

# 温肾通络止痛颗粒对去卵巢大鼠骨密度及骨代谢的影响

孙福荣<sup>1</sup>, 郭杨<sup>1</sup>, 马勇<sup>1</sup>, 周信<sup>2\*</sup>, 许建安<sup>3</sup>

(1. 南京中医药大学, 南京 210029; 2. 南京医科大学附属江宁医院, 南京 211100;  
3. 江苏省中医院, 南京 210029)

**[摘要]** **目的:** 观察温肾通络止痛颗粒对去卵巢大鼠骨密度及骨代谢的影响, 探究其防治骨质疏松症的机制。**方法:** 将 90 只雌性大鼠随机分成空白对照组, 模型组, 温肾通络止痛颗粒低、中、高剂量组 (按生药量计为 4, 8, 16 g·kg<sup>-1</sup>) 及尼尔雌醇组 (1 mg·kg<sup>-1</sup>) 共 6 组, 采用卵巢切除的方法制成骨质疏松动物模型, ig 给药 3 个月后进行骨密度 (BMD)、降钙素 (CT)、骨钙素 (BGP) 及雌二醇 (E<sub>2</sub>) 等骨代谢指标的检测。**结果:** 对照组、模型组、尼尔雌醇组、温肾通络止痛颗粒低、中、高剂量组 BMD 分别是 (0.231 8 ± 0.003 6), (0.198 8 ± 0.003 9), (0.219 9 ± 0.002 4), (0.201 1 ± 0.000 9), (0.202 3 ± 0.002 7), (0.220 2 ± 0.002 1) g·cm<sup>-2</sup>; CT 含量分别为 (74.61 ± 10.54), (48.33 ± 13.72), (71.72 ± 14.83), (56.76 ± 12.58), (68.39 ± 13.74), (75.29 ± 15.63) ng·L<sup>-1</sup>; E<sub>2</sub> 含量分别为 (88.61 ± 17.54), (28.45 ± 11.39), (71.71 ± 8.69), (68.11 ± 12.63), (70.93 ± 10.42), (75.21 ± 9.37) ng·L<sup>-1</sup>。模型组及各治疗组 BGP 含量与空白对照组比较无显著差异。温肾通络止痛颗粒低、中、高剂量组股骨 BMD, CT, E<sub>2</sub> 含量升高, 与模型组相比差异具有显著意义 (P < 0.05), 以高剂量组效果最明显 (P < 0.01)。**结论:** 温肾通络止痛颗粒能够明显提高去卵巢大鼠骨密度值, 改善其骨代谢状况, 从而起到抗骨质疏松作用。

**[关键词]** 骨质疏松; 温肾通络止痛颗粒; 骨密度; 骨代谢

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0275-03

## Effect of Wenshen Tongluo Zhitong Granule on Bone Mineral Density and Bone Metabolism in Ovariectomized Rats

SUN Fu-rong<sup>1</sup>, GUO Yang<sup>1</sup>, MA Yoing<sup>1</sup>, ZHOU Xin<sup>2\*</sup>, XU Jian-an<sup>3</sup>

(1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Nanjing 210029, China;  
2. The Affiliated Jiangning Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 211100, China;  
3. Jiangsu Province Hospital of TCM, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Wenshen Tongluo Zhitong granule on osteoporosis in rat ovariectomized model, to explore its mechanism. **Method:** Ninety female rats were randomly divided into control group, model group, low-dose, medium-dose, high-dose Wenshen Tongluo Zhitong granule groups and nystriid (CEE3) group. Animal models of osteoporosis was induced with the ovariectomized method, and intragastric administration was performed. The bone mineral density (BMD), calcitonin (CT), bone Gla protein (BGP) and estradiol (E<sub>2</sub>) after 3 months were measured. **Result:** The BMD content in the control group, model group, CEE3 group, low-dose, medium-dose, high-dose of Wenshen Tongluo Zhitong granule group was (0.231 8 ± 0.003 6), (0.198 8 ± 0.003 9), (0.219 9 ± 0.002 4), (0.201 1 ± 0.000 9), (0.202 3 ± 0.002 7), (0.220 2 ± 0.002 1) g·cm<sup>-2</sup>, the CT content is (74.61 ± 10.54), (48.33 ± 13.72), (71.72 ± 14.83), (56.76 ± 12.58), (68.39 ± 13.74), (75.29 ± 15.63) ng·L<sup>-1</sup>, the BGP content is (5.95 ± 1.20), (5.46 ± 1.34), (6.27 ± 1.21), (6.08 ± 1.24), (6.12 ± 1.47), (6.15 ± 1.19) μg·L<sup>-1</sup>, the E<sub>2</sub> content is (88.61 ± 17.54), (28.45 ± 11.39), (71.71 ± 8.69), (68.11 ± 12.63), (70.93 ± 10.42),

**[收稿日期]** 20120102(007)

**[基金项目]** 康缘中医药科技创新与奖励基金(HZ1004KY)

**[第一作者]** 孙福荣, 主任医师, 在读博士研究生, 从事中西医结合治疗骨关节疾病的基础和临床研究

**[通讯作者]** \* 周信, 硕士研究生, 从事中西医结合治疗骨关节疾病的基础和临床研究, Tel: 13770732935, E-mail: zhouxinyan@126.com

(75.21 ± 9.37) ng · L<sup>-1</sup>. The BGP content in ovariectomized rats had no significant change in the model group, treatment groups and CEE3 group compared to the control group. The BMD and CT content in treatment groups significantly increased compared with the model group, and the high dose group improved most significantly ( $P < 0.01$ ). The E<sub>2</sub> content in treatment groups significantly increased compared with the model group ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion:** Wenshen Tongluo Zhitong granule can significantly increases bone mineral density and improve bone metabolism in ovariectomized rats, which plays the role of anti-osteoporosis.

[ **Key words** ] osteoporosis; Wenshen Tongluo Zhitong granule; bone mineral density; bone metabolism

骨质疏松 (osteoporosis, OP) 是以骨量减少, 骨小梁变细、断裂、数量减少, 皮质骨多孔、变薄为特征, 以致骨的脆性增高及骨折危险性增加的一种全身性骨病<sup>[1]</sup>。中医学根据“肾主骨”理论, 以温肾通络止痛为主的整体疗法, 对骨质疏松症的治疗, 有其独特的优势。温肾止痛通络止痛颗粒是由江苏省中医院治疗骨质疏松症的经验方改制而成, 通过临床试验研究显示, 温肾止痛方无明显毒副作用, 具有明显的温阳、通络、除痹、止痛等功能, 抗骨质疏松的作用显著<sup>[2]</sup>。本实验通过观察温肾通络止痛颗粒对去卵巢大鼠骨代谢的影响, 为进一步指导该药的临床应用提供理论依据。

## 1 材料

**1.1 药品与试剂** 温肾通络止痛颗粒, (由黄芪 30 g, 淡附片 10 g, 桂枝 10 g, 山茱萸 20 g, 骨碎补 15 g, 淫羊藿 10 g, 蛇床子 5 g, 牡蛎 10 g, 天麻 10 g, 白术 10 g, 薏苡仁 10 g, 香橡皮 10 g, 广木香 10 g, 鸡血藤 10 g, 炙甘草 10 g 组成, 加 5 倍水煎煮 1 h, 过滤, 共 2 次, 合并滤液, 离心, 取上清液, 浓缩, 分装冷藏备用), 每 1 g 相当于 5.6 g 生药, 人日用量为 80 g 生药/60 kg 体重, 由南京中医药大学第一临床医学院提供, 批号 070422。尼尔雌醇片 (CEE3, 上海华联制药有限公司出品, 批号 070505)。青霉素 (江西东风药业股份有限公司, 批号 061139-2), 降钙素 (CT, 解放军总医院科技开发中心放免所, 批号 20071013), 骨钙素 (BGP, 解放军总医院科技开发中心放免所, 批号 20070929, 雌二醇 (E<sub>2</sub>, 北京北方生物技术研究所, 批号 20071001D)。

**1.2 动物** 健康雌性 SD 大鼠 90 只, 鼠龄 24 周, 体重 260 ~ 300 g。由上海斯莱克实验动物责任有限公司提供, 实验动物生产许可证 SCXK (沪) 2003-0003。

**1.3 仪器** LDZ5-2 型离心机 (北京医用离心机厂), 骨密度测定仪 (Piximus bone densitometer, 美国 General Electronic Lunar 公司), SN-682 B 型  $\gamma$  计数器 (上海核福光电有限公司), BX60 荧光多功能显

微镜 (日本 Olympus 公司)。

## 2 方法

**2.1 骨质疏松动物模型建立** 90 只健康雌性 SD 大鼠, 随机分为 6 组。其中空白对照组大鼠不作处理, 其余大鼠以 3% 戊巴比妥钠溶液 1 mL · kg<sup>-1</sup> ip 麻醉, 由背部进入, 完整摘除双侧卵巢, 止血缝合。空白对照组只切除卵巢周围少许脂肪组织<sup>[3]</sup>。术后肌注青霉素生理盐水 2 万 u · kg<sup>-1</sup>, 连用 3 d。

**2.2 分组与给药** 将去卵巢大鼠饲养 1 周后随机分为 5 组, 加上空白对照组总共 6 组: 空白对照组 ig 蒸馏水; 模型组 ig 蒸馏水; 温肾通络止痛颗粒低、中、高剂量组 (按生药量计为 4, 8, 16 g · kg<sup>-1</sup>) ig; 尼尔雌醇组 (CEE3): 尼尔雌醇片以蒸馏水溶解后, 1 mg · kg<sup>-1</sup> ig 给药。除尼尔雌醇组每周 ig 1 次, 其余各组均以 10 mL · kg<sup>-1</sup> 每天 ig 1 次。连续给药 3 个月。

## 2.3 指标测定

**2.3.1 骨密度 (BMD) 测定** 连续给药 3 个月后取大鼠左股骨, 放在有机玻璃盒支架上固定, 以 Piximus 骨密度测定仪扫描其 BMD。

**2.3.2 降钙素 (CT)、骨钙素 (BGP) 及雌二醇 (E<sub>2</sub>) 检测** 大鼠摘眼球取血, 分离血清, 采用相应放免药盒, 以 SN-682B 型  $\gamma$  计数器测定大鼠血清中 CT, BGP, E<sub>2</sub> 的含量。

**2.3.3 统计学处理** 数据处理采用 SPSS 16.0 统计软件进行方差分析, 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对 BMD 的影响** 模型组股骨骨密度显著低于空白对照组 ( $P < 0.01$ )。温肾通络止痛颗粒低、中、高剂量组骨密度值与模型组相比较有所提高, 其中温肾通络止痛颗粒中、高剂量组具有显著差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 1。

**3.2 对 CT, BGP, E<sub>2</sub> 含量的影响** 模型组 CT, E<sub>2</sub> 含量显著低于空白对照组 ( $P < 0.01$ )。温肾通络止

表1 温肾通络止痛颗粒对去卵巢大鼠骨密度的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	BMD/g·cm <sup>-2</sup>
对照	-	0.231 8 ± 0.003 6 <sup>2)</sup>
模型	-	0.198 8 ± 0.003 9
尼尔雌醇	1	0.219 9 ± 0.002 4 <sup>2)</sup>
温肾通络止痛颗粒	4	0.201 1 ± 0.000 9
	8	0.202 3 ± 0.002 7 <sup>1)</sup>
	16	0.220 2 ± 0.002 1 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (表2同)。

表2 温肾通络止痛颗粒对去卵巢大鼠 CT, BGP, E<sub>2</sub> 的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	CT/ng·L <sup>-1</sup>	BGP/μg·L <sup>-1</sup>	E <sub>2</sub> /ng·L <sup>-1</sup>
对照	-	74.61 ± 10.54 <sup>2)</sup>	5.95 ± 1.20	88.61 ± 17.54 <sup>2)</sup>
模型	-	48.33 ± 13.72	5.46 ± 1.34	28.45 ± 11.39 <sup>Δ</sup>
尼尔雌醇	1	71.72 ± 14.83 <sup>2)</sup>	6.27 ± 1.21	71.71 ± 8.69 <sup>2)</sup>
温肾通络止痛颗粒	4	56.76 ± 12.58	6.08 ± 1.24	68.11 ± 12.63 <sup>2)</sup>
	8	68.39 ± 13.74 <sup>1)</sup>	6.12 ± 1.47	70.93 ± 10.42 <sup>2)</sup>
	16	75.29 ± 15.63 <sup>2)</sup>	6.15 ± 1.19	75.21 ± 9.37 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

骨质疏松症属祖国医学骨痿、骨痹、虚劳、骨枯范畴,中医认为“肾主骨”<sup>[4]</sup>,其病因病机以肾虚为本,瘀血阻滞为标,治疗上多从肾着手<sup>[5]</sup>,温补肾阳为本,通络除痹止痛为辅,因此,应用温补肾阳、通络止痛的中药来治疗骨质疏松症是必不可少的。温肾通络止痛方为江苏骨伤名医诸方受教授经验方,临床疗效明显。温肾通络止痛颗粒在温肾通络止痛方组方基础上,进一步完善。方中重用黄芪,补气健脾,意在益气行血,活血通络,为君药。淡附片主一身之阳,鼓舞肾阳,桂枝、山茱萸、骨碎补、淫羊藿、蛇床子温补肾阳,牡蛎平肝潜阳,天麻通络止痛,白术、薏苡仁渗湿宣痹,燥湿益气为臣药。佐以香橼皮、广木香、鸡血藤疏通气机,舒筋活络;炙甘草缓急止痛,调和诸药。诸药合用,达先天、后天同补,肾阳旺盛,血脉畅通,筋脉、骨骼得养,痰湿瘀滞尽化,络通痹除之功。

现代研究表明,补肾中药具有雌激素样作用<sup>[6]</sup>,而补肾方药通过多环节、多途径,调节骨质疏松大鼠的骨形成与骨吸收,使其达到骨形成与骨吸收相偶联,而防治骨质疏松<sup>[7]</sup>。补肾通络中药可以有效降低骨质疏松大鼠的骨代谢异常旺盛水平,明显提高其骨密度<sup>[8]</sup>。补肾方药在临床和实验中均证实能有效地防治骨质疏松症<sup>[9-10]</sup>。

通过本实验发现,温肾通络止痛颗粒对于骨质疏松大鼠模型骨密度指标的改善具有显著作用,可提高血清中的CT及E<sub>2</sub>量,进而对抗去卵巢后的骨质疏松症。尤以高剂量组(16 g生药/kg)效果最佳。本研究进一步证明,温肾通络止痛颗粒能够明显提高增加去卵巢大鼠骨密度值,改善其骨代谢状

况,从而起到抗骨质疏松作用。但由于本实验空白对照组未进行假手术处理,且对本病的治疗属于预防性给药,可能对结果及其参考价值有一定影响。因此,有关温肾通络止痛颗粒的具体作用机制,尤其是分子生物学机制,还有待于深入探索研究。

#### [参考文献]

- [1] 马勇,汪志芳,王培民,等. 自拟温肾通络止痛方治疗骨质疏松症45例临床研究[J]. 中医学报,2010,38(1):103.
- [2] 胥少汀,葛宝丰,徐印坎. 实用骨科学[M]. 3版. 北京:人民军医出版社,2008:1198.
- [3] 林燕萍,周瑞祥,郭世明,等. 健骨颗粒对去卵巢骨质疏松模型大鼠骨质量的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2004,24(5):431.
- [4] 王建伟,马勇,周玲玲,等. 金匱肾气丸联合葡萄糖酸钙对去势大鼠骨质疏松的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2011,17(1):74.
- [5] 郭杨,马勇. 中医药治疗骨质疏松症的常用处方分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):188.
- [6] 李恩,孔德娟,杨学辉,等. 补肾方药对骨质疏松防治的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2002,8(2):166.
- [7] 闵文,黄桂成,华永庆,等. 补肾通络方治疗去势大鼠骨质疏松的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(17):189.
- [8] 时彦菊,鞠大宏,于智敏,等. 中医药对雌激素受体相关疾病调节作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(15):208.
- [9] 韦大文,尚立芝,李沛,等. 补肾方治疗去势雌鼠骨质疏松及其机制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(10):125.
- [10] 杜贵友,曹春雨. 中药治疗骨质疏松症实验研究进展[J]. 中国中药杂志,2011,36(4):401.

[责任编辑 聂淑琴]