

# 代谢组学分析技术及其在消化道肿瘤中的应用进展

洪 静, 陈金联

**背景资料**  
代谢组学、基因组学、转录组学和蛋白质组学等共同组成了系统生物学。其中代谢组学是较新的一个分支, 近年来各种相关技术发展迅速, 在生命科学的诸多领域如分子病理生理学、药物效能及毒性、基因识别和功能基因组学、环境科学、检验医学以及疾病诊断等方面均有广泛的研究和应用。

洪静, 陈金联, 上海交通大学附属第六人民医院消化科 上海市 200233

通讯作者: 洪静, 200233, 上海市宜山路600号, 上海交通大学附属第六人民医院消化科. hj960046@sina.com  
电话: 021-64369181-8970 传真: 021-64837019  
收稿日期: 2007-10-16 修回日期: 2007-12-12

## Technology of metabonomics and its application in gastrointestinal cancer

Jing Hong, Jin Lian Chen

Jing Hong, Jin Lian Chen, Department of Gastroenterology, the Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Correspondence to: Jing Hong, Department of Gastroenterology, the Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, 600 Yishan Road, Shanghai 200233, China. hj960046@sina.com

Received: 2007-10-16 Revised: 2007-12-12

## Abstract

Metabonomics as a branch of system biology has developed rapidly in recent years. With the development of NMR, MS, chromatography and capillary electrophoresis technology, and their combined application, metabonomics has a more in-depth application in oncology research. Gastrointestinal cancer, one of the most common human tumor types, has a high mortality. Metabonomics has been found to have successful applications in gastrointestinal cancer, such as early diagnosis. The main technologies of metabonomics and their present application in gastrointestinal cancer are reviewed here.

**Key Words:** Metabonomics; Nuclear magnetic resonance; Mass spectrometry; Capillary electrophoresis; Gastrointestinal cancer; Early diagnosis

Hong J, Chen JL. Technology of metabonomics and its application in gastrointestinal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(1): 68-75

## 摘要

代谢组学作为系统生物学的一个分支近年发展迅速。核磁共振技术、各种色谱质谱技术以

及毛细管电泳技术的发展和联用, 使得代谢组学在肿瘤学方面有着越来越深入的研究。消化道恶性肿瘤作为人类最常见的一类肿瘤, 由于患者早期并无特异性症状, 临床发现时多已为进展期, 化疗毒性反应严重, 病死率高。当前代谢组学作为肿瘤学的研究方法之一, 能从代谢的角度整体分析疾病, 在消化道恶性肿瘤的早期诊断等方面的研究已初显优势。本文主要介绍代谢组学各类技术方法及其在消化道恶性肿瘤中的应用, 并对其今后的发展趋势作出展望。

**关键词:** 代谢组学; 核磁共振; 质谱; 毛细管电泳; 消化道恶性肿瘤; 早期诊断

洪静, 陈金联. 代谢组学分析技术及其在消化道肿瘤中的应用进展. *世界华人消化杂志* 2007; 16(1): 68-75

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/68.asp>

## 0 引言

代谢组学(metabonomics)作为系统生物学(systems biology)的一个分支, 是继基因组学、转录组学及蛋白质组学等之后迅速发展的一门学科, 在后基因时代的研究已成为热点。代谢组学各种技术的发展及联用, 在生命科学诸多领域如分子病理生理学、药物效能及毒性、基因识别和功能基因组学、环境科学以及疾病诊断等方面均有广泛应用<sup>[1-6]</sup>。

消化道恶性肿瘤是人类最常见的一类恶性肿瘤, 如肝癌、胃癌及结直肠癌等发病率均很高, 其发病机制尚未能完全阐明, 且多数患者早期并无特异临床症状, 发现时已属于进展期癌肿, 病死率高, 严重危害人民的健康<sup>[7-11]</sup>。目前消化道内镜结合活组织病理检查虽较为成熟, 但由于其有创性, 因此早期诊断价值受限<sup>[12]</sup>; 而传统肿瘤标志物(如AFP、CEA和CA125等)的联合检测虽能提高诊断阳性率, 但特异性不高, 特别是早期诊断阳性率比较低<sup>[13-15]</sup>。在肿瘤学方面, 代谢组学以小分子代谢物为研究对象, 运用高通量、高敏感度的分析技术, 结合化学计量方法, 从代谢角度描述肿瘤病理过程的瞬间概况, 揭

示消化道恶性肿瘤整体性代谢变化, 在肿瘤的发病机制、早期诊断、个体化疗以及预后判断等方面的研究具有独特优势和临床应用价值。我们就代谢组学主要技术及在消化道肿瘤方面的研究进展作一综述。

## 1 代谢组学概况

各种组学(omics)的研究和迅速发展共同组成了系统生物学, 而代谢组学(metabonomics)作为基因组学(genomics)和蛋白质组学(proteomics)的延伸, 是各组学中较新的研究领域。机体基因表达的最终产物-代谢产物, 可以总体称为“代谢中间物组”。与基因组类似, 基因组代表机体总体遗传部分, 代谢中间物组则代表个体中所有代谢物的总体, 研究这些细胞过程中小分子的化学指纹即发展为代谢组学。Nicholson *et al*<sup>[16]</sup>将代谢组学定义为: 以动物的体液和组织为研究对象, 研究生物体对病理生理刺激或基因修饰产生的代谢物质的质和量的动态变化, 关注的对象是分子量在1000 kDa以下的小分子化合物。Fiehn<sup>[17]</sup>将代谢产物的分析分为代谢物靶标分析, 代谢轮廓分析, 代谢组学以及代谢物指纹分析几个层次。

代谢组学的研究过程包括三个步骤: 样品的制备; 代谢产物的分离, 检测和鉴定; 数据分析和模型建立<sup>[1,3,6]</sup>。

## 2 代谢组学分析技术

主要包括核磁共振技术, 质谱技术以及各种与质谱的联用技术。

**2.1 核磁共振技术** 核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)是原子核的磁矩在恒定磁场和射频磁场同时作用, 且满足一定条件时所发生的共振吸收现象, 是一种利用原子核在磁场中的能量变化来获得关于核信息的技术。核磁共振可用于体液分析研究和活体分析。NMR作为一种主要的技术, 在代谢组学的多个研究领域如遗传差别和生理效应、药物安全性评价以及疾病诊断等方面均得到非常广泛的应用。目前常用的有氢谱(<sup>1</sup>H-NMR), 碳谱(<sup>13</sup>C-NMR)和磷谱(<sup>31</sup>P-NMR)。如<sup>1</sup>H-NMR<sup>[18-20]</sup>可将各种体液或组织提取液检测所得<sup>1</sup>H-NMR谱峰与样品中各化合物氢原子对应, 再与标准氢谱对照鉴定出其代谢物化学成分及其含量多少。Constantinou *et al*<sup>[21]</sup>在研究家兔心肌缺血再灌注、缺血预适应和抗氧化干预实验中, 应用<sup>1</sup>H-NMR技术结

合PCA(主成分分析法)进行数据分析, 证实此技术用来描绘由心肌再灌注引起的代谢变化简单有效。Makinen *et al*<sup>[22]</sup>应用<sup>1</sup>H-NMR技术分析血清用来诊断糖尿病性肾病, 结果显示此方法与临床白蛋白排泄率检测相比, 样品的收集更为简单实用, 并且数据分析结果敏感性和特异性均很高, 分别为87.1%和89.0%, 可明确区分1型糖尿病的代谢特征。Odunsi *et al*<sup>[23]</sup>采用<sup>1</sup>H-NMR结合PCA和SIMCA等模式识别技术建立血清代谢物检测方法, 应用于卵巢癌鉴别诊断。Coen *et al*<sup>[24]</sup>用<sup>1</sup>H-NMR技术结合PCA处理数据, 研究脑膜炎和脑室炎的脑脊液代谢图谱, 证明此代谢组学方法分析脑脊液的可行性, 与传统实验室病原菌检查相比是更为潜在强大的诊断工具。NMR的优点是无损伤性, 可研究动态系统中代谢产物的变化规律, 实验方法灵活多样。NMR的缺点是灵敏度低, 分辨率不高, 且仪器的价格和维护费用昂贵。

**2.2 质谱技术** 质谱分析是一种物理方法, 其基本原理是使试样中各组分在离子源中发生电离, 生成不同荷质比的带正电荷的离子, 经加速电场的作用, 形成离子束, 进入质量分析器。在质量分析器中, 再利用电场和磁场使离子发生相反的速度色散, 将他们分别聚焦而得到质谱图, 从而确定其质量。以其高灵敏度和高通量的特性, 目前有许多质谱和相关的质谱技术, 而色谱和电泳等分离方法与质谱分析相结合为复杂代谢物的在线分离分析提供有力的手段, 如气相色谱-质谱联用(GC-MS), 液相色谱-质谱联用(LC-MS)和毛细管电泳-质谱联用(CE-MS)等是质谱相关技术中的常见技术, 在代谢组学的各个领域有广泛的应用<sup>[25-34]</sup>。

**2.2.1 GC-MS:** 气相色谱技术以其特有的三高一快(高灵敏度、高分离效能、高选择性、快速分析)优点, 常与质谱联用广泛应用于代谢组学的研究领域。气相色谱技术适用于分离挥发性化合物。Chen *et al*<sup>[25]</sup>用高剂量氢化可的松诱导出小鼠的肾功能不全动物模型。作者分别收集给药前以及给药后第1, 3, 7, 10天的24 h尿液, 用GC-MS技术和主成分分析法(PCA)建立小鼠的尿代谢物模型。结果显示, 与对照组相比, 给药组代谢物出现了显著的代谢变化。从而提示此代谢组学的方法可应用于早期诊断, 是研究诸如代谢综合征等疾病的病理状态的极具发展潜力的工具。由于GC适用于分离挥发性化合物, 因此不能直接得到体系中难挥发的代谢组分信息。A

**研发前沿**  
通过各种分析技术(如核磁共振、色谱质谱和毛细管电泳等)的优化组合与联用, 检测液体中修饰核苷的种类和数量, 鉴定出恶性肿瘤的类型和分化程度, 有望实现恶性肿瘤早期诊断, 从而对传统肿瘤标志物提出了挑战。

**相关报道**  
当前代谢组学在恶性肿瘤方面的研究越来越多,也越来越深入。除了消化道肿瘤之外,国内外对乳腺癌、肺癌和泌尿系肿瘤等方面亦有一些报道。

*et al*<sup>[26]</sup>用GC-MS分析人血浆中间代谢产物,并结合PCA和PLS(偏最小二乘法)数据分析,将5种有机溶剂(甲醇,乙醇,乙腈,丙酮,氯仿)用来最优化低分子化合物的萃取物,其中32种内生化合物显示良好的精密度和线性,可在大约0.1 pmol注射水平检测到大部分化合物,结果提示,GC/MS技术结合PCA、PLS进行数据分析可有效识别相关疾病的生物标记物。

**2.2.2 LC-MS:**液相色谱法开始阶段是用大直径的玻璃管柱在室温和常压下用液位差输送流动相,称为经典液相色谱法,此方法柱效低、时间长(常有几个小时)。液相色谱法适用于分离低挥发性或非挥发性、热稳定性差的物质。*Wagner et al*<sup>[27]</sup>在一个对照实验中,连续3 d(2次/d,每次间隔8 h)收集30名健康男女受试者的尿液,采用LC-MS技术分析尿样中硫酸尿酸代谢轮廓,并结合PCA和PLS-DA的方法处理数据,证明此法可用于多种毒性代谢产物以及疾病生物标记物的检测。*Millea et al*<sup>[28]</sup>在实验中用LC-MS法鉴定个体内部以及个体之间低分子量唾液蛋白轮廓。连续3 d以上对4个受试者进行唾液分析,观察到每个个体所分泌的唾液可在数天内有相似的唾液蛋白结构,而其中的特殊蛋白表达水平易变。从受试者蛋白质轮廓的个体图形可以看到个体之间蛋白轮廓有显著差异。

高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)是在经典液相色谱法的基础上,于60年代后期引入气相色谱理论而迅速发展起来的。他与经典液相色谱法的区别是填料颗粒小而均匀,小颗粒具有高柱效,但会引起高阻力,需用高压输送流动相,故又称HPLC,又因分析速度快而称为高速液相色谱法(high speed liquid chromatography, HSLP),也称现代液相色谱。Williams *et al*<sup>[29]</sup>采用电喷射离子化的HPLC-TOF/MS和<sup>1</sup>H-NMR分光术相结合,将 $\delta$ WD大鼠和Zuckett肥胖鼠的尿液成分进行与年龄相关的代谢组学比较,并应用此代谢组学的技术可了解疾病过程。*Zhang et al*<sup>[30]</sup>用HPLC和联机电生成[Cu(HIO<sub>6</sub>)<sub>2</sub>]<sub>5</sub>-鲁米诺化学发光检测法检测猪肝中糖皮质激素残基,该实验可成功检测出氟羟泼尼松龙、强的松龙、氢化可的松、考的松、甲基氢化泼尼松、地塞米松和曲安缩松。*Cheng et al*<sup>[31]</sup>用HPLC法和荧光免疫技术测定小剂量大鼠血浆和胆汁中伐地那非。该试验成功研究了大鼠体内伐地那非的生理代谢和胆汁排泄。

超高相液相色谱法(UPLC)与常规HPLC相比,具有更好的分离效率、峰容量以及灵敏度。这一技术与能够测定化合物的精确质量并具有MS/MS功能的高分辨率时间飞行质谱(time-of flight mass spectrometer, TOF-MS)联用成为复杂体系分离分析以及化合物结构鉴定的良好平台。如Lenz *et al*<sup>[32]</sup>应用微孔UPLC/oa-TOF-MS和<sup>1</sup>H-NMR技术进行帕伐他汀静脉给药途径的 $\delta$ 大鼠尿液代谢组学分析,结果表明此方法能很好地鉴定毒性作用的靶器官,且可用来监测毒物代谢机制的起始和时程。目前,代谢轮廓在中草药领域如育种、合成、质量控制以及临床试验等方面越来越重要。*Chan et al*<sup>[33]</sup>采用基于代谢组学的UPLC/TOF-MS技术方法检测未加工和经过蒸法处理过的人参三七素。实验表明该技术能够直接检测中草药合成过程中代谢产物的顺水衍生物。结合无监督的多变量主成份分析法可识别和实验认证不同的中草药提取物相关的独特生物标记物。从而表明采用TOF-MS和高分辨率、高保存时间、高重复性的UPLC法能精确测定出人参三七素的生物标志物。

**2.2.3 CE-MS:**毛细管电泳技术(Capillary Electrophoresis, CE)又称高效毛细管电泳(HPCE)或毛细管分离法(CESM),其基本原理是根据在电场作用下离子迁移的速度不同而对组份进行分离和分析。毛细管电泳技术可检测多种样品,如血清、血浆、尿样、脑脊液、红细胞、体液或组织及其实验动物活体实验;毛细管电泳技术兼有高压电泳及高效液相色谱等优点,其突出特点是:(1)所需样品量少、仪器简单、操作简便。(2)分析速度快,分离效率高,分辨率高,灵敏度高。(3)操作模式多,开发分析方法容易。(4)实验成本低,消耗少。(5)应用范围极广。*Szymanska et al*<sup>[34]</sup>用毛细管电泳技术结合PCA预处理生物信息数据检测肾恶性肿瘤、膀胱癌和前列腺癌患者尿中核苷代谢轮廓,与HPLC和GC相比,毛细管电泳技术分辨率更高,分析速度更快,所需检测的尿样和底液量更少,但样品的可重复性相对较差。*Ullsten et al*<sup>[35]</sup>采用CE-ESR-MS(毛细管电泳电喷射离子质谱法)分析 $po$ 扑热息痛前后人尿样代谢轮廓,可高效快速鉴别给药组和空白对照组,结论是CE-MS可通过分析体液的代谢轮廓作为毒理过程检测和疾病诊断的可行方法。

### 3 代谢组学数据处理和分析方法

代谢组学的研究方法是整体分析过程,因生物

样品(体液, 组织提取液)的组成复杂, 在得到分析对象的原始谱图后, 首先需要对数据进行预处理(归一化和滤噪), 消除干扰因素, 保留有用信息. 滤噪常用正交信号校正技术(orthogonal signal correction, OSC). 再从预处理后的信息中对样品进行归类, 将得到的分类信息和这些样本的原始信息(如药物的作用位点或疾病的种类等)进行比较, 建立代谢产物与这些原始信息的联系, 筛选与原始信息相关的标记物, 进而考察其中的代谢途径; 或者建立类别间的数学模型, 使各类样品间达到最大的分离, 并利用建立的多参数模型对未知的样本进行预测. 最常用的是主成份分析法(principle components analysis, PCA). 其他还有非线性映射(nonlinear mapping, NLM), 偏最小二乘法(partial least squares, PLS)和神经网络(neural networks, NN)<sup>[36]</sup>等.

#### 4 代谢组学在消化道肿瘤中的应用

**4.1 病因和预防** 代谢组学通过分析与毒性作用靶点和作用机制密切相关的生物体液中内源性代谢产物浓度的特征性变化, 可以确定毒性靶组织, 毒性作用过程以及生物标志物. Egner *et al*<sup>[37]</sup>用HPLC和同位素稀释串联质谱测定人尿中黄曲霉素-B(1)-N(7)-鸟嘌呤[AFB(1)-N(7)-Gua]. AFB(1)-N(7)-Gua是一种主要的黄曲霉素DNA加合反应的复合物, 通过尿液排泄, 是暴露AFB(1)饮食后的生物有效剂量标志物. 通过测量尿中含量, 可帮助识别作为肝细胞癌发生的危险因素AFB(1). 实验采用三联四级质谱, 配以用稳定的同位素标记内标物AFB(1)-N(7)-(15)N(5)-Gua以及固相萃取物和免疫亲和性柱色谱, 测量已知暴露于黄曲霉素饮食的某地20人尿中AFB(1)-N(7)-Gua浓聚物. 此方法大大提高代谢标志物检测的准确性、精密性、特异性和敏感性. 测量AFB(1)-N(7)-Gua的极限值为0.04 ng/L尿(0.07 ng/L肌苷). 由于提高了精密度和准确度, 可以精确测量出人新近暴露于AFB(1)饮食的敏感性标志物, 在肝癌病因预防的监测中有实际意义. Cai *et al*<sup>[38]</sup>通过测定鼠和人类肝脏中5, 7, 4-三羟黄酮和麦黄酮的组织分配与代谢进行肝癌的预防研究. 临床前动物实验已证实存在于多叶蔬菜和米糠中的黄酮对癌前病变具有预防作用. 实验中, 给予小鼠5-7 d黄酮饮食, 采用HPLC-UV技术比较血浆、肝和胃肠黏膜中的黄酮浓度. 结果显示, 7 d后麦黄酮在血浆、肝和黏膜中浓度分别超过5, 7, 4-三羟黄酮浓度的350%、33%和100%. 其中三羟黄酮在

肝微体中葡萄糖酸化比麦黄酮快, 而麦黄酮的磺化作用比三羟黄酮更迅速. 并且二者的葡萄糖酸化率均比磺化作用快. 此实验成功采用代谢组学技术方法比较出麦黄酮的药物代谢动力学优势, 在肝癌的预防研究中具有一定的价值.

**4.2 早期诊断** 代谢组学在肿瘤诊断方面当前正致力于通过机体动态代谢途径来寻找新的具有诊断价值的特异性肿瘤标志物<sup>[39-40]</sup>. 生物机体RNA的代谢可产生普通核苷和修饰核苷. 前者可被机体重新利用或降解, 因而尿中含量很少. 后者因不能被重新利用而随尿液排出, 因而尿中修饰核苷的排量可以反映机体细胞代谢速度. 根据肿瘤细胞增殖代谢较正常细胞快, 修饰核苷的产生和排出增多这一原理, 可通过测定尿液中修饰核苷的种类和数量来检测恶性肿瘤的类型和分化程度, 实现早期诊断<sup>[41]</sup>. 目前已有较多报道采用代谢组学的方法检测尿液核苷代谢轮廓用来诊断乳腺癌<sup>[42]</sup>、卵巢癌<sup>[23]</sup>、肺癌<sup>[43]</sup>及泌尿系统肿瘤<sup>[34]</sup>等. 在消化道恶性肿瘤方面的研究有.

**4.2.1 肝癌:** Yang *et al*<sup>[44]</sup>在实验中, 用HPLC技术结合PCA方法分析有顺式二元醇结构的尿代谢产物用来鉴别肝癌和肝硬化及肝炎患者. 实验对象是50例健康志愿者, 77例肝感染性疾病患者(包括27例肝硬化, 30例急性肝炎和20例慢性肝炎患者)和48例肝癌患者. 年龄在20-85岁. 尿液的收集无饮食和其他限制, 尿样于-20℃保存, 室温下解冻, 用HPLC法分析尿样, 记录所有峰值信息, 用PCA将得到的15种尿核苷(Pseu, C, U, m1A, I, m5U, G, X, m1I, m1G, ac4c, m2G, A, m22G和m6A)数据集进行代谢物靶点分析, 肝癌阳性率为83%, 优于传统肿瘤标志物AFP的肝癌阳性率73%. 另外, 在假阳性率的比较中, 以AFP>20 μg/L为标准, 肝硬化患者诊断为肝癌的假阳性率为50%, 肝炎患者诊断为肝癌的假阳性率为52.2%; 以AFP>200 μg/L为标准, 仍有11.5%的肝硬化患者和17.4%的肝炎患者被误诊为肝癌. 而在基于代谢组学方法分析15种尿核苷对肝癌的诊断中, 仅有7.4%的肝硬化患者被误诊为肝癌, 慢性肝炎患者则无1例被误诊. 此实验成功阐明代谢组学方法结合主成份分析进行数据分析可将肝癌患者从肝硬化和肝炎患者中有效鉴别出来, 且假阳性率低; 用代谢组学方法检测尿核苷小分子化合物诊断肝癌优于传统肿瘤标志物AFP的单项检测.

**4.2.2 胃癌:** Chen *et al*<sup>[45]</sup>探讨检测尿中核苷在胃

**创新盘点**  
随着代谢组学研究的深入, 国内外众多学者在药理学、环境科学、营养科学和疾病研究等方面均有相关综述报道. 本文着重从消化道恶性肿瘤的各个环节多角度阐明代谢组学在消化道肿瘤中的研究动态.

#### 应用要点

本文总结了代谢组学技术在消化道肿瘤的病因、预防、早期诊断、治疗、预后以及个体化治疗等各个方面的研究进展。特别是在早期诊断方面,有望突破传统的诊断标准,有较好的临床应用价值。

癌诊断中的意义。实验对象是50名正常人(20-71岁)与48例胃癌患者(36-77岁),先收集术前尿样,将经苯基硼酸凝胶色谱法提纯后的尿中核苷用高效液相色谱法进行分离,并对核苷进行定性和定量分析,计算尿中15种核苷的平均含量及其标准偏差;用 $t$ 检验比较健康人与胃癌患者尿中核苷含量的差异,应用Spearman等级相关检验分析尿中核苷含量与肿瘤体积、淋巴结转移及肿瘤分化程度的相关性。结果显示胃癌患者尿中15种核苷的平均含量除m5U外,其余14种皆明显高于健康人( $P<0.05$ ),健康人尿中核苷水平的变异较小,而胃癌患者尿中核苷的变异较大;其中I(次黄嘌呤核苷)与肿瘤大小、淋巴结转移正相关,X(黄嘌呤核苷)与肿瘤淋巴结转移正相关。此次实验中48例胃癌患者25例同时接受血清CEA的检测。胃癌患者尿中14种核苷的阳性率分别为Pseu 45.0%, C 15.0%, U 10.0%, m1A 55%, I 40.0%, G 20.0%, X 40.0%, m1I 55.0%, m1G 45.0%, ac4C 25.0%, m2G 47.5%, A 35.0%, m22G 50.0%, m6A 17.5%。再以这14种核苷浓度作为数据矢量结合主成份分析-投影判别法区分正常人和胃癌患者,63%的胃癌患者被识别,明显高于CEA检测的阳性率12%。此实验探讨修饰核苷作为胃癌肿瘤标志物的可行性,说明尿中修饰核苷的检测可用于胃癌早期诊断及进展程度的监测。

**4.2.3 结肠癌:** Qiu *et al*<sup>[46]</sup>在用1, 2-二甲胂诱导的结肠癌前病变大鼠模型中,将收集的尿样用水相ECF衍生试剂处理,用GC/MS技术分析尿中小分子代谢物代谢轮廓。结果表明代谢组学方法在结肠癌前病变诊断中的潜在价值,此方法的分析变异度小于鼠尿样的生物学变异度,从而证明GC/MS的代谢组学方法用于分析大规模变化的代谢产物是可信的,可用于研究人的病理学,包括疾病的发生、发展和死亡。

Feng *et al*<sup>[47]</sup>的临床研究通过尿核苷检测探讨其对结直肠癌病理特征的关系。研究中将实验对象分为三组:结直肠癌组(42例,全部经病理检查明确诊断),癌前病变组(10例,经病理证实的绒毛状腺瘤)和正常对照组(62例)。收集术前随机尿样标本,提取尿中核苷,并用高效液相色谱分离分析,用主成份分析法判断14种核苷对结直肠癌的诊断敏感性。使用 $t$ 检验, Spearman检验判断核苷与结直肠癌临床病理特征的相关性。结果显示: (1)结直肠癌诊断敏感性为81%,癌前病变诊断敏感性为60%,正常组中57例被正确识

别,特异性为92%。(2)结直肠癌组Pseu、m1G与肿瘤面积呈正相关,m1A、ac4C与Dukes分期呈正相关。提示Pseu、m1G、m1A和ac4C可能与结直肠癌的预后相关。(3)结直肠癌组尿中Pseu、C.m1A、mU、m22G、I、m1G、ac4C、m6A等9种核苷浓度显著高于对照组,癌前病变组中Pseu、C.m1A、mU、m22G、I、m1G等7种核苷浓度亦显著升高,说明代谢组学技术检测尿核苷对结直肠癌的诊断具有以下优势:敏感性高;具有早期诊断价值;可协助判断预后;具有较高特异性。

Feng *et al*<sup>[48]</sup>还探讨尿核苷检测在结直肠癌手术治疗监测中的应用。实验采用反相高效液相色谱法检测52例结直肠癌患者术前1 d与术后8 d尿中14种正常与修饰核苷水平,同时以62例健康人作对照,并与传统肿瘤标志物CEA、CA19-9、CA125、AFP相比较,结果显示尿核苷诊断结直肠癌敏感性为76.9%,与CEA(38.5%)、CA19-9(40.4%)、CA125(15.4%)及AFP(17.3%)相比差异有统计学意义。且结直肠癌组40例行根治性手术前后尿核苷浓度有显著降低,术前Pseu、m1G、m1A、m22G浓度与肿瘤大小成正相关,其中Pseu和m1G敏感性高,且与肿瘤病理分期相关,从而说明尿核苷在结直肠癌诊断,手术治疗以及随访中的临床实用价值,有望成为结直肠肿瘤新型标志物,其中Pseu和m1G更具临床应用前景。

**4.3 治疗预后** 代谢组学通过对药物毒理学及药物代谢动力学方面的研究,检测出药物引起的内源性代谢物变化,更直接地反映体内生物化学过程和状态的变化,并通过认识体液代谢指纹图谱变化原因,阐明药物作用靶点或受体,指导抗肿瘤细胞药物的个体化治疗,以及评价临床疗效和安全性<sup>[2,6]</sup>。

氟尿嘧啶广泛用于转移性胃癌的化疗。5-FU代谢途径中酶活性差异能影响其代谢范围和化疗效能。Ichikawa<sup>[49]</sup>在综述中讨论了遗传因素对氟尿嘧啶治疗效果的影响。结果表明5-FU代谢途径中有关酶:胸核苷酸合酶、二氢嘧啶脱氢酶、胸苷磷酸化酶及乳清酸磷酸核糖苷转移酶的基因阳性表达与FU化疗转移胃癌的疗效相关。这些候选基因与其他被识别的基因,将来有可能准确预测化疗预后。Nakayama *et al*<sup>[50]</sup>在试验中应用HPLC和GC/MS技术测量尿中嘧啶代谢产物和血浆中5-FU水平,通过对比尿中二氢尿嘧啶比和 $po$  5-FU类似物患者5-FU血浆



浓度, 阐明了二氢嘧啶脱氢酶(DPD)缺陷在避免5-FU严重毒性反应中的重要性, 并用来评价胃和结直肠癌患者. 试验对象为14例胃癌和结直肠癌术后患者, 分为替加氟治疗组和优福定治疗组以及非治疗组. 尿中UH2(二氢尿嘧啶)、Ura(尿嘧啶)水平用HPLC法测定, 血浆中5-FU水平用GC/MS法测定. 结果5-FU类似物治疗组UH2/Ura和非治疗组UH2/Ura比值可明显提示尿中Ura与血浆中5-FU浓度呈负相关. 结论是无论尿中Ura, 治疗组UH2/Ura还是非治疗组UH2/Ura均能预测血浆中5-FU浓度或DPD缺乏. 从而说明UH2/Ura比值是预测5-FU分解代谢缺陷危险性的重要可能性.

甲基吡啶蕃菍皂甙(MPD), 一种呋喃甾醇皂甙, 是一临床前药物, 对非粒细胞白血病和实体瘤的大部分细胞系具有抗增殖活性能力. He *et al*<sup>[51]</sup>用代谢组学的方法识别出大鼠尿中MPD代谢产物, 并显示出其中部分代谢物的抗肿瘤细胞增殖能力. 用高分辨MS、NMR(包括<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, <sup>2</sup>D-NMR)技术以及化学方法识别蕃菍皂甙等10个代谢产物. 蕃菍皂甙是MPD在鼠尿中主要代谢产物, 结果表明某些代谢产物体外对肝细胞系HepG2、NCI-H460、人乳癌细胞系MCF-7和海拉癌细胞株具有抗增殖活性.

## 5 结论

代谢组学作为系统生物学中一个新的分支, 正处于迅速发展的阶段. 代谢组学以其独特的视角, 从生物代谢层面进行研究, 以小分子代谢化合物为研究对象, 采用高通量, 高分辨率的化学分析技术, 并结合化学计量统计方法, 研究生物体的整体代谢变化, 在生物学各个领域均有广泛的研究和应用. 以核磁共振、色谱、质谱以及毛细管电泳等为主的代谢组学技术, 结合各种化学计量统计方法, 可以描绘出生物体内海量小分子代谢化合物的代谢轮廓, 从而进行代谢物靶标分析、药物靶点鉴定、阐明药物代谢动力学及毒理学特点, 在消化道肿瘤的早期诊断、病因、预防研究和个体化治疗等各个方面的研究均有很大的发展潜力. 然而代谢组学在消化道肿瘤方面的研究尚处于发展阶段, 还需各技术之间的联用和优化组合, 实验方法的选择和优化, 以及开发完善消化道肿瘤代谢物组数据库, 与其他组学相结合, 才能对消化道恶性肿瘤进行多角度、多层次的整体研究, 全面阐

明消化道肿瘤的发病机制, 寻找消化道肿瘤早期诊断有效的肿瘤标志物, 以提高消化道肿瘤患者治疗疗效.

## 6 参考文献

- Steinhauser D, Kopka J. Methods, applications and concepts of metabolite profiling: primary metabolism. *EXS* 2007; 97: 171-194
- Robertson DG, Reilly MD, Baker JD. Metabonomics in pharmaceutical discovery and development. *J Proteome Res* 2007; 6: 526-539
- Lenz EM, Wilson ID. Analytical strategies in metabonomics. *J Proteome Res* 2007; 6: 443-458
- Larive CK. Metabonomics, metabolomics, and metabolic profiling. *Anal Bioanal Chem* 2007; 387: 523
- Dieterle F, Ross A, Schlotterbeck G, Senn H. Probabilistic quotient normalization as robust method to account for dilution of complex biological mixtures. Application in <sup>1</sup>H NMR metabonomics. *Anal Chem* 2006; 78: 4281-4290
- Lindon JC, Holmes E, Nicholson JK. Metabonomics techniques and applications to pharmaceutical research & development. *Pharm Res* 2006; 23: 1075-1088
- Cronin-Fenton DP, Sharp L, Carsin AE, Comber H. Patterns of care and effects on mortality for cancers of the oesophagus and gastric cardia: a population-based study. *Eur J Cancer* 2007; 43: 565-575
- Okamoto N, Saruki N, Mikami H, Yamashita K, Maruyama Y, Yano T, Imamura Y, Kaneko S, Tanaka H. 5-year survival rates for primary cancer sites at cancer-treatment-oriented hospitals in Japan. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006; 7: 46-50
- Marrelli D, Roviello F. Prognostic score in gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 362-364
- Sjovall A, Holm T, Singnomklao T, Granath F, Glimelius B, Cedermark B. Colon cancer management and outcome in relation to individual hospitals in a defined population. *Br J Surg* 2007; 94: 491-499
- Sun HC, Zhuang PY, Qin LX, Ye QH, Wang L, Ren N, Zhang JB, Qian YB, Lu L, Fan J, Tang ZY. Incidence and prognostic values of lymph node metastasis in operable hepatocellular carcinoma and evaluation of routine complete lymphadenectomy. *J Surg Oncol* 2007; 96: 37-45
- Kong SH, Park DJ, Lee HJ, Jung HC, Lee KU, Choe KJ, Yang HK. Clinicopathologic features of asymptomatic gastric adenocarcinoma patients in Korea. *Jpn J Clin Oncol* 2004; 34: 1-7
- Leerapun A, Suravarapu SV, Bida JP, Clark RJ, Sanders EL, Mettler TA, Stadheim LM, Aderca I, Moser CD, Nagorney DM, LaRusso NF, de Groen PC, Menon KV, Lazaridis KN, Gores GJ, Charlton MR, Roberts RO, Therneau TM, Katzmann JA, Roberts LR. The utility of Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma: evaluation in a United States referral population. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 394-402; quiz 267
- Wang JY, Lu CY, Chu KS, Ma CJ, Wu DC, Tsai HL, Yu FJ, Hsieh JS. Prognostic significance of pre- and postoperative serum carcinoembryonic antigen levels in patients with colorectal cancer. *Eur Surg*

## 名词解释

- 系统生物学: 是在细胞、组织、器官和生物体整体水平研究结构和功能各异的各种分子及其相互作用, 并通过计算生物学来定量描述和预测生物功能、表型和行为.
- 基因组学: 是发展和应用DNA制图, 测序新技术以及计算机程序分析生命体(包括人类)全部基因组结构及功能. 包括结构基因组学、功能基因组学 and 比较基因组学.
- 蛋白质组学: 一般认为他是研究蛋白质组或应用大规模蛋白质分离和识别技术研究蛋白质组的一门学科. 是对基因组所表达的整套蛋白质的分析.
- 主成份分析法: 主成份分析也称主份量分析, 旨在利用降维的思想, 把多指标转化为少数几个综合指标. 他是一种数学变换的方法, 把给定的一组相关变量通过线性变换转成另一组不相关的变量, 这些新的变量按照方差依次递减的顺序排列.

## 同行评价

本文内容较新, 论证有据, 层次结构清楚, 文章引用恰当, 有较强的可读性.

- Res* 2007; 39: 245-250
- 15 Hotta K, Kiura K, Tabata M, Takigawa N, Fujiwara Y, Umemura S, Tanimoto M. Role of early serial change in serum carcinoembryonic antigen levels as a predictive marker for radiological response to gefitinib in Japanese patients with non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2007; 27: 1737-1741
  - 16 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. *Xenobiotica* 1999; 29: 1181-1189
  - 17 Fiehn O. Metabolomics--the link between genotypes and phenotypes. *Plant Mol Biol* 2002; 48: 155-171
  - 18 Lauridsen M, Hansen SH, Jaroszewski JW, Cornett C. Human urine as test material in <sup>1</sup>H NMR-based metabonomics: recommendations for sample preparation and storage. *Anal Chem* 2007; 79: 1181-1186
  - 19 Ott KH, Aranibar N. Nuclear magnetic resonance metabonomics: methods for drug discovery and development. *Methods Mol Biol* 2007; 358: 247-271
  - 20 Serkova NJ, Niemann CU. Pattern recognition and biomarker validation using quantitative <sup>1</sup>H-NMR-based metabolomics. *Expert Rev Mol Diagn* 2006; 6: 717-731
  - 21 Constantinou MA, Tsantili-Kakoulidou A, Andreadou I, Iliodromitis EK, Kremastinos DT, Mikros E. Application of NMR-based metabonomics in the investigation of myocardial ischemia-reperfusion, ischemic preconditioning and antioxidant intervention in rabbits. *Eur J Pharm Sci* 2007; 30: 303-314
  - 22 Makinen VP, Soinen P, Forsblom C, Parkkonen M, Ingman P, Kaski K, Groop PH, Ala-Korpela M. Diagnosing diabetic nephropathy by <sup>1</sup>H NMR metabonomics of serum. *MAGMA* 2006; 19: 281-296
  - 23 Odunsi K, Wollman RM, Ambrosone CB, Hutson A, McCann SE, Tammela J, Geisler JP, Miller G, Sellers T, Cliby W, Qian F, Keitz B, Intengan M, Lele S, Alderfer JL. Detection of epithelial ovarian cancer using <sup>1</sup>H-NMR-based metabonomics. *Int J Cancer* 2005; 113: 782-788
  - 24 Coen M, O'Sullivan M, Bubb WA, Kuchel PW, Sorrell T. Proton nuclear magnetic resonance-based metabonomics for rapid diagnosis of meningitis and ventriculitis. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1582-1590
  - 25 Chen M, Zhao L, Jia W. Metabonomic study on the biochemical profiles of a hydrocortisone-induced animal model. *J Proteome Res* 2005; 4: 2391-2396
  - 26 A J, Trygg J, Gullberg J, Johansson AI, Jonsson P, Antti H, Marklund SL, Moritz T. Extraction and GC/MS analysis of the human blood plasma metabolome. *Anal Chem* 2005; 77: 8086-8094
  - 27 Wagner S, Scholz K, Sieber M, Kellert M, Voelkel W. Tools in metabonomics: an integrated validation approach for LC-MS metabolic profiling of mercapturic acids in human urine. *Anal Chem* 2007; 79: 2918-2926
  - 28 Millea KM, Krull IS, Chakraborty AB, Gebler JC, Berger SJ. Comparative profiling of human saliva by intact protein LC/ESI-TOF mass spectrometry. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1774: 897-906
  - 29 Williams RE, Lenz EM, Rantalainen M, Wilson ID. The comparative metabonomics of age-related changes in the urinary composition of male Wistar-derived and Zucker (fa/fa) obese rats. *Mol Biosyst* 2006; 2: 193-202
  - 30 Zhang Y, Zhang Z, Song Y, Wei Y. Detection of glucocorticoid residues in pig liver by high-performance liquid chromatography with on-line electrogenerated [Cu(HIO<sub>6</sub>)<sub>2</sub>](5-)-luminol chemiluminescence detection. *J Chromatogr A* 2007; 1154: 260-268
  - 31 Cheng CL, Kang GJ, Chou CH. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method using fluorescence detection for the determination of vardenafil in small volumes of rat plasma and bile. *J Chromatogr A* 2007; 1154: 222-229
  - 32 Lenz EM, Williams RE, Sidaway J, Smith BW, Plumb RS, Johnson KA, Rainville P, Shockcor J, Stumpf CL, Granger JH, Wilson ID. The application of microbore UPLC/oa-TOF-MS and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy to the metabonomic analysis of rat urine following the intravenous administration of pravastatin. *J Pharm Biomed Anal* 2007; 44: 845-852
  - 33 Chan EC, Yap SL, Lau AJ, Leow PC, Toh DF, Koh HL. Ultra-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry based metabolomics of raw and steamed Panax notoginseng. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2007; 21: 519-528
  - 34 Szymanska E, Markuszewski MJ, Capron X, van Nederkassel AM, Heyden YV, Markuszewski M, Krajka K, Kaliszan R. Increasing conclusiveness of metabonomic studies by chem-informatic preprocessing of capillary electrophoretic data on urinary nucleoside profiles. *J Pharm Biomed Anal* 2007; 43: 413-420
  - 35 Ullsten S, Danielsson R, Backstrom D, Sjoberg P, Bergquist J. Urine profiling using capillary electrophoresis-mass spectrometry and multivariate data analysis. *J Chromatogr A* 2006; 1117: 87-93
  - 36 Trygg J, Holmes E, Lundstedt T. Chemometrics in metabonomics. *J Proteome Res* 2007; 6: 469-479
  - 37 Egner PA, Groopman JD, Wang JS, Kensler TW, Friesen MD. Quantification of aflatoxin-B1-N7-Guanine in human urine by high-performance liquid chromatography and isotope dilution tandem mass spectrometry. *Chem Res Toxicol* 2006; 19: 1191-1195
  - 38 Cai H, Boockock DJ, Steward WP, Gescher AJ. Tissue distribution in mice and metabolism in murine and human liver of apigenin and tricrin, flavones with putative cancer chemopreventive properties. *Cancer Chemother Pharmacol* 2007; 60: 257-266
  - 39 Liebich HM, Muller-Hagedorn S, Klaus F, Meziane K, Kim KR, Frickenschmidt A, Kammerer B. Chromatographic, capillary electrophoretic and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry analysis of urinary modified nucleosides as tumor markers. *J Chromatogr A* 2005; 1071: 271-275
  - 40 Dudley E, Lemiere F, Van Dongen W, Esmans E, El-Sharkawi AM, Games DE, Brenton AG, Newton RP. Urinary modified nucleosides as tumor markers. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2003; 22: 987-989
  - 41 Dieterle F, Muller-Hagedorn S, Liebich HM, Gauglitz G. Urinary nucleosides as potential tumor markers evaluated by learning vector quantization. *Artif Intell Med* 2003; 28: 265-279
  - 42 Cho SH, Jung BH, Lee SH, Lee WY, Kong G, Chung BC. Direct determination of nucleosides in the

- urine of patients with breast cancer using column-switching liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* 2006; 20: 1229-1236
- 43 Murphey LJ, Williams MK, Sanchez SC, Byrne LM, Csiki I, Oates JA, Johnson DH, Morrow JD. Quantification of the major urinary metabolite of PGE<sub>2</sub> by a liquid chromatographic/mass spectrometric assay: determination of cyclooxygenase-specific PGE<sub>2</sub> synthesis in healthy humans and those with lung cancer. *Anal Biochem* 2004; 334: 266-275
- 44 Yang J, Xu G, Zheng Y, Kong H, Pang T, Lv S, Yang Q. Diagnosis of liver cancer using HPLC-based metabolomics avoiding false-positive result from hepatitis and hepatocirrhosis diseases. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2004; 813: 59-65
- 45 Chen YJ, Zheng YF, Wang NF, Lu S, Pang T, Yang Q, Xu GW. Significance of urinary nucleosides in diagnosis of gastric carcinoma. *Ai Zheng* 2003; 22: 537-540
- 46 Qiu Y, Su M, Liu Y, Chen M, Gu J, Zhang J, Jia W. Application of ethyl chloroformate derivatization for gas chromatography-mass spectrometry based metabolomic profiling. *Anal Chim Acta* 2007; 583: 277-283
- 47 Feng B, Zheng MH, Zheng YF, Lu AG, Li JW, Wang ML, Ma JJ, Xu GW, Liu BY, Zhu ZG. Normal and modified urinary nucleosides represent novel biomarkers for colorectal cancer diagnosis and surgery monitoring. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1913-1919
- 48 Feng B, Zheng MH, Zheng YF, Lu AG, Li JW, Wang ML, Ma JJ, Xu GW, Yu BM. Application of urinary nucleosides in the diagnosis and surgical monitoring of colorectal cancer. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2005; 43: 564-568
- 49 Ichikawa W. Prediction of clinical outcome of fluoropyrimidine-based chemotherapy for gastric cancer patients, in terms of the 5-fluorouracil metabolic pathway. *Gastric Cancer* 2006; 9: 145-155
- 50 Nakayama Y, Matsumoto K, Inoue Y, Katsuki T, Kadowaki K, Shibao K, Tsurudome Y, Hirata K, Sako T, Nagata N, Itoh H. Correlation between the urinary dihydrouracil-uracil ratio and the 5-FU plasma concentration in patients treated with oral 5-FU analogs. *Anticancer Res* 2006; 26: 3983-3988
- 51 He X, Qiao A, Wang X, Liu B, Jiang M, Su L, Yao X. Structural identification of methyl protodioscin metabolites in rats' urine and their antiproliferative activities against human tumor cell lines. *Steroids* 2006; 71: 828-833

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

中国科技期刊引证报告 (核心版) 发布  
WJG 2006 年影响因子 0.834

本刊讯 2006年*World Journal of Gastroenterology (WJG)*的总被引频次为3576, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第19位, 内科医学类28种期刊的第1位. 2006年*WJG*的影响因子为0.834, 内科医学类28种期刊的第7位. 即年指标0.134, 他引率0.77, 地区数26, 基金论文比0.40, 海外论文比0.78, 学科影响指标0.75. (总编辑: 马连生 2007-11-15)