

苏州帕诺米克生物医药科技有限公司



诺米代谢  
PANOMIX  
Suzhou PANOMIX Biomedical Tech Co., LTD



诺米代谢

医学文献及技术路线汇编

Compilation of medical literature and technical routes



# 目录

contents

## 导言

## 01

### 第一章

## 肿瘤相关疾病

- 1.1 尿液类固醇代谢组学在 EURINE - ACT 研究中用于肾上腺偶发瘤的鉴别诊断：前瞻性试验验证研究 04
- 1.2 CircACC1 调节代谢应激下 AMPK 复合物的组装和激活 07
- 1.3 AKT 非依赖性 MET-V-ATPase-MTOR 轴抑制肝癌疫苗接种 10
- 1.4 利用可清除的超分子金 (I) - 硫醇 - 多肽复合物构建的 MDMX 病理纳米制剂具有安全有效的抗肿瘤活性 13
- 1.5 HGF-MET 轴协调肝癌代谢和自噬对化疗耐药的作用 19
- 1.6 血小板修饰磁性纳米颗粒介导铁死亡增强的肿瘤免疫治疗 22
- 1.7 生物模拟 FeS<sub>2</sub> 纳米药物具有低温光热效应，临床已批准 NIR- II 光用于增强化疗动力学治疗 29
- 1.8 阿霉素处理的乳腺癌细胞胞外体中 CD44 的富集促进化疗耐药性 37

## 02

### 第二章

## 代谢相关疾病

- 2.1 微生物产生的丙酸咪唑通过 mTORC1 损害胰岛素信号 42
- 2.2 肠道微生物的代谢产物在炎症性肠病中起到关键作用 45
- 2.3 微生物代谢产物信号是机体铁稳态所必需的 50
- 2.4 溃疡性结肠炎患者粪便微生物群移植反应相关的特异性细菌和代谢物 59
- 2.5 严重肥胖患者的主要微生物群失调：减肥手术后的命运 62
- 2.6 白细胞介素 -23- 白细胞介素 -22 轴调节肠道微生物稳态，以防止饮食诱导的动脉粥样硬化 / 67
- 2.7 儿童肠道微生物来源的细胞外囊泡进入骨盆保存骨量和强度 70
- 2.8 褪黑素通过激活丁酸 / GPR109A 信号通路缓解钛纳米颗粒诱导的骨溶解 77
- 2.9 灵芝孢子多糖通过肠道菌群调节抑制肥胖和炎症 80
- 2.10 microRNA-125a 的异常表达导致肥胖小鼠的胰岛素抵抗和脂质代谢紊乱 87

## 03

### 第三章

## 神经性疾病

- 3.1 一幅动态的小鼠肽组图揭示了益生菌对肠脑轴的调节作用 90
- 3.2 针刺抑制帕金森病小鼠模型的神经炎症和肠道微生物紊乱 96

# 导言

组学包括基因组学、表观基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学和微生物组学等。基因组学和蛋白组学可以预测机体可能会发生的事情，代谢组学则能反映机体正在发生的事情。生物学现象复杂多变，基因表达调控复杂多样，采用多组学联合分析可以实现从“因”和“果”两个方向探究生物学问题，通过多组学相互间的验证还可以阐述分子调控 - 表型间的关联机制，筛选重要的代谢通路或基因、蛋白、代谢物进行实验分析和研究，同时将各组学的数据加以整合分析并深入挖掘生物学数据，从基因、转录、蛋白和代谢水平阐释生物过程，从而更全面了解生命体。

诺米代谢搜集了近年来组学技术在医学领域例如癌症、肥胖、炎症和帕金森病等的应用，通过对高质量医学文献进行整理和解读，从单一组学到多组学技术联合的研究出发，旨在帮助读者快速了解该领域的热点，判断定位未来发展方向，为科研工作提供思路和方法。



# 01

## 第一章

### 肿瘤相关疾病

---

## 1. 肿瘤相关疾病

### 1.1 尿液类固醇代谢组学在 EURINE - ACT 研究中用于肾上腺偶发瘤的鉴别诊断：前瞻性试验验证研究

#### Urine Steroid Metabolomics for the Differential Diagnosis of Adrenal Incidentalomas in the EURINE-ACT Study: A Prospective Test Validation Study

#### 尿液类固醇代谢组学在 EURINE - ACT 研究中用于肾上腺偶发瘤的鉴别诊断：前瞻性试验验证研究

发表期刊: *Lancet Diabetes Endocrinol* | 影响因子: 32.069 | 发表时间: 2020

##### 研究背景：

肾上腺肿块地发现促使诊断研究解决两个问题。一是肿瘤是否导致肾上腺激素过大，这需要排除嗜铬细胞瘤、库欣综合征和原发性醛固酮增多症。二是肾上腺肿块是否为肾上腺皮质癌。肾上腺皮质癌只有尽早发现和手术才能治愈。在 CT 扫描中，一般将平扫值在 10 HU 以下的诊断为肾上腺良性肿瘤。将未增强扫描的 CT 作为排除肾上腺皮质癌的主要影像学手段。但是由于肾上腺良性肿瘤中存在许多脂质贫乏的肾上腺肿块，所以 10 HU 对恶性肿瘤的特异性差。导致很多患者经常通过多种方式重复成像和不必要的手术切除肾上腺肿块，但术后显示这些肿块是良性的。

研究者在一次回顾性的原理性研究中发现，尿类固醇代谢物在对肾上腺皮质癌的检测中具有很高的应用前景，有较高的敏感性（90%）和特异性（88%）。所以，研究者单独研究尿类固醇代谢组学诊断结合标准的成像方案得出得诊断结果与作为参考标准得组织病理学、临床和影像学随访结果进行比较。

横断面成像虽然能检测出肾上腺肿瘤，但需要排除肾上腺皮质癌（ACC）的干扰。然而，影像学特征的特异性差，阻碍了鉴别。作者的目的是验证尿液类固醇代谢组学方法，使用类固醇谱作为 ACC 的诊断依据。

##### 技术路线：

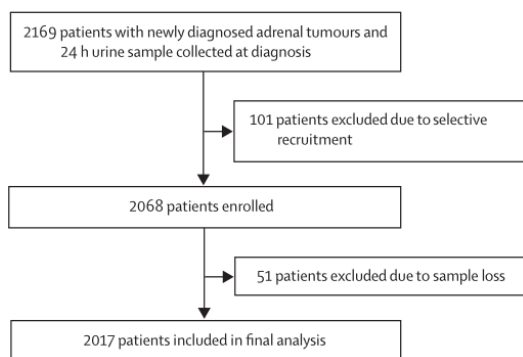


图 1 研究概况

## 1、研究设计和参与者

肾上腺肿瘤患者样本是根据 stard 诊断指南进行下肾上腺肿瘤直径大于 1 cm 的成年人中挑选的。

样本包括 14 个国家，来自 21 个治疗中心的 2017 名患者。

## 2、参考标准

良性肿瘤是基于组织病理学，或者肾上腺大肿瘤和典型的混合类固醇过量。主要包括手术切除后病理组织病理学鉴定为良性的，或者，未切除的肾上腺肿瘤在 6 个月后影像学表征缺乏生长或临床随访不少于 12 个月的。

## 3、成像评估

根据最大肿瘤直径已经影像学特征。

## 4、尿类固醇代谢组学检测

40 例肾上腺皮质癌患者和 99 例肾上腺皮质腺瘤患者，收集 24 小时尿液样本，对 15 种尿类胆固醇代谢物进行定量分析。基于代谢组学数据，将肾上腺皮质癌的后测概率划分为高（大于 65%）、中（10-65%）、低（< 10%）。

## 5、统计分析

2000 名参与者中，对按肿瘤直径、阳性影像学特征和尿类固醇代谢组学排序。

## 研究结果：

1、98 例肾上腺皮质癌中 96 例大于 4 cm，表明按照肿块的直径来鉴定肾上腺皮质癌具有较低特异性。在早期肾上腺皮质癌直径小于 4 cm 时，容易被误诊为肾上腺肿瘤。1549 名参与者接受 CT 增强扫描时，只有一个肾上腺皮质癌患者的衰减低于 20 HU。因此，最大肿瘤直径 4 cm，CT 无强化衰减调整到 20 HU，有助于避免不必要的影像学检测和肾上腺切除。

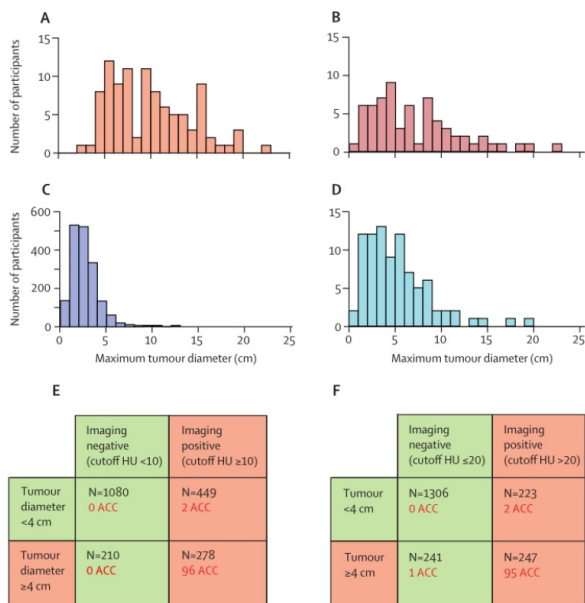


图 2 影像测试结果

2、结果证实了尿液类固醇代谢组学在新诊断的肾上腺肿瘤患者中检测 ACC 的诊断价值。尿甾体代谢组学诊断准确率高于最大肿瘤直径和影像学特征，三者联合应用效果最好。研究者还发现，用 20 HU 作为无增强 CT 肿瘤衰减的截止点，可以提高排除 ACC 的影像学特征评估的准确性，而目前推荐的 10 HU 的截止值则对临床有直接的指导意义。

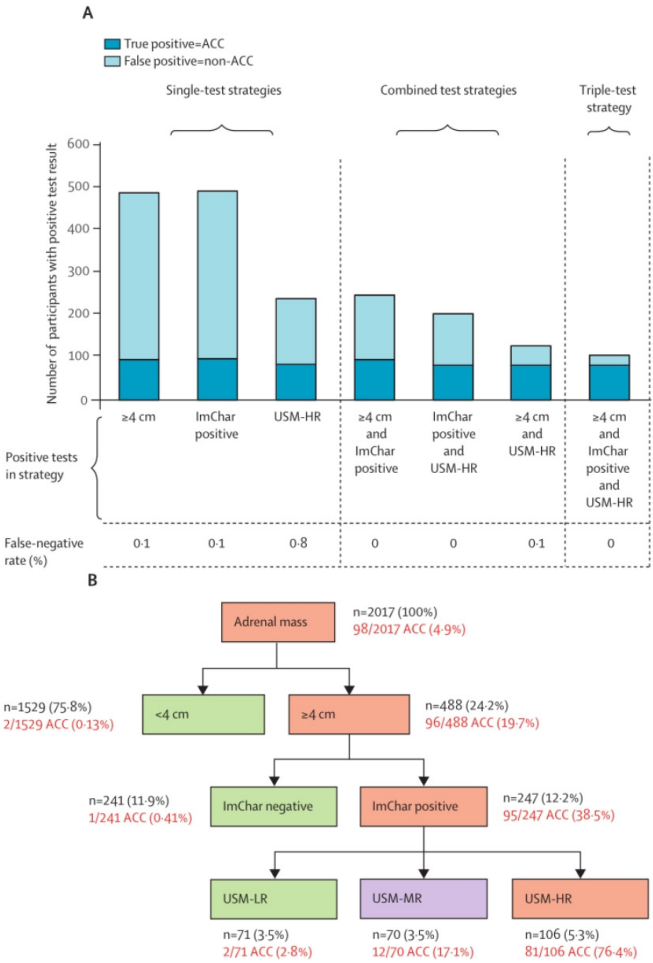


图 3 检测 ACC 的单次测试和多次测试策略的诊断准确性

研究结论：

总共来自 11 个国家 14 个医疗中心 2169 例病患。98 例 ACC 患者（4.9%），其中 96 名肿瘤直径小于 4 cm（PPV 19.7%，95% CI 16.2-23.5488）。通过影像学，将 CT 肿瘤衰减阈值从 10 HU 调整到 20 HU，ACC{80%（95% CI 77.9-82.0） vs 64%（61.4-66.4）}；敏感度{99%（94.4-100.0） vs 100%（96.3-100.0）}；PPV 19.7%，16.3-23.5}。尿类固醇代谢组学结果显示发生 ACC 的高危人群 PPV 为 34.6%（95% CI 28.6-41.0）。按肿瘤直径、阳性影像学特征和尿类固醇代谢组学排序，106 例（5.3%）受试者的最大肿瘤直径≥ 4cm，阳性影像特征（20 HU）和尿类固醇代谢组学表现为 ACC 的高风险，PPV 为 76.4%（95%CI 67.2-84.1）。70 例

(3.5%) 为中危 ACC，1841 例 (91.3%) 为低危 ACC (NPV 99.7%，99.4-100.0)。

参考文献：

Bancos I, Taylor A E, Chortis V, et al. Urine steroid metabolomics for the differential diagnosis of adrenal incidentalomas in the EURINE-ACT study: a prospective test validation study[J]. The Lancet Diabetes & Endocrinology, 2020.

1.2 CircACC1 调节代谢应激下 AMPK 复合物的组装和激活

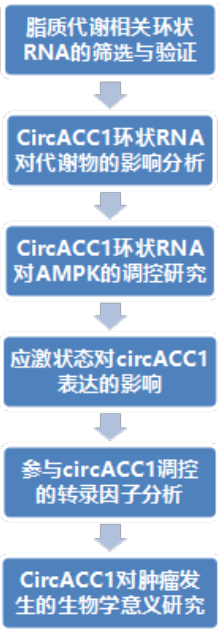
CircACC1 Regulates Assembly and Activation of AMPK Complex under Metabolic Stress  
CircACC1 调节代谢应激下 AMPK 复合物的组装和激活

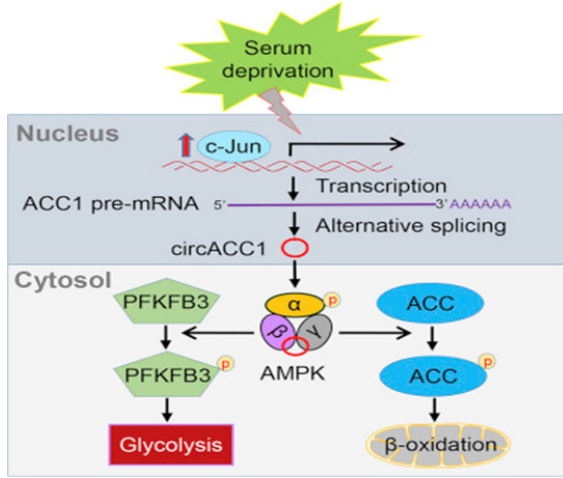
发表期刊：Cell Metabolism | 影响因子：27.287 | 发表时间：2019

研究背景：

细胞代谢受其所在微环境的影响。AMPK（AMP 活化蛋白激酶）是重要的细胞能量感受器，在细胞能量不足时被激活，进而影响细胞的脂肪酸氧化、糖酵解、脂降解等代谢活动。代谢异常是肿瘤细胞的重要特征之一。由于 AMPK 在细胞代谢中的关键地位，活性受到严格调控，被视为肿瘤治疗的潜在靶点。环状 RNA 是非编码 RNA 领域最新的研究热点，这类特殊的非编码 RNA 具有组织特异性，在多种疾病生理中发挥着重要的调控作用，但环状 RNA 是否参与 AMPK 的调控尚未清楚。

技术路线：





### 研究结果：

1. 结合前人研究结果对与脂质代谢相关的环状 RNA 进行筛选，选出 7 个候选环状 RNA。采用 siRNA 抑制各个候选环状 RNA 后发现，唯有抑制来源于 ACC1 基因的 circACC1 环状 RNA 会导致脂质积累。进一步的转录验证表明，circACC1 确实是环状 RNA。

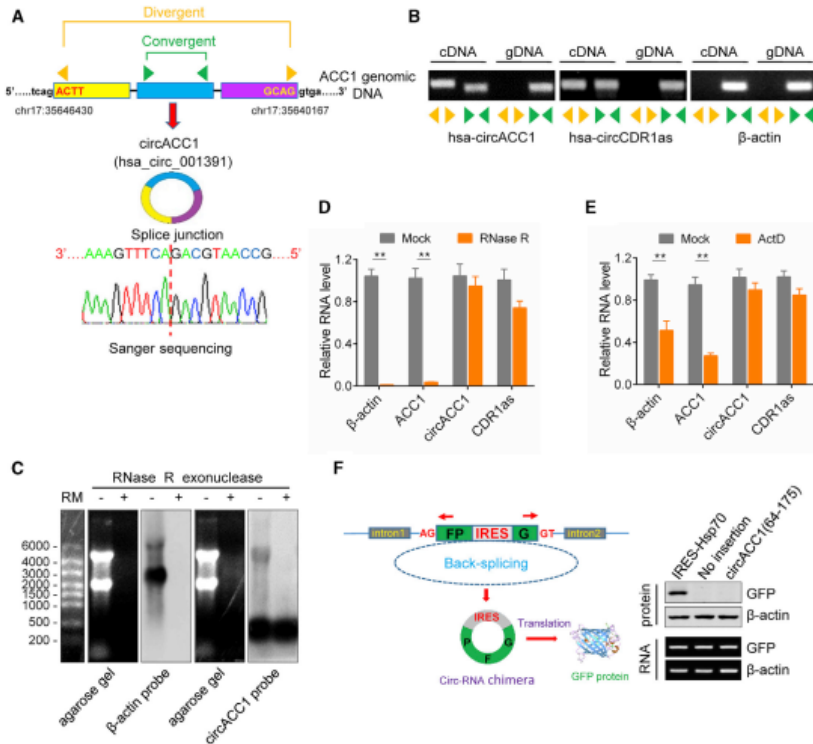


图 1 参与脂质代谢的环状 RNA circACC1 的鉴定

2. 结合环状 RNA 与脂质成分代谢组学等分析，作者发现了 circACC1 环状 RNA 通过与 AMPK 结合，稳定并增强 AMPK 的活性，进而促进脂肪酸  $\beta$  氧化和糖酵解。作者进一步对 circACC1 在肿瘤发生的生物意义进行了探究。与代谢物结果吻合，沉默 circACC1 能有效抑制肿瘤细胞的生长。

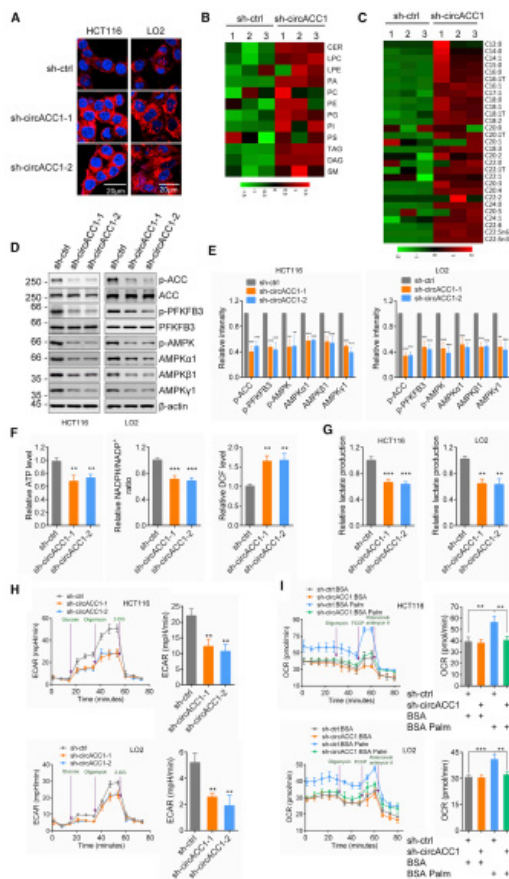


图 2 CircACC1 促进糖酵解与脂肪酸氧化

## 研究结论：

在血清饥饿时，转录因子 c-Jun 使得 ACC1 基因表达更多的 circACC1，这一环状 RNA 与 AMPK 的  $\beta$  和  $\gamma$  亚基结合，稳定并增强 AMPK 的活性，从而促进脂肪酸  $\beta$  氧化和糖酵解。在结直肠癌组织中，AMPK 的激活与 circACC1 的表达呈现正相关，这进一步表明环状 RNA 在肿瘤发生与代谢调控中的意义。

本研究脂质组检测和数据工作由诺米代谢协助完成

## 参考文献：

Li Q, Wang Y, Wu S, et al. CircACC1 Regulates Assembly and Activation of AMPK Complex under Metabolic Stress[J]. Cell Metabolism, 2019, 30(1):157-173.



### 1.3 AKT 非依赖性 MET-V-ATPase-MTOR 轴抑制肝癌疫苗接种

#### The AKT-Independent MET-V-Atpase-MTOR Axis Suppresses Liver Cancer Vaccination

#### AKT 非依赖性 MET-V-ATPase-MTOR 轴抑制肝癌疫苗接种

发表期刊: *Signal Transduction and Targeted Therapy*

影响因子: 18.187 | 发表时间: 2020

#### 研究背景:

由于高致死率, 肝癌的早期诊断和治疗仍是目前难点所在。疫苗接种被认为是预防和辅助治疗的一种理想手段, 但目前还未有正式推行的肝癌疫苗, 其中重要卡点在于对于肝癌的免疫原性抑制的分子机制不明。文章关注和肝癌免疫原性重点相关的 MET 蛋白, 并发现了独立于经典 MET-AKT-MTOR 通路外的 MET-V-ATPase-MTOR 路径, 和其在肝癌干预中潜在作用。

#### 技术路线:

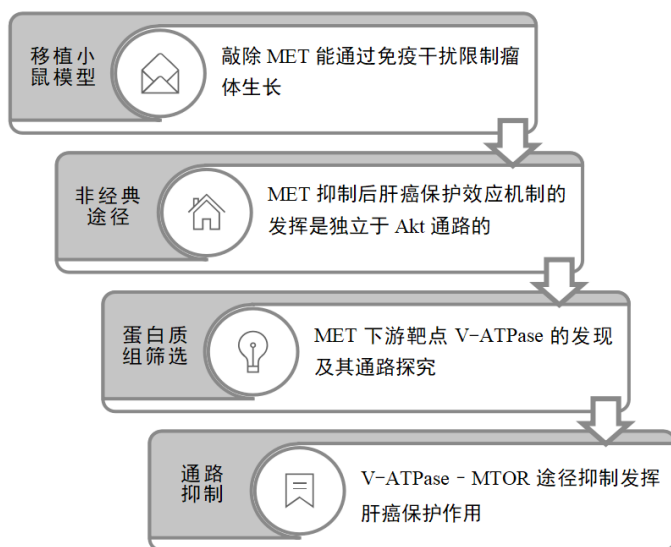


图 1 技术路线

#### 研究结果:

##### 1. MET 通过干扰肿瘤细胞免疫影响抗癌保护作用

通过移植正常 (MET-WT) 和 MET 敲除 (MET-KO) 的两种肝癌细胞 (H22 和 Hepa1-6) 至免疫功能正常的小鼠 (C57BL/6) 和重度免疫缺陷小鼠 (NCG), 观察瘤体生长情况发现, 在免疫缺陷小鼠体内, MET-WT 和 MET-KO 瘤体生长无明显差异; 而在免疫功能正常的小鼠体内, MET-KO 细胞移植后瘤体生长明显受限 (图 2)。通过肿瘤免疫分析数据库 (TISIDB) 分析后发现, 和小鼠数据类似, 临床样本中 MET 表达水平也和肿瘤免疫相关因素如 MHCs、趋化因子水平负相关。

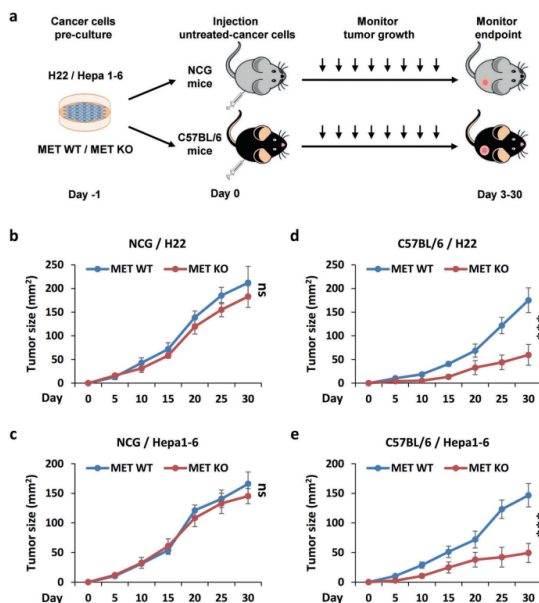


图 2 MET 以免疫系统依赖的方式促进肝癌的生长

## 2. 药物结合 MET 敲除通过独立于 Akt 通路的途径促进肝癌保护

奥沙利铂 (OXP) 能诱导产生免疫原性细胞死亡 (ICD)，被用于多种肿瘤的治疗；顺铂 (CDDP) 也是常用的抗肿瘤药物，可以诱导细胞自噬。和无干预组相比，经 OXP 预处理 MET-WT H22 细胞后，约有 40% 小鼠未有肿瘤发生，而经 OXP 预处理 MET-KO H22 细胞后，未发生肿瘤的小鼠比例占 80%；经 OXP 预处理 MET-KO Hepa1-6 细胞后，小鼠保护率达 90%。CDDP 预处理后，在 MET-KO 细胞中保护效率同样显著高于 MET-WT (图 3 左)。

MET 常被认为通过经典 PI3K-AKT 途径发挥功能，文章对 H22 和 Hepa1-6 细胞转染 Akt 表达质粒 (AKT-DD) 后，重复上述 OXP 和 CDDP 预处理过程，结果表明 Akt 激活后并未加强 OXP 或 CDDP 抗肿瘤效应 (图 3 右)。

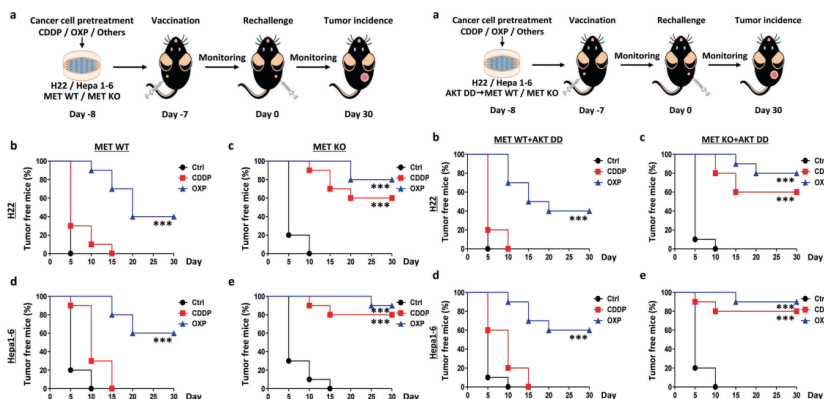


图 3 MET 抑制了以化疗为主的肝癌疫苗的保护效力

### 3. 肝癌中 V-ATPase 是 MET 的新靶点

亲和层析纯化抓取 MET 共沉淀物，进行 LC-MS/MS 蛋白检测，结果显示 V-ATPase 整个 V1 亚单位（包括 A,B,D,E,F,G）均在 MET 共沉淀物内。分别用 MET 抗体（图 4c）、V-ATPase 各亚基抗体（图 4d, e）双向免疫共沉淀，结果显示 ATP6V1A 是富集最多的 MET 交互亚基。保守的脯氨酸富集区域（PxPP）被认为是结合 MET 的一个重要结构域，但 V-ATPase 复合物测序后并未发现有 PxPP 或其同源结构域。提示 MET 和 V-ATPase 可能是通过非经典途径进行结合。

高选择性抑制 MET 活性的抑制剂苯扎米特几乎可以完全抑制 MET-ATP6V1A 结合（图 4g），而 MET 磷酸化激酶失活突变后（MET-KD），同样无法结合 ATP6V1A（图 4h）。提示 MET 和 ATP6V1A 作用可能是通过 MET 磷酸化后进行的。肝细胞生长因子（HGF）引发 MET 磷酸化通常是通过网格蛋白介导的内吞途径完成，选择性网格蛋白抑制剂 Pitstop 2 使用同样可抑制 MET-ATP6V1A 结合。

生物信息学预测发现 MET 和 MTOR 表达水平呈正相关。

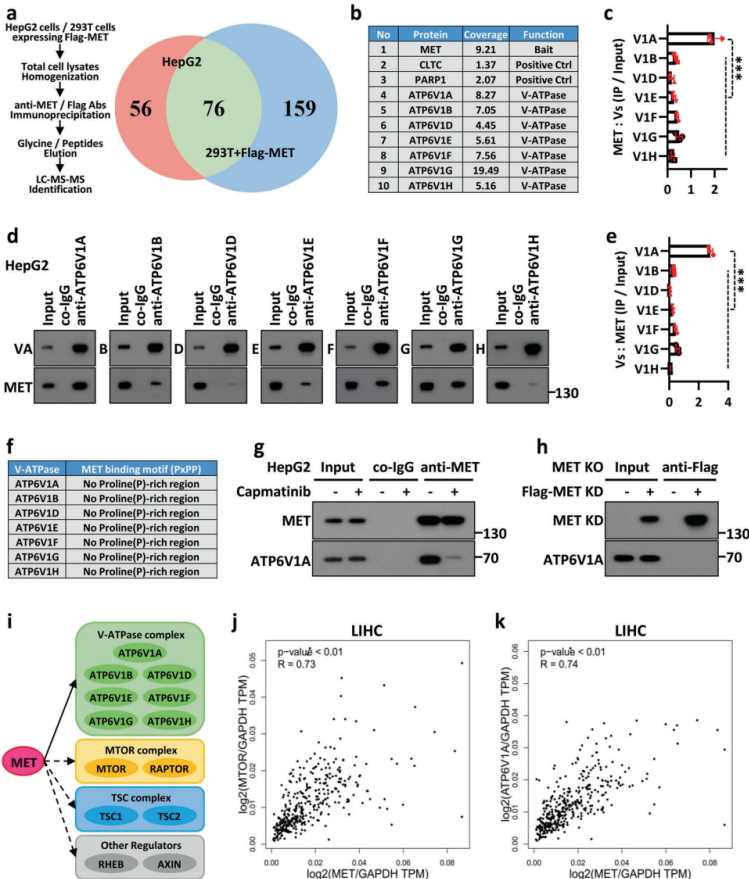


图 4 V-ATPase 是一种与 MET 相互作用的新型蛋白

#### 4. MET 通过 V-ATPase-MTOR 路径抑制抗肝癌作用发挥

对比 WT 和 Met-KO HepG2 细胞，发现 MET-KO 细胞 Thr389 位点发生核糖体蛋白 S6 激酶 (S6K1) 磷酸化，在 H22 细胞和 MET 基因敲除小鼠中也有类似现象。提示 MET 通过调控氨基酸位点激活 MTOR。使用 AKT 特异性抑制剂 afuresertib 处理后，MTOR 激活依旧能发生，表明这种激活作用是独立于 AKT 通路之外的。V-ATPase 特异性抑制剂刀豆素 A (Con A) 完全抑制 MET 导致的 S6K1 磷酸化。此外，使用 MTOR 抑制剂雷帕霉素 (RAPA) 也能提升肝癌保护效应。而同时对 MET 及 MTOR 进行抑制，发现 MET-KO HepG2 细胞增殖、细胞活性等明显受到抑制。

##### 研究结论：

文章发现 MET 能作为“把关者”抑制肝癌细胞免疫原性，蛋白质组检测发现其独立于经典 Akt 通路外的下游作用靶点 V-ATPase，而抑制 MET-V-ATPase-MTOR 通路后，肝癌保护效用明显加强，结论为肝癌药物干预的靶点及其候选药物提供了理论参考。

本研究蛋白质组学检测和数据分析和诺米代谢协助完成

##### 参考文献：

Huang X, Xu X, Wang X, et al. The AKT-independent MET-V-ATPase-MTOR axis suppresses liver cancer vaccination[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2020, 5(1):122.

#### 1.4 利用可清除的超分子金 (I) - 硫醇 - 多肽复合物构建的 MDMX 病理纳米制剂具有安全有效的抗肿瘤活性

A Nano-Predator of Pathological MDMX Construct by Clearable Supramolecular Gold(I)-Thiol-Peptide Complexes Achieves Safe and Potent Anti-Tumor Activity

利用可清除的超分子金 (I) - 硫醇 - 多肽复合物构建的 MDMX 病理纳米制剂具有安全有效的抗肿瘤活性

发表期刊: *Theranostics* | 影响因子: 11.556 | 发表时间: 2021

##### 研究背景：

近年来，具有高度选择性和效能的蛋白质降解技术在药学中的潜在应用逐步受到关注。其中，起到诱导靶蛋白降解作用的蛋白水解靶向嵌合体 (proteolysis targeting chimeras, PROTAC) 是近年来药物研发领域的新热点之一。目前，PROTAC 的研究主要围绕理性合理设计 PROTAC 分子、发现新型 E3 泛素连接酶配体和提升 PROTAC 分子成药性等方面，相关理论发展迅速。

## 技术路线：

诺米代谢协助完成一种新型 PROTAC 药物研究策略 -Nano-MP@PSI。肽基分子胶 (MG) 是一种广泛的双功能配体,通过模仿蛋白质相互作用 (PPI),同时与靶标蛋白和 E3 连接酶结合。在此,研究者设计了一种肽衍生 MG,以肿瘤驱动蛋白 MDMX 为靶点进行降解,并将其纳米化成超分子金 (I) - 硫醇 - 肽复合物 (Nano-MP),来实现蛋白质水解抵抗、细胞内化和谷胱甘肽触发释放。为了优化 Nano-MP 的肿瘤靶向性,研究者合成了一种 pH 响应性大分子聚丙烯磺基咪唑 (PSI) 来包覆 Nano-MP。

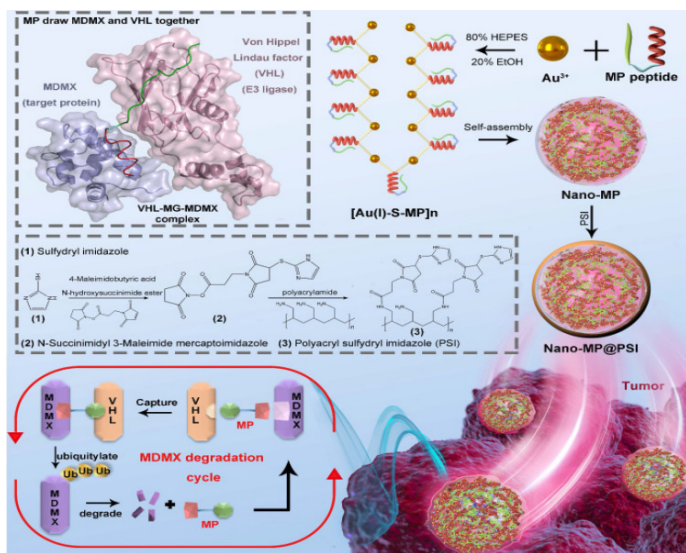


图 1 肽源 MDMX 降解菌 MG 的生物功能图及其纳米工程策略

## 研究结果：

### 1. Nano-MP 和 Nano-MP@PSI 的设计、合成及表征

MP 由三部分组成: 1) MDMX binding motif; 2) 一种柔性三聚乙二醇 (PEG); 3) 连接子, 含有羟脯氨酸和高脂亮氨酸的八肽, 由 VHL 识别, 他是 Cul2-Rbx1-EloB/C-VHL E3 泛素连接酶复合物的一个目标招募亚基 (图 2A)。在 MP 的 C 端引入了 Cys 和 Arg 残基, 用于纳米团簇的构建。经过 Fmoc 化学合成, MP 易于固相肽合成, 收率为 75%, 纯度为 > 95%。在温和的条件下, 实现 MP 的纳米工程的步骤:

步骤一: 1 mg MP 和 1 mg NH<sub>2</sub>-PEGn-SH (MW 2000 Da) 加入 5 mL 20 mM HAuCl<sub>3</sub> 溶液中搅拌 5 min。

步骤二: 加入 5 mL 100 mM 的 HEPES (pH 7.4), 溶液颜色变为紫色。

为了制备肿瘤微环境 (TME) 响应型纳米团簇, 合成聚酰基咪唑 (PSI), 用于包裹 Nano-MP。在 PSI 合成中, 巯基咪唑首先与 N-琥珀酰-6-马来酰亚胺己酸酯反应, 制得 N-琥珀酰亚胺-3-马来酰亚胺巯基咪唑。其次, 该活性咪唑与聚丙烯酰胺 (MW 20000 Da) 通过 PAA 的氨基与羧基荧光素二乙酸丁二酸酯反应, 与聚丙烯酰胺 (MW 20000 Da) 偶联。得到的 PSI 可以在 Nano-MP 表面涂覆, 得到 Nano-MP@PSI。

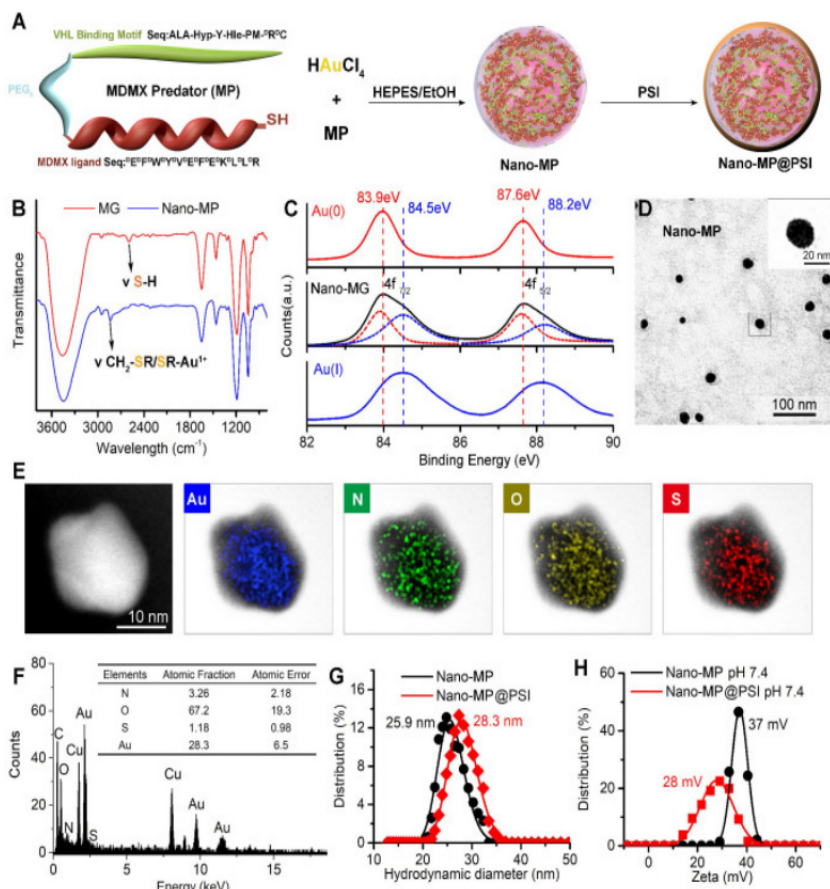


图 2 Nano MP 和 Nano MP @ psi 的设计、合成及表征

## 2. PSI 修饰进一步增加了血液循环时间和肿瘤特异性蓄积

纳米药物在血液循环时间和肿瘤特异性蓄积对其抗肿瘤作用至关重要。用 ICP-MS 对健康 C57L/B6 小鼠血液中的 Au 进行检测，发现 Nano-MP@PSI 相比 Nano-MP，在血液循环中时间更长（图 3B）。此外，在含有 20% 血清的 PBS 缓冲溶液中孵育 72h 后，颗粒中含有 > 90% 的肽，证明 Nano-MP@PSI 在血液循环中的完整性（图 3A）。

同时咪唑的解离常数在 6~7 之间，因此在 TME 中，PSI 在 pH<sub>e</sub> 上会进一步质子化。与预期一样，Nano-MP@PSI 的 zeta 电位在 pH7.4 时从 28 mV 移至 pH6.0 时的 50 mV（图 3C）。具有强正电荷的纳米粒子能以负电荷静电吸附到癌细胞上，进而触发细胞内化，其在 pH6.5 时，内化增强。在 pH7.4 的正常生理环境中，TME 中的质子化 Nano-MP@PSI 增强细胞膜通透性，使得其能够进入细胞内，并在肿瘤细胞中产生蓄积，其中相比 Nano-MP，PSI 修饰后的 Nano-MP@PSI 进一步增强了肿瘤特异性蓄积。



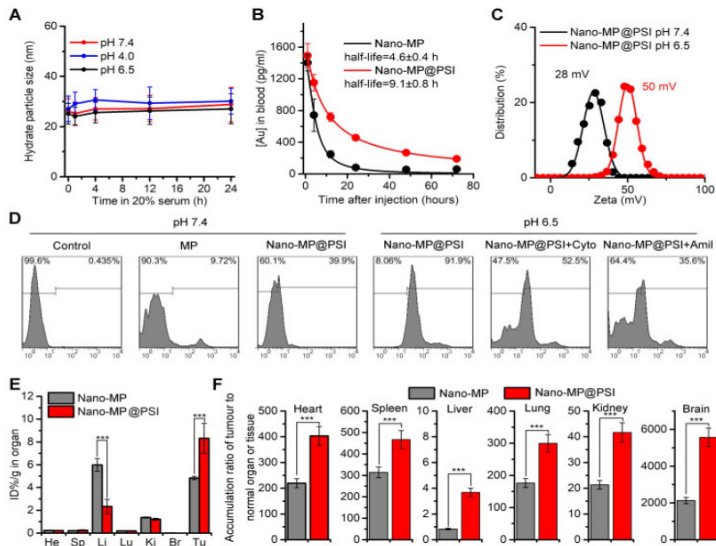


图3 PSI 修饰进一步增加了血循环时间和肿瘤特异性蓄积

### 3. Nano-MP@PSI 可以触发释放货物并从体内排出

Au (I) - 烯醇键会由于癌细胞中谷胱甘肽 (GSH) 浓度过高而发生断裂，同时在细胞环境中保持稳定。当受到刺激是，Nano-MP 可以分解成一个只有 ~5nm 的纳米粒子，以此来响应细胞内的还原环境 (图 4A)。在拆卸过程中，pH6.0 条件下，在含有标准 PBS 和 5mmGSH 的模拟胞外环境中孵育 3 小时，可发现 ~90% 的 MG 释放 (图 4C)。表明这种复合材料是一种稳定可行的肽类物质细胞内传递和释放的平台。

这种纳米粒子，可以有目的的将药物运送到靶细胞，同时还能避免在非靶细胞中蓄积而产生细胞毒性。< 6nm 的纳米粒子可以在全身或部分给药后从体内排出，由于其颗粒很小，其还拥有穿透屏障的能力。研究者为了研究其清洁性，用质谱法对小鼠玻璃体内注射 Nano-MP 的扰动运动学进行了检测和定量，发现超过 70% 的 Au 在 8 小时候消失，2 周后完全消失 (图 4D)。

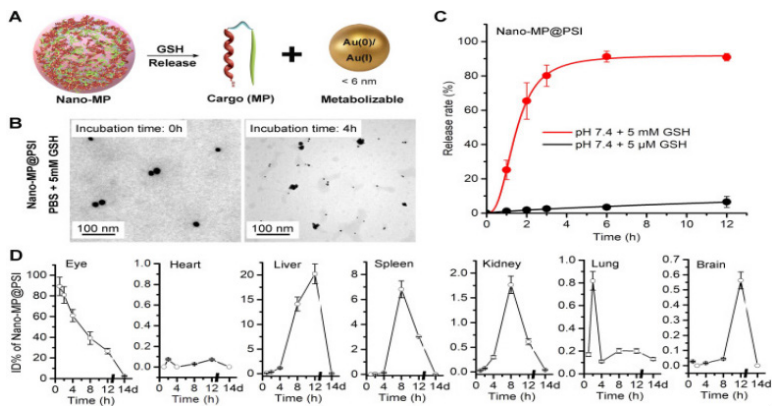


图4 Nano-MP @ PSI 能够释放 GSH 引发的货物并从体内排出

#### 4. Nano-MP@PSI 诱导 MDMX 降解及 p53 和 p73 的修复

研究者利用免疫印迹法，对空白载体（Nano-PEG@PSI），以及两种控制 MDMX 降解的物质（Nano-DPMI@PSI 和 Nano-MMP@PSI）以及 Nano-MP@PSI，研究其对 MDMX 高表达的 p53 和 p73 野生型视网膜瘤细胞系的作用，发现 Nano-MP@PSI 处理后 MDMX 显著下降，其他组无明显变化。而 Nano-DPMI@PSI、Nano-MMP@PSI 和 Nano-MP@PSI 都能稳定 p53、p73 和 p21（图 5A）。发现 Nano-MP@PSI 上调了 p53 信号通路中的调控蛋白，其作用大于 Nano-DPMI@PSI 和 Nano-MMP@PSI。同时还发现，Nano-MP@PSI 是利用泛素依赖的降解途径来诱导 MDMX 的降解的。

研究者还通过转录组，从基因层面，发现 WERI-Rb-1 细胞系在含有 Nano-MP@PSI 的培养基中孵育 24 小时后，差异基因显著富集在与 p53 和 p73 相关通路上。

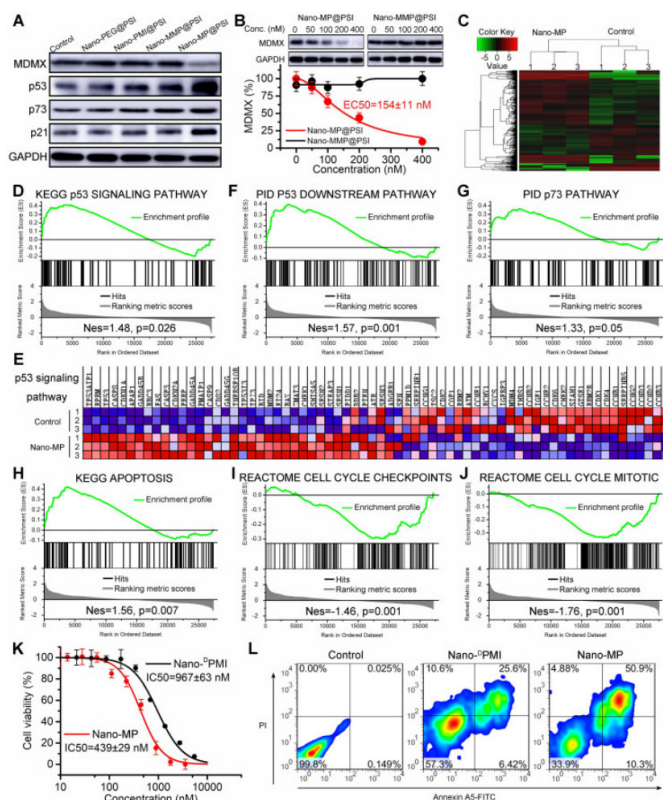


图 5 Nano-MP @ PSI 诱导 MDMX 降解及随后的 p53 以及 p73 恢复

#### 5. Nano-MP 对原位异种移植小鼠视网膜母细胞瘤的抑制作用

研究者发现 Nano-MP@PSI，在第 11 天时，能显著治疗异种移植视网膜母细胞瘤小鼠模型的视网膜母细胞瘤的进展，效果比 Nano-DPMI@PSI 更好。此外，与 NS 处理的小鼠相比，Nano-MP@PSI- 或 Nano-DPMI@PSI 处理组小鼠的体重（图 6A）和脏器病理形态（图 6B）均无明显变化，说明纳米颗粒本身没有任何急性毒性。



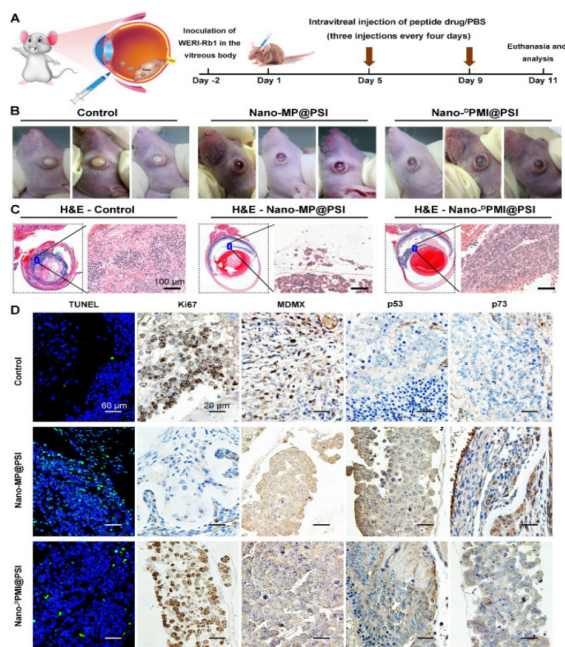


图 6 Nano-MP @ PSI 在原位移植小鼠模型中对视网膜母细胞瘤有很强的抑制作用

## 6. Nano-MP@PSI 在胰腺癌的 PDX 模型中诱导回归

由于同种异种单细胞肿瘤小鼠模型几十年来一直是肿瘤学研究的标准工具，但是单细胞肿瘤的主要组织学、遗传学和微环境特征与实际肿瘤存在显著差异。为了进一步研究 Nano-MP@PSI 的治疗效果，研究者将其与 Nano-DPMI@PSI 对肿瘤生长、肿瘤重量、肿瘤细胞凋亡以及 MDMX、p53、p21 水平的影响进行了对比研究。结果表明，Nano-MP@PSI 通过降解 MDMX 和随后的 p53 以及 p73，在保持高度良好的生物安全性的同时，增强了 KRAS 突变型胰腺癌的治疗效果。

### 研究结论：

Nano-MP 代表了肽化学和纳米技术的成功结合，PROTAC 分子生物成功设计，显示了肽衍生纳米降解物在靶向 PPIs 致病相关蛋白方面的巨大潜力。本文报道的策略将很容易扩展到其他肽 - 蛋白质相互作用，显著弥合肽和 PROTACs 之间的鸿沟。总之，这项研究不仅证实了 MDMX 的降解是一种有前途的抗癌治疗临床策略，而且更重要的是，为肽源 PROTACs 转化为潜在的候选药物提供了一种可行的方法，并可能为各种疾病的非药物靶点的发现工作重新注入活力。

本研究转录组和蛋白质组检测和数据工作由诺米代谢协助完成

### 参考文献：

Siqi Yan, Jin Yan, Dan Liu et al., A nano-predator of pathological MDMX construct by clearable supramolecular gold(I)-thiol-peptide complexes achieves safe and potent anti-tumor activity[J]. Theranostics, 2021.

## 1.5 HGF-MET 轴协调肝癌代谢和自噬对化疗耐药的作用

### The HGF-MET Axis Coordinates Liver Cancer Metabolism and Autophagy for Chemotherapeutic Resistance

#### HGF-MET 轴协调肝癌代谢和自噬对化疗耐药的作用

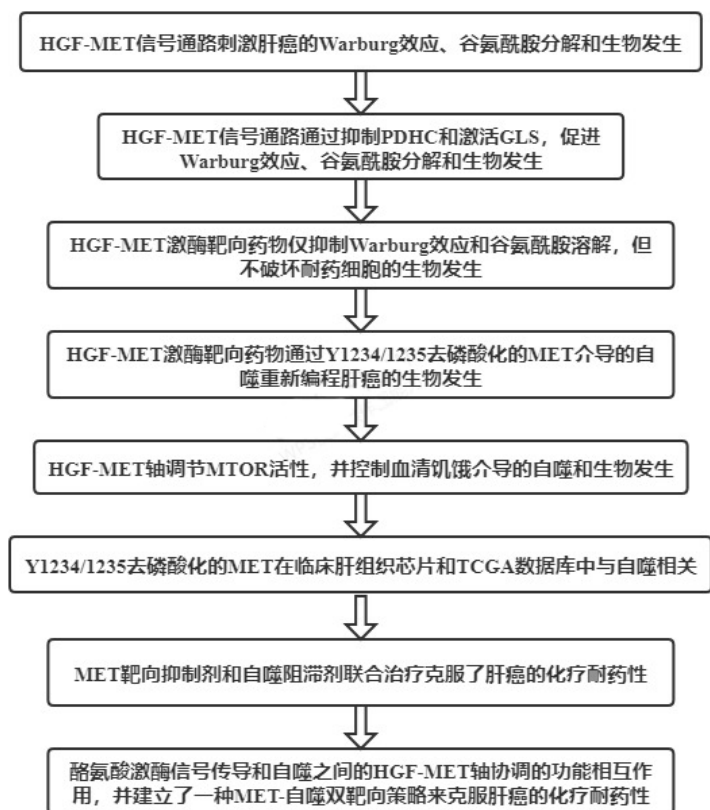
发表期刊: *Autophagy* | 影响因子: 16.016 | 发表时间: 2019

#### 研究背景:

尽管有许多治疗肝癌的药物,新出现的证据表明化疗耐药性是一个重大问题。肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 及其受体上皮间质转化因子 (mesenchymal-epithelial transition factor, MET) 在肝癌的发生和转移中发挥重要作用,而这主要依赖于受体酪氨酸激酶的活性。然而,由于未知的原因,迄今为止,所有 HGF/MET 信号通路激酶活性靶向药物在临床试验中均以失败或被暂停而告终。

为了抵抗代谢压力,机体会开启“自噬”这个保护性的“自食”过程,而这通常是通过回收再利用废弃成分来实现。然而,特别是在肝癌中,自噬介导的这种重新设定的代谢活动对治疗的抵抗作用影响有多大,至今仍不清楚。

#### 技术路线:



# 研究结果：

在本研究中，我们首先观察到 HGF 刺激并促进了瓦博格效应和谷氨酰胺水解，从而加速了多种肝癌细胞的发生。然后，我们确定了丙酮酸脱氢酶复合物 (PDHC) 和 GLS/GLS1 是 HGF 活化 MET 激酶的关键底物。并且，MET 介导的磷酸化抑制了 PDHC 活性，但是却激活了 GLS，从而促进癌细胞的发生和代谢。与此同时，我们发现 MET 激酶活性的关键残基 (Y1234/1235) 构成了一个保守的 LC3 相互作用区域 (Y1234-Y1235-x-V1237)。因此，在抑制 HGF 介导的 MET 激酶活化的事件中，Y1234/1235 去磷酸化的 MET 诱导自噬，从而维持了癌细胞的存活。此外，我们证实了 Y1234/1235 去磷酸化 MET 与临床肝癌的自噬相关。最后，MET 抑制剂和自噬抑制剂的联合应用显著提高了肝癌在试管和小鼠的治疗效率。

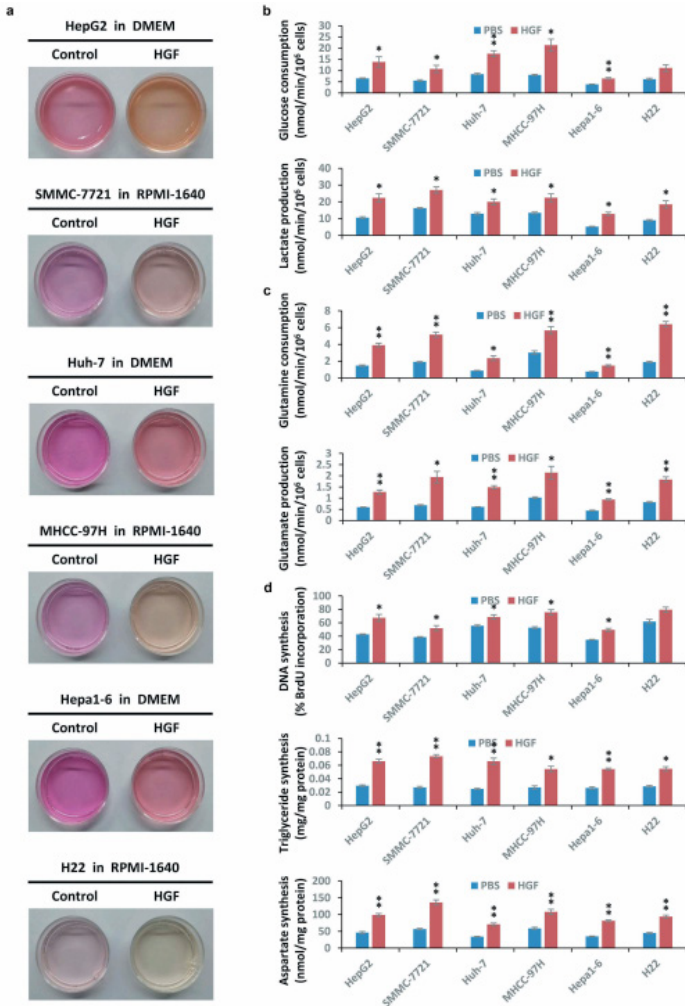


图 1 肝细胞生长因子促进肝癌代谢和生物发生

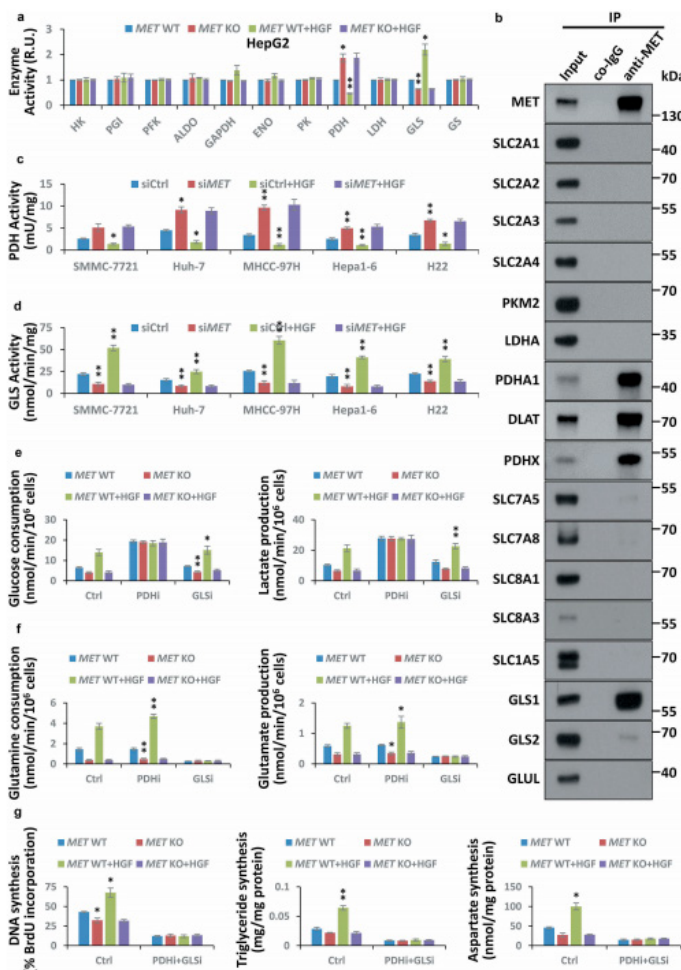


图 2 HGF-MET 信号通过 PDHC 和 GLS 促进肝癌代谢和生物发生

## 研究结论：

研究结果揭示了酪氨酸激酶信号转导与自噬之间的 HGF-MET 通路协同功能相互作用，并建立了一种 MET- 自噬双靶向策略来解决肝癌化疗耐药的问题。

本研究非靶向代谢组学检测和数据分析和诺米代谢协助完成

## 参考文献：

Huang X, Gan G, Wang X, et al. The HGF-MET axis coordinates liver cancer metabolism and autophagy for chemotherapeutic resistance[J]. Autophagy, 2019:1-22.

## 1.6 血小板修饰磁性纳米颗粒介导铁死亡增强的肿瘤免疫治疗

### Platelet Membrane-Camouflaged Magnetic Nanoparticles for Ferroptosis-Enhanced Cancer Immunotherapy

#### 血小板修饰磁性纳米颗粒介导铁死亡增强的肿瘤免疫治疗

发表期刊: *Small* | 影响因子: 13.281 | 发表时间: 2020

#### 研究背景:

免疫治疗和免疫检查点阻断疗法是非常有前景的治疗手法。然而,由于肿瘤微环境的复杂性和宿主免疫系统的钝化,免疫治疗策略在许多癌症的抗肿瘤反应中仍然存在局限性。通过其他免疫原性疗法与检查点阻断疗法联合可提供非炎症肿瘤的免疫应答率。因此,开发有效的抗肿瘤诱导和免疫调节的新途径和策略,对免疫治疗具有重要意义。

铁死亡是近年来发现的一种新的细胞死亡形式,它能有效抑制肿瘤生长,并适当产生免疫原性,而具有免疫逃避和肿瘤靶向能力的血小板膜包衣的纳米颗粒可以最大限度将诱导铁死亡的药物递送到肿瘤,从而在肿瘤转移的铁死亡治疗中发挥出完全的潜力。作者发明了一种血小板膜包衣载有柳氮磺吡啶的介孔磁性纳米颗粒( $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SAS@PLT}$ )诱导铁死亡和PD-1免疫检查点阻断疗法结合的铁死亡增强肿瘤免疫治疗策略(图1)。

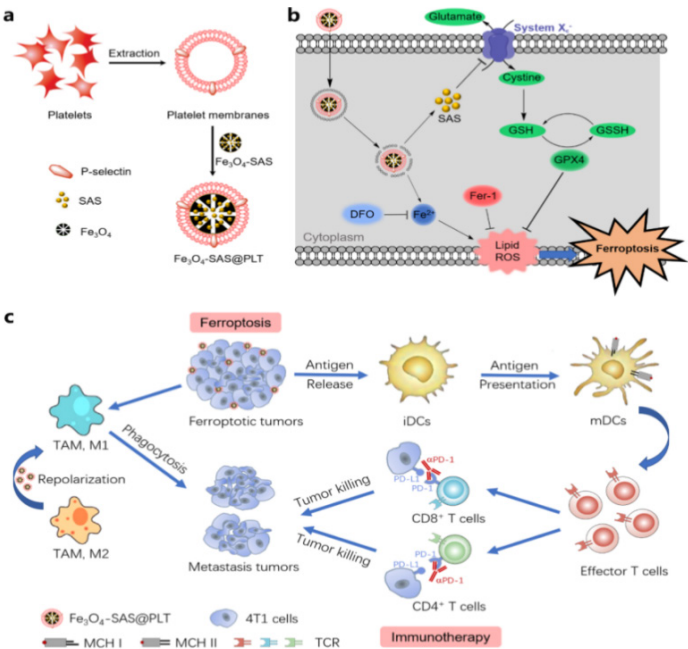
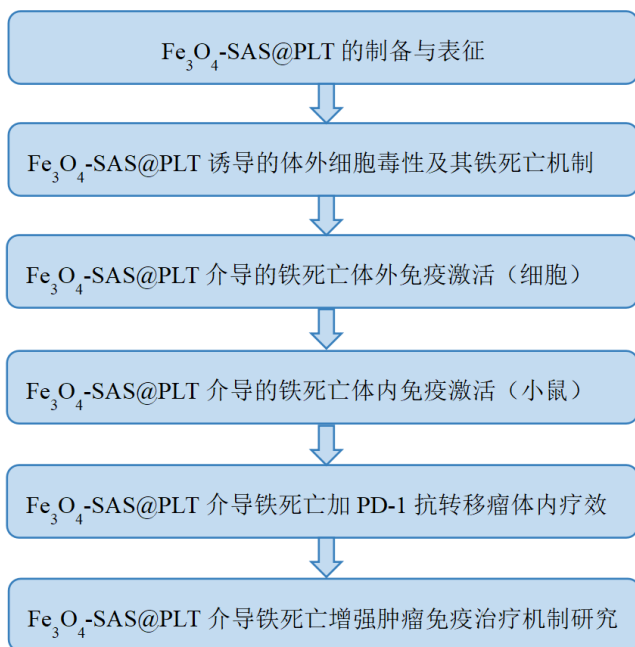


图1 血小板膜修饰磁性纳米颗粒增强肿瘤免疫治疗的示意图

技术路线：



研究结果：

### 1. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 诱导细胞毒性及其铁死亡机制

用不同浓度的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理肿瘤 4T1 细胞，测定了 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 对 4T1 细胞的体外细胞毒性。Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 和 SAS 对 4T1 细胞无明显的细胞毒作用。且 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 和 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS 均以剂量依赖的方式降低细胞活力（图 2a）。为了探讨 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 抑制肿瘤细胞活力的机制，使用 3 种抑制剂研究引起细胞凋亡，坏死和自噬的三种常见死亡模式，发现 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 没有诱导 4T1 细胞凋亡，坏死或自噬。

考察了铁死亡抑制剂 Fer-1 和铁螯合剂去铁胺 DFO 对经 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理的 4T1 细胞活力和活性氧水平的影响。结果显示 Fer-1 和 DFO 均能显著降低细胞毒性（图 2b），提示 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 可能参与了铁死亡诱导的细胞死亡。另外 Fer-1 和 DFO 对 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理的细胞 ROS 水平均显著下调（图 2c），表明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理的细胞发生铁死亡。

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 能显著提高 4T1 细胞内脂质过氧化水平，而 Fer-1 或 DFO 可显著抑制脂质过氧化作用（图 2e），说明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 产生脂质过氧化产物。此外，Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 引起的细胞内谷胱甘肽耗竭可被 Fer-1 或 DFO 显著降低（图 2f）。谷胱甘肽的耗竭表明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 可能通过抑制半胱氨酸进入细胞合成谷胱甘肽的系统 Xc<sup>-</sup> 转运体（XcT）途径诱导铁死亡。为了验证这一假说，通过免疫印迹法检测了细胞内的 XcT 和下游谷胱甘肽过氧化物酶 4（GPX4）的表达，这可能受谷胱甘肽耗竭的影响。Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理显著降低了 4T1 细胞内的 XcT 水平和 GPX4 水平（图 2g）。



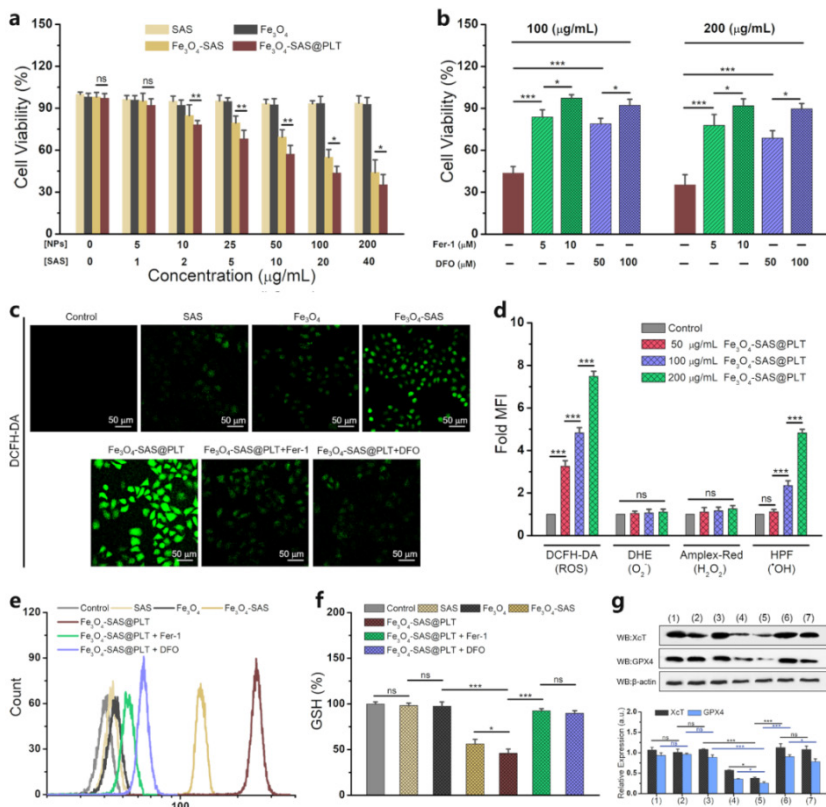


图2 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 体外细胞毒性及铁死亡机制的研究

脂质过氧化物是铁死亡发生的重要标志物，采用 LC-MS 检测 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理后 4T1 细胞内脂质的变化。成功鉴定了 300 脂质 (图 3a) 在 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理后，4T1 细胞中有多种含氧多不饱和磷脂的含量显著升高，提示脂质的过氧化发生 (图 3b) 其中，PE、PC、PG、PS 和 PI 五类磷脂的含氧化物升高尤为显著 (图 3c)。不同种类的溶血磷脂的水平显著升高 (图 3d 和 e)，这些结果表明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 诱导的细胞死亡涉及脂质过氧化物积累，表明铁死亡确实是 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 诱导细胞死亡的主要途径。考察了铁死亡抑制剂 Fer-1 和铁螯合剂去铁胺 DFO 对经 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理的 4T1 细胞活力和活性氧水平的影响。结果显示 Fer-1 和 DFO 均能显著降低细胞毒性 (图 2b)，提示 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 可能参与了铁死亡诱导的细胞死亡。另外 Fer-1 和 DFO 对 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理的细胞 ROS 水平均显著下调 (图 2c)，表明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理的细胞发生铁死亡。



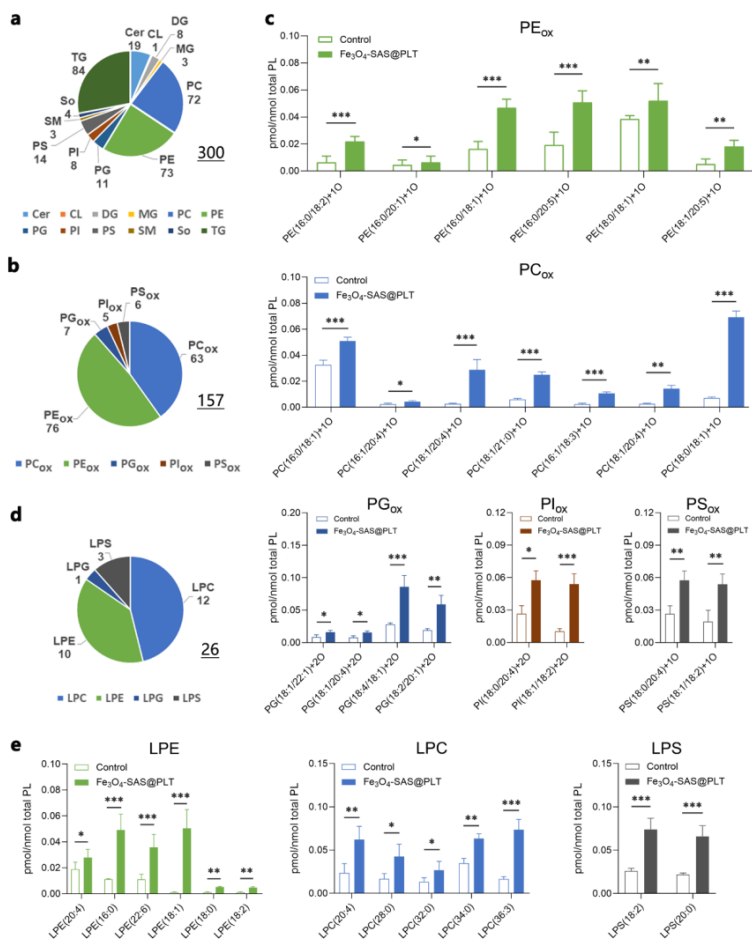


图3 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 处理后 4T1 细胞脂质组学研究

## 2. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 介导的铁死亡体内免疫激活

用不同材料对 Balb/c 转移模型小鼠进行治疗 (图 4a), 验证 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 诱导的铁死亡在小鼠体内发生, 首先检测了肺转移瘤组织中 GPX4 的表达 (图 4b)。Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 组的肺转移瘤组织中 GPX4 表达显著降低。但加入铁死亡抑制剂后, GPX4 的表达有所回升, 表明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 治疗的转移瘤中存在铁死亡。

收集 24 小时 (第 8 天) 的淋巴结, 分析树突细胞的成熟 (图 4c), Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 组小鼠淋巴结成熟树突细胞表达 CD86+/CD80+ 阳性。而 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 组小鼠加入 Fer-1 或 DFO 后, 淋巴结成熟树突细胞的百分率显著下降。这些结果表明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 介导的铁死亡促进了树突细胞的成熟。检测了治疗后小鼠血清中的各种细胞因子 (TNF-, IL-6 和 IL-12p70)。发现 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 诱导小鼠体内的良好免疫反应是由 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 介导的铁死亡引起的。综上所述, 这些结果提示 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 介导的铁死亡可以在体内释放肿瘤相关抗原并触发有效的免疫激活。

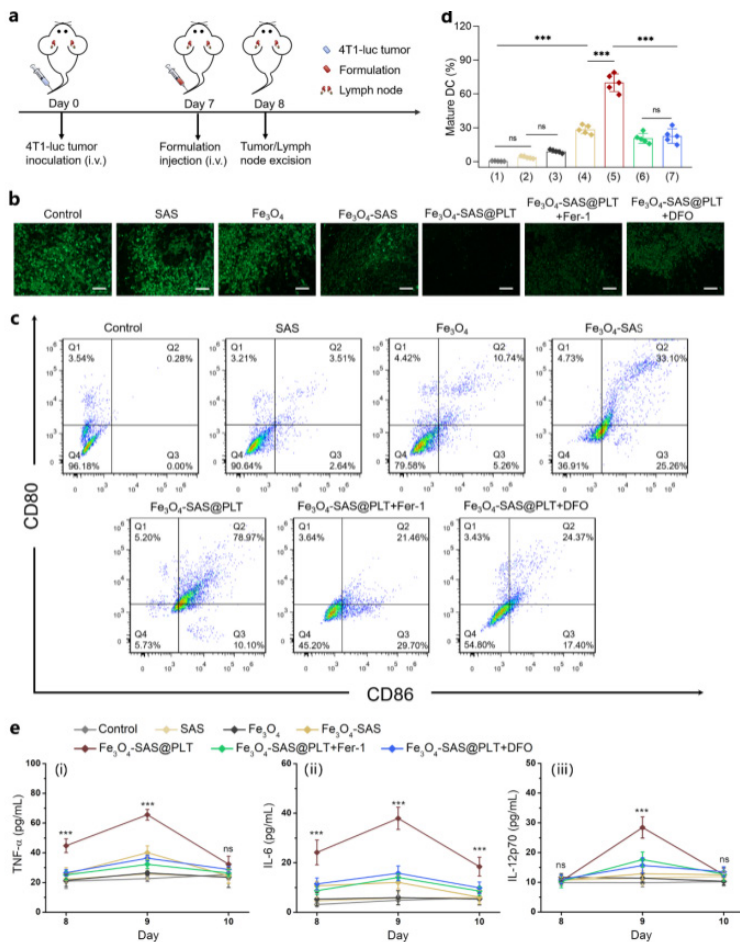


图 4  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SAS@PLT}$  在体内诱导免疫应答

### 3. $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SAS@PLT}$ 介导的铁死亡加 PD-1 阻断剂抗转移瘤的体内疗效

用荧光标记 4T1 细胞 (4T1-luc) 注射到小鼠体内, 发现 4T1 细胞在小鼠肺部发生转移 (图 5a)。  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SAS@PLT}$  显示了体内靶向转移 4T1 细胞的能力, 在肝、脾、肺中的富集程度高于其他器官 (图 5b), 表明  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SAS@PLT}$  在体内具有显著的转移瘤靶向性。

为了评估  $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-SAS@PLT}$  介导的铁死亡和 PD-1 免疫检查点阻断疗法联合策略的有效性, 4T1 转移瘤小鼠接受了不同纳米材料的治疗 (图 5c)。监测肿瘤转移的扩展和生长和转移 (图 5d 和 e)。用联合策略治疗的小鼠几乎没有发光, 表明肿瘤转移被显著抑制, 且肺转移结节少于对照 (图 5f), 存活率高于对照 (图 5g)。结果表明联合治疗可以有效抑制肿瘤转移, 且在延长小鼠生存期方面具有显著优势。

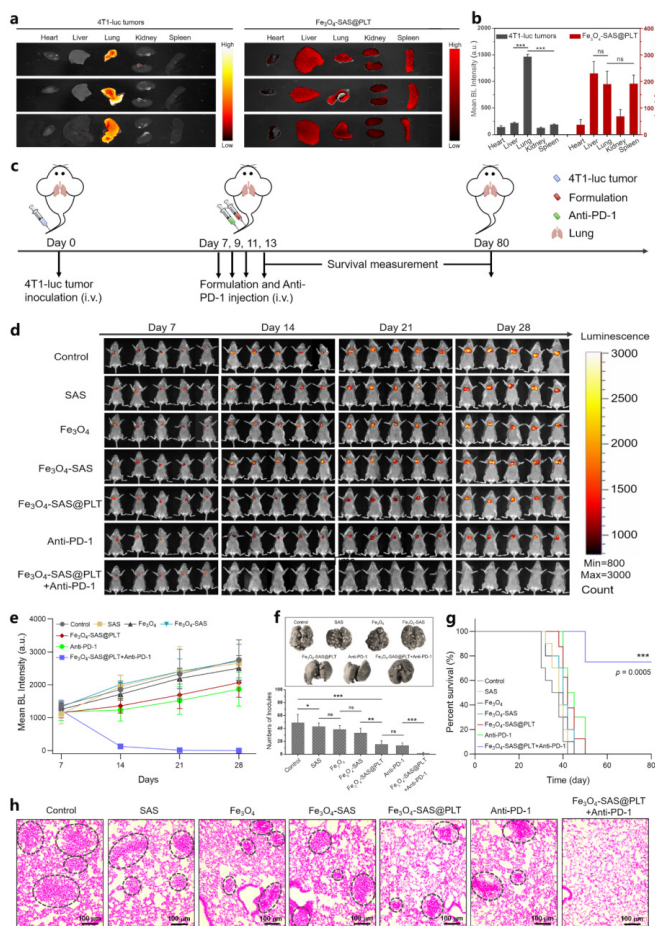


图5 Fe3O4-SAS@PLT 介导的铁死亡联合抗 PD-1 免疫治疗对 4T1 转移瘤小鼠的抗转移作用。

#### 4. Fe3O4-SAS@PLT 介导的铁死亡增强肿瘤免疫治疗的机制研究

对 Fe3O4-SAS@PLT 治疗前后的肿瘤进行了基于 TMT 质谱的蛋白组学分析探究。结果表明 Fe3O4-SAS@PLT 显著降低了 Slc3a2 和 Slc12a7 蛋白表达 (图 6a 和 b), 说明肿瘤组织被 CD8+ T 细胞高度浸润。且 CD4+ T 细胞相关的蛋白表达也有显著差异, 高得 Irf4 表达和低的 Pglyrp1 或 Ikzf2 表达与 CD4+ 效应 T 细胞信号呈正相关, 表明肿瘤组织中的 CD4+ T 细胞被 Fe3O4-SAS@PLT 激活。综上所述, Fe3O4-SAS@PLT 介导的铁死亡能激活 DC 成熟、T 细胞活化和浸润, 从而促进 PD-1 治疗。

作者研究了免疫功能相关 102 个差异表达蛋白 (图 6c), 主要参与了细胞杀伤调节, 抗原刺激炎症调节, 原生防御反应, T 细胞介导免疫等 (图 6d), 揭示了经 Fe3O4-SAS@PLT 治疗后, 与肿瘤相关的特异性免疫途径被激活, 最具代表性的过程包括肿瘤坏死因子 (TNF) 信号途径, 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号途径, 白细胞介素 (IL-17) 信号途径和趋化因子信号途径 (图 6e), 它们是免疫系统激活的重要途径。

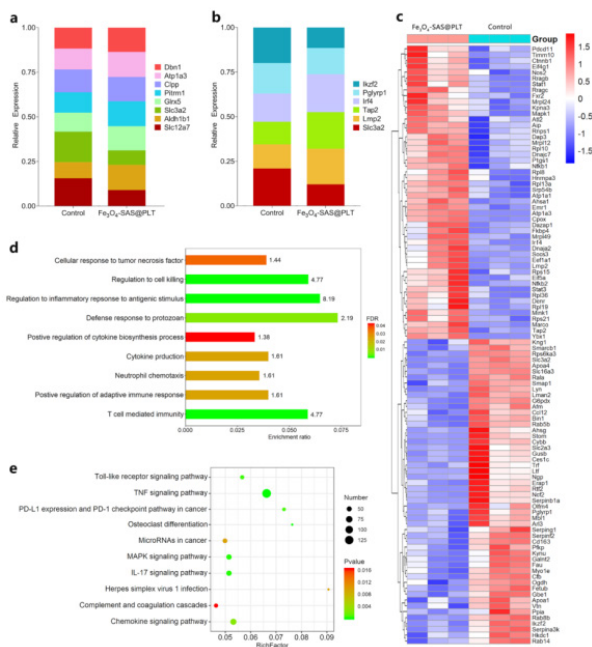


图 6 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 介导的上铁死亡增强抗肿瘤免疫反应的机制

## 研究结论：

本研究发明了一种仿生磁性纳米颗粒 (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT) 介导铁死亡和提高肿瘤免疫治疗疗效。有血小板的自我识别特性，Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 纳米粒表现出有效的免疫逃逸和靶向富集肿瘤转移靶点。Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 纳米粒不仅可以通过抑制系统 XcT 通路诱导铁依赖的铁死亡发生，而且可以诱导有效的免疫反应，提高 PD-1 阻断疗法的体内治疗效果。相比于单一治疗方式，Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-SAS@PLT 介导的铁死亡联合免疫治疗有效抑制了肿瘤的生长和转移，提供了一种临床适用的协同免疫治疗的新途径。

本研究脂质代谢组学检测和数据分析工作由诺米代谢协助完成

## 参考文献：

Qin Jiang, Kuang Wang, Xingyu Zhang, et al. Platelet Membrane-Camouflaged Magnetic Nanoparticles for Ferroptosis-Enhanced Cancer Immunotherapy [J] Small,2020

## 1.7 生物模拟 FeS<sub>2</sub> 纳米药物具有低温光热效应，临床已批准 NIR- II 光用于增强化疗动力学治疗

Biomimic FeS<sub>2</sub> Nanodrug with Hypothermal Photothermal Effect by Clinical Approved NIR- II Light for Augmented Chemodynamic Therapy  
生物模拟 FeS<sub>2</sub> 纳米药物具有低温光热效应，临床已批准 NIR- II 光用于增强化疗动力学治疗

发表期刊: *Chemical Engineering Journal* | 影响因子: 13.273 | 发表时间: 2020

### 研究背景:

增加光热剂的血液循环时间可以增强其肿瘤的蓄积，从而显著提高 PTT 效率。最近，通过自上而下的方法利用自然细胞膜进行光热剂涂层被认为是一种更好的选择。红细胞膜 (RBCs) 可延长血液循环，被认为是一种优良的涂层，可将各种光热剂输送到肿瘤组织。由“自我标记物” (如 CD47 蛋白、多种多肽、酸性唾液酸分子和多糖) 组成的天然表面组成的红细胞，在体内可显著抑制非特异性巨噬细胞吞噬，延长血液循环。因此，在 HPTT 中通过 RBCs 涂层来延长光热剂的血液循环，从而提高治疗效率，降低必要的激光功率密度是一种有效的方法。

另一个提高 HPTT 治疗效率的方法是发展联合治疗。化学动力学疗法 (CDT) 是一种新兴的抗肿瘤策略，通常依赖于铁介导的 Fenton 反应，将无氧的过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 催化成剧毒的羟基自由基 (-OH)，从而诱导癌细胞铁溶作用。已有研究表明，肿瘤区域温度的升高可以显著提高 Fenton 反应效率和 -OH 产率。因此，HPTT 与 CDT 的合理结合有望大幅提高整体治疗效果，从而克服 HPTT 高激光密度利用的障碍。

影像辅助肿瘤治疗是一种很有前途的提高肿瘤治疗效果的方法，可以实现肿瘤的精确定位，实现高度局部化治疗。成像辅助 PTT 可以通过在适当的时间点定量肿瘤内的光热剂，显著提高光热效率，同时降低 PTT 的激光功率。近年来，亚铁基纳米粒子作为一种自增强的 MRI 造影剂，在现实生活中受到广泛关注。因此，将自增强磁共振成像组装成光热剂用于 MRI 引导的 HPTT 是非常可取的。

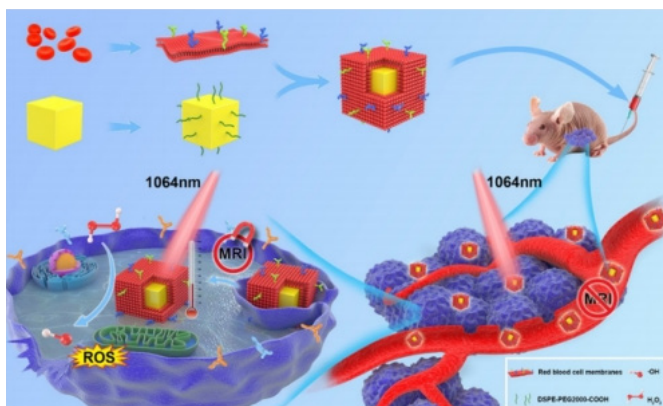


图 1 FeS<sub>2</sub>@RBCs 在体内的制备和抗肿瘤作用

### 技术路线：

采用 RBCs 包覆的 FeS<sub>2</sub> (FeS<sub>2</sub>@RBCs) 用于 TME 增强 MRI 引导的 HPTT 和 CDT，用于癌症协同治疗。首先，FeS<sub>2</sub>@RBCs 在 NIR-II 窗口具有很强的吸附能力，改善了血液循环，提高了肿瘤积累，有利于有效的肿瘤 HPTT。此外，通过协同 HPTT/CDT 治疗，热疗同时加速了 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的 CDT 效应。此外，TME 增强的 MRI 可以显示肿瘤区域内纳米颗粒的聚集，用于预处理指导。体外和体内实验结果表明，FeS<sub>2</sub>@RBCs 实现了明显的癌症治疗效果。并符合 FDA 批准的激光功率密度 (1.0 W/cm<sup>2</sup> 为 1064 nm)，这可能为协同 HPTT 和 CDT 在临床应用铺平道路。



图 2 技术路线

### 研究结果：

1. FeS<sub>2</sub>@RBCs 的制备过程包括以下三个步骤：制作 FeS<sub>2</sub>-PEG、制备 RBCs 囊泡以及在 FeS<sub>2</sub>-PEG 表面融合 RBCs 得到最终的 FeS<sub>2</sub>@RBCs。通过简单的溶热反应制备出 FeS<sub>2</sub>。从 TEM 图像来看，FeS<sub>2</sub> 显示了平均直径为 100-120 nm 的立方形状。在 RBCs 涂层后，FeS<sub>2</sub> 的内芯表面出现了约 8.3 nm 的外膜外壳，根据粒径、电位、紫外分析以及 SDS-PAGE 等数据证实了红细胞膜被成功地覆盖在纳米颗粒 FeS<sub>2</sub> 上。此外，我们还对 FeS<sub>2</sub>@RBCs 在 PBS 中的悬浮稳定性进行了评估，结果显示 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的水动力尺寸在 PBS 中 3 天内基本保持不变，说明 FeS<sub>2</sub>@RBCs 具有良好的悬浮稳定性。

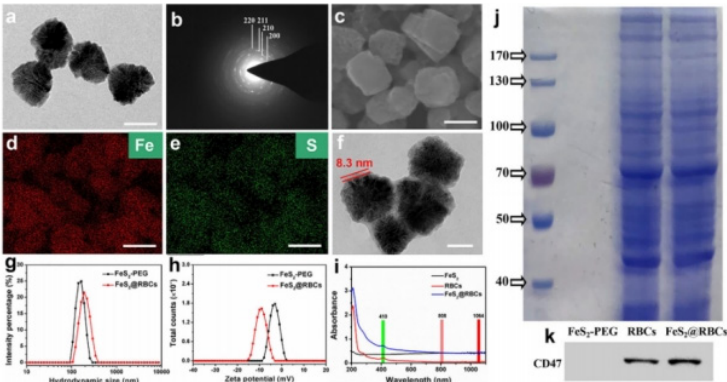


图 3 FeS<sub>2</sub>、FeS<sub>2</sub>-PEG 和 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的表征



2. 成功制备了 FeS<sub>2</sub>@RBCs 后, 研究了纳米颗粒的光热效应。采用 1064 nm 激光器对 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的光热性能进行测试。光稳定性测试表明, 在多次激光照射下, 其最高温度和形貌均无明显变化, 说明 FeS<sub>2</sub>@RBCs 可以作为稳定的 PTT 剂。FeS<sub>2</sub>-PEG 和 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的光热性能几乎保持不变, 这表明用 RBC 膜包覆 FeS<sub>2</sub>-PEG 并不影响其原有的光热性能。并且研究了 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理和未处理 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的加热效应, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理前后 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的升温没有明显变化, 说明 TME 中可能由 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的自氧化不会影响 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的光热能力。此外, 我们通过瘤内注射 FeS<sub>2</sub>@RBCs 进行了体内 PTT 研究, 得到在 FDA 批准的激光功率密度下, RBCs 在 NIR-II 激光照射下表现出优异的光热效应。

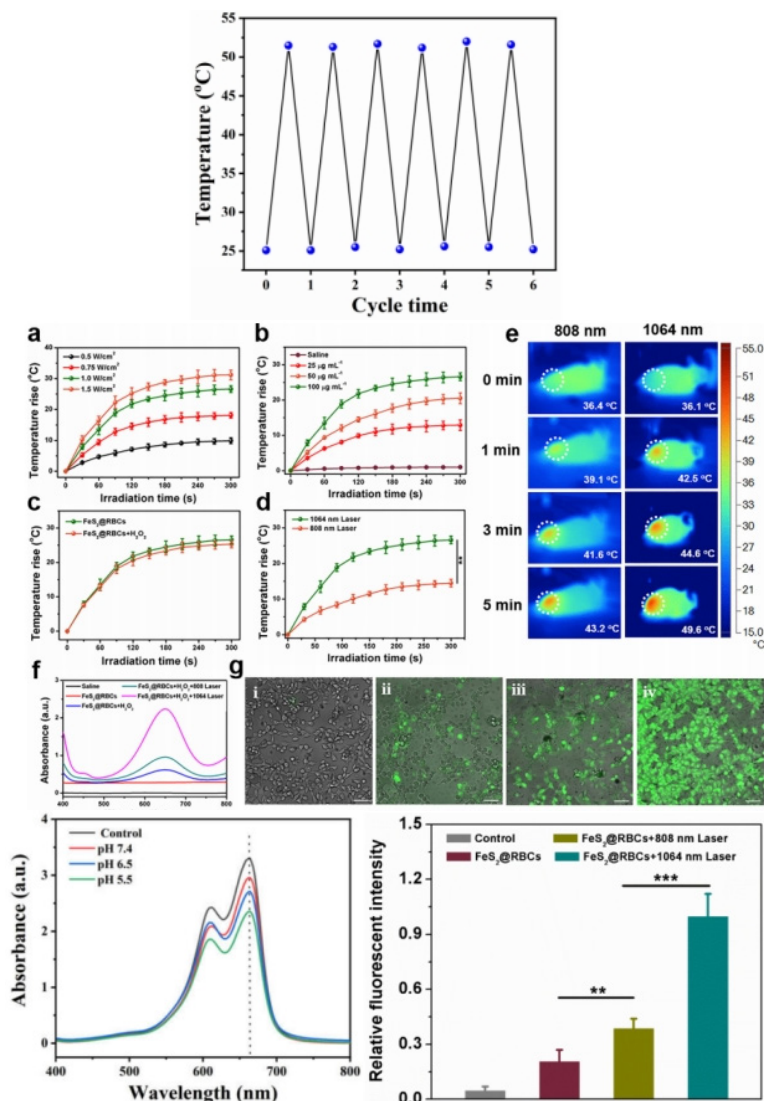


图 4 体外和体内评价 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的光热和化学动力学效应

3. 为了进一步验证细胞水平上  $\cdot\text{OH}$  自由基的产生, 我们使用 DCFH-DA 作为荧光探针, 通过 CLSM 成像检测细胞内  $\cdot\text{OH}$  自由基的水平。结果表明,  $\text{FeS}_2\text{@RBCs}$  在 808 nm 的激光照射下可产生较强的绿色荧光。此外, 在  $\text{FeS}_2\text{@RBCs}$  + 1064 nm 激光照射下显示出最强的绿色荧光, 表明在 1064 nm 激光照射下注射  $\text{FeS}_2\text{@RBCs}$  可以有效诱导肿瘤组织中  $\cdot\text{OH}$  自由基的产生。综上所述, 在 FDA 允许的激光功率下,  $\text{FeS}_2\text{@RBCs}$  在 1064 nm 激光照射下引起的热疗可以极大地促进  $\cdot\text{OH}$  自由基的产生, 可以在体外应用  $\text{FeS}_2\text{@RBCs}$  对 HPTT 增强的 CDT 进行检测。

4. 研究发现癌细胞吸胀率高度依赖于  $\text{FeS}_2\text{@RBCs}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  浓度。在  $\text{H}_2\text{O}_2$  的存在下,  $\text{FeS}_2\text{@RBCs}$  由于产生剧毒  $\cdot\text{OH}$  自由基而表现出明显的细胞生长抑制作用。在近红外激光照射下, PTT 增强  $\text{FeS}_2\text{@RBCs}$  对 4T1 细胞 CDT 的作用。1064 nm 激光照射对 4T1 细胞的抑制率优于 808 nm 激光照射对 4T1 细胞的抑制率, 这是因为 1064 nm 激光的光热效果更好。CLSM 结果进一步证实, 在波长 1064 nm 的激光照射下引入  $\text{FeS}_2\text{@RBCs}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 4T1 细胞死亡最为显著, 说明在 NIR-II 激光下 PTT 和 CDT 具有良好的协同抗肿瘤作用。

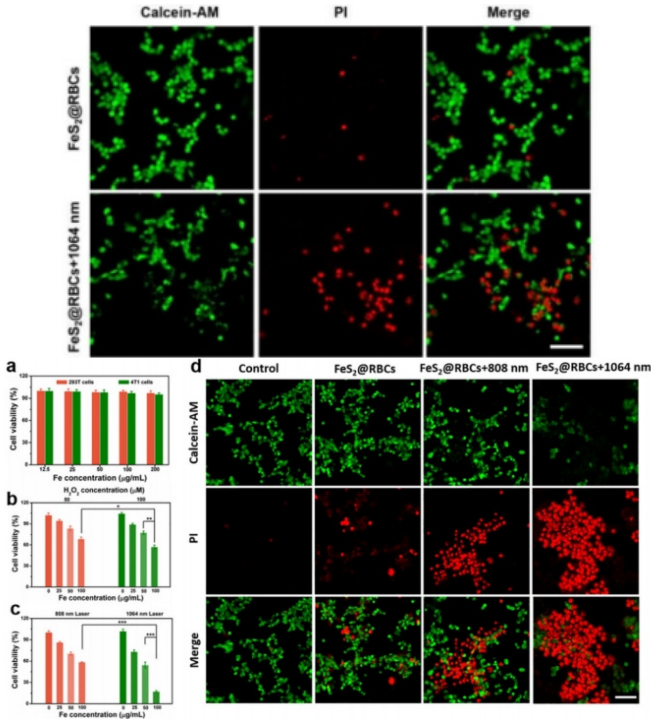


图 5 体外评价 PTT 和 PTT 增强 CDT 作用

5. 脂质作为细胞膜的重要组成部分，在维持细胞结构和提供信号转导功能方面发挥着至关重要的作用。结果发现，LPC(18:1)、LPC(19:0)、PC (33:1e)、PC (33:1D3)、PS(39:1)、PS(40:6) 等不饱和脂肪酸的比例相对减少。最后研究了不同脂质之间的相关性，发现相似类型的脂质代谢物分布在相同的聚类中，具有相似的趋势。CDT 在 NIR-II 激光照射下增强，表明细胞毒性与 CDT 介导的自由基脂质损伤有关。

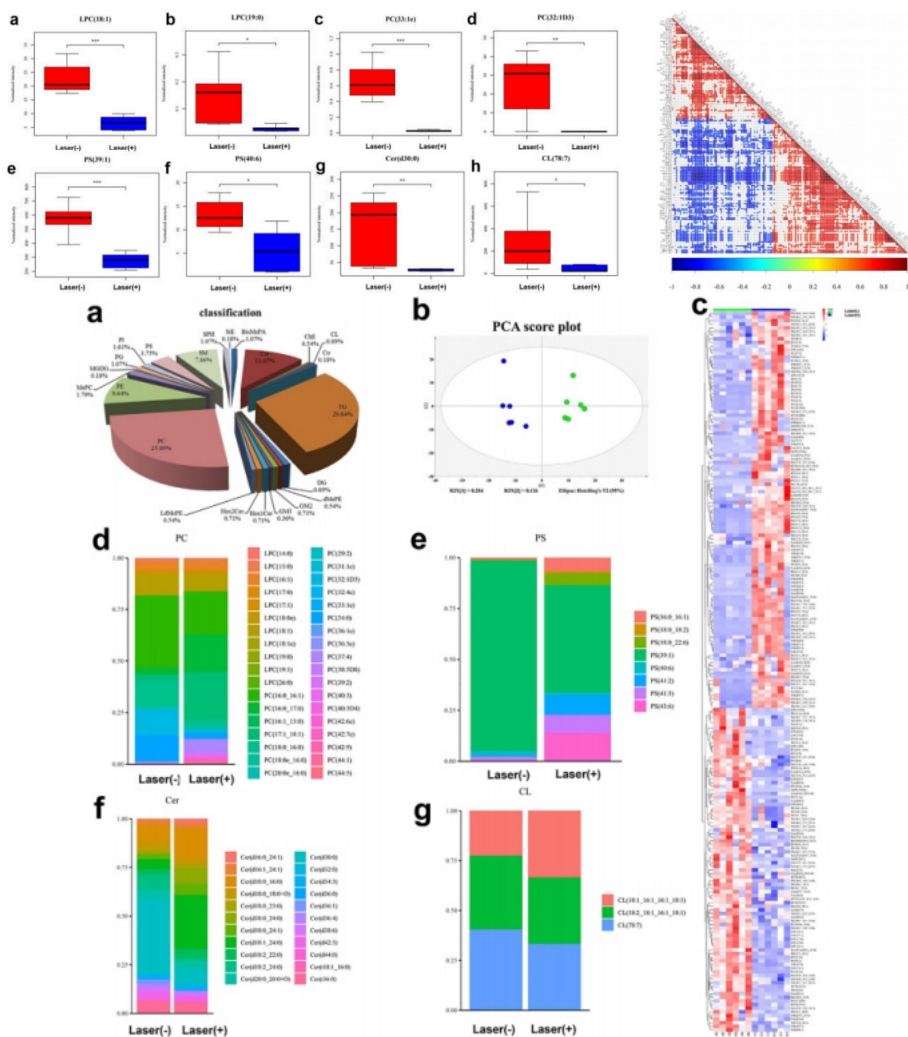


图 6 脂质组分析

6. 通过追踪血液中的荧光信号，探讨了 Cy5 修饰 FeS2@RBCs 的血液循环行为。结果表明，FeS2@RBCs 的血液循环优于 FeS2-PEG，有利于肿瘤的高聚集。为了研究 FeS2@RBCs 和 FeS2-PEG 之间不同药代动力学特征的潜在机制，检测第一次和第二次注射纳米颗粒后小鼠血清中的 IgM 和 IgG 水平。在注射后 6 小时内，FeS2@ RBCs 组以 8.7% 的 ID/g 与同期 FeS2-PEG 4.2% ID/g 相比，肿瘤聚集率明显更高。此外，FeS2@RBCs 在注射 24 h 后的肿瘤堆积量

也高于 FeS<sub>2</sub>-PEG，这是因为 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的血液循环优于 FeS<sub>2</sub>-PEG。与 FeS<sub>2</sub>-PEG 相比，FeS<sub>2</sub>@RBCs 在肝脏和脾脏的吸收显著降低，表明 RBCs 涂层使 FeS<sub>2</sub>@RBCs 具有免疫逃避能力。综上所述，FeS<sub>2</sub>@RBCs 可以提高肿瘤聚集，减少肝脏和脾脏摄取，这可能有利于 PTT 和 CDT 的增强。

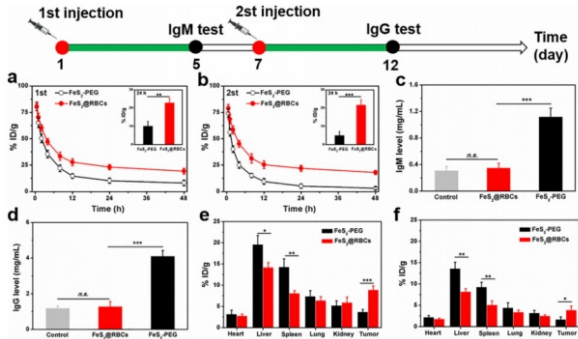
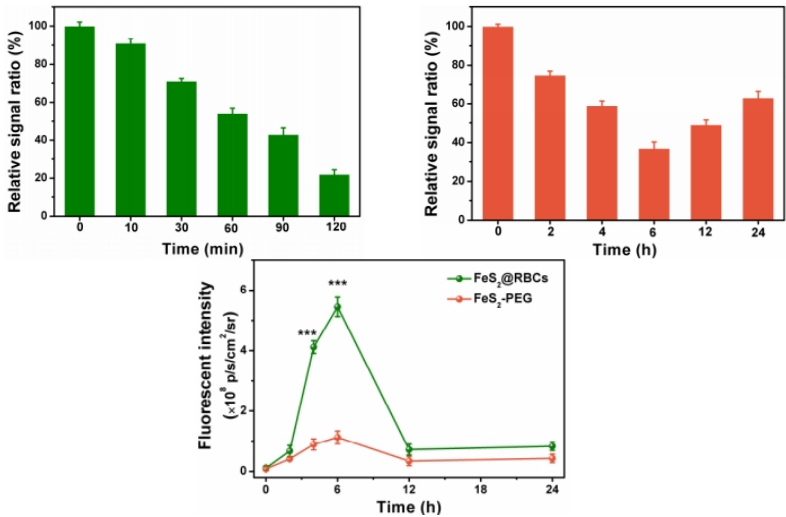


图 6 脂质组分析

7. 为了评估 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的潜在自增强 T2 加权 MRI 能力、FeS<sub>2</sub>@RBCs 作为 TME 增强造影剂在体内的可行性以及进一步研究 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的肿瘤聚集情况，分别在临床磁共振扫描仪上测量了含不同浓度铁和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理的 FeS<sub>2</sub>@RBCs 溶液的横向弛豫率、将 FeS<sub>2</sub>@RBCs 用于 4T1 携带肿瘤小鼠的肿瘤成像，并将 4T1 肿瘤小鼠静脉注射等量的 Cy5 修饰 FeS<sub>2</sub>@RBCs 或 FeS<sub>2</sub>-PEG 进行体内 NIFR 成像。结果表明，FeS<sub>2</sub>@RBCs 作为 TME 增强造影剂，可用于监测 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的积累，并可用于成像引导的 PTT。FeS<sub>2</sub>@RBCs 在肿瘤区域显示出较强的荧光信号，而 FeS<sub>2</sub>-PEG 仅显示出较弱的荧光信号，说明与 FeS<sub>2</sub>-PEG 相比，FeS<sub>2</sub>@RBCs 的肿瘤聚集性更强。FeS<sub>2</sub>@RBCs 的荧光强度最为显著，在注射 6 h 后荧光强度比 FeS<sub>2</sub>-PEG 高 5.3 倍。以上结果表明，RBCs 涂层能明显改善血液循环，增强肿瘤聚集，有利于低功率 NIR-II 激光下 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的 PTT 效应。



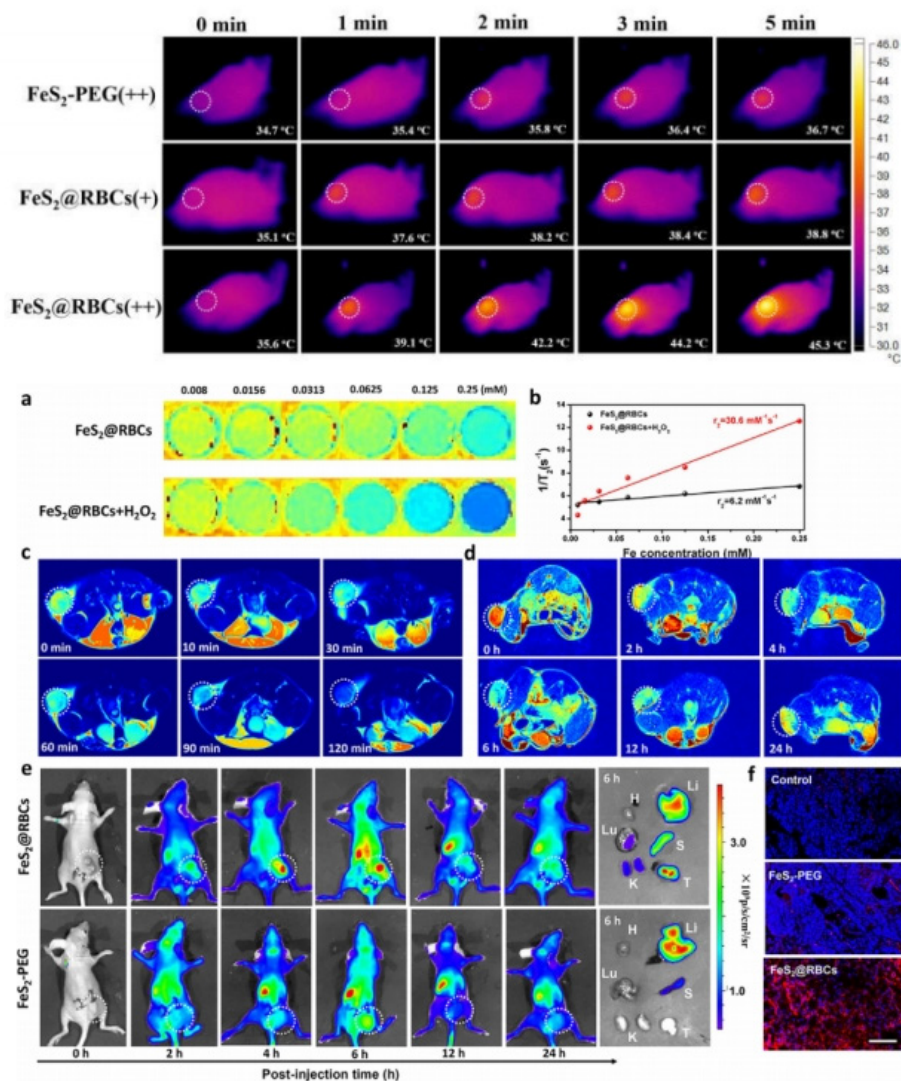


图 8 磁共振 T1E 增强和 NIRF 成像肿瘤注射 FeS<sub>2</sub>@RBCs

8. 肿瘤生长曲线显示，由于 CDT 作用较轻，FeS<sub>2</sub>-PEG 组肿瘤生长受到轻微抑制。此外，由于 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的肿瘤积累，增强了肿瘤生长抑制作用。原位 TUNEL 分析显示，FeS<sub>2</sub>@RBCs(++) 组细胞凋亡最多，HE 染色也显示对肿瘤细胞的抑制作用最明显。以上结果支持在所有治疗组中，FeS<sub>2</sub>@RBCs(++) 的抗肿瘤效果最好。PBS 组与 FeS<sub>2</sub>@RBCs 组之间无显著差异，说明 FeS<sub>2</sub>@RBCs 具有良好的生物相容性和生物安全性。因此，以上结果表明 FeS<sub>2</sub>@RBCs 在体内无明显毒性。



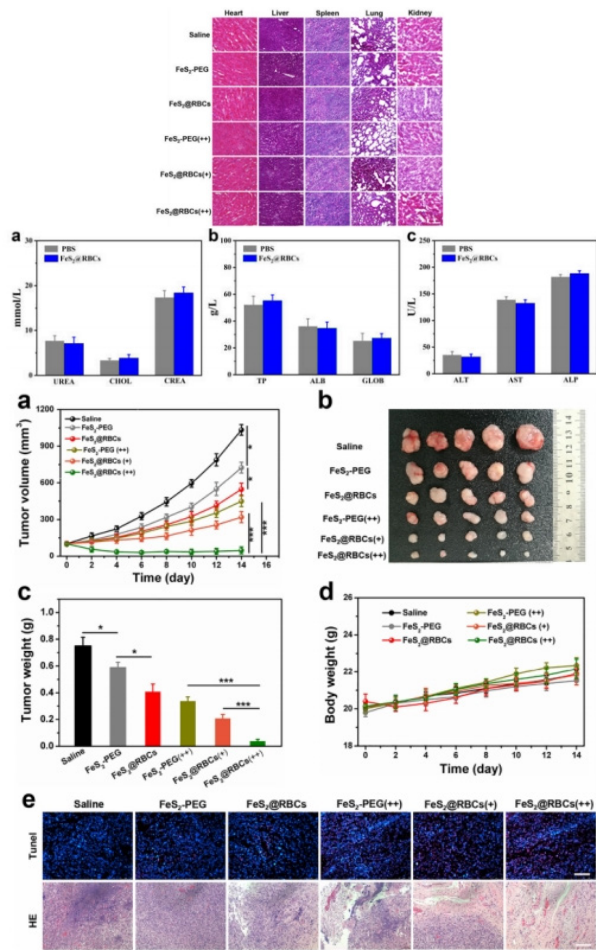


图 9 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的体内 PTT 和 CDT 效应

## 研究结论：

本文开发了用于 HPTT 扩增 CDT 的红细胞膜 (RBCs) 涂层 (FeS<sub>2</sub>@RBCs)，在 1.0 W/cm<sup>2</sup> (FDA 批准的功率密度) 的 1064 nm 照射下，显示出优异的光热学效率。此外，RBCs 涂层为纳米颗粒提供了血液循环延长并且没有免疫应激反应，从而改善肿瘤积累，增强 HPTT。肿瘤区域的热疗同时增强了 FeS<sub>2</sub>@RBCs 的 CDT 效应。此外，在成像引导下的 HPTT 检查中，FeS<sub>2</sub>@RBCs 与肿瘤区域过量产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反应后，MRI 表现出自我增强。HPTT 和 CDT 的协同作用在体内和体外都得到了广泛的证实。

本研究脂质代谢组学检测和数据分析工作由诺米代谢协助完成

## 参考文献：

She D, Peng S, Liu L, et al. Biomimic FeS<sub>2</sub> Nanodrug with Hypothermal Photothermal Effect by Clinical Approved NIR- II Light for Augmented Chemodynamic Therapy[J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 400:125933.



# 1.8 阿霉素处理的乳腺癌细胞胞外体中 CD44 的富集促进化疗耐药性

## Enrichment of CD44 in Exosomes from Breast Cancer Cells Treated with Doxorubicin Promotes Chemoresistance

阿霉素处理的乳腺癌细胞胞外体中 CD44 的富集促进化疗耐药性

发表期刊: *Frontiers in Oncology* | 影响因子: 6.244 | 发表时间: 2020

### 研究背景:

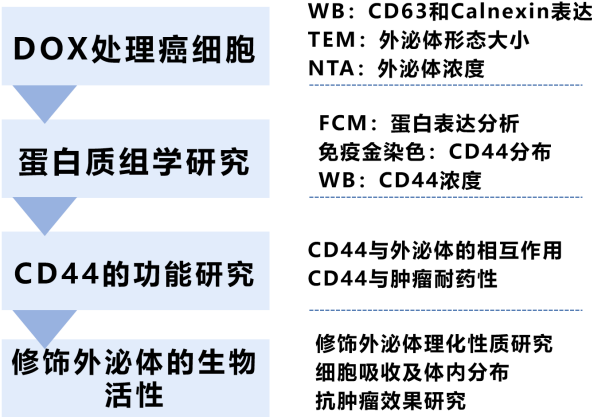
外泌体是一种由细胞分泌的纳米级小囊泡, 富含多种 RNA、脂质及蛋白质; 它可以作为信息载体, 在细胞间进行物质和信息的传递。肿瘤细胞分泌的外泌体与肿瘤的生长、转移、免疫耐受以及耐药性密切相关。外泌体信号为肿瘤微环境和肿瘤异质性的治疗策略创造了有利条件。

研究发现, 外泌体参与肿瘤细胞耐药性的产生, 肿瘤细胞可通过外泌体排出化疗药物, 并可中和基于抗体的靶向性药物。癌症的多重耐药分析对于预测化疗的效果和结局具有重要意义。本文借助蛋白质组学 (LC-MS/MS) 等其他分析方法, 探索了乳腺癌细胞外泌体对 DOX 耐药性的研究。

### 技术路线:

阿霉素 (DOX) ; DOX 耐受性乳腺癌细胞 (MCF-7/ADR) ; DOX 耐受性乳腺癌细胞外泌体 (ADR/Exo) ; 乳腺癌细胞外泌体 (S/Exo) ; 一种具有肿瘤靶向性的肽 (iRGD)

肿瘤细胞分泌的外泌体可通过重塑肿瘤微环境来促进肿瘤转移和多药耐药性。在本研究中, 我们首先研究了 DOX 对外泌体的释放和生物功能变化的影响。通过 LC-MS/MS 方法比较了 MCF-7 与 MCF-7/ADR 的蛋白质组谱。随后对 DOX 耐药细胞的候选靶蛋白 CD44 进行定性与定量研究, 并进一步通过临床样本进行验证。接下来, 通过靶向修饰 S/Exo 作为 siRNA-CD44 的载体。最后, 在 MCF-7/ADR 加入 Exos-siCD44 共孵育后, 研究其对 DOX 的敏感性, 然后在动物体内实验中进一步得到验证。



## 研究结果：

1.DOX 处理 MCF-7/ADR 细胞后会增加外泌体的释放。用 DOX 处理 MCF-7 与 MCF-7/ADR 后，外泌体和细胞裂解液里面都检测到了 CD63，但 Calnexin 只在细胞裂解液中有表达。用 NTA 和 TEM 识别出两种外泌体（ADR/Exo 和 S/Exo）的粒径范围在  $121\pm5\text{nm}$  和  $117\pm4\text{nm}$  之间，其分布和形态各不相同（图 1B），其中 ADR/Exo 数量要显著高于 S/Exo（图 1C）。这部分结果显示 DOX 处理 MCF-7/ADR 细胞后会增加外泌体的释放。

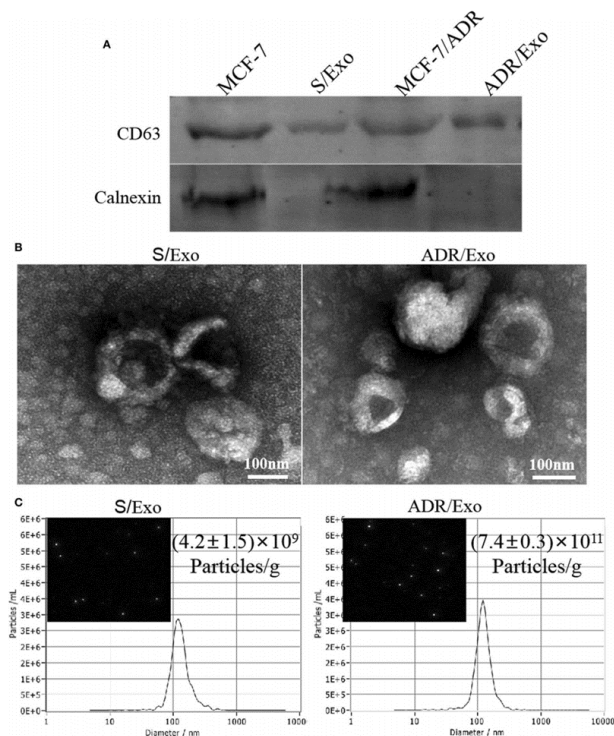
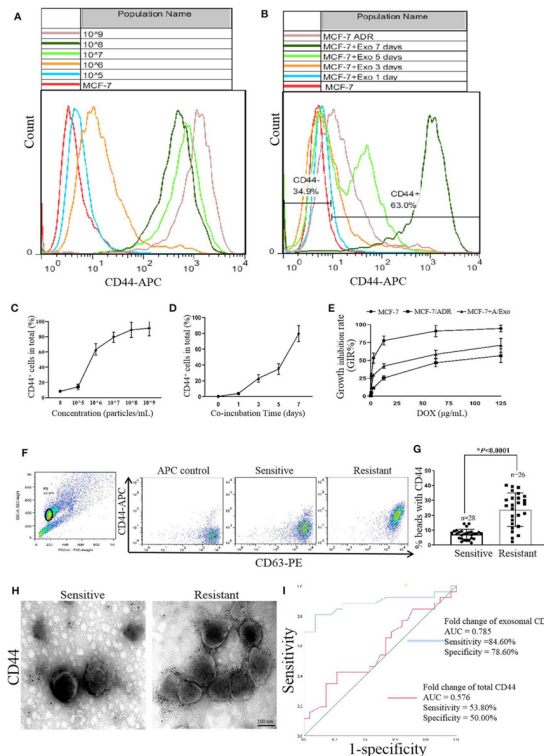


图 1 DOX 增加 MCF-7 / ADR 细胞的外泌体释放

2.MCF-7/ADR 细胞通过给 MCF-7 细胞转运抗性相关蛋白，特别是 CD44 来增加其耐药性。用蛋白质组学方法研究表明，S/Exo 和 ADR/Exo 之间存在 250 种具有差异性的蛋白（图 2A）。随后使用流式细胞术对这结果进行验证（图 3B）。电镜中作者观察到 CD44（图 2C）在 ADR/Exo 中的含量要显著高于 S/Exo。WB 定量分析发现 CD44 在 ADR/Exo 中的升高水平（14.76 倍）远高于 MCF-7/ADR 细胞（6.56 倍）（图 2D,E）。这些结果表明，MCF-7/ADR 外泌体包含的 CD44 可能和乳腺癌细胞的 DOX 抗性有关。

3. CD44 通过外泌体从 MCF-7/ADR 转运到 MCF-7 中, 为了评价 MCF-7 中加了 ADR/Exo 后 CD44 的表达情况, 作者用流式细胞术分析了 MCF-7 中 CD44 的表达含量, 发现 ADR/Exo 与 CD44 的表达呈剂量依赖性和时间依赖性 (图 3A,B,C,D)。MCF-7 细胞通过一定浓度 ADR/Exo 孵育后 DOX 敏感度显著降低 (图 3E)。由乳腺癌患者血清外泌体的电镜及流式细胞术分析可知 (图 3F, G, H, I), 体内上调的 CD44 在介导化疗耐药中起着至关重要的作用。



医学文献集 39

4. 靶向修饰的外泌体对肿瘤细胞的作用以及动物体内分布情况，作者先建立了一种能表达较高水平 iRGD-Lamp2b mRNA 的 MCF-7，并研究了其性质。体外 iRGD-Exos 的靶向性及摄取分布研究发现，iRGD-Exos 在肿瘤当中具有特异性。Exos-siCD44 能有效地沉默 CD44 的表达，进一步实验表明，当 MCF-7/ADR 加入 Exos-siCD44 共孵育后，MCF-7/ADR 的细胞增殖显著抑制，对 DOX 的敏感性显著增加。在动物体内实验中进一步得到了验证。

#### 研究结论：

本研究证实，MCF-7/ADR 可通过释放携带抗性相关蛋白的外泌体向 MCF-7 传播耐药能力。外泌体在机体内起着双刃剑的作用，在传递耐药物信息的同时，也能有效地靶向肿瘤细胞发挥治疗载体的作用。靶向修饰的外泌体可以快速、高效、特异地将治疗药物传递给乳腺癌细胞，减少非靶点的聚集。作者的研究为基因治疗和乳腺癌化疗提供了重要的临床意义。

本研究蛋白质组检测和数据析工作由诺米代谢协助完成

#### 参考文献：

Wang X, Cheng K, Zhang G, et al. Enrichment of CD44 in Exosomes From Breast Cancer Cells Treated With Doxorubicin Promotes Chemoresistance[J]. Frontiers in Oncology, 2020, 10.

# 02

## 第二章

### 代谢相关疾病

---

## 2. 代谢相关疾病

### 2.1 微生物产生的丙酸咪唑通过 mTORC1 损害胰岛素信号

#### Microbially Produced Imidazole Propionate Impairs Insulin Signaling through mTORC1

微生物产生的丙酸咪唑通过 mTORC1 损害胰岛素信号

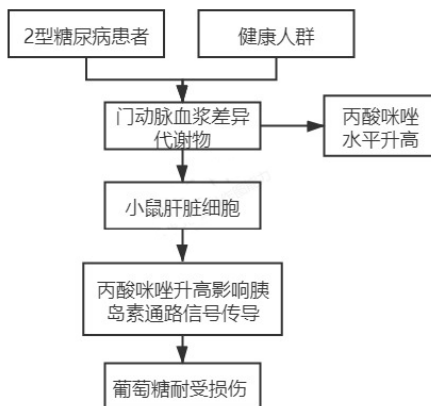
发表期刊: *Cell* | 影响因子: 41.582 | 发表时间: 2018

#### 研究背景:

2 型糖尿病, 过去被称为成人发作型糖尿病, 是一种以高血糖、胰岛素抵抗和胰岛素缺乏为特征的糖尿病。肥胖、缺乏锻炼以及遗传因素都可能会引发 2 型糖尿病, 我国是全世界 2 型糖尿病发病率最高的国家之一。患有 2 型糖尿病会引起很多严重的问题, 长时间的高血糖会对视觉系统, 肾脏和神经系统造成损伤, 还会诱发心脏疾病, 中风, 甚至会导致截肢。

肥胖引起的糖尿病和心血管疾病往往与代谢紊乱以及肠道微生物菌群失调有关, 有不少研究报道了细菌代谢活动产生的三甲胺氧化物 (TMAO) 在动脉粥样硬化和其他心血管类疾病中的作用。此外, 支链氨基酸 (BCAAs)、谷氨酸等经过细菌代谢也可能产生潜在的致病因子, 并已经有研究表明肠道菌群可以将芳香族氨基酸代谢生成具有调节生物功能的化合物。然而, 氨基酸衍生物在疾病中发挥作用的机制却鲜少有研究。

#### 技术路线:



#### 研究结果:

发现在 2 型糖尿病患者和小鼠模型中, 丙酸咪唑的水平显著升高。随后, 2 型糖尿病患者与健康人群门静脉和腔静脉血浆样品的靶向代谢组学分析确认了这一结果。基于 FAD 结合结构域的筛选试验, 证实了丙酸咪唑是由细菌代谢产生的, 更重要的是, 2 型糖尿病患者肠道菌群中可产生丙酸咪唑的细菌种类明显增多 (图 1)。



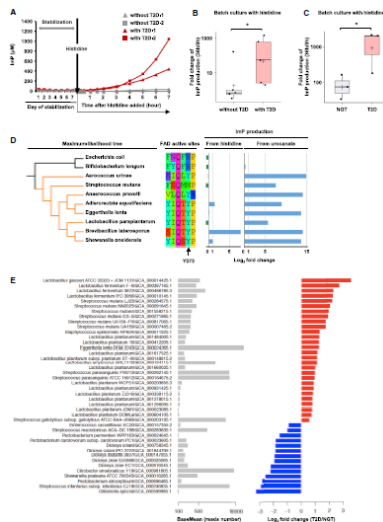


图1 丙酸咪唑是微生物产生的

作者接着利用小鼠以及原代培养的肝脏细胞研究了丙酸咪唑的产生对葡萄糖耐受影响，发现丙酸咪唑会损伤葡萄糖耐受，并抑制胰岛素信号通路相关分子，如 IRS1 和 IRS2 的表达和磷酸化水平。众所周知，丙酸咪唑可以激活 mTORC1，而 mTORC1 可以诱导 IRS 的丝氨酸磷酸化而抑制其酪氨酸磷酸化，进而导致 IRS 的降解，所以作者检测了 mTORC1 在丙酸咪唑抑制 IRS1 和 IRS2 表达中的作用，发现在 HEK293 细胞中敲低 mTORC1，可以阻断丙酸咪唑对 IRS1 S636/S639 磷酸化以及胰岛素信号通路下游分子 Akt 磷酸化水平的影响。后续一系列的免疫印迹实验结果证明，丙酸咪唑诱导的 mTORC1 激活依赖于 p62 磷酸化，抑制 mTORC1 活性可降低丙酸咪唑对胰岛素通路的损伤（图 2）。

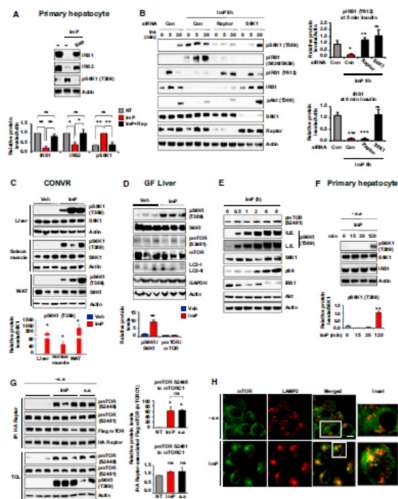


图2 丙酸咪唑激活 mTORC1

得到这些结果之后，研究者收集了 2 型糖尿病患者与健康人群的活体肝脏组织样品，进行关联分析。结果表明：(1)，血浆糖化血红蛋白与 p62 和 S6K1 的磷酸化呈正相关，但与 AMPK 和 Akt 的磷酸化无关；(2)，血浆糖化血红蛋白与 IRS2 呈负相关；(3)，p62 与 S6K1 的磷酸化呈正相关；(4)，门静脉中丙酸咪唑水平与 p62 和 S6K1 的磷酸化呈正相关（图 3）。

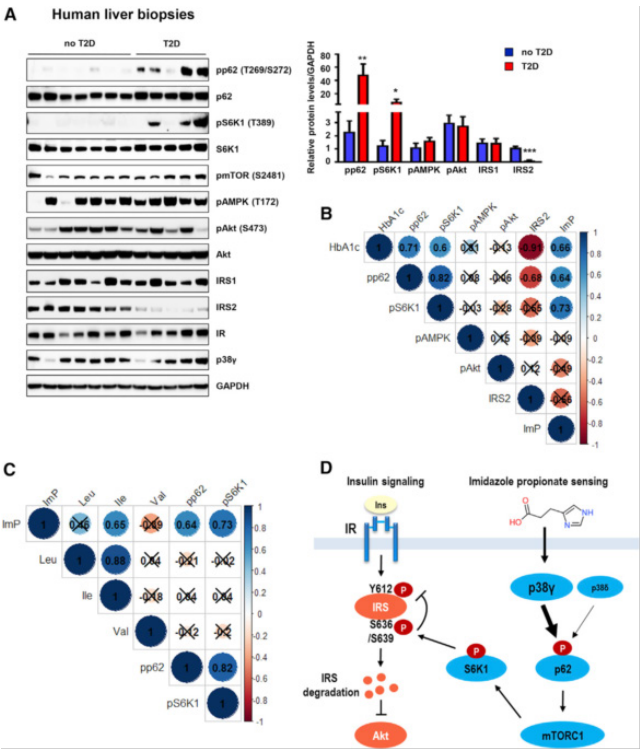


图 3 丙酸咪唑与人肝脏 P62 和 S6K1 磷酸化有关

### 研究结论：

综上所述，此项研究不仅确定了丙酸咪唑是一种由微生物产生的组氨酸代谢衍生物，还报道了它在 2 型糖尿病患者中显著升高的表型。升高的丙酸咪唑会通过激活 p38γ/p62/mTORC1 通路抑制 IRS 功能，影响胰岛素通路的信号传导，造成葡萄糖耐受损伤。值得注意的是，临床上有多种以咪唑为靶点的药物，此研究的结果提示这些药物可能会触发其他潜在因子的功能改变。因此，进一步的探究丙酸咪唑关联的信号通路或许可以为微生物代谢紊乱相关的疾病提供新的药物研发靶点。

### 参考文献：

Koh A, Molinaro A, M Ståhlman, et al. Microbially Produced Imidazole Propionate Impairs Insulin Signaling through mTORC1[J]. Cell, 2018, 175.

## 2.2 肠道微生物的代谢产物在炎症性肠病中起到关键作用

### Gut Microbiota-Derived Metabolites as Key Actors in Inflammatory Bowel Disease

#### 肠道微生物的代谢产物在炎症性肠病中起到关键作用

发表期刊: *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*

影响因子: 46.802 | 发表时间: 2020

#### 研究背景:

炎症性肠病 (IBD) 包括克罗恩病和溃疡性结肠炎, 是临床上重要的慢性胃肠道炎症性疾病, 除了肠道微生物的组成和功能发生改变外, 还改变了肠道微生物群介导的信号通路。许多非靶向研究结果表明, IBD 患者的肠道代谢组发生紊乱, 并且与已知的肠道菌群失调是一致的。

在 2018 年一项 786 人的队列研究中发现, 个体间粪便代谢组大约三分之二的变化可以通过其粪便微生物组的变化来解释。IBD 患者的粪便、尿液和血清代谢组研究结果中, 贡献最突出的是胆汁酸衍生物、短链脂肪酸和色氨酸代谢物, 这不仅为 IBD 的分类提供依据, 还进一步用于机制探究。然而, 发现和挖掘需要大规模的队列、高通量的多组学平台、先进的统计分析和精心控制的实验室模型系统 (如图 1)。

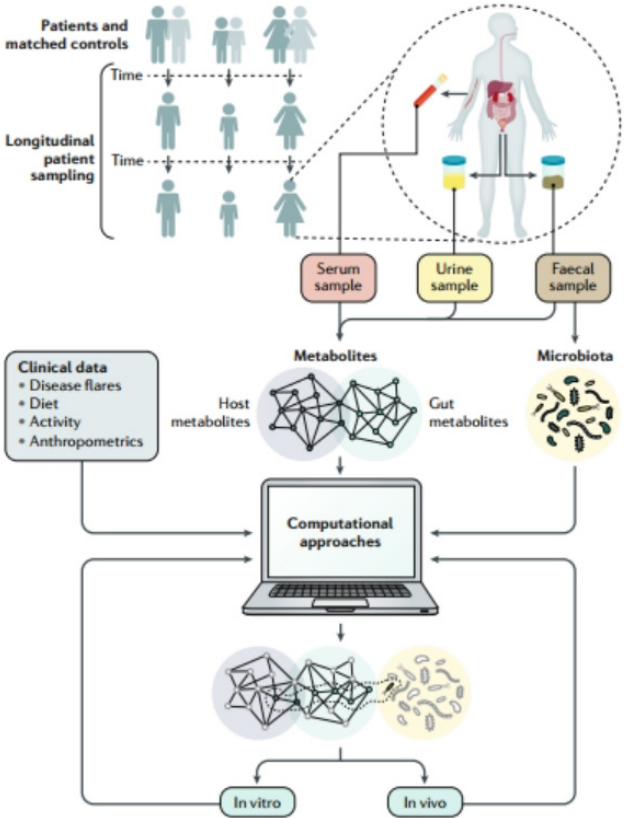


图 1 微生物组学 - 代谢组学项目工作流程示意图

## 研究结果：

### 1. 肠道代谢组的特征

代谢组学研究描述了微生物及其宿主和环境中的小分子物质 ( $<1,500$  Da) 的情况，主要方法包括非靶向代谢组研究和靶向代谢组研究。其中，非靶向性的方法可以无偏见的获取样本中代谢物，而靶向研究更关注特定类别的代谢物。

非靶向代谢组的研究为微生物组数据的挖掘提供了巨大的贡献，但也有一些局限性：（1）因为不同代谢物的性质不同，所以样品前处理和提取的方法并不通用，而且不能做到准确的定量分析；（2）质谱结果的注释过程也具有挑战性，尚有许多代谢物被归类为未知物，注释的工作还需要更多的专业知识和计算算法；（3）可参考的数据库（如 Metlin 和 HMDB）只包含一小部分肠道微生物的代谢物。

并且，粪便样本往往不能很好的体现肠道近端产生的代谢物，以及某些中低浓度的代谢物，非靶向的研究结果更有利于浓度高且数据库中已知的代谢物。所以，非靶向代谢组和其他组学技术结合时，需要尽可能解决上述局限性，在样品采集、标准化、注释和数据集成等方面进行精心的设计。

相比之下，尽管靶向代谢组学只关注特定物质，但它在样品提取、已知内标和更精确的绝对定量方面仍然具有优势。

### 2. IBD 非靶向代谢组学

在 IBD 的非靶向代谢组学研究中，粪便样本的分析结果可以很好的区分 IBD 患者和健康人群，但无法分辨克罗恩病和溃疡性结肠炎，特别是对于肠切除术后或抗肿瘤坏死因子抗体治疗的患者。

在今年发表的一项研究中，通过液相色谱 - 质谱联用 (LC-MS) 和深度宏基因组测序，作者发现 IBD 患者之间，尤其是克罗恩病患者和非 IBD 对照患者之间，有许多代谢产物的差异很大。该研究纳入了美国 155 名 Prism IBD 患者作为发现队列，并用欧洲 LifeLines DEEP 和 NLIBD 的 65 名个体作为验证队列，是这一领域最大、最详细的研究之一。作者观察到 IBD 患者的初级胆汁酸、 $\alpha$ -氨基酸和鞘脂水平增加，胆固醇，苯基苯并二恶烷，吲哚，四吡咯和长链脂肪酸等物质减少。同时，他们也确定了 IBD 中明显差异的细菌与代谢物之间的潜在因果关系或机理关系，例如，特定的 omega-3 脂肪酸与 IBD 相关物种呈正相关，与对照物种呈负相关。

其他生物样品的非靶向代谢组，如尿液，血清 / 血浆和肠活检样品等，研究结果同样有许多报导。IBD 患者的尿液中，哺乳动物 - 微生物共代谢产物水平降低，三羧酸循环中间体和氨基酸代谢发生改变。克罗恩病患者的血清样品与对照组相比，脂肪酸的分解代谢增加，氨基酸代谢物的变化（主要是减少），尤其是色氨酸的血清素和吲哚衍生物，以及苯丙氨酸和组氨酸代谢物水平降低。

### 3. IBD 靶向代谢组学

#### ① 短链脂肪酸 (SCFAs)

短链脂肪酸 (SCFAs) 是一类有益的代谢产物 (如图 2)，如乙酸，丙酸，丁酸等，都是微生物发酵的产物，它们的比例随饮食发生变化。

SCFAs 有调节免疫功能的作用，例如，可以诱导 SCFAs 介导的调节性 T 细胞的扩增，促

进肠道的 B 细胞应答等,越来越多的证据表明,肠道菌群调节新生儿免疫系统成熟的过程。SCFAs 还可以调节食欲,影响脂肪堆积,调节肠道运动,并通过 L 细胞分泌 YY 肽和胰高血糖素样肽 1 (GLP1) 影响能量代谢。

IBD 通常伴随着营养不良,这与产生丁酸盐的细菌种类缺失有关,例如 *Faecalibacterium prausnitzii* 和 *Roseburia hominis*, 这与 IBD 代谢组学研究中的粪便 SCFAs 水平降低的总体趋势一致。

研究表明,不同程度的 IBD 患者的粪便种 SCFAs 的水平均有降低。溃疡性结肠炎患者结肠黏膜中观察到丁酸盐氧化受损,并且在基因表达水平上丁酸盐转运和氧化的受损明显。相比之下,在活动期溃疡性结肠炎和克罗恩氏病中,作为中介分子的乳酸浓度升高。

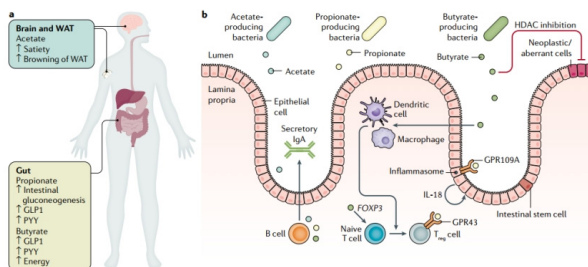


图 2 短链脂肪酸 (SCFAs) 对宿主的影响

## ②胆汁酸

胆汁酸是在肝脏中由胆固醇合成的小分子 (如图 3)。胆酸 (CA) 和鹅去氧胆酸 (CDCA) 与牛磺酸或甘氨酸结合,帮助小肠中脂质的消化和吸收,其中 95% 会在远端回肠通过肠肝循环被重吸收。除了调节自身的合成外,胆汁酸还与 FXR, TGR5, PXR, VDR 和 TGR5 结合,发挥代谢和免疫作用。

胆汁酸代谢失调在 IBD 中是复杂的, Duboc 等人,观察到独立的结肠 IBD 患者的粪便中结合的初级胆汁酸增加,血清和粪便中次级胆汁酸的减少,这与一些非靶向性研究的结果一致。另外,与健康对照组相比,活动期 IBD 患者的粪便样品中存在较高水平的 3-OH- 硫酸化胆汁酸,同时,胆汁酸的解结合、转化和脱硫方面也存在广泛的损害,而脱硫能力的丧失有直接的促炎效果。

在人类和动物模型的研究中,次级胆汁酸与结直肠癌、肝细胞癌 (肥胖小鼠) 相关,这突出了人群研究和模型系统在 IBD 的研究中确认胆汁酸微生物转化的重要性。

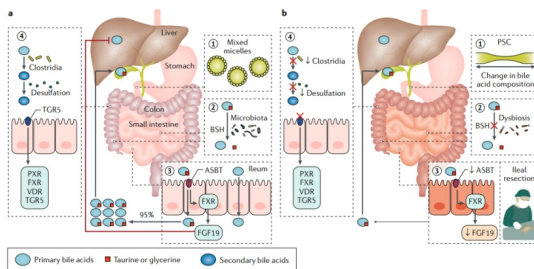


图 3 胆汁酸代谢与疾病

### ③色氨酸及其代谢物

色氨酸是一种必需氨基酸，也是许多重要生物活性分子的前体（如 5-羟色胺，褪黑激素，烟酰胺和维生素 B3 等）。色氨酸代谢主要发生在胃肠道部位，膳食色氨酸通过宿主的犬尿氨酸途径和 5-羟色胺途径，以及微生物的吲哚途径（如图 4）进行代谢。

除了色氨酸的直接代谢外，微生物本身和微生物代谢产物还对两条宿主色氨酸代谢途径发挥着重要的调节作用。色氨酸可以通过肠道微生物群转化为一系列吲哚代谢产物，其中一些与 IBD 的发病机制有关。

就肠道微生物的代谢产物而言，吲哚刺激 GLP1 的释放，而吲哚衍生物（包括吲哚乙酸，吲哚-3-乙醛，吲哚-3-醛，吲哚丙烯酸和吲哚-3-丙酸）可以作为 AhR（一个重要的转录因子）的激动剂，影响 T 细胞免疫，并在肠道中发挥保护和抗炎作用。

在一项包含 535 名 IBD 患者的队列研究中，表明 IBD 患者色氨酸代谢增加，临床和生化结果与色氨酸水平呈负相关，分析结果显示主要通过犬尿氨酸途径增加了色氨酸的代谢。

另外，其他研究结果还描述了克罗恩病患者发炎的黏膜样本中 AhR 的表达降低，饮食中色氨酸的缺乏与小鼠模型中的结肠炎的恶化相关。

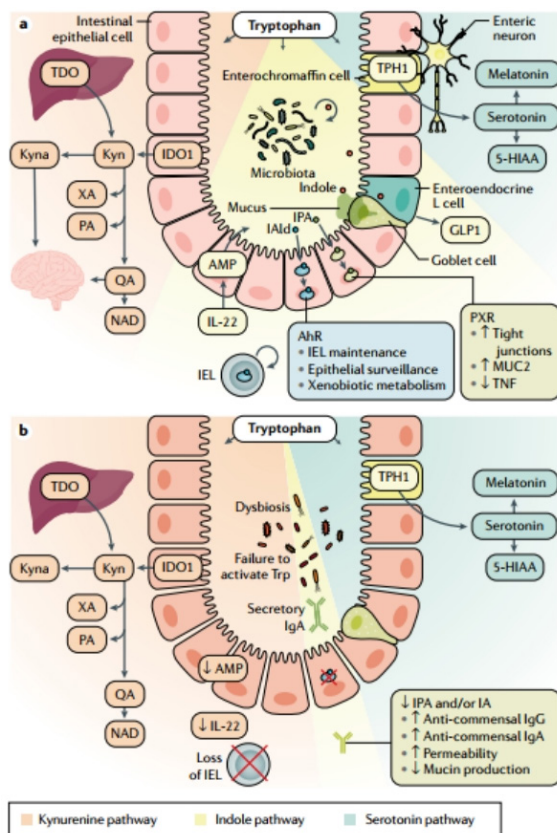


图 4 IBD 患者色氨酸代谢失调



#### 4. 未来方向

本文总结了不论是非靶向性研究还是靶向性研究结果中，与 IBD 相关的小分子代谢物。通过结合多种研究方法，如功能性宏基因组学、宿主报告基因检测、合成生物学和生物信息学等，进一步挖掘和整合微生物信息，可为寻找新的 IBD 相关生物活性分子提供广阔前景。

另外，IBD 患者和他们的家庭成员有相似的代谢谱改变，这将有助于判断临床症状出现之前的高危人群。同样，在诊断时、治疗前或手术前对微生物组和代谢物标记物进行高分辨率的时间图谱，可能为预测疾病进程提供新的生物标记物。

微生物的失调与疾病之间存在因果循环的关系（如图 5），所以促使着人们寻找新的综合治疗方法，如新一代益生菌、粪菌移植、微生物群以及代谢物等。

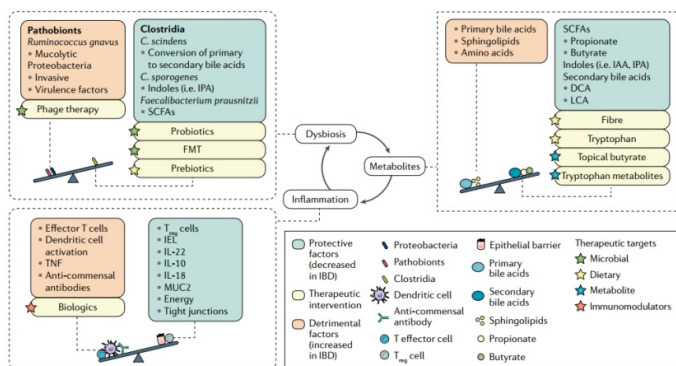


图 5 IBD 的循环因果关系

#### 研究结论：

在本篇综述中，我们总结了 IBD 的非靶向代谢组学和靶向代谢组学研究，得到了相对一致的代谢物改变模式，并对特定的分类（短链脂肪酸、胆汁酸和色氨酸代谢物）展开了详细的讨论。

2019 年发表的 iHMP 是 IBD 中第一个纵向多组学数据集，是一个真正的跨学科领域。但仍有许多基本问题没有回答。其中最重要的是基于微生物组的指标是否能对相关的临床问题提供独立的预测价值，以及基于微生物组的疗法是否能最终帮助治疗 IBD 患者。

我们也提出了今后的研究方向，肠道菌群产生的代谢物是肠道菌群和宿主互相作用的关键机制，并有望成为这一过程的核心。

#### 参考文献：

Lavelle A, Sokol H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2020, 17(4).

## 2.3 微生物代谢产物信号是机体铁稳态所必需的

### Microbial Metabolite Signaling is Required for Systemic Iron Homeostasis

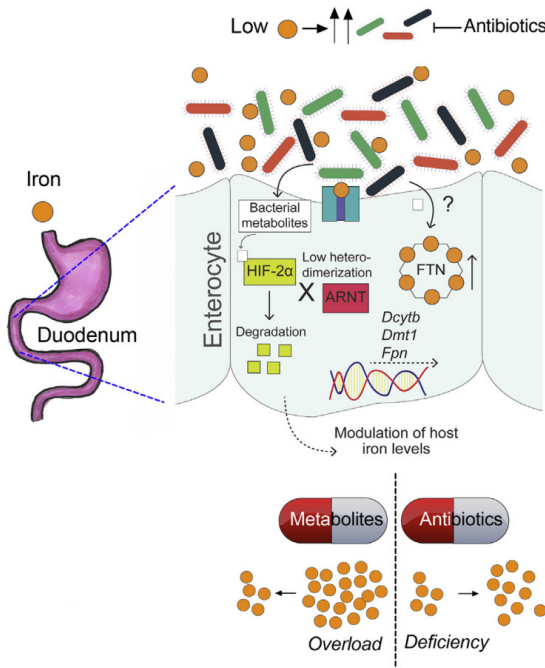
微生物代谢产物信号是机体铁稳态所必需的

发表期刊: *Cell Metabolism* | 影响因子: 27.287 | 发表时间: 2019

#### 研究背景:

大多数生物都需要铁才能生，由于其独特的氧化还原作用，铁对于细胞的基本生化过程至关重要。由于铁的缺乏和过量都具有有害作用，因此严格地调控机体年内铁的稳态。哺乳动物铁稳态是通过十二指肠肠上皮细胞通过整合的全身和局部调节系统介导的。肠道铁的吸收主要受缺氧诱导因子 (HIF) -2a 的调节，HIF-2a 是氧和铁调节的转录因子，直接靶向三个关键的肠铁转运蛋白 (Anderson et al., 2013; Das et al., 2015; Ramakrishnan et al., 2015; Xue et al., 2012)。二价金属转运蛋白 1 (DMT1)，十二指肠细胞色素 b (Dcytb) 和铁转运蛋白 (FPN) (Shah et al., 2009; Taylor et al., 2011)。铁蛋白 (FTN) 是细胞存储铁的主要蛋白质，在细胞铁缺乏和过量的情况下，可作为生物利用的铁和解毒剂的来源 (Harrison and Arosio, 1996)。此外，十二指肠 FTN 调节铁的外流 (Vanoaica et al., 2010)。肝素铁调素，称为铁稳态的主要调节剂，通过降解 FPN (唯一已知的哺乳动物铁) 来调节周围组织中的铁通量。铁限制时间内宿主与天然微生物之间的共生关系如何持续存在尚不清楚。

#### 技术路线:



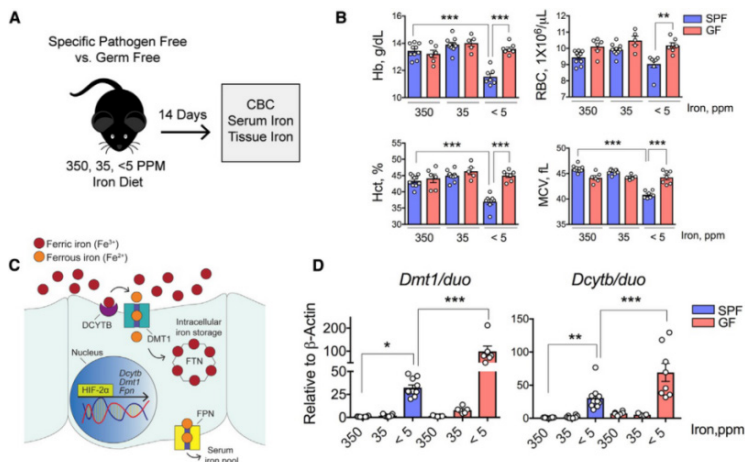
## 研究结果：

1. 肠道菌群通过抑制 HIF-2 $\alpha$  表达来限制铁的吸收

为了了解肠道菌群在宿主体内系统铁体内稳态中的作用，研究者评估了 C57BL / 6J 无菌 (GF) 小鼠对饮食铁限制的血液学反应。给三组 GF 小鼠喂食不同的铁饮食 - 富含铁 (350 ppm 铁)，充足 (35 ppm 铁) 或缺乏 (<5 ppm 铁) - 2 周，然后与饲喂相同饮食的野生型 C57BL / 6J 无病原体 (SPF) 小鼠进行比较 (图 1A)。全血细胞计数 (CBC) 分析表明，饲喂 <5-ppm 饮食的 SPF 小鼠比饲喂相同饮食的 GF 小鼠贫血 (图 1B)。这些表明，土著肠道微生物种群正在与宿主争夺铁，这种情况在铁含量有限的条件下变得更加明显。

十二指肠是饮食中铁吸收的主要部位，HIF-2 $\alpha$  是肠道铁稳态的主要调节剂。HIF-2 $\alpha$  对于调节顶端转运蛋白 DMT1 和 Dcytb 以及 FPN 至关重要 (Shah 等人, 2009) (图 1C)。分别对在 350、35 和 <5 ppm 铁饮食下，SPF 和 GF 小鼠的十二指肠 Dmt1 和 Dcytb 基因表达进行比较，发现 Dmt1 和 Dcytb 表达水平在缺铁的 GF 小鼠中显著增强 (图 1D)。为了证实肠道菌群在调节 Dmt1 和 Dcytb mRNA 水平表达中的作用，研究者将 350 ppm 铁饮食下的 GF 小鼠与健康 SPF 小鼠的肠道菌群统一化，采用相同饮食 (GF-conv)，单次口服 粪便悬液的方法 (图 1E)。结果发现，GF-conv 小鼠中的 Dmt1 和 Dcytb mRNA 水平也显著低于 GF 对照组中的水平，与 SPF 小鼠中的水平相当 (图 1F)。为了进一步证实肠道菌群在 Dmt1 和 Dcytb 基因表达中的作用，研究者对标准食物 (270 ppm 铁) 的 SPF 小鼠在饮用水中给予 Abx (广谱抗生素) 投喂 2 周，以耗尽其肠道菌群。结果发现，Abx 喂养的小鼠中的 Dmt1 和 Dcytb 蛋白 mRNA 表达水平显著高于未投喂 Abx 的对照小鼠 (图 1G)。这说明，缺铁可调节铁相关的 HIF-2 $\alpha$  靶基因。

为证实 HIF-2 $\alpha$  参与肠道菌群介导的肠道铁转运蛋白的调控，研究者对 HIF-2 $\alpha$  特异性破坏于肠道上皮细胞 (Hif2a  $\Delta$  IE) 及其野生型同窝仔 (Hif2aF / F) 小鼠进行了 Abx 投喂 2 周。结果发现，在 Hif2aF / F 型小鼠中 Dmt1 和 Dcytb 表达被明显诱导，但 Hif2a  $\Delta$  IE 小鼠中 Dmt1 和 Dcytb 的表达被抑制 (图 1H)。十二指肠上皮细胞的免疫组织化分析结果显示，GF 组小鼠中 HIF-2 $\alpha$  显著表达且显著高于肠特异性 VHL 基因敲除 (VhlDIE) 组。这些结果共同表明，肠道菌群可抑制小肠中宿主 HIF-2 $\alpha$  的表达和活性。



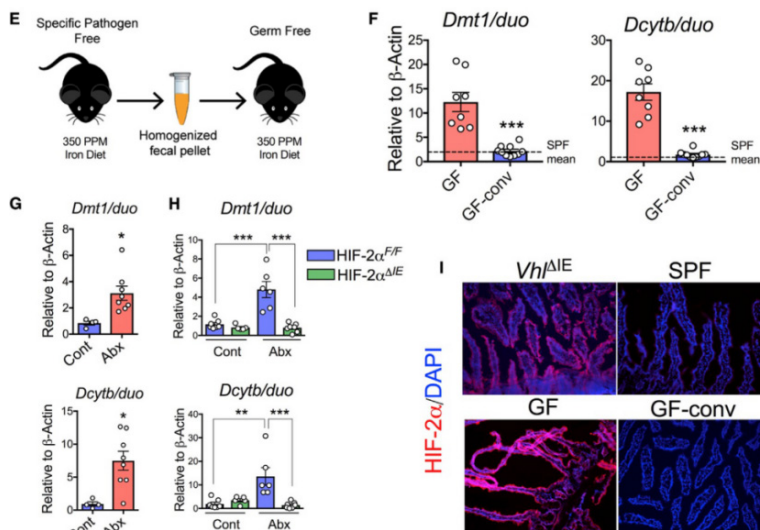


图 1 肠道菌群抑制铁吸收基因和 HIF-2α 表达

## 2. 微生物代谢产物抑制 HIF-2α 的表达和功能

为了研究微生物代谢产物在 HIF-2α 调控中的作用。作者从十二指肠内容物中分离出粗提取物并使用可以用或不用去铁胺 (DFO) (一种众所周知的铁螯合剂) 或缺氧 (1% O<sub>2</sub>) 刺激 HCT116 人肠上皮细胞 16 小时。结果发现, DFO 去和缺氧均可以激活被十二指肠代谢物抑制的 HIF-2α 表达 (图 2B)。这也说明, 肠腔中代谢产物是导致 HIF-2α 表达减弱的原因。为了探索肠道提取物的理化特性, 通过甲醇-氯仿-水提取法从十二指肠和盲肠 (粪便) 中分离出有机相和水相 (图 2C)。十二指肠提取物在缺铁或缺氧条件下具有 HIF-2α 抑制特性, 因此研究者们在 DFO 存在下测试了十二指肠代谢物提取物, 发现十二指肠代谢物提取物对 HCT116 细胞质中 HIF-2α 表达的抑制效应呈剂量依赖性 (图 2D), 并且从粪便提取物中也获得了相似的结果 (图 2E)。为了排除任何小蛋白质或肽的存在, 研究者对粪便有机提取物进行了胰蛋白酶消化或在 95°C 的温度下加热, 但结果均未消除提取物对 HIF-2α 抑制作用 (图 2F)。

为了研究肠道提取物中的 HIF-2α 抑制化合物是否起源于微生物, 从 GF 和 GF-conv 两组小鼠中分离了有机相和水相提取物。Western 结果显示, 只有 GF-conv 小鼠的有机提取物下调了 DFO 介导的 HIF-2α 表达, 从而证实了 HIF-2α 抑制性化合物是微生物来源的 (图 2G)。通过 HRE-Luc 分析法研究来自 SPF 或 GF 小鼠 (分别称为 SPF 代谢物和 GF 代谢物), Dmt1 启动子的活性, 结果与蛋白质表达数据一致, SPF 组中代谢物显著抑制 HRE-Luc 活性, 而对 GF 组代谢物无明显作用 (图 2H)。

基于 HRE-Luc 分析结果, 进行代谢物组学分析, 筛选出 66 种肠道微生物代谢物。经细胞中 HRE-Luc 活性测定, 进一步筛选出 12 种显著抑制 HIF-2α 的化合物。细胞毒性实验发现, 有 9 种化合物在肠道管腔的生理浓度范围内或以下时具有细胞毒性 (图 2I)。对剩下的三个代谢物: 丁酸酯, 丙酸酯和 DAP, 进一步研究, 发现这些化合物在蛋白质水平上抑制了 HIF-2α 的表达 (图 2J)。且在体外抑制 HIF-2α 的丁酸酯, 丙酸酯和 DAP 的最低有效剂量分别为 0.5 mM, 2.5 mM 和 5 mM (图 2J)。

综合上述研究结果证实，内源性细菌的代谢产物能显著的、特异性的抑制 HIF-2 $\alpha$  表达。

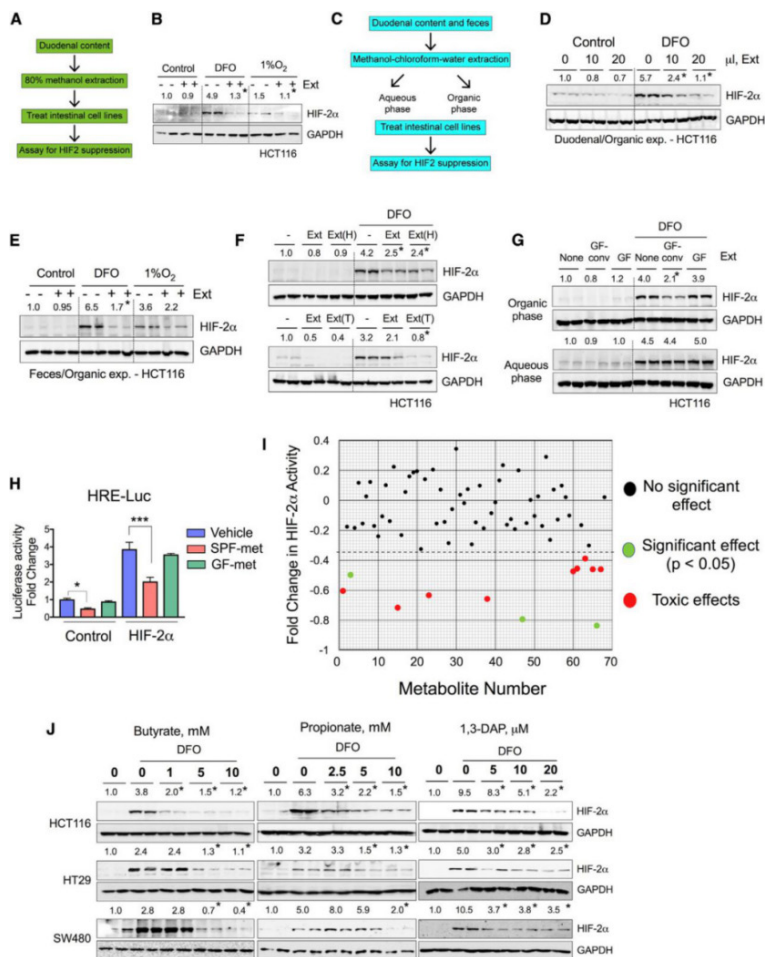


图 2 肠道菌群抑制铁吸收基因和 HIF-2 $\alpha$  表达

### 3. 微生物代谢产物对于 FTN 表达必不可少

调节肠铁吸收和全身铁稳态的第三个组成部分是铁存储蛋白 FTN。在先前的研究中，肠道 FTN 破坏导致铁吸收增加 (Vanoaica 等, 2010)。本研究，在基础铁水平 (350 和 35 ppm 铁饮食) 下，GF 组十二指肠中的 FTN 表达明显低于 SPF 组，而在 35 ppm 铁饮食中，肝脏和脾脏中的 FTN 表达更为明显 (图 3A)。在经抗生素治疗的小鼠，十二指肠，肝脏和脾脏中的 FTN 表达显着降低 (图 3H，左图)。为了进一步探索，研究者在几种遗传小鼠模型中利用了 Abx 处理的肠道菌群消耗模型。在肠特异性 HIF-2 $\alpha$  基因敲除 (Hif2aDIE) 小鼠中，Abx 处理降低了十二指肠 FTN 蛋白的表达，从而证实肠道菌群对 FTN 的调节是独立于 HIF-2 $\alpha$  的 (图 3B)。

NCOA4 通过铁蛋白吞噬的过程介导 FTN 的溶酶体降解 ((Mancias et al., 2014))。缺乏 NCOA4 的细胞由于缺乏 FTN 加工而显示出 FTN 表达上调。经过 Abx 处理后，Ncoa4<sup>-/-</sup> 组中



十二指肠 FTN 降低的速率与野生型对照组相似 (图 3C)。同样, Abx 处理后, 在 *Tlr2,4<sup>-/-</sup>* 和 *Myd88<sup>-/-</sup>* / 小鼠中 FTN 表达均下调, 排除了主要细菌感测途径的参与 (图 3D 和 3E)。

为了研究丁酸酯, 丙酸酯和 DAP 对 FTN 调节的影响, 从健康 SPF 小鼠粪便中提取代谢物, western 结果表明, 这些代谢物能够以剂量依赖的方式诱导铁刺激的肠上皮细胞系中 FTN 的表达 (图 3F)。为了进一步研究代谢产物的全身作用, 研究者通过腹膜内注射将代谢产物引入抗生素治疗的小鼠中 (图 3G)。在用代谢物注射的小鼠中, 十二指肠, 肝脏和脾脏中 FTN 的表达增加, 表明新的, 未鉴定的微生物代谢物在全身性 FTN 调节中起作用 (图 3H, 右图)。

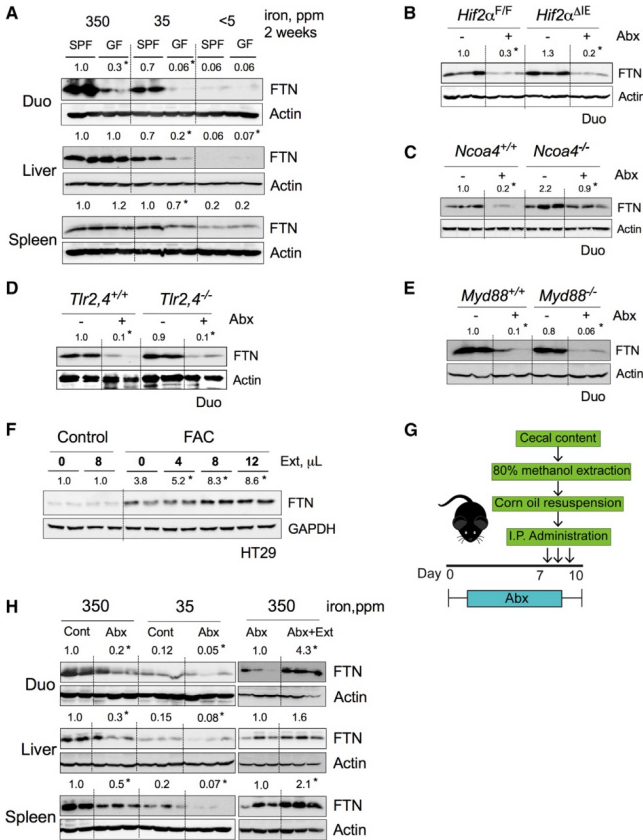


图 3 微生物代谢产物维持肠道和周围组织铁蛋白 (FTN) 的表达

#### 4.DAP 通过阻止 HIF-2α 异二聚化抑制铁缺乏诱导和抗生素诱导的 HIF-2α 活性

为了研究这些代谢物是否在体内环境中抑制 HIF-2α 的活性。在含铁量为 350 ppm 或 <5 ppm 的小鼠的饮用水中给予 DAP (2 g / L)。虽然, 缺铁强烈诱导了 HIF-2α 靶向铁转运蛋白 Dmt1 和 Dcytb 的表达, 但 DAP 投喂组显着减弱了 Dmt1 和 Dcytb 的表达 (图 4A)。此外, 投喂 DAP 后, 抗生素诱导 HIF-2α 的表达的功能也被抑制 (图 4B)。类似的实验来评估丁酸和丙酸, 结果表明这些代谢物不能抑制 HIF-2α 在体内的功能。

HIF-2α 的 PAS-B 结构域包含一个类似于配体结合袋的疏水腔。具有高亲和力的 PT2385 选择性地与该腔结合并破坏 HIF-2α 与 ARNT 的异源二聚化作用 (Wallace 等人, 2016)。与



文献一致, PT2385 破坏 HIF-2a 异二聚体也降低了 HIF-2a 蛋白的稳定性 (图 4C) (Wallace 等人, 2016)。为了确定 DAP 是否通过与 PT2385 相似的机制抑制 HIF-2a, 作者进行了免疫共沉淀分析以评估 HIF-2a-ARNT 异二聚体 (图 4D), 与文献一致, PT2385 完全消除了 HIF-2a-ARNT 的相互作用 (图 4E) (Chen 等, 2016; Cho 等, 2016)。DAP 还显著抑制了 HIF-2a-ARNT 的相互作用 (图 4E)。利用了哺乳动物的双杂交系统 (图 4F), 进一步验证 DAP 对 HIF-2a-ARNT 相互作用的影响。与免疫共沉淀结果一致, DAP 抑制了双杂交系统中的 HIF-2a-ARNT 相互作用 (图 4G)。作者构建了小鼠 HIF-2a 的双突变体模型 (S305M 和 G324E; 图 4H), 并进行了 HRE-Luc 分析, 以评估该突变对 DAP 介导的 HIF-2a 抑制的影响, 结果发现, PT 结合位点的突变完全拯救了 HIF-2a 抑制作用 (图 4I)。总之, 这些数据表明细菌代谢产物具有充当抑制活性的 HIF-2a 的内源性配体的能力。

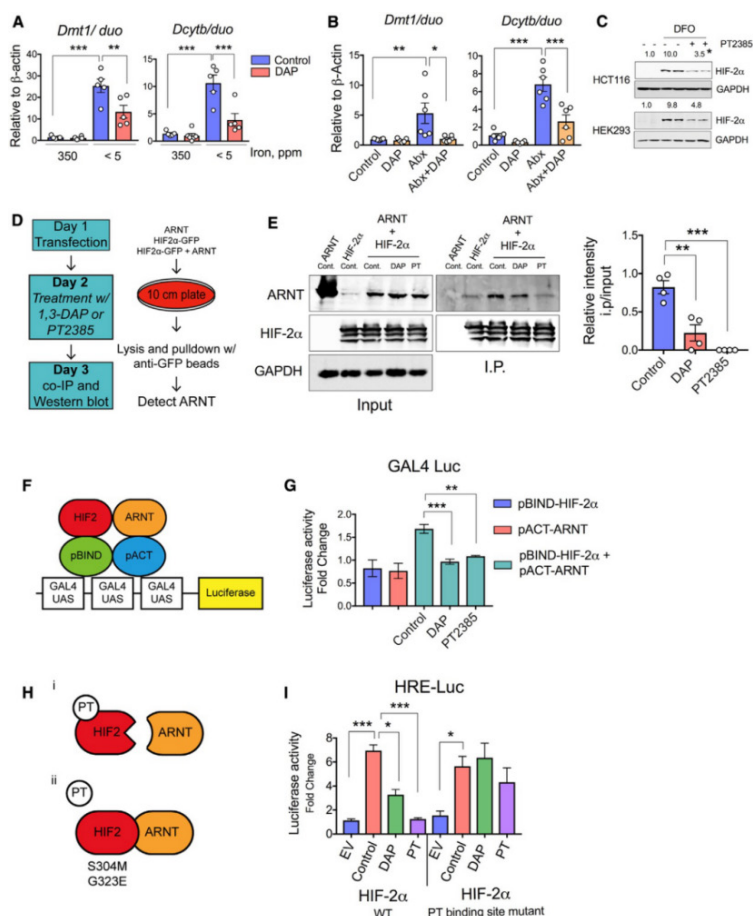


图 4 DAP 通过阻断异二聚体抑制 HIF-2a 的体内活性

## 5. 低铁水平导致微生物代谢产物更有效地抑制 HIF-2a

为了了解微生物代谢产物的产生如何与宿主铁感测相结合，饮食中的铁操纵是否可以调节微生物代谢产物的 HIF-2a 抑制功能。对 HCT116 细胞用粪便代谢物处理，粪便代谢物从 350、35 或 <5 ppm 铁饮食 2 周的小鼠中提取（图 5A）。从缺铁粪便中分离出的代谢产物（<5 ppm）引起最有效的 HIF-2a 抑制作用（图 5B）。这表明铁缺乏选择性地促进了微生物的生长和代谢产物的生长，这些微生物和代谢产物具有较高水平的 HIF-2a 抑制作用。但是，铁缺乏小鼠的 DAP 浓度没有变化（图 5C）。接下来着重于鉴定可以抑制 HIF-2a 或与铁整合的其他代谢产物的效应。研究者首先评估了由于管腔内铁含量的限制而导致的微生物群落的变化（图 5D 和 5E）。通过 16S rRNA 细菌群落分析发现，十二指肠内容物和粪便中的铁含量限制下，乳杆菌是唯一相对丰度明显增加的细菌属，（图 5F 和 5G）。分析了总共五种不同的乳杆菌，其中约翰逊乳杆菌和罗伊氏乳杆菌的相对丰度在缺铁后十二指肠内容物和粪便中均显着增加（图 5H，5I）。同样，人体分离的罗伊氏乳杆菌丰度随着 DFO 浓度的增加而增加。

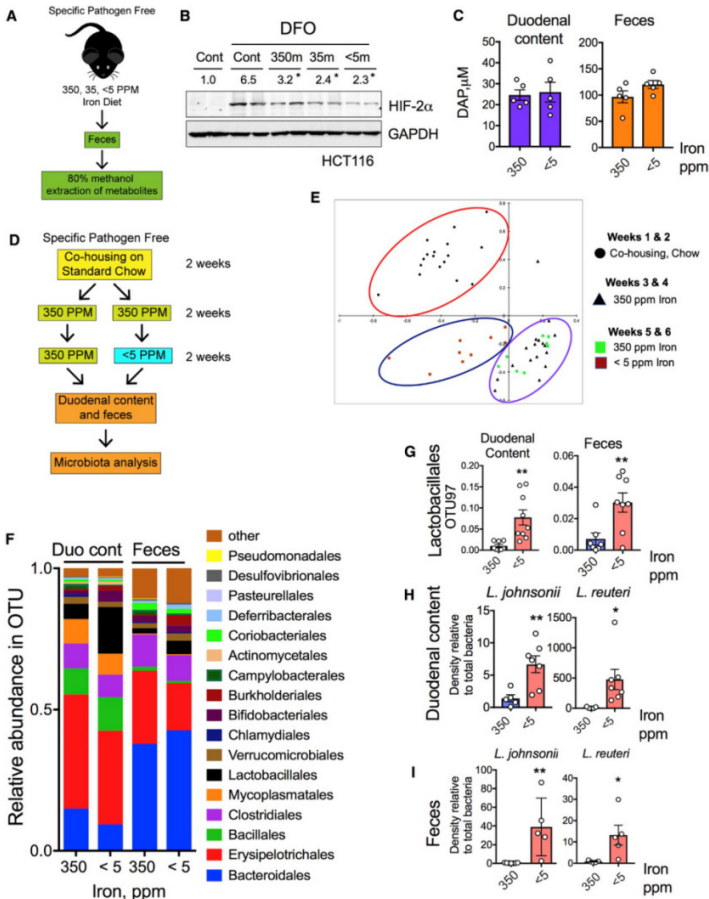


图 5 低铁饮食增强了微生物代谢产物对 HIF-2a 的抑制作用

## 6. 肠罗伊汀通过阻断异源二聚化抑制 HIF-2α 活性

3- 羟基丙醛 (reuterin) 是由罗伊氏乳杆菌产生的, 除其作为抗菌化合物的作用外, 对其在肠道生理中的作用知之甚少 (Schaefer 等, 2010) (图 6A)。研究发现, 与接受 350 ppm 铁饮食的小鼠相比, 接受 <5-ppm 铁饮食 2 周的小鼠的 Reuterin 水平显着增加 (图 6C)。路透蛋白治疗导致人肠上皮细胞系中 HIF-2α (而非 HIF-1α) 的表达和活性呈剂量依赖性降低 (图 6D)。与 DAP 相似, Reuterin 显着破坏了 HIF-2α-ARNT 的相互作用 (图 6F)。用 HIF-2α 的 PT 结合突变位点进行的 HRELuc 分析显示完全逆转了路透素诱导的抑制作用 (图 6G)。

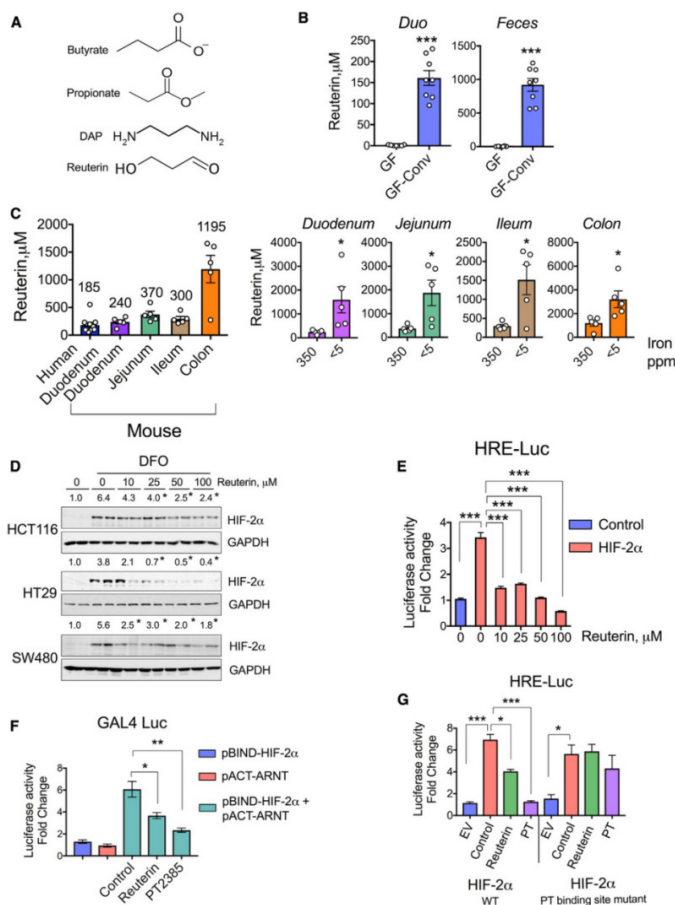


图 6 罗伊特林通过阻断异源二聚化抑制 HIF-2α 活性

## 7. 在小鼠模型中用益生菌或抗生素改善的铁相关疾病进行治疗

鉴于两种新型 HIF-2α 特异性抑制剂 DAP 和路透素在体内和体外的发现, 接下来探究这些抑制剂在铁超负荷疾病中是否可以发挥一些治疗作用。

肝铁调素敲除小鼠模型 (HampDLiv) 最早在他莫昔芬治疗后 4 周就显示出铁的快速组织蓄积 (图 7A) (Schwartz 等, 2019)。在他莫昔芬注射前 2 周和注射后 2 周内向 HampDLiv

小鼠投喂在饮用水中添加 DAP 或罗伊氏乳杆菌益生菌的悬浮液（作为罗伊特林的来源）。铁的定量测定显示，与 DAP 处理的野生型对照（Hampfl / fl）相比，DAP 处理导致 HampDLiv 小鼠的肝脏，胰腺和心脏中的铁水平显着下降，而罗伊氏乳杆菌益生菌治疗引起胰腺和心脏的显着减少，但肝脏无明显减少（图 7B）。Western 分析表明，与野生型对照小鼠相比，媒介物治疗的 HampDLiv 小鼠中 HIF-2a 依赖性肠铁转运蛋白（DMT1, Dcytb 和 FPN）的水平显着增加。在用 DAP 或罗伊氏乳杆菌益生菌治疗的 HampDLiv 小鼠中，该反应被消除（图 7C）。在缺铁性贫血的小鼠模型中，Rfx 处理降低了约翰逊氏乳杆菌和罗伊氏乳杆菌（图 S7H）并提高了铁吸收基因的表达（图 7D）。

总体而言，我们的结果表明，基于微生物组的疗法可用于成功治疗铁相关疾病。

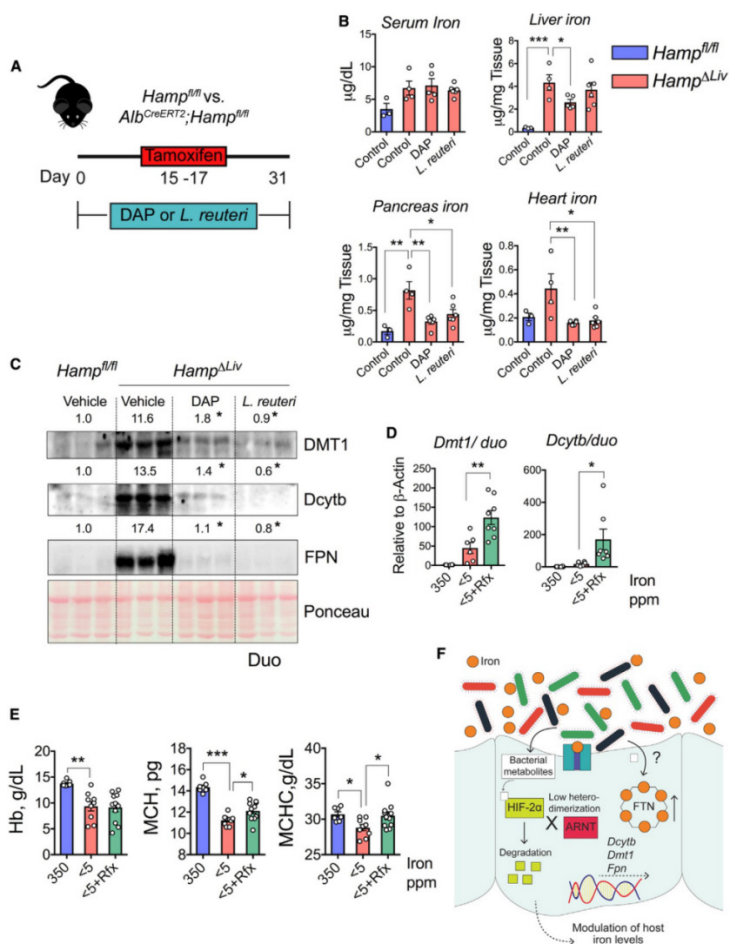


图 7 Dap 和 Reuterin 可防止小鼠体内铁蓄积，抗生素可改善贫血模型

## 研究结论：

铁是所有活生物体所需的主要微量营养素。肠道铁竞争对维持本地微生物种群和宿主健康至关重要。尚不清楚铁限制时间内宿主与天然微生物之间的共生关系如何持续存在。本研究证实，肠道微生物代谢产物可通过抑制肠道 HIF-2a 活性和上调 FTN 表达来调节宿主体内铁稳态。作者确定了两个 HIF-2a 抑制性微生物代谢产物 DAP 和路透菌素，DAP 和罗伊特林。可有效防止全身铁超负荷的小鼠模型中组织铁的积累。这是第一个为系统性铁稳态提供宿主和宿主菌群之间串扰的机制研究的调查。但是，铁相关疾病的小鼠模型不能完全概括人类观察到的贫血或铁超负荷表型的程度，需要进一步的临床前研究来确定基于微生物的疗法是否对患者有效。

## 参考文献：

Das N K, Schwartz A J, Barthel G, et al. Microbial Metabolite Signaling Is Required for Systemic Iron Homeostasis[J]. Cell Metabolism, 2019, 31(1).

## 2.4 溃疡性结肠炎患者粪便微生物群移植反应相关的特异性细菌和代谢物

### Specific Bacteria and Metabolites Associated With Response to Fecal Microbiota Transplantation in Patients With Ulcerative Colitis

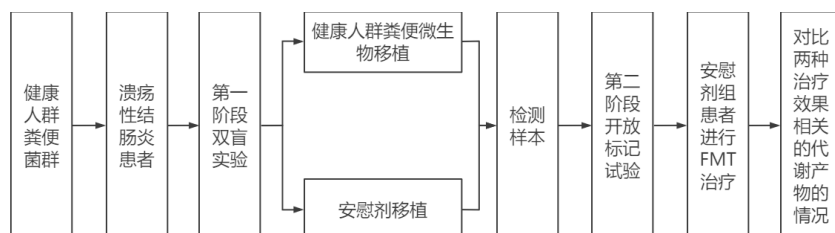
#### 溃疡性结肠炎患者粪便微生物群移植反应相关的特异性细菌和代谢物

发表期刊: *Gastroenterology* | 影响因子: 22.682 | 发表时间: 2019

## 研究背景：

作为消化道的重要组成部分，结肠发挥着吸收食物中多余的水分和盐分，同时储存固体排泄物的作用。溃疡性结肠炎（Ulcerative Colitis, UC）是一种结肠和直肠的长期存在炎症和溃疡的疾病，目前，临床上用于治疗炎症性肠病的药物既有小分子化学药物，如 JAK-1 抑制剂；也有抗体类药物，如 TNF 拮抗剂等。近年来，大量的临床试验证明，粪便微生物移植（Fecal Microbiota Transplantation, FMT）是一种有效治疗多种胃肠道疾病的手段，超过一半的患者在得到积极治疗后表现出了临床效应，包括溃疡性结肠炎。然而，在 FMT 治疗溃疡性结肠炎的过程中，其潜在的微生物基础、治疗结果的预测因素和介导有益疗效的最终活性成分仍不清楚。

## 研究路线：



## 研究结果：

FMT 治疗组中表现出临床应答的患者粪便中 *Eubacterium hallii*, *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus bromii* 的丰度和 *Eggerthella* 的种类都明显较高。进一步的分析发现, 苯甲酸降解、甘油磷酸代谢、次级胆汁酸生物合成、PPGPP 生物合成以及淀粉降解等代谢通路与有益的治疗效果相关, 而参与这些代谢通路的细菌包括 *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Lachnospiraceae* 和 *Roseburia*, *Dorea* 等。相反的, 另外一些细菌, 如 *Fusobacterium*, *Sutterella*, *Haemophilus*, *Escherichia*, *Megamonas* 等则与无明显效果的治疗结果相关 (图 1)。为了确认分类鉴定的结果, 研究者采用宏基因组鸟枪测序进行了分析, 得到了类似的结果。随后, 通过非靶向代谢组学的检测, 进一步对比了两种治疗效果相关的代谢产物的情况, 筛选出了 FMT 治疗后和 Baseline 具有 228 种差异代谢产物, 其中包括血红素、赖氨酸、去氢胆酸盐和生物素等, 其中 15 种在有益或无效治疗的 FMT 组样本中表现出一致的变化, 说明这 15 种代谢产物与治疗效果无关。

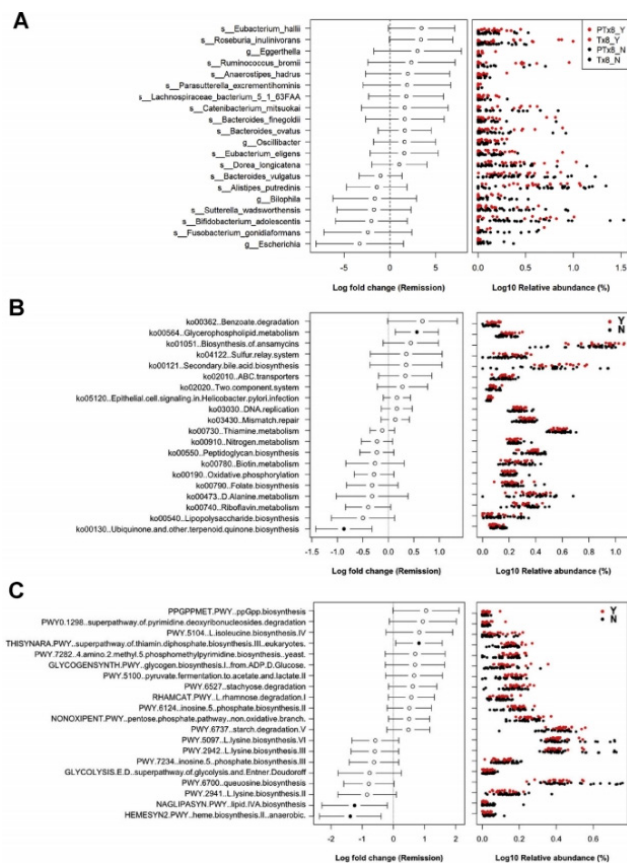


图 1 与治疗主要结果相关的微生物特征



双盲试验中所观察到的现象后续在开放标记试验中得到了验证。16s rRNA 测序和宏基因组鸟枪测序对这一阶段的收集的样本进行分析，结果显示，FMT 治疗后，患者的粪便和肠道粘膜中微生物的  $\alpha$  多样性显著提高。综合整个研究，作者提出了在 FMT 中产生有益疗效的因素包括供体样品中的 *Eubacterium* 和 *Roseburia* 菌群等以及它们介导的短链脂肪酸和次级胆汁酸的代谢；而 *Fusobacterium* 和 *Sutterella* 菌群等以及它们介导的血红素和脂多糖的代谢与阴性的治疗效应相关（图 2）。

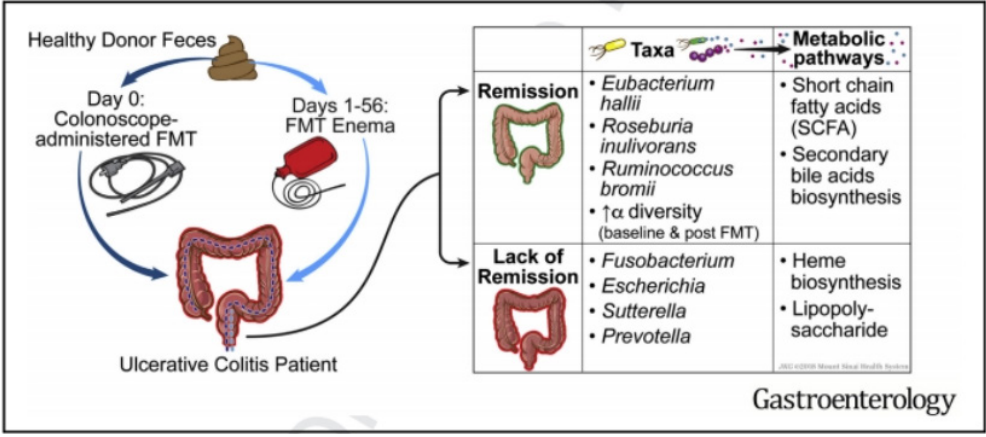


图 2 在 FMT 中产生有益疗效的因素

研究结论：

这项研究解释了 FMT 治疗效果中的微生物机制，对后续的 FMT 试验开展有较高的指导意义。医生可以通过筛选供体微生物菌群，有针对性的进行移植，从而提高有益治疗的可能性和比例。

参考文献：

Paramsothy S, Nielsen S, Kamm MA, et al. Specific Bacteria and Metabolites Associated With Response to Fecal Microbiota Transplantation in Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*.2019, 156 (5):1440-1454.

## 2.5 严重肥胖患者的主要微生物群失调：减肥手术后的命运

### Major Microbiota Dysbiosis in Severe Obesity: Fate After Bariatric Surgery

#### 严重肥胖患者的主要微生物群失调：减肥手术后的命运

发表期刊: *Gut* | 影响因子: 23.059 | 发表时间: 2018

#### 研究背景:

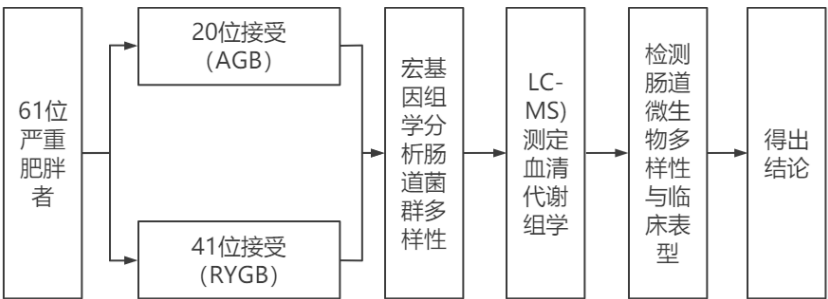
身体质量指数 (Body Mass Index, 简称 BMI)，是国际上常用的衡量人体胖瘦程度以及是否健康的一个标准。主要用于统计用途，当我们需要比较及分析一个人的体重对于不同高度的人所带来的健康影响时，BMI 值是一个中立而可靠的指标。一般认为当体重指数 (BMI)  $> 35 \text{ kg/m}^2$  为严重肥胖，而当  $\text{BMI} > 40 \text{ kg/m}^2$  是则认为是病态肥胖；虽然部分严重肥胖患者仍可保持代谢健康，但一般  $\text{BMI} > 35 \text{ kg/m}^2$  会导致慢性疾病发病率显著增加，且健康的肥胖个体会随着时间推移而出现代谢改变和并发症。

减肥手术 (BS)，也就是人们常说的缩胃手术，对于重度肥胖的人来说，基本可以说是唯一也是最优的选择；该疗法在全世界范围内也已广泛使用；因为它能在改变体重的同时，降低肥胖症病人的心血管疾病风险并且改善其代谢状况。减肥手术细分下来手段也有多种：一个是通过胃束带 (AGB) 来调节患者胃容量以达到控制食欲的效果，本质上还是一种饮食干；而胃绕道旁路手术 (RYGB) 则是通过改变消化道结构，降低肠道吸收效率，从而达到减少了食物摄入的目的；

肠道微生物被认为是肥胖及其相关疾病，尤其是二型糖尿病及心脏代谢疾病 II 型糖尿病的重要诱因，在超重和中度肥胖人群中已发现肠道生态失调，表现为肠道菌群的菌落组成，和肠道菌群基因丰度的显著降低等，而这些肠道菌群的变化与机体的代谢指标改变，如胰岛素抵抗，低程度验证，脂肪细胞肥大等显著相关。

2019 年，法国学者以肠道微生物基因丰度多样性为指标，针对 AGB 和 RYGB 的术后人群的肠道菌群基因丰度进行了长期的跟踪监测；通过比较 AGB 和 RYGB 两种手段对肠道菌群及肥胖者健康状态的改善能力，探究肠道菌群基因丰度 (MGR) 是否与严重肥胖症的发生及其并发症的恶化存在某种相关性；同时通过对大样本队列的肠道菌群基因丰度 (MGR) 变化，菌落组成，及其功能的研究分析，反映不同减肥手术的差异；另外，研究者们发现，短期的饮食干预也能增加肠道基因组的多样性。

#### 技术路线:



## 研究结果：

## 1. 严重肥胖症患者群中的肠道微生物多样性与临床表型

在 BMI> 35 的 61 名肥胖女性中，MGR 表现出双峰分布。研究者以 480K 为临界值界定了低基因计数（LGC）和高基因计数（HGC），统计了 AGB 和 RYGB 术后人群的低基因数（LGC）/ 高基因数（HGC）的比例；之后研究者发现，75% 的受试患者属于 LGC 组，这与超重 / 中度肥胖相比有显著性的增加。而但基因数目处于基线（480K）附近时，RYGB 术后患者和 AGB 术后患者的临床表征及各自的 BMI 非常相似，不同之处在于 RYGB 术后患者的躯干脂肪质量和阻塞性睡眠呼吸暂停的患病率更高；而总体上来说，AGB 术后患者的肠道菌群基因丰度显著高于 RYGB 术后患者。同时，肠道菌群基因丰度被证明与有害身体的成分呈负相关；二型糖尿病患者的肠道菌群基因丰度也显著低于健康者。

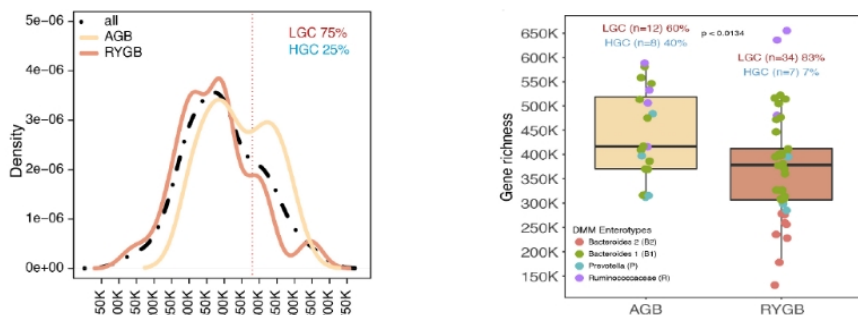


图 1 MB 基线组 MGR 呈双峰分布以及 AGB 和 RYGB 患者基线 MGR

## 2. 肥胖症患者的肠道菌群基因丰度

通过联系受试者 BMI 指数，研究者发现肥胖程度越严重，其肠道菌群基因丰度表现越不乐观；为了进一步验证其结论，并获得更多肥胖者的临床指标与其肠道菌群基因丰度的联系，研究者对受试者进行了进一步的划分；为此，收集了来自 MB 组（61 名女性肥胖症减肥手术受试者）和 MO 组（49 名超重 / 中等肥胖的成年受试者）的临床信息；与 MO 组患者相比，MB 组患者较为年轻，所有女性的身体总脂肪和躯干脂肪的质量都较差，且伴有更多的常见心脏代谢并发症，如二型糖尿病，高血压（HTA），禁食后更多的胰岛素抵抗等。

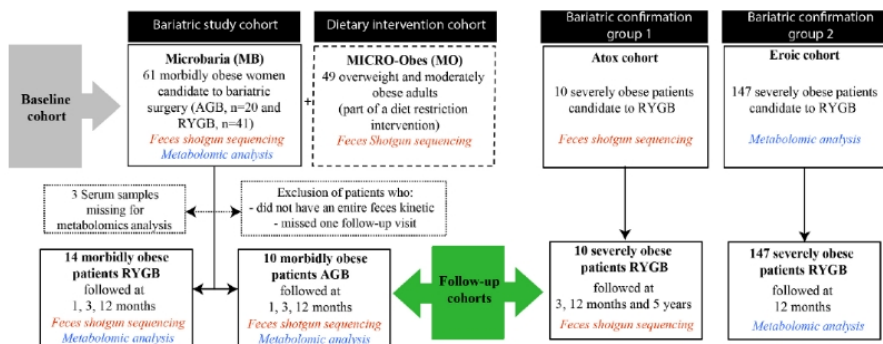


图 2 研究流程图：基线（MB 或 MB+MO）和 MB 随访队列，两个独立的确认队列（EROIC 和 ATOX）用于数据确认

而后，为了进一步验证肠道菌群基因丰度的重要性，研究者添加了独立队列，包括 10 名接受 RYGB 治疗的严重肥胖患者，分别在术后 0，3，12 个月及 5 年追踪取其粪便样本通过宏基因组检测其肠道菌群基因丰度，同时，另外 147 名接受 RYGB 治疗的严重肥胖受试者取其血清并进行代谢组学分析；

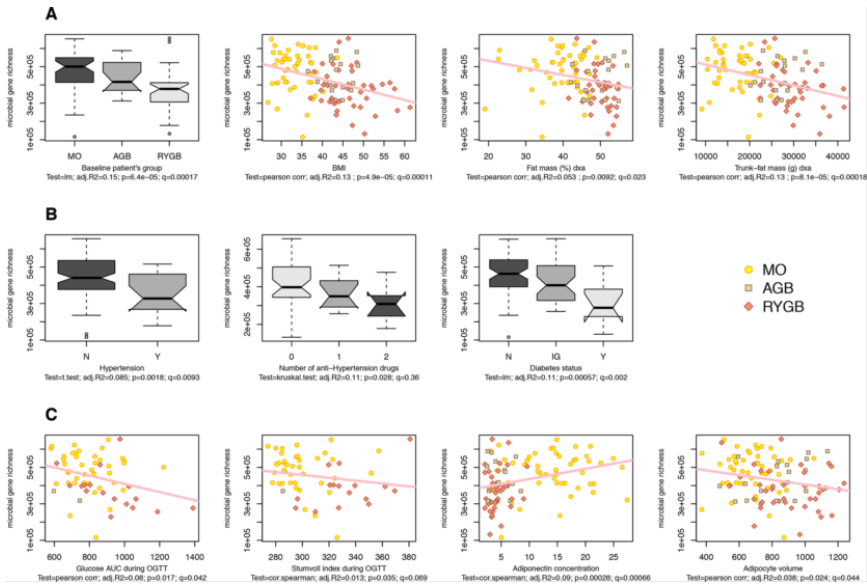


图 3 MO+MB 受试者 MGR 与生物临床特征之间的联系

从人体测量学参数上看，肠道菌群基因丰度（MGR）与肥胖程度呈现的是负相关的趋势；而在与代谢相关疾病的关联分析结果显示，正常受试患者的肠道菌群丰度高于高血压患者，同时，在服用降压药后，肠道菌群丰度也会一定程度的降低；同时，正常人，葡萄糖不耐受者及糖尿病患者的肠道菌群基因丰度也呈阶梯式下降趋势；而在宏基因组学与代谢组学的相关性分析结果中，超重 / 中度肥胖，相较于 AGB 术后及 RYGB 术后患者，基因丰度与葡萄糖耐受相关参数呈负相关；与脂联素成正相关，与皮下脂肪体积成负相关。

### 3. 严重肥胖症患者的代谢缺陷及宏基因组物种丰度

研究者统计了 781 个宏基因组物种是否能与肥胖症临床表型有关的相关参数联系起来；最终呈现了其中的 78 个物种与代谢变量（身体脂肪组成，肥胖程度和代谢特征）相关的血清代谢物，以及与肠道菌群基因丰度（MGR）相关的血清代谢物的相关性聚类结果；在临床指标中，躯干脂肪质量与其他指标相比，相关性趋势相反，而在代谢指标的结果中，谷氨酸盐相较于其他呈现了相反的趋势。

在严重肥胖症受试患者中，与菌群基因丰度相关性最高的宏基因组物种中，有 50% 与代谢变量有关，其中 20.5% 的物种与临床指标和代谢指标共同相关。

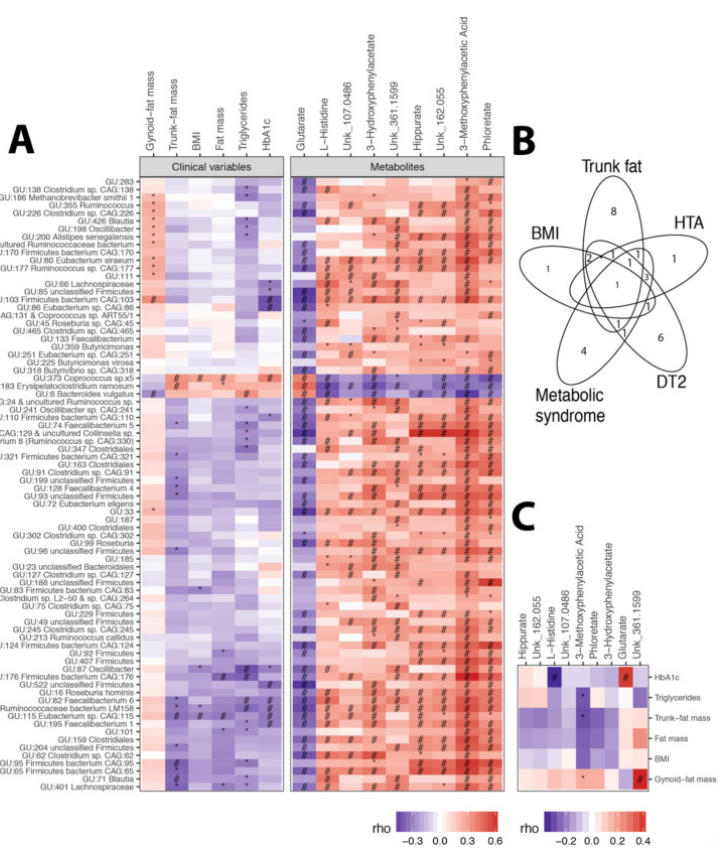


图4 基线时 MGR 相关 MGS

而后，研究者对基因丰度及代谢相关菌种的功能进行了进一步分析，通过对目标代谢物的 KEGG 功能注释，再通过功能分析与临床指标结合起来，例如，再糖尿病患者及葡萄糖不耐受患者中，谷氨酸盐水平伴随着 HbA1c 以及血红蛋白水平的升高；同时，3- 甲氧基苯基乙酸与雌激素样脂肪分布正相关，同时也不利于躯干脂肪质量和甘油三酸酯的相关指标；该结果向我们展示了，肠道菌群基因丰度，宏基因组相关物种，及代谢物，代谢途径在严重肥胖症患者中的相互关系。

#### 4. 人为干预菌群多样性

随着时间推移，减肥手术可以一定程度的提高严重肥胖患者的肠道菌群多样性有所缓解，同时，AGB 术后效果整体好于 RYGB；而 RYGB 术后患者的肠道的不良菌群多于 AGB 术后患者。最有趣的是在 RYGB 术后的 1 至 5 年，MGR 才能基本稳定下来，且几乎没有受试者在 5 年后的追踪结果中，呈现为高菌群丰度。而 AGB 术后患者的 MGR 监测结果为逐渐增加，但统计显示，仍然是极少的患者能在 1-3 个月内转为高菌群基因丰度者。

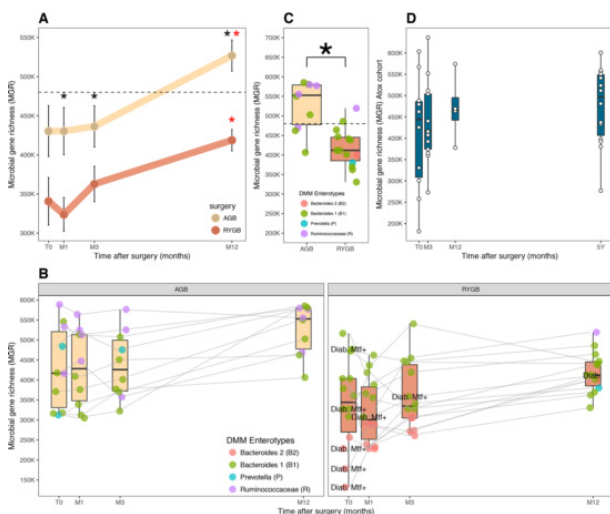


图 5 肥胖症手术后的微生物组成

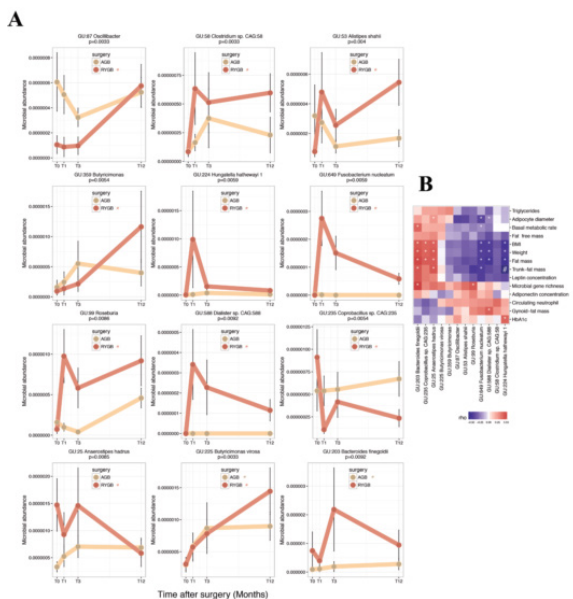


图 6 减肥手术后 MGS 发生显著变化

而后，研究者呈现了受试者术后 0，1，3，12 个月的肠道菌群变化，随着时间推移，其具有代表性的肠道菌种的丰度变化情况，及该肠道菌种增量与临床治疗相关因素间的相关性系数热图；在这 12 种肠道菌种术后趋势中，研究者发现了减肥手术一年后其变化与临床变化之间的关系，在这些物种中，核梭菌和嗜甲基菌属与 BMI，雌雄激素，躯干脂肪质量变化呈现极为明显的负相关，而拟杆菌，厌食厌食菌等则与这些表型的变化趋势相同。以此，也可以根据这些指标来判断哪些是有益的菌群菌种。



### 研究结论：

研究团队通过对 4 个队列样本进行粪便宏基因组学和血清代谢组学研究，探讨 MGR 与肥胖代谢指标以及临床表型的相关性。

结果显示严重肥胖的特征是低肠道菌群基因丰度（MGR），而低 MGR 的特性在于特定的肠道菌群菌落（MGS），这些指标与临床特征相关，例如内脏肥胖、脂肪细胞肥大以及代谢和炎症后果；同时该研究确定了与 MGR 降低相关的宏基因组特征、功能修饰和血清代谢物，通过代谢组学筛选出与 MGS 相关代谢物，并进行功能相关分析。

低 MGR 是否是肥胖持续的根本原因目前还未可知，但它代表了肠道微生物菌群改善的重要指标。与遗传因素相比，饮食习惯和肥胖程度等因素可以解释大多数肠道菌群的变化，在减肥手术后，虽能观察到一定的菌群改善，但是大多数患者仍具有非常低的肠道菌群基因丰度（MGR）。研究团队而后的高纤维素饮食干预，也证明了饮食习惯对从肠道菌群的良好影响，但是减肥手术干预或饮食干预对肠道菌群生态系统的影响仍需要进一步探究。

### 参考文献：

Aron-Wisniewsky J , Prifti E , Belda E , et al. Major microbiota dysbiosis in severe obesity: Fate after bariatric surgery[J]. Gut, 2018. doi:10.1136/gutjnl-2018-316103.

## 2.6 白细胞介素 -23- 白细胞介素 -22 轴调节肠道微生物稳态，以防止饮食诱导的动脉粥样硬化

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

#### 白细胞介素 -23- 白细胞介素 -22 轴调节肠道微生物稳态，以防止饮食诱导的动脉粥样硬化

发表期刊： *Immunity* | 影响因子： 31.745 | 发表时间： 2018

### 研究背景：

动脉粥样硬化是一种慢性的低水平炎症过程，伴随着动脉血管内壁上的斑块沉积，细胞坏死和周围组织的纤维化，其发病范围广布全球，威胁着全人类的健康。引起动脉粥样硬化的原因有许多，糖尿病患者、老年人、肥胖者以及饮食或生活方式不健康者都是该疾病的易感人群；高血压，维他命 B6 缺乏和更年期雌性激素的减少等，也是诱发动脉粥样硬化的重要因素。动脉粥样硬化常常伴随多种并发症，例如中风，心脏病和坏疽，严重影响患者的生活质量。

过去研究表明，肠道中共生菌群参与调控免疫反应，它们的代谢产物可引发炎症反应，加重动脉粥样硬化斑块产生，而细胞因子，如白介素 17（IL-17）与动脉粥样硬化的发生有着密切的关系。但是，细胞因子和肠道菌群在动脉粥样硬化中的相互作用仍未被发现。

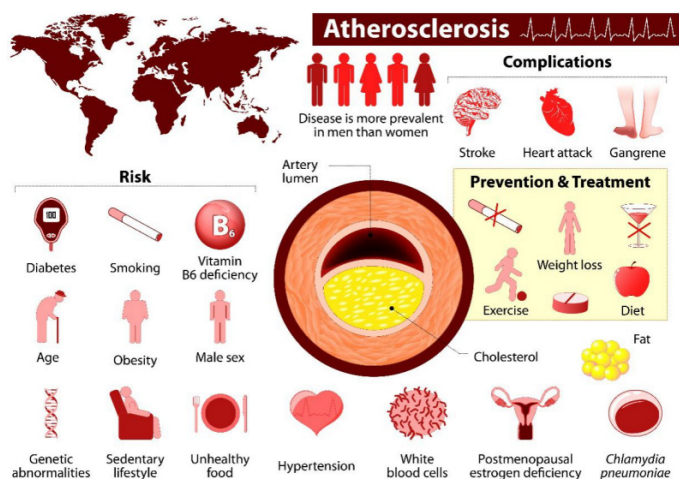
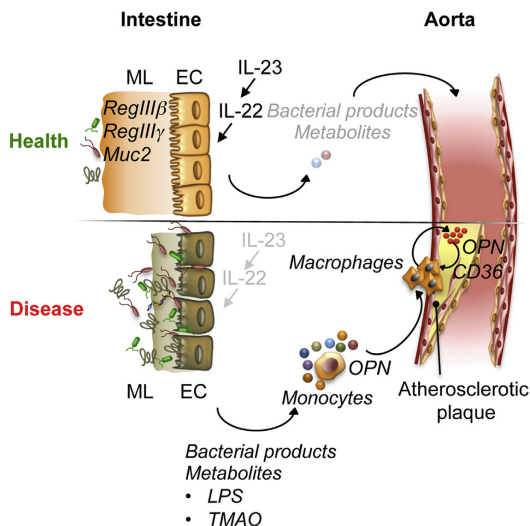


图 1 动脉粥样硬化的易感人群、发病原因、预防和治疗

### 研究路线：

通过骨髓移植构建了 WT → Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠和 IL23<sup>-/-</sup> → Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠，并对他们进行了 16 周的 western diet (WD, 高脂肪、高胆固醇饲料) 饲养，诱导动脉粥样硬化。为了探究 IL-23-IL-22 通路具体如何影响动脉粥样硬化，作者采用全基因组鸟枪测序，16S RNA 测序和代谢组学分析了 WT → Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠。



### 研究结果：

该研究发现，IL-23 和其下游靶向因子 IL-22 可以抑制促动脉粥样硬化微生物的产生，限制动脉粥样硬化的发展；全基因组鸟枪测序和代谢组学分析结果显示，IL23/IL-22 缺乏的小鼠中，骨桥蛋白 (OPN) 的表达与代谢产物脂多糖 (LPS) 和三甲胺氧化物 (TMAO) 的产生均显著上调，加剧动脉粥样硬化斑块的沉积。

由于 IL-23 可直接调控促动脉粥样硬化因子 IL-17A，因此作者推测 IL-23 可能与动脉粥样硬化的发病机理相关。为了验证这个假设，研究人员通过骨髓移植构建了 WT  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠和 Il23<sup>-/-</sup>  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠，并对他们进行了 16 周的 western diet (WD，高脂肪、高胆固醇饲料) 饲养，诱导动脉粥样硬化。免疫染色等实验对比分析表明，移植了 Il23<sup>-/-</sup> 小鼠骨髓的 Ldlr<sup>-/-</sup> 小鼠 (Il23<sup>-/-</sup>  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup>) 的主动脉弓中斑块沉积明显多于移植了 WT 小鼠骨髓的 Ldlr<sup>-/-</sup> 小鼠 (WT  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup>)，造血细胞和骨髓细胞的聚集及炎症相关因子的基因表达均显著上调，表明 IL-23 缺乏会导致动脉粥样硬化的病程恶化。

但是令作者意外的是，在 Il23<sup>-/-</sup>  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠中并没有检测到 IL-17A 的异常表达，但 IL-22 的基因表达呈显著下降趋势，说明 IL-23 并非通过 IL-17A，而可能是通过它的另一个下游因子 IL-22 影响动脉粥样硬化的产生。对比 Il22<sup>-/-</sup>  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠和 WT  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠经过 16 周的 WD 饲养后血管中的相关指标，发现其表型与 Il23<sup>-/-</sup>  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠一致，主动脉弓中出现了严重的斑块沉积。进一步的研究表明，腹腔注射外源性的 IL-22 可以挽救 Il23<sup>-/-</sup>  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠中的异常，说明 IL-23 确实通过 IL-22 调控动脉粥样硬化的进程。

为了探究 IL-23-IL-22 通路具体如何影响动脉粥样硬化，作者采用全基因组鸟枪测序，16S RNA 测序和代谢组学分析了 WT  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠，Il23<sup>-/-</sup>  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠和 Il22<sup>-/-</sup>  $\rightarrow$  Ldlr<sup>-/-</sup> 骨髓嵌合体小鼠经过 16 周的 WD 饲养后，肠道菌群的组成，主动脉中的基因表达以及血清中代谢产物的变化，发现 IL-23 和 IL-22 的缺失引起致炎 / 促动脉粥样硬化微生物种群的数量增加，主动脉中骨桥蛋白基因表达水平高度上调，代谢产物 LPS (脂多糖) 和 TMAO (三甲胺氧化物) 的产生显著增多，肠道屏障遭到破坏，代谢产物进入血液循环系统，最终导致动脉粥样硬化。后续的验证试验表明，小鼠口服广谱抗生素可以减轻 IL-23 和 IL-22 的缺失引起动脉粥样硬化表型；而腹腔注射外源 LPS，TMAO 则会导致 WD 饲养的正常表达 IL-23-IL-22 的 Ldlr<sup>-/-</sup> 小鼠快速表现出动脉粥样硬化的病症。

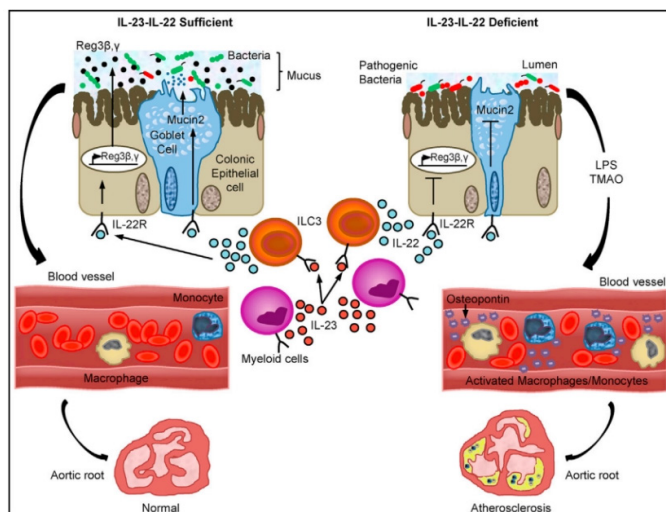


图 2 IL-23-IL-22 通路影响动脉粥样硬化

研究结论：

综上所述，IL-23-IL-22 通路可调控肠道粘膜屏障和致动脉粥样硬化细菌的扩张，抑制动脉粥样硬化的发展。Carreras A. 和 Bäckhed F. 在该杂志同期发表了评论文章，认为该研究不仅揭示了 IL-23-IL-22 通过维持肠道菌群稳态平衡，避免不健康饮食可能导致的动脉粥样硬化，还发现了 OPN, LPS, TMAO 在动脉粥样硬化中的致病作用，为不健康饮食导致的心血管疾病治疗策略的研发提供了新的潜在方向。

参考文献：

Fatkhuillina, A. R. , Peshkova, I. O. , Dzutsev, A. , Aghayev, T. , & Koltsova, E. K. . (2018). An interleukin-23-interleukin-22 axis regulates intestinal microbial homeostasis to protect from diet-induced atherosclerosis. *Immunity*, 49(5).

2.7 儿童肠道微生物来源的细胞外囊泡进入骨盆保存骨量和强度

Extracellular Vesicles from Child Gut Microbiota Enter into Bone to Preserve Bone Mass and Strength

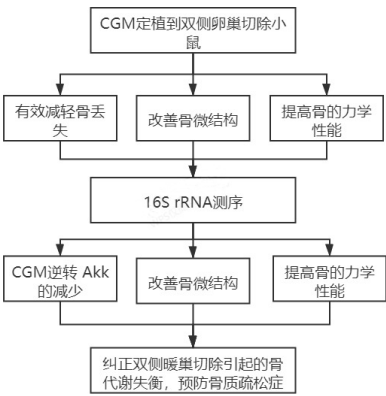
儿童肠道微生物来源的细胞外囊泡进入骨盆保存骨量和强度

发表期刊: *Advanced Science* | 影响因子: 16.806 | 发表时间: 2021

研究背景：

骨质疏松症是老年人，尤其是绝经后妇女的常见骨病。改善骨骼健康和预防骨质疏松还需要更理想的干预措施。肠道微生物群 (Gut microbiota, GM) 是居住在宿主胃肠道内的微生物群落 (细菌、真菌、病毒等)。宿主肠道为转基因提供了生长环境，而转基因分子如某些肠道细菌通过调节肠道发育、营养消化、免疫状态和大脑功能等多种生理过程参与维持宿主稳态最近的研究也将转基因与骨骼健康联系起来。近年来，肠道微生物群 (GM) 已被证明是骨稳态的调节因子，GM 调节骨量的机制仍在研究中。

技术路线：



## 研究结果：

## 1. 在双侧卵巢切除小鼠中，定植 CGM 可以防止骨丢失并改变骨代谢

研究者构建了 C57BL/6 绝经后骨质疏松动物模型，然后采集 3 名儿童和 3 名老人的肠道菌群分别进行均匀混合后定植，研究其对骨代谢的影响。与没有进行双侧卵巢切除手术的 Sham (sham-operated) 组小鼠相比，双侧卵巢切除的 OVX 组小鼠骨量减少，骨微结构受损，骨密度明显降低，骨小梁数量 (Tb. N)、骨小梁厚度 (Tb. Th)、皮质骨面积分数 (Ct. Ar/Tt. Ar)、皮质骨厚度 (Ct. Th)、皮质骨面积 (Ct. Ar)，明显下降，骨小梁分离度 (Tb. Sp) 明显增加。而经过口服 CGM，参数显示骨量或骨微结构明显逆转 (图 1A-G)。为了排除个体差异，研究者还将每一种 CGM 和 EGM 对骨骼的影响分开研究，发现 CGM 能独立抑制 OVX 小鼠骨量的丢失，能引起骨保护作用 (图 1C-E)。

这些结果显示，CGM 可以抑制 OVX 小鼠的骨丢失，促进骨生长，维持骨强度，且随着供体老化而丧失抗骨质疏松作用。

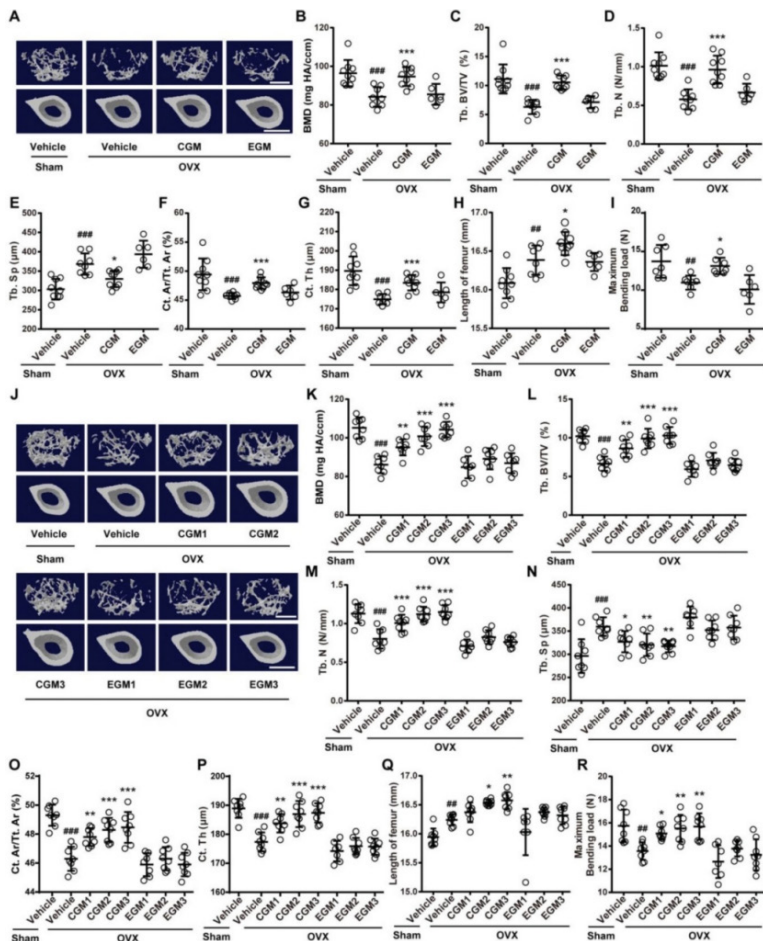


图 1 在 OVX 小鼠中，CGM 增加骨量、骨长度和骨强度



研究者还测试了不同来源的 CGM 和 EGM 对 OVX 小鼠成骨和破骨的影响。发现定植肠道菌群的小鼠能促进骨细胞增殖。其中 CGM 定植小鼠进一步增加成骨细胞的数量 (图 2A-B)，同时还提高成骨分化 (图 2D)。CGM 定植小鼠，血清中骨吸收标记物提高，能恢复 OVX 小鼠新骨形成和矿化的损害，而 EGM 定植小鼠没有观察到此类现象。

总结 CGM 定植对骨质疏松小鼠的定植通过促进成骨细胞骨形成和抑制破骨细胞骨吸收而逆转骨代谢不平衡，最终提高骨质疏松小鼠的骨量和强度。

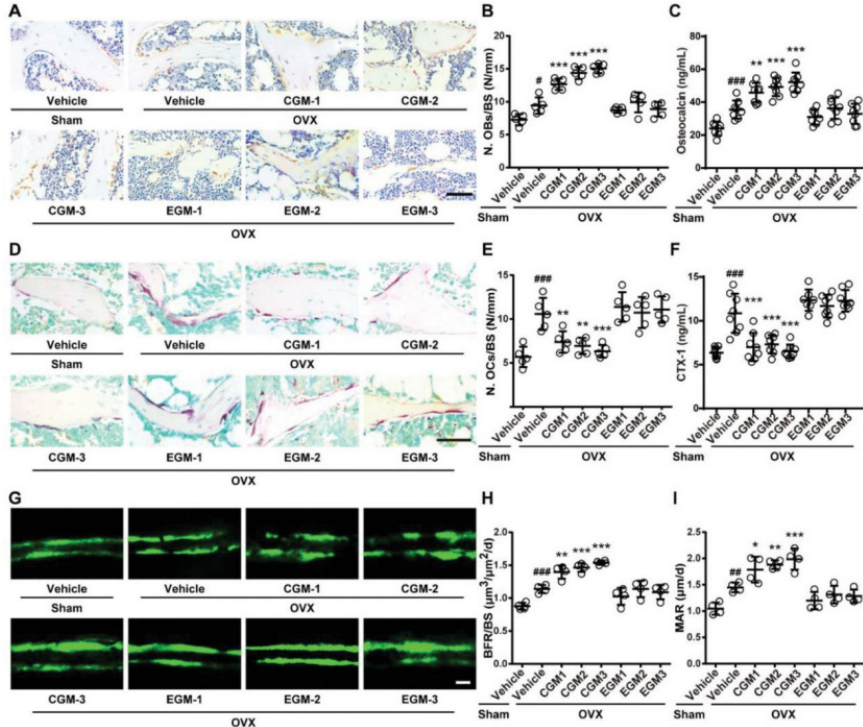


图 2 CGM 逆转了 OVX 小鼠不平衡的骨代谢

## 2. CGM 挽救骨质疏松期间肠道 *A. muciniphila* (Akk) 的减少

研究者收集 Sham+ Vehicle, OVX+ Vehicle, OVX+ pooled CGM, 和 OVX+ pooled EGM 小鼠粪便，除了由于粪便来源为人而引起小鼠肠道粪便中 *Actinobacteria* 和 *Firmicutes* 的差异外，*Akkermansia* 在 OVX 处理后大幅减少，在定植 CGM 后，OVX 小鼠明显恢复 (图 3B)。

这表明 *Akkermansia* 可能与 OVX 引起的骨质疏松有关，这种微生物的定植可能是预防骨质疏松的重要机制。



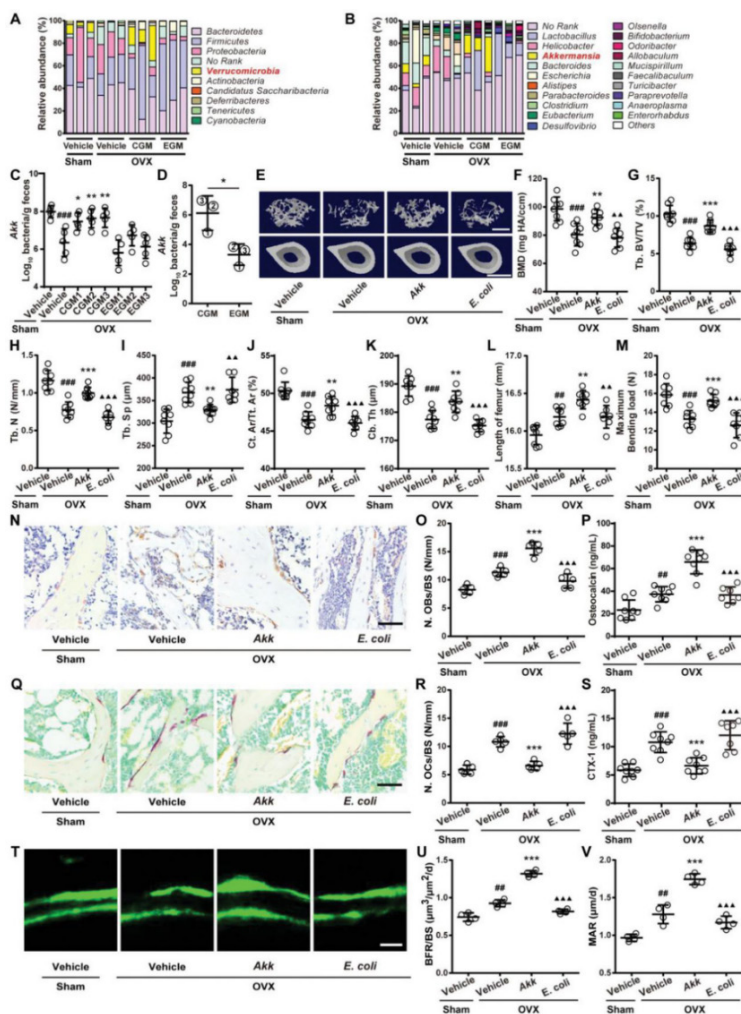


图3 CGM可以挽救骨质疏松症期间肠道 Akk 的损失，补充 Akk 可以减少 OVX 小鼠的骨质疏松表型

### 3. 补充 Akk 可以减少 OVX 小鼠的骨质疏松表型

研究者直接定植 Akk 来观察小鼠表型，发现其能增加 OVX 小鼠的骨长度，恢复骨强度（图 3L-M），同时还能像定植 CGM 一样，促进成骨，减少破骨（图 3N-P-T-V）。

### 4. EVs 的分泌是 CGM 和 Akk 抗骨质疏松活性所必需的

研究者为了探究 EVs 在 CGM 定植后的抗骨质疏松作用中的作用，通过与中性鞘磷脂抑制剂 GW 4869 共同作用，GW 4869 能抑制 EVs 的释放，干扰 CGM 分泌 EVs。发现 EVs 是 CGM 发挥骨保护作用所必需的（图 4）。

然后研究者将 Akk 与 GW 4869 共同作用，发现 GW 4869 影响了 Akk 的骨生长促进作用。

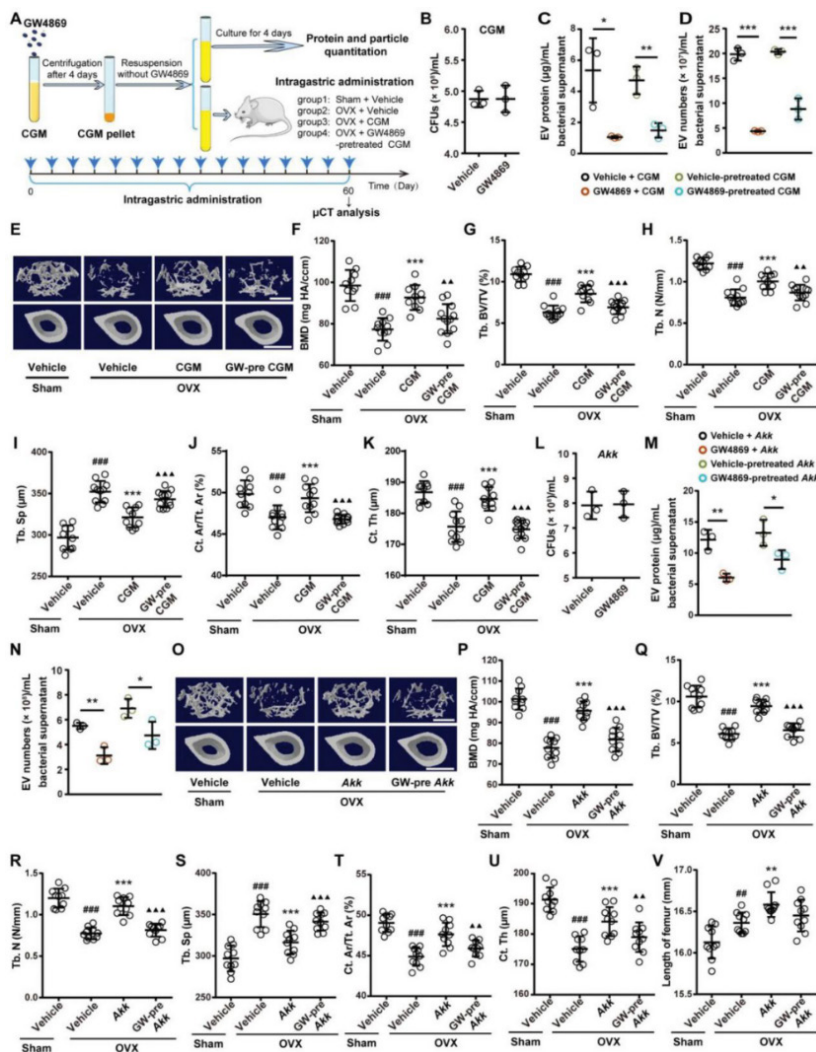


图4 EVs的分泌是CGM和Akk抗骨质疏松活性所必需的

## 5. 来自CGM、EGM或Akk的EVs被转运到骨组织

研究者从CGM、EGM培养基中分离得到EVs，对其进行表征（图5A-B），然后检查发现这些细菌EVs被运送到宿主组织，高荧光信号检测发现集中在小鼠的胫骨和股骨（图5C-D），同时还在肝、肾、脑、肌肉和胃肠中也检测到，其中肝脏、肌肉和胃肠的荧光强度最高。同时发现细菌EVs可以在生理条件下，或外源性注射下运输到宿主组织。

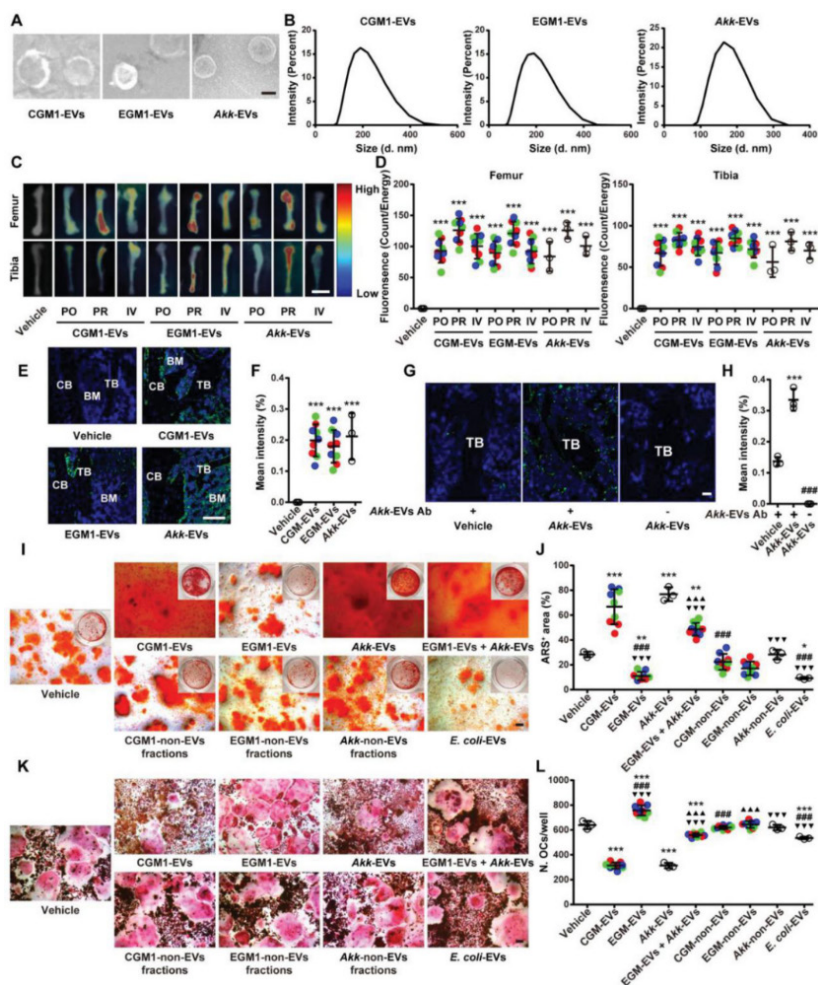


图5 CGM - ev 和 Akk - ev 可在体外转运至小鼠骨组织，直接促进成骨和抑制破骨细胞的形成

## 6. CGM - EVs 和 Akk - EVs 在体外促进骨形成和抑制破骨细胞形成

研究者还研究了三种不同来源的 CGM-EVs 与 EGM-EVs 和 Akk-EVs，发现其能在培养 3h 后进入小鼠原代骨髓间质干细胞和破骨祖细胞细胞核周围，但 EGM-EVs 组产生矿化结节较少（图 5.I J）。通过对三种 CGM-EVs 和 Akk - EVs 进行实时荧光定量分析，进一步证实了成骨相关基因的表达。

结果表明，细菌 EVs 对成骨和破骨得调节性表明，它们具有直接调节骨稳态的潜力。

## 7. CGM - EVs 和 Akk - EVs 可预防 OVX - 诱导的骨质疏松症

最后研究者还检查是否可以使用不同供者的 CGM-EVs 进行治疗。发现 1.21010 Akk - EVs 剂量每周两次，持续 2 个月可以保护 OVX 小鼠免于骨质疏松。同时 CGM - EVs 治疗后，还能增加小鼠成骨细胞数量和成骨活性。

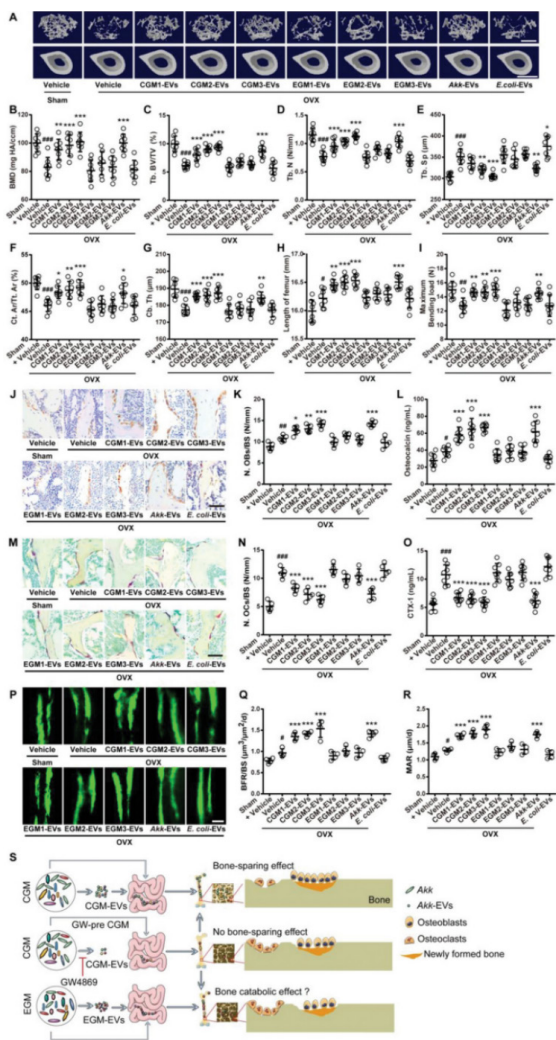


图 6 口服 CGM - EVs 和 Akk - EVs 对 OVX - 诱导的骨质疏松症有保护作用

## 研究结论：

作者的研究主要有三个发现，丰富了 GM- 骨轴调节机制，首先证实了来自儿童的肠道菌群在预防 OVX 所致骨质疏松方面的有益作用。其次，发现有益菌 *Akkermansia* 有利于维持骨量和强度，可能是 CGM 诱导的抗骨质疏松作用的重要介质。第三，提出了一种新的细菌与骨之间的通讯模式，它是通过细菌与骨细胞之间的长距离传递功能的 EVs 来实现。研究表明 *Akkermansia*、CGM 能恢复 OVX 引起的骨损失，产生有益骨的 EVs，最终增强 OVX 小鼠的骨量和强度。

## 参考文献：

Liu J, Chen C, Liu Z, et al. Extracellular Vesicles from Child Gut Microbiota Enter into Bone to Preserve Bone Mass and Strength[J]. Advanced Science, 2021.



## 2.8 褪黑素通过激活丁酸 / GPR109A 信号通路缓解钛纳米颗粒诱导的骨溶解

### Melatonin Alleviates Titanium Nanoparticles Induced Osteolysis Via Activation of Butyrate/GPR109A Signaling Pathway

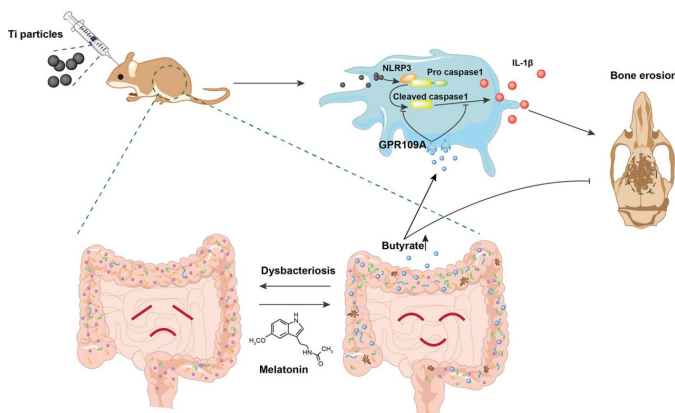
褪黑素通过激活丁酸 / GPR109A 信号通路缓解钛纳米颗粒诱导的骨溶解

发表期刊: *Nanobiotechnology* | 影响因子: 10.435 | 发表时间: 2021

#### 研究背景:

人工关节置换术 (Total joint replacement) 作为各种终末期关节疾病的主要治疗手段, 可以有效的减轻关节疼痛, 改善功能, 显著提高患者生活质量。但关节置换术后由于磨损颗粒导致骨溶解引起的无菌性假体松动是一个难以克服的临床问题。针对此难题, 目前临床上唯一确切的治疗方案是进行关节翻修术, 这不但增加手术难度, 而且给患者带来巨大的经济及心理负担。近期的研究表明, 肠道菌群在骨代谢及炎症调控方面有巨大潜力。其中, 丁酸作为重要肠道菌群代谢产物, 在骨代谢和炎症调控方面具有明显的调控作用。同时, 有研究表明, 外源性补充褪黑素可调节肠道菌群以及改变肠道菌群代谢产物短链脂肪酸的功能。本课题组既往的研究表明褪黑素可缓解钛颗粒引起的炎症性骨溶解, 本研究遂探索了褪黑素是否可通过调节肠道菌群发挥治疗炎症性骨溶解的功效。

#### 技术路线:



#### 研究结果:

褪黑素, 一种天然的内分泌激素, 已被多篇文献报道可作为治疗炎症性骨溶解。伴随近期对褪黑素重塑肠道菌群发挥调节脂代谢等作用的研究, 本课题组探索了其是否通过肠道菌群缓解炎症性骨溶解。通过抗生素鸡尾酒疗法, 我们发现褪黑素抑制炎症性骨溶解的治疗效果被大幅削弱。同时, 通过将褪黑素治疗后小鼠的粪便移植给抗生素消除菌群后的小鼠亦能发挥缓解炎症性骨溶解的益处。由此推断, 褪黑素的保护作用可能主要通过肠道菌群介导。通过

对小鼠粪便 16S rRNA 测序结果的分析，我们发现褪黑素可提升产短链脂肪酸菌群的相对分度，随后的短链脂肪酸的靶向代谢组学也验证了这一结果。有趣的是，升高的短链脂肪酸只限于丁酸，另两种主要的短链脂肪酸（乙酸、丙酸）并未见明显的趋势。这一有趣的相似结果也被其它研究所报道，即不同疾病模型下，褪黑素补充后提升的短链脂肪酸并不相同。有研究表明，高脂饮食的小鼠补充褪黑素后会增加乙酸的含量，而不是丙酸或丁酸。针对这一有趣的现象，我们通过 PICRUSt 2 技术分析测序结果中功能基因的表达发现，褪黑素显著增加了丁酸合成酶的表达，而乙酸与丙酸合成酶的表达并未见明显趋势。这也首次解释了褪黑素如何提升特定的短链脂肪酸。

作为肠道菌群的重要代谢，丁酸在骨代谢调节中扮演重要角色。同时，其在炎症免疫调控中亦展现出强大的功效。先前的研究表明，丁酸可缓解急性胰腺炎、抑制 NLRP3 炎症小体的激活发挥抗动脉粥样硬化等作用。然而丁酸在钛颗粒引起的炎症性骨溶解中的作用仍不得而知。

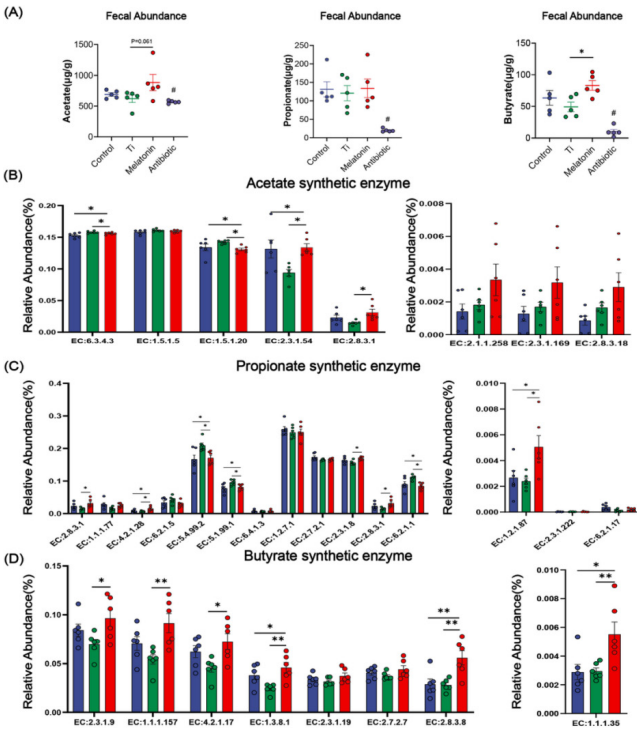


图 1 褪黑素促进丁酸合成酶的表达并提升丁酸的含量

随后，通过丁酸干预骨溶解模型小鼠发现相似的治疗效果。结合之前炎症性骨溶解发病机制的研究发现，丁酸缓解炎症性骨溶解的治疗效果是通过抑制磨损颗粒引起的炎症小体激活达到的。更重要的是，通过 GPR109A<sup>-/-</sup> 小鼠的使用发现，丁酸缓解验证性骨溶解的作用主要由 GPR109A 受体介导。



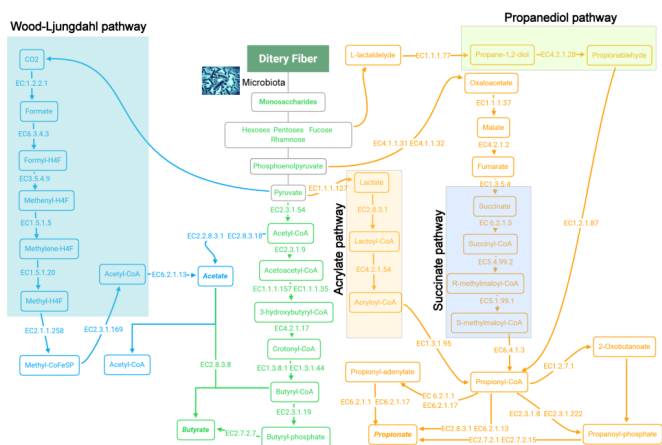


图 2 肠道微生物通过膳食纤维发酵合成乙酸、丙酸、丁酸

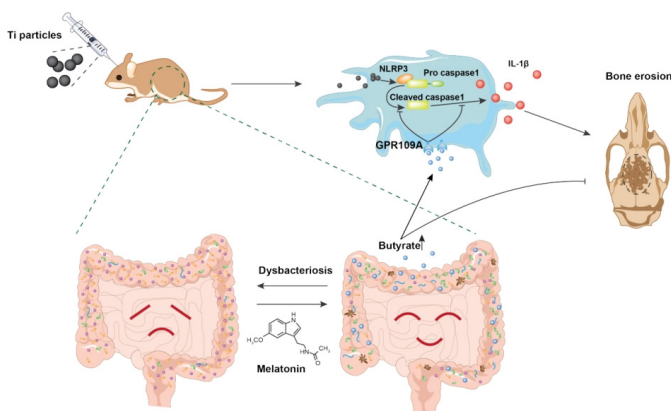


图 3 褪黑激素通过富集产短链脂肪酸菌群并提升代谢物丁酸盐激活 GPR109A 受体减轻钛颗粒诱导的炎症性骨溶解

### 研究结论：

本研究发现褪黑素可通过肠道菌群调控肠道菌群代谢产物来发挥抗炎作用。同时，肠道菌群代谢产物丁酸亦可作为治疗炎症性骨溶解的有效手段。

本研究短链脂肪酸检测 and 数据分析工作由诺米代谢协助完成

### 参考文献：

Wu Y, He F, Zhang C, et al. Melatonin alleviates titanium nanoparticles induced osteolysis via activation of butyrate/GPR109A signaling pathway[J]. J Nanobiotechnology. 2021;19(1):170.

## 2.9 灵芝孢子多糖通过肠道菌群调节抑制肥胖和炎症

### Suppression of Obesity and Inflammation by Polysaccharide from Sporoderm-Broken Spore of *Ganoderma Lucidum* Via Gut Microbiota Regulation

#### 灵芝孢子多糖通过肠道菌群调节抑制肥胖和炎症

发表期刊: *Carbohydrate Polymers* | 影响因子: 9.381 | 发表时间: 2021

#### 研究背景:

灵芝已被证明具有抗肥胖作用。但是,灵芝的孢子破壁孢子(BSGLP)对肥胖及其作用的潜在机制有从未被报道过。该研究表明BSGLP可以有效抑制高脂饮食(HFD)引起的肥胖,高脂血症,以及其并发炎症。BSGLP也可以改善了HFD诱导的肠道微生物群失调,维持肠屏障功能,增加短链脂肪酸的产生和GPR43的表达,从而减轻了内毒素血症,BSGLP作用的具体表现为血清中脂多糖水平的降低,以及回肠紧密连接蛋白和抗菌肽的表达增加。肠道菌群研究进一步证实,BSGLP诱导的肠道菌群的变化在一定程度上可以一直肥胖。此外,BSGLP明显减轻了高脂饮食诱导的脂肪组织中的通路TLR4/Myd88/NF- $\kappa$ B信号转导上调。该研究首次表明了BSGLP作为益生元可以通过调节机体炎症反应,肠道菌群和肠道代谢来抑制生物体肥胖的发生同时缓解高脂血症屏障功能障碍。

饮食引起的脂肪堆积,脂肪肝变性,体重增加,高脂血症和炎症,与其相关对HFD引起的微生物菌群失调,肠道屏障的改善损害和SCFA增加。作者的研究表明BSGLP可以有效降低LPS水平,同时抑制脂肪组织中TLR4/NF- $\kappa$ B的关键信号通路。因此,BSGLP可以有效预防肥胖及肥胖相关的疾病。该研究也为未来药理研究提供了中药的理论基础。

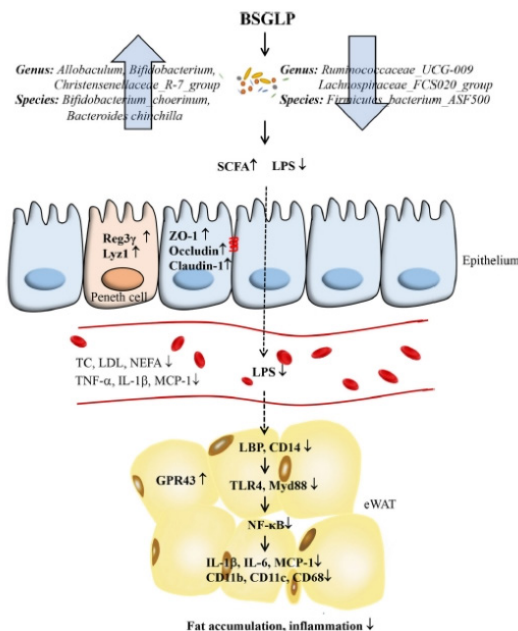
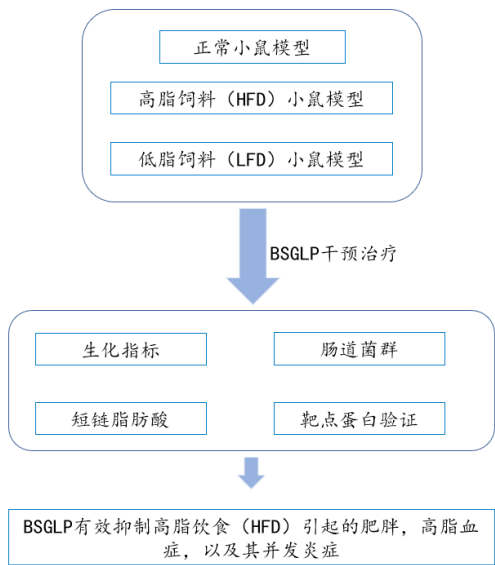


图1 BSGLP对肠道微生物和肠道屏障功能的影响

技术路线：



研究结果：

1.BSGLP 可以抑制高脂饮食引起的体重增加，脂肪堆积和高脂血症

两种剂量的 BSGLP 均能显著降低降低高脂模型组小鼠附睾白色脂肪组织（eWAT）中过多的脂肪积累，BSGLP 的干预治疗同时可以显著降低两种脂肪中脂肪细胞的细胞直径组织。此外，高脂饮食大大增加了肝组织的重量同时还会引发诱导性肝脂肪变性，而 BSGLP 治疗有效抑制了高脂饮食（HFD）诱导的肝脏脂肪堆积和脂肪变性。

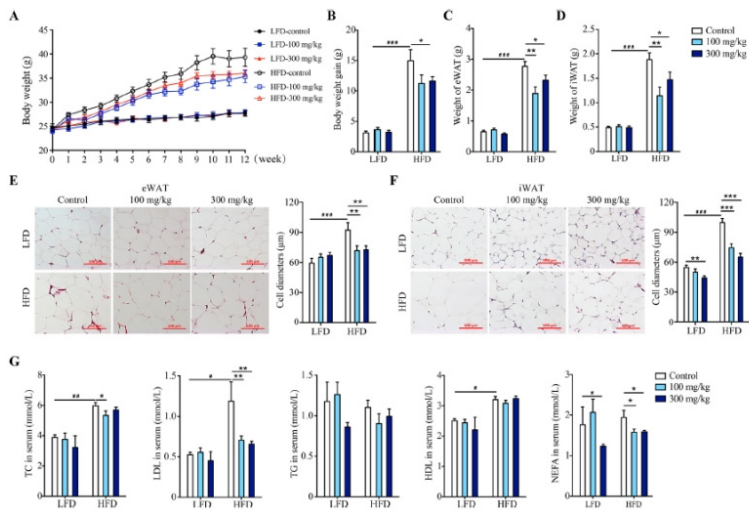


图 2 BSGLP 缓解了高脂模型小鼠的脂肪积累和高脂血症

## 2.BSGLP 可以抑制高脂饮食诱导的炎症反应

慢性低度炎症是肥胖症最重要的特征之一。因此，作者通过血清中促炎细胞因子的水平（包括 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 MCP-1）评估了 BSGLP 的抗炎作用。高脂模型组小鼠血清中的 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  明显增加，但不改变 IL-6 和 MCP-1 水平。而两种不同浓度的 BSGLP 干预对于高脂模型组小鼠均降低了血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 MCP-1 的水平。此外，高脂模型组小鼠的附睾白色脂肪组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 MCP-1 的表达也随之显著增加了，相反的，通过 300mg/kg BSGLP 的孢子干预，这些促炎细胞因子（IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 MCP-1）的含量显著的降低。

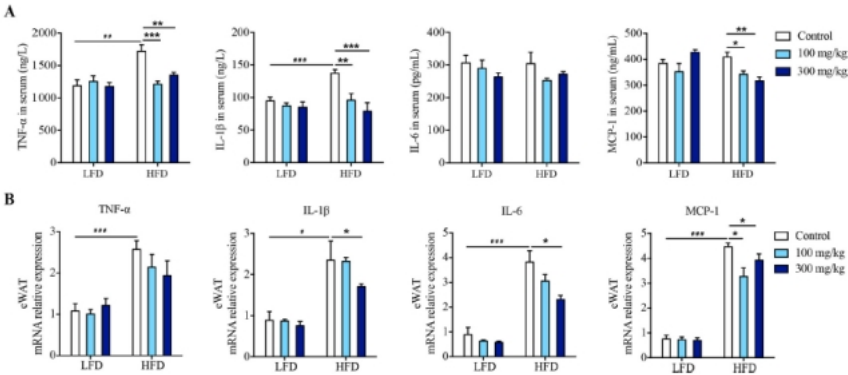


图 3 BSGLP 抑制了高脂模型组中小鼠促炎细胞因子的表达

## 3.BSGLP 减轻了高脂模型组小鼠的脂肪堆积和高脂血症。

细胞炎症因子与巨噬细胞相关，通过文献调研，目前巨噬细胞关键标志物有 CD11b，CD11c 和 CD68，于是研究者检查相关指标的 mRNA 表达浸润。结果显示，高脂模型组小鼠附睾白色脂肪组织中的这些因子显著升高，而两种不同剂量的 BSGLP 干预均能够使这些巨噬细胞浸润标志物的表达显著降低。免疫组化实验也进一步证实了该结果。

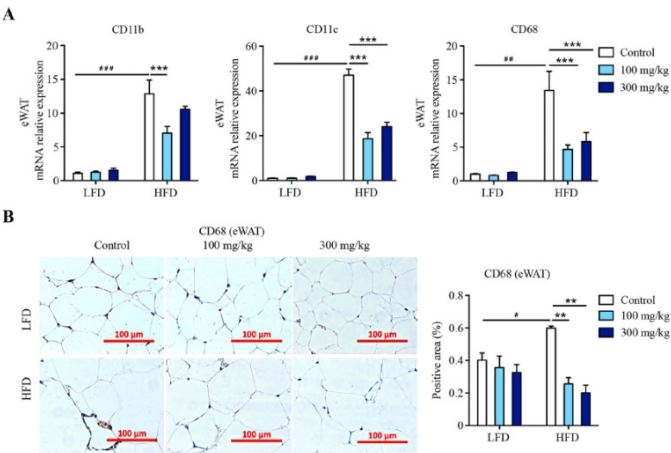


图 4 BSGLP 可有效抑制高脂模型组小鼠中附睾白色脂肪组织（eWAT）中的巨噬细胞浸润

#### 4. BSGLP 干预改变肠道菌群的组成并改善高脂饮食引起的肠道菌群失调

基于测序的细菌 16 s rRNA (V3-V4 区域) 分析进行小鼠粪便。包括 BSGLP 治疗后高脂模型组小鼠的体重变化及治疗对肠道菌群组成的影响。结果可以看到, BSGLP 治疗组与对照组的肠道菌群组成明显不同。除了影响高脂饮食外, BSGLP 还扮演着调节肠道菌群组成的重要作用。300 mg/kg 的 BSGLP 治疗后的高脂模型组中肠道菌群的硬脂菌 / 拟杆菌比率显著降低。在物种水平上, 作者发现高脂模型组和 BSGLP 治疗组的小鼠肠道菌群数量均发生了显著变化, 例如在高脂模型组相较于正常组小鼠, 肠道中的益生菌 *Bifidobacterium\_choerinum* 显著降低, 而 *Bacteroides\_chinchillae* 则略有下降等, 但是在通过不同水平的 BSGLP 诱导治疗后, 这些益生菌的细菌丰度都有一定程度的恢复。此外, 高脂模型组小鼠的肠道菌群中, *Firmicutes\_bacterium\_ASF500*, *Alistipes\_sp.\_627* 和梭状芽胞杆菌 (*Clostridium\_leptum*) 的菌群丰度水平显著增加, 在 BSGLP 干预治疗后这些菌群丰度水平也相应减少了。这些结果也进一步表明 BSGLP 具有干预高脂模型组小鼠肠道菌群组成及其丰度的作用。

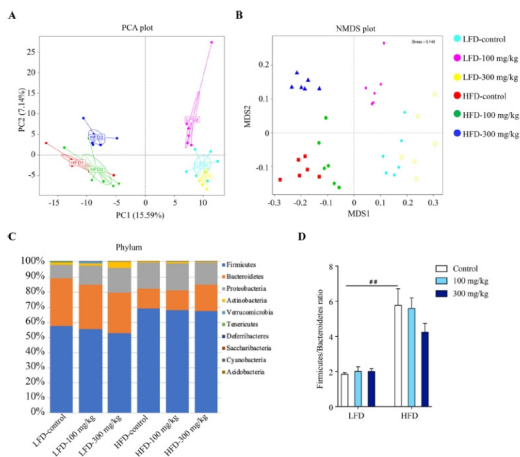


图 5 BSGLP 调控肠道菌群的组成

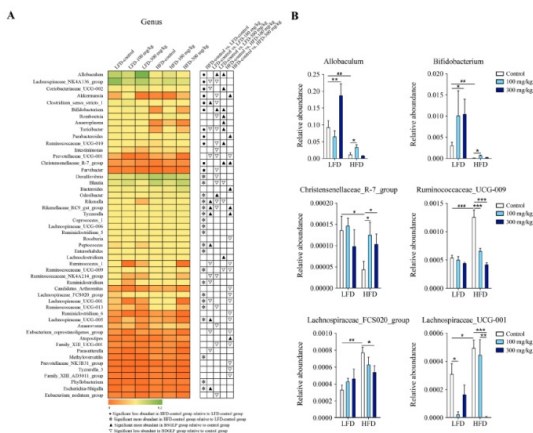


图 6 小鼠肠道菌群属水平的深入分析

### 5.BSGLP 干预影响短链脂肪酸（SCFA）的水平

众所周知，SCFA 是从肠道菌群的膳食纤维和难以消化的多糖中发酵得到的最终产物。例如，丁酸被认为是重要的结肠上皮细胞能量来源，而乙酸盐和丙酸盐可以作为底物影响器官的生物学功能。短链脂肪酸与肠道菌群息息相关。因此，作者检查了粪便中 SCFA 的浓度。高脂模型组的肥胖小鼠与正常组比较，丁酸水平显著降低，并且在两种不同剂量的 BSGLP 干预治疗后，丁酸水平均可逆转。同时，作者还发现 300 mg / kg 的 BSGLP 干预治疗使高脂模型组肥胖小鼠体内的乙酸盐水平明显升高。但是，在所有比较组中丙酸和戊酸水平无明显变化。综合来讲，BSGLP 干预治疗可以增加高脂模型组小鼠肠道短链脂肪酸，尤其是乙酸盐和丁酸盐的产量。有其他研究报道 SCFA 通过影响 G 蛋白偶联受体 41（GPR41）或 GPR43 来调节免疫肠上皮细胞或中性粒细胞的生物学进程。回肠外的 SCFAs-GPR41 / 43 相互作用在脂肪组织中也起着重要作用。因此，研究者试图通过检测在回肠和附睾白色脂肪组织中的 G 蛋白偶联受体 GPR41 和 GPR43 的水平，进一步探究其机制机理。在 mRNA 和蛋白质水平上 GPR41 和 GPR43 在回肠中均无明显的变化；但是，作者发现，在高脂模型组小鼠的睾丸白色脂肪组织中，GPR43 的 mRNA 和蛋白的表达均显著降低，而在 BSGLP 干预治疗后也均可逆转。而低脂模型组中，低剂量的 BSGLP 能够显著增加 GPR43 表达。结果表明 BSGLP 可能是通过调节新陈代谢并抑制激活脂肪组织中的 GPR43 来实现调控肠道菌群组成的变化和 SCFAs 代谢产物产量的增加。

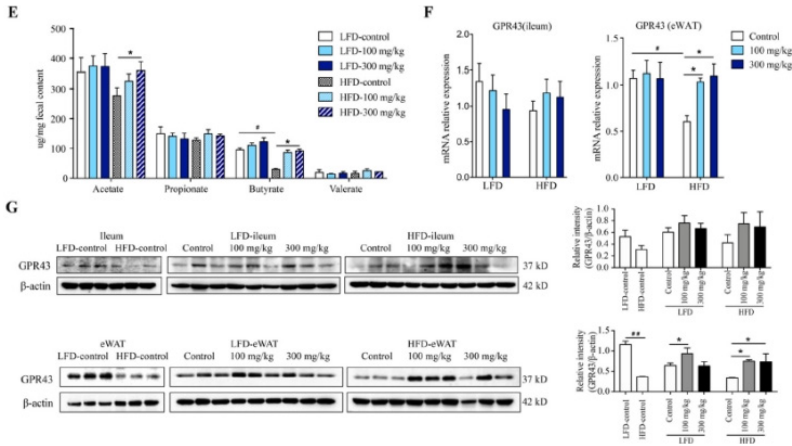


图 7 BSGLP 干预影响短链脂肪酸（SCFA）的水平

### 6.BSGLP 可以改善内毒素血症和肠屏障功能

肠上皮细胞连接完整性的破坏会导致 LPS 流入血液并引起全身性炎症。因此作者发现血清中 LPS 的含量在高脂模型组显著升高，同时不同浓度的 BSGLP 干预治疗均可以相应的缓解血清中的 LPS 水平。而后测定了回肠中上皮细胞连接的生物标志物 Occludin, Claudin-1 和 ZO-1 的蛋白含量，发现高脂模型组中蛋白含量降低且 BSGLP 治疗后可逆转。此外，研究者检查了肠道系统中先天免疫的主要成分抗菌肽的表达（Lyz1 和 Reg3γ），结果表明 Lyz1 和 Reg3γ 的表达显著降低了，同样的 BSGLP 治疗也可以缓解该状况，这些结果均表明 BSGLP 可以通过调控上皮细胞连接关键蛋白和抗菌肽的表达来改善肠道屏障功能。



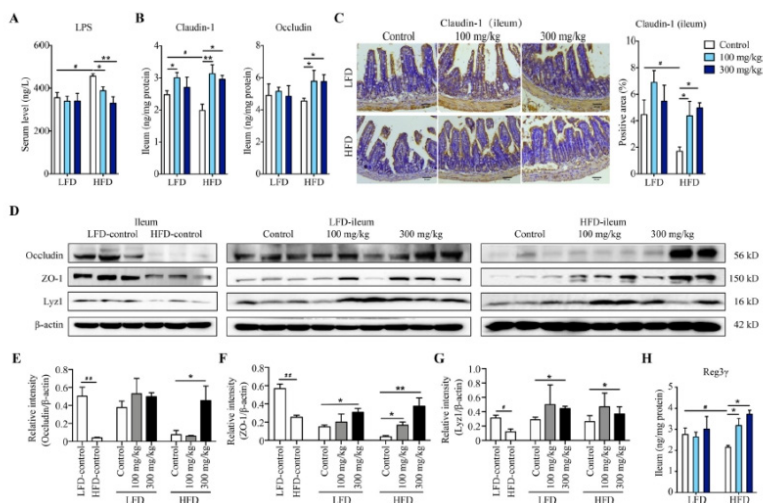


图8 BSGLP改善了HFD喂养小鼠的内毒素血症并增强了肠屏障功能

## 7.BSGLP可以有效抑制LPS/TLR4/NF-κB信号通路

现有研究结果显示,TLR4可以识别LPS并激活NF-κB调节促炎细胞因子的产生。因此,作者进一步检查了附睾白色脂肪组织中该途径相关基因的变化。高脂模型组中,LBP、CD14,TLR4和Myd88的mRNA表达均有显著增高,有趣的是,BSGLP大大减少了高脂饮食诱导的LBP,CD14和Myd88表达量的升高。此外,Western blotting显示TLR4和Myd88蛋白质表达在高脂模型组小鼠中显著增加,而300 mg/kg BSGLP的治疗后该指标也相应的显著降低。因此,研究者推测BSGLP可能是通过调控抑制TLR4/NF-κB信号通路缓解肥胖引起的炎症反应。

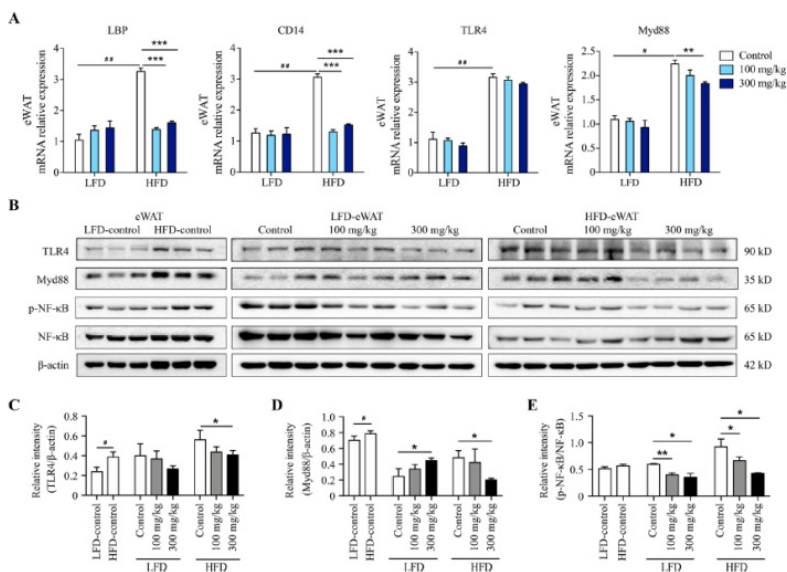


图9 BSGLP干预可以调控高脂模型小鼠附睾白色脂肪组织中的TLR4/NF-κB通路

## 8.BSGLP 通过肠道菌群介导对肥胖的有益作用

为了进一步验证 BSGLP 是否抗肥胖和消炎的效果取决于微生物群，研究者用抗生素来去除肠道菌群以模拟无菌受体小鼠的肠道环境。移植有微生物的微生物菌群后，对该小鼠进行高脂模型建立，而后进行 BSGLP 干预治疗。结果，接种了微生物菌群治疗组小鼠相较于高脂模型组小鼠的体重更低，睾丸白色脂肪组织（eWAT）重量也更低，但肝脏重量不受影响。此外，模拟无菌小鼠实验中的高脂模型组治疗后的血清中的 LPS 和 TNF- $\alpha$  的水平也相应降低。因此，BSGLP 可以一定程度的通过介导肠道菌群来实现治疗后的体重降低和炎症调节。

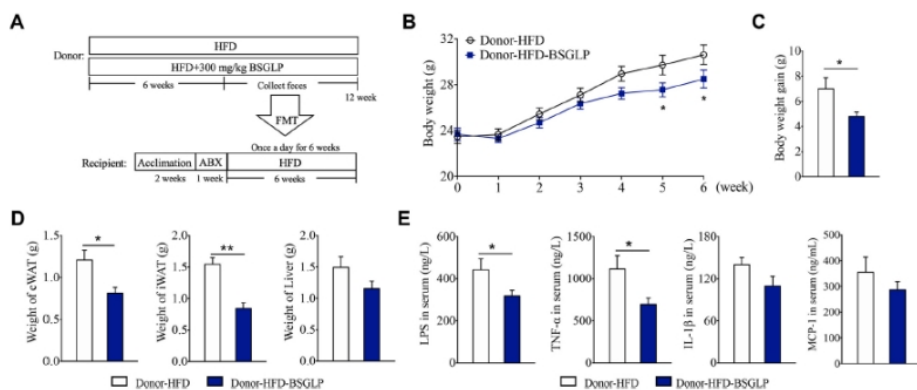


图 10 BSGLP 可以减轻高脂饮食小鼠的肥胖和炎症

### 研究结论：

BSGLP 的有益效果与其对肠道菌群的调节有关；同时 BSGLP 通过调控肠屏障中 SCFA 的产生、GPR43 激活和抑制以及对 TLR4 / Myd88 / NF- $\kappa$ B 信号通路的调控，来实现对肥胖的缓解和治疗作用。同时，BSGLP 也可用作靶向肠道菌群的益生元剂起到抗肥胖，高血脂和炎症相关疾病的作用。

本研究 16S、短链脂肪酸检测和数据工作由诺米代谢协助完成

### 参考文献：

Sang T, Guo C, Guo D, et al. Suppression of obesity and inflammation by polysaccharide from sporoderm-broken spore of *Ganoderma lucidum* via gut microbiota regulation[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 256(5717):117594.

## 2.10 microRNA-125a 的异常表达导致肥胖小鼠的胰岛素抵抗和脂质代谢紊乱

### Dysregulation of Microrna -125a Contributes to Obesity -Associated Insulin Resistance and Dysregulates Lipid Metabolism in Mice

microRNA-125a 的异常表达导致肥胖小鼠的胰岛素抵抗和脂质代谢紊乱

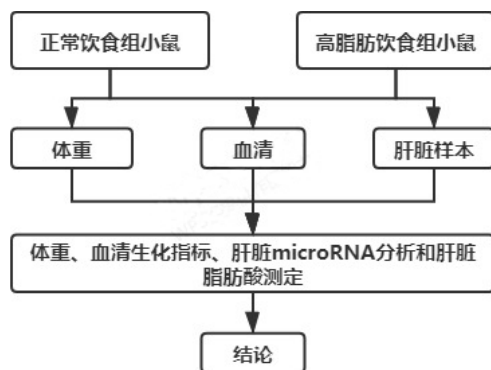
发表期刊: *BBA - Molecular and Cell Biology of Lipid*

影响因子: 4.698 | 发表时间: 2020

#### 研究背景:

肥胖是一种炎症性疾病,通常会增加心血管疾病、代谢综合征、T2D 和非酒精性脂肪肝疾病的风险。肥胖的标志表现是代谢和细胞功能的改变,主要原因是脂质和葡萄糖代谢紊乱、胰岛素抵抗和慢性全身炎症。尽管在血脂异常和胰岛素抵抗的发病机制中涉及许多遗传、代谢和生理因素,但这些肥胖引起的代谢改变的潜在机制仍未知。有研究已经发现 miR-122、miR-143、miR-130a-3p、miR-26a、miR-802、miR-103 和 miR-107 在代谢稳态中起关键作用,此外,有研究显示不同类型的 miRNA 在肥胖小鼠肝脏、脂肪等组织中的表达谱发生了改变。此外,已经发现了几种与肥胖相关的 miRNAs,它们可以作为肥胖受试者的一种新的代谢生物标志物。总之,这些发现表明 miRNA 在细胞代谢稳态中起着核心作用,并可能在治疗代谢紊乱的新疗法中成为治疗靶点。

#### 技术路线:



#### 研究结果:

两组小鼠分别给予正常鼠粮和高脂肪饮食,发现与对照组相比,8周后,HFD(高脂饮食)小鼠组的体重明显增加,血清葡萄糖和胰岛素水平升高。对高脂肪饮食小鼠和对照组小鼠的肝脏样本进行 microRNA 分析发现 DIO 小鼠(高脂肪诱发肥胖的小鼠)肝脏 miR-125a 表达水平下调。同时发现 ago-miR-125a 处理组增加了小鼠的胰岛素敏感性,而 antago-miR-125a 处理组则降低了胰岛素敏感性。miR-125a 的过表达可显著改善胰岛素敏感性和减轻肝细胞脂质积累。此外,本文证明了 ELOVL6 是 miR-125a 的直接靶点,参与 miR-125a 介导的胰岛素敏感性和脂质代谢调控。

为了确定 miR-125a 是否在体内调节脂肪酸代谢，本文取 Ago-miR-125 处理组和对照组小鼠的肝脏组织，采用 Agilent 7890A/5975C (GC/MS) 测定脂肪酸。结果显示与对照组比较，Ago-miR-125 处理组小鼠肝脏中的 ELOVL6 表达下调，硬脂酸盐 (C18:0) 和油酸盐 (C18:1n - 9) 的含量水平降低，而棕榈酸盐 (C16:0) 和棕榈油酸盐 (C16:1n - 7) 的含量水平升高。与对照组相比，miR-125a 处理的小鼠肝脏中 18:0/16:0 和 16:1/18:1 的比值分别持续降低和升高 (如图 1)。

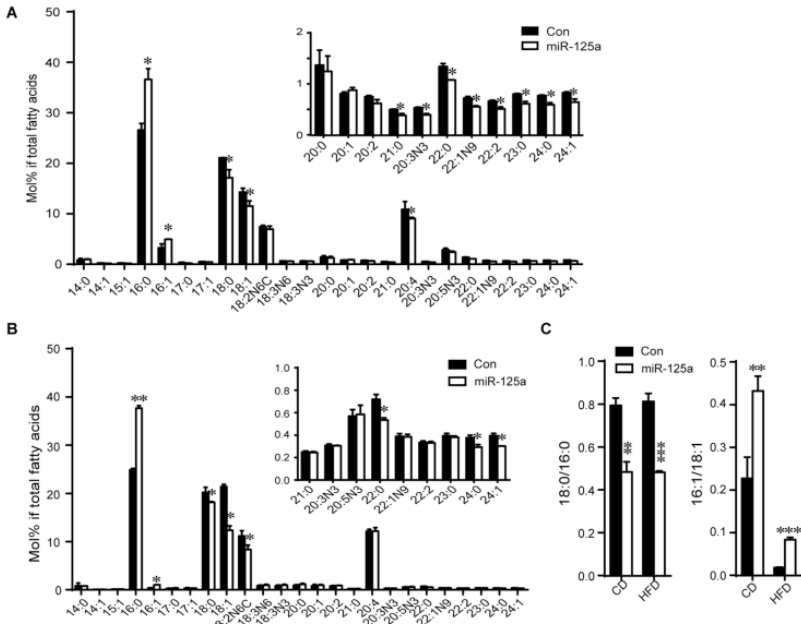


图 1 miR-125a 过表达可调节肝脂肪酸的组成

### 研究结论：

研究结果揭示在肥胖小鼠中，miR-125a 表达异常导致了肥胖诱导的代谢紊乱。miR-125a 过表达可通过直接靶向 ELOVL6 改善体内胰岛素敏感性和脂质代谢。这些发现进一步揭示了 miR-125a 在调节糖脂代谢中发挥关键作用，miR-125a 可能成为在临床治疗代谢疾病新药开发的治疗靶点。

本研究转录组、脂肪酸检测和数据分析和诺米代谢协助完成

### 参考文献：

Liu R, Wang M, Li E, et al. Dysregulation of microRNA-125a contributes to obesity-associated insulin resistance and dysregulates lipid metabolism in mice[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, 2020, 1865(5):158640.

# 03

## 第三章

### 神经性疾病

---

## 3. 神经性疾病

### 3.1 一幅动态的小鼠肽组图揭示了益生菌对肠脑轴的调节作用

#### A Dynamic Mouse Peptidome Landscape Reveals Probiotic Modulation of the Gut-Brain Axis

#### 一幅动态的小鼠肽组图揭示了益生菌对肠脑轴的调节作用

发表期刊: *Science Signaling* | 影响因子: 8.192 | 发表时间: 2020

#### 研究背景:

某些益生菌可通过调节肠脑轴对中枢神经系统的功能产生有益作用。在这里,我们描述了跨多个大脑区域的肽组的动态景观,这是通过在不同时间口服不同益生菌物种进行调节的。脑肽组的时空和菌株特异性变化与肠道微生物组的组成有关。我们通过监测下丘脑-垂体-肾上腺轴,验证了益生菌对促肾上腺皮质激素释放激素的调节作用,益生菌治疗可减轻其产前应激诱导的机能亢进。我们的发现为益生菌调节脑肽组提供了证据,并为进一步研究肠脑轴和益生菌疗法提供了依据。

#### 技术路线:

为了系统地研究肠道菌群对脑肽的影响,我们对七组成年雄性小鼠进行了四种不同的1个月治疗方案和三种不同的2个月治疗方案(图1A)。

1个月的治疗方案:小鼠分别喂食白水或混合益生菌 *L. helveticus* NS8(17)、热杀 NS8 或发酵乳杆菌 NS9(28) 的水,以下分别称为 C、NS8、NS8h 或 NS9 处理。

2个月的治疗方案:只给动物白水(CC),给动物白水1个月加NS8水一个月(NS8C),或给动物NS8水2个月(NS8NS8)。

在对动物实施安乐死后,通过基于MS的肽组学分析四个脑区(下丘脑、海马、纹状体和垂体)的内源性肽,并通过16S核糖体RNA(rRNA)测序评估肠道微生物群(图1A)。这个实验设计将处理的效果分为几个可变因素,包括不同的益生菌株、处理时间、脑区以及活的和热灭的益生菌。

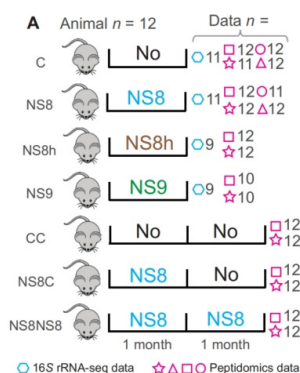


图 1A 实验流程



研究结果：

1. 一小时肽电泳能准确快速地分析脑肽

肽丰度的分子学范围以及相对较大的样本数量是肽组分析的主要挑战。为了克服这些挑战，我们建立了一个“1 小时肽组学”工作流程（图 1B），能够通过单次运行从小鼠下丘脑识别 2598 个修饰特异性肽（一种肽包含特定类型和修饰位点）。

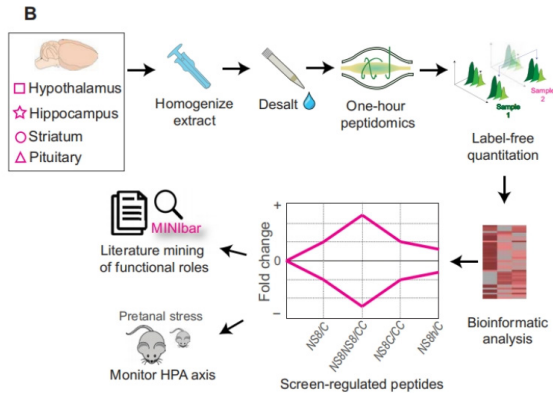


图 1B “1 小时肽组学” 工作流程

图 2A 表示通过对 C 组数据中的 12 只小鼠进行分析，进一步在多个大脑区域对 1 小时肽组学方法进行了基准测试，从而从下丘脑，海马，纹状体中鉴定了 2290、1162、1262 和 4620 修饰特异性肽和垂体。垂体包含最大数量的内源性肽，具有最高的动态范围。我们的结果还表明，某些肽在不同区域显示出高度动态的表达。图 2B、2C 表示我们绘制了下丘脑中肽段的累积丰度，并总结了这些肽段的前 75% 所代表的家族。

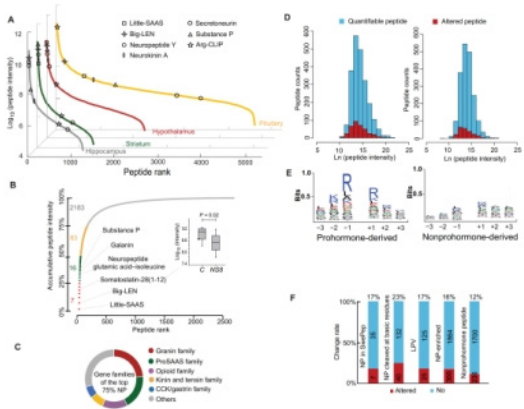


图 2 使用益生菌后对 1 小时肽组学方法和肽组变化进行基准测试

2. 益生菌治疗可诱导脑肽组重塑

为了评估益生菌治疗的效果，我们对 NS8 和 C 组之间的肽组学数据进行了无标记的定量分析。图 2D 可以看出治疗后，发现 2230 种可量化的脑肽中的 366 种（独特序列）的丰度发生了显著变化，并且该肽的强度和计数信息进一步聚类为直方图。从图 2E 中可以看出一些可

神经性疾病

量化肽的 C 端和 n 端线性序列基序显示出神经肽的特征，即双基裂解位点 KR 或单基裂解位点 R，这与神经肽酶促加工的裂解规律一致。从图 2D 可以看出与非激素肽组相比，激素源肽组对益生菌治疗的反应变化率更高。这一结果表明，作为重要信号分子的神经肽比非前激素肽对益生菌治疗的反应更敏感。从图 2F 可以看出三种类型的生物分子进行益生菌处理后其分子表现出更多的神经肽富集特征，而且它们的变化速率比非前激素肽要高得多。这些结果表明，益生菌治疗引起神经肽的显著变化，并且对治疗反应的敏感性取决于调节分子的类型。

### 3. 肠道微生物组评估揭示了与脑肽的潜在相互作用

为了发现脑肽通过肠 - 脑轴改变的可能原因，我们通过分析 C 组、NS8 组和 NS8h 组的 16SrRNA 数据对肠道微生物组进行了研究。图 3B 表示由所有组，获得的以拟杆菌门和厚壁菌门为主的典型小鼠微生物群落。虽然多样性分析组间差异不显著，但图 3A 中多样性的主坐标分析 (PCoA) 显示，NS8 组与 C、NS8h 组之间的差异大于 C、NS8h 组之间的差异。图 3A 中间和右侧是我们对来自下丘脑和海马体的肽组数据集进行的主成分分析 (PCA)。在下丘脑中，观察到肽组的变化趋势与微生物组相似。只有活体 NS8 治疗引起脑肽群的变化，而热灭 NS8 治疗则没有。此外，还观察到大脑区域的特定效应。在海马肽的 PCA 图中，NS8 和 NS8h 组均与 C 组分离，说明热死和活的 NS8 治疗改变了海马肽。

由图 3B 可以看出 NS8 处理显著改变了 115 个带注释细菌属 (Lachnospiraceae 和 Ruminococcaceae) 家族中的 4 个。图 3C 是我们选择了四种显著改变的细菌属，即 xylanophilum group、Anaerotruncus、Ruminiclostridium 5 和 Ruminococcaceae UCG-013，并对所有样本的肽组数据集进行 Spearman's 秩相关的分析。这些结果表明这些细菌属与脑肽之间通过肠脑轴可能存在调节联系。

由图 3A 和 3B 我们观察到，用活 NS8 处理会引起肠道微生物组和下丘脑肽组的显著变化。这表明，微生物组组成的改变可能是益生菌调节脑肽的途径。图 3E 是我们为了研究与微生物组变化相关的肽，将那些在 NS8 组中专门改变的肽聚集在一起，图 3F 是将这些肽分为神经肽家族。由此表明这些肽组对肠道菌群变化的潜在功能性反应。

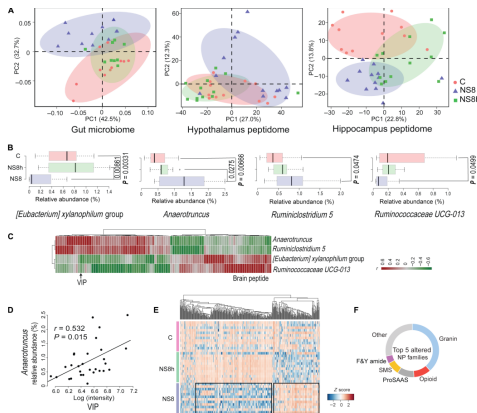


图 2 使用益生菌后对 1 小时肽组学方法和肽组变化进行基准测试

#### 4. 益生菌治疗后脑肽变化呈现区域特异性模式

为了提供对益生菌治疗后脑肽表达谱的鸟瞰图，我们汇总了神经肽所属家族的肽组学信息，并将它们进一步聚类为横跨四个脑区的环状肽图（图 4A）。图 4B 是通过计算得出的每个家族中改变的肽的百分比，下丘脑中可卡因和苯丙胺调节的转录本家族显示出 33% 的变化率。图 4C 是将 NS8 治疗组的定量肽组学数据与四个脑区的 C 组的定量肽组学数据（NS8 / C）进行比较，汇总成的直方图，用以显示肽数与强度的关系。

接下来，我们研究了跨多个区域的脑肽的共域和协同调节。图 4D 是将 NS8 / C 的肽组学数据汇总到一个多区域，区域分辨的条形图中。图 4E 和 F 表示与四个细菌属相关的代表性肽包括具有食欲调节功能的神经肽、促黑素刺激素、神经调节素-B 和促生长素抑制素-28(1-12)、以及致癌肽 NPY 和 orexin。此外，VIP 和 Neuromedin-B 在两个大脑区域显示出相似的相关模式，由此表明肠道细菌和脑肽之间的相关性表明可能存在调节关系。

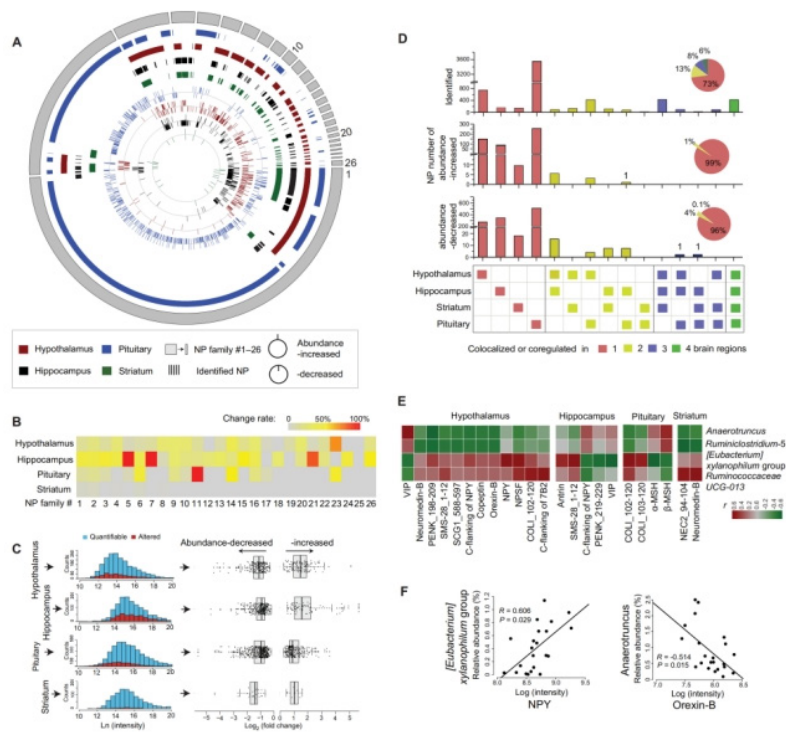


图 4 NS8 与对照动物脑区分布及肽的变化

#### 5. 多因素驱动下丘脑肽组的重塑

我们通过 PCA 对下丘脑肽变化数据进行处理，并将各组的中心值绘制成三元图（图 5A）。由图可以看出 CC 组与 C 组明显分离，表明年龄的影响与益生菌治疗无关。图 5B 是用 NS8 / C 和 NS8NS8 / CC 的肽类数据集绘制得火山图。2 个月的治疗结果显示比 1 个月的治疗有更明显的变化，表明益生菌诱导的肽组变化取决于治疗的持续时间。图 5C 是我们对微生物组进行了 PCoA 分析，并对 C，NS8 和 NS9 组的肽组进行了 PCA 分析。瑞士乳杆菌 NS8 和发酵乳杆菌 NS9 是不同的乳杆菌，并表现出不同的代谢机制介导的不同的有益结果。

通过使用这种筛选策略，我们获得了 71 个候选肽，它们遵循下丘脑中的肽筛选图（图 1B 和 5D）中定义的趋势，包括经过充分研究的神经肽促肾上腺皮质激素释放激素（CRH）的增加（图 5D 和 E），位于下丘脑垂体 - 肾上腺（HPA）轴的顶部。许多具有重要报道功能的神经肽仅在 NS8 治疗第二个月（图 5F）后才出现变化，包括催产素。这些功能分子在我们数据集中的动态变化表明，长期益生菌治疗可能会改变生理过程和行为。

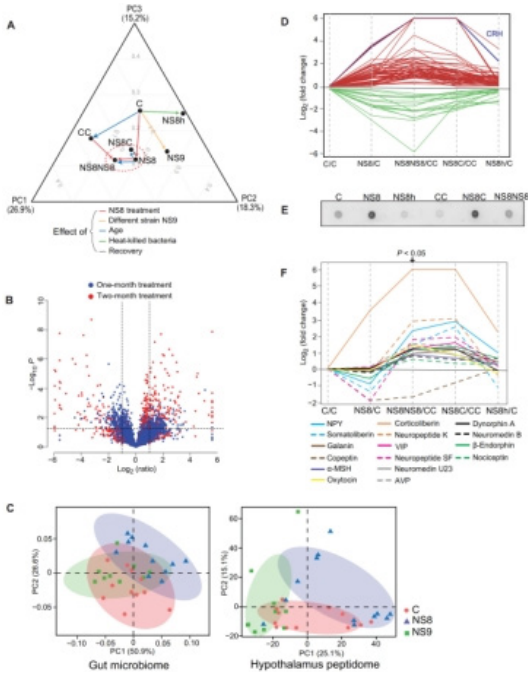


图 5 不同治疗条件下下丘脑肽的变化

## 6. 文献挖掘揭示了益生菌改变的神经肽的功能作用

我们构建了一种称为 MINibar（挖掘神经肽和相关行为）的算法策略来挖掘 PubMed 的功能，并通过益生菌治疗来改变神经肽的功能（见图 6A）。通过探究每种关联的出版物数量，改变神经肽的 5 种治疗条件与可能的相关生理过程和行为相吻合（图 6B）。例如，为期 2 个月的 NS8 治疗确定了 12 种与焦虑和抑郁高度相关的神经肽的变化，这由 374 种出版物证明（图 6B）。这一结果与 NS8 改善压力引起的焦虑和抑郁样行为的先前报道一致（17）。此外，食物摄入，社交和生殖行为以及睡眠觉醒和昼夜节律周期也与通过益生菌治疗改变的神经肽有关（图 6B）。这些基于文献的结果提供了 NS8 改变的肽与表型行为的关联的证据，也暗示了 NS8 的潜在作用。

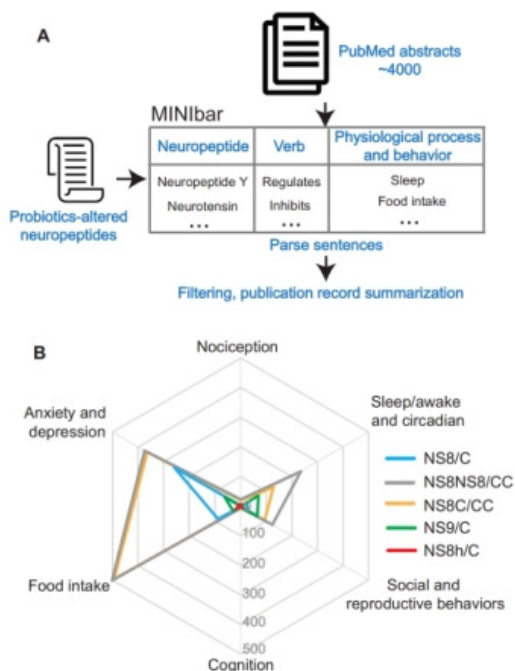


图 6 MINibar 算法用于文本挖掘与已发表摘要中特定神经肽有关的行为

#### 研究结论：

我们在不同的脑区、治疗时间、益生菌菌株以及副益生菌中提供了动态肽群景观。总的来说，这些信息丰富的数据集描绘了与肠道细菌相关的脑肽以及相关的生理过程和行为的定量图像，展示了我们的 1 小时肽组学方法在阐明肠 - 脑轴的分子机制和突出益生菌的治疗潜力方面的力量。综上所述，我们的研究表明，口服益生菌可通过肠 - 脑轴改变脑肽，且脑肽与肠道微生物组的组成有关。

#### 参考文献：

Zhang, P., Wu, X., Liang, S., et al. A dynamic mouse peptidome landscape reveals probiotic modulation of the gut-brain axis[J]. Science Signaling, 2020. 13(642). doi:10.1126/scisignal.abb0443

### 3.2 针刺抑制帕金森病小鼠模型的神经炎症和肠道微生物紊乱

#### Acupuncture Inhibits Neuroinflammation and Gut Microbial Dysbiosis in a Mouse Model of Parkinson's Disease

##### 针刺抑制帕金森病小鼠模型的神经炎症和肠道微生物紊乱

发表期刊: *Brain, Behavior, and Immunity* | 影响因子: 7.217 | 发表时间: 2020

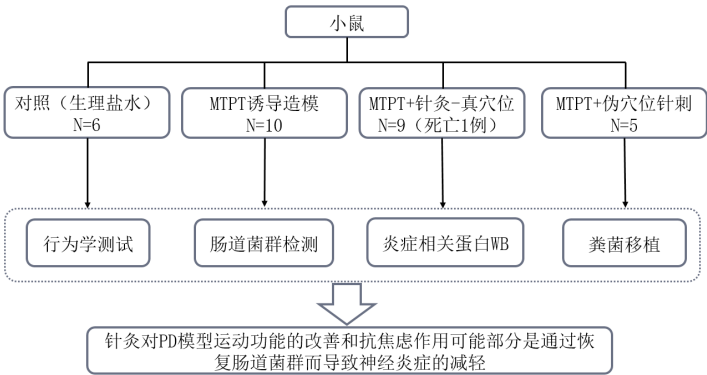
#### 研究背景:

帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 是继阿尔茨海默病之后第二常见的神经退行性疾病。全球 60 岁以上人口中有近 1% 患有帕金森。近两年研究表明: 肠道菌群和 PD 发展息息相关, 改善肠道菌群也能对 PD 起到很好的缓解作用。

近年有关针灸报道也与此相关, 有报道针灸可能通过迷走神经来调节免疫系统, 这对内脏 - 微生物 - 脑轴的通讯很重要。此外, 针灸可通过调节饮食改变机体代谢平衡和肠道微生物组成来缓解腹部肥胖且能调节肠易激综合征模型的炎症细胞因子和肠道微生物异常。可见针灸对肠道微生物和代谢的影响是巨大的。作者在之前的研究中发现针灸在 PD 小鼠模型中具有神经保护、抗神经炎和抗凋亡作用。然而, 肠道微生物功能在针灸治疗帕金森病中的作用尚不清楚。

作者通过 1- 甲基 -4- 苯基 -1,2,3,6- 四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 诱导帕金森模型小鼠, 对其足三里穴和阳陵泉穴进行针刺治疗, 通过菌群组成和神经元水平的改变, 阐明针灸对帕金森治疗过程中具体的作用靶点。

#### 技术路线:



#### 研究结果:

##### 1. 针灸可改善 MPTP 诱发的焦虑

为了评估了针灸治疗小鼠对 MPTP 诱导的非运动性症状 (焦虑) 的影响。在实验第 11 天时测量了小鼠在开阔田野中的行走路线。作者进行对 (A) 踪迹、(B) 总距离、(C) 中心距离、(D) 中心距离 / 总距离比值进行测量。各指标在三组间有明显差异, 说明针灸治疗能很好的缓解非运动型症状。



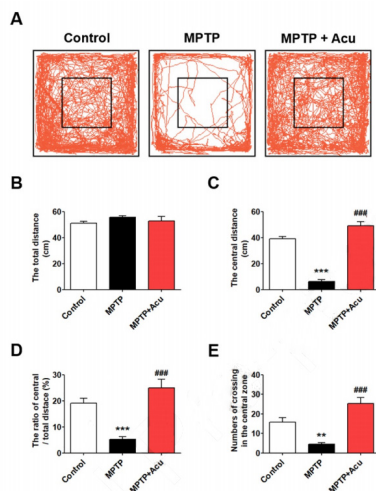


图 1 针灸对 MPTP 诱导的 PD 小鼠共病焦虑的影响

## 2. 针灸恢复了 MPTP 诱导后多巴胺纤维不足和神经元的缺失

帕金森病的病理特征包括  $\alpha$ -核蛋白在中枢神经系统 (CNS) 聚集, 纹状体 (striatum, ST) 和黑质 (substantia nigra, SN) 多巴胺纤维损失以及高水平的神经炎症。作者通过正常对照、MPTP、针灸治疗三组免疫组化对比, 发现在纹状体和黑质中, 三组间光密度和酪氨酸羟化酶抗体表达水平均有显著差异。经过针灸治疗后神经元水平会得到上升且神经炎症也会得到缓解。

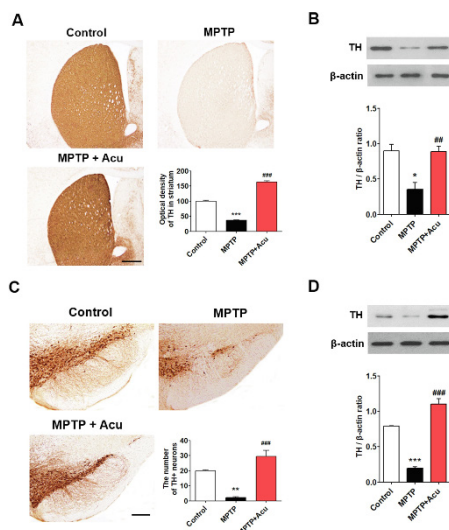


图 2 纹状体和脑黑质中酪氨酸羟化酶 (TH) 的免疫组化

### 3. 针灸缓解 PD 小鼠肠道菌群失调

肠道菌群的异常与帕金森病有关。因此，我们对粪便样本进行 16S rRNA 基因测序分析，以评估针灸对帕金森病肠道菌群失调的影响。与对照组相比，MPTP 处理的小鼠中  $\alpha$  多样性明显降低，但经过针灸治疗后，多样性明显上升。作者还发现，与 MPTP 组相比，MPTP + 伪针灸组中，Chao1 指数、OTUs 和 Shannon 指数均没有显著升高。通过 lefse 分析结果表明，变形菌纲、伯克氏菌目、Sutterellaceae 和 Tannerellaceae 等在诱导后显著增加。针灸治疗后理研菌科和 Vallitaleaceae、allitalea 和 Pseudoclostridium 等显著增加。

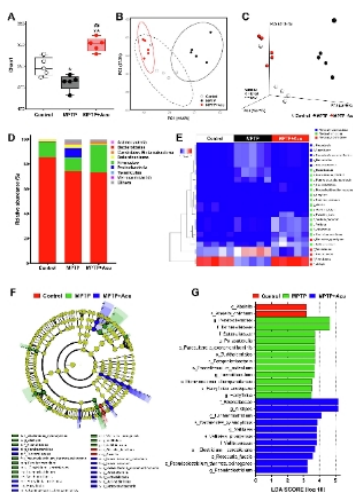


图 3 针灸对 MPTP 诱导 PD 小鼠肠道菌群失调的影响

### 4. 针灸治疗对 PD 小鼠体内某些细菌的丰度有影响

作者针对属级分析显示，对照组和 MPTP 组的肠道菌群有明显区别。共鉴定出 44 个属在三组间差异显著。其中，对照组和 MPTP 组有 26 个属差异显著；与对照组相比，MPTP 组有 16 个属富集，10 个属缺失。针灸治疗显著逆转了 18 属相对丰度的变化，与对照组菌群组分相似。MPTP 组和对照组拟杆菌属无明显差异，而 MPTP + 针灸组拟杆菌属和抛物线类呈下降趋势。

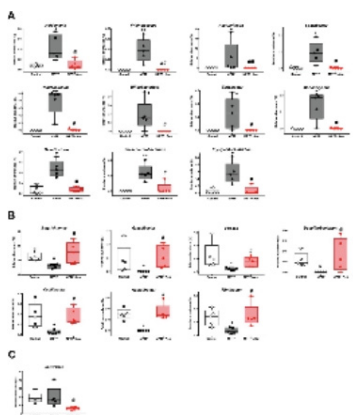


图 4 针灸对 PD 小鼠肠道微生物群落属水平相对丰度变化的影响

## 5. 针灸粪便菌群移植可改善 MPTP 诱导的运动功能障碍

为了证明针灸治疗后 PD 症状的改善与肠道菌群组成变化之间的因果关系，作者测定了 MPTP 诱导的 PD 小鼠经 FMT 治疗后的运动功能。所用为 MPTP 诱导后针灸治疗和无针灸治疗小鼠的粪便。经过 FMT 后，移植 MPTP 后小鼠帕金森症状加剧，而使用 MPTP 诱导结合针灸治疗的小鼠粪便，症状得到明显缓解，趋近去正常状态。

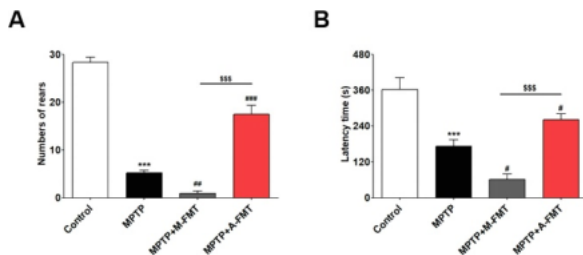


图 5 粪菌群移植对 PD 小鼠运动功能的影响

### 研究结论：

肠 - 脑轴的研究一直是肠道菌群的热门研究方向之一，肠道菌群不仅能调节肠道，甚至还能对各种肠道外器官甚至大脑中的多种生物活性分子起到调节作用。肠道微生物失调导致的肠道 - 微生物 - 脑轴失衡在 PD 的发病和发展中发挥重要作用，诱发神经炎症的产生和多巴胺神经元的缺乏。综上所述，本研究揭示针灸对 PD 模型运动功能的改善和抗焦虑作用可能部分是通过恢复肠道菌群而导致神经炎症的减轻。此外，针灸对肠道菌群属水平的特异性作用可能解释其在帕金森病模型上的强抗帕金森作用。提示内脏 - 微生物 - 脑轴可能是针灸治疗 PD 小鼠的潜在机制。

### 参考文献：

Jang J H , Yeom M J , Ahn S , et al. Acupuncture inhibits neuroinflammation and gut microbial dysbiosis in a mouse model of Parkinson's disease[J]. Brain Behavior and Immunity, 2020.

## 诺米代谢简介

苏州帕诺米克生物医药科技有限公司（简称：诺米代谢）于 2013 年在苏州工业园区成立，是中国最早成立、规模最大的代谢组学公司之一，致力于打造临床质谱和代谢组学全方案提供商。业务板块包括组学技术服务、临床质谱、组学临床产品与大数据平台。公司为客户提供更快更精准的代谢组学检测服务及产品。

基于自身完整的样品预处理平台、高分辨率质谱平台、海量代谢物库与核心匹配算法、及自主知识产权的云数据分析系统 BioDeep™，诺米代谢已为国内外 400 余家科研院所、300 余家三甲医院以及食品与制药企业提供全面、专业的代谢组学服务。服务项目囊括非靶向代谢组学、靶向代谢组学、全靶、脂质组学、风味组学、空间及单细胞代谢组学，应用领域包括农业、环境、肿瘤、心血管疾病、代谢类疾病及肠道微生物相关的研究领域，覆盖 80 余项细分检测分析服务内容，为客户提供个性化的代谢组学科研及临床解决方案。

诺米代谢在苏州、南京、南昌和成都的实验室共运行 60 余台进口质谱设备，覆盖代谢组、蛋白质组检测等领域。在临床质谱及组学临床方面，诺米代谢有多个创新产品研发管线，涵盖心脑血管疾病与肠道微生物方向的应用。

公司已获得元生创投、薄荷天使及沃生投资等行业知名基金的多轮投资，并取得科技领军企业、CMA 认证企业、高新技术企业、江苏省民营科技企业、ISO-9001 质量管理体系认证等资质，知识产权 30 余项，临床注册产品近 20 项。

800+ 合作高校、医院、研究所、企业

10000+ 合作项目数

200+ 学术期刊上合作发表文章



CMA 资质认证

## 主要质谱组学平台



Agilent 7890A/5975C



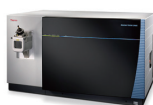
LECO Pegasus® BT 4D GCxGC-TOFMS



Thermo Q Exactive™ 系列



AB sciex 6500+



Thermo Orbitrap Fusion Lumos



Thermo TRACE 1310-ISQ LT

## 产品管线

公司服务项目囊括非靶向代谢组学、靶向代谢组学、全靶、脂质组学、风味组学、空间代谢组学、单细胞代谢组学、蛋白质组学及基因组学，应用领域包括农业、环境、肿瘤、心血管等疾病、代谢类疾病及肠道微生物相关的研究领域，覆盖 80 余项细分检测分析服务内容，为客户提供个性化的代谢组学科研及临床解决方案。

### 01 代谢组学

- 空间代谢组学
- 非靶向代谢组学
  - GC-MS代谢组学
  - GCxGC全二维代谢组学
  - LC-MS代谢组学
  - 全局精准非靶向代谢组学
  - 全局精准花青素非靶向代谢组学
  - 全局精准黄酮非靶向代谢组学
  - 风味组学
  - 成分组学
- 靶向代谢组学
  - 短链脂肪酸定量分析
  - 脂肪酸定量分析
  - 胆汁酸定量分析
  - TMAO及相关代谢物定量分析
  - 氨基酸定量分析
  - 黄酮类代谢物定量分析
  - 神经递质定量分析
  - 有机酸定量分析
  - 糖类定量分析
  - 植物激素定量分析
  - 类胡萝卜素定量分析
  - 单宁类定量分析
  - 酚酸类定量分析
  - 花青素定量分析
  - 维生素定量分析
  - 花生四烯酸定量分析
  - 代谢流定量分析
  - 能量代谢定量分析
  - 色氨酸代谢定量分析

### 02 蛋白质组学

- 定量蛋白质组学
  - 标记定量蛋白质组学
    - TMT/iTRAQ蛋白质组学
  - 非标记定量蛋白质组学
    - Label free蛋白质组学 (DDA模式)
    - 非标记蛋白质组学 (DIA模式)
  - PRM定量靶向蛋白质组学
- 修饰蛋白质组学
  - 磷酸化修饰蛋白质组学
  - 乙酰化修饰蛋白质组学
  - 泛素化修饰蛋白质组学
  - 糖基化修饰蛋白质组学
  - 甲基化修饰蛋白质组学
  - 乳酸化修饰蛋白质组学
  - 巴豆酰化修饰蛋白质组学
  - 二羟基异丁酰化修饰蛋白质组学
  - 琥珀酰化修饰蛋白质组学
- 4D-蛋白质组学
- 宏蛋白组学

### 03 脂质组学

### 04 转录组学

- 真核生物转录组学
- 原核生物转录组学
- LncRNA研究
- Small RNA 测序
- CircRNA 测序
- 全转录组测序
- 全长转录组测序
- 单细胞转录组测序

### 05 离子组学

- 多种物质离子组学研究

### 06 微生物组学

- 微生物多样性 (16S)
- 宏基因组
- 宏转录组

### 07 多组学整合

- 代谢组-蛋白质组研究
- 代谢组-转录组研究
- 代谢组-微生物组研究
- 代谢组-蛋白组-转录组-微生物组研究

### 08 脑肠轴研究

- 16S-非靶/全靶代谢组联合分析
- 16S-短链脂肪酸/胆汁酸/脂肪酸/TMAO/神经递质/氨基酸联合分析

### 09 外泌体研究

- 外泌体代谢组学
- 外泌体脂质组学
- 外泌体蛋白质组学
- 外泌体转录组学
- 外泌体提取
- 外泌体鉴定
  - WB鉴定
  - NTA鉴定
  - 电镜鉴定

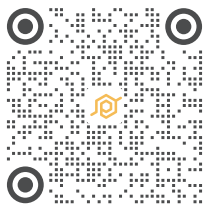
### 10 数据分析

- 各组学数据分析
- 多组学整合分析
- 脑肠菌轴研究分析



---

代谢组学行业领跑者



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>