

金匱腎氣丸合補中益氣湯加減治療絕經後骨質疏松症的療效及對免疫炎症因子的調節作用

安玉蘭, 曹昌霞, 田玉梅, 任磊, 李志芳, 程蓉, 李海萍, 吳焘, 唐保明*
(青海大學附屬醫院, 西寧 810001)

[摘要] 目的: 觀察金匱腎氣丸合補中益氣湯加減治療絕經後骨質疏松症(PMO)脾腎兩虛證的臨床療效, 對細胞免疫炎症因子的調節作用。方法: 將160例患者按隨機數字表分為對照組和觀察組, 每組80例。兩組患者均給予綜合西醫治療措施, 對照組口服壯骨止痛膠囊, 4粒/次, 3次/d; 觀察組口服金匱腎氣丸聯合補中益氣湯治療, 1劑/d。兩組均連續治療24周。採用雙能X射線吸收檢測法(DXA)測量治療前後腰椎L₂₋₄骨密度和定量CT(QCT)測量治療前後腰椎骨密度; 進行中醫證候評分和中國人骨質疏松症生存質量簡明量表(COQOL)評分; 檢測治療前後雌二醇(E₂), I型原膠原氨基端前肽(PINP), 血清骨鈣素(OC), 骨保護素(OPG), I型膠原交聯C末端肽(S-CTX), 抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP)和尿吡啶啉(PYD)水平; 檢測治療前後CD4⁺T細胞, CD8⁺T細胞, 白細胞介素-17(IL-17), 腫瘤坏死因子- α (TNF- α), γ -干擾素(IFN- γ)和白細胞介素-4(IL-4)水平, 計算CD4⁺T細胞中輔助性T細胞(Th)17和調節性T細胞(Treg)的比例; 進行安全性評價。結果: 觀察組DXA測量骨密度, T和QCT測量骨密度均高於對照組($P < 0.01$); 觀察組中醫證候評分和COQOL評分均低於對照組($P < 0.01$); 觀察組PINP, OC, S-CTX, TRACP和PYD/Cr水平均低於對照組, OPG高於對照組($P < 0.01$); 觀察組CD8⁺和Treg水平高於對照組($P < 0.05$), Th17, Th17/Treg, CD4⁺/CD8⁺低於對照組($P < 0.05$); 觀察組IL-17, TNF- α , IFN- γ 水平低於對照組, IL-4和E₂水平高於對照組($P < 0.01$); 觀察組療效優於對照組($Z = 2.103, P < 0.05$)。結論: 採用金匱腎氣丸聯合補中益氣湯治療PMO脾腎兩虛型患者, 可提高E₂水平, 提高骨密度, 減輕臨床症狀, 提高生活質量, 能調節骨代謝指標和免疫炎症反應, 有著較好的臨床療效, 且安全。

[关键词] 絕經後骨質疏松症; 脾腎兩虛證; 金匱腎氣丸; 補中益氣湯; 骨密度; 骨代謝指標; T細胞亞群; 輔助性T細胞(Th)17; 調節性T細胞(Treg)

[中图分类号] R22; R242; R2-031; R287 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2021)06-0069-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20202429

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20201012.1649.001.html>

[网络出版日期] 2020-10-13 9:59

Regulation Effect and Clinical Efficacy of Addition and Subtraction Therapy of Jinkui Shenqiwan Combined with Buzhong Yiqitang on Immune Inflammatory Factors of Patients with Postmenopausal Osteoporosis and Deficiency of Spleen and Kidney

AN Yu-lan, CAO Chang-xia, TIAN Yu-mei, REN Lei, LI Zhi-fang, CHENG Rong, LI Hai-ping,
WU Tao, TANG Bao-ming*
(Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the clinical efficacy of addition and subtraction therapy of Jinkui Shenqiwan combined with Buzhong Yiqitang to postmenopausal osteoporosis (PMO) with deficiency of spleen and kidney, and to investigate its regulation effect on immune inflammatory factors. **Method:** One hundred and sixty patients were randomly divided into observation group and control group, with 80 cases in each group. Both groups got comprehensive western medicine treatment measures. Patients in control group additionally got

[收稿日期] 2020917(008)

[基金项目] 青海省医药卫生科技计划项目(2018-wjzdx-97)

[第一作者] 安玉蘭, 副教授, 從事骨科疾病的臨床工作, E-mail: AYL670518@126.com

[通信作者] *唐保明, 碩士, 副主任醫師, 從事骨科疾病的臨床診療工作, E-mail: 18697126038@163.com

Zhuanggu Zhitong capsule, 4 capsules/time, 3 times/day. Patients in observation group additionally got addition and subtraction therapy of Jinkui Shenqiwan combined with Buzhong Yiqitang, 1 dose/day. The treatment was continued for 24 weeks. Before and after treatment, lumbar L2-4 bone mineral density (BMD) was detected by Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) and lumbar BMD was detected by quantitative CT (QCT). Scores of traditional Chinese medicine (TCM) syndromes and Chinese osteoporosis-targeted quality of life questionnaire (COQOL) were graded. Levels of Estradiol (E_2), type I procollagen amino terminal pro peptide (PINP), serum osteocalcin (OC), osteoprotegerin (OPG), type I collagen cross-linked C-terminal peptide (S-CTX), tartrate resistant acid phosphatase (TRACP) and urinary pyridinoline (PYD) were detected. Levels of $CD4^+$ T cells, $CD8^+$ T cells, interleukin-17 (IL-17), tumor necrosis factor- α (TNF- α), γ -interferon (IFN- γ) and interleukin-4 (IL-4) were calculated. The proportion of T helper cell (Th) 17 and regulatory T cell (Treg) in $CD4^+$ T cells was calculated. Besides, the safety was evaluated. **Result:** Bone density was detected by DXA in observation group, and its T-value and bone density detected by QCT were all higher than those in control group ($P<0.01$). After treatment, scores of TCM syndrome and COQOL were lower than those in control group ($P<0.01$). Levels of PINP, OC, S-CTX, TRACP and PYD/Cr were all lower than those in control group ($P<0.01$). Levels of OPG, $CD8^+$ and Treg were higher than those in control group ($P<0.05$), levels of Th17, Th17/Treg, $CD4^+/CD8^+$, IL-17, TNF- α and IFN- γ were lower ($P<0.01$), and levels of IL-4 and E_2 were higher than those in control group ($P<0.01$). The clinical efficacy in observation group was better than that in control group ($Z=2.103$, $P<0.05$). **Conclusion:** On the basis of calcium and vitamin D supplementation, Jinkui Shenqiwan combined with Buzhong Yiqitang can improve levels of E_2 and bone density, reduce clinical symptoms, improve quality of life, regulate bone metabolism index and immune inflammation reaction, with better clinical efficacy and safety.

[Key words] postmenopausal osteoporosis; deficiency of spleen and kidney; Jinkui Shenqiwan; Buzhong Yiqitang; bone mineral density; bone metabolism index; T cell subsets; T helper cell (Th) 17; regulatory T cell (Treg)

绝经后骨质疏松症(PMO)是最常见的原发性骨质疏松症(POP),多发生于女性绝经后5~10年内,是因卵巢功能减退,雌激素水平降低,骨细胞代谢紊乱,使骨密度下降,骨组织微结构损坏,骨强度减低为特征的疾病^[1]。PMO药物治疗主要是保证钙剂摄入、维持维生素D水平,给予抗骨质疏松药物及绝经激素治疗(MHT)等,虽然取得了显著的效果,但存在诸多的风险与副反应,如MHT使乳腺癌、子宫内膜癌发病风险增加、使心血管病疾病风险增加等^[1-2]。

中医将PMO归为“骨痿”“骨枯”,病机关键在于肾虚、脾虚,肾之精气虚则骨髓不生,髓减骨枯萎;脾气虚,运化失常,气血津液生化无源,则骨髓失后天之养而痿^[3]。“虚”为PMO之根本,肾主骨生髓,肾虚,髓不满,骨不生,历代医家采用补肾壮骨之法^[3],近来也重视脾虚在PMO致病作用,一方面脾病及肾,筋骨失养,另一方面脾虚也可直接导致“四肢痿废”,脾胃气虚,可致宗筋纵,骨节空虚,足痿不用,因此治疗上注重脾肾双补,方可收到良效^[4]。金匱

肾气丸为医圣张仲景《金匱要略》温补肾精之代表方,能提高骨密度和血清雌激素水平,促进成骨细胞增殖分化,改善成骨细胞功能,临床上能改善POP骨密度,减轻疼痛等症状^[5-6]。补中益气汤源于《内外伤辨惑论》,是治疗脾胃气虚的代表方,能调节免疫功能、应激反应、脾胃肠功能等药理效应,治疗老年性骨质疏松有较好疗效,长期疗效优于鲑鱼降钙素^[7]。近来的研究显示 $CD4^+$ T细胞在雌激素下降介导骨丢失中扮演至关重要的角色, $CD4^+$ T细胞分化包括辅助性T细胞(Th)1, Th2, Th17及调节性T细胞(Treg)等,这些细胞因子的失衡在PMO发病机制起着重要作用^[8]。本研究课题组观察了金匱肾气丸联合补中益气汤对PMO脾肾两虚证患者 $CD4^+$ T细胞及相关因子的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究采用前瞻性、随机、阳性药对照设计方法。试验方案经青海大学附属医院伦理委员会批准,批号2017QYLY006015-02。在2017年8月至2019年8月,共计筛选了青海大学附属医

院脊柱骨科的275例患者,其中符合研究条件者共160例,采用随机数字表按1:1分为两组。除去脱落、失访6例、剔除3例,对照组完成71例,观察组,脱落、失访5例、剔除2例,完成73例。两组患者年龄、绝经年龄、绝经年限、体质指数(BMI)、病程及病

例完成情况等一般资料比较,差异无统计学意义,具有可比性,见表1。另外选取20名女性绝经后骨量正常人群作为正常组,入选标准为①年龄45~70的自然绝经女性;②绝经3年以上;③骨量正常;④BMI $\leq 30 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 。

表1 两组患者一般资料比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of general information in two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄/岁	绝经年龄/岁	绝经年限/年	BMI/kg·m ²	病程/月
对照	80	57.65±5.37	48.24±4.25	6.16±0.48	24.76±2.39	10.37±0.97
观察	80	57.92±5.65	48.39±4.36	6.09±0.51	24.82±2.31	10.44±0.91
正常	20	57.46±5.19	48.51±4.63	6.37±0.58	24.79±2.45	-

1.2 诊断标准 ①PMO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》^[9]和文献[1]制定。绝经后女性,可有骨质疏松症临床表现,腰椎、髌部股骨颈和全髌3个部位以双能X射线吸收检测法(DXA)测量骨密度的标准差值(T),若最低部位的T ≤ -2.5 SD(标准差)或定量CT(QCT)测量腰椎骨密度 $< 80 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$ 可明确诊断。②脾肾两虚证辨证标准^[9],腰髌冷痛,腰膝酸软,甚则弯腰驼背,畏寒喜暖,面色苍白,或五更泄泻,或下利清谷,或小便不利,面浮肢肿,甚则腹胀如鼓,舌淡胖,苔白滑,脉沉弱或沉迟。

1.3 纳入标准 ①女性年龄 > 45 周岁, ≤ 70 周岁;②自然绝经3年以上;③符合PMO诊断标准;④符合脾肾两虚证辨证;⑤BMI $\leq 30 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$;⑥骨折风险预测工具(FRAX[®])为低、中风险者^[1];⑦患者知晓研究方案,能配合门诊随访治疗,并取得其书面知情同意者。

1.4 排除标准 ①各种疾病、药物导致的继发性骨质疏松症者;②合并骨质疏松性骨折者;③合并外伤、肿瘤、结核、内分泌疾病、代谢性疾病者;④合并严重的心肺功能、肝、肾功能和凝血功能障碍者;⑤长期服用糖皮质激素或其他影响骨代谢的药物者;⑥近3个月采用抗骨质疏松药物或(和)MHT治疗者;⑦精神病患者,认识能力或沟通能力障碍者;⑧对本研究已知药物有使用禁忌者。

1.5 脱落、失访和剔除标准 ①脱落、失访标准,研究期间连续3次无法联系上受试者;受试者认为效果不好,主动要求退出者;受试者不愿意或者不可能继续进行临床观察者。②剔除标准,违背方案,采取了其他干预措施或服药依从性差或资料不全,影响疗效与安全分析者。

1.6 治疗方法 基础措施,补充钙剂和维生素D^[1],

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,口服;维生素D滴剂(青岛双鲸药业有限公司,国药准字H20113033),2粒/次,1次/d,滴入口中服用。抗骨质疏松药物,口服阿仑膦酸钠片(北京万生药业有限责任公司,国药准字H20059029),75 mg/次,1次/周。

①对照组口服壮骨止痛胶囊(四川美大康药业股份有限公司,国药准字Z20050118),4粒/次,3次/d,口服。②观察组给予金匱肾气丸联合补中益气汤口服治疗。处方:附片10 g(先煎),熟地黄30 g,山药15 g,山萸肉10 g,茯苓10 g,牡丹皮10 g,牛膝15 g,骨碎补10 g,淫羊藿10 g,党参15 g,白术10 g,黄芪20 g,当归10 g,丹参10 g,甘草5 g。冷痛重、畏寒喜暖,面色苍白,或五更泄泻,或下利清谷等阳虚重表现加鹿角胶、杜仲、菟丝子、巴戟天各10 g,去牡丹皮、茯苓;腰痛明显加桑寄生30 g,川续断15 g;上肢骨痛加桑枝20 g,姜黄10 g;下肢疼痛加独活、威灵仙各15 g;阴虚火旺可加知母、黄柏各15 g。1剂/d,饮片青海大学附属医院中药房提供,饮片由本院倪惠珍副主任药师鉴定为正品,饮片加水浸泡30 min,由医院采用煎药机煎煮2次,取药液约400 mL,分2袋真空包装,早、晚2次温服。每2周门诊随访1次,处方用药。两组疗程均为24周。

1.7 观察指标

1.7.1 主要疗效指标 骨密度检查,采用DXA测量治疗前后腰椎L₂₋₄骨密度;以QCT测量治疗前后腰椎骨密度。

1.7.2 次要疗效指标 ①中医证候评分^[9],对腰背疼痛等症状按无、轻、中、重分别记0,1,2,3分,治疗前、治疗后12,24周各评价1次。②生活质量,采用中国人骨质疏松症生存质量简明量表(COQOL)^[10],得分越低表示生活质量越好。治疗

前、治疗后12,24周各评价1次。③血清雌二醇(E_2),采用全自动生化分析仪器检测,治疗前后各评价1次。④骨形成标志物,空腹抽静脉血2 mL检测治疗前后血清I型原胶原氨基端前肽(PINP),血清骨钙素(OC)和骨保护素(OPG),采用酶联免疫吸附法测定,上海信帆生物科技公司试剂盒,批号分别为201904403,201904912,201904652。⑤骨吸收标志物,空腹抽静脉血2 mL检测治疗前后血清I型胶原交联C末端肽(S-CTX)和血清抗酒石酸酸性磷酸酶(TRACP),清晨空腹尿检测吡啶啉(PYD),均采用酶联免疫吸附法测定,上海信帆生物科技公司试剂盒,批号分别为201907813,201907466,2019040593,计算PYD与尿肌酐(Cr)之比,即PYD/Cr。⑥细胞免疫功能,采用流式细胞仪检测治疗前后 $CD4^+$ T细胞和 $CD8^+$ T细胞,计算 $CD4^+$ T细胞中Th17细胞和Treg细胞的比例,并计算Th17/Treg和 $CD4^+/CD8^+$ 。试剂盒由上海江莱生物公司提供,批号分别为201910712,201910058,201910903,201910491。⑦炎症因子,检测治疗前后白细胞介素-17(IL-17),肿瘤坏死因子- α (TNF- α), γ -干扰素(IFN- γ)和白细胞介素-4(IL-4),采用酶联免疫吸附法检测,试剂盒由南京建成生物科技公司提供,批号分别为201902075,201903136,201903508,201903859。

1.7.3 安全性评价 记录治疗期间的不良反应,检查治疗前后尿常规、肝、肾功能和心电图等安全指标,并与药物相关性进行分析。

1.8 疗效标准 疗效标准^[9],显效,腰痛症状消失,BMD增加超过30%;有效,腰痛症状缓解明显,BMD增加不足30%,但未下降;无效,腰痛改善不明显,BMD下降。

1.9 统计学方法 采用SPSS 20.0统计软件进行数据管理与统计分析。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Wilcoxon秩和检验,计数资料采用 χ^2 检验或Wilcoxon秩和检验,等级资料采用Wilcoxon秩和检验,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后骨密度变化比较 与正常组比较,治疗前两组患者DXA测量骨密度,T和QCT测量骨密度均显著下降($P<0.01$)。与本组治疗前比较,两组患者DXA测量骨密度,T和QCT测量骨密度均升高($P<0.01$);治疗后观察组DXA测量骨密度,T和QCT测量骨密度高于对照组($P<0.01$)。

见表2。

表2 两组患者治疗前后骨密度变化比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of changes of bone density between two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	DXA		QCT/mg·cm ⁻³
			骨密度/mg·cm ⁻²	T	
正常	20	-	1.187±0.113	-0.5±0.01	127.52±10.06
对照	71	治疗前	0.675±0.076 ¹⁾	-3.1±0.02 ¹⁾	72.35±6.59 ¹⁾
		治疗后	0.885±0.092 ²⁾	-1.8±0.02 ²⁾	96.21±10.36 ²⁾
观察	73	治疗前	0.681±0.084 ¹⁾	-3.1±0.03 ¹⁾	73.09±6.67 ¹⁾
		治疗后	0.962±0.095 ^{2,3)}	-1.2±0.01 ^{2,3)}	108.47±11.93 ^{2,3)}

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.01$;与本组治疗前比较²⁾ $P<0.01$;与对照组治疗后比较³⁾ $P<0.01$ (表7同)。

2.2 两组患者不同时点中医证候,COQOL评分比较 与治疗前比较,治疗后12,24周,两组患者中医证候评分和COQOL评分均显著下降($P<0.01$);与同期对照组比较,观察组中医证候评分和COQOL评分均降低($P<0.01$)。见表3。

表3 两组患者不同时点脾肾两虚证,COQOL评分比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of scores of deficiency of spleen and kidney in two groups at different time points ($\bar{x}\pm s$) 分

组别	例数	时间	脾肾两虚证	COQOL
对照	71	治疗前	21.03±2.36	44.75±5.13
		治疗后12周	15.65±1.84 ¹⁾	34.22±4.21 ¹⁾
		治疗后24周	8.26±0.98 ¹⁾	20.83±2.69 ¹⁾
观察	73	治疗前	21.38±2.29	45.37±4.98
		治疗后12周	12.15±1.44 ^{1,2)}	27.09±3.61 ^{1,2)}
		治疗后24周	5.23±0.49 ^{1,2)}	16.84±1.79 ^{1,2)}

注:与本组前一时点比较¹⁾ $P<0.01$;与对照组同期比较²⁾ $P<0.01$ 。

2.3 两组患者治疗前后PINP,OC和OPG水平比较 与本组治疗前比较,治疗后两组患者PINP,OC水平下降,OPG水平升高($P<0.01$);治疗后观察组PINP,OC水平低于对照组,OPG水平高于对照组($P<0.01$)。见表4。

2.4 两组患者治疗前后S-CTX,TRACP和PYD/Cr水平比较 与本组治疗前比较,治疗后两组患者S-CTX,TRACP和PYD/Cr水平均显著下降($P<0.01$);与对照组治疗后比较,治疗后观察组S-CTX,TRACP和PYD/Cr显著降低($P<0.01$)。见表5。

2.5 两组患者治疗前后 $CD4^+$, $CD8^+$,Th17,Treg,Th17/Treg和 $CD4^+/CD8^+$ 比较 与正常组比较,治疗前两组患者 $CD4^+$ 水平差异无统计学意义,两组患者

表4 两组患者治疗前后PINP, OC, OPG水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of changes of PINP, OC and OPG in two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	OC	PINP	OPG
对照	71	治疗前	17.93±1.84	60.95±7.24	0.89±0.11
		治疗后	15.72±1.69 ¹⁾	31.48±4.64 ¹⁾	1.42±0.16 ¹⁾
观察	73	治疗前	18.04±1.89	61.29±7.08	0.91±0.12
		治疗后	14.21±1.53 ^{1,2)}	24.54±3.12 ^{1,2)}	1.85±0.20 ^{1,2)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.01$;与治疗后对照组比较²⁾ $P < 0.01$ (表5同)。

CD8⁺和Treg水平下降,Th17水平升高,Th17/Treg和CD4⁺/CD8⁺升高($P < 0.01$)。与本组治疗前比较,治疗后两组CD8⁺,Treg水平升高($P < 0.05$),Th17水

表5 两组患者治疗前后S-CTX, TRACP, PYD/Cr水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Comparison of changes of S-CTX, TRACP and PYD/Cr levels in two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	S-CTX/ng·L ⁻¹	TRACP/U·L ⁻¹	PYD/Cr
对照	71	治疗前	0.49±0.09	6.15±0.74	25.69±3.77
		治疗后	0.34±0.05 ¹⁾	5.08±0.57 ¹⁾	20.94±2.13 ¹⁾
观察	73	治疗前	0.51±0.10	6.19±0.78	25.73±3.64
		治疗后	0.26±0.04 ^{1,2)}	4.57±0.49 ^{1,2)}	18.11±2.07 ^{1,2)}

平,Th17/Treg和CD4⁺/CD8⁺下降($P < 0.05$);治疗后观察组CD8⁺和Treg水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),Th17水平,Th17/Treg和CD4⁺/CD8⁺低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表6。

表6 两组患者CD4⁺, CD8⁺, Th17, Treg, Th17/Treg和CD4⁺/CD8⁺水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Comparison of CD4⁺, CD8⁺, Th17, Treg, Th17/Treg and CD4⁺/CD8⁺ levels in two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	CD4 ⁺ /%	CD8 ⁺ /%	Th17/%	Treg/%	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	Th17/Treg
正常	20	-	44.76±5.62	28.62±3.43	3.55±0.40	3.41±0.37	1.49±0.16	1.06±0.11
对照	71	治疗前	42.71±5.54	24.35±2.93 ¹⁾	6.61±0.73 ¹⁾	1.83±0.21 ¹⁾	1.92±0.21 ¹⁾	4.35±0.42 ¹⁾
		治疗后	43.90±5.45	25.96±3.22 ²⁾	4.79±0.56 ²⁾	2.89±0.34 ²⁾	1.78±0.16 ²⁾	1.81±0.17 ²⁾
观察	73	治疗前	42.89±5.36	24.28±2.88 ¹⁾	6.68±0.75 ¹⁾	1.85±0.19 ¹⁾	1.90±0.22 ¹⁾	4.38±0.44 ¹⁾
		治疗后	45.13±5.82	28.91±3.63 ^{2,3)}	3.81±0.48 ^{2,3)}	3.24±0.36 ^{2,3)}	1.46±0.15 ^{2,3)}	1.23±0.15 ^{2,3)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与本组治疗前比较²⁾ $P < 0.05$;与对照组治疗后比较³⁾ $P < 0.05$ 。

2.6 两组患者治疗前后IL-17, TNF- α , IFN- γ , IL-4, E₂水平比较 与正常组比较,治疗前两组患者IL-17, TNF- α , IFN- γ 水平升高;IL-4, E₂水平下降($P < 0.01$)。与本组治疗前比较,治疗后两组患者

IL-17, TNF- α , IFN- γ 水平下降,IL-4和E₂水平升高($P < 0.01$);治疗后观察组IL-17, TNF- α , IFN- γ 水平低于对照组,IL-4和E₂高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表7。

表7 两组患者IL-17, TNF- α , IFN- γ , IL-4和E₂水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 7 Comparison of changes of IL-17, TNF- α , IFN- γ , IL-4 and E₂ in two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	IL-17/ng·L ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹	IFN- γ /ng·L ⁻¹	IL-4/ng·L ⁻¹	E ₂ /mol·L ⁻¹
正常	20	-	12.41±2.81	8.12±1.16	53.19±6.82	14.96±1.85	28.76±3.39
对照	71	治疗前	23.76±3.64 ¹⁾	15.25±1.68 ¹⁾	92.47±10.68 ¹⁾	7.32±1.04 ¹⁾	19.13±2.26 ¹⁾
		治疗后	16.95±2.03	11.93±1.54 ²⁾	62.76±7.39 ²⁾	10.54±1.36 ²⁾	22.75±2.52 ²⁾
观察	73	治疗前	23.87±3.53 ¹⁾	15.37±1.72 ¹⁾	91.49±10.47 ¹⁾	7.45±1.09 ¹⁾	19.03±2.14 ¹⁾
		治疗后	13.28±1.79	9.29±1.08 ^{2,3)}	55.96±6.17 ^{2,3)}	13.16±1.59 ^{2,3)}	27.80±3.36 ^{2,3)}

2.7 两组患者疗效比较 经秩和检验分析,观察组疗效优于对照组($Z = 2.103, P < 0.05$)。见表8。

表8 两组患者疗效比较

Table 8 Comparison of clinical efficacy in two groups

组别	例数	显效	有效	无效
对照	71	34	27	10
观察	73	48	20	5

2.8 安全性评价 未发现与服用中药相关不良反应。

3 讨论

PMO与“骨痿”临床症状和体征极其相似,因此归为“骨痿”最为确切,虚是PMO病机关键^[3]。《医经精义》云:“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”，《景岳全书》云：“肾虚……骨枯而髓虚，故足不任身，发为骨痿”^[3,11]。妇女“天癸”竭，肾精逐渐衰少，肾之精气虚则骨髓不生，骨髓化源不足，骨骼不能充养，骨髓空虚，日久骨枯萎^[3]。脾为后天之本，气血生化之源，若脾虚气血生化乏源，清阳不升，精微物质不布，肌肉骨骼失于后天精微物质之润养而肉削骨萎，肢体倦怠无力，发为“骨痿”^[5]。而肾之先天之精有赖于后天脾胃气血之充养，气血不足，渐而肾精日竭，髓减骨枯经络失养，此为后天不足无以充养先天而致“骨痿”，如《黄帝内经·素问》所云：“肾之合骨也，其荣在发，其主脾也”，《脾胃论》有言：“脾病则下流乘肾，土克水，则骨乏无力，足为骨蚀，令人骨髓空虚，足不能履地”^[12]。因此在治疗上除了注重补肾壮骨之外，还要兼顾健脾益气生血之法，现代医学也将加强营养，补充钙和蛋白质等营养物质作为PMO治疗的基础措施^[1]。

金匱肾气丸联合补中益气汤中以附片补火助阳、散寒止痛，淫羊藿补肾阳、强筋骨、祛风湿，骨碎补补肾强骨，熟地黄填补肾精、补血滋阴，山药补脾养胃、补肾涩精，山萸肉补肾涩精，牡丹皮清热泻火，牛膝补肝肾、强筋骨、活血通经，党参、黄芪健脾益气，当归活血补血，茯苓、白术健脾益气化湿浊，丹参活血祛瘀、通经止痛，甘草补益和中，调和诸药。全方共奏温补肾阳、填精益髓、健脾益气、活血养血之功。

本组资料显示治疗后观察组DXA测量骨密度，T和QCT测量骨密度高于对照组，说明金匱肾气丸联合补中益气汤内服可升高骨量，提高了骨密度；治疗后12,24周，观察组中医证候和COQOL评分均低于对照组，提示本方可减轻临床症状，并提高患者的生活质量。雌激素的降低，对破骨细胞的抑制作用减弱，使骨吸收功能增强，并降低骨骼对力学刺激的敏感性，这是PMO主要的机制^[1]，现代医学采用MHT，但风险大，而补肾中药多具有植物雌激素作用^[2]，本组显示治疗后观察组 E_2 高于对照组，基本接近绝经后无骨质疏松症患者，提示了本方具有提高 E_2 的效果。

骨代谢标志物可敏感反映骨代谢的动态变化，PINP, OC, OPG是骨形成标志物，PINP能准确反映骨形成状态，高水平的PINP使骨密度降低，增加骨质疏松症的发病风险^[12]；OC反映骨转化和骨形成的速度，PMO患者的OC与骨密度呈负相关^[13]；OPG可制破骨细胞的发生，促进成熟破骨细胞的凋亡^[14]。S-CTX, TRACP和PYD是骨吸收标志物，

S-CTX是I型胶原分解的产物，且只来源于成熟的I型胶原，反映了骨纤维的降解情况，是反映骨吸收敏感标志物^[12]；TRACP是由破骨细胞释放进入血液，也是反映骨吸收的标志物^[12]；PYD是I型胶原的重要成分，骨质溶解时被释放进入血，以原形直接由尿液排出，其与Cr的比值得非常稳定，因此检测尿液PYD/Cr可了解骨的吸收情况^[15]。本组资料显示治疗后观察组PINP, OC, S-CTX, TRACP和PYD/Cr均低于对照组，OPG高于对照组，提示了金匱肾气丸联合补中益气汤加减内服能调节PMO的骨代谢标志物水平，从而有利于骨量的增加。

免疫炎症紊乱在PMO发病机制中扮演着重要角色，徐玉善等^[16]的调查显示，PMO患者外周 $CD8^+$ 比例下降， $CD4^+/CD8^+$ 升高，Th/Ts失衡，NK细胞，B细胞功能亢进，使雌二醇抑制破骨细胞功能下降，从而引起了PMO发生、发展。Th17和Treg是 $CD4^+$ 细胞重要组成，前者过强可扩大炎症反应及自身免疫性反应，后者可以抑制免疫应答，Th17/Treg的平衡是维持机体免疫能力的关键，PMO患者存在Th17偏移现象，二者失衡及其炎症因子如IL-17表达异常，促进OC分化、形成，产生破骨作用^[17]。Th17细胞除分泌效应因子IL-17外，并诱导局部炎症反应并产生TNF- α ，IL-17诱导成骨细胞表达核转录因子- κ B受体活化因子配体(RANKL)，从而刺激破骨细胞生成，TNF- α 可加重炎症反应，增加其它促炎因子表达，诱导破骨细胞生成，使骨丢失增加^[9,18]。IFN- γ 和IL-4分别为Th, Ts效应因子，IFN- γ 也可激活RANKL，使破骨细胞凋亡减少，增加骨吸收^[19]，IL-4具有炎症抑制效应，可抑制TNF- α ，IFN- γ 促炎因子表达，起到抑制骨吸收的作用^[20]。本组资料显示PMO患者存在T细胞亚群，Th17, Treg细胞及相关细胞因子失衡情况，而治疗后观察组 $CD8^+$, Treg, IL-4水平高于对照组，Th17, Th17/Treg, $CD4^+/CD8^+$, IL-17, TNF- α , IFN- γ 低于对照组，提示了金匱肾气丸联合补中益气汤加减内服可调节T细胞亚群，促使Th17/Treg, $CD4^+/CD8^+$ 恢复正常比例，抑制了促炎因子表达，从而抑制了破骨细胞，有利于骨量的增加。

综上所述，在补充钙剂、维生素D等治疗的基础上，采用金匱肾气丸联合补中益气汤治疗PMO脾肾两虚型患者，可提高 E_2 水平，升高骨密度，减轻临床症状，提高生活质量，能调节骨代谢指标，还能调节免疫炎症反应，有着较好的临床疗效，且安全。但本组为单中心研究，研究结果存在外推局限性

性;PMO为慢性病,需要长期治疗,本研究仅观察了24周,因此远期疗效还需要进一步观察;本研究限于研究时间限制,且纳入为FRAX®评价为低、中风险者,没有随访骨折的发生率,将在今后研究克服上述不足。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 中华中医药学会. 绝经后骨质疏松症(骨痿)中医药诊疗指南(2019年版)[J]. 中医正骨, 2020, 32(2): 1-13.
- [4] 仇宋明, 尹恒, 王建伟. 基于“脾肾相关”论治疗骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(12):1809-1811, 1816.
- [5] 徐绍俊, 黄建烽, 邵敏, 等. 补肾方剂对绝经后骨质疏松症大鼠的影响及其作用机制研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(5):588-593.
- [6] 王建伟, 马勇, 张亚峰, 等. 金匱肾气丸联用葡萄糖酸钙治疗原发性骨质疏松症的临床研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(10):912-914, 911.
- [7] 马清华, 张竞. 补中益气汤加减对老年性骨质疏松(脾肾两虚证)的临床疗效分析[J]. 中医药临床杂志, 2017, 29(4):551-553.
- [8] 许莹萍, 邱学敏, 桂玉燕, 等. CD4⁺ T细胞在绝经后骨质疏松症发病机制中的调控作用[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(4):584-587.
- [9] 国家食品药品监督管理局药品评审中心. 中药新药治疗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.
- [10] 何藻鹏, 杨德鸿, 李丽. 中国人骨质疏松症生存质量简量表的编制与信效度[J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(11):1637-1641.
- [11] 张紫嫣, 黄雅薇, 张新雪, 等. 中医“肾髓系统”的初步构建[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(5):749-752.
- [12] 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.
- [13] SINGH S, KUMAR D, LAL A K. Serum osteocalcin as a diagnostic biomarker for primary osteoporosis in women[J]. J Clin Diagn Res, 2015, 9(8): RC04-RC07.
- [14] 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.
- [15] PASCHALIS E P, GAMSJAEGER S, HASSLER N, et al. Vitamin D and calcium supplementation for three years in postmenopausal osteoporosis significantly alters bone mineral and organic matrix quality [J]. Bone, 2017, 95:41-46.
- [16] 徐玉善, 江艳, 李少游, 等. 绝经后骨质疏松症的T细胞亚群的变化及意义[J]. 昆明医科大学学报, 2015, 36(4):34-36.
- [17] DAR HY, PAL S, SHUKLA P, et al. Bacillus clausii inhibits bone loss by skewing Treg-Th17 cell equilibrium in postmenopausal osteoporotic mice model[J]. Nutrition, 2018, 54:118-128.
- [18] LI J Y, CHASSAING B, TYAGI A M, et al. Sex steroid deficiency-associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics [J]. J Clin Invest, 2016, 126(6):2049-2063.
- [19] WANG L, LIU S, ZHAO Y, et al. Osteoblast-induced osteoclast apoptosis by fas ligand/FAS pathway is required for maintenance of bone mass[J]. Cell Death Differ, 2015, 22(10):1654-1664.
- [20] BODEGRAVEN A V A, BRAVENBOER N. Perspective on skeletal health in inflammatory bowel disease[J]. Osteoporos Int, 2020, 31(4):637-646.

[责任编辑 张丰丰]