

· 临床论著 ·

血脂异常症脾虚证患者血清 microRNA
差异表达谱生物信息学分析杨泽民¹ 陈滢宇² 杨小蓉³ 袁前发¹ 陈思羽¹ 何震宇¹ 洪敏²

摘要 **目的** 通过对血脂异常症脾虚证患者血清 microRNA (miRNA) 表达谱和生物信息学分析,从 miRNA 水平上探讨脾虚证的发病机制和辨证分型。**方法** 选择 5 例血脂异常症脾虚证患者和 5 名健康志愿者,通过 miRNA 定量 PCR 芯片实验,筛选出两组之间差异表达的 miRNA,进行靶基因预测和功能注释。**结果** 在血脂异常症脾虚证患者和健康志愿者的血清中发现 12 个差异表达 miRNA,它们能将两组样本很好的区分。靶基因预测和功能注释显示,10 个下调 miRNA 调控的 178 个靶基因显著富集到 9 个 KEGG 通路,主要涉及细菌和病毒等病原体入侵、脂肪酸代谢、DNA 转录和修复、吞噬作用和慢性粒细胞白血病 5 个方面。2 个上调 miRNA 调控的 101 个靶基因显著富集 7 个 KEGG 通路,主要涉及与增值和凋亡相关的信号通路、剪接体、药物代谢和肌萎缩性脊髓侧索硬化症 4 个方面。**结论** 本研究发现了一些血脂异常症脾虚证患者的血清 miRNA 标志物,并从代谢和免疫方面为脾虚证患者的发病机制提供了 miRNA 证据。

关键词 脾虚证;血脂异常症;血清微小 RNA;靶基因预测;功能注释

Bioinformatics Analysis of Differential Expression Profiles from Serum microRNA in Dyslipidemia Patients with Pi-deficiency Syndrome YANG Ze-min¹, CHEN Ying-yu², YANG Xiao-rong³, YUAN Qian-fa¹, CHEN Si-yu¹, HE Zhen-yu¹, and HONG Min² 1 Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Courses, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou (510006); 2 Department of Traditional Chinese Medicine, First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou (510080); 3 Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou (510080)

ABSTRACT **Objective** To explore the pathogenesis and differentiation of Pi-deficiency syndrome from miRNA levels using serum microRNA (miRNA) expression profiles and bioinformatics analysis in dyslipidemia patients with Pi-deficiency syndrome (DLMPDS). **Methods** Five DLMPDS patients and 5 healthy volunteers were recruited to perform miRNA quantitative PCR array experiment. Differentially expressed miRNAs between the two groups were screened to predict target and annotate function. **Results** A total of 12 miRNAs were differentially expressed between the two groups. These differential miRNAs clearly discriminated DLMPDS from healthy volunteers. Target prediction and function annotation showed that 178 targets controlled by 10 down-regulated miRNAs were significantly enriched in 9 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathways, which included five aspects of bacterial and virus invasion, fatty acid metabolism, DNA transcription and repair, phagocytosis, and chronic myeloid leukemia. Furthermore, 101 targets controlled by 2 up-regulated miRNAs were significantly enriched in 7 KEGG pathways, which included 4 aspects of signaling pathways related with proliferation and apoptosis, spliceosome, drug metabolism, and amyotrophic lateral sclerosis. **Conclusion** This study found some ser-

基金项目: 广东省科技计划项目 (No. 2013A032500005); 国家自然科学基金资助项目 (No. 81102703); 广东省自然科学基金项目 (No. 2017A030313837); 广东省中医药管理局项目 (No. 20123001); 广东药科大学自然科学培育项目 (No. GYFYLH201303)

作者单位: 1. 广东药科大学基础学院生物化学与分子生物学系 (广州, 510006); 2. 广东药科大学附属第一医院中医科 (广州 510080); 3. 广东药科大学附属第一医院检验科 (广州 510080)

通讯作者: 洪敏, Tel: 020-61330191, E-mail: 781947466@qq.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20171120.371

um miRNA biomarkers of DLMPDS, as well as provided miRNA evidence for the pathogenesis of DLMPDS from metabolism and immune aspects.

KEYWORDS Pi-deficiency syndrome; dyslipidemia; serum microRNA; target prediction; function annotation

中医“脾”是一个涉及多系统的综合功能单位。本课题组前期基因表达谱的研究发现,脾虚证患者存在大量参与营养物质代谢和免疫调节的基因表达异常^[1-4]。该结果从基因水平揭示了脾虚证的发病机制。但由于基因表达的组织特异性,单一或几个组织的基因表达谱数据很难从整体上达到全面认识脾虚证的目的。最近研究显示,来自不同组织器官的血清微小 RNA (microRNA, miRNA) 表达谱与外周组织的 miRNA 表达谱非常相似,能够很好地反映机体不同的病理、生理状态^[5-7]。因此,血清 miRNA 表达谱可能更好的反映脾虚证患者的整体病理状态。此外,脾与物质代谢密切相关,脾虚失运是导致血脂异常症的重要病机^[8,9]。对此,本研究对比血脂异常症脾虚证患者和健康志愿者血清 miRNA 表达谱,拟从 miRNA 水平上探讨脾虚证患者的发病机制,并为其临床辨证分型提供血清 miRNA 标记物。

资料与方法

1 血脂异常症临床诊断标准 参考中华心血管病杂志编委会血脂异常防治对策专题组“血脂异常防治建议”^[10],确定血脂异常症临床诊断标准,同时也将血清 HDL-C 降低作为血脂异常症诊断标准之一。诊断标准具体如下:正常饮食情况下,检测隔夜禁食 12~14 h 后的血脂水平,不同日期血脂符合下列条件一项或多项 2 次以上即可诊断为血脂异常症:(1) TC ≥ 5.72 mmol/L (220 mg/dL); (2) TG ≥ 1.70 mmol/L (150 mg/dL); (3) LDL-C ≥ 3.64 mmol/L (140 mg/dL); (4) HDL-C ≤ 0.91 mmol/L (35 mg/dL)。

2 中医辨证分型标准 参照《中药新药临床研究指导原则》制定^[11]脾虚证(本文特指脾气虚证)的辨证标准。主症:①舌质淡、舌体胖或有齿印,苔薄白;②胃纳减少或食欲差;③腹胀;④大便溏或腹泻。次症:①消瘦;②体倦乏力;③脉细弱。判断:主症①必备。兼具主症②、③、④之二;或兼具主症②、③、④之一,同时兼具 2 个以上次症,即可诊断。中医辨证分型由 2 位中医师单独进行,对中医证型有分歧,则与第 3 位人员讨论后确定。如有兼夹证候,脾虚证必须占全部证候的 2/3 以上。

3 血脂异常症脾虚证患者的纳入及排除标准

纳入标准:年龄 42~58 岁,同时符合血脂异常症诊断标准和脾虚证的辨证分型标准,并签署知情同意书。
排除标准:合并有除血脂异常症外的其他内分泌或心血管疾病者;合并有感染和炎性疾病者;合并有精神病患者;合并有心、脑、肝、肾和造血系统等严重器质性疾病者;妊娠或哺乳期女性。

4 健康志愿者的纳入标准 健康志愿者由主任医师(洪敏)通过健康体检和会诊确定。纳入标准:年龄 42~58 岁,无明显西医疾病,无超重和家族糖尿病,无典型中医证候,并签署知情同意书。

5 一般资料 10 例受试者均来自 2015 年 4 月—2016 年 4 月广东药科大学附属第一医院中医科的门诊患者或本院体检中心的健康检查者。5 例脾虚证患者,其中 3 例女性和 2 例男性,年龄 43~58 岁,平均 (48.6 ± 6.1) 岁;病程 3~8 年,平均 (4.5 ± 5.6) 年,全部为高胆固醇血症,其中 1 例伴有高甘油三酯和低密度脂蛋白血症;5 名健康志愿者,其中 3 名女性和 2 名男性,年龄 42~58 岁,平均 (50.4 ± 7.4) 岁。两组年龄、性别比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。本研究在获得广东药科大学附属第一医院理论委员会的授权下进行,伦理审批批号为[2013]临审(15)号。

6 血清样品的采集 所有受试者在早晨 7:00—9:00 的空腹状态下,用无抗凝剂的采集管,抽取 3 mL 静脉血,4℃ 凝血 1 h 后,1 000 r/min 离心 10 min,收集血清。血清标本被分装在无 RNA 酶的冻存管中,−80℃ 保存备用。整个过程在采血后 2 h 内完成。

7 血清 miRNA 定量 PCR 芯片实验 取 1 mL 血清加入适量的 Trizol (Invitrogen life technologies, USA) 试剂,再通过酚氯仿的方法提取总 RNA。总 RNA 经质控后,被用于 miRNA 定量 PCR 芯片实验。本研究选择 Exiqon 公司 (Danmark) 的血清/血浆 miRNA 定量 PCR 芯片,该芯片包含人类 372 个成熟 miRNA,用于检测血脂异常症脾虚证患者的血清 miRNA 表达谱。首先,利用 miRNA 逆转录试剂盒 (Exiqon, Danmark) 将 20~25 ng 的总 RNA 反转录成 cDNA;然后,按照荧光染料 (SYBR Green) 定量 PCR 试剂盒的操作说明,在 ABI PRISM7900 定量 PCR 仪 (Applied Biosystems, USA) 上对 cDNA 进行实时定量 PCR 扩增。PCR 反应条件为:95℃ 预

变性 10 min, 然后 95 ℃ 10 s, 60 ℃ 60 s, 进行 38 个循环; 最后, 在 PCR 结束后进行融解曲线分析。所有仪器和试剂盒的操作方法按照厂家的使用说明进行。

8 差异表达 miRNA 的筛选 本研究选择各样品中表达稳定的看家基因 SNORD38B 和 SNORD49A 作为内参, 对于 ≥ 38 个 C_t 值的数据在进行数据处理时默认为 38 个 C_t 值。最后利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 的方法, 计算血脂异常症脾虚证患者与健康志愿者之间每个 miRNA 的相对表达值, 即表达倍数。对于表达倍数 < 1.00 的数据进行负倒数处理。两组之间 miRNA 表达量的差异采用 t 检验。本研究差异表达 miRNA 的筛选标准为表达倍数 ≥ 5.0 , 且 $P < 0.05$ 。表达倍数为负值表示该 miRNA 在脾虚证患者血清中表达下调, 正值则表示上调。数据分析利用 GenEx qPCR (Exiqon, Denmark) 和 SPSS 18.0 (IBM, USA) 软件进行。

9 差异 miRNA 生物信息学分析

9.1 层次聚类分析 将 10 个临床样本的差异表达 miRNA 和表达倍数导入 MeV 4.9 (TM4, USA) [12] 软件, 并利用中位数中心法校正 miRNA/行, 然后选择欧式距离测度和全连接聚类的连接方式, 构建样本和 miRNA 的层次聚类图。

9.2 miRNA 靶基因预测和功能注释 利用综合数据库 miRSystem (version 20150312) [13] 对 miRNA 进行靶基因预测和功能注释。该数据库整合有 TarBase 和 miRecords 2 个实验验证数据库, 和 Diana-microT、miRanda、miRBridge、PicTar、PI-TA、RNA22、Targetscan 等 7 预测数据库, 用于靶基因的预测。此外, 该数据库整合有 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)、GO (Gene Ontology) 分子功能、Biocarta 等 5 个数据库, 用于靶基因的功能注释。而且该数据库还提供了 O/E 比值、超几何和经验 P 值等统计学方法, 用于鉴定富集通路和生物学功能的显著性。本研究将 miRNA 及其表达倍数上传到数据库中, 对被实验验证或被 3 个以上预测数据库鉴定的靶基因, 进行 KEGG 通路和 GO 分子功能注释。而且功能注释中的总基因数设定为 25 ~ 500 个基因, O/E 比值设定为 ≥ 2.0 , $P < 0.05$ 。

结 果

1 血脂异常症脾虚证患者和健康志愿者差异表达血清 miRNA (图 1) 本研究发现 12 个差异表达的血清 miRNA, 其中 10 个 miRNA 在脾虚证患者的

血清中表达下调, 2 个 miRNA 表达上调。

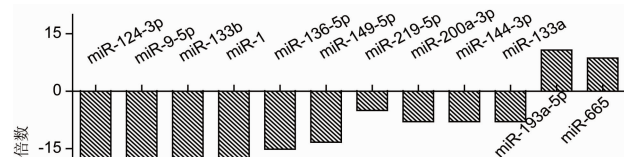
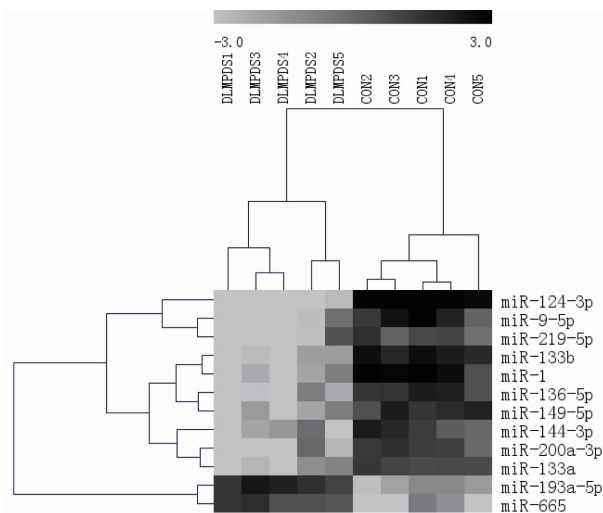


图 1 血脂异常症脾虚证患者与健康志愿者之间的差异表达 miRNA

2 差异表达 miRNA 和样本聚类分析 (图 2) 12 个差异 miRNA 的表达水平能够将血脂异常症脾虚证患者和健康志愿者分成两类, 而且上调和下调 miRNA 也被分成两类。



注: 颜色深的表示上调 miRNA, 颜色浅的表示下调 miRNA; DLMPDS 表示血脂异常症脾虚证患者; CON 表示健康志愿者

图 2 差异表达 miRNA 和样本层级聚类图

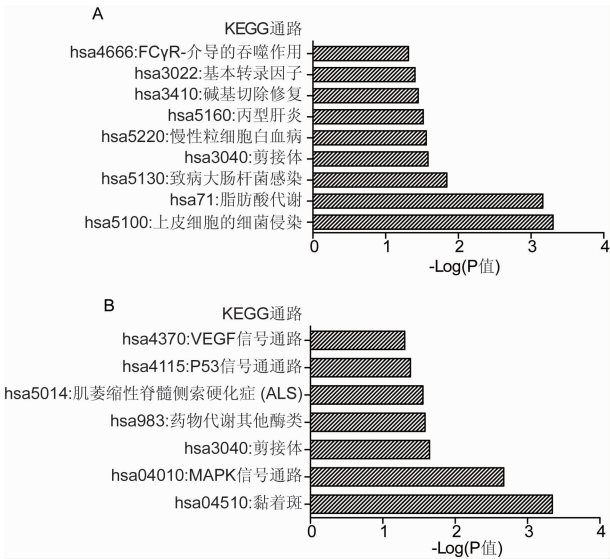
3 差异表达 miRNA 靶基因预测和功能注释 (图 3, 表 1、2) miRSystem 数据库对 miRNA 靶基因预测结果显示, 血脂异常症脾虚证患者血清中表达下调的 10 个 miRNA 调控 178 个靶基因, 上调的 2 个 miRNA 调控 101 个靶基因。功能注释结果, 未发现富集的 GO 分子功能, 发现多个富集的 KEGG 通路, 其中下调 miRNA 的靶基因富集 9 个 KEGG 通路, 上调 miRNA 的靶基因富集 7 个 KEGG 通路。下调 miRNA 富集的 KEGG 通路主要包括细菌和病毒等病原体入侵、脂肪酸代谢、DNA 转录和修复、吞噬作用和慢性粒细胞白血病 5 个方面。上调 miRNA 富集的

KEGG 通路主要包括与增值和凋亡相关的信号通路、剪接体、药物代谢和肌萎缩性脊髓侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) 4 个方面。

讨 论

本研究利用定量 PCR 芯片首次对血脂异常症脾虚证患者和健康志愿者的血清 miRNA 表达谱进行了报道,发现差异表达的 12 个血清 miRNA 能够很好地将两组样本分开。进一步功能注释显示,两组差异表达 miRNA 的靶基因显著富集到包括病原体入侵、DNA 转录和修复、信号转导通路、脂肪酸代谢、吞噬作用、药物代谢等在内的多个 KEGG 通路。这些结果为血脂异常症脾虚证患者的辨证分型和发病机制的研究提供了依据。

中医学认为“脾胃不足百病丛生”,提示脾虚患者机体免疫力下降。本研究发现血脂异常症脾虚证患者下调 miRNA 靶基因显著富集上皮细胞的细菌侵入、致病性大肠杆菌感染和丙型肝炎 3 个 KEGG 通路,该结果提示脾虚证患者由于机体免疫力下降,包括细菌和病毒在内的病原体入侵更为容易。此外,免疫低下与肿瘤的发生和发展密切相关^[14]。有研究显示,90% 以上的消化道肿瘤患者在确诊前的 2 ~ 12 个月都有不同程度的脾虚证候^[15],而且肿瘤患者脾虚证候的出



注:A 为下调 miRNA;B 为上调 miRNA

图 3 差异表达 miRNA 靶基因富集的 KEGG 通路

表 1 下调 miRNA、靶基因和富集的 KEGG 通路

KEGG 通路	通路中的靶基因	调控靶基因的 miRNA
上皮细胞的细菌侵入	动力蛋白 2 (DNM2)	miR-124-3p;miR-133a-3p;miR-133b
	肌动蛋白相关蛋白复合体亚基 1A (ARPC1A)	miR-1;miR-9-5p
	网格蛋白轻链 A (CLTA)	miR-133a-3p;miR-133b
	肌动蛋白相关蛋白复合体亚基 1B (ARPC1B);SHC 转化蛋白 3 (SHC3)	miR-124-3p
脂肪酸代谢	烯酰 CoAδ 异构酶 2 (PECI);长链脂酰 CoA 脱氢酶 (ACADVL);脂酰 CoA 酰基转移酶 2 (ACAA2);戊二酰 CoA 脱氢酶 (GCDH)	miR-124-3p
致病大肠杆菌感染	ARPC1A	miR-1;miR-9-5p
	ARPC1B;微管蛋白 β6 类 (TUBB6)	miR-124-3p
剪接体	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 盒解旋酶 5 (DDX5)	miR-200a-3p;miR-1
	X 连锁 RNA 结合基序蛋白 (RBMX);剪接因子 3B 亚基 4 (SF3B4)	miR-133a-3p;miR-133b
	mRNA 前体加工因子 31 (RP11-78J21.1)	miR-149-5p
慢性粒细胞白血病	羧基端结合蛋白 2 (CTBP2)	miR-200a-3p;miR-1;miR-133a-3p;miR-133b
	脊髓发育不良症相关蛋白 1 (EVI1)	miR-133a-3p;miR-133b
	SHC3	miR-124-3p
丙型肝炎	蛋白磷酸酶 2 催化亚基 α 同工酶 (PPP2CA)	miR-200a-3p;miR-219a-5p;miR-133a-3p;miR-133b
	蛋白磷酸酶 2 调节亚基 BΔ (PPP2R2D)	miR-133a-3p;miR-133b
	封闭蛋白 14 (CLDN14)	miR-9-5p
	核受体亚家族 1, H 群成员 3 (NR1H3)	miR-1
碱基切除修复	ADP 核糖聚合酶 2 (PARP2)	miR-200a-3p
	APEX 核酸酶 (无嘌呤/嘧啶内切酶) 2 (APEX2)	miR-124-3p
基本转录因子	TBP 样 1 (TBPL1)	miR-9-5p;miR-133a-3p;miR-133b
	通用转录因子 IIIB (GTF2B)	miR-1-3p
FCyR 介导的吞噬作用	DNM2	miR-124-3p;miR-133a-3p;miR-133b
	ARPC1A	miR-1;miR-9-5p
	ARPC1B	miR-124-3p

表 2 上调 miRNA、靶基因和富集的 KEGG 通路

KEGG 通路	通路中的靶基因	调控靶基因的 miRNA
黏着斑	I 型胶原蛋白 $\alpha 1$ (COL1A1); 络丝蛋白 (RELN)	miR-193a-5p
	透明相关成蛋白 1 (DIAPH1); ETS 癌基因家族成员 (ELK1); 激酶嵌入结构域受体 (一个 III 型酪氨酸激酶受体) (KDR); SHC 转化蛋白 1 (SHC1)	miR-665
MAPK 信号通路	钙离子通道电压依赖型 T 型 $\alpha 1G$ 亚基 (CACNA1G); ELK1; 成纤维细胞生长因子 9 (FGF9); 钙离子通道电压依赖型 $\beta 3$ 亚基 (CACNB3)	miR-665
剪接体	双重特异性磷酸酶 5 (DUSP5); 核糖体蛋白 S6 激酶多肽 4 (RPS6KA4)	miR-193a-5p
	间接因子 3A 亚基 3 (SF3A3); 富含丝、精氨酸剪接因子 6 (SFRS6)	miR-193a-5p
	精氨酸剪接因子 4 (SFRS4)	miR-665
药物代谢其他酶类	IMP 脱氢酶 1 (IMPDH1); 尿苷磷酸化酶 2 (UPP2)	miR-665
ALS	神经纤毛轻多肽 (NEFL)	miR-193a-5p
	线粒体外膜 40 同源物样移位酶 (TOMM40L)	miR-665
P53 信号通路	BCL2 结合组件 3 (BBC3); 依托泊苷诱导 2.4 (EI24)	miR-665
VEGF 信号通路	KDR; 含 2A 的 SH2 结构域 (SH2D2A)	miR-665

现,与其化疗预后不佳、生存期缩短密切相关^[16,17]。本研究发现,血脂异常症脾虚证患者上调 miRNA 靶基因显著富集黏着斑、MAPK、VEGF 和 P53 信号通路,这些 KEGG 通路调控细胞的增值、分化和凋亡,它们与肿瘤的发生密切相关。该结果为脾虚证在肿瘤发生中的作用提供了一些依据,同时也提示了脾虚证患者可能存在多个细胞信号通路异常。

“脾主运化”,是脾的主要生理功能。有研究提示,脾的运输和转化功能,不仅包含食物的消化吸收,而且也包含营养物质在体内的代谢转化和输送过程,这与物质代谢有着共同之处^[8]。本研究发现血脂异常症脾虚证患者下调和上调 miRNA 的靶基因显著富集脂肪酸代谢、吞噬作用和药物代谢相关的 KEGG 通路,这些 KEGG 通路直接参与脂肪酸和药物的代谢和输送过程。此外,血脂异常症脾虚证患者差异 miRNA 的靶基因显著富集切除修复、基本转录因子和剪接体 KEGG 通路,这些 KEGG 通路直接参与 DNA 修复、转录和转录后加工过程。本课题组前期在慢性胃炎脾虚证患者胃黏膜基因表达谱的研究中发现,参与脂肪酸代谢和剪接体的 ACADVL、ACAA2 和 SF3A3 基因表达异常,而且脾虚证患者存在参与 DNA 修复和转录调控相关的基因表达异常^[1,2]。这些结果提示血脂异常症脾虚证患者除了存在包括脂肪酸在内代谢和输送异常之外,还存在 DNA 修复和转录调控异常。

此外,“脾统血”和“脾主肌肉四肢”也是脾的功能范畴。本研究发现血脂异常症脾虚证患者差异表达 miRNA 的靶基因显著富集慢性粒细胞白血病和肌萎缩性脊髓侧索硬化症两个 KEGG 通路。慢性粒细胞白血病临床常表现出血倾向和脾大等症状,而肌萎缩

性脊髓侧索硬化症临床常表现四肢、躯干等肌肉无力和萎缩等症状。因此,该结果可能为这两个疾病的治疗提供了一些思路。

综上所述,本研究利用 miRNA 定量 PCR 芯片在血脂异常症脾虚证患者和健康志愿者之间筛选出 12 个差异表达血清 miRNA,这些 miRNA 能够很好地将两组标本分开,可作为血脂异常症脾虚证患者临床辨证的潜在生物标记物。这些 miRNA 生物信息学分析结果,一定程度地解释了脾的生理病理功能,这将为脾虚证发病机制的认识和研究提供依据。此外,本研究虽然提高了差异表达 miRNA 筛选和靶基因预测的条件,尽量降低了假阳性,获得了一些了对脾虚证证候本质和临床辨证有意义的结果。但是本研究的样本数量有限,miRNA 靶基因未能验证,这些都是下一步研究的重点。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] 杨泽民,陈蔚文,王颖芳.慢性浅表性胃炎脾虚证患者与健康人物质能量代谢基因差异表达研究[J].中国中西医结合杂志,2013,33(2):159-163.
- [2] 杨泽民,陈蔚文,王颖芳.慢性浅表性胃炎脾虚与脾胃湿热证患者物质能量代谢基因差异表达研究[J].中国中西医结合杂志,2012,32(9):1180-1187.
- [3] 陈龙辉,杨泽民,陈蔚文,等.2型糖尿病脾气虚证和血瘀证免疫与物质代谢相关基因差异表达的研究[J].中华中医药杂志,2015,30(10):3634-3638.
- [4] Chen L, Yang Z, Chen W, et al. Differential expression of immune-related genes between healthy volunteers and type 2 diabetic patients with spleen-deficiency pattern[J]. J Tradit Chin Med, 2015, 35(6): 646-652.

- [5] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116(2): 281–297.
- [6] Karolina DS, Armugam A, Tavintharan S, et al. MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e22839.
- [7] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases [J]. Cell Res, 2008, 18(10): 997–1006.
- [8] 杨泽民, 陈蔚文. 脾虚证与物质能量代谢紊乱相关性研究进展[J]. 广州中医药大学学报, 2012, 29(3): 332–336.
- [9] 周佳, 陈娇, 韦双双. 从脾论治高脂血症[J]. 长春中医药大学学报, 2016, 32(2): 309–312.
- [10] 血脂异常防治对策专题组. 血脂异常防治建议[J]. 中华心血管病杂志, 1997, 25(3): 169–173.
- [11] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则[M]. 第二辑. 北京: 中国医药科技出版社, 1995: 114–117.
- [12] Saeed AI, Sharov V, White J, et al. TM4: a free, open-source system for microarray data management and analysis [J]. Biotechniques, 2003, 34(2): 374–348.
- [13] Lu TP, Lee CY, Tsai MH, et al. miRSystem: an integrated system for characterizing enriched functions and pathways of microRNA targets [J]. PLoS One, 2012, 7(8): e42390.
- [14] Prendergast GC, Jaffee EM. Cancer immunotherapy: immune suppression and tumor growth [M]. Burlington: Academic Press, 2007: 1–97.
- [15] 蒋民主. 脾虚与消化道肿瘤的早期临床意义—附消化道肿瘤 114 例临床分析 [J]. 新疆中医药, 1988, (3): 7–8.
- [16] 赵仙铭, 李伟林. 162 例晚期肿瘤患者脾虚证临床分析 [J]. 实用中医药杂志, 1998, 14(9): 26–27.
- [17] 罗安明, 戎志斌. 肿瘤以脾虚为本探析 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(2): 164–165, 275.

(收稿: 2017-03-27 在线: 2017-12-29)

责任编辑: 白霞

中国中西医结合杂志社获第四届中国出版政府奖先进出版单位奖

我国新闻出版领域的最高奖——第四届中国出版政府奖 2018 年 1 月 17 日正式公布! 中国中西医结合杂志社获先进出版单位奖!

中西医结合医学, 是我国经历了半个多世纪的自主创新研究, 在世界上首创的一门新兴交叉学科, 是我国为数不多的在世界上独创的新学科之一。中西医结合医学已赢得国内及国际公认, 促进越来越多的国家重视开展传统医药与现代医药结合研究, 涌现出如日本的结合医学、韩国结合医学、美国结合医学研究等不同特点的结合医学, 表明全球性结合医学研究正在兴起。这些不同特点的结合医学均源于中国的中西医结合医学研究, 体现了我国中西医结合医学在世界范围的示范和带动作用。

中国中西医结合杂志社创办于 1981 年, 现出版《中国中西医结合杂志》和 *Chinese Journal of Integrative Medicine* 两本期刊。在三十多年里, 中国中西医结合杂志社在主编陈可冀院士的带领下以及编辑部努力下, 不断发展壮大并获得无数荣誉。同时为中西医结合以及中医的发展做出了重要贡献。

杂志社的发展也离不开广大作者、读者以及专家的关心与厚爱, 离不开主办单位和主管单位的大力支持。杂志社愿与诸位同道继续前行, 齐心合力共同发展中西医结合与中医事业!