

· 专 论 ·

表观遗传学和代谢组学在中药研究中的应用

毕跃峰, 王云雨, 张芳平, 黄盈盈, 白 喆, 程鑫涛

郑州大学药学院, 河南 郑州 450001

摘 要: 中药具有多组分、多靶点、多途径的作用特色和复杂性, 使得中药现代化研究任务艰巨, 许多医药研究工作者为此而不懈努力。系统生物学和组学的发展, 为中药与现代科学融合迎来了契机。特别是表观遗传学和代谢组学整体性、动态性、个体化以及与环境相互作用的特点与中医药作用理念相契合。主要对表观遗传学研究较为热门的 DNA 甲基化、组蛋白修饰、miRNA 调控在中药研究中的应用, 以及代谢组学在中药药效物质基础、质量控制、药效作用机制等方面的应用进行了综述, 提出了二者结合创新应用在微观层面阐明中药整体作用机制及多组分、多途径、多靶点协同作用机制的思路, 为中医药核心思想科学内涵研究探索新的研究模式。

关键词: 表观遗传学; 代谢组学; 中药研究; DNA 甲基化; 组蛋白修饰; miRNA 调控; 药效物质基础; 质量控制; 药效作用机制

中图分类号: R28 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)19-4837-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.19.001

Research progress on application of epigenetics and metabolomics in traditional Chinese medicine

BI Yue-feng, WANG Yun-yu, ZHANG Fang-ping, HUANG Ying-ying, BAI Zhe, CHENG Xin-tao

College of Pharmacy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

Abstract: Traditional Chinese medicine has multi-component, multi-target, and multi-path action characteristics and complexity, which makes the task of modernizing traditional Chinese medicine arduous, and many medical researchers have made unremitting efforts to this end. The development of systems biology and omics has ushered in an opportunity for the integration of traditional Chinese medicine and modern science. In particular, the characteristics integrity, dynamics, personalization, and interaction with the environment of epigenetics and metabolomics are consistent with function concept of traditional Chinese medicine. The application of popular DNA methylation, histone modifications, miRNA regulation of epigenetic research, and the application of metabolomics in the substance basis, quality control, pharmacodynamic action mechanism in traditional Chinese medicine research are reviewed in this paper. This paper also puts forward the idea that combining the two and innovative application can clarify the scientific connotation of the whole action mechanism of traditional Chinese medicine and the mechanism of multi-component, multi-channel, and multi-target synergistic action at the micro level, and explore a new research model for the scientific connotation of the core thought of traditional Chinese medicine.

Key words: epigenetics; metabolomics; traditional Chinese medicine research; DNA methylation; histone modifications; miRNA regulation; pharmacodynamic material basis; quality control; pharmacodynamic action mechanism

随着人类疾病谱的变化和生命科学的深入发展, 医学界已逐渐认识到单因素、单靶点治疗模式存在的局限, 特别是难以应对病理机制复杂的疾病, 而中药多组分、多靶点、整体调节、协同作用的作用特点, 使其在治疗复杂疾病方面表现出独特的优

势, 同时也因为中药物质基础和作用机制的复杂性, 使得中药现代化进程面临困难。表观遗传学和代谢组学是 20 世纪 40 年代和 90 年代发展起来的 2 门新兴学科, 其整体性、动态性、个体化以及与环境相互作用的特点与中医药作用理念具有高度一致性^[1-2],

收稿日期: 2020-04-20

基金项目: 河南省自然科学基金资助项目 (182300410348)

作者简介: 毕跃峰, 女, 博士后, 教授, 研究生导师, 研究方向为中药作用物质基础、作用机制研究及新药研究开发。

Tel: 13939091607 E-mail: 2000byf@sina.com

不仅为中医药与现代科学的融合迎来了契机,也为阐明中药作用特点的科学内涵提供了新思路和新方法。

1 表观遗传学在中药研究中的应用

1.1 表观遗传学概述

1942 年, Waddington^[3]首次把 DNA 序列不改变, 表型或基因表达发生可遗传变化的现象称之为表观遗传学。Bird^[4]于 2007 年提出在后基因组学的表观遗传学时代, 从表观遗传学的角度来防治疾病是当前研究的主要方向。应用表观遗传学方法, 不但可以充分了解和研究人类各种疾病的发病机制, 而且可以发现和寻找到疾病发生的预警和防治靶分子, 在疾病的诊断和防治中发挥重大作用^[5]。

生物体是由遗传信息和表观遗传信息共同作用的结果。整个基因组通过核苷酸精确地复制、转录和翻译, 保持遗传信息的稳定性和连续性; 表观遗传学体现的是基因调控功能, 即基因受内外环境等因素的影响, 在 DNA 核苷酸序列不发生变化的情况下, 基因表达水平发生可逆、可遗传的改变, 主要包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰和 MicroRNAs (miRNA) 调控等^[6]。研究表明中药多组分、多靶点、多途径的作用特点有可能是通过调控或恢复基因表达平衡, 从而达到恢复机体正气和阴阳平衡, 利用表观

遗传学有可能在分子水平揭示中药整体作用与多组分协同作用机制的本质与科学内涵。因此, 近几年表观遗传学在中药研究中的应用日渐引起关注。

1.2 DNA 甲基化与中药研究

DNA 甲基化是在甲基转移酶 (DNA-methyltransferase, DNMT) 的催化下, DNA 的 CpG 二核苷酸的胞嘧啶选择性地结合甲基, 形成 5-甲基胞嘧啶^[7]。研究表明 DNA 甲基化紊乱是众多疾病、特别是病机复杂疾病如免疫性疾病、病毒性疾病、代谢异常疾病、心脑血管疾病、癌症等的共有模式, 针对异常 DNA 甲基化双向调控的治疗研究日渐成为防治复杂疾病的重要策略, 这与中药调控作用理念也不谋而合^[8-10]。

目前大部分中药调节 DNA 甲基化研究集中在探讨中药单体成分和中药复方对全基因组和异常基因甲基化状态的调节。主要通过调控 DNMT 水平、调节相关信号通路、调控相关蛋白等发挥调节甲基化状态的作用。如前期研究比较多的姜黄素、丹参酮 II_A、雷公藤内酯醇、雷公藤甲素、苦参碱、天花粉蛋白等中药单体成分和参茸补血丸、青黄散、消痰散结方等中药复方。中药调控 DNA 甲基化的应用实例见表 1。

表 1 中药调控 DNA 甲基化的应用实例

Table 1 Application examples of traditional Chinese medicine in regulating DNA methylation

研究对象	作用描述
姜黄素 ^[11]	姜黄素通过 DNA 脱甲基作用恢复 TRAMP-C1 细胞中表观遗传学上沉默的 Nrf2 基因以及其他潜在基因, 诱导 Nrf2 介导的抗氧化应激细胞防御途径来达到预防前列腺癌的作用
姜黄素 ^[12]	姜黄素可以诱导急性髓细胞样白血病细胞的 DNA 去甲基化, 其机制可能是 DNMT1 水平的降低并伴随 p15 基因启动子的低甲基化
姜黄素 ^[13]	姜黄素可以降低 CNE-1 细胞 RECK 基因启动子、全基因组和细胞核内甲基化水平
丹参酮 II _A ^[14]	丹参酮 II _A 可以降低肝癌 HepG2 细胞 DNMT1 水平, 调整甲基化状态, 从而起到抗肿瘤作用
丹参酮 II _A ^[15]	丹参酮 II _A 不仅可以降低小鼠皮肤表皮 JB6 细胞 DNMT1、DNMT3a、DNMT3b 和 HDAC3 的蛋白质水平, 抑制 HDAC 的酶活性, 还可以激活 Nrf2 信号通路并诱导 Nrf2 基因 CpG 岛的去甲基化
雷公藤内酯醇 ^[16]	雷公藤内酯醇通过诱导 Molt4 细胞异常甲基化的 p15 基因去甲基化, 从而使 p15 基因恢复表达, 起到抑制细胞增殖的作用
雷公藤甲素 ^[17]	雷公藤甲素通过抑制 HL-60 细胞 DNMT1 和 DNMT3b 基因表达来上调 DAPK-1 基因的甲基化水平, 从而激活某些信号通路诱导细胞凋亡
苦参碱 ^[18]	苦参碱处理 K562 细胞后, 基因组整体甲基化水平基本无变化, 但 RIZ1 基因启动子发生去甲基化反应, 使 RIZ1 mRNA 表达水平明显升高
天花粉蛋白 ^[19]	天花粉蛋白诱导 HeLa 和 CaSki 细胞 APC 和 TSLC1 基因 CpG 岛去甲基化, 并恢复了它们在宫颈癌细胞系中的 mRNA 和蛋白质水平上的表达
参茸补血丸 ^[20]	参茸补血丸通过抑制 DNMT 的活力, 降低 DNA 甲基化水平, 使受损机体肝、肾组织低甲基化, 从而促进生殖器官发育或提高组织修复
青黄散 ^[21]	青黄散能够抑制 DNMT1 的表达, 减轻 DNA 甲基化程度, 从而改善患者外周血象并起到治疗作用
消痰散结方 ^[22]	消痰散结方能够影响胃癌细胞系 MKN-45、BGC823 细胞抑癌基因 p16 的表达, 减低其甲基化水平, 增加 p16 基因的 mRNA 表达而达到抑制肿瘤生长的作用

中医理论认为阴阳处于不断运动变化中,临床上通过平衡阴阳以达到“阴阳自和”是中医治疗疾病的最终目标。而 DNA 的甲基化与去甲基化也处于动态变化中,DNA 甲基化本身的特点与中医的特色理论有着一种天然而隐约的联系^[23]。对此,有学者提出现有的研究和进一步的研究将证明中医阴阳的生物学根本基础可能就在于 DNA 高甲基化与低甲基化^[10]。如周庆兵课题组利用甲基化免疫共沉淀联合测序的方法,分别研究了栀子川芎胶囊对兔动脉粥样硬化模型和栀子苷对 RAW 264.7 细胞 DNA 异常甲基化的影响^[24-25]。研究发现栀子川芎胶囊和栀子苷不仅能促甲基化,同时还能去甲基化,即通过双向调控异常基因的甲基化来治疗动脉粥样硬化,这可能与调节蛋白激酶 C 的活性、炎症信号通路和 MAPK 信号通路等有关。因此研究中药通过双向调节异常基因甲基化水平达到治疗疾病的作用可能是下一步作用机制研究的重点。

1.3 组蛋白修饰与中药研究

组蛋白修饰(histone modification)是指在相关酶的作用下,组蛋白发生甲基化、乙酰化、磷酸化、腺苷酸化、泛素化、ADP 核糖基化等过程。较之于 DNA 甲基化的稳定性,组蛋白修饰较为动态,并与 DNA 甲基化相互影响发挥调控功能^[26]。

Hsieh 等^[27]通过访问两个公共中药数据库、NCBI 分类学数据库和公共化学-蛋白质相互作用数据库,发现 3 294 种中药中有 1 170 种与人组蛋白修饰酶发生相互作用,中药复方的协同作用主要是通过同时抑制 DNMT 和 HDAC,共同抑制组蛋白乙酰化和 H3S10 磷酸化或共同抑制 H3K4 脱甲基和 H3K36 脱甲基。

Nardi 等^[28]研究发现雷公藤甲素诱导肺癌细胞凋亡与组蛋白 3(H3)的整体表观遗传学变化有关,主要通过上调 Wnt 抑制因子的蛋白质表达。但雷公藤甲素对所有 5 个 Wnt 抑制因子的启动子区域中的任何 CpG 岛上的 DNA 甲基化状态均无影响。Lu 等^[29]研究发现中药制剂今复康给药肺癌细胞后,多个基因的 H3K4Me3 修饰状态显著改变,并提出了 SUSD2、CCND2、BCL2A1 和 TMEM158 可能是今复康治疗肺癌的潜在靶标,其研究结果表明今复康可能通过对肺癌多个基因位点的组蛋白修饰的调节发挥抗癌活性。Sun 等^[30]研究发现蛇床子素可以上调组蛋白乙酰化酶,特异性催化 H3K9、H3K14 的乙酰化,改善细胞层和牙周炎组织层骨的形成,结

果表明蛇床子素是一种通过调节细胞表层工程中的表观遗传修饰来治愈牙周炎的有前途的药物。

1.4 miRNA 调控与中药研究

miRNA 是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA,其大小为 20~25 个核苷酸,与各种疾病的关系及潜在的诊断治疗价值逐渐引起人们的重视,中药对 miRNA 的调控也逐渐成为研究热点^[31]。

赖小华等^[32]研究发现三七皂苷 R₁ 有较好的延缓血管内皮细胞衰老的效果,其机制可能是通过调控 miRNA-34a/SIRT1/p53 通路延缓了血管内皮细胞衰老的进程,即三七皂苷 R₁ 通过降低细胞内 miRNA-34a 的表达,增强 SIRT1 表达,降低肿瘤抑制蛋白 p53 的乙酰化程度,减弱 p53 激活下游衰老相关靶基因转录的活性。研究表明雷公藤多苷可以降低类风湿关节炎患者的 miRNA-146a 水平,改善类风湿关节炎患者的临床症状^[33]。雷公藤多苷还可以下调单侧输尿管结扎(UUO)幼年大鼠肾脏 miRNA-192、I 型胶原的表达,减少细胞外基质沉积,改善肾间质纤维化^[34]。Wu 等^[35]研究发现从甲鱼中提取到的甲壳肽处理 AGS 细胞后,有 101 个 miRNA(49 个上调的 miRNA 和 52 个下调的 miRNA)显著差异表达,miRNA-375、let-7d、miRNA-429、miRNA-148a/148b 和 miRNA-34a 等几种抑制肿瘤的 miRNA 显著上调,从而影响癌症相关途径进而达到治疗癌症的效果。

2 代谢组学在中药研究中的应用

2.1 代谢组学概述

1985 年, Nicholson 研究小组利用核磁共振(NMR)法,通过对大鼠的尿液代谢物进行分析,发现与其病理的变化存在关联,于 1999 年提出代谢组学概念^[36]。虽然代谢组学是一个新兴的学科,但其技术和研究思路已经被广泛应用于药物研发、中医药、农业、营养学、毒理学、微生物等与人类健康密切相关的领域^[37]。它是继基因组学、转录组学和蛋白质组学后系统生物学的又一重要分支^[38]。代谢组学通过对内源性小分子代谢物的整体性、系统性分析,获得反映机体功能状态的代谢指纹特征和代谢网络,揭示机体生命活动代谢本质以及机体微环境的状态。其“整体-动态-综合-分析”的研究思路与中医药整体观不谋而合^[39]。近年来,代谢组学应用于中药物质基础研究、中药质量标准研究以及中药药效作用机制研究成为热门,为中药现代化瓶

颈问题的解决提供了有力帮助。

2.2 代谢组学在中药药效物质基础方面的应用

阐明中药药效物质基础是中药现代化的关键问题之一,也是中药研究的难点和热点^[40]。用传统研究化学成分的方法研究起来费时、费力,且不能体现其整体性作用特点,利用代谢组学的技术和方法,在中医药理论指导下多角度、多层次系统的研究中药及其复方,揭示中药及其复方产生药效的物质基础,为中药现代化研究提供了新的思路^[41]。

Liu 等^[42]利用 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS 技术对防己黄芪汤进行了系统的研究,共鉴定出了 17 种指示肾病综合征的生物标志物,并筛选出多种用于治疗肾病综合征的活性成分,一定程度上阐明了防己黄芪汤的药效物质基础。Wang 等^[43]利用代谢组学的方法对芍药甘草汤进行研究,从大鼠血浆中共鉴定出 12 种化合物,包括 9 种原型成分,2 种代谢物和 $C_9H_{10}O_3$,这些化合物可能是芍药甘草汤治疗痛经的物质基础。Cao 等^[44]利用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 技术对温心方研究发现,口服给药大鼠后,其血浆中共检测到 32 种化学成分,包括 26 种原型成分和 6 种代谢产物。Cao 等^[45]利用 1H -NMR 的代谢组学方法对脑振宁颗粒进行了研究,发现脑振宁颗粒的治疗作用与 18 种脑代谢产物的调节有关,其中的 13 种化合物可作为脑振宁颗粒中抗脑损伤的活性化合物。

2.3 代谢组学在中药质量控制中的应用

一般认为中药发挥作用是其内在多种活性成分共同作用的结果,而药材品种、产地、气候、采收季节、炮制方法、储藏条件等因素对中药化学成分都有较大的影响^[46]。现行的中药材质量控制模式主要依靠指标成分含量测定和指纹图谱技术,与传统的外观性状评价相比,新技术的发展极大地提高了中药材的可控性。但现有的质量控制指标缺乏专属性或与活性的相关性不大,如多种药材均采用绿原酸为指标;而指纹图谱技术只能进行相似度评价,却无法将其与中药材优劣性进行关联^[47]。为了探索新的中药质量控制模式,国内外研究人员进行了大量的创新性研究,近些年来,一些研究者尝试将代谢组学的方法应用于中药材质量评价中,并取得了较好的效果。

Wang 等^[48]利用 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术对茺膜黄芪与蒙古黄芪进行研究,共鉴定出可以区分茺膜黄芪与蒙古黄芪的 53 种化学标记物,利用

代谢组学的方法可以快速、准确的筛选中药的特征化学成分,为多基源中药的质量控制提供新的评价模式。Dai 等^[49]结合使用 NMR 和 LC-DAD-MS 的代谢组学方法对不同品种、产地的丹参进行了系统的研究,发现同一地理位置生长的 3 个丹参品种和同一丹参品种生长在不同地理位置的化学成分有所不同,表明丹参药材的质量与产地有较大关系。Xing 等^[50]对僵蚕的形成过程进行研究,通过对多种代谢产物的检测,发现了有望用作质量控制的指标成分,深入阐释了僵蚕的质量形成机制。Zhan 等^[51]对牡丹皮进行研究,共筛选并初步鉴定出 28 种化合物可作为区分正常、硫化和脱硫的牡丹皮的标志物。这种方法也可用于其他硫化和脱硫中药的研究,并为中药及其炮制品的质量控制提供一定参考。

2.4 代谢组学在中药药效作用机制方面的应用

中药及其复方是多组分的复杂体系,通过多途径、多靶点发挥治疗疾病的作用。目前,多数中药的药效作用机制还不明确,传统的药理实验方法大多数只能在某一方面揭示中药治疗疾病的作用机制。代谢组学因其整体性、系统性的特点,不仅可以研究中药本身的代谢变化,还可以研究给药后机体内源性代谢物的变化,通过筛选生物标志物并进行代谢通路分析,多途径、多靶点系统阐释中药药效作用机制^[52]。

韩红祥等^[53]利用 UPLC-Q-TOF-MS 技术进行五味子治疗糖尿病并发症大鼠尿液代谢组学研究,发现了 28 种潜在生物标志物。这些生物标志物主要影响戊糖和葡萄糖醛酸相互转化通路、精氨酸和脯氨酸代谢、肠内菌代谢等多种代谢通路,表明五味子可能从能量代谢、氨基酸代谢、肠内菌代谢、脂类代谢等多个角度发挥治疗糖尿病并发症的作用。Yang 等^[54]研究发现,三草颗粒可以明显下调血清生化指标,减轻组织学损伤,抑制中性粒细胞浸润,改善伴刀豆球蛋白 A 对小鼠的肝损伤,其治疗作用可能是通过将潜在的生物标志物逆转至正常水平来实现的,涉及脂肪酸生物合成、花生四烯酸代谢、亚油酸代谢、甘油磷脂代谢和脂肪酸代谢等多条代谢通路。利用代谢组学的方法一定程度上阐释了三草颗粒多途径治疗肝损伤的作用机制。He 等^[55]利用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的非目标代谢组学方法研究定志小丸治疗阿尔茨海默病的作用机制,共发现 26 种潜在的生物标志物,其中 15 种生物标志物被鉴定出来。这些生物标志物主要影

响牛磺酸和低牛磺酸代谢, 色氨酸代谢和苯丙氨酸代谢的途径。定志小丸通过介导抗氧化应激, 调节能量代谢, 改善肠道微生物和保护神经细胞, 达到治疗阿尔茨海默病的作用。

此外, 代谢组学也为中药毒性研究、中药配伍研究等提供了一个良好的平台, 相关研究实例见表 2。

3 表观遗传学和代谢组学结合应用于中药研究

表观遗传学理念与中医中药核心思想、作用理念的内在一致性, 以及表观遗传学不断发展的方法技术, 可以在分子水平揭示中药作用机制的本质; 代谢组学可以帮助分析中药作用物质基础、表观遗传调控结果的表现以及细胞微环境的变化。二者相

表 2 代谢组学近年在中药研究中的其他应用实例

Table 2 Other applications of metabolomics in research of traditional Chinese medicine in recent years

研究对象	样品类型	分析技术	结果描述
槟榔 ^[56]	血清	UPLC-HDMS	槟榔提取物处理的大鼠血清中鉴定出了花生四烯酸和亚油酸等 16 种潜在的生物标记物, 有助于进一步了解槟榔的心脏毒性和神经毒性
何首乌 ^[57]	血清	LC-MS-Q-TOF	筛选出油酸酰胺等 6 种何首乌诱导肝脏毒性的潜在生物标志物, 对于监测服用何首乌患者肝功能、早期发现何首乌肝损伤具有潜在的应用价值和意义
白头翁皂苷 ^[58]	血清	UPLC-QTOF-MS	共鉴定出 15 种与慢性肝损伤相关的生物标志物
乌头 ^[59]	血清	UHPLC-Q-TOF/MS	研究发现中毒患者血清中 32 种代谢产物发生改变, 并首次发现碳四烯酸和一些二羧酸的改变与乌头生物碱的毒性有关
栀子厚朴汤 ^[60]	血浆	UPLC-Q-E-MS	血浆样品中共鉴定出与脂质代谢和氨基酸代谢有关的 20 种潜在内源性代谢产物。并提出栀子苷在肝组织中的积累可能是栀子厚朴汤导致肝毒性的因素之一
黄药子 ^[61]	肝组织	GC-MS、 ¹ H-NMR	共筛选出 61 种差异代谢物, 分布在 43 个代谢途径中。并发现嘌呤、嘧啶和肠道微纤维代谢可能是黄药子诱发大鼠肝损伤代谢异常的新途径
菊三七 ^[62]	血浆、尿液、 肝组织	UPLC/MS	鉴定筛选出菊三七致肝毒性的 16 种潜在生物标志物, 揭示菊三七可导致氨基酸代谢、脂肪代谢和能量代谢等代谢通路的紊乱
金铃子散 ^[63]	尿液、血清	UPLC/MS	共鉴定出 44 个差异代谢物, 金铃子散会导致赖氨酸和谷胱甘肽的代谢失衡, 造成机体能量代谢或氧化应激调节的紊乱, 产生大鼠体内的损伤
雷公藤-甘草 配伍 ^[64]	尿液	HPLC-MS/MS-IT-TOF	共鉴定出 14 个潜在的生物标志物。并推测雷公藤肝毒性与嘌呤代谢和硒氨基酸代谢相关, 而配伍甘草后则可调整这些代谢通路, 促使其转归为正常状态
白术-桑白皮 配伍 ^[66]	尿液	UHPLC-QTOF-MS	共鉴定出 32 个与肾病综合征相关的差异标志物, 给药后这些代谢物有向正常水平回调的趋势, 且白术-桑白皮配伍组比单用组有更为明显的回调趋势
制川乌-白芍 配伍 ^[67]	粪便	UPLC-Q-TOF-MS	共鉴定出胆酸、甘氨酸等 6 个差异代谢物, 制川乌-白芍配伍组比单用组更容易“回调”上述差异代谢物至正常水平
附子-白芍 配伍 ^[68]	血浆	UPLC-MS	附子脂溶性生物碱与白芍总苷配伍能调节酪氨酸、香草基扁桃酸等途径的代谢紊乱; 且白芍总苷能减少附子脂溶性生物碱对脂肪、氨基酸和能量代谢的干扰, 为可能的减毒机制
黄芩-黄连 配伍 ^[69]	血浆、尿液	UPLC-Q-TOF/MS	共鉴定出 14 种 (血浆中 9 种, 尿液中 5 种) 与 2 型糖尿病相关的生物标志物, 黄芩-黄连配伍组和单用组均可以一定程度上使这些标志物恢复至正常水平, 且配伍组的恢复效果更加显著

结合创新应用,能在微观层面系统地揭示中药整体作用机制,进而帮助阐明中医药核心思想的科学内涵。

长期以来,因为中医药理念的系统性和整体性,使得中医药理论与从单因素、单靶点发展起来的现代科学相互融合困难,严重影响了中医药现代化进程。利用现代科学阐释中医药理论的科学内涵、在微观层面揭示中药整体作用机制与多组分间协同作用机制、建立符合中药作用特点的评价模式一直是中医药现代化亟待解决的重大前沿瓶颈问题。随着现代科学技术和生命科学的不断进步,系统生物学、网络生物学、计算生物学等的发展,意味着现代科学已日渐走向对复杂体系的认识和分析,意味着在微观层面揭示中医药核心思想科学内涵的时代正在到来^[70]。

表观遗传学体现了基因因为内外环境的影响发生可逆性的变化,体现了环境与自身相互作用的平衡关系,这些与中医整体观、辩证观的核心思想,与中药调节机体功能、恢复机体阴阳平衡的作用理念存在深刻的内在一致性。研究表明中药多组分、多靶点、多途径的作用特点有可能是通过调节异常基因表达使其恢复正常水平,从而达到恢复机体正气和阴阳平衡。而且表观遗传学研究方法的发展已可以完成从整体水平到特殊途径和靶点的分析,因此将表观遗传学运用到中药研究中,不仅有利于揭示中药多组分、多途径、多靶点的作用机制,而且可以揭示中药“治本”的原因,阐明中药整体作用分子机制的本质与科学内涵。表观遗传学理念与中医中药思想内在一致性示意图见图1。

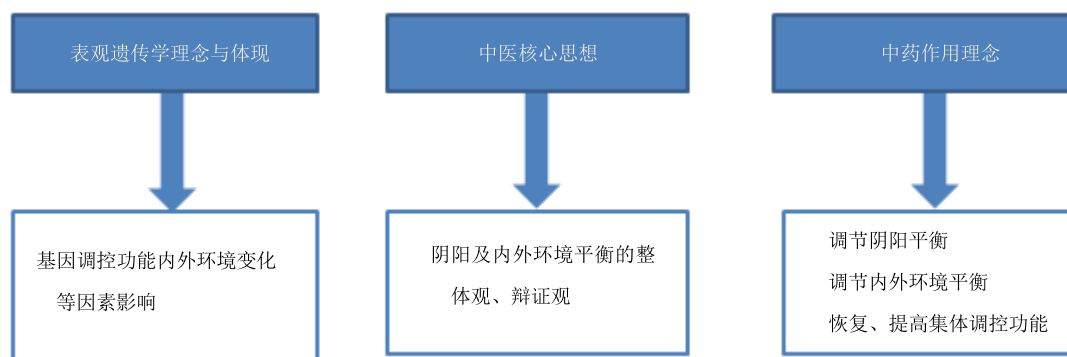


图1 表观遗传学理念与中医中药思想内在一致性

Fig. 1 Internal consistency between epigenetics idea and idea of traditional Chinese medicine

代谢组学可以整体反映药物对机体内源性代谢物的影响,不但可以评价药物整体作用的表象效果,帮助推断可能的作用途径和靶点机制,而且代谢物可以反映细胞的生存环境,机体微环境,如代谢物变化可以直接导致基因的表达改变,从而影响细胞/机体功能,这也是癌症转变的主要原因^[71-73]。

表观遗传学和代谢组学在中药研究中各自具有独特的优势,在深层次中二者又相互影响、相互关联,而且表观遗传学和代谢组学的研究已可以完成从整体到特殊途径与靶点的分析。二者结合研究,可以在微观层面阐明中药整体作用机制和多组分协同作用机制,在分子水平揭示中药作用现象(代谢组学)与本质(表观遗传学)的关系,以及对微环境的影响(代谢组学),从而有利于系统阐释中药整体作用的科学内涵。因此本课题组在多年深入思考和研究的基础上,首次提出将表观遗传学和代谢组学结合应用的创新研究思路,为微观层面、分子水

平阐明中药整体作用本质以及多组分协同作用机制建立新的研究模式,促进中医药核心思想科学内涵研究以及与现代科学的有机融合。

参考文献

- [1] 徐滢, 侯桂兰, 周俐斐, 等. 代谢组学在临床医药研究中的应用概述 [J]. 中国药师, 2018, 21(9): 1659-1661.
- [2] 王萍, 杨海燕, 王丽萍, 等. 从表观遗传学开展复杂性疾病证候本质的研究 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(5): 1208-1210.
- [3] Waddington C H. The epigenotype [J]. *Int J Epidemiol*, 2012, 41(1): 10-13.
- [4] Bird A. Perceptions of epigenetics [J]. *Nature*, 2007, 447(7143): 396-398.
- [5] 辛卫云, 白明, 苗明三. 基于表观遗传学的中医药现代研究思考 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(1): 94-97.
- [6] 任衍钢, 白冠军, 宋玉奇, 等. 表观遗传学的起源与发展 [J]. 生物学通报, 2016, 51(3): 57-61.

- [7] Moore J D, Le T, Fan G. DNA methylation and its basic function [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38(1): 23-38.
- [8] 马 琴, 周媛媛, 慈维敏. DNA 甲基化/去甲基化与疾病概览 [J]. *生命科学*, 2018, 30(4): 366-373.
- [9] 马 丽, 杨 宇, 郑秀丽. DNA 甲基化在慢性乙型肝炎中的研究进展 [J]. *肝脏*, 2018, 23(12): 1135-1137.
- [10] 周庆兵, 徐凤芹, 童文新, 等. 从 DNA 甲基化探讨中医阴阳的本质 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(10): 4713-4715.
- [11] Khor T O, Huang Y, Wu T Y, *et al.* Pharmacodynamics of curcumin as DNA hypomethylation agent in restoring the expression of Nrf2 via promoter CpGs demethylation [J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82(9): 1073-1078.
- [12] Yu J H, Peng Y, Wu L C, *et al.* Curcumin down-regulates DNA methyltransferase 1 and plays an anti-leukemic role in acute myeloid leukemia [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55934.
- [13] 王柏琦, 陈艳华, 蒋丽琴, 等. 姜黄素对鼻咽癌细胞 RECK 基因甲基化以及 MMP-9 表达与活性的影响 [J]. *中南医学科学杂志*, 2014, 42(2): 116-119.
- [14] 田雪飞, 陶一明, 方 圆, 等. 丹参提取物对肝癌 HepG2 细胞 DNA 去甲基化作用研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2009, 29(1): 13-15.
- [15] Wang L, Zhang C Y, Guo Y, *et al.* Blocking of JB6 cell transformation by tanshinone IIA: Epigenetic reactivation of Nrf2 antioxidative stress pathway [J]. *AAPS J*, 2014, 16(6): 1214-1225.
- [16] 傅海英, 沈建箴. 雷公藤内酯醇对急性淋巴细胞白血病 Molt4 细胞系 p15 基因表达的影响 [J]. *中华内科杂志*, 2005, 44(4): 301-302.
- [17] 张瑞琚. 雷公藤甲素对 HL-60 细胞甲基化状态的影响 [D]. 太原: 山西医科大学, 2014.
- [18] 郑海涛. 苦参碱对人白血病 K562 细胞表观遗传因素影响的机制研究 [D]. 汕头: 汕头大学, 2008.
- [19] Huang Y, Song H, Hu H, *et al.* Trichosanthen inhibits DNA methyltransferase and restores methylation-silenced gene expression in human cervical cancer cells [J]. *Mol Med Res*, 2012, 6(4): 872-878.
- [20] 王 蕾, 胡元会, 王 萍, 等. 参茸补血丸对去势大鼠生殖器官和 DNA 甲基化水平的影响 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2003, 9(10): 48-50.
- [21] 高 飞. 青黄散治疗骨髓增生异常综合征去甲基化作用效应机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [22] 郭 维. 消痰散结方对胃癌 P16 基因甲基化的影响 [D]. 上海: 第二军医大学, 2010.
- [23] 陈 光, 王 阶. DNA 甲基化在中医药研究中的应用 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2017, 19(6): 957-961.
- [24] Zhou Q B, Wu L Q, Zhang Y, *et al.* Effects of Zhizi Chuanxiong Capsule on the abnormal methylation in rabbits with atherosclerosis [J]. *Chin J Integr Med*, 2018, 24(7): 512-517.
- [25] 周庆兵, 吴立旗, 徐凤芹, 等. 栀子苷对 ox-LDL 诱导的 RAW264.7 来源泡沫细胞 DNA 异常甲基化的双向调节作用 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2019, 39(7): 853-858.
- [26] 蒋智文, 刘新光, 周中军. 组蛋白修饰调节机制的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2009, 36(10): 1252-1259.
- [27] Hsieh H Y, Chiu P H, Wang S C. Histone modifications and traditional Chinese medicinals [J]. *BMC Compl Altern Med*, 2013, 13(1): 115.
- [28] Nardi I, Reno T, Yun X W, *et al.* Triptolide inhibits Wnt signaling in NSCLC through upregulation of multiple Wnt inhibitory factors via epigenetic modifications to Histone H3 [J]. *Int J Cancer*, 2018, 19(2): 1-21.
- [29] Lu J, Zhang X L, Shen T T, *et al.* Epigenetic profiling of H3K4Me3 reveals herbal medicine Jinfukang-induced epigenetic alteration is involved in anti-lung cancer activity [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 7276161.
- [30] Sun J, Dong Z W, Zhang Y, *et al.* Osteon improves function of periodontitis periodontal ligament stem cells via epigenetic modification in cell sheets engineering [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5254.
- [31] 徐 莉, 谢冠群, 温成平, 等. 中药及中药有效成分对表观遗传作用的研究进展 [J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(7): 1561-1564.
- [32] 赖小华, 雷 燕, 杨 静, 等. 基于 microRNA-34a/SIRT1/p53 通路探讨三七皂苷 R1 对血管内皮细胞衰老的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(3): 577-584.
- [33] Chen Z Z, Zhang X D, Chen Y, *et al.* The role of circulating miR-146a in patients with rheumatoid arthritis treated by *Tripterygium wilfordii* Hook F [J]. *Medicine*, 2017, 96(20): e6775.
- [34] 刘亚楠, 马 宏, 贾 蓉, 等. MicroRNA-192 在 UUO 幼年大鼠肾间质的表达及雷公藤多苷的干预研究 [J]. *中国药物与临床*, 2014, 14(8): 1019-1021.
- [35] Wu Y C, Liu X, Wang J L, *et al.* Soft-shelled turtle peptide modulates microRNA profile in human gastric cancer AGS cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 3109-3120.
- [36] 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(11): 1181-1189.
- [37] 缪潇瑶, 肖炳坤, 孙云波, 等. 代谢组学在中药复方研究中的应用 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2018, 20(8): 1345-1350.
- [38] 徐文丽, 胡瑞雪, 梁元昊, 等. 中医中药代谢组学生物标记物的研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(6): 756-760.
- [39] 吕尚, 杨世林, 饶毅, 等. 代谢组学及其相关技术在中药研发领域的应用进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(21): 4182-4191.
- [40] 熊清平, 张强华, 石莹莹. 基于代谢组学的中药药效物质基础研究思路与方法 [J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(6): 97-99.
- [41] 李春雨, 王张, 王平, 等. 基于代谢组学技术的中药效应物质基础及作用机制研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 918-922.
- [42] Liu X, Zhou Q G, Zhu X C, *et al.* Screening for potential active components of Fangji Huangqi Tang on the treatment of nephrotic syndrome by using integrated metabolomics based on “correlations between chemical and metabolic profiles” [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1261.
- [43] Wang P, Yin Q W, Zhang A H, *et al.* Preliminary identification of the absorbed bioactive components and metabolites in rat plasma after oral administration of Shaoyao Gancan decoction by ultra performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Pharmacol Mag*, 2014, 40(10): 497-502.
- [44] Cao H X, Zhang A H, Zhang F M, *et al.* Ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry combined with automated MetaboLynx analysis approach to screen the bioactive components and their metabolites in Wen-Xin-Formula [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(12): 1774-1781.
- [45] Cao J H, Duan Y H, Liu Y Z, *et al.* Metabolomics coupled with SystemsDock reveal the protective effect and the potential active components of Naozhenning granule against traumatic brain injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 246: 112247.
- [46] Wang P C, Wang Q H, Yang B Y, *et al.* The progress of metabolomics study in traditional Chinese medicine research [J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43(7): 1-30.
- [47] 李震宇, 崔伊凡, 秦雪梅. 中药材质量评价的挑战与代谢组学应用于中药材质量评价的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(10): 2221-2229.
- [48] Wang Y M, Liu L, Ma Y K, *et al.* Chemical discrimination of *Astragalus mongholicus* and *Astragalus membranaceus* based on metabolomics using UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS approach [J]. *Molecules*, 2019, 24(22): 4064.
- [49] Dai H, Xiao C N, Liu H B, *et al.* Combined NMR and LC-DAD-MS analysis reveals comprehensive metabonomic variations for three phenotypic cultivars of *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(3): 1565-1578.
- [50] Xing D X, Shen G W, Li Q R, *et al.* Quality formation mechanism of stiff silkworm *Bombyx batryticatus* using UPLC-Q-TOF-MS-based metabolomics [J]. *Molecules*, 2019, 24(20): 3780.
- [51] Zhan Z L, Deng A P, Kang L P, *et al.* Chemical profiling in *Moutan Cortex* after sulfuring and desulfuring processes reveals further insights into the quality control of TCMS by nontargeted metabolomic analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 156: 340-348.
- [52] 牟菲, 段佳林, 文爱东, 等. 代谢组学在中药治疗冠心病的药效物质及作用机制研究中的应用 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24(19): 2197-2202.
- [53] 韩红祥, 宋凤瑞, 舒振波, 等. 非靶向尿液代谢组学方法研究五味子治疗糖尿病并发症作用机制 [J]. 分析化学, 2017, 45(3): 389-396.
- [54] Yang Y, Li F, Wei S, *et al.* Metabolomics profiling in a mouse model reveals protective effect of Sancao granule on Con A-induced liver injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 238: 111838.
- [55] He Y, Wang Y M, Liu S, *et al.* A metabolomic study of the urine of rats with Alzheimer's disease and the efficacy of Ding-Zhi-Xiao-Wan on the afflicted rats [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(8): 1458-1465.
- [56] Jia Z, Han T, Lin Q, *et al.* Toxicity and its mechanism study of *Arecae Semen* aqueous extract in wistar rats by UPLC-HDMS-based serum metabolomics [J]. *J Evidence Based Compl Altern Med*, 2020(14): 1-13.
- [57] 马致洁, 李奇, 赵奎君, 等. 何首乌致肝损伤大鼠的动态血清代谢组学研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 152-156.
- [58] Song Y G, Shan B X, Li H Y, *et al.* Safety investigation of *Pulsatilla chinensis* saponins from chronic metabonomic study of serum biomedical changes in oral treated rat [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 235: 435-445.
- [59] Zhang Y D, Bian X Q, Yang J, *et al.* Metabolomics of clinical poisoning by aconitum alkaloids using derivatization LC-MS [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 275.
- [60] Wang Y J, Feng F. Evaluation of the hepatotoxicity of the Zhi-Zi-Hou-Po decoction by combining UPLC-Q-

- exactive-MS-based metabolomics and HPLC-MS/MS-based geniposide tissue distribution [J]. *Molecules*, 2019, 24(3): 511.
- [61] Zhao D S, Wu Z T, Li Z Q, *et al.* Liver-specific metabolomics characterizes the hepatotoxicity of *Dioscorea bulbifera* rhizome in rats by integration of GC-MS and ¹H-NMR [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 226: 111-119.
- [62] 仇守蓓. 基于代谢组学的中药菊三七致肝毒性机理研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2018.
- [63] 沈淑洁, 水素芳, 肖炳坤, 等. 基于液质联用技术的金铃子散亚急性毒性代谢组学 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(4): 777-782.
- [64] 王焕君, 马致洁, 董捷鸣, 等. 雷公藤配伍甘草减毒大鼠体内尿液中的小分子代谢物以及相应生物代谢通路 [J]. 世界中医药, 2020, 15(8): 1102-1107.
- [65] 杨波, 董辉, 孙晖, 等. 基于尿液代谢组学的附子配伍甘草减毒作用研究 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(7): 895-902.
- [66] 白志尧, 杨雁芸, 周宁, 等. 白术配伍桑白皮对肾病综合征大鼠的尿液代谢组学的影响 [J]. 中药材, 2018, 41(7): 1708-1713.
- [67] 闻丽珍. 从代谢的角度探讨制川乌-白芍配伍“增效减毒”机理 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2019.
- [68] 谢运飞. 附子与白芍组分配伍治疗风寒湿痹证的作用机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2019.
- [69] Cui X, Qian D W, Jiang S. *et al.* *Scutellariae Radix* and *Coptidis Rhizoma* improve glucose and lipid metabolism in T2DM rats via regulation of the metabolic profiling and MAPK/PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Inter J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3634.
- [70] 姜云耀, 孙明谦, 马博, 等. 组学技术在现代中药药理研究中的应用与思考 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2018, 20(8): 1287-1295.
- [71] Britt E C, John S V, Locasale J W, *et al.* Metabolic regulation of epigenetic remodeling in immune cell [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 63: 111-117.
- [72] Etchegaray J P, Mostoslavsky R. Interplay between metabolism and epigenetics: A nuclear adaptation to environmental changes [J]. *Mol Cell*, 2016, 62(6): 695-711.
- [73] Kaelin W G, McKnight S L. Influence of metabolism on epigenetics and disease [J]. *Cell*, 2013, 153(3): 56-69.