基于 UPLC-Q/TOF MS 技术的隔药饼灸合募配穴治疗 UC 大鼠的尿液代谢组学研究

吴璐一[1] 顾沐恩[2] 朱 毅[3] 刘慧荣[3] 秦文政[4] 黄 艳[3]
窦传宇[3] 袁凌松[3] 陆 颖[1] 周次利[3] 李 璟[2]
(1 上海中医药大学上海市气功研究所,上海,200030; 2 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院,上海,200437;
3 上海中医药大学上海市针灸经络研究所,上海,200030; 4 上海中医药大学,上海,201203)

摘要 目的:运用代谢组学用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱(UPLC-Q/TOF MS)技术探讨隔药饼灸合募配穴治疗溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis,UC)的作用机制。方法:27 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、隔药饼灸合募配穴组,采用 DSS 水溶液饮用法制备 UC 大鼠模型。隔药饼灸合募配穴组每次每穴各灸 2 壮,1 次/d,共灸 14 次。治疗结束后,搜集各组尿液,UPLC-Q/TOF MS 分析检测,主成分分析(PCA)分析和偏最小二乘法分析(PLS-DA)对数据进行处理,运用 Metlin(http://metlin. scripps. edu/)、KEGG(http://www. kegg. jp)、HMDB(http://www. hmdb. ca)、MetaboAnalyst 3. 0(http://www. metaboanalyst. ca)数据库和网站,确认潜在生物标志物,分析代谢物通路。结果:正、负离子模式下,正常组、模型组、隔药饼灸合募配穴组 3 组大鼠尿液在 PLS-DA 数据模型下分离趋势良好。隔药饼灸合募配穴可有效回调 UC 模型大鼠 6 个差异代谢物 L-Cysteine(半胱氨酸)、Atraric acid、Tocopheronic acid、Dibutyl malate(二丁基苹果酸盐)、L-Tyrosine(酪氨酸)、L-Pipecolic acid(哌啶酸)表达,主要参与 Phenylalanine,tyrosine and tryptophan biosynthesis(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成)、Cysteine and methionine metabolism(半胱氨酸和蛋氨酸代谢)、Tyrosine metabolism(酪氨酸代谢)等氨基酸代谢通路。结论:隔药饼灸合募配穴治疗 UC 可能主要与氨基酸代谢有关。

关键词 灸法;代谢组学;超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱;溃疡性结肠炎

Urine Metabonomic Research of Herbs-partition Moxibustion with Mactching Mu Points in UC Rats Based on UPLC-Q/TOF MS

Wu Luyi[1], Gu Muen[2], Zhu Yi[3], Liu Huirong[3], Qin Wenzheng[4], Huang Yan[3],
Dou Chuanzi[3], Yuan Lingsong[3], Lu Ying[1], Zhou Cili[3], Li Jing[2]
(1 *Shanghai Qigong Research Institute, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai* 200030, *China*;
2 *Department of Acupuncture, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai Universityof Traditional Chinese Medicine, Shanghai* 200437 *China*; 3 *Shanghai Research Institute of Acupuncture and Meridian, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai* 200030, *China*;
4 *Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai* 200437, *China*)

Abstract **Objective**: To explore the mechanism of herbs-partition moxibustion with the matching mu points in treating UC rats based on metabonomic with UPLC-Q/TOF MS. **Methods**: Sprague-Dawley rats of 27 cases were randomly divided into normal group, model group, herbs-partition moxibustion with the mactching mu points group. The UC rat model was established by drinking DSS aqueous solution. In herbs-partition moxibustion with the matching mu points group, each point moxibustion with 2 moxa cones, once per day, and lasting for 14 days. After moxibustion treatment, all groups urine was analyzed with UPLC-Q/TOF MS. The acquired data were analyzed using principal component analysis (PCA) and partial leastsquares discriminant analysis (PLS-DA). The potential biomarkers and metabolic pathways were analyzed by Metlin(http://metlin. scripps. edu/), KEGG(http://www. kegg. jp), HMDB (http://www. hmdb. ca), MetaboAnalyst 3. 0(http://www. metaboanalyst. ca). **Results**: Under both positive ion model and negative ion model, the separation trends of 3 groups urine were good. Herbs-partition moxibustion with the matching mu points effectively reduced in 6 different metabolites expression, such as L-cysteine, atraric acid、tocopheronic acid, dibutyl malate、L-tyrosine、L-pipecolic acid, which increased in model group. All 6 different metabolites above were mainly related to amino acid metabolic pathways, such as phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis, cysteine and methionine metabo-

基金项目:国家重点基础研究发展计划("973"计划)项目(编号:2009CB522900;2015CB554501);国家自然科学基金青年项目(编号:81303033);上海市科技启明星计划基金资助项目(编号:16QA1403400)

通信作者:李璟,主任医师,研究生导师,主要研究方向:针灸胃肠疾病的临床与基础研究;周次利,博士,副研究员,主要研究方向:针灸作用机制与临床研究

lism, tyrosine metabolism, and so on. **Conclusion**: The mechanism of herbs-partition moxibustion with the matching mu points in treating UC may mainly relate to amino acid metabolism.

Key Words Moxibustion; Metabonomic; UPLC-Q/TOF MS; Ulcerative colitis

中图分类号: R245.8 **文献标识码**: A **doi**: 10.3969/j.issn.1673-7202.2016.12.009

代谢组学是系统生物学的一种,通过代谢过程成中小分子代谢物的变化阐释机体的生物学奥秘[1-2],广泛应用于医学、药物学、营养学、环境学等领域[3-6]。近年来,基于代谢组学技术优势,开展中医防治疾病作用机制的现代化研究,越来越得到关注。

溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)是一种世界范围的疾病,全球患病率约 $5.3/10^5 \sim 238/10^5$,呈逐年上升之势[7],持续或反复发作的腹泻、黏液脓血便伴腹痛、里急后重,以及不同程度的全身症状是 UC 的主要临床表现,病程多在 4 ~ 6 周以上[8]。众多临床研究显示[9-11]:中医灸法可有效改善 UC 患者腹痛、腹泻等临床症状,改善肠黏膜。然而灸法治疗 UC 的作用机制仍有待于进一步深入研究。我们采用 UPLC-Q/TOF MS 技术开展隔药饼灸合募配穴治疗 UC 的代谢组学研究,以期从系统生物学角度探讨灸法治疗 UC 的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SD 大鼠,27 只,雄性,清洁级,体重(180 ± 20)g,由上海中医药大学动物实验中心提供。

饲养环境为 12 h 昼夜节律交替,室温(20 ± 2)℃,相对湿度(50 ± 10)%,普通饲料喂养,自由进食与饮水。

1.2 主要试剂与仪器 1)主要实验材料与试剂:艾绒,南阳汉医艾绒有限责任公司;甲醇、乙腈,均为质谱级溶剂,德国 Merck(Darmstadt)公司,甲酸,色谱级溶剂,瑞士 Fluka(Buchs)公司。

2)主要实验仪器:液相色谱为 Agilent1290 Infinity 超高效液相系统(Agilent,美国);质谱为 Agilent 6538 Accurate-Mass Q-TOF/MS(Agilent,美国)。

1.3 模型制备 适应性饲养 1 周后,参照 Fichna 等[12]方法制备 UC 模型。造模大鼠分别采用 3% DSS 水溶液饮用 7 d 后,继以浓度为 1% DSS 水溶液饮用 4 d。

1.4 动物分组与干预 27 只 SD 大鼠随机分为 3 组,即:正常组、模型组、隔药饼灸合募配穴组,每组 9 只。

正常组:不进行任何治疗,与治疗组做相同的固定。

模型组:不进行任何治疗,与治疗组做相同的固定。

隔药饼灸合募配穴组:取穴:天枢(双)、上巨虚(双)(穴位定位参照李忠仁主编《实验针灸学》,中国中医药出版社,2007 年)。药饼配方:附子(四川)、肉桂(广西)、木香(云南)等辗粉,加黄酒拌成厚糊状制成直径 0.5 cm,厚 0.3 cm 大小药饼。艾炷大小约 90 mg,每次每穴各灸 2 壮,1 次/d,共灸 14 次。

1.5 标本采集 治疗结束后,正常组、模型组、隔药饼灸合募配穴组大鼠分别置于代谢笼中,单笼饲养,自由饮食,收集 24 h 尿液,1 000 r/min 离心 10 min,取上清,-80 ℃保存。

1.6 UPLC-Q/TOF MS 代谢组学检测

1.6.1 前处理条件 取 100 μL 尿液,加入 300 μL 内标溶液(含 5 μg/mL L-2 氯苯丙氨酸的甲醇溶液),涡旋 5 min,4 ℃下 13 000 r/min 离心 15 min,取上清液即得供试品溶液。

1.6.2 UPLC-Q/TOF MS 分析检测 1)色谱条件。流动相:A:0.1% 的甲酸水溶液,B:0.1% 的甲酸乙腈溶液。梯度脱洗程序:0—1 min,5% B;1—13 min,5% ~ 95% B;13—15 min,95% B。流速:0.4 mL/min,柱温:40 ℃,进样量:3 μL。

2)质谱条件。正模式下毛细管电压为 4 kV,负模式下 3.5 kV。气体温度 350 ℃,流速 11 L/min,。喷雾电压 45psi,碎裂电压 120V,Skimmer1 电压 60V。

1.7 统计学方法 采用 Agilent Masshunter Qualitative AnalysisB. 04.00 software 对数据进行采集。在 R 软件平台下,使用 XCMS 程序(http://metlin.scripps.edu/download/)进行峰的识别,保留时间校正,自动积分等。根据 80% 原则进行峰的筛选后,将所有离子以内标物质的分子离子峰(正离子模式下:200.0473;负离子模式下:198.0328)为标准离子进行归一化处理。随后,将数据矩阵导入 Simca-P 软件(版本 11.0),Par 标度化处理后,进行主成分分析(PCA)分析和偏最小二乘法分析(PLS-DA)。VIP >1 的代谢物,进一步通过方差分析进行统计学分析,$P < 0.05$ 则认为是差异代谢物。

将统计学意义离子的精确 m/z 值使用网络数据库 Metlin(http://metlin. scripps. edu/)进行鉴别,结合 KEGG(http://www. kegg. jp)、HMDB(http://www. hmdb. ca)、MetaboAnalyst 3.0(http://www. metaboanalyst. ca)数据库和网站,确认潜在生物标志物,分析代谢物通路。MetaboAnalyst 3.0(http://www. metaboanalyst. ca)代谢物通路分析显示 Impact 值 >0.10 者为重要代谢物通路[13-15]。

2　结果

2.1　PLS-DA 得分图　正、负离子模式下,正常组、模型组、隔药饼灸合募配穴组大鼠尿液代谢物的 PLS-DA 得分图如图 1、图 2 所示。从图 1、图 2 可见,3 组大鼠尿液代谢物在 PLS-DA 数据模型下分离趋势良好,提示正常组、模型组、隔药饼灸合募配穴组大鼠尿液在内源性代谢物层面都发生了较为明显的变化。

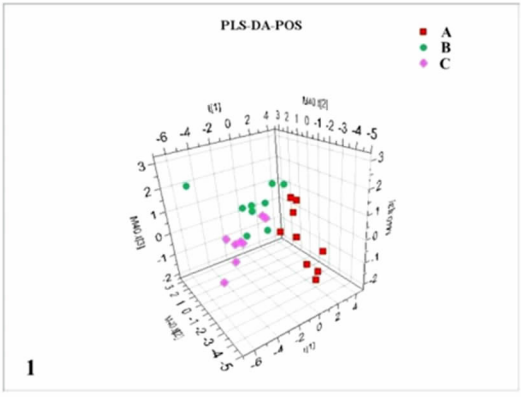

图 1　正离子模式下各组大鼠尿液代谢物的 PLS-DA 得分图

注:A:正常组,B:模型组,C:隔药饼灸合募配穴组。

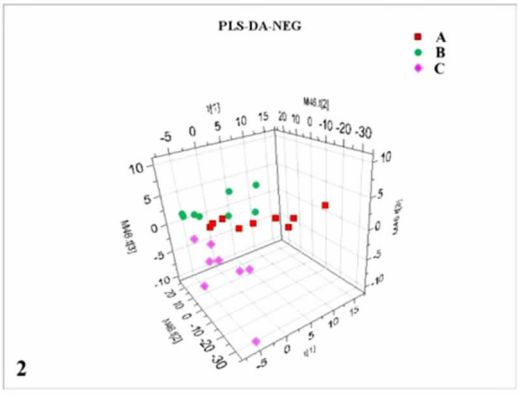

图 2　负离子模式下各组大鼠尿液代谢物的 PLS-DA 得分图

注:A:正常组,B:模型组,C:隔药饼灸合募配穴组。

2.2　差异代谢物　各组大鼠尿液差异代谢物如表 1 所示。与正常组比较,模型组共有 19 个差异代谢物表达,其中 L-Cysteine、Atraric acid、Tocopheronic acid 等 15 个差异代谢物含量在模型组表达升高,Phosphorylcholine、Phenyl glucuronide、Dopamine 等 4 个差异代谢物含量在模型组表达降低。隔药饼灸合募配穴干预后,可有效回调 6 个差异代谢物 L-Cysteine(半胱氨酸)、Atraric acid、Tocopheronic acid、Dibutyl malate(二丁基苹果酸盐)、L-Tyrosine(酪氨酸)、L-Pipecolic acid(哌啶酸)表达。

2.3　代谢通路　将隔药饼灸合募配穴干预后,可有效回调的 6 个差异代谢物 L-Cysteine、Atraric acid、Tocopheronic acid、Dibutyl malate、L-Tyrosine、L-Pipecolic acid 导入 MetaboAnalyst 3.0(http://www. metaboanalyst. ca),进行代谢物通路分析。如图 3、表 2 所示,隔药饼灸合募配穴组对 UC 大鼠 Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis、Aminoacyl-tRNA biosynthesis、Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis、Thiamine metabolism 等 12 条代谢通路产生影响。其中,Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成)、Cysteine and methionine metabolism(半胱氨酸和蛋氨酸代谢)、Tyrosine metabolism(酪氨酸代谢)3 条代谢通路 Impact 值 >0.10,为重要代谢物通路。

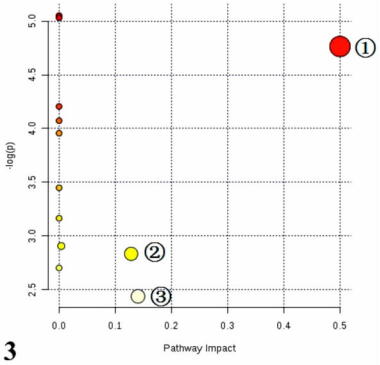

图 3　隔药饼灸合募配穴对 UC 大鼠代谢通路的影响

注:表 2 与图 3 互为补充。图 3 中的圆点代表相应代谢通路,按 Y 轴-log(P)值大小,从上往下,依次与表 2 中的代谢通路相对应。圆点的颜色代表代谢通路的 *P* 值,*P* 值越小(-log(P)值越大),颜色越红;圆点的半径大小代表代谢通路 Impact 值,Impact 值越大,半径越大。①-③为 3 条重要的代谢通路,①:Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis,②:Cysteine and methionine metabolism,③:Tyrosine metabolism。

3　讨论

UC 临床主要表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便,属于中医"腹痛""泄泻""痢疾"等范畴。课题组前期研究显示[16-18]:艾灸对UC等肠腑病内脏痛具有良好

表 1 各组大鼠尿液差异代谢物

No	Formula	Metabolites		FC(B/A)	FC(F/B)
1	$C_3H_7NO_2S$	L-Cysteine	半胱氨酸	2.20 ↑	0.54 ↓
2	$C_{10}H_{12}O_4$	Atraric acid		2.01 ↑	0.63 ↓
3	$C_{16}H_{22}O_5$	Tocopheronic acid		1.73 ↑	0.51 ↓
4	$C_{12}H_{22}O_5$	Dibutyl malate	二丁基苹果酸盐	1.59 ↑	0.61 ↓
5	$C_9H_{11}NO_3$	L-Tyrosine	酪氨酸	1.48 ↑	0.41 ↓
6	$C_{12}H_{20}O_6$	Glycerol tripropanoate		1.68 ↑	
7	$C_{13}H_{24}O_4$	2-methyl-dodecanedioic acid		3.18 ↑	
8	$C_6H_6O_2$	Pyrocatechol	邻苯二酚	1.81 ↑	
9	$C_{10}H_{15}NO_3$	Metanephrine	变肾上腺素	1.66 ↑	
10	$C_6H_{11}NO_2$	L-Pipecolic acid	哌啶酸	1.46 ↑	0.73 ↓
11	C_8H_7NO	Indoxyl	吲哚酚	1.73 ↑	
12	$C_{28}H_{54}NO_8P$	PC(18:1/2:0)		1.49 ↑	
13	$C_5H_{11}NO_2$	L-Valine	缬氨酸	1.41 ↑	
14	$C_4H_{12}NO_4P$	Phosphorylcholine	磷酰胆碱	0.60 ↓	
15	$C_{29}H_{60}NO_7P$	LysoPE(24:0/0:0)		1.38 ↑	
16	$C_{33}H_{63}O_8P$	PA(13:0/17:1)		1.19 ↑	
17	$C_{12}H_{14}O_7$	Phenyl glucuronide	苯基葡糖苷酸	0.38 ↓	
18	$C_8H_{11}NO_2$	Dopamine	多巴胺	0.35 ↓	
19	$C_{10}H_9NO_2$	3-Indoleacetic Acid	3-吲哚乙酸	0.28 ↓	

注：A：正常组，B：模型组，C：隔药饼灸合募配穴组。

表 2 隔药饼灸合募配穴对 UC 大鼠代谢通路的影响

No	Pathway	Hits		Metabolites	P	-log(P)	Impact
1	Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	辅酶 q 和其他类萜-醌生物合成	1	L-Tyrosine	酪氨酸	0.01	5.05	0.00
2	Aminoacyl-tRNA biosynthesis	氨酰基-tRNA 生物合成	2	L-Cysteine、L-Tyrosine	半胱氨酸、酪氨酸	0.01	5.03	0.00
3	Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成	1	L-Tyrosine、	酪氨酸	0.01	4.76	0.50
4	Thiamine metabolism	硫胺素(维生素 B_1)代谢	1	L-Cysteine	半胱氨酸	0.01	4.21	0.00
5	Taurine and hypotaurine metabolism	牛磺酸和亚牛磺酸代谢	1	L-Cysteine	半胱氨酸	0.02	4.07	0.00
6	Phenylalanine metabolism	苯丙氨酸代谢	1	L-Tyrosine	酪氨酸	0.02	3.96	0.00
7	Pantothenate and CoA biosynthesis	泛酸盐和辅酶 a 生物合成	1	L-Cysteine	半胱氨酸	0.03	3.45	0.00
8	Lysine degradation	赖氨酸降解	1	Pipecolic acid	哌啶酸	0.04	3.16	0.00
9	Glutathione metabolism	谷胱甘肽代谢	1	L-Cysteine	半胱氨酸	0.05	2.91	0.00
10	Cysteine and methionine metabolism	半胱氨酸和蛋氨酸代谢	1	L-Cysteine	半胱氨酸	0.06	2.83	0.13
11	Glycine, serine and threonine metabolism	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	1	L-Cysteine	半胱氨酸	0.07	2.70	0.00
12	Tyrosine metabolism	酪氨酸代谢	1	L-Tyrosine	酪氨酸	0.09	2.44	0.14

的镇痛效应，可抑制肠道炎性反应，促进病变局部组织修复和/或功能改善，提高痛阈，调节中枢/病变局部神经递质等疼痛相关物质水平，抑制肠纤维化。上巨虚、天枢分别为大肠的下合穴、募穴，合募配穴法是中医针灸常用的治疗腑病的配穴方法。UC 病变以大肠为主，大肠为六腑之一。《素问·咳论篇》记载“治腑者，治其合”，《灵枢·邪气脏腑病形》也有言“合治内腑”，上巨虚为大肠下合穴，常用于肠腑疾病的治疗。天枢为大肠募穴，募穴也是针灸临床上用于治疗腑病的主要穴位。《甲乙经》记载“腹胀肠鸣，气上冲胸，不能久立，腹中(切)痛(而鸣)濯濯。冬月重感于寒则泻，当脐而痛，胃肠间游气切痛，食不化，不嗜食，身肿，侠脐急，天枢主之”。刘朝等[19]采用计算机数据挖掘技术，分析针灸治疗 UC 的诊疗现状与特点，显示天枢、上巨虚这 2 个穴位的使用频次居前 3 位。可见，天枢、上巨虚是治疗 UC 的常用有效穴位。因此，本研究中，我们采用隔药饼灸天枢(双)、上巨虚(双)治疗 UC，从代谢组学角度进一步探讨灸法治疗 UC 的作用机制。

代谢组学是继基因组学、蛋白质组学、转录组学

之后发展起来的一种系统生物学研究方法。中医整体观认为:人体是一个有机的整体,各细胞、组织、器官之间相互联系,相互影响,单一的从某一靶点、信号通路等,不足以全面阐释中医防病治病的作用机制。代谢组学可通过新陈代谢动态过程中得相关代谢产物,阐释机体的整体功能状态、病理生理机制,与中医的整体观高度契合,近年来,在中医领域研究运用越来越广泛[20-24]。部分学者运用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术、超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱(UPLC-Q/TOF MS)技术等开展了中药治疗 UC 的代谢组学研究[25-26],也有学者运用^{1}HNMR 技术开展了针刺足阳明经穴与非经非穴治疗 UC 的代谢组学研究[27]。目前,灸法治疗 UC 的代谢组学研究较少,本研究中,我们采用 UPLC-Q/TOF MS 技术开展隔药饼灸合募配穴治疗 UC 的代谢组学研究。

本研究中,隔药饼灸合募配穴干预后,有效回调的 6 个差异代谢物参与机体 Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis(辅酶 q 和其他类萜-醌生物合成)、Aminoacyl-tRNA biosynthesis(氨酰基-tRNA 生物合成)、Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成)、Thiamine metabolism(硫胺素(维生素 B_1)代谢)等 12 条氨基酸代谢、辅酶因子与维生素代谢等相关通路。其中,3 条重要代谢通路 Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成)、Cysteine and methionine metabolism(半胱氨酸和蛋氨酸代谢)、Tyrosine metabolism(酪氨酸代谢)均为氨基酸代谢通路,可见,调节机体氨基酸代谢是隔药饼灸合募配穴治疗 UC 的重要作用机制。

本研究中,UC 模型组与正常组比较有 19 个差异代谢物表达,隔药饼灸合募配穴干预后,可有效回调其中 6 个差异代谢物 L-Cysteine(半胱氨酸)、Atraric acid、Tocopheronic acid、Dibutyl malate(二丁基苹果酸盐)、L-Tyrosine(酪氨酸)、L-Pipecolic acid(哌啶酸)表达。上述 6 个差异代谢物中,L-Tyrosine(酪氨酸)与 L-Cysteine(半胱氨酸)是参与机体代谢通路较多的 2 种差异代谢物。L-Tyrosine(酪氨酸)参与了 Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis(辅酶 q 和其他类萜-醌生物合成)、Aminoacyl-tRNA biosynthesis(氨酰基-tRNA 生物合成)、Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成)、Phenylalanine metabolism(苯丙氨酸代谢)、Tyrosine metabolism(酪氨酸代谢)5 条代谢通路。L-Cysteine(半胱氨酸)则参与了 Aminoacyl-tRNA biosynthesis(氨酰基-tRNA 生物合成)、Thiamine metabolism[硫胺素(维生素 B1)代谢)]、Taurine and hypotaurine metabolism(牛磺酸和亚牛磺酸代谢)、Pantothenate and CoA biosynthesis(泛酸盐和辅酶 a 生物合成)、Glutathione metabolism(谷胱甘肽代谢)、Cysteine and methionine metabolism(半胱氨酸和蛋氨酸代谢)、Glycine, serine and threonine metabolism(甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢)7 条代谢通路。L-Tyrosine(酪氨酸)、L-Cysteine(半胱氨酸)参与的上述代谢通路,均与机体氨基酸代谢、辅酶因子与维生素代谢、遗传信息翻译相关。隔药饼灸合募配穴干预后影响的 3 条重要代谢通路 Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成)、Cysteine and methionine metabolism(半胱氨酸和蛋氨酸代谢)、Tyrosine metabolism(酪氨酸代谢),均与 L-Tyrosine(酪氨酸)、L-Cysteine(半胱氨酸)相关。Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成)代谢通路中,L-Tyrosine(酪氨酸)的 Impact 值为 0.5, Tyrosine metabolism(酪氨酸代谢)代谢通路中,L-Tyrosine(酪氨酸)的 Impact 值为 0.14045, Cysteine and methionine metabolism(半胱氨酸和蛋氨酸代谢)代谢通路中,L-Cysteine(半胱氨酸)的 Impact 值为 0.12829,显示 L-Tyrosine(酪氨酸)、L-Cysteine(半胱氨酸)与上述隔药饼灸合募配穴干预后影响的 3 条重要代谢通路密切相关。与正常组比较,UC 模型组大鼠 19 个尿液差异代谢物中,L-Cysteine(半胱氨酸)变化最为显著,排第 1 位,升高 2.20 倍;L-Tyrosine(酪氨酸)变化也很显著,排第 5 位,升高 1.48 倍,可见,L-Cysteine(半胱氨酸)、L-Tyrosine(酪氨酸)是介导 UC 病理机制的重要物质。隔药饼灸合募配穴干预后,L-Cysteine(半胱氨酸)、L-Tyrosine(酪氨酸)均显著降低,分别为 UC 模型组的 0.54 倍、0.41 倍。上述结果显示:L-Tyrosine(酪氨酸)、L-Cysteine(半胱氨酸)可能在隔药饼灸合募配穴治疗 UC 的过程中发挥重要作用。

综上所述,L-Tyrosine(酪氨酸)、L-Cysteine(半胱氨酸),及其相关的 Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成)、Cysteine and methionine metabolism(半胱氨酸和蛋氨酸代谢)、Tyrosine metabolism(酪氨酸

代谢)3 条氨基酸代谢通路,可能在隔药饼灸合募配穴治疗 UC 的过程中发挥重要作用。

参考文献

[1] Nicholson JK, Lindon JC. Systems biology: Metabonomics[J]. Nature, 2008, 455(7216): 1054-1056.

[2] Gary J Patti, Oscar Yanes, Gary Siuzdak. Metabolomics: the apogee of the omic triology[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(4): 263-269.

[3] Armitage EG, Barbas C. Metabolomics in cancer biomarker discovery: current trends and future perspectives[J]. J Pharm Biomed Anal, 2014, 87: 1-11.

[4] Puchades-Carrasco L, Pineda-Lucena A. Metabolomics in pharmaceutical research and development[J]. Curr Opin Biotechnol, 2015, 35: 73-77.

[5] Gibbons H, O'Gorman A, Brennan L. Metabolomics as a tool in nutritional research[J]. Curr Opin Lipidol, 2015, 26(1): 30-34.

[6] Lankadurai Brian P, Nagato Edward G, Simpson Myrna J. Environmental metabolomics: an emerging approach to study organism responses to environmental stressors[J]. Environmental Reviews, 2013, 21(3): 180-205.

[7] da Silva BC, Lyra AC, Rocha R, Santana GO. Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(28): 9458-9467.

[8] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012 年·广州)[J]. 胃肠病学, 2012, 17(12): 763-781.

[9] Yang L, Zhao JM, Guan X, et al. Observation on the effects of different partitioned moxibustion in treating ulcerative colitis[J]. J Acupunct Tuina Sci, 2016, 14(4): 231-241.

[10] 杨周雨,张理顺,李益筠,等. 隔药饼灸治疗脾虚湿蕴证轻中度溃疡性结肠炎临床观察[J]. 针灸临床杂志, 2016, 32(8): 56-58.

[11] 陈洁,刘军,王文丽,等. 艾盒灸神阙佐治轻中度溃疡性结肠炎(脾虚证)临床观察[J]. 新中医, 2016, 48(8): 71-73.

[12] Fichna J, Dicay M, Lewellyn K, et al. Salvinorin A has anti-inflammatory and antinociceptive effects in experimental models of colitis in mice mediated by KOR and CBI receptors[J]. Inflamm Bowel Dis, 2012, 18(6): 1137-1145.

[13] Yi L, Shi S, Wang Y, et al. Serum Metabolic Profiling Reveals Altered Metabolic Pathways in Patients with Post-traumatic Cognitive Impairments[J]. Sci Rep, 2016, 6: 21320.

[14] Liao WT, Liu B, Chen J, et al. Metabolite Modulation in Human Plasma in the Early Phase of Acclimatization to Hypobaric Hypoxia[J]. Sci Rep, 2016, 6: 22589.

[15] Xia J, Sinelnikov IV, Han B, Wishart DS. MetaboAnalyst 3.0--making metabolomics more meaningful[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(W1): W251-W257.

[16] 包春辉,吴璐一,吴焕淦,等. 艾灸抑制肠腑病内脏痛的效应及机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(2): 419-422.

[17] 刘慧荣,谭琳莹,吴焕淦,等. 艾灸对溃疡性结肠炎肠纤维化大鼠结肠成纤维细胞增殖影响的研究[J]. 上海针灸杂志, 2008, 27(7): 42-45.

[18] 吴焕淦,张必萌,安广青. 隔药灸调节大鼠溃疡性结肠炎肠纤维化 TGF-β 及其受体的研究[J]. 江西中医学院学报, 2003, 15(1): 39-42.

[19] 刘朝,杨金生,吴远,等. 基于数据挖掘的针灸治疗溃疡性结肠炎的诊疗现状与特点[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(11): 3893-38977.

[20] 王喜军. 中药药效物质基础研究的系统方法学——中医方证代谢组学[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(1): 13-17.

[21] 高骏,刘旭光,颜贤忠,等. 代谢组学研究针灸关键问题的初步策略分析与探讨[J]. 针刺研究, 2011, 36(4): 296-301.

[22] Wang X, Sun H, Zhang A, et al. Potential role of metabolomics apporoaches in the area of traditional Chinese medicine: as pillars of the bridge between Chinese and Western medicine[J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 55(5): 859-868.

[23] Dou CZ, Feng H, Zheng X, et al. Thinking on Functional Mechanism of Acupuncture for Inflammatory Bowel Diseases Based on Metabolomics. J Acupunct Tuina Sci, 2014, 12(2): 73-79.

[24] 杨星月,马玉侠,杜冬青,等. 基于代谢组学的隔药灸脐法治疗原发性痛经的机理研究[J]. 上海针灸杂志, 2015, 34(8): 707-710.

[25] 孙平良,耿曙光,袁代解,等. 安肠汤对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜组织中内源性代谢物的影响[J]. 中医杂志, 2016, 57(19): 1678-1784.

[26] 王凤云,伍海涛,韩亮. 败酱草总皂苷对大鼠溃疡性结肠炎的治疗作用及代谢组学的初步研究[J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(2): 217-220.

[27] 吴巧凤,杨阳,赵纪岚,等. 基于代谢组学技术研究针刺经穴与非经穴治疗溃疡性结肠炎的脑代谢物质基础[J]. 北京中医药大学学报, 2014, 37(8): 572-577.

(2016 - 12 - 07 收稿 责任编辑:洪志强)