

◆ 思路研究 ◆

基于凋亡 - 自噬稳态失衡论骨髓增生异常综合征正虚邪实病机演变

许鸣¹, 许勇钢², 胡晓梅², 陆嘉惠³

1. 桐乡市第一人民医院, 浙江 桐乡 314500

2. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091

3. 上海中医药大学附属市中医医院, 上海 200071

[摘要] 中医理论认为, 人体是能进行自我调节和控制的整体系统, 病机学说侧重从动态功能和整体结构研究疾病的生理。骨髓增生异常综合征 (Myelodysplastic syndromes, MDS) 是一组造血干细胞恶性克隆性疾病, 不同危度分层间具有极大差异, 易转化为急性髓系白血病。一般认为, MDS 疾病初期或低危型 MDS 以“正虚”证型为主间或夹有“瘀毒”症状; MDS 疾病后期或高危型 MDS 以“瘀毒”证型为主, 同时表现出正气受损甚或衰极现象。随着现代分子生物学研究的进展, 中医证型的物质基础逐渐被揭示与阐明, 不同危度 MDS 患者的骨髓单个核细胞凋亡和自噬水平的差异性表达与不同中医证型之间具有高度相关性。低危 MDS 凋亡过度和 (或) 自噬减少均符合正虚型患者的中医证候表现及病机特点, 而低危向高危转化的过程中凋亡减少及自噬进一步受抑制则与瘀毒型患者证候表现及病机特点相符。

[关键词] 骨髓增生异常综合征; 凋亡; 自噬; 正虚; 瘀毒; 病机演变

[中图分类号] R551.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 12-0252-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.12.075

A Discussion on Evolution of Pathogenesis of Simultaneous Presentation of Sthenia and Asthenia in Myelodysplastic Syndromes Based on the Homeostasis imbalance of Apoptosis-autophagy

XU Ming, XU Yonggang, HU Xiaomei, LU Jiahui

Abstract: According to the Chinese medicine theory, the human body is an integral system capable of self-regulation and control, while the theory of pathogenesis focuses on studying the physiology of disease from dynamic function and whole structure. Myelodysplastic syndromes (MDS) are a group of hematopoietic stem cell malignant cloned diseases, in which the risk stratification differs greatly, and it is easy to transform into acute myeloid leukemia. Generally, MDS at early stage or with low risk are mainly characterized by "positive qi become weak" syndrome types or accompanied with "stasis-toxin" symptoms. MDS at advanced stage or with high risk are mainly characterized by "stasis-toxin" syndrome types, and the damage or even degeneration of healthy qi is presented meanwhile. With the development of modern molecular biology, the material basis of Chinese medicine syndrome types is gradually revealed and clarified: the differential expression of apoptosis and autophagy of bone marrow mononuclear cells in patients with MDS with different risks is highly correlated with different Chinese medicine syndrome types. The excessive apoptosis and/or reduction of autophagy in low-risk MDS all conform to the characteristics of Chinese medicine syndrome types and pathogenesis in patients with positive qi become weak syndrome types, while the decrease of apoptosis and further inhibition of autophagy during the transformation from low risk to high risk are consistent with the symptoms and pathogenesis of patients with stasis-toxin syndrome types.

Keywords: Myelodysplastic syndromes; Apoptosis; Autophagy; Positive-asthenia; Stasis-toxin; Evolution of pathogenesis

[收稿日期] 2018-05-25

[基金资助] 国家中医临床研究基地业务建设第二批科研专项课题 (JDZX2015260) (依托基地: 中国中医科学院西苑医院); 国家自然科学基金资助项目 (81573928); 上海市促进市级医院临床技能与临床创新能力三年行动计划项目 (16CR2040B)

[作者简介] 许鸣 (1987-), 女, 主治中医师, 研究方向: 中西医结合治疗恶性肿瘤。

[通信作者] 陆嘉惠, E-mail: lujiahui73@163.com。

骨髓增生异常综合征(Myelodysplastic syndrome, MDS)是一组起源于造血髓系定向干细胞或多能干细胞的恶性克隆性疾病,细胞自噬和凋亡与MDS的发病和进展有着密切关联^[1-2]。中医学将MDS命名为“髓毒劳”,认为该病本虚标实,外毒直中耗损正气或因先后天不足而见脾肾两脏亏虚,又因虚致毒或因虚致瘀,出现以瘀、毒为主的病理产物,瘀毒之邪日深致使正气被克伐更甚,最终导致虚极之证;总之,脾肾两虚、毒瘀内蕴贯穿了MDS的整个发病过程^[3]。自噬与凋亡是维持细胞稳态,清除异常细胞、细胞器的两种不同方式,中药对MDS治疗的有效性及其作用的内在机制可能与凋亡和自噬调控相关。由于MDS异质性较大,易发生转化,其正虚、邪实的中医证型及病机转化规律的物质基础有必要进行深入挖掘,故探讨凋亡、自噬等基本细胞生命现象在不同证型中的作用更利于指导临床个体化精准治疗。

1 MDS正虚、邪实证候特点及病机转化规律

证,是疾病发展过程中某一阶段的病理概括。根据阴阳气血脏腑不同辨证,MDS的中医分型可归为气阴两虚心肝血亏证、肾精亏虚血瘀内阻证、痰瘀互阻阴阳失衡证、热毒炽盛脏腑虚极证;疾病早期以虚证为主,兼有实证,晚期见虚实夹杂证,并以实证突出^[4]。证候是病机的外在反映,病机是证候的内在本质。如从病机上讨论MDS证型,则与“肾为先天之本,主骨生髓,藏精血”“脾为后天之本,气血生化之源”等理论密不可分。知常达变,探源求本,脾肾虚损在MDS血液生化异常的发病机制中发挥根本作用,而瘀毒内结既可为疾病的外在表现之一,又是疾病进展的重要变化因素。脾肾亏虚则邪毒乘虚而入,脏腑功能失常难以达邪,邪毒留滞不去,瘀血内停,瘀毒蕴结,耗气伤阴,正气愈虚;“瘀血不祛,新血不生”,精血日耗;正所谓脾肾亏虚为之本,邪毒内蕴为之标,痰瘀内动为之变^[5]。

正因MDS呈现高度异质性和突变进展性特点,中医病机主要表现在邪正盛衰、虚实转化的方面,既可以邪正论虚实,又可以气血论虚实,而气血论为邪正论的具体辨析。正气包括人体精气血物质及对机体内外环境的适应能力,而邪气泛指多种致病因素。邪正盛衰为动态平衡,自张仲景起即对疾病的本质和发生发展变化规律进行了由浅入深的纵向动态传变和同一层次的横向传变的分析。虚实决定邪正盛衰,当正邪双方力量对比发生变化,并达到主要与次要矛盾互易其主次位置的程度时,则疾病的虚实质性亦会发生转化,或由实转虚,或因虚致实。就MDS而言,早期病机以脾肾两虚为主,气血不足,造血乏源,故临床表现为虚劳症状,但久病生瘀,因虚致毒,此时瘀毒虽不盛,但伏于骨髓之中,故与单纯虚症有所区别。若及时培补正气,化解瘀毒,早期MDS患者正邪势力处于稳定状态,疾病可长期不发生进展。如果正气进一步受攻伐,不能维持机体的稳态,致病因素如深伏于骨髓中的温热毒邪发作,暗耗人体精血,故见衄血发斑、尿血便血、高热等耗精动血之

证,此时病证由正气亏损为主要矛盾的虚性病变,转变为邪气盛较突出的实性病变。

2 自噬、凋亡调控的细胞稳态在MDS发病及进展中的作用

自噬是真核细胞所特有的细胞内物质成分被溶酶体降解过程的统称^[6]。国内外多项研究表明MDS发病机制与细胞自噬现象密切相关,造血干细胞层面的自噬功能缺陷可导致受损线粒体的堆积,使代谢产物如活性氧簇(ROS)增多造成细胞损伤及基因不稳定;而细胞损伤可使线粒体进一步堆积,最终诱导具有MDS表型的细胞增殖,基因的不稳定更会促使MDS进展为急性髓细胞白血病(AML)^[7]。有研究发现,中危-2/高危MDS组BMMNC自噬水平较低危/中危-1MDS组患者自噬水平下降更为明显,推测自噬水平相对不足可能与疾病进展有关^[7]。具体而言,在MDS的相对低危阶段,虽然骨髓CD34⁺细胞异常增生并出现病态造血,但这类细胞仍具有一定正常功能(自噬相关基因Bclin-1水平正常),可通过自噬作用,将受损的细胞器、DNA降解后重新利用。而在MDS相对高危阶段,自噬相关基因Bclin-1水平显著降低,细胞凋亡减少并促使细胞无限增殖,而低度的自噬活性又使肿瘤细胞更加适应环境变化^[8],由此导致了MDS恶性克隆的增加。

凋亡和自噬均是细胞内受到严格调控的生物进程,两者维持的细胞稳态在MDS疾病进展中具有显著意义。在低危MDS患者骨髓中CD34⁺和CD34⁻细胞凋亡率均高于高危患者,且以CD34⁻细胞的凋亡为主导,而在高危MDS患者骨髓中细胞凋亡受抑制,转变为以CD34⁺细胞的增殖为主导^[9]。另有研究证明,抗凋亡蛋白B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)在AML患者CD34⁺细胞中表达增高,凋亡率显著低于MDS^[10],说明MDS患者不仅存在不同程度的凋亡异常,并且这种异常的凋亡与疾病向AML转化相关。作为MDS细胞抗凋亡环节中的重要蛋白,Bcl-2还能够通过和Beclin-1的相互作用发挥抗自噬功能,因为在Bcl-2下降时伴随了更多的Beclin-1依赖性自噬^[11]。在MDS患者中,Bcl-2表达水平随着危度的增加而升高,Beclin-1的表达水平随着危度的增加而降低,高危MDS相比低危MDS更具有细胞凋亡受抑、自噬水平较低的特点^[12],因此,Beclin-1表达异常是MDS细胞发生凋亡-自噬稳态失常的关键环节。

3 MDS正虚、邪实病机转化与凋亡-自噬调控细胞稳态的相关性

中医学是根据朴素的自然辩证法去认识客观世界的,它同分子生物学有着同样坚实的客观基础,都是从科学实践中提炼的理论,只是分子生物学以现代科学实验为手段在性和量方面更加细微。如细胞自噬和凋亡在生理情况下保持一定比例,比例失调就会造成病态,凋亡过度,正常细胞量的减少、质的下降,表现出气血不足;自噬过少,代谢病理产物增加,可表现出痰凝血瘀;此与中医“气与血不得相多”的阴阳动态平衡的论点一致。从MDS凋亡-自噬维持“自我稳态”的角度分析,

由于细胞存在自噬现象,则可理解为此时机体气不足,精来化,胞质、错误合成蛋白等物质降解为氨基酸,再进入三羧酸循环,提供细胞需要的能量,正所谓精可化气,气聚为精。正虚即为机体功能下降,或者精微物质不足,在自噬的调控下可利用物质循环利用产生能量,而邪实往往是一种器质性的病理状态,在MDS中通常为以微循环障碍为主的血瘀和以基因突变为主的癌毒在骨髓微环境中对干细胞稳态产生负性影响。

如果说自噬是一种应激性反应,那么在邪实状态时有害物质存在下,凋亡则具有防御性作用。核因子 κ B(NF- κ B)是人体防御机制的重要因子,其同时具有促/抑凋亡的双向诱导作用。低危组MDS细胞NF- κ B活化水平下降,凋亡增加,高危组MDS细胞NF- κ B活化水平增高,凋亡减少。前期研究中通过“以方测证”证明扶正药物有抑制低危MDS骨髓细胞过度凋亡的作用,而祛邪药物则可诱导高危MDS骨髓细胞凋亡,可见扶正祛邪药物均有降低NF- κ B活化水平的作用^[3],间接证明了正虚型MDS存在凋亡过度现象。由于内生实邪可通过凋亡进行自我清除,或在药物干预下增强这种能力,故正虚邪实在疾病过程中并不以阶梯式下降或上升,因人体代偿和稳态的存在而具有一定平台期。

4 组蛋白密码影响的凋亡-自噬调控失衡与MDS病机转化相关性

如前所述,与MDS病机密切相关的病理因素有瘀、毒、阴阳失衡等,其中,毒很可能是细胞代谢产物的堆积导致基因不稳定,致使细胞恶性克隆增殖。这种基因毒性表现在原癌基因和肿瘤抑制基因的突变上,可受组蛋白调控。有研究显示组蛋白修饰在转录延伸水平抑制了肿瘤发生相关基因的过度表达,进而抑制肿瘤发生^[4]。目前鉴定出的组蛋白修饰化学类型已超过25种,包括甲基化、酰基化、磷酸化等。这些组蛋白修饰及其组合被认为构成一组广义上的“组蛋白密码”,是表观遗传调控的重要机制之一,既可干预肿瘤细胞凋亡,也对细胞自噬产生影响。自噬过程囊括了转录和表观遗传程序,组蛋白修饰中的H3K9甲基化的去除参与了自噬的早期阶段,H4K16去乙酰化参与了自噬的晚期阶段,这种参与自噬的修饰也表现出了与凋亡组蛋白标记显著的负相关特征,这暗示了自噬性组蛋白密码可以促进细胞存活。另外,与死亡相关的组蛋白密码相同的组蛋白修饰也在肿瘤进程中发生,因此这些组蛋白密码又可以代表组蛋白的致癌相关修饰。这可能是由于肿瘤发生发展过程中会发生自噬和凋亡的失调,而一般来说凋亡程序的抑制对肿瘤细胞生存有利,但抑制自噬对于肿瘤细胞的影响则更为复杂。通常在肿瘤发展早期高水平的自噬可以导致肿瘤细胞的死亡,而对于已建立的肿瘤细胞则依赖增强的自噬对抗包括有限的营养供给等应激条件^[5]。

表观遗传学与中医学中禀赋学说类似。章虚谷在《灵素节株类编》中言:“阴阳气精,禀受于天”“禀有浓薄,摄养有乖和,则不能拘常数矣。”在组蛋白密码调控过程中,不同酶

的作用表现为阴阳两面,种种表观遗传学现象综合地呈现出关系性、功能性和非线性特点,如同中医证候转变的动态过程,具有不同层次与变量以及时间的特性,显示出机体功能失序状态及病理的发生兴衰与消长演变规律。MDS正虚向邪实转化过程中,通过“既病防变”以扶正药的使用维持干细胞稳态,延缓甚至可能逆转疾病进展。此时自噬性组蛋白密码便充当了变阻器,虽然不能像开关一样将致病基因沉默,但可通过阻断自噬或自噬缺失使细胞在面临应激时容易发生死亡,而自噬诱导超过生理性范围也能导致细胞死亡。

5 结语

综上,MDS是一个预后差异大且具有动态变化的疾病,因此中医病机转化和证候变化研究具有重要意义。正虚型MDS患者凋亡过度,自噬减少;而瘀毒型MDS患者凋亡减少,自噬相对增加(维持低水平状态),表现为证候与Bcl-2/Beclin-1比值的相关性。表观遗传学与证候同样表现出非线性的“内实外虚”“动态时空”和“多维界面”的复杂性^[6]。由于表观遗传学发展时间较短,目前应用表观遗传学手段、方法对中医学证候特征进行研究的实例不多,但中药复方的表观遗传学调控作用已通过较多研究得以证实,且多集中在抗肿瘤作用方面。因此,以组蛋白密码为例,未来可构建一个中医证候与表观遗传学调控细胞凋亡和自噬之间关系的景观模型,分析自噬和凋亡的动态平衡与造血干细胞活力变化的相关性,以便指导临床诊断、预后判断及寻找中药可能的作用靶位。

[参考文献]

- [1] Watson AS, Mortensen M, Simon AK. Autophagy in the pathogenesis of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia[J]. Cell Cycle, 2011, 10(11): 1719-1725.
- [2] Zeng Q, Shu J, Hu Q, et al. Apoptosis in human myelodysplastic syndrome CD34+ cells is modulated by the upregulation of TLRs and histone H4 acetylation via a β -arrestin 1 dependent mechanism[J]. Exp Cell Res, 2016, 340(1): 22-31.
- [3] 许鸣, 陆嘉惠. 骨髓增生异常综合征中西医结合临床与实验研究现状[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(2): 246-250.
- [4] 黄振翹, 陈信义, 梁冰, 等. 实用中医血液病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 523.
- [5] 张广社, 申小慧, 周永明. 周永明论治骨髓增生异常综合征经验[J]. 辽宁中医杂志, 2014, 41(3): 413-416.
- [6] 秦正红. 自噬——生物学与疾病: 基础卷[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 27, 380.
- [7] 郭利芳, 崔宁博, 王化泉, 等. 骨髓增生异常综合征患者骨髓单个核细胞自噬水平的研究[J]. 中华血液学杂志, 2015, 36(12): 1016-1019.
- [8] 江凤, 王元元, 岑建农, 等. 骨髓增生异常综合征中

- CD34(+)细胞自噬活性及临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(3): 779-783.
- [9] 夏冰, 郭青, 赵丹丹, 等. 骨髓增生异常综合征患者骨髓 CD34⁻ 和 CD34⁺ 细胞凋亡与增殖的意义及对生存的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20(6): 1392-1397.
- [10] 张哲, 谢珏. 骨髓增生异常综合征患者 CD34⁺ 细胞 Fas、FasL 及 Bcl-2 的表达和凋亡的研究[J]. 浙江检验医学, 2003, 1(3): 28-29.
- [11] Pattingre S, Levine B. Bcl-2 inhibition of autophagy: a new route to cancer?[J]. Cancer Res, 2006, 66(6): 2885-2888.
- [12] Wang Y, Wan S, Cen J, et al. Marked upregulation of Bcl-2 and low expression of Beclin 1 is associated with MDS and disease progression[J]. Leuk Res, 2013, 37(13): S38.
- [13] 陆嘉惠, 孙伟玲, 周永明, 等. NF-κB 介导的 MDS 双向凋亡机制与中医“正虚”、“瘀毒”病机相关性的实验研究[J]. 中医药信息, 2010, 27(5): 100-103.
- [14] Wen H, Li Y, Xi Y, et al. ZMYND11 links histone H3.3 K36 trimethylation to transcription elongation and tumour suppression[J]. Nature, 2014, 508(7495): 263-268.
- [15] 孙安会, 袁肇凯, 夏世靖, 等. 中医证候系统生物学研究的现状和展望[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(1): 200-204.

(责任编辑: 冯天保)

基于白虎加人参汤探讨一证多因的内涵与意义

陈关征¹, 郑志攀²

1. 洛阳市第一中医院, 河南 洛阳 471000; 2. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210029

[摘要] 一证多因是指同一种证可以由不同的病因或病理因素通过某些相同的病理环节转变所引起的临床现象。一证多因在临床上并不少见, 有其深刻的内涵和意义。笔者基于白虎加人参汤进行探讨, 指出一证多因的本质仍然是病机的转变和演进。认为对一证多因作深入分析, 可以提高中医理论和辨治水平, 同时有助于揭开证的本质, 对临床辨治思路也有一定的启发意义。

[关键词] 一证多因; 一因多证; 病因; 病机; 病机辨证; 白虎加人参汤

[中图分类号] R228 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 12-0255-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.12.076

Discussion on the Connotation and Significance of the Phenomenon of A Syndrome Caused by Multiple Causes Based on Baihu Jia Renshen Tang

CHEN Guanzheng, ZHENG Zhipan

Abstract: The phenomenon of a syndrome caused by multiple causes is a clinical phenomenon that the same syndrome can be triggered by different etiologies or pathological factors through changes of some identical pathological links. It is uncommon in clinical practice, and it has profound connotation and significance.

Based on the further discussion of Baihu Jia Renshen tang, the authors pointed out that the essence of the phenomenon of a syndrome caused by multiple causes still lies in the transformation and evolution of the etiology, and believed that the in-depth analysis of this phenomenon can improve the theory of Chinese medicine and the level of differentiation and treatment and that it can at the same time help to uncover the essence of the syndrome, thus providing certain enlightening significance for clinical differentiation.

Keywords: A syndrome caused by multiple causes; One cause leading to multiple syndromes; Etiology; Pathogenesis; Pathogenesis differentiation; Baihu Jia Renshen tang

[收稿日期] 2018-03-06

[作者简介] 陈关征 (1983-), 男, 主治医师, 研究方向: 中西医结合治疗感染性疾病。

[通信作者] 郑志攀, Email: zhengzhipan@126.com。