

正清风痛宁对骨关节炎动物模型 ADAMTs-4、ADAMTs-5 表达的影响

陈志军, 张大华

(西安医学院第一附属医院, 西安 710077)

【摘要】 目的 分析正清风痛宁对骨关节炎动物模型膝关节软骨组织聚蛋白多糖酶 1 (ADAMTs-4)、聚蛋白多糖酶 2 (ADAMTs-5) 蛋白表达的影响, 探讨正清风痛宁治疗骨关节炎的作用机制。**方法** 将 32 只成功建模的新西兰兔随机分为观察组和模型组, 另选取 16 只新西兰兔作为空白组。空白组不接受干预治疗, 模型组应用生理盐水灌胃, 观察组应用正清风痛宁灌胃。药物干预后 4 周分离膝关节软组织, 观察关节形态、关节液、关节软骨, 同时进行 HE 染色和 ADAMTs-4、ADAMTs-5 mRNA 检测 (RT-PCR 法), 利用统计方法分析组间数据。**结果** 模型组关节软骨分级和 Mankin's 评分高于观察组和空白组, 观察组关节软骨分级和 Mankin's 评分高于空白组 ($P < 0.05$)。模型组 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 mRNA 表达显著高于观察组和空白组, 观察组 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 mRNA 表达显著高于空白组 ($P < 0.05$)。**结论** 正清风痛宁可改善骨关节炎动物模型关节病变程度, 可能与其抑制 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 表达有关。

【关键词】 正清风痛宁; 兔; 骨关节炎; 聚蛋白多糖酶 1; 聚蛋白多糖酶 2

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2018) 05-0088-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.05.016

Effect of Zhengqingfengtongning on the expression of aggrecanase-1 (ADAMTs-4) and aggrecanase-2 (ADAMTs-5) in the cartilage tissue of knee joint in rabbit models of osteoarthritis

CHEN Zhijun, ZHANG Dahua

(First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710077, China)

【Abstract】 Objective To analyze the effect of a Chinese medicine Zhengqingfengtongning on the expression of aggrecanase-1 (ADAMTs-4) and aggrecanase-2 (ADAMTs-5) in cartilage tissue of knee joint in rabbit models of osteoarthritis, and to study the mechanism of action of Zhengqingfengtongning in treatment for osteoarthritis. **Methods** 32 New Zealand rabbits were randomly divided into the observation group and the model group, and 16 healthy New Zealand rabbits were chosen as the blank group. The blank group did not receive the intervention treatment, the model group received physiological saline in gastric gavage, the observation group was given the Zhengqingfengtongning by gastric gavage. The soft tissue samples of knee joint in the three groups were taken at 4 weeks after drug intervention. The joint morphology, joint fluid and articular cartilage were observed by histopathology. The ADAMTs-4 and ADAMTs-5 mRNA were detected by RT-PCR. The data were then statistically analyzed. **Results** The grades of articular cartilage and Mankin's score of the model group were significantly higher than those of the observation group and blank group, the grades

of articular cartilage and Mankin's score of the observation group were significantly higher than those of the blank group, and the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). The ADAMTs-4 and ADAMTs-5 mRNA expressions of the model group were significantly higher than those of the observation group and blank group. The ADAMTs-4 and ADAMTs-5 mRNA expressions of the observation group were significantly higher than those of the blank group, and the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions** The Zhengqingfengtongning can improve the degree of joint lesions in osteoarthritis animal models, which may be related to inhibiting the expression of ADAMTs-4 and ADAMTs-5.

【Key words】 zhengqingfengtongning; rabbits; osteoarthritis; aggrecanase-1; aggrecanase-2

骨性关节炎是常见的退行性关节病变,主要病理改变为关节软骨进行性变性破坏、边缘骨赘形成和关节腔间隙狭窄,同时伴有不同程度的滑膜炎症,临床表现为膝关节疼痛和功能障碍,严重者可导致膝关节畸形甚至残疾^[1]。目前西医治疗骨关节炎以激素、非甾体类抗炎药、手术等为主,尚缺乏完全治愈的有效方法,联合中医药治疗可延缓关节炎的病理进程,改善治疗预后^[2]。正清风痛宁是从中药清风藤中提取的有效成分,主要药用成分为盐酸青藤碱,具有抗炎、镇痛、免疫调节等多种作用,联合非甾体类抗炎药治疗骨关节炎具有肯定疗效,但其药理研究多集中于抗炎消肿、抗 T 淋巴细胞增殖等方面,其药理作用尚有待进一步研究探讨^[3-4]。研究^[5]显示,骨关节炎关节软骨退化的主要病理改变为软骨外基质降解和聚蛋白多糖的丢失,聚蛋白多糖酶家族是软骨基质聚蛋白多糖的主要降解酶,与关节软骨退变程度呈正相关,聚蛋白多糖酶-1 和聚蛋白多糖酶-2 均属于凝血酶敏感蛋白基序去整合蛋白域和金属蛋白酶域蛋白(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTs)家族,故又分别命名为 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5。目前正清风痛宁对 ADAMTs 的影响目前尚未见报道,因此本实验通过对正清风痛宁干预下实验动物膝关节软骨组织 ADAMTs-4、ADAMTs-5 的 mRNA 表达进行分析,旨在进一步探讨正清风痛宁治疗骨性关节炎的作用机制,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

普通级 4 月龄新西兰兔 48 只,雌雄各半,体重 2.5~2.7 kg,由西安交通大学医学部实验动物中心提供[SCXK(陕)2017-0014],西安交通大学医学部实验动物中心[SYXK(陕)2017-0102]分笼饲

养,保持 12 h 昼夜节律,室温(22 ± 1)℃,自用饮水、摄食。并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀,西安交通大学实验伦理委员会批号:2017-0016。各组在兔龄、体重、饲养条件等一般资料方面差异均无显著性($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 主要试剂与仪器

正清风痛宁(每片 20 mg,湖南正清制药集团股份有限公司);Trizol(美国 Invitrogen 公司);DHEA(Fluka 公司);RevertAID™ First strand cDNA Synthesis Kit(Fermentas 公司);聚合酶链反应试剂(北京全式金生物技术有限公司);GAPDH 内参和 ADAMTs-4、ADAMTs-5 引物由大连宝公司合成。石蜡包埋机(Sakura);LKB 超薄切片机(Bio-Rad 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组

随机取 16 只兔作为正常对照组不予处理,建模成功后将建模成功的兔随机选取 32 只分为模型组和观察组,每组 16 只,各组在兔龄、性别、体质量、饲养条件等一般资料方面差异均无显著性($P > 0.05$),具有可比性。

1.3.2 建立骨关节炎模型

采用膝关节制动造模方式^[6]制造兔膝骨性关节炎模型,造模前实验动物禁食 10~16 h,3%戊巴比妥钠溶液按 30 mg/kg 剂量耳缘静脉注射麻醉,左后肢踝关节以上剪毛后牵拉膝关节处于伸直位,速干型石膏绷带经热水浸泡软化后自腹股沟至趾头固定,以膝关节伸直 180°、踝关节背屈 60°,固定后暴露出足趾观察血液供应情况,石膏绷带外用弹力医用绷带封好,防止实验动物撕咬,制动时间 6 周,6 周后拆除所有绷带,随机抽取一只实验动物处死,取关节软骨进行病理观察。造模成功标准^[7]:病变关节软骨清表区粗糙或有炎性肿胀,产生裂隙,深达辐射区,深层细胞数目异常。

1.3.3 药物干预

空白组给予 10 mL 生理盐水灌胃。观察组给予正清风痛宁治疗,每片含生药 20 mg,成人用药每日 120 mg,根据 Meeh-Rubner 公式计算给药剂量:成人按 60 kg 计算,体表面积 = $10.6 \times (60\ 000^{2/3})/10\ 000 = 1.625\ m^2$,每日应用剂量(g/m^2) = $120\ mg/1.625\ m^2 = 73.85\ mg/m^2$,3.0 kg 兔体表面积 = $10.1 \times (3000^{2/3})/10\ 000 = 0.2101\ m^2$,3.0 kg 兔每日剂量(g) = $0.2101\ m^2 \times 73.85\ mg/m^2 = 15.52\ mg$,每日取 15.52 mg 正清风痛宁溶于 10 mL 生理盐水灌胃。模型组每日给予同等剂量生理盐水灌胃。连续用药 4 周。

1.3.4 大体观察

药物干预 4 周后,用 3% 戊巴比妥麻醉实验动物,分离膝关节软组织,暴露关节面,观察关节形态、关节液、关节软骨,关节软骨分级标准^[8]见表 1。

表 1 关节软骨分级标准
Tab. 1 Grading standard of articular cartilage

分级 Grades	关节面 Articular surface	光泽 Gloss	软骨 Cartilage	缺损和新生物 Defects and neoplastic mass
I 级 Grade I	光滑 Smooth	有 Yes	透明 Transparent	无 No
II 级 Grade II	欠光滑 Less smooth	暗淡 Dim	透明度低 Low transparency	细小缺损或少许新生物 Small defects or a few neoplastic masses
III 级 Grade III	不光滑 Unsmooth	无 No	不透明 Opaque	明显缺损和新生物 Obvious defects and neoplastic masses

表 2 GAPDH、ADAMTs-4、ADAMTs-5 引物序列和退火温度
Tab. 2 Primer sequences and annealing temperature of the GAPDH, ADAMTs-4 and ADAMTs-5

基因 Genes	产物长度 Product length	引物序列 Primer sequences	退火温度(℃) Annealing Temperature
GAPDH	293 bp	TCACCATCTTCCAGGAGCGA CACAATGCCGAAGTGTCGT	55
ADAMTs-4	290 bp	GATTGCACGAGGCCCGT GTCCCATCTGCCACCCG	52
ADAMTs-5	314 bp	CTTGACGTTCTGGGCCTGA CACTGTTTCTGGGTGCAG	52

表 3 三组关节软骨分级比较

Tab. 3 Comparison of articular cartilage grading of the three groups

组别 Groups	样本数 Sample size	I 级 Grade I	II 级 Grade II	III 级 Grade III	Radit
空白组 Blank group	16	15	1	0	0.176 ± 0.081
模型组 Model group	16	0	3	13	0.758 ± 0.139 ^a
观察组 Observation group	16	0	12	4	0.565 ± 0.154 ^{ab}
F 值					85.462
F-value					
P 值					< 0.001
P-value					

注:与空白组相比,^a $P < 0.05$;与模型组相比,^b $P < 0.05$ 。
Note. Compared with the blank group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$.

1.3.5 光镜观察

大体观察后取胫骨近端部分关节软骨,经脱钙、石蜡包埋、切片、HE 染色后制成病理切片,光镜下观察,每张图片取 2 个视野,按 Mankin's 评分标准^[9]对软骨结构(0~3 分)、软骨细胞数量(0~3 分)、潮线(0~3 分)进行评分,得分越高说明病变越严重。

1.3.6 RT-PCR 测定

取股骨内髌软骨组织约 10 mg 至 1 mL Trizol 中匀浆,按说明书提取总 RNA,PCR 扩增,95℃ 预变性反应 5 min,每个循环变性 94℃ 45 s,最佳退火温度 45℃,链延伸 72℃ 45 s 反应,进行 35 个循环,最后 72℃ 反应 10 min,扩增产物在 2% 琼脂糖凝胶电泳,利用凝胶电泳成像系统图像采集和电源灰度测定,计算目的条带和内参照条带灰度值之比,进行半定量分析。GAPDH、ADAMTs-4、ADAMTs-5 引物序列和退火温度见表 2。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计学软件包完成数据统计分析。实验数据以平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验, 等级资料采用多组单向有序资料的 Radit 分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 大体观察

空白组膝关节无肿大, 关节表面光滑整齐, 无滑膜增生、骨赘形成, 关节软骨透明, 关节液量少, 色淡黄清亮; 模型组关节软骨色泽变暗, 关节软骨磨损严重, 部分骨质外露, 软骨边缘有骨赘形成, 关节液明显增多, 色泽浑浊; 观察组关节软骨表面粗糙不平, 未见明显骨质外露, 滑膜有不同程度增生,

关节液有所增多, 色泽浑浊。Radit 分析显示, 空白组、模型组和观察组关节软骨分级相比较差异有显著性 ($P < 0.05$), 见表 3、图 1。

2.2 光镜检查

光镜检查结果和 Mankin's 评分见表 4, 模型组 Mankin's 评分高于空白组和观察组, 观察组 Mankin's 评分高于空白组, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。见表 4、图 2。

2.3 三组 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 mRNA 表达相比较

模型组 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 mRNA 表达显著高于观察组和空白组, 观察组 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 mRNA 表达显著高于空白组, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。见表 5、图 3。



图 1 三组关节软骨形态
Fig.1 Articular cartilage morphology in the three groups

表 4 三组光镜检查结果和 Mankin's 评分相比较
Tab.4 Comparison of light microscopic results and Mankin's scores of the three groups

组别 Groups	样本数 Sample size	光镜观察 Light microscopy			Mankin's 评分 Mankin's scores
		软骨 Cartilage	软骨基质 Cartilage matrix	潮线 Tide line	
空白组 Blank group	16	分层分布, 排列整齐 Stratified distribution and neatly arranged	无溶解 Dissolving	完整 Complete	0.524 ± 0.691
模型组 Model group	16	形态改变, 排列混乱 morphologic changes and irregular arrangement	基质浑浊 Turbid stroma	可见增生纤维组织、多重潮线及软骨下骨增生 Fibrous hyperplasia, multiple tidal lines and subchondral bone hyperplasia	8.024 ± 2.439 ^a
观察组 Observation group	16	形态轻度改变, 排列轻度紊乱 Mild morphological disorders and mild disarrangement	基质轻度浑浊 Mild turbid stroma	软骨下骨改变不明显 Unconspicuous subchondral bone alterations	5.358 ± 1.254 ^{ab}
F 值 F-value					41.082
P 值 P-value					< 0.001

注: 与空白组相比, ^a $P < 0.05$; 与模型组相比, ^b $P < 0.05$ 。
Note. Compared with the blank group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$.

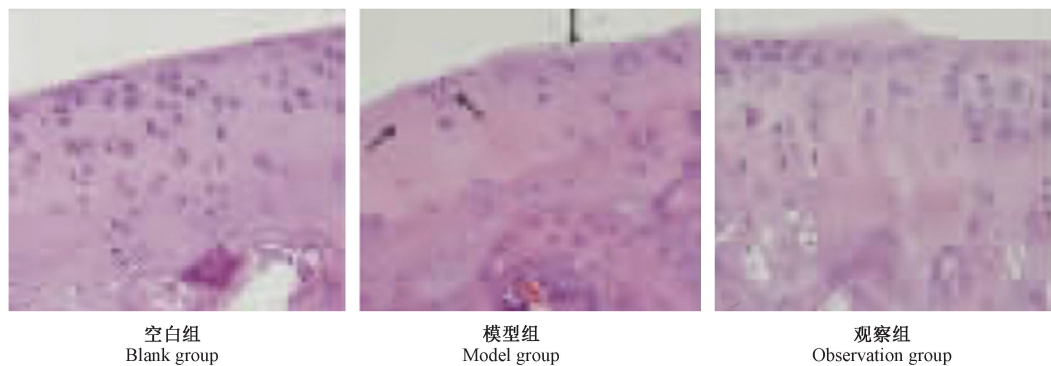


图 2 三组光镜检查结果

Fig. 2 Microscopic morphology of cartilages in the three groups

表 5 三组 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 mRNA 表达相比较

Tab. 5 Comparison of expressions of ADAMTs-4 and ADAMTs-5 mRNA between the three groups

组别 Groups	样本数 Sample size	ADAMTs-4	ADAMTs-5
空白组 Blank group	16	0.083 ± 0.022	0.064 ± 0.011
模型组 Model group	16	0.314 ± 0.056 ^a	0.192 ± 0.032 ^a
观察组 Observation group	16	0.152 ± 0.031 ^{ab}	0.127 ± 0.024 ^{ab}
<i>F</i> 值 <i>F-value</i>		39.857	26.472
<i>P</i> 值 <i>P-value</i>		< 0.001	< 0.001

注：与空白组相比，^a*P* < 0.05；与模型组相比，^b*P* < 0.05。
Note. Compared with the blank group, ^a*P* < 0.05. Compared with the model group, ^b*P* < 0.05.

3 讨论

聚蛋白多糖拥有巨大分子量,被网在胶原蛋白网架中与散居其中的软骨细胞共同构成关节软骨,聚蛋白多糖丢失是软骨破坏主要病理生理表现,引起蛋白聚多糖降解的原因很多,蛋白水解酶活性增高是主要因素^[10]。既往研究认为基质金属蛋白酶是降解聚蛋白多糖的主要酶类,近年来的显示 ADAMTs 在聚蛋白多糖降解和骨关节炎发病中发挥更重要的作用,骨性关节炎不同时期关节液中 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 作用的降解产物 ARGXX 均高于基质蛋白酶降产物 FFPGXX^[11 - 12]。体外培养软骨细胞的研究^[13]显示,抑制 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 水平可显著减少聚蛋白多糖的降解,敲除 ADAMs-5 基因的实验动物早期不会发生聚蛋白多糖丢失和软骨破坏^[14]。骨关节炎模型研究^[15]显示,早期阶段仅存在 ADAMTs 降解产生的 NTEGE 新抗原表位,不存在基质蛋白酶降解产生的

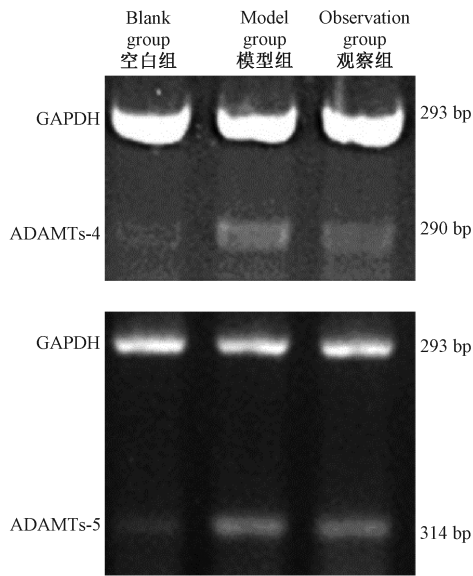


图 3 三组 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 mRNA 表达

Fig. 3 Expression of ADAMTs-4 and ADAMTs-5 mRNA in the three groups

VDIPEN 抗原,随着 ADAMTs 对聚蛋白多糖的降解进展,可检测到 VDIPEN 抗原表位,结果说明 ADAMTs 对聚蛋白多糖的降解贯穿于骨关节炎发病的各个时期,基质蛋白酶仅在骨关节炎的晚期才发挥作用。因此抑制 ADAMTs 活性可能是骨关节炎干预的新靶点。

骨关节炎属中医“骨痹”范畴,认为中年以后,肾气渐衰精髓内亏,骨失所养,加之反复创伤劳损,风寒湿邪内侵,闭阻气血,湿凝成痰,血停为瘀,进而深注骨骱,而致关节疼痛、强直、畸形,正虚邪实,相互为用,胶结难愈,因此风寒湿是导致本病的关键因素^[16]。正清风痛宁为中药清风藤的有效成分青藤碱,《本草纲目》曰:“清风藤治风湿流注,历节鹤膝……”,具有祛风通湿、活血通络、消肿止痛之功效,是治疗风湿痹痛的常用中药^[17]。荟萃分析显示,正清风痛宁无论是联合用药还是单独应用治疗骨性关节炎抑制血清 IL-1 β 和 TNF- α 等炎症因子的效果均优于西药,临床疗效优于西药,但目前对正清风痛宁的研究多限于对炎症因子的表达的影响,其更多作用机制尚未明确,需要进一步研究^[18]。

骨关节炎动物实验和研究过程中,复制实验动物模型是研究的关键点,鼠类模型关节结构与人类不同,且关节软骨不含硫酸角质素,兔关节结构与人类接近,骨性关节炎动物模型软骨生化指标与人类类似,因此本研究试验动物选择兔骨性关节炎模型^[19]。切断前交叉韧带和膝关节制动是诱导骨性关节炎的两种常用方法,切断前交叉韧带可导致关节不稳,改变力学环境,导致关节退行性变,诱导骨性关节炎,关节制动在不损伤关节稳定性的情况下,通过长期固定关节,限制运动、肌肉、关节囊收缩,诱导关节软骨的萎缩性变化和骨性关节炎^[20-22]。二者均可成功制作膝关节骨性关节炎模型,但切断前交叉韧带模型造模时间较长(需 6~8 周),主要首动因素为基质分解,关节制动法造模时间短(需 3~6 周),关节软骨损伤和基质分解为共同作用机制^[23]。

因此,本研究采用关节制动法造成关节软骨损伤,结果显示,模型组肉眼及显微镜下均可关节软骨改变,关节软骨分级及 Mankin's 评分均显著高于空白组,ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 水平均显著高于空白组,结果提示 ADAMTs 在骨关节炎的发病中发挥重要作用,与有关研究一致。本研究结果同时显示,观察组肉眼和光镜下改变均优于模型组,关节

软骨分级及 Mankin's 评分均低于模型组,ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 水平低于模型组,结果提示,正清风痛宁可通过抑制 ADAMTs-4 和 ADAMTs-5 抑制聚蛋白多糖降解,促进关节软骨修复,从而达到治疗骨关节炎的效果。

参考文献:

- [1] 张冲,王恒树,阚秀莲,等. 传统中药补肾固筋方对膝关节炎 IL-1、TNF- α 的作用机制 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(3): 312-315.
- [2] 陈益丹,邱华平,金肖青,等. 不同针灸方法对膝关节炎模型细胞因子及基质金属蛋白酶影响的比较研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(1): 42-45, 64.
- [3] 韦隼. 正清风痛宁肠溶片联合双氯芬酸钠治疗类风湿性关节炎效果观察 [J]. 中国医药科学, 2013, 3(12): 197-198.
- [4] 杜明瑞,冯福海,张静. 正清风痛宁片联合非甾体抗炎药治疗骨关节炎疗效及安全性 Meta 分析 [J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2015, 9(2): 121-125.
- [5] 史东,董富强,董金波,等. ADAMTs-4、ADAMTs-5 在骨关节炎患者滑膜中的表达和意义 [J]. 现代预防医学, 2015, 42(6): 1061-1064, 1092.
- [6] 高亮,陈默,岳萍,等. 温针灸对膝骨关节炎兔膝关节软骨转化生长因子 β 1 和胰岛素生长因子 I 水平的影响 [J]. 针刺研究, 2015, 40(3): 229-232.
- [7] 黄怡然,金英利,李娜,等. 针刀、电针和圆针对膝骨关节炎模型兔股直肌 Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白表达的影响 [J]. 针刺研究, 2014, 39(2): 100-105, 123.
- [8] 周效思,周凯,谭安雄,等. 威灵仙对兔膝关节炎结构和功能的影响 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(10): 2454-2456.
- [9] 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.
- [10] Durigova M, Nagase H, Mort JS, et al. MMPs are less efficient than ADAMTs5 in cleaving aggrecan core protein [J]. Matrix Biol, 2011, 30(2): 145-153.
- [11] Verma P, Dalal K, Chopra M. Pharmacophore development and screening for discovery of potential inhibitors of ADAMTs-4 for osteoarthritis therapy [J]. J Mol Model, 2016, 22(8): 178.
- [12] 张恩水,闫新峰,张明,等. 聚蛋白多糖酶和基质金属蛋白酶在骨关节炎不同时期关节液中的表达 [J]. 山东大学学报(医学版), 2012, 50(7): 87-91.
- [13] Song RH, Tortorella MD, Malfait AM, et al. Aggrecan degradation in human articular cartilage explants is mediated by both ADAMTs-4 and ADAMTs-5 [J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(2): 575-585.
- [14] Glasson SS, Askew R, Sheppard B, et al. Deletion of active ADAMTs5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis [J]. Nature, 2005, 434(7033): 644-648.

[15] van Meurs JB, van Lent PL, Holthuysen AE, et al. Kinetics of aggrecanase- and metalloproteinase-induced neopeptides in various stages of cartilage destruction in murine arthritis [J]. Arthritis Rheum, 1999, 42(6): 1128 – 1139.

[16] 余庆阳, 黄巍. 膝关节炎从痹论治的病因与证候探讨 [J]. 风湿病与关节炎, 2015, 4(3): 40 – 43.

[17] 熊力群, 余舒鹏, 李文龙, 等. 清风藤临床应用研究概况 [J]. 亚太传统医药, 2017, 13(5): 63 – 65.

[18] 杨洁, 曾慧, 郑芳. 正清风痛宁与西药对比治疗膝骨性关节炎的荟萃分析 [J]. 中成药, 2015, 37(6): 1197 – 1201.

[19] 乙军, 周业庭, 徐丹, 等. 实验性兔膝关节炎模型的建立 [J]. 临床和实验医学杂志, 2012, 11(24): 1921 – 1923.

[20] 江捍平, 王大平. 骨关节炎动物模型 [J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14(6): 153 – 154, 156.

[21] 陈紫岳, 黄怡然, 李娜, 等. 电针和圆利针治疗制动致膝关节功能障碍兔模型的治疗效果 [J]. 世界中医药, 2017, 12(8): 1927 – 1932.

[22] 欧云生, 安洪. 鼠骨关节炎动物模型建立的现状 [J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14(1): 41 – 44.

[23] 钱洁, 邢雪松, 梁军. 大鼠膝关节骨性关节炎动物模型的两 种实验方案 [J]. 实验室研究与探索, 2014, 33(11): 23 – 27.

[收稿日期]2017 – 11 – 13

(上接第 87 页)

功能不全者需谨慎用药,严重者应禁用。当日常保健时不宜泡药酒,建议用制首乌水煎服,且服用时最好定时监测肾功能,尤其是 β_2 -微球蛋白含量,避免长期使用出现不可逆的肾损伤。本研究仅对何首乌致肾损伤做了初步探讨,该损伤是否可逆,还有待结合给药剂量、时间的不同以及药物洗脱时间的不同进一步探讨,且针对醇提液对肾脏损伤程度较重,还需设计系统试验,筛选精确指标,深入研究其损伤情况及机制。

参考文献:

[1] 钟赣生. 中药学 [M]. 第九版. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 404.

[2] 杨德全. 何首乌致重症肝损伤 [J]. 药物不良反应杂志, 2005, 7(6): 449.

[3] Mount DB, Kwon CY, Zandi-Nejad K. Renal urate transport [J]. Rheum Dis Clin North Am, 2006, 32(2): 313 – 331.

[4] 张云静, 邹作君, 于龙丽. 早期肾功能损害患者肾脏排泄尿酸各指标的比较与分析 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2012, 13(1): 54 – 56.

[5] 黄翠瑶, 杨汉勤, 张松权. 老年高血压肾病血、尿微球蛋白的改变及其意义 [J]. 实用老年医学, 1993, 7(1): 40.

[6] Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease [J]. Science, 1995, 267(5203): 1456 – 1462.

[7] 皇甫冰, 高继萍, 杨霞, 等. 氧化应激与肾脏细胞凋亡 [J].

中国比较医学杂志, 2015, 25(2): 54 – 60.

[8] 贾歌刘畅, 庞晶瑶, 柏兆方, 等. 何首乌及其成分对人正常肝细胞凋亡的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(11): 46 – 49.

[9] 卫培峰, 党艳丽, 焦晨莉, 等. 何首乌不同成分与肝细胞凋亡的相关性研究 [J]. 陕西中医, 2009, 30(2): 238 – 239.

[10] 孙雪东, 严一核, 刘芳, 等. 血必净对脓毒性急性肾损伤大鼠肾小管细胞凋亡和相关蛋白表达的影响 [J]. 中华危重症医学杂志(电子版), 2016, 9(5): 315 – 320.

[11] 罗康, 朴尚国, 金英顺, 等. 细胞凋亡和细胞自噬在慢性环孢素 A 肾毒性中的作用 [J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(11): 3051 – 3053.

[12] Su E, Han X, Jiang G. The transforming growth factor beta 1/ SMAD signaling pathway involved in human chronic myeloid leukemia [J]. Tumori, 2010, 96(5): 659 – 666.

[13] 王亭, 龚千锋. 何首乌炮制后化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2): 220 – 226.

[14] 龚彦胜, 张亚囡, 黄伟, 等. 与功效、毒性相关的何首乌化学成分研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2012, 9(8): 472 – 475.

[15] 胥爱丽, 董玉娟, 江洁怡, 等. 何首乌配方颗粒的 UPLC 指纹图谱及化学成分归属 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(2): 47 – 50.

[16] 林龙飞. 何首乌致肝损伤成分及作用机制研究 [D]. 北京中医药大学, 2016: 1.

[收稿日期]2017 – 06 – 29