

蛋白质组学在中医药现代化研究中的应用

□张国林 彭宣宪* (厦门大学生命科学学院 厦门 361005)

摘要:蛋白质组学是系统生物学的一个分支,与中医的整体性和系统性具有深刻的内在联系。蛋白质组学可以高通量地在整体水平上研究证实质的物质基础和中药的抗病分子机制,为中医治疗和中药新药开发提供科学的实验依据。目前蛋白质组学已经成为中医疾病和药物抗病分子机制研究和免疫机制实验研究的新工具,并取得了可喜的成果。蛋白质组学在中医学研究中的不断深入将为系统医学在中医药研究的应用铺平道路。

关键词:蛋白质组学 中医药 证实质 免疫 系统医学

自1995年蛋白质组学概念提出以来,蛋白质组学已经迅速发展成为生命科学研究领域的一大热点。2000年,第1个完整蛋白质组—生殖器支原体蛋白质组的公布,掀起了蛋白质组学研究的热潮。2001年和2002年《科学》杂志连续将蛋白质组学评为世界科学研究的热点之一。迄今,蛋白质组学几乎渗透到生命科学各个领域,形成了非常多样的交叉研究领域,如癌症蛋白质组学、磷酸化蛋白质组学、免疫蛋白质组学、糖蛋白质组学、中医药蛋白质组学等。

蛋白质组学研究是基因组学的继承与发展,是系统生物学在蛋白质层次上的分支;人类蛋白质组学是蛋白质组学研究中最重要领域,可直接揭示生命活动的规律和本质,发现人类重大疾病与病原体致病的物质基础及其发生与发展的病理机制,对提高生物医学原始创新能力、重大疾病防治水平具有重要意义。蛋白质组学在生物医学研究中的应用与

发展尤其是在新药和疫苗开发方面的潜力得到了医学界的广泛重视。

一、蛋白质组学研究与人类疾病

蛋白质组学是当今生命科学研究的新兴前沿领域,如同基因组学一样,蛋白质组学一诞生便被寄希望成为人类疾病防治的新工具。2003年国际人类蛋白质组织发起的人类蛋白质组计划是生命科学界继人类基因组计划之后又一项由全世界共同合作的全球性大课题,已经成为当前蛋白质组学研究的核心。迄今,人类蛋白质组计划已开展6个项目:美国牵头的人类血浆蛋白质组计划(HPPP)、中国牵头的人类肝脏蛋白质组计划(HLPP)、德国牵头的人类脑蛋白质组计划、瑞士牵头的大规模抗体计划、英国牵头的蛋白质组标准计划以及加拿大牵头的模式动物蛋白质组计划。2004年10月26日又启动了日本科学家牵头的糖蛋白质组计划,使该计划总数达到7个。在各国政府和各研究单位的高度重视和通力合作下,人类蛋白质组学计划进展十分顺利。

收稿日期:2005-10-31

修回日期:2006-01-20

* 联系人:彭宣宪,本刊编委,教授,博士生导师,厦门大学生命科学学院院长,主要从事免疫生物学和分子生物学研究, Tel: 0592-2187987, E-mail: wangpeng@xmu.edu.cn.

我国也十分重视该项研究,积极参与该领域的国际竞争与合作。除首次领导组织人类肝脏蛋白质组计划,实现我国在领导大型国际计划中零的突破外,在2001年~2003年,我国相继启动了“人类重大疾病的蛋白质组学研究”、“人类重大疾病与重要生物功能相关的蛋白质组学研究”、“蛋白质组研究技术平台的建立及其在癌症研究中的应用”、“蛋白质组技术平台的建立及其在肿瘤泛素通路研究中的应用”等项目,这些项目主要针对严重影响我国人民健康的重大疾病和重要生命科学问题,开展重大疾病的比较蛋白质组研究及重要生理、病理体系的功能蛋白质组研究,有望在国际人类蛋白质组学领域绘制“中华卷”,从而在生命科学研究前沿占有一席之地。

二、蛋白质组学在中医药研究中的应用

中医是世界医学的组成部分,更是我国的特色医学。它具有独特的理论体系,强调疾病和治疗的整体观、辨证论治。中医与西医的另一个根本区别是中药治疗的多靶点、多途径、多成分赋予其高度复杂性。经过几千年的临床实践,中医药已经发展成为具有高度复杂性的学科,其系统大规模、开放于环境、重视相互作用以及整体、活体、动态的观察方式等特性正好与疾病的复杂性相一致,因而与发达的西医相比,中医在个性化治疗方面独具优势。

然而,也正是中医药固有的高度复杂性为其深入研究带来挑战。长期以来,中医治疗严重依赖于经验,缺乏客观的评价依据。为解决这个问题,人们又提出中药现代化。但是,中药现代化借用还原医学研究方法,片面强调单药的有效成分和单因素的作用机制,忽略了中医药理论中整体观和系统观所强调的各因素相互作用。因而实施近十年的中药现代化鲜有突破性进展,这严重阻碍了中医药的现代化和国际化。

如何建立客观科学的中医药疗效评价体系,建立国际公认的诊断和疗效评价,用国际通用的科学语言解码抽象的中医药理论并揭示中医药治病的机制,是我国开发具有自主知识产权的中药、保护我国

中医药资源、参与国际竞争所亟需解决的问题。为此,迫切需要在中医药研究中引入全新的系统科学技术。

1995年在基因组学、蛋白质分离、质谱技术和生物信息学等基础上发展起来的蛋白质组学为之带来了曙光。蛋白质组学特有的整体性和系统性特点与中医学本质特征很相似,它不仅关心个别的基因和蛋白质,而且更加关注它们之间的相互关系,从而克服了传统中医学研究的片面性和单一性,避免了研究过程中的复杂和烦琐,提高了中医药作用机制研究的准确性和研究效率。随着蛋白质组学的进一步发展、成熟及其与各学科之间的交叉渗透,它将为中医药现代研究提供有力的研究工具。

将蛋白质组学引入中医药的基础理论和应用研究是我国医学界的重要任务。蛋白质组学在中医学两个核心领域研究中具有巨大潜力:对证实质的物质基础探索和中药现代化研究。

1. 蛋白质组学与中医证实质的研究

证实质研究是中医学理论研究的基石和核心内容,而辨证论治则是医学界公认的中医学特色。在中医理论中,证候是对疾病某个阶段的病因、病位及病理性质的概括,是机体内因和环境外因综合作用的机体反应状态,并随着疾病的发展而相应发生变化。它反映机体的功能状态,具有相当的复杂性。

近年来,以证据为基础的“循证医学”在国际临床医学领域中诞生,它的出现促使中医学从经验医学向现代医学转变,是医学科学领域的一大创新^[1]。有别于传统的经验医学,循证医学致力于高效率地寻求解决问题的最佳科学依据,严格证据的科学性、真实性和可重复性,在证据和科学证明的基础上开展医疗工作。在所有的循证医学证据中,实验证据最高级也最重要。借鉴循证医学的原理,方法和研究成果,可以最大限度地发挥中医药治疗注重终点结局和生存质量的优势,促进中医药的现代化和国际化。

任何事物都有其物质基础。几乎所有人类疾病的发生、发展都直接或间接与基因有关,是基因与外

界环境相互作用的结果。证候代表一种功能状态,其分子机制与细胞基因表达变化密切相关。基因组学研究认为人类约有 6000 多种疾病与基因有关,正是这些基因表达产物决定了证型的物质基础。蛋白质作为基因表达产物,是细胞代谢和调控途径的主要执行者。细胞内蛋白质与证候具有相似的多样性和开放式网络,这些特性是机体即时性功能状态的反映。因而,寻找证实质相关蛋白质或发现这些蛋白质的调控因素就成为中医学证型分型和辨证论治的迫切需要。

蛋白质组学研究方法的整体性和系统性与中医基础理论的整体观和系统性相似。因而具有高效解码证候生物学基础的潜力,将是揭示证实质的最有效手段^[2]。蛋白质组学技术克服了蛋白质表达和基因之间的非线性关系,可以直接研究中医证候的特征与细胞蛋白质整体动态变化之间的内在联系。通过从整体上比较不同疾病、同病异证之间的蛋白质图谱差异,探索蛋白质表达图谱与疾病中医分型之间系统的、有规律的联系。寻找复杂的多因素疾病证候的共同本质,使疾病的辨证分型及用药具有客观性、准确性和可重复性。

总之,蛋白质组学将现代科学语言引入中医基础理论研究,将加速中医从经验医学向实验医学的转变。其对证本质的研究有望建立中医证型的金标准,为中医理论机制的阐明提供有力的科学依据,为辨证论治和辨证用药提供客观、可量化的物质基础。

2. 蛋白质组学与中药现代化

蛋白质组学可以研究在病理过程或药物作用下,细胞蛋白质的组成及其变化,为药物开发研究提供了很好的技术平台。蛋白质组学在中药开发中最重要的应用在于药物靶点的发现、认定、筛选、优化以及药物毒理学与临床前安全性评价。当前蛋白质组学已经渗入到药物研究开发的许多方面,包括:化学蛋白质组学、拓扑蛋白质组学、临床蛋白质组学、毒性蛋白质组学和药物蛋白质组学等。其中,药物蛋白质组学的研究内容在临床前包括新药和靶的发现、药物作用模式、毒理学研究,在临床研究

方面包括疾病特异性蛋白作为有效患者选择的依据和临床试验的标志。应用类似于药物遗传学的方法,按照蛋白质谱来分类患者,并预测药物作用疗效。

大量证据表明,与药物作用相关的蛋白质主要有 3 类:疾病相关(特异性)蛋白质、生物标记分子和信号传导分子。这些蛋白质不仅是多种致病因子对机体作用的靶分子,也是大多数药物的靶标。目前,全世界共有约 400 个分子水平的药物筛选靶点,随着人类基因组的研究,今后 5~6 年内,药物先导化合物也将数倍于目前被发现的药物。但是中药复方及整体水平上发挥作用的中药的靶点仍属空白。

中药对机体功能状态的调整是直接或间接地通过干涉和影响基因-蛋白质过程中不同环节而实现的,其物质基础通常是基于各种药物之间通过“君臣佐使”配伍组合,形成复方药物。中药复方作用机制研究是个十分艰难而复杂的任务。当两个以上中药组方后,组合效应包括物理效应和化学效应将导致药物分子的物理性状改变,甚或形成新物质,产生一种或几种原单药所不具备的效能。这种新出现的物理性状或新化学成分正是中药疗效关键所在。不同配伍组方的中药复方药物具有活性多组分、作用多靶点、多途径的特点。因而,瞬时、快速地筛选中药复方中的有效成分,比较分析靶点差异性是中医药研究和开发的重点和难点。

新近发展起来的蛋白质组学能够研究细胞瞬时蛋白质表达状态,因而具有解码重要复方作用靶点的潜力。利用蛋白质组学可以直接比较中药方剂中不同药物及其组合对蛋白质组的改变,建立中药蛋白质图谱。通过比较探索方剂组方原则及其配伍规律与蛋白质图谱变化关系,可以探测和验证中药作用靶点,揭示药物分子相互作用以及药物与环境因子之间相互作用,从而最终阐明中药复方中功能蛋白质分子之间复杂的网络作用机制,为发现并筛选药物新靶点,开发新药提供理论基础。

此外,蛋白质组学在中药材与制剂的药理研究,濒危中药材的保护和替代研究和阐明中药中所含直

接作用于人体的蛋白质或肽类成分以及其与组织细胞之间的相互作用研究等方面具有巨大潜力。

三、中医药的蛋白质组学实验研究进展

目前,蛋白质组学在中医药实验研究主要集中于三个方面:疾病的分子机制研究、中药单药或复方药物的抗药分子机制研究和免疫学研究。

1. 蛋白质组学与疾病分子机制研究

本实验室与广州中医学院樊粤光教授合作,研究中药生脉素对骨质疏松症作用的分子机制。首先建立了骨质疏松症大鼠模型,进一步比较研究生脉素对大鼠骨蛋白质组的影响,结果一共筛选、鉴定到10个差异表达蛋白。此外,还比较研究了卵巢切除术后骨质疏松症大鼠骨蛋白质组变化。实验结果表明切除术后雌激素的缺乏改变了骨组织中硫氧还蛋白过氧化物酶1、肌浆球蛋白轻链多肽2和泛素结合酶E2的表达。其中泛素结合酶E2已经被证明参与了骨质疏松症形成,而硫氧还蛋白过氧化物酶1和肌浆球蛋白则为新发现的骨质疏松症相关蛋白^[3]。这些疾病相关蛋白的发现和鉴定为骨质疏松症作用的分子机制提供了新的理论依据。

2. 蛋白质组学与药物抗病分子机制研究

梁恒等研究了单味中药山茱萸醇提物(FCE)作用鼠IgA肾病的肾组织差异蛋白质表达谱,发现FCE可引起肾病组织的147个蛋白质表达恢复正常,此外还有一个新表达蛋白。由此他们认为FCE在治疗过程中可能通过这些靶蛋白质发挥作用^[4]。陈春燕等比较高三尖杉酯碱(HHT)处理白血病HL-60细胞4小时与未处理细胞的总蛋白组变化,分离并鉴定到6个候选凋亡相关蛋白^[5]。

采用蛋白质组技术还可以来研究中药治疗疾病包括危急重症的疗效基础。谢文光等研究了玄参治疗大鼠内毒素血症的血清蛋白质组变化,认为玄参是通过调节xPr₁等10个蛋白的表达而达到治疗效果。但单味玄参不能完全纠正LPS致内毒素血症的所有蛋白的变化,因此,合理运用中药复方的协同治疗可能对内毒素血症更有效^[7]。唐发清等研究

了中药复方解毒颗粒对鼻咽癌HNE1细胞杀伤作用机制,发现673个差异表达蛋白。他们又进一步探讨中药复方益气解毒颗粒抑制鼻咽癌细胞裸鼠移植瘤生长的分子机制,分离并鉴定了用药前后肿瘤组织中有16个蛋白差异表达^[8-9]。蒋红梅等用双向电泳技术探讨天然成分组方药物益生注射液抗移植植物缺血再灌注损伤的分子机制。发现益生注射液可能将血管内皮细胞的8种蛋白质作为靶标,并通过调节其含量而发挥抗缺血再灌注(缺氧再给氧)损伤作用^[10]。

3. 蛋白质组学与免疫

中医脾肾与免疫关系密切。许多中药如健脾补气方药可通过提高肌体免疫力达到治疗目的。现代免疫学与中医的许多观点十分相似,中医正气理论中的扶正祛邪就是通过调节免疫平衡以提高肌体的抗病能力。临床研究发现应用中药治疗慢性肝炎、艾滋病时肌体细胞免疫增强。疫苗是生物体抵抗疾病微生物的最佳武器,而具有保护作用的免疫原性蛋白往往是很好的候选疫苗。中药与疫苗的结合使用有丰富的医学实践。因而采用蛋白质组学研究免疫机制和疫苗筛选是中西医结合的切入点,对现代中医药的研究具有重要理论和实践意义。

四、展 望

蛋白质组学作为生命科学新技术被中医学界广泛重视和关注,在疾病和药物抗病分子机制研究中的应用取得了一些可喜的成果,为中西医结合探索了新路,成为现代中医药研究的新领域。随着蛋白质组学技术本身的不断发展和成熟,及与其他生物技术的不断融合,蛋白质组学将能注解更多的中医理论,解码更多证与中药复方的分子机制,为中医治疗和中药新药开发积累更多证据。

然而,我们也应当看到,蛋白质组学在中医学研究领域还存在许多问题。首先作为一门新兴学科,蛋白质组学分离和高通量鉴定极端性质蛋白质如:极酸、极碱、小分子蛋白等能力仍然有限,对蛋白质组学研究产生的海量信息进行综合分析、处理能力还需要大幅度提高。其次,在中医药研究中蛋白质组学

的实际应用才刚刚起步。相比西医,国际国内相关实验报道还很少。在已经报道的实验研究中,大多数中医药研究都采用简单的比较蛋白质组学方法,而功能蛋白质组学领域中大量涌现的新技术、新策略和新方法难以得到及时应用。此外,中医药的治病机理十分注重个体差异以及人与环境之间的关系,因人用药,达到个性化治疗。中医的思维方式和现代系统论有深刻的内在联系蛋白质组学是系统生物学的一个分支,与中医理论的系统性和整体性要求还有较大差距。

因此,在充分认识蛋白质组学对中医药研究和应用中的巨大促进作用的同时,还应综合考虑中医本身的特点并加以利用,最终实现中医药研究从系统生物学到系统医学的转变。

参考文献

- 1 张小澍,丁福康,潘书文,等.循证医学研究进展.人民军医,2005,48(4):228~231.
- 2 余宗阳,杜建.蛋白质组学与中医证实质研究.中国中西医结合杂志,2004,24(9):844~846.
- 3 Fan YG, Liu JR, Wang SY, et al. Functional proteome of bones in rats with osteoporosis following ovariectomy. Life Sciences, 2005,76: 2893~2901.
- 4 梁恒,邢建宇,刘希成,等.山茱萸作用鼠 IgA 肾病的肾组织差异蛋白质谱.西安交通大学学报,2005,39(6):650~655.
- 5 陈春燕,贾继辉,潘祥林,等.高三尖杉酯碱启动白血病细胞凋亡的比较蛋白质组学研究.中华血液学杂志,2003,24(12):624~628.
- 6 李征宇,赵霞,杨金亮,等.顺铂作用卵巢癌细胞株的蛋白质组学研究.中国科学 C 辑 生命科学,2005,35(3):254~261.
- 7 谢文光,邵宁生,马晓昌,等.玄参治疗大鼠内毒素血症的血清蛋白质组变化的初步研究.中国中药杂志,2004,29(9):877~882.
- 8 唐发清,田道法,龚志军,等.益气解毒颗粒干预鼻咽癌细胞 HNE1 蛋白质表达的研究.中国中西医结合杂志耳鼻喉科杂志,2004,12(3):121~123.
- 9 唐发清,田道法,邓富良,等.中药益气解毒颗粒对鼻咽癌裸鼠移植瘤蛋白质表达的影响.中南大学学报(医学版),2004,29(5):577~582.
- 10 蒋红梅,卢晓凤,李幼平,等.用双向电泳技术探讨益生注射液抗缺血再灌注损伤的分子机制.中国医药学报,2003,18(9):524~576.
- 11 Wu YJ, Wang SY, Peng XX. Serum acute phase response (APR)-related proteome of loach to trauma. Fish & Shellfish Immunology, 2004,16:381~389.
- 12 Peng XX, Wu YJ, Chen JA, et al. Proteomic approach to identify acute phase response related proteins with low molecular weight in loach skin following injury Proteomics, 2004,4, 3989~3997.

Application of proteomics in the modernization of Chinese traditional medicine

Zhang Guolin and Peng Xuanxian

(School of Life sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Proteomics is a branch of systematic biology. It and Chinese traditional medicine share similar profile in integration and system. Therefore, proteomic methodologies could be applied for the study of the material basis of TCM syndrome essence and the anti-disease mechanism of Chinese traditional medicine by high-throughput approach for the experimental evidences to clinic therapy and novel drug designing. Recently, proteomics has been becoming a new tool for an understanding of disease's molecular mechanism, drug efficiency and immunity related to Chinese traditional medicine. The progress of proteomics will pave the way for the application of system medicine in Chinese traditional medicine.

Keywords: proteomics, Chinese traditional medicine, TCM syndrome essence, immunity, system medicine

(责任编辑:付建华,责任编审:果德安,责任译审:熊艳艳)