

系统性红斑狼疮中医证型与 BAFF 及疾病活动指标关系探讨

俞烜华¹ 许小玲² 黄碧仙¹ 邱磷安¹

(1 福建中医药大学附属人民医院风湿病科,福州,350004; 2 福州市第二医院风湿免疫科,福州,350007)

摘要 目的:检测系统性红斑狼疮(Systemic Lupus Erythematosus, SLE)患者血清 B 细胞活化因子(B Cell Activating Factor, BAFF)表达水平,探讨 SLE 患者中医证型与 BAFF 水平及疾病活动指标关系。方法:采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 91 例 SLE 患者及 20 例健康对照血清 BAFF 水平,同时检测 SLE 患者红细胞沉降率、补体 3(C3)、补体 4(C4)、C 反应蛋白(CRP)。结果:1)SLE 患者血清中 BAFF 水平高于健康对照组($P < 0.01$),其中 SLE 疾病活动组 BAFF 水平高于健康对照组与 SLE 非活动组($P < 0.01$)。2)SLE 患者 BAFF 水平与 SLE 疾病活动指数(SLE Disease Activity Index, SLEDAI)、红细胞沉降率呈正相关($r = 0.73, r = 0.39, P < 0.01$);与 C3 呈负相关($r = -0.34, P < 0.01$)。3)热毒炽盛型 SLE 患者血清中 BAFF 水平较其余中医证型组 SLE 均明显升高($P < 0.01$);正虚邪恋型组 SLE 患者 BAFF 水平较其他证型均明显降低($P < 0.01$)。结论:SLE 患者 BAFF 水平明显升高,与疾病活动指标相关;热毒炽盛型 SLE 患者血清中 BAFF 水平较其他证型组均明显升高,正虚邪恋型组较其他证型组均明显降低,提示抗 BAFF 单抗在不同中医证型 SLE 中可能疗效不同。

关键词 BAFF;中医证型;红斑狼疮;系统性

Exploration into Relationship Among TCM Syndrome Type, BAFF and Disease Activity Index in Patients with Systemic Lupus Erythematosus

Yu Xuanhua¹, Xu Xiaoling², Huang Bixian¹, Qiu Linan¹

(1 Department of Rheumatology, People's Hospital Affiliated to Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350004, China; 2 Department of Rheumatology, Fuzhou second hospital, Fuzhou 350007, China)

Abstract Objective: To detect the serum levels of B cell activating factor (BAFF) in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and to investigate the relationship among TCM pattern, BAFF and disease activity index in patients with SLE. **Methods:** The serum levels of BAFF were measured by ELISA in 91 SLE patients and 20 health control group. Patients with SLE also tested the erythrocyte sedimentation rate (ESR), complement 3 (C3), complement 4 (C4), C reactive protein (CRP). **Results:** 1) The levels of BAFF in SLE patients were significantly higher than those in the healthy control group ($P < 0.01$), and the level of SLE disease activity group was significantly higher than that of the healthy control group and no activity group ($P < 0.01$). 2) The levels of BAFF SLE patients showed a positive correlation with SLE disease activity index (SLEDAI) ($r = 0.73, P < 0.01$) and ESR ($r = 0.39, P < 0.01$), and showed a negative correlation with C3 ($r = -0.34, P < 0.01$). 3) The levels of BAFF in the heat-toxin flourishing type of SLE patients compared with other TCM patterns were significantly increased ($P < 0.01$), and the as-thenic healthy qi with pathogen lingering pattern were significantly lower than other TCM patterns ($P < 0.01$). **Conclusion:** In SLE patients, the levels of BAFF were significantly increased and correlated with SLEDAI. The correlation with TCM patterns indicates that anti BAFF monoclonal antibody in different TCM pattern of SLE patients may have different curative effects.

Key Words BAFF; TCM patterns; Lupus erythematosus; Systematicness

中图分类号:R241;R593.3 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.11.025

系统性红斑狼疮(Systemic Lupus Erythematosus, SLE)是以 T、B 淋巴细胞过度活化、产生多种自身抗体和形成免疫复合物沉积为发病特点的一种自身免疫性疾病。SLE 的发病机制尚未明确,目前研究已证实 BAFF 过度表达促使自身反应性 B 淋巴细胞存活、增殖从而参与 SLE 发病和维持^[1]。SLE 在

中医疾病谱中,同温毒发斑、阴阳毒之类病症相对应,中医古籍中记载的“鬼脸疮”“日晒疮”“蝴蝶丹”症状与 SLE 患者日晒后出现的蝴蝶斑相当。根据该病的基本病因病机,结合中医“三因制宜”等治病特点,中医药目前已成为 SLE 治疗的另一个突破点。中医的宏观辨证和西医的微观辨病之间的结合为临

床辨证及用药提供了更为准确的参考,是 SLE 诊疗过程中的关键环节^[2]。本实验通过检测 SLE 患者血清中 BAFF 水平,将其引入到 SLE 中医辨证分型中来,进而探讨 SLE 中医证型与 BAFF 及疾病活动指标关系,为不同中医证型 SLE 患者临床提供新的治疗思路,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 入组 2013 年 3 月至 2014 年 11 月我院 SLE 患者 91 例。男 11 例,女 80 例,年龄 11 ~ 72 岁,平均年龄(31.8 ± 11.7)岁,所有患者均符合 1997 年美国风湿病学会修订的 SLE 分类诊断标准,并除外感染、肿瘤、妊娠等。根据疾病活动度将 SLE 患者分为 2 组:活动组 SLE;SLEDAI 积分 ≥ 5 分^[3]的患者,共 38 例,男 6 例,女 32 例,年龄 14 ~ 72 岁,平均年龄(30.76 ± 11.87)岁,病程 0.08 ~ 24 年,平均病程(3.94 ± 5.44)年;非活动组 SLE;SLEDAI 积分 < 5 分^[3]的患者,共 53 例,男 5 例,女 48 例,年龄 11 ~ 52 岁,平均年龄(32.98 ± 11.32)岁,病程 0.04 ~ 19 年,平均病程(3.92 ± 4.22)年。健康对照组:入组我院体检中心健康人 20 例,男 4 例,女 16 例,年龄 14 ~ 60 岁,平均年龄(27.4 ± 12.7)岁。年龄、性别 2 组之间差异均无统计学意义($P > 0.05$)。我院伦理委员会通过并批准本研究,所有受试者均签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 SLE 中医辨证分型 依据《中药新药临床研究指导原则》^[4]及《实用中医风湿病学》^[5]中 SLE 的辨治要点,分为 6 型:1)热毒炽盛型。主症:起病急骤,持续高热,两颧或双手斑色红亮,剧者可出现狂躁神昏。次症:口糜口渴,心悸憋气,神疲乏力,鼻衄,汗出,溲短而赤。舌脉:舌红或绛苔黄,脉弦数或滑数。2)瘀热蕴毒型。主症:关节肌肉疼痛,低热或身热不扬,斑疹瘀紫,口干咽痛,两手发白发紫相继,双下肢斑斑如网。次症:恶风,关节肿胀僵硬。舌脉:舌紫暗瘀斑,苔黄,舌下络脉迂曲,脉滑数。3)浊毒壅阻型。主症:颜面四肢水肿,腰膝酸软,面色萎黄,周身散在皮疹,肌肉酸痛重着。次症:形寒肢冷,腹胀纳少,尿少,尿闭或尿浊,心悸气短。舌脉:舌胖嫩质淡苔薄白,脉沉细弱。4)热毒灼阴型。主症:低热,斑疹隐现,头晕耳鸣,五心烦热,盗汗。次症:口干咽燥,女性可出现闭经或经量显著减少,脱发,小便黄,大便干。舌脉:舌红少苔或薄黄苔或剥苔,脉细数。5)肝郁毒结型。主症:红斑色暗,情志抑郁,焦虑不安,腹胀,胁肋胀痛或刺痛,纳差,黄疸,泛恶

暖气。次症:胸膈痞满,胁下痞块,大便不利,头晕失眠,月经不调。舌脉:舌紫暗瘀斑,脉沉细或沉细涩或细弦。6)正虚邪恋型。主症:红斑隐退,神疲乏力,关节肌肉酸痛,月经量少。次症:轻度腰酸,面色爪甲不华,时感心悸气短。舌脉:舌淡红或舌淡苔白,脉沉细。据此将入组 91 例 SLE 患者分为热毒炽盛型 18 例,瘀热蕴毒型 20 例,浊毒壅阻型 16 例,热毒灼阴型 15 例,肝郁毒结型 13 例,正虚邪恋型 9 例。

1.2.2 ELISA 方法检测 BAFF 表达水平 BAFF 的检测采用定量 ELISA 法,所用试剂盒购自美国 R & D 公司。加样:将研究对象的血清标本和标准品(不同浓度)0.1 mL 分别加入包被有抗人 BAFF 抗体的 96 孔板中,恒温 37 °C 孵育 120 min 后弃液并甩干,连续洗涤 4 次;加酶标抗体:加入抗人 BAFF 酶标抗体 0.2 mL,恒温 37 °C 孵育 120 min 后弃液并甩干,连续洗涤 4 次;加底物显色:加入临时配置的底物溶液 0.2 mL,37 °C 避光显色 30 min;终止反应:于各反应孔中加入终止液 0.05 mL;检测及结果:于酶标仪上以 450 nm 波长测量各孔的平均光密度(OD 值)并计算结果。

1.3 采集 SLE 患者血液检测红细胞沉降率、C3、C4、CRP 同时根据 SLEDA 评分方法^[3]评估 SLE 患者疾病活动度,比较分析 SLE 不同中医证型患者 BAFF 水平及与 SLEDA 评分等疾病活动指标关系。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 16.0 统计软件分析,计量资料满足正态分布以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,2 组间比较采用两样本 t 检验,多组间比较采用方差分析(LSD Duncan 检验),相关性分析采用 Spearman 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清中 BAFF 水平比较 SLE 患者血清 BAFF 水平较健康对照组升高($P < 0.01$),其中活动组 SLE 患者血清 BAFF 水平高于非活动组及健康对照组($P < 0.01$),非活动组 SLE 患者 BAFF 水平高于健康对照($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 健康及 SLE 患者血清 BAFF 的表达

组别	例数	BAFF(pg/mL)
健康对照	20	311.37 ± 123.53
SLE 组	91	1 110.2 ± 863.02 **
非活动组	53	670.24 ± 336.92 ** △△
活动组	38	1 723.9 ± 994.01 **

注:与健康对照组比较 ** $P < 0.01$,与 SLE 活动组比较 △△ $P < 0.01$ 。

2.2 SLE 患者 BAFF 水平与 SLE 疾病活动指标相关性 SLE 患者血清 BAFF 水平与 SLEDAI 评分、红

细胞沉降率呈正相关($r=0.73, r=0.39, P<0.01$), 与 C3 负相关($r=-0.34, P<0.01$), 与 CRP、C4 相关无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 SLE 患者血清 BAFF 水平与 SLE 疾病活动指标相关性

	SLEDAI 评分	红细胞沉降率	C3	C4	CRP
BAFF	$r=0.73^{**}$	$r=0.39^{**}$	$r=-0.34^{**}$	$r=-0.141$	$r=0.24$

注: $^{**}P<0.01$ 。

2.3 SLE 不同中医证型中血清 BAFF、SLE 疾病活动指标比较 SLE 患者的 BAFF 水平在各组中医证型表达从高到低依次为:热毒炽盛型、浊毒壅阻型、热毒灼阴型、瘀热蕴毒型、肝郁毒结型、正虚邪恋型、

其中热毒炽盛型 SLE 患者 BAFF 水平较其他中医证型 SLE 患者均明显升高($P<0.01$);正虚邪恋型组 SLE 患者 BAFF 水平较其他证型 SLE 患者均明显降低($P<0.01$)。SLEDAI 评分在各中医证型中从高到低依次排列为:热毒炽盛型、浊毒壅阻型、瘀热蕴毒型、热毒灼阴型、正虚邪恋型、肝郁毒结型,其中热毒炽盛型 SLEDAI 评分较其他中医证型均明显升高($P<0.01$);热毒炽盛型、浊毒壅阻型的红细胞沉降率较肝郁毒结型相比差异有统计学意义($P<0.05$)。不同中医证型 SLE 患者的 C3、C4、CRP 之间无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 SLE 不同中医证型间血清 BAFF 水平、SLE 疾病活动指标比较

组别	例数	BAFF (pg/mL)	SLEDAI 评分	红细胞沉降率 (mm/h)	C3 (g/L)	C4 (g/L)	CRP (mg/L)
热毒炽盛型	18	1 886.53 ± 1 212.87	10.67 ± 5.93	50 ± 32.28	0.69 ± 0.38	0.14 ± 0.11	15.31 ± 32.75
瘀热蕴毒型	20	922.23 ± 716.37 ^{**}	6.0 ± 3.77 ^{**}	38.8 ± 29.09	0.79 ± 0.34	0.13 ± 0.10	8.88 ± 18.68
浊毒壅阻型	16	1 161.43 ± 708.00 ^{**}	6.94 ± 5.34 ^{**}	49 ± 40.19 ^{▲▲}	0.67 ± 0.37	0.13 ± 0.09	7.76 ± 10.71
热毒灼阴型	15	1 035.44 ± 629.82 ^{**}	3.47 ± 2.95 ^{**}	34.57 ± 32.69	0.81 ± 0.18	0.14 ± 0.06	8.98 ± 13.29
肝郁毒结型	13	733.11 ± 361.85 ^{**}	2.54 ± 2.47 ^{**}	20.92 ± 9.94 ^{△△}	0.81 ± 0.25	0.16 ± 0.10	2.64 ± 1.70
正虚邪恋型	9	553.87 ± 405.52 ^{**}	2.67 ± 1.414 ^{**}	27.89 ± 27.12	0.78 ± 0.22	0.13 ± 0.54	3.35 ± 1.50

注:与热毒炽盛型比较^{**} $P<0.01$,与热毒炽盛型比较^{△△} $P<0.05$,c与肝郁毒结型比较^{▲▲} $P<0.05$ 。

3 讨论

在中医经典著作《金匱要略·百合狐惑阴阳毒病脉证并治》有“阳毒之为病,面赤斑斑如锦纹……阴毒之为病,面目青,身痛如被杖,咽喉痛……”的记载,此论述与 SLE 疾病相当。此病多因先天禀赋不耐,下焦肝肾阴虚,肾水不足,内生虚热,久则热郁成毒;肾虚则卫气失根,肌腠失密,日光暴晒,阴虚则外阳侵袭,两阳搏结,热毒炽盛,内灼脏腑气血,外伤营卫肌肤,而表现为面赤斑斑等。我们从中医临床经验认识到“毒邪”贯穿于 SLE 的各个证型当中,根据兼夹病机的不同而分为上述 6 种证型^[6]。本研究通过对 91 例 SLE 患者不同中医证型的分析,发现热毒炽盛型所占比例为 19.8%、瘀热蕴毒型为 22%、浊毒壅阻型为 17.6%、热毒灼阴型为 16.5%、肝郁毒结型 14.3% 及正虚邪恋型 9.9%,提示瘀热蕴毒型、热毒炽盛型、浊毒壅阻型在临床中多见,与其他学者报道基本一致^[6]。此前研究提示“毒邪”是该病的关键致病因素,强调 SLE 病因主要为“毒”;随着毒邪与正气的此消彼长而出现证候及病情的转化^[6-7]。根据本研究的结果推断,SLE 的中医证候以正气不足、邪毒内盛,正邪相争、邪正消长为主要特点。因此临床中宜以扶正祛邪为治则,做到扶正以祛邪,祛邪不伤正。

诸多研究发现,BAFF 水平升高可出现在 SLE

患者及狼疮易感小鼠,在接受抗原刺激时 B 细胞有过度反应的内在倾向,从而导致致病性调控免疫球蛋白分泌细胞产生,并随时间累积导致 SLE。研究发现 BAFF 转基因鼠出现狼疮样症状,同时产生大量的自身抗体,导致免疫复合物沉积的肾小球肾炎^[8],而选择性阻断 BAFF 可预防和治疗狼疮肾炎,缓解疾病进展^[9]。动物实验已证实,BAFF 与 SLE 病情活动相关,在实验动物模型中 BAFF 拮抗剂可有效清除 B 细胞,延缓病情进展并延长生存。有研究证实 BAFF 敲除小鼠及 NZM 小鼠(B 细胞缺陷小鼠),注射干扰素- α 基因后无 SLE 病理表现及相应的临床表现,而野生型小鼠可迅速发病、出现蛋白尿等表现^[10]。本实验结果提示 SLE 患者血清中 BAFF 较健康人显著升高,与 Petri、Zhao、Salazar 等^[11-13]多位学者研究结果一致,亦证实 BAFF 水平变化与 SLE 发病相关。Petri^[11]的研究发现 SLE 患者血清 BAFF 水平与 SLEDAI 评分相关,随访中升高的 SLEDAI 评分与基线较高 BAFF 水平及 BAFF 升高程度亦相关^[11]。本研究结果进一步证实 SLE 患者 BAFF 与 SLEDAI 评分、ESR 呈正相关,与 C3 呈负相关,这与多数的横断面研究结果相一致^[11-13]。另外,本研究表明不同中医证型 SLE 患者的 C3、C4、CRP 间无统计学意义,考虑可能与中医证型分组后上述指标敏感性下降及病例数较少有关,

本研究提示不同中医证型 BAFF 水平不同,但 BAFF 能否作为临床工作中评估 SLE 病情及激素、免疫抑制剂的疗效监测、随访观察指标仍需要进一步研究证实。

目前糖皮质激素与免疫抑制剂仍为 SLE 西医治疗的主要手段,长期使用糖皮质激素与免疫抑制剂容易导致患者免疫力降低,从而增加感染风险及药物的不良反应^[14],结合中医扶正祛邪等治疗可有效控制病情,同时可达到减少激素及免疫抑制剂的用量,减少药物不良反应的疗效^[15-16]。本研究结果提示热毒炽盛型、浊毒壅阻型、瘀热蕴毒型 SLEDAI 评分较其他证型升高,提示此 3 型多见于中、重度活动期 SLE 患者,病情严重患者甚至可出现狼疮危象,因此临床中尽早积极运用中西医结合治疗可更好控制 SLE 病情、改善患者远期预后。正虚邪恋型 SLE 患者 BAFF 水平较其他证型均低,且该证型 SLEDAI 积分较低,提示该型多属狼疮病情稳定期,可能正虚邪恋型 SLE 患者多数为非初治患者,较规范使用激素和免疫抑制剂有关,临床应该辩证论治发挥中医药特色,减少西药使用,将病情控制在此阶段,避免疾病活动损害内脏,同时逐渐提高患者生活质量。

本研究结果显示热毒炽盛型 SLE 患者 BAFF 水平较其他证型均升高,其次为浊毒壅阻型、热毒灼阴型,与临床中 SLE 患者以青年人居多,急性发作期常因热毒炽盛,灼伤营血,临床多有红斑狼疮皮疹,中医证型中亦以实证为多这一现象相符合,与 Petri^[11]研究提示 SLE 患者红斑皮疹与 BAFF 增高有关相符。以 BAFF 为靶点研发的抗 BAFF 单抗目前已成为第一个被正式批准用于治疗 SLE 的生物制剂。抗 BAFF 单抗若以中医证型指导选择治疗 SLE 患者,上述结果提示其在热毒炽盛型 SLE 患者中可能有较好疗效,浊毒壅阻型、热毒灼阴型次之,而 SLE 正虚邪恋型可能因低水平 BAFF 水平而导致其疗效欠佳。

在 SLE 诊治过程中,必须坚持辨病与辨证相结合,先运用现代化检验检查手段确诊本病,再运用中医四诊详细收集病症,应用中医之八纲辨证的辨证体系进行辨证分型,根据因人因时因地制宜,充分发挥中医辩证论治的优势,在合理使用糖皮质激素及免疫抑制剂的同时,通过结合中医药的治疗,进一步提高疗效,减轻西药不良反应。本文通过比较分析 SLE 不同中医证型中 BAFF 及疾病活动指标水平及相关性,将宏观辨证和微观指标结合,证实 BAFF 参

与了 SLE 发病,根据中医证型可初步推断 SLE 患者的病情,抗 BAFF 单抗作为新的 SLE 治疗手段,在不同的 SLE 中医证型患者中可能疗效不同,抗 BAFF 单抗联合中医药辨证使用是否可提高疗效,仍需扩大样本量进一步研究,这些规律可为 SLE 中西医结合治疗提供新的诊疗思路。

参考文献

- [1] Ramanujam M, Bethunaickan R, Huang W, et al. Selective blockade of BAFF for the prevention and treatment of systemic lupus erythematosus nephritis in NZM2410 mice[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(5): 1457-1468.
- [2] 许善霖. 中医药研究系统性红斑狼疮的新思维和方法[J]. *世界中医药*, 2010, 5(6): 448-450.
- [3] Bombardier C, Gladman D D, Urowitz M B, et al. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients[J]. *The Committee on Prognosis Studies in SLE. Arthritis Rheum*, 1992, 35(6): 630-640.
- [4] 郑筱蓓. 中药新药临床研究指导原则[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 112.
- [5] 路志正, 焦树德. 实用中医风湿病学[S]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 466-476.
- [6] 刘维. 毒痹论[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2007, 13(1): 15.
- [7] 刘维, 刘晓亚, 张宏博, 等. 系统性红斑狼疮中医证型与实验室指标关系的探讨[J]. *中国中西医结合杂志*, 2008, 28(2): 115-117.
- [8] Khare S D, Sarosi I, Xia X Z, et al. Severe B cell hyperplasia and autoimmune disease in TALL-1 transgenic mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(7): 3370-3375.
- [9] Ramanujam M, Bethunaickan R, Huang W, et al. Selective blockade of BAFF for the prevention and treatment of systemic lupus erythematosus nephritis in NZM2410 mice[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(5): 1457-1468.
- [10] Jacob N, Guo S, Mathian A, et al. B Cell and BAFF dependence of IFN-alpha-exaggerated disease in systemic lupus erythematosus-prone NZM 2328 mice[J]. *J Immunol*, 2011, 186(8): 4984-4993.
- [11] Petri M, Stohl W, Chatham W, et al. Association of plasma B lymphocyte stimulator levels and disease activity in systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(8): 2453-2459.
- [12] Zhao L D, Li Y, Smith M J, et al. Expressions of BAFF/BAFF receptors and their correlation with disease activity in Chinese SLE patients[J]. *Lupus*, 2010, 19(13): 1534-1549.
- [13] Salazar-Camarena DC, Ortiz-Lazareno PC, Cruz A, et al. Association of BAFF, APRIL serum levels, BAFF-R, TACI and BCMA expression on peripheral B-cell subsets with clinical manifestations in systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2016, 25(6): 582-592.
- [14] 陈永锋. 糖皮质激素和免疫抑制剂在系统性红斑狼疮治疗中的常见问题[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2011, 18(4): 283-285.
- [15] 江春春, 苏晓. 系统性红斑狼疮的中医药治疗研究进展[J]. *风湿病与关节炎*, 2013, 2(5): 50-53.
- [16] 关彤, 张明英. 中医药治疗系统性红斑狼疮的优势探讨[J]. *中医杂志*, 2011, 52(3): 197-198.