

基于代谢组学研究针灸调节炎症性肠病作用机制的思考

窦传宇¹, 冯辉², 郑肖³, 刘晓旭⁴, 朱希法³, 刘世敏⁴, 吴璐一⁴, 杨玲¹, 陆嫒¹, 刘慧荣¹

1 上海市针灸经络研究所, 上海 200030, 中国

2 上海光华中西医结合医院, 上海 200052, 中国

3 浙江省台州市中医院, 台州 318000, 中国

4 上海中医药大学, 上海 201203, 中国

【摘要】 针灸治疗炎症性肠病具有良好的临床疗效, 但其作用机制尚未得到系统阐释。代谢组学(metabolomics)是一门在新陈代谢的动态进程中系统研究代谢产物变化规律, 揭示机体生命活动代谢本质的科学。代谢组学这一具有整体性和动态性特点的研究方法, 与针灸的整体性调节效应相契合, 符合中医整体观和动态平衡观。近几年来代谢组学被广泛应用于炎症性肠病的临床和实验研究, 其潜在的应用价值得到研究者的一致认可。总结整理了针灸研究中代谢组学的应用现状, 对代谢组学用于针灸调控炎症性肠病效应机制的研究思路做了初步探讨。

【关键词】 炎症性肠病; 代谢组学; 针灸疗法; 针刺疗法; 灸法

炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)包括克隆恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 属难治性肠道疾病, 近年来运用中医针灸治疗本病取得了较好的临床疗效, 但其作用机制仍未得到系统地阐释。随着生命科学的不断发展, 人们关注的重点开始由最初的局部研究转向系统生物学研究, 一系列的“组学”研究应运而生。特别是代谢组学(metabonomics), 因其具有高通量、高灵敏度、高精确定性的优势, 能定性或定量检测人体小分子代谢产物的变化, 具有整体性和动态性^[1-2]。代谢组学这一研究方法与针灸的整体性调节效应相契合, 符合中医整体观和动态平衡观。这就为代谢组学用于中医针灸调控机制的研究奠定了良好的基础。

1 代谢组学的研究方法与应用

代谢组学的概念于 1999 年由 Nicholson JK 教授研究小组首次提出, 指生物体在生理病理刺激或遗传因素改变时, 在不同时间多方位定量检测其代谢变化的条件下, 通过测定整个机体的系统代谢图谱来探讨基因功能调控机制的学科^[3]。代谢组学是继基因组学(genomics)、蛋白质组学(proteomics)之后发展起来的研究生物系统的组学方法, 属于系统生物学的重要组成部分。

生物基因与蛋白质的表达紧密相关, 而代谢物则更多地反映了细胞与生物体所处的环境变化, 同时又与细胞和生物体本身的营养状态、服用药物以及其他外界因素的影响有关。代谢组学

通过采集各类代谢产物, 如尿液、血清、粪便提取物等, 也包括局部病理组织, 运用核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)、质谱(mass spectrum, MS)、色谱[高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC), 气相色谱(gas chromatography, GC)]及色谱质谱联用等技术, 定性或定量分析生物体系(细胞、组织或生物体)在给定时间和条件下的所有小分子代谢物质。其主要工作流程分为样品收集、数据检测、优化统计、结果验证四个部分, 对结果的数据处理一般采用多变量数据分析方法, 如主成分分析和偏最小二乘判别分析法。目前代谢组学在炎症性肠病、严重慢性腹泻症、肝性脑病、丙型肝炎、各类消化道恶性肿瘤中得到广泛的应用^[4-7]。

2 代谢组学在针灸研究中的应用现状

代谢组学可以从代谢物水平分析针灸的整体调节作用, 其在针灸调节机制的应用研究主要出现在近几年, 初步研究成果证实将代谢组学运用于针灸调节机制和疗效评价中的可行性, 其潜在的应用价值得到研究者的一致认可。

国内研究者运用代谢组学对功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)的初步研究发现, 针灸对血清大分子代谢产物影响明显, 可以显著改变 FD 患者血清亮氨酸/异亮氨酸、乳酸和葡萄糖水平, 这与西药伊托必利主要降低胆碱、亮氨酸/异亮氨酸水平的调节方式存在差异, 揭示针灸可能存在有别于西药的代谢调节机制^[8-10]。代

代谢组学也用于针灸改善快速老化小鼠的机理研究,发现电针刺激对 SAMP8 小鼠肾脏组织代谢谱的主要影响是升高饱和脂肪酸、甘油三酯,减少胆碱、磷脂酰胆碱和不饱和脂肪酸^[11-12]。有研究者运用代谢组学研究针灸治疗急性痛风性关节炎机制,发现针灸可以恢复急性痛风关节炎大鼠代谢物网络,从而起到治疗作用^[13]。针灸对心血管疾病的代谢产物如内皮素(endothelin, ET)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、血栓素 A₂(thromboxane A₂, TXA₂)、前列环素(prostacyclin, PGI₂)、白细胞介素(interleukin, IL)-1、IL-2、IL-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、心钠素(atrial natriuretic peptide, ANP)等都有广泛的调节,提示代谢组学在针灸治疗疾病中具有广泛的应用前景^[14]。

经穴特异性的研究是针灸现代研究的热点,基于核磁共振和模式识别技术的代谢组学技术为这一研究增加了新的视角。随机选取 10 名健康青年男性,分别针刺足三里、梁门、巨髎、阳陵泉、委中,检测受试者连续针刺 5 天后的尿液代谢产物,另选 10 例作为空白对照。针刺阳明经穴对机体尿液代谢物的影响基本一致,均可以升高尿液中马尿酸和氧化三甲胺的含量,降低甘氨酸含量。针刺阳明经穴与针刺阳陵泉对尿液代谢物的影响差别不大,但与针刺委中后的差别明显,针刺委中后尿液代谢物中肌酐明显升高。提示针刺阳明经穴对代谢产物的影响具一定的共性,但具体机制尚需进一步研究^[15]。

越来越多的学者认识到代谢组学在研究针灸整体调节作用机制中的优势,代谢组学动态性和整体性的研究特点可以和针灸作用规律很好的契合。但由于代谢产物受到多种因素的影响,针灸研究中应严格控制实验条件,规范所采集代谢产物的保存与处理,防止污染和保存时间过长对样本的损坏^[16-17]。

3 代谢组学在炎症性肠病中的应用现状

IBD 是一组病因尚不清楚的慢性非特异性肠道炎症性疾病,在北美和欧洲属于常见病。近 30 年来日本 IBD 发病率呈逐步增高的趋势,我国虽尚无流行病学资料,但近十余年来本病就诊人数亦逐渐增加^[18]。IBD 的病因并不明确,其发病与遗传、环境、饮食、免疫等因素密切相关^[4-7,19],其中受遗传、环境及免疫因素调节的肠道菌群引起的肠道粘膜免疫反应被认为是 IBD

的重要发病机理^[20-23]。目前西医治疗本病主要以诱导并维持临床缓解,防治并发症,改善患者生活质量为主。已有研究证实,中医尤其是针灸对本病的治疗具有优势^[24-26]。

迄今为止,对于 IBD 的研究不多,但从已有的研究结果可以看出高通量的代谢组学分析方法可以为 IBD 发病机制的研究提供新的见解和证据,为 IBD 的治疗提供新的方法。在对 IBD 的研究中,样品类型、研究方法之间的差异,以及缺乏统一的认证标准都会导致最终代谢产物的差异。因此需要进一步的研究来验证这些代谢物的差异和提高代谢物标记的精度。

3.1 临床研究

Balasubramanian K, et al^[27]采用氢质子磁共振波谱分析(¹H magnetic resonance spectroscopy, ¹H-MRS)对确诊为 IBD 的患者及健康人结肠黏膜组织提取液的研究发现,与健康人相比,活动期 UC 和 CD 患者氨基酸(异亮氨酸,亮氨酸,缬氨酸,丙氨酸,谷氨酸及谷氨酸盐),胆碱,甘油磷酸胆碱,肌醇,乳酸盐,琥珀酸盐浓度显著降低($P \leq 0.05$), α -葡萄糖浓度升高。缓解期 UC 和 CD 患者除乳酸盐,甘油磷酸胆碱及肌醇浓度低于健康人外,其余代谢产物浓度与健康对照组无差异。Bezabeh T, et al^[28]将 ¹H-MRS 应用于 UC 与 CD 的鉴别诊断,对 45 例 UC 和 31 例 CD 患者结肠黏膜代谢物谱的研究发现,MRS 对 UC 和 CD 的分类精度高达 98.6%,表明 MRS 可用于未定型结肠炎的精确诊断。除结肠黏膜外,UC 患者血清和血浆中甲醇、甘露糖、甲酸、3-甲基-2-氧代戊酸、氨基酸如异亮氨酸,以及尿液中甘露糖醇、尿囊素、木糖、肉碱都较正常人显著升高,三甲基甘氨酸、马尿酸盐则降低^[19]。运用正交信号交叉计算得到,UC 患者血清中脂蛋白(尤其是高密度脂蛋白)、胆汁素、乙酰糖蛋白、氨基酸等也与正常人存在差异^[20]。基于 NMR 数据的多元判别分析法分析 UC 患者大便提取物,牛磺酸和尸胺水平高于正常人,显示出肠道菌群构成和代谢物成分的相关性,对鉴别 UC 和正常对照具有较高灵敏性和特异性^[21]。

另有对活动期和缓解期的 UC 患者进行病理组织的代谢组学研究发现,活动期 UC 患者中抗氧化剂和各种氨基酸水平高于缓解期患者,但脂质、胆碱含量低于缓解期 UC 患者。然而,有 20%的缓解期 UC 患者代谢产物与活动期 UC 患者水平相当,提示代谢组学尚不足以对 UC 进行

分期诊断^[23], 尚需要寻找更具特异性和灵敏度的生物学标志物。

3.2 动物模型研究

动物模型角度研究 IBD 病理和疗效机制。Zhang XJ, et al^[29]采用超高效液相色谱与电喷雾电离耦合四级飞行时间质谱法分析 UC 模型大鼠, 分别从血浆和尿液中检测出 7 种和 5 种与肠道屏障功能、微生物群内稳态、免疫调节和炎症反应相关的代谢产物, 为 UC 的病理生理研究提供了新的方法和途径。Schicho R, et al^[30]则对 53 种血清代谢产物和 69 种尿液代谢产物做了更广泛的研究, 葡聚糖硫酸钠诱导的 UC 小鼠尿液中肌酸、肉碱、甲胺增加, 抗氧化代谢产物减少。而血清中酮体、次黄嘌呤和色氨酸含量增加, 葡萄糖和柠檬酸循环中间体减少。Martin FP, et al^[31]联合运用肠道组织病理分析、血浆代谢组学分析和血浆炎症标志物检测等方法, 发现 IL-10 对炎症性肠病病原学相关指标影响显著, 可以降低极低密度脂蛋白的水平, 增加低密度脂蛋白和多不饱和脂肪酸浓度。高水平的乳酸、丙酮酸、柠檬酸和低水平葡萄糖可以增加脂肪酸氧化和糖酵解, 而高水平的游离氨基酸显示肌肉通过分解蛋白质和氨基酸转化而产生能量。代谢组学可为评价 IBD 炎症水平提供一种非介入方法。同时, 运用多种现代科技检测手段联合运用可提供更全面的分析。Chen C, et al^[32]运用血清代谢组学, 研究 UC 的发病机理, 运用葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠血清中含有高水平的硬脂酰溶血卵磷脂和低水平的油酰溶血卵磷脂, 证实葡聚糖硫酸钠可抑制硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 在肝脏中的表达, 这些改变在 UC 症状之前发生, 与促炎症因子的表达关系密切。硬脂酰辅酶 A 去饱和酶 1 和脂类等可以作为干预治疗炎症性肠病的疗效指标。对小鼠血清代谢组学主成分分析研究疗效机制发现, 利福昔明可以激活人类孕烷 X 受体发挥炎症性肠病治疗作用, 但人类孕烷 X 受体小鼠和未激活小鼠血清代谢组学未见差异, 提示利福昔明作用的靶点局限于结肠部, 并非全身性的^[33]。代谢组学方法同样适用于 UC 相关的药代动力学研究, 通过分析广谱抗生素恩诺沙星对代谢产物的影响, 发现小鼠尿液和大便提取物中分别有 10 个和 8 个代谢产物的改变^[34]。有机阳离子转运蛋白(organic cation transporter, OCTN1)与炎症性肠病相关, 而 OCTN1 基因敲除后可影响抗氧化剂麦角硫菌氨基酸在体内的分布, 代谢

组学发现 OCTN1 基因敲除后小鼠肾脏和小肠中的麦角硫菌氨基酸要显著低于正常小鼠, 提示 OCTN1 在麦角硫菌氨基酸体内平衡过程中发挥关键作用^[35]。

国内将代谢组学应用于 IBD 的研究较少, 新疆医科大学课题组运用 Varian 谱仪对代谢产物研究发现, 与正常对照组大鼠相比, 模型组大鼠血浆中亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸等支链氨基酸、苯丙氨酸、丙酮酸、羟丁酸、肌酸等小分子化合物含量明显降低, 而 VLDL 含量升高; UC 模型组大鼠结肠组织中丙酸、乳酸、牛磺酸、乙酸、脯氨酸、丙氨酸等小分子代谢物含量明显增加。这些代谢产物的差异显著, 可作为 UC 的特异性标志物^[36-37]。

4 基于代谢组学技术研究针灸调控炎症性肠病的思考

本课题组采用针灸治疗 IBD 取得了较好的效果, 相应的机制研究发现针灸具有多水平、多靶点的调节作用, 并从形态学、基因水平、免疫炎症相关因子等角度作为评价指标, 对针灸起效机制进行了阐释^[38-41], 但尚未完全揭示针灸治疗 IBD 的疗效机制及整体性调节特点。

代谢组学技术在阐明中医整体观、辨证论治思维及中药疗效、安全性、作用机制等方面展示了优势, 已形成中药方剂研究的新思路^[42-43]。针灸治疗炎症性肠病具有优势, 但以往的研究多停留在对某些物质、某些部位或某些通路的研究层面, 未涉及到针灸治疗该病的整体性调节特点。将代谢组学应用于针灸治疗炎症性肠病的研究, 对针灸调节的代谢产物进行分析, 可以从更广泛的层面揭示针灸机制。尚需注意以下问题:

4.1 严格筛选针灸研究对象

针刺研究中对炎症性肠病病人的选取一定要严格, 纳入受试者时选取同一性别和特定年龄层次的受试对象, 以减少性别和年龄因素造成的代谢物谱的差异。在实验条件允许时选择同一种族, 同一地区的炎症性肠病患者, 有证据表明代谢产物可能与基因、环境、文化等因素相关。此外, 需设立严格的排除标准, 排除代谢性疾病如甲状腺疾病、高脂血症、糖尿病和内分泌疾病等对机体生化代谢的影响。检测前两周之内有感冒发热史、服药史、饮酒史的病人也应予以排除。对实验动物的选取应以品种、性别相同, 周龄、体重相近的动物为标准, 以减小个体间的差异。

4.2 控制炎症性肠病患者的饮食、运动、昼夜节律

炎症性肠病患者在采集血液或尿液之前 24 小时内的饮食尤其需要严格的控制。如取样前 24 小时必须禁烟酒, 禁饮果汁, 禁食含有奶酪和防腐剂的食物, 以及咖啡、茶、巧克力、可乐等含有咖啡因的食物或饮料。患者平时的饮食应当避免暴饮暴食和过分辛辣的食物。另外患者平素和采样前 24 小时的饮食种类和数量应当予以记录, 以便进行回顾性的分析, 排除饮食因素的干扰。运动、昼夜节律等也会对代谢组学的结果产生差异, 因此要求纳入针灸研究的炎症性肠病患者取样前 72 小时避免游泳、跑步等剧烈的体育运动, 并且在研究过程中尽量保持昼夜节律的规律性和一致性, 避免熬夜、晚起等不规则的昼夜节律^[44-45]。实验动物可以采取饲养室光照 12 小时, 黑暗 12 小时交替的方法统一节律。

4.3 阐释针灸效应机制

在此基础上, 针对代谢产物的特异性, 建立炎症性肠病生物标本及信息数据库, 分析针灸干预过程中不同病情分期、不同中医证型炎症性肠病的结肠黏膜组织、血液、尿液代谢物谱的表达变化, 寻找不同病情分期、不同中医证型的炎症性肠病相关代谢物谱或特异性生物标记物, 以利于更好地揭示炎症性肠病病变过程及其异常代谢途径。代谢产物多是由基因编码的蛋白质酶解产生, 当基因突变时, 编码产生的蛋白质的性状及酶的活性也会发生改变, 从而影响代谢产物的特性, 另外一些因素如生物体摄入的食物与肠道菌群等也可以影响到最终代谢产物的类型。通过代谢组学分析, 有望从代谢产物角度对 IBD 的致病因素及发生发展机制做深入研究, 揭示针灸干预炎症性肠病的整体调节机制。

代谢组学还有利于突出针灸疗法的优势, 通过分析不同腧穴配伍方法对炎症性肠病患者及模型动物结肠黏膜组织、血液、尿液代谢物谱表达的影响, 有利于筛选出优效的腧穴配伍, 提高针灸疗效。在此基础上, 比较针灸对不同病情分期炎症性肠病患者临床症状和结肠黏膜组织病理学的改善, 以及对血液、尿液代谢物谱或特异性生物标记物表达的整体性调控效应的影响, 揭示针灸对炎症性肠病代谢组学产生协同效应的科学内涵。

运用现代科技手段诠释传统医学一直是我们面临的挑战, 将代谢组学技术引入 IBD 的针

灸诊疗机制研究, 有利于突出针灸的优势, 使祖国医学得到更好的推广和应用。

参考文献

- [1] Barton RH. A decade of advances in metabonomics. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2011, 7(2): 129-136.
- [2] Nicholson JK, Lindon JC. Systems biology: metabonomics. *Nature*, 2008, 455(7216): 1054-1056.
- [3] Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [4] Patel NR, McPhail MJ, Shariff MI, Keun HC, Taylor-Robinson SD. Biofluid metabonomics using ¹H NMR spectroscopy: the road to biomarker discovery in gastroenterology and hepatology. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012, 6(2), 239-251.
- [5] Bezabeh T, Somorjai RL, Smith IC. MR metabolomics of fecal extracts: applications in the study of bowel diseases. *Magn Reson Chem*, 2009, 47(suppl 1): S54-61.
- [6] Lin HM, Helsby NA, Rowan DD, Ferguson LR. Using metabolomic analysis to understand inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(4): 1021-1029.
- [7] Haller D. Nutrigenomics and IBD: the intestinal microbiota at the cross-road between inflammation and metabolism. *J Clin Gastroenterol*, 2010, 44(suppl 1): S6-9.
- [8] Wu QF, Zhang Q, Sun B, Yan XZ, Tang Y, Qiao XL, Chen Q, Yu SG, Liang FR. ¹H NMR-based metabonomic study on the metabolic changes in the plasma of patients with functional dyspepsia and the effect of acupuncture. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 51(3): 698-704.
- [9] Wu QF, Zhou SY, Liu J, Yan XZ, Yu SG, Liang FR. Metabonomic based comparison study on functional dyspepsia treated with electroacupuncture and Itopride. *Chengdu Zhongyiyao Daxue Xuebao*, 2010, 33(1): 1-5.
- [10] Wu QF, Mao S, Cai W, Yan XZ, Zhao JL, Yu SG, Tang Y. Effects of electroacupuncture of "Weishu" (BL 21) and "Zhongwan" (CV 12) on serum large molecular metabolites in functional dyspepsia rats. *Zhenci Yanjiu*, 2010, 35(4): 287-292.
- [11] Tang Y, Guo LL, Zhang Q, Wu QF, Yin HY, Zeng F, Lu SF, Yu SG, Yan XZ. 快速老化小鼠肾脏组织 ¹H-NMR 谱图变化及电针对其的影响. *Chengdu Zhongyiyao Daxue Xuebao*, 2009, 32(2): 1-4.
- [12] Wu QF, Guo LL, Yu SG, Zhang Q, Lu SF, Zeng F, Yin HY, Tang Y, Yan XZ. A ¹H NMR-based metabonomic study on the SAMP8 and SAMR1 mice and the effect of electro-acupuncture. *Exp Gerontol*, 2011, 46(10): 787-793.
- [13] Wen SL, Liu YJ, Yin HL, Zhang L, Xiao J, Zhu HY, Xue JT, Ye LM. Effect of acupuncture on rats with acute gouty arthritis inflammation: a metabonomic method for profiling of both urine and plasma metabolic perturbation. *Am J Chin Med*, 2011, 39(2): 287-300.

- [14] Guo DJ, Zhang M. 针灸治疗心血管疾病中关于代谢组学的研究概况. *Hebei Zhongyi*, 2008, 30(10): 1115-1116.
- [15] Wu QF, Xu SZ, Yu SG, Yan XZ, Tang Y, Liu J, Mao S, Zhou SY, Liang FR. 基于 ^1H NMR 代谢组学的阳明经穴特异性研究. *Shizhen Guoyi Guoyao*, 2010, 21(10): 2674-2676.
- [16] Gao J, Liu XG, Yan XZ, Yu SG, Wu QF, Du HB, Liang FR. Primary analysis on the methodology and strategies for studying mechanisms of acu-moxibustion by using metabonomics. *Zhenci Yanjiu*, 2011, 36(4): 296-301.
- [17] Wang JH, Du XZ, Fang XL, Yan XK, Qin XG, Zhao BY. 代谢组学技术在针灸研究中的应用探讨. *Gansu Zhongyi Xueyuan Xuebao*, 2012, 29(1): 18-20.
- [18] 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). *胃肠病学*, 2012, 17(12): 763-781.
- [19] Schicho R, Shaykhutdinov R, Ngo J, Nazyrova A, Schneider C, Panaccione R, Kaplan GG, Vogel HJ, Storr M. Quantitative metabolomic profiling of serum, plasma, and urine by ^1H NMR spectroscopy discriminates between patients with inflammatory bowel disease and healthy individuals. *J Proteome Res*, 2012, 11(6): 3344-3357.
- [20] Williams HR, Willsmore JD, Cox IJ, Walker DG, Cobbold JF, Taylor-Robinson SD, Orchard TR. Serum metabolic profiling in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(8): 2157-2165.
- [21] Le Gall G, Noor SO, Ridgway K, Scovell L, Jamieson C, Johnson IT, Colquhoun IJ, Kemsley EK, Narbad A. Metabolomics of fecal extracts detects altered metabolic activity of gut microbiota in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome. *J Proteome Res*, 2011, 10(9): 4208-4218.
- [22] Ooi M, Nishiumi S, Yoshie T, Shiomi Y, Kohashi M, Fukunaga K, Nakamura S, Matsumoto T, Hatano N, Shinohara M, Irino Y, Takenawa T, Azuma T, Yoshida M. GC/MS-based profiling of amino acids and TCA cycle-related molecules in ulcerative colitis. *Inflamm Res*, 2011, 60(9): 831-840.
- [23] Bjerrum JT, Nielsen OH, Hao F, Tang H, Nicholson JK, Wang Y, Olsen J. Metabonomics in ulcerative colitis: diagnostics, biomarker identification, and insight into the pathophysiology. *J Proteome Res*, 2010, 9(2): 954-962.
- [24] Kim SY, Chae Y, Lee SM, Lee H, Park HJ. The effectiveness of moxibustion: an overview during 10 years. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011: 306515.
- [25] Joos S, Wildau N, Kohnen R, Szecsenyi J, Schuppan D, Willich SN, Hahn EG, Brinkhaus B. Acupuncture and moxibustion in the treatment of ulcerative colitis: a randomized controlled study. *Scand J Gastroenterol*, 2006, 41(9): 1056-1063.
- [26] Wang XM, Lu Y, Wu LY, Yu SG, Zhao BX, Hu HY, Wu HG, Bao CH, Liu HR, Wang JH, Yao Y, Hua XG, Guo HY, Shen LR. Moxibustion inhibits interleukin-12 and tumor necrosis factor alpha and modulates intestinal flora in rat with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(46): 6826-6835.
- [27] Balasubramanian K, Kumar S, Singh RR, Sharma U, Ahuja V, Makharia GK, Jagannathan NR. Metabolism of the colonic mucosa in patients with inflammatory bowel diseases: an in vitro proton magnetic resonance spectroscopy study. *Magn Reson Imaging*, 2009, 27(1): 79-86.
- [28] Bezabeh T, Somorjai RL, Smith IC, Nikulin AE, Dolenko B, Bernstein CN. The use of ^1H magnetic resonance spectroscopy in inflammatory bowel diseases: distinguishing ulcerative colitis from Crohn's disease. *AM J GASTROENTEROL*, 2001, 96(2): 442-448.
- [29] Zhang XJ, Choi FF, Zhou Y, Leung FP, Tan S, Lin SH, Xu HX, Jia W, Sung JJ, Cai ZW, Bian ZX. Metabolite profiling of plasma and urine from rats with TNBS-induced acute colitis using UPLC-ESI-QTOF-MS-based metabonomics: a pilot study. *FEBS J*, 2012, 279(13): 2322-2338.
- [30] Schicho R, Nazyrova A, Shaykhutdinov R, Duggan G, Vogel HJ, Storr M. Quantitative metabolomic profiling of serum and urine in DSS-induced ulcerative colitis of mice by ^1H NMR spectroscopy. *J Proteome Res*, 2010, 9(12): 6265-6273.
- [31] Martin FP, Rezzi S, Philippe D, Tornier L, Messlik A, Hölzlwimmer G, Baur P, Quintanilla-Fend L, Loh G, Blaut M, Blum S, Kochhar S, Haller D. Metabolic assessment of gradual development of moderate experimental colitis in IL-10 deficient mice. *J Proteome Res*, 2009, 8(5): 2376-2387.
- [32] Chen C, Shah YM, Morimura K, Krausz KW, Miyazaki M, Richardson TA, Morgan ET, Ntambi JM, Idle JR, Gonzalez FJ. Metabolomics reveals that hepatic stearyl-CoA desaturase 1 downregulation exacerbates inflammation and acute colitis. *Cell Metab*, 2008, 7(2): 135-147.
- [33] Cheng J, Shah YM, Ma XC, Pang XY, Tanaka T, Kodama T, Krausz KW, Gonzalez FJ. Therapeutic role of Rifaximin in inflammatory bowel disease: clinical implication of human pregnane X receptor activation. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 335(1): 32-41.
- [34] Romick-Rosendale LE, Goodpaster AM, Hanwright PJ, Patel NB, Wheeler ET, Chona DL, Kennedy MA. NMR-based metabonomics analysis of mouse urine and fecal extracts following oral treatment with the broad-spectrum antibiotic enrofloxacin (Baytril). *Magn Reson Chem*, 2009, 47(suppl 1): S36-46.
- [35] Kato Y, Kubo Y, Iwata D, Kato S, Sudo T, Sugiyama T, Kagaya T, Wakayama T, Hirayama A, Sugimoto M, Sugihara K, Kaneko S, Soga T, Asano M, Tomita M, Matsui T, Wada M, Tsuji A. Gene Knockout and Metabolome Analysis of Carnitine/Organic Cation Transporter OCTN1. *Pharm Res*, 2010, 27(5): 832-840.
- [36] Nurbaiya. Ubuli, Kurexi. Yunusi, Mainaitikasimu. Ubulaishan, Lian JJ, Hamulati. Ubur. The metabonomics research of the ulcerative colitis rat. *Xinjiang Yike Daxue Xuebao*, 2010, 33(6): 593-596.
- [37] Yasin. Mijiti, Adiljan. Ablimit, Kurexi Yumusi, Batur, Maimaitiming. Study of metabonomics on the tissue in ulcerative colitis rat model. *Xinjiang Yike Daxue Xuebao*, 2011, 34(12): 1350-1354.
- [38] Shi Y, Zhou EH, Wu HG, Zhou CL, Wang QY, Qi L. Moxibustion treatment restoring the intestinal epithelium barrier in rats with Crohn's disease by down-regulating tumor necrosis factor alpha, tumor necrosis factor receptor 1, and tumor necrosis factor receptor 2. *Chin J Integr Med*, 2011, 17(3): 212-217.
- [39] Bao CH, Wu LY, Wu HG, Shi Y, Liu HY, Zhang R,

- Yu LQ, Wang JH. Moxibustion inhibits apoptosis and tumor necrosis factor- α /tumor necrosis factor receptor 1 in the colonic epithelium of Crohn's disease model rats. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(9): 2286-2295.
- [40] Tan LY, Liu HR, Wang J, Qin XD, Huang WY, Zhao TP, Wu HG. Effect of moxibustion on DFB collagen synthesis in ulcerative colitis fibrosis rats. *Shanghai Zhenjiu Zazhi*, 2009, 28(2): 63-66.
- [41] Zhou EH, Liu HR, Wu HG, Shi Z, Zhang W, Zhu Y, Shi DR, Zhou S. Down-regulation of protein and mRNA expression of IL-8 and ICAM-1 in colon tissue of ulcerative colitis patients by partition-herb moxibustion. *Dig Dis Sci*, 2009, 54(10): 2198-2206.
- [42] Liu J, Wan L, Huang CB, Wang Y, Cao YX, Liu L, Cheng YY, feng YX, Sun Y, Qi YJ, Wang F, Zhang XJ, Zheng L. Application of metabolomics experimental technology in the scientific research of traditional Chinese medicine. *Shijie Zhongxiyi Jiehe Zazhi*, 2013, 8(2): 190-193.
- [43] Wu J, Zhou HG. Metabolomics: the new method of proprietary Chinese medicine research. *Liaoning Zhongyi Zazhi*, 2013, 40(2): 370-373.
- [44] Pohjanen E, Thysell E, Jonsson P, Eklund C, Silfver A, Carlsson IB, Lundgren K, Moritz T, Svensson MB, Antti H. A multivariate screening strategy for investigating metabolic effects of strenuous physical exercise in human serum. *J Proteome Res*, 2007, 6(6): 2113-2120 .
- [45] Walsh MC, Brennan L, Malthouse JP, Roche HM, Gibney MJ. Effect of acute dietary standardization on the urinary, plasma, and salivary metabolomic profiles of healthy humans. *Am J Clin Nutr*, 2006, 84(3): 531-539 .

作者简介: 窦传宇, 博士, 研究实习员

通信作者: 吴璐一, 在职博士生, 研究实习员。

E-mail: luyitcm@163.com