

# 左归丸对去卵巢骨质疏松大鼠肾脏 TGF- $\beta_1$ /Smad4 mRNA 表达的影响

任艳玲<sup>1\*</sup>, 李娅玲<sup>1</sup>, 吕海波<sup>1</sup>, 刘立萍<sup>1</sup>, 赵金茹<sup>1</sup>, 王良辰<sup>2</sup>

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110032; 2. 东北育才双语学校, 沈阳 110164)

**[摘要]** 目的:研究左归丸对去卵巢骨质疏松大鼠的治疗作用及其机制。方法:SD 雌性大鼠分为正常组,假手术组,模型组,左归丸高、中、低剂量组,及尼尔雌醇组,采用去卵巢的方法建立绝经后骨质疏松症模型,术后 21 d 开始给药:正常组,假手术组 ig 生理盐水;左归丸高、中、低剂量组分别 ig 6.4,3.2,1.6 g·kg<sup>-1</sup>,1 次/d;尼尔雌醇组 ig 0.021 g·kg<sup>-1</sup>,1 次/周,连续 60 d。取大鼠左后肢股骨远端 1/3 做病理切片,光镜下观察骨组织形态学变化,测定骨小梁面积百分比(Tb·Ar);采用双能 X 射线骨密度仪测定右后肢离体股骨近端 1/3 及股骨整体的骨密度(BMD);采用 RT-PCR 法检测大鼠肾脏质的转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )/Smad4 mRNA 表达。结果:与模型组比较,左归丸高、中剂量组骨小梁面积百分率(Tb·Ar)显著升高( $P < 0.05$ ),左归丸高、中剂量组的股骨的骨密度显著升高( $P < 0.05$ );各组肾脏组织病理形态学未见明显病理变化;与正常组相比,模型空白组 TGF- $\beta_1$ ,Smad4 mRNA 水平过高表达( $P < 0.05$ );与模型组相比,各给药组肾脏组织中 TGF- $\beta_1$ ,Smad4 mRNA 表达均显著下调( $P < 0.05$ ),且左归丸各剂量组的下调力度均强于尼尔雌醇组,但以左归丸低剂量组下调最为显著。结论:左归丸能有效防治绝经后骨质疏松症,其作用机制之一可能与其干预肾组织中 TGF- $\beta_1$ /Smad4 的信号转导通路有关。

**[关键词]** 左归丸;绝经后骨质疏松症;转化生长因子- $\beta_1$ ;Smad4

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0190-05

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20120313.1302.007 **[网络出版时间]** 2012-03-13 13:02

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120313.1302.007.html>

**[收稿日期]** 20111010(011)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30873226);教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20102133110001);辽宁省高等学校优秀人才支持计划(LR201025)

**[通讯作者]** \*任艳玲,教授,博士后,从事方药配伍规律及作用机制的研究,Tel:024-31207267,E-mail:yanlingren@tom.com

其他影响胃肠运动、消化吸收功能方面,尤其要从缓和寒性的角度,进行深入研究,将有利于对其炮制前后健脾作用的差异有深入的揭示。

## [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:212.
- [2] 肖飞艳,冯育林,杨世林,等.泽泻化学成分的研究进展[J].中药新药与临床药理,2009,20(5):491.
- [3] 禹建春,叶红梅,林西西.泽泻的药理研究概况[J].海峡药学,2011,23(2):92.
- [4] 樊凯芳,唐迎雪,曹淑霞.三化汤对脑缺血-再灌注老龄大鼠胃肠组织 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性及 Ca<sup>2+</sup>-ATP 酶活性的影响[J].时珍国医国药,2009,20(6):1367.
- [5] 韩坚,陈孝健.离体肠管实验的研究概况[J].中医药

导报,2008,14(3):94.

- [6] 刘妍妍,崔志清.牛磺酸对小鼠肠推进及大鼠离体回肠平滑肌运动的影响[J].天津医科大学学报,2008,14(4):441.
- [7] 麻晓慧,缪红,商亚珍,等.枳术丸煎剂与枳术汤对大鼠胃动素的影响[J].承德医学院学报,2007,24(3):273.
- [8] 史琪荣,于少云,孙晓迪,等.黄连干姜药对对功能性消化不良大鼠胃排空和血清胃泌素的影响[J].中国药杂志,2011,46(13):988
- [9] 王承党.胃肠激素对胃运动和排空的调节作用[J].国外医学:消化系疾病分册,1995,(2):77.

[责任编辑 聂淑琴]

## Expressions of TGF- $\beta_1$ /Smad4 mRNA of Kidney by Zuogui Wan in Ovariectomy-induced Osteoporosis Rats

REN Yan-ling<sup>1\*</sup>, LI Ya-ling<sup>1</sup>, LV Hai-bo<sup>1</sup>, LIU Li-ping<sup>1</sup>, ZHAO Jin-ru<sup>1</sup>, WANG Liang-chen<sup>2</sup>

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China;

2. Northeast Yucai Bilingual Schools, Shenyang 110164, China)

**[ Abstract ] Objective:** To study effect and mechanism of Zuogui Wan in ovariectomized osteoporosis rats. **Method:** SD female rats were divided into 7 groups; normal, Sham operation (Sham), ovariectomized (OVX), Zuogui Wan high- [ZG (H)], Zuogui Wan middle-dose [ZG (M)], Zuogui Wan low-dose [ZG (L)] and nilestriol (N). The rat ovariectomy-induced osteoporosis model was adopted, 21 days later, normal, Sham and OVX rats were ig given with dwas? tilled water. ZG (H, M, L) rats groups were ig given with Zuogui Wan at dosage of 6.4, 3.2, 1.6 g·kg<sup>-1</sup>, once per day. N rats were ig given with 0.021 g·kg<sup>-1</sup>, once per week. Sixty days later, the left hind distal femur at the 1/3 side was taken to test the pathological section for determining the percentage of trabecular separation (Tb·Ar). We determined the bone mineral density (BMD) of right hind proximate femur at the 1/3 and used the method of RT-PCR to test the expression of TGF- $\beta_1$ /Smad4 mRNA in kidney medulla. **Result:** Compared with OVX, ZG (H) and ZG (M) increased Tb·Ar and ( $P < 0.05$ ). No pathological change in kidney tissues was found. Compared with normal group, the expression of TGF- $\beta_1$ /Smad4 mRNA in OVX rats increased ( $P < 0.05$ ). Compared with OVX, the expression of TGF- $\beta_1$ /Smad4 mRNA in Zuogui Wan treated groups was down-regulated ( $P < 0.05$ ), which was more significant in the total groups of Zuogui Wan than that in nilestriol group, and low dosage of Zuogui Wan showed a most obvious down-regulation. **Conclusion:** Zuogui Wan can prevent and treat postmenopausal osteoporosis (PMOP) effectively. One of the mechanisms may be related to its interfering the TGF- $\beta_1$ /Smad4 signaling of the kidney tissue.

**[ Key words ]** Zuogui wan; osteoporosis; TGF- $\beta_1$ ; Smad4

绝经后骨质疏松症 (postmenopausal osteoporosis, PMOP) 是一种与雌激素缺乏直接相关, 但亦与多种遗传因素和后天性因素关联, 以骨量减少、骨组织微结构破坏为特征, 导致脆性增加和易于骨折的代谢性骨病<sup>[1]</sup>。既往研究表明, 去卵巢后骨质疏松症大鼠 TGF- $\beta_1$ /Smads 信号转导通路发生异常, 主要表现在大鼠骨组织中 TGF- $\beta_1$  的 mRNA 及 Smads 蛋白表达显著下降<sup>[2-3]</sup>, 左归丸可有效防治去卵巢及糖皮质激素所致大鼠骨质疏松<sup>[4-6]</sup>。本实验拟在此基础上, 以去卵巢骨质疏松大鼠肾组织的 TGF- $\beta_1$ /Smad4 信号表达途径为切入点, 进一步探究去卵巢骨质疏松之发病机制及左归丸防治去卵巢所致骨质疏松症的作用机制。

### 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 雌性大鼠 79 只, 4.5 月龄, 体重 270 ~ 290 g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 许可证号 SCXK (沪) 2008-0016。将实验大鼠按体重随机分层, 每层按数量比暂分为 3 组: 正

常组 11 只; 假手术 11 只; 其余 57 只准备实施双侧卵巢切除术造模。

**1.2 药物及试剂** 左归丸, 由上海雷允上封浜制药有限公司提供 (批号 090409); 尼尔雌醇片由上海医药 (集团) 有限公司新华联制药厂提供 (批号 080803); RNAiso Reagent (DRR019A), TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver. 3.0 试剂 (D9108A), 琼脂糖 (批号 D601) 由 TaKaRa 公司提供; 其他试剂均为国产分析纯。

**1.3 仪器** BX51 型显微镜 (Olympus, 日本); XR-36 型双能 X 射线骨密度仪 (Norland, 美国); 550 型微孔板酶标仪 (BIO-RAD, 美国); Mycycler™ Thermal Cycler PCR 扩增仪 (美国, BIO-RAD); EPS 300 电泳仪 (上海); WD-9413 凝胶成像分析仪 (北京, 六一); HE-90 小号水平电泳槽 (上海, 天能)。

### 2 方法

**2.1 动物造模** 大鼠经 10% 水合氯醛 0.35 mL·100 g<sup>-1</sup> 腹腔注射麻醉, 从大鼠腰背部脊柱两侧入

路,切除双侧卵巢;假手术组将卵巢从腹腔提出而不切除,仅切除周围少量脂肪组织。

**2.2 动物分组** 除正常组(11 只)、假手术组(11 只),术后 21 d,将去卵巢存活的大鼠(50 只,手术死亡 7 只)按体重分层随机分为 5 组:模型组(10 只)、尼尔雌醇组(10 只)、左归丸高剂量组(10 只)、左归丸中剂量组(10 只)、左归丸低剂量组(10 只)。

**2.3 给药方法及剂量** 根据人与大鼠等剂量换算公式折算大鼠左归丸的等临床剂量为  $1.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,并设为低剂量组。左归丸高、中、低剂量组大鼠分别给予左归丸 6.4,3.2,1.6  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,1 次/d;尼尔雌醇组给予尼尔雌醇 0.021  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,1 次/周,使用前分别将左归丸和尼尔雌醇片用蒸馏水制成混悬液,10  $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,灌服;正常组、假手术组及模型组均灌服蒸馏水 10  $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,1 次/d;灌胃期间,各组大鼠每周给予称重 1 次,并根据体重调整给药量。

**2.4 标本采集** 实验大鼠连续给药 60 d 后,禁食禁水 24 h。经 10% 水合氯醛 3.5  $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  腹腔注射麻醉。取大鼠左后肢股骨远端 1/3 近关节部位,用于病理形态学测定;取大鼠右后肢股骨,剔除骨组织上附着的肌肉筋膜,置  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱冻存,用于骨密度检测;分离出大鼠两侧肾脏组织,将左侧肾脏整个放入 10% 的多聚甲醛固定液中保存,用于病理形态学检测。留取右侧肾脏,取出少量的肾髓质,体积重约为 100 g,至  $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  的冰箱保存,以备 RT-PCR 方法检测肾组织中 TGF- $\beta_1$ /Smad4 mRNA 的表达。

## 2.5 观察指标

**2.5.1 骨组织形态计量学参数的测定** 取大鼠左后肢股骨远端 1/3 进行脱钙骨的切片制作及染色,方法参见文献[7]。将大鼠的 HE 染色切片置于显微镜下( $10 \times 10$ )观察骨小梁细微结构的变化,同时采用 Motic Images Advanced3.2 图像分析软件进行形态计量,每张切片测量 4 个视野,测定面积均为 120 000  $\mu\text{m}^2$ ,最后取平均值,计算出骨小梁面积百分率(Tb·Ar)。

**2.5.2 离体股骨骨密度的测量** 取大鼠右后肢离体股骨近端 1/3 及股骨整体骨密度( $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ),批内 CV 在 0.82% ~ 1.24%,扫描长度 1 cm,宽度 1 cm,扫描速度 60  $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ,单位为  $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,表示大鼠扫描所取区域每平方厘米含的骨矿物质量。

**2.5.3 肾组织病理形态学检测** 取左侧肾脏组织,常规脱水,浸蜡、包埋,做组织石蜡切片,行 HE 染色,光镜下观察各组肾组织病理学变化。

### 2.5.4 肾组织 TGF- $\beta_1$ , Smad4 的 mRNA 表达

**2.5.4.1 总 RNA 的提取及浓度测定** 采用 Trizol 一步法提取肾组织总 RNA,用紫外分光光度计测定 RNA 吸光度( $A_{260}/A_{280}$ ) 在 1.8 ~ 2.2,根据测出的总 RNA 的浓度,运用公式计算出 RT 反应时的总 RNA 样本量。

**2.5.4.2 引物设计** 设计大鼠 TGF- $\beta_1$ , Smad4 基因引物,参照 Genbank:NM021578 挪威大鼠基因编码区 cDNA 序列,利用 primer3 软件设计,由 TaKaRa 公司合成。见表 1。

表 1 引物序列及扩增条件

引物	序列	扩增长度/bp	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$	循环数/次
TGF- $\beta_1$	5'-CCAAGGAGACGGAATACAGG-3'	412	65	30
	5'-GTGTTGGTTGTAGAGGGCAAG-3'			
Smad4	5'-TCAGCCAGCTACTTACCACCA-3'	428	65	30
	5'-ACAGTCCCTTCACCTTTAC-3'			
$\beta$ -actin	5'-TGTATGCCTCTGGTCGTACCAC-3'	535	65	30
	5'-ACAGACTACTTGGCTCAGGAG-3'			

**2.5.4.3 基因检测** 采用 RT-PCR 方法对 TGF- $\beta_1$  及 Smad4 mRNA 水平进行半定量分析,操作按试剂盒说明书进行。①逆转录反应:在 10  $\mu\text{L}$  反应体系中加入总 RNA 样本 1  $\mu\text{L}$ , Oligo dT-Adaptor Primer 0.5  $\mu\text{L}$ , AMV Reverse Transcriptase XL 0.5  $\mu\text{L}$ , RNase Free dH<sub>2</sub>O 3.75  $\mu\text{L}$ , RNase Inhibitor 0.25  $\mu\text{L}$ , dNTP Mixture 1  $\mu\text{L}$ , MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu\text{L}$ , 10  $\times$  RT Buffer 1  $\mu\text{L}$ 。反应条件 30  $^{\circ}\text{C}$ , 10 min;50  $^{\circ}\text{C}$ , 30 min;99  $^{\circ}\text{C}$ ,

5 min;5  $^{\circ}\text{C}$ , 5 min。②PCR 反应:在 25  $\mu\text{L}$  反应体系中加入 RT 反应液 5  $\mu\text{L}$ , Primer-1 与 Primer-2 各 0.25  $\mu\text{L}$ , EX Taq HS 0.15  $\mu\text{L}$ , 5  $\times$  PCR Buffer 5  $\mu\text{L}$ , 灭菌水 14.35  $\mu\text{L}$ 。反应条件 94  $^{\circ}\text{C}$ , 2 min 预变性;94  $^{\circ}\text{C}$ , 30 s 变性,65  $^{\circ}\text{C}$ , 30 s 退火,72  $^{\circ}\text{C}$ , 1 min 延伸,30 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$ , 5 min 延伸。反应完成后取 5  $\mu\text{L}$  PCR 反应液,与上样缓冲液混匀,在 1.5% 的琼脂糖凝胶中进行恒压电泳(180 V, 20 min)。采用

WD-9413B 凝胶成像分析仪进行图像分析,并用 Gel pro32 凝胶图像分析软件对 PCR 产物进行半定量分析,分别用 TGF- $\beta_1$ / $\beta$ -actin, Smad4/ $\beta$ -actin 的吸光度比值来表示 TGF- $\beta_1$ , Smad4 的 mRNA 表达水平。

**2.6 统计学分析** 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,用统计学软件 SPSS 15.0 的 ONE-Way ANOVA 进行分析,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对骨形态计量学参数测定的影响** 与正常组比较,模型组的 Tb·Ar 显著降低 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,左归丸高、中剂量组 Tb·Ar 显著升高 ( $P < 0.05$ ),其中以高剂量组最为显著。见表 2。

表 2 左归丸对大鼠骨小梁面积的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	Tb·Ar/%
正常	-	40.885 $\pm$ 0.733
假手术	-	43.860 $\pm$ 2.896 <sup>2)</sup>
模型	-	29.533 $\pm$ 3.685 <sup>1)</sup>
尼尔雌醇	0.021	46.785 $\pm$ 7.183 <sup>2)</sup>
左归丸	6.4	39.513 $\pm$ 7.092 <sup>2)</sup>
	3.2	37.278 $\pm$ 1.583 <sup>2)</sup>
	1.6	33.324 $\pm$ 0.670

注:与正常组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组相比<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ (表 3~4 同)。

**3.2 对去卵巢大鼠股骨离体骨密度的作用** 与正常组相比,模型组大鼠的股骨近端 1/3、股骨整体骨密度值均显著下降 ( $P < 0.05$ ),提示去卵巢后大鼠骨矿含量丢失严重,左归丸高、中剂量组的股骨近端 1/3 及整体的骨密度升高最为显著 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 左归丸对大鼠离体骨密度的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量		股骨近端 1/3 / $g \cdot cm^{-2}$	股骨整体 / $g \cdot cm^{-2}$
	/ $g \cdot kg^{-1}$	<i>n</i>		
正常	-	8	0.138 $\pm$ 0.004	0.132 $\pm$ 0.004
假手术	-	7	0.139 $\pm$ 0.004 <sup>2)</sup>	0.134 $\pm$ 0.005 <sup>2)</sup>
模型	-	8	0.126 $\pm$ 0.014 <sup>1)</sup>	0.125 $\pm$ 0.009 <sup>1)</sup>
尼尔雌醇	0.021	8	0.138 $\pm$ 0.006 <sup>2)</sup>	0.132 $\pm$ 0.004 <sup>2)</sup>
左归丸	6.4	8	0.138 $\pm$ 0.010 <sup>2)</sup>	0.131 $\pm$ 0.007 <sup>2)</sup>
	3.2	8	0.137 $\pm$ 0.009 <sup>2)</sup>	0.133 $\pm$ 0.005 <sup>2)</sup>
	1.6	8	0.125 $\pm$ 0.008 <sup>1)</sup>	0.127 $\pm$ 0.007

**3.3 左归丸对去卵巢大鼠肾组织病理形态学的作用** 光镜下观察各实验组变化不明显,肾小球基底膜无明显增生、变性或纤维化,肾小管上皮无变性、坏死,间质无炎症反应,集合管形态及组织结构均正常。

**3.4 左归丸对去卵巢大鼠肾组织 TGF- $\beta_1$ , Smad4 mRNA 表达的作用** 经 RT-PCR 实验, TGF- $\beta_1$ ,

Smad4 和  $\beta$ -actin 分别在 412 bp, 428 bp, 535 bp 见到条带,经分析证实结果与设计引物相符。半定量分析结果显示,与正常组相比,模型空白组 TGF- $\beta_1$ , Smad4 的 mRNA 水平过高表达 ( $P < 0.05$ );与模型组空白相比,各治疗组肾组织中 TGF- $\beta_1$ , Smad4 的 mRNA 表达均显著下调 ( $P < 0.05$ ),且左归丸高、中、低剂量组的下调力度均强于尼尔雌醇组,但以左归丸低剂量组作用最显著。见表 4。

表 4 左归丸对大鼠肾组织中 TGF- $\beta_1$ , Smad4 的 mRNA 相对表达量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	TGF- $\beta_1$	Smad4
		/ $\beta$ -actin	/ $\beta$ -actin
正常	-	0.573 $\pm$ 0.088	0.352 $\pm$ 0.061
假手术	-	0.599 $\pm$ 0.077	0.373 $\pm$ 0.037
模型空白	-	0.793 $\pm$ 0.045 <sup>1)</sup>	0.553 $\pm$ 0.149 <sup>1)</sup>
尼尔雌醇	0.021	0.449 $\pm$ 0.199 <sup>2)</sup>	0.312 $\pm$ 0.095 <sup>2)</sup>
左归丸	6.4	0.402 $\pm$ 0.133 <sup>2)</sup>	0.198 $\pm$ 0.095 <sup>2)</sup>
	3.2	0.440 $\pm$ 0.119 <sup>2)</sup>	0.288 $\pm$ 0.063 <sup>2)</sup>
	1.6	0.384 $\pm$ 0.079 <sup>1, 2)</sup>	0.186 $\pm$ 0.096 <sup>1, 2)</sup>

### 4 讨论

TGF- $\beta$  是一种多肽类生长因子,在骨代谢过程中, TGF- $\beta$  是骨形成和骨吸收之间的耦联因子,可以通过增强成骨细胞的数量和活性,刺激其增殖和分化,调节骨重建,维持骨代谢的平衡<sup>[8]</sup>。Smads 蛋白家族是 TGF- $\beta$  细胞内唯一的信号转导分子,做为转录因子, Smads 能通过与 DNA 或其他转录因子相结合,最终将 TGF- $\beta$  的信号应答由细胞膜转入细胞核内; Smad4 是传递 TGF- $\beta$  各类信号转导通路中共需的介质<sup>[9]</sup>。既往研究侧重于 TGF- $\beta_1$  及其信号转导分子 Smad4 在骨质疏松症的骨骼中的表达,研究表明去卵巢后骨质疏松症大鼠 TGF- $\beta_1$ /Smads 信号转导通路发生异常可能是原发性骨质疏松症发生的重要机制<sup>[10]</sup>。

TGF- $\beta_1$  和其他细胞因子一样,在人体内的分布也具有一定的组织特异性。通过实验发现,在人体的肾组织中 TGF- $\beta_1$  的表达非常丰富<sup>[11]</sup>。祖国医学认为肾虚是 PMOP 发病的本源,肾为先天之本,肾与骨之间的关系十分密切,骨的生长发育离不开肾精的充盈,而女性绝经后因肾精亏损,无力壮骨生髓,最终导致 PMOP 的发生。

左归丸始载于《景岳全书》,由熟地黄、山药、怀牛膝、菟丝子、鹿角胶、山茱萸、龟板胶、枸杞子 8 味药组成,为补肾填精之代表方药。本实验从 TGF-

$\beta_1$ /Smads 的信号转导通路入手,观察左归丸对去卵巢骨质疏松症大鼠的肾组织中 TGF- $\beta_1$ 、Smad4 mRNA 表达的变化,进一步从肾精亏虚的角度探讨补肾填精方药防治 PMOP 的作用机制。实验结果显示,双侧去除卵巢后,模型空白组大鼠肾组织内 TGF- $\beta_1$ /Smads 信号转导通路出现异常,表现为 TGF- $\beta_1$ , Smad4 的 mRNA 水平过高表达,且骨密度降低;给予左归丸治疗 60 d 后,肾组织中的 TGF- $\beta_1$ , Smad4 mRNA 表达均有下调趋势,且骨密度显著升高;提示去卵巢后大鼠肾组织中 TGF- $\beta_1$ , Smad4 的 mRNA 表达应激性增高,继而骨代谢紊乱,骨吸收大于骨形成,骨矿含量丢失严重,导致 PMOP 的发病,左归丸能通过下调肾组织中 TGF- $\beta_1$ , Smad4 的 mRNA 表达,抑制骨吸收,纠正骨代谢紊乱,改善去绝经后机体肾虚的状态,通过补肾填精的途径起到防治 PMOP 的作用;其作用机制之一可能通过干预肾组织中 TGF- $\beta_1$ /Smad4 的信号转导通路来实现的,但实验结果又显示左归丸对肾组织中 TGF- $\beta_1$ /Smad4 mRNA 的干预程度没有明显的量效关系,推测机体是一个完整复杂的体系,而在信号转导过程中,TGF- $\beta_1$ /Smads 本身又受到多种通路及细胞因子的影响和调节,故需对 TGF- $\beta_1$ /Smads 信号转导通路进行更深刻地研究和探讨,为深入研究补肾填精中药防治 PMOP 的作用机制提供实验依据。

#### [参考文献]

[1] 廖二元,谭利华.代谢性骨病学[M].北京:人民卫生出版社,2003:669.  
[2] 吕海波,任艳玲,王莹,等.左归丸防治去卵巢大鼠骨质疏松症的实验研究[J].中国骨质疏松杂志,2010,

16(11):847.  
[3] 任艳玲,郑洪新,杜松.密骨颗粒对去卵巢大鼠 TGF- $\beta_1$  表达的影响[J].中国骨质疏松杂志,2004,10(2):221.  
[4] 任艳玲,郑洪新,杜松.补肾益气生精中药对去卵巢大鼠骨组织 Smad4 表达的影响[J].中国中医基础医学杂志,2004,10(5):42.  
[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] 刘梅洁,潘静华,李艳,等.左归丸对糖皮质激素所致骨质疏松大鼠血清中 BGP, IGF- I 含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(16):133.  
[7] 任艳玲,郑洪新,杜松,等.TGF- $\beta_1$  及其信号转导蛋白 Smad2,3 在去卵巢大鼠骨组织中的表达[J].中国骨质疏松杂志,2005,11(3):298.  
[8] Yamada Y, Miyauchi A, Goto J, et al. Association of apolymorphism of the transforming growth factor—beta gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women[J]. J Bone Miner Res, 1998,13(10):1569.  
[9] Kretzschmar M, Liu F, Hata A, et al. The TGF- $\beta$  family mediator Smad Lisphosphorylated directly and activated functionally by BMP receptor kinase[J]. Genes Dev, 1997,11:984.  
[10] Sakou T, Onishi T, Yamamoto T, et al. Localization of Smads, the TGF-beta family intracellular signaling components during endochondral ossification[J]. J Bone Miner Res, 1999,14:1145.  
[11] Taniguchi Y, Yorioka N, Masaki T, et al. Role of transforming growth factorbeta1 in glomerulonephritis[J]. J Int Med Res, 1997,25(2):71.

[责任编辑 聂淑琴]