

基因芯片技术检测消瘤保肺丸
对肿瘤转移相关基因表达的影响

段铮¹,陈璐²,蒋艳玲¹

(1. 河南省中医院, 郑州 450002; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

〔摘要〕 目的:基因芯片技术检测消瘤保肺丸对肿瘤转移相关基因表达的影响。方法:采用消瘤保肺丸中药灌胃、采集兔含药血清。消瘤保肺丸含药血清与 PG 细胞培养 48 h 后,观察用药后细胞肿瘤转移相关基因表达的变化。结果:PG 细胞空白组与用药组比较;经药物干预后,用药组有 30 多个基因表达上调大于 1.5 倍,其中包括 DCC,GPNMB,MCAM,ETV4,FN1 等,无表达下调基因。结论:消瘤保肺丸对肺癌转移的调控是多层次、多靶点的;同时也反映出该药对于转移潜能不同的细胞类型其作用靶点可能也不尽相同。

〔关键词〕 消瘤保肺丸; 基因芯片; 转移相关基因; 血清药理学

〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2013)20-0186-05

〔doi〕 10.11653/syfy2013200186

Effect of Xiaoliu Baofei Pill on Tumor Metastasis-associated Gene
Expression based on Gene-chip Technology

DUAN Zheng¹, CHEN Lu², JIANG Yan-ling¹

(1. Henan Provincial Traditional Chinese Medicine Hospital, Zhengzhou 450002, China;

2. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

〔Abstract〕 Objective: The gene-chip technology was used to detect effect of Xiaoliu Baofei pill on tumor metastasis-associated gene expression. Method: The serum containing Xiaoliu Baofei pills *in vitro* was used to observe PG cells tumor metastasis-associated gene expression. Result: Compared with the treatment group PG cells in the blank group upregulated the expression of more than 30 genes, including cell cycle genes, cell adhesion genes, cell growth and proliferation genes, apoptosis genes, transshipment, and control genes, matrix metalloproteinase protein and other metastasis-related genes. No down-regulated genes were found. Conclusion: Regulation of Xiaoliu Baofei pill on lung cancer metastasis is a multi-level and multi-targeted.

〔Key words〕 Xiaoliu Baofei pill; gene chips; metastasis-associated genes; serum pharmacology

消瘤保肺丸是长期应用于临床的有效药物,经临床和基础研究证实^[1-2],消瘤保肺丸能提高免疫,有抑制小鼠腹腔巨噬细胞的功能,临床观察表明可以提高机体免疫功能,配合化疗可提高临床疗效,减轻化疗引起的骨髓抑制。其对肺癌转移的疗效主要

通过对侵袭、转移过程中的黏附分子的作用来实现的。笔者前期已通过免疫组化及 RT-PCR 方法多角度地对消瘤保肺丸对黏附分子作用的影响进行实验,结果表明该中药有一定的抗肺癌侵袭、转移的作用。为深入探讨其作用机制,笔者采用先进的基因芯片技术针对消瘤保肺丸对肿瘤转移多个相关基因表达的影响进行了实验。

1 材料

1.1 细胞 PA 细胞(人低转移性肺腺癌细胞株) PG 细胞(即人高转移性巨细胞肺癌细胞株),由中国中医科学院广安门医院肿瘤实验室提供。

〔收稿日期〕 20130407(017)
〔基金项目〕 河南省杰出青年基金项目[06120012000]
〔通讯作者〕 * 段铮, 硕士, 从事中医内科学, Tel: 0371-60971962, E-mail: duanzheng-dztong@163.com

1.2 消瘤保肺丸 该药为浓缩丸剂,由河南省中医院院内制剂室提供。主要成分:黄芪,北沙参,南沙参,百合,麦冬,半枝莲,石上柏,仙鹤草,猫爪草,壁虎等 23 味。批号 20070514。

1.3 Oligo 肿瘤转移基因芯片 由美国 Super array 公司生产,分类号:OHS-028(人),购自上海康成生物公司。

1.4 仪器 荧光定量 PCR 仪 ABI PRISM 7700,美国应用生物系统公司生产。

1.5 动物 普通级日本大耳白兔,8 只,体重 4.6 ~ 5.1 kg,雄性 2 只,雌性 6 只,由郑州大学实验动物中心提供。

2 方法

2.1 消瘤保肺丸含药血清的制备^[3]

2.1.1 动物分组 8 只健康日本大耳白兔,随机分为消瘤保肺丸用药组及空白组,每组 4 只。

2.1.2 用药方法 每组每天早晚各灌胃给药 1 次,每次 50 mg·kg⁻¹。空白组给以等量生理盐水,连续给药 3 日。

2.1.3 药物制备 实验时以纯净水及消瘤保肺丸配制混悬液,质量浓度为 5 g·L⁻¹供试。

2.1.4 取材方法 选取末次给药后 2 h 内分别从各组白兔心脏无菌采血 20 mL,室温静置 2 h,待血凝坚实、血清析出后,1 500 r·min⁻¹离心 10 min,取血清,56 °C 电热恒温水浴槽 30 min 灭活, -20 °C 保存备用。

2.2 细胞培养及爬片 复苏 PG 冻存细胞,培养基选用含 20% 优级胎牛血清的 RPMI-1640 培养基,隔日换液 1 次,直至基本贴满下壁,细胞传代,每培养瓶中加入 2 mL 0.25% 胰蛋白酶液使细胞脱壁,加入 8 mL 培养基,反复吹打后分入 5 mL 至新培养瓶。加入 20% 含药血清培养基或含 20% 空白血清培养基,放 37 °C 5% CO₂ 培养箱培养 48 h。取空白组和消瘤保肺丸 100 mg·kg⁻¹ 剂量组培养 48 h 的 PG 细胞株。每份标本含细胞数 10⁷/mL。送检时从培养瓶中吸出并弃去培养液,直接加入 Trizol 试剂,Trizol 用量与细胞贴壁面积有关,约 15 cm² 细胞贴壁面积加入 1 mL Trizol。反复吸打几次后,目视可见细胞层溶解完全。装好样品后管口以封口膜封好,干冰运输送检。

2.3 基因表达谱芯片检测 (按说明书操作步骤进行)

2.3.1 RNA 抽提 用 Trizol 试剂抽提肺癌细胞的中 RNA 并纯化。

2.3.2 RNA 质量检测 用紫外吸收测定法进行纯

度检测;用变性琼脂凝胶电泳,紫外透射光下观察并拍照,计算 A_{260}/A_{280} 和 A_{260}/A_{230} 以确定样品纯度。4 组样本 A_{260}/A_{280} 在 2.04 ~ 2.12, A_{260}/A_{230} 在 2.09 ~ 2.23 显示样本纯度合格,可用于进一步检测。电泳条带见图 1。

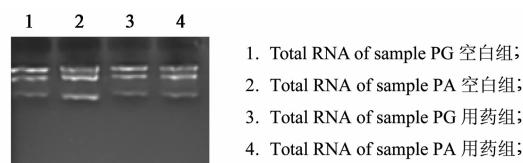


图 1 PA 细胞,PG 细胞样品 RNA 质量检测电泳

2.3.3 探针合成 用于化学发光检测的 RT 标记法。每张芯片探针制备加 10 μL 预热的 RT 混合液到 10 μL 退火混合液中,用枪轻轻吹打混匀,继续在 42 °C 孵育 90 min。反应得到的 cDNA 探针于 94 °C 加热 5 min,然后迅速放入冰中。此 cDNA 探针即可用于杂交。

2.3.4 芯片杂交 将变性的 cDNA 探针全部加入 0.75 mL 预热的 GEAPrehyb 杂交液中,混匀,放在 60 °C 待用。弃去杂交管中的 GEAPrehyb 溶液,加入探针的 GEAhb 混合液至杂交管中,60 °C 下 6 r·min⁻¹ 杂交过夜。

2.3.5 化学发光检测 加入 1 mL CDP-Star 化学发光底物至杂交管中,室温孵育 2 min。取出膜,放滤纸上以除去多余 CDP-Star 溶液,用干净的塑料膜两面包住,驱除气泡,用 X 射线胶片曝光。

2.3.6 图像和数据采集 X 射线胶片曝光后,将胶片上的图像用扫描仪扫描并转化为灰度 TIFF 格式的图片文件保存。运行 Scan Alyze 软件,将灰度 TIFF 格式图片的点阵转化为数字型数据,将此原始数据储存为 Microsoft Excel 文件。

2.3.7 数据分析 使用芯片配套软件 GEArray Analyzer 对原始数据进行去背景计算以及比较运算。每张芯片都点有负对照 (PUC18DNA 和空白) 以及管家基因,包括 β -action, GAPDH, Cyclophilin A 和核糖体蛋白 L13a。原始数据首先被减掉背景最小值,继而用管家基因来进行校正,校正后的数据用来进行样本间基因转录的相对丰度分析。

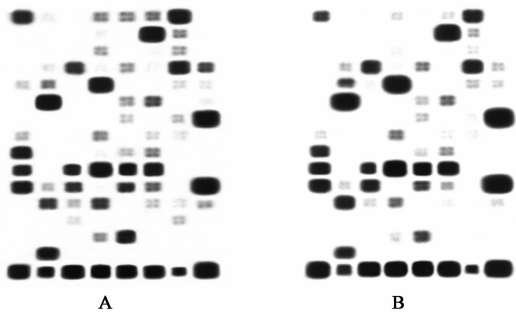
2.4 统计分析 用芯片配套软件 GEArray Analyzer 对原始数据进行去背景计算以及比较运算。

3 结果

肿瘤转移基因芯片涉及肿瘤转移相关的基因 113 个,包括生长因子及其受体基因、粘连分子基因、蛋白酶及其蛋白酶抑制物基因、原癌基因及抑癌

基因,以及其他相关基因。通过杂交反应技术,获得初步结果如下。

3.1 消瘤保肺丸对肿瘤相关基因表达的差异 基因芯片图像显示,如果信号较强,该点多灰度值较高(上调趋势);如果信号较弱,该点多灰度值较低(下调趋势);芯片杂交扫描后获得扫描图谱,如图 2。



A. PG 细胞空白组;B. PG 细胞用药组

图 2 消瘤保肺丸含药血清对 PG 细胞基因表达的影响(基因芯片杂交)

3.2 PG 细胞空白组与用药组比较 经药物干预后,用药组有 30 多个基因表达上调大于 1.5 倍,包括细胞周期基因 BRMS1,HRAS,RB1,TP53,细胞黏附基因 CD44,CTNNA1,FAT, FN1, MCAM, PNN, TPBG, 细胞生长及增殖基因 CDKN2A, DENR, FGFR4, FLT4, GPNMB, KISS1R, 凋亡基因 DCC, HTATIP2, TP53, CTSL1, 转运及调控基因 ETV4, MTA1, MTA2, SMAD2, SMAD4, 基质金属蛋白 MMP10, MMP11, MMP2, MMP9, TIMP2, 以及其他转移相关基因 CD82, METAP2, S100A4 等。无表达下调基因,详见图 2 及表 1。

4 讨论

肿瘤转移是一个极为复杂的多基因调控和多步骤发生过程,其机制尚未被彻底揭开。而中医药从细胞增殖、信号转导、血管生成等的诸多环节对肿瘤转移确有影响,笔者的研究显示:PG 细胞属于人高转移性巨细胞肺癌细胞株,经过中药含药血清干预后多个相关基因表达上调,涉及到肿瘤转移过程的多个方面,未发现表达明显下调的基因。

细胞凋亡基因如 DCC 是一个与肿瘤发生关系密切的抑癌基因,DCC 蛋白是一种跨膜黏蛋白,具有介导同型细胞的黏附功能,其表达下降或功能缺失可能导致肿瘤细胞的活动能力增加,从而增加癌细胞的转移和浸润能力,该基因在肿瘤转移过程中可能起着重要作用^[4]。

细胞生长及增殖基因如即非转移性黑色素瘤糖蛋白 B(GPNMB)由 gpnmb 基因编码,是一种糖基化

表 1 PG 细胞空白组(A)与消瘤保肺丸含药血清组(B)比较下调基因列表				
位置	基因	A	B	A/B
4	BRMS1	11 463 ± 0.07	15 800 ± 0.14	0.50
7	CD44	36 842 ± 0.61	53 220 ± 0.93	0.65
15	CDKN2A	14 314 ± 0.13	28 688 ± 0.41	0.32
20	CTNNA1	10 188 ± 0.44	15 971 ± 0.15	0.31
23	CTSL1	12 061 ± 0.08	18 445 ± 0.20	0.43
26	DCC	12 151 ± 0.09	21 179 ± 0.26	0.34
27	DENR	33 072 ± 0.53	50 654 ± 0.88	0.60
29	ETV4	14 993 ± 0.15	32 459 ± 0.49	0.30
32	FAT	14 252 ± 0.13	19 768 ± 0.23	0.58
33	FGFR4	10 846 ± 0.06	16 409 ± 0.15	0.38
34	FLT4	23 956 ± 0.33	45 075 ± 0.76	0.44
35	FN1	10 674 ± 0.05	16 803 ± 0.16	0.34
39	GPNMB	11 026 ± 0.06	23 075 ± 0.30	0.21
40	KISS1R	10 642 ± 0.05	19 128 ± 0.21	0.26
45	HRAS	19 900 ± 0.25	34 122 ± 0.53	0.47
46	HTATIP2	24 210 ± 0.34	38 617 ± 0.62	0.55
53	CD82	15 718 ± 0.16	24 507 ± 0.33	0.50
57	MCAM	9 887 ± 0.04	16 052 ± 0.15	0.26
60	METAP2	19 355 ± 0.24	29 241 ± 0.43	0.56
62	MMP10	14 836 ± 0.14	23 152 ± 0.30	0.48
63	MMP11	11 303 ± 0.07	17 130 ± 0.17	0.40
65	MMP2	33 108 ± 0.53	51 319 ± 0.89	0.59
68	MMP9	12 375 ± 0.09	21 405 ± 0.26	0.35
69	MTA1	13 438 ± 0.11	22 948 ± 0.29	0.39
70	MTA2	23 907 ± 0.33	35 683 ± 0.56	0.60
82	PNN	13 829 ± 0.12	18 886 ± 0.21	0.59
86	RB1	21 496 ± 0.28	29 449 ± 0.43	0.66
90	S100A4	25 786 ± 0.37	42 772 ± 0.71	0.53
94	SMAD2	11 955 ± 0.08	16 394 ± 0.15	0.53
95	SMAD4	10 425 ± 0.05	15 715 ± 0.14	0.35
103	TIMP2	9 964 ± 0.04	14 921 ± 0.32	0.32
108	TP53	13 298 ± 0.11	19 923 ± 0.48	0.48
109	TPBG	32 813 ± 0.52	50 520 ± 0.60	0.60

的跨膜蛋白,表达于多种正常组织,参与了多种细胞的生理功能。最近研究表明 GPNMB 在多种肿瘤细胞的转移过程中起到重要作用^[5],离体实验及在体实验均已证明 GPNMB 表达促进乳腺癌细胞迁移、浸润,是患者预后的独立预测指标^[6-7]。但国内至今在肺癌细胞中还没有 GPNMB 基因及蛋白表达研究的相关报道,笔者试论,GPNMB 基因上调可能抑

制肺癌细胞转移。

CD44 在细胞黏附基因中研究已较多,而 FN1 也是一类细胞黏附相关基因,与氧化还原酶活性、胶原连接、细胞壁外基质结构、肝磷脂连接、急相反应、细胞迁移、新陈代谢及损伤反应等方面有关。曹维克等^[8]研究表明 FN1 等基因的下调可能是 FMSCs 突变为 F6 肿瘤细胞的分子特征之一。FN1 基因的上调有降低突变的可能。细胞周期基因如乳腺癌转移抑制基因 1 (breast cancer metastasis suppressor 1, BRMS1) 是新发现的一种肿瘤转移抑制基因^[9],与乳腺癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌等肿瘤转移有相关性^[10]。在分子水平上 BRMS1 可上调转移抑制及下调转移促进 micRNA,而抑制转移中多个步骤^[10]。姜洁等^[11]发现人卵巢癌细胞 A2780 及 Zhang 等^[12]发现人卵巢癌细胞 HO-8910PM 转移侵袭受 BRMS1 抑制。因此,本研究在用药组 BRMS1 基因上调,提示药物消瘤保肺丸可能抑制肺癌细胞转移。

肿瘤转移相关基因 (metastasis-associated gene, MTA) 是最早在乳腺癌中发现的和肿瘤转移相关的基因家族,现已确认 3 类 (MTA1, MTA2, MTA3) 及 6 个亚型 (MTA1, MTA1s, MTA-ZG29p, MTA2, MTA3 和 MTA3L)。MTA1, MTA2 和 MTA3 均被认为是细胞核重构和脱乙酰基复合物 (NuRD) 的组成部分,它们通过影响染色质的状态来调整复制,调控组蛋白脱乙酰基从而发挥其生物学作用。其中 MTA1 发现最早,研究最多,近年来发现其与人类一些恶性肿瘤的侵袭转移过程紧密相关,如胃癌、食道癌、肺癌等。现有的研究表明 MTA1 蛋白的作用可能促进核小体重构与组蛋白脱乙酰基活性,从而抑制某些肿瘤抑制基因的转录表达^[13]。

近年来人们对基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 家族与肿瘤关系的研究逐渐增多。研究中发现,其与肿瘤浸润转移密切相关,参与肿瘤发生、发展的各个环节。研究表明, MMP-11 尤其是在消化道肿瘤、乳腺癌中高表达。MMP-2 能够破坏细胞外基质,促进肿瘤细胞向周围组织浸润并转移^[14-15]。但本文结果提示,在肺癌细胞中基质金属蛋白酶均有上调表达,可能不参与肺癌侵袭、转移机制中的重要过程。

综上所述,多种基因表达在两组药物的干预下发生明显变化,考虑消瘤保肺丸对肺癌细胞可能有一定的抑制作用。这提示中药对肺癌转移的调控是多层次、多靶点的。

研究中医药在治疗肿瘤和预防转移中的机制是

指导临床用药和开展针对性治疗的前提。从分子基因水平对中医药研究进行研究,有助于从内部剖析其作用机制,从而渐渐扩大中医药的研究领域,发挥中医药多靶点多层次抗癌的优势,为进一步阐明中医药抑癌与抗转移的机制做出贡献^[16-17]。目前中医药在抗肺癌的复发与转移方面取得了一些进展,但其机制尚未被彻底揭示,同时也存在一些待解决的问题,如过分重视单味中药抗癌成分及作用的研究,忽视了运用中医理论进行中药复方抗肺癌转移的探究,而肺癌转移是一个极为复杂的多基因调控和多步骤的复杂生物学过程,涉及到肿瘤细胞、机体、靶组织间的相互作用及影响,如何充分运用中医整体观念、辨证论治的理论精髓,利用中药复方成分多样性的特点,开发出可以多靶点、多层次作用于肺癌细胞的有效方剂,有效阻断肺癌的复发转移,将是中医药抗肺癌复发转移的研究方向。本实验限于实验条件仅仅进行了初步的探讨,为进一步探讨其抗肿瘤、抗转移机制提供了新的研究思路。

[参考文献]

- [1] 李统生. 消瘤保肺丸配合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床研究[J]. 中国中医药信息杂志, 1999, 6 (9): 50.
- [2] 张军, 刘利军, 高天雨. 消瘤保肺丸对小鼠腹腔巨噬细胞功能的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 1999, 6 (10): 27.
- [3] 郭雄明, 薛霞, 谢忠忱, 等. 兔血清制备及兔来源细胞培养实验[J]. 实验动物科学与管理, 2005, 22 (4): 10.
- [4] 翟保平, 张斌, 李文涛. DCC 基因在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27 (11): 1669.
- [5] Selim A A. Osteoactivin bioinformatic analysis: prediction of novel functions, structural features, and modes of action[J]. Med Sci Monit, 2009, 15 (2): T19.
- [6] Rich J N, Shi Q, Hjelmeland M, et al. Bone-related genes expressed in advanced malignancies induce invasion and metastasis in a genetically defined human cancer model [J]. J Biol Chem, 2003, 278 (18): 15951.
- [7] Rose A A, Pepin F, Russo C, et al. Osteoactivin promotes breast cancer metastasis to bone [J]. Mol Cancer Res, 2007, 5 (10): 1001.
- [8] 曹维克, 许文荣, 朱伟, 等. 骨髓间质干细胞与肿瘤细胞中 FN1、NME2、TIMP3 基因表达检测[J]. 临床检验杂志, 2006 (9): 106.

健脾益气活血汤影响血管紧张素 1-7 相关信号通路调节自发性高血压大鼠血管活性因子释放机制研究

曲怡,张立德*,王珊珊,陈志娟,谷丽艳
(辽宁中医药大学基础医学院中医分子生物学实验室,沈阳 110847)

〔摘要〕 目的:探讨健脾益气活血汤通过血管紧张素转换酶 2(ACE2)、血管紧张素 1-7(Ang 1-7)-MAS 受体、蛋白激酶 B (AKT)信号通路调节自发性高血压大鼠(SHR)血管活性因子释放的作用。方法:将 60 只 24 周龄 SHR 分为 SHR 组(给予蒸馏水)、培哚普利组($0.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、培哚普利联合中药组(培哚普利 $0.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ + 健脾益气活血汤 $20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 中加西组)、健脾益气活血汤高、中、低剂量组($40, 20, 10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), 每组 10 只,以同龄同种系正常血压的京都种大鼠(WKY)10 只作为 WKY 组(给予蒸馏水)。无创血压计监测大鼠尾动脉收缩压;治疗 6 周后腹主动脉取血测定血浆 Ang(1-7)含量,取肾脏提取总 RNA 及总蛋白,RT-PCR 法检测 ACE2, MAS mRNA 含量表达,Western blot 法检测 AKT 蛋白表达水平。结果:SHR 组 ACE2, Ang(1-7), MAS, AKT 含量与 WKY 组相比明显减少($P<0.01$);培哚普利组、中加西组收缩压与 SHR 组相比明显降低($P<0.01$);培哚普利组、中加西组、中药高剂量组 ACE2, Ang(1-7), MAS, AKT 含量明显高于 SHR 组($P<0.01$)。结论:健脾益气活血汤通过 ACE2-Ang(1-7)-MAS-AKT 信号通路平衡血管内皮舒缩因子的分泌与释放,发挥改善血管内皮功能及抗高血压作用。

〔关键词〕 健脾益气活血; 自发性高血压大鼠; 血管紧张素转换酶 2; 血管紧张素(1-7); MAS 受体
〔中图分类号〕 R285.5 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2013)20-0190-05
〔doi〕 10.11653/syfy201300190

〔收稿日期〕 20130225(010)
〔基金项目〕 辽宁省科技厅自然科学基金项目(20102150)
〔第一作者〕 曲怡,博士,从事中医药分子生物学研究,Tel:024-31207096,E-mail:64012951@qq.com
〔通讯作者〕 *张立德,硕士,教授,Tel:024-31207078,E-mail:zhldtcm@163.com

[9] Seraj M J, Samant R S, Verderame M F, et al. Functional evidence for a novel human breast carcinoma metastasis suppres-sor, BRMS1, encoded at chromosome 11q13[J]. Cancer Res,2000,60(11):2764.

[10] Edmonds M D, Hurst D R, Welch D R. Linking metastasissuppression with metastamiR regulation [J]. Cell Cycle,2009,8(17):2673.

[11] 姜洁,夏敏,冯进波,等. BRMS1 基因抑制卵巢上皮性癌细胞体内外转移的实验研究[J]. 中华妇产科杂志,2007,42(6):398.

[12] Zhang S,Lin Q D,Di W. Suppression of human ovarian carc-inoma metastasis by the metastasis-suppressor gene, BRMS1 [J]. Int J Gynecol Cancer, 2006, 16 (2):522.

[13] Mahoney M G, Simpson A, Jost M, et al. Metastasis-associated protein 1 (MTA1) enhances migratio, invasion and anchorage-independent survival of immortalized human keratinocytes [J]. Oncogene, 2002,21(14):2161.

[14] Sakata H, Fujimura M, Watanabe M, et al. Association ofcavernousmalformation within vestibular schwannoma: immunohistochemicalanalysis of matrix metalloproteinase-2 and-9[J]. Neurol Med Chir(Tokyo),2007, 47(11):509.

[15] Karahan N, Güney M, Baspinar S, et al. Exp ression ofgelatinase (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 (COX-2) inendometrialcarcinoma [J]. Eur J Gynaecol Oncol,2007,28(3):184.

[16] 孙宏新,蒋士卿. 痰-黏附分子相关性理论与肿瘤转移[J]. 河南中医,2005,25(9):8.

[17] 荆志伟,王忠,高思华,等. 基因芯片技术与中药研究——中药基因组学[J]. 中国中药杂志,2007,32(4):289.