

基因多态性与中医药防治艾滋病研究*

汤艳莉¹ 王阶^{2#}

(1 北京中医药大学 北京 100029; 2 中国中医科学院广安门医院)

摘要: 对影响艾滋病进展的相关基因研究成果进行简要介绍, 主要包括趋化因子受体/趋化因子受体配体和人类白细胞抗原的基因多态性及其他胞内因子; 进而从研究的复杂性和潜在融合性方面阐述了基因多态性与中医药的内在关联, 认为中医证候理论可以从宏观表现层面与西医诊断互补, 运用基因组学技术将有望实现中西医学思维的融合, 在中医药干预艾滋病的诊断与治疗中发挥作用。

关键词: 基因多态性; 基因芯片; 中医药; 艾滋病

中图分类号: R259.129.1

Genetic polymorphism and study on prevention and treatment of AIDS with Chinese medicine*

TANG Yan-li¹, WANG Jie^{2#}

(1 Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029; 2 Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences)

Abstract: The paper introduced briefly the research on relevant genes correlated to AIDS development, including chemokine receptor/chemokine receptor ligands, genetic polymorphism of human leukocyte antigens (HLA) and other intracellular factors. The internal relationship between genetic polymorphism and TCM was interpreted from the aspects of complexity and potential integrative of the research. The author believed that the TCM theory of syndrome manifestations and diagnosis of Western medicine could complement each other at a macroscopic level. The application of genomics technology will help to integrate the thinking of Chinese and Western medicine, and take part in the diagnosis and treatment of AIDS with TCM.

Key words: genetic polymorphism; gene chips; Chinese medicine; AIDS

人类各种常见疾病都属于复杂疾病。它们不是由单一基因所决定, 而是由多基因、多因素、遗传和环境共同作用的结果。对复杂疾病的理解是 21 世纪医学科学中一个巨大的挑战。艾滋病(AIDS)正是这些复杂疾病中的一种, 经过长期观察, 研究者发现有一小部分人反复接触人类免疫缺陷病毒(HIV-1)但并不导致感染, 有的 HIV-1 感染者会长期处于不发病状态。研究者对这群 AIDS 抵抗者怀有巨大的兴趣, 寄希望通过研究基因多态性以获得更多的关于 AIDS 发病机制的认识。在探索过程中, 基因多态性研究遇到了和中医研究同样的挑战, 即对复杂因素很难全面掌控, 新兴的基因组学技术可能为实

现中西医思维的交融提供支持和平台。

1 艾滋病抵抗者相关基因研究

研究已经明确宿主对 HIV-1 感染的易感性以及向 AIDS 的进展受到人类遗传变异的影响。这些基因表达的相关物主要属于两大家族: 趋化因子受体/趋化因子受体配体和人类白细胞抗原(HLA)。具体包括趋化因子受体 CCR5 突变体、CCR5 启动子区的突变体、CCR5 趋化因子突变体及 HLA 多态现象等。在趋化因子受体及其配体方面, 如 CCR5 基因编码区的 32 个碱基缺失(CCR5 Δ 32)引起 CCR5 在细胞表面的表达减少, 从而延缓 AIDS 进展; 而启动区等位基因 CCR5P1 及 CCR5 59029AA 则通过增加 CCR5 表达加速疾病的

汤艳莉, 女, 在读博士生

通信作者: 王阶, 男, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师

* 国家“十一五”科技重大专项资助项目(No. 2008ZX10005-004)

进展。已发现的与 CCR5 表达增加的基因突变体还有 CCR5 59353C, CCL5 (RANTES) -403G/A 等(注: 化学因子 RANTES 由 CCL5 编码, 是 CCR5 的配体)。此外, 染色体 17 单倍体 H7 突变体可通过刺激免疫应答起到抵抗感染的作用, CXCR1-Ha 单倍体通过减少 CD4 和 CXCR4 的表达延缓疾病进展。在 HLA 方面, 研究者发现 HLA-1 杂合子在扩大 HLA-1 抗原提呈、降低感染几率方面起到有益的作用; HLAB* 57 和 HLAB* 27(注: * 等位基因组基因产物) 可以延缓 HIV-1 逃逸突变体的发生, 进而控制疾病进展^[1]。

以上所列的基因多态现象仅仅是人们至今所发现的与 HIV-1 感染相关的多种基因中的一小部分, 另外研究还发现了胞内因子 APOBEC3G 和 TRIM5 α 在 HIV-1 感染中起重要作用。APOBEC3G 具有广泛的抗病毒活性, 多项研究表明其能减低 HIV-1 病毒传染因子(Vif) 蛋白缺失菌株的适应性, 进而阻止病毒 cDNA 与细胞基因组的整合^[2]。另一种抗病毒因子 TRIM5 α 则被发现通过与病毒衣壳相互作用, 使一大类逆转录病毒的复制得到限制, 从而减缓疾病进程^[3]。然而至今尚没有任何被分析的因子能够对临床上所观察到的患者对 HIV-1 疾病抵抗力增强或减弱的现象进行明确的解释。

2 基因多态性与中医药的内在关联

2.1 研究的复杂性

HIV-1 感染是一种非常复杂的疾病, 至今任何单一因子都不太可能解释如 HIV-1 感染抵抗性这样复杂的现象。AIDS 基因多态性研究与中医证候实质研究遇到的困难有相似性。两者在临床设计上均很难做到完全严谨, 表现为患者的选择或分层不够准确。如中医证候的诊断标准常常缺乏客观性, 存在很多模糊性; 而 AIDS 抵抗者与一般感染者的区别也难以有量化的标准。其次, 现有的大多数证候相关性研究都基于对某一种特征选择和分类的方法; 相对应地, HIV-1 疾病易感性基因研究多是基于候选基因的方法^[4], 即某一研究方向的研究者仅能看到与自己研究方向相关的一面, 无法从整体层面揭示证候或 HIV-1 疾病全貌, 这都严重制约了证候实质和基因多态性研究的成效。此外存在的问题是统计分析不够完善, 不论是证候还是基因研究, 在关联性研究的结果统计分析上常忽略多重检验校正, 使结论存在一定偏差, 在独立队列中的重复性尚差强人意。

2.2 潜在的融合性

从证候的复杂多样性上可以很自然地联想到人类的基因多态现象, 其实这种观点在多年前就有学者

提出, 有中医学者认为中医证的基本发病学机理是由于细胞因子(群) 基因表达调控异常引起细胞因子网络紊乱(特定异常功能状态) 的结果^[5]。已有研究证实特异疾病的证候与基因存在明确的相关性, 如杨氏等^[6]筛查了冠心病血瘀证病证结合证候相关基因, 运用外周血 mRNA 差异显示获得差异条带、反向 Northern 法阳性验证、克隆测序, 获得的 b13 与人类基因淋巴细胞活化因子 1 有 100% 的同源性, 在冠心病血瘀证组表达显著。再如对于阴虚证的实质研究, 研究者认为可能是通过不同的信息传递途径引起白细胞介素 1 (IL-1) 和肿瘤坏死因子(TNF) 等细胞因子的基因表达相对增强, 生物学活性相对升高, 而与之相拮抗的细胞因子, 如 IL-1 受体拮抗剂等生物学活性相对降低, 由此导致细胞因子网络紊乱的结果, 调控这些细胞因子的基因很可能代表了阴虚证的本质^[7]。表明证候实质是有基因基础的, 证候与基因多态性必然存在内在相关性。

从有关基因的现代认识来说, 连锁不平衡现象也许能从西医学角度提供证候与基因相关的支持。西医学认为如果 2 个位点从父代共遗传给子代的概率比按独立分配原则的概率高, 则称 2 个位点连锁。2 个位点连锁不平衡则是指整个人群中 2 个位点处在同一个单倍型的频率比期望值高。现实中我们常常会发现某些症状常常同时出现, 或在一类人群中常常有特定的一组症状出现, 中医经过归纳和总结, 将其称为证候, 并且针对不同证候进行了大量方药的筛选, 形成固定配伍, 即方剂。而近年的中医研究发现人群中单一证候或典型证候患者并不多见, 更多的是混合有多种证型表现的患者, 这一方面提示我们证候的复杂性和组合多样性可能与人类基因固有的多态性有关, 另一方面也用连锁不平衡现象向我们提供了对于多种症状并不完全是等概率事件发生的合理解释。而参与这其中的细胞因子(群) 则是在疾病相关基因确定后未来研究不断探索的方向。

3 基因芯片技术在中医药干预艾滋病研究中的应用前景

基因芯片又称 DNA 微探针阵列(DNA microarray), 集成大量密集排列的已知序列探针, 通过与被标记的若干靶核酸序列互补匹配, 与芯片特定位点上的探针杂交, 产生图像, 根据碱基互补配对的原理便可确定靶基因序列^[8]。基因芯片技术在多个研究领域得到广泛应用, 也成为艾滋病基因多态性与中医药研究接轨的有力手段。

3.1 认识艾滋病

对单基因遗传病的基因定位常常采用连锁分析法,但连锁分析法并不适用于多基因遗传病易感基因定位的研究。其主要原因是多基因遗传病一般发生率很高,使基因突变的机会大大增高,影响了基因定位时目的基因的确定;此外有假阳性或假阴性的出现。因此,对于 AIDS 这样的复杂疾病的研究来说,必须采用新的研究手段。全基因组关联分析向这一目标的实现跨进了一步。全基因组关联是利用国际人类基因组单体型图计划(HapMap)报告的信息,为同步进行的成百上千的多态现象研究建立基因芯片。建立在此种方法的第一份数据部分证实了以上所描述的 AIDS 基因多态性的相关结论,但是又涌现出至今从未研究过的新的具有研究价值的基因突变体^[9],表明在研究 AIDS 基因多态性方面还有漫长的路要走。中医认识疾病的思维可以加快这一进程,中医证候从某种意义上来说,可以认为也是一种复杂的多基因病,因此对于复杂疾病的研究方法同样适用于中医证候研究,李氏等已论证过创建中医证候基因组学的可行性^[10]。

此外,针对具体疾病如 AIDS 的基因多态性研究常苦于缺乏合适的队列,而中医证候能够从西医学视野之外的另一个角度提供队列选择标准,在中西医结合诊断的基础上确定的分层标准将更具针对性,使队列具有更强的内在一致性,是病证结合诊断思维的具体体现,对于人类认识 AIDS 致病机制和理性认识中医证候都大有裨益。

3.2 防治艾滋病

借助中医证候的概念,从宏观角度把握可能的同类基因携带者,加以西医对病的明确客观诊断,运用基因组学技术,将在未来有可能对 AIDS 的发病机制在基因层面有所揭示。现代研究的结果(本文第一部分)已经向我们展示,这样的相关基因数目庞大而复杂,任何单一的化学合成药物恐怕都无法准确针对如此多的靶点进行调节和修复。如果说对 AIDS 的认识更依赖于基因组学的研究,那么防治 AIDS 则重在运用中药复方。

中药与西药相比,具有所含有效成分多样化、作用多效性、双向性、量效关系复杂性等特点,难以用现行生物医学的理论解释。现阶段中药复方配伍只能根据传统的中医理论进行辨证论治,我国现行的中药临床药物研究大多基于此,也是中药复方配伍现有的唯一科学指导思想。但美中不足之处在于,无法和西医学的进展相衔接,不利于现代技术移植和嫁接入中医体系。而基因芯片技术的迅速发展,

检测成千上万个基因的表达谱数据不再是幻想,采用基因芯片技术可以建立中药基因表达差异谱数据库,将中药与现代基因组学的疾病相关基因表达和现代药物学的化学物质的作用在功能上统一起来,能够在中药和基因表达之间架起一座桥梁,在基因表达水平上解释中药理论和中药的作用机制^[11]。最终实现 AIDS 证候基因组与中药基因组的对接,形成防治 AIDS 的新的病证结合理法方药系统。

综上所述,现代医学已经从基因多态性的角度向我们展示了 AIDS 导致免疫失调致病机制的复杂性,基因芯片的发展也为我们提供了研究多基因复杂疾病及证候的有力技术支持,在此基础上,把握好中西医研究的复杂性和互补性特点,实现中西医思维的交融,达成微观与宏观现象的融合,进一步促进中医药防治 AIDS 取得突破性进展。

参考文献:

- [1] PIACENTINI L, BIASIN M, FENIZIA C, et al. Genetic correlates of protection against HIV infection: the ally within [J]. J Intern Med, 2008, 265(1): 110-124.
- [2] CHIU YL, GREENE WC. The APOBEC3 cytidine deaminases: an innate defensive network opposing exogenous retroviruses and endogenous retroelements [J]. Annu Rev Immunol, 2008, 26(12): 317-353.
- [3] NISOLE S, STOYE JP, SAIB A. TRIM family proteins: retroviral restriction and antiviral defence [J]. Nat Rev Microbiol, 2005, 3(10): 799-808.
- [4] TELENTI A, GOLDSTEIN DB. Genomics meets HIV-1 [J]. Nat Rev Microbiol, 2006, 4(11): 865-873.
- [5] 申维玺, 孙燕. 中医证的本质是细胞内基因表达调控异常产生的细胞因子 [J]. 河北中西医结合杂志, 1998, 7(增刊): 1-3.
- [6] 杨保林, 王阶, 姜燕. 冠心病血瘀证相关基因 b13 的筛查和临床验证 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13(1): 69-71.
- [7] 申维玺, 孙燕, 张叔人, 等. 白细胞介素 1 等细胞因子与肺阴虚证本质相关的免疫组化研究 [J]. 中医杂志, 2000, 41(7): 423-425.
- [8] 赵雨杰, 何农跃, 程璐, 等. 基因多态性研究中基因芯片的应用 [J]. 中华医学杂志, 2000, 80(9): 661-663.
- [9] LOEUILLET C, DEUTSCH S, CIUFFI A, et al. In vitro whole-genome analysis identifies a susceptibility locus for HIV-1 [J]. PLoS Biol, 2008, 6(2): 32.
- [10] 李戎, 闫智勇, 李文军, 等. 创建中医证候基因组学的可行性 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2003, 1(2): 34-35.
- [11] 王兴, 闫智勇, 郝晓峰. 基因技术与现代中药 [J]. 中草药, 2003, 34(7): 577-579.