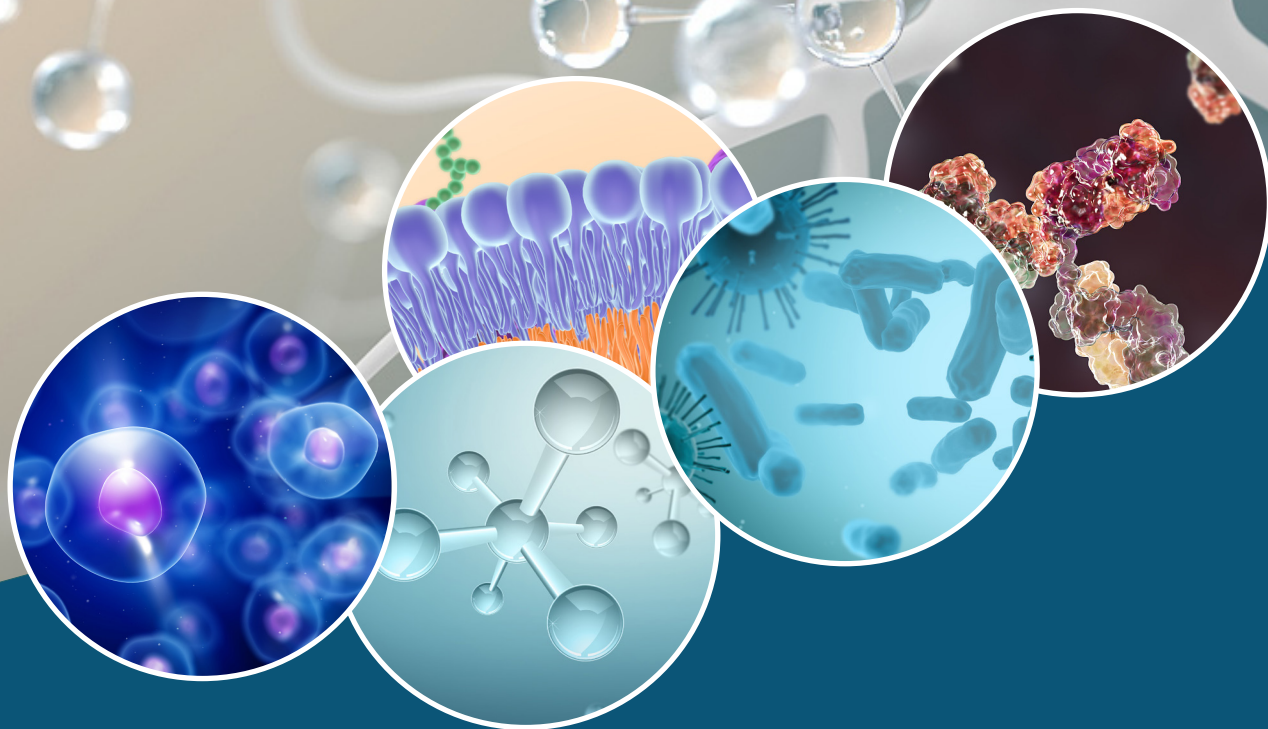


代谢组学行业领跑者



# 诺米代谢 临床代谢组学文献精粹

Archives of Clinical Metabolomics

# 前言

---

## PREFACE

代谢组学是效仿基因组学和蛋白质组学的研究思想，对生物体内所有代谢物进行定性、定量分析，主要研究对象是相对分子质量小于 1000 的内源性小分子物质，并寻找代谢物与生理病理变化的相对关系的研究方式，是系统生物学的组成部分。

近年来，代谢组学的研究飞速发展，Devaux 等人于上世纪 70 年代第一次提出代谢轮廓分析；90 年代后期，随着基因组学的提出，Oliver 于 1997 年提出代谢组学的概念，而真正系统性的概念是在 1999 年由 Nicholson 等人提出，随后代谢组学被广泛应用于诊断疾病、药物筛选等领域。目前代谢组学研究已经渗透到生命科学各领域，同时促进了生命科学与生物信息学的紧密结合。

代谢组学是针对疾病和健康两种状态进行代谢物全谱检测，寻找与疾病相关的一组差异物，从它们所在的被上调或下调的代谢通路上找到关键的代谢酶，研究其上游的调控基因。质谱技术已经成为代谢组学研究的主要技术。自 1999 年以来，每年发表的代谢组学研究的文章数量都在不断增加。近年来发表的文章让人们人们对代谢组学充满了期待：寻找一种新的生物标记物，发现一条新的代谢途径，或更深入的了解目前已知的这些途径。

临床代谢组学是代谢组学最重要的拓展方向之一，也是代谢组学重要的应用领域。目前，临床代谢组学的主要内容是以系统生物学的思路构建代谢组学技术与临床实验诊断治疗技术相结合的全新技术平台，在疾病的预防、早期诊断和治疗等方面推进基础医学与临床医学的结合，以期在人类重要疾病的防治方面取得重大突破。本方案列举了代谢组学在临床常见疾病中的研究方案，以满足与临床研究密切相关的科学工作者的需要。

# 目录

## CONTENTS

### 肿瘤代谢组学

肝癌代谢组学研究思路 / 01

胰腺癌代谢组学研究思路 / 03

### 肝肾疾病代谢组学

肾病代谢组学研究思路 / 05

脂肪性肝病代谢组学研究思路 / 07

### 心血管疾病代谢组学

心血管疾病代谢组学研究思路 / 09

动脉粥样硬化代谢组学研究思路 / 11

### 内分泌系统疾病代谢组学

糖尿病代谢组学研究思路 / 13

甲亢代谢组学研究思路 / 15

### 神经系统疾病代谢组学

抗抑郁症代谢组学研究思路 / 17

精神分裂症代谢组学研究思路 / 19

### 营养代谢病代谢组学

肥胖代谢组学研究思路 / 21

冠心病代谢组学研究思路 / 23

### 中医代谢组学

中医糖尿病代谢组学研究思路 / 25

中医高尿酸血症代谢组学研究思路 / 27

# 肝癌代谢组学研究思路

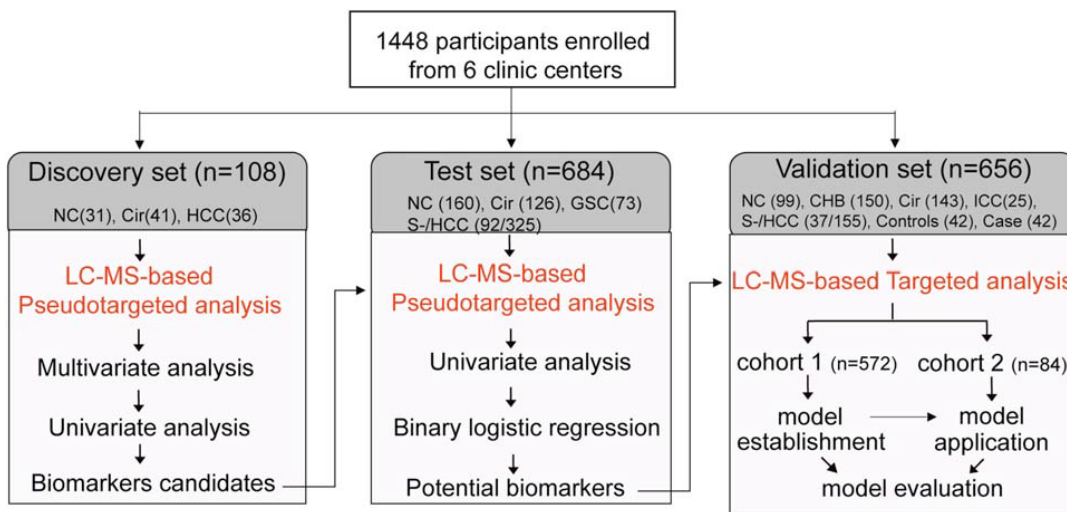
Title: A Large-Scale, Multicenter Serum Metabolite Biomarker Identification Study for the Early Detection of Hepatocellular Carcinoma

Hepatology 2018 IF: 14.97

## 研究内容简介

HCC（肝细胞癌）是全球较致命的恶性肿瘤之一，全球约有 50% 的新病例和死亡相关的肝癌发生在中国。目前 HCC 在危险人群中的早期诊断仍然具有挑战性，所以发现新型标志物是一个迫切的需求。该实验通过纳入 1448 名受试者，采用 LC-MS 分析技术，进行拟靶向和靶向代谢组学检测，鉴定并验证到了一组新型的肝癌组合代谢标志物：甘氨酸胆酸、苯丙酰色氨酸。

## 研究思路



## 结果展示

### 训练集筛选差异代谢物

结合多变量统计分析和单变量统计分析，筛选到 17 个候选 biomarker。

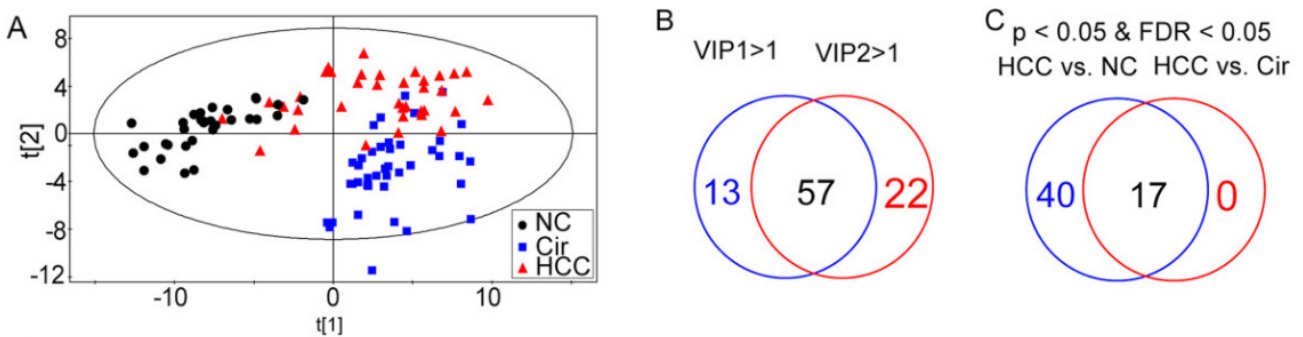


图 1. (A) 训练集的 total PCA

(B) 多元变量统计结果

(C) 单变量统计结果



## 筛选验证潜在 biomarker

考察这 17 个差异代谢物在测试集 HCC VS NC, HCC VS Cir, S-HCC VS NC 和 S-HCC VS Cir 这四组对比中有显著差异, 并且上下调趋势是否与训练集一致, 从而在 17 个代谢物中筛选到了 8 个差异化合物。最后再结合二元 logistic 回归分析, 筛选到一组标志物组合: Phe-Trp, GCA。在训练集和测试集中分别计算该标志物组区分肝细胞癌和肝硬化的 ROC, AUC 值分别达到 0.93 和 0.892, 远远高于 AFP 的诊断能力。验证集数据也与训练集测试集的结果类似, 相比 AFP, 该代谢物组表现出了较高的诊断能力。

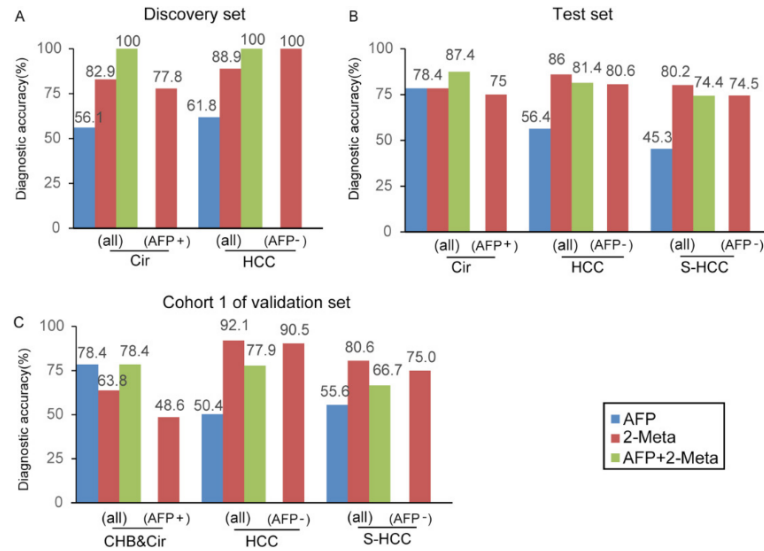


图 2. 血清代谢物组 (2-Meta), AFP 和两者联合在临床诊断前预测 HCC 的表现

## 巢式队列研究

验证队列 2 收录了 84 个样本, 进一步评估代谢物组。标志物组的敏感度能达到 80%-70.3%, 并且从 3 年前到 1 年前的数据可以看到, 它对临床前 HCC 的诊断的敏感性是持上升趋势的。而与 AFP 结合使用的话, 能够大幅度提升它的诊断特异性。

## 关联分析

关联分析的结果可以看出, 几种胆汁酸水平与天冬氨酸氨基转移酶、丙氨酸氨基转移酶、总胆红素、直接胆红素和间接胆红素水平呈正相关, 与总蛋白和白蛋白水平呈负相关。Phe-Trp、5-羟色胺、肌醇、胆碱、牛磺酸等的水平则显示出相反的关系。而这些不同代谢物的水平与 BMI、AFP 水平、年龄和性别无关。

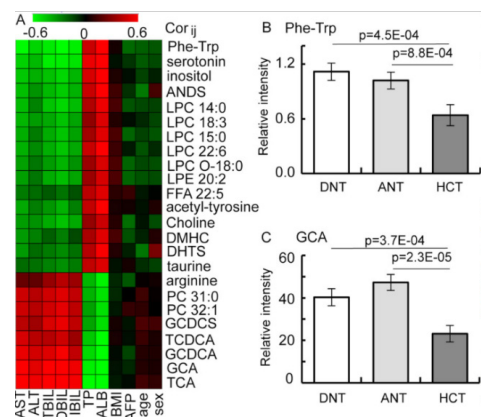


图 3. (A) 临床指标与代谢物的相关性分析 (B) DNT、ANT、HCT 的潜在生物标志物的直方图

## 参考文献

Ping Luo, et al. A Large-Scale, Multicenter Serum Metabolite Biomarker Identification Study for the Early Detection of Hepatocellular Carcinoma]. Hepatology.(IF=14.97).2018.

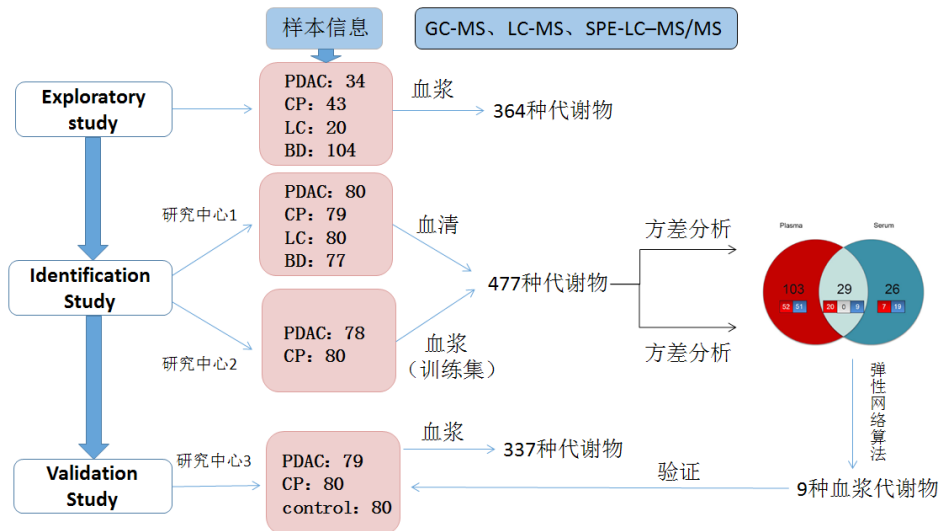
# 胰腺癌代谢组学研究思路

Title: Metabolic biomarker signature to differentiate pancreatic ductal adenocarcinoma from chronic pancreatitis  
Gut 2018 IF: 17.943

## 研究内容简介

由于诊断延迟和治疗方案进展缓慢，预计到 2030 年胰腺癌将成为癌症相关死亡的第三大主要原因。慢性胰腺炎 (CP) 在不同人群中发病率在 4 - 23/10 万之间，是胰腺癌 (PDAC) 的危险因素。这两种疾病的常用诊断方法包括 B 超、CT、肿瘤标志物测定。CA19-9 是胰腺癌的标志物，但 CA19-9 也可能在非恶性疾病患者中水平升高。目前很多患者发现胰腺癌时已处于晚期，80%-85% 的患者处于不可切除的阶段。CP 的存在进一步阻碍了诊断，但早期发现可使生存率提高 30%-40%。因此，早期发现 CP 患者的胰腺癌具有明确的医学需求。目前的非侵入性诊断试验只能区分大约 2/3 的胰腺癌患者和慢性胰腺炎患者 (CP)，本文采用脂质组学 (非靶向分析，类固醇和脂质) 在内的多种代谢组学平台对 914 例 (胰腺导管腺癌，CP，LC，健康献血者 <BDs> 和术前非胰腺疾病患者) 样本进行检测，旨在寻找来源于血液的代谢生物标志物，优化阴性预测值。

## 研究思路



## 主成分分析

无监督主成分分析 (PCA)：用主成分 3 和 4 对 237 例胰腺癌 PDAC 患者和 239 例 CP 患者 (训练集 + 测试集血浆和血清样本) 进行分离。

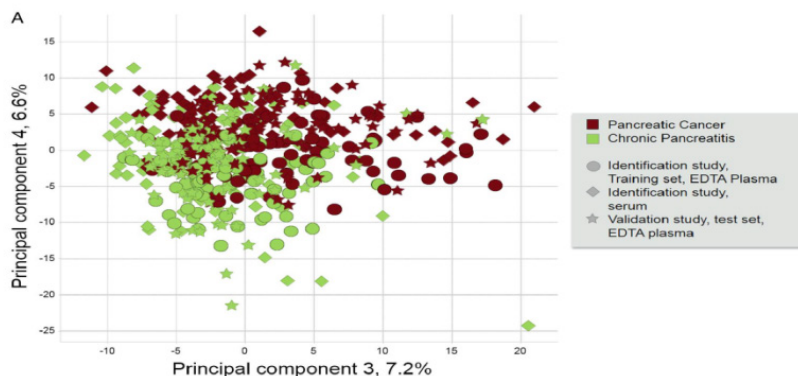


图 1. PDAC 患者和 CP 患者的主成分分析图

## 差异代谢物筛选

训练集数据方差分析：在血清和血浆中检测到 PDAC 和 CP 之间共有的 29 种差异代谢物（如图）。为构建胰腺癌的有效诊断模型，应用弹性网络算法筛选出 9 种血浆代谢物（除 CA19-9）。

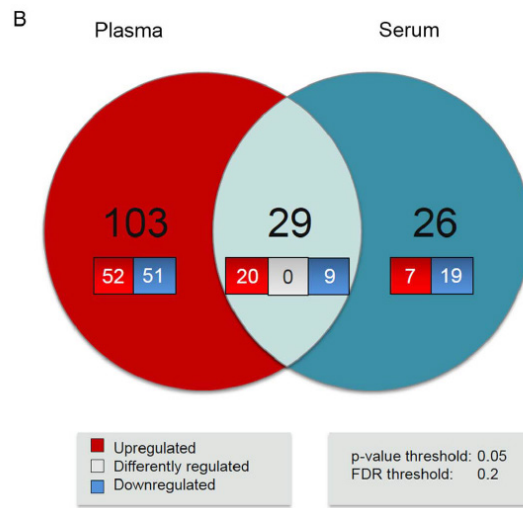


图 2. PDAC 患者和 CP 患者显著变化的代谢产物

## ROC 曲线

区分 PDCA 患者与 CP 患者的生物标志物其诊断准确性远远高于单独的 CA19-9。训练集：AUC=0.96 (95% CI 0.93-0.98)；测试集：AUC=0.94 (95% CI 0.91-0.97)，灵敏度为 89.9%，特异性为 91.3%。进一步证实了生物标志物诊断胰腺癌的准确性优于单独的 CA19-9。

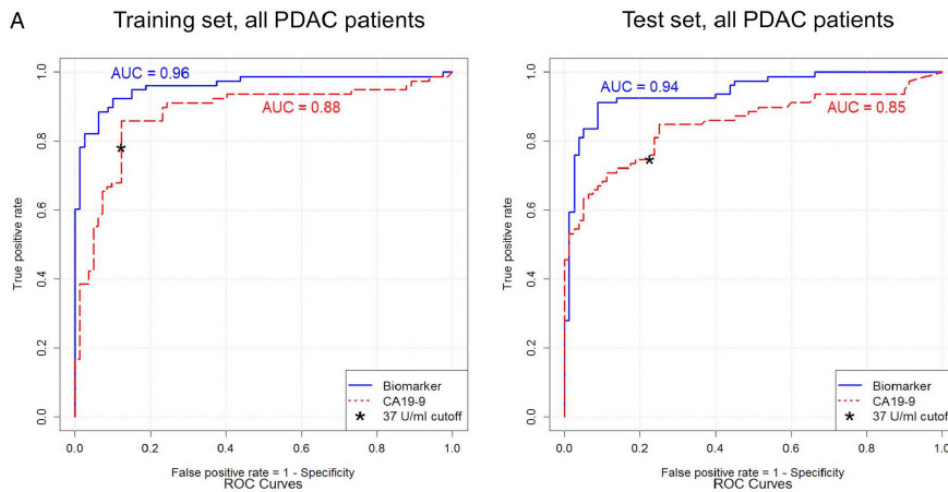


图 3. PDAC 患者和 CP 患者生物标志物的 ROC 曲线

## 参考文献

Julia Mayerle, Holger Kalthoff, Regina Reszka, et al. Metabolic biomarker signature to differentiate pancreatic ductal adenocarcinoma from chronic pancreatitis[J]. Gut, (IF=17.943).2018.

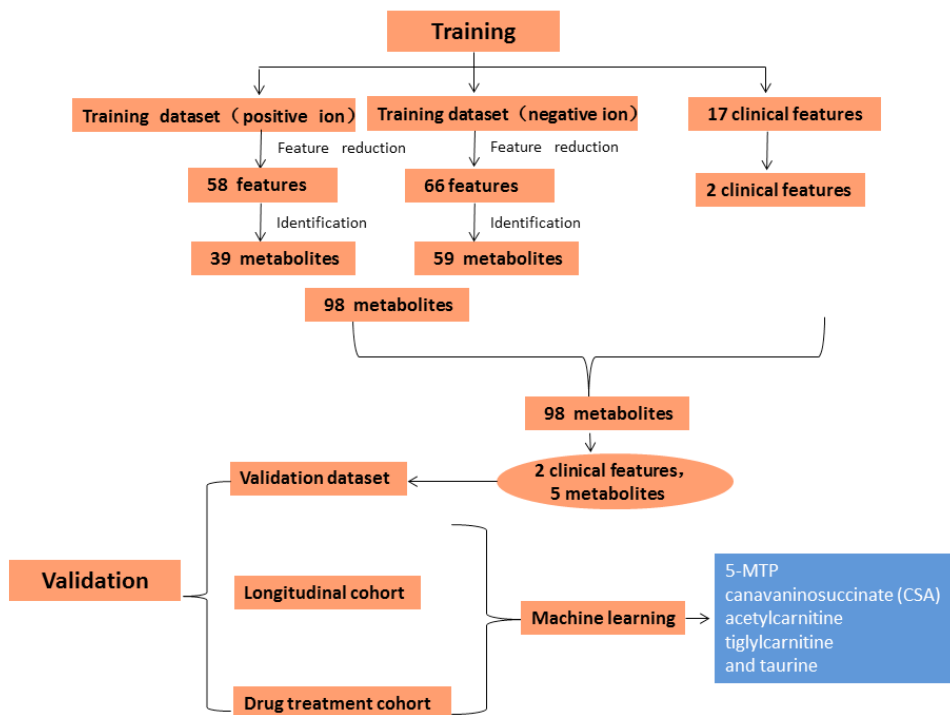
# 肾病代谢组学研究思路

Title: Identification of serum metabolites associating with chronic kidney disease progression and anti-fibrotic effect of 5-methoxytryptophan  
Nature Communications 2019 IF: 11.878

## 研究内容简介

慢性肾病（CKD）会使肾功能逐渐丧失，发展到终末期肾病时（即尿毒症），就需要通过透析来维持生命，或者通过肾移植来挽救生命。CKD 的早期阶段 1-2 阶段几乎没有明显迹象和症状，一般直到后期阶段才被发现，且心血管疾病发病率和死亡率的风险也会随着 CKD 的进展而增加，所以对于 CKD 早期诊断和治疗是很有必要的。目前临床主要基于 eGFR 和蛋白尿水平进行肾损害评估，CKD 诊断的假阳性是比较高的，所以需要更好的评估肾功能的标志物，以提高 CKD 诊断的准确性。本文通过对 1-5 期 CKD 患者组和正常对照组进行非靶向代谢组学检测寻找 CKD 早期诊断的标志物。

## 研究思路



## 结果展示

### 生物标志物的筛选

1-5 期 CKD 患者组和正常对照组进行非靶向代谢组学检测，筛选得到 124 个差异 peak，通过匹配数据库最终定性出 98 个代谢物。针对 98 个代谢物与临床 17 个临床指标进行了关联分析，最终发现 5- 甲氧基色氨酸（5-MTP）、CSA、乙酰肉碱、tiglylcarnitine 和牛磺酸这五个物质可以清楚的区分 CKD 的所有临床阶段（见图 1），健康对照与疾病组也显示明显的区分差异。

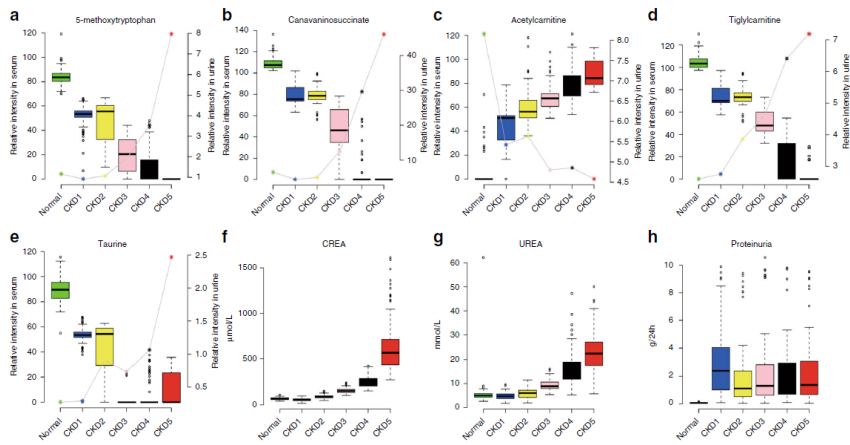


图 1. 5 种代谢产物可以区分不同的 CKD 阶段

### 5 个代谢物的外部验证、纵向队列验证、药物治疗层面验证

本文选取了 CKD1 和 CKD2 两组与健康对照组（每组 n=30 例）进行了这 5 个潜在生物标志物靶向代谢检测。分析发现这 5 个物质可以将健康对照组，CKD1 和 CKD2 组完美的区分开来。文中进一步开展了一项前瞻性 CKD 研究，对 1248 名合格参与者实施了 6 年跟踪，发现 31 名参与者新发 CKD，随后对这 31 名参与者发病前后的血清样本进行了这 5 个物质的靶向代谢检测，通过分析发现，结果与训练集结果一致，发病前后两组样本可以很好的区分开来，且这 5 个物质敏感性特异性都在 85% 以上（见图 4），也具有较高的 AUC 值。本文又研究了依那普利，泼尼松和五苓散药物治疗 114 名 CKD2 患者前后这 5 个代谢物丰度变化。研究发现除牛磺酸外，其他四种潜在代谢物在患者接受依那普利治疗后显著恢复。泼尼松和五苓散治疗组，除了 tiglylcarnitine 外，其他四种潜在的生物标志物在患者接受治疗后均有显著恢复。外部验证、纵向队列验证、药物治疗层面验证结果进一步验证了这 5 个物质是可以作为 CKD 早期诊断标志物的。

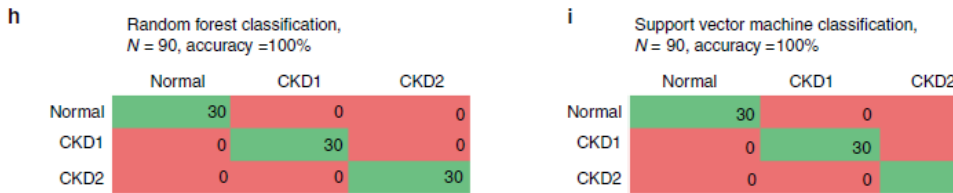


图 2. 外部验证结果

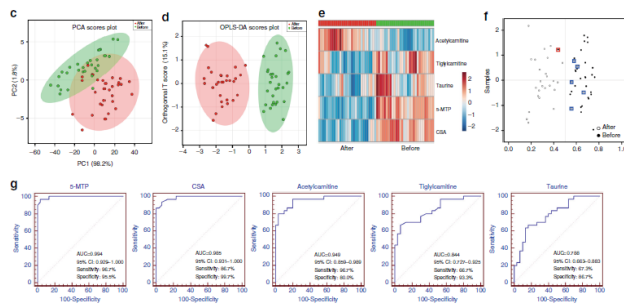


图 3. 纵向队列验证结果

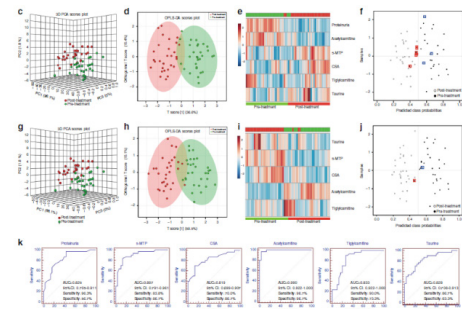


图 4. 药物治疗层面验证结果

### 参考文献

Dan-Qian Chen, et al. Identification of serum metabolites associating with chronic kidney disease progression and anti-fibrotic effect of 5-methoxytryptophan[J]. Nat Commun, (IF=11.878). 2019.



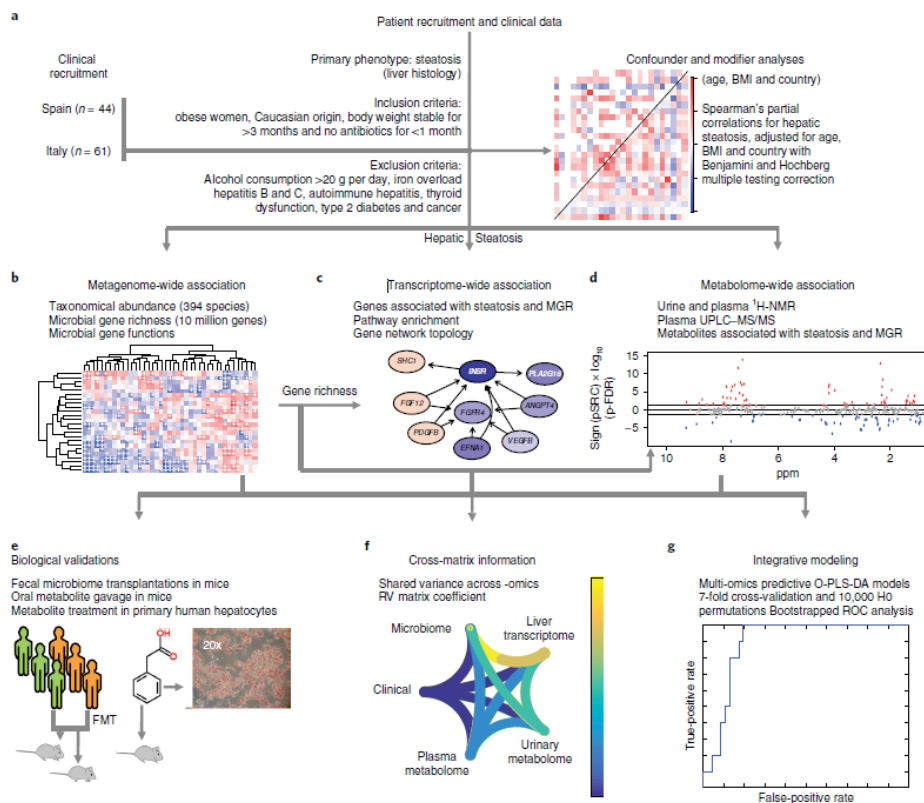
# 脂肪性肝病代谢组学研究思路

Title: Molecular phenomics and metagenomics of hepatic steatosis in non-diabetic obese women  
Nature Medicine 2018 IF: 30.641

## 研究内容简介

本文分析女性脂肪肝患者的粪便宏基因组、分子表型组（肝转录组、血浆和尿液靶向和非靶向代谢组）和临床表型。发现脂肪肝患者肠道菌群基因丰富度低，菌群的膳食脂质代谢、内毒素、芳香族和支链氨基酸的生物合成能力增强；与菌群结果一致的是患者的代谢组特征，而且肝脏免疫炎症等基因表达增强。粪菌移植实验表明肠道菌群可引发脂肪肝，长期苯乙酸（PAA，菌群芳香族氨基酸代谢产物）摄入也有相似作用。基于分子表型组学和宏基因组学的建模可用于预测脂肪肝情况。

## 研究思路



## 结果展示

### 粪便样本宏基因组检测

以微生物基因丰富度（microbial gene richness, MGR）对样本进行分组，研究发现随着脂肪肝的疾病发展，对于脂肪肝变性不太严重的个体，肠道微生物组中的微生物基因丰富度相对较高，而对于那些严重的脂肪肝变性病例，微生物基因丰富度较低；此外，MGR 同肝功能相关指标（如  $\gamma$ -glutamyltransferase、alanine amino-transferase and inflammation (C-reactive protein) 具有显著性负相关作用（图 2b），与 LDL cholesterol、Triglycerides 具有显著性正相关作用；在微生物门水平上发现 Proteobacteria（变形菌门）、Actinobacteria（放线菌门）和 Verrucomicrobia（疣微菌门）与脂肪肝临床诊断指标具有显著性正相关作用，而 Firmicutes（厚壁菌门）和 Euryarchaeota（广古菌门）与脂肪肝临床诊断指标具有负相关作用。

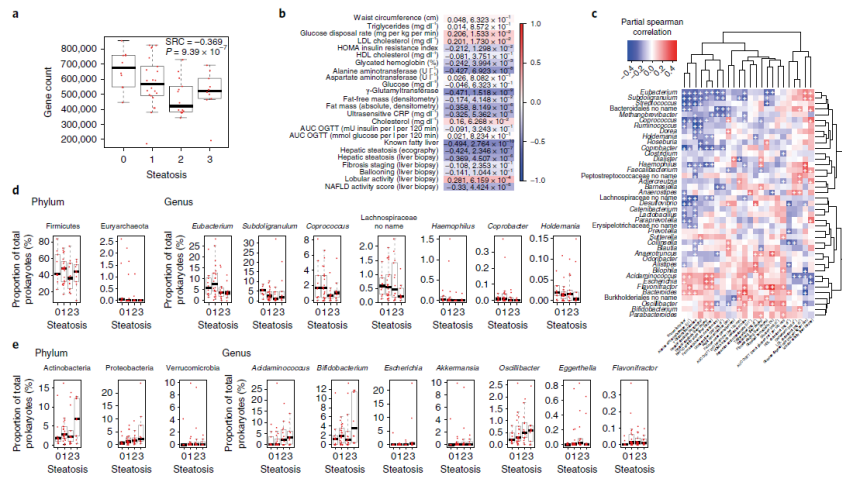


图 1. 宏基因组学 MGR 与脂肪肝的关联

### 代谢组学研究

本文为了阐明微生物可能作用于脂肪肝形成的靶向物质，该研究采用了非靶向代谢组学和质谱的靶向代谢组学技术对血浆和尿液样本进行检测，不同于常规代谢组使用 VIP 值、Q 值、fold-change 值的差异物统计分析，而采用偏相关系数进行代谢物与脂肪肝临床指标的分析，对血浆和尿液都分别通过 2 次对比：1) 疾病分型；2) 菌群 MGR 分型，找到 2 种分组下与临床指标关联代谢物。血浆和尿液中分别发现 80 和 124 个代谢物与脂肪肝临床指标具有显著性关联。血浆和尿液样本中的支链氨基酸（亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸）在脂肪肝患者中都出现显著性变化，此外还发现菌群参与苯丙氨酸代谢的副产物 - 苯乙酸 PAA 与脂肪肝临床表型具有最强的显著性关联，所以后续可对 PAA 代谢物进行细胞和小鼠造模的功能性研究。

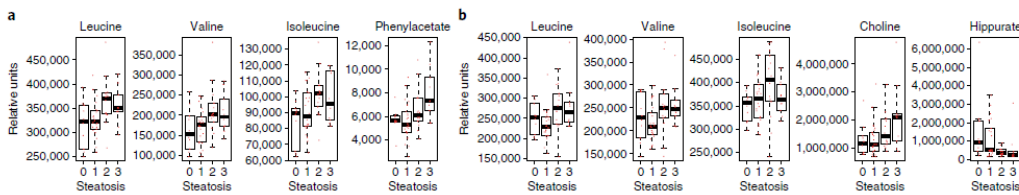


图 2. 与脂肪肝和微生物相关的代谢物

### 多组学研究

为了揭示肠道菌群是否会影响到肝脏代谢变化，对肝脏组织进行了转录组学检测。多组学研究发现肠道菌群参与的支链氨基酸代谢、芳香族氨基酸代谢与脂肪肝的形成具有一定的关联，为了更加确定因果关系，从人类捐赠者转移肠道细菌导致小鼠发育脂肪肝，表明肠道菌群构成的变化在该疾病中发挥作用。其中移植的人体肠道菌群数据通过使用 SIMCA 软件的 OPLS 回归模型，能够较好地预测小鼠的表型变化，主要体现在肝脏甘油三酯水平、Fabp4 基因表达和血浆的缬氨酸水平。

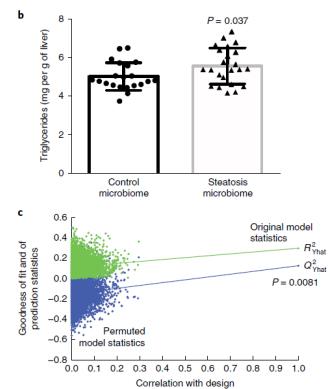


图 3. OPLS 模型进行表型预测

### 参考文献

Hoyle L, Fernández-Real, J.M, Federici, M. Molecular phenomics and metagenomics of hepatic steatosis in non-diabetic obese women[J]. Nat Med. (IF=30.641). 2018.

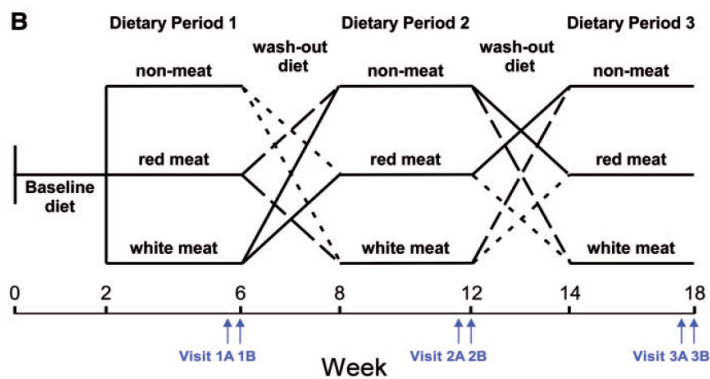
# 心血管疾病代谢组学研究思路

Title: Impact of chronic dietary red meat, white meat, or non-meat protein on trimethylamine N-oxide metabolism and renal excretion in healthy men and women  
European Heart Journal 2019 IF: 23.24

## 研究内容简介

TMAO（氧化三甲胺）是肠道菌群在消化过程中产生的代谢物，研究表明 TMAO 升高与心血管病、慢性肾脏病、糖尿病、动脉硬化等多种疾病密切相关，它会抑制血液中胆固醇降解，胆固醇就只能沉淀到动脉血管壁，导致血管壁加厚、硬化。TMAO 来源于肠道菌群对三甲胺（TMA）的氧化，肠道微生物将摄入的胆碱、肉毒碱、卵磷脂等营养前体代谢产生 TMA，TMA 经循环进入肝脏，在肝脏中经氧化酶氧化生成 TMAO。而 TMAO 前体物质 - 胆碱及肉碱在红肉中的含量很高，牛肉、肝脏和蛋黄中总胆碱的含量较高。本文招募了 113 名健康成人，随机分成 3 组，进行 3 个阶段的随机交叉实验，每个阶段 3 组分别以红肉、白肉、非肉类作为蛋白质主要来源。在每个阶段最后一周的两三天分别收集空腹血浆和尿液样本进行靶向代谢组学 TMAO 检测。研究表明：与白肉或素食相比，以红肉作为蛋白质的来源会显著升高体内 TMAO 水平，从而增加患心血管疾病的风险。

## 研究思路



## 结果展示

长期摄入红肉会显著增加血浆和尿液中 TMAO 的水平

经过 4 周的饮食后，研究发现食用红肉的志愿者血浆中 TMAO 及前体物质（甜菜碱、肉毒碱、丁酰甜菜碱、巴豆甜菜碱）的含量均显著高于白肉与非肉组。平均而言，红肉饮食期间志愿者血浆中 TMAO 水平升高了 3 倍，部分志愿者 TMAO 水平甚至增加了 10 倍；同时研究者在尿液样本中也得出相似的结论。而当他们停止红肉饮食改为白肉或非肉类饮食后，血浆和尿液中 TMAO 的水平显著降低，恢复正常水平。

研究人员同时研究了饱和脂肪酸对血浆中 TMAO 的影响。研究发现，分别饮食低饱和脂肪酸和高饱和脂肪酸 4 周后，血浆中 TMAO 及前体物质水平并没有显著差异。说明膳食饱和脂肪酸对血浆中 TMAO 及前体物质并无显著影响。

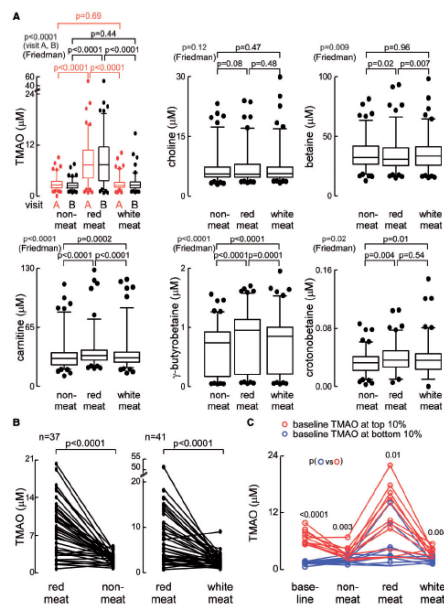


图 1.3 组志愿者间血浆中 TMAO 及前体物质水平的差异

## 长期饮食红肉会影响肾脏对 TMAO 的排泄效率

肾脏是维持血液代谢物平衡的重要器官，研究人员同时也研究了饮食对 TMAO、胆碱及肉毒碱相关代谢物肾脏排泄的影响。与其他代谢物相比，TMAO 的排泄率更高，并且表现出从零到 100% 的宽范围，几乎一半的参与者 TMAO 肾排泄率大于 100%。在长期摄入红肉后，与白肉与非肉相比，TMAO 的肾脏排泄率显著降低；肉毒碱、丁酰甜菜碱和巴豆甜菜碱的肾排泄率显著升高，而胆碱和甜菜碱的肾脏排泄率没有显著变化。

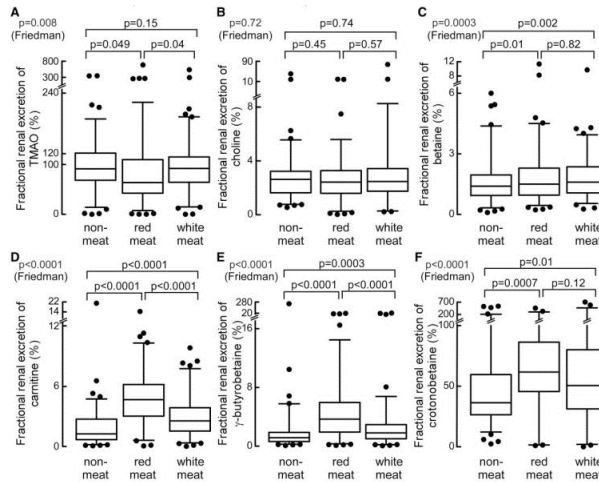


图 2. 摄入 d6- 胆碱 24 小时后 TMAO 及前体物质分析

## 同位素标记研究表明长期饮食红肉会使肉毒碱（而非胆碱）生成的 TMAO/TMA 增加

本研究同时也进行了同位素标记实验，在每段饮食试验的最后一周，志愿者以胶囊形式摄入同位素标记的 d6- 胆碱和 d3- 肉碱，24 小时后，检测尿液中 TMAO、TMA、肉毒碱、丁酰甜菜碱、巴豆甜菜碱的代谢水平（有 d3 标记的代谢物来源于肉碱，d6 标记的代谢物来源于胆碱）。结果发现，胆碱衍生的 d6-TMA 和 d6-TMAO 在 3 组种没有显著差异，白肉饮食志愿者尿液中的 d6- 胆碱和 d6- 甜菜碱含量略有下降。

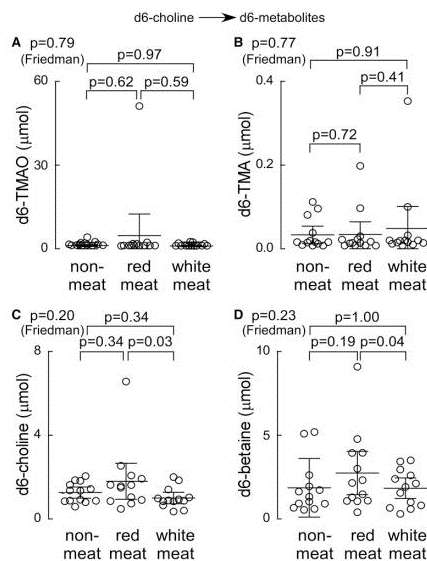


图 3. 摄入 d6- 胆碱 24 小时后 TMAO 及前体物质分析

## 参考文献

Dan-Qian Chen, et al. Impact of chronic dietary red meat, white meat, or non-meat protein on trimethylamine N-oxide metabolism and renal excretion in healthy men and women[J]. European Heart Journal. (IF=23.24).2019.

# 动脉粥样硬化代谢组学研究思路

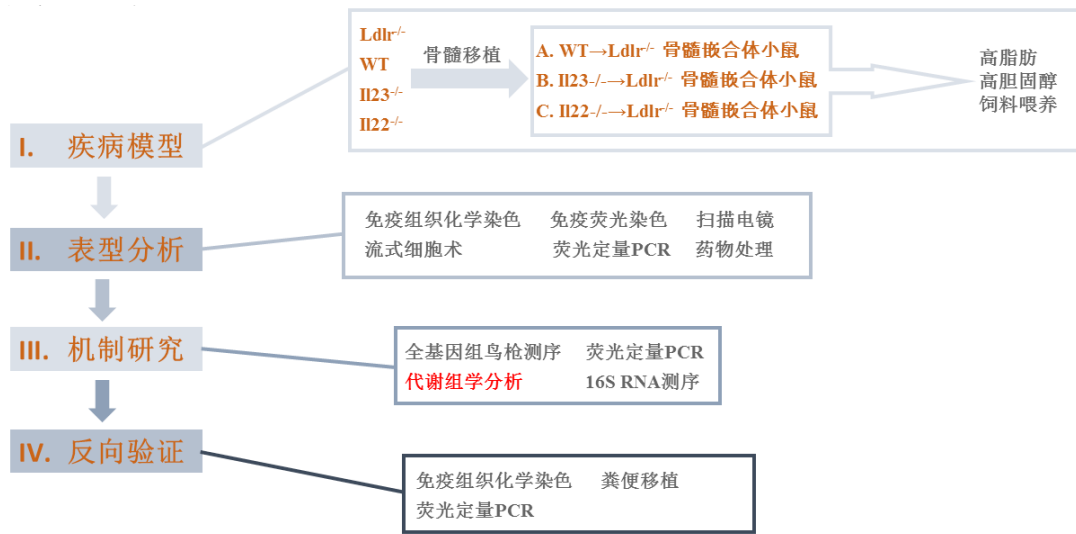
Title: An Interleukin-23-Interleukin-22 Axis Regulates Intestinal Microbial Homeostasis to Protect from Diet-Induced Atherosclerosis

Immunity 2018 IF: 21.52

## 研究内容简介

虽然抗细胞因子疗法在自身免疫性疾病方面显示出了很好的效果，但其对心血管疾病发展的影响尚不清楚。有文献报道共有菌群参与了免疫调节，但细胞因子信号和微生物在动脉粥样硬化中的相互作用仍不清楚。本文揭示了白细胞介素 (IL)-23 及其下游靶点 IL-22 信号的失活导致肠道屏障的恶化，从而促进动脉粥样硬化细菌的扩张，脂多糖 (LPS) 和氧化三甲胺 (TMAO) 等代谢产物的产生增加，从而促进巨噬细胞活化和动脉粥样硬化。此外，该研究表明在 IL-23-IL-22 信号通路被抑制的情况下，增生性疾病部分是由微生物代谢物控制的促动脉粥样硬化骨桥蛋白介导的。本文采用 16S 测序、代谢组学检测手段的多组学研究方法，阐释了 IL-23 和 IL-22 细胞因子、肠道菌群、动脉粥样硬化三者之间的关系。

## 研究思路



## 结果展示

### IL-23 与 IL-22 缺陷小鼠均表现出加重的动脉粥样硬化病理特征

将 IL 23<sup>-/-</sup> 或 WT 小鼠的骨髓分别移植到 Ldlr<sup>-/-</sup> 小鼠体内，喂食 16 周西餐后。小鼠的主动脉弓图像、动脉粥样硬化病变面积结果显示，IL 23 信号被抑制的小鼠，动脉粥样硬化病变加重。流式细胞术和免疫荧光结果显示多种类型的造血细胞 (CD 45) 和髓系细胞亚群，在 IL 23<sup>-/-</sup>/Ldlr<sup>-/-</sup> 小鼠体内显著增加；炎症相关基因和趋化因子在 IL 23<sup>-/-</sup>/Ldlr<sup>-/-</sup> 小鼠主动脉中表达上调，在肠中的表达下调。

将 IL 22<sup>-/-</sup> 或 WT 小鼠的骨髓分别移植到 Ldlr<sup>-/-</sup> 小鼠体内，喂食 16 周西餐后。小鼠的主动脉弓图像、动脉粥样硬化病变面积结果显示，IL 22 信号被抑制的小鼠，动脉粥样硬化病变加重。流式细胞术和免疫荧光结果显示 IL 22<sup>-/-</sup>/Ldlr<sup>-/-</sup> 小鼠主动脉中 T 细胞和髓样细胞增多，并通过上调主动脉和肠道炎症基因的表达。通过进行“功能增益”实验，发现体内补充白细胞介素 -22 可以纠正 IL-23 缺乏的促动脉粥样硬化效应。这些数据表明 IL-22 是动脉粥样硬化中的一个直接的 IL-23 靶点。



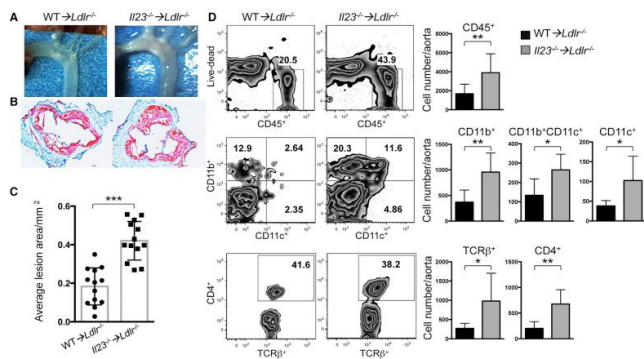


图 1. IL-23 缺陷小鼠主动脉粥样硬化加重，免疫细胞浸润增加

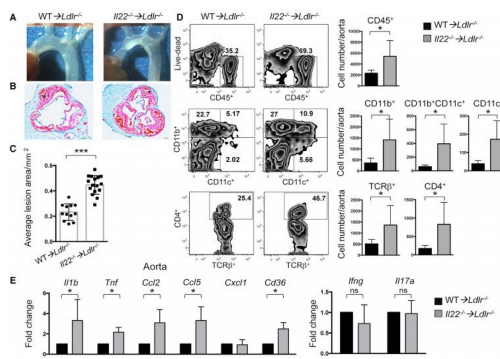


图 2. IL-22 缺陷小鼠主动脉粥样硬化加重

IL-23 或 IL-22 的失活导致了微生物的失调和促动脉粥样硬化的改变

与 *ldlr*<sup>-/-</sup> 对照相比，西餐喂养的 IL 23/*ldlr*<sup>-/-</sup> 和 IL 22/*ldlr*<sup>-/-</sup> 小鼠肠道中的抗微生物肽 Reg3b 和 Reg3g 表达显著降低。免疫染色显示 RegIIIγ 下调，粘液的关键成分之一 Mucin 2 明显减少。通过主成分分析确定，IL 23/*ldlr*<sup>-/-</sup>、IL 22/*ldlr*<sup>-/-</sup> 和 WT/*ldlr*<sup>-/-</sup> 小鼠在细菌种类水平上存在差异。Q-RT-PCR 分析显示 IL 23/*ldlr*<sup>-/-</sup> 和 IL 22/*ldlr*<sup>-/-</sup> 小鼠 16S rRNA 增加，说明上皮粘附细菌增多。16S RNA 序列分析证实了梭菌科、维氏菌科、藻科和其他科在 IL 23/*ldlr*<sup>-/-</sup> 小鼠上皮中的过度表达。

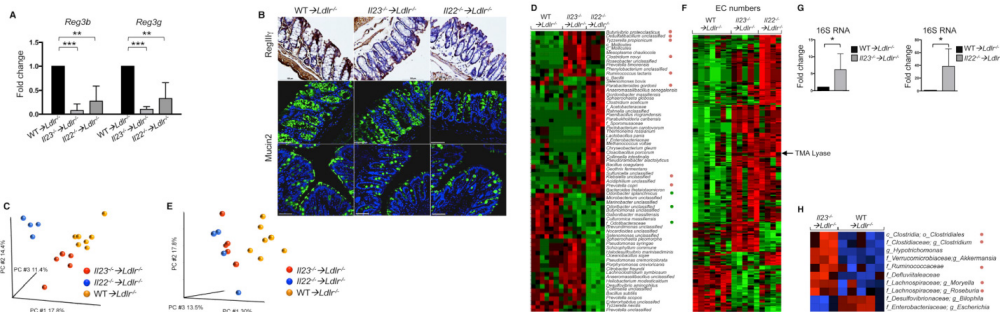


图 3. IL-23 或 IL-22 缺乏症降低了抗菌肽的表达，并导致动脉粥样硬化小鼠肠道微生物群的变化

灭活 IL-23 或 IL-22 会增加代谢产物的促动脉粥样硬化特性

基因组测序数据进行的蛋白质结构域预测显示，LPS 生物合成的上调是最显著的改变途径，提示 IL-23-IL-22 信号的破坏导致细菌物种的富集，从而产生促炎代谢产物，也意味着致病菌群的扩大可能导致低级别的全身炎症。代谢组学检测结果显示，与氧化三甲胺 (TMAO) 产生有关的代谢物增多，包括磷脂酰胆碱、甜菜碱和三甲胺 (TMA) 等。

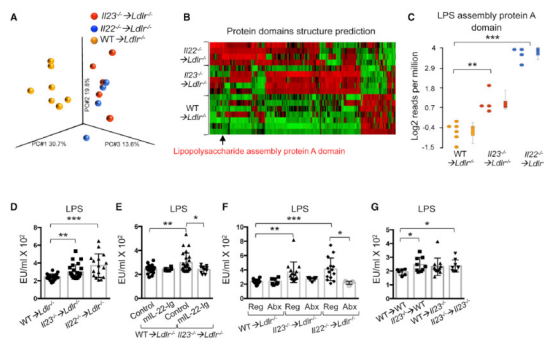


图 4 IL23-/-/Ldlr-/-、IL22-/-/Ldlr-/-、WT/Ldlr-/- 小鼠基因组测序

参考文献

Aliia R, et al. An Interleukin-23-Interleukin-22 Axis Regulates Intestinal Microbial Homeostasis to Protect from Diet-Induced Atherosclerosis[J]. Immunity. (IF=21.52).2018.

# 糖尿病代谢组学研究思路

Title: Host-Microbe-Drug-Nutrient Screen Identifies Bacterial Effectors of Metformin Therapy  
CellL 2018 IF: 36.216

## 研究内容简介

二甲双胍是治疗 2 型糖尿病的一线药物，作者着手解决肠道微生物和营养（宿主生理的关键调节者）如何影响二甲双胍效果的基本问题。结合两个易于处理的遗传模型，大肠杆菌和线虫，作者开发了高通量四向筛查，以确定潜在的宿主-微生物-药物-营养相互作用，以便更好地了解饮食、药物和肠道细菌如何相互作用，从而影响宿主的生理机能。

## 研究思路



## 结果展示

四向宿主 - 微生物 - 药物 - 营养筛选确定用于整合药物和营养的信号中心

研究者开发了一种创新的四向高通量筛选技术，以便更好地了解饮食、药物和肠道细菌如何相互作用，从而影响宿主的生理机能。

他们利用定植了大肠杆菌的秀丽隐杆线虫作为简化的宿主微生物群模型，并让这些线虫吸收 337 种不同的营养化合物，同时暴露于二甲双胍下。

研究结果显示，二甲双胍治疗可改变线虫的代谢和寿命，但这种效应可由特定的营养物质增强或抑制，至关重要的是，肠道细菌在这种现象中发挥了关键作用。

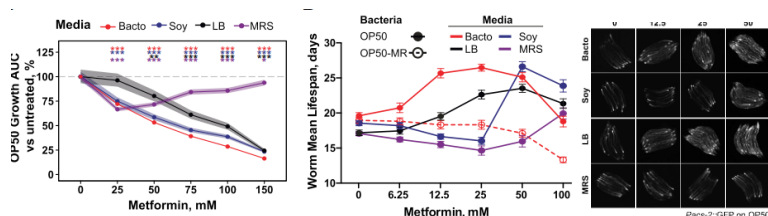


图 1. 二甲双胍对细菌的影响

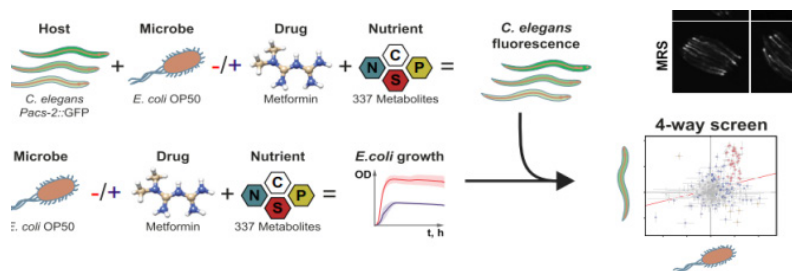


图 2. 宿主 - 微生物 - 药物 - 营养相互作用模型的构建

## 饮食通过作用于肠道细菌来影响二甲双胍的疗效

进一步的分析表明，机体内的肠道细菌拥有一种复杂的机制（与磷酸转移酶信号通路有关），使得它们能够协调营养信号和二甲双胍信号，并相应地调整自己的代谢。细菌积累的一种名为 agmatine 的代谢物被证明是二甲双胍对宿主健康产生积极作用所必需的。另外还解释了为什么二甲双胍之前被证明对另一种常见的研究模型——果蝇的寿命没有影响。这是因为，果蝇典型的实验食物富含糖分。在将饮食中的糖去除后，我们也观察到二甲双胍对定植了大肠杆菌的果蝇具有积极作用。

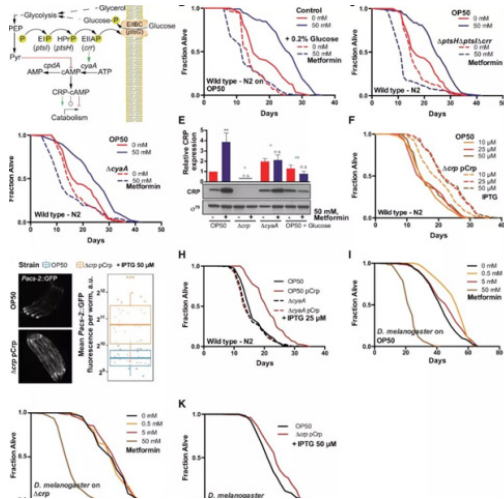


图 3. 细菌 PTS-Crp 信号调节宿主代谢和寿命

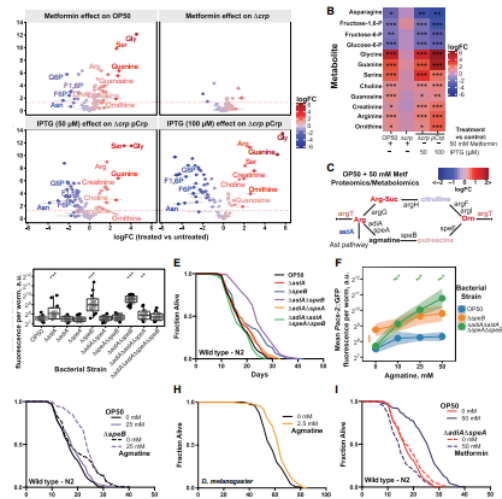


图 4. 细菌 agmatine 调节宿主的新陈代谢和寿命

## 人群队列验证

作者分析了一个大型队列的 2 型糖尿病患者和健康对照者的微生物群、营养和药物状况。令人惊喜的是，研究发现，在人类中，二甲双胍治疗也与细菌 agmatine 生产能力的增加密切相关。更重要的是，科学家们在欧洲多个 2 型糖尿病患者独立队列中重复了这一发现。此外，研究还证实，主要生产 agmatine 的细菌是那些已知在二甲双胍治疗的 2 型糖尿病患者的肠道微生物中数量增加的细菌。

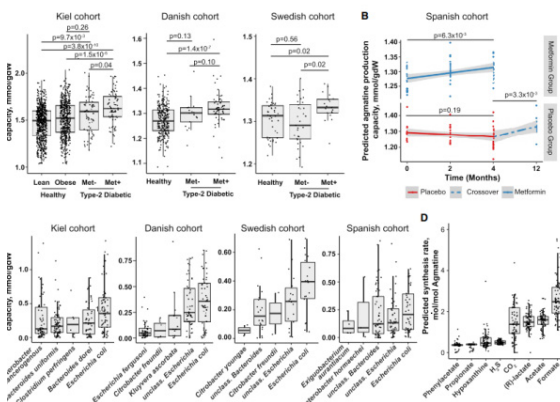
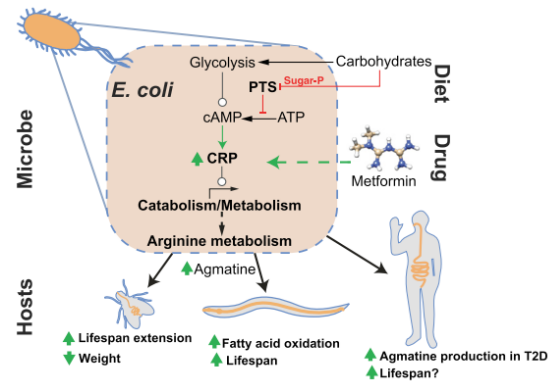


图 5. 不同人群队列验证



## 参考文献

Casey M. Rebolz, et al. Host-Microbe-Drug-Nutrient Screen Identifies Bacterial Effectors of Metformin Therapy. Cell(IF:36.216) 2019.

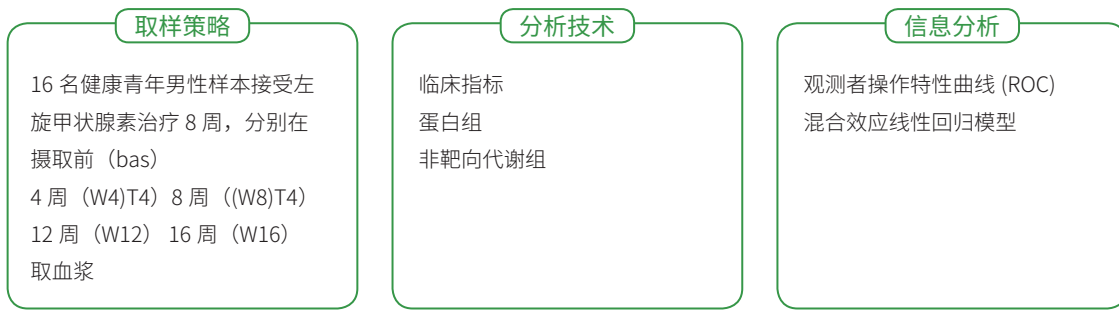
# 甲亢代谢组学研究思路

Title: Plasma proteome and metabolome characterization of an experimental human thyrotoxicosis model  
BMC Medicine 2017 IF: 8.285

## 研究内容简介

促甲状腺激素 (TSH) 和游离甲状腺素 (FT4) 的测定是评价甲状腺功能的金标准。为了筛选甲状腺功能的新的外周生物标记物并表征人血浆中 FT4 相关的生理信号，我们在甲状腺中毒模型中使用了非靶向的代谢组学以及蛋白组学，分析检测到 65 种代谢物和 63 种蛋白质，显示出与血清 FT4 显著相关。15 个分子的子集允许在没有关于 TSH 或 FT4 的先验信息的情况下对甲状腺激素功能进行稳健和良好的预测 (AUC=0.86)。主要的 FT4 相关信号表明静息能量消耗增加，对系统性氧化应激的防御增强，脂蛋白颗粒水平降低，补体系统蛋白和凝血因子水平升高。进一步的关联发现质疑甲亢条件下肾功能评估的可靠性，并提示甲亢和心血管疾病之间的联系是通过增加二甲精氨酸水平来实现的。

## 研究思路



## 结果展示

### 临床激素测定

摄取 L-T4 4 周后，FT4 和 FT3 的峰值浓度分别为 28.6pmol/L 和 9.19pmol/L，与显性甲亢的生化条件一致。所有参数在终止 L-T4 摄入后的前 4 周内正常化。我们进一步评估了一些众所周知的 TH 指标，如性激素结合蛋白，细胞色素 C 和不同血脂的影响。一般来说，L-T4 治疗导致除甘油三酯外的血脂瞬时下降，而血糖和胰岛素没有明显改变。补体因子 C3 和 C4 与 FT4 呈中度但显著的正相关。

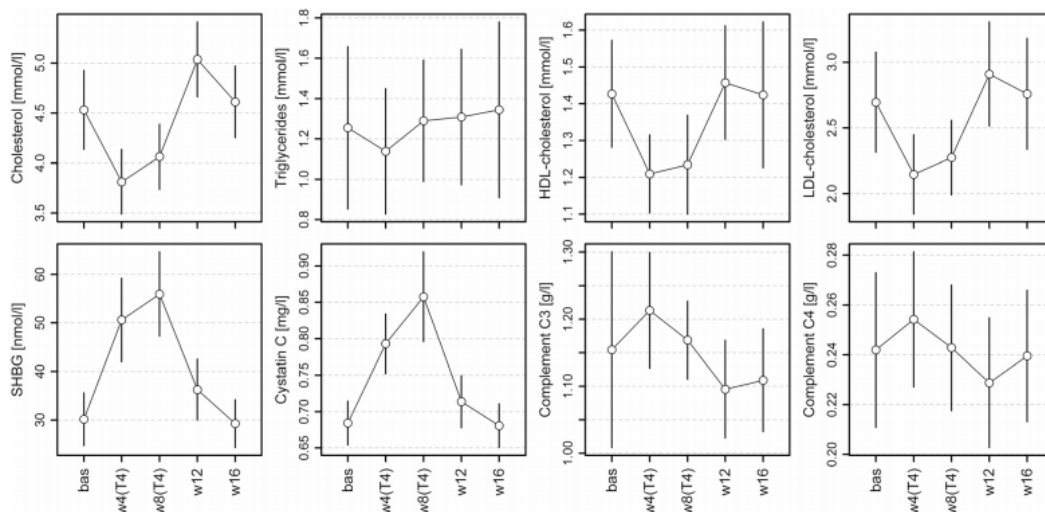


图 1. 研究期间所选生化参数



用 L-T4 治疗甲状腺功能的男性志愿者显著影响了血浆代谢物组，显著改变了 349 种检测到的代谢物中的 65 种 (19%)，其中 45 种与血清 FT4 呈正相关，20 种与血清 FT4 呈负相关。相关代谢物代表不同的代谢物类别，其中脂质和相关化合物包含 FT4 相关分子的最大部分。这些可分为以下类别：游离脂肪酸 (FFA)、酰基肉碱 (ACS)、多不饱和脂肪酸 (PUFA)、溶血磷脂 (LP) 和雄激素。

蛋白质组分析显示，参与凝血级联的几种蛋白质表现出 FT4 相关的血浆水平；这些发现已经单独发表。简而言之，能够证明实验性甲状腺毒症增加了血浆中凝血级联蛋白的水平，支持 TH 对血液凝固的积极影响，甚至在非病理水平上也是如此。

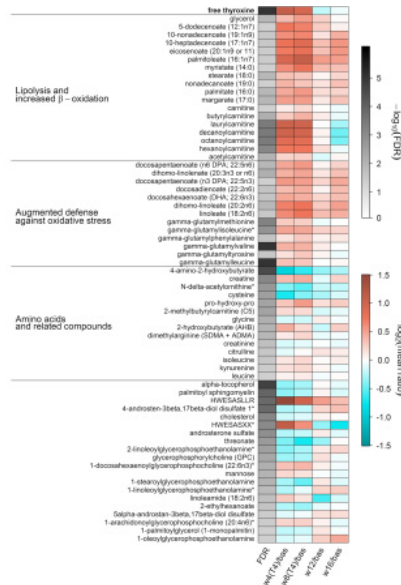


图 2. 混合效应线性回归模型中血浆与 FT4 热图

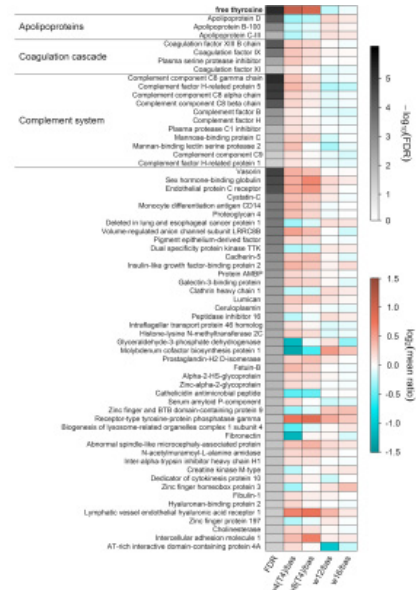


图 3. 混合效应线性回归模型中血浆蛋白与 FT4 热图

预测甲状腺功能的生物标志物

通过两阶段交叉验证过程构建了随机森林分类器，从而允许比传统的 k 倍交叉验证更现实地估计随机森林的泛化。这一点可以通过 ROC 曲线来例证。此外，这里选择的方法允许将分类与特征选择相结合，以定义上述众多 FT4 相关分子中的一小组生物标志物。获得了包含 15 种代谢物和蛋白质的列表，在所有 30 次验证运行中表现出稳健和良好的分类性能，因此代表了用于可靠预测 TH 状态的适当的生物标志物。

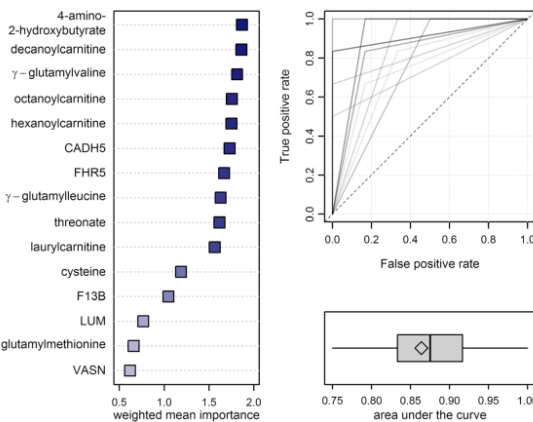


图 4. 两阶段交叉验证方案中使用随机森林进行分类分析的最终结果

参考文献

Pietzner, et al. Plasma proteome and metabolome characterization of an experimental human thyrotoxicosis model. BMC Medicine (IF:8.285). 2017.



# 抗抑郁症研究思路

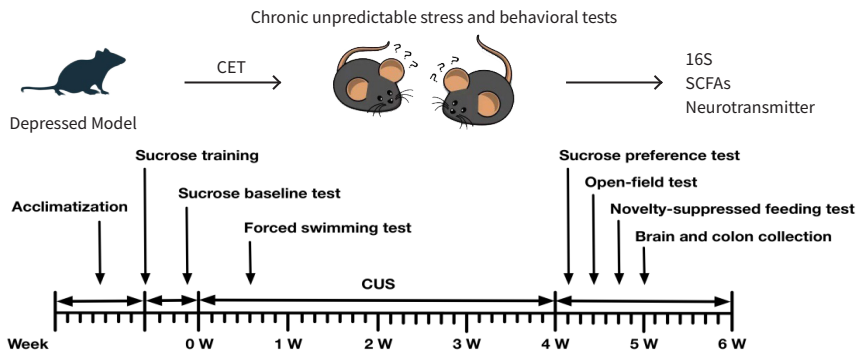
Antidepressant-Like Effects of Cistanche tubulosa Extract on Chronic Unpredictable Stress Rats Through Restoration of Gut Microbiota Homeostasis

Frontiers in Pharmacology 2018 IF=3.845

## 研究内容简介

肉苁蓉 (Cistanches Herba) 是中国著名的治疗肾虚阳虚的中药, 近年来被用于治疗神经退行性疾病。本研究建立了慢性不可预测应激 (CUS) 诱导的抑郁模型, 探讨了肉苁蓉提取物 (CTE) 对行为测试、海马和结肠单胺类神经递质和神经营养因子、肠道微生物群组成和短链脂肪酸 (SCFAs) 产生的影响。此外, 通过相关分析评价肠道微生物群改变、海马和结肠神经递质和神经营养素改变与 SCFAs 浓度紊乱之间的功能关系。CTE 显著改善了 CUS 大鼠的抑郁样行为。采用 CTE 法恢复大鼠大脑 5-羟色胺 (5-HT) 和脑源性神经营养因子 (BDNF) 的表达。CTE 处理还可以调节肠道菌群的相对丰度、醋酸盐和己酸的浓度。我们进一步证明, CTE 在 CUS 大鼠体内的应用, 与破坏的肠道微生物群组成、海马神经递质水平以及神经活性代谢物 SCFAs 的产生密切相关。总之, 这些结果表明 CTE 是一种潜在的治疗抑郁症状的方法, 通过恢复肠道菌群的稳态来治疗肠道脑轴紊乱, 为神经精神药理学领域开辟了新的道路。

## 研究思路



## 结果展示

### 肉苁蓉提取物 (CTE) 干预 CUS 模型大鼠的行为学和生化指标检测

CTE 能够明显缩短模型大鼠游泳中总不动时间, 增强糖水偏好性和延长总的运动距离, 减少新环境中觅食时间; CTE 能够显著增加大鼠海马体中 5-HT 和 BDNF 含量以及大鼠结肠中 5-HT 含量。

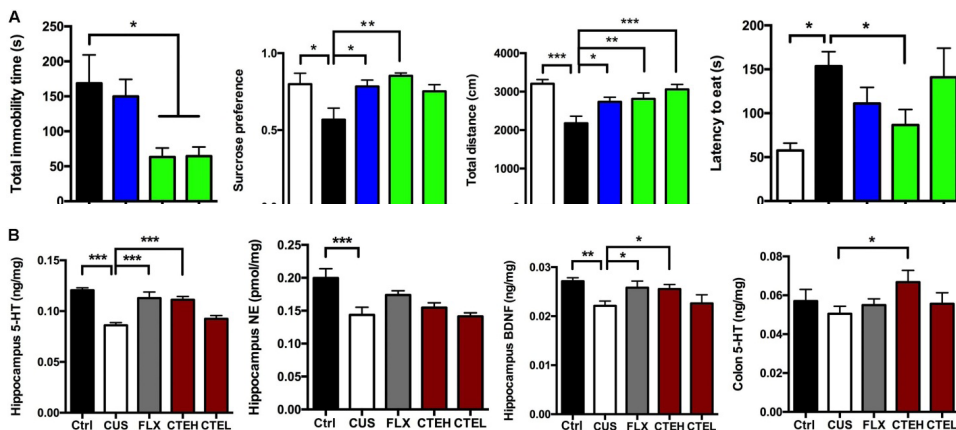


图 1. (A) CTE 对 CUS 大鼠行为测试的影响 (B) CTE 对大鼠海马和结肠单胺类神经递质水平的影响

## 粪便中 7 个 SCFAs 和总 SCFAs 检测

采用气相色谱法对大鼠粪便样品中乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸、异戊酸、己酸的浓度进行分析，如图所示。乙酸水平单与对照组相比，模型组大鼠有显著性差异。长期高剂量 CTE 后，醋酸盐浓度明显低于 CUS 组，说明 CTE 可能通过调节紊乱的神经活性代谢物 SCFAs 发挥抗抑郁作用。低剂量组 CTE 给药呈下降趋势，但对乙酸和己酸浓度无显著影响。

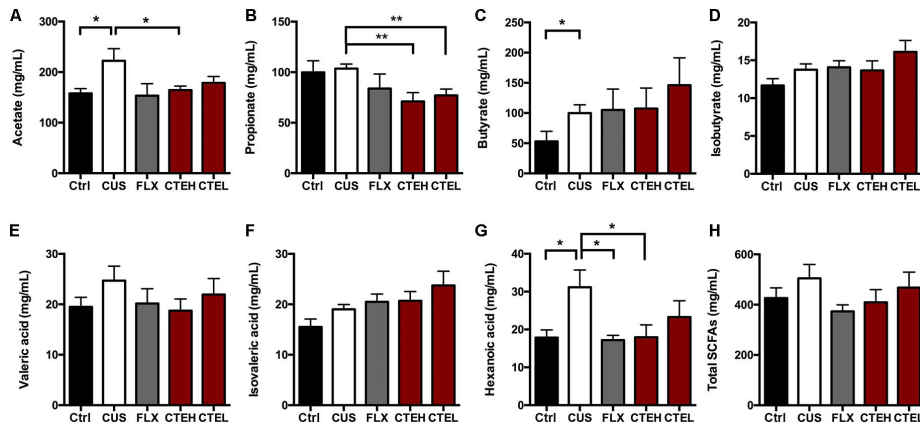


图 2. CTE 处理大鼠粪便中 SCFAs 的变化

## 肠道菌群分析

采用亚稳态分析方法研究了不同组间肠道微生物分类组成的差异。在门水平上，五组大鼠中以厚壁菌门和拟杆菌门为优势菌群 (图 3B)。乳酸菌、瘤胃球菌、鲍氏菌、拟杆菌和普氏菌是属水平上最丰富的微生物类群，两种优势门，厚壁菌门和拟杆菌门，占总相对丰度的 90%。4 周应激过程中，与对照组相比，CUS 模型组厚壁菌门水平升高，拟杆菌门数量减少，差异无统计学意义。高剂量和低剂量 CTE 每日给药后，厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度与对照组相似。与对照组相比，CUS 模型组蓝细菌水平下降趋势不明显；而给予高剂量 CTE 后，与 CU 组相比，蓝细菌的相对丰度显著增加。

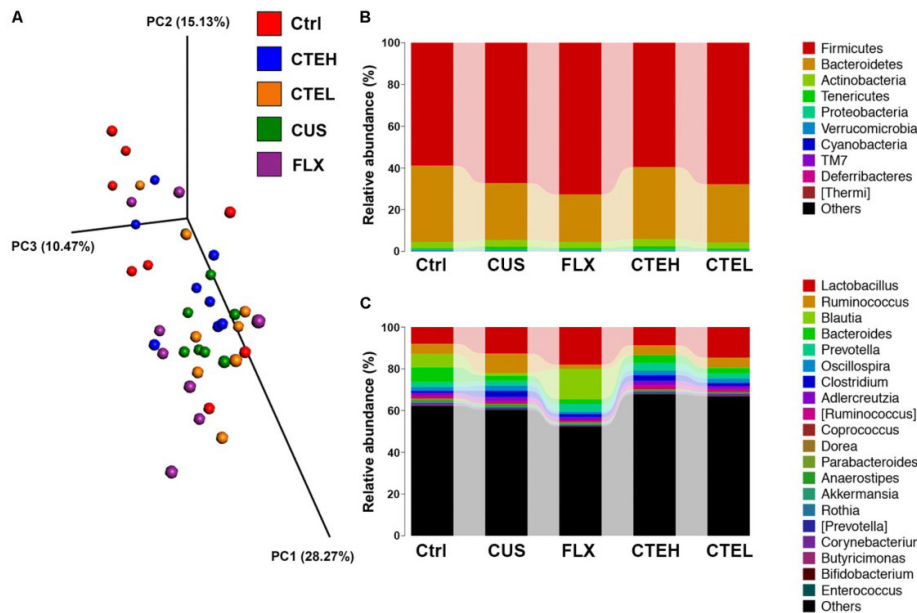


图 3. 肠道菌群 beta 多样性分析方法

## 参考文献

Yang L, et al. Antidepressant-Like Effects of Cistanche tubulosa Extract on Chronic Unpredictable Stress Rats Through Restoration of Gut Microbiota Homeostasis. *Frontiers in Pharmacology* (IF=3.845) 2018.

# 精神分裂症代谢组学研究思路

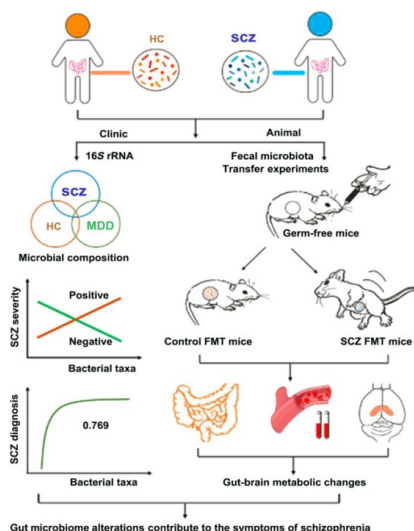
Title: The gut microbiome from patients with schizophrenia modulates the glutamate-glutamine-GABA cycle and schizophrenia-relevant behaviors in mice

Science Advances 2019 IF=12.804

## 研究内容简介

精神分裂症 (SCZ) 是一种破坏性的精神疾病, 其潜在的分子机制尚不明确。肠道微生物群可以通过肠道 - 脑轴调节大脑功能和行为。在这里, 发现患者和药用 SCZ 患者与健康对照组 (HC) 相比, 减少微生物  $\alpha$  多样性指数和显著的干扰的肠道微生物组成。一些独特的细菌类群与 SCZ 的严重程度有关。一个特殊的微生物小组 (空气球菌科、双歧杆菌科、布鲁氏菌科、巴斯德杆菌科和理研菌科) 使 SCZ 患者与 HCs 患者区分开来。与 HCs 相比, 接受 SCZ 菌群粪便移植的无菌小鼠海马中谷氨酸含量较低, 谷氨酰胺和 GABA 含量较高, 表现出与 SCZ 相关的行为, 与其他涉及谷氨酸能低下的 SCZ 小鼠模型相似。总之, 我们的研究结果表明, SCZ 微生物组本身可以改变神经化学和神经功能的方式, 可能与 SCZ 病理有关。

## 研究思路



## 结果展示

### 患者菌群多样性分析

比较了精神分裂症患者和健康个体肠道菌群差异, 发现精神分裂症患者的肠道微生物组成  $\alpha$  多样性都低于正常对照组。

对 SCZ 和 HC 之间的肠道菌群组成进行  $\beta$  多样性分析, 发现两个组的从目水平到 OTU 水平, 都有一定的分离, 门和纲水平也有分离的趋势。

用关联分析鉴定哪些微生物与精神分裂症的严重程度 (PANSS) 相关, 然后为了确定关键的判别微生物标志物, 基于不同肠道微生物的相对丰度进行了逐步回归分析。该分析显示, SCZ 和 HC 受试者之间最显著的偏差发生在气球菌科 (Aerococcaceae), 双歧杆菌科 (Bifidobacteriaceae), 布鲁氏菌科 (Brucellaceae), 巴斯德菌科 (Pasteurellaceae), 和理研菌科 (Rikenellaceae)。

ROC 分析显示, 该微生物组能够区分 HC 受试者与 SCZ 患者, AUC 为 0.769, 提示该微生物组作为 SCZ 的潜在诊断价值。

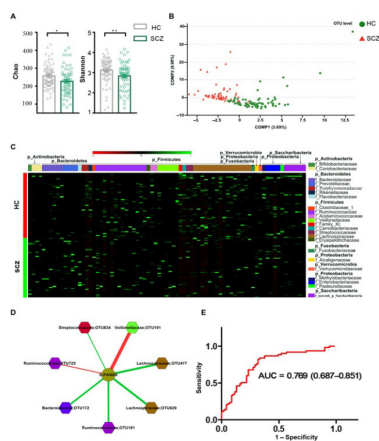


图 1. SCZ 的肠道微生物特性

## 粪菌移植

动物学实验 FMT 实验发现，移植 SCZ 患者微生物群的小鼠表现出多动，焦虑和抑郁行为减少，以及惊吓反应增加，这表明 SCZ 微生物群受体小鼠的紊乱的微生物组成与 SCZ 小鼠模型的几种内表型特征相关。

为了鉴定上述分析得到的核心菌是否在肠道中定植，作者对精神分裂小鼠与正常小鼠的肠道菌群进行分析，发现两者组成有很大差异。进一步分析发现 Aerococcaceae (气球菌科)，Rikenellaceae (理研菌科)，以及它们的组合微生物标记物可以完全区分 SCZ 微生物群受体小鼠与它们的 HC 对应物，AUC 为 1，这两个标记物在 SCZ 的病人以及移植他们粪便的受体小鼠都是存在的。

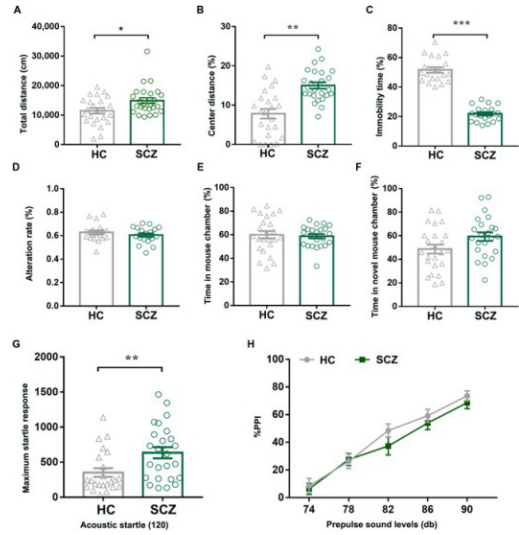


图 2. SCZ 菌群受体小鼠与 HC 菌群受体小鼠的行为比较

## 粪菌移植后代代谢物变化

利用非靶向代谢组学，以确定肠道微生物群调节的代谢是否或哪些代谢与改变的 MGB 轴平行。我们分析 SCZ 受体小鼠与 HC 微生物群受体小鼠的粪便、血清、海马样本。发现两组之间的差异表达代谢物。功能聚类分析表明，这些差异代谢物均参与氨基酸代谢，如谷氨酸-谷氨酰胺-GABA 循环、多种氨基酸转运、脂质代谢。总的来说，SCZ 微生物群小鼠的实验结果表明，谷氨酸-谷氨酰胺-GABA 循环和氨基酸代谢和转运发生了改变。

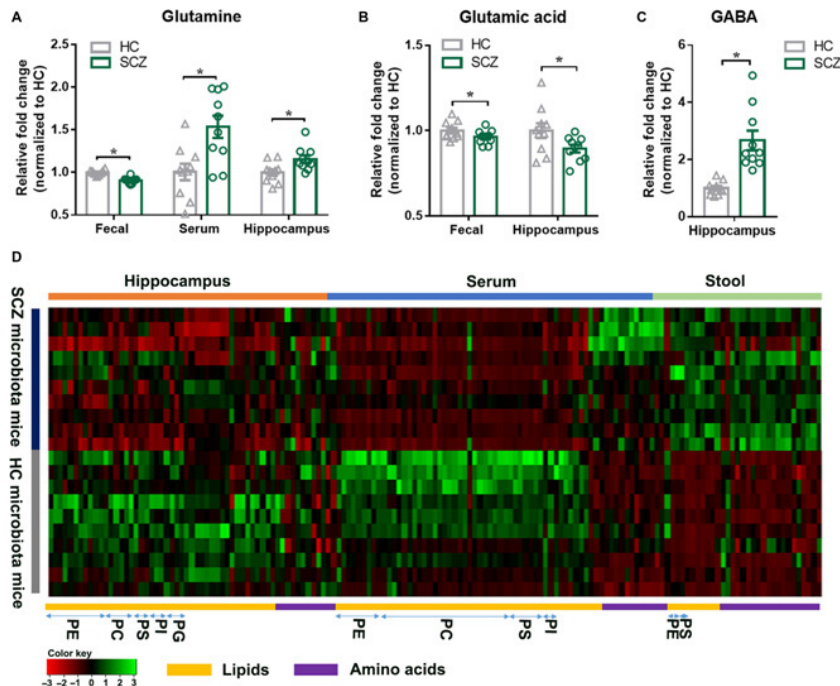


图 3. 粪便、血清和海马的代谢物

## 参考文献

Zheng P, et al. The gut microbiome from patients with schizophrenia modulates the glutamate-glutamine-GABA cycle and schizophrenia-relevant behaviors in mice. Science Advances (IF=12.804).2019.

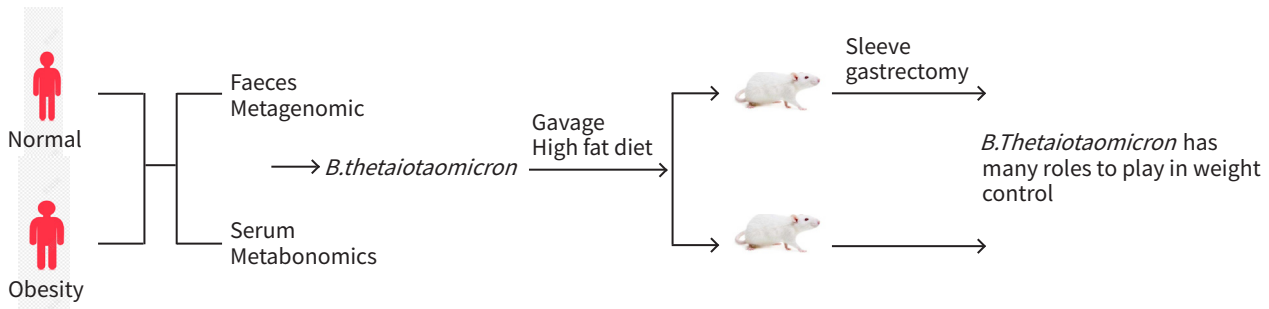
# 肥胖代谢组学研究思路

Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention  
Nature Medicine 2017.IF=30.641

## 研究内容简介

通过对一组精瘦以及一组肥胖的中国汉族年轻人进行了宏基因组关联研究和血清代谢组学分析，确定了肥胖相关的肠道微生物物种与循环代谢物的变化有关，首次揭示了中国青少年肥胖的的肠道菌群组成。研究人员通过代谢组学分析血清代谢物水平发现可以与谷氨酸发酵共生的多形拟杆菌的丰度在肥胖组人员体内明显下降，并且与其体内血清谷氨酸浓度呈现明显的负相关。与此一致，将多形拟杆菌 (*B.thetaiotaomicron*) 灌喂给小鼠后发现其血清的谷氨酸明显下降，并且可以减轻小鼠由饮食诱导的体重增加和肥胖症。此外，通过减肥手术减肥后可以部分地逆转肥胖个体中与肥胖相关的微生物和代谢变化，这些变化包括 *B.thetaiotaomicron* 的丰度较低、血清中谷氨酸的浓度较高，进一步证明了 *B.thetaiotaomicron* 在减肥获益中的作用。该项研究明确了以前未知的肠道微生物菌群改变、循环氨基酸水平和肥胖之间的联系，这表明有望实现通过肠道微生物菌群干预靶向治疗肥胖。

## 研究思路



## 结果展示

通过宏基因组学关联研究识别肥胖相关基因和分类学变

运用鸟枪法测序的方法探讨了对照组（79例）与肥胖组（72例）间的不同，发现肥胖组与对照组比较而言，其基因丰度、细菌的多样性均较低并且肥胖组的微生物β多样性明显高于对照组。运用宏基因组关联研究发现了350,524个与肥胖有关的标志基因，并对其进行宏基因组连锁群分组（MLGs），发现对照组的MLGs高度相互关联，并且其中的细菌更为多样性。以上共同揭示了肥胖组个体肠道菌群处于失衡状态。

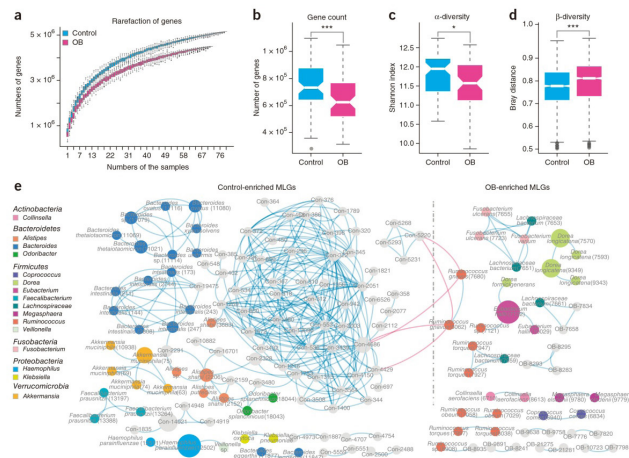


图1 年轻肥胖个体肠道微生物的变化



## 肠道微生物物种与临床指标的关联

采用了置换方差分析了肥胖组肠道微生物与临床指标间的关系。发现 *B.thetaiotaomicron*、*B.intestinalis*、*B.atus*，这三种微生物的 MLGs 在对照组中丰度更高，并且与一些特征代谢产物如脂肪、胰岛素抗体联系密切。除此之外还发现 *F.prausnitzii*、*B.thetaiotaomicron*、*D.longicatena* 这三种微生物所产生的瘦素以及脂联素可能是连接肠道微生物与代谢状况的潜在标志物。

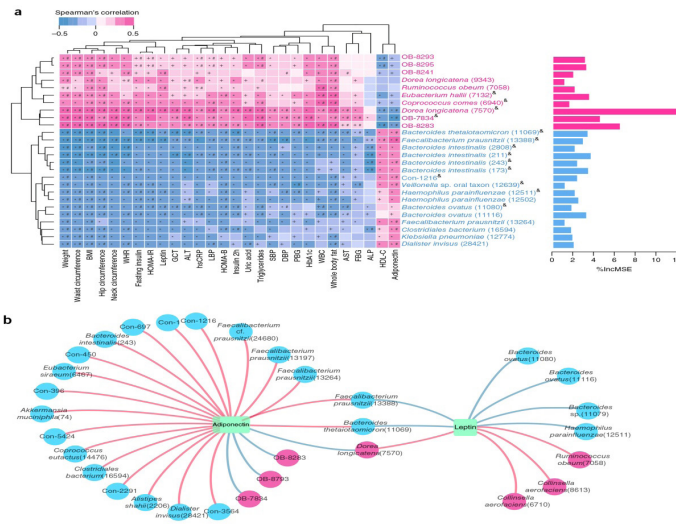


图 2. 肠道微生物种类与临床指标的关系

## 肠道微生物与宿主代谢物间的联系

采用血清非靶向检测代谢物的方法，运用的方法为 LC-MS (Thermo LTQ Orbitrap Velos)。共鉴定了 13 种代谢物，这些代谢物在肥胖组以及对照组中各代谢物的丰度也不尽相同，肥胖组肠道中微生物产生更多的芳香族氨基酸以及支链氨基酸，这些氨基酸将导致包括肥胖、心血管疾病等一系列疾病。其中最引人注意的是谷氨酸的变化趋势，经分析后发现谷氨酸以及谷氨酰胺可以反映出一些微生物如 *D.longicatena*、*C.comes* 的丰度变化，尤其是与 *B.thetaiotaomicron* 呈现出明显的负相关，这表明肠道微生物可能会影响氨基酸代谢从而导致肥胖及其代谢并发症。

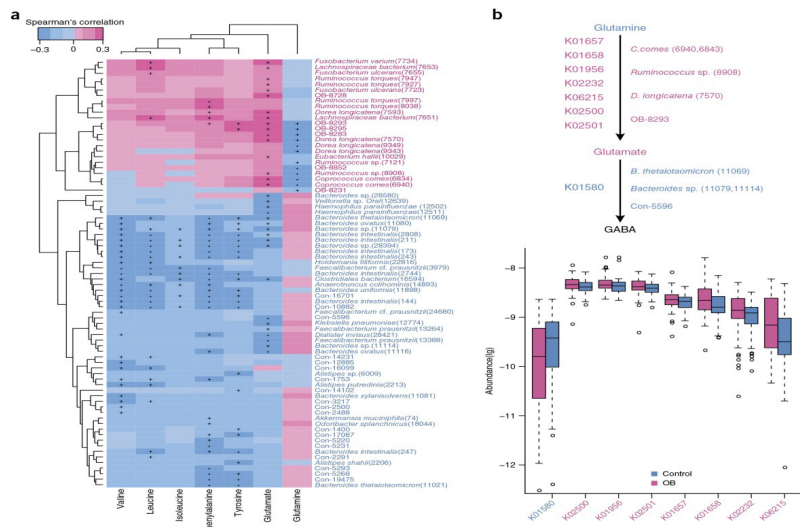


图 3. 肠道微生物种类与循环氨基酸的关系

## 参考文献

Ruixin Liu, et al., Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention, Nature Medicine (IF=30.641).2017.

# 冠心病代谢组学研究思路

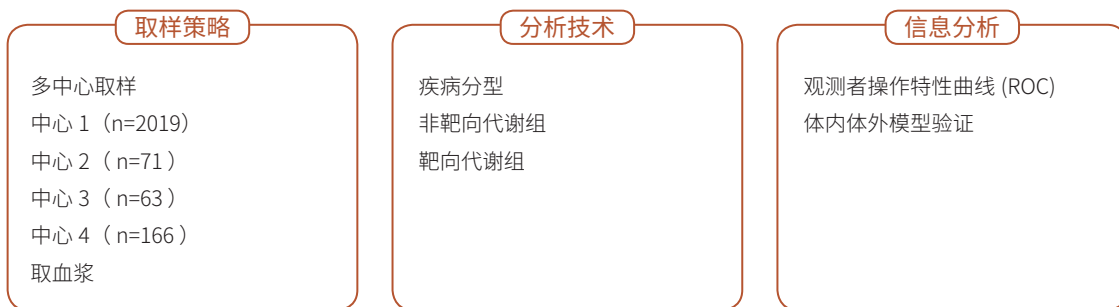
Functional Metabolomics Characterizes a Key Role for N-Acetyl-neuraminic Acid in Coronary Artery Diseases  
Circulation 2018 IF=19.309

## 研究内容简介

冠状动脉疾病 (CAD) 是最常见的心脏病，是一个严重的健康问题。复杂分子事件是 CAD 开发的特征。代谢紊乱与 CAD 进展有关。代谢组学是一个在系统生物学中迅速发展的领域，它可以测量个体对生理应激、疾病过程和药物治疗反应的的低分子量代谢物变化。血浆常被认为是一个代谢物池，并已成为代谢谱的主要来源。代谢组学在 CAD 中的应用是一个新兴的领域。

研究了来自 4 个独立中心的 2,324 名接受冠状动脉造影的患者。采用超高效液相色谱 - 负离子四极飞行时间质谱联用技术对血浆中代谢物进行非靶向分析。通过与冠心病类型 (包括正常冠状动脉、非阻塞性冠状动脉粥样硬化、稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛和急性心肌梗死) 的交叉比较，发现了明显的代谢物差异。随后采用基于同位素标记标准加入的串联液相色谱 - 质谱法对代谢标记物 N-乙酰神经氨酸 (Neu5Ac) 进行靶向分析。提出了一种功能代谢组学策略，通过体外和体内模型研究 Neu5Ac 在冠心病进展中的作用。

## 研究思路



## 结果展示

### 冠心病进展中的代谢组学变化

基于 LC-MS 技术从 2,324 例冠心病血浆样本鉴定出与冠心病发生发展密切相关的差异代谢物 36 个 (见图 2A)，其中 Neu5Ac 在血浆中的水平与冠心病事件呈显著正相关 (见图 2B/C)。

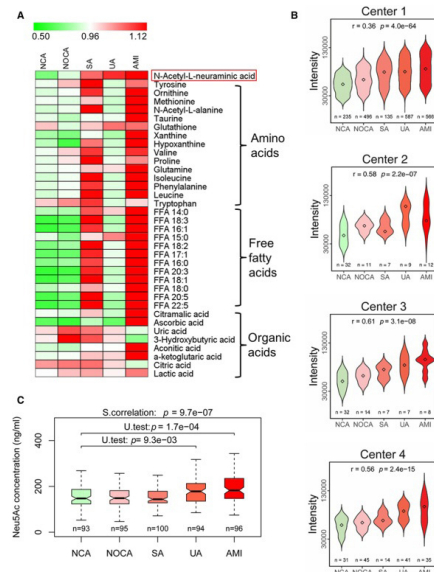


图 1. 冠心病病人血浆代谢物相关热图

## 通过相关蛋白验证代谢物

功能代谢组学研究发现 Neu5Ac 可以选择性结合 Rho 家族中的 RhoA 和 Cdc42, 通过激活 Rho-ROCK 信号通路诱发心肌损伤 (见图 2); 通过分子、细胞和动物水平的深入探索, 发现影响 Neu5Ac 水平的上游调控蛋白神经氨酸酶高表达, 敲除神经氨酸酶可抑制代谢标志物 Neu5Ac 的表达, 减少缺血缺氧诱导的心肌损伤。

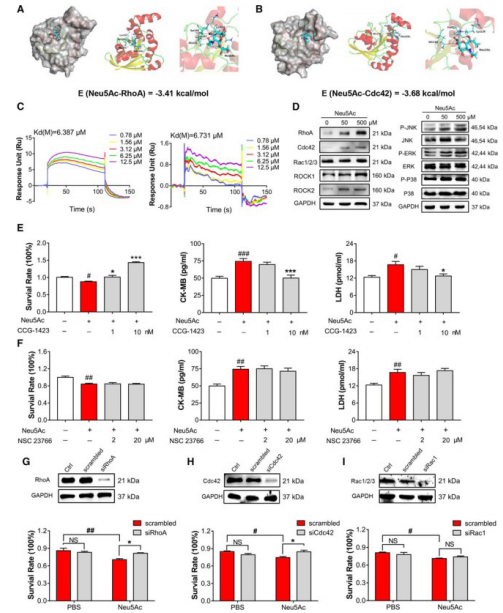


图 2. Neu5Ac 与 RhoA 和 Cdc42 的相互作用

## 动物实验验证

同时发现流感病毒神经氨酸酶抑制剂药物 (奥司他韦 Oseltamivir 和扎那米韦 zanamivir) 可有效抑制真核生物体内神经氨酸酶的活性, 减少心肌细胞损伤和大鼠心肌缺血损伤, 显著提高心肌缺血大鼠的 24 小时生存率, 证实抗流感药物治疗冠心病的新用途 (见图 4)。

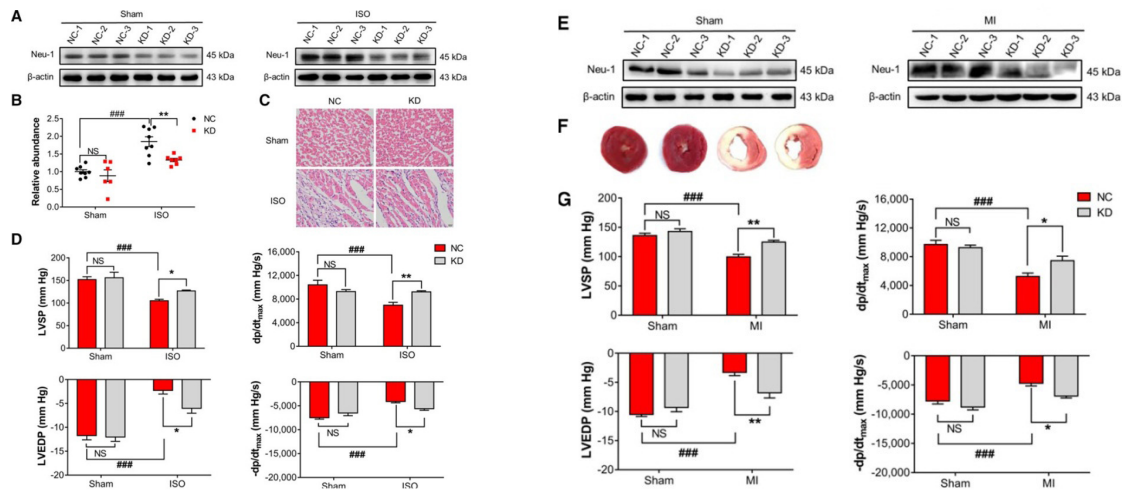


图 3/4. 肠道微生物种类与循环氨基酸的关系

## 参考文献

Lei Zhang, et al. Functional Metabolomics Characterizes a Key Role for N-Acetyl-neuraminic Acid in Coronary Artery Diseases. *Circulation* (IF=19.309). 2018

# 中医糖尿病代谢组学研究思路

Title: Metabolomics Reveals Effect of Zishen Jiangtang Pill, a Chinese Herbal Product on High-Fat Diet-Induced Type 2 Diabetes Mellitus in Mice

Frontiers in Pharmacology 2019 IF: 3.831

## 研究内容简介

滋肾降糖丸 (ZJP) 是一种中草药汤剂, 几十年来一直被临床用于糖尿病的治愈, 以防止血糖水平过高。然而, 这一作用的潜在机制尚未得到很好的研究。本研究的目的是探讨 ZJP 治疗肥胖 2 型糖尿病动物模型的代谢变化。ZJP 治疗明显恢复了高脂饮食小鼠升高的胰岛素、葡萄糖和总胆固醇水平。在血清样本中共发现并鉴定了 26 个潜在的生物标志物, 其中 24 个代谢物受到强烈影响, 并在 ZJP 治疗后恢复到对照水平。通过对代谢途径的分析, 认为谷胱甘肽代谢、甾体激素生物合成和甘油磷脂代谢与糖尿病密切相关。

## 研究思路



## 结果展示

### ZJP 具有抗糖尿病作用

与正常组相比, 高脂饮食组小鼠的血清胰岛素、葡萄糖和总胆固醇水平分别增加了 2.5 倍、1.6 倍和 2.4 倍。与模型组相比, 高剂量 ZJP 治疗可显著降低升高的胰岛素、葡萄糖和总胆固醇水平, 低剂量 ZJP 治疗显示出一些改善, 但不是显著水平。甘油三酯水平在模型组和药物治疗组中均未显示出明显的变化。此外, 计算胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 和定量胰岛素敏感性检查指数 (Quicki)。HOMA-IR 和 Quicki 结果进一步支持通过药物治疗改善高脂肪饮食组。

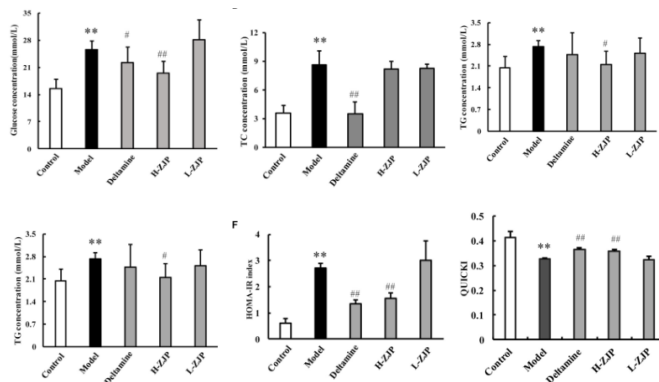


图 1. ZJP 对糖尿病小鼠生化指标的影响

## 免疫组化分析

免疫组织化学分析显示模型组小鼠胰岛形态明显不同，胰岛素染色较差，胰高血糖素染色增加，ZJP 治疗组小鼠胰岛外观较模型组有所改善。

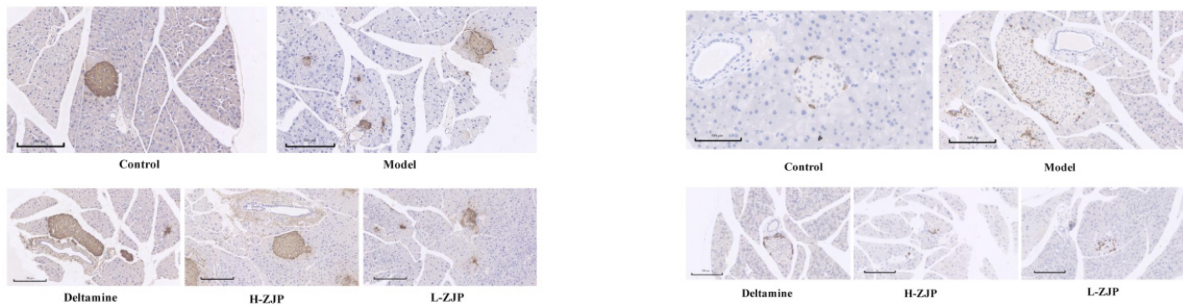


图 2. 胰岛免疫组化分析

## 生物标志物识别和代谢途径分析

在血浆样品中发现并鉴定了总共 26 个潜在的生物标志物。ROC 曲线分析显示了详细的曲线下面积 (AUC), p 值, 95% 置信区间和 26 个识别出的糖尿病预测潜在生物标志物的误差值。26 种代谢物表现出良好的诊断性能, 平均曲线下面积在 0.78-1.00 之间, p 值在 0-0.034 之间。数据分析表明, 所识别的生物标志物发挥了强大的诊断能力。

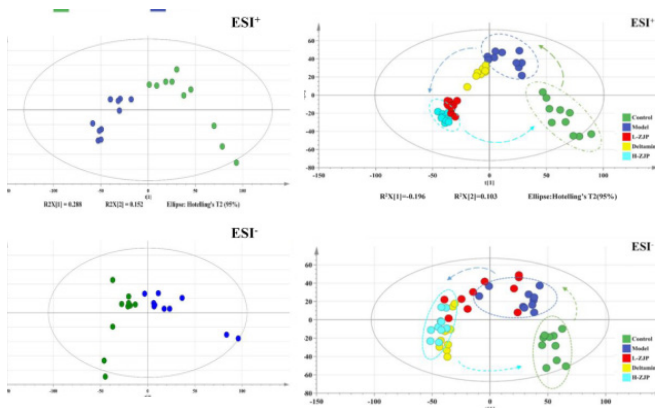


图 3. 多元统计分析

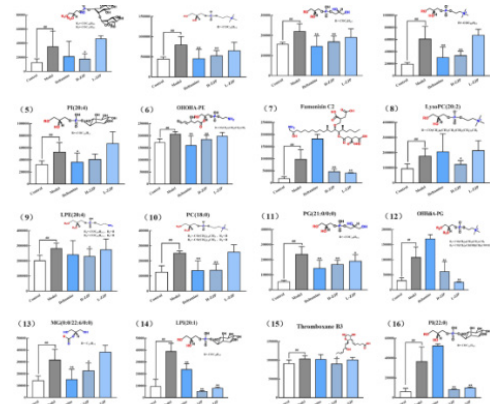


图 4. 26 种代谢物的相对含量

## 参考文献

Jianping Chen, et al. Metabolomics Reveals Effect of Zishen Jiangtang Pill, a Chinese Herbal Product on High-Fat Diet-Induced Type 2 Diabetes Mellitus in Mice .Frontiers in Pharmacology (IF:3.831) .2019.



# 中医高尿酸血症代谢组学研究思路

Title: Study on chemical constituents of herbal formula Er Miao Wan and GC-MS based metabolomics approach to evaluate its therapeutic effects on hyperuricemic rats

Journal of Chromatography B 2019 IF: 2.813

## 研究内容简介

高尿酸血症与痛风、心血管和肾脏疾病等发展风险增加密切相关。二妙丸 (EMW) 是一种广泛用于治疗高尿酸血症和痛风的经典中药配方。然而，该药物的整体组成和作用机制仍不清楚。本文采用超高效液相色谱 - 质谱 (UPLC-MS) 和气相色谱 - 质谱 (GC-MS) 对提取液的化学成分进行了鉴定。从 EMW 提取物中初步鉴定出 24 个生物碱，15 个有机酸，4 个萜类，3 个内酯，3 个糖苷，46 个挥发性成分和 3 个其他化合物。此外，基于长期高果糖饲料诱导的高尿酸血症大鼠模型，基于 GC-MS 的代谢组学方法全面评估了 EMW 的机制。

## 研究思路



## 结果展示

### EMW 萃取物的化学成分

用 UPLC-Q-TOF/MS 初步鉴定了 EMW 提取物中的 52 个主要化合物 (24 个生物碱，15 个有机酸，4 个萜类，3 个内酯，3 个糖苷和 3 个其他化合物)。包括每种化合物的保留时间、MS 数据和药材来源。采用 GC-MS 对挥发性成分进行了 GC-MS 研究，并给出了典型的 GC-MS 总离子色谱图谱。通过与 NIST 的标准质谱和文献中化合物的特征碎片离子进行比较，鉴定了白术中 46 种挥发性成分。

从白术根茎中检出 3 种内酯和 46 种挥发性成分。黄柏皮和苍术中含有 15 种有机酸，苍术中含有 4- 哌嗪 -2- 羧酸、奎尼酸、苹果酸和壬二酸等 4 种有机酸。其余的有机酸来自黄柏皮。因此，黄柏和白术的主要活性成分具有抗炎和抗氧化活性。这些有效化合物值得进一步研究，以探讨 EMW 的作用机制。

## 结果展示

### EMW 对高尿酸血症大鼠血浆和尿酸水平的影响

PCA 用于探讨对照组、模型组和 EMW 处理组之间代谢物的趋势。在 PCA 计分图中，对照组、模型组和 EMW 处理组之间观察到明显的分离，这表明不同组之间的血浆内源性代谢物存在一些显著的差异。与模型组相比，治疗组的代谢率更接近于对照组，表明高果糖饲料改变了模型大鼠多种代谢物的代谢水平，总代谢偏离可能是经处理后在一定程度上被检测和逆转的。随后，构建 OPLS-DA 模型来分析对照组和模型组之间的代谢模式。在 OPLSDA 评分图中，两组之间显示出极好的分离， $R^2Y=0.983$  和  $Q^2=0.949$ ，这意味着高果糖摄入诱导的高尿酸血症大鼠的代谢物发生了明显的变化。经过分析差异代谢物主要鉴定为 9 种氨基酸，4 种脂肪酸和 8 种其他代谢物。

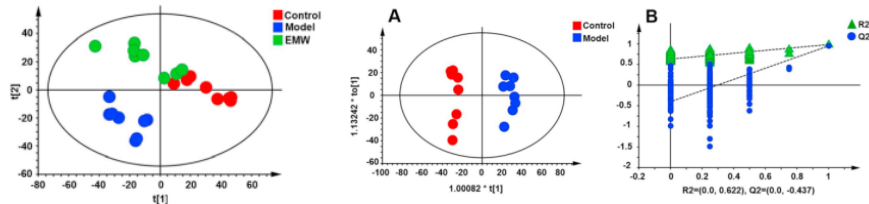


图 1. PCA/OPLS-DA 分析

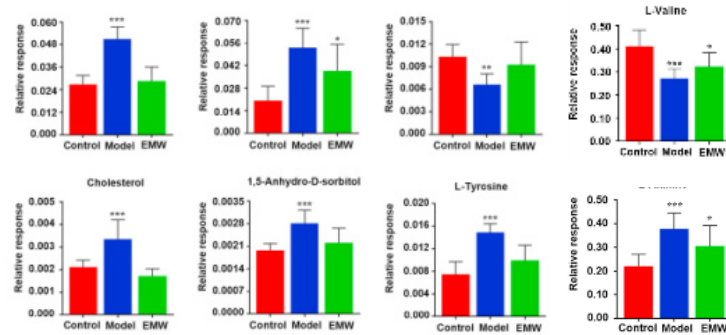


图 2. 典型代谢物在 EMW 干预后的变化

### 代谢途径分析

与高尿酸血症相关的代谢物的通路分析结果表明，高尿酸血症检测到的有三条主要的相关通路，其影响值  $>0.1$ ，包括甘油代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢以及精氨酸和脯氨酸代谢。这三种代谢途径已被发现与痛风有关。值得注意的是，在 EMW 干预后，甘油代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢以及精氨酸和脯氨酸代谢明显促进。

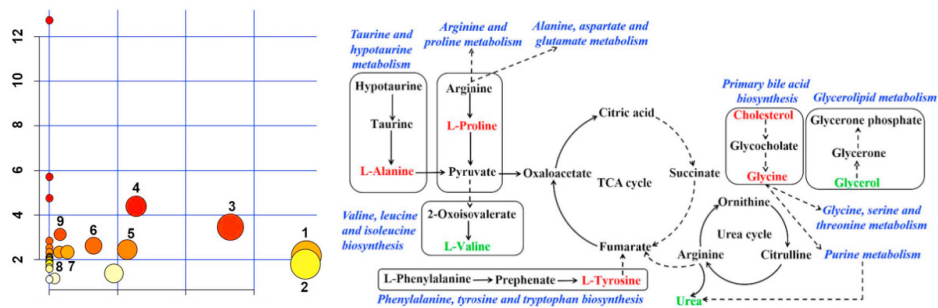
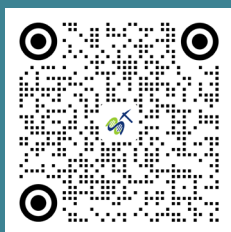


图 3. 与 EMW 治疗相关的典型代谢物的代谢途径网络

## 参考文献

Bixia Huang, et al. Study on chemical constituents of herbal formula Er Miao Wan and GC-MS based metabolomics approach to evaluate its therapeutic effects on hyperuricemic rats. Journal of Chromatography B (IF:2.813). 2019.



## 苏州帕诺米克生物医药科技有限公司

电话：0512-62959105

地址：江苏省苏州市工业园区新平街 388 号 22 幢 2 层

邮箱：info@bionovogene.com

网址：<https://www.bionovogene.com>

<https://www.biodeep.cn>