

巨首相关蛋白-1 对肝肾亏虚型糖尿病性骨质疏松症的影响研究

刘明明^{1,2} 李洪叶^{1,2} 冯骁骁^{1,2} 程建^{3△}

[摘要] 目的:探索肝肾亏虚型糖尿病性骨质疏松症的潜在靶点,研究巨首相关蛋白-1(DKK1)与肝肾亏虚型糖尿病性骨质疏松症的相关性及加味六味地黄汤的治疗作用。方法:收集符合纳入标准的糖尿病性骨质疏松症患者及健康受试者,其中糖尿病性骨质疏松症患者根据是否接受加味六味地黄汤治疗分为观察组和对照组(各 30 例),健康受试者为空白组(20 例),并评估各组的巨首相关蛋白-1 表达水平、中医证候疗效评分、骨密度、疼痛视觉模拟量表(VAS)评分、36 条健康调查简表(SF-36)评分和药物不良反应。结果:健康受试者的巨首相关蛋白-1 水平明显低于糖尿病性骨质疏松症患者($P < 0.05$),经过加味六味地黄汤治疗后,观察组的巨首相关蛋白-1 水平较对照组显著降低($P < 0.05$),并且观察组的骨密度、VAS 评分、SF-36 评分和中医证候指标评分均优于对照组($P < 0.05$)。结论:巨首相关蛋白-1 的表达与肝肾亏虚型糖尿病性骨质疏松症密切相关,其可能是肝肾亏虚型糖尿病性骨质疏松症的潜在靶点;加味六味地黄汤可降低患者巨首相关蛋白-1 的表达,改善中医证候,缓解疼痛并提高生活质量。

[关键词] 糖尿病性骨质疏松症;加味六味地黄汤;巨首相关蛋白-1;肝肾亏虚型;中医证候

[中图分类号] R68 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)09-0017-05

DOI: 10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 250903

Study on the Role of Potential Targets in Liver and Kidney Deficiency Type Diabetic Osteoporosis

LIU Mingming^{1,2} LI Hongye^{1,2} FENG Xiaoxiao^{1,2} CHENG Jian^{3△}

¹ Affiliated Lianyungang Clinical College of Xuzhou Medical University (The Second People's Hospital of Lianyungang), Lianyungang 222000, Jiangsu China;

² The Second People's Hospital of Lianyungang Affiliated to Kangda College of Nanjing Medical University, Lianyungang 222000, Jiangsu China;

³ Xuzhou Central Hospital, Xuzhou 221000, Jiangsu China.

Abstract Objective: To explore therapeutic potential targets for liver-kidney deficiency type diabetic osteoporosis and to investigate the role of Dickkopf-related protein 1 (DKK1) in the treatment of diabetic osteoporosis with the addition of Jiawei Liuwei Dihuang decoction. **Methods:** Patients with diabetic osteoporosis and healthy subjects who met the inclusion criteria were collected, in which patients with diabetic osteoporosis evidence were divided into observation group ($n=30$) and control group ($n=30$) according to whether or not they used to receive the treatment of Jiawei Liuwei Dihuang decoction, and the healthy subjects were the blank group ($n=20$). The DKK1 level, the efficacy of the Chinese medicine evidence, the bone mineral density, visual analogue scale (VAS) scores, the Short Form of the 36-item Health Survey (SF-36)

scores and adverse drug reactions were evaluated and compared among the groups. **Results:** The DKK1 level of the blank group was significantly lower than that of patients with diabetic osteoporosis ($P < 0.05$), and the VAS and SF-36 scores and TCM evidence indicators of the blank group were better than those of patients with diabetic osteoporosis ($P < 0.05$). In addition, the DKK1 level of the observation group was significantly lower than that of the control group after the treatment with Jiawei Liuwei Dihuang decoction

基金项目:江苏省卫生健康委医学科科研项目(H2023049)

连云港市中医药科技发展计划项目(ZD202210)

徐州市科技局基础研究计划项目(KC22037)

¹ 徐州医科大学连云港临床学院(连云港市第二人民医院)
(江苏 连云港, 222000)

² 南京医学大学康达学院附属连云港市第二人民医院

³ 徐州市中心医院

△通信作者 E-mail: drchengjian@126. com

($P < 0.05$), and the bone mineral density, VAS and SF-36 scores, and Chinese medicine evidence indexes of the observation group were all better than those of the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** DKK1 expression is closely related to liver-kidney deficiency type diabetic osteoporosis and may serve as a potential therapeutic target. In addition, Jiawei Liuwei Dihuang decoction can effectively reduce the expression of DKK1 in patients with liver-kidney deficiency type diabetic osteoporosis, improve the symptoms of traditional Chinese medicine, relieve pain and improve the quality of life.

Keywords: diabetic osteoporosis; Jiawei Liuwei Dihuang decoction; Dickkopf-related protein 1; liver-kidney deficiency; Chinese medicine evidence and symptoms

晚期糖尿病患者糖代谢紊乱的应激状态下,常出现骨代谢紊乱,导致糖尿病性骨质疏松症(Diabetic Osteoporosis, DOP)的发生^[1-3]。巨首相关蛋白-1(Dickkopf-Related Protein 1, DKK1)是成骨 Wnt/ β -catenin 信号通路的典型抑制剂,影响骨代谢平衡^[4-7],可作为骨质疏松潜在治疗靶点,为临床治疗提供指导^[8]。加味六味地黄汤是笔者近年治疗肝肾亏虚型糖尿病性骨质疏松症的经验方,临床疗效良好^[9]。近期笔者在临床研究发现,该方可降低糖尿病性骨质疏松症患者巨首相关蛋白-1 的表达,改善骨密度,提高生活质量,现报告如下。

1 研究对象和方法

1.1 研究对象

纳入 2023 年 2 月至 2024 年 2 月于连云港市第二人民医院和徐州市中心医院接受治疗的肝肾亏虚型糖尿病性骨质疏松症患者 60 例和 20 例健康受试者,采用随机数字表法将患者分为对照组和观察组,每组各 30 例。本研究经连云港市第二人民医院和徐州市中心医院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

1.2 诊断标准

西医诊断依据《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)》^[10]和参考《中国老年骨质疏松症诊疗指南(2018)》^[11],同时符合糖尿病和骨质疏松症诊断标准;中医诊断依据《糖尿病合并骨质疏松中医诊疗标准》^[12],符合肝肾亏虚证表现。

1.3 纳入标准

1)符合上述诊断标准;2)年龄范围为 50~80 岁,性别不限;3)患者自愿参与本研究且签署知情同意书。

1.4 排除标准

1)同时患有恶性肿瘤及其他内分泌或代谢系统疾病者;2)对研究中涉及的药物成分过敏者;3)配合度差及精神障碍者。

1.5 方法

1.5.1 治疗方法 空白组为健康受试者,未进行任何特殊处理。对照组和观察组均接受常规治疗,包括合理使用降糖药,低盐低脂糖尿病饮食,晒太阳及适当运动锻炼,口服碳酸钙 D₃ 片(惠氏制药有限公司,批号为国药准字 H10950029),1 片/次,1 次/d。对照组在

常规治疗基础上口服阿仑膦酸钠片(杭州默沙东制药有限公司,批号为国药准字 J20130085),1 片/次,1 次/周,持续治疗 12 周。观察组在常规治疗基础上,口服加味六味地黄汤,该方剂组成包括熟地黄 24 g,牛膝 15 g,当归 12 g,山药 12 g,山茱萸 12 g,淫羊藿 12 g,丹皮 9 g,茯苓 9 g,泽泻 9 g。由本院中药房统一用沸水煎至 200 mL,1 剂/d,早晚各服用 100 mL,持续治疗 12 周。

1.5.2 疗效评定方法 1)中医证候疗效量化评价:分别于治疗前后就主证和次证对患者进行评分,分值越高症状越严重。疗效指数=[(治疗前评分-治疗后评分)/治疗前评分]×100%,共分为四个等级(痊愈、显效、有效、无效),其中总有效率为痊愈、显效、有效例数占比之和^[13]。

2)巨首相关蛋白-1 水平:患者血清巨首相关蛋白-1 水平采用 ELISA 检测试剂盒(R&D Systems 公司)巨首相关蛋白-100 进行检测,按照说明书进行操作。

3)骨密度测定:分别于治疗前后用骨密度仪测定患者腰椎 L_{2~4} 及左股骨颈骨密度。

4)视觉模拟量表(VAS)评分和 36 条健康调查简表(the Short Form of the 36-item Health Survey, SF-36)评分:分别于治疗前后评价患者疼痛程度及生活质量。

5)药物不良反应监测:记录治疗期间出现的腹泻、腹痛、恶心、呕吐、食欲不振、瘙痒、头晕头痛、心悸等情况。

1.6 统计学方法

用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,符合正态分布及方差齐的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料用频数或百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。等级资料采用非参数检验(Mann-Whitney U)进行分析, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

本研究共纳入 60 例糖尿病性骨质疏松症患者及 20 例健康受试者,均完整随访。三组受试者的年龄、性别、病程及随访时间等一般资料见表 1,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

接受治疗前,对照组和观察组的中医证候评分、巨首相关蛋白-1 表达水平、骨密度、VAS 评分和 SF-36 评分差异无统计学意义($P>0.05$)。空白组中医证候评分总体水平明显优于对照组和观察组,差异有统计

学意义($P<0.05$);巨首相关蛋白-1 表达水平明显低于对照组和观察组,差异有统计学意义($P<0.05$);骨密度明显高于对照组和观察组,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 1。

表 1 三组受试者一般资料比较

组别	例数/例	性别		年龄/岁 ($\bar{x}\pm s$)	病程/年 ($\bar{x}\pm s$)	随访时间/月 ($\bar{x}\pm s$)
		男/例	女/例			
空白组	20	9	11	66.95±5.51		12.55±0.92
对照组	30	15	15	69.23±6.07	10.14±1.26	12.11±0.99
观察组	30	14	16	68.43±6.22	10.29±1.17	12.53±0.97
统计检验值		$\chi^2=0.134$		$F=0.873$	$t=0.478$	$F=1.857$
P		0.935		0.422	0.635	0.163

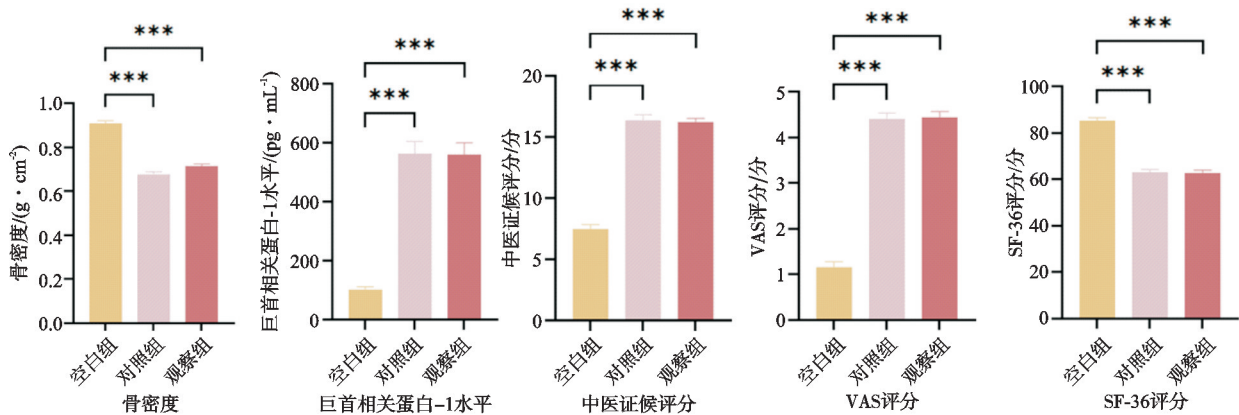


图 1 三组受试者接受治疗前的骨密度、巨首相关蛋白-1 水平、中医证候评分、VAS 评分及 SF-36 评分比较(*** $P<0.05$)

2.2 中医证候疗效评分比较

治疗 12 周后,观察组总有效患者 28 例,对照组 22 例,采用 Mann-Whitney U 检验发现观察组中医证候疗效与对照组存在明显差异,总体有效率高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 糖尿病性骨质疏松症患者中医证候疗效评分比较[$n=30$,例(%)]

组别	痊愈	显效	有效	无效
对照组	0(0%)	7(23.33%)	15(50%)	8(26.67%)
观察组	3(10%)	10(33.33%)	15(50%)	2(6.67%)
U				304.5
P				0.019

2.3 巨首相关蛋白-1 水平

表 3 两组患者血液中巨首相关蛋白-1 表达水平比较($n=30, \bar{x}\pm s, pg/mL$)

组别	治疗前	治疗 12 周后	t	P
对照组	562.57±234.85	435.16±168.56	2.414	0.019
观察组	559.51±223.43	234.42±89.82	7.934	<0.001
t	0.052	5.757		
P	0.959	<0.001		

2.5 VAS 评分和 SF-36 评分比较

治疗前,对照组和观察组之间 VAS 评分和 SF-36 评分差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 12 周后,两组患者 SF-36 评分均较治疗前显著提高,差异有统计学意义($P<0.05$),并且观察组患者 SF-36 评分高于

治疗前,对照组和观察组巨首相关蛋白-1 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 12 周后,两组患者的巨首相关蛋白-1 表达水平均较治疗前下降,差异有统计学意义($P<0.05$),并且观察组巨首相关蛋白-1 表达水平明显低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

2.4 骨密度比较

治疗前,对照组和观察组之间各位置骨密度差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 12 周后,观察组患者的各位置骨密度均较治疗前好转,并且观察组的骨密度高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

此外,两组患者治疗后 VAS 评分较治疗前明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),并且观察组患者 VAS 评分低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 5。

表 4 两组患者不同位置骨密度比较($n=30, \bar{x} \pm s, \text{g/cm}^2$)

组别	腰椎第 2~4 节(L ₂₋₄)		左股骨颈	
	治疗前	治疗 12 周后	治疗前	治疗 12 周后
对照组	0.68±0.07	0.67±0.08	0.63±0.05	0.64±0.04
观察组	0.71±0.06	0.79±0.08 ¹⁾	0.64±0.04	0.71±0.06 ¹⁾
<i>t</i>	1.782	5.809	0.855	5.317
<i>P</i>	0.079	<0.001	0.396	<0.001

注:1)与同组治疗前对比, $P<0.05$ 。

表 5 两组患者 VAS 评分和 SF-36 评分比较($n=30, \bar{x} \pm s, \text{分}$)

组别	VAS 评分		SF-36 评分	
	治疗前	治疗 12 周后	治疗前	治疗 12 周后
对照组	4.42±0.81	2.16±0.78 ¹⁾	63.76±5.93	70.31±6.36 ¹⁾
观察组	4.45±0.77	1.35±0.54 ¹⁾	62.89±5.88	79.79±6.51 ¹⁾
<i>t</i>	0.147	4.677	0.571	5.705
<i>P</i>	0.884	<0.001	0.570	<0.001

注:1)与同组治疗前对比, $P<0.05$ 。

2.6 药物不良反应

治疗期间,对照组患者共出现 2 例恶心和 1 例头晕,药物不良反应发生率为 10%(3/30);观察组患者则有 1 例恶心和 1 例头晕,药物不良反应发生率为 6.67%(2/30),两组患者药物不良反应发生率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

中医学认为糖尿病性骨质疏松症是一种由多脏腑功能紊乱引起的肌肉骨骼疾病,属于中医“消渴”合并“骨痿”范畴^[14]。本病发病始于消渴,形成于骨痿,其中肾精亏虚是骨痿的核心病机^[15]。肾为先天之本,主藏精,精生髓,髓可养骨,骨为肾所主。肾精虚衰,髓化源不足,骨失所养,则骨体枯槁、骨质脆弱而发为骨痿。且中医认为肝肾同源,肝藏血,肾藏精,精血互化。肾精亏虚日久,必然累及肝血,导致肝肾亏虚。肝肾亏虚则筋骨失养,出现“骨肉相离,筋骨解堕”,骨痿症状进一步加重^[2,16]。糖尿病性骨质疏松症多为糖尿病久病患者,虽然其主要表现为肝肾亏虚,但随着病程的延长,阴虚阳亢、久病入络等症逐渐显现。因此,其发病非单纯的线性因果关系,而是多虚夹瘀、虚中有实、阴病及阳的关系。故在治疗上主要以补肝益肾、调和阴阳为主,兼顾祛瘀通络,从而增强筋骨功能。加味六味地黄汤是在六味地黄经典方基础上加用淫羊藿、牛膝、当归。淫羊藿可补肝肾,强壮筋骨,同时具有温阳的作用,帮助调整阴阳失衡。本病为消渴的并发症,久病入络,因此加用当归,既可养血补阴,又可活血化瘀通络。再加一味牛膝,性味苦甘酸平,归肝肾经,兼顾补肝肾、强筋骨和逐瘀通络之效。诸药合用,既可补益肝肾、调和阴阳,又可活血化瘀、通络止痛,起到全面调理的作用。

西医认为糖尿病性骨质疏松症发病过程中,在长

期糖代谢紊乱的应激下,Wnt/ β -catenin 信号通路受到抑制,从而引发骨髓间充质干细胞的成骨潜能下降^[17-18]。巨首相关蛋白-1 是负调控 Wnt/ β -catenin 通路的可溶性胞外分泌型蛋白,主要通过调节 Wnt 信号通路在骨代谢中发挥作用^[19]。巨首相关蛋白-1 作为该通路的抑制因子,可以通过与 LRP5/6 受体结合,抑制 Wnt/ β -catenin 通路的活性,减少成骨细胞的增殖和分化,从而抑制骨生成。Choi 等研究发现,高水平的巨首相关蛋白-1 在体外会抑制成骨细胞分化和 OPG 表达^[20-22]。进一步的研究发现^[23],巨首相关蛋白-1 通过调节成骨细胞分泌的 RANKL/OPG 比值来间接影响破骨细胞的分化和成熟,因此巨首相关蛋白-1 对成骨细胞、破骨细胞具有双向调控作用。本研究发现,糖尿病性骨质疏松症患者的血清巨首相关蛋白-1 较健康受试者显著升高,且巨首相关蛋白-1 水平与骨密度负相关,说明巨首相关蛋白-1 可作为糖尿病性骨质疏松症的诊断标志物和治疗的潜在靶点,为进一步的研究指引了方向。

本研究结果显示,观察组患者中医证候总有效率较对照组显著提高,说明加味六味地黄汤可明显缓解糖尿病性骨质疏松症患者肝肾亏虚相关证候。观察组患者治疗 12 周后腰椎第 2~4 节(L₂₋₄)、左股骨颈等部位的骨密度值较对照组提高,且 VAS 评分较对照组显著降低,SF-36 评分较对照组显著增加,说明加味六味地黄汤可明显增强糖尿病性骨质疏松症患者骨密度,缓解疼痛,提高生活质量。因此,本研究提示了巨首相关蛋白-1 是加味六味地黄汤改善糖尿病性骨质疏松症的潜在靶点之一,但其具体的机制仍需进一步研究。虽然研究表明加味六味地黄汤在短期内具有良好的疗效,但仍需通过大规模、长期的临床试验进一步评估。

参考文献

- [1] SU H, XUE H, GAO S, et al. Effect of Rhizoma Drynariae on differential gene expression in ovariectomized rats with osteoporosis based on transcriptome sequencing[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13:930912.
- [2] LIU M, DONG R, HUA Z, et al. Therapeutic potential of Liuwei Dihuang pill against KDM7A and Wnt/ β -catenin signaling pathway in diabetic nephropathy-related osteoporosis[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(9):BSR20201778.
- [3] SHI S, GU H, XU J, et al. Glia maturation factor beta deficiency protects against diabetic osteoporosis by suppressing osteoclast hyperactivity[J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(5):898-909.
- [4] HUGHES L, CENTNER C. Idiosyncratic bone responses to blood flow restriction exercise; new insights and future directions[J]. *J Appl Physiol*, 2024, 136(2):283-297.
- [5] 刘丹, 黄思柔, 刘璞, 等. 基于 Wnt/ β -连环蛋白信号通路探究金天格胶囊对肿瘤坏死因子 α 干预下前成骨细胞生物学功能的影响[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2023, 31(6):1-7.
- [6] SUN Y, YING X, LI R, et al. FGF9 promotes expression of HAS2 in palatal elevation via the Wnt/ β -catenin/TCF7L2 pathway[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(11):1639.
- [7] SUN W, ZHANG X, WANG Z. The role and regulation mechanism of Chinese traditional fitness exercises on the bone and cartilage tissue in patients with osteoporosis: a narrative review[J]. *Front Physiol*, 2023, 14:1071005.
- [8] CARRILLO L N, MARTINEZ A L, FERNANDEZ V S, et al. Role of the RANK/RANKL/OPG and Wnt/ β -catenin systems in CKD bone and cardiovascular disorders[J]. *Calcif Tissue Int*, 2021, 108(4):439-451.
- [9] 刘明明, 马勇, 许海燕, 等. 加味六味地黄汤治疗肝肾亏虚型糖尿病性骨质疏松症的临床疗效[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2022, 30(3):12-16.
- [10] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版)[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2021, 37(4):311-398.
- [11] 《中国老年骨质疏松症诊疗指南》(2018)工作组. 中国老年骨质疏松症诊疗指南(2018)[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(12):1541-1567.
- [12] 中华中医药学会糖尿病分会. 糖尿病合并骨质疏松中医诊疗标准[J]. *糖尿病天地(临床)*, 2016, 10(12):554-559.
- [13] 杨军, 范续. 补肝强肾壮骨方治疗肝肾亏虚型原发性骨质疏松症的临床研究[J]. *中华全科医学*, 2024, 22(7):1188-1191.
- [14] 冯艺燃, 凌国伟, 蔡亮, 等. 糖尿病性骨质疏松症的中医证候、体质特点及其相关性研究[J]. *中国卫生标准管理*, 2023, 14(11):134-137.
- [15] 刘晓倩, 王保法, 金剑虹, 等. 老年男性 2 型糖尿病肝肾阴虚证患者尿酸排泄分数与骨质疏松症的相关性[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2023, 31(1):46-50.
- [16] 吴钊, 李志钢, 熊昌源, 等. 补肾健骨汤治疗肝肾阴虚型骨质疏松症的临床对照研究[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2021, 29(4):39-42.
- [17] BIAN W, XIAO S, YANG L, et al. Quercetin promotes bone marrow mesenchymal stem cell proliferation and osteogenic differentiation through the H19/miR-625-5p axis to activate the Wnt/ β -catenin pathway[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2021, 21(1):243.
- [18] ZHANG M, GAO Y, LI Q, et al. Downregulation of DNA methyltransferase-3a ameliorates the osteogenic differentiation ability of adipose-derived stem cells in diabetic osteoporosis via Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13(1):397.
- [19] JIANG J, LI J, YAO W, et al. FOXC1 negatively regulates DKK1 expression to promote gastric cancer cell proliferation through activation of wnt signaling pathway [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:662624.
- [20] CHOI R B, HOGGATT A M, HORAN D J, et al. Sostdcl suppression in the absence of sclerostin potentiates anabolic action of cortical bone in mice[J]. *J Bone Miner Res*, 2023, 38(5):765-774.
- [21] LIU H X, GUO Y B, ZHU R Y, et al. Fructus Ligustri Lucidi preserves bone quality through induction of canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway in ovariectomized rats[J]. *Phytother Res*, 2021, 35(1):424-441.
- [22] CHIARITO M, PIACENTE L, CHAOUL N, et al. Role of Wnt-signaling inhibitors DKK-1 and sclerostin in bone fragility associated with Turner syndrome[J]. *J Endocrinol Invest*, 2022, 45(6):1255-1263.
- [23] YANG B, LI S, CHEN Z, et al. Amyloid β peptide promotes bone formation by regulating Wnt/ β -catenin signaling and the OPG/RANKL/RANK system[J]. *FASEB J*, 2020, 34(3):3583-3593.

(收稿日期:2025-02-02)