

湿热痹阻与寒湿痹阻型类风湿关节炎 相关细胞因子客观化研究

曹艳红,胡建东*

(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院,上海 200437)

〔摘要〕目的 探索类风湿关节炎(RA)湿热痹阻和寒湿痹阻型两型相关细胞因子、疾病活动指数等指标的差异,为类风湿关节炎湿热、寒湿痹阻两型辨证客观化提供临床依据。**方法** 收集门诊及住院 RA 患者共 80 例,辨证分型为湿热痹阻与寒湿痹阻型。常规检测 IL-1 β 、IL-2R、IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF- α ,及 RF、ESR、CRP、抗环瓜氨酸肽抗体、25 羟基维生素 D 等指标,疾病活动度以 DAS28 评分表示。探索两证型间各指标的差异,并进行 ROC 曲线分析及判别分析,建立判别函数公式。**结果** 在类风湿关节炎湿热痹阻与寒湿痹阻两型患者中,IL-2R、IL-8、TNF- α 和 CRP 在两证型间存在差异 ($P<0.05$),ROC 曲线图以湿热痹阻型为目标,结果显示:曲线下的面积由大到小依次为 IL-2R>IL-8>TNF- α >CRP($P<0.05$);以上四项判别分析的判别函数,各研究对象回代后判别正确的概率是 73.8%,交叉核实法表明判别正确的概率有 72.5%。**结论** IL-2R、IL-8、TNF- α 与 CRP 可作为湿热痹阻与寒湿痹阻型 RA 客观化分型依据,其中以 IL-2R 与 TNF- α 更为显著。

〔关键词〕 类风湿关节炎;湿热痹阻型;寒湿痹阻型;客观化

〔中图分类号〕R255.6

〔文献标识码〕B

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.10.018

Objective Study of the Related Cytokines on RA with Dampness-Heat Blockage Syndrome and Cold-Dampness Blockage Syndrome

CAO Yanhong, HU Jiandong*

(Yueyang Hospital of Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai 200437, China)

〔Abstract〕 Objective To explore the difference of some RA-related cytokines and other clinical indices of dampness-heat blockage syndrome and cold-dampness blockage syndrome. We try to find some objective indicator that may be helpful for the syndrome differentiation of RA. **Methods** Eighty cases of RA patients of the outpatient and inpatient department were enrolled in the study. The patients were divided into dampness-heat blockage syndrome and cold-dampness blockage syndrome according to syndrome differentiation. Blood test was conducted to detect IL-1 β , IL-2R, IL-6, IL-8, IL-10, tumor necrosis factor α , rheumatoid factor; erythrocyte sedimentation rate, C-reactive protein, anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and 25-hydroxy vitamin D. ROC curve analysis and discriminant analysis were done to find correlations between the various indicators and the differences between the two syndromes. And establish discriminant function formula. **Results** The IL-2R, IL-8, TNF- α and CRP have difference ($P<0.05$) between dampness-heat and cold-dampness blockage syndrome the two types of rheumatoid arthritis patients. The ROC graph for dampness-heat blockage syndrome as the goal shows the area under the curve of order was IL-2R> IL-8> TNF- α > CRP ($P<0.05$). For the discriminant function of the above four items discriminant analysis, the correct object back substitution probability is 73.8%, cross-verification method shows that the probability of correct identification was 72.5%. **Conclusion** The IL-2R, IL-8, TNF- α and CRP can be used as dampness-heat and cold-dampness blockage syndrome RA objective typing basis, and IL-2R and TNF- α are more significant than the other indicators.

〔Keywords〕 rheumatoid arthritis; dampness-heat blockage syndrome; cold-dampness blockage syndrome; objectification

〔收稿日期〕2015-07-18

〔作者简介〕曹艳红,女,硕士研究生,研究方向:中西医结合治疗风湿病。

〔通讯作者〕* 胡建东,男,主任医师,E-mail:hamlethu@163.com。

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种系统性自身免疫性疾病,属于中医学痹病范畴。RA发病原因不明,可能与感染、遗传、激素及免疫异常等多种因素相关,病理表现以关节滑膜炎症、血管翳形成、软骨与骨的破坏等为主要表现,最终导致关节结构破坏、僵直、畸形甚至功能丧失。其发病机制之一与T细胞介导的免疫反应相关,其中炎性细胞因子起着重要作用,细胞因子是由细胞分泌具有多重生物活性的小分子蛋白和多肽,有研究发现细胞因子之一的白细胞介素(Interleukin, IL)部分与RA有密切联系。正常情况下致炎性与抑炎性细胞因子这一网络处于动态的“阴阳平衡”^[1]。在类风湿关节炎的发病中,致炎性细胞因子未得到良好抑制,便会导致抑炎与致炎细胞因子网络的失衡,从中医阴阳划分角度来讲,这种表现可表达为阴阳失衡。RA患者因感受外邪或机体内环境的病理性代谢产物扰乱了正常功能,阴阳平衡遭到破坏,表现为阳证或阴证,出现寒湿痹阻、湿热痹阻、寒热错杂等证型^[1]。外在的证型反应着机体的内环境情况,而用微观的理化指标认识与辨别中医证候,为病证结合的临床诊疗提供一定科学客观的辨证方法,这就是“微观辨证”^[2]。

从通过调节细胞因子以平衡阴阳、治疗类风湿关节炎的角度出发,对类风湿关节炎以辨证分型,寻找证型的差异,探究中医证候的本质,在微观层面上对RA证型客观化研究,从而可更好地指导用药治疗。湿热痹阻与寒湿痹阻为阴阳划分最典型的两型,对这两个类风湿关节炎证型的研究具有代表性意义。本研究即是对辨证分型为湿热痹阻与寒湿痹阻试验对象,进行外周血检测,检测患者IL-1 β 、IL-2R、IL-6、IL-8、IL-10、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)及类风湿因子(rheumatoid factor, RF)、红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、抗环瓜氨酸肽(anti-cyclic citrullinated peptide, CCP)抗体、25羟基维生素D(25-hydroxy vitamin D, 25-OH-D)等相关指标,寻找两证型的差异及客观化指标。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院2014年1月至2015年3月门诊及住院类风湿关节炎患者。辨证分型纳入湿热痹阻和寒湿痹阻型RA

患者共80例。

1.2 诊断标准

西医诊断标准:1987年美国风湿病学会(ACR)修订的诊断标准^[3],是临床常用的经典诊断标准,以此参照。中医诊断标准:参照《上海市中医病证诊疗常规》^[4]。证型的中医诊断标准参照2002年版《中药新药临床研究指导原则》^[5]。辨证分型不需满足所有主次症状,前2条主证加1条次证或舌脉即可辨为该证成立,由2名中级以上中医师指导辨证,对于临床上证候表现不明显或辨证不一致者,继续咨询上级医师寻求帮助减少误差。

1.2.1 寒湿痹阻证 主症:(1)关节冷痛而肿;(2)遇寒痛增,得热痛减;(3)关节屈伸不利;(4)晨僵;(5)关节畸形。次症:(6)口淡不渴;(7)恶风寒;(8)阴雨天加重;(9)肢体沉重。舌脉:舌质淡,苔白,脉弦紧。

1.2.2 湿热痹阻证 主症:(1)关节肿痛而热;(2)发热;(3)关节屈伸不利;(4)晨僵;(5)关节畸形。次症:(6)口渴;(7)汗出;(8)小便黄;(9)大便干。舌脉:舌质红,苔黄厚、腻,脉弦滑数或弦数。

1.3 纳入标准

(1)符合上述中西医诊断标准的类风湿关节炎患者;(2)年龄为18~71岁,性别不限。

1.4 排除标准

(1)不符合纳入标准;(2)合并其他自身免疫性疾病如干燥综合征、系统性红斑狼疮等;(3)合并慢性病毒感染如肝炎病毒、人类免疫缺陷病毒等;(4)合并恶性疾病如实体瘤、血液肿瘤患者,或合并心、肝、肾等严重疾病者;(5)妊娠、哺乳期妇女;(6)精神异常、不能配合者。

1.5 资料收集

将收集的类风湿关节炎患者按中医证候分类标准分型,清晨采集患者空腹外周静脉血,由我院检验科及中心实验室采用ELISA法、欧盟CE认证试剂盒完成对IL-1 β 、IL-2R、IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 的检测,检测ESR、CRP、RF、抗环瓜氨酸肽(anti-cyclic citrullinated peptide, CCP)抗体、25羟基维生素D(25-hydroxy vitamin D, 25-OH-D)等指标的水平。记录患者疾病活动度情况及其它基本情况,基本活动度以DAS28记录, DAS28计算公式为: $DAS28 = [0.56 \times \sqrt{T28} + 0.28 \times \sqrt{SW28} + 0.70 \times \ln(ESR)] \times 1.08 + 0.16$, 分层为轻度: $DAS28 < 3.2$; 中度: $3.2 \leq DAS28 \leq 5.1$; 重度: $DAS28 > 5.1$ 。关节损伤程度按中

医临床评分分为无、轻度、中度、重度 4 度。

1.6 统计学方法

所有数据由 1 人输入电脑,使用 SPSS 18.0 软件包建立数据库并进行分析。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。符合正态分布用 t 检验,不符合正态分布用非参数检验;等级资料用秩和检验;计数资料采用 χ^2 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。对有统计意义的指标做出 ROC 曲线描述分析,并进一步进行判别分析,建立判别函数,评价诊断意义。

2 结果

2.1 两组患者基本情况比较

纳入的类风湿关节炎患者 80 例,年龄范围 20~71 岁,病程为 1 个月~40 年。其中湿热痹阻型 RA 患者 48 例,寒湿痹阻型 RA 患者 32 例。除寒湿痹阻型患者年龄呈正态分布,其余均为非正态分布,采用中位数与四分位数间距(M,QR)表示,基本情况如表 1 所示。两组中医分型患者间性别、年龄、病程均无明显差异($P>0.05$)。

2.2 相关细胞因子在两型类风湿关节炎患者中的差异分析

关节损害程度为计数资料采用 χ^2 检验,得出其与两中医分型间无差别($P>0.05$)。经 K-Sa 法正态性检验,DAS28、ESR 在两型中均呈正态分布(湿热

表 1 患者资料基本情况

组别	性别(例)		年龄(岁)	病程(年)
	男	女		
总体	18	62	(60,10)(M,QR)	(6.5,13.8)(M,QR)
湿热痹阻型	13	35	(60,14)(M,QR)	(5.5,9.8)(M,QR)
寒湿痹阻型	5	27	(58.5,9)(M,QR)	(9.5,16.3)(M,QR)

痹阻型 $P=0.09$, 其余 $P=0.200$), 除寒湿痹阻型 IL-2R($P>0.05$)与湿热痹阻型 25-OH-D($P=0.200$)呈正态分布,其余检测指标两组间数据均不服从正态分布($P<0.001$)。故 DAS28、ESR 使用独立样本 t 检验,其余不符合正态分布的用两独立样本非参数秩和检验。得出 DAS28 与 ESR 在寒湿痹阻和湿热痹阻型 RA 患者间无明显差异;RF、抗 CCP 抗体、25-OH-D 在两型间均没有表现出差异($P>0.05$)。

两证型中所检测细胞因子的含量情况如表 2 所示,通过秩和检验得出 IL-2R、IL-8、TNF- α 与 CRP 在两证型间存在差异($P<0.05$),以 IL-2R 与 TNF- α 更为显著,Z 值分别为-3.496;-2.023;-2.937;-1.989。IL-1、IL-6、IL-10 未表现出差异,两型中相关细胞因子及有差异的指标秩和检验结果见表 3 所示。IL-2R、IL-8、TNF- α 和 CRP 这四项数据的指标水平,湿热痹阻型(中位数分别为 633.50;17.20;10.25;12.45)均高于寒湿痹阻型 RA 患者(中位数分别为 472.50;7.70;8.00;7.54)。

表 2 两证型中各细胞因子的含量

($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	白介素 1	白介素 2 受体	白介素 6	白介素 8	白介素 10	α 肿瘤坏死因子
寒湿痹阻型	6.831 \pm 6.972	481.093 \pm 148.352	9.346 \pm 11.298	18.612 \pm 23.331	5.121 \pm 0.868	9.062 \pm 5.403
湿热痹阻型	6.543 \pm 2.508	680.479 \pm 310.139	10.435 \pm 9.687	29.433 \pm 29.725	5.710 \pm 2.063	13.645 \pm 8.928

表 3 两证型中秩和检验结果

项目	白介素 1	白介素 2 受体	白介素 6	白介素 8	白介素 10	α 肿瘤坏死因子	CRP	CCP	RF	25 羟基维生素 D	中医评分
Mann-Whitney U	614.500	412.000	591.500	563.000	647.000	469.000	565.500	735.500	762.500	717.000	695.500
Wilcoxon W	114 2.500	940.000	111 9.500	109 1.000	117 5.000	997.000	109 3.500	126 3.500	129 0.500	124 5.000	187 1.500
Z 值	-1.703	-3.496	-1.735	-2.023	-1.913	-2.937	-1.989	-0.320	-0.054	-0.501	-0.723
P 值	0.089	0.000	0.083	0.043	0.056	0.003	0.047	0.749	0.957	0.616	0.470
寒湿痹阻型中值	5.000	472.500	4.700	7.700	5.000	8.000	7.540	267.12	88.05	41.100	7.00
湿热痹阻型中值	5.000	633.500	7.300	17.200	5.000	10.250	12.450	313.47	110.50	40.215	6.00

2.3 两型类风湿关节炎患者间有差异指标的 ROC 曲线图结果

上部分得出 IL-2R、IL-8、TNF- α 与 CRP 在湿热痹阻与寒湿痹阻型 RA 患者间存在差异,有统计学意义。对此这些指标可以进一步通过 ROC 曲线图

描绘分析作用。对此 80 例 RA 患者的这四项指标以湿热痹阻型为目标,做出 ROC 曲线图结果显示出:曲线下的面积由大到小依次为 IL-2R>TNF- α >IL-8>CRP,这四项指标用于判别湿热痹阻性类风湿关节炎有统计学意义($P<0.05$),如图 1、表 4,检测结果

的分值越大越可以证明湿热痹阻型的可能性大。其中 IL-2R 曲线下面积介于 0.7 至 0.9 之间, 判别有一定的准确性, TNF- α 、IL-8、CRP 有较低的准确性。IL-2R 最佳诊断界值(cut-off 值)、灵敏度、特异性分别为: 497.5, 75%, 68.7%; TNF- α 为 9.85, 52.1%, 84.4%; IL-8 为 16.25, 56.3%, 68.7%; CRP 为 4.44, 83.3%, 37.5%。

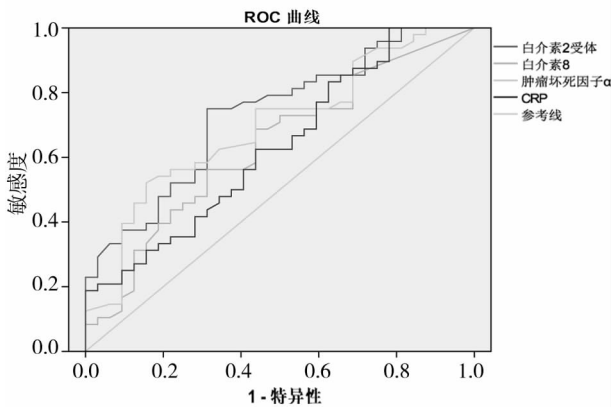


图 1 ROC 曲线图

表 4 曲线下的面积

检验结果变量	面积	标准误 ^a	P 值 ^b	渐近 95% 置信区间	
				下限	上限
白介素 2 受体	.732	.056	.000	.621	.842
白介素 8	.633	.063	.044	.509	.758
肿瘤坏死因子- α	.695	.060	.003	.578	.811
CRP	.632	.063	.047	.507	.756

注: 检验结果变量: 白介素 2 受体, 白介素 8, 肿瘤坏死因子- α , CRP 在正的和负的实际状态组之间至少有一个结。统计量可能会出现偏差。a. 在非参数假设下; b. 零假设: 实面积=0.5。

2.4 对两型类风湿关节炎患者 IL-2R、IL-8、TNF- α 与 CRP 的判别分析

已得知 IL-2R、IL-8、TNF- α 和 CRP 指标水平在湿热痹阻型与寒湿痹阻型类风湿关节炎患者两型中存在差异, 有统计学意义, 以上四项指标水平湿热痹阻型均高于寒湿痹阻型 RA 患者。以这四项指标建立 Fisher 的线性判别分析, 做出判别函数, 可知 SPSS 假定各分类的先验概率相等时其判别函数为: 寒湿痹阻型 = $-3.491 + 0.007IL-2R + 0.03IL-8 + 0.15TNF-\alpha + 0.017CRP$; 湿热痹阻型 = $-6.823 + 0.01IL-2R + 0.047IL-8 + 0.233TNF-\alpha + 0.035CRP$ 。

将患者数据代入两公式, 所得结果偏大的为判入该证型。用此判别函数对各观察对象进行回代判别的结果见表 5。

结果可知: 把各研究对象回代后寒湿痹阻型灵敏度有 81.3%, 湿热痹阻型灵敏度 68.8%, 无缺失

变量, 判别正确的概率是 73.8%, 交叉核实法表明判别正确的概率有 72.5%, 误判概率 1.3% 没有增加很多。

表 5 分类结果

组别	预测组成员	合计		
		寒湿痹阻型	湿热痹阻型	
初始	计数	26	6	32
		15	33	48
	(%)	81.3	18.8	100.0
		31.3	68.8	100.0
交叉验证	计数	26	6	32
		16	32	48
	(%)	81.3	18.8	100.0
		33.3	66.7	100.0

注: a. 仅对分析中的案例进行交叉验证; 在交叉验证中, 每个案例都是按照从该案例以外的所有其他案例派生的函数来分类的; b. 已对初始分组案例中的 73.8% 个进行了正确分类; c. 已对交叉验证分组案例中的 72.5% 个进行了正确分类。

3 讨论

类风湿关节炎的中医证型有多种。侯雷等^[5]通过文献检索方式探讨出 RA 的证候分布特点以湿热阻络型为主, 其次风湿热痹、风寒湿痹、寒湿阻络、痰瘀互结以及肝肾两虚型是临床上最常见的辨证分型。本项研究的研究对象是湿热痹阻与寒湿痹阻两型类风湿关节炎患者, 无论从证型的所占比例还是阴阳的划分上, 对这两证型进行探索, 都具有更大的临床意义。许宁等^[6]对近 10 余年来关于 RA 的辨证分型通过传统的八纲、脏腑、病情分期辨证和针对不同地域人群进行了分析, 并对影像学表现和结合相关免疫学指标及实验室检查进行了辨证分型的研究, 结合现代技术, 对 RA 中医证候进行规范化、标准化研究是当前一趋势。在慢性阻塞性肺病(COPD) 方面有研究示阳气虚衰证较气阴两虚证患者 TNF- α 、IL-8、IL-1 β 的浓度高, 气道炎症反应更明显, 为辨证提供量化思路^[7]。而类风湿关节炎与 T 细胞介导的免疫反应相关, 部分细胞因子在 RA 发病过程中起着重要作用。从微观辨证的方向出发, 探索出微观辨证指标对 RA 中医分型大有裨益。对于细胞因子及其它炎症指标在类风湿关节炎患者不同证型中的表现已有一些研究, 表现出了一定的差异性。如朱海波等^[8]对 93 例 RA 患者研究, 得到 TNF- α 、IL-6 浓度湿热痹阻、寒湿痹阻型明显高于肝肾阴虚、肾气虚寒型, TNF- α 在湿热痹阻与寒湿痹阻两

证型间无统计学差异,而 IL-6 在两证型间却有统计学差异,得出 RA 中医辨证分型与 TNF- α 、IL-6 有一定关系。李勇军等^[9]对 80 例女性 RA 患者进行寒热证分型分析,认为 CRP 和 ESR 可用于 RA 中医证候寒热分型参考指标。王志中等^[10]对 322 例 RA 患者研究得出 DAS28、ESR、CRP、PLT、WBC、GLB 及 ALB 指标可作为湿热痹阻与寒湿痹阻型 RA 的客观化分型参考指标。赵林华等^[11]对 70 例女性 RA 患者探索得出早期 RA 患者寒热证候间 CRP 有显著性差异,寒证低于热证,提示 CRP 可作为 RA 寒热证候分类的微观指标之一。李云春等^[12]选择 230 例早期 RA 患者,辨证分型比较各组血清类风湿因子 RF-IGM、RF-IGA、RF-IGG 及抗 CCP 抗体浓度,得出它们可作为 RA 中医辨证分型的客观实验室指标和活动期的判定指标。本研究通过对实验指标的检测,分析其在湿热痹阻与寒湿痹阻型类风湿关节炎患者中的差异,探寻两型 RA 证型的本质,从微观的角度探寻辨证的依据,成为宏观辨证的有力补充。得出 IL-2R、IL-8、TNF- α 与 CRP 这四项数据指标水平,在两型 RA 患者中存在差异具有统计学意义,湿热痹阻型均高于寒湿痹阻型 RA 患者。以这四项指标做出 ROC 曲线图,对湿热痹阻与寒湿痹阻型类风湿关节炎有鉴别意义,并进一步进行判别分析,建立判别函数,可在以后判别应用中不断地积累新的资料,不断修正,进一步完善,对两证型的鉴别有一定的诊断意义。

对类风湿关节炎相关的主要症状和体征进行判别分析,建立判别模型可具有较好的判别效果,对 RA 证型的诊断具有一定的参考价值^[13]。从微观角度看上,此研究对 IL-2R、IL-8、TNF- α 与 CRP 进行了判别分析,建立判别函数方程,也具有一定的参考价值。但对于相关性分析及证型的客观化分析病例数尚少,要提高结论的准确性还需进一步的大样本研究证实。传统中医证的获取受到当时社会条件的限

制,主要依赖望闻问切四诊手段收集资料,其辨证结果缺乏严格标准,主观随意性大,这些问题在当今中医现代化、国际化的背景下逐步成为制约中医发展的“瓶颈”。通过对中医症状的量化和临床相关客观指标,建立“证”的客观量化标准,是目前中医辨证客观化的有益探索。

参考文献:

- [1] 马武开,姚血明,唐芳,等.试论中医“阴阳平衡”与类风湿关节炎细胞因子网络调控的相关性[J].江苏中医药,2011,43(7):3-5.
- [2] 白晓晖,李晓娟,陈家旭,等.微观辨证在现代中医辨证论治体系的发展和应 用 [J]. 中华中医药杂志 (原中国医药学报),2015,30(3):649-651.
- [3] 中华医学会风湿病学分会.类风湿关节炎诊断及治疗指南[J].中华风湿病学杂志,2012,16:4-8.
- [4] 郑敦莫.中药新药临床研究指导原则(试行)[S].北京:中国医药科技出版社,2002:115-117.
- [5] 侯雷,马武开.类风湿关节炎中医证候分类临床文献研究[J].中国中西医结合杂志,2014,34(3):279-283.
- [6] 许宁,刘晓波,李爱民.类风湿关节炎中医辨证分型的研究进展[J].世界中西医结合杂志,2013,8(1):100-101.
- [7] 陈阳燕,彭素娟,杨晖,等.COPD 阳气虚衰证和气阴两虚证患者细胞因子浓度的研究[J].湖南中医药大学学报,2013,33(9):70-72.
- [8] 朱海波,何忠斌.类风湿性关节炎中医证型与血清 TNF- α 、IL-6 水平的关系初探[J].中医药导报,2011,17(9):26-27.
- [9] 李勇军,王娜,赵俊桃.实验室指标在类风湿性关节炎中医辨证分型中的应用研究[J].光明中医,2013,28(9):1822-1823.
- [10] 王志中,方勇飞,罗彦,等.322 例湿热痹阻型及寒湿痹阻型类风湿关节炎[J].中国中西医结合杂志,2011,31(4):466-470.
- [11] 赵林华,肖诚,闫小萍,等.早期类风湿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研究[J].上海中医药大学学报,2006,20(1):21-23.
- [12] 李云春,许荣,方忠俊,等.类风湿因子分型及抗环瓜氨酸肽抗体联合检测与类风湿性关节炎中医辨证分型的相关性研究[J].中国中西医结合杂志,2013,33(12):1608-1610.
- [13] 赵宝利,黄可儿,赵敏.类风湿性关节炎中医辨证分型的判别分析[J].中华中医药杂志(原中国医药学报),2012,27(1):240-242.

(本文编辑 李杰)