

Evol, 2016, 40: 389-397.

[34] JOENSEN K G, ENGSBRO A, LUKJANCENKO O, et al. Evaluating next-generation sequencing for direct clinical diagnostics in diarrhoeal disease[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2017, 36(7): 1325-1338.

[35] SIMNER P J, MILLER S, CARROLL K C. Understand-

• 综 述 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 23. 038

ing the promises and hurdles of metagenomic next-generation sequencing as a diagnostic tool for infectious diseases[J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(5): 778-788.

(收稿日期: 2022-04-18 修回日期: 2022-09-15)

组学技术在溃疡性结肠炎中的应用进展*

王 磊¹, 沈江立²综述, 李 娜^{2△}审校

1. 呼伦贝尔市中蒙医院肛肠科, 内蒙古呼伦贝尔 021099; 2. 咸阳市中心医院肛肠科, 陕西咸阳 712000

关键词: 溃疡性结肠炎; 组学技术; 肠道菌群检测; 代谢组学

中图法分类号: R574. 62

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)23-3302-04

溃疡性结肠炎(UC)是一种慢性、非特异性、炎症性肠道疾病^[1], 通常病变从直肠开始, 呈连续性、弥漫性分布, 可延伸累及至结肠近端的不同部位^[2]。UC 以复发交替的腹痛、腹泻、黏液脓血便、里急后重等为典型临床表现, 还可伴有乏力、食欲减退、发热等全身症状及关节病变(中轴型和外周型关节病变)、代谢性骨病、凝血功能异常等的肠外表现^[1,3]。长期的炎症可导致 UC 癌变及结肠炎相关结肠癌的出现^[4]。近年来, UC 的发病率和患病率呈上升趋势, 已被世界卫生组织(WHO)列入国际难治性疾病和终身性疾病名录。欧美等发达国家 UC 的发病率为(8~14)/100 000, 患病率则高达(120~200)/100 000; 据报道, 我国 UC 患病率约为 11. 6/100 000, 北方地区发病率(1. 64/100 000)与南方地区相比(2. 05/100 000)略低^[5]。UC 发生与遗传易感性、环境因素及心理因素等多因素密切相关, 其发病机制与肠道免疫失衡、神经内分泌功能、肠黏膜屏障损伤等有关^[6]。

随着以高通量分析检测为特征的组学技术的快速发展, 涌现出代谢组学、基因组学、转录组学、蛋白质组学、表观基因组学、微生物组学、影像组学、宏基因组测序技术等现代生物学技术。这些新技术可在不同层面上反映生物体特征, 揭示分子的复杂性, 用于全面了解人类健康与疾病、生理与病理的内在关系, 以及药物作用相关分子机制^[7]。本文将对组学技术在 UC 领域的应用现状做一综述。

1 代谢组学在 UC 疾病领域研究中的应用

1.1 代谢组学在 UC 的研究现状 自从 NICHOLSON 等^[8]在 1999 年首次提出代谢组学概念以来, 代

谢组学主要通过核磁共振和质谱技术定性和定量分析目标生物体受内/外部生理刺激或遗传基因修饰的内源性物质-代谢产物随时间的多元动态变化参数, 以期寻找与疾病或药物相关的差异代谢产物^[9-10]。临床研究标本多为 UC 患者的血液、尿液或者粪便标本, 具有标本轻松易得、取样操作简便等优点。耿曙光等^[11]通过气相色谱-质谱(GC-MS)检测正常大鼠和 UC 大鼠结肠病变部位黏膜组织的代谢组学特征, 结果得到 9 种差异性代谢产物, 其中尿苷、腺嘌呤、胞嘧啶、甘氨酸、乳酸 5 种代谢物在 UC 模型组中明显, 牛磺酸、苏氨酸、甘露糖、β-丙氨酸 4 种代谢物明显低于对照组, 可作为 UC 早期临床诊断的生物标志物。DIAB 等^[12]采用气相色谱-飞行时间质谱(GC-TOF-MS)和超高效液相色谱-质谱(UHPLC-MS)联用技术进行代谢组学分析, 检测 UC 患者和健康志愿者, 结果发现, 从 50 条代谢通路中共鉴定出 177 个差异代谢产物, 其中研究组差异明显的代谢物是溶血磷脂酰胆碱、酰基肉碱和氨基酸, 可导致肠道内环境稳态失衡。SUN 等^[13]对 UC 患者活动期(23 例)、非活动期(25 例)及对照组(30 例)的粪便和血浆标本分别进行 16S rRNA 测序和液相色谱质谱(LC-MS)分析, 结果发现活动期 UC 组血浆氧化三甲胺水平明显高于非活动期, 鞘脂代谢是富集显著的通路之一, 因此磷酸鞘氨醇可能成为治疗 UC 的新靶点。

1.2 代谢组学在 UC 治疗中的研究发现 代谢组学在寻找新的早期疾病诊断、发病机制、药效机制及预后生物标志物等方面作用显著。徐霞等^[14]通过超高效液相色谱-四级杆-飞行时间质谱法检测健康大鼠

* 基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2022JM-489)。

△ 通信作者, E-mail: newlife0517@qq. com。

组、脾虚湿困型 UC 模型大鼠(中药未干预)及脾虚湿困型 UC 模型大鼠给予参苓白术药物干预的血浆标本,结果发现参苓白术散对脾虚湿困 UC 组大鼠的治疗作用可能为抑制核因子- κ B(NF- κ B)信号通路表达,激活法尼醇 X 受体(FXR)受体、氧化应激和细胞色素 P450 表达,从而下调促炎因子的表达,改善缓解肠道病变炎症状态。马光朝等^[15]采用高效液相色谱-质谱技术检测正常小鼠组、DSS 模型组、雷公藤甲素治疗组血清标本,结果发现,UC 模型组小鼠和正常组小鼠血清代谢谱发生明显改变,鉴定出胆酸、牛磺胆酸、鹅去氧胆酸、瓜氨酸、顺式乌头酸、 γ -脯丁酸、乙酰胆碱、3,6-脱水半乳糖等 15 个差异代谢物,其机制可能与调节初级胆汁酸生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢等代谢通路有关。

2 转录组学在 UC 研究中的进展状况

2.1 转录组学对 UC 的研究 转录组广义上指在某一生理条件下,细胞内所有转录组产物的集合,包括 mRNA、ncRNA、rRNA 等;狭义上指所有 mRNA 的集合^[16]。主要用于基因测序、表达谱分析、治疗药物筛选、疾病诊断和预测有效基因筛选等方面。通过分析表达基因,进一步揭示机体生理、病理状态及疾病的发生、发展之间的内在联系^[17]。TAMAN 等^[18]利用测序技术对 UC 患者和健康对照者进行转录组测序,结果得到 1 480 个差异基因,其中 MUC5B、REG3A、DEFA5 和 IL33 可能是男性 UC 患者并发结肠癌(CRC)的危险因素,AQP9 在 UC 调控组织特异性生理作用,也揭示了 UC 发病机制中新的潜在因素。王家丰等^[19]利用二代测序技术对 UC 患者进行转录组测序,结果发现携带 HMGB1 基因 chr13-31127905 位点突变型等位基因的个体患 UC 的风险明显高于未携带者($P=0.017$, $OR=0.357$,95%CI: 0.157~0.812),有望成为临床中早期 UC 诊断筛查生物标志物。

2.2 转录组学在 UC 治疗中的应用 转录组学可快速、全面获得生物个体特定条件下全部表达谱基因转录信息,符合中医研究所注重的整体观,全面、客观、科学、系统地阐述中药单体及复方多靶点、多通路复杂作用的机制。马克龙等^[20]通过高通量转录组测序技术研究白念珠菌定植的 UC 小鼠模型给予三黄汤干预后疗效机制,结果显示三黄汤组与模型组相比,筛选到 383 个差异表达基因显著富集于 NOD 样受体信号通路,表明作用机制可能与调控 NOD 样受体信号通路密切相关。

3 蛋白质组学在 UC 研究中的应用

3.1 蛋白质组学在 UC 领域的研究现状 蛋白组学

由澳大利亚的 WILKINS 等^[21]于 1994 年在意大利国际会议上首次提出,是指通过多种方式全方位多层次研究蛋白质在生物体内的表达水平,翻译后修饰状态,蛋白质相互作用方式和内在联系;生理/病理状态下表达差异,以及疾病特定状态下生物标志物动态变化表达数量,从整体水平上探究特定生物体所有蛋白质组成、氨基酸序列和调控规律。蛋白质组学研究经典核心技术还是以双向凝胶电泳、质谱 MS 技术和蛋白质生物信息学技术为主。HORIE 等^[22]通过双向凝胶电泳、质谱技术对活动期和非活动期 UC 患者活检标本进行蛋白质组学分析筛选,发现与非活动期 UC 患者相比,活动期 UC 患者过氧化物还原酶 1 (PRDX1)表达增加,同时 UC 患者黏膜隐窝上皮细胞中 PRDX1 和硫氧还蛋白(Trx)的表达与炎症分级呈正相关。BENNIKE 等^[23]将 UC 患者和对照组经内镜取结肠黏膜非炎症活检组织,采用高通量无凝胶定量蛋白质组学技术进行分析,结果发现活检组织中钙卫蛋白和乳糖转铁蛋白与活检组织炎症程度相关。

3.2 蛋白质组学在 UC 治疗中的应用 通过分析药物治疗前后蛋白表达水平的差异,有助于从整体角度全面分析中药多靶点、多通路、多成分的药效机制,符合中医整体观念的基本思想^[24]。王婷婷等^[25]在空白组、UC 模型组、四逆汤治疗 UC 大鼠组中分别采用蛋白质组学技术对远端结肠组织筛选差异表达蛋白进行检测,结果显示四逆汤组筛选出 78 个与 UC 相关的差异蛋白,其核心蛋白共筛选出 C 反应蛋白、Ⅱ型胶原蛋白 $\alpha 1$ (COL12A1)等 16 个关键蛋白,通过验证确定 C 反应蛋白及 COL12A1 为四逆汤干预 UC 的潜在关键靶点。

4 基因组学在 UC 研究中的应用

基因组学以生物体内所有基因为研究对象,阐述全基因组的结构、组成、存在方式、表达调控模式,基因定位与功能分析,基因间相互作用,以及全基因组在生物体生理、病理过程中的内在作用规律与外部影响机制。常用研究方法有脉冲场凝胶电泳、毛细管电泳、基因芯片技术、全基因组测序等。赵芯梅^[26]对 UC 患者(同一部位反复活动期、静止期共 29 例)通过基因组学技术,比较同一患者、同一部位、不同时期(活动期、静止期和复发活动期)mRNA 表达差异,结果得到 UC 活动期、静止期差异表达基因 1 732 个,其中上调基因主要与炎症反应、CRC 癌基因和上皮间质转化(EMT)有关;下调基因主要与 CRC 抑癌基因和过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR)有关;同时发现,UC 活动期及静止期中细胞周期、凋亡相关基因显著上调,细胞连接相关基因明显下调。

5 表观遗传学在 UC 研究中的应用

表观遗传学是指基因的核苷酸序列未改变,基因功能表达了可遗传信息的变化,从而使表型发生改变。表观遗传学正是通过 DNA 甲基化、组蛋白修饰、ncRNA 调控等多种调控基因表达介导 UC 易感基因与环境因素的相互作用,与 UC 的发病机制及疾病的发生、发展关系密切^[27]。李春晓^[28]通过对 UC 患者与健康人群结直肠上皮组织标本进行 IHC 实验发现,与对照组相比 UC 患者结肠上皮中的组蛋白 H3 乙酰化水平明显下降,而且与疾病严重程度(蒙特利尔分级)呈明显负相关;通过构建体外细胞(HCT116、Caco-2 细胞)、TNBS 诱导小鼠肠炎模型均发现组蛋白 H3 乙酰化水平在体外细胞系及体内动物模型中,较健康小鼠均显著减少,表明结直肠炎症组蛋白 H3 乙酰化水平受到抑制有关。

6 肠道菌群检测的组学技术在 UC 研究中的应用

肠道菌群是宿主胃肠道内寄居并与之共生的数以万计微生物群体(细菌、真菌、病毒)的总称,定植在人体(宿主)肠道内的菌群数量达 $10^{13} \sim 10^{14}$ 个,种类多达 500 多种,组成复杂多样的微生态系统,因此也被称为人类第二基因组。肠道菌群大致分为三类:益生菌(如双歧杆菌、乳酸菌等)、条件致病菌(如大肠埃希菌、肠球菌、肠杆菌等)和有害菌(如沙门氏菌等)。肠道内各种菌群相互依存、相互制约,通过多种生理功能(屏障功能、免疫功能、代谢与营养功能)维持肠道微生态稳定,保证肠道生理功能正常运行。如果肠道菌群处于紊乱状态时(菌群数量和比例失调、致病菌增多),生理功能动态失衡,破坏肠道黏膜屏障,免疫功能紊乱,菌群代谢产物异常,诱发了 UC 患者的肠道局部炎症反应^[29]。杨龙等^[30]通过采集口服美沙拉嗪对照组、口服参苓白术散治疗组和健康组志愿者的粪便进行 DNA 测序及生物信息学分析,结果发现相比于对照组及健康组,参苓白术散治疗组中参苓、白术较能够促进益生菌(双歧杆菌、乳杆菌)生长,抑制致病菌增殖(肠杆菌、肠球菌、梭菌、拟杆菌),上调肠道微生物双歧杆菌与肠杆菌的数量比例,从而起到抗炎、维持内环境稳态,促进肠黏膜溃疡愈合的作用。梁艳妮等^[31]将 UC 小鼠分为对照组、模型组、柳氮磺胺吡啶干预组、靛玉红干预组(低、中、高剂量),通过 16S rRNA 高通量测序检测 UC 小鼠肠道内容物,高通量测序结果发现靛玉红治疗 UC,可能与恢复 UC 小鼠肠道菌群中拟杆菌门与厚壁菌门的比例密切相关。

7 多组学联合在 UC 研究中的应用

UC 发病机制十分复杂,单一组学检测技术(基因

组学、转录组学、代谢组学、蛋白质组学、表观遗传组学等)无法全面系统地揭示 UC 疾病发展过程,而从不同层次描述细胞内的生命活动各个环节的多组学技术的联合运用,有助于从多方面、多角度阐述 UC 发病机制,将为研究 UC 发生、发展更为高效的方法^[32]。MILLS 等^[33]通过对 UC 患者粪便标本进行 16S rRNA、宏基因组、代谢组学、宏蛋白质组学测序,确定拟杆菌蛋白酶是提示疾病严重程度的标志物之一。马琪^[34]将白头翁汤干预湿热型 UC 大鼠,利用代谢组学技术(UPLC-Q/TOF-MS/MS)检测 UC 大鼠不同造模阶段与空白对照组的尿液标本差异代谢物,筛选白头翁汤治疗湿热型 UC 的差异代谢物及靶标代谢通路,通过网络药理学筛选并构建“活性成分-靶点-疾病”及蛋白质相互作用网络进行 GO 及 KEGG 通路富集分析,发现湿热型 UC 的发病机制可能与 5-羟基-N-甲酰基犬尿氨酸、 γ -L-谷氨酰胺-L-半胱氨酸、左旋甲酰犬尿氨酸、亚油酸、核黄素-5-磷酸和左旋色氨酸等 7 种潜在差异代谢物水平变化有关;白头翁汤治疗湿热型 UC 的机制可能与 7-酮基去氧胆酸、五羟色胺和创伤酸水平变化有关。

综上所述,UC 病因与发病机制错综复杂、多不明确,仍是众多学者研究热点,代谢组学、基因组学、转录组学、蛋白质组学、表观遗传组学和肠道菌群检测等组学技术的迅速发展,多组学整合分析技术,有望在 UC 发病机制的研究、疾病的诊断及治疗、新药物的研发、诊断标志物的发现等方面提供新的切入点及方向,为 UC 患者特异性、个性化诊疗提供新思路。

参考文献

- [1] 沈洪,唐志鹏,唐旭东,等. 消化系统常见病溃疡性结肠炎中医诊疗指南(基层医生版)[J]. 中华中医药杂志,2019,34(9):4155-4160.
- [2] PEYRIN-BIROULET L, SANDBORN W, SANDS B E, et al. Selecting therapeutic targets in inflammatory bowel disease (STRIDE): determining therapeutic goals for treat-to-target[J]. Am J Gastroenterol, 2015, 110(9): 1324-1338.
- [3] 冉艳,邵佳媛,陈思玮,等. 炎症性肠病肠外表现的欧洲循证共识的解读[J]. 胃肠病学和肝病学杂志,2020,29(9):987-991.
- [4] 吕志霖,陈国江. 溃疡性结肠炎癌变机制的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2016,23(6):852-857.
- [5] 欧阳钦,胡品津,钱家鸣,等. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见[J]. 现代消化及介入诊疗,2008,11(2): 139-145.
- [6] 沈照峰,朱磊,刘亚军,等. 基于德尔菲法的溃疡性结肠炎患者相关危险因素调查分析[J]. 西部中医药,2020,33

- (4):82-86.
- [7] 甄建华,黄光瑞. 溃疡性结肠炎病因和发病机制的现代医学研究进展[J]. 世界华人消化杂志,2019,27(4):245-251.
- [8] NICHOLSON 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.
- [9] TIAN H,LAM S M,SHUI G. Metabolomics,a powerful tool for agricultural research[J]. *Int J Mol Sci*,2016,17(11):1871.
- [10] ROYSTON G. Metabolomics by numbers:acquiring and understanding global metabolite data[J]. *Trends Biotechnol*,2004,22(5):245-252.
- [11] 耿曙光,袁代解,黄宗武,等. 基于气相色谱-质谱的大鼠溃疡性结肠炎模型结肠组织代谢组学特征[J]. 广东医学,2016,37(8):1113-1117.
- [12] DIAB J,HANSEN T,GOLL R,et al. Mucosal metabolomic profiling and pathway analysis reveal the metabolic signature of ulcerative colitis [J]. *Metabolites*,2019,9(12):291.
- [13] SUN M,DU B,SHI Y,et al. Combined signature of the fecal microbiome and plasma metabolome in patients with ulcerative colitis[J]. *Med Sci Monit*,2019,25:3303-3315.
- [14] 徐霞,王玮玮,张文彤,等. 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[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(15):111-119.
- [15] 马光朝,章从恩,马致洁,等. 基于 LC/IT-TOF-MS 技术的雷公藤甲素干预溃疡性结肠炎的代谢组学研究[J]. 中草药,2020,51(13):3493-3500.
- [16] COSTA V,ANGELINI C,DE FEIS I,et al. Uncovering the complexity of transcriptomes with RNA-Seq [J]. *J Biomed Biotechnol*,2010,2010:853916.
- [17] 吴芊,邱文琪,宋明,等. 转录组学与中医证候研究现状分析[J]. 中华中医药杂志,2017,32(9):4094-4097.
- [18] TAMAN H,FENTON C G,HENSEL I V,et al. Transcriptomic landscape of treatment-naïve ulcerative colitis [J]. *J Crohn's Colitis*,2018,12(3):327-336.
- [19] 王家丰,闫守泉,江连英,等. 基于二代测序的 HMGB1 基因 SNP 发掘及其与溃疡性结肠炎风险关联分析[J]. 广东医学,2019,40(10):1356-1361.
- [20] 马克龙,韩志君,孙娟,等. 基于高通量转录组测序研究三黄汤缓解白念珠菌定植下 DSS 诱导小鼠溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 中国中药杂志,2021,46(15):3915-3925.
- [21] WILKINS M R,SANCHEZ J C,GOOLEY A A,et al. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it [J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*,1996,13:19-50.
- [22] HORIE K,MIKAMI T,YOSHIDA T,et al. Peroxiredoxin 1 expression in active ulcerative colitis mucosa identified by proteome analysis and involvement of thioredoxin based on immunohistochemistry[J]. *Oncol Lett*,2018,15(2):2364-2372.
- [23] BENNIKE T B,CARLSEN T G,ELLINGSEN T,et al. Neutrophil extracellular traps in ulcerative colitis: a proteome analysis of intestinal biopsies[J]. *Inflamm Bowel Dis*,2015,21(9):2052-2067.
- [24] 贾国香,董亚倩,杨娜,等. 蛋白质组学策略助力中药现代化的研究进展[J]. 天津中医药大学学报,2021,40(3):277-285.
- [25] 王婷婷. 基于整合策略的四逆汤干预溃疡性结肠炎作用及机制研究[D]. 北京:中国中医科学院,2019.
- [26] 赵芯梅. 溃疡性结肠炎分子标志物的筛查和发病机制的初步探讨[D]. 广州:南方医科大学,2013.
- [27] 黄艳,窦传字,黄任佳,等. 从表观遗传修饰角度探讨艾灸对炎症性肠病的调控机制[J]. 中国组织工程研究,2015,19(2):294-299.
- [28] 李春晓. MS-275 抑制组蛋白去乙酰化对溃疡性结肠炎的作用及其分子机制研究[D]. 杭州:浙江大学,2019.
- [29] 张泽丹,王凤云,张佳琪,等. 基于肠道菌群探讨中药复方治疗溃疡性结肠炎的研究进展[J]. 中华中医药杂志,2021,36(6):3468-3471.
- [30] 杨龙,宋媛媛,牛静虎. 参苓白术散对溃疡性结肠炎患者肠道菌群的影响[J]. 河南中医,2021,41(9):1357-1361.
- [31] 梁艳妮,程雯,吴柯楠,等. 基于高通量测序技术研究靛玉红对溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响[J]. 中草药,2021,52(13):3896-3904.
- [32] 孙泽恩,刘玉洁,欧阳倩颖,等. 组学技术在肿瘤耐药领域的研究进展:从单组学到多组学联合应用[J]. 中南大学学报(医学版),2021,46(6):620-627.
- [33] MILLS R H,DULAI P S,VÁZQUEZ-BAEZA Y,et al. Multi-omics analyses of the ulcerative colitis gut microbiome link *Bacteroides vulgatus* proteases with disease severity[J]. *Nat Microbiol*,2022,7(2):262-276.
- [34] 马琪. 基于代谢组学和网络药理学的白头翁汤治疗湿热泄泻的作用机制研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2018.

(收稿日期:2022-07-30 修回日期:2022-10-03)