

· 论 著 ·

不同双磷酸盐药物在联合“骨康灵”治疗中对股骨头坏死的疗效研究

高克加^{1*} 舒怡¹ 肖梅芳² 蔡瑾¹ 梅小刚¹ 叶智卫¹ 张芬芳¹ 朱吕佶¹ 赵国定²

1. 上海市黄浦区中心医院核医学科 200002

2. 上海市黄浦区中心医院中医内科 200002

中图分类号: R817.1, R817.1R243 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 09-1038-06

摘要: **目的** 探讨不同双磷酸盐药物联合“骨康灵”治疗兔股骨头无菌性坏死 (ANFH) 模型的疗效分析。**方法** 采用肌肉注射地塞米松磷酸钠方法制作 ANFH 动物模型; 制作动物模型成功后, 将实验兔设为 A 组 (正常对照组)、B 组 (ANFH 对照组)、C 组 (“⁹⁹Tc-MDP”治疗组)、D 组 (“阿仑膦酸钠”治疗组)、E 组 (“骨康灵”治疗组)、F 组 (“⁹⁹Tc-MDP”联合“骨康灵”治疗组) 和 G 组 (“阿仑膦酸钠”联合“骨康灵”治疗组), 疗程为 16 周, 后比较各组之间骨密度、影像学及生化指标变化并评价疗效。采用 SPSS17.0 软件进行统计学处理。**结果** ANFH 模型组与正常组比较显示: 骨组织病理学、^{99m}Tc-MDP 骨显像, 骨密度、骨生物力学、骨形态计量、ALP、BGP 均有明显差异 ($P < 0.01$)。经过不同药物联合治疗后, C、D、E、F、G 组经治疗后与 B 组相比, 骨组织病理学、^{99m}Tc-MDP 骨显像, 骨密度、骨生物力学、骨形态计量、ALP、BGP 均比 B 组有有明显示学意义; 疗效评判结果显示: F 组为显效基本接近 A 组, C 组、G 组和 D 组均为有效, 但 E 组疗效相对不明显。**结论** 药物“⁹⁹Tc-MDP”联合联合“骨康灵”治疗骨质疏松效果优于其他药物治疗; 因此, 中草药联合“⁹⁹Tc-MDP”可能成为治疗骨质疏松的有效治疗方法。

关键词: ANFH; ⁹⁹Tc-MDP; 阿仑膦酸钠; 骨康灵; 治疗**Experimental study on the therapeutic effect of Gukangling combined with different bisphosphonates on aseptic necrosis of the femoral head**GAO Kejia¹, SHU Yi¹, XIAO Meifang², CAI Jin¹, MEI Xiaogang¹, YE Zhiwei¹, ZHANG Fenfang¹, ZHU Lvjie¹, ZHAO Guoding²

1. Department of Nuclear Medicine

2. Department of Internal Medicine of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Huangpu District Central Hospital, Shanghai 200002, China

Corresponding author: GAO Kejia, Email: gaokejia@sohu.com

Abstract: **Objective** To investigate the effect of 2 types of bisphosphonates combined with Gukangling decoction on the treatment of aseptic necrosis of the femoral head (ANFH) in a rabbit model. **Methods** Animal experiment included 2 stages, model establishment and grouping therapy. In the first stage, rabbit ANFH model was established by intramuscular injection of dexamethasone (DX) for 8 weeks. After 8 weeks, bone histopathology, bone mineral density (BMD), bone biomechanics, X-ray, CT, region of interest ratio (ROI ratio) on ^{99m}Tc-MDP bone scans, and serum bone alkaline phosphatase (BALP) and osteocalcin (BGP) were detected and analyzed to evaluate the successful establishment of the rabbit ANFH model. In the second stage, rats were divided into group A (normal control), group B (ANFH control), group C (ANFH treated with ⁹⁹Tc-MDP), group D (ANFH treated with alendronate sodium), group E (ANFH treated with Gukangling decoction), group F (ANFH treated with ⁹⁹Tc-MDP and Gukangling decoction), group G (ANFH treated with alendronate sodium and Gukangling decoction). After 16-week treatment, the above indexes were detected and analyzed to evaluate the therapeutic effect. Statistic analysis was performed using SPSS 17.0. **Results** Histopathology results in the first stage demonstrated that the trabeculae displayed regularly without bone destruction in rats of group A. However, in group B the bone trabeculae were sparse and ruptured. BMD and biomechanical

parameters were declined. ^{99m}Tc -MDP was significant uptaken at the femoral head in and BALP and BGP increased, indicating the rabbit model of ANFH was established successfully. In the second stage, histopathology results were similar to the first stage in group A and B. Bone trabeculae were significantly restored in group F, almost similar to group A. Bone trabeculae were also restored in group C, D, and G comparing to those in group B. In group E, density of bone trabeculae slightly increased, while the trabecular bone repair was not obvious. Results of BMD, bone morphology, bone biomechanics, biomechanical parameters, femoral head ROI ratio on ^{99m}Tc -MDP bone scan, BALP, BGP, and bone mineral deposition in different groups changed in various degrees. Relative efficacy evaluation results showed that group F was markedly effective, group C, D, and G were effective, but group E was not obviously effective. **Conclusion** ^{99m}Tc -MDP combined with Gukangling decoction shows markedly therapeutic effect, and the maximal effect is achieved in group F, indicating that ^{99m}Tc -MDP combined with right recipe of Chinese herbal medicine may have great value in the treatment of ANFH.

Key words: ANFH; ^{99m}Tc -MDP; Alendronate sodium; Gukangling; Therapy

股骨头无菌性坏死 (Avascular necrosis of the femoral head. ANFH) 是难治性骨关节病的一种, 不易自身痊愈和恢复^[1], 而活动受限和疼痛是严重影响生活质量的因素, 目前国内尚没有较明显有效的保守治疗方法。有效的治疗关键是提高骨密度, 增强骨生物力学, 探讨应用双磷酸盐联合中医方药“骨康灵”治疗兔 ANFH 模型^[2], 分析在“骨康灵”参与下, 分别联合两种双磷酸盐治疗后对骨组织形态、骨力学改变的结果其价值。

1 资料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物来源于上海市松江区车墩实验动物良种场, 提供的健康试验用新西兰兔制作动物 ANFH 模型; 饲养动物和动物实验在交通大学医学院附属第六人民医院动物实验室进行实验操作。

1.1.2 放射性骨显像剂“ ^{99m}Tc -MDP” (锝-99-m-亚甲基二磷酸钠) 由上海欣科药业有限公司提供; 治疗药物“ ^{99m}Tc -MDP” (锝-99-亚甲基二磷酸钠) 由成都云克药业责任有限公司提供, 其中 A 瓶为 ^{99m}Tc 液 5.5 $\mu\text{g}/5\text{ ml}$ /瓶, B 瓶 MDP 为 5 $\text{mg}/\text{瓶}$; “氨基二磷酸盐” (阿仑膦酸钠) 由默沙东 (意大利) 公司美国默克公司分部提供 70 $\text{mg}/\text{片}$; “地塞米松磷酸钠” 针剂 (DX) 5 $\text{mg}/1\text{ ml}/\text{支}$, 由辰欣药业股份有限公司生产; 中药“骨康灵”由上海市黄浦区中心医院中医内科长期用于治疗骨质疏松症的经验处方, 以中草药灸黄芪、骨碎补、鹿角片、红花等味药为主要成分组成; 盐酸四环素由华美生物工程公司提供; 钙黄绿素 ($\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_{13}$, 分析纯) 由上海三爱思试剂有限公司提供。

1.1.3 购置雌性新西兰实验兔 63 只, 平均体重 $2.5 \pm 0.16\text{ kg}$, 在动物实验室适应性饲养 2 周后再进行动物实验。

1.1.4 检测仪器设备: 动物骨密度测定仪 (双能 X 线骨密度仪 LUNAR. DXP-L. USA); 骨生物力学测定 (骨力学测试仪 INSTRON-5543. USA); 核素骨骼 SPECT 显像和 CT 摄片 (SPECT/CT, PRECEDENCE, 美国飞利浦公司), 使用低能通用平行孔准直器。四环素双标记采用树脂包埋样本, 不脱钙切片 (切片机型号: LEICA Sp1600), 荧光显微镜 (ZEISS LSM710, 德国); X 线摄片、病理、及生化仪均为常规设备。

1.2 方法

为分析“阿仑膦酸钠”、“ ^{99m}Tc -MDP”和各与“骨康灵”联合治疗的疗效, 将动物试验分为制作 ANFH 动物模型和分组治疗二个阶段。

1.2.1 第一阶段: 按数字随机形式设置实验兔并设组: 分为正常组、ANFH 组和第二阶段的试验兔分组; A 组 (正常组)、B 组 (ANFH 组)、C 组 (“ ^{99m}Tc -MDP”治疗组)、D 组 (“阿仑膦酸钠”治疗组)、E 组 (“骨康灵”治疗组)、F 组 (“ ^{99m}Tc -MDP”联合“骨康灵”治疗组)、G 组 (“阿仑膦酸钠”联合“骨康灵”治疗组), 各组 7 只。经过“地塞米松磷酸钠”针剂 (DX) 肌肉注射后检测正常组、ANFH 组的骨病理学及相关指标检测, 在证实 ANFH 成立后, 才可进入下阶段的试验。第二阶段: 开始对 C 组、D 组、E 组、F 组、G 组进行治疗以及计划的实验室检测, 治疗的疗程为 16 周。

1.2.2 参照资料制作 ANFH 动物模型^[3,4] (见表 1)。在连续 8 周后经实验室数据证实 ANFH 模型成立后, 然后进入第二阶段的试验, 并对 B、C、D、E、F、G 组继续维持 DX 注射, 但用量减半, 直至试验结束。各组治疗药物均按成人常规剂用量的比例给药, “ ^{99m}Tc -MDP”治疗方法经耳静脉推注治疗; “阿仑膦酸钠”用水溶解后清晨给实验兔采用软管喂服; “骨康灵”方剂采用人工进行煎制, 每帖加水

2 000 ml,煮开后,再微火煎熬 40 ± 5 min 后将药汁滤出(滤出量约为 100 ml)。于上午 9 ~ 10 点钟期间,用针筒接塑料管将“骨康灵”药汁注入实验兔口

腔喂服;联合治疗组的用药量和给药方法参照上述单种给药步骤、方法进行治疗。

表 1 制作 ANFH 的动物模型和治疗方法:

Table 1 Establishment of the ANFH animal model and method of therapy

组别	n (只)	实验兔适应性饲养 2 周(不使用药物)	第一阶段:制作动物模型期 肌肉注射 DX,持续 8 周)	无治疗	制作模型 第 8 周末	第 9 周
正常组	7	/	肌注 0.9% 生理盐水 2 ml,每周二次	/	进行各项实验室检测	处死
ANFH 组	7	/	肌注 DX 3 mg/kg,,每周二次	/	进行各项实验室检测	处死
A 组	7	/	肌注 0.9% 生理盐水 2 ml,每周二次	/	/	保留
B 组	7	/	肌注 DX 3 mg/kg,,每周二次	/	/	保留
C 组	7	/	肌注 DX 3 mg/kg,,每周二次	/	/	保留
D 组	7	/	肌注 DX 3 mg/kg,每周二次	/	/	保留
E 组	7	/	肌注 DX 3 mg/kg,每周二次	/	/	保留
F 组	7	/	肌注 DX 3 mg/kg,每周二次	/	/	保留
G 组	7	/	肌注 DX 3 mg/kg,每周二次	/	/	保留

组别	n (只)	第二阶段:治疗期肌肉 维持注射 DX,持续 16 周	治疗期 (第 1 ~ 16 周)	处死前 第 2 周	处死前 第 4 天	第 25 周
A 组	7	肌注 0.9% 生理盐水 2 ml,每周一次	/	腹腔内注射四环素	腹腔内注射钙黄绿素	处死
B 组	7	肌注 DX 3 mg/kg,每周一次	/	腹腔内注射四环素	腹腔内注射钙黄绿素	处死
C 组	7	肌注 DX 3 mg/kg,每周一次	⁹⁹ Tc-MDP(静脉推注)	腹腔内注射四环素	腹腔内注射钙黄绿素	处死
D 组	7	肌注 DX 3 mg/kg,每周一次	阿伦膦酸钠(口服)	腹腔内注射四环素	腹腔内注射钙黄绿素	处死
E 组	7	肌注 DX 3 mg/kg,每周一次	骨康灵(口服)	腹腔内注射四环素	腹腔内注射钙黄绿素	处死
F 组	7	肌注 DX 3 mg/kg,每周一次	⁹⁹ Tc-MDP + 骨康灵	腹腔内注射四环素	腹腔内注射钙黄绿素	处死
G 组	7	肌注 DX 3 mg/kg,每周一次	阿伦膦酸钠 + 骨康灵	腹腔内注射四环素	腹腔内注射钙黄绿素	处死

1.2.3 实验室检测项目:病理骨组织学、骨密度(分别采用整体股骨和单个椎体进行检测,g/cm²)、骨形态计量(骨小梁体积%)、生物力学试验(分别以股骨三点弯曲、腰椎压缩方法、最大压缩载荷试验,单位为牛顿 N)、核素骨骼显像股骨头 ROI 比值(此显像是一种成骨性的功能性显像,升高是成骨需求的标志,降低显示骨吸收得到改善,显像中放射性分布所感兴趣的区域称为 RIO,取骨骼显像中股骨头部位与摄取骨骼显像剂较稳定、最低的部位第四尾椎之比值)、X 线、CT 摄片以及血清骨碱性磷酸酶(BALP)、骨钙素(BGP)。治疗结束前第 14 天对各组实验兔腹腔内注射盐酸四环素(30 mg/kg),间隔 10 天再次给予腹腔注射钙黄绿素(30 mg/kg),应用四环素双标记检测方法来了解实验兔成骨性骨转换情况^[5,6]。

对动物模型的评价:ANFH 模型必须股骨头病理骨细胞学骨小梁排列不规则、稀疏,存在明显骨小梁断裂、缺损;骨密度、骨形态计量、生物力学核素⁹⁹Tcm-MDP 骨骼显像 ROI 比值与正常组相比较呈明显降低(降低值>5%以上)、血清 BALP、BGP 明显增高(增高值>15%以上),X 线、CT 摄片隐见骨小梁存在稀疏现象。

1.2.4 治疗组相对疗效的评判:显效:在 B 组模型的基础上,以骨细胞学、骨密度、生物力学等指标都有所提高,病理见骨小梁断裂、破坏状态有所得到修复,骨小梁增多、增粗;骨密度、骨形态计量、生物力学增加>5%,^{99m}Tc-MDP 骨骼显像 ROI 比值降低>5%,血清 BALP、BGP 在原来的基础上降低>15%,四环素双标记值越接近正常组,X 线、CT 摄片稀疏现象改善;

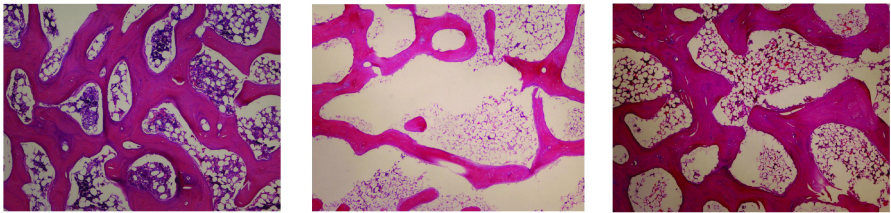
有效:骨细胞学、骨密度、生物力学指标中有一项得到改善,病理骨组织学骨小梁增粗,骨小梁断裂相对得到修复,骨密度、骨形态计量、生物力学升高<5%,>0%,^{99m}Tc-MDP 骨骼显像 ROI 比值降低<5%,>0%,血清 BALP、BGP 在原来的基础上降低<15%,>0%,四环素双标记值有矿盐沉积,X 线、CT 摄片基本无改变;

无效:在 B 组模型的基础上经治疗,没有改变或加重。

1.2.5 统计学处理:采用 SPSS13.0 软件分析数据,所得数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数差比较采用 *t* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

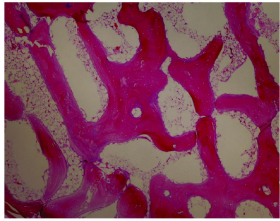
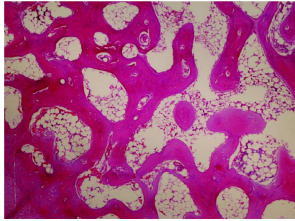
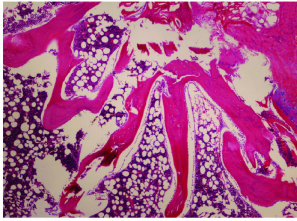
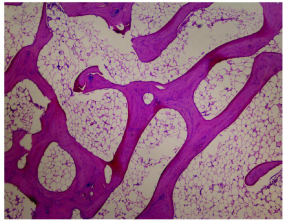
8 周后处死第一阶段的正常组和 ANFH 模型



A、正常组骨小梁排列均匀、规律
Bone trabeculas in group A were uniform and regular

B、股骨头坏死组骨小梁排列稀疏、断裂
Bone trabeculas in group B were sparse and ruptured

C、99Tc-MDP治疗组骨小梁增粗
Bone trabeculas in group C were thickened after 99Tc-MDP treatment



D、阿伦膦酸钠治疗组在ANFH组的基础上骨小梁密度增加
The density of trabeculas in group D (ANFH) was increased after alendronate sodium treatment

E、骨康灵治疗组骨小梁略增粗、断裂消失
Bone trabeculas in group E were slightly thickened and the ruptures were disappeared after GuKangLing decoction treatment.

F、99Tc-MDP联合骨康灵治疗组骨小梁增粗明显，骨密度增加
Bone trabeculas in group F were markedly thickened and the density was also increased after treatment by 99Tc-MDP and GuKangLing decoction

G、阿伦膦酸钠联合骨康灵治疗组在阿伦膦酸钠治疗组基础上骨小梁增粗，骨密度有所增加
Bone trabeculas in group G were thickened and the density was also increased after treatment by alendronate sodium and gukangling decoction compared to group D

图1 A、B、C、D、E、F、G 组股骨头病理切片 (HE 染色 10 × 40)

Fig. 1 Pathohistology structure of femoral head in different groups (HE dyeing 10 × 40)

组,病理细胞学显示:正常组实验兔骨小梁排列规则、均匀,无骨组织破坏状态;而 ANFH 组实验兔骨小梁排列稀疏,存在较明显的骨小梁断裂现象,骨小梁断裂间存在空洞和脂肪组织填充,骨母细胞不宜在镜视野中发现,呈骨组织明显破坏形态。X 线和 CT 摄片示 ANFH 模型组的骨小梁较正常组有所稀疏。^{99m}Tc-MDP 骨骼显像显示 ANFH 模型组实验兔股骨头摄取放射性 ROI 值明显较正常组增强。ANFH 模型组的骨密度、骨形态计量、生物力学与正常组相比较呈明显降低(P 值均 <0.01),^{99m}Tc-MDP 骨骼显像 ROI 比值、血清 BALP、BGP 明显增高(P 值均 <0.01),可见二组间试验结果差异明显,证明本次实验制作兔 ANFH 动物模型成立。

第二阶段试验:进行与第一阶段相似的实验室检测,各组间的试验结果也分别存在不同程度的差异。在病理切片中显示:A 组和 B 组的骨组织病理形态学与第一阶段的正常组和 ANFH 模型组的结果基本相似,显示第二阶段 ANFH 模型成立。其他治疗组实验兔经治疗后病理形态学显示为:F 组股骨头的骨组织形态明显改善,在 B 组的基础上修复程度基本接近 A 组;C 组、G 组、D 组的骨小梁形态也有较明显的修复,骨小梁排列密度增加并见有所增粗,骨小梁断裂现象消失,但差于 F 组;E 组的病

理骨组织改善不明显,在 B 组的基础上骨小梁排列密度有所增加和增粗,已基本无骨小梁断裂现象(见病理图片 1)。核素骨骼显像均可见 B、C、D、E、F、G 组的股骨头部位摄取放射性骨骼显像剂^{99m}Tc-MDP 呈不同程度的增强明显高于 A 组,相比较,仅见 F 组经治疗后的股骨头摄取放射性略微降低。各组的骨密度、生物力学、骨形态计量、核素骨骼显像的比值以及血清 ALP、BGP、四环素双标记试验检测结果均存在不同程度的差异(见表 2),但在各组间的 X 线摄片、CT 摄片差异不明显,仅见 B 组、D 组、E 组实验兔间略有骨小梁稀疏现象,可能与试验兔骨组织比较小有关。

在饲养过程中,B 组和 E 组各有 1 只实验兔分别于第 10、13 周时因腹泻死亡,其他实验兔的一般情况尚较正常。根据治疗 16 周实验室数据统计,相对疗效评判结果:各治疗组与 ANFH 对照组(B 组)比较,F 组为显效;C 组、G 组和 D 组均为有效;E 组虽然在骨密度、生物力学实验结果改善不明显,但在骨形态计量、核素骨骼扫描以及血清 BALP、BGP 也有所改善。

3 讨论

中草药或常规的双磷酸盐药物或者中西医结合

表 2 ANFH 动物模型实验室检测结果

Table 2 Experimental results of the ANFH animal model

组别	骨密度(g/cm ²)		骨生物力学(最大压缩载荷,N)		骨形态计量(%)	四环素试验(L4)(10 ⁻² /10d)	核素骨显像(%)	血清 BALP(30 ~ 120 lu/L)	血清 BGP(0.0018 ~ 0.0084 ug/L)
	左股骨头	L-4	左股骨头	L-4					
正常组 (n = 7)	0.255 ± 0.020	0.245 ± 0.024	424.061 ± 79.480	635.289 ± 125.356	112.954 ± 20.096	/	4.870 ± 1.131	25.857 ± 7.603	110.143 ± 32.992
ANFH 组 (n = 7)	0.209 ± 0.042	0.171 ± 0.027	322.468 ± 46.763	383.482 ± 73.359	65.174 ± 8.827	/	6.950 ± 0.666	55.143 ± 19.583	164.429 ± 14.661
A 组 (n = 7)	0.264 ± 0.044	0.253 ± 0.025	441.725 ± 85.854	640.545 ± 155.384	132.240 ± 25.958	0.235 ± 0.021	4.726 ± 1.156	21.571 ± 8.538	108.286 ± 24.116
B 组 (n = 6)	0.183 ± 0.045	0.160 ± 0.015	356.694 ± 38.282	412.131 ± 54.972	60.633 ± 18.041	0.193 ± 0.019	7.379 ± 0.817	57.571 ± 9.251	171.000 ± 16.909
C 组 (n = 7)	0.231 ± 0.018	0.222 ± 0.019	390.488 ± 78.249	499.714 ± 106.564	85.611 ± 24.225	0.230 ± 0.097	6.595 ± 1.001	28.714 ± 5.191	117.714 ± 28.147
D 组 (n = 7)	0.223 ± 0.028	0.206 ± 0.025	371.901 ± 76.698	436.266 ± 44.269	81.703 ± 14.331	0.216 ± 0.018	6.693 ± 0.886	37.714 ± 16.113	147.613 ± 21.103
E 组 (n = 6)	0.209 ± 0.012	0.180 ± 0.030	337.474 ± 76.558	404.969 ± 68.117	67.839 ± 28.242	0.194 ± 0.014	7.132 ± 1.129	49.286 ± 7.499	151.571 ± 22.618
F 组 (n = 7)	0.261 ± 0.026	0.232 ± 0.029	428.055 ± 68.135	590.662 ± 89.243	111.830 ± 28.198	0.241 ± 0.009	6.667 ± 0.946	22.000 ± 16.850	108.714 ± 11.354
G 组 (n = 7)	0.230 ± 0.037	0.211 ± 0.020	377.402 ± 75.986	457.344 ± 170.351	88.924 ± 16.862	0.224 ± 0.025	6.684 ± 0.683	32.714 ± 14.326	136.286 ± 14.093

注:在第二阶段试验中,C 组、D 组、E 组、F 组、G 组的核素骨显像与 B 组比差异不明显;除 E 组外,各组其他各项检测指标与 B 组比较 P 值均 < 0.05

Note: Femoral head ROI ratios were different between group B and group C, D, E, F, G but statistical significance was not achieved. Other indexes in all treatment groups were significantly different compared to those in group B (P < 0.05), except group E

治疗股骨头无菌性坏死 (ANFH) 均有所报道,但疗效不一,都未达到所期望的骨小梁修复的疗效,是目前治疗的难题。ANFH 是因受到某些因素的诱发,导致股骨头部位血管供血受到影响而造成股骨头区域缺血性坏死、骨小梁和骨髓等的空洞,最终导致股骨头塌陷,是骨科常见的顽症之一^[7]。其病程进行性发展,疼痛和活动受限的症状能够严重地影响生活质量,而且,部分患者可能因因一些疾病或个体因素而不适应手术治疗或对手术治疗往往存在恐惧感,所以对有效的非手术性治疗期望值高。虽然目前治疗 ANFH 的方法较多,其中也有采用中西医结合治疗的方法,但疗效率尚不理想,应用核医学的靶向性药物结合中草药治疗 ANFH 的方法将是一种新的方法探讨。

双膦酸盐类的药物能够与骨钙流失加快的骨损伤部位发生特异性结合的生理特点并达到抑制破骨细胞的活性功能,而“阿仑膦酸钠”和“⁹⁹Tc-MDP”都属于双膦酸盐类的药物,在骨代谢中已被认为与抑制破骨细胞的功能和抑制骨钙过快流失有关^[8,9],被广泛应用于临床治疗骨质疏松症^[10,11]。治疗药物“⁹⁹Tc-MDP”(核素经衰变后无放射性的微量元素锝-99所标记的亚甲基二磷酸钠)与放射性骨骼显像剂“^{99m}

Tc-MDP”是化学结构和生理代谢过程相似,仅物理性质不同的同一类物质(但前者无小 m,即没有放射性),具有很好的亲骨性,注射后 1 ~ 3 小时既有约 70% 吸附在骨羟基磷灰石晶体的表面,参与骨组织的代谢,当骨钙流失增快时,羟基磷灰石摄取放射性骨骼显像剂“^{99m}Tc-MDP”增加。与摄取治疗药物“⁹⁹Tc-MDP”的量成正比,因此有较好的治疗骨钙流失的作用。而祖国医学对扶正骨代谢的功效有比较悠久的历史,认为筋骨与肝肾二脏关系密切^[12-14],肾主骨,也谓骨的生长、发育乃至损伤以后的修复,是要依靠肾脏精气的滋养。中药“骨康灵”正是遵从这一理论,由炙黄芪、骨碎补、鹿角片、红花等味药为主要成分组成,从益气活血、补肝肾壮筋骨的理论对骨组织的生长和修复起到促进作用。

试验结果显示,经 DX 肌肉注射 8 周后,实验室数据及病理切片显示(见表 1 和病理图片 B),与正常组比较 P 值均 < 0.01,ANFH 模型成立。治疗 16 周后,C 组、D 组、E 组、F 组和 G 组的实验室检测结果各存在不同程度的疗效和差异,以“骨康灵”参与联合治疗组的效果优于单一药物治疗组。单一药物治疗组疗效优差依次为:“⁹⁹Tc-MDP”治疗组(在兔 ANFH 模型的基础上,股骨头骨密度和骨力学分别

提高了 26.23% 和 3.47%, 其他指标也相应增高), “阿仑膦酸钠”治疗组(股骨头骨密度和骨力学分别提高了 21.86% 和 4.26%) 和“骨康灵”治疗组分别提高了 14.21% 和 -5.39%。从单一药物治疗组分析, “⁹⁹Tc-MDP”除了具有抑制骨吸收的作用, 另外可能与元素⁹⁹Tc 能够发生化学价态的变化, 通过其失去或获得电子的过程进行不断消除人体内的自由基, 对炎性介质和免疫调节因子白介素 I (IL-1) 的产生有抑制作用而起到调节人体免疫功能的作用^[15-17] 有关。“骨康灵”联合“⁹⁹Tc-MDP”治疗组的骨组织病理学、骨密度、生物力学试验、血清 BGP 等指标得到明显的改善, 并且四环素双标记检测试验也显示, 矿化沉积率较 B 组提高 24.87%, 分别较 C、D、E 和 G 组提高 4.78%、9.55%、24.23% 和 7.59%, 显示“骨康灵”联合“⁹⁹Tc-MDP”治疗除了有抑制骨吸收和调节人体免疫功能的作用外, 还可能对成骨功能具有促进作用^[18]。尽管“骨康灵”治疗组在治疗过程中各项指标改善不明显, 可能单独治疗在疗效上起效较慢或本次试验设计治疗时间不够有一定的关系。

根据“骨康灵”治疗的理论和联合治疗试验结果分析, “⁹⁹Tc-MDP”联合“骨康灵”治疗组疗效明显, 说明合适的中草药配方在治疗 ANFH 方面也具有不可忽略的临床价值, “⁹⁹Tc-MDP”联合“骨康灵”治疗可使中医和西医的特点互补, 达到更好的临床疗效^[19,20], 尤其对一些难治性的疾病的控制, 合适的中草药参与治疗可能会形成一种新的有效治疗手段。

【参 考 文 献】

- [1] 刘尚礼, 刘永铁, 主编: 骨坏死基础与临床。[M] 北京, 人民军医出版社, 2008, 5: 75-77.
Liu shangli, Liu yongtie: Principles of Osteonecrosis. [M] Beijing, People's military medical press, 2008, 5: 75-77.
- [2] 高克加, 赵国定, 金慰芳, 等. ⁹⁹Tc-MDP 联合骨康灵治疗骨质疏松的实验研究. 中国骨质疏松杂志, 2012, 18(1): 51-56.
Gao kejia, Zhao guoding, Jin weifang, et al. The experimental value of ⁹⁹Tc-MDP combined with GUKANGLING for the treatment of osteoporosis. Chin J Osteoporos, 2012, 18(1): 51-56.
- [3] 周强, 李起鸿, 杨柳, 等. 糖皮质激素诱导性股骨头坏死模型的血管改变. 中华外科杂志. 2000, 38: 212-215.
Zhou qiang, Li qihong, Yang liu, et al. Changes of blood vessels in glucocorticoid-induced avascular necrosis of femoral head in models. Chin J Surg, 2000, 38: 212-215.
- [4] 高克加, 叶智卫, 王建华, 等. ⁹⁹Tc-MDP 治疗与骨生物力学关系的实验研究. 中国骨质疏松杂志, 2010, 16(9): 640-646.
Gao kejia, Ye zhiwei, Wang jianhua, et al. The experimental

study of the relationship between ⁹⁹Tc-MDP therapy and bone biomechanics. Chin J osteoporos, 2010, 16(9): 640-646.

- [5] Voggenreiter G, Assenmacher S, Kreuzfelder E, et al. Immunosuppression with FK506 increases bone induction in demineralized isogenic and xenogenic bone matrix in the rat. J Bone Miner Res, 2000, 15: 1825-1834.
- [6] 周宗科, 裴福兴, 屠重棋, 等. 墨汁血管灌注和四环素荧光标记评价异体移植骨板活化状态. 生物骨材料与临床研究. 2004, 1(3): 10-13.
Zhou zongke, Pei fuxing, Tu zhongqi, et al. Evaluating the activation on cortical bone plates allografts with Chinese ink perfusion and tetracycline fluorescence marker. Orth Biom Mater And Clin Stud. 2004, 1(3): 10-13.
- [7] 赵德伟 主编: 股骨头缺血性坏死的修复与再造. 北京 人民卫生出版社, 2008, 32-34.
Zhao dewei. Repair and reconstruction of adult ischemic necrosis of femoral head. Beijing, People's medical publishing House, 2008 (Second edition), 32-34.
- [8] 张立志, 陈璐璐, 李裕明. 二膦酸盐细胞分子作用机制的研究进展. 中国骨质疏松杂志, 2004, 10(3): 390-392.
Zhang zhongzhi, Chen lulu, Li yuming. The advancement of the molecular mechanism of diphosphonate. Chin J Osteoporos, 2004, 10, 390-392.
- [9] 孟海, 郭艾. 双磷酸盐对骨强度的影响. 中国骨肿瘤骨病, 2007, 6(2): 118-120.
Meng hai, Guo ai. The effect of diphosphonate on the bone intensity. Chin J Bone Tumor & Bone Disease, 2007, 6(2): 118-120.
- [10] 肖建德, 主编. 实用骨质疏松学. 北京, 科学出版社, 2004, 130-131.
Xiao jiande. Practical Osteoporosis. Peking, Science Press Ltd, 2004, 130-131.
- [11] 赵国定, 高克加, 田英敏, 等. 中药骨康灵联合同位素⁹⁹亚甲基膦酸钠治疗兔骨质疏松的实验研究. 中西医结合学报, 2008, 6(3): 298-303.
Zhao guoding, Gao kejia, Tian yingmin, et al. Experimental study of Gukangling decoction combined with technetium [⁹⁹Tc] methylene diphosphonate injection in treating osteoporotic rabbits. J Chin Integ Med, 2008, 6(3): 298-303.
- [12] 梁立, 江正玉, 刘忠厚, 等. 补肾中药治疗骨质疏松症临床观察. 中药杂志, 1992, 33(11): 36-37.
Liang li, Jiang zhengyu, Liu houzhong, et al. Investigation of traditional chinese medicine invigorating the kidney in the treatment of osteoporosis. Journal of traditional Chinese medicine, 1992, 33(11): 36-37.
- [13] 杨帆, 邓兆智, 韩云, 等. 中药治疗骨质疏松症的用药规律探讨. 广东药学院学报, 2003, 19(1): 70-71.
Yang fan, Deng zhaozhi, Han yun, et al. Investigation of treatment discipline of traditional chinese medicine in osteoporosis. Academic Journal of Guangdong College Pharmacy, 2003, 19(1): 70-71.

综上所述,在 OPG 基因的 rs6993813,rs4355801,rs1032129 和 rs2073618 均与中国绝经前后女性 BMD 有关,并且不受年龄和体重的影响,但确切的机制尚需进一步研究阐明。

【 参 考 文 献 】

[1] Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, et al. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study. *Lancet*, 2008,371(9623):1505-12.

[2] Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *New England Journal of Medicine*, 2008,358(22):2355-65.

[3] Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, et al. New sequence variants associated with bone mineral density. *Nat Genet*, 2009,41(1):15-7.

[4] Paternoster L, Ohlsson C, Sayers A, et al. OPG and RANK polymorphisms are both associated with cortical bone mineral density: findings from a metaanalysis of the Avon longitudinal study of parents and children and gothenburg osteoporosis and obesity determinants cohorts. *J Clin Endocrinol MeTab*, 2010,95(8):3940-8.

[5] Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet*, 2012, 44: 491-501.

[6] Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, et al. Polymorphisms in

the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res*, 2002,17(7):1245-55.

[7] Zhao HY, Liu JM, Ning G, et al. The influence of Lys3Asn polymorphism in the osteoprotegerin gene on bone mineral density in Chinese postmenopausal women. *Osteoporosis International*, 2005,16(12):1519-24.

[8] Arko B, Prezelj J, Kocijancic A, et al. Association of the osteoprotegerin gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas*. 2005,51(3):270-9.

[9] Nakajima T, Cheng T, RohrwasserA, et al. Functional analysis of a mutation occurring between the two in-frame AUG codons of human angiotensinogen. *J Biol Chem*, 1999, 274: 35749-55.

[10] Liu JM, Zhang MJ, Zhao L, et al. Analysis of Recently Identified Osteoporosis Susceptibility Genes in Han Chinese Women. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2010, 95(9): E112-E20.

[11] Roshandel D, Holliday KL, Pye SR, et al. Influence of Polymorphisms in the RANKL/RANK/OPG Signaling Pathway on Volumetric Bone Mineral Density and Bone Geometry at the Forearm in Men. *Calcified Tissue International*, 2011, 189:446-455.

[12] Roshandel D, Thomson W, Pye SR, et al. Polymorphisms in genes involved in the NF-κB signalling pathway are associated with bone mineral density, geometry and turnover in men. *PLoS One*, 2011, 6:e28031.

(收稿日期:2014-10-14)

(上接第 1043 页)

[14] 王永刚,张振东,郭进修. 壮骨汤治疗原发性骨质疏松症 27 例报告. *中药正骨*,2002,14(5)33.

Wang Yonggang,Zhang Zhendong, Guo Xiujin. 27 case reports of Bushenzhuanggutang in primary osteoporosis, *Traditional Chinese Medicine in Bonesetting*,2002,14(5)33.

[15] 马寄晓,刘秀杰主编:实用临床核医学. 原子能出版社,2002, 5,第 1 版,516-521.

Ma jixiao, Liu xiujin: Practical clinical nuclear medicine. Atomic energy press, 2002, 5, first edition, 516-521.

[16] 黄建敏,潘莉萍,李冬雪,等. ⁹⁹TcMDP 治疗强直性脊柱炎的疗效观察. *中华核医学杂志*,2005,25(3):174-175.

Huang jianmin, Pan liping, Li dongxue, et al. Therapeutic effect of ⁹⁹TcMDP in the treatment of ankylosing spondylitis. *Chin J Nucl med*, 2005, 25(3):174-175.

[17] 张允平,杨维淮,叶新华,等. “云克”与泼尼松治疗 Graves 眼病疗效比较. *中华核医学杂志*,2002,22(4):204-205.

Zhang yunping,Yang weihui,Ye weixin, et al. Evaluation of the therapeutic effectiveness of “yunke” and prednisone on Graves’ disease. *Chin J Nucl Med*, 2002, 22 (4):204-205.

[18] 王勇平,李晓琴,张辉,等. 塑料包埋结合四环素荧光标记制作不脱钙骨组织切片的实验研究. *临床与实验病理学杂志*, 2012,28(5):543-545.

Wang yongping, Li xiaoqing, Zhanghui, et al. Research on plastic embedding combined with tetracycline fluorescence labeling in undecalcified bone tissue. *Chin J Clin Expe Path*, 2012,28(5):543-545.

[19] 李恩,陶静华,刘和娣,等. 补肾方药治疗骨质疏松的实验研究与临床观察. *中国骨质疏松杂志*,1996,2(4):65.

Li En, Tao Jinghua,Liu Hedi, et al. Experimental study and elinial observatio nofosteo Porosis treatment with kidney replenishing herbs,*Chin J Osteoporos*,1996,2(4):65.

[20] 丁桂芝,刘忠厚,周勇. 中西医结合防治骨质疏松症的基础与临床研究进展. *中国骨质疏松杂志*,1997,3(2):81-84.

Ding guizhi, Liu houzhong, Zhou yong. Combined use of traditional chinese medicine and western medicine in treating osteoporos,*Chin J Osteoporos*, 1997,3(2):81-84.

(收稿日期:2014-11-27)