

基于代谢组学和网络药理学探究山茱萸多糖改善 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病的作用机制

张文静¹, 尚子慧¹, 孙孝亚¹, 吴明侠¹, 崔永霞^{1*}, 陈随清^{1,2*}

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 河南中医药大学 豫药全产业链研发河南省协同创新中心, 河南 郑州 450046

摘要: 目的 利用尿液代谢组学结合网络药理学研究山茱萸多糖改善 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病 (type 2 diabetes mellitus-non-alcoholic fatty liver disease, T2DM-NAFLD) 的作用机制。方法 通过气相色谱法测定山茱萸多糖的单糖组成。采用高糖高脂饲料喂养联合 ip 链脲佐菌素的方法构建 T2DM-NAFLD 大鼠, 给予山茱萸多糖或二甲双胍干预 28 d 后, 考察山茱萸多糖对 T2DM-NAFLD 模型大鼠空腹胰岛素、糖化血清蛋白、胰岛素抵抗指数以及胰腺组织病理变化的影响。采用超高效液相色谱-线性离子阱串联静电场轨道高分辨质谱技术检测大鼠尿液代谢物水平, 利用主成分分析、偏最小二乘-判别分析和正交偏最小二乘法-判别分析等多元统计方法, 结合 MetaboAnalyst 数据库寻找各组差异代谢物与相关代谢通路。采用网络药理学方法探究山茱萸多糖的靶点及相关疾病靶点, 构建交集靶点的蛋白-蛋白相互作用网络, 筛选的靶点网络结合代谢组学筛选的交集靶点联合分析相同代谢通路, 并采用 Western blotting 检测核心靶点的蛋白表达水平。结果 与模型组比较, 山茱萸多糖显著降低大鼠血清中空腹胰岛素、糖化血清蛋白水平和胰岛素抵抗指数 ($P < 0.05$ 、 0.01), 改善胰腺组织病理变化。山茱萸多糖可有效调节 T2DM-NAFLD 大鼠尿液代谢轮廓。结合多元统计分析和在线数据库, 共筛选出 62 个模型组和对照组组间显著变化的代谢标志物; 山茱萸多糖可显著回调其中的 14 个代谢标志物, 主要富集到乙醛酸和二羧酸代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢等 21 条代谢通路。代谢组学与网络药理学联合分析显示, 二者均涉及甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、嘌呤代谢 2 条代谢通路。Western blotting 结果显示, 山茱萸多糖干预后, 大鼠肝脏中丝氨酸羟甲基转移酶 2 和脱氧胞苷激酶蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 丙氨酸乙醛酸转氨酶、甘氨酸-N-甲基转移酶和含漆酶结构域 1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。结论 山茱萸多糖能通过氨基酸代谢和嘌呤代谢等糖脂代谢通路改善 T2DM-NAFLD, 为山茱萸多糖干预 T2DM-NAFLD 的临床应用提供理论依据。

关键词: 山茱萸多糖; 2 型糖尿病; 非酒精性脂肪性肝病; 尿液代谢组学; 网络药理学; 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢; 嘌呤代谢

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)15-5463-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.15.013

Mechanism of *Corni Fructus* polysaccharides in improving type 2 diabetes combined with non-alcoholic fatty liver disease based on metabolomics and network pharmacology

ZHANG Wenjing¹, SHANG Zihui¹, SUN Xiaoya¹, WU Mingxia¹, CUI Yongxia¹, CHEN Suiqing^{1,2}

1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Collaborative Innovation Center of Research and Development on the Whole Industry Chain of Yu-Yao, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism of *Shanzhuyu* (*Corni Fructus*) polysaccharides in improving type 2 diabetes

收稿日期: 2025-04-21

基金项目: 国家重点研发计划 (2023YFC3504000); 河南省中药材产业技术体系项目 (豫农科教[2018]14 号); 河南省重大科技专项 (221100310400); 河南省 2024 年科技发展计划 (242102310524); 郑州市科技协同创新项目 (2023XTCX053); 河南中医药大学博士科研基金 (BSJJ2022-04)

作者简介: 张文静, 硕士研究生, 研究方向为中药分析及中药质量控制。E-mail: 1364182089@qq.com

*通信作者: 崔永霞 (1979—), 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药效物质基础及药品质量评价研究。E-mail: 1020076356@qq.com
陈随清 (1965—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药质量分析及药效物质基础研究。E-mail: suiqingchen0371@163.com

mellitus combined with non-alcoholic fatty liver disease (T2DM-NAFLD) using urinary metabolomics combined with network pharmacology. **Methods** Gas chromatography was adopted to determine the monosaccharide composition of *Corni Fructus* polysaccharides. T2DM-NAFLD rats were constructed by feeding high sugar and high-fat diet combined with ip streptozotocin. After intervention with *Corni Fructus* polysaccharides or metformin for 28 d, the effects of *Corni Fructus* polysaccharides on fasting insulin, glycosylated serum protein, insulin resistance index and pancreatic tissue pathological changes in T2DM-NAFLD model rats were investigated. Ultra-high performance liquid chromatography-linear ion trap combined with electrostatic field orbit high-resolution mass spectrometry technology was applied to detect the levels of urinary metabolites in rats. Multivariate statistical methods such as principal component analysis, partial least squares-discriminant analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis were used, and combined with MetaboAnalyst database to find the differential metabolites and related metabolic pathways among groups. Network pharmacology method was used to explore the component targets of *Corni Fructus* polysaccharides and the targets of related diseases, and to construct the protein-protein interaction network of intersection targets. The target network screened was combined with the intersection targets screened by metabolomics for joint analysis of the same metabolic pathways, and Western blotting was used to detect the protein expression levels of core targets. **Results** Compared with model group, *Corni Fructus* polysaccharides significantly reduced fasting insulin, glycosylated serum protein levels and insulin resistance index in serum of rats ($P < 0.05, 0.01$), and improved pancreatic tissue pathological changes. *Corni Fructus* polysaccharides could effectively regulate the urinary metabolic profile of T2DM-NAFLD rats. Combined with multivariate statistical analysis and online database, a total of 62 metabolic markers with significant changes between model group and control group were screened out. *Corni Fructus* polysaccharides could significantly adjust 14 metabolic markers of them, which were mainly enriched in 21 metabolic pathways such as glyoxylate and dicarboxylic acid metabolism, glycine, serine and threonine metabolism. The combined analysis of metabolomics and network pharmacology showed that both involved two metabolic pathways such as glycine, serine and threonine metabolism and purine metabolism. Western blotting results showed that after the intervention of *Corni Fructus* polysaccharides, the protein expressions of serine hydroxymethyltransferase 2 and deoxycytidine kinase in liver of rats were significantly decreased ($P < 0.01$), and the protein expressions of alanine glyoxylate transaminase, glycine-*N*-methyltransferase and laccase domain-containing protein 1 were significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** *Corni Fructus* polysaccharides could improve T2DM-NAFLD through glycolipid metabolic pathways such as amino acid metabolism and purine metabolism, providing a theoretical basis for the clinical application of *Corni Fructus* polysaccharides in intervention of T2DM-NAFLD.

Key words: *Corni Fructus* polysaccharides; type 2 diabetes mellitus; non-alcoholic fatty liver disease; urinary metabolomics; network pharmacology; glycine, serine and threonine metabolism; purine metabolism

2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 在中医范畴属于“消渴”范畴, 非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 与中医的“肝癖”相近, 两者以“肝脾失调”为共同病机基础, 互为因果, 协同进展, 双向驱动机体代谢紊乱^[1]。山茱萸 *Corni Fructus* 始载于《神农本草经》, 味酸、涩, 归肝、肾经, 补益肝肾, 收涩固脱, 常用于治疗 T2DM 合并 NAFLD (T2DM-NAFLD)^[2-4]。多糖作为山茱萸的主要活性成分, 具有显著的降血糖作用, 对 T2DM 具有显著的改善作用^[5], 但是山茱萸多糖是否对 T2DM-NAFLD 具有治疗作用有待进一步证实, 且其作用机制亦有待阐明。与其他技术相比, 代谢组学方法能够同时检测尿液样本内源性代谢物的含量, 通过对机体内源性代谢标志物的全面定性和定量分析, 可从分子水平上阐明复杂疾病的生理病理变化及药物干预机制, 与中医的整体观思想相一致。基于此, 本研究通过尿液代谢组学

联合网络药理学的方法对山茱萸多糖干预 T2DM-NAFLD 的分子调节机制进行分析。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 (120±10) g, 购自浙江维通利华实验动物技术有限责任公司, 动物许可证号 SCXK (浙) 2019-0001。动物饲养于河南中医药大学动物实验中心, 温度 (25±2) °C, 相对湿度 (55±5) %, 昼夜交替照明, 时长 12 h。动物实验经河南中医药大学实验动物伦理委员会批准 (批准号 DWLL202206094)。

1.2 药材

山茱萸购自河南西峡宛西制药中药材种植事业部, 经河南中医药大学药学院陈随清教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥成熟果肉, 符合《中国药典》2020 年版规定。采用水提醇沉法提取山茱萸多糖, 其质量分数大于 60%。

1.3 药品与试剂

高糖高脂饲料(批号 20220617)购自江苏省协同医药生物工程有限责任公司;链脲佐菌素(批号 S-0130-5G)购自美国 Sigma 公司;盐酸二甲双胍片(批号 ACD2130)购自中美上海施贵宝制药有限公司;大鼠胰岛素 ELISA 试剂盒(批号 H203-1-2)、糖化血清蛋白(glycated serum proteins, GSP)试剂盒(批号 A037-2-1)购自南京建成生物工程研究所;标准品 *L*-鼠李糖(批号 012A10K95105, 质量分数 $\geq 98\%$)、*L*-阿拉伯糖(批号 Z27O11H128825, 质量分数 $\geq 98\%$)、*L*-岩藻糖(批号 X16N8Y48166, 质量分数 $\geq 98\%$)、*D*-木糖(批号 B02M6W1, 质量分数 $\geq 98\%$)、*L*-甘露糖(批号 K17O8B42592, 质量分数 $\geq 98\%$)、*D*-葡萄糖(批号 JB316019, 质量分数 $\geq 98\%$)和 *D*-半乳糖(批号 Z22J9H64187, 质量分数 $\geq 98\%$)均购自上海源叶生物科技有限公司;丝氨酸羟甲基转移酶 2 (serine hydroxymethyltransferase 2, SHMT2) 抗体(批号 QC217Hu01)购自上海钦诚生物科技有限公司;脱氧胞苷激酶(deoxycytidine kinase, DCK)抗体(批号 BH-K015827)购自上海博湖生物科技有限公司;丙氨酸乙醛酸转氨酶(alanine-glyoxylate aminotransferase, AGXT)抗体(批号 FNab00224)购自武汉菲恩生物科技有限公司;甘氨酸-*N*-甲基转移酶(glycine *N*-methyltransferase, GNMT)抗体(批号 PL0303168)购自深圳市豪地华拓生物科技有限公司;含漆酶结构域 1 (lymphocyte antigen complex class 1, LACC1)抗体(批号 PA5-59081)、甲醇(色谱级)、乙腈(色谱级)、甲酸(色谱级)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; β -actin 抗体(批号 20211116)、HRP 标记的山羊抗兔抗体(批号 AC230313001)购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.4 仪器

Ultimate 3000 型超高效液相色谱仪、LTQ-Orbitrap XL 型质谱仪、SPD2020-230 型真空浓缩仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);FSU-1200 型冷冻干燥机(上海爱朗仪器有限公司);IW-3021HR 型低温高速离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司);Milli-QPOD 型超纯水制备仪(美国 Millipore Merk 公司);7890A 型气相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

2 方法

2.1 气相色谱法测定山茱萸多糖的单糖组成

2.1.1 单糖标准品衍生物的制备 分别准确称量 *L*-鼠李糖、*L*-阿拉伯糖、*L*-岩藻糖、*D*-木糖、*L*-甘露

糖、*D*-葡萄糖、*D*-半乳糖单糖标准品 5.00 mg, 置于具塞试管中, 加入 10.00 mg 盐酸羟胺与 0.6 mL 吡啶, 混合均匀后, 在 90 °C 水浴条件下加热 30 min, 冷却至室温, 加入 1.6 mL 醋酸酐, 再次混匀, 在 90 °C 水浴中加热 30 min, 浓缩至干, 加入少量醋酸乙酯溶解并转移到 2 mL 量瓶中定容, 过 0.22 μ m 微孔滤膜, 即得单糖标准品衍生物。取各单糖标准品衍生物 200 μ L, 混匀并定容至 2 mL, 得单糖标准品混合溶液。

2.1.2 多糖样品的酸水解和衍生化 分别精密称定 6 批次山茱萸多糖样品, 每份 15.00 mg, 加入 4 mol/L 三氟乙酸 6 mL, 置于反应釜中, 在 110 °C 烘箱中水解 7 h, 水浴蒸干, 挥去三氟乙酸。再加入少许甲醇后蒸干, 重复 5 次, 60 °C 真空干燥 8 h, 得山茱萸多糖水解产物。将干燥的山茱萸多糖水解产物转移至具塞试管中, 按单糖标准品衍生物制备的方法制备多糖样品衍生物, 供气相色谱分析用。记录各单糖的峰面积, 将其分别代入标准曲线计算样品中各单糖的平均含量。

2.1.3 气相色谱条件及样品测定 HP-5 毛细管柱(30 m \times 0.32 mm, 0.25 μ m); 检测器温度 300 °C; 进样器温度 250 °C; 载气为 N₂; 氮气流量为 1 mL/min; 氢气流量 30 mL/min; 空气流量 300 mL/min; 分流比设为 10:1; 进样量 2 μ L。程序升温条件: 初始柱温 120 °C 维持 3 min, 以 2 °C/min 升温至 135 °C, 保持 5 min, 最后以 2 °C/min 升温至 210 °C。取单糖标准品混合溶液及山茱萸多糖样品, 按照色谱条件测定山茱萸多糖的单糖组成。

2.2 造模、分组与给药

采用高糖高脂饲料喂养联合 ip 链脲佐菌素(30 mg/kg)的方法构建 T2DM-NAFLD 大鼠。以连续 2 次测定空腹血糖值(fasting blood glucose, FBG)值大于 11.1 mmol/L、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)活性异常、苏木素-伊红(HE)染色肝细胞内存在明显脂肪样变性视为造模成功^[5], 造模成功的大鼠随机分为模型组、二甲双胍(200 mg/kg)组和山茱萸多糖低、中、高剂量(75、150、300 mg/kg)组, 每组 10 只, 另取 10 只正常大鼠作为对照组。各给药组大鼠每日上午 ig 相应药物(10 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水, 1 次/d, 连续给药 28 d。给药期间, 对照组大鼠给予普通饲料喂养, 其余大鼠给予高糖高脂饲料喂养。

2.3 药效指标检测

每周称量记录大鼠体质量,并测定大鼠随机血糖和FBG。末次给药后1h麻醉,对大鼠进行腹主动脉取血,4℃、3000 r/min离心10 min,吸取上层血清分装,于-80℃冰箱保存。将-80℃冻存的血清样品于4℃复溶,按照试剂盒说明书测定血清中空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)、GSP含量,计算胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)。使用4%多聚甲醛对大鼠的胰腺组织进行固定,并进行HE染色,于光学显微镜下观察各组大鼠组织病理形态学变化。

$$\text{HOMA-IR} = (\text{FBG} \times \text{FINS}) / 22.5$$

2.4 尿液代谢组学分析

2.4.1 尿液样本采集与处理 末次给药后,将各组大鼠置于代谢笼中,过夜,收集12h内的尿液并记录尿液体积;尿液置于离心管中,4℃、3000 r/min离心10 min,取上清液进行分装,保存在-80℃冰箱备用。进样分析前,将尿液样本于4℃解冻。精密吸取尿液样本各100 μL于1.5 mL离心管中,加入400 μL甲醇-乙腈(1:1)后,2000 r/min涡旋5 min,4℃、13600 r/min离心10 min。取上清液于进样瓶中,用于后续测定。

2.4.2 质控(quality control, QC)样本的制备 取各组尿液样本各25 μL于同一离心管中,涡旋混匀,按照“2.4.1”项下尿液样品制备方法处理,取上清液于进样瓶中,即得尿液QC样本,用于系统稳定性的考察。

2.4.3 检测条件

(1) 色谱条件: Poroshell 120 SB-Aq 预柱(5 mm×2.1 mm, 2.7 μm), Poroshell 120 SB-Aq 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.9 μm), 流动相为0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B), 梯度洗脱: 0~5 min, 2% B; 5~7 min, 2%~60% B; 7~12 min, 60%~100% B; 12~15 min, 100% B; 15~17 min, 100%~2% B; 17~20 min, 2% B。柱温35℃; 体积流量0.3 mL/min; 进样量1 μL。

(2) 质谱条件: 采用电喷雾离子源(ESI), 扫描模式 Full Mass, 分辨率50000; 扫描模式 Dependent-MS², 分辨率60000, 碰撞能量25%, 扫描范围 m/z 50~1000。分别在正、负离子模式下检测。正离子模式: 鞘气体积流量40 arb, 辅助气体积流量10 arb; 离子传输管温度300℃, 离子喷射电压4.2 kV, 毛细管电压23 V; 管镜电压90 V。负

离子模式: 鞘气体积流量40 arb, 辅助气体积流量10 arb; 离子传输管温度300℃, 离子喷射电压3.5 kV, 毛细管电压-35 V; 管镜电压-78.2 V。

2.4.4 系统稳定性考察 为达到平衡系统的目的, 序列进样前先连续进6针QC样本。在后续的序列中每6针样品需运行1针QC样本, 用于监测系统的稳定性和重复性。

2.4.5 代谢组学数据处理 将原始数据导入MSDIAL软件进行预处理, 包括峰识别、峰提取、保留时间对齐、缺失值填充、归一化以及背景扣除等, 得到质荷比、保留时间、分组信息以及归一化峰面积的数据矩阵。将数据矩阵导入SIMCA-P 14.1进行多元统计分析。通过主成分分析(principal component analysis, PCA)和偏最小二乘-判别分析(partial least square-discriminant analysis, PLS-DA)直观地显示给药对T2DM-NAFLD模型大鼠整体尿液代谢轮廓的影响, 并便于剔除异常样本点; 基于PCA进行正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA), 根据差异变量权重值(variable important in the projection, VIP) > 1.0、组间差异倍数(fold change, FC) < 0.8 或 > 1.2、 t 检验 $P < 0.05$ 、Benjamini-Hochberg 检验错误发现率(false discovery rate, FDR) < 0.05 筛选差异性代谢物。根据HMDB、Mzcloud、Pubchem、MassBank等在线数据库鉴定代谢标志物, 比较质谱的精确分子质量或质荷比, 误差限0.01, 将鉴定得到的代谢标志物导入MetaboAnalyst 6.0在线网址中进行通路富集(<https://www.metaboanalyst.ca/>), 并结合HMDB和京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)等数据库进行代谢通路分析。

2.5 网络药理学分析^[6]

山茱萸的主要活性成分之一为多糖。通过查阅文献获得山茱萸多糖的基本结构, 利用ChemDraw构建化合物的3D结构文件^[7], 通过气相色谱法获取山茱萸多糖的单糖组成^[8-10], 获取多糖与单糖对应的Smiles号, 通过SwissTargetPrediction、PharmMapper数据库筛选山茱萸多糖潜在作用靶点。使用疾病名称(T2DM-NAFLD)、相关表型(metabolic syndrome、obesity-related liver disease、dyslipidemia)、共病机制(insulin resistance、glucose-lipid metabolism crosstalk)等作为检索关键词, 借助OMIM、TTD、Genecards等数据库收集T2DM-NAFLD的疾病靶点, 利用在

线工具 Venny 2.1 将山茱萸多糖潜在靶点和疾病靶点取交集，得到的山茱萸多糖治疗 T2DM-NAFLD 的潜在作用靶点。将共同靶点及其对应的山茱萸多糖化学成分导入 STRING 12.0 数据库和 Cytoscape 3.9.1 软件，构建山茱萸多糖治疗 T2DM-NAFLD 的蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络图。选择度值大于平均值的靶点作为核心靶点，导入 DAVID 数据库对靶点进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能及 KEGG 通路富集分析，利用微生信平台对结果进行可视化。

2.6 Western blotting 检测山茱萸多糖对 T2DM-NAFLD 模型大鼠肝脏中核心靶点表达的影响

基于度值、P 值和生物学基础，选择甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢中的 SHMT2、AGXT、GNMT，嘌呤代谢中的 DCK 和 LACC1 作为核心靶点进行实验验证。取各组大鼠肝脏组织，加入裂解液充分研磨，离心提取蛋白，沸水加热使蛋白变性。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转至 PVDF 膜，于 5% 脱脂牛奶中封闭，分别加入 SHMT2、

AGXT、GNMT、DCK 和 ACC1 抗体，4 °C 孵育过夜；洗涤加入二抗，室温孵育 2 h，洗涤后加入 ECL 发光试剂显影，保存图像为 TIFF 格式的原始图片，用 Image J 软件对条带灰度值进行分析。

2.7 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行数据统计分析，多组以上比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-t 检验，结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

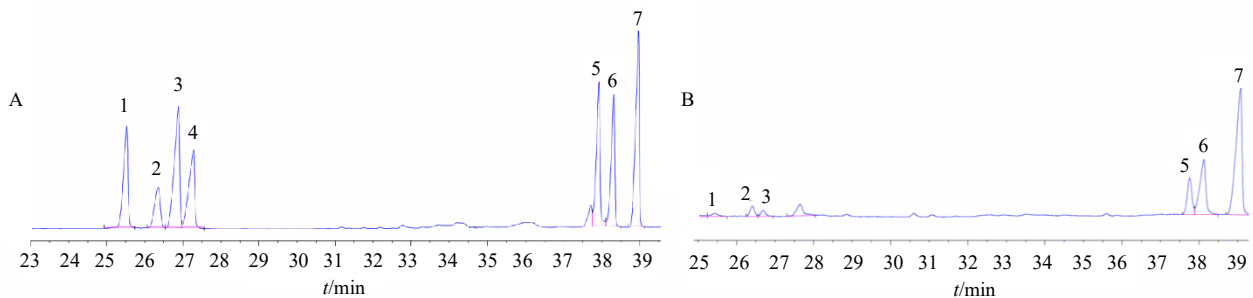
3 结果

3.1 山茱萸多糖的单糖组成分析

图 1-A 为单糖标准品混合溶液色谱图，图 1-B 为山茱萸多糖样品色谱图。通过比较保留时间对山茱萸多糖中各单糖进行定位，并利用峰面积进行定量分析，山茱萸多糖样品中单糖组成为鼠李糖、阿拉伯糖、岩藻糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖，其组成比例分别为 1 : 2.09 : 1.02 : 7.4 : 9.65 : 19.99。

3.2 山茱萸多糖对 T2DM-NAFLD 模型大鼠 FINS、GSP 和 HOMA-IR 的影响

如表 1 所示，与对照组比较，模型组大鼠 FINS、



A-单糖标准品混合溶液色谱图；B-山茱萸多糖样品色谱图；1-L-鼠李糖，2-L-阿拉伯糖，3-L-岩藻糖，4-D-木糖，5-L-甘露糖，6-D-葡萄糖，7-D-半乳糖。

A-chromatogram of mixed solution of monosaccharide control; B-chromatogram of *Corni Fructus* polysaccharide sample; 1-L-rhamnose, 2-L-arabinose, 3-L-fucose, 4-D-xylose, 5-L-mannose, 6-D-glucose, 7-D-galactose.

图 1 山茱萸多糖的单糖组成分析

Fig. 1 Analysis of monosaccharide composition of *Corni Fructus* polysaccharides

表 1 山茱萸多糖对 T2DM-NAFLD 模型大鼠 FINS、GSP 和 HOMA-IR 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of *Corni Fructus* polysaccharides on FINS, GSP and HOMA-IR in T2DM-NAFLD model rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	FINS/(mIU·L ⁻¹)	GSP/(mmol·L ⁻¹)	HOMA-IR
对照	—	4.19 ± 0.76	5.23 ± 0.54	1.01 ± 0.16
模型	—	6.63 ± 1.04 ^{##}	7.68 ± 0.38 ^{##}	6.17 ± 1.81 ^{##}
二甲双胍	200	4.56 ± 0.35 ^{**}	6.24 ± 0.65 ^{**}	3.21 ± 0.30 ^{**}
山茱萸多糖	75	5.56 ± 0.49 [*]	6.88 ± 0.76 [*]	5.15 ± 0.92
	150	5.70 ± 0.49 [*]	7.07 ± 0.50	4.89 ± 0.48 [*]
	300	5.05 ± 0.55 ^{**}	6.38 ± 0.36 ^{**}	4.15 ± 0.35 ^{**}

与对照组比较：[#]P<0.05 ^{##}P<0.01；与模型组比较：^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01，表 2 同。

[#]P<0.05 ^{##}P<0.01 vs control group; ^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01 vs model group, same as table 2.

GSP 和 HOMA-IR 显著升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，各给药组 FINS 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)，二甲双胍组和山茱萸多糖低、高剂量组 GSP 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)，二甲双胍组和山茱萸多糖中、高剂量组 HOMA-IR 显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

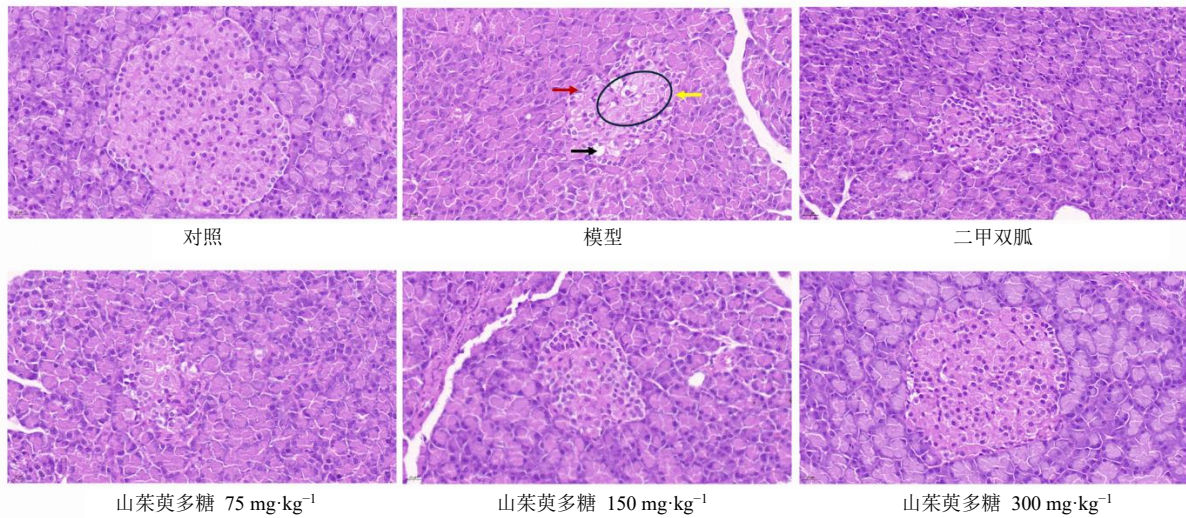
3.3 山茱萸多糖对 T2DM-NAFLD 模型大鼠胰腺组织病理变化的影响

如图 2 所示，对照组大鼠胰岛细胞轮廓完整，分布规则且大小均匀，胞质界限明显；模型组胰岛萎缩，细胞数量减少，分布稀疏，胞质界限模糊，胞质内存在透明脂滴及大量空泡；各给药组胰岛细

胞损伤均有不同程度减轻，细胞数量增加。利用 Image J 软件对胰岛细胞的面积和直径进行定量，评价胰腺组织损伤程度^[11]，结果见图 3。与模型组比较，二甲双胍组大鼠胰岛细胞的直径显著增加 ($P < 0.05$)，山茱萸多糖高剂量组大鼠胰岛细胞的面积和直径均显著增加 ($P < 0.01$)，表明山茱萸多糖能减轻 T2DM-NAFLD 模型大鼠的胰岛细胞损伤情况。

3.4 代谢组学分析

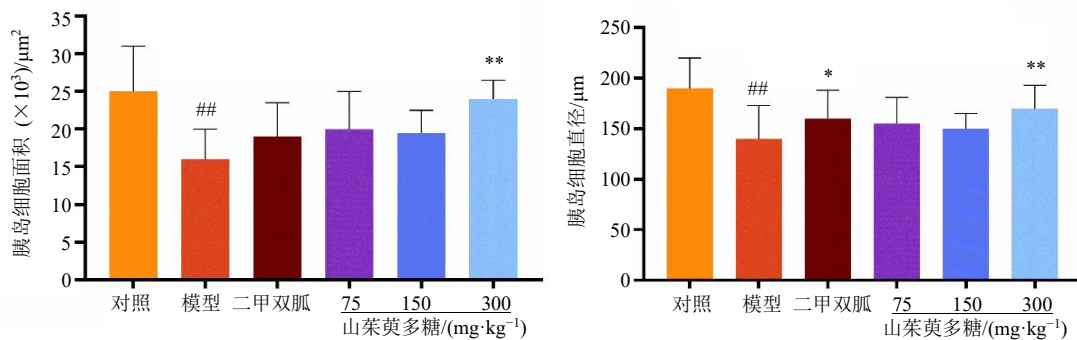
3.4.1 多元统计分析 各组大鼠尿液样本 PCA 得分图见图 4。由 PCA 图可知，在 95% 的置信区间内，山茱萸多糖各给药组与对照组未能明显分离，但与模型组能明显分开；二甲双胍组与对照组、模



黄色箭头所指细胞数量减少，分布稀疏；红色箭头所指胞质界限模糊；黑色箭头所指胞质内存在透明脂滴及大量空泡。
Yellow arrow indicates a decrease in number of cells and a sparse distribution; Red arrow indicates a blurred cytoplasmic boundary; Black arrow indicates presence of transparent lipid droplets and numerous vacuoles in cytoplasm.

图 2 山茱萸多糖对 T2DM-NAFLD 模型大鼠胰腺组织病理变化的影响 (HE, $\times 40$)

Fig. 2 Effect of *Corni Fructus* polysaccharides on pathological changes in pancreatic tissue of T2DM-NAFLD model rats (HE, $\times 40$)



与对照组比较：## $P < 0.01$ ；与模型组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ ，图 12 同。
$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, same as Fig. 12.

图 3 各组大鼠胰岛细胞的面积和直径 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Area and diameter of islet cells of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

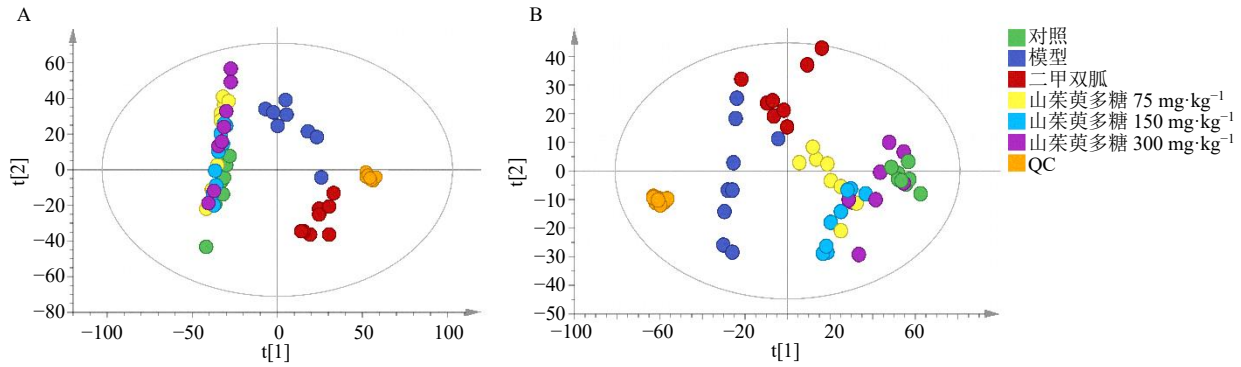


图4 正 (A)、负 (B) 离子模式下各组大鼠尿液样品 PCA 得分图

Fig. 4 PCA scores of urine samples of rats in each group in positive (A) and negative (B) ion modes

型组各自聚为一类，趋近模型组。提示山茱萸多糖与二甲双胍在调节机体糖脂代谢方面呈现差异化调控特征，山茱萸多糖基于其多靶点和多途径的整体调节模式，在维持机体代谢稳态方面展现出独特优势。

PLS-DA 图 (图 5) 显示，对照组和模型组之间明显分离，表明 T2DM-NAFLD 模型大鼠尿液代谢

物发生明显变化；山茱萸多糖各给药组远离模型组，逐渐向对照组趋近，表明山茱萸多糖可以改善 T2DM-NAFLD 模型大鼠机体代谢紊乱。PLS-DA 模型中，尿液样本正离子模式下 $R^2_X=0.586$ 、 $R^2_Y=0.776$ 、 $Q^2=0.691$ ，负离子模式下 $R^2_X=0.709$ 、 $R^2_Y=0.600$ 、 $Q^2=0.550$ ，表明模型预测能力良好。200 次置换检验结果表明模型可靠，没有出现拟合。

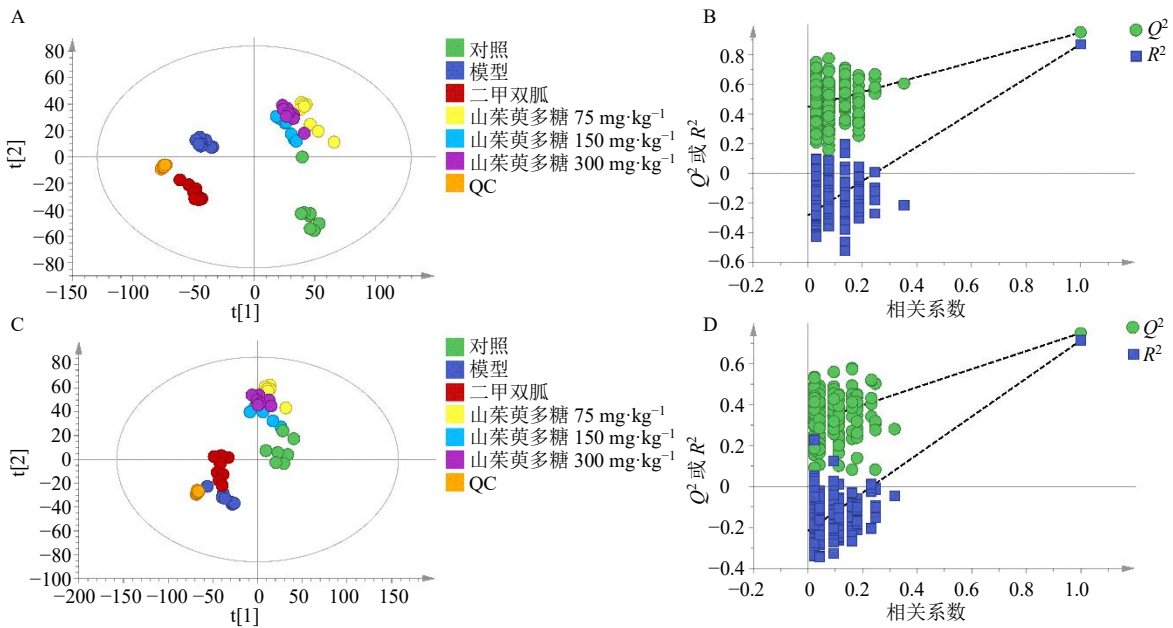
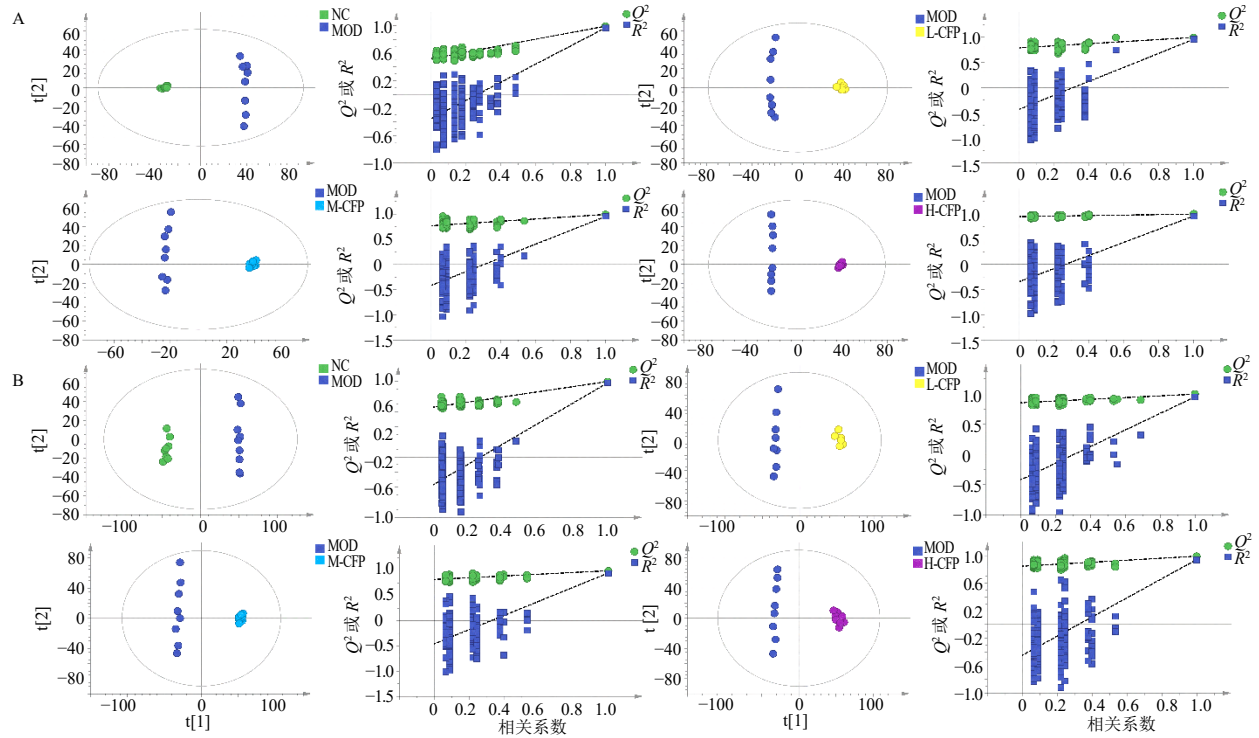


图5 正、负离子模式下各组大鼠尿液样品 PLS-DA 得分图 (A、C) 及 200 次置换检验图 (B、D)

Fig. 5 PLS-DA score plots (A, C) and 200 substitution tests (B, D) of urine samples of rats in each group in positive and negative ion modes

3.4.2 代谢标志物的筛选和鉴定 基于 OPLS-DA 模型，对代谢标志物进行筛选，设置条件为 $VIP > 1.0$ 、 $FC < 0.8$ 或 > 1.2 、 $P < 0.05$ 和 $FDR < 0.05$ ，绘制 OPLS-DA 得分图及热图，见图 6、7。对代谢标志物进行鉴定，得到尿液中有 62 个与 T2DM-NAFLD 风险相关的代谢标志物，正离子模式下有

28 个，负离子模式下有 34 个，主要包括脂肪酸、氨基酸、吡啶和酮酸类等代谢物。其中山茱萸多糖低剂量组可回调 5 个代谢物，山茱萸多糖中剂量组可回调 7 个代谢物，山茱萸多糖高剂量组可回调 14 个代谢物。山茱萸多糖高剂量组调控的代谢标志物信息见表 2。



NC-对照组, MOD-模型组, L-CFP-山茱萸多糖低剂量组, M-CFP-山茱萸多糖中剂量组, H-CFP-山茱萸多糖高剂量组, 图7同。
 NC-control group, MOD-model group, L-CFP-Corni Fructus polysaccharides low-dose group, M-CFP-Corni Fructus polysaccharides medium-dose group, H-CFP-Corni Fructus polysaccharides high-dose group, same as Fig. 7.

图6 正 (A)、负 (B) 离子模式下各组大鼠尿液样品 OPLS-DA 得分图及 200 次置换检验图

Fig. 6 OPLS-DA score plots and 200 substitution tests of urine samples of rats in each group in positive (A) and negative (B)

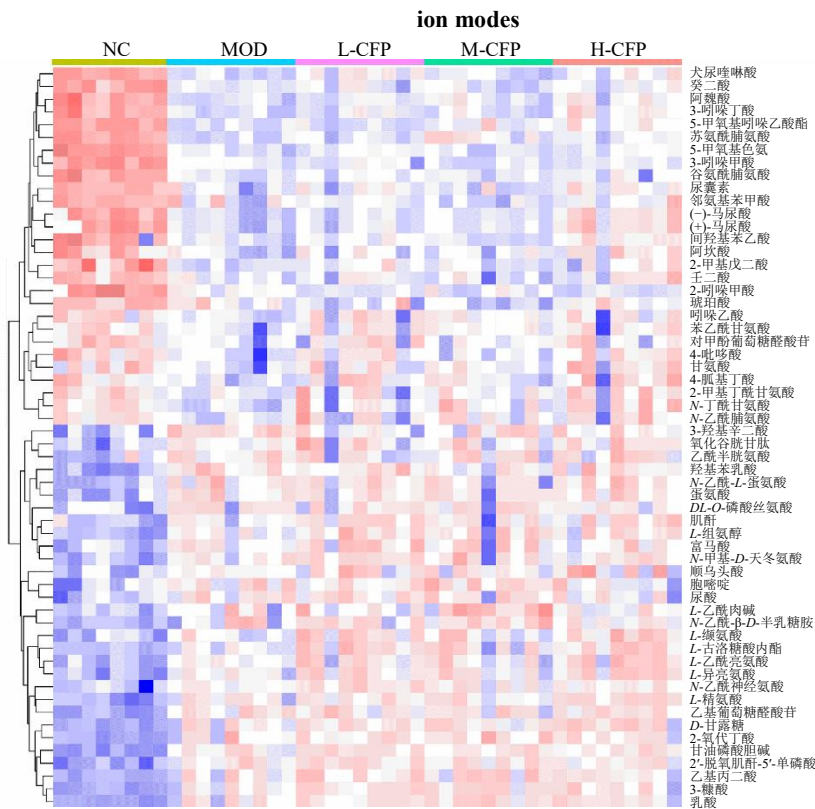


图7 各组大鼠尿液代谢标志物热图

Fig. 7 Heat map of urinary metabolic markers of rats in each group

表 2 山茱萸多糖高剂量组干预后 T2DM-NAFLD 大鼠尿液代谢标志物

Table 2 Urinary metabolic markers in T2DM-NAFLD rats after intervention with *Corni Fructus* polysaccharides high-dose group

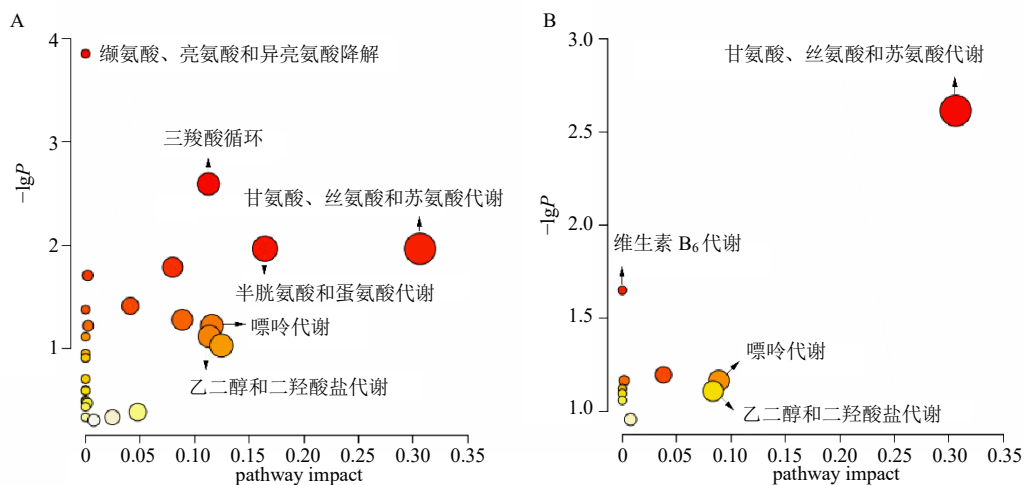
序号	离子模式	代谢物	<i>t_R</i> /min	实测值 (<i>m/z</i>)	理论值 (<i>m/z</i>)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	HMDB ID	VIP	模型组 vs 对照组	山茱萸多糖高剂量组 vs 模型组
1	正离子	2-甲基丁酰甘氨酸	3.139	160.096 1	160.096 8	-4.37	C ₇ H ₁₃ NO ₃	HMDB0000339	3.45	↓#	↑*
2	正离子	马尿酸	5.646	180.065 2	180.065 5	-1.67	C ₉ H ₉ NO ₃	HMDB0000714	14.71	↓#	↑**
3	正离子	L-乙酰亮氨酸	7.274	174.113 0	174.112 5	2.87	C ₈ H ₁₅ NO ₃	HMDB0011756	4.59	↑#	↑**
4	正离子	4-胍基丁酸	1.188	146.091 9	146.092 4	-3.42	C ₅ H ₁₁ N ₃ O ₂	HMDB0003464	3.60	↓#	↑*
5	正离子	4-吡哆酸	2.807	184.060 8	184.060 4	2.17	C ₈ H ₉ NO ₄	HMDB0000017	2.13	↓#	↑**
6	正离子	2-甲基丁酰甘氨酸	6.645	76.039 1	76.039 3	-2.63	C ₂ H ₅ NO ₂	HMDB0000123	5.48	↓#	↑*
7	正离子	N-乙酰脯氨酸	3.468	158.081 5	158.081 2	1.90	C ₇ H ₁₁ NO ₃	HMDB0094701	1.61	↓#	↑*
8	正离子	DL-O-磷酸丝氨酸	1.108	207.997 8	207.998 1	-1.44	C ₃ H ₈ NO ₆ P	HMDB0001721	1.09	↑#	↓*
9	负离子	马尿酸	5.630	178.050 7	178.051 0	-1.68	C ₉ H ₉ NO ₃	HMDB0000714	22.34	↓#	↑**
10	负离子	阿魏酸	8.212	193.050 7	193.050 6	0.52	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	HMDB0000954	5.61	↓#	↑*
11	负离子	N-丁酰甘氨酸	2.035	144.066 7	144.066 6	0.69	C ₆ H ₁₁ NO ₃	HMDB0000808	4.36	↓#	↑**
12	负离子	阿坎酸	1.430	180.033 4	180.033 6	-1.11	C ₅ H ₁₁ NO ₄ S	HMDB0014797	1.32	↓#	↑*
13	负离子	3-吡啶-丁酸	1.456	202.088 1	202.087 4	3.46	C ₁₂ H ₁₃ NO ₂	HMDB0002096	1.19	↓#	↑**
14	负离子	3-羟基-辛酸	7.792	151.040 3	151.040 1	1.32	C ₈ H ₈ O ₃	HMDB0000440	1.09	↑#	↓**

3.4.3 代谢通路分析 将 T2DM-NAFLD 模型大鼠尿液代谢标志物以及山茱萸多糖各给药组回调的代谢物，分别导入 MetaboAnalyst 6.0 网站进行相关的代谢通路分析。选取 Impact>0.1 的代谢通路进行分析，结果见图 8。T2DM-NAFLD 模型大鼠尿液中甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢，乙醛酸和二羧酸代谢，半胱氨酸和蛋氨酸代谢，三羧酸循环，抗坏血酸和醛酸代谢，精氨酸和脯氨酸代谢，谷胱甘肽代谢等 26 条代谢通路发生紊乱。山茱萸多糖能调控乙醛酸和二羧酸代谢，甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢，嘌呤代谢，半胱氨酸和蛋氨酸代谢，三羧酸

循环等 21 条代谢通路。

3.5 网络药理学分析

获取山茱萸多糖潜在靶点 685 个，从 GeneCards 和 OMIM 数据库获得相关疾病靶点 12 267 个。得到山茱萸多糖治疗 T2DM-NAFLD 的潜在靶点共 468 个，见图 9-A。PPI 网络见图 9-B，网络中度值大于平均值的核心靶点有 244 个。GO 分析筛选得到生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC) 和分子功能 (molecular function, MF) 各 151、35 和 61 个条目 (P<0.01)，选择前 10 条进行可视化 (图 10-A)。KEGG 通路富



A-与 T2DM-NAFLD 相关通路; B-山茱萸多糖干预通路。

A-pathway associated with T2DM-NAFLD; B-intervention pathway of *Corni Fructus* polysaccharides.

图 8 尿液代谢通路分析结果

Fig. 8 Results of urine metabolic pathway analysis

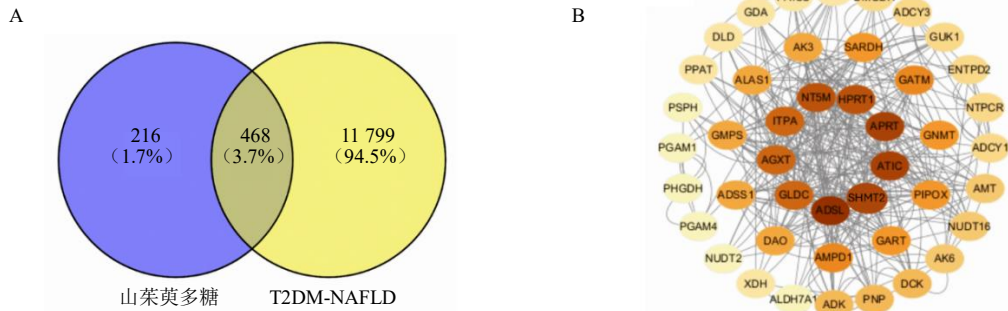


图 9 山茱萸多糖和 T2DM-NAFLD 交集靶点的韦恩图 (A) 与 PPI 网络 (B)

Fig. 9 Venn diagram (A) and PPI network (B) of intersection targets of *Corni Fructus* polysaccharides and T2DM-NAFLD

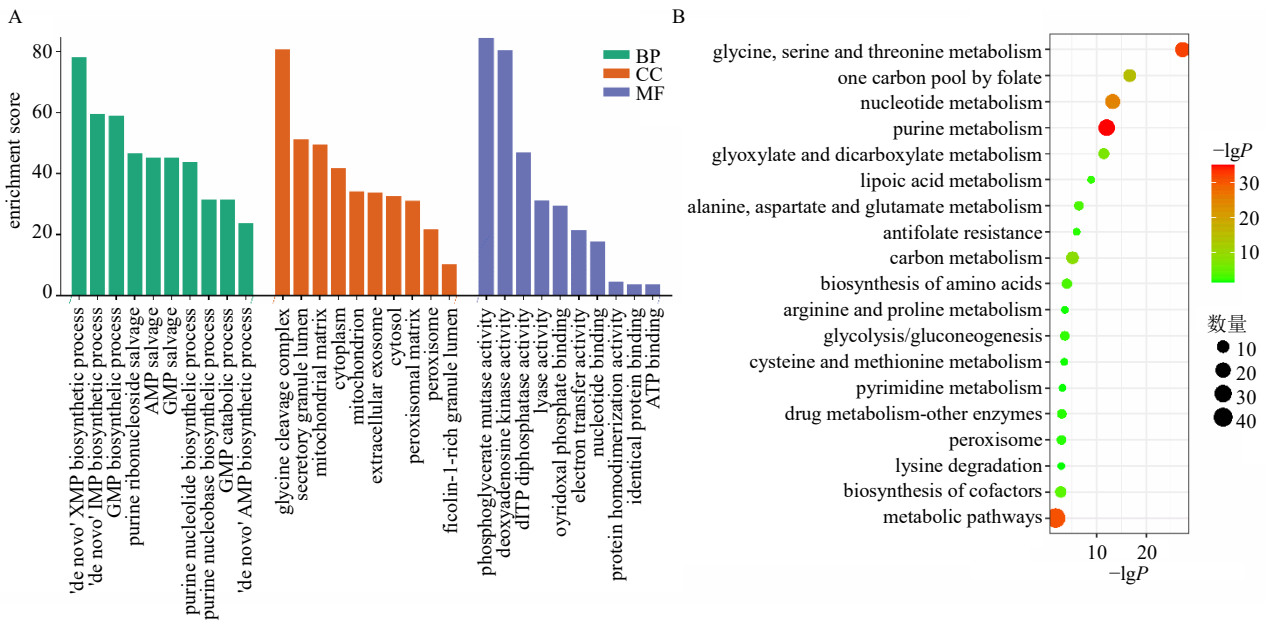


图 10 GO 功能 (A) 和 KEGG (B) 通路富集分析

Fig. 10 GO function (A) and KEGG (B) pathway enrichment analysis

集分析筛选得到 122 条 ($P < 0.01$), 按 P 值升序排序, 选择前 10 条进行可视化 (图 10-B)。将代谢标志物与核心靶点导入 Metaboanalyst 在线网站, 发现网络药理学与代谢组学有 2 条相同通路, 分别为甘氨酸、丝氨酸与苏氨酸代谢和嘌呤代谢。构建基因与代谢物协同通路机制图, 见图 11。代谢通路机制分析表明, 山茱萸多糖可能通过抑制 SHMT 和 DCK, 激活 AGXT、GNMT 和 LACC1, 干预甘氨酸、丝氨酸与苏氨酸代谢和嘌呤代谢, 改善 T2DM-NAFLD。

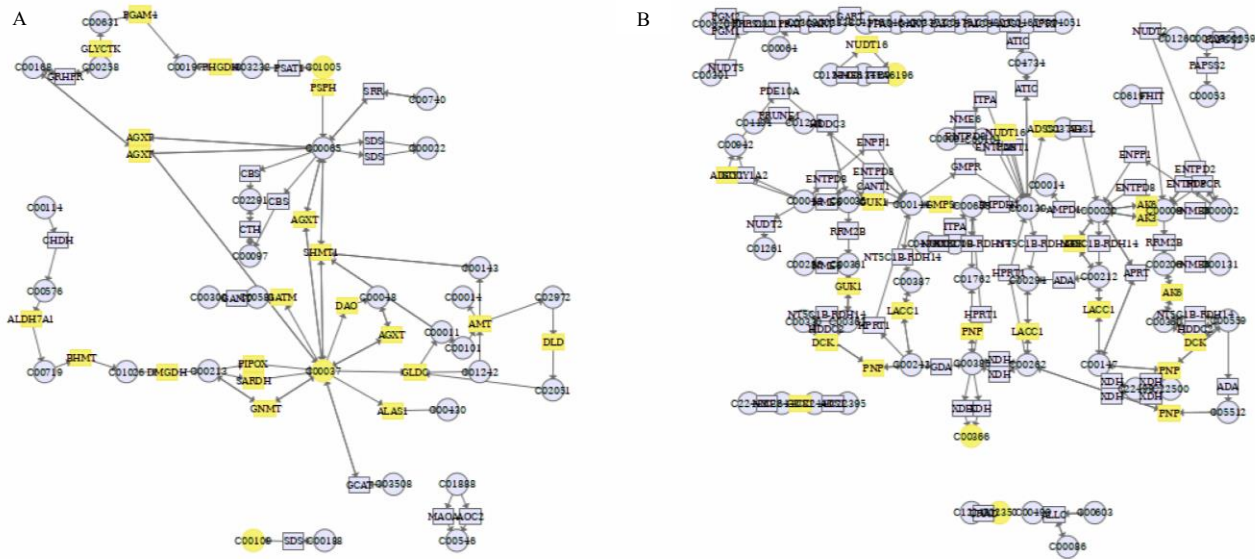
3.6 山茱萸多糖对 T2DM-NAFLD 模型大鼠肝脏中核心靶点表达的影响

如图 12 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肝脏 SHMT2 和 DCK 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$), AGXT、GNMT 和 LACC1 蛋白表达水平显

著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠肝脏 SHMT2 和 DCK 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$), AGXT、GNMT 和 LACC1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。

4 讨论

甘氨酸和丝氨酸是机体非必需氨基酸, 与 T2DM-NAFLD 的发生呈负相关, 且二者均为重要的神经递质。Handzlik 等^[12]发现机体缺乏甘氨酸和丝氨酸会加速 T2DM-NAFLD 引发周围神经病变。研究表明, 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸的代谢通路出现异常, 会导致甘氨酸、丝氨酸和 *L*-天冬氨酸的水平异常, 这与肥胖和胰岛素抵抗之间存在着紧密的联系^[13]。甘氨酸的水平变化可能会引发肠道菌群的失衡, 从而导致持续性的炎症反应, 进一步降低机



A-甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢；B-嘌呤代谢。

A-glycine, serine and threonine metabolism; B-purine metabolism.

图 11 基因和代谢物的协同通路机制图

Fig. 11 Mechanisms of synergistic pathways of genes and metabolites diagrammed

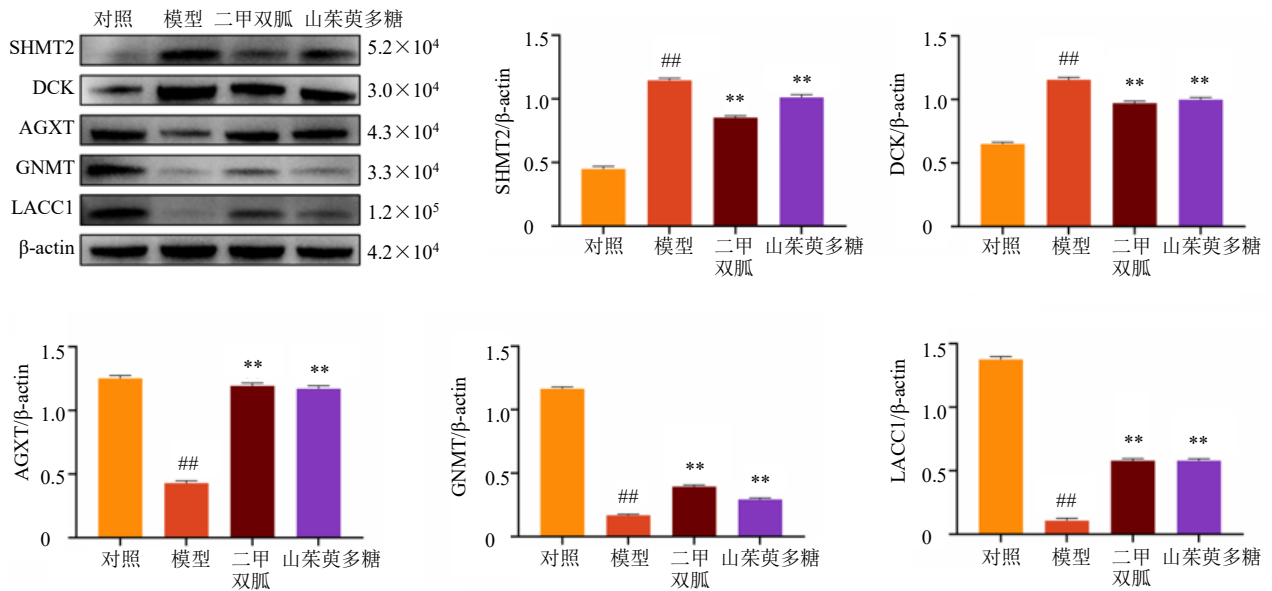


图 12 高剂量山茱萸多糖对 T2DM-NAFLD 模型大鼠肝脏中 SHMT2、DCK、AGXT、GNMT 和 LACC1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 12 Effect of high-dose *Corni Fructus* polysaccharides on expressions of SHMT2, DCK, AGXT, GNMT and LACC1 proteins in liver of T2DM-NAFLD model rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

体的抗氧化能力^[14]。因此，甘氨酸作为一种重要的非营养性能量源，对维持动物正常生理功能起着至关重要的作用。嘌呤分解代谢的最终化合物是尿酸，尿酸转化为尿囊素，尿囊素很容易通过尿液排出^[15]。尿酸通过活性氧/Janus 激酶（Janus kinase,

JNK）/转录激活蛋白-1（activator protein-1, AP-1）途径诱导肝脏脂肪蓄积，导致 NAFLD 的发生^[16]。高水平的尿酸可以调节与代谢稳态受损相关的机制，如与葡萄糖和脂质代谢相关的氧化应激、炎症和酶，是代谢性疾病（如糖尿病、肥胖、高血压、

代谢综合征)的重要危险因素之一^[17]。尿囊素能通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) / 转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 信号通路改善高血糖所引起的肾脏组织的氧化应激、炎症和细胞凋亡, 恢复肾功能, 并预防糖尿病大鼠肾脏损害^[18]。本研究结果显示, T2DM-NAFLD 大鼠尿液中甘氨酸、尿酸水平降低, 尿囊素水平升高, 山茱萸多糖干预后代谢物均有回调趋势, 提示山茱萸多糖可能通过氨基酸代谢、嘌呤代谢和糖代谢途径改善 T2DM-NAFLD。

SHMT2 是肝脏中催化丝氨酸和甘氨酸相互转化的关键酶, SHMT2 可以驱动甘氨酸合成丝氨酸, 导致 T2DM-NAFLD 大鼠甘氨酸含量显著降低, 谷胱甘肽合成受损, 氧化应激增强, 代谢性疾病进一步发展^[19]。SHMT2 敲低的小鼠原代肝细胞中, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) / 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ) 通路下调, 与脂肪生成和脂肪酸摄取相关的基因表达降低, 脂质积累减少, 表明 SHMT2 可能成为 NAFLD 的潜在治疗靶点^[20]。NAFLD 小鼠肝细胞中 AGXT 的蛋白表达下调, 导致草酸盐累积, 增加了肝外并发症肾结石的风险, 回补 AGXT 或抑制羟脯氨酸分解代谢可改善该现象^[21]。AGXT 作为胆固醇代谢途径的拮抗剂, 可以下调低密度脂蛋白受体的蛋白表达, 有效降低肝细胞中的胆固醇水平^[22]。GNMT 在肝脂吞噬中发挥重要的作用, GNMT 的表达不足导致蛋氨酸的水平升高, 进而导致自噬通量降低, 无法通过噬脂作用动员脂滴使肝脏变性恶化^[23]。肝脏中 GNMT 能调控脂肪代谢与转运相关基因的表达以及氧化呼吸复合物 II 的活性调控脂肪含量, 降低疾病发生和进一步发展^[24]。与癌旁正常组织相比, 肝癌组织中 DCK 高表达, 且 DCK 的高表达与肝癌患者生存率及预后负相关^[25]。LACC1 是巨噬细胞中免疫代谢功能的核心调节因子, 可催化瓜氨酸裂解生成异氰酸, 异氰酸能够通过氨基甲酰化修饰 NLRP3 抑制炎症小体组装进而发挥抗炎功能^[26]。LACC1 作为促炎一氧化氮合酶和多胺免疫代谢之间的桥梁, 在代谢性疾病、炎症性肠病、关节炎和微生物感染中起着关键作用, 靶向 LACC1 可能是治疗炎症相关疾病和微生物感染疾病的有效途径^[27]。山茱萸多糖干预后, T2DM-

NAFLD 大鼠肝脏中 SHMT2 和 DCK 的蛋白表达显著降低, FGXT、GNMT 和 LACC1 的蛋白表达显著升高, 提示山茱萸多糖通过调节氧化应激, 减少脂质积累, 抑制机体炎症反应, 改善 T2DM-NAFLD。

综上, 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢与嘌呤代谢在 T2DM-NAFLD 的发生发展中扮演关键角色, 其通过调控氧化应激、脂质代谢和炎症反应等途径, 加剧代谢性疾病的病理进程。SHMT2、DCK、AGXT、GNMT 和 LACC1 等关键酶的异常表达进一步揭示了代谢通路失衡的分子机制, 为 T2DM-NAFLD 提供了潜在治疗靶点。然而, 当前研究仍存在一定局限性, 如氨基酸代谢与嘌呤代谢通路的交互作用机制尚不明确, 山茱萸多糖的作用靶点需进一步验证。未来研究可聚焦于: ①深入探究代谢通路的调控机制, 挖掘代谢通路关键酶的交互作用机制; ②结合多组学技术, 解析 T2DM-NAFLD 代谢网络的动态变化; ③进行靶点抑制剂或特异性基因敲除实验, 确定 SHMT2、AGXT、GNMT、DCK 和 LACC1 等靶点在山茱萸多糖治疗 T2DM-NAFLD 作用中的必要性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Nawrot M, Peschard S, Lestavel S, *et al.* Intestine-liver crosstalk in type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Metabolism*, 2021, 123: 154844.
- [2] 马容. 山茱萸防治糖尿病肾病有效部位的研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2008.
- [3] Cao L, Wu Y, Liu K Y, *et al.* *Cornus officinalis* vinegar alters the gut microbiota, regulating lipid droplet changes in nonalcoholic fatty liver disease model mice [J]. *Food Med Homology*, 2024, doi: 10.26599/FMH.2024.9420002.
- [4] Guo J S, Wan J Y, Wang T. Exploring the mechanisms of *Cornus officinalis* in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis using network pharmacology, molecular docking and molecular dynamics simulations [J]. *Discov Appl Sci*, 2024, 6(10): 539.
- [5] 崔永霞, 尚子慧, 侯亚迪, 等. 基于血清代谢组学探究山茱萸多糖对 2 型糖尿病大鼠的干预机制 [J]. *中草药*, 2024, 55(9): 2976-2986.
- [6] 田海涛, 蔡春颖, 赵东升, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 技术与网络药理学研究赶黄草保肝潜在药效物质基础和作用机制 [J]. *中草药*, 2024, 55(5): 1477-1492.
- [7] 韩君. 白桦茸多糖治疗肝癌的网络药理学研究 [A] // 2024 中国肿瘤标志物学术大会暨 CACA 整合肿瘤学高

- 峰论坛暨第十七届肿瘤标志物青年科学家论坛暨中国肿瘤标志物产业创新大会论文集 [C]. 南京: 中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会, 2024: 64-65.
- [8] 朱耀乾, 王雨, 王凤杰, 等. 基于网络药理学和分子对接技术分析筒鞘蛇菰多糖治疗肝损伤的作用机制及体内实验研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2022, 24(9): 3465-3476.
- [9] 张蕾, 李涛, 潘明月, 等. 基于网络药理学和生物信息学研究玉米须多糖对高尿酸血症小鼠的影响 [J]. 中国兽医杂志, 2023, 59(5): 146-152.
- [10] 徐文丽, 李舟媛, 王梓灵, 等. 黄蜀葵根多糖治疗慢传输型便秘作用与网络药理学机制研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2024, 26(12): 3071-3085.
- [11] Zhou W, Han L J, Haidar Abbas Raza S, *et al.* Polysaccharides in *Berberis dasystachya* improve intestinal flora depending on the molecular weight and ameliorate type 2 diabetes in rats [J]. *J Funct Foods*, 2023, 100: 105381.
- [12] Handzlik M K, Gengatharan J M, Frizzi K E, *et al.* Insulin-regulated serine and lipid metabolism drive peripheral neuropathy [J]. *Nature*, 2023, 614(7946): 118-124.
- [13] 李缘缘, 魏佳, 黄慧英, 等. 二陈汤对代谢综合征痰证大鼠血清代谢组学的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(5): 1996-2003.
- [14] 龙富立, 林镛, 冯逢, 等. 基于 LC-MS 分析解毒化瘀颗粒对急性肝衰竭大鼠的尿液代谢组学的影响 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(7): 1551-1555.
- [15] Wu J W, Wei Z H, Cheng P, *et al.* Rhein modulates host purine metabolism in intestine through gut microbiota and ameliorates experimental colitis [J]. *Theranostics*, 2020, 10(23): 10665-10679.
- [16] Xie D, Zhao H R, Lu J M, *et al.* High uric acid induces liver fat accumulation via ROS/JNK/AP-1 signaling [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2021, 320(6): E1032-E1043.
- [17] Lima W G, Martins-Santos M E S, Chaves V E. Uric acid as a modulator of glucose and lipid metabolism [J]. *Biochimie*, 2015, 116: 17-23.
- [18] 赵耀, 杨建华, 谯明, 等. 尿囊素对糖尿病肾病大鼠肾脏保护作用及机制探讨 [J]. 新疆医科大学学报, 2020, 43(8): 1025-1030.
- [19] Ghayeb A, Finney A C, Agranovich B, *et al.* Serine synthesis via reversed SHMT2 activity drives glycine depletion and acetaminophen hepatotoxicity in MASLD [J]. *Cell Metab*, 2024, 36(1): 116-129.
- [20] Choi Y J, Lee G, Yun S H, *et al.* The role of SHMT2 in modulating lipid metabolism in hepatocytes via glycine-mediated mTOR activation [J]. *Amino Acids*, 2022, 54(5): 823-834.
- [21] Das S, Finney A C, Anand S K, *et al.* Inhibition of hepatic oxalate overproduction ameliorates metabolic dysfunction-associated steatohepatitis [J]. *Nat Metab*, 2024, 6: 1939-1962.
- [22] Chen T, Xiang L J, Zhang W J, *et al.* AGXT2 suppresses the proliferation and dissemination of hepatocellular carcinoma cells by modulating intracellular lipid metabolism [J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2024, 11: 1623-1639.
- [23] 史琳娜, 王柯, 邓玉娣, 等. 脂噬对脂质代谢的调节作用及其分子机制 [J]. 南方医科大学学报, 2019, 39(7): 867-874.
- [24] 杜雪儿, 王建国, 姚军虎, 等. 甘氨酸-N-甲基转移酶对肝脏代谢及相关疾病的调控机制 [J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(11): 2224-2235.
- [25] 王正. 肝细胞癌免疫相关基因的生物信息学筛选及DCK在肝细胞癌中的生物学功能研究 [D]. 济南: 山东大学, 2021.
- [26] Zhang Z X, Chen C, Liu C Y, *et al.* Isocyanic acid-mediated NLRP3 carbamoylation reduces NLRP3-NEK7 interaction and limits inflammasome activation [J]. *Sci Adv*, 2025, 11(10): eadq4266.
- [27] Li Y L, Wu Z X, Tan X L, *et al.* LACC1: A critical involvement in macrophage immunometabolism [J]. *Cell Biol Int*, 2023, 47(9): 1488-1490.

[责任编辑 李亚楠]