

骨碎补研究进展

朱慧锋¹, 王唯佳², 王珠美¹

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江省中医院)

【摘要】 骨碎补为骨伤科常用药物, 近年来研究活跃, 研究内容包括基础、药理与临床, 而且分子生物学机制方面也已起步。本文就骨碎补的最近研究进行概述。

【关键词】 骨碎补; 药理; 骨质疏松症; 骨性关节炎; 基因

Recent advances of drynaria fortunei ZHU Hui-feng*, WANG Wei-jia, WANG Zhu-mei. *The University of Traditional Chinese Medicine of Zhejiang, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

ABSTRACT Drynaria fortunei (Kunze) is a common medicine in department of orthopaedics and traumaology, more researches about it recently, including basic theory, pharmaco and clinical study.

Key words Drynaria fortunei; Pharmacology; Osteoporosis; Osteoarthritis; Gene

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2009, 22(1): 66-68 www.zggszz.com

骨碎补[Drynaria fortunei (Kunze) J.Sm.]为水龙科多年生蕨类植物槲蕨干燥根茎, 始载于唐《本草拾遗》, 味苦、温, 归肾、肝经, 功效补肾强骨、续伤止痛, 主治肾虚腰痛, 耳鸣耳聋, 牙齿松动, 跌扑闪挫, 筋骨折伤^[1], 为历代临床常用药, 除应用于骨伤科外, 尚有许多作用。目前对于骨碎补的研究已经达到细胞因子和基因的水平, 大致进展包括以下几个方面。

1 骨碎补化学成分研究

槲蕨主要成分为二氢黄酮、黄烷-3-醇及其苷、二聚物和三聚物类、三萜和酚酸等^[2], 骨碎补的主要活性物质为柚皮甙。另外, 骨碎补中还含有甲基丁香酚、 β -2 谷甾醇、原儿茶酸、新北美圣草甙、骨碎双氢黄酮甙、环木菠萝甙醇醋酸酯、环水龙甙醇醋酸酯、环鸦片甙醇醋酸酯、9, 10-环羊毛甙-25-烯醇-3 β -醋酸酯、蕨 9(11)烯、豆甾醇、菜油甾醇等多种化学物质。在筛选抗炎镇痛中草药工作中发现骨碎补提取物在小鼠醋酸扭体和甩尾实验中显示明显的镇痛作用, 因此, 对其化学成分进行了研究, 从骨碎补乙醇提取物中分离到 4 个化合物, 经理化常数 and 光谱分析分别鉴定其中 3 个化合物为石莲姜素、表阿夫儿茶精、 β -2 谷甾醇, 前两者为首次从该植物中分离得到^[3]。

国外学者对海州骨碎补(D. mariesii)、阔叶骨碎补(D. solida)、大叶骨碎补(D. divaricata)、杯状盖骨碎补(D. griffithiana)、加拿利骨碎补(D. ca2nari-ensis)和龙爪骨碎补(D. fejeensis)等植物的化学成分进行了研究, 分离得到三萜、倍半萜、二氢黄酮、黄烷-3-醇及其衍生物、口山酮、苯丙素和甾苷等结构类型

的化学成分, 其中以黄烷-3-醇及其衍生物为主要成分, 与槲蕨主要成分结构类型相同^[4]。日本学者在海州骨碎补中主要分离出骨碎补内酯, 圣草酚-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷, 骨碎补苷 A、B, 表儿茶素-5-O- β -D-吡喃葡萄糖苷, 海州骨碎补苷, 前花青素 B2、B5, 原儿茶酸, 骨碎补素, 1-茶酚- β -D-吡喃葡萄糖苷, 5, 7-二羟色酮-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷甲酯, 表儿茶素-3-O- β -D-吡喃阿洛糖苷, 香草酸-4-O- β -D-吡喃葡萄糖苷, 咖啡酸-4-O- β -D-吡喃葡萄糖苷, 香草酸-4-O- β -D-吡喃葡萄糖苷, 龙胆酸和 L-色氨酸^[5-6]。

2 骨碎补药理作用的研究进展

马克昌等^[7]通过用骨碎补提取液对小鸡骨组织培养观察发现, 胚骨原基的钙、磷沉积有明显的促进作用, 提高了组织中的碱性磷酸酶活性, 促进蛋白多糖合成, 并证明促进蛋白多糖合成是促进钙化的重要因素, 用药组小鸡股骨的湿重和体积均大于对照组, 用药组单位长度皮质骨的钙、磷、羟脯氨酸、氨基己糖的含量都明显高于对照组。周铜水等^[8]用大鼠后腿股骨下端实验性骨伤模型研究槲蕨、中华槲蕨以及槲蕨根茎主要成分柚皮苷对骨伤的影响, 结果表明他们对大鼠实验性骨损伤的愈合均有促进作用, 提示柚皮苷是槲蕨根茎的主要成分。马克昌等^[9]通过应用骨碎补防治激素引起的大鼠骨质疏松, 发现骨碎补组大鼠骨小梁结构、骨密度明显优于对照组, 证明骨碎补能够防治激素引起的大鼠骨质疏松。以二倍体牙龈成纤维细胞为实验模型, 研究结果表明, 骨碎补能促进体外培养的人牙龈成纤维细胞在牙周病根面上附着和生长, 提示其可能直接参与了牙周结缔组织新附着生成过程^[10]。

陈顺等^[11]在探讨丹参和骨碎补对激素性股骨头坏死的防治机制及其交互作用中发现骨碎补能提高血钙、磷水平, 能激活成骨细胞, 提高股骨头的骨密度, 能预防激素性骨质疏松。骨碎补有部分抑制糖皮质激素引起的骨丢失的作用, 在实验

通讯作者: 朱慧锋 Tel: 0571-88663456 E-mail: huifeng2005@vip.sina.com

[△]现作者单位: 杭州市余杭区第二人民医院骨二科, 浙江 杭州 311121

剂量下对醋酸可的松引起的骨质疏松虽有抑制作用,但不能完全阻止其发展。

Sun 等^[12]采用破骨成骨细胞共培养体添加不同浓度的骨碎补提取物,发现骨碎补提取物对骨细胞作用的最佳浓度为 1 mg/ml,能增加胞内含量,同时培养递质中酸性磷酸酶、前列腺素-2 含量增加,分析骨桥蛋白和骨连接蛋白的表达,发现在加入提取物后表达调控均降低,与对照组比较,形成的多核破骨细胞更小、更有活性,但是没有找到大破骨细胞,结果表明加入提取物后,增加破骨细胞的移动性,有利于成骨细胞的早期分化,不利于成骨细胞的矿化,适合骨折的早期治疗。

3 骨碎补毒理作用的研究进展

骨碎补总黄酮急性毒性实验显示小鼠、大鼠灌胃给药后饮食、活动、精神状态等体征均无异常变化,预期临床应用安全性良好^[13],但亦有报道应用骨碎补出现中毒病例^[14]。

4 骨碎补的抗膝骨关节炎作用

龚晓健等^[15]通过兔膝关节腔内注入木瓜蛋白酶造成骨关节炎病变模型,骨碎补总黄酮按高、中、低剂量灌胃给药,连续给药 8 周后,将家兔放血处死,取下膝关节,光镜下观察发现模型组软骨正常结构消失,软骨表面出现裂缝甚至部分缺失,证实成功制备膝骨关节炎模型,骨碎补总黄酮组软骨表面光滑,似覆盖一层无定形物质,垄形结构较平行,与模型组相比有明显改善,结果表明骨碎补总黄酮具有较强的抗膝骨关节炎作用。

5 骨碎补对骨愈合过程中相关基因表达的影响

董福慧等^[16]设计了大鼠的实验骨损伤模型观测不同时间 TGF- β_1 mRNA 的表达,发现正常组各时点均无阳性表达,模型组 4 d 时,有较高表达,主要存在于间充质细胞、成纤维细胞及肉芽基质中;7 d 时在软骨细胞中有较高表达;14 d 时(在成熟的软骨细胞、成骨细胞中均有高表达)达到峰值;21 d (主要在新生骨表面成骨细胞中)仍有较高表达,而成熟骨质区表达量很低;28 d 时,表达量很低。骨碎补组分时点 TGF- β_1 mRNA 表达程度与模型组类似,但前 3 d 与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。在促进骨愈合的意义上,骨碎补对 BMP-2 mRNA 基因表达具有有益的调节作用。姬洪全等^[17]运用免疫组化和原位杂交等技术对骨折愈合过程中骨痂组织中 TGF- β_1 含量进行了研究,结果表明,在骨折修复的不同阶段, TGF- β_1 基因的表达情况是不同的。

在软骨内成骨期,软骨与膜内成骨交界区的软骨细胞肥大,基质钙化并有新生血管长入,以软骨内成骨方式逐渐形成骨性骨痂,骨断端间的软骨逐渐由初级松质骨取代,再经过塑形和重建过程恢复原有的骨结构。免疫组化染色可见钙化缘的肥大软骨细胞内很少或不含 TGF- β_1 ,基质中含大量细胞外 TGF- β_1 ,成骨细胞内有 TGF- β_1 显色,钙化缘附近的骨基质中无细胞外 TGF- β_1 显色,原位杂交见此期内 TGF- β_1 mRNA 表达量也较多。这说明软骨细胞合成的 TGF- β_1 释放到钙化的基质中,成骨细胞在 TGF- β_1 作用下产生骨基质的同时也产生 TGF- β_1 ^[18]。

2004 年谢雁鸣等^[19]通过给去卵巢骨质疏松型大鼠灌骨碎补总黄酮,结果发现骨碎补总黄酮能显著提高去卵巢大鼠

股骨、腰椎的骨密度,对血清 TNF- α 、IL-6 水平有抑制作用,对 IL-4 分泌有促进作用。

6 骨碎补防治原发性骨质疏松症的研究

谢雁鸣等^[20]通过对去卵巢大鼠灌服骨碎补总黄酮 6 个月观察,发现小、中剂量的骨碎补总黄酮能使骨小梁体积百分比(TBV%)明显增高,使骨小梁吸收表面百分比(TRS%)、骨小梁形成表面百分比(TFS%)、活性生成表面百分比(AFS%)、骨小梁矿化率(MAR)均明显降低,这一结果表明,骨碎补总黄酮对卵巢切除所致的骨质疏松症具有明显的防治作用,而骨碎补总黄酮大剂量组的上述指标未发生明显变化,作用机制可能是通过促进成骨细胞的活性和生长,刺激成骨细胞增殖,促进骨组织形成。

徐展望等^[21]发现不同浓度的骨碎补提取液对培养细胞的作用结果迥然不同,高浓度对细胞有破坏作用,而中、低浓度却具有一定的促分化作用,表现为所培养细胞有较满意的碱性磷酸酶染色率和较高的 I 型胶原表达,并能在体外形成钙结节,这些都是成骨细胞早期分化和成熟的标志,说明所培养 BMSCs 有小部分已经分化为成骨细胞,并具有合成、分泌基质及促进基质矿化形成骨组织的能力。可见,骨碎补提取液中含有能促进 BMSCs 向成骨细胞分化的成分, BMSCs 可能就是骨碎补在体内发挥作用的一种靶细胞,是其促进骨折愈合、防治骨质疏松的细胞学基础。

有研究表明,老年骨质疏松症患者的内分泌代谢紊乱同时又影响了红细胞的流变性,使红细胞的聚集性、刚性增加,导致血液黏度增加,容易导致微循环障碍^[22]。治疗骨质疏松症除补充钙剂、维生素 D 及激素替代治疗外,也应该重视血液流变性和微循环的改善,骨碎补总黄酮在这方面显示出明显的作用。有研究显示骨碎补总黄酮胶囊大剂量组对造模后大鼠的红细胞聚集指数具有显著降低作用,与模型对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),对红细胞变形性无显著作用,与模型对照组比较差异无统计学意义,采用 SONY 显微电视录像系统进行微循环观测,骨碎补总黄酮胶囊大剂量能延长由肾上腺素引起的血管反应潜伏期,与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)^[23]。

7 结语

骨碎补为历代常用药物,对其应用和药理作用机制已经有了大量深入、广泛的研究,但其在分子生物学方面机制的研究尚处在起步阶段,补肝肾、强筋健骨类中药是否具有相似的调节靶点、调节强度、量效关系及其依时间变化的动态曲线,值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] 常德有,董福慧.骨碎补的研究概况.吉林中医药,2006,26(6):61.
- [2] Chang EJ, Lee WJ, Cho SH, et al. Proliferative effects of flavan-3-ols and propylgallinins from rhizomes of *Drynaria fortunei* on MCF-7 and osteoblastic cells. Arch Pharm Res, 2003, 26(8): 620-630.
- [3] 吴新安,赵毅民.骨碎补化学成分研究.中国中药杂志,2005,30(6):443.
- [4] 蒋金和,张云梅,王利勤,等.骨碎补属植物化学成分及生物活性研究进展.西北植物学报,2007,27(5):859-863.

嗅鞘细胞移植治疗脊髓损伤的研究进展

胡志俊, 马迎辉

(上海中医药大学附属龙华医院伤骨科, 上海 200032)

【摘要】 脊髓损伤的治疗一直是医学界的难题。脊髓损伤后神经元轴突再生困难, 同时神经胶质瘢痕阻碍再生轴突的通过。嗅鞘细胞是一种特殊的神经胶质细胞, 具有中枢神经系统(CNS)星形胶质细胞和外周雪旺氏细胞的特性, 许多基础与临床研究发现嗅鞘细胞是神经系统中具有促进神经轴突再生, 引导轴突正确生长的独特细胞, 取得了一定的成果, 为脊髓损伤的修复带来了希望。

【关键词】 嗅鞘细胞; 移植; 脊髓损伤; 综述文献

An update of repairing spinal cord injury by olfactory ensheathing cells HU Zhi-jun, MA Ying-hui. Department of Orthopaedics, Longhua Hospital of Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China

ABSTRACT The treatment of spinal cord injury is always a stubborn problem for neurosurgeons because nerve cell cannot regenerate and the glia scar can prevent the axonal regeneration. Olfactory ensheathing cells (OECs) is a kind of especial glia cell, which possesses the character of horizontal cell of central nervous system and schwann cell. Many foundational and clinical studies showed that the olfactory ensheathing cells can promote axonal regeneration and prove axonal growth, some progress is made and this is bringing hope for treatment of spine injury.

Key words Olfactory ensheathing cells; Transplantation; Spinal cord injuries; Review literature

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2009, 22(1):68-71 www.zggszz.com

基金项目: 上海市教委科研基金资助(编号: 05cz12)

通讯作者: 胡志俊 Tel: 021-64385700-3012 E-mail: hzjz1062@163.com

[5] Cui CB, Tezuka Y, Nakano H, et al. Isolation and structures of a norcarotane sesquiterpene glycoside, a chromone glucuronide, and two epicatechin glycosides. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1992, 40(8):2035.

[6] Hwang TH, Kashiwada Y, Nonaka Gen-Ichiro, et al. 4-carboxymethyl flavan-3-ols and procyanidins from *davallia divaricata*. *Phytochemistry*, 1990, 29(1): 279.

[7] 马克昌, 高子范, 冯坤, 等. 骨碎补提取液对小鸡骨发育的促进作用. *中医正骨*, 1990, 2(4): 7.

[8] 周铜水, 刘晓东, 周荣汉. 骨碎补对大鼠实验性骨损伤愈合的影响. *中草药*, 2003, 25(5): 249-258.

[9] 马克昌, 高子范, 张灵菊, 等. 骨碎补对大白鼠骨质疏松模型的影响. *中医正骨*, 2004, 4(4): 3.

[10] Golden Berg DL, Burck Hard TC, Croffor DL. Management of fibromyalgia syndrome. *JAMA*, 2004, 292(19): 2388-2395.

[11] 陈顺, 关延彬. 骨碎补药理作用的研究进展. *医药导报*, 2006, 25(7): 685.

[12] Sun JS, Lin CY, Dong GC, et al. The effect of Gu-Shui-Bu on bone cell activities. *Biomater*, 2002, 23(16): 3377-3385.

[13] 吴新安, 赵毅民. 骨碎补化学成分研究. *中国中药杂志*, 2005, 30(6): 444.

[14] 赵晋宁. 骨碎补总黄酮急性毒性试验. *医药导报*, 2005, 24(1): 12.

[15] 龚晓健, 李运曼, 安佰平, 等. 骨碎补总黄酮的抗膝关节炎作用. *中国天然药物*, 2006, 4(3): 215.

[16] 董福慧, 郑军, 程伟. 骨碎补对骨愈合过程中相关基因表达的影响. *中国中西医结合杂志*, 2003, 23(7): 519.

[17] 姬洪全, 党耕町, 马庆军, 等. 骨折愈合过程中转化生长因子β1 表达的实验研究. *中华外科杂志*, 1998, 36(2): 72.

[18] Rooks DS. Fibromyalgia treatment update. *Curr Opin Rheumatol*, 2007, 19(2): 111-117.

[19] 谢雁鸣, 许勇刚, 赵晋宁, 等. 骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠骨密度细胞因子 IL-4、TNF-α 水平的影响. *中国中医基础医学杂志*, 2004, 10(1): 34.

[20] 谢雁鸣, 鞠大宏, 赵晋宁. 骨碎补总黄酮对去卵巢大鼠骨密度和骨组织形态计量学影响. *中国中药杂志*, 2004, 29(4): 343.

[21] 徐展望, 张建新, 谭国庆, 等. 中药骨碎补提取液对兔骨髓基质细胞体外成骨分化的影响. *中医正骨*, 2006, 18(6): 15.

[22] 刘怀成, 夏维波, 邢小平, 等. 胫骨超声速率对绝经妇女肢体骨折危险性的预测. *基础医学与临床*, 2000, 20(5): 40-41.

[23] 刘剑刚, 谢雁鸣, 徐哲, 等. 骨碎补总黄酮的活血化瘀作用及对实验性微循环障碍和骨质疏松症的影响. *中国骨质疏松杂志*, 2006, 12(1): 46.

(收稿日期: 2008-09-04 本文编辑: 连智华)