

芪麝颈康方对兔退变颈椎骨赘形成部位碱性磷酸酶活性的影响*

王拥军 施 杞 沈培芝 徐 宇 万 超

内容提要 目的:观察芪麝颈康方对退变颈椎骨赘形成部位碱性磷酸酶活性的影响。方法:选用 10 月龄新西兰兔,通过切除动物 C2~C7 棘上韧带、棘间韧带和分离椎旁两侧肌肉,建立颈椎退行性改变的动物模型。组织学观察颈椎椎体骨赘形成的部位,采用生物化学法分别检测颈椎间盘中软骨终板、髓核和纤维环中碱性磷酸酶的活性。结果:证实骨赘来源于软骨终板,中药组退变椎间盘软骨终板中碱性磷酸酶的活性明显低于模型组($P<0.01$)。结论:芪麝颈康方可降低骨赘生长部位的碱性磷酸酶活性,推测芪麝颈康方有抑制骨赘形成的作用。

关键词 芪麝颈康方 颈椎 退变 碱性磷酸酶活性 骨赘

Experimental Study on Effect of Qishejingang Recipe on Activity of Alkaline Phosphatases in Osteophyte Formation of Degenerated Cervical Vertebrae of Rabbits WANG Yongjun, SHI Qi, SHEN Peizhi, et al *Institute of Orthopedics and Traumatology, Shanghai University of TCM, Shanghai (200032)*

Objective: To study the effect of Qishejingang recipe (QSJKR) on activity of alkaline phosphatase (ALP) in osteophyte formation of degenerated cervical vertebrae. **Methods:** A model of degenerated cervical vertebrae in the rabbit was established through resection of the cervical supraspinous and interspinous ligaments from the cervical spine elicited by surgical intervention. The sites of osteophyte was observed with a light microscope. The activity of ALP of the annulus fibrosis and nucleus pulposus, end-plate in each cervical spine was assayed with biochemical method respectively. **Results:** Osteophyte come from end-plate, the activity of ALP in the degenerated end-plate in QSJKR group declined significantly compared with model group. **Conclusion:** QSJKR could decrease the activity of ALP in end-plate of degenerated cervical vertebrae and it might inhibit the formation of osteophyte.

Key words Qishejingang recipe, cervical vertebrae, degeneration, activity of alkaline phosphatase, osteophyte

颈椎和腰椎的退行性改变以椎间盘为主,而椎间盘的退变以软骨终板为先。退变的椎间盘引发椎间隙狭窄、椎间盘突出、骨赘形成等病理改变,椎体骨赘往往成为机械压迫性颈、腰神经根病和脊髓病的发病基础^[1]。随着社会老龄化的发展,骨赘相关疾病已成为影响人类健康及生活质量的重要因素之一。本研究通过观察颈部椎间盘软骨终板与髓核、纤维环中碱性磷酸酶活性的变化,探讨骨赘形成机理,寻找中医药防治骨赘形成的用药特点。

材料和方法

1 动物选择及模型建立

选择 10 月龄雄性新西

兰兔 18 只,体重 3.0kg 左右(上海中医药大学实验动物中心提供),其中 15 只随机分为 3 组,每组 5 只,分别为正常对照组、模型组及中药组,另 3 只用于组织形态学观察。通过切除兔颈棘上韧带、棘间韧带及分离椎旁两侧肌肉,造成兔颈部力学失衡,加速了动物颈椎间盘退变^[2],造模 7 个月,组织形态学证实骨赘形成后,耳静脉空气栓塞处死动物,解剖显微镜下取出 C4~C7 椎间盘的髓核与纤维环,再充分剥离椎体上下软骨终板及骨赘,编号待测。

2 药物 芪麝颈康方由黄芪、川芎、人工麝香、人工牛黄、汉防己等药物组成,水煎浓缩制成胶囊,中药治疗组于造模 5 个月开始给药 2 个月,用药剂量为 60kg 体重成人的 10 倍。

3 观察指标及测定方法

3.1 组织形态学观察 完整取下形态学观察组中 C4~C5 和 C5~C6 椎间盘及上下椎体,标本经

*上海市科学技术发展基金项目(No. 984319101),上海中医药大学发展基金(No. 9707)

上海中医药大学骨伤科研究所(上海 200032)

10% 中性甲醛固定, 硝酸液脱钙后, 乙醇逐级脱水, 正中矢状面取材, 石蜡包埋切片, HE 染色, 在 Olympus BH-2 生物显微镜下观察每个正中矢状面椎间盘及相邻的上、下椎体缘, 重点观察软骨终板变化及骨赘形成情况。

3.2 碱性磷酸酶(ALP)活性测定 将椎间盘的纤维环和髓核组织以及分离出椎体上下软骨终板, 匀浆后, 采用吴氏分光光度法⁽³⁾(波长 420nm)测定 ALP 活性单位。

4 统计学方法 数据均用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 显著性检验采用两样本均数比较的 t 检验。

结 果

1 骨赘形成的组织学结果 正常成年兔椎间盘可见外周排列整齐的纤维环和中央大的髓核, 椎体上下缘可见厚度均匀的软骨终板(图 1); 7 个月模型组见髓核破碎, 纤维环排列紊乱, 椎间盘间隙狭窄(图 2); 椎体软骨终板后缘骨赘形成, 骨赘放大观察可见骨赘为软骨性组织, 由软骨终板的软骨细胞增殖而来(图 3, 4)。

2 各组动物椎间盘组织 ALP 活性测定结果比较 见表 1。

表 1 各组动物椎间盘组织 ALP 活性测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	兔数	ALP 活性	
		软骨终板	髓核与纤维环
正常对照	5	7.39 ± 1.64	8.74 ± 1.62
模型	5	$11.06 \pm 2.89^{**}$	7.71 ± 1.12
中药	5	$6.87 \pm 1.97^{\Delta}$	$6.75 \pm 1.58^{*}$

注: 与正常对照组比较, $^{*} P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$; 与模型组比较, $^{\Delta} P < 0.01$

中药组髓核与纤维环、模型组软骨终板的 ALP 活性与正常对照组比较, 有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。中药组软骨终板 ALP 活性与模型组比较有显著性差异($P < 0.01$)。

讨 论

1 椎体软骨终板退变与骨赘形成的关系 软骨终板被分为生长软骨层(growth cartilage)和关节软骨层(articular cartilage), 关节软骨层则为成年期的软骨终板, 从出生到 20 岁左右, 生长软骨不断钙化、骨化, 椎体得以生长, 到 25 岁左右, 生长软骨完全钙化、骨化, 椎体生长随之停止^(4,5)。Kokubun 等⁽⁶⁾认为退变椎间盘软骨终板的形态学改变有椎间盘的分离或出现裂隙、硬化、钙化等表现, 软骨终板在椎间盘退变及骨赘形成过程中的作用应该不断引起重视。Miyamoto 等⁽⁷⁾通过钝性剥离大鼠颈椎旁肌、切除颈椎棘突、棘上、棘间韧带, 成功诱导了重复性好的颈椎病动物模型, 造模后 12 个月见明显的颈椎间隙狭窄、椎体前缘骨赘形成, C4~C7 尤为显著, 并认为颈椎的机械性失衡加速了椎间盘的退变和骨赘的形成。我们在建立兔颈椎病动物模型中发现, 随着椎间盘退变, 椎体外周关节软骨层不断增殖, 进而在椎体边缘形成软骨骨赘, 再经软骨内化骨形成骨性骨赘, 从而推测骨赘的形成过程为椎间盘退变、塌陷, 纤维环松弛, 牵拉关节软骨的拉应力增大, 从而刺激软骨终板中关节软骨层细胞增生, 进而化生为骨赘。从解剖结构上也说明椎体骨赘的形成部位与四肢骨关节炎的骨赘生长部位一致。

2 碱性磷酸酶在骨赘形成中的作用 碱性磷酸



图 1 正常兔颈椎间盘

图 2 退变兔颈椎间盘

图 3 椎体后缘骨赘形成

图 4 骨赘放大观, (HE $\times 40$)

酶与新骨形成的关系非常密切。Einhorn 等⁽⁸⁾从骨赘性骨关节软骨中分离出来的基质囊泡碎片中发现与软骨钙化有关的一些酶,有 ALP 酶、5-AMP 酶、ATP-焦磷酸水解酶和焦磷酸酶。椎间盘软骨细胞可能保留某种在退变过程中与异常增殖相关的潜力,在应力改变的刺激下,释放与新骨形成有关的酶类。以前的研究较多强调了力学作用在椎体骨赘形成方面的重要性。本实验证实模型组退变椎体软骨终板中软骨细胞产生的 ALP 酶活性明显高于正常对照组($P < 0.01$),而髓核与纤维环同正常对照组比较无显著性差异($P > 0.05$),说明椎体软骨终板具有成骨的能力。况且模型组软骨终板较同组髓核与纤维环中 ALP 活性明显升高($P < 0.01$),进而说明软骨终板成骨能力强于髓核与纤维环。

3 中药防治骨赘相关疾病的机制 通过本实验及一系列研究^(1,2,9),我们提出骨赘相关疾病的概念,即机体在外伤、慢性劳损、感染、退行性改变及衰老过程中出现的以骨赘形成为特点,导致机体的动力、静力平衡装置紊乱,继发引起神经、血管、肌肉、关节病变等临床综合征,从而将脊柱退行性改变、四肢骨关节病纳入骨赘相关疾病的范畴。本实验发现芪麝颈康方降低软骨终板中 ALP 活性优于模型组($P < 0.01$),这可能与该方中黄芪、人工麝香等中药有较好的抑制炎症和软骨细胞分泌及活性有关。人工麝香有降低椎间盘中组织胺、5-羟色胺、前列腺素活性的作用⁽¹⁰⁾,并可抑制血管通透性和通过免疫调节而发挥抗炎作用⁽¹¹⁾;黄芪总黄酮还有升高细胞 SOD 活性,维持细胞正常代谢的功能⁽¹²⁾;川芎、防己有抗炎、镇痛及改善微循环的作用。骨赘相关性疾病属“本痿标痹”,探讨该类疾病的

发展规律和特点,明确该类疾病的证型与辨证治疗是目前尚待解决的问题。

参 考 文 献

1. 施 杞,彭宝淦,贾连顺. 椎体骨赘形成机理的实验研究. 中国矫形外科杂志 1997;4(5):397—398.
2. 彭宝淦,施 杞,沈培芝,等. 一个新的颈椎病动物模型. 中国中医骨伤科 1996;4(5):10—12.
3. 吴其华. 血清碱性磷酸酶测定法. 中华医学检验杂志 1997;2(3):134—136.
4. Oda J, Tanaka H, Tsuzuki N. Intervertebral disc changes with aging of human cervical vertebra. Spine 1988;13(11):1205—1211.
5. Roberts S, Menage J, Urban JPG. Biochemical and structural properties of the cartilage end-plate and its relation to the intervertebral disc. Spine 1989;14(2):166—174.
6. Kokubun S, Sakurai M, Tamaka Y. Cartilaginous endplate in cervical disc herniation. Spine 1996;21(2):190—195.
7. Miyamoto S, Yonenobu K, Ono K. Experimental cervical spondylosis in the mouse. Spine 1991;16(10s):495—500.
8. Einhorn TA, Majeski RJ. Neutral proteases in regenerating bone. Clin Orthop 1991;262:286—293.
9. 王拥军,陈治立,吴 韬,等. 麝香颈康汤治疗颈椎病的临床对比研究. 上海中医药杂志 1999;44(1):37—39.
10. 施 杞,彭宝淦. 人工麝香对退变椎间盘炎症抑制作用的实验研究. 中国中医骨伤科 1997;5(3):1—3.
11. 黄正良. 麝香的药理作用及临床应用研究. 中成药研究 1987;6(5):23—26.
12. 汪得清. 黄芪总黄酮对羟自由基所致哺乳动物细胞损伤的防护作用. 中国中药杂志 1995;20(4):240—243.

(收稿:1999-05-09 修回:1999-11-10)

北京中医药大学培训部 北京劲松类风湿病治疗培训学校

风湿病培训班招生通知

北京中医药大学培训部和北京劲松类风湿病治疗培训学校联合举办风湿病培训班,邀请知名专家,系统介绍常见风湿病的诊断、治疗及国内外新进展,并安排临床示教。使学员在短时间内掌握风湿病中西医结合治疗新方法,提高从事本专业的业务水平,亦可建立科研协作关系。

教学方式及考核:(1)教学形式为理论与实践相结合,学习期间在京安排临床示教。亦可到太原市类风湿病医院进修,该院是治疗风湿类疾病的一级甲等专科医院,山西中医类风湿病医疗中心。(2)学员经考试合格后颁发结业证书,并授予教育学分,同时将不断获得风湿病治疗信息及继续提供业务指导。

招生对象及办学时间:(1)具有医师以上职称的医务人员。(2)办学时间 2000 年 4、5、6、9、10、11 月的 10~20 日,9 日报到。

报名方法:即日起以信函或电话方式报名,请写清姓名、工作单位、通讯地址、邮编、电话。校方即可发入学通知书。

通讯地址:北京市朝阳区劲松 5 区 501 楼。邮编:100021。咨询电话:010—67781752。办学期间电话:010—64872211, 64876644 转 5551。联系人:高立红。