

核桃油对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠结肠炎的影响

缪福俊^{1,2}, 王宣军¹, 宁德鲁², 耿树香²

(1. 云南农业大学 食品科学技术学院, 昆明 650201; 2. 云南省林业和草原科学院, 昆明 650201)

摘要:探讨核桃油(WO)对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的小鼠结肠炎的保护作用。将昆明种小鼠随机分为4组,即正常对照组(Con)、DSS组、DSS+WO组和WO组,检测小鼠血清促炎因子、结肠组织抗氧化酶活性和Nod样受体蛋白-3(NLRP3)及相关mRNA的转录水平。结果表明:与Con组相比,DSS组小鼠血清白细胞介素1 β (IL-1 β)和IL-6含量,结肠NLRP3、半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)和IL-1 β mRNA转录水平及NLRP3蛋白表达水平极显著增高($p < 0.01$),结肠超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和过氧化氢酶(CAT)活性极显著下降($p < 0.01$);与DSS组相比,DSS+WO组血清IL-1 β 和IL-6含量、结肠NLRP3和Caspase-1mRNA转录水平及NLRP3蛋白表达水平极显著降低($p < 0.01$),结肠SOD、GSH-Px和CAT活性极显著增强($p < 0.01$)。核桃油通过增强结肠的抗氧化能力,并可能通过抑制NLRP3炎性小体通路基因的转录水平,降低相关炎性因子的表达水平,对DSS诱导的小鼠结肠炎发挥保护作用。

关键词:核桃油;葡聚糖硫酸钠;结肠炎;Nod样受体蛋白-3;炎性因子;保护作用

中图分类号:TS225.1;TS201.4 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)02-0072-06

Effect of walnut oil on dextran sulfate sodium induced colitis in mice

MIAO Fujun^{1,2}, WANG Xuanjun¹, NING Delu², GENG Shuxiang²

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Yunnan Academy of Forestry and Grassland, Kunming 650201, China)

Abstract: The protective effect of walnut oil (WO) on dextran sulfate sodium (DSS) induced colitis in mice was investigated. Kunming mice were randomly divided into four groups: control group (Con), DSS group, DSS + WO group and WO group. Serum proinflammatory factors, antioxidant enzyme activity in colon tissue, Nod-like receptor pyrin domain 3 (NLRP3) and related mRNA levels were detected. The results showed that, compared with Con group, the contents of serum IL-1 β and IL-6, transcription levels of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 β mRNA and NLRP3 protein expression level in colon of DSS group significantly increased ($p < 0.01$), and activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) in colon significantly decreased ($p < 0.01$). Compared with DSS group, the contents of serum IL-1 β and IL-6, transcription levels of NLRP3 and Caspase-1 mRNA and NLRP3 protein expression level in colon of DSS + WO group significantly decreased ($p < 0.01$), and the activities of SOD, GSH-Px and CAT in colon significantly increased ($p < 0.01$). Walnut oil might play a protective role in DSS induced colitis in mice by enhancing the antioxidant capacity of the colon and possibly reducing the expression level of related inflammatory factors by inhibiting the transcription level of NLRP3 inflammasome pathway genes.

Key words: walnut oil; dextran sulfate sodium (DSS); colitis; Nod-like receptor pyrin domain 3 (NLRP3); inflammatory factor; protective effect

收稿日期:2020-07-27;修回日期:2020-10-28

基金项目:云南省重大科技专项(2018ZG003)

作者简介:缪福俊(1986),男,博士研究生,主要从事食品资源与营养工程研究(E-mail)miaofujun@yeah.net。

通信作者:王宣军,教授,博士生导师(E-mail)wangxuanjun@gmail.com;宁德鲁,研究员,硕士(E-mail)ningdelu@163.com。

核桃(*Juglans regia*)属胡桃科胡桃属植物,是我

国传统的医食两用佳品,具有较高的营养和商业价值^[1]。我国已成为世界上最大的核桃种植国家,核桃种植主要分布在云南省、新疆维吾尔自治区、河北省、陕西省^[2]。诸多研究表明,核桃油含有多种营养成分,具有抗氧化、抗炎、预防心血管疾病、健脑等功效^[3-5]。

肠道是机体营养消化吸收的最大场所,然而肠道易受环境、饮食、药物等因素的影响引发炎症^[6-7]。其中,炎症性肠病(Inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病,其发病机制尚未完全清楚,可能与肠道氧化应激、黏膜免疫、炎性因子、肠道菌群等变化密切相关^[8-9]。近年来,炎症性肠病已成为全球高发疾病,严重影响人类的健康。从天然产物中提取安全、低毒或无副作用的功能性成分用于炎症性肠病的治疗已成为目前的研究热点^[10-11]。

葡聚糖硫酸钠(Dextran sulfate sodium, DSS)是构建小鼠炎症性肠病动物模型的常用方法之一,通过间断灌胃 DSS 可诱导结肠炎症^[12-13]。Nod 样受体蛋白-3(Nod-like receptor pyrin domain 3, NLRP3)是多种蛋白质组成的蛋白复合体,其形成可活化半胱氨酸蛋白酶-1(Cysteine-aspartic proteases-1, Caspase-1)以诱导白细胞介素 1β (Interleukin- 1β , IL- 1β)、IL-6等炎性介质的成熟和分泌,促进炎症反应的发生^[14]。已有研究表明,核桃油可以通过恢复肠道屏障功能减轻 DSS 诱导的小鼠结肠炎症^[15]。然而,核桃油对 DSS 诱导的小鼠结肠中 NLRP3 炎性小体相关通路的影响尚不清楚。因此,本研究利用 DSS 建立小鼠结肠损伤模型,通过检测抗氧化酶活性、炎性因子含量、NLRP3 炎性小体相关 mRNA 转录水平等指标变化,评价核桃油对小鼠肠道损伤的保护作用,以期核桃油在机体肠道健康及疾病的预防治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物及试剂

昆明种雄性小鼠,5周龄,(22 ± 2)g,购买于昆明医科大学,许可证号为 SCXK(滇)K2015-0002。普通维持饲料,购买于北京科奥协力饲料有限公司,许可证号为 SCXK(京)2018-06073。饲养条件:温度为(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度为(45 ± 5)%,12 h 日光灯明暗交替循环,自由进食和饮水,适应性饲养 7 d。

核桃仁,由云南省林业和草原科学院经济林木研究所提供,经全自动液压榨油机低温压榨(压力 48 MPa,室温)获得核桃油,灌装于棕色玻璃瓶中,

4 $^{\circ}\text{C}$ 低温保存。

Mouse IL- 1β 和 IL-6 ELISA 检测试剂盒,上海生工生物工程技术有限公司;超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)和丙二醛(MDA)试剂盒,南京建成生物科技有限公司;Trizol、cDNA 反转录试剂盒、SYBR green 试剂盒,大连宝生物工程有限公司;DSS,上海生工生物工程技术有限公司;UltraSensitiveTM sP 免疫组化试剂盒,福州迈新生物技术开发有限公司;NLRP3 兔多克隆抗体试剂盒,上海爱必信生物科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

Allegra 64R 超速冷冻离心机,美国 BECKMAN; ELx800TM 酶标仪,美国 BIOTEK;RM2135 石蜡切片机,德国 LEICA;BX43F 正置显微镜,日本 OLYMPUS;CFX96Touch 荧光定量 PCR 仪,美国 BIO-RAD。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组与给药

将 40 只昆明种小鼠随机为 4 组,即对照组(Con)、DSS 模型组(DSS)、DSS+核桃油组(DSS+WO)和核桃油组(WO),每组 10 只。其中 DSS+WO 组和 WO 组灌胃核桃油 2.5 mL/(kg·d),Con 和 DSS 组灌胃同剂量的生理盐水,连续灌胃 27 d。期间,15 d 时,DSS 组和 DSS+WO 组通过间断饮用 3% DSS(溶于蒸馏水,饮用 DSS 3 d,间隔 2 d,循环 3 次)诱导小鼠产生结肠炎。28 d 时对各组小鼠摘眼球取血并分离血清,小鼠脱臼处死后,迅速解剖取出结肠组织,进行后续实验。所有程序遵循中国小动物保护协会的要求。

1.2.2 肠道组织 SOD、GSH-Px、CAT 活性和 MDA 含量检测

称取各组小鼠结肠组织 0.5 g 于玻璃匀浆管内,加入 4.5 mL 生理盐水,研磨至组织匀浆化,得到质量分数 10% 的匀浆。根据 SOD、GSH-Px、CAT 和 MDA 试剂盒说明书进行检测。

1.2.3 血清 IL- 1β 和 IL-6 含量检测

对各组小鼠摘眼球采血,3 500 r/min 离心获得血清,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。根据 Mouse IL- 1β 和 IL-6 ELISA 检测试剂盒说明书进行检测。

1.2.4 肠道组织 NLRP3、Caspase-1 和 IL- 1β mRNA 相对表达检测

NLRP3、Caspase-1 和 IL- 1β 基因引物序列如表 1 所示,由北京擎科新业生物技术有限公司合成。根据 RNA 提取说明书提取结肠组织 RNA,并检测

OD_{260}/OD_{280} 值。根据 cDNA 反转录试剂盒说明书反转录成 cDNA, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。荧光定量 PCR 仪检测各组结肠组织中 *NLRP3*、*Caspase - 1* 和 *IL - 1 β* mRNA 相对表达量。反应体系为: SYBR 10 μL 、引物各 1 μL 、cDNA 模板 2 μL 、ddH₂O 6 μL 。反应条件为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 10 s, T_m 退火 20 s, $40\times$ 循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 mRNA 的相对表达量。

表 1 引物序列

基因	方向	序列(5' - 3')
<i>NLRP3</i>	F	ATTACCGCCCGACAATAGG
	R	CATGAGTCAGCTAGGCTAGAA
<i>Caspase - 1</i>	F	TAGCAGAGTCGTAAGACATG
	R	GGGGCTTCTTTGAAGGCACAT
<i>IL - 1β</i>	F	TGCATGCTCTCGCTAGGACAG
	R	TAGTGGTGGTCGGAGATT

1.2.5 肠道组织 NLRP3 蛋白免疫组化检测

取各组小鼠结肠组织 0.5 cm 于 4% 多聚甲醛中固定, 经酒精脱水和石蜡包埋后用石蜡切片机进行切片, 厚度 5 μm 。根据免疫组化试剂盒说明书进行染色, 用 NLRP3 兔多克隆抗体 (1:200) 室温孵育 1 h, 加入二抗 IgG, 放置 15 min, DAB 复染细胞核, 树脂封片。组织学观察采用 400 倍放大, 每张切片连续观察 5 个视野, 采用 Image pro - Plus 6.0 软件 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) 统计各组 NLRPP3 蛋白的表达面积。

1.2.6 核桃油相关指标检测

依据 GB/T 22327—2019《核桃油》中规定的检测方法分别进行折光指数、酸值、碘值、脂肪酸组成检测; 过氧化值依据 GB 5009.227—2016 进行检测; 多酚依据 LS/T 6119—2017 进行检测; 角鲨烯依据 LS/T 6120—2017 进行检测; β -谷甾醇依据 GB/T 25223—2010 进行检测; 胡萝卜素依据 GB 5009.83—2016 进行检测; γ -生育酚依据 GB/T 26635—2011 进行检测。

1.2.7 统计与分析

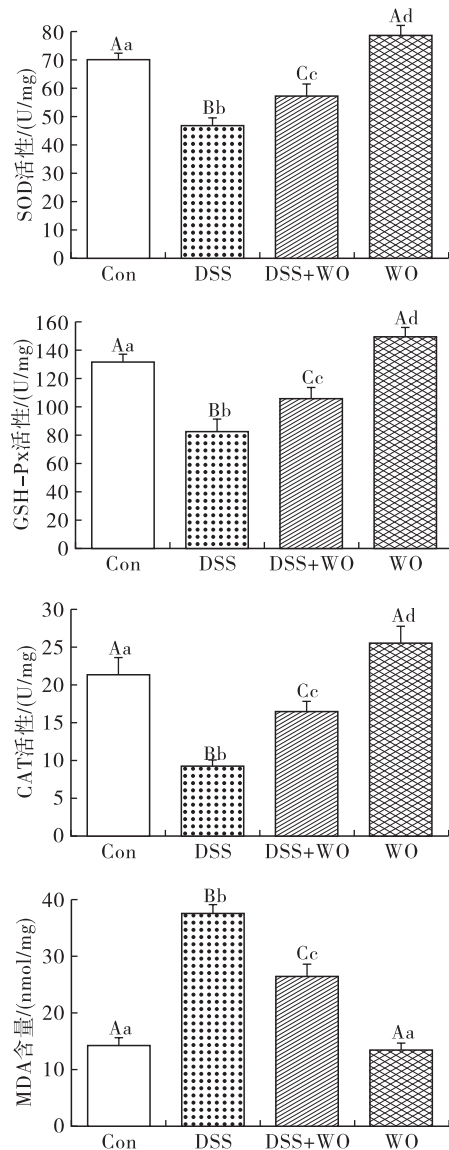
实验数据以“平均值 \pm 标准差 ($x \pm s$)”表示, 采用 SPSS 23.0 统计软件的 ANOVA 程序进行单因素方差分析。采用邓肯氏法 (Duncan) 进行多重比较检验, $p < 0.05$ 表示差异显著, $p < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 核桃油对小鼠结肠组织抗氧化酶活性的影响

生物机体抗氧化酶系统中 SOD、GSH - Px 和 CAT 的活力高低间接反映了机体清除自由基能力及抗氧化能力的强弱^[16-17]。DSS 进入肠道后, 会降

低抗氧化酶活性, 增加自由基从而加剧氧化应激诱发结肠炎症。核桃油对小鼠结肠 SOD、GSH - Px、CAT 活性和 MDA 含量的影响见图 1。



注: 不同大写字母表示差异极显著 ($p < 0.01$); 不同小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。下同

图 1 核桃油对小鼠结肠 SOD、GSH - Px、CAT 活性和 MDA 含量的影响

由图 1 可知, 与 Con 组相比, DSS 组小鼠结肠组织 SOD、GSH - Px 和 CAT 的活性极显著下降 ($p < 0.01$), 而 MDA 含量极显著升高 ($p < 0.01$), 提示 DSS 能显著降低肠道抗氧化能力。与 DSS 组相比, DSS + WO 组小鼠结肠组织 SOD、GSH - Px 和 CAT 的活性极显著增加 ($p < 0.01$), 而 MDA 含量极显著降低 ($p < 0.01$), 表明核桃油具有显著抗氧化作用, 能提高 DSS 诱导炎症结肠的抗氧化能力。这与前人研究结果相似, Zhao 等^[18] 研究表明食用核桃油可增加机体内 SOD、GSH - Px 等抗氧化酶活性, 减轻机体氧化应激。

2.2 核桃油对小鼠血清 IL-1 β 和 IL-6 含量的影响

氧化应激可以激活 NLRP3 炎性小体的组装和活性,诱导炎性因子 IL-1 β 和 IL-6 的表达^[19]。核桃油对小鼠血清 IL-1 β 和 IL-6 含量的影响见图 2。

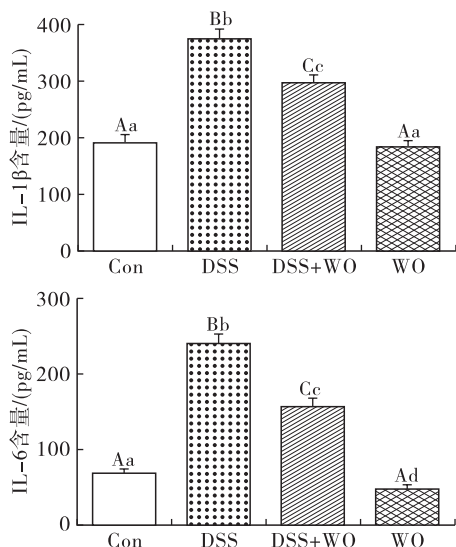


图2 核桃油对小鼠血清 IL-1 β 和 IL-6 含量的影响

由图 2 可知,与 Con 组相比,DSS 组小鼠血清炎性因子 IL-1 β 和 IL-6 含量极显著升高 ($p < 0.01$)。与 DSS 组相比,DSS + WO 组小鼠血清 IL-1 β 和 IL-6 含量极显著下降 ($p < 0.01$),表明核桃油能降低 DSS 诱导的小鼠血清炎性因子的水平,对细胞炎性因子的表达具有抑制作用。

2.3 核桃油对小鼠结肠 NLRP3 炎性小体相关因子 mRNA 的影响

小鼠结肠组织中 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 β mRNA 的转录水平见图 3。

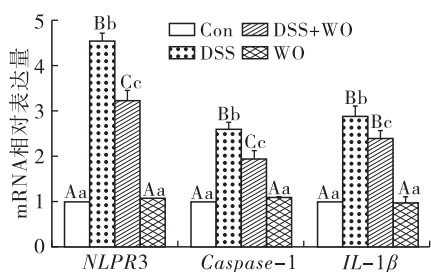


图3 小鼠结肠组织中 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 β mRNA 的相对表达量

由图 3 可知,与 Con 组相比,DSS 组极显著上调肠道结肠组织中 NLRP3 炎性小体相关因子 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 β mRNA 的相对表达量 ($p < 0.01$)。与 DSS 组相比,DSS + WO 组结肠组织中 NLRP3 和 Caspase-1 mRNA 的相对表达量极显著降低 ($p < 0.01$),IL-1 β mRNA 的相对表达量显著降低 ($p < 0.05$)。WO 组与 Con 组相比无显著差异

($p > 0.05$)。说明核桃油可以抑制 DSS 诱导的小鼠结肠 NLRP3 炎性小体相关因子 mRNA 的转录水平。

2.4 核桃油对小鼠结肠 NLRP3 蛋白表达的影响

为进一步验证核桃油对 DSS 诱导的小鼠结肠组织中 NLRP3 蛋白的影响,采用免疫组化方法检测了各组小鼠结肠中 NLRP3 蛋白水平,结果见图 4。

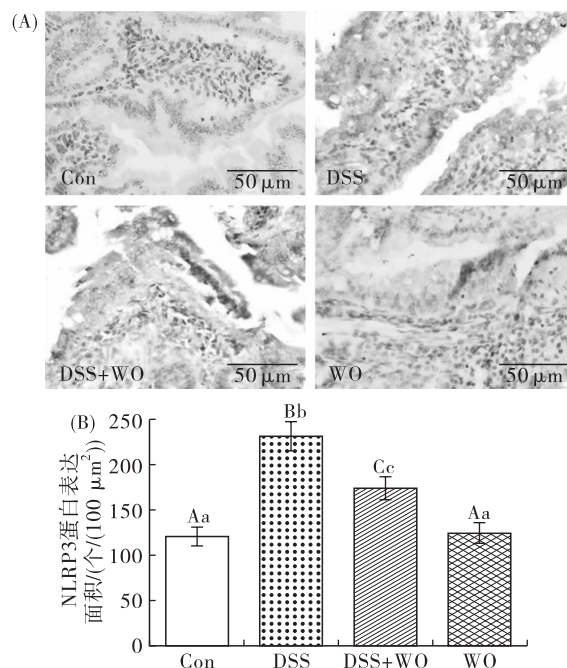


图4 小鼠结肠 NLRP3 免疫组化 (A) 及表达检测 (B) 结果

由图 4(A) 可知:与 Con 组相比,DSS 组小鼠结肠组织中 NLRP3 蛋白阳性表达明显增多,与 DSS 组相比,DSS + WO 组 NLRP3 蛋白阳性表达减少。由图 4(B) 可知:与 Con 组相比,DSS 组小鼠结肠组织中 NLRP3 蛋白表达面积显著增高 ($p < 0.01$);与 DSS 组相比,DSS + WO 组 NLRP3 蛋白表达面积显著下降 ($p < 0.01$);WO 组与 Con 组相比无显著差异 ($p > 0.05$)。

2.5 核桃油相关理化指标、脂肪酸组成及微量成分含量 (见表 2)

由表 2 可知,核桃油脂肪酸组成主要以油酸、亚油酸和 α -亚麻酸为主,不饱和脂肪酸含量高达 90% 以上。核桃油微量成分主要以胡萝卜素、多酚、 β -谷甾醇、角鲨烯和 γ -生育酚为主。核桃油具有良好的脂肪酸结构,摄入 $n-3/n-6$ 较高比值的多不饱和脂肪酸对炎症性肠病具有明显的预防作用。其作用机制可能是通过调控机体肠道菌群组成及多样性水平相关,增加肠道柔嫩梭菌属 (*Faecalibacterium*)、罗氏菌属 (*Roseburia*) 和梭菌属 (*Clostridium*) 的相对丰度,这 3 类菌可以产生丁酸盐,而丁酸作为一种短链脂肪酸具有抗炎和免疫调节的功能^[20]。此外,核桃油中多酚类化合物主要为鞣质、黄酮类和酚酸成分,

经肠道微生物菌群代谢生成尿石素 A 和尿石素 B, 尿石素在机体内可抑制相关炎症因子的表达减轻炎症反应, 如 NF- κ B、诱导型 iNOS、TNF- α 、IL-1 β 等^[21-22]。

表 2 核桃油理化指标、脂肪酸组成及微量成分含量

项目	指标
理化指标	
折光指数(n_D^{20})	1.48 ± 0.03
酸值(KOH)/(mg/g)	0.50 ± 0.01
过氧化值/(mmol/kg)	1.70 ± 0.06
碘值(I)/(g/100 g)	153.00 ± 16.62
脂肪酸组成/%	
棕榈酸(C16:0)	5.62 ± 0.26
硬脂酸(C18:0)	2.95 ± 0.08
油酸(C18:1)	16.66 ± 1.43
亚油酸(C18:2)	64.19 ± 5.32
α -亚麻酸(C18:3)	10.40 ± 0.94
微量成分	
多酚/(mg/kg)	88.29 ± 6.04
β -谷甾醇/(mg/kg)	15.43 ± 0.66
角鲨烯/(mg/kg)	13.56 ± 0.53
胡萝卜素/%	0.44 ± 0.02
γ -生育酚/(mg/kg)	353.00 ± 28.05

3 结论

本研究采用葡聚糖硫酸钠致使小鼠结肠抗氧化能力减弱, NLRP3 炎症小体相关表达水平增加, 说明通过间断灌胃葡聚糖硫酸钠可诱导小鼠产生结肠炎症。通过核桃油灌胃后, 显著降低了小鼠血清 IL-1 β 和 IL-6 含量, 结肠 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 β mRNA 转录水平及 NLRP3 蛋白表达水平, 并能增强结肠中 SOD、GSH-Px、CAT 活性, 对葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎发挥保护作用。核桃油对炎症性肠病具有潜在的疗效, 但其在肠道炎症中确切作用机制仍需进一步探索。

参考文献:

[1] HAYES D, ANGOVE M J, TUCCI J, et al. Walnuts (*Juglans regia*) chemical composition and research in human health[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2016, 56(8): 1231-1241.

[2] 傅本重, 邹路路, 朱洁倩, 等. 中国核桃生产现状与发展思路[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(18): 13-16.

[3] LUCA P, CLAUDIO F, CRISTINA C, et al. Kernel oil content and oil composition in walnut (*Juglans Regia* L.) accessions from north-eastern Italy [J]. J Sci Food Agric, 2018, 98: 955-962.

[4] 赵声兰, 陈朝银, 葛锋, 等. 核桃油功效成分研究进展 [J]. 云南中医学院学报, 2010, 33(6): 71-74.

[5] GENCOGLU H, ORHAN C, TUZCU M, et al. Effects of walnut oil on metabolic profile and transcription factors in rats fed high-carbohydrate/-fat diets [J]. J Food Biochem, 2020, 44(7): 13235-13243.

[6] KÖNIG J, WELLS J, CANI P D, et al. Human intestinal barrier function in health and disease [J]. Clin Transl Gastroen, 2016, 7(10): 196-208.

[7] DANESE S, FIOCCHI C, PANÉS J. Drug development in IBD: from novel target identification to early clinical trials [J]. Gut, 2016, 65(8): 1233-1239.

[8] FRANZOSA E A, SIROTA-MADI A, AVILA-PACHECO J, et al. Gut microbiome structure and metabolic activity in inflammatory bowel disease [J]. Nat Microbiol, 2019, 4(2): 293-305.

[9] JOHANSSON M E, HANSSON G C. Immunological aspects of intestinal mucus and mucins [J]. Nat Rev Immunol, 2016, 16(10): 639-649.

[10] NG S C, SHI H Y, HAMIDI N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies [J]. Lancet, 2017, 390(10114): 2769-2778.

[11] SIEW C N, ASHWIN N A. New approaches along the IBD course: diet, tight control and stem cells [J]. Nat Rev Gastro Hepat, 2019, 16(2): 82-84.

[12] 徐永芳. DSS 诱导小鼠炎症肠病模型的建立及其病理机制的探讨 [D]. 江苏苏州: 苏州大学, 2017.

[13] 周炜洵, 陈杰. 炎症性肠病病理诊断: 标准与实践 [J]. 中华消化杂志, 2016, 36(7): 439-441.

[14] KIM M J, YOON J H, RYU J H. Mitophagy: a balance regulator of NLRP3 inflammasome activation [J]. BMB Rep, 2016, 49(10): 529-535.

[15] BARTOSZEK A, MAKARO A, BARTOSZEK A, et al. Walnut oil alleviates intestinal inflammation and restores intestinal barrier function in mice [J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1302-1320.

[16] SELVARATNAM J S, ROBAIRE B. Effects of aging and oxidative stress on spermatozoa of superoxide-dismutase 1- and catalase-null mice [J]. Biol Reprod, 2016, 95(3): 60-72.

[17] WANG Y, LI D, CHENG N, et al. Antioxidant and hepatoprotective activity of vitex honey against paracetamol induced liver damage in mice [J]. Food Funct, 2015, 6(7): 2339-2349.

[18] ZHAO H, LI J, ZHAO J, et al. Antioxidant effects of compound walnut oil capsule in mice aging model induced by D-galactose [J]. Food Nutr Res, 2018, 62: 1371-1380.

(下转第 81 页)

- [20] LIU Y, PRENTICE K J, EVERSLEY J A, et al. Rapid elevation in CMPF may act as a tipping point in diabetes development[J]. *Cell Rep*, 2016, 14(12): 2889–2900.
- [21] ZHANG S, CHEN P, JIN H, et al. Circulating 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanoic acid (CMPF) levels are associated with hyperglycemia and beta cell dysfunction in a Chinese population[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 3114.
- [22] YI J, JIN H, ZHANG R, et al. Increased serum 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanoic acid (CMPF) levels are associated with glucose metabolism in Chinese pregnant women[J]. *J Endocrinol Invest*, 2018, 41(6): 663–670.
- [23] KOPPE L, POITOUT V. CMPF: a biomarker for type 2 diabetes mellitus progression? [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2016, 27(7): 439–440.
- [24] LANKINEN M A, HANHINEVA K, KOLEHMAINEN M, et al. CMPF does not associate with impaired glucose metabolism in individuals with features of metabolic syndrome [J/OL]. *Plos One*, 2015, 10(4): e0124379 [2020-07-21]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124379>.
- [25] ZHENG J S, LIN M, IMAMURA F, et al. Serum metabolomics profiles in response to *n*-3 fatty acids in Chinese patients with type 2 diabetes: a double-blind randomised controlled trial [J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 29522 [2020-05-17]. <https://www.nature.com/articles/srep29522>.
- [26] RETNAKARAN R, YE C, KRAMER C K, et al. Maternal serum prolactin and prediction of postpartum beta-cell function and risk of prediabetes/diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2016, 39(7): 1250–1258.
- [27] PRENTICE K J, WENDELL S G, LIU Y, et al. CMPF, a metabolite formed upon prescription *omega*-3-acid ethyl ester supplementation, prevents and reverses steatosis[J]. *EBioMedicine*, 2018, 27: 200–213.
- [28] MOHAN H, BRANDT S L, KIM J H, et al. 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanoic acid (CMPF) prevents high fat diet-induced insulin resistance via maintenance of hepatic lipid homeostasis [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2019, 21(1): 61–72.
- [29] LIEBICH H M, PICKEERT A, TETSCHNER B. Gas chromatographic and gas chromatographic-mass spectrometric analysis of organic acids in plasma of patients with chronic renal failure [J]. *J Chromatogr*, 1984, 289: 259–266.
- [30] SNAUWAERT E, VAN BIESEN W, RAES A, et al. Concentrations of representative uraemic toxins in a healthy versus non-dialysis chronic kidney disease paediatric population [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2018, 33(6): 978–986.
- [31] MIYAMOTO Y, IWAO Y, MERA K, et al. A uremic toxin, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate induces cell damage to proximal tubular cells via the generation of a radical intermediate [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(9): 1207–1214.
- [32] SASSA T, MATSUNO H, NIWA M, et al. Measurement of furancarboxylic acid, a candidate for uremic toxin, in human serum, hair, and sweat, and analysis of pharmacological actions in vitro [J]. *Arch Toxicol*, 2000, 73(12): 649–654.
- [33] LUCE M, BOUCHARA A, PASTURAL M, et al. Is 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate (CMPF) a clinically relevant uremic toxin in haemodialysis patients? [J/OL]. *Toxins*, 2018, 10(5): 205 [2020-05-17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29783628>.

(上接第76页)

- [19] TSCHOPP J, SCHRODER K. NLRP3 inflammasome activation: the convergence of multiple signalling pathways on ROS production [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(3): 210–215.
- [20] HOLSCHER H D, GUETTERMAN H M, SWANSON K S, et al. Walnut consumption alters the gastrointestinal microbiota, microbially derived secondary bile acids, and health markers in healthy adults: a randomized controlled trial [J]. *J Nutr*, 2018, 148(6): 861–867.
- [21] CLAUDIA S G, MARIA I P. Health benefits of walnut polyphenols: an exploration beyond their lipid profile [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(16): 3373–3383.
- [22] EI-SHITANY N A, EI-BASTAWISSY E A, EI-DESOKY K. Ellagic acid protects against carrageenan-induced acute inflammation through inhibition of nuclear factor kappa B, inducible cyclooxygenase and proinflammatory cytokines and enhancement of interleukin-10 via an antioxidant mechanism [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 19(2): 290–299.