

巴戟天多糖对去卵巢大鼠骨质疏松症的防治作用

刘亦恒¹, 吴多庆¹, 朱振标¹, 黄重¹, 陈晓虹¹, 张海英²

(1.海口市人民医院骨科中心, 海南 海口 570208;

2.海南医学院人体解剖学教研室, 海南 海口 571101)

【摘要】 目的 观察巴戟天多糖对去卵巢大鼠骨质疏松症的影响。方法 成年雌性SD大鼠30只, 随机分为假手术组、模型组、巴戟天多糖组, 每组10只。采用摘取双侧卵巢法建立骨质疏松模型, 造模2周后开始给药, 给药3个月后观察巴戟天多糖对大鼠骨密度、骨矿物质含量、血清雌二醇、骨钙素及1,25-二羟基维生素D₃的影响。结果 给药3个月后, 与模型组比较, 巴戟天多糖组能显著提高去卵巢大鼠的骨密度、骨矿物质、1,25-二羟基维生素D₃及骨钙素的含量。结论 巴戟天多糖对去卵巢所致的大鼠骨质疏松症具有良好的防治作用。

【关键词】 骨质疏松; 去卵巢大鼠; 巴戟天多糖

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2014)20-2973-03

Protective and therapeutic effects of morindae officinalis polysaccharides on osteoporosis of ovariectomized rats. LIU Yi-heng¹, WU Duo-qing¹, ZHU Zhen-biao¹, HUANG Zhong¹, CHEN Xiao-hong¹, ZHANG Hai-ying². 1. Department of Orthopaedics, Haikou Municipal People's Hospital, Haikou 570208, Hainan, CHINA; 2. Department of Anatomy, Hainan Medical College, Haikou 571101, Hainan, CHINA

【Abstract】 Objective To observe the protective and therapeutic effects of morindae officinalis polysaccharides on osteoporosis of ovariectomized rats. **Methods** Thirty adult female SD rats were divided randomly into sham-operated group, model group, morindae officinalis polysaccharides group. Every group had ten rats. We extracted bilateral ovaries to establish osteoporosis model, which were treated with medicine two weeks postoperatively for consecutively 3 months. Then we observed the protective and therapeutic effects of morindae officinalis polysaccharides on rat bone mineral density (BMD), bone mineral content, estrogen, osteocalcin, 1, 25-dihydroxyvitamin D₃. **Results** After 3 months, the morindae officinalis polysaccharides group could significantly improve the BMD, bone mineral content, osteocalcin, 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ of the ovariectomized rats, compared with model group. **Conclusion** Morindae officinalis polysaccharides can antagonize osteoporosis of the ovariectomized rats.

【Key words】 Osteoporosis; Ovariectomized rats; Morindae officinalis polysaccharides

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是以骨量减少、骨组织显微结构退化为特征, 以致骨的脆性增高而骨折危险性增加的一种全身性骨病, 是老年人, 尤其是绝经后妇女最常见的代谢性骨病。中医理论认为: 肾为先天之本, “主骨生髓”, 骨的生长、发育、强弱与肾精盛衰关系密切。南药巴戟天属茜草科植物巴戟天(*Morinda officinalis* How)的干燥根, 具有补肾助阳、强壮筋骨的作用。现代研究证明, 巴戟天含有多种化学成分, 如蒽醌类、多糖类、氨基酸、烯醚萜及苷类等, 多糖类在巴戟天含量占20%左右^[1-2]。前期实验表明, 巴戟天多糖能促进成骨细胞的增殖能力和ALP的活性, 影响骨代谢^[3]。本实验观察巴戟天多糖对雌性去卵巢大鼠骨质疏松症的防治作用, 为进一步研究巴戟天多糖治疗骨质疏松症提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 健康雌性SD大鼠30只, 3个月龄, 体重(270±20)g, 购自海南医学院; 巴戟天药材产于海南万宁; 大鼠雌二醇放射免疫测定盒(¹²⁵I标记)购自北京北方生物技术研究所; 骨钙素、1,25-二羟基维生素D₃、雌二醇ELISA试剂盒购自上海恒远生物科技有限公司; DPX-L型双能X射线骨密度仪(美国Lunar公司); 酶标仪(北京六一仪器)等。

1.2 方法

1.2.1 巴戟天多糖的制备 取200g巴戟天干制品粉碎, 烘干, 过40目筛, 加入10倍体积的水, 煮沸1h, 滤过, 再加入3倍体积的乙醇, 静置12h, 收集沉淀, 得巴戟天粗多糖; 粗多糖加水复溶, 用Sevag法脱蛋白(重复2次), 活性炭脱色, 无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤, 滤过。用蒸馏水溶解沉淀物, 用无水乙醇加

至其浓度为 85%，离心收集沉淀物，得巴戟天多糖纯品。由海南医学院药学系制备鉴定。

1.2.2 去卵巢大鼠模型制备 随机取 20 只大鼠，用 2% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔麻醉，取背侧双切口。于脊柱外侧 2 cm，髂前上棘上方 1.5 cm，备皮去毛，消毒后切开局部皮肤、肌肉和腹膜，轻轻将脂肪团拉开并分离，暴露卵巢，结扎卵巢下端输卵管，摘除卵巢，缝合切口。另 10 只大鼠只做手术切口，不切除卵巢。

1.2.3 实验分组 30 只雌性 SD 大鼠分为三组，每组 10 只，分别为模型组(生理盐水+去卵巢)，假手术组(生理盐水+假手术)，巴戟天多糖组(去卵巢+100 mg/kg 巴戟天多糖)。术后 2 周开始，巴戟天多糖组予灌胃给药，假手术组和模型组给予等体积的生理盐水，共 12 周。

1.2.4 骨密度及骨钙、骨磷测定 于术后 3 个月，在麻醉状态下对各组大鼠用双能 X 射线骨密度仪的小动物测量软件测定右股骨的骨密度(BMD)。骨密度测定后收集大鼠右侧股骨，马福炉 800℃ 灰化，灰化后标本测定骨中钙、磷的百分含量。

1.2.5 血清生化指标测定 于术后 3 个月采血，分别按照试剂盒操作说明检测血清雌二醇、血清骨钙素及 1,25-二羟基维生素 D₃ 水平。

1.3 统计学方法 采用 SPSS13.0 软件进行统计，计量数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，组间比较采用 t 检验，以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 巴戟天多糖对去卵巢大鼠骨密度及骨钙、磷的影响 与假手术组比较，模型组的 BMD 和骨钙、磷含量均降低，两者之间差异具有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01)；与模型组较，巴戟天多糖组的 BMD 和骨钙、磷含量均升高，两组之间差异具有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01)，见表 1。

表 1 巴戟天多糖对去卵巢大鼠骨密度及骨钙、磷的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	骨密度 (g/cm ²)	骨钙 (%)	骨磷 (%)
模型组	10	0.158±0.015 ^a	61.47±2.86 ^b	27.64±1.21 ^b
假手术组	10	0.227±0.024	64.98±1.35	29.74±1.47
巴戟天多糖组	10	0.219±0.012 ^d	64.19±1.26 ^c	29.37±1.85 ^c

注：与假手术组比较，^aP<0.01，^bP<0.05；与模型组比较，^cP<0.05，^dP<0.01。

2.2 巴戟天多糖对大鼠血清雌二醇、骨钙素和 1,25-二羟基维生素 D₃ 的影响 与假手术组比较，模型组大鼠血清雌二醇、骨钙素和 1,25-二羟基维生素 D₃ 水平显著降低，两者之间差异有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01)；与模型组比较，巴戟天多糖组钙素和 1,25-二羟基维生素 D₃ 水平升高，两者之间差异有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01)，见表 2。

表 2 巴戟天多糖对去卵巢大鼠血清雌二醇、骨钙素和 1,25-二羟基维生素 D 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数 (只)	雌二醇 (ng/L)	骨钙素 (μg/L)	1,25-二羟基维生素 D ₃ (ng/L)
模型组	10	9.820±1.024 ^a	1.489±0.157 ^b	2.822±0.244 ^a
假手术组	10	18.145±3.741	2.586±0.345	11.206±0.821
巴戟天多糖组	10	10.841±4.512	2.605±0.378 ^c	7.186±0.428 ^d

注：与假手术组比较，^aP<0.01，^bP<0.05；与模型组比较，^cP<0.05，^dP<0.01。

3 讨论

骨质疏松症是老年人尤其是绝经后妇女常见、多发的骨代谢疾病。妇女绝经后，由于卵巢功能下降，导致雌激素水平急剧下降，继发甲状旁腺功能亢进使降钙素分泌不足，从而导致骨代谢平衡破坏，骨吸收大于骨形成，骨量逐渐减少和骨组织微结构退行性病变。故如何预防骨质疏松症一直是相关领域的研究热点。

巴戟天是我国四大南药之一，具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效。近年来，有研究表明巴戟天能增加去卵巢小鼠子宫重量及血清雌二醇含量，具有雌激素样作用^[4]。进一步的研究发现巴戟天多糖可以刺激体外培养的骨髓基质细胞及成骨细胞增殖^[5]，这预示着巴戟天用于防治骨质疏松症具有重要的研究意义。

骨密度(BMD)值是反映骨质疏松程度，预测骨折危险性的重要依据，也是诊断骨质疏松的重要指标。骨质疏松症总是伴随着骨总量的丢失，即是钙、磷的丧失，因此应用骨钙、骨磷含量的变化评价骨质疏松药物治疗的有效性已得到了广泛的认同。大鼠切除卵巢后，模型组的 BMD 和骨钙、骨磷含量下降，给药 3 个月后巴戟天多糖组大鼠 BMD 和骨钙、骨磷含量均升高，说明巴戟天多糖有促进大鼠骨矿物含量增加，提高 BMD 的作用。

骨钙素又称骨 γ-羧谷氨酸包含蛋白(Bone gamma-carboxyglutamic-acid-containing proteins, BGP)，是成骨细胞合成并分泌的，在钙的生物调节中起着重要的调节作用。大鼠切除卵巢后，由于雌激素减少，骨平衡被破坏，骨转换增加，骨量丢失增多，从而形成骨质疏松。实验中巴戟天多糖组 BGP 水平升高，提示巴戟天多糖具有抵制骨吸收，降低骨转换，提高骨质量的作用。

维生素 D (Vitamin D)为代谢物及其类似物对骨质疏松的防治有重要作用。1,25-二羟基维生素 D₃ 是维生素 D 生物活性的最高形式^[6]，其主要靶器官是小肠黏膜、骨骼、肾小管，在维持钙、磷代谢平衡中有重要作用，能增加肠道对钙的吸收。已有动物实验证实了血清 1,25-二羟基维生素 D₃ 与骨密度之间有紧密关联，还能促成骨细胞的增殖和碱性磷酸酶的合成^[7-8]。大鼠切除卵巢后，模型组中的 1,25-

E-cadherin 在积水肾组织中的表达及意义

李又空¹, 周家杰¹, 张先觉¹, 钟 雯², 郭华雄³

(荆州市中心医院泌尿外科¹、内分泌科²、病理科³, 湖北 荆州 434200)

【摘要】 目的 研究不同程度积水肾组织中 E-cadherin mRNA 基因及蛋白表达。方法 50 例患者, 年龄 18~75 岁, 通过肾脏彩超将其分为轻度、中度、重度肾积水, 每组分别为 15 例、18 例、17 例, 同时选取健康体检正常人群 50 例作为对照组; 肾脏穿刺取肾皮质组织, Realtime RT-PCR 及 Western blot 分别检测各组 E-cadherin mRNA 基因及蛋白表达; 分析 E-cadherin 表达与肾积水程度之间的关系。结果 正常对照组肾脏表达非常丰富的 E-cadherin mRNA 基因及蛋白, 而积水肾组织中 E-cadherin mRNA 基因及蛋白表达均显著下降; 同时随着积水程度的不断加重, E-cadherin 表达水平进行性下降, 并与肾积水程度之间存在明显负相关关系。结论 肾积水将通过不同机制下调 E-cadherin 表达, 并进而通过 EMT 等中间环节导致肾小管间质纤维化, E-cadherin 在其中起着非常重要的作用。

【关键词】 E-钙黏连蛋白; 肾积水; 肾小管间质纤维化

【中图分类号】 R692.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2014)20-2975-03

Expression and significance of E-cadherin in hydronephrosis. Li You-kong¹, ZHOU Jia-jie¹, ZHANG Xian-jue¹, ZHONG Wen², GUO Hua-xiong³. Department of Urology¹, Department of Endocrinology², Department of Pathology³, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou 434020, Hubei, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the expression of E-cadherin in different levels of hydronephrosis and investigate its clinical significance. **Methods** Fifty patients were enrolled in the study, with age of 18~75 years old. They were divided into mild, moderate and severe hydronephrosis groups, with 15, 18 and 17 patients respectively. Fifty healthy people were selected as control group. Real time PCR and Western blot were used to detect the expression of E-cadherin mRNA and protein. Correlation analysis was applied to find out their relationships. **Results** E-cadherin was highly expressed in the control group, while its expression was low in the hydronephrosis groups. And the more severe the hydronephrosis was, the lower the E-cadherin expression level. The expression of E-cadherin was negatively correlated with the severity of hydronephrosis. **Conclusion** The hydronephrosis would cause the downregulation of E-cadherin expression through many different mechanisms, and would cause tubulointerstitial fibrosis through EMT ultimately. E-cadherin plays very important roles during the process.

【Key words】 E-cadherin; Hydronephrosis; Tubulointerstitial fibrosis

基金项目:荆州市科技发展计划项目(编号:2011)

通讯作者:李又空。E-mail: liyoukong@126.com

二羟基维生素 D₃ 水平下降, 给药 3 个月后巴戟天多糖组 1, 25-二羟基维生素 D₃ 升高, 说明巴戟天多糖提高血清中 1, 25-二羟基维生素 D₃ 含量, 达到促进肠道对钙、磷吸收的作用。

综上所述, 巴戟天多糖可以通过提高骨钙素含量达到促进成骨的作用, 增加了去卵巢大鼠骨密度、骨矿物质含量; 通过提高 1, 25-二羟基维生素 D₃ 浓度, 促进肠道对钙、磷的吸收, 维持血钙浓度以促进钙在骨的沉积, 具有减缓骨吸收的作用。对于去卵巢大鼠所致骨质疏松有较好的防治作用。

参考文献

[1] 梁丽敏, 徐 勇. 南药巴戟天多糖的研究进展[J]. 食品工业科技, 2011, 32(8): 478-450.

[2] Zhang HL, Zhang QW, Zhang XQ, et al. Chemical constituents from the roots of *Morinda officinalis* [J]. Chinese Journal of Natural

Medicines, 2010, 8(3): 192-195.

[3] 崔可颺, 刘亦恒, 张 寿, 等. 巴戟天多糖含药血清对体外成骨细胞 DKK-1 表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(4): 871-872.

[4] 王 寅, 张巧艳. 巴戟天雌激素样作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(3): 527-528.

[5] 李 楠, 王和鸣, 郭素华, 等. 巴戟天多糖及其水提物对体外培养成骨细胞活性的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(23): 4570-4572.

[6] 文 鹏, 赵 梨, 吴 坚, 等. 活性维生素 D₃ 类药物的研究进展[J]. 华西药学杂志, 2011, 26(1): 87-90.

[7] Wacker M, Holick MF. Vitamin D-effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation [J]. Nutrients, 2013, 5(1): 111-148.

[8] Chen TC, Chimeh F, Lu Z, et al. Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D [J]. Arch Bio-chem Biophys, 2007, 460(2): 213-217.

(收稿日期: 2014-05-05)