

临床研究

补肾壮骨冲剂对肠源性 5-羟色胺及骨密度的影响

康庐琛^{1,2} 谭新¹ 张金赫¹ 刘泽¹ 张亚松¹ 邓伟民¹

(1 广州军区广州总医院华侨楼,高级医疗康复中心,广州,510010; 2 江西省九江市第一人民医院骨质疏松科,九江,332000)

摘要 目的:观察补肾壮骨冲剂对原发性骨质疏松症患者(Osteoporosis, OP)的肠源性 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)浓度和骨密度的影响,探讨其作用机制。方法:分析 60 例原发性骨质疏松症患者,在服用补肾壮骨冲剂治疗前后肠源性 5-HT 浓度的差异。1)本研究所有样本为 2011 年 5 月至 2012 年 12 月间到广州军区广州总医院住院部及门诊部就诊的确诊为原发性骨质疏松症的患者。2)肠源性 5-HT 测定:上午 8~9 点抽取禁食 12 h 后空腹肘静脉血 3 mL, 3000 r/min 即时离心 5 min 后,将血清置于 -80 ℃ 冰箱保存,采用酶联免疫分析法检测 5-HT 的含量。3)骨密度测定:采用美国 GE 公司生产的 Lunar Prodigy 双能 X 线(DEXA)骨密度仪,检测各部位 BMD。4)骨生化指标测定:采用酶联免疫分析法检测血清中肠源性 5-HT 的含量、电化学发光免疫分析法分析血清 PINP、 β -Crosslaps、PTH 的含量。结果:治疗半年后血清中的 5-HT 浓度下降 5.20%、PINP 浓度下降 12.72%、 β -Crosslaps 下降 26.92%、PTH 下降 5.42%,治疗前后的差异具有统计学意义(P 均 < 0.05 , 表 2);腰椎、左侧股骨颈、Ward's 三角、大转子及左侧股骨上端的 BMD 在治疗后分别增加了 0.96%、1.67%、2.91%、1.44% 和 1.29%,与治疗前相比,左侧股骨颈、Ward's 三角和左侧股骨上端处的差异具有统计学意义(P 均 < 0.05 , 表 3)。结论:补肾壮骨冲剂可以通过调节脾肾功能,减低肠源性 5-HT 浓度,提高骨密度。

关键词 5-羟色胺;骨密度;补肾壮骨冲剂;骨质疏松症

Impact of Bushen Zhuanggu Granules on Enterogenous 5-hydroxytryptamine and Bone Density

Kang Luchen^{1,2}, Tan Xin¹, Zhang Jinhe¹, Liu Ze¹, Zhang Yasong¹, Deng Weimin¹

(1 High-end Medical Rehabilitation Center, General Hospital of Guangzhou Military Command, Guangzhou 510010, China;

2 Osteoporosis Clinic, First People's Hospital of Jiujiang 332000, China)

Abstract Objective: To analyze the impact of Bushen Zhuanggu Granules on enterogenous 5-hydroxytryptamine and bone density and mechanism of action. **Methods:** To compare the enterogenous 5-HT levels of 60 osteoporosis patients pre-and post taking Bushen Zhuanggu Granules. 1) All the patients enrolled were diagnosed as osteoporosis, who were in-patients or out-patients of the General Hospital of Guangzhou Command between May 2011 to December 2012. 2) Measureing enterogenous 5-HT: drew elbow venous blood 3ml between 8-9 am (fasting), centrifuged at 3000 r/min for 5 minutes at room temperature, and immediately frozen at -80℃. 5-HT levels were measured by ELISA. 3) Bone density was measured using GE company's Lunar Prodigy dual energy X ray(DEXA) bone density meter. 4) Biochemical indices of bone: PINP, β -Crosslaps and PTH levels were measured using electrochemiluminescence immunoassay. **Results:** After 6-months of treatment, the 5-HT levels were reduced by 5.20%, the levels of PINP, β -Crosslaps, PTH were respectively reduced by 12.72%, 26.92% and 5.42% ($P < 0.05$); the BMD of lumbar spine L1-L4, femoral neck, wards and troch were increased by 0.96%, 1.67%, 2.91%, 1.44% and 1.29% ($P < 0.05$). **Conclusion:** The Bushen Zhuanggu Granules can adjust the spleen and kidney functions, decrease the level of enterogenous 5-HT, and increase bone density.

Key Words 5-HT; Bone Density; Bushen Zhuanggu Granules; Osteoporosis

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2014.01.010

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种以骨量减少、骨组织微结构退化为特征,致使骨脆性增加、骨强度下降,极易发生骨折的全身性骨骼疾病,常涉及内分

泌、骨科、老年科、妇产科、康复科、消化内科、肾内科等多个临床科室,是中老年退行性疾病中常见病、多发病之一,在全球常见病中居第六位。中医学中并无“骨质

疏松”这一明确的病名,但历代文献对骨病的记载中“骨痿”“五迟”“五软”“骨痹”“骨枯”“骨疽”与现代医学之骨质疏松的病因病机及临床表现极其相似,定位定性较准确的当属骨痿。《黄帝内经·素问》:“肾主身之骨髓……肾气热,则腰脊不举,骨枯而髓减,发为骨痿……有所远行劳倦,逢大热而渴,渴则阳气内伐,内伐则热合于肾,肾者水脏也;今水不胜火,则骨枯而髓虚。故足不任身,发为骨痿。”多数医家认为骨质疏松症的病位在肾,与肝脾胃有关;其病性属本虚标实,本虚以肾虚为主,涉及肝阴、脾气及气血不足,标实多为瘀血、胃火、气郁。

5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是一种吲哚胺类化合物,其主要来源于十二指肠黏膜嗜铬细胞(enterochromaffin cells, EC 细胞)和神经细胞。根据其合成部位不同,分为肠源性^[1]和脑源性^[2]的两个功能不同的独立的 5-HT 系统。机体内 90% 的 5-HT 由胃肠道 EC 细胞合成,5-HT 自 EC 细胞分泌出来后,可进入血液中。现有很多研究表明肠源性 5-HT 信号对骨形成的破坏作用^[3-8]。2008 年, Yadav^[3]等使用基因芯片技术和条件性基因敲除小鼠确立了肠源性 Lrp5-5-HT-成骨细胞信号通路,发现 Lrp5 能抑制色氨酸羟化酶 1 (tryptophan hydroxylase1, Tph1) 的表达来减少 5-HT 的合成,从而间接促进骨形成。进一步研究发现,在成骨细胞表达的 3 种 5-HT 受体 5-HT_{1BR}、5-HT_{2AR} 和 5-HT_{2BR} 中,5-HT_{2AR} 全基因敲除组(Htr2a-/-)及 5-HT_{2AR} 成骨细胞特异性敲除组(Htr2bosb-/-)的小鼠并未出现骨量异常,5-HT_{1BR} 基因敲除组(Htr1b-/-)小鼠出现了成骨细胞数目增加及高骨量表型,降低(Htr1b-/-)小鼠的 cAMP 反应结合蛋白(CREB)水平可挽救其高骨量表型。这表明肠源性 5-HT 通过位于成骨细胞上的 5-HT_{1BR} 受体,抑制 CREB 表达,降低成骨细胞增生。2010 年, Yadav^[4]等给啮齿类动物口服 Tph1 的一种小分子抑制剂 LP533401,在不影响脑部 5-HT 的情况下,降低动物肠内 5-HT 的循环水平,可以单纯的促进骨形成,完全挽救切除卵巢以模拟更年期的雌性啮齿类动物的骨质流失。Ulrike 等^[9]检测了 275 例女性血清 5-HT 的浓度,结果发现血清 5-HT 与全身、脊椎、股骨的骨密度和骨代谢生化指标的相关性,研究结果发现 5-HT 水平和全身几乎所有部位的骨密度(腰椎除外)呈负相关,和体重指数也成负相关。

补肾壮骨冲剂是导师邓伟民主任医师经多年临床研究组方面成,由广州军区广州总医院药剂科生产,处方组成为:淫羊藿、鹿角胶、龟甲胶、山药、水蛭、三棱

等,具有补肾填精、健脾生髓、壮骨强肌、活血化瘀之功效,在防治骨质疏松症方面取得了很好的疗效^[10-13]。本文试图分析服用补肾壮骨冲剂治疗前后肠源性 5-HT 浓度和骨密度的变化差异,探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 研究对象 从 2011 年 5 月至 2012 年 8 月间到广州军区广州总医院住院部及门诊部就诊的患者中,选择符合 WHO 关于骨量减少及骨质疏松诊断标准的病例 60 例作为研究对象,年龄 50~89 岁,所有受试者均被详细询问现病史、过去史、婚育史、家族史等,并进行身高、体质量、血压、脉搏等全身体查,行肝、肾功能指标检测。排除肝肾功不全、甲状腺及甲状旁腺功能亢进等其他影响骨代谢的急慢性疾病,同时 6 个月内未服用影响骨代谢的药物。所有的研究都得到广州军区广州总医院伦理委员会的批准,所有的受试者都签有知情同意书。

1.2 入组标准

1.2.1 诊断标准 参照 WHO 推荐的诊断标准,基于 DEXA 测定,骨密度值低于同性别、同种族正常成人的骨峰值不足 1 个标准差属正常;降低 1~2.5 个标准差之间为骨量低下(骨量减少);降低程度等于和大于 2.5 个标准差为骨质疏松,即 $BMD \geq -1SD$ 为正常, $-2.5SD < BMD < -1SD$ 为骨量减少(低骨量), $BMD \leq -2.5SD$ 为骨质疏松症。

1.2.2 纳入标准 1)符合 WHO 关于骨量减少及骨质疏松诊断标准;2)年龄 50 岁或以上的患者;3)自愿作为受试对象,签署知情同意书并能接受试验药物剂型者。

1.2.3 排除标准 1)不符合 WHO 关于骨量减少及骨质疏松诊断标准;2)肝肾功能异常者;3)患有影响骨代谢疾病者,包括:糖尿病、甲状腺和甲状旁腺功能改变、生长激素缺乏、Cushing 综合征等代谢内分泌系统疾病,慢性肝肾疾病、慢性胃肠疾病、骨关节病、血液系统肿瘤、肿瘤骨转移或骨肿瘤、有 1 年内腰椎或髋部等骨折史及各种遗传性、体质性骨病等;4)6 个月内服用影响骨代谢药物者,影响骨代谢药物包括:性激素、类固醇激素、抗惊厥药、利尿剂、甲状旁腺激素、降钙素、维生素 D 类似物、二磷酸盐、氟化物等。5)过敏体质或对本实验中所用药物成分有过敏史者;6)精神病、老年痴呆、病情危重等难以对本实验用药有效性及安全性作出确切评价者。

1.3 方法

1.3.1 治疗用药 所有受试者进行年龄、身高、体重及体质量的测定。服用补肾壮骨冲剂(邓伟民主任提

供药方,广州军区广州总医院药剂科生产,批号分别为100608,110805),1包/次,2次/d,1个月后,改1包/次,1次/d;钙尔奇D(苏州立达制药有限公司生产)1片/次,1次/d。

1.3.2 骨密度的测定 治疗前后各测1次。采用美国GE公司生产的Lunar Prodigy双能X线(DEXA)骨密度仪,测量受试者腰椎1~4、左侧股骨颈、Ward's三角、大转子以及左侧股骨上端的BMD。检查前取下随身佩带的高密度物品(如手机、钥匙、项链、有金属扣的腰带等),记录出生年、月、日,测身高(m)和体质重(kg)。平仰卧位进行第(1~4)腰椎(L1~4)正位骨扫描,双下肢屈膝位扫描髌部(股骨近段、股骨颈、Ward's三角和大转子)。每次检查前均用腰椎模型进行仪器精密度质控测试,变异系数(CV)为=0.40%(允许范围为±1.5%)。

1.3.3 5-HT测定 采用南京华东DG5033A型酶标仪TECAN TYPE: Sunrise Remote/TonchScreen 和华美试剂盒(产品编号/批号:CSB-E08363h/Lot. C0510290134),用酶联免疫分析法检测。按说明书要求进行操作,收集完所有样本后一次性完成检测,以消除批间差异。批间变异系数和批内变异系数均小于10%。

1.3.4 PINP、β-Crosslap、PTH测定 采用罗氏公司Elecsys 2010型全自动电化学发光免疫分析仪和配套

试剂盒测定。PINP试剂盒批号为15982001,批内变异系数<6.5%,批间变异系数<6.1%,单位为ug/L;β-Crosslaps试剂盒批号为16044501,批内变异系数<4.3%,批间变异系数<5.8%,单位为ug/L;PTH试剂盒批号为15909901,批内变异系数<4.5%,批间变异系数<6.4%,单位为pmol/L。按说明书要求进行操作,收集完所有样本后一次性完成检测,以消除批间差异。

1.4 观察指标

1.4.1 安全性指标 血压、脉搏;血、尿、粪常规检查和肝肾功能等检查;可能出现的不良药物反应。

1.4.2 疗效性指标 治疗前、后受试者血清中的5-HT、PINP、β-Crosslaps及PTH的浓度的变化以及腰椎、左侧股骨颈、Ward's三角、大转子以及左侧股骨上端的骨密度值的变化。

1.5 统计学方法 所有资料输入SPSS 13.00软件包进行统计分析,剔除奇异值后结果均用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。对各组服药前后骨密度及骨代谢指标结果的对比采用配对t检验,对治疗组与对照组间服药后各项指标的比较采用协方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前所有受试者各项指标 对60例受试者的基线指标、骨密度及血清指标3个方面进行统计学处理,见表1。

表1 治疗前各项指标($\bar{x} \pm s$)

基线指标		骨密度(g/cm ²)		血清指标	
项目	平均值	项目	平均值	项目	平均值
年龄(岁)	61.06 ± 4.82	L1-L4	0.94 ± 0.19	5-HT(ng/mL)	84.98 ± 19.26
身高(cm)	168.08 ± 7.55	FN	0.78 ± 0.11	PINP(ug/L)	34.98 ± 9.35
体重(kg)	69.54 ± 7.98	Ward's	0.55 ± 0.11	β-CTX(ug/L)	0.34 ± 0.14
BMI	23.54 ± 3.88	Troch	0.69 ± 0.12	PTH(pmol/L)	4.62 ± 1.78
		Femur	0.86 ± 0.14		

表2 补肾壮骨冲剂治疗前后血清指标比较($\bar{x} \pm s$)

项目	5-HT (ng/mL)	PINP (ug/L)	β-Crosslaps (ug/L)	PTH (pmol/L)
服药前	84.98 ± 19.26	34.98 ± 9.35	0.34 ± 0.14	4.62 ± 1.78
服药后	80.56 ± 12.86	30.53 ± 8.59	0.25 ± 0.10	4.37 ± 1.55
变化率(%)	-5.20	-12.72	-26.92	-5.42
t	3.13	3.37	10.14	2.18
P	0.001	0.002	0.000	0.036

注: $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2.2 治疗6个月后各项指标 治疗半年后血清中的5-HT浓度下降5.20%、PINP浓度下降12.72%、β-Crosslaps下降26.92%、PTH下降5.42%,治疗前后的差异具有统计学意义(P 均<0.05,表2);腰椎、左侧股骨颈、Ward's三角、大转子和左侧股骨上端的BMD

在治疗后分别增加了0.96%、1.67%、2.91%、1.44%和1.29%,与治疗前相比,左侧股骨颈、Ward's三角和左侧股骨上端处的差异具有统计学意义(P 均<0.05,表3)。

表3 补肾壮骨冲剂组治疗前后骨密度值(g/cm²)比较($\bar{x} \pm s$)

项目	L1-L4	FN	Ward's	Troch	Femur
服药前	0.94 ± 0.19	0.78 ± 0.11	0.55 ± 0.11	0.69 ± 0.12	0.86 ± 0.14
服药后	0.95 ± 0.18	0.79 ± 0.11	0.57 ± 0.11	0.70 ± 0.12	0.87 ± 0.14
变化率(%)	+0.96	+1.67	+2.91	+1.44	+1.29
t	1.08	3.94	6.73	1.99	2.54
P	0.083	0.000	0.000	0.054	0.016

注: $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2.3 安全性指标结果 补肾壮骨冲剂组在治疗前后

所测血、尿、粪常规检查和肝功能、肾功能均无异常发现,对人体生命体征等一般情况也无不良影响,观察中的不良反应主要为少数人轻微的胃肠道不适如恶心、呕吐和腹泻,一般 3~5 d 可自行缓解,不影响治疗。

3 讨论

中医认为骨质疏松症的发生主要与肾虚、脾虚、血瘀三个因素有关,以“多虚多瘀”为其病机特点,因此治疗原发性骨质疏松症多从脾肾二脏和瘀血入手,根据证型单独或联合以补肾、健脾和活血化瘀等为治疗法则进行处方。

补肾壮骨冲剂处方组成为:淫羊藿、鹿角胶、龟甲胶、山药、三棱、水蛭等。方中淫羊藿,味辛、甘,性温,归肝、肾经,主要作用是补肾阳,强筋骨;巴戟,性微温,味甘、辛,入肝、肾经,补肾阳,强筋骨;鹿角胶,性味甘、温,入肝、肾经,善温肾壮阳,益精补血;龟甲胶性味咸、甘、平,入肝肾经,滋阴潜阳,填精补髓,益肾强骨。龟甲胶、鹿甲胶两味血肉有情之品,鹿角胶偏于补阳,龟甲胶偏于补阴,阴阳并补,使肾中阴阳平秘;山药性平、味甘,入肺、脾、肾经,补脾养胃,补肾涩经;酸、涩,微温。三棱,辛、苦,平,归肝、脾经,为化瘀血之要药;水蛭咸、苦,平,有小毒,功善破血,逐瘀,通经。三棱、水蛭三药共用化入络之淤滞,使气血畅达,骨得以养,痛得以除,并使诸药补而不滞。

全方共奏补肾填精,健脾生髓、壮骨强肌、活血化瘀之功,从而提高骨密度,达到防治骨质疏松症的目的。

为什么补肾壮骨冲剂可以降低血清中肠源性 5-HT 浓度呢? 5-HT 最早被称为肠胺,是因为它首先发现于胃肠道,并且胃肠道是 5-HT 的主要合成场所^[14]。当肠道黏膜在受刺激时可引起 5-HT 释放,作用于肠黏膜上的 5-HT 受体而发生作用^[15]。所以 5-HT 是一种重要的胃肠激素,调控着消化道的分泌、运动、吸收及细胞营养等功能。脾的主要生理功能及病理表现与现代医学的消化系统关系密切。脾主运化,主要表现为机体的消化、吸收、运输等功能。中医学认为脾肾为先天和后天关系,两者互促互资,相互影响。补肾壮骨冲剂由补肾健脾化瘀中药组成,通过调节脾肾功能,减少胃肠道 5-HT 的合成,降低血清中肠源性 5-HT 浓度。

Ulrike 等^[9]研究已表明肠源性 5-HT 与骨密度成

负相关。通过治疗前后的对比结果,再一次验证了这个结论,补肾壮骨冲剂可以通过调节脾肾功能,减低肠源性 5-HT 浓度,提高骨密度。

参考文献

- [1] Walther DJ, Peter JU, Bashammakh S, et al. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform[J]. Science, 2003, 299: 76.
- [2] Zhang X, Beaulieu JM, Sotnikova TD, et al. Tryptophan hydroxylase - 2 controls brain serotonin synthesis[J]. Science, 2004, 305: 217.
- [3] Yadav VK, Ryu JH, Suda N, et al. Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum[J]. Cell, 2008, 135: 825 - 837.
- [4] Yadav VK, Balaji S, et al. Pharmacological inhibition of gut - derived serotonin synthesis is a potential bone anabolic treatment for osteoporosis[J]. Nat Med, 2010, 16: 308 - 312.
- [5] Gustafsson BI, Westbroek I, Waarsing JH, et al. Long - term serotonin administration leads to higher bone mineral density, affects bone architecture and leads to higher femoral bone stiffness in rats[J]. J Cell Biochem, 2006, 97: 1283 - 1291.
- [6] Gong Y, Slee RB, Fukai N, et al. LDL receptor - related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development[J]. Cell, 2001, 107: 513 - 523.
- [7] Boyden LM, Mao J, Belsky J, et al. High bone density due to a mutation in LDL - receptor - related protein 5[J]. N Engl J Med, 2002, 346: 1513 - 1521.
- [8] Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/beta - catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton[J]. Endocrinology, 2007, 148: 2635 - 2643.
- [9] Ulrike I Modder, Sara J Achenbach, Shreyasee Amin, et al. Relation of Serum Serotonin Levels to Bone Density and Structural Parameters in Women[J]. J Bone Miner Res, 2010, 25: 415 - 422.
- [10] 韩丽萍, 梁达, 刘志刚. 补肾壮骨颗粒质量标准的研究[J]. 解放军药学报, 2009, 4(2): 145 - 147.
- [11] 韩丽萍, 陈行愉, 邓伟民. HPLC 法同时测定补肾壮骨颗粒中淫羊藿苷及柚皮苷含量[J]. 中成药, 2011, 1(11): 184 - 186.
- [12] 邓伟民, 邵玉, 张金玉, 等. 补肾壮骨冲剂治疗绝经后妇女骨质疏松疼痛的效果分析[J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(5): 355 - 358.
- [13] 李晓昊, 林宁, 邓伟民, 等. 补肾壮骨颗粒对雌性骨质疏松大鼠体重及骨组织计量学的影响[J]. 广东医学, 2011, 9(18): 2357 - 2359.
- [14] Vittorio E, Hermann B. 5 - Hydroxytryptamine and related indolcalkylamines. Handbook experimental pharmacol[M]. Berlin: Springer, 1966: 132 - 181.
- [15] Crowell MD. The role of serotonin in the pathophysiology of irritable bowel syndrome[J]. Am J Manag Care, 2001, 7(8): 252.

(2013 - 04 - 25 收稿 责任编辑: 王明)