

· 中医中药 ·

青娥丸对绝经后骨质疏松症患者骨密度、骨代谢指标和骨硬化蛋白的影响

王欣燕* 刘建红 黄显元

攀枝花市第二人民医院老年科,四川 攀枝花 617000

中图分类号: R 24 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 03-0412-04

摘要: **目的** 观察青娥丸(QEW)对绝经后骨质疏松症患者骨密度、骨代谢指标和骨硬化蛋白的影响。**方法** 2016 年 1 月至 6 月期间,我院收治的 120 例门诊和住院 PMOP 患者随机分为 QEW 组(给予钙片和青娥丸),ALF 组(给予钙片和阿法骨化醇)和对照组(给予钙片)(每组 $n=40$),随访期为 1 年。测量基线和治疗 1 年后血清骨硬化蛋白、25 羟基维生素 D 和骨转换标志物(β -CTX,N-MID 和 T-PINP)的水平。**结果** QEW 组和 ALF 组治疗后 1 年血清骨硬化素水平显著高于对照组($P<0.05$),但 QEW 组和 ALF 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后 1 年 QEW 组和 ALF 组血清 β -CTX,N-MID 和 T-PINP 水平均降低,而两组间差异无统计学意义($P>0.05$)。但 QEW 组和 ALF 组血清 β -CTX,N-MID 和 T-PINP 水平显著低于对照组($P<0.05$)。**结论** QEW 调节绝经后骨质疏松症患者骨代谢的机制可能与 QEW 增加硬化蛋白表达的作用有关。

关键词: 骨硬化蛋白;青娥丸;25 羟基维生素 D;骨密度;骨代谢指标

Effect of Qinger pill on bone mineral density, bone metabolism index, and sclerostin in patients with postmenopausal osteoporosis

WANG Xinyan*, LIU Jianhong, HUANG Xianyuan

Department of Geriatrics, the Second People's Hospital of Panzhihua, Panzhihua 617000, Sichuan, China

* Corresponding author; WANG Xinyan, Email:2467454782@qq.com

Abstract: Objective To observe the effect of Qinger pill (QEW) on bone mineral density, bone metabolism index, and sclerostin in patients with postmenopausal osteoporosis (PMOP). **Methods** A total of 120 outpatients and inpatients with PMOP treated in our hospital from January to June 2016 were randomly divided into QEW group (receiving calcium tablets and QEW pills), ALF group (receiving calcium tablets and alfacalcidol treatment), and control group (receiving calcium tablets, $n=40$ in each group). The follow-up period was 1 year. The serum levels of sclerostin, 25-hydroxyvitamin D, and bone turnover markers β -CTX, N-MID, and T-PINP at baseline and at the 1st year after treatment were measured. **Results** The result showed that the levels of circulating sclerostin increased significantly at the 12th month after treatment in QEW group and ALF group as compared with control group ($P<0.05$), but there was no significant difference between the former two groups ($P>0.05$). The serum levels of β -CTX, N-MID, and T-PINP decreased in both QEW group and ALF group at the 12th month after treatment, without significant difference between the two groups ($P>0.05$). But the levels were significantly lower than that in control group ($P<0.05$). **Conclusion** The mechanism by which QEW modulates bone metabolism in patients with PMOP might be related to the effect of QEW on increasing sclerostin expression.

Key words: serum sclerostin; Qinger pill; 25-hydroxyvitamin D; bone mineral density; bone metabolism index

雌激素缺乏通过增加破骨细胞再吸收而不会相应增加成骨细胞活性而损害正常生理周期,导致绝经后妇女出现一种以骨质流失和骨微结构恶化为特征的内分泌疾病^[1]。在全球范围内,患骨质疏松症

的人数超过 1 亿。骨质疏松症的致命临床危险是骨质减少性骨折,包括脊柱骨折、股骨颈骨折和桡骨远端骨折,单独骨质减少的髌部骨折(约占所有骨质减少性骨折的 20%)死亡的终身风险与死于乳腺癌的风险相同^[2]。骨硬化蛋白是一种由骨细胞产生的糖蛋白,被评估为骨转换的潜在临床标志物^[3-4]。

* 通信作者: 王欣燕,Email:2467454782@qq.com

最近的一份报告发现健康女性血清 25 羟维生素 D 与硬化蛋白水平之间存在正相关^[5]。硬化蛋白被称为骨吸收抑制剂,并且一些横断面研究报道了血清硬化蛋白与骨转换的各种生化标志物的反向关联^[6]。补充阿法骨化醇和钙可使其他骨转换标志物水平降低高达 10%,并改变血清硬化蛋白水平^[7]。青娥丸(QEW)是一种中草药配方,具有较好的强腰膝、壮筋骨的功效。初步研究表明,QEW 不仅能抑制破骨细胞的骨吸收活动,还能促进成骨细胞的增殖,促进成骨^[8],但是否改变血清硬化蛋白水平尚未阐明。为了解 QEW 调节骨细胞的机制,有必要阐明 QEW 对血清硬化蛋白水平的影响。为此,我们探讨了 QEW 治疗 12 个月,及与钙和安慰剂相比,PMOP 中的血清硬化蛋白水平改变情况。

1 材料和方法

1.1 患者和分组

本研究纳入 2017 年 5 月到 2018 年 1 月在我院就诊的患者(>55 岁)为研究组。排除标准:继发性疾病和病症包括涉及重要器官(如心、肺、肝、肾和脑)的慢性疾病,严重的代谢性疾病(如糖尿病、甲状腺旁腺功能亢进或甲状腺旁腺功能亢进)和其他骨骼疾病(如佩吉特)疾病和类风湿性关节炎),长期使用影响骨代谢的药物(如皮质类固醇治疗和抗惊厥药物),入组前 2 个月使用钙或维生素 D 补充剂,影响骨代谢、肾脏或肝脏疾病的因素或药物。在 168 名被招募的女性中,有 48 名不符合纳入标准。共有 120 名 PMOP 患者参加了本研究,平均年龄为(52±7)岁。将受试者(包括住院患者或门诊患者)随机分为 3 组(每组 $n=40$):QEW 组:每天给予 600 mg 钙片和青娥丸(国药准字 Z11021105,北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂,9 g/丸)口服治疗,一次 1 丸,一日 2 次的组合治疗;ALF 组,每天给予 600 mg 钙片和每天 1 μg 阿法骨化醇胶囊联合治疗;对照组,每天给予 600 mg 钙片治疗,治疗持续 1 年。该方案经我院伦理委员会批准。在进入研究之前,每位参与者都签署了书面知情同意书。

1.2 疗效评价

治疗前后使用双能 X 射线吸收测定法(Lunar Prodigy Advance; GE Healthcare, USA)测量腰椎(L₁-L₄)和右侧股骨颈的 BMD。根据制造商的说明将患者置于适当位置。然后捕获并分析图像,并参考世界卫生组织诊断标准(T 值和 g/cm^2)报告结果。将患者的连续扫描区域的变化调整到 5% 的范

围内,测量精度对于 L₁-L₄ 为 0.8%,对于股骨颈为 1.1%。每人使用相同的设备进行所有 BMD 测量;患者在上午 7 点时通过肘静脉抽取血样。然后将收集的血液样品以 3 000 r/min 和 20 ℃ 室温下离心 15 min,然后在 -80 ℃ 下储存。随后将所有血样送至中心生化实验室,分析硬化蛋白、25 羟基维生素 D 和骨转换标志物的水平,如胶原特异序列(β -Crosslaps, β -CTX)、N 末端骨钙素(N-MID)和 I 型前胶原的总 N-末端前肽(T-PINP)。人硬化蛋白 ELISA 试剂盒(Yanhui biotechnology Co.Ltd,中国上海),自动化 Roche electrochemiluminescence 系统(Roche Diagnostics GmbH,Germany),所有试剂盒均按照制造商的方案进行检测,测定内和测定间 CV <4%。

1.3 统计学处理

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用 Kruskal-Wallis 检验或方差分析(ANOVA)进行统计学分析,然后使用 SPSS 19.0 软件进行多重比较的 Student t 检验。 $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

三组受试者的基线特征如表 1 所示,三组的年龄、体重、身高、BMI 和雌二醇方面比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。所有参与者完成了 1 年后的最终随访并完善相关检测指标。

表 1 三组基线临床特征及危险因素分析($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Baseline clinical characteristics and analysis of risk factors in three groups ($\bar{x} \pm s$)

项目	QEW 组	ALF 组	对照组
年龄/岁	58.3±3.5	58.5±3.6	58.4±3.6
绝经年龄/岁	53.8±2.7	53.9±2.7	53.4±2.4
体重/kg	59.64±5.69	60.04±6.01	58.98±5.67
身高/m	1.62±0.05	1.64±0.11	1.61±0.04
BMI/(kg/m ²)	23.63±2.52	24.06±2.23	23.54±2.46
雌二醇/(pmol/mL)	37.15±12.56	38.51±12.77	38.18±13.06

治疗前三组间 BMD 差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。治疗 12 个月后,与治疗前相比,QEW 组和 ALF 组腰椎和股骨颈 BMD 明显增加($P < 0.05$),但两组之间腰椎和股骨颈 BMD 比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。对照组的 BMD 在治疗后 12 个月显著下降($P < 0.05$);治疗前 3 组患者血清硬化蛋白和 25 羟维生素 D 水平差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。治疗 12 个月后,QEW 组和 ALF 组血清硬化蛋白和 25 羟维生素 D 水平均升高,但是两组间差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。但两组的水平显

著高于对照组 ($P < 0.05$), 见表 2。

在治疗前, 三组患者血液中 β -CTX, N-MID 和 T-PINP 水平差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。治疗 12 个月, QEW 组和 ALF 组血清 β -CTX, N-MID 和

T-PINP 水平均降低, 但是两组间差异无统计学意义 (P 均 > 0.05); 但两组血清 β -CTX, N-MID 和 T-PINP 水平显著低于对照组 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 2 三组中不同时间点的 BMD, 硬化蛋白和 25-羟基维生素 D 的水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Levels of BMD, sclerostin and 25-hydroxyvitamin D at different time points in three groups ($\bar{x} \pm s$)

组别		腰椎 (1-4) BMD/ (g/cm^2)	股骨颈 BMD/ (g/cm^2)	25-羟基维生素 D/ (ng/mL)	骨硬化蛋白/ (pg/mL)
QEW 组	治疗前	0.874 $\pm$ 0.062	0.078 $\pm$ 0.054	14.34 $\pm$ 2.65	45.58 $\pm$ 8.34
	治疗后	0.897 $\pm$ 0.078	0.088 $\pm$ 0.064	18.28 $\pm$ 3.05	49.98 $\pm$ 9.55
ALF 组	治疗前	0.875 $\pm$ 0.054	0.076 $\pm$ 0.045	14.78 $\pm$ 2.47	45.54 $\pm$ 8.22
	治疗后	0.893 $\pm$ 0.065	0.087 $\pm$ 0.065	18.12 $\pm$ 3.23	49.66 $\pm$ 9.08
对照组	治疗前	0.873 $\pm$ 0.074	0.077 $\pm$ 0.062	14.28 $\pm$ 2.14	45.67 $\pm$ 8.25
	治疗后	0.821 $\pm$ 0.057	0.072 $\pm$ 0.057	14.33 $\pm$ 2.32	42.44 $\pm$ 7.57

表 3 三组中不同时间点的 β -CTX, N-MID 和 T-PINP 的水平 (ng/mL , $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Levels of T-PINP, N-MID, and β -CTX at different time points in three groups (ng/mL , $\bar{x} \pm s$)

组别		β -CTX	N-MID	T-PINP
QEW 组	治疗前	0.457 $\pm$ 0.079	55.68 $\pm$ 7.56	45.48 $\pm$ 6.34
	治疗后	0.414 $\pm$ 0.064	44.82 $\pm$ 8.32	34.48 $\pm$ 5.23
ALF 组	治疗前	0.464 $\pm$ 0.084	55.79 $\pm$ 8.65	45.54 $\pm$ 6.65
	治疗后	0.436 $\pm$ 0.068	45.54 $\pm$ 7.34	35.84 $\pm$ 5.14
对照组	治疗前	0.461 $\pm$ 0.078	55.45 $\pm$ 8.09	45.54 $\pm$ 6.09
	治疗后	0.457 $\pm$ 0.057	54.56 $\pm$ 7.44	44.33 $\pm$ 6.65

3 讨论

本研究的结果表明, QEW 可通过调节硬化蛋白的表达来减少骨吸收。本研究使用阿法骨化醇作为对照研究的参考药物, 因为据报道它在文献中是稳定和有效的^[9]。数据显示 QEW 和阿法骨化醇之间具有相似的功效, 因为两者都能够增加体内硬化蛋白的表达, 从而减少骨吸收并增强骨的质量和数量。结果表明, 古代配方 QEW 在预防和治疗 PMOP 方面具有相当的疗效, 作为阿法骨化醇的适当补充。

硬化蛋白是由骨细胞分泌的 Wnt 拮抗剂, 它可以通过与低密度脂蛋白受体相关蛋白-5 和-6 结合来调节骨量, 从而抑制经典的 Wnt/ β -联蛋白信号通路。硬化病和范布赫姆病两种相关的遗传性疾病出现骨量的明显增加, 强调了骨硬化蛋白在调节人体骨量的生物学中重要性^[10-11]。硬化症是由编码硬化蛋白 SOST 的基因突变引起的, 导致 SOST mRNA 不正常剪接, 而范布赫姆病是由 SOST 基因下游的增强子元件缺失引起的^[10-11]。这些研究结果与硬骨素缺乏小鼠骨量增加的证据相结合, 导致抗坏血酸中和抗体的发展成为骨质疏松症的新型合成代谢治疗^[12]。根据硬化蛋白对骨代谢的作用, 预计血清硬化蛋白与骨密度之间呈负相关。然而, 之前有一

项研究中发现了血清骨硬化蛋白和 BMD 之间的正相关^[11], 该研究报道了硬化蛋白水平与全身和腰椎的 BMD 水平呈正相关, 可能原因是中年女性血清硬化蛋白水平, 未经年龄调整导致的。Sheng 等^[13]报道, 绝经后妇女血清硬化蛋白水平与全身、腰椎和全髋骨密度呈正相关。对于违反直觉的现象, 已经提出了一种可能的解释, 即硬化蛋白反映骨细胞的数量, 且与 BMD 成正比^[13]。这可能部分解释了为什么在 QEW 和阿法骨化醇治疗的 PMOP 患者中血清硬化蛋白水平升高, 并且这些患者在该研究中具有更高的 BMD。

我们研究证实, 与单纯使用钙剂治疗的对照组相比, QEW 联合钙剂治疗方案显著增加了 PMOP 患者血清 25 羟基维生素 D 和骨硬化蛋白水平, 其效果与阿法骨化醇和钙剂治疗相似。这些研究结果表明, QEW 和钙补充剂, 与阿法骨化醇和钙补充剂相似, 增加了人体 25 羟基维生素 D 水平。由于以下原因, 阿法骨化醇和钙的补充可能影响循环硬化蛋白水平。补充这些营养素可降低血清 PTH 水平^[14], PTH 是硬化蛋白表达的负调节因子^[9]。因此, PTH 下降应该增加血清硬化蛋白水平。这些发现也支持 QEW 和钙补充剂, 类似于阿法骨化醇和钙补充剂, 增加了硬化蛋白水平。即使本研究使用 QEW 的 1

年治疗也与骨形成标志物的显著增加有关。

β -CTX, N-MID 和 T-PINP 是国际骨质疏松症基金会推荐的三种骨转换标志物。 β -CTX 是骨基质的有机成分,其中 90%是在骨骼中合成的 I 型胶原,但也分解成释放到血液中的降解产物。 β -CTX 是 I 型胶原蛋白胶原降解的典型产物。 β -CTX 的检查可用于监测骨质疏松症或其他骨疾病的抗再吸收治疗,并且功效可在数周内反映。N-MID 由骨合成期间的成骨细胞产生。血液中都存在完整的骨钙蛋白和大的 N-MID 片段;然而,前者是不稳定的,可能分裂并降解为后者。N-MID 被认为是骨合成的标志物,其可以与-CTX 一起用于监测诸如骨质疏松症的疾病的治疗进展。血液中总 PINP 的水平是骨标志物的测试项目之一,其可用于临床监测绝经后妇女的骨质疏松症的治疗。

我们研究的一个主要局限是没有检测 PTH 值。此外,可能是我们检测到的参数的血清水平不能准确地反映它们在骨组织中的水平。此外,需要精心设计的研究来验证我们的结果并研究其重要性。总的来说, QEW 可以有效改善绝经后骨质疏松症患者骨代谢和骨密度以及骨硬化蛋白的水平。

【参 考 文 献】

- [1] Sacco SM, Saint C, Longo AB, et al. Repeated irradiation from micro-computed tomography scanning at 2, 4 and 6 months of age does not induce damage to tibial bone microstructure in male and female CD-1 mice [J]. Bonekey Rep, 2017,6: 855.
- [2] Greenwood C, Clement JG, Dicken AJ, et al. The micro-architecture of human cancellous bone from fracture neck of femur patients in relation to the structural integrity and fracture toughness of the tissue [J]. Bone Rep, 2015,3(C): 67-75.
- [3] Fazeli PK, Ackerman. Sclerostin and Pref-1 have differential effects on bone mineral density; and strength parameters in adolescent athletes compared with; non-athletes [J]. Osteoporos Int, 2013,24(9): 2433-2440.
- [4] Dawson-Hughes B, Harris SS, Ceglia L, et al. Serum sclerostin levels vary with season [J]. J Clin Endocrinol Metabol, 2014,99(1): 149-152.
- [5] Ardawi MSM, Al - Kadi HA, Rouzi AA, et al. Determinants of serum sclerostin in healthy pre-and postmenopausal women [J]. J Bone Miner Res, 2011,26(12): 2812-2822.
- [6] Sheng Z, Tong D, Ou Y, et al. Serum sclerostin levels were positively correlated with fat mass and bone mineral density in central south Chinese postmenopausal women [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2012,76(6): 797-801.
- [7] Dawson-Hughes B, Harris S, Ceglia L, et al. Effect of supplemental vitamin D and calcium on serum sclerostin levels [J]. Eur J Endocrinol, 2014,170(4): 645-650.
- [8] 王晓燕, 常时新, 李冠武, 等. 经方青娥丸对去势大鼠骨质疏松作用机制的实验研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(2): 197-202.
- [9] Bellido T, Ali AA, Gubrij I, et al. Chronic elevation of parathyroid hormone in mice reduces expression of sclerostin by osteocytes: a novel mechanism for hormonal control of osteoblastogenesis [J]. Endocrinology, 2005, 146(11): 4577-4583.
- [10] Brunkow ME, Gardner JC, Ness JV, et al. Bone Dysplasia Sclerosteosis Results from Loss of the SOST Gene Product, a Novel Cystine Knot - Containing Protein [J]. Am J Human Genet, 2001,68(3): 577-589.
- [11] Balemans W, Patel N, Ebeling M, et al. Identification of a 52 kb deletion downstream of the SOST gene in patients with van Buchem disease [J]. J Med Genet, 2002,39(2): 91.
- [12] Li X, Ominsky MS, Niu QT, et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength [J]. J Bone Miner Res, 2008,23(6): 860.
- [13] Sheng Z, Tong D, Ou Y, et al. Serum sclerostin levels were positively correlated with fat mass and bone mineral density in central south Chinese postmenopausal women [J]. Clin Endocrinol, 2012,76(6): 797-801.
- [14] Leslie WD, Miller N, Rogala L, et al. Vitamin D Status and Bone Density in Recently Diagnosed Inflammatory Bowel Disease: The Manitoba IBD Cohort Study [J]. Am J Gastroenterol, 2008,103(103): 1451-1459.

(收稿日期: 2018-11-01;修回日期: 2019-02-10)