

· 中西医结合医学家 ·

# 中医证候研究:从疾病证候分类到 临床疗效评价和组合药物研发

吕爱平

**摘要** 证候作为中医基础理论的核心,其重要作用是诊断分类,指导临床遣方用药。将证候分类理论与现代医学疾病诊断进行融合,可望改变临床诊断模式,对患者进行更加精细的中西医结合医学分类,从而促进个体化医疗的发展。笔者以类风湿关节炎及其典型证候作为切入点,应用系统生物学方法,遵循循证医学理念,探索疾病证候分类的科学基础,并在此基础上开展中医药临床疗效评价研究和基于中药复方理念的组合物药开发研究,形成了一些可供参考的研究思路和方法。

**关键词** 证候分类;类风湿关节炎;组合物药;疾病诊断;循证医学

Zheng Classification in Chinese Medicine: from Its Integration with Disease Diagnosis to Clinical Effectiveness Assessment and Combinational New Drug Discovery LV Ai-ping School of Chinese Medicine, Hong Kong Baptist University, Hong Kong

**ABSTRACT** As the core of traditional Chinese medicine theory, Zheng (syndrome, or pattern) classification will promote personalized medicine by changing the clinical diagnosis into a more precise mode when integrating Zheng classification with disease diagnosis approaches. The author adopted rheumatoid arthritis (RA) as a disease model, to explore the scientific fundamentals of Zheng classification based on disease diagnosis using systemic biological approaches and evidence-based medicine design, as well as developed novel approaches on the methodology of clinical effectiveness evaluation on Chinese medicine and R&D of combinational drugs design based on Fu Fang (Chinese herbal formula). Some unique research design and methods are herein introduced.

**KEYWORDS** Zheng classification; rheumatoid arthritis; combinational drug; diagnosis; evidence-based medicine



吕爱平教授

中西医结合医学是我国为数不多有可能引领世界科学潮流的学科门类之一。证候作为中医基础理论的核心,尤其是作为疾病分类方法在指导临床治疗方面的重要作用及其生物学标志研究均已获得国际学术界重视。其与现代医学疾病诊断的融合将有可能改变生物医学的诊断

治疗<sup>[1]</sup>。

然而,面临现代科学的迅速发展及循证医学时代的要求,证候研究仍然面对前所未有严峻的挑战:证候分类深层机制不清、证候疗效循证证据不足、有效且契合证候分类理论的疗效评价方法缺少,使中医证候分类的原理及作用难以得到公认与凸显,更加限制了证候疗效的客观评价以及相关成果的转化开发研究。

基于以往研究成果,选择具有良好前期工作基础的疾病及其典型证候作为切入点,应用系统生物学方法,遵循循证医学理念,开展疾病证候分类原理研究;并在此基础上进行中医药临床疗效评价和组合物药开发研究,是深化目前证候研究的当务之急。

1 基于重大疑难疾病类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)及其典型证候的中医证候分类系统研究基于 MESH 词表/中文关键词的中英文文献高通量综合文本挖掘技术,开展了针对疾病、证候、用药规律、现代医学

作者单位:香港浸会大学中医药学院(香港)

Tel: 852 - 34112456, E-mail: lap64067611@126.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2015. 08. 0942

检查指标等多个方面研究目标定向文本数据挖掘研究,探索不同疾病的中医证候分类规律、中医药干预措施特征以及潜在的共同生物学基础<sup>[2]</sup>。

寒热是 RA 的典型证候。选择临床 RA 典型寒证与热证患者,收集其血样,进行基因组和代谢组学检测,并运用生物信息学分析技术,对所得组学数据进行分析,探索 RA 寒热证候的系统生物学特征和相应的生物标志谱。在 RA 寒热证候基因组学研究方面,采用全基因组序列基因芯片进行检测,对比研究健康人、中医寒证和热证 RA 患者的基因组学信息差异,发现 RA 患者与健康人的基因表达存在的差异主要涉及免疫应答和信号传导生物学途径;寒热证 RA 患者之间的基因表达也存在差异,寒证与 Toll 样受体信号通路有关,而钙离子信号通路、细胞黏附分子、PPAR 信号通路以及脂肪酸代谢途径与热证相关联<sup>[3,4]</sup>。同时,按照类风湿因子(rheumatoid factor, RF)阴性和阳性、活动性和非活动性、早期和非早期等将 RA 患者划分不同特征群体,发现 RA 患者 RF 阴性和阳性之间的基因表达谱差异与寒热证候之间的基因表达差异有所不同<sup>[5]</sup>,提示中医证候分类学具有基因表达谱依据。

在 RA 寒热证候的代谢组学研究方面,采用基于超高效液相色谱-时间飞行质谱(Ultra-Performance Liquid Chromatography-Quadrupole-Time-of-Flight Mass Spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)等血浆代谢组学方法,运用多维数据分析来研究 RA 的疾病分型,发现 RA 寒热患者分子水平的差异主要在于对细胞凋亡的调节,热证患者活化细胞凋亡的 caspase8 被激活,而寒证患者的细胞凋亡通过核转录因子 E2 相关因子 2(nuclear factor-erythroid 2 related factor 2, Nrf2)途径被抑制<sup>[3]</sup>。应用基于液相色谱-质谱联用(liquid Chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS)与气相色谱-质谱联用(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)检测平台,对 RA 寒热证不同患者血浆进行分析,发现 RA 热证患者机体存在过多的胶原分解,而 RA 寒证患者机体蛋白质合成过程大于蛋白质分解<sup>[3,6,7]</sup>。这些研究分析表明,从代谢组学分析入手,能够获得 RA 中医证候分类研究的科学解析。

2 RA 证候分类和临床疗效评价 应用随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)研究的 RA 临床数据,从 RA 患者的中医症状、症状组合、舌象、药物安全性等方面信息入手开展分析,发现 RA 患者常出现且重要的 18 项主要中医症状能分别较好地反映关节局部病情以及中医证候分类中寒证、虚证、热证的证候<sup>[8,9]</sup>;分析也发现症状对 RA 患者 ACR20 疗效反应有预测性作用<sup>[8,10-13]</sup>;中、西药治疗 RA 疗效与症状之间存在一

定的相关性,将症状纳入药物治疗的适应证可提高治疗效果<sup>[14]</sup>。此外,研究发现 C 反应蛋白(C reaction protein, CRP)在 RA 寒热证候患者中存在明显差异,可作为 RA 临床寒热主观症状分类的微观指标之一。利用回归分析、神经网络分析、决策树分析等方法,对比分析有效与无效病例的中医证候信息特征,发现中医治疗方法对于虚证 RA 患者更有效,而西药组合疗法更适合与寒证 RA 患者<sup>[8,10,11,14,15]</sup>,为基于中医证候分类寻找干预方案的适应症,从而提高中医药临床疗效提供依据。此外,在对 RA 患者舌象与疗效相关性分析中发现,西药对白苔患者比黄苔患者治疗效果显示出更好的疗效,中药组则不存在这种差别;中药对灰白舌质的患者疗效较差,西药对紫色舌质或红色舌质的患者治疗效果较差<sup>[16]</sup>。在对以上临床试验的用药安全性研究中发现,头晕和较低 CRP 水平是胃肠道不良反应的危险因素,较高 IgG 水平和畏寒则是出现肝脏不良反应的危险因素;中药(雷公藤制剂为主)治疗时精神疲倦和遗尿症状是胃肠道不良反应的危险因素,四肢冷是肝脏不良反应的危险因素<sup>[17]</sup>。此外,根据 RA 寒热证候生物学网络,对比分析了中药复方和西药组合疗法的药理网络,发现干预措施的有效性与证候网络特征密切相关<sup>[18]</sup>。

以往的前瞻性的 RA RCT,结果均表明中药治疗没有西药组合疗法效果好<sup>[19]</sup>,其根本原因在于对患者选择没有进行证候分类。本团队提出开展多次临床试验通过证候信息寻找适应症是提高中医疗效、客观评价证候疗效的重要方法与基础<sup>[20,21]</sup>,并创新临床试验设计,开展基于中医证候分类的中医治疗 RA 二次临床试验研究<sup>[22]</sup>。

第一次临床研究中,开放式纳入 159 例 RA 活动期患者,应用所选中药方案进行为期 24 周的临床干预;采用多元统计分析方法得到所用中药方案对 RA 的适应证:小便清长、自汗、盗汗、口渴、舌红、苔腻、腕腹胀满;舌淡、苔白等症状与疗效呈正相关;而眩晕、苔黄、口苦、关节发热、舌紫暗、舌质暗红等症状与疗效呈负相关,形成 RA 初步诊疗指南和中成药治疗 RA 专家共识<sup>[23]</sup>。将第一次临床结果纳入第二次多中心随机西药阳性药对照的双盲双模拟临床试验研究。经过 24 周治疗后疗效分析,发现中药组和西药阳性药对照组之间 ACR20 疗效无显著性差异,说明根据适应症针对性用药,中药治疗 RA 的有效率可以得到提高,证实了中医证候分类的科学性,并验证了第一次临床试验适应症,得到中医证候分类原理指导下的中医药临床疗效评价结果,明确了中医证候分类在中医药临床疗效评价中的应起的作用;为建立国内外广泛承认、能够推广的中医药治疗风湿免疫性疾病临床诊疗指南和疗效评价方法提供了重要依据,为建立具

有中医辨证思想的临床疗效评价提供了新方法<sup>[24]</sup>。

**3 RA 相关异病同证研究** 异病同证理论是中医证候理论的重要分支和补充,对于该理论科学基础的探索将会对于证候分类理论的阐释起到有力的支撑。通过对 Pub Med 数据和基因组学数据分析,构建分析网络,发现 RA 与冠心病存在共同的作用通路<sup>[25]</sup>。在 RA 与糖尿病同证的科学基础研究中,发现黏附分子的介入、氧化应激反应、细胞因子、T 淋巴细胞、凋亡与炎症等过程介导的两种疾病的共性表达,针对其共性的生物学特征,预测桂枝—芍药—知母汤是治疗两种疾病均有效的中药复方;并通过采用 RA 动物模型及糖尿病动物模型开展实验对预测结果进行了部分验证<sup>[26]</sup>。

关节炎均归入中医“痹症”范畴,其辨证和治疗都以痹症为主。选择在临床症状、辨证上有共同表现的 4 种关节炎炎症性疾病 RA、骨性关节炎、强直性脊柱炎、痛风性关节炎作为研究对象,应用 GC-TOF-MS 与 UPLC-QT-OF-MS 联用代谢组学检测技术,对于 4 种关节炎炎症性疾病患者的血清展开全面检测,探索 4 种不同疾病的关节炎相关整体代谢缺陷及其代谢印迹,发现一组由 6 种代谢物组成的生物标志物可以作为 4 种关节炎性疾病的共同代谢标志,这一组共同的代谢缺陷标志分子所涉及的通路以丙酮酸—乳酸代谢通路为核心,表明缺氧状态下亢进的能量代谢是关节炎、关节损害的共同病理基础。同时找到每种疾病的特异性代谢物谱,应用这些特征性代谢标志物,可以对疾病的早期准确诊断及鉴别诊断提供依据,为深刻理解每种疾病的病理机制提供线索<sup>[27]</sup>。这些发现为中医学“异病同证”理论提供了分子层面的依据,证实了中医证候分类理念在推进现代医学疾病诊断研究方面的理论指导和参考意义。

**4 从中医复方到组合药物开发研究** 结合疾病证候特征,基于中药复方成分组合概念,采用系统药理学、网络药理学的方法进行中药新药的开发与筛选,可能是突破目前新药发展瓶颈的重要切入点。在药物开发方面,更好的策略应该是致力于开发出能够最大可能调整受扰动失衡的病理性分子网络的药物,代替以往的单一成分、单一靶点药物。中药复方以其复杂成分、复杂作用、多靶点、多通路作用机制发挥作用,基于计算机药物辅助设计技术,整合已有的数据挖掘技术,把所有组成中药复方的化合物(化合物结构化数据库)与疾病分子靶点(靶点结构化数据库)通过计算机进行虚拟对接,通过计算两者的物理作用的结合能来判断化合物对分子靶点的潜在作用。通过这些方法建立目标药物、药物组合、复方的靶点网络,然后与疾病分子网络进行映射分析,来预测药物的潜在活性,这种新的药物开发策略,使得复杂疾病、多成分多靶点药物带来的海量前期基础工作量得以

大大减少,也使得新型组合药物的研发成为可能<sup>[28,29]</sup>。

基于上述新药开发策略与技术,尝试将其应用于 RA 的新药开发过程中。通过构建 RA 寒热证候的蛋白质—蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络<sup>[30]</sup>和 RA 治疗有效的中药网络、症状网络及西药网络及网络比对、分析获取候选药物或药物组合,最后将药物网与靶标网做叠加比对,发现在 RA 的治疗中,传统一线药物甲氨蝶呤(MTX)与中药单体川芎嗪联合应用,较之单独应用一线药物均可能获得更好的效果。相对于上述“老药新用”再开发模式,基于中医复方理念的新成分组合药物研发属于创新性更强的开发模式,即通过所构建的疾病网络、病证网络,对于候选药物分子进行筛选,从而得到之前不具备成药性、但对于病证网络具有更好调整作用的分子组合,再通过一些分子修饰技术,使其成为针对性更强、对于病证网络具有更好调整作用的新药。

中药中蕴藏着巨大的新药创制资源,是未来多靶点药物发现的源泉。系统药理学研究策略与中医学对疾病本质的认识有很高的契合度,有望在中医复方理论基础上,发现新的药物组合和新药物靶标,实现“老药新用”、创新药物开发。

中医证候分类和中药复方干预是中医药临床的优势特色,应深入研究以疾病为基础的证候分类研究,使临床诊断更加明确;同时也应该深入研究中药复方的特点,努力开发出成分清楚、机制明晰的组合成药。只有这样,基于中医理论和复方干预的个体化治疗思想才能彰显出来。

## 参 考 文 献

- [1] Jiang M, Zhang C, Zheng G, et al. Traditional chinese medicine zheng in the era of evidence-based medicine: a literature analysis [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012:409568.
- [2] Zheng G, Jiang M, He X, et al. Discrete derivative: a data slicing algorithm for exploration of sharing biological networks between rheumatoid arthritis and coronary heart disease [J]. Bio Data Min, 2011, 4:18.
- [3] van Wietmarschen H, Yuan K, Lu C, et al. Systems biology guided by Chinese medicine reveals new markers for sub-typing rheumatoid arthritis patients [J]. J Clin Rheumatol, 2009, 15(7): 330-337.
- [4] Jiang M, Xiao C, Chen G, et al. Correlation between cold and hot pattern in traditional Chinese medicine and gene expression profiles in rheumatoid arthritis [J]. Front Med, 2011, 5(2): 219-228.
- [5] 肖诚, 赵林华, 吕诚, 等. 类风湿关节炎类风湿因子阴性和阳性寒热证候患者外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞基因差异表达研究

- [J].中国中西医结合杂志, 2006, 26(8): 689-693.
- [6] Gu Y, Lu C, Zha Q, et al. Plasma metabonomics study of rheumatoid arthritis and its Chinese medicine subtypes by using liquid chromatography and gas chromatography coupled with mass spectrometry[J].Mol Biosyst, 2012, 8(5): 1535-1543.
- [7] 吕诚, 刘元艳, 肖诚, 等. 类风湿性关节炎寒热证候的生物学基础[J].世界科学技术(中医药现代化), 2010, 12(5): 814-817.
- [8] He Y, Lu A, Zha Y, et al. Differential effect on symptoms treated with traditional Chinese medicine and western combination therapy in RA patients[J].Complement Ther Med, 2008, 16(4): 206-211.
- [9] 何羿婷, 查青林, 阎小萍, 等. 类风湿性关节炎症状因子分析及其与疗效的关系[J].中国中西医结合杂志, 2005, 25(12): 1077-1081.
- [10] He Y, Lu A, Zha Y, et al. Correlations between symptoms as assessed in traditional Chinese medicine (TCM) and ACR20 efficacy response: a comparison study in 396 patients with rheumatoid arthritis treated with TCM or Western medicine[J].J Clin Rheumatol, 2007, 13(6): 317-321.
- [11] He Y, Lu A, Lu C, et al. Symptom combinations assessed in traditional Chinese medicine and its predictive role in ACR20 efficacy response in rheumatoid arthritis[J].Am J Chin Med, 2008, 36(4): 675-683.
- [12] Zha Q, He Y, Ding X, et al. The predictive role of traditional Chinese medicine symptoms/signs on ACR20 response in rheumatoid arthritis with data mining approaches.2009 2nd International Conference on Biomedical Engineering and Informatics [C].Tianjin,2009: 1740-1747.
- [13] 查青林, 何羿婷, 卢毓雄, 等. 血小板数量与中西医结合治疗类风湿关节炎疗效关系的探讨[J].中国中西医结合杂志, 2007, 27(1): 29-32.
- [14] 吕爱平, 何羿婷, 查青林, 等. 类风湿性关节炎症状与疗效关系的回归分析[J].中西医结合学报, 2005, 3(6): 432-437.
- [15] 查青林, 何羿婷, 喻建平, 等. 基于决策树分析方法探索类风湿性关节炎证病信息与疗效的相关关系[J].中国中西医结合杂志, 2006, 26(10): 871-876.
- [16] Jiang M, Zha Q, Lu C, et al. Association between tongue appearance in Traditional Chinese Medicine and effective response in treatment of rheumatoid arthritis[J].Complement Ther Med, 2011, 19(3): 115-121.
- [17] Jiang M, Zhao J, Lu A, et al. Does gastrointestinal adverse drug reaction influence therapeutic effect in the treatment of rheumatoid arthritis? [J].J Altern Complement Med (New York, NY), 2010, 16(2): 143-144.
- [18] Jiang M, Lu C, Chen G, et al. Understanding the molecular mechanism of interventions in treating rheumatoid arthritis patients with corresponding traditional Chinese medicine patterns based on bioinformatics approach[J].Evid Based Complement Alternat Med, 2012: 129452.
- [19] 查青林, 何羿婷, 吕爱平. 类风湿性关节炎寒热属性分类及其对中西药疗效的影响[J].江西中医学院学报, 2007, 19(6): 21-23.
- [20] 吕爱平. 多次反复临床试验找到精确适应症是提高中医药疗效的重要途径[J].中国中西医结合杂志, 2006, 26(7): 588-589.
- [21] 吕爱平, 王永炎. 基于多次临床试验的中医药疗效评价研究思路[J].中国中药杂志, 2006, 31(16): 1384-85.
- [22] Zhang C, Jiang M, Lu AP. A traditional Chinese medicine versus Western combination therapy in the treatment of rheumatoid arthritis: two-stage study protocol for a randomized controlled trial [J]. Trials, 2011, 12: 137.
- [23] Zhao J, Zha Q, Jiang M, et al. Expert consensus on the treatment of rheumatoid arthritis with Chinese patent medicines [J].J Altern Complement Med, 2013, 9(2): 111-118.
- [24] Jiang M, Qinglin Zha, Zhang C, et al. Predicting and verifying outcome of Tripterygium wilfordii Hook F. based therapy in rheumatoid arthritis: from open to double-blinded randomized trial [J]. Sci Rep, 2015, 5: 09700.
- [25] Niu X, Lu C, Xiao C, et al. The shared crosstalk of multiple pathways involved in the inflammation between rheumatoid arthritis and coronary artery disease based on a digital gene expression profile [J].PloS one, 2014, 9(12): e113659.
- [26] Zhao N, Li J, Li L, et al. Molecular network-based analysis of Guizhi-Shaoyao-Zhimu decoction, a TCM herbal formula, for treatment of diabetic peripheral neuropathy [J]. Acta Pharmacol Sin, 2015, 36(6): 716-723.
- [27] Jiang M, Chen T, Feng H, et al. Serum metabolic signatures of four types of human arthritis [J].J proteome Res, 2013, 12(8): 3769-3779.
- [28] Huang C, Zheng C, Li Y, et al. Systems pharmacology in drug discovery and therapeutic insight for herbal medicines [J].Brief Bioinform, 2014, 15(5): 710-733.
- [29] Jia W, Chang B, Sun L, et al. REDD1 and p-AKT over-expression may predict poor prognosis in ovarian cancer [J].Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(9): 5940-5949.
- [30] Lu C, Xiao C, Chen G, et al. Cold and heat pattern of rheumatoid arthritis in traditional Chinese medicine: distinct molecular signatures identified by microarray expression profiles in CD4-positive T cell [J]. Rheumatol Int, 2012, 32(1): 61-68.