

# 复方补筋片对肾虚血瘀型膝骨性关节炎 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 干预作用的研究<sup>※</sup>

● 林石明 李兆文 陈 明 林俊山 赵学田 陈联源 梁 辉 杨国宗 钟晓辉 林向前 杨源中

**摘 要** 目的:观察复方补筋片对肾虚血瘀型膝骨性关节炎患者血清和关节液中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平的影响,探讨复方补筋片的作用机理,为本院制剂的推广与开发应用提供科学依据。方法:收集漳州市中医院 2010 年 6 月~2011 年 6 月骨伤科门诊和康复科门诊就诊符合纳入条件的肾虚血瘀型膝骨性关节炎患者,共 60 例。将纳入患者用随机数字表分为两组,治疗组口服漳州市中医院本院制剂复方补筋片;对照组口服壮骨关节丸组,治疗周期均为 4 周,所有患者分别在治疗前及治疗周期结束 1 周内测定血清和关节液中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量。结果:1. 在降低肾虚血瘀型膝骨性关节炎患者血清和关节液中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量比较, ( $P < 0.05$ ), 有差异性,治疗组疗效优于对照组。2. 治疗组与对照组在临床疗效方面比较, ( $P < 0.05$ ), 有差异性,治疗组疗效优于对照组。结论:复方补筋片可能通过降低关节滑液中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量,从而保护膝关节软骨及软骨下骨、改善膝骨性关节炎患者的症状。

**关键词** 膝骨性关节炎 肾虚血瘀 复方补筋片 白细胞介素 L-1 $\beta$  肿瘤坏死因子- $\alpha$

膝骨性关节炎 (Osteoarthritis of the knee, KOA) 是一种以膝关节软骨退行性变性和消失,关节边缘与软骨下骨质增生形成骨赘,并引起膝关节疼痛、僵直畸形、功能受限,严重制约患者的生活质量,是骨科常见病之一,属中医“骨痹”范畴。中医认为膝骨性关节炎为本虚标实之证,肝肾亏虚为本,气滞血瘀为标,肾虚血瘀型为其最常见病机。而我院制剂复方补筋片具有补肝肾、强筋骨、活血化瘀的功效,应用于临床数十年,取得较好疗效,本课题主要观察本药治疗肾虚血瘀型膝骨性关节炎的疗效,下面报道如下。

## 1 临床资料

### 1.1 病例选择、诊断与相关分级标准

1.1.1 中医对膝骨性关节炎辨证标准 参照膝骨性关节炎 II 期临床试验方案相关指南,辨证属肾虚血瘀型<sup>[1]</sup>: (1) 主症:膝关节疼痛、肿胀、僵硬、屈伸不利、压痛明显; (2) 次症:腰膝酸软、头晕、耳鸣等; (3) 舌、脉:舌质暗淡或有瘀斑、瘀点,少苔或无苔,脉细、涩。

具备上述指南的 (1) (2) (3) 即可辨证为肾虚血瘀证。

1.1.2 西医相关诊断标准 参照 2007 年中华医学会骨科分会制定的“骨性关节炎诊疗指南草案”中关于膝骨性关节炎相关诊断标准<sup>[2]</sup>。

1.1.3 病例影像学相关 X 线片分级标准<sup>[3]</sup> 0 级为正常; I 级为少许骨刺产生或可疑关节间隙狭窄,左右关节间隙稍不对称; II 级为有骨刺,关节间隙变狭窄,左右关节间隙不对称 (少于正常关节间隙的 1 / 2); III 级为多处有骨刺,关节间隙变狭窄,左右关节间隙一定不对称 (多于正常关节间隙的 1 / 2); IV 级为可表现为较大的骨刺,关节间隙可无,或骨端严重变形,轻度骨磨损。

1.1.4 病例纳入标准 (1) 符合上述中医辨证与西医诊断分级标准; (2) 研究前 3 周停止服用治疗上述症状的药物及治疗方法; (3) 年龄在 40 ~ 75 岁。

1.1.5 病例排除标准 ① 关节间隙狭窄或消失或呈骨强直者,相关影像学 X 线分级属 IV 级患者; ② 膝关节原发病,如膝关节肿瘤,结核及骨折者; ③ 合并有心脑血管疾病,肝、肾等严重原发疾病,精神病患者; ④ 孕妇及哺乳期妇女、过敏体质者; ⑤ 研究前长时间接受激素局部或者全身治疗的患者; ④ 未按规定治疗,

※ 基金项目 福建省漳州市科技局立项课题 (No: z2010083)  
● 作者单位 福建省漳州市中医院 (363000)

无法判断疗效或资料不全面等影响疗效患者。

1.2 一般病例资料 时间段为 2010 年 6 月 ~ 2011 年 6 月,符合病例纳入标准的为 60 例,按随机的方法

分为治疗组和对照组。两组患者性别、年龄分布情况及病程分布情况见表 1。

表 1 两组性别、年龄、病程分布情况比较

性别	n	性别(例)*		年龄(岁)*			病程(年)*			X 线分级(例)*		
		男	女	41-50	51-60	61-70	<0.5	0.5-1	1-2	I	II	III
对照组	30	20	10	6	10	14	5	10	15	11	9	10
治疗组	30	17	13	8	12	10	4	15	11	10	8	12

注: \* 两组组间比较  $P>0.05$

由表 1 数据可以看出患者在性别构成、年龄分布、病程与相关 X 线分级方面对照组与治疗组比较  $P>0.05$ ,无统计学意义,说明两组之间一般情况均衡,具有可比性。

2 方法

2.1 临床研究观察对象分组 采用随机数字表法分组,按相关比例,将临床研究观察对象分配到治疗组和对照组,每组各 30 例。

2.2 临床研究观察对象用药和剂量

2.2.1 治疗组 复方补筋片(漳州市中医院委托漳州市生物化学制药厂生产,批准文号:闽药制字 Z06602044),每日 3 次,每次服 4 片,饭后用温开水送服。

2.2.2 对照组 壮骨关节丸(深圳市三九制药股份公司生产,批准文号:国药准字 Z44023377),一日 2 次,每次服 6 克,早晚饭后用温开水送服。

2.2.3 相关疗程安排 两组均不间断服药 4 周,为 1 疗程,均签署《药物临床试验知情同意书》。

2.3 观察相关指标

2.3.1 血清和关节液相关指标的检测 两组患者均于服药前及疗程结束 1 周内采取患者静脉血和关节液进行 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  检测。

关节液的抽取:均在无菌操作条件下首先向患者膝关节腔内注射 0.9% 生理盐水 5.0ml,反复回抽、注入 3 遍后再抽取 0.5~2ml 关节液,收集关节液于试管中。

所有标本均在采集后 2 个小时内 5 $^{\circ}$ C,3000r/min 离心 5min,取上清液保存于 Eppendorf 管,于 -20 $^{\circ}$ C 低温冷冻保存待检测。

IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量的测定方法:采用双抗体夹心酶联免疫吸附实验法(ELISA 法)。

试剂盒:ELISA 人 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  试剂盒均由

美国 Amresco 公司生产,上海科兴商贸有限公司分装提供,具体操作步骤按说明书进行。

IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量的测定:稀释 150 $\mu$ l 标准品,分别设空白孔、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品准确加样 50 $\mu$ l,待测样品孔中先加样品稀释液 40 $\mu$ l,然后再加待测样品 10 $\mu$ l。用封板膜封板后置 37 $^{\circ}$ C 恒温箱温育 60 分钟。配置洗涤液备用,洗板 5 次后,每孔加入酶标试剂 50 $\mu$ l,空白孔除外。再次置 37 $^{\circ}$ C 恒温箱温育 60 分钟,洗板 5 次,每孔先加入显色剂 A50 $\mu$ l,再加入显色剂 B50 $\mu$ l,轻轻震荡混匀,37 $^{\circ}$ C 避光显色 15 分钟。每孔加终止液 50 $\mu$ l,终止反应。加终止液后 15 分钟以内 450nm 波长依序测量各孔的吸光度(OD 值)。绘制标准曲线,以标准品浓度做为横坐标,OD 值作纵坐标,用平滑曲线连接各标准品浓度,根据标本 OD 值在标准曲线查出其浓度。

2.3.2 两组相关不良反应观察 主要观察治疗过程中呼吸道和消化道不良反应,如呼吸不利、发热、恶心、腹痛、腹泻等,若治疗中发现其他不适也要详细记录。

2.4 统计方法 采用 SPSS16.0 软件进行统计学处理,所有结果均采用均值  $\bar{x} \pm s$  表示,各组间比较采用组间  $t$  检验方法,计数资料组间比较采用  $\chi^2$  检验,以  $P<0.05$  为差别有统计学意义。

3 结果

3.1 疗效评定标准 参考卫生部“中药新药的临床研究指导原则<sup>[4]</sup>”中相关的疗效评定标准:(1)治愈:主要临床症状、体征大部分消失,日常活动与生活基本不受影响,疗效指数  $\geq 90\%$ ,疗效指数 = [(治疗前总积分 - 治疗后总积分)/治疗前总积分  $\times 100\%$ ];(2)显效:主要临床相关症状、体征大部分改善,稍微影响日常活动与生活,70%《疗效指数  $\geq 90\%$ 》;(3)有效:主要临床相关症状、体征在一定程度上改善,但影

响日常生活与工作,30%《疗效指数》70%;(4)无效:主要临床相关症状、体征无改善或加重,疗效指数《30%。有效率=(治愈+显效+有效病例数)/总病例数。

3.2 复方补筋片与壮骨关节丸对膝骨性关节炎患者两组关节液和血清中 IL-1β、TNF-α 治疗前后变化比较 见表 2、表 3。

表 2 两组关节液中 IL-1β、TNF-α 治疗前后变化比较(̄x±s)

组别	n	IL-1β(pg/ml)		TNF-α(pg/ml)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	30	147.27±34.22	34.63±17.42 <sup>1)</sup>	271.72±34.41	58.25±20.34 <sup>1)</sup>
治疗组	30	145.23±42.72	25.63±12.52 <sup>1)2)</sup>	218.82±50.25	54.72±32.33 <sup>1)2)</sup>

注:1)与治疗前比较,P<0.05;2)与对照组比较,P<0.05

表 3 两组血清中 IL-1β、TNF-α 治疗前后变化比较(̄x±s)

组别	n	IL-1β(pg/ml)		TNF-α(pg/ml)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	30	220.25±47.57	57.12±23.25 <sup>1)</sup>	521.72±34.41	128.25±30.34 <sup>1)</sup>
治疗组	30	186.91±36.24	40.27±17.25 <sup>1)2)</sup>	460.64±35.47	154.72±32.33 <sup>1)2)</sup>

注:1)与治疗前比较,P<0.05;2)与对照组比较,P<0.05

3.3 复方补筋片及壮骨关节丸对膝骨性关节炎疗效的临床疗效 见表 4。

表 4 两组疗效比较[例(%)]

组别	n	治愈	显效	有效	无效	总有效率
对照组	30	3(10.0)	13(43.3)	10(33.33)	7(23.3)	76.7
治疗组	30	4(13.3)	12(40.0)	8(26.7)	6(20.0)	80.0 <sup>1)</sup>

注:1)与对照组比较,P<0.05

4 讨论

膝骨性关节炎主要是膝退行性关节病变,以关节软骨变性或丢失及关节边缘和软骨下骨质再生为特征的慢性关节炎,目前发病机制尚不清楚。现代医学研究表明,细胞因子可作为一种生化信号,在骨性关节炎病变进程中起重要的作用,与软骨破坏密切相关。目前为广大学者接受的是 IL-1β、TNF-α 是骨性关节炎发生中的关键炎性细胞因子,参与骨性关节炎的病变进程,是调节炎症的始动因素<sup>[5]</sup>。研究表明 IL-1β 与软骨损伤联系密切,能影响软骨细胞合成基质<sup>[6]</sup>,在骨性关节炎发病机制中发挥重要作用。其中以 IL-1β 为主。Carames 研究表明在人关节软骨细胞模型研究中明确 IL-1β 从多方面调控细胞凋亡,从而诱导关节软骨细胞凋亡导致骨性关节炎<sup>[7]</sup>。TNF-α 基因定位于 6 号染色体上,长约 2.76kb,由 4 个外显子构成,是机体内重要的致炎症因子。研究发现 TNF-α 诱导 MMP 的产生而在骨性关节炎的软骨破坏中发挥重大作用<sup>[8]</sup>。TNF-α 诱发骨母细胞产生一种破骨细胞活化因子,促进破骨细胞的骨吸收<sup>[9]</sup>。

TNF-α 可以刺激软骨细胞合成与释放胶原酶与前列腺素 2,从而导致软骨细胞外基质的变性与降解<sup>[10-11]</sup>。此外,TNF-α 也可刺激软骨细胞基质合成 IL-1β,相互作用导致 KOA 的发生。因此,测定血清和关节液中 IL-1β、TNF-α 水平来说明膝关节骨性关节炎病情程度有一定的临床意义。

膝关节骨性关节炎属中医“骨痹”“痹证”范畴。《内经》曰:“肾主骨,生髓”,《素问·肾气通天论》云:“肾气乃伤,高骨乃坏”,骨的生长发育强健盛衰与肾精的盈亏有紧密的关系,肾精充盈则骨髓生化有源,骨关节得以滋养而强健有力;肾精亏虚则骨髓生化无源,骨关节失养而脆弱无力。中老年肾中精气日渐衰败,髓海失去充养而日渐空虚,骨关节渐渐变脆弱,才会出现骨关节异常增生、骨痹之病变,由此说明骨性关节炎与肾虚关系密切。《类证治裁·痹证》曰:“痹久必有瘀血”,《医林改错》云:“由瘀至痹”,说明瘀血既是骨性关节的病理产物,也是其病因。说明肾虚和血瘀与骨性关节炎关系密切。肝肾亏虚是膝骨性关节炎的发病基础,肝肾亏虚,外邪入侵,阻碍气血的运行,气血瘀滞则发为本病。因此中医认为膝骨性关节

炎为本虚标实之证,肝肾亏虚为本,气滞血瘀为标,临床上辨证以肾虚血瘀型最为常见。因此中医对肾虚血瘀型膝骨性关节炎的治则是补肝肾、强筋骨、止痹痛。针对这个病机,我院采用复方补筋片治疗本病取得较好疗效。

复方补筋片是漳州市中医院骨伤科经验方,由肉苁蓉、牛膝、菟丝子、五加皮、蛇床子、熟地、山药、党参、当归、木瓜、丹皮、木香、沉香等药组成,以肉苁蓉为君药;牛膝为臣药;五加皮、菟丝子、蛇床子、熟地、山药、党参、当归、丹皮、木香、沉香共为佐药;以木瓜为使药。其中肉苁蓉具有补肾阳,益精血,润肠通便等功效。牛膝为臣药,具有活血通经、补肝肾、强筋骨、利水通行、引火下行。《神农本草经》曰:牛膝主“寒湿痿痹,四肢拘挛,膝痛不可屈伸,逐血气伤”。菟丝子具有补肾益精之功效。五加皮功效主要为祛风除湿;补益肝肾;强筋骨;通利血脉。《本草纲目》云:“治风湿痿痹,壮筋骨。”现代医学研究表明:五加皮有抗炎、镇痛、镇静作用,能提高血清抗体的浓度、促进单核巨噬细胞的吞噬功能,有抗应激作用,能促进核酸的合成、降低血糖,有性激素样作用,并能抗肿瘤、抗诱变、抗溃疡,且有一定的抗排异作用。实验研究证实实用五加皮提取物对大白鼠关节炎表现为抑制作用。蛇床子温肾壮阳、散寒祛风燥湿作用。熟地养血滋阴、补精益髓作用。山药具有益气养阴、补脾肺肾作用。当归补血活血、止痛作用。丹皮清热凉血、活血散瘀作用。木香与沉香均有行气止痛作用。木瓜具有舒筋活络作用。诸药合用,共奏补肝肾、强筋骨、益气养血、活血化瘀、行气止痛之功。

本组采用复方补筋片治疗肾虚血瘀型膝骨性关节炎,与壮骨关节丸组比较,前者有效率为80.0%,后者有效率为76.7%,经统计学处理,具差异有显著性意义,治疗组临床疗效优于对照组。通过检测两组病例血清和关节液中细胞因子 IL-1 $\beta$ 、TNF-

$\alpha$  的水平,实验结果表明,两组均能明显减低膝骨性关节炎患者血清和关节液中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的水平,但是,经过统计学处理发现两组药物对血清和关节液中细胞因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的水平干预作用,差异有显著性意义,治疗组优于对照组。本课题研究说明复方补筋片疗效治疗本证型膝骨性关节炎具有较好疗效,其作用机制之一可能通过调节血清和关节液中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的水平,减轻膝关节内无菌性炎症反应程度,从而能消除或减轻膝关节疼痛症状,改善关节活动功能等,获得满意的临床疗效。

## 参考文献

- [1] 高益民. 膝关节骨关节炎Ⅱ期临床试验方案[J]. 中药新药与临床药理,2005,17(9).
- [2] 中华医学会骨科分会制定. 骨关节炎诊治指南. 中国临床医师杂志,2008,36(10):29
- [3] Mohammed Sharif, Enmanuel George. Serum hyaluronic acid level as a predictor of disease progression in osteoarthritis of the knee[J]. arthritis and Rheumatism,1995,6(38):760.
- [4] 郑筱萸. 中药新药的临床研究指导原则[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002.
- [5] 陈金武,王美青. 转化生长因子 $\beta$ 和关节软骨[J]. 国外医学·口腔医学分册,2000,27(6):376-378.
- [6] 查振刚,黄良任,姚平,等. 膝骨关节炎患者血清 TNF- $\alpha$  与 IL-6 水平及其临床意义[J]. 广东医学,2005,26(2):191-193.
- [7] 李忆农. 细胞因子与骨关节炎[J]. 中华风湿病学杂志,2000,4(1):56-58.
- [8] 程玉来. 复方通痹胶囊治疗膝骨性关节炎 300 例临床分析[J]. 中华现代临床医学杂志,2003,5(7):633-644.
- [9] 王和鸣,葛继荣,殷海波,等. 复方杜仲健骨颗粒改善膝骨性关节炎患者膝关节功能 400 例分析[J]. 中国临床康复,2005,19(42):166-168.
- [10] 戚耀,郝朝军. 针灸治疗膝骨性关节炎临床疗效观察[J]. 陕西中医学院学报,2007,30(6):43.
- [11] 于红. 谈蒙医温针加康复训练对膝骨性关节炎功能恢复的影响[J]. 赤峰学院学报(自然科学版),2007,23(2):47.

(上接第 47 页)

有明显病变。根据这些特征推断其病变主要在喉部之声门下区。由于声门下区部位较为隐蔽,故检查喉部声门上区、声门区,气管均难以发现病变。喉痒咳嗽亦即由声门下区病变所产生之极少分泌物刺激而引发,当咳嗽清除出声门下极少分泌物后咳嗽方能停止。

**3.2 病因主要为燥,病机为肺失宣肃** 根据喉痒、干咳的特点及本人临床所治经验,本人认为其病因主要由燥(风燥、燥热、内燥)邪所致,病机主要为肺失宣肃。临床治疗以清燥、润燥为主要法则,宣肺、肃肺是治疗痒咳的主要方法,并据

证加减,辅以它法,多能治愈。本人临床常以北沙参、桑叶、杏仁、炙枇杷叶、前胡、桔梗、紫苑、贝母、木蝴蝶、黄芩、雪梨干、甘草组成喉咳汤治疗本病,并在初期喉干微痛时加连翘;轻微声沙加蝉衣;咳甚加炙麻黄等,多能收桴鼓之效。