

青娥丸对绝经后骨质疏松症患者血清癌胚抗原相关细胞黏附分子 1, β -链蛋白水平及骨密度的影响

马陈¹ 沈霖^{1△} 杨艳萍¹ 帅波¹ 徐晓娟¹ 夏雪¹

[摘要] 目的:观察古方青娥丸治疗对绝经后骨质疏松症患者血清癌胚抗原相关细胞黏附分子 1 (CEACAM1), β -链蛋白(β -catenin)及骨密度(BMD)的影响。方法:将 80 例绝经后骨质疏松症患者随机分为青娥丸治疗组(试验组)及安慰剂对照组(对照组),治疗 6 个月。分别在治疗前、服药 6 个月后检测患者血清中 CEACAM1 及 β -catenin 水平,双能 X 线吸收法(DEXA)测定腰椎正位、股骨颈、Ward's 三角和大粗隆的 BMD。结果:试验组患者血清 CEACAM1 和 β -catenin 的水平明显增加($P < 0.01$),对照组 CEACAM1 和 β -catenin 水平无明显变化。试验组 BMD 较治疗前无明显变化($P > 0.05$),对照组 BMD 较治疗前明显降低($P < 0.01$)。结论:青娥丸能够提高绝经后骨质疏松症患者血清 CEACAM1 和 β -catenin 的水平,并能有效维持绝经后骨质疏松患者的骨密度。

[关键词] 青娥丸;绝经后骨质疏松症;癌胚抗原相关粘附分子 1; β -链蛋白;骨密度

[中图分类号] R274.39 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2017)02-0015-04

Effect of Qing'e Pill on Serum CEACAM1, β -catenin Levels and Bone Mineral Density in Patients with Postmenopausal Osteoporosis

MA Chen¹ SHEN Lin^{1△} YANG Yanping¹ SHUAI Bo¹ XU Xiaojuan¹ XIA Xue¹

¹ Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China.

Abstract Objective: To observe the effect of ancient recipe Qing'e pill on serum carcinoembryonic antigen related cell adhesion molecule 1(CEACAM1), beta chain protein(β -catenin) and bone mineral density(BMD) in patients with postmenopausal osteoporosis. **Methods:** All 80 cases of postmenopausal osteoporosis were randomly divided into Qing'e pill treatment group and placebo control group(control group), and they were treated for 6 months. The serum CEACAM1 and β -catenin levels were detected before treatment and 6 months after treatment respectively. The BMD of lumbar spine, femoral neck, Ward's triangle and greater trochanter were determined by dual energy X-ray absorptiometry(DEXA). **Results:** The levels of serum CEACAM1 and β -catenin were significantly increased in the experimental group($P < 0.01$), while the levels of CEACAM1 and β -catenin were not changed in the control group. The BMD of Qing'e pill treatment group had no obvious change than before treatment($P > 0.05$), and BMD in the placebo group was significantly lower than that before treatment($P < 0.01$). **Conclusion:** Qing'e pill can improve postmenopausal osteoporosis patients' serum CEACAM1 and β -catenin levels, and it can maintain the bone density in postmenopausal osteoporosis patients effectively.

Keywords: Qing'e pill; postmenopausal osteoporosis; carcinoembryonic antigen related adhesion 1; β -catenin; bone mineral density

笔者前期的研究表明,绝经后骨质疏松症患者血清癌胚抗原相关细胞黏附分子 1(Carcinoembryonic Antigen Related Cell Adhesion Molecule 1, CEACAM1)和 β -链蛋白(Beta Chain Protein, β -catenin)的表达水

平明显降低,且与骨密度的含量具有明显相关性^[1,2]。查阅文献,CEACAM1 和 β -catenin 在骨细胞的分化与形成过程中起到重要的调节作用^[3-5]。长期的临床实践证实,青娥丸治疗对绝经后骨质疏松患者骨密度的维持有长期效应,并有促进成骨细胞增殖、分化,抑制破骨细胞活性之功^[6-8],但其是否能够影响绝经后骨质疏松患者 CEACAM1 的表达尚未见报道。本研究旨在探讨加味青娥丸对绝经后骨质疏松患者的血清 CEACAM1 和 β -catenin 水平及骨密度的影响。

基金项目:国家自然科学基金项目(81473492,81403257)

¹ 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科(武汉,430022)

[△]通信作者 E-mail: shenlinhb@sina.com

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

选取 2014 年 12 月至 2015 年 6 月本科门诊的绝经后骨质疏松患者 80 例,随机分到青娥丸治疗组(试验组)及青娥丸模拟剂治疗组(对照组),每组 40 例,所有参加本研究的受试者均签署知情同意书(本研究经过华中科技大学同济医学院的相关药物临床试验伦理委员会批准,并根据赫尔辛基人权宣言的协议进行)。

1.2 纳入标准

1)自然绝经 2 年以上的女性,年龄 45~70 岁;2)符合中国人骨质疏松症诊断标准专家共识(第三稿·2014 版)的诊断标准,用双能 X 线检测 BMD T 值 $\leq -2.5SD$ 。

1.3 排除标准

1)12 个月内接受过降钙素、双磷酸盐、雷洛昔芬、雌激素、雌孕激素等药物治疗;2)合并有除骨质疏松外的其他骨代谢性疾病,包括糖尿病及恶性肿瘤等;3)接受过放射治疗;4)肝肾功能检测异常。

1.4 试验用药

1.4.1 试验用药(购自本院草药房) 由杜仲、补骨脂、胡桃仁、蒸大蒜组成。该方组成建立在中医学“阴阳平衡”和“强筋壮骨”的理论基础上,由四种非豆科草本植物组成,质量及百分比见表 1。

表 1 青娥丸组方及组成比例

中文名称	拉丁语名称	含量(g)
杜仲(盐炒)	Eucommniae Cortex	480
补骨脂(盐炒)	Psoraleae Fructus	240
胡桃仁	Juglandis Semen	150
大蒜(蒸)	Garlic Rhizoma	120

1.4.2 具体药物制作方法 参照《中国药典》,以上四味药按照特定比例,将大蒜蒸熟,干燥后与杜仲、补骨脂粉碎成细粉,过 80 目筛,再将胡桃仁捣烂,与上述粉末掺研,过筛,混匀。每 100 g 粉末加炼蜜 70 g 制成大蜜丸,每丸质量 9 g。对照组用药除辅料外不含任何药物成分,剂型、外观、规格与青娥丸相似。均由本院药剂科制作。

1.4.3 服药方法 治疗组服用青娥丸(每次 1 丸,3 次/d),对照组服用青娥丸模拟剂(每次 1 丸,3 次/d)。除试验用药外,为所有参加者提供钙剂为辅助用药(钙尔奇 D,600 mg,1 片/d)。药物治疗时间为 6 个月。

为保证患者的依从性及药物的有效性,患者每月取药 1 次。观察期间禁止使用其他治疗骨质疏松的中西药物。

1.5 方法

1.5.1 临床评价 记录所有参加者的一般资料,包括

年龄及绝经年龄、身高、体质量及体质量指数。在治疗前、后,利用双能 X 线骨密度仪(Lunar, Madison, WI USA)检测前后位腰椎 $L_1 \sim L_4$ 及双髋的骨密度。骨密度仪每天进行仿真模型的质控,并由专业人员操作。

1.5.2 实验室分析 所有受试者在入组时、服药 6 个月,均采空腹肘静脉血标本,注入真空生化采血管中,送往本院核医学科利用全自动标准血液分析仪(罗氏 COPAS6000 型)行骨转换标志物及雌激素水平的检测。

1.5.3 ELISA 方法检测 采用 ELISA 法检测血清 CEACAM1 和 β -catenin 的水平。CEACAM1 试剂盒购自 Uscn Life Science 公司, β -catenin 试剂盒购自 Yanhui Biotechnology 公司。

1.5.4 安全指标检测及不良事件记录 所有受试者服药后每 2 个月行血常规、尿常规、肝肾功能(我院检验科)及心电图(我院心电图室)的安全性检测,并随时记录每位患者发生的不良反应。

1.6 统计学方法

持续性变量以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用独立样本 t 检验,组内治疗前、后比较采用配对样本 t 检验。所有统计分析采用 SPSS19.0 软件, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

治疗前两组患者年龄、绝经年龄、身高、体质量、体质量指数、腰椎及股骨颈的 BMD 和 T 值,CEACAM1, β -catenin,骨转换标志物,雌二醇水平比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 研究对象的基本资料及基线数据($\bar{x} \pm s$)

项目	试验组	对照组	P
年龄(岁)	56.4 \pm 3.5	56.7 \pm 3.1	0.702
绝经年龄(岁)	53.1 \pm 1.7	53.2 \pm 2.1	0.635
身高(m)	1.550 \pm 0.053	1.540 \pm 0.042	0.879
体质量(kg)	54.9 \pm 4.1	54.7 \pm 4.3	0.751
体质量指数(kg/m ²)	23.70 \pm 1.62	24.20 \pm 1.83	0.644
BMD(g/cm ²)			
腰椎	0.753 \pm 0.086	0.747 \pm 0.065	0.912
股骨颈	0.920 \pm 0.090	0.922 \pm 0.100	0.902
T -Score			
腰椎	-3.63 \pm 0.51	-3.49 \pm 0.52	0.861
股骨颈	-2.60 \pm 0.40	-2.72 \pm 0.14	0.865
CEACAM1(ng/mL)	5.61 \pm 2.71	5.23 \pm 3.15	0.724
β -catenin(pg/mL)	19.15 \pm 3.59	18.92 \pm 5.25	0.076
β -CTX(ng/mL)	0.538 \pm 0.078	0.455 \pm 0.207	0.751
PINP(ng/mL)	58.46 \pm 8.75	56.16 \pm 11.43	0.628
雌二醇(pmol/L)	35.43 \pm 9.54	36.05 \pm 11.72	0.605

注: β -CTX-I 型胶原羧基端肽 β 特殊序列;PINP-总 I 型胶原氨基端延长肽。

2.2 治疗后检测指标变化

青娥丸治疗组与安慰剂对照组治疗后 BMD,血清

CEACAM1,β-catenin,骨转换标志物及雌激素水平变化情况见表 3.

表 3 两组患者治疗后骨密度,血清 CEACAM1,β-catenin,骨转换标志物及雌激素水平变化(±s)

组别	例数	BMD(g/m ²)		CEACAM1 (ng/mL)	β-catenin (pg/mL)	β-CTX (ng/mL)	PINP (ng/mL)	雌二醇 (pmol/L)	
		腰椎	股骨颈						
试验组	治疗前	40	0.753±0.086	0.920±0.090	5.61±2.71	19.15±3.59	0.538±0.078	58.46±8.75	35.43±9.54
	治疗后	38	0.749±0.079 ¹⁾	0.899±0.065 ¹⁾	9.17±3.46 ¹⁾²⁾	25.26±4.12 ¹⁾²⁾	0.424±0.022 ¹⁾³⁾	57.65±13.17 ¹⁾	34.72±11.23
对照组	治疗前	40	0.747±0.065	0.922±0.100	5.23±3.15	18.92±5.25	0.455±0.207	56.16±11.43	56.16±11.43
	治疗后	39	0.635±0.021 ³⁾	0.816±0.052 ³⁾	5.17±2.76	18.75±5.17	0.451±0.081	53.81±6.25	53.81±6.25

注:与安慰剂对照组比较,1)P<0.05;与治疗前比较,2)P<0.05,3)P<0.01.

青娥丸治疗组治疗后腰椎、股骨颈骨密度及 PINP、雌二醇水平较治疗前均无明显变化,CEACAM1 及 β-catenin 治疗后水平明显增加($P<0.05$),β-CTX 治疗后水平明显下降($P<0.01$)。安慰剂对照组治疗后腰椎、股骨颈骨密度均明显降低。治疗后血清 CEACAM1,β-catenin,β-CTX,PINP,雌二醇水平均无明显变化。青娥丸治疗组腰椎、股骨颈骨密度,血清 CEACAM1,β-catenin,PINP 明显高于安慰剂对照组($t=3.124,3.265,2.167,3.758,4.082;P$ 值均 <0.05)。青娥丸治疗组血清 β-CTX 水平明显低于安慰剂对照组($t=4.107,P<0.05$)。两组患者治疗后雌激素水平差异无统计学意义($t=1.213,P>0.05$)。

2.3 不良事件记录

青娥丸治疗组有 1 例开始服药时发生皮疹,后停止用药退出试验,1 例因车祸致右股骨颈骨折退出试验;安慰剂对照组有 1 例服药后胃部不适退出试验。

3 讨论

随着人口老龄化,骨质疏松症的发病率愈来愈高,已成为严峻的公共卫生及社会问题^[9]。绝经后妇女骨质疏松症发生率高达 60%~70%,因此骨质疏松症研究的重点人群是中老年妇女^[10]。

绝经后骨质疏松症属于中医“腰痛”“骨痿”“骨痹”等范畴。《医经精义》中曰:“肾藏精,精生髓,髓生骨,故骨者肾之合也”,“精足则髓足,髓在骨内,髓足则骨强”,肯定了骨的生长发育依赖于肾中精气的滋养推动作用。妇女绝经后,肾气渐衰,天癸渐竭,骨髓化生无源,致髓枯骨脆、筋骨不坚是导致骨质疏松的主要原因。应用中医药开展抗骨质疏松治疗使我国骨质疏松症研究在国际学术界独树一帜。近年来,中医药对骨质疏松治疗方面已经取得较大进展,中医药(包括天然药物)在临床获效的同时,具有无损伤性、安全可靠的特点,是现代国际上治疗骨质疏松的流行趋势,从而被广大研究者及骨质疏松患者所接受。采用源于宋朝《太平惠民和剂局方》之古方青娥丸治疗本病正合补肾活血之义。方中杜仲性味甘温,入肝肾经,能补肾、强

壮筋骨,故有“凡下焦之虚非杜仲不补,足胫之酸非杜仲不去,腰膝之病非杜仲不除”之说(《本草几言》)。补骨脂性温能“暖水脏,阴中生阳壮火益土,对‘肾气虚弱……起坐艰难者,悉能治之’”(《本草经疏》)。胡桃肉入肾,补肾固精、通润血脉;大蒜辛温走窜,行滞通络。四药合为青娥丸,“治肾气虚弱,……坐起艰难,俯仰不利,转侧不能……常服之,壮筋骨,活血脉,乌鬓发,益颜色。”(《局方》·青娥丸)。共凑内充肾气、调达气血之功。临床研究结果显示:用该方治疗后 88% 患者腰背部疼痛明显减轻或缓解,所有病例肾虚症状均有明显改善,骨密度值也有不同程度提高^[11]。

笔者既往的研究中已发现:绝经后骨质疏松的发病进程与经典 Wnt 信号通路水平低下密切相关;Wnt/β-catenin 信号通路与 RANKL/RANK/OPG 系统之间的功能通信在绝经后骨质疏松发病中发挥重要作用,较低水平的血清 β-catenin 与较高比值的 RANKL/OPG 可能参与了绝经后骨质疏松发病进程^[2,12]。并且 β-catenin 是经典 Wnt 信号通路调控骨代谢进程中的重要分子^[13]。癌胚抗原相关粘附分子 1(CEACAM1)是一种细胞表面跨膜糖蛋白,也是癌胚抗原家族的一个成员,属于免疫蛋白超家族黏附分子。最近有研究证实,细胞黏附分子在骨细胞的分化与形成过程起到调节作用^[3-5]。大量的临床研究证实许多肿瘤疾病中 CEACAM1 与 β-catenin 的表达存在相关性,肿瘤组织内 CEACAM1 的含量降低是影响 β-catenin 增殖和凋亡的主要因素^[14,15]。临床研究已经发现,绝经后骨质疏松患者血清中 CEACAM1 显著低于无骨质疏松组的含量,绝经后骨质疏松患者血清中 CEACAM1 与骨密度和 β-catenin 水平呈正相关^[1,16]。本研究显示,用古方青娥丸治疗绝经后骨质疏松症患者 6 个月后,虽然患者的骨密度没有明显改变($P>0.05$),但是与对照组相比治疗组患者血清 CEACAM1 与 β-catenin 均有提高($P<0.05$),且治疗组患者骨密度水平明显高于对照组($P<0.05$)。由此可以推测青娥丸治疗绝经后骨质疏松可能与提高 CEACAM1 水平并影响 Wnt/β-catenin 信号通路有关,具体机理有待进一步研究。

参考文献

[1] Ma C, Shuai B, Shen L, et al. Serum carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 level in postmenopausal women; correlation with β -catenin and bone mineral density[J]. Osteoporos Int, 2016, 27(4):1529-1535.

[2] Xu XJ, Shen L, Yang YP, et al. Serum beta-catenin levels associated with the ratio of RANKL/OPG in patients with postmenopausal osteoporosis[J]. Int J Endocrinol, 2013;534352.

[3] Michigami T, Shimizu N, Williams PJ, et al. Cell-cell contact between marrow stromal cells and myeloma cells via VCAM-1 and alpha(4)beta(1)-integrin enhances production of osteoclast-stimulating activity[J]. Blood, 2000, 96(5):1953-1960.

[4] Pearce RN, Sordillo EM, Yaccoby S, et al. Multiple myeloma disrupts the TRANCE/ osteoprotegerin cytokine axis to trigger bone destruction and promote tumor progression[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(20):11581-11586.

[5] Tanaka Y, Maruo A, Fujii K, et al. Intercellular adhesion molecule 1 discriminates functionally different populations of human osteoblasts; characteristic involvement of cell cycle regulators[J]. J Bone Miner Res, 2000, 15(10):1912-1923.

[6] 翁泽斌, 颜翠萍, 张志杰, 等. 不同炮制品入药的青娥丸含药血清对人成骨细胞增殖、分化及矿化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(6):165-168.

[7] 吴海洋, 索欢, 王平, 等. 绝经后骨质疏松症的临床中药治疗进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(2):367-371.

[8] 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.

[9] Mauck KF, Clarke BL. Diagnosis, screening, prevention, and treatment of osteoporosis[J]. Mayo Clin Proc, 2006, 81(5):662-672.

[10] 赵光, 沈霖, 杨艳萍. 青娥丸对绝经后骨质疏松症患者骨密度血清 MMP-2 水平及骨代谢指标的影响[J]. 中西医结合研究, 2012, 4(3):113-117.

[11] 沈霖, 杜靖远, 杨家玉, 等. 青娥丸加味治疗老年性骨质疏松症 52 例观察[J]. 湖北中医杂志, 1994, 16(3):16-18.

[12] Mulcahy LE, Taylor D, Lee TC, et al. RANKL and OPG activity is regulated by injury size in networks of osteocyte-like cells[J]. Bone, 2011, 48(2):182-188.

[13] Gifre L, Ruiz-Gaspa S, Monegal A, et al. Effect of glucocorticoid treatment on Wnt signalling antagonists (sclerostin and Dkk-1) and their relationship with bone turnover[J]. Bone, 2013, 57(1):272-276.

[14] Jin L, Li Y, Chen CJ, et al. Direct interaction of tumor suppressor CEACAM1 with beta catenin; identification of key residues in the long cytoplasmic domain[J]. Exp Biol Med(Maywood), 2008, 233(7):849-859.

[15] Heckt T, Bickert T, Jeschke A, et al. Increased osteoclastogenesis in mice lacking the carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1[J]. Plos One, 2014, 9(12):e114360.

[16] Huang S, Kaw M, Harris MT, et al. Decreased osteoclastogenesis and high bone mass in mice with impaired insulin clearance due to liver-specific inactivation to CEACAM1[J]. Bone, 2010, 46(4):1138-1145.

(收稿日期:2016-05-01)

广告目次

1. 陕西盘龙药业集团股份有限公司	
盘龙七片	封二
2. 广东省医药进出口公司珠海公司	
同息通	彩插一
3. 金花企业(集团)股份有限公司西安金花制药厂	
金天格胶囊	封三
4. 贵州益佰制药股份有限公司	
金骨莲胶囊	封四