

分子生物学技术与中医病证相关性研究

吴 敏* 吴勉华*

摘要 分析了“证”研究的现状及存在的问题,对加强中医病证相关性研究的分子生物学基础研究提出 3 点建议:(1)以病带证,病证结合,从分子病因学角度研究病证的相关性;(2)以药测证,药证结合,从基因水平探讨中医药防病治病的疗效机理;(3)以病代证,研制模型,从分子病因学角度,结合中医理论,研制转基因动物病证,为中医新药开发提供依据。运用分子生物学技术研究中医药国内外尚处于起步阶段。相信在 21 世纪,中医药研究在继承的基础上借鉴现代分子生物学技术,将有突破性的进展。

主题词 分子生物学 证候 @ 中医病证

20 世纪以来,分子生物学迅猛发展,并已渗透到各个学科。已证实现代许多疾病的发生发展与基因结构、基因调控和表达异常有关。中医药作为中国传统文化瑰宝,对肿瘤、类风湿性关节炎、艾滋病、心脑血管疾病、糖尿病及其并发症、老年性痴呆等疑难病证方面显示了极好的应用前景,中医药以其独特的疗效,解决了许多现代医学难以解决的问题。新近一些研究提示,中药在对某些疾病的基因调控和表达异常方面有一定的干预作用^[1],这为发挥中医药防治疑难病优势,从分子基因水平阐述中医药的疗效机理提供了新的研究方法,为中医“证”实质研究提供了新思路,为中医药现代化开辟了新的领域。本文分析了“证”研究的现状及存在的问题,就如何加强分子生物学技术在中医病证相关性研究中的应用提出一些设想。

1 中医“证”的研究现状及存在的问题

辨证论治是中医学的精华,具有独特的优势。一些现代医学已经明确诊断或尚难明确诊断的疾病,临床尚缺乏较好的治疗手段,用中医辨证论治的方法,有时却能获得满意的疗效。随着现代生物技术和医学的普及,临床上仅用中医四诊方法获取“证候”再进行治疗并以此来判断疾病的疗效已远远不够,因为“证”是对疾病某个阶段的病因、病位及病理性质的概括,是动态变化的,由于中医辨证具有特异性的指标太少,且缺乏系统性、规范性和再现性,中医药临床疗效机理时常解释不清,故中医药难以走出国门,为国际社会所接受。为此,我国在“七五”和“八五”期间,应用现

代科学技术对中医“证”的本质进行了深入研究并取得了很大进展,如观察到肝阳上亢证与植物神经功能及前列腺素代谢间的联系;血瘀证与血小板结构、功能、代谢间的联系;肝气郁结证与神经内分泌紊乱的联系;肾与脑垂体肾上腺皮质系统的联系,肾虚与尿 17-羟、17-酮的联系以及与甲状旁腺素、降钙素的关系等做了大量的研究,对证的本质的研究起了重要作用。

但是,近年来对“证”的研究无突破性的进展。归结起来,可能与过于强调辨证,忽视了辨病与辨证的相关性研究有关。我们都知道,中医的“证”是疾病某阶段的病理反应,是一种不稳定状态,其变化受多方面因素的影响。“病”才是对疾病全过程的特点与规律性的概括,代表着该病种的基本矛盾;中医的病与西医的病概念不尽相同。由于认识上的历史原因,中医临床上对病的概念仍然较为模糊,所描述的病名,多以主要症状或形象的病因病机来命名,如咳嗽、水肿、胃脘痛、胁痛、痹证、淋证等。同为痹证,可涉及到西医很多病,如类风湿性关节炎、风湿热、风湿性关节炎、坐骨神经痛、骨质增生、硬皮病、系统性红斑狼疮、糖尿病神经病变、血栓性闭塞性脉管炎等。这些疾病均有各自不同的病理变化规律,若仅局限于痹症辨证治疗,显然已不符合临床实际。再如胃脘痛,可涉及到急慢性胃炎、十二指肠溃疡、胆囊炎、消化道肿瘤,甚至于冠心病等。若仅按中医胃脘痛辨治,可延误病情,危及生命,造成严重后果,临床上单用中医识病的方法来解释疾病的病理变化规律并预测疾病的转归已不大现实。从辨证角度而言,临床上同证异辨,异证同辨现象时有发生,这主要受医生思维方式或经验所左右。中医若仅满足于辨证施治,满足于某个阶段临床症状和体征的暂时改善,对疾病的病变规律认识不足,对中医药的疗效机理认识不深,中医就得不到发展,中医的现代化也难以实现。

由于“辨证”的特异性、客观性和再现性较难体现,疗效的稳定性较难控制。如在“瘀血证”的研究过程中,已证实血小板及血液流变性等的异常是瘀血证的客观指标,但不是特异性指标,一些疾病的阴虚证、阳虚证或湿热证也表现为血小板及血液流变性等异常,而临床辨证并无瘀血征象的存在,若以此作为用活血化瘀药的指征,可能导致病证更加复杂。近几年来,分子生物学也逐渐渗入到中医药领域。如用 Rt-PCR 技术发

* 江苏省中医院内科,江苏省南京市汉中路 155 号(210029)

收稿日期:2001-06-28

现肾阳虚证和丘脑室旁促肾上腺皮质激素的 mRNA 表达受抑,故将肾阳虚证定位在下丘脑^[2,3],动脉粥样硬化所表现痰瘀证可能与血管平滑肌细胞增殖及基因表达异常有关^[4]。这些研究在继承的基础上借鉴现代生物技术,从细胞和基因水平使“证”研究有了新的发展。但总体上,对病证相关性研究尚不多见。

2 分子生物学技术在中医病证相关性研究中的应用

2.1 以病带证,病证结合,从分子病因学角度研究病证的相关性:现代医学对一些疑难病证病因及诊治研究已达到基因水平,例如用分子探针观察糖尿病患者是否为胰岛素基因缺陷的技术已经形成,糖尿病病因的分子生物学研究提示,该病有明显的异质性,包括显性遗传的异质性。已证实糖尿病 25 个候选基因中,3 个基因与 2 型糖尿病相关,7 个基因与体脂分布和体脂含量有关,3 个基因与血脂水平相关,4 个基因与糖尿病大血管或微血管合并症有关。可以分析糖尿病这些基因突变与中医辨证的相关性,以寻找证的共性和个性,为临床诊治提供依据。

20 世纪 90 年代 DeFronzo^[5]提出胰岛素抵抗综合征,它包括 NIDDM、肥胖、高血压病、高脂血症、动脉粥样硬化、高胰岛素血症以及冠心病。这些病有着共同又各异的分子遗传学基础,在人群中呈疾病集结 (clustering) 状态,胰岛素抵抗 (insulin resistance, ISR) 为其共同的发病基础。我们对胰岛素抵抗综合征与中医临床辨证分型相关性进行了初步分析,用胰岛素敏感指数作为观察指标,发现胰岛素敏感性高低与中医实证虚证有一定的相关性,实证中火热证、痰湿证、瘀血证等单独出现与集结交叉亦不相同,虚证中阳虚和阴虚亦有差异。新近的研究提示,肿瘤坏死因子 (TNF α)、肥胖基因 (Lipin)、胰岛素受体底物-1 基因 (ISR-1)、 β_3 受体肾上腺素能基因 (β_3 AR) 等与 ISR 有关。今后可对这些基因与中医“证”相关性进行探讨,为中医异病同治,同病异治的理论在分子基因水平提供现代依据。

2.2 以药测证,药证结合,从基因水平探讨中医药治病疗效机理:由于许多疑难病的病因病机往往是多元化,多种基因突变可单独发生,亦可集结出现,同一疾病,“证”所表现的个体差异,即与基因及其表达的多样性有关,中药复方对多基因集结突变的干预作用,正是体现了中药复方多组分、多靶点协同作用的优势,也较符合临床实际。

砒霜可治白血病已为学术界公认,这是我国学者在分子水平上研究早幼粒细胞白血病发病机理,从民间治疗淋巴结核的验方中找出的,主要成分为三氧化

二砷,体现了中医药“以毒攻毒”治法。国家自然科学基金在研课题“胰岛素抵抗综合征 PPAR γ 基因突变及筛选调节 PPAR γ 中药”是一很好的研究方法。在古今临床实际及病证特点,阐述中医药的作用机理,也不失为一种研究方法。

此外,中医“证”的概念还可扩大到亚健康状态 (第三状态),如对有家族史糖尿病患者的子女,在其未病之前,用中医药进行预防,将会对基因突变起到干预作用;用 PCR 技术等对癌易感性个体和癌遗传性个体进行预测,应用中医药进行预防,是中医治未病的体现。21 世纪中医药在预防医学方面将有广阔的应用前景。

2.3 以病代证,研制模型,从分子病因学角度,结合中医理论,研制转基因动物病证,为中医新药开发提供权威性的依据:中医学的发展史告诉我们,有些问题单凭临床经验的积累需花很长时间方能解决,或虽花很长时间也无法解决,实验动物在一定程度上,可缩短实验周期,为发展中医理论提供实验依据。回顾近几十年来的中医动物实验研究概况,20 世纪 50~60 年代多通过动物实验研究针刺对疾病的防治作用;70 年代开始用活体动物进行中药药理研究;80 年代通过中医药治疗手段进行对西医实验性病变的防治;90 年代开始从细胞和分子受体水平进行中药药理的研究。体现实验动物“证”型的制作有两类方法,一是根据临床某些表现采用相应的方法以在动物身上复现,再用临床常用方剂反证,有效者称之为某证型,如用氢化考的松、地巴唑等复制阳虚模型;用甲状腺片复制阴虚模型;大黄等复制脾虚模型;用三联疫苗复制寒证模型;用高分子右旋糖酐复制血瘀模型;用艾叶注射液复制肝郁模型。另一种方法就是把西医“病”模型当作中医“证”的模型。如糖尿病用四氧嘧啶或链脲佐菌素进行造模,严格地说,上述糖尿病模型形成的机理是急性免疫性化学损伤造成胰岛 β 细胞的损伤,当属于 1 型糖尿病模型,临床治疗以补充外源胰岛素为宜。分析近年来中医药治疗糖尿病方药研究,养阴为主的组方,或清热类组方或是化瘀类组方或化浊类组方均用此模型进行药效学观察,与中医辨证距离较远。病证模型的复制,一直是中医药科研中有待解决的重要问题之一。

国家自然科学基金对病证相关性研究也加大了投资力度,如“证的应用基础研究”“大鼠猕猴模拟经前综合征肝气上逆证的研究”等。我们在降脂抗动脉粥样硬化实验中,进行了病证模型的研制。人类的动脉粥样硬化症的发病极为复杂,与遗传因素及环境因素的共同参与有关。我们选用了自发性高胆固醇 NJS 小鼠进行中药降脂药效的观察,NJS 小鼠是经过多年定向选育

而成的一株自发性高胆固醇血症近交系小鼠,能在普通饲养下自然形成高脂血症及动脉粥样硬化,属同源性的,与人类动脉粥样硬化有相似之处。NJS 小鼠高胆固醇血症的出现可能是由于群体中携带的能引起血清胆固醇代谢障碍的突变型隐性基因在高度近交系下纯合暴露,同时在定向选育而保留下来,具有较稳定的遗传性^[6],我们在确定了“病”的基础上,对 NJS 自发性高胆固醇血症小鼠,外加高脂饲料,模拟外源性和内源性高脂血症的病证模型,与临床实际较为相似。应用分子生物学技术研究中医药,结合中医药理论,利用现代生物技术,开展转基因动物模型的病证研究,将开辟实现中医药现代化的一个新途径。

运用分子生物学技术研究中医药国内外尚处于起步阶段。我们相信,21 世纪中医药研究在继承的基础上借鉴现代分子生物学技术,将有突破性的进展。

参考文献

- 1 刘福春,丁光霞,李菊仙.淫羊藿多糖对羟基脲所致的“阳虚”动物骨髓细胞 DNA 合成率的影响.中国中药杂志,1991,16(10):621-622.
- 2 沈自尹.肾阳虚证定位的研究.中国中西医结合杂志,1997,17(1):50-52.
- 3 钟历勇,沈自尹,蔡定芳,等.补肾健脾活血三类复方对下丘脑-垂体-肾上腺-胸腺轴及 CRF 基因表达的影响.中国中西医结合杂志,1997,17(1):39-41.
- 4 李静.中药对血管平滑肌细胞增殖及相关基因表达的影响.北京医科大学学报,1994,26(增刊):243-244.
- 5 DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. Diabetes Care, 1991, 14(3):173-194.
- 6 孙敬芳,朱德生,郝光荣,等.实验动物学技术.北京:科学技术文献出版社,1993:33-52.

奇宁注射液口服配合放疗治疗食管癌 21 例

崔立献* 王向波*

食管癌在基层医院多以中晚期就诊患者为主,就诊时多数已失去手术根治机会,因此其治疗目的亦以姑息治疗为主。我们根据食管癌的疾病特点,采用奇宁注射液口服加直线加速器外照射的方法进行治疗,取得了较好的疗效,现总结如下。

1 临床资料

所有病例均为我科 2000 年 6 月~2001 年 2 月收治的食管癌患者。均经上消化道钡餐透视、内窥镜检查及病理检验确诊。患者均有较严重的消化道梗阻症状,表现为吞咽困难、进食时恶心呕吐,甚则仅能进食少量流质饮食。均为综合各项检查不能手术或不愿手术者。随机分为治疗组和对照组,治疗组 21 例,男 12 例,女 9 例,年龄 47~79 岁,平均 58.5 岁;其中鳞癌 11 例,腺癌 7 例,未分化癌 2 例,鳞腺癌 1 例。对照组 20 例,男 12 例,女 8 例,年龄 48~75 岁,平均 55.5 岁。其中鳞癌 12 例,腺癌 7 例,鳞腺癌 1 例。两组一般情况相似,有可比性。

2 治疗方法

对照组病例根据常规放疗计划,给予根治性放射治疗,采用直线加速器前野及双后侧斜野三野照射,每次 200cGy,每周 5 次,总量为 6000~7000cGy。治疗组则在放疗治疗同时,加用奇宁注射液口服,每次 0.1mg,每日 2 次,缓慢咽下,勿以水冲,连服 10~30 天。

3 疗效标准及结果

吞咽困难及消化道梗阻分级:0 级:完全不能进食进水;1 级:可进食流质;2 级:可进食半流质;3 级:饮食基本不受限制。按此标准,提高 1 级为有效,提高 2 级为显效,无变化者为无效,加重 1 级以上者为加重。肿瘤疗效标准参照 WHO 标准。

治疗结果:治疗 1 周后,治疗组中有效 14 例,占 66.7%,显效 0 例,无变化者 5 例,加重者 2 例。对照组有效 2 例,占 10%,显效 0 例,无变化者 6 例,加重者 12 例。治疗 1 个疗程后,治疗组显效 13 例,有效 6 例,无变化者 2 例,总有效率 90.47%。对照组显效 12 例,有效 5 例,无变化者 3 例,总有效率 85%。治疗过程中,治疗组有 2 例发生放射性食管炎,对照组中则有 12 例。治疗 1 个疗程后,肿瘤疗效如下:治疗组中 CR16 例,PR2 例,NC3 例。对照组中 CR8 例,PR10 例,NC2 例。

4 讨论

奇宁注射液是贵州神奇制药有限公司生产的一种抗肿瘤药物,其有效成分是斑蝥酸钠,是斑蝥中提取的抗癌活性物质斑蝥素的碱解产物。实验研究表明,奇宁注射液对多种体外培养的人体肿瘤细胞均有明显的抑制作用。直接口服则可直接作用于食管病变部位,特别是有不同程度梗阻现象者,在病灶处存留及作用时间长,可使药物维持肿瘤局部血液中的浓度,除可直接杀灭肿瘤细胞外还可减轻局部病灶处粘膜的炎性水肿,明显减轻了放疗引起的局部副反应。

从观察结果可以看出,在放疗治疗 1 周后副反应最重的阶段,治疗组中梗阻改善 14 例,占 66.7%,而对照组中仅有 2 例,占 10%。治疗组中加重者 2 例,占 6%,对照组中则有 12 例,占 60%。短程内梗阻改善率治疗组明显高于对照组,而症状加重者则明显低于对照组,两组对比,差异有显著性($P<0.05$)。疗程结束时治疗组梗阻缓解总有效率为 95.34%,对照组为 85% ($P>0.05$)。而治疗组梗阻缓解有效率亦高于对照组,并且放射性食管炎的发生率治疗组亦明显少于对照组。奇宁注射液口服配合常规放疗治疗食管癌,可以明显缓解短期内粘膜水肿发生,梗阻加重,减少放射性食管炎发生。

* 山东省章丘市人民医院(250200)

收稿日期:2001-04-10