

基于白睛无影成像及代谢组学技术研究慢性乙型肝炎合并糖代谢紊乱患者湿热证候的分子表征网络

何才英¹, 周航¹, 迟妍琦², 李白雪¹, 黄亮², 陈竹², 刘大风^{2*}, 王东^{1*}

(1. 成都中医药大学基础医学院, 成都 611137; 2. 成都市公共卫生临床医疗中心, 成都 610061)

[摘要] 目的:通过整合白睛无影成像技术与代谢组学技术,对慢性乙型肝炎(CHB)合并糖代谢紊乱患者(GMD),以及湿热型CHB合并GMD患者的目络特征和差异代谢物进行特征分析和关联性分析。方法:按照纳入排除标准从成都市公共卫生临床医疗中心肝病科、内分泌科门诊部招募患者共313名,分为CHB组、CHB合并GMD组(湿热证组及非湿热证组);所有患者均接受白睛无影成像智能分析系统对眼象进行高清采集、特征提取,分析各组的目络特征和形态特征积分计数差异;采用数字抽样法,随机收集每组24例患者,另招募20例健康志愿者,采集外周血清进行非靶向代谢组学分析,并对差异代谢物进行鉴定、统计分析、潜在标志物分析及通路富集;采用Spearman法对差异目络特征及差异代谢物进行相关性分析并构建关联网络。结果:与CHB组比较,CHB合并GMD患者的“丘”“血脉”与“粉黯色”等目络特征积分明显改变($P<0.05$)。结合健康组比较,鉴定出N-乙酰葡萄糖胺、乙酰高丝氨酸、肌醇等代谢物[曲线下面积(AUC) >0.7]作为疾病潜在标志物。与CHB合并GMD非湿热证组比较,湿热证患者的“斑”“黄色”“脾”与“胆”的特征积分明显改变($P<0.05$)。结合健康组对比,鉴定O²-4a-环四氢生物蝶呤、可可碱、黄尿酸、L-谷氨酸5-磷酸等代谢物[曲线下面积(AUC) >0.7]作为湿热证型的潜在标志物。Spearman相关性分析结果显示,白睛目络差异特征与代谢物呈弱线性相关或中等线性相关,并通过构建“病-证”的目诊-代谢物网络,发现“黄尿酸-胆”和“可可碱-斑/黄色”可作为CHB合并GMD湿热证的特异性分子-表型关联标志群。结论:CHB合并GMD患者在疾病及湿热证均有其对应的差异目诊特征及血清代谢物,这些客观指标可指导临床辨证及用药。由眼象特征群和潜在代谢标志物群为基础的宏微结合,为该病的中西医结合诊疗模式提供创新思路。

[关键词] 慢乙肝合并糖代谢紊乱; 湿热证; 白睛无影成像技术; 代谢组学

[中图分类号] R242;R512.6+2;R256.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)14-0271-15

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260396

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20251111.1547.006>

[网络出版日期] 2025-11-12 09:44:58 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Molecular Characterization Network of Dampness-heat Syndrome in Patients with Chronic Hepatitis B Complicated by Glucose Metabolism Disorder Based on Shadowless Scleral Imaging and Metabolomics Technology

HE Caiying¹, ZHOU Hang¹, CHI Yanqi², LI Baixue¹, HUANG Liang²,
CHEN Zhu², LIU Dafeng^{2*}, WANG Dong^{1*}

(1. School of Basic Medicinal Sciences, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 2. Public Health Clinical Center of Chengdu, Chengdu 610061, China)

[Abstract] **Objective:** This paper aims to conduct the feature analysis and correlation analysis on the ocular collateral features and differential metabolites in patients with chronic hepatitis B (CHB) complicated by glucose metabolism disorder

[收稿日期] 2025-08-12

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82374314);四川省中医药管理局科学技术研究专项(2023MS604);成都中医药大学临床-基础联合研究专项(LH202402030)

[第一作者] 何才英, 硕士, 从事中医药防治代谢性疾病基础研究, E-mail: h957279949@163.com

[通信作者] * 刘大风, 博士, 主任医师, 从事感染性、内分泌相关疾病研究, E-mail: ldf312@126.com;

* 王东, 博士, 教授, 从事中医药代谢性防治机制研究, E-mail: wangdong@cducm.edu.cn

(GMD), particularly those with the damp-heat syndrome type, by integrating shadowless scleral imaging and metabolomics technologies. **Methods:** A total of 313 patients were recruited from the Hepatology and Endocrinology Outpatient Departments of Public Health Clinical Center of Chengdu according to the inclusion/exclusion criteria, and they were divided into a CHB group and a CHB complicated by GMD groups (damp-heat syndrome group and non-damp-heat syndrome group). All patients underwent high-definition ocular image acquisition and feature extraction using an intelligent analysis system for shadowless scleral imaging to analyze the differences in the counting of morphological feature scores of ocular collaterals among groups. By using a digital sampling method, 24 patients from each group were randomly selected, along with 20 healthy volunteers, for untargeted metabolomic analysis of peripheral serum. Differential metabolites were identified, statistically analyzed, and subjected to potential biomarker analysis and pathway enrichment. Spearman method was performed to conduct the correlation analysis on the differential ocular collateral features and differential metabolites, followed by correlation network construction. **Results:** Compared with those in the CHB group, patients with CHB complicated by GMD showed significant changes in ocular collateral feature scores such as "hillock", "blood vessels", and "pale dusky coloration" ($P < 0.05$). In comparison with those in the healthy group, metabolites including *N*-acetylglucosamine, acetylhomoserine, and myo-inositol ($AUC > 0.7$) were identified as potential biomarkers for the disease. Compared with those in the CHB complicated by GMD group with non-damp-heat syndrome, patients with damp-heat syndrome exhibited significant changes in feature scores of "plaques", "yellow coloration", "spleen", and "gallbladder" ($P < 0.05$). In comparison with those in the healthy group, metabolites such as $O^{2'}$ -4a-cyclic tetrahydrobiopterin, theobromine, xanthurenic acid, and *L*-glutamic acid 5-phosphate ($AUC > 0.7$) were identified as potential biomarkers for the damp-heat syndrome type. The Spearman correlation analysis reveals weak to moderate linear correlations between the differential scleral collateral features and metabolites. By constructing a "disease-syndrome" network of ocular diagnosis and metabolites, "xanthurenic acid-gallbladder" and "theobromine-plaque/yellow coloration" were identified as specific molecular-phenotypic correlated biomarker clusters for CHB complicated by GMD with dampness-heat syndrome. **Conclusion:** Patients with CHB complicated by GMD demonstrate differential ocular diagnostic features and serum metabolites corresponding to disease states and dampness-heat syndrome. These objective biomarkers can guide both clinical syndrome differentiation and medication. The macro-micro integration based on ocular feature clusters and potential metabolic biomarkers offers an innovative approach to a combined traditional Chinese and Western medicine diagnosis and treatment model for this disease.

[Keywords] chronic hepatitis B complicated by glucose metabolism disorder; damp-heat syndrome; shadowless scleral imaging technology; metabolomics

乙型肝炎病毒(HBV)感染是我国重大公共卫生挑战。慢性乙型肝炎(CHB)患者常并发糖代谢异常(GMD),其糖尿病(DM)患病风险显著高于普通人群^[1-2]。研究表明,慢性肝病患者糖耐量减退比例高达50%~80%,其中15%~30%最终进展为DM^[3]。中医理论深刻揭示了“湿热”病机在CHB及其继发糖代谢紊乱乃至DM全程的核心地位^[4-6]。其本质在于湿浊与热邪相互胶结,壅滞肝胆导致乙肝迁延,肝胆疏泄失常致脾胃运化失常,使“脾不散精”,即水谷精微输布失常,促使血糖代谢紊乱。本研究聚焦四川盆地HBV合并GMD患者群体。该地区亚热带湿润气候“雾多湿重、暑热缠绵”,加之居民嗜食辛辣厚味,劳作汗出腠理开泄,易受外湿外热侵袭。其“外湿引动内湿,外热助长内热”的独特地域环境与生活方式,使得“湿热内蕴”成为该地区HBV相关慢性肝病及并发GMD/DM的关键病理基础和核心证候特征。既往研究发现肝病基础上,湿热引发的炎症反应会进一步加重肝脏损伤,促进肝纤维、肝硬化^[7],为深入解析HBV相关GMD的中医湿热证本质提供了独特且重要的切入点,但缺乏宏微结合的客观化标准,基于此对CHB合并GMD湿

热证进行深入研究。乙肝合并糖代谢紊乱中医“宏微”研究体系见图1。

中医辨证论治以方剂为载体,针对该病临床常采用清热除湿为主的基本治法,茵陈蒿汤、龙胆泻肝汤等经典方剂及其加减应用广泛。然而,当前辨证施治仍面临挑战:①宏观辨证主观性强导致方剂选择偏差;②个体差异影响方剂疗效稳定性;③方剂作用靶点与调控网络不清制约精准优化。深入解析湿热证候的微观物质基础与分子网络调控规律,不仅关乎证候本质的现代科学阐释,更具有重要的方剂学研究价值。为此本研究创新性融合宏微两种视角:宏观层面上基于中医“五轮八廓”理论,采用荣获2024—2025年度“黄家驷生物医学工程奖”技术发明一等奖的白睛无影成像技术,利用先进的人工智能(AI)驱动特征提取网络,深度解析巩膜(白睛)的色泽、纹理、脉络形态等深层特征^[8-9];其中巩膜变化被视为反映肝胆功能、气血运行及体内湿热状态的重要“窗口”,同时也构成了连接宏观临床表现与微观分子变化的“桥梁性”生物表型。微观层面上应用代谢组学技术,通过高通量分析血清中的小分子代谢物谱,能够精准捕捉病理过程导

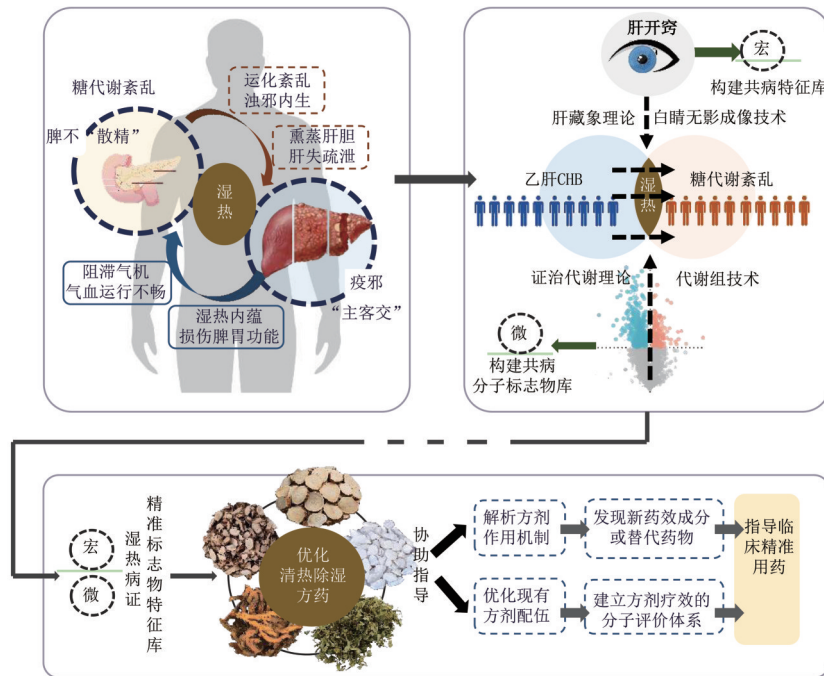


图1 乙肝合并糖代谢紊乱中医“宏微”研究体系

Fig. 1 Traditional Chinese medicine (TCM) "macro-micro" research system for hepatitis B complicated with glucose metabolism disorder

致的代谢异常。通过整合眼象与代谢组的方法,构建眼象-代谢关联网络图,从系统生物学角度构建CHB合并GMD湿热证的特征性分子网络,能够揭示证候形成的核心生物学过程和关键调控靶点,同时为理解清热利湿类方剂的作用机制提供分子层面的直接证据和解释,也为临床精准筛选、优化配伍现有方剂(如基于关键通路或靶点调整君臣佐使药味及剂量)提供科学依据;以期在此基础上发现新的干预靶点、研发更具针对性的创新方药及建立基于分子特征的方剂疗效评价新指标,从而实现宏观辨证与微观辨病的有机结合,为中西医结合诊疗模式提供创新思路。

表1 CHB合并GMD组、CHB组患者一般资料比较

Table 1 General data of CHB combined with GMD group compared with CHB group

组别	例数	年龄[M(P ₂₅ , P ₇₅)]/岁	性别/例(%)		BMI($\bar{x} \pm s$)/kg·m ⁻²
			男	女	
CHB组	147	52.00(49.00, 57.00)	106(72.1)	41(27.9)	23.98±3.14
CHB合并GMD组	166	55.00(49.50, 60.00)	123(74.1)	43(25.9)	25.08±3.18
T/Z/χ ²		-1.929	0.157		-2.822
P		0.054	0.692		0.005

1.2 伦理及注册 所有参与者均已获得知情同意,且本研究经成都市公共卫生临床医疗中心伦理委员会批准(伦理号YJ-K2024-50-01),以及国家传统

1 资料

1.1 临床资料 2024年6月至2024年12月在成都市公共卫生临床医疗中心肝病科、内分泌科门诊部就诊的患者共313例,其中CHB患者147例、CHB合并GMD患者166例(湿热证患者79例,非湿热证患者87例),获取以上患者的一般资料并进行眼底白睛特征提取。各组患者的性别、年龄比较差异均无统计学意义,资料具有可比性。其中,与CHB组比较,CHB合并GMD患者的体质量指数(BMI)显著升高(P<0.01)。见表1和表2。采用数字随机法随机抽样,选取CHB组24例,CHB合并GMD组48例(湿热证24例,非湿热证24例),另招募健康志愿者20例,采集血清进行代谢物组学检测。

医学临床注册平台批准(ITMCTR2025000856)。

1.3 诊断标准

1.3.1 西医诊断标准 西医诊断标准:①CHB诊断

表2 CHB合并GMD组湿热组、非湿热组患者一般资料比较

Table 2 General data of CHB combined with GMD group damp-heat group compared with non-damp-heat group

组别	例数	年龄[M(P ₂₅ , P ₇₅)]/岁	性别/例(%)		BMI($\bar{x}\pm s$)/kg·m ⁻²
			男	女	
CHB合并GMD湿热组	79	54.00(50.00, 60.00)	63(79.7)	16(20.3)	25.27±3.28
CHB合并GMD非湿热组	87	55.00(49.00, 60.00)	60(69.0)	27(31.0)	24.90±3.10
T/Z/ χ^2		-0.377	2.507		0.700
P		0.706	0.113		0.484

标准参照中华医学会肝病学会和感染病学分会发布的《慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)》^[4],结合HBV病毒学检测、肝损伤指标及纤维化指标诊断;
②糖代谢紊乱诊断标准:参照中华医学会糖尿病学分会发布的《中国2型糖尿病防治指南(2020年版)》^[10],空腹血糖 ≥ 6.1 mmol·L⁻¹或糖负荷后2 h血糖 ≥ 7.8 mmol·L⁻¹。

1.3.2 中医证型辨证标准 湿热证与非湿热证诊断标准通过收集患者的中医四诊信息,参照中华中医药学会肝胆病专业委员会发布的《慢性乙型肝炎中医诊疗指南(2018年版)》《中药新药临床研究指导原则(试行)》^[11]中的湿热辨证标准:主证为胁肋胀痛,舌苔黄腻;次证为纳呆呕恶,厌油腻,口黏口苦,大便黏滞臭,尿黄,或身目发黄,脉弦数或弦滑数。经2位主治中医师严格辨证后,辨证为湿热证或者非湿热证。

1.4 纳入标准 ①CHB组患者需符合《慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)》中CHB诊断标准;CHB合并GMD组患者需同时符合《慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)》与《中国2型糖尿病防治指南(2020年版)》诊断标准中CHB、GMD诊断标准(糖代谢异常:空腹血糖 ≥ 6.1 mmol·L⁻¹或糖负荷后2 h血糖 ≥ 7.8 mmol·L⁻¹);②符合湿热证与非湿热证诊断标准;③年龄18~75岁,男女不限;④自愿参与本研究并签署知情同意书。

1.5 排除标准 ①DM史早于CHB史者;②既往存在DM病史和家族史,有甲状腺、垂体、胰腺、肾上腺疾病,同时排除抗抑郁药、避孕药、降压药、利尿剂、糖皮质激素等引起的GMD;③有甲型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、艾滋病等其他传染病史者;④妊娠和哺乳期妇女、先天或后天性免疫缺陷者、精神病患者及不愿意合作者;⑤参加其他可能影响本研究结果的临床研究者。

2 材料与与方法

2.1 研究流程 研究流程见图2。

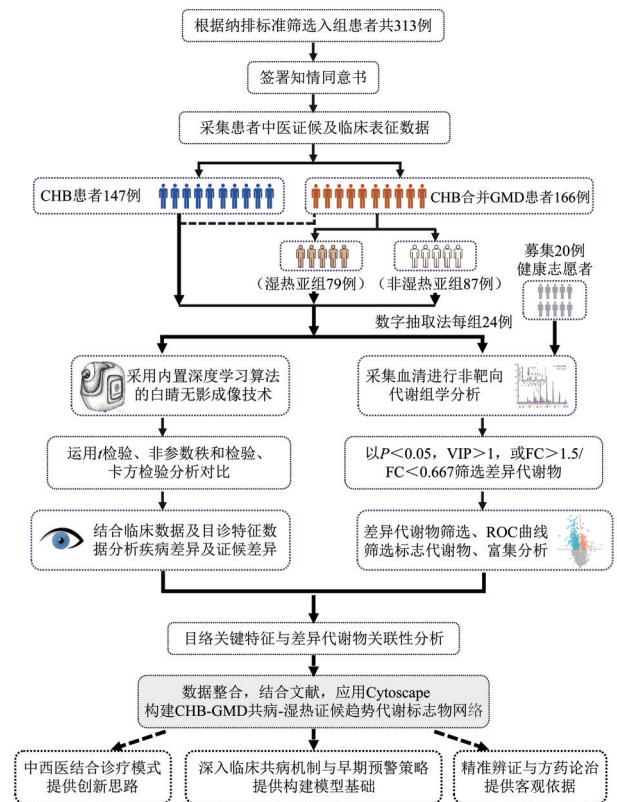


图2 研究流程

Fig. 2 Research flow chart

2.2 临床资料收集

2.2.1 一般资料 收集患者基本信息,包括姓名、性别、年龄、身高、体质量、BMI、DM病程、吸烟史、饮酒史等。

2.2.2 中医四诊信息 根据《中医临床诊疗术语》《实用中医诊断学》等制定《慢性乙肝合并糖代谢紊乱患者CRF表》,收集患者舌诊、脉诊、目诊及症状体征。

2.2.3 实验室及影像学检查 包括乙肝表面抗原(HBsAg)、乙肝表面抗体(HBSAb)、乙肝e抗原(HbeAg)、乙肝e抗体(HBeAb)、乙肝核心抗体(HBcAb)及乙肝病毒DNA(HBV-DNA)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ 谷氨酰转移酶(GGT)、总蛋白

(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLO)、总胆红素(TBil)、直接胆红素(DBIL)、间接胆红素(IBIL)、尿素(Urea)、肌酐(CR)、尿酸(UA)、葡萄糖(GLU)、乳酸脱氢酶(LDH)、羟基丁酸脱氢酶(HBDH)、甲胎蛋白(AFP)、肝硬度测定值(LSM)、控制衰减指数(CAP)、血清总胆固醇(CHOL)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C);腹部B超观察门静脉内径、脾脏厚度、脾脏长径等指标,以上各项指标的检测单位为成都市公共卫生临床医疗中心。

2.3 白睛无影成像健康智能分析系统检测

2.3.1 操作方法 利用MyEye-10型目诊仪(成都博奥晶芯生物科技有限公司)采集所有受试者的眼象资料,并实时导入MyEyeD-10SysDep软件进行数字化建模,从而实现智能辨析。受试者轻柔分开上下眼睑,眼球分别向上、下、左、右4个方向转动,充分暴露所需要的观察范围,采集左眼及右眼向上、下、左、右4个方向转动眼球所露出的眼部图像,按照左眼正视、左视、右视、上视、下视,右眼正视、左视、右视、上视、下视的顺序选取清晰的图像^[12],自动传入电脑并保存图像,进行数字化分析。

2.3.2 眼象特征提取 识别巩膜图像中的9类标准颜色(红、粉、淡、黯、浅、黄、紫、青、灰),通过颜色空间转换完成数字化标定;其次检测6类形态特征^[13],包括血脉(分布于穹窿部的细小络脉)、丘(直径超0.2 cm的不规则不透明的凸起物)、斑(非凸起性的圆形不规则斑片)、雾漫(不高于白睛表面,自穹窿部发出的雾状弥散样结构)、月晕(不高于白睛,同时具有“点”与“斑”的特征);同时依据巩膜分区定位模型,自动标注特征所在解剖区位,目络病变分布区域参照王今觉教授提出的“望目辨证诊断学”^[14],自动识别各特征出现的频次并分别赋分,出现一次特征赋1分;最终将颜色参数、形态分类、空间坐标等数据整合为结构化表格。系统通过图像分割算法实现特征提取,从而满足目诊数字化分析需求。见图3。

2.3.3 白睛无影成像技术原理 该技术主要分为图像采集、预处理(图像增强、分割与AI注意力调整)与深度学习3个关键步骤^[15]。首先,通过专用设备采集被检查者的多角度眼部图像,确保白睛区域清晰且无阴影干扰。随后,对合格的原始图像进行白平衡处理,并利用改进的U-Net模型[如嵌入卷积块注意力模块(CBAM)的U-Net]分割眼表、虹膜和巩膜区域,该架构在巩膜分割中表现出显著优势。

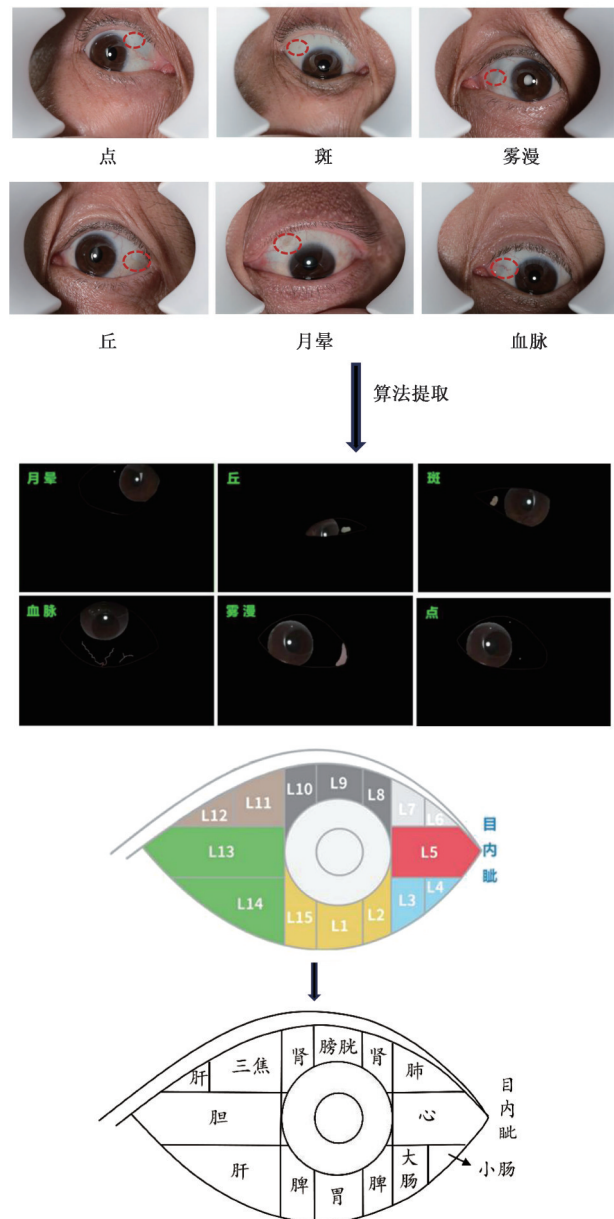


图3 目络特征
Fig. 3 Eye network feature

在预处理阶段,采用高斯模糊(Gaussian blur)函数增强图像高频特征,并通过PyTorch软件对图像进行数据增强,包括旋转、裁剪和缩放等操作^[16]。在深度学习阶段,使用ResNet等卷积神经网络提取白睛图像的深层特征,并结合多实例学习(MIL)模型整合同一受试者的多张图像信息,通过注意力池化优化特征聚合,最终实现疾病风险或诊断的分类。此外,Grad-CAM和遮挡测试等^[15-16]技术用于可视化模型关注的关键区域(如虹膜周围和巩膜下部的血管与斑点),增强模型的可解释性,验证其与疾病的潜在关联。

本研究基于白睛无影成像技术,系统采集不同

疾病类型及中医证型患者的眼部图像数据,通过数字化表征中医目诊中的形态学特征(如血管分布、色泽变化及区位特异性表现),筛选具有统计学意义的显著性形态、颜色及区位特征,进而与代谢组学检测结果进行关联分析,进行中医宏观辨证与微观代谢组学的关联网络分析。

2.4 代谢组学检测

2.4.1 试剂和仪器 乙腈、甲醇(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,批号分别为 226102、226609),甲酸[梯希爱(上海)化成工业发展有限公司,批号 KP3VL-PL], 甲酸铵(美国 Sigma-Aldrich 公司,批号 102445983); 2-氯-L-苯丙氨酸(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 A2215290)。Ultimate 3000 型液相色谱仪、Q Exactive 型质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司), H1850-R 型冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司), BE-2600 型混匀仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司), 5305 型真空浓缩仪(德国 Eppendorf AG 公司), 0.22 μm PTFE 型滤膜(天津市津腾实验设备有限公司)。

2.4.2 血清的采集与预处理 血液收集在离心管中 37 $^{\circ}\text{C}$ (或室温)静置 30 min 或 1 h 进行凝固分层; 1 500 $\times\text{g}$ 室温离心 10 min, 待血细胞完全沉降到管底后, 取上清转至干净的离心管中; 再 13 800 $\times\text{g}$ 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min, 取上清分装到 1.5 mL 离心管中, 每管 0.2 mL, -80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存。

2.4.3 非靶向代谢组学检测 (1) 检测方法。①提取代谢物: 将实验样本 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下解冻, 解冻后涡旋 1 min, 混合均匀; 精确移取适量样本于 2 mL 离心管中; 加入甲醇溶液 400 μL , 涡旋 1 min; 13 800 $\times\text{g}$ 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min, 取全部上清液, 转移至新的 2 mL 离心管中, 浓缩干燥; 准确加入 80% 甲醇水 150 μL 配制的 2-氯-L-苯丙氨酸(4 ppm)溶液复溶样品, 取上清液过 0.22 μm 膜过滤, 过滤液加入检测瓶, 用于液相色谱-质谱法(LC-MS)检测。②上机检测色谱条件: 使用 Waters ACQUITYUPLC[®]HSST3 色谱柱(2.1 mm \times 100 mm, 1.8 μm)对目标化合物进行色谱分离, 流速 0.3 mL \cdot min⁻¹, 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 2 μL 。质谱条件: 在 ThermoQExactive 质谱检测器下进行, 离子源采用高能电喷雾离子源(HESI), 运用正、负离子模式下时分别采集数据, 离子源参数: 在正离子模式下喷雾电压为 3.5 kV, 负离子模式下为 -2.5 kV, 鞘气流速 40 arb, 辅助气流速 10 arb。毛细管温度 325 $^{\circ}\text{C}$, 碰撞能量 30 eV, 扫描范围 m/z 100~1 000, 分辨率 70 000。

2.5 统计学处理

2.5.1 二元统计分析 采用 SPSS 27.0 统计软件进行数据分析。计量资料符合正态分布用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 不符合正态分布用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 两组间计量资料的比较, 根据正态性及方差齐性检验结果, 分别采用独立样本 t 检验或 Mann-Whitney U 检验(非参数秩和检验); 计数指标用频数(n)和构成比(%)描述, 组间比较用 χ^2 检验。多组间多重比较采用单因素 ANOVA 分析, 若方差齐性满足且组间差异有统计学意义, 则进一步采用最小显著性差异法(LSD)法(方差齐时)或 Tamhane's T_2 法(方差不齐时)进行两两比较。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析标志物的诊断效能, 并计算曲线下面积(AUC)及其 95% 置信区间。根据计量资料是否符合正态分布选择 Pearson 法或 Spearman 法进行目络特征和代谢物的线性关联。检验水准 α 设为 0.05, $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2.5.2 多维统计分析 采用 R XCMS(v3.12.0) 软件包对所获得的质谱数据进行峰检测、峰过滤、峰对齐处理, 采用 R 软件包 RoplS 分别对样本数据进行主成分分析(PCA)、偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)降维分析, 同时置换检验方法对模型进行过拟合检验。根据统计检验计算 P 、OPLS-DA 降维方法计算变量重要性投影(VIP 值)、差异倍数(FC), 来衡量各代谢物含量对样本分类判别的影响强度和解释能力, 辅助标志代谢物的筛选。当 $P<0.05$ 且 VIP 值 >1 时, 认为代谢物分子具有统计学明显差异。使用 MetaboAnalyst 网站对上述差异代谢物进行通路富集分析, 筛选 $P<0.05$ 的代谢通路作为潜在靶标代谢通路。

3 结果

3.1 一般资料 各组患者的性别、年龄比较差异均无统计学意义, 具有可比性。与 CHB 患者比较, CHB 合并 GMD 患者 BMI、GGT、TP、Urea、GLU、门静脉内径、脾脏厚度、脾脏长径、LSM 与 CAP 均明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与 CHB 合并 GMD 非湿热患者比较, CHB 合并 GMD 湿热患者 TP 与 GLO 明显降低($P<0.05$)。见表 1、表 3 和表 4。

3.2 白睛无影成像技术分析 目诊信息采集图见增强出版附加材料。

3.2.1 目络形态特征分析比较 对眼象特征进行赋值积分分析, 与 CHB 组比较, CHB 合并 GMD 组的“丘”的目络形态积分明显升高($P<0.05$), “血脉”

表3 CHB组与CHB合并GMD组一般资料比较

Table 3 Comparison of general data between CHB group and CHB combined with GMD group

组别	例数	ALT ^① /U·L ⁻¹	AST ^① /U·L ⁻¹	ALP ^① /U·L ⁻¹	GGT ^① /U·L ⁻¹	TP ^① /g·L ⁻¹
CHB组	147	23.00(20.00,34.25)	23.00(20.00,32.00)	80.00(67.75,99.25)	21.00(15.00,31.00)	73.85(71.70,76.45)
CHB合并GMD组	166	26.00(20.00,37.50)	24.00(20.00,31.50)	76.00(65.50,102.00)	29.00(18.50,47.50) ²⁾	75.00(72.10,77.55) ¹⁾
组别	例数	ALB ^① /g·L ⁻¹	GLO ^① /g·L ⁻¹	TBil ^① /μmol·L ⁻¹	DBIL ^① /μmol·L ⁻¹	IBIL ^① /μmol·L ⁻¹
CHB组	147	45.75(44.38,47.40)	27.90(26.00,30.30)	14.00(9.75,14.13)	4.40(3.30,5.83)	9.10(6.55,13.93)
CHB合并GMD组	166	46.50(44.25,47.65)	28.50(26.35,30.90)	13.00(9.10,20.00)	4.50(3.30,6.35)	8.40(5.85,12.95)
组别	例数	Urea ^① /mmol·L ⁻¹	CR ^① /μmol·L ⁻¹	UA ^① /μmol·L ⁻¹	GLU ^① /μmol·L ⁻¹	LDH ^② /U·L ⁻¹
CHB组	147	5.40(4.50,6.40)	77.00(68.75,87.00)	354.50(297.75,409.00)	5.22(4.90,5.54)	174.10±29.94
CHB合并GMD组	166	5.70(4.84,6.90) ¹⁾	74.00(66.00,84.50)	345.00(292.00,385.00)	6.99(6.30,8.33) ²⁾	169.21±33.53
组别	例数	HBDH ^② /U·L ⁻¹	AFP ^② /μg·L ⁻¹	门静脉内径 ^① /cm	脾脏厚度 ^① /cm	脾脏长径 ^① /cm
CHB组	147	139.14±21.07	2.40(1.95,3.24)	1.10(1.00,1.20)	3.30(2.90,3.60)	9.30(8.55,10.35)
CHB合并GMD组	166	134.81±24.89	2.55(1.53,3.60)	1.20(1.10,1.20) ²⁾	3.50(3.20,3.90) ²⁾	10.00(8.90,11.25) ²⁾
组别	例数	LSM ^① /kPa	CAP ^② /dB·m ⁻¹	CHOL ^② /mmol·L ⁻¹	TG ^① /mmol·L ⁻¹	HDL-C ^② /mmol·L ⁻¹
CHB组	147	6.50(5.65,7.65)	244.72±28.84	4.78±0.91	1.67(1.07,2.14)	1.22±0.32
CHB合并GMD组	166	8.50(6.33,12.70) ²⁾	257.03±27.93 ²⁾	4.76±1.62	1.53(1.10,2.42)	1.78±0.31
组别	例数	LDL-C ^② /mmol·L ⁻¹				
CHB组	147	2.95±0.86				
CHB合并GMD组	166	2.73±1.18				

注:数据类型^①M[P₂₅,P₇₅],^② $\bar{x}\pm s$ (表4同);与CHB组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01

表4 CHB合并GMD湿热组与非湿热组一般资料比较

Table 4 Comparison of general data between damp-heat group and non-damp-heat group in patients with CHB complicated with GMD

组别	例数	ALT ^① /U·L ⁻¹	AST ^① /U·L ⁻¹	ALP ^① /U·L ⁻¹	GGT ^① /U·L ⁻¹	TP ^① /g·L ⁻¹
CHB合并GMD湿热组	79	27.00(19.75,38.25)	23.50(19.00,29.5)	76.00(65.75,96.75)	30.00(18.00,58.25)	74.05(71.50,76.23) ¹⁾
CHB合并GMD非湿热组	87	25.00(20.00,36.00)	25.00(22.00,32.00)	77.00(65.00,102.00)	29.00(19.00,40.00)	75.80(72.90,78.40)
组别	例数	ALB ^① /g·L ⁻¹	GLO ^① /g·L ⁻¹	TBil ^① /μmol·L ⁻¹	DBIL ^① /μmol·L ⁻¹	IBIL ^① /μmol·L ⁻¹
CHB合并GMD湿热组	79	46.15(44.65,47.50)	27.75(25.90,30.30)	12.70(8.98,18.88)	4.50(3.30,6.05)	8.40(5.60,12.83)
CHB合并GMD非湿热组	87	46.70(44.20,47.80)	29.20(26.70,31.40)	13.00(9.50,20.20)	4.40(3.30,6.70)	8.50(6.00,13.00)
组别	例数	Urea ^② /mmol·L ⁻¹	CR ^② /μmol·L ⁻¹	UA ^① /μmol·L ⁻¹	GLU ^① /μmol·L ⁻¹	LDH ^② /U·L ⁻¹
CHB合并GMD湿热组	79	5.86±1.55 ¹⁾	77.50±14.15	346.50(292.75,390.25)	6.98(6.22,8.09)	174.80±39.54
CHB合并GMD非湿热组	87	5.92±1.80	73.43±16.80	342.00(281.00,380.00)	7.06(6.34,8.40)	163.88±25.95
组别	例数	HBDH ^② /U·L ⁻¹	AFP ^② /μg·L ⁻¹	门静脉内径 ^① /cm	脾脏厚度 ^① /cm	脾脏长径 ^① /cm
CHB合并GMD湿热组	79	138.85±28.84	2.57(1.46,3.65)	1.20(1.10,1.20)	3.50(3.20,3.80)	9.90(8.90,11.50)
CHB合并GMD非湿热组	87	130.95±20.00	2.53(1.56,3.59)	1.20(1.10,1.25)	3.60(3.20,4.20)	10.00(9.00,11.60)
组别	例数	LSM ^① /kPa	CAP ^② /dB·m ⁻¹	CHOL ^② /mmol·L ⁻¹	TG ^① /mmol·L ⁻¹	HDL-C ^② /mmol·L ⁻¹
CHB合并GMD湿热组	79	8.95(6.20,10.85)	261.71±24.72	4.78±1.91	1.38(0.83,2.64)	1.16±0.37
CHB合并GMD非湿热组	87	8.25(6.50,14.13)	253.22±29.93	4.74±1.43	1.65(1.29,2.37)	1.19±0.26
组别	例数	LDL-C ^② /mmol·L ⁻¹				
CHB合并GMD湿热组	79	2.47(2.63,3.54)				
CHB合并GMD非湿热组	87	2.55(2.10,3.8)				

注:与CHB合并GMD湿热组比较¹⁾P<0.05

的目络形态积分明显降低(P<0.05);与CHB合并GMD非湿热组比较,CHB合并GMD湿热组的“斑”

的目络形态积分明显升高,差异具有统计学意义(P<0.05)。见表5和表6。

表5 CHB合并GMD组、CHB组患者眼象形态特征比较 [M(P₂₅, P₇₅)]

Table 5 Comparison of morphological characteristics of eye collaterals between patients with CHB combined with GMD and those with simple CHB [M(P₂₅, P₇₅)] 分

目络特征	例数	点	斑	雾漫	丘	月晕	血脉
CHB组	147	1.00(0.00, 2.00)	3.00(1.00, 4.00)	3.00(2.00, 4.00)	1.00(0.00, 3.00)	0.00(0.00, 0.00)	8.00(5.00, 12.00)
CHB合并GMD组	166	0.00(0.00, 1.00)	3.00(1.00, 5.25)	3.00(2.00, 4.00)	2.00(1.00, 3.25) ¹⁾	0.00(0.00, 0.00)	7.00(3.00, 11.00) ¹⁾

注:与CHB组比较¹⁾P<0.05(表7和表9同)

表6 CHB合并GMD组湿热组、非湿热组患者眼象形态特征比较 [M(P₂₅, P₇₅)]

Table 6 Comparison of morphological characteristics of eye collaterals between damp-heat syndrome group and non-damp-heat syndrome group in patients with CHB complicated with GMD [M(P₂₅, P₇₅)] 分

目络特征	例数	点	斑	雾漫	丘	月晕	血脉
CHB合并GMD湿热组	79	0.50(0.00, 2.00)	3.00(2.00, 6.00) ¹⁾	3.00(2.00, 4.00)	2.00(1.00, 4.00)	0.00(0.00, 0.00)	7.00(4.00, 12.75)
CHB合并GMD非湿热组	87	0.00(0.00, 1.00)	3.00(1.00, 4.00)	3.00(2.00, 4.00)	2.00(1.00, 3.00)	0.00(0.00, 0.00)	7.00(2.00, 11.00)

注:与CHB合并GMD组非湿热组比较¹⁾P<0.05(表8、表10同)

3.2.2 目络颜色特征分析比较 与CHB组比较, CHB合并GMD组的“粉黯色”的颜色积分明显降低,差异具有统计学意义(P<0.05);而与CHB合并

GMD非湿热组比较,CHB合并GMD湿热组的“黄色”的颜色积分明显升高,差异具有统计学意义(P<0.05)。见表7和表8。

表7 CHB合并GMD组、CHB组患者目络颜色特征比较 [M(P₂₅, P₇₅)]

Table 7 Comparison of color characteristics of eye collaterals between patients with CHB combined with GMD and those with simple CHB [M(P₂₅, P₇₅)] 分

目络特征	例数	粉黯色	红黯色	黯粉色	黯黄色	黄色	淡色
CHB组	147	5.00(3.00, 8.00)	0.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 1.00)	1.00(1.00, 1.00)	2.00(1.00, 5.00)	0.00(0.00, 1.50)
CHB合并GMD组	166	4.00(2.00, 7.00) ¹⁾	0.50(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 1.00)	1.00(1.00, 2.00)	3.00(1.00, 5.00)	1.00(0.00, 2.00)
目络特征	例数	粉红色	黯红色	红色	黯色	灰色	青色
CHB组	147	1.00(0.00, 2.00)	1.00(0.00, 2.00)	0.00(0.00, 0.50)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)
CHB合并GMD组	166	1.00(0.00, 2.00)	1.00(0.00, 2.00)	0.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)

表8 CHB合并GMD湿热组、非湿热组患者目络颜色特征比较 [M(P₂₅, P₇₅)]

Table 8 Comparison of color characteristics of eye collaterals collaterals between damp-heat syndrome group and non-damp-heat syndrome group in patients with CHB complicated with GMD [M(P₂₅, P₇₅)] 分

目络特征	例数	粉黯色	红黯色	黯粉色	黯黄色	黄色	淡色
CHB合并GMD湿热组	79	4.00(3.00, 7.00)	0.00(0.00, 1.75)	0.00(0.00, 1.00)	1.00(0.00, 2.00)	4.00(2.00, 5.00) ¹⁾	1.00(0.00, 2.00)
CHB合并GMD非湿热组	87	4.00(2.00, 7.00)	1.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 1.00)	1.00(0.00, 1.25)	2.00(0.00, 4.25)	0.00(0.00, 1.00)
目络特征	例数	粉红色	黯红色	红色	黯色	灰色	青色
CHB合并GMD湿热组	79	1.00(0.00, 2.00)	1.00(0.00, 2.00)	0.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)
CHB合并GMD非湿热组	87	1.00(0.00, 2.00)	1.00(0.00, 2.00)	0.00(0.00, 1.00)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)

3.2.3 目络分区特征分析比较 与CHB组比较, CHB合并GMD组差异无统计学意义;而与CHB合并GMD非湿热组比较,CHB合并GMD湿热组的“脾”“胆”的目络区位积分明显升高(P<0.05)。见表9和表10。

3.3 CHB合并GMD的“病-证”非靶向代谢组学分析

3.3.1 各组多元统计分析 PCA结果显示,各组与健康组、CHB合并GMD组与CHB组、CHB合并

GMD湿热组与非湿热组各组之间的代谢轮廓均有一定区分;PLS-DA结果显示,各对比组间样本分布聚类明显,分离模式良好,各组间样本分布呈现明显的聚类分离趋势,说明不同组别间的代谢特征存在明显差异;采用OPLS-DA方法对各组两两之间进行比较,结果表明此次构建的模型较可靠且能完全区分。见增强出版附加材料。

3.3.2 差异代谢物鉴定与筛选 为了全面、准确地

表9 CHB合并GMD组、CHB组患者目络区位特征比较 [M(P₂₅, P₇₅)]

Table 9 Comparison of eye collateral location characteristics between patients with CHB combined with GMD and those with simple CHB [M(P₂₅, P₇₅)] 分

目络特征	例数	胃	脾	大肠	小肠	心	肺
CHB组	147	0.00(0.00,1.00)	1.00(0.00,2.00)	2.00(1.00,3.00)	0.00(0.00,1.00)	4.00(3.00,5.50)	2.00(1.00,3.00)
CHB合并GMD组	166	0.00(0.00,1.00)	1.00(0.00,2.00)	2.00(1.00,3.00)	0.00(0.00,1.00)	4.00(2.00,5.25)	1.00(0.00,3.00)
目络特征	例数	肾	膀胱	三焦	肝	胆	
CHB组	147	1.00(0.00,2.00)	0.00(0.00,0.00)	1.00(0.00,1.00)	1.00(0.00,3.00)	3.00(1.00,4.00)	
CHB合并GMD组	166	1.00(0.00,2.00)	0.00(0.00,0.00)	0.00(0.00,1.00)	1.00(1.00,3.00)	3.00(2.00,5.00)	

表10 CHB合并GMD湿热组、非湿热组患者目络区位特征比较 [M(P₂₅, P₇₅)]

Table 10 Comparison of eye collateral location characteristics between damp-heat syndrome group and non-damp-heat syndrome group in patients with CHB complicated with GMD [M(P₂₅, P₇₅)] 分

目络特征	例数	胃	脾	大肠	小肠	心	肺
CHB合并GMD湿热组	79	0.00(0.00,1.00)	1.00(0.00,2.00) ¹⁾	2.00(1.00,3.75)	0.00(0.00,1.00)	4.00(2.00,5.50)	1.00(0.00,4.00)
CHB合并GMD非湿热组	87	0.00(0.00,1.00)	0.50(0.00,2.00)	2.00(1.00,3.00)	0.00(0.00,1.00)	4.00(2.75,6.00)	1.00(0.00,2.00)
目络特征	例数	肾	膀胱	三焦	肝	胆	
CHB合并GMD湿热组	79	0.00(0.00,1.00)	0.00(0.00,0.75)	0.00(0.00,1.00)	1.00(0.00,2.75)	4.00(2.00,5.00) ¹⁾	
CHB合并GMD非湿热组	87	0.00(0.00,1.00)	0.00(0.00,0.00)	0.00(0.00,1.00)	1.00(0.00,3.00)	3.00(1.00,4.00)	

筛选组间差异代谢物,本研究采用多种统计策略。首先,以 OPLS-DA 模型的 VIP 值>1 和 Student's-test 中 P<0.05,对健康组、CHB 组和 CHB 合并 GMD 组及其证型亚组进行初步的两两比较分析。初步分析结果表明,正、负离子模式下,CHB 组与健康组比较,筛选出 507 个差异代谢物(上调 441 个,下调 66 个);CHB 组合并 GMD 组与健康组比较,初步筛选出 489 个差异代谢物(上调 412 个,下调 77 个);CHB 合并 GMD 湿热组与健康组比较,筛选出 497 个差异代谢物(上调 417 个,下调 80 个);CHB 合并 GMD 非湿热组与健康组比较,筛选出 478 个差异代谢物(上调 399 个,下调 79 个);CHB 合并 GMD 组与 CHB 组比较,筛选出 125 个差异代谢物(上调 63 个,下调 62 个);CHB 合并 GMD 湿热组与 CHB 合并 GMD 非湿热组比较,筛选出 113 个差异代谢物(上调 70 个,下调 43 个)。以 OPLS-DA 模型中 VIP 值>1,FC>1.5 或<0.667 及 P<0.05 为标准,同时对比 HMDB 数据库排除内源性代谢物绘制表格。见增强出版附加材料。

然而,鉴于多重两两比较可能增加假阴性风险,为获得更稳健的高置信度差异代谢物集合,课题组进一步对所有代谢物进行了单因素 ANOVA 分析。以 P<0.05 作为显著性阈值,首先筛选出在健康组、CHB 组、CHB 合并 GMD 组 3 组间存在总体显著性差异的代谢物。对该集合中的代谢物进行事后

检验,并取在 CHB 合并 GMD 与 CHB 间比较具有显著性的代谢物,最终确定了用于后续分析的核心差异代谢物,证型对比组也进行了同样比较。对比发现,基于多组比较的方差方法在有效涵盖大部分两两比较结果的同时,疾病比较组新增了 11 个潜在的重要差异代谢物,并排除了 69 个在两两比较中可能因多重检验而稳定性较差的代谢物;在证型比较组新增 16 个潜在代谢物,排除 58 个稳定性较差的代谢物,显著提升了结果的可靠性。这些差异代谢物主要为脂质及类脂质分子、有机化合物与衍生物、生物碱及其衍生物、核苷、核苷酸及其类似物、苯衍生物及苯丙素类和聚酮类化合物。

3.3.3 CHB 合并 GMD 的“病-证”潜在标志物 为探究不同临床状态下的代谢特征差异,找出 CHB 进展为 CHB 合并 GMD 的标志物,构建了健康组、CHB 组与 CHB 合并 GMD 组之间两两对比差异代谢物的韦恩图,排除可能由于 CHB 本身导致特异性较差的代谢物,结合单因素方差分析结果,剩余 41 个代谢物作为标志物候选。为了评估这些代谢物作为潜在诊断生物标志物的价值,进行了 ROC 曲线分析,并计算 AUC 值评估单个代谢物诊断效能。ROC 结果显示,N-乙酰葡萄糖胺、乙酰高丝氨酸、肌醇等 9 个上调代谢物具有较好的诊断区分潜力(AUC>0.7)详见增强出版附加材料。AUC 值排名前 5 代谢物见增强出版附加材料。N-乙酰葡萄糖胺是蛋白质

氧连接 β -*N*-乙酰葡萄糖胺(*O*-GlcNAc)糖基化修饰的底物,由*O*-GlcNAc转移酶(OGT)介导的*O*-GlcNAc糖基化修饰与肝纤维化、炎症反应、氧化应激等多种细胞过程相关^[17],而*O*-GlcNAc修饰水平与胰岛素抵抗(IR)程度呈正相关^[18],其上调可能反映机体代谢应激增强、炎症信号通路激活或肝细胞修复过程中的能量需求改变。脂氧素是花生四烯酸代谢产物,能抑制中性粒细胞的募集和激活,延迟巨噬细胞的凋亡以利于清除感染和炎症,发挥抗炎和组织修复作用^[19]。3-羟基邻氨基苯甲酸(3-HAA)是色氨酸-犬尿氨酸途径的代谢物。YU等^[20]研究显示3-HAA的1年增加量与胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)的增加显著正相关,MATSUOKA等^[21]也发现DM患者的3-HAA呈上调趋势。见增强出版附加材料。

为探究湿热证型对代谢特征的影响,找出CHB合并GMD湿热证的标志物,构建了健康组、CHB合并GMD湿热证组与非湿热证组差异代谢物的韦恩图,排除由于疾病本身导致的特异性较差的代谢物,结合单因素ANOVA结果,剩余47个代谢物作为标志物候选。同样进行了ROC曲线分析,并计算AUC值评估单个代谢物诊断效能。ROC结果显示,*O*2'-4a-环四氢生物蝶呤、可可碱、黄尿酸、*L*-谷氨酸5-磷酸等11个上调代谢物具有较好的诊断区分潜力(AUC>0.7, $P<0.05$, $P<0.01$)见增强出版附加材料。AUC值排名前5代谢物见增强出版附加材料。其中,黄尿酸是色氨酸-犬尿氨酸途径的产物,主要发生在肝脏中,参与该途径的重要限速酶IDO由多种促炎介质诱导[如 γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素(IL)-2等],其异常激活与炎症、氧化应激^[22]密切相关。十七烷酸属于奇数链脂肪酸(OCFA),主要来源于肠道细菌合成^[23],其变化表明共病湿热状态下与肠道菌群变化相关,同时脂肪酸水平升高可能提示脂肪分解增强或利用障碍。蛋氨酸亚砷(MetO)是蛋氨酸氧化的产物,常常可作为蛋白氧化损伤^[24]的标志。

3.3.4 CHB合并GMD“病-证”差异代谢物通路富集分析 将各组具有显著性差异的代谢物通过Metaboanalyst 6.0软件进行通路富集,以 $P<0.05$ 为筛选条件。结果显示,CHB组与健康组的差异代谢物,主要富集在丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成、丁酸代谢、泛酸和辅酶A的生物合成、卟啉代谢、精氨酸生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成、氮代谢、组氨酸代谢

等通路;CHB合并GMD组与健康组的差异代谢物主要富集在苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、丁酸代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢、酪氨酸代谢、花生四烯酸代谢、不饱和脂肪酸的生物合成、精氨酸生物合成等通路。进一步对两组差异通路取差集后发现,CHB合并GMD组特有的信号通路有4条,分别为缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢、酪氨酸代谢、花生四烯酸代谢。CHB合并GMD组与CHB组的差异代谢物主要富集在牛磺酸和低牛磺酸代谢、半乳糖代谢通路。

CHB合并GMD湿热组与健康组的差异代谢物,主要富集在苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、丁酸代谢、花生四烯酸代谢、酪氨酸代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、苯丙氨酸代谢、牛磺酸和低牛磺酸代谢、泛醌和其他萘类醌生物合成等通路;CHB合并GMD非湿热组与健康组的差异代谢物,主要富集在苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、丁酸代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢、精氨酸生物合成、酪氨酸代谢、花生四烯酸代谢、苯丙氨酸代谢、牛磺酸和低牛磺酸代谢等通路。同时也进一步对两组差异通路取交集后发现CHB合并GMD组湿热组特有的信号通路有1条:泛醌和其他萘类醌生物合成。CHB合并GMD湿热组与非湿热组的差异代谢物主要富集在鞘脂代谢通路。

3.4 “目诊-代谢物”网络构建 目前已通过高精度图像分析及AI算法,实现了目络特征的客观化提取与量化分析,建立了稳定的目络表征体系,这为后续代谢组学关联研究奠定了精准的表型数据基础;基于已明确的目络特征,结合代谢组学技术,筛选出与目络显著相关的差异代谢物。这些代谢物不仅能够阐释目络形成的分子调控机制,还可为中医“目络”理论提供现代生物学证据;通过整合宏观目络特征与微观代谢组数据,构建“表型-代谢”多维关联网络,揭示目络与机体代谢状态的动态联系,为CHB合并GMD疾病的早期预警、证候分型及个体化干预提供精准化模型支持,助力中医精准诊疗体系的优化与创新。

本研究采用Spearman相关性分析方法(适用于非正态分布计量资料),采用标准对相关系数(r)进

行分级:0.1~0.3为弱相关,0.3~0.5为中等相关, ≥ 0.5 为强相关。利用Cytoscape软件构建的眼象-代谢网络显示:“丘”相关联代谢物有12个呈正相关,1个呈负相关,主要参与芳香族化合物、核苷酸、氨基酸及糖代谢,提示与细胞增殖、能量供应及信号分子合成相关;“血脉”相关联代谢物有7个呈正相关,3个呈负相关,主要参与芳香酸、萜类、生物碱及糖脂代谢,可能与血管功能或氧化应激调控相关;“粉黯色”相关联代谢物有3个呈正相关,10个呈负相关,主要参与能量、核苷酸、醌类及糖代谢,提示能量代谢抑制或氧化损伤;“斑”相关联代谢物有7个呈正相关,3个呈负相关,主要参与醌类/氧化还原、嘌呤生物碱、脂肪酸及磷脂代谢,可能与皮肤色素沉积或炎症反应相关;“黄色”相关联代谢物有12个呈正相关,1个呈负相关,主要参与维生素/辅嘌呤生物碱及糖脂代谢;“脾”相关联代谢物有4个呈正相关,1个呈负相关,主要参与泛醌及脂肪酸代谢;“胆”相关联代谢物有11个呈正相关,3个呈负相关,主要参与核苷酸、氨基酸及脂肪酸代谢,符合胆汁酸合成及肝胆代谢的特征。其中,上调代谢物黄尿酸与“胆”特征呈中等正相关($r=0.461$),同时在上述研究中也是CHB合并GMD湿热组的特异性差异代谢物(AUC=0.788 2),而“胆”特征积分也在该组中显著升高($P<0.05$);上调代谢物可可碱与“斑”($r=0.311$)和“黄色”($r=0.322$)呈正相关,在上述研究中也是湿热组的特异性差异代谢物(AUC=0.798 6),“斑”和“黄色”也都是在湿热组中显著性升高($P<0.05$)。基于以上研究结果,研究提出“黄尿酸-胆”和“可可碱-斑/黄色”可作为CHB合并GMD湿热组的特异性分子-表型关联标志群。关联网络图见增强出版附加材料。

4 讨论

4.1 CHB合并GMD“病-证”目络特征 糖代谢的异常会直接损伤微血管内皮细胞和基底膜,导致微血管瘤、通透性增加、血流动力学异常、基底膜增厚等特征^[25-26]。性改变,而球结膜微循环可以作为观察DM患者疾病进展的窗口^[27]。“丘”为球结膜表面的凸起,与慢性炎症、代谢产物沉积(脂质)及血管结构异常有关,而CHB合并GMD患者也存在更显著的炎症纤维化进程,“丘”特征更加明显,与前人研究一致^[28]。“粉黯色”反映了血瘀兼气血不足,而并病患者颜色变浅或黯沉减少则是代谢产物沉积、微血管通透性改变及中医病机向虚证转化等多因素共同作用的结果。肝病日久,精血耗伤,必累及肾

精肾阴,这与本研究中并病特征“肾”相吻合。湿热证患者的“斑”为非凸起性的圆形不规则斑片,湿热熏蒸,浊气上泛于目,气血壅滞成斑。“黄色”多主湿,湿聚成痰,阻于脉中见血脉管壁增厚,气血交换减弱,郁积日久化热,而湿热患者的肝细胞被进一步损伤,导致胆红素的摄取与结合障碍。

4.2 CHB合并GMD“病-证”代谢标志物 通过代谢组学与ROC分析,鉴定出的代谢物表明了氨基酸的合成与降解及脂质代谢相关通路在疾病中的核心作用。糖代谢的异常会加速肝脏炎症和纤维化^[29]的进程,对于本病的发生多认为与IR^[30-32]和胰岛 β 细胞功能受损^[33-36]有关。GlcNAc、3-HAA等均参与氨基酸代谢,脂氧素B₄参与的花生四烯酸代谢均与糖代谢异常、炎症反应相关,或成为干预通路靶点。湿热证的特异性代谢物大多为脂质类及有机酸,参与脂质代谢、糖代谢与氨基酸代谢,这与前人研究湿热可导致脂质代谢紊乱的结论一致^[37]。同时,研究证明,湿热证更易出现糖脂代谢、核酸及氨基酸代谢的异常^[38-39]。湿热证常伴随肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、转化生长因子- β (TGF- β)等炎症因子及免疫、代谢方面的异常^[40-42],使得肝损伤进一步加重,发生纤维化甚至肝硬化。过表达的炎症因子通过c-Jun氨基末端激酶(JNK)等信号通路^[43],使胰岛素受体底物(IRS)发生丝氨酸磷酸化,进而抑制其酪氨酸磷酸化,导致胰岛素信号传导受阻;同时也会直接损伤胰岛 β 细胞,使其数量减少、功能受损,胰岛素分泌不足。

4.3 关联网络分析 本研究发现湿热组中“黄尿酸-胆”同步升高,这与既往在湿热证^[44]及肝硬化患者^[45]中观察到的黄尿酸与胆汁酸代谢异常现象一致。黄尿酸是色氨酸代谢途径的中间产物,推测在湿热状态下,炎症或氧化应激可能抑制关键酶(犬尿氨酸羟化酶)的活性^[46],导致黄尿酸等中间产物积累。已有研究表明,该通路中的犬尿酸可通过细胞外信号调节激酶(ERK)1/2信号通路上调胆汁酸合成关键调节因子类固醇急性调节蛋白相关脂质转移结构域4(STARD4)的表达^[47],这可能是连接色氨酸代谢紊乱与胆汁酸合成增加,从而阐释“黄尿酸-胆”关联的潜在机制。另一方面,“可可碱-斑、黄色”关联提示了新的干预方向。己酮可可碱已被证实具有抗炎、抗纤维化等作用^[48-49]。笔者推断,可可碱调控炎症相关通路的潜力可能对湿热证的“热邪郁结”病理环节具有针对性干预价值,但这一推测尚需通过构建CHB合并GMD湿热证动物模型等实

验来验证其因果性及具体机制。

本研究综合应用白睛无影成像与代谢组学技术,系统揭示了CHB合并GMD患者在病证方面的特异性目络表现与代谢机制。结果显示,球结膜微循环的“丘”“斑”及颜色变化直观反映了微血管病变、炎症沉积及中医湿热病机;代谢层面存在氨基酸、脂质及胆汁酸等多方面紊乱,其中“黄尿酸-胆”同步升高为湿热证的关键代谢标志。通过构建分子-表型关联群,从多维度阐释了其病理机制,为中西医结合精准诊疗提供了新型生物标志物与治疗靶点。基于上述发现,可形成“清热利湿+代谢调控+抗纤维化”的精准治疗策略,临床可根据目络特征(如胆区黄斑)及特定代谢指标(如GlcNAc、OCFA水平)动态调整方药配伍,例如选用茵陈、栀子清热利湿,黄连调控糖代谢,或联用鳖甲、桃仁抗

纤维化,从而实现病证结合、宏观与微观互参的个体化治疗方案。

4.4 不足与展望 目前样本量在一定程度上限制了对两病脏腑区位眼象特征差异的揭示能力,未来扩大样本量将进一步增强研究结论的可靠性与临床适用性。同时,所采用的线性关联分析主要揭示了疾病及证型特征的趋势性线索,而非确证性结论。课题组未来计划开展队列研究及动物实验进行代谢物验证,未来研究可在扩大样本的基础上,整合多组学数据,并应用广义加性模型(GAM)、随机森林等非线性模型,以更准确地捕捉潜在的复杂关系。

基于上述发现,课题组提出“证候-代谢表征假说”:即在同一种疾病的不同病理状态(证型)下,存在着特征性的宏观表征(如眼、舌、脉象)及其对应的微观物质基础(代谢谱群)。见图4。

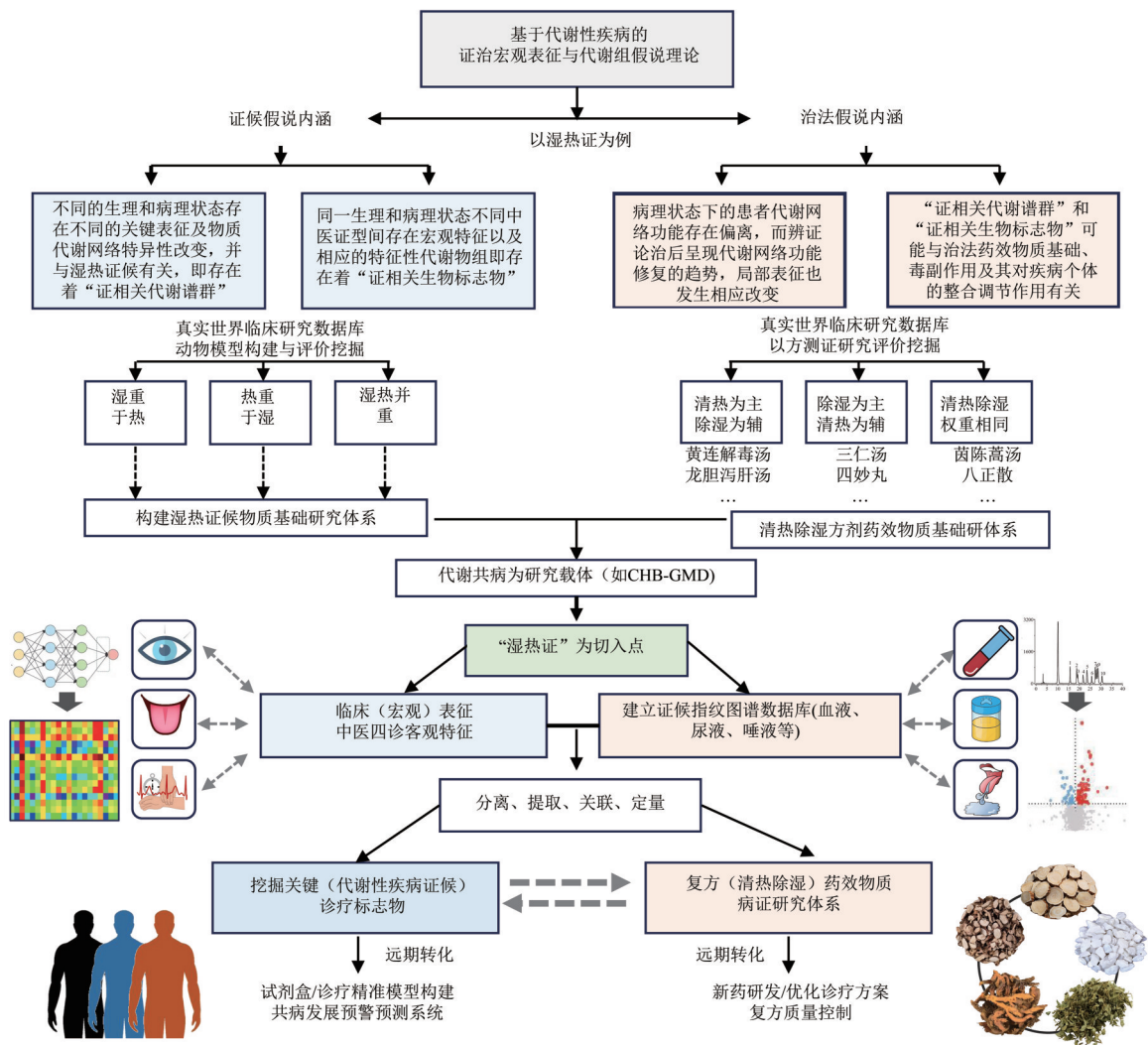


图4 基于代谢性疾病的证治宏观结合假说及进一步验证思路

Fig. 4 Macro-micro combination hypothesis and further verification based on metabolic diseases

具体表现为不同的“证”具有其独特的“证相关代谢谱群”和潜在的“证相关生物标志物”。这些差异不仅与疾病表型相关,更可能与治法的药效物质基础、不良反应特征及其对疾病个体的整体整合调节作用密切相关。不同的“证候-代谢表征”,实施个性化用药。未来,在现有研究基础上,系统收集患者眼、舌、脉等宏观表征的客观数据,并同步采集血液、尿液、唾液等生物样本。运用多组学技术进行深度分析,系统挖掘与证候(如湿热证)相关的关键标志物。将挖掘的证候标志物应用于清热除湿等方剂的药效物质基础研究,并结合真实世界研究与实验研究(体内外模型),深入解析“证-治-效”的物质基础与作用机制,辅助方剂优化配伍及个性化用药决策。未来可将研究成果转化为可用于共病风险预警预测的系统,并为新药研发、诊疗方案优化及复方质量控制提供科学支撑。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] YANG C, WAN M, LU Y, et al. Associations between diabetes mellitus and the risk of hepatocellular carcinoma in Asian individuals with hepatitis B and C infection: Systematic review and a Meta-analysis of cohort studies[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2022, 31(2): 107-116.
- [2] HUANG S C, KAO J H. The interplay between chronic hepatitis B and diabetes mellitus: A narrative and concise review[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2024, 40(1): 6-10.
- [3] 单超越. HBV相关慢性肝病糖代谢紊乱中医证候及相关指标分布规律研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2013.
- SHAN C Y. Regularity study of TCM syndrome and related indicators distribution about glucose metabolism disorder in HBV related chronic liver disease [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2013.
- [4] 慢性乙型肝炎中医诊疗指南(2018年版)[J]. 中西医结合肝病杂志, 2019, 29(1): 97-102.
- Guidelines for TCM diagnosis and treatment of chronic hepatitis B (2018 edition)[J]. *Chin J Integr Tradit West Med Liver Dis*, 2019, 29(1): 97-102.
- [5] 余思逸, 丁霞, 李萍, 等. 慢性乙型肝炎恶性转化过程证候、证素演变规律的临床研究[J]. *中医杂志*, 2023, 64(23): 2427-2434.
- YU S M, DING X, LI P, et al. Evolutionary law of syndrome and syndrome elements during the malignant transformation of chronic hepatitis B [J]. *J Tradit Chin Med*, 2023, 64 (23) : 2427-2434.
- [6] 赵超群, 蔡虹, 陈高峰, 等. 清热化湿方治疗慢性乙型肝炎及非酒精性脂肪性肝病湿热证的多中心随机双盲安慰剂对照试验[J]. *中医杂志*, 2022, 63(8): 745-753.
- ZHAO C Q, CAI H, CHEN G F, et al. A multicenter,

randomized, double-blind, the effect of Qingre Huashi formula on chronic hepatitis B or nonalcoholic fatty liver disease with damp-heat syndrome: A multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial [J]. *J Tradit Chin Med*, 2022, 63(8): 745-753.

- [7] 刘西洋. 基于“肠-肝”轴探讨非酒精性脂肪性肝病湿热证的发病机制[D]. 成都: 成都中医药大学, 2020.
- LIU X Y. Study on the pathogenesis of syndrome of damp-heat of non-alcoholic fatty liver disease based on the gut-liver axis [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [8] 刘璇, 张琼艺, 全虹翰, 等. 基于数字化目诊技术解析高血压的目络特征及与证候要素的相关性[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2024, 30(3): 413-417.
- LIU X, ZHANG Q Y, QUAN H H, et al. Analysis of the characteristics of eye collateral and its correlation with TCM syndrome elements in hypertension based on digital visual diagnosis technology [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2024, 30(3): 413-417.
- [9] 吴芳颖, 任璇璇, 吕旋, 等. 数字化目诊仪在高脂血症白睛目络特征与中医证候相关性研究中的应用[J]. *中国数字医学*, 2025, 20(2): 29-33.
- WU F Y, REN X X, LYU X, et al. Study on the correlation between the white eye veins and TCM syndromes of hyperlipidemia using digital ophthalmoscope [J]. *Chin Digit Med*, 2025, 20(2): 29-33.
- [10] 中华医学会糖尿病学分会. 中国2型糖尿病防治指南(2020年版)(上)[J]. *中国实用内科杂志*, 2021, 41(8): 668-695.
- Chinese Diabetes Society. Guideline for the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus in china (2020 edition) (Part 1) [J]. *Chin J Pract Intern Med*, 2021, 41(8): 668-695.
- [11] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则: 试行[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 371-372.
- ZHENG X Y. Guiding principles for clinical research of new Chinese medicines: Trial implementation [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2002: 371-372.
- [12] 全虹翰, 张琼艺, 高海英, 等. 基于数字化目诊技术探讨高脂血症的目络特征及与证候要素的相关性[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(10): 5157-5161.
- QUAN H H, ZHANG Q Y, GAO H Y, et al. Exploration on the characteristics of ocular collateral of hyperlipidemia and their correlation with syndrome elements based on digital visual diagnosis technology [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2024, 39(10): 5157-5161.
- [13] 黄新爽, 梁云, 武晓东, 等. 基于目诊仪研究“丘”对糖尿病微血管病变辅助诊断价值[J]. *中国中西医结合杂志*, 2024, 44(10): 1189-1196.
- HUANG X S, LIANG Y, WU X D, et al. Auxiliary diagnostic value of "hill" on diabetic microangiopathy based on ophthalmoscope [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2024, 44(10): 1189-1196.
- [14] 王今觉. 开展“望目辨证”研究, 促进中医诊断客观化[C]//

- [出版者不详]. 2002 中药研究论文集, 2002: 450-453.
- WANG J J. Research on "ocular inspection pattern identification" to promote the objectification of TCM diagnosis[C]//Publisher unknown. Proceedings of Traditional Chinese Medicine Research, 2002, 2002: 450-453.
- [15] LV W, SONG Y, FU R, et al. Deep learning algorithm for automated detection of polycystic ovary syndrome using scleral images[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 2021: 12789878.
- [16] ZHANG Z, WANG H, CHEN L, et al. Noninvasive and affordable type 2 diabetes screening by deep learning-based risk assessment and detection using ophthalmic images inspired by traditional Chinese medicine [J]. Med-X, 2023, 1(1): 2.
- [17] BALSOLLIER C, BIJKERK S, DE SMIT A, et al. Discovery of two non-UDP-mimic inhibitors of O-GlcNAc transferase by screening a DNA-encoded library[J]. Bioorg Chem, 2024, 2024: 147107321.
- [18] ZHAO Y, TANG Z, SHEN A, et al. The role of PTP1B O-GlcNAcylation in hepatic insulin resistance[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(9): 22856-22869.
- [19] CHANDRASEKHARAN J A, SHARMA-WALIA N. Lipoxins: Nature's way to resolve inflammation[J]. J Inflamm Res, 2015, 2015(default): 8181-8192.
- [20] YU E, PAPANDREOU C, RUIZ-CANELA M, et al. Association of tryptophan metabolites with incident type 2 diabetes in the PREDIMED trial: A case-cohort study[J]. Clin Chem, 2018, 64(8): 1211-1220.
- [21] MATSUOKA K, KATO K, TAKAO T, et al. Concentrations of various tryptophan metabolites are higher in patients with diabetes mellitus than in healthy aged male adults [J]. Diabetol Int, 2017, 8(1): 69-75.
- [22] XUE C, LI G, ZHENG Q, et al. Tryptophan metabolism in health and disease[J]. Cell Metab, 2023, 35(8): 1304-1326.
- [23] JENKINS B, WEST J A, KOULMAN A. A review of odd-chain fatty acid metabolism and the role of pentadecanoic Acid (c15:0) and heptadecanoic acid (c17:0) in health and disease[J]. Molecules, 2015, 20(2): 2425-2444.
- [24] DAVIES M J. Methionine oxidation products as biomarkers of oxidative damage to proteins and modulators of cellular metabolism and toxicity[J]. Redox Biochem Chem, 2025, 12: 100052.
- [25] CLYNE A M. Endothelial response to glucose: Dysfunction, metabolism, and transport[J]. Biochem Soc Trans, 2021, 49(1): 313-325.
- [26] WANG X, KANG X, LI B, et al. High glucose treatment induces nuclei aggregation of microvascular endothelial cells via the FoxO1A-KLF2A pathway [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2025, 45(3): 398-411.
- [27] 卫晓琴. 基于“目诊仪”对糖尿病视网膜病变中医证候分布规律研究及相关因素分析[D]. 成都: 成都中医药大学, 2023.
- WEI X Q. Study on the distribution patterns of TCM syndromes and related factors in diabetic retinopathy based on "eye diagnosis instrument" [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2023.
- [28] 詹会霞. 糖脂代谢病中医证候分布规律与目诊客观化研究及应用[D]. 广州: 广州中医药大学, 2022.
- ZHAN H X. Distribution rule of TCM syndrome of glucose and lipid metabolism disease and objective study and application of eyedagnosis [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2022.
- [29] 范小玲, 张维燕. 肝炎病毒感染与胰岛素抵抗[J]. 世界华人消化杂志, 2007, 15(19): 2077-2081.
- FAN X L, ZHANG W Y. Hepatitis virus infection and insulin resistance[J]. World Chin J Dig, 2007, 15(19): 2077-2081.
- [30] LEE J G, LEE S, KIM Y J, et al. Association of chronic viral hepatitis B with insulin resistance[J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(42): 6120-6126.
- [31] KIM K, KIM K H, CHEONG J. Hepatitis B virus X protein impairs hepatic insulin signaling through degradation of IRS1 and induction of SOCS3[J]. PLoS One, 2010, 5(3): e8649.
- [32] SEIZ P L, SLANINA H, ZIEBUHR J, et al. Studies of nosocomial outbreaks of hepatitis B in nursing homes in Germany suggest a major role of hepatitis B e antigen expression in disease severity and progression[J]. Int J Med Microbiol, 2015, 305(7): 663-672.
- [33] LU J, HOU X, TU H, et al. Chronic hepatitis B virus infection status is more prevalent in patients with type 2 diabetes[J]. J Diabetes Investig, 2017, 8(4): 619-625.
- [34] KIM H Y, CHO H K, YOO S K, et al. Hepatic STAMP2 decreases hepatitis B virus X protein-associated metabolic deregulation[J]. Exp Mol Med, 2012, 44(10): 622-632.
- [35] LIEDTKE C, TRAUTWEIN C. The role of TNF and Fas dependent signaling in animal models of inflammatory liver injury and liver cancer[J]. Eur J Cell Biol, 2012, 91(6-7): 582-589.
- [36] WU X, CAI B, LU W, et al. HBV upregulated triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) expression on monocytes participated in disease progression through NF- κ B pathway[J]. Clin Immunol, 2021, 2021: 223108650.
- [37] 季旭明, 庄凌云, 崔有利, 等. 三仁汤对湿热证型病毒性肺炎小鼠模型的多靶点干预作用[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(6): 1287-1289, 1537-1538.
- JI X M, ZHUANG L Y, CUI Y L, et al. Effect of Sanren decoction target on damp heat syndrome of virus pneumonia in mice model[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2019, 37(6): 1287-1289, 1537-1538.
- [38] 王亮, 曹云, 李中峰, 等. 慢性萎缩性胃炎脾胃湿热证和脾胃虚寒证患者的血浆代谢组学特征[J]. 中医杂志, 2019, 60(2): 131-136.
- WANG L, CAO Y, LI Z F, et al. Characteristics of plasma metabolomics of chronic atrophic gastritis patients with spleen-stomach dampness-heat syndrome and spleen-stomach

- cold and deficiency syndrome[J]. *J Tradit Chin Med*, 2019, 60(2):131-136.
- [39] 彭晓婷,马琪,张晓松,等. 湿热泄泻模型大鼠的尿液代谢组学研究[J]. *中国实验动物学报*, 2019, 27(6):700-708.
PENG X T, MA Q, ZHANG X S, et al. Urine metabolomics in the rat model of damp-heat diarrhea[J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2019, 27(6):700-708.
- [40] 周燕萍,周姝含,吕文亮,等. 王氏连朴饮加味方对糖尿病大鼠血清CRP、TNF- α 、IL-6及血脂影响的实验研究[J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(10):2362-2364.
ZHOU Y P, ZHOU S H, LYU W L, et al. Experimental study on the effects of the modified WANG's Lianpu decoction on rats in diabetic rat model. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2018, 29(10):2362-2364.
- [41] 朱闽,徐楠,荀建宁,等. 建立实验性自身免疫性前列腺炎湿热证病证结合小鼠模型探讨[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(3):531-534.
ZHU M, XU N, XUN J N, et al. To establish mice model of experimental autoimmune prostatitis combined with dampness-heat syndrome [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2018, 36(3):531-534.
- [42] 龙静怡,梁爱华. 中药调控肠道菌群改善溃疡性结肠炎大肠湿热证的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(1):244-254.
LONG J Y, LIANG A H. Chinese medicine regulates intestinal flora to treat ulcerative colitis in patients with syndrome of large intestine dampness-heat: A review [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(1):244-254.
- [43] ZHAO X, AN X, YANG C, et al. The crucial role and mechanism of insulin resistance in metabolic disease [J], *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14:1149239.
- [44] 隋国媛,权冬梅,赵娜,等. 非酒精性脂肪性肝病湿热蕴结证患者肠道菌群与血清代谢物的相关性[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2023, 25(12):3969-3979.
SUI G Y, QUAN D M, ZHAO N, et al. The association of gut microbiota with serum metabolites in patients with non-alcoholic fatty liver damp-heat accumulation syndrome [J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2023, 25(12):3969-3979.
- [45] 林果,陈纪宏,尹宇航,等. 代谢组学在肝硬化及其并发症中的应用[J]. *世界华人消化杂志*, 2024, 32(8):561-568.
LIN G, CHEN J H, YIN Y H, et al. Application of metabolomics in liver cirrhosis and its complications [J]. *World Chin J Dig*, 2024, 32(8):561-568.
- [46] MOR A, TANKIEWICZ-KWEDLO A, KRUPA A, et al. Role of kynurenine pathway in oxidative stress during neurodegenerative disorders [J]. *Cells*, 2021, 10(7):1603.
- [47] WEI X, YIN F, WU M, et al. G protein-coupled receptor 35 attenuates nonalcoholic steatohepatitis by reprogramming cholesterol homeostasis in hepatocytes [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(3):1128-1144.
- [48] DONATE-CORREA J, SANCHEZ-NIÑO M D, GONZÁLEZ-LUIS A, et al. Repurposing drugs for highly prevalent diseases: Pentoxifylline, an old drug and a new opportunity for diabetic kidney disease [J]. *Clin Kidney J*, 2022, 15(12):2200-2213.
- [49] PANCHAPAKESAN U, POLLOCK C. Drug repurposing in kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2018, 94(1):40-48.

[责任编辑 王鑫]