

- 124-125.
- [20] 马鲁波,刘剑刚,史大卓,等. 复方芪丹液对中国小型猪心力衰竭模型血管活性因子的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2008,19(5):329-332.
- [21] 吴美平,董耀荣,熊旭东,等. 不同剂量附子对心衰大鼠心室重构作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(16):187-190.
- [22] 王靓,侯晓燕,黄金玲,等. 苓桂术甘汤对心肌梗死后心室重构模型大鼠 Ang II、Ald 和 AT1R 的影响[J]. 中国中医基础医学杂志,2012,18(6):624-627.
- [23] 王承龙,史大卓,殷惠军,等. 西洋参茎叶总皂苷对急性心肌梗死大鼠心肌 VEGF、bFGF 表达及血管新生的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2007,27(4):331-334.
- [24] 周召锋,徐皓,张超群,等. 白藜芦醇对 AMI 后心脏血管新生及冠脉侧支循环影响的实验研究[J]. 山东医药,2010,50(23):42-43.
- [25] 杨景柯,冯国清,于爽,等. 巴戟天醇提取物促大鼠缺血心肌治疗性血管生成的实验研究[J]. 中国药理学通报,2010,26(3):367-371.
- [26] 赵明镜,王硕仁,李敏,等. 早期应用活血和益气中药抑制心衰大鼠左室重构和凋亡的对比研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(8):710-714.
- [27] 上官海娟,徐江,官洪山,等. 当归对心肌梗死后心肌细胞凋亡和心室重构的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志,2008,15(1):39-45.
- [28] 刘蜜,王琛,王晓初,等. 西洋参茎叶总皂苷通过抑制内质网应激相关细胞凋亡减轻大鼠急性心肌梗死后心室重构[J]. 中国病理生理杂志,2013,29(5):796-803.

(收稿日期:2013-07-23)

(本文编辑:董历华)

系统生物学在中医证候研究中的应用

苟小军 夏云 曲虹 杨晓露

【摘要】 证候研究是中医基础研究的一个关键的科学问题,中医的“证”是辨证论治的起点和核心。随着后基因组时代的到来,系统生物学逐渐受到关注。系统生物学是研究一个生物系统中所有组成成分(基因、mRNA、蛋白质等)的构成,以及在特定条件下这些组分间相互关系的科学,将系统生物学应用于中医证候研究是目前的研究热点。本文探讨了中医证候与系统生物学的相关性及其意义,总结了基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学在中医证候研究中取得的成就,同时分析了系统生物学在中医证候研究中存在的问题与不足,并提出了今后研究的设想,为从多学科、多视角进一步认识中医证候的本质提供了重要的方法学基础和技术条件。

【关键词】 中医证候; 系统生物学

【中图分类号】 R2-03 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2013.10.020

The application of systems biology in TCM syndrome research GOU Xiao-jun, XIA Yun, QU Hong, et al. Department of Pharmacy, Baoshan District Hospital of Integrated Traditional Chinese Medicine of Shanghai, Shanghai 201900, China

Corresponding author: GOU Xiao-jun, E-mail: gouxiaojun1975@163.com

【Abstract】 TCM syndrome research is especially challenging in TCM basic research, because “syndrome” is the starting point if “treatment on syndrome differentiation” is to be explored. With the advent of post-genomic era, systems biology gains all the more focus. Systems biology is a science that studies all the components in a biological system (gene, the mRNA, protein, etc.), and the relationships between these components under certain conditions, and one of the study interests is applying the systems biology to the research of syndromes in a sense of TCM. This paper discussed the correlation between syndrome of TCM and system biology and its significance, and summarized research achievements of the genomics, transcriptomics, proteomics and metabonomics in TCM syndrome. Additionally, we analyzed problems and in-

作者单位:201900 上海市宝山区中西医结合医院药剂科

作者简介:苟小军(1975-),博士,主管中药师。研究方向:药品的质量控制与体内代谢研究。E-mail: gouxiaojun1975@163.com

sufficiencies of systems biology in TCM syndrome research, and put forward the idea of future research, and provided important methodology basis and technical conditions in order to further understand the essence of TCM from multiple disciplines and points of view.

【Key words】 TCM syndrome; Systems biology

证候研究是中医基础研究的一个关键的科学问题,中医的“证”是辨证论治的起点和核心。中医证候是疾病发生和演变过程中特定阶段以及患者个体当时所处特定内外环境的本质的反映,是机体对体内外各种环境变化和致病因素做出反应的一种功能状态。由于中医的证候是通过望、闻、问、切四诊所获得的外候即表现为一组有相互关联的症状和体征群的信息归纳整理而得,缺乏客观化指标,人们期望通过现代科学方法,力图解读证候的内涵。而系统生物学是以系统理论为指导,来研究一个生物系统中所有组成成分(基因、mRNA、蛋白质等)的构成,以及在特定条件下这些组分间相互关系的科学^[1]。系统生物学研究的最终目的是解析生命过程的复杂性,利用整体性、系统性研究手段来发现和揭示生命活动的本质规律^[2]。系统生物学体现了整合的思想,它的基本理念与传统中医强调人与社会环境的整体观、辨证施治等思想十分吻合,使中医学与系统生物学更容易找到共同语言^[3]。因此,中医证候研究引入系统生物学可以更好地阐明证候实质,使证候得到客观、定量的描述,从而促进中医证候实质的研究。系统生物学的技术平台包括基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学,下面就主要从基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学四个方面来谈谈系统生物学在中医证候研究中的应用。

1 基因组学技术在中医证候研究中的运用

基因组学(Genomics)是20世纪末发展起来的一门科学,它主要是对生物体内所有基因进行绘图、核苷酸序列分析以及基因定位和基因功能分析^[4],从整体上对基因的活动规律进行探讨,研究内容涉及基因组的表达、基因的多样性、基因组功能的阐释及蛋白质产物的功能等,它从整个基因组的层面来阐释所有基因在染色体上的位置、结构、基因产物的功能及基因之间的关系^[5]。基因组学研究的方法学内容与中医学的整体观、辨证观有很多相似之处,通过基因组学研究,建立不同证候类型的基因变异及基因表达差异谱和功能基因调控网络,并从基因组学的角度进一步探讨证候的实

质^[6]。目前,已有不少学者在基因水平上对证的实质研究作了有益探索。翁莉等^[7]选取肝肾阴虚证与非肝肾阴虚证肝癌患者作为研究对象,以肝肾阴虚证肝癌患者为试验组,以非肝肾阴虚证肝癌患者作为对照组,选用全基因组表达谱芯片,研究肝肾阴虚证的基因表达谱,并进行差异表达基因分析,结果表明肝肾阴虚证组和非肝肾阴虚证组间存在差异基因表达特征图谱,该研究从基因组学的角度进一步证实了“证”是多基因在mRNA和(或)蛋白质水平发生改变并导致人体偏离正常状态的假说。杨婵娟等^[8]对正常健康者及肝郁脾虚证、脾胃湿热证患者血液进行基因芯片检测,利用随机方差模型筛选差异基因。该研究结果表明两证型间获得125个差异基因(其中66个为上调基因,59个为下调基因),这些差异基因的主要功能为跨膜运输、硒反应离子、钙离子依赖的胞吐作用等。该研究提示中医证候分类学具有基因表达谱依据,基因组学研究方法有望为中医辨证提供客观依据。

2 转录组学技术在中医证候研究中的运用

转录组学(Transcriptomics)是一门在整体水平上研究某一时刻某一类细胞中全部转录本种类、结构和功能及转录调控规律的学科。转录组也称为表达谱,表达谱可以提供一定条件下一些基因表达的信息,并据此推断相应未知基因的功能,揭示特定调节基因的作用机制^[9]。转录组学是在mRNA水平研究基因表达谱,用DNA芯片测定mRNA的丰度,提供了一个可在基因组水平上进行高通量、平行检测的工具。由于基因芯片的高通量和简便易行的特点,该方法在中医证候实质的转录组学研究中最为常用,实现揭示疾病证候实质的目标。王琦等^[10]挑选3例非痰湿型体质肥胖人、2例痰湿型体质肥胖人和3例正常体重者,进行外周血基因表达谱研究。结果痰湿型体质与非痰湿型体质相比,有115个差异表达探针组,该研究发现痰湿型体质人的外周血相关基因表达与非痰湿型体质人有明显差异。刘清华等^[11]选取原发性肺癌脾虚痰湿型的患者,分别取患者肿瘤组织及正常肺组织,构建正反向消减cDNA文库,进一步验证相关阳性克隆,

经测序确定了那些有明确生物学功能的证候相关基因,其基因表达及分布特征初步反映了肺癌脾虚痰湿型在分子层面的证候特点,对阐释中医肺癌典型证候的实质有重要意义。严石林等^[12]研究慢性肾炎、糖尿病肾病、阳痿病中筛选出的典型肾阳虚证的转录组学特征,分别对 9 种不同疾病的肾阳虚证,进行表达谱芯片实验,对差异表达基因进行 Pathway 分析,找出 3 种不同疾病肾阳虚证的共同差异表达基因 332 条。3 种不同疾病肾阳虚证共同的信号通路有 37 个,并从 3 组疾病各自特有的差异表达基因中发现 3 条信号通路与肾阳虚证共有的信号通路一致。这 3 条信号通路差异调控,可能决定了肾阳虚证“同证异治”的转录组学基础。

3 蛋白质组学技术在中医证候研究中的运用

蛋白质组学(Proteomics)是指基因组表达的全部蛋白质或细胞、组织、机体在特定时间和空间所表达的所有蛋白质,它不同于传统的对一个或某一类蛋白质研究,而是从整体角度分析蛋白质组成成分、表达水平与修饰状态,了解蛋白质之间的相互作用与联系,揭示蛋白质的功能与细胞生命活动的规律^[5]。蛋白质组学研究对象是组织或者细胞的全部蛋白质,从不同层次“整体”的蛋白质活动的角度来揭示和阐明证候形成和发展规律。通过探讨证候形成的物质基础,最终在整体蛋白质表达水平上阐明证候的本质^[13]。袁宏伟等^[14]选取心气虚弱、心肾阴虚证型进行蛋白组学研究,探索冠心病不同证型的蛋白质表达差异并分析其相关性。该研究发现了多个差异蛋白,这些差异蛋白与不同证候的形成有关,有望作为证候实质的标志性蛋白。Ya-nan Song 等^[15]曾选取健康志愿者(24 例)、慢性乙型肝炎实证患者(25 例)以及慢性乙型肝炎虚证患者(19 例)的血液进行了蛋白质分析测试。对健康组、慢性乙型病毒性肝炎实证、慢性乙型肝炎虚证各组所对应的蛋白质数据进行 OPLS 分析,发现三组样本在空间分布上有明显的区分。另外,进行了差异蛋白的分析,筛选出实证和虚证组间有明显变化的 2 个蛋白点,并证实蛋白质组学可用于中医证候的分类研究。王立等^[16]选择脑梗死肝阳化风证与阴虚风动证患者,从蛋白质组学角度比较脑梗死肝阳化风证与阴虚风动证,建立了脑梗死肝阳化风证与阴虚风动证血清双向凝胶电泳图谱,并鉴定了部分差异蛋白质点。该研究从更深层次阐明脑

梗死肝阳化风证与阴虚风动证的病理生理机制,并认为蛋白质组学能在脑梗死不同证型具有代表意义。

4 代谢组学技术在中医证候研究中的运用

代谢组学(Metabolomics)是系统研究代谢产物的变化规律并揭示机体生命活动代谢本质的科学,是系统生物学研究不可或缺的重要学科之一。通过观察生物样品中所有可测代谢物的综合表现,探讨内因或外因引起的生物体内的生理、生化变化及其生物学意义^[17]。从系统生物学的观点而言,中医“证候”可能是人体基因调节网络和蛋白质网络被“扰动”后导致的一种特异的生理病理状态,并通过其分泌到血液、尿液的内分泌成分的改变以组、群、谱的特征而客观地反映出来,而代谢组学正是具备解决这些组、群、谱集成问题的功能^[18]。代谢组学研究具有整体性、动态性、综合性的特点,能够从代谢网络的角度整体反映生物体的功能水平,与传统中医学的整体观、系统观十分相似^[19]。代谢组学研究从整体出发,认识和把握细节,捕捉到代谢网络的细微变化获得偏离出正常范围的特征性代谢表达图谱,进而提取有意义的功能信息,进行归纳和整合。这些代谢图谱可能是中医证候规律的物质基础在代谢物水平上的反映。刘志刚等^[20]选择 40 例慢性阻塞性肺疾病稳定期肺气虚证患者(肺气虚证组),给予六味补气胶囊进行干预,并设健康对照组(37 名)。采用高效液相色谱—二级质谱联用仪检测血浆代谢物,经分析发现,肺气虚证组治疗前的代谢谱与健康对照组明显不同,治疗后有向健康对照组回归的趋势,找到了 15 种肺气虚证可能的疾病标记物。尤丽等^[21]对 33 例肾虚痰瘀型 2 型糖尿病患者和 50 例健康人血清进行核磁共振氢谱检测,运用正交偏最小二乘判别(OPLS-DA)分析所采集的图谱。结果显示,肾虚痰瘀型 2 型糖尿病患者与健康人相比血清中多种氨基酸显著降低,同时,肾虚痰瘀型 2 型糖尿病患者血清中 α -葡萄糖及 β -葡萄糖较健康人增加,肾虚痰瘀型 2 型糖尿病患者代谢成分与健康人存在显著差异,肾虚痰瘀型 2 型糖尿病患者体内的三羧酸循环及糖酵解途径被抑制,蛋白质代谢异常,支链氨基酸代谢增强。王娟等^[22]利用磁共振波谱代谢学方法研究冠心病不稳定心绞痛血瘀证患者尿液代谢物的变化,经分析发现冠心病不稳定心绞痛血瘀证患者尿液中多个物质的

含量发生了变化,该研究表明尿液样品中柠檬酸、脯氨酸、异亮氨酸、牛磺酸等代谢物的改变构成了冠心病不稳定性心绞痛血瘀证患者的代谢组学特征,从而为疾病的诊断和治疗以及中医证候研究提供了新思路和新方法。这些研究进一步证实了基于代谢组学的方法研究中医证的可行性。代谢组学技术可以成为揭示中医证候本质研究的强有力的工具。

5 结论

总之,中医学与系统生物学有许多共同特征,系统生物学理论与技术在中医证候研究中已被广泛运用,众多学者构建了“证候基因组谱”、“证候蛋白质组谱”、“证候转录组谱”、“证候代谢组谱”,为中医证候的量化、客观化、标准化以及证候本质的研究找到了新的技术平台,所以从系统生物学角度出发,研究中医证候不仅成为可能,也具有重要的现实意义。

目前,运用系统生物学的思路和方法研究中医证候,虽然已经取得了一定的进展,尚未取得根本性的突破,也存在一定的问题。绝大多数实验研究手段均采用单一的组学技术,只是一种平行性研究,各组学在研究目的、内容及手段上有所不同,同时各组学也存在一定的缺陷,难以深度反映系统生物学在思路和技术上的整合性。为此,笔者希望中医证候研究应在系统生物学的理论和方法的引领下,综合数学、信息科学和生物学等多学科知识,在基因组、mRNA 组、蛋白质组和代谢组等各个层面开展组学研究,通过数据的整合,来建立证候的诊断模型,精确、量化地预测证候,期待中医证候研究能有更大的新的突破。

参 考 文 献

- [1] 沈瑾秋. 系统生物学在中医学研究领域的应用[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(8): 1797-1798.
- [2] 张正庆, 罗薇, 刘亚刚. 系统生物学研究及其在医学中的应用[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(4): 723-726.
- [3] 赵瑜, 彭景华, 李雪梅, 等. 基于受试者工作特征曲线和逐步判别分析法探索常用实验室指标对慢性乙型肝炎中医证候诊断的价值[J]. 中西医结合学报, 2012, 10(12): 1382-1387.
- [4] 吴欣芳, 李影华, 王朋倩. 基因组学与中医药研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(5): 53-55.
- [5] 丁海拔, 盛梅笑. 从组学探讨中医证候本质的研究概况[J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(4): 502-504.
- [6] 薛梅, 殷惠军, 陈可冀. 从基因组学研究证候实质的若干思考[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(1): 88-90.
- [7] 翁莉, 杜鹏, 何文婷, 等. 原发性肝癌肝肾阴虚证患者外周血单个核细胞的特征性差异基因[J]. 中西医结合学报, 2012, 10(4): 406-415.
- [8] 杨婵娟, 刘宏伟, 王丽春, 等. 慢性乙型肝炎肝郁脾虚证和脾胃湿热证患者的差异表达基因研究初探[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(8): 1032-1037.
- [9] 贾晓琳, 王歌, 穆春, 等. 生命科学中的众多“组学”[J]. 生物学教学, 2012, 37(1): 68.
- [10] 王琦, 龚海洋, 高京宏. 肥胖人痰湿体质外周血基因表达谱特征研究[J]. 中医杂志, 2006, 47(11): 851-853.
- [11] 刘清华, 周岱翰. 肺癌脾虚痰湿型肿瘤相关证候差异表达基因的筛选与鉴定[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(12): 2539-2543.
- [12] 严石林, 沈宏春, 王浩中, 等. 3 种疾病肾虚证“同证异治”的信号通路调控研究[J]. 云南中医学院学报, 2012, 35(1): 5-9.
- [13] 王磊琼, 段新科, 董宝刚. 慢性乙型病毒性肝炎中医虚证的蛋白质组学规律初探[J]. 光明中医, 2012, 27(3): 458-459.
- [14] 袁宏伟, 杜武勋, 朱明丹, 等. 刘长玉心肾气虚弱证/心肾阴虚证血清蛋白质组学特征研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(4): 1014-1016.
- [15] Ya-nan Song, Hui Zhang, Yan Guan, et al. Classification of Traditional Chinese Medicine Syndromes in Patients with Chronic Hepatitis B by SELDI-based ProteinChip Analysis[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012, 2012: 1-10.
- [16] 王立, 梁清华, 陈晓玲, 等. 脑梗死肝阳化风证与阴虚风动证蛋白质组学比较研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(7): 54-57.
- [17] J. K. Nicholson, J. C. Lindon, E. Holmes. “Metabonomics”: Understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. Xenobiotica, 2009, 29: 1181-1189.
- [18] 贾伟, 蒋健, 刘平, 等. 代谢组学在中医药复杂理论体系研究中的应用[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(8): 621-624.
- [19] Wang Xijun, Sun Hui, Zhang Aihua, et al. Potential role of metabolomics approaches in the area of traditional Chinese medicine: as pillars of the bridge between Chinese and Western medicine[J]. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2011, 55(5): 859-868.
- [20] 刘志刚, 李泽庚, 彭波, 等. 慢性阻塞性肺疾病稳定期肺气虚证及其中药干预的血浆代谢组学研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(12): 1619-1626.
- [21] 尤丽, 巴吐尔·买买提明, 哈木拉提·吾甫尔. 基于核磁共振的肾虚痰瘀型 2 型糖尿病患者血清代谢组学研究[J]. 科技导报, 2012, 30(8): 25-29.
- [22] 王娟, 李中峰, 赵慧辉, 等. 冠心病不稳定性心绞痛血瘀证患者尿液代谢组学特征的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(4): 284-288.

(收稿日期:2013-08-06)

(本文编辑:蒲晓田)