

三花散对去卵巢大鼠血清内激素的影响

陶树清 陶天遵 孙铁铮 刘枫晨 尹文哲 韩霞 柳海峰

摘要 三花散投给去卵巢骨质疏松模型大鼠可见到较明显的防治骨质疏松作用,此作用是否通过改变大鼠血清内与骨代谢相关激素及代谢因子来完成的,为此,作者应用三月龄 Wistar 大鼠,切除双侧卵巢后分组投给三花散,分别与正常对照组(Sham 组)、OVX 组对照,饲养 15 周后,观察血清雌二醇(E_2)、活性维生素 D_3 ($1,25-(OH)_2D_3$)、骨钙素(Osteocalcin)及降钙素(CT)含量变化,结果表明:三花散提高去卵巢大鼠骨量的作用不是通过补充雌激素来达到的,三花散可在一定程度上提高血清中 $1,25-(OH)_2D_3$ 含量,说明三花散防治去卵巢大鼠骨质疏松的作用可能与提高大鼠对维生素 D 的摄取与合成利用有关系,此作用逊于 CEE_3 ,中剂量组(M 组)有明显增加血清内骨钙素含量的趋势,三花散可以提高去卵巢大鼠血清内 CT 值,但其作用逊于尼尔雌醇。

关键词 三花散 骨质疏松 雌激素 骨钙素 降钙素

Effect of San Hua powder on hormone in ovariectomized rats

Tao Shuqing, Tao Tianzun, Sun Tiezheng et al.

Dept. of Orthopedics, Second Clinical College, Harbin Medical University, Harbin 150086, China

Abstract The preventive and therapeutic effects of San Hua powder on osteoporosis were studied to establish the animal models of osteoporosis. We removed bilateral ovaria of three month-old rats. We treated the ovariectomized animals with San Hua powder or nylestriol (CEE_3), and compared them with sham-operated and blank ovariectomized groups. After 15 weeks, we observed the changes in contents of estradiol, vitamin D_3 , osteocalcin and calcitonin in serum. The results indicated that San Hua powder increased bone mass of ovariectomized rats not by supplementing estrogen but by increasing the contents of vitamin D_3 in serum, in other words, by increasing intake and synthesis of vitamin D_3 , and this effect was not as high as that in CEE_3 treated group. Serum of osteocalcin in sham-operated group tended to increase. San Hua powder could increase serum calcitonin in ovariectomized rats, but not as high as that in nylestriol treated group.

Key words San Hua powder Osteoporosis Estrogen Osteocalcin Calcitonin

将三花散投给去卵巢骨质疏松模型大鼠 后,在形态学上可见三花散有增加骨小梁宽度,

减少小梁间距离的功能,即有一定的防止骨量丢失作用。测量其骨密度见,三花散组较 OVX 组有一定的提高骨量,减少骨质疏松的作用,但其作用机理尚不十分清楚。作者应用三月龄 Wistar 大鼠,切除双侧卵巢后分组投给 CEE₃、三花散,分别与正常对照组(Sham 组)、病理对照组(OVX 组)对照,饲养 15 周后,观察血清雌二醇(E₂)、活性维生素 D₃(1,25-(OH)₂D₃)、骨钙素(osteocalcin, OC)及降钙素(calcitonin, CT)含量变化,以研究三花散对去卵巢大鼠血清内与骨代谢有关的部分激素的影响。

1 材料和方法

本实验选用三月龄雌性 Wistar 大鼠 48 只,随机分为 6 组,每组 8 只,Sham 组切开腹壁后不切除卵巢而缝合切口,正常饲养,其余各组均经腹切除双侧卵巢,并经组织学检查证实为已有次级卵泡出现的卵巢组织。所有大鼠按附表分组饲养 15 周后,心脏采血处死,所得血液经离心后取血清,应用 USA DPC CR10Y-Counter 计数分别测定各组大鼠血清内活性维生素 D₃、骨钙素(Osteocalcin)、雌二醇(E₂)及降钙素含量,各组内计算均数及标准差,各组间进行统计学显著性 *t* 检验。

试剂:1,25-(OH)₂D₃ 试剂盒, Osteocalcin 试剂盒 USA INCSTAR 公司生产, E₂ 试剂盒及 CT 试剂盒由 USA DPL 公司生产。

检测方法原理:放射免疫竞争法,测定结合的同位素放射线计数。

附表 动物分组及处理

组别	n	处 置
CEE ₃	8	切除卵巢 CEE ₃ 灌胃
H	8	切除卵巢 三花散 2.0g/kg D 灌胃
M	8	切除卵巢 三花散 1.0g/kg D 灌胃
L	8	切除卵巢 三花散 0.5g/kg D 灌胃
Sham	8	切开腹壁 不切除卵巢 正常饲养
OVX	8	切除卵巢 正常饲养

2 结果与讨论

2.1 各组大鼠血清雌激素测定值:Sham 组血清 E₂ 值为 320.00±72.18 pmol/L, OVX 组 E₂ 为 154.13±17.01 pmol/L, CEE₃ 组 E₂ 为 248.50±39.05 pmol/L, 三花散 H、L、M 三组 E₂ 值均与 OVX 组相接近,明显低于 Sham 组,即灌服尼尔雌醇为雌激素补充疗法,此组大鼠血清内雌二醇值明显高于 OVX 组,接近 Sham 组。三花散 H、L、M 三组大鼠血清内雌二醇值均与 OVX 组相接近,明显低于 Sham 组。

雌激素为骨丢失抑制剂,给去卵巢大鼠服以尼尔雌醇,矫正了因卵巢切除所造成的血清雌激素水平的降低。雌激素可以直接作用于成骨细胞内的相应受体,促进其功能的活跃,促进其骨胶原的合成并为骨质的矿化提供结构基础;另一方面,雌激素可降低机体对 PTH 的敏感性,促进降钙素的分泌,增加活性维生素 D₃ 的合成,从而减少了骨质内钙盐向血内的溶解转移,减少了钙经肾脏的排泄,同时增加了胃肠道钙吸收及肾小管对钙离子的重吸收,完成了减少骨量丢失的功能。目前研究表明,与钙代谢直接相关的血清内激素或因子有 1,25-(OH)₂D₃、甲状旁腺素(PTH)、降钙素、VitK、干扰素-γ(INF-γ)、白细胞介素-1、2(IL-1,2)、肿瘤坏死因子 α、β(TNFα、β)、前列腺素(PG)、雌激素、雄激素等^[1,2],本实验提示,灌服三花散三个月后大鼠血清内雌激素水平不提高,说明灌服三花散提高去卵巢大鼠骨量的作用不是通过补充雌激素来达到的,同时也说明三花散之中不含有雌激素类物质。

2.2 各组大鼠血清 1,25-(OH)₂D₃ 值:Sham 组 69.03±13.42 pg/ml, OVX 组为 48.09±12.06 pg/ml, CEE₃ 组为 69.54±10.74pg/ml, H、M 组值达 54.00±11.66pg/ml, 而 L 组值为 46.35±10.64pg/ml, 统计结果表明,Sham 组 1,25-(OH)₂D₃ 值明显高于 OVX 组(*P*<0.05),即大鼠在正常饲养下,雌激素明显地影响着 1,25-(OH)₂D₃ 吸收与代谢,三花散可在

一定程度上提高血清中 $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 含量。维生素 D 对骨代谢的调节作用是双向的,它既有促进小肠的钙磷吸收,减少肾脏的钙排泄,并可直接刺激成骨细胞及骨细胞,促进骨钙盐的沉积;又可协同 PTH 促进破骨细胞的溶骨作用。三花散可在一定程度上提高血清中 $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 含量说明三花散防治去卵巢大鼠骨质疏松的作用可能与提高大鼠对维生素 D 的摄取、合成、利用或抑制其分解代谢有关系,此作用逊于 CEE_3 ,然而其作用的具体环节及机制有待于进一步研究。

2.3 各组大鼠血清骨钙素测定结果为:Sham 组值为 $0.8675 \pm 0.3529\text{ng/ml}$,OVX 组值为 $0.3113 \pm 0.1597\text{ng/ml}$, CEE_3 组为 $0.6775 \pm 0.2821\text{ng/ml}$,H 组 $0.3325 \pm 0.1184\text{ng/ml}$,M 组 $0.5538 \pm 0.1698\text{ng/ml}$,L 组为 $0.36875 \pm 0.07737\text{ng/ml}$ 。由上可见,OVX 组血清骨钙素明显低于 Sham 组, $P < 0.05$ 。M 组有明显增加血清内骨钙素含量的趋势,但剂量过高及过低效果不明显。

骨钙素是骨的有机质成分,其含量仅次于骨胶原,占骨有机质的 20%,由 49 个氨基酸组成,分子量约 5500,骨钙素分子中有三个 Gla 残基,其立体结构在 α -单环结构处有一个 β -逆转,此处含有的三个 Gla 残基间的距离为 5.45nm,此恰好与羟基磷灰石结晶 XY 面上 Ca 离子间距离相一致^[3]。目前研究认为这就是钙结合位点,即骨钙素为骨有机质矿化的必要物质,骨钙素由成骨细胞的粗面内质网合成,骨钙素分子中有三个谷氨酸残基,此谷氨酸残基未羧化前的骨钙素无生理功能,此谷氨酸残基羧化为 γ -羧基谷氨酸残基后才具正常的生理功能,维生素 K 是这一羧化过程的重要辅酶。三花散可以提高去卵巢大鼠的血清骨钙素水平,说明三花散可以促进其骨质矿化,这与维生素 K 的防治骨质疏松作用结果相一致,但其作

用机制是否通过 Vit K 的作用途径,尚有待于进一步研究。

2.4 各组大鼠血清内降钙素测定结果为:Sham 组为 $134.92 \pm 41.15\text{pg/ml}$,OVX 组为 $70.56 \pm 19.93\text{pg/ml}$, CEE_3 组为 $131.05 \pm 27.42\text{pg/ml}$,M 组为 $103.65 \pm 54.65\text{pg/ml}$,而 H 与 L 组值在 80pg/ml 以下。

降钙素由甲状腺滤泡旁细胞分泌,其作用是促进血清内钙离子向骨组织内沉积,同时促进钙离子经肾脏排泄,为体内钙代谢的重要调节激素之一。OVX 组大鼠的血清内降钙素明显低于 Sham 组,表明降钙素受雌激素的调节,这与临床上 I 型骨质疏松症病人血清内降钙素低值及应用降钙素(益钙宁,密钙息)治疗 I 型骨质疏松症病人有效相一致。本实验测定结果表明,去卵巢后大鼠血清内 CT 明显低值,投给 CEE_3 ,可明显提高 CT 水平,中剂量的三花散可以提高去卵巢大鼠血清内 CT 值,但其作用逊于尼尔雌醇,然而应用三花散不能提高去卵巢大鼠血清内雌激素的水平,即表明提高降钙素的作用不是通过雌激素的作用环节来完成的。由此可见三花散可在一定程度上提高去卵巢大鼠血清内降钙素水平,可能有促进降钙素分泌作用,或有拟降钙素样作用,但其具体作用环节及作用形式尚有待于今后在更高水平的研究中去探讨。

参 考 文 献

- 1 Gallagher JC, Jerphak CM, Jee WSS et al. $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ short and long term effects on bone and calcium metabolism in patients with postmenopausal osteoporosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982, 79:3325-9.
- 2 Raisz LG, Martin TG. Prostaglandins in bone and metabolism. *Bone and mineral research*, Annual I. Amsterdam, Excerpta Medica, 1994, 286-310.
- 3 木村修一, 腰原康子, 折茂肇など. 骨粗松症の治療としてのビタミン. ビタミン. 1991, 65:75.