

# 豚鼠原发性骨关节炎的生化研究

蓝旭<sup>1</sup> 刘雪梅<sup>1</sup> 葛宝丰<sup>1</sup> 许建中<sup>2</sup>

(1. 兰州军区总医院骨科研究所, 甘肃 兰州 730050; 2 第三军医大学西南医院, 重庆)

**【摘要】** 目的 动态观察豚鼠关节软骨降解的形态学改变, 监测其血液和软骨生化指标, 探讨骨性关节炎早期病变机制。方法 选用 Hartley 雌性豚鼠 30 只, 分为出生后 1、3、7 月龄, 每组各 10 只。观察豚鼠膝关节软骨降解情况, 测定其血清蛋白多糖和雌二醇水平, 取胫骨平台软骨测定羟脯氨酸、糖醛酸含量及含水率。结果 3 个月组关节软骨即有严重降解。豚鼠的雌二醇水平和软骨含水率随年龄的增长而升高。而血清蛋白多糖和软骨糖醛酸含量随年龄的增长而下降, 各组间差异非常显著 ( $P < 0.01$ )。软骨羟脯氨酸含量各时间段未见显著差别。结论 原发性骨性关节炎血清及软骨生化指标随年龄增高改变明显。雌激素代谢可能与原发性骨关节炎的发病机制有关。

**【关键词】** 骨关节炎 膝关节 软骨

**Observation on Biochemical Features of Primary Osteoarthritis of Guinea Pigs** LAN Xu, LIU Xue mei, GE Baofeng, et al. General Hospital of Lanzhou Military a( Gansu Lanzhou, 730050)

**【Abstract】 Objective** To investigate the biochemical changes of primary osteoarthritis of the knee joint of guinea pigs and study its initial pathogenesis. **Methods** 30 female Hartley guinea pigs were divided into postnatal 1, 3 and 7 months groups with 10 animals in each group. The degeneration of knee joint cartilage was observed. The proteoglycan (PG) and estradiol (ET) in serum were measured and the contents of hydroxyproline (HOP), uronic acid (UA) and water ratio (WR) in articular cartilage were determined. **Results** Remarkable degeneration of knee joint cartilage was seen in guinea pigs of 3 months old. The level of serum ET and cartilage WR increased with age, while the value of serum PG and cartilage UA decreased with age. The content of HOP had no significant difference among 3 groups. **Conclusion** Biochemical features of primary osteoarthritis in serum and cartilage changed significantly with age. Estradiol metabolism may attribute to the pathogenesis of primary osteoarthritis.

**【Key Words】** Osteochondritis Knee joint Cartilage

原发性骨性关节炎(OA)的实质是软骨退行性改变, 包括软骨结构及生化成份的改变<sup>[1,2]</sup>。研究表明, Hartley 豚鼠软骨的降解与人类 OA 的发展非常相似, 且 OA 的发生可能与雌性激素有关<sup>[3]</sup>。本实验选用不同月龄 3 组雌性豚鼠, 观察其膝关节软骨形态学变化, 监测其血清及软骨生化指标的动态改变, 以期对 OA 早期发病机制进行探讨。

## 1 材料与方 法

**1.1 试剂和仪器** 羟脯氨酸标准品 (Sigma), 蛋白多糖和雌二醇 ELISA 试剂盒 (Sigma), 紫外分光光度计 (美国), 十万分之一天平 (瑞士), 酶联免疫检测仪 (国产)。

**1.2 实验动物** 选用雌性 Hartley 豚鼠 30 只 (卫生部兰州生物制品研究所)。按出生月龄分组: (1) 1 月组 (幼年), 体重  $225.6 \pm 12.7g$ ; (2) 3 月组 (体成熟), 体重  $578.6 \pm 48.3g$ ; (3) 7 月组 (成年), 体重  $550.2 \pm 42.5g$ 。每组 10 只, 均在达到分组月龄后一周内处死取材。

**1.3 实验方法** (1) 经股动脉抽取全血, 在 4 小时内离心, 取上清液, 置于  $-20^{\circ}C$  低温冰箱保存。ELISA 定量测定<sup>[4]</sup>豚鼠血清蛋白多糖和雌二醇浓度。蛋白多糖为抗人 GI 区单抗, 雌二醇为兔抗雌二醇多抗。免疫化学原理分别为间接夹心法和固相二抗液相竞争抑制法。(2) 处死豚鼠后立即取下左右

腿膝关节软骨及胫骨平台, 置生理盐水中, 观察大体形态。取胫骨平台全层软骨, 用滤纸吸干其表面水份, 精确称取湿重。丙酮脱水后在真空干燥器中室温下干燥至恒重, 精确称其干重, 计算含水率。干燥软骨片用木瓜酶消化, 取一半用 Reddy 法<sup>[5]</sup>测羟脯氨酸含量, 另一半用 Suzuki 法<sup>[6]</sup>测糖醛酸含量。(3) 所得数据用均数士标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 作组间  $t$  检验。

## 2 结果

**2.1 大体形态观察** 1 月组豚鼠软骨面光滑, 平坦而有光泽, 呈白色透明状。3、7 月组所有豚鼠关节面粗糙, 中央呈现小颗粒并有轻度凹陷, 软骨面无光泽, 干燥呈微黄色。

**2.2 血清生化指标测定** 蛋白多糖水平随年龄增长明显下降, 3 月组与 1 月组, 7 月组与 3 月组相比, 差异非常显著 ( $P < 0.01$ )。雌二醇水平随年龄增长而升高, 3 月组与 1 月组相比未见明显差异 ( $P > 0.05$ ), 7 月组与 3 月组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

**2.3 软骨生化指标测定** 各时间段羟脯氨酸含量无明显差别。糖醛酸含量随年龄增长明显下降, 3 月组与 1 月组, 7 月组与 3 月组相比, 差异非常显著 ( $P < 0.01$ )。含水率随年龄增长而升高, 3 月组与 1 月组相比未见明显差异 ( $P > 0.05$ ), 7 月组与 3 月组相比, 差异显著 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

表 1 血清生化指标的比较( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	蛋白多糖( $\mu\text{g/ml}$ )	雌二醇( $\text{pg/ml}$ )
1 月组	5.008 $\pm$ 0.702* <sup>*</sup>	129.67 $\pm$ 22.53
3 月组	1.205 $\pm$ 0.218	132.25 $\pm$ 25.31
7 月组	0.716 $\pm$ 0.197* <sup>*</sup>	178.45 $\pm$ 21.72*

注:与 3 月组比较,\* $P < 0.05$ ,\*<sup>\*</sup> $P < 0.01$

表 2 软骨生化指标的比较( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	羟脯氨酸( $\mu\text{g/ml}$ )	糖醛酸( $\mu\text{g/ml}$ )	含水率(%)
1 月组	84.96 $\pm$ 4.67	78.16 $\pm$ 5.39* <sup>*</sup>	60.57 $\pm$ 2.18
3 月组	83.77 $\pm$ 5.28	69.35 $\pm$ 3.62	62.59 $\pm$ 3.12
7 月组	82.51 $\pm$ 3.79	60.07 $\pm$ 5.46* <sup>*</sup>	69.87 $\pm$ 2.62*

注:与 3 月组比较,\* $P < 0.05$ ,\*<sup>\*</sup> $P < 0.01$

### 3 讨论

研究表明蛋白多糖是软骨代谢的特异指标<sup>[7]</sup>。OA 早期变化为软骨中蛋白多糖减少,其含量的下降与病变严重程度成正比<sup>[8]</sup>。我们使用抗人 GI 区单抗,结果表明豚鼠血清中蛋白多糖 GI 区随年龄的增长明显降低,并且同软骨形态学改变是同步的。Woessner 等<sup>[8]</sup>对兔与狗的实验证明,雌激素抑制剂可减少兔关节软骨破坏的面积和深度。Rajabi 等<sup>[9]</sup>证明,在体外实验及豚鼠分娩时使用雌激素可刺激 II 型胶原的分解增加。本实验表明,豚鼠血清中雌激素水平随年龄的增长而升高,提示整体雌激素水平的升高,可能是引起或加速 OA 进展的原因之一。

糖醛酸是蛋白多糖的重要组成部分,又是重要的分解代谢产物。检测糖醛酸含量可间接反应基质中蛋白多糖的含量。本实验表明,软骨内糖醛酸含量随年龄段增长明显下降。胶原由于自身特殊稳定的三联螺旋结构,不易被分解,因而代谢缓慢,这可能是 OA 软骨中胶原含量变化较小的原因。OA 软骨含水率增加,推测是由于蛋白多糖分解产生了更多小分子单位,增加了软骨内的分子浓度,从而导致高渗吸水。此

外,也可能由于蛋白多糖的丢失,导致大量亲水性极强的胶原凝胶形成,从而增加了软骨内含水量。本实验选用雌性 Hartley 豚鼠骨性关节炎模型,其软骨羟脯氨酸、糖醛酸含量及含水率随年龄段的动态变化,基本反应了 OA 软骨的生化变化规律。

### 参考文献

- [1] Zhang Y, McAlindon TE, Hannan MT, et al. Estrogen replacement therapy and worsening of radiographic knee osteoarthritis: the Framingham Study. *Arthritis Rheum*, 1998, 41(10): 1867-1873.
- [2] Lohmander LS, Yoshihara Y, Roos H, et al. Procollagen II C-propeptide in joint fluid: changes in concentration with age, time after knee injury, and osteoarthritis. *J Rheumatol*, 1996, 23(10): 1765-1769.
- [3] Bendele AM, Human JF. Spontaneous cartilage degeneration in guinea pigs. *Arthritis Rheum*, 1988, 31(4): 561-565.
- [4] 高天祥, 韩世杰. 临床免疫学与实验技术. 济南: 山东科学技术出版社, 1995. 25-28.
- [5] Reddy GK, Enwemeka CS. A simplified method for the analysis of hydroxyproline in biological tissues. *Clin Biochem*, 1996, 29(3): 225-229.
- [6] Suzuki H, Furukawa M, Takasaka T. Quantitative uronic acid analysis of the otoconial membrane of the guinea pig. *Hear Res*, 1997, 114(1-2): 223-228.
- [7] Cs Szabo G, Roughley PJ, Plas AH, et al. Large and small proteoglycans of osteoarthritic and rheumatoid articular cartilage. *Arthritis Rheum*, 1995, 38(5): 660-668.
- [8] Woessner JF, Howell DS. Joint cartilage degradation. 1st. ed. New York: Marcel Dekker Inc, 1993. 475-490.
- [9] Rajabi MR, Dodeg Gr, Solomon S. Immunohistochemical and Immunohistochemical evidence of osteogen mediated collagen lysis as a mechanism of cervical dilatation in the guinea pig at parturition. *Endocrinology*, 1991, 128(1): 371-378.

(收稿: 1999 12 14 修回: 2000 08 03 编辑: 李为农)

## • 短篇报道 •

### 三宝风湿液治疗顽固风湿性骨关节炎

徐玉伟 胡兴伟

(七星农场职工医院, 黑龙江 佳木斯 156300)

我院自 1994~1997 年采用自制三宝风湿液治疗顽固风湿性骨关节炎 159 例, 取得很好疗效, 现报道如下。

#### 1 临床资料

本组 159 例中男 92 例, 女 67 例; 均为病程 1 年以上, 经多方中西治疗无效者。

#### 2 治疗方法

方药组成: 炙川乌 1kg, 炙草乌 1kg, 附子 1kg, 两头尖 1kg, 马钱子 1kg, 雷公藤 1kg, 青风藤 1kg, 闹羊花 1kg, 洋金花 0.25kg, 麻黄 1kg, 秦艽 1kg, 徐长卿 1kg, 防己 1kg, 肉桂 1kg, 金钱蛇 50 条, 白花

蛇 1kg, 全蝎 1kg, 蜂房 1kg, 蜈蚣 200 条, 地龙 1kg, 土虫 1kg, 蟾酥 0.05kg, 三七 2kg, 丹参 1kg, 川芎 1kg, 红花 1kg, 没药 1kg, 当归 1kg, 血竭 0.5kg, 白术 1kg, 苍术 1kg, 刺五加 1kg, 木瓜 1kg, 羌活 1kg, 独活 1kg, 白芷 1kg, 天麻 1kg, 巴戟 1kg, 杜仲 1kg, 续断 1kg, 蛇床子 1kg, 年健 1kg, 山萸肉 1kg, 仙灵脾 1kg, 甘草 1kg, 蜂蜜 3kg。配制方法: 将上药(除蜂蜜)粉碎过 40 目筛, 置入 50°~60° 白酒 150kg 中浸泡 15 天, 再取上清液 75kg 加入蜂蜜 3kg 静置沉淀 7 天, 再取上清液 60kg 静置沉淀 8 天, 分装入 250ml 消

毒瓶内密封备用。用药方法: 所有患者都服用三宝风湿液, 每次 25ml, 每日两次饭后服用, 30 天为一疗程。治疗期间不加用其它内服、外用的一切药物、针灸或按摩及理疗。

#### 3 治疗结果

治愈 102 例: 临床症状全部消失, 患者恢复劳动能力, 于一年内无复发。有效 46 例: 临床症状基本消失, 能从事一般体力活动, 于一年内有复发, 但持续服药仍有效; 无效 11 例: 临床症状无明显减轻, 不能从事一般体力劳动。

(编辑: 李为农)