

从基因角度研究中医证候实质的思路

★ 张明¹ 赵英日² 李强² 富文俊² 指导:徐志伟² (1. 云南中医学院 昆明 650200; 2. 广州中医药大学 广州 510405)

摘要:通过分析归纳基因多态性与证候的相关性及其在中医“证”研究中的应用,提出以中医理论为指导,将基因芯片技术运用于基因多态性与中医证候相关性的研究,可望从基因水平阐明中医证候的理论实质,为证候实质现代化研究开辟新的思路和方法。

关键词:证;实质;基因

中图分类号:R 288 **文献标识码:**A

辨证论治是中医理论体系的精髓,是中医临床诊治的基本规范,中医证候能够反映出疾病发生、发展的基本特性,而辨证的准确与否是明晰诊断、确定治疗方案的前提和依据。中医“证”实质的研究是中医药现代化的核心内容,对于揭示中医基础理论的科学内涵具有现实意义。

有学者运用多种现代技术和方法,分别从生化、生理、超微结构等方面进行探讨,亦有从神经-内分泌-免疫网络方面来探讨证的实质,对中医证候进行了各种客观指标的研究,取得了一定的成果。然而,这些研究都只反映了部分已知基因表达产物(受体、酶、细胞因子以及肽类等)的改变,“证”的实质仍未阐明,至今还未能达到其规范化、标准化的目标^[1]。

1 证候与基因组学的相关性

人类基因组的破译,为阐明疾病发生的分子机制,设计诊断、治疗和预防的新方法提供了可能性,也为中医药与现代生命科学沟通,寻求新的研究与发展领域开辟了新途径。人类基因组学后基因组时代研究的方法学内容与中医学的整体观、辨证观所具有的相似之处,为全面认识证候实质提供了可能的突破口^[2]。

2 证候与基因多态性的相关性

人类是一个具有多态性的群体,不同群体和个体在生物学性状及在对疾病的易感性上存在差别。而基因组学认为基因表达差异及基因序列的多态性(即群体中正常个体的基因在相同位置上存在差别)又决定了个体的差异,可见证候与基因表达差异及基因多态性之间存在着密切的内在联系^[3]。

目前已有不少学者运用 PCR 技术针对基因多

态性与证实质的相关性研究方面作了有益探索。如:蒋卫民等^[4]研究结果初步阐明了载脂蛋白 E (ApoE)基因型多态性与高脂血症中医辨证分型具有一定的相关性。堪氏等^[5]认为 TH 基因改变导致血浆去甲肾上腺素和肾上腺素含量升高,可能是肝阳上亢证分子机理。欧阳涛等^[6]认为 ApoEε4 等位基因特别是 E3/4 基因型可能是 CHD 痰证的主要易感基因之一。成玉斌等^[7]认为 ACE 基因之 D 等位基因及 DD 型可能是 DN 肾虚的基因基础。李赛美等^[8]认为 D 型等位基因可能是糖尿病冠心病肾阳虚衰发生的内在因素。孙伟正等^[9]认为 HLA-C1 基因与肾阴虚型 CAA 的易感基因呈连锁不平衡。肾阳虚型 CAA 的 HLA-A30 基因频率明显高于健康对照组,HLA-A30 基因与肾阳虚 CAA 的易感基因呈连锁不平衡。谭慧珍等^[10]研究认为拥有 5-HTTLPR 的 L/S 基因型只是肝郁脾虚型 IBS 的易感因素之一,而 VNRTS 多态性与肝郁脾虚型 IBS 无关联性。尤劲松等^[11]研究结论:5-HTTLPR 多态性 SS 型个体可能是肝火上炎证和肝阳上亢证的易感人群,且该人群具有明显的焦虑情绪特征。胡随瑜等^[12]认为 5-HTTLPR 多态性 SS 型个体可能是肝火上炎证的易感人群。可见,不同的证型可能存在不同的基因组学基础和背景,相关基因多态性表达可作为各证型之间不同临床表现的分子遗传学依据。

由于证候与基因表达差异及基因多态性之间存在着密切的内在联系,所以我们可以此为切入点,从现代医学生物学理论设想:中医证候具有特定的基因组学基础,证候很可能是基因多态性和多功能基因异常表达的表现^[13]。

3 芯片技术在中医证候研究中的应用

基因芯片技术高通量、多参数同步分析、快速全自动分析、高灵敏度分析的特点,决定了其在研究大量基因的功能及解释基因间的相互作用上有着无可比拟的优越性。目前,已有学者将基因芯片应用于中医证本质研究中,并取得了一些成果。王米渠等^[14~17]开展的系列研究:观察了在高低温度下大肠杆菌的冷热休克基因变化;比较了冷冻、寒性药的大鼠寒证模型;调查肾虚证患者 2 650 例,发现了热药疗寒的 7 类基因,探索了芯片数据库平滑聚类分析方法。研究显示虚寒证一定有其分子生物学基础。吴元盛等^[18,19]用表达谱基因芯片筛选热毒炽盛型和阴虚内热型系统性红斑狼疮(SLE)差异基因,发现大部分基因特别是代谢相关基因表达具有一致性,在随后的研究中提出基因表达水平与证型的内在联系应在基因鉴定的基础上做进一步探讨。吴斌等^[20]利用基因芯片技术发现与生长发育相关基因 14 条,论证骨关节炎的发病与肾虚有密切关系,与中医的“肾主骨,藏精气,主生长发育”的理论取得一致。李炜弘等^[21]发现患者与正常人的基因芯片差异表达谱,并以此来部分解释冠心病心阳虚证的病理机制。高黝等^[22]应用基因芯片技术对糖尿病患者与同一家中正常人进行检测,发现差异基因 416 条,虚证与基因下调有密切关系,阴阳两虚与广泛的功能基因相关,血瘀证与血流血压的相关基因有关。罗云坚等^[23]采用 cDNA 芯片技术,比较脾气虚证慢性胃炎与溃疡性结肠炎患者以及健康人外周血白细胞中免疫相关基因表达水平的差异,根据研究发现提出了脾气虚证发生有免疫相关基因组学基础,脾虚时机体免疫功能紊乱。

研究发现^[24],多基因间相互作用产生的协同效应可能比单一基因更强,对于多基因病,使用基因芯片技术进行基因多态性联合分析也许比单一基因更有价值。因此,利用先进的基因芯片技术,选择与疾病相关的多个易感基因作为候选基因,将候选基因基因型探针固定于同一张基因芯片表面,利用碱基互补配对原理进行杂交,通过检测探针分子杂交信号强度,可检测出多个种基因的多态性位点。

4 小结

通过分析基因多态性与中医临床证型特征的相关性,寻找证候异同的遗传学基础,经过系统的分析、归纳、整理,从基因水平阐明中医常见证候的理论实质,揭示证候的科学内涵,为证候实质现代化研究开辟新的思路和方法,用现代科学语言为“同病异治”、“异病同证”理论研究提供参考,从而丰富和发展中医学理论,是中医理论研究的创新性和探索

性工作。另外,通过基因多态性与证候的相关性研究,期望将来可根据不同基因型,为中医病证客观诊断、治疗和防治提供指导与科学依据。

参考文献

- [1] 李戎, 阎智勇, 李文军, 等. 创建中医证候基因组学的可行性[J]. 中国中医药, 2003, (2): 34-35.
- [2] Ryu DD, Nam DH. Recent progress in biomolecular engineering[J]. Biotechnol Prog, 2000, 16(1): 2-16.
- [3] 蒋卫民, 唐蜀华, 赖仁胜, 等. 载脂蛋白 E 基因多态性与原发性高脂血症中医辨证的相关性研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(1): 38-41.
- [4] 堪兵来, 唐发清, 金益强, 等. 高血压病肝阳上亢证酪氨酸羟化酶及单胺氧化酶微卫星多态性分析[J]. 湖南中医学院学报, 2000, 20(1): 37-38.
- [5] 欧阳涛, 宋剑南, 苗阳, 等. 冠心病痰瘀证与载脂蛋白 E 基因多态性关系的研究[J]. 中西医结合学报, 2003, 3(6): 438-442.
- [6] 成玉斌, 罗仁, 薛耀明, 等. 肾虚证 DN 与 ACE 基因多态性相关研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, 8(5): 29-30.
- [7] 李赛美, 李小粤, 熊曼琪, 等. 糖尿病冠心病的中医证型与血管紧张素 I 转换酶基因多态性关系的探讨[J]. 广州中医药大学学报, 2003, 20(4): 261-263.
- [8] 孙伟正, 赵淑英, 孙岸, 等. 慢性再生障碍性贫血中医辨证分型与 HLA 基因多态性相关性的研究[J]. 中医药信息, 2000, (3): 60-61.
- [9] 谭慧珍, 谢军, 冯崇廉, 等. 肝郁脾虚型肠易激综合征与 5-羟色胺转运体基因多态性的关系[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2006, 14(3): 147-149.
- [10] 尤劲松, 胡随瑜, 张宏耕. 中医肝证情绪测量及与 52 羟色胺转运体基因多态性相关的研究[J]. 中国医药学报, 2004, 19(11): 669-671.
- [11] 胡随瑜, 尤劲松, 张宏耕. 肝气郁结证、肝火上炎证与 5-HTT、TPH 基因多态性相关研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(3): 49-52.
- [12] 尹耀慧, 易振佳, 金益强. 证候基因组学深入研究的思考[J]. 湖南中医杂志, 2006, 26(6): 1-3.
- [13] 王米渠, 吴斌, 严石林, 等. 论虚寒证基因芯片及生物信息的高起点切入研究[J]. 辽宁中医杂志, 2003, 30(3): 169-171.
- [14] 王米渠, 严石林, 李炜弘, 等. 寒热性中药对 SD 大鼠的实验研究[J]. 浙江中医学院学报, 2006, 26(6): 43.
- [15] 王米渠, 张敬远. 寒证基因芯片数据库的纵横分合聚类方法研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, 8(12): 59-62.
- [16] 王米渠, 冯韧. 5 例寒证的宏观疗效及基因表达谱芯片分析研究[J]. 浙江中医学院学报, 2003, 27(6): 60-63.
- [17] 吴元胜, 范瑞强. 基因芯片技术分析 SLE 证候基因表达的初步研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2003, 12(16): 1 683-1 686.
- [18] 吴元胜, 范瑞强, 陈达灿, 等. 不同证型系统性红斑狼疮患者外周血基因表达谱差异初探[J]. 广州中医药大学学报, 2004, 21(4): 244-245.
- [19] 吴斌, 黄信勇, 王米渠, 等. 运用基因芯片研究骨关节炎虚寒证的基因表达谱述要[J]. 中医药学刊, 2004, 22(11): 2 008-2 009.
- [20] 李炜弘, 王米渠, 王刚, 等. 冠心病心阳虚证相关差异表达基因分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2004, 13(24): 3 219-3 222.
- [21] 高黝, 高泓, 王米渠. 1 个糖尿病家系肾阴阳两虚证糖尿病的差异表达基因分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(1): 1-5.
- [22] 罗云坚, 修宗昌, 黄穗平, 等. 脾气虚证免疫相关基因组学机制初探[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(4): 313.
- [23] 梁茜, 董吁钢, 杨希立, 等. 基因芯片技术分析老年冠心病患者的易感基因[J]. 中华老年医学杂志, 2006, 6(25): 420-423.

(收稿日期: 2008-05-27)