

# 柔毛淫羊藿对去卵巢小鼠骨密度、破骨细胞和 IL-1 $\beta$ 的影响

韩小东<sup>1\*</sup>, 张正祥<sup>1</sup>, 任光友<sup>2</sup>, 张贵林<sup>2</sup>

(1. 延安大学医学院临床系, 陕西 延安 716000; 2. 贵阳医学院药理教研室, 贵阳 550004)

**[摘要]** **目的:**探讨单味中药柔毛淫羊藿(EPM)对去卵巢小鼠骨密度、破骨细胞和白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )的影响。**方法:**切除雌性小鼠双侧卵巢制备骨质疏松动物模型,随机分为模型组、己烯雌酚(DES, 2 mg·kg<sup>-1</sup>)组及EPM水煎浸膏高、中、低剂量(200, 100, 50 mg·kg<sup>-1</sup>)组,另设正常对照组。术后45 d开始给予相应药物,1次/d,60 d后检测小鼠骨组织骨密度、破骨细胞数和骨组织中IL-1 $\beta$ 。**结果:**模型组动物呈现明显的骨质疏松表现;给药组动物骨密度增加;EPM高、中、低剂量骨组织破骨细胞数分别为(1.9 $\pm$ 1.0), (0.9 $\pm$ 0.6), (0.8 $\pm$ 0.4)个,明显低于模型组(3.4 $\pm$ 1.6)个, ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );EPM高、中、低剂量骨组织IL-1 $\beta$ 阳性细胞数分别为(11.6 $\pm$ 2.1), (12.4 $\pm$ 2.2), (16.4 $\pm$ 2.7)个,明显低于模型组(20.6 $\pm$ 3.2)个( $P < 0.01$ )。**结论:**EPM能增加去卵巢骨质疏松症小鼠的骨密度、降低破骨细胞数和IL-1 $\beta$ 的表达。

**[关键词]** 柔毛淫羊藿; 骨质疏松; 白细胞介素-1 $\beta$ ; 骨密度

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0241-03

## Effects of *Epimedium pubescens* Maxim. on Osteoporosis in Ovariectomized Mouse

HAN Xiao-dong<sup>1\*</sup>, ZHANG Zheng-xiang<sup>1</sup>, REN Guang-you<sup>2</sup>, ZHANG Gui-lin<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Medicine, Yan'an University Medical College, Yan'an 716000, China;

2. Department of Pharmacology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of *Epimedium pubescens* Maxim. (EPM) on osteoporosis in ovariectomized mouse. **Method:** Kunming mice were used in this study. Osteoporosis model was established by ovariectomizing the ovarians of the mice. The mice were divided into six groups randomly: control group, model group, diethylstilbestrol positive control group, high dose of EPM group (200 mg·kg<sup>-1</sup>), middle dose of EPM group (100 mg·kg<sup>-1</sup>) and low dose of EPM group (50 mg·kg<sup>-1</sup>). Sixty days after administration, bone density, the osteoclast and intelukin (IL-1 $\beta$ ) of the bone tissue were measured. **Result:** The model group animals had obvious osteoporosis. EMP increased bone density, and decreased the osteoclast number and IL-1 $\beta$  obviously. **Conclusion:** EPM can increase the bone density. EPM has an apparent role of anti-osteoporosis in ovariectomized mice. And it's mechanism may be related to the reducing of the level of IL-1 $\beta$ .

**[Key words]** *Epimedium pubescens* Maxim.; osteoporosis; intelukin-1 $\beta$ ; bone density

骨质疏松症(osteoporosis, OP)的病因病理复杂,目前临床应用的防治骨质疏松的药物均不可达到理想的治疗效果。淫羊藿具有温肾壮阳、强筋骨、祛风湿的功效。其复方制剂被广泛用于抗OP的治疗。淫羊藿品种繁多,柔毛淫羊藿 *Epimedium pubescens* Maxim., EPM为《中国药典》收录的正品药

材<sup>[1]</sup>。EPM抗OP作用研究尚未见报道。本研究观察了EPM对去卵巢小鼠骨密度、破骨细胞和骨组织白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )的影响,为其开发利用提供一定的实验依据。

### 1 材料

**1.1 动物** 昆明种小鼠,雌性,体重20~22 g,由贵阳医学院动物中心提供,动物许可证号SCXK(黔)2002-0001。

**1.2 药物与试剂** 柔毛淫羊藿(采自四川省中江县,1 g水煎浸膏相当于生药6.3 g);己烯雌酚

**[收稿日期]** 2011-03-23

**[通讯作者]** \*韩小东, 硕士, 助教, 从事中药药理、麻醉学, Tel:15691163389, E-mail:hanxd0911@163.com

(DES, 合肥久联制药有限公司, 批号 20060518)。兔抗鼠 IL-1 $\beta$  多克隆抗体(IL-1 $\beta$ , 购于武汉博士德生物工程有限公司, 批号 BA1098)。

**1.3 仪器** 骨密度仪(美国通用电气有限公司), BI-2000 医学图像分析系统(成都泰盟有限公司)。

## 2 方法

**2.1 造模分组与给药** 用 0.4% 戊巴比妥钠按 40 mg·kg<sup>-1</sup> ip 麻醉小鼠, 相对无菌条件下摘除双侧卵巢, 关闭腹腔。对照组动物同法摘除卵巢旁同样大小的脂肪组织。动物共分为 6 组: 对照组(蒸馏水 10 mL·kg<sup>-1</sup>), 模型组(蒸馏水 10 mL·kg<sup>-1</sup>)、DES 组(2 mg·kg<sup>-1</sup>), EPM 高、中、低剂量组(含浸膏 200, 100, 50 mg·kg<sup>-1</sup>), 每组 14 只。造模后 45 d, 开始 ig 给药, 1 次/d, 连续 60 d。

### 2.2 观察指标及方法

**2.2.1 骨密度测定** 停药次日, 以戊巴比妥钠麻醉小鼠, 用骨密度仪测脊柱和全身骨密度。

**2.2.2 骨组织破骨细胞数测定** 取右股骨, 于 10% 中性福尔马林固定, 常规脱水、包埋、切片、HE 染色, 光镜观察, 用 BI-2000 医学图像分析系统进行骨组织破骨细胞数测定。每个标本随机选取 9 个视野, 取其均值。

**2.2.3 骨组织 IL-1 $\beta$  测定** 骨组织石蜡切片常规脱蜡, 梯度乙醇逐级水化。免疫组织化学染色后用 BI-2000 医学图像分析系统进行分析。IL-1 $\beta$  染色阳性以单核巨噬细胞和破骨细胞胞质呈现棕黄色颗粒状染色为标准。每个标本随机选取 9 个视野, 取其均值。

**2.3 统计方法** 应用 SPSS 11.5 统计软件, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用单因素方差分析。各组间两两比较采用 LSD 法,  $P < 0.05$  为差异有显著意义。

## 3 结果

**3.1 对 OP 小鼠骨密度的影响** 与对照组比较, 模型组动物脊柱骨密度和全身骨密度明显降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 与模型组比较, EPM 高、中、低剂量组动物脊柱和全身骨密度均明显升高 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 见表 1。

**3.2 对 OP 小鼠骨组织破骨细胞数的影响** 与对照组比较, 模型组动物破骨细胞数明显增加 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 与模型组比较, EPM 高、中、低剂量组动物破骨细胞数明显减少 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 见表 2。

**3.3 对骨组织 IL-1 $\beta$  的影响** 与对照组比较, 模型组骨组织 IL-1 $\beta$  表达明显增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, EPM 高、中、低剂量组 IL-1 $\beta$  表达明显降低

表 1 EPM 对 OP 小鼠骨密度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 14$ ) g·cm<sup>-2</sup>

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	脊柱骨密度	全身骨密度
对照	-	0.087 ± 0.005 <sup>1)</sup>	0.243 ± 0.089 <sup>2)</sup>
模型	-	0.076 ± 0.004	0.149 ± 0.026
DES	2	0.097 ± 0.008 <sup>2)</sup>	0.199 ± 0.048 <sup>2)</sup>
EPM	200	0.087 ± 0.007 <sup>2)</sup>	0.241 ± 0.129 <sup>1)</sup>
	100	0.086 ± 0.007 <sup>2)</sup>	0.236 ± 0.077 <sup>2)</sup>
	50	0.090 ± 0.021 <sup>1)</sup>	0.233 ± 0.095 <sup>2)</sup>

注: 与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 2~3 同)。

表 2 EPM 对 OP 小鼠骨组织破骨细胞数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 14$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	破骨细胞数/个/0.4 nm <sup>2</sup>
对照	-	-1.6 ± 0.7 <sup>1)</sup>
模型	-	3.4 ± 1.6
DES	2	1.1 ± 0.5 <sup>2)</sup>
EPM	200	1.9 ± 1.0 <sup>1)</sup>
	100	0.9 ± 0.6 <sup>2)</sup>
	50	0.8 ± 0.4 <sup>2)</sup>

( $P < 0.01$ ), 见表 3。

表 3 EPM 对骨组织 IL-1 $\beta$  的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 14$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	IL-1 $\beta$ 阳性细胞数/个
对照	-	16.7 ± 1.6 <sup>2)</sup>
模型	-	20.6 ± 3.2
DES	2	12.4 ± 3.2 <sup>2)</sup>
EPM	200	11.6 ± 2.1 <sup>2)</sup>
	100	12.4 ± 2.2 <sup>2)</sup>
	50	16.4 ± 2.7 <sup>2)</sup>

## 4 讨论

去卵巢复制 OP 的模型与绝经后和切除卵巢的 OP 患者之病理过程极为相近<sup>[2]</sup>。在骨重建过程中, 骨的吸收和骨的形成受多种因素的调控, 以保持二者的平衡<sup>[3]</sup>。破骨细胞在骨重建过程中, 扮演了骨吸收的重要角色。它来源于骨髓造血干细胞<sup>[4]</sup>, 是负责骨吸收的功能细胞, 一些抑制骨吸收的因子如雌激素等能诱导破骨细胞的凋亡<sup>[5]</sup>。破骨细胞在骨基质上的增多使骨吸收大于骨形成, 从而导致 OP。EPM 使破骨细胞数降低, 骨重建过程中的骨形成大于骨吸收, 有益于 OP 的治疗。IL-1 是雌激素缺乏时骨丢失的重要的诱发因子之一<sup>[6]</sup>, IL-1 的含量在骨髓局部微环境中的升高以及活性增加会刺激骨髓单核细胞向破骨细胞转化, 使破骨细胞数增多, 骨吸收活性增强<sup>[7]</sup>。打破骨改建活动的内在平衡,

# 当归芍药散煎剂对垂体后叶素所致小鼠心肌缺血的影响

于永军<sup>1\*</sup>, 宋晓雨<sup>2</sup>, 蔡景竹<sup>3</sup>, 杨旭杰<sup>2</sup>, 阎艳丽<sup>2</sup>

(1. 沧州医学高等专科学校, 河北 沧州 061001; 2. 河北医科大学, 石家庄 050091;  
3. 河北农业大学农学院, 河北 保定 071000)

**[摘要]** 目的: 观察当归芍药散(DSS)对垂体后叶素(Pit)所致小鼠心肌缺血的影响。方法: 昆明种小鼠 100 只, 分为空白对照组、模型组、DSS 低剂量组(生药 30 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、DSS 高剂量组(生药 60 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)和阳性对照组(复方丹参滴丸 0.174 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>), ig 连续 5 d, 末次药后 1 h, ip Pit(30 U·kg<sup>-1</sup>)进行造模。记录 ip Pit 前 10 min 和注射后 5, 15, 25 min 时点 II 导联心电图; 检测血清一氧化氮(NO)水平、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)活性(免疫组化法)以及心肌组织匀浆超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。**结果:** DSS 高、低剂量组与模型组相比, 心率均明显改善, 具有显著差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); DSS 高、低剂量血清 NO 水平分别为(79.35 ± 25.18), (26.46 ± 18.24) μmol·L<sup>-1</sup>, 明显高于模型组(13.66 ± 3.83) μmol·L<sup>-1</sup>(均  $P < 0.01$ )。DSS 高、低剂量 eNOS 活性为(0.259 ± 0.037), (0.241 ± 0.029), 均强于模型组(0.176 ± 0.036),  $P < 0.01$ 。DSS 高、低剂量心肌 SOD 活性分别为(269.55 ± 20.65), (263.58 ± 21.04) U·mg<sup>-1</sup>, 明显高于模型组(222.75 ± 23.44) U·mg<sup>-1</sup>( $P < 0.01$ ); DSS 高、低剂量心肌 MDA 含量分别为(3.58 ± 1.01), (4.22 ± 0.75) nmol·mg<sup>-1</sup>, 明显低于模型组(5.25 ± 1.42) nmol·mg<sup>-1</sup>( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。**结论:** 当归芍药散能有效防治由 Pit 所引起的心肌缺血及缺血损伤, 具有保护心肌细胞的作用。

**[关键词]** 当归芍药散; 心肌缺血; 垂体后叶素; 心电图; 自由基; 一氧化氮

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0243-04

**[收稿日期]** 2011-03-29

**[通讯作者]** \* 于永军, 讲师, 硕士, 从事药理学专业教学、中药药理及质量控制研究, Tel: 0317-5308069, E-mail: yyjzlx@163.com

引起骨代谢活动的紊乱导致 OP<sup>[8]</sup>。本试验中, IL-1β 主要表达于去卵巢小鼠骨髓基质的单核细胞及巨噬细胞中, 这与邓廉夫等报道一致<sup>[9-10]</sup>。

综上, EMP 能增加去卵巢小鼠骨密度、降低破骨细胞数和骨组织中 IL-1β 的表达, 为 EPM 的进一步开发利用提供了实验依据。

## [参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2005; 229.  
[2] Nakamuta H. The ovariectomized animal model of postmenopausal bone loss[J]. Nippon Rinsho, 2004, 62 (Suppl 2): 759.  
[3] 王军. 老年性骨质疏松的危险因素、发病机制及防治[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(18): 1869.  
[4] Young R. Cell proliferation and specializatin during endochondral osteogenesis in young rats[J]. J Cell Biol, 1962, 14: 357.

[5] Chen J R, Plotkin L I, Agnirre J I, et al. Transient versus sustained phosphorylation and nuclear accumulation of ERKs underlie anti-versus pro-apoptotic effects of estrogens[J]. J Biol Chem, 2005, 280: 4632.  
[6] Zheng M H, Wood D J, Papadimitrion J M. What's new in the role of cytokines on osteoblast proliferation and differentiation[J]. Pathol Res Pract, 1992, 188: 1104.  
[7] Roodman G D. Advances in bone biology: the osteoclast[J]. Endocr Rev, 1996, 17: 308.  
[8] 安贵峰, 屠冠军. 骨质疏松模型骨组织中 IL-6, IL-1β, TNF-α 的表达特征[J]. 中国医科大学学报, 2005, 34(2): 97.  
[9] 邓廉夫, 何涛. 骨质疏松症破骨细胞的形成与骨吸收活性的研究[J]. 江苏医药, 2008, 28(8): 563.  
[10] 郭世友. 骨质疏松基础与临床[M]. 天津: 天津科技出版社, 2001: 129.

[责任编辑 何伟]