

基于中西医临床病证特点的多发性硬化动物模型分析

何顺清, 彭永*, 饶桂兰, 唐艳丹

(湖南中医药大学第三附属医院, 湖南中医药高等专科学校附属第一医院, 湖南株洲 412000)

[摘要] 基于多发性硬化(MS)的中西医临床症状特点,通过整理分析相关文献,拟定多发硬化的中医诊断标准与西医诊断标准,通过对实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)模型的造模方法、造模对象、模型特点分析总结,并进行EAE模型与中西医诊断标准吻合度的评价。结果显示中西医临床特征与动物模型的吻合度较差(西医吻合度最高为60%,中医吻合度最高为68%)。分析可得出现阶段研究MS的动物模型中,病理性模型占大多数,明显缺乏直观表现类指标,造成模型评价困难。在小鼠的精神状态、肢体麻木、无力、肌力减退、震颤、平衡障碍方面跟西医诊断标准的吻合度稍好。中医诊断标准中的主证依靠动物行为学,如体倦乏力、神疲懒言、肢体无力、肢麻沉重等,与西医诊断标准重合;次证所包含智能减退、口苦、尿频尿急、大便失禁、身热甚等,在模型复制中并没有很好地体现出来。中医将MS病因归为肾精不足、感受外邪,但现有动物模型对感受外邪无对应指标。根据多发硬化的临床发病机制和特征建立合适的动物模型才是试验研究的关键所在,但目前缺少具有中医特点且能够进行证候分型的MS动物模型。因此,制备中西医结合的动物模型,还需完善和发展。建立高度吻合度的中西医临床病证动物模型,既能用于基础实验又能用于临床研究,才是未来MS动物模型的发展趋势。

[关键词] 多发性硬化; 中西医; 临床病证特点; 动物模型

[中图分类号] R242;R22;R2-031;R-1;R364.3+2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)04-0235-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220497

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211221.2142.004.html>

[网络出版日期] 2021-12-22 18:34

Animal Model Analysis of Multiple Sclerosis Based on Clinical Characteristics of Traditional Chinese and Western Medicine

HE Shun-qing, PENG Yong*, RAO Gui-lan, TANG Yan-dan

(Third Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Affiliated First Hospital of Hunan Traditional Chinese Medical College, Zhuzhou 412000, China)

[Abstract] Based on the clinical characteristics of multiple sclerosis (MS) in traditional Chinese medicine (TCM) and western medicine and literature analysis, this paper aims to formulate the diagnostic criteria of TCM and western medicine for MS. Moreover, the modeling methods of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), animals for the modeling, and characteristics of the models were analyzed and summarized, and the consistency between the EAE models and the diagnostic criteria of TCM and western medicine was evaluated. The results showed that animal models had low consistency with the clinical characteristics in TCM (highest consistency 68%) and western medicine (highest consistency 60%). Pathological models account for the majority of animal models for MS research, but there is a lack of intuitive performance indicators. Thus, it is difficult to comprehensively evaluate the models. The mental state, limb

[收稿日期] 20210329(019)

[基金项目] 湖南省中医药管理局重点课题项目(201915);湖南省自然科学基金项目(2018JJ6043);湖南省卫计委课题项目(B20180815);湖南中医药高等专科学校附属第一医院优秀科研创新团队项目(B2021-003)

[第一作者] 何顺清,在读硕士,从事神经系统疾病研究,E-mail:1227823065@qq.com

[通信作者] *彭永,硕士,副主任医师,从事神经系统自身免疫疾病特别是多发性硬化发病机制和中药治疗的研究,E-mail:1779342446@qq.com

numbness, lack of strength, loss of muscle tone, tremor, and balance disorders of the mice are among the diagnostic criteria in western medicine. In TCM diagnostic criteria, the major symptoms which are reflected in animal behavior, such as physical fatigue, lack of strength, mental fatigue, disinclination to talk, and weak heavy numb limbs, are consistent with the western diagnostic criteria. The minor symptoms, including mental decline, bitter taste in mouth, frequent and urgent urination, fecal incontinence, and aggravated fever, are not well reflected in the models. According to TCM, MS is caused by deficiency of kidney essence and external contraction of pathogen, but no index is available for evaluating the external contraction of pathogen in existing animal models. The key to experimental research on MS is to establish an appropriate animal model based on the clinical pathogenesis and characteristics. However, there is a lack of MS animal model with TCM characteristics for syndrome classification. Therefore, renewed efforts should be made to prepare animal models with both TCM and western medicine characteristics that can be used in both basic experiments and clinical research.

[Keywords] multiple sclerosis; traditional Chinese medicine (TCM) and western medicine; clinical syndrome characteristics; animal model

多发性硬化(MS)是一种发生在中枢神经系统(CNS)的自身免疫性疾病^[1],MS的临床多表现为肢体无力、麻木、痛性痉挛、共济失调、视觉障碍等。其特点就是时间和空间上的多发性CNS病灶,病情反复发作^[2]。主要病理改变是CNS白质脱髓鞘,最终导致神经元死亡^[3]。随着对MS认识水平的提高和检测技术发展,MS的检出率呈现逐年上升的趋势^[4]。MS急性发作期选用大剂量糖皮质激素冲击治疗作为一线治疗方案,但是糖皮质激素不能改善MS患者的长期反复发作^[5]。MS缓解期推荐使用疾病修饰治疗(DMT),但我国目前尚无国产DMT药物^[6]。中医辨证治疗可以改善患者症状、延长缓解期、控制复发期,然而各医家对于MS的辨证分类没有统一的说法,很难说清哪种治疗是正确的^[7]。现阶段,现代医学对MS的病因尚不明确,中医对MS的病因病机也无统一意见^[8]。MS动物模型是研究MS病因的重要方法,只能通过某一诱导因素反映疾病,而不能全面解释影响MS的所有病因^[9]。现有研究MS的动物模型以病理性模型占大多数,明显缺乏直观表现类指标,造成模型评价困难。动物模型评价体系直接决定其模型是否成功,成为影响研究结果的重要因素^[10]。针对现有MS动物模型评价困难,导致研究进展缓慢,本文基于MS的中西医临床特点,通过整理实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)模型的相关文献,建立MS的中医诊断标准与西医诊断标准,总结EAE模型的造模方法、造模对象、模型特点,分析其与临床症状的吻合度,提出复制模型时需要增加的指标,为MS动物模型的完善提供参考。

1 MS的病因病机

1.1 现代医学病因病机 在现代医学中,MS的病因与发病机制尚不明确,目前认为MS的发病主要与以下几方面有关,①遗传,目前证据发现人类白细胞抗原(HLA)基因为MS的易感基因,HLA基因可分为HLA I,HLA II,HLA III共3类,其中与MS的关联最为密切的基因是HLA II^[11]。②环境,随着纬度的降低,MS的发病率逐渐降低,赤道附近地区MS的发病率相对较低,在南半球有递减的趋势^[12]。③病毒,MS患者在早年感染EB病毒(Epstein-Barr virus)的概率较高,感染活动性人类疱疹病毒6型可以增加MS的发病和复发率,目前认为病毒感染不会直接导致MS,而是通过诱发自身免疫反应而发病^[11]。具体上述哪部分因素影响MS发病所占比重还不是很大,但是这些因素之间相互作用会导致免疫系统紊乱而发生MS。

1.2 中医病因病机 现代中医学者对于MS的病因病机没有统一的认识,大多数医家认为本病为“正虚为本,邪实为标,虚实夹杂”^[13]。中医认为,髓分布于颅腔者称为“脑髓”,发病内因是肾精亏虚、髓海不足,肾精髓海不足则会出现骨枯髓消,肢体痿废不用等症状,常以填精益髓为治疗大法^[14]。本病多发于高纬度地区,气温低下,MS发病之初多见上呼吸道症状,常由寒邪诱发感染,中医认为风寒袭表,阻滞经脉,气血失和,筋肉不荣,则出现手足麻木,肢体无力;部分发于春夏季节,天气湿热,中医认为外感湿热之邪,清阳闭阻,清窍失养而患病^[15]。因此,MS发病外因是感受外邪,感受风寒湿热邪,导致机体功能失调,从而引起MS发病。

2 MS 中西医临床特点及诊断标准

2.1 MS 西医诊断标准及临床表现 西医诊断标准参照《多发性硬化诊断和治疗中国专家共识(2018版)》^[16],将MS的诊断标准分为病史、临床特征、磁共振成像(MRI)与脑脊液特点、排除其他可能疾病、电生理、免疫学等辅助证据,以临床体征作为基本诊断依据,临床体征为①视力下降、复视;②肢体感觉障碍;③肢体运动障碍;④共济失调;⑤膀胱或直肠功能障碍。进行与临床症状符合度的判断时,满足1项赋值20%,总分值100%^[17]。

2.2 MS 中医诊断标准及临床表现 中医诊断标准

参照2017年张伯礼主编的《中医内科学》^[18]及《多发性硬化/视神经脊髓炎中医临床诊疗规范》^[19]进行制订。现代中医学者学术研究将MS证候分为7大类型,肝肾阴虚、肾阳虚、脾胃虚弱、瘀阻经络、湿热阻络、风痰阻络、气虚血瘀^[20]。将各分型症状进行归纳用于判断与中医症状吻合度,主证为①头昏;②四肢无力;③步态不稳;④神疲乏力;⑤手足麻木,符合一项赋值16%。次证为①视物不清;②言语不利;③尿频数、大便稀溏;④少气懒言;⑤纳呆。符合次证中的一项赋值4%,总分值100%^[21]。见表1。

表1 MS 的中医诊断标准

Table 1 Traditional Chinese Medicine (TCM) diagnostic criteria of MS

| 证型 | 主证 | 次证 | 舌脉 |
|----------------------|----------------------------------|--------------------|----------------|
| 肝肾阴虚 ^[22] | 眩晕耳鸣,肢体麻木无力,步态不稳 | 视物不清,语言不利 | 舌红少苔,脉细数或弦 |
| 肾阳虚 ^[23] | 头晕,四肢萎软无力,以下肢为主,甚至瘫痪 | 言语不利,视物昏花,尿频数、大便稀溏 | 舌淡,苔薄白,脉沉细 |
| 脾胃虚弱 ^[22] | 头晕,神疲肢倦,四肢软弱无力 | 纳呆便溏,少气懒言 | 舌质淡,苔薄白,脉沉弱 |
| 瘀阻经络 ^[24] | 四肢痿弱,手足麻木不仁,肢体抽掣作痛 | 肌肉瘦削,四肢青筋显露 | 舌质暗淡或有瘀斑,脉细涩 |
| 气虚血瘀 ^[24] | 头晕目花,四肢萎软无力,肌肤麻木,神疲乏力 | 少气懒言 | 舌淡苔薄,脉细弱 |
| 风痰阻络 ^[25] | 头晕,肢体麻木,手足笨拙,甚则瘫痪不起 | 视物模糊 | 舌红苔白滑,脉浮滑 |
| 湿热阻络 ^[25] | 头晕目眩,肢体困重、萎软无力,尤以双下肢或两足痿弱为甚,手足麻木 | 小便赤色热痛,呕吐 | 舌质红,苔黄腻,脉濡数或滑数 |

3 MS 动物模型的研究现状及分析

由于人类MS在病理表现、发病特点和免疫学特征上与EAE模型非常相似,因此EAE模型被广泛应用于MS动物模型的实验研究^[26]。并不是所有的实验动物都可以构建EAE模型,常使用的较为敏感的动物有小鼠、大鼠、兔、豚鼠和非人类灵长类(NHP)^[3]。由于小鼠的价格低廉、繁殖速度快、可适用于大规模研究等特点,因此在EAE研究中小鼠是最经常使用的物种^[3]。大量实验的需求,使得大鼠EAE模型被广泛应用,可以帮助研究T细胞活化、浸润的机制^[9]。用鼠类动物作为EAE实验动物的在临床、病理和免疫生化改变等方面与人类MS较为相似^[27]。选用EAE造模的鼠类动物有C57BL/6小鼠,SJL小鼠,昆明小鼠,Wister大鼠,DA大鼠等。不同品系的动物、诱导方法都可以产生病程不一样的模型,EAE模型可以用髓鞘碱性蛋白(MBP),完全弗式佐剂(CFA),髓鞘少突胶质细胞蛋白(MOG)来诱导小鼠形成^[27]。诊断标准方面,中西医诊断标准主要依靠动物行为学,如精神状态、肢体麻木、无力、肌力减退、震颤、平衡障碍等。结合上述西医临床和中医临床诊断标准的赋值,对动物模型与中西

医临床诊断标准吻合度进行评价。见表2。

4 讨论

EAE动物模型是研究MS病因的重要方法,不同的模型类型在动物的挑选、造模方法、模型特点都有差异,对探究不同病因MS的发病有指导意义。通过MOG₃₃₋₃₅多肽与CFA诱导C57BL/6雌性小鼠形成的EAE大鼠模型,与西医病证吻合度一般,与中医病证吻合度一般,可以准确地评估各时期的神经功能改变,可用于研究EAE动物模型的神经功能评价标准。通过MOG₃₅₋₅₅在C57BL/6小鼠中诱导形成的EAE模型,与西医病证吻合度一般,与中医病证吻合度差,此模型无论从疾病表现还是病理表现都与MS相似,可用于对MS发病机制、诊断及治疗的研究。通过PLP₁₃₉₋₁₅₁多肽片段诱导法形成的EAE小鼠模型,与西医病证吻合度一般,与中医病证吻合度差,模拟MS复发缓解的特点,可用于MS药物研发和机制研究。通过MBP免疫Lewis大鼠构建的EAE动物模型,与西医病证吻合度一般,与中医病证吻合度差,可用于研究自身免疫性脱髓鞘疾病。

从EAE动物模型与临床特点吻合度可发现,在现阶段基础研究中,EAE动物模型仅仅通过个别指

表2 EAE动物模型与临床特点吻合度

Table 2 Coincident degree of EAE animal model with clinical characteristics

| EAE模型 | 造模动物 | 诱导方法 | 特点 | 与西医病证吻合度 | 与中医病证吻合度 |
|-------|-----------------------------|---|--|--------------------|----------------------------|
| 小鼠模型 | C57BL/6小鼠 ^[28] | 皮内注射髓鞘少突胶质细胞MOG ₃₅₋₅₅ 肽段 | 更能真实地反映了MS的临床表现 | 符合西医临床表现②③④,吻合度60% | 符合中医主证①②④,与次证吻合度为⑤;吻合度52% |
| | SJL小鼠 ^[26] | 应用PLP ₁₃₉₋₁₁₅ 多肽片段免疫SJL小鼠 | 模拟MS复发的特点 | 符合西医临床表现②③④,吻合度60% | 符合中医主证①②④,与次证吻合度为⑤;吻合度52% |
| | C57BL/6雌性小鼠 ^[29] | 用MOG ₃₃₋₃₅ 多肽与CFA等体积混合成乳剂后多点皮下注射 | 更准确地评估各时期神经功能改变 | 符合西医临床表现②③④,吻合度60% | 符合中医主证①②③④,与次证吻合度为⑤;吻合度68% |
| 大鼠模型 | Lewis大鼠 ^[30] | Lewis大鼠后足跖皮下注射MBP | 推测T辅助细胞(Th)22细胞及其效应因子白细胞介素(IL)-22介导EAE发病 | 符合西医临床表现②③④,吻合度60% | 符合中医主证①②④,与次证吻合度为⑤;吻合度52% |

注:吻合度的高、低表示动物模型与中医、西医临床表现的相关程度。西医吻合度以2.1项下5项评判标准积分;中医吻合度以2.2项下的主证和次证的积分。

标体现出MS的临床某一些症状,导致中西医临床特征与动物模型的吻合度较差(西医吻合度最高为60%,中医吻合度最高为68%)。这与人类与动物临床症状的相似性、基础实验与临床应用、中医与西医在诊疗思路及机制等方面的差距有关。如在诊断标准方面,小鼠的精神状态、肢体麻木、无力、肌力减退、震颤、平衡障碍方面跟西医诊断的吻合度稍好。中医诊断标准主证依靠动物行为学,如体倦乏力、神疲懒言、肢体无力、肢麻沉重等,与西医诊断标准重合;次证所包含智能减退、口苦、尿频尿急、大便失禁、身热甚等,在模型复制中并没有很好的体现出来,与现有模型关联度较低且无法具体判断中医证候分型。中医将MS的发病分为外因和内因,外因为感受风寒湿热邪,肾精亏虚、髓海不足是发病的根本,但现有动物模型对感受外邪无对应指标,不能完全反应其病因病机,很难进行临床吻合度的分析。此外,现有研究MS的动物模型以病理性模型占大多数,较为符合西医诊断标准,严重缺乏中医辨证思维,以及在现阶段MS诊断标准中,明显缺乏直观表现类指标,造成模型评价困难。另外疾病类动物模型更适合化学药物的研究领域,而中医药的研究更适合以具有病证结合诊疗特点的动物模型为研究对象。根据MS的临床发病机制和特征建立合适的动物模型才是实验研究的关键所在,但目前缺少具有中医特点且能够进行证候分型的MS动物模型。

因此,建议未来在制备中西医病证结合的动物模型时,需要模型有直观的临床表现,使判定标准简单易得,以便进行临床吻合度的评价。此外中医在辨证论治在疾病的研究中具有巨大的优势,在复制动物模型时将中医学中的致病因素纳入其中,形

成具有中医证候特点的动物模型,结合西医理论进行研究,中西医诊断标准与动物模型的吻合度将大大提高。建立高度吻合度的中西医临床病证动物模型,既能用于基础实验又能用于临床研究,才是未来MS动物模型的发展趋势。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] PENG Y, ZHU F Z, CHEN Z X, et al. Characterization of myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)₃₅₋₅₅-specific CD8⁺ T cells in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Chin Med J (Engl), 2019, 132(24):2934-2940.

[2] 聂伟, 彭永, 赵林, 等. 黄芪桂枝五物汤在自身免疫相关性疾病中的应用概况 [J]. 湖南中医杂志, 2019, 35(3):171-173.

[3] 彭永, 周建雄, 陈之兴, 等. 多发性硬化相关动物模型的最新进展 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2019, 46(6):676-679.

[4] GBD MULTIPLE SCLEROSIS COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of multiple sclerosis 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. Lancet Neurol, 2019, 18(3):269-285.

[5] 程睿, 徐飞虎, 周胜军, 等. 多发性硬化症的药物疗法进展 [J]. 中国新药杂志, 2014, 23(23):2748-2752.

[6] 胡学强, 常艳宇. 我国多发性硬化诊治现状与进展 [J]. 重庆医科大学学报, 2017, 42(6):669-671.

[7] PENG Y, YANG S S, GAN L, et al. Focus on Chinese herbal medicine therapy for multiple sclerosis by dialectical treatment [J]. Chin Med J (Engl), 2020, 134(3):278-280.

[8] 李波, 史梦楠, 王共强, 等. 多发性硬化中医药研究

- 概况[J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(11):2192-2195.
- [9] 王玉琳, 石天宇, 马宁, 等. 实验性自身免疫性脑脊髓炎模型的建立及要素选择[J]. 黑龙江中医药, 2018, 47(4):121-124.
- [10] 刘保松, 白明, 彭孟凡, 等. 基于中西医临床病症特点的干眼动物模型分析[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(1):114-116.
- [11] 朴松兰, 杨小存, 马长春. 多发性硬化免疫相关病因和发病机制的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2020, 40(13):2900-2904.
- [12] 周颖莲, 付锦. 环境因素与多发性硬化[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2016, 23(6):430-433.
- [13] 黄灵, 尚晓玲. 多发性硬化的中医药研究进展[J]. 中医临床研究, 2016, 8(7):141-144.
- [14] 邵凯瑜, 武继涛, 翟磊. 补肾中药复方治疗多发性硬化研究进展[J]. 新中医, 2020, 52(11):19-22.
- [15] 郭俊冉, 张根明, 刘杨. 对多发性硬化病机的再认识[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2019, 17(2):296-297.
- [16] 中国免疫学会神经免疫分会, 中华医学会神经病学分会神经免疫学组. 多发性硬化诊断和治疗中国专家共识(2018版)[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2018, 25(6):387-394.
- [17] 张林焱, 白明, 苗明三. 基于中西医临床病证特点的急性胰腺炎动物模型分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12):196-201.
- [18] 张伯礼, 吴勉华. 中医内科学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2017:538-545.
- [19] 北京中医药学会脑病专业委员会. 多发性硬化/视神经脊髓炎中医临床诊疗规范[J]. 首都医科大学学报, 2018, 39(6):833-835.
- [20] 李波, 史梦楠, 王共强, 等. 多发性硬化中医药研究概况[J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(11):2192-2195.
- [21] 王泽茜, 曹明卓, 李秀敏, 等. 基于中西医临床病证特点的过敏性结膜炎动物模型分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(7):187-192.
- [22] 张翠玲, 于朝霞, 于福年. 中医治疗多发性硬化症的临床体会[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2019, 26(4):501-503.
- [23] 黄春英, 周哲屹, 刘国成. 补肾填精方治疗多发性硬化21例[J]. 河南中医, 2018, 38(9):1409-1412.
- [24] 樊永平. 视神经脊髓炎谱系病的中医辨识[J]. 环球中医药, 2018, 11(4):571-573.
- [25] 王佳楨, 赵铎. 郑绍周治疗多发性硬化经验[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(6):1161-1163.
- [26] 丛衡日, 张明, 裴浩晓, 等. 小胶质细胞在PLP₁₃₉₋₁₅₁诱导SJL小鼠EAE模型中的作用研究[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2019, 26(6):405-409.
- [27] 赵培源, 陈少昀, 刘喜红, 等. 多发性硬化实验动物模型的研究与应用进展[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(3):405-409.
- [28] 蒙延筱, 楚兰, 徐竹, 等. 髓鞘少突胶质细胞糖蛋白35~55肽段诱导C57BL/6小鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎疾病表型[J]. 解剖学报, 2020, 51(4):483-490.
- [29] 马可, 陈雄, 郑俊炯, 等. 多发性硬化动物模型神经功能评分的比较与改良[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2015, 41(11):679-684.
- [30] 杨伊姝, 王颖, 刘占东, 等. Th22细胞在多发性硬化免疫发病机制中作用的大鼠实验研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(3):234-238.

[责任编辑 王鑫]