

基于代谢组学的胃癌检测研究进展

徐晓惠,吕文亮,孙易娜,章程鹏

(湖北中医药大学中医临床学院,湖北 武汉 430061)

摘要:代谢组学是一种快速有效识别新的癌症生物标志物的方法,已逐渐成为基因组学和蛋白质组学的补充技术。全文通过整理近五年基于代谢组学技术研究胃癌检测的相关研究,归纳胃癌相关特异代谢产物及物质代谢路径,认为今后可从葡萄糖或支链氨基酸代谢等作为切入点来探究胃癌检测的代谢组学相关物质指标。

关键词:胃肿瘤;代谢组学;检测;代谢标志物

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2019)08-0681-04

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2019.08.B001

Research Progress of Gastric Cancer Detection Based on Metabolomics

XU Xiao-hui, LV Wen-liang, SUN Yi-na, ZHANG Cheng-peng

(Clinical College of Traditional Chinese Medicine of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China)

Abstract: Metabolomics was a fast and effective method to identify new cancer biomarkers, it has gradually become a complementary technology of genomics and proteomics. In this paper, researches in the past five years on gastric cancer detection based on metabolomics technology were reviewed, the specific metabolites and metabolic pathways of gastric cancer were summarized, in the future, glucose metabolism or branched chain amino acids maybe the breakthrough point to probe into gastric cancer detection indicators of metabolomics related material.

Subject words: gastric cancer; metabolites; detection; metabolic marker

胃癌(GC)是世界第五大高发恶性肿瘤,每年约有95万例新发病例,超过一半出现在东亚(主要集中在中国),每年约有72万多人死于GC^[1,2]。较之晚期诊断的患者,胃癌患者经早期诊断和切除术后,5年生生存率明显提高^[3],故早期诊断及筛查尤为重要,目前基于内镜的活检和病理检查是胃癌诊断的金标准,然而在筛查中,胃镜这一侵入性检查的人群依从性较低^[4]。故探寻胃癌无创生物标志物成为研究的热点领域。代谢组学已经成为一种快速有效识别新的癌症生物标志物的方法,逐渐成为基因组学和蛋白质组学的补充技术^[5],代谢组学在其他癌症中已有研究,如前列腺癌^[6]、胰腺癌^[7]、结直肠癌^[8]、卵巢癌^[9]、肺癌^[10]、子宫内膜癌^[11]等,但至今在胃癌领域

研究较少。本文旨在介绍目前代谢组学在胃癌检测中的研究新进展,探讨代谢组学在胃癌诊断中的价值及其在未来胃癌筛查中的应用前景。

1 碳水化合物

Zhang等^[12]将人类胃癌组织与正常胃组织进行¹H-NMR(氢核磁共振)、HPLC(高效液相色谱法)检测,行PCA(主成分分析)发现胃癌组织葡萄糖含量减少,乳酸增加。Wang等^[4]将人类I~IV期胃癌组织与正常胃组织行¹H-NMR检测,经OPLS-DA(正交偏最小二乘判别分析)发现,各期胃癌组织较正常组织相比乳酸均增加,葡萄糖含量降低,琥珀酸升高。Gu等^[13]将胃炎组(GS)、轻度胃发育不良组(LGD)、高度胃发育不良组(HGD)、胃癌组(GC)及正常对照组大鼠胃组织行NMR(核磁共振)检测,经PCA,PLS-DA(偏最小二乘判别分析),OPLS-DA发

基金项目:湖北省卫计委2016-2017年度中医药中西医结合科研项目(鄂卫生计生通[2017]20号)

通信作者:吕文亮,校长,教授,博士;湖北中医药大学校长办公室,湖北省武汉市武昌区昙华林特一号(430061);E-mail:lvwenliang66@126.com

收稿日期:2018-06-11; **修回日期:**2018-07-31

现乳酸在LGD、HGD、GC组显著升高；葡萄糖在GS组升高，在HGD和GC组降低。Chan等^[14]将胃癌患者及正常人尿液进行¹H-NMR检测，经PCA发现胃癌患者尿液蔗糖含量增加。Liang等^[15]将胃癌患者及正常人尿液行LC-MS(液相色谱-质谱联用)检测，经PCA、PLS-DA、OPLS-DA发现胃癌患者尿液柠檬酸、苹果酸升高，琥珀酸降低。Chen等^[16]将人类早期、晚期胃癌患者及正常人尿液行MRB-CE-MS(基于运动反应边界法的毛细管电泳-质谱检测技术)检测，经PCA发现与正常组相比胃癌组乳酸升高、而柠檬酸、苹果酸、琥珀酸等降低。胃癌组与正常组相比葡萄糖下降，乳酸升高^[4, 12-13, 16]，柠檬酸、苹果酸、琥珀酸明显降低。糖酵解在快速能量(ATP)合成中起主导作用，大量的乳酸产生有助于形成利于癌症扩散的酸性微环境^[17]。综上所述，运用¹H-NMR、LC-MS、MRB-CE-MS等方法检测胃癌组织或体液提示胃癌患者乳酸含量明显升高，乳酸在人体新陈代谢和运动中不断被产生，其浓度一般不会明显上升，若乳酸产生过快，或未被及时排除则会浓度提高。胃癌组乳酸明显升高可能是由于癌细胞糖酵解异常活跃，与Warburg效应的结果一致，1956年，Otto Warburg教授首次发现与正常细胞相比即使在有氧条件下癌细胞通常会在细胞质中通过糖酵解而不是像正常细胞那样在线粒体中通过三羧酸循环获取能量，这种癌细胞中葡萄糖代谢的改变(有氧糖酵解)被称为“沃伯格效应”。Companiononi等^[17]研究分析从正常胃黏膜到肠上皮化生的进展过程中涉及到的基因表达和分子过程，发现与正常黏膜相比，肿瘤细胞的沃伯格效应不仅产生能量，还减少活性氧的生成，稳定线粒体膜电位，促进人类胃癌细胞在代谢应激下的增殖。相比之下，“沃格伯效应”被抑制的胃癌细胞更容易受到代谢应激的影响。Yuan等^[18]研究已证实胃癌细胞的糖代谢变化，即上调的有氧糖酵解与基因突变、表观遗传修饰和蛋白质组学改变有关。所以，在胃癌及癌前病变的检测中，乳酸似乎可以作为一个敏感度较高的指标，但由于其易受机体运动的影响，所以在采集样本前应建议患者避免剧烈运动。

2 氨基酸

Zhang等^[12]将人类胃癌组织与正常胃组织进行

¹H-NMR、HPLC检测，行PCA发现胃癌组BCAA(支链氨基酸，包括异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸)上升，牛磺酸上升，酪氨酸上升。Wang等^[4]将人类胃癌组织与正常胃组织进行¹H-NMR检测，经OPLS-DA发现胃癌组BCAA、赖氨酸和丝氨酸上升；瓜氨酸降低。Gu等^[13]将胃炎组(GS)、轻度胃发育不良组(LGD)、高度胃发育不良组(HGD)、胃癌组(GC)、正常对照组大鼠胃组织进行NMR检测，经PCA、PLS-DA发现模型组精氨酸和谷氨酰胺明显降低；在LGD、HGD、GC组中，酪氨酸、丝氨酸和苯丙氨酸显著增加；在HGD和GC组甘氨酸和赖氨酸含量较高；苏氨酸在GS组降低，在GC组显著增加；丙氨酸在GS和HGD组减少；组氨酸在HGD组增加；在GC组天门冬氨酸显著增加。Wang等^[19]将胃癌患者及正常人血清行HPLCESI/Q-TOFMS(高效液相色谱法结合电喷雾电离/四极飞行时间质谱)检测，经PCA、PLS-DA发现胃癌患者甲硫氨酸蛋氨酸升高。Kuligowski等^[3]将非活动性胃炎且无Hp感染患者(NAG)、慢性活动性伴Hp感染胃炎患者(CAG)、癌前病变伴或不伴Hp感染患者(PLGC)、胃癌组(GC)血浆进行UPLC-MS(高效液相色谱-质谱联用)检测，经DDAG(决策导向无环图)，PLS-DA发现GC组与NAG、CAG和PLGC组相比色氨酸显著降低。Lario等^[20]将NAG、CAG、PLGC、GC患者血浆行LC-MS检测，经PCA、PLS-DA发现GC患者组氨酸降低。Yang^[21]等将胃癌患者及正常人血清行LC-MS检测，经PCA、PLS-DA发现胃癌患者精氨酸升高、天门冬氨酸升高。Chen等^[22]等将胃癌组与正常人尿液行GC-MS(气相色谱-质谱联用)检测，经PLS-DA发现胃癌组丙氨酸、甘氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸、脯氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、色氨酸升高。Chan等^[14]将胃癌患者及正常人尿液进行¹H-NMR检测，经PCA发现胃癌患者尿液丙氨酸升高。Liang等^[15]将胃癌患者及正常人尿液行LC-MS检测，经PCA、PLS-DA、OPLS-DA发现胃癌患者尿液丙氨酸、牛磺酸升高。Chen等^[16]将人类早期、晚期胃癌患者及正常人尿液行MRB-CE-MS检测，经PCA发现与正常组相比，胃癌组精氨酸、BCAA显著升高，组氨酸、蛋氨酸、丝氨酸、天门冬氨酸降低。晚期GC患者与早GC期患者相比缬氨酸和异亮氨酸水平较低。Jung等^[23]将胃癌患者与正常人尿液、胃癌组织与正常组织行NMR

检测,经 PCA、OPLS-DA 发现胃癌患者尿液丙氨酸、精氨酸升高;胃癌组织 BCAA、牛磺酸、谷氨酸、丙氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸升高。氨基酸是蛋白质结构的基本单位,是嘌呤和嘧啶合成的前体,嘧啶又是核糖核酸的前体,所以氨基酸含量增加可能反映了癌细胞快速增殖的状态。亮氨酸、缬氨酸和异亮氨酸统称支链氨基酸 (BCAA),BCAA 主要从血液转移到肿瘤组织中,以供应癌细胞增殖所需的氮元素,所以癌症患者组织及尿液中 BCAA 水平升高,BCAA 是肿瘤生长的必需物质,并通过各种途径被肿瘤细胞所利用,通过谷氨酸-谷氨酰胺轴作为核苷酸(和非必需氨基酸)生物合成的间接来源,并进一步分解成乙酰辅酶 a 和琥珀酰辅酶 a 进入三羧酸循环的循环,并能促进能量生产。研究显示,与正常组相比,胃癌组 BCAA 明显增加^[4,12,16,22-23],此外,BCAA 代谢酶,如 BCAT1(胞质支链氨基转移酶 1)和线粒体支链转氨酶 2,已成为肿瘤预后相关标志物,BCAT1 表达通常与恶性肿瘤的生长和进展相关,BCAA 通过激活哺乳动物 mTOR(雷帕霉素靶蛋白),来维持癌细胞生长和增殖,最近研究表明 BCAT1 的表达与某些癌症的 mTOR 活性高度相关。然而,有研究^[24]表明 BCAA 代谢失调与许多疾病如代谢综合症、肝脏疾病和癌症有关,所以,BCAA 的增高对于胃癌检测似乎缺乏特异性,但联合乳酸等碳水化合物指标或许可以提高胃癌诊断的敏感性。胃癌组样本中其他氨基酸如酪氨酸、赖氨酸、丙氨酸、甘氨酸、苏氨酸、脯氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸等增加,可能是癌症状态下蛋白质分解代谢和细胞外基质降解增加两者共同作用的结果,目前亦尚无研究表明这些氨基酸含量的变化对胃癌的诊断具有特异性。

3 脂 质

Yang 等^[21]发现与正常组相比胃癌组 FFA(脂肪酸)降低,二氢胆固醇升高。Jung 等^[23]发现人类胃癌组织与正常对照组相比脂质代谢产物降低。Gu 等^[13]发现模型大鼠 LDL/VLDL(低密度脂蛋白/极低密度脂蛋白)和 PUFA(多不饱和脂肪酸)均显著降低;3-羟基丁酸在 GS 组降低,在 GC 组显著升高;甘油在 LGD 和 GC 组增加,在 GC 组最高。胆固醇是细胞膜的重要组成部分,癌细胞的脂肪酸氧化和细胞膜合

成失调可能导致脂类代谢物含量异常,但脂类代谢物在各项研究中具有很大的异质性,所以尚不能以脂类及其代谢产物作为胃癌检测的特异性指标。

4 核 酸

Zhang 等^[12]发现人类胃癌组织较正常组次黄嘌呤增加。Jung 等^[23]发现人类胃癌组与正常对照组相比尿液黄嘌呤降低。Gu 等^[13]发现黄嘌呤在 LGD 和 GC 组表现出高水平,GC 组最高。虽然癌细胞会快速复制,但核酸代谢物并没有表现出一致的升高。黄嘌呤、次黄嘌呤在尿液中的含量较低,在血浆和组织中含量较高可能是由于肿瘤细胞的增殖率较高,从而减少了尿液中的排泄,但目前尚无研究表明胃癌组织或胃癌患者体液中核酸代谢产物存在特异性变化,所以尚不能以核酸代谢产物作为胃癌检测的特异性指标。

5 小 结

胃癌是导致癌症死亡的主要原因之一,目前钡餐、内镜和血清胃蛋白酶原检测都有局限性。代谢组学是一个新的研究领域,笔者整理发现,不同研究之间的代谢组谱存在差异,这可能归因于样本类型,取样技术、分析平台和观察对象(动物或人类)的不同,从临床应用角度来看,体液检测更便捷可行,可充分发挥代谢组学技术无创这一明显优势。其次,尽管胃癌组与正常组相比或胃癌不同时期的组织、血液、尿液样本代谢组学检测结果在一定程度上具有一致性,但缺乏特异性,笔者认为可以运用 Meta 分析,将相关研究成果进行系统分析,将目前看来敏感性较高的糖代谢相关物质(如乳酸)、支链氨基酸等作为合并统计量,检测其是否具有统计学意义,然后按照不同研究特征(如样本类型、观察对象等)进行分层分析,再比较各组及其与合并效应量之间有无显著性差异。经过统计学分析确定了代谢组学检测中某些潜在特异生物标志物后,即可有针对性的研究这些物质,联合全国乃至全世界各医院及研究中心,进行大样本量临床研究,将胃癌不同时期患者的内镜、病理学检测结果与其体液代谢组学检测中某些潜在特异性生物标志物进行关联分析,逐步确定 cut off

值。由于体液代谢组学分析结果受患者饮食、药物、代谢性疾病等影响较大,故可将多个有特异性的物质联合作为生物标志物,经统计学分析分别确定其与胃癌的关联程度后决定其在联合诊断中所占的权重。随着研究的深入,代谢组学技术以其无创便捷的优点将在胃癌检测和诊断中发挥越来越重要的作用。

参考文献:

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136 (5): E359–E386.
- [2] Torre LA, Siegel RL, Ward EM. Global cancer incidence and mortality rates and trends -- an update [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2016, 25(1): 16–27.
- [3] Kuligowski J, Sanjuan-Herrez D, Vazquez-Sanchez MA, et al. Metabolomic analysis of gastric cancer progression within the correa's cascade using ultraperformance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Proteome Res*, 2016, 15(8): 2729–2738.
- [4] Wang H, Zhang H, Deng P, et al. Tissue metabolic profiling of human gastric cancer assessed by (1)H-NMR [J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 371.
- [5] Corona G, Cannizzaro R, Miolo G, et al. Use of metabolomics as a complementary omic approach to implement risk criteria for first-degree relatives of gastric cancer patients [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3): E750.
- [6] Lima AR, Araujo AM, Pinto J, et al. Gc-ms-based endometabolome analysis differentiates prostate cancer from normal prostate cells [J]. *Metabolites*, 2018, 8(1): E23.
- [7] Lou YB, Fan FX, Mu YC. The implication of diabetes metabolomics in the early diagnosis and pathogenesis of pancreatic cancer [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2018, 32(1): 75–82.
- [8] Shu X, Xiang YB, Rothman N, et al. Prospective study of blood metabolites associated with colorectal cancer risk [J]. *Int J Cancer*, 2018, 143(3): 527–534.
- [9] Bharti SK, Wildes F, Hung CF, et al. Metabolomic characterization of experimental ovarian cancer ascitic fluid [J]. *Metabolomics*, 2017, 13: 113.
- [10] Yu L, Li K. Next-generation metabolomics in lung cancer diagnosis, treatment and precision medicine: mini review [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(70): 115774–115786.
- [11] Shi K, Wang Q, Su Y, et al. Identification and functional analyses of differentially expressed metabolites in early stage endometrial carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(4): 1032–1043.
- [12] Zhang H, Cui L, Liu W, et al. H NMR metabolic profiling of gastric cancer patients with lymph node metastasis [J]. *Metabolomics*, 2018, 14(4): 47.
- [13] Gu J, Hu X, Shao W, et al. Metabolomic analysis reveals altered metabolic pathways in a rat model of gastric carcinogenesis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(37): 60053–60073.
- [14] Chan AW, Mercier P, Schiller D, et al. (1)H-NMR urinary metabolomic profiling for diagnosis of gastric cancer [J]. *Br J Cancer*, 2016, 114(1): 59–62.
- [15] Liang Q, Wang C. Metabolomic analysis using liquid chromatography/mass spectrometry for gastric cancer [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2015, 176(8): 2170–2184.
- [16] Chen JL, Fan J. CE-MS based on moving reaction boundary method for urinary metabolomic analysis of gastric cancer patients [J]. *Electrophoresis*, 2014, 35(7): 1032–1039.
- [17] Companioni O, Sanz-Anquela JM, Pardo ML, et al. Gene expression study and pathway analysis of histological subtypes of intestinal metaplasia that progress to gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0176043.
- [18] Yuan LW, Yamashita H. Glucose metabolism in gastric cancer: The cutting-edge [J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(6): 2046–2059.
- [19] Wang D, Li W, Zou Q, et al. Serum metabolomic profiling of human gastric cancer and its relationship with the prognosis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(66): 110000–110015.
- [20] Lario S, Ramerez-Lazaro MJ, Sanjuan-Herrez D, et al. Plasma sample based analysis of gastric cancer progression using targeted metabolomics [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 17774.
- [21] Yang T, Luo P, Li Y, et al. A serum metabolomics study of gastric cancer based on pseudotargeted liquid chromatography-mass spectrometry approach [J]. *Se Pu*, 2014, 32(2): 126–132.
- [22] Chen Y, Zhang J, Guo L, et al. A characteristic biosignature for discrimination of gastric cancer from healthy population by high throughput GC-MS analysis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(52): 87496–87510.
- [23] Jung J, Jung Y, Bang EJ, et al. Noninvasive diagnosis and evaluation of curative surgery for gastric cancer by using NMR-based metabolomic profiling [J]. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21 Suppl 4: S736–S742.
- [24] Ananieva EA. Branched-chain amino acid metabolism in cancer [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2018, 21(1): 64–70.