

学术争鸣 ·

中医需要探索新的临床研究模式

——兼答王强同志

李 梢

(清华大学清华信息国家实验室生物信息学研究部, 北京市海淀区清华园1号, 100084)

[关键词] 中医证候; 生物临床研究模式; 分子网络

1 简答“王文”

近日读了《中医杂志》2010年第5期发表的王强同志对本人题为《中医证候生物分子网络标志的构想与研究》一文(以下简称《李文》)的商榷文章(以下简称《王文》), 感谢读者对本文的关注。同时我认为《王文》要商榷的问题, 答案其实都在《李文》及其参考文献中了, 举例说明如下。

《王文》开篇写道: “《李文》说, 他们已经‘对5000多种人类已知表型进行了全基因组范围的致病基因预测’, ‘实现了人类全部表型与基因的关联’, 发现了‘表型与基因关系中的模块性特征……’对于这种说法, 笔者认为是不可信的。因为生物分子网络的基础是分子, 但在其文中并未提到任何一个具体的分子或具体的基因片断。只是粗略地谈到激素功能模块、细胞因子模块、神经递质通路等, 所以其研究并非真正是分子水平的。”

《李文》中所提表型与基因关系的说法, 依据来自于原文参考文献[11], 也就是我们2008年发表于Molecular Systems Biology 的“Network-based global inference of human disease genes”一文。我们的这项工作建立了5080种人类表型的相似性网络、8919个基因的生物网络这两层网络的整体关联模型, 并利用生物分子网络的相互作用信息来解释表型的相似性, 据此预测新的致病基因, 达到了当时最高的预测精度, 由此建立了表型-基因的整体关联图谱。这一研究自然是在分子水平上的, 研究结果也是获得了较多认可的。例如, 这篇论文发表后即被Nature 出版社Systems Biology、Pathology、Genetics、Biotechnology 4个领域作为重要文章(Featured Article); Nature China 以“Disease genes: Finding the culprits”为题将该文作为“最新研究亮点”报道; 美国医学信息学会Translational Bioinformatics 2009 峰会将该文作为19篇年度选评论文之一重点介绍, 认为本成果“……基于分子数据, 创建了一种新的疾病分类方法”。

of disease based on molecular data”。目前该文已成为基于生物分子网络推导表型与基因关联的代表工作之一, 国际上不少专家在我们这项成果的基础上开展了研究与比较。

《王文》随后的“激素功能模块……”一句转到了我们的另一个研究工作(见《李文》的参考文献[15]), 事实上二者之间没有直接的联系。《王文》类似文字较多, 我建议王强同志能够细读一下《李文》及其文献中的研究工作。同时, 我也愿意借此机会, 把《王文》涉及的、《李文》中的一些地方再补充、梳理一下, 以求正于识者。

2 中医需要探索新的临床研究模式

目前证候研究面临以下两个难点: 一是证候的宏观表型(症状、体征等临床特征)与微观生物分子之间的关系十分复杂, 证候的生物学基础的表现形式迄今仍不清楚; 二是缺少客观的判据导致目前证候难以规范, 如何建立宏观与微观的联系成为证候研究的瓶颈。因此, 突破以上难点的制约, 从而寻求新的中医临床研究模式成为亟需。

我们认识到, 证候的生物学基础难以还原为个别生物分子的行为, 而是机体生物系统中生物分子(基因与基因产物、代谢物)与环境复杂相互作用的结果。这种复杂的相互作用及其系统行为适合于用“网络”来刻画。因此, 提出了从生物分子网络的角度建立证候宏观与微观联系的研究思路, 即从证候的表型组合推导相关生物分子网络, 然后预测临床上证候的微观指标(称之为网络标志)。在此思路下, 我们以“模型构建→产生假设→实验与临床→规律发现”的研究策略, 分阶段开展研究。

2.1 如何推导病证相关的生物分子网络是首先要解决的问题

我们认为, 无论病、证, 面对的都是同样的“病人”。因此, 证候的生物学基础研究也需要充分汲取国际医学生命科学领域的进展, 尤其是需要充分利用现有的海量数据, 包括各种数据库中的文献信息、高通量组学数据等。为此我们于2006年建立了一种LMMA方法(见《李文》的参考文献[17]), 使得给定某一病证, 我们

能构建其生物分子网络。该方法被国际同行评价为目前“更为有效、无偏地构建生物网络的方法”之一,并且“使得网络能够朝向‘系统’而构建,而这是传统方法没有深入研究过的”(见:Libourel IG, Shachar-Hill Y. Metabolic flux analysis in plants:from intelligent design to rational engineering. Annu Rev Plant Biol. 2008, 59:625-650.)。

2.2 选取寒证、热证作为研究切入点

值得注意的是,这里“寒证”、“热证”指的是多个国家标准中所列寒证、热证的症状组合。我们在 LMMMA 方法的框架下,利用寒证、热证的症状组合从 PubMed 等数据库中进行文献挖掘,构建了寒证、热证相关的生物分子网络,并提出“拓扑温度”的度量方法,发现了寒证、热证在神经-内分泌-免疫(NEI)网络中既有区别、又可转化的两种模式。进而,采用了两种方法验证这个网络的可靠性:①从计算的角度进行验证。由于证候相关的基因难以获得,我们采用了一个变通的方法,即选取国际公共数据库中记载的疾病基因来验证。我们找了两组疾病,一组疾病在症状的记录中只有发热,没有恶寒等症状,那么中医应该辨证为“热证”,我们称之为热证相关疾病,符合条件的找到38种;同理“但寒不热”的视为寒证相关疾病(21种)。这两组疾病的致病基因可以从 OMIM 中得到。随后我们比较了这两组致病基因的分布,结果验证了寒热证的两种网络模式(当时的 KEGG 数据库中把激素作为化合物,未记载激素相关的信号通路,因此《李文》中未提及激素通路)。②从实验的角度验证。即如果把寒热证网络中的关键分子作为指标,能否衡量寒热方药作用的差异?由于类风湿关节炎经常采用寒热辨证,因此,我们采用胶原诱导的关节炎大鼠模型,分别以寒、热方剂干预。结果初步发现,寒热证网络关键分子的变化与寒热方剂干预之间存在“疗寒以热,疗热以寒”的关系,这是进一步的验证。上述研究以“Understanding ZHENG in traditional Chinese medicine in the context of neuro-endocrine-immune network”为题,发表于 IET Systems Biology 杂志,即《李文》的参考文献[15]。

这里需要强调两点。第一,证候的症状组合也许不够统一,但我们关心的是基本稳定的、可能有生物学基础的症状组合。实际上,任一症状组合均可作为上述方法的输入,通过比较不同输入下的分子网络的特点,即可知常达变(如何探索更有效的方法是另一问题)。而如果过于强调证候的变化与复杂,又缺乏明确切入点与有效手段,容易陷入不可知论。第二,经过“模型构建→产生假设→实验验证”之后,我们才将取得的研究成果用于指导临床研究。这不同于以往的证候临床研究策略。

2.3 采用寒、热证生物分子网络探索临床证候特征

目前我们已将寒证、热证生物分子网络(《李文》的参考文献[15])付诸临床,分析该网络在患者中的表达情况,由此研究临床上寒热证候的客观特征,并取得了一些有意义的结果。通过结合14名寒证家系患者的基因表达芯片检测,采用上述证候生物分子网络分析寒证患者的客观特征,发现主要与能量代谢、应激反应、防卫反应等的失衡有关,并初步获得有关的分子标志。该成果已发表(见:Ma T, Tan C, Zhang H, et al. Bridging the gap between traditional Chinese medicine and systems biology: the connection of Cold Syndrome and NEI network. Mol Biosyst. 2010, 6(4): 613-619)。

寒证、热证是一对最基本的证候概念,也是众多复杂证型的基石。我们希望以寒证、热证为切入点和突破口,找到一种衔接宏观与微观的途径,为中医证候临床研究探索一种新模式,也为中医药现代研究寻找一种新的思路与方法。现在我们与多家临床单位合作,正采集慢性胃炎发生发展过程中典型的寒证、热证病例,继续深入研究寒热证的网络标志及其个体化诊疗意义。同样寒热证生物分子网络也可为研究寒证、热证在不同疾病中的异同、寒热夹杂与转化等问题,提供基础和参照。在方法学上,目前我们致力于“表型-生物系统-药物”多层次网络的研究。一些需要解决的方法学难题包括:如何构建更为准确的证候多层次生物网络?如何理解证候多层次生物网络的构成原理?证候的机制探索对于疾病个体化诊疗有何贡献?等等。我们希望在多层次网络的基础上,可以探索更多的临床实际问题,例如多证复合、证候演变规律、病证方的关联机制等。

2.4 小结与体会

我们在研究中也体会到,中医药研究方法的发展与创新是可能的,也是必要的。一些既往的研究难点,有可能成为发展的起点。中医学植根于复杂的生命系统,以整体观、辨证论治、方剂配伍为特色,具有系统的思想。医学生命科学从分子生物学发展到系统生物学,已积累了大量微观世界的信息,也认识到了系统的重要性。生物信息学、系统生物学等交叉、前沿学科的新兴,正体现了以上研究思维的转变。可以认为,中医学与系统生物学有交汇之处,如果能够推动二者的沟通、互补,有望给两方面研究都带来突破。面对这一前所未有的机遇与挑战,《李文》仅仅是我们前期探索的一个小结。我们的构想与研究都还很初步,因此,自当凝聚精力,奋力开拓,同时也期待更多的同道起而行之。

(收稿日期:2010-05-31;修回日期:2010-06-10)

[编辑:黄健]