

## 综 述

# 卵巢癌在代谢组学中的研究进展

杨 帆, 谢树红综述, 黄惠娟审校

**【摘要】** 代谢组学是近年来逐渐发展并应用的又一新兴学科,作为一种新的检测工具,对于卵巢癌筛查有重要的临床意义,通过对相关代谢物的分离和鉴定,对卵巢癌的早期诊断、治疗、鉴别及预后有指导作用,文章就代谢组学概念和方法学、数据分析及卵巢肿瘤标志物筛选、早期诊断、鉴别诊断及预后评估等方面的研究进展进行综述。

**【关键词】** 卵巢癌; 代谢组学; 肿瘤标志物; 早期诊断; 鉴别诊断

**【中图分类号】** R711.75 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2018)02-0160-04

**【DOI】** 10.3969/j.issn.1672-271X.2018.02.012

## 0 引 言

众所周知,基因组学和蛋白质组学分别从基因和蛋白质层面探寻生命活动,但实际上细胞内许多生命活动是发生在代谢物层面的,因此代谢组学成为目前组学领域研究的热点之一。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,在恶性肿瘤早期诊断方面的研究已初显优势,卵巢癌作为妇科恶性肿瘤致死率极高的疾病,一经发现即晚期,急需一种可早期诊断该疾病的方法,代谢组学在卵巢癌中的应用可为卵巢癌的诊断、鉴别诊断及预防提供思路。

## 1 代谢组学的概念及发展进展

代谢组学作为继基因组学、转录组学、蛋白组学之后的又一新兴学科,近年来开始被发展并应用。其概念于 1999 年由 Nicholson 等<sup>[1]</sup>首次提出,定义为研究生命体对病理生理刺激或基因遗传修饰所产生的代谢物质的定量测量。代谢组学是通过模式识别方法和生物信息学方法来检测并追踪代谢物质在生物组织和体液中变化的分析工具<sup>[2]</sup>。

## 2 代谢组学研究方法

**2.1 样品采集与制备** 代谢组学的研究可采用细胞、液体或组织进行离体或在体的分析,血浆、血清、尿液、腹水、唾液、支气管洗涤物、前列腺分泌物或粪便等便于获取和保存,尤其是尿液和血液制品更是产量高且易于制备,因此研究中经常应用尿液和血液制品来进行代谢组学分析。虽然从组织中提取代谢物更加直接,但是因组织标本存在异质性,导致取材需要更加仔细且也更加困难,另外组织周围的上皮细胞也易被污染,因此可能导致研究结果有误差<sup>[3]</sup>。

**2.2 代谢产物检测、分析与鉴定** 代谢组学分析有着多种分析方法,每个分析方法均具有特定的优势和局限性,最显著的是灵敏度、重复性和设备成本差异<sup>[4]</sup>。因此,分析方法的选择将取决于分析的目的,样品的性质,被研究的化合物的性质以及实验室的资源<sup>[5-6]</sup>,其中最广泛使用的方法是核磁共振技术(nuclear magnetic resonance, NMR)、色谱和质谱联用技术,最常用的是气相色谱/质谱(gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS)和液相色谱/质谱(liquid chromatography/mass spectrometry, LC/MS)联用技术。随着代谢组学技术中灵敏度和质谱分辨率的改进,极大程度上促进了代谢组学相关技术的发展<sup>[3,7]</sup>。

**2.2.1 NMR Spectroscopy** NMR 光谱是一种非破坏性、非侵入性技术,能提供分子结构的详细信息,通过自旋松弛和分子扩散的性质, NMR 光谱也可探测代谢物的分子动力学和迁移率(如配体-蛋白

基金项目:全军医药卫生科研课题(14MS129)

作者单位:350025 福州,厦门大学附属东方医院(南京军区福州总医院)妇产科(杨帆、黄惠娟);350025 福州,南京军区福州总医院妇产科(谢树红)

通信作者:黄惠娟, E-mail: hhj352@163.com

结合)<sup>[8]</sup>。这项技术是根据原子核,主要是氢核(<sup>1</sup>H-NMR)的磁性以及在分子中的不同位置,通过共振频率不同来识别不同的原子核<sup>[3,9]</sup>。NMR 光谱法的主要优点是高再生性(通常>98%)<sup>[9]</sup>,并且对于样品制备无或仅有最低要求(样品被保留在未被破坏的天然形式中)<sup>[9]</sup>。此外,NMR 光谱具有分析液体(甚至复杂的混合物)或固体样品的能力,能够使用高分辨率魔角旋转(HRMAS)技术分析完整的组织、细胞提取物和活生物体,并且在活体内可使用局部磁共振波谱成像(MRSI)来分析<sup>[3,9]</sup>。然而,与 MS 技术相比,NMR 敏感性稍弱,对于低丰度代谢物的检测能力较差,因此需要大量样品量或大量细胞来检测,对于仪器方面要求也更加严格,更加昂贵<sup>[3]</sup>。或许正因 NMR 光谱的低灵敏度促进了代谢组学向 MS 技术的转变<sup>[7,10]</sup>。

**2.2.2 质谱** MS 是通过其离子化和碎片化对代谢物进行识别。每个代谢产物均有其特定的碎裂模式,这意味着不同的和特征性的片段将相应地形成和分离成其质荷比( $m/z$ ),为提高 MS 仪器的分辨率、灵敏度、选择性,并允许同位素代谢物的分化,MS 通常与液相色谱(LC)和气相色谱(GC)联用,有助于减少质谱代谢物分离的复杂性<sup>[3,9]</sup>。

**2.3 数据信息处理** 代谢组学的数据分析包括预处理和统计分析方法,多元统计分析方法主要分为两大类:非监督和监督方法,非监督方法包括主成分分析、自组织投影和聚类分析等;监督方法包括显著性分析、偏最小二乘法(PLS)、偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)、人工神经网络等,其中应用最广泛的两种技术分别是主成分分析和 PLS-DA<sup>[11-12]</sup>。PCA 和 PLS 回归已经成为用于探索分类差异和突出解释代谢物的代谢分析中最流行的技术之一。

### 3 代谢组学在卵巢癌中的应用

众所周知,卵巢癌是致死性很高的一种癌症,根据最新国际癌症研究中心(IARC)公布的 2016 年全球癌症数据库资料显示,卵巢癌占女性肿瘤 5%,死亡率居妇科恶性肿瘤首位<sup>[13-14]</sup>。尽管该疾病早期的五年生存率>90%,但是晚期的五年生存率≤20%<sup>[15]</sup>。而早期卵巢癌通常无明显症状,>50%的女性在初次确诊时已经是卵巢癌晚期(III 或 IV 期)甚至是转移期<sup>[16]</sup>。目前为止,还无足够精确的实验来证明卵巢

癌的早期诊断,正因为无系统、全面、准确的临床诊断,才导致了許多卵巢癌患者不能早期诊断,不能早期治疗,由此可见,一个精准的诊断是非常必要的,不仅可更好的治疗疾病,且可提高患者预后。

目前,临床中检测卵巢癌的方法包括经阴道超声和鉴定血液中癌症的特异性生物标志物,如癌症抗原 125(CA-125),癌胚抗原(CEA)和人附睾蛋白 4(HE4)<sup>[17]</sup>,其中,CA-125 是卵巢癌研究最广泛的血清生物标志物。然而,两种类型的检测方法均有各自的缺点。就经阴道超声来说,由于卵巢表面的动态性质,可能会将绝经前妇女的功能性囊肿误认为癌症,这就造成了错误诊断。而对于 CA-125 来说,具有很高的假阳性率,可从很多种病症中产生,包括子宫内膜异位症,子宫肌瘤,出血性卵巢囊肿,急性盆腔炎,月经,妊娠早期和其他几种类型的癌症(胰腺,乳腺,膀胱,肝,肺)等<sup>[18]</sup>。此外,CA-125 通常在早期卵巢癌中无法检出<sup>[19]</sup>。因此,寻找一个能早期诊断卵巢癌的方法迫在眉睫。

近年来,代谢组学已成为许多领域的有力工具<sup>[20-22]</sup>。在生物医学领域也逐渐进步,代谢组学的发展使得可鉴定出越来越多的代谢肿瘤标志物,也在某些疾病的诊断、治疗和预后等方面逐渐显露出其独有的临床价值。

**3.1 卵巢癌潜在肿瘤标志物筛选** 代谢产物可由于机体的病理生理变化而变化,因此对由疾病导致的代谢产物进行分析,有助于我们更全面的掌握机体病情变化过程以及体内物质的代谢途径,从而使临床诊断更准确。Zhou 等<sup>[23]</sup>从 44 个浆液乳头状卵巢癌(I-IV 期)和 50 个健康女性或有良性疾病的女性中,用质谱分析法从血清中发现组胺、嘌呤核苷酸、甘氨酸、丝氨酸、肌氨酸为差异代谢物,丙氨酸、丝氨酸,半胱氨酸、苏氨酸、甘氨酸过度表达。Fong 等<sup>[24]</sup>用气相色谱质谱和液相色谱串联质谱法发现人卵巢代谢组织含有 364 种生物化学物质,卵巢转化能引起能量利用变化,从而引起糖酵解和脂肪酸(如肉碱,乙酰肉碱和丁酰肉碱)的  $\beta$ -氧化发生改变。Chen 等<sup>[25]</sup>基于 LC/MS 联用分析的非靶向代谢组学方法,分析了 27 名健康女性,28 例良性卵巢肿瘤和 29 例上皮性卵巢癌的血清样本,得出 27-非-5 $\beta$ -胆甾烷-3,7,12,24,25 戊糖葡萄糖苷酸,苯丙氨酸,甘氨酸,丙酰基肉碱等是上皮性卵巢癌潜在的生物标志物候选物。

**3.2 卵巢癌的早期诊断** Garcia 等<sup>[26]</sup>用 <sup>1</sup>H NMR 法,从 170 个健康适龄的女性和 182 个卵巢癌 I/II 期患者的血清当中,分析出丙氨酸,缬氨酸,磷脂胆碱等浓度降低,而  $\beta$ -羟基丁酸酯,丙酮和乙酰乙酸的浓度较高,这些可初步与其他基于 NMR 的代谢组学所研究的癌症患者的血清标本的浓度分布变化进行定性比较。从而证明卵巢癌的早期诊断可显著影响卵巢癌患者的临床结局。Chen 等<sup>[25]</sup>运用 LC/MS 联用分析、液相色谱选择性离子监测质谱技术结合 PCR 等模式识别技术分析 27 名健康女性,28 例良性卵巢肿瘤和 29 例上皮性卵巢癌的血清样本,研究发现 27-非-5 $\beta$ -胆甾烷-3,7,12,24,25 戊醇葡萄糖苷酸可用于上皮性卵巢癌的早期诊断之中。其在早期卵巢上皮性癌(I 期)的血清中有升高。Gaul 等<sup>[27]</sup>从 46 个早期(I/II)浆液性上皮性卵巢癌(epithelial ovarian cancer, EOC)患者和 49 个年龄匹配的正常健康女性对照,运用超高效液相色谱,高分辨质谱(UPLC-MS)和串联质谱(MS/MS)方法发现脂质和脂肪酸中的 16 种代谢物对于早期卵巢癌患者诊断有 100%准确性。

**3.3 卵巢癌的鉴别诊断及预后** Cheng 等<sup>[28]</sup>应用亲水作用液相色谱与串联质谱法对包括卵巢癌患者,卵巢良性肿瘤患者和健康对照者共 58 名妇女的血清进行定量分析,其中 8 种内源性碳水化合物在卵巢癌与健康对照组之间差异显著,其中阿糖胞苷是区分卵巢癌的最具潜力的特异性生物标志物,麦芽糖,麦芽三糖,棉子糖和甘露醇能够区分卵巢癌与良性卵巢肿瘤对照组。FAN 等<sup>[29]</sup>为了研究代谢组学在选择 EOC 相关生物标志物中的应用,采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC/QTOF/MS)分析了 173 例血浆标本(80 例新诊断的 EOC 患者和 93 例正常人),发现了 8 种差异代谢物,其中去甲基苯醌在卵巢癌患者中降低,神经节苷脂,溶血磷脂,神经酰胺,植物鞘氨醇,N-甲酰基鸟嘌呤含量上升;实验表明,单个生物标志物在区分 EOC 和对照组方面具有良好的诊断准确性。Chen 等<sup>[30]</sup>应用 LC/MS 联用分析、液相色谱选择性离子监测质谱技术结合 PCR 等模式识别技术分析卵巢上皮性癌、卵巢良性肿瘤、健康女性的血清代谢物,发现 27-非-5 $\beta$ -胆甾烷-3,7,12,24,25 戊醇葡萄糖苷酸在卵巢上皮性癌组织中的含量高于良性卵巢肿瘤组织;Chen 等<sup>[31]</sup>用亲水作用色谱法(HILIC)和反相液相色谱法(RPLC),对 25 名健康女性,29 例良性

卵巢肿瘤和 22 例卵巢癌患者的尿液以 ESI + 和 ESI- 检测模式进行亲和和疏水性尿代谢分析,发现假尿嘧啶和马尿酸等五种代谢物与卵巢癌有关,包括肌酸酐等 10 种代谢物与良性卵巢肿瘤和卵巢癌有关。Ke 等<sup>[32]</sup>运用超高效液相色谱质谱法进行了与 EOC 相关的 448 例血浆样本的代谢分析,发现 53 种代谢物被鉴定为 EOC 的特异性生物标志物,其中胡椒碱,3-吡啶丙酸,5-羟基吡啶乙醛和羟基苯基乳酸酯第一次被发现作为 EOC 的代谢生物标志物,研究表明可很好的区分 EOC 与卵巢交界性肿瘤(borderline ovarian tumors, BOT)和子宫肌瘤(uterine fibroid, UF)。Zhang 等<sup>[33]</sup>从 80 例 EOC 患者和 90 例 BOT 患者的血浆样品中使用超高效液相色谱质谱(UPLC/MS)进行血浆代谢组学分析。采用部分最小二乘法判别分析法对 EOC 和 BOT 进行分类,鉴定出 6 种代谢生物标志物,EOC 患者中 4 种确定的生物标志物[L-色氨酸,溶血卵磷脂(18:3),溶血卵磷脂(14:0)和 2-哌啶酮]的血浆浓度均低于 BOT 患者。其中,研究者发现色氨酸和溶血卵磷脂可能参与癌症进展,2-哌啶酮可能是 EOC 的新型生物标志物。该研究证实,6 种代谢物生物标志物可能是提供调查 EOC 生物学机制的重要信息,在鉴别恶性与良性卵巢肿瘤方面具有有利的价值。Zhang 等<sup>[34]</sup>用超高效液相色谱质谱法从易复发的卵巢癌患者和不易复发的卵巢癌患者的等离子代谢物中比较发现,易复发的卵巢癌患者的左旋色氨酸水平较低,而犬尿素水平则较高,从而分析判断卵巢癌患者的预后。

## 4 结 语

代谢组学是一个包含综合代谢物评估,模式识别和统计分析的新纪元,在检测方法和应用等方面还需要完善。随着代谢组学技术的不断发展,尽管卵巢癌仍然是所有妇科恶性肿瘤中死亡率最高的,但是其诊断、临床分期、鉴别及预后等方面的发展前景和利用价值相信经过进一步探讨和研究定会有广阔的发展前景。

## [参考文献]

- [1] 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.
- [2] Fiehn O. Metabolomics - the link between genotypes and pheno-



- types[J]. *Plant Mol Biol*, 2002, 48(1-2):155-171.
- [3] Spratlin JL, Serkova NJ, Eckhardt SG. Clinical Applications of Metabolomics in Oncology: A Review[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(2):431-440.
- [4] Davis VW, Bathe OF, Schiller DE, *et al*. Metabolomics and Surgical Oncology: Potential Role for Small Molecule Biomarkers[J]. *J Surg Oncol*, 2011, 103(5):451-459.
- [5] Weiss RH, Kim K. Metabolomics in the study of kidney diseases[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2012, 8(1):22.
- [6] Manach C, Hubert J, Llorach R, *et al*. The complex links between dietary phytochemicals and human health deciphered by metabolomics[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2009, 53(10):1303-1315.
- [7] Griffiths WJ, Koal T, Wang Y, *et al*. Targeted metabolomics for biomarker discovery[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 49(32):5426-5445.
- [8] Liu M, Nicholson JK, Lindon JC, *et al*. High-resolution diffusion and relaxation edited one-and two-dimensional 1H NMR spectroscopy of biological fluids[J]. *Anal Chem*, 1996, 68(19):3370-3376.
- [9] Davis VW, Bathe OF, Schiller DE, *et al*. Metabolomics and Surgical Oncology: Potential Role for Small Molecule Biomarkers[J]. *J Surg Oncol*, 2011, 103(5):451-459.
- [10] Wang JH, Byun J, Pennathur S. Analytical Approaches to Metabolomics and Applications to Systems Biology[J]. *Semin Nephrol*, 2010, 30(5):500-511.
- [11] Jolliffe IT. Principal Component Analysis[M]. Springer-Verlag, 1986, 41-64.
- [12] Barker M, Rayens W. Partial least squares for discrimination[J]. *J Chemometr*, 2003, 17(3):166-173.
- [13] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1):7.
- [14] Lyman GH, Bohlke K, Khorana AA, *et al*. Venous Thromboembolism Prophylaxis and Treatment in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update 2014[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(6):654-656.
- [15] Brooks D, Society AC. Cancer screening in the United States, 2013: a review of current American Cancer Society guidelines, current issues in cancer screening, and new guidance on cervical cancer screening[J]. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63(2):88-105.
- [16] Jacobs IJ, Menon U. Progress and challenges in screening for early detection of ovarian cancer[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2004, 3(4):355-366.
- [17] 刘冲, 石群立. 卵巢癌免疫标记物研究进展[J]. *医学研究学报*, 2010, 23(9):985-988.
- [18] Nossov V, Amneus M, Su F, *et al*. The early detection of ovarian cancer: from traditional methods to proteomics. Can we really do better than serum CA-125? [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 199(3):215-223.
- [19] Cesario S. Advances in the early detection of ovarian cancer: How to hear the whispers early[J]. *Nurs Womens Health*, 2010, 14(3):222-234.
- [20] Zhang Y, Li F, Huang F, *et al*. Metabolomics analysis reveals variation in *Schisandra chinensis* cetalolites from different origins[J]. *J Sep Sci*, 2014, 37(6):731-737.
- [21] Li L, Zhao C, Chang Y, *et al*. Metabolomics study of cured tobacco using liquid chromatography with mass spectrometry: Method development and its application in investigating the chemical differences of tobacco from three growing regions[J]. *J Sep Sci*, 2014, 37(9-10):1067-1074.
- [22] Lv M, Chen J, Gao Y, *et al*. Metabolomics based on liquid chromatography with mass spectrometry reveals the chemical difference in the stems and roots derived from *Ephedra sinica*[J]. *J Sep Sci*, 2015, 38(19):3331-3336.
- [23] Zhou M, Guan W, Walker LD, *et al*. Rapid mass spectrometric metabolic profiling of blood sera detects ovarian cancer with high accuracy[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(9):2262-2271.
- [24] Fong MY, McDunn J, Kakar SS. Identification of Metabolites in the Normal Ovary and Their Transformation in Primary and Metastatic Ovarian Cancer[J]. *PLoS One*, 2011, 6:e199635.
- [25] Chen J, Zhang X, Cao R, *et al*. Serum 27-nor-5 beta-Cholestane-3, 7, 12, 24, 25 Pentol Glucuronide Discovered by Metabolomics as Potential Diagnostic Biomarker for Epithelium Ovarian Cancer[J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(5):2625-2632.
- [26] Garcia E, Andrews C, Hua J, *et al*. Diagnosis of Early Stage Ovarian Cancer by H-1 NMR Metabonomics of Serum Explored by Use of a Microflow NMR Probe[J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(4):1765-1771.
- [27] Gaul DA, Mezenцев R, Long TQ, *et al*. Highly-accurate metabolomic detection of early-stage ovarian cancer[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(16351).
- [28] Cheng Y, Li L, Zhu B, *et al*. Expanded metabolomics approach to profiling endogenous carbohydrates in the serum of ovarian cancer patients[J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(2):316-323.
- [29] Fan L, Zhang W, Yin M, *et al*. Identification of metabolic biomarkers to diagnose epithelial ovarian cancer using a UPLC/QT-OF/MS platform[J]. *Acta Oncol*, 2012, 51(4):473-479.
- [30] Chen J, Zhang X, Cao R, *et al*. Serum 27-nor-5 $\beta$ -Cholestane-3, 7, 12, 24, 25 Pentol Glucuronide Discovered by Metabolomics as Potential Diagnostic Biomarker for Epithelium Ovarian Cancer[J]. *J Proteome Res*, 2011(5):2625-2632.
- [31] Chen J, Zhou L, Zhang X, *et al*. Urinary hydrophilic and hydrophobic metabolic profiling based on liquid chromatography-mass spectrometry methods: Differential metabolite discovery specific to ovarian cancer[J]. *Electrophoresis*, 2012, 33(22):3361-3369.
- [32] Ke C, Hou Y, Zhang H, *et al*. Large-scale profiling of metabolic dysregulation in ovarian cancer[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(3):516-526.
- [33] Zhang T, Wu X, Yin M, *et al*. Discrimination between malignant and benign ovarian tumors by plasma metabolomic profiling using ultra performance liquid chromatography/mass spectrometry[J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(9-10):861-868.
- [34] Zhang H, Ge T, Cui X, *et al*. Prediction of advanced ovarian cancer recurrence by plasma metabolic profiling[J]. *Mol Biosyst*, 2015, 11(2):516-521.

(收稿日期:2017-09-19; 修回日期:2017-11-21)

(责任编辑:刘玉巧)