

针刺代谢组学研究的现状与分析

张宏如¹, 陶嘉磊², 徐森磊¹, 卢圣锋¹, 倪光夏^{1*}

(1.南京中医药大学第二临床医学院,江苏 南京 210023;2.南京中医药大学附属医院,江苏 南京 210029)

摘要: 针刺作为防治疾病的治疗手段,在临床上运用广泛。由于人体系统的复杂性,针刺作用机制尚不清楚,代谢组学的运用可以为针刺效应规律和生物学基础提供有价值的信息,对于阐释针灸理论、促进针灸学的现代化和国际化有重要意义。在对近十年针刺代谢组学研究现状进行分析总结后,提出不足与思路,以期促进针刺研究的发展。

关键词: 针刺;代谢组学;进展;述评

中图分类号:R245 文献标志码:A 文章编号:1672-0482(2018)05-0535-06

DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2018.0535

Current Situation and Analysis of Acupuncture Metabonomics

ZHANG Hong-ru¹, TAO Jia-lei², XU Sen-lei¹, LU Sheng-feng¹, NI Guang-xia^{1*}

(1.The Second Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210029, China)

ABSTRACT: Acupuncture as a means of prevention and treatment of diseases, is widely used in clinical practice. Because of the complexity of the human body, the mechanism of acupuncture is not yet clear. The application of metabonomics can provide valuable information for the rule of acupuncture effect and biological basis, and it is of great significance for explaining acupuncture theory, promoting the modernization and internationalization of acupuncture and moxibustion. After analyzing and summarizing the current research situation of acupuncture metabonomics in recent ten years, the author puts forward some deficiencies and ideas in order to promote the development of acupuncture research.

KEY WORDS acupuncture; metabonomics; progress; review

针灸作为祖国医学的重要组成部分,在临床上运用已有几千年的历史。许多可靠的研究,包括系统评价和随机对照试验证实,针刺对多种疾病都具有一定的治疗效果并且相对安全,引起了国内外的广泛关注,并且逐渐成为西方国家各种病症的替代或补充治疗方法。针刺具有整体性、双向性调节特征,如针刺足三里不但对便秘、腹泻、呕吐等消化系统疾病有治疗效应外,对脊髓损伤、过敏性鼻炎、神经性疼痛、关节炎、急性缺血性中风等疾病也有良好的治疗效果^[1]。虽然针刺的基础研究在过去一段时间内取得了长足的进步,但其分子机制和生物学途径仍不明确,特别是针刺穴位效应的普遍性与特异性、针刺腧穴配伍、针刺刺激量与效应关系等核心问题的研究,一定程度上阻碍了针灸现代化的进程。

作为系统生物学技术之一,代谢组学主要研究复杂生命系统在內源或外源因子作用下的小分子代谢物的改变,对全面理解复杂系统具有许多潜在的应用和优势,可以为针刺效应规律和生物学基础提供有价值的信息。目前,代谢组学分析已被用于研究穴位的特异性效应,并评估针刺的安全性或影响因素。本文在对代谢组学技术、针刺代谢组学研究进行综述的基础上,提出目前针刺代谢组学研究主要存在的问题与解决思路,以期给针刺基础,特别是与系统生物学相关的研究提供借鉴。

1 代谢组学概述

代谢组学起源于上个世纪 60 年代,因检测细胞代谢物浓度量化的需要,气相色谱、气相色谱-质谱技术相继被开发。1999 年,代谢组学概念由英国伦

收稿日期:2018-01-09

基金项目:国家自然科学基金(81704169);江苏省自然科学基金(BK20171067)

作者简介:张宏如(1983—),男,讲师。*通信作者:倪光夏,男,主任医师,博士生导师,主要从事针灸作用的基础与临床研究,E-mail: xgn66@163.com

敦大学 Nicholson 教授正式提出^[2],认为其是生物体应对生理病理刺激或基因修饰产生的所有代谢物变化的定量测定,以此来确定生命体的功能调控规律和系统生化谱。代谢组学是继基因、转录以及蛋白组学后发展起来的系统生物学方法,分为靶向性、非靶向性代谢组学两大类,主要利用气相色谱质谱(GC-MS)、液相色谱质谱(LC-MS)、核磁共振氢谱(¹H-NMR)等技术手段对生物流体、细胞、组织中的小分子物质进行检测,通过建立多种数学判定模型,在进行定性定量分析后,利用统计学方法确定差异性代谢物,并且对这些差异代谢物进行生物信息学分析,阐述干预措施引发的整体系统中代谢变化的生物学意义^[3]。

代谢物是细胞调节过程的最终产物,可以被视为生物系统控制遗传或环境变化的最终反应。在过去的二十年中,代谢组学已应用于评估环境压力,比较不同生长阶段,发现药物和天然产物,进行毒理学测定,研究疾病发病机制等多个方面,被认为是临床和生物医学研究的重要工具。通过生物体液和组织对完整生物体随时空改变的代谢物进行定量分析,能够全面研究机体新陈代谢活动链上的终产物的变化,然后将这些多维代谢轨迹与病理生理过程中的生物学事件联系起来,反映生物体系的状态,进而被用来理解疾病进展中涉及的病理过程并寻找各种病症新的诊断或预后生物标志物。

2 针刺代谢组学研究进展

代谢组学强调从整体、动态角度研究机体的功能变化,与中医针刺的整体观、系统观的理论内涵相吻合。大量研究表明,机体接受针灸刺激所产生的作用是多途径、多层次、多环节、多靶点的整体调节作用,与代谢组学技术的优势特点存在一致性。自2008年,国内外学者通过代谢组学技术研究针刺效应机制的报告逐步增加,主要集中在消化系统、心脑血管系统、免疫系统以及对健康人群与动物的研究,涉及针刺效应机制、穴位特异性、腧穴配伍、比较针刺与艾灸效应差异等方面。

2.1 消化系统

为了研究针刺对功能性消化不良(FD)的生物学效应和代谢产物的影响,WU等^[4]利用¹H-NMR技术分析了针刺足阳明经穴治疗6名女性患者血浆代谢情况,结果显示,与健康对照组相比,FD患者血浆葡萄糖、乙酸盐、磷脂酰胆碱等物质含量相对较高,N-乙酰糖蛋白、乳酸、亮氨酸/异亮氨酸水平较

低,针刺治疗显著改变了亮氨酸/异亮氨酸、乳酸和葡萄糖的水平。由于纳入患者人数仅有6人,其数据的可靠性与稳定性大为降低,2015年注册的研究方案,将患者样本量扩增至70人,并随机分为针刺与假针刺组,结合功能性MRI和代谢组学方法,能够更好的评估针刺对功能性消化不良的疗效和机制^[5]。李晓亮^[6]利用LC-MS观察针刺合募配穴(足三里、中脘)、下合穴、募穴治疗FD患者血浆代谢组学机制,发现针刺合募配穴、下合穴、募穴都有一定的良性调节作用,可能与调控苯丙氨酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢有关,且合募配穴的总体调节作用优于下合穴和募穴。动物模型中,有学者^[7]利用¹H-NMR技术探究针刺俞、募穴和配穴对FD大鼠血清代谢物的影响,发现针刺各组均能提高N-乙酰糖蛋白的含量,降低VLDL/LDL,与胃俞组、中脘组相比,胃俞联合中脘组除了能更为显著的影响上述大分子物质外,还能够上调HDL。此外,利用LC-MS技术观察电针足三里穴联合肝俞穴治疗肝郁型FD大鼠尿液代谢组学的研究,结果显示,与模型组比较,电针组 γ -氨基丁酸的水平明显升高,且柠檬酸、琥珀酸、苯丙氨酸、 α -酮戊二酸、天门冬氨酸、肉豆蔻酸有上升趋势,而假针刺组无明显差异^[8]。

研究证实,针刺对慢性萎缩性胃炎(CAG)也有着良好的临床疗效^[9],但这种有益治疗的潜在机制尚未确定。在综合了组织病理学检查和分子生物学检测基础上,研究者采用¹H-NMR技术分析了电针对大鼠尿液,血清,胃,皮质和髓质多个生物样本的小分子代谢物的影响,系统评估了CAG的病理学和电针的治疗效果。结果表明,CAG可引起整体的代谢改变,包括三羧酸循环、糖酵解、膜代谢和分解代谢、肠道微生物群相关的代谢,而电针胃经中的四白、梁门、足三里治疗能够通过减轻膜分解代谢,恢复脑中神经递质的功能和部分逆转CAG诱导的肠道微生物代谢扰动,使许多CAG诱导的代谢物变化趋于正常化^[10]。在此基础上,他们利用血清、胃、大脑皮层和髓质4种生物样本进一步通过上述技术比较研究了电针与艾灸治疗CAG大鼠的治疗机制差异,发现电针和艾灸干预通过恢复许多CAG诱导的代谢变化显示出有益效果,艾灸主要通过调节血清中的能量代谢发挥作用,而电针治疗的主要作用部位是胃和脑的神经系统^[11]。但有研究表明,通过¹H-NMR技术观察艾灸与针刺对CAG大鼠胃组织代谢的影响,发现艾灸有利于调节CAG大鼠胃

黏膜的修复和免疫力,而针刺干预后未有浓度发生逆转的差异代谢物^[12]。

除了上述消化系统疾病外,研究者们还对胃黏膜病变、溃疡性结肠炎等疾病做了少量的针刺代谢组学研究。XU等^[13]通过¹H-NMR技术分析电针对胃黏膜病变大鼠尿液、血清代谢产物的影响,发现电针胃经穴位能够将受制备模型干扰的部分代谢途径恢复至健康状态,且与电针胆经穴位有着极其相似的代谢轮廓。杨阳等^[14]运用¹H-NMR技术研究足阳明经穴位(足三里、天枢、上巨虚穴)电针对溃疡性结肠炎大鼠大脑皮层代谢物的影响,发现电针干预后溃疡性结肠炎大鼠模型脑皮质中乳酸、谷氨酸、总胆固醇和极低密度脂蛋白均升高,而丙氨酸和低密度脂蛋白含量降低。吴巧凤等^[15]同样运用¹H-NMR技术,比较了针刺足阳明经穴与非经非穴治疗溃疡性结肠炎大鼠模型大脑皮层代谢物的变化,发现针刺足阳明经穴对溃疡性结肠炎大鼠脑皮层水溶性代谢物的影响明显,对脂溶性代谢产物影响较小,同样能够上调乳酸、谷氨酸水平,对磷酸肌酸、N-乙酰天冬氨酸、谷氨酰胺、核糖等代谢物也有上调作用;而针刺非经非穴的影响主要表现在 γ -氨基丁酸、缬氨酸等。此外尚有通过¹H-NMR技术探索针刺对腹泻型功能性肠病^[16]与功能性便秘^[17]血浆代谢物的研究,发现针刺天枢穴对血浆代谢物的整体调整作用优于非经非穴,且均涉及3-羟基丁酸、丙氨酸、胆碱等物质。

2.2 免疫系统

为了探讨热补针法治疗类风湿性关节炎(RA)的特异性机制,杜小正等^[18-19]分别采用两种不同的组学技术研究平补平泻、捻转补法及热补针法针刺足三里对模型家兔血液代谢物谱的影响。利用LC-MS技术发现,与正常组相比,模型组血液代谢物中肉碱、癸酸、硬脂酸、乳酸等物质含量升高,亮氨酸、缬氨酸、谷氨酰胺、焦谷氨酸、 α -酮戊二酸等物质降低^[18];采用GC-MS发现,与正常组相比,亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、花生四烯酸的含量升高, α -酮戊二酸、柠檬酸、棕榈酸、硬脂酸等物质水平降低^[19]。这些物质涉及到脂肪酸、氨基酸、三羧酸循环以及糖类代谢,各针刺组干预后上述代谢物均出现不同程度的回调,平补平泻法、捻转补法及热补针法均可调节RA异常的代谢通路,而热补针法在调控三羧酸循环与糖代谢紊乱方面均明显优于平补平泻、捻转补法。同时,研究者还通过LC-MS技术研究了模型

家兔尿液代谢物变化,发现模型组尿液代谢物变化主要体现于亮氨酸代谢低下,嘌呤代谢与色氨酸代谢的增强,针刺平补平泻、捻转补法及热补针法手法均可使RA异常的上述代谢通路等发生逆转,且热补针法在调控亮氨酸代谢方面明显优于平补平泻、捻转补法^[20]。虽然以上研究一定程度上证实了热补针法对RA的有效性和特异性,但从以上差异性代谢物结果不难看出自相矛盾的地方:硬脂酸、亮氨酸、缬氨酸在相同的血液标本中,因采用不同的组学技术检测出现了模型组中血清代谢物相对含量完全相反的结果,一定程度上降低了数据的稳定性与可靠性。任超展^[21]同样采用LC-MS技术研究了RA模型家兔尿液代谢物变化,发现了25个差异性代谢物,主要涉及能量代谢、多种氨基酸代谢、嘌呤代谢、嘧啶代谢以及脂肪酸代谢等,热补针法等各针刺组均能使RA代谢物谱向正常组靠近而偏离模型组,且热补针法组向正常组靠得最近。此外,尚有通过LC-MS技术分析急性痛风性关节炎大鼠多个时间点的尿液和血浆,研究表明针刺可以使紊乱的代谢网络趋于恢复,为LC-MS代谢组学技术将为研究针刺治疗急性痛风性关节炎的生物效应提供一个独特视角^[22]。

2.3 心脑血管系统

心脑血管系统疾病也是当前临床的常见病、多发病,针刺对原发性高血压、稳定性心绞痛等有着良好的防治作用。邓淑芳^[23]通过LC-MS对针刺治疗原发性高血压(EH)的血浆代谢全谱进行分析,发现针刺经穴组能够提高患者血浆中油酸的水平,针刺非经非穴组能够下调血浆苯丙氨酸浓度,与非经非穴组相比,经穴组患者治疗后血浆代谢物中溶血磷脂胆碱浓度显著上升,而花生四烯酸浓度显著下降。于正^[24]采用靶向的LC-MS技术研究循经取穴对EH患者血浆靶向代谢小分子的影响,发现尿素、蔗糖和半乳糖与平均动脉压相关,循经取穴针刺能有效降低EH患者的血压,并且能调整与能量代谢相关的小分子,如蔗糖、肌醇、苏氨酸以及色氨酸等,也能调整间接参加能量代谢的小分子,而这可能与循经取穴针刺的降压效应相关。一项靶标的多反应监测-质谱研究选取了47个与EH密切相关的血浆代谢物,通过针刺干预治疗3月后再检测这些代谢物,结果表明油酸和肌醇是高血压血浆和健康血浆之间最重要的差异代谢物,针刺可以使血浆油酸和肌醇恢复到正常水平,伴随着24小时收缩压和舒张

压的降低和昼夜血压节律的改善^[25]。陈亮^[26]采用 LC-MS 技术,研究循经取穴、他经取穴和非经非穴对慢性稳定性心绞痛患者血浆目标代谢物的影响,结果表明循经取穴和他经取穴引起的代谢物改变与其临床效应存在一定相关性,但循经取穴产生的代谢组学效应与心血管相关目标分子关联度更高;非经非穴和基础治疗引起的代谢物改变与临床无明显相关性。

2.4 健康研究对象

利用健康试验体进行针刺研究有助于比较针刺与艾灸的效应差异,理解针刺产生的应激反应与作用机制,并评价针刺的安全性。足三里是针刺研究中最常用的取穴,钟欢等^[27]利用¹H-NMR 探讨艾灸与针刺足三里对健康青年血清代谢物调节作用,从代谢物层面揭示艾灸与针刺对志愿者血清代谢物都有调节作用,艾灸倾向于对骨骼肌能量的调节,针刺更倾向于对脂质代谢的调节,且以上调节作用具有时效性特征。YAN 等^[28]通过 LC-MS 结合多变量统计分析研究了针灸干预健康男性尿液代谢物,确定了 53 种与足三里相关的特定代谢物,并且发现显著改变的谷氨酸和谷氨酸酯代谢、柠檬酸循环、丙氨酸和谷氨酸盐代谢,以及维生素 B6 代谢、 α -亚麻酸代谢 5 个代谢通路。而 ZHANG 等^[29]以唾液为样本,确定了 26 种差异代谢物,并发现苯丙氨酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、谷氨酰胺和谷氨酸代谢以及类固醇激素生物合成途径在针刺足三里后发生了变化。在此基础上,他们继续以健康男性为研究对象,联合蛋白质组学技术,分析了针刺足三里后的血清代谢谱特征,在血清代谢组中鉴定出 34 种差异代谢物,发现针刺刺激对甘油磷脂代谢,脂肪酸代谢,醚脂代谢影响显著,同时鉴定了一系列差异蛋白,且发现大多数蛋白在多种代谢途径的调节中起关键作用^[30]。

吴巧凤等^[31-32]利用¹H-NMR 技术从针刺对健康男性血浆、尿液代谢谱影响的角度探讨了阳明经穴的特异性,结果发现针刺阳明经穴对机体尿液代谢物的影响基本一致,均可以升高马尿酸和氧化三甲胺,降低甘氨酸,针刺阳明经穴与针刺阳陵泉对尿液代谢物的影响差别不大,但与针刺委中后的差异明显^[31];而血浆代谢组学结果显示足三里组、阳陵泉组、委中组能良好区分,但足三里组、梁门组和巨髁组的区分并不明显。针刺阳明经穴位与能量代谢通路密切相关,针刺阳陵泉组与脂代谢、脂转运密切

相关,而针刺委中对血浆代谢物影响不大。动物实验分析了健康大鼠血清,尿液,皮质和胃组织提取物的¹H-NMR 光谱数据集,表明电针诱导的代谢变化主要涉及氨基酸代谢,能量代谢,脂肪酸 β -氧化,胆碱代谢和肠道微生物群相关代谢中的代谢,对胃经穴于胆经穴的刺激反应存在明显的代谢差异^[33]。

2.5 其他

除了上述系统相对集中的研究外,针刺代谢组学研究还涉及对单纯性肥胖症患者^[34],急性偏头痛大鼠模型与无先兆偏头痛患者^[35],男性运动员疲劳^[36],衰老小鼠^[37]等方面,在验证针刺效应的同时,都阐释了部分针刺作用机制或不同腧穴的作用特征。

3 针刺代谢组学研究存在的问题与思考

3.1 代谢组学技术与规范流程

目前,代谢组学分析的主要技术有 NMR、GC-MS 与 LC-MS。针刺代谢组学研究以 NMR 运用最多,其次是 LC-MS。NMR 方法具有无损伤性、接近生理条件下进行实验、样本处理简单等优点,但与 LC-MS 相比,存在灵敏度低,对高通量差异较大的样品检测难度大等不足。GC-MS 是测量小分子代谢物的首选方法,尤其是初级代谢产物(有机酸、氨基酸等),具有高精密度、灵敏度及耐用性,而 LC-MS 具有分离效能高、分析速度快、检测灵敏度高的特点,同时不受样品挥发性和热稳定性的限制,无需衍生化处理。在针刺代谢组学研究中,使用上述单一技术对于代谢产物的系统研究显然是不够,因为不同的代谢组学技术所检测出的代谢产物有所偏向,如 GC-MS 对于氨基酸、有机酸等极性较大的小分子物质极其灵敏,而 LC-MS 对脂质类物质的检测具有优势。在上述针刺干预功能性消化不良的研究中可以发现,研究们所检测到的差异性物质各种各样,缺乏一致性。因此,要全面了解针刺对生命体代谢产物影响需综合多种检测方法。需要说明的是,代谢组学技术自身也存在着局限,其检测到的处于最下游的代谢产物缺乏一定的特异性,往往需要与其他组学技术、分子生物学与影像学手段联用,才能使获得的数据更具说服力。此外,针刺代谢组学研究的各个步骤需要有规范的流程,如在实验设计时,要充分考虑到代谢组学的影响因素,包括样本种类、采集时间、采集部位、样本数、前处理方式等,这样可以使数据信息更客观,通过有效的查询、准确的分析数据、促进数据的交换,使数据的价值最大利

用^[38]。

3.2 代谢物质的鉴定

代谢组学研究最基本、最具挑战的点在于代谢产物的鉴定。虽然一些商品化软件诸如 Metabo-Analyst、XCMS、MestreNova、XwinNMR 不断被研发出来,使数据处理流程相对简单、规范,但对于代谢产物的鉴定仍然是困难的,特别是高通量的 LC-MS 数据。造成这种情况的客观因素在于代谢产物的同质性、均匀性不高,导致色谱分析相对困难,而没有建立相关的代谢组学数据库是最重要的因素。针刺代谢组学研究物质鉴定多通过比对国外代谢组学数据库中物质的保留指数或一、二级质谱来确定,由于仪器的型号、仪器状态、检测的方法等因素,致使大部分物质无法准确匹配,使得高通量的技术获得的有效数据相对有限,且使物质的鉴定存在一定的主观性,会出现上述类风湿关节炎血清代谢产物自相矛盾的现象,一定程度上制约了针刺代谢组学研究的发展。因此要真正利用好代谢组学技术来进行针刺研究,不断完善的建设数据库是极其必要的。

3.3 针刺代谢组学后续研究不足

从上述研究可以看出,目前的针刺代谢组学研究仍处于起步阶段,后续研究开展严重不足。绝大部分研究仅仅停留在发现针刺腧穴后产生的差异代谢物,并通过已有的针刺理论进行推测和解释,未对针刺调控差异代谢物的机制作深入研究,显然这种浮于表面的研究成果对针刺基础研究的推动是极其有限的。而这些差异代谢物的最终确定尚且需要通过扩大样本量以及独立样本进行验证;在确定了差异代谢物之后,为了进一步分析,需要对调控这些差异代谢物的上游蛋白、基因进行关联研究,并结合同位素示踪等技术进行确认。在明确、理清上述差异代谢物以及针刺调控其代谢具体机制的前提下,结合针刺穴位效应的普遍性与特异性、针刺腧穴配伍等针刺研究的关键科学性问题进行有针对性的挖掘是针刺代谢组学研究后续工作的重点。

4 小结

代谢组学是一个快速发展的领域,为针刺相关研究带来了新的有价值信息。将代谢组学技术应用于针刺研究,可为针灸基础研究提供更科学、更符合针灸作用规律的证据,在联合其他技术手段的情况下,能够优化治疗的有效性,并且相对全面、系统地揭示针灸学的科学内涵,促进针灸现代化。在进行针刺代谢组学研究时,需着重研究针刺穴位效应的

普遍性与特异性、针刺腧穴配伍、针刺刺激量与效应关系、针刺与艾灸的机制差异等关键问题,此外,需注重质量控制,将试验设计、采样、检测等诸多环节中可能的干扰尽可能减少到最小。相信随着研究的深入,代谢组学将给针刺研究带来突破。

参考文献:

- [1] LIN LL, WANG YH, LAI CY, et al. Systems biology of meridians, acupoints, and chinese herbs in disease[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012,2012:372670.
- [2] NICHOLSON JK, LINDON JC, 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.
- [3] NICHOLSON JK, LINDON JC. Systems biology: metabonomics[J]. Nature, 2008,455(7216):1054-1056.
- [4] WU Q, ZHANG Q, SUN B, et al. ¹H NMR-based metabonomic study on the metabolic changes in the plasma of patients with functional dyspepsia and the effect of acupuncture[J]. J Pharm Biomed Anal, 2010,51(3):698-704.
- [5] KO SJ, PARK K, KIM J, et al. Effect of acupuncture and its influence on cerebral activity in functional dyspepsia patients: study protocol for a randomized controlled trial[J]. Trials, 2016,17:183.
- [6] 李晓亮. 基于 UPLC-MS 技术的针刺合募配穴治疗功能性消化不良的代谢组学研究[D]. 成都:成都中医药大学,2016.
- [7] 吴巧凤,毛森,蔡玮,等. 针刺俞、募穴对功能性消化不良大鼠血清大分子代谢产物的影响[J]. 针刺研究,2010,35(4):287-292.
- [8] 张可. 电针对肝郁型功能性消化不良大鼠代谢组学的影响[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2015.
- [9] 向娟,薛智慧,陈果,等. 针刺治疗慢性萎缩性胃炎的 Meta 分析[J]. 中医药导报,2016,22(15):75-78.
- [10] XU J, ZHENG X, CHENG K K, et al. NMR-based metabolomics reveals alterations of electro-acupuncture stimulations on chronic atrophic gastritis rats[J]. Sci Rep, 2017,7:45580.
- [11] LIU CC, CHEN JL, CHANG XR, et al. Comparative metabolomics study on therapeutic mechanism of electro-acupuncture and moxibustion on rats with chronic atrophic gastritis (CAG) [J]. Sci Rep, 2017,7(1):14362.
- [12] 余畅. 艾灸与针刺对慢性萎缩性胃炎大鼠胃黏膜保护作用和组织代谢组学的对比研究[D]. 长沙:湖南中医药大学,2017.
- [13] XU J, CHENG KK, YANG Z, et al. ¹H NMR metabolic profiling of biofluids from rats with gastric mucosal lesion and electroacupuncture treatment[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015,2015:801691.
- [14] 杨阳,赵纪岚,侯天舒,等. 基于脾胃-脑相关理论研究电针对溃疡性结肠炎大鼠大脑皮层代谢物的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2014,34(10):1207-1211.
- [15] 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, 37(8): 572-576.
- [16] 赵敏. 针刺治疗腹泻型功能性肠病¹H NMR 代谢组学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [17] 陈大帅. 针刺天枢穴治疗功能性便秘的¹H NMR 代谢组学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2014.
- [18] 杜小正, 袁博, 王金海, 等. 热补针法对类风湿关节炎寒证模型家兔血液代谢物谱的影响[J]. 中国针灸, 2017, 37(9): 977-983.
- [19] 杜小正, 袁博, 张星华, 等. 基于代谢组学研究热补针法治疗类风湿关节炎寒证家兔的作用机制[J]. 针刺研究, 2017, 42(3): 202-208.
- [20] 杜小正, 袁博, 王金海, 等. “热补针法”对类风湿关节炎模型家兔尿液代谢物的影响[J]. 中国针灸, 2017, 37(1): 55-60.
- [21] 任超展. 热补针法对 RA 模型家兔尿液代谢物谱表达调节的研究[D]. 甘肃: 甘肃中医学院, 2014.
- [22] WEN L, LIU YJ, YIN HL, et al. Effect of acupuncture on rats with acute gouty arthritis inflammation: a metabolomic method for profiling of both urine and plasma metabolic perturbation[J]. Am J Chin Med, 2011, 39(2): 287-300.
- [23] 邓淑芳. 基于液相色谱-质谱联用的针刺治疗原发性高血压的血浆代谢全谱分析[D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.
- [24] 于正. 循经取穴针刺治疗原发性高血压的目标代谢小分子研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2014.
- [25] YANG M, YU Z, DENG S, et al. A targeted metabolomics MRM-MS study on identifying potential hypertension biomarkers in human plasma and evaluating acupuncture effects[J]. Sci Rep, 2016, 6: 25871.
- [26] 陈亮. 循经取穴治疗慢性稳定性心绞痛的靶向代谢组学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [27] 钟欢, 余畅, 晏安林, 等. 基于¹H-NMR 技术探讨艾灸与针刺对血清代谢物的调节作用[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(3): 402-409.
- [28] YAN G, ZHANG A, SUN H, et al. Dissection of biological property of Chinese acupuncture point Zusanli based on long-term treatment via modulating multiple metabolic pathways[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 429703.
- [29] ZHANG Y, ZHANG A, YAN G, et al. High-throughput metabolomic approach revealed the acupuncture exerting intervention effects by perturbed signatures and pathways[J]. Mol Biosyst, 2014, 10(1): 65-73.
- [30] ZHANG A, YAN G, SUN H, et al. Deciphering the biological effects of acupuncture treatment modulating multiple metabolism pathways[J]. Sci Rep, 2016, 6: 19942.
- [31] 吴巧凤, 徐世珍, 余曙光, 等. 基于¹H NMR 代谢组学的阳明经穴特异性研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2674-2676.
- [32] 吴巧凤, 徐世珍, 颜贤忠, 等. 足阳明经穴特异性的代谢组学模式识别研究[J]. 上海针灸杂志, 2010, 29(9): 552-555.
- [33] LIN C, WEI Z, CHENG K K, et al. ¹H NMR-based investigation of metabolic response to electro-acupuncture stimulation[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 6820.
- [34] 周莉萍. 针灸治疗单纯性肥胖的肠道菌群调节机理探讨[D]. 成都: 成都中医药大学, 2011.
- [35] 陈勤. 少阳经穴针刺治疗偏头痛的代谢组学研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2009.
- [36] MA H, LIU X, WU Y, et al. The intervention effects of acupuncture on fatigue induced by exhaustive physical exercises: A metabolomics investigation[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2015, 2015: 508302.
- [37] WU QF, GUO LL, YU SG, et al. A ¹H NMR-based metabolomic study on the SAMP8 and SAMR1 mice and the effect of electro-acupuncture[J]. Exp Gerontol, 2011, 46(10): 787-793.
- [38] SANSONE SA, FAN T, GOODACRE R, et al. The metabolomics standards initiative[J]. Nat Biotechnol, 2007, 25(8): 846-848.

(编辑: 董宇)