

中药增骨丸对去卵巢大鼠骨髓 IGF-1 和 IL-1 β 的影响

李宁¹, 谢兴文², 宋敏¹, 张晓刚¹, 宋鹏程¹

(1. 甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 上海中医药大学 2003 级博士)

摘要 目的: 探讨去卵巢后大鼠骨髓上清中胰岛素样生长因子 1(IGF 1) 和白细胞介素 1 β (IL-1 β) 的变化及中药增骨丸对其影响。方法: 将 48 只 8 个月龄 Wistar 雌性大鼠随机分为正常对照组、模型组、乙烯雌酚组及 3 种不同浓度的增骨丸组。每组 8 只。正常组仅摘除一段肠系膜, 其余 5 组均做双侧卵巢切除术。术后 1 周开始给药, 连续用药 90 d 后取右侧股骨, 剔净软组织, 截取 1.5 cm, 用 1 ml PBS 液将骨髓冲入 DEPC 处理过的试管中备用。分别测定骨髓中 IGF 1 和 IL-1 β 的含量。结果: 卵巢切除后大鼠骨髓上清中 IGF-1 的含量明显降低, 而 IL-1 β 的含量明显增高。经过雌激素及中药治疗能明显增高卵巢切除所致的 IGF-1 的降低, 抑制 IL-1 β 的增高, 且其作用与剂量有关系。结论: 增骨丸通过增加 IGF-1 的表达和降低 IL-1 β 的表达而发挥防治骨质疏松症的作用。

关键词 骨质疏松; 胰岛素样生长因子 I; 白细胞介素 1 β ; 中成药

Effect of Zenggu pill on IGF 1 and IL-1 β in bone medullae of ovariectomized rats LI Ning, XIE Xingwen, SONG Min, ZHANG Xiaogang, SONG Pengcheng. Gansu College of TCM (Gansu Lanzhou, 730000, China)

Abstract Objective: To inquire into effects of Zenggu pill (ZGP) on bone medullae insulir like growth factor 1 and Interleukir 1 β in ovariectomized rats. **Methods:** Forty eight healthy female Wistar rats were randomly divided into six groups: normal control group, model group, positive group and three ZGP groups (with high, moderate and low dosages respectively). The model group was excised a small part of mesentery and the other groups were ovariectomized bilaterally. They were put to death at the same time after three months. Then took right femur, measured the content of insulir like growth factor 1 and Interleukir 1 β in bone medullae by RIA and ELISA. **Results:** The content of insulir like growth factor 1 in bone medullae of the high, moderate dosage of ZGP and positive control group rats were more higher than those in the model group ($P < 0.05$), but the content of Interleukir 1 β were much lower than that in the model group. **Conclusion:** The high and moderate ZGP can increase the content of insulir like growth factor 1 and decrease Interleukir 1 β in bone medullae. So they have the effect of prevention and treatment to postmenopausal osteoporosis, and the effects might be related to the level of doses of ZGP.

Key words Osteoporosis; Insulir like growth factor I; Interleukir 1 β ; Chinese patent drugs

胰岛素样生长因子 1(IGF-1) 在骨重建中起重要作用。随着增龄、绝经年限延长, 血清中雌激素水平不断下降, IGF 体系中促进骨形成因素的含量减少, 抑制因子活性增加, 成为骨骼老化、骨质疏松发生的启动因子。由于 IGF 在骨中产生, 因此骨髓中 IGF 的量与骨最接近, 检测又容易, 测定骨髓中 IGF-1 的量应当能反映出 IGF 在骨代谢中的情况。而白细胞

介素 1(IL-1) 是与破骨细胞有关的最重要的溶骨因子之一。IL-1 受体阻断剂可有效阻断卵巢切除大鼠所致的骨量丢失, 证明 IL-1 是雌激素缺乏所致骨质疏松的必要中介^[1]。因此要探讨药物的作用机制就有必要探讨其是否通过 IL-1 而起到治疗作用。但由于血清 IL-1 的含量受到的影响因素较多(如炎症, 免疫反应性疾病等), 因此血清 IL-1 是否能代表骨内环境中的 IL-1 尚存在争议^[2]。而测定骨髓上清中 IL-1 的含量至关重要。

基金项目: 甘肃省自然科学基金资助项目(ZS011-A25-059-Y)
通讯作者: 李宁 Tel: 0931-3344673 E-mail: Ln27@sina.com

1 材料和方法

1.1 实验动物 8 月龄 Wistar 雌性普通级健康大鼠, 体重 250~300 g, 由河南医科大学实验动物中心提供(河南省医学实验动物管理委员会实验动物合格证号 20010)。

1.2 实验药物 乙烯雌酚片: 口服雌激素类药物, 北京益民制药厂生产, 批号 00012, 每片 1 mg, 使用前用蒸馏水配制成 0.01 mg/ml 的药液灌胃。增骨丸(淫羊藿 30 g、狗脊 15 g、骨碎补 15 g、黄芪 25 g、木香 10 g、鸡血藤 15 g、桃仁 10 g、丹参 15 g、三七 3 g、萆 15 g)煎液: 由甘肃省中医院药剂科制备, 常规煎煮, 减压浓缩, 药液含生药浓度 2.67 g/ml。

1.3 造模方法 将 48 只实验动物根据随机数字表法随机分为 6 组, 即正常对照组、模型组、乙烯雌酚组和 3 种不同浓度大鼠增骨丸组。每组 8 只, 各组均以 2.5% 的硫喷妥钠 1.2 ml/kg 腹腔注射大鼠麻醉, 乙烯雌酚组、模型组及高、中、低浓度中药组均摘除双侧卵巢, 正常对照组仅摘除大小相同的一段肠系膜, 术后均给以青霉素 5×10^4 单位肌肉注射, 每日 1 次, 连用 5 d。

1.4 饲养及给药途径 自术后 1 周开始灌胃给药。模型组、正常对照组每天给以蒸馏水 6.7 ml/kg 灌胃, 每周 6 次; 乙烯雌酚组以乙烯雌酚混悬液 6.7 ml/kg 灌胃, 每周 6 次; 高浓度组以增骨丸煎液 6.7 ml/kg 灌胃, 每周 6 次; 中浓度组将原煎液稀释 1 倍后以 6.7 ml/kg 灌胃, 每周 6 次; 低浓度组将原煎液稀释 2 倍后以 6.7 ml/kg 灌胃, 每周 6 次。各组大鼠分笼饲养, 控制饮食, 自由摄水, 动物房温度保持在 19~24 °C, 湿度为 40%。

1.5 样品收集及处理 用药满 3 个月后处死动物, 无菌条件下完整取出大鼠右侧股骨, 剔净软组织, 用无菌生理盐水纱布包裹, 置于消毒的输液袋中, 分开包装, 标明不同的组数及个数, 然后在无菌条件下用线锯截取 1.5 cm, 用 1 ml PBS 液将骨髓冲入 DEPC 处理过的试管中, 用吸管反复吹打后, 1 000 r/min 离心 30 min, 置于 -80 °C 低温冰箱中备用。

1.6 实验方法 采用放免法及双抗体夹心 ELISA 法分别测定骨髓上清中 IGF-1 和 IL-1 β 的含量, 操作程序严格按照试剂盒说明进行。

1.7 数据处理 各组数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 8.0 统计软件包进行数据分析, 采用最小显著差法 (LSD) 进行显著性检验。

2 结果

大鼠去卵巢 3 个月后, 模型组与正常对照组相比, 其骨髓 IGF-1 含量显著降低 ($P < 0.01$), 而 IL-1 β 的含量显著增高 ($P < 0.01$); 阳性对照组, 中药高浓度组、中浓度组与模型组相比, 其骨髓 IGF-1 显著增高 ($P < 0.01$), IL-1 β 显著降低 ($P < 0.05$), 且与正常对照组比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$); 而中药低浓度组与模型组及正常对照组比差异无显著性意义 ($P > 0.05$) (见表 1)。提示去卵巢后, 其骨髓 IGF-1 含量明显降低及 IL-1 β 显著增高, 而雌激素、高、中浓度中药能抑制大鼠卵巢切除后 IGF-1 含量的降低, IL-1 β 的增高, 但药物浓度过低时其作用较弱。

表 1 各组大鼠骨髓 IGF-1 和 IL-1 β 含量 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Content of Insulin like growth factor 1 and Interleukin 1 β in bone medullae of each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	IGF-1 (ng/ml)	IL-1 β (pg/ml)
正常组	40.7806 \pm 3.9129	21.7464 \pm 13.9750
模型组	30.0581 \pm 3.3924**	63.4189 \pm 13.3694**
阳性组	38.0113 \pm 1.8692 $\Delta\Delta$	30.5456 \pm 13.4818 $\Delta\Delta$
高浓度组	39.3986 \pm 2.3611 $\Delta\Delta$	40.0063 \pm 13.3732 Δ
中浓度组	38.7760 \pm 3.1308 $\Delta\Delta$	40.6651 \pm 1.0531 Δ
低浓度组	31.8920 \pm 2.4556	40.8015 \pm 1.0391

注: 与正常对照组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$, $\Delta P < 0.05$ 。

3 讨论

Hayden 等^[3]提出了 IGF 在骨吸收与骨形成耦联中的作用模式: 骨释放的 IGF 可以延迟其分泌, 成骨细胞分泌的部分 IGF 被结合到骨基质中, 并储存于骨中。在破骨细胞骨吸收时释放 IGF, 并作用于破骨细胞前体或成骨细胞, 从而确保特异位点的骨更新。根据此模式储存在骨中的 IGF 的量是有效地保证骨吸收和骨形成耦联的决定因素之一。IGF-1 刺激成骨细胞先祖出现, 促进成骨细胞前体增殖, 使有功能成骨细胞数目增多。有人认为 IGF-1 促有丝分裂效应在与表皮生长因子 (EGF), 成纤维生长因子 (FGF) 协同时才明显, 其主要作用是促进细胞分化, 并通过抑制转录过程, 减少间质中胶原酶 3mRNA 表达, 减少骨胶原降解, 保持骨量^[4]。而 IL-1 β 可直接促进破骨细胞前体细胞的有丝分裂^[5], 间接地介导基质细胞和成骨细胞分泌参与破骨细胞分化所必需的“下游”细胞因子, 如 MCSF, IL-6 等, 从而促进破骨细胞前体的分化, 同时还间接激活成熟破骨细胞, 增强其吸收功能。

从上述实验结果可以看出: 模型大鼠去卵巢后,

骨髓 IGF-1 含量明显降低, IL-1 β 的含量显著增高, 与文献报道相符, 表明造模成功。而阳性对照组, 高、中浓度中药组骨髓 IGF-1 则较模型组明显增高, 而 IL-1 β 较模型组显著降低, 差异具有显著性意义, 与正常对照组比较均无明显差异。而低浓度组骨髓 IGF-1 及 IL-1 β 与模型组及正常组比较均无明显差异。表明乙烯雌酚和高、中浓度中药增骨丸均能够增强去卵巢后骨髓 IGF-1 的合成和分泌, 减弱 IL-1 β 的增加, 即增加骨形成, 降低骨吸收从而维持动态平衡。中药增骨丸高、中浓度在提高 IGF-1、降低 IL-1 β 方面的作用较乙烯雌酚明显, 可能是中药增骨丸不仅有雌激素样作用, 还有生长激素样作用或其他作用。总之, 中药增骨丸在促进骨形成方面有其确切的作用, 其机制之一在于提高 IGF-1, 降低 IL-1 β 的合成和分泌而实现的。至于低浓度中药与高、中浓度中药差别甚大, 而高、中浓度几乎无差别, 可能是在一定的剂量范围内, 其作用与剂量成正比关系, 但

当达到一定浓度后, 其作用随剂量的增加改变不明显, 也可能在中浓度时或在此之前已达到吸收饱和和剂量, 其具体原理和最佳有效剂量还待进一步研究。

参考文献

- 1 Kimble RB, Vannice JL, Bloedow DC, et al. Interleukin 1 receptor antagonist decreases bone loss and bone resorption in ovariectomized rats. *J Clin Invest*, 1994, 93(5): 1959-1967.
- 2 Ralston SH. Analysis of gene expression in human bone biopsies by polymerase chain reaction: evidence for enhanced cytokine expression in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 1994, 9: 883.
- 3 Hayden JM, Mohan S, Baylink DJ. The insulin-like growth factor-1 mediates osteoclast-like cell formation to resorption. *Bone*, 1995, 17(2 Suppl): 93-98.
- 4 Delany A, Rydzied S, Canalis E. Autocrine down regulation of collagenase 3 in rat bone cell cultures by insulin-like growth factor. *J Endocrinology*, 1996, 137: 4665-4670.
- 5 Pfeilschifer J, Chenu C, Bird A, et al. Interleukin 1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclast-like cells in vitro. *J Bone Miner Res*, 1989, 4: 113-118.

(收稿日期: 2004-03-09 本文编辑: 王宏)

• 短篇报道 •

棘突回植全椎板潜行减压治疗腰椎椎管狭窄症

邓强, 赵道洲, 王亚宁, 尤从新, 史文宇
(甘肃省中医院, 甘肃 兰州 730050)

自 1997 年 7 月- 2002 年 10 月, 对 42 例腰椎椎管狭窄症患者, 采用全椎板潜行减压、棘突原位回植治疗, 取得了满意疗效, 现报告如下。

1 临床资料

本组 42 例中男 27 例, 女 15 例; 年龄 40~ 72 岁, 平均 50.2 岁。所有患者均经 X 线、CT 或 MR 检查, 结合临床症状和体征, 确诊为腰椎椎管狭窄症。其中合并腰椎间盘突出症者 17 例, 肺心病 2 例, 冠状动脉粥样硬化心脏病 10 例, 高血压病 3 例, 糖尿病 4 例。所有患者均有: 腰痛病史, 间歇性跛行和腰椎活动受限。

2 治疗方法

患者取俯卧位于腰椎手术弓形架上, 采取连续硬膜外麻醉或局麻, 术中用 1: 1 000 盐酸肾上腺素生理盐水行伤口局部注射, 以减少术中出血, 取病变椎后正中切口。如 L₃- L₅ 椎管狭窄, 取 L₄ 上缘切口, 向上连同棘上韧带、棘突、棘间韧带、棘突基底部翻起, 行全椎板切除, 潜行椎管扩大, 术后原位回植棘突, 并加以缝合。术后常规放置引流, 72 h 内无渗血拔出。并常规使用类固醇激素及脱水剂 3 d, 抗生素 1 周。术后第 2 天行功能锻炼。10~ 14 d 拆线, 3 周后腰部保护, 下床活动。术后避免重体力劳动或持续弯腰工作。

3 治疗结果

所有患者随访 6~ 18 个月, 疗效标准以 1994 年中华骨科学会脊柱组腰背部手术评价标准[中国脊柱脊髓杂志, 1999, 9(6): 354]: 优, 腰痛消失, 拉赛格征转阴, 日常生活和工作正常; 良, 腰腿痛减轻, 日常生活和工作基本不受限, 但不能负重活动; 可, 正常生活, 不能参加工作; 差, 症状加重或无效。本组优 25 例, 良 13 例, 可 4 例, 差 0 例, 优良率为 90.5%。

4 讨论

理想的腰椎椎管手术应具备减压彻底, 组织损伤小, 保持或重建腰椎稳定性 3 个基本条件[中华骨科杂志, 2002, 22(8): 509]。我科采用腰椎后正中入路、棘突基底部切断, 手术时牵向一侧, 以潜行手术扩大椎管, 切除黄韧带、退变的椎间盘。但不必全部切除上下椎板部, 用有限的创伤治疗全部病变。自基底部切除棘突目的是保证在行椎管潜行减压时的手术视野清晰, 术后原位回植, 使脊柱后结构的稳定性得以保证, 达到治疗的目的。

手术是否达到彻底减压, 我们的体会是以神经根自由活动、同时 8 号橡胶管能够上下顺利穿入硬膜外。在扩大骨性管道时切除的小关节突关节不能超过 1/3, 这也是保证脊柱稳定的关键所在。

(收稿日期: 2003-10-24 本文编辑: 王宏)