

骨痹汤对膝骨关节炎患者滑液中 MMP-13、IL-1、TNF- α 、TIMP-1 的影响

侯亚平¹ 陈太金²

(1 湖南省老年医院中西医结合科,长沙市马王堆路1号,410016; 2 湖南省老年医院检验科)

摘要 目的:观察“骨痹汤”对膝骨关节炎(OA)滑液中基质金属蛋白酶-13(Matrix Metalloproteinase-13, MMP-13)、白介素-1(Interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)、组织型金属蛋白酶抑制剂-1(Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1, TIMP-1)水平的影响,探讨“骨痹汤”分子药理机制与临床疗效水平。方法:90例膝骨关节炎患者(119膝)随机分为骨痹汤治疗组、仙灵骨葆治疗组和对照组(口服硫酸氨基葡萄糖),于治疗前和治疗后8周抽取关节液标本,采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定 MMP-13、IL-1、TNF- α 、TIMP-1 水平。结果:与治疗前比较,各组患者治疗8周后关节液中 MMP-13、IL-1、TNF- α 均明显降低($P < 0.05$);TIMP-1 水平较治疗前明显升高($P < 0.05$);骨痹汤治疗组关节液中 MMP-13、IL-1、TNF- α 下降幅度较其余2组大($P < 0.05$),TIMP-1 水平升高显著高于仙灵骨葆治疗组和对照组($P < 0.05$)。结论:骨痹汤可能通过降低关节液中 MMP-13、IL-1、TNF- α 水平,提高 TIMP-1 水平起到保护关节软骨的作用。骨痹汤治疗骨关节炎短期疗效较仙灵骨葆和硫酸氨基葡萄糖好。

关键词 膝骨关节炎/中医药疗法;骨痹汤;基质金属蛋白酶-13;白介素-1;肿瘤坏死因子- α ;组织型金属蛋白酶抑制剂-1
Effect of Gubi Decoction on MMP-13, IL-1, TNF- α and TIMP-1 Level in Synovial Fluid in Knee Joints of Osteoarthritis Patient

Hou Yaping¹, Chen Taijin²

(1 Dept. of Integrated Chinese and Western Medicine, Geriatric Hospital of Hunan Province, Add.: No. 1, Mawangdui Road, Changsha City, Post code: 410016, China; 2 Dept. of Laboratory, Geriatric Hospital of Hunan Province)

Abstract Objective: To examine the expression of MMP-13, IL-1, TNF- α and TIMP-1 in the synovial fluid in knee joints of osteoarthritis patients before and after being treated with Gubi decoction, and to explore the molecular pharmacological mechanisms and clinical efficacy. **Methods:** Ninety patients with osteoarthritis were recruited in the controlled trial, and randomly divided into Gubi decoction group, Xianling Gubao Capsule group and control group (tablets of glucosamine sulfate). The expression of MMP-13, IL-1, TNF- α and TIMP-1 in the synovial fluid was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) before and after 8 weeks of treatment. **Results:** The level of MMP-13, IL-1, TNF- α in the synovial fluid decreased significantly after being treated for 8 weeks in Gubi decoction group, Xianling Gubao Capsule group and glucosamine sulfate group ($P < 0.05$). On the contrary, the level of TIMP-1 increased significantly after 8 weeks of treatment. Compared to Xianling Gubao Capsule group and glucosamine sulfate group, the level of MMP-13, IL-1, TNF- α decreased more sharply in Gubi decoction group ($P < 0.05$), and also the increase of TIMP-1 was significantly greater in Gubi decoction group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Gubi decoction may play a role in the protection of articular cartilage by decreasing MMP-13, IL-1, TNF- α and increasing TIMP-1 levels in the synovial fluid. The short term effect of Gubi decoction in treatment of osteoarthritis was better than Xianling Gubao Capsule and glucosamine sulfate.

Key Words Knee osteoarthritis/Chinese medical therapy; Gubi decoction; MMP-13; IL-1; TNF- α ; TIMP-1

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)的发病机制至今未完全阐明,但近年的研究提示基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)、白介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等软骨损伤因子在OA的发病中起到主要作用。而组织型金属蛋白酶抑制剂(Tissue Inhibitor Metalloproteinases, TIMPs)等对MMPS的活性起重要的调节作用,对于关节退变有保护性作用^[1]。

中药治疗OA在我国应用非常普遍,本研究旨在探讨自拟“骨痹汤”对OA上述细胞因子的影响,以初步了解该方的临床疗效和作用机理。

1 对象与方法

1.1 研究对象 诊断标准采用美国风湿病协会1995年修订的标准^[2]。所有病例均来自于我院门诊及住院确诊为原发性膝骨关节炎(KOA)的患者共90例,其中男性53例,69膝;女性37例,50膝;年龄55~65(平均

61.2)岁;左膝48例,右膝71例;病程最长者25年,最短者2年,平均6年。90例均有不同程度的关节肿胀、疼痛、跛行,蹲起或上、下楼梯时受限或疼痛加重。X线照片检查均有不同程度的髌骨上下缘或关节边缘唇样改变,骨赘形成,胫骨髁间棘突或变尖,部分患者关节间隙变窄。排除对象:继发性KOA,需服用镇痛药者,近期坚持服他汀类药物者。

1.2 研究方法

1.2.1 分组与给药方法 按随机数字表法将患者随机分为3组,骨痹汤治疗组30例41膝;仙灵骨葆治疗组30例38膝;对照组30例40膝。骨痹汤治疗组煎服自拟汤剂(威灵仙、伸筋草、独活、蜈蚣、怀牛膝、当归、五加皮、鹿衔草等13味),日1剂;仙灵骨葆治疗组每次服用仙灵骨葆胶囊3片,每日两次;对照组服用硫酸氨基葡萄糖胶囊0.5g/次,每日3次。所有患者均连续观察8周,3组间的性别、年龄及病情分布差异无统计学意义($P < 0.05$)(表1)。

1.2.2 标本的采集与保存 患者关节液的采集:分别于治疗前、治疗后8周关节穿刺抽取关节腔内积液,将其离心后取上清液2mL分装于Eppendorf管中,−20℃低温冰箱保存待测。

1.2.3 MMP-13、IL-1、TNF- α 、TIMP-1的测定 采用美国R&D公司提供的酶联免疫吸附试剂盒。采用双抗体夹心ELISA法进行测定。在已预包被抗MMP-13、IL-1、TNF- α 、TIMP-1单抗的酶标板内加入标准品(倍比稀释6个梯度)和待测关节液样品,再与HRP标记二抗结合,经彻底洗涤后加底物TMB显色,采用雷杜RT-6000酶标仪于450nm测定吸光度值。以标准品浓度对数为横坐标,以吸光度值为纵坐标,去除空白对照组吸光度值,绘制标准曲线并计算

相应的回归方程。

1.3 统计分析 正态分布计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数比较用单因素方差分析(One-way ANOVA),2组均数之间比较采用独立样本 t 检验,治疗前后比较采用配对样本 t 检验。计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。所有统计学分析均在SPSS17.0软件上进行。

表1 骨痹汤治疗组、仙灵骨葆治疗组和对照组一般资料比较

组别	例数	关节数	性别(例)		年龄(岁)	病程(年)
			男	女		
骨痹汤组	30	41	18	12	62.3 $\pm$ 5.1	5.4 $\pm$ 3.6
仙灵骨葆组	30	38	15	15	58.6 $\pm$ 4.4	6.5 $\pm$ 4.9
对照组	30	40	20	10	62.7 $\pm$ 3.8	6.1 $\pm$ 4.1

2 结果

本试验从2011年1月至2012年6月共90例患者入组,随访至少8周,无失访病例。随访结束后所有患者关节肿胀、疼痛、跛行等临床症状均明显改善,生活质量较治疗前提高。

2.1 3组患者治疗前后关节液内MMP-13、IL-1、TNF- α 、TIMP-1水平比较 与治疗前比较,各组患者治疗8周后关节液中MMP-13、IL-1、TNF- α 均明显降低($P < 0.05$);TIMP-1水平较治疗前明显升高($P < 0.05$)(表2)。

2.2 骨痹汤治疗组与仙灵骨葆治疗组、常规治疗组疗效比较 治疗8周后与治疗前关节液中MMP-13、IL-1、TNF- α 、TIMP-1含量的差值反映治疗效果。骨痹汤组与仙灵骨葆治疗组、对照组疗效比较,骨痹汤治疗组关节液中MMP-13、IL-1、TNF- α 下降幅度较其余2组大($P < 0.05$),TIMP-1水平升高显著高于仙灵骨葆治疗组和对照组($P < 0.05$)(表3)。

表2 各组患者治疗前后时间关节液中MMP-13、IL-1、TNF- α 、TIMP-1测定值

	MMP-13(μ g/L)		IL-1(μ g/L)		TNF- α (μ g/L)		TIMP-1(μ g/L)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
骨痹汤组	244.12 $\pm$ 34.23	153.34 $\pm$ 21.54*	115.45 $\pm$ 31.50	60.44 $\pm$ 12.04*	82.23 $\pm$ 10.22	41.46 $\pm$ 7.36*	304.76 $\pm$ 38.38	403.09 $\pm$ 26.77*
仙灵骨葆组	238.45 $\pm$ 42.67	187.78 $\pm$ 35.67*	129.24 $\pm$ 25.11	84.39 $\pm$ 12.77*	85.02 $\pm$ 9.72	68.44 $\pm$ 8.83*	302.94 $\pm$ 47.62	376.59 $\pm$ 34.34*
对照组	247.32 $\pm$ 38.78	177.04 $\pm$ 44.23*	104.45 $\pm$ 24.78	83.53 $\pm$ 13.06*	83.55 $\pm$ 10.07	65.26 $\pm$ 7.93*	315.11 $\pm$ 47.89	378.31 $\pm$ 35.01*

注:与治疗前比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨论

骨关节炎属中医骨痹范畴^[3],多发于中老年人群,临床表现以反复关节疼痛,关节活动受限为主,极少数发展为关节畸形。临床上的各种治疗方法均不能达到治愈骨关节炎的目标,都是以消除或缓解关节疼痛等症状,阻止和延缓疾病的进展,保护关节功能,改善患者生活质量为目标^[4]。其中有两个治疗关键点

一是尽快止痛;二是改善或阻止病情进展。

表3 各组患者治疗8周后与治疗前关节液中MMP-13、IL-1、TNF- α 、TIMP-1含量的差值(μ g/L)

	MMP-13(μ g/L)	IL-1(μ g/L)	TNF- α (μ g/L)	TIMP-1(μ g/L)
骨痹汤组	-91.03 $\pm$ 20.35*	-55.91 $\pm$ 12.02*	-40.98 $\pm$ 13.69*	98.69 $\pm$ 26.01*
仙灵骨葆组	-50.52 $\pm$ 19.22	-43.53 $\pm$ 11.78	-16.57 $\pm$ 3.70	73.88 $\pm$ 21.69
对照组	-70.69 $\pm$ 21.31	-32.63 $\pm$ 1.47	-18.08 $\pm$ 4.14	63.65 $\pm$ 19.24

注:与仙灵骨葆组及对照组比较,* $P < 0.05$ 。

骨痹汤由威灵仙、伸筋草、独活、红花、鸡血藤等药组成,着重活血通络、蠲痹止痛;怀牛膝、鹿衔草、五加皮等药补肾、强筋壮骨以改善病情发展。临床应用疗效很好。本实验研究显示“骨痹汤”与治疗前比较能明显降低 MMP-13、IL-1、TNF- α ($P < 0.05$),并且显著升高 TIMP-1 ($P < 0.05$),同时这两方面改善的作用好于对照组与仙灵骨葆治疗组 ($P < 0.05$),说明骨痹汤对于 OA 的病变有可靠的治疗作用。其短期疗效好于仙灵骨葆,提示只顾及补肾对于 OA 患者止痛与改善症状以达到预期治疗目标是具有局限性的。我们对于 OA 的中医病机认识在思考本虚的同时更要注重标实。

骨痹汤可能通过降低关节炎液中 MMP-13、IL-

1、TNF- α 水平,提高 TIMP-1 水平起到保护关节软骨的作用。骨痹汤治疗 KOA 短期疗效较仙灵骨葆和硫酸氨基葡萄糖好。但是骨痹汤治疗 OA 的远期疗效及其它方面的作用机理有待更深入的研究。

参考文献

- [1] 杜国辉,贺艳丽,陈建英,等. 骨关节炎早期诊断的生化指标[J]. 中国生化药物杂志,2009,30(3):209-211.
- [2] 美国风湿协会. 骨关节炎诊断标准 1995 年修订[J]. 中华风湿病学杂志,2010,14(6):417.
- [3] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京:南京大学出版社,1994:48.
- [4] 中华医学会风湿病学分会. 骨关节炎及诊断治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志,2010,14(6):418.

(2012-08-31 收稿)

增液通便汤治疗功能性便秘 90 例临床观察

于 岩¹ 张 伟¹ 尹天雷²

(1 沈阳军区总医院延安里卫生所,辽宁沈阳市和平区七纬路 18 号,110012; 2 湖南省中医药研究院附属医院)

摘要 采用随机分组、安慰剂平行对照、双盲观察临床试验设计方案,观察增液通便汤治疗功能性便秘 90 例。结果增液通便汤治疗功能性便秘疗效的总显效率为 76.67%,总有效率为 93.33%,对照组总显效率为 13.33%,总有效率为 36.67%,治疗组优于对照组 ($P < 0.05$)。阴虚肠燥证疗效治疗组的总显效率为 72.22%,总有效率为 88.89%,对照组总显效率为 13.33%,总有效率为 30.00%,治疗组优于对照组 ($P < 0.05$)。

关键词 功能性便秘/中医药疗法;@增液通便汤;临床观察

Clinical Observation on Zengye Tongbian Decoction in Treating 90 Cases of Functional Constipation

Yu Yan¹, Zhang Wei¹, Yin Tianlei²

(1 Yananli Clinic, General Hospital of Shenyang Military Zone, Add.: No. 18, Qiwei Road, Heping District, Shenyang, P. R. China, Post code: 110012; 2 The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine)

Abstract To investigate the clinical efficacy of Zengye Tongbian decoction in treating 90 cases of functional constipation by a randomized, double-blind, parallel-controlled trial. In treatment group, the total significant effective rate was 76.67%, and the total effective rate was 93.33%, which were significantly higher than that of control group (13.33% and 36.67% separately) ($P < 0.05$). For Yin deficiency and dry intestine syndrome, the total significant effective rate in treatment group was 72.22%, and the total effective rate was 88.89% which were significantly higher than that of control group (13.33% and 30.00%) ($P < 0.05$).

Key Words Functional constipation/Chinese medical therapy; @Zengye tongbian decoction; Clinical observation

功能性便秘是一组以持续性或间断性排便困难或排便不畅为临床表现的功能性疾病。流行病学资料显示,全球有 2%~28% 的人正受到便秘的困扰,我国发病率在 10%~15%,且近年来发病年龄有呈年轻化趋势^[1]。便秘不仅严重影响老年人的生活质量,还可引起胃肠神经功能紊乱,诱发直肠癌、结肠癌等,对老年人健康造成严重危害,因此老年便秘的合理治疗十分

重要^[2]。目前采用中医中药治疗该病在已为大多医患所接受,针对这一情况,我们采用自拟增液通便汤治疗功能那便秘 90 例,取得满意效果,现报道如下。

1 病例选择标准

1.1 证、病诊断标准

1.1.1 阴虚肠燥证诊断标准 参照《中药新药治疗便秘的临床研究指导原则》《中医疾病诊断标准》的有关内容制定。主症:大便干结难下,排便间隔时间延长。次症:1)排便不尽、排便疼痛,排便费力,腹胀不适,纳