

慢性再生障碍性贫血中医辨证分型与 MHC-DRB1 * 等位基因的相关性研究

孙伟正¹ 杨东光¹ 刚宏林²

摘要 目的:探讨慢性再生障碍性贫血中医辨证与 MHC-DRB1 * 等位基因多态性之间的关系。方法:采用聚合酶链式反应/序列特异性引物的技术方法,对慢性再生障碍性贫血(CAA)患者和对照组的 MHC-DRB1 * 各等位基因进行检测和分析。结果:肾阳虚型患者 MHC-DRB1 * 0301 基因频率明显高于健康对照组,两组差异有非常显著性($P < 0.01$)。MHC-DRB1 * 各等位基因未见与 CAA 肾阴虚型相关。结论:MHC-DRB1 * 0301 基因可能是 CAA 肾阳虚型的易感基因,或者也可能是 CAA 的易感基因或其一部分,表明该型患者的免疫调控缺陷遗传基础的存在。MHC 与 CAA 的先天体质疾病类型之间有一定的内在联系,能在一定程度上反映中医体质的遗传特征和 CAA 中医辨证的客观性。

主题词 贫血,再生障碍性/诊断 辨证分型 贫血,再生障碍性/遗传学

大量临床观察表明,慢性再生障碍性贫血(Chronic Aplastic Anemia,简称 CAA)的肾阳虚和肾阴虚型就其临床表现、发病情况、疗效及预后都有所不同,而肾阳虚和肾阴虚型的形成与患者的体质、遗传因素密切相关。MHC 是有核细胞表面上的一种抗原标记系统,是迄今为止所知的人类最复杂的遗传多态性系统,也是首次发现与疾病有明显关系的遗传系统^[1]。某些特殊的 MHC 基因型可能影响着 CAA 肾阳虚和肾阴虚型体质的形成。已知在 MHC 复合体中,MHC-DRB1 * 多态性最为复杂,在机体的免疫方面发挥重要的作用。为了探讨 CAA 中医辨证与 MHC-DRB1 * 等位基因多态性之间的关系,我们利用聚合酶链式反应/序列特异性引物的技术方法(PCR-SSP),对肾阴虚型和肾阳虚型的 CAA 患者中 MHC-DRB1 * 基因多态性进行检测和分析,为 CAA 的中医辨证提供基因方面的参考依据。现将观察结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料:CAA 实验组 59 例,男 30 例,女 29 例,年龄 10~58 岁,中位年龄 31 岁;其中肾阴虚型患者 31 例,肾阳虚患者 28 例。所有患者均来自黑龙江中

医药大学附属第一医院血液科,为 1998 年 11 月~2000 年 10 月期间门诊和住院的 CAA 患者。健康对照组 30 例,男 16 例,女 14 例,为无血缘关系的健康献血员,年龄 15~60 岁,中位年龄为 30 岁。实验组与健康对照组人员均为汉族。

1.2 诊断及中医辨证分型标准:CAA 的诊断标准符合 1987 年第四届全国再生障碍性贫血学术会议制订的诊断标准^[2];CAA 实验组肾阴虚及肾阳虚分型符合中国中西医结合研究会血液专业委员会第三届第二次学术座谈会分型标准。

除 CAA 典型临床症状和体征外,肾阴虚型主要表现为腰膝酸软,手足心热,咽干口渴,时发低热,夜间盗汗、足跟疼痛、鼻衄、齿衄或肌衄。次要表现为心悸、失眠、多梦、便秘,舌质淡或边尖微红,苔花剥或少苔,脉细或细数。肾阳虚主要表现为腰膝冷痛,形寒肢冷,易于感冒,夜尿频多,阳痿滑精。次要症状为大便溏薄,气短乏力,精神萎靡,舌质淡白,胖嫩有齿痕,脉弱或沉迟无力。

1.3 实验方法:标本 DNA 的提取,PCR-SSP 分析,扩增产物的检测,分析各种基因型别,记录、并照相。

1.4 统计学处理:采用四格表确切概率计算法,相对危险度(RR)和基因频率(GF)均按有关公式进行计算。

2 结果

2.1 标准 DNA PCR-SSP 分型结果:标准 DNA 分别采用 DR7、DR9、DR15 和 DR16 基因的特异性引物扩增,均出现了清晰的特异性扩增带,PCR-SSP 分型结果符合率为 100%,表明所需基因片段的扩增是成功的。

2.2 CAA 中肾阴虚型和肾阳虚型患者 MHC-DRB1 * 基因 PCR-SSP 检测结果

2.2.1 MHC-DRB1 * 各等位基因在肾阴虚型 CAA 患者和健康对照组中的分布:表 1 示,MHC-DRB1 * 各等位基因未见与 CAA 肾阴虚型相关。

2.2.2 MHC-DRB1 * 各等位基因在肾阳虚型 CAA 患者和健康对照组中的分布:表 2 示,MHC-DRB1 * 0301 基因频率明显高于健康对照组,两组差异非常显著($P < 0.01$)。提示 MHC-DRB1 * 0301 基因可能是

基金项目:黑龙江省教育厅资助项目(10811157)

1 黑龙江中医药大学附属第一医院血液科,哈尔滨市动力区和平路 26 号(150040)

2 黑龙江中医药大学中药教研室

收稿日期:2003-07-15;修回日期:2003-09-03

表 1 MHC-DRB1 * 各等位基因在肾阴虚 CAA

患者和健康对照组中的分布

MHC-DRB1 * 等位基因	肾阴虚组 (31 例)	健康对照组 (30 例)	RR	P
MHC-DRB1 *				
MHC-DRB1 * 0103	3	2	1.0769	>0.05
MHC-DRB1 * 0301	3	2	1.50	>0.05
MHC-DRB1 * 04	3	3	0.9643	>0.05
MHC-DRB1 * 07	2	2	0.9665	>0.05
MHC-DRB1 * 08	1	1	0.9667	>0.05
MHC-DRB1 * 09	4	4	0.9630	>0.05
MHC-DRB1 * 11	3	2	1.50	>0.05
MHC-DRB1 * 12	2	3	0.6207	>0.05
MHC-DRB1 * 13A	1	0	—	>0.05
MHC-DRB1 * 14A	0	5	—	>0.05
MHC-DRB1 * 15	4	1	0.7407	>0.05
MHC-DRB1 * 16	1	1	0.9667	>0.05

表 2 MHC-DRB1 * 各等位基因在肾阳虚型 CAA

患者和健康对照组中的分布

MHC-DRB1 * 等位基因	肾阳虚组 (28 例)	健康对照组 (30 例)	RR	P
MHC-DRB1 *				
MHC-DRB1 * 0103	2	2	1.0769	>0.05
MHC-DRB1 * 0301	10	2	7.7778	<0.01
MHC-DRB1 * 04	2	3	0.6923	>0.05
MHC-DRB1 * 07	1	2	0.5185	>0.05
MHC-DRB1 * 08	0	1	1.0741	>0.05
MHC-DRB1 * 09	2	4	0.50	>0.05
MHC-DRB1 * 11	1	2	0.5185	>0.05
MHC-DRB1 * 12	2	3	0.6123	>0.05
MHC-DRB1 * 13A	0	0	—	>0.05
MHC-DRB1 * 14A	0	0	—	>0.05
MHC-DRB1 * 15	2	5	0.3846	>0.05
MHC-DRB1 * 16	1	1	1.0741	>0.05

CAA 肾阳虚型的易感基因,也可能是 CAA 易感基因本身或其一部分,表明该型患者的免疫调控缺陷遗传基础的存在。其他 MHC-DRB1 * 各等位基因未见与 CAA 肾阳虚型相关。

3 讨论

中医学十分重视体质因素^[3],人类体质是在遗传基础上,在环境的影响下和生长发育及衰老的过程中形成的代谢、机能与结果上相对稳定的特殊状态。这种特殊状态往往决定着它与某种致病因子的易感性及其所产生病变类型的倾向性。中医学认为,组成人体体质特征的要素称为体质因素,按其表现方式及其对体质形成意义的深刻程度,可分为体表直观体质要素和深层根源性体质要素。前者应用测试者的感觉器官可以直接判定,如依据患者的体型、食欲、面色、舌、脉等。而后者则需要依据现代科学技术及测试仪器。大部分体质要素是先天遗传的,与 DNA 结构有关。鉴于 DNA

的结构往往难以改变,所以体质要素一般也不容易改变,具有相对稳定性。但由于体质与形体、环境、饮食、起居、疾病密切相关,所以在上述动因作用下,加之不同体质对外来刺激的反应具有某种倾向性,这种倾向性有规律可循,因此掌握体质要素对诊断、治疗、估计预后及纠正病理体质都有重要意义。

中医认为,CAA 属“虚劳”范畴,为多种病因所致,虚劳是以脏腑亏损、气血阴阳不足为主要病机的多种慢性虚损性疾病的总称。对 CAA 患者来说,虽为同一疾病,但由于先天秉赋不同,可能表现为不同证型。我们根据中医学“肾主骨生髓”、“肾藏精”、“精血互生”理论并结合多年临床经验,提出了肾虚是 CAA 发病关键的理论,并按相关标准,结合患者不同体质及在体质因素影响下所形成的中医证候将 CAA 分为肾阴虚和肾阳虚两种证型。大量临床结果表明,CAA 的肾阳虚型和肾阴虚型就其临床表现,发病情况、疗效及预后都有所不同。除 CAA 典型临床症状和体征外,肾阳虚的临床表现主要为腰膝冷痛、形寒肢冷、男子阳痿、女子宫寒不孕、性欲减退、或见大便稀薄、夜尿多、精神萎靡、舌淡苔白、脉弱无力。而肾阴虚型的临床表现主要为腰膝酸软、眩晕耳鸣、齿摇发落、男子遗精、早泄、女子经少或闭经、或见崩漏、失眠、健忘、口燥咽干、五心烦热、潮热盗汗、或骨蒸发热、形体消瘦、小便黄少、舌红少津、或无苔、脉细数。目前普遍认为,CAA 肾阳虚型病情较轻,治疗效果较好,而肾阴虚型病情较重,预后较差。而不同个体临床表现差异易感性和预后在很大程度上是由遗传因素所决定的。

MHC 是有核细胞表面上的一种抗原标记系统,人类的 MHC 为 3 个区,每个区的 HLA 基因分别称为 HLA-I、HLA-II 和 HLA-III 类基因。本次研究的 MHC 属于 I 类基因,其长度为 1 000~1 200kb,包括 DR、DP、DQ 等位点。MHC 不同基因座位之间,有明显的连锁不平衡现象^[4]。已证实 HLA-DR2 与多种自体免疫性疾病的发病有关。有研究表明,再生障碍性贫血患者 HLA-DR2 的阳性率明显高于正常人群^[5],提示 HLA-DR2 与再生障碍性贫血密切相关,而且 HLA-DR2 阳性患者对免疫抑制的疗效好^[6]。Nakao 等^[7]则证实与 CsA 疗效有关联的 T 淋巴细胞异常可能与再生障碍性贫血易感性相关。

在群体调查中比较患者与正常人某些特定等位基因及其产物的频率,是研究遗传决定的对疾病的易感性的主要方法。一个人的遗传物质(基因)决定了一个人的体质类型,亲代的遗传信息传给子代,决定了子代的体质类型。中医学认为,人体的体质与疾病的临床表

现差异易感性和预后有关,而现代医学也认为,遗传物质(基因)是决定一个人对疾病易感性的主要原因。

我们先期的研究已经证实,MHC-1 类基因和 MHC-DQB1 * 与 CAA 不同类型的发病相关^[8]。此次,我们又采取了聚合酶链式反应和序列特异性引物的技术方法(PCR-SSP),对 CAA 患者 MHC-DRB1 * 各等位基因进行比较观察。发现 CAA 肾阳虚型组 MHC-DRB1 * 0301 基因频率明显高于健康对照组,两组差异有非常显著性($P < 0.01$)。提示 MHC-DRB1 * 0301 基因可能是 CAA 肾阳虚型的易感基因,或者也可能是 CAA 易感基因或其一部分,表明该型病人的免疫调控缺陷遗传基础的存在。而 MHC-DRB1 * 各等位基因未见与 CAA 肾阴虚型相关。这些结果提示,MHC 与 CAA 的先天体质疾病类型之间有一定的内在联系,能在一定程度上反映中医体质的遗传特征和中医理论对 CAA 辨证的客观性。

在再生障碍性贫血患者的发病过程中,可能出现阴虚和阳虚之间的相互转化,但在本次实验中,患者在治疗期间证型并未发生转变,因而未能对证型转变患者做 MHC 检测。证型的转变是否能产生基因的突变,

而导致 MHC 的转变,值得进一步验证。

参考文献

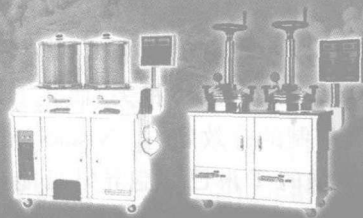
- 1 Du YP, Deng CS, Lu DY, et al. The relation between HLA-DQA1 genes and genetic susceptibility to duodenal ulcer in Wuhan Hans. *World J Gastroenterol*. 2000;6(1):107-110.
- 2 张之南,沈梯,丁训杰,等. 血液病诊断及治疗标准. 天津:天津科学技术出版社,1991:33-35.
- 3 匡调元,王庆其,冯玉明,等. 中医体质病理学. 上海:上海科学普及出版社,1996:194-196.
- 4 龚非力,沈关心,李卓亚,等. 医学免疫学. 北京:科技出版社,2000:135-136.
- 5 Nimer SD, Ireland P, Meshkinpour A, et al. An increased HLA DR2 frequency is seen in aplastic anemia patients. *Blood*. 1994;84(3):923-927.
- 6 Nakao S, Takamatsu H, Chuhjo T, et al. Identification of a specific HLA class II haplotype strongly associated with susceptibility to cyclosporine-dependent aplastic anemia. *Blood*. 1994;84:4257-4261.
- 7 Nakao S, Takami A, Sugimori N, et al. Response to immunosuppressive therapy and an HLA-DRB1 allele in patients with aplastic anaemia: HLA-DRB1 * 1501 does not predict response to antithymocyte globulin. *Br J Haematol*. 1996;92(1):155-158.
- 8 孙伟正,王春梅,庞爱明,等. CAA 中医辨证与 HLA 基因相关性研究. *中国医药学报*, 2002, 17(3):23-25.

中药煎煮专家 撷取百草精华

您的病人会煎中药吗?



东华煎药包装设备



6大系列
25个品种
30个办事处
100位维修工程师
3,000家医院药店正在使用
10,000名终端用户见证了
东华10年的奋斗历程

中药煎煮除了费时费力之外,其科学的过程和方法也尤为重要。清代医学家徐灵胎曾说:“煎药之法最宜深讲,药之效与不效,全在于此”。药物浸泡和煎煮时间过长或过短,药汤过浓或过淡,都会极大影响中药的疗效并延长病患治愈的时间。

东华煎药包装设备可一次性完成浸泡、煎煮和自动包装成袋等全过程,时间的安排和火候的掌控完全符合中药理论的要求,不但充分撷取百草精华以发挥中药的药效,也省却了患者煎药的麻烦。

东华集团愿协助您共同推动中药现代化的步伐。

东华原医疗

DONGHUAYUAN MEDICAL

北京东华原医疗设备有限责任公司

电话: 010-89718013

邮编: 102200

地址: 北京市中关村昌平科技园区振超路1号

传真: 010-89718021

网址: www.donghuagroup.com

垂询热线: 800-810-0359

ABSTRACTS FROM ORIGINAL ARTICLES

Clinical Study on Fucong Xiangye for Treatment of 72 Cases of Vascular Dementia

Yu Shangzhen, Zheng Guoshen, Shi Qing, et al.

Objective: To study therapeutic effect and mechanisms of inhalation of drug-oxygen Fuchong Xiangye for treatment of vascular dementia. Methods: 123 cases were randomly divided into treatment group and control group by single-blind. Therapeutic effects, superoxide dismutase (SOD) activity in red cells, plasma lipid peroxide, triglyceride, serum cholesterol and high density lipid protein (HDL) levels, and electroencephalogram were investigated before and after treatment. Results: The improvement of symptom scores and the above indexes after treatment in the treatment group were more obvious than those in the control group, with no adverse reaction in both groups. Conclusion: Inhalation of drug-oxygen Fuchong Xiangye has a better therapeutic effect on vascular dementia, and the mechanism is related with decrease of blood lipid, and increase of HDL and SOD.

Author's address: Wuyi TCM Hospital, Jiangmen City, Guangdong Province, Jiangmen 529031

Key Words: Dementia, vascular/TCM ther; @Fucong Xiangye
(Original article on page 424)

Effect of Yuzhang Decoction on In Vitro Proliferation of Bone Marrow CD₃₄ Cells in the Patient of Aplastic Anemia

Wang Shuqing, Zhao Diangang, Zhang Shengming, et al.

Objective: To observe effects of Yuzhang Decoction on in vitro proliferation of bone marrow CD₃₄ cells in the patient of aplastic anemia (CAA) and its mechanism. Methods: To adopt monoclonal antibody-immune magnetic beads separation system (MACS) to separate and purify CD₃₄ cells in bone marrow of the patient of CAA, and make cell culture, applying ³H-TdR incorporation to detect effect of Yuzhang Decoction on proliferation of CD₃₄ cells of bone marrow. Results: CD₃₄ cells of bone marrow showed concentration-dependent proliferation in the Yuzhang Decoction group with significant differences ($P < 0.05$ or 0.01). Conclusion: Yuzhang Decoction can improve in vitro proliferation of CD₃₄ cells of bone marrow of the patient of CAA. Yuzhang Decoction curing CAA is carried out possibly through promoting proliferation of CD₃₄ cells and inhibiting apoptosis of CD₃₄ cells.

Author's address: Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Shandong 261031

Key Words: Anemia, aplastic/TCM ther; Cell /drug action; @Yuzhang Decoction

(Original article on page 432)

Clinical Study on Method for Clearing Away Heat, Dredging Collaterals and Removing Obstruction for 36 Cases of Rheumatoid Arthritis at Active Stage

Liu Qingxian

Objective: To investigate therapeutic effect and adverse reaction of Tongguan Xuanbi Decoction for rheumatoid arthritis (RA) at active stage. Methods: The patients of RA were randomly divided into treatment group ($n = 36$) treated by Tongguan Xuanbi Decoction, and control group ($n = 33$) treated by Zheng Qing Feng Tong Tablets, and their therapeutic effects, and related indexes were investigated. Results: Therapeutic effect and improvement for duration of morning rigidity, arthralgia index, arthrosis index, ASO, CRP and ESR in the treatment group were superior to those in the control group ($P < 0.05$), but there was no significant difference between groups in improvement of grip strength of both hands and joint tenderness index. Conclusion: Tongguan Xuanbi Decoction has functions of removing heat and intoxic substances, dispelling wind and removing dampness, activating blood circulation and dredging collaterals, subduing swelling and stopping pain, and it has a definite improving effect on joint functions at active stage.

Author's address: Pinghu City TCM Hospital, Zhejiang Province 314200

Key Words: Arthritis, rheumatoid/TCM ther; @method for clearing away heat, dredging collaterals and removing obstruction
(Original article on page 437)

Study on Correlativity of TCM Syndrome Types of Chronic Aplastic Anemia with MHC-DRB1 * Allelic Genes

Sun Weizheng, Yang Dongguang, Gang Honglin

Objective: To approach to relation of TCM syndrome differentiation of chronic aplastic anemia (CAA) with polymorphism of MHC-DRB1 * allelic genes. Methods: MHC-DRB1 * allelic genes in patients of CAA and healthy control group were detected and analyzed by PCR/sequence-specific primer technique. Results: MHC-DRB1 * 0301 gene frequency in the patient of kidney-Yang deficiency was significantly higher than that in the healthy control group ($P < 0.01$). MHC-DRB1 * allelic genes were not related with kidney-Yin deficiency in the patient of CAA. Conclusion: MHC-DRB1 * 0301 genes are possibly susceptible genes of kidney-Yang deficiency in the patient of CAA, or susceptible genes of CAA or a part of them, indicating that patients of this type have genetic basis of immunoregulative defect; and there is a certain inner link between MHC and disease types of congenital constitution of CAA, which can reflect genetic characteristics of TCM constitution and objectiveness of CAA TCM syndrome differentiation to a certain extent.

Author's address: The First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of TCM, Harbin 150040

Key Words: Anemia, aplastic/diagnosis; syndrome differentiation
(Original article on page 450)