

优韧集胶囊对去卵巢骨质疏松大鼠骨代谢的作用研究

高云航 李 晗 宋 玲 陈腾飞 张广平*

中国中医科学院中药研究所 北京 100700

【摘要】目的 观察优韧集胶囊对骨质疏松模型大鼠骨代谢的影响 方法 60只SD雌性大鼠随机分组:假手术组、模型组、雌二醇组(0.1 mg/kg)、优韧集胶囊低剂量组(175 mg/kg)、中剂量组(350 mg/kg)、高剂量组(700 mg/kg),每组10只。去卵巢法(OVX)复制骨质疏松大鼠模型,灌胃给药,连续干预12周。采用Micro CT扫描大鼠股骨,三点弯曲实验进行骨生物力学检测,采用酶联免疫吸附法检测骨代谢相关指标。结果 与模型组相比,优韧集给药组大鼠骨密度致密,骨小梁数增加;与模型组相比,中剂量组最大载荷显著增大(P<0.05);与模型组比较中、高剂量组I型前胶原N端前肽(PINP)含量显著升高(P<0.01);低、高剂量组I型胶原C-末端肽(S-CTX)含量显著降低(P<0.05);结论 优韧集胶囊可以纠正骨质疏松模型大鼠骨代谢失衡,改善骨质疏松。

【关键词】骨质疏松;优韧集胶囊;骨代谢;骨密度

Effects of YRJ on bone metabolism in ovariectomized osteoporotic rats

GAO Yun-hang, LI Han, SONG Ling, CHEN Teng-fei, ZHANG Guang-ping*

Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing, 100700

Abstract Objective To observe the effect of YRJ on bone metabolism in osteoporosis model rats. Methods SD female rats were randomly divided into sham group, model group, estradiol group (0.1 mg/kg), YRJ low group (175 g/kg), medium dose group (350 mg/kg) and high dose group (700 mg/kg), with 10 rats in each group. The osteoporosis model was established by ovariectomy (OVX), and the rats were treated by gavage for 12 weeks. Micro CT was used to detect bone mineral density and bone mass, three-point bending test was used to detect bone biomechanics, and enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect bone metabolism related indicators. Results Compared with the model group, The bone density was denser and the number of bone trabeculae was increased in the YRJ administration group; Compared with the model group, the maximum load of the medium-dose group was significantly increased(P<0.05); Compared with the model group, the content of N-terminal propeptide of type I procollagen (PINP) in the middle and high dose groups was significantly increased(P<0.01); The content of C-telopeptide of type I collagen (S-CTX) in low dose group and high dose group decreased significantly(P<0.05). Conclusion YRJ can correct the imbalance of bone metabolism and improve osteoporosis in osteoporosis model rats.

Key words: Osteoporosis; OPG/RANKL; Youyanji capsule; Bone metabolism; Bone mineral density

骨质疏松(Osteoporosis, OP)是由于骨形成和骨吸收失衡导致的一种进行性代谢性骨病,病理特征表现为骨密度下降、骨微结构进行性改变,脆性增加。骨质疏松与年龄密切相关,当今社会,人口老龄化日趋严重,骨质疏松患病率逐年增加,其中以自然衰老导致的雌激素缺乏诱发的绝经后骨质疏松最为常见^[1]。骨代谢异常是骨质疏松的发生、发展的关键。优韧集胶囊具有增加骨密度的作用,但其机理尚不明确。本实验采用大鼠OVX法建立骨质疏松模型,观察优韧集胶囊对骨质疏松大鼠模型的影响及对骨代谢的调节作用,为其应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

SPF级SD大鼠,雌性,体质量210~250g。购自北京市维通利华实验动物技术有限公司,许可证号:SCXK(京)2016-0006

1.2 药物与试剂

御芝林牌优韧集胶囊(河北御芝林药业有限公司);戊酸雌二醇片(德国拜耳公司);异氟烷(香港友诚生物科技有限公司);检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);PTH、PINP、S-CTX检测试剂盒(武汉华美生物工程公司)。

1.3 仪器

高速冷冻离心机(德国Sigma公司);多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司);电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);Micro CT骨密度测量仪(美国Bruker公司);微机控制电子万能试验机(深圳瑞格尔仪器有限公司);小动物气体麻醉机(英国ASA公司)。

2 实验方法

2.1 分组与造模

SD大鼠按体质量随机分为:假手术组、模型组、雌二醇组、优韧集低剂量组、优韧集中剂量组、优韧集高剂量组,每组10只。复制骨质疏松模型,摘除大鼠双侧卵巢。

2.2 给药

假手术组、模型组按体质量灌胃给予等体积动物饮用水;雌二醇组

按体质量灌胃给予雌二醇(0.1 mg/kg);优韧集胶囊低剂量组(175 mg/kg)、优韧集胶囊中剂量组(350 mg/kg)和优韧集胶囊高剂量组(700 mg/kg)按体质量灌胃给药,给药体积10 mL/kg,连续给药12周。全程标准饲料喂养,自由进食、进水。

2.3 Micro CT检测

取大鼠左下肢股骨,检测前取出股骨用干纱布包裹,置于进样器内,采用Micro CT扫描股骨下端骨髓线下约3 mm距离。

2.4 骨生物力学检测

取大鼠右下肢股骨,检测时将标本放置在微机控制电子万能试验机支架上检测。计算机绘制载荷-变形曲线和应力-应变曲线,从曲线上读取最大载荷、弯曲强度和弹性模量等指标并分析。

2.5 血清骨代谢指标检测

腹主动脉取血,3000转/分钟,15分钟4℃离心分离血清,采用ELISA试剂盒进行以下指标:PINP、S-CTX。

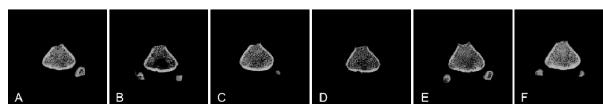
3 统计学分析

采用SPSS Statistics 25统计软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),以P<0.05为差异有统计学意义。

4 结果

4.1 Micro CT检测

与假手术组相比,模型组大鼠可见骨小梁数量减少,结构稀疏,髓腔内出现大面积空洞。与模型组相比,优韧集低剂量、中剂量和高剂量组可见髓腔内骨小梁结构相对致密,连续性好。结果见图1。



A.假手术组; B.模型组; C.雌二醇组; D.优韧集低剂量组; E.优韧集中剂量组; F.优韧集高剂量组

图1 优韧集胶囊对去卵巢大鼠骨质量的影响

4.2 骨生物力学检测

与假手术组相比,模型组大鼠股骨最大载荷显著降低 ($P<0.05$);弯曲强度和弹性模量具有降低趋势,未见显著差异。同模型组相比,优韧

集胶囊各组最大载荷、弯曲强度以及弹性模量均有不同程度的改善,其中优韧集中剂量组最大载荷显著升高 ($P<0.05$)。结果见表1。

表1 优韧集胶囊对骨质疏松大鼠模型骨生物力学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分组	剂量 (mg/kg)	最大载荷 (N)	弯曲强度 (MPa)	弹性模量 (GPa)
假手术组	—	108.77 ± 13.94	199.37 ± 34.35	7.62 ± 3.32
模型组	—	90.97 ± 16.76 [△]	168.03 ± 33.64	5.98 ± 1.01
雌二醇组	0.1	115 ± 13.31 ^{###}	179.61 ± 32.3	6.33 ± 1.32
优韧集低剂量组	175	99.13 ± 15.75	205.39 ± 38.13	7.67 ± 2.4
优韧集中剂量组	350	104.84 ± 18.68 [#]	175.41 ± 27.13	6.70 ± 0.84
优韧集高剂量组	700	102.28 ± 15.49	176.31 ± 33.01	6.88 ± 1.59

注:与假手术组相比[△] $P<0.05$;与模型组相比[#] $P<0.05$,^{###} $P<0.01$ 。

4.3 优韧集胶囊对骨质疏松大鼠模型血清中 PINP 含量的影响

与假手术相比,模型组血清 PINP 含量显著降低 ($P<0.001$)。与模型组相比,中、高剂量组 PINP 含量显著增加 ($P<0.01$)。结果见表2。

表2 优韧集胶囊对骨质疏松大鼠 PINP 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分组	剂量 (mg/kg)	PINP (ng/mL)
假手术组	—	1.34 ± 0.30
模型组	—	0.89 ± 0.14 ^{###}
雌二醇组	0.1	1.24 ± 0.24 ^{###}
优韧集低剂量组	175	1.09 ± 0.15
优韧集中剂量组	350	1.24 ± 0.31 ^{###}
优韧集高剂量组	700	1.28 ± 0.27 ^{###}

注:与假手术组相比^{###} $P<0.001$;与模型组相比^{##} $P<0.01$ 。

4.4 优韧集胶囊对骨质疏松大鼠模型血清中 S-CTX 的影响

模型组大鼠血清 S-CTX 含量较假手术组显著升高 ($P<0.001$)。与模型组相比,优韧集低、高剂量组 S-CTX 含量显著降低 ($P<0.05$)。结果见表3。

表3 优韧集胶囊对骨质疏松大鼠 S-CTX 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分组	剂量 (mg/kg)	S-CTX (ng/mL)
假手术组	—	0.50 ± 0.11
模型组	—	0.92 ± 0.13 ^{###}
雌二醇组	0.1	0.72 ± 0.11 ^{###}
优韧集低剂量组	175	0.80 ± 0.09 [#]
优韧集中剂量组	350	0.84 ± 0.08
优韧集高剂量组	700	0.81 ± 0.11 [#]

注:与假手术组相比^{###} $P<0.001$;与模型组相比[#] $P<0.05$ 。

5 讨论和结论

骨代谢平衡是维持骨骼健康的决定性因素,骨质疏松发生时破骨细胞功能亢进,骨吸收作用大于骨形成,表现为骨质量下降,骨强度降低。骨质量和骨强度的异常是骨质疏松的特征改变,骨质量的改变表现为骨密度和骨量如骨小梁数量、骨小梁厚度及骨矿物质含量等的变化,是诊断骨质疏松及评价药物治疗最直观的评价指标^[2]。骨强度变化体现在骨生物力学性能的改变,三点弯曲检测是最常见的生物力学检测方法^[3]。本研究选择大鼠骨质量和骨强度作为评价指标,从宏观上评价骨质疏松的程度。

Micro CT 2D 结果显示,与假手术组相比,模型组大鼠髓腔空隙大、骨小梁数减少。给药优韧集胶囊后,大鼠股骨骨密度致密,骨小梁数量增加。三点弯曲实验结果显示,模型组大鼠骨强度下降,给予优韧集胶囊后骨强度明显改善。提示优韧集胶囊具有改善骨质疏松的作用。

研究发现,造成骨代谢失衡的根本原因是骨吸收作用强于骨形成。

PINP 作为特异性标志物是骨形成的敏感指标,反应 I 型胶原合成速率,胶原蛋白形成的水平和能力, PINP 减少表示骨胶原合成减少^[4-5]。本次实验给药优韧集胶囊后,大鼠血清 PINP 含量显著升高,提示优韧集胶囊可通过升高去卵巢大鼠血清 PINP 的含量,调节胶原合成速度,改善骨形成。S-CTX 来源于成熟的 I 型胶原,可反应骨纤维的降解情况^[6-7],是骨吸收的重要标志物^[8]。优韧集胶囊显著降低模型大鼠血清中 S-CTX 的含量,抑制骨吸收作用。

综上,优韧集胶囊可调节平衡骨代谢,改善去卵巢大鼠骨质疏松状。

参考文献:

- [1] Xu Z, Yu Z, Chen M, et al. Mechanisms of estrogen deficiency-induced osteoporosis based on transcriptome and DNA methylation. *Front Cell Dev Biol.* 2022 Oct 17; 10: 1011725.
 - [2] 成东亮, 冯红梅, 文戈, 等. 基于磁共振脂肪定量技术 IDEAL-IQ 的列线图模型在预测早期骨量丢失中的价值[J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(11): 1707-1711.
 - [3] 楼家晖, 杨鹤祥, 郑明轩, 等. 强筋健骨方对 PMOP 大鼠骨密度及生物力学影响的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(07): 978-982.
 - [4] Ren M, Liu H, Jiang W, et al. Melatonin Repairs Osteoporotic Bone Defects in Iron-Overloaded Rats through PI3K/AKT/GSK-3/P70S6k Signaling Pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2023 Jan 17; 2023: 7718155.
 - [5] 方文焕, 麦伟, 颜志坚, 等. 绝经后骨质疏松性椎体压缩性骨折患者血清雌激素、前脂肪因子-1 水平与骨代谢和骨密度相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(12): 1763-1766+1773.
 - [6] 范荣, 刘玉金, 白曼莫, 等. 补肾活血汤加减配合 LCP 治疗四肢长骨骨干骨折不愈合的临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(07): 80-85.
 - [7] Liang F, Sun L, Wang Y. The Relationship Between GNRI Changes and Bone Metabolism Parameters and the Occurrence of Osteoporosis in Elderly Male Patients with T2D. *Altern Ther Health Med.* 2023 Jan; 29(1): 85-89.
 - [8] Vasikaran S, Cooper C, Eastell R, Griesmacher A, Morris HA, Trenti T, Kanis JA. International Osteoporosis Foundation and International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine position on bone marker standards in osteoporosis. *Clin Chem Lab Med.* 2011 Aug; 49(8): 1271-1274.
- 第一作者: 高云航 (1990-), 女(汉族), 北京人, 中国中医科学院中药研究所, 助理研究员, 硕士研究生学历, 主要从事中药药理研究。
*通讯作者: 张广平 (1976-), 男(汉族), 甘肃天水人, 中国中医科学院中药研究所, 研究员, 硕士生导师, 博士研究生学历, 主要从事中药药理研究。基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1602103)