

参考文献:

- [1] 房建,王爱菊,贾红玲,等. 近 5 年中药结合治疗肩手综合征临床研究进展[J]. 中医药信息, 2018, 4(1): 120.
- [2] 李彦瑶,梅成,王琼. 关于治疗中风后肩手综合征的研究近况[J]. 黑龙江中医药, 2016, 45(5): 80.
- [3] 潘穆之,李园,朱琦琪. 针刺合并雷火灸治疗脑卒中后肩手综合征临床疗效观察[J]. 内蒙古中医药, 2016, 35(14): 123.
- [4] 崔文强. 雷火灸结合针刺治疗中风后肩手综合征临床疗效观察[D]. 辽宁中医药大学硕士学位论文, 2016.
- [5] 梁廷营. 针灸推拿联合治疗中风后肩-手综合征的临床研究[J]. 光明中医, 2016, 31(23): 3465.
- [6] 吴伟凡,袁中草,许文莉,等. 针灸推拿联合疗法用于中风后肩-手综合征的临床研究[J]. 中医临床研究, 2013, 5(13): 42.
- [7] 刘伟波. 针灸与推拿联合治疗中风后早期肩-手综合征临床疗效[J]. 亚太传统医药, 2013, 9(3): 101.
- [8] 姚磊,白鹏. 穴位注射联合针刺对脑卒中后肩手综合征患者患肢疼痛及运动能力的影响[J]. 河南中医, 2015, 35(5): 977.
- [9] 王玲. 穴位注射联合针刺治疗脑卒中后肩手综合征 76 例疗效观察[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(1): 89.
- [10] 史佳,唐南淋. 穴位注射联合针刺治疗脑卒中后肩手综合征 35 例疗效观察[J]. 海南医学, 2013, 24(14): 2145.
- [11] 杨惠雯. 火针配合电针治疗中风后肩手综合征的临床研究[D]. 广州中医药大学硕士学位论文, 2016.
- [12] 黄佰宏. 火针结合普通针刺治疗中风后肩手综合征的疗效观察[D]. 广州中医药大学硕士学位论文, 2013.
- [13] 曾英展. 电针配合穴位敷贴治疗中风后肩手综合征的临床研究[D]. 广州中医药大学博士学位论文, 2014.
- [14] 高改凤. 中药泡洗联合针灸治疗脑梗后肩手综合征效果观察[J]. 实用中西医结合临床, 2017, 17(8): 22.
- [15] 雷行华,何俊. 针刺结合中药泡洗治疗脑卒中后肩手综合征的临床效果[J]. 中医临床研究, 2015, 7(24): 125.
- [16] 芦锁玲. 针灸联合中药熏蒸治疗脑卒中后肩手综合征的疗效及护理[J]. 中国民间疗法, 2015, 23(6): 29.
- [17] 李威. 针刺结合中药熏蒸治疗脑卒中后肩手综合征 30 例[J]. 湖南中医杂志, 2013, 29(6): 65.
- [18] 刘冰,郑晶晶. 针刺结合中药塌渍治疗肩-手综合征临床疗效观察[J]. 河北医学, 2016, 22(8): 1386.
- [19] 张雯. 中药外敷配合针刺治疗中风后肩手综合征 60 例[J]. 中医外治杂志, 2013, 22(3): 36.
- [20] 柴广慧. 针灸配合康复训练治疗肩手综合征 59 例[J]. 中国民间疗法, 2016, 24(3): 35.
- [21] 杨秀琪,何红. 针灸治疗配合康复训练在偏瘫后肩手综合征患者中的疗效观察[J]. 大家健康(学术版), 2016, 10(11): 104.
- [22] 刘春雨. 温针灸配合康复训练治疗脑卒中后肩-手综合征[J]. 吉林中医药, 2017(8): 827.
- [23] 农凤冠,伍丽蓉,谢聪,等. 温针灸配合康复训练治疗中风后肩手综合征临床观察[J]. 新中医, 2016, 48(11): 95.
- [24] 侯智. 康复训练结合针灸治疗脑卒中后肩手综合征 I 期的疗效评价[J]. 实用临床医药杂志, 2014, 18(5): 58.
- [25] 林梅珍,李群. 手功能训练结合针灸治疗脑卒中后肩手综合征的效果观察[J]. 中国现代药物应用, 2015, 9(3): 247.
- [26] 曹建平,何松彬,戴方瑜,等. 针灸配合体外冲击波治疗脑卒中后肩痛 39 例[J]. 中国现代医生, 2015, 53(23): 88.
- [27] 王季,陈亮波,甄尔传. 针灸结合淋巴引流技术治疗偏瘫患者肩手综合征 I 期疗效观察[J]. 中医临床研究, 2016, 8(25): 5.
- [28] 齐欢,张燕,黄婧. 针灸结合放血疗法治疗中风后肩手综合征疗效分析[J]. 中国继续医学教育, 2016, 8(34): 173.

蛋白质组学在 IgA 肾病的中西医研究进展

谢永祥¹, 苏朝东², 谢丽萍¹, 史伟^{1*}

(1. 广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530023; 2. 广西中医药大学, 广西南宁 530001)

摘要:目的 探讨蛋白质组学在 IgA 肾病的中西医研究最新进展。方法 通过对近年来国内外文献搜集、整理蛋白质组学在 IgA 肾病的研究概况。结果 发现 a1-抗胰蛋白酶、血浆铜蓝蛋白、粘连蛋白 LG3、自由 K 轻链和 a-辅肌动蛋白 4 等蛋白可能是诊断 IgA 肾病及预后评估的潜在标志物。M/Z 为 2798.06 以及 M/Z 为 8713.48 的蛋白峰可能是 IgA 肾病瘀血证的标志物; M/Z 为 4987.92 蛋白峰可能是 IgA 肾病湿热证的标志物、M/Z 为 1972.32 蛋白峰可能是 IgA 肾病气阴两虚证的标志物。结论 蛋白质组学为 IgA 肾病的诊断、预后及证候分析提供了证据, 该项技术值得进一步研究。

关键词: 蛋白质组学; IgA 肾病; 证候

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2018.10.063

中图分类号: R2-031 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2018)10-2480-03

The latest progress of proteomics technology in traditional chinese medicine and western medicine of IgAN

XIE Yong-xiang¹, SU Chao-dong², XIE Li-ping¹, SHI Wei^{1*}

(1. First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530023, China; 2.

收稿日期: 2017-12-23; 修订日期: 2018-08-01

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(81460719); 广西自然科学基金项目(2014GXNSFAA118247); 广西名中医史伟传承工作室

作者简介: 谢永祥(1976-), 男(汉族), 广西桂林人, 广西中医药大学第一附属医院副主任医师, 副教授, 硕士学位, 主要从事肾小球疾病、肾纤维化的中西医结合防治研究工作。

* 通讯作者简介: 史伟(1960-), 女(汉族), 广西融水人, 广西中医药大学第一附属医院主任医师, 教授, 学士学位, 主要从事慢性肾脏疾病的中西医结合防治研究工作。

Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530001, China)

Abstract: Objective To discuss the latest progress of proteomics technology in traditional Chinese medicine and western medicine of IgA nephrology (IgAN). **Methods** Study the general application of proteomics technology in nephrology in recent years through domestic and foreign literature collection, sorting and induction methods. **Results** Using proteomics technology, several potential biomarkers have been identified for the diagnostic and prognostic evaluation of IgAN, including alpha-1-antitrypsin, ceruloplasmin, laminin G-like 3, free kappa light chains, alpha-actinin-4, etc. The protein peaks with mass-to-charge ratio of 2798.06, 8713.48 could be used for diagnosing IgA nephropathy with blood stasis syndrome. The protein peaks with mass-to-charge ratio of 4987.92 could be used for diagnosing IgA nephropathy with damp-heat syndrome. The protein peaks with mass-to-charge ratio of 1972.32 could be used for diagnosing IgA nephropathy with Qi and Yin deficiency syndrome. **Conclusion** Proteomics technology provides evidence for different diagnosis of IgA nephropathy. We should pay more attention to the research of proteomics technology.

Key words: Proteome; IgAN; Syndrome

IgA 肾病是肾小球系膜区以 IgA 或者 IgA 沉积为主的肾小球疾病,是世界范围内引起终末期肾病最常见的疾病^[1]。疾病产生、发展往往最先改变的是生命物质的基础—蛋白质。蛋白质组学是在整体水平上研究组织或者细胞总蛋白的活动规律,故其为 IgA 肾病的研究提供了新思路。近年来,蛋白质组学运用于慢性肾脏疾病的研究,如在糖尿病肾病^[2,3]、泌尿系肿瘤^[4,5]等方面取得不少进展,同样在 IgA 肾病的中西医领域中也获得引人瞩目的成果。

1 关于蛋白质组学

1995 年科学家 Wilkins 等^[6]首次提出蛋白质组 (proteome) 这一概念,是指在某细胞或生物体中由基因组所表达的全部蛋白质群体。其研究的内容主要包含相互作用的蛋白质组学、组成蛋白质组学以及比较蛋白质组学,流程主要分为分离、鉴定、分析 3 个步骤。随着科学技术的不断进步,促进了蛋白质组学的发展。首先是样品制备技术的改善,样品制备技术正从激光捕获显微解剖技术、液相等电聚焦等传统技术向基于氮激光的微量切割—激光压力弹送法技术和质谱成像等技术转变^[7]。其次体现在蛋白质组学的应用范围扩大,由于以前蛋白质组学对不同来源、不同性质的蛋白质样本的研究具有一定局限性,而随着高效液相色谱技术、多种蛋白质电泳技术等分离技术的应用使得蛋白质组学研究范围更大^[8]。最后,随着同位素标记亲和和标签技术、质谱技术等鉴定技术的进步,使得对确定蛋白质种类、组成和修饰的鉴定变得更加方便、更准确^[9]。这些发展为蛋白质组学在 IgA 肾病的研究奠定了基础。

2 蛋白质组学在 IgA 肾病中的运用

蛋白质组学在 IgA 肾病的研究主要通过尿、血、肾脏为标本进行分析鉴定,寻找出差异常蛋白,为疾病的诊断、预后判断等提供新方法。Priky^[10]通过 iTRAQ 技术及 MALDI-TOF/MS 技术从 20 例 IgA 肾病患者与 20 名健康人尿液中分离出 201 个蛋白质,有 113 个蛋白质在两个实验组均出现,有 30 个尿蛋白在 IgA 肾病患者高表达或者低表达,具有特征性的潜在生物标志物如 a1-抗胰蛋白酶、载脂蛋白-i、CD44 抗原、激肽原等具有巨大的研究价值。另外 Moon P^[11]使用 LC-MS/MS 分析三组 (IgAN、TBMN 和健康人) 的尿液,确定了 1877 种尿蛋白质,筛选出了一些可能是鉴别早期 IgAN 与 TBMN 的潜在生物标志物,如 a1-抗胰蛋白酶、血浆铜蓝蛋白。Surin 等利用蛋白质组学方法发现了粘连蛋白 LG3 和自由 K 轻链可能事对疾病严重程度及预后判断的标志物^[12,13]。Graterol^[14]通过结合磁珠 (MB) 技术和质谱 (MALDI-TOF/MS) 对 19 名 IgAN 患者、14 名健康人血、尿标本进行对比分析,确定了 55 个多肽差异表达,其中 13 个在血清,26 个在血浆,16 个在尿液。Kaneshiro^[15]利用串联质谱分析 26 例未经治疗 IgAN 和 25 健康人的血清短肽进行分析、鉴定,发现被鉴

定为纤维蛋白原 a 的 3 个多肽在 IgAN 组升高, C3f、激肽原-1 光链两个肽在健康组含量升高。Wei^[16]通过 iTRAQ 配合多重质谱分离和串联质谱分析技术,发现正常肾脏与 IgA 肾病患者之间存在 574 种不同的蛋白质,其中有 287 种蛋白质表达上升或下降了 1 倍。Kojima^[17]从两组 (5 名 IgA 肾病患者,5 名 MCNS 患者) 肾小球中提取蛋白质,通过 2D-DIGE 分离、质谱分析,在 IgA 肾病组中发现了分析量约为 77kDa 的 a-辅肌动蛋白 4。

3 蛋白质组学技术在 IgA 肾病中医证候研究应用

中医证候是由体内正邪相争形成的紊乱关系,而证候的转化常常跟随正邪胜负、治疗因素的变化而变化,在这变化过程中往往伴随着蛋白质表达的变化,运用蛋白质组学技术来揭示证候与蛋白质表达之间的联系,这种研究方法称之为“证候蛋白质组学”^[18,19]。中医“辨证论治”的传统理论与现代医学提出的“靶向治疗”的理论相似,证候蛋白质组学能揭示 IgA 肾病某些证候形成有关的蛋白质及其特征,有助于中医药对 IgA 肾病进行靶向治疗。目前,蛋白质组学在 IgA 肾病证候研究中主要有“血瘀证”、“湿热证”以及“气阴两虚证”。

3.1 血瘀证 有学者通过对 IgAN 患者进行长达 6 年的随访发现约有 53% 的 IgAN 患者出现血栓性微血管病,其中有 42% 的患者伴随肌酐翻倍或者进展成终末期肾病^[20]。由此可见,血瘀证对 IgA 肾病病情影响较大,从而引起了各学者对其研究兴趣。苏璧玉^[21]运用 SELDI-TOF-MS 技术发现 M/Z 为 2798.06 的蛋白峰可能是诊断 IgA 肾病血瘀证的蛋白标志物。张和鞞等^[22]通过收集 14 名血瘀证患者、非血瘀证患者以及 15 名健康人的血清,运用 SELDI-TOF-MS 技术发现了 7 个蛋白峰可能是鉴定 IgA 肾病血瘀证的标志物,在这 7 个蛋白峰的原基础上进一步通过比较 IgA 肾病血瘀证患者服用水蛭前后血清蛋白质指纹图谱数据变化,发现 M/z 为 8713.48 的蛋白峰可能是诊断血瘀证的血清蛋白标志物,并且水蛭可能通过干预 M/Z 为 8713.48 的蛋白峰来改善 IgA 肾病血瘀证情况^[23]。贵艳丽采用 MALDI-TOF-TOF 技术从日本水蛭中发现 1 种名为 NLP-1 蛋白质的新型抗凝血药物,对 IgA 肾病、冠心病等血瘀证型疾病具有很高的开发研究价值^[24,25]。

3.2 湿热型 根据 IgA 肾病以镜下血尿为主的临床特点,归属于中医学的“血尿”范畴。古代医家认为血尿的病因为多与湿热有关,湿热下注于肾,则肾失封藏,故患者表现为血尿、蛋白尿。正如王新荣研究发现湿热常常是 IgA 肾病发病及进展的关键因素^[26]。王丽萍等研究发现 IgA 肾病中湿热证占 29.2%,与陈香美的调查发现湿热证占的 28.9% 比例相当^[27,28]。由此可见,湿热证在 IgA 肾病的中医证型中占据重要地位,与 IgA 肾病的病情进展存在密切联系。刘垠浩^[29]采用 SELDI-TOF-MS 技术对 (14 例 IgA 肾病湿热证,15 例 IgA 肾病非湿热证、10 例非 IgA 肾

病的湿热证肾病患者以及 15 名健康人) 血清样本进行数据分析, 最终认为 M/Z 为 4987.92 所代表的“β-防御素 33 蛋白”可能是 IgA 肾病湿热型发生及发展的物质基础, 并且创造了敏感性、特异性高的湿热证决策树模型。

3.3 气阴两虚证 治疗 IgA 肾病必要时会使用激素, 激素是人体内重要的生理物质, 其分泌活动通过下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(HPA) 相互促进和制约^[30]。从中医角度讲, 生理剂量为“少火”, 长期大剂量地使用激素就变成“纯阳壮火”药物, 壮火则食气^[31]。而湿热久蕴, 易耗伤气阴; 长期血尿、蛋白尿等阴液流失均可导致气阴两虚。程小燕等^[32]建立了 IgA 肾病气阴两虚型蛋白质组学图谱, 并且发现信号转导蛋白、热休克蛋白和未知功能蛋白在 IgA 肾病气阴两虚型病人中存在特别表达。王晴^[33]运用 SELDI-TOF-MS 技术对 IgA 肾病气阴两虚证组与正常人组的水清蛋白质指纹图谱进行分析, M/Z 为 1972.32 的蛋白峰可能是鉴定 IgA 肾病气阴两虚证的标志物。

4 总结

综上所述, 不仅发现 α1-抗胰蛋白酶、血浆铜蓝蛋白、粘连蛋白 LG3、自由 K 轻链和 α-辅肌动蛋白 4 等蛋白可能是诊断 IgA 肾病及预后评估的潜在标志物, 而且还发现某些蛋白峰可以鉴定中医证型, 如 M/Z 为 2798.06、8713.48 的蛋白峰可能是 IgA 肾病瘀血证的标志物; M/Z 为 4987.92 蛋白峰可能是 IgA 肾病湿热证的标志物; M/Z 为 1972.32 蛋白峰可能是 IgA 肾病气阴两虚证的标志物。虽然蛋白质组学技术在 IgA 肾病的研究中取得很大进展, 但研究过程中也发现不少问题, 如获得了的差异蛋白特异性不高、多数研究实验忽略了药物的影响、缺乏多中心大数据实验研究、蛋白质组学在中医证候的研究相对较少等。今后的研究要注意这几方面不足, 期待更有价值的研究为临床应用提供依据。

参考文献:

[1] Le W, Liang S, Hu Y, et al. Long-term renal survival and related risk factors in patients with IgA nephropathy: results from a cohort of 1155 cases in a Chinese adult population[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(04): 1479.

[2] 柴可夫, 马超, 王宏献. 早期糖尿病肾病不同证候的尿蛋白组学研究[J]. *中华中医药学刊* 2015, 33(10): 2311.

[3] 陈红谨, 刘小溪, 连捷, 杨宇峰, 石岩. 中药益糖康治疗糖尿病大鼠的蛋白组学研究[J]. *中华中医药学刊* 2017, 35(02): 477.

[4] Skates S, Iliopoulos O, Molecular markers for early detection of renal carcinoma: investigative approach [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(18Pt2): 6296.

[5] 李飞. 筛选膀胱癌尿液新标记物 Gc-globulin 的荧光差异蛋白质组学研究[D]. 南方医科大学 2013.

[6] Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A, et al. Progress with gene product mapping of the Moll cutis: *Mycoplasma genitalium* [J]. *Electrophoresis* 1995, 16(7): 1090.

[7] Cooks RG, Ouyang Z, Takats Z, et al. Detection Technologies. Ambient mass spectrometry [J]. *Science* 2006, 311(5767): 1566.

[8] Ru QC, Zhu LA, Katzenhusen RA, et al. Exploring human plasma proteome strategies: high efficiency insoluble digestion protocol for multi-dimensional protein identification technology [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1111(2): 175.

[9] Carvalho PC, Carvalho Mda G, Degraive W, et al. Differential protein expression patterns obtained by mass spectrometry can aid in the diagnosis of Hodgkin's disease [J]. *J Exp Ther Oncol* 2007, 6(2): 137.

[10] Prikryl P, Vojtova L, Maixnerova D, et al. Proteomics approach for identification of IgA nephropathy-related biomarkers in urine. [J].

Physiol Res, 2017.

[11] Moon PG, Lee JE, You S, et al. Proteomic analysis of urinary exosomes from patients of early IgA nephropathy and thin basement membrane nephropathy [J]. *Proteomics*, 2011, 11(12): 2459.

[12] Surin B, Sachon E, Rougier JP, et al. LG3 fragment of endorepellin is a possible biomarker of severity in IgA nephropathy [J]. *Proteomics* 2013; 13: 142.

[13] Rocchetti MT, Papale M, d'Apollonio AM, Suriano IV, Di Palma AM, Vocino G, et al. Association of urinary laminin G-like 3 and free K light chains with disease activity and histological injury in IgA nephropathy [J]. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013, 8: 1115.

[14] Graterol F, Navarro-Muoz M, Ibernón M, et al. Poor histological lesions in IgA nephropathy may be reflected in blood and urine peptide profiling [J]. *BMC Nephrol* 2013, 14: 82.

[15] Kaneshiro N, Xiang Y, Nagai K, et al. Comprehensive analysis of short peptides in sera from patients with IgA nephropathy [J]. *Rapid Commun. Mass Spectrom*, 2009, 23(23): 3720.

[16] Sui WG, Cui ZZ, Zhang RS, et al. Comparative proteomic analysis of renal tissue in IgA nephropathy with iTRAQ quantitative proteomics. [J]. *Biomedical Reports*, 2014, Vol. 2(6) pp. 793.

[17] Kojima S, Koitabashi K, Iizuka N, et al. Proteomic analysis of whole glomeruli in patients with IgA nephropathy using microsieving. [J]. *Am J Nephrol* 2014, 39(1): 36.

[18] 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(2): 170.

[19] 申定珠, 李家邦, 蒋荣鑫, 等. 证候蛋白质组学与中医证候学相关性探讨. *中国中西医结合杂志* 2006, 26(4): 366.

[20] Karoui K, Hill GS, Karras A, Jacquot C, et al. A clinicopathologic study of thrombotic microangiopathy in IgA nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(1): 137.

[21] 苏莹玉. IgA 肾病血瘀证的血蛋白组学研究 [D]. 福建中医药大学 2012.

[22] 王丽萍, 张和韡, 苏莹玉, 张勇, 赵猛, 庄永泽, 陈建. IgA 肾病血瘀证血清蛋白组学的初步研究 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2013, 14(12): 1062.

[23] 张和韡. 基于药物反证的 IgA 肾病血瘀证血蛋白组学研究 [D]. 福建中医药大学 2013.

[24] 黄荣清, 孙晓东, 李艳玲, 等. 水蛭的研究进展 [J]. *中西医结合学报*, 2004, 2(5): 387.

[25] 贵艳丽, 董德贤, 李荣秀. 日本医蛭中一种新抗凝血蛋白质的仿生亲和纯化及鉴定 [J]. *中国生化药物杂志* 2008, 3(03): 145.

[26] 王新荣, 万廷信, 赵著华, 王文革, 李银霞, 杨百泉, 李建忠, 路新强. IgA 肾病中医湿热证微辨证病理指标研究 [J]. *中国中医药信息杂志* 2015, 22(08): 31.

[27] 王丽萍, 杜建, 庄永泽, 等. IgA 肾病患者中医证候调查 [J]. *福建中医药* 2010, 41(3): 1.

[28] 陈香美, 陈以平, 李平, 等. 1016 例 IgA 肾病患者中医证候的多中心流行病学调查及相关因素分析 [J]. *中国中西医结合杂志* 2006, 3(26): 197.

[29] 刘垠浩, 王丽萍. IgA 肾病湿热证的血清蛋白质组学研究 [J]. *中医临床研究* 2014, 6(14): 7.

[30] 王冬, 于婷婷. 浅谈糖皮质激素与相火学说的关系 [J]. *中医药信息* 2012, 29(4): 6.

[31] 刘芬芬, 羊维, 黄琳, 等. 中医学对糖皮质激素主治功效的药性认识 [J]. *中华中医药杂志* 2015, 30(4): 1268.

[32] 程小燕, 李顺民. 比较分析气阴两虚型 IgA 肾病患者与正常人肾系膜细胞的蛋白质组. *新中医* 2010, 42(8): 41.

[33] 王晴. IgA 肾病气阴两虚证的血清蛋白组学研究 [D]. 福建中医药大学 2014.