

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2014.20.011

补肾强督方对强直性脊柱炎患者 Dickkopf1 蛋白水平的影响

孔维萍, 周童亮, 王晓瞳, 徐 愿, 陶庆文, 阎小萍*

(中日友好医院中医风湿病科, 北京市朝阳区樱花东街 2 号, 100029)

基金项目: 中日友好医院科研基金资助项目 (2010-QN-25)

摘要 **目的** 探讨补肾强督方治疗强直性脊柱炎 (AS) 的可能作用机制。 **方法** 本研究为前瞻性病例对照研究。应用酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 检测 45 例 AS 患者 (AS 组, 给予补肾强督方, 每日 1 剂, 疗程为 6 个月) 治疗前后及 40 名健康人 (健康组) 血清 Dickkopf1 蛋白 (DKK1) 水平, 并检测 AS 组治疗前后血沉 (ESR)、C 反应蛋白 (CRP)、中医证候积分、巴氏强直性脊柱炎功能指数 (BASFI)、巴氏强直性脊柱炎病情活动指数 (BASDAI)、枕墙距、指地距、Schober 试验、胸廓活动度水平。治疗过程中观察不良反应。 **结果** AS 组治疗前血清 DKK1 水平较健康组明显降低 ($P < 0.05$), 治疗后血清 DKK1 水平较治疗前明显升高 ($P < 0.05$), 且与健康组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗后 ESR、CRP、中医证候积分、BASFI、BASDAI、枕墙距、指地距较治疗前均明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); Schober 试验、胸廓活动度均较治疗前均明显升高 ($P < 0.01$)。患者治疗过程中未见明显不良反应。 **结论** 补肾强督方能明显改善 AS 患者临床症状、体征, 且安全可靠, 其可能作用机制与升高血清 DKK1 水平有关。

关键词 强直性脊柱炎; 补肾强督方; Dickkopf1 蛋白; 新骨形成

强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 是一种原因未明的慢性炎性风湿病^[1]。脊柱、骶髂关节的炎症及新骨形成是本病的特征性改变, 新骨形成导致的结构损伤是影响疾病预后、造成患者致残的主要因素^[2]。近年发现 AS 的新骨形成与 Dickkopf1 蛋白 (DKK1) 水平有关^[3-4]。DKK1 是成骨过程中经典 Wnt 信号通路的抑制因子^[5-6]。我们采用补肾强督方主治 AS 肾虚督寒证, 经多年临床验证疗效显著^[7]。本研究初步探索补肾强督方对 AS 患者血清 DKK1 的影响, 现报告如下。本研究获得中日友好医院伦理委员会批准, 批准号: 2012-30。

1 临床资料

1.1 诊断标准

中医诊断及辨证标准参照《中药新药临床研究指导原则 (试行)》^[8]中关于痹病的辨证分型及尪痹证候特点, 并结合焦树德教授长期临床辨证论治 AS 的经验^[9]拟定。肾虚督寒证证候特点: 腰骶

胯僵硬不舒、俯仰受限, 颈椎脊背僵痛、活动不利, 甚则腰脊僵直或变形, 行走、坐卧不能, 畏寒喜暖, 得热则舒。四末不温, 小便清长或夜尿频多, 男子阴囊湿冷, 女子白带寒滑。舌苔薄白或白厚, 脉多沉弦或沉细、尺弱。

西医诊断标准依据美国风湿病学会 1984 年修订的有关标准^[10]。

1.2 纳入及排除标准

纳入标准: 符合诊断标准; 曾使用非甾体抗炎药 (NSAIDs), 停药 2 周者; 曾使用柳氮磺胺吡啶 (SASP)、甲氨喋呤 (MTX)、爱若华 (LEF)、糖皮质激素, 停药 1 个月者; 曾使用生物制剂停药 3 个月以上者; 签署知情同意书者。

排除标准: 妊娠或哺乳期妇女及精神病患者; 内分泌疾病患者; 合并重度营养不良, 或伴有心、脑、肾、造血系统严重损害者; 合并其他血清阴性脊柱关节病或其他风湿病的患者。

1.3 脱落标准

①试验中受试者不能耐受, 经医生判断应停止试验者; ②受试者依从性差, 未按规定要求服药,

* 通讯作者: yanxiaoping1688@126.com, (010) 84205067

或加服其他药物,影响疗效判断者;③临床资料不全者;④受试者自行退出者。

1.4 一般资料

收集 2011 年 6 月至 2013 年 6 月中日友好医院中医风湿病科门诊及住院 AS 患者 50 例 (AS 组)。健康组 40 例来自同期中日友好医院健康体检者。AS 组脱落 5 例,完成观察 45 例,男 35 例,女 10 例;年龄 19 ~ 49 岁,平均 (31.28 ± 7.06) 岁;病程 12 ~ 408 个月,平均 (89.91 ± 84.74) 个月;人类白细胞抗原 B27 (HLA-B27) 阳性者 38 例;骶髂关节 X 线分级^[1]: II 级 11 例, III 级 28 例, IV 级 6 例。健康组 40 例,男 31 例,女 9 例;年龄 22 ~ 51 岁,平均 (29.75 ± 10.16) 岁。两组受试者性别、年龄比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2 方法

2.1 治疗方法

AS 组:给予补肾强督方治疗,以补肾强督为大法,采用祛寒除湿、散风活瘀、强壮筋骨、通利关节等治疗原则。处方:熟地黄 10g,淫羊藿 10g,烫狗脊 20g,鹿角胶 10g,杜仲 10g,烫骨碎补 15g,盐补骨脂 10g,羌活 10g,独活 10g,桂枝 10g,续断片 20g,赤芍 10g,白芍 10g,知母 10g,防风 10g,怀牛膝 10g,炮山甲 10g 等,中日友好医院药学部制剂室提供。每日 1 剂,水煎 200ml,每日分 2 次早晚服用。疗程 6 个月。治疗期间未采用其他治疗方法。

2.2 观察指标及方法

2.2.1 临床症状、体征 治疗前后观察 AS 组患者巴氏强直性脊柱炎功能指数 (BASFI)^[2]、巴氏强直性脊柱炎病情活动指数 (BASDAI)^[3]、中医证候积分 (自拟标准,根据临床症状,包括腰、臀、髋疼痛,活动受限,晨僵,夜间疼痛,畏寒肢冷,腰酸腿软,外周关节疼痛。每个问题患者进行自我评分,采用 VAS 法^[4])及指地距^[1]、枕墙距^[1]、Schober 试验^[1]、胸廓活动度^[1]变化情况。

2.2.2 实验室检查 ①血清 DKK1:清晨空腹采集 AS 组治疗前后及健康组肘静脉血,标本取出后立即于 3000 r/min 离心 15 min,收集血清,于 -70℃ 保存备检。采用酶联免疫吸附法 (ELISA),试剂盒由美国 R&D Systems 公司提供,批号:311911。②于治疗前后清晨空腹采集 AS 患者肘静脉血,检测血沉 (ESR)、C 反应蛋白 (CRP) 水平。

2.2.3 不良反应 治疗前后检测 AS 组患者血、

尿、大便常规,肝、肾功能,并观察不良反应。

2.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件处理数据。计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 标准,计数资料采用例数及百分数描述。计量资料的比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 两组受试者 DKK1 水平比较

表 1 示,AS 组治疗前血清 DKK1 水平较健康组明显降低 ($P < 0.05$),治疗后血清 DKK1 水平较本组治疗前明显升高 ($P < 0.05$),与健康组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 AS 组治疗前后及健康组 DKK1 水平比较 (pg/ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	DKK1
AS 组	治疗前	45	1625.79 ± 1342.17 [△]
	治疗后	45	2340.97 ± 2043.54 [*]
健康组		40	2280.97 ± 1216.26

注:与本组治疗前比较,^{*} $P < 0.05$;与健康组比较,[△] $P < 0.05$

3.2 AS 组患者治疗前后实验室指标、临床症状、体征的变化

表 2 示,治疗后患者 ESR、CRP、中医证候积分、BASFI、BASDAI、枕墙距、指地距较治疗前均明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),Schober 试验、胸廓活动度较治疗前均明显提高 ($P < 0.01$)。

表 2 AS 组患者治疗前后 ESR、CRP、症状、体征比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	治疗前 (45 例)	治疗后 (45 例)
ESR (mm/h)	25.24 ± 22.97	14.27 ± 11.96 ^{**}
CRP (mg/dl)	1.90 ± 2.27	1.43 ± 1.37 [*]
BASFI	2.42 ± 2.40	1.79 ± 1.83 ^{**}
BASDAI	2.71 ± 1.87	1.62 ± 1.26 ^{**}
中医证候积分	42.14 ± 24.42	20.73 ± 14.15 ^{**}
枕墙距 (cm)	2.89 ± 4.49	2.15 ± 3.62 [*]
指地距 (cm)	16.44 ± 15.94	10.71 ± 12.36 ^{**}
Schober (cm)	4.28 ± 1.78	4.88 ± 1.71 ^{**}
胸廓活动度 (cm)	3.34 ± 1.63	3.93 ± 1.74 ^{**}

注:与治疗前比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$

3.3 不良反应

45 例患者在治疗过程中血、尿常规及肝、肾功能均未见异常。4 例患者服药期间出现大便偏稀,次数增多,继续服药,两周内均逐渐缓解。

4 讨论

AS 属于中医学“痹病”范畴,我们继承全国首批名老中医焦树德教授学术思想,提出 AS 中医病因病机是由肾督阳气不足或因风寒湿热诸邪

(尤其是寒湿偏重者) 深侵肾督而致^[1]。肾主骨, 肾中精气能化生骨髓, 充盈骨腔, 促进骨的正常生长发育。肾精充足, 则骨髓生化有源, 骨有所养, 骨的生长发育正常; 若肾精虚少, 骨髓化源不足, 则可导致骨失所养, 骨的生长发育紊乱。此外韧带、附着点等处为结缔组织, 可以隶属于中医“筋”的范畴。肝主筋, 肝肾同源, 精血互生, 肾虚则肝亦不足, 筋失所养, 精血不荣可致筋脉僵急。我们认为附着点、滑膜关节、软骨结合处的新骨生成可以看做是 AS 筋骨生长发育逆乱的一种外在表现, 其本质是由于邪气深侵入肾督, 精血亏虚, 筋骨失养而导致的。

我们临床发现 AS 患者肾虚督寒证最为多见, 占 56% ~ 68% 不等^[3]。据此提出 AS 治疗应以补肾强督为大法, 采用祛寒除湿、散风活瘀、强壮筋骨、通利关节基本治则, 研制出补肾强督方。方中熟地黄、狗脊等为君药以补肾精、强机关、壮督脉、利俯仰; 桂枝、鹿角胶、淫羊藿等为臣药以温肾壮阳、通血脉、除冷风劳气; 续断、赤芍、白芍、知母等为佐药以和血脉、缓筋急、润肾滋阴、接骨疗伤; 怀牛膝引药入肾, 穿山甲散瘀通络, 引药直达病所, 共为使药。诸药共奏补肾强督、养肝荣筋、祛风除湿、活络利节之效。前期研究显示, 补肾强督法能显著改善 AS 患者的症状、体征及病情活动指标, AS 疗效评价标准 20 反应(ASAS20)标准可达 70% 以上^[4]。本研究结果显示, 治疗后 AS 患者 ESR、CRP、中医证候积分、BASFI、BASDAI、枕墙距、指地距、Schober 试验、胸廓活动度等指标较治疗前显著改善, 并无严重不良反应。

目前 AS 新骨形成的机制尚未阐明。近年发现 Wnt 信号通路对骨形成起到重要调节作用。Wnt 信号通路可促进骨髓间质干细胞的更新, 使其向成骨细胞分化; 并可影响前成骨细胞增殖, 诱导成骨细胞的形成、增殖及矿化, 抑制成骨细胞凋亡, 抑制破骨细胞分化^[5]。DKK1 是经典 Wnt 信号通路的抑制因子, 能够钝化 LRP5/6, 减弱 Wnt 蛋白与 LRP5/6 的结合, 从而抑制经典 Wnt 信号通路的激活^[6]。近年来有研究报道, 发生韧带骨赘 AS 患者的血清 DKK1 水平降低^[7]; AS 患者 DKK1 功能下降, 对经典 Wnt 信号通路的抑制作用减弱^[8]。由此推测 AS 新骨形成与 DKK1 水平降低, Wnt 信号通路激活有关。我们的研究证实了上述观点, AS 患者的血清 DKK1 水平较健康组显著下降 ($P < 0.05$), 说明 AS 患者存在成骨通路的过度激活, 干预 DKK1 水平可能是药物治疗 AS 新骨形成的新

靶点。本研究显示补肾强督方治疗后 AS 患者 DKK1 水平显著提高 ($P < 0.05$), 说明本法能够上调骨形成 Wnt 信号通路抑制因子水平, 干预 AS 新骨形成过程。我们认为 DKK1 水平的提高是补肾强督方促进 AS 患者筋、骨恢复正常生长发育的可能作用机制之一。

参考文献

- [1] Braun J, Bollow M, Remlinger G, et al. Prevalence of spondylarthropathies in HLA-B27 positive and negative blood donors [J]. *Arthritis Rheum*, 1998, 41(1): 58-67.
- [2] Machado P, Landewe R, Braun J, et al. Both structural damage and inflammation of the spine contribute to impairment of spinal mobility in patients with ankylosing spondylitis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(8): 1465-1470.
- [3] Heiland GR, Appel H, Poddubnyy D, et al. High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71(4): 572-574.
- [4] Uderhardt S, Diarra D, Katzenbeisser J, et al. Blockade of Dickkopf (DKK)-1 induces fusion of sacroiliac joints [J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(3): 592-597.
- [5] Schett G, Zwerina J, David JP. The role of Wnt proteins in arthritis [J]. *Nat Clin Pract*, 2008, 4(9): 473-480.
- [6] Luyten FP, Tylzanowski P, Lories RJ. Wnt signaling and osteoarthritis [J]. *Bone*, 2009, 44(4): 522-527.
- [7] 孔维萍, 阎小萍. 补肾强督法治强直性脊柱炎 292 例临床观察 [J]. *中国中医药科技*, 2008, 15(4): 290.
- [8] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 115-118.
- [9] 阎小萍, 王昊, 孔维萍. 强直性脊柱炎与大楼 [J]. *中国医药学报*, 2002, 17(10): 612-614.
- [10] Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis: a proposal for modification of the New York criteria [J]. *Arthritis Rheum*, 1984, 27(4): 361-368.
- [11] 张乃峥. 临床风湿病学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 161-164.
- [12] Calin A, Garrett S, Whitelock H, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index [J]. *J Rheumatol*, 1994, 21(12): 2281-2285.
- [13] Garrett S, Jenkinson TR, Kennedy LG, et al. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the bath AS disease activity index [J]. *J Rheumatol*, 1994, 21(12): 2286-2291.
- [14] de Grandmont P, Feine JS, Tache R, et al. Within-subject comparisons of implant-supported mandibular prostheses: psychometric evaluation [J]. *J Dent Res*, 1994, 73(5): 1096-1104.

[[5] 孔维萍, 阎小萍, 张卫, 等. 强直性脊柱炎患者骨密度、骨代谢指标与中医辨证分型的关系 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2011, 17(4): 328-332.

[[6] Glass DA 2nd, Karsenty G. In vivo analysis of Wnt signaling

in bone [J]. Endocrinology, 2007, 148(6): 2630-2634.

[[7] Daoussis D, Liossis SN, Solomou EE, et al. Evidence that DKK-1 is dysfunctional in ankylosing spondylitis [J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(1): 150-158.

Effects of Bushen Qiangdu Formula on the Level of Dickkopf1 in 45 Cases of Ankylosing Spondylitis

KONG Weiping, ZHOU Tongliang, WANG Xiaotong, XU Yuan, TAO Qingwen, YAN Xiaoping

(China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029)

ABSTRACT Objective To observe the effects of *Bushen Qiangdu Formula* (kidney-supplementing and Governor Vessel-strengthening formula) on the level of Dickkopf1 (DKK1) in patients with ankylosing spondylitis (AS). **Methods** A prospective case-control study was conducted. Totally 45 cases of AS were selected as the AS group and given *Bushen Qiangdu Formula* one dose daily. The treatment lasted for 6 months. Forty healthy persons were selected as the healthy group. The level of DKK1 was detected with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in both groups. The levels of erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), traditional Chinese medicine (TCM) syndrome scores, Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI), finger-floor distance, pulvinar-wall distance, Schober test and thorax activity were detected in the AS group. The adverse reactions were observed in the treatment. **Results** Before treatment, the level of DKK1 in the AS group was significantly lower than that in the healthy group ($P < 0.05$). After treatment, the level of DKK1 was significantly increased in the AS group ($P < 0.05$) and there was no significant difference between groups ($P > 0.05$). The levels of ESR, CRP, TCM syndrome scores, BASFI, BASDAI, finger-floor distance and pulvinar-wall distance were significantly decreased after treatment ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The levels of Schober test and thorax activity were significantly increased after treatment ($P < 0.01$). There was no adverse reaction occurring during the treatment. **Conclusion** The lower level of DKK1 in AS patients causes excessive activation of osteoblast pathway. *Bushen Qiangdu Formula* is effective and safe for AS. It can increase the level of DKK1 and interfere with new bone formation.

Keywords ankylosing spondylitis; Bushen Qiangdu therapy; Dickkopf1; new bone formation

(收稿日期: 2014-04-28; 修回日期: 2014-05-12)

[编辑: 叶晨]

中医杂志社医海林音像书店邮购图书目录

●国医大师临床丛书
李济仁医论医选集 98
中医古籍文献学 (第2版) 228
张琪学术思想探赜 78
●名老中医方药心得丛书
祁宝玉眼科方药心得 50
晁恩祥临证方药心得 58
俞长荣临床经验集 68
姜良铎内科方药心得 68
段富津方剂学讲读实录 78
周文泉老年病临证经验集 79
徐福松男科纲目 88
白兆芝临证经验集萃 88
●名医讲学荟萃
裘沛然讲《内经》 38
张琪讲临床 42
孟庆云讲中医经典 58
●农村卫生适宜技术推广丛书
地方性疾病中西医结合诊疗技术 27
中药炮制实用技术 29.8
农村实用针灸技术 34
农村实用液体疗法 37
灾害医学救治技术 39.8
●社区医师中西医结合诊疗规范丛书
心血管疾病 22
社区康复 22

肿瘤 24
呼吸疾病 24
骨伤病 24
神经精神疾病 24
儿科疾病 25
老年疾病 25
风湿免疫及内分泌疾病 28
社区常见疾病预防与保健 29
社区急救 29
流行病学与传染病 29
社区医学检查诊断技术 29.8
肾脏及血液疾病 29.9
耳鼻喉及口腔科疾病 29.9
泌尿生殖疾病 30
外科疾病 30
眼科疾病 35
消化疾病 35
社区护理 35
●中医药科学方法学研究系列丛书
中医药临证特效实例与方法学思考 50
中医科学方法特征与沿革 69
当代中医药学家谈科学思维与方法 88
古代中医药名家学术思想与认识论 98
中医药理论技术发展的方法学思考 118
中医临床基础医学研究 128
●重读中医经典丛书

金匱要略临床运用 48
金匱要略临床精要 58
伤寒论临床精要 59
伤寒论临床运用 59
内经临床精要 59
伤寒论临床发挥 68
内经临床运用 79
●其它图书
抗微生物药物合理应用手册 39
让“胰岛”动起来——我是这样战胜糖尿病的 (第3版) 39
中药药对表解 (修订版) 39
手法治疗骨科软组织损伤图谱 39.8
章次公《药理学》点校 48
病毒感染性疾病中医治疗学概要 54
全国名老中医柴瑞霭临床经验集萃 78
病毒性传染病中医治疗概要 58
黄德彰医文精华 68
陈雨苍中医妇科临床经验 68
中医学概论 (英文版) 68
中医学导论 69.8
常见肿瘤的非手术治疗 79
张灿理医论医案纂要 79
中医学名词内科学妇科学儿科学 88
脊髓损伤的中西医康复治疗 98
中国的藏医 (汉文、藏文、英文) 98

现代中成药的药材炮制 98
刘炳凡医论医案 118
华廷芳学术经验集 128
临床常见疾病影像诊断及治疗原则 128
糖络杂论 (第2版) 128
伤寒论方剂当代研究 128
柴浩然医论医案集 128
林沛湘学术经验集 138
康复评定学 148
现代脉诊学 148
岭南本草集锦 148
章次公医案经验集 (增补版) 158
中药血清药物化学 188
天然产物化学研究 198
广西特色中草药资源选编 498
千金翼方译注 110
当代中医外治精要 48
济阴济阳纲目 140
医学入门 68
奇效良方 77
以上书均免费邮寄,欲购者请汇款至北京东直门内北新仓 18 号中医杂志社医海林音像书店图书部收, 邮政编码: 100700. 电话: (010) 64035632. 请在汇款单附言栏写清所购书名、册数及邮编。