



中药治疗心脑血管疾病复杂作用机制解析研究进展

杨洪军^{1,2*}, 张晶晶^{2,3}, 郭娜¹, 李贤煜¹, 陈鹏¹, 郭非非²

1. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700;

2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;

3. 北京脑科学与类脑研究中心, 北京 102206

* 联系人, E-mail: hjyang@icmm.ac.cn

收稿日期: 2021-11-01; 接受日期: 2022-03-01; 网络版发表日期: 2022-06-08

国家重点研发计划(批准号: 2019YFC1708900)和国家自然科学基金(批准号: 81974550)资助

摘要 中药具有多成分、多靶标、多层次系统调节作用特点, 解析中药复杂体系作用模式是中药现代化的核心方向之一. 针对机体疾病的异质性、复杂性与多变性, 需依托先进技术与方法对中药治疗心脑血管疾病的复杂作用机制, 进行系统化与精细化解析. 随着转录组、蛋白质组、代谢组、生物信息学等技术的发展, 中药复杂作用解析从RNA、蛋白质、代谢物等多个层面系统全面拓展, 也从时间-空间两个维度向单细胞尺度微观层面纵向延伸. 因此, 本文从直接作用靶标、系统生物学、生物信息学等多方面系统归纳总结了中药治疗心脑血管疾病复杂作用机制解析的研究进展, 以期对中医药复杂作用机制的现代化研究和心脑血管疾病相关研究提供参考.

关键词 中药, 复杂作用解析, 系统生物学, 生物信息学, 心脑血管疾病

心脑血管疾病是一类由各种致病因素导致的心脑血管病理性改变, 并引发心脑血管组织病变的一类疾病, 是心脏血管和脑血管的疾病统称, 包括缺血性脑中风、出血性脑中风、急性心梗、心力衰竭(heart failure, HF)、高血压、心律失常等一系列的疾病, 具有高患病率、高致残率和高死亡率的特点, 严重威胁人类的身体健康. 动脉粥样硬化是心脑血管疾病共内的关键原因之一, 由于心脑血管疾病的多样性及病理演变过程的复杂性, 目前以现代分子生物学为基础的治疗手段仍难以发挥理想的治疗效果, 全世界每年仍有高达1500万人死于心脑血管疾病. 以缺血性脑中风为例,

其关键病理机制还包括能量耗竭、炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、钙超载、兴奋性氨基酸毒性^[1], 且在脑缺血发生时这些病理环节紧密相连、互为因果、彼此重叠, 形成恶性循环, 最终导致神经元凋亡与坏死^[2,3]. 由于心脑血管疾病涉及多个病理环节的复杂过程, 一旦启动会触发多个病理相互促进的瀑布级联反应式, 因此干预单一的病理环节作用有限, 亟需寻找可同时干预多个病理环节的新的治疗策略或药物. 大量研究表明, 中药复方具有多成分、多靶标的作用特点, 能够同时干预心脑血管疾病的多个环节^[4]. 例如, 中药复方一方面可抑制脑缺血活性氧爆发、炎症因子

引用格式: 杨洪军, 张晶晶, 郭娜, 等. 中药治疗心脑血管疾病复杂作用机制解析研究进展. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 859–872

Yang H J, Zhang J J, Guo N, et al. Research progress in the complex mechanism of Traditional Chinese Medicine in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 859–872, doi: [10.1360/SSV-2021-0395](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0395)

分泌过多、白细胞浸润、微血管通透性增高、血小板聚集等过程,减少血脑屏障破坏和毛细血管灌注不足,最终改善脑水肿以及脑损伤;另一方面,可改善脑微循环、抗凋亡、抗兴奋性氨基酸毒性及促神经发生等作用,从而减轻脑缺血后的神经功能缺损^[4,5]。

中医药从系统与整体出发,以多成分、多靶标、系统调节的方式阴阳调和,从而达到机体平衡的治疗作用,在心脑血管疾病治疗方面具有独特的优势与发展潜力。中药方剂作为中医药智慧的结晶,是临床治疗的主要载体,缺乏对其复杂作用的解析,严重制约了其临床疗效发挥及新药开发,阻碍了中医药的现代化。解析中药方剂干预心脑血管疾病的复杂作用机制,揭示药物与机体的复杂交互规律,为中医药心脑血管疾病的应用提供科学依据。更重要的是,以中医药为探针载体,鉴定出心脑血管疾病的关键病理环节,解析中医药作用规律,为心脑血管疾病中药新药研发奠定基础,促进中医药现代化。目前,随着各种仪器平台快速升级与发展,系统生物学与生物信息学等技术可为中药成分解析提供有效技术与策略,也为从RNA、蛋白质、代谢物等层面解析药物与机体交互规律提供了有力支撑。转录组(transcriptome)、蛋白质组(proteomics)及代谢组(metabonomics)等新技术的不断涌现,为中医药复杂作用机制解析提供便捷与支持,极大地促进了中药心脑血管领域的发现与创新。借助系统生物学、生物信息学等多项技术的优势与交叉,实现“分子网络-药理活性-病证效应”多层次整合调节的中药复杂作用机制的系统化与精细化解析,揭示中药临床发挥疗效的根本原因,构建中药作用机制解析创新方法及技术体系,促进中医药临床精准化定位和指导新产品的研发,促进中药现代化研究策略的优化和复杂系统研究方法学上的变革,产生科学价值。

1 心脑血管直接靶标的发现

治疗心脑血管疾病的中药的临床实践往往基于实际药效筛选,在成药过程中需要对其药理和毒理进行补充性研究。蛋白质、核酸等生物大分子是细胞功能的行使者,细胞依托于这些分子功能完成生命周期中的各种生命活动。药物的主要作用途径是与蛋白质等大分子相互作用对细胞生命活动完成调控^[6]。筛选和揭示中药的靶点,是成药过程中药理和毒理解释不可

或缺的环节。寻找和鉴定中药的药物靶点特别是复方制剂,也是理解其药理和有效物质基础的关键步骤,成为其能够在国际推广的重要科学依据^[7]。

中药分子的靶点发现主要有探针标记法和基于化学生物学的非标记的筛选方法。传统的靶点发现是利用探针标记的方法对天然产物进行示踪,对靶点蛋白进行亲和纯化后进行鉴定,主要的标记方法有生物素标记、微球、柔性探针、活性探针、光催化探针等^[8]。这种方法优点是技术成熟、应用案例多,与质谱蛋白质组学、蛋白质组芯片联用方便。缺点是探针合成依赖于专业的化学平台,合成和表征的时间长,延长了药物研发周期,其次天然产物的标记必然改变其原有的结构,影响其活性。针对以上问题,近年来发展了各种基于非标记的快速天然产物靶点筛选技术。这些技术整体上可以归纳为两大类:一类是利用基因组文库或者药物对生命体宏观表型变化对靶点进行间接筛选,如通过构建体外基因突变的细胞库模型的方法筛选药物靶点,尤其是近年来结合CRISPR-Cas9基因编辑技术出现的细胞文库筛选方法^[9];另一类是利用天然产物的自身以及与靶点互作的理化性质进行直接筛选,主要包括根据药物紫外吸收、荧光属性的直接筛选,基于氧化稳定性结合定量质谱蛋白质组学,相关研究人员构建了基于氧化速率的蛋白稳定性测试技术,是基于药物亲和反应提高靶点蛋白抗蛋白酶水解的特性开发的基于靶点稳定性的药物亲和反应新技术,基于靶点热稳定性开发的细胞热稳定性迁移试验、基于二维电泳胶内荧光差异的蛋白质组热稳定性分析技术、热稳定性蛋白质组学技术、溶剂诱导蛋白质沉淀蛋白质组学技术,以及基于高分子材料捕获法的特异性高分子聚合物捕获技术^[10-12]。

按照联用的技术将基于标记的药物靶点筛选方法分为两大类:一种是基于“钩钓”策略的质谱鉴定方法,在心血管领域,北京大学天然药物及仿生药物国家重点实验室屠鹏飞/曾克武团队^[13]对肉苁蓉苯乙醇苷类代表性药效成分——松果菊苷的直接作用靶点进行了钩钓,成功鉴定出松果菊苷发挥缺血神经损伤保护作用的直接靶点蛋白为酪氨酸激酶CK2a;另一类是基于生物芯片策略的蛋白靶点发现方法,利用人蛋白质组芯片,陶生策团队^[14]发现了抑制剂抗肿瘤靶点。陈鹏等人^[15,16]发现了抗虎杖苷的直接靶点,利用绿原酸的自发荧光属性鉴定到了其潜在药物靶点。梁广团

队^[17]利用蛋白质组芯片发现雷公藤红素抗高血压心脏病的直接作用靶点为STAT3, 下调受STAT3控制的促肥大纤维化相关基因的表达, 最终达到缓解心室重构、保护心功能的药物效果. 基于药物非标记的化学生物学方法筛选药物靶点方法目前主要在技术方法建立阶段, 在实际药物分子应用尤其是来源于中药的药物分子应用目前还处于探索阶段.

2 基于系统生物学与生物信息学的中药复杂作用解析

中药方剂具有多成分、多靶标、多系统的作用特点, 相比西药单一成分与单靶标的作用模式, 并不能精准地解析中药的作用特点, 中药通过多个活性成分, 作用于机体多个靶标, 从而发挥整体系统调节的作用. 与关注单个基因与蛋白的作用不同, 系统生物学将机体当成“整体”或“系统”, 这与中医药的系统性与整体性不谋而合, 因此系统生物学技术通过解析中药与机体生物效应之间的关联, 鉴定出药物作用的关键靶标, 在中医药的复杂作用机制解析中发挥重要作用. 陈竺团队^[18]在国际上第一次用中药方剂“君、臣、佐、使”的配伍原则阐明了由雄黄、青黛、丹参及太子参组成的复方黄黛片治疗白血病的多成分、多靶点协同作用机制. 随着技术的发展, 借助高通量组学数据, 可从多角度、多层次探究中医药作用于机体的复杂机制, 在中医药现代化研究中发挥重要作用. 目前, 在中医药治疗心脑血管疾病研究中应用较为广泛的高通量组学技术主要有转录组、蛋白质组及代谢组(图1).

2.1 转录组

转录组是指机体在特定条件下细胞内所有转录产物的集合. 转录组技术是从基因表达的水平来揭示特定生物学过程及疾病发生过程中的分子机制. 常用的转录组技术主要有基因芯片和高通量测序技术, 其中转录组测序技术可针对样本中编码mRNA、非编码的环状RNA及长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)进行测序. 相对于传统的芯片转录组技术, 高通量测序可对任意物种进行转录组测序, 提供更精准、范围更广的数据. 1977年, 第一代DNA测序技术(Sanger法)诞生, 迄今已发展到第三代单分子测序乃至第四代纳米孔测序技术. 相比于第一代及第二代测序

方法, 单分子测序无需进行PCR扩增就能完成测序, 减少系统错误, 同时提高测序读长. 转录组测序技术具有高灵敏度、高准确度、高通量和低成本等优点, 被广泛用于心脑血管作用机制的解析. 例如, Yang等人^[19]采用二代深度测序探究心力衰竭以及辅助装置下重塑过程相关的心肌细胞lncRNA, 小分子RNA和mRNA动态变化, 发现lncRNAs在HF的发病机制中以及在机械支持下观察到的逆转重塑中起着重要作用. 除了在测序速度和准确度上有提高, 由于基因表达在机体组织中的表达具有异质性, 且具有时间和空间特异性, 转录组测序技术朝着单个细胞水平和空间信息的精细化解析方向发展, 单细胞测序(single cell sequencing, scRNA-seq)及空间转录组应运而生. 前者可从单个细胞层面精确解析组织各个细胞的基因组和转录组信息, 从而揭示病理样本异质性信息, 而后者对细胞在组织内的空间信息进行还原保留, 为细胞功能解析、表型确定和组织微环境的研究提供了重要信息. 近年来, scRNA-seq与空间转录组技术被广泛应用到心肌梗死(myocardial infarction, MI), HF, 脑中风等多个心脑血管疾病的治疗中, 取得了多项重要研究成果, 使生命科学和药理方面的研究向前迈进了重要的一步^[20,21]. 在心血管方面, Li等人^[22]借助单细胞RNA测序研究MI后成年小鼠心脏中与新生血管相关的内皮细胞的起源和克隆动力学; McLellan等人^[23]利用scRNA-seq绘制了慢性应激期间, 心脏细胞外基质病理重构的心肌单细胞全景图, 在单细胞层面揭示了心脏纤维化和肥厚的驱动因素. 在脑神经研究方面, Zhong等人^[24,25]采用scRNA-seq发现在动态发育的人类胚胎前额叶皮层中, 前额叶皮层中兴奋性神经元的成熟要早于抑制性神经元, 并鉴定出16个神经元亚型, 揭示了人脑内足以区分新的和同源的神经元亚型以及区域特性的共有基因; Zheng等人^[21]采用scRNA-seq揭示了脑中风后神经炎症过程中的单细胞层面的精确转录变化; Chen等人^[26]采用空间转录组学技术对阿尔茨海默病小鼠脑部淀粉斑块周围的组织进行转录组解析.

转录组技术具有高灵敏度、高准确度、高通量和低成本等优点, 适合中药多成分、多靶点作用机制的解析, 且已被广泛用于中医药的研究如中医症候、中药药理机制、方剂组方配伍及药物新靶标发现等^[27-31]. 例如, Zhou等人^[32,33]采用转录组测序发现, 谷红注射液两成分协同调控细胞凋亡、炎症反应、氧化

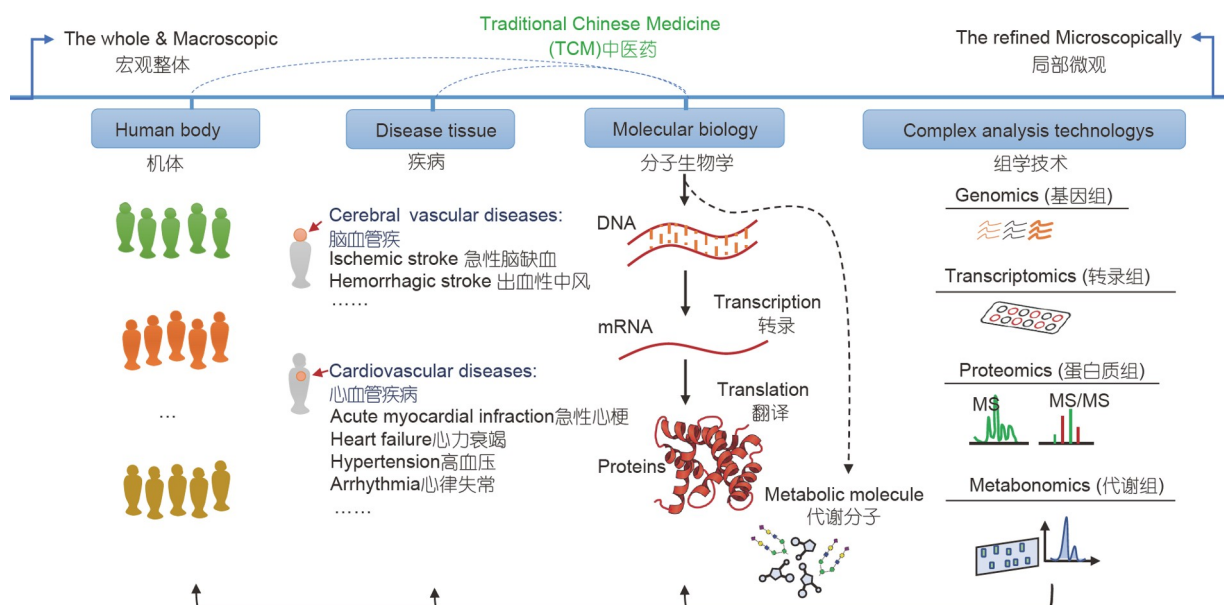


图1 基于现代多组学技术多维度解析中药治疗心脑血管疾病复杂作用机制, 采用多种组学技术如基因组、转录组、蛋白质组及代谢组从DNA, mRNA, 蛋白质及代谢分子等多个水平对中医药治疗心脑血管疾病进行系统解析

Figure 1 Multi-dimensional analysis of the complex mechanism of TCM in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases based on omics technology. Omics technologies such as genomics, transcriptomics, proteomics and metabonomics were applied to systematically analyze the mechanism of TCM in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases from perspectives of DNA, mRNA, protein and metabolic molecules

应激及MAPK信号通路等多个生物学过程发挥抗脑缺血作用, 且MAPK信号通路为其作用的关键通路。Xiang等人^[34]运用转录组测序分析, 发现益心舒胶囊调控细胞骨架、Toll-like信号通路、MAPK信号通路、细胞内钙离子调节及心肌收缩等多个生物学过程, 且主要通过增强关键靶标Trx2, 抑制JNK及MAPKp38激活, 抑制细胞凋亡和炎症反应, 从而发挥重要的抗HF作用。Lyu等人^[35]采用转录组测序技术和网络药理学(network pharmacology)分析的综合方法分析了C57BL/6J小鼠脑和心脏缺血再灌注损伤的转录组谱, 发现血舒宁注射液通过Tnfrsf12a介导的动脉粥样硬化信号和炎症反应的共同途径有效保护大脑和心脏免受缺血再灌注损伤。

2.2 蛋白质组

细胞、组织和体液的蛋白质组学研究为研究人类生物学的复杂过程提供了非常重要的参考。蛋白质代表了疾病的中间状态, 是功能的执行者和药物的治疗靶点, 是遗传或非遗传因素与临床结果之间的机制联系^[36]。作为后基因组时代的科研热点, 蛋白质组学从

整体水平对特定时间或环境下, 细胞或组织内的基因表达的全部蛋白质结构和功能进行研究。其研究的对象是动态且多变的, 与基因组学相比更加复杂。随着高通量蛋白质组学分析技术的发展, 其已广泛应用于生物、医药及病理研究等领域, 逐渐成为驱动精准医学发展的强劲动力^[37]。而今, 依靠生物大分子质谱的进步, 蛋白质组学迈入了20世纪90年代以来最快的发展时期, 在表达蛋白质组学、结构蛋白质组学和功能蛋白质组学等领域也已全面开花结果^[38], 不仅能对细胞、组织或个体的蛋白质组成、含量和变化规律进行检测, 对亚细胞蛋白质进行分离分析, 而且对于细胞组成通路、功能靶标蛋白质活动规律、蛋白质间相互作用等均能有很好的解读和阐释。如自2001年开始的全球科学家发起的人类血浆蛋白质组计划(美国牵头)、人类肝脏蛋白质组计划(中国牵头)和人类脑蛋白质组计划(德国牵头)的顺利完成, 实现了人类蛋白质的规模化识别与认知, 提供了人体构成的完整画面, 揭示了人类健康和疾病的分子机制^[39]。同时, 国内也因此项目孵化和构建了一批具有国际影响力的生物质谱研究平台(以国家蛋白质科学中心为代表的研究机构),

培养了一批从事蛋白质组学研究相关的科研队伍,丰富了蛋白质组学计算相关的工具和数据库,最终促使蛋白质组学这门学科降低了准入门槛,变成了生命科学研究中的必备方法和手段^[40]. 蛋白质组学在心脑血管疾病的研究中应用非常广泛,如García-Berrocoso等人^[41]利用蛋白质组学的研究发现了脑缺血治疗的新蛋白靶点; Williams等人^[42]运用蛋白质组学发现了37种蛋白质与心血管疾病的死亡风险密切相关. Langley等人^[43]对121例颈动脉内膜切除术的人血管平滑肌细胞的蛋白质组学分析,确定了特征蛋白可改善心血管疾病管理的风险预测和诊断,并强调了基于组织蛋白质组学在生物标志物发现方面的优势. Vaisar等人^[44]对具有巨噬细胞特异性尿激酶过度表达的转基因小鼠骨髓移植受体的主动脉进行蛋白质组学分析,揭示了基底膜蛋白在维持斑块稳定性中起主要作用. Yokota等人^[45]通过包括蛋白质组学的多组学研究,发现V型胶原是心脏瘢痕的一种次要成分,可调节缺血损伤后心脏瘢痕的大小,其缺失导致梗死后瘢痕大小的增加,同时使心功能恶化.

蛋白质组学在中药复杂体系作用的解析中也得到广泛应用. 特别是在中药药理机制的阐释、活性化学成分的合成、临床精准定位研究及中药作用新靶标发现研究等方面发挥了重要的作用. 在心脑血管疾病的研究中,蛋白质组学已经成为心脑血管疾病标志物发现的重要手段,并促进中药临床的精准应用. Wei等人^[46]采用蛋白质组学分析了益心舒胶囊干预HF的蛋白质组特征,筛选出NPPA, GAL-3等6个相关潜在生物标志物,可作为益心舒干预心衰作用的精准应用生物标志物. Wang等人^[47]对双丹方治疗冠心病的作用机制进行蛋白质组学分析,发现参与氧化应激、能量代谢及细胞骨架等生物学过程的23个差异表达蛋白,从而降低心肌梗死面积.

2.3 代谢组

代谢组学最早由Nicholson教授^[48]在1999年提出,是对某一生物或细胞在特定生理时期内所有低分子量代谢产物进行定性或定量分析的一门学科. 随着检测技术的不断进步和革新,空间分辨代谢组学^[49]、单细胞代谢组学^[50]以及代谢流^[51]等分析方法逐步发展起来. 代谢组学已广泛应用到基础生命科学^[52]、疾病诊断^[53]、营养与植物药学^[54]以及中医药复杂体系研

究^[55]等诸多领域. 在研究层面上,单细胞代谢组学能够发现代谢异常的癌细胞,阐明抗癌药物的作用机制^[56];微生物代谢组学能够对微生物代谢物进行定量和定性分析,从而在乳酸菌、肠道菌群、病原菌的研究中监测微生物的代谢状态^[57];脂质代谢组学通过对生物体中所含的脂质及其相互作用机制进行分析,为研究冠心病、高血压、高血脂等心脑血管疾病提供依据^[58]. 在技术层面,代谢流分析技术打破了传统代谢组学仅提供静态代谢模式的局限,将代谢网络以动态变化的方式呈现^[59];质谱成像技术的运用突破了代谢物研究的空间局限,除了能够获得多种代谢物的种类和含量,还能提供多种代谢物在组织或细胞中的空间信息^[60].

代谢组学符合中医药多成分、多靶点、多层次的特征,其通过观察复杂生物体系的代谢规律,确定心血管疾病与药物作用机制相关的生物标志物和作用靶点,阐明中药的作用机理及疾病病理机制^[61,62]. 例如, Fan等人^[63]基于超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱技术的非靶向代谢组学方法对2324例冠心病患者血浆样本进行分析,发现磷脂代谢、氨基酸代谢、初级胆汁酸及三羧酸循环等代谢途径在患者体内发生紊乱. Gao等人^[64]利用高通量非靶向代谢组学技术对HF中气虚证、阴虚血瘀证和气虚血瘀证血浆样本进行检测,发现患者血浆代谢谱中花生四烯酸、磷脂酰胆碱、甘油磷酸酯、尿酸等内源性化合物的持续代谢异常与缺血性HF证候的演变有关. Wang等人^[65]基于非靶向代谢组技术对冠心舒胶囊调节体内的苯丙氨酸、色氨酸、亮氨酸、甘油磷脂等22个生物标志物和脂质代谢、不饱和脂肪酸代谢和氨基酸代谢等9个代谢途径发挥治疗心血管疾病的作用. Yang团队^[66]通过代谢组学鉴定了脑缺血28个生物标志物,主要与单胺类神经递质代谢、氨基酸代谢、能量代谢和脂质代谢紊乱有关. Tao等人^[67]基于超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱技术靶向代谢组学发现丹参三七调节脂质代谢和氨基酸代谢途径,发挥心肌缺血治疗作用. Xu等人^[68]利用基质辅助激光解析电离-质谱技术的空间代谢组学方法研究发现,心力衰竭大鼠中存在脂肪酸、磷脂酰胆碱、胆汁酸、氨基酸代谢、丙酮酸等21个代谢标志物,其中益心舒胶囊可调控棕榈烯酸、花生四烯酸、乳酸等16种代谢物,发挥保护心脏的作用.

2.4 生物信息学分析

网络药理学是基于系统生物学和生物网络平衡的角度,通过系统分析选取特定信号节点(nodes)进行药物多靶点分析,从整体角度阐释药物在疾病的发生发展过程调控的网络与靶标,被广泛用于药效成分筛选、机制解析与方剂配伍原理的阐释等。Chen等人^[69]通过文本挖掘与网络分析,发现冠心病与脑中风两种疾病靶标具有紧密的重叠性与交互作用,预测冠心病、脑卒中“脑心同治”共同的23个关键靶标。Zhang等人^[70]在质谱分析技术鉴定益心舒胶囊肠吸收液化学成分的基础上,采用网络药理学预测并验证出五味子甲素与五味子乙素为益心舒胶囊抗心肌功能障碍的有效成分,为中药方剂活性成分的筛选和鉴定提供了快速、有效的途径。值得注意的是,网络药理学因未考虑药物-药物相互作用、口服吸收入血成分及药浓度效应等因素的影响,而与真实药物对机体作用存在一定的差别^[71],且由于缺乏规范性的指导,网络药理学仍面临很多重要的挑战。为了提高网络药理学研究可靠性、规范性及可验证性,2021年发布了《网络药理学评价方法指南》^[72],使网络药理学的发展与应用更加规范有序。

随着计算技术的进步,算法使机器学习成为可能,特别是模仿计算机的深度学习网络在人类大脑功能方面。在心血管医学中,基于人工智能的系统在心血管成像、心血管风险预测和新的药物靶点方面有了新的应用^[73,74]。在脑血管领域,人工智能可在大脑年龄预测、脑梗死的自动诊断、自动方面评分计算、梗死分割、预后预测和患者治疗选择等方面发挥重要作用^[75,76]。在中医药领域,人工智能除了在中医古籍材料准数据库构建、中医辅助诊断、药材鉴别等研究中大显身手,也在中药复杂作用机制解析中广泛应用。张卫东团队^[77]提出了一种新的基于计算系统药理学的方法,鉴定出灯盏细辛注射液可干预脑缺血重要靶点如PTGS1, PTGS2等,发挥抗血小板和神经保护等脑缺血保护作用。张占军团队^[78]通过随机双盲对照试验评估了中药制剂灯盏生脉胶囊对血管性认知障碍6个月治疗的效果,并利用基于图形理论和基于扩散张量成像数据的机器学习方法探讨了潜在的神经机制,发现灯盏生脉胶囊治疗血管性认知障碍与脑白质微结构改变和脑网络拓扑结构改变有关。

2.5 基于多组学多维效应整合研究

基于多组学的整合研究,可从整体、系统的角度,对中药干预心脑血管的复杂作用进行相对全面、系统的分析,为中药复杂作用解析提供全局性和特征性的解析。通过多组学数据的整合分析和相互验证补充,最终实现对生物变化大趋势与方向的综合了解,提出分子生物学变化机制模型,并筛选出重点代谢通路或者蛋白、基因、代谢产物进行后续深入实验分析与应用。例如,针对遗传相关的疾病,可采用基因组学蛋白质组数据的整合方法,分析由基因组鉴定出的基因突变以及由蛋白质组后续疾病发生发展的具体过程,从而加深对疾病发展过程的认识^[79,80]。多组学数据的整合用于中药复杂作用解析,可拓宽对药物作用机体的认识,从多个层面构建相对全面的调控网络;消除单一组学的背景噪音干扰,提高准确度和关键靶标与通路筛选效率;构建多组学数据集,进而通过数据建模,对新的药物进行智能预测。

基于转录组学、蛋白质组学和代谢组学等多组学整合的研究策略,被广泛用于中药治疗心脑血管疾病作用解析中^[81-83]。例如,Sheng等人^[84]采用代谢组与蛋白质组整合的方法,鉴定出灯盏生脉胶囊主要通过调节谷氨酸能突触和 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能突触发挥治疗慢性脑缺血的作用,且4,5-咖啡酸和灯盏花乙素是其关键的潜在活性成分。Liu等人^[85]对疏血通方治疗脑卒中的作用机制进行了蛋白质组和转录组的联合分析,发现了急性脑卒中的显著特征:急性期HIF-1信号通路的显著富集,特征靶点HIF-1 α 的显著表达等。Chen等人^[81]整合蛋白质组与代谢组,构建了芪参益气滴丸治疗急性心梗的蛋白质-代谢物相互作用网络及其相关途径,主要包括丙酮酸代谢途径、视黄醇代谢途径、酪氨酸代谢途径和嘌呤代谢途径。Zhou等人^[82]采用代谢组学与生物信息学相结合的方法,解析了四逆汤治疗阿霉素诱导的大鼠HF的配伍机制并构建相应的代谢网络。代谢组学结合宏基因组学技术在发掘新的生物酶、寻找疾病靶点、诊断疾病和疾病治疗与评价过程中发挥了巨大作用^[86]。Du等人^[87]利用代谢组学和基因测序技术发现保元汤可有效改善HF相关的肠道微生物菌群失调,尤其是厚壁菌和拟杆菌,并逆转与短链脂肪酸、中链脂肪酸、初级胆汁酸、次级胆汁酸和氨基酸等肠道微生物群相关

代谢物的变化。

目前,多组学的整合朝着更精细化的单细胞水平方向发展,在单细胞水平上的多组学分析,可更精准地解析细胞类型和细胞亚群间相互作用的机制,加深机体病理机制异质性和复杂性的认识,促进药物靶标的发现及相关新药的开发。例如,Asp等人^[20]开发出一个算法整合scRNA-seq与空间转录组,从时间-空间两个维度精细化解析了人类胚胎心脏的发育过程。Chan等人^[88]基于血浆蛋白质组与scRNA-seq对心梗后1个月内的病人进行分析,筛选心梗后HF提供了系列血浆蛋白生物标志物和潜在药物靶点。

3 活血化癥代表方整合及示范应用

活血化癥方剂代表性药物丹红注射液(Danhong injection, DHI)等被广泛用于各种心脑血管疾病,如缺血性心脏病、缺血性中风等,取得了良好的临床疗效。相比作用机制单一的抗血小板西药,DHI具有多组分、多靶点作用特点,可能具有更少耐药性和更少副作用。杨洪军团队依托转录组、蛋白质组、代谢组及生物信息学等技术,按照“方剂-靶标网络-病证”关联模式,通过细胞、整体等多层次的研究,揭示DHI治疗脑卒中、冠心病的关键靶标及对分子网络的调控,阐释DHI干预脑卒中、冠心病血瘀证的生物学机制及生物标志物,以期DHI临床“精准”应用提供支撑。

在心血管方面,筛选发现DHI抗心肌肥大的直接作用靶点为内皮素B受体(endothelin B receptor, ETBR)和血管紧张素II 1型受体(angiotensin II type1-receptor, AT1R),主要调控了RNA过程、细胞周期、线粒体功能以及细胞骨架等生物过程的相关蛋白表达发挥抗心肌肥大作用,且其作用模式与阳性化合物波生坦类似^[89]。在结扎左前降支的MI大鼠上,DHI可减少心肌缺血面积,恢复心功能,抑制炎症因子与细胞凋亡,转录组分析发现DHI与曲美他嗪均可抑制CamK II降低细胞凋亡,同时增强PKA信号通路提高心脏收缩功能,并证明丹酚酸A是其主要有效成分^[90,91]。在细胞层面,整合转录组与转录因子蛋白质组(concatenated tandem array of consensus transcription factor response elements, CatTFREs),鉴定出DHI干预过氧化氢诱导心肌细胞损伤的关键13个转录因子,其功能主要集中在抗凋亡和DNA修复,并与褪黑素的作用

用进行对比,发现二者调节相同的生物学过程^[92]。在脑血管方面,DHI可降低永久性脑缺血小鼠脑梗死面积与神经缺损行为学评分,基于catTFREs结合网络药理学分析,发现PBX1和ATF1为脑缺血的关键靶标^[93]。值得注意的是,脑缺血因溶栓恢复血流供应后,因再灌注带来缺血半暗带而加重脑缺血损伤,如何减少再灌注带来的损伤是脑缺血治疗的关键,且大脑海马组织是学习和记忆的关键部位,在缺血性卒中治疗恢复过程中发挥重要作用。在大脑中动脉阻塞大鼠脑缺血模型中,DHI可降低脑缺血面积和神经缺损行为学评分,蛋白质组分析发现DHI调控大鼠脑海马区Gsk-3 β 和Akt1等12个关键蛋白,作用于“WNT信号通路”“AMPK信号通路”以及“MAPK信号通路”,从而促进脑缺血神经功能的恢复^[94]。在构建脑缺血代谢通路及相关网络基础上,利用代谢组学鉴定出DHI调控脑缺血过程中5种脂质发挥神经元保护作用^[95]。

整合分析DHI干预心脑血管疾病转录组数据如脑缺血与心肌缺血,神经元损伤与心肌细胞损伤等,发现DHI干预心脑血管疾病“脑心同治”的共同生物学过程包含脂质代谢、细胞凋亡、氧化应激、DNA损伤修复、细胞周期、细胞骨架以及血管生成等多个生物学过程。值得注意的是,对DHI干预急性心梗与急性脑缺血的数据进行对比分析,发现DHI可上调参与血管生成、细胞骨架、炎症应答,线粒体、细胞周期、细胞命运决定、细胞迁移等生物学过程的大部分基因;而对比分析DHI体外干预神经元和心肌细胞损伤模型,发现DHI可下调参与细胞死亡、细胞分化、细胞生长、氧化应激、炎症应答等相关过程的大部分基因,由此可见DHI干预急性脑缺血与DHI干预急性心梗具有相同的生物学过程。进一步整合CatTFRE蛋白质组学数据,从而预测出DHI脑心同治主要干预以APEX1, ATF1, STAT1, ELF1等靶标为核心的特征分子网络(图2)。

4 展望

中药与机体相互作用的复杂性与多变性,使中药治疗心脑血管疾病的作用机制解析需依靠技术的不断发展与应用。在直接作用靶标上提高通量与准确度,在整体上提供多维度数据系统整合更全面、系统化的认识,而在微观层面从空间与时间两个维度,向更精细化

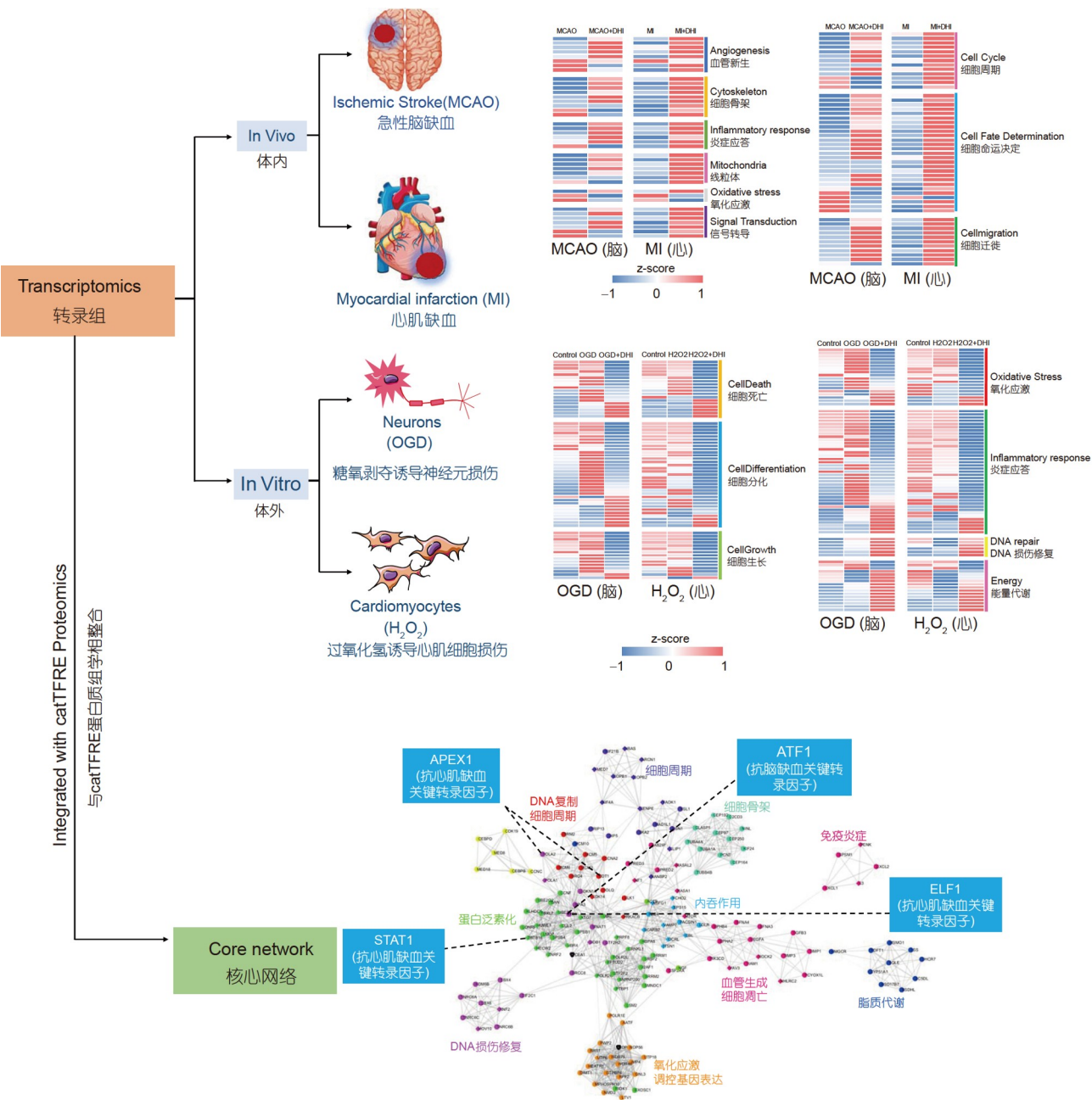


图 2 解析活血化痰方DHI干预心脑血管疾病的作用特点; 转录组鉴定出DHI脑心同治共同生物学过程, 并与转录因子蛋白质组学整合, 推测出DHI可能作用的核心特征分子网络. MI: 结扎心脏左前降诱导心肌缺血; MCAO: 大脑中动脉阻塞诱导脑缺血; OGD: 糖氧剥夺诱导神经元细胞损伤; H₂O₂: 过氧化氢诱导心肌细胞损伤

Figure 2 Analysis of DHI in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases; the transcriptome identified the common biological process of DHI in the treatment of cerebral ischemia and myocardial infarction, which was integrated with transcription factor proteomics, to speculate the core and special network of DHI. MI: ligation of the left anterior descending heart to induce myocardial infarction; MCAO: middle cerebral artery occlusion induced cerebral ischemia; OGD: glucose and oxygen deprivation induced neuronal cell damage; H₂O₂: peroxide-induced cardiomyocyte injury

的单细胞水平进行深度解析。
中药药物靶点筛选归根结底是为中药药物临床和

基础研究服务的。中药的组分多以复方为主, 物质组成复杂, 是一个复杂的作用体系。目前现有的技术还不能

对中药复杂体系的靶点进行直接筛选, 不得不采取单一成分逐一筛选的方式. 纵观技术发展历史, 非标记的药物靶点筛选技术无法从根本上解决这一问题, 只有对复杂作用体系进行(体内)整体的靶点筛选才能解决这一问题, 基于非标记的化学生物学方法和基于 CRISPR-Cas9 基因编辑技术构建细胞文库的方法为解决这些问题提供了可能.

转录组朝着精细化更高的单细胞和空间信息分析方向发展, scRNA-seq 与空间转录组的联合应用, 被用于解析人体肠道发育、心脏发育等多个关键生物学问题. 然而 scRNA-seq 与空间转录组的高成本、低准确度和低重复性, 严重限制了其应用. 随着实验方法的优化和设备的升级, scRNA-seq 与空间转录组将从单细胞水平空间精细化层面在中医药复杂作用解析中发挥重要作用. 伴随着物质谱技术在质量精度、检测线、分辨率方面的长足进步, 蛋白质组学也走过了蛋白质表达谱、修饰谱和相互作用谱等的普通定性和定量的阶段. 随着疾病“蛋白质基因组学”和蛋白质组学驱动的“精准医学”概念的提出, 以及单细胞蛋白质组学的兴起, 均标志着蛋白质组学已经向更广的多组学

交叉研究和更深的亚细胞层面解析迈进. 代谢组学仍处于不断完善和发展阶段, 为满足大批量及微量样本的精准检测及分析, 需建立超高灵敏、高通量及重复性好的代谢组学分析方法及数据整合、快速分析的新技术, 进一步深入对中医药的研究与探索, 积极推动中医药现代化与国际化.

多组学整合的系统性与整体性符合中药作用机体的特点, 是中药复杂作用解析的重要发展方向, 特别是未来基于单细胞层面组学技术和空间组学技术的发展, 将为中药复杂作用提供更精细化、更准确的解析, 也必将极大地推动中医药现代化. 值得注意的是, 基于多组学数据的整合, 仍面临较大的挑战, 如多组学数据由于采集方式及前期处理的不同, 往往会导致非样本之间的数据差异性, 从而为后续数据的整合带来干扰, 因此尚需要建立全面、数据量大且种类多的多组学数据, 从而消除由于操作所带来的误差. 此外, 多组学数据量往往过大, 且各组学不同的数据分析方法, 往往会产生不同的结果, 如何有效快速地整合多组学数据, 进行有效分析, 挖掘出药物作用的关键靶标与通路, 仍是多组学整合面临的重要挑战.

参考文献

- 1 Towfighi A, Saver J L. Stroke declines from third to fourth leading cause of death in the United States. *Stroke*, 2011, 42: 2351–2355
- 2 Eltzschig H K, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nat Med*, 2011, 17: 1391–1401
- 3 Fernández-López D, Faustino J, Daneman R, et al. Blood-brain barrier permeability is increased after acute adult stroke but not neonatal stroke in the rat. *J Neurosci*, 2012, 32: 9588–9600
- 4 Sun K, Fan J, Han J. Ameliorating effects of Traditional Chinese Medicine preparation, Chinese materia medica and active compounds on ischemia/reperfusion-induced cerebral microcirculatory disturbances and neuron damage. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5: 8–24
- 5 Lei M N, Li Y, Hu J P. Advances in pathogenesis of cerebral ischemia reperfusion injury and the treatment of Modern Traditional Chinese Medicine (in Chinese). *J Changchun Univ Trad Chin Med*, 2019, 35: 991–994 [雷梦南, 李玉, 胡建鹏. 脑缺血再灌注损伤分子生物学机制及现代中医药治疗进展. 长春中医药大学学报, 2019, 35: 991–994]
- 6 Sriram K, Insel P A. G protein-coupled receptors as targets for approved drugs: how many targets and how many drugs? *Mol Pharmacol*, 2018, 93: 251–258
- 7 Li Y B, Lv C, Zhang W D. Application of methods on target identification and validation of label-free natural products (in Chinese). *Acta Pharm Sin*, 2019, 54: 82–88 [李玉斌, 吕超, 张卫东. 非标记的天然产物靶点识别和确证方法及应用. 药学学报, 2019, 54: 82–88]
- 8 Titov D V, Liu J O. Identification and validation of protein targets of bioactive small molecules. *Bioorg Med Chem*, 2012, 20: 1902–1909
- 9 Park H, Ha J, Park S B. Label-free target identification in drug discovery via phenotypic screening. *Curr Opin Chem Biol*, 2019, 50: 66–72
- 10 Saxena C. Identification of protein binding partners of small molecules using label-free methods. *Expert Opin Drug Discov*, 2016, 11: 1017–1025
- 11 Wright M H, Sieber S A. Chemical proteomics approaches for identifying the cellular targets of natural products. *Nat Prod Rep*, 2016, 33: 681–708
- 12 Chen P. Rapid screening strategy for target identification of bioactive natural products (in Chinese). *Biotech Bull*, 2020, 36: 185–192 [陈鹏. 活性天然产物蛋白靶点的快速筛选策略. 生物技术通报, 2020, 36: 185–192]

- 13 Zeng K W, Wang J K, Wang L C, et al. Small molecule induces mitochondrial fusion for neuroprotection via targeting CK2 without affecting its conventional kinase activity. [Sig Transduct Target Ther](#), 2021, 6: 71
- 14 Zhang H N, Yang L, Ling J Y, et al. Systematic identification of arsenic-binding proteins reveals that hexokinase-2 is inhibited by arsenic. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2015, 112: 15084–15089
- 15 Chen P, Wang L, Sun S, et al. High-throughput screening suggests glutathione synthetase as an anti-tumor target of polydatin using human proteome chip. [Int J Biol Macromol](#), 2020, 161: 1230–1239
- 16 Wang L, Du H, Chen P. Chlorogenic acid inhibits the proliferation of human lung cancer A549 cell lines by targeting annexin A2 *in vitro* and *in vivo*. [Biomed pharmacother](#), 2020, 131: 110673
- 17 Ye S, Luo W, Khan Z A, et al. Celastrol attenuates angiotensin II-induced cardiac remodeling by targeting STAT3. [Circ Res](#), 2020, 126: 1007–1023
- 18 Wang L, Zhou G B, Liu P, et al. Dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula realgar-*Indigo naturalis* as an effective treatment for promyelocytic leukemia. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2008, 105: 4826–4831
- 19 Yang K C, Yamada K A, Patel A Y, et al. Deep RNA sequencing reveals dynamic regulation of myocardial noncoding RNAs in failing human heart and remodeling with mechanical circulatory support. [Circulation](#), 2014, 129: 1009–1021
- 20 Asp M, Giacomello S, Larsson L, et al. A spatiotemporal organ-wide gene expression and cell atlas of the developing human heart. [Cell](#), 2019, 179: 1647–1660.e19
- 21 Zheng K, Lin L, Jiang W, et al. Single-cell RNA-seq reveals the transcriptional landscape in ischemic stroke. [J Cereb Blood Flow Metab](#), 2022, 42: 56–73
- 22 Li Z, Solomonidis E G, Meloni M, et al. Single-cell transcriptome analyses reveal novel targets modulating cardiac neovascularization by resident endothelial cells following myocardial infarction. [Eur Heart J](#), 2019, 40: 2507–2520
- 23 McLellan M A, Skelly D A, Dona M S I, et al. High-resolution transcriptomic profiling of the heart during chronic stress reveals cellular drivers of cardiac fibrosis and hypertrophy. [Circulation](#), 2020, 142: 1448–1463
- 24 Lake B B, Ai R, Kaeser G E, et al. Neuronal subtypes and diversity revealed by single-nucleus RNA sequencing of the human brain. [Science](#), 2016, 352: 1586–1590
- 25 Zhong S, Zhang S, Fan X, et al. A single-cell RNA-seq survey of the developmental landscape of the human prefrontal cortex. [Nature](#), 2018, 555: 524–528
- 26 Chen W T, Lu A, Craessaerts K, et al. Spatial transcriptomics and *in situ* sequencing to study Alzheimer's disease. [Cell](#), 2020, 182: 976–991.e19
- 27 Zhang J, Guo F, Wei J, et al. An integrated approach to identify critical transcription factors in the protection against hydrogen peroxide-induced oxidative stress by Danhong injection. [Free Radic Biol Med](#), 2017, 112: 480–493
- 28 Zhang J, Geng Y, Guo F, et al. Screening and identification of critical transcription factors involved in the protection of cardiomyocytes against hydrogen peroxide-induced damage by Yixin-shu. [Sci Rep](#), 2017, 7: 13867
- 29 Zhou R, Xiang C P, Gao J H, et al. Mechanism of Guhong injection against cerebral ischemia based on transcriptome analysis (in Chinese). *Chin J Exp Trad Med Formul*, 2020, 26: 202–210 [周瑞, 项昌培, 高金环, 等. 基于转录组测序的谷红注射液抗脑缺血分析. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26: 202–210]
- 30 Zhang J, Zhou R, Xiang C, et al. Huangbai liniment accelerated wound healing by activating Nrf2 signaling in diabetes. [Oxid Med Cell Longev](#), 2020, 2020: 1–20
- 31 Zhang J, Zhou R, Xiang C, et al. Enhanced thioredoxin, glutathione and Nrf2 antioxidant systems by safflower extract and aceglutamide attenuate cerebral ischaemia/reperfusion injury. [J Cell Mol Med](#), 2020, 24: 4967–4980
- 32 Fan F F, Chen S M, Yang H J, et al. The investigation of molecular mechanism of Guhong injection against cerebral ischemia-reperfusion injury in a network pharmacology approach (in Chinese). *Complex Syst Complex Sci*, 2018, 15: 11–17 [范芳芳, 陈舒曼, 杨洪军, 等. 谷红注射液抗脑缺血网络药理学分子机制研究. *复杂系统与复杂性科学*, 2018, 15: 11–17]
- 33 Zhou R, Xiang C P, Gao J H, et al. Mechanism of Guhong injection against cerebral ischemia based on transcriptome analysis (in Chinese). *Chin J Exp Trad Med Formul*, 2020, 26: 195–203 [周瑞, 项昌培, 高金环, 等. 基于转录组测序的谷红注射液抗脑缺血分析. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26: 195–203]
- 34 Xiang C, Zhang F, Gao J, et al. Yixin-Shu capsules ameliorated ischemia-induced heart failure by restoring Trx2 and inhibiting JNK/p38 activation. [Oxid Med Cell Longev](#), 2021, 2021: 1–15

- 35 Lyu M, Cui Y, Zhao T, et al. Tnfrsf12a-mediated atherosclerosis signaling and inflammatory response as a common protection mechanism of shuxuening injection against both myocardial and cerebral ischemia-reperfusion injuries. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 312
- 36 Suhre K, McCarthy M I, Schwenk J M. Genetics meets proteomics: perspectives for large population-based studies. *Nat Rev Genet*, 2021, 22: 19–37
- 37 Ji M C, Fu B, Zhang Y J. Recent progress of analytical methods of proteomics based on mass spectrometry (in Chinese). *J Chin Mass Spectr Soc*, 2021, 42: 862–877 [季美超, 付斌, 张养军, 基于质谱的蛋白质组学方法新进展. *质谱学报*, 2021, 42: 862–877]
- 38 Liu X, Yue Q X, Guo D A. Technique of proteomics and its application in the research of Traditional Chinese Medicine complex system (in Chinese). *Chin J Nat Med*, 2009, 7: 260–269 [刘璇, 岳庆喜, 果德安. 蛋白质组学技术及其在中药复杂体系研究中的应用. *中国天然药物*, 2009, 7: 260–269]
- 39 Jiang Y, Zhang P M, He F C. Current situation and trend of human proteome project (in Chinese). *China Basic Sci*, 2020, 22: 21–27 [姜颖, 张普民, 贺福初. 人类蛋白质组计划研究现状与趋势. *中国基础科学*, 2020, 22: 21–27]
- 40 Li Y C, Fan X, Zhai L, et al. Research progress of proteomics in China—with the theme of human liver proteomic program and the development of proteomic technology (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2014, 44: 1099–1112 [李衍常, 李宁, 徐忠伟, 等. 中国蛋白质组学研究进展——以人类肝脏蛋白质组计划和蛋白质组学技术发展为主题. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44: 1099–1112]
- 41 García-Berrocso T, Llombart V, Colàs-Campàs L, et al. Single cell immuno-laser microdissection coupled to label-free proteomics to reveal the proteotypes of human brain cells after ischemia. *Mol Cell Proteom*, 2018, 17: 175–189
- 42 Williams S A, Murthy A C, DeLisle R K, et al. Improving assessment of drug safety through proteomics. *Circulation*, 2018, 137: 999–1010
- 43 Langley S R, Willeit K, Didangelos A, et al. Extracellular matrix proteomics identifies molecular signature of symptomatic carotid plaques. *J Clin Invest*, 2017, 127: 1546–1560
- 44 Vaisar T, Hu J H, Airhart N, et al. Parallel murine and human plaque proteomics reveals pathways of plaque rupture. *Circ Res*, 2020, 127: 997–1022
- 45 Yokota T, McCourt J, Ma F, et al. Type V collagen in scar tissue regulates the size of scar after heart injury. *Cell*, 2020, 182: 545–562.e23
- 46 Wei J, Guo F, Zhang M, et al. Signature-oriented investigation of the efficacy of multicomponent drugs against heart failure. *FASEB J*, 2019, 33: 2187–2198
- 47 Wang Y, Liu L, Hu C, et al. Effects of *Salviae miltiorrhizae* and *Cortex moutan* extract on the rat heart after myocardial infarction: a proteomic study. *Biochem Pharmacol*, 2007, 74: 415–424
- 48 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. *Xenobiotica*, 1999, 29: 1181–1189
- 49 He J, Sun C, Li T, et al. A sensitive and wide coverage ambient mass spectrometry imaging method for functional metabolites based molecular histology. *Adv Sci*, 2018, 5: 1800250
- 50 Rappez L, Stadler M, Triana S, et al. SpaceM reveals metabolic states of single cells. *Nat Methods*, 2021, 18: 799–805
- 51 Liang L, Sun F, Wang H, et al. Metabolomics, metabolic flux analysis and cancer pharmacology. *Pharmacol Ther*, 2021, 224: 107827
- 52 Fessenden M. Metabolomics: small molecules, single cells. *Nature*, 2016, 540: 153–155
- 53 Masoodi M, Gastaldelli A, Hyötyläinen T, et al. Metabolomics and lipidomics in NAFLD: biomarkers and non-invasive diagnostic tests. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18: 835–856
- 54 Bar N, Korem T, Weissbrod O, et al. A reference map of potential determinants for the human serum metabolome. *Nature*, 2020, 588: 135–140
- 55 Crow J M. Microbiome: that healthy gut feeling. *Nature*, 2011, 480: S88–S89
- 56 Dueñas M E, Lee Y J. Single-cell metabolomics by mass spectrometry imaging. In: Hu S, ed. *Cancer Metabolomics. Advances in Experimental Medicine and Biology*. Cham: Springer, 2021. 69–82
- 57 Feng Y L, Cao G, Chen D Q, et al. Microbiome-metabolomics reveals gut microbiota associated with glycine-conjugated metabolites and polyamine metabolism in chronic kidney disease. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76: 4961–4978
- 58 Wang R, Li B, Lam S M, et al. Integration of lipidomics and metabolomics for in-depth understanding of cellular mechanism and disease progression. *J Genet Genom*, 2020, 47: 69–83
- 59 Radenkovic S, Vuckovic I, Lanza I R. Metabolic flux analysis: moving beyond static metabolomics. *Trends Biochem Sci*, 2020, 45: 545–546
- 60 Wang Z, He B, Liu Y, et al. *In situ* metabolomics in nephrotoxicity of aristolochic acids based on air flow-assisted desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10: 1083–1093

- 61 Cao H, Zhang A, Zhang H, et al. The application of metabolomics in Traditional Chinese Medicine opens up a dialogue between Chinese and Western medicine. [Phytother Res](#), 2015, 29: 159–166
- 62 Du Y, Wu B, Xiao F, et al. Untargeted metabolomic study on the insomnia effect of Suan-Zao-Ren decoction in the rat serum and brain using ultra-high-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry combined with data processing analysis. [J Sep Sci](#), 2020, 43: 2019–2030
- 63 Fan Y, Li Y, Chen Y, et al. Comprehensive metabolomic characterization of coronary artery diseases. [J Am Coll Cardiol](#), 2016, 68: 1281–1293
- 64 Gao K, Zhao H, Gao J, et al. Mechanism of Chinese Medicine herbs effects on chronic heart failure based on metabolic profiling. [Front Pharmacol](#), 2017, 8: 864
- 65 Wang D, Shi C, Ge Z H, et al. Study of the mechanism of action of Guanxin shutong capsules in the treatment of coronary heart disease based on metabolomics. [Front Pharmacol](#), 2021, 12
- 66 Liu M, Liu X, Wang H, et al. Metabolomics study on the effects of Buchang Naoxintong capsules for treating cerebral ischemia in rats using UPLC-Q/TOF-MS. [J Ethnopharmacol](#), 2016, 180: 1–11
- 67 Tao H, Yang X, Wang W, et al. Regulation of serum lipidomics and amino acid profiles of rats with acute myocardial ischemia by *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng* herb pair. [Phytomedicine](#), 2020, 67: 153162
- 68 Xu J, Li X, Zhang F, et al. Integrated UPLC-Q/TOF-MS technique and MALDI-MS to study of the efficacy of YiXinshu capsules against heart failure in a rat model. [Front Pharmacol](#), 2019, 10: 1474
- 69 Chen D, Tang S H, Lu P, et al. Mechanism of “treating heart and brain with same methods” based on data science (in Chinese). *China J Chin Mater Med*, 2015, 40: 4288–4296 [陈迪, 唐仕欢, 卢朋, 等. 基于数据科学的脑心同治机制研究. *中国中药杂志*, 2015, 40: 4288–4296]
- 70 Zhang M, Wu H, Guo F, et al. Identification of active components in Yixinshu Capsule with protective effects against myocardial dysfunction on human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes by an integrative approach. [Mol Biosyst](#), 2017, 13: 1469–1480
- 71 Meng F C, Tang L D. Challenges and prospect in research of Chinese materia medica network pharmacology (in Chinese). *Chin Trad Herb Drugs*, 2020, 51: 2232–2237 [孟凡翠, 汤立达. 中药网络药理学研究中存在的问题与发展. *中草药*, 2020, 51: 2232–2237]
- 72 Li S. Network pharmacology evaluation method guidance-draft (in Chinese). *World J Trad Chin Med*, 2021, 16: 527–532 [李梢. 网络药理学评价方法指南. *世界中医药*, 2021, 16: 527–532]
- 73 Mathur P, Srivastava S, Xu X, et al. Artificial intelligence, machine learning, and cardiovascular disease. [Clin Med Insights Cardiol](#), 2020, 14: 117954682092740
- 74 Ambale-Venkatesh B, Yang X, Wu C O, et al. Cardiovascular event prediction by machine learning. [Circ Res](#), 2017, 121: 1092–1101
- 75 Baecker L, Garcia-Dias R, Vieira S, et al. Machine learning for brain age prediction: introduction to methods and clinical applications. [eBiomedicine](#), 2021, 72: 103600
- 76 Yu Y, Heit J J, Zaharchuk G. Improving ischemic stroke care with MRI and deep learning artificial intelligence. [Top Magn Reson Imag](#), 2021, 30: 187–195
- 77 Zhao J, Lv C, Wu Q, et al. Computational systems pharmacology reveals an antiplatelet and neuroprotective mechanism of Deng-Zhan-Xi-Xin injection in the treatment of ischemic stroke. [Pharmacol Res](#), 2019, 147: 104365
- 78 Lu H, Zhang J, Liang Y, et al. Network topology and machine learning analyses reveal microstructural white matter changes underlying Chinese Medicine Dengzhan Shengmai treatment on patients with vascular cognitive impairment. [Pharmacol Res](#), 2020, 156: 104773
- 79 Homsy J, Zaidi S, Shen Y, et al. *De novo* mutations in congenital heart disease with neurodevelopmental and other congenital anomalies. [Science](#), 2015, 350: 1262–1266
- 80 Dickel D E, Barozzi I, Zhu Y, et al. Genome-wide compendium and functional assessment of *in vivo* heart enhancers. [Nat Commun](#), 2016, 7: 12923
- 81 Chen J X, Xu X, Li Z F, et al. Qishen Yiqi Drop Pill improves cardiac function after myocardial ischemia. [Sci Rep](#), 2016, 6: 24383
- 82 Zhou Q, Meng P, Zhang Y, et al. The compatibility effects of sini decoction against doxorubicin-induced heart failure in rats revealed by mass spectrometry-based serum metabolite profiling and computational analysis. [J Ethnopharmacol](#), 2020, 252: 112618
- 83 Wang Y Q, Li S J, Man Y H, et al. Serum metabonomics coupled with HPLC-LTQ/orbitrap MS and multivariate data analysis on the ameliorative effects of *Bidens bipinnata* L. in hyperlipidemic rats. [J Ethnopharmacol](#), 2020, 262: 113196
- 84 Sheng N, Zheng H, Li M, et al. 4,5 Caffeoylquinic acid and scutellarin, identified by integrated metabolomics and proteomics approach as the active ingredients of Dengzhan Shengmai, act against chronic cerebral hypoperfusion by regulating glutamatergic and GABAergic synapses.

- [Pharmacol Res](#), 2020, 152: 104636
- 85 Liu X, Qing Wang X, Cui Y, et al. In-depth transcriptomic and proteomic analyses of the hippocampus and cortex in a rat model after cerebral ischemic injury and repair by Shuxuetong (SXT) injection. [J Ethnopharmacol](#), 2020, 249: 112362
- 86 Zhang Z, Tang H, Chen P, et al. Demystifying the manipulation of host immunity, metabolism, and extraintestinal tumors by the gut microbiome. [Sig Transduct Target Ther](#), 2019, 4: 41
- 87 Du Z, Wang J, Lu Y, et al. The cardiac protection of Baoyuan decoction via gut-heart axis metabolic pathway. [Phytomedicine](#), 2020, 79: 153322
- 88 Chan M Y, Efthymios M, Tan S H, et al. Prioritizing candidates of post-myocardial infarction heart failure using plasma proteomics and single-cell transcriptomics. [Circulation](#), 2020, 142: 1408–1421
- 89 Zhang M Y, Guo F F, Wu H W, et al. Danhong injection targets endothelin receptor type B and angiotensin II receptor type 1 in protection against cardiac hypertrophy. [Oncotarget](#), 2017, 8: 103393–103409
- 90 Zhang J, Shi X, Gao J, et al. Danhong injection and trimetazidine protect cardiomyocytes and enhance calcium handling after myocardial infarction. [Evid Based Complement Alternat Med](#), 2021, 2021: 1–12
- 91 Zhou R, Gao J, Xiang C, et al. Salvianolic acid A attenuated myocardial infarction-induced apoptosis and inflammation by activating Trx. [Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol](#), 2020, 393: 991–1002
- 92 Wei J, Zhang Y, Jia Q, et al. Systematic investigation of transcription factors critical in the protection against cerebral ischemia by Danhong injection. [Sci Rep](#), 2016, 6: 29823
- 93 Cui Y, Liu X, Li X, et al. In-depth proteomic analysis of the hippocampus in a rat model after cerebral ischaemic injury and repair by danhong injection (DHI). [Int J Mol Sci](#), 2017, 18: 1355
- 94 Xu J, Tang L, Zhang Q, et al. Relative quantification of neuronal polar lipids by UPLC-MS reveals the brain protection mechanism of Danhong injection. [RSC Adv](#), 2017, 7: 45746–45756
- 95 Kelly R T. Single-cell proteomics: progress and prospects. [Mol Cell Proteom](#), 2020, 19: 1739–1748

Research progress in the complex mechanism of Traditional Chinese Medicine in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases

YANG HongJun^{1,2}, ZHANG JingJing^{2,3}, GUO Na¹, LI XianYu¹, CHEN Peng¹ & GUO FeiFei²

1 Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2 Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3 Chinese Institute for Brain Research, Beijing 102206, China

Traditional Chinese medicine (TCM) has the characteristics of multi-component, multi-target, and multi-level system regulation. Analyzing the mode of action of the complex system of TCM is one of the core directions of the modernization of TCM. Considering the heterogeneity, complexity and variability of the diseases, it is necessary to rely on advanced scientific technologies to investigate the complex mechanism of TCM in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases in a systematic and detailed way. With the development of omics technologies such as transcriptome, proteome, metabolome, and bioinformatics, the analysis of complex effects of TCM has been systematically and comprehensively expanded to multiple levels such as RNA, protein, and metabolites, and also extends to single cell microscopic level from the perspective of time and space. Therefore, this paper systematically summarizes the research progress of the complex mechanism of TCM in the treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases from the aspects of direct targets, systems biology, bioinformatics, etc., which provides reference for the research on the complex mechanism of TCM and related research on cardiovascular and cerebrovascular diseases.

Traditional Chinese Medicine, analysis of complex effects, systems biology, bioinformatics, cardiovascular and cerebrovascular diseases

doi: [10.1360/SSV-2021-0395](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0395)