

基于宏基因组学研究中医“肺与大肠相表里”的初步分析与设想

田蕾 吴昊 韦昱 郑敏 何磊 赵燕

【摘要】 在中医学中,“肺与大肠相表里”是重要的脏腑相关理论,自古便有效的指导着中医关于肺肠相关疾病的治疗,受到了学术界的广泛关注。随着现代分子生物学的发展,宏基因组学作为 21 世纪生命科学的产物,其是以生态环境中的所有细菌与真菌的基因组 DNA 作为研究对象,通过克隆与异源表达的方式筛选出有用的基因及其产物,并进一步研究这些细菌与真菌的基因组 DNA 之间的功能与彼此之间的相互作用与联系。因此能够摆脱传统只依靠培养微生物基因的方式进行研究的束缚,显著扩大微生物基因的可探测范围,近些年来广泛应用于医学研究领域当中。本文通过对肺与大肠相表里的机制及临床研究的情况进行初步的归纳、分析并对宏基因组学技术及其在肺、肠疾病中的研究应用进行介绍,旨在提出借助宏基因组学的技术与方法来研究中医“肺与大肠相表里”理论的初步设想。

【关键词】 肺; 大肠; 宏基因组学

【中图分类号】 R223.1 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.10.008

Preliminary analysis and assumption of “the lung and the large intestine being interior-exteriorly related” in Chinese medicine based on metagenomic TIAN Lei, WU Hao, WEI Yu, et al. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: ZHAO Yan, E-mail: yanzh3232@126.com

【Abstract】 “The lung and the large intestine being interior-exteriorly related” is one of the important theory of viscera correlation in TCM, the theory effective guidance of Chinese medicine in the treatment of pulmonary and intestinal diseases since ancient times, has received extensive attention from the academic circles. With the development of modern molecular biology, Metagenomics as a product of life science in 21st century, the genome of DNA of all bacteria and fungi in the ecological environment is regarded as object of study, through cloning and heterologous expression to screen out the useful genes and their products, further study the function and interaction between the genome DNA of these bacteria and fungi. Therefore, it is possible to get rid of the bondage of traditional methods that only rely on the cultivation of microbial genes, and significantly expand the detection range of microbial genes, which has been widely used in the field of medical research in recent years. This paper summarizes and analysis the mechanism and clinical research of “The lung and the large intestine being interior-exteriorly related”, and metagenomic technology and its application in lung and intestine disease are introduced, to propose a preliminary idea to study “The lung and the large intestine being interior-exteriorly related” theory with the techniques and methods of metagenomic.

【Key words】 Lung; Intestinum crissum; Metagenomics

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2011CB505101); 国家自然科学基金(81373771)

作者单位: 100029 北京中医药大学基础医学院[田蕾(硕士研究生)、吴昊、韦昱、郑敏、何磊、赵燕]

作者简介: 田蕾(1989-), 女, 2014 级在读硕士研究生。研究方向: 中医证候的规范化、标准化研究。E-mail: tianlei1949@sina.com

通信作者: 赵燕(1977-), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师。研究方向: 中医证候的规范化、标准化研究。E-mail: yanzh3232@126.com

“肺与大肠相表里”理论是中医藏象学说从整体的功能状态把握与认识人体生命活动的重要理论之一,最早记载在《黄帝内经》中,如《灵枢·本输》^[1]云“肺合大肠”以及《灵枢·九针》^[1]云“手阳明太阴为表里”。

“肺与大肠相表里”是指肺与大肠之间存在着彼此互通、对立互根、交互表征的关系,这种“表里”关系,不仅体现在经络之间的相互联属,生理状态下的彼此协同,还体现在病理状态下的相互影响。随着现代医学,特别是组织学、免疫学、分子生物学等学科的飞速发展,人们以现代医学手段为支撑,不断的深入与丰富着对于“肺与大肠相表里”的认识,本文通过分析总结近年来学者对“肺与大肠相表里”的机制研究及临床研究,发现目前针对肺与大肠相表里的研究还存在着许多短板,关于肺的病理改变所引起肠道病变的分子生物学机理的报道较少,是一个迫切需要更多临床与实验证据的崭新的领域,具有很重要的现实指导意义,基于此,开展肺与肠道微生态的研究是个十分迫切且重要的任务。而宏基因组学在分子生物学与分子遗传学理论和技术方法的支撑下,以基因组学为基础,可以更深入、广泛地了解到人体肠道的微生态,为“肺与大肠相表里”理论的深入研究带来契机。

1 “肺与大肠相表里”的机理研究

1.1 生理研究

在生理研究方面,从免疫学角度^[2],呼吸道与胃肠道具有上皮与固有层等典型的黏膜结构,且作为 SIgA 免疫反应的主要场所,分泌了大量的 SIgA 并可通过“归巢”与共同的免疫系统而相互关联。另外有研究发现^[3]肺组织与大肠组织分别在高、低氧,限食以及限水的条件刺激下全部模型组中的 PGE₂ 含量的变化均表现出一定的相关性联系,提示肺与大肠之间存在着共同的免疫物质基础,即肺与大肠存在着一定的免疫相关性。

在神经系统方面^[4],气道的神经调节系统除去经典的胆碱能与肾上腺能神经系统以外,还包含了非肾上腺非胆碱能的神经系统。而肠道中的一些神经肽物质,也大量的分布在气道与肺血管上,并具有调节呼吸道的内分泌功能的作用。

从内分泌角度来看^[5],肺和肠道均属于内分泌器官,都可以合成血管活性肠肽、P 物质及表面活性物质等来调节肺与肠的功能和活动。如回肠和结

肠的 H 细胞分泌出的血管活性肠肽可以刺激呼吸,使气管松弛从而导致肺脏通过度。

组织胚胎学的研究也已经证实^[6],原肠的前肠分化成了肺与气管,原肠内胚层还分化出了呼吸道上皮与腺体。由此可见肺、气管以及肠的结构来源是相同的,这便被认为是“肺与大肠相表里”的组织结构基础。

1.2 病理研究

在病理研究方面,一方面,肺病及肠,支气管哮喘发作期的患者与慢性阻塞性肺疾病的急性发作期的患者其大便异常率分别是 70.3% 与 86.7%^[7]。检查肺脏多鳞细胞癌的患者可发现^[8-10],癌细胞会转移到小肠与十二指肠。

另一方面,肠病及肺,从肠缺血的大鼠模型中可以发现^[11],由肠道分泌出来的淋巴因子会刺激肺部产生一定的炎症介质,从而会导致肺黏膜的分子表达发生改变,最终致使肺部细胞凋亡^[12]。用溃疡性结肠炎的大鼠模型,分别在模型的不同时点对大鼠的呼吸道与肠道的部分菌群进行检测,发现肠病的大鼠出现了呼吸道的菌群改变,在“肠病及肺”的整个病理传变的过程中,肠病的大鼠呼吸道与肠道的部分菌群出现了同步性的改变,或是同步增多,或是同步减少^[13]。

2 “肺与大肠相表里”的临床研究

2.1 肺病治肠

李丽^[14]通过观察宣白承气汤加味干预慢性阻塞性肺疾病的急性加重期证属痰热郁肺的临床疗效,发现宣白承气汤加味联合西药的常规治疗,可以更好地改善慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者的临床症状与体征,使白细胞总数降低、中性粒细胞的比例下降,并认为其作用机制可能是通过给邪以出路的方式,从而使肠腹气机通畅,最终达到宣降肺气,化痰平喘的疗效。吕江夏^[15]也发现宣白承气汤口服联合加味大承气汤保留灌肠的方法治疗慢性肺心病急性加重期证属痰浊腑实证的患者较中西医常规治疗有显著优势,并初步推测其作用的机理可能在于使低氧与高碳酸血症得以纠正,从而使血液的高凝高黏的状态得到改善,继而达到抑制炎症反应,保护肠道的作用。

付钰等^[16]观察采用针刺支气管哮喘的患者肺与大肠的经穴,发现无论是从肺论治、从肠论治还是肺肠同治都可以达到显著改善哮喘患者的肺系

的症状与肠系的症状的作用,并且进一步发现肺与肠症状的改变之间存在着密切的相关性。

姬旭科^[17]通过临床观察评价以“肺与大肠相表里”理论为指导的从肠论治肺癌患者证属痰热壅盛证的临床疗效,发现从肠论治总的有效率为 93.33%,明显高于从肺论治的总有效率。

2.2 肠病治肺

张亚琴等^[18]观察了在常规西医治疗的基础上结合从肺治疗慢性非特异性溃疡性结肠炎的患者,并与单纯的西医治疗进行对照观察,发现从肺治疗慢性非特异性溃疡性结肠炎,不但可以弥补因单纯西药治疗所造成的不良反应,还能够提高患者自身的免疫力,改善患者肠道黏膜微循环,从而达到增加组织血供、修复并愈合溃疡的效果。胡静平^[19]运用清肺愈结汤加减来治疗慢性结肠炎患者,发现本方对慢性结肠炎有显著疗效。冯昭明等^[20]运用调理肺脏气机的方法来调理大肠的气机,应用清肃肺气汤治疗 18 例大肠黑变病的患者,经临床试验研究,总有效率达 88.89%,效果显著。此外,高强等^[21]观察运用宣肺理气活血法治疗 38 例便秘型肠易激综合征的患者,总有效率达 97.3%。

综上所述,从临床干预试验来看,肺病的患者从肠论治以及肠病的患者从肺论治均能达到显著的治疗肺病与肠病的疗效,一定程度上也反证了肺与大肠之间相表里的关系。

通过整理归纳“肺与大肠相表里”的现代医学机制及临床研究发现,现代研究已经证实了肺与大肠之间存在着物质以及功能上的关联性,认识到了肺与大肠之间存在共同的组织胚胎学基础,彼此之间相互影响的免疫系统、神经系统以及内分泌系统,但其生理及病理功能的关联性目前大多采用临床干预实验的研究来反证,因此目前的认识存在一定的模糊性,尤其若可以从分子生物学的角度细致深入的研究,将能更好地使“肺与大肠相表里”的理论客观化、标准化,这对今后肺肠疾病的诊断及治疗有着重要的指导意义。

3 基于宏基因组学技术研究“肺与大肠相表里”的初步思考

3.1 宏基因组学

1998 年,Handelsman 等^[22]在进行土壤微生物的研究时,首次提出了宏基因组学的概念。宏基因组学中的“宏”字对应的英文前缀为“meta”,其源自

于希腊语,含有超越(overreach)、在外(beyond)以及在上(above)等的含义,在 metagenome 中包含更高级和更复杂的意思。宏基因组学是以生态环境中的所有细菌与真菌的基因组 DNA 作为研究的对象,通过克隆与异源表达的方式筛选出有用的基因及其产物,并进一步研究这些细菌与真菌的基因组 DNA 之间的功能与彼此之间的相互作用与联系。因为宏基因组学并不是采用传统的培养微生物基因的方式来进行研究,而是采取直接提取微生物中的总 DNA 进行研究,因此宏基因组学技术的产生,使人们对占总体 99% 以上的不可培养的微生物的研究成为可能,这样便显著地扩大了微生物基因的可探空间。截止到目前为止,宏基因组学的研究对象已经由最早的土壤微生物发展到了水体浮游微生物,以及空气中的悬浮物,现在也包括生物体附生的微生物等,因此在生物医学等领域存在着广阔的应用前景。2004 年,美国的国立卫生研究院专门开设了“应用宏基因组学来研究口腔微生物”的科研项目,不仅说明国际学术界对于宏基因组学的技术方法的重视,也表明宏基因组学的技术方法运用于医学研究领域的可行性。

微生物作为自然界中广泛存在着的一群微小生命,与人类的生存与生活密切相关。人体自身便存在着适合微生物生长的环境,如肠道、口腔、皮肤等,因此利用宏基因组学的方法来研究这些寄居在人体肺及肠道的微生物群体,尤其是其在肺系及肠道疾病过程中的发展变化,对于人类进一步揭秘机体的肺肠疾病的内在机制可以提供更坚实且客观的证据。

3.2 基于宏基因组学研究肺、肠疾病的研究现状

迄今为止,宏基因组学在医学领域中的应用,尤其是针对肺或肠道疾病的研究还处在起步的阶段,如楚亚男^[23]通过运用宏基因组学技术对肺炎病患者支气管肺泡灌洗液进行检测,取得了下呼吸道的样本总 DNA,经过生物信息学的分析,鉴定出了 20 种与呼吸道重症感染密切相关的细菌物种,并鉴定到了两种呼吸道潜在的致病菌 *Microbacterium laevaniformans* 与 *Borrelia garinii*,并检测出了 4 种耐药基因与 6 种细菌侵染时所需要的毒力因子,发现患者的临床症状和宏基因组学的研究结果之间是相互吻合的,这便为肺炎患者快速诊断和合理用药提供了有力的依据。Manichanh 等^[24]运用了宏基因组学的技术方法研究对比了正常人与节段性回肠

炎患者的肠道微生物多样性,发现患有节段性回肠炎的患者肠道微生物的多样性显著降低,特别是硬壁菌门的细菌种类减少明显。Law 等^[25]应用宏基因组学技术对慢性乙肝、丙肝、以及非酒精脂肪肝等患者的血浆进行研究,发现该方法不仅快速并且证据可靠,且该方法使检测的范围扩大到患者的尿液、胆汁以及其他体液,这样就为临床诊治肝病提供了更多可靠证据。魏晓^[26]运用宏基因组学的方法对 16 例乙型肝炎肝硬化的患者肠道菌群结构变化与功能代谢的变化进行了分析,发现与正常人对比较,乙型肝炎肝硬化患者存在着不同程度肠道菌群失调,主要表现为肠杆菌科与韦荣氏球菌的显著富集、拟杆菌属缺少,并发现乙型肝炎肝硬化的患者肠道微生物的功能代谢出现异常。

3.3 基于宏基因组学研究“肺与大肠相表里”的思考

应用宏基因组学来解释疾病的过程,与中医的整体观及辨证论治的思维方式是一致的,但是从目前的研究来看,宏基因组学的技术方法仅单独涉及到肺或是肠道疾病的研究,尚未有人运用宏基因组学的方法全面系统的研究肺与大肠相表里的理论。然而,宏基因组学特点主要体现在从系统、整体的角度观测研究对象,而非传统的从单个微生物或化合物的变化入手,这种特点是符合中医脏腑表里关系理论中整体性的特点,基于以上认识,笔者认为基于宏基因组学来研究阐释“肺与大肠相表里”的理论是一种新的思路,且具备一定的可行性。

基于宏基因组学的方法,借助其系统、动态、全面分析于一体的研究特点,笔者初步设想以中医“肺与大肠相表里”的中医经典理论为指导,可对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者进行横断面临床信息采集,主要观测患者的一般情况,借助肺功能仪、脉象仪、舌象仪,检测患者的肺功能及舌脉象,同步收集患者的大便样本,运用 16SrRNA 基因测序及肠道微生物全基因组测序,进行肠道微生物的定性、定量分析,基于宏基因组学提取不同常见证候与肠道微生物特征的关联关系,并应用信息分析技术建立常见慢性阻塞性肺疾病的证候与肠道微生物特征的关联模型,从而找到“肺与大肠相表里”的内在微观物质基础,为中医“肺与大肠相表里”的科学内涵及中医理论的客观化、标准化提供坚实依据。

宏基因组学已经成为世界生命科学技术研究的热点与前沿。国外运用宏基因组学在医学方面

的研究尚处在起步阶段,国内相关的研究较少,特别是涉及到中医经典理论相结合的研究更是没有,因此迅速开展有关宏基因组学的研究,使中医学借助现代技术得到发展,同时也促进了中国在宏基因组学研究中的创新与突破。

参 考 文 献

- [1] 黄帝内经[M].北京:中医古籍出版社,2000.
- [2] 靳文学,杨宇.从粘膜免疫系统看“肺与大肠相表里”[J].四川中医,2005,23(12):1-3.
- [3] 刘絮.从肌电变化和 Related 免疫物质表达探讨肺与大肠的表里关系[D].北京:北京中医药大学,2014:32-54.
- [4] 张刘扛.“肺与大肠相表里”的粘膜免疫和受体的生物学机制研究[D].北京:北京中医药大学,2011:11-14
- [5] 谷振勇.过氧亚硝基阴离子介导内毒素致肺血管损伤及胆囊收缩素的保护作用[J].生理科学进展,2001,32(2):135-137.
- [6] 刘文导,向伟能,鲁尧.“肺合大肠”的理论研究及临床应用[J].中医研究,2005,18(8):5-6.
- [7] 贾君君,陈旭,解结萍,等.“肺与大肠相表里”的现代研究概况[J].中国药学报,2006,34(3):23-25.
- [8] Akamatsu H, Tsuya A, Kaira K, et al. Intestinal metastasis from non-small-cell lung cancer initially detected by F-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography[J]. JAPANESE JOURNAL OF RADIOLOGY,2010,28(9):684-687.
- [9] Yamada H, Akahane T, Horiuchi A, et al. A case of lung squamous cell carcinoma with metastases to the duodenum and small intestine [J]. INTERNATIONAL SURGERY, 2011, 96(2):176-181.
- [10] Kobayashi N, Watanabe S, Kubota K. Small intestinal metastasis from carcinoma of the lung [J]. Clin Gastroenterol&Hepatol, 2011,9(10):e103.
- [11] Breithaupt-Faloppa AC, Vitoretti LB, Cavriani Q, et al. Intestinal Lymph-Borne Factors Induce Lung Release of Inflammatory Mediators and Expression of Adhesion Molecules After an Intestinal Ischemic Insult[J]. JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH,2012,176(1):195-201
- [12] Varga J, Stasko P, Toth S, et al. Morphological and apoptotic changes in the intestinal mucosa and lung parenchyma after ischaemic/reperfusion injury of the jejunum[J]. Acta Vet Hung, 2010,58(2):243-256.
- [13] 郑秀丽.基于肺肠微生态和 MEK/ERK 信号通路探讨肺与大肠病理传变的生物学基础[D].成都:成都中医药大学,2013:94-136
- [14] 李丽.基于“肺病治肠”理论治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床研究[D].济南:山东中医药大学,2012:1-18
- [15] 吕江夏.中药口服配合灌肠治疗慢性肺心病急性加重期的临床研究[D].广州:广州中医药大学,2014:21-34
- [16] 付钰,张昶,王宝凯,等.针刺从肺肠论治对支气管哮喘患者中医症状的影响[J].北京中医药大学学报,2013,36(4):

- 272-276.
- [17] 姬旭科. 基于“肺与大肠相表里”理论指导治疗痰热壅盛型肺癌的临床研究[D]. 昆明:云南中医学院,2015:8-18
- [18] 张亚琴,杨晓峰,邱根全,等. 中西医结合从肺论治慢性非特异性溃疡性结肠炎 30 例疗效观察[J]. 河北中医,2009,31(7):1027-1028.
- [19] 胡静平. 清肺愈结汤加减治疗慢性结肠炎的临床观察[J]. 贵州医药,2008,32(2):153-154.
- [20] 冯昭明,陈伟刚. 清肃肺气汤治疗大肠黑变病 18 例[J]. 新中医,2007,39(8):75-76.
- [21] 高强,李慧臻. 宣肺理气活血法治疗便秘型肠易激综合征 38 例[J]. 吉林中医药,2007,27(12):25-26.
- [22] Handelsman J, Rondon MR, Brady SF, et al. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products[J]. *Chem Biol*,1998,5(10):R245-R249
- [23] 楚亚男. 肺炎病患下呼吸道及沼气发酵体系的宏基因组学研究[D]. 北京:中国科学院大学,2013,9-79
- [24] Manichanh C, Rigottier GL, Bonnaud E, et al. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach[J]. *Gut*,2006,55(2):205-211.
- [25] Law J, Jovel J, Patterson J, et al. Identification of hepatotropic viruses from plasma using deep sequencing: a next generation diagnostic tool[J]. *PLoS One*,2013,8(4):e60595.
- [26] 魏晓. 乙肝肝硬化患者肠道微生物宏基因组学的研究[D]. 北京:中国人民解放军军事医学科学院,2012:13-66.

(收稿日期:2016-07-23)

(本文编辑:禹佳)