

· 药物代谢 ·

## 基于UPLC-Q-TOF/MS的脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠造模及参苓白术散给药不同阶段的血浆代谢组学分析

徐霞<sup>1</sup>, 王玮玮<sup>2</sup>, 张文彤<sup>1</sup>, 熊艳玲<sup>3</sup>, 李冰涛<sup>1</sup>, 张启云<sup>1</sup>, 徐国良<sup>1\*</sup>, 姜丽<sup>1\*</sup>

(1. 江西中医药大学中医基础理论分化发展研究中心, 江西省中医病因生物学重点实验室, 江西省中药药理学重点实验室, 南昌 330004;

2. 井冈山大学附属医院, 江西吉安 343000; 3. 中南大学湘雅医院临床药理研究所, 长沙 410008)

**[摘要]** 目的:探讨脾虚湿困型溃疡性结肠炎(SDDR-UC)造模和给药不同阶段大鼠血浆中差异代谢物的变化,以及参苓白术散治疗UC的作用机制。方法:造模阶段将大鼠随机分为正常组、SDDR-UC组和单纯UC(P-UC)组。在给药阶段,对上述2个不同模型给予参苓白术散治疗。采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF/MS)对造模及给药结束后大鼠血浆进行检测,流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(正离子模式:0~2 min,99%A;2~9 min,99%~73%A;9~10 min,73%~44%A;10~13 min,44%~38%A;13~19 min,38%~28%A;19~21 min,28%~2%A;21~23 min,2%A;23~25 min,2%~10%A;25~27 min,10%~99%A。负离子模式:0~2 min,85%A;2~3 min,85%~65%A;3~5.5 min,65%~44%A;5.5~8 min,44%~25%A;8~10 min,25%~2%A;10~16 min,2%~85%A);电喷雾离子源,正、负离子模式检测,采集范围 $m/z$  50~1 000。通过偏最小二乘法-判别分析探索2个UC模型组大鼠在不同阶段潜在生物标志物的变化,对已鉴定的代谢物通过MetaboAnalyst 5.0进行代谢通路分析。结果:造模阶段鉴定出了16个潜在生物标志物,其中2个模型组大鼠共有11个潜在生物标志物,主要影响了初级胆汁酸生物合成通路。给药阶段筛选鉴定出23个潜在生物标志物,其中2个模型组共有3个潜在生物标志物,此外,SDDR-UC和P-UC模型大鼠中发生显著变化的潜在生物标志物还分别有11、9个,主要影响了嘌呤代谢、磷酸戊糖途径、嘧啶代谢、视黄醇代谢、初级胆汁酸生物合成、类固醇激素合成6条通路。结论:大鼠造模和给药阶段均出现了初级胆汁酸生物合成通路,呈现出动态变化过程,且参苓白术散对SDDR-UC大鼠的治疗作用可能与抑制核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路的表达、激活法尼醇X受体(FXR)、增强细胞色素P450的表达有关。

**[关键词]** 参苓白术散;脾虚湿困型溃疡性结肠炎;单纯溃疡性结肠炎;代谢组学;超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF/MS);胆汁酸;生物标志物

[中图分类号] R22;R28;R96;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2022)15-0111-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211870 [增强出版附件] 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210922.1443.003.html>

[网络出版日期] 2021-09-23 14:13

### Metabolomics Analysis of Plasma at Different Stages Based on UPLC-Q-TOF/MS: Modeling of Spleen Deficiency with Dampness Retention-ulcerative Colitis Rats and Administration of Shenling Baizhusan

XU Xia<sup>1</sup>, WANG Weiwei<sup>2</sup>, ZHANG Wentong<sup>1</sup>, XIONG Yanling<sup>3</sup>, LI Bingtao<sup>1</sup>, ZHANG Qiyun<sup>1</sup>, XU Guoliang<sup>1\*</sup>, JIANG Li<sup>1\*</sup>

(1. Research Center for Differentiation and Development of Traditional Chinese Medicine (TCM) Basic Theory, Jiangxi Province Key Laboratory of TCM Etiopathogenesis, Jiangxi Key Laboratory of

[收稿日期] 2021-07-27

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81703823,82060826);江西省卫生计生委中医药科研课题(2021B599)

[第一作者] 徐霞,硕士,从事中药药理与药代动力学评价研究,E-mail:870699844@qq.com

[通信作者] \*姜丽,博士,副教授,硕士生导师,从事中药药理与药代动力学评价研究,E-mail:jiangli1009@126.com;

\*徐国良,博士,教授,博士生导师,从事中药药理研究,E-mail:xuguoliang6606@126.com

*Pharmacology of TCM, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;*

*2. Affiliated Hospital of Jinggangshan University, Ji'an 343000, China;*

*3. Institute of Clinical Pharmacology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)*

**[Abstract]** **Objective:** Based on ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS), the changes of endogenous markers in rat plasma at the different stage, namely modeling and administration of Shenling Baizhusan (SLBZS), and the mechanism of SLBZS in the treatment of ulcerative colitis (UC) were studied. **Method:** In the modeling stage, rats were randomly divided into normal group, spleen deficiency with dampness retention-UC (SDDR-UC) and pure-UC (P-UC) model group. In the administration stage, SLBZS was given to the above two different model groups. After modeling and administration, rat plasma was collected and determined by UPLC-Q-TOF/MS. The mobile phase was 0.1% formic acid aqueous solution (A)-acetonitrile (B) for gradient elution (in positive ion mode: 0-2 min, 99%A; 2-9 min, 99%-73%A; 9-10 min, 73%-44%A; 10-13 min, 44%-38%A; 13-19 min, 38%-28%A; 19-21 min, 28%-2%A; 21-23 min, 2%A; 23-25 min, 2%-10%A; 25-27 min, 10%-99%A; in negative ion mode: 0-2 min, 85%A; 2-3 min, 85%-65%A; 3-5.5 min, 65%-44%A; 5.5-8 min, 44%-25%A; 8-10 min, 25%-2%A; 10-16 min, 2%-85%A). The electrospray ionization (ESI) temperature was 120 °C under the positive and negative ion modes, and the acquisition range was 50-1 000. Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) was used to analyze the changes of endogenous metabolites in the above two different model rats from the different stage. MetaboAnalyst 5.0 was used to analyze the metabolic pathways of these identified metabolites. **Result:** Sixteen potential biomarkers were screened and identified in the modeling stage, among which 11 potential biomarkers were common in the two model rats, which mainly affected the primary bile acid biosynthesis pathway. Twenty-three potential biomarkers were screened and identified during the administration stage, among which 3 potential biomarkers were shared by the two model rats, and SDDR-UC and P-UC model rats had 11 and 9 potential biomarkers, respectively. It mainly affected 6 pathways such as purine metabolism, pentose phosphate pathway, pyrimidine metabolism, retinol metabolism, primary bile acid biosynthesis and steroid hormone synthesis. **Conclusion:** The primary bile acid biosynthesis pathway appears in the different stage of modeling and administration of UC, showing a dynamic change process. The therapeutic effect of SLBZS on SDDR-UC rats may be related to inhibiting the expression of nuclear transcription factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) signaling pathway, activating farnesoid X receptor (FXR) and enhancing the expression of cytochrome P450.

**[Keywords]** Shenling Baizhusan; spleen deficiency with dampness retention-ulcerative colitis; pure-ulcerative colitis; metabolomics; ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS); bile acid; biomarkers

溃疡性结肠炎(UC)是一种慢性非特异性的结肠和直肠炎症性疾病,其主要特征为从直肠开始延伸到结肠近端的反复发作的黏膜炎症<sup>[1-2]</sup>,症状主要有腹泻、黏液脓血便、腹痛等。中医将其归为痢疾、休息痢等病证范畴<sup>[3]</sup>,认为脾虚为发病之本,湿邪为治病之标,血瘀为局部病理变化。在中华中医药学会脾胃病分会制定的UC证候分类标准中有大肠湿热证、脾虚湿困证、寒热错杂证、肝郁脾虚证、脾肾阳虚证、阴血亏虚证,其中脾虚湿困型最为常见<sup>[4]</sup>,且UC的临床证型也以脾虚型最为多见,故治疗上也多以健脾化湿为主。参苓白术散是健脾化湿法

的代表方剂,出自《太平惠民合剂局方》,临床治疗UC取得了较好疗效<sup>[5]</sup>。

代谢组学是对某一生物或细胞在一特定生理时期内所有低相对分子质量代谢产物同时进行定性和定量分析的一门学科,可从整体水平更精确地反映小分子代谢物在治疗过程中生物体系的状态,符合中医的整体观、动态观和辩证观<sup>[6-9]</sup>。经查阅文献发现,关于UC的代谢组学研究较多,但尚未发现有关参苓白术散治疗UC的代谢组学研究。同时,本课题组前期研究表明,脾虚湿困型UC(SDDR-UC)大鼠较单纯UC(P-UC)大鼠血清降钙素原

(PCT)、C反应蛋白(CRP)、红细胞生成素(EPO)及缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )含量均升高,而经过参苓白术散干预后,大鼠血清中的PCT、CRP、EPO、HIF-1 $\alpha$ 均有不同程度下降,提示该复方可通过提高机体的抗炎及抗氧化能力发挥治疗UC的作用<sup>[10]</sup>。基于此,本研究拟采用超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF/MS),应用偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)等分析方法,筛选2组不同模型大鼠造模、给药阶段的潜在生物标志物,通过MetaboAnalyst 5.0进行代谢通路分析,以揭示不同模型大鼠从造模到给药整个周期的代谢组学动态变化及参苓白术散治疗SDDR-UC大鼠的作用机制。

## 1 材料

ACQUITY UPLC型超高效液相色谱系统和SYNAPT G2 HDMS型质谱仪(美国Waters公司),Milli-Q型超纯水仪(美国密理博公司),SPD131 DDA-P1-230型真空离心浓缩系统和SL8R型台式冷冻离心机(赛默飞世尔科技有限公司),Vortex Genius 3型涡旋混合仪(德国IKA公司)。葡聚糖硫酸钠(DSS,美国MP Biomedicals公司,批号S0432),生理盐水(江西科伦药业有限公司,批号C19022201,规格500 mL),参苓白术散(北京同仁堂制药有限公司,批号18111005),水为自制去离子水或双蒸水,甲酸、乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SPF级雄性SD大鼠,体质量(220 $\pm$ 20)g,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物生产合格证号SCXK(湘)2019-0004,实验室许可证号SYXK(赣)2017-0004,动物适应性饲养1周,饲养条件为室温(22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,相对湿度60%~70%,分笼饲养,自由饮食、饮水。本研究所涉及的动物实验经江西中医药大学研究伦理委员会审查批准,批准号JZLLSC20210025。

## 2 方法

**2.1 动物分组、造模和给药<sup>[10]</sup>** 造模阶段将大鼠随机分为正常组( $n=8$ )、SDDR-UC组( $n=40$ )和P-UC组( $n=12$ ),适应性喂养1周,正常组和P-UC组正常供给饲料、饮水。用病证结合法<sup>[11]</sup>复制SDDR-UC大鼠模型,即单日按每只2 mL $\cdot$ d<sup>-1</sup>空腹给予冰水灌胃并置于2 cm深的水中(8 h $\cdot$ d<sup>-1</sup>)使其保持站立、游泳状态;双日给予精炼猪油灌胃(每只3 mL $\cdot$ d<sup>-1</sup>)并给予充足饲料和饮水,连续48 d。除正常组外,其余各组大鼠按0.2 g $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>灌胃5% DSS,连续8 d,继

续体质量和饮水量测定,观察大鼠粪便隐血情况和性状,造模阶段3组大鼠各取6只眼眶采血进行代谢组学研究。模型复制阶段结束后将造模阶段大鼠随机分成模型组(SDDR-UC、P-UC模型组分别有10、6只)和给药组,SDDR-UC大鼠随机选出30只给予低、中、高剂量[参苓白术散成人临床日剂量18 g,大鼠每天给药中剂量=成人临床日剂量(18 g) $\times$ 6.3(人与大鼠体表面积折算系数)/成人体质量(60 kg)=1.89 g $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>,分别以大鼠给药中剂量的0.5、2倍作为给药低、高剂量,即0.945、3.78 g $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>,根据大鼠体质量和灌胃体积,将参苓白术散颗粒剂溶解于双蒸水中,分别配制成质量浓度为0.062 5、0.125、0.25 g $\cdot$ mL<sup>-1</sup>的溶液,下同]参苓白术散干预,P-UC大鼠随机选出6只按1.89 g $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>给予参苓白术散干预,各组大鼠给药周期均为30 d,其余组(即正常组和2个模型组)大鼠按2 mL $\cdot$ d<sup>-1</sup>灌胃灭菌水。大鼠分组、造模和给药流程见图1。

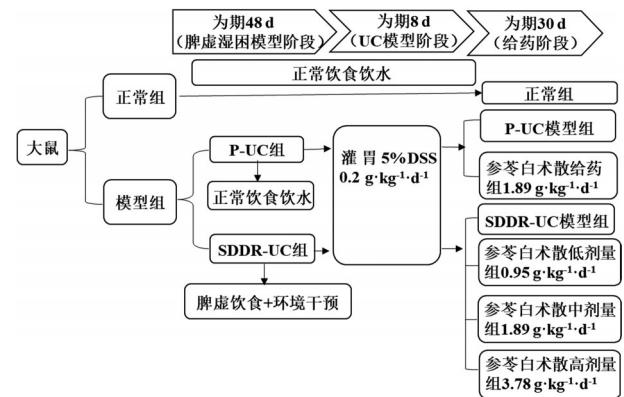


图1 大鼠分组、造模及给药流程

Fig. 1 Process of rat grouping, modeling and administration

## 2.2 SDDR-UC造模判断标准

**2.2.1 脾虚湿困模型判断标准<sup>[10]</sup>** 根据脾虚湿困证的临床表现,参照文献[12-13],拟定大鼠脾虚湿困模型宏观体征诊断标准(①粪便时软、时澹;②食少纳呆;③消瘦,体质量减轻;④神态萎靡,四肢不收,毛色枯槁;⑤卷缩聚堆;⑥易疲劳。①和②为主证,③~⑥为兼证。具备2项主证和2项兼证时,即可以认为脾虚证造模成功)和脾虚湿困动物模型症状量化积分表对脾虚湿困情况进行评估。

**2.2.2 UC模型判断标准** 记录大鼠的体质量、大便变化情况,根据评分标准<sup>[14]</sup>计算疾病活动指数(DAI),计算公式为DAI=(大便出血情况评分+体质量下降百分数评分+大便性状评分)/3。

**2.3 血浆样品采集与处理** 造模48 d和给药30 d后,分别从大鼠眼底静脉丛采血,离心处理(4 $^{\circ}$ C,

15 000 r·min<sup>-1</sup>, 15 min, 离心半径 12 cm, 下同), 分离收集大鼠血浆, -80 °C 冰箱保存备用。将血浆置于 4 °C 冰箱解冻, 取血浆 100 μL 于 1.5 mL 离心管中, 加入甲醇 300 μL, 涡旋混匀 30 s, 4 °C 恒温静置 3 h, 离心, 取上清液于离心管, 真空浓缩离心 (3 h, 真空浓缩压力 0.03 MPa), 加 15% 甲醇 200 μL 复溶, 涡旋混匀 30 s, 离心, 取上清液于样品瓶中, 待测。

## 2.4 UPLC-Q-TOF/MS 检测

**2.4.1 色谱条件** Waters ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱 (1.7 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱 (正离子模式: 0~2 min, 99%A; 2~9 min, 99%~73%A; 9~10 min, 73%~44%A; 10~13 min, 44%~38%A; 13~19 min, 38%~28%A; 19~21 min, 28%~2%A; 21~23 min, 2%A; 23~25 min, 2%~10%A; 25~27 min, 10%~99%A。负离子模式: 0~2 min, 85%A; 2~3 min, 85%~65%A; 3~5.5 min, 65%~44%A; 5.5~8 min, 44%~25%A; 8~10 min, 25%~2%A; 10~16 min, 2%~85%A), 柱温 40 °C, 样品室温度 10 °C, 流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 1 μL。

**2.4.2 质谱条件和质量控制 (QC) 样品分析** 采用电喷雾离子源 (ESI), 离子源温度 120 °C, 正、负离子检测模式, 正模式下的提取锥孔电压 80 V, 毛细管电压 3.0 kV; 负离子模式下的补偿电压 80 V, 毛细管电压 -2.5 kV。不同模式下的其他参数均一致, 锥孔电压 40 V, 锥孔气流速 50 L·h<sup>-1</sup>, 去溶剂气温度 400 °C, 流速 800 L·h<sup>-1</sup>, 采集范围 *m/z* 50~1 000。为确保质量的准确性和重复性, 采用亮氨酸脑啡肽进行实时质量校正, 正、负离子模式的 *m/z* 分别为 556.277 1、554.261 5。通过制备 QC 样品进行考察, 以保证仪器检测的稳定性。在进样之前需要先运行 5 次 QC 样品, 以保证仪器达到稳定状态。而在样品检测过程中, 需在 8 个样品检测后运行 1 次 QC 样品以平衡系统。

**2.5 代谢组学数据处理与分析<sup>[15]</sup>** 通过 MassLynx 4.1 采集样本信息, 得样品总离子流图 (TIC); 基于 Progenesis QI 对采集的谱图进行峰提取、峰对齐、峰匹配和峰强度校正等, 得到包含化合物保留时间和 *m/z* 信息的 .csv 格式文件。分别对正、负模式下得到的 QC 样品进行 Pearson 分析, 计算复相关系数 (*R*<sup>2</sup>), 以考察仪器检测的稳定性。将处理后的数据矩阵导入 SIMCA 14.1, 对正常组、模型组和给药组结果进行 PLS-DA, 根据变量重要性投影 (VIP) 值 >1 及采用 GraphPad Prism 8.0 进行 *t* 检验 (*P*<0.05) 筛选差异

代谢物, 筛选出的差异代谢物通过人类代谢组数据库 (HMDB) 进行鉴定, 将鉴定得到的潜在生物标志物导入 MetaboAnalyst 5.0 中进行代谢通路分析。

## 3 结果

**3.1 大鼠一般状况、DAI 评分** 根据本课题组前期结果表明<sup>[10]</sup>, 脾虚湿困大鼠逐渐出现饮食量减少, 体质量增长减慢; 精神萎靡, 嗜卧懒动, 蜷缩聚堆, 拱背、眯眼; 皮毛枯槁无光泽; 阴囊松弛下垂, 小便黄, 大便软或溏, 上述症状与中医脾虚湿困证相似。各组大鼠脾虚及 DAI 评分见表 1, 与正常组比较, SDDR-UC 组评分显著升高 (*P*<0.01), SDDR-UC 组和 P-UC 组的 DAI 评分均显著升高 (*P*<0.01), 提示造模成功。

表 1 各组大鼠脾虚及 DAI 评分 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	<i>n</i>	脾虚评分	DAI 评分
正常组	8	3.00±0.47	0.63±0.25
SDDR-UC 组	10	5.50±1.41 <sup>1)</sup>	2.56±0.50 <sup>1)</sup>
P-UC 组	6	-	1.56±0.58 <sup>1)</sup>

注: 与正常组比较 <sup>1)</sup>*P*<0.01

**3.2 大鼠血浆代谢图谱** 应用 UPLC-Q-TOF/MS 进行血浆样品的分离和数据采集, 得到各组大鼠的血浆代谢图谱, 结果发现各组样品 TIC 基本相似, 但各组峰型及峰面积存在一定差异, 表明大鼠体内部分代谢物发生变化。两组 UC 大鼠造模及给药阶段的血浆总离子流图见增强出版附加材料。

**3.3 代谢组学分析方法稳定性考察** 基于代谢物的相对丰度来计算 QC 样品之间的 Pearson 相关系数, 范围为 -1~1, 用 *R*<sup>2</sup> 表示。QC 样品相关性越高 (*R*<sup>2</sup> 越接近于 1), 说明整个检测过程稳定性越好, 数据质量也越高。造模及给药阶段的 QC 样品相关性分析见增强出版附加材料, 在正、负离子模式下, *R*<sup>2</sup> 均 >0.99, 接近于 1, 提示在检测过程中稳定性较好, 数据质量较高。

**3.4 UC 大鼠造模及给药不同阶段的血浆代谢组 PLS-DA** 将预处理后包含各组质谱信息, 如 *m/z*、保留时间、相对丰度值的 .csv 格式文件数据导入 SIMCA 14.1 进行多元统计分析, 见增强出版附加材料。结果发现造模和给药不同阶段各组之间分离良好, 存在着明显的差异代谢物。

**3.5 UC 大鼠造模阶段的血浆潜在生物标志物含量变化** 造模阶段潜在生物标志物在各组中的相对含量用相对丰度表示, 见表 2。结果与正常组比较,

SDDR-UC组和P-UC组中共有16个物质含量发生改变。其中,只在SDDR-UC组中发生明显变化的潜在生物标志物有brevianamide B、2-羟甲基奥氮平、4-oxo-retinoic acid( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),只在P-UC组中发生明显变化的潜在生物标志物则为quillaic

acid 3- {galactosyl- (1→2) - [rhamnosyl- (1→3) ] - glucuronide} 28- {xylosyl- (1→4) - rhamnosyl- (1→2) - [rhamnosyl- (1→3) ] - 4 acetyl-fucosyl} ester和N-油酰酪氨酸( $P<0.05$ )。潜在生物标志物的相对丰度热图分析见增强出版附加材料。

表2 建模阶段各组大鼠血浆在正、负离子模式下潜在生物标志物的相对丰度( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

Table 2 Relative abundance of latent biomarkers in different ion modes of rat plasma at modeling stage ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=6$ )

离子模式	编号	潜在生物标志物	正常组	SDDR-UC组	P-UC组	HMDB编号
正	P-1	(3 <i>S</i> , 7 <i>E</i> , 9 <i>R</i> )-4, 7-megastigmadiene-3, 9-diol 9-[ apiosyl- (1→2) 181.85±754.27 3 589.86±788.42 <sup>2)</sup> 3 215.93±380.93 <sup>1)</sup> 0029766				
	P-2	2, 3-dimethoxy-4-[(2 <i>E</i> )-3-phenylprop-2-en-1-yl]phenol 2 965.55±1 491.09 16 133.22±6 228.28 <sup>2)</sup> 20 146.24±4 131.36 <sup>2)</sup> 0130347				
	P-3	2-(3, 5-dimethoxyphenyl)-5-hydroxy-7-methoxy-6-(3-methylbut-2-en-1-yl)-3, 4-dihydro-2 <i>H</i> -1-benzopyran-4-one 66.02±36.47 790.80±294.17 <sup>1)</sup> 1 098.74±483.22 <sup>2)</sup> 0132662				
	P-4	氯沙坦 N2-葡萄糖苷酸 67.145±41.65 1 057.39±456.93 <sup>1)</sup> 1 630.83±785.26 <sup>2)</sup> 0013847				
	P-5	2-羟甲基奥氮平 285.52±122.26 3 500.92±1 978.05 <sup>2)</sup> 2 898.24±693.17 0060987				
	P-6	丙戊酸葡萄糖醛酸苷 1 269.42±171.55 2 159.17±693.47 <sup>1)</sup> 2 566.65±601.25 <sup>2)</sup> 0000901				
	P-7	6-hydroxy-8-hexacosanone 2 266.26±1 103.42 14 060.05±6 971.04 <sup>1)</sup> 16 055.61±7 559.57 <sup>2)</sup> 0035628				
	P-8	3-溴酪氨酸 386.25±216.61 2 706.25±1 360.87 <sup>1)</sup> 3 080.74±1 411.94 <sup>2)</sup> 0005874				
	P-9	6-[4-[3-(3, 7-dimethylocta-2, 6-dien-1-yl)-7-hydroxy-8-(4-hydroxy-3-methylbut-2-en-1-yl) -4-oxo-4 <i>H</i> -chromen-2-yl] -3-hydroxyphenoxy] -3, 4, 5-trihydroxyoxane-2-carboxylic acid 2 493.73±969.76 6 828.49±1 299.64 <sup>2)</sup> 8 644.14±1 326.18 <sup>2)</sup> 0129673				
	P-10	四氨基酰甘氨酸 985.99±142.07 1 856.38±293.32 <sup>2)</sup> 1 464.03±228.98 <sup>2)</sup> 013310				
	P-11	4-oxo-retinoic acid 2 181.85±754.27 3 589.86±788.42 <sup>1)</sup> 3 215.93±380.93 006258				
负	N-1	quillaic acid 3- {galactosyl- (1→2) - [rhamnosyl- (1→3) ] - glucuronide} 28- {xylosyl- (1→4) - rhamnosyl- (1→2) - [rhamnosyl- (1→3) ] - 4 acetyl-fucosyl} ester 700.25±96.93 2 331.40±809.92 3 576.40±2 403.41 <sup>1)</sup> 0036274				
	N-2	albanin G 3 412.42±1 709.43 12 772.76±3 759.49 <sup>1)</sup> 16 254.74±6 878.68 <sup>2)</sup> 0030075				
	N-3	N-油酰酪氨酸 5 400.80±829.21 4 017.07±646.39 3 523.76±700.50 <sup>1)</sup> 0062337				
	N-4	brevianamide B 777.96±347.56 5 133.34±1 376.13 <sup>2)</sup> 3 244.96±1 591.93 0030380				
	N-5	鹅去氧胆酸 1 026.14±732.43 3 120.11±1 614.61 <sup>1)</sup> 2 086.25±105.96 <sup>1)</sup> 0000518				

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$ ;HMDB.人类代谢组数据库(表3同)

3.6 UC大鼠给药阶段血浆潜在生物标志物含量变化 给药阶段潜在生物标志物在各组中的相对丰度见表3。结果发现与正常组比较,2个不同UC模型中共有23个物质含量发生改变,其中SDDR-UC模型组磷酸核糖焦磷酸盐、硫代双丙酸二癸酯、三萜等12个物质的相对丰度明显上升( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),12-羟基-8,10-十八碳二烯酸、10-hydroxy-8-nor-2-fenchanon glucoside的相对丰度则明显下降( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ );P-UC模型组中7',8'-dihydro-8'-hydroxycitrinaxanthin、 $\gamma$ -谷氨酰亮氨酸、16 $\beta$ -羟基雌酮、2-decaprenyl-6-methoxy-3-methyl-1,4-benzoquinone的相对丰度明显上升( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),而12-羟基-8,10-十八碳二烯酸、全反式己烯基二磷酸、胆酸等

8个物质的相对丰度则明显下降( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。以上物质中在2个不同模型中呈现相同变化的有12-羟基-8,10-十八碳二烯酸、 $\gamma$ -谷氨酰亮氨酸、16 $\beta$ -羟基雌酮。给药后,不同剂量的参苓白术散能使绝大部分内源性标志物呈现良好的回调趋势。与SDDR-UC模型组比较,参苓白术散可以明显下调磷酸核糖焦磷酸盐、 $\gamma$ -谷氨酰亮氨酸、16 $\beta$ -羟基雌酮等12个生物标志物,明显上调12-羟基-8,10-十八碳二烯酸、2-decaprenyl-6-methoxy-3-methyl-1,4-benzoquinone、胆酸3个生物标志物。与P-UC模型组相比,参苓白术散可以明显下调7',8'-dihydro-8'-hydroxycitrinaxanthin和2-decaprenyl-6-methoxy-3-methyl-1,4-benzoquinone的相对丰度( $P<0.05$ ,  $P<$

0.01),上调全反式己烯基二磷酸、pimelylcarnitine、胆酸等7个生物标志物的相对丰度( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。潜在生物标志物的相对丰度热图分析见增出版附加材料。

表3 给予参苓白术散阶段大鼠血浆正、负离子模式下潜在生物标志物的相对丰度( $\bar{x}\pm s$ )

Table 3 Relative abundance of latent biomarkers in different ion modes of rat plasma at administration stage ( $\bar{x}\pm s$ )

离子模式	编号	潜在生物标志物	正常组 (n=7)	SDDR-UC 模型组(n=8)	P-UC模型组 (n=6)	参苓白术散组			P-UC给药组 (n=4)
						低剂量(n=8)	中剂量(n=10)	高剂量(n=10)	
正	P-1	磷酸核糖焦磷酸盐	323.1±130.1	601.7±210.2 <sup>2)</sup>	259.5±182.6	329.3±121.9 <sup>3)</sup>	384.1±113.7 <sup>3)</sup>	330.0±77.7 <sup>3)</sup>	411.1±348.8
	P-2	A	310.3±249.7	784.3±105.5	1 311.3±721.5 <sup>2)</sup>	849.8±318.7	955.4±239.3	933.5±233.9	1 188.7±748.4 <sup>6)</sup>
	P-3	硫代双丙酸二癸酯	614.1±133.1	880.3±115.7 <sup>2)</sup>	470.0±266.1	632.2±219.6 <sup>4)</sup>	644.3±109.4 <sup>4)</sup>	507.6±89.8 <sup>4)</sup>	463.5±343.9
	P-4	nigakihiemiacetal B	227.7±83.1	373.5±113.0 <sup>1)</sup>	161.4±122.0	214.8±70.4 <sup>3)</sup>	249.8±82.4	234.8±51.1	270.5±274.3
	P-5	12-羟基-8,10-十八 碳二烯酸	1 959.6±648.6	1 044.1±658.8 <sup>2)</sup>	759.4±363.0 <sup>1)</sup>	1 333.5±471.2	1 643.6±827.5 <sup>3)</sup>	1 161.4±458.2	882.4±1 113.0
	P-6	10-hydroxy-8-nor-2- fenchanone glucoside	1 963.0±465.9	1 385.7±370.0 <sup>1)</sup>	1 384.1±317.0	1 055.5±371.0	928.5±455.7	924.2±366.0 <sup>3)</sup>	1 140.9±734.5
	P-7	三萜	2 287.0±782.0	3 587.7±1 074.8 <sup>1)</sup>	2 809.8±1 200.9	2 739.1±731.2	3 078.4±1 151.1	2 509.7±568.0	2 517.0±780.3
	P-8	全反式己烯基二磷酸	3 811.4±396.6	3 803.6±580.4	2 417.5±629.7 <sup>2)</sup>	3 561.4±317.5	4 011.2±835.0	3 756.7±508.1	3 492.6±1 061.4 <sup>6)</sup>
	P-9	pimelylcarnitine	4 442.0±491.4	4 452.6±635.9	2 874.6±698.2 <sup>2)</sup>	4 240.4±283.9	4 681.9±730.9	4 164.7±436.0	3 972.1±1 064.5 <sup>6)</sup>
	P-10	氢辛可宁	2 141.7±251.5	2 277.1±352.6	1 520.9±443.4 <sup>1)</sup>	2 117.6±163.1	2 407.0±440.2	2 284.9±157.1	2 475.9±108.9 <sup>6)</sup>
	P-11	B	4 285.3±425.0	4 287.5±560.1	2 672.5±706.4 <sup>2)</sup>	4 002.8±258.3	4 199.8±673.8	3 974.7±370.8	3 569.2±1 001.9 <sup>6)</sup>
	P-12	uzarigenin 3-[xylosyl- (1→2)-rhamnoside]	3 422.9±335.5	3 384.0±406.4	2 081.2±556.5 <sup>2)</sup>	3 167.8±237.9	3 383.7±470.4	3 136.7±291.8	3 228.5±231.2 <sup>6)</sup>
	P-13	4-hydroxyretinoic acid	3 450.0±315.2	3 532.1±456.8	2 200.3±598.4 <sup>2)</sup>	3 185.0±234.6	3 291.5±478.6	3 205.5±317.9	2 988.1±759.3 <sup>6)</sup>
	P-14	胆酸	53.4±6.3	32.5±13.0	21.6±17.2 <sup>2)</sup>	35.1±10.1 <sup>4)</sup>	51.0±8.1 <sup>4)</sup>	49.6±6.6	40.3±22.0 <sup>5)</sup>
负	N-1	13Z-docosenoyl-CoA	3 647.2±261.7	5 345.6±792.9 <sup>3)</sup>	3 413.2±424.8	3 613.0±1 496.9 <sup>4)</sup>	4 527.5±638.6	5 060.7±382.1	3 898.7±371.5
	N-2	γ-谷氨酰亮氨酸	602.1±73.7	912.9±218.5 <sup>1)</sup>	789.4±143.5 <sup>1)</sup>	494.9±208.2 <sup>4)</sup>	790.6±184.7	757.8±198.1	679.8±97.8
	N-3	cis-6-nitro-p-mentha- 1(7),2-diene	691.1±69.2	1 067.0±198.7 <sup>1)</sup>	572.8±95.2	623.5±267.6 <sup>4)</sup>	882.8±211.2	1 070.6±141.1	740.1±152.8
	N-4	内吗啡肽-2	2 039.8±496.2	3 224.4±680.7 <sup>1)</sup>	2 672.8±408.3	2 076.8±965.7 <sup>3)</sup>	2 642.2±460.0	2 805.4±382.2	3 007.5±1 028.8
	N-5	16β-羟基雌酮	3 221.4±1 196.6	5 358.6±1 316.4 <sup>1)</sup>	3 977.2±1 116.1 <sup>1)</sup>	3 065.3±1 595.5 <sup>4)</sup>	4 119.3±1 340.9	3 565.7±856.2	4 482.2±608.8
	N-6	S-(PGJ2)-glutathione	755.1±251.5	1 107.0±239.6 <sup>1)</sup>	909.8±218.7	649.2±324.5 <sup>4)</sup>	856.2±240.9	763.5±157.3	1 047.2±140.8
	N-7	C	450.0±130.9	216.9±83.7	937.7±185.3 <sup>2)</sup>	718.6±299.6 <sup>4)</sup>	1 049.7±192.6 <sup>4)</sup>	878.2±165.0 <sup>4)</sup>	648.7±62.0 <sup>5)</sup>
	N-8	溶血磷脂酰乙醇胺 [0: 0/24; 6 (6Z, 9Z, 12Z, 15Z, 18Z, 21Z)]	514.9±176.7	837.0±180.5 <sup>1)</sup>	620.8±161.1	498.7±255.7 <sup>3)</sup>	640.4±208.7	550.3±120.7	708.3±112.2
	N-9	3β-羟基肉桂内酯	14 794.9±1 979.8	20 437.2±2 517.9 <sup>1)</sup>	17 203.6±1 597.9	14 077.4±5 880.9 <sup>3)</sup>	17 702.9±2 261.0	16 024.6±1 169.7	20 216.0±3 130.8

注:与SDDR-UC模型组比较<sup>3)</sup> $P<0.05$ ,<sup>4)</sup> $P<0.01$ ;与P-UC模型组比较<sup>5)</sup> $P<0.05$ ,<sup>6)</sup> $P<0.01$ ;A.7',8'-dihydro-8'-hydroxycitranixanthin;B.(1S,2R,4R)-p-menth-8-ene-2,10-diol 2-glucoside;C.2-decaprenyl-6-methoxy-3-methyl-1,4-benzoquinone

### 3.7 UC大鼠造模及给药不同阶段内源性潜在生物标志物通路分析

**3.7.1 造模阶段** 由图2可知,在2个不同模型组均发现了1条初级胆汁酸生物合成代谢通路,与其相关的主要代谢物为鹅去氧胆酸。

**3.7.2 给药阶段** 由图3可知,SDDR-UC大鼠特有3条代谢通路,分别为嘌呤代谢、磷酸戊糖途径、嘧啶代谢,与三者相关的主要代谢物为磷酸核糖焦磷酸盐。P-UC大鼠特有1条视黄醇代谢,与其相关的

主要代谢物为4-oxo-retinoic acid。SDDR-UC大鼠与P-UC大鼠共同的代谢通路为类固醇激素合成(与其相关的主要代谢物为16β-羟基雌酮)和初级胆汁酸生物合成(与其相关的主要代谢物为胆酸)。

## 4 讨论

在造模阶段,鹅去氧胆酸是初级胆汁酸的重要标志物。鹅去氧胆酸通过增加胱硫醚-γ-裂解酶的表达,进而释放硫化氢,从而对结肠炎产生积极的

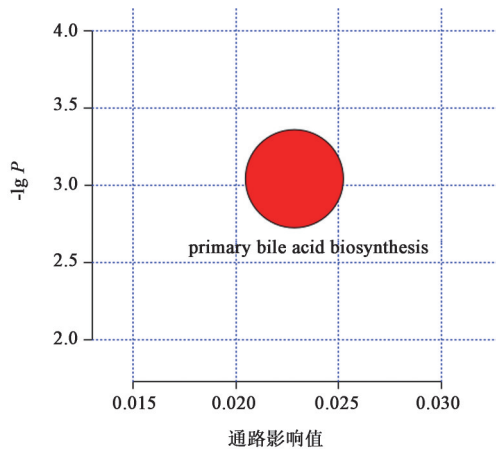
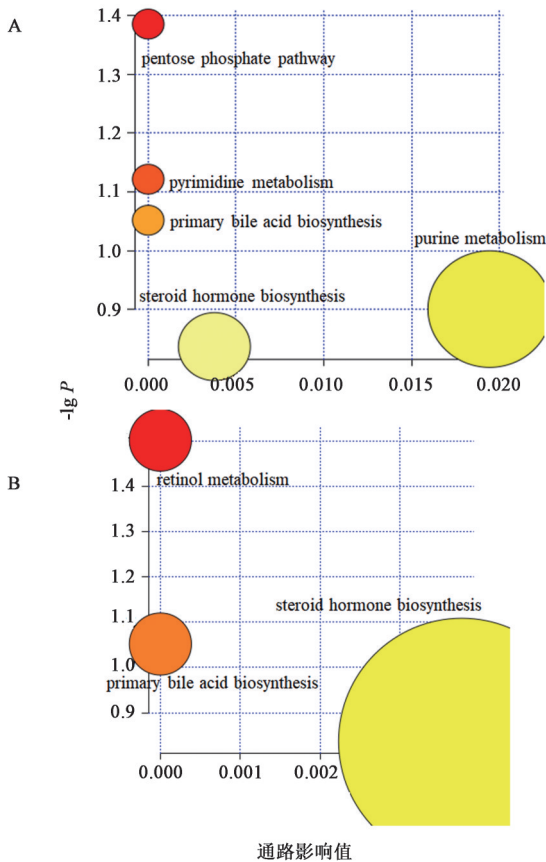


图2 造模阶段大鼠血浆代谢通路分析  
Fig. 2 Metabolic pathway of rats plasma in modeling stage



注:A. SDDR-UC模型组;B. P-UC模型组  
图3 给予参苓白术散阶段大鼠血浆代谢通路分析  
Fig. 3 Metabolic pathway of rats plasma in administration stage

作用<sup>[16]</sup>。但鹅去氧胆酸的水平在2组不同UC模型大鼠中均明显增加,这可能是造模阶段炎症反应刚开始,机体为自我防御,促使机体产生更多的鹅去氧胆酸。给药后2组不同模型大鼠中也发现了一条初级胆汁酸生物合成通路,与其相关的主要代谢物为胆酸。胆酸属于胆烷酸类物质,化学结构上属于甾体类化合物,具有一定的抗炎作用,在模型组中

相对丰度下降,经参苓白术散干预后明显回调。同时还发现1条类固醇激素合成通路,16 $\beta$ -羟基雌酮是类固醇激素合成途径中的参与物,是包含3-羟基化雌二醇结构的类固醇物质。类固醇激素合成途径从胆固醇开始,通过与特定的细胞内受体相结合,刺激多种信号传导途径<sup>[17]</sup>。TOWNSEND等<sup>[18]</sup>指出,类固醇激素是人类或者动物疾病治疗和检测的重要指标,通过刺激多种信号转导途径如核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)途径来促进炎症发生<sup>[19]</sup>,还可能通过影响抗炎细胞因子的表达来调节体内的炎症反应。在2组不同UC模型中发现16 $\beta$ -羟基雌酮丰度明显升高,SDDR-UC模型经参苓白术散干预后出现了不同程度的回调。

在SDDR-UC大鼠中发现了磷酸戊糖途径、嘌呤和嘧啶代谢通路。磷酸核糖焦磷酸盐是这3条代谢通路关键物质,是一种磷酸戊糖,可用于组氨酸和嘌呤/嘧啶核苷酸的生物合成。嘧啶代谢途径的紊乱可能导致神经系统、血液循环系统、免疫系统相关疾病,而抑制嘧啶的生物合成可以有效治疗一些免疫性的炎症性疾病<sup>[20-21]</sup>。据报道,氧化应激的增加会导致嘌呤代谢的普遍增加<sup>[22]</sup>。在本研究中,SDDR-UC模型组磷酸核糖焦磷酸盐的含量较正常组显著增加,经参苓白术散干预后可明显降低,推测参苓白术散可能也影响了嘧啶和嘌呤代谢过程,促进了机体嘧啶和嘌呤代谢过程的恢复。在P-UC大鼠中发现的4-oxo-retinoic acid是视黄醇代谢的重要组成化合物,属于一类被称为类视黄醇的有机化合物。在视黄醇代谢过程中,4-羟基视黄酸是全反式维甲酸被细胞色素P450 26A1(CYP26A1)羟基化而成,有研究表明敲除小鼠的CYP26A1可导致全身炎症和寿命降低<sup>[23]</sup>。在本文研究中,发现P-UC模型组的4-hydroxyretinoic acid含量较正常组显著降低,经参苓白术散干预后显著回调。

在造模和给药不同阶段均发现了初级胆汁酸生物合成通路,参与此通路的鹅去氧胆酸和胆酸均为初级胆汁酸的最终产物。去氧胆酸和胆酸是肝脏中胆固醇合成的2种主要胆汁酸,胆汁酸合成后,肝细胞将胆汁酸转化为胆盐,与其他胆汁成分一起被排泄到肾小管中,由此产生的胆汁被运送到胆囊并储存在胆囊中。部分胆盐被肠道细菌代谢产生次级胆汁酸和游离的初级胆汁酸,初级和次级胆汁酸在回肠末端和大肠内被重新吸收,然后通过门静脉循环回到肝脏<sup>[24-25]</sup>。胆汁酸代谢紊乱在肠道炎症中起着重要作用<sup>[26]</sup>。初级胆汁酸可激活法尼醇X

受体(FXR),FXR与NF- $\kappa$ B信号通路密切相关,可通过阻止NF- $\kappa$ B信号通路的表达来抑制炎症反应,同时,FXR还可能是炎症反应本身的靶点<sup>[27-28]</sup>。本文研究发现与正常组比较,2组不同模型大鼠在造模阶段涉及的初级胆汁酸生物合成通路物质鹅去氧胆酸的相对丰度均明显升高,而在给药阶段涉及的初级胆汁酸生物合成通路物质胆酸的相对丰度则明显下降。鹅去氧胆酸的相对丰度升高可能是因为炎症反应本身也会抑制FXR表达,减弱对CYP7A1(胆汁酸合成经典途径和替代途径的限速酶)的作用,使得鹅去氧胆酸增多。给药阶段胆酸相对丰度降低可能一方面是因为激活细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)和NF- $\kappa$ B信号通路抑制CYP7A1表达和胆汁酸合成<sup>[29]</sup>,另一方面UC大鼠小肠上的胆汁酸转运蛋白如有机溶质转运体 $\alpha/\beta$ (OST $\alpha$ /OST $\beta$ )表达下降,导致胆汁盐肠道重吸收至肝门静脉减少,从而使得胆酸含量降低<sup>[30]</sup>。经参苓白术散干预后可增加胆酸含量,推测参苓白术散可通过激活FXR抑制NF- $\kappa$ B的表达,从而降低促炎因子的表达,改善炎症状态。

综上所述,SDDR-UC造模和给药不同阶段均出现了初级胆汁酸生物合成通路,表现出了1个动态变化的过程,初级胆汁酸生物合成通路影响了SDDR-UC从造模到给药的整个周期。参苓白术散对SDDR-UC的治疗作用可能与抑制NF- $\kappa$ B信号通路的表达、激活FXR、增强CYP的表达有关。然而,因UC类炎症性肠病与遗传基因、环境、免疫调节、菌群失衡等因素有很大关系,本文仅从宿主代谢物水平研究参苓白术散治疗UC的作用机制还不够全面,后续可从肠道微生物、转录组学等多层面展开。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] SHAPIRO J M, ZOEGA H, SHAH S A, et al. Incidence of Crohn's disease and ulcerative colitis in rhode island: Report from the Ocean State Crohn's and Colitis Area Registry[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(6): 1456-1461.

[2] HOIVIK M L, MOUM B, SOLBERG I C, et al. Work disability in inflammatory bowel disease patients 10 years after disease onset: Results from the IBSEN study [J]. *Gut*, 2013, 62(3): 368-375.

[3] 吴笑,夏俊东,方珂,等. 溃疡性结肠炎中西医结合治疗临床研究进展[J]. *中西医结合研究*, 2021, 13(2): 118-121.

[4] 张声声,沈洪,郑凯,等. 溃疡性结肠炎中医诊疗专家共识意见(2017)[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(8): 3585-3589.

[5] 李姿慧,蔡荣林,孙娟,等. 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠结肠组织NF- $\kappa$ B p65, I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ K $\beta$ 蛋白及mRNA表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(19): 108-113.

[6] PSYCHOGIOS N, HAU D D, PENG J, et al. The human serum metabolome[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16957.

[7] ZHAO H, LIU Y J, LI Z, et al. Identification of essential hypertension biomarkers in human urine by non-targeted metabolomics based on UPLC-QTOF/MS [J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 486: 192-198.

[8] CHU H, ZHANG A H, HAN Y, et al. Metabolomics approach to explore the effects of Kai-Xin-San on Alzheimer's disease using UPLC/ESI-Q-TOF mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1015-1016: 50-61.

[9] 张爱华,王喜军. 中医药的代谢组学研究[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2013, 15(4): 643-647.

[10] 熊艳玲,钟慧文,陈雅茜,等. 基于抗炎和氧化应激角度研究参苓白术颗粒对脾虚湿困溃疡性结肠炎大鼠的作用机制[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(2): 149-157.

[11] 李姿慧,王键,蔡荣林,等. 脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠模型的建立与评价[J]. *中西医结合学报*, 2012, 10(8): 918-924.

[12] 中华人民共和国卫生部药政局. 中药治疗脾虚证的临床研究指导原则[J]. *中国医药学报*, 1988, 3(5): 71-72.

[13] 陈小野,周永生,樊雅莉,等. 脾气虚证动物模型规范化的初步研究[J]. *中华中医药杂志*, 2001, 16(4): 52-58.

[14] SÁNSHEZ-FIDALGO S, CÁRDENO A, SÁNCHEZ-HIDALGO M, et al. Dietary extra virgin olive oil polyphenols supplementation modulates DSS-induced chronic colitis in mice [J]. *J Nutr Biochem*, 2013, 24(7): 1401-1413.

[15] CHONG J, WISHART D S, XIA J G. Using MetaboAnalyst 4.0 for comprehensive and integrative metabolomics data analysis [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2019, 68(1): e86

[16] GOYAL N, RANA A, BIJJEM K R V, et al. Effect of chenodeoxycholic acid and sodium hydrogen sulfide in dinitro benzene sulfonic acid (DNBS) -induced ulcerative colitis in rats [J]. *Pharmacol Rep*, 2015, 67(3): 616-623.

- [17] EDWARDS D P. Regulation of signal transduction pathways by estrogen and progesterone[J]. *Annu Rev Physiol*, 2005, 67: 335-376.
- [18] TOWNSEND E A, MILLER V M, PRAKASH Y S. Sex differences and sex steroids in lung health and disease[J]. *Endocr Rev*, 2012, 33(1): 1-47.
- [19] GARCÍA-GÓMEZ E, GONZÁLEZ-PEDRAJO B, CAMACHO-ARROYO I. Role of sex steroid hormones in bacterial-host interactions [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 928290.
- [20] PERES R S, SANTOS G B, CECILIO N T, et al. Lapachol a compound targeting pyrimidine metabolism, ameliorates experimental autoimmune arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 47.
- [21] VINCENZETTI S, POLZOMETTI V, MICOZZI D, et al. Enzymology of pyrimidine metabolism and neurodegeneration[J]. *Curr Med Chem*, 2016, 23(14): 1408-1431.
- [22] AMORINI A M, PETZOLD A, TAVAZZI B, et al. Increase of uric acid and purine compounds in biological fluids of multiple sclerosis patients[J]. *Clin Biochem*, 2009, 42(10/11): 1001-1006.
- [23] SNYDER J M, ZHONG G, HOGARTH C, et al. Knockout of CYP26A1 and CYP26B1 during postnatal life causes reduced lifespan, dermatitis, splenomegaly, and systemic inflammation in mice [J]. *FASEB J*, 2020, 34(12): 15788-15804.
- [24] VAZ F M, FERDINANDUSSE S. Bile acid analysis in human disorders of bile acid biosynthesis [J]. *Mol Aspect Med*, 2017, 56: 10-24.
- [25] XIAO Y T, YAN W H, ZHOU K J, et al. Glucocorticoid treatment alters systemic bile acid homeostasis by regulating the biosynthesis and transport of bile salts[J]. *Dig Liver Dis*, 2016, 48(7): 771-779.
- [26] WONG B S, CAMILLERI M, CARLSON P, et al. Increased bile acid biosynthesis is associated with irritable bowel syndrome with diarrhea [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2012, 10(9): 1009-1015.
- [27] GADALETA R M, VAN ERPECUM K J, OLDEBBURG B, et al. Farnesoid X receptor activation inhibits inflammation and preserves the intestinal barrier in inflammatory bowel disease [J]. *Gut*, 2011, 60(4): 463-472.
- [28] GADALETA R M, OLDENBURG B, WILLEMSSEN E C, et al. Activation of bile salt nuclear receptor FXR is repressed by pro-inflammatory cytokines activating NF- $\kappa$ B signaling in the intestine[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1812(8): 851-858.
- [29] LIN B C, WANG M, BLACKMORE C, et al. Liver-specific activities of FGF19 require Klotho beta [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(37): 27277-27284.
- [30] 杨修利, 田思聪, 庞博, 等. 以 FXR 为核心的胆汁酸代谢机制研究进展[J]. *生物医学*, 2018, 8(4): 62-68.

[责任编辑 刘德文]