

慢性乙型肝炎中医“证”分型 的方法学探讨*

□陈 勇** 韩凤梅 (湖北大学中药生物技术省重点实验室 武汉 430062)
李瀚旻 (湖北省中医院 武汉 430061)

摘 要:本文介绍了中医证研究的进展,探讨了中医证研究的方法学问题,针对慢性乙型肝炎中医“证”分型的分子基础研究问题,提出了用现代生物芯片技术开展此项研究的基本思路,即采用基因表达谱芯片技术对比研究慢性乙型肝炎病程进展中不同“证”的基因表达谱差异,探讨慢性乙型肝炎中医“证”分型的基因调控网络。

关键词:中医“证”分型 慢性乙型肝炎 基因表达谱

一、中医“证”研究的重要性

中医药学是具有中国特色的生命科学,但其本身还存在许多明显的不足,如传统中医理论的科学性缺乏现代科技方法的证实和阐明,对中药及特色疗法的作用规律缺乏科学的阐释,这些阻碍了中医药学自身的发展和国际化进程。

中医药现代化研究,首先要重视中医基础理论的

研究,尤其是“证”的研究。中医的“证”是中医发展到一定水平的产物,是中医生命力之所在,但另一方面它又阻碍了中医学与现代科技的融合。证本质的研究是中医现代化研究的热点与难点,如能获得突破性进展,必将使中医理论研究取得质的飞跃^[1-4]。但中医证本质研究虽历经几十年至今未能取得实质突破,有关“证”的标准化、特异性以及“证”的动物模型仍难以为中医药学术界广泛接受,不少内容较为模糊,尚无恰当的定量指标,这使得一些学者对中医的证是否会有本质产生了怀疑,对证本质的深入研

收稿日期:2004-09-15

修回日期:2004-09-28

* 国家重大基础研究前期专项课题(2002ccc00300):慢性肝炎中医“证”分型的分子基础研究,负责人:陈勇。

** 联系人:陈勇,博士,教授,湖北省中药生物技术重点实验室主任, Tel: 027-88663590, E-mail: cy101610@npc.gov.cn。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 51

究失去了信心。目前,许多学者认为,应用现代医学理论与分子生物学技术阐明中医“证”本质是实现中医药理论现代化的基础和关键,具有重大科学意义^[5-7]。

二、慢性乙型肝炎中医“证”研究进展

中医“证”本质的概念在我国中西医结合学术界已经提出了几十年。对证本质的科学内涵,仁者见仁,智者见智。所谓本质是指事物的内部联系者见智。所谓本质是指事物的内部联系,是由事物的内部矛盾构成,是事物比较深刻的、一贯的和稳定的方面。中医“证”的研究可分为“证”规范化和“证”本质研究两大类。规范化的“证”是能准确反映疾病本质的、可以探查到的疾病外在表现,一个明确的“证”必然有其物质基础和支配机制。“证”规范化研究是“证”本质研究的基础,“证”本质研究是“证”规范化研究的深化,它使“证”达到真正意义上的规范化。中医的“证”大致可分为两类:一类为短时自变的“变证”,其特点为变愈(自愈倾向)和转变他证;一类为长时不变的“定证”,其特点为自愈倾向少,不经有效的治疗措施加以干预,呈现不可逆的倾向。证的研究应以“定证”为突破口,“定证”不仅便于研究,而且更可能有重大发现和突破,因而其科学意义更大。如中医肝病中的“肝肾精血亏虚证”就是一种典型的“定证”,慢性肝病进展到一定阶段,肾精必然受损,肝血必然不足,这种“本虚”的本质在很大程度上决定了疾病的发展和转归。我们前期的研究表明,慢性肝炎的“肝肾精血亏虚证”与神经-内分泌-免疫网络功能紊乱密切相关,而神经-内分泌-免疫网络功能紊乱必然是某些蛋白质表达紊乱的结果,而蛋白质的表达又受基因的控制,从基因和蛋白质表达的深度探讨慢性肝病的“肝肾精血亏虚证”是一个很好的切入点。

我国慢性肝炎的病因以肝炎病毒占绝大多数,其中慢性病毒性肝炎又以慢性乙型肝炎为主。中医对慢性病毒性肝炎进行辨病辨证施治,从病毒性肝炎到肝硬化,所遵循的整体疗法、阴阳平衡、辨证施

治,以及理、法、方、药以疏方的理论,实是治疗学指导思想之精粹。它所使用的清热解毒、疏肝解郁、健脾利湿、补气养血、滋补肝肾、活血软坚等法,是针对慢性肝炎的病程进展而设。中医针对慢性肝炎病程进展的不同阶段所出现的“证”进行辨证论治,行之有效,体现动态化、个体化特点,但对其深层次的分子基础尚不清楚,因而缺乏客观化、规范化标准。采用现代分子生物学的先进技术和方法系统深入地研究慢性肝炎中医证的分子基础,可极大地推进辨证论治的客观化、规范化和标准化,具有重大的科学意义和临床应用价值。

关于中医肝脏的辨证标准近年来国内从不同角度、用不同方法进行了研究^[8-9]。中国中西医结合研究会活血化瘀专业委员会于1982年及1986年两次制订血瘀证诊断标准;赖世隆等^[10]对血瘀证宏观辨证计量方法进行了研究;黄柄山等^[11]制订了肝郁气滞证及相关证候的诊断标准;1999年颁布了《中医内科疾病诊疗常规》等标准。纵观以上证的规范化研究,虽已取得较大成绩,但仍存在如下问题:(1)中医的病与证结合的多,西医的病与证结合的少;(2)来自文献和经验的多,直接来自临床的少;(3)诊断标准多,定量指标少。陈国林等^[12]通过5113例临床流行病学调查,找出各证的主要疾病、症状出现率及程度,采用主证辨证法,制订了肝阳上亢、肝阳化风、肝火上炎、肝气郁结、肝血虚五证的临床辨证标准,并找出了相应的异病同证、同病异证的辅助诊断指标。以动物模型复制人类的疾病模型,是促进中医药发展必不可少的手段。然而,多年来,作为一门实验学科,中医药研究一直缺乏适合自身发展的药理学模型,难以建立真正意义上“证”的模型。如何建立阴虚、阳虚药理模型和补中益气、活血化瘀模型,并要求这些模型既有可定量的疗效指标,又符合中医“证”的原则,是中医药理论研究不容回避的难题。目前,仅肾虚证和血瘀证动物模型较为成熟,尚有较多病症动物模型有待建立。近年来,有研究通过中医临床实践,选取不同“证”的病人,运用现代分析检测手段,确立共有的、可定量检测的参数指标,如血液生化、免疫、内分泌血流量及能量代谢等^[13-16],但这些

生化水平上的测定,仍不能完全注释中医“证”的本质。

三、生物芯片技术在中医“证”研究中的作用

中医药学主要精华在于辨证论治,注重个体化治疗。但中医在辨证论治过程中存在着证候概念命名和证候辨证标准的不统一,缺乏客观的实验量化指标,阻碍了中医理论的发展及中医药现代化和国际化的进程。随着人类基因组计划的深入,尤其是功能基因组学研究技术的不断发展,从基因组微观分子水平研究中医基础理论——辨证分型的时机已经成熟。其根据在于基因科学技术的发展:一是已经构建与疾病相关的人类基因信息数据库和分析软件。迄今国际上有3个大的生物信息中心,即美国的国家生物技术信息中心、欧洲分子生物学实验室和日本DNA数据库,已经建立和维持了源自数百种生物的反转录DNA(cDNA)和基因组DNA序列的大型数据库。二是已经发展了快速、有效的对患者血液、体液、组织等样品进行测序和序列信息检测的技术,如大规模表达序列标签(EST)测序、串联表达谱技术(SAGE)和基因芯片技术在基因表达谱研究中的运用。祖国医学认为“正气存内,邪不可干;邪之所凑,其气必虚”。中医学非常重视机体内部正气——基因组正常表达功能的作用,随着基因科学技术的日臻成熟,微观辨证分型已经完全可以由基因表达谱的比较分析得以实现。

目前认为所有疾病均存在基因表达的变化,约有6000种以上的人类疾患与各种人类基因的变化相关联。近几年来国际上已出现了若干与疾病相关的数据库,现代医学正在通过功能基因组学研究,着手编制各种疾病的基因表达谱,从基因检验方面进行诊断。例如周津等^[17]研究了食管癌及癌旁组织的基因表达谱,刘连新等^[18]研究了肝癌及癌旁组织的基因表达谱,为上述癌细胞的恶性表型提供了分子遗传学参考数据,一些与肿瘤发生相关的差异表达基因为发展生物标记物或肿瘤早期诊断和治疗提供了线索。采用分子生物学技术研究慢性肝炎不同“证”的病人血液及组织(肝组织)中的基因表达

特征,从分子水平探讨慢性肝炎中医“证”的本质,使“证”的分型具有可被现代医学所接受的标准化、特异性指标,可能成为中医“证”的客观化、规范化和标准化研究的突破口。

基因表达谱是从mRNA水平反映了细胞或组织特异性表型和表达模式,与临床上出现的症状和体征有着必然的内在联系。那么,运用大规模、高通量的基因表达检测技术,对大量的同一证型疾病状态下的各类组织和细胞的mRNA进行定量分析,编制基因表达谱,经过生物信息学和统计学的比较分析,就可以建立疾病证型特定的基因表达谱数据库和制备商业化证分型生物芯片。应用证分型生物芯片研究患者的基因表达谱,并与数据库中的已建立的证型特异基因表达谱进行生物信息学比较分析,就可以做出辨证分型诊断。这方面的研究工作目前尚未见报道,但开展这项研究工作对于中医基础理论的阐释是十分有益的,可以从一个新的视角系统、全面地深化人们对中医气血、阴阳、寒热、虚实等生理病理规律的认识。

近年来,生物芯片技术(基因芯片、蛋白质芯片)发展迅速,为开展这一研究工作提供了强有力的技术手段。基因表达谱芯片是目前应用得最广泛的生物芯片,是指将几千个基因特异的探针或其cDNA片段固定在一块基因芯片上,对来源于不同个体、不同组织、不同细胞周期、不同发育阶段、不同分化阶段、不同病变、不同刺激(包括不同诱导、不同治疗手段)下的细胞内的mRNA或逆转录产物cDNA进行检测从而大规模对这些基因表达的个体特异性、组织特异性、发育阶段特异性、分化阶段特异性、病变特异性、刺激特异性进行综合分析和判断。利用基因芯片、蛋白质芯片技术研究中医肝病常见“定证”的基因或蛋白质表达谱的变化规律,有助于揭示证的分子机制。对中医而言,如找到了慢性肝病证分型的分子本质,在临床实践中就可以拿出客观可靠的辨证依据,避免仅凭经验的辨证误差,极大地提高辨证的准确性。对西医而言,可以弥补其对疾病的认识不足和为治疗提供新思路、新方法和新措施。

四、结束语

利用生物芯片技术研究慢性乙型肝炎的中医“证”本质有如下创新性与特色：(1)突破了以往中医“病证结合”研究的局限，突出西医的病（慢性肝炎）与中医的证（常见的五证）的结合研究；(2)临床辨证客观化、规范化和标准化研究不局限于文献和以往的经验，更强调临床实践与基础研究的紧密结合；诊断标准和疗效判断标准不局限于一般的“望、闻、问、切”所获得的信息，更重视现代分子生物学技术获取的一切有价值的信息，尤其是注重量化指标的实用价值；(3)不局限于一般物理和生化等指标的研究，更进一步探讨其深层次的分子网络基础；不单纯研究“证”的分子本质，而是“理、法、方、药”系统研究；(4)以基因差异表达谱的变化规律，揭示慢性乙型肝炎中医“证”的分子基础，指导中医临床的辨证论治，使中医整体化、动态化和个体化治疗优势得到进一步发扬光大。

参考文献

- 1 杨维益等. 关于中医“证”研究的思考. 中国医药学报, 1996, 11(1): 4.
- 2 陈家旭. 中医证的研究回顾与展望. 北京中医药大学学报, 1998, 21(1): 40.
- 3 门九章, 韩向东. 中医证的研究思路再探讨. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(5): 18.
- 4 丽际平. 证的研究思路与方法选择. 上海中医药杂志, 2000, (11): 8.
- 5 沈自尹. 基因科学和 21 世纪中医药学的走向. 上海中医药杂志, 2000, (10): 7.
- 6 申维玺. 论中医证的现代医学属性和概念. 中医杂志, 2001, 42(5): 307.
- 7 张立华, 高学功. 论中医证的现代医学属性和概念之浅见. 中医杂志, 2002, 43(4): 250.
- 8 中国中医药学会内科肝病专业委员会. 病毒性肝炎中医辨证标准(试行). 中医杂志, 1992, 5: 39.
- 9 李波等. 肝炎病诊断的模糊数学模型. 广西医科大学学报, 1998, 15(1): 52.
- 10 李先涛, 赖世隆, 梁伟雄. 运用循环医学对血瘀证诊断标准研究文献的评价. 广州中医药大学学报, 2003, 20(2): 168.
- 11 黄柄山, 范隆昌. 440 例肝郁气滞及其相关症候的现代病理生

理学基础探讨. 黑龙江中医药, 1989, (5): 33.

- 12 陈国林, 胡随瑜等. 中医肝脏标准化研究. 中国中医基础学杂志, 2001, 7(12): 13.
- 13 楼孝惠等. 慢性乙型肝炎中医证型与 IL-2, IL-10, TL-12, IFN- γ 水平的关系初探. 中西医结合肝病杂志, 2001, 11(5): 282.
- 14 蒋健等. 慢性乙型肝炎中医证型与实验室指标相互关系的研究. 上海中医药杂志, 2002, 6: 15.
- 15 常洁等. 慢性乙型肝炎中医辨证分型的量化分析研究. 中华临床医药, 2002, 3(9): 1.
- 16 高媛等. 慢性乙型肝炎免疫状态与辩证分型的关系. 北京中医药大学学报, 2002, 25(1): 71.
- 17 周津等. 食管癌及癌旁组织中的基因表达的初步分析. 医学遗传学杂志, 1999, 16(5): 303.
- 18 刘连新等. 肝癌及癌旁组织中基因表达分析. 中华普通外科杂志, 2001, 16(8): 478.

(责任编辑: 丁鑑新)

我国安全用药状况不容乐观

日前 4 家媒体联合召开的“让百姓吃上放心药”研讨会上, 来自全国各地的医院、医药企业和群众代表, 就这一共同关心的问题畅所欲言, 献计献策。

世界卫生组织的一项调查显示, 全球有一半的药物在被不合理使用, 从而有可能使病人产生耐药性甚至死亡; 全球的死亡病人中有 1/3 不是死于疾病本身, 而是死于不合理用药。我国的情况也不容乐观, 诸如知识匮乏、随意改变药品用法、抗生素滥用等种种原因导致老百姓不合理用药的情况十分严重, 不合理用药大约占到了用药者的 12% ~ 32%, 据此推算, 我国每年因药物不良反应致死人数多达数十万之众。同时, 药品价格虚高、广告夸大药品疗效的现象也普遍存在, 这不仅误导消费, 给市场和经营带来干扰, 也给消费者造成严重危害。党中央、国务院对此极为关注, 自《药品管理法》颁布实施以来, 各地卫生、药品监督管理等有关部门不断采取有效措施, 强化工作力度, 取得明显效果。从去年起, 国务院部署开展的“食品药品放心工程”, 使得此类特殊商品的安全监管被上升到一定的高度加以落实, 受到各界群众的广泛认同和欢迎。

针对今后如何确保百姓吃上放心药的问题, 韩启德副委员长指出, 药品与其他商品不一样, 不能靠市场调节, 要靠法规和监管。在这个问题上, 政府的作用很关键, 群众的监督很重要, 卫生工作者的责任很重大。 (文摘)

Key Words: polymorphism of mononucleotide, physique, relationship between physique and illnesses, syndrome, individual difference, individualization of medical sciences, traditional Chinese medicine

**Preliminary Exploration of Orientation and Method of
Chromatographic Pharmacodynamics of Traditional Chinese Medicine**

He Fuyuan, Luo Jieying and Liu Wenlong

(School of Chinese Materia Medica, Hunan Institute of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007)

Deng Kaiwen

(The First Hospital Affiliated to Hunan Institute of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007)

Objective: To propose the basic concepts and the study orientation and method of the chromatographic pharmacodynamics of traditional Chinese medicine (TCM). **Method:** To preliminarily explore its study method in accordance with the modern characters of TCM disciplines and in combination of the knowledge and literature of relevant cross – disciplines as well as the research results made in recent years. **Result:** It is proposed that a system of TCM mathematic expression of state function relationship, which corresponds to the "syndromes" of animal (human being) models and then a fingerprint of quality or efficiency should be set up according to the relationship of indented joint between specific proteins and effectors (drugs) under gene expression corresponding to the "syndromes", with the target separators of effectors —the specific proteins based on affinity chromatograph as its stationary phase and by the application of LC/MS for the detection of its quality and efficiency. As the result the fundamentals of the functional matters of TCM compounds, including the number and component ratio of the effectors as well as the functional direction and degree of body can afford to be brought to light by studying the relationship of the change between the fingerprint and the state function value of organisms in accordance with the changing tendency of the efficiency value before and after the functioning of effectors (when the concentration of drugs *in vivo* is zero) . **Conclusion:** The study of TCM chromatographic pharmacodynamics is a key to the modernization of TCM system and therefore the establishment and development of it should be steadily pushed forward.

Key Words: TCM chromatographic pharmacodynamics, fingerprint, pharmacodynamics, mathematic model, data analysis, element table of Chinese drugs

**Investigation of Methodology in Classification of Syndrome Types
of Chronic Hepatitis B in Traditional Chinese Medicine**

Chen Yong and Han Fengmei

(Provincial Key Laboratory of Bio – technology of Traditional Chinese Medicine, Hupei University, Wuhan 430062)

[World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 85

Li Hanmin

(Hupei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061)

This article presents the progress in the study of syndrome in traditional Chinese medicine and investigates its methodology and proposes, aiming at the basic research of molecules in the classification of syndrome types of chronic hepatitis B in traditional Chinese medicine, a basic thought of carrying out this study by modern bio – chip technology, i. e., probing into the genic networks of regulation and control in the classification of syndrome types of chronic hepatitis B in traditional Chinese medicine by the application of the technology of gene expression spectrum chip to comparatively study the difference between gene expression spectra of different "syndromes" emerging in the process of chronic hepatitis B.

Key Words: classification of syndrome types in traditional Chinese medicine, chronic hepatitis B, expression spectrum of gene

Application of Multiphase Flow and Granule Fluidization Technologies to Pharmaceutical Industry

Liu Mingyan, Yang Yang, Wang Zhigang and Hu Zongding

(School of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072)

Multiphase flow and granule fluidization Technologies originate from the advanced theories of the disciplinary series of Chemical engineering. As ripe cross – disciplinary technologies they are able to play an important party in the pharmaceutical process and are discussed in detail in this article. In combination of typical pharmaceutical process this article analyzes the phenomena of multiphase flow and granule fluidization occurring in their technological process, and illustrates with examples how to resolve the problems existing in many links from the production of medicinal materials to that of the preparations of medicaments by the application of the theories and technologies of multiphase flow and fluidization. It also points out that multiphase flow and granule fluidization technologies can be used in the pharmaceutical process widely and importantly and their further study is hoped to provide greatly theoretical guidance for the practice of pharmaceutical engineering.

Key Words: *multiphase flow, fluidization, granule technology, technology of pharmaceutical engineering*

Probing into Application of Foam separation Technology to Saponin Separation

*Han Li, Su Yantao and Yang Ming (502 Laboratory, New District of Chengdu University
of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Chengdu 611730)*

Zou Wenquan (Analysis and Testing Centre, Sichuan University, Chengdu 610064)

This article analyzes the status quo of the application of foam separation technology and the principles of its separation
86 [*World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica*]