

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.11.012

临床研究

六味地黄胶囊治疗肝肾阴虚证疗效评价的单病例随机对照双盲试验

刘玉, 黄彬, 陈生, 彭立生, 张竞超, 贾丹, 曾真, 秦秀德*

(深圳市中医院, 广东省深圳市福田区福华路 1 号, 518033)

摘要 目的 采用单病例随机对照双盲试验评价六味地黄胶囊治疗肝肾阴虚证的临床疗效, 并评估该方法在证候疗效评价中的可应用性及可靠性。方法 通过预试验确定六味地黄胶囊的观察期与洗脱期, 采用单病例随机对照双盲试验方法, 在同一个体进行两轮试验, 共有 24 例受试者参与试验, 以患者最关心的临床症状作为疗效评价指标。采用 t 检验、重复性测量方差分析和单病例 Meta 分析处理数据, 以评估结果的可靠性。结果 19 例完成临床试验的受试者中, 5 例受试者符合有效标准, 10 例受试者符合可能有效标准, 4 例受试者为无效。采用 t 检验、重复性测量方差分析和 Meta 分析进行试验结论外推, 3 种统计分析方法均证实六味地黄胶囊较安慰剂能降低患者临床症状评分 ($P < 0.01$)。结论 单病例随机对照试验可应用于证候类中药的疗效评价, 且具有可应用性及结果可靠性。

关键词 六味地黄胶囊; 肝肾阴虚证; 单病例随机对照试验; 双盲; 疗效评价

近年来医学界逐渐认识到, 大样本多中心临床试验获得的平均效应在应用于个体时, 因受选择性偏倚和测量性偏倚的影响, 常出现疗效不佳的情况^[1]。为应对群体研究的局限性, 寻求个体化的评价方法, 有研究将单病例随机对照试验 (N of 1 randomized controlled trials, N of 1 RCT) 推广应用于临床, 以评价药物在疾病和对症处理上的效果, 取得了初步成功^[2]。证候类中药是在中医理论指导下组成的复方制剂, 最能体现中医药的辨证施治特点, 然而针对证候类中药的临床疗效判定是我国新药临床试验中的难点问题^[3-4]。

单病例随机对照试验以个体患者为研究对象, 其研究过程与中医辨证论治的个体化诊疗原则一致, 重要特点之一就是患者可参与干预措施的疗效评价, 与医生及研究者共同确认结局指标。而证候类中药的疗效评价核心正是对“证”的诊断与评价, 关注患者自我感觉, 其疗效指标是患者自身证候的变化, 与单病例随机对照试验中的医患共同商

定指标的方式相契合。六味地黄汤是我国古代经典名方, 临床常用于治疗肝肾阴虚证为主的多种疾病。本研究采用单病例随机对照双盲的设计, 评价六味地黄胶囊治疗肝肾阴虚证患者的临床疗效, 同时评估单病例随机对照试验应用于证候类中药疗效评价的可行性及可靠性。

1 一般资料

1.1 诊断标准

参考《方剂学》^[5] 制定肝肾阴虚证诊断标准: 腰膝酸软, 头目眩晕, 耳鸣耳聋, 盗汗遗精, 或骨蒸潮热, 手足心热, 或消渴, 或口干咽燥, 舌红少苔, 脉细数。为保证辨证准确性, 每例受试者需接受两名副高级职称以上的中医师共同辨证, 两名医师均辨证为肝肾阴虚证方可入组。

1.2 纳入标准

符合上述诊断标准; 年龄 25 ~ 70 岁; 文化程度为小学水平以上; 同意参与试验并签署知情同意书。

1.3 排除标准

1) 既往有心脑血管病史且近 6 个月内有急性发作的心脑血管病者; 2) 合并严重的肝脏、肾脏疾病者; 3) 伴有严重的造血系统性疾病者; 4)

基金项目: 深圳市科技计划项目 (JCYJ20150401163247240); 广东省中医药强省项目 (20151077); 深圳市“医疗卫生三名工程”项目 (SZSM201612081)

* 通讯作者: qinxuede@foxmail.com

既往有影响药物在消化道吸收的疾病病史者; 5) 合并重度高血压病且血压未能得到有效控制者; 6) 糖尿病血糖控制不佳者; 7) 妊娠或哺乳期妇女; 8) 过敏体质者; 9) 研究者认为不适宜参加本试验者, 如患者平素喜用中药食疗调理可能影响疗效分析。

1.4 脱落标准

受试者自行退出和研究者认定受试者符合退出条件, 包括: 出现严重不良事件; 症状恶化, 必须停止试验; 患者提出退出临床试验; 患者无法保证回访。当患者脱落后, 研究者必须尽可能与患者取得联系, 完成所能完成的评估项目, 并记录脱落原因, 因不良事件或严重不良事件脱落者, 应详细记录不良事件。

1.5 一般资料

24 例受试者来源于 2015 年 10 月至 2016 年 12 月深圳市中医院内科门诊。每例受试者进行 2 轮随机双盲对照试验, 每轮均包含试验期 (六味地黄胶囊) 与对照期 (六味地黄胶囊模拟剂) 两个观察期, 每个观察期期间均设置洗脱期。每例受试者的用药顺序随机确定, 由与疗效判定无关的深圳市中医院 GCP 办公室研究人员利用 SPSS 13.0 产生随机数字及每例受试者的随机序列号, 例如编号 01 受试者: BA-AB (对照-洗脱-试验-洗脱-试验-洗脱-对照) 或 AB-BA (试验-洗脱-对照-洗脱-对照-洗脱-试验); 再由深圳市中医院制剂室根据随机序号准备受试者药品, 并对试验药物的包装进行编号, 药物制备和包装过程中, 保证六味地黄胶囊模拟剂的剂型、颜色、规格、包装和标签与六味地黄胶囊一致; 最后由研究人员依据受试者入组顺序给予对应包装编号的药物。

24 例受试者参与本试验筛选, 22 例正式入组本研究, 19 例完成 2 轮试验观察。3 例受试者中途退出研究的原因分别是, 2 例受试者试验期间外出, 1 例受试者自觉无效主动退出。因该例受试者服药时间短 (不足 1 轮的用药), 无法进行疗效评价, 仅进行安全性评价。第一轮试验 22 例患者中, 男 12 例, 女 10 例; 年龄 31 ~ 67 岁, 平均年龄 (54.09 ± 12.90) 岁; 病程 1 ~ 5 年, 平均病程 (3.07 ± 1.44) 年; 基线症状积分 (17.36 ± 2.04) 分。第二轮试验 19 例患者中, 男 10 例, 女 9 例; 年龄 31 ~ 67 岁, 平均年龄 (54.52 ± 12.28) 岁; 病程 1 ~ 4 年, 平均病程 (2.46 ± 1.06) 年; 基线症状积分 (17.58 ± 1.93) 分。

2 方法

2.1 预试验及洗脱期的确定

2.1.1 预试验设计 由于中药复方在体内的代谢过程难以获得半衰期的数据, 因此可以根据预试验和医生经验制定。预试验为开放性试验, 采用每日症状积分变化为疗效指标, 得出服药后的起效时间, 以及停药后的疗效维持时间, 确定洗脱期时限。患者用药后起效的判定标准为症状总积分平均值下降 ≥ 0.5 分, 病例洗脱期判定标准为停药后症状总积分平均值上升 ≥ 0.5 分。

2.1.2 预试验结果 筛选并邀请 4 位肝肾阴虚患者参加六味地黄胶囊预试验, 结果显示六味地黄胶囊用药 2 周时间内, 3 例患者起效, 起效时间为 3 ~ 7 天, 停药后患者维持期为 6 ~ 8 天。1 例患者在 2 周治疗期内仍未达到起效标准。通过预试验初步确定单病例随机对照试验观察期限为 2 周, 洗脱期为 1 周。

2.2 干预方法

试验组给予六味地黄胶囊, 口服 1 次 5 粒, 每日 3 次; 对照组给予六味地黄胶囊模拟剂, 口服 1 次 5 粒, 每日 3 次。试验药和对照药由深圳市中医院制剂室加工制作: 六味地黄胶囊采用北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂生产的六味地黄浓缩丸 (国药准字 Z19993068) 打粉后制备, 每粒胶囊含药 0.29 g; 六味地黄胶囊模拟剂采用黑米配熟地黄打粉后制备 (比例为 10 : 1), 每粒胶囊含模拟药 0.29 g, 其中熟地黄为 0.029 g。以确保两者外观、颜色、气味、包装的一致性。根据预试验结果, 患者每轮服药 2 周、洗脱 1 周, 再服药 2 周、洗脱 1 周后进入下一轮试验, 观察时间共 11 周。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 症状积分 依据单病例随机对照试验的特点, 与患者共同决定需要解决的主要问题, 将患者最为关心的临床症状作为重要的观察指标。患者关心的主要症状有: 耳鸣、腰膝酸软、潮热、手足心热、口干咽燥、盗汗、遗精和头晕。症状的程度采用 Likert 评分法 (非常严重 5 分, 严重 4 分, 中度 3 分, 轻微 2 分, 没有 1 分), 积分越高, 症状越严重^[6-7]。在开始前、第一轮治疗末、第一轮对照末、第二轮治疗末、第二轮对照末进行疗效评价。

2.3.2 安全性指标 试验前后检测患者血常规、尿常规、肝肾功能、心电图等, 观察记录试验过程中的不良事件。

2.4 疗效评价标准

根据文献 [8-10] 制定临床疗效的判定标准如下: 1) 两轮试验中, 治疗组治疗末期的症状积分均较对照组治疗末期的症状积分低; 2) 完成两轮试验后, 再次向患者介绍试验方案 (同知情同意内容), 由受试者评估每轮试验服用药物期间的差异, 对照揭盲后服用药物判断准确者。有效: 符合上述两条即可判定; 可能有效: 符合条件 1), 但不符合条件 2) 者; 无效: 均不符合, 或符合条件 2) 但不符合条件 1) 者。

2.5 数据分析方法

用 SPSS 12.0 软件进行统计分析, 对单病例数据结果进行描述分析; 为增加试验的外推性, 将 19 例受试者两轮试验的治疗期和对照期的治疗前后积分进行配对 t 检验, 对治疗前后差值采用独立 t 检验分析; 采用重复性测量方差分析考察分组和治疗周期之间交互效应。所有的统计检验均采用双侧检验。将受试者两轮试验结果合并, 采用 Rev-Man 5.0 软件进行 Meta 分析, 进一步验证临床疗效, 当 $I^2 > 50\%$ 采用随机效应模型。考虑单病例试验外推时应谨慎, 检验水准设定为 0.01。

3 结果

3.1 单病例数据分析

依据疗效判定标准, 19 例完成临床试验的受试者中, 5 例受试者符合有效标准, 10 例受试者符合可能有效标准, 4 例受试者为无效。19 例受试者疗效详见表 1。

表 1 19 例完成试验的受试者单病例疗效分析

受试者 编号	基线	症状积分 (分)				揭盲结果 判断	疗效判定
		第一轮 治疗末	第一轮 对照末	第二轮 治疗末	第二轮 对照末		
01	19	14	17	13	19	判定准确	有效
02	18	18	19	19	18	不能判定	无效
03	19	14	19	12	18	判定准确	有效
04	15	14	15	13	14	不能判定	可能有效
05	17	15	16	16	17	不能判定	无效
06	17	16	16	16	17	不能判定	无效
07	18	16	17	15	16	不能判定	可能有效
09	19	18	19	17	18	不能判定	可能有效
10	18	17	18	16	17	不能判定	可能有效
11	15	14	15	13	14	不能判定	可能有效
13	18	17	18	16	17	不能判定	可能有效
14	15	13	15	13	14	不能判定	可能有效
15	21	15	21	14	22	判定准确	有效
16	17	13	17	14	17	判定准确	有效
17	15	16	15	15	16	不能判定	无效
18	19	15	18	14	19	不能判定	可能有效
19	15	13	15	12	15	不能判定	可能有效
20	21	15	20	14	21	判定准确	有效
22	18	17	18	16	19	不能判定	可能有效

3.2 结果外推性检验

表 2 示, 与本组治疗前比较, 试验组治疗后症状积分下降明显 ($P < 0.01$), 对照组治疗后症状积分较治疗前下降差异无统计学意义 ($P > 0.01$)。对治疗前后差值分析结果显示, 试验组与对照组差异具有统计学意义 ($t = 6.229$, $P < 0.01$)。

表 2 19 例受试者两轮症状积分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	症状积分	t 值	P 值
试验组	治疗前	19	17.578 $\pm$ 1.897	7.458	<0.001
	治疗后	19	14.92 $\pm$ 1.730		
对照组	治疗前	19	17.578 $\pm$ 1.897	2.634	0.012
	治疗后	19	17.260 $\pm$ 2.009		

3.3 重复测量方差分析

表 3 示, 统计分析显示分组和治疗周期之间无交互效应, 试验组和对照组临床疗效差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 3 19 例受试者症状积分的重复测量方差分析结果

变异来源	离均差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
分组	99.592	1	99.592	15.267	<0.001
轮	1.592	1	1.592	3.513	0.069
区组 (轮)	1.592	1	1.592	3.513	0.069
误差 (轮)	16.316	36	0.453		
误差 (分组)	234.842	36	6.523		

注: 不符合球形检验, 采用 Greenhouse-Geisser ϵ 校正结果。

3.4 单病例 Meta 分析

Meta 结果显示, 六味地黄胶囊治疗组较安慰剂组能有效改善患者症状积分, 两组之间差异具有统计学意义 [MD = -2.36; 95% CI (-3.52, -1.19), $I^2 = 90\%$, 随机效应模型, $P < 0.01$]。

3.5 安全性观察结果

试验前后患者血常规、尿常规、肝肾功能、心电图等未见明显异常, 整个试验过程中未观察到不良事件发生。

4 讨论

六味地黄汤出自《小儿药证直诀》, 古时主治小儿肾阴不足所致的发育迟缓、头发稀少枯黄、囟门久不闭合、口燥咽干、手足心热等症, 后被发展用于治疗成人腰膝酸软、盗汗遗精等肾阴虚证候。多项研究证明, 六味地黄丸具有促进卵巢颗粒细胞增殖 [1], 改善痴呆模型动物的血清皮质酮和睾酮变化及学习记忆障碍的功能 [2], 为六味地黄应用于临床肾阴虚证提供了现代药理学证据。

本研究采用单病例随机安慰剂对照双盲设计验证六味地黄胶囊的临床疗效, 研究结果表明, 19

例完成临床试验的受试者中, 5 例取得良好的疗效, 10 例经治疗后症状积分降低, 但患者在盲态下不能区分试验中两种治疗方案的差别, 考虑与患者中医症状改善不明显有关, 另有 4 例受试者无效。分析发现, 其中 2 例受试者为中老年妇女, 除伴有肝肾阴虚症状外, 同时伴有日间活动后汗出明显的症状, 考虑无效受试者可能存在其他合并证, 以及研究者可能存在辨证不精准的情况。将 19 例受试者的数据合并, 进行试验外推时, t 检验和 Meta 分析证实六味地黄胶囊与安慰剂对照相比, 能有效降低患者症状积分, 提示了六味地黄胶囊对改善肝肾阴虚证患者临床症状具有一定疗效。

单病例随机对照试验在 20 世纪 70 年代由 Guyatt 首次提出并推广应用于一些内科慢性疾病, 观察药物和行为干预措施的效果^[1]。其目的是通过反复在同一个体身上进行多次交叉对照研究, 对结果做出统计分析, 应用于个体病例的医疗。目前有关中医药的单病例随机对照试验尚处于摸索阶段, 近年国内部分学者已开展了单病例随机对照试验研究在中医药疗效评价中的应用研究^[13-15], 这些研究表明单病例随机对照试验能体现中医个体化治疗的优势, 可应用于中医药临床研究。但上述研究同时存在一定的方法学问题, 如研究未设立盲法, 没有洗脱期说明, 统计分析部分缺乏不同分析方法的比较^[16]等。

与国内研究相比, 本研究在前期研究基础上, 设置开放性预试验探索六味地黄胶囊的洗脱期, 应用模拟剂进行随机双盲对照试验。此外, 单病例随机对照是针对个体开展的试验, 被认为是“治疗试验”, 这种试验设计的特殊性对统计分析具有一定挑战性, 故本研究在试验外推时, 尝试了 t 检验、重复性测量和 Meta 分析等不同分析方法。 t 检验分析时, 我们假定不同轮次之间的数据相互独立, 将每个受试者试验药治疗前后和对照药治疗前后的测量均值进行配对分析, 证实六味地黄胶囊能显著降低受试者症状积分; 将每个受试者治疗前后的差值进行独立 t 检验, 也证实六味地黄胶囊较安慰剂对照有显著差异。考虑到测量值的波动性, 我们在重复性测量方差分析时, 将轮次变量 (即重复测量变量) 和分组变量纳入模型分析, 亦得出了相同的结论。此外, 统计分析显示分组和治疗周期之间不存在残留效应, 提示洗脱期较充分, 避免了药物残余效应影响。Meta 分析是一种合并多个研究数据的统计学方法, 本研究将每例受试者两轮

试验数据作为一个独立随机对照试验, 合并 19 例完成试验受试者的数据后, 再次证实六味地黄胶囊较安慰剂能显著降低受试者症状积分。

综上, 本研究以治疗肝肾阴虚证的六味地黄胶囊为代表, 尝试证候类中药单病例随机对照试验的疗效评价, 主要考虑肝肾阴虚证符合单病例随机对照试验的试验标准: 1) 慢性病、病情稳定, 需要适度和有效的治疗方法; 2) 治疗效果可以被测量; 3) 患者愿意接受充分、长期的治疗; 4) 医患沟通融洽。研究初步显示了单病例随机对照试验能应用于证候类中药的临床评价, 在设计方案应注意以下几点: 1) 中药复方可依据预试验结果设置充分的洗脱期以避免残余效应; 2) 在试验初期, 应确定好单个病例临床疗效评价标准, 再进一步结合不同统计学结果进行综合判定。通过本研究, 将对证候类中药疗效评价的设计和开展, 以及在此过程中单病例随机对照试验资料的分析起到一定推广和示范作用。

参考文献

- [1] 刘建平. 单个病例随机对照试验的设计与应用 [J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(3): 252-254.
- [2] PATEL A, JAESCHKE R, GUYATT GH, et al. Clinical usefulness of n-of-1 randomized controlled trials in patients with nonreversible chronic airflow limitation [J]. Am Rev Respir Dis, 1991, 144(4): 962-964.
- [3] 王少卿, 高颖, 吴圣贤. 证候类中药新药临床疗效评价方法的思考 [J]. 世界中医药, 2014, 9(8): 1093-1095.
- [4] 吕佳康. 从脾气虚证探讨证候类中药新药临床试验的设想 [J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 27(9): 732-734.
- [5] 谢鸣. 方剂学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 208.
- [6] GUYATT GH, KELLER JL, JAESCHKE R, et al. The n-of-1 randomized controlled trial: Clinical usefulness [J]. Ann Intern Med, 1990, 112(4): 293-299.
- [7] 陈昱文, 曹泽标, 周小青, 等. 中医症状量化方法及其临床应用述评 [J]. 湖南中医药大学学报, 2016, 36(3): 82-86.
- [8] GUYATT GH, SACKETT D, ADACHI J, et al. A clinician's guide for conducting randomized trials in individual patients [J]. CMAJ, 1988, 139(6): 497-503.
- [9] NONOYAMA ML, BROOKS D, GUYATT GH, et al. Effect of oxygen on health quality of life in patients with chronic obstructive pulmonary disease with transient exertional hypoxemia [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 176(4): 343-349.
- [10] 薛晶晶, 杨佩兰, 王洁, 等. 评价中医个体化治疗: 单病例随机对照试验的初步研究 [J]. 循证医学, 2016, 16

(2): 103-108.

- 〔1〕 蔚建斌. 基于 GPER 信号转导通路探讨补肾中药促进卵巢颗粒细胞增殖的机理研究 [D]. 山东: 山东中医药大学, 2016.
- 〔2〕 李长禄. 肾虚型老年痴呆大鼠模型的建立及药物验证 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.
- 〔3〕 王辉, 陈静, 商洪才. 单病例随机对照试验设计在中医药临床研究的探索与实践 [J]. 中华中医药杂志, 2010,

25(11): 1823-1828.

- 〔4〕 田永明. 十味益元颗粒治疗化疗骨髓抑制的单病例随机对照试验 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2010.
- 〔5〕 于大君, 翁维良, 陆芳, 等. 慢性肾脏病 III 期单病例随机对照临床试验 [J]. 中医杂志, 2012, 53(3): 222-224.
- 〔6〕 翟静波, 商洪才, 李江, 等. 单病例随机对照试验的统计分析方法 [J]. 中国循证医学杂志, 2017, 17(4): 494-496.

N of One Randomized Controlled Double-Blind Trial of *Liuwei Dihuang Capsule* (六味地黄胶囊) in the Treatment of Liver and Kidney Yin Deficiency Syndrome

LIU Yu, HUANG Bin, CHEN Sheng, PENG Lisheng, ZHANG Jingchao, JIA Dan, ZENG Zhen, QIN Xiude

(Shenzhen Traditional Chinese Medicine Hospital, Shenzhen, 518033)

ABSTRACT Objective To evaluate the clinical efficacy of *Liuwei Dihuang Capsule* (六味地黄胶囊) in the treatment of liver-kidney yin deficiency syndrome in N of 1, randomized controlled, double-blinded trial and to evaluate the applicability and reliability of this method in the evaluation of syndrome response. **Methods** The observation period and the elution period of *Liuwei Dihuang Capsule* were determined by pre-test. The N of 1 randomized controlled double-blind test method was used to conduct two rounds of trials in the same individual. A total of 24 subjects participated in the trial and took the patients' clinical symptoms as their most concern as efficacy evaluation indicators. Data were processed using the *t*-test, repeated measures analysis of variance, and single case meta-analysis to assess the reliability of the results. **Results** Among the 19 subjects who completed the clinical trial, 5 subjects met the effective criteria, 10 subjects met the possible effective criteria, and 4 subjects were ineffective. The *t* test, repeated measures analysis of variance, and meta-analysis were used to extrapolate the trial results. Three statistical analysis methods confirmed that *Liuwei Dihuang Capsule* can reduce clinical symptom scores ($P < 0.01$) compared with placebo. **Conclusion** N of 1 randomized controlled trials can be used to evaluate the therapeutic effect of syndrome-like Chinese medicines, and they are applicable and reliable.

Keywords *Liuwei Dihuang Capsule* (六味地黄胶囊); liver-kidney yin deficiency syndrome; N of 1 randomized controlled trial; double-blind; efficacy evaluation

(收稿日期: 2017-06-22; 修回日期: 2017-11-16)

编辑: 柴倩云

(上接第 935 页)

Preliminary Discussion on “Eliminating Pathogen Reactions” in Traditional Chinese Medicine Treatment

DING Ning¹, YANG Yufei², LI Dong¹

(1. Peking University Third Hospital, Beijing, 100191; 2. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences)

ABSTRACT This article introduced the theoretical sources of “eliminating pathogen reactions”. On this basis, we proposed “eliminating pathogen” is not only a kind of treatment method in TCM, but also is special side effect during TCM treatment. We summarized common “eliminating pathogen reactions” such as vertigo, fatigue, drowsiness, vomiting, diarrhea, rash, eliminating pathogen feeling in body or on acupoint, bleeding, weight gain or lose, menstrual detoxification, postpone or advance of menstruation and emotional fluctuation. We also distinguished between “eliminating pathogen reactions” and side effects of TCM, moreover analyzed the causes and countermeasures of “eliminating pathogen reactions”.

Keywords traditional Chinese medicine treatment; eliminating pathogen reaction; side effect; dizziness; fatigue; drowsiness; vomiting

(收稿日期: 2017-12-11; 修回日期: 2018-01-25)

编辑: 黄 健