

补肾强督方对 DBA/1 小鼠组织形态学及 Wnt 通路的影响

杨文雪¹ 阎小萍^{2,3} 金 玥¹ 周童亮⁴ 张 兰⁴ 陶庆文² 孔维萍^{2,3}

摘要 目的 观察补肾强督方对自发性强直性脊柱炎模型 DBA/1 小鼠关节韧带及附着点骨化程度和 DKK1/Wnt 通路的影响,探讨补肾强督方防治强直性脊柱炎的作用机制。**方法** 将 30 只 12 周龄的雄性 DBA/1 小鼠随机分为模型组、阳性药物组、补肾强督方低、中、高剂量组,每组 6 只,另设 6 只同周龄 C57BL/6 小鼠作为空白组。补肾强督方低、中及高剂量组分别灌胃低、中、高浓度的补肾强督方,所含生药重量分别为 11.25、22.5、45 g/(kg·d),0.2 mL/只,每日 1 次;阳性药物组灌胃塞来昔布胶囊 0.8 mg/只,0.2 mL/只,每日 1 次;模型组及空白组灌胃等量的生理盐水。连续饲养、灌胃 12 周。定期观察小鼠体重、饮食、大便、毛发等情况。每两周评价 1 次小鼠关节炎体征。处死后取小鼠跟腱部位进行大体观察,对跟腱组织行 HE 染色,用免疫组化法检测小鼠跟腱中碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)、骨钙素(bone gamma-carboxyglutamic-acid-containing proteins,BGP)、DKK1、Wnt5a 的蛋白表达。**结果** 与空白对照组比较,模型组关节炎体征评分明显升高,而补肾强督方各剂量组及阳性药物组评分均低于模型组($P < 0.05$)。跟腱组织病理观察显示,正常组无炎性细胞及成纤维细胞浸润,组织形态结构正常;模型组出现不同程度的软骨及骨形成、炎性细胞及附着点成纤维样细胞浸润;各给药组小鼠跟腱组织多见散在淋巴细胞浸润,软骨及骨形成较少见。与空白组比较,模型组组织标本骨化评分升高,补肾强督方各剂量组及阳性药物组评分均低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与空白组比较,模型组 DKK1 蛋白表达降低,Wnt5a 蛋白表达升高($P < 0.05$);与模型组比较,补肾强督方高、中剂量组 DKK1 蛋白表达升高,Wnt5a 蛋白降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 补肾强督方可能通过抑制经典 Wnt 通路来延缓自发性强直性脊柱炎模型 DBA/1 小鼠关节炎及骨化程度的发生与发展。

关键词 强直性脊柱炎;补肾强督方;DBA/1 小鼠;组织形态学;Wnt 通路

Effect of Bushen Qiangdu Recipe on Histomorphology and Wnt Pathway of DBA/1 Mice YANG Wen-xue¹, YAN Xiao-ping^{2,3}, JIN Yue¹, ZHOU Tong-liang⁴, ZHANG Lan⁴, TAO Qing-wen², and KONG Wei-ping^{2,3} 1 Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029); 2 Department of Rheumatology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029); 3 Beijing Key Lab for Immunoinflammatory Disease, Beijing (100029); 4 Institute of Clinical Medicine, China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Bushen Qiangdu Recipe (BQR) on the entheses ossification histomorphology of articular ligament of DBA/1 mice with spontaneous ankylosing spondylitis (AS), and to study its mechanism for prevention and treatment of AS. **Methods** Thirty 12-week old male DBA/1 mice were randomly divided into the model group, the positive drug group, low, medium, high dose BQR groups, 6 in each group. Another 6 C57BL/6 mice of the same age were recruited as a blank control group. BQR containing 11.25, 22.50, 45.00 g/kg crude drugs was respectively administered to mice in low, medium, high dose BQR groups by gastrogavage, 0.2 mL for each mouse, once per day. Celecoxib Capsule (0.2 mL/0.8 mg for each mouse, once per day) was administered to mice in

基金项目:国家自然科学基金青年项目(No.81403378);中日友好医院青年科技英才培养计划(No.2014-QNYC-B-02)

作者单位:1.北京中医药大学研究生院(北京 100029);2.中日友好医院中医风湿病科(北京 100029);3.免疫性疾病北京市重点实验室(北京 100029);4.中日友好医院临床医学研究所(北京 100029)

通讯作者:孔维萍, Tel:010-84205067, E-mail:kongweiping75@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2017.01.0094

the positive drug group by gastrogavage. Equal volume of normal saline was administered to mice in the model group and the blank control group by gastrogavage. All mice were fed and intragastrically administered for 12 successive weeks. Body weight, diet, stools, and hair were routinely observed. Signs of arthritis were evaluated once per two weeks. Mice were sacrifice, and then general observation of achilles tendon was performed. The achilles tendon tissue was HE stained. Protein expressions of alkaline phosphatase (ALP), bone gamma-carboxyglutamic-acid-containing proteins (BGP), Dickkopf1 (DKK1), and Wnt5a in the achilles tendon were detected using immunohistochemical method. Results Compared with the blank control group, the scoring of arthritis obviously increased in the model group ($P < 0.05$). But the scoring of arthritis was obviously lower in the 3 BQR groups and the positive drug group than in the model group ($P < 0.05$). Histopathological results of achilles tendon tissue showed that no infiltration of inflammatory cells or fibroblasts occurred in the normal group. Their histomorphological structures were normal. Cartilage formation and bone formation at various degrees occurred in the model group. Filtration of fibroblast-like cells occurred in inflammatory cells and attachment points. Scattered lymphocyte infiltration was often seen in the achilles tendon tissue of each medicated group. Cartilage formation and bone formation were rarely seen. Compared with the blank control group, the scoring of arthritis increased in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the scoring of arthritis was decreased in the 3 BQR groups and the positive drug group ($P < 0.05$). Compared with the blank control group, protein expression of DKK1 decreased and protein expression of Wnt5a increased in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, protein expression of DKK1 increased and protein expression of Wnt5a decreased in middle and high dose BQR groups ($P < 0.05$). Conclusion BQR could delay the occurrence and development of arthritis and ossification in DBA/1 mice of spontaneous AS model possibly by inhibiting classical Wnt pathway.

KEYWORDS ankylosing spondylitis; Bushen Qiangdu Recipe; DBA/1 mouse; histomorphology; Wnt pathway

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是一种慢性炎性疾病,主要侵犯骶髂、脊柱等中轴关节,脊柱旁软组织及外周关节,并可伴发关节外表现。本病好发于青年人,我国的发病率约为 0.3%,是系统性红斑狼疮的 6 倍,发病高峰年龄为 16~30 岁,男女比为(2~3):1^[1]。脊柱、骶髂关节的炎症及新骨形成是本病的特征性改变,新骨形成导致的结构损伤主要表现为附着点和滑膜关节、软骨结合处骨化、骨赘形成,关节间隙变窄,脊柱竹节样变^[2]。这种结构损伤很难逆转,导致 AS 患者脊柱活动受限及关节功能降低,晚期可出现关节屈曲挛缩、畸形或强直,是影响疾病预后、造成患者致残的主要因素^[3]。

但 AS 发病机制目前仍不明确,现代医学虽然在控制 AS 炎症方面取得较为明显的进展,但尚无确凿证据显示这些药物能够控制 AS 新骨形成。既往认为 AS 的新骨形成是炎症所致^[4],然而新的研究证实控制炎症并不能阻止 AS 出现关节强直^[5,6],研究者们致力于 AS 新骨形成机制的探索。目前较为统一的观点认为骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMMSCs)的膜内成骨和软骨内成骨是 AS 新

骨形成主要方式^[7],其中软骨内成骨是 AS 骨赘生成的主要形式,膜内成骨可能与 AS 脊柱纵韧带钙化有关,而这两种途径最终均是 BMMSCs 向成骨细胞分化,成骨细胞产生骨基质沉积而成骨。现已证实经典 Wnt 信号通路(β -catenin 依赖性通路)在 BMMSCs 成骨过程发挥了重要作用^[8],该通路的激活促进成骨细胞分化和成熟,并与 AS 的新骨形成相关。

中医药对预防和延缓 AS 的发病及病情进展有较显著的疗效。补肾强督方是全国名老中医继承人阎小萍教授治疗 AS 的经验方,具有“补肾强督、养肝荣筋、祛风除湿、活络利节”之功效。补肾强督方临床应用 12 年,先后治疗 AS 患者万余例。通过研究证实该方治疗 AS 具有良好临床疗效:能够显著改善 AS 患者症状、体征,改善 BASFI、BASDAI 指数、显著降低疾病活动性指标,且安全可靠,AS 疗效评价标准 20 反应(the assessments in ankylosing spondylitis 20% response, ASAS20)标准可达 70% 以上^[9]。但补肾强督方对 AS 延缓新骨形成的作用机制尚不明确。本实验通过能自发形成关节炎和新骨形成的动物模型老龄雄性 DBA/1 小鼠动物模型,观察补肾强督方

对 DBA/1 小鼠的韧带及附着点骨化程度和 DKK1/Wnt 通路的影响,为进一步探索补肾强督方防治 AS 的作用机制提供研究基础。

材料与方法

1 实验动物 11 周龄健康 SPF 级雄性 DBA/1 小鼠 30 只,同周龄健康 C57BL/6 小鼠 6 只,体重 18~20 g,由北京维通利华实验动物有限公司提供,许可证号:SCXK(京)2012-0001,以 4~6 只/笼饲养,饲养于中日友好医院 SPF 级动物房,适应性饲养 1 周。

2 药物 补肾强督方(组成:熟地 20 g 金狗脊 30 g 鹿角 6 g 骨碎补 15 g 补骨脂 10 g 桂枝 12 g 赤芍 12 g 白芍 12 g 知母 15 g 秦艽 15 g 羌活 12 g),中日友好医院药剂室煎制,药物经水煎、过滤、浓缩至终浓度分别为 1.125、2.25、4.5 g/mL 的补肾强督方低、中、高剂量组各 120 mL^[10],装瓶,封盖,灭菌,4℃冰箱保存备用。塞来昔布胶囊(西乐葆),厂家:辉瑞制药有限公司,产品批号:L42423,规格:0.2 g/片,换算为小鼠等效剂量,用水溶解,现用现溶。

3 试剂及仪器 兔抗鼠 ALP 多克隆抗体(一抗,美国 Santa Cruz 公司);兔抗鼠骨钙素(bone gamma-carboxyglutamic-acid-containing proteins, BGP)、DKK1、Wnt5a 多克隆抗体(美国 Abcam 公司)。超敏二步法免疫组化检测试剂及 DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥公司。多聚甲醛、HE 染色试剂购自国药集团北京化学试剂公司。Millex-GP 过滤器(Millipore, 0.2 μm, 美国);旋转式组织脱水机(SAKURA, 型号 4634, 日本);组织包埋机(SAKURA, 型号 5235, 日本);石蜡溶蜡箱(樱花病理仪器, 型号 PM-401, 日本);舒式切片机(SAKURA, 型号 CRM-440, 日本);双人显微镜(Olympus, 型号 BH-2, 日本)。

4 造模、分组及干预方法 将 30 只 11 周龄的 DBA/1 小鼠采用随机数字表法分为 5 组:模型组、阳性药物组、补肾强督方低剂量组、补肾强督方中剂量组及补肾强督方高剂量组,每组 6 只。另设 6 只同周龄 C57BL/6 小鼠作为空白组。适应性饲养 1 周后进行给药干预,补肾强督方低、中及高剂量组分别灌胃低、中、高浓度的补肾强督方,所含生药重量分别为 11.25、22.5、45 g/(kg·d),分别相当于成人用量的 6、12、24 倍,0.2 mL/只,每日 1 次;阳性药物组灌胃塞来昔布 0.8 mg/只,0.2 mL/只,每日 1 次;模型组及空白组灌胃等量的生理盐水。连续饲养、灌胃 12 周。密切观察大鼠饮食及活动状况。阳性药物组、高剂量组小鼠分别于灌胃期间各死亡 1 只,经解剖后发现是因灌胃不当引起

食管损伤而死。

5 小鼠关节肿胀观察 每 2 周评估 1 次小鼠后足关节炎体征(至小鼠 24 周龄),评估方法:无体征计为 0 分,一个脚趾发红、肿胀计为 1 分,超过一个脚趾发红、肿胀计为 2 分,脚趾强直计为 3 分,脚趾变形或踝关节受累计为 4 分。两只后足均需评分,每只小鼠最大分值为 8 分^[11]。

6 取材方法 各组小鼠分别于给药 12 周后处死,取材前称重,10%水合氯醛(0.5 mL/100 g 体重)腹腔麻醉,迅速于后肢踝关节上下各 1 cm 处剪断胫腓骨和趾骨,并用组织剪小心剥去周围软组织,将取好的跟腱部位置于 10%中性福尔马林中固定 72 h,EDTA 脱钙液脱钙 14 天,常规脱水,石蜡包埋,组织切片机切片,厚度 2 μm。

7 跟腱组织形态学观察及其病理评分 常规脱蜡,自来水冲洗,苏木素染色,1%盐酸酒精分化 30 s,伊红染色,自来水洗,逐级酒精脱水,二甲苯 I、II 透明,中性树胶封片。小鼠组织标本骨化观察,根据组织标本计分方法:炎性细胞浸润计为 1 分,附着点成纤维样细胞浸润计为 2 分,软骨形成 3 分,骨形成计为 4 分,强直计为 5 分^[11]。

8 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、BGP、Dickkopf1(DKK1)、Wnt5a 蛋白检测 采用免疫组化 SP 法检测小鼠跟腱组织 ALP、BGP、DKK1 和 Wnt5a 蛋白含量。具体步骤严格按照说明书操作。采用多功能真彩色细胞图像分析管理系统进行图像分析,选取 400 倍图像,细胞质或胞膜着棕黄色为阳性表达细胞。选择有意义的组织相,经登录、编号、采集、分析、读取数据。随机选取 5 个视野进行平均光密度测定,取其平均值作为该切片的代表值进行统计分析。

9 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计分析软件,数值用 $\bar{x} \pm s$ 表示,对各组数据进行正态分布检验和方差齐性检验,符合正态分布且方差齐采用方差分析,方差不齐的资料采用 Wilcoxon 秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

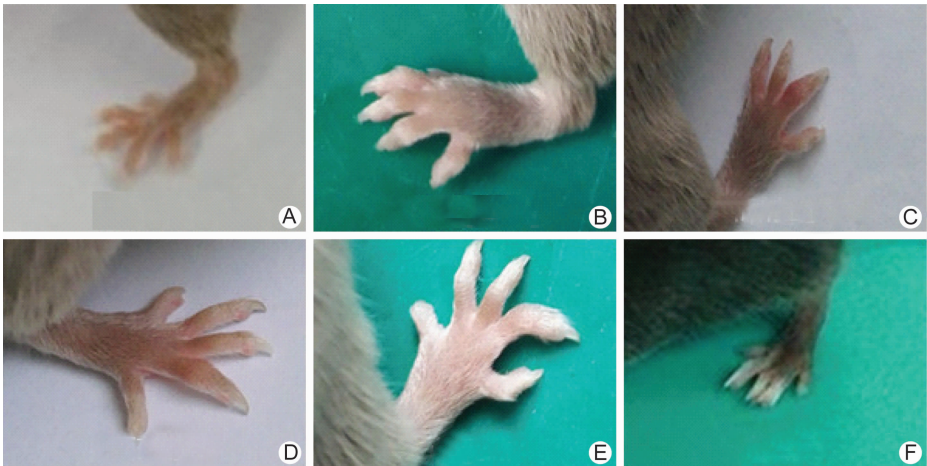
1 各组小鼠后足关节炎体征及评分比较(图 1, 表 1) 老龄(15 周龄后)DBA/1 小鼠出现脚趾发红、肿胀,脚趾强直,脚趾变形等表现。小鼠在第 12、14、16、18 周龄时,模型组虽关节炎体征评分高于其他组,但组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);从第 20 周龄开始,与空白组比较,模型组关节炎体征评分明显升高,而补肾强督方各剂量组及阳性药物组评分

均低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2 各组小鼠跟腱组织形态学观察及其病理评分比较(图 2,表 2) 跟腱组织病理观察显示,正常组无炎性细胞及成纤维细胞浸润,组织形态结构正常;模型组出现不同程度的软骨及骨形成、炎性细胞及附着点成纤维样细胞浸润;各给药组小鼠跟腱组织多见散在淋巴细胞浸润,软骨及骨形成较少见。与空白组比较,模型组组织标本骨化评分升高,而补肾强督方各剂量组及阳性药物组

评分均低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 ALP、BGP、DKK1、Wnt5a 蛋白的表达比较(表 3,图 3、4) 各组间 ALP、BGP 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。与空白组比较,模型组 DKK1 蛋白表达降低,Wnt5a 蛋白表达升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,补肾强督方高、中剂量组 DKK1 蛋白表达升高,Wnt5a 蛋白降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。



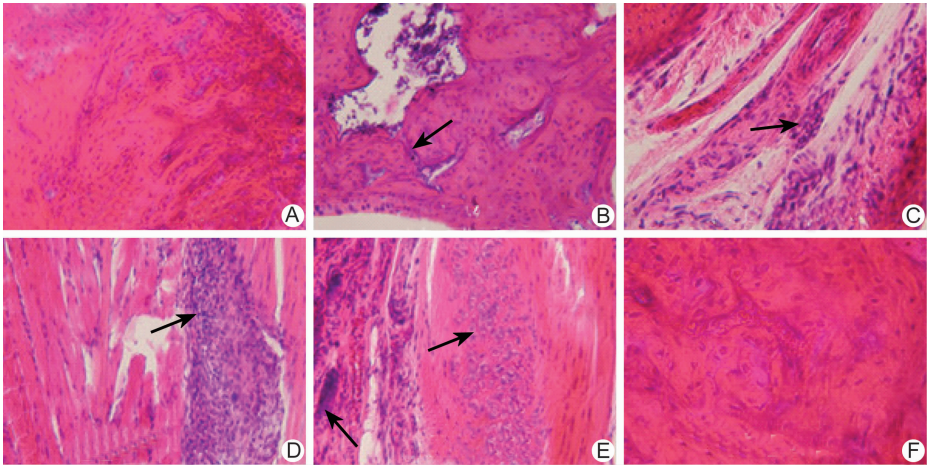
注:A 为补肾强督方高剂量组;B 为补肾强督方中剂量组;C 为补肾强督方低剂量组;D 为阳性药物组;E 为模型组;F 为空白组

图 1 DBA/1 小鼠后足关节炎体征表现

表 1 各组小鼠后足关节炎体征评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	第 14 周龄	第 16 周龄	第 18 周龄	第 20 周龄	第 22 周龄	第 24 周龄
补肾强督方高剂量	5	0 ± 0	0 ± 0	0.33 ± 0.52	0.60 ± 0.89 *	0.80 ± 0.84 *	0.80 ± 0.84 *
中剂量	6	0 ± 0	0.17 ± 0.41	0.67 ± 0.82	0.83 ± 0.98 *	1.33 ± 1.51 *	1.17 ± 1.17 *
低剂量	6	0 ± 0	0.17 ± 0.41	1.17 ± 1.33	1.33 ± 1.37 *	1.67 ± 1.63 *	1.50 ± 1.52 *
阳性药物	5	0 ± 0	0.17 ± 0.41	1.00 ± 1.00	1.40 ± 1.34 *	1.80 ± 1.30 *	1.60 ± 1.14 *
模型	6	0.17 ± 0.41	0.83 ± 0.98	2.17 ± 1.84	3.67 ± 2.01	4.17 ± 2.23	4.17 ± 2.48
空白	6	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0 *	0 ± 0 *	0 ± 0 *

注:与模型组比较,* $P < 0.05$



注:A 为补肾强督方高剂量组;B 为补肾强督方中剂量组;C 为补肾强督方低剂量组;D 为阳性药物组;F 为空白组;箭头所指为典型病变处

图 2 各组 DBA/1 小鼠跟腱组织 HE 染色图 (HE 染色, ×40)

表 2 各组小鼠组织标本骨化观察评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

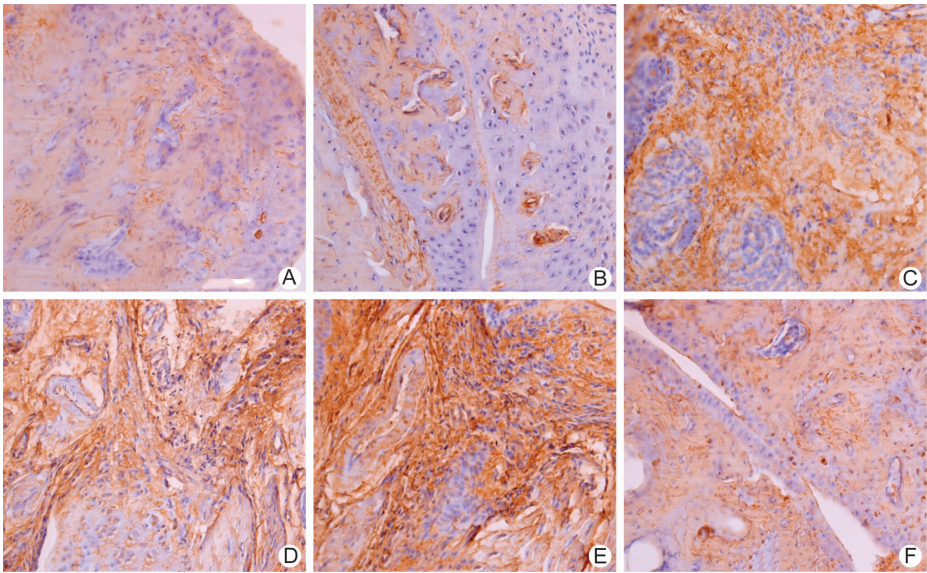
组别	n	评分
补肾强督方高剂量	5	0.80 ± 0.837 *
中剂量	6	0.83 ± 0.753 *
低剂量	6	1.17 ± 1.169 *
阳性药物	5	1.60 ± 1.140 *
模型	6	2.83 ± 1.169
空白	6	0 ± 0 *

注:与模型组比较, * $P < 0.05$

表 3 各组小鼠跟腱组织 ALP、BGP、DKK1、Wnt5a 阳性表达区域平均光密度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

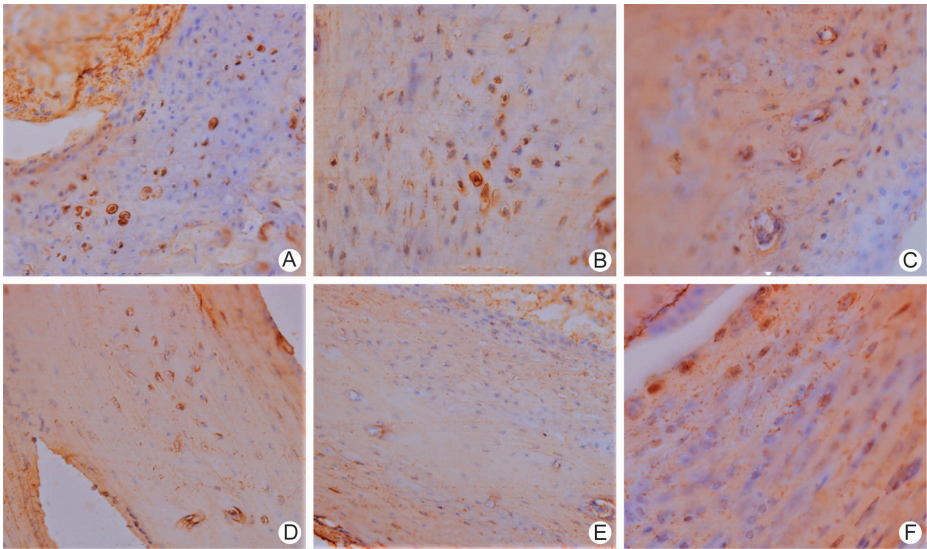
组别	n	ALP	BGP	DKK1	Wnt5a
补肾强督方高剂量	5	1.128 ± 0.059	2.759 ± 0.080	0.034 ± 0.073 *	0.039 ± 0.059 *
中剂量	6	1.156 ± 0.076	2.528 ± 0.136	0.029 ± 0.035 *	0.044 ± 0.103 *
低剂量	6	1.140 ± 0.065	2.474 ± 0.081	0.024 ± 0.068	0.061 ± 0.084
阳性药物	5	1.137 ± 0.037	2.527 ± 0.092	0.025 ± 0.019	0.052 ± 0.091
模型	6	1.153 ± 0.151	2.363 ± 0.192	0.013 ± 0.094	0.073 ± 0.069
空白	6	1.161 ± 0.062	2.805 ± 0.041	0.041 ± 0.085 *	0.025 ± 0.061 *

注:与模型组比较, * $P < 0.05$



注:A 为补肾强督方高剂量组;B 为补肾强督方中剂量组;C 为补肾强督方低剂量组;D 为阳性药物组;E 为模型组;F 为空白组

图 3 各组小鼠跟腱组织 Wnt5a 免疫组化图(SP 法, ×200)



注:A 为补肾强督方高剂量组;B 为补肾强督方中剂量组;C 为补肾强督方低剂量组;D 为阳性药物组;E 为模型组;F 为空白组

图 4 各组小鼠跟腱组织 DKK1 免疫组化图(SP 法, ×200)

讨 论

AS 是以骶髂关节炎、肌腱端炎为特征的慢性关节炎症病变,并有显著地向骶髂关节和脊柱融合的倾向性^[12]。但其发病机制目前尚不明确,临床上尚缺乏有效的治疗手段,中医药在治疗 AS 方面有较显著的效果,因此研究药物对 AS 的作用机制非常必要,而 AS 模型动物的制备是研究该机制的基础。文献报道,AS 动物模型有 8 种,大致可以分为 3 类:HLA-B27 转基因模型、炎症介导的动物模型以及强直性附着点炎症动物模型,其中强直性附着点炎动物模型主要是由 Loris 等提出的老龄雄性 DBA/1 自发关节炎动物模型,该模型能够表现出附着点部位炎症细胞浸润、软骨分化,进而强直,特别是在后足跖节间关节部位,特别有助于研究 AS 新骨形成、强直病变^[13]。因此,在本研究中,选用老龄雄性 DBA/1 小鼠自发关节炎动物模型。

软骨内成骨是 AS 骨赘生成的主要形式,软骨内成骨是 BMMSCs 在多种信号分子、生长和转录因子的密切调控程序下完成的,新的研究证实 Wnt 通路和骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)通路是调节软骨内成骨过程最重要的分子机制^[7]。进一步研究发现,AS 患者存在明显的过度成骨现象及经典 Wnt 信号通路抑制因子 DKK-1 水平显著降低,提示经典 Wnt 信号通路可能在 AS 的骨赘形成过程中发挥重要的作用^[14-17]。AS 患者 Wnt 通路的异常激活参与了 AS 骨化的发病,因此,从 Wnt 通路研究中医改善 AS 骨化的可能机制具有必要性。

中医古籍中无“强直性脊柱炎”的病名,但是诸多医著中却有类似 AS 临床表现的记载和论述,全国名老中医阎小萍教授在秉承其恩师焦树德教授的学术思想、系统整理古籍文献基础上,提出了“肾虚督寒”的中医基本病机^[18]。肾藏精,主骨生髓,肾气亏虚,感受外邪,骨失淬泽而出现骨损、骨痿,表现为关节破坏以及骨质疏松;督脉行于脊背,通于肾,总督人身诸阳,寒邪侵袭,督脉受邪则阳气开阖不得,寒凝督脉而致筋脉挛急,出现脊背僵硬、僵曲不得伸,表现为脊柱骨化、甚至强直改变。“肾虚督寒”的病机很好地解释了本病骨丢失和骨形成两个相矛盾的表现。基于此,创立了“补肾强督方”,该方由熟地、金狗脊、鹿角、骨碎补、补骨脂、桂枝、赤芍、白芍、知母、秦艽、羌活等组成,方中方中熟地补肾填精;金狗脊坚肾益血,强督脉、利俯仰为君药。骨碎补坚骨壮骨、行血补伤,补骨脂补肾阳暖丹田,鹿角温肾阳,益精血,以上共为臣药。羌活散风祛湿治督脉为病、脊强而厥;桂枝温太阳经而通血脉;赤芍散血滞;白芍和血脉、缓筋急;知母润肾滋阴,秦艽祛风

湿清热,以防桂附之燥,共为佐药。诸药共奏补肾祛寒、壮督除湿、活血通脉、强健筋骨之效。补肾强督方治疗 AS 的疗效已得到诸多研究验证:(1)缓解炎症,改善症状,治疗 3 月中医有效率达 94.5%^[19],达到 ASAS20 者占 74.3%^[9];(2)改善骨质疏松,显著提高患者骨密度,调节骨代谢^[20],基于补肾强督方研制的补肾舒脊颗粒改善髋关节功能,延缓髋关节 X 线进展^[21];(3)调节骨化相关细胞因子,上调血清中骨化抑制因子 DKK-1 的水平^[22]。通过验证研究,进一步证实了 AS“肾虚督寒”基本病机。

本研究是对系列研究的进一步补充,结果提示,补肾强督方能够抑制自发性 AS 模型 DBA/1 小鼠成骨分化中 Wnt 通路的激活,上调 DKK-1 水平,下调 wnt5a 水平,而临床研究亦提示该方能上调 AS 患者血清中 DKK-1 水平,这些均提示该方可能通过 Wnt 通路抑制 AS 异位骨化。该研究还显示,虽然补肾强督方对 Wnt 通路有抑制作用,但是不会导致 AS 骨丢失,因为体现成骨能力的 ALP 和 BGP 无差异,而且该方能够调节成骨细胞 OPG/RANKL 系统,促进骨生成,抑制骨吸收,改善骨质疏松症^[23]。因此,基于“肾虚督寒”理论创立的补肾强督方对 AS 具有抑制骨化,同时抑制骨丢失的双向作用。对该病机的进一步研究,对于寻找治疗 AS 骨化的有效药物具有一定的提示作用。

参 考 文 献

- [1] 张乃峥. 临床风湿病学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999.
- [2] Appel H, Loddenkemper C, Sieper J. Immunopathology of ankylosing spondylitis and other spondyloarthritides[J]. J Rheumatol, 2008, 67(1): 25-31.
- [3] Machado P, Landewé R, Braun J, et al. Both structural damage and inflammation of the spine contribute to impairment of spinal mobility in patients with ankylosing spondylitis[J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(8): 1065-1070.
- [4] Sieper J, Appel H, Braun J, et al. Critical appraisal of assessment of structural damage in ankylosing spondylitis: implications for treatment outcomes[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(3): 649-656.
- [5] Baraliakos X, Haibel H, Listing J, et al. Continuous long-term anti-TNF therapy does not lead to an increase in the rate of new bone formation over 8 years in patients with ankylosing spondylitis[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(4): 710-715.
- [6] Kang KY, Ju JH, Park SH, et al. The paradoxical effects of TNF inhibitors on bone mineral density and radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis[J]. Rheumatology (Oxford), 2013, 52(4): 718-726.

- [7] Schett G. Bone formation versus bone resorption in ankylosing spondylitis [J]. Adv Exp Med Biol, 2009, 649: 114 - 121.
- [8] Hartmann C. A Wnt canon orchestrating osteoblastogenesis [J]. Trends Cell Biol, 2006, 16(3): 151 - 158.
- [9] 孔维萍, 阎小萍. 补肾强督法治疗强直性脊柱炎 292 例临床观察 [J]. 中国中医药科技, 2008, 15(4): 290.
- [10] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069 - 1072.
- [11] Lories RJ, Derese I, Luyten FP. Modulation of bone morphogenetic protein signaling inhibits the onset and progression of ankylosing enthesitis [J]. J Clin Invest, 2005, 115(6): 1571 - 1579.
- [12] Braun J, Sieper J. Ankylosing spondylitis [J]. Lancet, 2007, 369(9570): 1379 - 1390.
- [13] Maksymowych WP, Chiowchanwisawakit P, Clare T, et al. Inflammatory lesions of the spine on magnetic resonance imaging predict the development of new syndesmophytes in ankylosing spondylitis: evidence of a relationship between inflammation and new bone formation [J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(1): 93 - 102.
- [14] Diarra D, Stolina M, Polzer K, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling [J]. Nat Med, 2007, 13(2): 156 - 163.
- [15] Heiland GR, Appel H, Poddubnyy D, et al. High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis [J]. Ann Rheum Dis, 2012, 71(4): 572 - 574.
- [16] Haynes KR, Pettit AR, Duan R, et al. Excessive bone formation in a mouse model of ankylosing spondylitis is associated with decreases in Wnt pathway inhibitors [J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(6): R253.
- [17] 阎小萍, 王昊, 孔维萍. 强直性脊柱炎与大楼 [J]. 中国医药学报, 2002, 17(10): 612 - 614.
- [18] 王建明, 阎小萍, 王昊, 等. 补肾强督方治疗强直性脊柱炎患者 259 例临床研究 [J]. 中医杂志, 2006, 47(6): 433 - 435.
- [19] 阎小萍, 朱俊岭, 颜珏, 等. 补肾强督方治疗强直性脊柱炎骨质疏松、骨量减少 102 例临床观察 [J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(8): 571 - 573.
- [20] 王昊, 阎小萍, 金笛儿, 等. 补肾舒脊颗粒治疗强直性脊柱炎髋关节病变的临床研究 [J]. 中国中医急症, 2013, 22(11): 1861 - 1863.
- [21] 孔维萍, 周童亮, 王晓瞳, 等. 补肾强督方对强直性脊柱炎患者 Dickkopf1 蛋白水平的影响 [J]. 中医杂志, 2014, 55(2): 1750 - 1753.
- [22] 徐愿, 阎小萍, 张文健. 补肾强督方含药血清对强直性脊柱炎 OPG/RANKL 通路的作用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(4): 585 - 588.

(收稿:2016-08-29 修回:2016-10-10)

中国中医药信息研究会男科分会成立大会暨第一届 中国中西医结合男科高峰论坛征文通知

由中国中医药信息研究会主办,天津中医药大学第一附属医院男科和中国中医科学院西苑医院男科承办的中国中医药信息研究会男科分会成立大会暨第一届全国中西医结合男科高峰论坛将于 2017 年 4 月 14—16 日在天津市召开。现将征文事宜通知如下。

征文范围 (1)信息技术在男科学中的应用;(2)中医、中西医男科诊疗新技术、新方法、新进展;(3)男科疾病(男性不育症、前列腺疾病、性功能障碍等)基础和临床研究;(4)性医学、生殖医学、心理学等男科相关学科的研究进展;(5)特色疗法治疗男科疾病的临床经验和体会;(6)历代男科文献的发掘、整理与继承;(7)其他与男科学相关的论文。

征文要求 (1)论文未公开发表,来稿应为 500~1 000 字论文摘要,包括研究目的、方法、结果和结论等内容,请勿写成过于简短的“内容提要”形式,不要附图表,并写明作者姓名、工作单位、通讯地址、邮政编码、联系电话及电子邮箱;(2)论文一律用 Word 文档格式排版,宋体,小 4 号字,1.5 倍行距;(3)本次会议全部采用网上投稿,论文发至 zyyxsnk@126.com(稿件收到会自动回复),请在电子邮件主题栏注明“男科征文”字样,征文截稿日期为 2017 年 2 月 28 日(以邮件发送时间为准)。

联系方式 天津中医药大学第一附属医院男科,耿强,联系电话:022-27432592;中国中医科学院西苑医院男科,王福,电话:010-62835134。