

DOI:10.16781/j.0258-879x.2018.02.0165

· 论 著 ·

二仙汤抗骨质疏松有效组分对维甲酸致骨丢失大鼠的影响

张建花^{1,2}, 沈 毅^{1,3}, 何玉琼¹, 韩 婷¹, 秦路平^{1*}, 张巧艳^{1*}

1. 第二军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433
2. 佳木斯大学药学院生药学教研室, 佳木斯 154007
3. 福建中医药大学药学院, 福州 350122

[摘要] **目的** 探讨二仙汤抗骨质疏松有效组分对维甲酸致骨质疏松大鼠的影响。**方法** 将 60 只雌性 SD 大鼠随机分为空白对照组、模型组、戊酸雌二醇 (0.2 mg/kg, 阳性对照) 组和二仙汤抗骨质疏松有效组分低、中、高剂量 (50、100、200 mg/kg) 组。除空白对照组外, 各组大鼠连续 14 d 灌胃给予维甲酸 [70 mg/(kg·d)] 诱导骨质疏松症。造模结束后, 按分组设计方案对各组大鼠每天灌胃给药 (10 mL/kg), 连续 28 d。用 ELISA 试剂盒检测大鼠血清和尿液的生物化学指标, 显微 CT 分析股骨远端骨密度和骨小梁微结构的变化。**结果** 二仙汤抗骨质疏松有效组分可降低维甲酸致骨质疏松大鼠尿液钙的含量, 以及血清碱性磷酸酶和抗酒石酸性磷酸酶的活性 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 增加骨密度 (高剂量组 $P<0.05$), 改善骨小梁微结构的退化。**结论** 二仙汤抗骨质疏松有效组分可减少维甲酸致骨质疏松大鼠的骨丢失和骨组织微结构的退化。

[关键词] 二仙汤; 有效成分; 骨质疏松; 视黄酸; 动物模型

[中图分类号] R 932 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)02-0165-06

Effect of antiosteoporotic active fraction from *Er-Xian* Decoction on retinoic acid-induced bone loss in rats

ZHANG Jian-hua^{1,2}, SHEN Yi^{1,3}, HE Yu-qiong¹, HAN Ting¹, QIN Lu-ping^{1*}, ZHANG Qiao-yan^{1*}

1. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, Heilongjiang, China
3. School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, Fujian, China

[Abstract] **Objective** To explore the effect of antiosteoporotic active fraction from *Er-Xian* Decoction (EXD) on retinoic acid-induced osteoporosis in rats. **Methods** Sixty female SD rats were randomly divided into normal control group, model group, estradiol valerate (0.2 mg/kg) group and antiosteoporotic active fraction from EXD low-, middle- and high-dose groups (50, 100, 200 mg/kg). Except for the rats of normal group, the others were intragastrically treated with 70 mg/(kg·d) of retinoic acid for 14 days to induce osteoporosis. Then the rats were treated with estradiol valerate or antiosteoporotic active fraction from EXD (10 mL/kg) for 28 days. The biochemical parameters in serum and urine of rats were detected by ELISA. The bone mineral density and trabecular bone microstructure of distal femur were analyzed with micro-CT. **Results** The antiosteoporotic active fraction from EXD significantly decreased calcium content in urine and activities of alkaline phosphatase and tartrate-resistant acid phosphatase in the sera of retinoic acid-induced osteoporotic rats ($P<0.05$, $P<0.01$). High-dose of antiosteoporotic active fraction from EXD significantly increased bone mineral density of distal femur ($P<0.05$). And the antiosteoporotic active fraction from EXD improved the trabecular bone microstructure of distal femur in retinoic acid-induced osteoporotic rats. **Conclusion** Antiosteoporotic active fraction from EXD can reduce bone loss and deterioration of bone microstructure in retinoic acid-induced osteoporotic rats.

[Key words] *Er-Xian* Decoction; active ingredient; osteoporosis; retinoic acid; animal model

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(2): 165-170]

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是以骨量减少、骨组织微结构退化以及易发生骨折为特征的

[收稿日期] 2017-11-10 [接受日期] 2017-12-18

[基金项目] 国家自然科学基金(81173191), 上海市科技支撑计划项目(12401900702). Supported by National Natural Science Foundation of China (81173191) and Supporting Project of Shanghai Science and Technology Commission (12401900702).

[作者简介] 张建花, 硕士生. E-mail: 582622051@qq.com

*通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81871309, E-mail: qinluping@126.com; Tel: 021-81871303, E-mail: zqy1965@163.com

老年疾病^[1]。随着人类社会发展和人口老龄化加快,OP导致的老年人髌骨骨折的发生率逐年升高,严重威胁老年人的生命健康和生活质量^[2]。OP的发生与雌激素缺失、衰老导致的氧化应激和生活方式紧密相关,并受多个代谢通路的调控^[3]。

中药复方具有多成分和多靶点综合调节机体功能的特点,临床上用于防治OP取得了显著疗效,具有良好的应用前景^[4]。二仙汤(*Er-Xian Decoction*)是张伯讷教授在20世纪50年代创制的著名方剂,由仙茅、淫羊藿、黄柏、巴戟天、当归和知母组成,具有温肾益精、滋阴降火的双重调节功能,临床上用于防治妇女更年期综合征和OP^[5]。本课题组前期研究了二仙汤对去卵巢大鼠的抗骨质疏松作用,通过在成骨细胞和破骨细胞中的导向活性分离获得了二仙汤调控骨代谢的有效成分,并以其有效成分为指标富集制备了二仙汤抗骨质疏松的有效组分^[6-7]。本实验通过观察二仙汤抗骨质疏松有效组分对维甲酸致骨质疏松模型大鼠的影响,明确其抗骨质疏松作用,为其临床应用和新药开发提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 仪器、试剂与动物 PL3001-S型电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;W2-100SP型旋转蒸发仪,上海申生科技有限公司;DHG-9145A型电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司;ELx800型连续波长酶标仪,美国Bio-Tek公司;eXplore Locus SP型显微CT仪,美国GE公司。

戊酸雌二醇片(*estradiol valeratse*, E₂V;批号092A2),拜耳医药保健有限公司广州分公司;维甲酸(批号20140902,纯度100.08%),上海邦成化工有限公司;ELISA试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

3月龄SD雌性大鼠60只,体质量(250±10)g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2013-0016。在温度(24.0±0.5)℃、湿度45%~50%、通风良好的清洁级实验室喂养,自由饮水及进食,适应性喂养7d。

1.2 药物制备与配制

1.2.1 药物制备 二仙汤处方6味中药饮片购于

上海雷允上药业有限公司,并经张巧艳教授鉴定分别为中药淫羊藿、仙茅、知母、黄柏、巴戟天和当归。6味中药饮片按处方比例混匀,按每克药材加8mL50%乙醇提取3次,每次2h,过滤,合并滤液,即为粗提液。提取液减压浓缩到相对密度为1.23g/mL,过滤,滤液加蒸馏水稀释到相对密度为1.08g/mL,即为待上柱纯化样品液。将样品液按1个树脂床体积倍数(BV)的上样量通入装有ZTC-1大孔树脂的色谱柱中,依次用水、50%乙醇和95%乙醇洗脱,收集50%乙醇洗脱部分,减压浓缩成相对密度为1.25g/mL的浸膏,60℃干燥,粉碎,得棕黄色粉末,即为二仙汤抗骨质疏松有效组分。应用本课题组建立的HPLC含量测定方法分析主要有效成分的含量,结果表明二仙汤抗骨质疏松有效组分中各组分的百分浓度如下:仙茅苷0.87%,朝藿定B3.91%,淫羊藿苷4.05%,新芒果苷8.22%,芒果苷3.62%,阿魏酸0.33%,盐酸巴马汀2.01%,盐酸小檗碱2.96%,水晶兰苷0.06%,去乙酰基车叶草苷酸0.08%,知母皂苷BII17.43%。

1.2.2 溶液配制 精密称取维甲酸,用0.5%羧甲基纤维素钠(*sodium carboxyl methyl cellulose*, CMC-Na)混悬溶液配制成质量浓度为7.0mg/mL的溶液。

精密称取二仙汤抗骨质疏松有效组分,用0.5%CMC-Na混悬溶液配制成质量浓度分别为5.0、10.0和20.0mg/mL的溶液。

取E₂V片,用0.5%CMC-Na混悬溶液配制成E₂V质量浓度为0.02mg/mL的溶液。

1.3 动物分组、造模与给药 按体质量将60只SD大鼠随机分成6组,分别为空白对照组、模型组、阳性对照组(E₂V0.2mg/kg)和二仙汤抗骨质疏松有效组分低、中、高剂量组(50、100、200mg/kg),每组10只。除空白对照组外,其余各组大鼠每天按70mg/kg灌胃给予维甲酸溶液,连续14d,建立骨质疏松模型;空白对照组大鼠灌胃给予等量0.5%CMC-Na混悬溶液。从第15天开始,每天给予大鼠灌胃给药剂量为10mL/kg,每天1次,连续28d;空白对照组与模型组给予等量0.5%CMC-Na混悬溶液。每周称量大鼠体质量1次,并根据体质量调整给药剂量。

1.4 标本采集与检测

1.4.1 尿液生物化学指标 处死前将各组大鼠置于代谢笼中, 禁食不禁水, 收集大鼠的尿液, 按照试剂盒说明书检测尿钙 (calcium in urine, U-Ca) 和尿肌酐 (creatinine in urine, U-Crea) 的水平。

1.4.2 血清生物化学指标 用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠, 经腹主动脉取血, 以 $6\ 853.6\times g$ 离心 10 min, 分离血清, 按照试剂盒说明书检测血清钙 (calcium in serum, S-Ca)、血清磷 (phosphatase in serum, S-P) 的含量, 以及碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、骨钙素 (osteocalcin, OCN) 和抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP) 的活性。

1.4.3 骨密度及骨组织形态计量学 取大鼠右侧后肢股骨用 10% 甲醛溶液固定 2 周后, 剔除股骨上剩余的肌肉, 用显微 CT 仪进行骨密度及骨组织形态计量学测定, 并用 Micview V2.1.2 三维重建处理软件和 ABA 专用骨骼分析软件进行数据处理。

仪器设置参数如下: (1) 扫描协议, 001 标本, 即 largetube_14 μm _120 min_ss; (2) 扫描参数, 扫描分辨率 14 μm , 旋转角度 360°, 旋转角度增量 0.4°, 电压 80 kV, 电流 80 μA , 曝光时

间 2 960 ms, 帧平均数为 4, 像素组合为 1 \times 1;

(3) 图像参数, 原始尺寸 16.897 mm \times 13.442 mm \times 6.474 mm, 分辨率 29 μm , 16 位。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 21.0 软件进行数据分析。实验结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 组间两两比较采用 *t* 检验。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 二仙汤抗骨质疏松有效组分对大鼠血清和尿液中钙、磷含量的影响 如表 1 所示, 与空白对照组大鼠比较, 模型组、二仙汤抗骨质疏松有效组分各剂量组和 E₂V 组大鼠 S-Ca 含量均没有显著变化; 模型组大鼠 S-P 含量降低 ($P<0.01$), 低剂量和高剂量二仙汤抗骨质疏松有效组分均可提高大鼠 S-P 含量 ($P<0.05$, $P<0.01$), E₂V 对大鼠 S-P 的含量没有显著影响; 模型组大鼠 U-Ca 含量和 U-Ca/U-Crea 值升高 (P 均 <0.05), 各剂量二仙汤抗骨质疏松有效组分和 E₂V 均可降低大鼠 U-Ca 含量和 U-Ca/U-Crea 值 (P 均 <0.05), 表明二仙汤抗骨质疏松有效组分可降低维甲酸致骨质疏松大鼠的骨丢失。

表 1 各组大鼠血清和尿液中钙、磷的含量

Tab 1 Contents of calcium and phosphorus in serum and urine of rats in each group

Group	<i>n</i> =10, $\bar{x}\pm s$			
	S-Ca $c_B/(mmol\cdot L^{-1})$	S-P $c_B/(mmol\cdot L^{-1})$	U-Ca $c_B/(mmol\cdot L^{-1})$	U-Ca/U-Crea
Control	6.66 \pm 0.76	8.00 \pm 1.34**	0.23 \pm 0.21*	0.17 \pm 0.11*
Model	6.64 \pm 0.68	6.24 \pm 1.34	0.48 \pm 0.30	0.45 \pm 0.46
E ₂ V (0.2 mg/kg)	6.61 \pm 0.42	6.84 \pm 1.87	0.14 \pm 0.12*	0.13 \pm 0.06*
EXD-L (50 mg/kg)	6.16 \pm 0.96	7.65 \pm 0.95*	0.26 \pm 0.15*	0.10 \pm 0.06*
EXD-M (100 mg/kg)	6.81 \pm 0.93	7.12 \pm 1.43	0.19 \pm 0.15*	0.16 \pm 0.16*
EXD-H (200 mg/kg)	6.45 \pm 0.61	8.19 \pm 1.46**	0.14 \pm 0.12*	0.14 \pm 0.15*

E₂V: Estradiol valeratse; EXD-L: *Er-Xian* Decoction low-dose; EXD-M: *Er-Xian* Decoction middle-dose; EXD-H: *Er-Xian* Decoction high-dose; S-Ca: Calcium in serum; S-P: Phosphatase in serum; U-Ca: Calcium in urine; U-Crea: Creatinine in urine. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs model group

2.2 二仙汤抗骨质疏松有效组分对大鼠血清骨代谢生物化学指标的影响 如表 2 所示, 与空白对照组大鼠比较, 模型组、二仙汤抗骨质疏松有效组分各剂量组和 E₂V 组大鼠血清 OCN 活性没有显著变化; 模型组大鼠血清 ALP 和 TRAP 活性升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 各剂量二仙汤抗骨质疏松有效组分和 E₂V 均可降低大鼠血清 ALP 和 TRAP 活性 ($P<0.05$,

$P<0.01$), 表明二仙汤抗骨质疏松有效组分可调控维甲酸致骨质疏松大鼠的骨代谢。

2.3 二仙汤抗骨质疏松有效组分对大鼠股骨骨密度和骨矿物质含量的影响 如表 3 所示, 与空白对照组大鼠比较, 模型组大鼠股骨的骨密度和骨矿物质含量降低 ($P<0.01$, $P<0.05$), 二仙汤抗骨质疏松有效组分和 E₂V 均可增加股骨的骨密度和骨矿物质含量, 在高剂量时与模型组比较差异均有统

计学意义 (P 均 <0.05)。

表 2 各组大鼠血清骨代谢生物化学指标

Tab 2 Biochemical parameters related with bone metabolism in serum of rats in each group

Group	$n=10, \bar{x} \pm s$		
	OCN $\rho_B/(ng \cdot mL^{-1})$	ALP $z_B/(U \cdot L^{-1})$	TRAP $z_B/(U \cdot mL^{-1})$
Control	1.56 \pm 0.37	73.5 \pm 10.69*	7.76 \pm 1.31**
Model	1.61 \pm 0.43	199.40 \pm 156.41	12.90 \pm 2.86
E ₂ V (0.2 mg/kg)	1.57 \pm 0.37	84.75 \pm 19.29*	9.02 \pm 2.20**
EXD-L (50 mg/kg)	1.68 \pm 0.28	100.88 \pm 36.80*	8.68 \pm 2.43**
EXD-M (100 mg/kg)	1.36 \pm 0.35	94.88 \pm 33.96*	7.34 \pm 1.27**
EXD-H (200 mg/kg)	1.66 \pm 0.27	122.62 \pm 38.99*	6.18 \pm 0.92**

E₂V: Estradiol valeratse; EXD-L: *Er-Xian* Decoction low-dose; EXD-M: *Er-Xian* Decoction middle-dose; EXD-H: *Er-Xian* Decoction high-dose; OCN: Osteocalcin; ALP: Alkaline phosphatase; TRAP: Tartrate-resistant acid phosphatase. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs model group

表 3 各组大鼠股骨的骨密度和骨矿物质含量

Tab 3 Bone mineral density and bone mineral content in femur of rats in each group

Group	$n=10, \bar{x} \pm s$	
	BMD $\rho_B/(mg \cdot m^{-3})$	BMC m/mg
Control	292.50 \pm 26.41**	2.83 \pm 0.53*
Model	196.03 \pm 53.32	1.79 \pm 0.50
E ₂ V (0.2 mg/kg)	251.28 \pm 69.28	2.31 \pm 0.63
EXD-L (50 mg/kg)	227.12 \pm 30.31	2.09 \pm 0.29
EXD-M (100 mg/kg)	253.35 \pm 43.16	2.34 \pm 0.40
EXD-H (200 mg/kg)	280.20 \pm 51.95*	2.55 \pm 0.48*

E₂V: Estradiol valeratse; EXD-L: *Er-Xian* Decoction low-dose; EXD-M: *Er-Xian* Decoction middle-dose; EXD-H: *Er-Xian* Decoction high-dose; BMD: Bone mineral density; BMC: Bone mineral content. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs model group

2.4 二仙汤抗骨质疏松有效组分对大鼠股骨骨组织形态计量学参数的影响 见图 1。与空白对照组大鼠比较,模型组大鼠皮质骨变薄,松质骨骨小梁稀疏,骨小梁间隙增加,骨丢失严重。二仙汤抗骨质疏松有效组分和 E₂V 能够减缓维甲酸致骨质疏松大鼠的皮质骨减少,抑制大鼠骨小梁微结构的退化,降低骨小梁间隙,表明二仙汤抗骨质疏松有效组分可减轻维甲酸致骨质疏松大鼠骨组织微结构的退化。

如表 4 所示,与空白对照组比较,模型组大鼠股骨的骨组织形态计量参数显著改变,骨体积分数 (BV/TV)、骨小梁数量 (Tb.N.) 和骨小梁厚度 (Tb.Th.) 减少 ($P<0.01$, $P<0.05$),骨表面积与骨体积比值 (BS/BV) 和骨小梁分离度 (Tb.Sp.) 增加 ($P<0.05$, $P<0.01$)。二仙汤

抗骨质疏松有效组分和 E₂V 均可增加维甲酸致骨质疏松大鼠股骨 BV/TV、Tb.N. 和 Tb.Th., 降低 BS/BV 和 Tb.Sp., 并且在高剂量时对 BV/TV、Tb.N.、Tb.Sp. 的改善作用与模型组相比差异有统计学意义 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 表明二仙汤抗骨质疏松有效组分可减少维甲酸致骨质疏松大鼠的骨丢失, 改善骨组织的微结构。

3 讨论

中医认为 OP 属于“骨痿”“骨痹”或“腰背痛”的范畴,其病因在于肾精亏虚,故常用补肾填精的方法进行治疗^[8]。二仙汤由温补肾阳的淫羊藿和仙茅等组成,具有雌激素样作用^[9],可不同程度地延缓下丘脑-垂体-性腺轴的衰老,增加去卵巢骨质疏松大鼠股骨的骨密度、胫骨的骨小梁面积百分比和 Tb.Th., 减少 Tb.Sp.^[10]。本课题组以成骨细胞和破骨细胞为模型筛选获得了二仙汤抗骨质疏松的多种有效成分,并富集制备得到了有效组分^[7]。本实验观察了二仙汤抗骨质疏松有效组分对维甲酸致骨质疏松大鼠的作用,结果显示二仙汤抗骨质疏松有效组分可降低维甲酸致骨质疏松大鼠的骨丢失。

维甲酸是维生素 A 的合成衍生物,临床常用于治疗皮肤病和白血病,长期应用可导致骨代谢紊乱,引起骨质破坏和 OP^[11]。给予 3 月龄大鼠 70 mg/kg 维甲酸 2 周可导致大鼠骨量减少,诱发 OP^[12]。有文献报道,大鼠口服维甲酸可造成性腺损伤,使体内雌激素水平下降,骨形成和骨吸收均增加,骨吸收大于骨形成,导致骨丢失和 OP 的发生^[13]。因此,维甲酸和雌激素水平下降引起的 OP

均为高转换型 OP, 可以通过补充雌激素治疗。

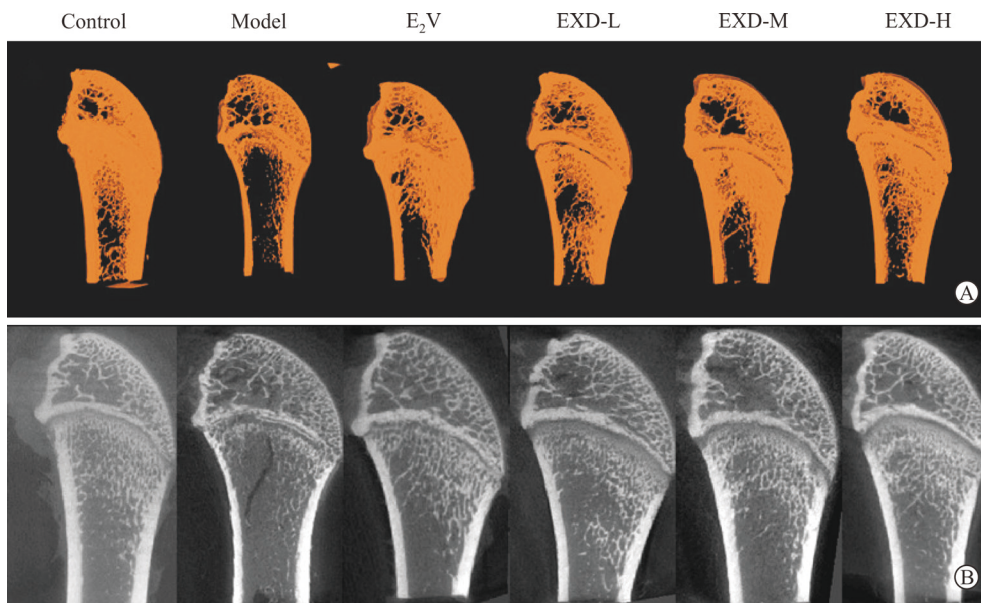


图 1 大鼠股骨横切面的显微 CT 3D 扫描图 (A) 和平面扫描图 (B)

Fig 1 3D scanning (A) and flat scanning (B) photos of femur cross-section of rats using micro-CT

E₂V: Estradiol valeratse; EXD-L: *Er-Xian* Decoction low-dose; EXD-M: *Er-Xian* Decoction middle-dose; EXD-H: *Er-Xian* Decoction high-dose

表 4 各组大鼠股骨骨组织形态计量学参数

Tab 4 Histomorphometric parameters of femur in rats in each group

Group	BV/TV (%)	BS/BV (mm ⁻¹)	Tb.N. (mm ⁻¹)	Tb.Th. d/mm	Tb.Sp. d/mm
Control	0.42 ± 0.06**	21.95 ± 1.65*	4.62 ± 0.69**	0.09 ± 0.01*	0.13 ± 0.03**
Model	0.19 ± 0.09	33.67 ± 11.03	2.78 ± 0.76	0.06 ± 0.02	0.32 ± 0.12
E ₂ V (0.2 mg/kg)	0.30 ± 0.18	27.01 ± 8.38	3.47 ± 0.41	0.08 ± 0.04	0.21 ± 0.07
EXD-L (50 mg/kg)	0.24 ± 0.09	30.04 ± 3.11	3.55 ± 1.12	0.07 ± 0.01	0.24 ± 0.12
EXD-M (100 mg/kg)	0.32 ± 0.11	27.49 ± 4.64	4.21 ± 0.90*	0.07 ± 0.01	0.17 ± 0.07*
EXD-H (200 mg/kg)	0.42 ± 0.13*	23.01 ± 4.23	4.62 ± 0.90**	0.09 ± 0.02	0.14 ± 0.06*

n = 10, $\bar{x} \pm s$

E₂V: Estradiol valeratse; EXD-L: *Er-Xian* Decoction low-dose; EXD-M: *Er-Xian* Decoction middle-dose; EXD-H: *Er-Xian* Decoction high-dose; BV/TV: Bone volume to tissue volume; BS/BV: Bone surface to bone volume; Tb.N.: Trabecular number; Tb.Th.: Trabecular thickness; Tb.Sp.: Trabecular separation. *P < 0.05, **P < 0.01 vs model group

不同研究者发现维甲酸引起骨代谢紊乱的特点不尽一致。吴波等^[14]报道维甲酸对类骨质形成和骨基质钙化无明显影响, 主要是增强破骨细胞的活性与功能, 促进骨吸收。Hotchkiss 等^[15]则发现维甲酸可增加骨形成指标血清 ALP 的活性和骨吸收指标血清 TRAP 的活性, 但他们分析认为血清 ALP 活性升高可能与维甲酸引起肝功能损伤有关, 维甲酸对骨质的破坏作用主要是增加了破骨细胞的骨吸收作用。本实验也发现, 维甲酸可升高大鼠血清

ALP 和 TRAP 的活性, 这与文献报道^[15]的结果一致, 表明维甲酸引起的 OP 也属于高转换型 OP。二仙汤抗骨质疏松有效组分可降低维甲酸致骨质疏松大鼠血清 TRAP 和 ALP 的活性, 表明二仙汤可通过抑制骨的高转换减缓维甲酸致骨质疏松大鼠的骨丢失。

维甲酸诱导大鼠骨质疏松的过程中, 破骨细胞的骨吸收活性增加, 骨基质降解, 骨基质中的钙随着尿液排出体外, U-Ca 含量和 U-Ca/U-Crea 值

升高^[16]。二仙汤抗骨质疏松有效组分可降低维甲酸骨质疏松大鼠 U-Ca 含量和 U-Ca/U-Crea 值,表明二仙汤抗骨质疏松有效组分可抑制维甲酸致骨质疏松大鼠的骨吸收、减少骨丢失。

显微 CT 是一种可全面精确测量骨密度和骨组织微结构参数的新型技术,常用于 OP 和骨关节病的研究及药物抗骨质疏松作用的评价^[17]。应用显微 CT 技术不仅可测定骨组织的骨密度和骨矿物质含量,还可精确测量骨组织形态计量学参数的变化,特别是松质骨中 Tb.N、Tb.Th 和 Tb.Sp. 等^[18]。本实验结果表明,维甲酸可使大鼠的骨密度和骨矿物质含量减少,Tb.Th 降低,骨小梁之间的髓腔宽度增加,二仙汤抗骨质疏松有效组分能够增加骨密度和骨矿物质含量,改善骨质疏松骨的三维结构和骨小梁微结构的退化,增加 Tb.N.,降低 Tb.Sp.,其机制可能是二仙汤抗骨质疏松有效组分通过抑制维甲酸导致的骨高转换,减少骨丢失。这些结果可为二仙汤临床用于防治 OP 及其新药研究开发提供科学依据。

【参考文献】

- [1] RACHNER T D, KHOSLA S, HOFBAUER L C. Osteoporosis: now and the future[J]. *Lancet*, 2011, 377: 1276-1287.
- [2] KHOSLA S, HOFBAUER L C. Osteoporosis treatment: recent developments and ongoing challenges[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017, 5: 898-907.
- [3] WU G, XU R Y, ZHANG P, XIAO T, FU Y, ZHANG Y C, et al. Estrogen regulates stemness and senescence of bone marrow stromal cells to prevent osteoporosis via ER β -SATB2 pathway[J/OL]. *J Cell Physiol*, 2017, 14. doi: 10.1002/jcp.26233. [Epub ahead of print].
- [4] WANG T, LIU Q, TJHIOE W, ZHAO J, LU A, ZHANG G, et al. Therapeutic potential and outlook of alternative medicine for osteoporosis[J]. *Curr Drug Targets*, 2017, 18: 1051-1068.
- [5] 方肇勤,张伯讷,赵伟康,宫斌. 二仙汤及其拆方对老年大鼠前列腺和子宫胞浆、胞核性激素受体含量的影响[J]. *核技术*, 1992, 15: 696-699.
- [6] NIAN H, QIN L P, ZHANG Q Y, ZHENG H C, YU Y, HUANG B K. Antiosteoporotic activity of Er-Xian Decoction, a traditional Chinese herbal formula, in ovariectomized rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 108: 96-102.
- [7] QIN L, HAN T, ZHANG Q, CAO D, NIAN H, RAHMAN K, et al. Antiosteoporotic chemical constituents from Er-Xian Decoction, a traditional Chinese herbal formula[J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 118: 271-279.
- [8] 邓昶,周明旺,付志斌,李盛华. 骨质疏松症的中医病因病机及其治疗进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23: 1105-1111.
- [9] 王大伟,邓秀兰,王继峰,牛建昭. 二仙汤雌激素样作用的实验研究[J]. *北京中医药*, 2008, 27: 728-730.
- [10] WONG K C, LEE K S, LUK H K, WAN H Y, HO C K, ZHANG Y, et al. Er-xian Decoction exerts estrogen-like osteoprotective effects *in vivo* and *in vitro*[J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42: 409-426.
- [11] ORŠOLIĆ N, GOLUŽA E, DIKIĆ D, LISIČIĆ D, SAŠILO K, ROĐAK E, et al. Role of flavonoids on oxidative stress and mineral contents in the retinoic acid-induced bone loss model of rat[J]. *Eur J Nutr*, 2014, 53: 1217-1227.
- [12] 王停,胡军,韩玲. 骨质疏松症中药新药临床前药效学评价思考[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31: 1655-1656.
- [13] 胡彬,李青南,李朝阳,吴铁,黄莲芳,傅玉萍. 维甲酸致雌性大鼠骨代谢变化的实验研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 1997, 3: 12-14.
- [14] 吴波,徐冰,黄添友,王金锐. 维 A 酸致大鼠骨质疏松模型与机理研究[J]. *药学学报*, 1996, 31: 241-245.
- [15] HOTCHKISS C E, LATENDRESSE J, FERGUSON S A. Oral treatment with retinoic acid decreases bone mass in rats[J]. *Comp Med*, 2006, 56: 502-511.
- [16] MENÉNDEZ-GUTIÉRREZ M P, RICOTE M. The multifaceted role of retinoid X receptor in bone remodeling[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74: 2135-2149.
- [17] CLARK D P, BADEA C T. Micro-CT of rodents: state-of-the-art and future perspectives[J]. *Phys Med*, 2014, 30: 619-634.
- [18] HILDEBRAND T, RÜEGSEGGER P. Quantification of bone microarchitecture with the structure model index[J]. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*, 1997, 1: 15-23.

【本文编辑】尹 茶