

脾虚湿阻证生物标志物的组学技术研究进展*

汪晴¹, 周攀宇¹, 张雅婷¹, 张骏鸿^{1,2}, 黎莉^{2,3}, 韩凌^{2,3,Δ}

(1. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东 广州 510120; 2. 广州中医药大学第二附属医院省部共建中医湿证国家重点实验室, 广东 广州 510120; 3. 广州中医药大学粤港澳中医药与免疫疾病研究联合实验室, 广东 广州 510120)

摘要:“诸湿肿满, 皆属于脾”。脾虚导致湿邪中阻, 进而引起代谢综合征、溃疡性结肠炎、癌症等多种疾病, 病情多反复缠绵难愈。目前组学技术广泛运用于中医药证候相关生物标志物的研究, 本文系统综述了采用代谢组学、蛋白质组学、基因组学、转录组学、以及肠道微生物组学等技术手段研究脾虚湿阻证标志物研究进展, 以期为脾虚湿阻证的证候实质提供线索。

关键词: 生物标志物; 组学技术; 脾虚湿阻

中图分类号: R 2-03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3649 (2023) 12-0217-06

Research progress of omics technology on biomarkers of Spleen deficiency and dampness stagnation syndrome/
WANG Qing, ZHOU Panyu, ZHANG Yating, et al// (The Second Clinical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou Guangdong 510120, China)

Abstract: “All dampness and swelling belong to the spleen”. Spleen deficiency leads to dampness evil blocking and then causes many diseases, including metabolic syndrome, ulcerative colitis, cancer and so on. At present, multi-omics technology is widely used in the research of biomarkers related to TCM syndromes. This paper systematically reviewed the research progress of biomarkers related to spleen deficiency and dampness stagnation syndrome using metabonomics, proteomics, genomics, transcriptomics, intestinal microbiome and other technical means, with a view to providing clues for the essence of spleen deficiency and dampness stagnation syndrome

Keywords: biomarkers, omics technology, deficiency and dampness hinder syndrome

脾主运化水液, 脾虚健运失职, 水液运化失司, 津液输布障碍, 聚而成湿, 即脾能将水液吸收、输布至全身, 以濡养周身, 脾将水谷精微中多余的水分及时地转输至肺、肾, 通过其气化功能, 化为汗液及尿液排出体外。因此, 脾的运化功能正常, 则可避免水液在体内的停滞, 亦避免了湿、痰、饮等病理产物的产生而引发的水肿。正如《素问·至真要大论》所云:“诸湿肿满, 皆属于脾”。

湿邪有内外之分, 外湿多与气候或长期在潮湿的工作生活环境相关, 外湿侵袭易伤脾阳; 内湿则

多见脾失健运, 水湿停滞体内。脾喜燥而恶湿, 湿为阴邪, 易损伤阳气, 阻遏气机, 致脾失健运; 脾虚为本, 湿阻为标, 二者互为因果, 互相影响。湿性粘滞, 多缠绵难愈, 脾虚湿阻证型可见于包括溃疡性结肠炎、银屑病、慢性肝炎、多种肿瘤等多种慢性疾病中后期。因此明确脾虚湿阻证特有证候标志物, 可能对阐明脾虚湿阻证科学内涵, 进一步发现中医药治疗脾虚湿阻证的作用机制, 发现新的药物作用靶点具有一定意义。

生物标志物是一种可理想地预测并替代临床难

* 基金项目: 广东省重点领域研发计划项目 (编号: 2020B1111100006); 广州市科技计划项目 (编号: 202201020332); 广东省中医院拔尖人才科研专项 (编号: BJ2022KY05)。作者简介: 汪晴, 在读博士研究生, 研究方向: 中医药分子生物学与系统生物学, E-mail: dr1wang@163.com; Δ 通讯作者: 韩凌, 博士, 研究员, 研究方向: 中医药分子生物学与系统生物学, E-mail: linghan99@gzucm.edu.cn。

- [20] 周琼阁, 王凯, 席作武, 等. 基于肠道微环境探讨中医药防治溃疡性结肠炎的机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29 (07): 222-229.
- [21] 谢子妍, 张怡, 韦鹏飞, 等. 基于玄府理论探讨风药在溃疡性结肠炎中的运用 [J]. 中药药理与临床, 2022, 38 (4): 201-206.
- [22] 胡一莉. 《内经》“火郁发之”内涵和实践价值 [J]. 中华中医药学刊, 2008, 26 (6): 1150-1152.
- [23] 钱佳南, 鲍超群, 胡鸿毅. 马贵同教授从阴火探析溃疡性结肠炎的病因病机与诊治 [J]. 河北中医药学报, 2022, 37 (05): 43-45.
- [24] 王奇瑞, 邵菁. 中药方剂通过维持肠道菌群稳态治疗炎症性肠病的最新进展 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47 (22): 5997-6004.
- [25] 刘宗瑜, 李其忠. “气液宣通”理论及其研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12 (4): 97-99.
- [26] 姚晓岚, 陈森, 梁伟云, 等. 刘完素“玄府气液说”初探 [J]. 上海中医药大学学报, 2009, 23 (1): 17-19.

(收稿日期 2023-04-24)

以观察的疾病相关终点或中间结果的生物学观察手段^[1]。作为分子标志物,生物标志物可客观评价人体生理、病理或药物干预后的机体反应,对疾病筛查、诊断、分型、治疗、预后有重要意义。随着系统生物学的发展和整合,多种组学技术广泛应用于中医证候研究,多从代谢物、蛋白质、DNA、mRNA、菌属差异等水平探索病证结合潜在生物标志物^[2]。开发中医药病证结合生物标志物,有利于提高临床诊断的准确性,为中医药客观化提供生物学依据。本文系统综述了采用代谢组学、蛋白质组学、基因组学、转录组学以及肠道微生物组学等技术手段研究脾虚湿阻证相关标志物的研究进展,以期为脾虚湿阻证的深入研究提供参考。

1 代谢组学技术在脾虚湿阻证相关的证候标志物及中医药作用机制的相关研究

代谢组学是定量分析生物体被扰动后其内源性小分子代谢产物的种类、数量及变化规律的学科^[3],着重研究代谢物与生理、病理等变化的相对关系,从整体层面上阐释机体动态变化规律。通过对血液、尿液、组织提取物等样品进行核磁共振波谱法(NMR)、质谱(MS)等检测技术分析,对疾病本身或药物作用后代谢物差异进行分析,以明确其生物标志物或药物作用机制。

1.1 代谢组学在脾虚证及湿证的相关研究 针对单纯的脾虚证或不同疾病的脾虚证型,众多学者通过采集血液、尿液、唾液、粪便或组织进行代谢组学研究,认为脾虚证可能与机体的氨基酸代谢、糖代谢、脂代谢等有关^[4],尤其是甘氨酸、亮氨酸^[5]。回顾2006~2016年的湿证相关代谢组学文献,发现研究主要集中在脾胃病、肝病、高血压、癌症等疾病,寒湿证、痰湿证及湿热证较多。近年来亦有仅涉及单纯湿证的研究^[6]。病证结合临床研究中,张萍等^[7]收集代谢综合征痰证、湿证患者及健康人群各30例血清,运用核磁共振氢谱(¹H-NMR)进行定量检测比较,发现痰证、湿证两种证型间代谢谱存在差异,其中丙酮、乳酸、脂类-CH₂-C=O、脂类-CH=CH-、丙酮酸、极低密度脂蛋白-CH₂-CH₂-C=O是湿证的潜在标志物,认为代谢综合征湿证患者存在糖代谢、脂代谢异常。秦爽^[8]基于非靶向和靶向代谢组学技术对湿疹湿证与非湿证人群、健康有湿人群和非湿证人群的尿液代谢物及氨基酸代谢进行检测分析,认为湿证人群可能存在酪氨酸代谢紊乱,推测其发生机制可能与机体新陈代谢缓慢、肾上腺素的调节有关,其中甲状腺素、3-碘化酪氨酸、肾上腺素是重要靶点。上述两项临床研究,针对代谢综合征和湿疹这两个不同疾病,均明确指出相应湿证的潜在的重要靶点,有利于中医证候的分类,但目前中医证候诊断尚有争议,部分学者认为证候判断具有很强主观性。

1.2 代谢组学在脾虚湿阻证的实验研究 动物实验方面,楚瑞阁等^[9]采用超高效液相色谱-飞行时间质

谱技术结合多变量统计分析,研究蚕砂对湿阻中焦证SD大鼠粪便及尿液中内源性代谢物的影响,分别鉴定得到17种、11种差异代谢物,认为蚕砂通过回调部分差异性代谢物对湿阻中焦证大鼠进行干预。柯畅等^[10]构建SD大鼠湿阻中焦模型,检测苍术苷A的疗效并进行差异性代谢物筛选,与正常对照组相比,丙酸、丁酸、L-亮氨酸、L-苏氨酸、L-鸟氨酸、L-高丝氨酸、L-赖氨酸、磷酸、1,5脱水葡萄糖醇、L-酪氨酸、D-葡萄糖醛酸、硬脂酸甘油酯、1-棕榈酸单甘油酯这13种成分含量明显下降,而4-羟基丁酸、甘油酸、D-核糖、亚油酸、十八烯酸、胆固醇含量明显上升,认为苍术苷A通过影响上述代谢的潜在生物标志物,达到治疗湿阻中焦大鼠效果。上述两项研究,分别对大鼠粪便、尿液、血液进行代谢通路富集分析,均发现湿阻中焦证相关的代谢通路,其中亚油酸代谢,甘油酯代谢、以及苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成在两项研究中均有提及,其他还涉及初级胆汁酸的生物合成等^[9-10]。李自辉等^[11,12]研究玄参对脾虚水湿不化证大鼠的利尿机制,对大鼠的脾脏、血清进行代谢组学分析,鉴定出溶血磷脂酰胆碱、二氢鞘氨醇、溶血磷脂酸、甘油磷酸胆碱等多种与脾虚水湿不化模型及玄参干预后的具有共同差异生物标志物,涉及甘油磷脂代谢、鞘脂代谢、嘌呤代谢等多条与健脾利湿关系密切的代谢通路,认为玄参对脾虚水湿不化状态下的SD大鼠脾脏及血清的代谢产物具有调节作用。刘阿娜等^[13]构建Wistar大鼠脾虚水湿不化模型,研究黄芪皂苷对其的干预作用,发现模型组大鼠血浆中溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱、二十二碳五烯酸、9,10-二羟基-十八碳烯酸、神经酰胺、前列腺素H₃、L-脯氨酸、6-脱氢葡萄糖醛酸8种代谢物呈上升趋势,3-羟基异戊酰肉碱、鞘氨醇、N-甲基~5-羟色胺异戊酰肉碱3种代谢物呈下降趋势,认为脾虚水湿不化证大鼠体内脂类、能量、氨基酸代谢紊乱,其中脂类代谢紊乱最为严重。以上三项动物实验,均采用高脂饲料+游泳的方式造模单纯证型,不涉及疾病,虽然是SD大鼠和Wistar大鼠两种不同动物,但是实验结果均提示脾虚水湿不化与脂类代谢密切相关。病证结合实验性研究方面,徐霞等^[14]采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法分析正常组、脾虚湿困型溃疡性结肠炎组、单纯溃疡性结肠炎组三组大鼠模型血浆中差异代谢物的变化,发现造模阶段脾虚湿困组大鼠的brevianamide、2-羟甲基奥氮平显著上升,认为其可作为脾虚湿困型溃疡性结肠炎的特有潜在生物标志物,该方案采用病证结合模式,明确指出特有的生物标志物,这一模式为病证结合潜在生物标志物的探索提供较好研究思路。

1.3 代谢组学在脾虚湿阻证的临床研究 临床患者的代谢物研究中,蒋鑫超^[14]应用液相色谱等分析20例脾虚湿郁证、18例阴虚热毒证大肠癌患者的血浆

及尿液的代谢图谱,发现两种证型患者的血浆、尿液代谢轮廓存在明显差异,认为血浆中的甘氨酸、L-丝氨酸、胆碱、精氨酸、柠檬酸及尿液中的丙氨酸、柠檬酸、苯乙酰基谷酰胺可作为脾虚湿郁证大肠癌的生物标志物。贺丽丽等^[16]基于GC-MS对20例巨细胞病毒肝炎脾虚湿困证婴儿的血浆、尿液进行检测,初步鉴定了22个血浆差异性代谢物及9个尿液差异性代谢物,其中甘氨酸、苏氨酸、赖氨酸及硬脂酸为血浆、尿液代谢物中共有差异性代谢物,认为这4个差异性代谢物是区分婴儿巨细胞病毒肝炎脾虚湿困组和正常组的潜在生物标志物。李晶洁等^[16]通过收集16例肝癌脾虚湿盛证患者和21例健康体检者的血浆样本进行超高效液相色谱-质谱分析,发现肝癌脾虚湿盛证患者的糖代谢、胆汁酸代谢和氨基酸代谢均发生了不同程度的异常,特别是三羧酸循环,同时胆酸合成受阻导致血液中胆酸含量显著上升,认为胆酸可作为肝癌脾虚湿盛证的潜在生物标志物,这一结果与上述湿阻中焦目前的代谢组学研究一致。秦爽^[8]收集37例湿疹脾虚湿蕴证患者尿液样本,采用UPLC-MS/MS分析其治疗前后差异性代谢物,发现精氨酸生物合成通路与湿疹脾虚湿蕴证的发病相关,认为氨基甲酰磷酸脂是潜在的重要靶点;针对脾虚湿阻证湿疹患者的苔腻、齿痕舌、便溏进行相应潜在生物标志物含量鉴定,发现代谢物1,5-戊二胺、鞘氨醇、二氢尿嘧啶、吡啶~3-乙酸甲酯与上述症状体征密切相关;同时该研究针对湿疹湿热浸淫证患者治疗前后的代谢物也进行了相应的筛选,其结果与脾虚湿蕴组存在显著差异,从代谢物层面明确表明了同病异证的差异性及其可研究性。上述研究多数涉及临床患者血液、尿液,但均未对患者饮食进行针对性限制,不能排除对代谢物的潜在干扰。

脾为后天之本,气血生化之源,脾失运化,影响水谷精微的输送,患者可出现纳差、食少等症状,外界营养物质摄取来源减少,氨基酸水平可能出现异常。纵观以上脾虚湿阻证型的代谢组学研究,多数涉及氨基酸代谢、脂类代谢,这与脾虚证、湿阻中焦证的相关研究结果相符。目前的脾虚湿阻证型相关代谢水平的研究,明确提示脾虚湿阻证与同病其他证型人群、健康人群存在差异,脾虚湿阻证型患者治疗前后的内源性代谢物亦有不同,但是部分研究所得到的差异性代谢产物种类较多,尚未进行下一步筛查;部分实验虽明确指出潜在生物标志物,但用于临床辅助诊断的取值范围尚未涉及,临床运用受限。

2 蛋白质组学在脾虚湿阻证型的相关研究

蛋白质组学是识别和量化细胞、组织或生物体的整体蛋白质含量的技术,包括蛋白质在任何阶段的结构、功能、修饰、表达及相互作用,常用于检测诊断标志物、了解疾病致病机制、响应不同信号改变表达模式以及解释不同疾病中的功能性蛋白质

通路^[18]。目前常用双向凝胶电泳技术(2D-PAGE)、质谱(MS)、相对和绝对定量同位素标记(iTRAQ)技术等。蛋白质组学注重蛋白质的动态变化,具有整体性、阶段性、动态性^[19],这与中医的整体观念、中药复方多靶点治疗疾病有异曲同工之妙,可用于中医证候的本质研究。通过比较同一疾病不同证型的蛋白质差异性表达,揭示证候间的转变过程;或寻找疾病患者与健康人群的差异蛋白,将其作为生物标志物用于辅助诊断、判断预后,亦可将其识别为潜在药物靶点用于药效机制研究。

2.1 蛋白质组学在脾虚证及湿证的相关研究 脾为气血生化之源,脾虚则气血生化乏源、津液输布障碍、水湿内停。蛋白质是生命物质的基础,在脾虚证、湿证均有相关研究。吕凌^[20]采用劳倦过度结合饮食不节诱导脾气虚大鼠模型,发现脾气虚证大鼠回肠组织的白蛋白、胰蛋白酶和葡萄糖调节蛋白表达异常,且脾失健运主要与物质代谢、组织构成、细胞信号转导、细胞死亡和增殖方面相关的蛋白质功能异常有关。孙校男等^[21]收集结肠癌辅助期结肠癌湿热证组、脾虚证组及无症状组患者外周血清各8例进行蛋白电泳、质谱等分析,发现脾虚证组较无症状组, β -GDP解离抑制因子、Clu及血清结合素前体表达升高,前白蛋白原、载脂蛋白A-I前体、DBP表达降低,该研究提出证型之间的差别可能是通过蛋白质的不同组合来实现的。何磊等^[21]采用SELDI-TOF-MS检验并筛选慢性肾功能衰竭湿证、非湿证患者的血清蛋白标志物,发现6个差异蛋白峰有显著差异,进一步结合生物信息学方法,构建了“湿证组-非湿证组”鉴别诊断决策树模型,该模型其预测正确率为83.13%,决策树模型的建立值得参考,为中医临床辨证提供更多依据。王新贤等^[23]收集类风湿关节炎湿热瘀阻、非湿热瘀阻患者、健康人群各30例,对其血液样品进行iTRAQ标记、UPLC-QE-MS分析,发现LRG1在湿热瘀阻证中高表达,LRG1与类风湿关节炎相关性炎症因子的表达、血管的形成相关,认为LRG1可作为类风湿关节炎湿热瘀阻证的潜在生物学标志物进一步研究,有利于开发类似类风湿活动因子的血清标志物,用于临床判断类风湿关节炎是否处于疾病活动期。

2.2 蛋白质组学在脾虚湿阻证的临床研究 白玉茹^[24]采用iTRAQ联合LC-MS技术研究结直肠癌患者的中医证型,筛选得到结直肠癌脾虚湿盛证的差异蛋白171个,其中130个上调,141个下调;进一步生信分析联合实验发现3个差异蛋白与前期结果一致,其中RRM2、SRM上调表达,GSTM3下调,初步认为RRM2、SRM是脾虚湿盛型结直肠癌的内生物质基础。唐莹等^[24]纳入肺癌脾虚痰湿证患者与健康人各3例,采用2D-DIGE结合MALDI-TOF-MS技术分析其血清蛋白表达差异,发现K1C10、NFM、HP、WDR5、APOA1、SMS2、SAMD14这7个差异蛋白。陈一鸣等^[26]收集溃疡性结肠炎脾虚湿蕴证患者4例

和对照人群7例,采集其肠黏膜组织,采用SWATH蛋白定量技术进行定量分析,发现55种差异表达蛋白,主要参与23种生物过程、13种细胞组分和9种分子功能,认为溃疡性结肠炎脾虚湿蕴证的发病机制可能和凝血与补体级联反应信号通路有关。

目前脾虚湿阻证型蛋白组学研究较少,以上研究均是针对某一疾病的脾虚湿阻证患者,三项研究尚无共同差异蛋白,仅是自身疾病脾虚湿阻证型与健康人群的差异蛋白,但是差异蛋白是疾病患者与健康人群的差异,还是特属于脾虚湿阻证型的差异值得进一步探讨;亦可考虑进一步探讨差异蛋白形成机制,揭示证候转变的过程。蛋白组学技术研究,如果是证型间的细微差异蛋白,可能与实验技能操作不当或实验技术本身缺陷有关,其结果的可靠性无法判断。寻找表达水平显著改变的蛋白作为潜在生物标志物,分析不同证型间、健康与疾病间的蛋白及其功能、通路的显著差异,为疾病的诊断、精确辨证、疾病是否活动期等提供更多科学依据,有利于中医药研究的可视化和科学化。

3 表观转录组学在脾虚湿阻证的相关研究

表观转录组学指RNA修饰及其相关调节因子的生物学^[26]。苏悦等^[28]运用基因芯片技术对50例慢性乙型肝炎湿热类证患者的血浆与健康对照组进行对比分析,发现hsa-miR-1260a在脾胃湿热证、肝胆湿热证、脾虚湿热证共有且均表达上调,认为hsa-miR-1260a是慢性乙型肝炎湿热类证型的潜在标志物。邹昕宇^[29]使用qRT-PCR技术检测慢性乙型肝炎脾虚湿热证患者和健康者各13例的血浆中miRNA的表达,发现hsa-miR-494、hsa-miR-4466可能是慢性乙型肝炎脾虚湿热证的潜在生物标志物。呼雪庆等^[30]采用Human Methylation 450K芯片技术,对15例乙肝后肝硬化的湿热内蕴证、脾虚湿盛证和肝肾阴虚证患者及6例健康人血液样本DNA进行全基因组甲基化检测,发现各证候之间及证候与健康组之间均存在较多差异甲基化位点,且从湿热内蕴到脾虚湿盛证、肝肾阴虚证,即实证到虚实夹杂、虚证,其差异甲基化位点数目逐渐增多,提示中医的临床辨证分型可能与基因甲基化差异表达相关,其中HLA-DRB1和ADAMTS9基因的差异甲基化程度可能与脾虚湿盛证的形成有关。目前表观转录组学在脾虚湿阻证型的研究目标较明确,旨在寻找潜在miRNA指标或差异性甲基化位点,但其技术成本较高、难度大,若大样本数据处理可能获得的信息也较多,所得到的大量数据不便挖掘特殊指标;而小样本数据处理缺乏说服力。

4 肠道微生物组学在脾虚湿阻证的相关研究

湿邪致病,湿性重浊趋下,肠道菌群结构及功能受到不同程度影响;肠道菌群参与肠道粘膜免疫反应,是维持内环境稳定的重要组成部分,是脾主运化的生理基础,菌群紊乱与脾虚湿困证二者关系密切^[31, 32]。肠道微生物与疾病的发生发展相关,寻

找疾病证候特征性肠道菌群或不同证候间菌属差异,可用于辅助诊断、识别个体疾病状态、判断疾病风险,也可作为疾病发展的易感性生物标志物,指导临床治疗及判断治疗反应^[33]。阮丽君等^[33]通过高通量测序发现复发性外阴阴道假丝酵母菌病脾虚湿阻证患者阴道PH值低于湿热证患者,证明同病异证之间肠道微生物存在差异;且该病证患者与非复发性脾虚湿阻证患者的阴道菌落丰度均显著下降,证明异病同证之间肠道菌群变化具有一定相似性。柯一帆等^[35]采用16SrDNA测序技术,分析溃疡性结肠炎患者不同中医证型之间肠道菌群结构特征及差异,发现脾虚湿热证、寒热错杂证、肝郁脾虚证、脾肾阳虚证患者之间存在菌属水平差异,其中脾虚湿热证组中观察到23个特有菌属,肠道菌群的代谢产物中,脾虚湿热证组的类胡萝卜素生物合成最低。Zhang等^[36]研究溃疡性结肠炎脾虚湿蕴证、大肠湿热证两个证型的肠道菌群差异,发现两种证型菌群变化趋势不同,脾虚湿蕴组Lachnospirillum显著升高,大肠湿热组则以链球菌的显著升高为主,该研究认为这两种菌群可能成为区分两种证型的标志物。李琪等^[37]通过16SrDNA高通量测序联合生物信息学方法,比较肠道湿热证、寒湿困脾证泄泻患者及健康人的粪便样品中的肠道菌群,发现寒湿困脾证泄泻患者粪便样品中Negativicutes纲及瘤胃球菌属丰度显著升高,认为其可能是寒湿困脾证泄泻患者的特征性菌群。目前肠道微生物组学技术在脾虚湿阻证型的研究,主要是比较某一疾病脾虚湿阻证与其他证型间的肠道菌群差异、或与健康人群进行比较,或是药物治疗脾虚湿阻证型前后肠道菌群的改变情况,充分探讨中药治疗疾病的潜在机理。

5 基因组学在脾虚湿阻证型的相关研究

疾病的发生可能与基因的缺失、突变、表达异常等有关。基因组学是阐明基因组结构、功能及其相互作用的学科。目前基因组学在中医湿证方面已有一定研究,发现部分消化系统疾病相关湿证有显著差异表达的基因^[38];王肃等^[39, 40]采用利血平造模脾虚证大鼠模型,研究其海马、大脑皮层基因表达谱,发现海马和大脑皮层的基因表达改变涉及免疫、炎症反应、细胞骨架、能量代谢、蛋白质合成和细胞内信号转导等多个方面。脾虚湿阻证型尚缺乏相应基因组学研究。

6 多组学联合在脾虚湿阻证的相关研究

各组学之间相互作用、相互影响,比如代谢组学可以通过化学修饰和代谢物-分子非共价相互作用来控制DNA、RNA和蛋白质的功能,从而影响组学领域的所有层面^[39, 40]。多组学技术联合运用,互相弥补,相互验证,更准确地探讨中医证候本质。陈卓等^[41]通过收集非小细胞肺癌脾虚湿滞证患者、健康人群的血清、粪便标本,进行蛋白质组学、代谢组学和肠道微生物生态学的研究,发现14种差异蛋白及13种与卟啉和叶绿素代谢、不饱和脂肪酸的生物合

成、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成等代谢通路相关的差异代谢物,且脾虚湿滞证患者与健康人群的布鲁菌、鞘氨醇单胞菌、脱硫弧菌存在显著差异,该研究认为非小细胞肺癌脾虚湿滞证具有特异的肠道菌群、蛋白质和代谢物,与健康者明显不同,该研究结论有利于非小细胞肺癌脾虚湿滞证疾病的筛查。李菲^[42]通过16SrDNA高通量测序结合菌群代谢组学技术,发现湿疹患者与健康人群、湿疹脾虚湿蕴证和非湿证之间的舌苔菌群在丰度和多样性方面存在显著差异,其中湿疹脾虚湿蕴组物种数量比非湿证组相对较高;同时采用OPLS-DA分析脾虚湿蕴组与非脾虚湿蕴组的舌苔样本,发现氨基酸及其衍生物、核苷酸及其代谢物、脂肪酰类物质等差异性代谢物。

7 讨论

将组学技术引入病证结合生物标志物研究,有利于中医证型的客观化,脾虚湿阻证候的病证结合生物标志物研究总体上虽取得一定进展,但仍然存在部分不足:①目前脾虚湿阻证型的组学研究涉及的病种相对较少,多数是消化系统及代谢系统疾病;②部分实验样本量相对较小,多数样本来源具有地域局限性,且脾虚湿阻证患者可能存在湿证轻重的不同,可能存在混杂因素的干扰;③中医证候表现错综复杂,存在兼夹证型可能,且临床研究中脾虚湿阻证候的诊断带有一定临床主观性,证型判断缺乏说服力,当然这也是众多中医证候研究中难以避免的问题;④脾虚湿阻证型的病证结合动物模型尚未完全统一,证型及疾病的造模简单的结合无法明确是否造模成功,且各项研究可能采取不同造模方式,其结论可能存在一定差异,难以互相参考及整合;⑤部分潜在生物标志物与脾虚湿阻证之间的量化关系不明确,相应的正常指标亦缺乏,尚待进一步深入研究;⑥目前脾虚湿阻证病证结合生物标志物的部分研究结果,无法区分是疾病特异性,还是证候特异性,部分试验方案仍需进一步改进,可添加单纯疾病组、单纯证型组;⑦部分实验涉及中药复方研究,复方成分复杂,多成分、多靶点治疗疾病,还可能存在协同增效及成分转变等可能,其数据难以分析,作用机制难以具体明确。

“脾虚则百病由生”,临床上多种疾病病程中都可能出现脾虚系列证型,未来的研究可以考虑多组学联合及多中心联合研究,规范证候诊断标准,围绕多种疾病的脾虚湿阻证开展病证结合生物标志物研究,比如银屑病、类风湿关节炎、溃疡性结肠炎、骨关节炎、痛风等疾病,深层次挖掘脾虚湿阻证候的潜在生物标志物,阐明脾虚湿阻证本质,整合相关数据,有望建立蛋白质-基因-代谢物-微生物-证候分析框架,构建统一的脾虚湿阻证候诊断标准,进一步开展中医湿证全链条研究,以期在慢性疾病脾虚湿阻证候的防控方面取得进展。

参考文献

- [1] Aronson J K, Ferner R E. Biomarkers-A General Review [J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2017, 76: 9-23.
- [2] 李晓燕,魏滨,朱美冬,等. 生命科学前沿技术在病证结合研究中的应用 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2016, 23 (10): 132-136.
- [3] Rinschen M M, Ivanisevic J, Giera M, et al. Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20 (6): 353-367.
- [4] 陈婉珍,邵长乐,朱方石. 基于代谢组学技术的脾虚证研究进展 [J]. *四川中医*, 2018, 36 (11): 182-184.
- [5] 郭心甜,俞仲毅. 应用核磁共振波谱研究中医药代谢组学的现状分析 [J]. *上海中医药大学学报*, 2017, 31 (04): 92-98.
- [6] 杨德才,徐玮斐,顾巍杰,等. 中医湿证的代谢组学研究述评 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38 (09): 1148-1151.
- [7] 张萍,李缘缘,邵岩飞,等. 代谢综合征痰证与湿证患者的血清代谢组学比较研究 [J]. *广州:中华中医药杂志*, 2021, 36 (03): 1627-1632.
- [8] 秦爽. 湿疹湿证的临床观察及尿液代谢组学研究 [D]. *广州:广州中医药大学*, 2021.
- [9] 楚瑞阁,吴璐,赖艳,等. 基于代谢组学研究蚕沙对湿阻中焦证大鼠的“和胃”作用机制 [J]. *中国医院药学杂志*, 2021, 41 (06): 559-566.
- [10] 柯畅,刘春莲,詹鑫,等. 基于血清代谢组学研究苍术苷 A 治疗湿阻中焦大鼠作用机制 [J]. *中药药理与临床*, 2022, 38 (01): 65-70.
- [11] 李自辉,张宁,赵洪伟,等. 基于血清代谢组学探究玄参对脾虚水湿不化大鼠的利尿作用机制 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2018, 20 (08): 1381-1392.
- [12] 李自辉,张宁,李建华,等. 玄参干预脾虚水湿不化大鼠的脾脏代谢组学研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31 (08): 960-968.
- [13] 刘阿娜,崔宁,赵文晓,等. 黄芪皂苷干预脾虚水湿不化证大鼠的代谢组学研究 [J]. *中草药*, 2016, 47 (24): 4401-4407.
- [14] 徐霞,王玮玮,张文彤,等. 基于UPLC-Q-TOF/MS的脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠造模及参苓白术散给药不同阶段的血浆代谢组学分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 28 (15): 111-119.
- [15] 蒋鑫超. 基于代谢组学的方法对脾虚湿郁证大肠癌生物标志物的探讨 [D]. *南京:南京中医药大学*, 2015.
- [16] 贺丽丽,汪受传,李维薇,等. 婴儿巨细胞病毒肝炎脾虚湿困证的代谢组学研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33 (10): 4347-4351.
- [17] 李晶洁,刘述梅,王东,等. 基于UPLC-MS的肝癌脾虚湿盛证患者血浆代谢组学研究 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2021, 27 (07): 1132-1137.
- [18] Aslam B, Basit M, Nisar M A, et al. Proteomics: Technologies and Their Applications [J]. *J Chromatogr Sci*, 2017, 55 (2): 182-196.
- [19] 孟庆宏,王常松,傅晓晴,等. 蛋白质组学技术引入中医证理论的可行性研究 [J]. *中医学报*, 2011, 26 (02): 170-172.
- [20] 吕凌. 基于蛋白质组学的脾虚大鼠脾失健运机理的实验研究 [D]. *沈阳:辽宁中医药大学*, 2012.
- [21] 孙校男,劳波,卢德赵. 辅助期结肠癌患者脾虚证与湿热证血

- 清蛋白质组学比较研究 [J]. 中国现代应用药学, 2014, 31 (12): 1462-1467.
- [22] 何磊, 程亚伟, 廖萍, 等. 基于血清蛋白质组学的慢性肾衰中医湿证鉴别证型探讨 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25 (11): 1892-1894.
- [23] 王新贤, 殷海波, 姜泉, 等. 基于 iTRAQ 蛋白质组学技术筛选类风湿关节炎湿热瘀阻证血清标志物 [J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39 (10): 1209-1213.
- [24] 白玉茹. 结直肠癌中医证型观察及脾虚湿盛型组织 iTRAQ 蛋白质组学分析 [D]. 锦州: 锦州医科大学, 2017.
- [25] 唐莹, 周瑞生, 黄海福, 等. 肺癌脾虚痰湿证患者血清标志物的蛋白质组学研究 [J]. 中医肿瘤学杂志, 2019, 1 (02): 37-45.
- [26] 陈一鸣, 胡月, 侯江涛, 等. 基于 SWATH 蛋白定量技术研究溃疡性结肠炎脾虚湿蕴证的差异表达蛋白 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37 (02): 698-703.
- [27] Charlotte Schubert, 李楠. 表观转录组学: 再探 RNA [J]. 科学新闻, 2021, 23 (03): 55-58.
- [28] 苏悦, 罗雪梅, 彭杨芷, 等. 慢性乙型肝炎湿热类证潜在 miRNA 表达谱研究 [J]. 重庆医学, 2018, 47 (20): 2663-2665.
- [29] 邹昕宇. 慢性乙型肝炎脾虚湿热证和脾胃湿热证 microRNA 差异性表达的验证研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.
- [30] 呼雪庆, 苏武兵. 基于全基因组甲基化的乙肝后肝硬化典型证候生物学基础观察 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31 (05): 1868-1873.
- [31] 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.
- [32] 闻向晖, 刘秋萍, 余怡然, 等. 内湿致病与肠道菌群失调的关系 [J]. 中医杂志, 2018, 59 (16): 1377-1379.
- [33] Costea P I, Hildebrand F, Arumugam M, et al. Enterotypes in the landscape of gut microbial community composition [J]. Nat Microbiol, 2018, 3 (1): 8-16.
- [34] 阮丽君, 李婉玲, 林海燕, 等. 脾虚湿阻型复发性外阴阴道假丝酵母菌病的阴道微生态研究 [J]. 中医临床研究, 2021, 13 (29): 32-37.
- [35] 柯一帆, 马芳笑, 钟继红, 等. 19 例不同中医证型溃疡性结肠炎患者肠道菌群的差异性 [J]. 中医杂志, 2019, 60 (22): 1935-1941.
- [36] Zhang Y L, Cai L T, Qi J Y, et al. Gut microbiota contributes to the distinction between two traditional Chinese medicine syndromes of ulcerative colitis [J]. World J Gastroenterol, 2019, 25 (25): 3242-3255.
- [37] 李琪, 孙悦, 丁成华, 等. 泄泻湿证患者肠道菌群特征分析 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28 (01): 108-113.
- [38] 杨德才, 朱春梅, 顾巍杰, 等. 中医湿证的生物学基础研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33 (11): 5031-5034.
- [39] 王肃, 陈小野, 邹世洁, 等. 利血平脾虚证模型大脑皮层基因表达谱变化的初步研究 [J]. 中医药学刊, 2003 (09): 1512-1515.
- [40] 王肃, 邹世洁, 陈小野, 等. 利血平脾虚证模型海马基因表达谱变化的研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2004 (07): 841-844.
- [41] 陈卓, 马冠君, 钱祥, 等. 多组学技术在非小细胞肺癌脾虚湿滞证中的应用研究 [J]. 浙江中医药大学学报, 2022, 46 (01): 12-22.
- [42] 李菲. 湿疹患者湿证人群舌苔微生态的探索性研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.

(收稿日期 2023-03-22)

欢迎订阅《四川中医》

《四川中医》(月刊)是国内外公开发行的中医药、中西医结合综合性学术期刊,由四川省中医药管理局主管,四川省中医药发展服务中心主办。创刊 40 年来,本刊形成了内容丰富新颖、科技信息量大、理论水平高、临床实用性强的显著特色,在全国中医药期刊中占有较高的学术地位,赢得了中医药学术界的好评。被列为中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据来源期刊;连续四届被评为中国中文核心期刊(中国医学类核心期刊),是国家中医药管理局评定的全国中医药优秀期刊;2010~2023 年被评为中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)。《四川中医》是与美国等国外学术机构进行定期学术交流的期刊,大量的学术论文被德国《中医药报》等国外中医药期刊翻译、转载,中华期刊网、中国卫生健康等网站也对本刊进行了收录和介绍,在国内外有较大的影响和较高的声誉。

本刊以推动中医药学术发展为宗旨,贯彻执行党的中医药政策,传播与交流中医药及中西医结合研究的新成果、新经验、新方法和新动态,理论与临床相结合,提高与普及并重,面向临床,突出实用,为中医药医疗、教学、科研服务。开设有百家精粹、理论研究、学术探讨、实验研究、综述、药苑、医话、方剂运用及中医各科临床报道等栏目,是广大读者了解当代中医药、中西医结合学术发展方向、科研动态的重要园地,也是学习老中医学术经验、借鉴同行临床实践总结、提高中医药学术及临床诊治水平的理想而且实用的期刊资料。

《四川中医》为大 16 开本,每月 15 日出版,邮发代号:62-26,全国各地邮局(所)均可订阅;国外发行刊号:M823,国外发行处:中国国际图书贸易总公司。新老读者可在当地邮局办理订阅手续,如漏订可直接汇款到编辑部订阅。编辑部地址:成都市锦江区太升南路 155 号;邮编:610020;电话:(028) 86203245。