

代谢组学与中医药现代化研究

苏桃¹, 陆兔林^{1*}, 毛春芹², 李林²

(1. 南京中医药大学江苏省中药炮制重点实验室, 南京 210046; 2. 南京中医药大学药学院, 南京 210046)

[摘要] 代谢组学是 20 世纪 90 年代中期发展起来的对某一生物或细胞所有低相对分子质量代谢产物进行定性、定量分析的一门新学科。该学科的应用跨越了生物技术和医药技术, 具有广阔的发展前景。作者简要介绍了代谢组学的概况, 概述了代谢组学在中医学、中药品种资源、药理毒理及临床等领域的应用情况, 并对当前代谢组学研究中存在的问题及发展趋势进行探讨, 提出了几点设想。

[关键词] 代谢组学; 中医药研究; 药物评价; 临床应用

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0247-04

Metabonomics and Modern Study of Traditional Chinese Medicine

SU Tao¹, LU Tu-lin^{1*}, MAO Chun-qin², LI Lin²

(1. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] Metabonomics, a new science and technology, was developed in mid 1990s. It refers to a holistic analytical approach to all the low molecular weight metabolites in an organism or cells. The application of the science across the biology and pharmaceutical technology has a vast potential for future development. This paper briefly introduces the general of metabonomics, the application of metabonomics in Chinese Traditional Medicine, Chinese herbal resources, pharmacology, toxicology and clinical. Finally, the problems and future perspectives of metabonomics research are discussed and several ideas are also put forward.

[Key words] metabonomics; research of traditional Chinese medicine; drug evaluation; clinical application

代谢组学 (metabonomics) 的概念最早来源于代谢轮廓分析 (metabolic profiling), 它是由 Devaux 等人于 1970 年代提出^[1]。代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后兴起的系统生物学的一个新兴“组学”。主要研究生物体内所有代谢产物 (主要是低相对分子质量) 在疾病或外源性物质等因素扰动下的动态变化, 并以此来反映生物体的病理生

理变化趋势, 进而揭示变化的机制。完整的代谢组学流程主要包括几个部分: 样品的采集、样品的分析、数据的分析等。与转录组学和蛋白质组学等其他组学相比, 代谢组学具有以下优点^[2]: ①基因和蛋白表达的微小变化会在代谢物水平得到放大; ②代谢组学的研究不需要进行全基因组测序或建立大量表达序列标签的数据库; ③代谢物的种类远少于基因和蛋白的数目; ④生物体液的代谢物分析可反映机体系统的生理和病理状态; ⑤代谢物谱在不同生物样本中基本一样, 再加上其检测技术的多样性, 代谢组学的研究具有较好的便利性。代谢组即时反映生物体整体功能状态及其终点放大的优势对于建立符合中药多组分、多靶点协同整合效应特征的新型药效评价体系具有重要意义, 最终可为构建中药及复方的现代化研究标准提供新的研究思路。

1 代谢组学为中医药研究提供了契机

1.1 代谢组学与中医症候的研究 辨证论治是中医学的特色与精华, 也是中医诊治疾病的基本原则。不同的中医证候

[收稿日期] 20101102(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81001641); 江苏省教育厅重大项目(09KJA360001); 南京中医药大学科技项目(10XJC06)

[第一作者] 苏桃, 硕士在读, 研究方向: 中药质量控制及新药研发, E-mail: sutaocissy@163.com

[通讯作者] * 陆兔林, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 中药质量控制及新药研发, Tel: 025-85811513, E-mail: lutuling2005@126.com

其代谢产物谱存在着显著差异。在代谢组学的研究中,通过检测不同时间患者体液中的所有代谢产物,将能够确定不同的证所对应的代谢物的特征模式,使证得到客观、定量描述,从而促进中医证候实质的研究。例如 Li 等^[3]对气虚血瘀证大鼠的尿液进行了代谢组学分析,发现模型动物的代谢组特征模式与正常动物相比差异显著,其中甲酸盐、肌酐、柠檬酸盐、牛磺酸等代谢物的相对含量发生了变化,说明该证候可能与这些代谢物及其代谢途径相关。众所周知,中医证候具有模糊、笼统的缺点,缺乏统一的、客观的、定性或定量指标。根据不同种属、品系的动物模型与人的代谢状态的差异,以桥接标记物为参考,寻找模拟人类疾病且适用于药效和毒性等研究的动物模型已成为代谢组学的重要应用领域之一。由此可见,“方证对应”研究等将对解决中医药问题很有意义。目前该研究方向已开展了相关工作,顾天瞬等^[4]发现肾阳虚证患者代谢水平有特征性变化。贾伟等^[5]采用代谢组学方法研究肾阳虚模型,发现此模型动物的代谢网络明显偏离正常组动物,而用温阳中药干预后,代谢谱回归至正常范围呈现代谢网络修复的作用。罗和古等^[6]运用代谢组学技术开展大鼠肝郁脾虚证的研究,通过对中医病证引起的代谢物的共性分析和生物标记物的发现,寻找中医证候的生物学本质并确定“中医证相关代谢谱”。李林等^[7]利用基于核磁共振氢谱的组学分析方法研究气虚血瘀证大鼠对比于正常大鼠尿液的组成变化,发现病变大鼠尿液中多种成分的含量发生了变化。可见,证的研究与代谢组学理论相结合将促进中医辨证的科学化和定量化,有助于疾病生物标记物的发现和辅助诊断,使诊断、治疗达到个体化,成为中医药现代化最重要的研究方向之一。

1.2 代谢组学与中药安全性评价的研究 随着中药及其制剂在世界范围的广泛应用,许多有关中药安全性问题的报道也在不断增多,尤其是关木通和含有关木通的中成药如龙胆泻肝丸等引起的肾毒性更为人们所普遍重视。在这方面,赵剑宇等^[8]研究了染毒后大鼠尿液的代谢表型改变及其与组织病理、尿液和血浆生化指标的相关性。研究表明,大鼠尿液的代谢物谱与关木通作用强度密切相关。李建新等^[9]利用代谢组学方法研究了雷公藤甲素的肾脏毒性,发现大鼠尿液的代谢物谱与雷公藤甲素对肾脏造成的损害作用密切相关,利用代谢组学方法可以迅速、简便地分析雷公藤甲素的肾脏毒性。目前,Shoekcor J P 等^[10]报道,伦敦大学与 6 家药物研发公司进行项目研究,将代谢组学应用于药物安全性评价中,建立正常和受毒动物的血清、尿液和组织中代谢物的 NMR 图谱库,从而动态地评价药物毒性效应,快速、有效地分析多条代谢通路,帮助定位靶组织及判定毒副作用程度,推导出毒性的生化机制,发现损伤的发生、发展和消失过程中的生物标志物,以缩短药物研发时间,减少损失。

1.3 代谢组学与中药品种资源及质量控制的研究 植物代谢组学在国外早已开展,有成功利用代谢组学技术对拟南芥突变株进行大规模基因筛选的例子。目前,市场上的“道地

药材”多是“有其名,无其实”,还有相当一部分中药材由野生型改为人工繁育后,其产品质量发生了量或质的改变。为确保中药资源的数量和质量,国家已经建立了数百个中药材规范化种植基地,但其质量控制缺乏科学的手段,中药的可持续发展和利用问题亟待解决。例如, Murch 等^[11]采用 HPLC-MS 对黄芩代谢成分进行研究,发现了 2 000 个成分,对其中的 781 个成分进行鉴定,从而为评价优良品种建立了筛选模型。Kin 等^[12]对 3 种不同种属麻黄植物进行了核磁共振谱指纹图谱分析,通过主成分分析找到了其间的代谢物差异,为其全面质量控制带来了可能。中药质量控制的代谢组学研究也有报道^[13],研究发现代谢组学方法对中药的产地、含量和提取方法均能灵敏检测区分,是中药道地性、品质及加工水平等方面有效的检测方法,也是中药制剂工艺质量控制的有效手段。该方法对于药材质量控制和优选种质资源实现可持续发展提供科学依据和保障。

1.4 代谢组学与中药复方药效机制的研究 中药效应物质是指中药及其复方中发挥作用的化学成分,是阐明中药作用的关键。在研究有效化学成分时,过分强调单一化学成分的作用是不恰当的,这种研究思路不符合中医药理论。中药(尤其是复方)进入生命体后,起效的是中药中的原形成分或代谢产物,或与机体作用形成的新成分,三者构成体内中药有效成分的组群。虽然经典的药理学方法运用生物化学和分子生物学技术,在化学药物的研究中也很有可能发现其作用的靶点或受体,阐释其作用的机制。然而,面对中药及其复方这样以多成分、多靶点、多代谢途径发挥作用的复杂体系,这种利用单一机制药理模型的研究方法往往难以全面地解释药物与药物之间以及药物与多个靶点、多个受体之间的相互作用。有研究报道^[14]用代谢组学方法研究钩藤多动合剂的药效作用及生化机制,结果表明该中药能调整单胺类神经递质的失衡而发挥治疗作用。亦有研究^[15]通过比较中药淫羊藿的化学成分谱与进入血清及尿中排泄的化学成分及代谢物谱考察淫羊藿补肾作用的物质基础。唐文富等^[16]还运用代谢组学方法探索大承气汤治疗具有“阳明腑实证”的急性胰腺炎的药效物质基础和作用靶点以及“阳明腑实证”的证本质,从而提出了方剂代谢组学新假说。王喜军等^[17]研究了茵陈蒿汤对 CCl₄ 诱导的大鼠肝损伤的保护作用,发现实验组与正常组大鼠产生了明显变化,从药物代谢组学角度对经典方剂防治肝损伤给出了全新的解释。中药作用机制研究重点在于药物在代谢调控中如何起作用及以何种形式起作用,这正符合代谢组学全面而数学化的特点。代谢组学作为一种系统方法,通过研究生物体所有代谢物的综合表现,使得诠释中药及其复方的整体性作用机制成为可能。体内药物的代谢指纹图谱,不仅可用于研究药物本身的代谢变化,还可以研究药物引起内源性代谢物的变化,从而直接反映体内生物化学过程和状态的变化,寻找或阐明药物作用靶点或受体。中药复方的整体性作用机制和物质基础在系统代谢组学的研究方法下将可能得到充分的展示和挖掘。

1.5 代谢组学与中药药代动力学的研究 中药药代动力学大都采用某一标志性化合物进行,从代谢组学的视点跟踪分析其在动物或人体内的变化,通过比较分析体外和体内色谱指纹图谱的异同,不但能够对中药活性组分进行筛选,而且还可获得单一药材或复方的相应主要活性成分或其代谢产物的代谢浓度曲线,建立高通量的、基于中药整体特性的药代动力学研究的新方法。高荣等^[18]利用基于毛细管电泳的代谢指纹图谱法研究了大鼠炎症模型并比较银黄注射液和口服液的抗炎效果,通过对基于毛细管电泳的尿样代谢指纹图谱的代谢组学研究方式,成功地对炎症造模前后、服用银黄制剂前后、注射和灌胃的给药途径及注射液和口服液的疗效等不同的代谢表型进行有效的区分,并找出了相应的生物标志物的特征峰。与传统的药物动力学和药效动力学的研究方法相比,代谢组学的研究思路更接近中医药理论,分析更为快捷和全面,结论更为可靠,是一种非常有潜力的研究中药作用机制的有效方式。

2 代谢组学在临床上的应用

目前代谢组学在临床上已成为了疾病诊断的好方法,同时还可以实现对特定生物组分所有代谢物的定性、定量研究,识别未知代谢产物,阐明发病机制以及进行治疗监测等。由于疾病导致机体病理生理过程变化最终引起代谢产物相应改变,所以可以对某些代谢产物进行分析,并与正常人的代谢产物比较,寻找疾病的生物标记物,并辅助临床诊断。Kenny等^[19]应用GC-tof-MS和GP(genetic programming)方法对87例子痫前期患者和87例正常妊娠妇女血浆的代谢产物进行分析比较,并根据差异代谢物制定了两个简单方法,实现对子痫前期及其严重程度的诊断,其灵敏度为100%,特异度为98%。同时,代谢组学应用在鉴别诊断中的报道还有Brindle等^[20]应用¹H-NMR技术,以36例严重心血管疾病患者(triple vessel disease, TVD)和30例心血管动脉硬化患者(normal coronary arteries, NCA)的血清和血浆为研究对象,进行代谢组学分析,结合PCA, SIMCA, PLS-DA, OSC-PLS等模式识别技术建立了判别心血管疾病及其严重程度的新诊断方法。该方法的灵敏度及专一性高于90%并且具有最小限度的侵入性,仅需几滴血液,就可利用核磁共振指纹谱和计算机模式识别技术判断出心脏病的严重程度。它优于传统的血管造影术,对于检测心脏病具有快速、廉价、安全的优点。Coen等^[21]通过对脑脊液成分分析,提供了一种优于传统实验室的快速诊断和鉴别脑膜炎病原学的方法。另外,代谢组学亦在诊断Lesch-Nyhan综合征^[22],糖尿病^[23]等疾病方面取得重大突破。由此可见,代谢组学作为一门很有潜力的新兴方法,将在疾病诊断,尤其在早期诊断中发挥重大作用,最终真正达到“个体化用药”的要求。

3 基于代谢组学的几点设想

3.1 完善数据库,标准化代谢操作过程 由于代谢组学分析技术和操作条件的多样化,使得大量产生的数据和结果缺乏规范性,这给代谢组学数据的采集、存储、查询、比较等带

来诸多不便。这就需要以一整套的过程进行标准化,建立完善的数据库。

3.2 建立药物毒性预测的专家系统 新的毒性标记物或毒性代谢模式的发现,特别是毒性早期征兆代谢组的发现,将对于降低新药研发成本,缩短研发时间有重要的意义,具有巨大的市场价值。

3.3 开展“证模型”的生物标志物研究 由于目前还没有关于中医“证”动物模型与临床病人的代谢组学“桥接”研究,因此尚不能判断相应证动物模型的合理性。运用代谢组学研究技术,以调节“桥接生物标记物群”为靶标,结合传统的中医理论,探索新型中医证动物模型的制作方法将具有十分重要的科学意义。

3.4 进行药材质量控制研究 植物在不同年龄、不同发育阶段、不同部位以及光照、水肥、耕作等环境因素的影响下具有不同的代谢产物组成和数量。可以应用代谢组学技术对药材不同生长状态下的不同代谢物组作为一个整体来进行考察,用于药材质量控制和优选种质资源,实现资源的可持续发展。

挑战本身就伴随着机遇,所以这些挑战也恰恰是代谢组学未来的发展方向。虽然其应用潜力和科学价值在药物安全性评价、药理毒理、植物基因功能研究等方面取得了极大的成功,但从总体来看仍处于发展阶段,需要其他学科的配合和交叉。正确认识代谢组学在药物研究中的作用,将会对众多学科的发展提供思路,对于中医的“因人制宜”、“治未病”等独特的思维方式和治疗方法以及中药、方剂的量效关系及其作用机制给予科学阐释,并有力地推动中医药的现代化步伐,开辟中医药国际化新道路。

[参考文献]

- [1] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. Metabonomics: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29: 1181.
- [2] Taylor J, King R D, Altmann T. Application of metabolomics to plant genotype discrimination using statistics and machine learning [J]. *Bioinformatics*, 2002, 18(Suppl 2): S241.
- [3] Li L, Wang J N, Ren J X, et al. Metabonomics analysis of the urine of rats with Qi deficiency and blood stasis syndrome based on NMR techniques [J]. *Chin Sci Bull*, 2007, 52 (22): 3068.
- [4] 顾天麟. 肾虚病人尿中17-类固醇排出量改变的观察 [J]. *中华内科杂志*, 1964, 12(4): 307.
- [5] Chen M J, Zhao L P, Jia W. Metabonomic study on the biochemical profiles of a hydrocortisone induced animal model [J]. *J Proteome Res*, 2005, 4(6): 2391.

- [6] 罗和古,丁杰,岳广欣,等.大鼠肝郁脾虚证的代谢组学研究[J]. 中西医结合学报,2007, 5(3):307.
- [7] 李林,王建农,任建勋,等.气虚血瘀证大鼠尿液的核磁共振谱代谢组学[J]. 科学通报, 2007, 52(15):1758.
- [8] 赵剑宇,颜贤忠,彭双清.关木通肾毒性的代谢组学研究[J]. 中草药,2006,37(5):725.
- [9] 李建新,华嘉,何翠翠.中药毒性的代谢组学研究(I):雷公藤甲素的肾脏毒性[J]. 亚太传统医药, 2007, 3(7):41.
- [10] Shockcor J P, Holmes E. Metabonomic applications in toxicity screening and disease diagnosis [J]. Curr Top Med Chem,2002,2(1):35.
- [11] Murch S J, Rupasinghe H P, Goodenowe D, et al. Ametabolomic analysis of medicinal diversity in Huangqin (*Scutellaria baicalensis* Georgi) genotypes: discovery of novel compounds [J]. Plant Cell Rep, 2004,23 (6):419.
- [12] Kin H K, Choi Y H, Erkelens C, et al. Metabolic fingerprinting of *Ephedra* species using¹H-NMR spectroscopy and principal component analysis[J]. Chem Pharm Bul, 2005, 53(1): 105.
- [13] Wang Y L, Tang H R, Nicholson J K, et al. Metabolomics strategy for the classification and quality control of phytomedicine: A case study of chamomile flower (*Matricaria recutita*) [J]. Plant Med, 2004, 70(3):250.
- [14] 黄玉荣,魏广力,龙红,等.钩藤多动合剂的药效作用及用代谢物组学方法研究其生化机制[J]. 中草药, 2005,36(3):398.
- [15] Chang W T, Thissen U E, Hlert K A, et al. Effects of growth conditions and processing on Rehmanniaglu-
tinosau singfinger-prints strategy [J]. Planta Med,2006, 72(5):458.
- [16] 唐文富,陈光远,黄熙.方剂代谢组学新假说[J]. 中草药, 2007, 38(6):801.
- [17] 王喜军,孙文军,孙晖,等. CCl₄ 诱导大鼠肝损伤模型的代谢组学及茵陈蒿汤的干预作用研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2006, 8(6): 101.
- [18] 高荣.银黄注射液和银黄口服液在大鼠体内的药动学-药效学研究和代谢组学初步研究[D]. 成都:四川大学,2007.
- [19] Kenny L C, Dunn W B, Ellis D I, et al. Novel biomarkers for preeclampsia detected using metabolomics and machine learning[J]. Metabolomics,2005,1(3):227.
- [20] Brindle J T, Antti H, Holmes E, et al. Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabolomics[J]. J Nat Med, 2002,8(12): 1439.
- [21] Coen M, O'Sullivan M, Bubb W A, et al. Proton nuclear magnetic resonance-based metabonomics for rapid diagnosis of meningitis and ventriculitis[J]. Clin Infect Dis,2005,41 (11):1582.
- [22] Hodavance M S, Ralston S L, Pelczer I. Beyond blood sugar: the potential of NMR-based metabonomics for type 2 human diabetes, and the horse as a possible model [J]. Anal Bioanal Chem,2007,387(2):533.
- [23] Brindle J T, Nicholson J K, Schofield P M, et al. Application of chemometrics to¹H-NMR spectroscopic data to investigate a relationship between human serummetabolic profiles and hypertension[J]. Analyst, 2003,128(1):32.

[责任编辑 邹晓翠]

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110127.1113.011.html>