合医院, 浙江 杭州 310003;

3 浙江省中医院下沙院区, 浙江 杭州 310018)

摘要: 目的 观察紫苏总黄酮抗炎作用并对其机制进行初步研究。方法 采用二甲苯致小鼠耳肿胀, 醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加, 棉球诱发大鼠肉芽肿及小鼠气囊炎炎症模型, 观察紫苏总黄酮对不同炎症模型的抗