

依普拉封对绝经后骨质疏松症骨密度及细胞因子的影响

张咏言 韩萍 潘作东 李莉 李书琴

中图分类号: R965 R589.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2008)02-0106-04

摘要:目的 观察激素替代物依普拉封对绝经后骨质疏松症的骨密度及细胞因子的影响。方法 选择 58 例绝经后骨质疏松症患者,随机分成两组,治疗组 32 例应用依普拉封合用钙尔奇-D 治疗 6 个月,对照组 26 例单独服用钙尔奇-D 6 个月,检测两组用药前后腰椎骨密度和骨代谢生化指标及细胞因子。结果 治疗组结果表明骨吸收的指标:甲状旁腺素(PTH)、抗酒石酸盐酸性磷酸酶(TRAP),肿瘤坏死因子 α (TNF α)和白细胞介素 6(IL-6)均明显降低;骨形成/骨转换的指标:骨钙素(BGP)、I 型前胶原羧基端前肽(PICP)显著升高;骨重建刺激因子:胰岛素样生长因子-1 (IGF-1),转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)显著升高。结论 依普拉封能明显的影响骨代谢,抑制骨吸收,促进骨形成,增加骨密度,能够有效地防治绝经后骨质疏松症,其作用机制与调节细胞因子有关。

关键词: 依普拉封; 绝经期骨质疏松症; 骨密度; 骨钙素; 细胞因子

Effect of ipriflavone on bone mass density and cytokines in postmenopausal women with osteoporosis

ZHANG Yongyan, HAN Ping, PAN Zuodong, LI Li, LI Shuqin. Department of Endocrinology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004 China

Abstract: **Objective** To evaluate the effects of ipriflavone on the bone mineral density and cytokines in postmenopausal women with osteoporosis. **Methods** Fifty-eight postmenopausal women with osteoporosis were chosen and they were randomly divided in two groups. Thirty-two of them were given ipriflavone (200 mg, tid, po) + calcium compound (calcium 600 mg, vitamin D 125 IU, qd, po) and the other twenty-six given calcium compound (calcium 600 mg, vitamin D 125IU, qd, po) for 6 months. The bone mineral density, plasma biochemical parameters and TGF- β_1 , IGF-1, TNF α , IL-6 were measured before and after the treatment. Results Bone mineral density was significantly elevated after the treatment in ipriflavone group. Compared with those before treatment, the plasma concentrations of osteocalcin(BGP), Type I procollagen C-terminal peptide (PICP), TGF- β_1 , IGF-1 were higher and the levels of plasma parathyroid hormone (PTH), Tartrate resistant acid phosphatase (TRAP), TNF α and IL-6 were lower after the treatment of ipriflavone. **Conclusions** Ipriflavone can inhibit the bone absorption, promote bone construction and increase the bone mineral density. Ipriflavone is an effective drug for prevention and treatment of osteoporosis in postmenopausal women. One of its mechanisms is associated with cytokines related to bone metabolism which were regulated by ipriflavone.

Key words: Ipriflavone; Postmenopausal osteoporosis; Bone density; BGP; Cytokine

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是绝经后妇女的常见疾病,这与绝经后妇女雌激素水平低下和年龄增长引起的骨代谢障碍等引起骨吸收加速,骨量丢失关系非常密切^[1],近来研究证实,雌激素参与调节组织细胞因子的释放,从而影响骨代谢。雌激素已成为目前治疗 OP 的首选药物之一,但其长期应用

可明显增加乳腺癌和子宫内膜癌的危险。因此,笔者于 2004 年 3 月~2006 年 3 月观察了激素替代物依普拉封(Ipriflavone)对绝经后骨质疏松妇女骨密度和胰岛素样生长因子-1 (IGF-1)、转化生长因子(TGF- β_1)等有关细胞因子的影响。

1 材料和方法

1.1 观察对象

作者单位: 110004 沈阳,中国医科大学附属盛京医院内分泌科

通讯作者: 张咏言, Email: zhangyongyancoco@yahoo.com.cn

绝经 1 年以上的妇女,无内分泌、代谢、消化系统、肝、肾、免疫、风湿、骨与关节疾病。近 1 年未服氟化物、双膦酸盐、皮质激素,两个月内未服雌激素、降钙素及大量维生素 D 不吸烟、不嗜酒的绝经后骨质疏松症患者。

1.2 分组及用药方法

将入选患者随机分为治疗组(依普拉封+钙尔奇-D)32 例,对照组(钙尔奇-D)26 例。服药方法:依普拉封片 200 mg, tid po, 钙尔奇-D(含元素钙 600 mg, 维生素 D 125 IU) 600 mg, qd, po。持续服药 6 个月。药物来源:依普拉封[正大青春宝药业有限公司, 卫生部新药临床批件(97) Xb-32 号];钙尔奇-D(苏州立达制药有限公司, 批号 7107)。

1.3 生化检测

检测项目:治疗组与对照组分别于用药前与用药后 6 个月进行对比检测。检测血浆钙(Ca)、磷(P)、碱性磷酸酶(ALP)、促黄体生成激素(LH)、促卵泡生长激素(FSH)、雌二醇(E₂)、睾酮(T)、甲状旁腺素(PTH)、骨钙素(BGP)、骨碱性磷酸酶(BALP)、抗酒石酸盐酸性磷酸酶(TRAP)、I 型前胶原羧基端前肽(PICP)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF-α)、IGF-1、TGF-β₁ 和尿钙/尿肌酐(Cr)。

1.4 仪器、检测方法和试剂

仪器:PDC-γ 免疫计数器(美国) 7170 全自动化生化检测仪(日本);EOS800 半自动生化检测仪(意大利);Bio-tek-CERES-900 酶标仪(美国)。

检测方法和试剂:ALP, BALP 生化法;P 磷钼酸直接比色法;血、尿 Ca:甲酚酞络合酮比色法;尿 Cr:碱性苦味酸法;E₂, T:放免法,试剂购于天津德普 DPC 生物技术和医学产品有限公司;TRAP 酶法,试剂购于北京中生生物工程高技术有限公司;PTH、BGP、LH、FSH、IL-6、TNF-α:ELISA 法;IGF、TGF-β₁、PICP:RIA 法,试剂购于天津四方化工有限公司生物试剂部进口试剂盒(丹麦 BioTech-A/S)。

1.5 骨密度检测

仪器:Norland-XR-36 骨密度仪(美国),精密度为 0.6%~1.0%,专人检测。

检测时间、部位:于治疗前、后 6 个月检测 BMD L₂₋₄。

结果判定:结合本仪器精度,临床效果判定取 90%可信区间, BMD L₂₋₄ 变化值 Δ: Δ = (BMD₂/BMD₁ - 1) × 100%; Δ > 2% 上升; Δ < -2% 下降; 2% > Δ > -2% 不变(检测误差), 上升和不变为有效, 下降

为无效。

1.6 统计学处理

生化指标用 $\bar{x} \pm s$ 表示;用药前与用药后 6 个月生化指标的比较,采用配对 t 检验;治疗组与对照组比较采用单因素方差分析,统计软件 SPSS 10.0 版。

2 结果

2.1 治疗组与对照组可比性比较(表 1)

表 1 治疗组与对照组可比性比较

项目	试验组(依+Ca)	对照组(Ca)	F	P 值
BMI	26.4 ± 3.6	25.5 ± 5.7	0.531	0.74
年龄	56.3 ± 3.2	58.1 ± 4.8	0.847	0.69
绝经年限	7.2 ± 2.2	7.4 ± 2.3	0.852	0.76
n	32	26		

注: P 值均 > 0.05

2.2 各组治疗前后 BMD 变化比较(表 2)

观察组治疗后 BMD 与治疗前比较差异有显著性(P < 0.05), 对照组治疗前后比较差异无显著性。

表 2 各组治疗前后 BMD 变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BMD(g/cm ²)		t 值
		治疗前	治疗后	
依普拉封组	32	0.773 ± 0.134	0.804 ± 0.137*	2.28
对照组	26	0.778 ± 0.145	0.753 ± 0.202	0.84

注: 与本组治疗前比较, * P < 0.05

2.3 两组治疗前后 Δ 的比较

依普拉封治疗组有效率(Δ 上升加不变者)为 90.3%, Δ 平均增加 3.0%。单钙组有效率 53.2%; 观察组与单钙组比较差异有显著性(χ² = 19.2, P < 0.01)。

2.4 两组治疗 6 个月前后骨代谢指标的变化(表 3)

治疗组 PTH、TRAP、TNFα、IL-6 均明显降低(P < 0.05, P < 0.01); BGP、PICP、IGF-1、TGF-β₁ 显著升高(P < 0.05, P < 0.01)。对照组以上指标用药前后差异均无显著性。

2.5 血浆 P, Ca, ALP, BALP, HL, FSH, E₂, 尿 Ca/Cr, 两组用药前与用药后对比分析, P > 0.05, 差异无显著性。

3 讨论

依普拉封, 化学名为 7-异丙氧基异黄酮, 2002 年在我国上市。依普拉封是由类黄酮合成而来, 为植物性雌激素类药物, 在人体其本身无雌激素活性, 但可增加内源雌激素活性, 促进降钙素分泌, 加强成骨细胞的活性, 因此不仅有维持骨量的作用, 而且能使骨的总钙量增加。许多资料表明:依普拉封能直接作用于骨, 抑制破骨细胞的增殖、分化、成熟, 从而

发挥抗骨吸收作用,减缓 OP 的进程,并能较好地改善骨痛症状^[2]。本实验应用依普拉封后使骨密度明显增高,而单用钙片组对骨密度无明显影响。

表 3 治疗组与对照组治疗 6 个月各生化指标对比($\bar{x} \pm s$)

项目	治疗组($n=32$)			对照组($n=26$)		
	用药前	用药后	t 值	用药前	用药后	t 值
PTH($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	28.42 $\pm$ 9.78	23.45 $\pm$ 8.0 [*]	3.66	26.58 $\pm$ 8.64	24.93 $\pm$ 8.25	0.91
TRAP($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	6.22 $\pm$ 1.3	4.73 $\pm$ 0.46 ^{**}	5.41	6.12 $\pm$ 1.3	5.65 $\pm$ 0.92	0.86
BGP($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	13.93 $\pm$ 5.87	16.19 $\pm$ 4.14 ^{**}	3.85	14.92 $\pm$ 3.68	15.78 $\pm$ 3.64	0.48
PICP($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	119.96 $\pm$ 33.74	150.47 $\pm$ 31.26 [*]	3.81	142.83 $\pm$ 27.73	138.44 $\pm$ 35.92	0.87
IL-6($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	3.76 $\pm$ 1.18	2.87 $\pm$ 1.23 [*]	1.94	3.57 $\pm$ 1.74	3.22 $\pm$ 2.05	0.88
TNF- α ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	8.22 $\pm$ 3.01	5.34 $\pm$ 1.26 ^{**}	2.13	7.82 $\pm$ 2.56	7.34 $\pm$ 1.24	0.69
IGF($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	237.20 $\pm$ 49.12	345.27 $\pm$ 84.25 ^{**}	3.36	241.17 $\pm$ 48.13	248.27 $\pm$ 53.16	0.67
TGF- β_1 ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	136.97 $\pm$ 37.96	243.45 $\pm$ 175.52 [*]	2.65	136.97 $\pm$ 37.96	243.45 $\pm$ 175.52	0.65

注 组内治疗前后比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

本实验治疗组(依普拉封片加钙组)服药后多个骨吸收的指标明显下降,而对照组没有显著变化。绝经期妇女 PTH 明显增高,这是骨吸收增加的重要因素,本实验依普拉封组用药后 PTH 明显降低。抗酒石酸盐酸性磷酸酶(TRAP)是由破骨细胞释放的,它的活性与破骨细胞活动正相关,也是评价骨吸收状态的重要指标,依普拉封组的 TRAP 亦明显降低。血清中骨钙素(BGP)、I 型前胶原羧基端前肽(PICP)均是由成骨细胞合成的,BGP 是骨组织中一种非胶原多肽物质,是反映骨转换和骨形成的特异指标;I 型胶原是反映成骨细胞活性及 I 型胶原合成速度的特异性指标。本实验依普拉封组用药后 BGP、PICP 显著升高。此结果说明依普拉封可抑制骨吸收,促进骨形成,有利于治疗骨质疏松,维持骨量。

雌激素是维持人体骨吸收、形成平衡的重要因素,雌激素可直接与雌激素受体(ER)结合,活化靶基因转录,引起靶细胞的快速反应^[3]。近年的细胞学研究证实雌激素结合成骨细胞(OCs)内 ER 促使其分泌胶原酶,释放细胞因子和生长因子发挥骨形成作用;或通过 ER 途径直接作用于破骨细胞(OCs)前体或者成熟的 OCs,抑制 OCs 的分化、成熟及其活性,促使 OCs 凋亡,从而减少 OCs 数量,减弱骨吸收效应。另一方面 OCs 的分化和活化受多种细胞因子如单核集落刺激因子(M-CSF)、转化生长因子 β (TGF- β)、白细胞介素(IL) -1 和-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 等的调节。

最近研究表明绝经后 OP 骨质疏松与免疫反应密切相关,T 细胞产生的 TGF- β 可以调节雌激素以维持骨量^[4]。实验表明:TGF- β 具有潜在免疫抑制作用,发挥抗活跃 T 细胞增殖作用,能阻止单纯 T 细胞向成熟 T 细胞的转化,减少骨量丢失。TGF- β_1

可直接与雌激素或者与 ER 复合物结合到雌激素反应元件上而发挥作用。有数据显示:外源的 TGF- β 能降低体内破骨细胞(OCs)数量。本实验发现依普拉封组 TGF- β_1 明显高于单纯钙尔奇 D 组。

胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 是调节间质细胞生成的因子,对参加骨转化的所有细胞都有刺激分裂和启动分化的作用,尤其对成骨细胞的数目和功能起重要的调节作用。对成骨细胞的复制和骨基质(胶原和非胶原蛋白)的形成有很强的刺激作用,是骨重建的重要调节因子。依普拉封片治疗后 IGF-I 明显增加,证明依普拉封促进骨形成作用^[5] 与 IGF-I 增加有关。

有实验显示 雌激素减少可导致相应的免疫功能增强^[6],活跃的 T 细胞产生的 TNF- α 增多,TNF 促进 OCs 的形成和骨重吸收,最终发生骨质疏松。而缺乏或者对 TNF 不敏感的大鼠可保护去卵巢后(OVX)诱导的骨量丢失^[7]。IL-6 是 OCs 生成的重要细胞因子,临床试验发现:血清中 IL-6 的水平是预测绝经后妇女骨量丢失的一个指标。有报道^[8] 类风湿关节炎的妇女绝经后给予 ERT,血中 IL-6R 的水平显著降低。此外,拮抗 IL-6 后或者封闭大鼠中 IL-6 基因,可阻止骨髓中性粒细胞和巨噬细胞增殖的上调节,阻止骨小梁中 OCs 的增加,同时保护激素依赖的骨量丢失。本实验显示依普拉封可明显使 TNF- α 和 IL-6 降低。

综上所述,绝经后雌激素水平下降是导致 OP 发病的重要原因,免疫系统和细胞因子也参与骨代谢。本实验显示,依普拉封为雌激素类似物,其治疗绝经后骨质疏松症的机制与调节细胞因子有关,能降低骨转换,抑制骨吸收,可有效的预防和治疗绝经后 OP。

【 参 考 文 献 】

- [1] Lane NE. Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. Am J Obstet Gynecol, 2006,194(2 Suppl) :S3-S11.
- [2] 张东萍,丁英儿,张洪. 依普黄酮治疗绝经期骨质疏松症 60 例. 临床药物治疗杂志,2005,14(12) :86-87.
- [3] Albagha OM, Pettersson U, Steward A, et al. Association of oestrogen receptor alpha gene polymorphisms with postmenopausal bone loss, bone mass, and quantitative ultrasound properties of bone. J Med Genet, 2005, 42(3) :240-246.
- [4] Bertoldo FD, Agrumal L, Furlan F, et al. Transforming growth factor beta gene polymorphism, bone turnover, and bone mass in Italian postmenopausal women. J Bone Miner Res, 2000, 15(4) :634-639.
- [5] Ohlsson C, Jansson JO, Isaksson O, et al. Effects of growth hormone

and insulin like growth factor-1 body growth and adult bone metabolism. Curr Opin Rheum, 2000, 12 :346-381.

- [6] Stopinska-Gluszak U, Waligora J, Graela T, et al. Effect of estrogen/progesterone hormone replacement therapy on natural killer cell cytotoxicity and immunoregulatory cytokine release by peripheral blood mononuclear cells of postmenopausal women. J Reprod Immunol, 2006, 69(1) :65-75.
- [7] Ryan MR, Shepherd R, Leavey JK, et al. An IL-7-dependent rebound in thymic T cell output contributes to the bone loss induced by estrogen deficiency. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(46) :16735-16740.
- [8] Sugiyama T. Involvement of interleukin-6 and prostaglandin E₂ in periarticular osteoporosis of postmenopausal women with rheumatoid arthritis. J Bone Miner Metab, 2001, 19(2) :89-96.

(收稿日期:2007-07-20)