中国科学: 生命科学 2024 年 第 54 卷 第 7 期: 1183 ~ 1196
SCIENTIA SINICA Vitae lifecn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS

评 述

生命全景时空图谱: 助力中医药学原理的精准解读

崔鹤蓉[1,2], 蒋寅[3], 王奕婷[2], 孙杨[1], 唐楚为[2], 郑佳欣[2], 许莎[2], 代亚楠[2], 李丽雯[2], 林宏远[4], 靳英辉[5], 商洪才[1,4*]

1. 北京中医药大学东直门医院, 中医内科学教育部/北京市重点实验室, 北京 100700;
2. 北京中医药大学生命科学学院, 北京 102488;
3. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京 100700;
4. 湖南中医药大学中西医结合学院, 长沙 410208;
5. 武汉大学中南医院循证与转化医学中心, 武汉 430071
* 联系人, Email: shanghongcai@126.com

收稿日期: 2023-12-14; 接受日期: 2024-03-06; 网络版发表日期: 2024-06-11
国家中医药管理局2021年岐黄学者支持项目

摘要 中医药学原理的现代科学解读攸关中医药服务体系的优质高效建设, 符合中医药特点的机制全面诠释和优势精准呈现仍然是中医药事业产业现代化国际化变革中迫切需要解决的瓶颈问题. 生命全景时空图谱系指采用时空组学作为核心技术, 在细胞以及亚细胞分辨率下绘制生命全景分子图谱, 整合时间和空间两个维度阐释细胞功能、生命复杂性和人类疾病. 近年, 被称为“超高分辨率的生命全景照相机”的时空组学技术体系的提出和发展, 也为中医药疗效的“说明白、讲清楚”提供新的研究手段和模式策略. 具体来说, 通过重点关注治疗前后病灶组织的空间位置分布以及时间演进变化信息, 分析正常状态、疾病状态甚至疾病不同发展阶段的分子-细胞、细胞-细胞之间和微环境的分布互作情况, 能够全面、精准、高效地阐明中医药这类复杂性研究对象的病程演变干预特征和诊治生物学内涵. 基于此, 本文在总结时空组学技术进展的基础上, 进一步提出中医药生命全景时空图谱研究的思路框架和实践路径, 旨在从四维水平揭示中医药学防病治病的时空诊疗机理. 未来的中医药学原理研究, 将尤其重视前沿信息技术的整合与融入, 依托生命科学领域的蓬勃发展, 优化完善重点领域的方法学和指标体系, 解析中医药临床有效性和安全性的科学原理, 有的放矢地促进中医药学传承创新发展.

关键词 中医药学, 精准医学, 时空组学, 生命全景图谱

中医药在疾病的预防、治疗及康复中具有独特的临床价值和治疗优势, 中医药学原理的现代科学解读攸关中医药服务体系的优质高效建设. 在东学西学兼容、互相交织渗透融通的大形势下, 王永炎院士[1]正式提出整合医学理念, 主张采取多学科整合策略, 诠释中药物质实体与机体生命活动的交互规律, 为中医药疗效的“说明白、讲清楚”提供新的研究体系. 目前, 中医药学原理研究领域已在质量控制、作用机制及临床应用等方面取得显著进展, 包括中药质量标志物识别、整合药理学评价方法、“中药成分群-体内过程-

引用格式: 崔鹤蓉, 蒋寅, 王奕婷, 等. 生命全景时空图谱: 助力中医药学原理的精准解读. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 1183–1196
Cui H R, Jiang Y, Wang Y T, et al. Accurate determination of the meaning and implications of traditional Chinese medicine using panoramic spatiotemporal life atlas (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 1183–1196, doi: 10.1360/SSV-2023-0304

© 2024 《中国科学》杂志社 www.scichina.com
https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

药效活性”关联性研究等, 如图1所示[2~10]. 其中, 符合中医药特点的机制全面诠释和优势精准呈现, 是目前中医药产业现代化国际化变革中迫切需要解决的瓶颈问题, 也是指引基础研究成果转化为中医药临床服务能力的关键.

生命全景时空图谱系指采用时空组学作为核心技术, 在细胞以及亚细胞分辨率下绘制生命全景分子图谱, 通过重点关注治疗前后病灶组织的空间位置分布以及时间演进变化信息, 分析正常状态、疾病状态甚至疾病不同发展阶段的分子-细胞、细胞之间和微环境的分布互作情况, 整合时间和空间两个维度阐释细胞功能、生命复杂性和人类疾病[11,12]. 相关研究表明, 时空组学代表一种单点(或多点)与生物的相互作用模式, 与中医药中的多靶点、整体观的思维有一定的相似性, 与中医理论指导下用药规律也具有相通性. 在严格的时空调控下, 中医药通过基因表达和细胞状态的剧烈改变影响疾病的治疗和预防, 这是一个复杂的动态过程. 在时间和空间维度上, 探究中医药对转录因子、信号通路、细胞外基质等多种因素的分布影响和复杂调控, 是解析中医药机理的重要途径. 过去几年, 空间组学技术不断发展, 能够在自然组织或细胞结构的背景下收集有价值的分子、细胞和微环境信息, 具有覆盖范围广, 灵敏度高, 动态范围宽和特异性强等优点, 开始能够满足其空间分辨率上的研究需求, 为中医药机理的时空破译提供方法学支持和技术保障(图1). 基于此, 本文在总结时空组学研究策略和技术进步的基础上, 提出中医药生命全景时空图谱研究的思路框架和目标规划, 借助时空组学的方法技术, 从四维组织水平整合收集、生产、评价、转化中医药防病治病演进证据, 为中医药临床有效性和安全性的现代阐释提供依据.

1 时空组学技术进步和计算策略

阻碍中医药机制解读的核心问题之一是中药与人体相互作用环境的复杂性. 在空间上, 不同疾病状态下的用药环境(人体)具有不同的组织和层次结构, 这对于免疫细胞和实质细胞命运的确定和发展至关重要, 通过精准的转录调节和细胞间通讯来协调; 在时间上, 响应中药等外部刺激, 将渐进性启动机体免疫-因子-代谢网络重编程, 包括治疗性免疫再生和基质细胞重新定位等[11]. 因此, 了解中药与人体相互作用环境的时空结构对于发现中药治疗机制至关重要. 解码中药-人体空间结构的一个挑战是如何连续在多组学水平上高通量捕获空间分子分布, 解决这个问题需要同时记录基因/蛋白质/转录/代谢演进信息和空间坐标的能

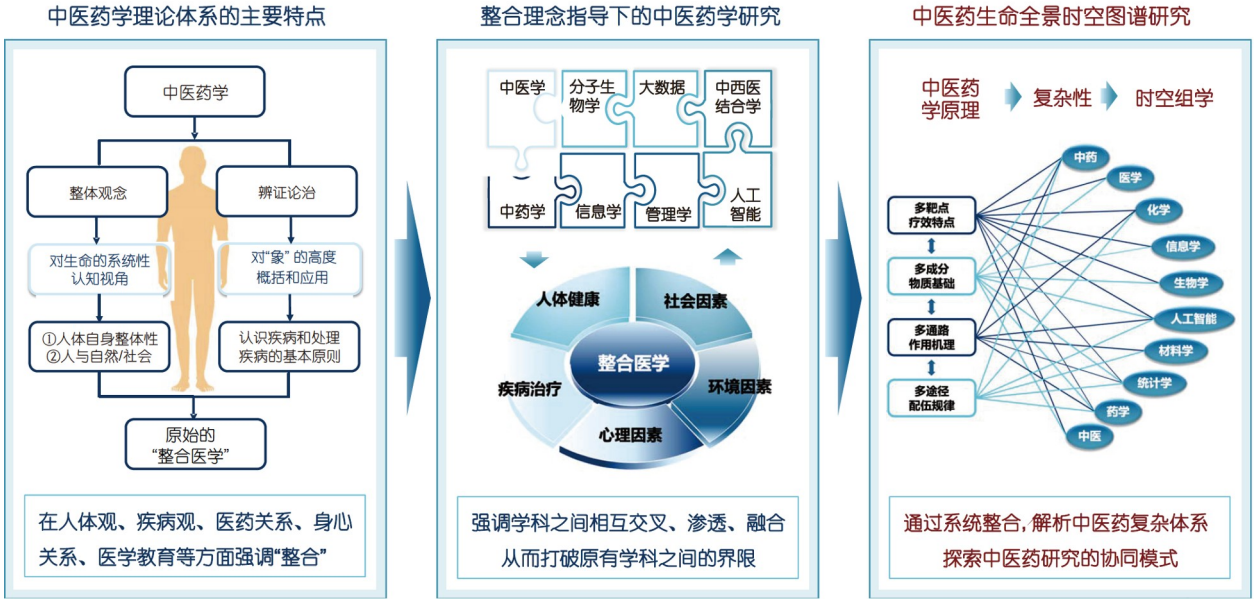


图 1 整合理念指导下的中医药生命全景时空图谱研究

Figure 1 Research on the spatiotemporal atlas of the life panorama of traditional Chinese medicine guided by the concept of integration

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

力[12]. 一种比较适用的方式是高维成像(成像质谱流式和多重免疫组化等); 然而, 这些方法只能用于建立低通量谱, 难以量化绘制整个基因/蛋白质/转录/代谢物的全景信息. 相比之下, 最先进的时空组学技术现在已经能够检测整个基因/蛋白质/转录/代谢组甚至单细胞组, 能够在系统层面改变我们对中医药科学内涵的理解, 从根本上提高我们对中医药体系和疾病微环境相互作用的认识[13]. 这里首先综述时空组学数据处理中的共同原则、统计概念和联合分析策略[14](图2), 进一步总结空间组学的检测技术进展, 最后介绍涉及到的大数据和人工智能算法, 希望为应用时空组学解决中医药领域科学问题研究思路的提出提供参考.

1.1　时空组学数据分析方法

目前, 不断发展的高通量组学技术提供时间或空间分辨下生物系统的精准分子图谱. 时空维度引入以前, 从基因组、表观基因组和转录组学到蛋白质组学、代谢组学, 使用多组学技术对同一样品进行联合分析, 无论是批量分析还是在单细胞水平上进行联合分析, 为全面地了解组织、器官或整个组织的分子组成提供基础. 而跨空间或时间获取一个或多个分子数据为表征生物系统的动态和上下游相关特性提供重要的机会, 揭示分子时空变化特征, 已被逐渐用于绘制发育动力学和组织异质性图谱[15]. 尽管具有空间或时间分辨率的组学方法为生物医药乃至中医药领域带来新的机会, 但也带来时空建模及上下游分析时需要考虑的复杂性. 例如, 时间和空间坐标通常需要额外的对齐过程, 以实现跨受试者或跨生物的有意义比较等[16].

(1) 时空相关性建模方法. 如果样本的数据是沿着连续的时间或空间坐标系绘制的, 就会产生内在关系和统计依赖结构, 因此在分析中考虑对时空组学数据进行分析前需要对时间或空间结构进行建模, 用于表征不同条件下样本空间或时间位置的依赖性特征差异. 常见的方法包括潜在变量模型、回归模型、图模型、概要统计数据建模等[14]. 潜在变量模型, 该模型描述观测到的测量值(例如, 特征丰度)和隐藏变量(例如, 细胞类型、聚类、低维嵌入)之间的关系, 已用于空间去卷积、条件自回归去卷积或降维回归模型. 回归模型分为参数回归和非参数回归, 其中参数回归适用于由先验知识或生物物理定律推导的参数关系数据, 非参数回归适用于没有参数关系的数据. 图模型可以与概率模型及深度神经网络结合使用, 用图作为辅助信息说明数据的拓扑结构, 概率模型主要采用Markov模型, 深度神经网络主要包括递归神经网络、卷积神经网络和图神经网络. 概要统计数据建模方法特别适用于测试特征丰度的时空变化[14,17].

(2) 跨受试者的时空轨迹比较. 跨受试者的时空轨迹比较重点在于提供不同受试者之间时空数据的整

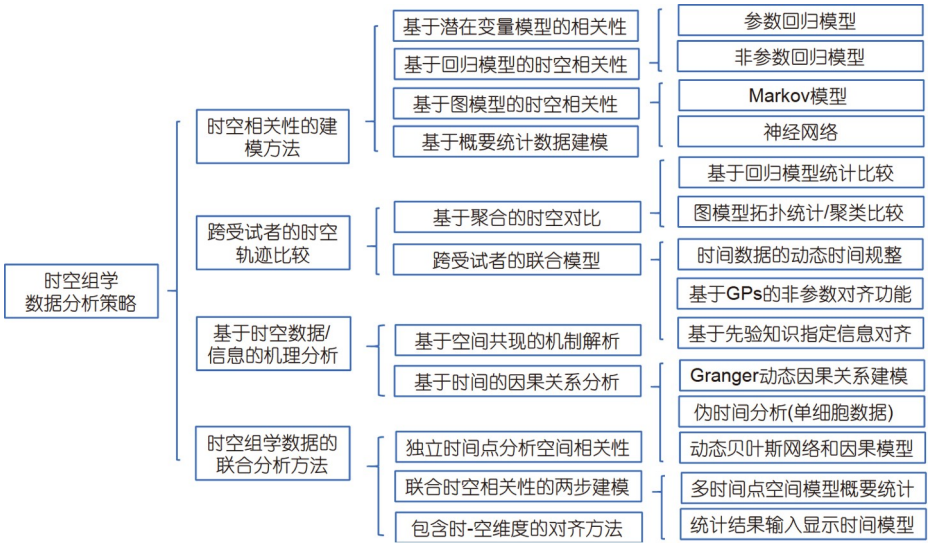


图 2　时空组学的分析策略概述[14~17]

Figure 2　Overview of analysis strategies in spatiotemporal omics[14~17]

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

合和比较[16]. 其中一种方法是聚合比较, 其核心是根据每个受试者的时空数据或受试者模型的概要统计数据, 主要方法包括基于回归模型统计比较和图模型拓扑统计及聚类比较, 这种方法简单但可能会忽略大部分时空信息, 造成假阳性和假阴性结果. 另一种方法是联合建模, 其先决条件是定义时空信息的公共坐标系[14], 常用方法是动态时间规整、非参数对齐、指定对齐等, 公共坐标系的识别及对齐函数的准确性对于联合模型结果的有效性至关重要, 如果时间点或空间位置没有对齐, 轨迹之间的伪差异会被错误地识别为显著变化[17].

(3) 时空数据联合分析. 目前, 大部分时空组学研究都是基于少数时间点的空间相关性研究如建立发育器官的时空图谱等. 通过时空组学数据联合分析得到的结果, 有助于理解分子特征之间的生物学机制和因果关系[17]. 比如采用Granger因果关系、动态贝叶斯网络和动态因果建模识别实时基因或mRNA表达的时间序列以及单细胞组学的伪时间分析, 空间数据(距离、协变量)能用于进一步推导机制互作及因果依赖关系[15]. 时空组学数据的联合分析方法主要是将空间模型应用到各时间点的数据, 导出统计结果输入到显示时间模型中, 其中考虑到时空依赖性和包含时空维度的建模及对齐方法仍需要进一步研究[14], 以精准识别空间可变的基因、连贯的组织区域或空间表达模式.

1.2 空间组学检测技术进展

组学技术根据中心法则选择研究对象的不同衍生出基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学, 用于对应检测DNA, RNA, 蛋白质和代谢物的表达水平(图3). 目前组学技术已经得到广泛应用, 但是, 普通的高通量测序丢失空间位置信息, 不足以阐明中医药对人体的复杂作用原理[18]. 作为时空组学的核心技术之一, 空间组学将组织学技术特点与高通量测序优势相结合, 能够表征空间分辨率水平的可视化信息, 从多维度整合认识和揭示生命的复杂生理活动.

(1) 空间转录组学. 空间转录组学能够测量组织样本中的所有基因活性, 并绘制出发生该活性的位置的演进图, 能明确展示细胞及其在组织样本中的相对位置关系, 有利于更加清晰地了解病理的过程. 目前, 空间转录组学主要依赖于原位杂交、微解剖基因表达(laser capture microdissection, LCM)、原位捕获等技术(图3和图4)[19,20]. 其中, 原位杂交技术使用荧光标记的探针与预定的靶RNA杂交, 定性、定量或相对定位分析, 提供整个组织的定量mRNA成像, 从而可以从细胞层面了解运行原理, 在相当程度上增加可检测区域, 但难以实现单个细胞从信号干扰、细胞堆积等复杂背景中的准确提取[21]. LCM技术通过将组织分解成小片段, 使用高通量技术(如RNA sequencing, RNA-seq)进行分析. 这项技术可以在细胞水平上量化转录组, 能够实现组织结构的精确量化, 以识别组织内多样化的细胞亚群分布, 但是该技术未能达到更高的分辨率, 只能追踪区域位置信息, 同时需要花费大量时间捕捉复杂组织的高通量轮廓[22]. 原位测序技术直接在组织中检测细胞中的基因型, 能够发现局部微环境对基因表达的影响, 是一种稳健的单分子成像方法, 可以在数百个单个细胞中捕获100~10000个不同的RNA物种, 可以在组织内提供单细胞甚至亚细胞分辨率以发现复杂的细胞状态, 但是无法捕获整个转录组图谱[23]. 原位捕获技术, 允许在整个转录组水平上对RNA物种进行无偏测序, 甚至实现在单细胞分辨率下对复杂组织进行空间量化的途径[24], 能够更加便利地应用于分析区域的空间行为, 促进时空分子医学研究中取得重大进展, 但这类技术作为目前主流的方法相对比较昂贵, 难以获得单个细胞的转录组信息. 目前, 空间转录组学已应用于多种肿瘤的研究中, 包括前列腺癌、胰腺导管腺癌、黑色素瘤等病理和机理分析[25,26].

此外, 基于原位捕获技术, 2020年开发的DBiT-seq (deterministic barcoding in tissue for spatial omics sequencing)属于一种新的定量RNA空间配位的方法, 不需要复杂的组织裂解步骤来释放mRNA, 在10 μm左右具有高分辨率, 基于这项技术进一步开发用于组蛋白修饰定量的空间表观基因组学技术, 如H3K27me3, H3K4me3和H3K27ac[17], 试图将表观遗传学研究带入空间时代.

(2) 空间蛋白质组学. 经研究发现, 蛋白质的亚细胞演进定位与健康和疾病中的蛋白质功能密切相关. 目前, 科学界对人类蛋白质组的研究包括单细胞变异、动态的蛋白质易位、改变的相互作用网络和定位于多个隔间的蛋白质. 基于此, 空间蛋白质组学允许在不丢失空间位置的情况下检测数十种蛋白质, 已经广泛用于疾病机制、药理、毒理的研究, 主要依赖于包

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304



图 3　组学的主要分析方法[16~19]
Figure 3　Main analysis methods of omics[16~19]

括质谱分析、蛋白质互作网络分析和定位成像等方法技术[27]. 其中, 基于质谱的方法是捕捉蛋白质空间强度的高度复用技术之一, 例如多重离子束成像(multiple ion beam imaging, MIBI)使用二次离子质谱法对标记的抗体进行成像, 能够分析同一组织的一百个标志物, 可以精确量化免疫细胞亚群及其空间模式. 蛋白质互作网络分析普遍使用基于质谱的、抗体介导的亲和纯化-MS(affinity purification-mass spectrametry, AP-MS)来进行研究, 可应用于变构调节剂和相关新药的发现; 定位成像的空间蛋白质组方法, 可无需裂解细胞或分离细胞器完成自然细胞环境下的蛋白质可视化研究, 用于具有多模式细胞器定位的蛋白质研究, 还可通过捕获单细胞分辨率下的蛋白质空间分布来研究这种可变性, 例如, CODEX技术能够基于与条形码结合的抗体成像来分析单个载玻片的多达50种蛋白质[28,29]. 然而, 上述方法成本相对较高, 取决于抗体的性能, 并且很难将检测量增加到整个蛋白质组, 导致例如发现的功能蛋白等分析结果的可靠性存在潜在偏差. 目前, 空间蛋白质组学应用于研究非遗传细胞异质性、肝巨噬细胞生态位、磷酸传导动力学及肿瘤微环境等方面[27~29].

(3) 空间代谢组学. 传统的代谢组学能够阐析动植物组织或细胞样本匀浆后含有的代谢物整体含量及其变化规律, 难以将时间空间分辨信息引入到差异

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

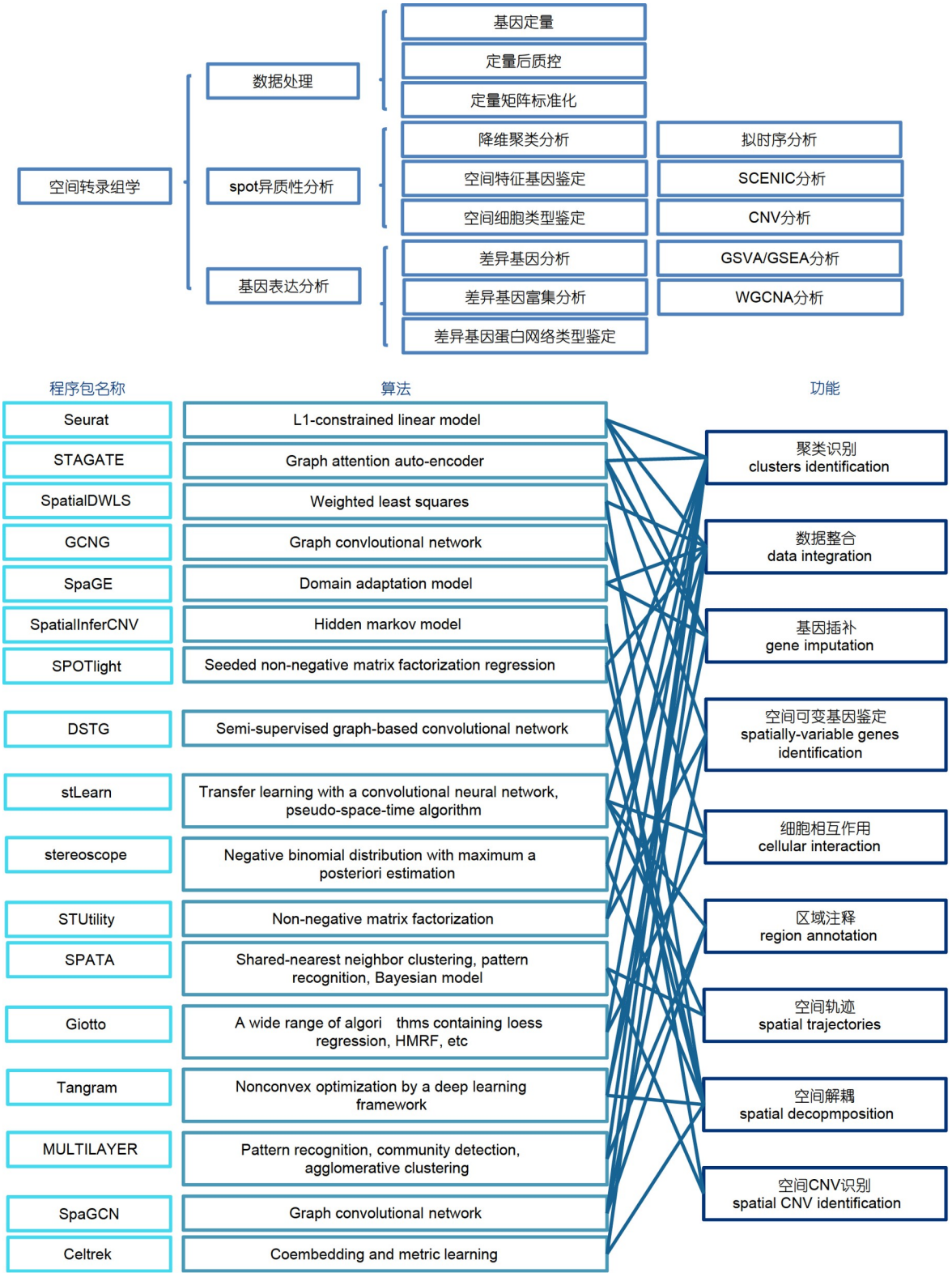


图 4 空间转录组学主要分析方法[17~21]

Figure 4 Main analysis methods of spatial transcriptomics[17~21]

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

代谢物的分析[30,31]. 随着技术的不断发展, 整合质谱成像(mass spectrometryimaging, MSI)出现催生空间代谢组学[32]. MSI无需探针标记、非特异性检测、可一次分析同时获得数百个代谢物分子的原位成像, 能够准确识别并定位多种代谢物在动/植物组织, 甚至细胞间的差异性空间分布[33], 结合传统的代谢组学可对目标微区域组织进行深度分析以获得特异性代谢物种类和含量的特点, 实现空间代谢组学检测, 现阶段主要有三种检测技术. 基质辅助激光解吸电离成像质谱(matrix-assisted laser desorption ionization-imaging mass spectrometry, MALDI-IMS)允许在不丢失空间信息的情况下检测代谢物. 解吸电喷雾电离成像质谱(desorption electrospray ionization-imaging mass spectrometry, DESI-IMS)是另一种在不破坏组织的情况下检测空间代谢物的方法. 空气动力辅助解吸电喷雾电离成像质谱(air flow-assisted desorption electrospray ionization-imaging mass spectrometry, AFADESI-IMS)进一步提高多重分析能力, 可以覆盖1500种代谢物. 目前, 空间代谢组学已应用于多种肿瘤的研究中, 包括乳腺癌、食管鳞状细胞癌等病理和机理分析[34~37].

1.3　涉及的大数据与人工智能方法概述

大数据时代改变基于概率论和数理统计的传统数据科学, 促进新的数据分析方法的创新. 同时, 人工智能是当前大数据处理和分析方法的研究前沿[38]. 近年来, 大数据与人工智能在生命科学领域的运用发展迅速, 对于组学分析的研究具有重大帮助, 通过整合分析多重组学数据和临床资料, 构建健康与疾病的知识网络, 带动生命科学领域的重大变革[39,40]. 人工智能作为计算机科学的一个分支, 是研究和开发用于模拟、延伸和扩展人的智能的理论、方法、技术及应用的科学[41], 包括机器学习和深度学习. 机器学习涵盖深度学习, 常用算法包括随机森林、贝叶斯算法、logistic 回归、支持向量机、主成分分析、决策树、K均值聚类等. 深度学习含有较多个隐藏处理层, 主要的典型模型包括卷积神经网络模型、深度信任网络模型、堆栈自编码网络模型等[42](图5). 大数据与人工智能可利用其超高速运算的优势从大量数据中快速辨别和精准提取有效信息.

大数据与人工智能方法与组学分析的结合是时空组学技术的基础. 数据分析部分主要涉及到的方法包括: 降维(LSI, PCA, tSNE, UMAP, TSNE等算法)、聚类(K-means, graph-based, louvain等算法)、数据归一化标准化(SCT算法)、非监督聚类(Markvariogram算法)、多模式交叉分析、相关性分析、反卷积(SPOTlight)、有监督学习(RCTD, spotlight算法)、神经网络模型、空间形态学降维聚类(stSME)、空间收缩质心聚类(计算像素点所有对应的近邻距离基础上做K-means聚类)、伪时空轨迹推断算法(CCI, PST)、空间近邻分析、富集分析、线性回归(Pearson)、判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)等[43~49], 下面对相对复杂的几种方法展开详细介绍.

(1) 随机森林. 随机森林(random forests)是一个包含多个决策树的分类器, 其输出的类别是由个别树输出的类别的众数而定. 决策树集合的建造结合随机子空间方法“random subspace method”和数据分类方法“Bootstrap aggregating”, 其根据不同特征对样本进行分类, 学习速度快, 准确性高, 目前主要用于血清代谢标志物的发现、癌症分级等研究中[44,45], 能精准靶向特定表达因子, 对于疾病的筛查与防治具有重要意义.

(2) XBoost模型. XGBoost决策规则与决策树相同, 支持回归和分类, 属于一种采用树结构设计的回归树, 与传统的梯度提升决策树(gradient boosting decision tree, GBDT)相比, 优化计算速度, 并且在目标函数上加入惩罚项大大增强模型的泛化能力, 已广泛应用于分子诊断、建模等数据挖掘领域[46], 对于样本的评估与预测具有较高的灵敏度、精确度和召回率.

(3) 神经网络模型. 神经网络模型是以一个由网络拓扑节点特点和学习规则来表示的仿照人脑功能的数学模型为基础来描述的, 反映人脑功能的许多基本特征, 是一个高度复杂的非线性动力学习系统, 已广泛应用于差异代谢物识别、组学特征建模等数据挖掘领域[47], 结合随机森林回归等模型, 能够显著提升疾病发生发展预测与鉴别的准确率.

(4) AlphaFold2. AlphaFold2是由名为DeepMind的人工智能实验室采用多种深度学习技术, 开发出的一款人工智能软件, 能根据蛋白质的氨基酸序列准确预测其三维结构, 可以预测蛋白质的形状, 甚至精确到原子[48], 能够用于辅助蛋白质的结构预测.

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

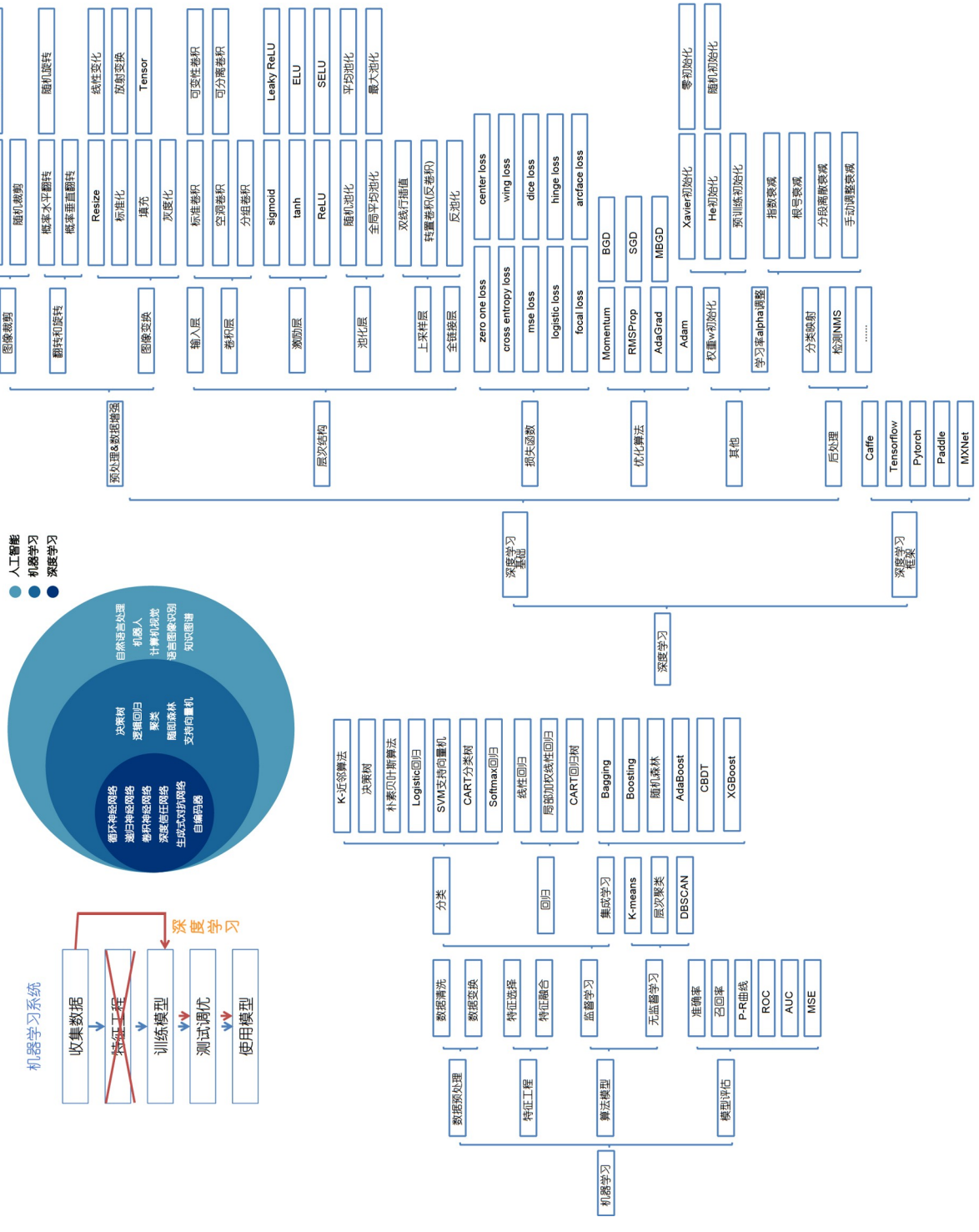


图 5 人工智能分类[44–49]

Figure 5 Classification of artificial intelligence[44–49]

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

2　中医药生命全景时空图谱研究

历经二十年研究实践，我们团队创建中医药循证研究“四证”方法学体系，建立支持向量数据描述-药症相关网络方法及适合中药安全评价的动物模型，阐明中医临床毒效机制多层次交互整合的特点[50]．在此基础上，团队进一步吸收新理念新方法，提出中医药生命全景时空图谱研究的思路框架和目标规划，旨在借助时空组学的方法技术，从四维水平识别中医药的主要效应特征，全面揭示中医药防病治病理论的科学内涵，为符合中医药特点的机制全面诠释和优势精准呈现提供方法学指导.

2.1　主要研究思路

针对中医药机理及临床人体应用环境的复杂性和模糊性，中医药生命全景时空图谱研究以多层次时空组学为关键技术，基于连续检测组织水平的差异基因/蛋白质/代谢物，建立中医药防治疾病的时空演进谱，从时空网络调控规律角度，揭示其干预机理和特异性标志物. 具体地，首先制备临床疾病动物模型，收集病灶组织，采用空间转录/蛋白质/代谢物学采集空间表达轮廓分析空间细胞亚群变化，重点对比模型组和中医药干预组的指标差异，建立空间表达谱；进一步连续收集中医药干预后不同时间点的病灶组织，靶向分析差异指标的时空变化，分析主要影响的生物学靶点和信号通路，建立时空演进谱；最后，时空整合分析及整体、器官、细胞和分子水平的生物学验证，依据各项检测指标的贡献度综合评判，指认关键因子和代谢物作为特异性标志物，揭示中医药防病治病的时空机理(图6).

2.2　研究思路的创新性

单一组学分析方法可以提供组间差异的生物学过程信息，但是针对中药复方这类复杂性研究对象，多成分多靶点的作用特点决定其研究应当选择多维度、层次化、系统性的技术方法．时空组学采用高效特异的分子原位表达分析方法，能在揭示细胞间的相互作用以及细胞所处的微环境的同时，直接从生物样品中获得大量内源性产物的时间空间分布信息．因此，中医药生命全景时空图谱研究借鉴中医转化医学思想，在模拟中医临床环境的疾病动物模型的基础上，引入时空组学的研究理念和方法技术，结合数据挖掘、多层统计和多元分析方法，整合不同层面的生物网络调控信息，来研究“系统-系统”的相互作用，局部与整体结合，时间与空间兼顾，深层次理解时空信息之间的调控及因果关系，整体动态关联表征中医药防病治病的科学内涵，突破单一方法的局限性，体现中医药的整体观和系统观.

2.3　时空组学与中医药研究的适用性

中医药辨证论治的理论体系本质上就是对疾病的发生、发展、诊断和治疗的探寻及经验总结，其反映的是中药药效、人体自身及对疾病和药物反应的内在规律，中医药理论指导临床组方遣药，涉及到的多成分-多靶点-多途径具有复杂性，局限传统的研究方法及策略对中医药防治潜力的全面表征，严重阻碍中医药现代化进程. 时空组学技术是近年来发展迅猛的新兴技术，通过捕获组织中的mRNA、蛋白质和代谢物，还原空间位置进行原位测序，结合信息科学的分析方法，对人、不同动物及植物的各部位组织器官进行检测，实现在时间和空间维度对细胞基因、蛋白质、代谢物表达及形态与局部环境间关系的系统、全面、深度研究和解析[51]，基于其高分辨率和高灵敏度，可以对细胞和组织的异质性进行很好的描述，为系统分析特定位置的细胞状态、推断细胞间通讯以及确定生物体中重要的表型和功能提供支持. 揭示细胞在空间环境中的细胞异质性以及组织结构的功能和结构基础是生物学研究和药理学的基础[52]，时空组学技术能够精准描述组织异质性，有助于深入挖掘中医证候、病证发生发展中结构和功能的改变和特征. 同时，空间转录组学研究已经积累高度多重化和多模态的数据，将为中医药相关方向的研究提供基本、全面的基础和借鉴. 此外，通过结合质谱成像、同位素代谢通量组学、生物合成化学、数据学等前沿技术，时空组学技术大大提高功能组学方法的联合分析能力，能够对生物细胞中的生物活性分子间的相互作用的关系以及外源化学物与生物活性分子的时空特性进行描述以及更好地阐明[53]，将大大提高中医药作用机制研究结果的准确性和可靠性，推进中药功能化合物的发现，实现对中医药内涵规律更为客观、精准的表征.

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

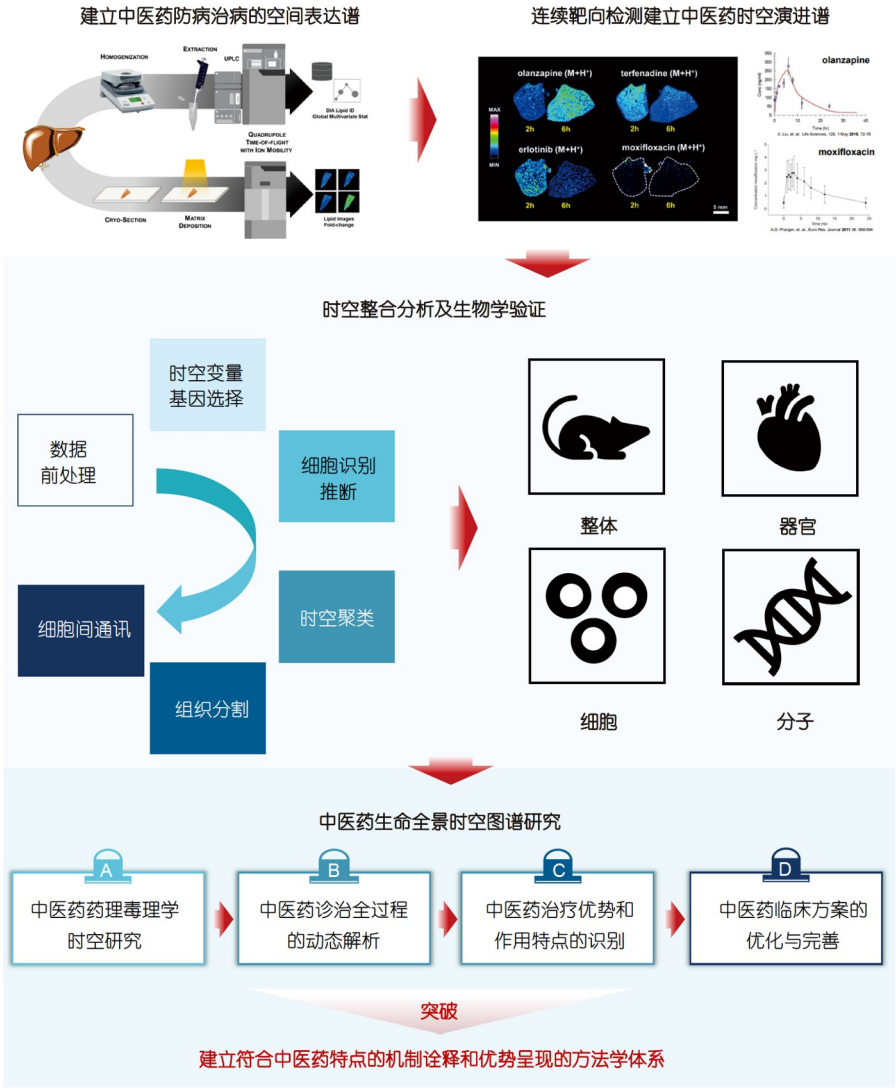


图 6 中医药生命全景时空图谱研究思路框架示意图

Figure 6 Schematic diagram of the research framework for the panoramic spatiotemporal atlas of life for traditional Chinese medicine

2.4 研究路径实例

这部分以临床常用参附药对为研究对象, 借助时空代谢组学对比解析减毒配伍特异性指标, 揭示附子人参配伍的减毒内涵, 为中医药生命全景时空图谱研究提供具体实例.

(1) 建立减毒配伍心脏空间表达谱. 单次腹腔注射大剂量阿霉素(15 mg/kg)制备心力衰竭小鼠模型, 7天后收集各组心脏样本, 对比附子单味药和参附药对的代谢指标空间差异. OTC包埋制备冰冻切片, 厚度设定为15 μm, 采用DESI及SYNAPT HDMS G2-Si系统扫描样本, 根据切片截面确定扫描区域的长度(X)、宽度(Y)和轮廓, 质量范围设定为80至1000 m/z, 采集心脏组织空间代谢轮廓, 采用MarkerLynx, MetaboAlalyst 3.0, SIMCA-P 13.0等软件进行数据标准化、数据归一化和数据矩阵分析、多变量数据分析、空间聚类. 采用METLIN数据库初步鉴定显著差异变量, 建立特异性空间代谢谱, 结合HE染色结果分析病灶区域的差异代谢物比例变化.

(2) 建立减毒配伍时空演进谱. 基于大剂量阿霉

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

素致心力衰竭小鼠模型，连续收集附子单味药和参附药对组给药后3, 6, 12, 48, 72, 168小时的心脏组织, 样本处理和检测条件同上，采集心脏组织空间代谢轮廓, 靶向分析给药后不同时间的心脏局部差异代谢物变化, 建立时空演进谱, 分析减毒配伍主要影响的生物学靶点和信号通路.

(3) 揭示减毒配伍机理及标志物. 基于已建立的时空演进谱整合分析，通过数据前处理、时空变量基因选择、识别推断、时空聚类、组织分割、细胞间通讯等步骤，结合分子毒理学技术方法，在整体疾病动物、器官、细胞和分子水平进行生物学验证. (i) 整体疾病动物水平: 检测整体动物心电、心率、血压、动脉或静脉内血液流速和流量等血流动力学指标; 通过心脏生物标志物和组织病理学检查，从生理功能和形态学两方面，进行特征性验证. (ii) 器官水平: 基于langendorff离体灌流心脏模型，利用矩阵式多通道标测系统, 监测多种电传导信息, 其中包括: 动作电位起搏点、传导方向、传导速度、传导模式、电传导离散度、复极离散度、QT间期及离散度; 利用荧光标测系统, 观测心脏组织中电压或者各种离子浓度的变化, 从电活动、钙离子活动等方面验证. (iii) 细胞和分子水平: 在稳转心脏相关离子通道的细胞系模型上, 利用膜片钳技术，在细胞水平进一步检测受试物对离子通道的影响，从免疫细胞毒性及心脏损伤标志物等方面验证. 依据各项检测指标在心脏毒性评价中的贡献度综合评判，指认关键代谢物作为减毒配伍标志物，指导饮片质量炮制规范制定和临床应用.

3　结语与展望

时空组学是基于成像系统的多时间点组学分析技术，通过对生物组织连续鉴定特征区域或特征细胞类型后，对分子组成进行四维鉴定和演进标志物发现的一类系统生物学方法[2]. 目前, 时空组学作为新时代的生命全景图“显微镜”，其研究主要集中在转录组、蛋白质组和代谢组，为重新认知器官结构、生命发育、物种演化和定义人类疾病提供四维底层工具，将推动继显微镜和DNA测序技术以来的生命科学领域第三次科技革命. 在整体观念和辨证论治的指导下, 中医药对疾病的干预(预防和治疗)表现为药物系统-人体系统之间的动态相互作用[54]. 相应的，时空组学通过实时记录细胞类型和细胞状态的组织差异及互作反应，高效全面地研究功能和结构的时空现象，定性定量捕获并研究标志物、功能化合物和机体状态的生理病理变化的关系，能够实现从四维层面对中医药系统作用特点的立体阐述，基于生物系统网络内源性变化的评价监测结合药物毒理药理知识，进一步优化完善临床证候辨证论治方案，同时辅助中药质量控制、药效机制以及药物配伍等临床问题的解决[55,56]，助推中医药现代化发展. 未来的中医药学原理研究，将进一步引入大数据和人工智能等新方法技术，围绕中药大品种上市后再评价，开发新的多维数据采集处理方法和分析方案，整合组学多维度信息资源，保障多元信息流动的质量路径，构建多维度中医药信息数据库及个体化早期预警系统，推动符合中医药特点的机制研究体系智慧建设.

综上，本文总结时空组学的技术进步及计算策略, 在此基础上探索提出中医药生命全景时空图谱研究思路，以期为中医药诊疗标志物发现、临床方案设计和风险精准预警提供依据，助力中医药学理论与实践的发展创新.

参考文献

1 Wang Y Y. The formation and proposal of integrated medical concepts (in Chinese). J Beijing Univ Chin Med, 2016, 39: 533–535 [王永炎. 整合医学理念的形成与提出. 北京中医药大学学报, 2016, 39: 533–535]

2 Qin W, Myers S A, Carey D K, et al. Spatiotemporally-resolved mapping of RNA binding proteins via functional proximity labeling reveals a mitochondrial mRNA anchor promoting stress recovery. Nat Commun, 2021, 12: 4980–4997

3 Liu C X, Zhang T J. Innovative research and development ideas of traditional Chinese medicine based on correlation of “substance-pharmacokinetics-effects” (in Chinese). Chin Tradit Herbal Drugs, 2022, 53: 1–7 [刘昌孝, 张铁军. 基于“物质-药代-功效”关联的中药创新研发思路. 中草药, 2022, 53: 1–7]

4 Ye J, Li R W, Zeng H W, et al. Discovery and research advances in quality markers of Chinese materia medica based on holistic characteristics (in

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

Chinese). Chin Tradit Herbal Drugs, 2019, 50: 4529–4537 [叶霁, 李睿旻, 曾华武, 等. 基于整体观中药质量标志物的发现及研究进展. 中草药, 2019, 50: 4529–4537]
5 Xu H, Zhang Y, Wang P, et al. A comprehensive review of integrative pharmacology-based investigation: a paradigm shift in traditional Chinese medicine. Acta Pharmaceutica Sin B, 2021, 11: 1379–1399
6 Li S, Z P, G J, et al. Principle, method and application of relationship inference based on biological networks (in Chinese). Sci China Inf Sci, 2022, 52: 856–869 [李梢, 张鹏, 古槿, 等. 基于生物网络的关系推断原理、方法与应用. 中国科学:信息科学, 2022, 52: 856–869]
7 Gao Y, Li C, Liang A H, et al. Compatibility for toxicity attenuation of toxic traditional Chinese medicine: a review and strategies (in Chinese). Chin J Chin Mater Med, 2022, 47: 1989–1994 [高月, 李川, 梁爱华, 等. 常用“有毒”中药减毒配伍研究进展及策略. 中国中药杂志, 2022, 47: 1989–1994]
8 Zhang D, Lv J T, Zhang B, et al. Construction and application of four-dimensional and chained research platform for pharmacovigilance of traditional Chinese medicine (in Chinese). Chin J Pharma, 2021, 18: 416–421 [张丹, 吕锦涛, 张冰, 等. 中药药物警戒“四维联动”研究平台的构建与应用. 中国药物警戒, 2021, 18: 416–421]
9 Xiao X H, Guo Y M, Wang J B, et al. Scientific evaluation and risk prevention of herb induced liver injury: a case study of Polygonum Multiflorum (in Chinese). Chin J Integra Tradit West Med Liv Dis, 2021, 31: 193–196 [肖小河, 郭玉明, 王伽伯, 等. 中草药相关肝损伤的科学评价与防控——以何首乌为例. 中西医结合肝病杂志, 2021, 31: 193–196]
10 Lyu M, Fan G, Xiao G, et al. Traditional Chinese medicine in COVID-19. Acta Pharmaceutica Sin B, 2021, 11: 3337–3363
11 Liu C, Li R, Li Y, et al. Spatiotemporal mapping of gene expression landscapes and developmental trajectories during zebrafish embryogenesis. Dev Cell, 2022, 57: 1284–1298.e5
12 Li X L. 2022-05-30. The world’s first batch of spatiotemporal maps of life: drawing a panoramic map of life (in Chinese). Econ Inform Dail [李晓玲. 2022-05-30. 全球首批生命时空图谱: 绘制生命全景地图. 经济参考报]
13 Tian H, Sparvero L J, Anthonymuthu T S, et al. Successive high-resolution $(H_2O)_n$-GCIB and C_{60}-SIMS imaging integrates multi-omics in different cell types in breast cancer tissue. Anal Chem, 2021, 93: 8143–8151
14 Velten B, Stegle O. Principles and challenges of modeling temporal and spatial omics data. Nat Methods, 2023, 20: 1462–1474
15 Du J, Yang Y C, An Z J, et al. Advances in spatial transcriptomics and related data analysis strategies. J Transl Med, 2023, 21: 330–352
16 Pade L R, Stepler K E, Portero E P, et al. Biological mass spectrometry enables spatiotemporal ‘omics: from tissues to cells to organelles. Mass Spectrom Rev, 2024, 43: 106–138
17 Wu Y, Cheng Y, Wang X, et al. Spatial omics: navigating to the golden era of cancer research. Clin Transl Med, 2022, 12: 696–711
18 Hsi-Yang Fritz M, Leinonen R, Cochrane G, et al. Efficient storage of high throughput DNA sequencing data using reference-based compression. Genome Res, 2011, 21: 734–740
19 Liao J, Lu X, Shao X, et al. Uncovering an organ’s molecular architecture at single-cell resolution by spatially resolved transcriptomics. Trends Biotechnol, 2021, 39: 43–58
20 Vickovic S, Eraslan G, Salmén F, et al. High-definition spatial transcriptomics for *in situ* tissue profiling. Nat Methods, 2019, 16: 987–990
21 Zormpas E, Queen R, Comber A, et al. Mapping the transcriptome: realizing the full potential of spatial data analysis. Cell, 2023, 186: 5677–5689
22 Marx V. Method of the year: spatially resolved transcriptomics. Nat Methods, 2021, 18: 9–14
23 Maynard K R, Collado-Torres L, Weber L M, et al. Transcriptome-scale spatial gene expression in the human dorsolateral prefrontal cortex. Nat Neurosci, 2021, 24: 425–436
24 Wang N, Li X, Wang R, et al. Spatial transcriptomics and proteomics technologies for deconvoluting the tumor microenvironment. Biotechnol J, 2021, 16: 2100041–2100063
25 Vickovic S, Lötstedt B, Klughammer J, et al. SM-Omics is an automated platform for high-throughput spatial multi-omics. Nat Commun, 2022, 13: 795–810
26 Ji A L, Rubin A J, Thrane K, et al. Multimodal analysis of composition and spatial architecture in human squamous cell carcinoma. Cell, 2020, 182: 497–514.e22
27 Lundberg E, Borner G H H. Spatial proteomics: a powerful discovery tool for cell biology. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20: 285–302
28 Martinez-Val A, Bekker-Jensen D B, Steigerwald S, et al. Spatial-proteomics reveals phospho-signaling dynamics at subcellular resolution. Nat Commun, 2021, 12: 7113–7126
29 Guilliams M, Bonnardel J, Haest B, et al. Spatial proteogenomics reveals distinct and evolutionarily conserved hepatic macrophage niches. Cell,

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

2022, 185: 379–396.e38
30 Ma C Y, Sheng N, Li Y Y, et al. Advances in mass spectrometric-based technologies and strategies for the analysis of traditional Chinese medicine (in Chinese). J Chin Mass Spectro Soc, 2021, 42: 709–717 [马聪玉, 生宁, 李元元, 等. 中药成分质谱分析新技术和新策略进展. 质谱学报, 2021, 42: 709–717]
31 Wang S Y, Zhao X Y, Xu W W, et al. Advances in cell metabolomics based on mass spectrometry (in Chinese). Chin J Cell Biol, 2017, 39: 1130–1134 [汪思媛, 赵星阳, 徐玮蔚, 等. 基于质谱技术的细胞代谢组学研究进展. 中国细胞生物学学报, 2017, 39: 1130–1134]
32 Wang X, Tang D E, Cai W X, et al. Research process in spatially resolved metabolomics (in Chinese). J Clinic Engineer, 2021, 28: 36–40 [王希, 汤冬娥, 蔡晚霞, 等. 空间代谢组学研究进展. 临床医学工程, 2021, 28: 36–40]
33 Sun C, Li T, Song X, et al. Spatially resolved metabolomics to discover tumor-associated metabolic alterations. Proc Natl Acad Sci USA, 2019, 116: 52–57
34 Ma X, Fernández F M. Advances in mass spectrometry imaging for spatial cancer metabolomics. Mass Spectrom Rev, 2024, 43: 235–268
35 Challen B, Cramer R. Advances in ionisation techniques for mass spectrometry-based omics research. Proteomics, 2022, 22: 2100394–2100408
36 Huo M, Wang Z, Fu W, et al. Spatially resolved metabolomics based on air-flow-assisted desorption electrospray ionization-mass spectrometry imaging reveals region-specific metabolic alterations in diabetic encephalopathy. J Proteome Res, 2021, 20: 3567–3579
37 Wang Z, Fu W, Huo M, et al. Spatial-resolved metabolomics reveals tissue-specific metabolic reprogramming in diabetic nephropathy by using mass spectrometry imaging. Acta Pharm Sin B, 2021, 11: 3665–3677
38 Koppe G, Meyer-Lindenberg A, Durstewitz D. Deep learning for small and big data in psychiatry. Neuropsychopharmacol, 2021, 46: 176–190
39 Mahmud M, Kaiser M S, McGinnity T M, et al. Deep learning in mining biological data. Cogn Comput, 2021, 13: 1–33
40 MacEachern S J, Forkert N D. Machine learning for precision medicine. Genome, 2021, 64: 416–425
41 Guo H Y, Liu P, Lu R G. Frontiers of reproductive health research (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 482–506 [郭华源, 刘盼, 卢若谷, 等. 人工智能大模型医学应用研究. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 482–506]
42 Miotto R, Wang F, Wang S, et al. Deep learning for healthcare: review, opportunities and challenges. Brief BioInf, 2018, 19: 1236–1246
43 Zhang Z, Zhao Y, Liao X, et al. Deep learning in omics: a survey and guideline. Brief Funct Genomics, 2019, 18: 41–57
44 Huang S, Guo Y, Li Z W, et al. Identification and validation of plasma metabolomic signatures in precancerous gastric lesions that progress to cancer. JAMA Netw Open, 2021, 4: e2114186
45 Min S, Lee B, Yoon S. Deep learning in bioinformatics. Brief Bioinform, 2017, 18: 851
46 Santorsola M, Lescai F. The promise of explainable deep learning for omics data analysis: adding new discovery tools to AI. New Biotechnol, 2023, 77: 1–11
47 Kouznetsova V L, Li J, Romm E, et al. Finding distinctions between oral cancer and periodontitis using saliva metabolites and machine learning. Oral Dis, 2020, 27: 484–493
48 Zhao J, Feng Q, Wei W Q. Integration of omics and phenotypic data for precision medicine. Methods Mol Biol, 2022, 2486: 19–35
49 Lei X J, Pan Y. The Application of Artificial Intelligence in Bioinformatics (in Chinese). Beijing: Science Press, 2023, 10 [雷秀娟, 潘毅. 人工智能在生物信息学中的应用. 北京: 科学出版社, 2023, 10]
50 Two achievements in traditional Chinese medicine won the second prize of the 2020 National Science and Technology Progress Award (in Chinese). J Tradit Chin Med, 2021, 62: 2054–2054 [两项中医药成果获2020年度国家科学技术进步奖二等奖. 中医杂志, 2021, 62: 2054–2054]
51 Asp M, Bergenstråhle J, Lundeberg J. Spatially resolved transcriptomes—next generation tools for tissue exploration. BioEssays, 2020, 42: 1900221–1900241
52 Xu J, Guo P, Hao S, et al. A spatiotemporal atlas of mouse liver homeostasis and regeneration. Nat Genet, 2024, doi: 10.1038/s41588-024-01709-7
53 Wang T, Liu J, Luo X, et al. Functional metabolomics innovates therapeutic discovery of traditional Chinese medicine derived functional compounds. Pharmacol Ther, 2021, 224: 107824–107842
54 Zhai S Q. Inheritance and innovation of traditional Chinese medicine (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2016, 46: 1033–1037 [翟双庆. 谈中医的传承与创新. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 1033-1037]
55 Cui Z, Liu Y, Yuan J, et al. The Chinese mitten crab genome provides insights into adaptive plasticity and developmental regulation. Nat Commun, 2021, 12: 2395–2409

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304

56 Li Z Y, Tang S H, Yang B, et al. Formation and development of “Xiang thinking” in traditional Chinese medicine (in Chinese). Chin J Chin Mater Med, 2022, 47: 5991–5996 [李志勇, 唐仕欢, 杨滨, 等. 论中医象思维的形成与发展. 中国中药杂志, 2022, 47: 5991–5996]

Accurate determination of the meaning and implications of traditional Chinese medicine using panoramic spatiotemporal life atlas

CUI HeRong[1,2], JIANG Yin[3], Wang YiTing[2], SUN Yang[1], Tang ChuWei[2], ZHENG JiaXin[2], XU Sha[2], Dai YaNan[2], LI LiWen[2], LIN HongYuan[4], JIN YingHui[5] & SHANG HongCai[1,4]

1 Key Laboratory of Chinese Internal Medicine of Ministry of Education and Beijing, Beijing University of Chinese Medicine, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine,Beijing 100700, China;
2 School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;
3 Institute of Basic Research in Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences,Beijing 100700, China;
4 College of Integrated Chinese and Western Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
5 Center for Evidence-Based and Translational Medicine, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Several areas in the modernization and internationalization of traditional Chinese medicine need to be urgently explored. There is a need for a modern scientific interpretation of the principles and application of traditional Chinese medicine to create a high-quality and efficient medical service system. A comprehensive interpretation of the mechanisms that conform to the characteristics of traditional Chinese medicine and the precise presentation of its advantages are also urgent problems that require solutions. The panoramic spatiotemporal map of life refers to the use of spatiotemporal omics as the core technology to construct a panoramic molecular map of life at cellular and subcellular resolutions. This integrates time and spatial dimensions to explain cell function, life complexity, and human diseases. Recently, the proposal and development of the spatiotemporal omics technology system, known as the “ultrahigh-resolution panoramic camera of life, ” has also provided new research methods and model strategies that can be used to explain and clarify the efficacy of traditional Chinese medicine. By focusing on both spatial distribution and temporal evolution of lesion tissues before and after treatment and analyzing normal molecular cells, intercellular interactions, and microenvironment distributions, it is possible to track how these factors change during the disease course as well as different stages of disease development. Consequently, the characteristics of interventions and the diagnostic and therapeutic biological connotations of complex research objects such as traditional Chinese medicine can be comprehensively, accurately, and efficiently elucidated. Using this principle, this article summarized the progress in spatiotemporal omics technology and proposed a framework and practical path for studying the panoramic spatiotemporal map of traditional Chinese medicine. This study aimed to reveal the spatiotemporal diagnosis and treatment mechanism of traditional Chinese medicine in disease prevention and treatment from a four-dimensional perspective. For future research on the principles of traditional Chinese medicine, special attention should be paid to the integration of technologies, specifically cutting-edge information technology. The vigorous development in the field of life science allows the optimization and improvements of methodologies and indicator systems in key areas. This further allows the analysis of scientific principles of the clinical effectiveness and safety of traditional Chinese medicine. Targeted efforts should be made to promote the legacy, innovation, and development of traditional Chinese medicine.

traditional Chinese medicine, precision medicine, spatiotemporal omics, life panoramic atlas

doi: 10.1360/SSV-2023-0304

https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2023-0304