

## 疏肝祛瘀方对兔膝早期骨关节炎软骨组织形态学影响的研究\*

黄肖华, 段 戡, 黄海滨, 冯英华, 袁长深, 朱少廷

(广西中医学院第一附属医院, 广西南宁 530023)

**【摘要】**目的: 探讨疏肝祛瘀方对兔膝早期骨关节炎软骨组织形态学的影响。方法: 成年健康日本大耳白兔18只, 体重2.5~3.0Kg, 随机分为正常组、对照组、治疗组各6只, 对照组、治疗组通过结扎股静脉造成兔膝骨关节炎早期模型, 分笼饲养; 8周后, 正常组和对照组以生理盐水灌胃4周, 治疗组以疏肝祛瘀方(“膝舒汤”)汤药灌胃4周, 然后同时处死各组兔子, 取材, 观察正常组、对照组和治疗组各层软骨细胞排列及细胞形态、细胞核、细胞质等情况并进行软骨各层厚度测定。结果: 正常组与对照组之间, 对照组与治疗组之间软骨各层厚度比较 $P < 0.01$ , 说明两者之间有显著性差异。正常组与治疗组之间软骨各层厚度比较 $P > 0.05$ , 说明两者之间无显著性差异。结论: 疏肝祛瘀方汤药对兔膝早期骨关节炎软骨的厚度改变影响明显, 能改善软骨基质, 促进软骨细胞的增殖, 从而使损伤的软骨面得以修复。

**【关键词】**膝; 骨关节炎; 中医药疗法; 软骨厚度; 膝舒汤

中图分类号: R285.6 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2011)04-0022-03

在临床实践中应用我院全国名老中医朱少廷教授长期使用的治疗膝骨关节炎的专用方药“疏肝祛瘀方”(即“膝舒汤”)治疗早期膝骨关节炎, 取得了较好的效果<sup>[1]</sup>, 为进一步研究其对软骨的影响机理, 我科通过结扎股静脉建立兔膝早期骨关节炎, 然后以疏肝祛瘀方灌胃给药, 观察了关节软骨组织形态学方面的变化, 现报告如下。

### 1 材料

#### 1.1 动物

成年健康日本大耳白兔18只, 雌雄不限, 体重2.5~3.0Kg, 由广西中医学院实验动物中心提供。

#### 1.2 药品

生理盐水, 广西南宁百会药业集团有限公司生产。青霉素, 华北制药股份有限公司生产。20%乌拉坦, 中国医药集团上海化学试剂公司。

#### 1.3 仪器

切开包、灌胃器、切片机、显微光镜, 组织脱水机, 组织包埋机, 漂烘处理仪, 恒温培养箱, 石蜡切片机, Olympus摄影显微镜, Olympus CH-2光学显微镜, Olympus BX60F5 (NO. 0D03902) 荧

光显微镜图像分析系统等。

### 2 方法

#### 2.1 动物分组及造模

成年健康日本大耳白兔18只, 体重2.5~3.0Kg, 随机分为正常组、对照组、治疗组各6只, 对照组、治疗组参照陈氏<sup>[2]</sup>已成功造模的方法通过结扎股静脉造成兔膝骨关节炎早期模型, 用20%乌拉坦按4mL/Kg体重行耳缘静脉麻醉。将大耳白兔仰卧固定在兔台上, 以右腹股沟中点以下约1.0cm为中心, 作0.5cm的纵行切口, 分离股静脉, 分别在远、近端双重结扎股静脉, 在两道结扎线间将股静脉剪断, 逐层缝合皮下组织及皮肤。术后青霉素肌注抗炎3d, 分笼饲养, 一周后拆线。

#### 2.2 给药

8周后, 正常组和对照组以生理盐水30mL分早晚2次灌胃4周, 治疗组以疏肝祛瘀方(“膝舒汤”)组成: 柴胡、当归、白芍、茯苓、丹皮、羌活、防风、桃仁、红花、牛膝、川木瓜、蜈蚣等)浓缩液30mL分早晚2次灌胃4周。

#### 2.3 取材

灌胃4周后同时处死各组兔子, 切取股骨髁下

\*基金项目: 广西卫生厅计划课题 (NO: Z2008173)

收稿日期: 2011-01-15

作者简介: 黄肖华 (1971~), 男, 广西桂平人, 副主任医师, 副教授。研究方向: 骨关节伤病临床与研究。

面全层关节软骨制作病理切片。

#### 2.4 病理切片制作及染色

切取的股骨髁下面全层关节软骨标本, 经4%多聚甲醛溶液固定24~48h, 递增浓度乙醇脱水, 石蜡包埋, 间断连续切片(切片方向: 与软骨表面垂直), 厚3 $\mu$ m。苏木精-伊红(HE)染色, 光镜下进行软骨组织形态学观察。

#### 2.5 观察项目

(1) 测定软骨各层厚度, 每个标本选择一张切片通过显微镜图像分析系统, 将全层软骨区域的图像输入计算机, 每幅图像随机选取5个位置, 以潮线为界分别测量软骨非钙化层, 钙化层, 和全层(非钙化层+钙化层)厚度。

(2) 用高倍光学显微镜观察各组软骨各层细胞情况, 观察细胞形态、细胞核、细胞质等。

2.6 各组数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 通过 $t$ 检验判断各组差异有无统计学意义

### 3 结果

#### 3.1 灌胃4周后各组关节软骨各层光镜下观察结果及特点

正常组: 软骨表面光滑, 软骨浅表层、过渡层和放射层细胞均生长活跃, 细胞各层次结构清晰。潮线清晰易辨。测量软骨非钙化层及钙化层均较厚。(图1)。

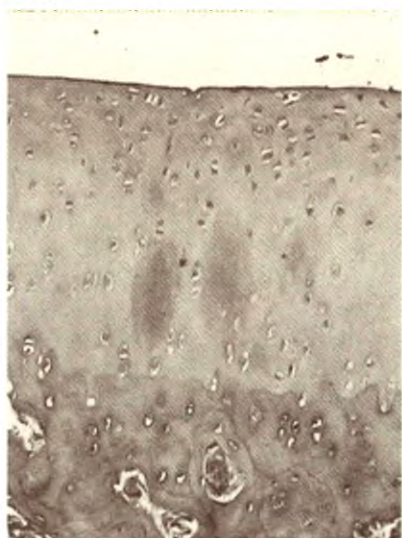


图1 正常组: 软骨表面光滑, 软骨浅表层、过渡层和放射层细胞均生长活跃, 细胞各层次结构清晰, 潮线清晰易辨; 测量软骨非钙化层及钙化层均较厚。

对照组: 软骨各层排列紊乱, 可见软骨细胞灶

性增生, 软骨陷窝结构不清, 部分软骨细胞不见软骨陷窝, 同时细胞核也变小, 有些核呈梭形, 有的细胞核浓缩, 软骨基质染色较淡; 软骨浅表层、过渡层和放射层细胞均明显减少, 各层次欠清, 潮线不清; 软骨非钙化层及钙化层均明显变薄。钙化层基质减少, 非钙化层单位视野内软骨细胞数减少, 基质增加, 软骨表面纤维化、欠光滑。(图2)。

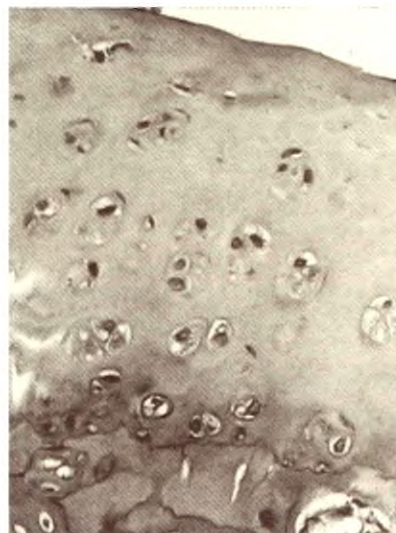


图2 对照组: 软骨各层排列紊乱, 可见软骨细胞灶性增生, 软骨陷窝结构不清, 部分软骨细胞不见软骨陷窝, 同时细胞核也变小, 有些核呈梭形, 有的细胞核浓缩, 软骨基质染色较淡; 软骨浅表层、过渡层和放射层细胞均明显减少, 各层次欠清; 潮线不清; 测量软骨非钙化层及钙化层均明显变薄。

治疗组: 软骨浅表层、过渡层和放射层软骨细胞明显增多, 各生长阶段细胞均可见, 软骨陷窝结构清晰, 各层细胞饱满, 不见核浓缩。非钙化层基质丰富。潮线清晰易辨。(图3)

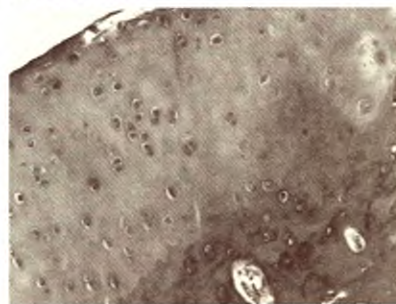


图3 治疗组: 软骨浅表层、过渡层和放射层软骨细胞明显细胞增多, 生长活跃, 软骨陷窝结构清晰, 各层细胞饱满, 不见核浓缩; 非钙化层基质丰富; 潮线清晰易辨。

### 3.2 灌胃4周后各组关节软骨厚度测定结果(表1)

表1 各组关节软骨各层厚度  $\bar{x} \pm s/\mu\text{m}$

组别	n	非钙化层	钙化层	全层
正常组	6	450.2 ± 18.1	80.9 ± 5.9	531.1 ± 18.2
对照组	6	364.6 ± 17.8	68.8 ± 6.1	433.4 ± 9.6
治疗组	6	445.16 ± 9.1	67.5 ± 6.7	512.9 ± 11.2

经 *t* 检验, 正常组与对照组软骨各层(即两组非钙化层与非钙化层, 钙化层与钙化层, 两组全层)之间厚度比较, 对照组与治疗组软骨各层之间厚度比较, 结果均为  $P < 0.01$ , 说明两者之间有显著性差异。正常组与治疗组软骨各层之间厚度比较  $P > 0.05$ , 说明两者之间无显著性差异。

## 4 讨论

### 4.1 软骨组织形态学的变化与膝骨关节炎的关系

骨关节炎是关节退行性病变, 其变化是渐进性的、多方面的, 包括早期软骨细胞肥大, 大量分泌软骨基质, 软骨胶原纤维排列紊乱, 蛋白多糖缺失及软骨胶原纤维变性等。吴弢等<sup>[3]</sup>亦认为骨关节炎的病因是由于软骨细胞功能改变引起的, 解决本病, 不是使用更新的手术或人工关节, 而是早期诊断, 并使用药物来改善软骨细胞的功能。

本实验观察到兔膝早中期骨关节炎软骨从表层到过渡层、放射层和钙化层在软骨细胞、基质及软骨厚度方面均发生了改变, 在厚度方面以非钙化层改变为主。实验中治疗组与对照组软骨厚度及细胞排列均发生了改变, 因此作者认为在软骨组织发生病理变化阶段采取有效的方式阻止软骨的结构排列发生混乱、恢复软骨组织的正常层次排列, 阻止非钙化层软骨组织继续变性、变薄, 是非手术治疗膝骨关节炎的有效方法, 即在早期骨关节炎阶段进行有效干预可能会取得良好的防治效果。

### 4.2 疏肝祛瘀方防治膝骨关节炎机理探讨

原发性膝骨关节炎多有慢性损伤史, 临床表现为膝部疼痛, 活动痛或静息痛; 局部多有轻重不等的肿胀, 属于慢性“伤筋”范畴, 其早期辨证符合血瘀证或夹有血瘀证的表现, 膝骨关节炎发生在早期与血瘀有密切关系<sup>[4]</sup>, 这一观点已为多数学者认可。本实验中, 结扎股静脉造模后造模组与未造模组兔膝软骨厚度发生的变化, 也说明了膝关节软骨的变化与血流不畅是密切相关的。

在中药治疗膝骨关节炎方面, 医学工作者进行了多方面的探讨并取得了不少的经验。从肝论治膝骨关节炎则是重点方向之一, 汪青春<sup>[5]</sup>分别运用柔肝方、补肾方和健脾方治疗小鼠膝关节炎, 发现柔肝方养血柔肝强筋, 不仅能延缓软骨降解, 还能抑制滑膜增生及炎症。说明治疗膝骨关节炎主要从肝论治可对软骨的修复产生积极地影响。本课题根据“气为血帅”的原理, 结合“肝主筋”和“膝为宗筋之府”的理论, 确立以疏肝理气和活血祛瘀并重为治则组成的疏肝祛瘀方(“膝舒方”)从临床应用<sup>[1]</sup>转向实验研究, 探讨其作用机理。方中重用理肝气化瘀血药物, 达到舒肝理气、祛膝部瘀血、消肿、通络止痛的目的。药用柴胡、当归、白芍取其理气解郁之功; 桃仁、红花重在活血祛瘀, 牛膝引药下行兼有补肝肾功效; 川木瓜具有舒筋活络、化湿之功, 与牛膝共用善走下肢, 引诸药达膝部病所; 蜈蚣入肝经, 擅于祛深部瘀滞所致之顽痛; 茯苓、丹皮、薏以仁取其利湿消肿之力; 羌活、防风祛风而利水消肿; 诸药合用, 共达疏肝理气祛膝部瘀血、消肿通络止痛之目的。正如《灵枢·本脏篇》云:“血和则经脉流行, 营复阴阳, 筋骨劲强, 关节清利矣。”通过疏肝理气、活血祛瘀、通络消肿止痛, 使膝关节筋骨复坚, 气血流畅, 关节软骨能得到充分的濡养, 从而促进关节软骨的修复。从本实验中治疗组和对照组软骨的变化也说明了疏肝祛瘀方可延缓、修复实验性兔膝早中期膝骨关节炎软骨的损伤, 为临床防治早中期膝骨关节炎提供实验参考。

#### [参考文献]

- [1] 黄肖华, 朱少廷. 疏肝祛瘀方治疗膝骨性关节炎临床观察[J]. 中医正骨, 2006, 18(3): 63.
- [2] 陈建锋, 张方健, 白书臣, 等. 联合顺次法对兔膝骨关节炎软骨 bFGF 的表达及组织形态的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2009, 17(9): 1-3.
- [3] 吴弢, 高翔, 王拥军, 等. 益气化瘀利水方干预后兔膝骨关节炎软骨中转化生长因子  $\beta_1$  的变化. 中国临床康复, 2006, 10(3): 118-119.
- [4] 谢林, 郭振球. 膝关节退行性骨关节病与血瘀证[J]. 湖南中医学院学报, 1996, 16(3): 75-77.
- [5] 汪青春, 沈培芝, 徐宁, 等. 不同方药治疗膝骨关节炎的组织形态学对比研究[J]. 中国中医骨伤科, 1998, 6(2): 1-3.

(编辑: 迟 越)

(英文摘要见第 62 页)

来针刺。

《中华人民共和国高等教育法》明确指出：“高等教育的任务是培养具有创新精神和实践能力的高级专门人才”<sup>[6]</sup>。实验教学在人才培养方面起着举足轻重的作用，是培养学生动手能力、综合运用知识能力、创新能力，提高学生综合素质的重要环节之一。为了进一步推进高校教学改革，提高教学质量和教学水平，培养高素质的中医药、针灸人才，以适应中医现代化的需要，我们应该围绕着科研工作中的一些环节给我们的启示，探寻中医药、针灸专业的综合性实验教学。由于我们现在的实验教学主要任务是基本技能训练和进行验证性实验，学生缺少中医针灸研究的系统性和整体化观念，因此我们设想在针灸专业高年级同学中开设综合性实验，在比较集中的时间段内让学生把整个实验做完，目的是使学生将所学的专业理论知识综合运用

于实践，使学生树立实验的整体观，增强学生的科研意识。

[参考文献]

- [1] 郝金凯. 针灸经外奇穴图谱 [M]. 西安: 陕西人民出版社, 1963: 225.
- [2] 国家中医药管理局. 经穴部位文献考与解剖 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1990: 131.
- [3] 郑思竟. 人体解剖学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 344.
- [4] 曾志勇. 针刺胃脘下俞和足三里穴对糖尿病家兔血糖及血浆胰高血糖素的影响 [J]. 成都中医药大学学报, 2000, 23 (2):
- [5] 中国兽医针灸学会. 中国兽医针灸学 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1984: 212.
- [6] 中华人民共和国高等教育法 [M]. 北京: 中国法制出版社: 1999.

(编辑: 迟 越)

(原文见第 22 页)

## The Effect of “Shugan Quyu Decoction” on Rabbit Knee Osteoarthritis Cartilage Histomorphology in Early Stage and Middle Stage


HUANG Xiao - hua, DUAN Kan, HUANG Hai - bin,  
FENG Ying - hua, YUAN Chang - shen, ZHU Shao - ting

(The First Affiliated Hospital of Guangxi TCM College, Nanning Guangxi, 530023, China)

[ABSTRACT] Objective: To investigate the effect of “Shugan Quyu Decoction” for knee osteoarthritis cartilage histomorphology in early stage. Methods: 18 adult Japanese white rabbits with body weight ranging from 2.5 to 3.0 kg were divided into: the normal group, the control group, the treatment group. The animal models of early stage knee osteoarthritis were made by ligating femoral vein in the control group and the treatment group and then raised alone cage. 8 weeks after the operation, rabbits were administrated with physiologic saline infused into the stomach in the normal group, the control group for 4 weeks, the treatment group with Shugan Quyu Decoction (XiShu Decoction), and cartilage cell rank, cartilage morphous, cartilage cell nucleus, cartilage cell - substance, cartilage thickness were examined. Results: The cartilage thickness had significant difference in the normal group and the control group, the control group and the treatment group ( $P < 0.01$ ); Then the cartilage thickness had no significant difference in the normal group and the treatment group ( $P > 0.05$ ). Conclusion: Herbal medicine as prescription principle “Shuganyu, Huaxiyu” can affect obviously cartilage thickness, improve cartilage matrix, promote cartilage cell generation, restore injured cartilage.

[KEY WORDS] knee; osteoarthritis; traditional chinese medicine treatment; cartilage thickness; XiShu Decoction

# 疏肝祛瘀方对兔膝早期骨关节炎软骨组织形态学影响的研究

作者: [黄肖华](#), [段戡](#), [黄海滨](#), [冯英华](#), [袁长深](#), [朱少廷](#), [HUANG Xiao-hua](#), [DUAN Kan](#), [HUANG Hai-bin](#), [FENG Ying-hua](#), [YUAN Chang-shen](#), [ZHU Shao-ting](#)  
作者单位: [广西中医学院第一附属医院, 广西南宁, 530023](#)  
刊名: [云南中医学院学报](#)   
英文刊名: [Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine](#)  
年, 卷(期): 2011, 34(4)  
被引用次数: 2次

## 参考文献(5条)

1. [黄肖华](#); [朱少廷](#) 疏肝祛瘀方治疗膝关节炎骨性关节炎临床观察[期刊论文]-[中医正骨](#) 2006(03)
2. [陈建锋](#); [张方健](#); [白书臣](#) 联合顺次法对兔膝骨关节炎软骨bFGF的表达及组织形态的影响[期刊论文]-[中国中医骨伤科杂志](#) 2009(09)
3. [吴弢](#); [高翔](#); [王拥军](#) 益气化痰利水方干预后兔膝骨关节炎软骨中转化生长因子 $\beta$ 1的变化[期刊论文]-[中国临床康复](#) 2006(03)
4. [谢林](#); [郭振球](#) 膝关节退行性骨关节病与血瘀证[期刊论文]-[湖南中医学院学报](#) 1996(03)
5. [汪青春](#); [沈培芝](#); [徐宁](#) 不同方药治疗膝骨关节炎的组织形态学对比研究 1998(02)

## 引证文献(2条)

1. [李冉](#); [白岚](#); [李树祝](#) 膝关节骨性关节炎中医治疗模式研究进展[期刊论文]-[现代中西医结合杂志](#) 2014(1)
2. [王瑞华](#); [刘武](#); [席智杰](#); [米琨](#); [王斌](#); [欧海玲](#); [蒙延雄](#); [叶星江](#); [廖章慧](#) 中医药治疗软骨损伤的实验和临床研究进展[期刊论文]-[广西中医药大学学报](#) 2013(1)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_ynzyxyxb201104007.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_ynzyxyxb201104007.aspx)