

# 湿热痹阻型类风湿关节炎患者超氧化物歧化酶的变化及关联规则挖掘研究

郭锦晨<sup>1</sup>, 刘健<sup>2</sup>, 忻凌<sup>2</sup>, 万磊<sup>2</sup>, 汪元<sup>2</sup>, 周巧<sup>1</sup>, 黄旦<sup>1</sup>, 宋倩<sup>1</sup>

(1. 安徽中医药大学研究生院, 合肥 230038; 2. 安徽中医药大学第一附属医院)

**[摘要]** **目的** 研究湿热痹阻型类风湿关节炎(RA)患者血清超氧化物歧化酶(SOD)的变化及相关因素分析。**方法** 整理安徽中医药大学第一附属医院风湿病科 2012 年 6 月至 2015 年 10 月湿热痹阻型类风湿关节炎住院患者的病历资料。采用 SPSS 17.0 和 SPSS Clementine 12.0 软件 Aprior 模块分析 RA 患者血清 SOD 的变化及相关影响因素。**结果** 355 例湿热痹阻型 RA 患者血清 SOD 值与正常参考值相比较, 下降的有 182 例(占 51.27%)。相关性分析示: 血清 SOD 与免疫球蛋白 M、低密度脂蛋白胆固醇、抗环瓜氨酸肽抗体呈负相关, 与 C4 呈正相关( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。治疗后血清 SOD 上升与车前草红花、车前草桃仁、车前草苡苡仁、车前草陈皮、车前草茯苓等中药组合存在明显关联关系, 置信度均在 90% 以上。治疗后血清 SOD 上升与外用芙蓉膏和消瘀接骨散也存在明显关联关系。**结论** SOD 参与 RA 的发病过程, 其机制可能与免疫炎症、氧化应激、脂代谢等相关。中医药内外合治均可提高机体 SOD 水平, 调节氧化/抗氧化系统动态平衡, 缓解临床症状。

**[关键词]** 关节炎; 类风湿; 超氧化物歧化酶; 健脾; 化湿; 通络; 危险因素

**中图分类号:** R593.22 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/J.issn.1672-6790.2017.02.020

类风湿关节炎(RA)是一种以慢性滑膜炎症为主要特征的自身免疫疾病, 关节炎症刺激可导致关节内软骨和骨的破坏, 反复迁延多年, 最终导致关节畸变及功能丧失<sup>[1]</sup>。迄今研究认为免疫炎症反应和氧化应激均存在于 RA 的病理过程, 氧化应激是体内氧化与抗氧化作用失衡, 导致大量氧化中间产物活性氧(ROS)自由基和活性氮(RNS)自由基的产生, 引起组织损伤。ROS 还能引起炎症反应及低密度脂蛋白氧化<sup>[2]</sup>。RA 患者体内自由基增多, 可引起超氧化物歧化酶(SOD)系统紊乱, 抗氧化能力减弱, 导致炎症组织损伤加重, 以及 RA 滑膜分泌的金属蛋白酶, 可直接破坏软骨<sup>[3]</sup>。SOD 是抗氧化酶家族重要成员之一, 通过 Nrf2 通路可以上调 MnSOD 和 HO-1 蛋白表达, 可使氧自由基发生歧化反应而

被清除, 在 RA 的发病中发挥重要作用。本文根据湿热痹阻型 RA 患者血清 SOD 水平来研究其变化特征及影响因素, 并探讨中药及外用药对 SOD 的影响, 为优化处方提供依据。

## 1 资料与方法

**1.1 诊断标准** 西医诊断标准: 依据 1987 年美国风湿病学会类风湿关节炎的诊断标准, 参考 2009 年美国风湿病学会和欧洲抗风湿病联盟提出的最新 RA 分类标准和评分系统<sup>[4]</sup>。中医诊断标准: 参照《中医内科学》《中药新药临床研究指导原则》<sup>[5]</sup>, 痹证辨证属湿热痹阻型。

**1.2 纳入及排除标准** 纳入标准: (1) 符合 RA 诊断标准, 中医辨证属湿热痹阻型者; (2) 治疗前后均有实验室生化检查。排除标准: (1) 不符合 RA 诊断标准; (2) 合并有严重疾病以及严重关节外表现需要使用糖皮质激素的患者; (3) 精神病患者; (4) 治疗前或治疗后无实验室生化检查单; (5) 研究者认为不宜纳入者。

**1.3 一般资料** 收集安徽中医药大学第一附属医院风湿病科 2012 年至 2015 年湿热痹阻型 RA 住院患者的病历资料, 确诊湿热痹阻型 RA 患者 1204 例, 生化检验 SOD 患者 355 例。选取下列生化指标: 免疫球蛋白 A(IgA)、免疫球蛋白 M(IgM)、免疫球蛋白 G(IgG)、补体 C3、补体 C4、红细胞沉降率

**基金项目:** 国家科技支撑计划课题(2012BA126B02); 国家自然科学基金青年项目(81403388); 国家中医药重点学科中医痹病学建设项目(国中医药发[2009]30号); 国家临床重点专科中医风湿病科建设项目(财社[2013]239号); 安徽省重点实验室建设项目(1306c083035)

**作者简介:** 郭锦晨, 硕士在读, Email: 602923241@qq.com

**通信作者:** 刘健, 主任医师, 教授, 博士生导师, Email: liuji-anahzy@126.com

(ESR)、血小板 (PLT)、超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、类风湿因子 (RF)、SOD、抗环瓜氨酸肽抗体 (CCP-AB)、三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、载脂蛋白-A<sub>1</sub> (APO-A<sub>1</sub>)、载脂蛋白-B (APO-B)。所涉及生化指标均在安徽中医药大学第一附属医院实验中心检测,ESR 采用魏氏法,IgA、IgM、IgG、C3、C4、PLT、RF、hs-CRP、CCP-AB、TG、TC、HDL-C、LDL-C、APO-A<sub>1</sub>、APO-B 采用日立 7060 型全自动生化分析仪进行测定,SOD 采用黄嘌呤氧化酶比色法测定,正常参考值 129 ~ 216 U/mL。

1.4 数据挖掘

1.4.1 数据挖掘的数据预处理 用药后下血清 SOD 上升取值定为 1,不变或下降定为 0;(注:治疗指标变化有利于减轻疾病时取值为 1,反之,不利于疾病发展取值为 0)。治疗中药“有”取值定为 1,“无”取值定为 0。包括补充缺失数据,剔除错误数据。

1.4.2 数据挖掘 关联规则分析:采用 SPSS Clementine 12.0 中的 Aprior 模块为挖掘工具来探讨中药及外用药与血清 SOD 的关系。关联规则置信度设为 70%,支持度设为 20%。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 进行统计分析,指标间相关性采用 Spearman 分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 湿热痹阻型 RA 患者 SOD 值 355 例湿热痹阻型 RA 患者血清 SOD 值与正常参考值(129 ~ 216 U/mL)相比较,下降的有 182 例(占 51.27%),正常的有 172 例(占 48.45%),上升的有 1 例(占 0.28%)。

2.2 湿热痹阻型 RA 患者血清 SOD 与实验室指标相关性分析 相关性分析示血清 SOD 水平与 IgM、LDL-C、CCP-AB 呈负相关,与 C4 呈正相关( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。与其他实验室指标无相关性。见表 1。

2.3 中药与湿热痹阻型 RA 患者 SOD 的关联分析 设定前项为中药,且为 2 位,后项为 SOD,最小置信度为 70%,最小支持度为 20%。经 Aprior 模块分析,前项与后项置信度结果排前 5 位的见表 2。

2.4 外用药与湿热痹阻型 RA 患者 SOD 的关联分析 设定前项为外用药(芙蓉膏、消瘀接骨散),后项为 SOD,最小置信度为 70%,最小支持度为 20%。

表 1 湿热痹阻型 RA 患者血清 SOD 与实验室指标相关性分析

| 指标                 | r 值    | P 值   |
|--------------------|--------|-------|
| IgA                | -0.035 | 0.511 |
| IgM                | -0.129 | 0.015 |
| IgG                | -0.069 | 0.195 |
| C3                 | -0.044 | 0.410 |
| C4                 | 0.105  | 0.047 |
| ESR                | -0.051 | 0.155 |
| CCP-AB             | -0.142 | 0.008 |
| RF                 | 0.006  | 0.865 |
| hs-CRP             | -0.068 | 0.060 |
| LDL-C              | -0.109 | 0.039 |
| HDL-C              | -0.071 | 0.190 |
| TG                 | -0.029 | 0.586 |
| TC                 | -0.046 | 0.385 |
| PLT                | -0.005 | 0.923 |
| APO-A <sub>1</sub> | -0.073 | 0.178 |
| APO-B              | -0.018 | 0.747 |

表 2 中药与湿热痹阻型 RA 患者 SOD 的关联分析

| 前项(中药) | 后项(指标) | 支持度(%) | 置信度(%) |
|--------|--------|--------|--------|
| 红花     |        | 21.01  | 94.36  |
| 桃仁     |        | 20.71  | 94.28  |
| 车前草    | SOD 上升 | 22.48  | 93.42  |
| 陈皮     |        | 20.71  | 92.85  |
| 茯苓     |        | 23.37  | 92.40  |

表 3 外用药与湿热痹阻型 RA 患者 SOD 的关联分析

| 前项    | 后项     | 支持度(%) | 置信度(%) |
|-------|--------|--------|--------|
| 芙蓉膏   | SOD 上升 | 68.63  | 89.65  |
| 消瘀接骨散 | SOD 上升 | 68.04  | 90.43  |

经 Aprior 模块分析,前项与后项支持度、置信度结果见表 3。

3 讨论

RA 是以滑膜炎为特征的全身性免疫性疾病,细胞因子参与了 RA 的整个病理过程,其中 IL-1、TNF-α、IL-4、IL-10 起着很重要的作用,IL-1、TNF-α 是引起 RA 关节病变的主要炎性细胞因子<sup>[6]</sup>。RA 患者自身免疫性 T 细胞还可以对自身抗原产生特异性免疫应答,导致大量炎性细胞因子释放,引发迟发性超敏反应,形成关节部位炎性损伤<sup>[7]</sup>。现代研究发现,氧化应激和免疫炎性反应共同参与 RA 的发病过程,细胞因子失衡贯穿全程,氧化应激失调也

伴随发病始末。RA 患者体内自由基增多,可引起 SOD 系统紊乱,抗氧化能力减弱,导致炎症组织损伤加重,以及 RA 滑膜分泌的金属蛋白酶,可直接破坏软骨<sup>[8]</sup>。

氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时,体内高活性分子如 ROS 和 RNS 自由基产生过多,氧化程度超出氧化物清除能力,氧化系统和抗氧化系统动态失衡,机体内氧化还原水平失衡是众多疾病的病理生理基础。SOD 又称为肝蛋白、奥古蛋白,是由金属辅酶与蛋白质构成的一种金属酶,是机体内氧自由基的头号杀手,具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗辐射、抗衰老等作用。可以通过歧化反应将超氧自由基转变为  $H_2O_2$  和水,之后 GSH-Px 和 CAT 可再将  $H_2O_2$  转化为水,从而保护细胞免受氧化应激损伤。Nrf2 信号通路还可调控 HO-1 作用于血红素分解的副产物,可以选择性地抑制脂多糖 (LPS) 诱导的促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1、MIP-1 $\beta$  的增加,同时增加 LPS 诱导的 IL-10 的表达,从而在炎症导致的功能紊乱中发挥保护作用。本研究发现,在 355 例湿热痹阻型 (活动期) 类风湿关节炎患者中,有 182 例 (占 51.27%) 患者的血清 SOD 水平低于检测正常值。相关性分析示血清 SOD 水平与 IgM、LDL-C、CCP-AB 呈负相关,与 C4 呈正相关 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。说明疾病活动、免疫炎症反应、脂代谢均不同程度影响了湿热痹阻型 RA 患者 SOD 水平的降低,而 SOD 水平的下降,湿热痹阻型 RA 患者机体的氧化/抗氧化失衡又导致疾病活动、免疫炎症反应、脂代谢紊乱的发生。抗环瓜氨酸肽抗体 (抗 CPP 抗体) 对 RA 具有高特异性、高敏感性,在疾病早期即出现,与疾病活动度、关节结构损伤密切相关,是骨侵蚀破坏的独立风险预测因子<sup>[9]</sup>。活动期 RA 患者自身抗体或炎症因子表达升高,引起体内营养物质代谢的变化,还有自由基过量堆积,可引起不饱和脂肪酸氧化过程损伤关键的呼吸链酶,改变 DNA 及其相关蛋白<sup>[10]</sup>。脂代谢的紊乱与 RA 疾病的活动性呈一定关系,血液中炎症因子的水平明显升高,可以作用于外周组织如脂肪、肝脏、血管内皮等,导致脂代谢紊乱、内皮功能障碍等<sup>[11]</sup>。因此,湿热痹阻型 (活动期) RA 患者 SOD 水平降低可以从侧面反映 RA 的疾病活动、免疫炎症、脂代谢水平,说明 SOD 可以作为评价 RA 病情活动度的重要指标。

RA 的中医学病机为“脾胃虚弱、湿浊内生,气血不足、营卫失调,痰瘀互结,脉络阻滞”,中医证候

呈现“脾虚湿盛、虚实夹杂”的临床特征<sup>[12-13]</sup>。脾虚湿盛是 RA 病机的特征之一,健脾化湿通络法为基本大法,从脾论治是安徽中医药大学第一附属医院对风湿病的辨治特色疗法。外感湿热,或素体湿盛,日久化热,或外感风热,与湿相合,或素体阴虚,复感风寒湿邪,寒湿从热化,湿热留恋于肢体经络,蕴结壅阻而为湿热痹阻之证 (RA 活动期)<sup>[14-15]</sup>。由关联结果分析可知,治疗后血清 SOD 上升与车前草红花、车前草桃仁、车前草薏苡仁、车前草陈皮、车前草茯苓等中药组合存在明显关联关系,置信度均在 90% 以上。表明安徽中医药大学第一附属医院对于湿热痹阻型 RA 从脾论治,健脾化湿以治本,清热利湿以治标,兼以行气活血化瘀、祛风除湿通络,标本兼治,攻补兼施。车前草、红花、薏苡仁、茯苓等中药辨证论治可能通过调节免疫炎症反应、氧化应激状态,提高 SOD 活性,清除氧化还原产物,提高机体抗氧化能力,改善 RA 患者临床症状。现代药理研究发现,车前草总黄酮<sup>[16]</sup>可以增强氧化损伤小鼠体内 SOD、GSH-Px 活性,抑制过氧化脂质对机体的损伤,车前草所含玫红酸还可以诱导动脉内皮细胞产生血红素氧化酶 1 (HO-1),可通过对抗氧化应激而保护机体细胞免受损伤。红花提取物红花黄素可以增加 SOD、ATP 活性,有效清除氧自由基,减少 MDA 活性,减轻脂质过氧化<sup>[17]</sup>。薏苡仁多糖可有效提高小鼠体内 SOD、GSH-Px 活性和红细胞 GSH 浓度,降低机体氧化应激水平,清除活性氧自由基的作用,防止脂质过氧化反应<sup>[18]</sup>。

中医外治法种类多、直达病所、起效快、毒副作用少,特别是对脾胃功能有间接保护作用,在急性期可以较快作用于病变部位,清热解毒,消炎止痛,缓解局部症状和患者痛苦。安徽中医药大学第一附属医院辨治湿热痹阻型 RA 外用药以芙蓉膏<sup>[19]</sup>、消瘀接骨散<sup>[20]</sup>为主。本方以活血化瘀药为主,配合温里通经之药,使血热得行,瘀去新生,有活血化瘀、消肿止痛之效。由关联结果分析,芙蓉膏、消瘀接骨散与治疗后血清 SOD 上升存在明显关联关系,置信度达 80% 以上。说明外用药芙蓉膏、消瘀接骨散减轻 RA 患者局部症状可能通过调节氧化/抗氧化系统,增强 SOD 活性,清除过多的自由基,抑制组织脂质过氧化。

综上所述,本研究结果表明 SOD 参与 RA 的发病过程,其机制可能与免疫炎症、氧化应激、脂代谢等相关,SOD 可以作为评价 RA 病情活动度的重要

指标之一,对病情的发展具有重要影响作用。中医药内服外用均可能通过调节氧化/抗氧化系统,增强 SOD 活性,清除过多的自由基,提高机体抗氧化能力。故在临床上应合理运用中医药优势内外合治,提高机体 SOD 水平,调节氧化/抗氧化系统动态平衡,缓解临床症状,改善患者生活质量。

### 参考文献

- [1] 刘健,万磊,黄传兵,等. 类风湿关节炎患者肺功能变化及中药新风胶囊干预研究[J]. 中国临床保健杂志, 2014,17(1):102-106.
- [2] 董曦,孙桂波,罗云,等. 异鼠李素对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的 H9C2 细胞氧化应激损伤的保护作用研究[J]. 中国药理学通报,2015,31(6):853-860.
- [3] 刘健,黄传兵,汪元,等. 健脾化湿通络法对类风湿关节炎关节外病变的影响及机制研究[J]. 风湿病与关节炎,2012,1(2):8-11.
- [4] 孙玥,刘健,万磊,等. 类风湿关节炎患者心肺功能变化及与 B、T 淋巴细胞衰减因子及氧化应激的相关性分析[J]. 免疫学杂志,2015,31(3):234-239.
- [5] 国家食品药品监督管理局. 中药新药临床研究指导原则[R]. 北京:中国医药科技出版社,2002.
- [6] 刘健,刘晓晖,韩明向. 新风胶囊治疗活动期类风湿性关节炎 20 例[J]. 安徽中医学院学报,2003,22(3):12-16.
- [7] 万磊,刘健,盛长健,等. 活动期类风湿关节炎患者肺功能变化相关性研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2010,17(4):18-22.
- [8] 刘健,李华,湛曦. 健脾化湿通络法治疗类风湿关节炎贫血的临床研究[J]. 中西医结合学报,2006,4(4):348-354.
- [9] 葛瑶,刘健,张皖东,等. 新风胶囊对类风湿关节炎患者抗环瓜氨酸肽抗体表达的干预研究[J]. 安徽医药, 2015,19(4):749-752.
- [10] 谢秀丽,刘健,盛长健,等. 活动期类风湿关节炎蛋白质代谢变化及相关性[J]. 中国临床保健杂志,2010, 13(1):15-18.
- [11] 刘健,万磊,黄传兵,等. 新风胶囊对类风湿关节炎患者脂蛋白代谢的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2015,35(9):1060-1064.
- [12] 刘健. 类风湿性关节炎从脾论治探讨[J]. 安徽中医学院学报,2004,23(1):1-4.
- [13] 万磊,刘健,程园园,等. 基于脾虚湿盛病机的类风湿关节炎"从脾论治"研究[J]. 中国临床保健杂志, 2012,15(5):455-458.
- [14] 刘健,韩明向. 健脾益肾祛湿通络法治疗老年类风湿关节炎机制探讨[J]. 临床中老年保健,2003,6(4):313-315.
- [15] 郭锦晨,刘健,汪元. 从《婺源余先生医案》浅析余国珮治痹思路与特色[J]. 江西中医药大学学报,2016,28(2):13-14.
- [16] 杨亚军,周秋贵,曾红,等. 车前草化学成分及新生物活性研究进展[J]. 中成药,2011,33(10):1771-1776.
- [17] 卜志勇,郑玲,李安军,等. 红花黄素对大鼠脊髓损伤局部 SOD、MDA 和细胞凋亡的影响[J]. 湖北医药学院学报,2011,30(1):23-25.
- [18] 吕峰,黄一帆,池淑芳,等. 薏苡仁多糖对小鼠抗氧化作用的研究[J]. 营养学报,2008,30(6):602-605.
- [19] 王桂珍,刘健,黄传兵,等. 中药内外合治湿热痹阻型膝关节关节炎临床疗效观察[J]. 安徽医药,2015, 19(8):1581-1584.
- [20] 孙玥,刘健,万磊,等. 新风胶囊通过调节 Keap1-Nrf2/ARE 信号通路改善佐剂型关节炎大鼠肺功能研究[J]. 中华中医药杂志,2016,31(5):1971-1978.

(收稿日期:2016-11-10)

## 关注《中国临床保健杂志》官方微信 免费浏览期刊内容

微信公众平台的开通,给杂志的读者、作者、编者增加了一个互动交流的渠道。杂志的优秀论文、专题征稿活动、出刊情况、会议通知等在杂志网站上发布的同时会在平台上即时推送,读者可以通过微信平台免费阅读 2013 年第 1 期至今的所有本刊内容。

**关注我们:**(1)打开微信,点击下方“发现”,再点击“扫一扫”,扫描本刊二维码关注即可。(2)打开微信,点击右上方“+”按钮,点击“添加朋友”,输入本刊微信公众平台号码,搜索后关注即可。

《中国临床保健杂志》微信公众平台号码:ZGLCBJZZ

《中国临床保健杂志》微信公众平台二维码:

