



本文经编委遴选,英文版将通过 ScienceDirect 全球发行。

类风湿性关节炎寒热证候的生物学基础*

□吕 诚** (中国中医科学院中医临床基础医学研究所 北京 100700)

刘元艳 (北京中医药大学 北京 100029)

肖 诚 (中日友好医院 北京 100029)

姜 森 查青林 吕爱平**

(中国中医科学院中医临床基础医学研究所 北京 100700)

摘要: 疾病分类与证候分类结合的诊疗模式已经成为中医学和中西医结合医学临床实践的主要模式。本研究以类风湿性关节炎(RA)为例,比较 RA 寒热证候与临床疗效的关联、寒热证候实验室常规指标及组学指标的差异,指出 RA 寒热证候存在客观生物学基础,有助于 RA 临床诊断和有效治疗。

关键词: 疾病证候分类 类风湿性关节炎 寒证和热证 生物学基础

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.05.028

医学的本质是分类学。现代医学的本质是利用现代诊断方法和手段对患者进行疾病分类;中医学是利用传统方法和手段对患者进行证候分类,两种分类都对维护人类健康做出了巨大贡献。在中国,疾病与证候结合的诊疗模式事实上已经成为中医学和中西医结合医学临床实践的主要模式。因此,结合两种分类方法,探索并发展疾病证候分类原理与实践是我国医学工作者最具原创思维的医学研究和医学实践工作^[1]。两者结合应用的研究途径可以从疾病的证候分类研究出发,或者从证候的疾病分类出发。鉴

于证候分类中证候信息、证候标准等一些不确定因素,以及疾病分类中所依据的应用理论具备相对可接受的表述性,以疾病分类作为参照系,并在此基础上开展证候分类的研究,是疾病分类和证候分类结合应用研究比较现实的切入点^[2],使得疾病的证候分类生物学基础研究也显得相对容易些^[1],而对疾病证候分类生物学基础的科学理解有助于将中医证候分类依据纳入疾病疗效评价和疾病治疗方法选择依据之中,从而在疾病分类学的标准中增加中医证候分类因素,真正起到两种分类方法优势互补的作用^[2]。

以类风湿性关节炎(RA)为例,RA 是一种以关节炎为主的慢性自身免疫性疾病,属于中医痹证范

收稿日期: 2010-10-13

修回日期: 2010-10-15

* 科学技术部“十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAI04A10):基于二次临床研究的中医药治疗类风湿性关节炎的临床评价,负责人:吕爱平;科学技术部国家“重大新药创制”科技重大专项项目(2009ZX09502-0190):基于辨证论治治疗 RA 中药新药药效评价动物模型研制及其应用研究,负责人:吕爱平;国家科学技术部创新方法学专项项目(2008IM020900):中医药科学方法研究——中医药科学方法总论研究,负责人:吕爱平;国家自然科学基金杰出青年项目(30825047):中西医结合基础——疾病证候分类研究,负责人:吕爱平;国家自然科学基金项目(30902000):基于肾虚关节炎大鼠壮骨关节丸毒性反应评价研究,负责人:吕诚。

** 联系人:吕诚,医学博士,助理研究员,主要研究方向:中西医结合痹症机理研究,Tel:010-64014411-3403,E-mail:lv_cheng0816@163.com;吕爱平,博士生导师,研究员,主要研究方向:疾病证候分类,E-mail:lap64067611@126.com。

畴。对 RA(痹证)进行辨证施治是中医药治疗的主流方向,具有一定优势与应用前景。临床中 RA 的热、寒、风湿等具有病因、病理、证候属性多方面重要意义,其中寒、热的代表性以及特征性更为明显。对 RA 辨别标本,着重从寒、热论治的研究较多^[3]。本文以 RA 寒热证候为范例,结合课题组前期工作基础,从 RA 寒热证候与临床疗效的关联、RA 寒热证候各指标检测水平等探讨 RA 寒热证候分类的生物学基础。

一、RA 寒热证候与临床疗效的关联

397 例来自多中心的 RA 随机对照临床研究病例^[4],随机分为中药组 203 例和西药组 194 例,西药治疗方案包括非甾体抗炎药和慢作用药,中药治疗包括基础治疗和辨证用药。按 ACR20 标准评价治疗 12 周及 24 周的疗效。观察患者初诊时寒热相关症状和舌象 13 项,采用因子分析方法将患者分为寒证和热证,分类结果与中医师辨证结果进行对比分析,并比较寒、热证患者的疗效差异。结果显示,因子分析分类结果与医生辨证的结果一致。西药组 12 周及 24 周疗效比较,寒证组疗效均高于热证组,差异有显著性 ($P<0.05$)^[5](图 1)。提示 RA 寒热证候存在其特定的生物学基础,RA 证候分类直接影响临床疗效。

二、RA 寒热证候各指标检测水平的差异

1. 常规实验室指标检测

取非活动期 RA 寒热证患者晨起空腹静脉血^[6-7],检测其类风湿因子 (RF)、C 反应蛋白 (CRP)、血沉 (ESR)、免疫 4 项 (IgM、IgA、IgG、C3) 以及细胞因子 IL-8、IL-10、TNF- α 等指标 (表 1)。

2. 系统生物学方法的应用

系统生物学与中医学的共同点均是十分注重在整体条件下开展研究,同时也强调在致病因素以及治疗措施干预下机体的整体反映^[8]。从系统生物学角度出发,探索疾病的中医证候分类不仅成为可能,也具有重要的现实意义^[9]。随机选取符合纳入标准的早

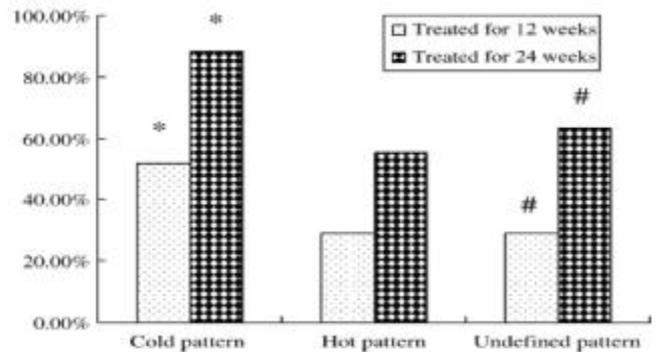


图 1 RA 寒热患者西药组治疗 12 周及 24 周疗效对比

表 1 RA 寒热证候患者临床检测指标对比分析($\bar{x}\pm s$)

证候类型	病例数	IgA	IgM	IgG	RF	C3
寒证	35	239.66±245.63	303.23±197.34	1719.35±1391.10	120.54±136.69	72.64±49.92
热证	7	189.83±53.24	225.67±71.78	1493.33±172.24	178.83±113.53	113.49±53.19

续表 1 RA 寒热证候患者临床检测指标对比分析($\bar{x}\pm s$)

证候类型	病例数	IL-8	TNF- α	IL-10	ESR	CRP
寒证	35	3.46±3.20	0.86±0.18	15.68±21.80	23.54±22.44	1.65±4.02
热证	7	4.08±1.73	225.67±71.78	0.78±0.33	41.04±29.14	10.79±21.85*

注:与寒证比较,* $P<0.05$ 以上数据显示:除 C 反应蛋白(CRP)外,RA 寒热证候患者细胞因子(IL-8、TNF- α 、IL-10),临床炎症检查指标(ESR),及各免疫学指标(IgA、IgM、IgG、RF、C3)的值未见显著性差异,说明单一的生化、免疫或炎症指标尚无不能对 RA 寒热证候进行区分。

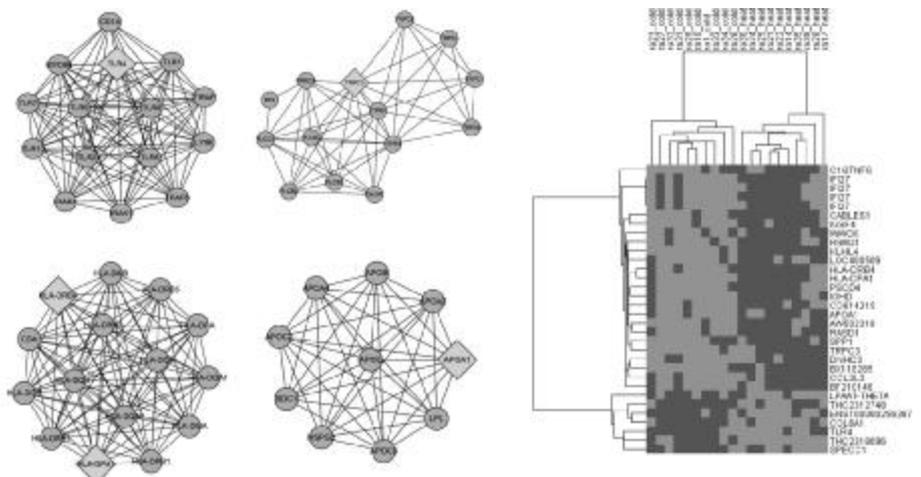


图 2 (A)RA 寒热证候差异基因蛋白质相互作用图 (B)RA 寒热证候差异基因聚类图

期 RA 女性患者^[10],按 RA 证候问卷表采集患者各项证候信息,参照相应标准进行寒、热证候判断。采集 RA 寒热证候患者空腹静脉血,纯化得到 CD4⁺T 淋巴细胞,利用基因表达谱芯片技术并结合系统生物学分析方法,探索 RA 寒热证候患者基因表达谱差异,结果表明 RA 寒热证候之间存在多种通路的调控差异(图 2)。

采集上述患者血浆^[11],基于超高效液相色谱-时间飞行质谱(UPLC-Q-TOF)的血浆代谢组学方法,运用多维数据分析来研究 RA 寒热证候分型。结果显示:主成分分析(PCA)的方法能够区分正常对照组和 RA 疾病组。进一步采用正交滤波(OSC)并结合偏最小二乘判别分析(PLS-DA)可明显区分 RA 寒证与热证的代谢物差异,并结合质谱的方法,确定了 7 个能够区分寒热证候的潜在生物标记物:3-氧-丙酸(3-Oxy propanoic acid)、L-脯氨酸(L-Proline)、尿素(Urea)、5-氧-脯氨酸(5-Oxo-proline)、核糖醇

(Ribitol)、纤维醇(Inositol)、L-亮氨酸(L-Leucine)(图 3)。

以上结果显示,在 mRNA 及代谢物水平,RA 寒热证候存在其确切的生物学特征。

寒热是中医的基本概念及辨证论治的基本纲领之一,也是其他复合证形成的基础。既往研究发现,寒热证与垂体-肾上腺皮质系统、甲状腺系统、性腺系统、环核苷酸、前列腺素含量、神经递质、神经系统机能、能量代谢关系密切,并在寒热证候相关的“系统”在生物信息学上取得了突破。研究发现^[12]寒热证候与神经-内分泌-免疫系统(NEI)的不同调节模式有关,即寒证、热证在 NEI 背景下具有可分性。构建基于 NEI 网络相互作用的中医寒、热证网络模型,通过网络拓扑结构分析,发现寒证与激素状态有关,热证与细胞因子状态有关,热证相关基因主要涉及细胞因子-细胞因子受体相互作用通路,而寒证相关基因主要介导神经组织刺激配体受体作用通路及能量

代谢途径^[13-14]。由此可推导 RA 的寒热证候也都具有复杂的生物学基础。事实上,结合前期研究结果,发现我们的研究与之有诸多的一致性,另外 RA 寒热证候也存在特定的网络作用模式,这同时也说明证候的实质并非单一因素作用的结果,具有复杂性的特征。

对疾病进行中医证候分类是中西医结合优势互补的重要理论表现形式,是发扬中医学、创新生物学的重要手段和途径。治疗类风湿性关节炎,中医药的辨证论治有较好的临床优势,而其优势的展示,重要的因素是在治疗过程中体现 RA 的中医证候分类价值^[15],结合大量临床数据及多种现代生物学方法的 RA 寒热证候生物学基础研究,可作为疾病中医证候分类的范例,丰富中医证候理论的科学内涵,其更大实际意义

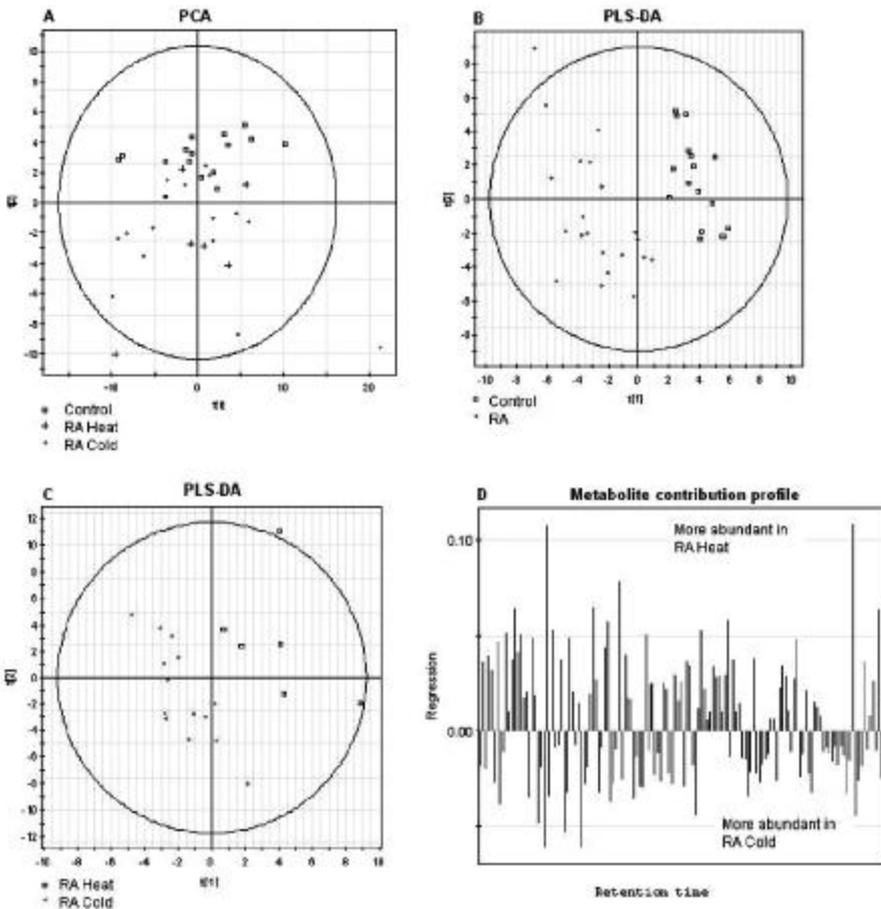


图 3 区别 RA 寒热亚型代谢物的 PCA 与 PLS-DA 图

是可为 RA 临床诊断和有效治疗提供理论工具。科学阐述疾病证候分类学实质,将能够培育证候分类理论的内在发展动力机制,同时,能让中医证候分类融入世界生物医学体系。

参考文献

- 1 吕爱平,李梢.疾病证候分类原理与应用.中国中西医结合杂志,2010,30(1):84~86.
- 2 吕爱平,陈可冀.疾病的证候分类研究思路.中国中西医结合杂志,2005,25(9):843~845.
- 3 李梢,吕爱平,胡荫奇,等.中医药对类风湿性关节炎的临床分证论治研究概况.中国中医基础医学杂志,2001,7(2):71~73.
- 4 查青林,何羿婷,吕爱平.类风湿性关节炎寒热属性分类及其对中药疗效的影响.江西中医学院学报,2007,19(6):21~23.
- 5 Lu C, Zha Q, Chang A, et al. Pattern Differentiation in Traditional Chinese Medicine Can Help Define Specific Indications for Biomedical Therapy in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *J Altern Complement med*, 2009, 15(9):1021~1026.
- 6 赵林华,肖诚,阎小萍,等.早期类风湿性关节炎寒热证候分类与细胞因子及有关临床指标的相关性分析.上海中医药大学学报,2006,20(1):21~24.
- 7 赵林华,阎小萍,王建明,等.类风湿性关节炎的病理生理特点与中医四诊信息的相关性分析.广州中医药大学学报,2006,23(2):112~117.
- 8 刘良.充分利用组学技术研究及发展中医药.世界科学技术-中医药现代化,2009,11(2):214~219.
- 9 吕爱平.类风湿性关节炎中医证候分类的系统生物学基础.世界科学技术-中医药现代化,2007,9(1):94~97.
- 10 Lu C, Xiao C, Chen G, et al. Cold and heat pattern of rheumatoid arthritis in traditional Chinese medicine: distinct molecular signatures identified by microarray expression profiles in CD4 positive T cell. *Rheumatology International*, 2010.
- 11 van Wietmarschen H, Yuan K, Lu C, et al. Systems biology guided by Chinese medicine reveals new markers for sub-typing rheumatoid arthritis patients. *J Clin Rheumatol*, 2009, 15(7):330~337.
- 12 李梢.中医药计算系统生物学与寒热证候研究.世界科学技术-中医药现代化,2007,9(1):105~111.
- 13 Li S, Zhang Z, Wu L, et al. Understanding ZHENG in traditional Chinese medicine in the context of neuro-endocrine-immune network. *IET Systems Biology*, 2007, 1(1):51~60.
- 14 Ma T, Tan C, Zhang H, et al. Bridging the gap between traditional Chinese medicine and systems biology: the connection of Cold Syndrome and NEI network. *Molecular BioSystems*, 2010, 6:613~619.
- 15 吕爱平.重视类风湿关节炎治疗的中医证候分类研究.中国中西医结合杂志,2007,27(7):587~588.

The Biological Basis of Cold and Heat Pattern of Rheumatoid Arthritis in Traditional Chinese Medicine

Lv Cheng¹, Liu Yuanyan², Xiao Cheng³, Jiang Miao¹, Zha Qinglin¹, Lv Aiping¹

(1. Institute of Basic Research In Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. School of Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

3. China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

Abstract: An integrative mode of the disease classification in Western medicine and the syndrome differentiation in Chinese medicine is already the chief mode of sorting applied in clinical practice of Chinese medicine and integrative medicine. In this study, the cold and heat pattern of rheumatoid arthritis were comparatively analyzed. A range of facts, including the correlation of syndrome differentiations and therapeutic effects, the difference of laboratorial examination and omics expression between cold and heat pattern of RA were reviewed to demonstrate the biological basis of RA syndrome differentiations. It indicates that the better knowledge of the biological basis involved in syndrome differentiations of Chinese medicine might help to choose the most appropriate treatment.

Keywords: Syndrome differentiation of disease, Rheumatoid arthritis, Cold pattern and heat pattern, Biological basis

(责任编辑:李沙沙,责任译审:吕爱平)