中医证候的转录组学研究进展与探析*

何浩强^{1,2}, 陈光^{1,2}, 高嘉良¹, 王阶^{1**}

(1. 中国中医科学院广安门医院心血管科 北京 100053;
2. 北京中医药大学针灸推拿学院 北京 100029)

摘要: 中医证候是中医理论的精粹部分,其生物学基础研究是证明中医科学性和中医药现代化的关键环节。转录组学从分子水平研究证候相关基因转录及转录调控规律以探索证候生物学基础,目前在证候研究中得到一定应用。本文对中医证候转录组学研究进行综述,包括转录组学内涵及研究方向、转录组学相关技术、中医证候的转录组差异表达和调控网络分析,并阐述了证候转录组学面临的挑战以及发展前景,以期证候生物学基础研究提供新的思路和方法。

关键词: 证候 转录组学 mRNA miRNA lncRNA 差异表达 调控网络

doi:10.11842/wst.2018.01.001 中图分类号:R22 文献标识码:A

证候是中医辨证论治的基础与核心,是中医理论的精粹部分。证候研究是中医药基础研究、临床实践和现代化进程的关键一环。证候生物学基础研究又是证候研究中必不可少的部分,也是证明中医科学性的重要前提。目前,学者运用传统中医方法并结合现代科学技术,从整体、细胞、分子等多个层面,生理、生化、超微结构等多个方面对证候生物学基础做了相关探索。尤其在进入后基因组时代之后,有学者^[1]提出中西医可能在寻找疾病的共性物质基础时在基因水平上找到两者的结合点,为证候生物学基础研究进一步指明方向。目前证候生物学基础研究^[2]在分子层面的基本思路是以探索基因组、转录组、蛋白组表达异常及特异代谢组分,探寻证候物质基础——“生物标志物群”为目的。其中,转录组是联系基因组与蛋白组的枢纽。研究转录组不仅可以解读基因组的功能元件,揭示细胞或组织的分子成分,也可以理解细胞、组织生长和疾病发展的过程^[3],同样有利于解释证候——中医疾病发展过程中某一阶段的病理概括——的发生发展机制。近

年来,应用现代组学技术与方法,中医证候在转录组学的研究取得一定进展,主要集中在转录组差异表达,转录组调控网络两个方面,为总结其经验以促进证候转录组学的进一步研究,现对相关国内外文献进行如下综述。

1 转录组学内涵及研究方向

转录组学(Transcriptomics)是在整体水平上研究特定阶段或生理状态下某一细胞或组织所有基因转录情况及转录调控规律的一门学科^[4]。狭义的转录组是指编码蛋白质的信使RNA(messenger RNA, mRNA),广义的转录组则是指从基因转录的RNA总和,包括mRNA和非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)。研究显示,人体超过93%的基因转录成RNA,其中只有2%转录成mRNA,其余为ncRNA^[5],ncRNA在基因调控中扮演重要的结构和功能角色。根据功能差异,ncRNA又可分为:①看家非编码RNA,包括较熟悉的核糖体RNA、转运RNA,以及小核RNA、小核仁RNA等;②调控性非编码RNA,包括研究较多的微小RNA(miRNA, miRNA),长链非编码RNA(long ncRNA, lncRNA),以

收稿日期:2017-11-05

修回日期:2017-12-18

* 国家自然科学基金面上项目(81673847):冠心病血瘀证相关lncRNA-miRNA调控网络研究,负责人:王阶;国家中医药管理局公益性行业专项(201207009):证候类中药新药疗效评价方法研究,负责人:王阶。

** 通讯作者:王阶,本刊编委,主任医师,博士研究生导师,主要研究方向:心血管疾病的中西医结合防治与研究。

及小干扰RNA, PIWI蛋白相互作用RNA等^[6-8]。

转录组研究的主要目的包括:对所有转录本进行分类;确定基因的转录结构,如起始位点,5'和3'端,剪接形式及其它转录后修饰等;量化细胞或组织在发育过程和不同情况下基因差异表达的水平。通过转录组分析,可以揭示基因表达与生命现象的内在联系,对理解机体发育和病理生理机制具有重要作用^[9]。目前,转录组研究已经成为揭示疾病的基因突变规律、疾病发生发展的重要机制、发现致病基因调控的关键靶点等领域的主要研究手段,广泛应用于疾病预防、诊断、个性化治疗和预后等领域^[9]。在中医药领域,转录组学技术主要应用于证候学研究、中药复杂体系研究、中药材鉴别、以及中药材活性成分生物合成和调控研究等方面^[10]。在证候研究中,又以探索转录组能否成为证候诊断、分型、干预生物标志物可能性为主要内容。近期,有学者提出病证结合的生物标志物研究思路与方法,为中医证候转录组研究提供了新的启发^[11]。

2 中医证候转录组学研究的相关技术

2.1 基因芯片技术

基因芯片技术,又称DNA微阵列技术,即通过将待测RNA片段逆转录成cDNA(complementary DNA),并用荧光标记,然后与芯片上已知序列的核酸探针杂交进行核酸序列测定,最后通过检测样品荧光信号强弱测定基因表达水平的技术,包括寡核苷酸芯片、cDNA芯片^[12]等。目前,该技术主要用于基因表达谱分析、基因突变及基因多态性表达谱分析、检测可变剪接模式等^[13,14],在医学领域则被用于疾病分类诊断,药理毒理研究,药物靶点筛选及药效分析^[15-17]。基因芯片技术发展较为成熟,具有高度平行性、高效性、自动化等特点,其优势在于对基因表达水平估计快速准确,数据分析软件及理论成熟^[18],但在新基因检测与灵敏度上较测序技术差^[19-21]。在证候转录组学研究方面,主要集中在分析不同证型间的差异基因表达水平,一般以mRNA、miRNA、lncRNA的差异表达为研究对象。

2.2 RNA测序技术

RNA测序技术,又称RNA-seq技术,是将新一代高通量测序技术应用于RNA逆转录生成的cDNA上,从而获得来自不同基因的RNA片段在特定样本中的含量的技术,包括Solexa合成测序技术、454焦磷酸测序技术、SOLiD连接测序技术以及单分子测序技术等^[22],其过程是将RNA逆转录成cDNA文库,将cDNA随机

剪切为小片段,在cDNA两端加上接头利用高通量测序仪测序,将获得序列通过比对或从头组装形成全基因组范围的转录谱^[3]。目前,该技术主要用于基因表达谱分析、RNA结构及结构变异研究、非编码区域功能研究和新基因发现等^[23],在生物学研究、临床研究和药物研究等领域被广泛使用^[3,24]。RNA-seq是测序技术飞速发展的新时代产物,具有数字化信号、高灵敏度、检测范围广等特点,其优势在于无需预先设计探针,可对任何物种进行全转录组分析,但因测序产生的海量数据尚缺乏成熟的数据处理模型以及测序片段读长较短是目前的主要挑战^[3]。

3 中医证候与转录组差异表达研究

证候是疾病发展过程中某一阶段的病理概括^[25],证候的出现必然存在着与形成疾病证候病理变化相应的基因结构或功能的改变^[11]。现代研究显示转录组与许多疾病的发生发展有重要联系^[5],其表达水平在不同病理和特定状态下具有显著差异。近些年,很多学者将转录组学引入证候研究,通过芯片或测序技术观察和筛选不同证候间差异表达的转录组,再根据已有的基因数据库注释信息,对其进行生物信息学分析,归纳其参与的生物过程与信号通路,试图发现证候的生物学基础。目前主要在mRNA、miRNA、lncRNA、circRNA层面做了相关研究,取得一定进展。

3.1 mRNA

mRNA是由DNA模板链转录,携带遗传信息并能指导蛋白质合成的一类核糖核酸,其结构包括5'帽子、非编码区、编码区和3'PolyA尾,除了传递遗传信息,编码蛋白质(肽链)功能外^[26],还被发现是一种竞争性内源RNA(competing endogenous RNA, ceRNA),参与基因表达的调控^[27]。mRNA差异表达与各系统疾病均存在一定联系^[28-30],用于临床诊断、疾病分型、个性化治疗等方面^[30,31]。中医证候的mRNA差异表达研究包括冠心病血瘀证^[32],HIV/AIDS气阴两虚和湿热内蕴证^[33],慢性乙型肝炎肝郁脾虚证和脾胃湿热证^[34]等。

陈氏等^[32]运用AFFX Human Genome U133 Plus 2.0 Array芯片和RT-PCR技术(Quantitative Real-time PCR, qRT-PCR)调查冠心病血瘀证差异表达谱,结果共有107条基因存在差异表达,上调基因48条,下调基因59条,通过GO(Gene Ontology)和信号通路分析,发现其中有14条差异基因和4/15的信号通路与炎症、免疫反应相关。张氏等^[33]运用AFFX Human Genome U133

Plus 2.0 Chips 芯片技术分析 HIV/AIDS 气阴两虚和湿热内蕴证基因差异表达,结合基因功能分析,结果发现气阴两虚证共有 113 条基因差异表达(41 条上调,72 条下调),与细胞活动、通讯、蛋白质定位、细胞离子稳态和细胞运动调节等功能有关,湿热内蕴证共有 76 条基因差异表达(14 条上调,62 条下调),与细胞应激反应,以及造血或淋巴器官发育等功能有关。范氏等^[34]采用 Agilent 表达谱芯片筛选慢性乙型肝炎肝郁脾虚证和脾胃湿热证患者的差异表达基因,并通过 GO、Pathway、Genbank 等数据库对差异基因进行分析和动态网络构建,结果找到共表达能力差异最显著的 9 个基因(LOC340508、HIST2H2BE、MPL、FLJ22536、TUBA8、NT5M、EGFL7、PTPRF、TSPAN33),主要涉及免疫反应、细胞生长、DNA 损伤、信号转导、炎症反应等生命过程。

3.2 MiRNA

MiRNA 是一类长度为 19–23 个核苷酸(nucleotide, nt)的非编码 RNA,具有高度序列保守性、时序性和组织特异性等特点,以及调控基因表达,调节细胞早期发育,参与细胞分化、增殖和凋亡等生物学功能。医学研究显示,miRNA 差异表达在肿瘤、心脏、神经系统等疾病呈现一定规律,目前被应用于疾病诊断,个性化治疗和预后判断中^[35–37]。一些学者将其用于证候研究,分析了冠心病血瘀证^[38]、高血压血瘀证^[39]、乙型肝炎肝胆湿热证和肝肾阴虚证^[40]、胰腺癌湿热证^[41]miRNA 的差异表达。

王氏等^[38]使用 Agilent RNA 6000 Nano assay 芯片和实时荧光定量 PCR 技术分析了冠心病不稳定型心绞痛血瘀证 miRNA 差异表达,结果发现 miR-146b-5p, miR-199a-5p 在血瘀证组表达显著上调($P<0.01$),认为其可能成为血瘀证诊断的生物标志物。何氏等^[39]使用 Illumina HiSeq2000 测序和 qRT-PCR 技术筛选了高血压血瘀证相关 miRNA,结果发现,miR-199a-5p 和 miR-1283 在血瘀证组表达显著下调($P<0.05$),因此认为其可能是高血压病血瘀证形成的特异性相关 miRNA。张氏等^[40]使用 Agilent Human miRNA microarray V₃ 芯片和 qRT-PCR 技术,分析了慢性乙型肝炎肝胆湿热证、肝肾阴虚证患者与健康人血清 miRNA 差异表达,结果显示 miR-583 和 miR-663 分别在肝胆湿热证和肝肾阴虚证患者血清中显著上调($P<0.001$),溶解曲线结果提示指标具有较好灵敏度和特异度,可被用作证型区分的标志性分子。高氏等^[41]采用 qRT-PCR 技术检测胰腺癌湿热证、脾虚证和无证型患者唾液中

miR-21、miR-181a 表达水平,结果显示 miR-21、miR-181a 在湿热组表达水平显著降低。同时,高氏研究发现胰腺癌湿热证患者预后较好,因此推断 miR-21、miR-181a 可能作为胰腺癌预后判断的指标之一。

3.3 LncRNA

长链非编码 RNAs 通常指长度超过 200 nt 的非编码 RNA,其序列保守性较低,表达具有组织和时空特异性。LncRNA 参与染色质重塑、基因转录、蛋白质运输、细胞分化等多种生物过程,与冠状动脉疾病、自身免疫性疾病、神经系统疾病、肿瘤等具有一定关联性,被应用于疾病诊断、判断预后、药物靶标研究等生物医学领域^[42,43]。目前证候研究方面,主要是对冠心病血瘀证^[44]、乳腺癌肝郁证^[45]、肺结核^[46]不同证候的 lncRNA 差异表达谱的研究。

王氏等^[44]采用 Illumina HiSeq 2 500 测序和 qRT-PCR 技术筛选冠心病血瘀证相关差异表达 lncRNA,结果发现冠心病血瘀证组 39 个 lncRNA 差异表达(Fold change>2, p -value<0.05),其中 3 个 lncRNA 上调,36 个 lncRNA 下调。许氏等^[45]采用 Human lncRNA Microarray V3.0 芯片和 qRT-PCR 技术筛选乳腺癌及其肝郁证相关 lncRNAs,结果发现 lncRNARP4-583P15.10 和 lncRNARPII-445H22.4 与乳腺癌的发展和进展有关,进一步分组分析发现 lncRNARPII-445H22.4 在肝郁证组中明显上调($P<0.001$)且溶解曲线分析提示敏感度和特异度较好,具有作为乳腺癌肝郁证患者早期诊断生物标志物的潜力。Jiang 等^[46]运用 Human lncRNA Microarray V3.0 分析肺结核患者不同证候的 lncRNA 表达谱,结果显示肺阴虚证有 566 个 lncRNA、肝火伤阴证有 55 个 lncRNA、气阴两虚证 60 个 lncRNA 存在差异表达(Fold change>2, p -value<0.05)。KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 通路分析显示差异表达基因与 Hippo 信号通路以及蛋白质消化、吸收途径有关。

4 中医证候与转录组调控网络研究

证候表现是基因表达成蛋白质,并由蛋白质发挥生物学效应的结果,基因表达受多环节、多因素调控,解析基因表达的调控对于理解证候的发生、转化具有重要的作用。基因表达的调控是一个复杂的相互作用网络,转录组水平的调控是基因调控网络的关键环节,也是目前研究的热点。一些研究^[47]已经阐明了 miRNA-mRNA 通过多重网络调控基因表达的复杂机

理。miRNA 是关键的基因表达转录后调控因子。最新研究^[27]表明,不同种类的 RNA 之间存在相互作用关系,且都可以凭借 miRNA 海绵的角色调控基因表达。这些 RNA 分子统称为竞争性内源 RNA (competing endogenous RNAs, ceRNAs), 它们通过与“共享”的 miRNA 竞争性结合互相传递信息或者互相调控。进一步探索 ceRNAs 之间调控关系将对基因调控网络产生新的认识,也对人类的发展和疾病具有重要意义,对于阐明证候机制亦是同等重要。一些学者在证候的转录组调控网络方面也进行了探索性研究并取得一定成果,主要涉及 miRNA-mRNA^[38,48], lncRNA-miRNA-mRNA^[44]调控网络,但总体来讲,研究的数量和深度尚且不足。

王氏等^[38]采用 Agilent RNA 6000 Nano assay 芯片技术筛查血瘀证患者 miRNA 和 mRNA 差异表达,发现 401 个 mRNA 和 11 个 miRNA 差异表达,然后运用 miRWalk 软件根据 miRNA 预测相关靶基因并参照差异表达 mRNA,结果发现 miR-146b-5p, miR-199a-5p 和 23 个目标 mRNA 形成了血瘀证的关键调控网络($P < 0.01$),经另一独立队列的 qRT-PCR 验证得到相同结果,因此认为该网络可用于血瘀证诊断。王氏等^[49]又通过血塞通治疗冠心病不稳定型心绞痛血瘀证观察其对 miR-146b-5p 和 miR-199a-5p 及其富集的干预抗原呈递和处理通路、p53 信号通路和 NK 细胞介导的细胞毒性作用通路上的靶基因 (KIR3DS1, HLA-DPB1, TP53SESN2, NCR1, PRF1) 的影响,治疗前后结果经 qRT-PCR 验证,发现 miR-146b-5p、miR-199a-5p 可作为诊断标志物,且靶基因的变化趋势提示 miR-146b-5p、miR-199a-5p 可以影响以上 3 条信号通路。另外,王氏等^[44]采用 Illumina HiSeq 2500 测序和 qRT-PCR 技术进一步筛选冠心病血瘀证相关 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络,结果显示冠心病血瘀证相关差异基因包括 39 个 lncRNA, 229 个 miRNA 和 221 个 mRNA。通过联合 Pearson 相关分析和 starBase 数据库预测获得的基因间调控关系,构建 lncRNA, miRNA, mRNA 之间的共调控网络。符合共调控条件的共有 9 个 lncRNA,

31 个 mRNA 和 24 个 miRNA 构成共调控网络,包括 76 个基因间调控关系。此外,武氏等^[48]采用 AFFX Human Genome U133 Plus 2.0 芯片技术分析 HIV/AIDS 湿热内蕴证 miRNA 和 mRNA 表达情况,通过关联分析发现了 105 对 mRNA-miRNA, 73 条靶基因,靶基因主要参与对组织反应、调节增殖、凋亡等。

5 中医证候转录组学的挑战和前景

随着分子生物学技术的发展,使得我们能够从转录组学的层面认识证候,但转录组学蕴含庞大且复杂的信息给证候研究带来新的挑战:其一,高通量芯片和测序技术产生的海量数据与证候本身的复杂性使生物信息学处理与数据分析困难化;其二,研究多通过少量样本寻找差异表达的 RNA 而未进行大样本量的验证,或验证与筛选结果不一致使结论可信度降低;其三,即使筛选得到差异 RNA,但缺乏“证候模型”下的细胞功能学验证使发生机制尚不明确;其四,使用转录组调控网络研究证候复杂系统,使复杂模型更加复杂化;其五,病证结合模式下的简单分组对照研究,无法甄别差异 RNA 为疾病特异性还是证候特异性使结果模糊化。针对以上问题,亟需研究者深入思考并加以改进,比如保持转录组学技术与组学数据处理分析方法的更新,规范证候转录组研究的流程与方法,优化证候差异 RNA 筛选的分组设计方案等等。另外,环状 RNA^[50]已作为新发现的 ceRNA 被广泛用于西医疾病研究,其高度保守性可能更利于临床检测,能否将其引入中医证候研究也需进一步探索。

虽然中医证候的转录组学研究还面临诸多挑战,但凭借高通量芯片、新一代测序及其它组学技术,中医证候研究在转录组学层面以取得一定进展,通过分析转录组的差异表达和调控网络,已发现部分证候相关 RNA 和转录组调控网络的关键节点,它们将扮演证候生物标志物角色或用于阐明证候发生机制。借助此类研究,可为证候生物学基础研究开辟新的道路,也能为进一步实现证候的早期诊断、早期治疗以及促进中医药精准化医疗奠定坚实基础。

参考文献

- 1 王忠,王永炎,王阶. 后基因组时代中医证候组学研究的思考. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(8): 621-623.
- 2 杜武勋,朱明丹,姜民,等. 生物系统论指导下的中医证候实质研究及其问题. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(3): 419-423.
- 3 Wang Z, Gerstein M, Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(1): 57.

- 4 Jacquier A. The complex eukaryotic transcriptome: unexpected pervasive transcription and novel small RNAs. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(12): 833.
- 5 Casamassimi A, Federico A, Rienzo M, et al. Transcriptome Profiling in Human Diseases: New Advances and Perspectives. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(8):1652.
- 6 Carninci P, Hayashizaki Y. Noncoding RNA transcription beyond annotated genes. *Curr Opin Genet*, 2007, 12(17): 139-144.
- 7 Goodrich J A, Kugel J F. Non-coding-RNA regulators of RNA polymerase II transcription. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(8), 612-616.
- 8 Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(12), 861-874.
- 9 杨旭, 焦睿, 杨琳, 等. 基于新一代高通量技术的人类疾病组学研究策略. *遗传*, 2011, 33(8): 829-846.
- 10 张晓萌, 李健春, 王琼, 等. 转录组测序技术在中医药领域的应用. *中国现代中药*, 2016, 18(08): 1084-1087.
- 11 王阶, 姚魁武, 刘咏梅, 等. 冠心病血瘀证转录组学研究——病证结合生物标志物研究思路与方法. *中国实验方剂学杂志*, 2017(19): 1-5.
- 12 吴明煜, 郭晓红, 王万贤, 等. 生物芯片研究现状及应用前景. *科学与技术工程*, 2005, (07): 425.
- 13 Celis J E, Kruhøffer M, Gromova I, et al. Gene expression profiling: monitoring transcription and translation products using DNA microarrays and proteomics. *Febs Letters*, 2000, 480(1): 2.
- 14 Kuwabara P E. DNA Microarrays and Gene Expression: From Experiments to Data Analysis and Modeling. *Brif Funct Genomic Proteomic*, 2002, 2 (1): 80-81.
- 15 Ntzani E E, Ioannidis J P. Predictive ability of DNA microarrays for cancer outcomes and correlates: an empirical assessment. *Lancet*, 2003, 362(9394): 1439.
- 16 Debouck C, Goodfellow P N. DNA microarrays in drug discovery and development. *Nat Genet*, 1999, 21(1 Suppl): 48-50.
- 17 Marton M J, Derisi J L, Bennett H A, et al. Drug target validation and identification of secondary drug target effects using DNA microarrays. *Tanpakushitsu Kakusan Koso Protein Nucleic Acid Enzyme*, 2007, 52(11): 1808-9.
- 18 Taylor J, Schenck I, Blankenberg D, et al. Using galaxy to perform large-scale interactive data analyses // Baxevanis A D, Stein L D, Stormo G D, et al. *Current Protocols in Bioinformatics*. USA: John Wiley and Sons, Inc., 2007, Unit 10.5
- 19 Royce T E, Rozowsky J S, Gerstein M B. Toward a universal microarray: prediction of gene expression through nearest-neighbor probe sequence identification. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(15): e99.
- 20 Cole T, Williams B A, Geo P, et al. Transcript assembly and abundance estimation from RNA-Seq reveals thousands of new transcripts and switching among isoforms. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(5): 511.
- 21 Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell*, 2007, 129 (7): 1401-14.
- 22 王兴春, 杨致荣, 王敏, 等. 高通量测序技术及其应用. *中国生物工程杂志*, 2012, 32(1): 109-114.
- 23 Mortazavi A, Williams B A, Mccue K, et al. Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nat Methods*, 2008, 5(7):621.
- 24 Graham I A, Besser K, Blumer S, et al. The Genetic Map of Artemisia annua L. Identifies Loci Affecting Yield of the Antimalarial Drug Artemisinin. *Science*, 2010, 327(5963): 328.
- 25 刘家强, 孙玉文, 王米渠. 论证候与分子生物学的结合——分子象与分子症状. *中华中医药学刊*, 2009, 27(01): 192-193.
- 26 熊高飞, 熊向阳, 张吉翔. mRNA结构及其稳定性的关系. *细胞生物学杂志*, 2006, 28(04): 513-517.
- 27 Tay Y, Rinn J, Pandolfi P P. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition. *Nature*, 2014, 505(7483): 344-52.
- 28 Bhattacharjee A, Richards W G, Staunton J, et al. Classification of human lung carcinomas by mRNA expression profiling reveals distinct adenocarcinoma subclasses. *Proc Natl Acad Sci USA. P Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24): 13790-5.
- 29 Hamid Q, Azzawi M, Ying S, et al. Expression of mRNA for interleukin-5 in mucosal bronchial biopsies from asthma. *J Clinl Investigat*, 1991, 87 (5): 1541.
- 30 Payton J E, Grieselhuber N R, Chang L W, et al. High throughput digital quantification of mRNA abundance in primary human acute myeloid leukemia samples. *J Clin Investigat*, 2009, 119(6): 1714-26.
- 31 Kausch I, Lingnau A E, Sellmann K, et al. Antisense treatment against Ki-67 mRNA inhibits proliferation and tumor growth in vitro and in vivo. *Inter J Cancer*, 2003, 105(5): 710-6.
- 32 Ma X J, Yin H J, Chen K J. Differential Gene Expression Profiles in Coronary Heart Disease Patients of Blood Stasis Syndrome in Traditional Chinese Medicine and Clinical Role of Target Gene. *Chin J Integr Med*, 2009, 15(2): 101
- 33 Liu S, Chen Y, Xie S, et al. Gene Expression Profiles of HIV/AIDS Patients with Qi-Yin Deficiency and Dampness-Heat Retention. *J Altern Complem Med*, 2016, 22(11): 865-879.
- 34 杨婵娟, 刘宏伟, 王丽春, 等. 慢性乙型肝炎肝郁脾虚证和脾胃湿热证患者的差异表达基因研究初探. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32 (08): 1032-1037.
- 35 Tuna M, Machado A S, Calin G A. Genetic and epigenetic alterations of microRNAs and implications for human cancers and other diseases. *Gene Chromosome Canc*, 2016, 55(3), 193-214.
- 36 Costa V, Esposito R, Aprile M, et al. Non-coding RNA and pseudogenes in neurodegenerative diseases: "The (un)Usual Suspects". *Front Genet*, 2012, 3, 231.
- 37 Gao J, Xu W, Wang J, et al. The role and molecular mechanism of non-coding RNAs in pathological cardiac remodeling. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 (3): 608.
- 38 Liao J, Liu Y, Jie W. Erratum to: Identification of more objective biomarkers for Blood-Stasis syndrome diagnosis. *Bmc Complem Altern Med*, 2016, 16(1): 371.
- 39 何铃, 方梅霞, 陈利国, 等. 高血压病血瘀证相关 miRNA 的筛选. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(5): 817-822.
- 40 Zhang H, Guan Y, Lu Y Y, et al. Circulating miR-583 and miR-663 Refer to ZHENG Differentiation in Chronic Hepatitis B. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013(9654): 751341.

- 41 高嵩. 胰腺癌患者唾液中 miR-21 和 miR-181a 表达与中医证型相关性研究. 上海: 复旦大学硕士学位论文, 2013.
- 42 Wilusz J E, Sunwoo H, Spector D L. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. *Gene Dev*, 2009, 23(13): 1494.
- 43 Li J, Xuan Z, Liu C. Long Non-Coding RNAs and Complex Human Diseases. *Intern J Mol Sci*, 2013, 14(9): 18790-808.
- 44 廖江铨, 王阶, 刘咏梅, 等. 高通量测序筛选冠心病血瘀证相关 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(19): 28-33.
- 45 许楠. 术前乳腺癌肝郁证与相关 lncRNA 的初步研究. 南京: 南京中医药大学硕士学位论文, 2015.
- 46 Jiang T T, Wei L L, Shi L Y, *et al.* Microarray expression profile analysis of mRNAs and long non-coding RNAs in pulmonary tuberculosis with different traditional Chinese medicine syndromes. *Bmc Complem Altern Med*, 2016, 16(1): 472.
- 47 Kartha R V, Subramanian S. Competing endogenous RNAs (ceRNAs): new entrants to the intricacies of gene regulation. *Front Genetic*, 2014, 5(06): 8.
- 48 武兴伟. HIV/AIDS 湿热内蕴证转录组学研究. 郑州: 河南中医学院硕士学位论文, 2013.
- 49 王阶, 滕菲, 刘咏梅, 等. 血塞通对冠心病不稳定型心绞痛血瘀证患者 microRNA 的干预作用. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(19): 11-16.
- 50 Chen L L, Yang L. Regulation of circRNA biogenesis. *Rna Biol*, 2015, 12(4): 381-8.

Research Process of Transcriptomics in Traditional Chinese Medicine Syndrome

He Haoqiang^{1,2}, Chen Guang^{1,2}, Gao Jialiang¹, Wang Jie¹

(1. Department of Cardiovascular, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China; 2. School of Acupuncture, Moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract: The theory of traditional Chinese medicine (TCM) syndrome is an essential part of TCM theory. Research on biological basis of TCM syndrome is an important section to confirm the scientificity of TCM in order to promote the modernization of TCM. Transcriptomics studies transcriptional levels and transcriptional regulatory network of TCM syndrome related genes at molecular levels to explore the biological basis of TCM syndrome. This paper reviewed research process of transcriptomics of TCM syndrome, including connotation and contents of transcriptomics, transcriptome chip technologies and sequence technologies, TCM syndrome related transcriptome differential expression and its regulatory networks. This paper also discussed challenges and prospects of TCM syndrome transcriptomics research in order to provide some different ideas and methods for the biological basis of TCM syndrome.

Keywords: Traditional Chinese medicine syndrome, transcriptomics, mRNA, miRNA, lncRNA, differential expression, regulatory network

(责任编辑:张 静, 责任译审:王 晶)