

• 思路与方法 •

系统生物学模式下的中风病研究对策

祝美珍* 齐玉洁 曾石森 苏春寿 朱 爱

(广西中医药大学基础医学院, 广西壮族自治区南宁市明秀东路 179 号, 530001)

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(2012GXNSFDA276031)

* 通讯作者: beauty0822@126.com, 13978148503

[摘要] 从系统生物学角度, 在整体和系统的水平上阐释中风病病因病机多重复杂的特点, 在其思维与研究模式下对中风病病证进行分析, 并利用现代组学技术探讨中风病病因的物质基础, 揭示中风病证候的机理, 丰富中风病病机多元化的内涵, 以期寻找中风病防治的病理环节及关键靶点, 给中风病的现代化研究提供新思路与新策略。

[关键词] 系统生物学; 中风; 基因组学; 蛋白质组学; 代谢组学; 信号转导网络

随着医学模式的更新与进步、中西医学相互渗透的加深, 将中医的病机证候与西医的分子机制对接并深入研究成为中医现代化研究的新趋势。系统生物学将生物体看成是由相互作用、相互联系的元素组成的统一整体, 它的提出给中医学的研究与发展带来了新思路。由于系统生物学体现了中医中风病的病机复杂性和病损的网络关联性, 故以系统生物学理论为指导, 将其特点及方法运用到对中风病的研究中, 可为中风病的形成与逆转机制研究提供新的线索和途径。

1 系统生物学的科学思维为中风病病损进程的网络关联提供理论指导

1.1 用系统生物学的整体联系性解释中风病演变的恶性循环

系统生物学是一门研究生物系统中所有组成

分(基因、mRNA、蛋白质等)的构成, 以及在特定条件下这些组分间的相互关系, 并通过计算生物学建立一定模型来定量描述和预测生物功能、表型和行为的学科^[1]。一方面, 系统生物学注重整体性, 认为整体并不是简单的部分之和, 整体中部分功能的发挥必须依靠整体的完整性; 另一方面, 系统生物学又重视构成整体的各个组分所起到的作用, 它采取系统科学的方法对生物过程不是作为孤立的很多部分而是作为整个系统来定量研究, 并借助和发展多学科交叉的新技术方法, 对中风病演变研究及中风病的恶性循环阻断提供了有力的策略支持。中风病是气血逆乱, 产生风火痰瘀, 导致脑脉瘀阻或血溢脑脉之外, 临床以突然昏仆、不醒人事、半身不遂、口舌歪斜、语涩、偏身麻木为主症的一种常见病和多发病。中风病的形成与多种因素有关, 证候较为复杂, 舌謇

主, 治以豁痰镇惊, 平肝熄风, 药用: 石菖蒲 10 g, 胆南星 6 g, 制僵蚕 6 g, 钩藤 10 g, 蒺藜 10 g, 天麻 10 g, 远志 10 g, 生龙齿 20 g, 法半夏 6 g, 橘红 4 g, 矾郁金 10 g, 夏枯草 10 g。水煎服, 每日 1 剂, 分服。配合定痫散 320 g、琥珀粉 40 g, 混匀, 每次 2 g, 每日 3 次; 羚羊角粉每次 0.3 g, 每日 2 次。2010 年 11 月 23 日复诊: 患儿自服药后情况稳定, 无惊厥发作, 现纳呆, 汗多易感冒, 大便每日一行, 质溏稠, 小便色黄, 饮水不多, 寐尚安。舌淡、苔白腻。诊断同前, 证属脾虚痰盛, 治以化痰断痫, 药用: 炙黄芪 15 g, 白术 10 g, 防风 5 g, 陈皮 10 g, 法半夏 10 g, 茯苓 10 g, 煅龙骨、煅牡蛎各 20 g, 炒酸枣仁 10 g, 天麻 10 g, 钩藤 10 g, 石菖蒲 10 g, 益智仁 10 g, 山药 15 g, 乌药 4 g, 焦山楂、

焦神曲各 10 g, 10 剂, 熬糖浆 1 200 ml, 每次 20 ml, 每日 3 次。配合定痫散 120 g, 每次 2 g, 每日 2 次。三诊: 服药 3 个月后, 查脑电图恢复正常。随访 1 年未复发。

参考文献

- [1] 吴梓梁. 实用临床儿科学[M]. 广州: 广州出版社, 1998: 1301.
- [2] 罗景华, 任榕娜. 难治性癫痫的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(5): 737-739.
- [3] 邓金, 玉蕾, 陈生弟. 临床药物治疗新进展[J]. 世界临床药物杂志, 2005, 26(3): 265-270.
- [4] 左启华. 小儿神经系统疾病[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 215-300.

(收稿日期: 2013-04-13; 修回日期: 2013-06-02)

[编辑: 洪 涛]

脏腑、气血、阴阳失调,风、火、热、毒、痰、瘀相互为患,是其发病的共同病理基础。在此过程中,各因素、各环节之间又相互作用,相互影响,进一步形成错综复杂的损伤网络,这一病机网络不是一个独立的病理过程,而是多种因素之间相互作用、影响的病理过程。经过对中风病多年的研究,我们发现,风、火、痰、热、毒形成中风病病情演变的连锁反应,若这些病理产物不能及时清除,形成“瘀热伤络—瘀毒互化—津液旁渗—瘀阻不通”的复杂多变的病机网络,将会形成脑血管损伤的恶性循环。一方面,要从整体的病因及病机去把握中风病的演变过程;另一方面,要重视各个致病因素在中风病发病过程中的作用。遵循系统生物学思维原则,以整体与部分相结合的方法对中风病进行研究,借助检测基因、mRNA、蛋白含量等组织学变化,研究中风病病理产物的消长形势,将有助于阻断中风病演变的恶性循环。

1.2 用系统生物学的微观定量性揭示中风病防治的关键环节

中医学有着独特的理论体系和认知方法,中医的阴阳平衡理论、整体观念及辨证施治的临床实践与系统生物学追求的整体论和系统论、宏观与微观相结合的原则不谋而合,其结合发展可体现我国学者在医学研究中的创新之路。中医学强调整体论,从望、闻、问、切对神色、形态、症状、体征信息的收集观察,到进一步分析证候,均宏观朝向人的健康。然而,中医对疾病的认识往往靠主观判断,缺乏微观层面的客观依据,具有一定的抽象性,即所谓的“医者,意也”。对中风病机的认识上,往往根据患者的四诊资料从整体和宏观层面去归纳和把握,而缺少对微观结构和临床实验数据的研究。对此系统生物学的相关组学技术弥补了这一不足,我们可以运用基因组学、蛋白质组学及代谢组学等技术为中风病的研究服务。中风病的致病因素有多种,而病理关键是瘀血。在素体本虚的基础上,由于五脏六腑的功能紊乱,易致津血运行迟缓而致为瘀,形成血瘀阻络的病理格局,进而经络不畅,脑脉痹阻,导致血液流变学的一系列变化,而引发中风。血液黏稠度增高和血细胞凝集等血液流变学异常变化是中风病发生的重要因素。对于中风病的研究,要认识到中医的血瘀病理机制,同时应借助现代科学技术去探索,从中风病患者的基因组学、蛋白质组学及代谢组学图谱特征等微观层面提供客观依据。例如,从代谢组学的观点来说,当机体处于瘀血的病理状态时,必定有

相应的代谢组分模式的存在。代谢组学是与机体的生理和病理息息相关的,通过对正常个体和中风病个体间代谢组学的比较分析,可以得到中风病瘀血特异的代谢组学特征,从而为中风病的早期诊断及治疗提供分子依据。系统生物学的微观定量性可以为中风病的早期防治指明努力方向,有望成为中风病早期防治的关键一环。

1.3 用系统生物学的宏观预测性指导中风病用药的组方原则

中医理论体系的整体观念、辨证论治、复方干预的基本概念与系统生物学所追求的全新的预测性和预防性医疗及最终实现个体化治疗的目标,即3P医学,找到了共同语言^[2]。“多学科合作是现代卒中治疗的标志”,因此,在中风病的临床用药上,系统生物学的宏观预测性对中医辨证论治及组方起到指导作用。中风是本虚标实之证,本虚是指气虚、阴虚和血虚,标实是指在本虚的基础上产生风、火、痰、瘀。本虚是中风发生的基础,标实是诱发中风发生的危险因素。中风发病之初,既要明了本虚的基础,更应着眼于标实的现实,此时,风火交煽,痰热腑实,瘀血内阻,清窍蒙闭,证属实,标为急,刻不容缓,故应以治标为首务。分析发病原因及机制,辨证论治,或开窍醒神,或回阳救逆,或通腑化痰,或熄风通络,或活血化瘀。急性期一般采用开闭固脱法,在恢复期及后遗症期应该标本兼顾,或益气活血通络,或健脾祛湿化痰,或滋阴降火,或滋阴潜阳。辨证论治是中医药治疗疾病的核心思想,正所谓“有是证,则有是法、是方”。针对中风病病机的整体多元的特点,辨证组方多用通窍活血汤、镇肝熄风汤、天麻钩藤饮、涤痰汤等诸多方剂加减治疗,再针对其病因病机的复杂多样性而随症加减,以构建最合理的搭配用药系统,达到满意的治疗效果。因此,组方的君药多用活血化瘀类中药,如水蛭、赤芍、川芎、桃仁、红花等。臣药及佐使药则根据中风病不同的兼症斟酌配伍,各药相辅相成,如肝阳上亢者多配伍龙骨、牡蛎、牛膝、石决明、赭石、钩藤、茯神等镇肝熄风、滋阴潜阳药;痰热内盛者则加水牛角、胆南星、郁金、牛黄等清热化痰开窍药;风痰阻络者则多用石菖蒲、半夏、麝香以化痰开窍通络;若属中风脱证则多加人参、附子益气回阳固脱。

2 系统生物学的研究模式为中风病病变机理的研究分析提供技术平台

系统生物学是建立在分子、细胞、器官水平上的整合,不仅要解决系统的结构和功能问题,而且还要

揭示出各组成部分之间的相互作用规律,并能根据实时情况做出客观准确的预测^[3]。采用系统生物学之组学技术研究中风之火风瘀热痰毒诸证,利用这些“组学”研究工具来揭示中医证候的整体性特征将具有很好的前景。随着系统生物学时代的来临,基于系统生物学模式下,对中风病之发病原因与病理机制等方面的研究也取得了一定的进展。

2.1 基因组学与中风的研究

基因组学(Genomics)是对一个物种的所有基因进行基因组作图(包括遗传图谱、物理图谱、转录图谱)、核苷酸序列分析、基因定位和基因功能分析的一门学科^[4]。它从整个基因组的层次上来阐明所有基因在染色体组上的位置、结构、基因产物的功能以及基因与基因之间的关系。这与中医学认为人体生命活动是有机体在内外环境的作用下多种因素相互作用而维持动态的相对平衡过程这一概念具有一定的相似性^[5]。

鉴于中风发病机理的异质性,中风被列入复杂性疾病的范围,是由众多的基因与基因之间及基因与环境之间的相互作用而致,为了进一步证实该疾病的遗传因素,近年来进行的选择性家族研究确认了与中风相关的单基因综合征,并对其遗传缺陷进行了阐述^[6]。另有研究^[7]发现,CD14 基因多态性可能通过影响血脂水平而影响缺血性脑卒中的发生。这些正说明了基因组学对中风血瘀证研究的作用,通过不同指标基因的表达,找到每个相关基因在证候中的作用,参与网络体系的构建与调节,最终证明其在中风等疾病中的作用与联系。证候是一种多基因参与的,且已超出了人体正常的网络调节能力,这些症状群之间是通过能表达各自症状的相关基因构成一个调节网络来维系的,但每个相关基因在网络调控中的作用及地位是不同的,其差异性既是区别于其他证候的物质基础,又是确定其所代表症状在证候中重要性、贡献度的根据^[8]。

2.2 蛋白质组学与中风的研究

蛋白质组学(proteomics)是一项系统性的多方位的科学探索,以蛋白质组为研究对象,分析细胞内动态变化的蛋白质的组成成分、表达水平与修饰状态,了解蛋白质之间的相互作用与联系,在整体水平上研究蛋白质的组成与调控的活动规律的一门学科^[9]。中风证候是一种有规律的病理表现,“有诸内必形诸于外”。正是由于存在于各组织脏器的物质基础的某种改变引发中医的各种证候,而这种物质

基础就有可能反映在蛋白质组学水平上。临床上对于中风病患者以标本的采集和生化测定方法来单纯地检测指标有一定的局限性,而采用蛋白质组学技术,从脑卒中蛋白质标记物的识别和鉴定、对干预性治疗的反应表达等都能得到深入阐述^[10]。在进行中风病动物实验研究时,因动物模型便于操作,可从血液、脑脊液、脑组织等各方面进行蛋白质组学研究,这样能够丰富证候辨证的生物基础层次。例如,可通过蛋白质组学技术对组织细胞蛋白质分子表达谱的研究,鉴定病理性的靶蛋白及病机间的相互关系。从病因方面来说,致病因素作用于人体后,通过对机体蛋白组学的变化研究,可找到致缺血性中风的靶蛋白。如何华等^[11]通过对急性脑梗死患者脑脊液蛋白质组学分析,发现了急性脑梗死患者脑脊液特异的 2-DE 图谱。从病机方面来说,中风病可有不同发病机制,如肝阳化风和阴虚动风均可导致缺血性中风;王立等^[12]通过对中风病肝阳化风证和阴虚动风证蛋白质组学的研究,分离出能反映其病机的特异蛋白,从而为阐明中风病同病异证发生的内在机理提供微观层面的有力支持。

2.3 代谢组学与中风的研究

代谢物组(metabonomics)是指生物内的所有代谢组分,是基因—蛋白质—代谢调控的终端产物,能够反映疾病和药物对机体所产生的生理效应。代谢组学是通过考察生物体系受刺激或扰动后,其代谢产物的变化来研究生物体系的一门科学^[13]。通过代谢组学的分析有助于全面了解疾病病理变化过程及机体内物质的代谢途径。就中风患者而言,往往会出现头晕头痛、乏力、肢体麻木等先兆,由于其症状缺乏特异性,影像学及实验室检测指标往往不显示特殊变化,而代谢组学技术将有助于对疾病的诊断和指标检测,给相关疾病提供实验依据。从代谢组学的观点而言,人体处于不同的生理病理状态时必然存在特定的代谢组分模式,代谢产物的变化与脏腑生理、病理密切相关,通过分析机体在病理状态下代谢物的特异性改变,有助于早期诊断。如夏鑫华等^[14]利用基于硅烷基衍生化反应的气相色谱—质谱联用技术(GC-MS)的代谢组学测定方法,获得局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠的血浆代谢物指纹图谱,从而为缺血性中风的早期诊断找到有效途径。

2.4 信号转导网络与中风的研究

信号转导网络是指细胞通过细胞表面或胞内受体接受外界信号,经由特定系统级联传递机制,将细

胞外信号转导为胞内信号,引起细胞生理反应或诱导特定基因的表达。信号传导通路研究的重要意义在于它能整合基因组学和分子生物学的优势,以整体观分析生物分子间相互作用及其传递规律,逐步逼近生命和疾病现象的复杂的动态系统^[15]。中风诸证的信号转导网络研究也取得一定的成就。柳华东等^[16]认为,脑缺氧缺血损伤激活神经元和星形胶质细胞中多条信号转导通路,导致一系列病理、生理改变,包括神经元和星形胶质细胞的死亡、损伤及对损伤的抵抗。研究发现,p38MAPK 信号通路参与脑缺血再灌注损伤有密切关系^[17],提示脑缺血再灌注损伤中可能与 p38MAPK 信号通路的激活有关。p38MAPK 位于细胞质内,一旦被激活迅速转位入核,作用到细胞内相应的目标,可激活下位的激酶或多种转录调节因子。另有研究发现,核转录因子- κ B (NF- κ B)家庭成员 C-Rel 在缺血再灌注脑损伤中表达增高,同时 P50/C-Rel 主要连接在 Bcl-xL 启动子上,发挥抗凋亡作用,而对炎症因子的作用减弱,与 P50/P65 的促炎症、凋亡相反,其可促进细胞存活^[18]。

3 系统生物学的动态变化为中风病防治研究的探索指明方向

系统生物学与医学相结合,直接以临床面临的重大科学问题为切入点,在系统理论指导下,把人体作为一个系统来进行研究,通过大规模提取反映人体系统特性的各类生物信息和数学建模,深入研究基因组信息与环境信息在人体水平上的相互作用,从而阐明发病机理,研究新的诊断和治疗技术,为现代医学的临床诊治与研究做出贡献^[19]。

在应用上,采用信息科学等前沿科技研究,以中医理论为指导,建立中医特色的科学体系和新的发展模式,将传统中医药的优势、特色与现代科学技术相结合应用到中风病及其他人类疾病的研究与诊疗中。同时应该认识到对疾病的预防和治疗应建立科学客观的评价方法,并采取中西医结合治疗。中西医结合取长补短,是我国中风研究的发展方向之一。但是在时代飞速变化的今天,大脑的复杂性以及系统生物学的动态变化是研究中风病与系统生物学关系的一大难点,故今后仍需作进一步的探索。

参考文献

- [1] Hood L. A personal view of molecular technology and how it has changed biology[J]. J Proteome Res, 2002, 5 (1): 399-409.

- [2] 贾钰华,杨萍,周玉平. 系统生物学: 中医基础理论研究的新视角[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(6): 471-472.
- [3] 仇士东,温学森. 从系统生物学角度研究肾虚证概况[J]. 中医杂志, 2011, 52(6): 528-532.
- [4] 李伟,印利萍. 基因组学相关概念及其研究进展[J]. 生物学通报, 2000, 35(2): 1-3.
- [5] 刘军莲,宋剑南. 蛋白质组学及基因组学与中医现代化研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2006, 8(4): 42-44.
- [6] 李钰铭,何华. 中风基因的探索与研究[J]. 医药产业资讯, 2006, 6(3): 42-44.
- [7] 韦叶生,蓝艳,黄瑞雅,等. CD14 基因启动子区多态性与缺血性脑卒中及血脂的相关分析[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2007, 9(4): 269-272.
- [8] 王忠,王阶,王永炎. 后基因组时代中医证候组学研究的思考[J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(8): 621-623.
- [9] 贾永森,司富春. 蛋白质组学技术在中医证候本质研究中的优势[J]. 河南中医, 2008, 28(1): 9-10.
- [10] Anderson L. Candidate-based proteomics in the search for biomarkers Of cardiovascular disease[J]. J Physiol, 2005, 563(4): 23-60.
- [11] 何华,杨燕,王雪楠,等. 急性脑梗死患者脑脊液蛋白质组学分析[J]. 济宁医学院学报, 2006, 29(6): 12-13.
- [12] 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.
- [13] Nicholson JK, Wilson ID. Understanding "global" systems biology: metabolomics and the continuum of metabolism [J]. Nat Rev Drug Discover, 2003, 8(2): 668-676.
- [14] 夏鑫华,刘梅,李欢. 局灶性脑缺血再灌注损伤模型大鼠的代谢组学研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2012, 10(7): 841-843.
- [15] 丁维俊,王米渠,李炜弘,等. 肾虚证分子生物学研究前沿及热点述评[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(2): 145-147.
- [16] 柳华东,刘爽,李卉丽,等. 脑缺氧缺血后激活的信号转导通路[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2007, 23 (1): 33-37.
- [17] Irving EA, Bamford M. Role of mitogen and stress-activated kinases in ischemic injury[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2002, 22(6): 631-647.
- [18] Inta I, Paxian S, Maegele I, et al. Bim and Noxa are candidates to mediate the deleterious effect of the NF2 kappa B subunit Rel A in cerebral ischemia[J]. J Neurosci, 2006, 26(50): 12896-12903.
- [19] 蒋功成. 系统生物学与中医现代化[J]. 医学与哲学, 2006, 27(12): 13-15.

(收稿日期: 2013-01-24; 修回日期: 2013-05-28)

[编辑: 崔京艳]