

基于BGP、TGF- β 1的表达探究蛇床子素对去卵巢致骨质疏松大鼠的作用*

刘元 王立恒 伊璠

(大连市第二人民医院康复科,辽宁 大连 116000)

摘要:目的 观察蛇床子素对去卵巢致骨质疏松大鼠的影响。方法 选取3月龄雌性SD大鼠30只,随机分为蛇床子素组(A组)、模型对照组(B组)、假手术组(C组),各10只。A、B 2组摘除卵巢构建去势大鼠骨质疏松模型,C组仅进行手术、不摘除卵巢。造模成功后,分别给予相应药物灌胃,连续给药12周,处死。然后测量骨密度,检测治疗后血清BGP、TGF- β 1、钙指标。结果 B组大鼠股骨骨密度较C组明显降低($P<0.05$);经12周治疗,A组股骨骨密度较B组明显升高($P<0.05$)。与C组比较,B组大鼠血清中BGP含量升高、TGF- β 1降低($P<0.05$);与B组比较,A组大鼠血清中BGP降低、TGF- β 1含量升高($P<0.05$)。与C组比较,B组大鼠血清Ca水平明显降低($P<0.05$);与B组比较,A组大鼠血清Ca水平明显升高($P<0.05$)。差异均有统计学意义。结论 蛇床子素能够有效通过调节大鼠体内激素分泌改善去卵巢大鼠的骨代谢异常,提高骨密度,对骨质疏松症起到一定的防治作用。

关键词:蛇床子素;骨质疏松;BGP;TGF- β 1;血清钙;动物实验;大鼠;痹证

doi:10.3969/j.issn.1672-2779.2020.05.041

文章编号:1672-2779(2020)-05-0099-03

Study on the Effect of Osthole on Ovariectomized Osteoporotic Rats Based on the Expression of BGP and TGF- β 1

LIU Yuan, WANG Liheng, YI Fan

Rehabilitation Department, the Second People's Hospital of Dalian, Liaoning Province, Dalian 116000, China

Abstract: Objective To observe the effect of Osthole on ovariectomized osteoporosis rats. **Methods** Thirty 3-month-old female SD rats were randomly divided into Osthole group (group A), model control group (group B) and sham operation group (group C), with 10 rats in each group. Ovariectomy was performed in group A and group B to establish osteoporosis model in ovariectomized rats. In group C, ovariectomy was performed without ovariectomy. After successful modeling, the rats were given corresponding drugs by gavage for 12 weeks, and then executed. Bone mineral density (BMD) was measured and serum BGP, TGF- β 1 and calcium were measured after treatment. **Results** Bone mineral density of femur in group B was significantly lower than that in group C ($P<0.05$). After 12 weeks of treatment, bone mineral density of femur in group A was significantly higher than that in group B ($P<0.05$). Compared with group C, serum BGP and TGF- β 1 levels in group B were higher and lower ($P<0.05$). Compared with group B, serum BGP and TGF- β 1 levels in group A were lower and higher ($P<0.05$). Compared with group C, serum Ca level in group B was significantly lower ($P<0.05$), while that in group A was significantly higher ($P<0.05$). The differences were statistically significant. **Conclusion** Osthole can effectively improve the abnormal bone metabolism and bone mineral density of ovariectomized rats by regulating hormone secretion in vivo, and play a role in preventing and treating osteoporosis.

Keywords: Osthole; osteoporosis; BGP; TGF- β 1; serum calcium; animal experiment; rats

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种以骨量低下,骨微结构损坏,导致骨脆性增加,易发生骨折为特征的全身性骨病^[1]。其产生原因与骨重建过程中成骨细胞介导的骨生成和破骨细胞介导的骨吸收之间的平衡失调有关^[2]。研究表明,卵巢激素分泌不足,雌激素水平下降是该群体骨质疏松表现的重要原因^[3]。现人均寿命的提高,老龄化社会的到来,骨质疏松症人数逐年增加。绝经后骨质疏松症(Postmenopausal Osteoporosis, PMOP)属于原发性骨质疏松,绝经后老年妇女的一种常见病、多发病,严重威胁着老年人的健康。伴随世界人

口老龄化的发展,如何防治OP现成为国际学术界关注的焦点。因此,从根源上寻找它的发病机制,制定有效的防治策略,提供充分的理论依据都十分重要。中医药在骨质疏松防治方面具有一定优势,毒副作用小,可以长期服用,有化学药品无法取代的优势,其治法多种多样,有补肾、健脾等,骨质疏松属于中医“骨痿”范畴,其中医病机主要责之于肾虚。本实验使用去卵巢致骨质疏松大鼠模型,使用蛇床子素进行干预,观察骨密度、血清BGP、TGF- β 1、血清钙等相关指标,以求证蛇床子素具有一定抗骨质疏松作用,并探究其作用的可能机制,为早期预防骨质疏松及其并发症,提供一种安全性高、效果良好的中药。

* 基金项目:大连市卫计委局级课题[No.2016Z1010]

1 材料与方

1.1 动物 选取3月龄雌性SD大鼠30只,均未经生产,体重180~220 g,随机分为A、B、C3组,A组为蛇床子素组,B组为模型对照组,C组为假手术组,各10只。

1.2 造模方法 A组和B组大鼠用氯胺酮(0.1 g/kg)腹腔注射麻醉,麻醉满意后固定,于最末肋骨下,距脊柱外侧约2 cm处去毛、消毒,纵行切开皮肤约1.5 cm,剥离肌肉脂肪组织,结扎两侧输卵管,摘除两侧卵巢,缝合切口,消毒。C组大鼠运用同样方法同暴露大鼠卵巢,但不摘除,仅摘除双侧卵巢旁少许脂肪组织。

1.3 给药方法 造模成功后,将3组大鼠分别随机编号后称量体重并记录。A组为目标实验组,蛇床子素灌胃浓度10 mg/kg,B、C组灌胃等体积生理盐水,连续给药12周。每周称量体质量1次并调整灌药量。

1.4 观察指标 连续给药12周后,测定3组大鼠股骨骨密度;采血,分离血清,酶联免疫吸附分析法(ELISA)检测血清BGP、TGF- β 1;测定血清钙。

1.5 统计学方法 采用SPSS 17.0统计学软件进行分析,计数资料采用 χ^2 检验;计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,组间资料采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 骨密度 如表1所示,模型对照组大鼠股骨骨密度较假手术组明显降低($P < 0.05$);经过12周治疗,蛇床子素治疗组股骨骨密度较模型对照组有所升高($P < 0.05$),差异均有统计学意义。

表1 3组大鼠12周治疗后股骨骨密度($\bar{x}\pm s$,g/cm²)

组别	鼠数	骨密度
A组	10	0.073 \pm 0.010
B组	10	0.054 \pm 0.007
C组	10	0.089 \pm 0.008

2.2 ELISA 检测

表2 3组大鼠12周治疗后血清BGP、TGF- β 1($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	BGP(ng/mL)	TGF- β 1(ng/L)
A组	10	0.46 \pm 0.08	20.85 \pm 2.20
B组	10	0.68 \pm 0.04	9.11 \pm 0.83
C组	10	0.64 \pm 0.05	19.69 \pm 2.21

2.2.1 BGP 与假手术组比较,模型对照组大鼠血清中BGP含量升高($P < 0.05$),说明去卵巢致骨质疏松症大鼠造模成功;与模型对照组比较,蛇床子素治疗组大鼠血清中BGP含量降低($P < 0.05$),差异均有统计学意义。

2.2.2 TGF- β 1 与假手术组相比,模型对照组大鼠血清TGF- β 1水平低于假手术组($P < 0.05$);蛇床子素治疗组大鼠血清TGF- β 1较模型对照组有所升高($P < 0.05$)。

2.3 血钙 与假手术组比较,模型对照组大鼠血清Ca水平明显降低($P < 0.05$);与模型对照组比较,蛇床子素

治疗组大鼠血清Ca水平明显升高($P < 0.05$)。

表3 3组大鼠12周治疗后血钙($\bar{x}\pm s$,mmol/L)

组别	鼠数	血钙
A组	10	2.58 \pm 0.08
B组	10	2.25 \pm 0.06
C组	10	2.61 \pm 0.08

3 讨论

引起骨质疏松的原因有许多,现代医学主要认为,与内分泌代谢紊乱、钙平衡失调以及年龄、遗传、免疫、营养等诸多因素有关,究其主要发病机制仍与骨代谢失调密切相关。中医学认为,根据中医理论“肾藏精主骨生髓”,骨的生长发育与“肾精-脑髓-骨髓”关系密切。肾气旺盛,则精满髓充,骨骼得养则强健有力;肾气虚衰,精亏髓减,则骨骼失养,易出现骨质疏松等相关表现,故骨质疏松症病机多属肾虚,防治多用补肾法。补肾中药具有促进成骨细胞、抑制破骨细胞功能的双向调节作用,促进骨折愈合^[4]。在骨质疏松症防治上,具有补肾功效的中草药是首选,蛇床子具有补肾功效,其主要活性成分蛇床子素含量约占生药的2%,具有广泛的生物学活性。故本实验治疗组选用蛇床子素作为用药,连续给药12周,观察对比目标指标水平。

骨密度(bone mineral density, BMD),全称为骨骼矿物质密度,是指骨骼单位面积中矿物质的含量,是临床上用于诊断骨质疏松的“金标准”,也是判断药物疗效的重要依据^[5]。本实验各组用药治疗12w后,与模型对照组比较,蛇床子素治疗组的骨密度均有所提高,差异有统计学意义。钙作为基本元素,参与到骨转化的每个环节,为骨组织形成提供支持,人体中99%以上的钙参与形成骨盐,本实验显示蛇床子素可提高骨质疏松大鼠血清Ca²⁺浓度。调节骨吸收作用的因子很多,其中转化生长因子- β (TGF- β)是一种对骨有强大调节作用的生长因子,成骨细胞是骨组织中合成TGF- β s的主要细胞,TGF- β 1占大多数,既具有促进成骨细胞分化、增殖,刺激骨形成,又具有支持破骨细胞形成,刺激骨吸收的双重作用,是骨形成与骨吸收之间重要的调节偶联因子。血清骨钙素(BGP)是一种可直接用来反应形成和骨重建的一种蛋白,它是由成熟骨细胞分泌的一种非胶原骨基质蛋白,血中BGP水平上升会出现于骨转换升高的时候,否则就会下降。在诊断和治疗骨质疏松时,对于骨质疏松患者,BGP的值会出现明显升高。实验结果显示,与假手术组比较,模型对照组大鼠血清中BGP含量升高、TGF- β 1降低;与模型对照组比较,蛇床子素治疗组大鼠血清中BGP降低、TGF- β 1含量升高,差异均具有统计学意义。

绝经后骨质疏松症的动物模型是由Saville于1969年