

# 健骨颗粒对去卵巢骨质疏松模型鼠钙调节激素的影响

林燕萍<sup>1</sup>, 周瑞祥<sup>2</sup>, 冯尔宥<sup>1</sup>, 黄美雅<sup>1</sup>

(1. 福建中医学院骨伤系, 福建 福州 350003; 2. 福建医科大学基础医学院)

**摘要** 目的:探讨健骨颗粒对骨质疏松模型鼠三种主要钙调节激素水平的影响。方法:切除雌性大鼠卵巢建立绝经后骨质疏松症病理模型,分别喂服健骨颗粒、骨松宝和生理盐水,用放射免疫测定法检测血清甲状旁腺激素(PTH)、1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub>[1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]、降钙素(CT)和雌二醇(E<sub>2</sub>)水平。结果:卵巢切除后随着血清 E<sub>2</sub> 水平的下降,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、CT 含量明显下降(P<0.01 或 P<0.05),而 PTH 却显著上升(P<0.01)。用药后健骨颗粒组血清 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、CT 水平显著回升(P<0.01 或 P<0.05),而 PTH 浓度出现下降(P<0.01)。E<sub>2</sub> 与 CT、1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 呈正相关,而与 PTH 呈负相关;PTH 与 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、CT 呈负相关,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 与 CT 呈正相关。结论:健骨颗粒能通过协调骨质疏松模型鼠血清 PTH、1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、CT 三种钙调节激素浓度,改善因 E<sub>2</sub> 下降对骨代谢产生的副作用,这可能是健骨颗粒有效防治骨质疏松症的主要作用机制之一。

**关键词** 骨质疏松,绝经后; 激素; 放射免疫测定; 动物,实验

**Effect of Jiangu Granula on Ca<sup>2+</sup> regulating hormone of ovariectomized rats** LIN Yan-ping<sup>\*</sup>, ZHOU Rui-xiang, FENG Er-you, HUANG Mei-ya<sup>\*</sup>. Department of Orthopaedics & Traumatology, Fujian College of TCM, Fujian Fuzhou, 350003, China

**Abstract Objective:** To investigate the effect of Jiangu Granula(JGG) on the concentration of three Ca<sup>2+</sup> regulate hormone of osteoporosis(OP) rats. **Methods:** SD rats with ovariectomy were randomly divided into three groups: Normal saline group, Gusongbao group, JGG group. The serum concentrations of PTH, CT, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, E<sub>2</sub> were measured by radioimmunoassay (RIA). **Results:** The levels of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and CT in serum were decreased (P<0.01 or P<0.05) at 12 weeks after operation, but PTH were increased. The levels of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and CT in the JGG group were increased, but PTH were decreased compared with normal saline group. We found that there was a negative correlation between E<sub>2</sub> and PTH, PTH and 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, CT, but it has a positive correlation between E<sub>2</sub> and CT, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, so as to 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and CT. **Conclusion** JGG can coordinate comprehensively the concentration of PTH, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, CT, and reduce side effects to bone metabolism caused by the decline of E<sub>2</sub> level. Maybe it is the one of main active mechanisms that JGG can cure or prevent effectively from the postmenopausal osteoporosis.

**Key words** Osteoporosis, postmenopausal; Hormone; Radioimmunoassay; Animals, laboratory

骨质疏松症是一种严重危害中老年人身体健康的骨代谢性疾病,临床甚为常见。大量的流行病学和动物实验均已证实,妇女绝经后骨量的快速丢失,除了与绝经相关的雌激素水平下降有关外,体内钙调节系统的紊乱在加速骨量丢失、导致骨质疏松症的发生中起重要作用<sup>[1,2]</sup>。体内钙调节系统的平衡

受多种激素的调节,其中甲状旁腺激素(PTH)、1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub>[1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]和降钙素(CT)是维持人体钙稳定的三个主要调节激素。在前期研究基础上,为进一步明确健骨颗粒防治绝经后骨质疏松症的作用机制,本实验采用切除雌性大鼠卵巢建立绝经后骨质疏松症病理模型,探讨健骨颗粒对模型鼠机体三种主要钙调节激素水平的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 实验药物** 健骨颗粒由煅狗骨、淫羊藿、山茱萸、党参、骨碎补、山药、龟板、陈皮、红花等药味组

基金项目:福建省自然科学基金重大项目(C9830001)

福建省教育厅科技三项费用项目(K02083)

通讯作者:林燕萍 Tel:0591-3570823 E-mail:ypling@sina.com.cn

成,原药材由福建省药材公司提供,福建中医药研究院中试车间负责加工制备,每个颗粒含原生药 2.9 g。阳性对照药品骨松宝由贵州富华药业有限责任公司生产(生产批号:黔卫药准字第 100079 号)。

**1.2 实验动物的选用和造模** 6 月龄 SD 雌性大鼠 70 只,体重 350~400 g(由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供)。造模方法依文献<sup>[3]</sup>进行,取下腹部正中切口,行左、右双侧卵巢完全结扎切除术,术后肌注青霉素 1 次以预防感染(8 × 10<sup>4</sup> U/只)。

**1.3 实验动物分组和取材** 70 只 SD 大鼠随机分成模型组 40 只(造模),假手术组 10 只(同样行腹部切口,但不结扎切除卵巢),预防组 10 只(造模+手术次日喂服健骨颗粒 2 g kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>,持续用药 12 周),预防组 10 只(造模+手术次日喂服健骨颗粒 2 g kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>,持续用药 24 周)。术后 12 周,模型组 10 只、假手术组和预防组大鼠处死,经相关指标检测,确定模型组骨质疏松模型成立<sup>[4]</sup>。模型组余鼠 30 只再随机分成 3 组,即健骨颗粒组、骨松宝组和生理盐水组,每组 10 只,分别喂服健骨颗粒 2 g kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>、骨松宝 1.5 g kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>、生理盐水 2 ml kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>。所用颗粒制剂均溶于水后灌服,每日 1 次。实验大鼠均在相同条件下自由摄食饮水,于用药 12 周后全部处死取材,颈动脉取血,离心留

取血清,-20℃冻存待测。

**1.4 检测指标和方法** PTH、CT、E<sub>2</sub>、1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 水平均采用放射免疫分析法测定。前三者放免分析试剂盒由北京中国原子能科学研究院提供,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 放免试剂盒由比利时 BioSource Europe S.A. 提供,具体检测方法均按试剂盒说明操作。

**1.5 统计学处理** 实验数据运用 SPSS 软件包处理分析,参数值用均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较用 *t* 检验,各指标间的相关性用 Pearson 系数 *r* 表示。

**2 结果**

**2.1 血清三种钙调节激素浓度变化** 卵巢摘除术后 12 周,模型组血清中 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、CT 水平都明显下降,而 PTH 含量却急剧升高,与假手术组相比差异显著。同期预防组的三项钙调节激素水平呈现与模型组一样的变化,但其下降或上升的幅度都小于模型组,与模型组比较差异有显著性。术后 24 周,健骨颗粒组、骨松宝组和预防组的 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、CT 水平都出现不同程度的回升,血清 PTH 却明显回落,与同期生理盐水组比较,差异有显著性。健骨颗粒组和骨松宝组血清 PTH 水平的回落程度明显小于预防组,而健骨颗粒组的 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 水平高于骨松宝组,见表 1。

表 1 各组血清 PTH、1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、CT、E<sub>2</sub> 水平 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 The serum concentrations of PTH, 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, CT, E<sub>2</sub> in different groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 Groups	<i>n</i>	术后时间(周) Time after operation (Weeks)	PTH (pg/ml)	1,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> (pg/ml)	CT (pg/ml)	E <sub>2</sub> (ng/L)
假手术组 Sham operation group	10	12	4.36 ± 1.83	11.94 ± 2.19	53.11 ± 19.32	92.22 ± 27.10
模型组 Model group	10	12	80.93 ± 22.35 **	2.79 ± 0.94 **	34.58 ± 7.78 *	18.28 ± 7.05
预防组 Preventive group	10	12	41.28 ± 11.45 **##	5.71 ± 1.64 **##	47.55 ± 10.54 #	30.10 ± 8.62
健骨颗粒组 JGG group	10	24	18.57 ± 7.10	4.98 ± 0.42	42.13 ± 9.97	54.05 ± 15.92
骨松宝组 Gusongbao group	10	24	18.10 ± 4.55	4.16 ± 0.39	43.42 ± 18.67	63.27 ± 13.47
预防组 Preventive group	10	24	11.97 ± 4.07	6.15 ± 2.06	51.02 ± 26.63	53.51 ± 16.91
生理盐水组 Normal saline group	10	24	114.58 ± 43.52	1.06 ± 0.48	28.27 ± 1.43	27.24 ± 2.99

注: 术后 12 周,与假手术组比较,\**P*<0.05,\*\**P*<0.01;预防组与模型组比较,#*P*<0.05,##*P*<0.01。术后 24 周,与生理盐水组比较,*P*<0.01,*P*<0.05;健骨颗粒组、骨松宝组与预防组比较,*P*<0.01,*P*<0.05;健骨颗粒组与骨松宝组比较,*P*<0.05

Note: 12 weeks after operation,compared with sham operation group,\**P*<0.05,\*\**P*<0.01;preventive group compared with model group,#*P*<0.05,##*P*<0.01。24 weeks after operation,compared with normal saline group,*P*<0.01,*P*<0.05;JGG and Gusongbao group compared with preventive group,*P*<0.01,*P*<0.05;JGG group compared with Gusongbao group,*P*<0.05

**2.2 血清各指标相关性** 血清四种指标进行两两相关分析显示,E<sub>2</sub> 与 CT、1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 呈正相关,

而与 PTH 呈负相关;PTH 与 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、CT 呈负相关,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 与 CT 呈正相关,见表 2。

表 2 各指标两两相关系数  
Tab. 2 Linear correlative coefficients

指标 Index	PTH+M	1,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	CT	E <sub>2</sub>
PTH+M	1.000	-0.676 **	-0.435 **	-0.622 **
1,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	-0.676 **	1.000	0.445 **	0.643 **
CT	-0.435 **	0.445 **	1.000	0.306 *
E <sub>2</sub>	-0.622 **	0.643 **	0.306 *	1.000

注: \*\* P<0.01 \* P<0.05  
Note: \*\* P<0.01 \* P<0.05

### 3 讨论

骨重建和钙代谢过程与 PTH、1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 和 CT 三大重要激素密切相关,且受这三大激素的调节。它们之间相互协调,维持血钙平衡,保证骨代谢的正常进行。当这一平衡受到破坏或分泌发生紊乱时就会引起代谢性骨病。

本实验结果显示,术后 12 周,模型组随着机体 E<sub>2</sub> 浓度的显著下降,血清 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>、CT 水平明显降低,而 PTH 却升高,该现象说明 E<sub>2</sub> 的下降,会引起机体相关钙调节激素的变化,其中包括 PTH 的变化,支持了雌激素有调节 PTH 的作用<sup>[5]</sup>。但迄今在人的甲状旁腺中尚未发现雌激素受体<sup>[6]</sup>,所以雌激素对 PTH 的影响是间接的。由于雌激素下降,使甲状腺 C 细胞对钙的敏感性降低,C 细胞数量减少<sup>[4]</sup>,CT 分泌下降。CT 分泌的减少,导致 PTH 的继发性升高。雌激素的缺乏使得骨对 PTH 的敏感性升高,导致骨吸收的增加。随着年龄的增长和雌激素水平的下降,肾脏 1-羟化酶活性降低,使 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 合成减少,导致肠钙吸收障碍,并影响近端肾小管对钙磷的重吸收,使钙排出增加。作者前期实验也证实,卵巢摘除模型组的尿钙排泄量明显高于假手术组<sup>[7]</sup>。CT 分泌的减少和 PTH 水平的继发性升高,以及骨对 PTH 敏感性的增加,使骨转换加速,但以骨吸收占优势,出现骨代谢的负平衡,从而导致骨质疏松的发生。

健骨颗粒具有补肾健脾,强筋健骨之功。中医的补肾疗法可以提高体内雌激素水平以及发挥类雌激素作用已得到验证,并已用于女性更年期综合征的治疗<sup>[8]</sup>。提示健骨颗粒通过补肾健脾,能够提高骨质疏松模型鼠的 E<sub>2</sub> 含量,这与该药物的组成与作用紧密相关。健骨颗粒中的淫羊藿含有植物雌激素,如异黄酮,它属于一种雌激素受体调控剂,可抑制破骨细胞功能,增强成骨细胞活性,维持成骨细胞和破骨细胞之间的动态平衡<sup>[9]</sup>。各指标相关分析显示 E<sub>2</sub> 含量与 CT、1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 呈正相关而与 PTH 呈负

相关。健骨颗粒通过植物雌激素作用以及综合作用,使 E<sub>2</sub> 含量增加,随着 E<sub>2</sub> 水平的回升,一方面刺激肾脏 1-羟化酶活性,使 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 水平提高,促使钙结合蛋白合成,有利于肠钙的吸收,改善骨骼状况<sup>[10]</sup>;另一方面促进甲状腺 C 细胞的增殖与分化,增加 CT 的合成和分泌,降低 PTH 的浓度和活性,从而抑制了破骨细胞的活动,限制骨的分解吸收。

从预防组情况看,卵巢摘除后第 2 天即施加健骨颗粒,一直用药 24 周,机体的 PTH 水平与同期其他各组间差异明显,同期骨组织超微结构显示<sup>[11]</sup>:活跃的成骨细胞数量明显增加,成骨细胞活性明显增强。说明健骨颗粒可以阻断卵巢摘除后雌激素下降所致的骨量丢失,这对预防绝经后骨质疏松症的发生有重要意义。其作用机制可能与健骨颗粒调节血液 PTH 浓度有一定关系。此外健骨颗粒药物组成中含有较为丰富的钙质,对调节 PTH 的分泌也起到一定作用。PTH 可通过骨、肾脏、肠道三个靶器官来协调血钙、血磷的平衡而影响骨代谢,而且小剂量升高的 PTH 还对成骨细胞产生刺激作用,增加成骨细胞的数量,并促进成骨细胞释放骨生长因子,促进骨形成。PTH 的这种协调多个器官而影响骨代谢过程的性质,颇似中医理论中的整体观念在治疗上的体现。

### 参考文献

- 1 Kung AW, Luk KD, Chu LW, et al. Age-related osteoporosis in Chinese: An evaluation of the response of intestinal calcium absorption and calcitropic hormones to dietary calcium deprivation. *Am J Clin Nutr*, 1998, 68(6): 1291-1297.
- 2 Ensrud KE, Duong T, Cauley JA, et al. Low fractional calcium absorption increases the risk for hip fracture in women with low calcium intake. Study of osteoporotic fractures research group. *Ann Intern Med*, 2000, 132(5): 345-353.
- 3 Saville PD. Changes in skeletal mass and fragility with castration in the rat; a model of osteoporosis. *J Am Geriatr Soc*, 1969, 17(2): 155-166.
- 4 林燕萍,李咏高,王和鸣,等. 健骨颗粒对骨质疏松模鼠垂体-甲状腺轴的影响. *中国骨伤*, 2002, 15(3): 154-156.
- 5 赵秀娥. 骨质疏松症治疗中 Ca 和 PTH 变化的研究. *苏州医学院学报*, 1997, 17(4): 743-744.
- 6 Richard L. Counterpoint: Estrogen effectson calcitropic hormones and calcium homeostasis. *Endocrine Rev*, 1994, 15(3): 301.
- 7 林燕萍,李咏高,马建华,等. 健骨颗粒对去卵巢骨质疏松模鼠骨代谢的影响. *福建中医学院学报*, 2001, 11(4): 17-18.
- 8 范振远,范振良. 六味地黄丸(汤)药理研究及临床应用近况. *中成药*, 1988, 10(2): 35.
- 9 Onoe Y, Miyaura C, Ohta H, et al. Expression of estrogen receptor beta in rat bone. *Endocrinology*, 1997, 138(10): 4509-4512.
- 10 刘和娣,李恩,佟晓旭. 补肾方药对地塞米松诱发的骨质疏松大鼠体内雌激素和 1,25-二羟维生素 D<sub>3</sub> 的影响. *中国中西医结合杂志*, 1993, 13(9): 544-545.
- 11 林燕萍,周瑞祥,张爱平,等. 健骨颗粒对去卵巢骨质疏松模鼠骨组织结构的影响. *解剖学杂志*, 2001, 24(6): 521-525.

(收稿日期:2004-04-30 本文编辑:王宏)