

实验研究

“肾主骨”的骨组织形态计量学基础实验研究综合报告

贵阳中医学院骨伤科研究所 时光达 吴非

(摘要)

Experimental studies of bone Histomorphometric basis
of Shen (肾) Zhu (主) Gu (骨) Theory

Institute of Orthopaedics & Traumatology, Guiyang college of Traditional
Chinese Medicine, Shi Guangda Wu Fei

ABSTRACT

Shen Zhu Gu---a theory of the kidney dominatins the physiology of the bone---is one of the fundamental theories in the Traditional Chinese Medicine (TCM) Under the quidance of the theory, a series of experiments were performed including the studies of the sexual hormone and ELS---one of the TCMS which reinforces the vital energy of the kidney. It was found that the decrease in the sexual hormone could change the bony structure including the loss of bone mass, degeneration of the articular cartilage osteoporosis (because of the decrease in the resorption of the inhibitive factor, increase in the bone resorption and insufficiency of booe formation, thus resulting in the formation of osteoporosis) and delay in bone healing, and that ELS preparation had a significant influence on the bony structure---such as the reinforcement of the activity and increase in the number of the osteoblasts and shortening of the bone resorption period, thereby resulting in the correction of the ossen change due to decrease in the sexual hormone into normal bony structure and the maintenance of the stability of the bone mass. It has been noted that the influence of ELS on the bone structure will be in the two respects: Firstly, it may regulate the level of the sexual hormone, giving an indirect effect on the bone; secondly, it directly effects the metabolic activity of the bone thereby promoting the bone formation, increasing in bone mass and in the bone mineralizing rate. ELS, therefor, seems to have an ideal therapeutic effect on the treatment of fractures and on the protection of osteoporotic model in the experimental study. It was believed thae bone histomorphometric study could provide some tasic evidence for the theory of Shen Zhu Gu of TCM

本实验以“肾主骨”理论为指导,通过系列动物实验、采取半自动骨组织图象分析技术研究探讨性激素水平下降引起骨组织结构改变的机理,及补肾药物对促进骨折愈合和对骨质

疏松的治疗作用基础。结果表明,性激素水平下降导致骨量丢失、关节软骨变性,是由于骨吸收抑制因素减少,骨吸收活动增强,骨形成相对不足而使骨质疏松、骨折愈合迟缓。补

“肾”中药黔岭菴制剂对骨骼组织结构具有明显的影响，可加强成骨细胞活性、增加成骨细胞数量、缩短吸收周期，从而维持了因性激素水平下降而诱发的骨结构改变趋于正常状态，同时也保持了骨量的稳定，从而促进了骨形成速度，骨量的增长及骨矿物质沉积率的提高。本研究给“肾主骨”理论提供了骨组织形态计量学的基础。

鉴于“肾主骨”理论在骨伤科中的重要指导作用，我所近年来在基础实验研究中进行了一些有关“肾主骨”理论的探索工作，方法是采用动物去势、药物诱导制造骨质疏松模型，以及使用补“肾”药物以对抗去势及诱导骨骼改

变的影响，进而对造模动物予以骨病、骨折的补“肾”治疗，使用骨组织形态计量学手段〔设备为半自动图象分析仪(SEMIAUTOMATIC IMAGE ANALYZER MOR-40 IBAS 1000 OPTON WG)]进行观察检测对比，综合报告如下：

一、性激素不足与骨组织结构的改变

(一) 去势动物骨形态学和骨形态计量学上的变化

在去势动物激素水平与骨形态结构变化相互关系研究的实验中⁽¹⁾，发现去势家兔静脉血中的睾酮及雌二醇水平明显下降，促卵泡激素和黄体生成素则明显升高(表 I)。相应地，去

表 I 家兔去势后5-12周静脉血性激素水平

激 素 组 别	睾 酮 (ng/dl)	雌二醇(pg/ml)	促卵泡激素 (miu/ml)	黄体生成素(miu/ml)
对 照 组	86.3±35.3	26.2±11.60	717.7±386.1	646.6±203.90
去势后5周	63.7±15.4*	16.6±5.30*	740.0±432.7*	576.5±292.63*
去势后12周	18.5±4.5*	18.3±2.86*	59.±23.6*	2833.0±1625.80*

* 与对照组相比具有显著性差异, P<0.05

势兔骨小梁减少，髓腔扩大，关节软骨层中变性区增大，表层软骨细胞裸露，移行层排列紊乱，钙化软骨下层骨板内毛细血管减少。

骨形态计量学检测，可明显发现骨及关节软骨的变化。去势兔的骨小梁面积减少，小梁变细，关节软骨因变性增多而肿胀变厚，并见

有坏死的关节软骨(见表 I)。

这个实验研究的结果说明，性激素水平的高低与骨骼组织的病理变化有明显关系，性激素可明显地影响骨胶原合成及骨基质的钙化，其水平下降可使骨形成过程减慢，骨胶原合成减少，基质钙化推迟，致使骨量丢失，关节软

表 I 去势家兔骨形态计量学参数

参 数 组 别	骨小梁表面积 mm ² /视野	骨小梁宽度 mm	关节软骨均宽 mm	关节软骨变性区面积mm ²
对 照 组	0.08995±0.0191	0.1295±0.03155	0.2696±0.0631	0.0163±0.0053
去 势 组	0.07245±0.0148	0.0997±0.0287	0.2872±0.0577	0.0351±0.0254
P	<0.01	<0.01	<0.05	<0.1

骨变性坏死。

性激素水平降低,也可影响人的骨组织形态计量学参数,经检测发现,绝经期后骨质疏松患者的髌骨中单个破骨细胞活性明显大于成骨细胞活性⁽²⁾,骨形成率降低⁽³⁾,使骨形成小于骨吸收,导致骨小梁变细甚至丢失。研究发现骨体积与年龄呈明显负相关,中年以后随年龄的增加而体内性激素水平逐渐降低,骨体积也随之减少。特别是女性,不仅骨体积与年龄呈负相关,骨转换率、活性成骨表面也与年龄呈负相关的关系⁽⁴⁾。

(二) 去势动物骨骼丢失机理

对去势动物作进一步的骨计量学检测,研究了骨量丢失的机理。实验发现⁽⁵⁾:去势大鼠骨量减少,类骨相对增多,骨形成结构变化不明显,但骨吸收量明显增加,(表Ⅰ)。骨形态

计量参数的变化表明:大鼠去势后性激素水平下降主要是影响骨吸收过程,性激素为骨吸收活动的抑制因素,性激素水平降低可使骨吸收活动增加,骨形成活动相对降低。加之去势可能也对机体内钙、磷代谢活动产生影响,从而影响到类骨质的矿化,使矿化骨量减少,形成了骨质疏松。

二、补肾对骨骼的影响

(一) 维生素A对骨骼的影响

大剂量维生素A可以逐步破坏性腺组织,使性激素分泌逐渐减少,从而影响了骨骼组织的形态结构。给大鼠注射大剂量维生素A后,骨组织形态计量参数显示大鼠的骨髓腔面积扩大,骨小梁面积减少,关节软骨层变薄⁽⁶⁾, (表Ⅳ)使骨组织显微结构失去了正常形态。

这个实验结果表明,维生素A使性激素水

表Ⅰ 去势大鼠骨计量学静态参数

参 数 组 别	骨 体 积 mm ³ /cm ³	类骨质体积 mm ³ /cm ³	成骨细胞指数 */mm ³	吸收陷窝比 %	吸收陷窝小梁 μm
对 照 组	246.75±54.81	0.68±0.50	590.48±300.70	1.93±0.7	4.63±2.35
去 势 组	190.76±33.66	1.01±1.86	586.42±398.00	3.03±1.9	5.29±2.98
P	<0.05	<0.1	<0.1	<0.05	<0.05

平逐渐降低,致使骨量明显减少,与去势后急速降低性激素水平一样,减少了骨吸收抑制性因素,减弱骨形成活动能力,造成骨组织形态上的明显变化。

(二) 补肾药物对骨骼的影响

在实验中观察了补“肾”中药黔岭藿制剂拮抗维生素A诱导骨质疏松的作用⁽⁶⁾,实验发现,黔岭藿制剂可缩小髓腔间隙,增加关节软骨厚度,使维生素A诱导鼠的骨骼组织保正常的显微形态结构,同时黔岭藿制剂也保护了性腺组织的正常形态,维持体内性激素水平在正常范围。黔岭藿制剂在保护维生素A诱导骨骼

结构的作用途径可能是多方面的,其既可以直接加强成骨细胞活性、增加成骨细胞数量,又可通过保护性腺组织,维持性激素水平,间接地促进骨骼的正常代谢活动。

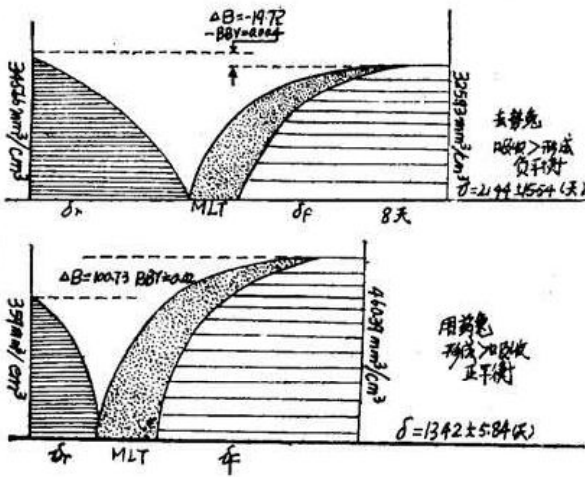
黔岭藿制剂对去势诱导的骨质疏松动物模型的影响也是十分明显的。实验中观察到⁽⁶⁾;黔岭藿制剂可明显加强去势诱导鼠的成骨细胞活性、增加成骨细胞数量,使类骨质形成增多,还可影响再塑造周期,缩短骨吸周期,而对骨形成周期,骨形成率和骨矿化过程无明显影响。(表Ⅴ及图1)

实验结果提示:黔岭藿制剂可恢复去势动

表 IV 维生素A 诱导大白鼠骨、关节软骨结构骨计量测定结果

参 数 组 别	髓腔面积 $\mu\text{m}^2/\text{视野}$	小梁面积 $\mu\text{m}^2/\text{视野}$	软骨面宽度 μm
对 照 组	439.7 ± 477.2	335.0 ± 250.5	0.38 ± 0.15
V-A 组	850.2 ± 519.7	168.8 ± 202.1	0.29 ± 0.15
P	<0.05	<0.05	<0.05

图 1 去势鼠和用药鼠骨再塑造活动中骨平衡图。



物因性激素水平下降而丢失的骨量，从而防治和延缓了骨质疏松的发生。

(三) 性激素、补“肾”与骨折愈合

在维生素A诱导骨质疏松模型上予以骨折的实验中观察⁽⁷⁾到：实验兔注射大量维生素A后，其骨折处骨痂出现晚，软骨骨痂较多，髓腔再通时间延迟。形态学观察结果说明维生素

A 诱导骨骺模型的骨折愈合过程缓慢，由于性激素水平的下降，可明显影响骨折的修复。

同时我们还观察了补“肾”中药黔岭藿制剂对骨折愈合早期的影响⁽⁷⁾，骨计量数据表明，用药兔骨痂形态结构与对照组相比无明显变化，但其骨矿沉积率和骨形成速度明显高于对照组，骨形成周期缩短，骨再塑造期也缩短。形态学观察见到用药兔骨折愈合晚期髓腔再通时间早于对照组。实验结果显示黔岭藿制剂可加快骨痂代谢活动，使骨痂组织尽早矿化、再建，因而愈合时间提前。(表 VI a、b)

讨 论

随着社会高龄人群的扩大，老年性骨病患者日益增多，特别是原发性骨质疏松后的骨伤、骨折、骨病等严重影响老年人的日常生活。上海的流行病学调查表明：40—59岁的人群骨质疏松的发病率为25.21%；60岁以后则发病率上升达62.17%。而且绝经后妇女的骨质疏松是普遍存在的⁽⁸⁾。由此可见，原发性骨质疏松 (Primary Osteoporosis) 是威胁老龄人群

表 V 去势大鼠和用药大鼠骨计量参数比较

参 数 组 别	骨面积 mm^2/cm^3	类骨质面积 mm^2/cm^3	成骨细胞指数 \cdot/mm^3
去 势 组	4776.66 ± 1921.42	287.43 ± 463.32	586.42 ± 398.00
用 药 组	6202.90 ± 1151.12	627.04 ± 482.02	1040.70 ± 446.13

参 数 组 别	骨形成速率(mm/年)	骨形成周期(天)	骨吸收周期(天)	矿化延迟时间(天)
去 势 组	11.31±10.26	15.39±7.54	11.02±21.30	3.21±1.90
用 药 组	15.09±12.16	14.04±6.27	5.525±5.69	3.25±1.93
P	NS	NS	<0.01	NS

表 VI 黔岭麝制剂对家兔骨折愈合外骨痂骨计量学参数a, 骨计量学静态参数

参 数 组 别	矿化骨痂面积 μm ² /视野	骨 质 面 积 μm ² /视野	骨矿沉积率 μm/年	骨 形 成 率 μm/年
对 照 组	70637.00±14633.32	6179.81±1995.17	302.15±73.83	86.74±20.38
用 药 组	78662.51±15366.80	6120.76±1656.78	390.6±43.13	196.27±45.01
P	NS	NS	<0.01	<0.001

表 VI 黔岭麝制剂对家兔骨折愈合外骨痂骨计量学参数b, 骨计量学动态参数

参 数 组 别	矿化延迟时间(天)	骨形成周期(天)	骨吸收周期(天)	骨再造周期(天)
对 照 组	9.127±2.671	6.744±2.289	1.299±0.756	8.643±3.023
用 药 组	7.095±1.850	4.360±0.595	1.235±0.775	5.653±1.015
P	NS	<0.01	NS	<0.05

健康的主要危险因素, 极应引起社会的重视。

中医“肾”的功能包括范围较广, “肾主骨”的机制主要是指“肾精”在保持骨骼组织正常机能中的主导作用。由于“肾精”不足, 髓不能满, 骨骼充养欠乏, 则脆弱无力, 或不能久立, 行则振掉, 以后发展到“肾气”虚惫, “肾水”涸竭, 骨枯而发为骨萎。中医的这种病机充分说明了“肾主骨”功能与老年性骨病的关系。

现代研究表明, 补“肾”中药可提高动物性腺对促性腺激素的反应性, 提高老年人血清睾酮水平⁽⁹⁾。补“肾”法或补“肾”中药可调

整机体中许多器官在组织学、组织化学及超微结构方面的异常变化趋于正常, 对机体的组织细胞和基本结构成分具有普遍的增强和保护作用, 可延缓卵巢、子宫、睾丸等性腺组织的衰老趋势⁽¹¹⁾。据此, 补“肾”药的广泛作用仍是以性腺为基础。有实验报导: 补“肾”药对骨骼组织有明显的影晌, 可改善去势动物的溶骨现象⁽¹¹⁾, 用于临床可抑制骨质疏松的进展, 预防衰老。

性激素是下丘脑—垂体—性腺系统的最终激素, 其体内水平降低, 表现了这一系统内分泌腺轴功能衰减, 所以性激素在体内水平的高

(下转32页)

害逐渐加重,血容量明显减少,心搏因而增快。综合起来,就出现浮、洪、数、大的脉象。这个阶段的早期心肌损害还不甚严重,机体尚保有一定的有效血容量,再加上微循环不瘀滞,血流阻力增大而呈现实脉的现象。根据临床观察,这一阶段约相当于中度休克阶段,失血量估计约占全身血容量的35%左右。如果这时仍未得到及时抢救,随着心肌和其它重要器官的缺氧加重,机体功能受到严重的损害,心肌收缩更加无力,遂由实脉衰竭为虚脉,最后在数脉的基础上更出现了心律紊乱的促脉,乃进入严重休克期,纵然积极抢救也很难挽救生命。这就是“浮、洪、数、大、实、虚、促者死”的含义。

再者以上两种情况虽然都提及虚脉,但其病理变化迥然不同。前者是由于血管收缩管壁弹性增强波峰减小而形成,代表机体的代偿功能良好,伴同细、沉、缓三种脉象是一种顺证;后者则是因心肌损害严重,血管弹性减

弱,血容量严重减少产生的,伴同浮、洪、大、数等脉象,是机体功能崩溃的逆证。因此,上述两者必须予以鉴别。

当然,诊断出血性休克,除了看脉象外,还要进行四诊的全面检查,并结合测量血压和其它辅助检查,才能得到更全面的诊断,但脉诊是最简单可靠的客观检查方法,可以与其它检查互相补充对照。在没有设备的条件下,单纯靠四诊,特别是脉诊,也可以了解病程发展的情况,作出初步诊断,拟定抢救计划,估计预后。

脉诊是祖国医学的独特诊断方法之一,涵义深奥,是千百年来祖国医学积累起来的精华,如进一步用现代医学原理和方法予以阐明发扬,做到古为今用,推陈出新,对医学事业发展的贡献当非浅鲜。作者对祖国医学的知识非常贫乏,为了抛砖引玉,特作以上探讨,谬误之处请各位同行批评指正。

(上接5页)

低除影响“肾”的病理、生理活动外,也可牵连到与此腺轴有关的各级功能。以上有限的研究部分地说明了性腺激素与骨骼组织的生理病理关系,着重从骨组织形态计量学方面,初步证实了一些“肾主骨”的理论的正确性。

近年来,我们以中医“肾主骨”理论为指导,利用先进的骨组织形态计量学技术手段,深入开展“肾主骨”基础理论及补“肾”中药对骨创伤及骨病作用的研究工作,在组织水平,细胞水平甚至亚细胞水平上,采用科学的计量方法,探讨骨质疏松的病理机制,中药防治的疗效,骨折愈合的再建过程及补“肾”药物的促进作用机理,取得了一些进展。初步认为“肾主骨”是具有其骨组织形态学计量基础的,这对今后骨伤科基础及临床研究提供了坚实的科学依据。

● 考 文 献

1. 贵阳中医学院骨伤科研究所,正常及去势家兔静脉中雌激素水平和骨关节软骨改变的

初步观察,全国第二届中西医结合骨伤科研究会论文汇编,1986:10。

2. Helen E Gruber, et al. Osteoblast and Osteoclast Cell Number and Activity in Postmenopausal Osteoporosis, Mineral Electrolyte Metab 12:246, 1986

3. A. M Parfitt, et al. Diagnostic Value of Bone Histomorphometry and Comparison of Histologic Measurements and Biochemical Indices of Bone Remodeling In: Christiansen C(eds): Osteoporosis Copenhagen International Symposium on Osteoporosis PP111-120, 1984

4. F Melsen, et al. Metabolic Bone is Evaluatecl by Bone Histomorphometry In Robert R RecRer (eds): Bone Histomorphometry: Technigues and Interpretation. CRC Press. PP265-284, 1983

5. 吴非等,去势大白鼠骨质疏松模型的骨计量参数及中药黔岭鳖作用的影响,中华医学会骨科学会第三届全国学术会议论文汇编,1989:10。
(余略)