

蛋白质组学与中医方证研究思考

刘 喜 平*

主题词 证候 @ 蛋白质组学

随着人类基因组计划的完成,人类对生命本质与疾病的研究进入了一个新的领域——功能基因组学与蛋白质组学研究,其中蛋白质组学已成为与功能基因组学密不可分,极具广泛应用价值的核心学科。近年来,全世界范围内都在竞相抢占蛋白质组学研究这一战略“制高点”,促进了自然科学的渗透和整合,出现了新的学科发展格局。中医药面临着前所未有的机遇抉择,若能抓住机遇,吸取现代科技精华,以可能的相关技术为平台,发挥中医药的优势与特色,解决中医药发展中的重大关键问题,如中医方证调节和干预作用机理的研究,必将拓展中医药的发展空间。

1 中医方证研究的现状与思考

1.1 证候研究存在的问题:辨证论治是中医学的特色与优势,使中医理、法、方、药贯通一体,被广泛重视,成为中医学的核心内容。因此,证的研究一直是中医现代研究的重点。近年来,对证的本质从实验研究、实验研究与临床研究结合及其规范化等方面作了大量的研究^[1]。但由于历史文化因素的影响和现有科学技术水平的限制,证的研究并没有取得十分令人满意的成果,出现不少困惑。主要表现在:(1)研究指标缺乏客观性和特异性。由于对证本质的研究大多采用动物模型,并用客观的实验室数据为指标,这种方法和思路很难得出令人信服的科学结论。如脾虚证的研究涉及 70 余项生理、生化指标,与 10 多个系统(如消化、免疫、内分泌、循环、泌尿、淋巴等)有关,但无一项具有特异性^[2]。又如在脾阳虚证中,24h 尿—OHCS 测值有高低不同的表现,但此指标又至少在脾阳虚证、胃阴虚证、肾阳虚证出现了低下的结果,进而将此指标作为上述某证的特异性指标失去了意义^[3]。(2)研究难以反映中医方证的整体性和复杂性。对于证的特性的认识,一般认为,证具有整体性、复杂性、模糊性、恒动转移性、隐匿性和相关性等特性^[4]。笔者认为,证的最基本、最本质的特性在于整体性、复杂性。人体证候是在内外因素,如环境、饮食、情志等多种因素综合作用下的以某一脏腑组织为主的,多系统、多层次、整体性病理状态。动物

证的模型,是严格按处理因素复制的单病因模型,脱离了中医学的自身特性,难以反映中医证候的整体性和复杂性。现阶段,对证的研究必须坚持“有所为,有所不为”的原则,当务之急应解决证的最基本、最本质的问题。

1.2 方证是证候研究的突破口:对证的研究,有必要转换思维模式,对此业内已达成共识,即证的研究应从方证研究入手。中医学是一门实践性很强的科学,其发生、发展与临床实践保持着十分密切的关系。经历代医家的不断实践和理论发挥,使方证相应成为中医临床的精华所在。方证是应用某一方剂的临床指征。反映了患者综合的、特异性的病理状态,它不是理论的推导,更不是现代研究的动物数据,而是在长期的临床实践中逐渐摸索出的客观的、相对固定的结论,故徐灵胎在《伤寒论类方·自序》中谓“方之治病有定,而病之变迁不定,知其一定之治,随其病之千变万化,而应用不爽”。因此,方证根植于临床的土壤,方剂应用的有效性,即“以方测证”反映了方与证的关联性,有极强的客观性和科学性,而同一首方剂在不同病种的应用,也为我们对证跨病种、全方位相同构成因素的研究提供了可能性,克服了一般证候的模糊性、恒动转移性、隐匿性。因此,通过名方方证的研究和分析更符合中医学的特色优势,更能反映中医学理、法、方、药的方剂辨证体系,它比单纯从实验室研究或单纯研究证候更具可行性和客观性,为中医方证关联的研究提供了可能。

2 蛋白质组学研究的启示

人类基因组计划的完成成为功能基因组和蛋白质组学的研究奠定了坚实的基础。这一领域的一个共同目标就是确定人体所有功能蛋白并阐明其在细胞中的功能与关系,揭示生命活动的前提是蛋白质表达功能的规模研究,即蛋白质组学。蛋白质组学研究在生命体或细胞的整体水平下蛋白质的表达和修饰状态,以及蛋白质与蛋白质间的相互作用。有人提出把蛋白质组学分为蛋白质组学和相互蛋白质组学^[5],前者是对蛋白质表达差异的研究,其主要目的是将细胞、组织中的所有蛋白质建立成定量表达图谱;后者又称地图蛋白质组学,包括确定蛋白质在细胞结构中的定位,确定蛋白质与蛋白质之间的相互作用,其侧重点在于研究蛋白质复合物与信号途径中蛋白质是如何相互作用而形成

* 甘肃中医学院,兰州市定西东路 35 号(730000)

收稿日期:2003-09-11

细胞这个有机整体的。蛋白质是基因转录和翻译的产物,因此,蛋白质组学与基因组学是分子生物学研究密不可分的不同层次^[6]。而人类基因组计划已积累了大量的 DNA 序列信息,与各种蛋白质数据库一起,为蛋白质组学奠定了基础。

蛋白质组学的特点是采取高分辨率的蛋白质分离手段,结合高效率的鉴定技术,全景式的展示各种特定情况下的蛋白质谱,组织细胞在一定阶段或某一状态下相关的蛋白质谱时、空、量效方面的变化。其最大特色在于建立了以整体观来剖析生命现象的理念,以蛋白质组学为基础的生物信息学与实验科学结合,必将成为生物学研究的主要手段,将从更深层次全景式的阐明生命现象的本质和规律。组织细胞在一定阶段或某一状态下相关的蛋白质谱时、空、量效方面的动态变化与复杂和有序的中医方证有着内在的联系。而中医方证从某一角度反映了机体处于某一状态时演变过程存在相对的稳态,这为从蛋白质组学角度研究中医方证提供了时、空、量效方面可行性。

中西医是完全不同理论,但其研究的却是一个对象,在一定的结构或功能层次上必然存在共同的物质基础。勿庸质疑,基因对某证候的确具有决定性作用,但生命个体受到诸如环境、饮食、情志等多种因素的影响,出现了基因转录和翻译的不同表达,可以反映于相关的蛋白质上,这些蛋白质与蛋白质之间的相互作用,特别是蛋白质复合物与信号途径中蛋白质相互作用的网络系统的差异性,是某一方证区别于其它方证的生物学物质基础,又是确定其所代表症状在方证中重要性、贡献度的依据。因此,中西医可能在基因组水平,特别在蛋白质组上存在结合点。通过对某一方证的蛋白质组学研究,并用相关方剂对其干预和整合调节,不但可揭示中医方证的生物学物质基础,深化对中医证候客观性、复杂性、系统性的认识,又为方剂疗效的评价提供更符合中医学特点的方法和体系。

3 展望

目前,在蛋白质化学、蛋白质组学研究的方法学上,二维电泳—质谱、双向凝胶电泳、蛋白亲和技术、高通量免疫组化,以及蛋白组信息的发展必将加快蛋白质组学研究的步伐。特别是二维电泳—质谱、双向凝胶电泳是目前最流行、最可靠的技术平台。由于双向凝胶电泳对批量蛋白质可实现一次性分离,具有较高的灵敏度和高分辨率,便于计算机进行图象分析处理,可以很好的与质谱分析等鉴定方法相匹配,因而成为目前分离蛋白质组分的核心技术。而蛋白质鉴定的质谱主要有电喷雾质谱(ESI-MS)和基质辅助激光解吸/电离

飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS),以及与各种色谱联用(如 HPLC/MS 等)可分析复杂体系。Ciphergen System inc. 的蛋白质芯片系统则提供了一套快速蛋白质分析筛选方法,与二维电泳系统、HPLC/MS、蛋白质分离纯化系统、Edman 降解 N 端顺序技术、计算机软件及联网等结合应用,这些都使蛋白质组学的研究成为可能。供助强有力的蛋白质组学学术与技术支撑,如能从蛋白质组学层次研究某一方证的相关蛋白质表达和修饰状态及相互间的相互作用,并观察、验证相应方剂对其的干预或调节情况,可能会全景式的、大通量的展示中医方证的蛋白质组学生物特征。同时随着研究的深入,结合方剂成分的指纹图谱分离鉴定,以指纹中的几种指标成分(特征成分或有效成分)进行定量,从而把方剂的物质基础、药效学、药代动力学与方证相关蛋白质组结合,将开辟中医方剂研究的宏观与微观、综合与分析、简单与复杂的整合。不但深化了中医方证的研究,也会对创新药物的研究奠定基础,同时也可能为整个中医学带来创新发展的新机遇。

参考文献

- 1 郦永平.“证”的研究思路与方法述评.上海中医药杂志,2000,34(11):8-9.
- 2 陈家旭.中医证实质研究存在的问题与对策.医学与哲学,1995,16(3):131-132.
- 3 梁茂新,洪治平,徐月英.中医证研究的困惑与对策.北京:人民卫生出版社,1998:45.
- 4 司端圣,尚海峰,石洪超.证从化学说理论探索,中国中医基础医学杂志,2001,7(7):505-507.
- 5 Grant SG,Blackstock WP. Proteomics in neuroscience:from protein to network. J Neurosci,2001,21(21):8315-8318.
- 6 赵旭东,王铸钢.蛋白质组研究.国外医学分子生物学分册,2002,24(2):90-92.

颈肩腰腿病中医药新疗法培训班招生

巨鹿县中医风湿病专科研究所培训学校陶纪志医师积累了 20 余年治疗各种颈肩腰腿痛的诊断和治疗方法,应广大学员的要求,现继续面向国内外招生。传授内容有:类风湿性关节炎长期发热,遇寒后疼痛加剧,得热痛减,形寒肢热的中药疗法;颈椎骨质增生、腰椎骨质增生、骨性关节炎、产后风湿、骨坏死等疾病的处方药物治疗法;现场配制讲解一种风湿病外用药的方法;颈椎、腰椎、膝关节、股骨头坏死 CT、X 线片的诊断;传授腰椎间盘突出(正骨复位法)、肩周炎一针疗法、膝关节骨刺、背部三棱针疗法、网球肘皮内针刺疗法。

开班时间:常年招生,每月 1 日、15 日准时开课,学期 10 天,开课前一天为报到日期,详细资料及入学通知汇 10 元索取。电话:(0319)4338888,地址:河北省巨鹿县中医风湿病专科研究所培训学校(朝阳路),联系人:李老師,邮编:255250。