

· 学术探讨 ·

基因多态性与中医辨证关系研究的回顾与思考^{*}陈 鹏[△]

基因多态性是指一种基因在人群中至少有 2 种表型,出现频度均 $>1\%$,它反映了进化过程中基因组与内、外环境相互作用的结果,是不同个体生物学形状和对疾病的易感性差别的原因。对基因多态性的认识,使现代医学走向个体化诊断和治疗,这与中医学根据证候的不同而辨证论治有相似之处。近年来学者们进行了基因多态性与中医辨证方面的探索性研究,本文拟对其研究现状进行分析,并提出一些理论问题。

理论基础

中医学很早就认识到体质的差异所导致的病症的易感性和多样性。《灵枢·五变》篇中黄帝询问“一时遇风,同时得病,其病各异”的原因,少俞以“木之阴阳,尚有坚脆……坚者则刚,脆者易伤,况其材木之不同,皮之厚薄,汁之多少,而各异耶”的类比法作为解答:“夫木之早花先生叶者,遇春霜烈风,则花落而叶萎,久曝大旱,则脆木薄皮者,枝条枝少而叶萎,久阴淫雨,则皮薄多汁者,皮溃而漉,卒风暴起,则刚脆之木,枝折机伤,秋霜疾风,则刚脆之木根摇而叶落,凡此五者,各有所伤,况于人乎!”《医宗金鉴》也认为:“人感受邪气之一,因其形藏不同,或从寒化,或从热化,或从实化,故多端不齐也。”由于对“邪气”难以深入区分,中医学更注重机体反应性的差异所造成的症状体征的不同,中医辨证论治方法,就是在观察到相同疾病,不同的临床表现、病程经过和预后以及相同药物不同疗效等现象的基础上建立起来的。

事实上,无论东西方,认识疾病都是在对貌似相同的症状、体征不断地区分和细化的过程中发展起来的。西方医学在实证论、还原论思想指导下充分借用理化手段,使疾病的种类大大丰富了,对很多疾病本质的认识也得到了长足的进步。反观中医学的“同病异治、异病同治”中的同病,现在看来许多已并非同病,异病也并非异病,这是西方医学对人类文明的贡献。那么,中医今天存在的意义何在呢?

现代医学发展至今,在疾病种类已增加到数万种

的时候,依然发现,许多疾病在不同的个体具有多样的临床表现,不同的个体之间对药物的反应也有着明显差异,在检测人体内一些活性物质时,也会发现不同个体之间其水平存在显著差异。目前所认为的相同病种仍存在明显的异质性,如原发性高血压的低肾素和高肾素型之分,糖尿病控制及并发症试验(DCCT)^[1]结果中有 26% 的患者尽管得到良好血糖控制,仍然尿蛋白排泄率升高,相反,许多患者尽管多年血糖水平控制不佳,却不发生糖尿病肾病。

明确疾病异质性的原因是临床医学走向个体化必经之路。中医辨证大多依据并非疾病特异性的症状、体征,以前多为西医所忽视,而恰恰由于其整体性而非疾病特异性的特点,却可能成为探索这种疾病异质性的线索。因为这种具有整体性的症状、体征常常反映了患者的体质,而先天秉赋与遗传是决定与影响体质形成和发展的内在重要因素^[2],分子生物学的发展已使我们认识到人类基因组的变异,即以点突变、插入、缺失及不同数目串联重复等不同形式的基因多态性是造成上述种种千差万别的重要原因,可以推测体质与基因多态性有着密切的关系,体质又是证候形成的基础,体质与证之间存在着固有的相属性、潜在相关性、从化相应性^[3],证候必然带有各自体质的特点,而且目前对体质与证候的诊断方法都是中医学传统的望、闻、问、切方法,体质诊断标准较证候更难以确定;按目前中医学的认识水平,质是以证的形式表现出来的^[4],通过研究基因多态性与某些证候的关系,将可能揭示证候及体质的部分科学内涵。

开展基因多态性与证候相关性研究有一个必须回答的问题:就个体而言,基因型是相对恒定的,而证候的表现一般认为是可变的,其关联性似乎难以得出肯定的结论。诚然,对于外感病,以邪实为主,证型变化比较迅速,但对于内伤病,则证型变化较慢,而且这种变化仍是有一定规律的,如高血压病肝火上炎证可能转变为肝阳上亢,继而肝肾阴虚,但不太可能转化为痰浊上扰证,因为肝火、痰浊与患者体质有关。需要指出的是,基因多态性与证候的关系研究并不能解决证候本质的一切问题,并非所有证候都与基因多态性有关。笔者认为,仅是那些与体质有着较密切关系的证候方适于进行此类研究,因为很多证候的动态改变与基因

^{*} 江苏省徐州市科技局资助课题(No. X2002033)

江苏省徐州市中医院(江苏 221009)

[△]现在上海中医药大学龙华临床医学院(上海 200032)

E-mail: chenpeng42@etang.com

多态性关系不大,而是由于基因表达在质与量上的变化,但是基因多态性为基因表达提供了遗传背景,并通过影响基因的表达调控而发挥作用。例如个体内血浆血管紧张素转换酶(angiotensin convert enzyme, ACE)水平稳定,测定重复性好,而个体间差异大,可达 5 倍,ACE 基因插入(I)或缺失(D)多态性 II、ID、DD 3 种基因型平均血浆 ACE 水平分别为 299、393、494 $\mu\text{g/L}$ ^[5]。有人^[6]从系统性红斑狼疮阴虚化热的病机观出发,认为其阴虚体质也许是一套关联的易感基因,应找出阴虚体质者在人类白细胞抗原(human leucocyte antigen, HLA)各亚区中的相关基因,分析其连锁规律。研究证候的易感基因只是起点,具体影响机制仍须从基因表达、蛋白质翻译水平去探究。

研究回顾

迄今发表的证型(包括体质)与基因多态性关系的临床对照性研究论文仅有 7 篇,如孙伟正等^[7]将 40 例慢性再生障碍性贫血(简称慢性再障)患者分为肾阴虚和肾阳虚两型,分别采用微量淋巴细胞毒和聚合酶链式反应序列特异性引物(PCR-SSP)方法检测了 HLA-I 类基因和 HLA-DQB1* 基因多态性,认为 HLA-C₁ 基因可能为肾阴虚型慢性再障易感基因的标志基因,或者是易感基因本身或其一部分,HLA-A₃₀(也许还有 A₁₀)则可能为肾阳虚型慢性再障易感基因的标志基因,或者是易感基因本身或其一部分。肾阳虚者 HLA-DQB1* 0201 基因频率明显高于健康人对照组,提示可能为汉族人慢性再障肾阳虚型的易感基因之一。这一研究结果表明:不同证型的 HLA 遗传背景也不相同,不同个体对疾病易感性的差异在很大程度上是由遗传因素所决定的。

李宜瑞等^[8]根据注意缺陷多动障碍与多巴胺 D₂ 受体 TaqI A₁ 等基因关系的报道,研究了本病及中医辨证分型与此基因多态性的相关性,选择临床最常见的肾虚肝阳上亢和心脾两虚型患儿共 46 例,采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法,以 30 例健康城市儿童为对照,发现 A₁ 等位基因与肾虚肝阳上亢证关系极为密切($P=0.000122$),心脾不足证则与健康人对照组间差异无显著性,提示这两种证候的发病机理在基因水平上并不相同。谌兵来等^[9]选择 74 例肝阳上亢和肝肾阴虚的高血压患者,并与 23 例健康人作对照,应用聚合酶链式反应,即单链构象多态性(PCR-SSCP)方法对酪氨酸羟化酶基因 D11S4046、单胺氧化酶基因 DXS6810、DXS993 三种微卫星多态性进行了检测,发现肝阳上亢证酪氨酸羟化酶基因中 A₁ 型明显高于健康人对照组及肝肾阴虚

组,认为所导致的血浆去甲肾上腺素和肾上腺素含量的改变可能是肝阳上亢证分子机理之一。安胜军等^[10]从 2 500 名中选取了长期居住在石家庄市的不同年龄段绝经后女性 246 例,测其腰椎、股骨骨密度,分为肾阴虚、肾阳虚、阴阳俱虚以及不确定型,检测其 Pvu II 和 Xba I 的 RFLP 部位,与女性绝经后骨质疏松症证型关系的研究表明 PP_{xx} 基因型骨密度 Z-score 明显低于其他基因型,辨证属阴阳两虚。杨斌等^[11]应用 PCR-RFLP 技术研究了 90 例 Wilson 病的 ATP7B 基因的高频突变位点 Arg778Leu/Gln 与中医证型的相关性,发现此点突变者多见于肝风内动型,而与痰湿内阻、气血两虚型无明显相关。成玉斌等^[12]把 240 例非胰岛素依赖型糖尿病肾病患者分为肾虚和非肾虚两组,分析其 ACE 基因多态性与肾虚证的关系,发现肾虚患者的 ACE DD 型和 D 等位基因的携带率明显增高,且肾阳虚 DD 型明显高于肾阴虚证。沈乃莹等^[13]采用 PCR-SSP 方法对急性脑梗塞阴虚、阳虚、气虚、痰湿及血瘀体质患者共 103 例及正常体质对照组 99 例进行 HLA-DQA1 等位基因分型,提示 HLA-DDA1* 0501 基因与阴虚体质相关联,HLA-DDA1* 0301 基因与气虚、痰湿及血瘀体质相关联。

这些研究有以下特点(1)研究方法:均采用病例对照研究的关联分析方法,这是由于研究对象多为多基因遗传病,连锁不平衡分析相对于连锁分析更易找到只有很弱效应的基因,且多基因遗传病家系较难寻找。(2)诊断标准:多采用会议、教材所定证型标准(包括体质标准),但这些标准常常是罗列一系列症状,并未给出诊断条件,是根据古今经验而非根据证候的流行病学调查制定,缺乏客观性和可操作性,对于证候的客观化研究无疑是非常不利的,关乎成败,希望不断深入开展特定疾病证候的大规模流行病学调查,以得出可靠的诊断标准。(3)病种多样,互不相关:目前现代医学对一种疾病与某一基因多态性位点的同类报道甚多,阴性和阳性结论错杂,考虑到遗传多样性与种族、地区、性别的诸多联系,如要得出确切结论,应有较大样本,多基因遗传病涉及基因既多,其多态性位点更多,目前方法纯属试错,很难一步就找到与证候有关的特异多态性位点,应允许阴性报道,才能保证结果的可信性。

笔者有一点设想:现代医学关于疾病与基因多态性研究的报道常结论不一,原因除了种族、地区等差异外,可能与多基因遗传病的异质性有关,也就是说,构成某种疾病的人群一部分与某些基因关系较密,一部分则与另一些基因关系较密,被研究者不加选择的纳入,而其所占比例在不同研究各不相同,因此不易找到

其联系,现代医学也试图进行选择,如按照性别、年龄分别统计,但“中医因时、因地、因人制宜加上反映病因、性状、部位、范围、动态等要素的临床表型要比西医‘病’的临床表型内容丰富的多^[14]”,这种异质性可能与某些证型的易感性相关,我们按中医证候从宏观先对病例进行选择,如能发现结果与不加选择纳入时明显不同,则不但有助于发现中医证候的物质基础,以现代科学语言明确体质这一古老概念的实质,且对西医也会有所启迪。

总之,随着基因组学研究的进展,不少学者认识到研究中医理论必须与基因组学相结合,倡言建立基因表达谱^[15]和基因辨证理论^[16],笔者认为对此尚应冷静对待。由于存在基因的多效性和遗传的异质性,基因型与表现型(证候也是一种表现型)的关系并不是一一对应的;“基因决定的最初产物与末端产物(表型)之间还存在有很多生理、病理生理过程及其相应的生化反应^[14]”。鉴于功能基因组学尚在草创阶段,目前对基因型如何影响表现型的机理多不清楚,加之如何选择证的相关细胞难度很大^[17],建立基因表达谱的时机还不成熟。目前进行与体质关系较为密切的证候与基因多态性的探索性研究看来是符合中医理论的,且与现有的研究水平相适应,也取得了一些成果,但应扩大样本,更能令人信服。

参 考 文 献

- 1 The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977—986.
- 2 王琦.中医体质学说的研究现状与展望. *山东中医学院学报* 1994;18(2):74.
- 3 颜德馨.中医辨证思维与临床诊疗决策之优化. *上海中医药杂志* 2000;34(5):4.
- 4 张伟荣,张庆彝.略论体质病理学的基因研究. *中国中医基*

础医学杂志 2002;8(2):103—104.

- 5 Agerholm-Larsen B, Tybjaerg-Hansen A, Schnohr P, et al. Atherosclerosis, ACE gene polymorphism explains 30~40% of variability in serum ACE activity in both women and men in the population at large: the Copenhagen City Heart Study. *Atherosclerosis* 1999;147(2):425—427.
- 6 钟嘉熙,吴智兵.阴虚化热对系统性红斑狼疮发病机制研究的启示. *中国中医基础医学杂志* 1999;3(6):30—33.
- 7 孙伟正,王春梅,庞爱明,等.慢性再生障碍性贫血中医辨证与 HLA 基因相关性研究. *中国医药学报* 2002;17(3):167—169.
- 8 李宜瑞,陈晓刚,李迎敏,等.不同证候的注意缺陷多动障碍患儿多巴胺 D₂ 受体基因携带情况检测. *广州中医药大学学报* 1999;16(1):17—20.
- 9 谌兵来,唐发清,金益强,等.高血压病肝阳上亢证酪氨酸羟化酶及单胺氧化酶微卫星多态性分析. *湖南中医学院学报* 2001;20(1):37—38.
- 10 安胜军,李恩,佟晓旭,等.雌激素受体基因多态性与女性绝经后骨质疏松症中医辨证分型关系的研究. *中国中西医结合杂志* 2000;20(12):907—910.
- 11 杨斌,胡纪源,洪铭范,等.中国人 Wilson 病 ATP7B 基因 Arg778Leu/Gln 点突变与中医证型的相关性研究. *中国中西医结合杂志* 2002;22(4):280—282.
- 12 成玉斌,罗仁,薛耀明,等.肾虚型糖尿病肾病与 ACE 基因多态性相关研究. *中国中医基础医学杂志* 2002;8(5):349—350,353.
- 13 沈乃莹,阎征,金宇安,等. HLA-DQA1 等位基因与急性脑梗塞多种中医体质类型的相关性研究. *中医杂志* 2001;42(4):237—238.
- 14 侯灿.后基因组时代的统一医药学. *中国中西医结合杂志* 2002;22(1):5—7.
- 15 孙德利,舒琦瑾.基因表达谱在中医药研究中的意义. *中国中医药信息杂志* 2002;8(1):7—10.
- 16 安胜军,李恩. DNA——中西医结合的根本点——谈基因辨证. *医学与哲学* 2000;21(6):38—39.
- 17 李杰芬.基因组学发展对中医证实质研究的启示. *上海中医药杂志* 2001;2(2):11—13.

(收稿 2003-06-06 修回 2003-07-23)

· 消 息 ·

由中国中西医结合学会和北京中研华健医学研究中心联合推出的全国中西医结合肝病防治“星河工程”于 2003 年 8 月 23—29 日在京启动。该工程是一项公益性事业,以“国家、社会、荣誉、责任”为宗旨,以“普及、提高、交流、协作”为主题,以“科学性、公益性、专业性、权威性”为特征,计划用 5 年左右的时间有选择地重点支持扶植全国 10 家 A 级、百家 B 级、千家 C 级中西医结合肝病防治中心(专科)的建设,开展多层次、多形式的交流,为全国各医疗机构培训 1 万名中西医结合肝病临床医生,编印《病毒性肝炎防治科普宣传画册》10 万份、《病毒性肝炎防治科普知识手册》100 万册。

与“星河工程”启动的同时,还举办了该工程的首次全国中西医结合肝病防治高级研修班,邀请国内知名肝病专家王宝恩、郭雁宾、汪承柏、钱英、王贵强、陈立华、贾继东等教授讲课。学员们认为此次研修班的内容反映了国内肝病中西医的防治的最新水平,收获很大。

万方数据

(陈佳)