

刘思美, 强喆, 吴思澜, 等. 痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型的构建及代谢组学分析 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 51-63.
Liu SM, Qiang Z, Wu SL, et al. Establishment and metabolomics analysis of a rat model of chronic obstructive pulmonary disease with phlegm-dampness syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(1): 51-63.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.01.007

痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型的构建及代谢组学分析

刘思美^{1,2,3}, 强喆^{1,2,3}, 吴思澜¹, 涂如霞¹, 李恒华¹, 黄崇刚^{1,3*}

(1. 重庆市中药研究院, 国家中医药管理局中药药理三级实验室, 重庆 400065;
2. 重庆医科大学药学院, 重庆 400016; 3. 重庆中医药学院中药系, 重庆 402760)

【摘要】 目的 构建痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型, 并应用代谢组学技术揭示其代谢特征。方法 采用烟熏联合 LPS 气道滴注、强迫游泳和隔日禁食的方式构建痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型, 通过观察大鼠行为变化, 测定体重、肛温、血液指标、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量, 观察组织病理形态学变化对该模型进行评价; 应用 LC-MS 技术检测并筛选出正常组与模型组大鼠的血浆差异代谢物, 进行通路富集分析。结果 与正常组相比, 模型组大鼠出现不同程度的咳嗽、喘息、精神萎靡、行为倦怠、毛色干枯、体重减轻、饮水增加、体温升高、粪便稀溏、舌苔肥大白滑; 外周血中白细胞数和淋巴细胞数显著升高; BALF 中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量显著升高; 肺组织中炎性细胞浸润明显、肺泡腔体大小不一, 结肠、十二指肠、回肠粘膜局部脱落; 正常组与模型组间共有 116 个差异代谢物, 主要涉及氨基酸生物合成和代谢、维生素消化吸收与代谢、脂质及类脂质合成与代谢等代谢通路。结论 本研究提供了一种成功构建痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型的方法及其相应评价体系, 并初步揭示了该模型的主要代谢特征。

【关键词】 痰湿阻肺; COPD; 动物模型; 证候指标; 代谢组学

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 01-0051-13

Establishment and metabolomics analysis of a rat model of chronic obstructive pulmonary disease with phlegm-dampness syndrome

LIU Simei^{1,2,3}, QIANG Zhe^{1,2,3}, WU Silan¹, TU Ruxia¹, LI Henghua¹, HUANG Chonggang^{1,3*}

(1. Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chinese Medicine Management Bureau of the Three Grade Laboratory, Chongqing 400065, China. 2. Chongqing Medical University, College of Pharmacy, Chongqing 400016. 3. Chongqing College of Traditional Chinese Medicine, Department of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 402760)

Corresponding author: HUANG Chonggang. E-mail: hcg2091@163.com

【Abstract】 **Objective** To establish a rat model of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) with phlegm-dampness syndrome. The metabolic characteristics of this rat model were revealed using metabolomics technology. **Methods** A rat model of COPD with phlegm-dampness syndrome was established by forced smoking combined with LPS airway infusion, forced swimming, and alternate-day fasting. The rat model was evaluated by observing behavioral changes; measuring the body weight, anal temperature, blood indexes, and IL-6, IL-1 β , and TNF- α contents; and observing tissues histopathological changes. Differential plasma metabolites between the normal group and the model group were detected and screened by liquid chromatography-mass spectrometry, and enrichment analysis was conducted for metabolic pathways. **Results** Compared with the normal group, COPD rats with phlegm-dampness syndrome showed different severities of symptoms, including coughing, wheezing, depression, fatigue, withered and dry hair color, weight loss, increased water intake, increased body temperature, production of loose feces containing fat, and a white and smooth tongue coating. In the model rat, the number of white blood cells and lymphocytes in the peripheral blood and the contents of IL-6, IL-1 β , and

【基金项目】 重庆市博士后科学基金项目 (cstc2021jcyj-bshX0188)。

Funded by Chongqing Postdoctoral Science Foundation Project (cstc2021jcyj-bshX0188).

【作者简介】 刘思美 (1992—), 女, 助理研究员, 博士, 研究方向: 中药药理学研究。Email: liu_simei0218@163.com

【通信作者】 黄崇刚 (1975—), 男, 研究员, 研究方向: 中医方、证与系统生物学及生物信息学的相关性研究。Email: hcg2091@163.com

TNF- α in the BALF significantly increased. In the lung tissue, there was obvious inflammatory cell infiltration; the alveolar lumens appeared as different sizes; and the mucous membranes of the colon, duodenum, and ileum were partially exfoliated. There were 116 metabolites that differed between the normal group and COPD group with phlegm-dampness syndrome. These metabolites mainly involved metabolic pathways, including amino acid biosynthesis and metabolism; vitamin digestion, absorption, and metabolism; lipid and lipoid biosynthesis and metabolism; and other metabolic pathways. **Conclusions** This study provides an effective method for establishing a rat model of COPD with phlegm-dampness syndrome and a corresponding evaluation system and has preliminarily revealed the main metabolic characteristics of this rat model.

[Keywords] phlegm-dampness syndrome; COPD; animal model; syndrome index; metabolomics

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种以持续性存在的气流受限为特征的常见呼吸系统疾病, 当今全球第四大致死病因^[1]。截至 2018 年, 我国 COPD 患者数已超 1 亿, 20 岁以上人群的患病率高达 8.6%, 是仅次于高血压、糖尿病的第三大慢性疾病^[2]。由于 COPD 还是心血管、糖尿病等重大疾病的高风险因素, 且伴随吸烟等危险因素的持续暴露以及空气污染和人口老龄化的加剧, 发病率与死亡率呈持续增长趋势。据估计, 到 2060 年全球每年将至少 540 万人死于 COPD 及其相关疾病^[3-4]。因此, 防治 COPD 已成为全球公共卫生领域的重点工作之一。

目前, COPD 的发病机制仍不完全清楚, 临床也尚无特效药物。近年来, 中医药因其安全性高、多层次、多靶点、多途径整体调节的特色与优势在 COPD 防治中日益受到重视。COPD 属中医“肺胀”、“咳嗽”、“喘证”等范畴, 外邪侵袭、情志失调、饮食失衡或过度劳倦等皆为其诱因, 其病位在肺, 病机虚实交错, 以肺、脾亏虚为本, 痰、瘀、热为标^[5]。中医药防治讲究辨证论治, 据《慢性阻塞性肺疾病中医诊疗指南》的划分, 痰湿阻肺是 COPD 急性加重期的常见证型之一, 然而, 目前尚无相应的证候动物模型, 在一定程度上限制对该证型生物学本质的认识以及相关中医药方剂治疗机制的阐释。因此, 本研究基于中医“咳喘之证, 多因久病肺虚, 累及脾, 致脾失健运, 聚湿成痰; 或因脾本虚, 湿停成痰, 乘肺而咳”的认识^[6], 依据“治痰先治脾”的中医理论, 采用脾虚证动物建模方法联合烟熏及 LPS 气道滴注的方法来构建痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型, 以经典的 COPD 大鼠模型为对照, 从行为、精神状态、毛发、粪便、舌苔、饮食和体重变化等中医证候指标进行证候评分, 以组织形态学和炎症因子等指标对该模型进行评价, 并借助代谢组学技术初步揭示痰湿阻肺型 COPD 模型大鼠的代谢特征。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

32 只 6 ~ 7 周龄 SPF 级 SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 180 ~ 200 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司【SCXK(京)2019-0008】。饲养环境: 12 h 光暗交替, 温度控制在 22 ~ 25℃, 湿度约 55%, 饲养于重庆市中药研究院中药药理三级实验室【SYXK(渝)2017-0004】。本实验经重庆市中药研究院实验动物福利伦理审查委员会批准 (yls2021-16), 并遵循国家有关实验动物管理和使用的规定。

1.1.2 主要试剂与仪器

脂多糖(LPS, 来源于大肠杆菌 055:B55, Sigma-Aldrich); 龙凤呈祥牌香烟(焦油量: 11 mg, 一氧化碳量: 12 mg, 烟碱量: 1.1 mg, 重庆中烟工业有限责任公司); 大鼠 IL-6、IL-1 β 、TNF- α ELISA 试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司); 戊巴比妥钠(Sigma-Aldrich); 苏木素染液和伊红染液(北京博尔西科技有限公司); 0.9% 氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司); 甲酸(LC-MS 级, TCI); 甲醇和乙腈(LC-MS 级, CNW Technologies); L-2-氯苯丙氨酸($\geq 98%$, 上海阿拉丁试剂有限公司)。ST-360 酶标仪(上海科华实验系统有限公司, 中国); XT-2000i 全自动动物血液分析仪(希森美康, 日本); ASP300S 组织自动脱水机、HistoCore Arcadia H 石蜡包埋机、RM2235 轮转切片机(徠卡有限公司, 德国); DP260 全自动智能染色机(深圳达科为医疗设备有限公司, 中国); BX53 光学显微镜(奥林巴斯株式会社, 日本); Mias-2000 病理图像处理系统(四川大学图像处理国家研究所, 中国); Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(1.8 μm 2.1 \times 100 mm)、Waters Acquity I-Class PLUS 超高效液相仪、Waters Xevo G2-XS QTOF 高分辨质谱仪(Waters Corporation, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物造模

SD 大鼠按体重随机分成 3 组;正常组 10 只、经典 COPD 组 10 只、痰湿型 COPD 组 12 只。造模方法参考相关文献并略作调整^[7-9],具体如下:第 1 天和第 15 天用 0.9% 戊巴比妥钠(5 mL/kg)对经典 COPD 组和痰湿型 COPD 组大鼠进行腹腔麻醉,用细线固定大鼠上牙,拉出舌根,用去了针头的头皮针细管缓慢插入大鼠气道,经此气管滴注 LPS(1 mg/mL,0.2 mL)溶液。第 2~14、16~42 天,每天将模型组大鼠放入自制烟熏箱(85 cm × 40 cm × 45 cm)中进行烟熏,每次 4 支香烟,30 min,熏烟 2 次。其中,痰湿型 COPD 组大鼠熏烟的第 22 天起,每天

熏烟后 4 h,将痰湿型 COPD 组大鼠放入水温 25℃ 左右的水槽中游泳 15 min,隔日禁食,直至 42 d。正常组不做任何处理。

每周测定体重、肛温,观察进食、饮水、舌苔和粪便情况,以及各组大鼠是否出现咳嗽、喘息、倦怠、萎靡、嗜睡、行动迟缓、毛发干枯蓬松等现象。

1.2.2 证候评分

通过中医文献古籍及临床诊治经验中痰湿证或痰湿阻肺证的辨证要素整理,本研究设计如下中医证候评分量表(见表 1)作为动物模型证型判定参考^[10-13]。造模 6 周后,根据表 1 对各组大鼠进行评分,以证候评分 ≥ 8 为痰湿型 COPD 大鼠造模成功标准。

表 1 中医证候评分量表

Table 1 Traditional Chinese medicine syndrome score scale

评分 Score	行为 Behavior	精神状态 Mental state	毛发耳尾 Hair, ear, tail	粪便 Feces	舌苔 Tongue coating	饮食体重 Diet and body weight
0	正常 Normal	正常 Normal	正常 Normal	正常 Normal	正常 Normal	正常 Normal
1	咳嗽、扎堆、倦怠、拱背、轻度动作迟缓 Cough, huddle, tiredness, arched back, mild slow movement	萎靡、嗜睡 Depression and fatigue, drowsiness	毛发稀疏、耳尾血色淡 Sparse hair, the color of ear and tail is pale	软便不成型、大便稀溏 Sloppy soft stool, loose feces	苔质淡红有薄苔 Thin and light red tongue coating	进食减少、饮水增加 Eating less and drinking more
2	喘息、重度动作迟缓 Wheezing, severe slow movement	反应迟钝 Sluggishness	毛色干枯无光泽、毛发蓬松 Dry withered and fluffy hair	水样便 Watery stool	舌苔肥大白滑 Fat, white and smooth tongue coating	体重减轻或增长缓慢 Weight loss or slow growth

1.2.3 指标检测

(1)外周血指标测定:取造模结束的各组大鼠,禁食 12 h 后经腹腔注射 0.9% 的戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉取血于含抗凝剂的采血管中,轻轻摇匀后测定白细胞数、中性粒细胞数、单核细胞数、淋巴细胞数、红细胞数及血红蛋白量等血液指标。

(2)肺泡灌洗液中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的含量测定:取腹主动脉取血后的实验大鼠,暴露胸腔,分离出右主支气管结扎,于颈部气管切“T”形口,将 12 号灌胃针插入管腔,用棉线结扎固定。用 5 mL 注射器吸取预冷的生理盐水 5 mL,缓慢注入管腔,反复抽吸 3 次为 1 次灌洗,重复灌洗 3 次,合并肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)。将所得 BALF 于 4℃,5000 r/min 离心 10 min,取上清,按 ELISA 试剂盒说明分别测定 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量。

(3)组织标本的采集及 HE 染色:待肺泡灌洗后,迅速分离并摘取心脏、肝、脾、肾、右肺和胸腺,称重,计算脏器指数。计算公式如下:脏器指数

(%) = 脏器重量/体重 × 100%。

称重后,将肺、胸腺、脾及部分十二指肠、回肠和结肠一并放入 4% 多聚甲醛固定 48 h,切取大小合适的组织样品进行石蜡包埋,切片,HE 染色,观察各组织器官的形态和变化,包括肺组织中肺泡结构的完整性、肺泡间隔的粗细、细支气管管腔的大小、气道炎症细胞的浸润情况以及肠内壁绒毛情况等。

1.2.4 血浆代谢组检测

(1)血浆样本的制备及预处理:分别收集正常组与痰湿型 COPD 组大鼠腹主动脉血于含 EDTA 抗凝剂的采血管中,各组混匀后,3000 r/min 离心 10 min,收集血浆于 1.5 mL EP 管中。移取 100 μ L 样本至 1.5 mL EP 管中,加入 300 μ L 甲醇,再加入 20 μ L 内标,涡旋混匀 30 s,冰水浴超声 10 min,于 -20℃ 静置 1 h,随后 4℃,12 000 r/min 离心 15 min,取出 200 μ L 上清于 2 mL 进样瓶,每个样本各取 20 μ L 混合成 QC 样本,再取 200 μ L 上机检测。

(2)检测条件:色谱条件:Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱(1.8 μm 2.1 \times 100 mm),流动相 A:0.1%甲酸水溶液,流动相 B:0.1%甲酸乙腈,梯度洗脱(0 ~ 0.25 min,2% B;0.25 ~ 10 min,2% ~ 98% B;10 ~ 13 min,98% B;13 ~ 13.1 min,98% ~ 2% B;13.1 ~ 15 min,2% B),柱温 40 $^{\circ}\text{C}$,流速 0.4 mL/min。

质谱条件:Waters Xevo G2-XS QTOF 高分辨质谱仪在采集软件(MassLynx V4.2, Waters)控制下采用 MSE 模式进行一级、二级质谱数据采集。在每个数据采集循环中,同时对低碰撞能量及高碰撞能量进行双通道数据采集。低碰撞能量:2 V;高碰撞能量区间:10 ~ 40 V;扫描频率:0.2 s。ESI 离子源参数:毛细管电压:2000 V(正离子模式)或-1500 V(负离子模式);锥孔电压:30 V;离子源温度:150 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂气温度 500 $^{\circ}\text{C}$;反吹气流速:50 L/h;脱溶剂气流速:800 L/h。

(3)数据处理:MassLynx V4.2 采集的原始数据通过 Progenesis QI 软件做峰提取、峰对齐等数据处理操作,基于 Progenesis QI 软件在线 METLIN 数据库及百迈客自建库进行鉴定,同时进行理论碎片识别,质量数偏差均在 100 ppm 以内。将经过处理的代谢组数据导入 SIMCA-P 13.0 软件中进行主成分分析(principal component analysis, PCA)及正交偏最小二乘法判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA),并以差异倍数 FC > 1.5, $P < 0.05$ 和 VIP > 1 为筛选条件,找出组间差异代谢产物,并通过 HMDB、KEGG 数据库对差异

代谢物进行功能注释和富集分析。

1.3 统计学分析

数据以平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 Graphpad Prism 8.0 软件对实验数据进行统计学分析,两组间比较采用 Student's t 检验,多组间比较采用 One-way ANOVA(Dunnnett)检验。

2 结果

2.1 证候等级评分

根据证候评分,痰湿型 COPD 大鼠的成功构建率达 83.33%,正常组、经典 COPD 组及建模成功的痰湿型 COPD 组大鼠的证候得分分别为(0.50 \pm 0.71)、(6.00 \pm 1.15)和(9.30 \pm 1.06)。

2.2 证候指标比较

与正常组相比,经典 COPD 组大鼠和痰湿型 COPD 组大鼠均有出现不同程度的咳嗽、喘息、倦怠、精神萎靡、嗜睡、扎堆、反应迟缓、毛色干枯蓬松等现象;相比经典 COPD 组,痰湿型 COPD 大鼠粪便多不成形、稀溏甚至水样便(图 1A),舌有薄苔或肥大白滑(图 1B),体重减轻(图 1C),饮水明显增加(图 1D);痰湿型 COPD 大鼠体温普遍低于经典 COPD 组大鼠,但多高于正常组(图 1E)。

2.3 外周血指标变化

经典 COPD 组和痰湿型 COPD 组大鼠的血液指标变化相似,两者间无显著性差异;与正常组比,经典 COPD 组和痰湿型 COPD 组大鼠外周血中白细胞数量和淋巴细胞数量均明显升高,有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$);红细胞数及血红蛋白量也略有

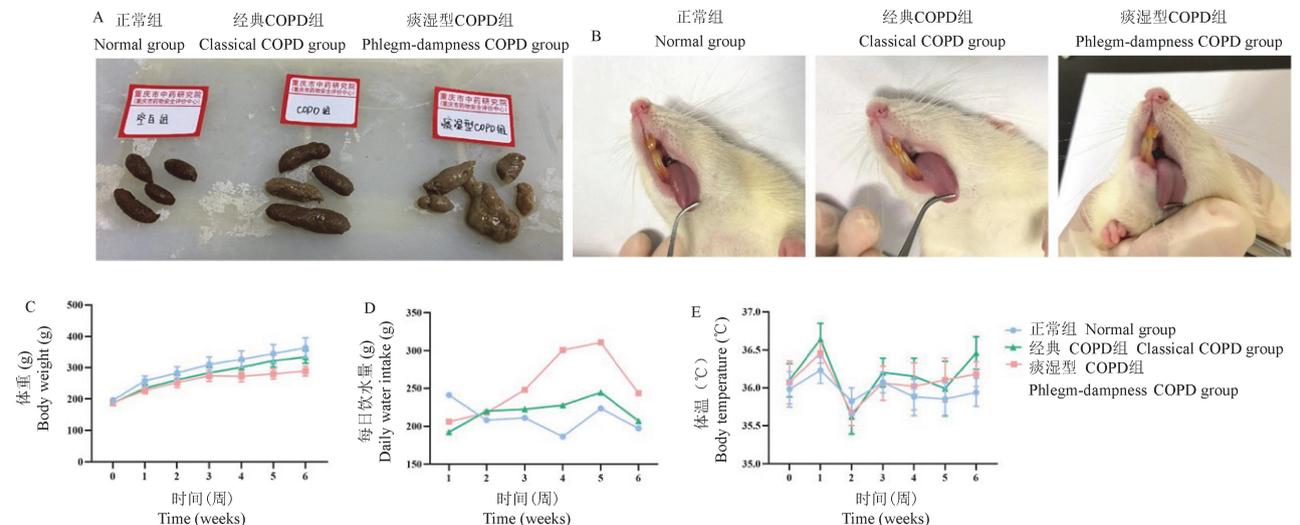


图 1 各组大鼠的粪便、舌苔、体重、饮水量和体温变化情况

Figure 1 Changes in feces, tongue coating, body weight, water intake and body temperature of rats in each group

升高,血小板降低,但均无显著性差异(表 2)。

2.4 BALF 中 IL-6、IL-1β、TNF-α 的含量

如图 2 所示,经典 COPD 组和痰湿型 COPD 组大鼠 BALF 中 IL-6、IL-1β、TNF-α 的含量十分相近,与正常组相比,均显著升高,且有统计学意义($P < 0.01, P < 0.001$)。

2.5 脏器指数

如表 3 所示,经典 COPD 组和痰湿型 COPD 组大鼠的脏器指数与正常组相比均无统计学意义,但经典 COPD 组和痰湿型 COPD 组大鼠的肺指数均较正常组略有增大,胸腺指数减小,以痰湿型 COPD 组变化明显,且痰湿型 COPD 组大鼠的心脏指数也略

有增加。

2.6 HE 组织染色情况

如图 3 所示,空白组肺泡完整,主支气管形态正常,未见炎症浸润;经典 COPD 组及痰湿型 COPD 组的肺间质及血管周围均可见明显炎症细胞浸润现象(黑色三角形),肺泡间隔增粗或塌陷断裂,肺泡形态大小不一,部分肺泡腔体较大,呈肺气肿样变化,部分腔体则塌陷,呈肺不张样变化。

相比正常组,经典 COPD 组的结肠和回肠粘膜仅有轻微损伤,差别不明显,而痰湿型 COPD 组的结肠、十二指肠、回肠粘膜损伤相对明显,局部粘膜脱落明显(黑色箭头);各组脾、胸腺则未见明显异常。

表 2 各组大鼠外周血指标变化

Table 2 Changes of peripheral blood indexes in each group rats

指标名称 Index name	正常组 Normal group	经典 COPD 组 Classical COPD group	痰湿型 COPD 组 Phlegm-dampness COPD group
白细胞 White blood cells	2.79 ± 1.05	4.73 ± 1.20**	4.38 ± 0.92**
红细胞 Red blood cells	7.74 ± 1.22	8.98 ± 0.72	8.85 ± 0.98
血红蛋白 Hemoglobin	143.90 ± 19.71	167.70 ± 10.00	165.20 ± 15.61
血小板 Platelet	873.60 ± 134.76	813.40 ± 93.81	829.30 ± 120.63
平均血红蛋白量 Mean amount of hemoglobin	18.66 ± 0.73	18.72 ± 0.54	18.69 ± 0.53
中性细胞比率 Percent of neutral cells	10.20 ± 3.42	7.19 ± 1.90	9.17 ± 2.05
淋巴细胞比率 Percent of lymphocyte	86.46 ± 4.19	89.76 ± 2.52	88.29 ± 1.92
单核细胞比率 Percent of monocyte	2.15 ± 0.91	1.75 ± 0.56	1.59 ± 1.01
嗜酸性粒细胞比率 Percent of eosinophilic granulocyte	1.15 ± 0.47	1.24 ± 0.53	0.92 ± 0.19
嗜碱性粒细胞比率 Percent of basophilic granulocyte	0.04 ± 0.07	0.06 ± 0.07	0.02 ± 0.04
中性细胞数 Neutral cells	0.29 ± 0.18	0.34 ± 0.13	0.40 ± 0.12
淋巴细胞数 Lymphocyte	2.40 ± 0.89	4.25 ± 1.09***	3.86 ± 0.80**
单核细胞 Monocyte	0.06 ± 0.04	0.09 ± 0.04	0.07 ± 0.05
嗜酸性粒细胞 Eosinophilic granulocyte	0.03 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.04 ± 0.01
嗜碱性粒细胞 Basophilic granulocyte	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

注:与正常组比较,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。(下图同)

Note. Compared with normal group,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$. (The same in the following figures)

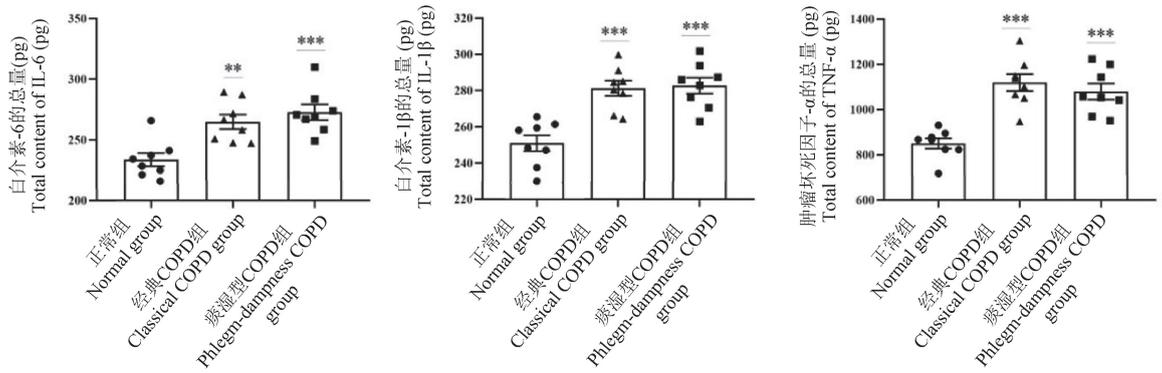
图 2 BALF 中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 含量Figure 2 Content of IL-6, IL-1 β and TNF- α in BALF

表 3 脏器指数 (%)

Table 3 Organ indexes (%)

组别 Groups	心脏 Heart	肝 Liver	脾 Spleen	肺 Lung	肾 Kidney	胸腺 Thymus
正常组 Normal group	0.303 ± 0.025	2.906 ± 0.411	0.171 ± 0.036	0.238 ± 0.044	0.697 ± 0.104	0.124 ± 0.025
经典 COPD 组 Classical COPD group	0.314 ± 0.024	2.931 ± 0.288	0.166 ± 0.030	0.286 ± 0.071	0.670 ± 0.049	0.095 ± 0.024
痰湿型 COPD 组 Phlegm-dampness COPD group	0.333 ± 0.032	2.899 ± 0.292	0.174 ± 0.034	0.315 ± 0.068	0.685 ± 0.046	0.091 ± 0.032

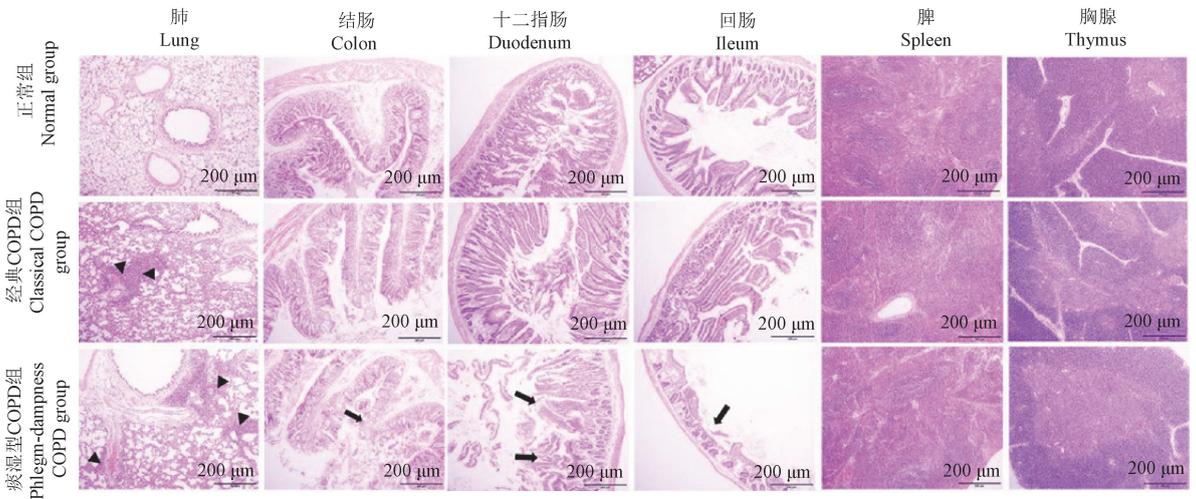


图 3 各组织的 HE 染色图

Figure 3 HE staining of each tissue

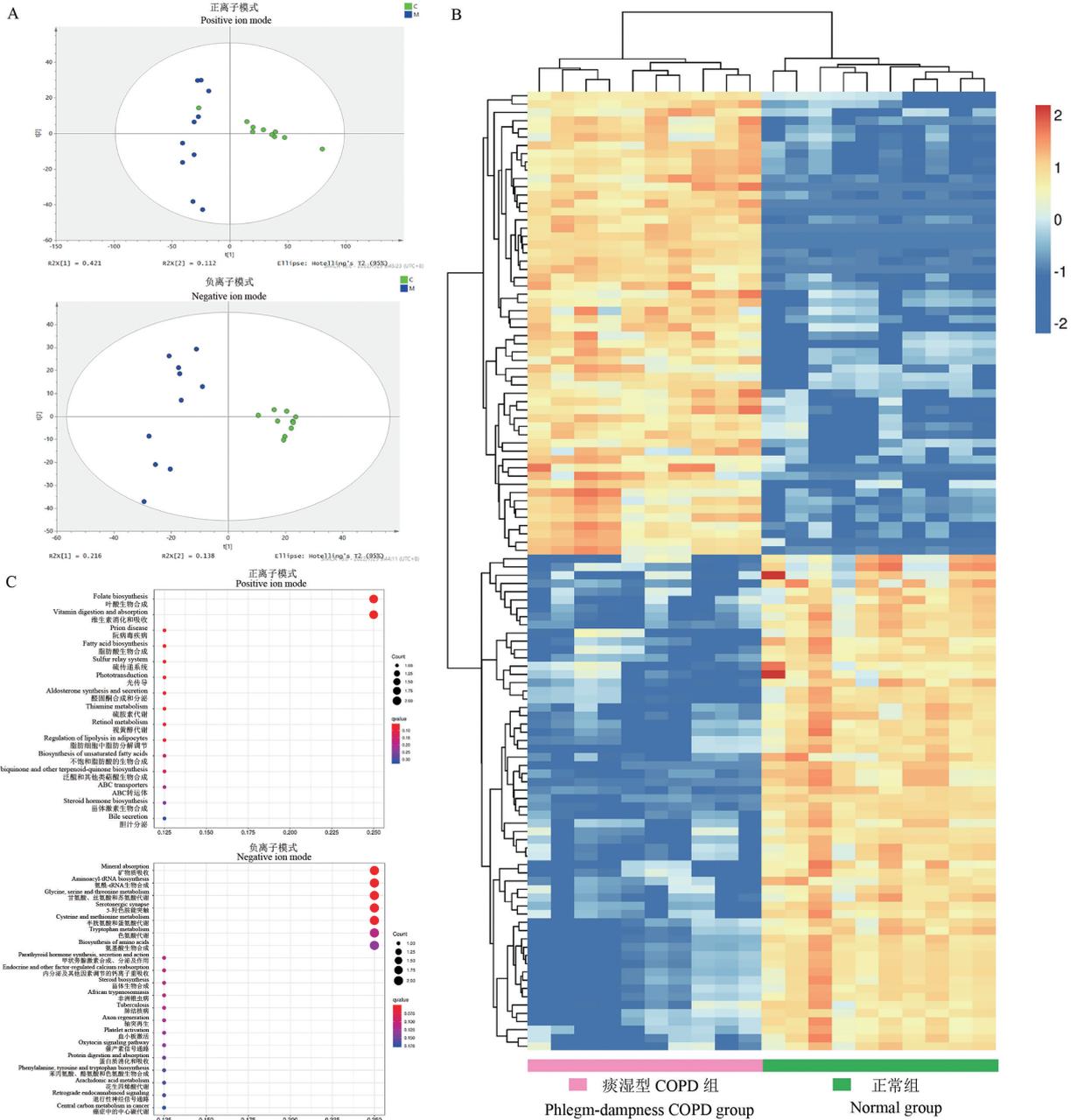
2.7 血浆代谢物的变化

为了探究痰湿型 COPD 大鼠内在的生物物质基础,本实验在不同离子模式下检测了正常组与痰湿型 COPD 组大鼠血浆代谢物的变化,并通过 PCA 得分图(见图 4A)可知,除正离子模式下正常组中一个样本与模型组有交叉外,在正负离子模式下,正常组与痰湿型 COPD 组大鼠的血浆代谢物均呈现出明显区别,表明造模后痰湿型 COPD 大鼠体内的

代谢模式发生了明显变化。再根据 OPLS-DA 分析,以 $VIP > 1$ 、 $FC > 1.5$ 和 $P < 0.05$ 为判定标准,共筛选出正负离子模式下的差异代谢产物 116 个,其中 56 个上调,60 个下调。对差异代谢物进行聚类分析,得到聚类热图(见图 4B)。聚类热图结果显示,正常组与痰湿型 COPD 组能够明显区分且组内聚类良好,进一步表明痰湿型 COPD 组大鼠的代谢模式发生显著变化。

与正常组相比,痰湿型 COPD 组大鼠血浆中的差异代谢物多为氨基酸类、脂质及类酯质(固醇脂类、孕烯醇酮脂类、脂肪酸类、甘油脂类及甘油磷脂类)、维生素类等化合物,表 4 所示为以 Log_2FC 排序前 50 的差异代谢物。这些差异代谢物主要参与了氨酰-tRNA 生物合成、维生素消化与吸收、叶酸生

物合成、脂肪酸和不饱和脂肪生物合成、5-羟色胺能突触通路、氨基酸代谢、矿物质吸收、类固醇生物合成、甲状旁腺激素的合成、分泌和作用、醛固酮合成与分泌、甾体激素生物合成、花生四烯酸代谢、内分泌等因素调节钙再吸收、血小板激活、胆汁分泌、脂质分解调节等代谢通路(见图 4C)。



注:A:PCA 得分图;B:热分析图;C:KEGG 通路富集气泡图。

图 4 正负离子模式下正常组与痰湿型 COPD 组大鼠血浆差异代谢物

Note. A. PCA score plots. B. Heatmap. C. Dot plots of KEGG enrichment pathway.

Figure 4 Analysis of rat plasma differential metabolites between normal group and phlegm-dampness COPD group in positive and negative ion mode

表 4 正常组与痰湿型 COPD 组大鼠的前 50 个血浆差异代谢物

Table 4 Information of the top 50 differential plasma metabolites between normal group and phlegm-dampness COPD group

编号 Code	名称 Name	变化倍数的对数值 Log ₂ FC	P 值 P value	变量重要性投影 VIP	变化趋势 Variation trend
neg_1863	磷酸丝氨酸 Phosphoserine	32.52631	0.026115	2.062504	↑
pos_1299	青霉素 G Penicillin G	32.47632	0.018580	1.796625	↑
pos_2562	四甲基槲皮素 3-芦丁苷 Tetramethylquercetin 3-rutinoside	32.4067	0.002443	1.870454	↑
pos_4335	二香草基四氢呋喃阿魏酸酯 Divanillyltetrahydrofuran ferulate	31.40976	0.002156	1.898903	↑
neg_2030	13'-羟基-γ-生育酚 13'-hydroxy-γ-tocopherol	26.46928	0.013679	2.092127	↑
neg_1553	精氨酸-蛋氨酸 Arginyl-methionine	26.24337	0.016987	2.084927	↑
neg_1730	15-酮-前列腺素 F1α 15-keto-PGF1α	25.88409	0.026307	2.045268	↑
pos_3317	酰基鞘氨醇己三糖苷 Trihexosylceramide (d18:1/25:0)	23.84513	0.032598	1.58712	↑
pos_1474	米多君前体 Desglymidodrine	21.15369	0.042414	1.547875	↑
pos_4683	环孢霉素 C1 Cyclosporin C1	21.07494	0.034641	1.710843	↑
neg_604	骨化三醇 Calcitriol	20.01818	0.023924	1.914841	↑
neg_1097	络石苷 Tracheloside	19.29657	0.010153	2.017631	↑
neg_903	25-羟基维生素 D ₂ 25-hydroxyvitamin D ₂	18.8566	0.048159	1.85501	↑
neg_3696	4'-甲氧嘧啶 4'-methoxymucidin	18.04965	0.021923	1.921556	↑
pos_2173	四苯那嗪 Tetrabenazine	12.91968	0.047331	1.712431	↑
pos_3450	神经节苷脂 GM3 (d18:0/20:0) Ganglioside GM3 (d18:0/20:0)	12.10493	0.044492	1.53408	↑
neg_1407	4α-羟甲基-5α-胆甾-8,24-二烯-3β-醇 4α-hydroxymethyl-5α-cholesta-8,24-dien-3β-ol	11.12063	0.04462	1.851845	↑
neg_1335	罗旦梅交酯 Jangomolide	10.51814	0.047914	1.758952	↑
neg_1243	生物菌素 A Biochanin A	9.855425	0.046205	1.928411	↑
neg_2354	脯氨酸谷氨酸 Prolyl-glutamate	3.729847	0.015175	1.978276	↑
neg_1432	还含薯酸 Achimilic acid	3.117435	0.002407	2.139646	↑
neg_2286	甘油磷酸盐(20:3(8Z,11Z,14Z)/22:6 (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)) PS(20:3(8Z,11Z,14Z)/22:6 (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	2.4774	0.031534	1.856498	↑
neg_24	L-色氨酸 L-tryptophan	2.079449	0.025912	1.911497	↑

续表4

编号 Code	名称 Name	变化倍数的对数值 Log ₂ FC	P 值 P value	变量重要性投影 VIP	变化趋势 Variation trend
neg_1342	樱草皂甙元 A Priverogenin A	1.969696	0.040005	1.833292	↑
neg_304	胆固醇硫酸盐 Cholesterol sulfate	1.886648	0.015859	1.982189	↑
pos_1442	(3β,17α,23R)-17,23-环氧-3, 29-羟基-27-去甲-8-羊毛甾烯-15,24-二酮 (3β,17α,23R)-17,23-epoxy-3,29-dihydroxy-27- norlanost-8-ene-15,24-dione	1.687843	0.033979	1.653055	↑
neg_3679	4R,5R,6S-羟基-2-羟甲基-2-环己烯-1- 酮 6-(2-羟基-6-苯甲酸甲酯) 4R,5R,6S-trihydroxy-2-hydroxymethyl-2-cyclohexen-1- one 6-(2-hydroxy-6-methylbenzoate)	1.586371	0.020491	1.932792	↑
neg_2922	前列腺素 H2 Prostaglandin H2	1.556637	0.003931	2.071205	↑
pos_1234	二羟基苯丙氨酸黄素 Dopaxanthin	1.509986	0.007126	1.774986	↑
neg_1444	2-(3-甲基丁基)-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶 2-(3-Methylbutyl)-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine	1.503045	0.04977	1.941765	↑
neg_418	N-甲基-3-吡啶甲氨 N-Norgramine	1.465035	0.019909	1.940964	↑
neg_3669	N-甲基血清素 N-methylserotonin	1.436775	0.008848	2.01619	↑
pos_2254	去甲肾上腺素 Norepinephrine	-1.48837	0.044434	1.597126	↓
pos_1097	假荆芥内酯甙 Nepetaside	-1.63403	0.00266	1.873945	↓
pos_1002	蛋氨酰丝氨酸 Methionyl-serine	-1.65053	0.03224	1.63651	↓
pos_759	肉桂酸乙酯 Ethyl cinnamate	-1.69152	0.005132	1.799126	↓
pos_17	癩酸 Decanoic acid	-1.73594	0.005955	1.745975	↓
neg_3585	5-甲硫核糖-1-磷酸 5-methylthioribose 1-phosphate	-1.75006	0.013133	2.084158	↓
pos_2576	羟苯乙胺 Oxyphenonium	-1.85043	0.045289	1.61051	↓
pos_1214	甲基丙二酰肉碱 Methylmalonylcarnitine	-1.89993	0.011689	1.756108	↓
pos_3233	灰毛糖芥甙 Canescein	-2.17149	0.04465	1.745698	↓
pos_1872	欧鼠李碱 Frangulanine	-2.22201	0.045293	1.73797	↓
pos_405	丙基 1-(丙基亚砷基)丙基二硫 Propyl 1-(propylsulfanyl)propyl disulfide	-2.62907	0.015834	1.802122	↓
pos_2061	大果桉醛 I Macrocarpal I	-2.84443	0.033629	1.678141	↓
pos_2638	阿奇霉素 Azithromycin	-3.20132	0.044225	1.585678	↓

续表4

编号 Code	名称 Name	变化倍数的对数值 Log ₂ FC	P 值 P value	变量重要性投影 VIP	变化趋势 Variation trend
neg_3008	甘油酯(22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/0:0) DG(22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)/22:6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/0:0)	-11.5937	0.000744	2.141226	↓
pos_677	氧代紫番茄枝碱 Oxopurpureine	-12.3541	0.041929	1.600101	↓
pos_3351	1-乙酸鳄梨碱 Avocadyne 1-acetate	-14.3976	0.03164	1.779555	↓
pos_3844	硫胺素 Thiamine	-21.4808	0.034783	1.585945	↓
pos_651	谷氨酰胺、丙氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸 Gln, Ala, Trp, Phe	-22.7937	0.042672	1.622985	↓

注: ↑表达水平上调; ↓表达水平下调。

Note. ↑ represents up-regulated expression level. ↓ represents down-regulated expression level.

3 讨论

依据中医理论,痰湿阻肺是 COPD 众多中医证候中较为常见的一种,与肺、脾亏虚密切相关。外邪侵袭,卫外不固,肺失宣发肃降,日久肺气虚损,累及脾,致脾失健运,水谷精微不化,痰湿丛生,深伏于肺;或脾本虚,湿困中焦,聚生成痰,乘肺而上,诱发咳嗽。故《丹溪·心法》云:“燥脾湿,是治痰之本法也。”^[14]《石室秘录》亦有“治肺之法,正治甚难,当转治以脾,脾气有养,则土自生金”的记载^[15]。脾乃后天之本,统气血生化,乃生痰之源,而肺乃贮痰之器,故治痰当先治脾。因此,本研究在经典 COPD 大鼠模型建模(烟熏联合 LPS 气道滴注)的基础上,结合脾虚动物模型的建模方法——“过度疲劳(强迫游泳)”和“饮食失节(隔日禁食)”,来共同构建痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型。实验结果显示,采用该复合因素连续造模 6 周,大鼠出现不同程度的咳嗽、喘息、精神倦怠、嗜睡、反应迟缓、毛色干枯蓬松、大便稀溏、舌质淡、苔白滑、体重减轻等现象,这与中医脾虚所致咳喘的证候表现类似;且该造模大鼠外周血中白细胞和淋巴细胞数量明显升高, BALF 中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量显著升高,肺组织出现明显炎症细胞浸润,肺泡腔体或塌陷不张,或膨大呈肺气肿样变化,符合 COPD 生化及病理指标变化特征;该模型大鼠的十二指肠、回肠、结肠粘膜损伤相对明显,局部粘膜脱落,这与脾虚所致的脘腹胀闷、大便稀溏相关。综上,采用烟熏联合 LPS 气道滴注、强迫游泳和隔日禁食的方式构建痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型是可行的,其中,粪便、舌苔、体重和饮水情况是该模型区别于经典 COPD 大鼠模型

的关键中医证候指标。

代谢组学作为系统生物学的重要组成部分之一,具有动态性与整体性的特征,它能从代谢网络的内在微观变化反映出机体外在的功能状态,与中医辨证论治和整体观十分契合^[16]。近年来,将代谢组学与证候结合形成的中医证候代谢组学研究方法为中医不同证型生物标志物的发现及“证候相关代谢谱群”的构建提供了有效路径,为中医证候的客观化、标准化提供了新的技术支持,为证候本质及中医辨证论治的科学阐述提供了客观的物质基础^[17]。本研究中,代谢组学结果显示,痰湿阻肺型 COPD 模型大鼠血浆中的氨基酸类、脂质及类脂质类、维生素类等代谢物水平发生了明显改变。氨基酸类中,磷酸丝氨酸、精氨酸-蛋氨酸、L-色氨酸含量明显增加,而谷氨酰胺、丙氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸含量显著降低,这与 Vincken 等^[18]的研究结果相一致。磷酸丝氨酸是丝氨酸的前体形式,丝氨酸可促进脂肪和脂肪酸的新陈代谢,有助于维持免疫系统,且能促进机体对钙、铁、锌等矿物质的吸收,调节钙、磷相关生理过程^[19];精氨酸对维持机体的氮平衡十分重要,且具有免疫调节功能,可影响吞噬细胞的活力^[20];蛋氨酸主要参与体内各种含硫化合物的代谢、甲基化反应、氧化还原维持、多胺合成以及叶酸代谢等,与许多细胞的功能紧密相关^[21];L-色氨酸是 5-羟色胺及烟酸等的重要前体,其含量的升高或可致 5-羟色胺含量的变化,而 5-羟色胺是参与睡眠、体温、情绪、肠蠕动、支气管和血管平滑肌收缩等生理功能调节的重要物质^[22-23],这一结果与痰湿型 COPD 大鼠出现嗜睡、腹泻、体温升高及喘息等症候有着紧密联系;谷氨酰胺可参与谷胱甘肽合成,

影响机体的抗氧化能力,调节免疫应答及炎症因子水平,研究显示,谷氨酰胺能改善 COPD 患者的呼吸功能和预后,故其含量的降低或可造成 COPD 相关氧化损伤及炎症反应的加重^[24-25];丙氨酸是构成蛋白质的基本单位,在体内通过脱氨生成酮酸,再经葡萄糖代谢途径生成糖,进而参与糖代谢^[26];苯丙氨酸在体内可生成酪氨酸,并与酪氨酸一起参与肾上腺素、多巴胺和去甲肾上腺素等神经递质和激素的合成,参与机体糖代谢和脂肪代谢,酪氨酸具有调节情绪,刺激神经系统等作用,这两种氨基酸含量的降低会造成甲状腺功能低下、抑郁、慢性疲劳、新陈代谢缓慢等问题^[27-28],这与痰湿型 COPD 大鼠精神萎靡、倦怠、反应迟缓、体重降低关系紧密,且模型大鼠血浆中检测到去甲肾上腺素含量也显著降低,几者变化趋势相一致。总之,氨基酸是维持生命正常代谢的物质基础,对于机体组织蛋白质的合成、氮平衡的维持、脂肪、激素及能量的产生十分重要,其代谢水平的异常波动可引起机体相应的病理变化。维生素类中,13'-羟基- γ -生育酚、骨化三醇、25-羟基维生素 D₂ 含量显著升高,硫酸素含量显著降低。13'-羟基- γ -生育酚属维生素 E 类,维生素 E 在体内能促进血红素合成,参与氧化还原,调节与脂类摄取、胞外基质蛋白、细胞黏附、炎症以及细胞周期等相关基因的表达^[29-30];骨化三醇和 25-羟基维生素 D₂ 均属于维生素 D 类,是钙、磷吸收与代谢的关键调节因素,骨化三醇又名 1 α ,25-二羟基维生素 D₃,是维生素 D 的主要活化形式,除了参与钙、磷代谢,还可调节胰岛素分泌、影响细胞分化等^[31-32];硫酸素又名维生素 B₁,主要参与体内辅酶的合成与代谢,其体内活化形式焦磷酸硫酸素(TPP)是 α -酮酸脱氢酶系的辅助因子,参与 α -酮酸的氧化脱羧,故维生素 B₁ 主要参与糖代谢进而影响能量生成^[33];综上,维生素类成分的含量变化提示了痰湿型 COPD 大鼠体内血红素合成、钙磷代谢等过程或发生了改变,体内糖代谢和能量供给也受到了明显影响。脂质及类脂质中,15-keto-PGF1 α 、Trihexosylceramide(d18:1/25:0)、神经节苷脂 GM3(d18:0/20:0)、4 α -hydroxymethyl-5 α -cholesta-8,24-dien-3 β -ol、PS(20:3/22:6)、胆固醇硫酸盐、前列腺素 H₂ 等含量显著上升,DG(22:5/22:6/0:0)、甲基丙二酰肉碱、癸酸等含量显著降低。其中,15-keto-PGF1 α 和 PGH₂ 均为前列腺素类化合物,与炎症反应紧密相关,研究显示,PGH₂ 在酶的催化下可生成

PGE₂、PGI₂ 等化合物,进而介导炎症的发生发展^[34],这与痰湿型 COPD 大鼠 BALF 中炎症指标上升及肺组织 HE 切片中观察到炎症细胞浸润现象相吻合,也提示模型大鼠体内花生四烯酸代谢发生了改变;Trihexosylceramide(d18:1/25:0)属于鞘脂类,神经节苷脂 GM3(d18:0/20:0)属于糖脂,4 α -hydroxymethyl-5 α -cholesta-8,24-dien-3 β -ol、胆固醇硫酸盐均属于固醇类,PS(20:3/22:6)属甘油磷脂,DG(22:5/22:6/0:0)属于甘油酯,甲基丙二酰肉碱和癸酸均属于脂肪类,这些化合物等的含量变化表明了模型大鼠体内的脂质代谢发生了相应改变。综上,痰湿阻肺型大鼠体内的代谢特征主要体现在氨基酸生物合成与代谢、维生素消化吸收与代谢、脂质及类脂质代谢等代谢途径改变。

综合上述分析,本研究为痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型的构建及评价提供了一种可行的方法,为痰湿阻肺型 COPD 动物模型的研究及客观认识该证型的本质奠定了基础,有助于相应中医药方剂治疗机制的阐释和中药新药的开发。当然,本研究中,证候模型动物的成模率还有待提高,建模方法需继续精进完善,代谢特征也有待进一步挖掘和细化。并且,本研究只采用了一种品系的大鼠建模,对于其他品系大鼠是否可成功复制模型还需进一步验证。

参 考 文 献(References)

- [1] Mirza S, Clay RD, Koslow MA, et al. COPD guidelines: a review of the 2018 GOLD report [J]. Mayo Clin Proc, 2018, 93(10): 1488-1502.
- [2] Wang C, Xu J, Yang L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health [CPH] study): a national cross-sectional study [J]. Lancet, 2018, 391(10131): 1706-1717.
- [3] Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: 2022 report [EB/OL]. [2022-03-14]. <https://staging.goldcopd.org/2022-gold-reports-2/>.
- [4] Singh D, Agusti A, Anzueto A, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease: the GOLD science committee report 2019 [J]. Eur Respir J, 2019, 53(5): 1900164.
- [5] 郑莉莉,李泽庚.从“肺主治节”探讨慢性阻塞性肺疾病病因病机[J].江西中医药大学学报,2017,29(4):1-3,8.
Zheng LL, Li ZG. Exploring etiology and pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease from lung governing management and regulation [J]. J Jiangxi Univ Tradit Chin Med, 2017, 29(4): 1-3, 8.
- [6] 吴瑶,王飞,王全林,等.慢性阻塞性肺疾病从脾论治理论

- 探讨 [J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(12): 88-89.
- Wu Y, Wang F, Wang QL, et al. Discussion on the theory of treating chronic obstructive pulmonary disease from spleen [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2013, 20(12): 88-89.
- [7] Mizutani N, Fuchikami JI, Takahashi M, et al. Pulmonary emphysema induced by cigarette smoke solution and lipopolysaccharide in Guinea pigs [J]. Biol Pharm Bull, 2009, 32(9): 1559-1564.
- [8] 程羽, 陶伟利, 张晓梅, 等. 建立慢性阻塞性肺疾病动物模型的实验研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2016, 11(4): 445-448.
- Cheng Y, Tao WL, Zhang XM, et al. Experimental study on the building animal model of chronic obstructive pulmonary disease [J]. World J Integr Tradit West Med, 2016, 11(4): 445-448.
- [9] 蒋琦, 彭怡雯, 沈淑怡, 等. 脾虚证动物模型的研究进展 [J]. 基层医学论坛, 2021, 25(13): 1903-1905.
- Jiang Q, Peng YW, Shen SY, et al. Research progress on animal models of spleen deficiency syndrome [J]. Med Forum, 2021, 25(13): 1903-1905.
- [10] 春柳, 李建生, 马锦地, 等. 基于现代名老中医经验的痰饮常见证候及其特征的研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(3): 496-498.
- Chun L, Li JS, Ma JD, et al. Study on common syndromes and characteristics of phlegm retention based on the experience of modern famous and old Chinese medicine practitioners [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2018, 45(3): 496-498.
- [11] 罗齐军, 陈媛丽, 夏燕华, 等. 三子六君汤联合穴位贴敷治疗慢阻肺急性加重期临床研究 [J]. 亚太传统医药, 2017, 13(14): 142-144.
- Luo QJ, Chen YL, Xia YH, et al. Clinical observation of AECOPD treated by San zi Liu Jun decoction combined with acupoint application of Chinese herbal medicine [J]. Asia Pac Tradit Med, 2017, 13(14): 142-144.
- [12] 罗媛. 基于“治痰先治气”理论运用益气化痰方治疗肺癌气虚痰湿证的临床研究 [D]. 昆明: 云南中医药大学; 2021.
- Luo Y. Based on the theory of “treating Qi before phlegm”, the clinical study of treating qi deficiency and phlegm dampness syndrome of lung cancer with yiqihuatan decoction [D]. Kunming: Yunnan University of Traditional Chinese Medicine; 2021.
- [13] 林明欣. 痰湿证临床诊断标准研究 [EB/OL]. [2020-10-01]. [https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=SNAD&dbname=SNAD&filename=SNAD000001918056&uniplatform=NZKPT&v=TjRX_0fSS4uOKKRG2NYHcbPgdsfDTvLisJZAWX8GYbGJrCHv5gqTDe-9eXzBUJsEU3YMu4mRz-s%3d](https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=SNAD&dbname=SNAD&filename=SNAD000001918056&uniplatform=NZKPT&v=TjRX_0fSS4uOKKRG2NYHcbPgdsfDTvLisJZAWX8GYbGJrCHv5gqTDe-9eXzBUJsEU3YMu4mRz-s%3dLin.MX).
- [14] 朱震亨. 丹溪心法 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2005.
- Zhu ZH. Dan xi xin fa [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2005.
- [15] 陈士铎. 石室秘录 [M]. 北京: 人民军医出版社; 2009.
- Chen SD. Shi shi mi lu [M]. Beijing: People's Military Medical Publishing House; 2009.
- [16] 刘妍彤, 任爽, 曹奇, 等. 基于代谢组学“痰湿证”识别模式 [J]. 辽宁中医杂志, 2021, 48(10): 1-4.
- Liu YT, Ren S, Cao Q, et al. Recognition pattern of phlegm-dampness syndrome based on metabolomics [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2021, 48(10): 1-4.
- [17] 马素娜, 关亚奇, 张森, 等. 代谢组学技术在中医证候学研究中的应用优势 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(7): 1714-1716.
- Ma SN, Guan YQ, Zhang M, et al. The advantage of metabolomics in the study of TCM syndrome [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2019, 30(7): 1714-1716.
- [18] Vincken W, van Noord JA, Greefhorst APM, et al. Improved health outcomes in patients with COPD during 1 yr's treatment with tiotropium [J]. Eur Respir J, 2002, 19(2): 209-216.
- [19] 李帅, 王丽, 梁兴伟, 等. 精氨酸代谢途径及其在畜牧生产中的应用研究 [J]. 动物营养学报, 2022, 34(4): 2156-2166.
- Li S, Wang L, Liang XW, et al. Metabolic pathways and application research of arginine in animal husbandry production [J]. Chin J Anim Nutr, 2022, 34(4): 2156-2166.
- [20] Newman AC, Maddocks ODK. Serine and functional metabolites in cancer [J]. Trends Cell Biol, 2017, 27(9): 645-657.
- [21] Sanderson SM, Gao X, Dai Z, et al. Methionine metabolism in health and cancer: a nexus of diet and precision medicine [J]. Nat Rev Cancer, 2019, 19(11): 625-637.
- [22] Modoux M, Rolhion N, Mani S, et al. Tryptophan metabolism as a pharmacological target [J]. Trends Pharmacol Sci, 2021, 42(1): 60-73.
- [23] Berger M, Gray JA, Roth BL. The expanded biology of serotonin [J]. Annu Rev Med, 2009, 60: 355-366.
- [24] 靳峰妮. 谷氨酰胺在慢性阻塞性肺疾病治疗中的应用 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(84): 16630-16632.
- Jin FN. Application of glutamine in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Clin Med Lit, 2017, 4(84): 16630-16632.
- [25] 滑丽美, 邱建宏, 刘晓军, 等. 谷氨酰胺对慢性阻塞性肺疾病患者营养改善及抗氧化作用 [J]. 临床误诊误治, 2013, 26(9): 99-102.
- Hua LM, Qiu JH, Liu XJ, et al. Efficacy of glutamine on nutritional improvement and antioxidation in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Clin Misdiagn Misther, 2013, 26(9): 99-102.
- [26] 郑晓珂. 生物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2016.
- Zheng XK. Biochemistry [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2016.
- [27] 李良铸, 李明晔. 现代生化药物生产关键技术 [M]. 北京:

- 化学工业出版社; 2006.
- Li LZ, Li MY. Key technology of modern biochemical drug production [M]. Beijing: Chemical Industry Press; 2006.
- [28] Hase A, Jung SE, aan het Rot M. Behavioral and cognitive effects of tyrosine intake in healthy human adults [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2015, 133: 1-6.
- [29] 王磊. 维生素 E 的功能 [J]. 当代畜禽养殖业, 2021, 6: 28-29.
- Wang L. The function of vitamin E [J]. Mod Anim Husband, 2021, 6: 28-29.
- [30] 郭彤, 于凤芝, 胡平, 等. 维生素 E 调节抗氧化作用的研究进展 [J]. 山东畜牧兽医, 2021, 42(12): 42-49, 53.
- Guo T, Yu FZ, Hu P, et al. Research progress of vitamin E regulating antioxidant effect [J]. Shandong J Anim Sci Vet Med, 2021, 42(12): 42-49, 53.
- [31] 次仁旺拉, 琼卓玛, 仓决, 等. 维生素 D 的生理功能研究进展 [J]. 西藏医药, 2016, 37(3): 80-82.
- Ci RWL, Qiong ZM, Cang J, et al. Research progress on physiological function of vitamin D [J]. Tibet Med, 2016, 37(3): 80-82.
- [32] 杨春华. 维生素 D 简介 [J]. 中国实用医药, 2009, 4(3): 243-244.
- Yang CH. Introduction to vitamin D [J]. Chin Pract Med, 2009, 4(3): 243-244.
- [33] 鲁飞翔, 胡南, 周仙杰, 等. 硫胺素与相关疾病的研究进展 [J]. 中华灾害救援医学, 2016, 4(5): 287-290.
- Lu FX, Hu N, Zhou XJ, et al. Research progress on thiamine and related diseases [J]. Chin J Disaster Med, 2016, 4(5): 287-290.
- [34] 陶迎秋, 梁统, 周克元. 花生四烯酸三条代谢通路在炎症反应中的作用 [J]. 国际免疫学杂志, 2010, 33(4): 303-306, 314.
- Tao YQ, Liang T, Zhou KY. Three arachidonic acid metabolic pathways Involved in inflammation [J]. Int J Immunol, 2010, 33(4): 303-306, 314.

[收稿日期] 2022-10-13

《中国实验动物学报》再次入编《中文核心期刊要目总览》

依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,《中国实验动物学报》再次入编《中文核心期刊要目总览》2020 年版(即第 9 版)生物科学类的核心期刊!

《中文核心期刊要目总览》采用定量评价和定性评的学术水平和学术影响进行综合评价,受到学术界的广泛认同。

目前,本刊为中国科学引文数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计源期刊、《中国学术期刊文摘》来源期刊;被中国生物学文献数据库、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》等数据库收录。

感谢编委、专家们的帮助与支持,感谢广大作者和读者朋友们的厚爱与信任。本刊编辑部将始终坚守办刊宗旨,不忘初心,严谨办刊,开拓进取,不断创新,向世界一流期刊看齐。