

中医药系统生物学研究现状评析

熊绍权¹ 林丽珠¹ 龙奇达²

(1. 广州中医药大学第一附属医院肿瘤科, 广东省广州市机场路 16 号, 510405; 2. 广州市妇婴医院妇产科)

[摘要] 运用系统生物学的思路和方法是中医药研究的重要策略之一。基于转录组学、蛋白质组学、代谢组学分析的中医证候和中药药理研究, 是目前中医药系统生物学研究的主要内容。通过对该项研究的简要回顾, 指出了存在的一些问题, 如研究内容仅为差异组学分析, 结果多为表象性描述, 实验设计也有不完善之处等。针对问题, 提出了一些可能的对象, 包括应重视持续深入研究, 整合各种组学、分子生物学和生物信息学等技术, 完善实验设计等, 以深入阐明中医药理论。

[关键词] 系统生物学; 中医; 中药

对于中医药研究而言, 系统生物学不再是一个新鲜的名词, 之前已有许多学者对系统生物学的基本特点、对中医药学研究的困境与发展做了充分阐述。从还原论、系统论、整体论的角度进行分析, 对比中西医学的各自特点与不足等, 最终说明一点: 运用系统生物学的研究思路和方法, 可能从根本上阐释中医药学的科学内涵, 达到中西医学的相融共处, 也是中医药发展现代化的重要出路^[1]。系统生物学对中医药研究的重要性和必要性之前已有大量文献阐明, 本文不再赘述。

许多学者已经尝试开展中医药系统生物学的有关实验研究, 但目前少有文献对该领域的研究状况予以系统总结。现就近年来中医药领域有关系统生物学的研究情况予以回顾和评析, 重点在于发现问题, 并提出相应的对策。

1 研究现状概述

系统生物学是指研究一个生物系统中所有组成成分的构成, 以及在特定条件下这些组分间的相互关系的学科^[2]。该定义强调两个研究要点, 一是所有组成成分, 二是组分间相互关系。很显然对所有组成成分的研究是系统生物学研究的首要内容。目前以所有组分为内容的研究, 当属于各种“组学”研究, 即基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学等。近年来以上组学技术已经运用于中医中药研究, 并取得了积极进展。虽然还不能称之为完整的系统生物学研究, 但却是系统生物学研究的重要内容, 所以当前有关中医药系统生物学研究, 是指以各种“组学”为主要内容的中医药研究, 也是本文回顾和评析的主要对象。在各类“组学”研究中, 又以转录组学、蛋白质组学、代谢组学的中医药研究最为热门。

1.1 转录组学研究

基因从 DNA 转录为 mRNA, 再从 mRNA 翻译成蛋白质, 最终实现基因的生物学功能。一个生物体全部转录产物 mRNA 的总和, 称为转录组。转录组学研究旨在分析全部基因的表达调节和功能、相互作用等信息。其分析方法主要有基因芯片分析、基因表达系列分析、差异显示等。由于基因芯片的高通量和简便易行的特点, 该方法在中医药转录组学研究中最为常用。

目前的中医药转录组学研究主要集中于对中医证候、中药方剂等的研究, 尤其是对前者的研究。检索相关文献, 已涉及对肾虚证、肾阳虚证、寒证、热证、脾虚证、阴虚证、气虚证、血瘀证等证候的研究。如谭从娥等进行老龄肾阳虚证流行病学调查, 分离纯化患者和正常人的周围血 mRNA, 合成 cDNA 探针, 并与基因芯片杂交, 获得肾阳虚差异基因^[3]。马晓娟等研究血瘀证患者差异基因表达谱, 经基因芯片分析和 RT-PCR 验证, 筛选出差异基因共有 48 个^[4]。王琦等采用芯片技术对痰湿型体质人的外周血基因表达谱进行研究, 结果发现, 痰湿型体质有 115 个基因差异表达^[5]。对中药方剂的转录组研究目前主要针对经典名方, 如右归丸、六味地黄丸、金匱肾气丸、补阳还五汤等, 也有个别经验方如乌三颗粒、壮腰健肾丸等。如杨裕华等研究右归丸对肾阳虚小鼠脑基因表达的影响^[6]。李国驹等应用基因芯片研究壮腰健肾丸对衰老果蝇的抗氧化和凋亡相关基因的调节^[7]。

1.2 蛋白质组学研究

蛋白质是机体生物功能的最终执行分子。蛋白质的翻译要比 mRNA 的转录复杂得多, 蛋白质的翻译后修饰、亚细胞定位或迁移、蛋白质之间相互作用等, 几乎无法从 mRNA 转录水平来判断。因此, 要对生命的复杂活动有全面和深入的认识, 必然要在整体、动态、网络的水平上对蛋白质进行研究, 蛋白质组学是生命

科学进入后基因组时代的重要里程碑。

目前中医药蛋白质组学研究主要集中于中医证候和中药药理研究。针刺蛋白质组学研究也始见报道,但仅限于个别文献^[8-9]。文献检索结果显示,中医蛋白质组学研究已涉及湿证、肾阳虚证、肾阴虚证、肝郁证、脾虚证、血虚证、肝阳上亢证、气滞血瘀证、热毒血瘀证等。如钟小兰等制备肝郁证大鼠模型,并对肝脏组织总蛋白行凝胶电泳分离,进行图像比较和质谱分析,鉴定与肝郁证相关的差异表达蛋白^[10]。李臻琰等制作高血压肝阳上亢证大鼠模型,双向凝胶电泳分离大鼠下丘脑的总蛋白质,并与正常组进行差异分析^[11]。赵慧辉等对冠心病血瘀证行蛋白质组学研究,发现在患者血浆中有关差异蛋白可能作为诊断或治疗的新靶标^[12]。

利用蛋白质组学技术,力求阐明中药多靶点多层次的作用机理。文献检索显示,已涉及中药复方多属于经典名方,如镇肝熄风汤、四君子汤、补阳还五汤等,也涉及少数经验方,如复方丹参片、健胃愈疡颗粒、益气解毒颗粒等。单味中药研究有泽泻、赤芍、天花粉等。如苗兰等研究血府逐瘀汤对气滞血瘀证大鼠血清蛋白质组表达的影响^[13]。申定珠等采用双向电泳和质谱分析,研究健胃愈疡颗粒对大鼠胃组织总蛋白的表达调节^[14]。谢文光等研究赤芍对热毒血瘀证大鼠的血清蛋白质组学的影响^[15]。

1.3 代谢组学研究

代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后,新近发展起来的一门学科,是系统生物学的重要组成部分。它是对生物系统所有小分子代谢物质($M_r < 1000$)进行定量分析,从而描述特定条件下代谢物质的整体,及其对条件变化应答规律的科学^[16]。主要利用磁共振、色谱、质谱技术等,对机体的血、尿、唾液等样品进行整体代谢物谱分析,或发现代谢产物谱的变化,并研究其生物学功能。

目前中医药代谢组学研究,主要集中在中药研究方面,包括安全性评价、药物代谢、药理分析等。如赵剑宇等利用代谢组学技术,研究关木通的肾脏损害毒性,结果发现,给药组大鼠尿液代谢谱明显变化,主要影响因素是醋酸和氧化三甲胺的变化^[17]。蒋宁等研究发现,六味地黄汤及八味地黄汤均能对老化小鼠的血清代谢物产生影响,分析两药可能在代谢网络的多个节点上改善代谢^[18]。黄玉荣等采用液相色谱研究钩藤合剂的药理作用,发现给药动物的血清中多种神经递质的动态变化,分析可能是其药效的物质基础^[19]。

对中医证候的代谢组学研究相对较少,目前仅涉及血虚证、肾阳虚证、脾虚证等。如齐炼文等进行代谢

组学与贫血病诊断的研究,建立血虚证动物模型,通过与正常代谢谱的比较,探讨血虚证相关生物标志物^[20]。上海交通大学实验室采用代谢组学研究,发现肾虚模型动物的代谢网络明显偏离正常,通过温阳中药干预后,其代谢谱回归修复^[21]。

2 存在的主要问题

以上运用各种组学的思路和方法研究中医药理论,虽然已经取得了一定的进展,但总体而言,思考的多,做的少。经检索PubMed、CNKI、维普等数据库,至目前为止,有关中医药系统生物学的纯理论思考的文献超过200篇,而实验文献却不足50篇。就实验研究方面,也存在明显不足。①几乎所有实验研究手段均比较单一,或转录组、或蛋白组、或代谢组,只是一种平行性研究,难以深度反映系统生物学在思路和技术上的整合性。②绝大多数的组学分析,均是针对差异的“组成成分”,而对系统生物学的另一层定义“组分间相互关系”,则几乎未涉及,仍属于不完善的系统生物这研究。③大多数研究结果均为表象描述,未对实验所得的差异基因、差异蛋白、差异代谢物予以因果求证或动态分析。比如对某一差异基因或代谢物,究竟属于“结果”还是“动因”?对此绝大多数的组学分析倾向予以“动因”推测,这显然是不合适的。④实验设计上有时仍失严谨。比如对肾阳虚的组学研究,如果仅设病证与正常的两组对照,检测结果其实并不具有肾阳虚的特异性,因为很难排除属于肾虚证或阳虚证的干扰。在证候造模的组学研究中,几乎均未排除造模药物或方法的干扰,而简单地定论证候差异分子。⑤对表达丰度较低的重要分子的研究不足。如蛋白质组学研究中,几乎都采用考马斯亮蓝凝胶染色,可能造成对信号通路蛋白、磷酸化蛋白等表达丰度较低的重要蛋白的敏感性较差。对亚细胞蛋白组如细胞膜、高尔基体、线粒体蛋白组的研究未见报道。⑥对许多基本理论,如藏象学说、五行理论等,对许多重大疾病,如癌症等,目前尚无或极少有关系统生物学(组学)的研究报道。此外,对中医证型必然会涉及同证异病或同病异证等,但实验研究时常对证不对病,似欠合理。

3 对进一步研究的思考

结合我们长期的生物学实践和对中医药发展的思考,针对上述问题,建议采取以下对策:①中医研究者应努力培养严谨的科研思维,关注生物医学进展,掌握尽可能多的生物技术,这对于深刻理解生命科学是必要的。大量阅读国内外具有较高影响力的生物学文献,对于培养严谨的研究思维十分有益。②重视对“分子网络”研究,更能反映系统生物学特点。利用各种生物数

数据库,对组学差异分子衍生物进行信息学分析,预测差异分子之间的相互联系,以及可能的信号通路网络,并在后续研究中对相应分子予以必要的实验验证。③对于临床证候研究,建议采用方、证结合分析,采用对同一患者证候前后变化的追踪分析。对于造模证候研究,建议对证候发生的早、中、晚期分别研究,分析分子表达或代谢的变化规律,确知是否属于具有意义的事件。无论临床还是造模证候研究,均应加设对照组,以排除药物或方法造成的附加影响。④对可能重要的差异分子予以“反证”研究,适时引入基因过表达或 RNA 干扰、反义核酸技术等,以确证差异分子在中医药调节中的必要作用。⑤灵活采用有关检测技术,不断提高检测分辨率。如对胶上蛋白质分析,可根据需要采用不同分辨率的染色方法。最常用的考马斯亮蓝染色的灵敏度在 100ng 左右。而银染的灵敏度在 1~10ng。荧光染料 sypro red 和 sypro orange 灵敏度也在 1~10ng,染色动态范围也比银染大,可达 3 个数级^[22-23]。⑥注重探索“组学”之间的动态关联,可能更符合系统生物学的根本特点。比如在一定的空间环境,联合代谢组和蛋白组学研究,了解二者变化的动态联系。⑦中医药系统生物学研究的内容和目的,具有开放性和前瞻性的特点。广大研究者如可摒弃门户之见,开展“接力”研究,对具有重大意义的攻关内容不断深入探讨,必将在新的层次上深入阐明中医学理论的科学内涵。

参考文献

- [1]刘永琦.系统生物学对中西医结合研究的影响[J].中医杂志,2007,48(10):869-872.
- [2]Trewavas A. A brief history of systems biology: "Every object that biology studies is a system of systems." Francois Jacob (1974) [J]. Plant Cell, 2006, 18(10): 2420-2430.
- [3]谭从娥,李炜弘,汤朝晖,等.应用基因表达谱芯片技术筛选老龄肾阳虚证特征功能类基因[J].辽宁中医杂志,2008,35(10):1441-1444.
- [4]马晓娟,殷惠军,陈可冀.血瘀证患者差异基因表达谱研究[J].中西医结合学报,2008,6(4):355-360.
- [5]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.
- [6]杨裕华,李震.右归丸对“劳倦过度、房室不节”肾阳虚小鼠脑基因芯片的影响[J].中医杂志,2008,49(10):927-930.
- [7]李国驹,许招懂,刘袁芳,等.壮腰健肾丸抗氧化、抗衰老作用的基因芯片研究[J].中药材,2006,29(4):365-367.
- [8]温景荣,赵晓峰,王舒,等.“醒脑开窍”针刺法对局灶性脑缺血大鼠海马蛋白质组学影响的研究[J].天津中医药,2007,24(6):447-451.
- [9]于建春,彭永康,韩景献.双向电泳分析快速老化痴呆鼠脑

- 蛋白质的异常表达及针刺的影响[J].针刺研究,2006,31(2):73-76.
- [10]钟小兰,吕志平,钱令嘉,等.束缚所致肝郁证动物模型肝组织蛋白质组的差异表达研究[J].中医杂志,2006,47(5):371-373.
- [11]李臻琰,李炜,颜永平,等.天麻钩藤饮对高血压肝阳上亢证大鼠下丘脑差异蛋白质表达的影响[J].中国临床康复,2006,10(47):58-61.
- [12]赵慧辉,王伟,郭淑贞.冠心病不稳定型心绞痛血瘀证的蛋白质组学[J].中国动脉硬化杂志,2008,16(7):545-548.
- [13]苗兰,潘映红,任建勋,等.血府逐瘀汤对气滞血瘀证大鼠血清蛋白质组表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(4):24-28.
- [14]申定珠,李家邦,蒋荣鑫,等.健胃愈疡颗粒对乙酸性胃溃疡复发大鼠作用的蛋白质组学研究[J].中医杂志,2007,48(6):545-548.
- [15]谢文光,马晓昌,邵宁生,等.赤芍治疗热毒血瘀证的血清蛋白质组变化的初步研究[J].中国中西医结合杂志,2005,25(6):520-524.
- [16]Lindon JC, Holmes E, Nicholson JK. Metabonomics techniques and applications to pharmaceutical research & development [J]. Pharm Res, 2006, 23(6):1075-1088.
- [17]赵剑宇,颜贤忠,彭双清.关木通肾毒性的代谢组学研究[J].中草药,2007,37(5):725-727.
- [18]蒋宁,周文霞,张永祥.应用代谢组学方法研究比较六味及八味地黄汤的作用机理[J].中药药理与临床,2007,23(5):45-45.
- [19]黄玉荣,魏广力,龙红,等.钩藤多动合剂的药效作用及用代谢物组学方法研究其生化机制[J].中草药,2006,36(3):398-402.
- [20]齐炼文,李萍,赵静.代谢组学与中医药现代研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2006,8(6):79-86.
- [21]何君,周宏灏.代谢组学及其在药理学中的进展[J].中国药理学通报,2006,22(11):1304-1309.
- [22]Martins de Souza D, Oliveira BM, Castro-Dias E, et al. The untiring search for the most complete proteome representation: reviewing the methods [J]. Brief Funct Genomic Proteomic, 2008, 7(4):312-321.
- [23]Nelson MM, Jones AR, Carmen JC, et al. Modulation of the host cell proteome by the intracellular apicomplexan parasite Toxoplasma gondii [J]. Infect Immun, 2008, 76(2):828-844.

(收稿日期:2009-06-12;修回日期:2009-12-23)

[编辑:黄健]

欢迎邮购《中医杂志》光盘合订本

1951~1986 年(4 张光盘)480 元;1987~1994 年(1 张光盘)260 元;1995~2004 年(1 张光盘)280 元。光盘合订本为计算机用数据光盘,收入了同期出版的全部杂志内容,可对所有文章进行任意字检索,方便实用。汇款地址:北京东直门内南小街 16 号中医杂志医海林音像书店浦战兵收,邮编:100700。