

文章编号: 1000-8020(2013)06-0907-08

·论著·

中年2型糖尿病患者尿液生物标志初筛

付晗¹ 刘小立¹ 于微¹ 朱李佳¹ 郑丹² 王俊^{1,2}

华中科技大学同济医学院公共卫生学院教育部环境与
健康重点实验室 武汉 430030



摘要: 目的 应用代谢组学方法筛选中年2型糖尿病患者尿液中的小分子生物标志。方法 采用液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)检测中年2型糖尿病患者和对照对象尿样中的内源性代谢产物,对检测所得总离子流图进行特征离子峰提取(MFE)、滤噪、峰匹配、峰对齐、归一化及基线校正,经 t 检验对在两组研究对象间有统计学差异($P < 0.05$)的化合物筛选鉴定。结果 筛选出3个在两组研究对象尿样中表达水平有统计学差异($P < 0.05$)的代谢物:色氨酸、犬尿酸和犬尿酸原。中年2型糖尿病患者体内代谢产物色氨酸、犬尿酸经尿液代谢的水平下降,犬尿酸原经尿液代谢的水平升高。结论 色氨酸、犬尿酸和犬尿酸原可能是与中年2型糖尿病相关的生物标志。

关键词: 代谢组学 2型糖尿病 生物标志 尿液
中图分类号: R587.1 R446.12 文献标志码: A

Screening of urinary biomarkers in patients with type 2 diabetes mellitus

FU Han, LIU Xiaoli, YU Wei, ZHU Lijia, ZHENG Dan, WANG Jun

MOE Key Lab of Environment and Health, Institute of Environmental Medicine, School of Public Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science, Wuhan 430030, China

Abstract: Objective To screen the biomarkers of the middle-aged type 2 diabetes (T2DM) in urine based on metabolomics. **Methods** First, both the metabolite profiles of morning urine sample in T2DM and control group were obtained by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Second, an automated compound (feature) extraction algorithm was employed for processing background subtracted single MS data. Then principal component analysis (PCA) and t -Test analysis was followed after preprocessing on the extractive data. Third, identifying the potential biomarkers that show significant difference between the two groups by searching the database online and comparing the results of MS/MS experiments to those available in literature and those standards. **Results** Three endogenous metabolites, among which tryptophan, kynurenic acid, and shown down-regulation while kynurenine shown up-regulation in T2DM, significantly differentiate between T2DM and control group. **Conclusion** Tryptophan, kynurenic acid and kynurenine may be considered as the potential biomarkers related to T2DM.

Key words: metabolomics, type 2 diabetes mellitus, biomarkers, urine

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 81202207 81172668); 中央高校基本业务费资助(2013TS012)

作者简介: 付晗 男 硕士 研究方向: 代谢组学 E-mail: subnyin@126.com

¹ 深圳市慢性病防治中心

² 通信作者: 郑丹 男 博士 讲师 研究方向: 环境医学 E-mail: zhengdan@mails.tjmu.edu.cn;

王俊 男 博士 副主任技师 研究方向: 分子营养学 E-mail: junwangwh96@gmail.com

糖尿病作为一种代谢性疾病,已经成为继肿瘤、心血管疾病后的第三大严重危害人类健康的疾病。糖尿病常伴急、慢性并发症,尤其慢性并发症累积多个器官,致残、致死率高,严重影响患者身心健康,给个人、家庭和社会带来沉重的负担。目前糖尿病的发病机制并不完全明了,探索新的与糖尿病相关的标志显得尤为重要。代谢组学于1999年由英国皇家理工大学 NICHOLSON 等^[1]提出后,已经被越来越多地应用于糖尿病研究领域,并不断为糖尿病生物标志的发现、发病机制的探索带来新的突破。LI 等^[2]的代谢组学研究从小鼠血液中发现新的与胰岛素有关的标志, WANG-SATTER 等^[3]对空腹血糖受损人群的代谢组学研究发现了三种 2 型糖尿病早期生物标志, WEI 等^[4]对糖尿病前期不同亚型人群的尿液代谢轮廓进行研究,发现了一些可能与糖尿病前期分型有关的尿液标志。然而,目前尿液的代谢组学分析仍较少,尿样具有采集方便、样品组成比其他体液简单和受到干扰小等优点^[5],这使其在代谢组学分析中具有很大的优势。在本研究中,依托已构建的生物样本库,首次对中年 2 型糖尿病患者和其健康对照人群尿液进行代谢组学分析,筛选两组研究对象尿液中的差异代谢产物,为中年 2 型糖尿病患者尿液生物标志的发现、代谢路径及发病机制的进一步探索提供新的线索。

1 材料与方法

1.1 仪器

高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用仪(LC-Q-TOF-MS 6520, Agilent), 冷冻高速离心机(5415R, Eppendorf), 超纯水系统(A10, Millipore), 反相 C18 液相色谱柱 Zorbox SB-C18(3.0 mm × 100 mm × 3.5 μm, Agilent)。

1.2 试剂

甲醇(≥99.9%)、甲酸(≥98.0%) 购自德国 Merck 公司。咖啡因(¹³C₃-caffeine, ≥98.0%)、左旋苯丙氨酸(L-phenylalanine-d₈, ≥98.0%) 购自 Cambridge Isotope Laboratories。犬尿酸(≥98%)、色氨酸(≥99.5%)、犬尿酸原(≥95.0%) 购自 Sigma。

1.3 样本选取

样本来源于 2009 - 2011 年中国居民营养与健康状况监测项目(深圳地区)样本库,根据调查问卷、体检及生化指标,以 2012 年美国糖尿病协会(ADA)的糖尿病诊断标准作为参考,选取糖尿病患者样本 98 例(男性:女性 = 47:51)、健康对

照样本 96 例(男性:女性 = 47:49)。2 型中年糖尿病患者样本纳入标准:年龄 45 ~ 59 岁,典型糖尿病症状且 2 次空腹血糖 > 7.0 mmol/L,无肾功能异常,无其他器质性疾病;健康对照样本纳入标准:年龄 45 ~ 59 岁,无糖尿病症状,空腹血糖 < 6.1 mmol/L,无其他器质性疾病。试验前,向所有受试者介绍了实验目的,并与其签署知情同意书。

1.4 尿液样品预处理和检测

将所采集并进行分装后保存于 -80 °C 的晨尿取出,于 4 °C 解冻。取 200 μl 尿液,加入 400 μl 超纯水,再加入适量内标混合物(¹³C₃-caffeine, L-phenylalanine-d₈),混匀后于 4 °C 下,以 13 200 r/min 离心 15 min,取上清 100 μl 经 0.22 μm 滤芯枪头过滤入进样瓶,上机进行检测。

对糖尿病和对照组样本分别进行编号,再以生成随机数的方法分别从两组内抽取样本,以一个糖尿病样本间隔一个对照样本的顺序进行检测。选择一个健康中年志愿者尿液样品作为质控,每隔 20 个样品检测一次。

1.5 HPLC-QTOF-MS 分析条件

1.5.1 色谱条件 色谱分离采用安捷伦 1200 (Agilent Technologies 1200 Series) 液相色谱系统。

色谱柱为安捷伦 Zorbox SB-C18(3.0 mm × 100 mm × 3.5 μm),柱温 35 °C。流动相 A 为 0.1% 甲酸,流动相 B 为甲醇;采用梯度洗脱程序,起始流动相为 5% B,在 15min 内升到 95% B,保持 0.5 min 后返回至起始流动相,流速为 0.35 ml/min,进样量 2 μl。

1.5.2 质谱条件 质谱分析采用飞行时间质谱仪 Q-TOF/MS,配备电喷雾离子源(ESI)。采用正离子模式采集数据,喷雾气流速为 9 L/min,干燥气压力为 0.276 MPa(40 psig),加热温度为 330 °C;电喷雾电压为 4 kV;检测范围为 100 ~ 1700 m/z,扫描频率为 1.03 spectra/s。

1.6 数据采集和统计分析

首先,利用 LC/MS Data Acquisition B.02.01 (Agilent Technologies) 采集代谢组学检测数据,得到每个检测样本的总离子流图。其次,使用 Qualitative Analysis B.03.01 (QA, Agilent Technologies) 通过特征离子峰提取(molecular feature extraction, MFE) 从总离子流图中提取单电荷且峰强度大于 5000 的未知化合物(entity)。经过 MFE 后,每个样本均相应生成一个化合物转换文件(compound exchange format, CEF),此文件包含所检测到的未知化合物的保留时间、质量数、质荷比及峰面积等定性定量数据。再次,利用 Mass

Profiler Professional 2.2 Software (MPP, Agilent Technologies) 商品化代谢组学数据处理软件对 CEF 文件中的数据进行去噪、峰对齐、峰匹配 (时间窗口: 0.1% + 0.15 min, 质量窗口: 40 ppm + 2.0 mDa)、归一化以及基线校正等进一步处理, 并进行肌酐校正以纠正尿容量变化带来的误差。此外, 因仪器稳定性以及样品个体差异等原因可能导致检测缺失, 本研究分析中通过 MPP 过滤处理, 保留至少在两组研究对象的一组中的 95% 样品中检测到的未知化合物。最后, 对数据预处理后的样品进行主成分分析 (PCA), 并采用 t 检验分析两组间未知化合物差异的显著性。

1.7 差异表达代谢产物鉴定

使用 MPP 对预处理的数据进行 t 检验分析后, 初步筛选出在两组研究对象尿液中表达水平存在统计学差异 ($P < 0.05$), 且在两组间倍比变化 (fold change (FC) > 2.0) 大于两倍的未知化合物作为潜在标志物。初步筛选出的未知化合物仅

包含保留时间和质荷比等信息。为定性鉴定这些未知化合物, 本研究通过 QA 软件从检测样品中提取每个未知化合物的一级质谱图生成化合物分子式, 比较同位素分布, 同时结合 Scripps Center for Metabolomics and Mass Spectrometry (Metlin) 和 Human Metabolome Database (HMDB, Version 3.0) 在线数据库对未知化合物的二级质谱信息进行检索的结果, 初步定性化合物。最后, 通过标准品在尿液中的保留时间以及其二级质谱图谱对其进行最终确认。

2 结果

2.1 调查对象基本特征

由表 1 可见, 两组研究对象间年龄差异无统计学意义, BMI 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。中年 2 型糖尿病组 BMI 高于健康对照组 BMI, 表明 2 型糖尿病组中超重患者较多, 符合 2 型糖尿病患者患病特征。

表 1 研究对象基本信息

Table 1 General parameters of the volunteers

组别	n	年龄/岁	身高/cm	体重/kg	BMI
中年 2 型糖尿病	98	51.93 ± 4.69	160.53 ± 8.58	65.33 ± 9.53	25.34 ± 3.21
健康对照组	96	49.60 ± 43.93	162.51 ± 14.24	57.25 ± 6.18	21.65 ± 1.52
P		> 0.05			< 0.05

2.2 糖尿病与对照组主成分分析 (PCA) 结果

由图 1 可见, 大量色谱峰, 每个色谱峰都包含一个或多个分离检测到的未知化合物的保留时间、质荷比和峰面积等定性定量信息。

由图 2 可见, 第一主成分、第二主成分和第三主成分包含的信息量分别为 39.73%、11.17% 和 3.79%。图中显示, 代表两组研究对象的数值点明显分布于不同区域, 没有重叠交叉, 表明两组研究对象尿液代谢指纹图谱存在差异。相比于对照组, 图中代表糖尿病患者的数值点分布较分散,

提示糖尿病患者尿液代谢产物表达情况个体差异大于健康对照组。

对图 2 中 A、B 区研究对象的空腹血糖进行 Wilcoxon Two-Sample 检验, $P = 0.3128$, 表明糖尿病组中离患者簇中心较远的研究对象与患者簇中心研究对象的空腹血糖差异无统计学意义, 提示糖尿病组个体差异引起的离散分布与空腹血糖水平没有关联。

2.3 质量控制结果

由图 3 可见, 第一主成分、第二主成分和第三

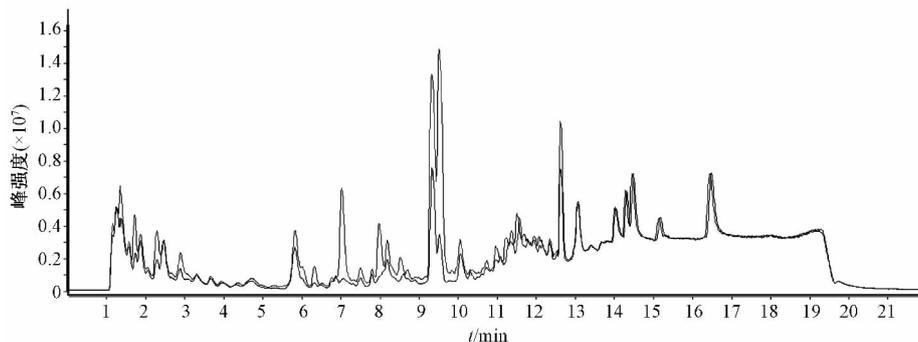
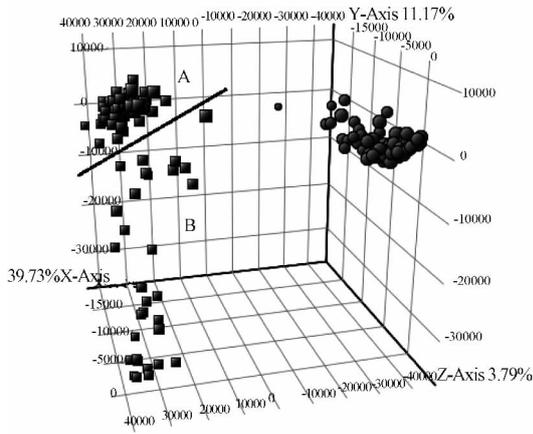


图 1 中年 2 型糖尿病患者 (—) 和健康对照对象 (—) 尿样的典型总离子流色谱图

Figure 1 Typical total ion current (TIC) chromatogram of a urine sample obtained from the middle aged type 2 diabetes mellitus and healthy volunteers



中年 2 型糖尿病患者(■); 健康对照对象(●)
A 区域: 患者簇中心的研究对象; B 区域: 离患者簇中心较远、分布较离散的研究对象

图 2 尿液代谢产物主成分分析结果

Figure 2 Principal component analysis (PCA) of the urinary metabolites

主成分包含的信息量分别为 34.65%、19.65% 和 13.54%。图 3 中质控样品分布比较集中,表明仪器检测过程中重现性较好。

2.4 糖尿病患者尿液中差异化合物的筛选结果
质谱检测以保留时间和质荷比共同表示化合

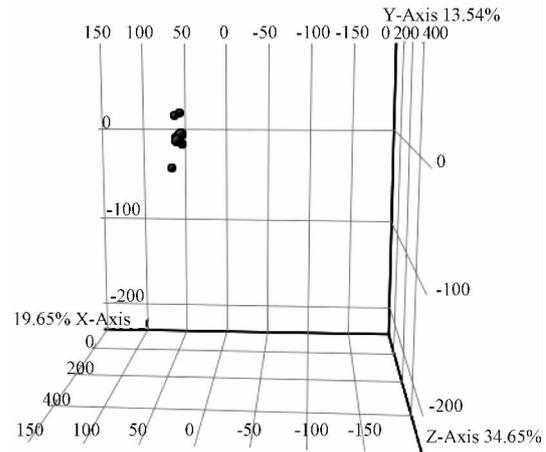


图 3 质量控制对象尿液代谢产物主成分分析结果
Figure 3 Principal component analysis (PCA) of the urinary metabolites among quality control

物,研究发现保留时间分别为 9.8、8.4 和 5.5 min,质荷比分别为 190.0501、205.1085 和 209.0921 的三个未知化合物在两组研究对象间表达水平差异有统计学意义。这三个未知化合物经 Metlin 和 HMDB 两个数据库检索的结果一致,分别为色氨酸、犬尿酸和犬尿酸原(见表 2)。

表 2 中年 2 型糖尿病患者尿液中的可能生物标志

Table 2 Possible biomarkers identified in urine of the middle aged type 2 diabetes mellitus

化合物	分子式	保留时间/min	质荷比(m/z)	检测质量 ⁽¹⁾	计算质量 ⁽²⁾	质量差/ppm ⁽³⁾
犬尿酸	C ₁₀ H ₇ N O ₃	9.8	190.0501	189.0428	189.0426	-1.22
色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	8.4	205.1085	204.0900	204.0899	-0.47
犬尿酸原	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃	5.5	209.0921	208.0844	208.0848	1.67
化合物	丰度匹配 ⁽⁴⁾	间距匹配 ⁽⁵⁾	质量匹配 ⁽⁶⁾	分数 ⁽⁷⁾	P	表达水平
犬尿酸	97.49	99.00	99.43	98.77	<0.001	下降
色氨酸	98.29	90.10	99.91	97.11	<0.05	下降
犬尿酸原	91.26	67.11	98.81	89.11	<0.01	升高

注: (1) 从观测所得的单一同位素质荷比(m/z)和电荷载体计算得出; (2) 从分子式计算所得的质量; (3) 观测所得质量和计算所得质量之差; (4) 此分子式预测的同位素丰度模式与测量所得数据的匹配概率(0~100%); (5) 此分子式预测的同位素间距与测量所得数据的匹配概率(0~100%); (6) 此分子式计算所得的质量与测量所得数据的匹配概率(0~100%); (7) 结合了一级质谱和二级质谱的得分(0~100)

生成分子式结果也表明,色氨酸、犬尿酸和犬尿酸原与本研究检测中三个未知化合物的总匹配得分均高于 89 分,其中,质量匹配得分均超过 98 分。色氨酸、犬尿酸和犬尿酸原与三个未知化合物检测质量之差最大为 0.004 Da(犬尿酸原)。此外,色氨酸、犬尿酸和犬尿酸原与三个未知化合物的同位素分布丰度匹配得分均高于 91 分(见表 3、图 4)。

2.5 糖尿病患者尿液中差异化合物的鉴定

尿液中犬尿酸、色氨酸和犬尿酸原的调整保留时间分别为 9.8、8.4 和 5.5 min,与三个未知化

合物一致。犬尿酸、色氨酸和犬尿酸原的特征碎片离子结果见表 3。犬尿酸的特征碎片离子质荷比为 172、162 和 144^[6-7];色氨酸特征碎片离子质荷比为 188、159 和 146^[8-10];犬尿酸原特征碎片离子质荷比为 192、174 和 146^[11-12]。二级质谱检测结果表明,犬尿酸、色氨酸和犬尿酸原标准品分别与尿液中三个未知化合物具有高度一致的质谱行为,见图 5。犬尿酸、色氨酸和犬尿酸原分别与三个未知化合物的特征碎片离子定性状况一致,且其丰度分布也基本一致。三个未知化合物经鉴定分别为犬尿酸、色氨酸和犬尿酸原,其中代谢产物

表 3 化合物特征离子信息

Table 3 Characteristic ion of these compounds

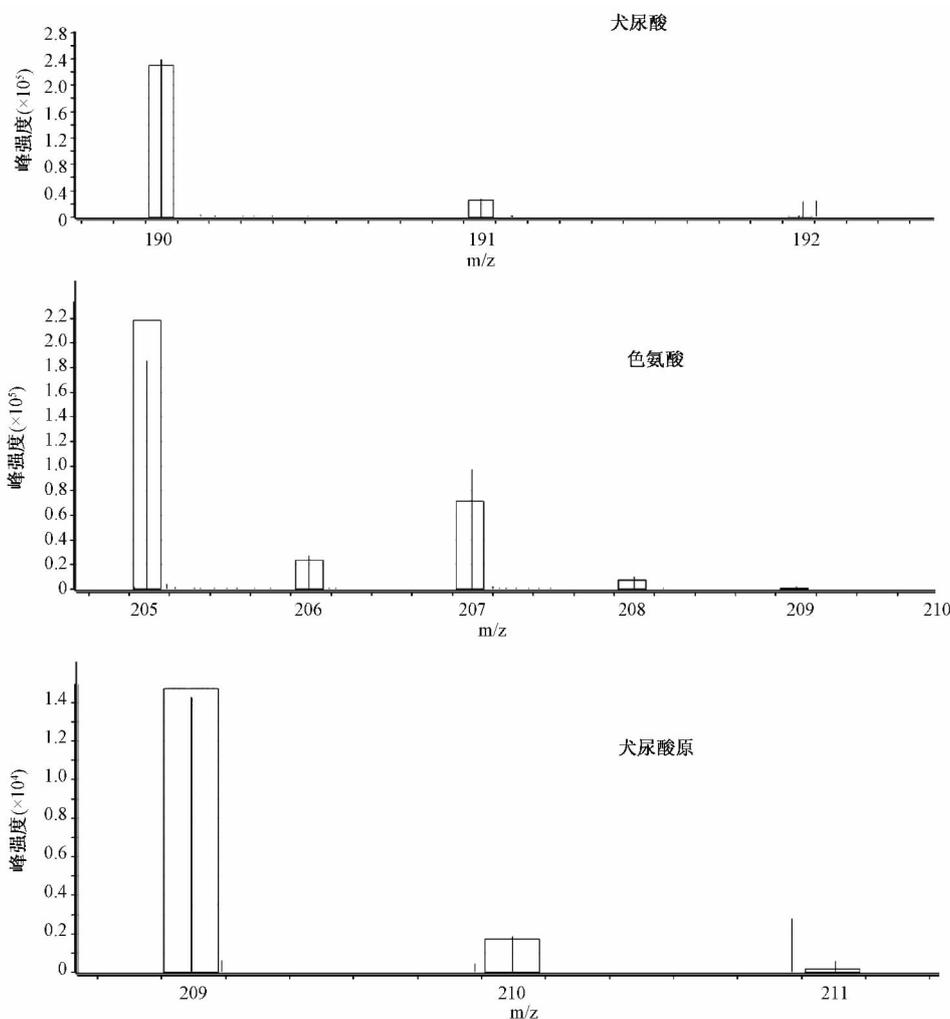
化合物	质量数 (M)	质荷比 (M + H ⁺)	特征离子质荷比 ⁽¹⁾	损失碎片 ⁽²⁾
犬尿酸	189	190	172	18(H ₂ O)
			162	28(CO)
			144	46(CH ₂ O ₂)
色氨酸	204	205	188	17(NH ₃)
			159	46(CH ₂ O ₂)
			146	59(C ₂ H ₅ NO)
犬尿酸原	208	209	192	17(NH ₃)
			174	35(NH ₅ O)
			146	63(CO ₂ H ₅ N)

注: (1) 以电子能量轰击带电荷的化合物时, 化合物化学键断裂, 产生的质量数较低的碎片, 可对化合物进行定性。(2) 以电子能量轰击带电荷的化合物时, 化合物化学键断裂, 断裂丢失的碎片

色氨酸、犬尿酸经尿液代谢的水平下降, 犬尿酸原经尿液代谢的水平升高。

3 讨论

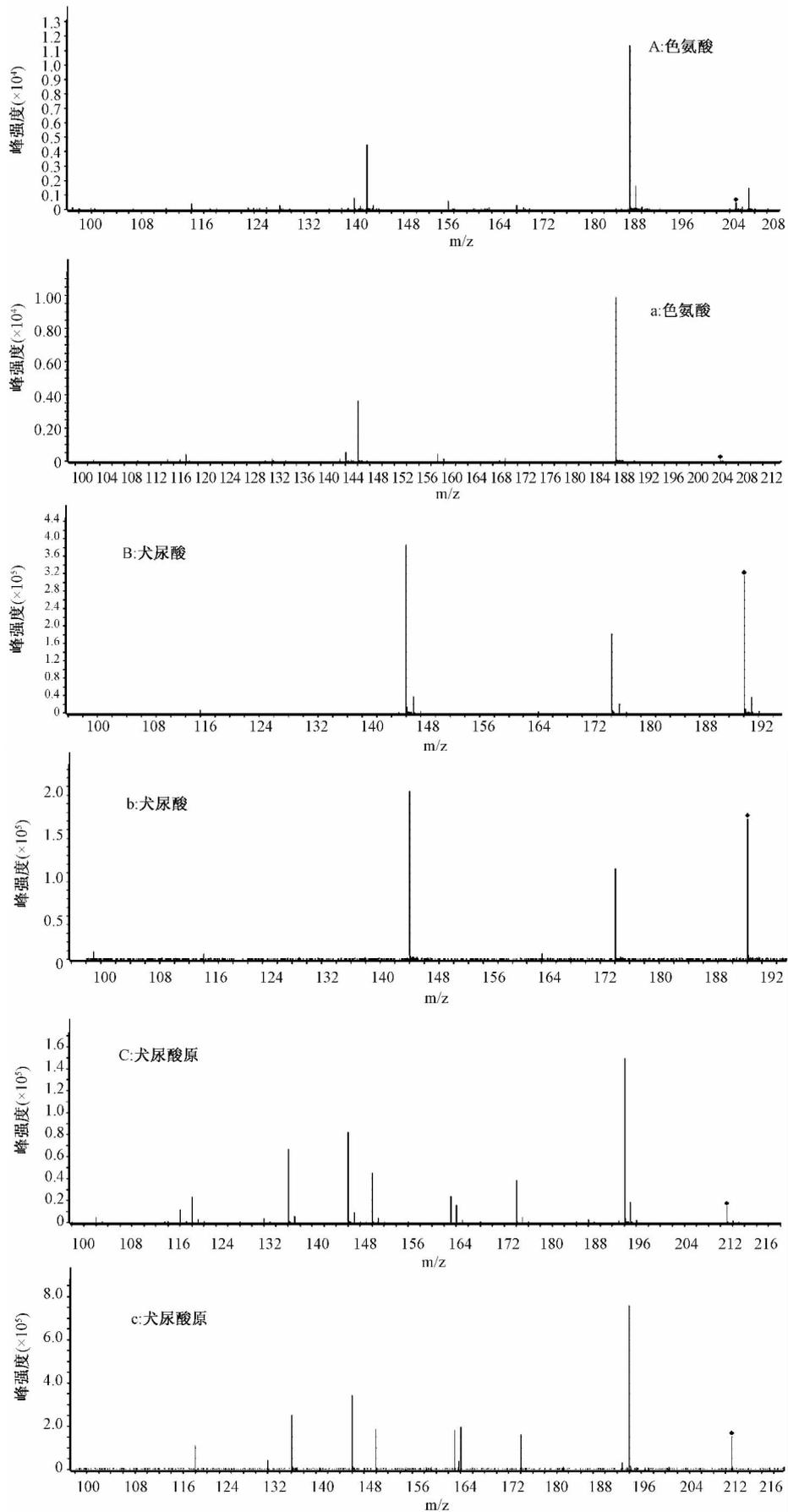
代谢组学是通过对生物样品, 主要是血液和尿液样品中小分子代谢物进行系统的定性、定量检测, 再经统计分析、代谢物鉴定以及生物信息解析, 以发现生物标志并探索疾病发病机制的研究方法^[4, 13]。因尿液中小分子的产生是机体受刺激或扰动后基因和蛋白水平发生变化后的一系列事件的最终产物, 且尿样具有采集方便、样品组成比其他体液简单和受到干扰小等特点^[5], 使其在代谢组学研究中具有巨大优势。YUAN 等^[14]学者的代谢组学研究也已经从 2 型糖尿病患者尿液中发现了 4 种可以对 2 型糖尿病进行诊断的有机酸标志。本研究运用基于液相色谱-质谱联用技术的代谢组学研究方法, 对 98 例中年 2 型糖尿病患者和 96 例健康对照对象尿液内源性代谢产物进行系统检测。使用 MPP 软件处理分析得到 76 个在两组研究对象尿液中表达水平有统计学差异的



棒状图: 未知化合物的同位素的实际检测结果 柱状图: 检索得到化合物的同位素标准分布

图 4 差异代谢产物同位素分布

Figure 4 Isotope distribution of the metabolites



A、B、C: 标准品; a、b、c: 实测

图 5 差异代谢产物串联质谱鉴定图

Figure 5 The tandem mass spectrum figure of the metabolites

未知化合物,通过 Metlin 和 HMDB 数据库对这 76 个未知化合物的二级质谱图谱进行逐一检索,再结合 QA 软件对一级质谱数据生成分子式的结果、查阅文献特征离子、对标准品进行一级质谱和二级质谱检测最终筛选鉴定出三个差异代谢产物:色氨酸、犬尿酸和犬尿酸原,代谢产物色氨酸、犬尿酸经尿液代谢的水平下降,犬尿酸原经尿液代谢的水平升高。

DAYER 等^[15]的研究发现色氨酸对血糖有调节作用,色氨酸代谢产物喹啉酸可抑制磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶活性,进而通过抑制糖尿病机体的糖异生作用降低糖尿病机体的血糖水平,而 HUO 等^[16]的研究发现糖尿病患者经二甲双胍治疗后,机体血清色氨酸表达水平升高都表明了色氨酸和糖尿病密切相关。色氨酸在体内通过羟化和脱氨生成 5-羟色胺、脱氨和脱羧生成吲哚乙酸以及经犬尿酸原生成尼克酸三条途径代谢,其中最主要的是犬尿酸原代谢途径,机体内大部分色氨酸经此途径代谢^[17]。吲哚胺-2,3-加双氧酶(IDO)和色氨酸加氧酶(TDO)是色氨酸经犬尿酸原途径代谢分解的特异性氧化酶和关键限速酶,TDO 和 IDO 通过促进一个双氧分子嵌入色氨酸,催化色氨酸氧化分解,并通过脱甲酰基反应生成犬尿酸原,犬尿酸原在犬尿酸原氧化戊二酸氨基转移酶(KOT)的催化作用下生成犬尿酸。正常状态下,IDO 呈低水平表达,而糖尿病机体内环境通常处于长期低水平炎症状态^[18],炎症因子尤其 IFN- γ 可以诱导 IDO 的表达明显上调^[19]。近年来缺乏关于糖尿病和 TDO 的研究,仅 SCHOR 等^[20]的早期研究发现,大鼠经诱发糖尿病后,肝细胞内 TDO 表达水平上调了 8 到 10 倍。由此推测糖尿病患者体内 IDO 和 TDO 的表达水平上调导致了色氨酸向犬尿酸原的分解代谢加强,从而造成 2 型糖尿病患者体内代谢产物色氨酸经尿液代谢的水平下降,犬尿酸原经尿液代谢的水平升高。目前,关于 2 型糖尿病患者尿液中犬尿酸表达状况的研究还鲜见报道,ALLEGRI 等^[21-22]的动物研究表明,肾组织中 KOT 活性远高于肝组织,而糖尿病机体肾组织中 KOT 表达水平下调。肾组织低水平的 KOT 可能降低犬尿酸原转化为犬尿酸的效率,引起犬尿酸经尿液代谢的水平下降。

本研究基于代谢组学研究方法,使用高精度的飞行时间质谱仪对样品进行检测、权威代谢组学数据处理软件 MPP 对数据进行处理分析,初步筛选和鉴定糖尿病潜在相关标志。最终鉴定出 3 个在中年 2 型糖尿病患者尿液中差异表达的代

谢产物:犬尿酸、色氨酸和犬尿酸原。但是这三个潜在生物标记物与糖尿病的相关关系以及相互作用机制仍需进一步探讨和验证。

参考文献

- [1] 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.
- [2] LI Lei, HU Yunfu, WANG Lily, et al. Early hepatic insulin resistance in mice: a metabolomics analysis [J]. *Mol Endocrinol*, 2010, 24(3): 657-666.
- [3] WANG-SATTLER R, YU Z, HERDER C, et al. Novel biomarkers for pre-diabetes identified by metabolomics [J]. *Mol Syst Biol* 2012, 8: 615.
- [4] WEI Heng, PASMAN W, RUBINGH C, et al. Urine metabolomics combined with the personalized diagnosis guided by Chinese medicine reveals subtypes of pre-diabetes [J]. *Mol Biosyst*, 2012, 8(5): 1482-1491.
- [5] ZHANG Aihua, SUN Hui, WU Xiuhong, et al. Urine metabolomics [J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 414: 65-69.
- [6] BERETTA G, CANEVA E, FACINO R M. Kynurenic acid in honey from arboreal plants: MS and NMR evidence [J]. *Planta Med*, 2007, 73(15): 1592-1595.
- [7] LENZ E M, BRIGHT J, KNIGHT R, et al. Metabonomics with 1H-NMR spectroscopy and liquid chromatography-mass spectrometry applied to the investigation of metabolic changes caused by gentamicin-induced nephrotoxicity in the rat [J]. *Biomarkers*, 2005, 10(2-3): 173-187.
- [8] BOURCIER S, BENOIST J F, CLERC F, et al. Detection of 28 neurotransmitters and related compounds in biological fluids by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20(9): 1405-1421.
- [9] MA Yuanyuan, XIONG Youling, ZHAI Jianjun, et al. Fractionation and evaluation of radical-scavenging peptides from *in vitro* digests of buckwheat protein [J]. *Food Chem*, 2010, 118(3): 582-588.
- [10] MUJAHID M, SASIKALA C, RAMANA C. Aniline-induced tryptophan production and identification of indole derivatives from three purple bacteria [J]. *Curr Microbiol*, 2010, 61(4): 285-290.
- [11] LIU Lihong, CHEN Ying, ZHANG Yulin, et al. Determination of tryptophan and kynurenine in human

- plasma by liquid chromatography-electrochemical detection with multi-wall carbon nanotube-modified glassy carbon electrode [J]. *Biomed Chromatogr*, 2011, 25(8): 938-942.
- [12] TODOROVSKI T, FEDOROVA M, HOFFMANN R. Mass spectrometric characterization of peptides containing different oxidized tryptophan residues [J]. *J Mass Spectrom*, 2011, 46(10): 1030-1038.
- [13] FLOEGEL A, STEFAN N, YU Z, et al. Identification of serum metabolites associated with risk of type 2 diabetes using a targeted metabolomic approach [J]. *Diabetes*, 2013, 62(2): 639-648.
- [14] YUAN Kailong, KONG Hongwei, GUAN Yufeng, et al. A GC-based metabolomics investigation of type 2 diabetes by organic acids metabolic profile [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2007, 850(1-2): 236-240.
- [15] DAYER M R, SAFARI I, DAYER M S. New evidence on hypoglycemic effect of quinolinic acid in diabetic rats [J]. *Pak J Biol Sci*, 2009, 12(14): 1025-1030.
- [16] HUO Taoguang, CAI Shuang, LU Xiumei, et al. Metabonomic study of biochemical changes in the serum of type 2 diabetes mellitus patients after the treatment of metformin hydrochloride [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(4): 976-982.
- [17] 彭全辉, 王之盛, 周安国. 色氨酸分解代谢对 T 细胞分化增殖的影响 [J]. *中国饲料*, 2007(18): 4-6.
- [18] CALLE M C, FERNANDEZ M L. Inflammation and type 2 diabetes [J]. *Diabetes Metab*, 2012, 38(3): 183-191.
- [19] KOENIG P, NAGL C, NEURAUER G, et al. Enhanced degradation of tryptophan in patients on hemodialysis [J]. *Clin Nephrol*, 2010, 74(6): 465-470.
- [20] SCHOR J M, FRIEDEN E. Induction of tryptophan peroxidase of rat liver by insulin and alloxan [J]. *J Biol Chem*, 1958, 233(3): 612-618.
- [21] ALLEGRI G, RAGAZZI E, BERTAZZO A, et al. Tryptophan metabolism along the kynurenine pathway in rats [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2003, 527: 481-496.
- [22] ALLEGRI G, ZACCARIN D, RAGAZZI E, et al. Metabolism of tryptophan along the kynurenine pathway in alloxan diabetic rabbits [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2003, 527: 387-393.

收稿日期: 2013-05-13

(上接第 906 页)

- [4] 黄翠莉, 吴苏喜, 刘瑞兴, 等. 油茶籽油对大鼠降血脂和预防脂肪肝的影响 [J]. *食品科学*, 2011, 32: 332-335.
- [5] 尹岭, 张笑明, 李莉, 等. 茶油对兔血脂及动脉粥样硬化的影响 [J]. *食品科学*, 2011, 32: 289-292.
- [6] AOYAMA T, NOSAKA N, KASAI M. Research on the nutritional characteristics of medium-chain fatty acids [J]. *J Med Invest*, 2007, 54: 385-388.
- [7] 张永, 刘英华, 张新胜, 等. 中链甘油三酯对 C57BL/6J 小鼠棕色脂肪组织的影响 [J]. *军医进修学院学报*, 2011, 32: 1155-1157.
- [8] 申瑞玲, 马婧. 四种肥胖动物造模方法的比较 [J]. *动物医学进展*, 2007, 28: 105-108.
- [9] COSTA C A, CARLOS A S, DOS SANTOS ADE S, et al. Abdominal adiposity, insulin and bone quality in young male rats fed a high-fat diet containing soybean or canola oil [J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2011, 66: 1811-1816.
- [10] XUE C, LIU Y, WANG J, et al. Chinese hypertriglyceridemic subjects of different ages responded differently to consuming oil with medium- and long-chain fatty acids [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2009, 73: 1711-1717.
- [11] 薛长勇, 吴坚. 生物活性脂类: 中链脂肪酸及其与脂代谢和糖代谢 [J]. *临床药物治疗杂志*, 2011, 9: 4-7.

收稿日期: 2013-05-29