

不同证候膝骨关节炎患者证候程度评分与 关节液炎性指标的典型相关分析

叶超^{1,2*} 陈婧³ 刘向春² 亓建² 宗晨钟³ 王建军² 魏峰² 唐开强² 王庆甫^{3△}

[摘要] 目的:探讨肝肾亏虚证和痰瘀互结证膝骨关节炎患者证候程度评分与关节液 TIMP-1 及 MMP-9 炎性指标的典型相关性。方法:采用流行病学横断面调查的方法,测定 53 例肝肾亏虚证和痰瘀互结证膝骨关节炎患者关节液 TIMP-1 及 MMP-9 浓度水平,应用 Kellgren-Lawrence(K-L)分级标准量化 X 线影像学分级,应用中医证候量表通过评分量化证候严重程度,对证候程度评分与关节液炎性指标 TIMP-1 及 MMP-9 进行典型相关分析。结果:膝骨关节炎肝肾亏虚证和痰瘀互结证患者在 K-L 分级比较上差异无统计学意义($P>0.05$)。膝骨关节炎患者关节液中 TIMP-1 浓度水平与中医证候评分之间具有典型相关性($R=0.516$)。膝骨关节炎痰瘀互结证患者中医证候评分和炎性指标水平间具有典型相关性($R=0.523$)。结论:膝骨关节炎患者关节液中 TIMP-1 浓度水平能更敏感反映中医证候程度,膝骨关节炎痰瘀互结证患者中医证候严重程度与炎性指标水平的关系密切。炎性指标与证候程度评分的典型相关性为中医药防治膝骨关节炎提供了依据。

[关键词] 膝骨关节炎;证候;金属蛋白酶组织抑制因子-1;基质金属蛋白酶-9;典型相关分析

[中图分类号] R684.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2021)03-0017-04

Canonical Correlation Analysis between Syndrome Degree and Inflammatory Index of Synovial Fluid in Patients with Knee Osteoarthritis of Different Syndromes

YE Chao^{1,2*} CHEN Jing³ LIU Xiangchun² QI Jian² ZONG Chenzhong³
WANG Jianjun² WEI Feng² TANG Kaiqiang² WANG Qingfu^{3△}

¹Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

²Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;

³Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China.

Abstract Objective: To explore the canonical correlation analysis between syndrome degree score and inflammatory markers of joint fluid TIMP-1 and MMP-9 in patients with knee osteoarthritis of liver and kidney deficiency syndrome and phlegm and blood stasis syndrome. **Methods:** Epidemiological cross-sectional survey was used to measure the concentrations of TIMP-1 and MMP-9 in the synovial fluid of 53 patients with knee osteoarthritis of liver and kidney deficiency syndrome and phlegm and blood stasis syndrome. The Kellgren-Lawrence (K-L) classification standard was used to quantify the X-ray image classification, and the TCM (traditional Chinese medicine) syndrome scale was used to quantify the syndrome degree. The canonical correlation analysis was made between the syndrome degree score and the inflammatory inde-

xes TIMP-1 and MMP-9. **Results:** There was no statistically significant difference in K-L classification standard between patients with knee osteoarthritis of liver and kidney deficiency syndrome and phlegm and blood stasis syndrome ($P>0.05$). There was a canonical correlation analysis between the concentration of TIMP-1 in the joint fluid and the TCM syndrome score in patients with knee osteoarthritis ($R=0.516$). There was a canonical correlation analysis between TCM syndrome score and inflammatory index in patients with knee osteoarthritis of phlegm and blood stasis syndrome

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81874475)

中央高校基本科研业务费专项基金

(2018-JYBZZ-JS091)

北京中医药大学新奥奖励基金(2018-XAJLJJ-017)

¹ 北京中医药大学(北京,100029)

² 北京中医药大学东直门医院

³ 北京中医药大学第三附属医院

△通信作者 E-mail: qingpu-wang@sohu.com

* 北京中医药大学以研究生同等学力申请博士学位在职人员

($R=0.523$). **Conclusion:** In patients with knee osteoarthritis, the concentration level of TIMP-1 in the joint fluid can more sensitively reflect the degree of TCM syndrome. There is a close relationship between the severity of TCM syndrome and the level of inflammatory indexes in patients with knee osteoarthritis of phlegm and blood stasis syndrome. The canonical correlation analysis between inflammatory index and syndrome degree score provides the basis for TCM prevention and treatment of knee osteoarthritis.

Keywords: knee osteoarthritis; syndromes; matrix metalloproteinases-1; tissue inhibitor of metalloproteinases-9; canonical correlation analysis

应用中医药疗法治疗膝骨关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)疗效确切,个性化诊疗,广泛应用于临床诊疗^[1],证候的准确判断是取得较好疗效的重要前提。炎症因子浓度变化与 KOA 发生发展密切相关^[2],基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinases, MMPs)和金属蛋白酶组织抑制剂(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases, TIMPs)作用失衡是关节软骨损伤的重要因素^[3]。本研究通过典型相关分析的统计方法探索中医证候程度评分与关节液炎症指标浓度的典型相关性,为制定不同证候膝骨关节炎的治疗方案提供依据。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

本研究严格遵循流行病学横断面调查的研究方法,于2019年1月至2019年12月在北京中医药大学东直门医院骨伤科住院的患者,西医诊断为膝骨性关节炎,共计53例。本研究均取得患者的知情同意,研究方案取得了北京中医药大学东直门医院医学伦理委员会的批准。

1.2 诊断标准

西医诊断标准参照《骨关节炎诊疗指南》的诊断标准:1)近1个月内反复的膝关节疼痛;2)X线片(站立位或负重位)示关节间隙变窄、软骨下骨硬化和(或)囊性变、关节边缘骨赘形成;3)年龄 ≥ 50 岁;4)晨僵时间 ≤ 30 min;5)活动时骨摩擦音(感)。满足诊断标准1)+2)3)4)5)条中的任意两条,即可诊断^[4]。

中医证候辨识标准参照《22个专业95个病种中医诊疗方案》(2010年国家中医药管理局制定)的诊断标准^[5]。证候的判定根据中医证候评分量表进行量化,积分法判定中医证候^[6]。证候总评分=主症评分+次症评分+舌脉评分,满6分者为确定证候。

1.3 纳入标准

1)符合诊断标准;2)愿意参加调查,依从性好的患者;3)年龄25~80岁;4)膝关节影像学表现符合膝骨关节炎影像学表现。

1.4 排除标准

1)并发症影响到关节者;2)类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、痛风;3)晚期畸形;4)妊娠或哺乳期妇女;5)治疗前1周内使用过消炎镇痛药或糖皮质激素;6)内

科疾病严重者。

1.5 方法

1)分组方法:本研究共纳入53例患者,其中肝肾亏虚证31例,痰瘀互结证22例。

2)中医证候程度的量化:根据中医证候量表,通过证候评分量化证候的严重程度。

3)关节液的采集、存贮和检测:抽取膝关节液0.5~2.0 mL,2 h内,离心参数为3 000 r/min,10 min,于-80℃超低温冰箱保存,样本存储于北京中医药大学东直门医院生物样本库。MMP-9及TIMP-1的浓度测定采用酶联免疫吸附法(ELISA)进行测定,试剂盒品牌为AMEKO。

1.6 统计学方法

数据资料采用SPSS17.0统计软件分析所有数据。若数据呈正态及方差齐,采用独立样本 t 检验。若数据不满足正态性及方差齐性,采用独立样本的非参数检验。计数资料用出现频次表示,构成比之间比较采用卡方检验,检验水准选取 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 差异有统计学意义。中医证候积分与炎性指标水平的相关性采用典型相关分析,应用宏程序进行数据拟合,对典型相关系数进行Bartlett检验。

2 结果

2.1 一般资料

本研究纳入的膝骨关节炎患者共计53例(男15例,女38例),其中痰瘀互结证22例,肝肾亏虚证31例。将患者年龄、体质量、收缩压、舒张压等数据进行对比,可见两组患者一般资料差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

2.2 膝骨关节炎肝肾亏虚证与痰瘀互结证患者两组中Kellgren-Lawrence(K-L)分级的比较

通过对膝骨关节炎肝肾亏虚证与痰瘀互结证患者K-L分级的比较,肝肾亏虚证与痰瘀互结证患者在K-L分级构成比中差异无统计学意义($P>0.05$),见表2。

2.3 膝骨关节炎患者炎性指标水平及中医证候评分间的相关系数

通过对膝骨关节炎患者炎性指标水平与中医证候评分进行统计学处理,得出炎性指标水平及中医证候

表 1 不同证候膝骨关节炎患者一般资料比较(±s)

项目	肝肾亏虚证	痰瘀互结证	Z	P
例数	31	22		
年龄/岁	62.742±11.567	62.227±13.176	0.023	0.881
体质量/(kg·m ⁻²)	27.456±5.072	27.515±3.081	0.002	0.964
收缩压/mmHg	141.390±17.439	163.090±16.741	1.226	0.273
舒张压/mmHg	77.610±9.670	78.590±11.778	0.110	0.742

表 2 膝骨关节炎痰瘀互结证与肝肾亏虚证患者膝关节 K-L 分级情况(例)

中医证型	0 级	1 级	2 级	3 级	4 级	χ ²	P
肝肾亏虚证	0	7	16	6	2	1.2	0.977
痰瘀互结证	0	6	9	5	2		

评分间的直接相关系数,炎性指标水平与中医证候评分间的直接关联不大,见表 3。

表 3 自变量和因变量之间的直接相关系数

项目	肝肾亏虚证	痰瘀互结证
MMP-9 OD 值	-0.345 2	0.400 2
TIMP-1 OD 值	-0.182 5	0.436 4

2.4 典型相关系数及假设检验

通过对于典型相关系数及假设检验的统计学处理,按照 α=0.05 的检验水准,第一对典型变量之间的相关关系成立,第二对典型变量之间的相关关系不成立。炎性指标水平和中医证候评分关系的研究可以转化为研究第一对典型相关变量之间的关系,见表 4。

表 4 典型系数及假设检验

编号	典型相关系数	自由度	P
第一典型变量	0.568	4	<0.001
第二典型变量	0.241	1	0.086

2.5 自变量和因变量的标准化典型相关系数矩阵

使用标准化典型相关系数来评估炎性指标水平及中医证候评分两个方面的关系。在第一对典型变量中,变量系数都比较均匀(MMP-9 OD 值的 W₁=0.431,TIMP-1 OD 值的 W₁=0.804,肝肾亏虚证的 V₁=0.662,痰瘀互结证的 V₁=1.459)。无论是炎性指标水平还是中医证候评分的系数都表明,中医证候评分程度越高,炎性指标水平异常总体程度越重。

2.6 典型结构关系

通过中医证候评分与炎性指标水平的典型相关性分析可知:膝骨关节炎患者关节液中 TIMP-1 水平与中医证候评分之间具有典型相关性,膝骨关节炎痰瘀互结证患者中医证候评分和炎性指标水平间具有典型相关性,见表 5-6。

表 5 炎性因子原始变量和证候典型变量的典型结构分析

变量	指标对应变量	Z ₁	Z ₂
X ₁	MMP-9 OD 值	0.355	-0.188
X ₂	TIMP-1 OD 值	0.516	0.101

表 6 证候原始变量和炎性因子典型变量的典型结构分析

变量	指标对应变量	R ₁	R ₂
C ₁	肝肾亏虚证	-0.295	0.206
C ₂	痰瘀互结证	0.523	-0.093

3 讨论

膝骨关节炎是临床常见的退行性骨关节疾病,该疾病的发病率可占骨性关节炎的 30%^[7],随着人口老龄化的逐步来临,膝骨关节炎的发病率呈逐步上升的趋势^[8]。世卫组织数据显示约 10% 的医疗问题与膝骨关节炎有关系^[9],以关节软骨破坏和软骨下骨的变化为膝骨关节炎疾病的主要改变,常见的症状主要为:疼痛、关节肿胀、僵硬及功能障碍等,病情严重时可出现膝关节畸形,严重影响患者的生活质量^[10]。

大量研究已经提示膝骨关节炎患者关节液炎症因子指标变化与膝骨关节炎疾病的发生发展有密切关系。MMPs^[11]与 TIMP^[12]等炎症细胞因子在膝关节软骨退变的过程中有重要的作用,MMPs 是由 N 末端中心区、C 末端和多肽组成的氨基酸序列,是细胞外基质降解最重要的水解系统,其可降解软骨中胶原蛋白等基质大分子^[13]。MMP-9 的基因表达位于深层软骨,破坏基质和胶原的网状结构^[14]。TIMPs 具有抑制 MMPs 活性的作用,通过该过程调节细胞外基质的代谢过程^[15]。值得关注的是 TIMP-1 和 MMP-9 的亲合力较高,因此本课题研究关节液中 TIMP-1 及 MMP-9 的浓度特点与中医证候程度之间的模切关系。

对于膝骨关节炎中医方面的病因病机,《张氏医通》曰“膝者筋之府”。屈伸不能,膝痛无有不因肝肾虚者。另一方面,体内气机转运失常,升清降浊失司;分清降浊失调,气血津液受阻,从而湿热痰浊、瘀血内生,痰瘀相互影响。笔者在临床诊疗中发现以肝肾亏虚证和痰瘀互结证为膝骨关节炎的常见证候。应用中医疗法治疗膝骨关节炎,在疾病的症状及证候的不适的治疗方面,均能取得较好效果,体现了中医药整体治疗的优势。如赵颖林等^[16]应用地黄骨痛康胶囊治疗肝肾亏虚型膝骨性关节炎,除了能缓解疾病的症状,在中医

症状积分上也有满意的改善。

典型相关分析可以将两组指标间的相关信息挖掘出来,通过这种统计学方法,将原来两组变量关系转化为少数几对综合变量的关系,可理解为主成分分析的降维。该方法可用于中医证候与微观指标关系的深入研究,是研究两组数据指标间关系的一种多元统计方法^[17]。

本研究纳入的肝肾亏虚证和痰瘀互结证膝关节炎患者一般资料比较差异无统计学意义,说明患者在一般资料方面基线齐,保证了后续研究的客观性。肝肾亏虚证和痰瘀互结证膝关节炎患者在 K-L 分级的比较中差异无统计学意义,说明两组患者在膝关节炎疾病程度上一致,在后续进行典型相关性的研究中,膝关节炎疾病程度不会影响研究的准确性,得到的差异性结果是由于膝关节炎不同中医证候特点产生的。

证候的客观化和标准化研究逐渐成为证候研究发展的趋势,可以使证候研究更加丰富和完善^[18]。中医证候量表是中医临床诊治量化评价的重要方式^[19],本课题通过中医证候评分量表进行证候的量化评分,除了可以确认证候的类型,还可以对证候的严重程度进行量化评估。

膝关节炎痰瘀互结证的发病过程中,痰浊和瘀血互相掺杂,痰阻血难行,血瘀痰难化。《医学传心录》中记载:“风、寒、湿气侵入肌肤,流注经络,则津液为之不清,或变痰饮,或成瘀血。”本研究表明膝关节炎痰瘀互结证患者中医证候评分和炎症指标水平间具有典型相关性,说明痰瘀互结证的严重程度与炎症指标水平紧密相关,血行凝涩,痰湿内生,痰瘀互结,阻碍气血濡养筋骨,发为膝痹。与此同时,MMP-9 上调会导致关节软骨的破坏^[20],在膝关节炎患者中该因子的表达与软骨退变的程度呈正相关^[21]。微观指标与宏观病因病机分析相一致,从另一个角度说明证候具有物质学基础,丰富了膝关节炎辨证的中医内涵。

痰瘀互结证中血瘀、痰凝滞留关节,筋脉闭阻,不通则痛,瘀血既久,亦能化痰;肝肾亏虚证中肝藏血主筋,肾主骨生髓,肝肾日渐衰惫,骨枯髓减,筋骨无以充盈,髓海失养,膝为筋府,肝肾同源,气血衰甚,筋脉无以濡养,不荣则痛。在证候程度逐步严重的过程中,保护性因子同时出现分泌增加。TIMP-1 能通过抑制 MMPs 的活性,延缓 ECM 的降解^[22]。膝关节炎患者关节液中 TIMP-1 水平与中医证候评分之间具有典型相关性,提示无论是痰瘀互结证还是肝肾亏虚证候状态下,保护性炎症指标均与证候的严重程度关系密切,从另一个角度佐证中医学“整体观念”及“阳生阴长”的核心理念。

在对膝关节炎痰瘀互结证患者进行诊疗中,在活血祛瘀、化痰止痛的基础上,建议加用改善炎症反应等药物共同组方,同时兼顾辨病与辨证两个方面。而对膝关节炎肝肾亏虚证患者在补益肝肾、温经止痛的基础上,建议加用通络理气、化痰活血等药物,谨防因虚致实情况的发生,这也是中医学“既病防变”理念的体现,以期取得更好的临床效果。不同证候膝关节炎患者证候程度与关节液炎症指标的典型相关分析,为中医药防治膝骨性关节炎提供了依据。

参考文献

- [1] 寇龙威,郭艳幸,郭珈宜. 中医药治疗膝骨性关节炎的研究进展[J]. 中医药通报,2019,18(6):71-73.
- [2] 程环宇,李斯明,孟庆奇,等. 骨性关节炎的发病机制与炎症反应的关系[J]. 中外医学研究,2020,18(6):185-188.
- [3] 李怡良,项南,谢飞,等. 麝香乌龙丸联合双醋瑞因胶囊治疗风寒湿痹型膝骨性关节炎疗效及对患者血清白细胞介素 6、基质金属蛋白酶 1、基质金属蛋白酶 3 及金属蛋白酶组织抑制剂 1 水平的影响[J]. 河北中医,2020,42(2):225-229.
- [4] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南(2018 年版)[J]. 中华骨科杂志,2018,38(12):705-715.
- [5] 国家中医药管理局医政司. 22 个专业 95 个病种中医诊疗方案[G]. 北京:国家中医药管理局医政司,2010.
- [6] 国家食品药品监督管理局. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:351.
- [7] 颜飞华,韩素英,徐志勇,等. 胫骨高位截骨术联合富血小板血浆治疗膝骨关节炎 70 例[J]. 中国中医骨伤科杂志,2020,28(6):52-55.
- [8] 熊应宗,朱俊琛,王超,等. 针刀联合塞来昔布治疗膝骨关节炎的临床疗效观察[J]. 中国中医骨伤科杂志,2020,28(2):19-23.
- [9] FARR J, MILLER L E, BLOCK J E, et al. Quality of life in patients with knee osteoarthritis: a commentary on non-surgical and surgical treatments[J]. The Open Orthopaedics Journal, 2013, 7(1): 619-623.
- [10] JESUS C, JESUS I, AGIUS M. Treatment of depression in patients with osteoarthritis: the importance of an early diagnosis and the role of Duloxetine[J]. Psychiatria Danubina, 2016, 28(Suppl-1): 149-153.
- [11] 黄聪琳,李晓东,谢兴文,等. 膝骨关节炎生物标记物研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志,2019,27(4):81-84.
- [12] 钟传棋,杨功旭,戴政文,等. 健骨方对早中期膝骨关节炎 MMP-13、TIMP1 及 IL-1 β 的影响[J]. 中国中医基础医学杂志,2018,24(12):1727-1729.
- [13] 李光,郭启发,黄宁庆,等. 膝关节炎软骨基质金属蛋白酶 2、基质金属蛋白酶 9 表达与 MRI 表现的相关性[J]. 中国组织工程研究,2016,20(37):5518-5523.