

- (6): 542-544.
- [11] 姚刚. 5-HT_{1B/1D}受体激动剂对偏头痛的治疗机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013.
- [12] 张毅民. 内源性降钙素基因相关肽合成与释放调节机制及其病理生理意义[D]. 长沙: 中南大学, 2010.
- [13] 邓惠慧. BDNF在硝酸甘油致偏头痛大鼠发病机制中的作用探讨[D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [14] Yao G, Yu T, Han X, et al. Therapeutic effects and safety of olcegepant and telcagepant for migraine: A meta-analysis[J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(10): 938-947.
- [15] Dodick D W, Goadsby P J, Spierings E L, et al. Safety and efficacy of LY2951742, a monoclonal antibody to calcitonin gene-related peptide, for the prevention of migraine: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled study[J]. *Lancet Neurol*, 2014, 13(9): 885-892.
- [16] Marcus R, Goadsby P J, Dodick D, et al. BMS-927711 for the acute treatment of migraine: a double-blind, randomized, placebo controlled, dose-ranging trial[J]. *Cephalalgia*, 2013, 34(2): 114-125.
- [17] 洪燕龙, 冯怡, 徐德生, 等. 大川芎方治疗偏头痛效应组分的提取、纯化工艺研究[J]. *中药材*, 2007, 30(6): 721-723.
- [18] 洪燕龙. 大川芎方释药单元的处方、工艺研究[D]. 上海: 上海中医药大学, 2006.
- [19] 魏元峰. 大川芎方复方释药系统的制备[D]. 上海: 上海中医药大学, 2009.
- [20] Héroux M, Hogue M, Lemieux S, et al. Functional calcitonin gene-related peptide receptors are formed by the asymmetric assembly of a calcitonin receptor-like receptor homo-oligomer and a monomer of receptor activity-modifying protein-1[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(43): 31610-31620.
- [21] 万莉红, 方治平, 王正荣. 大川芎方提取物对神经胶质细胞5-HT_{1D}受体的影响[J]. *西部医学*, 2003, 1(1): 1-2.

消定膏对骨折愈合过程中 COX-2/PGE₂/cAMP 信号通路表达的影响

董万涛^{1,2}, 宋敏^{2*}, 陈秉雄³, 巩彦龙², 刘涛², 张洁¹, 刘保健¹, 冯宜蓝¹
(1. 甘肃中医药大学附属医院, 甘肃兰州 730020; 2. 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730000;
3. 临洮县人民医院, 甘肃定西 730500)

摘要: 目的 研究消定膏(无名异、儿茶、大黄等)对兔环氧酶-2(COX-2)、前列腺素 E₂(PGE₂)、环磷酸腺苷(cAMP)不同时相表达的影响,探讨其对骨折愈合的作用机制。方法 将128只新西兰大耳白兔随机分为空白组、模型组、青鹏膏组(棘豆、亚大黄、诃子等)和消定膏组,除空白组外,其余各组均采用骨缺损法造成尺骨3mm骨缺损模型,造模成功后,空白组、模型组只做外固定。用药后第3、7、14、28天各组随机抽取8只,取骨痂组织,光镜下观察病理形态学变化,实时荧光定量-聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测骨痂组织COX-2 mRNA表达水平,免疫组化法检测骨痂组织PGE₂、cAMP蛋白的表达。结果 与模型组、青鹏膏组比较,消定膏组骨痂和胶原纤维的形成明显优于其他组,消定膏组COX-2 mRNA表达及PGE₂、cAMP蛋白表达在术后7、14 d明显增强(P<0.05),且在术后14 d左右出现峰值。结论 消定膏具有明显的促进骨折愈合作用,可能与其对COX-2/PGE₂/cAMP信号通路的影响有关。

关键词: 消定膏;骨缺损;环氧酶-2(COX-2);前列腺素 E₂(PGE₂);环磷酸腺苷(cAMP)

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)01-0020-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.01.004

收稿日期: 2017-05-02

基金项目: 甘肃省高校科研项目(2016B-056);吴阶平医学基金会临床科研专项基金资助项目(320.6750.11061);甘肃省青年自然科学基金计划(1208RJYA066)

作者简介: 董万涛(1980—),男,博士生,副主任医师,研究方向为骨伤科疾病的中医药防治。Tel: (0931) 8673732, E-mail: dwt130@126.com

* **通信作者:** 宋敏(1964—),男,教授,博士生导师,研究方向为骨伤科疾病的中医药防治。Tel: (0931) 8765377, E-mail: sm@gszy.edu.cn

网络出版日期: 2017-06-08

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20170608.1744.002.html>

Effects of Xiaoding Ointment on COX-2/PGE₂/cAMP signal pathway expression in fracture healing

DONG Wan-tao^{1,2}, SONG Min^{2*}, CHEN Bing-xiong³, GONG Yan-long², LIU Tao², ZHANG Jie¹, LIU Bao-jian¹, FENG Yi-yun¹

(1. Affiliated Hospital of Gansu University of TCM, Lanzhou 730020, China; 2. Gansu University of TCM, Lanzhou 730000, China; 3. People's Hospital of Lintao County, Dingxi 730500, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the effects and action mechanism of Xiaoding Ointment (*Pyrolusite, Catechu, Rhei Radix et Rhizoma, etc.*) on rabbits' fracture healing in terms of cyclooxygenase-2 (COX-2), prostaglandin E₂ (PGE₂), cyclic adenosine monophosphate (cAMP) expressions at different time points. **METHODS** One hundred and twenty-eight New Zealand white rabbits were randomly divided into blank group, model group, Qingpeng Ointment (*Oxytropis Falcatae Herba, Rhei lhasaense Radix et Rhizoma, Terminalia chebula Fructus, etc.*) group and Xiaoding Ointment group. All the other groups, except the blank group, were made with ulna 3 mm bone defect, after which external fixation was applied to both the blank group and the model group. On the 3rd, 7th, 14th and 28th days after the medications, eight rabbits randomly selected from various groups had their callus morphopathology changes observed under optical microscope, their callus tissue COX-2 mRNA expression levels were detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR), and their callus tissue PGE₂ and cAMP protein expressions were determined by immunohistochemistry. **RESULTS** Compared with the model group and the Qingpeng Ointment group, the Xiaoding Ointment group exhibited significantly better formation of callus and collagen fibers. The mRNA expression of COX-2, and the protein expressions of PGE₂ and cAMP in the Xiaoding Ointment group were remarkably enhanced as revealed on the 7th and 14th days' postoperative check ($P < 0.05$), and the peak values arrived around the 14th day after the operation. **CONCLUSION** Xiaoding Ointment's obvious effect on promoting fracture healing may associate with its impact on COX-2/PGE₂/cAMP signaling pathway.

KEY WORDS: Xiaoding Ointment; bone defect; cyclooxygenase-2 (COX-2); prostaglandin E₂ (PGE₂); cyclic adenosine monophosphate (cAMP)

骨折是临床常见病和多发病,骨折愈合是一个涉及多种细胞、细胞因子及各种基因表达的复杂生物学过程。现代医学研究表明,COX-2的催化产物PGE₂及其第二信使cAMP通过成骨细胞的募集和分化等重要环节调控骨折愈合^[1]。消定膏是甘肃中医药大学附属医院院内制剂,在促进骨愈合方面疗效明确,课题组前期通过大量病例观察证实,消定膏在骨折早期具有明显的消肿、止痛作用^[2],且能明显促进骨折愈合,缩短骨折愈合时间^[3],但其机理尚未明了。为进一步揭示其作用机制,本研究观察消定膏对兔尺骨骨折愈合中环氧化酶-2(COX-2)、前列腺素E₂(PGE₂)、环磷酸腺苷(cAMP)不同时相表达的影响,为其治疗骨折的临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 6月龄健康新西兰大耳白兔 128

只,雌雄各半,体质量(2.5±0.5)kg,由兰州生物制品研究所提供,许可证号SCXK(甘)2012-0001。

1.1.2 试验药物与仪器 消定膏(甘肃中医药大学附属医院药剂科统一提供,院内制剂批号为甘药制字Z04010874,每盒20g,由无名异、儿茶、酒大黄、紫荆皮组成);青鹏膏(西藏奇正藏药股份有限公司,国药准字Z54020140,组成为棘豆、亚大黄、诃子、铁棒锤、毛诃子、余甘子、安息香、宽筋藤、人工麝香)。戊巴比妥钠(天津金耀氨基酸有限公司,国药准字H12020381,批号1305101);苏木素(上海如吉生物科技发展有限公司,批号120921);伊红(上海化学试剂总厂,批号891024)。无水乙醇(天津市富宇精细化工有限公司,批号20131110);95%乙醇(山东利尔康医疗科技股份有限公司,批号110721R);盐酸(北京化工厂,批号20130328);SABC免疫组化试

剂盒、DAB显色试剂盒及一抗、二抗均购于北京博奥森生物技术有限公司；总RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒及PCR试剂盒由Promega公司提供；*COX-2*、*GAPDH*引物由生工生物工程（上海）股份有限公司设计合成；Olympus光学显微镜（BX51，日本，奥林巴斯销售服务有限公司）；Kendro高速冷冻离心机（Biofuge fresco D-37520 Osterode，德国，北京昊诺斯科技有限公司）；Real-Time荧光PCR仪（美国伯乐公司）；凝胶成像分析系统（Universal Hood II，美国，Bio-Rad公司）；图像分析系统：Image-Pro Plus 6.0软件。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 所有动物适应性喂养7 d，称定体质量，随机分为空白组（32只）和造模组（96只），采用骨缺损法造成尺骨3 mm骨缺损模型。造模成功后，再将造模组动物随机分为模型组（32只）、青鹏膏组（32只）和消定膏组（32只）。

1.2.2 动物造模 参考文献并结合实际，采用骨缺损法造成尺骨3 mm骨缺损模型^[4]。造模组全部动物以3%戊巴比妥钠（30 mg/kg）耳缘静脉麻醉后左前肢剪毛、脱毛、消毒，固定于实验台，手术切开皮肤，分离皮下组织，暴露尺骨。无菌纱布保护周围软组织，用微型骨膜剥离器撬起尺骨，用咬骨钳造成约3 mm的骨缺损，深度约为尺骨的1/3。止血后，生理盐水冲洗，逐层缝合，术毕缝合伤口。不使用任何外固定。手术过程均在严格无菌条件下进行，并由同一实验人员操作，造模后拍摄X光片，以确认骨折模型是否成功。术后抗感染治疗3 d，给予庆大霉素注射液40 000 U肌肉注射，1次/d。术后分笼饲养，自由进食。

1.2.3 动物用药 造模成功、待伤口干燥无渗液后开始用药。消定膏组外敷消定膏，将消定膏均匀涂抹在约2 cm × 4 cm医用纱布上，厚约0.3 ~ 0.5 cm，在左前肢将涂抹好的消定膏环形外敷于损伤部位周围处（手术切口处碘伏消毒，并用2层无菌纱布覆盖），绷带包扎后用自制针筒固定，每天更换1次，连续4周；阳性对照组外敷青鹏膏，方法同上，每天更换1次，连续4周；模型组仅在手术切口处碘伏消毒，无菌纱布覆盖，绷带包扎后用自制针筒固定；空白组自由饲养。

1.3 标本处理及组织形态学观察 分别于用药后第3、7、14、28天4个不同时相点，各组随机抽取8只，麻醉，栓塞致死，取左尺骨标本。每个标本取材包括骨缺损及其周围组织（长约1 cm），脱

钙，苏木精-伊红（HE）染色法进行染色，光镜下观察病理形态学变化。

1.4 免疫组化检测PGE₂、cAMP蛋白表达 取各组动物标本组织，常规制片，分别按PGE₂、cAMP免疫组化试剂盒说明书方法进行免疫组织化学染色，光镜下棕黄色或棕褐色颗粒判定为阳性细胞，Image-Pro Plus 6.0软件分析PGE₂、cAMP蛋白表达情况，并计算平均光密度（mean optical density, MOD）。

1.5 骨痂组织的*COX-2* mRNA表达 取样品加入适量的Trizol试剂提取总RNA，检测RNA浓度，逆转录为cDNA，逆转录参照5 × PrimeScript RT Master Mix逆转录试剂盒说明操作。查阅文献，确定*COX-2*的引物，以*GAPDH*为内参，*COX-2*的正、反向引物分别为5'-ATTGACCAGAGCAGGCAGAT-3'、5'-CAGCAGGGCAGGATACAGTT-3'；内源性*GAPDH*作为对照，正、反向引物分别为5'-ATGGTGAAGGTCGGAGTGAA-3'、5'-CGTGGGTGGAATCATACTGG-3'；qPCR反应参照SYBR Premix Ex Taq II荧光物质试剂盒说明操作，95℃预变性10 min，95℃变性15 s，60℃退火延伸1 min，循环40次。2^{-ΔΔCt}法定量分析。

1.6 统计学分析 所有计量资料结果采用SPSS 17.0软件分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间数据和愈合时间的主效应分别采用独立样本*t*检验和单因素方差分析，设定检验水准为0.05，*P* < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后不同时相X光片表现 术后3 d，除空白组外，其余各组骨缺损区清晰；术后7 d，消定膏组与青鹏膏组骨缺损区较为模糊，呈云雾状阴影；术后14 d，消定膏组骨缺损区及周围出现规则的骨痂，骨折线模糊，青鹏膏组骨痂桥接缺损区，外骨痂呈梭形生长，模型对照组骨缺损区出现大量的云雾状阴影；术后28 d，消定膏组骨缺损区骨痂基本消失，髓腔基本贯通，青鹏膏组有大量骨痂填满骨缺损区，有少量的髓腔贯通，模型组出现骨痂，骨缺损区模糊，有骨痂生长。见图1。

2.2 病理形态学观察结果 术后3 d，光镜下空白组为正常的骨痂及胶原纤维组织形态，消定膏组、青鹏膏组、模型组均有炎性细胞浸润；术后7 d，消定膏组、青鹏膏组有少量骨小梁形成，血肿消失，可见较多的肉芽组织及新生毛细血管，消定膏组更为明显，模型组未见骨小梁形成；术后14 d，

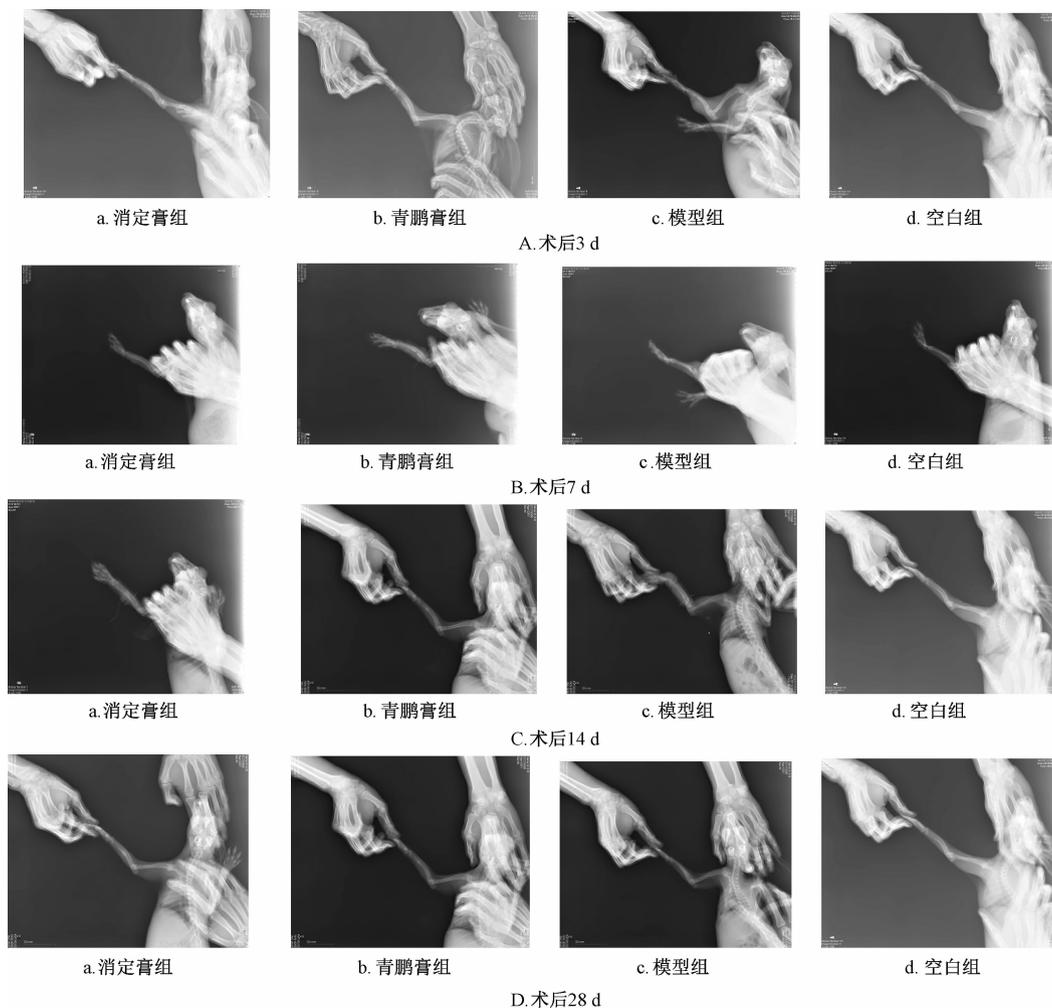


图1 术后不同时相点各组动物 X 光片表现

Fig. 1 X-ray performance of animals in various groups at different time points after operation

消定膏组可见大量骨小梁形成，排列整齐，断端间可见大量成骨细胞，成纤维细胞明显减少，外骨痂内可见大量成熟软骨细胞，青鹏膏组次之，模型组则出现大量的肉芽组织和新生的毛细血管，骨小梁形成较少，排列较为稀疏，未见明显外骨痂形成；术后 28 d，消定膏组纤维骨痂消失，软骨骨痂减少，出现大量的类骨组织，骨小梁粗大，排列整齐，骨髓腔已经贯通，可见少量胶原纤维，而青鹏膏组与模型组形成大量的纤维骨痂，软骨骨痂增多，骨小梁排列紊乱，其内部仍可见大量胶原纤维，髓腔未贯通。见图 2。

2.3 免疫组化检测结果

2.3.1 PGE₂ 在不同时相 MOD 变化 除空白组外，PGE₂ 表达在术后逐渐增高，术后 14 d 达到峰值，然后下降。与空白组比较，模型组术后 7、14、28 d 时 PGE₂ 表达增高，具有统计学意义 ($P <$

0.05)；消定膏组分别与模型组、青鹏膏组对比，具有统计学意义 ($P <$ 0.05)；模型组与青鹏膏组组间无统计学意义 ($P >$ 0.05)。术后 7、14 d 时，消定膏组 PGE₂ 表达明显高于模型组和青鹏膏组；术后 28 d 时，则明显低于模型组和青鹏膏组 ($P <$ 0.05)。见表 1。

2.3.2 cAMP 在不同时相 MOD 变化 消定膏组和青鹏膏组 cAMP 表达在术后逐渐增高，术后 14 d 达到峰值，然后下降；与空白组比较，模型组术后 7、14、28 d 时 cAMP 表达增高，具有统计学意义 ($P <$ 0.05)；消定膏组分别与模型组、青鹏膏组对比，具有统计学意义 ($P <$ 0.05)；模型组与青鹏膏组组间无统计学意义 ($P >$ 0.05)。术后 7、14 d 时，消定膏组 cAMP 表达明显高于模型组和青鹏膏组；术后 28 d 时，则明显低于模型组和青鹏膏组 ($P <$ 0.05)。见表 2。

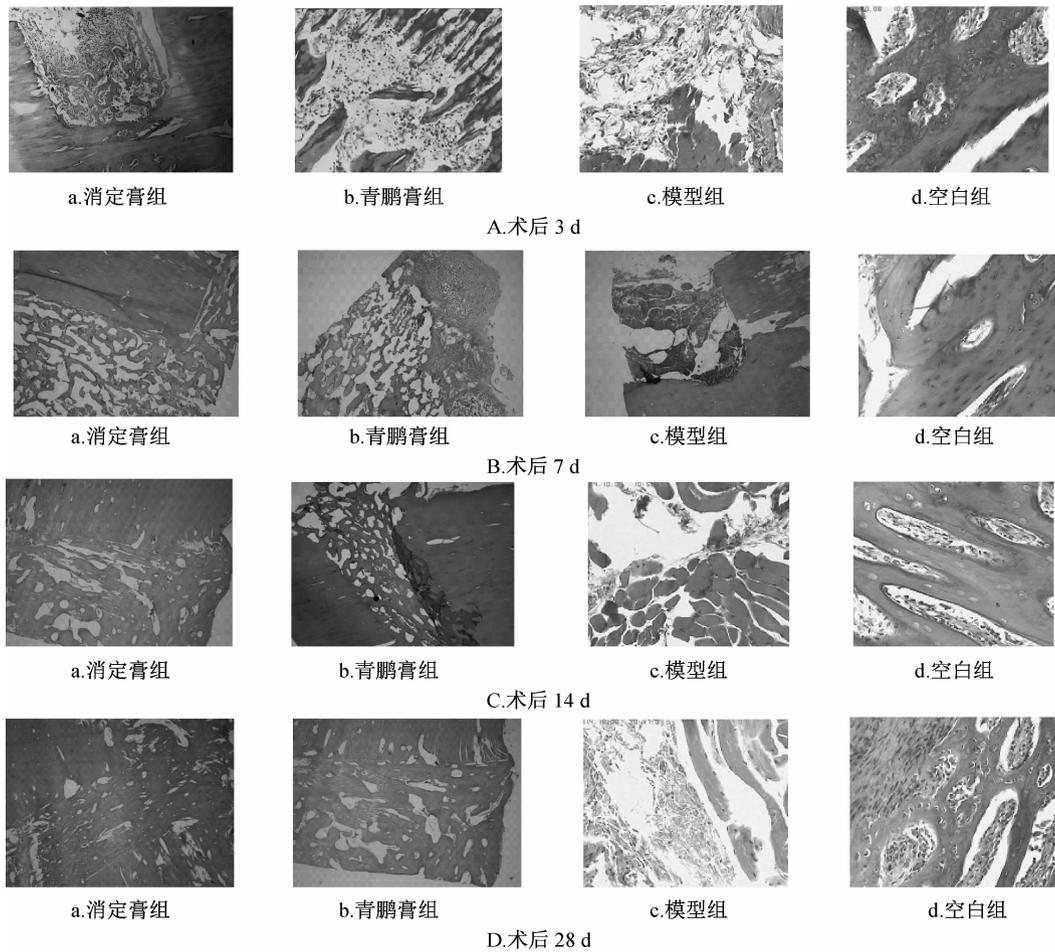


图2 术后不同时相点各组动物骨痂病理形态学观察 (HE, ×100)

Fig. 2 Histopathological observation of bone callus of animals in various groups at different time points after operation (HE, ×100)

表1 术后不同时相点 PGE₂ 的 MOD 比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 1 Comparison of the MOD of PGE₂ at different time points after operation ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 28 d
空白组	0.179 ± 0.009	0.176 ± 0.009	0.172 ± 0.012	0.170 ± 0.008
模型组	0.171 ± 0.005	0.195 ± 0.018 [△]	0.242 ± 0.015 [△]	0.213 ± 0.016 [△]
青鹏膏组	0.171 ± 0.009	0.207 ± 0.026	0.249 ± 0.031	0.211 ± 0.016
消定膏组	0.179 ± 0.011	0.269 ± 0.025 ^{▲*}	0.278 ± 0.035 ^{▲*}	0.178 ± 0.011 ^{▲*}

注:与模型组比较,▲*P* < 0.05;与青鹏膏组比较,**P* < 0.05;与空白组比较,△*P* < 0.05

表2 术后不同时相点 cAMP 的 MOD 比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 2 Comparison of the MOD of cAMP at different time points after operation ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 28 d
空白组	0.168 ± 0.009	0.167 ± 0.008	0.169 ± 0.008	0.168 ± 0.010
模型组	0.162 ± 0.006	0.180 ± 0.007 [△]	0.231 ± 0.008 [△]	0.236 ± 0.008 [△]
青鹏膏组	0.162 ± 0.008	0.188 ± 0.010	0.261 ± 0.012	0.224 ± 0.010
消定膏组	0.168 ± 0.009	0.202 ± 0.009 ^{▲*}	0.287 ± 0.010 ^{▲*}	0.212 ± 0.012 ^{▲*}

注:与模型组比较,▲*P* < 0.05;与青鹏膏组比较,**P* < 0.05;与空白组比较,△*P* < 0.05

2.4 骨痂组织 COX-2 mRNA 表达结果 各组不同时相 COX-2 mRNA 的 OD_{260/280} 数值均集中在 1.8 ~ 2.0 之间,说明纯度高,杂质含有量少,质量合

格,可以进行 RT-PCR 检验。与空白组比较,模型组术后 COX-2 表达下调,术后 28 d 时下调最明显 (*P* < 0.05);与模型组比较,消定膏组和青鹏膏组

术后 COX-2 表达上调, 在术后 14 d 时表达最明显 ($P < 0.05$), 消定膏组分别与模型组、青鹏膏组对比, COX-2 表达在组别及时间主效应存在统计学意义 ($P < 0.05$), 但术后 3 d, 模型组、青鹏膏组、消定膏组间无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 各组 COX-2 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 3 Comparison of COX-2 mRNA expressions among various groups ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 28 d
空白组	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01
模型组	0.97 ± 0.02	0.94 ± 0.14 [△]	0.85 ± 0.16 [△]	0.69 ± 0.15 [△]
青鹏膏组	1.06 ± 0.05	2.09 ± 0.12	4.03 ± 0.25	3.49 ± 0.26
消定膏组	1.08 ± 0.03	2.65 ± 0.10 ^{▲*}	4.98 ± 0.21 ^{▲*}	4.11 ± 0.22 ^{▲*}

注:与模型组比较,▲ $P < 0.05$;与青鹏膏组比较,* $P < 0.05$;与空白组比较,△ $P < 0.05$

3 讨论

本研究中消定膏由紫荆皮、儿茶、无名异、大黄组成。方中无名异始载于《雷公炮炙论》，为氧化物类矿物软锰矿的矿石，主要为二氧化锰 (MnO_2)^[5]，性味咸、甘、平，无毒，归肾、肝经，具有去瘀止痛，消肿生肌，续骨长肉之功效，“主金疮折伤内损，止痛，生肌肉”（《证类本草》）、“咸入血，甘和血，治金疮折伤，痈疽肿毒，止痛生肌”（《本草从新》）、“去瘀止痛”、“续骨长肉”，具有保护骨骼、促进骨断面愈合及抗炎镇痛等作用^[6]，为君药；儿茶膏性味苦、涩、微寒，归肺、心经，具有活血止痛、止血生肌的功效，用于跌扑伤痛、外伤出血，《本草纲目》云“生肌定痛，止血收湿”，现代药理研究证明^[7]儿茶膏有效成分儿茶素对体外血小板聚集有明显的抑制作用，还可显著抑制大鼠实验性血栓的形成，明显降低大鼠血浆血栓素 A_2 (TXA_2) 的含有量，具有活血化瘀之效，辅助无名异，共奏去瘀止痛、续骨生肌之功；紫荆皮味苦、性平，归肝、脾经，《本草纲目》云“紫荆气寒味苦，色紫性降，入手足厥阴血分。寒胜热，苦走骨，紫入营，故能活血消肿，利小便而解毒”，故具有清热解毒、活血通经、消肿止痛之功效，主要化学成分为黄酮类、二苯乙烯类、酚酸类及二苯并氧杂萜类，具有显著的抗炎镇痛作用、抑菌活性及抗氧化活性^[8]；大黄性味苦、寒，无毒，归脾、胃、大肠、肝、心包经，功效凉血解毒、逐瘀通经，主治痈肿疔疮、瘀血经闭、跌打损伤，现代药理研究证明^[9]，大黄能提高血浆渗透压，降低血液高黏度，改善血栓素与前列腺素的比值，扩容及改善微循环，增加局部

血流供应，具有显著的活血化瘀功效，与紫荆皮共为佐使，奏活血凉血、通经止痛、逐瘀生新之功。

现代医学研究证明^[10]，骨组织中 COX-2 酶的合成及其催化的 PGE_2 随机械负载的增加而很快增多，并伴有胞内 cAMP 和 DNA 合成的上升，提示 COX-2、 PGE_2 、cAMP 这一信号通路介导了应力对骨代谢及骨折愈合的调节。有研究表明，COX-2 和 PGE_2 在骨的新陈代谢中具有双向调节功能，低剂量的 PGE_2 以刺激成骨细胞增殖、促进骨生成为主；高剂量的 PGE_2 则能够提高成骨细胞内的 cAMP 水平，使其向破骨细胞转化，从而刺激骨吸收^[11]。

骨折愈合过程中，COX-2/ PGE_2 传导通路被激活， PGE_2 高表达，促使充质干细胞 c-fox、原癌基因 (c-jun) 和早期生长反应基因 (egr-1) 表达，加强骨间质细胞向成骨细胞的转化，加快新骨生成^[12]。COX-2 催化合成的 PGE_2 介导成骨细胞内的 cAMP 而发挥成骨效应，加速成骨细胞增殖分化成熟，促进骨痂的钙化和重塑，以及提前形成软骨内成骨和编织骨痂，使骨折愈合提前。此外，成骨细胞内的 I 型胶原纤维、骨钙素 (OC) 等都与软骨内化骨相关的重要细胞外基质蛋白，它们的合成受到 PGE_2 和 cAMP 调控。

本实验研究结果显示，消定膏组和青鹏膏组 COX-2、 PGE_2 、cAMP 表达在术后逐渐增高，14 d 左右达到峰值，然后下降。消定膏组分别与模型组、青鹏膏组对比，COX-2、 PGE_2 、cAMP 表达在术后 7、14 d 明显增高，而在术后 28 d 降低，组间对比均有统计学意义 ($P < 0.05$)；在 3 d 时，消定膏组、模型组与青鹏膏组组间无统计学意义 ($P > 0.05$)，说明消定膏在骨愈合过程中促进 COX-2、 PGE_2 、cAMP 表达，激活 COX-2/ PGE_2 /cAMP 信号通路，而在术后 28 d 降低，说明消定膏促进 COX-2、 PGE_2 、cAMP 表达并使其峰值提前，从而诱导和增强骨形成。

综上所述，消定膏能够早期减少炎症细胞的浸润，减轻机体应激反应，降低毛细血管通透性，减轻炎症反应和局部肿胀，促进骨小梁形成及骨痂改建，早期启动 COX-2 因子，激活 PGE_2 ，发挥对血管内皮生长因子 (VEGF)、cAMP 等水平的调节，减轻炎症反应，通过激活 COX-2/ PGE_2 及 cAMP-PKA-CREB 信号传导通路，释放骨生长因子，启动 COX-2/ PGE_2 /cAMP 信号转导，产生级联反应，促使骨折的愈合及骨重建，从而达到活血化瘀、消肿

止痛、促进骨折愈合的功效，这可能为消定膏促进骨折愈合的机制。

参考文献:

[1] 任可, 张春才, 赵建宁, 等. 持续动态压应力对实验性骨折愈合的影响及相关信号转导通路研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2010, 18(4): 327-332.

[2] 董万涛, 宋敏, 吕泽斌, 等. 消定膏对 Colles 骨折早期疼痛、肿胀的疗效观察[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(1): 204-206.

[3] 董万涛, 宋敏, 刘保健, 等. 消定膏治疗桡骨远端骨折的临床研究[J]. 中成药, 2015, 37(11): 2378-2382.

[4] 袁兵, 卞俊, 任锐, 等. 家兔胫骨骨折模型的建立[J]. 海军医学杂志, 2012, 33(4): 222-223.

[5] 高小恒, 陈达艳, 薛进. 无名异本草考证[J]. 实用中医药杂志, 2011, 27(8): 555.

[6] 柴林巧, 孙燕萍, 王科钦, 等. 无名异药理学研究概况[J].

辽宁中医药大学学报, 2012, 14(6): 59-61.

[7] 井玥, 赵余庆, 倪春雷. 儿茶的化学、药理与临床研究[J]. 中草药, 2005, 36(5): 790-792.

[8] 张娟娟, 张勇, 康文艺. 紫荆属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(20): 1782-1784.

[9] 祝婷婷, 刘晓, 汪小莉, 等. 大黄不同方法炮制后药理作用及化学成分变化研究进展[J]. 中国新药杂志, 2016, 25(8): 883-887.

[10] Cherian P P, Cheng B, Gu S, et al. Effects of mechanical strain on the function of gap junctions in osteocytes are mediated through the prostaglandin EP₂ receptor[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(44): 43146-43156.

[11] 张陈彦, 郭影. 环氧合酶-2 在骨代谢中的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(5): 719-721.

[12] 陈秉雄, 宋敏, 陈秉虎, 等. 环氧合酶-2/前列腺素 E₂ 信号转导通路对骨折愈合的影响及相关药物研究进展[J]. 医药导报, 2014, 33(9): 1197-1201.

飞龙掌血醇提物的抗炎镇痛作用

陆怡¹, 朱元章², 郭晨旭², 韩聪², 钱雅新³, 朱国福^{2*}, 潘颖宜^{2*}

(1. 上海市浦东医院, 上海 201399; 2. 上海中医药大学, 上海 201203; 3. 上海市普陀区中心医院, 上海 200333)

摘要: 目的 研究飞龙掌血醇提物的抗炎镇痛作用及其机制。方法 大鼠用角叉菜胶致炎及福尔马林致痛, 研究飞龙掌血醇提物的镇痛作用; ELISA 试剂盒检测角叉菜胶实验大鼠血清中 β 内啡肽 (β -EP)、前列腺素 E₂ (PGE₂)、5-羟色胺 (5-HT) 的含有量, 炎症大鼠皮肤组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的含有量, 以及福尔马林实验小鼠血清中白三烯 B₄ (LTB₄) 的含有量; 免疫组化法观察大鼠脊髓 FOS 及 P 物质 (SP) 蛋白表达。**结果** 飞龙掌血醇提物能明显降低足趾肿胀率; 福尔马林实验中, 飞龙掌血醇提物能明显减少舔足累积时间, 降低 PGE₂ 的含有量, 高剂量组尤为明显; 3 个剂量组均能降低血清中 5-HT 的含有量, 高剂量和低剂量效果显著, 高剂量组还能升高血清中 β -EP 的含有量。各剂量组均能降低皮肤组织中 TNF- α 和 IL-1 β 的含有量, 中、高剂量组抑制 FOS 蛋白表达; 高剂量组明显降低血清中 LTB₄ 的含有量。**结论** 飞龙掌血醇提物具有抗炎镇痛作用, 其作用机制可能是与通过增加血清中 β -EP, 降低 PGE₂、5-HT、LTB₄ 含有量, 降低皮肤组织中 TNF- α 、IL-1 β 含有量, 以及下调脊髓 SP 及 FOS 蛋白表达有关。

关键词: 飞龙掌血醇提物; 抗炎镇痛; 作用机制

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)01-0026-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2018.01.005

收稿日期: 2017-08-01

基金项目: 上海市博士点基金 (K120309)

作者简介: 陆怡 (1990—), 女, 硕士, 初级中药师, 从事中药及复方的药理学研究工作。Tel: 18918355795, E-mail: liulixiang@163.com

* 通信作者: 朱国福 (1965—), 男, 教授, 博士生导师, 从事抗肿瘤中药研究。E-mail: gzf@163.com

潘颖宜 (1961—), 女, 副教授, 硕士生导师, 从事中药及复方的药理学研究工作。E-mail: ppy16@126.com