

DOI: 10. 13288/j. 11-2166/r. 2025. 05. 009

痛风急性期湿热毒蕴证及湿热蕴结证患者血液生物学特征差异的多组学研究

刘维^{1,2}✉, 卫博文^{1,2}, 陆航^{1,2}, 卡玉秀^{1,2}, 王文^{1,2}

1. 天津中医药大学第一附属医院, 天津市西青区昌凌路88号, 300193; 2. 国家中医针灸临床医学研究中心



[摘要] **目的** 联合代谢组学、蛋白组学和转录组学分析痛风急性期湿热毒蕴证及湿热蕴结证的生物学特征差异。**方法** 从临床收集痛风急性期湿热毒蕴证及湿热蕴结证患者血液样本各15例。采用代谢组学技术检测血清代谢物, 构建正交偏最小二乘法判别分析模型, 筛选组间变化明显的代谢产物, 进行富集通路分析和受试者工作特征曲线(ROC)分析。采用Astral数据非依赖型采集(DIA)检测血清蛋白质, 进行主成分分析并筛选差异蛋白质, 以雷达图展示差异倍数, 亚细胞定位分析蛋白质来源, 最后应用加权基因共表达网络分析(WGCNA)寻找关键蛋白质。应用转录组测序技术检测全血mRNA, 筛选差异基因并进行WGCNA, 构建机器学习模型筛选关键基因。**结果** 代谢组差异分析发现, 正离子模式下有62个差异代谢物, 负离子模式下有26个差异代谢物。差异代谢物主要富集于mTOR信号通路和FoxO信号通路, 以顺-3,5-二甲氧基-4-羟基肉桂醛、瓜那苯唑、4-氨基苯基-1-硫代-β-D-半乳糖苷的诊断效能较高。蛋白组差异分析发现, 湿热毒蕴证样本中有55个蛋白质上调和20个蛋白质下调, 髓鞘碱性蛋白(MBP)、转铁蛋白(TF)、DKFZp686N02209、载脂蛋白B(APOB)的差异表达倍数较高, 差异蛋白主要富集于脂肪消化和吸收、脂质与动脉粥样硬化、胆固醇代谢等。WGCNA发现湿热毒蕴证与棕褐色模块相关性最高, 且模块蛋白质主要富集于低氧诱导因子1(HIF-1)信号通路、脂质与动脉粥样硬化等。转录组差异分析发现252个差异表达基因, WGCNA中湿热毒蕴证与午夜蓝模块相关性最高, 随机森林模型(RF)被识别为最佳机器学习模型, 其预测的载脂蛋白B受体(APOBR)、远上游元件结合蛋白2(KHSRP)、POU结构域2类转录因子2(POU2F2)、EH结构域蛋白1(EHD1)、家族序列相似性110A(FAM110A)将作为关键基因。联合多组学分析发现, 痛风急性期湿热毒蕴证与脂质代谢, 尤其是APOB密切相关。**结论** 与痛风急性期湿热蕴结证比较, 湿热毒蕴证与脂质代谢尤其是APOB密切相关, 脂质代谢紊乱促进痛风急性期患者形成湿热毒蕴证。

[关键词] 痛风; 湿热毒蕴证; 湿热蕴结证; 代谢组学; 蛋白组学; 转录组学; 脂质代谢; 载脂蛋白B

痛风是由于机体嘌呤代谢紊乱和(或)尿酸排泄减少, 导致血尿酸升高, 单钠尿酸盐析出并沉积于关节所致的疾病^[1]。痛风急性期是指患者关节炎突然发作, 关节红肿热痛, 疼痛剧烈, 这个时期通常持续时间较短, 一般在7到10天内^[2]。根据痛风

急性期的临床表现, 可归属于中医学“痛风”“痹证”“历节”范畴。既往研究显示, 痛风急性期中医证候以湿热蕴结证为主^[3], 但其中有部分患者发作频繁, 疼痛剧烈, 迁延难愈, 属中医湿热毒蕴证, 与难治性痛风^[4]的临床特征高度吻合, 故2023年《痛风及高尿酸血症中西医结合诊疗指南》^[2]提出痛风急性期湿热毒蕴证。本课题组提出“毒痹论”, 从毒论治风湿病, 认为其具有发病急骤, 速侵骸关, 病证复杂, 易兼他邪, 蚀损五脏, 潜耗元气, 病疾缠固, 反复难痊等特点^[5]。在不同风湿病中, 毒邪或贯穿全程, 或仅见于某一阶段或

基金项目:国家自然科学基金(82074377); 国家中医药管理局重大疑难疾病中西医临床协作项目(20240905); 天津市南开区卫生健康委员会中医药传承创新发展示范试点项目(20240204011); 国家中医药管理局中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)岐黄学者(20210602-1); 国家中医药管理局名老中医传承工作室(975022); 天津市重大科技成果科普化项目(22KPxMRC00180)

✉ 通讯作者: fengshiliuwei@163.com

证型^[6]，湿热毒蕴证就是典型证型。

转录组学是连接遗传信息与生物功能之间的纽带，它通过全面测序 mRNA 序列，解决转录图谱的绘制、基因差异表达模式等研究问题，广泛应用于基础研究、临床诊断和药物研发等诸多领域^[7]。蛋白质组学是对特定条件下细胞、组织或生物体的总蛋白质进行大规模分析的技术。蛋白质组会响应各种内部和外部刺激而变化，形成特定条件下表达的全部蛋白质图谱，从而全面了解细胞代谢，整体解读疾病发生的过程^[8]。代谢组学是转录组学和蛋白质组学的延伸，能够更直接、更准确地反映生物体的生理状态^[9]。多组学联合分析能够促进对疾病发生发展的系统性理解，帮助研究人员从整体上把握疾病的复杂性和动态性。因此，为进一步明确痛风急性期湿热毒蕴证与湿热蕴结证患者的生物学特征差异，本研究应用多组学联合分析的方法进行比较研究，为其精准区分和临床中西医结合诊治提供依据。本试验已在中国临床试验注册中心注册（ChiCTR2300073477），并获得天津中医药大学第一附属医院伦理委员会审查批准，批件编号：TYLL2023 [K] 字 024。

1 临床资料

1.1 诊断及辨证标准

西医诊断标准符合 2015 年美国风湿病学会（ACR）/欧洲抗风湿联盟（EULAR）共同制定的痛风分类标准^[10]中痛风急性期诊断。

中医诊断及辨证标准参照《痛风和高尿酸血症病证结合诊疗指南》^[11]和 2023 年《痛风及高尿酸血症中西医结合诊疗指南》^[2]中痛风的诊断依据、证候分类。1) 湿热蕴结证。主症：(1) 关节红肿热痛；(2) 关节痛剧骤发。次症：(1) 发热；(2) 心烦；(3) 关节活动不利。舌脉：舌质红、苔黄腻或黄厚，脉弦滑或滑数。具备主症 2 项；或主症 1 项，次症 2 项，结合舌脉可诊断。2) 湿热毒蕴证。主症：(1) 关节红肿热痛；(2) 关节疼痛频繁发作（≥3 次/年）。次症：(1) 关节痛剧且持续不解；(2) 发热；(3) 烦躁不安；(4) 口苦、口臭；(5) 大便黏滞不爽或臭秽。舌脉：舌质红、苔黄腻或黄厚，脉弦滑或滑数。具备主症 2 项，次症 2 项，结合舌脉可诊断。

1.2 纳入标准

1) 符合以上痛风急性期诊断标准；2) 符合湿热蕴结证或湿热毒蕴证辨证标准；3) 年龄 18~65 岁；

4) 本次就诊为急性起病，病程在 7 天内；5) 患者自愿接受并配合检查，且已签署知情同意书。

1.3 排除标准

1) 近 1 个月内使用过抗生素或本次发作使用过激素；2) 近 2 周内腹泻、腹胀、腹痛等肠道相关疾病；3) 合并急性感染、严重心脑血管疾病及严重肝肾功能损害等；4) 有精神疾患或依从性差；5) 妊娠期或哺乳期妇女；6) 正参加或 1 个月内参加过其他临床试验。

1.4 一般资料

采用前瞻性队列研究的方法，本研究纳入 2023 年 7 月 1 日至 2024 年 2 月 29 日就诊于天津中医药大学第一附属医院风湿免疫科门诊的痛风急性期患者 30 例，其中湿热毒蕴证患者和湿热蕴结证各 15 例。

2 方法

2.1 临床资料收集方法

患者病史资料及实验室检查数据从就诊当次结果中录入。中医证候积分根据《痛风及高尿酸血症中西医结合诊疗指南》^[2]，采用中医证候量化积分评价，详见附表 1、附表 2（扫描本文二维码获取）。

2.2 血液样本采集

使用美国 BD PAXgene 全血 RNA 管（货号 762165）保存患者全血，梯度冷冻后保存于 -80 °C 冰箱，用于转录组测序；使用普通采血管（货号 230904）采集全血，4 °C、3000 r/min 离心（离心半径 13.5 cm）10 min 后，从血样中分离血清，4 °C、12 000 r/min 高速离心（离心半径 6 cm）10 min 去除杂质，储存于 -80 °C 冰箱，用于蛋白质组学及代谢组学检测。

2.3 代谢组学研究方法

2.3.1 血清样本处理 取适量血清样本加入预冷甲醇：乙腈：水溶液（2：2：1）涡旋混合，低温超声 30 min，-20 °C 静置 10 min，4 °C，14 000 g 离心 20 min，取上清真空干燥，质谱分析时加入 100 μl 乙腈水溶液（乙腈：水 = 1：1）复溶，涡旋，4 °C，14 000 g 离心 15 min，取上清液进样分析。应用 Orbitrap Exploris™ 480 质谱仪（Thermo Scientific 公司）和 Vanquish UHPLC 超高压液相色谱仪（Thermo Scientific 公司）进行检测。甲醇（货号 A456-4），Fisher Chemical 公司；乙腈（货号 1499230-935），MERCK 公司。

2.3.2 代谢物化学分类及正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)可视化 OPLS-DA将组间差异最大化的反映在主成分1($t[1]$)上,而将组内的变异反映在主成分2($to[1]$)上。采用置换检验对模型进行检验,以保证模型的有效性。

2.3.3 代谢物差异分析 将湿热毒蕴证组中正、负离子模式下检测到的差异代谢物,以表达差异倍数(FC)和 P 值(T 检验)两个因素为标准,其中显著下调的代谢物以蓝色标注($FC < 0.67$ 且 $P < 0.05$),显著上调的代谢物以红色标注($FC > 1.5$ 且 $P < 0.05$),无差异的蛋白质为灰色。采用 R 4.4.1 软件以蝴蝶图直观展示显著性差异代谢物倍数变化。

2.3.4 差异代谢物 KEGG 富集分析 将差异代谢物上传至 KEGG 数据库(<http://www.kegg.jp/>)进行通路富集分析。

2.3.5 差异代谢物 MetPA 富集分析 将差异代谢物上传至 MetaboAnalyst 数据库(<https://www.metaboanalyst.ca/>)进行拓扑分析,突出在整个代谢网络中具备重要位点的代谢通路。

2.3.6 差异代谢物 MSEA 富集分析 将差异代谢物上传至 MSEA (metabolite set enrichment analysis) 进行代谢集富集分析,重点挖掘丰度变化较低,但仍对生物体调控具备主要意义的代谢物及相关途径。

2.3.7 差异代谢物受试者工作特征曲线(ROC)分析 采用 R 4.4.1 软件对目标差异代谢物进行 ROC 分析,指示差异代谢物诊断两组样本的效能,以曲线下面积(AUC)展示。

2.4 蛋白组学研究方法

2.4.1 血清液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)检测 将每个血清样品独立进行样品制备、蛋白质酶解后,采用 LC-MS/MS 仪(赛默飞世尔科技公司,Orbitrap Astral 型)对各样本进行数据非依赖型采集(DIA)分析,并对肽段和蛋白质定性定量分析。所得的 DIA 原始文件,导入数据非依赖型采集神经网络(DIA-NN)进行分析。

2.4.2 鉴定与定量结果统计 不同组别样本鉴定到的蛋白及肽段数目以柱状图展示,并进行主成分分析(PCA)。蛋白质显著下调: $FC < 0.67$, $P < 0.05$;显著上调: $FC > 1.5$, $P < 0.05$ 。用 R 4.4.1 软件绘制雷达图用于展示多个差异蛋白在两组中的相对表达水平。

2.4.3 差异蛋白亚细胞定位分析及功能富集分析 采用 CELLO (<http://cello.life.nctu.edu.tw/>)

方法,采用多重支持向量机(multi-class SVM)预测待检索蛋白亚细胞定位信息。并对差异蛋白进行 GO 分析和 KEGG 通路富集分析。

2.4.4 加权基因共表达网络分析(WGCNA) 基于最优软阈值计算蛋白间表达量相关系数,构建蛋白层次聚类树划分共表达模块,获得最终划分的蛋白共表达模块:以分组作为性状,可以获得与该性状相关的共表达模块情况。进一步可从模块与表型性状相关性图中挑选相关性最高的模块,筛选标准:相关性数值绝对值越接近1,相关性检验 $P < 0.05$,表明该模块是决定该性状的关键模块,并对该模块蛋白进行 KEGG 通路富集分析。

2.5 转录组学研究方法

2.5.1 文库构建 用带有 Oligo (dT) 的磁珠富集真核生物的 mRNA。对提取的 mRNA 进行质检,达到建库测序标准后进行文库建库实验,应用 NOVASEQ (illumina) 平台对样本进行检测。

2.5.2 基因表达水平 利用 featureCounts v2.0.3 软件计算出每个基因在各个样本中每千个碱基转录每百万映射读取的片段(FPKM)值,比较不同样本间的基因表达差异,并绘制 FPKM 密度分布图。

2.5.3 筛选差异基因 湿热毒蕴证与湿热蕴结证相比,将 $P < 0.05$, $|\log_2 FC| > 1$ 作为筛选差异表达基因的标准。共表达模块通过“WGCNA”包(版本1, 70.3)确定^[12]。将波动最大的前50%基因用于 WGCNA,以保证质量结果的精确性。寻找最佳软阈值构建加权邻接矩阵,并将其转换为拓扑重叠矩阵(TOM)。当最小模块大小设置为100时,基于层次聚类树技术的 TOM 差值度量(1-TOM)生成模块,给每个模块一个随机颜色。每个模块中的整体基因表达谱由模块特征基因表示。模块差异说明了疾病状态和模块成员之间的联系。基因与临床表型之间的关系称为基因显著性。

2.5.4 筛选特征基因构建机器学习模型 对于与疾病和模块相关的基因,应用了“VennDiagram”程序来获得共同基因。然后,结合来自两组的数据,包括随机森林模型(RF)、支持向量机模型(SVM)、广义线性模型(GLM)和极限梯度提升模型(XGB),我们使用“caret”包(版本6.0.91)构建了机器学习模型,是以湿热蕴结作为对照,揭示湿热毒蕴证中集群特异性的重要预测因素。应用“DALEX”包(版本2.4.0)来显示上述四种机器学习模型在特征显著性和残差分布方面的差异。ROC 曲线下的面积在“pROC”软件(版本1.18.0)

中可视化。因此，确定了最佳的机器学习模型，前 5 个显著变量被认为是与湿热毒蕴证相关的关键预测基因。

2.5.5 关键基因的筛选与验证 为了评估痛风急性期湿热毒蕴证的风险，在“rms”包（版本 6.2.0）中构建了一个列线图模型。应用校准曲线和 DCA 来估计线图模型的预测能力。并在患者数据矩阵对 5 个基因进行 ROC 分析。将 5 个基因上传至 GeneMANIA 数据库（<http://genemania.org/>），构建相关基因的 PPI 网络，并进行功能富集分析。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析，计量资料满足正态分布的以均数±标准差（ $\bar{x}\pm s$ ）描述，组间比较采用独立样本 *t* 检验，非正态分布的资料用中位数（上四分位数，下四分位数）[*M* (*P*₂₅, *P*₇₅)] 描述，采用非参数秩和检验进行组间比较。计数资料以例数或百分比描述。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 两组患者临床资料比较

表 1 示，痛风急性期患者中，与湿热蕴结证比较，湿热毒蕴证患者的 BMI、近一年痛风发作次

数、疼痛关节数、肿胀关节数、VAS 评分、中医证候积分、白细胞计数、血尿酸、C 反应蛋白升高，尿红细胞计数降低（*P*<0.05 或 *P*<0.01），其他一般资料比较差异均无统计学意义（*P*>0.05）。

3.2 两组患者血清代谢组学结果比较

3.2.1 代谢物化学分类及 OPLS-DA 可视化 各类代谢物主要归属于脂质和类脂质分子（24.353%）、有机酸及其衍生物（21.359%）、有机杂环化合物（14.806%）。图 1 示，两组 OPLS-DA 模型能够准确区分湿热蕴结证和湿热毒蕴证患者。置换检验结果（见附图 1，扫描本文二维码获取）显示，原模型不存在过拟合现象，模型稳健性良好。

3.2.2 差异代谢物鉴定及表达倍数分析 共发现正离子模式下，40 个代谢物上调，22 个代谢物下调；负离子模式下，15 个代谢物上调，11 个代谢物下调。以蝴蝶图（见图 2）直观展示鉴定到的显著性差异代谢差异倍数变化，结果显示，正、负离子模式下，差异代谢物归属主要为脂类和类脂分子、有机酸及其衍生物等。

3.2.3 差异代谢物功能富集分析 KEGG 富集分析结果显示，差异代谢物主要富集于哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mTOR）信号通路和叉头框 O 蛋白

表 1 两组痛风急性期患者临床资料比较
Table 1 Comparison of clinical data between the two groups of patients in acute gout

项目	湿热毒蕴证（15 例）	湿热蕴结证（15 例）	<i>P</i> 值
年龄/岁， $\bar{x}\pm s$	39.40±12.49	43.73±13.16	0.363
BMI/kg·m ⁻² ， $\bar{x}\pm s$	29.59±4.32	28.89±2.88	0.011
病程/年， $\bar{x}\pm s$	8.33±6.17	5.27±4.32	0.126
近一年痛风发作次数/次， $\bar{x}\pm s$	8.60±5.94	4.00±3.72	0.017
痛风石关节数/个， $\bar{x}\pm s$	2.33±3.27	1.00±1.46	0.165
疼痛关节数/个， $\bar{x}\pm s$	3.40±3.31	1.40±0.51	0.036
肿胀关节数/个， $\bar{x}\pm s$	2.80±2.70	1.07±0.46	0.027
VAS 评分/mm， $\bar{x}\pm s$	78.53±12.08	50.67±23.01	<0.001
中医证候积分/分， $\bar{x}\pm s$	23.47±4.19	10.93±3.51	<0.001
红细胞计数/×10 ¹² ·L ⁻¹ ， $\bar{x}\pm s$	5.25±0.49	4.96±0.48	0.105
白细胞计数/×10 ⁹ ·L ⁻¹ ， $\bar{x}\pm s$	10.76±2.68	8.66±2.44	0.033
血小板计数/×10 ⁹ ·L ⁻¹ ， $\bar{x}\pm s$	287.87±55.32	263.07±62.25	0.259
血红蛋白计数/g·L ⁻¹ ， $\bar{x}\pm s$	154.13±11.96	150.33±14.16	0.434
中性粒细胞计数/×10 ⁹ ·L ⁻¹ ， <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)	7.66 (6.10, 9.14)	5.63 (4.04, 8.36)	0.798
淋巴细胞计数/×10 ⁹ ·L ⁻¹ ， <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)	2.69 (1.91, 2.97)	2.07±0.46	0.241
尿蛋白/mg·dL ⁻¹ ， <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)	0.00 (0.00, 18.75)	0.00 (0.00, 15.00)	0.274
尿红细胞计数/个·μL ⁻¹ ， $\bar{x}\pm s$	5.13±3.79	6.30 (3.60, 31.00)	0.025
尿白细胞计数/个·μL ⁻¹ ， <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)	3.15 (1.25, 8.33)	5.07±3.17	0.891
尿 pH 值/ <i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)	5.50 (5.00, 6.00)	6.00 (5.50, 6.50)	0.058

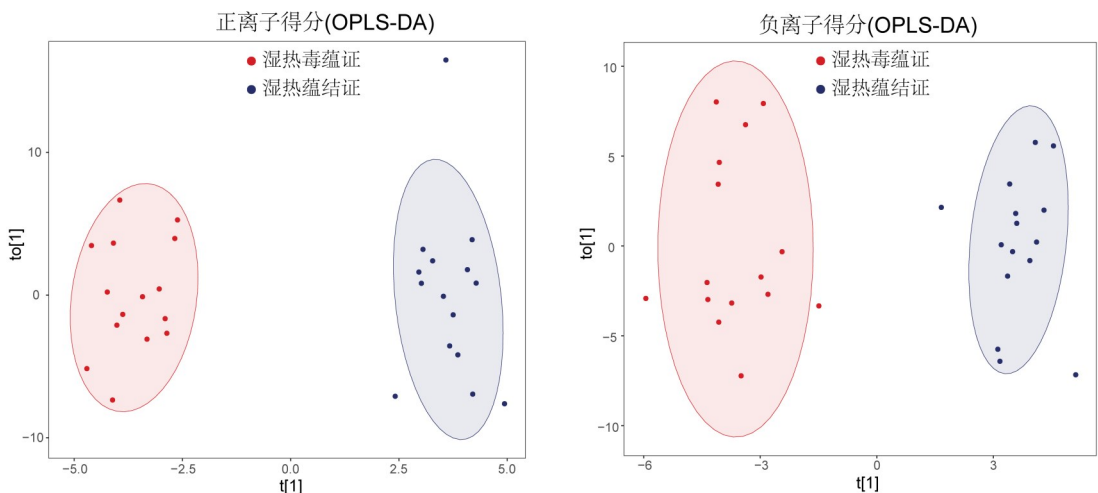
注：BMI，体重指数；VAS，视觉模拟量表。

续表 1 两组痛风急性期患者临床资料比较

Table 1 (continued) Comparison of clinical data between the two groups of patients in acute gout

项目	湿热毒蕴证 (15例)	湿热蕴结证 (15例)	P 值
ALT/U·L ⁻¹ , $\bar{x}\pm s$	35.15±18.52	25.70 (18.60, 43.10)	0.901
AST/U·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	20.80 (14.80, 26.60)	17.40 (14.30, 25.80)	0.573
碱性磷酸酶/U·L ⁻¹ , $\bar{x}\pm s$	86.25±22.95	80.09±14.54	0.387
γ-谷氨酰转肽酶/U·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	50.10 (36.50, 76.10)	44.02±28.85	0.197
尿素/mmol·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	4.85 (4.09, 7.17)	4.68±0.94	0.243
肌酐/μmol·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	87.26 (75.33, 97.94)	87.97±10.82	0.548
肾小球滤过率/ml·min ⁻¹ ·1.73m ⁻² , $\bar{x}\pm s$	92.36±23.99	92.23±14.60	0.905
血尿酸/μmol·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	589.36 (561.60, 643.36)	495.30±85.88	0.001
总胆固醇/mmol·L ⁻¹ , $\bar{x}\pm s$	5.05±1.03	5.27±0.87	0.535
甘油三酯/mmol·L ⁻¹ , $\bar{x}\pm s$	1.89±0.77	1.68 (1.49, 2.34)	0.693
HDL-C/mmol·L ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	0.94 (0.85, 1.07)	1.18±0.26	0.064
LDL-C/mmol·L ⁻¹ , $\bar{x}\pm s$	3.34±1.00	3.31±0.89	0.918
血糖/mmol·L ⁻¹ , $\bar{x}\pm s$	5.79±0.86	5.44 (5.28, 5.77)	0.996
血细胞沉降率/mm·h ⁻¹ , $M(P_{25}, P_{75})$	13.50 (5.50, 29.75)	17.14±14.33	0.870
C反应蛋白/mg·L ⁻¹ , $\bar{x}\pm s$	40.72±35.70	8.02 (3.97, 22.38)	0.046
痛风石发生/例 (%)	10 (66.67)	8 (53.33)	0.710
男性/例 (%)	15 (100.00)	15 (100.00)	1.000
脂肪肝患病率/例 (%)	12 (80.00)	9 (60.00)	0.427
高脂血症患病率/例 (%)	9 (60.00)	8 (53.33)	1.000

注: ALT, 丙氨酸氨基转移酶; AST, 门冬氨酸氨基转移; HDL-C, 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C, 低密度脂蛋白胆固醇。



注: t[1]代表主成分1, to[1]代表主成分2。

图 1 两组痛风急性期患者血清正、负离子模式正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 得分图

Figure 1 OPLS-DA score plot of serum positive and negative ion mode in the two groups of patients in acute gout

(FoxO) 信号通路。差异丰度得分的层次聚类主要为氨基酸、脂质和碳水化合物代谢。MetPA 结果显示, 差异代谢物主要富集于蛋白质代谢和 RNA 合成。MSEA 结果显示, 差异代谢物主要富集于近端小管碳酸氢盐回收、氮代谢、谷氨酸能突触等通路。两组患者血清差异代谢物 KEGG 富集通路气泡图、MetPA 富集分析气泡图、MSEA 富集分析条形图见附图 2 (扫描本文二维码获取)。

3.2.4 差异代谢物 ROC 分析结果 表 2 示, 差异代谢物中以顺-3,5-二甲氧基-4-羟基肉桂醛 (AUC = 0.911)、瓜那苯唑 (AUC = 0.880)、4-氨基苯基-1-硫代-β-D-半乳糖苷 (AUC = 0.858) 位于前三位, 故诊断效能较高。

3.3 两组患者血清蛋白组学研究结果

3.3.1 蛋白鉴定与定量结果统计 柱状图展示每个样本鉴定的蛋白及肽段数目 (附图 3, 扫描本文

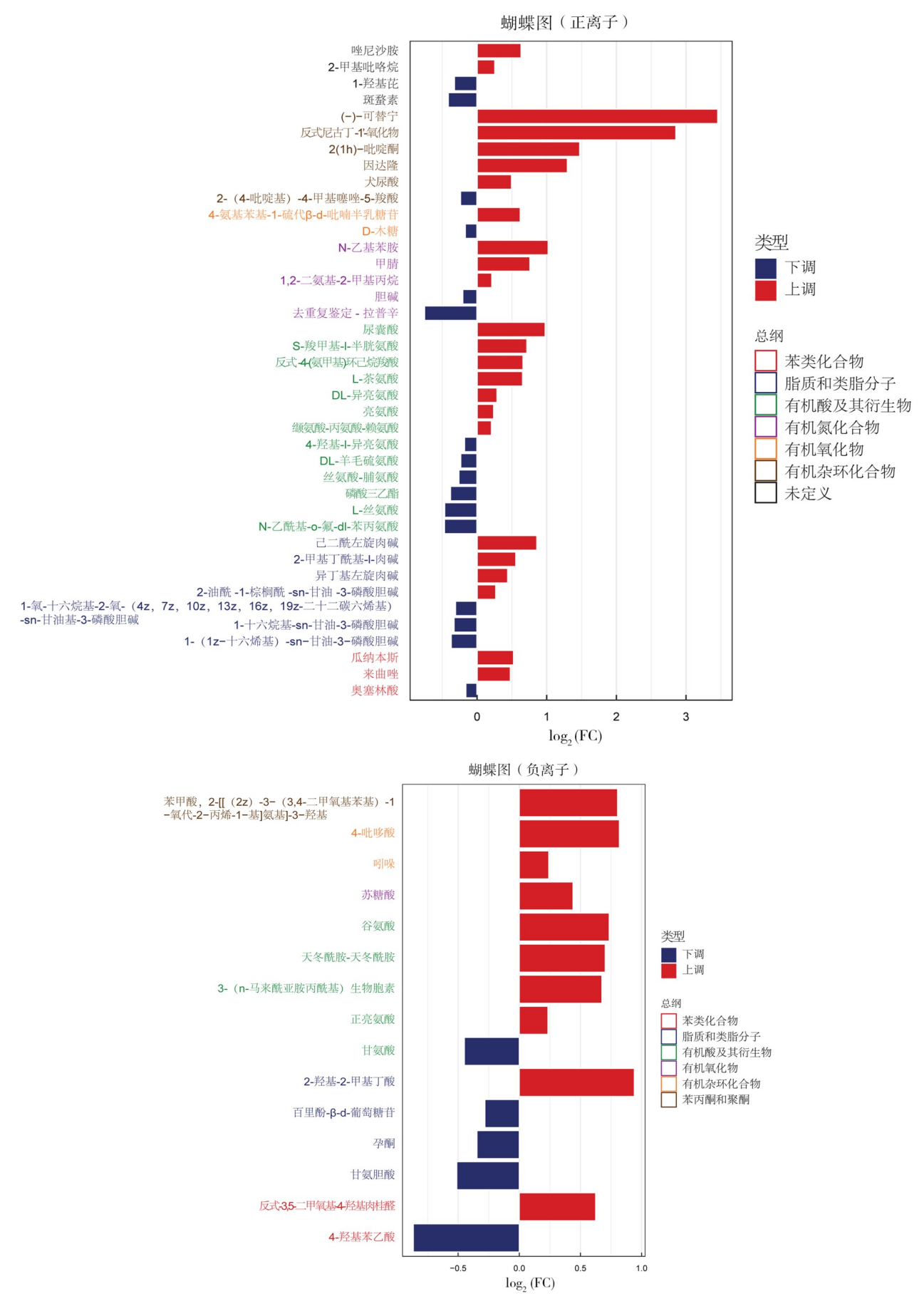


表2 两组痛风急性期患者血清代谢组学差异代谢物受试者工作特征曲线分析结果(前10位)

Table 2 ROC analysis results of the top 10 differential metabolites in serum metabolomics in the two groups of patients in acute gout (top 10)

代谢物名称	ID号	AUC
顺-3,5-二甲氧基-4-羟基肉桂醛	M207T258	0.911
瓜那苯唑	M214T527	0.880
4-氨基苯基-1-硫代-β-D-半乳糖苷	M192T527	0.858
苏氨酸	M135T455	0.853
S-羧甲基-L-半胱氨酸	M180T432	0.844
2(1H)-吡啶酮	M96T31	0.840
4-吡啶酮酸	M182T76	0.831
甘氨酸	M74T497	0.831
谷氨酸	M146T528	0.827
三乙基磷酸酯	M205T509	0.822

注: AUC, 曲线下面积。

二维码获取), PCA 分析显示两组之间能较好地地区分开, 见图3。与湿热蕴结证比较, 湿热毒蕴证样本中55个蛋白质上调和20个蛋白质下调。雷达图(图4)差异表达分析显示, 髓鞘碱性蛋白(MBP)、转铁蛋白(TF)、DKFZp686N02209、载脂蛋白B(APOB)的差异表达倍数较高。

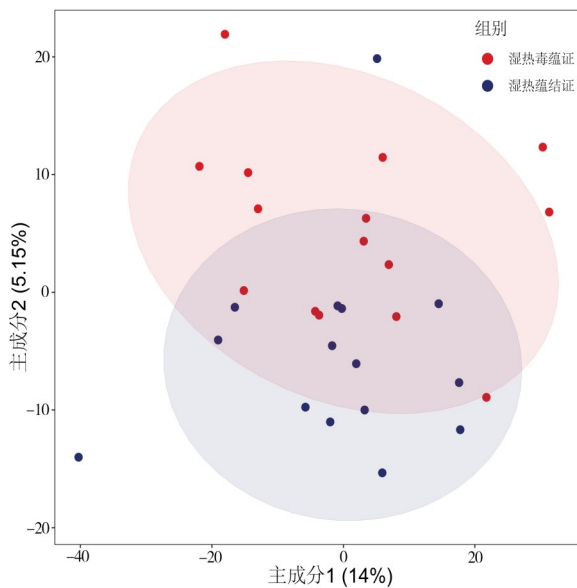
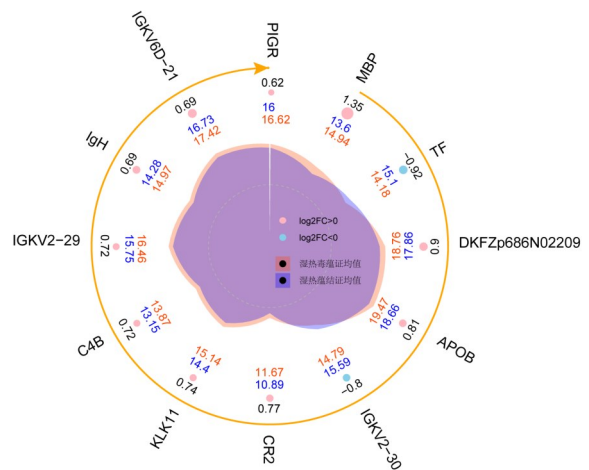


图3 两组痛风急性期患者血清蛋白质组间主成分分析(PCA)图

Figure 3 Principal component analysis (PCA) of serum proteomics between the two groups of patients in acute gout

3.3.2 差异蛋白亚细胞定位及功能富集分析结果 亚细胞定位结果显示, 差异蛋白主要来自于细胞外和细胞核。GO分析主要富集于免疫受体活性、躯体树突间隔和感官知觉。KEGG通路富集分析显



注: 最外圈为差异蛋白; 橙色箭头表示差异蛋白对应的P值或者变异系数值由小到大排序; 橙色箭头内部黑色数字表示差异倍数, 粉红色圆圈表示上调, 浅蓝色圆圈表示下调, 点越大表示差异倍数越大; 蓝色数据表示湿热蕴结证平均定量值, 橙色数据表示湿热毒蕴证平均定量值。

图4 两组痛风急性期患者血清差异蛋白雷达图

Figure 4 Radar chart of differential serum proteins between the two groups of patients in acute gout

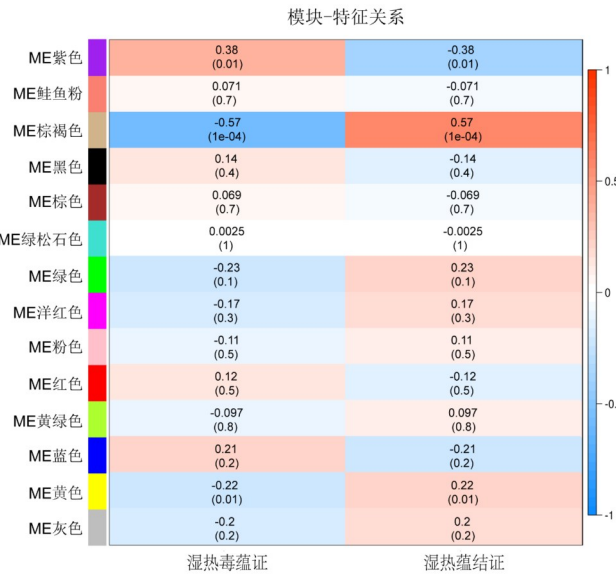
示, 差异蛋白主要富集于脂肪消化和吸收、脂质与动脉粥样硬化、胆固醇代谢等(附图4, 扫描本文二维码获取)。

3.3.3 WGCNA结果 当软阈值为3, 无标度R²为0.9时, 动态切割算法创建了14个不同颜色的共表达模块。我们检查了14个模块中的蛋白质, 以确定湿热毒蕴证与棕褐色模块共表达蛋白的相关性(图5), 且棕褐色模块与湿热毒蕴证相关基因呈正相关。构建模块蛋白的PPI网络, 关键蛋白为APOB及APOB变体。对棕褐色模块蛋白进行KEGG富集分析, 显示低氧诱导因子1(HIF-1)信号通路、脂质与动脉粥样硬化等为重要富集通路(附图5, 扫描本文二维码获取)。

3.4 两组患者全血转录组学研究结果

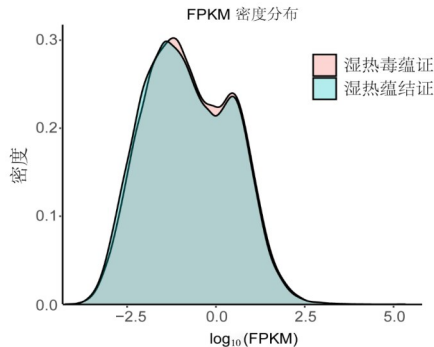
3.4.1 两组患者基因表达水平比较 密度分布图可以直观体现两组各样本中基因的FPKM分布情况, 见图6。

3.4.2 差异基因筛选结果 以 $P<0.05$, $|\log_2FC|>1$ 筛选共发现252个差异表达基因, 其中151个基因上调, 101个基因下调。WGCNA结果表明, 当软阈值为5, 无标度R²为0.9时, 我们发现了共表达的基因模块, 动态切割算法创建了18个不同颜色的共表达模块, 18个模块中的基因, 以确定湿热毒蕴证与午夜蓝模块共表达基因的相关性(图7), 且午夜蓝模块与湿热毒蕴证相关基因呈正相关。



注：ME 表示模块的特征基因。
图 5 两组痛风急性期患者血清模块特征基因与临床特征的相关性热图

Figure 5 Heatmap of correlation between serum module characteristic genes and clinical features in the two groups of patients in acute gout

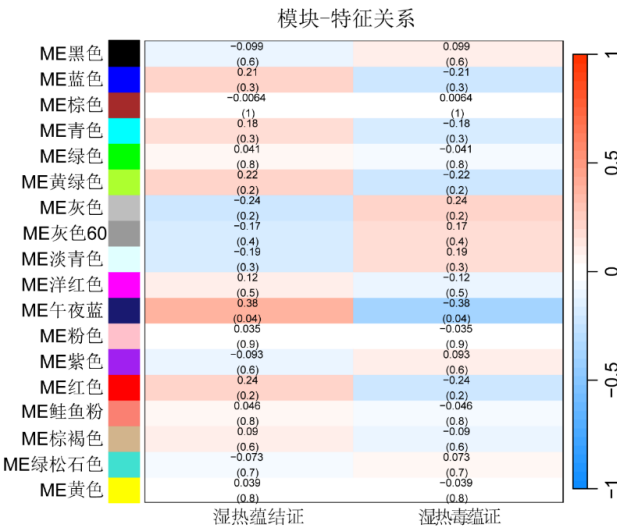


注：FPKM，每千个碱基的转录每百万映射读取的片段。

图 6 两组痛风急性期患者全血基因 FPKM 密度分布图

Figure 6 FPKM density distribution of whole blood genes in the two groups of patients in acute gout

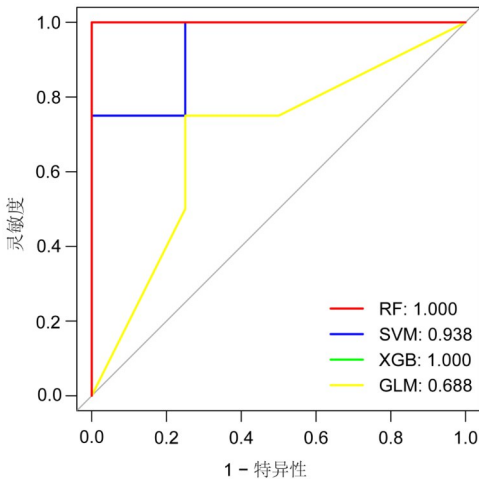
3.4.3 筛选特征基因构建机器学习模型 通过 WGCNA 中 264 个午夜蓝模块基因和差异基因的交集，我们鉴定出 39 个特征基因，并进行 GO 和 KEGG 富集分析（附图 6，扫描本文二维码获取），结果表明特征基因与脂质代谢密切相关。我们构建了四种机器学习模型，包括 SVM、RF、XGB 和 GLM，以发现具有诊断意义的聚类特异性基因。其中，RF 和 XGB 模型显示出相对较低的残差值。进行了 5 倍交叉验证，以估算 ROC 曲线下的面积。此外，还评估了每种机器学习模型的判别有效性。RF 模



注：ME 表示模块的特征基因。
图 7 两组痛风急性期患者全血模块特征基因与临床特征的相关性热图

Figure 7 Heatmap of correlation between whole blood module characteristic genes and clinical features in the two groups of patients in acute gout

型曲线和与 XGB 模型曲线重合，ROC 曲线下的面积最高，为 1.000（图 8）。结合残差值和 ROC 曲线，RF 被选为识别湿热毒蕴证中不同簇的最佳模型。最后，从 RF 模型中选出前 5 个关键基因，包括载脂蛋白 B 受体 (*APOBR*)、远上游元件结合蛋白 2 (*KHSRP*)、POU 结构域 2 类转录因子 2 (*POU2F2*)、EH 结构域蛋白 1 (*EHD1*)、家族序列相似性 110A (*FAM110A*)，作为预测基因进行进一步分析。



注：RF，随机森林模型；SVM，支持向量机模型；GLM，广义线性模型；XGB，极限梯度提升模型。

图 8 两组痛风急性期患者全血特征基因构建的四种机器学习模型受试者工作特征曲线分析

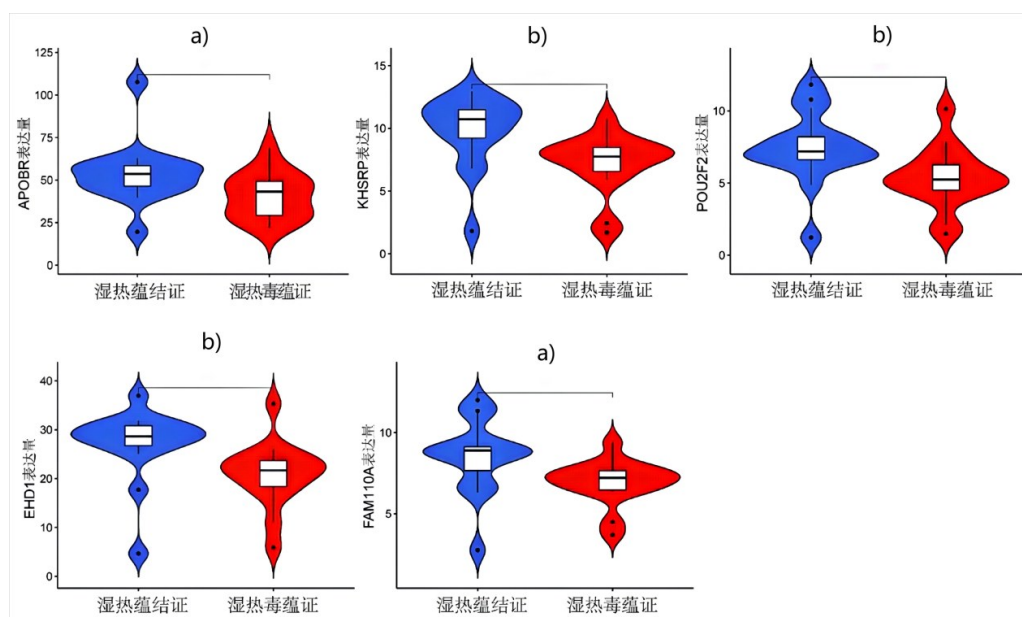
Figure 8 Receiver operating characteristic (ROC) analysis of four machine learning models constructed with the whole blood characteristic genes in the two groups of patients in acute gout

3.4.4 关键基因的验证 我们构建了一个列线图来计算 5 个基因波动对湿热毒蕴证患者痛风发作的风险,以评估 RF 机器学习模型的预测有效性。校准曲线的结果表明,预期风险和湿热毒蕴证集群风险之间存在适度误差。DCA 结果也证明了列线图的准确性。然后在数据集中计算了 RF 模型的 AUC 值为 0.858, 95%CI: 0.606~0.987, 说明 RF 模型能够有效地区分湿热毒蕴证与湿热蕴结证痛风急性期患者。*APOBR*、*KHSRP*、*POU2F2*、*EHD1*、*FAM110A* 的 AUC 值分别为 0.738、0.813、0.791、0.827 和 0.758, 均表现出良好的诊断性能 ($AUC > 0.700$)。我们构建了 5 个基因的 PPI 网络 (附图 7, 扫描本文二维码获取), 发现 5 个基因主要在 snoRNA 修饰和代谢途径富集。图 9 示, 与湿热蕴结证患者比较, 湿热毒蕴证患者中 5 个基因的表达均显著降低 ($P < 0.05$)。

4 讨论

多组学联合分析在发现疾病特征和生物标志物方面具有独特优势,其通过整合多种数据源 (如基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学等),更全面地理解疾病的发病机制、诊断和预后标志物,帮助揭示复杂疾病的分子基础,提高个性化医

疗的精确性和治疗效果^[13]。中医学认为,痹病为正气不足,外邪乘虚而入,迁延日久,酿生痰瘀热毒,致使气血痹塞不通,经络筋骨失于濡养,遂见肢体疼痛、肿胀、麻木、拘挛僵直诸症。其特点为病势缠绵,迁延难愈。痛风急性期以湿热毒蕴证和湿热蕴结证多见^[2, 11]。湿热蕴结证病机为先天禀赋薄弱,脾肾失调,水湿内停,湿郁化热,加之嗜食肥甘厚腻和酗酒,损伤脾胃,脾失健运,水谷不能化为精微物质反化为湿,湿郁久化热,湿热相搏,流注肢节,血行涩滞,遂表现为红肿热痛^[3]。毒痹论认为,湿热毒蕴证与湿热蕴结证的病机区别在“毒”,毒邪者,或为先天伏毒,或外感毒邪,也可由脏腑功能障碍或由湿浊痰瘀等病理产物转化为毒。毒邪可随先天肾精潜伏于子代体内,触之诱因而发;亦可由湿热交蒸,蕴酿成毒,流注经络,侵蚀骨节,戕害脏腑,暗耗正气,蕴结盘踞,病情缠绵难治,也可发为他病。湿热毒蕴证临床表现除了有湿热蕴结证的临床表现关节红肿热痛外,还有关节疼痛剧烈且持续不解,频繁发作,缠绵难愈,病情顽固,病期迁延漫长,诱发并发症。因此,本研究采用多组学联合分析的方法,探究痛风急性期湿热毒蕴证和湿热蕴结证的生物学特征差异。



注: *APOBR*: 载脂蛋白 B 受体; *KHSRP*: 远上游元件结合蛋白 2; *POU2F2*: POU 结构域 2 类转录因子 2; *EHD1*: EH 结构域蛋白 1; *FAM110A*: 家族序列相似性 110A。

a) 与湿热蕴结证比较, $P < 0.05$; b) 与湿热蕴结证比较, $P < 0.01$ 。

图 9 两组痛风急性期患者全血 5 个关键基因表达量比较

Figure 9 Comparison of expression levels of five key genes in whole blood between the two groups of patients in acute gout

联合多组学分析发现,在代谢组研究中痛风急性期湿热毒蕴证相对湿热蕴结证脂类和类脂分子具有显著差异,并在差异代谢物中占据主要部分。在蛋白组研究中,APOB 的差异表达倍数最高;通过转录组筛选出 5 个生物标志物,APOBR 也是其中之一。APOB 是一种与脂质代谢密切相关的蛋白质,通过与其特定的受体结合而被细胞摄取,它在肝脏合成后与脂质分子结合,形成一种特定的脂蛋白,如低密度脂蛋白(LDL)^[14-15]。最新研究^[16]表明,当 APOB 水平升高超过 100 mg/dl 时,女性和男性的动脉粥样硬化性心血管疾病风险分别增加 75% 和 52%。APOB 通过参与 LDL 及其他富含胆固醇颗粒的代谢途径,促进脂质在动脉壁的沉积,从而诱发动脉粥样硬化^[17]。在沉积的过程中,APOB-低密度脂蛋白(LDL)颗粒易发生氧化,形成氧化低密度脂蛋白,该过程引发了局部炎症反应,吸引巨噬细胞浸润并吞噬大量的氧化脂质,转化为泡沫细胞,进一步促成脂质斑块的形成^[18-19]。此外,高水平的 APOB 会损害血管内皮功能,降低其抗血栓和抗炎功能,导致血管内皮对单核细胞和血小板的黏附增加,加速斑块的形成^[18]。本研究中,与湿热蕴结证相比,痛风急性期湿热毒蕴证患者 APOB 蛋白水平显著升高,而 APOBR mRNA 表达量显著降低。这可能是因为 APOBR 会导致机体摄取 APOB 的能力下降,引起血液中 APOB 含量升高,进而导致痛风急性期患者形成湿热毒蕴证,增加患动脉粥样硬化等心血管疾病的风险。正如中医学认为,湿热毒邪客于脉道,则血脉滞涩,血凝为瘀,痹阻心脉,发为胸痹,阻于脑络,发为中风^[2]。

在各个组学的分析中,脂质代谢在痛风急性期湿热毒蕴证中占据着重要地位。研究显示,痛风患者的脂质水平明显高于健康人群^[20],而高脂血症可以促进痛风的发生发展^[21]。脂质代谢在决定血清尿酸盐水平方面起着核心作用,在痛风的发生和发展过程中扮演着重要角色^[22]。脂质代谢异常状态与炎症反应及细胞内氧化应激反应密切相关,可能导致低级别的慢性炎症状态,加剧尿酸结晶的沉积和炎症反应,进一步加重痛风的病理进程^[23-24]。另外,炎症介质如白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6 (IL-6) 等不仅促进尿酸结晶的形成,还可导致关节和软组织的炎症反应,加重痛风的症状和损害^[25]。

综上所述,痛风急性期湿热毒蕴证与脂质代谢尤其是 APOB 密切相关,脂质代谢紊乱影响尿酸在

体内的代谢,加剧尿酸结晶的沉积和炎症反应,促进痛风急性期患者形成湿热毒蕴证,进而阐释了“毒痹论”的内涵。本研究对痛风急性期湿热毒蕴证和湿热蕴结证的生物学特征进行了初步探索,但由于样本量较少,研究结果的准确性和特异性仍有待进一步验证。目前,痛风中医证型的生物学特征研究不足,后续会继续开展微观、宏观指标在体系内的有效整合,逐步建立起病证结合,微观、宏观结合,方证相应的痛风辨证论治体系。

参考文献

- [1] DALBETH N, GOSLING AL, GAFFO A, et al. Gout[J]. Lancet, 2021, 397(10287): 1843-1855.
- [2] 中国中西医结合学会风湿类疾病专业委员会. 痛风及高尿酸血症中西医结合诊疗指南[J]. 中医杂志, 2023, 64(1): 98-106.
- [3] 刘维, 卡玉秀. 基于“固本清源”分期诊治痛风[J]. 中医杂志, 2024, 65(18): 1938-1942.
- [4] SUNDY JS, BARAF HS, YOOD RA, et al. Efficacy and tolerability of pegloticase for the treatment of chronic gout in patients refractory to conventional treatment: two randomized controlled trials [J]. JAMA, 2011, 306(7): 711-720.
- [5] 刘维. 毒痹论[J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13(1): 15.
- [6] 刘维, 于海浩, 吴沅峰. 毒痹论续[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(3): 718-721.
- [7] LOWE R, SHIRLEY N, BLEACKLEY M, et al. Transcriptomics technologies[J]. PLoS Comput Biol, 2017, 13(5): e1005457.
- [8] HANASH S. Disease proteomics [J]. Nature, 2003, 422(6928): 226-232.
- [9] JANG C, CHEN L, RABINOWITZ JD. Metabolomics and isotope tracing[J]. Cell, 2018, 173(4): 822-837.
- [10] NEOGI T, JANSEN TL, DALBETH N, et al. 2015 gout classification criteria: an American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism collaborative initiative [J]. Arthritis Rheumatol, 2015, 67(10): 2557-2568.
- [11] 中华中医药学会风湿病分会. 痛风和高尿酸血症病证结合诊疗指南[J]. 中医杂志, 2021, 62(14): 1276-1288.
- [12] LANGFELDER P, HORVATH S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis [J]. BMC bioinformatics, 2008, 9: 559. doi: 10.1186/1471-2105-9-559.

- [13] HASIN Y, SELDIN M, LUSIS A. Multi-omics approaches to disease[J]. *Genome Biol*, 2017, 18(1): 83.
- [14] GOLDSTEIN JL, BROWN MS. The LDL receptor [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(4): 431–438.
- [15] SNIDERMAN AD, CIANFLONE K. Substrate delivery as a determinant of hepatic ApoB secretion [J]. *Arterioscler Thromb*, 1993, 13(5): 629–636.
- [16] JOHANNESSEN CDL, LANGSTED A, NORDESTGAARD BG, et al. Excess Apolipoprotein B and cardiovascular risk in women and men [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2024, 83(23): 2262–2273.
- [17] SON M, SEO J, YANG S. Association between dyslipidemia and serum uric acid levels in Korean adults: Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2016–2017 [J]. *PLoS One*, 2020, 15(2): e0228684.
- [18] MEHTA A, SHAPIRO MD. Apolipoproteins in vascular biology and atherosclerotic disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2022, 19(3): 168–179.
- [19] GOFMAN JW, LINDGREN F. The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis [J]. *Science*, 1950, 111(2877): 166–171.
- [20] BOWDEN RG, SHELMADINE BD, MOREILLON JJ, et al. Effects of uric acid on lipid levels in CKD patients in a randomized controlled trial [J]. *Cardiol Res*, 2013, 4(2): 56–63.
- [21] BAJPAI R, MULLER S, MALLIN C, et al. Onset of comorbidities and flare patterns within pre-existing morbidity clusters in people with gout: 5-year primary care cohort study [J]. *Rheumatology (Oxford, England)*, 2021, 61(1): 407–412.
- [22] BEVIS M, BLAGOJEVIC-BUCKNALL M, MALLIN C, et al. Comorbidity clusters in people with gout: an observational cohort study with linked medical record review [J]. *Rheumatol*, 2018, 57(8): 1358–1363.
- [23] HUANG PL. A comprehensive definition for metabolic syndrome [J]. *Dis Model Mech*, 2009, 2(5/6): 231–237.
- [24] FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ A, MADRIGAL-SANTILLÁN E, BAUTISTA M, et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity [J]. *Int Mol Sci*, 2011, 12(5): 3117–3132.
- [25] DALBETH N, MERRIMAN T. Crystal ball gazing: new therapeutic targets for hyperuricaemia and gout [J]. *Rheumatol*, 2009, 48(3): 222–226.

A Multi-Omics Study on the Differences in Blood Biological Characteristics between Acute Gout Patients with Damp-Heat Toxin Accumulation Syndrome and Damp-Heat Accumulation Syndrome

LIU Wei^{1,2}, WEI Bowen^{1,2}, LU Hang^{1,2}, KA Yuxiu^{1,2}, WANG Wen^{1,2}

1. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin, 300193; 2. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion

ABSTRACT Objective To combine metabolomics, proteomics, and transcriptomics to analyze the biological characteristics of damp-heat toxin accumulation syndrome and damp-heat accumulation syndrome in acute gout.

Methods Blood samples were collected from 15 patients with damp-heat toxin accumulation syndrome and 15 patients with damp-heat accumulation syndrome in acute gout in clinical practice. Metabolomics technology was applied to detect serum metabolites, and an orthogonal partial sample least squares discriminant analysis model was constructed to screen for metabolites with significant intergroup changes, and enrichment pathway analysis and receiver operating characteristic (ROC) curve analysis were performed. Astral data independence acquisition (DIA) was used to detect serum proteins, perform principal component analysis and screen differential proteins, demonstrate differential ploidy by radargram, apply subcellular localisation to analyse protein sources, and finally apply weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) to find key proteins. Transcriptome sequencing technology was also applied to detect whole blood mRNA, screen differential genes and perform WGCNA, and construct machine learning models to screen key genes. **Results** Metabolome differential analysis revealed 62 differential metabolites in positive ion mode and 26 in negative ion mode. These differential metabolites were mainly enriched in the mTOR signaling pathway and FoxO signaling pathway, with trans-3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamaldehyde, guanabenz, 4-aminophenyl-1-thio-beta-d-galactopyranoside showing the highest diagnostic efficacy. The proteome differential analysis found that 55 proteins up-regulated and 20 proteins down-regulated in the samples of damp-heat toxin accumulation syndrome. Notably, myelin basic protein (MBP), transferrin (TF), DKFZp686N02209, and apolipoprotein B (APOB) showed the most significant differences in expression. Differential proteins were mainly enriched in pathways related to fat digestion and absorption, lipid and atherosclerosis, and cholesterol metabolism. WGCNA showed the highest correla-

tion between damp-heat toxin accumulation syndrome and the brown module, with proteins in this module primarily enriched in the hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) signaling pathway and lipid and atherosclerosis. Transcriptomic differential analysis identified 252 differentially expressed genes, with WGCNA indicating the highest correlation between damp-heat toxin accumulation syndrome and the midnight blue module. The random forest (RF) model was identified as the optimal machine learning model, predicting apolipoprotein B receptor (*APOBR*), far upstream element-binding protein 2 (*KHSRP*), POU domain class 2 transcription factor 2 (*POU2F2*), EH domain-containing protein 1 (*EHD1*), and family with sequence similarity 110A (*FAM110A*) as key genes. Integrated multi-omics analysis suggested that damp-heat toxin accumulation syndrome in the acute phase of gout is closely associated with lipid metabolism, particularly APOB. **Conclusion** Compared to damp-heat accumulation syndrome in the acute phase of gout, damp-heat toxin accumulation syndrome is more closely associated with lipid metabolism, particularly APOB, and lipid metabolism disorders contribute to the development of damp-heat toxin accumulation syndrome in patients with acute gout.

Keywords gout; damp-heat toxin accumulation syndrome; damp-heat accumulation syndrome; metabolomics; proteomics; transcriptomics; lipid metabolism; apolipoprotein B

(收稿日期: 2024-11-20; 修回日期: 2024-12-28)

[编辑: 邓媛]

(上接第 467 页)

- [30] LI WJ, WANG KX, LIU YD, et al. A novel drug combination of mangiferin and cinnamic acid alleviates rheumatoid arthritis by inhibiting TLR4/NFκB/NLRP3 activation-induced pyroptosis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 912933. doi: 10.3389/fimmu.2022.912933.
- [31] 陈姗姗, 赵迪, 马坤, 等. 小议“治风先治血, 血行风自灭”理论[J]. *风湿病与关节炎*, 2020, 9(12): 43-45, 49.
- [32] 姜泉. “体脏合痹”理论内涵及其在风湿免疫病防治中的应用思路[J]. *中医杂志*, 2024, 65(16): 1656-1661.
- [33] 王红, 刘振华, 刘小静, 等. 双合汤联合甲氨蝶呤治疗痰瘀痹阻证类风湿关节炎临床疗效观察[J]. *现代中*

药研究与实践, 2023, 37(4): 85-88.

- [34] 齐庆, 孙蓬远, 许诺, 等. 基于 NLRP3 介导的细胞焦亡探讨痹通方含药血清对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞损伤的保护作用及机制[J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(10): 44-47.
- [35] 陈锴, 程雪珍, 肖晓玲. 独活寄生汤加味治疗类风湿关节炎临床研究[J]. *中西医结合研究*, 2024, 16(3): 160-163, 172.
- [36] 彭程, 高明利, 于静, 等. 基于 NLRP3/caspase-1 信号通路影响软骨细胞焦亡探讨独活寄生汤干预类风湿关节炎作用机制[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2021, 23(9): 32-36.

Exploring the Correlation between Pyroptosis and Immune Microenvironment Dysregulation in Rheumatoid Arthritis from the Perspective of "Ying Decline and Wei Attack"

LI Yancun, ZHU Shu, WANG Yuhan, QU Yuan, LIU Yuan, JIANG Ping

Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, 250355

ABSTRACT As a complex autoimmune disease, rheumatoid arthritis (RA) involves immune microenvironment dysregulation resulting from excessive activation of pyroptosis, which is a crucial factor in disease progression. Based on the theory of *ying-wei* in traditional Chinese medicine, "*ying* decline and *wei* attack" is considered the fundamental pathogenesis of RA. Pyroptosis serves as a microscopic manifestation of this concept, suggesting a potential correlation among "*ying* decline and *wei* attack", pyroptosis and immune microenvironment dysregulation in RA. Accordingly, treatment principles based on this theory are proposed, in the early stage of the disease, boosting *wei* to consolidate the exterior, and regulating *ying* to dispel pathogens; while in the middle and late stages, harmonizing *ying* to remove stagnation, and nourishing its transformational source.

Keywords rheumatoid arthritis; pyroptosis; immune microenvironment; *ying* decline and *wei* attack

(收稿日期: 2024-08-14; 修回日期: 2024-09-08)

[编辑: 王利芬]