

综 述

蛋白质组学在中医证候学研究中的应用进展

王新贤 殷海波 姜 泉 焦 娟

(中国中医科学院广安门医院,北京,100053)

摘要 对中医证候微观物质基础的研究是中医学现代化研究的重要方面,“证”的整体性、模糊性、动态性、差异性、复杂性的特点,又使得中医“证”通过现代实验室检查所得到的单一理化指标缺乏足够的特异性。以蛋白质组学为代表的系统生物学技术的出现使现代医学由还原论思维走向了整体思维,也使得中医的理念有了数理化的可能。蛋白质组学在中医学证候的研究中取得了一系列的进展,在动物证候模型及中医“病证结合”的研究中得到了广泛的应用,为中医证候学的研究提供了大量的研究数据及广阔的视野。

关键词 证候;蛋白质组学;中医学;病证结合

Progress Of TCM Syndrome Research With Proteomics

Wang Xinxian, Yin Haibo, Jiang Quan, Jiao Juan

(Guang anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

Abstract It is a major aspect of modernized research on Traditional Chinese Medicine (TCM) to study the micro substance as the basic for TCM syndrome. On account of the integrality, ambiguity, variability, diversity and complexity of TCM syndrome, single physical and chemical indicators out of modern laboratory cannot embody the meaning of TCM syndrome. The development of systems biology featuring proteomics, brings systematic thinking to modern medicine on the basis of reductionism. Systematic thinking makes it possible to objectify TCM syndrome. It coincides with TCM in the concept of integrality, variability, informatization and complexity. A lot of achievements have been made in the research of TCM syndrome by proteomic technology. The technology has been widely used in the research of the animal model of the syndrome and combination of disease and syndrome. A mass of data has been accumulated that offers a broad future for the research of TCM syndrome.

Key Words Syndrome; Proteomics; Traditional Chinese Medicine; Combination of disease and syndrome

中图分类号:R2-03 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.08.059

《临证指南医案》言:“医道在乎识证、立法、用方,此为三大关键,一有草率,不堪司命。然三者之中,识证万为要紧”,证是中医学认识人体、疾病特有的一种形式,识证对于我们临床诊病至关重要。

1 中医证候的含义

“证”字,在古代为“證”,《说文解字》解:“告也”,原有“告发”之意。1915年出版的《中华大字典》共收录8项“證”的含义:告也,验也,驗也,諫也,则也,候也、质也,病證也。在中医学中,证有患者向医生诉说疾病病情之意。“证”字在《黄帝内经》中仅见于《素问·至真要大论》:“病有远近,证有中外”,证是指征象、病状。而“证”字在《伤寒论》398条条文中出现有34次之多^[1],《伤寒论》中的113首处方都是“证以方名,方由证立,方证一体,有是证必有是方”,对于《伤寒论》中证的含义的理解,著名医家刘渡舟^[2]言:“《伤寒论》的证,又叫‘证

候’,乃是反映疾病各种痛痒的一个客观‘验证’。证有客观的规律性,又有其特殊性,它有可供人分析研究、综合归纳等诸多妙用。”“候”字,《说文解字》解“伺望也”。清·段玉裁在《说文解字注》中言“凡覩伺皆曰候”,故而其本意是指等待、观望,迎接客人的到来。在中医学中,“候”可以用来引申为医生通过望、闻、切诊,诊察到的患者的症状及其疾病变化的过程。《素问·六节藏象论》:中讲到“五日谓之候,三候谓之气,六气谓之时,四时谓之岁”,而在《素问·五运行大论》:中言“夫候之所始,道之所生,不可不通也”,结合两句话,可以看出候与时间相关,寓有变化之意。证候两字共用,可见于王叔和《脉经·序》:“声色证候,靡不赅备”,其中证候有症状之意,而晋葛洪在《肘后方》中说:“其论诸病证候……”也是指疾病的临床表现。至后世医家,在中医学发展过程中证与证候多相互引用、相互交叉,贯穿

始终。

2 中医证候的现代化研究

自上世纪 50 年代任应秋提出“辨证论治”的概念,将其确立为中医学的两大基本特色之一以来,中医对证候的研究逐渐多样化,随着现代医学的引入与发展,更是呈现出了百家争鸣的征象。对于证、证候的深层次的含义的解释也造成了一定程度上的分歧。国家标准《中医临床诊疗术语》中对“证”的定义为:“证”是中医学特有的概念,是对疾病所处一定阶段的病因、病位与病性等所作的概括。《中国医学百科·中医学》则指出:“证是‘综合分析了各种症状和体征,对于疾病处于一定阶段的病因、病位、病变性质以及邪正双方力量对比各方面情况的病理概括’”。证的实质是对疾病本质的概括,而对于“证”与“证候”的互称,对此有 2 种观点,一种认为“证”是“证候”的简称,二者有着相同的内涵;另一种则认为证候是每个证的外在表现,即证所表现出的具有内在联系的症状和体征。

沈自尹等 20 世纪 50 年代开始从分子水平对肾虚证本质进行研究始,中医学的“证”开始了通过现代医学手段探寻物质基础的道路,从现代医学的眼光去审视中医成为中医科研的一个主要研究方法,对中医证的规范化和客观化也提上日程,对于“证”的理解在一定程度上也结合了现代科学的色彩。如申维玺教授^[3]认为证的发病学机理是由于细胞因子网络紊乱所导致的,并提出中医证的本质是细胞因子,而其发病机理是细胞因子网络紊乱的结果。中医学科学研究对于“证”的客观物质基础的探寻是一种中医客观化的努力,也是一种中医学与现代医学相互联系的尝试。中医学的理念天生不以数理逻辑作为研究自然人的方式,《素问·阴阳离合论》曰:“夫阴阳者,数之可十,推之可百,数之可千,推之可万。天地阴阳者,不以数推,以象之谓也”,意象思维是中医学临床诊病的根本手段,无论是藏象、气血还是风、寒、暑、湿、燥、火,都是意象思维的产物,这种模式具有形象化的特点,恰与现代医学的数理化思维模式相向去远。中医学的“证”是人体病理状态的反应,“证”的整体性、模糊性、动态性、差异性、复杂性的特点,又使得中医“证”通过现代实验室检查所得到的单一理化指标缺乏足够的特异性。如何将中医理论客观量化一直是中医与现代医学结合的一个巨大障碍,也是中医学进入新的发展时期以来所面临的一个瓶颈。

3 蛋白质组学与中医证候的关系

以蛋白质组学为代表的系统生物学技术的出现使现代医学由还原论思维走向了整体思维,也使得中医的理念有了数理化的可能。1994 年澳大利亚学者 Wilkinst 和 Williams^[4]在意大利召开的双向电泳会议上首次提出了蛋白质组学的概念(Proteome),将其阐述为“一个基因组所表达的蛋白质”,于 1996 年他们又进一步完善这个概念,将其表达为“在一定条件下,在某一个生命体系中由基因组编码的全部蛋白质,即某一物种、个体、器官、组织乃至细胞的全部蛋白质”。蛋白质组学的整体性、复杂性、动态性、信息化的特点和中医学的理念不谋而合。陈竺院士于 2005 年曾提出“中医强调整体论,西医则强调还原论,所以多年来许多学者认为两者格格不入,但事实证明,到了系统生物学时代,他们找到了共同语言”,中医证候学与蛋白质组学两者以都以整体为研究对象。中医学的证候是人体病理状态的整体表现,是人体阴阳、气血、脏腑之间相互作用、相互联系的结果。蛋白质组学是以一个细胞、组织、器官的全部蛋白质为研究对象,蛋白质是生命活动功能的执行者,其含量、结构、功能决定着机体的功能状态。两者都是动态的开放的,中医学的证随着机体的状态的变化而发生变化,并受外界环境的影响。蛋白质同样随着机体的状态的变化而发生着分解合成代谢,蛋白质的代谢是自身基因与外界环境改变共同作用的结果。蛋白质的总体的组成变化是否可以反映中医证的本质是中西医沟通的一个交汇点。随着蛋白质组学技术的进步,蛋白质组学在中医学证候的研究中取得了一系列的进展。

4 蛋白质组学在证候动物模型研究中的进展

现代医家通过建立中医学“证”的动物模型,结合蛋白质组学的技术手段,以此来探讨中医证的蛋白质表达差异,从而构建临床辨证的理化模型,对蛋白质组学在辨证中的应用起到了一定程度指引作用。吕凌^[5]等采用劳倦过度、饮食不节与药物损伤相结合的方法构建了脾阳虚、脾阴虚大鼠模型,通过双向电泳法和质谱分析相结合的技术手段,寻找出脾阳虚证模型回肠组织 12 个异常蛋白点,脾阴虚证 7 个异常蛋白点表达,并分析得出结论脾阳虚证或与细胞骨架损伤和糖代谢异常关系更为密切,而脾阴虚证则与过氧化损伤有着更为密切的关系。于漫等^[6]以饮食不节、劳倦过度及苦寒伤阳联合应用建立了脾阳虚大鼠模型,以双向凝胶电泳和 MALDI 串

联飞行时间质谱寻找脾阳虚证差异蛋白,发现差异表达蛋白质共有8个,涉及到细胞骨架、能量代谢及信号转导等多方面,其中有4个蛋白表达上调分别是:结蛋白、角蛋白8、丙酮酸激酶、埃兹蛋白;4个表达下调蛋白分别为:甘油醛三磷酸脱氢酶、角蛋白19、角蛋白1、肌动蛋白。并认为机体在脾阳虚证状态下能量的代谢速率较正常情况减慢,并且能量生成减少,回肠绒毛蛋白结构发生变化及消化吸收功能减弱。康利华^[7]等通过分析温阳补肾药物对激素依赖性肾阳虚动物对肝线粒体蛋白质组的影响,共分离模型动物组肝线粒体差异蛋白质共16个,其中11个蛋白质得到了鉴定,提示肾阳虚动物热休克蛋白60及70含量增加,可能与其能保护应激状态下的细胞存活及保护细胞免受损伤的作用特点相关;肾阳虚动物的糖代谢和脂类代谢功能都较正常组降低,而蛋白质代谢及核酸代谢却表达增高,具体则表现为二氢硫辛酰胺脱氢酶和脂酰辅酶A脱氢酶活性降低,肌氨酸脱氢酶、氨甲酰磷酸合成酶及亚硫酸氧化酶活性增高;其分析肾阳虚的临床症状可能是因为三羧酸循环和脂肪酸B-氧化功能障碍,导致的ATP合酶、醛脱氢酶和NADH脱氢酶活性代偿性增加,虽然肾阳虚动物机体试图通过增加ATP产量以缓解能量代谢不足的现状,但由于因鸟氨酸氨基转移酶活性的降低从而导致了肌酸合成降低,使能量的储存大大减少,产生的ATP却大部分被通过热量的形式消耗掉。钟小兰^[8]等以二维凝胶电泳结合基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱,通过分析肝郁证模型大鼠血清差异蛋白质表达,发现9个有明显表达差异的蛋白质斑点,其中6个得到鉴定分别为:转甲状腺素蛋白、水解酶Bal-647、血清白蛋白前体、抗乙酰胆碱受体抗体Fab片段,Igλ-2链C区和β1球蛋白,涉及免疫、神经内分泌和营养物质代谢等多个方面。苗兰^[9]等利用二维凝胶电泳结合质谱技术鉴定气虚血瘀证大鼠血清蛋白质表达谱改变情况,发现气虚血瘀证大鼠血清与正常大鼠比较结合珠蛋白、补体C3、ZN-α-2-糖蛋白、免疫球蛋白λ轻链表达升高,而CD5抗原样蛋白则表达降低。

5 蛋白质组学在“病证结合”模式中的研究进展

目前“病证结合”的模式已经成为了中医临床诊疗的重要手段,“病证结合”的模式早在《伤寒杂病论》中就有所体现,其治疗思想均是在辨六经病的基础上进一步辨证。随着现代医学对疾病的深入认识,对于病的命名也更为的精确化、客观化,病的含义更趋向于西医学的命名,这对于中医学的意义在

于,可以更好的判断疾病的病情、与预后,使临床诊疗更加直观化,使辨证有的放矢。而对于“病证结合”模式的标准化、客观化同样是中医现代化的一个议题,在以疾病为主的大框架下,探讨不同证型的客观化指标是一个基本的思路,蛋白质组学的应用,使“证”整体观在物质层面得以直观体现,取得了一系列进展。

5.1 心血管疾病 对于高血压病的研究,胡元会^[10]以蛋白质芯片技术寻找高血压病肝胆湿热证、痰湿壅盛证、阴虚阳亢证差异蛋白表达谱,并建立诊断模型,结果显示,肝胆湿热证与痰湿壅盛证比较有46个差异蛋白质峰;肝胆湿热证与阴虚阳亢证比较有72个差异蛋白质峰;痰湿壅盛证与阴虚阳亢证组比较有22个差异蛋白质峰表达。通过Biomarker Patterns Software软件分析肝胆湿热证最佳标志物结果显示 m/z 为 2 487.19, 9 334.95, 2 238.14, 6 624.36, 5 903.54 的5个蛋白质峰。该模型的敏感性为86.667%,特异性为96.552%。痰湿壅盛证的标志物 m/z 为 3 161.26, 7 922.98, 7 555.76, 8 030.79, 3 936.31 的5个蛋白峰,该模型敏感性为96.552%,特异性为83.333%。杨波等^[11]研究高血压患者急性期肝阳化风证、恢复期阴虚风动证外周血单个核细胞的蛋白质差异变化,以双向凝胶电泳分离外周血单个核细胞蛋白质,并结合MALDI-TOF-MS质谱分析,获得了重复性好的蛋白质图谱,经鉴定肌动蛋白、假想蛋白、纤维蛋白原α链前体为差异蛋白,其中肌动蛋白在脑出血肝阳化风证组,阴虚风动证组均较对照组表达均明显下调,而阴虚风动证组较之肝阳化风证组又表达下调,纤维蛋白原α链前体则在脑出血肝阳化风证组处于表达上调状态,而在阴虚风动组表达下调。

对于冠心病的研究,朱明丹等应用荧光差异凝胶电泳和电喷雾质谱法对冠心病四个主要证型心气虚弱证、心肾阴虚证、痰浊内阻证、心血瘀阻证进行蛋白质组学的研究,发现凝血酶原、α2巨球蛋白、膜联蛋白A5、补体C3、甘露糖结合蛋白C、载脂蛋白A1,载脂蛋白E、载脂蛋白H,活化T细胞核因子5亚型b等差异蛋白的表达,这些差异蛋白涉及凝血系统、激肽释放酶-激肽系统、补体系统、脂代谢系统、Wnt途径、凋亡系统等多方面。王刚等分析冠心病心血瘀阻和心肾阴虚证患者血浆蛋白质差异表达情况,应用荧光差异蛋白电泳与MALDI-TOF技术相结合发现10种差异表达蛋白,其中7种差异蛋白质表达上调,有3种表达下调,涉及补体、凝血级联通

路、阿尔兹海默症信号通路,说明冠心病心肾阴虚证与阿尔兹海默症信号通路具有相关性。崔佩佩等^[12]研究冠心病痰浊内阻证和心气虚弱证患者血清中差异蛋白的表达,通过差异凝胶电泳结合电喷雾质谱技术发现,所分离的差异表达的蛋白参与体内的血液连锁反应系、磷酸戊糖途径、糖酵解和半乳糖代谢通路,从而可对2个证候进行区分。在痰浊内阻证中参与血液连锁反应系和脂类代谢的差异蛋白表达明显升高,而心气虚弱证参与能量代谢的蛋白表达明显增高,这提示痰浊内阻证的血瘀程度、脂类代谢紊乱程度和新陈代谢水平平均要高于心气虚证。

5.2 肾脏疾病 在肾脏疾病的研究中,刘垠浩等^[13]应用表面增强激光解析电离-飞行时间-质谱技术对IgA肾病湿热证患者进行血清蛋白质组学指纹图谱检测,发现IgA肾病组湿热证与非湿热证之间有7个蛋白质峰有显著差异;IgA肾病湿热证与非IgA肾病湿热证之间有4个差异蛋白峰;IgA肾病湿热证与健康组之间有5个差异蛋白峰。综合分析,m/z为4 987.92的Beta-defensin 33蛋白可能是IgA肾病湿热证的特异血清蛋白标志物,并筛选以m/z为1 092.71等11个蛋白峰组成的证候决策模型,该模型敏感性为92.86%,特异性为87.50%。程小燕^[14]以双向电泳技术分离气阴两虚型IgA肾病患者与正常人血清algA1刺激肾系膜细胞的蛋白质,寻找差异蛋白点,进行质谱分析,获得肽质量指纹图谱,结果为:IgA肾病组和正常组比较有22个差异蛋白点,其中8个仅见于IgA肾病组,6个仅见于正常组。经质谱分析共筛选8种有明确功能的蛋白质,分别为信号转导蛋白、热休克蛋白、纤连蛋白、半乳糖凝集素以及代谢酶类,并鉴定了1种未知功能蛋白,4种无意义蛋白,其中热休克蛋白、信号转导蛋白及未知蛋白仅表达于气阴两虚型IgA肾病组,纤连蛋白及半乳糖凝集素表达于正常组。钟云良^[15]探讨中医肾病综合征湿热证的内涵,其以双向电泳分析原发性肾病综合征湿热证与非湿热证及健康组差异蛋白,再以质谱技术进行差异蛋白鉴定,发现载脂蛋白C-III和 α 2-HS-糖蛋白可以作为原发性肾病综合征湿热证的特异性表达蛋白。

5.3 肺脏疾病 管艳等^[16-17]利用双向荧光差异凝胶电泳技术与基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱,研究非小细胞肺癌脾虚痰湿证和其他证型血清蛋白质组学的表达差异,共分离出6个表达差异蛋白,其中CO9和CO4A在脾虚痰湿证组表达上调而

在肺郁痰瘀证组下调,ITIH4、RLA2、A1AT和LHX5在脾虚痰湿证组表达下调而在肺郁痰瘀证组上调。而CO9、CO4A、ITIH4和A1AT参与了补体激活、蛋白水解催化活性的调节。刘姬艳^[18]筛选肺结核病肺阴虚证、阴虚火旺证及气阴两虚证蛋白标志物,建立诊断模型。其采用WCX磁珠结合SELDI-TOF-MS技术建立血清蛋白指纹图谱,并通过RP-HPLC分离及纯化潜在生物学标志物,再应用MALDI-TOF-MS和LC-MS/MS进行分析鉴定潜在的证候标志物蛋白。从而构建了5个蛋白标志峰组成的肺结核中医证候蛋白质指纹图谱辨证模型,其分别m/z为3 961.7、4 679.7、5 646.4、8 891.2、9 416.7,对于肺阴虚证准确率为74.0%,对于阴虚火旺证准确率为72.5%,而气阴两虚证的准确率为96.7%。

5.4 肝脏疾病 在慢性乙型肝炎的研究中,王磊琼等^[19]结合双向凝胶电泳与质谱技术分析了慢性乙肝虚证的蛋白质表达,鉴定出3个下调的蛋白质点,分别为载脂蛋白A2和2个结合珠蛋白,从而推测此蛋白质变化可能与慢性乙肝各中医虚型证型的形成机制有关。刘友平等^[20]采用双向电泳技术结合质谱分析等生物信息学分析方法对慢性乙型肝炎肝肾阴虚证及正常健康人血浆蛋白进行比较分析,获得6个差异蛋白点,其中有明显规律变化的差异蛋白质有4个:载脂蛋白A I、载脂蛋白A II、结合珠蛋白HPT、视黄醇结合蛋白RBP。戴幸平等^[21]利用二维凝胶电泳结合MALDI-TOF-MS技术分析慢性乙型肝炎肝胆湿热型组与正常人单个核细胞蛋白表达谱,鉴定出相关蛋白约11个,蛋白质主要涉及与细胞骨架形成蛋白及血小板分泌蛋白。魏媚等^[22]采用双向凝胶电泳技术结合质谱分析,探讨慢性乙型肝炎湿热中阻证本质,发现8个差异表达蛋白点存在明显的规律变化,通过鉴定得到7个蛋白点,包括载脂蛋白C2、玻连蛋白、结合珠蛋白、甲状腺素结合蛋白、载脂蛋白A1、血清淀粉蛋白P、载脂蛋白A4,与健康对照组比较载脂蛋白A1、载脂蛋白A4表达升高,其余5个蛋白点表达下调。认为载脂蛋白A1、载脂蛋白A4具有作为慢性乙肝湿热中阻证生物学标志物的价值。

5.5 风湿免疫性疾病 孙志岭等^[23-24]结合双向凝胶电泳技术与基质辅助激光解吸飞行时间质谱进行了RA中医证候学研究,其将RA湿热痹阻证与肝肾阴虚证及正常对照组比较,共得到湿热痹阻证差异蛋白9个,包括细胞周期调控蛋白、分泌多肽、泛素-蛋白酶体系统蛋白、膜蛋白质类、运输蛋白等。其课

题组同样将肝肾阴虚与寒湿痹阻证进行对照分析,得到10个差异蛋白点,经分析得到6个肝肾阴虚证差异蛋白,包括蛋白酶抑制剂、代谢相关酶蛋白、分泌多肽、运输蛋白等。对寒湿痹阻的分析得到9个差异蛋白质,其中4.1蛋白、DLC-1蛋白等与细胞增殖和细胞分化相关蛋白具有作为RA寒湿痹阻证的生物标志物的潜在价值。孙志岭等^[25-26]同样对强直性脊柱炎湿热痹阻证及寒湿痹阻证生物学标志物进行了探索,通过双向凝胶电泳技术与基质辅助激光解吸飞行时间质谱,获得7个湿热痹阻证的差异蛋白点,经数据库检索确定其中5个蛋白质,分别为Fibulin-1、二肽基肽酶1、激肽原1、白细胞介素17F突变型、甘露糖结合蛋白C,涉及胞外基质蛋白、蛋白酶类、凝血因子、细胞因子、转运蛋白等。同时获得寒湿痹阻差异蛋白5个,分别为聚腺苷二磷酸核糖聚合酶1、弗林蛋白酶、血管内皮钙黏蛋白、激肽原1、血管紧张素原。在系统性红斑狼疮的研究中,李显红等^[27]利用蛋白质组学技术研究热毒炽盛型和脾肾阳虚型狼疮性肾炎与正常人之间的蛋白质差异,以狼疮性肾炎患者热毒炽盛型与脾肾阳虚型比较,得到蛋白差异点5个,在热毒炽盛型处于高表达的蛋白质是Ig uchain C和间 α -胰蛋白酶抑制因子重链H4;在脾肾阳虚型处于高表达的蛋白质是细胞角蛋白-10。狼疮性肾炎与正常人比较差异蛋白点共有4个,在狼疮性肾炎表达增高的是 α 1-抗胰蛋白酶和 α 1-抗糜蛋白酶,正常人中则高表达二硫键异构酶A6蛋白。

6 展望

中医学的“证”是中医药临床诊治的核心要素,中医药的客观化、规范化在一定程度上首先要做到对于“证”的物理化,这不仅是中医学与现代医学的结合,更是系统论与还原论的结合,现代医学已经由实验医学逐步迈向生物医学与系统医学,新的技术手段的出现、新的医学理念的更新不仅对于西医学是一种伟大的革新,对于中医学也是一次机遇,更是一次挑战一次洗礼。蛋白质组学从一定程度上讲为中医学打开生物密码提供了新的手段,但是蛋白质组也仅仅是一种不完全的整体理念,仅仅是蛋白质的整体,它无法将整个生物体的所有的改变从蛋白质的改变一一呈现,某个细胞或者组织的整体也只是局部的整体;中医学的“证”自带的宏观气质、瞬息万变的动态性、证型间相互交叉的复杂性又为我们的实验研究带来了许多现实中的困难,临床中我们不易觅得纯粹单一的证型,

而动物实验却又避免不了动物与人的差异性以及人造证型的不可靠性。我们会发现实验室中所得的数据从不同的实验室中很难得到完全一致的重复。然而中医学的现代化需要进一步的探索,作为一种新的技术手段,随着大量研究的深入,蛋白质组学必将为我们积累大量的数据,局部的整体结合起来,这些数据的集合将为我们认识中医提供开阔的视野。

参考文献

- [1] 闵范忠,管金芳.《伤寒论》中“证”的涵义[J].河南中医,2009,29(4):318.
- [2] 刘渡舟.方证相对论[J].北京中医药大学学报,1996,19(1):3.
- [3] 申维玺,孙燕.中医证的本质是细胞内基因表达调控异常产生的细胞因子[J].河北中西医结合杂志,1998,7(7):1-3.
- [4] Pandey A, Mann M. Proteomics to study genes and genomics[J]. Nature, 2000, 405(6788):837-846.
- [5] 吕凌,贾连群,马巍,等.蛋白质组学在脾虚大鼠阴阳辨证中的应用研究[J].中华中医药杂志,2014,29(12):4002-4005.
- [6] 于漫,吕凌,王彩霞,等.脾阳虚证模型大鼠回肠的比较蛋白质组学探析[J].中国中西医结合杂志,2013,33(1):71.
- [7] 唐利华,沃兴德,卢德赵,等.温补肾阳对激素依赖性肾虚动物肝线粒体蛋白质组影响的研究[J].中华药理学杂志,2007,42(3):169.
- [8] 钟小兰,吕志平,钱令嘉,等.肝郁证模型大鼠血清蛋白质组的差异表达研究[J].中华中医药杂志,2006,21(7):399.
- [9] 苗兰,刘建勋,任建勋,等.气虚血瘀证模型大鼠血清蛋白质组学初步研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(9):42.
- [10] 胡元会,褚瑜光,吴华琴,等.高血压病中基不同证候患者血清蛋白质组学研究[A].“全国中医药中青年科技创新与成果展示论坛”论文集[C].北京:中华中医药学会,2009.
- [11] 杨波,梁清华,熊新贵,等.高血压脑出血急性期肝阳化风证与恢复期阴虚风动证的蛋白质组学比较研究[J].湖南中医药大学学报,2014,34(10):34.
- [12] 崔佩佩,朱明丹,姜民,等.痰浊内阻及心气虚弱型冠心病患者的比较蛋白质组学研究[J].中医杂志,2011,52(6):75.
- [13] 刘垠浩,王丽萍. IgA 肾病湿热证的血清蛋白质组学研究[J].中医临床研究,2014,6(14):7.
- [14] 程小燕.气阴两虚型 IgA 肾病患者的肾系膜细胞的蛋白质组学研究[D].广州:广州中医药大学,2010:3-4.
- [15] 钟云良,谢桂权.原发性肾病综合征湿热证的蛋白质组学研究[J].中国中西医结合肾病杂志,2011,12(2):150.
- [16] 管艳,王雄文,刘展华,等.非小细胞肺癌脾虚痰湿证相关蛋白持组学研究[J].中医学报,2015,30(8):1091.
- [17] 管艳.非小细胞肺癌脾虚痰湿证与肺郁痰瘀证差异的客观化研究[D].广州:广州中医药大学,2015:1-2.
- [18] 刘妮艳.基于蛋白质组学的肺结核病及其中医证候血清标志物筛选与鉴定[D].杭州:浙江大学,2013:5-6.

- cancer microbiome[J]. Plos One, 2011, 6(5): e20447.
- [10] Tyler Culpepper BST, Mai V. Evidence for contributions of gut microbiota to colorectal carcinogenesis [J]. Curr Nutr Rep, 2013, 2(1): 10-18.
- [11] 魏莉平. 结直肠癌与肠道菌群关系的研究进展[J]. 海南医学, 2015, 25(9): 1328-1330.
- [12] Basset C, Holton J, Bazeos A, et al. Are Helicobacter species and enterotoxigenic Bac-teroides fragilis involved in inflammatory bowel disease? [J]. Dig Dis Sci, 2004, 49(9): 1425-1432.
- [13] Toprak NU, Yagci A, Gulluoglu BM, et al. A possible role of Bacteroides fragilis enterotoxin in the aetiology of colorectal cancer. Clin Microbiol Infect 2006, 12(8): 782-786.
- [14] Sears CL. Enterotoxigenic Bacteroides fragilis: a rogue among symbiotes. Clin Microbiol Rev 2009, 22(2): 349-369.
- [15] Sobhani I, Amiot A, Le Baleur Y, et al. Microbial dysbiosis and colon carcinogenesis: could colon cancer be considered a bacteria-related disease? [J]. Therap Adv Gastroenterol, 2013, 6(3): 215-229.
- [16] Abdulmir AS, Hafidh RR, Mahdi LK, et al. Investigation into the controversial as-sociation of Streptococcus gallolyticus with colorectal cancer and adenoma [J]. BMC Cancer, 2009, 9(1): 403.
- [17] 郭伯敏, 秦环龙. 肠道菌群在结直肠癌发生发展机制中的研究进展[J]. 肠外与肠内营养, 2014, 21(2): 114-118.
- [18] Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, et al. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota [J]. Science, 2012, 338(6103): 120-123.
- [19] 张纪伟, 杜鹏, 陈大伟, 等. 补充双歧三联活菌对结直肠癌术后患者免疫状况和炎症反应的影响[J]. 中华胃肠外科杂志, 2010, 13(1): 41-43.
- [20] 王新颖, 王中秋, 徐萍, 等. 老年结直肠癌患者的肠道菌群检测结果分析[J]. 现代消化及介入诊治, 2012, 17(4): 226-229.
- [21] Nougayrède JP, Homburg S, Taieb F, et al. Escherichia coli induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells [J]. Science, 2006, 313(5788): 848-851.
- [22] Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, et al. Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(25): 11537-11542.
- [23] 邵铁娟, 李海昌, 谢志军, 等. 基于脾主运化理论探讨脾虚湿困与肠道菌群紊乱的关系[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(12): 3762-3765.
- [24] 孔凡华, 成泽东. 肠道菌群失调的中医病机探讨[J]. 江西中医药大学学报, 2016, 28(6): 6-7.
- [25] 王卓, 彭颖, 李晓波. 四君子汤对两种脾虚模型大鼠肠道菌群紊乱的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(9): 825-829.
- [26] 高志祥, 吴丽娥. 急性腹泻与肠道菌群变化研究[J]. 职业与健康, 2005, 21(4): 537-538.
- [27] 朱珊. 健脾止泻颗粒对脾虚泄泻小鼠肠道菌群和小肠粘膜的作用[J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(3): 28-30.
- [28] 海艳洁, 卢林, 丁艳波. 健脾渗湿汤对晚期大肠癌患者肠道微生态的影响[J]. 中国药师, 2010, 13(11): 1545-1547.

(2017-05-10 收稿 责任编辑: 张文婷)

(上接第1969页)

- [19] 王磊琼, 段新科, 董宝刚. 慢性乙型病毒性肝炎中医虚证的蛋白质组学规律初探[J]. 光明中医, 2012, 27(3): 458-459.
- [20] 刘友平, 王磊琼, 郭芳宏, 等. 慢性乙型肝炎肝肾阴虚证血浆蛋白质组学[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(7): 718-722.
- [21] 戴幸平, 戴姣, 李家邦, 等. 慢性乙型肝炎肝胆湿热证的蛋白质组学及清肝利湿汤的干预[A]. 第二十一届全国中西医结合消化系统疾病学术会议论文集[C]. 2009: 472-477.
- [22] 魏媚, 刘友平, 郭芳宏, 等. 慢性乙型病毒性肝炎湿热中阻证血浆蛋白质组学分析[J]. 中国中西医结合杂志 2011, 31(10): 1341-1345.
- [23] 孙志岭, 王玲, 王富强, 等. 类风湿关节炎肝肾阴虚证血清比较蛋白质组学分析[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(10): 3079-3081.
- [24] 孙志岭, 王玲, 王富强, 等. 类风湿关节炎寒湿痹阻证患者血清蛋白质组学分析[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(7): 901-904.
- [25] 孙志岭, 徐晓, 王玲, 等. 强直性脊柱炎湿热痹阻证血清差异蛋白质组学研究[J]. 南京中医药大学学报, 2015, 31(5): 412-415.
- [26] 王苗苗, 王玲, 王富强, 等. 强直性脊柱炎寒湿痹阻证血清蛋白质组学研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2015, 23(12): 9-11.
- [27] 李显红, 汤水福. 狼疮性肾炎热毒炽盛证和脾肾阳虚证的蛋白质组学研究[J]. 山西中医, 2014, 30(2): 46-49.

(2017-04-24 收稿 责任编辑: 张文婷)