in patients with kidney failure[J]. Sci Transl Med,2013,5(175):175ra29.

[13] KALIM S,KARUMANCHI S A,THADHANI R I,et al. Protein carbamylation in kidney disease:pathogenesis and clinical implications[J]. Am J Kidney Dis,2014,64(5):793-803.

[14] SHAO B H,TANG C R,SINHA A,et al. Humans with atherosclerosis have impaired ABCA1 cholesterol efflux and enhanced High-Density lipoprotein oxidation by myeloperoxidase[J]. Circ Res,2014,114(11):1733.

[15] BARTER P. Lipoprotein metabolism and CKD:overview[J]. Clin Exp Nephrol,2014,18(2):243-246.

[16] DELPORTE C,VAN ANTWERPEN P,VANHAMME L,et al. Low-density lipoprotein modified by myeloperoxidase in inflammatory pathways and clinical studies[J]. Mediators Inflamm,2013,2013:971579.

[17] RIWANTO M,LANDMESSER U. High density lipoproteins and endothelial functions:mechanistic insights and alterations in cardiovascular disease[J]. J Lipid Res,2013,54(12):3227-3243.

[18] FISMAEL F O,PROUDFOOT J M,BROWN B E,et al. Comparative reactivity of the myeloperoxidase-derived oxidants HOCl and HOSCN with low-density lipoprotein (LDL):implications for foam cell formation in atherosclerosis[J]. Arch Biochem Biophys,2015,573:40-51.

[19] RYE K A. Biomarkers associated with high-density lipoproteins in atherosclerotic kidney disease[J]. Clin Exp Nephrol,2014,18(2):247-250.

[20] AFSHINNIA F,ZENG L X,BYUN J,et al. Myeloperoxidase levels and its product 3-Chlorotyrosine predict chronic kidney disease severity and associated coronary artery disease[J]. Am J Nephrol,2017,46(1):73-81.

[21] CHEN J,MOHLER E R,XIE D W,et al. Traditional and non-traditional risk factors for incident peripheral arterial disease among patients with chronic kidney disease[J]. Nephrol Dial Transplant,2016,31(7):1145-1151.

[22] CAROLLO C,LO PRESTI R,CAIMI G. Leukocyte activation markers and oxidative status in chronic kidney disease[J]. Minerva Urol Nefrol,2013,65(1):69-76.

(收稿日期:2018-05-15　修回日期:2018-08-21)

·综　　述·

基因组学技术在中医药研究中的应用*

曾召琼[1],易　帆[1],李　萍[2]综述,谢小兵[2]审校

(1. 湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2. 湖南中医药大学第一附属医院医学检验与病理中心,湖南长沙 410007)

摘　要: 中医药发展历史悠久,影响深远。但由于作用机制不明确,使其在走向国际化、现代化的道路上困难重重。随着基因组学、蛋白组学和代谢组学等技术的飞速发展,对传统中医药理论的科学研究越来越深入,为中医学事业的前进发展提供了新技术、新方法,成为连接现代科学技术与传统中医药文化的重要桥梁,为推动中医药走向现代化、国际化发挥着不可忽视的作用。本文阐述了近年来基因组学技术在中医药研究领域的应用,为今后中医药研究的发展提供新的平台和科学的理论依据。

关键词:基因组学;　中药;　中医症候;　经络

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.24.024　　**中图法分类号:**R2-03

文章编号:1673-4130(2018)24-3089-04　　**文献标识码:**A

杨焕明教授在 1999 年 4 月召开的“中医药与基因组学研讨会”上提出:“以基因组学(下称组学技术)作为中医药现代化切入点”。传统中医药与西医在认知方法上存在着巨大差异,组学技术的出现,在两套不同的医学体系间找到连接点,使传统的中医药文化有望变得科学化,规范化,为我国中医药事业的飞速发展,以及其在国内外的推广提供了新的平台、创造了新的机遇。组学技术成为促进中医药发展不可或缺的重要手段。近年来,这些技术在中医症候、中药及针灸等研究方面得到了广泛应用,并取得了重大突破性进展。

1　基因组学的概述

基因组学技术是对基因多样性、基因组表达及功能进行研究的技术,包括碱基序列的组成及改变,DNA 甲基化、染色质修饰等,早已广泛应用于中医药研究领域中。目前常用的基因组学技术包括定量分析技术如实时荧光定量 PCR、高通量技术如全外显子捕获测序技术,以及近来取得新技术突破的单细胞测

* **基金项目:**国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2011AA02A111)。

△ **通信作者,**E-mail:xxiaobing888@163.com。

本文引用格式:曾召琼,易帆,李萍,等. 基因组学技术在中医药研究中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(24):3089-3092.

序技术，三维基因组如 Hi-C 技术、Micro-C 技术，以第三代人工核酸内切酶 CRISPR-Cas 核酸酶技术为代表的基因修饰技术。基因组学技术可以对上万的基因同时进行检测，具有显著的高通量、整体性、精准性、微观化的优势，是当前实现精准医疗的重要手段，并且随着人类基因组计划的完成以及高通量测序技术的飞速发展，基因组学技术日趋成熟，使其在医药科研和临床研究中得到广泛应用，更为中医症候、针灸、及中药研究发展创造、提供了新的发展机遇。

2　基因组学在中医药研究中的应用

2.1　基因组学在中医症候研究中的应用　沈自尹院士提出："遵循中医学研究本身的内在规律，充分利用功能基因组学的研究成果，建立中医证的表达谱，将是 21 世纪中医药学的主要发展趋势"[1]。基因组学技术的飞速发展，为中医症候研究提供重要技术支撑。基因组学整体性及稳定性特点与中医症候特性有异曲同工之处，可用于明确中医证候的物质基础，准确、客观地阐明疾病的发生发展规律，以达到"微观辨证"。霍绮雯等[2]通过 PCR-RELP 技术分析纤维蛋白原相关基因 β-148C/T 基因多态性，从而揭示脑梗死中医症型与 β-148C/T 多态性间的关联，及不同中医证型在基因型中分布规律。结果发现脑梗死 TT 型患者纤维蛋白原水平明显高于其他型别，尤以风痰阻络型较为明显。LIU 等[3]采用专用芯片检测技术研究六味地黄丸对肾阴虚型绝经后骨质疏松症患者 JAK/STAT 信号通路基因表达的影响。治疗后，肾阴虚组存在 25 个差异表达基因。通过对差异表达基因进行生物学功能分析，存在多个基因涉及免疫应答、细胞生长和/或维持。表明六味地黄丸治疗绝经后骨质疏松合并肾阴虚的机制可能与 JAK/STAT 信号通路基因调控有关，且这些基因参与多种免疫及细胞增殖分化功能。孙丙银等[4]运用聚合酶链反应-连接酶检测技术，检测激素性股骨头坏死患者 CYP1A2 基因 T5347C、G2964A、C733A 位点多态性，揭示不同基因型与各中医证候的相关性。研究发现激素性股骨头坏死患者筋脉瘀滞型的物质基础可能是 CYP1A2 基因 G2964A 位点 AG＋GG 基因型，肝肾亏损证的危险因素是存在突变 AA 基因型。LI 等[5]用基因芯片技术研究原发性肾阳虚骨质疏松症基因表达的差异，筛选差异基因，比较不同证型间基因谱表达差异。结果发现原发性骨质疏松症肾阳虚症相关基因主要涉及补体和凝血系统、细胞周期、及多个信号通路。

2.2　基因组学在中药研究中的应用　中药成分、配方复杂及主治功能多样使得中药的研究进程存在巨大困难。而组学技术的高通量微观化优点可满足中药现代研究的需要。因此，将现代科学发展新技术，运用于中药研究中，从基因层面上阐述基因多态性与药物反应间的关联，以做到合理用药。使中药研究发展突飞猛进，真正走向现代化、国际化。SERTEL 等[6]使用微阵列全转录组 mRNA 表达谱分析技术和 COMPARE 基因捕获技术，研究与青蒿琥酯抗肿瘤作用机制相关的基因。对 mRNA 表达谱进行生物信息学分析，揭示 c-Myc/Max 可能是肿瘤细胞应对青蒿琥酯效应基因的转录调控因子。SEO 等[7]通过采用基于 NCI 细胞系的基因芯片 RNA 表达谱技术，分析莨菪亭在肿瘤细胞中的作用机制。结果发现，致癌基因 RAS 的突变与莨菪亭抗性具有显著相关性。基于转录组水平的 mRNA 表达谱数据经 COMPARE 分析筛选出一组启动子序列上均有转录因子 NF-κB 结合基序的基因，而 NF-κB 与药物抗性相关，表明莨菪亭因其良好的抗肿瘤细胞活性。陈蓓蓓等[8]通过测定心肌组织 miRNA 表达谱，对差异表达的 miRNA 进行靶基因预测，以研究当归对自发性高血压大鼠心肌 miR-122 的影响。结果表明当归可通过 Slc7a1 基因影响内皮功能，从而降低自发性高血压大鼠的血压水平。周威等[9]用芯片显著性分析从基因表达谱数据中筛选出差异基因，进行多种生物学信息分析，并输入 Cmap，所得负性富集分数较大的能逆转调控疾病的基因表达谱的药物分子，并将其中药复方成分及药物分子进行 2D 分子指纹相似度比对。发现与 Cmap 筛选出的药物分子具有相似结构的 10 个中药复方成分，可能是复方丹参滴丸治疗颈动脉粥样硬化的主要药效成分。

2.3　基因组学在中医经络研究中的应用　经络研究是中医研究的重要组成部分，使用基因组学技术可以进一步完善针灸治疗理论，揭示针灸治疗的作用机理。为针灸精准治疗机制及应用奠定理论基础。通过现代科学技术，已有部分经络现象得以阐明[10]，如在帕金森症，过敏性反应，脊髓损伤，高胆固醇血症，脑缺血，癫痫，衰老，卒中等[11]。但仍需大量研究来解释经络现象，使其得到国际认同。YEO 等[12]用 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶诱导帕金森小鼠模型，采用基因芯片技术研究针刺阳陵泉（GB34）和太冲（LR3）穴位后，检测纹状体区域基因表达谱的变化。结果证实针刺这些穴位可以有效抑制 MPTP 模型黑纹状体区域络氨酸羟化酶和多巴胺转运体的降低。GUO 等[13]研究了针刺人迎穴对自发性高血压大鼠（SH）下丘脑基因表达谱的影响，采用微阵列芯片技术对大鼠组织进行表达谱测定，并通过 RT-PCR 对差异表达基因进行验证。结果表明，针刺人迎穴可明显降低 SH 大鼠的血压，影响下丘脑的基因表达谱，具有显著抗高血压作用。GARCIAVIVAS 等[14]研究了肥胖女性中，针刺埋线疗法配合艾灸可减轻体质量，并改善胰岛素抵抗。治疗前后分别检测血清瘦素、脂联素、肿瘤坏死因子及抵抗素的表达，用 cDNA 微阵列芯片技术测定脂肪组织中差异基因表达，RT-PCR 进行分析。结果发现脂肪组织在腧穴埋线联合艾灸

治疗可改善肥胖,其基因表达差异多与嗅觉转导、脂质代谢等信号通路的基因调控相关。黄艳等[15]采用 RNA-seq 高通量测序技术大鼠 RNA 进行检测,并用生物信息学技术分析结肠组织的 mRNA 表达谱,以此来研究逆灸“天枢”穴干预对大鼠结肠组织基因表达谱的影响。结果发现逆灸“天枢”穴不会损伤健康成年大鼠的结肠组织的形态。基因技术在中医药中的研究日益深入,更多研究可见表 1。

表 1　基因技术在中医药中的研究

病症	研究方法	技术	结论
绝经后骨质疏松症肾阴虚证	六味地黄丸治疗	基因芯片	治疗机制可能与其上调 CLCF1 介导的信号通路[16]
载脂蛋白 E 基因敲除小鼠动脉粥样硬化模型	不同剂量的活血中药、破血中药对模型影响	基因芯片	活血中药(当归、川芎)、破血中药(三棱、莪术)具有抗动脉粥样硬化的作用[17]
肾虚不孕患者卵巢颗粒细胞	补肾中药二至天癸颗粒治疗	高通量测序	补肾中药可有效治疗肾虚不孕患者[18]
小鼠肝损伤模型	姜黄素	MeDIP 芯片技术	姜黄素可能通过表观遗传学机制逆转肝纤维化[19]
失眠大鼠	不同经穴组合针刺	RT-PCR 技术	针刺“百会”配伍“神门”穴可延长失眠大鼠的睡眠时间[20]
周围性面瘫大鼠	粗针平刺“神道”穴	基因芯片	粗针平刺法改善面瘫症状的机制与调节神经、肌肉相关基因的表达有关[21]
肝阳上亢型偏头痛患者	不同频率电针刺穴位与非穴后	基因芯片	低频率电针干预的变化程度高于高频率电针干预后的基因表达改变[22]
应激性高血压前期大鼠	不同的针刺手法刺激“太冲”“曲池”	基因芯片	电针组的降压效果优于静留针组[23-24]
抑郁症大鼠	电针“百会”“印堂”	海马基因表达谱	电针治疗后原本在抑郁症中差异表达的基因 VGF、IGF2、tmp32 等的表达趋于正常[25]

3　展　　望

组学技术快速、高效、精准方面的优势,为揭示生命本质提供了全新的平台。将其与中医药研究相结合,为中医药事业发展现代化、国际化提供了前所未有的机遇,推动在基因层面上认识中医药的作用机制,为疾病预防、诊断及治疗提供规范、科学、有效的技术和方法,使中医药各领域的研究更加深入和完善,今后的研究可联合蛋白组学、代谢组学、转录组学等多组学方法,从多维度、更加全面研究揭示生命本质,建立并完善适合中医药发展的生物信息分析体系。

参考文献

[1] 沈自尹. 从肾本质研究到证本质研究的思考与实践--中西医结合研究推动了更高层次的中医与西医互补[J]. 上海中医药杂志,2000,34(4):4-7.

[2] 霍绮雯,谭峰. 脑梗死中医证型与纤维蛋白原相关基因多态性的研究[J]. 中国现代药物应用,2016,10(12):80-81.

[3] LIU J,PETER K,SHID,et al. Traditional formula,modern application:chinese medicine formula sini tang improves early ventricular remodeling and cardiac function after myocardial infarction in rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2014,2014(1):141938.

[4] 孙丙银,赵宝祥,韦标方. 激素性股骨头坏死中医证候与 CYP1A2 基因多态性的关联研究[J]. 南京中医药大学学报,2015(3):210-213.

[5] LI S,FENG E,XIE L,et al. Study on the gene expression profile in the bone tissue in primary osteoporosis with kidney-yang deficiency syndrome[J]. Chin J Osteoporosis,2017.

[6] SERTEL S,EICHHORN T,SIMON CH,et al. Pharmacogenomic Identification of c-Myc/Max-Regulated Genes Associated with Cytotoxicity of Artesunate towards Human Colon,Ovarian and Lung Cancer Cell Lines[J]. Molecules,2010,15(4):2886-910.

[7] SEO E J,SAEED M,LAW B Y,et al. Pharmacogenomics of Scopoletin in Tumor Cells[J]. Molecules,2016,21(4):496.

[8] 陈蓓蓓,马睿玲,孙少伯,等. 当归对自发性高血压大鼠心肌 miR-122 的影响及其生物信息学分析[J]. 中国动脉硬化杂志,2016,24(4):345-349.

[9] 周威,宋向岗,陈超,等. 基于基因表达谱与分子指纹技术研究复方丹参滴丸治疗颈动脉粥样硬化的物质基础和作用机制[J]. 中国中药杂志,2015,40(16):3308-3313.

[10] WANG G J,AYATI M H,ZHANG W B. Meridian studies in China:a systematic review[J]. J Acupunct Meridian Stud,2010,3(1):1-9.

[11] JIA J,YU Y,DENG J H,et al. A review of Omics research in acupuncture:the relevance and future prospects for understanding the nature of meridians and acupoints[J]. J Ethnopharmacol,2012,140(3):594-603.

[12] YEO S,CHOI Y G,HONG Y M,et al. Neuroprotective changes of thalamic degeneration-related gene expression by acupuncture in an MPTP mouse model of parkinsonism:microarray analysis[J]. Gene,2013,515(2):329-338.

[13] GUO Y,LU J,LIANG J,et al. Effect of acupuncture at

Renying(ST 9) on gene expression profile of hypothalamus in spontaneously hypertensive rats[J]. J Trad Chin Med, 2018(2): 77-91.

[14] GARCIAVIVAS J M, GALAVIZHERNANDEZ C, FERNANDEZRETANA J, et al. Transcriptomic Profiling of Adipose Tissue in Obese Women in Response to Acupuncture Catgut Embedding Therapy with Moxibustion [J]. J Alter Complement Med, 2016, 22(8): 658-668.

[15] 黄艳,顾沐恩,翁志军,等. 逆灸"天枢"穴干预大鼠结肠组织基因表达谱的实验研究[J]. 世界中医药, 2016, 11(12): 2553-2557.

[16] 谢丽华,范超领,李生强,等. 六味地黄丸对绝经后骨质疏松症肾阴虚证差异表达基因的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(8): 971-976.

[17] 周岚,李杨,汪典,等. 利用基因芯片分析活血中药、破血中药对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化模型的差异表达基因[J]. 疑难病杂志, 2017, 16(1): 18-22.

[18] 郑玫,连方,孙振高. 补肾中药对肾虚不孕患者卵巢颗粒细胞基因表达干预的研究[J]. 辽宁中医杂志, 2017(1): 12-15.

[19] WU P, HUANG R, XIONG Y L, et al. Protective effects of curcumin against liver fibrosis through modulating DNA methylation[J]. Chin J Nat Med, 2016, 14(4): 255-264.

[20] 魏歆然,魏高文,郑雪娜,等. 不同经穴组合针刺对失眠大鼠下丘脑生物钟基因 Clock 和 Bmal 1 表达的影响[J]. 针刺研究, 2017(5): 429-433.

[21] 王俊,虞彬艳,周斯斯,等. 粗针神道穴平刺对周围性面瘫大鼠面神经基因表达谱的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016(1): 287-291.

[22] HUANG Y L, WAN M Y, LIANG X S, et al. Effect of acupuncture along affected meridian on the MME gene expression of migraine patients without aura of gan-yang hyperactivity syndrome[J]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2015, 35(3): 294.

[23] GUO Y, XIE XJ, GUO CQ, et al. Effect of electro-acupuncture on gene expression in heart of rats with stress-induced pre-hypertension based on gene chip technology [J]. J Tradit Chin Med, 2015, 35(3): 285-294.

[24] 朱华超,纪智,郭文,等. 基因芯片研究针刺对应激性高血压 前期大鼠心脏基因表达的影响[J]. 针灸临床杂志, 2016, 32 (4): 77-81.

[25] DUAN D, YANG X, YA T, et al. Hippocampal gene expression in a rat model of depression after electroacupuncture at the Baihui and Yintang acupoints[J]. Neural Regen Res, 2014, 9(1): 76-83.

(收稿日期:2018-05-19　修回日期:2018-08-04)

·综　　述·

系统性硬化症自身抗体研究进展*

刘晨曦 综述,李永哲△ 审校

(中国医学科学院北京协和医院检验科,北京 100730)

摘　要: 系统性硬化症(SSc)是一种自身免疫病,在患者血清中可以检测到针对多种细胞自身抗原的自身抗体。最近的研究结果显示 SSc 抗体对于诊断的重要性日益得到认可,已作为临床分类标准的证据。基于存在的自身抗体类型可对患者进行亚组分组以便于诊断和管理,本综述从 SSc 特异性抗核抗体、SSc 非特异性抗核抗体、及除抗核抗体外其他自身抗体三方面总结了 SSc 相关的自身抗体,探讨了其在疾病诊断及预后价值方面的最新进展。

关键词: 系统性硬化症;　硬皮病;　自身抗体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.24.025　　**中图法分类号:** R593.2

文章编号: 1673-4130(2018)24-3092-07　　**文献标识码:** A

系统性硬化症(SSc),又称为硬皮病,是一种以局限性或弥散性的皮肤增厚、组织纤维化和自身抗体的产生为特征的自身免疫性疾病[1-3]。在亚洲,SSc 的发病率为 7.2/1 000 000～10.9/1 000 000 人,患病率为 38/1 000 000～56.3/1 000 000 人,女性发病人群明显多于男性[4-5]。根据皮肤受累的程度,临床上常将 SSc 分为:局限型 SSc(lcSSc),皮肤增厚局限于手肘或膝盖的远端,内脏器官受累较少;弥散型(dcSSc),皮肤受累范围较广,在早期和严重并发症中迅速发展[6-7]。2013 年,美国风湿病学会/欧洲风湿病联盟(ACR/EULAR)发布了最新的 SSc 分类诊断标准[2],强调了自身抗体在 SSc 诊断过程中的重要性。

根据文献报道,95%以上的系统性硬化症患者可以通过间接免疫荧光证实存在抗核抗体[8]。其中,抗

* **基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(81671618,81871302);中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目资助(2017-I2M-3-001);中国医学科学院医学与健康科技创新工程服务一带一路战略先导科研专项资助(2017-I2M-B&R-01)。

△ **通信作者**, E-mail: yongzhelipumch@126.com。

本文引用格式: 刘晨曦,李永哲. 系统性硬化症自身抗体研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(24): 3092-3098.