

· 思路与方法学 ·

从 miRNAs 功能特点谈中医药研究思路

尹素改 吴耀松 陈玉龙 马俊华

摘要 本文简述了 miRNAs 功能特点,从脏腑关系、证候研究、中医病机、中药作用 4 个方面讨论了中医药与 miRNAs 研究的契合点。笔者认为 miRNAs 可作为脏腑相互联系的信息介质,可用以解释中医病机、揭示中医药部分作用分子机制,体液中 miRNAs 可以作为证候的生物学基础之一。

关键词 小分子;中医药;研究思路

Discussion of Chinese Medical Research Ideas from miRNAs Features YIN Su-gai, WU Yao-song, CHEN Yu-long, and MA Jun-hua *Experimental Center for Molecular Biology, Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou (450046), China*

ABSTRACT In this paper, miRNAs features were briefly introduced and agreeable points were discussed from 4 aspects: organs relationship, syndrome research, Chinese medical pathogeneses, and actions of Chinese herbs. miRNAs, as information media for organs interrelation, was believed to explain Chinese medical pathogeneses and reveal partial molecular mechanisms of Chinese medicine. miRNAs in the body fluid could be taken as one of biological bases of syndromes.

KEYWORDS miRNA; Chinese medicine; research ideas

小分子 RNA (miRNAs) 是一类具有调节作用的约 22 个核苷酸的非编码 RNA, 可通过调节靶基因的表达而在发育、分化、细胞增殖、凋亡、应激反应等生理和病理过程中发挥重要作用^[1]。因此, 其功能和生物过程成为近年来分子生物学领域研究的热点, 也成为目前药物研发的重要靶点。

同时, 中医药的研究越来越被世人关注, 与现代科技发展结合得越来越紧密, miRNAs 功能阐释及作用特点必将为中医药的现代研究另辟一视角。但是, 目前有关中医药相关的 miRNAs 研究报道较少。本文通过简述 miRNAs 功能特点以探讨 miRNAs 与中医药研究的切入点。

1 miRNAs 功能特点 miRNAs 通过与靶编码蛋白 mRNA 的 3' 端非翻译区 (untranslated regions, UTR) 结合起到使其降解或阻止蛋白翻译的作用。一般认为, 如果 miRNAs 和其靶基因 mRNA 3'

UTR 碱基完全互补则引起其降解, 反之, 不能完全互补则导致翻译蛋白受阻^[2]。

miRNAs 生理功能主要通过其靶基因反映出来。一个 miRNA 可以调节多个靶编码蛋白 mRNA, 一个编码蛋白 mRNA 也可被多个 miRNA 调节。因此, 一个 miRNA 通过其多个靶基因可以调节多个生物过程和信号通路, 如 miR-133a 参与了丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs)、细胞因子间、细胞黏附、细胞骨架等多个细胞信号通路的调节^[3]。这种多靶点、多环节的功能特点, 一旦出现失常, 可能引起疾病发生, 例如有许多 miRNA 和肿瘤发生、发展密切相关^[4]。

近来又发现, miRNAs 可在血清、血浆、尿液、唾液及其他体液中存在, 并且可以在细胞间转移, 提示它可以作为细胞间传递信息的介质, 有人甚至认为其有类激素样的功能。细胞间的 miRNAs 可以通过受体细胞的泡吞、吞噬、融合或蛋白受体结合等形式进入细胞, miRNAs 进入细胞后可以发挥相应的生理功能。有研究发现 T 细胞和抗原呈递细胞间、树突状细胞间、正常细胞和肿瘤细胞间、肿瘤细胞之间、肿瘤细胞和上皮细胞、巨噬细胞之间皆可进行 miRNAs 传递, 并发生效应^[5,6]。

研究发现循环表达的 miRNA 和多种疾病如肿

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81173177); 国家“十一五”、“十二五”艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治专项 (No. 2009ZX10005-021, No. 2012ZX10005001-005)

作者单位: 河南中医学院分子生物实验中心 (郑州 450046)

通讯作者: 陈玉龙, Tel: 0371-65680206, E-mail: cyl72621@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.10.1260

瘤、糖尿病、组织损伤等高度相关,提示 miRNA 可以作为诊断此类疾病和判断预后的生物标志物。如食管鳞癌患者和健康对照组血清中的 miRNAs 有明显差别,其中 7 个可以作为食管鳞癌血液中的生物标志物,而血清中 miR-486、miR-30、miR-1 和 miR-499 可以作为预测小细胞肺癌生存率的重要因子^[7,8]。

2 与中医药研究的切入点 miRNAs 这种在体液中的存在及能够在细胞间转移的特点,反映了机体的整体性。局部出现的病理,可以反映在周身流动的体液或血液中,周身流动的体液中的 miRNAs 也可以进入的各个组织细胞中,并发挥效应,从而使机体处于某种疾病态,这比较符合中医的整体观。因此,miRNAs 可以与中医药多个研究领域契合。

2.1 miRNAs 可作为脏腑相互联系的信息介质 中医学认为人体脏腑间经络相通、气血相互渗灌,达到“使道”相通,从而生理功能上相互配合、病理上相互影响。脏腑间相互专递信息的介质有很多,如激素、细胞因子、生物电等,能够在组织周围进行交换及在体液中流通的 miRNAs 也应是脏腑进行信息传递的介质之一。虽然研究表明,每个脏器或每种细胞都有特异表达的 miRNAs,但这些 miRNAs 可以通过胞吐或其他途径进入其周围环境,对周围细胞起到调节作用,也可以进入到血液或其他体液中,运行到远端,进入远端组织器官中的细胞中并起到调节作用^[9,10]。对于相互表里的脏腑、相互为合的五体和五脏之间,是否有特异的 miRNAs 相互联系,都需要去探索。

2.2 体液中 miRNAs 可以作为证候的生物学基础之一 证候是以机体整体表现和中医理论为依据归纳出来的病理实质的概括。多年来,学者一直希望找到中医证候的现代生物学基础及证候的生物标志物,然而研究表明,中医证候不可能以某一指标来确立^[11]。系统生物学的理论、各组学研究技术及生物信息学为中医证候的研究提供了研究思路。但是,就目前来说,无论是基因组学、转录组学还是蛋白组学,在中医证候研究中取哪里的标本进行检测是大家争论的焦点。以病变局部组织为标本、还是以血液为标本是大家常考虑的问题。局部组织如肿瘤组织在组学研究中常常和正常组织对照,从而找出病变和正常之间的差异表达物。但是证候是整体病理状态的反应,单纯的局部组织当然不能反映机体整体状况,对于证研究来说具有很大的局限性。血液流通全身可以一定程度反映整体,转录组学多检测 mRNA,而 mRNA 容易降解,血液中其他组织来源 mRNA 多已降解,所存在的主要来源于血细胞,因此从 mRNA 表达来说并不能

反映整体。用蛋白组学技术进行血浆或血清蛋白检测也遇到一定问题,因为只能检测到细胞能够分泌的一定量的蛋白质。而 miRNAs 在体液中能够反映疾病病理状态的存在及能够在细胞间隙转移的特点,正好弥补了 mRNA 和蛋白从血液中检测所具有的不足。因此,应用基因芯片或者定量 PCR 等方法可以检测不同证候及正常人血液中的 miRNAs,研究 miRNA 表达谱,可以一定程度的反映证候的物质基础,并有望找出证候的生物标志物,为临床证候诊断和疗效评价服务。

2.3 miRNAs 可用以解释中医病机 miRNA 参与肿瘤、艾滋病、心肌梗死、糖尿病等多种疾病发生、发展过程。如对艾滋病病机的认识,有人认为其系湿热疫毒之邪为患,提出了“艾毒伤元”假说,但其分子机制如何尚需要进一步揭示^[12]。研究表明,人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染机体后,能够导致人体免疫细胞 miRNAs 表达发生改变,其表达谱可以反映病毒载量及 CD4⁺ 细胞数目,如原在 T 细胞中高表达的 miR-223、miR-150 等明显下调^[13],由此从 miRNA 角度可解释“艾毒伤元”部分分子机制。另外,研究也发现 HIV 的 TAR miRNA 可以改变宿体细胞的凋亡基因表达^[14],从而改变细胞周期和防止凋亡,此可以说明不出现凋亡的感染细胞能形成储存病毒的潜在病毒池。由此可以部分解释所谓湿热疫毒其性黏滞难以治疗的原因。对于其他感染性疾病,也可以试从 miRNAs 角度阐释其传化的分子机制。

对于肿瘤病机来说,笔者根据《灵枢·水胀》提出“恶气”产生是肿瘤发生的直接机制,而痰、瘀、毒等只是肿瘤发生条件,或者环境。有痰、瘀、毒这样的环境如果没有“恶气”产生就不能发生肿瘤,只有产生了“恶气”才能使机体产生肿瘤。又根据肿瘤微环境提出了所谓“恶气”就是促使机体细胞突变、促进肿瘤细胞生长、增殖的肿瘤微环境中的各类分子,也包括 miRNAs^[15]。就目前对 miRNAs 研究结果可知,不但肿瘤细胞内部的 miRNAs 表达出现了改变,肿瘤细胞和周围环境各类细胞可以通过 miRNAs 进行信息交流,从而形成更适合肿瘤生长的环境,并有可能通过循环 miRNAs 进入远端器官,使之成为适合所转移的肿瘤细胞生存环境,促成远端转移。当然,也有可能通过 miRNAs 干预体液和血液循环,形成所谓痰、瘀的舌象、脉象等表型。由此可以更深入理解“恶气”,也更能深入理解痰、瘀、毒导致肿瘤产生的机理,及由于肿瘤又进一步产生痰、瘀这些病理产物的机制。

2.4 miRNAs 可用以揭示中药部分作用分子机制 miRNA 的多靶点、多环节功能特点和中医药治疗疾病的特点很近似,中医药也可能通过作用于 miRNA 而发挥效应。研究发现,艾迪注射液可以改变乳腺癌细胞的 miRNA 表达谱,而丹参酮 II A 对于梗塞后心肌细胞可以通过抑制 miR-1 的表达调节 p38 MAPK 信号通路^[16,17]。这些研究对于从 miRNA 角度揭示中医药的分子作用机制来说是很好的尝试,在以后的研究中会有越来越多的学者沿袭此思路。另外,以现有已确定和某种疾病密切相关的 miRNA 作为靶点,进行治疗该疾病的中药有效成分的筛选和新药研发的平台亟待建立。

外源性 miRNA 可以进入机体发挥作用。研究发现外源性植物可以进入机体。MIR168a 是一种稻米中富含的同时也是中国人血清中含量最为丰富的一种植物微 miRNA。体内和体外的功能性研究表明,植物 MIR168a 可以结合人和小鼠的低密度脂蛋白受体衔接蛋白 1 (low density lipoprotein receptor adapter protein 1) 的 mRNA,从而抑制其在肝脏的表达,进而减缓低密度脂蛋白从血浆中的清除。由此证明食物中植物 miRNA 可以进入哺乳动物并调节其靶基因^[18]。这给了我们关于分析中药有效成分的重要信息,中药中大部分是植物,这些植物药中的 miRNA 会不会进入身体,并具有调节功能呢?研究已从人血液中分离出了丹参和生地黄 miRNA^[19],但是否起调节作用,需进一步研究。由此,中药中可能存在新一类有效成分,此有待于广泛深入开展研究。

中医药对 miRNA 的调节可以作用在 miRNAs 生物发生的全过程,既可能对其表观遗传、转录因子进行调节,也可以对转录后 Drosha 过程、pre-miRNA 运输、Dicer 过程、RNA 降解、RNA 修饰及多重反馈进行调节,同时也可以对细胞 miRNAs 分泌全过程进行调节。总之,miRNA 具有一定整体性的功能特点可与中医药多个研究领域契合,随着生命科学对 miRNA 研究的深入,中医药研究与之所切入区域也会越来越细致,这无论对于生命科学发展本身还是对中医药的分子机制研究,都无疑具有重大意义。

参 考 文 献

- [1] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions[J]. Cell, 2009, 136(2): 215-233.
- [2] Fabian MR, Sonenberg N, Filipowicz W. Regulation of mRNA translation and stability by microRNAs[J]. Annu Rev Biochem, 2010, 79: 351-379.
- [3] Nohata N, Hanazawa T, Enokida H, et al. microRNA-1/133a and microRNA-206/133b clusters: dysregulation and functional roles in human cancers[J]. Oncotarget, 2012, 3(1): 9-21.
- [4] Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, et al. MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin[J]. Nat Biotechnol, 2008, 26(4): 462-469.
- [5] Cortez MA, Bueso-Ramos C, Ferdin J, et al. MicroRNAs in body fluids - the mix of hormones and biomarkers[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2011, 8(8): 467-477.
- [6] Kosaka N, Iguchi H, Ochiya T. Circulating microRNA in body fluid: a new potential biomarker for cancer diagnosis and prognosis[J]. Cancer Sci, 2010, 101(10): 2087-2092.
- [7] Zhang C, Wang C, Chen X, et al. Expression profile of microRNAs in serum: a fingerprint for esophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Chem, 2010, 56(12): 1871-1879.
- [8] Hu Z, Chen X, Zhao Y, et al. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(10): 1721-1726.
- [9] Mao W, Li Z, Xia X, et al. A combined approach of high-throughput sequencing and degradome analysis reveals tissue specific expression of microRNAs and their targets in cucumber[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e33040.
- [10] Morello M, Minciaccchi VR, de Candia P, et al. Large oncosomes mediate intercellular transfer of functional microRNA[J]. Cell Cycle, 2013, 12(22): 3526-3536.
- [11] 苏式兵, 胡义扬, 赵立平, 等. 慢性乙型病毒性肝炎中医证候生物学基础的研究思路[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(2): 252-255.
- [12] 彭勃, 李华伟, 谢世平, 等. 论艾毒伤元[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(1): 17-20.
- [13] Houzet L, Yeung ML, de Lame V, et al. MicroRNA profile changes in human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) seropositive individuals[J]. Retrovirology, 2008, 5: 118-127.
- [14] Klase Z, Winograd R, Davis J, et al. HIV-1 TAR miRNA protects against apoptosis by altering cellular gene expression[J]. Retrovirology, 2009, 6: 18-35.
- [15] 陈玉龙, 司富春, 王庆其. 恶气与肿瘤病机关系探讨[J]. 河南中医学院学报, 2004, 19(6): 9-11.

- [16] Zhang H, Zhou QM, Lu YY, et al. Aidi Injection alters the expression profiles of microRNAs in human breast cancer cells [J]. J Tradit Chin Med, 2011, 31(1): 10-16.
- [17] Zhang Y, Zhang L, Chu W, et al. Tanshinone IIA inhibits miR-1 expression through p38 MAPK signal pathway in post-infarction rat cardiomyocytes [J]. Cell Physiol Biochem, 2010, 26(6): 991-998.
- [18] Zhang L, Hou DX, Chen X, et al. Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDL-RAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA [J]. Cell Res, 2012, 22(1): 107-127.
- [19] 王宇亮, 王颖芳, 杨泽民, 等. 丹参、生地黄中 miRNA 在人体血液中分离、鉴定及表达分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 121-124
- (收稿: 2013-02-06 修回: 2014-01-19)

2015 全国中西医结合皮肤性病学术年会征文通知

经中国中西医结合学会批准, 中国中西医结合学会皮肤性病专业委员会定于 2015 年 4 月 16—20 日在湖南长沙圣爵菲斯酒店召开 2015 全国中西医结合皮肤性病学术年会。此次会议将发扬历年年会的优良传统, 注重中西医结合治疗皮肤病的新方法及新的研究进展等方面的学术交流, 内容密切联系临床, 切合皮肤科医师的实际需求, 会议将邀请知名专家做特邀演讲, 阐述皮肤科相关领域的最新研究进展, 创造形式多样、内容充实、紧张热烈、活跃互动的学术交流形式, 达到全国皮肤科中医、西医、中西医结合医师共同展现才华、获取知识和信息、增强友谊和情感的目的, 拟参加会议者请在规定的时间内按要求投稿。

投稿要求: 投稿内容: 皮肤科各种基础研究论文、皮肤科临床诊断和治疗等方面的论文、典型与疑难病例等; 投稿方式: 中文全文和 400 字以内的中文摘要, 请通过电子邮件投稿, E-mail: pfkxh@126.com。来稿请注明 2015 会议征文, 截稿日期: 2015 年 3 月 5 日。会议交流形式: 特邀讲演、大会发言、分会发言、书面交流。

联系方式: 上海市凤阳路 415 号, 上海长征医院《中国真菌学杂志》编辑部, 邮编: 200003, E-mail: pfkxh@126.com, 联系人: 朱和平, 电话: 021-81885501, 手机: 13671816152。