

淫羊藿注射液对试管内鸡胚 股骨生长的促进作用

河南省洛阳正骨研究所 高子范 杨宗智 马克昌 刘月桂
刘鲜茹 刘万智 李鸿超 张灵菊

内容提要 应用鸡胚股骨试管内培养的方法,研究了淫羊藿注射液对鸡胚股骨生长的促进作用。9天鸡胚股骨培养6天后,用药组股骨的长度、干重和 ^{35}S 的掺入强度均较对照组明显增加,分别为对照组的116%、112%和133%,两组比较差异非常显著($P < 0.01$)。证明淫羊藿注射液对鸡胚股骨的生长和鸡胚股骨蛋白多糖的合成活性有明显促进作用。所用药液适宜浓度为2:100~3:100(淫羊藿注射液:培养液)。

中医学理论认为“肾主骨”,淫羊藿是补肾药物之一,早在《本草纲目》中就记载有“益精气、坚筋骨、补腰膝、强心力”⁽¹⁾等作用。近一、二十年来,也有一些关于淫羊藿在增加冠脉流量,治疗冠心病⁽²⁾等方面的报道,但尚未发现有关淫羊藿对于软骨生长作用的研究报道。我们应用试管内鸡胚股骨培养的方法,研究了淫羊藿注射液对鸡胚股骨生长的影响,结果表明淫羊藿注射液有明显促进鸡胚股骨生长的作用。

材料和方法

一、材料

我们采用的淫羊藿品种为*Epimedium brevicornum* Maxim. 产地:豫西。淫羊藿注射液由本所药物实验室制备,每ml相当于1g生药。采用的Eagle培养粉来自中国科学院生物物理研究所生化制药厂, $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ 由中国科学院原子能研究所供应。

二、方法

1. 淫羊藿注射液的制备:取一定量淫羊藿干燥全草,加水煎煮二次,纱布过滤。合并两次滤液放置。吸取上清液浓缩至2:1,加乙醇沉淀二次,回收乙醇至尽,用三蒸水稀释。加氯化钠调至等渗,调PH至6.5~7.0,1%活性炭脱色三次, G_8 漏斗精滤,配成1:1浓度,灌封,灭菌。注射液符合中国药典规定。

2. 鸡胚股骨的剖取:从孵化9天的莱亨鸡卵中取出鸡胚,用Hanks液冲洗后,放入培养皿中,将两下肢从髋关节处离断,在手术显微镜下,把下肢放在无菌的滤纸上滚动,边滚动边除去周围的软组织,直至股骨周围的软组织消除干净为止。但要防止损伤股骨

两端的骨髓和骨干周围的软骨膜。然后,用手术显微镜目镜测微尺测量标本的长度。

3. 鸡胚股骨的培养:培养方法采取转管培养法⁽³⁾。培养管倾斜度约5°角,转鼓的转速为每小时10转。培养液为Eagle培养液加小牛血清。将9天的鸡胚股骨移置于试管内,加入培养液2ml,放入38°C的二氧化碳培养箱中培养。气体条件为含5%二氧化碳的空气。第三天换液一次,第五天换液时,于培养液中加入 $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ (每ml培养液中含2 μCi),标记24小时,第六天观察结果。同位素标记、标本的处理和计数参阅Ito⁽⁴⁾和朱寿彭⁽⁵⁾二氏的方法进行。

4. 淫羊藿注射液对鸡胚股骨促进作用的试验:每批取9天鸡胚15个,每个鸡胚的两个股骨,随机地将一个分配到用药组中,另一个分配到对照组中,于用药组的培养液中加入淫羊藿注射液(中药注射液:培养液=2:100~3:100),培养6天后,对比两组的差别。

5. 标本的计量处理:将培养后的股骨洗净后,置于滤纸上滚动,除去表面的水份,在手术显微镜下测量标本的长度,为培养后的长度值。测量后,将标本置于102°C的烘干箱中烘干、恒重,称量每个股骨的重量。称重后,将标本放入计数瓶中消化,加入闪烁液,进行计数,作为判定鸡胚软骨蛋白多糖合成活性的指标⁽⁴⁾。

结 果

9天鸡胚股骨培养6天后,用药组长度增长值和干重分别为对照组的116%和112%(见表1),两组比较差别有非常显著性意义。

用 $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ 标记的结果显示用药组股骨 ^{35}S 掺入的强度明显增加, 为对照组的133%(见表1)。

在培养液中, 不同浓度的淫羊藿注射液对鸡胚股骨的生长有不同程度的促进作用, 适宜的浓度为2:100~3:100(见表2、3)。

表1 淫羊藿注射液对试管内鸡胚股骨生长的促进作用

	用 药 组	对 照 组	用药/对照(%)	t	n
长度增长值 (mm)	2.53±0.05	2.18±0.04	116±3	<0.01	37
干 重 (mg)	0.79±0.01	0.70±0.01	112±2	<0.01	44
^{35}S 掺入强度 (cpm) 股骨	265,103± 9,577	199,285± 6,842	133±6	<0.01	15

表2 淫羊藿注射液在培养液中的不同浓度对试管内鸡胚股骨生长(长度mm)的影响

药物浓度(注射液:培养液)	用 药 组	对 照 组	用药/对照(%)	P	n
1:100	2.21±0.07	2.05±0.07	108±5	<0.05	12
2:100	2.30±0.08	1.84±0.06	125±6	<0.01	14
3:100	2.26±0.07	1.83±0.07	124±6	<0.01	14
4:100	2.36±0.10	2.00±0.08	118±7	<0.01	15

表3 淫羊藿注射液在培养液中的不同浓度对试管内鸡胚股骨生长(干重 mg)的影响

药物浓度(注射液:培养液)	用 药 组	对 照 组	用药/对照(%)	P	n
1:100	0.83±0.03	0.81±0.03	102±5	>0.05	14
2:100	0.90±0.02	0.83±0.02	108±3	<0.01	15
3:100	0.79±0.02	0.71±0.02	111±4	<0.01	15
4:100	0.85±0.02	0.79±0.02	108±4	<0.01	15

注: 统计数据均为平均值±标准误

讨 论

据报道, 9天鸡胚股骨由软骨细胞所组成, 属透明软骨^(6,7)。因此, 我们所观察的淫羊藿注射液的作用是药物对软骨的直接作用, 用药组长度和干重均较对照组显著增加, 表明淫羊藿注射液明显地促进了试管内鸡胚股骨的生长。用药组股骨 ^{35}S 的掺入强度明显大于对照组, 说明药物具有促进鸡胚股骨蛋白多糖

合成活性的作用。蛋白多糖是软骨基质的重要成份。在关节软骨基质中, 蛋白多糖有游离的以及与胶原结合的两种状态。关节软骨之所以有弹性, 就是由于不溶性胶原的网眼中有蛋白多糖存在的缘故。蛋白多糖中的糖胺多糖(GAG)保持阴离子电荷, 使软骨基质具有亲水性⁽⁸⁾, 这对保持关节软骨的生理功能十分重要。因此, 淫羊藿注射液对关节软骨损伤的治疗是一个有价值的药物, 可能具有促进关节软骨损伤修复的作用。

骨的发生在胚胎内有两种方式, 即膜内成骨和软骨内成骨。王祖武等⁽⁹⁾观察到骨折的愈合过程在相当程度上重复了胚胎时期的骨的发育过程, 反映出膜化骨和软骨化骨两种方式。骨折愈合过程中, 软骨化骨起着重要作用, 形成了断端间及内外骨痂软骨, 并互相会师。本试验证明淫羊藿注射液对试管内鸡胚股骨的生长有明显促进作用。因此, 淫羊藿注射液还可能具有促进骨折愈合的作用, 值得进一步研究。

应用鸡胚股骨试管内培养的方法研究中药对骨和软骨代谢的影响, 筛选对骨和软骨有效的中药, 是一个值得推荐的方法, 其优点是用药组、对照组可比性强, 指标可靠, 实验周期短。缺点是培养条件要求严格, 与体内的环境尚不完全相同。

参 考 文 献

1. 李时珍. 本草纲目. 十二卷(校点本). 第一版. 第二册. 北京: 人民卫生出版社, 1977:751.
2. 刘崇铭, 等. 淫羊藿治疗冠心病的研究. 沈阳药学院学报 1981; 13: 9.
3. Endo H. Ossification in tissue culture (1. Histological development of the femur of chick embryo in various liquid media). Experimental Cell Research 1960; 21:151.
4. Ito y, et al. The effect of growth hormone on the incorporation of labeled sulfate into the chick embryo femur in tissue culture. Endocrinol Japan 1960; 7(4):327.
5. 朱寿彭, 等. 液体闪烁法探讨 ^{14}C 二氢苯醌酮在大鼠体内的过程. 中国药理学报 1982年; 3(3):197.
6. Kawashima K, et al. Growth stimulative effect of parathyroid hormone, calcitonin and N^6, O^2 -dibutyryl adenosine 3', 5'-cyclic monophosphoric acid on chick-embryonic cartilage cultivated in a chemically defined medium. Endocrinol Japan 1980; 27(3):349.
7. Kawashima K, et al. Selective activation of diaphyseal chondrocytes by parathyroid hormone, calcitonin and N^6, O^2 -dibutyryl adenosine 3', 5'-cyclic monophosphoric acid in proteoglycan synthesis of chick-embryonic femur cultivated in vitro. Endocrinol Japan 1980; 27(3):357.

8. 広谷速人。关节软骨の形態と病態 1—正常关节软骨の構造と生化学—。整形外科 1975; 26(1):55。

9. 王祖武, 等。骨折愈合时软骨的形成和作用。中华外科杂志 1983; 2(10):591。

自拟复溃汤等治疗慢性非特异性溃疡性结肠炎 24 例

解放军三九四三八部队 亢荣华

一般资料 本组病例诊断主要依据慢性腹泻反复发作、排粘液脓血样大便, 经反复检查未发现特异性病原体, 直肠及乙状结肠镜检或钡灌肠检查有本病特征性病变。24 例中, 局部病灶的轻重均无选择性。男 21 例, 女 3 例; 年龄最大 64 岁, 最小 19 岁; 病程最长 30 年, 最短 1 年; 治疗前每日大便次数最多 22 次, 最少 3 次; 大便带脓、血者 14 例, 粘液便者 21 例, 腹痛泻泄伴有里急后重者 18 例, 左下腹隐痛者 13 例, 腹胀、纳差者 22 例。辨证分型, 肝旺脾虚型 8 例, 脾肾阳虚型 7 例, 湿热郁结型 4 例, 脾胃虚弱型 5 例。

治疗方法 (1) 复溃汤: 党参 12g 炒白术 30g 茯苓 20g 薏仁米 30g 青皮 10g 防风 20g 炒白芍 12g 炒谷、麦芽各 30g 盐故纸 4g 吴茱萸 4g 五味子 10g 巴戟天 12g 红丹参 10g。每日一剂, 水煎分 3 次温服。(2) 锡类散: 锡类散(中成药)、呋喃

唑酮(西药)混合研细粉分包, 每包含锡类散 0.5g, 呋喃唑酮 0.1g, 每日 2 次, 每次一包, 淡盐水送服。(3) 龟鹿二仙丸: 龟版胶、鹿角胶各 30g, 海螵蛸、地榆炭、白芨各 300g, 砂仁 20g。后四味共研极细粉末, 龟、鹿胶加入 750 ml 蜜糖内, 以小火煎煮, 待龟、鹿胶完全溶化后, 放温(约 20°C)时, 将其药粉合于蜜糖内做丸药, 每丸重 12g, 视病情每日 2~4 次, 每次一丸, 温开水或用复溃汤液送服。

疗效观察 临床症状消失, 大便镜检正常, 乙状结肠镜检粘膜病变恢复正常或遗留疤痕为治愈; 临床症状基本消失, 大便镜检正常, 乙状结肠镜检或钡灌肠仅有轻度炎症性改变为好转; 以症状、乙状结肠镜检及钡灌肠病变无大改变为无效。结果: 治愈 19 例, 好转 3 例, 无效 2 例。治疗时间最长半年, 最短者 38 天。

(上接 189 页)

5:174。

9. 江部洋一朗。瘀血と食物との关系。汉方の临床 1980; 27(4):211。
10. 藤田六朗。气血水病态生理からみ瘀血。东洋医学 1980; 42:72。
11. 山本岩。血症について。汉方研究 1977; 7:243。
12. 松本克彦。消化器疾患における気、血、水の生理。汉方研究 1982; 5:168。
13. 伊原信夫。“瘀血”に関連したものをあげる瘀血病理像を数多く例示。汉方医药 1974; 6:187。
14. 寺泽捷年。他。瘀血证の症候解析と診断基準の提議。日本东洋医学杂志 1983; 34(1):12。
15. 寺泽捷年。瘀血の診断基準及び臨床治療。汉方研究 1983; 6:191。
16. 永田勝太郎。他。瘀血状態における β -Thromboglobulin および Platelet factor 4 に関する研究—特にその診断的有用性について。和汉医药学会志 1984; 1(1):104。
17. 島居塚和生。他。瘀血病態における Fibrinogen Heterogeneity に関する研究 (第 1 報)。和汉医药学会志 1984; 1(1):52。
18. 樋口和子。他。桃核承气汤治験報告。汉方の临床 1983; 30(7):401。
19. 有地滋。他。汉方方剂“桃核承气汤”適応患者群の HLA 抗原。近大医志 1980; 5(4):291。

20. 有地滋。他。汉方医学的症候群である“桃核承气汤证”患者の血液粘度。近大医志 1981; 6(3):403。
21. 织田真智子。他。桂枝茯苓丸の赤血球変形能への影响。和汉医药学会志 1984; 1(1):102。
22. 村田高明。产婦人科領域における瘀血。汉方研究 1983; 6:193。
23. 张向渠译。祛瘀血药的凝血学探讨。国外医学中医中药分册 1983; 5(4):14。
24. 鷺忠人。他。ステロイド剤の血液性状に及ぼす影响と桂枝茯苓丸の改善作用。和汉医药学会志 1984; 1(1):50。
25. 林榮一。川芎の血小板凝集抑制に関する探討。内部資料, 1981。
26. 鹿野美弘。当归、川芎の生理活性。現代东洋医学 1981; 2(4):43。
27. 熊泽义雄。生药中の免疫応答調節物質。内部資料。
28. 小島保彦。汉方药とインターフェロン。インデューサー。汉方医药 1981; 5(4):9。
29. 田中郁子。他。汉方药が有効であつた难病の治験例(3)。汉方の临床 1981; 28(3):131。
30. 中村肇。他。赤芍の高分子性プラスミン阻害成分の部分精製。和汉医药学会志 1984; 1(1):98。
31. 岡本彰祐。他。凝固・線溶酵素の阻害に関する赤芍エキスと合成薬剤的相互作用の解析。和汉医药学会志 1984; 1(1):48。

The Effects of Composite Prescription of Blood Activator and Tetramethylpyrazine on the Biosynthesis of Thromboxane A₂

Wu Yusheng (吴余升), Chen Keji (陈可冀)
Xiyuan Hospital, Academy of TCM, Beijing

The effects of composite prescription of blood activator and tetramethylpyrazine on the biosynthesis of thromboxane A₂ have been studied with radiochromatography, radioautography and radioimmunoassay technique. The results showed that both the composite prescription and tetramethylpyrazine could inhibit the biosynthesis of TXA₂. The mechanism consists in their inhibiting effect on the activity of TXA₂ synthetase but not on that of cyclooxygenase.
(Original article on page 169)

The Stimulative Effect of Injection Epimedium on the Growth of Chick Embryo Femur in Vitro

Gao Zifan (高子范), et al
Institute of Orthopedics, Luoyang,

This is a study of the effect of injection Epimedium on the growth of chick embryo femur in vitro. Nine-day-old chick embryo femora were cultivated with the roller-tube culture method for 6 days, the length, dry-weight and ³⁵S-sulfate uptake rate of the Epimedium-treated femora increased by 116%, 112% and 133% respectively in comparison with corresponding values of the control. The marked differences of the two groups have proved that the injection Epimedium markedly promoted the growth of the chick embryo femora and their protein polysaccharide synthesis in vitro. The results showed that the ideal proportion of the injection to medium was 2:100~3:100. The injection used in our experiments was a compound, the effective elements of which are to be isolated and identified.

(Original article on page 172)

The Effect of Yang Tonics on the Uterine Estrogen Receptors in Depressed Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Cortex Axis Rats

Lin Youyu (林有裔), et al
Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai TCM College, Shanghai

The authors studied the change in uterine estrogen receptors (E-R) of dexamethasone-induced depressed hypothalamus-pituitary-adrenal cortex axis rats and the effect of Yang tonics on it.

Female Wistar rats, weighing 250g each, during sexual quiescent stage were chosen and divided randomly into 3 groups: (1) controls (C), with 4ml of normal saline instilled into the stomach daily; (2) models (M), with 2ml of dexamethasone suspension and 2ml of normal saline instilled daily; and (3) treated (T) animals, with 2ml of dexamethasone suspension and 2ml of Yang tonics instilled daily instead. The animals were exsanguinated up to death on the 18th day, and their uteri removed promptly. Blood samples were taken for plasma cortisone and estradiol estimation. Uterine cytoplasmic homogenates were prepared under 0~4°C and their E-R values estimated with DCC method.

The result of the experiment showed that all of the animals in M group developed bowed (arched) back, had a mean drop in body weight of 33g and a marked decrease in plasma cortisone as compared with the controls ($P < 0.001$). This denoted an inhibition (depression) of hypothalamus-pituitary-adrenal cortex axis and establishment of the animal model.

The E-R contents of the three groups C, M and T of animals were 166 ± 11.9 , 136 ± 6.7 and 156 ± 6.9 (M $\pm$ SE) fmol/ng protein respectively; that in M group was significantly lower than in C group ($P < 0.05$). Yang tonics had been shown to have protective and also therapeutic effects in the reversal of such changes, which increased the E-R contents of the uterine cytoplasm and enhanced the affinity of estradiol to E-R. According to the authors the increase of E-R content in the treated animals might be the result of the action of Yang tonics.

(Original article on page 175)