

林蛙油治疗绝经后骨质疏松症的临床研究

王丹辉¹, 贲越², 韩梅³

(1. 吉林省中医药科学院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林省长春市中医院, 吉林 长春 130021;
3. 广东省广州市红十字会医院, 广东 广州 510000)

摘要 目的:观察林蛙油治疗绝经后骨质疏松症的临床疗效,并探讨其作用机制。**方法:**将 60 例绝经后骨质疏松症患者随机分为治疗组和对照组,每组 30 例,治疗组采用口服林蛙油治疗,对照组采用口服仙灵骨葆胶囊治疗。治疗 6 个月后,观察 2 组患者治疗前后临床症状体征评分改变及骨密度、骨代谢指标变化情况。**结果:**①症状体征评分。治疗前 2 组患者症状体征评分比较,差异无统计学意义($t=1.781, P=0.113$);治疗 6 个月后,2 组患者症状体征评分均较治疗前降低[(17.67±3.67)分, (6.44±2.46)分, $t=13.808, P=0.000$; (20.22±2.17)分, (11.89±1.90)分, $t=15.811, P=0.007$],治疗组降低更明显[(11.23±2.44)分, (8.33±1.58)分, $t=2.760, P=0.025$]。②骨密度。治疗前和治疗 6 个月后,2 组患者骨密度比较,组间差异均无统计学意义($t=0.824, P=0.425$; $t=0.767, P=0.457$);治疗 6 个月后,2 组患者骨密度与治疗前比较,差异均无统计学意义[(-2.37±0.84)g·cm⁻², (-2.65±0.91)g·cm⁻², $t=0.811, P=0.432$; (-2.19±0.83)g·cm⁻², (-2.41±0.56)g·cm⁻², $t=0.727, P=0.479$]。③骨代谢指标。治疗前 2 组患者骨碱性磷酸酶、雌二醇、白细胞介素-6、骨钙素血清含量比较,组间差异均无统计学意义($t=1.622, P=0.127$; $t=1.114, P=0.284$; $t=1.554, P=0.143$; $t=1.185, P=0.160$)。治疗 6 个月后,2 组患者血清骨碱性磷酸酶含量[(17.13±2.13)单位·L⁻¹, (7.80±1.82)单位·L⁻¹, $t=12.594, P=0.000$; (16.40±1.80)单位·L⁻¹, (10.73±2.12)单位·L⁻¹, $t=8.324, P=0.000$]、血清白细胞介素-6 含量[(125.20±13.86)μg·L⁻¹, (88.13±10.20)μg·L⁻¹, $t=5.795, P=0.000$; (131.93±11.07)μg·L⁻¹, (107.40±7.74)μg·L⁻¹, $t=9.648, P=0.000$]、血清骨钙素含量[(6.19±0.96)ng·L⁻¹, (3.54±1.12)ng·L⁻¹, $t=6.504, P=0.000$; (5.80±0.56)ng·L⁻¹, (5.15±0.51)ng·L⁻¹, $t=6.733, P=0.000$]均较治疗前降低,治疗组降低更明显[(9.33±2.87)单位·L⁻¹, (5.67±2.64)单位·L⁻¹, $t=7.416, P=0.000$; (37.17±19.08)μg·L⁻¹, (24.53±9.85)μg·L⁻¹, $t=2.253, P=0.041$; (2.65±1.53)ng·L⁻¹, (0.64±0.37)ng·L⁻¹, $t=4.820, P=0.000$];2 组患者血清雌二醇含量均较治疗前升高[(21.73±5.55)pg·mL⁻¹, (43.40±5.65)pg·mL⁻¹, $t=8.208, P=0.000$; (24.27±7.72)pg·mL⁻¹, (34.13±5.75)pg·mL⁻¹, $t=5.006, P=0.000$],治疗组升高更明显[(21.67±10.22)pg·mL⁻¹, (9.87±7.63)pg·mL⁻¹, $t=4.209, P=0.001$]。**结论:**林蛙油在短期内未能提高绝经后骨质疏松症患者的骨密度,但可以明显提高其血清雌二醇水平,降低其血清骨碱性磷酸酶、白细胞介素-6 和骨钙素水平,这可能是林蛙油可以明显改善 PMOP 患者的临床症状与体征的作用机制之一。

关键词 骨质疏松, 绝经后 林蛙 仙灵骨葆胶囊 治疗, 临床研究性 骨密度 碱性磷酸酶 骨钙素 雌二醇 白细胞介素 6

Clinical study of Rana temporaria oil in the treatment of postmenopausal osteoporosis Wang Danhui*, Ben Yue, Han Mei. * Jilin Academy of Traditional Chinese Medical Sciences, Changchun 130021, Jilin, China

ABSTRACT Objective:To observe the clinical effects of Rana temporaria oil on postmenopausal osteoporosis (PMOP) and to explore its mechanisms of action. **Methods:**Sixty patients with PMOP were randomly divided into treatment group and control group, 30 cases in each group. The patients in treatment group were treated with Rana temporaria oil, while the others in control group were treated with XIANLING GUBAO capsules. The changes in clinical symptoms and signs scores, bone density and bone metabolism index were observed and compared between the 2 groups before and after 6-month treatment. **Results:**There were no statistical difference in the symptoms and signs scores between the 2 groups before the treatment ($t=1.781, P=0.113$). while the symptoms and signs scores decreased in both of the 2 groups after 6-month treatment (17.67 ± 3.67 vs 6.44 ± 2.46 points, $t=13.808, P=0.000$; 20.22 ± 2.17 vs 11.89 ± 1.90 points, $t=15.811, P=0.007$), and the scores decreased more significantly in the treatment group (11.23 ± 2.44 vs 8.33 ± 1.58 points, $t=$

2.760, $P=0.025$). There were no statistical difference in bone density between the 2 groups before the treatment and after 6-month treatment ($t=0.824, P=0.425; t=0.767, P=0.457$). There were no statistical difference in bone density between pre- and post-treatment (-2.37 ± 0.84 vs -2.65 ± 0.91 g/cm²), $t=0.811, P=0.432$; -2.19 ± 0.83 vs -2.41 ± 0.56 g/cm²), $t=0.727, P=0.479$). There were no statistical difference between the 2 groups in the serum concentrations of bone alkaline phosphatase, estradiol, interleukin-6 and osteocalcin before the treatment ($t=1.622, P=0.127; t=1.114, P=0.284; t=1.554, P=0.143; t=1.185, P=0.160$). The serum concentrations of bone alkaline phosphatase (17.13 ± 2.13 vs 7.80 ± 1.82 units/L, $t=12.594, P=0.000$; 16.40 ± 1.80 vs 10.73 ± 2.12 units/L, $t=8.324, P=0.000$), interleukin-6 (125.20 ± 13.86 vs 88.13 ± 10.20 μg/L, $t=5.795, P=0.000$; 131.93 ± 11.07 vs 107.40 ± 7.74 μg/L, $t=9.648, P=0.000$) and osteocalcin (6.19 ± 0.96 vs 3.54 ± 1.12 ng/L, $t=6.504, P=0.000$; 5.80 ± 0.56 vs 5.15 ± 0.51 ng/L, $t=6.733, P=0.000$) decreased in both of the 2 groups after 6-month treatment, and more significant decrease were found in the treatment group (9.33 ± 2.87 vs 5.67 ± 2.64 units/L, $t=7.416, P=0.000$; 37.17 ± 19.08 vs 24.53 ± 9.85 μg/L, $t=2.253, P=0.041$; 2.65 ± 1.53 vs 0.64 ± 0.37 ng/L, $t=4.820, P=0.000$); The serum concentrations of estradiol increased in both of the 2 groups after 6-month treatment (21.73 ± 5.55 vs 43.40 ± 5.65 pg/mL, $t=8.208, P=0.000$; 24.27 ± 7.72 vs 34.13 ± 5.75 pg/mL, $t=5.006, P=0.000$), and more significant increase were found in the treatment group (21.67 ± 10.22 vs 9.87 ± 7.63 pg/mL, $t=4.209, P=0.001$). **Conclusion:** Although the Rana temporaria oil can not improve bone mineral density in patients with postmenopausal osteoporosis in short period, it can increase the serum estradiol level significantly and decrease the serum concentrations of bone specific alkaline phosphatase, interleukin-6 and osteocalcin, which may be one of the mechanisms of action for Rana temporaria oil to obviously improve clinical symptoms and signs of PMOP patients.

Key words Osteoporosis, postmenopausal; Rana temporaria; XIANLING GUBAO capsule; Therapies, investigational; Bone Density; Alkaline phosphatase; Osteocalcin; Estradiol; Interleukin-6

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是中老年人中常见的一种代谢性骨病,主要发生在绝经后妇女和老年人中,而绝经后妇女由于雌激素缺乏更易患 OP,给患者带来极大痛苦,严重影响其生活质量^[1]。绝经后骨质疏松症(postmenopausal osteoporosis, PMOP)属中医“痿证”“骨痹”等范畴,多以肾虚证为主要证候表现,但与肝脾密切相关^[2]。林蛙油是我国传统名贵中药,临床上治疗 PMOP 的疗效确切。2012 年 8 月至 2013 年 3 月,我们分别采用林蛙油和仙灵骨葆胶囊 2 种药物治疗 PMOP 患者 60 例,并对其疗效进行了对比研究,现报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料 纳入研究 PMOP 患者 60 例。年龄 45~75 岁,中位数 62 岁。绝经时间 3~11 年,中位数 9.5 年。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 骨密度(bone mineral density, BMD)低于汉族妇女骨峰值 2 个标准差以上,符合中国人 OP 诊断标准^[3]。

1.2.2 中医诊断标准 参照《中药新药临床研究指导原则》中肝肾不足型 OP 诊断标准^[4]制定以下标准:腰脊疼痛,酸软少力,不能持重,肢节痿弱,步履艰难,或足跟痛,头晕,目眩,舌质或偏红或淡,舌苔薄或

薄白,脉沉细。

1.3 纳入标准 ①符合上述诊断标准;②自然绝经后女性;③年龄 45~75 岁;④同意参与本项研究并签署知情同意书。

1.4 排除标准 ①自然绝经不足 2 年者;②由甲状腺功能亢进、骨软化症、类风湿关节炎、多发性骨髓瘤等疾病导致的继发性 OP 者;③OP 晚期,出现身体畸形、残疾、丧失劳动力者;④合并严重的心血管、肝、肾、血液系统等疾病者;⑤近 3 个月内采用激素替代治疗或注射降钙素者;⑥近 6 个月内应用双膦酸盐类药物者;⑦精神病、老年痴呆症患者。

2 方法

2.1 分组方法 将符合要求的 60 例患者随机分为治疗组和对照组。

2.2 治疗方法 治疗组口服林蛙油(吉林省抚鹤参茸商行,批号:20121008),每次 1 g,每日 1 次,连服 6 个月为 1 个疗程;对照组口服仙灵骨葆胶囊(贵州同济堂制药有限公司,国药准字:Z20025337),每次 1.5 g,每日 2 次,连服 6 个月为 1 个疗程。

2.3 疗效观察方法

2.3.1 症状体征评分 治疗 6 个月后,参照《中药新药临床研究指导原则》中 OP 症状分级量表^[4]评价 2 组患者症状与体征的改善情况。腰背疼痛或全身

骨痛、腰膝酸软无力由轻到重分为 0 级、I 级、II 级、III 级,分别记 0、3、6、9 分;头晕目眩、步履艰难、不能持重由轻到重分为 0 级、I 级、II 级、III 级,分别记 0、1、2、3 分。

2.3.2 BMD 分别于治疗前、治疗 6 个月后采用美国 GE 双能 X 线 BMD 仪测量 2 组患者 L₂ ~ L₄ 椎体 BMD。

2.3.3 骨代谢指标 分别于治疗前、治疗 6 个月后,采用放射免疫分析法测定 2 组患者血清骨碱性磷酸酶 (bone alkaline phosphatase, BALP)、骨钙素 (bone gla protein, BGP)、雌二醇 (estradiol, E2) 及白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 的含量。

2.4 统计学方法 所有数据采用 SPSS16.0 统计软件进行处理。2 组患者年龄、绝经时间、症状体征评分、BMD、骨代谢指标的组间比较采用 *t* 检验,检验水

准 $\alpha = 0.05$ 。

3 结果

3.1 分组结果 治疗组 30 例,对照组 30 例。2 组患者基线资料比较,差异无统计学意义,有可比性 (表 1)。

表 1 2 组 PMOP 患者基线资料的比较

组别	年龄 (岁)	绝经时间 (年)
治疗组	62.80 ± 6.61	9.33 ± 1.76
对照组	61.80 ± 5.64	9.67 ± 1.70
<i>t</i> 值	0.075	0.079
<i>P</i> 值	0.055	0.053

3.2 症状体征评分 治疗前 2 组患者症状体征评分比较,差异无统计学意义;治疗 6 个月后,2 组患者症状体征评分均较治疗前降低,治疗组降低更明显 (表 2)。

表 2 2 组 PMOP 患者症状体征评分的比较 分

组别	治疗前	治疗 6 个月后	治疗前后差值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
治疗组	17.67 ± 3.67	6.44 ± 2.46	11.23 ± 2.44	13.808	0.000
对照组	20.22 ± 2.17	11.89 ± 1.90	8.33 ± 1.58	15.811	0.007
<i>t</i> 值	1.781	5.292	2.760		
<i>P</i> 值	0.113	0.001	0.025		

3.3 BMD 治疗前和治疗 6 个月后,2 组患者 BMD 比较,组间差异均无统计学意义;治疗组治疗前后 BMD 比较,差异无统计学意义;对照组治疗前后 BMD 比较,差异无统计学意义 (表 3)。

3.4 骨代谢指标 治疗前 2 组患者血清 BALP、E2、

IL-6、BGP 含量比较,组间差异均无统计学意义;治疗 6 个月后,2 组患者血清 BALP、IL-6、BGP 含量均较治疗前降低,治疗组降低更明显;2 组患者血清 E2 含量均较治疗前升高,治疗组升高更明显 (表 4 至表 7)。

表 3 2 组 PMOP 患者 BMD 的比较 g · cm⁻²

组别	治疗前	治疗 6 个月后	治疗前后差值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
治疗组	-2.65 ± 0.91	-2.37 ± 0.84	0.28 ± 0.34	0.811	0.432
对照组	-2.41 ± 0.56	-2.19 ± 0.83	0.22 ± 1.17	0.727	0.479
<i>t</i> 值	0.824	0.767	0.064		
<i>P</i> 值	0.425	0.457	0.950		

表 4 2 组 PMOP 患者血清 BALP 含量的比较 单位 · L⁻¹

组别	治疗前	治疗 6 个月后	治疗前后差值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
治疗组	17.13 ± 2.13	7.80 ± 1.82	9.33 ± 2.87	12.594	0.000
对照组	16.40 ± 1.80	10.73 ± 2.12	5.67 ± 2.64	8.324	0.000
<i>t</i> 值	1.622	8.513	7.416		
<i>P</i> 值	0.127	0.000	0.000		

表 5 2 组 PMOP 患者血清 E2 含量的比较 pg · mL⁻¹

组别	治疗前	治疗 6 个月后	治疗前后差值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
治疗组	21.73 ± 5.55	43.40 ± 5.65	21.67 ± 10.22	8.208	0.000
对照组	24.27 ± 7.72	34.13 ± 5.75	9.87 ± 7.63	5.006	0.000
<i>t</i> 值	1.114	3.695	4.209		
<i>P</i> 值	0.284	0.002	0.001		

表 6 2 组 PMOP 患者血清 IL-6 含量的比较 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	治疗前	治疗 6 个月后	治疗前后差值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
治疗组	125.20 ± 13.86	88.13 ± 10.20	37.17 ± 19.08	5.795	0.000
对照组	131.93 ± 11.07	107.40 ± 7.74	24.53 ± 9.85	9.648	0.000
<i>t</i> 值	1.554	5.351	2.253		
<i>P</i> 值	0.143	0.005	0.041		

表 7 2 组 PMOP 患者血清 BGP 含量的比较 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	治疗前	治疗 6 个月后	治疗前后差值	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
治疗组	6.19 ± 0.96	3.54 ± 1.12	2.65 ± 1.53	6.504	0.000
对照组	5.80 ± 0.56	5.15 ± 0.51	0.64 ± 0.37	6.733	0.000
<i>t</i> 值	1.185	4.428	4.820		
<i>P</i> 值	0.160	0.001	0.000		

4 讨论

目前临床上治疗 PMOP 的方法较多,常用方法主要有雌激素替代疗法、注射降钙素及口服钙剂、维生素 D、双膦酸盐类药物等。虽然雌激素替代疗法是目前治疗 PMOP 最为有效的方法之一,但是 Nelson 等^[5] 研究结果显示,雌激素与孕激素联用或单用虽然可降低绝经期女性骨折发病的风险,却同时增加了脑卒中、胆囊疾病、尿失禁等发生的风险,而且雌激素与孕激素联用还可增加女性乳腺癌、痴呆发生的风险。近年来,中医药在 PMOP 的临床治疗方面取得了显著进展。陈名道等^[6] 研究认为,中药能增加绝经后妇女的雌激素水平,减少雌激素药物的不良反应,有望替代或补充“雌激素替代疗法”。

PMOP 属中医学“虚劳”“骨萎”“骨痹”“腰背痛”等范围。中医学认为 PMOP 的发病与肾虚、脾虚、血瘀有关,尤其与肾虚的关系最为密切。林蛙油由中国雌性林蛙的输卵管经采制干燥而得,具有健脾胃、滋阴补肾、养阴润肺的功效。林蛙油主要成分是蛋白质、脂肪、糖类、灰分、多种维生素、甾酮、孕酮、E2 等。王春霖等^[7] 研究认为,林蛙油所含营养成分具备替代雌激素的功效,其中 E2 和甾酮分别是雌激素和雄激素中生理作用最强的激素。我们前期的研究结果表明,林蛙油含药血清不仅可以明显促进成骨细胞的增殖和矿化能力,还可抑制破骨细胞的形成^[8];林蛙油对去卵巢大鼠 OP 具有预防作用,可以减少骨量丢失^[9]。绝经后妇女由于 E2 水平降低,造成骨吸收亢进,降钙素分泌下降,肠钙吸收减少,使骨吸收大于骨形成,从而引起 PMOP。本研究结果显示,林蛙油可以显著提高患者的血清 E2 水平。

BMD 是骨质量的一个重要标志,是反映骨质疏

松程度和预测骨折风险的重要依据。绝经后妇女雌激素水平迅速下降,导致骨量丢失加速,BMD 明显下降,易发生骨折。本研究结果显示,治疗 6 个月后 PMOP 患者的 BMD 无明显变化,这可能与研究时间过短有关。BGP 和 BALP 是与骨形成有关的重要代谢指标。BGP 又称骨 γ -羟基谷氨酸蛋白,是骨组织中一种非胶原蛋白,是成骨细胞产生的类多肽物质,是反映骨转换和骨形成的特异指标。绝经后妇女血清 BGP 含量明显增高^[10]。BALP 是由成骨细胞生成和分泌的一种酶,是骨形成的特异性指标。因 PMOP 患者骨量生成不足,骨吸收速度大于骨形成速度,须提高体内 BALP 含量来纠正或逆转这种失衡,导致 PMOP 患者体内的 BALP 水平升高^[11]。在骨代谢调节过程中 IL-6 被认为是骨组织微环境中溶骨细胞因子网络中的关键成员,绝经后雌激素水平下降使 IL-6 分泌增多刺激骨吸收,骨吸收超过骨形成导致 OP 出现^[12-13]。本研究结果显示,林蛙油可以降低 PMOP 患者的血清 BALP、IL-6 和 BGP 水平,提示林蛙油具有促进骨形成、抑制骨吸收的作用。

本研究结果显示,林蛙油在短期内未能提高 PMOP 患者的 BMD,这可能与研究时间过短有关,还需作更进一步的研究证实;但林蛙油可以明显提高 PMOP 患者的血清 E2 水平,降低其血清 BALP、IL-6 和 BGP 水平,这可能是林蛙油可以明显改善 PMOP 患者的临床症状与体征的作用机制之一。

5 参考文献

- [1] 指导原则编写委员会. 中药防治骨质疏松症及其骨折的临床前和临床评价指导原则[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:1.

(上接第 30 页)

- [2] 徐晓娟,沈霖,杨艳萍,等. 青娥丸对绝经后骨质疏松症患者骨密度和骨转换标志物的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志,2013,21(6):8-10.
- [3] 刘忠厚,杨定焯,朱汉民,等. 中国人骨质疏松症建议诊断标准(第二稿)[J]. 中国骨质疏松杂志,2000,6(1):1-3.
- [4] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:356-360.
- [5] Nelson HD, Walker M, Zakher B, et al. Menopausal hormone therapy for the primary prevention of chronic conditions: a systematic review to update the U. S. Preventive Services Task Force recommendations [J]. Ann of Intern Med, 2012,157(2):104-113.
- [6] 陈名道,杨颖. 绝经妇女激素替代治疗的困境与中医药治疗更年期综合征的前景[J]. 中西医结合学报,2003,1(1):9-11.
- [7] 王春霖,王丽兰,姜言功. 蛤士蟆油甾体性激素定量分析及药理作用[J]. 中药通报,1985,10(2):44.
- [8] 王丹辉,王照辉,吴巍,等. 林蛙油含药血清对成骨细胞和破骨细胞增殖和活性的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2010(5):318-321.
- [9] Wang DH, Wu W, Tian JM, et al. Effect of oviductus ranae and oviductus ranae eggs on bone metabolism and osteoporosis[J]. Chin J of Integr Med,2013,19(7):532-538.
- [10] 刘忠厚. 骨质疏松学[M]. 北京:科学出版社,1998:217-219.
- [11] 劳瑞平,孙桂荷,孙艳红. 补肾健脾活血法对绝经后骨质疏松症患者骨碱性磷酸酶的影响[J]. 光明中医,2012,27(10):1983-1984.
- [12] 张华,陈敢峰,吴俊哲,等. 绝经后骨质疏松症血清中 Leptin、NO、IL-6、BGP 及 E2 的检测意义[J]. 中国中医骨伤科杂志,2008,16(2):1-3.
- [13] 吴连国,刘康,王定,等. 强骨饮治疗骨关节炎合并骨质疏松患者的临床研究[J]. 中国中医骨伤科杂志,2011,19(12):10-13.

(2013-09-05 收稿 2013-10-18 修回)