

·综 述·

基因组规模代谢网络重构的研究进展及其在中医药研究中应用的展望

郑媛嘉, 许燕玲, 温丽敏, 郭文峰(广州中医药大学, 广东 广州 510000)

摘要: 随着全基因组测序技术迅速发展和基因注释工作的完成, 从基因注释出发建立的“基因组尺度代谢网络(Genome-Scale Metabolic Network, GSMN)”因其跨学科地综合了生化和生物信息等技术, 具备稳定性及其可运算性, 成为当前研究广泛而深入的项目。而基因组代谢网络的整体性和网络可联系性, 恰好与中医辨证观和整体观相通, 这为用生物信息语言解读中医中药、剖析中医本质内涵提供可能。本文将概述基因组规模代谢网络进展, 并对其在中医药方面可能的应用进行分析。

关键词: 基因组尺度; 代谢网络; 中医证候; 中药复方; 中药资源

中图分类号: R2-03 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2016)04-0483

doi: 10.19378/j. issn. 1003-9783. 2016. 04

Progress of genome-scale metabolic network reconstruction and prospect its application in Traditional Chinese Medicine
Zheng Yuanjia, Xu Yanling, Wen Limin, Guo Wenfeng (Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong China. 510000)

Abstract: As the rapid development of genome sequencing and gene annotation technology, genome-scale metabolic network (GSMN) reconstruction is multiply colligated Biochemistry and bioinformatics so that it can be calculable and stability. It has been a widely and deeply research field. Because of the wholeness and network character, GSMN have commonality with the holism concept and dialectical view of TCM, which make it possible to learn and explain the essence of TCM by using biological language. This article will introduce the GSMN progress and look to the future of its application on TCM.

Keywords: genome-scale; metabolic network; TCM syndrome; Chinese herbal compound; natural resources of Chinese medicinal materials

从20世纪70年代系统理论开始发展以来, 系统生物学研究逐渐成为后基因时代生命科学研究的热点, 其研究不同于以往仅针对基因、蛋白等生物分子, 而是在于研究所有的基因、所有的蛋白质、组分间的相互关系, 高强度地整合物种内的所有生物信息, 它实现的方式和目标是建立一个尽可能接近真正生物系统的理论模型。基因组代谢网络(Genome-Scale Metabolic Network, GSMN)就是这种理论模型体系中的一个分支, 基因测序技术、高通量实验技术、生物工程理论基础的发展和完善也促进了模型重构的

发展。当前中医药处于继承与发展的关键时期, 中医辨证思维和个性化医疗的传承和探究是中医药继承者一项大课题, 基因组代谢网络恰好为中医药现代化提供了研究新思路和技术平台, 其前景广阔而影响深远。本文将概述基因组规模代谢网络进展, 并对其在中医药方面可能的应用进行分析。

1 GSMN 概念

GSMN 指从基因组序列出发, 结合各种代谢数据库和实验数据, 将生物体中与代谢活动相关的基因、

收稿日期: 2015-11-18

作者简介: 郑媛嘉, 女, 硕士研究生, 研究方向: 基因组代谢网络模型的研究与应用, Email: 330483077@qq.com。通讯作者: 郭文峰, 男, 硕士生导师, 副教授, 研究方向: 基因组代谢网络模型的研究。

基金项目: 华南中医药协同创新中心“中医药防治脾胃病、脑病创新研究团队项目”(E1-KFD015141K03)。

酶和代谢物进行鉴别、分类,并研究各个组分之间的相互关系,然后把生物体内大量的代谢生化反应,以代谢物为节点连接起来,可作为解读生物体代谢过程的入门图谱。如今,很多学者利用构建好的 GSMN,指导菌种改进、发现药物靶点、代谢工程操作靶点识别等^[1-2]。

2 技术及其应用进展

2.1 技术方法 如今关于重构 GSMN 的研究已较为深入,重构方法日趋完善,方法主要可分为 4 个部分:代谢相关数据收集、关系模型建立、数据整理修正和转化为数学模型^[3],Palsson 团队又将其细化成:体内

代谢生化反应草图的构建、代谢物数据的补充修正、转化为计量模型、验证模型 4 大部分共 96 个步骤^[5],按照该步骤的技术路线大致如图 1 所示。

数据收集方面,目前已有多个数据库可免费获得各种生物信息如 BiGG (Biochemical Genetic and Genomic knowledgebase, <http://bigg.ucsd.edu/>)、KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, <http://www.genome.jp/kegg/>)、BioCyc (BioCyc Database Collection, <http://biocyc.org/>)等。在各数据库中可查找与要研究的物种相关的基因、蛋白质、反应和代谢物等信息。

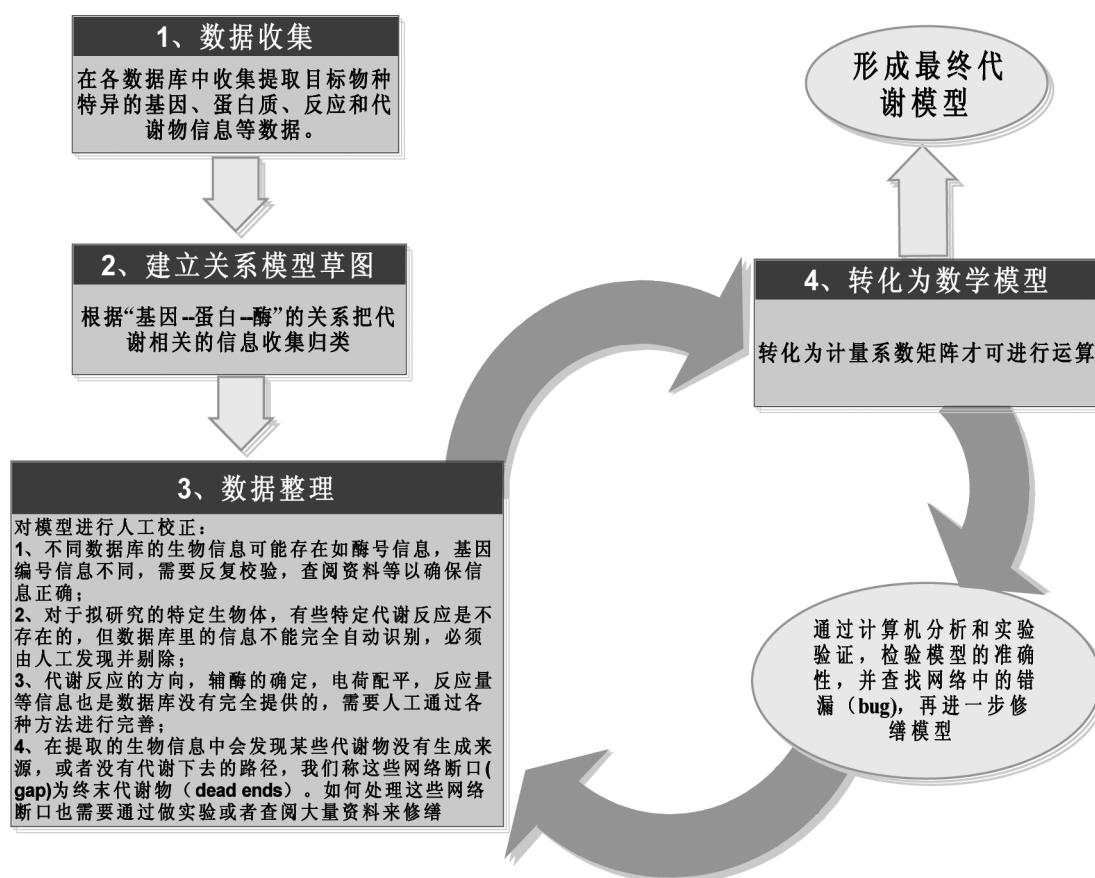


图 1 GSMN 重构技术流程

Figure 1 Overview of the procedure to iteratively reconstruct metabolic networks

由于每一个代谢反应都有特定的酶催化介导,而这些特定的酶(蛋白)都有相应的基因编码,代谢物之间通过代谢反应也形成一定的关系,利用这些联系,可把代谢物关联在一起而初步形成网络。

完成了这个初步网络只是重建工作的一小部分,GSMN 的重建工作关键在于对生物信息的校正校对,校正工作的必要性和繁重性主要表现在以下几个方面:(1)不同数据库的生物信息不同;(2)数据库不能识

别一些不存在的代谢反应;(3)代谢反应的具体生物信息不全;(4)代谢网络的网络断口需要人工补充。

完成数据整理完善后,要把形成网络的数据转化成数学模型,其核心在于转化为计量系数矩阵(图 2),转化完成后才能用合适的模拟算法进行运算,其模型的运算工作可利用各种模拟运算工具,其中 COBRA Toolbox (Constraints Based Reconstruction and Analysis Toolbox, 基于约束的重构和分析工具包)是

最常用的^[5-6]。目前较常用的运算方法是基于约束的优化模拟方法(Constraints-based genome-scale metabolic simulation)。在现实的代谢体系中,由于反应比代谢物多,代谢也有很多未知的可变因素,所以整个系统通量分布情况可能空间是无限的。该算法将研究系统设定在拟稳态的条件下,通过添加一定的约束条件,再根据我们需要分析的对象设定目标函数,从而研究预测到生物该状态下的通量情况,得到所需要的代谢最优化方案(图3)。将模拟运算出来的结果再与实验结果进行对比,找出差异,以此发现网络模型某些数据的错漏,进行数据修正完善,然后再模拟运算,再对比,如此往复不断提高准确率直至构建出完善的代谢网络^[1]。

$$S = \begin{bmatrix} S_{11} & S_{12} & S_{13} & \cdots & S_{1(n-1)} & S_{1n} \\ S_{21} & S_{22} & S_{23} & \cdots & S_{2(n-1)} & S_{2n} \\ S_{31} & S_{32} & S_{33} & \cdots & S_{3(n-1)} & S_{3n} \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ S_{(m-1)1} & S_{(m-1)2} & S_{(m-1)3} & \cdots & S_{(m-1)(n-1)} & S_{(m-1)n} \\ S_{m1} & S_{m2} & S_{m3} & \cdots & S_{m(n-1)} & S_{mn} \end{bmatrix} \quad \text{e.g. } S = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 2 & \cdots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \cdots & 1 & 0 \\ 0 & 1.5 & 0 & \cdots & 0 & 1 \\ \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots & \cdots \\ 2 & 0 & 0 & \cdots & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0.2 & \cdots & 0.3 & 1 \end{bmatrix}$$

注:在矩阵S中每一行对应一个代谢物,每一列对应一个反应

图2 计量系数矩阵^[1]

Figure 2 Stoichiometric matrix

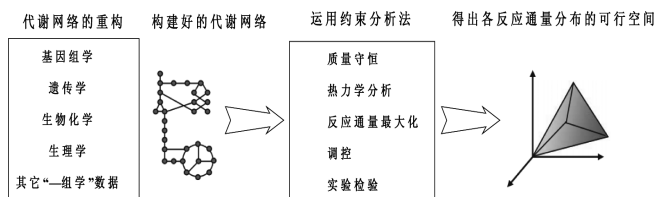


图3 基于约束的模型分析算法基本原理示意图^[4]

Figure 3 The diagram of constraints-based genome-scale metabolic simulation

2.2 模型的应用 GSMN的建立,是基于大量人力的信息搜集和整合,以此发现生物信息库中的“隐藏信息”,如必需基因信息,生物通量信息等,发现这些隐藏的生物信息后可将其应用到各种方面,如模拟微生物在不同调控环境下或遗传条件下的基因表现,对未知基因功能的预测,发现药物靶点等^[7]。目前应用最为广泛的有代谢相关疾病研究^[8]、细胞生长表型评估、生物工程三方面。如在肥胖症的研究中, Van EunenK等^[9]人通过建立线粒体代谢模型并将其设定在脂肪过量的生物环境,以测试脂肪酸降解的差异。Lee^[10]等以代谢网络中的酶为突破点,与 OMIM(Online Mendelian Inheritance in Man, <http://omim.org/>)中遗传病的致病基因(基因—酶)联系,建立起代谢疾病网络(metabolic disease network),以代谢网络为基础,

从宏观的角度促进疾病与疾病之间联系研究。Varma^[11]等人利用大肠杆菌代谢模型模拟了细胞在不同培养条件下的生长率和其他产物的浓度。Michaela. F^[12]构建出了四种嗜盐细菌的代谢模型并对比它们之间代谢差异。Chemler JA^[13]等人利用代谢模型验证通过基因敲除提高NADPH有效性,改造大肠杆菌的生物合成。Bro C^[14]等人利用酿酒酵母菌代谢网络模型获得了数个在无氧条件下降低甘油提高乙醇产量的氧化还原代谢的代谢工程策略。Roberts SB^[15]等人建立热纤梭菌的代谢网络模型:iSR432,并用此网络分析细胞内氧化反应和乙醇分泌的关系,预测了能提高乙醇产量的基因敲除方法和环境条件。总之,代谢网络模型的应用越来越广阔,它的实用性也使得代谢网络模型受到越来越多的关注。

2.3 目前不足及进展 虽然目前基因注释、生物信息来源广泛,获取方便,且数据管理整合工具、计算工具也不断的更新升级,但是还是有许多关键技术问题没有办法解决,比如数据校正修补,获取的数据怎样甄别错漏等工作仍需要人力研究构建,无法批量或快速的运用工具检测,所以目前构建起来的网络大都为菌体或简单的生物体,对于复杂的生物体代谢网络的重建还是一个巨大的挑战。而且,已构建起来的GSMN,又因缺少标准的格式、编号、收录方式等,不利于整理和应用。

对于代谢网络重建后的分析研究,上文提到最常用的是基于约束的优化模拟方法,其主要可分为静态分析和动态分析^[16],目前使用较多的是静态分析,但生物代谢过程是个实时动态的过程,有很多突变,环境改变,代谢浓度等无法掌握的干扰因素,所以还需要拓展更多有效的动态分析方法。

同时,单一网络的构建分析还远远不能满足系统生物学研究,还需要促进网络的多维分析:代谢网络、蛋白网络、转录调控网络,信号传导网络的集成。这还是一条很长的路,当前网络的构建和模拟分析(尤其是国内)还处于初步阶段。

3 代谢网络重建在中医中药研究中的应用展望

代谢网络通过对生物体内源性代谢物种类及数量变化的分析,对于某一病症相关的组分之间的共性加以分析判断,以帮助人们更好地理解病变过程及机体内物质的代谢途径和代谢状况,这与中医学整体观念一样,网络代谢模型的构建及其分析也是追求“整体观”^[17]。所以,将代谢网络的构建和分析应用于中医药现代研究结合具有理论基础。

3.1 中医证候研究 中医的特点之一是辨证论治,所以对“证”的研究是中医学者的一大课题。现代科技研究证候本质的主要手段是对生理信息进行分析,总结出这些生理信息的特征,进而探究出证候本质。代谢网络的构建是对机体代谢事件的全面整合和分析,所以代谢网络的分析与中医证候具有相通性。

目前在证候的现代研究中,组学研究方法较为流行,但“证候”始终是一个动态的过程,单靠组学研究方法还是无法全面的反映证候整个过程和证候本质,代谢网络的发展对于证候学研究来说正当其时,其主要方法是通过重建代谢网络并与各组学相结合,即可以利用组学的方法检测目标病证患者相关生物组分,获取生物标记物,再通过各种方法建立生理乃至病理过程的代谢网络,对代谢网络进行分析对比,发现与该病证密切相关节点,或找到相关酶的差异性,进而从整体层面探究证候的变化规律^[18],如图 4。蒋海强等^[19]根据高血压肝阳上亢代谢组学的代谢标记物,利用 KEGG 数据库找到这些标记物的代谢途径,形成高血压病肝阳上亢证的代谢网络,然后通过与健康者的代谢网络比较,发现去甲肾上腺素、己糖和花生四烯酸在网络中连接度最大,为关键网络节点,这为揭示高血压病肝阳上亢证的证候本质提供科学依据。郑景辉等^[20]在前期冠心病心血瘀阻代谢组学的研究基础上,把乳酸、丙氨酸等相关产物进一步利用 KEGG、HMDB (The Human Metabolome Database, <http://www.hmdb.ca/>) 等数据库结合,建立代谢网络模型,并通过分析找到了参与大鼠心血瘀阻证的病理过程的生物合成通路。袁肇凯等^[21]建立冠心病血瘀证心肌细胞能量代谢网络模型,从健康组、冠心病慢性血瘀证、冠心病急性血瘀证的大鼠模型中取到其冠状动脉的血氧、脂肪酸、葡萄糖的含量,将这些含量数值代入代谢网络中,通过流平衡分析法分析了健康鼠和急性冠心病鼠心肌细胞的代谢参数,并找到形成这些参数差异的相关酶,从而提供了急性冠心病不同证候的形成与心肌细胞能量代谢水平相关的新思路。

3.2 中药复方药效药理研究 现代中药药理学对于单味中药组分和药效的研究比较全面深入,但中药化合物和复方因其化学成分复杂,研究不及单味药研究快,这在一定程度上直接阻碍了中医药在世界的推广。

罗国安^[22]认为中药复方作用于人体是一个“干预系统(中药复方)—应答系统(生物机体)”相互作用整

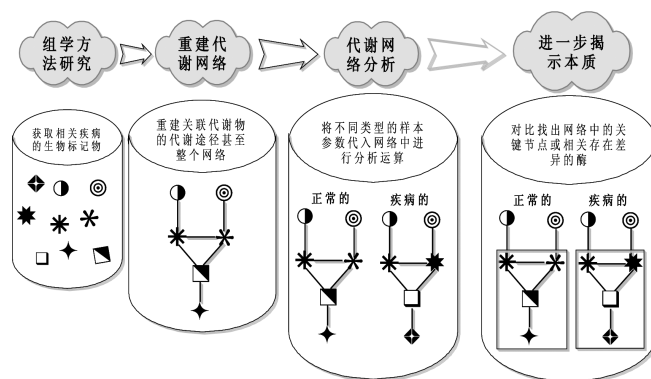


图 4 组学与代谢网络结合探究中医证候本质

Figure 4 Explore the essence of TCM by combining omics and metabolite network

合的生物学过程,研究中药复方的药理药效需要将两个系统关联起来,尤其针对中药复方多靶点、多途径、多组分的特点,其研究更需要从整体层次入手以揭示其相互作用。理论上来说,中药复方发挥作用就是其有效成分组合对体内基因、蛋白、代谢物等网络进行广泛调节作用的结果,GSMN 的构建是这种作用机制研究的重要部分。通常我们需要在获取了代谢组学等信息后映射到已构建的代谢网络,找到代谢物代谢通路的改变,分析其涉及的酶的变化,再映射到其他生物网络(蛋白网络),如此一环扣一环的分析以摸清复方作用机制^[23]。严诗楷等^[24]在 KEGG pathway(代谢通路网络)的基础上,结合急性早幼粒细胞性白血病致病基因编码的蛋白和中药复方:雄黄、青黛和丹参所调控的蛋白,构建了这些蛋白的相互作用网络,以及蛋白-信号通路关系网络,找到了该复方作用于急性早幼粒细胞性白血病的重要通路。还有学者开创性地结合花生四烯酸的代谢网络以及分子对接技术,计算出 28 种中药以及 3 个相关方剂(银翘散、双黄连、黄连解毒汤)各自在花生四烯酸的代谢网络中对相关靶点的抑制常数,发现药物发挥作用的有效剂量,以及使抗炎效果更佳显著的药物配对^[25]。在对中药复方的现代研究方面,从代谢网络入手再拓展性地结合各种网络学和信息学技术,是值得深入探讨的研究新思路。

3.3 中药资源的研究 中药因其药效稳定和副作用少的优势,在现代疾病治疗中需求越来越高。但由于各种变迁(土地变房产、种植产地的病原积累、土壤污染等),中药面临资源不足或种质不佳的现状。比如广藿香,是岭南地区使用相当广泛的道地药材,其中石牌藿香在材质药效方面较优,但由于广州地区发展,产“石牌藿香”地区已无广藿香种植^[26]。被誉为

“天然抗生素”的穿心莲,因其具有确切抗菌消炎的疗效而被开发成各种制剂,且畅销各地。反观穿心莲的栽培及繁育技术,种质保存等却明显滞后,致使该药材近几年供不应求,价格攀升^[27]。面对这些中药资源现状,如何使其可持续利用和培育是关键。GSMN 本质上来说就是还原一个生物体的生长状态,所以可以利用 GSMN 这个特点来促进资源的保护和发展,比如在建立植物代谢模型后,通过合理的模拟运算,便捷地得到代谢生产的最优化方案(即如何用最低的摄入营养量,得到高产量的目标代谢物,使生产成本降低,生长效率提高)。还可以与转录组学等基因信息结合,运用生物工程技术,改造生物的基因,开发出新的生产方法。是否可以在有限的土地环境下,利用 GSMN 分析技术,变更栽培手段,提高产量,以缓解这些道地药材资源紧张的状态,这需要进一步探索。

当前在实际运用方面, GSMN 是存在可操作性的。比如生产胆绿素(合成人工牛黄的重要前体),传统提取方法是从哺乳动物胆汁中提取,其不足点是产物纯度不高^[28-29],且胆汁来源有限。虽然目前已开发出通过改造大肠杆菌的基因表达来生产出胆绿素的技术^[30-33],但这种新生产技术要全面推广应用,还需要有可行且优化的生产策略做指导。如果利用 GSMN 的可计算和预测的特点,直接用计算机改造基因并模拟细胞生长,通过运算得出最优的生产策略,就可以在很大程度上节约成本和时间,因为单纯依靠实验反反复复地对比试探费时费力,且欠缺全面性。可以说 GSMN 在中药资源方面的利用十分必要,运用前景也相当广阔。

4 讨论

要对生物的生理功能有全面正确的了解,需要在系统水平上对所有相关组分进行整体分析, GSMN 的信息较完备可靠且整合度高,因此成为生物信息学中一个重要研究对象。又因其具有类似中医学整体观的特征,为科学阐释中医药复杂理论体系提供了可行的技术平台,也为用现代语言阐释中医证候本质、“治未病”等独特的思维方式和治疗方法开辟新的方向,同时有望用于阐明中药产生疗效的作用机制,为中药研究者提供崭新的思路。

但当前,由于 GSMN 重构工作比起全基因组测序,需要更多的信息和实验的总结归类,致使目前完成 GSMN 重构的物种仍有限,与已完成全基因组测序的物种数量相比相差较远,这在一定程度上限制了

系统生物研究。尤其值得关注的是,虽然完成全基因组测序的物种很多,仍然鲜见有天然药用植物类或者中药植物类物种的全基因组数据,这极大地限制了 GSMN 在中医中药方面发挥作用,以至于当前 GSMN 在中医药方面可以发挥作用的方面微乎其微。GSMN 的可模拟和运算作用是基础性的,像工具一样,构建过程虽然繁琐而复杂,一旦完成构建,有很广的应用范围,创造出不可限量的价值。所以, GSMN 是后基因时代不可缺少的基础工程,需要更多的学者关注参与,才能更好地推动整个系统生物学的发展。中医学者更要关注 GSMN 的巨大潜力,参与其重构工作,尤其是推动中药类植物全基因组测序及注释工作的开展,开发中药植物物种的代谢网络也势必是中医药现代化研究的一个趋势。

参考文献:

- [1] 王晖, 马红武, 赵学明. 基因组尺度代谢网络研究进展[J]. 生物工程学报, 2010, 26(10): 1340-1348.
- [2] 徐晓燕, 张莹, 方慧生. 基因组水平上重构代谢网络的研究进展[J]. 药物生物技术, 2012, 19(2): 0168-0172.
- [4] 武敏, 马红武. 基因组尺度集成细胞网络模型研究进展[J]. 微生物学通报, 2014, 41(2): 367-375.
- [2] Becker SA, Feist AM, Mo ML, et al. Quantitative prediction of cellular metabolism with constraint-based models: the COBRA Toolbox [J]. Nat Protoc, 2007, 2(3): 727-738.
- [5] Thiele I, Palsson BO. A protocol for generating a high-quality genome-scale metabolic reconstruction [J]. Nat Protoc, 2010, 5(1): 93-121.
- [6] Orth JD, Thiele I, Palsson BO. What is flux balance analysis? [J]. Nat Biotechnol, 2010, 28(3): 245-248.
- [7] Rocha I, Forster J, Nielsen J. Design and application of genome-scale reconstructed metabolic models [J]. Methods in Molecular Biology, 2008, 416: 409-431.
- [8] Oberhardt MA, Gianchandani EP. Genome-scale modeling and human disease: an overview [J]. Frontiers in Physiology, 2014, 5: 527.
- [9] van Eunen K, Simons SM, Gerding A, et al. Biochemical competition makes fatty-acid beta-oxidation vulnerable to substrate overload [J]. PLoS Comput Biol, 2013, 9(8): e1003186.
- [10] Lee DS, Park J, Kay KA, et al. The implications of human metabolic network topology for disease comorbidity [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(29): 9880-9885.
- [11] Varma A, Palsson BO. Stoichiometric flux balance models quantitatively predict growth and metabolic by-product secretion in wild-type *Escherichia coli* W3110 [J]. Appl Environ Microbiol, 1994, 60(10): 3724-3731.
- [12] Liu G, Zhang M, Mo T, et al. Metabolic flux analysis of the halophilic archaeon *Haladaptatus paucihalophilus* [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 467(4): 1058-1062.

- [13] Chemler JA, Fowler ZL, McHugh KP, et al. Improving NADPH availability for natural product biosynthesis in *Escherichia coli* by metabolic engineering[J]. *Metab Eng*, 2010, 12(2): 96–104.
- [14] Bro C, Regenberg B, Forster J, et al. In silico aided metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for improved bioethanol production[J]. *Metab Eng*, 2006, 8(2): 102–111.
- [15] Roberts SB, Gowen CM, Brooks JP, et al. Genome-scale metabolic analysis of *Clostridium thermocellum* for bioethanol production[J]. *BMC Syst Biol*, 2010, 4: 31.
- [16] 陈琦, 王卓, 魏冬青. 代谢网络流分析进展及应用[J]. *科学通报*, 2010, 55(14): 1302–1309.
- [17] 曾瑞峰, 李俊. 代谢组学方法及其在中医药研究的现状与展望[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2010, 8(18): 205–206.
- [18] 解君, 蒋海强, 李运伦. 网络生物学是中医证候和中药复方作用机制的有效表征模式[J]. *山东中医药大学学报*, 2013, 37(6): 464–466.
- [19] 蒋海强, 李运伦. 高血压病肝阳上亢证代谢网络构建及特征分析[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2013, 15(5): 942–946.
- [20] 郑景辉, 莫云秋, 简维雄, 等. 心血瘀阻证大鼠血浆代谢网络模型分析[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2014, 16(7): 1614–1618.
- [21] 袁肇凯, 简维雄, 黄献平, 等. 基于冠心病血瘀证心肌细胞能量代谢网络模型的流平□分析[C]. 中国湖南衡阳: 中国中西医结合学会.
- [22] 罗国安, 梁琼麟, 王义明, 等. 中医药系统生物学发展及展望[J]. *中国天然药物*, 2009, 7(4): 242–248.
- [23] 向铮, 王贤亲, 刘婷, 等. 基于网络生物学方法的中药药理作用机制研究思考与探索[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(2): 146–151.
- [24] 严诗楷, 赵静, 窦圣姗, 等. 基于系统生物学与网络生物学的现代中药复方研究体系[J]. *中国天然药物*, 2009, 7(4): 249–259.
- [25] Gu S, Yin N, Pei J, et al. Understanding traditional Chinese medicine anti-inflammatory herbal formulae by simulating their regulatory functions in the human arachidonic acid metabolic network[J]. *Mol Biosyst*, 2013, 9(7): 1931–1938.
- [26] 林小桦, 贺红. 广藿香种质资源的研究现状及存在问题[J]. *现代中药研究与实践*, 2005, 19(4): 60–62.
- [27] 闫婕, 卫莹芳, 胡慧玲, 等. 穿心莲药用植物资源调查[J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(8): 1997–1999.
- [28] McDonagh AF, Palma LA. Preparation and properties of crystalline biliverdin IX alpha. Simple methods for preparing isomerically homogeneous biliverdin and [14C]biliverdin by using 2, 3-dichloro-5, 6-dicyanobenzoquinone[J]. *Biochem J*, 1980, 189(2): 193–208.
- [29] McDonagh AF. Biliverdin, immune-mediated liver injury, and the Gigo effect[J]. *Hepatology*, 2005, 41(3): 680–681.
- [30] Ishikawa K, Sato M, Yoshida T. Expression of rat heme oxygenase in *Escherichia coli* as a catalytically active, full-length form that binds to bacterial membranes[J]. *Eur J Biochem*, 1991, 202(1): 161–165.
- [31] Cornejo J, Willows RD, Beale SI. Phytobilin biosynthesis: cloning and expression of a gene encoding soluble ferredoxin-dependent heme oxygenase from *Synechocystis* sp. PCC 6803[J]. *Plant J*, 1998, 15(1): 99–107.
- [32] Wilks A, Ortiz de Montellano PR. Rat liver heme oxygenase. High level expression of a truncated soluble form and nature of the meso-hydroxylating species[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(30): 22357–22362.
- [33] Chen D, Brown JD, Kawasaki Y, et al. Scalable production of biliverdin IXalpha by *Escherichia coli*[J]. *BMC Biotechnol*, 2012, 12: 89.

(编辑: 梁进权)

中药逆转 EGFR-TKIs 治疗 NSCLC 耐药的研究进展

叶青¹, 王瑞平²(1. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029; 2. 江苏省中医院, 江苏 南京 210029)

摘要: 分子靶向药物表皮生长因子受体酪氨酸酶抑制剂(Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)是具有 EGFR 突变的晚期非小细胞肺癌(NSCLC)的有效治疗手段。然而, 大部分患者在接受治疗一段时间后出现获得性耐药, 严重阻碍了治疗的顺利进行。中药在逆转 EGFR-TKIs 耐药已进行了大量的研究, 并显示其可行性和可应用性。本文在阐述 EGFR-TKIs 耐药机制的基础上, 综述近年来中药单体和复方逆转 EGFR-TKIs 耐药的研究进展。

关键词: 中药; 非小细胞肺癌; 表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂; 耐药

收稿日期: 2016-03-16

作者简介: 叶青, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合抗肿瘤的基础及临床研究。Email: 15358500006@163.com。通信作者: 王瑞平, 博士、教授、博士生导师、主任医师, 研究方向: 肿瘤的中西医结合治疗。Email: wrp61@163.com。

基金项目: 国家中医临床研究基地业务建设科研专项课题(JDZX2012087); 江苏省中医药领军人才项目(LJ200908); 江苏省卫生计生委课题(BJ14013)。