

盘龙七片调节骨保护素/核因子 κ B 受体活化因子配体信号通路对去卵巢骨质疏松大鼠的影响

李硕祺¹ 夏铎¹ 陈铁柱¹ 孟建国² 李晓声^{1△}

[摘要] 目的:探讨盘龙七片对去卵巢骨质疏松大鼠骨保护素(OPG)/核因子 κ B 受体活化因子配体(RANKL)信号通路的影响。方法:75 只雌性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、阳性药物对照组(17 β -雌二醇,1 mg/kg)、盘龙七片低剂量组(0.26 g/kg)、盘龙七片高剂量组(1.29 g/kg),每组 15 只,除假手术组外,其余各组大鼠建立去卵巢骨质疏松模型,分组给予相应药物处理后,苏木精-伊红(HE)染色法染色观察各组大鼠股骨并成像;通过双能 X 线骨密度分析仪对大鼠离体股骨密度进行检测;ELISA 测定血清 β -胶原降解产物(β -CTX)和骨碱性磷酸酶(BALP)水平;Western Blot 测定左侧胫骨 OPG、RANKL 蛋白相对表达水平。结果:模型组左侧股骨远端骨小梁稀疏、结构不完整、明显变薄、排列紊乱;盘龙七片低剂量组左侧股骨远端骨小梁有所改善,盘龙七片高剂量组与阳性药物组左侧股骨远端骨小梁形态结构明显改善。与假手术组相比,模型组大鼠 BMC、最大载荷与弹性模量、BALP 水平及 OPG 蛋白表达水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),血清中 β -CTX 水平及 RANKL 蛋白水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,盘龙七片低、高剂量组及阳性药物组大鼠 BMC、最大载荷与弹性模量、BALP 水平及 OPG 蛋白表达水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),血清中 β -CTX 水平及 RANKL 蛋白水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:盘龙七片可能通过抑制 RANKL 水平,上调 OPG 表达,改善去卵巢大鼠的骨质疏松症状。

[关键词] 盘龙七片;骨质疏松;骨保护素;核因子- κ B 受体活化因子配体

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2022)01-0010-05

Study of Efficacy of Panlongqi Tablet Modulated OPG/RANKL Pathway in Ovariectomized Rats with Osteoporosis

LI Shuoqi¹ XIA Duo¹ CHEN Tiezhu¹ MENG Jianguo² LI Xiaosheng^{1△}

¹Department of Bone and Joint Sports Medicine, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha 410001, China;

²Shaanxi Panlong Pharmaceutical Group Co., Xi'an 710025, China.

Abstract Objective: To investigate the efficacy of Panlongqi tablet on osteoprotegerin (OPG)/receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) signaling pathway in ovariectomized osteoporosis rats. **Methods:** A total of 75 female SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, positive drug control group (17 β -estradiol, 1 mg/kg), Panlongqi tablet low-dose group (0.26 g/kg) and Panlongqi tablet high-dose group (1.29 g/kg), with 15 rats in each group. Excepting the sham operation group, ovariectomized osteoporosis models were established in other groups. After treatment with corresponding drugs in groups, the femurs were observed and imaged by Hematoxylin Eosin staining (HE). The density of femur was detected by dual energy X-ray absorptiometry. The expressions of β -cross-linked c-telopeptide of type I collagen (β -CTX) and bone alkaline phosphatase (BALP) in serum were detected by ELISA, and the related expression level of OPG/RANKL protein in left tibia was measured by Western Blot. **Results:** The trabecular bones of the distal femur on the left side in the model group were sparse, structurally incomplete, obviously thinned and disorderly arranged. The trabecular bone of the left distal femur in the low-dose tablet group was improved, and the trabecular

bone morphology and structure of the left distal femur in the high-dose Panlongqi tablet group and the positive drug group were significantly improved. Compared with the sham operation group, BMC, maximum load and elastic modulus, BALP levels and OPG protein expression levels in the model group were significantly reduced ($P < 0.05$), and β -CTX levels and

基金项目:盘龙七片上市再评价研究(2020ZDLSF03-10)

¹ 湖南省人民医院骨关节运动医学科(长沙,410001)

² 陕西盘龙药业集团股份有限公司

[△]通信作者 E-mail:lishuoqi2020@163.com

RANKL protein levels in serum were significantly increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the BMC, maximum load and elastic modulus, BALP level and OPG protein expression level of Panlongqi tablet low, high dose group and positive drug group increased significantly ($P<0.05$). The β -CTX level and RANKL protein level in serum were significantly reduced ($P<0.05$). **Conclusion:** Panlongqi tablet may inhibit the level of RANKL and up-regulate the expression of OPG to improve the osteoporosis of ovariectomized rats.

Keywords: Panlongqi tablet; osteoporosis; osteoprotegerin; receptor activator of nuclear factor- κ B ligand

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种全身性骨代谢疾病^[1],其主要特征是骨量减少、骨组织细微结构退化、骨强度降低,其潜在机制是骨骼吸收与骨骼成骨之间的不平衡,表现为骨脆性及骨折危险性增加^[2]。研究表明绝经后骨质疏松症(Postmenopausal Osteoporosis, PMOP)是骨质疏松症最常见的一种^[3],绝经后老年女性的骨质疏松发病率高达 49%,常因轻度暴力或非创伤因素而导致脆性骨折。骨保护素(Osteoprotegerin, OPG)、核因子- κ B 受体活化因子配体(Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand, RANKL)是重要的信号转导蛋白,OPG/RANKL 信号通路在骨代谢的骨吸收过程中起着至关重要的作用,能影响破骨细胞在骨重构中生成、分化、成熟和功能的激活^[4-5]。盘龙七片是一种中成药,临床上对不同的骨科疾病具有明显的临床疗效,调节骨代谢,改善骨科疾病^[6-7]。中医学认为骨质疏松症的发病与“血瘀”有关,并将其归于“骨痹”“骨痿”等范畴^[8]。盘龙七片有活血化瘀、通经活络、强筋壮骨的作用,恰好切中“骨痹”之要害^[9]。已有研究发现,盘龙七片在对骨质疏松性椎体压缩骨折患者术后恢复的治疗过程中具有显著作用^[10]。因此,本研究通过建立去卵巢大鼠模型探究盘龙七片对去卵巢骨质疏松大鼠的药效作用以及对股骨组织中 OPG/RANKL 信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

实验所用大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司提供,75 只雌性 SD(Sprague Dawley)大鼠,4 个月龄,SPF 级,体质量(338.26 ± 20.48)g,所有大鼠均在动物房中饲养,保持动物房环境及鼠笼清洁、通风,12 h 的光/暗周期,温度(24 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为 $58\% \pm 2\%$,自由获取饲料和饮水。

1.2 主要试剂及仪器

盘龙七片(国药准字 Z61020050,陕西盘龙药业集团股份有限公司),苏木精伊红(HE)染色试剂盒(货号 E677218-0200,上海碧云天生物技术有限公司),BCA 蛋白定量试剂盒(货号 P0768,购自美国 Pierce 公司),兔抗 β -actin、鼠抗 RANKL 单克隆抗体、兔抗 OPG 多克隆抗体(货号分别为 ab239607 和 ab73400,购自 Abcam 公司)等。

美国 Bio-Rad 公司 042BR11787 电泳仪、Im-agequant LAS 4000 凝胶成像系统(GECo., 美国);上海桂戈科学仪器有限公司 GUIGO-99-IID 超声波组织粉碎仪;双能 X 线骨密度分析仪(美国 NORLAND 公司);光学显微镜(Nikon Eclipse80i, 日本);MX-0580-骨科生物力学测试仪(中国上海衡翼精密仪器有限公司)等。

1.3 方法

1.3.1 动物分组与模型制备 实验动物随机分为 5 组:假手术组、模型组、阳性药物组、低剂量组、高剂量组,每组 15 只。参考文献[11]制备大鼠骨质疏松症动物模型,具体方法:3%戊巴比妥钠按照大鼠体质量比例 3 mg/kg 腹腔注射麻醉,俯卧位,备皮,酒精消毒手术区皮肤。已灭菌手术刀沿背部后正中中线作一个 1.5~2.0 cm 的纵形切口,找到肾脏后下方乳白色发亮的脂肪团,轻柔提出棕黄色的卵巢,结扎双侧卵巢的输卵管、血管,切除卵巢,检查有无渗血将伤口逐层缝合。假手术组大鼠只切卵巢附近脂肪组织。术后注意保温,肌肉注射青霉素抗炎。术后 12 周用双能 X 线骨密度仪测定股骨的骨矿含量(BMC),确保除假手术组外的 4 组大鼠已成功构建骨质疏松大鼠模型。

1.3.2 给药处理 造模完成 24 h 后,假手术、模型组皮下注射 10 mL/kg 0.9%生理盐水,阳性药组(1 mg/kg)每天皮下注射 10 mL/kg 17 β -雌二醇(0.1 mg/mL);盘龙七片换算设置低(0.26 g/kg)、高剂量组(1.29 g/kg),并用生理盐水配置为 0.026,0.129 g/mL 混悬液以 10 mL/kg 的剂量灌胃给药,1 次/d,持续给药 8 周。

1.3.3 大鼠存活情况 实验进行过程中,各组大鼠存在不同数量的死亡,最后,假手术组纳入实验 15 只,模型组 13 只,阳性药物组 14 只,低剂量组 14 只,高剂量组 15 只。

1.3.4 样本采集 骨密度测完后,用酒精和碘伏消毒手术部位,开腹,腹主动脉采血,1 500 r/min 离心 15 min,取上层血清,取出大鼠左后肢股骨,灭菌后-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.3.5 骨密度测定 各组大鼠左后肢离体股骨平置于双能 X 线骨密度平台上测定左股骨部位骨矿含量。

1.3.6 骨生物力学检测 左侧股骨放在生物力学万能实验机上,压头以 2 mm/min 速度下降,直至股骨断裂。采集数据并绘制载荷-变形曲线,测得最大挠度、弹性载荷、弹性挠度,计算出最大载荷和弹性模量。

1.3.7 HE 染色 左侧股骨远端用含 10%福尔马林的乙二胺四乙酸溶液(EDTA)脱钙 4 周后石蜡包埋。将石蜡包埋的股骨组织切成 4 μm 切片的标本进行 HE 染色。用光学显微镜对染色的股骨进行观察和成像。

1.3.8 血清中骨代谢标志物 β-CTX、BALP 浓度 ELISA 法检测各组动物血清中血清 β-胶原降解产物(β-CTX)、骨碱性磷酸酶(Bone alkaline phosphatase, BALP)含量等指标,具体操作按试剂盒说明书进行。

1.3.9 蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测 OPG、RANKL 蛋白表达量 用裂解缓冲液从左侧股骨组织中提取总蛋白。用 BCA 蛋白检测试剂盒检测蛋白浓度。蛋白质和负载缓冲液的混合物在 95 ℃下煮沸变性 6 min。使用 SDS-PAGE 电泳分离 10 μL 总蛋白,转移到聚偏氟乙烯(PVDF,0.45 μm)膜中。膜用 3%牛血清白蛋白封闭 1 h 后,分别与一抗 RANKL、OPG、β-actin(1:1 000)室温下孵育 4 ℃过夜。然后,清洗加入二抗室温孵育 1 h。条带用电化学发光试剂显影,并用凝胶记录系统拍照,用 Image J 软件检测和分析所有蛋白条带灰度。

1.4 统计学方法

以 SPSS 23.0 软件对实验数据进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较进行单因素方差分析,两组间比较行 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

表 2 各组大鼠左后肢离体股骨生物力学特性比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	最大载荷/MPa	弹性模量/MPa
假手术组	15	144.12±0.16	19.68±0.22
模型组	13	85.84±0.09 ¹⁾	13.55±0.34 ¹⁾
阳性药物组	14	115.78±0.19 ¹⁾²⁾	17.48±0.28 ¹⁾²⁾
低剂量组	14	94.38±0.18 ¹⁾²⁾³⁾	15.63±0.31 ¹⁾²⁾³⁾
高剂量组	15	126.15±0.14 ²⁾³⁾⁴⁾	18.82±0.27 ²⁾³⁾⁴⁾
<i>F</i>		321 348.064	1 048.433
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:1)与假手术组相比, $P < 0.05$;2)与模型组相比, $P < 0.05$;3)与阳性药物组相比, $P < 0.05$;4)与低剂量组相比, $P < 0.05$ 。

2.3 盘龙七片对去卵巢大鼠骨组织形态的影响

HE 染色检测大鼠左股骨病理损伤见图 1。与假手术组相比,模型组左侧股骨远端骨小梁稀疏、结构不完整、明显变薄、排列紊乱,存在大量空骨陷窝,骨小梁连通性丧失,骨小梁间隙增宽;与模型组相比,低剂量组左侧股骨远端骨小梁有所改善,阳性药物组与高剂量组左侧股骨远端骨小梁形态结构明显改善,骨小梁结构完整,空骨陷窝减少,骨小梁排列更加整齐,高质

2 结果

2.1 盘龙七片对去卵巢大鼠骨密度的影响

各且大鼠左后肢离体股骨骨密度比较见表 1,与假手术组相比,模型组大鼠 BMC 显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,阳性药物组、低剂量组、高剂量组 BMC 含量明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与阳性药物组相比,低剂量组 BMC 较低,差异有统计学意义($P < 0.05$),高剂量组 BMC 较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠左后肢离体股骨骨密度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	BMC/(g·cm ⁻²)
假手术组	15	0.42±0.03
模型组	13	0.28±0.02 ¹⁾
阳性药物组	14	0.35±0.03 ¹⁾²⁾
低剂量组	14	0.32±0.02 ¹⁾²⁾³⁾
高剂量组	15	0.39±0.03 ²⁾³⁾⁴⁾
<i>F</i>		60.638
<i>P</i>		<0.001

注:1)与假手术组相比, $P < 0.05$;2)与模型组相比, $P < 0.05$;3)与阳性药物组相比, $P < 0.05$;4)与低剂量组相比, $P < 0.05$ 。

2.2 盘龙七片对去卵巢大鼠骨生物力学特性的影响

各组大鼠左后肢离体股骨生物力学特性比较见表 2,与假手术组相比,模型组最大载荷与弹性模量均显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,阳性药物组、低剂量组、高剂量组最大载荷与弹性模量明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与阳性药物组相比,低剂量组最大载荷与弹性模量较低,差异有统计学意义($P < 0.05$),高剂量组最大载荷与弹性模量较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

量组恢复效果最好。

2.4 盘龙七片对去卵巢大鼠骨代谢的影响

盘龙七片对去卵巢大鼠骨代谢的影响见表 3,与假手术组相比,模型组大鼠血清中 β-CTX 水平显著上升、BALP 水平显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,阳性药物组、低剂量组、高剂量组大鼠血清中 β-CTX 水平显著下降、BALP 水平显著上升,差异有统计学意义($P < 0.05$);与阳性药物组相

比,低剂量组大鼠血清中 β -CTX 水平较高、BALP 水平显著较低,差异有统计学意义($P<0.05$),高剂量组大鼠血清中 β -CTX 水平较低、BALP 水平显著较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。

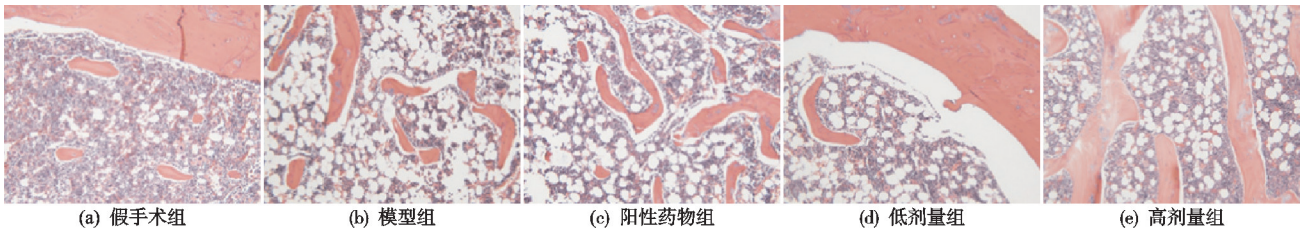


图 1 HE 染色检测大鼠左股骨病理损伤($\times 200$)

表 3 盘龙七片对去卵巢大鼠骨代谢的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	β -CTX/(ng \cdot mL $^{-1}$)	BALP/(ng \cdot mL $^{-1}$)
假手术组	15	13.68 \pm 1.34	23.58 \pm 3.52
模型组	13	26.88 \pm 3.12 ¹⁾	11.46 \pm 2.43 ¹⁾
阳性药物组	14	19.56 \pm 2.15 ¹⁾²⁾	18.86 \pm 3.14 ¹⁾²⁾
低剂量组	14	22.39 \pm 3.28 ¹⁾²⁾³⁾	15.84 \pm 2.25 ¹⁾²⁾³⁾
高剂量组	15	16.14 \pm 2.32 ²⁾³⁾⁴⁾	21.52 \pm 3.55 ²⁾³⁾⁴⁾
<i>F</i>		59.413	39.271
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:1)与假手术组相比, $P<0.05$;2)与模型组相比, $P<0.05$;3)与阳性药物组相比, $P<0.05$;4)与低剂量组相比, $P<0.05$ 。

2.5 盘龙七片对去卵巢大鼠骨组织中 OPG/RANKL 通路蛋白表达的影响

各组大鼠骨组织中 OPG 及 RANKL 蛋白表达见图 2 和表 4。与假手术组相比,模型组大鼠骨组织 OPG 蛋白表达水平显著下降,差异有统计学意义($P<0.05$),RANKL 蛋白水平显著上调,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组相比,阳性药物组、低剂量组、高剂量组大鼠骨组织 OPG 蛋白表达水平显著上升,差异有统计学意义($P<0.05$),RANKL 蛋白水平显著下降($P<0.05$);与阳性药物组相比,低剂量组大鼠骨组织 OPG 蛋白表达水平较低,高剂量组较高,差异有统计学意义($P<0.05$),低剂量组大鼠骨组织

RANKL 蛋白表达水平较高,高剂量组较低,差异有统计学意义($P<0.05$)。

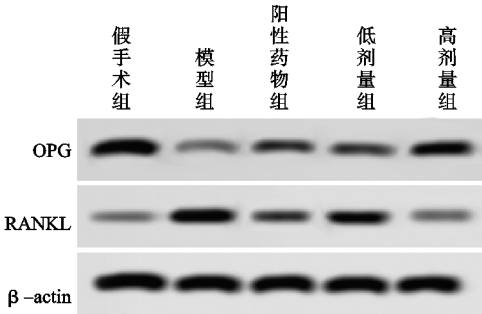


图 2 各组大鼠骨组织中 OPG 及 RANKL 蛋白表达 Western Blot 图

表 4 各组大鼠骨组织中 OPG 及 RANKL 蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	OPG/ β -actin	RANKL/ β -actin
假手术组	15	0.96 \pm 0.15	0.32 \pm 0.14
模型组	13	0.42 \pm 0.18 ¹⁾	0.85 \pm 0.13 ¹⁾
阳性药物组	14	0.76 \pm 0.15 ¹⁾²⁾	0.49 \pm 0.13 ¹⁾²⁾
低剂量组	14	0.62 \pm 0.13 ¹⁾²⁾³⁾	0.64 \pm 0.12 ¹⁾²⁾³⁾
高剂量组	15	0.91 \pm 0.12 ²⁾³⁾⁴⁾	0.35 \pm 0.15 ²⁾³⁾⁴⁾
<i>F</i> 值		31.806	36.649
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注:1)与假手术组相比, $P<0.05$;2)与模型组相比, $P<0.05$;3)与阳性药物组相比, $P<0.05$;4)与低剂量组相比, $P<0.05$ 。

3 讨论

绝经后骨质疏松症病理机制复杂,尚无有效、安全的治疗方法^[12]。西药主要采用骨吸收抑制剂(雌激素)、骨形成和骨矿化促进剂等治疗手段。但这些药物长期服用会引发一系列不良反应,如血栓形成、冠心病及乳腺癌等^[13]。中医药的方法治疗骨科疾病是医药领域研究的热点内容^[11,14]。盘龙七片由盘龙七、川乌、草乌、当归、杜仲、秦艽、铁棒锤、红花、五加皮、牛

膝、过山龙、丹参等 29 味中药组成。其中,盘龙七、川乌、草乌具有温阳柔筋,通络除痹的效用^[15]。当归的主要成分(当归多糖)可促进间充质干细胞增殖和成骨细胞分化,明显改善骨质疏松症^[16]。杜仲提取物可减轻醋酸铅引起的大鼠骨质流失^[17],改善加速衰老的小鼠模型中的骨质疏松症^[18]。羟基红花黄 A 是红花中的一种主要活性成分,可促进骨矿化和抑制骨吸收,逆转糖皮质激素诱导的骨质疏松症^[19]。

本研究建立去卵巢动物模型,首先探讨盘龙七片对骨质疏松大鼠骨密度的影响,结果显示模型组大鼠BMC、最大载荷与弹性模量显著降低,HE染色结果显示,模型组左侧股骨远端骨小梁稀疏、结构不完整、明显变薄、排列紊乱,说明去卵巢后骨组织明显受损严重,与李永贤等^[2]构建去卵巢大鼠模型后骨组织组织染色结果相一致,表明骨质疏松大鼠模型建立成功。给予盘龙七片治疗后,大鼠BMC含量、最大载荷与弹性模量明显升高,低剂量组左侧股骨远端骨小梁有所改善,阳性药组与高剂量组左侧股骨远端骨小梁形态结构均明显改善,且高质量组恢复效果最好,说明盘龙七片能显著提高骨密度,提示盘龙七片有利于缓解大鼠的骨质疏松状况。

成骨细胞和破骨细胞在调节骨重建和维持骨形成和骨吸收的平衡中起主导作用^[20],成骨细胞合成和分泌的BALP是骨形成特异性标志物, β -CTX常被作为骨吸收重要标志物^[21]。本研究结果表明模型组大鼠较假手术组血清中 β -CTX水平显著上升,BALP水平显著下降,说明去卵巢后 β -CTX分泌增加,BALP表达降低,使得大鼠骨代谢平衡向骨吸收偏移。给予治疗后,阳性药物组、低剂量组、高剂量组较模型组大鼠血清中 β -CTX水平显著下降、BALP水平显著上升且高剂量组大鼠血清中 β -CTX水平最低、BALP水平最高,说明盘龙七片能促进BALP表达,抑制 β -CTX合成,调节骨代谢平衡。

PMOP是由于体内卵巢功能降低,引起骨偶联过程RANKL和OPG蛋白分泌失衡,骨吸收超过骨形成,从而导致净骨量减少,骨脆性增加,骨强度降低。研究表明多数中西药对去卵巢后骨质疏松大鼠的治疗机理都与OPG/RANKL通路有关^[22]。吴彬等^[23]研究发现雌马酚能有效改善去卵巢后大鼠骨质疏松症,可能与其能上调OPG而抑制RANKL分泌有关。颜春鲁等^[11]发现地黄饮子可能通过调控OPG/RANKL/RANK信号通路发挥抗去卵巢大鼠骨质疏松的作用。本研究中,去卵巢后模型组大鼠骨组织OPG蛋白表达水平较假手术组显著下降,RANKL蛋白水平显著上调,RANKL与OPG之间失衡,从而导致大鼠骨形成与骨吸收失衡,发生骨质疏松。给予盘龙七片治疗后,阳性药物组、低剂量组、高剂量组大鼠骨组织较模型组OPG蛋白表达水平显著上升,RANKL蛋白水平显著下降且高剂量组大鼠骨组织OPG蛋白表达水平最高,RANKL蛋白表达水平最低,说明盘龙七片能够上调骨保护相关蛋白合成,促进骨形成作用,且效果优于阳性药物,提示盘龙七片可能通过调控OPG/RANKL通路改善去卵巢大鼠的骨质疏松。

综上所述,RANKL/OPG信号通路激活与PMOP病理过程有密切关系,盘龙七片可能通过抑制RANKL表达,促进OPG表达,促进骨形成,抑制骨吸收,进而减轻骨质疏松程度,可能为临床上利用盘龙七

片对PMOP治疗提供了理论参考,但盘龙七片调控OPG/RANKL信号通路的具体机制仍需进一步探究。

参考文献

- [1] 宋敏,周灵通,刘小钰,等. 消化系统疾病并发骨质疏松症与肠道菌群的关系探讨[J]. 中国骨质疏松杂志,2018,24(1):130-134.
- [2] 李永贤,张顺聪,梁德,等. 淫羊藿苷对老龄大鼠去势后骨质疏松骨折的治疗作用及机制研究[J]. 中华中医药杂志,2018,33(8):3574-3579.
- [3] 谢兴文,李建国,李宁,等. 基于“益肾生髓”理论探讨绝经后骨质疏松症的病机及临床治疗[J]. 中国中医基础医学杂志,2019,25(11):1635-1638.
- [4] 沈家峰,卢建华,徐孝平,等. 红曲对去卵巢大鼠骨组织RANKL、OPG蛋白和mRNA表达的影响[J]. 中华中医药杂志,2018,33(4):1370-1372.
- [5] LIU C, CHEN X, ZHI X, et al. Structure-based development of an osteoprotegerin-like glycopeptide that blocks RANKL/RANK interactions and reduces ovariectomy-induced bone loss in mice[J]. Eur J Med Chem, 2018, 145(1):661-672.
- [6] 巨振兴,徐永军. 盘龙七片联合塞来昔布治疗类风湿性关节炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(11):3011-3015.
- [7] 孟祥东,冯宇,李福龙,等. 盘龙七片对膝关节炎大鼠软骨细胞凋亡的抑制及其作用机理[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2020, 28(2):1-4.
- [8] 李宁,姚新苗,龚怡辰. 基于PI3K/AKT/GSK-3 β 信号通路探讨益骨汤对去势大鼠骨质疏松的作用[J]. 中国中医药科技, 2021, 28(5):708-711.
- [9] 贾可欣,刘春芳,王金霞,等. 盘龙七片对慢性炎性疼痛大鼠的镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(15):61-68.
- [10] 邵香敏. 艾瑞昔布片联合盘龙七片在骨质疏松性椎体压缩骨折患者经皮椎体成形术后的应用效果[J]. 临床医学, 2021, 41(7):121-123.
- [11] 颜春鲁,王琳,安方玉,等. 地黄饮子水煎剂对去势骨质疏松大鼠生物力学及OPG/RANKL/RANK含量的影响[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(10):4642-4645.
- [12] SI Z, ZHOU S, SHEN Z, et al. High-throughput metabolomics discovers metabolic biomarkers and pathways to evaluating the efficacy and exploring potential mechanisms of osthole against osteoporosis based on UPLC/Q-TOF-MS coupled with multivariate data analysis [J]. Front Pharmacol, 2020, 11(1):741.
- [13] PARDINI D. Hormone replacement therapy in menopause [J]. Arq Bras Endocrinol Metabol, 2014, 58(2):172-181.
- [14] 谢平金,史桐雨,梁桂洪,等. 川芎嗪对膝骨性关节炎大鼠软骨BMP-2、Smad1及BMP-2 mRNA、Smad1 mRNA表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(6):727-731.
- [15] 张晓强,李孟芳,刘品莉. 盘龙七片联合同经相应取穴针刺法治疗膝关节炎的临床观察[J]. 中国民间疗法, 2020, 28(18):62-63.

急性痛风性关节炎具有方法多样、有效低毒的优点,单独或联合运用中药内服外治、针灸、推拿等都能取得满意的疗效。近几年的相关文献系统评价也表明:中药外敷法治疗痛风性关节炎,疗效肯定,使用方便,不良反应少,受到临床广泛研究并运用^[19]。综上所述,采用六黄散外敷联合四妙散口服能有效治疗急性痛风性关节炎,经治疗后患者疼痛明显减轻、肿胀消退,临床疗效显著,且该治疗方法可以有效降低患者的多项炎症指标,药物使用安全性良好,值得临床推广与应用。另外,本研究样本数量较少,病例采集有一定的区域限制,有待日后进一步改进。

参考文献

- [1] 刘维,曾苹,吴越,等. 痛风性关节炎中西医诊疗概况[J]. 风湿病与关节炎,2021,10(5):62-65.
- [2] 王培召,于进洋,袁彦浩,等. 急性痛风性关节炎的中医外治法治疗进展[J]. 风湿病与关节炎,2021,10(2):77-80.
- [3] 蔡朝霞. 四妙散加味合自拟方外敷治疗急性痛风性关节炎临床观察[J]. 湖北中医杂志,2020,42(4):44-46.
- [4] 李秀娟,陈秀华. 岭南陈氏刺络放血联合二妙散口服治疗急性痛风性关节炎湿热蕴结证 30 例临床观察[J]. 中医杂志,2020,61(2):142-145.
- [5] 中华医学会风湿病学分会. 2016 中国痛风诊疗指南[J]. 中华内科杂志,2016,55(11):892-899.
- [6] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京:南京大学出版社,1994:256.
- [7] JENSEN M P, KAROLY P, BRAVER S. The measure of clinical pain in intensity: a comparison of six methods[J]. Pain, 1986, 27(1):117-126.
- [8] 国家食品药品监督管理局. 中药新药临床研究指导原则(试行) [M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:349-353.

- [9] YOU W, WANG J, ZOU Y, et al. Modified Chuanhuanti-Gout mixture, a traditional Chinese medicine, protects against potassium oxonate-induced hyperuricemia and renal dysfunction in mice[J]. J Int Med Res, 2019, 47(5):1927-1935.
- [10] LZFFLER C, SATTTLER H, LZFFLER U, et al. Size matters: observations regarding the sonographic double contour sign in different joint sizes in acute gouty arthritis [J]. Zeitschrift fur Rheumatologie, 2018, 77(9):815-823.
- [11] 荆云,李卫林. 四妙散抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 河南中医学院学报, 2008, 23(2):33-34.
- [12] 陈冲,曾臣红,张斯琪,等. 草薢的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18):3488-3495.
- [13] 徐先祥,孔树佳. 牛膝皂苷类成分药理作用研究进展[J]. 安徽中医学院学报, 2005, 24(1):63-64.
- [14] 钟晓凤. 虎杖痛风颗粒治疗急性痛风性关节炎的疗效观察[J]. 临床合理用药, 2013, 69(11):61-62.
- [15] 巴燕·艾克海提,古结乃特汗·拜克里木. 加味四妙散口服联合四黄散加味外敷治疗痛风性关节炎临床研究[J]. 中医学报, 2017, 32(11):2099-2102.
- [16] 瞿佳,俞泓波. 中医治疗急性痛风性关节炎研究进展[J]. 湖北中医杂志, 2020, 42(5):63-66.
- [17] 中华医学会内分泌学分会. 高尿酸血症和痛风治疗中国专家共识[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2013, 29(11):913-920.
- [18] KUO C F, GRATNGE M J, ZHANG W, et al. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors[J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(11):649622.
- [19] 于广莹,高颖,曹作贵. 中西医结合外敷治疗痛风性关节炎临床研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(1):194-197.

(收稿日期:2021-06-06)

(上接第 14 页)

- [16] XIE X, LIU M, MENG Q. Angelica polysaccharide promotes proliferation and osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells by regulation of long non-coding RNA H19; an animal study[J]. Bone Joint Res, 2019, 8(7):323-332.
- [17] QI S, ZHENG H, CHEN C, et al. Du-Zhong (Eucommia ulmoides Oliv.) cortex extract alleviates lead acetate-induced bone loss in rats[J]. Biol Trace Elem Res, 2019, 187(1):172-180.
- [18] ZHAO X, WANG Y, NIE Z, et al. Eucommia ulmoides leaf extract alters gut microbiota composition, enhances short-chain fatty acids production, and ameliorates osteoporosis in the senescence-accelerated mouse P6 (SAMP6) model [J]. Food Sci Nutr, 2020, 8(9):4897-4906.
- [19] LIU L, TAO W, PAN W, et al. Hydroxysafflor yellow A promoted bone mineralization and inhibited bone resorption which reversed glucocorticoids-induced osteoporosis [J]. Biomed Res Int, 2018, 2018(1):6762146.
- [20] SHAO J, ZHANG Y, YANG T, et al. HIF-1 α disturbs osteoblasts and osteoclasts coupling in bone remodeling by up-regulating OPG expression[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2015, 51(8):808-814.
- [21] SZULC P, NAYLOR K, PICKERING M E, et al. Use of CTX-I and PINP as bone turnover markers: National Bone Health Alliance recommendations to standardize sample handling and patient preparation to reduce pre-analytical variability[J]. Ann Biol Clin, 2018, 76(4):373-391.
- [22] TIAN K, SU Y, DING J, et al. Hederagenin protects mice against ovariectomy-induced bone loss by inhibiting RANKL-induced osteoclastogenesis and bone resorption[J]. Life Sci, 2020, 244(1):117336.
- [23] 吴彬,张勇,陈明亮,等. 雌马酚对去卵巢后大鼠骨质疏松症的影响[J]. 第三军医大学学报, 2015, 37(3):256-260.

(收稿日期:2021-08-10)