

后基因组时代中医证候组学研究的思考^{*}

王 忠¹ 王 阶² 王永炎¹

人类基因组工作草图完成后,研究便进入更为艰巨和复杂的后基因组时代,其主要工作是阐明一些已知基因的功能,并进行基因组序列变异研究,这必将为自然科学各学科的发展提供新的机遇,同时也将促进各学科的进一步渗透和整合,出现新的科学发展格局。中医学又一次面临一个大好机遇的选择,若能很好地吸取当代科技精华,在其所能提供的技术平台上融合中医药的独特研究思路,将促进中医学的发展,特别是对中医药重大问题,如对证候组学研究的突破产生影响,在WHO生物学家们认同“个体化的具体治疗”是临床试验的最高层次的时候,运用基因组学研究证候与复方,探索辨证治疗疾病与改善亚健康状态的科学原理可能是中医学发展的方向之一。

研究思路和意义

1 研究思路

目前人类已知道6000多种遗传病与基因相关;多数癌症同基因相关,监测已查明的与疾病相关的基因群,是癌症的革新诊断方法;人的体型、长相与五百多个基因相关,应用生物芯片与DNA样品的杂交相互作用,可从原则上断定人的特征。错综复杂的生物界,在分子水平上却高度统一。基因在时空上特异性表达产生细胞分化,一系列细胞分化与高度有序排列产生个体发育。中医证候在基因组或后基因组方面应有其相应特征和改变。

中药对证候的干预与调控目前较为一致地认为:中药虽然几乎没有改变核苷酸与氨基酸结构的可能,但中药对多种常见病及重大疾病确有可靠的治疗作用,其治疗作用在影响基因的调控、表达,特别是表达产物的标识方面可能更为重要,其调整作用有可能是在调控、修饰疾病的相关(易感)基因表达及表达产物上发挥着重要作用。国内外已有大量的研究表明:中药对基因的表达、修饰有确切的作用,这方面的研究积累已为以后的工作奠定了良好的基础。

反义RNA用于基因治疗的思路将有利于中药对证候组学的研究。反义RNA治疗具有特异性强,可

阻断靶基因的翻译表达,适应于多种疾病,亦可同时用多个反义RNA封闭多个基因,有可能应用于多基因病的治疗。中药多靶点对多基因疾病中多基因的影响是其治疗作用的基础,而其对证候相关基因所存在的调控网络的有效干预是其独特优势所在。

不同证候的基因表达谱应有差异。生物体不同的组织细胞所含的基因组是相同的,但是基因表达的格局是不同的,不同基因表达的调控有其个性,也有其共性。因此,对相关的基因表达全景图的研究必将为确定证候相关基因提供可能。根据“功能重要的编码序列在进化上一般保守”的原理,以候选区域中的基因组片段筛选可转录序列,来进行致病基因的筛选,通过与正常表达的比较以筛选致病基因,是许多疾病(特别是对证候)研究的一种有效方法。在此基础上疾病相关基因的多种方法,如功能克隆、定位克隆、比较基因组学等研究方法根据不同的目的均可用于中医证候的研究¹⁾。

基因芯片技术已用于多领域的基因组学研究,其能在基因组水平上只需简单的实验即可对许多的功能基因进行大规模高通量的分析,检测相关基因的不同表达丰度,通过一定的研究手段差异分析在不同环境中的表达。近年来,基因芯片技术已可作为基因诊断、相关基因确定、疾病分子机理分析、药物筛选等的重要工具²⁾,并且以其快速及使用方便的优势广泛用于药物、生理等多方面的研究。如对类风湿性关节炎相关基因的研究³⁾、肿瘤的多基因关系研究⁴⁾、多发性硬化相关基因的研究并发现了新的基因⁵⁾、睡眠及睡眠剥夺相关基因的研究⁶⁾等。最近许多生物技术公司推出了一系列创新的研究方法可用于基因差异表达的分析。国内外已经运用相关技术成功地开展了研究工作,有了一些新的发现。

中医的整体观和中药的多靶点调节决定了在思路与方法上应对前期的大量研究工作进行升华,避免因研究条件的不同而无法对研究结论作可比性分析及因研究指标的局限性限制了中医学的优势发挥。基因表达图谱的最新检测、分析技术(基因芯片、生物信息学等技术)已经能够在基因组层次上对众多基因的表达进行动态的检测,如能结合药物干预研究证候相关基因及关键基因的调控作用,必将大大丰富和发展中

^{*} 国家重点基础研究发展规划资助项目(G1999054400)

1. 中国中医研究院(北京100700) 2. 中国中医研究院西苑医院

医证候组学。

2 意义

深化对中医证候客观性、复杂性的认识。证候是一种多基因参与的,且已经超出了人体正常的网络调节能力,处于“络病”状态的症状群。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、贡献度的依据。

阐明中药的药理作用机制及客观评价中药疗效。阐释中药方剂的干预作用可能是通过解毒以调控“络病”来实现的,即通过主要药效组分在多靶点或多器官上发挥整体综合调节作用,达到治疗、预防、康复与保健的功效,而其对相应基因调节网络的调控是其本质性的环节。随着人类 30 亿密码的完全揭示,药物基因组学(pharmacogenomics)将应运而生。其将是一门阐述基因序列变异及其对药物反应变异影响的科学,并有利于发现新颖和高效药物,同时亦可用于药物疗效的客观评价。

寻求病证结合的突破口。中西医虽是两种不同的理论,但是研究的却是同一个对象,在一定的结构或功能层次上必然有其共性的物质基础。在基因组水平,特别是后基因组上可能存在结合点。虽然对同一表型的不同分析思路和风格迥然不同的理论构架形成了不同的学科(西医学、中医学、生物学等),而在基因组或后基因组上寻求病证结合的突破口(共同的功能基因)将为新医药的建立和整合奠定基础。

探索更为切合中医药特点的研究途径。通过中医证候的基因组学研究以及方剂对网络的调控和干预,为中药疗效的评价提供切合中医药特点的方法,为中医药未来发展提供研究思路。在 WHO 生物医学家们认同“个体化的具体治疗”是临床试验的最高层次的时候,建立单核苷酸多态性(SNP)为代表的 DNA 序列变异的系统目录,即可揭示人类疾病和生物学性状的遗传学基础,以及基因组在不同环境中转录和翻译水平的不同表达,既是“三因制宜”的内在基础,亦是辨证论治的优势所在。

探索建立一种新的评价模式生物体(动物模型)的方法。虽然模式生物存在基因组的差异性,而相同的病理表现应有其相应的共性基础,在基因组学上,即表现为相应的基因。人们已成功地运用基因敲出等技术制作了一些动物模型,但是许多疾病非单基因疾病,其所涉及基因非单纯敲出所能为。例如,目前发现的原

发性高血压涉及到的相关基因已经超过 70 多个。因此只有在探明证候的相关基因和关键基因并明确其相互关系后才有可能来制作理想的动物证候模型及评价药物疗效。

注意问题

1 中医证候研究应根据中医药自身特点制定证候研究的思路和切入点,并贯彻“有所不为,才能有所为”的思想。

2 中医证候组学的研究应重视本底资料的积累和收集,只有在有较为丰富的前期研究工作的基础上,如对证候的分布特点、演变规律有了较为明确的认识之后,所开展基因组学的研究,得出的结论将更为可信。

3 基因的功能是一个多因素共同作用的结果,应注意基因组学与中医证候研究中的简单性与复杂性的整合问题:每个个体都是他的基因和环境相互作用的产物。基因决定论对生命现象过于简单化将不利于对复杂生命现象的认识,亦无助于对中医证候是一个多因素参与和调控的具有时空性、系统性及层次性的临床症状群的理解。若将简单性与复杂性整合起来,不仅有助于对基因组学、蛋白质组学中基因与基因、基因与蛋白、蛋白与蛋白等复杂的非线性关系的认识,而且将启发我们深刻理解中药方剂多组分通过对多靶点的复杂级联反应来沟通基因型及其相关的表型。

目前国外几乎所有的主要制药公司都不同程度地运用了基因组研究的成果,并采用基因芯片等技术开展功能基因组的研究。我国在该领域虽然起步较晚,但经过科研人员的艰苦努力,已经有了一定的成绩且潜力较大。在对中医药理论有深入、全面理解的基础上,以此作为突破口用于中医证候组学及创新药物的研究,大有可为。生物芯片技术、生物信息技术、核酸及蛋白质工程的发展不仅为生命科学的诸多领域研究带来一场革命,而且为我国中医药现代化带来了新的契机,适时抓住这一良机必将给中医学的发展和我国药物研究带来更大的拓展空间。

参 考 文 献

1. 朱国志,方福德. 疾病相关基因的研究策略、方法和技术. 基础医学与临床 1999;19(1):1—5.
2. Yang GP, Ross DT, Kuang WW, et al. Combining SSH and cDNA microarrays for rapid identification of differentially expressed genes. Nucleic Acids Res 1999;27(6):1517—1523.
3. Heller RA, Schena M, Chai A, et al. Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarrays. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94(6):2150—2155.

4. Kononen J , Bubendorf L , Kallioniemi A , et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998 ; 4 (7):844—847.
5. Whitney LW , Becker KG , Tresser NJ , et al. Analysis of gene expression in multiple sclerosis lesions using cDNA microarrays. *Ann Neurol* 1999 ; 46 (3):425—428.

6. Cirelli C , Tononi G. Differences in brain gene expression between sleep and waking as revealed by mRNA differential display and cDNA microarray technology. *J Sleep Res* 1999 ; 8 (Suppl 1):44—52.

(收稿 2001 - 02 - 06 修回 2001 - 03 - 30)