

金天格胶囊对骨关节炎大鼠病理形态的影响

侯小丽¹, 赵林涛², 宋延平^{2*}

(1. 陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西省中医药研究院药理室, 西安 710003)

[摘要] **目的:**观察金天格胶囊对木瓜蛋白酶诱导的骨关节炎动物模型关节软骨病变的影响。**方法:**成年雄性 SD 大鼠, 随机分成假手术组、模型组、仙灵骨葆组(0.80 g·kg⁻¹)、金天格胶囊高、中、低(0.96, 0.48, 0.24 g·kg⁻¹)剂量组, 除假手术组外, 各组大鼠以双侧膝关节腔内注射木瓜蛋白酶 20 μL 制作骨关节炎模型。造模 3 周后灌胃给药, 连续 4 周。末次药后次日处死动物, 取膝关节软骨做病理切片, 镜下观察膝关节软骨病变。**结果:**镜下观察, 模型组关节软骨表面变薄粗糙, 纤维断裂, 潮线消失, 细胞排列紊乱, 细胞成簇, 部分关节滑膜组织增生, 呈指状突向关节腔内, 金天格胶囊 3 个剂量组均不同程度减轻关节软骨表面的病理改变。**结论:**金天格胶囊能修复损伤的软骨表面, 对关节软骨具有保护作用。

[关键词] 骨关节炎; 金天格胶囊; 关节软骨

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0287-04

Pathological Influence of Jintiange Capsule on Osteoarthritis in Rats

HOU Xiao-li¹, ZHAO Lin-tao², SONG Yan-ping^{2*}

(1. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;
2. Shanxi Provincial Institute of Chinese Medicine, Xi'an 710003, China)

[Abstract] **Objective:** To observe influence of Jintiange capsules (JC) on articular cartilage lesions and osteoarthritis induced by papain in rats. **Method:** Adult male SD rats were divided into sham operated group, model group, Xianling Gubao (XG) group (0.80 g·kg⁻¹), JC high, medium and low (0.96, 0.48, 0.24 g·kg⁻¹) dose groups. The bilateral knee joint cavities were injected with papain 20 μL to induce osteoarthritis. Three weeks after the establishment of the models, different drugs were lavaged for 4 weeks. Then the rats were sacrificed and the knee joint cartilage was collected. Pathological section and microscopic observation were carried out for evaluating joint cartilage lesions. **Result:** Articular cartilage in model group showed thin rough surface, fiber fracture, tide line disappear, cell arrangement disorder, cell clusters, part of the joint synovial hyperplasia and finger-shaped bulge towards the joint cavity. JC of 3 doses showed different degree of alleviation for the pathological changes. **Conclusion:** JC can repair the damage of cartilage surface of articular cartilage with protective role.

[Key words] osteoarthritis; Jintiange capsule; articular cartilage

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种以关节软骨的变性、破坏及骨质增生为特征的慢性关节病。本病在中年以后多发。临床上以关节肿痛、骨质增生

及活动受限最为常见。膝关节作为负重关节是最易受累关节之一。OA 的病因和发病机制至今未明, 目前尚无有效治疗办法^[1]。随着年龄的增长和人口老龄化进程加剧, OA 的发病率不断增高。据统计我国 50 岁以上人群发病率为 5%, 其中膝关节骨性关节炎的发生率为 9.56%。60 岁以上人群发病率为 20%, 其中膝关节骨性关节炎发生率为 78.5%^[2]。因此, 研究该病因及预防、治疗具有重要的社会价值。

金天格胶囊主要由人工虎骨粉组成, 其主治功

[收稿日期] 20120627(420)

[第一作者] 侯小丽, 硕士研究生, 从事中医方剂病证对应的药效学实验研究, Tel: 13259432445, E-mail: houxiaolimm@163.com

[通讯作者] * 宋延平, 研究员, 硕士生导师, 从事药理毒理研究, Tel: 13992813685, E-mail: syppd2003@163.com

效为益肾健骨。常用于腰背疼痛、腿脚酸软、下肢痿弱、步履艰难等症。临床使用中发现其对骨关节炎也有较好的治疗作用,为进一步验证其效果,为临床系统研究提供一定的实验基础,我们观察了其对于骨关节炎大鼠模型关节软骨病变的影响。

1 材料

1.1 动物 雄性健康 SD 大鼠 63 只,体重(180 ± 10)g,西安交通大学医学院动物实验中心提供,动物合格证号 0002736,许可证号 SCXK(陕)2007-001。

1.2 药品与试剂 金天格胶囊(西安金花企业集团股份有限公司提供,批号 110911);仙灵骨葆胶囊(贵州同济堂制药有限公司提供),木瓜蛋白酶(由西安永屹生物技术有限公司提供,美国进口分装)。

1.3 仪器 BAS224S 电子天平(赛多利斯科学仪器北京有限公司),XSZ-H 型彩色摄像机(北京杰伟世视音频设备有限公司组装)。

2 方法

2.1 动物造模、分组及给药 大鼠 63 只,10 只为假手术组,另 53 只均造模。参照文献[3]造模:10%水合氯醛 350 mg·kg⁻¹ ip 麻醉,除假手术组外,各组大鼠双侧膝关节腔内均注射木瓜蛋白酶 20 μL,假手术组注射无菌生理盐水 20 μL。每隔 2 d 注射 1 次,共注射 3 次。于造模 14 d 随机抽取假手术组 1 只,造模大鼠 2 只进行病理组织学观察,确定造模是否成功。在造模过程中假手术组 1 只因麻醉意外死亡,模型组 2 只因严重感染死亡。抽查后,将造模成功大鼠随机分为 5 组:设金天格胶囊高、中、低(0.96,0.48,0.24 g·kg⁻¹约为临床用量的 16,8,4 倍)剂量组、模型组、仙灵骨葆(0.80 g·kg⁻¹,约为临床用量的 16 倍)组。从造模后 3 周开始 ig 给药,模型组、假手术组予以等量生理盐水。10 mL·kg⁻¹,均连续 4 周,1 次/d,每周称体重 1 次以调整给药量。

2.2 取材 大鼠于治疗 4 周后,10%水合氯醛 ip 麻醉取材,将膝关节周围剃毛,依次切开皮肤及皮下组织,取出膝关节,4%甲醛溶液固定、脱钙 1 周;待脱钙成功后(以针头能够刺透为准),取出,沿关节冠状面切取软骨,二甲苯、乙醇脱水,切片厚 4 μm,HE 染色。

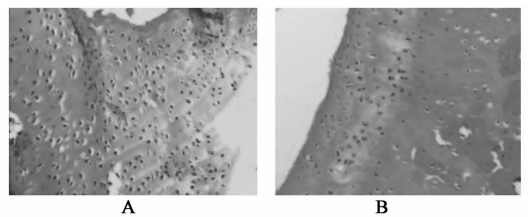
2.3 病理组织评分及形态学观察 参照文献进行软骨评分^[4]。0 分:关节软骨表面光滑平整,软骨细胞分布均匀,未见细胞成簇及分布密度改变;1 分:关节软骨表面稍粗糙,局部软骨面损伤,关节组织增

生,局部纤维化,细胞核有少量聚集;2 分:关节软骨表面中度粗糙,关节软骨表面均被破坏,为纤维结缔组织替代,细胞核有中度聚集;3 分:关节软骨表面组织增生,呈绒毛状伸入关节腔内,绒毛内有炎症细胞浸润,胶原纤维少量断裂;4 分:关节软骨表面组织严重增生,呈粗指状突向关节腔内,滑膜下组织充血、水肿、炎症细胞浸润,大量细胞核聚集,胶原纤维大量变形、断裂。

2.4 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 造模结果 第 1 次注射后肉眼可见大鼠毛色不光泽,稍发黄,双后肢行走出现不同程度的肌无力现象,双侧膝关节周围红肿,关节周围皮肤可见瘀斑、瘀点。髌韧带隐约可见,次日症状略有好转。第 2 次注射后可见大鼠精神不佳,毛色不光,双膝周围红肿较甚,不能看见髌韧带,略能自由活动。第 3 次注射后见大鼠精神萎靡不振,不能自由活动,饮食量明显减少,毛色粗糙无光泽,双膝周围红肿明显加重。开始造模后 14 d 抽查,镜下见假手术组关节软骨表面光滑,软骨细胞分布均匀,未见细胞成簇及分布密度改变。模型组关节软骨表面略粗糙,可见部分细胞成簇及分布密度改变,出现核固缩。提示造模 2 周骨关节炎模型已成立。见图 1。



A. 假手术组;B. 模型组

图 1 造模后 2 周大鼠关节软骨病理切片(HE, ×100)

3.2 对关节软骨病变的影响

3.2.1 对关节软骨病理评分的影响 模型组分值高于假手术组,提示模型成立($P < 0.01$);与模型组比较,金天格胶囊高、中、低剂量及仙灵骨葆组能明显降低病理评分($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),提示金天格胶囊能够抑制 OA 的病变进展。见表 1。

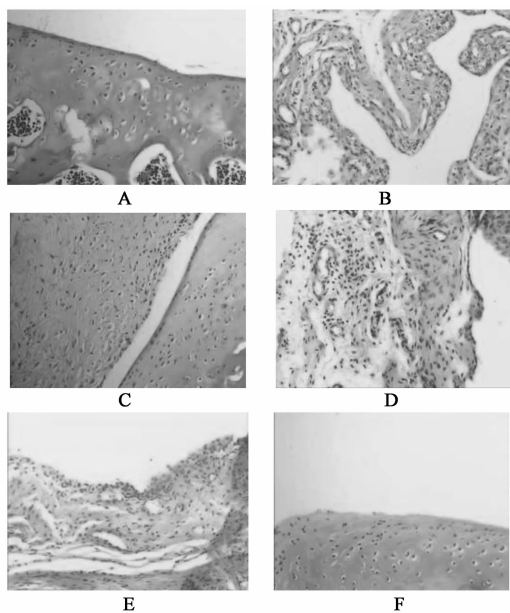
3.2.2 对关节软骨病变的影响 给药 4 周后大鼠关节软骨病理切片光镜下(HE, ×100)观察结果:假手术组关节软骨表面光滑完整,结构清晰可辨,潮线清晰完整,未见细胞成簇及分布密度改变,未见纤维断裂;模型组关节软骨可见软骨表面粗糙,纤维断

表1 金天格胶囊对 OA 大鼠
膝关节软骨组织病理评分的影响($\bar{x} \pm s$) 分

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	关节软骨评分
假手术	-	9	0.44 ± 0.50 ²⁾
模型	-	10	3.30 ± 1.19
仙灵骨葆	0.80	10	1.40 ± 0.49 ²⁾
金天格胶囊	0.96	10	1.50 ± 0.50 ²⁾
	0.48	9	2.00 ± 0.82 ¹⁾
	0.24	9	2.33 ± 0.94 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01。

裂,潮线消失,细胞排列紊乱,细胞成簇,关节滑膜组织增生,呈指状突向关节腔内;金天格胶囊高剂量组关节软骨表面较光滑,软骨细胞排列大致规则,未见细胞成簇,纤维未见断裂,中剂量组关节软骨表面稍粗糙不平,软骨细胞排列紊乱,可见细胞轻度成簇及分布密度的改变,关节囊滑膜组织增生,突向关节腔内,未见纤维断裂;低剂量组关节软骨表面明显粗糙不平,软骨细胞排列较紊乱,细胞大量簇集,部分胶原纤维断裂。仙灵骨葆组关节软骨表面大致光滑,软骨细胞排列轻度紊乱,部分细胞簇集,未见关节囊滑膜组织增生,未见胶原纤维断裂。见图2。



A. 假手术组; B. 模型组;

C. 金天格 0.96 g·kg⁻¹组; D. 金天格 0.48 g·kg⁻¹组;

E. 金天格 0.24 g·kg⁻¹组; F. 仙灵骨葆 0.80 g·kg⁻¹组

图2 金天格胶囊对 OA 大鼠关节软骨病变的影响(HE, ×100)

4 讨论

骨关节炎属中医“痹证”范畴,多由于外感风、寒、湿邪,或外伤、劳损等,致关节部脉络受损,血不循经,溢于脉外,以成瘀血;瘀血阻络,津液输布不

利,聚而湿;瘀血久而化热,炼液成痰,凝滞经脉,故肿胀、僵硬、疼痛等^[5]。中医认为正虚是本病发生的内在因素,外邪侵袭是发病的诱因。华佗在《中藏经》中说:“骨痹者,乃嗜欲不节,伤于肾也。”阐明了骨痹与肾脏受损有关。《素问·痹论》云:“风寒、湿三气杂至,合而为痹。”湿性重浊而黏腻,所谓“湿胜则肿”,其发为痹,沉着麻木,痹而不仁。蕴而化热,则发为湿热,其病处红肿热痛^[6]。无论是正虚还是邪实,中医当辨证施治,应提纲挈领,犀烛洞幽,根据三因制宜原则,决定用药。

金天格胶囊处方组成为人工虎骨粉,是由多种动物的骨骼通过特殊的工艺配制而成,其功效与天然虎骨作用基本一致。本方不仅祛风散寒胜湿、活血通络止痛以治其标,而且补肝肾、强筋骨、补益气血以治其本。2003年由中国药品生物制品检定所、金花企业(集团)股份有限公司西安金花制药厂等联合研制出了与天然虎骨所含成分基本相同的人工虎骨粉配方。虎骨是猫科动物虎的骨骼,属名贵中药材之一,其入药始见于《名医别录》,以后历代本草均有记载,虎骨能强筋骨,祛风湿,止痛,用于治疗关节筋骨疼痛,腰腿酸软无力^[7]。但虎骨已禁止作为中药材使用,金天格胶囊就是在这样的背景下作为虎骨的代用品研制而成的。

该药中除了含有多种人体必需的微量元素和氨基酸外,还含有许多有机成分如胶原蛋白、镇痛肽、骨形态蛋白、各种骨生长因子、及多糖类等,这些成分均可促进关节软骨表面的修复^[8]。已有研究证明^[9],金天格胶囊有直接刺激软骨细胞增殖及加强其活性的作用,并且提高金天格胶囊的浓度(用量)有利于药效的发挥。此外,张军等^[10]通过试验证明金天格胶囊将成为全面改善骨痹患者各种症状的最理想的治疗药物,人工虎骨粉今后有望成为天然虎骨的替代品。

本实验观察了金天格胶囊对骨关节炎大鼠的修复作用,结果显示随着病程的进展,关节软骨在木瓜蛋白酶造模后呈现退行性改变的趋势;无论从肉眼观察的光泽度、光镜下的软骨细胞的层次结构,还是软骨组织病理评分结果来看,金天格胶囊均能显著改变造模后关节软骨的病变,从而延缓关节软骨的退变、达到益肾健骨的目的,起到保护关节软骨的作用,为临床用药提供了依据。

[参考文献]

- [1] 余建华,张衡. 独活寄生汤治疗膝骨关节炎临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 215.

URWell 对吗啡依赖小鼠戒断反应 和 NO/NOS 系统的影响

陈春霞¹, 霍国伟², 杨尔滨², 黄建春¹, 林兴¹, 黄仁彬^{1*}

(1. 广西医科大学药理学教研室, 南宁 530021; 2. 新加坡前进医药戒毒中心, 新加坡)

[摘要] 目的: 研究中药 URWell 对吗啡依赖小鼠催促戒断症状及其一氧化氮(NO)/一氧化氮合酶(NOS)系统的影响, 初探其作用机制。方法: 取昆明种小鼠 60 只, 随机分为正常对照组, 模型组, 阳性对照组(可乐定, $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, ig), URWell 组(以生药剂量分别为 $20, 10, 5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, ig)。除正常对照组外, 各组以剂量递增法连续皮下注射吗啡, 建立吗啡依赖模型, 于建模第 5 天开始各组分别给予相应的药物, 连续给药 6 d。各组于建模第 8 天, 予以纳络酮($4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip)催促戒断, 观察小鼠 2 h 内的戒断症状和体重变化。用硝酸还原酶法测定各组小鼠大脑组织匀浆的 NO 含量与 NOS 活性。结果: 与模型组比较, URWell 组($20, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)小鼠在第 8, 9 天跳跃反应明显降低($P < 0.05$), 可乐定组和 URWell 组($20, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)小鼠戒断后体重降低明显减少($P < 0.05$), 可乐定组和 URWell 组($20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)小鼠大脑 NO 含量及 NOS 活性下降($P < 0.05$)。结论: URWell 能抑制吗啡依赖小鼠催促戒断症状, 其作用机制可能与 URWell 影响大脑的 NO/NOS 系统有关。

[关键词] URWell; 吗啡依赖; 一氧化氮; 一氧化氮合酶; 戒断症状

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0290-04

Effects of URWell on Withdrawal Syndrome and NO/NOS System in Morphine-dependent Mice

CHEN Chun-xia¹, HUO Guo-wei², YANG Er-bin², HUANG Jian-chun¹, LIN Xin¹, HUANG Ren-bin^{1*}

(1. Department of Pharmacology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2. URWELL ONE-STOP Recovery Center, Singapore)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of URWell on withdrawal syndrome and nitric oxide (NO) /nitric oxide synthase (NOS) system in morphine-dependent mice and its action mechanisms. **Method:**

[收稿日期] 20120912(013)

[第一作者] 陈春霞, 硕士生, 从事生化药理学研究, Tel: 0771-5339805, E-mail: chunxia251401@126.com

[通讯作者] * 黄仁彬, 博士, 教授, 博士生导师, 从事生化药理学研究, Tel: 0771-5339805, E-mail: huangrenbin518@163.com

- [2] 关喆, 卫四来. 骨性关节炎病因探讨[J]. 吉林中医药, 2009, 29(3):198.
- [3] 师咏梅, 许放, 柳占彪. 痹祺胶囊对实验性骨关节炎大鼠 MMP-3 和 TIMP-1 的影响[J]. 天津中医药, 2011, 28(1):64.
- [4] 苏宁, 姚全胜. 新药毒理实验动物组织病理学图谱[M]. 南京: 东南大学出版社, 2005:127.
- [5] 付冬瑞. 膝关节滑膜炎中西医治疗近况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1):209.
- [6] 杜以宽, 马民, 唐勇. 中医对骨性关节炎病因病机的认识[J]. 浙江中医药大学学报, 2009, 33(2):155.
- [7] 孙丽红, 李超英. 虎骨及代用品研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2002, 18(4):59.
- [8] 邱洪斌, 王景涛, 徐辉, 等. 人工虎骨粉对家兔骨折愈合影响的实验研究[J]. 临床医药实践杂志, 2008, 1(24):953.
- [9] 张依山. 金天格胶囊对成骨细胞作用的研究[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(2):321.
- [10] 张军, 吴林生, 孙树椿, 等. 金天格胶囊治疗原发性骨质疏松症 660 例临床疗效[J]. 中国骨质疏松杂志, 2005, 11(4):490.

[责任编辑 何伟]