HIV/AIDS 中医证候代谢组学研究设想

张 森 马素娜

(河南中医学院艾滋病研究所, 郑州, 450008)

摘要 代谢组学做为系统生物学的组成部分, 是一门新兴的学科, 而随着代谢组学在中医学中的深入研究, 其与中医的证候有着相同的思维方式, 具有相同的特点(整体性、动态性、即时性), 将成为中医证候客观化、标准化的研究有力的研究方法。本文结合文献描述和课题组的研究结果, 对 HIV/AIDS 中医证候的研究提出设想。

关键词 HIV/AIDS; 中医证候; 代谢组学; 设想

Research Hypothesis of Metabonomics in the Traditional Chinese Medical Symptoms of HIV/AIDS

Zhang Miao, Ma Su'na

(AIDS Study Institute of Henan University of TCM, Zhengzhou 450008, China)

Abstract As a part of biology systems, metabonomics is an emerging subject. However, with some in-depth study of metabonomics carried out in traditional Chinese medicine, it was found that the subject has some similarity with traditional Chinese medicine, such as thinking mode as well as the nature of integrity, dynamics and instantaneity, which will provide powerful research methods for TCM syndrome's objectification and standardization. According to the research results from some literature and research groups, research hypothesis of metabonomics in the traditional Chinese medical symptoms of HIV/AIDS is proposed.

Key Words HIV/AIDS; TCM symptoms; Metabonomics; Hypothesis

中图分类号: R512.91 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.04.044

艾滋病(获得性免疫缺陷综合征(Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS, 或 HIV/AIDS)是难治性的传染病, 严重威胁到人类健康问题, 目前我国 HIV/AIDS 疫情严峻, 流行范围广, 已覆盖全国范围, 有高危人群逐渐向一般人群扩散的趋势。既往研究表明, 中医药在防治 HIV/AIDS 方面起到了积极的作用, 并引起了全球医学工作者的关注。

1 HIV/AIDS 中医证候

让世界了解中医, 展示出自己的优势, 这是目前许多中医学专家正在致力于研究的课题, 在国际医学领域中, 中医学的整体观念、辨证论治及个体化治疗也逐渐得到了认可。辨证论治是中医学的精髓, 但由于中医证候的诊断和评价标准, 目前主要还是依靠历代医家个人经验的总结及古典医籍文献描述, 导致中医证候的描述缺乏统一性, 临床使用中缺乏客观化和标准化。用现代科学的语言来表现中医证候的物质基础和内涵, 是中医学发展的趋势。现在已经进入了系统生物学高速发展的时代了, 代谢组学作为系统生物学的一个组成部分, 对中医证候本质的研究将会更加客观化、标准化, 找到中医和西医共同的语言, 使中医学得到真正的继承和发展。

课题组从“十五”国家科技攻关、国家自然科学基金、“十一五”科技攻关到“十二五”科技攻关项目对 HIV/AIDS 中医证候进行了系统研究, 分析了 2011 年前的有关 HIV/AIDS 中医证候文献^[1], 制定了中医证候调查表, 进行了河南省大样本流行病学调查, 建立了 HIV/AIDS 中医证候数据库, 制定了常见证型的 HIV/AIDS 中医证候诊断量表^[2], 运用转录组学^[3]、蛋白组学、代谢组学技术进行了系统生物学探索, 从文献学、流行病学、标准化、系统生物学方面进行了研究, 取得了一定的成果^[4]。

2 代谢组学

1999 年, Nicholson 首先提出了代谢组学的概念, 它是一门新兴的组学技术, 是蛋白质组、转录组和基因组总体表达的结果, 代谢组学同中医证候的整体观念是一致的, 也是把人作为一个整体来进行研究, 通过对机体内生物样品中代谢组分的定性、定量分析, 主要是对机体内样本中相对分子量小于 1 000 的代谢物质分析, 运用体内代谢物的变化来反映机体的病理生理的变化情况, 阐明生命复杂系统, 同中医学中的证候的表述是一致的。在对中医证候的研究中引入代谢组学的方法, 具有重大的意义。

基金项目: 国家科学技术部“十二五”科技重大专项项目“HIV/AIDS 中医证候转录组学研究”(编号:2012ZX10005001-005); 河南中医学院博士科研基金“HIV/AIDS 肺脾气虚证患者蛋白质组学研究”(编号:BSJJ2012-12)

通信作者: 张森(1981.11—), 女, 博士研究生, 助理研究员, 研究方向: 中医药防治艾滋病, E-mail: 1043833307@qq.com

代谢组学目前在中医证候本质研究中,主要从临床疾病证候,如高血压^[5]、肝炎^[6]、肿瘤^[7]、糖尿病^[8]等的临床常见证候;中医证候本质的研究^[9],如血瘀证、阳虚水停证等;病症结合动物模型证候,脾虚证动物模型^[10]、肝郁证动物模型^[11]等几方面,进行了研究,取得了一定的成果。

代谢组学目前主要的技术平台有磁共振技术和质谱技术,课题组采用了磁共振技术和液质联用技术进行了分析测试。核磁共振技术,其样本预处理简单、用量少、无损伤性、无偏向性、可进行实时和动态监测,用于研究复杂成分,但是它的灵敏度低,检测到的物质相对较少且难以定性;液相色谱与质谱联用技术的灵敏度也高于核磁共振,但定量准确性不高。因此在研究中,将这些分析技术依据实际需求,整合应用,多种技术的联用是代谢组学发展的趋势^[12]。在数据统计方法上课题组对 LC-MS 检测结果进行了 T 检验、聚类分析、PCA 分析;对 NMR 检测结果进行了 T 检验和 PCA 分析。应用不同的代谢组学分析检测技术,获得不同的数据,用统计方法将数据加以整合,有报道将气相色谱与质谱联用技术数据和液相色谱与质谱联用技术数据进行融合的,也有对核磁共振技术数据和质谱技术数据进行整合的^[13]。不同的数据分析方法各有其优点和缺点,其中最常用的是主成分分析,将他们有效地结合起来,寻找最有效的统计方法处理代谢组成数据^[14]。

3 代谢组学对 HIV/AIDS 中医证候的研究设想

课题组前期对 HIV/AIDS 湿热内蕴证、脾肺气虚证、气阴两虚证患者的血液、尿液样本进行了 LC-MS 和 NMR 代谢组学检测分析,初步将 HIV/AIDS 患者和健康对照组代谢轮廓进行了良好的区分,将 HIV/AIDS 湿热内蕴证、脾肺气虚证、气阴两虚证患者代谢轮廓进行良好的区分。在研究中发现的一些可能存在的疾病以及证候潜在特征性标志物和差异物质群,有待进一步研究。

3.1 运用中医理论“同病异治、异病同治”研究 首先通过前期的工作基础,选取 HIV/AIDS 常见的中医临床证候,进行代谢组学研究,分析不同证候的代谢物质基础,阐释不同证候的本质,用现代科学语言解释中医理论“同病异治”的科学含义,课题组已经对 HIV/AIDS 脾肺气虚证、湿热内蕴证、气阴两虚证、健康对照组进行了代谢轮廓的区分。其次,对不同疾病的同一证型,基于中医的“异病同治”理论对中医证候进行研究,有助于研究中医证候的本质。研究发现汪受传^[15]等在小儿病毒性肺炎脾肺气虚

证,郭孜^[16]等在乙肝后肝硬化湿热内蕴证,陈威妮^[8]等在糖尿病气阴两虚证,吴小秋^[17]等在 2 型糖尿病气阴两虚证,周贤梅等在肺癌气阴两虚证中做了代谢组学研究,可以结合这些代谢组学数据,同 HIV/AIDS 湿热内蕴证、脾肺气虚证、气阴两虚证代谢数据进行整合,发现中医证候共同的物质基础,寻找 HIV/AIDS 中医证候潜在代谢标志物。

3.2 靶标分析和非靶标分析相结合的研究 代谢组学主要有非靶标分析和靶标分析两种研究模式。非靶标分析是从整体上进行分析,可以掌握整体的代谢轮廓和演化规律,寻找潜在的生物标志物,是一种全景模式,得到的数据信息量大,是现在代谢组学研究的主要的一种技术手段,适用于代谢标志物的发现。它的缺陷在于会遗漏低浓度物质的变化信息,数据的重复性、稳定性不够,缺乏特异性等。课题组前期实验对 HIV/AIDS 湿热内蕴证、脾肺气虚证、气阴两虚证的检查分析即为非靶标分析,获得了大量信息。靶标分析与非靶标分析的全景模式相比,是一种特写模式,依据非靶标分析的结果,选取特定代谢途径,或者同一结构功能的代谢物群,通过标准品进行准确定量,弥补非靶标分析的不足,但它能同时进行目标分析的数量有限,依赖于标准品建立方法,依赖先验知识。这两种模式各有优点和缺陷,因此,将两者相结合进行互补,研究结果将更全面、更准确。杨太忠^[18]所在实验室提出的“拟靶向”概念,就是非靶向分析和靶向分析相结合的研究模式。运用二者的优势,实现了样本中已知和未知物质的同时检测,运用拟靶向的方法发现二氢胆固醇可作为胃癌的潜在代谢生物标志物。吴海棠^[19]运用非靶标和靶标分析相结合的模式研究白念珠菌感染,发现了黄芩素抗白念珠菌的作用机制。课题组下一步将在前期研究的基础上,结合靶标分析方式,确定代谢物质,发现其潜在的生物标志物。

3.3 与系统生物学其他组学相结合的研究 代谢组学是系统生物学的组成部分,它同转录组学、基因组学、蛋白质组学、表型组学成是系统生物学的不同层次,表型组学是终端,通过对转录组学、基因组学、蛋白质组学、代谢组学的相互作用研究,完成了从最初的基因序列到生命活动的全部过程。把代谢组学数据同其他组学数据结合起来,解释生物学功能,是今后我们要攻克的难题。王晓玉^[20]等运用代谢组学和蛋白质组学对酒精性肝病进行了研究,解释了其发病机制。罗国安^[21]等也提出了代谢组学的“整合化”发展。课题组目前正在进行转录组学和蛋白

组学的研究,下一步将代谢组学数据同其他组学数据整合起来,利用系统生物学方法研究 HIV/AIDS 中医证候的生物学基础,寻找潜在的代谢生物标志物。

3.4 方证结合的模式 王喜军的方证代谢组学理论,以理法方药为前提,以方验证,动态的检测代谢网络,来研究中医证候和中药治疗的作用机制。宋雅楠等也提出了“病证效”结合的研究模式,认为这种模式是中医与西医结合发展的一种趋势,是在病、证结合的前提下结合疗效评价,运用代谢组学技术揭示这些变化,研究证候本质和中药的作用机制。课题组前期也做了小样本的疗前疗后的代谢组学检测分析,发现了一些差异物质的变化趋势,下一步准备结合 HIV/AIDS 疗效评价体系,运用代谢组学技术做大样本的证候疗前疗后分析,监测体内代谢物的动态变化,揭示中医证候的本质。

4 讨论

HIV/AIDS 中医证候研究是中医药研究 HIV/AIDS 的基础,而随着代谢组学在中医学中的深入研究,其与中医的证有着相同的思维方式,具有相同的特点(整体性、动态性、即时性),将成为中医证候客观化、标准化的研究有力的研究方法。课题组对 HIV/AIDS 肺脾气虚证、湿热内蕴证、气阴两虚证的尿液和血液进行代谢组学分析,3 个证型的代谢轮廓得到了区分,下一阶段将与“十二五”课题中进行的 HIV/AIDS 中医证候的转录组学和蛋白组学的研究及免疫学数据整合,结合代谢组学靶标分析,并借鉴文献报道其他疾病肺脾气虚证、湿热内蕴证、气阴两虚证数据分析,寻找 HIV/AIDS 中医证候的潜在生物标志物及代谢途径。

参考文献

[1]王勇,谢世平,梁润英,等.基于现代文献的艾滋病中医证候规律研究[J].中医学报,2011,26(2):129-131.
 [2]陈建设,谢世平,许前磊,等.艾滋病常见实证量化诊断的 Logistic 回归分析[J].中医杂志,2009,50(7):632-634.
 [3]许前磊,闰秀娟,武兴伟,等.转录组学在艾滋病中医证候学研究中的应用[J].中医学报,2014,29(190):309-311.

[4]许前磊,武兴伟,谢世平,等.艾滋病中医证候研究的实践思考[J].中华中医药杂志,2012,27(7):1757-1759.
 [5]陈艺,方祝元.高血压病肝火亢盛证与阴虚阳亢证的血清代组学比较研究[J].南京中医药大学学报,2013,29(4):320-323.
 [6]李波,魏岫.慢性乙型肝炎中医证候代谢组学研究概况[J].湖南中医杂志,2012,28(1):111-113.
 [7]江雪梅,任正刚.代谢组学在肿瘤个体化治疗的研究进展[J].中国癌症杂志,2010,20(11):871-874.
 [8]陈威妮.基于代谢组学技术的 2 型糖尿病中医证的动态研究[D].广州:广州中医药大学,2012.
 [9]杨宇峰,张冰冰,徐娜,等.基于代谢组学的中医证本质研究进展[J].中华中医药杂志,2013,28(7):2074-2077.
 [10]施旭光,吴美音,王闾予,等.脾气虚证大鼠尿液代谢组学异常及补中益气汤干预作用的研究[J].重要新药与临床药理,2013,24(6):552-554.
 [11]徐舒,陈合兵,李洪,等.“肝郁证”大鼠模型的建立及代谢组学的初步研究[J].中华中医药杂志,2009,24(6):787-791.
 [12]周秋香,余晓斌,涂国全,等.代谢组学研究进展及其应用[J].生物技术通报,2013(1):49-55.
 [13]李娟,任路静,孙冠男,等.气相色谱-质谱联用技术及其在代谢组学中的应用[J].生物工程学报,2013,29(4):434-446.
 [14]许广艳,葛卫红.代谢组学的数据分析技术及其应用[J].时珍国医国药,2011,22(7):1755-1758.
 [15]汪爱传,杜丽娜,单进军,等.应用代谢组学探讨小儿病毒性肺炎中医证候标准化的研究思路[J].中医儿科杂志,2013,9(1):1-3.
 [16]郭孜,王文玉,戴建业,等.乙肝后肝硬化证候的尿代谢组学研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2012,14(1):1282-1287.
 [17]吴小秋,刘志龙,黎莉,等.2 型糖尿病气阴两虚证血清气相色谱-质谱代谢组学特点分析[J].中医学报,2014,29(194):961-964.
 [18]杨太忠,罗萍,李艳丽,等.基于拟靶向液相色谱-质谱联用的胃癌患者血清代谢组分析[J].色谱,2014,132(2):126-132.
 [19]吴海荣.整合非靶标和靶标代谢组学模式的白念珠菌被膜形成及药物干预机制研究[D].上海:第二军医大学,2013.
 [20]王晓玉,罗建平,查学强,等.蛋白质组学及代谢组学在酒精性肝病中的应用[J].临床肝胆病杂志,2014,30(2):168-173.
 [21]朱超,梁琼麟,王义明,等.代谢组学的整合化发展及其新进展[J].分析化学,2010,38(7):1060-1068.

(2015-06-08 收稿 责任编辑:张文婷)