

蛋白质组学与中医肾病证候研究

● 钟云良^{1*} 谢桂权²

摘要 蛋白质组学从整体水平研究蛋白质的表达和功能的方法与中医基础理论的整体观不谋而合,能够为中医的研究和发展提供良好的实验平台。应用蛋白质组学来研究中医肾病证候的实质,可能发掘出对于中医肾病证候有诊断价值的标志物,为中医肾病证候研究找到突破口。

关键词 蛋白质组学 肾病 证候

蛋白质组学(proteome)首先由Wilkins和Williams于1994年提出^[1],指细胞内部全部蛋白质的存在及其活动方式,后引申为一种基因组所表达的全套蛋白质,而一种基因组可包括一种细胞乃至一种生物,从而揭开了后基因组年代的序幕。蛋白质组研究进展十分迅速,不论基础理论还是技术方法,都在不断进步和完善。多种细胞的蛋白质组数据库已经建立,相应的国际互联网站也层出不穷。鉴于此,科学家们呼吁蛋白质组学研究应从目前的发现模式(discovery mode)走向浏览模式(browsing mode),以便全世界科学家可以像共享基因组学一样共享蛋白质组研究成果。蛋白质组研究把进一步揭示生命本质提高到了一个全新水平,也可能为揭示中医理论内涵提供前所未有的机遇,而能否把蛋白质组学的研究进展用于和怎样用于中医和中西医结合

研究则是我们面临的挑战。

1 蛋白质组学研究的內容和方法

1.1 蛋白质组学研究的内容 蛋白质组学是一门对某一生物或细胞在特定生理或病理状态下表达的所有蛋白质的特征、数量和功能进行系统性研究的科学^[2],旨在通过蛋白质水平上对细胞或机体基因表达的终产物进行定性和定量的研究,揭示生命活动的过程及规律及其基因表达的调控机制。其研究范围包括:细胞、组织和体液中蛋白质数量和种类的研究和鉴别;细胞在正常生理情况和异常情况下蛋白质和蛋白质、蛋白质和糖类、脂类、DNA、RNA之间相互作用。2003年Lefkovits等^[3]提出了结构蛋白质组学和功能蛋白质组学的概念,而功能蛋白质组学研究的是蛋白质的生理功能已经细胞在生长发育和分化

过程中蛋白质组成成分、表达水平和修饰状态,了解蛋白质之间相互作用和联系,揭示蛋白质功能与细胞生命活动规律的一门新科学。

1.2 蛋白质组学的研究方法 蛋白质组学的研究方法包括:双向凝胶电泳、色谱技术、质谱技术、蛋白质芯片和生物信息学等。目前,具有多年历史的双向凝胶电泳技术仍是蛋白质组学的核心技术。但双向凝胶电泳具有繁琐、不稳定和低灵敏度等缺点。目前,二维色谱(2D-LC)、二维毛细管电泳(2D-CE)、液相色谱-毛细管电泳(LC-CE)等新型分离技术都有补充和取代双向凝胶电泳之势。此外,蛋白质芯片的发展也十分迅速,并已经在临床诊断中得到应用。

2 蛋白质组学与中医证候实质的联系

中医学是在中国古代哲学思想的影响和指导下,经过长期的医疗实践积累逐渐发展起来的。它的基本特点是整体观点和辨证

* 作者简介 钟云良,男,广州中医药大学第一临床医学院2004级非医攻博研究生。

• 作者单位 1. 广州中医药大学(510405); 2. 广州中医药大学第一附属医院(510405)

论治,是从系统的、宏观的、整体的方法来把握生命科学的典型特征。而现代医学的发展始终是伴随着现代科学技术发展的步伐,目前已达到分子生物学、分子遗传水平,它是从微观方面揭示人体科学的本质特征,可见它们的发展路径似乎是截然不同的。然而,产生于20世纪90年代的蛋白质组学摒弃了过去那种对每个基因逐一研究的方式,从整个蛋白质组的层次来阐明“一种基因组所表达的全套蛋白质”,即包括一种细胞乃至一种生物所表达的全部蛋白质,具有鲜明的“整体性”。蛋白质组学从一个机体或一个组织、一个细胞等不同层次“整体”的蛋白质活动的角度来揭示和阐明证候形成与发展的基本规律,其理论与技术特点以及其整体、动态性的核心思想,与中医学的“整体观”和“辨证观”等理论体系有着惊人的类似之处,而这种研究思路与中医整体观和中药多靶点整合调节的特点亦不谋而合,具有明显的中医特色。中医学的证候学特征与细胞蛋白质整体动态变化有着内在联系,蛋白质组学将是这一领域的最佳切入点。金光亮^[3]提出了证候蛋白质组学的概念,指在证候理论指导下,运用功能蛋白质组学的方法,通过探讨证候,特别是同病异证或异病同证时蛋白质差异表达及翻译后修饰情况,揭示与某一证候形成相关的所有蛋白质及其特征,在整体蛋白质表达的水平阐明证候的本质。因而,将蛋白质组学应用于“证”的研究,不仅能明确反映一系列症状的物质背景,而且能进一步了解不同蛋白组分的在证表现的差异和激烈程度。由于证的整体性、动态性和

异病同证,同病异证等特征,脏腑证候客观化研究采用综合指标,精选非特异指标进行特异组合,建立能映证本质并能区别他证的定性、定量、定位综合检验指标,辅助四诊,确定证候诊断。证候不一,基因表达谱也不一样,“证”的本质是基因型及其表达,体外能用肉眼观察到的症状和体征变化具有其分子基础,是基因及其在蛋白质表达差异的外在表现。结合临床辨证分型,从蛋白质水平探讨中医“证”的实质、证的分类、证的辨治、证的衍变规律,阐明证的基因表型、蛋白质表型及其转化。从而制订出标准参照物,使得疾病的辨证分型及用药具有客观性、准确性及重复性。这将进一步提高中医对疾病规律的认识和治疗水平,有助于疾病的早期诊断和治疗^[4,5]。

3 蛋白质组学与中医肾病证候

中医肾病包括的范围很广,有水肿、腰痛、淋证、尿血、关格、虚劳等,涉及西医病名有原发或继发肾小球疾病、肾小管疾病、肾间质疾病、肾功能不全等,根据其发展的不同阶段,分为急性、慢性等不同类型的。中医在辨治的过程中却不拘泥病的不同,认为根据辨证来论治才是最重要的。无论何种肾病,处在哪一阶段,都有可能出现异病同证或同病异证,其证候都应该具有一定的特异性和稳定性,证候之间的传变也有规律可循。证候既然是有规律的病理表现,就必然有其物质基础支配机制,根据蛋白质组学理论和中医证候的相关性,任何一个证型都应该有特定的蛋白质表达和修饰,应存在特异的诊断标记物。

各种肾病的发生、发展演变过程也很复杂,虽有内在的规律,但尚未明确。因而,我们若能将肾病证候的多样性与机体蛋白质组即时表达的差异性结合起来研究,找到中医肾病证候的相关蛋白质,把握其作用的规律,对最终确立中医肾病证候的蛋白质组学依据,以及探讨其证候之间的演变规律和指导治疗将具有重大的现实意义。

目前,西医肾脏病研究者已经将蛋白质组学运用到肾脏疾病研究中,即运用二维凝胶电泳、质谱等手段来观察肾脏在生理和各种病理状态下的蛋白质组学变化,并对这些疾病的发病机制给予独特的解释。与此同时,肾脏正常和一些疾病模型的相关蛋白质组数据库也在建设之中。而中医在蛋白质组学技术的应用研究中起步较晚,我国中医研究工作者已经开始应用蛋白质组学研究中医肝病的辨治,并得到国家自然科学基金的支持,但尚未有研究者将蛋白质组学运用到中医肾病证候的研究中。本人认为,我们可以通过对肾病患者的肾组织、尿液和血清进行蛋白质组学研究,建立中医肾病证候蛋白质组数据库。我国中医肾病研究者可以通过这个数据库平台,实现资料共享,为进一步研究中医肾病的发病机制和证候实质提供可靠的资料。而中医肾病证候蛋白质组数据库的建立需要花费大量的人力和财力。因此,急需我国中医肾病工作者去从事这方面研究工作,希望在中医肾病证候研究能有突破性进展。

4 问题与展望

虽然蛋白质组学的研究已进

人飞速发展阶段,但其中仍有许多问题有待解决,主要是蛋白质的分离、定量和功能确定,尽管在蛋白质分析方面已有自动操作系统,但样品制备 2DE 及图像分析等具体工作仍需大量的手工进行。目前虽然存在许多困难,蛋白质组学的发展前景却不可否认。全面了解在生理和病理状态下,中医肾病相关的蛋白质谱变化,将获得对中医肾病证候的本质及发病机制的更

为深入认识,并有可能发掘出对于中医肾病证候有诊断价值的标志物。因此,随着技术的日益完善,蛋白质组学以后将成为从事中医肾病研究的一门重要工具。

参考文献

- [1] Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa - Poljak A. et al. Progeress withgenne - product mapping of the Mollicutes: Mycoplasma genitalium [J] .

Electrophoresis, 1995, 16(7): 1090 - 1094.

[2] Aebersold R. Constellations in a cellular universe [J] . Nature, 2003, 422: 115.

[3] 金光亮. 证候基因组学和证候蛋白质组学浅论 [J] . 中国医药学报, 2003, 18(6): 332 - 335.

[4] 刘为民. 中医证候学研究及证候蛋白质组学 [J] . 中国医药学报, 2003, 31(3): 3 - 7.

[5] 余宗阳, 杜建. 蛋白质组学与中医证候实质研究 [J] . 中国中西医结合杂志, 2004, 24(9): 844 - 846.



凡治咳嗽,贵在初起得法为善。《经》云:微寒微咳,咳嗽之因,属风寒者十居其九。故初治也必须以散,而又不可以过散,不散则邪不去,过散则肺气必虚,皆令缠绵难愈。薛立斋云:肺有火,则风邪易入,治宜解表兼清肺火;肺气虚则腠理不固,治宜解表兼补肺气。又云:肺属辛金,生于己土,久咳不已,必须补脾土以生肺金。此诚格致之言也。然清火之药,不宜久服。无论脉之洪大数滑,数剂后,即宜舍去。但用六味丸频频服之,而兼以白蜜、胡桃润之,其咳自住。若脾肺气虚,则用无味异功散、六君子等药,补土生肺,反掌收功,为至捷也。

——《医学心悟》第三卷·咳嗽

治虚有三本,肺脾肾是也。肺为五脏之天,脾为百骸之母,肾为性命之根;治肺、治脾、治肾,治虚之道毕矣。

——《理虚元鉴》卷上·治虚三本

夫心主血而藏神者也,肾主志而藏精者也。以先天生成之体论,则精生气,气生神。以后天运用之主宰论,则神役气,气役神。精、气、神,养生家谓之三宝,治之原不相离。故于滑精、梦泄种种精病者,必本于神治。于怔忡惊悸种种神病,

必本于气治。安神必益其气,益气必补其精。

——《理虚元鉴》卷上·心肾论

水肿之证,有阴有阳。察脉观色,问症须详。阴脉沉迟,其色青白,不渴而泄,小便清涩。脉或沉数,色赤而黄,燥粪赤溺,兼渴为阳。

——《仁术便览》卷二·水肿

耳鸣症,或鸣甚如蝉,或左或右,或时或塞,世人多作肾虚治,不效。殊不知此是痰火上升,郁于耳中而为鸣,郁甚则壅闭矣。若遇此症,但审其平昔饮酒厚味,上焦素有痰火,只作清痰降火治之。大抵此症多先有痰火在上,又感恼怒而得,怒则气上,少阳之火客于耳也。若肾虚耳鸣者,其鸣不甚,其人多欲,当见在劳怯等症。

——《明医杂著》卷之三·续医论

咳嗽,所因浮风,紧寒,数热,细湿,房劳,涩难。右关濡者,饮食伤脾,左关弦短,疲极肝衰,浮短肺伤,法当咳嗽。五脏之咳嗽,各视本部。浮紧风寒,沉数实热,洪滑多痰,弦涩少血,形盛脉细,不足以息,沉小伏匿,皆是死脉。惟有浮大而嗽者生,外症内脉,参看称停。春是上升之气,夏是火炎上最重,秋是湿热伤肺,冬是风寒外来。

——《仁术便览》卷二·咳嗽