

- Biochem Biophys Res Commun, 2008, 371 (3): 561- 566.
- [7] 刘喜德, 刘风云, 陈滢, 等. 温化蠲痹方对 CIA 大鼠外周血 Th1/Th2 细胞平衡的影响[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(1): 10- 12.
- [8] 李文, 李丽, 是元艳, 等. 防风有效部位的药理作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(6): 29- 31.
- [9] 李小莉, 张迎庆, 黄通华. 白芥子提取物的抗炎镇痛作用研究[J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(6): 28- 30.
- [10] 李特, 李运曼, 刘丽芳, 等. 威灵仙总皂苷抗类风湿性关节炎的作用机制[J]. 中国药科大学学报, 2009, 40 (2): 157- 160.
- [11] Sone H, Kawakami Y. Neutralization of vascular endothelial growth factor prevents collagen2 induced arthritis and ameliorates established disease in mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 281(2) : 562- 568.

(责任编辑: 马力)

补肾中药对去势大鼠肾组织中 BMP-4 的调控作用

牛煜¹, 郑洪新²

1. 广东药学院附属第一医院, 广东 广州 510000; 2. 辽宁中医药大学基础医学院, 辽宁 沈阳 110032

[摘要] 目的: 研究补肾中药对去势大鼠肾组织中骨形成蛋白-4 (BMP-4) 的 mRNA 表达的影响。方法: 将雌性大鼠随机分为 7 组。低剂量组给予补肾中药复方, 每天 0.7 g/kg; 中剂量组给予补肾中药复方, 每天 2.1 g/kg; 高剂量组给予补肾中药复方, 每天 6.3 g/kg; 骨疏康组给予骨疏康颗粒, 每天 2.1 g/kg; 牡蛎碳酸钙组给予牡蛎碳酸钙咀嚼片, 每天 0.006 3 g/kg。每天灌胃 1 次, 各组给药容积为 100g 体重 / mL。正常组、模型组每天灌同体积的生理盐水。灌胃 12 周后取材并进行指标检测: 用 RT-PCR 法和 Western 法检测大鼠肾组织中 BMP-4 的 mRNA 和蛋白表达。结果: 大鼠肾组织可以在基因、蛋白水平表达 BMP-4, 绝经后骨质疏松症的发生与肾组织中 BMP-4 的 mRNA 表达的变化有关。结论: 补肾中药可明显上调肾中 BMP-4 的蛋白表达, 这可能是其防治绝经后骨质疏松症的机制之一。

[关键词] 绝经; 骨质疏松症; 补肾中药; 骨形成蛋白-4 (BMP-4)

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 03-0187-03

绝经后骨质疏松症是一种慢性进行性疾病, 其特点是长期骨吸收超过骨形成, 从而导致骨量减少, 骨微结构破坏, 骨强度降低, 骨折危险性增加^[1]。随着世界人口的不断老龄化, 绝经后骨质疏松症将成为困扰全球的健康问题。因此探讨该病症的病理及疗效机制, 具有很好的实用价值。本研究将通过观察去势大鼠骨形成蛋白-4 (BMP-4) 在肾中表达的变化, 初步探讨肾组织中 BMP-4 在绝经后骨质疏松发病过程中的意义。

1 材料

1.1 动物 雌性未交配 Wistar 大鼠 105 只, 体重 250~280 g。

1.2 试剂 RNA PCR Kit (AMV) TRIzol (Bio Basic Inc.), Ver.2.1 试剂盒, DNA Marker, CaBP-28K 引物 (TaKaRa 公司), Tris (BBI 公司), DEPC, 溴化乙锭等

1.3 仪器 PCR 扩增仪 (德国), 核酸蛋白分析仪 (美国), 凝胶电泳成像分析系统 (美国)。

[收稿日期] 2013-10-11

[作者简介] 牛煜 (1971-), 女, 博士研究生, 副主任医师, 研究方向: 中医妇科。

1.4 药物 补肾中药复方制备：取牡蛎，采用纳米技术粉碎，所得牡蛎钙微粒与补肾中药(鹿茸等)微粉按照 1：1 混合即得。牡蛎碳酸钙咀嚼片(盖天力制药厂)。骨疏康颗粒(康辰制药厂)。

2 方法

2.1 分组及造模 将动物按体重分层随机分为 7 组：正常组，模型组，补肾中药低剂量组(低剂量组)、中剂量组、高剂量组，骨疏康颗粒组，牡蛎碳酸钙组，每组 15 只。除正常组外，其他各组造模，大鼠经腹腔注射氯胺酮麻醉，俯卧固定于手术架上，从腰椎骶棘肌两侧入，切除双侧卵巢，术后注射青霉素，连续 3 天。

2.2 给药 造模后 10 天给药。低剂量组给予补肾中药复方，每天 0.7 g/kg；中剂量组给予补肾中药复方，每天 2.1 g/kg；高剂量组给予补肾中药复方，每天 6.3 g/kg；骨疏康组给予骨疏康颗粒，每天 2.1 g/kg；牡蛎碳酸钙组给予牡蛎碳酸钙咀嚼片，每天 0.006 3 g/kg。每天灌胃 1 次，各组给药容积为 100 g 体重 /mL。正常组、模型组每天灌同体积的生理盐水，连续给药 12 周。在最后 1 次给药后 24 h 存活动物 处死，并采集标本进行测定。

2.3 大鼠肾组织中 BMP- 4 mRNA 表达的检测 提取肾组织内总 RNA。根据 BMP- 4cDNA 序列，使用 BMP- 4cDNA 片段的特异性引物。进行扩增产物电泳分析。

2.4 大鼠肾组织 BMP- 4 蛋白表达的检测 将总蛋白提取，进行蛋白定量，经电泳取出凝胶，并行蛋白质的转印及膜的封闭，第 2 天对蛋白质印迹和化学发光显色并用成像分析仪进行密度扫描。

2.5 统计学方法 数据用 One- way ANOVA 分析。

3 结果与分析

各组肾组织中 BMP- 4 mRNA 及蛋白表达，见图 1、图 2。PCR 产物经琼脂糖电泳后，可分别于 245bp(BMP- 4)、700bp(β - actin)见到条带(图 1)，与设计引物相符。Western 杂交结果显示大鼠肾组织可检测到 BMP- 4 的蛋白表达(图 2)；与正常组比较，模型组的 BMP- 4 基因及蛋白表达明显增强。补肾中药复方各剂量组和骨疏康组、牡蛎碳酸钙组用药 12 周后，与模型组比较，各组基因与蛋白表达水平均有不同程度降低。

4 讨论

本实验采用去卵巢法建立绝经后骨质疏松大鼠模

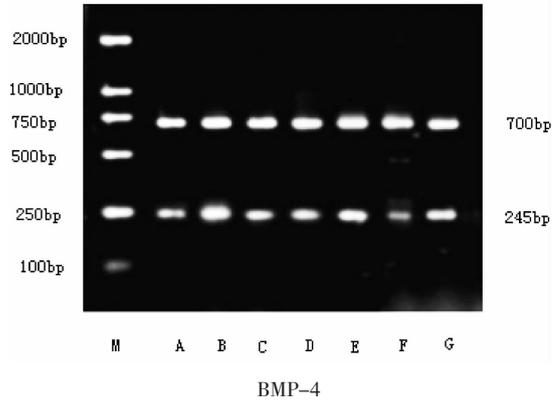


图 1 大鼠肾组织 BMP-4 mRNA RT-PCR 及 β-actin 扩增产物琼脂糖凝胶电泳图

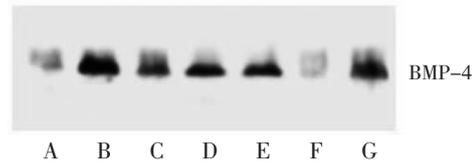


图 2 大鼠肾组织 BMP-4 的 Western blot

型，模拟女性由于雌激素缺乏而引起的骨质疏松症的临床特征。女子绝经后《内经》描述：“天癸竭，地道不通，形坏而无子”，由于肾中精气虚衰，月经闭绝，骨枯髓减所致的“骨痿”。历代医家均认为骨之病主要源于肾之虚。《医经精义》所论肾与骨的关系中有精辟的论述：“肾藏精，精生髓，髓生骨，故骨者肾之所合也，髓者，肾精所生，精足则髓足，髓在骨内，髓足则骨强”。从以上论述可知：肾藏精，精化生髓，髓充填于骨，骨骼的发育、生长、枯荣与肾之精气盛衰密切相关，说明骨之强劲与脆弱是肾中精

气盛衰的重要标志：肾精充实，则骨髓充盈，骨骼化生有源而强健有力；肾精亏损，则骨髓空虚，筋肉骨骼失其滋养而脆弱无力，导致骨质疏松。妇女绝经后由于肾气衰，肾精虚少，骨髓化源不足，不能营养骨骼而致骨髓空虚，因而易发生骨质疏松。这一基本观点为后世认识与论治本病，奠定了理论基础。

本实验所用补肾中药鹿茸，并辅以富含钙剂、又能“补肾中正气”的牡蛎。鹿茸为脊索动物门哺乳纲鹿科的动物梅花鹿的雄鹿未骨化密生茸毛的幼角，《本草纲目》中记载：“生精补髓，养血益阳，强筋健骨，治一切虚损，耳聋，目暗，眩晕，虚痢”^[2]。现代研究显示：鹿茸胶原具有促进大鼠成骨细胞贴壁和增殖作用^[3]。

近年研究表明，女性在绝经后，由于卵巢功能衰退，内源性雌激素分泌减少，骨与软骨组织中局部生长因子的表达发生改变，使骨形成和骨吸收平衡失调，造成骨质丢失和软骨退变。而骨的发育及成年骨缺损修复的发生过程受到许多生长因子的调控，转化生长因子- β (TGF- β)和骨形态发生蛋白(BMPs)是最重要的骨生长因子，在骨及软骨的修复、成骨细胞和破骨细胞的增殖过程中发挥着极重要作用。骨形态发生蛋白(BMPs)是广泛存在于骨基质中的一种疏水性酸性糖蛋白，它是骨和软骨形成的分子调节器，调节着骨母细胞的迁移、增殖和分化^[4]。BMPs是一组复合体，属于TGF- β 超家族，家族中的每一个成员均发挥着重要生物学作用。有学者研究发现BMP可以在信号调节单纯性促性腺激素分泌不足性腺机能减退中起作用，帮助维持正常的软骨细胞增殖

和分化。其中BMP-4有促进成骨细胞分化和诱导体外成骨能力，具有骨诱导作用，不仅促进胚胎期骨及牙组织生长发育，而且参与骨修复过程，是其他骨局部生长因子发挥生物学效应的必需因子^[5]。

研究表明，补肾中药能提高BMP-4蛋白表达，促进骨形成，这可能是补肾中药防治绝经后骨质疏松症的机制之一。本实验从分子水平揭示补肾中药对骨质疏松的治疗作用，为进一步阐明“肾主骨”理论提供物质基础，为防治绝经后骨质疏松症提供有效的中药方剂。

[参考文献]

- [1] 吴俭,唐洁凤,郭荣林. 六味地黄丸对绝经后骨质疏松患者骨密度的干预研究[J]. 海南医学, 2009, 20(5): 79-80.
- [2] 钟英杰,曲晓波. 梅花鹿茸的化学成分及药理作用研究进展[J]. 长春中医学院学报, 2005, 21(3): 61-63.
- [3] 李银清,赵雨,范冬艳,等. 鹿茸胶原促进大鼠成骨细胞生长的实验研究[J]. 吉林中医药, 2009, 29(12): 1089-109.
- [4] Kingsley DM. The TGF- β superfamily: New members, new receptors, and new genetic tests of function in different organism[J]. Genes Dev, 1994, 8: 133.
- [5] 徐小良,戴克戎,汤亭亭. Smads及其相关转录因子与骨形态发生蛋白诱导成骨的信号转导[J]. 中国修复重建外科杂志, 2003, 17(5): 83.

(责任编辑:马力)

第23次全国特色医疗名医学术交流暨肝病脾胃病论坛通知

为了加强中医药特色医疗经验的学术交流,全国科技推广工作先进单位—北京聚医杰医药科学研究院将与中国特色医疗学术研究会、中国医疗卫生院信息网在江苏省苏州市联合主办本次会议,会议时间为2014年4月22日—25日(21日为报到时间),欢迎各级中医、中西医结合医、民间中医、乡村中医报名参会。一、会议征文:运用中医药、民族民间医药或中西医结合等特色疗法治疗肝病、脾胃病及常见病疑难病等方面的经验,论文必须打印或从电子信箱发来,Email:100036-98@63.com文后附200字左右的作者简介。会后论文可安排在有关杂志上发表。二、会议内容:1.邀请有关专家作中医治疗肝病脾胃病等方面的学术讲座;2.交流肝病、脾胃病及常见病疑难病等方面防治诊疗经验;3.评选表彰“优秀论文”、“中华中医肝病名医”、“中华中医脾胃病名医”、“中华特色医疗名医”等;4.增聘一批“肝病研究专家委员会委员”;成立“中华中医脾胃病研究专家委员会”并聘任专家委员;聘任一批“中医肝病研究特约研究单位”和“中华中医脾胃病研究特约研究单位”等。5.参观两天(参观苏州市名胜一天,参观周庄一天)。三、有关说明:1.凡参会者均发“中华特色医疗学术交流纪念奖章”、荣誉证书及颁发学术资料和《实用中医验方200首》等书刊资料,纪念品2-3种;2.参会者交报名费200元、会务资料费950元,会期食宿、旅游费用自理。四、报名方法:将参会报名费200元连同二寸登记相片四张、交流论文(无论文者也可报名)、作者简介、评选名医申请等一起在4月5日前用快递寄北京市100036-98信箱,苏州会议会务组叶续宗主任收,邮编100036,联系电话:010-63772051、18611174565、18600893817,欢迎登陆: <http://www.zgtsyl.com>。