

· 雷公藤及其配伍的临床与基础研究专题 ·

〔编者按〕 中药安全性风险发现、评价与防控始终是关乎人民身体健康、生命安全和国计民生的大事,也是制约最大限度发挥疗效、保证患者获益,提升临床应用价值的瓶颈问题,更是推动中医药创新与现代化,促进中医药国际化发展的重大需求。雷公藤具有显著的免疫调节作用,临床常被用于治疗多种自身免疫病,然而,其也是国内外广泛关注的具有安全性风险的中药之一。在中医药传统控毒理论指导下,“配伍减毒增(存)效”是降低“有毒”中药不良反应和实现临床合理用药的有效途径之一。近年来,以林娜研究员为代表的一批中医药人锐意创新,在雷公藤及其配伍的临床与基础研究方面开展了系列探索性工作,并取得了重要进展,为寻求有针对性的中药安全性风险防控对策,促进中医药事业健康持续发展提供科学依据和技术支撑。

该专题收录了7篇文章,以期对雷公藤及其配伍的临床与基础研究提供范例:①系统评价了中药配伍雷公藤多苷(甙)片/雷公藤片治疗类风湿关节炎的安全性,并初步探索常用配伍方案增效减毒的网络调控机制。②探讨了菟丝子总黄酮配伍雷公藤多苷片对雌性生理小鼠卵巢生殖干细胞的作用,并从神经源性位点缺口同源蛋白信号通路探讨其作用机制。③明确了甘草水提物对雷公藤多苷片所致急性肝损伤的保护作用,并发现其能够提高肝脏药物代谢关键酶活性进而加速毒性物质代谢。④采用临床表型组学、临床转录组学和蛋白质组学整合的研究策略,系统阐释了雷公藤多苷片“效-毒”的关联特征和分子机制,为探索雷公藤多苷片“增效减毒”机制奠定良好的数据基础。⑤发现了雷公藤多苷片可以减轻糖尿病肾病大鼠的疾病严重程度、保护肾功能、改善肾脏病理,并探明其作用机制可能与下调血清及肾组织 NFAT2/COX-2 的表达相关。⑥采用 Meta 分析,评价了雷公藤多苷片联用常用传统抗风湿病情药对类风湿关节炎患者自身抗体及其相关指标的影响。⑦运用 Apriori 关联规则和随机行走模型开展临床数据挖掘,结果表明在甲氨蝶呤片治疗基础上,给予复方雷公藤制剂(新风胶囊)治疗可有效改善风湿性关节炎脾虚湿盛证的免疫炎症水平,降低不良反应发生率。

中药配伍雷公藤制剂治疗类风湿关节炎的安全性系统评价及其增效减毒网络调控机制

张依, 王晓月, 丁子禾, 陈文佳, 刘毓东, 林娜, 张彦琼*

(中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

〔摘要〕 目的:系统评价中药配伍雷公藤多苷(甙)片/雷公藤片(TWPT/TWT)治疗类风湿关节炎(RA)的安全性,并初步探索常用配伍方案增效减毒的网络调控机制。方法:检索中文数据库(中国知网、万方数据库、维普数据库)和英文数据库(PubMed、Cochrane Library、EMbase)自建库至2021年7月TWPT/TWT治疗RA出现相关不良反应的研究,应用风险评价工具对研究进行质量评价,提取数据并采用Stata 15.0软件进行分析。进一步,运用中药整合药理学网络计算平台2.0(TCMIP v2.0, <http://www.tcmip.cn/>),构建“药物靶标-效毒症状基因”相互作用网络,探析雷公藤常用配伍方案增效减毒的分子机制。结果:共检索到2 132篇文献,最终纳入包含中药配伍TWPT/TWT治疗RA的临床研究文献18篇。系统评价结果显示,TWPT/TWT治疗RA的不良反应主要表现为消化系统、血液系统、生殖系统病变,其中以消化系统损害的发生率最高,而中药配伍可以有效改善TWPT/TWT所导致的不良反应[RR(95% CI)=0.45(0.30, 0.66), $P<0.01$]。进而,亚组分析结果显示,RA患者的年龄、病程、配伍用药方案、用药剂量和疗程均会影响TWPT/TWT不良反应的发生。临床研究结果提示,白芍总苷(TGP)配伍TWPT/TWT应用最为广泛,且TGP减轻TWPT/TWT肝毒性的作用较其他中药更为显著,因此,本研究以该配伍方案为例,进一步探索其缓解RA的“效-毒”关联机制。“药物靶标-效毒症状基因”相互作用网络挖掘结果显示,TGP-TWPT/TWT配伍的核心网络靶标主要通过调节机体免疫应答、减轻炎症反应、矫正代谢紊乱和改善细胞功能,来实现增效减毒作用。其中,参与“免疫-炎症”功能模块的白细胞介素-4(IL-4)和白细胞介素-13(IL-13)是两药配伍增效和减毒的共同靶点;“机体代谢”功能模块中的内源性甾醇、胆汁酸和胆汁盐、胰岛素分泌等代谢途径与TWPT/TWT致肝毒和TGP减肝毒机制密切相关;而细胞功能调节通路,如干细胞因子(SCF)/酪氨酸激酶受体(KIT)信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路等,则

〔收稿日期〕 2021-12-10

〔基金项目〕 国家自然科学基金面上项目(81974526);北京市自然科学基金面上项目(7212186);中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A03807)

〔第一作者〕 张依,在读博士,从事中药药理学研究, E-mail: dr_zhangyi@126.com

〔通信作者〕 *张彦琼,博士,研究员,博士生导师,从事中药药理学研究, E-mail: yqzhang@icmm.ac.cn

共同参与了TWPT/TWT缓解RA和致肝毒的作用机制。**结论:**临床采用合适的中药配伍TWPT/TWT治疗RA可有效增加其风湿病情改善作用且减轻其不良反应,其中,TGP-TWPT/TWT配伍方案的减毒作用最为显著。进一步的生物网络挖掘结果表明,TGP-TWPT/TWT配伍的减毒机制可能与两药靶标对白细胞介素信号通路和胆汁酸代谢途径的调节相关,二者配伍的协同增效机制可能通过作用于白细胞介素信号通路及细胞功能调节通路而实现。

[关键词] 雷公藤制剂; 中药配伍; 临床合理用药; 系统评价; 网络药理学

[中图分类号] R2-0;R33;R289;R593.22 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2023)05-0001-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220943 [增强出版附件] 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220324.1124.002.html>

[网络出版日期] 2022-03-25 09:50:31

Systematic Review on Safety of Chinese Medicines Combined with *Tripterygium wilfordii* Preparations in Treatment of Rheumatoid Arthritis and Exploration on Underlying Network Regulatory Mechanisms of Enhancing Efficacy and Reducing Toxicity

ZHANG Yi, WANG Xiaoyue, DING Zihe, CHEN Wenjia, LIU Yudong, LIN Na, ZHANG Yanqiong*
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences,
Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To systematically evaluate the safety of Chinese medicines combined with *Tripterygium wilfordii* polyglycoside tablets/*Tripterygium wilfordii* tablets (TWPT/TWT) in the treatment of rheumatoid arthritis (RA), and to explore the network regulatory mechanisms of enhancing efficacy and reducing toxicity of commonly used combination regimes. **Method:** The literature involving the adverse reactions of TWPT/TWT in treating RA was searched and collected from three Chinese databases (CNKI, Wanfang Data, VIP) and three English databases (PubMed, Cochrane Library, Embase) from the inception of the databases to July 2021. All studies were assessed by the Cochrane risk of bias tool, and the data were extracted and analyzed by Stata 15.0. Furthermore, Integrative Pharmacology-based Research Platform of Traditional Chinese Medicine 2.0 (TCMIP v2.0, <http://www.tcmip.cn/>) was used to construct a "drug target-symptom gene of efficacy and toxicity" interaction network, to explore the underlying network regulatory mechanisms of enhancing efficacy and reducing toxicity of common *T. wilfordii* preparation combinations. **Result:** A total of 2 132 articles on Chinese medicines combined with TWPT/TWT in the treatment of RA were retrieved, and 18 of them were finally included. The systematic review showed that the adverse reactions of TWPT/TWT against RA mainly occurred in the digestive system, blood system, and reproductive system, of which digestive system had the highest incidence of damages. However, the combination with Chinese medicines effectively alleviated the adverse reactions caused by TWPT/TWT [RR (95% CI)=0.45 (0.30, 0.66), $P<0.01$]. In addition, the subgroup analysis indicated that the age of RA patients, course of disease, combination regimen, medication dosage and duration of treatment all affected the occurrence of adverse reactions of TWPT/TWT. It was found in clinical studies that total glucosides of paeony (TGP) and TWPT/TWT was most widely combined, and the effect of TGP in reducing TWPT/TWT-induced hepatotoxicity was also more significant than that of other Chinese medicines. Moreover, taking this combination regime as an example, this paper explored the "efficacy-toxicity" association mechanisms of TGP-TWPT/TWT against RA. The "drug target-symptom gene of efficacy and toxicity" interaction network revealed that the core network targets of TGP-TWPT/TWT enhanced efficacy and reduced toxicity mainly through regulating immunity-inflammation-related pathways, metabolic pathways and cell signal transduction. Especially, interleukin-4 (IL-4) and interleukin-13 (IL-13), which were involved in the "immunity-inflammation" module, were the common targets of TGP-

TWPT/TWT to enhance efficacy and reduce toxicity. The endogenous sterols, bile acids and bile salts, insulin secretion and other metabolic pathways in the "body metabolism" module were closely associated with the mechanisms of TWPT/TWT inducing hepatotoxicity and TGP reducing hepatotoxicity. While cell function regulation pathways, such as stem cell factor (SCF)/tyrosine kinase receptor (KIT) signaling pathway and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway were involved in both anti-RA effects and hepatotoxicity of TWPT/TWT. **Conclusion:** Clinical application of suitable Chinese medicines combined with TWPT/TWT in the treatment of RA can effectively improve the rheumatism and reduce the adverse reactions of TWPT/TWT, and TGP-TWPT/TWT has the most significant toxicity-reducing effect. Further biological network-based investigation indicates that the toxicity-reducing mechanism of TGP-TWPT/TWT may be related to the regulation of interleukin signaling pathway and bile acid metabolism pathway, and the synergistic efficacy-enhancing effect of the combination may be achieved by acting on interleukin signaling pathway and cell function regulation pathway.

[Keywords] *Tripterygium wilfordii* preparations; combination with Chinese medicines; clinical rational use of drugs; systematic reviews; network pharmacology

类风湿关节炎(RA)是一种慢性系统性自身免疫性疾病,以致残性多关节滑膜炎为主要症状。该病分布于世界各地,发病因素也多种多样,如未能给予及时有效地预防和治疗,病情将会进展并最终导致关节畸形、功能丧失,具有很高的致残率^[1]。雷公藤类制剂主要包括以雷公藤为原料和以昆明山海棠为原料的中成药,是治疗本病疗效确切且应用广泛的中药之一^[2]。其中,以雷公藤为原料的中成药有雷公藤多苷(甙)片/雷公藤片(TWPT/TWT),主要通过抗炎和免疫抑制来改善RA患者症状,以达到治疗目的,但由于其表现在消化系统及泌尿生殖系统较为明显的不良反应,使其在临床应用与推广中受到一定限制^[3-4]。因此,积极探索TWPT/TWT的减毒方法具有重要的临床意义。近年来,越来越多的临床和实验研究证据表明,通过合理的中药或西药配伍可以有效发挥增效减毒的作用,保证TWPT/TWT临床用药的有效性和安全性^[5-8]。

本课题组前期对临床中TWPT/TWT联合西药治疗RA的疗效及安全性开展了系统评价研究^[9-12],结果发现,联合用药可有效改善病情进展相关的实验室指标和临床表现,并减轻TWPT/TWT所致不良反应。然而,同样作为可以发挥增效减毒作用的中药配伍方案,却仅有针对其基础研究文献的少量系统评价报道^[13-14],尚不足以用来指导临床用药方案的安全性评价。因此,本研究针对不同中药配伍减轻TWPT/TWT不良反应的差异进行系统评价,并选择示范案例开展配伍网络调控机制进行挖掘,相关结果将为指导雷公藤制剂的临床合理用药提供证据和数据基础。

1 资料与方法

1.1 系统评价

1.1.1 检索方法 检索中文数据库,包括中国知网、万方数据库、维普数据库,以及PubMed、Cochrane Library、Embase等英文数据库。检索时间为自建库至2021年7月;语种限定为中文和英文。中文库采用主题词与主题、题目、摘要或关键词结合的方式进行检索,检索词包括“类风湿关节炎”“类风湿性关节炎”“关节炎”“雷公藤”“雷公藤片”“雷公藤多苷片”“雷公藤多甙片”“雷公藤内酯”“雷公藤红素”“雷公藤甲素”“不良反应”“副反应”“副作用”“毒性”“损害”“损伤”“危害”“毒副反应”“毒害反应”“毒副作用”“毒害作用”。英文库根据不同数据库采用与之对应的主题词或自由词与题目、摘要或关键词结合的方式进行检索,检索词包括“Arthritis, Rheumatoid”“Rheumatoid Arthritis”“Arthritis”“tripterygium”“triptolide”“tripterygium wilfordii tablets”“tripterygium glycosides”“tripterygium wilfordii”“tripterygium wilfordii hook. f”“thunder god vine”“lei gong teng”“adverse event”“adverse effect”“adverse reaction”“safety”“side effect”“toxic”“toxicity”“toxic reaction”“damage”“injury”“harm”“poisoning”。此外,还检索了相关综述中的参考文献部分,以免遗漏。

1.1.2 纳入标准 研究对象为RA患者,均符合1987年美国风湿病学会(ACR)制订的RA诊断标准或2009年美国风湿病学会与欧洲抗风湿病联盟(EULAR)提出的RA诊断标准,种族、年龄、性别、患病时间与严重程度不限。研究类型为随机对照

试验(RCT)。干预措施将试验组限定为TWPT/TWT联合其他中药或中药复方或中成药制剂,对照组为TWPT/TWT或其他阳性药对照,药品厂家与规格不限,服药时间与服药方式不限。结局指标包括研究报道的不良反应或不良事件的发生情况。

1.1.3 排除标准 重复发表或所用数据相同的文献,未提供不良反应及安全性评价的文献。

1.1.4 文献筛选 首先,将纳入文献导入Endnote软件,进行文献筛选去重;其次,通过阅读文献题目、摘要和关键词部分,根据纳排标准剔除文献;最后,阅读全文,排除重复发表、数据相同及不符合的文献,进行汇总。文献筛选过程参照Cochrane协作网系统评价手册,由2名研究者按照纳入与排除标准独立进行文献筛选。若存在意见分歧,则经讨论后决定或交由第3位研究者判定。

1.1.5 数据提取 在Excel中制作文献信息提取表,内容包括文献的第一作者、发表年限、研究类型、总样本量、患者的一般情况,试验组和对照组的干预方式、干预时间,服用药物名称、厂家、剂量、频次,不良反应发生的例数、症状等。数据提取过程由2名研究者共同制定文献资料的内容列表,并独立进行文献资料的提取,资料提取后进行交叉核对,对有分歧的纳入数据交由第3位研究者判定。

1.1.6 质量评价 采用Cochrane偏倚风险评价工具(RoB 2)对研究进行质量评价,内容包括随机化过程中的偏倚、偏离既定干预措施的偏倚、结局数据缺失的偏倚、结局测量的偏倚和选择性报告结果的偏倚5个评价领域,研究者根据文献内容客观描述并回答相关问题,供选答案包括“是”“很可能是”“很可能否”“否”和“没有信息”5个选项,偏倚风险分为高风险、低风险和有一定风险3个等级,完成评价后表格将自动生成偏倚风险图和偏倚风险总结图^[15-16],质量评价由2名研究者分别独立完成后检查,并输出最终一致的评价结果,存在分歧部分交由第3位研究者判定。

1.1.7 统计学分析 使用Stata 15.0软件进行率的Meta分析。本系统评价统一采用随机效应模型,以 I^2 作为异质性检验的指标,若 $I^2 < 50\%$,则异质性可接受;若 $I^2 > 50\%$,则通过亚组分析探究异质性的来源。鉴于各研究之间较大的异质性,采用随机效应模型对各研究报告的不良事件发生率进行合并,并计算其95%可信区间(95% CI),用 I^2 反映各研究之间异质性大小。进一步按照配伍用药、对照组、不良反应等分类进行亚组分析,探讨中药配伍TWPT/

TWT对RA发生不良事件减毒效应的相关因素。

1.2 中药配伍雷公藤制剂的网络调控机制挖掘

1.2.1 中医药相关基因集的获取 基于中医药整合药理学研究平台(TCMIP)v2.0^[17]中“疾病相关分子库”,根据系统评价结果筛选出关键中药配伍和与之关系较为密切的疾病症状表现,其中白芍总苷(TGP)作为TWPT/TWT应用最为广泛的配伍,改善消化系统不良反应,从文献报道中提取其相关症状“腹胀、腹泻”“恶心纳差”“血常规异常”“肝功能异常”,同时提取RA纳入诊断标准中疾病关联症状“关节炎症”“关节肿胀”“关节晨僵”“红细胞沉降率升高”“C反应蛋白升高”“类风湿因子阳性”“骨质侵蚀”“骨质脱钙”,匹配与之对应的英文词条“Arthritis”“Chronic Arthritis”“Elevated C-Reactive Protein Level”“Elevated Erythrocyte Sedimentation Rate”“Finger Swelling”“Generalized Morning Stiffness”“Inflammatory Arthritis”“Interphalangeal Joint Erosions”“Joint Stiffness”“Joint Swelling”“Osteopenia”“Polyarthritis”“Polyarticular Arthritis”“Rheumatoid Arthritis”“Rheumatoid Factor Positive”“Soft Tissue Swelling of Interphalangeal Joints”“Swelling of Proximal Interphalangeal Joints”“Synovitis”“Abdominal Distention”“Abnormality of The Liver”“Anorexia”“Chemical And Drug Induced Liver Injury”“Diarrhea”“Leukopenia”“Liver Injury”“Nausea”“Poor Appetite”,并将其作为“效”与“毒”关键词进行检索,分别获得RA临床症状和不良反应相关基因集。基于TCMIP v2.0中“中药靶标预测”,以TWPT/TWT和TGP作为目标中药进行候选靶标谱预测,分别获得中药相关基因集。

1.2.2 中医药关联网络的构建与功能富集分析及可视化 利用TCMIP v2.0平台的“中医药关联网络挖掘”分析模块,提取该平台收集的上述配伍效与毒相关临床症状的相关基因集,并构建“药物靶标-效毒症状基因”相互作用网络,进而通过计算三种网络拓扑特征值(连接度、介度和紧密度),筛选关键网络靶标基因。进一步,依托Reactome数据库进行通路富集分析,筛选目标中药关键网络靶标基因显著参与的分子通路。最后,利用Cytoscape 3.7.2软件进行网络可视化。

2 结果

2.1 中药配伍TWPT/TWT治疗RA的安全性Meta分析结果

2.1.1 文献检索结果与筛选流程

经计算机和手

工初步检索文献2 132篇,其中中文数据库检索文献1 720篇,英文数据库检索文献412篇,软件机筛去重余1 052篇,人工复筛阅读题目及摘要部分并根据纳排去重余332篇,阅读全文排除重复文献及不符合纳入文献,最终纳入18篇,均为中文。

2.1.2 纳入文献基本特征 本研究纳入18篇文献,共有RA患者1 743例,其中试验组使用中药配伍联合TWPT/TWT共893例,对照组单独使用TWPT/TWT或其他阳性治疗药物850例,试验组不良事件发生数为112例,对照组不良事件发生数为222例。纳入文献中张磊(2005)和阮征(2017)以丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(AST)具体数值作为结局指标、王健(2018)仅报告轻度胃肠不适、恶心,除此之外,其余均报告不良反应发生数,故剔除上述3篇文献,另作分析。纳入文献中陈月(2008)分别报道用药4周和8周发生不良事件的情况,故作为2个研究分析。纳入文献基本特征见增强出版附加材料。

2.1.3 中药配伍TWPT/TWT不良反应发生情况的Meta分析 本次系统评价将中药配伍TWPT/TWT作为实验组,TWPT/TWT或其他阳性药作为对照组,对所有中药配伍减轻TWPT/TWT不良反应的研究进行Meta分析,结果显示,TWPT/TWT治疗RA的不良反应主要表现为消化系统、血液系统和生殖系统病变,其中以消化系统损害的发生率最高,在消化系统的不良事件中,消化道症状和肝功能异常最为多见。与对照组相比,中药配伍可降低不良反应(ADR)发生率:RR(95% CI)=0.45(0.30, 0.66), $P<0.01$,即支持中药配伍可以改善TWPT/TWT所导致的不良反应的发生。因纳入文献质量不一,异质性分析显示 $I^2>50\%$,提示各研究间存在异质性,故进一步采用亚组分析患者一般情况、实验组配伍用药、对照组用药、不良反应等分类对减毒的作用,探讨异质性的来源。

2.1.4 中药配伍减轻TWPT/TWT不良反应的影响因素

2.1.4.1 中药配伍更有利于降低60岁以下RA患者的不良反应事件发生率 文献报道研究纳入患者年龄自14~81岁,每个独立研究中试验组与对照组年龄不存在差异性,一般以 $\bar{x} \pm s$ 表示。考虑每个研究纳入的年龄不等,可能作为不良反应发生的危险因素,根据Cochrane使用手册的指导合并亚组数据,得到每个独立研究的平均年龄,并将其分为3组,分别为50岁以下(8项研究),50~60岁(3项研

究),60岁以上(5项研究)。结果显示,各组不良反应发生情况分别为50岁以下:RR(95% CI)=0.44(0.26, 0.73), $P<0.01$,50~60岁:RR(95% CI)=0.22(0.09, 0.52), $P<0.01$,60岁以上:RR(95% CI)=0.65(0.31, 1.34)。即平均年龄<60岁的RA患者通过中药配伍的治疗方法可以减少不良反应的发生,年龄越大,配伍对不良反应的改善情况越小。

2.1.4.2 中药配伍更有利于降低平均病程<8年RA患者的不良反应事件发生率 文献报道研究纳入患者病程自两个月至21年不等,每个独立研究中试验组与对照组病程不存在差异性,一般以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以年或月为单位,共有1个研究并未对患者病程进行报道,将其排除。考虑每个研究纳入的病程不等,可能作为不良反应发生的危险因素,故合并亚组数据,得到每个独立研究的平均病程,并将单位统一为年,分4组,分别为2~4年(2项研究,不包括4年),4~6年(5项研究,不包括6年),6~8年(4项研究,不包括8年),8年以上(3项研究)。结果显示各组不良反应发生情况分别为2~4年:RR(95% CI)=0.31(0.20, 0.49), $P<0.01$,4~6年:RR(95% CI)=0.52(0.30, 0.91), $P<0.05$,6~8年:RR(95% CI)=0.25(0.14, 0.44), $P<0.01$,8年以上:RR(95% CI)=1.24(0.49, 3.13)。即平均病程小于8年的RA患者通过中药配伍的治疗方法可以减少不良反应的发生,病程越长,配伍对不良反应的改善情况越小。

2.1.4.3 中药配伍更有利于降低服药剂量<60 mg的不良反应事件发生率 药物的剂量大小可能作为不良事件发生的危险因素。纳入的文献报道中排除2项研究未报道剂量外,其他服用TWPT的日剂量为30~60 mg不等,均在指南的用法用量范围之内。按照服药剂量进行分组:30 mg(5项研究),40 mg(2项研究),60 mg(7项研究)。结果显示,各组不良反应发生情况分别为30 mg:RR(95% CI)=0.49(0.28, 0.84), $P<0.01$,40 mg:RR(95% CI)=0.31(0.20, 0.47), $P<0.01$,60 mg:RR(95% CI)=0.66(0.32, 1.34)。第3组剂量在60 mg以上的效应值横跨无效线,说明试验组与对照组之间结果没有差异,即不良反应发生的情况相同,剩余两组研究效应值均<1,说明中药配伍TWPT/TWT可以减少不良反应的发生,即用药剂量为60 mg时,中药配伍对TWPT/TWT不良反应的改善作用较小,分析其原因,可能是因为60 mg作为临床常用剂量,纳入研究多,研究质量参差不齐,异质性大,也可能是因为剂量越大,配伍对不良反应的改善作用越小。

2.1.4.4 中药配伍更有利于降低服药周期<16周的不良反应事件发生率 服药周期可能作为不良反应发生的危险因素。纳入文献报道中排除1项研究未报道时间外,其他服药的周期从4周到24周不等,其中有4项研究疗程超过指南范围,将疗程进行分组:4周(1项研究),8周(2项研究),12周(8项研究),16周(2项研究),24周(2项研究)。结果显示,各组不良反应发生情况分别为4周:RR(95% CI)=0.30(0.09, 1.01), 8周:RR(95% CI)=0.19(0.09, 0.40), $P<0.01$, 12周:RR(95% CI)=0.45(0.24, 0.86), $P<0.05$, 16周:RR(95% CI)=1.00(0.33, 3.04), 24周:RR(95% CI)=0.63(0.26, 1.51)。第4、5组疗程在16周以上的效应值横跨无效线,说明试验组与对照组之间结果没有差异,即不良反应发生情况相同,剩余各组研究效应值均 <1 ,说明中药配伍TWPT/TWT可以减少不良反应的发生,即当疗程超过3个月时,中药配伍对TWPT不良反应的改善作用较小,服药周期越长,配伍对不良反应的改善作用越小。

2.1.5 不良反应与中药配伍的关系-单纯配伍增效类药物不能有效改善TWPT/TWT不良反应 本研究目的为系统评价中药配伍TWPT/TWT治疗RA的安全性,为中药配伍TWPT/TWT的应用与推广提供支持与指导,即中药配伍对TWPT/TWT所致RA患者不良反应发生的作用。纳入的文献报道中配伍中药包括加味玉屏风散、TGP、防己黄芪汤、通痹汤、紫云金药方、痛风定胶囊、通痹汤、补肾通痹汤、通痹汤、清热除湿方、痹祺胶囊、清痹片、益肾蠲痹丸、尪痹颗粒、阳和汤。“异类相制”作为配伍减毒理论提出TWPT/TWT用于虚实夹杂、病机复杂、病情顽固的风湿免疫类疾病,可通过配伍补气柔肝益肾之品来扶正固本、抑制药物毒性^[18]。临床一般通过配伍降低药物毒性的药物(减毒)、治疗RA的药物(增效)或既能增效又可减毒的药物(增效减毒),来达到治疗疾病的作用,故也将试验组中不同中药配伍分为以下3组:减毒(1项研究),增效(7项研究),增效减毒(8项研究)。结果显示,各组不良反应发生情况分别为减毒:RR(95% CI)=0.39(0.22, 0.70), 增效:RR(95% CI)=0.62(0.33, 1.18), $P<0.05$, 增效减毒:RR(95% CI)=0.35(0.21, 0.60), $P<0.01$ 。即选择具有减毒功效的中药配伍可以有效减少TWPT/TWT不良反应的发生,而选择配伍单纯针对减轻疾病严重度的中药对TWPT/TWT不良反应无明显改善作用。

2.1.6 不良反应与对照组用药的关系-与西药组比较,中药配伍能有效改善TWPT/TWT不良反应 作为试验组的对照方案,不同研究采用不同的干预措施,纳入的文献报道中对照组的干预方式包括雷公藤多甙、雷公藤多苷、雷公藤片、扶他林、甲氨蝶呤、柳氮磺吡啶、来氟米特、虎力散胶囊、复方风湿宁、非甾体抗炎药、TGP。临床常用治疗RA的药物包括非甾体类抗炎药(NSAIDs),如美洛昔康、塞来昔布等,改善病情的抗风湿药(DMARDs),如甲氨蝶呤、柳氮磺吡啶、羟氯喹、来氟米特等,糖皮质激素,如甲泼尼龙、醋酸泼尼松等,植物药制剂,如雷公藤制剂、昆仙胶囊等。本研究主要以雷公藤制剂为重点关注方向,故将对照组中不同的干预措施分为以下2组:雷公藤制剂(10项研究),其他阳性对照(6项研究)。结果显示,各组不良反应发生情况分别为雷公藤制剂:RR(95% CI)=0.50(0.30, 0.84), $P<0.01$, 其他阳性对照:RR(95% CI)=0.37(0.19, 0.70), $P<0.01$ 。两种不同对照组的研究效应值均 <1 ,说明中药配伍可以减少TWPT/TWT不良反应的发生,也说明对照组的差异并非为本研究结果异质性的来源,对照组为其他阳性药组的RR值小于对照组为TWPT/TWT组RR值,考虑到其他阳性药对照组中除虎力散胶囊、复方风湿宁、白芍总苷外,以西药居多,即与西药组比较,中药配伍可以更好地减少TWPT/TWT不良反应的发生。

2.2 TGP配伍TWPT/TWT增效减毒的网络调控机制

2.2.1 中药和疾病相关靶点收集 利用TCMIP v2.0平台,收集获得TWPT候选靶标基因180个, TGP候选靶标基因300个, RA症状相关基因460个, TGP/TWT不良反应症状相关基因484个。根据基因-基因间相互作用信息,构建“药物靶标-效毒症状基因”互作网络,并通过计算网络拓扑特征值(连接度、介度和紧密度),筛选出3种特征值均大于其相应中位数的核心网络靶标148个。

2.2.2 核心网络靶标的生物内涵挖掘 TGP-TWPT/TWT配伍的核心网络靶标主要通过调节机体免疫应答、减轻炎症反应、矫正代谢紊乱和改善细胞功能,来实现增效减毒作用(见增强出版附加材料)。其中,参与“免疫-炎症”功能模块的白细胞介素-4(IL-4)和白细胞介素-13(IL-13)是两药配伍增效和减毒的共同靶点。有实验研究表明,雷公藤甲素作为雷公藤主要活性成分,可以诱导小鼠肝损伤,表现出体质量减轻,血清ALT、AST水平升高,

肝脏组织病理学改变等,雷公藤甲素可促使小鼠肝脏分泌辅助型T细胞2(Th2)细胞因子IL-4,并且减少中性粒细胞和巨噬细胞的聚集,进而产生抗炎和保护的作用^[19],GIESECK等^[20]也发现许多与2型免疫反应相关的关键细胞,其中,IL-4和IL-13激活的巨噬细胞能够通过减轻组织炎症、激活重要的组织再生机制来完成对组织的修复,TGP恰能够通过调节促炎、抗炎细胞因子的平衡来调节炎症反应,在缓解肝脏病理改变、降低血清ALT、AST水平的同时^[21-22],减轻关节炎相关症状^[23]。可见,“免疫-炎症”相关分子可能作为TGP配伍TWPT/TWT增效减毒的共同靶点发挥作用,与前文TGP配伍TWPT/TWT增效减毒相关临床研究的结果相吻合,即TWPT/TWT可能通过此通路治疗关节炎症、关节肿胀、关节晨僵、骨质改变和血清学改变等,同时也导致腹胀、腹泻、恶心纳差、血常规异常、肝功能异常等消化系统不良事件的发生,而TGP也可能通过此通路治疗RA的同时减少不良反应的发生。其次,机体代谢产物,包括内源性甾醇、胆汁酸和胆汁盐,相关代谢途径,如胰岛素分泌、 β 细胞基因表达等,均与TWPT/TWT致肝毒和TGP减肝毒机制密切相关。TWPT/TWT往往导致胆汁淤积,进而使胆汁酸在肝脏中积聚,引发肝细胞和胆道损伤和炎症。慢性胆汁淤积与纤维化、肝硬化及最终的肝功能衰竭有关,慢性胆汁淤积还会增加患肝细胞癌或胆管细胞癌的风险,而TGP的核心靶标可以通过调节上述代谢紊乱而达到减毒的作用^[24]。最后,细胞功能调节通路,如干细胞因子(SCF)/酪氨酸激酶受体蛋白(KIT)信号通路、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路、Ras信号通路、血管新生信号通路等,共同参与了TWPT/TWT缓解RA和致肝毒的作用机制。

3 讨论

TWPT/TWT治疗RA疗效显著,但其毒性机制复杂,往往诱发各个系统不同程度的不良反应,且以消化系统的不良反应最为多见,其中主要表现为消化道不适症状及肝损伤。因此,临床在使用TWPT/TWT治疗RA过程中,需要在保证药物治疗效果的基础上,配伍其他药物,减轻其不良反应。研究表明,中药配伍是基于中医辨证论治理论,合理配伍两种或两种以上药物,使其发挥协同作用,从而减毒增效、缓和药性。针对不同病症及不同系统出现的毒性表现,配伍的中药亦不相同。对于出现最多的消化道毒性,在保证疗效的基础上,常配

伍使用白术、茯苓、黄芪等以对抗消化道产生的不良反应,配伍使用白芍、何首乌、生地黄、枸杞子等对抗肝肾功能损害,对于生殖系统毒性,配伍当归、芍药,使孕酮降低幅度减小,有助于卵泡发育,减少女性月经紊乱、闭经等情况发生,起到保护卵巢功能的作用^[25]。

本研究系统评价结果显示,中药配伍可以有效降低TWPT/TWT不良反应事件的发生率,同时患者的一般情况、病程、用药剂量、服药周期及配伍方式均可影响其对TWPT/TWT不良反应的改善作用。进一步,通过配伍减毒药物和增效减毒药物,既能治疗疾病又能改善不良反应。临床尤以TGP配伍TWPT/TWT最为多见,且常以缓解肝毒性作为配伍TGP改善不良反应的评价指标。此外,在《类风湿关节炎病证结合诊疗指南》^[26]中成药选择中,TGP作为推荐药常与其他药物联合使用治疗RA,同时《雷公藤多苷/雷公藤片治疗类风湿关节炎用药指南》^[27]也指出,若单用TWPT/TWT治疗3个月后仍不能达标(DAS28 $\geq$ 2.6)时,建议联合TGP进行治疗。

在上述系统评价研究基础上,本研究针对TWPT/TWT与TGP配伍增效减毒的网络调控机制开展了进一步挖掘。结果显示,TGP-TWPT/TWT配伍的核心网络靶标主要通过调节机体免疫应答、减轻炎症反应、矫正代谢紊乱和改善细胞功能,来实现增效减毒作用。其中,参与“免疫-炎症”功能模块的IL-4和IL-13是两药配伍增效和减毒的共同靶点;特别地,“机体代谢”产物内源性甾醇、胆汁酸和胆汁盐、胰岛素分泌等代谢途径与TWPT/TWT致肝毒和TGP减肝毒机制密切相关;而细胞功能调节通路,如SCF/KIT信号通路、PI3K/Akt信号通路等,则共同参与了TWPT/TWT缓解RA和致肝毒的作用机制。

综上所述,临床采用合适的中药配伍TWPT/TWT治疗RA可有效增加其风湿病情改善作用且减轻其不良反应,其中,TGP-TWPT/TWT配伍方案的减毒作用最为显著。进一步的生物网络挖掘结果表明,TGP-TWPT/TWT配伍的减毒机制可能与两药靶标对白细胞介素信号通路和胆汁酸代谢途径的调节相关,二者配伍的协同增效机制可能通过作用于白细胞介素信号通路及细胞功能调节通路而实现。上述结果有助于全面阐释TGP配伍TWPT/TWT增效减毒的作用原理,并为进一步“临床-动物-细胞”多维度实验验证奠定了数据基础。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] SMOLEN J S, ALETAHA D, BARTON A, et al. Rheumatoid arthritis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4: 18001.
- [2] 何英蒙, 姚媛媛, 陈一龙, 等. 雷公藤类制剂的研究进展[J]. 中国药房, 2017, 28(4): 551-554.
- [3] 刘雪梅, 刘志宏, 张晶, 等. 雷公藤临床应用及不良反应的研究进展[J]. 药学实践杂志, 2015, 33(2): 110-113.
- [4] 王晓月, 张依, 陈文佳, 等. 从临床多组学整合调控网络探究雷公藤多苷片治疗类风湿关节炎的“效-毒”关联机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(5): 49-57.
- [5] 白雪, 付瑞嘉, 乐世俊, 等. 雷公藤治疗类风湿性关节炎研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(1): 265-275.
- [6] 杨超, 胡智星, 明瑞蕊, 等. 雷公藤多苷片联用甲氨蝶呤和/或来氟米特对类风湿关节炎自身抗体影响的Meta分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(5): 39-48.
- [7] 赵明洪, 卢天明, 刘莉, 等. 甘草减轻雷公藤多苷片所致肝损伤的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(5): 24-31.
- [8] 杨一博, 徐颖, 王璐, 等. 基于Notch信号通路探索菟丝子总黄酮配伍雷公藤多苷对生理小鼠卵巢生殖干细胞的作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(5): 9-15.
- [9] 陈文佳, 李泰贤, 王晓月, 等. 雷公藤多苷(甙)片单用或联用甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎临床疗效RCT研究的Meta分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 791-797.
- [10] 李泰贤, 王晓月, 薛志鹏, 等. 雷公藤多苷(甙)片单用或联合甲氨蝶呤治疗类风湿关节炎实验室指标改善作用的Meta分析[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(16): 3542-3550.
- [11] 李逸群, 胡瑞学, 贾可欣, 等. 雷公藤多苷(甙)片治疗类风湿关节炎的安全性系统评价[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 775-790.
- [12] 王晓月, 李泰贤, 薛志鹏, 等. 雷公藤多苷(甙)片单用或联合甲氨蝶呤对类风湿关节炎临床表现改善作用的Meta分析[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(16): 3533-3541.
- [13] 陈琪, 周静威, 李世超, 等. 中药配伍减轻雷公藤制剂肝毒性的系统评价[J]. 上海中医药大学学报, 2019, 33(4): 13-22.
- [14] 李慧珍, 刘斌, 舒海洋, 等. 雷公藤配伍甘草减毒作用动物实验的系统评价[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(16): 3512-3519.
- [15] 刘津池, 刘畅, 华成舸. 随机对照试验偏倚风险评价工具RoB2(2019修订版)解读[J]. 中国循证医学杂志, 2021, 21(6): 737-744.
- [16] 刘括, 孙殿钦, 廖星, 等. 随机对照试验偏倚风险评估工具2.0修订版解读[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(3): 284-291.
- [17] XU H Y, ZHANG Y Q, LIU Z M, et al. ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D976-D982.
- [18] 周学平, 冯哲, 周玲玲, 等. 基于“异类相制”理论探讨雷公藤的复方配伍减毒[J]. 中医杂志, 2018, 59(9): 725-727, 732.
- [19] WANG X Z, XUE R F, ZHANG S Y, et al. Activation of natural killer T cells contributes to triptolide-induced liver injury in mice [J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(12): 1847-1854.
- [20] GIESECK R L, WILSON M S, WYNN T A. Type 2 immunity in tissue repair and fibrosis [J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(1): 62-76.
- [21] WANG C, YUAN J, WU H X, et al. Total glucosides of paeony inhibit the inflammatory responses of mice with allergic contact dermatitis by restoring the balanced secretion of pro-/anti-inflammatory cytokines [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 24(2): 325-334.
- [22] SONG S S, YUAN P F, LI P P, et al. Protective effects of total glucosides of paeony on n-nitrosodiethylamine-induced hepatocellular carcinoma in rats via down-regulation of regulatory B cells [J]. Immunol Invest, 2015, 44(6): 521-535.
- [23] WU H, WEI W, SONG L H, et al. Paeoniflorin induced immune tolerance of mesenteric lymph node lymphocytes via enhancing beta 2-adrenergic receptor desensitization in rats with adjuvant arthritis [J]. Int Immunopharmacol, 2007, 7(5): 662-673.
- [24] LI T, APTE U. Bile acid metabolism and signaling in cholestasis, inflammation, and cancer [J]. Adv Pharmacol, 2015, 74: 263-302.
- [25] 彭德明. 中药配伍方法应用于雷公藤减毒研究分析[J]. 中国处方药, 2020, 18(7): 20-22.
- [26] 姜泉, 王海隆, 巩勋, 等. 类风湿关节炎病证结合诊疗指南[J]. 中医杂志, 2018, 59(20): 1794-1800.
- [27] 林娜, 姜泉, 刘维, 等. 雷公藤多苷/雷公藤片治疗类风湿关节炎用药指南[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(17): 4149-4153.

[责任编辑 孙丛丛]