

赤芍治疗热毒血瘀证的血清蛋白质组变化的初步研究

谢文光¹ 马晓昌² 邵宁生³ 丁勤学³ 赵 馨³ 刘农乐³ 魏钰书¹ 王会信³ 陈可冀²

摘要 目的 研究赤芍对大鼠热毒血瘀证的血清蛋白质组变化的影响。**方法** 用双向电泳(two-dimensional electrophoresis, 2DE)分析正常组、内毒素组[用脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)静脉注射]、赤芍组(灌胃给药)、LPS(静脉注射)+赤芍(灌胃给药)组之间的血清蛋白质组表达差异。**结果** (1)LPS致热毒血瘀证大鼠的血清在2DE胶上13个蛋白点(xPr)出现非常明显的含量变化,与正常组比较,LPS组的xPr16、xPr19的点容量值均显著降低,xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr6、xPr7、xPr8、xPr9、xPr11、xPr12、xPr23的点容量值均显著增高。(2)LPS+赤芍组与LPS组比较,LPS引起增高的xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr9的点容量值均显著降低,LPS引起降低的xPr16的点容量值显著增高,但xPr16的点容量值仍显著低于正常组,xPr1、xPr4、xPr9的点容量值均显著高于正常组;LPS+赤芍组的xPr2、xPr3两个蛋白点已被明显调节到正常状态;赤芍组除xPr2、xPr4外,在xPr1、xPr3、xPr9、xPr16点均表现对LPS显著的交互作用。(3)对xPr19,赤芍和LPS两因素显著的交互作用有协同性。(4)赤芍组xPr13、xPr14的点容量值均显著高于正常组,xPr15、xPr17的点容量值均显著低于正常组,这4个蛋白点LPS组与正常组比较差异均无显著性。**结论** 通过调节xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr9、xPr16蛋白点,可能是赤芍治疗热毒血瘀证的疗效的分子基础。

关键词 赤芍;热毒血瘀证;血清;蛋白质组

Preliminary Study on Change of Serum Proteome in Noxious Heat Blood Stasis Syndrome Treated by Radix Paeoniae Rubra XIE Wen-guang, MA Xiao-chang, SHAO Ning-sheng, et al *Affiliated Hospital, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan (637000)*

Abstract Objective To study the effect of red peony root (RPR) on serum proteome in rat suffering from noxious heat with blood stasis Syndrome (NH-BS). **Methods** The differences of serum proteome among rats in four groups, treated with lipopolysaccharide(LPS), RPR, LPS + RPR and saline respectively, were analyzed by bi-dimensional electrophoresis (2DE) assay. LPS was administered by intravenous injection and RPR by oral intake. **Results** (1) Serum of rats with LPS induced NH-BS showed significant changes in volume of serum protein (xPr) in 13 points on 2DE collagen, the volume of xPr 16 and 19 were significantly lower, volume of xPr 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12 and 23 were significantly higher respectively, as compared with those in the normal control group. (2) After being treated with RPR, the increased volume of xPr 1, 2, 3, 4 and 9 significantly decreased, and the decreased xPr 16 significantly increased, with xPr 2, 3 restored to normal level but the xPr16 still lower and xPr 1, 4, 9 higher than those in the normal group. RPR showed interaction with LPS on xPr 1, 3, 9, and 16. (3) For xPr 19, the interaction of RPR with LPS might be synergistic. (4) In the group treated with RPR, volumes of xPr 13 and 14 were significantly higher and those of 15, 17 were significantly lower than those in the normal group respectively, but the similar changes didn't found in the LPS group. **Conclusion** The molecular basis of therapeutic effect of RPR on NH-BS might be through the regulation of xPr1, 2, 3, 4, 9 and 16.

Key words red peony root; noxious heat with blood stasis Syndrome; serum; proteome

基金项目:国家自然科学基金资助(No. 30271658)

作者单位:1. 川北医学院附属医院(四川南充 637000);2. 中国中医研究院西苑医院;3. 军事医学科学院基础医学研究所

通讯作者:谢文光, Tel: 0871 - 2169118, E-mail: xiewenguang@hotmail.com

内毒素是存在于革兰氏阴性细菌细胞壁中的脂多糖(lipopolysaccharide, LPS), LPS在革兰氏阴性杆菌脓毒症、脓毒性休克的发病中起着关键性的作用, LPS常可导致全身炎症反应综合征和多脏器功能障碍综合征。与感染相关的LPS休克的发生率和病死率很高,

除感染性疾病外,许多严重疾病的病理过程中都伴有 LPS 血症,并为许多危重症的重要致死原因^[1-4]。感染致炎症反应,出现血瘀证。LPS 作用于机体,出现发热、白细胞数变化、血小板数增多、血液流变性改变、血压下降,进一步发生心力衰竭、呼吸衰竭、肾功能减退、肝损害、神经症状及休克,这一系列病理反应符合中医中的热毒血瘀证表现。赤芍是临床治疗中常用的清热凉血药,本研究在成功复制 LPS 致大鼠热毒血瘀证模型的基础上,用双向电泳(two-dimensional-electrophoresis, 2DE)技术分析赤芍治疗对该模型的血清蛋白质组的影响,为探讨 LPS 致热毒血瘀证的本质及赤芍治疗的作用机制奠定基础。

材料与方 法

1 材 料

1.1 赤芍制剂 赤芍 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,来源于河北省张家口市崇礼县,撞碎成小块,加水煎煮过滤,合并滤液浓缩至 2g 生药/ml,由中国中医研究院西苑医院中药制剂研究室制备、灭菌、分装,4℃ 储存备用。

1.2 动物 健康雄性大鼠,SD IGS 品系、微生物级别为 SPF/VAF,体重(220 ± 10)g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.3 主要试剂 IPG 固相线性 pH 梯度预制胶条(Immobiline™ DryStrip pH 3 ~ 10, L18cm)、IPG buffer、DryStrip 覆盖液、IPG 凝胶条槽清洁剂、低分子量蛋白质标准、2-DE 蛋白质标准试剂盒均购自 Amersham Pharmacia Biotech 公司,二硫苏糖醇(DTT)、尿素、3-[(3-胆酰胺丙基)-二乙胺]-丙磺酸(CHAPS)、苯甲基磺酰氟(PMSF)、十二烷基磺酸钠(SDS)、抑肽素、亮氨酸、n-decyl-n, n-dimethyl-3-ammonio-1-propane sulfonate(SB3-10)、叠氮化钠、Tris、Glycine、丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、LPS(L2880, E. coli O55:B5)均购自 Sigma 公司,过硫酸铵购自 LTI, N, N, N, N, -四甲基乙二胺(TEMED)、碘乙酰胺(IAA)购自 Fluka 公司,考马斯亮蓝 R250 购自 AMRESCO,其他常用试剂为国产分析纯。

1.4 器材、分析软件 DiAx900 型组织匀浆仪(德国 Heidolph 公司), L7-65 型超速离心机(美国 Beckman 公司), UV330 型紫外分光光度计(英国 Unicam 公司), IPGphor™ 电聚焦仪、IPG 凝胶条槽、Et-tan DALT II System 垂直电泳设备、EPS 3500 XL 电源(最高电压 3500 V)、带 U 形框的玻璃板(200 mm × 260 mm)、玻璃板(200mm × 260 mm)、灌胶模具、图像

扫描仪、ImageMaster® 2D Elite3.10 图像分析软件,均为 Amersham Pharmacia Biotech 公司产品。

2 方 法

2.1 大鼠热毒血瘀证模型制备 LPS 用生理盐水溶解成 2.5 mg/ml,配成不同浓度作用于大鼠,观察到 24h,选择不导致大鼠死亡的最大 LPS 剂量为 5 mg/kg,大鼠出现发热、耸毛、倦缩懒动、呼吸困难、眼结膜及耳部扩张充血、紫绀、厌食、血压改变、体重下降等症状,制成热毒血瘀证模型。

2.2 血清蛋白样品制备 大鼠实验前禁食 12 h,自由饮水,随机分为 4 组,每组 4 只。正常组:灌胃 2 ml 生理盐水,1 h 后尾静脉注射生理盐水 0.5 ml,2 h、6 h 再分别灌胃 2 ml 生理盐水。LPS 组:灌胃 2 ml 生理盐水,1 h 后按 5 mg/kg 体重尾静脉注射 2.5 mg/ml LPS,2 h、6 h 再分别灌胃 2 ml 生理盐水。赤芍组:2 g 赤芍生药/kg 体重灌胃 2 ml,1 h 后尾静脉注射生理盐水 0.5 ml,2 h、6 h 再分别灌胃赤芍液 2 ml。LPS + 赤芍组:灌胃 2 ml 生理盐水,1 h 后按 5 mg/kg 体重尾静脉注射 2.5 mg/ml LPS,2 h、6 h 再分别灌胃赤芍液 2 ml。24 h 后,采集 4 ml 腹主动脉血液,4℃ 3 000 r/min 离心 15 min,制备血清用于蛋白质组测定,分装 5.0 mg/管, -80℃ 冷藏备用。

2.3 2DE 实验试剂配制及操作 参照试剂盒说明书的方法操作,并制成玻片。

2.4 染色 电泳胶用固定液固定 1h,染色液染色 0.5h,脱色液脱色 1h 并重复 1 次,操作均在水平摇床低速振摇。染色后置于保存液保存。

2.5 图像扫描及分析 用 Amersham Pharmacia Biotech 公司图像扫描仪扫描并储存图像,用 Image-Master® 2D Elite 图像分析软件分析。蛋白点的实验等电点(PI)用 IPG 胶条 pH 标示范围 calibrated value 与 pixel position 的 linear 标准曲线测算、表观分子量(Mr)用低分子量蛋白标准 calibrated value × 10³ 与 pixel position 的 linear log 标准曲线测算。

2.6 数据处理 对蛋白点的点容量值(Volume)在 SAS System for Windows 软件中,用编程法实现两因素析因设计测定资料的定量统计分析。

结 果

1 被 LPS 作用后的血清差异蛋白点 LPS 致热毒血瘀证大鼠的血清在 2DE 胶上 13 个蛋白点(xPr)出现非常明显的含量变化,与正常组比较,LPS 组的 xPr16、xPr19 的 Volume 均极显著降低,xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr6、xPr7、xPr8、xPr9、xPr11、xPr12、

xPr23 的点容量值均显著增高。

1.1 各组能被赤芍调节的 LPS 差异蛋白点比较有 6 个能分别被赤芍调节,结果见表 1。其中:LPS 和赤芍两因素对 xPr1 ($F = 32.81, P = 0.0004$)、xPr3 ($F = 15.58, P = 0.0043$)、xPr9 ($F = 8.47, P = 0.0196$)、xPr16 ($F = 95.69, P < 0.0001$)均有显著的交互作用;与正常组比较,LPS 组 xPr16 的点容量值显著降低,xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr9 的点容量值均显

著增高;LPS+ 赤芍组的 xPr16 的点容量值显著低于正常组,xPr1、xPr4、xPr9 的点容量值均显著高于正常组;赤芍组的 xPr16 的点容量值显著低于正常组,xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr9 的点容量值与正常组均未见显著性差异;LPS 组的 xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr9、xPr16 和 LPS+ 赤芍组的 xPr1、xPr4、xPr9、xPr16 的点容量值均显著高于赤芍组;LPS+ 赤芍组与 LPS 组比较,xPr16 的点容量值显著增高,xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、

表 1 各组能被赤芍显著调节的 LPS 差异蛋白点 ($\bar{x} \pm s$)

蛋白点	项目	正常	LPS	赤芍	LPS+ 赤芍
xPr1	Volume	25493.70 ± 4768.16	336184.25 ± 17983.78**	32841.04 ± 5541.96 ^{△△}	275423.84 ± 6878.13** ^{△△△△}
	Mr	53614.39 ± 159.12	52826.50 ± 592.58	53817.82 ± 49.30	52886.14 ± 213.44
	PI	3.0833 ± 0.0058	3.1433 ± 0.0306	3.1000 ± 0.0346	3.1367 ± 0.0306
xPr2	Volume	75186.28 ± 18587.18	134786.68 ± 5653.48**	73130.79 ± 22875.46 ^{△△}	96275.97 ± 10454.01 [△]
	Mr	42556.60 ± 211.07	42636.98 ± 1108.96	42100.25 ± 73.76	42274.55 ± 360.29
	PI	5.3667 ± 0.0115	5.2967 ± 0.1124	5.3500 ± 0.0700	5.2800 ± 0.0520
xPr3	Volume	64227.49 ± 1875.38	127730.84 ± 21588.33**	76777.32 ± 21142.50 ^{△△}	65669.36 ± 12464.90 ^{△△}
	Mr	42223.21 ± 136.22	42223.72 ± 990.40	41757.78 ± 10.21	41858.46 ± 384.01
	PI	5.6267 ± 0.0289	5.5467 ± 0.1266	5.5933 ± 0.0666	5.5467 ± 0.0462
xPr4	Volume	20273.62 ± 1959.69	61678.96 ± 5159.97**	19671.00 ± 5855.73 ^{△△}	50823.37 ± 2120.04** ^{△△}
	Mr	41837.85 ± 85.79	41514.41 ± 717.16	41055.62 ± 80.72	41446.73 ± 524.10
	PI	5.9367 ± 0.0462	5.8500 ± 0.1389	5.9133 ± 0.0907	5.8667 ± 0.0472
xPr9	Volume	8993.37 ± 9523.53	60772.94 ± 11108.98**	5740.09 ± 2093.80 ^{△△}	31245.79 ± 5089.266** ^{△△△△}
	Mr	59458.90 ± 658.62	58717.53 ± 1226.22	58609.96 ± 577.57	58778.69 ± 140.00
	PI	5.7833 ± 0.0404	5.6967 ± 0.1290	5.7333 ± 0.0666	5.7000 ± 0.0360
xPr16	Volume	23539.25 ± 1366.38	13660.19 ± 3025.64**	8261.73 ± 1221.46** ^{△△}	19257.82 ± 1071.796* ^{△△△△}
	Mr	23941.85 ± 109.47	23621.05 ± 171.72	23389.34 ± 504.00	23212.19 ± 519.66
	PI	6.6267 ± 0.0208	6.5300 ± 0.1908	6.6867 ± 0.1914	6.5467 ± 0.0603

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 LPS 组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$;与赤芍组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$

表 2 各组不能被赤芍调节的 LPS 差异蛋白点比较 ($\bar{x} \pm s$)

蛋白点	项目	正常	LPS	赤芍	LPS+ 赤芍
xPr6	Volume	2323.01 ± 579.11	9213.76 ± 2243.96** ^{△△}	3119.34 ± 714.55	12577.97 ± 2722.37** ^{△△}
	Mr	38579.42 ± 364.79	38427.99 ± 957.55	37971.68 ± 128.26	37972.48 ± 163.89
	PI	5.1933 ± 0.0231	5.1700 ± 0.1015	5.1933 ± 0.0503	5.1367 ± 0.0569
xPr7	Volume	1867.83 ± 345.62	6635.85 ± 1203.25** ^{△△}	1060.78 ± 459.18	7984.12 ± 2209.929** ^{△△}
	Mr	38027.39 ± 300.68	37824.00 ± 954.77	37322.66 ± 118.34	37414.53 ± 205.38
	PI	5.3800 ± 0.0173	5.3433 ± 0.1137	5.3733 ± 0.0611	5.3267 ± 0.0569
xPr8	Volume	65155.78 ± 32148.74	134942.63 ± 10600.02** ^{△△}	47858.12 ± 13196.39	128249.96 ± 9952.38** ^{△△}
	Mr	26620.78 ± 274.74	26562.00 ± 602.57	26299.32 ± 228.86	25987.94 ± 274.07
	PI	5.4367 ± 0.0115	5.3767 ± 0.1332	5.4300 ± 0.0700	5.3700 ± 0.0656
xPr11	Volume	15243.73 ± 8587.61	39544.60 ± 9295.79** ^{△△}	6572.08 ± 4182.98	38094.60 ± 10105.86** ^{△△}
	Mr	29928.00 ± 214.02	29484.42 ± 221.64	29194.94 ± 291.72	29304.51 ± 692.91
	PI	6.6133 ± 0.0231	6.5200 ± 0.1819	6.6767 ± 0.1716	6.5267 ± 0.0503
xPr12	Volume	37259.54 ± 22836.13	89640.82 ± 7116.46** ^{△△}	21299.04 ± 12827.49	81423.568 ± 9650.32** ^{△△}
	Mr	28225.50 ± 199.43	27989.76 ± 416.39	27800.30 ± 275.76	27450.46 ± 603.71
	PI	6.1500 ± 0.0264	6.0600 ± 0.1646	6.1800 ± 0.1212	6.0667 ± 0.0569
xPr19	Volume	66940.60 ± 11544.22	28400.38 ± 5384.45**	30856.89 ± 7858.17**	16259.24 ± 1386.90** [△]
	Mr	14510.45 ± 271.47	14424.44 ± 99.14	14372.47 ± 177.09	14112.43 ± 340.84
	PI	6.3267 ± 0.0289	6.2133 ± 0.2237	6.4000 ± 0.1868	6.2600 ± 0.0889
xPr23	Volume	25875.87 ± 23891.16	66478.89 ± 11114.89* ^{△△}	17147.82 ± 3543.15	71415.70 ± 22688.68* ^{△△}
	Mr	22025.87 ± 163.11	21559.14 ± 232.09	21116.05 ± 478.94	21048.80 ± 589.99
	PI	8.2033 ± 0.0577	8.2233 ± 0.1550	8.3467 ± 0.1976	8.2167 ± 0.0153

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与赤芍组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

表 3 各组因赤芍作用而出现的差异蛋白点比较 ($\bar{x} \pm s$)

蛋白点	项目	正常	LPS	赤芍	LPS+赤芍
xPr13	Volume	20733.23 ± 1286.74	34489.73 ± 6730.05 ^{▲▲}	82953.76 ± 20538.47 ^{***△}	59769.88 ± 9769.60 ^{**△▲}
	Mr	64213.81 ± 923.17	63354.84 ± 1013.46	62917.32 ± 1050.37	64263.36 ± 567.25
	PI	6.5500 ± 0.0100	6.4567 ± 0.1457	6.6100 ± 0.1153	6.4467 ± 0.0306
xPr14	Volume	8265.44 ± 2610.04	17533.45 ± 3684.47	21460.24 ± 3815.95 [*]	21743.04 ± 9582.61 [*]
	Mr	41676.14 ± 364.76	41756.39 ± 960.32	40698.27 ± 152.88	41589.50 ± 409.24
	PI	4.8033 ± 0.0378	4.7800 ± 0.0916	4.8267 ± 0.0493	4.7567 ± 0.0808
xPr15	Volume	57437.09 ± 9843.27	48770.92 ± 3024.14 ^{▲▲}	23105.91 ± 8186.81 ^{**}	66928.69 ± 3456.84 ^{▲▲▲}
	Mr	29548.76 ± 234.35	29707.90 ± 536.20	29225.00 ± 73.09	29401.51 ± 348.62
	PI	5.6667 ± 0.0289	5.5833 ± 0.1447	5.6500 ± 0.0794	5.5967 ± 0.0569
xPr17	Volume	14924.76 ± 3153.75	14799.13 ± 1240.56 ^{▲▲}	9244.21 ± 1707.64 ^{*△}	4828.30 ± 2980.20 ^{**△△}
	Mr	44059.63 ± 352.21	44406.85 ± 1206.98	43659.57 ± 102.65	44311.09 ± 406.72
	PI	4.7567 ± 0.0404	4.7267 ± 0.0777	4.7833 ± 0.0551	4.7067 ± 0.0709
xPr18	Volume	54759.12 ± 17237.99	74770.92 ± 2629.43 [▲]	45699.83 ± 12616.29 [△]	35779.73 ± 10209.33 ^{△△}
	Mr	43557.68 ± 320.48	43780.45 ± 1145.48	43129.61 ± 166.81	43631.20 ± 405.27
	PI	4.9267 ± 0.0231	4.8833 ± 0.0862	4.9333 ± 0.0551	4.8533 ± 0.0651

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与LPS组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$;与赤芍组比较,[▲] $P < 0.05$,^{▲▲} $P < 0.01$

xPr9 的点容量值显著降低。

1.2 各组不能被赤芍调节的 LPS 差异蛋白点比较 有 7 个均不能被赤芍调节,结果见表 2。其中:LPS 组和 LPS + 赤芍组的 xPr6、xPr7、xPr8、xPr11、xPr12、xPr23 蛋白点的点容量值均显著高于正常组和赤芍组;LPS 组、赤芍组、LPS + 赤芍组的 xPr19 的点容量值极显著低于正常组;LPS + 赤芍组的 xPr19 的点容量值显著低于赤芍组;LPS 和赤芍两因素 xPr19 ($F = 7.61, P = 0.0247$)有显著的交互作用。

2 各组因赤芍作用而出现的差异蛋白点比较 有 5 个蛋白点未被 LPS 引起明显的差异,但能因赤芍的作用而变化,结果见表 3。其中:赤芍组、LPS + 赤芍组的 xPr13、xPr14 的点容量值均显著高于正常组,赤芍组的 xPr15 的点容量值显著低于正常组,赤芍组和 LPS + 赤芍组的 xPr17 的点容量值均显著低于正常组;赤芍组 xPr13 的点容量值显著高于 LPS 组和 LPS + 赤芍组,赤芍组 xPr15、xPr17、xPr18 的点容量值均显著低于 LPS 组,赤芍组 xPr15 的点容量值显著低于 LPS + 赤芍组;LPS + 赤芍组 xPr13、xPr15 的点容量值均显著高于 LPS 组,xPr17、xPr18 的点容量值均极显著低于 LPS 组;LPS 和赤芍两因素对 xPr13 ($F = 7.61, P = 0.0247$)、xPr15 ($F = 44.67, P = 0.0002$)均有显著的交互作用。

讨 论

以往的研究已证实赤芍等清热凉血药对热毒血瘀证有确切疗效,已从抑制血小板活化聚集、改善血液流变性、抗缺氧、抗自由基损伤、稳定细胞膜、单个或少数几个基因和蛋白质调节等方面阐述其机制。在本研究中,我们考虑到药物在病理状态动物体内的代谢过程

与正常状态下代谢存在的差异,每一味中药的多成分用于治疗疾病的多效性与多作用靶点,中医药治病强调恢复整体功能平衡等特点,开始用蛋白质组学思路进行了赤芍等治疗热毒血瘀证的疗效机制探索。

本结果表明,LPS 致热毒血瘀证大鼠的血清在 2DE 胶上 13 个蛋白点出现非常明显的含量变化,与正常组比较,LPS 组的 xPr16、xPr19 的点容量值均显著降低,xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr6、xPr7、xPr8、xPr9、xPr11、xPr12、xPr23 的点容量值均显著增高。研究这些蛋白点的变化及其相互作用,可以进一步认识机体对 LPS 的分子病理反应。LPS + 赤芍组与 LPS 组比较,LPS 引起增高的 xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr9 的点容量值均显著降低,LPS 引起降低的 xPr16 的点容量值显著增高,除 xPr2、xPr4 外,赤芍在 xPr1、xPr3、xPr9、xPr16 均表现对 LPS 显著的交互作用,这可能体现了赤芍和内毒素之间的功能拮抗作用。LPS + 赤芍组与正常组比较,xPr2、xPr3 两个蛋白点已被明显调节到正常状态,xPr16 的点容量值仍显著低于正常组,xPr1、xPr4、xPr9 的点容量值均显著高于正常组。赤芍组的 xPr16 的点容量值显著低于正常组,xPr1、xPr2、xPr3、xPr4、xPr9 的点容量值与正常组均差异无显著性。说明通过调节这 6 个蛋白点,可能是赤芍治疗热毒血瘀证的疗效的重要的分子基础。这个结果至少有两点意义,一是可以通过蛋白质组技术来研究辨病与辨证结合的应用中药治疗疾病包括危急重症的疗效基础,二是在本研究条件下赤芍不能完全纠正 LPS 致热毒血瘀证的所有蛋白点的变化,合理运用中药复方的协同治疗可能对热毒血瘀证更有效。通过延长赤芍的治疗时间或增加用药量,能否使更多变化的蛋白点恢复到正常状态,也值得进一步研究。

对 xPr19,赤芍和 LPS 两因素显著的交互作用可能是协同的,这种协同作用的出现及意义尚待探明。

赤芍组 xPr13、xPr14 的点容量值均高于正常组, xPr15、xPr17 的点容量值均低于正常组,这 4 个蛋白点在 LPS 组和正常组之间均未见明显的差异。这些变化是赤芍在生物分子网络中发挥治疗作用所必须的呢,还是药物偏性所致不良反应的分子特征? 还需进一步证明。

2DE 具有高灵敏性和信息量大,一次可以分离数千以至上万种蛋白,仍是目前蛋白质组研究的主要手段之一。但 2DE 仍有一定的局限性^[5,6],血清中不同蛋白的浓度差异较大,高丰度蛋白在电泳中影响了蛋白点的分离效果,照顾到高丰度蛋白的分辨率,又影响低丰度蛋白的检出灵敏度,高丰度蛋白分离不开,也可能掩盖其他蛋白点。我们在进一步的研究中,将对血清样品进行各种预分离,来照顾高、低丰度蛋白的分析,通过在不同 pH 梯度等电聚焦的蛋白质组重叠群扩大 2DE 的 pH 梯度范围和分子量范围,分辨更多的蛋白质组组分,特别是极酸、极碱或极低丰度蛋白质组分。

(本研究得到中国中医研究院胡世林、闫小平及军事医学科学院刘少君、胡良平的支持,特此致谢)

参 考 文 献

1 Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, et al. Septic shock in

humans. *Advances in the understanding of pathogenesis, cardiovascular dysfunction and therapy. Ann Intern Med* 1990; 113(3):227—242.

2 Hurley JC. Antibiotic-induced release of endotoxin: a reappraisal. *Clin Infect Dis* 1992;15(5):840—854.

3 姚咏明,王丽芳,董宁,等. 脓毒症大鼠循环及组织内毒素的动态变化. *急诊医学* 2000; 9(6): 367—369.

Yao YM, Wang LF, Dong N, et al. The tissue distribution of endotoxin in septic rats. *J Emergency Med* 2000; 9(6): 367—369.

4 姚咏明,盛志勇. 我国创伤脓毒症基础研究新进展. *中华创伤杂志* 2003; 19(1): 9—12.

Yao YM, Sheng ZY. Fresh advances in basic scientific research on sepsis in China. *Chin J Traumat* 2003; 19(1): 9—12.

5 Humphery-Smith I, Blackstock W. Proteome analysis: genomics via the output rather than the input code. *J Protein Chem* 1997; 16(5):537—544.

6 李蕾,应万涛,杨何义,等. 蛋白质组研究中的二维电泳分离技术. *色谱* 2003; 21(1):27—31.

Li L, Ying WT, Ying HY, et al. Two-dimensional electrophoresis separation technique in proteome research. *Chin J Chromatogr* 2003; 21(1):27—31.

(收稿:2004-01-15 修回:2004-08-11)

第十七次全国中西医结合防治消化系统疾病学术会议
暨第一届深圳国际消化疾病论坛征文通知

中国中西医结合学会消化疾病专业委员会和深圳市消化分会拟于 2005 年 10 月下旬,在深圳召开第十七次全国中西医结合防治消化系统疾病学术会议暨第一届深圳国际消化疾病论坛,同时举办全国中西医结合消化疾病进展继续教育学习班,请全国著名的中西医结合消化病专家授课,参会者颁发国家继续教育学分证书。

1 征文内容 中西医结合诊治幽门螺旋杆菌(HP)相关性疾病、胃肠运动功能紊乱性疾病、慢性肝病和脾胃学说及脾虚证研究进展,其他消化系统疾病的临床治疗经验、实验研究及理论探讨等。

2 征文要求 用 A4 纸打印,寄全文(3 000 字以内)及摘要(800~1 000 字)各 1 份;请附磁盘或通过 E-mail 传送(E-mail:zhongyii@public.bta.net.cn)。请注明作者姓名、单位通讯地址及邮政编码。

3 征文送交地址 北京市东城区美术馆后街 23 号,北京市中医研究所(邮编 100010)郭培元收。

4 截稿日期 2005 年 8 月 31 日。