

# 恒古骨伤愈合剂治疗骨病的临床应用 与实验研究综述

马朝霞<sup>1</sup>, 李燕皎<sup>1</sup>, 朱金怀<sup>2</sup>, 胡敏<sup>1</sup>

(1. 昆明学院 云南省骨与关节疾病基础研究重点实验室 云南省干细胞技术应用研究中心, 云南 昆明 650214;  
2. 昆明医科大学 基础医学院, 云南 昆明 650500)

**摘要:** 为探讨恒古骨伤愈合剂对骨病的治疗效果, 通过查阅有关中英文文献, 对恒古骨伤愈合剂治疗骨病的有关研究进行综述, 总结归纳恒古骨伤愈合剂在治疗骨质疏松、骨折、股骨头坏死、腰椎间盘突出症等骨病的临床应用和动物实验研究。相关研究均证实, 恒古骨伤愈合剂对上述骨病具有显著疗效, 且临床应用广泛, 表明恒古骨伤愈合剂治疗骨病的疗效较好。

**关键词:** 恒古骨伤愈合剂; 骨质疏松症; 骨坏死; 机制研究

**中图分类号:** R681 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-5639 (2020) 03-0089-04

**DOI:** 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2020.03.019

## The Overview of Clinical Application and Experimental Study of OsteoKing in Treatment of Bone Disease

MA Zhaoxia<sup>1</sup>, LI Yanjiao<sup>1</sup>, ZHU Jinhuai<sup>2</sup>, HU Min<sup>1</sup>

(1. Yunnan Key Laboratory for Basic Research on Bone and Joint Diseases & Yunnan Stem Cell Translational Research Center, Kunming University, Kunming, Yunnan, China 650214; 2. College of Basic Medicine, Kunming Medical University, Kunming, Yunnan, China 650500)

**Abstract:** In order to study the curative effects of OsteoKing on bone diseases, by referring to both Chinese and English literature reference, we summarized the relative research of OsteoKing clinical application on bone diseases such as osteoporosis, fracture, femoral head necrosis, lumbar disc herniation and animal experiments. The result showed that OsteoKing had significant effect on the diseases above and extensive clinical application, which proved the better curative effect.

**Key words:** OsteoKing; osteoporosis; femoral head necrosis; mechanism research

云南克雷斯天然药物制药有限公司生产的恒古骨伤愈合剂 (OsteoKing, 国药准字 Z 20025103 号) 由三七、陈皮、黄芪、人参、红花、钻地风、洋金花、鳖甲、杜仲等配方制成, 该药具有接骨续筋、活血益气、消肿止痛、补肝肾等功效。临床主要用于预防和治疗骨质疏松症、骨折、骨坏死和骨关节炎等骨病, 且有显著疗效。因此, 本文查阅了近年来发表的关于恒古骨伤愈合剂的中英文文献, 从临床应用研究和基础实验

研究两个方面对其治疗骨病的作用进行总结, 以期临床用药选择提供依据。

### 1 临床应用研究

胡敏等<sup>[1]</sup>于 1999—2004 年期间, 在昆明医科大学 (原昆明医学院, 下同) 第一附属医院采用恒古骨伤愈合剂治疗 72 例胫骨下段骨折术后患者, 并与同期采用三七伤药片治疗的 54 例患者进行比较, 结果表明, 恒古骨伤愈合剂不论在缓解术后疼

收稿日期: 2020-01-07

基金项目: 云南省高校联合面上资助项目 (2017FH001-098)。

作者简介: 马朝霞 (1984—), 女, 山东德州人, 讲师, 博士研究生, 主要从事细胞生物学及药理学研究。

痛、肿胀,还是促进骨折愈合、缩短平均临床愈合时间等方面,效果均优于三七伤药片。此外,胡敏等<sup>[2]</sup>还将1999—2003年在昆明医科大学第一附属医院收治的132例进行股骨颈骨折内固定的术后患者,随机分为恒古骨伤愈合剂治疗组 and 三七伤药片治疗组,两组患者术后半年采用股骨头坏死诊断标准评定股骨头坏死发生率,术后1年采用疼痛目测类比评分评定负重时的髋痛程度,结果显示,与三七伤药片相比,服用恒古骨伤愈合剂组的患者,股骨头坏死的发生率降低,并且股骨头坏死后患者行走时髋痛的程度减轻,表明恒古骨伤愈合剂的预防性效果优于三七伤药片。赵宏斌等<sup>[3]</sup>用恒古骨伤愈合剂治疗37例腰椎间盘突出症患者,采用前瞻性自身前后对照的方法,经过平均4年10个月的随访工作,评价恒古骨伤愈合剂治疗腰椎间盘突出症的长期疗效,结果显示,恒古骨伤愈合剂治疗腰椎间盘突出症的优良率为86.5%,表明长期疗效满意。张正彪等<sup>[4]</sup>采用手术结合恒古骨伤愈合剂的方法治疗桡骨远端粉碎性骨折及关节内骨折,结果表明,与单纯手术组相比,手术结合恒古骨伤愈合剂治疗组的患者骨折愈合快,腕关节功能恢复好。

## 2 基础实验研究

### 2.1 对骨质疏松症及骨质疏松骨折动物模型的治疗作用

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种以骨量减少,骨的微小结构改变,骨的脆性增加,容易发生骨折为特征的疾病<sup>[5]</sup>。随着老龄化社会的到来,目前全世界大约有2亿多人患有骨质疏松症,该疾病已越来越受到人们的重视。大量动物实验研究表明,恒古骨伤愈合剂能够治疗骨质疏松症及骨质疏松骨折。

#### 2.1.1 大鼠骨质疏松模型研究恒古骨伤愈合剂的作用

孙岩等<sup>[6]</sup>研究了恒古骨伤愈合剂对去势雌性大鼠OP模型的影响,将36只雌性SD大鼠随机分为对照组、手术组和给药组。手术组和给药组进行双侧卵巢切除术,对照组切除与卵巢同质量(重量)的脂肪组织。此外,给药组给予恒古骨伤愈合剂灌胃治疗,于术后进行双能射线骨密度测定。结果表明,恒古骨伤愈合剂可以提高去势雌性大鼠

的全身骨密度,延缓骨量的丢失。郑红等<sup>[7]</sup>复制大鼠OP模型,分离培养其骨髓间充质干细胞(BMSCs),并用不同质量浓度的恒古骨伤愈合剂处理BMSCs细胞,之后采用MTT法检测细胞增殖率,ELISA法检测细胞骨形成标志物OC、PINP和BALP的含量,RT-qPCR法检测转化生长因子TGF- $\beta$ 的mRNA表达水平,Western blot法检测TGF- $\beta$ 、p-Smad2/3及Smad2/3的蛋白表达水平。结果表明:与对照组相比,OP模型组BMSCs细胞增殖率降低,骨形成标志物含量降低,TGF- $\beta$ 的mRNA和蛋白表达水平降低,Smad2/3的磷酸化水平降低;与模型组比较,恒古骨伤愈合剂处理组BMSCs细胞增殖率升高,骨形成标志物含量升高,TGF- $\beta$ 的mRNA和蛋白表达水平升高,Smad2/3的磷酸化水平升高,并且恒古骨伤愈合剂组疗效呈现出剂量依赖性。因此得出结论,恒古骨伤愈合剂可以通过激活TGF- $\beta$ /Smad信号通路促进成骨细胞增殖,从而达到治疗绝经后OP的效果。

#### 2.1.2 兔骨质疏松模型研究恒古骨伤愈合剂的作用

DAI Lifan等<sup>[8]</sup>等首先将新西兰白兔随机分为假手术组(Sham组)和去卵巢组(OVX组),通过去卵巢的方法构建新西兰白兔OP模型,模型构建成功以后,再将OVX组分为模型组、雌二醇治疗组、低剂量恒古骨伤愈合剂治疗组和高剂量恒古骨伤愈合剂治疗组。并采用双能X射线吸收分析、力学评价、酶联免疫吸附试验、组织病理学评价、微电脑断层扫描等方法分别对各组的骨密度、力学性能、血清生化指标、组织学和显微结构进行检测。结果表明,与模型组相比,恒古骨伤愈合剂治疗组新西兰白兔腰椎的骨密度升高,血清磷含量升高,血清OC、PINP、TRAP5R和NTX的水平下降。说明恒古骨伤愈合剂改善了腰椎的机械性能(包括最大载荷、刚度和能量吸收能力)及其骨微结构。王素彬等<sup>[9]</sup>构建骨质疏松骨折兔模型,并用恒古骨伤愈合剂灌胃治疗,治疗24周后,治疗组的兔全身骨密度提高,血清中抑制骨形成的Dickkopf-1(DKK-1)蛋白的水平降低。吴建飞等<sup>[10]</sup>为了探讨恒古骨伤愈合剂对兔骨折愈合的影响,将12只健康雄性兔随机分成治疗组与对照组。两组兔均复制骨折模型,治疗组灌服恒古骨伤愈合剂,对照组灌服等量生理盐水,两组均连续给药5

周. 然后比较治疗前后两组兔的空腹血糖 (FPG)、三酰甘油 (TG)、体质量、骨形态发生蛋白 2 (BMP-2)、转化生长因子  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ )、血小板衍生因子 (PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 的水平. 结果表明, 恒古骨伤愈合剂可提高骨折兔 BMP-2、TGF- $\beta 1$ 、PDGF 和 bFGF 的水平, 且以上因子水平提高有利于骨折的愈合.

### 2.1.3 树鼩骨质疏松模型研究恒古骨伤愈合剂的作用

李进涛等<sup>[11]</sup>为研究恒古骨伤愈合剂对骨质疏松骨折树鼩血清雌二醇和骨代谢指标的影响, 复制了骨质疏松骨折树鼩模型, 并分为给药组 (灌服恒古骨伤愈合剂) 和对照组 (灌服生理盐水). 灌服 90 d 后, 心脏采血分离血清, 应用 ELISA 试剂盒检测血清中  $E_2$ 、OC、PINP、CTX、TRACP-5b 的含量. 结果表明, 恒古骨伤愈合剂能够引起骨质疏松骨折树鼩雌二醇和骨代谢指标的变化, 对树鼩骨质疏松及骨折模型有一定的疗效. 袁鑫等<sup>[12]</sup>研究了恒古骨伤愈合剂对骨质疏松性骨折树鼩血液生化指标的影响, 结果表明, 与对照组相比较, 模型组血清中丙氨酸氨基转移酶、肌酸激酶同工酶和  $Mg^{2+}$  的水平显著升高; 而总胆固醇、血糖的水平显著降低. 相对于模型组, 治疗组血清丙氨酸氨基转移酶、肌酸激酶同工酶和  $Mg^{2+}$  的水平降低显著; 而总胆固醇、血糖的水平明显升高. 表明恒古骨伤愈合剂能够保护骨质疏松骨折树鼩的心脏功能和肝功能. 吴超等<sup>[13]</sup>将 30 只雌性树鼩分为对照组、模型组和治疗组. 治疗组用恒古骨伤愈合剂灌胃, 模型组和对照组用等量生理盐水灌胃. 灌胃 3 个月后, 检测各组树鼩血液生理指标和脏器系数. 结果表明, 模型组白细胞数、淋巴细胞绝对值和百分率显著低于对照组, 单核细胞百分比和绝对值降低. 与模型组比较, 治疗组单核细胞和淋巴细胞的百分比和绝对值及白细胞数显著升高, 治疗组脾脏系数明显高于模型组. 说明恒古骨伤愈合剂提高了骨质疏松性骨折树鼩的免疫力. 郑红等<sup>[14]</sup>探讨了恒古骨伤愈合剂对去势骨质疏松树鼩骨细胞增殖的促进作用以及改善骨质疏松症的分子机制. 将 36 只雌性树鼩随机分为 6 组, 对照组不做处理, 骨质疏松模型组手术摘除子宫, 分别采用生理盐水灌胃处理 (负对照组), 恒古骨伤愈合剂 0.05, 0.10, 0.20 g/kg 灌胃治疗处理 (治疗组), 阿仑膦酸钠

0.01 g/kg 灌胃治疗处理 (正对照组). 10 周后处死树鼩, 收集血清. ELISA 法测定各组树鼩 BALP、OC、PINP、TRACP-5b、CTX、 $E_2$ 、TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的含量; 并分别采用 RT-qPCR 和 Western blot 法检测骨组织中 TGF- $\beta$  和 BMP-7 的表达水平. 与对照组比较, OP 模型组  $E_2$  含量下降明显, CTX、TRACP-5b、OC、PINP 和 BALP 的含量都显著上升, 恒古骨伤愈合剂治疗后, 上述现象均有改善效果, 且具有剂量依赖性; RT-qPCR 与 Western Blot 结果显示, TGF- $\beta$  和 BMP-7 的表达水平, 经恒古骨伤愈合剂治疗后都有升高趋势. 作者得出结论, 恒古骨伤愈合剂通过激活 TGF- $\beta$ /BMP-7 信号通路改善了骨质疏松症, 有效抑制骨吸收和促进骨形成.

### 2.2 恒古骨伤愈合剂治疗激素性骨头坏死

在临床上, 恒古骨伤愈合剂对股骨头坏死疗效显著. 为研究其治疗股骨头坏死的作用机制, 赵宏斌等<sup>[15-17]</sup>以小剂量大肠杆菌内毒素 (LPS) 间隔 24 h 两次静脉注射加甲基强的松龙 (MPS) 3 次肌肉注射所制作的兔股骨头坏死模型, 经恒古骨伤愈合剂治疗后取其股骨头进行免疫组化、原位杂交并提取股骨头的总 RNA 进行 RT-qPCR 实验, 研究兔股骨头内促进成骨细胞分化和增殖的细胞因子 BMP-2 基因、核心结合因子  $\alpha 1$  (*cbfa1*) 基因和血管内皮生长因子 (VEGF) 基因表达的变化情况. 喂药至第 4 周和第 8 周时, 恒古骨伤愈合剂组与模型组股骨头内 BMP-2、*cbfa1* 和 VEGF 的表达均为阴性. 喂药至第 12 周时, 恒古骨伤愈合剂组免疫组化和原位杂交结果为弱阳性, 模型组为阴性, 恒古骨伤愈合剂组股骨头内 BMP-2 mRNA、*cbfa1* mRNA 和 VEGF mRNA 的表达量分别为模型组的 3.13, 2.87, 1.14 倍. 正常兔喂药组与空白对照组比较差异无统计学意义. 作者得出结论, 小剂量 LPS 加 MPS 制作的兔股骨头坏死模型中股骨头内 BMP-2、*cbfa1* 和 VEGF 基因的表达受抑制, 恒古骨伤愈合剂可促进坏死股骨头内源性 BMP-2、*cbfa1* 和 VEGF 基因的表达, 以用药时间长者效果明显. 此外, 恒古骨伤愈合剂对正常兔股骨头内 BMP-2、*cbfa1* 和 VEGF 基因的表达无影响. 胡敏等<sup>[18-19]</sup>用上述方法复制激素性股骨头坏死兔模型, 观察恒古骨伤愈合剂干预对其股骨头组织外观、光镜观察及电镜观察改变. 结果显示, 模型组出现明

显的骨坏死灶,骨细胞变性坏死,骨髓腔内大量脂肪细胞增生、出血、毛细血管狭窄,血管内皮细胞受损;与模型组比较,恒古骨伤愈合剂组骨细胞受损程度较轻,骨小梁密度较高,空骨陷窝比率较少,骨坏死面积和髓腔内脂肪细胞数量明显减少,骨细胞变性、骨髓腔出血和狭窄程度均较轻,小梁骨坏死修复迹象明显.表明恒古骨伤愈合剂可有效促进早期激素性股骨头坏死兔模型坏死股骨头的修复.

### 3 小结

综上所述,恒古骨伤愈合剂能够通过激活 TGF- $\beta$ /Smad、TGF- $\beta$ /BMP-7 等信号通路促进成骨细胞的增殖,从而抑制骨吸收,促进骨形成,达到治疗绝经后 OP 的效果,利于骨折的愈合.恒古骨伤愈合剂可通过促进坏死股骨头内 *BMP-2*、*cbfa1* 和 *VEGF* 基因的表达,促进早期激素性股骨头坏死兔模型坏死股骨头的修复.但是恒古骨伤愈合剂治疗骨质疏松症和激素性股骨头坏死等疾病的作用机制和相关的信号通路尚有待进一步研究,以便在临床上更好地推广应用.

### 【参考文献】

- [1] 胡敏,赵宏斌,王兵,等.恒古骨伤愈合剂促进胫骨下段骨折术后愈合临床观察[J].中国中西医结合杂志,2005,25(2):160-161.
- [2] 胡敏,王兵,赵宏斌,等.恒古骨伤愈合剂预防性给药对股骨颈骨折术后半年股骨头坏死发生率及负重髋疼痛程度的影响[J].中国临床康复,2005(14):158-159.
- [3] 赵宏斌,胡敏,邱智兴,等.恒古骨伤愈合剂治疗腰椎间盘突出症37例长期疗效观察[J].云南中医中药杂志,2006,27(5):3-4.
- [4] 张正彪,王平,罗洪磊,等.手术结合中药治疗桡骨远端粉碎性骨折及关节内骨折疗效观察[J].亚太传统医药,2013,9(6):115-116.
- [5] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松症诊治指南[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2011,3(4):2-17.
- [6] 孙岩,陈冉,王小琦,等.恒古骨伤愈合剂对去势雌性大鼠骨质疏松模型的影响[J].中国骨质疏松杂志,2016,22(12):1513-1516.
- [7] 郑红,李进涛,袁鑫,等.恒古骨伤愈合剂通过 TGF $\beta$ /Smad 信号通路促进去势骨质疏松症大鼠 BMSC 增殖[J].昆明医科大学学报,2018,39(3):5-10.
- [8] DAI L F, WU H Y, YU S, et al. Effects of OsteoKing on osteoporotic rabbits [J]. Molecular Medicine Reports, 2015, 12(1): 1066-1074.
- [9] 王素彬,赵宏斌,胡敏,等.恒古骨伤愈合剂对骨质疏松性骨折兔骨密度及 DKK-1 蛋白的影响[J].中国中西医结合杂志,2015,35(8):1000-1003.
- [10] 吴建飞,占日新.恒古骨伤愈合剂对兔骨折愈合的影响[J].临床合理用药,2017,10(9):13-15.
- [11] 李进涛,郑红,李波,等.恒古骨伤愈合剂对骨质疏松骨折树鼩雌二醇和骨代谢的影响[J].昆明医科大学学报,2017,38(11):15-18.
- [12] 袁鑫,郑红,角建林,等.口服恒古骨伤愈合药对骨质疏松性骨折树鼩部分血液生化指标的影响[J].昆明医科大学学报,2017,38(7):12-15.
- [13] 吴超,唐薇,赵宏斌,等.恒古骨伤愈合剂对骨折树鼩血液生理和脏器系数的影响[J].中国比较医学杂志,2017,27(11):1-5.
- [14] 郑红,李进涛,赵宏斌,等.恒古骨伤愈合剂促进骨细胞增殖缓解骨质疏松症树鼩的分子机制[J].中药药理与临床,2017,33(4):133-136.
- [15] 赵宏斌,梁红琐,胡敏,等.恒古骨伤愈合剂促进坏死股骨头内 *BMP-2* 基因表达研究[J].中药药理与临床,2006,22(6):61-63.
- [16] 赵宏斌,胡敏,梁红琐,等.恒古骨伤愈合剂促进兔坏死股骨头内核心结合因子  $\alpha 1$  基因表达的实验研究[J].中国中西医结合杂志,2006,26(11):1003-1006.
- [17] 赵宏斌,胡敏,王维琦,等.恒古骨伤愈合剂对激素性坏死股骨头内 *VEGF* 基因表达的影响[J].中国骨伤,2007,20(11):757-759.
- [18] 胡敏,赵宏斌,董锡亮,等.恒古骨伤愈合剂对激素性股骨头坏死兔模型干预的组织外观和光镜观察[J].中国中药杂志,2010,35(21):21-25.
- [19] 胡敏,赵宏斌,钱传云,等.恒古骨伤愈合剂对兔激素性股骨头坏死模型超微结构的影响[J].中华中医药杂志,2011,26(3):486-489.