

· 临床 ·

温阳化浊通络方对系统性硬化病患者血清 BAFF, PⅢNP 等指标的影响

卞华^{1*}, 郜中明², 韩立¹, 毕晓东³, 马长新¹, 山书玲¹, 张霄¹

(1. 南阳理工学院 张仲景国医学院, 河南 南阳 473004;

2. 南阳理工学院 附属第一医院, 河南 南阳 473003; 3. 南阳市第一人民医院, 河南 南阳 473002)

[摘要] 目的:观察温阳化浊通络方治疗系统性硬化病(systemic sclerosis, SSc)的临床疗效及其可能作用机制。方法:82例SSc患者随机分为两组,对照组(41例)予甲氨蝶呤、泼尼松口服治疗,治疗组(41例)予温阳化浊通络方联合甲氨蝶呤、泼尼松口服治疗,均连续6个月。分别采取酶联免疫吸附法和免疫散射比浊法检测血清B细胞激活因子(B-cell activating factor, BAFF),Ⅲ型前胶原氨基端原肽(aminoterminal propeptide of typeⅢ procollagen, PⅢNP),IgG和IgM水平,同时观察皮肤积分和疾病活动指数等。结果:治疗组疗效优于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。两组治疗后BAFF, IgG, IgM和PⅢNP水平均较治疗前明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),但治疗组对上述指标的改善优于对照组($P < 0.05$)。同时两组治疗后SSc患者皮肤积分、疾病活动指数亦较治疗前降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),且治疗组改善更明显($P < 0.05$)。SSc患者治疗前、后BAFF水平与皮肤积分、疾病活动指数, PⅢNP水平呈正相关性($P < 0.01$)。结论:温阳化浊通络方可以降低皮肤积分、疾病活动指数,改善临床症状,其机制可能与降低SSc患者血清BAFF水平,抑制免疫反应,减少PⅢNP含量有关。

[关键词] 系统性硬化病; 温阳化浊通络方; B细胞激活因子; Ⅲ型胶原氨基末端前肽

[中图分类号] R287.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)19-0146-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015190146

Effects of Wenyang Huazhuo Tongluo Recipe on Serum BAFF and PⅢNP in Patients with Systemic Sclerosis BIAN Hua^{1*}, GAO Zhong-ming², HAN Li¹, BI Xiao-dong³, MA Chang-xin¹, SHAN Shu-ling¹, ZHANG Xiao¹ (1. Zhang Zhongjing School of Chinese Medicine, Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China; 2. The First Affiliated Hospital of Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473003, China; 3. Nanyang First People's Hospital, Nanyang 473002, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect and mechanism of Wenyang Huazhuo Tongluo recipe (WYHZTLR) in treating patients with systemic sclerosis (SSc). **Method:** Eighty-two patients with SSc were randomly divided into two groups. Control group (41 cases) was treated with methotrexate (MTX) and prednisone. Treatment group (41 cases) were treated with WYHZTLR combined with MTX and prednisone. All SSc patients were treated for six months. The serum levels of B-cell activating factor (BAFF) and aminoterminal propeptide of typeⅢ procollagen (PⅢNP) were measured by ELISA. The levels of IgG and IgM were detected by immune scatter turbidimetry. The skin score and disease activity index were assessed at the same time. **Result:** The treatment group was superior to the control group in efficacy, with a statically significant difference ($P < 0.05$). The levels of BAFF, IgG, IgM and PⅢNP in two groups after treatment were significantly lower than those of before treatment ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The above indexes were improved more significantly in the treatment group compared with the control group ($P < 0.05$). Meanwhile, skin score and disease activity index significantly decreased in two groups from that of before the treatment, particularly for the the treatment group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). There were positive linear correlations between BAFF and skin score, disease activity index and PⅢNP

[收稿日期] 20150324(019)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373627);河南省科学技术厅计划项目(122300410223);河南省中医内科学重点学科支撑项目(2012-186)

[通讯作者] *卞华,博士,副教授,从事中西医结合治疗风湿病的研究, Tel:0377-62071311, E-mail:biancrown@163.com

before and after treatment ($P < 0.01$). **Conclusion:** WYHZTLR can reduce skin score and disease activity index and relieve clinical symptoms by reducing the serum levels of BAFF and PⅢNP and inhibiting the immunoreaction.

[Key words] systemic sclerosis; Wenyang Huazhuo Tongluo recipe; B-cell activating factor; aminoterminal propeptide of type Ⅲ procollagen

系统性硬化病(systemic sclerosis, SSc)是一种以皮肤增厚和纤维化及内脏器官(包括心、肺、肾和消化道等)受累为特征的自身免疫性疾病。目前认为,免疫学异常、血管病变、结缔组织代谢异常以及三者间的相互影响是 SSc 的主要机制,其中 B 淋巴细胞介导的体液免疫应答是 SSc 纤维化过程中的关键因素^[1-2]。外周 B 淋巴细胞存活的关键取决于血清 B 细胞激活因子(BAFF)和增殖诱导配体^[3]。研究发现 BAFF 转基因小鼠具有类似于系统性红斑狼疮和干燥综合征等自身免疫性疾病的表现,提示 BAFF 是自身免疫性疾病的关键因子^[4]。最近还发现 BAFF 水平在 SSc 患者血浆和皮损组织中比正常人明显升高,且与疾病活动性和严重程度密切相关^[5-6]。

本课题组通过长期的临床实践,根据肺脾肾-皮毛相关等中医理论,创立以补肺健脾益肾、化浊通络为基本法则、以温阳化浊通络方为基本方治疗本病的理论体系。前期研究表明,温阳化浊通络方能够抑制 SSc 小鼠模型转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)/Smad 信号通路中 TGF- β_1 , Smad2 和 Smad7 mRNA 的表达,降低皮肤 I 型胶原蛋白,Ⅲ型胶原蛋白含量^[7]。在体外,温阳化浊通络方还能阻止 SSc 皮肤成纤维细胞周期由 G₁ 期进入 S 期,进而控制细胞分裂,抑制其增殖,减少胶原合成^[8-9]。本研究旨在观察温阳化浊通络方对 SSc 患者血清 BAFF,Ⅲ型前胶原氨基端原肽(PⅢNP)等指标的影响,探讨温阳化浊通络方治疗 SSc 的临床疗效及其可能作用机制。

1 临床资料

1.1 一般资料 82 例均为 2012 年 1 月—2013 年 12 月于南阳理工学院附属第一医院风湿免疫科、南阳市第一人民医院皮肤科住院及门诊治疗的 SSc 患者。按照入组先后顺序编号,采用数字随机表法将 82 例 SSc 患者随机分成两组:对照组 41 例,男性 7 例,女性 34 例;年龄 20~60 岁,平均(40.26±8.21)岁;病程 1~24 个月,平均(13.57±8.93)月。治疗组 41 例,男性 8 例,女性 33 例;年龄 22~60 岁,平均(38.93±10.02)岁;病程 2~24 个月,平均(12.77±9.58)月。经统计学处理,两组在性别、年龄、病程、皮肤积分、肺功能等方面差异无显著性,具

有可比性。

1.2 西医诊断标准及中医辨证标准 SSc 诊断标准参照 1980 年美国风湿病学会制定的 SSc 分类标准^[10],具备下列 1 项主要标准或 2 项以上次要标准,主要标准:近端皮肤硬化,手指及掌指(跖趾)关节近端皮肤增厚、紧绷、肿胀;类似病变可累及整个肢体、面部、颈部及躯干。次要标准:指端硬化;指端凹陷性瘢痕或指垫变薄;双侧肺底纤维化。中医阳气亏虚,浊邪阻络证的辨证参照 1995 年中华人民共和国卫生部发布的《中药新药临床研究指导原则(第二辑)》中的相关标准^[11]。

1.3 纳入标准 符合上述诊断及辨证标准;病程≤24 月;患者年龄 18~60 岁;经伦理委员会批准;患者签署知情同意书者。

1.4 排除标准 晚期患者,皮肤严重萎缩、硬化;合并心、肺、肾、造血系统等严重疾病;合并其他风湿病;妊娠或哺乳期;精神病。

2 方法

2.1 治疗 对照组:甲氨蝶呤片(上海信谊药厂有限公司,国药准字 H31020644)开始 10 mg,口服,每周 1 次,然后每周增加 2.5 mg,直至靶剂量每周 15 mg;醋酸泼尼松片(天津药业集团新郑股份有限公司,国药准字 H41021039)30 mg 口服,隔日 1 次,然后每 4 周减 2.5 mg,直至隔日 5 mg。治疗组:在上述用药基础上,同时用温阳化浊通络方:由黄芪 30 g,党参 15 g,桂枝 9 g,淫羊藿 12 g,积雪草 15 g,白芥子 9 g 等组成。水煎服,每日 1 剂,早晚各 1 次。两组均治疗 6 个月。

2.2 观察指标

2.2.1 症状和体征 观察皮损部位、性质、颜色,握力,齿距,指距,雷诺现象等。

2.2.2 皮肤积分和疾病活动指数 采用改良的 Rodnan 皮肤厚度积分方法评价皮肤积分^[12],参照文献^[13]方法评估疾病活动指数。

2.2.3 血清指标 采集 SSc 患者治疗前及疗程结束后肘静脉血 10 mL,1 000 r·min⁻¹离心 15 min,吸取上层血清,置-80℃冰箱保存待测。采用双抗体夹心 ELISA 法检测 BAFF, PⅢP;采用免疫散射比浊法检测 IgG 和 IgM。

2.2.4 不良反应 检测血、尿常规,肝肾功能,心电图有无异常等。

2.3 疗效判定标准 参照《中药新药临床研究指导原则》制定的标准^[11]。临床痊愈:症状消失,皮肤变软,各脏器系统的病变基本控制,实验室各项检测指标恢复正常。显效:主要症状消失,皮肤基本变软,各脏器系统的病变大部分控制,实验室检测指标大部分项目恢复正常。有效:部分症状、体征消失,皮肤基本变软,各种器官系统的病变部分控制,实验室检测指标部分项目恢复正常或有所好转。无效:症状、体征、各脏器系统的病变、各种实验室检测指标均无改善。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,治疗前后比较采用配对 t 检验,两组间比较采用独立样本 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 随访情况 两组共 78 例患者完成随访,有 4

表 2 两组 SSc 患者治疗前后血清 BAFF, IgG, IgM 和 PⅢNP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of serum BAFF, IgG, IgM and PⅢNP of SSc patients in two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	BAFF/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	IgG/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	IgM/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	PⅢNP/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
对照	38	治疗前	1.25 ± 0.46	1 052.37 ± 486.78	133.65 ± 21.87	6.83 ± 2.2 ¹⁾
		治疗后	0.87 ± 0.44 ¹⁾	1 014.11 ± 452.38	108.93 ± 26.58 ¹⁾	6.21 ± 1.22 ¹⁾
治疗	40	治疗前	1.23 ± 0.59	1 126.48 ± 563.27	131.09 ± 25.75	6.77 ± 2.08
		治疗后	0.56 ± 0.24 ^{2,3)}	896.38 ± 472.31 ¹⁾	87.26 ± 17.23 ^{2,3)}	5.51 ± 1.03 ^{2,3)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与对照组治疗后比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

3.4 两组 SSc 患者治疗前后皮肤积分、疾病活动指数比较 与本组治疗前比较,两组治疗后皮肤积分、疾病活动指数明显降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);与对照组治疗后比较,治疗组皮肤积分、疾病活动指数改善更明显 ($P < 0.05$),见表 3。

表 3 两组 SSc 患者治疗前后皮肤积分、疾病活动指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of skin score and disease activity index of SSc patients in two groups before and after treatment ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	皮肤积分/分	疾病活动指数
对照	38	治疗前	21.55 ± 9.46	4.76 ± 1.23
		治疗后	17.41 ± 7.44 ¹⁾	4.02 ± 1.18 ¹⁾
治疗	40	治疗前	22.36 ± 8.59	4.69 ± 1.35
		治疗后	12.38 ± 6.24 ^{2,3)}	3.38 ± 0.86 ^{2,3)}

3.5 SSc 患者 BAFF 与皮肤积分、疾病活动指数和 PⅢNP 水平的相关性分析 SSc 患者治疗前 BAFF 与皮肤积分、疾病活动指数和 PⅢNP 水平均呈正相关 ($P < 0.01$);SSc 患者治疗后 BAFF 与皮肤积分、疾病活动指数和 PⅢNP 水平也呈正相关 ($P < 0.01$)。

例患者不能坚持服药未能完成随访,其中对照组 3 例,治疗组 1 例。

3.2 两组临床疗效比较 经 χ^2 检验,治疗组疗效明显优于对照组,差异具有显著性 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组 SSc 患者临床疗效比较

例 (%)

Table 1 Comparison of clinical efficacy of SSc patients in two groups

组别	临床痊愈	显效	有效	无效	总有效
对照	0(0)	14(36.84)	16(42.11)	8(21.05)	30(78.95)
治疗	2(5.00)	23(57.50)	13(32.50)	2(5.00)	38(95.00) ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 两组 SSc 患者治疗前后血清 BAFF, IgG, IgM 和 PⅢNP 水平比较 与本组治疗前比较,两组治疗后 BAFF, IgG, IgM 和 PⅢNP 水平均获不同程度的改善 ($P < 0.05$, $P < 0.01$);与对照组治疗后比较,治疗组上述各项指标改善更明显 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),见表 2。

3.6 不良反应 对照组有 3 例出现恶心、呕吐,给予叶酸或胃复安处理后缓解,2 例出现焦虑、失眠,仍坚持服药完成治疗,有 3 例出现呼吸道感染和肝功能损害后退出研究。治疗组有 1 例出现药物过敏退出研究。其余患者未见明显不良反应,治疗后血、尿常规、肝肾功能、心电图均未出现异常。

4 讨论

中医学无 SSc 病名,就其发病和临床表现而言,应属皮痹或皮痹疽等范畴。笔者突破 SSc 发病多是“风寒痹阻,寒凝血瘀”的传统认识^[14],基于肺脾肾-皮毛相关等中医理论,以黄芪桂枝五物汤、补肺汤等为基础创制温阳化浊通络方。该方中黄芪补气益卫固表,党参补益脾肺之气,淫羊藿补肾壮阳,祛风除湿,故重用为君药;积雪草活血化瘀,白芥子温通经络,善散“皮里膜外”之痰,去除浊邪,俱为臣药;桂枝等辛温通络是属佐使之用。诸药相伍,通补并用、标本兼顾,具有补肺健脾益肾、化浊通络之效,共奏扶正祛邪之功。本研究显示,温阳化浊通络方联合

甲氨蝶呤、泼尼松能明显降低 SSc 患者皮肤积分和疾病活动指数,其疗效优于单纯应用西药,说明中西医结合治疗可取得满意效果,同时治疗组的药物不良反应发生率明显低于对照组。

BAFF 于 1999 年被 Schneide 等^[15]首先发现并克隆,是肿瘤坏死因子家族新成员。BAFF 作为 B 淋巴细胞的共刺激因子,与其相应的受体结合后,不仅可诱导 B 淋巴细胞的增殖、分化并产生免疫球蛋白,参与体液免疫调控,而且还参与了 T 细胞所介导的免疫反应。BAFF 的过量表达与自身免疫性疾病,特别是与 SSc 的发生和发展关系密切。François 等研究发现,在体外 B 淋巴细胞和 BAFF 能促进 SSc 患者皮损成纤维细胞对胶原和促纤维化因子(如白介素-6,转化生长因子- β_1 ,趋化因子 CCL₂)的表达,并能被转化生长因子- β_1 抗体所拮抗^[16]。动物实验表明,BAFF 拮抗剂能降低紧皮鼠白介素-6 和白介素-10 水平,减轻皮肤纤维化。因此,BAFF 可能成为治疗 SSc 新的靶目标^[17]。本试验发现 SSc 患者经温阳化浊通络方治疗后 BAFF 水平明显降低,IgG,IgM 含量减少,与治疗前相比均有统计学差异。上述结果提示,温阳化浊通络方可能通过降低 BAFF 的表达,进而干预 B 淋巴细胞增殖、分化,导致抗体合成减少,具有良好的免疫抑制活性。

PⅢNP 反映Ⅲ型胶原合成情况,是纤维化的标志,也是目前 SSc 临床试验中专家共识的生物标志物之一^[18]。本研究显示,SSc 患者血清 BAFF 含量与皮肤积分、疾病活动指数和 PⅢNP 水平呈正相关性,与既往文献报道一致^[2]。经温阳化浊通络方治疗后,皮肤积分、疾病活动指数和 PⅢNP 水平明显降低,提示温阳化浊通络方能减轻 SSc 患者胶原合成,阻止纤维化,这可能与降低 SSc 患者 BAFF 水平,减轻 B 淋巴细胞过度激活,抑制免疫反应,降低促纤维化因子表达等有关。

然而,本研究尚需加大样本量观察,还不能解释温阳化浊通络方调节 BAFF,PⅢNP 的具体机制,在今后的研究中,将进一步完善。

[参考文献]

[1] Yoshizaki A, Sato S. Abnormal B lymphocyte activation and function in systemic sclerosis[J]. *Ann Dermatol*, 2015,27(1):1-9.
[2] Daoussis D, Lioussis S N. B cells tell scleroderma fibroblasts to produce collagen[J]. *Arthritis Res Ther*, 2013,15(6):125-127.
[3] Mackay F, Schneider P. Cracking the BAFF code[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009,9(7):491-502.
[4] Kalled S L. The role of BAFF in immune function and

implications for autoimmunity[J]. *Immunol Rev*, 2005, 204:43-54.
[5] Wutte N, Kovacs G, Berghold A, et al. CXCL13 and B-cell activating factor as putative biomarkers in systemic sclerosis[J]. *Br J Dermatol*, 2013, 169(3): 723-725.
[6] Matsushita T, Hasegawa M, Yanaba K, et al. Elevated serum BAFF levels in patients with systemic sclerosis: enhanced BAFF signaling in systemic sclerosis B lymphocytes [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(1): 192-201.
[7] 卞华,吕芹,韩立,等.温阳化浊通络方对系统性硬化症模型小鼠 TGF- β_1 /Smad 信号通路的影响[J]. *中医杂志*, 2015,56(4):327-331.
[8] 卞华,范永升,楼兰花,等.温阳化浊通络方对系统性硬皮病成纤维细胞周期和增殖的影响[J]. *中药材*, 2009,32(6):936-939.
[9] 吕芹,卞华,陈志国,等.温阳化浊通络方含药血清对硬皮病成纤维细胞胶原分泌和 TGF- β_1 表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011,17(16):184-187.
[10] Subcommittee of Scleroderma Criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma) [J]. *Arthritis Rheum*, 1980,23(5):581-590.
[11] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则(第二辑)[S]. 1995:196-198.
[12] Valentini G, D' Angelo S, Della Rossa A, et al. European scleroderma study group to define disease activity criteria for systemic sclerosis. IV: assessment of skin thickening by modified Rodnan skin score[J]. *Ann Rheum Dis*, 2003, 62(9):904-905.
[13] Valentini G, Silman A J, Veale D. Assessment of disease activity [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2003, 21 (Suppl 29):S39-41.
[14] 胡东流,陈达,禩国维. 系统性硬皮病中医药研究述评[J]. *中医杂志*, 2005,46(2):148-149.
[15] Schneider P, Mackay F, Steiner V, et al. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth [J]. *J Exp Med*, 1999, 189 (11):1747-1756.
[16] François A, Chatelus E, Wachsmann D, et al. B lymphocytes and B-cell activating factor promote collagen and profibrotic markers expression by dermal fibroblasts in systemic sclerosis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2013, 15(5):R168-176.
[17] Matsushita T, Fujimoto M, Hasegawa M, et al. BAFF antagonist attenuates the development of skin fibrosis in tight-skin mice[J]. *J Invest Dermatol*, 2007,127(12): 2772-2780.
[18] Quillinan N P, McIntosh D, Vernes J, et al. Treatment of diffuse systemic sclerosis with hyperimmune caprine serum (AIMSPRO): a phase II double-blind placebo-controlled trial [J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(1): 56-61.

[责任编辑 邹晓翠]