

龟鹿补骨方辨治绝经后骨质疏松症患者 Th17/ Treg 细胞因子的调节作用

刘金勇^{1,2}, 王和鸣¹, 林坚¹, 陈秀明¹, 方月龙¹, 连晓文¹, 蔡树河^{1*}

(1. 福建中医药大学附属康复医院, 福州 350003; 2. 福建省康复技术重点实验室, 福州 350003)

[摘要] 目的:观察龟鹿补骨方辨治绝经后骨质疏松症(PMO)肝肾阴虚证的临床疗效,及对 Th17/Treg 细胞因子的影响。方法:将 140 例患者按随机数字表法分为对照组和观察组各 70 例。两组均给予西医治疗。对照组口服金天格胶囊,3 粒/次,3 次/d;观察组采用龟鹿补骨方辨证治疗,1 剂/d;连续治疗 6 个月,并随访 6 个月。治疗前、治疗 6 个月和随访 6 个月采用双能 X 射线吸收检测法(DXA)测量腰椎 L₂₋₄ 骨密度和采用定量 CT(QCT)测量腰椎骨密度;治疗前、治疗 3 个月和 6 个月进行肝肾阴虚证和中国人骨质疏松症生存质量简量表(COQOL)评分;检测治疗前后雌二醇(E₂), I 型原胶原氨基端前肽(PINP),骨保护素(OPG), I 型胶原交联 C 末端肽(S-CTX),抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP)水平;检测治疗前后 CD4⁺细胞,计算 Th17 细胞和 Treg 细胞;检测治疗前后白细胞介素-17(IL-17),IL-22,IL-10 和转化生长因子-β₁(TGF-β₁)水平;进行安全性评价。结果:治疗 6 个月和随访 6 个月,两组 DXA 测量结果(腰椎 L₂₋₄ 骨密度和 T-值)和 QCT 骨密度均持续升高(P<0.01),且观察组腰椎 L₂₋₄ 骨密度、T-值和 QCT 骨密度均高于同期对照组(P<0.01);治疗 3 和 6 个月,观察组肝肾阴虚证积分和生活质量评分均低于同期对照组(P<0.01);观察组 PINP, S-CTX 和 TRACP 均低于对照组(P<0.01),OPG, E₂ 水平均高于对照组(P<0.01);观察组 Th17 细胞和 Th17/Treg 均低于对照组, Treg 细胞高于对照组(P<0.01);观察组 IL-17, IL-22 水平均低于对照组(P<0.01), IL-10 和 TGF-β₁ 水平均高于对照组(P<0.01)。未发现龟鹿补骨方相关不良反应。结论:在补充钙剂、维生素 D 等治疗基础上,龟鹿补骨方治疗 PMO 肝肾阴虚证患者,能进一步提高骨密度,升高雌激素水平,调节骨代谢标志物, Th17, Treg 及相关因子的表达,逆转 Th17/Treg 失衡状况,减轻了临床症状,提高了生活质量,临床疗效优于金天格胶囊,且安全。

[关键词] 绝经后骨质疏松症; 肝肾阴虚证; 龟鹿补骨方; 骨代谢指标; 左归丸; 细胞因子

[中图分类号] R289;R271;R271.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)24-0116-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200933

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200618.1414.004.html>

[网络出版日期] 2020-6-18 14:15

Regulatory Effect of Guilu Bugu Prescription in Treating Th17/ Treg Cell Factors of Patients with Postmenopausal Osteoporosis Based on Syndrome Differentiation

LIU Jin-yong^{1,2}, WANG He-ming¹, LIN Jian¹, CHEN Xiu-ming¹, FANG Yue-long¹,
LIAN Xiao-wen¹, CAI Shu-he^{1*}

(1. Rehabilitation Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, China;
2. Fujian Key Laboratory of Rehabilitation Technology, Fuzhou 350003, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the clinical efficacy Guilu Bugu prescription in treating postmenopausal osteoporosis (PMO) with deficiency of liver and kidney Yin based on syndrome differentiation and the effect on Th17/Treg cell factors. **Method:** One hundred and forty patients were randomly divided into observation group (70 cases) and control group (70 cases) by random number table. Both groups' patients got basic treatment of western medicine. Patients in control group got Jintiang capsules, 3 grains/time, 3 times/day.

[收稿日期] 20200604(002)

[基金项目] 中央引导地方科技发展专项(2018L3009);国家中医药管理局批准成立“南少林骨伤学术流派传承工作室”建设项目

[第一作者] 刘金勇, 硕士, 主治医师, 从事骨科疾病的临床康复工作, E-mail: 31922240@qq.com

[通信作者] * 蔡树河, 博士, 主任医师, 从事骨科疾病的临床康复工作, E-mail: 13706989977@139.com

Patients in observation group got Guilu Bugu prescription, 1 dose/day. The treatment lasted for 6 months. And the 6-month follow-up was recorded. Before treatment, at the 6th month after treatment and at the 6th month of follow-up, bone density of lumbar vertebra L₂₋₄ were detected by DXA, and Lumbar BMD were detected by QCT. Before treatment, at the 3rd and 6th month after treatment, deficiency of liver and kidney Yin and Chinese Osteoporosis-targeted quality of life questionnaire (COQOL) were scored. Before and after treatment, Estradiol (E₂), procollagen I amino terminal pro peptide (PINP), osteoprotegerin (OPG), collagen I cross linked C-terminal peptide (S-CTX), tartrate resistant acid phosphatase (TRACP), interleukin-17 (IL-17), IL-22, IL-10, transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) were detected, and CD4⁺ cells, Th17 cells and Treg cells were calculated. And the safety was evaluated. **Result:** At the 6th month after treatment and the 6th month of follow-up, DXA (bone mineral density and T-value of lumbar L₂₋₄) and QCT bone mineral density increased ($P<0.01$), and the figures in observation group were all higher than those in control group ($P<0.01$). At the 3rd and 6th month after treatment, scores of deficiency of liver and kidney Yin and quality of life were all lower than those in control group ($P<0.01$). Levels of PINP, S-CTX, TRACP, Th17 cells, ratio of Th17 and Treg, IL-17 and IL-22 were all lower than those in control group ($P<0.01$), and levels of OPG, E₂, Treg, IL-10 and TGF- β_1 were all higher than those in control group ($P<0.01$). There was no adverse reaction related to Guilu Bugu prescription. **Conclusion:** Based on the supplementation of calcium and vitamin D, Guilu Bugu prescription can further improve the bone mineral density, raise the estrogen level, regulate the expressions of bone metabolism markers, Th17, Treg and relevant factors, reverse the imbalance of Th17/Treg, relieve the clinical symptoms and improve the quality of life, with a better efficacy than that of Jintange capsule and a high safety.

[Key words] postmenopausal osteoporosis; deficiency of liver and kidney Yin; Guilu Bugu prescription; bone metabolism index; Zuoguiwan; cell factors

绝经后骨质疏松症(PMO),即 I 型骨质疏松症(OP),是由于绝经后体内雌激素水平急剧下降,成骨与破骨过程之间动态平衡破坏,骨吸收大于骨形成,使骨量降低,骨组织微结构损坏,导致骨脆性增加,骨折风险增加为特征性疾病^[1]。PMO多发生于绝经后5~10年内,约30%的绝经后妇女有PMO,而亚洲国家PMO患者骨折率高达47.3%,骨折可导致其他并发症,严重影响了患者健康^[2]。现代医学一般给予补充钙剂、维生素D,调节骨代谢药物和绝经激素治疗(MHT),取得了较显著的进步,但长期应用会带来较多不良反应,甚至增加肿瘤等疾病的风险,因此更安全有效的治疗策略仍是临床研究的方向^[3]。

本病属于中医“骨痿”,乃妇女七七之后任脉虚,太冲脉衰少,天癸竭,肾精亏虚,精血化源不足,骨枯髓减,不能滋养百骸,骨枯而萎^[2,4]。中医药作为防治PMO重要措施已经获得了广泛认可^[5],植物雌激素类中药不仅具有抗骨质疏松作用,还能改善绝经期综合征临床症状^[6],中药也能调节骨代谢,减少骨丢失,预防脆性骨折发生,减轻临床症状等等,且安全性好^[3]。本院王和鸣教授对于骨质疏松症治疗颇有心得,指出肾虚精亏,骨髓失养是骨密度降低发生骨痿主要病机,肾虚是本病发生、发展、转归

的主要原因,补肾填精是最主要治则,并创多个处方用于OP治疗^[7]。龟鹿补肾方为王教授以左归丸加减而成,治疗OP具有较好的临床疗效。近年研究发现CD4⁺细胞可通过调控破骨细胞-成骨细胞平衡干扰PMO的骨代谢,而体内的雌激素会影响CD4⁺细胞及相关因子的表达,从而调节骨代谢^[8],Th17和Treg细胞是近来发现的CD4⁺细胞分化的一对细胞亚群,对维持破骨细胞-成骨细胞平衡也起着重要作用^[9]。本研究笔者观察了龟鹿补肾方辨治PMO肝肾阴虚证的临床疗效及对Th17/Treg细胞因子的调节作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究经福建中医药大学附属康复医院伦理委员批准(批号201705016-02),来源于2018年1月至2019年7月骨伤康复科140例患者,采用SAS软件生成的随机按数字表法,分为对照组和观察组各70例。并筛选本院体检中心的20名女性绝经后骨量正常人群作为对照组。对照组年龄49~70岁,平均(56.25±5.79)岁;绝经年龄(48.91±4.56)岁;绝经年限3~9年;平均(5.92±0.48)年;体质指数(BMI)(25.19±2.41) kg·m⁻²;病程(9.54±1.14)个月。观察组年龄47~69岁,平均(56.64±

5.57)岁;绝经年龄(48.82 ± 4.73)岁;绝经年限3~10年;平均(6.04 ± 0.51)年;BMI(25.28 ± 2.47) $\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$;病程(9.79 ± 1.08)个月。两组以上一般资料比较,差异无统计学意义,具有可比性。

1.2 诊断标准 ①PMO诊断标准参照《绝经后骨质疏松症(骨痿)中医药诊疗指南(2019年版)》^[4]和《原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)》^[5]制定。绝经后女性可有骨质疏松症临床表现,双能X射线吸收检测法(DXA)测量骨密度(腰椎或髌部股骨颈或全髌)的标准差值(T),若最低部位的T值 $\leq -2.5\text{SD}$ (标准差)或定量CT(QCT)测量腰椎骨密度 $<80 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$ 可确诊。②肝肾阴虚证诊断标准参照《中药新药治疗原发性骨质疏松症临床研究技术指导原则》^[10]制定。腰膝酸痛,膝软无力,下肢抽筋,驼背弯腰,患部痿软微热,形体消瘦,眩晕耳鸣,或五心烦热,失眠多梦,舌红少津,少苔,脉沉细数。

1.3 纳入标准 ①自然绝经超过3年,并符合上述PMO诊断标准;②年龄45~70岁;③符合肝肾阴虚证辨证标准;④未发生过脆性骨折,且骨折风险预测工具(FRAX®)为低、中风险者;⑤体质量指数(BMI) $\leq 30 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$;⑥患者同意治疗与随访,并取得患者签署的知情同意书。

1.4 排除标准 ①Ⅱ型骨质疏松症,药物或疾病导致的继发性PO;②合并严重肝肾功能不全者;③合并严重心衰、恶性高血压、心律失常等心脏病者;④合并腰椎或髌部有内置物、骨软化症者;⑤合并原发性甲状旁腺功能亢进、糖尿病等内分泌疾病者;⑥合并肿瘤、代谢性疾病、精神病患者;⑦长期服用糖皮质激素或影响骨代谢的药物者;⑧近3个月使用过MHT治疗者,对本研究药物有使用禁忌者。

1.5 退出及终止标准 ①发生了严重并发症,如骨折;②发生严重不良反应;③研究中发现骨密度持续下降等病情恶化情况。

1.6 治疗方法 两组患者均按文献^[4]进行加强营养,规律适量运动,充足日照等生活方式调整;口服碳酸钙D₃咀嚼片(Ⅱ)(惠氏制药有限公司,国药准字H10950030),1片/次,2次/d;维生素D滴剂(国药控股星鲨制药有限公司,国药准字H35021450),2粒/次,1次/d,滴入口中服用;口服阿仑膦酸钠(杭州默沙东制药有限公司,进口药品注册证号H20160100),70 mg/次,1次/周;连续服用12个月。对照组口服金天格胶囊(西安金花制药厂,国药准字Z20030080),3粒/次,3次/d;观察组内服龟鹿补骨方辨证,基本药物,鹿角胶10 g^(烊服),枸杞子15 g,

龟板胶10 g^(烊服),熟地黄30 g,菟丝子15 g,山药10 g,山茱萸10 g,狗骨20 g;偏阴虚火旺(表现为五心烦热,失眠多梦、舌红少津)加知母、黄柏、丹皮各10 g;腰膝酸痛,膝软无力加淫羊藿10 g,桑寄生30 g,杜仲10 g,续断15 g;下肢抽筋加千年健15 g,骨碎补15 g,生牡蛎30 g^(先煎);兼少气、懒言,食欲下降,加黄芪30 g,党参片15 g,麸炒白术10 g;病久,疼痛明显,驼背弯腰,加红花5 g,牛膝15 g,当归10 g,姜黄10 g;1剂/d。饮片由医院中药房提供,经肖建平副主任药师鉴定合格,采用煎药机煎煮2次,混合药液至400 mL,分2袋真空包装,分早、晚2次温服。每1~2周就诊1次。两组疗程均连续治疗6个月,并随访6个月。

1.7 观察指标 ①对骨密度(BMD)的影响,采用DXA测量腰椎L₂₋₄骨密度,QCT测量腰椎骨密度;治疗前、治疗6个月和随访6个月时各评价1次。②对肝肾阴虚证的影响,中医症状评分参照文献^[10],各症状评分相加为肝肾阴虚证积分;于治疗前、治疗3个月和6个月时各评价1次。③对生活质量的影 响,采用中国人骨质疏松症生存质量简明量表(COQOL)^[11],总分0~100分,得分越低表示生活质量越好;于治疗前、治疗3个月和6个月时各评价1次。④对雌激素水平的影响,检测治疗前后雌二醇(E₂)水平,采用放射免疫法测定,试剂盒[赛默飞世尔科技(中国)有限公司,批号20190241];于治疗前后各检测1次。⑤对骨代谢指标的影响,I型胶原氨基端前肽(PINP),骨保护素(OPG),I型胶原交联C末端肽(S-CTX),血清抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP);空腹抽取肘静脉血4 mL,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测外周血PINP,OPG,S-CTX和TRACP水平,试剂盒[上海生工生物工程(上海)股份有限公司,批号分别为201904752,201904186,201904483,2019040835]。于治疗前后各检测1次。⑥对Th17,Treg细胞及相关因子的影响,采用流式细胞仪测量CD4⁺细胞水平,计算Th17细胞,Treg细胞所占比例及Th17/Treg;采用ELISA法检测白细胞介素-17(IL-17),IL-22,IL-10和转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)水平,试剂盒(南京建成生物公司,批号分别为20190836,201907151,201907493,201901063)。于治疗前后各检测1次。⑦安全性评价,记录治疗期间的不良反应,检查治疗前后心、肝、肾功能安全指标,并与药物相关性进行分析。

1.8 统计学方法 数据采用SPSS 20.0统计软件进行分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布且

方差齐性采用 t 检验, 否则采用秩和检验, 计数资料采用 χ^2 检验, 等级资料采用秩和检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者病例完成情况 对照组脱落/失访2例和剔除3例, 完成65例, 观察组脱落/失访1例和剔除3例, 完成66例。

表1 两组患者骨密度比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of bone density between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	DXA 检测结果		QCT 骨密度 /mg·cm ⁻³
			腰椎 L ₂₋₄ 骨密度/cm ²	T-值	
正常	20	—	1.190±0.126	-0.54±0.01	128.49±12.73
对照	65	治疗前	0.691±0.072 ¹⁾	-3.41±0.03 ¹⁾	73.64±6.82 ¹⁾
		治疗6个月	0.824±0.084 ²⁾	-2.38±0.03 ²⁾	88.47±9.59 ²⁾
		随访6个月	0.911±0.096 ²⁾	-1.69±0.02 ²⁾	99.22±10.76 ²⁾
观察	66	治疗前	0.689±0.074 ¹⁾	-3.45±0.03 ¹⁾	73.26±6.93 ¹⁾
		治疗6个月	0.907±0.085 ^{2,3)}	-1.82±0.02 ^{2,3)}	97.92±9.81 ^{2,3)}
		随访6个月	1.013±0.099 ^{2,3)}	-1.37±0.01 ^{2,3)}	109.15±11.24 ^{2,3)}

注: 与正常对照组比较 ¹⁾ $P < 0.01$; 与本组治疗前比较 ²⁾ $P < 0.01$; 与对照组同期比较 ³⁾ $P < 0.01$ (表4, 5同)。

2.2 两组患者肝肾阴虚证和生活质量的比较 治疗3个月和6个月, 两组患者肝肾阴虚证积分和生活质量评分均持续下降 ($P < 0.01$); 观察组肝肾阴虚证积分和生活质量评分均低于同期对照组 ($P < 0.01$)。见表2。

表2 两组患者肝肾阴虚证积分和生活质量评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of scores of deficiency of liver and kidney Yin and quality of life between two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	肝肾阴虚	COQOL
对照	65	治疗前	20.65±2.87	49.63±5.75
		治疗3个月	15.27±1.93 ¹⁾	42.52±4.81 ¹⁾
		治疗6个月	8.51±0.92 ¹⁾	23.09±2.85 ¹⁾
观察	66	治疗前	20.44±2.79	48.97±5.64
		治疗3个月	11.10±1.07 ^{1,2)}	33.59±4.26 ^{1,2)}
		治疗6个月	5.78±0.45 ^{1,2)}	17.23±2.05 ^{1,2)}

注: 与本组治疗前比较 ¹⁾ $P < 0.01$; 与同期对照组比较 ²⁾ $P < 0.01$ (表3同)。

表3 两组患者治疗前后 E₂, PINP, OPG, S-CTX 和 TRACP 的比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of changes of E₂, PINP, OPG, S-CTX and TRACP between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	E ₂ /pmol·L ⁻¹	PINP /ng·L ⁻¹	OPG /μg·L ⁻¹	S-CTX /ng·L ⁻¹	TRACP /U·L ⁻¹
对照	65	治疗前	17.52±2.24	58.37±6.12	0.97±0.12	0.51±0.06	6.27±0.79
		治疗后	18.12±2.59	30.06±4.27 ¹⁾	1.43±0.19 ¹⁾	0.35±0.04 ¹⁾	5.11±0.55 ¹⁾
观察	66	治疗前	17.64±2.28	58.25±6.17	0.98±0.11	0.50±0.07	6.25±0.73
		治疗后	21.49±2.56 ^{1,2)}	25.03±3.36 ^{1,2)}	1.84±0.24 ^{1,2)}	0.27±0.03 ^{1,2)}	4.52±0.48 ^{1,2)}

2.2 两组患者骨密度比较 与正常组相比较, 治疗前两组 DXA 测量结果 (腰椎 L₂₋₄ 骨密度和 T-值) 和 QCT 骨密度均明显下降 ($P < 0.01$); 治疗6个月和随访6个月, 两组 DXA 测量结果 (腰椎 L₂₋₄ 骨密度和 T-值) 和 QCT 骨密度均持续升高 ($P < 0.01$); 且观察组腰椎 L₂₋₄ 骨密度, T-值和 QCT 骨密度均高于同期对照组 ($P < 0.01$)。见表1。

2.3 两组患者治疗前后骨代谢指标和 E₂ 的比较 与治疗前相比较, 治疗后两组患者 PINP, S-CTX 和 TRACP 水平均有下降 ($P < 0.01$), OPG 水平升高 ($P < 0.01$); 对照组 E₂ 水平变化差异无统计学意义, 观察组 E₂ 水平升高 ($P < 0.01$); 观察组 PINP, S-CTX 和 TRACP 水平均低于对照组 ($P < 0.01$), OPG, E₂ 水平均高于对照组 ($P < 0.01$)。见表3。

2.4 两组患者治疗前后 CD4⁺, Th17, Treg 细胞变化比较 与正常组相比较, 治疗前两组患者 Th17 细胞和 Th17/Treg 均有升高 ($P < 0.01$), Treg 细胞下降 ($P < 0.01$), CD4⁺ 细胞变化无统计学意义; 与治疗前相比较, 治疗后两组患者 Th17 细胞和 Th17/Treg 均有下降 ($P < 0.01$), Treg 细胞升高 ($P < 0.01$), CD4⁺ 细胞变化无统计学意义; 观察组治疗后 Th17 细胞和 Th17/Treg 均低于对照组, Treg 细胞高于对照组, 比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表4。

表 4 两组患者治疗前后 CD4⁺, Th17, Treg 细胞变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of changes of CD4⁺, Th17 and Treg between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	CD4 ⁺ /%	Th17/%	Treg/%	Th17/Treg
正常	20	—	44.52±4.83	3.55±0.40	3.41±0.37	1.06±0.11
对照	65	治疗前	42.93±4.65	6.85±0.62 ¹⁾	1.92±0.24 ¹⁾	4.18±0.45 ¹⁾
		治疗后	43.36±4.76	4.82±0.54 ²⁾	2.93±0.32 ²⁾	1.76±0.15 ²⁾
观察	66	治疗前	43.06±4.55	6.89±0.65 ¹⁾	1.89±0.20 ¹⁾	4.21±0.42 ¹⁾
		治疗后	44.71±4.82	3.93±0.48 ^{2,3)}	3.21±0.34 ^{2,3)}	1.20±0.12 ^{2,3)}

2.6 两组患者治疗前后 IL-17, IL-22, IL-10 和 TGF- β_1 水平比较 与正常组比较, 治疗前两组患者 IL-17, IL-22 水平均有升高 ($P<0.01$), IL-10 和 TGF- β_1 水平均有下降 ($P<0.01$); 与治疗前相比较,

治疗后两组患者 IL-17, IL-22 水平均下降 ($P<0.01$), IL-10 和 TGF- β_1 水平均上升 ($P<0.01$); 观察组治疗后 IL-17, IL-22 水平均低于对照组 ($P<0.01$), IL-10 和 TGF- β_1 水平均高于对照组 ($P<0.01$)。见表 5。

表 5 两组患者治疗前后 IL-17, IL-22, IL-10 和 TGF- β_1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of levels of IL-17, IL-22, IL-10 and TGF- β_1 between two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	IL-17/ng·L ⁻¹	IL-22/ μ g·L ⁻¹	IL-10/ng·L ⁻¹	TGF- β_1 / μ g·L ⁻¹
正常	20	—	13.53±1.71	1.16±0.12	12.63±1.82	74.58±10.36
对照	65	治疗前	18.92±2.48 ¹⁾	6.95±0.74 ¹⁾	6.54±0.68 ¹⁾	46.19±5.37 ¹⁾
		治疗后	16.12±1.59 ²⁾	3.49±0.44 ²⁾	8.84±0.90 ²⁾	58.72±6.16 ²⁾
观察	66	治疗前	19.07±2.36 ¹⁾	7.05±0.78 ¹⁾	6.57±0.72 ¹⁾	45.88±5.09 ¹⁾
		治疗后	14.37±1.64 ^{2,3)}	1.81±0.22 ^{2,3)}	10.82±1.46 ^{2,3)}	65.93±7.15 ^{2,3)}

2.7 安全性评价 未发现与龟鹿补骨方相关不良反应。

3 讨论

因体内雌激素水平下降, 妇女 PMO 还存在低知晓率、预防措施采用率低的特点, 因而容易发生骨折, 可见早期的筛查、识别、预防、治疗 PMO 具有重要临床意义^[4-5]。

中医认为“任脉虚, 太冲脉衰少, 天癸竭”为绝经后期妇女生理特点, 天癸为肾之精气所化, 肾精充盈, 天癸至, 否则天癸竭。肾藏精, 精生骨髓, 髓养骨, 若肾精气不足, 骨髓化源不足, 骨髓不荣, 髓减骨枯^[4]。正如《医经精义》所言: “肾藏精, 精生髓, 髓养骨, 故骨者, 肾之合也, 髓者, 精之所生也, 精足则髓足, 髓在骨内, 髓足则骨强”, 否则“肾虚……骨枯而髓虚, 故足不任身, 发为骨痿”见《景岳全书》, 调查显示 PMO 证候均以“肾虚”为主^[13]。现代医学也证实肾精与人体内分泌调节人体骨骼的发育成熟过程具有极为相似, 补肾能够促进骨髓的造血功能, 促进血液的化生; 维生素 D 是肾主骨生髓物质基础; 补肾能够调节肠道菌群增加对钙的吸收以有效的防治 PO; 肾中精气通过天癸发挥雌激素样作用以滋养骨骼, 肾精中激素样作用能够有效地促进骨骼的发育和成熟等等^[14]。

龟鹿补骨方中熟地黄滋肾填精, 大补真阴; 龟、鹿二胶为血肉有情之品, 峻补精髓, 鹿角胶偏于

补阳, 龟板胶偏于补阴, 二者合用阴阳相生; 菟丝子、枸杞子补肝益肝、强腰膝、健筋骨, 山茱萸补肝滋肾、涩精固脱, 山药补脾益阴、滋肾固精, 狗骨强筋壮骨。共奏滋阴补肾, 填精益髓, 强筋壮骨之功。

金天格胶囊为人工虎骨粉, 能强筋健骨, 是指南推荐用于治疗 PO 肝肾阴虚证的中成药^[4-5]。本研究以金天格胶囊为阳性对照药评价龟鹿补骨方治疗 PMO 肝肾阴虚证临床疗效, 结果显示, 在补充钙剂和维生素 D 等治疗的基础上, 龟鹿补骨方能进一步提高 BMD, 升高雌激素水平, 减轻肝肾阴虚证积分, 提高生活质量, 效果优于金天格胶囊, 且安全。

OPG 和 PINP 是骨转换标志物, S-CTX 和 TRACP 骨吸收标志物, PINP 反映了骨形成活跃情况, 其表达增强可能使骨密度降低, 增加骨质疏松症的发病风险; OPG 促进成熟破骨细胞的凋亡, 抑制破骨细胞的发生, 是骨质疏松保护因子; S-CTX 反映了骨纤维的降解情况, TRACP 为由破骨细胞释放进入血液, 二者反映了破骨细胞的活性和骨吸收状况^[15-16], 动态监测骨代谢标志物可敏感反映骨代谢的动态变化。本组资料显示龟鹿补骨方具有调节 PMO 患者骨代谢标志物的作用, 从而可使骨量增加, 防治骨质疏松。

Th17, Treg 是 CD4⁺ 细胞组成部分, Th17 能扩大炎症反应和自身免疫性反应作用, Treg 具有抑制免疫应答效应, 二者的平衡是维持机体免疫能力的关

键^[9]。PMO患者由于雌激素的降低,CD4⁺细胞分化更多的Th17,即Th17偏移现象,Th17分泌IL-17,IL-22等促炎因子,可诱导破骨细胞的形成,引发或加重骨量流失^[17]。Treg细胞分泌TGF- β_1 ,IL-10,IL-4等因子,IL-10为炎症抑制因子,可抑制Th17效应因子的表达,起到抑制骨吸收的作用^[18]。TGF- β_1 能刺激间充质细胞的增殖与分化、促进成骨细胞、成软骨细胞的增殖及细胞外基质的合成作用,并抑制破骨细胞的生成及生物活性^[19]。本组资料显示龟鹿补肾方能调节Th17,Treg及相关因子的表达,促使Th17/Treg平衡,抑制了促炎因子的表达,减少了骨量丢失,提高BMD,从而起到减轻骨质疏松的效果。

综上,在补充钙剂、维生素D等治疗基础上,龟鹿补肾方治疗PMO肝肾阴虚证患者,能进一步提高BMD,升高雌激素水平,调节骨代谢标志物,Th17,Treg及相关因子的表达,逆转Th17/Treg失衡,减轻了临床症状,提高了生活质量,临床疗效优于金天格胶囊,所有观察病例无不良反应。但本研究以FRAX®评价为低、中风险为研究对象,且受于观察时间限制,没有随访骨折的发生率,将在下一步的研究随访,加入骨折的发生情况的观察,以便更好评价该方的临床价值。

[参考文献]

- [1] 刘晨,李兴勇,姚兴璋,等.绝经后骨质疏松症的流行病学概况及发病机制研究进展[J].中医正骨,2018,30(3):52-55,58.
- [2] 赵丹,施丹,史晓.围绝经期女性预防骨质疏松症研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2019,21(2):118-121.
- [3] 潘心瑶,谢欣薇,周琦,等.绝经后骨质疏松症中医药研究进展[J].中国中西医结合杂志,2019,39(9):1140-1147.
- [4] 中华中医药学会.绝经后骨质疏松症(骨痿)中医诊疗指南(2019年版)[J].中医正骨,2020,32(2):1-13.
- [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疗指南(2017)[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2017,10(5):413-443.
- [6] 赵军,刘晋.植物雌激素类中药抗绝经后骨质疏松临床研究进展[J].云南中医中药杂志,2019,40(12):77-78.
- [7] 王上增,沈锦涛.王和鸣教授治疗骨质疏松症经验总结[J].亚太传统医药,2016,12(23):77-79.

- [8] ZHANG N, GUI Y, QIU X, et al. DHEA prevents bone loss by suppressing the expansion of CD4(+) T cells and TNF- α production in the OVX-mouse model for postmenopausal osteoporosis [J]. Biosci Trends, 2016,10(4):277-287.
- [9] YOU L, CHEN L, PAN L, et al. SOST gene Inhibits osteogenesis from adipose-derived mesenchymal stem cells by inducing Th17 cell differentiation [J]. Cell Physiol Biochem,2018,48(3):1030-1040.
- [10] 国家食品药品监督管理局药品评审中心.中药新药原发性骨质疏松症临床研究技术指导原则[M].北京:中国医药科技出版社,2015:95-102.
- [11] 何藻鹏,杨德鸿,李丽.中国人骨质疏松症生存质量简明量表的编制与信效度[J].南方医科大学学报,2014,34(11):1637-1641.
- [12] JAGELAVIČIENĖ E, KRASAUSKIENĖ A, ŽALINKEVIČIUS R, et al. Relationship between the mandibular cortical index and calcaneal bone mineral density in postmenopausal women [J]. Medicina (Kaunas), 2016,52(2):125-131.
- [13] 谢雁鸣,朱芸茵,葛继荣,等.基于临床流行病学调查的原发性骨质疏松症中医基本证候研究[J].世界科学技术—中医药现代化,2007,9(2):38-44.
- [14] 谢兴文,李建国,李宁,等.基于“益肾生髓”理论探讨绝经后骨质疏松症的病机及临床治疗[J].中国中医基础医学杂志,2019,25(11):1635-1638.
- [15] 侯文芳,肖文华,洪天配.骨质疏松症相关标志物实验室检查的发展与展望[J].中华检验医学杂志,2017,40(11):835-838.
- [16] MOLDOVAN D, RUSU C, POTRA A, et al. Osteoprotegerin and uremic osteoporosis in chronic hemodialysis patients [J]. Int Urol Nephrol, 2017, 49(5):895-901.
- [17] SAMUELS J S, HOLLAND L, LÓPEZ M, et al. Prostaglandin E₂ and IL-23 interconnects STAT3 and RoR γ pathways to initiate Th17 CD4⁺ T-cell development during rheumatoid arthritis [J]. Inflamm Res, 2018,67(7):589-596.
- [18] BOZEC A, ZAISS M M. T Regulatory cells in bone remodelling [J]. Curr Osteoporos Rep, 2017, 15(3):121-125.
- [19] 韩丽萍,王相东,魏敏惠,等.补肾活血方对骨质疏松症大鼠TGF- β_1 表达影响的拆方研究[J].中国中医基础医学杂志,2013,19(3):264-265.

[责任编辑 何希荣]