# 炎症性肠病相关代谢组学研究进展

耿 煜，孙军刚，王程玉林，赵纪岚，吴巧凤

（成都中医药大学针灸推拿学院，成都 610075）

**摘要：**利用代谢组学相关技术如核磁共振氢谱（nuclear magnetic resonance spectroscopy，$^1$H NMR）、气相色谱–质谱联用（gas chromatography/mass spectrometry，GC/MS）和液相色谱–质谱联用（liquid chromatography/mass spectrometry，LC/MS）等对炎症性肠病（inflammatory bowel disease，IBD）血浆、尿液、粪便以及组织等代谢产物开展的研究加深了对 IBD 发病机制的认识。目前的研究表明，IBD 主要涉及的代谢紊乱包括糖类、氨基酸类、短链脂肪酸类等，这些代谢物也很可能成为未来研究 IBD 发病及治疗的有效靶点。

**关键词：**系统生物物理学；炎症性肠病；综述；代谢产物；代谢组学

**中图分类号：**Q81　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1674-2850(2015)19-1979-05

# Review of research progress on metabonomics of inflammatory bowel disease

GENG Yu, SUN Jungang, WANG Chengyuling, ZHAO Jilan, WU Qiaofeng

(*School of Acupuncture and Massage, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu* 610075, *China*)

**Abstract:** Technologies based on nuclear magnetic resonance spectroscopy ($^1$H NMR), gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) and liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS) on infammatory bowel diseace (IBD) plasma, urine, feces, tissues and other metabolites carried out have strengthened our knowledge of the etiology and pathogenesis of IBD. At present, studies showed that the metabolic disorders in IBD involved sugars, amino acids, short chain fatty acids etc. These metabolites maybe the future effective targets for treating IBD.

**Key words:** systematic biophysics; inflammatory bowel disease; review; metabolites; metabonomics

## 0 引言

IBD 是一种病因尚不明确的肠道非特异性炎性病变，主要包括溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）和克罗恩病（Cohon's disease，CD）。IBD 临床表现为腹泻、黏液脓血便及全身肠外表现，因其病情迁延反复，难以治愈，严重影响患者的生活质量。随着生活方式的变化，IBD 的全球发病率逐年升高，已成为全球性疾病。MOLODECKY 等[1]检索了 1950 年至 2010 年有关 IBD 流行病学研究的文献，结果显示：欧洲、亚洲、北美洲 UC 最高发病率分别为 24.3/10 万、6.3/10 万、19.2/10 万；CD 最高发病率分别为 12.7/10 万、5.0/10 万、20.2/10 万，中国是亚洲地区 IBD 发病率最高的国家。WANG 等[2]和中国 IBD 协作组 1990 年至 2003 年间对 IBD 住院患者进行回顾性研究，结果显示，我国 IBD 住院患者呈逐渐增加趋势，粗略推

**基金项目：**国家自然科学基金（81373737）；国家重点基础研究发展计划（973 计划）（2015CB554504）；教育部霍英东基础研究基金（14101）；四川省科技厅青年基金（2015JQO058）

**作者简介：**耿煜（1987—），女，硕士研究生，主要研究方向：针灸防治心身疾病的效应及机制

**通信联系人：**吴巧凤，副研究员，主要研究方向：针灸作用的机理. E-mail: rwqfrwqf@163.com

测UC患病率约为11.6/10万，CD约为1.4 /10万。因此，IBD的病因、病机以及诊治等备受医学界关注。

近年来，随着新兴学科，特别是基因组学、代谢组学等系统生物学的发展，对IBD有了进一步深入的认识。其中，采用代谢组学方法，包括$^{1}$H NMR，GC/MS和LC/MS等对血液、尿液、粪便提取物及结肠组织等不同途径的代谢产物进行研究，可以动态监测生物体内源性代谢产物的变化，进而从整体代谢的角度直接反映机体对外界病理生理刺激与干预作用的应答，并揭示机体内基因、蛋白质/酶等功能变化的一系列事件的最终产物，直接反映了生物体系在特定病理生理中的最终状态[3]。对IBD患者血液、尿液、粪便及结肠等不同途径代谢物及其与疾病的发生发展及预后的相关性进行研究后发现，IBD不仅导致多个系统的紊乱，也导致糖、脂类、蛋白质的代谢紊乱，不同疾病类型之间也存在着不同的物质代谢或代谢网络的改变。

## 1 IBD相关血液代谢组学研究

IBD相关血液代谢物主要表现为氨基酸及脂质类差异。努尔比亚·吾布力等[4]对UC模型和正常大鼠的血浆进行测定，发现模型组大鼠血浆中支链氨基酸（亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸）、苯丙氨酸、丙酮酸、β-羟丁酸、肌酸等小分子化合物含量明显降低，而极低密度脂蛋白（very-low-density lipoprotein，VLDL）含量升高；对IBD患者和健康者血清代谢谱的研究发现，CD和UC与健康组有显著差异，其中重要代谢物包括脂蛋白（尤其是高密度脂蛋白胆固醇）、胆碱、*N*-乙酰糖蛋白和氨基酸[5~6]。RUAN 等[7]予膳食补充剂低聚乳果糖于三硝基苯磺酸（TNBS）诱导的结肠炎大鼠后血清支链氨基酸（包括异亮氨酸、缬氨酸）、丙氨酸、柠檬酸、氧化三甲胺和牛磺酸的浓度及天门冬氨酸氨基转移酶的丰度降低；葡萄糖代谢产物（包括琥珀酸）的浓度增加；低聚乳果糖的补充影响了模型大鼠氨基酸的全身代谢，组织中的天冬氨酸转氨酶和碱性磷酸酶释放而进入血液循环。活性期IBD患者血清低密度脂蛋白（low-density lipoprotein，LDL）和VLDL含量低于缓解期[8]，该结果可能与炎症反应时磷脂酶A2的活性升高，加速LDL，VLDL水解有关[9]。ZHANG 等[10]从溃疡性结肠炎模型大鼠血浆和尿液中分别检测出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，证明这种方法同样适用于溃疡性结肠炎的病理生理研究。CHEN 等[11]对硫酸葡聚糖（dextran sodium sulfate, DSS）诱导的急性结肠炎模型小鼠的血清进行代谢组学分析研究，发现模型组与对照组相比，其硬脂酰溶血磷脂酰胆碱的高水平和油酰基溶血磷脂酰胆碱的低水平，抑制了肝脏中硬脂酰辅酶A脱氢酶抑制1（SCD1）的表达，它与促炎细胞因子的高表达相关。该研究还发现枸橼酸杆菌和脂多糖诱导的结肠炎也抑制肝脏中SCD1的表达。*SCD1*基因敲除小鼠比野生型小鼠更易受DSS诱导，而油酸喂养和体内给予SCD1治疗SCD1腺病毒减弱了DSS诱导的显型。研究表明，抑制SCD1介导的油酸生物合成会使促炎症反应加剧以应对外源性的挑战，说明SCD1及其相关脂质物可能是炎性疾病治疗的潜在靶点。此外，GIEGER 等[12]首次将全基因组关联分析（genome wide association，GWA）与代谢组学研究方法相结合，对284例男性的363份血清代谢物进行定量检测，结果表明基因多态性是导致人类代谢物组成差异的主要原因。

## 2 IBD相关结肠组织代谢组学研究

结肠组织中氨基酸及三羧酸循环代谢变化与IBD病变程度有一定关系。对41例活动期UC患者，33例静止期UC患者和25例健康者进行分析，发现UC组的抗氧化剂和氨基酸水平较高，但脂质、甘油磷酸胆碱、肌醇和甜菜碱水平较低，而肠脱落细胞只有甘油磷酸胆碱、肌醇和胆碱水平低，健康组与活动期UC患者之间的代谢组差异显著[13]。另外，对31例UC患者（其中20例活动期，11例缓解期）、

26 例 CD 患者（其中 20 例活动期，6 例缓解期）和 28 例健康者的结肠黏膜进行 NMR 分析[14]得到 29 种代谢物。UC 和 CD 的活跃期与健康组相比氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酸和谷氨酰胺），膜分离元件（胆碱、甘油磷酸胆碱和肌醇）乳酸和琥珀酸的浓度显著降低。DSS 诱导的 UC 小鼠实验中发现结肠中膜相关的代谢物核苷酸，核苷和碱基水平降低[15]。基于 GC/MS 的代谢组学对 DSS 诱导的模型小鼠结肠组织[16]共检测出 92 种代谢物，其中三羧酸循环的中间体和氨基酸的改变取决于结肠炎的程度。多重分类分析显示，病变程度不同其代谢组间的差别更明显，其中琥珀酸、吲哚乙酸、谷氨酸和谷氨酰胺是结肠炎各阶段差异的主要因素。此外，谷氨酰胺的补充治疗在急性期水平降低减轻了 DSS 诱导的结肠炎。通过结合 $^{1}$H NMR 和 LC/MS[17], 分析 4～24 周 CD 病如回肠炎肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor，TNF)（ΔARE/ WT）小鼠模型不同肠道的代谢轮廓。肠道脂质代谢中共存有炎症的组织发生。此外，疾病状态的特点使胆固醇的代谢显著改变：甘油三酯、磷脂、缩醛磷脂、鞘磷脂在炎症的回肠和近端结肠部位。这些结果说明不同的生物过程和疾病的发病相关，包括细胞膜成分的修改、能量平衡的改变和炎性脂质介质的产生，说明炎症状态中脂质依赖进程与 IBD 相关。

## 3 IBD 相关粪便与尿液提取物代谢组学研究

近年来研究发现，IBD 的发生与肠道菌群密切相关。消化道内肠道菌群及其合成释放的化合物比例（定性或定量）的变化均对 IBD 的发生发展起作用[18~19]。由于肠道菌群稳态的改变又会影响 IBD 粪便及尿液代谢物变化，其中短链脂肪酸含量与疾病密切相关。基于 $^{1}$H NMR，研究广谱抗生素恩诺沙星治疗后小鼠粪便提取物发现，8 种代谢产物变化，包括微生物蛋白酶产生的氨基酸减少，乳酸利用菌产生的代谢产物减少及微生物尿素酶损失导致的尿素增加；尿液中 10 种代谢物变化，包括因糖和多糖微生物的分解代谢而损失乙酸的减少，因胆碱的微生物分解代谢损失使三甲胺-*N*-氧化物减少，因微生物酶降解损失而使肌酸和肌酐增加[20]。说明肠道菌群紊乱也会影响尿液的代谢异常，关于 IBD 尿液代谢组学的研究，马尿酸是最有代表性的，研究 IBD 患者尿液标本分析发现，肠道菌群代谢物马尿酸含量低于健康人，表明马尿酸可能成为诊断 IBD 的生物指标[21~23]。86 例 CD 患者，60 例 UC 患者和 60 例健康对照者高加索受试者的尿液样本中[21]，受肠道菌群紊乱影响的代谢物包括马尿酸盐、甲酸、和 4-甲基苯酚硫酸。3 组之间差异显著，CD 患者比 UC 患者、健康组的甲酸高、4-甲基苯酚硫酸低。予膳食补充剂低聚乳果糖于三硝基苯磺酸（TNBS）诱导的结肠炎大鼠后[7]，盲肠内丁酸和结肠内丁酸、乙酸的含量改变。LS 的补充使肠道短链脂肪酸的生产增加。

## 4 其他 IBD 相关组织代谢组学研究

DSS 诱导 UC 小鼠组织的代谢变化通过 NMR 代谢方法分析发现肝脏的核苷酸水平升高，伴随血糖水平降低，也导致脾的氧化型谷胱甘肽水平增加、牛磺酸降低[15]。此外，尿液中的肠道微生物共代谢物水平减低，伴随三羧酸循环中间产物的增加。研究提供了时间依赖性整体代谢变化的证据，对 IBD 新的治疗目标发现有用。吴巧凤等[23]以 NMR 技术对针刺治疗后 DSS 大鼠脑皮层代谢物进行研究，发现 UC 组氨基酸类、乙酸盐、LDL 等升高，针刺经穴对水溶性脑代谢物影响更明显。

## 5 结论与展望

通过对以上不同代谢物分析整理可以发现，与 IBD 发生发展相关的代谢物主要有：三羧酸循环中间体、氨基酸、脂肪酸及其相关的代谢物。人体 20%由氨基酸（AA）及其代谢物组成，在基本物质和调节多代谢途径中扮演着重要的角色，提示 IBD 将影响机体三大物质的代谢，这可能是 IBD 发病的重要机制。

从这些代谢数据中还可以看到，粪便提取物、尿液代谢组学数据均表明肠道菌群存在紊乱，提示微生物参与了IBD的发展。例如，肠道微生物释放的可溶性因子如：LPS、鞭毛蛋白、ATP和短链脂肪酸均具有调节宿主组织（胰腺、脂肪组织、白细胞、肝脏和血管）的功能，对炎症疾病的发展起作用。此外，大量证据表明IBD与免疫功能紊乱密切相关[24]。而众多IBD代谢组学研究发现，丙酸和丁酸发生了变化，这两者是短链脂肪酸中肠道厌氧菌发酵的主要代谢产物，其不仅为肠粘膜上皮细胞提供能量，而且可以通过G蛋白偶联受体（GPR41和GPR43）的激活和组蛋白去乙酰化酶的抑制作用于白细胞和内皮细胞，从而成为参与肠道免疫功能的潜在中介[25]。因此，不同途径的代谢研究相互补充，为IBD的整体代谢提供了更加全面的信息。此外，使用代谢组学相关技术获得的代谢组也可以用于描绘结肠炎不同程度，区分IBD的亚型，并对疾病的进展进行监测。

总之，综合利用代谢组学研究方法，包括各种现代化的分析技术、模式识别以及多元统计分析方法，寻找其中的系统生物学信息，可以为IBD的诊断、治疗及预后研究提供新的思路。

## [参考文献] (References)

[1] MOLODECKY N A, SOON I S, RABI D M, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review[J]. Gastroenterology, 2012, 142(1): 46-54.

[2] WANG Y, OUYANG Q, APDW 2004 Chinese IBD Working Group. Ulcerative colitis in China: retrospective analysis of 3100 hospitalized patients[J]. Journal of Gastroenterology Hepatology, 2007, 22(9): 1450-1455.

[3] BU Q, HUANG Y, YAN G, et al. Metabolomics: a revolution for novel cancer marker identification[J]. Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, 2012, 15(3): 266-275.

[4] 努尔比亚·吾布力，库热西·玉努斯，买买提卡斯木·吾布力艾山，等. 大鼠溃疡性结肠炎模型结肠组织的代谢组学研究[J]. 新疆医科大学学报，2010，33（6）：593-596.
UBULI N, YUNUSI K, UBULIAISHAN M, et al. Study of metabonomics on the tissue in ulcerative colitis rat model[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2010, 33(6): 593-596. (in Chinese)

[5] WILLIAMS H R, WILLSMORE J D, COX I J, et al. Serum metabolic profiling in inflammatory bowel disease[J]. Digestive Diseases and Sciences, 2012, 57(8): 2157-2165.

[6] OOI M, NISHIUMI S, YOSHIE T, et al. GC/MS-based profiling of amino acids and TCA cycle-related molecules in ulcerative colitis[J]. Inflammatory Research, 2011, 60(9): 831-840.

[7] RUAN Z, LÜ Y, FU X, et al. Metabolomic analysis of amino acid metabolism in colitic rats supplemented with lactosucrose[J]. Amino Acids, 2013, 45(4): 877-887.

[8] DAWISKIBA T, DEJA S, MULAK A, et al. Serum and urine metabolomic fingerprinting in diagnostics of inflammatory bowel diseases[J]. World Journal of Gastroenterology, 2014, 20(1): 163-174.

[9] CHALIMONIUK M. Secretory phospholipase A2 and its role in oxidative stress and inflammation[J]. Postepy. Biochem., 2012, 58(2): 204-208.

[10] ZHANG X J, CHOI F K, ZHOU Y, et al. Metabolite profiling of plasma and urine from rats with TNBS-induced acute colitis using UPLC-ESI-QTOF-MS-based metabonomics: a pilot study[J]. FEBS Journal, 2012, 279(13): 2322-2338.

[11] CHEN C, SHAH Y M, MORIMURA K, et al. Metabolomics reveals that hepatic stearoyl-CoA desaturase 1 down regulation exacerbates inflammation and acute colitis[J]. Cell Matabolism, 2008, 7(2): 135-147.

[12] GIEGER C, GEISTLINGER L, ALTMAIER E, et al. Genetics meets metabolomics: a genome-wide association study of metabolite profiles in human serum[J]. PLoS Genetics, 2008, 4(11): e1000281.

[13] BJERRUM J T, NIELSEN O H, HAO F, et al. Matabonomics in ulcerative colitis: diagonstics, biomarker identification, and insight into pathophysiology[J]. Journal of Proteome Research, 2010, 9(2): 954-962.

[14] BALASUBRAMANIAN K, KUMAR S, SINGH R R, et al. Metabolism of the colonic mucosa in patients with inflammatory

bowel dieases: an *in vitro* proton magnetcresonance spedtroscopy study[J]. Magnetic Resonance Imaging, 2009, 27(1): 79-86.

[15] DONG F, ZHANG L, HAO F, et al. Systemic responses of mice to dextran sulfate sodium-induced acute ulcerative colitis using $^{1}$H NMR spectroscopy[J]. Journal of Proteome Research, 2013, 12(6): 2958-2966.

[16] SHIOMI Y, NISHIUMI S, OOI M, et al. GCMS-based metabolomic study in mice with colitis induced by dextran sulfate sodium[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2011, 17(11): 2261-2274.

[17] BAUR P, MARTIN F P, GRUBER L, et al. Metabolic phenotyping of the Crohn's disease like IBD etiopathology in the TNF( Δ ARE/WT) mouse model[J]. Journal of Proteome Research, 2011, 10(12): 5523-5535.

[18] HEIJTZ R D, WANG S, ANUAR F, et al. Normal gut microbiota modulates brian development and behavior[J]. Proceedings of the National Academy of Scienses, 2011, 108(7): 3047-3052.

[19] NICHOLSO J K, LINDON J C, HOLMES E. "Metabonomics": understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data[J]. Xenobiotica, 1999, 29(11): 1181-1189.

[20] ROMICK-ROSENDALE L E, GOODPASTER A M, HANWRIGHT P J, et al. NMR-based metabonomics analysis of mouse urine and fecal extracts following oral treatment with the broad-spectrum antibiotic enrofloxacin (Baytril)[J]. Magnetic Resonance Chemistry, 2009, 47(Suppl.): 36-46.

[21] WILLIAMS H R, COX I J, WALKER D G , et al. Characterization of inflammatory bowel disease with metabolic profiling[J]. The American Journal of Gastroenterology, 2009, 104(6): 1435-1444.

[22] STEPHENS N S, SIFFLEDEEN J, SU X, et al. Urinary NMR metabolomic profiles discriminate inflammatory bowel disease from healthy[J]. Journal of Crohn's and Colitis, 2013, 7(2): 42-48.

[23] 吴巧凤，杨阳，赵纪岚，等. 基于 1H NMR 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，2014，8（37）：572-576.
WU Q F, YANG Y, ZHAO J L, et al. Brain metabolism material basis of needling meridian acupoints and non-meridian non-acupoints for treating ulcerative colitis: a study based on $^{1}$H NMR metabonomics[J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2014, 8(37): 572-576. (in Chinese)

[24] SCHICHO R, SHAYKHUTDINOV R, NGO J, et al. Quantitative metabolomic profiling of serum, plasma and urine by $^{1}$ H NMR spectroscopy discriminates between patients with inflammatory bowel disease and healthy individuals[J]. Journal of Proteome Research, 2012, 11(6): 3344-3357.

[25] VINOLO M A, RODRIGUES H G, NACHBAR R T et al. Regulation of inflammation by short chain fatty acids[J]. Nutrients, 2011, 3(10): 858-876.