

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.02.002

金匱肾气丸联合维生素 D 钙片治疗 2 型糖尿病性骨质疏松症的疗效及对血清骨转换标志物、IL-1 β 、MMP-9、SOD 水平的影响*

张娜娜,马凌云,刘德峰 Δ ,刘伯宁

河北省沧州中西医结合医院内分泌科,河北沧州 061001

摘要:目的 探讨金匱肾气丸联合维生素 D 钙片治疗 2 型糖尿病性骨质疏松症(T2DOP)的临床疗效,以及对患者血清骨转换标志物、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、超氧化物歧化酶(SOD)水平的影响。**方法** 选择该院 2021 年 1 月至 2022 年 10 月收治的 84 例 T2DOP 患者作为研究对象,按随机数字表法将患者分为观察组(42 例)和对照组(42 例)。观察组采用金匱肾气丸联合维生素 D 钙片治疗,对照组单用维生素 D 钙片治疗,治疗 24 周后比较两组临床疗效。治疗前后检测两组患者第 1~4 腰椎(L₁₋₄)、股骨颈的骨密度(BMD),并对两组患者进行疼痛视觉模拟量表(VAS)评分。治疗前后检测两组患者的糖代谢指标[空腹血糖(FPG)、餐后 2 h 血糖(2 h PG)、糖化血红蛋白(HbA1c)]、血清骨转换标志物{25 羟基维生素 D[25(OH)D]、 β -胶原特殊序列(β -Crosslaps)、总 I 型胶原氨基端延长肽(Total-P1NP)、骨钙素 N 端中分子片段(N-MID)}以及 IL-1 β 、MMP-9、SOD 水平。统计两组不良反应发生情况。**结果** 观察组总有效率为 95.24%,明显高于对照组的 76.19%($P < 0.05$)。治疗后,两组 L₁₋₄ BMD 以及血清 25(OH)D、Total-P1NP、N-MID、SOD 水平均高于治疗前($P < 0.05$),VAS 评分、FPG、2 h PG、HbA1c 以及血清 β -Crosslaps、IL-1 β 、MMP-9 水平均低于治疗前($P < 0.05$)。治疗后,观察组 L₁₋₄ BMD 以及血清 25(OH)D、Total-P1NP、N-MID、SOD 水平均高于对照组($P < 0.05$),VAS 评分、FPG、2 h PG、HbA1c 以及血清 β -Crosslaps、IL-1 β 、MMP-9 水平均低于对照组($P < 0.05$)。两组不良反应总发生率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 金匱肾气丸联合维生素 D 钙片治疗 T2DOP 能有效调节患者血清骨转换标志物、IL-1 β 、MMP-9、SOD 水平,改善糖代谢与骨代谢,提高临床疗效。

关键词:金匱肾气丸; 维生素 D 钙片; 2 型糖尿病; 骨质疏松症; 骨转换标志物; 白细胞介素-1 β ; 超氧化物歧化酶

中图分类号:R446.1;R587.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)02-0151-07

Effect of Jinkui Shenqi pill combined with vitamin D calcium tablets in treating type 2 diabetic osteoporosis and its influence on serum bone turnover markers, IL-1 β , MMP-9 and SOD levels*

ZHANG Nana, MA Lingyun, LIU Defeng Δ , LIU Boning

Department of Endocrinology, Cangzhou Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Cangzhou, Hebei 061001, China

Abstract: Objective To explore the clinical efficacy of Jinkui Shenqi pill combined with vitamin D calcium tablets in the treatment of type 2 diabetic osteoporosis (T2DOP), and its influence on the levels of serum bone turnover markers, interleukin-1 β (IL-1 β), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and superoxide dismutase (SOD) in the patients. **Methods** A total of 84 patients with T2DOP admitted and treated in this hospital from January 2021 to October 2022 were selected as the research subjects and divided into the observation group (42 cases) and control group (42 cases) according to the random number table method. The observation group was treated with Jinkui Shenqi pill combined with vitamin D calcium tablets, and the control group was treated with vitamin D calcium tablets alone. The clinical efficacies after 24-week treatment were compared between the two groups. The bone mineral density (BMD) of the first to fourth lumbar vertebrae (L₁₋₄) and femoral neck before and after treatment were detected and the pain visual analogue scale (VAS) score was performed in the two groups. The glucose metabolism indicators [fasting blood glucose (FPG), 2 h postprandial blood glucose (2 h PG), glycosylated hemoglobin (HbA1c)], serum bone turnover markers {25-hydroxyvitamin D [25(OH)D], β -collagen specific sequence (β -Crosslaps), total type I collagen amino-terminal propeptide (Total-P1NP), N-terminal midfragment of osteocalcin (N-MID)} and the levels of IL-1 β , MMP-9 and SOD in the two

* 基金项目:河北省中医药管理局科研计划项目(2021351)。

作者简介:张娜娜,女,主管护师,主要从事内分泌疾病的相关临床工作。 Δ 通信作者, E-mail:lixianguke@163.com。

groups were detected. The adverse reactions in the two groups conducted the statistics. **Results** The total effective rate in the observation group was 95.24%, which was significantly higher than 76.19% in the control group ($P < 0.05$). After treatment, the BMD at L_{1-4} and serum 25(OH)D, Total-P1NP, N-MID and SOD levels in both groups were higher than those before treatment ($P < 0.05$), and the VAS score, FPG, 2 h PG, HbA1c and serum β -Crosslaps, IL-1 β and MMP-9 levels were lower than those before treatment ($P < 0.05$). After treatment, BMD at L_{1-4} and serum 25(OH)D, Total-P1NP, N-MID and SOD levels in the observation group were higher than those in the control group ($P < 0.05$), and the VAS score, FPG, 2 h PG, HbA1c and serum β -Crosslaps, IL-1 β and MMP-9 levels were lower than those in the control group ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the total incidence rates of adverse reactions between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** Jinkui Shenqi pill combined with vitamin D calcium tablets in the treatment of T2DOP could effectively regulate the levels of serum bone turnover markers, IL-1 β , MMP-9 and SOD, improve the glucose metabolism and bone metabolism, and increase the clinical efficacy.

Key words: Jinkui Shenqi pill; vitamin D calcium tablets; type 2 diabetes mellitus; osteoporosis; bone turnover markers; interleukin-1 β ; superoxide dismutase

2 型糖尿病性骨质疏松症(T2DOP)是指 2 型糖尿病(T2DM)并发骨量减少与骨组织微结构改变,是一种由糖代谢紊乱导致的全身性代谢性骨病^[1]。近年来,随着人们生活饮食习惯的改变、生活节奏的加快以及社会老龄化进程的加快,T2DM 与骨质疏松症(OP)的发病率逐渐升高,由此导致的 T2DOP 发病人数明显增多,由于该病可增加骨折风险与致残率,因此可对患者的生活质量产生严重影响^[2]。在 T2DOP 的治疗上,除了常规给予降糖治疗外,还应重视抗骨质疏松治疗,目前常用的药物有钙剂、维生素 D 及其复方制剂等,但常规药物治疗的效果相对有限,且长期使用西药治疗还易引起一系列不良反应^[3]。近年来,以中成药为代表的中医药在 T2DOP 的治疗中具有明显优势。金匮肾气丸出自东汉张仲景所著《金匮要略》,具有温补肾阳、行气化水之功效,主治肾阳不足所致腰膝酸软无力、四肢厥冷、小便不利、水肿等。近年来研究证实,金匮肾气丸在 T2DM 及 OP 的临床治疗中均能发挥良好的治疗效用^[4-5],但金匮肾气丸在 T2DOP 治疗中的应用少见报道。为进一步探讨 T2DOP 更佳的治疗方案,本研究对本院近年来收治的部分 T2DOP 患者给予金匮肾气丸联合维生素 D 钙片治疗,并进一步分析了该方案对患者血清骨转换标志物及其他相关指标的影响。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 西医诊断标准:参照《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)》^[6]及《原发性骨质疏松症基层诊疗指南(2019 年)》^[7]拟定 T2DOP 的诊断标准。(1)具有多饮、多尿、多食、体质量减少等典型糖尿病症状;(2)随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L,或空腹血糖(FPG) ≥ 7.0 mmol/L,或糖化血红蛋白(HbA1c) $\geq 6.5\%$,或葡萄糖耐量试验(OGTT)2 h 血糖 ≥ 11.1 mmol/L;(3) ≥ 50 岁男性及绝经后女性骨密度(BMD)T 值 $\leq -2.5s$, < 50 岁男性、绝经前女性及儿童 BMD Z 值 $\leq -2.0s$ 。中医辨证标准:中医辨证为

肾阳不足证。主症为多饮、多食、多尿,形体日渐消瘦,腰膝酸软,腰背疼痛,畏寒肢冷;次症为四肢乏力,下肢抽筋,精神不振,耳鸣目眩,性欲减退,夜尿频多,便溏;舌脉象为舌胖大,苔白或有瘀点,脉沉迟或沉涩^[8]。符合所有主症及 ≥ 2 项次症,结合舌脉象,可确诊。纳入标准:(1)符合以上 T2DOP 的诊断标准,中医辨证为肾阳不足证;(2)近 6 个月内未使用过糖皮质激素、降钙素、免疫抑制剂等可影响血糖及骨代谢的药物;(3)年龄 18~75 岁;(4)对金匮肾气丸中任何成分无过敏史。排除标准:(1)原发性骨质疏松或其他原因引起的骨质疏松;(2)合并甲状腺疾病或甲状旁腺疾病、性腺疾病或垂体疾病;(3)1 型糖尿病,或合并酮症酸中毒、高血糖高渗状态等糖尿病急性并发症;(4)哺乳期或妊娠期女性;(5)骨质疏松并发骨折或病理性骨折;(6)患有恶性肿瘤或严重脑血管疾病;(7)合并强直性脊柱炎、腰椎间盘突出症等;(8)伴有急慢性感染性疾病;(9)存在免疫系统、血液系统等严重原发性疾病;(10)合并严重心、肺、肝、肾等器官功能障碍;(11)存在维生素 D 钙片使用禁忌证;(12)合并精神障碍,不能配合治疗和检查。

根据以上诊断标准、纳入标准、排除标准选择本院 2021 年 1 月至 2022 年 10 月收治的 84 例 T2DOP 患者为研究对象,按随机数字表法将患者分为观察组(42 例)和对照组(42 例)。观察组:男 22 例,女 20 例;年龄 42~75 岁,平均(62.17 \pm 8.24)岁;体质量指数(BMI)18.26~26.22 kg/m²,平均 BMI(22.37 \pm 2.04) kg/m²;T2DM 病程 3~15 年,平均病程(8.02 \pm 2.09)年。对照组:男 25 例,女 17 例;年龄 44~74 岁,平均(60.85 \pm 7.67)岁;BMI 18.53~26.75 kg/m²,平均 BMI(22.84 \pm 2.15) kg/m²;T2DM 病程 3~14 年,平均病程(7.62 \pm 1.85)年。两组基线资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究经本院医学伦理委员会批准(2020044)。所有患者对本研究内容与目的知情,并自愿签署知情

同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 两组患者均给予相同的常规治疗,包括合理使用降糖药、饮食指导、运动指导等。对照组在此基础上口服维生素 D 钙咀嚼片[生产企业:安士制药(中山)有限公司;规格:每片含维生素 D₃ 100 IU (2.5 μg) + 碳酸钙 750 mg (相当于钙 300 mg);批准文号:国药准字 J20140154]治疗,2 片/次,1 次/d,每天晚饭后咀嚼后咽下。观察组在对照组基础上联合金匱肾气丸(生产企业:昆明中药厂有限公司;规格:5 g/袋;批准文号:国药准字 Z53021294)口服治疗,1 袋/次,2 次/d。两组均连续治疗 24 周。

1.2.2 BMD 检测 治疗前后运用双能 X 射线骨密度仪(美国 Hologic 公司,Horizon-A 型)测定两组患者的第 1~4 腰椎(L_{1~4})、股骨颈的 BMD。

1.2.3 疼痛程度评估 治疗前后使用视觉模拟评分法(VAS)评价两组患者的主观疼痛程度,评分(0~10 分)越高则表明疼痛越严重。

1.2.4 糖代谢指标检测 治疗前后选用生化分析仪(德国 Siemens 公司,ADVIA 1800 型)检测患者全血 FPG、餐后 2 h 血糖(2 h PG)水平,试剂盒(葡萄糖氧化酶法)均购自科华生物工程股份有限公司;治疗前后使用糖化血红蛋白分析仪(美国 Primus 公司,Premier Hb9210 型)测定患者全血 HbA1c 水平,试剂盒(高效液相色谱法)购自云南昊戎生物科技有限公司。操作均按说明书进行。

1.2.5 血清骨转换标志物 治疗前后采集患者空腹肘静脉血 9 mL,以 3 000 r/min(离心半径 12.5 cm)离心 15 min,分离血清,分装后-20 ℃冻存待测。运用电化学发光免疫分析仪(德国 Roche 公司,Cobas e 601 型)检测血清 25 羟基维生素 D[25(OH)D]、β-胶原特殊序列(β-Crosslaps)、总 I 型胶原氨基端延长肽(Total-P1NP)、骨钙素 N 端中分子片段(N-MID)水平,各试剂盒(电化学发光法)均购自北京联众泰克科技有限公司。使用酶标仪(美国 Bio-Rad 公司,550 型),以酶联免疫吸附试验(试剂盒均由上海赫澎生物科技有限公司提供)检测血清白细胞介素(IL)-1β、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、超氧化物歧化酶(SOD)水平。各步骤均按说明书进行操作。

1.2.6 不良反应 比较两组不良反应发生情况,包括腹胀、恶心、转氨酶升高等。

1.2.7 疗效判定 疗效判定标准参照文献[8]拟定。显效:腰膝酸软、腰背疼痛等症状消失,BMD 增加,FPG 正常或降低>40%,HbA1c 正常或降低>30%;有效:腰膝酸软、腰背疼痛等症状有所好转,BMD 无变化,FPG 降低 20%~40%,HbA1c 降低 10%~30%;无效:腰膝酸软、腰背疼痛等症状无好转,甚至加重,BMD 降低,FPG、HbA1c 降低未达上述标准,甚至升高。总有效率=(显效例数+有效例数)/总例

数×100%。

1.3 统计学处理 运用 SPSS 21.0 统计学软件处理数据。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两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 *t* 检验;计数资料以例数、百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效比较 观察组总有效率为 95.24%,明显高于对照组的 76.19% ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组临床疗效比较

组别	<i>n</i>	显效(<i>n</i>)	有效(<i>n</i>)	无效(<i>n</i>)	总有效率 [<i>n</i> (%)]
观察组	42	21	19	2	40(95.24)
对照组	42	14	18	10	32(76.19)
χ^2					6.222
<i>P</i>					0.013

2.2 两组 L_{1~4}、股骨颈的 BMD 和 VAS 评分比较 治疗前,两组间 L_{1~4}、股骨颈的 BMD 和 VAS 评分比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后,两组 L_{1~4} BMD 均高于治疗前 ($P < 0.05$),VAS 评分均低于治疗前 ($P < 0.05$);治疗后,观察组 L_{1~4} BMD 高于对照组 ($P < 0.05$),VAS 评分低于对照组 ($P < 0.05$)。治疗后,观察组股骨颈 BMD 显著高于治疗前 ($P < 0.05$),但对对照组治疗前后股骨颈 BMD 比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 两组糖代谢指标比较 治疗前,两组间 FPG、2 h PG、HbA1c 水平比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后,两组 FPG、2 h PG、HbA1c 水平均低于治疗前 ($P < 0.05$)。治疗后,观察组 FPG、2 h PG、HbA1c 水平均低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 两组血清骨转换标志物水平比较 治疗前,两组血清 25(OH)D、Total-P1NP、N-MID、β-Crosslaps 水平比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后,两组血清 25(OH)D、Total-P1NP、N-MID 水平均高于治疗前 ($P < 0.05$),血清 β-Crosslaps 水平均低于治疗前 ($P < 0.05$)。治疗后,观察组血清 25(OH)D、Total-P1NP、N-MID 水平均高于对照组 ($P < 0.05$),血清 β-Crosslaps 水平低于对照组 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 两组血清 IL-1β、MMP-9、SOD 水平比较 治疗前,两组血清 IL-1β、MMP-9、SOD 水平比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后,两组血清 IL-1β、MMP-9 水平均低于治疗前 ($P < 0.05$),血清 SOD 水平均高于治疗前 ($P < 0.05$)。治疗后,观察组 IL-1β、MMP-9 水平均低于对照组 ($P < 0.05$),血清 SOD 水平高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 5。

2.6 两组不良反应发生情况比较 两组不良反应总

发生率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 6。

表 2 两组腰椎 L_{1~4}、股骨颈 BMD 和 VAS 评分比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	L _{1~4} BMD(g/cm ²)		股骨颈 BMD(g/cm ²)		VAS 评分(分)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	42	0.66±0.05	0.72±0.04*	0.70±0.07	0.75±0.06*	5.82±0.74	2.45±0.47*
对照组	42	0.67±0.06	0.70±0.05*	0.71±0.06	0.73±0.05	5.67±0.68	3.14±0.55*
t		-0.830	2.024	-0.703	1.659	0.967	-6.181
P		0.409	0.046	0.484	0.101	0.336	<0.001

注:与同组治疗前比较,* $P<0.05$ 。

表 3 两组糖代谢指标比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	FPG(mmol/L)		2 h PG(mmol/L)		HbA1c(%)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	42	8.56±1.12	5.60±0.63*	12.11±1.43	7.55±1.06*	7.82±0.86	6.15±0.55*
对照组	42	8.44±0.97	6.02±0.74*	11.76±1.32	8.04±1.12*	7.75±0.72	6.67±0.62*
t		0.525	-2.801	1.166	-2.059	0.405	-4.066
P		0.601	0.006	0.247	0.043	0.687	<0.001

注:与同组治疗前比较,* $P<0.05$ 。

表 4 两组血清骨转换标志物水平比较($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	n	25(OH)D		β -Crosslaps		Total-PINP		N-MID	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	42	13.84±2.85	17.26±2.14*	2.12±0.45	1.58±0.32*	10.22±2.02	17.56±2.85*	4.97±0.55	7.05±0.72*
对照组	42	14.07±3.12	15.35±2.35*	2.08±0.42	1.86±0.36*	9.70±2.11	13.42±2.54*	5.01±0.63	5.87±0.68*
t		-0.353	3.895	0.421	-3.767	1.154	7.028	-0.310	7.722
P		0.725	<0.001	0.675	<0.001	0.252	<0.001	0.757	<0.001

注:与同组治疗前比较,* $P<0.05$ 。

表 5 两组血清 IL-1 β 、MMP-9、SOD 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-1 β (ng/L)		MMP-9($\mu\text{g/L}$)		SOD(U/mL)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	42	52.54±6.42	25.34±4.33*	163.23±26.35	104.34±21.34*	148.32±12.43	182.34±17.75*
对照组	42	51.77±5.85	32.17±5.14*	158.75±28.10	125.67±23.21*	150.57±14.12	170.23±16.49*
t		0.575	-6.586	0.754	-4.384	-0.775	3.239
P		0.567	<0.001	0.453	<0.001	0.441	0.002

注:与同组治疗前比较,* $P<0.05$ 。

表 6 两组不良反应发生情况比较

组别	n	腹胀(n)	恶心(n)	转氨酶轻度升高(n)	合计
					[n(%)]
观察组	42	0	1	1	2(4.76)
对照组	42	1	2	0	3(7.14)
χ^2					0.213
P					0.645

3 讨 论

相关调查数据表明,老年 T2DM 患者中 OP 发病

率约为 41%,而非 T2DM 老年人 OP 发病率约为 36%,老年 T2DM 患者发生骨量减少和 OP 的概率明显高于非 T2DM 老年人群,且随着 T2DM 病程的延长其 BMD 逐渐降低^[9]。王瑜等^[10]报道显示,349 例绝经后 T2DM 住院患者 OP 发生率为 42.12%。T2DM 患者更容易发生 OP 的机制较为复杂,目前临床关于其研究也较多。研究认为,机体处于长期高血糖状态,可影响肾小管对矿物质的重吸收能力,导致血清钙、磷等微量元素水平降低,骨分解代偿性增多;长期糖尿病还可引起外周血管及神经病变,影响骨组织血供,不利于骨的正常代谢,使骨转换加快,骨量丢

失加剧^[11-13]。长期糖尿病引起的视网膜病变等可导致患者户外活动减少,容易出现维生素 D 缺乏,引发或加重骨质疏松。潘冬梅等^[14]研究结果表明,维生素 D₃ 水平是老年 T2DM 合并 OP 的独立影响因素。维生素 D 在骨的吸收和形成代谢过程中发挥着双向调节作用,当机体维生素 D 缺乏时可使骨吸收增加,骨形成减少,骨的机械稳定性受损。因此,目前临床针对 T2DOP 除了常规给予降糖药物治疗外,还常给予钙剂、维生素 D 及其复方制剂等,旨在增加 BMD,改善骨质疏松,预防骨折。本研究采用的维生素 D 钙片即是由碳酸钙和维生素 D₃ 组成,目前被广泛应用于妊娠期、哺乳期、更年期女性以及老年人群中,对于 OP 具有良好的防治作用。但对于 T2DOP 单纯给予维生素 D 钙片治疗的效果仍有待进一步提高。近年来,关于 T2DOP 中医药治疗方面的研究日益增多,在常规治疗基础上联合中医药治疗能有效提高临床疗效^[15]。

中医并无 T2DOP 病名,但根据其症状、体征可将其归于“消渴”“骨痿”等范畴。中医认为,阴虚燥热是消渴病的主要病机,其根本病机则在于肾虚。《黄帝内经》有记载:“肾脆,善病消瘵”。《医宗必读》曰“消渴病本在肾”。而骨痿同样与肾虚关系密切。中医认为,肾为先天之本,肾藏精,精生髓,髓居于骨腔中,以滋养骨骼,促使其生长发育。《素问》中记载:“肾主身之骨髓”“髓者,骨之充也”。《灵枢·本神》中则记载:“精伤则骨酸痿厥”。肾脏的精气盛衰直接关系到骨骼的生长发育,肾精充足,则骨髓得健,骨坚有力,反之,若肾精亏虚,则骨髓化生无源,骨骼失于濡养,可致骨骼发育失常,引发骨痿。T2DOP 的病因病机主要是消渴日久,耗气伤津,致使肾气渐亏,肾不主骨,骨枯髓减,而致骨痿。因此,针对 T2DOP 中医治疗主张从肾论治。金匮肾气丸具有温补肾阳、化气行水的功效,主治肾虚水肿、腰膝酸软、小便不利、畏寒肢冷等症。该方中附子辛热,具有回阳救逆、补火助阳、散寒止痛之功效,桂枝辛温,可温通经脉、助阳化气,二者均为温阳之要药,可补肾阳不足,使肾阳振奋,气化复常;地黄滋阴养肾、清热生津、凉血止血,山茱萸补益肝肾、生津止渴,温而不燥,补而不峻,山药补脾养胃、补肺益肾,三者配伍附子、桂枝,温肾助阳,补肾填精,可藉阴中求阳而增补阳之力,温而不燥,滋而不膩。泽泻、茯苓、车前子具有利水渗湿的功效,牡丹皮清热凉血、活血化痰,牛膝活血通经、补益肝肾。上述诸药合用,可共奏温补肾阳、强筋健骨、化气行水、生津降糖之功效。现代药理研究表明:熟地黄可通过腺苷酸活化蛋白激酶介导的核转录因子- κ B/NOD 样受体蛋白 3 信号通路调控脏器能量代谢,发挥抗炎作用,缓解糖尿病模型小鼠的症状;熟地黄还可影响碱性磷酸酶活性,促进钙沉积,防止钙超载,增加骨量,减少骨折的发生;山茱萸可调节内分泌系统,改善糖耐量,促进雌激素分泌,加快骨代谢,改善骨质量;茯

苓提取物具有抗氧化、降血糖、调节脂代谢等作用;牡丹皮能调节糖脂代谢,增加 SOD 活性,降低丙二醛含量,改善糖尿病模型小鼠体内氧化应激反应^[16-20]。本研究中,观察组采用金匮肾气丸联合维生素 D 钙片治疗后总有效率达到了 95.24%,显著高于对照组;且治疗后观察组腰椎 L₁₋₄ BMD 高于对照组,VAS 评分低于对照组。两组治疗后 FPG、2 h PG、HbA1c 均低于治疗前,且观察组低于对照组。该结果提示,在常规降糖药物和维生素 D 钙片治疗基础上联合金匮肾气丸治疗能更有效地控制 T2DOP 患者血糖,增加 BMD,减轻腰背等部位疼痛,提高临床疗效。

在 T2DOP 患者中,血清骨转换标志物可有效反映患者机体内骨转换情况以及成骨细胞与破骨细胞的功能状态。25(OH)D 是维生素 D 在人体内的主要存在形式,维生素 D 缺乏可影响钙磷吸收与骨代谢,加重骨质疏松。GUO 等^[21]报道显示,T2DM 患者的 BMD 与血清 25(OH)D 水平密切相关,血清 25(OH)D 水平越低,患者的 BMD 越低,且这种相关性在血糖控制差、糖尿病病史长的患者中更为突出。 β -Crosslaps、Total-P1NP 分别是反映骨吸收和骨形成的重要指标,前者可反映破骨细胞功能状态,后者则反映成骨细胞活性与骨形成状态。与 BMD 相比, β -Crosslaps、Total-P1NP 能更敏感地反映机体内骨代谢情况,是国际骨质疏松基金会推荐的反映骨代谢的可靠标志物^[22]。N-MID 是骨基质中重要的特异非胶原蛋白,由成骨细胞分泌并沉积于骨基质,其降解和转化过程迅速,能及时反馈机体内骨转换率,其水平升高提示成骨细胞活性增强,骨更新率加快^[23]。本研究中,两组治疗后血清 25(OH)D、Total-P1NP、N-MID 水平均高于治疗前,血清 β -Crosslaps 水平低于治疗前,两组患者治疗后血清骨转换标志物水平均较治疗前有明显改善;且治疗后观察组血清 25(OH)D、Total-P1NP、N-MID 水平均高于对照组,血清 β -Crosslaps 水平低于对照组。可见,在维生素 D 钙片基础上联合金匮肾气丸治疗能更有效地增强成骨细胞的活性,抑制破骨细胞活性,抑制骨吸收,增加骨形成,从而有利于增加 BMD,改善 T2DOP 患者的骨质疏松。MMP-9 是基质金属蛋白酶家族成员,具有调节细胞外基质重塑的作用,可引起钙磷代谢紊乱,造成骨代谢异常,在破骨细胞的骨吸收过程中起着重要作用。本研究中,两组治疗后血清 MMP-9 水平均低于治疗前,且治疗后观察组 MMP-9 水平低于对照组。可见,金匮肾气丸联合维生素 D 钙片能更有效地下调 T2DOP 患者血清 MMP-9 水平,从而有利于改善骨代谢。

炎症反应在 T2DOP 的发生、发展过程中起着重要作用,包括 IL-1 β 在内的多种炎症因子可对 T2DM 患者机体内胰岛素敏感性产生影响,并会造成骨吸收与骨形成失衡。王兵等^[24]报道显示,T2DM 伴骨量减少或骨质疏松的患者血清 IL-1 β 水平显著高于骨量正

常者,且骨质疏松患者的血清 IL-1 β 水平高于骨量减少的患者,血清 IL-1 β 水平与 N-MID、I 型前胶原 N-端前肽水平呈负相关,与 I 型胶原交联 C-末端肽 β -降解产物水平呈正相关。可见,血清 IL-1 β 与 T2DM 患者的骨代谢及骨质疏松密切相关。本研究中,治疗后观察组血清 IL-1 β 水平低于对照组。这提示金匱肾气丸联合维生素 D 钙片治疗 T2DOP 能更有效地缓解患者机体内炎症状态,从而有利于调控骨形成与骨吸收,减少骨量丢失。报道显示,T2DM 患者大幅度的血糖波动可引起或加重骨骼损伤,导致 BMD 下降,容易诱发骨质疏松,并指出其机制可能与氧化应激反应有关^[25]。血糖波动大更容易刺激氧化应激反应,导致机体抗氧化能力下降,谷胱甘肽、SOD 水平降低,超氧化物和过氧化氢过量形成,进而诱发明显的氧化应激反应,造成糖基化终末产物(AGEs)在骨组织大量积聚,导致 I 型胶原蛋白降解增多、合成减少,降低了骨组织韧性和弹性,导致骨胶原基质硬化,骨脆性增加。而在血液循环中,AGEs 可与多种细胞表面受体结合,上调 IL-6 表达,增加破骨细胞活性,并可通过丝裂原活化蛋白激酶信号途径刺激成骨细胞凋亡。本研究中通过比较两组患者治疗前后的血清 SOD 水平发现:两组治疗后血清 SOD 水平均高于治疗前,且治疗后观察组血清 SOD 水平高于对照组,提示金匱肾气丸联合维生素 D 钙片相对于单用维生素 D 钙片治疗能进一步增强 T2DOP 患者机体内抗氧化能力,缓解氧化应激反应,从而有利于改善骨代谢,增加 BMD。

安全性方面,两组治疗过程中均出现了个别胃肠道反应,观察组出现了 1 例转氨酶轻度升高,但两组不良反应均较轻微,未引起其他严重不良反应,安全性较高。

综上所述,在维生素 D 钙片基础上联合金匱肾气丸治疗 T2DOP 能显著提高临床疗效,该联合用药方案能进一步调节血清骨转换标志物以及 IL-1 β 、MMP-9、SOD 水平,改善糖代谢与骨代谢,增加骨形成,抑制骨吸收,且安全性好,值得临床推广应用。

参考文献

- [1] WANG C, ZHANG T, WANG P, et al. Bone metabolic biomarker-based diagnosis of type 2 diabetes osteoporosis by support vector machine[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(4):316-324.
- [2] FEVEN K, YANG W, MALINI C, et al. Diabetes, obesity, and osteoporosis in an ethnically diverse population of women receiving osteoporosis screening[J]. *Innov Aging*, 2021, 5(S1):965-966.
- [3] 张晶. 身痛逐瘀汤联合右归丸治疗老年糖尿病合并骨质疏松症 92 例[J]. *西部中医药*, 2019, 32(2):92-95.
- [4] 郑美思, 许强, 周海, 等. 基于网络药理学的金匱肾气丸治疗 2 型糖尿病作用机制探讨[J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(11):126-131.
- [5] 习文青, 王洋, 付豪, 等. 金匱肾气丸治疗骨质疏松症疗效的 Meta 分析[J]. *中日友好医院学报*, 2022, 36(1):41-43.
- [6] 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]. *国际内分泌代谢杂志*, 2021, 41(5):482-548.
- [7] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 原发性骨质疏松症基层诊疗指南(2019 年)[J]. *中华全科医师杂志*, 2020, 19(4):304-315.
- [8] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002:356-360.
- [9] 马远征, 王以朋, 刘强, 等. 中国老年骨质疏松诊疗指南(2018)[J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(11):2561-2579.
- [10] 王瑜, 陈飞, 孙颖. 绝经后 2 型糖尿病患者合并骨质疏松症相关危险因素分析[J]. *中国妇幼保健*, 2021, 36(12):2827-2829.
- [11] SCHACTER G I, LESLIE W D. Diabetes and osteoporosis: part I, epidemiology and pathophysiology[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2021, 50(2):275-285.
- [12] SYNIACHENKO O V, YERMOLAIIEVA M V, MOROZIUK D M, et al. Clinical and pathogenetic significance of comorbid osteoporosis in diabetes mellitus in women with menopause[J]. *Int J Endocrinol*, 2020, 16(2):124-129.
- [13] PASCHOU S A, VRYONIDOU A. Diabetes mellitus and osteoporosis[J]. *Minerva Endocrinol*, 2020, 44(4):333-335.
- [14] 潘冬梅, 王佳蓓, 郭庆, 等. 老年 2 型糖尿病患者合并骨质疏松症的影响因素分析[J]. *预防医学*, 2021, 33(4):382-384.
- [15] 赵嘉晶, 汪颖珏, 李军辉, 等. 补肾通络方联合降糖药物对 2 型糖尿病性骨质疏松症肾虚血瘀证患者骨密度、钙磷代谢及血液流变学指标的影响[J]. *中医药导报*, 2021, 27(10):76-79.
- [16] 孟祥龙, 刘晓琴, 宁晨旭, 等. 生、熟地黄通过 AMPK 介导 NF- κ B/NLRP3 信号通路改善高脂饲料并链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠的作用机制差异性研究[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(21):5627-5640.
- [17] 严斐霞, 谢永艳, 陈畅, 等. 熟地黄炮制过程中的化学成分变化和药理作用研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2021, 32(10):2493-2495.
- [18] 娄文凤, 张宁, 布天杰. 中药山茱萸治疗糖尿病肾脏疾病的作用机制探讨[J]. *临床肾脏病杂志*, 2021, 21(10):819-825.
- [19] 张叶茁, 杨岳峰, 杨野全, 等. 茯苓复合提取物对 2 型糖尿病大鼠血糖和血脂水平的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2020, 46(5):937-941.
- [20] 肖菲菲, 高铁祥, 王松笛, 等. 加工前、后的亳州牡丹皮水提物对 2 型糖尿病小鼠血糖、血脂等的作用研究[J]. *中国药师*, 2011, 14(10):1407-1410.
- [21] GUO L T, GAO Z H, GE H Q. Effects of serum 25-hydroxyvitamin D level on decreased bone mineral density at femoral neck and total hip in Chinese type 2 diabetes[J]. *PLoS One*, 2017, 12(11):e0188894. (下转第 165 页)

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.02.003

LINC01915 介导 miR-92a 影响结直肠癌裸鼠肿瘤生长的实验研究*

韩 炜¹, 李 程¹, 李文翰¹, 霍斌亮¹, 师 文^{2△}

1. 陕西省人民医院肿瘤外科, 陕西西安 710068; 2. 西安交通大学第一附属医院消化内科, 陕西西安 710061

摘要:目的 探讨基因间区长链非编码核糖核酸 01915(LINC01915)过表达靶向抑制微小核糖核酸-92a(miR-92a)控制结直肠癌裸鼠肿瘤生长的作用与分子机制。方法 取 100 只 5 周龄裸鼠经皮下接种人结直肠癌细胞 HT29 建立结直肠癌裸鼠皮下移植瘤模型,将建模成功的裸鼠随机分为 LINC01915 上调组(转染 pcDNA-LINC01915)、LINC01915 下调组(转染 si-LINC01915)、LINC01915 上调对照组(转染 pcDNA)、LINC01915 下调对照组(转染 si-NC)、miR-92a 上调组(转染 miR-92a mimic)、miR-92a 下调组(转染 miR-92a inhibitor)、miR-92a 上调对照组(转染 miR-92a mimic NC)、miR-92a 下调对照组(转染 miR-92a inhibitor NC)以及空白对照组(注射生理盐水)。观察记录裸鼠肿瘤体积并绘制肿瘤生长曲线;通过苏木精-伊红(HE)染色观察肿瘤组织病理学改变;采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)及蛋白质印迹法(WB)检测裸鼠肿瘤组织 Kruppel 样因子 4(KLF4)、生存素(Survivin)、细胞增殖核抗原(Ki-67)及半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-3(Caspase-3)信使核糖核酸(mRNA)或蛋白表达;通过荧光素酶活性实验验证 LINC01915 和 miR-92a 的靶向关系。**结果** 重复测量方差分析结果显示,各组结直肠癌裸鼠肿瘤体积变化存在时间效应、组间效应及交互效应,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。多变量方差分析结果显示,转染第 9、12、15 天时:与空白对照组和 LINC01915 上调对照组相比,LINC01915 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积缩小($P < 0.05$);与空白对照组和 LINC01915 下调对照组相比,LINC01915 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均增大($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 上调对照组相比,miR-92a 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均增大($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 下调对照组相比,miR-92a 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤体积均缩小($P < 0.05$)。各对照组裸鼠肿瘤组织腺体排列紊乱并伴随炎症细胞浸润,有少量杯状细胞;LINC01915 上调组和 miR-92a 下调组裸鼠肿瘤组织腺体排列整齐,结构更加完整,可见少量杯状细胞及炎症细胞浸润;LINC01915 下调组和 miR-92a 上调组裸鼠肿瘤组织腺体排列更加紊乱,杯状细胞几乎消失,可见大量炎症细胞浸润。与空白对照组和 LINC01915 上调对照组相比,LINC01915 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均升高($P < 0.05$),miR-92a 表达和 Survivin、Ki-67 mRNA 及蛋白表达均降低($P < 0.05$);与空白对照组和 LINC01915 下调对照组相比,LINC01915 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均降低($P < 0.05$),miR-92a 表达和 Survivin、Ki-67 mRNA 及蛋白表达均升高($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 上调对照组相比,miR-92a 上调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均降低($P < 0.05$),miR-92a 表达和 Survivin、Ki-67 mRNA 及蛋白表达均升高($P < 0.05$);与空白对照组和 miR-92a 下调对照组相比,miR-92a 下调组结直肠癌裸鼠肿瘤组织 KLF4、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均升高($P < 0.05$),miR-92a 表达和 Survivin、Ki-67 mRNA 及蛋白表达均降低($P < 0.05$)。荧光素酶活性实验结果显示 LINC01915 可直接靶向调控 miR-92a。**结论** 上调 LINC01915 可抑制结直肠癌裸鼠肿瘤生长,可能是通过靶向下调 miR-92a 的表达,促进 KLF4、Caspase-3 表达,抑制 Survivin、Ki-67 表达而发挥作用。

关键词:基因间区长链非编码核糖核酸; 结直肠癌; miR-92a; Kruppel 样因子 4; 半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶-3

中图法分类号:R574.63;R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)02-0157-09

Experimental study on LINC01915 mediates miR-92a to affect tumor growth in nude mice with colorectal cancer*HAN Wei¹, LI Cheng¹, LI Wenhan¹, HUO Binliang¹, SHI Wen^{2△}

1. Department of Oncological Surgery, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710068, China; 2. Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China

* 基金项目:陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2021JQ-917);陕西省人民医院科技人才支持计划项目(2021JY-46)。

作者简介:韩炜,男,主治医师,主要从事消化道疾病方向的研究。△ 通信作者,E-mail:drshiwen@163.com。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1167.R.20241223.1026.002\(2024-12-24\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1167.R.20241223.1026.002(2024-12-24))