·中医中药·

健脾、补肾方药对老龄大鼠骨质疏松防治作用的实验研究

李涯松 童培建 马红珍 马镇川 陈俊杰

【摘要】 **目的** 评价与比较健脾、补肾及健脾补肾方药对老龄大鼠骨质疏松的防治效果。**方法** 以补中益气汤和右归饮分别为健脾法和补肾法的代表方药，选用12月龄大鼠，随机分为7组：模型组，健脾大、小剂量组，补肾大、小剂量组和健脾补肾大、小剂量组。各组大鼠在同等喂养条件下分别灌胃给药，用药100 d后，测定大鼠血清Ca、P、ALP、ACP和尿HOP，并观察骨密度及生物力学指标。**结果** 健脾、补肾方药及两者合用均能有效防治老龄大鼠骨量的丢失，用药组全身骨密度及腰椎骨密度与模型组比较差异有显著性（$P<0.05$，$P<0.01$），同时能增加骨灰重及股骨最大扭曲弯度，增强股骨承受最大力度，其作用以健脾与补肾方药合用最为显著，用药后各组血清ALP、ACP和尿HOP水平均明显下降，血清Ca、P水平均明显升高，提示骨吸收减少及机体对Ca、P的摄入增加，其作用以补肾方药相对优于健脾方药，并以两者合用效果显著。**结论** 健脾、补肾方药在防治老龄大鼠骨质疏松中均有确切疗效，防治效果以健脾、补肾方药合用最优。

【关键词】 健脾方药； 补肾方药；老龄大鼠；骨质疏松症；比较研究

Effects of spleen-strengthening and kidney-tonifying traditional Chinese herbal medicine on osteoporosis in aged rats.

LI Yasong, TONG Peijian, MA Hongzhen, et al. Zhejiang Hospital of Traditional Chinese Medicine Hangzhou 310006, China

【**Abstract**】 **Objective** To evaluate the effects of spleen-strengthening and kidney-tonifying traditional Chinese medinal herbs on the osteoporosis in aged rats. **Methods** Buzhong Yiqi decoction was used as a spleen-strengthening medicine, and Yougui decoction as a kidney-tonifying medicine. A total of 80 rats, 12 months old rats were randomly divided into 7 groups: model group, high dose and low dose of Buzhong Yiqi groups, high dose and low dose of Yougui groups, and high dose and low dose of Buzhong Yiqi plus Yongui groups. The medicine was administered by gavage. One hundred days later, the levels of calcium, phosphorus, alkaline phosphatase (ALP) and acid phosphatase (ACP) in serum and hydroxyproline (HOP) in urine were measured. The bone mineral density (BMD) and biomechanical parameters were also determined simultaneously. **Results** Both Buzhong Yiqi and Yougui decoctions were effective in preventing the loss of bone mineral in aged rats. The BMD of body and the maximal weight bearing of femur were significantly increased in the treatment groups ($P<0.05$, $P<0.01$). The levels of serum ALP and ACP and urine HOP were remarkably decreased in the treatment groups, while the levels of serum calcium and phosphorus were evidently increased, indicating that there were more intakes of calcium and phosphorus by gastrointestinal tract in the treatment groups than that in the control groups. Youqui decoction was more effective than Buzhong Yiqi decoction and the greatest efficacy was evidenced groups of combined of both. **Conclusion** Spleen-strengthening and kidney-tonifying traditional Chinese medicines are efficacious in prevention and treatment of osteoporosis in aged rats, and most effective by combined use of both.

【**Key words**】 Spleen-strengthening medicine; Kidney-tonifying medicine; Aged rats; Osteoporosis; Controlled study

中医学认为“肾藏精，骨髓之气也”“肾主骨”。即肾具有藏精生髓，滋养骨骼之作用。这种理论在近年来大量补肾中药防治骨质疏松症的临床与实验研究中也得到证实。但是人到老年，机体功能的衰退是多方面的，除了肾精不足之外，与脾虚关系亦很

作者单位：310006 杭州，浙江省中医院免疫肾病科（李涯松、马红珍），骨伤科（童培建、马镇川、陈俊杰）

密切，脾为后天之本，气血生化之源，具有滋养五脏，培补肾精之功能，脾虚则肾失后天滋助，终致骨髓空虚、骨痿不用而发生骨质疏松。为了评价健脾方药在老年性骨质疏松症中的防治效果，本研究比较性的研究了健脾、补肾和健脾补肾方药对老龄大鼠骨质疏松的防治作用。

材料和方法

1. 材料

动物：选用12月龄雄性SD大鼠80只，体重(400±20)g，由浙江实验动物中心提供，合格证号：96(2001)。

仪器：754型紫外分光光度计(上海日环仪器厂生产)；XR-26型双能X线骨密度仪(美国NORLAND公司生产)；SWD-10型万能材料实验仪(长春实验仪器厂生产)。

方药：健脾方药(补中益气汤)；炙黄芪15 g、太子参10 g、白术10 g、炙甘草5 g、陈皮6 g、当归10 g、升麻3 g、柴胡3 g。补肾方药(右归饮)：熟地9 g、炒山药6 g、山萸肉3 g、枸杞6 g、制杜仲6 g、肉桂6 g、制附子9 g、炙甘草6 g。健脾补肾方药：补中益气汤合右归饮。

药物制备及给药：按上述比例称取药物，水煎煮2次，浓缩至1 g生药/1 ml，大鼠按生药7.5 g/kg体重(中剂量)，15 g/kg体重(高剂量)，每天一次灌胃给药，连续100 d。

2. 方法

分组：随机将大鼠分为7组，即模型组、补中益气汤组1(补1)、补中益气汤组2(补2)，右归饮组1(右1)、右归饮组2(右2)、补中益气汤+右归饮组1(补+右1)、补中益气汤+右归饮组2(补+右2)。(注：1为高剂量，2为中剂量)。其中模型组给自来水，各给药组分别灌胃给药；各组大鼠在同等条件下喂养饲料，每半月记录生存数、体重、动物生存状态。

检测：喂养100 d后。(1)5%乌拉坦腹腔注射麻醉，俯卧位展开肢体，置于XR-26型双能X线骨密度仪探头下扫描测定全身和腰椎骨密度，自动打印测定结果。(2)股动脉取血5 ml分离血清，分别按试剂盒说明书测定：①碱性磷酸酶(ALP)：试剂由宁波慈城生化试剂厂生产(批号：0001102)；②酸性磷酸酶(ACP)：试剂由北京中山生物技术公司生产(00706)；③血清Ca含量：试剂由宁波慈城生化试剂厂生产(批号：001206)；④血清P含量：试剂由宁波慈城生化试剂厂生产(批号：001007)。(3)处死大鼠，分离取同侧股骨，去除表面软组织，采用牙托粉包埋股骨两端，用SWD-10型万能材料试验仪进行股骨三点弯曲试验，观察各组大鼠股骨最大扭曲弯度(mm)，即将被扭断时的最大扭曲弯度；及骨抗弯力的最大竞荷值(KN)，即股骨被扭断的最大强度。(4)收集另外同侧股骨，剥离软组织，放入钳锅中，烤干后称干重；在电炉上炭化后，置烧炉750℃下烧6 h，充分灰化后称灰重。

3. 统计学处理：采用成组资料均数 t 检验。

结 果

1. 体重与动物数：大鼠实验前和实验后分别各组间比较体重差异无显著性($P>0.05$)，喂养至第75天，各组大鼠均开始出现死亡现象，见表1。

表1 各组大鼠实验前后体重($\bar{x}\pm s$,g)

组别	实验前		实验后	
	n	体重	n	体重
模型组	8	406.25±10.53	7	461.86±8.65
补1	12	407.17±10.79	9	460.67±7.14
补2	12	406.17±10.19	9	461.22±6.53
右1	12	403.83±13.24	10	463.60±9.17
右2	12	406.50±10.55	10	462.50±7.95
补+右1	12	411.67±18.44	9	459.22±6.36
补+右2	12	402.58±11.07	10	461.30±8.30

2. 血清ALP、ACP变化：各用药组ALP、ACP值均有不同程度下降，其中ALP除补中益气中剂量组外，其余各组与模型组比较差异均有显著性($P<0.05$，$P<0.01$)；ACP右归饮高剂量组和补中益气合右归饮两个剂量组与模型组比较差异有显著性($P<0.05$，$P<0.01$)；两项指标均以补中益气合右归饮组下降最为明显，其中ALP中剂量组与补中益气中剂量组比较差异有显著性($P<0.05$)，ACP高剂量组与补中益气及右归饮高剂量组比较差异均有显著性($P<0.05$，$P<0.01$)，见表2。

表2 血清ALP、ACP变化比较($\bar{x}\pm s$,U/L)

组别	n	ALP	ACP
模型组	7	140.19±13.40	3.12±0.43
补1	9	124.28±14.05*	3.08±0.48
补2	9	132.42±17.30	3.07±0.48
右1	10	118.67±13.82**	2.65±0.37*
右2	10	118.99±21.20*	2.66±0.50
补+右1	9	111.97±13.88**	2.26±0.40**△△#
补+右2	10	109.87±19.27**△	2.65±0.40*

注：与模型组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$；与补2组比较，△$P<0.05$；与补1组比较，△△$P<0.01$；与右1组比较，#$P<0.05$

3. 血清Ca、P含量变化：各用药组血清Ca、P含

量均有不同程度提高，血清Ca除补中益气中剂量组外，其余用药组与模型组比较差异均有显著性（$P<0.05$，$P<0.01$），其中补中益气合右归饮组升高尤为显著，其高剂量组与补中益气高剂量组比较差异非常显著（$P<0.01$），中剂量组与补中益气及右归饮中剂量组比较差异均非常显著（$P<0.01$）；右归饮及补中益气合右归饮高剂量组的血清P与模型组比较差异有显著性（$P<0.05$，$P<0.01$）；补中益气与右归饮组间比较两项指标差异均无显著性（$P>0.05$），见表3。

表3 血清Ca、P含量变化（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	Ca(mmol/L)	P(mg/L)
模型组	7	1.87±0.21	28.14±6.19
补1	9	2.16±0.31*	30.52±7.20
补2	9	2.08±0.55	30.51±5.39
右1	10	2.41±0.39**	35.91±3.22**
右2	10	2.18±0.17**	32.63±3.94
补+右1	9	2.76±0.39**△	37.68±6.51*
补+右2	9	2.74±0.50**#	33.27±4.22

注：与模型组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$；与补1组比较，△$P<0.01$；与补2、右2组比较，#$P<0.01$

4. 尿HOP含量：各用药组的尿HOP有不同程度下降，其中右归饮高剂量组和补中益气合右归饮两剂量组与模型组比较差异有显著性（$P<0.05$，$P<0.01$），各用药组间比较差异无显著性（$P>0.05$），见表4。

5. 骨力度数据：用药各组股骨最大扭曲弯度均有不同程度提高，右归饮和补中益气合右归饮两剂量组与模型组比较差异均有非常显著性（$P<0.01$）；其中补中益气合右归饮组、右归饮高剂量组与补中益气高剂量组比较差异非常显著（$P<0.01$），补中益气合右归饮中剂量组与补中益气中剂量组比较差异亦有显著性（$P<0.05$）。其余组间差异无显著性（$P>0.05$）。各用药组之间及用药组与模型组之间股骨承受最大力度均无统计学差异（$P>0.05$），见表5。

表4 尿HOP含量变化（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	HOP(g/L)
模型组	7	0.369±0.060
补1	9	0.315±0.069
补2	9	0.330±0.065
右1	10	0.283±0.047**
右2	10	0.339±0.043
补+右1	9	0.280±0.061**
补+右2	10	0.296±0.503*

注：与模型组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$

表5 骨力度变化比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	最大扭曲弯度(mm)	最大力度(KN)
模型组	7	0.58±0.077	0.084±0.0049
补1	9	0.61±0.091	0.093±0.0217
补2	9	0.62±0.117	0.071±0.0094
右1	10	0.77±0.099**△	0.087±0.0200
右2	10	0.71±0.074**	0.088±0.0162
补+右1	9	0.77±0.062**△	0.097±0.0179
补+右2	10	0.72±0.070**#	0.091±0.0145

注：与模型组比较，**$P<0.01$；与补1组比较，△$P<0.01$；与补2组比较，#$P<0.05$

6. 骨干重和骨灰重：对于股骨干重，补中益气合右归饮高剂量组与模型组比较差异有显著性（$P<0.05$）。对于骨灰重，右归饮和补中益气合右归饮各剂量组均比模型组明显提高，与模型组比较差异非常显著（$P<0.01$），并且分别与补中益气两剂量组比较差异有显著性（$P<0.01$），见表6。

表6 骨干、灰重变化（$\bar{x}\pm s$，mg）

组别	n	骨干重	骨灰重
模型组	7	78.1±6.49	49.4±6.32
补1	9	82.8±7.98	50.7±5.74
补2	9	76.8±6.96	48.1±6.37
右1	10	85.6±7.57	63.5±7.38**△
右2	10	83.8±8.55	62.5±9.28**#
补+右1	9	87.3±8.54*	65.2±7.14**△
补+右2	10	84.8±7.58	63.3±6.67**#

注：与模型组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$；与补1组比较，△$P<0.01$；与补2组比较，#$P<0.01$

7. 骨密度变化：用药各组全身骨密度均有明显上升，与模型组比较差异有显著性（$P<0.05$，$P<0.01$）；并以补中益气合右归饮组效果最为明显，其高剂量组与补中益气及右归饮高剂量组比较差异有显著性（$P<0.05$）。腰椎骨密度除右归饮中剂量组外，其余用药各组与模型组比较差异均非常显著（$P<0.01$）；其中补中益气合右归饮中剂量组与右归饮中剂量组比较差异非常显著（$P<0.01$）；其余组间无统计学差异（$P>0.05$），见表7。

表7 骨密度变化比较（$\bar{x}\pm s$，g/cm^2）

组别	n	全身	腰椎
模型组	7	0.102±0.0073	0.109±0.0082
补1	9	0.113±0.0083*	0.126±0.0075**
补2	9	0.111±0.0081*	0.124±0.0099**
右1	10	0.115±0.0066**	0.128±0.0012**
右2	10	0.116±0.0076**	0.116±0.0098
补+右1	9	0.123±0.0052**△	0.130±0.0071**
补+右2	10	0.120±0.0088**	0.128±0.0092**#

注：与模型组比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$；与补1、右1组比较，△$P<0.05$；与右2组比较，#$P<0.01$

讨 论

近年来，在肯定补肾法是原发性骨质疏松症主要防治方法的同时，健脾法作为中医药防治骨质疏松的另一重要手段日益被人们所重视，但相关研究甚少；李芳芳等[1]将补肾、健脾和活血化瘀方药对去卵巢大鼠骨质疏松的影响进行了比较性研究，结果显示健脾方药基本无延缓去势引起的骨量丢失的作用。根据中医"肾主生殖"理论以及补肾方药对性腺轴的调节作用强于健脾方药[2]等现代研究成果，去势骨质疏松模型或绝经后骨质疏松症与中医的肾虚相吻合，宜补肾为治法，非健脾法之主要适应症。而老年性骨质疏松症以衰老为根本病因，临床脾虚症状相对突出，并有研究表明，衰老过程中脾虚先于肾虚[3]，提示脾虚在衰老过程中居重要地位，健脾法应用于老年性骨质疏松症治疗病、证均相吻合。基于以上理论，本研究采用完全符合老年性骨质疏松症病因病理本质的未加干预的老龄大鼠模型，首次对健脾方药在老年性骨质疏松症防治中的作用地位进行了探讨。从实验结果看，健脾、补肾及健脾补肾各治疗组全身骨密度及腰椎骨密度均比模型组明显提高，除补肾中剂量组腰椎骨密度变化无统计学差异外，其余用药各组与模型组比较差异均有显著性（$P<0.05$，$P<0.01$），并显示健脾、补肾合用较单一的健脾或补肾方药效果更为明显，其高剂量组的全身骨密度提高与单一健脾和单一补肾高剂量组比较差异有显著性（$P<0.05$）；骨干重、骨灰重及骨力学性能指标测定也同样显示了类似结果。

从生化指标看，老龄大鼠经健脾、补肾及健脾补肾方药防治后，反映骨吸收的血清 ACP、尿 HOP 和反映成骨细胞活性的血清 ALP 水平均有明显下降，其中以健脾、补肾方药合用下降最为显著，单一补肾方药次之；表明3种方药在降低骨分解的同时，成骨细胞的活性并无增加，说明健脾、补肾和健脾补肾3类方药对老龄大鼠骨质疏松的防治作用与其降低骨代谢、减少骨丢失有关。

另外，Ca、P 是骨矿物质的最主要成分，血清 Ca、P 一方面来自骨中释放，另一方面来源于胃肠道从饮食物中的吸收，研究表明，人至 40～50 岁后，肠道 Ca 有效吸收度和生物利用度直线下降，使机体处于负钙平衡，最终导致骨质疏松，故补 Ca 和增加肠道 Ca 有效吸收度能有效防止骨质疏松。前述本研究已表明，健脾、补肾方药可降低老龄骨质疏松大鼠的骨吸收，即骨的 Ca、P 释放减少。但本研究结果同时表明，老龄大鼠用药后，血清 Ca、P 水平均明显升高，其升高作用也以健脾、补肾、健脾补肾合用依次增强。提示3法均有明显增加肠道 Ca、P 吸收作用，这种作用也是其防治老龄大鼠骨质疏松的重要机理之一。

综上所述，本研究显示，健脾方药和补肾方药在防治老龄大鼠骨质疏松及增强骨骼生物力学强度，预防骨折发生中均有确切疗效；两者作用机制均与减少骨量丢失、增加肠道对 Ca、P 的吸收有关；从对骨代谢影响强度看，健脾方药略逊于补肾方药，而以两者合用效果最为显著，提示健脾方药与补肾方药在防治老年性骨质疏松症中具有一定协同作用，健脾补肾法是中医药防治老年性骨质疏松症的较佳选择。

参 考 文 献

1 李芳芳，李恩，佟晓旭，等．补肾、健脾和活血化瘀方药对去卵巢大鼠骨质疏松的比较性研究．中国骨质疏松杂志，1998，4：5-9.

2 周英．脾虚和肾虚雌性大鼠生育能力的实验观察．广州中医药大学学报，1998，15：195-199.

3 李镆，贺先奇，王兰香．中老年脾虚肾虚与 D/S 比值关系初探．中国中医基础医学杂志，1999，5：38-40.

（收稿日期：2003-01-15）