

骨质疏松症患者破骨细胞相关细胞因子与中医证型的关系

王蕾*, 谢智惠, 袁春生, 高翔彬, 金琳芳

(江南大学附属医院, 江苏 无锡 214062)

摘要:目的 探讨骨质疏松症患者破骨细胞相关细胞因子巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、核因子κB受体活化因子(RANKL)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1α(IL-1α)的表达与中医证型的关联性。方法 将骨质疏松症患者按照中医证型进行辨证分类,随机收集肾阳虚组30例、脾胃虚弱组30例、肝肾阴虚组30例、气滞血瘀组30例,共120例。清晨空腹抽取血液样本,采用酶联免疫法检测M-CSF、RANKL、TNF-α、IL-1α水平。结果 在M-CSF和RANKL的蛋白水平表达上,肾阳虚组患者明显低于其余3组, $P<0.01$,4组患者在TNF-α和IL-1α蛋白表达水平无统计学差异。结论 可考虑将M-CSF、RANKL的蛋白表达水平作为区别骨质疏松症肾阳虚证与其它3组证型的鉴别方法之一。骨质疏松症在中医辨证分型上具有可量化的客观依据。

关键词:骨质疏松症;破骨细胞;中医证型

中图分类号:R255.6

文献标志码:A

文章编号:1672-0482(2017)02-0122-03

DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2017.0122

Relationship Between Osteoclast-related Cytokines in Patients with Osteoporosis and TCM Syndromes

WANG Lei*, XIE Zhi-hui, YUAN Chun-sheng, GAO Xiang-bin, JIN Lin-fang

(The Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi, 214062, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the correlation between the expression of osteoclast-related cytokines like MCSF, RANKL, TNFα IL1α in patients with osteoporosis and TCM syndromes. **METHODS** 120 cases with osteoporosis were divided into the kidney yang deficiency group(30 cases), deficiency of spleen and stomach group(30 cases), liver-kidney yin deficiency group(30 cases) and qi stagnation and blood stasis group(30 cases) based on syndrome differentiation. Fasting blood samples early in morning were collected and the expression of four items including MCSF, RANKL, TNF and IL1α were tested by applying euzymelinked immunosorbent assay method. **RESULTS** Kidney yang deficiency group experienced evident lower expression of MCSF and RANKL than the other three groups, with significantly statistical differences, while no differences were noticed in the expression of TNFα and IL1α among the four groups. **CONCLUSION** Detection of MCSF and RANKL expression can be considered as an effective way to distinguish the kidney yang deficiency syndrome from the other three types. Hence, we believe that there exists quantified objective evidence for osteoporosis syndrome differentiation in TCM.

KEY WORDS: osteoporosis; osteoclast cell; TCM syndrome

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种以骨量减少和骨组织微结构退变为特征,伴有骨骼脆性和骨折发生率增加的全身性骨骼疾病。随着老龄化社会的到来,骨质疏松症及其并发症所带来的危害日益为社会所关注。近年来多项研究表明,破骨细胞(Osteoclast, OC)在骨质破坏的病理机制中起着重要的作用^[1-2]。本文探讨骨质疏松症患者破骨细胞

相关细胞因子巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、核因子κB受体活化因子(RANKL)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1α(IL-1α)的蛋白表达水平与中医证型的相关性。现将研究结果报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

收集江南大学附属医院(无锡市第四人民医院)

收稿日期:2016-10-27;修稿日期:2016-12-02

基金项目:江苏省无锡市卫生局青年基金(Q201413)

作者简介:王蕾(1981-),女,江苏无锡人,江南大学附属医院主治医师。*通信作者:zxihui@yeah.net

骨科及中医科 2014 年 1 月—2015 年 8 月收治的既符合原发性骨质疏松症诊断标准又符合中医证型 4 种之一(肾阳虚、肝肾阴虚、脾胃虚弱、气滞血瘀)的患者 120 例。男 42 例,女 78 例,年龄 51~98 岁,平

均年龄(74.00±10.92)岁。其中肾阳虚证、肝肾阴虚证、脾肾阳虚证、气滞血瘀证各 30 例。4 组患者的年龄、性别、骨密度(BMD)无统计学差异,有可比性, $P>0.05$ 。见表 1。

表 1 4 组患者基线资料比较($\bar{x}\pm s, n=30$)

组别	性别		年龄/岁	BMD/(g·m ⁻²)		
	男	女		L2~L4	股骨颈	转子区
肾阳虚	13	17	78.67±4.30	0.708 3±0.113 2	0.539 0±0.056	0.435 4±0.084 7
脾胃虚弱组	14	16	76.32±3.11	0.728 0±0.104 3	0.585 6±0.043 2	0.527 1±0.038 6
肝肾阴虚组	12	18	74.90±4.14	0.749 5±0.093 6	0.441 0±0.078 3	0.532 5±0.042 7
气滞血瘀组	14	16	71.24±8.33	0.770 9±0.123 5	0.576 9±0.064 2	0.475 2±0.043 3

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准^[3] (1)有骨质疏松症相关临床症状;(2)参照 WTO 推荐的诊断标准,双能 X 线测定骨密度值:①T 评分(同性别、同种族健康成人的骨峰值)≥-1 为骨密度正常,可有轻度骨折风险;②-1>T 评分≥-2.5 为骨量减少,中度骨折风险;③T 评分<-2.5 为骨质疏松,高度骨折风险。测定部位是 L2~L4、股骨颈、Ward 三角。骨密度测定采用双能 X 线骨密度测量仪,美国 NORLAND 公司产品 XR-600 型。

1.2.2 中医证型分型标准^[4] ①肾阳虚:腰膝酸软痛而无力,甚或驼背扶拐,动作迟缓,劳作疲乏,畏寒肢冷,少气懒言,头发枯黄稀疏,齿掉龋枯,精神萎靡,面色白或薰黑,或小便清长,夜尿频多,舌淡苔少色白,脉沉细弱。②脾胃虚弱:长期纳呆厌食,食少便溏,胃脘隐痛,或四肢肌肉松弛萎缩无力,舌淡胖齿印,苔白腻,脉缓沉无力。③肝肾阴虚:腰膝酸软而无力痛,疲乏少力,喜按喜温,头晕目眩,耳鸣健忘,失眠多梦,咽干口燥,五心烦热,面容干瘦,舌红干无苔,脉细。④气滞血瘀:腰背膝痛有定处,疼痛拒按,卧床转身疼痛,活动疼痛受限,痛苦面容,多伴驼背,甚至腰椎、挠骨远端、髌关节骨折,舌暗红苔

腻,脉弦闭。

1.3 排除标准

①有引起继发性骨质疏松症的各种内分泌疾病者(如柯兴氏病、甲状腺功能亢进、甲状旁腺功能亢进、甲状腺囊肿或机能低下、糖尿病、Pagets 病等);②其它严重疾病干扰骨代谢者;③严重暴力所致骨折;④因骨肿瘤导致的骨质疏松症。

2 方法

2.1 观察指标

4 组患者均抽取清晨空腹血清,采用酶联免疫法测定 M-CSF、RANKL、TNF-α、IL-1α 水平,试剂盒购自苏州金莱生物技术有限公司,严格按照试剂盒要求操作。

2.2 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件,资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两样本间比较采用两独立样本 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

结果显示肾阳虚组在 M-CSF、RANKL 蛋白表达水平上较其余 3 组的指标明显低, $P<0.01$ 。4 组患者在 TNF-α、IL-1α 蛋白表达水平上经 t 检验,无明显统计学差异。见表 2。

表 2 4 组患者 M-CSF、RANKL、TNF-α、IL-1α 水平比较($\bar{x}\pm s, n=30$)

组别	M-CSF/(ng·L ⁻¹)	RANKL/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	IL-1α/(ng·L ⁻¹)
肾阳虚	430.015±62.558	450.838±450.838	400.838±26.873	48.432±16.304
脾胃虚弱	546.755±43.937**	2 195.927±260.203**	403.293±64.947	50.365±11.054
肝肾阴虚	517.423±112.183**	2 707.639±557.574**	413.214±21.429	47.225±9.447
气滞血瘀	552.369±82.204**	2 772.677±460.607**	390.177±59.29	49.306±7.197

注:与肾阳虚组比较, ** $P<0.01$ 。

4 讨论

人的骨骼一直处于不断更新与转换中,生理条件下,成骨细胞与破骨细胞两者之间保持动态平衡,一旦平衡被打破,就会发生骨硬化症、骨质疏松症等

疾病。骨质疏松症正是由于来自造血组织的破骨细胞对骨吸收大于来自骨髓基质的成骨细胞的骨重建,属于一种骨重建的负平衡。近年来的研究显示,OC 形成需要两条主要信号传导途径的活化。其一

便是巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)与其受体 c-Fms 结合所激活的信号传导通路^[5]。另外一条信号传导通路,即 RANKL/RANK 机制^[6]。M-CSF 和 RANKL 是 OC 形成和分化所必需的细胞因子^[7]。在这些细胞因子中 TNF- α ^[8] 和 IL-1 α ^[5] 是参与 OC 活性调控的最重要的细胞因子。

中医并无骨质疏松症的病名,但可在中医文献中找到“骨痿”“骨枯”“骨痹”等病名。其中,“骨痿”与骨质疏松症的症候群较为相近。传统中医将骨关节的久治难愈,日渐衰弱的骨关节病变定义为骨的衰痿,包括原发性和继发性骨质疏松症,与肾精关系最大,兼与脾、肝相关。大量文献报道骨质疏松症发生主要与肾阳虚、脾胃虚弱、肝肾阴虚、气滞血瘀等有关,其病机特点可概括为多虚、多系统、多脏器的全身性骨骼疾病^[9-11]。

在本研究中,4 组患者的 TNF- α 和 IL-1 α 蛋白表达水平无统计学差异,而在 M-CSF 和 RANKL 的蛋白表达上,肾阳虚组患者明显低于其余 3 组患者,其结果具有显著统计学差异。肾阳在中医学上又被命名为“真阳”“元阳”“命门之火”,是人体阳气的根本,能促进人体的新陈代谢,促进气血津液的化生并使之转化为能量,使人体各种生理活动的进程加快,产热增加,精神振奋。肾阳虚衰,则温煦失职,气化失权,引起人体生理功能的衰退。骨质疏松症中医分型中,肾阳虚证应属病症相对最重的一型,而其 M-CSF 和 RANKL 蛋白表达水平却较低,我们设想是否为其本身肾阳虚衰,抑制了新陈代谢的进行,进而抑制了 M-CSF 和 RANKL 的分泌,减少破骨细胞活化,是一种自我保护的激发。此一结果可考虑作为骨质疏松症肾阳虚证与其它 3 组证型的鉴别诊断之一。

目前国内外对骨质疏松症证型方面的深入研究相对较少,OC 相关细胞因子中 M-CSF 和 RANKL 的表达确与中医证型存在一定的关联性,可考虑将测定 M-CSF 和 RANKL 的蛋白表达作为区别骨质疏松症肾阳虚证与其它 3 组证型的鉴别方法之一。但本次实验样本量较小,又有主观判断的影响,今后可在此基础上继续扩大样本量,为骨质疏松症的辨证分型提供更为客观可靠的量化依据。

参考文献:

[1] COOPER C. Epidemiology and public health impact of osteopo-

rosis[J]. *Baillieres Clin Rheumatol*, 1993, 7(3): 459-472.

[2] DELAET CE, POLS HA. Fractures in the elderly: epidemiology and demography [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2000, 14(2): 171-179.

[3] 中国老年学学会骨质疏松委员会骨质疏松诊断标准学科组. 中国人原发性骨质疏松症诊断标准[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2007, 17(4): 220, 227.

Research Group for Diagnostic Criteria of Osteoporosis, Osteoporosis Committee of China Gerontological Society. Diagnostic criteria for Chinese primary osteoporosis[J]. *Zhejiang J Integr Tradit Chin West Med*, 2007, 17(4): 220, 227.

[4] 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: 385-388.

Guiding Principle of Clinical Research on New Drugs of Traditional Chinese Medicine[M]. Beijing: China medical science and technology press, 2002: 385-388.

[5] TEITELBAUM SL. Bone resorption by osteoclasts[J]. *Science*, 2000, 289: 1504-1508.

[6] BOYLE WJ, SIMONET WS, LACEY DL. Osteoclast differentiation and activation[J]. *Nature*, 2003, 423(3): 337-342.

[7] 董伟, 于静, 戚孟春, 等. M-CSF、RANKL 浓度及 M-CSF 预诱导对破骨细胞生成影响的研究[J]. *生物医学工程学杂志*, 2010, 27(6): 1336-1340.

DONG W, YU J, QI MC, et al. Influence of MCSF, RANKL content and MCSF pre-inducing on osteoclastogenesis[J]. *J Bio Med Eng*, 2010, 27(6): 1336-1340.

[8] KANEMATSU M, SATO T, Takai H, et al. Prostaglandin E2 induces expression of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand/osteoprotegerin ligand on pre-B cells; implications for accelerated osteoclastogenesis in estrogen deficiency[J]. *J Bone Miner Res*, 2000, 15: 1321-1329.

[9] 娄志杰, 韩向莉, 孙勤, 等. 骨质疏松症中医证型实质的研究思路[J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(12): 3093-3094.

LOU ZJ, HAN XL, SUN Q, et al. Research route of TCM syndrome of osteoporosis [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2007, 18 (12): 3093-3094.

[10] 黄宏兴, 柴生颀, 黄红, 等. 骨质疏松症中医证型的聚类分析[J]. *广州中医药大学学报*, 2007, 24(3): 180-183, 187.

HUANG HX, CHAI ST, HUANG H, et al. Cluster analysis of TCM syndrome of osteoporosis[J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*, 2007, 24 (3): 180-183, 187.

[11] 张亚军, 毕力夫, 王琦. 绝经后骨质疏松症体质因素的病例对照研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2009, 15(4): 296-298.

ZHANG YJ, BI LF, WANG Q. Constitution factors for postmenopausal osteoporosis: A case control study[J]. *Chin J Osteoporosis*, 2009, 15(4): 296-298.

(编辑: 周建英)