

· 临床研究 ·

二仙汤在绝经后骨质疏松症肾阳虚证治疗中的应用价值及作用机制研究

汪青, 黄昊强, 陈勇, 陈吉, 洪嵘

(昆山市中医医院, 江苏 昆山 215300)

摘 要 目的:探讨二仙汤在绝经后骨质疏松症肾阳虚证治疗中的应用价值,并探讨其作用机制。方法:将 90 例绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者随机分为 2 组,每组 45 例,分别采用口服二仙汤联合碳酸钙 D3 和阿法骨化醇软胶囊(二仙汤组)与单纯碳酸钙 D3 和阿法骨化醇软胶囊(基础用药组)治疗。碳酸钙 D3,每日 1 次,每次 1 片;阿法骨化醇软胶囊,每日 1 次,每次 1 粒;二仙汤,每日 2 次,每次 1 袋,早晚服用;均连续服用 12 周。分别于治疗前和治疗结束后,采用疼痛视觉模拟量表(visual analogue scale, VAS)评分评价腰背部疼痛情况,采用双能 X 线骨密度仪测定患者腰椎(L₁~L₄)骨密度及股骨颈骨密度,采用酶联免疫吸附法测定血清骨钙素、I 型前胶原氨基端前肽(N-terminal propeptide of type I procollagen, P I NP)及 I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列(β C-terminal telopeptide of type I collagen, β-CTX)含量,采用化学发光法测定血钙及血磷含量,采用荧光定量 PCR 法测定血清 miR-335-5p 的表达量。结果:①受试者退出情况。共 10 例患者退出试验,其中二仙汤组 3 例因未能按时按计量服药退出,2 例因失访退出;基础用药组 1 例因未能按时按计量服药退出,4 例因失访退出。②腰背部疼痛 VAS 评分。治疗前,2 组患者腰背部疼痛 VAS 评分比较,差异无统计学意义[(4.03±0.80)分, (3.90±0.93)分, $t=0.645$, $P=0.521$];治疗结束后,二仙汤组腰背部疼痛 VAS 评分低于基础用药组[(2.10±0.87)分, (2.98±1.10)分, $t=-3.526$, $P=0.001$],2 组患者腰背部疼痛 VAS 评分均低于治疗前($t=14.198$, $P=0.000$; $t=7.656$, $P=0.000$)。③骨密度。治疗前与治疗结束后,2 组患者腰椎骨密度和股骨颈骨密度比较,组间差异均无统计学意义[腰椎:(0.886±0.040)g·cm⁻², (0.880±0.030)g·cm⁻², $t=0.746$, $P=0.458$; (0.888±0.040)g·cm⁻², (0.878±0.030)g·cm⁻², $t=0.994$, $P=0.323$ 。股骨颈:(0.763±0.070)g·cm⁻², (0.767±0.070)g·cm⁻², $t=-0.263$, $P=0.794$; (0.765±0.070)g·cm⁻², (0.770±0.070)g·cm⁻², $t=-0.927$, $P=0.360$];治疗结束后 2 组患者腰椎骨密度和股骨颈骨密度与治疗前比较,差异均无统计学意义(腰椎: $t=-1.099$, $P=0.281$; $t=0.701$, $P=0.492$ 。股骨颈: $t=-1.640$, $P=0.109$; $t=-0.927$, $P=0.360$)。④骨代谢生化指标。治疗前,2 组患者血清骨钙素含量比较,差异无统计学意义[(14.09±3.97)ng·mL⁻¹, (15.56±3.67)ng·mL⁻¹, $t=-1.070$, $P=0.092$];治疗结束后,2 组患者血清骨钙素含量的差异无统计学意义[(16.14±3.67)ng·mL⁻¹, (15.58±4.74)ng·mL⁻¹, $t=0.602$, $P=0.549$],二仙汤组患者血清骨钙素含量高于治疗前($t=-11.325$, $P=0.000$),基础用药组患者血清骨钙素含量与治疗前的差异无统计学意义($t=0.045$, $P=0.964$)。治疗前,2 组患者血清 P I NP 含量比较,差异无统计学意义[(38.08±11.90)ng·mL⁻¹, (36.90±9.80)ng·mL⁻¹, $t=0.484$, $P=0.630$];治疗结束后,二仙汤组患者血清 P I NP 含量高于基础用药组[(45.96±13.38)ng·mL⁻¹, (35.43±12.15)ng·mL⁻¹, $t=3.684$, $P=0.000$],二仙汤组患者血清 P I NP 含量高于治疗前($t=-10.795$, $P=0.000$),基础用药组患者血清 P I NP 含量与治疗前的差异无统计学意义($t=1.564$, $P=0.126$)。治疗前与治疗结束后,2 组患者血清 β-CTX 含量比较,组间差异均无统计学意义[(0.36±0.10)ng·mL⁻¹, (0.36±0.09)ng·mL⁻¹, $t=0.140$, $P=0.889$; (0.38±0.11)ng·mL⁻¹, (0.37±0.10)ng·mL⁻¹, $t=0.499$, $P=0.619$];治疗结束后 2 组患者血清 β-CTX 含量与治疗前比较,差异均无统计学意义($t=-1.279$, $P=0.209$; $t=-1.004$, $P=0.322$)。治疗前与治疗结束后,2 组患者血磷、血钙含量比较,组间差异均无统计学意义[血磷:(1.27±0.14)mmol·L⁻¹, (1.23±0.12)mmol·L⁻¹, $t=1.415$, $P=0.161$; (1.25±0.08)mmol·L⁻¹, (1.23±0.12)mmol·L⁻¹, $t=1.277$, $P=0.206$ 。血钙:(2.33±0.08)mmol·L⁻¹, (2.32±0.07)mmol·L⁻¹, $t=0.659$, $P=0.512$; (2.34±0.06)mmol·L⁻¹, (2.35±0.06)mmol·L⁻¹, $t=-0.514$, $P=0.608$];治疗结束后 2 组患者血磷、血钙含量与治疗前比较,差异均无统计学意义(血磷: $t=0.799$, $P=0.419$; $t=0.197$, $P=0.845$ 。血钙: $t=-0.401$, $P=0.690$; $t=-1.552$, $P=0.129$)。⑤血清 miR-335-5p 表达量。治疗前,2 组患者血清 miR-335-5p 的表达量比较,差异无统计学意义(1.04±0.72, 1.06±0.66, $t=-0.081$, $P=0.936$);治疗结束后,二仙汤组血清 miR-335-5p 的表达量高于基础用药组(7.71±1.94, 1.36±0.83, $t=14.520$, $P=0.000$),且高于治疗前($t=-17.289$, $P=0.000$),基础用药组血清 miR-335-5p 的表达量与治疗前的差异无统计学意义($t=-1.279$, $P=0.216$)。结论:口服二仙汤有利于缓解绝经后骨质疏松症肾阳

基金项目:苏州市 2020 年度第二十九批科技发展计划(民生科技-医疗卫生应用基础研究)项目(SYS2020065)

通讯作者:洪嵘 E-mail:605019963@qq.com

虚证患者的腰背痛和促进骨形成,其作用机制可能与上调 miR-335-5p 的表达有关。

关键词 骨质疏松,绝经后;二仙汤;肾阳虚;碳酸钙;阿法骨化醇;背痛;骨密度;骨钙素; I 型前胶原氨基端前肽; I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列;钙;磷;miR-335-5p;临床试验

Applied values and mechanism of action of oral application of Erxian Tang(二仙汤) in treatment of postmenopausal osteoporosis with syndrome of kidney – yang deficiency: a clinical study

WANG Qing, HUANG Haoqiang, CHEN Yong, CHEN Ji, HONG Rong

Kunshan Hospital of Chinese Medicine, Kunshan 215300, Jiangsu, China

ABSTRACT Objective: To explore the applied values of oral application of Erxian Tang(二仙汤, EXT) in treatment of postmenopausal osteoporosis (PMOP) with kidney – yang deficiency syndrome (KYDS), and to explore its mechanism of action. **Methods:** Ninety PMOP patients with KYDS were enrolled in the study and were randomly divided into EXT group and basic medication group, 45 cases in each group. The patients in EXT group were treated with oral applications of EXT (twice a day in the morning and evening respectively, 1 bag at a time), calcium carbonate and Vitamin D3 tablets (once a day, 1 tablet at a time) and alfacalcidol soft capsules (once a day, 1 capsule at a time) for consecutive 12 weeks; while the ones in basic medication group were merely with oral applications of calcium carbonate and Vitamin D3 tablets and alfacalcidol soft capsules for consecutive 12 weeks. The low back pain was evaluated by using pain visual analogue scale (VAS) score, and the bone mineral density (BMD) of lumbar vertebra (LV) from L₁ to L₄ and femoral neck (FN), the serum levels of osteocalcin (OCN), N – terminal propeptide of type I procollagen (P I NP) and β C – terminal telopeptide of type I collagen (β – CTX), the levels of serum calcium (Ca) and serum phosphorus (P) and the expression level of serum miR – 335 – 5p were detected by using dual – energy X – ray absorptiometry (DEXA), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), chemiluminescence immunoassay (CLIA) and fluorescent quantitative PCR method respectively before the treatment and after the end of the treatment. **Results:** ① Three patients in EXT group and 1 case in basic medication group dropped out of the study for failing to take medication as required, while 2 cases in EXT group and 4 cases in basic medication group dropped out of the study for losing to follow – up. ② There was no statistical difference in low back pain VAS score between the 2 groups before the treatment (4.03 ± 0.80 vs 3.90 ± 0.93 points, $t = 0.645$, $P = 0.521$). The low back pain VAS scores were lower in EXT group compared to basic medication group after the end of the treatment (2.10 ± 0.87 vs 2.98 ± 1.10 points, $t = -3.526$, $P = 0.001$), and it decreased after the end of treatment compared to pretreatment in the 2 groups ($t = 14.198$, $P = 0.000$; $t = 7.656$, $P = 0.000$). ③ There was no statistical difference in BMD of LV from L₁ to L₄ and FN between the 2 groups before the treatment and after the end of the treatment (LV: 0.886 ± 0.040 vs 0.880 ± 0.030 g/cm², $t = 0.746$, $P = 0.458$; 0.888 ± 0.040 vs 0.878 ± 0.030 g/cm², $t = 0.994$, $P = 0.323$. FN: 0.763 ± 0.070 vs 0.767 ± 0.070 g/cm², $t = -0.263$, $P = 0.794$; 0.765 ± 0.070 vs 0.770 ± 0.070 g/cm², $t = -0.927$, $P = 0.360$), and there was no statistical difference between the 2 timepoints in the 2 groups (LV: $t = -1.099$, $P = 0.281$; $t = 0.701$, $P = 0.492$. FN: $t = -1.640$, $P = 0.109$; $t = -0.927$, $P = 0.360$). ④ There was no statistical difference in serum level of OCN between the 2 groups before the treatment and after the end of the treatment (14.09 ± 3.97 vs 15.56 ± 3.67 ng/mL, $t = -1.070$, $P = 0.092$; 16.14 ± 3.67 vs 15.58 ± 4.74 ng/mL, $t = 0.602$, $P = 0.549$). The serum level of OCN was higher after the end of treatment compared to pretreatment in EXT group ($t = -11.325$, $P = 0.000$), while the differences in serum level of OCN were not statistically significant between the 2 timepoints in basic medication group ($t = 0.045$, $P = 0.964$). There was no statistical difference in serum level of P I NP between the 2 groups before the treatment (38.08 ± 11.90 vs 36.90 ± 9.80 ng/mL, $t = 0.484$, $P = 0.630$). The serum level of P I NP was higher in EXT group compared to basic medication group after the end of treatment (45.96 ± 13.38 vs 35.43 ± 12.15 ng/mL, $t = 3.684$, $P = 0.000$), and it was higher after the end of treatment compared to pretreatment in EXT group ($t = -10.795$, $P = 0.000$), while there was no statistical difference between the 2 timepoints in basic medication group ($t = 1.564$, $P = 0.126$). There was no statistical difference in serum level of β – CTX between the 2 groups before the treatment and after the end of treatment (0.36 ± 0.10 vs 0.36 ± 0.09 ng/mL, $t = 0.140$, $P = 0.889$; 0.38 ± 0.11 vs 0.37 ± 0.10 ng/mL, $t = 0.499$, $P = 0.619$), and there was no statistical difference in serum level of β – CTX between the 2 timepoints in the 2 groups ($t = -1.279$, $P = 0.209$; $t = -1.004$, $P = 0.322$). There was no statistical difference in the levels of serum P and serum Ca between the 2 groups before the treatment and after the end of treatment (serum P: 1.27 ± 0.14 vs 1.23 ± 0.12 mmol/L, $t = 1.415$, $P = 0.161$; 1.25 ± 0.08 vs 1.23 ± 0.12 mmol/L, $t = 1.277$, $P = 0.206$. serum Ca: 2.33 ± 0.08 vs 2.32 ± 0.07 mmol/L, $t = 0.659$, $P = 0.512$; 2.34 ± 0.06 vs 2.35 ± 0.06 mmol/L, $t = -0.514$, $P = 0.608$), and there was no sta-

tistical difference in levels of serum P and serum Ca between the 2 timepoints in the 2 groups (serum P: $t = 0.799, P = 0.419; t = 0.197, P = 0.845$. serum Ca: $t = -0.401, P = 0.690; t = -1.552, P = 0.129$). ⑤ There was no statistical difference in the expression level of serum miR-335-5p between the 2 groups before the treatment (1.04 ± 0.72 vs $1.06 \pm 0.66, t = -0.081, P = 0.936$). The expression level of serum miR-335-5p was higher in EXT group compared to basic medication group after the end of treatment (7.71 ± 1.94 vs $1.36 \pm 0.83, t = 14.520, P = 0.000$), and it was higher after the end of treatment compared to pre-treatment in EXT group ($t = -17.289, P = 0.000$), whereas there was no statistical difference in the expression level of serum miR-335-5p between the 2 timepoints in basic medication group ($t = -1.279, P = 0.216$). **Conclusion:** Oral application of EXT is helpful to relieve low back pain and promote bone formation in PMOP patients with KYDS, and its mechanism of action may be that it can up-regulate the expression of miR-335-5p.

Keywords osteoporosis, postmenopausal; Erxian Tang; syndrome of deficiency of kidney yang; calcium carbonate; alfacalcidol; back pain; bone density; osteocalcin; N-terminal propeptide of type I procollagen; β C-terminal telopeptide of type I collagen; calcium; phosphorus; miR-335-5p; clinical trial

骨质疏松症是一种以骨量下降,骨微结构破坏,导致脆性增加,易发生骨折为特征的全身性骨病^[1]。该病多发于绝经后女性和老年男性。随着我国社会老龄化的进程加速,骨质疏松症的发病率也不断升高,给社会及家庭带来了严重的负担。中医药治疗骨质疏松症具有安全、可靠、不良反应小、标本兼治等优势^[2]。二仙汤主要由仙茅、淫羊藿、巴戟天、当归、黄柏、知母组成,既往研究发现二仙汤对绝经后骨质疏松症有较好的治疗作用^[3],但其作用机制尚不清楚。为了进一步观察二仙汤在绝经后骨质疏松症肾阳虚证治疗中的应用价值,并探讨其作用机制,我们进行了前瞻性临床试验,现总结报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 以2019年12月至2021年1月在昆山市中医医院门诊就诊的绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者为研究对象。试验方案经医院医学伦理委员会审查通过。

1.2 诊断标准

1.2.1 骨质疏松症诊断标准 采用《原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)》中骨质疏松症的诊断标准^[1]。

1.2.2 肾阳虚证诊断标准 采用《中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2020)》中骨质疏松症肾阳虚证的诊断标准^[4]。主症:腰背冷痛,酸软乏力;次症:驼背弯腰,活动受限,畏寒喜暖,遇冷加重,尤以下肢为甚,小便频数;舌淡、苔白,脉沉细或沉弦。

1.3 纳入标准 ①符合上述诊断标准;②年龄50~75岁;③绝经1年以上的妇女;④对本研究方案知情同意,并签署知情同意书。

1.4 排除标准 ①合并心脑血管、肝、肾或造血系统等严重原发性疾病者;②合并糖尿病、骨关节炎、类风

湿关节炎、甲状腺或甲状旁腺疾病、恶性肿瘤等影响骨代谢的疾病者;③近6个月使用过降钙素、雌激素、甲状旁腺激素、糖皮质激素、活性维生素D等影响骨代谢的药物者;④精神病患者。

1.5 退出标准 ①试验期间未按规定服药者;②自行退出试验者;③试验期间出现了其他疾病不宜继续参加试验者。

2 方法

2.1 分组方法 采用随机数字表将符合要求的患者随机分为基础用药组和二仙汤组。

2.2 治疗方法

2.2.1 基础用药组 采用口服碳酸钙 D3 和阿法骨化醇软胶囊治疗。碳酸钙 D3 (惠氏制药有限公司生产,国药准字 H10950029),每日1次,每次1片,连续服用12周;阿法骨化醇软胶囊(南通华山药业有限公司生产,国药准字 20000066),每日1次,每次1粒,连续服用12周。

2.2.2 二仙汤组 采用口服二仙汤联合碳酸钙 D3 和阿法骨化醇软胶囊治疗。二仙汤的药物组成:仙茅 20 g,淫羊藿 20 g,巴戟天 10 g,知母 10 g,当归 10 g,黄柏 6 g。上述药物由昆山市中医医院中药房统一代煎、装袋(每袋 200 mL),每日2次,每次1袋,早晚服用,连续服用12周。碳酸钙 D3 和阿法骨化醇软胶囊用法、用量、疗程同基础用药组。

2.3 疗效评价方法 分别于治疗前和治疗结束后,采用疼痛视觉模拟量表(visual analogue scale, VAS)评分评价腰背部疼痛情况,采用双能 X 线骨密度仪(美国通用电气公司)测定患者腰椎(L₁~L₄)骨密度及股骨颈骨密度,采用酶联免疫吸附法测定血清骨钙素、I型前胶原氨基端前肽(N-terminal propeptide of

type I procollagen, P I NP) 及 I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列(β C-terminal telopeptide of type I collagen, β -CTX) 含量, 采用化学发光法测定血钙及血磷含量, 采用荧光定量 PCR 法测定血清 miR-335-5p 的表达量。

2.4 数据统计方法 采用 SPSS22.0 统计软件对所得数据进行统计学分析。2 组患者年龄、绝经时间、体质量指数及腰背疼痛 VAS 评分、腰椎骨密度、股骨颈骨密度、血清骨钙素含量、血清 P I NP 含量、血清 β -CTX 含量、血钙含量、血磷含量、血清 miR-335-5p 的表达量的组间、组内比较均采用 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 分组结果 符合要求的患者共 90 例, 基础用药组和二仙汤组各 45 例。2 组患者的基线资料比较, 差

异无统计学意义, 有可比性(表 1)。

3.2 疗效评价结果 共 10 例患者退出试验, 其中二仙汤组 3 例因未能按时按计量服药退出, 2 例因失访退出; 基础用药组 1 例因未能按时按计量服药退出, 4 例因失访退出。

3.2.1 腰背部疼痛 VAS 评分 治疗前, 2 组患者腰背部疼痛 VAS 评分比较, 差异无统计学意义; 治疗结束后, 2 组患者腰背部疼痛 VAS 评分均低于治疗前, 二仙汤组腰背部疼痛 VAS 评分低于基础用药组(表 2)。

3.2.2 骨密度 治疗前与治疗结束后, 2 组患者腰椎骨密度和股骨颈骨密度比较, 组间差异均无统计学意义; 治疗结束后 2 组患者腰椎骨密度和股骨颈骨密度与治疗前比较, 差异均无统计学意义(表 3、表 4)。

表 1 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者基线资料

组别	样本量/例	年龄/ $(\bar{x} \pm s, \text{岁})$	绝经时间/ $(\bar{x} \pm s, \text{年})$	体质量指数/ $(\bar{x} \pm s, \text{kg} \cdot \text{m}^{-2})$
二仙汤组	45	55.83 \pm 3.70	5.40 \pm 1.72	21.92 \pm 1.78
基础用药组	45	55.38 \pm 4.26	5.65 \pm 2.01	22.60 \pm 1.90
t 值		0.512	-0.598	-1.645
P 值		0.610	0.552	0.104

表 2 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者治疗前后腰背部疼痛 VAS 评分

组别	样本量/例	腰背部疼痛 VAS ¹⁾ 评分/ $(\bar{x} \pm s, \text{分})$		t 值	P 值
		治疗前	治疗结束后		
二仙汤组	40	4.03 \pm 0.80	2.10 \pm 0.87	14.198	0.000
基础用药组	40	3.90 \pm 0.93	2.98 \pm 1.10	7.656	0.000
t 值		0.645	-3.526		
P 值		0.521	0.001		

1) 视觉模拟量表。

表 3 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者治疗前后腰椎骨密度

组别	样本量/例	腰椎骨密度/ $(\bar{x} \pm s, \text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$		t 值	P 值
		治疗前	治疗结束后		
二仙汤组	40	0.886 \pm 0.040	0.888 \pm 0.040	-1.099	0.281
基础用药组	40	0.880 \pm 0.030	0.878 \pm 0.030	0.701	0.492
t 值		0.746	0.994		
P 值		0.458	0.323		

表 4 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者治疗前后股骨颈骨密度

组别	样本量/例	股骨颈骨密度/ $(\bar{x} \pm s, \text{g} \cdot \text{cm}^{-2})$		t 值	P 值
		治疗前	治疗结束后		
二仙汤组	40	0.763 \pm 0.070	0.765 \pm 0.070	-1.640	0.109
基础用药组	40	0.767 \pm 0.070	0.770 \pm 0.070	-0.927	0.360
t 值		-0.263	-0.927		
P 值		0.794	0.360		

3.2.3 骨代谢生化指标 治疗前,2 组患者血清骨钙素含量比较,差异无统计学意义;治疗结束后,二仙汤组患者血清骨钙素含量高于治疗前,基础用药组患者血清骨钙素含量与治疗前的差异无统计学意义,2 组患者血清骨钙素含量的差异无统计学意义(表 5)。治疗前,2 组患者血清 P I NP 含量比较,差异无统计学意义;治疗结束后,二仙汤组患者血清 P I NP 含量高于治疗前,基础用药组患者血清 P I NP 含量与治疗前的差异无统计学意义,二仙汤组患者血清 P I NP 含量高于基础用药组(表 6)。治疗前与治疗结束后,2 组患者血清 β -CTX 含量比较,组间差异均无统计学意义;治疗结束后 2 组患者血清 β -CTX 含量与治疗前比较,差异均无统计学意义(表 7)。治疗前与治疗结束后,2 组患者血磷、血钙含量比较,组间差异均无统计学意义;治疗结束后 2 组患者血磷、血钙含量

与治疗前比较,差异均无统计学意义(表 8、表 9)。

3.2.4 血清 miR-335-5p 表达量 治疗前,2 组患者血清 miR-335-5p 的表达量比较,差异无统计学意义;治疗结束后,二仙汤组血清 miR-335-5p 的表达量高于治疗前,基础用药组血清 miR-335-5p 表达与治疗前的差异无统计学意义,二仙汤组血清 miR-335-5p 的表达量高于基础用药组(表 10)。

4 讨论

二仙汤是上海中医药大学张伯纳教授的经验方,方中仙茅、巴戟天温补肾阳、强筋骨、祛风湿,知母、黄柏滋阴泻火、生津润燥,当归温润养血补虚,淫羊藿行散祛湿、温肾壮阳;诸药合用,具有补阳滋阴的功效。该方可使肾之气血阴阳协调,正气渐复,从而能缓解腰背冷痛、四肢乏力等。

慢性疼痛是骨质疏松症常见的症状,其中以腰背

表 5 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者治疗前后血清骨钙素含量

组别	样本量/例	血清骨钙素含量/ $(\bar{x} \pm s, \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$		t 值	P 值
		治疗前	治疗结束后		
二仙汤组	40	14.09 \pm 3.97	16.14 \pm 3.67	-11.325	0.000
基础用药组	40	15.56 \pm 3.67	15.58 \pm 4.74	0.045	0.964
t 值		-1.070	0.602		
P 值		0.092	0.549		

表 6 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者治疗前后血清 P I NP 含量

组别	样本量/例	血清 P I NP ¹⁾ 含量/ $(\bar{x} \pm s, \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$		t 值	P 值
		治疗前	治疗结束后		
二仙汤组	40	38.08 \pm 11.90	45.96 \pm 13.38	-10.795	0.000
基础用药组	40	36.90 \pm 9.80	35.43 \pm 12.15	1.564	0.126
t 值		0.484	3.684		
P 值		0.630	0.000		

1) I 型前胶原氨基端前肽。

表 7 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者治疗前后血清 β -CTX 含量

组别	样本量/例	血清 β -CTX ¹⁾ 含量/ $(\bar{x} \pm s, \text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$		t 值	P 值
		治疗前	治疗结束后		
二仙汤组	40	0.36 \pm 0.10	0.38 \pm 0.11	-1.279	0.209
基础用药组	40	0.36 \pm 0.09	0.37 \pm 0.10	-1.004	0.322
t 值		0.140	0.499		
P 值		0.889	0.619		

1) I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列。

表 8 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者治疗前后血磷含量

组别	样本量/例	血磷含量/ $(\bar{x} \pm s, \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$		t 值	P 值
		治疗前	治疗结束后		
二仙汤组	40	1.27 \pm 0.14	1.25 \pm 0.08	0.799	0.419
基础用药组	40	1.23 \pm 0.12	1.23 \pm 0.12	0.197	0.845
t 值		1.415	1.277		
P 值		0.161	0.206		

表 9 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者治疗前后血钙含量

组别	样本量/例	血钙含量/ $(\bar{x} \pm s, \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$		t 值	P 值
		治疗前	治疗结束后		
二仙汤组	40	2.33 ± 0.08	2.34 ± 0.06	-0.401	0.690
基础用药组	40	2.32 ± 0.07	2.35 ± 0.06	-1.552	0.129
t 值		0.659	-0.514		
P 值		0.512	0.608		

表 10 2 组绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者治疗前后血清 miR-335-5p 表达量

组别	样本量/例	血清 miR-335-5p 表达量($\bar{x} \pm s$)		t 值	P 值
		治疗前	治疗结束后		
二仙汤组	40	1.04 ± 0.72	7.71 ± 1.94	-17.289	0.000
基础用药组	40	1.06 ± 0.66	1.36 ± 0.83	-1.279	0.216
t 值		-0.081	14.520		
P 值		0.936	0.000		

痛最多见。骨质疏松症慢性疼痛的发生机制较为复杂,至今尚未完全明确^[5]。有研究认为,破骨细胞异常激活、周围神经及骨骼肌病变、心理状态改变等均与骨质疏松症慢性疼痛的发生有关^[5-8]。二仙汤除了能调节骨代谢,还能延缓下丘脑-垂体-性腺轴衰老^[9],降低大脑神经递质的浓度及神经回路信息传导,有效缓解更年期抑郁症^[10-12]。本研究结果显示,二仙汤组和基础用药组均能在一定程度上缓解腰背部疼痛,但二仙汤组的作用更明显,这可能与二仙汤能调节骨代谢、影响心理状态、缓解更年期精神抑郁等有关。

骨转换生化标志物是骨组织本身的代谢(分解与合成)产物,可以反映骨吸收与骨形成的动态平衡情况^[13-14],而且早于骨密度的改变,临床被广泛用于骨质疏松症等骨代谢性疾病的诊断与鉴别诊断,而且对抗骨质疏松药物的疗效判定也有重要价值^[15-16]。血清 P I NP、 β -CTX 及骨钙素是一类源于骨基质或骨细胞的骨代谢指标,可及时反映骨代谢情况,其中 P I NP、骨钙素是反映骨形成的特异性指标,而 β -CTX 是反映骨吸收的特异性指标。基础用药组采用口服碳酸钙 D3 和阿法骨化醇软胶囊治疗 12 周后,血清 P I NP、骨钙素及 β -CTX 较治疗前均无显著变化,而二仙汤组在基础用药的基础上加用二仙汤治疗 12 周后,血清 P I NP、骨钙素均高于治疗前,说明二仙汤具有促进骨形成的作用。另外,二仙汤组血清 P I NP 虽有升高,但其升高幅度较小,不同于使用特立帕肽等促骨形成剂后 P I NP 升高显著^[17],分析其原因,可能与中药复方有效成分的浓度低、治疗时间短有关。此外,钙磷代谢的平衡和钙磷在细胞内、外液中浓度的正常,是维持机体正常生理功能的重要因素。人体机能正常的情况下,血钙、血磷通常不受骨代

谢的影响。但为了确保医疗安全,在骨质疏松症的临床相关研究中我们会常规监测患者血钙、血磷水平。

microRNA 组学与中医整体观、恒动观、辨证论治的研究思路有一定的趋同性,符合中医药多成分、多靶点、整体综合效应的特点,为中医药研究提供了新方法和新思路,在中医药的研究中具有重要的价值^[18-20]。我们前期通过网络药理学分析,预测 miR-335-5p 可能是二仙汤治疗绝经后骨质疏松症的重要靶点。本研究中,我们检测了二仙汤组及基础用药组用药前后血清 miR-335-5p 的表达量,结果显示二仙汤组用药后 miR-335-5p 的表达量较治疗前明显升高,而基础用药组用药后 miR-335-5p 的表达量无明显变化。研究表明,miR-335-5p 通过抑制 Wnt/ β -catenin 通路的抑制剂 Dickkopf 相关蛋白 1 的表达,促进成骨细胞分化^[21-23]。miR-335-5p 上调骨形态发生蛋白 2 的表达,进而促进人骨髓间充质干细胞的成骨分化^[24]。

本研究结果显示,口服二仙汤有利于缓解绝经后骨质疏松症肾阳虚证患者的腰背痛和促进骨形成,其作用机制可能与上调 miR-335-5p 的表达有关。但本研究样本量较小、治疗和随访时间短,研究结论尚需后续的大样本、高质量的前瞻性研究进一步证实。

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]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(3):281-309.
- [2] 梁伟乔,钟诚,李宇明. 骨质疏松症的中医病因病机认识与治疗进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(1):135-139.
- [3] 陈世洲,毛国庆. 二仙汤及加减方治疗骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018, 24(12):1644-1646.

- [4] 中国老年学和老年医学学会骨质疏松分会中医药专家委员会. 中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2020)[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(12): 1717-1725.
- [5] 陈元川, 庞坚, 詹红生. 骨质疏松症慢性疼痛机制的研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(7): 1249-1253.
- [6] ALOUMANIS K, MAVROUDIS K. The “depressive” face of osteoporosis and the “osteoporotic” face of depression[J]. *Hormones (Athens)*, 2013, 12(3): 350-362.
- [7] ASMUS S E, PARSONS S, LANDIS S C. Developmental changes in the transmitter properties of sympathetic neurons that innervate the periosteum[J]. *J Neurosci*, 2000, 20(4): 1495-1504.
- [8] PAOLUCCI T, SARACENI V M, PICCININI G. Management of chronic pain in osteoporosis: challenges and solutions[J]. *J Pain Res*, 2016, 9: 177-186.
- [9] 杨颖, 陈名道, 李凤英, 等. 二仙汤及其拆方对 GT1-7 细胞株 GnRH 分泌的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(3): 143-145.
- [10] 龙小平. 二仙汤加减对围绝经期抑郁症患者症状及内分泌指标改善的疗效分析[J]. 四川中医, 2018, 36(8): 169-172.
- [11] 罗武龙, 陈洁, 牛婕, 等. 基于网络药理学的二仙汤治疗抑郁症的作用机制研究[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(9): 1317-1324.
- [12] 许凤全, 郑瑀, 许琳洁, 等. 加味二仙汤联合心理疏导对更年期抑郁症女性单胺类神经递质的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(7): 789-794.
- [13] 张萌萌, 张岩, 吴涤, 等. 骨代谢生化指标实验推荐方案[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(10): 1405-1412.
- [14] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 骨转换生化标志物临床应用指南[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2021, 14(4): 321-336.
- [15] BAUER D C. Clinical Use of Bone Turnover Markers[J]. *JAMA*, 2019, 322(6): 569-570.
- [16] MIURA M. Evaluation of bone for using of bone metabolic markers in the diagnosis and treatment of osteoporosis[J]. *Clin Calcium*, 2013, 23(3): 325-338.
- [17] MCCLUNG M R, SAN MARTIN J, MILLER P D, et al. Opposite bone remodeling effects of teriparatide and alendronate in increasing bone mass [J]. *Arch Intern Med*, 2005, 165(15): 1762-1768.
- [18] 范中正, 董万涛, 刘保健, 等. MicroRNA 通过肠道菌群对绝经后骨质疏松症影响的机制探讨[J]. 中国微生态学杂志, 2021, 33(9): 1100-1103.
- [19] 贾敏, 蒋跃绒, 苗阳. microRNA 在中医证候诊断、疗效评价及预后研究中的应用进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(5): 636-639.
- [20] 涂玥, 万毅刚, 顾一煌, 等. 非编码 RNA 调控自噬的分子机制及中药的干预作用[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(21): 4545-4551.
- [21] 李济伶, 冯正平, 陈力学, 等. miR-335-5p 对高糖状态下成骨细胞功能的影响[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2015, 31(8): 712-716.
- [22] ZHANG J, TU Q, BONEWALD L F, et al. Effects of miR-335-5p in modulating osteogenic differentiation by specifically downregulating Wnt antagonist DKK1 [J]. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(8): 1953-1963.
- [23] ZHANG L, TANG Y, ZHU X, et al. Overexpression of mir-335-5p promotes bone formation and regeneration in mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2017, 32(12): 2466-2475.
- [24] 黄振明, 蔡卓, 钱静, 等. 微小 RNA-335-5p 调控 BMP-2 对人 BMSCs 成骨分化的影响[J]. 中国修复重建外科杂志, 2020, 34(6): 781-786.

(收稿日期: 2021-12-01 本文编辑: 时红磊)

(上接第 2 页)

- [11] 李杰, 雷晶晶, 牛文民, 等. “正气存内, 邪不可干”新解[J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(10): 118-119.
- [12] 桑德刚. 关节镜手术与保守方法治疗慢性膝关节骨性关节炎临床疗效比较[J]. 慢性病学杂志, 2021, 22(5): 797-799.
- [13] 杨国清, 梁文强, 张怀斌, 等. 骨髓间充质干细胞治疗骨科疾病的研究进展[J]. 医学综述, 2021, 27(16): 3210-3215.
- [14] 中华医学会骨科分会关节外科学组, 吴阶平医学基金会骨科学专家委员会. 膝骨关节炎阶梯治疗专家共识(2018 年版)[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2019, 13(1): 124-130.
- [15] 王庆甫, 祁印泽, 陈兆军, 等. 超声电导透射通络止痛中药外治膝骨性关节炎的临床观察[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(4): 283-285.
- [16] 何炳蔚, 张月, 邓震, 等. 医疗机器人与医工融合技术研究进展[J]. 福州大学学报(自然科学版), 2021, 49(5): 681-690.
- [17] 王晶, 向福胜, 刘丽, 等. 膝关节骨性关节炎的中西医结合治疗进展[J]. 中国医药导报, 2018, 15(6): 35-38.
- [18] 尹智颖, 辜志昌. 膝关节骨性关节炎的中西医结合治疗进展[J]. 按摩与康复医学, 2020, 11(9): 31-35.
- [19] 杨勇, 赵良虎, 黄金. 膝关节置换术结合中药疗法对膝关节骨性关节炎的临床疗效研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22(7): 837-841.

(收稿日期: 2021-11-21 本文编辑: 李晓乐)