

· 论 著 ·

关节腔注射透明质酸钠对去卵巢大鼠骨关节炎的影响

张兴¹ 廖瑛^{1,2,*} 周君² 曾亚华² 成果² 王甜甜² 邓程远² 钟培瑞²

1.南华大学附属第一医院骨科,湖南 衡阳 421001

2.南华大学附属第一医院康复科,湖南 衡阳 421001

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 09-1236-08

摘要: **目的** 观察透明质酸钠对去卵巢大鼠骨关节炎关节软骨及软骨下骨的影响。**方法** 将30只雌性SD大鼠随机分成3组,每组10只,分别为:假手术组、去卵巢-双侧前交叉韧带切断术组(ovariectomy-anterior cruciate ligament transection, OVX-ACLT组)、去卵巢-双侧前交叉韧带切断术+透明质酸钠治疗组(治疗组)。假手术组不做任何处理,OVX-ACLT组及治疗组行去卵巢并横断双侧膝关节前交叉韧带术处理。术后2周,治疗组予双侧膝关节注射透明质酸钠50 μ g,OVX-ACLT组予双膝关节腔注射等剂量生理盐水,都以每周1次,共治疗12周。治疗12周后处死动物,检测血液I型胶原C端肽(C-terminal telopeptides of type I collagen, CTX-I)、抗酒石酸酸性磷酸酶5b(tartrate resistant acid phosphatase 5b, TRACP5b)、骨碱性磷酸酶(bone alkaline phosphatase, BALP)水平,对关节软骨行Mankin评分及软骨下骨行Micro-CT骨量分析。**结果** OVX-ACLT组血液中CTX-I、TRACP5b、BALP水平较假手术组明显增高($P<0.01$ 、 $P<0.05$ 、 $P<0.05$),而治疗组较OVX-ACLT组其水平明显减低($P<0.05$ 、 $P<0.05$ 、 $P<0.05$)。②三组Mankin评分比较:OVX-ACLT组较假手术组明显增高($P<0.01$),治疗组较OVX-ACLT组明显减低,差异有统计学意义($P<0.01$)。③OVX-ACLT组的骨体积分数、骨小梁数量较假手术组明显减低($P<0.01$ 、 $P<0.01$),而骨小梁分离度较假手术组明显增高($P<0.01$),骨小梁厚度较假手术组比较无明显变化($P>0.05$);治疗组的骨体积分数、骨小梁数量较OVX-ACLT组明显增高($P<0.01$ 、 $P<0.01$),而骨小梁分离度较OVX-ACLT组明显减低($P<0.01$),骨小梁厚度较OVX-ACLT组比较无明显变化($P>0.05$)。**结论** 透明质酸钠可改善软骨下骨的骨质疏松现象,维持软骨下骨强度,为关节软骨提供生物力学支撑,减少软骨的异常应力吸收,延缓骨关节炎关节软骨的退变。

关键词: 骨关节炎;软骨下骨;透明质酸;关节软骨;骨质疏松

Effect of intra-articular injection of sodium hyaluronate on osteoarthritis in ovariectomized rats

ZHANG Xing¹, LIAO Ying^{1,2,*}, ZHOU Jun², ZENG Yahua², CHENG Guo², WANG Tiantian², DENG Cheng, yuan², ZHONG Peirui²

1.Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang 421001, China

2.Department of Rehabilitation, the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang 421001, China

* Corresponding author: LIAO Ying, Email: liaoyingkf@163.com

Abstract: **Objective** To observe the effect of sodium hyaluronate on both articular cartilage and the subchondral bone of osteoarthritis models in ovariectomized rats. **Methods** Thirty female SD rats aged of 3 months were randomly divided into 3 groups, sham-operated group, ovariectomized rats with bilateral anterior cruciate ligament transection (OVX-ACLT group), ovariectomized rats with bilateral anterior cruciate ligament transection + intra-articular injection of sodium hyaluronate (treatment group), with 10 rats in each group. Rats in the sham-operation group received no treatment. Rats in OVX-ACLT group and treatment group were ovariectomized and their anterior cruciate ligament of knee joint were transected. Two weeks after OVX-ACLT, rats in the treatment group received intra-articular injection of sodium hyaluronate, 50 μ g once a week for 12 weeks. Rats in the OVX-ACLT group were injected with normal saline. The rats were sacrificed after 12 weeks of treatment. The serum levels of C-terminal telopeptides of type I collagen (CTX-I), tartrate resistant acid phosphatase 5b (TRACP5b), and bone alkaline phosphatase (BALP) were detected. Mankin scores of articular cartilage were also evaluated. bone mass of subchondral bone was analyzed with micro-CT. **Results** The serum contents of CTX-I, TRACP5b, and BALP in OVX-ACLT group were significantly higher than

基金项目: 国家自然科学基金(81674045)

* 通信作者: 廖瑛, Email: liaoyingkf@163.com

those in sham operation group ($P<0.01$, $P<0.05$, and $P<0.05$), while those in treatment group were significantly lower than in OVX-ACLT group ($P<0.05$, $P<0.05$, $P<0.05$). ②Comparison of Mankin scores among the three groups; the scores in OVX-ACLT group were significantly higher than in sham operation group ($P<0.01$), and the scores in treatment group were significantly lower than in OVX-ACLT group ($P<0.01$). ③The bone volume fraction and trabecular bone numbers in OVX-ACLT group were significantly lower than those in sham-operated group ($P<0.01$, $P<0.01$), but the degree of bone trabecular separation was significantly higher than that in sham-operated group ($P<0.01$). The trabecular thickness was not statistically different between the two groups ($P>0.05$). The bone volume fraction and trabecular bone number in treatment group were significantly higher than those in OVX-ACLT group ($P<0.01$, $P<0.01$), but the degree of bone trabecular separation was significantly lower than that in OVX-ACLT group ($P<0.01$). The trabecular thickness was not statistically difference between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** Sodium hyaluronate releases osteoporosis and maintains the strength in the subchondral bone. It provides biomechanical support for the articular cartilage, and reduces the abnormal stress absorption of the cartilage, and delays the degeneration of the articular cartilage.

Key words: osteoarthritis; subchondral bone; hyaluronic acid; articular cartilage; osteoporosis

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是关节紊乱的最常见形式,其特征是关节软骨退化、软骨下骨重建、关节边缘反应性新骨形成,从而引起关节疼痛和僵硬,最终导致关节功能障碍而影响生活质量^[1]。OA的发病率已成为世界范围内日益严重的健康问题^[2]。而关节腔注射透明质酸(hyaluronic acid, HA)因可减轻OA疼痛,并能改善关节活动,保护软骨是其治疗OA最常见的机制^[3]。因此探寻透明质酸对OA治疗的相关作用机制研究,将有利于进一步寻找抑制病情发生的作用靶点,为OA预防与治疗提供新思路。

骨质疏松症是人类最常见的骨病^[4],以绝经后卵巢产生的雌激素降低致使骨质流失的女性最为多见。虽然对于OA与骨质疏松之间的关联尚未明确,但有不同的报道表明,在严重的髌或膝OA患者中,骨量减少和骨质疏松占的比例很大^[5],而在远离膝关节的部位,纵向骨密度丧失与膝OA软骨的进行性丢失有关^[6]。还有研究表明,在OA伴骨质疏松症的早期发展过程中,可以检测到骨的变化,这些变化发生在软骨下骨和膝OA患者的胫骨内^[7]。以往的研究主要集中在使用膝关节不稳定所致的实验性OA动物模型^[8]。然而,这些模型可能不适用于原发性OA,尤其是绝经后OA。已有研究证实,动物去卵巢(ovariectomy, OVX)能够复制OA合并骨质疏松的体内模型,模拟绝经后OA的病理生理进程^[9-10]。因此,本实验联合膝关节不稳和OVX,在大鼠体内建立表现OA和骨量丢失的模型,以探究透明质酸对OVX大鼠OA模型关节软骨及软骨下骨的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:3月龄雌性SD大鼠30只,平均体重约为256.7g,购于湖南省斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号:SCXK(湘)2016-0002。实验动物饲养于南华大学动物实验室,使用许可证号:SYXK(湘)2010-0006。12h间隔照明,自由活动,环境温度为21~27℃,湿度为55%~65%。严格依照中华人民共和国《实验动物管理条例》执行。

1.1.2 试剂与仪器设备:试剂:透明质酸钠(玻璃酸钠,山东博士伦福瑞达制药有限公司,批准文号:国药准字H10960136);CTX-I、TRACP5b、BALP的ELISA试剂盒(编号号:7E2B2C3、7E2B2C5、7E2B2C9,广州皓跃生物科技有限公司);奥林巴斯光学显微镜(CX41,奥林巴斯,日本);MSE Micro-Centaur Centrifuge 微型台式离心机(LD5-10B, Sanyo, Japan);Micro-CT(型号:ZKKS-MCT-Sharp, 广州中科恺盛医疗科技有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组与造模:将30只SD雌性大鼠采用随机统计学分成3组,每组10只,分别为:假手术组、OVX-ACLT组(去卵巢-横断双侧膝关节前交叉韧带骨关节炎组)、治疗组(去卵巢-横断双侧膝关节前交叉韧带骨关节炎+透明质酸钠治疗组)。参照文献[11]:OVX-ACLT组及治疗组均采用去卵巢+横断大鼠的双膝关节前交叉韧带方法(OVX-ACLT术)建立骨质疏松合并OA动物模型。术后每只动物予青霉素4万U肌肉注射2周,预防性抗感染治疗。术后2周,治疗组:双侧膝透明质酸钠50μg^[12]关节腔注射,每周1次,共治疗12周;ACLT组:双膝等量生理盐水,关节腔注射,每周1次,共治疗12周;假手术组:不做任何特殊处理。实验期间所有的大鼠均是自由活动和摄食饮水。

1.2.2 标本采集及处理:每组实验动物于治疗 12 周后取血,颈椎脱臼法处死,留取标本。眼眶静脉丛取血约 3~5 mL,血液予以离心机离心后,取上层血清,保存于约-80℃冰箱中。取左侧胫骨近端,钝性分离软组织,生理盐水反复冲洗后,切片后行番红固绿 HE 染色。取右侧胫骨近端置于 40 g/L 多聚甲醛中固定,保存送检。

1.2.3 血清 CTX-I、TRACP5b、BALP 检测:使用 ELISA 测定 CTX-I、TRACP5b、BALP 等指标(应用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验)。

1.2.4 组织形态学观察及 Mankin 评分:对左侧胫骨近端软骨组织切片后行番红固绿染色。按照改良 Mankin 评分标准^[13],分别从软骨组织结构、细胞数量、AB-PAS 染色情况、潮线改变等评估关节损伤程度。其中 0~1 分为正常,2~5 分为轻度,6~9 分为中度,10~14 分为重度。

1.2.5 Micro-CT 技术观察软骨下骨:将固定于 40 g/L 多聚甲醛大鼠右侧胫骨近端软骨下骨取出后置于 Micro-CT 设备中进行检测。分别从骨体积分数(bone volume fraction, BV/TV)、骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb.Th)、骨小梁数量(trabecular number, Tb.N)、骨小梁分离度(trabecular separation,

Tb.Sp)等方面对软骨下骨行定量分析。

1.3 统计学处理

选用 SPSS 18.0 软件统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组血清 CTX-I、TRACP5b、BALP 浓度比较

术 12 周与假手术组比较,OVX-ACLT 组中 CTX-I、TRACP5b、BALP 水平显然高于假手术组($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.05$);治疗组中 CTX-I、TRACP5b、BALP 水平显然低于 OVX-ACLT 组($P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.05$)。见图 1。

2.2 光镜下 3 组软骨形态学及软骨 Mankin 评分比较

假手术组:软骨细胞与基质分布均匀,潮线清晰连续,软骨表层光滑,软骨层面完整。OVX-ACLT 组:软骨细胞与基质分布紊乱,潮线模糊不完整,软骨表层破坏,软骨组织缺失,裂隙增宽。治疗组:软骨组织结构排列尚有一定序列,可见潮线完整连续,软骨表层轻度粗糙,关节软骨轻微变窄。3 组 Mankin 评分比较:OVX-ACLT 组较假手术组明显增

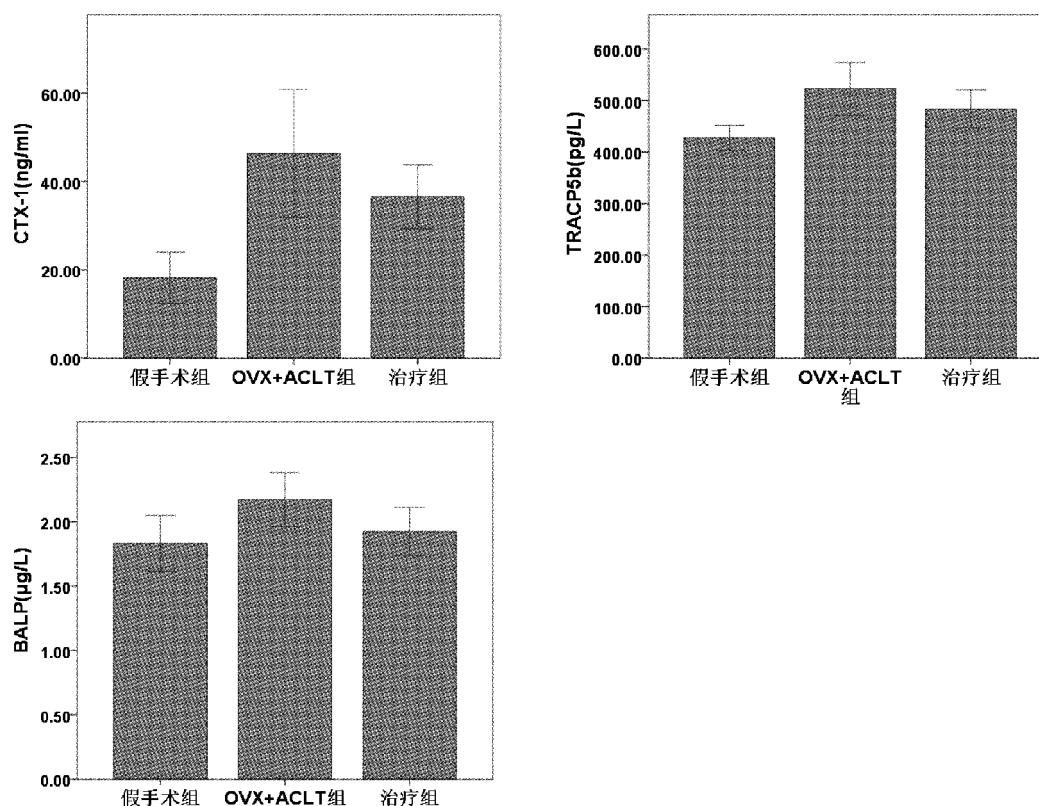


图 1 3 组 CTX-I、TRACP5b、BALP 浓度比较

Fig.1 Comparison of CTX-I, TRACP5b, and BALP concentrations among the three groups

高 ($P < 0.01$); 治疗组较 OVX-ACLT 组明显减低 ($P < 0.01$)。见图 2、表 1。

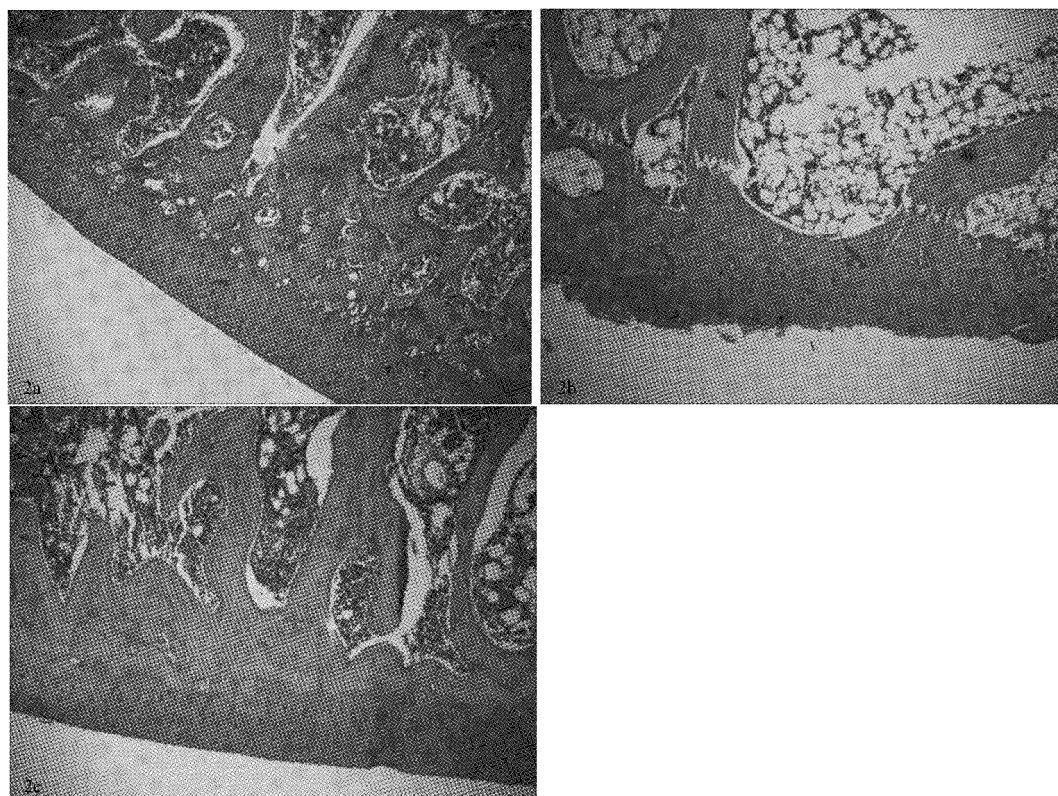


图 2 3 组软骨组织形态学比较(番红染色 $\times 10$)

Fig.2 Comparison of cartilage tissue morphology among the three groups (safranin-stained, $10\times$)

a.Sham-operated group; b.ACLT group;c.Treatment group.

表 1 3 组大鼠关节软骨 Mankin 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of Mankin scores of articular cartilage among the three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	Mankin 评分
假手术组	0.96 ± 0.71
OVX-ACLT 组	$8.89 \pm 1.67^*$
治疗组	$2.56 \pm 1.42^{\#}$

注:与假手术组比较, $^* P < 0.01$; 与 OVX-ACLT 组比较, $^{\#} P < 0.01$ 。

2.3 3 组胫骨近端软骨下骨 Micro-CT 比较及骨量分析

通过胫骨近端软骨下骨 Micro-CT 比较及骨量分析可见:治疗后 12 周,OVX-ACLT 组的 BV/TV、Tb.N 值较假手术组明显降低(分别 $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$),而 Tb.Sp 值较假手术组明显增高($P < 0.01$),Tb.Th 两组对比差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗组的 BV/TV、Tb.N 值较 OVX-ACLT 组明显增高(分别 $P < 0.01$ 、 $P < 0.01$),而 Tb.Sp 值较 OVX-ACLT 组明显减低($P < 0.01$),Tb.Th 两组对比差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 3、图 4。

3 讨论

OA 现在被认为是一种全局性的关节衰竭,涉及关节的所有组织:软骨、滑膜和软骨下骨^[14]。近年来,许多研究集中在软骨下骨在该病病理生理特征中的作用。软骨下骨是几种动态形态改变的场所,涉及一个重建进程^[15]。在 OA 中,软骨下骨表现为骨吸收和骨形成的加速期^[16],这些变化与成骨细胞代谢的改变有关,从而导致可溶性介质的异常生成。这种由骨细胞产生的介质可以通过骨软骨界面影响深层软骨细胞^[17]。临床上,症状性 OA 患者软骨下骨层面 MRI 上显示更多的骨质病变,从而强化了软骨下骨的中心作用假说。因此,软骨下骨细胞可作为治疗 OA 和减少软骨降解的靶点。为了评价软骨下骨成骨细胞在 OA 过程中的作用,我们将在大鼠体内建立表现 OA 和骨量丢失的模型(即 OVX-ACLT),为透明质酸治疗 OA 机制提供新的科学证据。

临床和流行病学研究表明,绝经后女性因雌激素水平的急剧下降,致使 OA 的发病率和严重程度

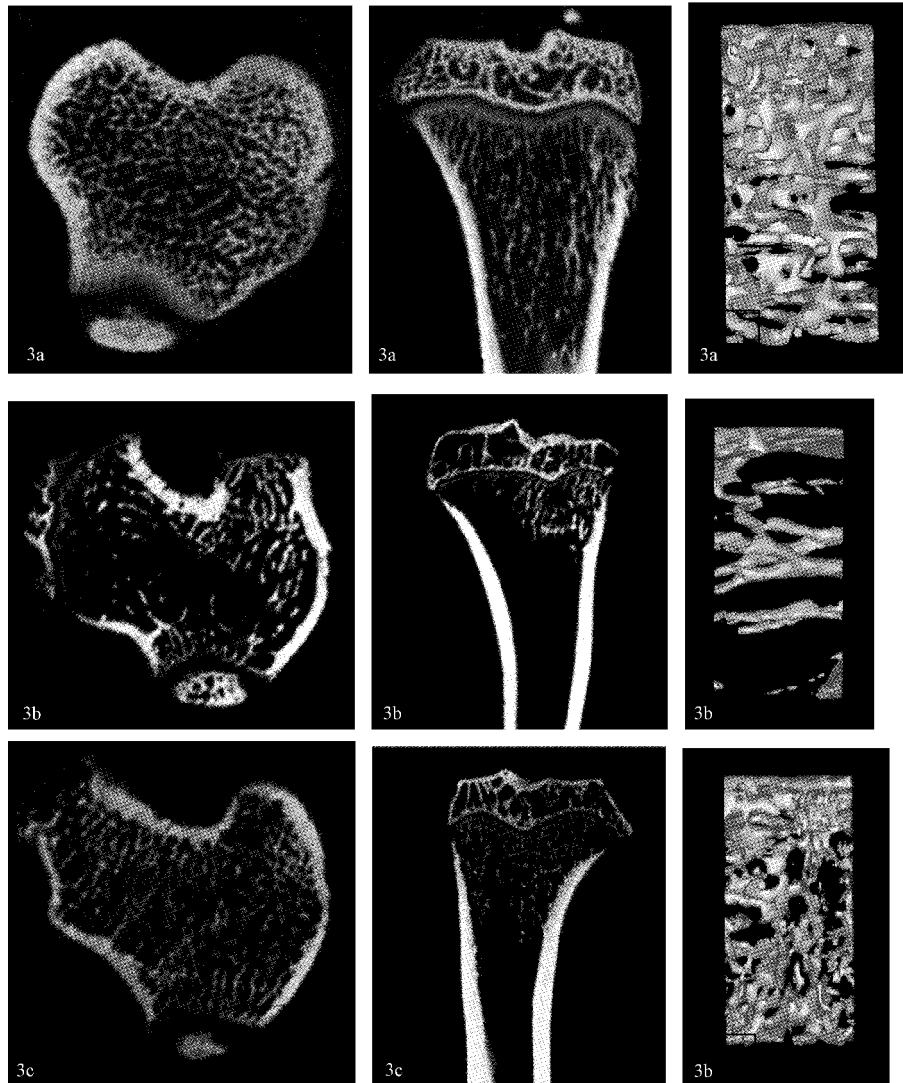


图 3 软骨下骨显微 CT 图像

a.假手术组 b.OVX-ACLT 组 c.治疗组。

Fig.3 Image of subchondral bone under micro-CT

a. sham-operation group; b. OVX-ACLT group; c. treatment group.

均增加^[18]。在基础实验中已有证据表明,动物前交叉韧带横断结合去卵巢完全可以建立 OA 合并骨质疏松的体内模型,并模拟绝经后 OA 发生、发展的病理过程^[11,19]。而且 Bellido 等^[20]研究发现,OVX-ACLT 模型组的软骨损伤程度明显高于单纯 ACLT 横断 OA 模型组。本实验发现 OVX-ACLT 组软骨 Mankin 评分较假手术组的显然增高,镜下可见软骨细胞与基质分布紊乱,潮线模糊不完整,软骨表层破坏,软骨组织缺失,裂隙增宽,表明软骨严重受损。而通过 Micro-CT 图像显示:OVX-ACLT 组软骨下骨较假手术组明显骨小梁连接稀疏、结构错乱、分布面积窄,同时骨量分析可看出 OVX-ACLT 组 BV/TV、Tb.N 值较假手术组明显减低,而 Tb.Sp 显然增高,

提示 OVX-ACLT 组骨组织密度减低,说明存在骨质疏松现象。与此同时,OVX-ACLT 组中血清 TRACP5b、BALP 值明显高于假手术组,而 TRACP5b、BALP 可作为骨质代谢变化的敏感指标^[21-22],其值往往与骨密度表现为负相关性,表明 OVX-ACLT 组骨量丢失。本实验通过大鼠前交叉韧带横断与去卵巢成功建立 OA 合并骨质疏松的体内模型,并模拟了绝经后相关 OA 的病理生理过程。

骨质疏松主要以骨量的丢失、骨微结构破坏为主,本实验发现软骨下骨已存在骨质疏松现象。而软骨下骨作用于软骨的主要功能是为软骨吸收应力、缓冲震荡防止软骨损伤和撑持软骨形状使其受力匀称,从而影响软骨细胞的代谢等^[23]。当骨质疏

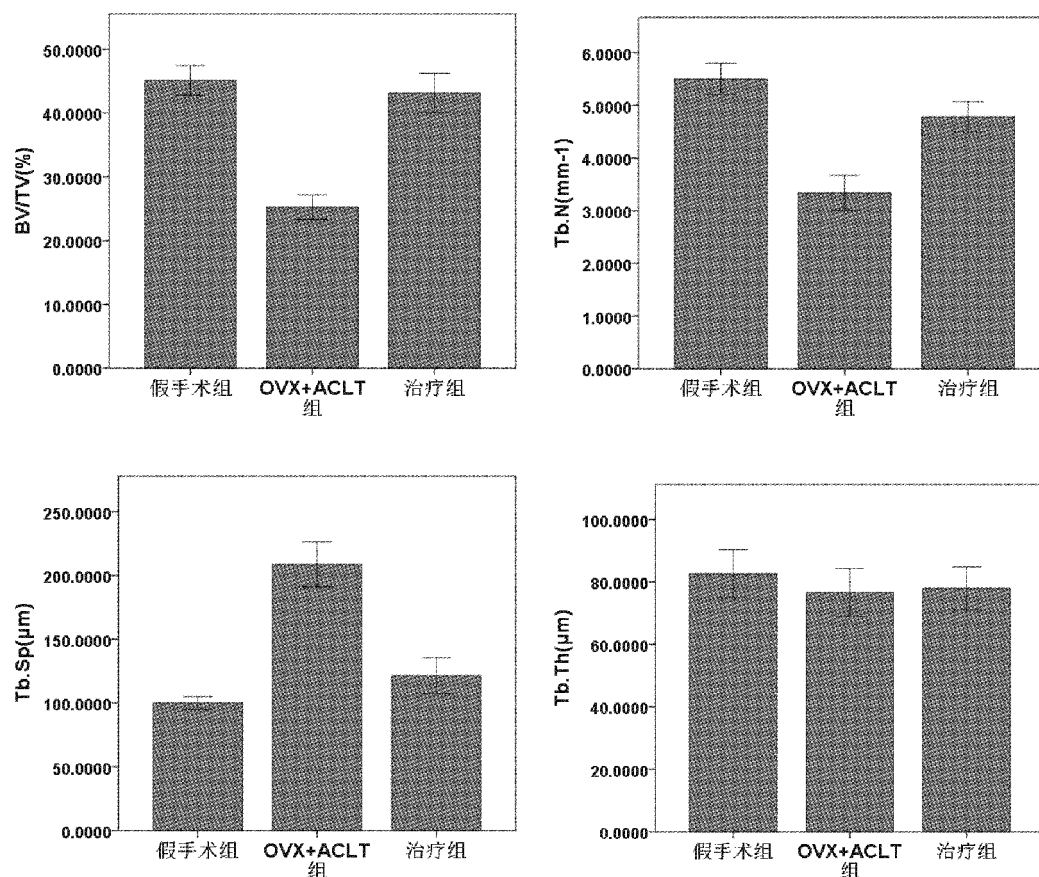


图4 3组胫骨近端软骨下骨定量分析

Fig.4 Quantitative analysis of subchondral bone of the proximal tibia in the three groups

松发生时,致使软骨下骨骨代谢重建失常,削弱了对软骨吸收应力的能力,导致过量的应力传导使软骨损伤,从而促进了 OA 的发病进程^[24]。已有研究报道,骨质疏松致使软骨下骨骨量的丢失,会加速软骨的损伤,对 OA 的发生及发展起到重要作用^[15,25]。因此在 OA 发生及进展中软骨下骨的异常改变发挥重要作用,其可作为 OA 预防及治疗的新靶点^[26]。

透明质酸为大分子链状糖胺多糖,广泛分布于软骨细胞和滑膜细胞中,作为关节软骨的润滑剂,屏障和缓冲剂,可防止软骨损伤或变性,从而延缓 OA 的进程^[27]。国内外大量的研究,已基本明确 HA 对软骨的保护及修复作用^[3,28]。另有研究表明,HA 能穿透 OA 软骨外植体并与软骨细胞结合^[29]。Hiraoka 等^[30]发现荧光透明质酸在兔 OA 模型关节内注射后,被发现穿透软骨下骨。在 OA 关节中,软骨和软骨下骨之间出现血管化和微裂纹,允许物质直接在软骨和软骨下骨之间移动^[31]。Mladenovic 等^[32]发现 HA 可能调控 RANKL/RANK/OPG 信号通路影响软骨下骨的骨吸收和骨形成,从而影响软

骨下骨骨重建,维持软骨下骨中破骨细胞和成骨细胞的代谢动态平衡,使软骨下骨保持正常的生物力学性能,从而抑制关节软骨退变。同时,HA 还可以通过与 CD44 结合来抑制基质金属蛋白酶-13 (matrix metalloproteinases 13, MMP-13) 的表达来保护软骨下骨的微结构,从而抑制软骨退变^[30,32]。CTX-I 是胶原蛋白降解的衍生物,它也是骨代谢指标重要指标之一,可间接反映软骨下骨的活性。本实验发现,OVX-ACLT 组 CTX-I 水平较假手术组显然增高,而治疗组较 OVX-ACLT 组显然降低,与此同时,治疗组中 TRACP5b、BALP 值也较 OVX-ACLT 组减低,说明通过关节腔注射 HA 后可防止软骨下骨骨量过分的丢失,维持软骨下骨强度,为关节软骨提供生物力学支撑。而在 Micro-CT 图像显示:治疗组胫骨近端软骨下骨较 OVX-ACLT 组骨小梁连接紧密、结构规律、分布面积广,在骨量分析可看出治疗组 BV/TV、Tb.N 值较 OVX-ACLT 组明显增高,而 Tb.Sp 显然降低,说明关节腔注射 HA 可以改善软骨下骨的骨质疏松现象,改变软骨下骨显微结构,减少软骨

的应力负荷。此外,通过关节腔注射 HA 改善软骨下骨后,治疗组较 OVX+ACLT 组中软骨 Mankin 评分显然减低,有效的抑制了软骨退变。

综上,利用 SD 大鼠前交叉韧带横断与去卵巢可成功建立 OA 合并骨质疏松的体内模型,并模拟绝经后相关 OA 的病理生理过程。本实验通过关节腔注射 HA 治疗 OA 可有效地改善骨小梁的结构,增强软骨下骨硬度和强度,使软骨下骨的顺应性加强,从而减少软骨的应力吸收,防止软骨的损伤。虽然对于 HA 具体如何作用软骨下骨达到治疗 OA 的效果机制尚未明确,但软骨下骨在 OA 的发生、发展的病理变化中扮演着重要角色,其可作药物治疗 OA 潜在靶点。

【 参 考 文 献 】

- [1] Musumeci G, Aiello FC, Szychlińska MA, et al. Osteoarthritis in the XXIst century: risk factors and behaviours that influence disease onset and progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(3): 6093-6112.
- [2] Fransen M, Bridgett L, March L, et al. The epidemiology of osteoarthritis in Asia [J]. *Int J Rheum Dis*, 2011, 14(2): 113-121.
- [3] Brun P, Zavan B, Vindigni V, et al. In vitro response of osteoarthritic chondrocytes and fibroblast-like synoviocytes to a 500-730 kDa hyaluronan amide derivative [J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2012, 100(8): 2073-2081.
- [4] Lupsa BC, Insogna K. Bone health and osteoporosis [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2015, 44(3): 517-530.
- [5] Lingard EA, Mitchell SY, Francis RM, et al. The prevalence of osteoporosis in patients with severe hip and knee osteoarthritis awaiting joint arthroplasty [J]. *Age Ageing*, 2010, 39(2): 234-239.
- [6] Lee JY, Harvey WF, Price L, et al. Relationship of bone mineral density to progression of knee osteoarthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(6): 1541-1546.
- [7] Messent A, Ward RJ, Tonkin J, et al. Tibial cancellous bone changes in patients with knee osteoarthritis. A short-term longitudinal study using Fractal Signature Analysis [J]. *Osteoarthr Cartil*, 2005, 13(6): 463-470.
- [8] Kamekura S, Hoshi K, Shimoaka T, et al. Osteoarthritis development in novel experimental mouse models induced by knee joint instability [J]. *Osteoarthr Cartil*, 2005, 13(7): 632-641.
- [9] 周君,何成奇,郭华,等.兔膝关节关节炎合并骨质疏松症动物模型的建立 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(41): 7639-7642.
- [10] Høegh-Andersen P, Tankó LB, Andersen TL, et al. Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application [J]. *Arthritis Res Ther*, 2004, 6(2): R169-180.
- [11] Terencio MC, Ferrándiz ML, Carceller MC, et al. Chondroprotective effects of the combination chondroitin sulfate-glucosamine in a model of osteoarthritis induced by anterior cruciate ligament transection in ovariectomised rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 79: 120-128.
- [12] Yucel I, Karaca E, Ozturan K, et al. Biomechanical and histological effects of intra-articular hyaluronic acid on anterior cruciate ligament in rats [J]. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*, 2009, 24(7): 571-576.
- [13] Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1971, 53(3): 523-537.
- [14] Bijlsma JW, Berenbaum F, Lefeber FP. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice [J]. *Lancet*, 2011, 377(9783): 2115-2126.
- [15] 钟培瑞,廖琰,廖源,等.去卵巢对大鼠膝关节软骨及软骨下骨的影响 [J]. *风湿病与关节炎*, 2017, 6(11): 5-10, 20.
- [16] Castañeda S, Roman-Blas JA, Largo R, et al. Subchondral bone as a key target for osteoarthritis treatment [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(3): 315-323.
- [17] Lories RJ, Luyten FP. The bone-cartilage unit in osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2011, 7(1): 43-49.
- [18] Lou C, Xiang GH, Weng QY, et al. Menopause is associated with articular cartilage degeneration: a clinical study of knee joint in 860 women [J]. *Menopause*, 2016, 23(11): 1239-1246.
- [19] Ferrándiz ML, Terencio MC, Carceller MC, et al. Effects of BIS076 in a model of osteoarthritis induced by anterior cruciate ligament transection in ovariectomised rats [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2015, 16: 92.
- [20] Bellido M, Lugo L, Roman-Blas JA, et al. Subchondral bone microstructural damage by increased remodelling aggravates experimental osteoarthritis preceded by osteoporosis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(4): R152.
- [21] Qin YJ, Zhang ZL, Zhang H, et al. Age-related changes of serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b and the relationship with bone mineral density in Chinese women [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29(12): 1493-1498.
- [22] 杨锋,孙玉华,刘佃滨,等.骨质疏松患者骨碱性磷酸酶、钙、磷代谢变化及与牙槽骨骨密度的相关性 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(9): 1160-1166.
- [23] Sharma AR, Jagga S, Lee SS, et al. Interplay between Cartilage and Subchondral Bone Contributing to Pathogenesis of Osteoarthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(10): 19805-19830.
- [24] Bellido M, Lugo L, Roman-Blas JA, et al. Subchondral bone microstructural damage by increased remodelling aggravates experimental osteoarthritis preceded by osteoporosis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(4): R152.
- [25] Hügler T, Geurts J. What drives osteoarthritis? -synovial versus subchondral bone pathology [J]. *Rheumatology*, 2017, 56(9): 1461-1471.

- [26] 李能,廖瑛,廖源,等.伊班膦酸钠对大鼠膝关节炎关节软骨及软骨下骨的影响[J].中国骨质疏松杂志,2017,23(1):78-83.
- [27] Suzigan EM, Rocha EE, Scala C. Poster 133 analysis of pain and functionality in knee osteoarthritis patients after sodium hyaluronate viscosupplementation [J]. PM R, 2016, 8(9S): S205.
- [28] Guidolin DD, Ronchetti IP, Lini E, et al. Morphological analysis of articular cartilage biopsies from a randomized, clinical study comparing the effects of 500-730 kDa sodium hyaluronate (Hyalgan) and methylprednisolone acetate on primary osteoarthritis of the knee [J]. Osteoarthritis Cartil, 2001, 9(4): 371-381.
- [29] Julovi SM, Yasuda T, Shimizu M, et al. Inhibition of interleukin-1 β -stimulated production of matrix metalloproteinases by hyaluronan via CD44 in human articular cartilage [J]. Arthritis Rheum, 2004, 50(2): 516-525.
- [30] Hiraoka N, Takahashi KA, Arai Y, et al. Intra-articular injection of hyaluronan restores the aberrant expression of matrix metalloproteinase-13 in osteoarthritic subchondral bone [J]. J Orthop Res, 2011, 29(3): 354-360.
- [31] Shibakawa A, Yudoh K, Masuko-Hongo K, et al. The role of subchondral bone resorption pits in osteoarthritis: MMP production by cells derived from bone marrow [J]. Osteoarthritis Cartil, 2005, 13(8): 679-687.
- [32] Mladenovic Z, Saurel AS, Berenbaum F. Potential role of hyaluronic acid on bone in osteoarthritis: matrix metalloproteinases, aggrecanases, and RANKL expression are partially prevented by hyaluronic acid in interleukin 1-stimulated osteoblasts [J]. J Rheumatol, 2014, 41(5): 945-954.

(收稿日期: 2018-09-21; 修回日期: 2018-10-24)

(上接第1230页)

各组的胫骨最大载荷也呈现不同程度下降 ($P < 0.05$); 高脂饮食巴戟天组与同期高脂饮食模型组相比, 骨小梁数量呈现不同程度地增多, 间距变小, 断裂现象少, 形态结构完整性较好。说明巴戟天醇提取物能有效的改善因卵巢切除术后引起的骨质量的改变, 改善骨的微观结构。

综上所述, 高脂饮食能够加重卵巢切除术后大鼠骨量的丢失和骨微观结构的破坏, 降低骨的最大载荷。而巴戟天醇提取物能够抑制卵巢切除术后大鼠骨量的流失, 在一定程度上维持骨的微观结构, 提高骨的最大载荷及骨密度。

【参考文献】

- [1] 李方方, 李东阳, 赵红. 肥胖对骨质疏松症分子水平影响的研究进展[J]. 山东医药, 2014, 54(29): 106-108.
- [2] 鲍晓雪, 王娜, 李玉坤. 肥胖与骨质疏松症关系的研究进展[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2015, 9(14): 2749-2753.
- [3] 朱婷, 周里钢. 肥胖和骨的相关性研究最新进展[J]. 医学综述, 2015, 21(8): 1351-1353.
- [4] Hsu YH, Venners S, Terwedow H, et al. Relation of body composition, fat mass, and serum lipids to osteoporotic fractures and bone mineral density in Chinese men and women [J]. Am J Clin Nutr, 2006, 83(1): 146-154.
- [5] 郑素玉, 陈健. 巴戟天有效成分及其药理作用实验研究进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7(9): 823-828.
- [6] 王凤娟. 巴戟天粗提物对微波辐射后下丘脑调控生精功能的影响[D]. 福建医科大学, 2013.
- [7] 周力学. 绝经后骨质疏松症[J]. 新医学, 2007, 38(9): 611-613.
- [8] 彭丽红, 马改霞. 骨质疏松症的中医药治疗研究进展[J]. 西北药学杂志, 2013, 28(1): 98-101.
- [9] 李恒, 赵曙光, 刘克臻, 等. 绝经后骨质疏松患者体质指数、骨转换指标与骨密度和骨折的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(1): 154-156.
- [10] 唐小玲, 毛绍蓉. 更年期雌激素、孕酮、睾酮与肥胖的关系[J]. 标记免疫分析与临床, 2010, 17(2): 132-133, 121.
- [11] 徐安娜, 高宇, 赵梓涵. 女性绝经与代谢综合征相关性的研究进展[J]. 医学综述, 2017, 23(21): 4308-4312.
- [12] 聂义珍, 燕巍, 闫朝岐. 不同类型肥胖与骨质疏松症的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(5): 580-584.
- [13] 王筠, 苗德胜, 吕刚, 等. 巴戟天对骨质疏松破骨细胞表面 I 型跨膜受体蛋白的影响[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(24): 3516-3522.
- [14] 李钺, 谢炜星, 晋大祥, 等. 巴戟天防治骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(4): 530-533.

(收稿日期: 2018-09-13; 修回日期: 2018-10-20)