

代谢组学在心血管疾病中的精准应用*

王 洋¹, 蔡志钢³, 房军伟¹, 孙淑军^{4,5}, 张永煜^{1,2**}

(1. 上海中医药大学 中医方证与系统生物学研究中心 上海 201203; 2. 滇西应用技术大学傣医药学院 西双版纳 600100; 3. 上海中医药大学附属曙光医院 上海 201203; 4. 上海交通大学药学院 上海 200240; 5. 上海通微分析技术有限公司 上海 201203)

摘 要:精准医疗的本质是对大样本人群及特定疾病类型进行生物标志物的筛选、定量、验证及应用,最终达到寻找疾病的发病原因、机制及治疗靶点的目标。代谢组学作为检测体内代谢物技术之一,可以通过发现体内代谢物水平的变化及时对机体生理状态做出预判与诊断,并指导进行相应的干预及治疗。本文将对代谢组学技术,在心血管疾病精准诊断、发病机制和治疗方面的应用进行综述。

关键词:代谢组学 心血管疾病 精准医学

doi: 10.11842/wst.2017.09.026 中图分类号: R917 文献标识码: A

随着我国居民生活水平的提高以及生活方式的改变,慢性病发病率逐年升高,且年龄趋于低龄化。据世界卫生组织(WHO)统计,心血管疾病、传染病和癌症占据人类死亡病因的前三位请作者补充参考文献。在全球范围内,心血管疾病造成的死亡占了慢性病的45%,而我国则高达51%。目前,中国心血管疾病的患者已高达2.9亿,此外,还有近1亿的心血管高危人群。随着医疗技术的不断进步,心血管疾病的诊断率、治疗率和控制率等都提高,但是相应的医疗负担也在不断扩大。为了提供更好的治疗方案,近年来“精准医疗”概念被提出,其本质是通过基因组、蛋白质组与代谢组等先进医疗技术,对大样本人群和特定疾病类型进行生物标志物的分析、验证、定量与应用,从而精确寻找疾病的发病原因和治疗靶点,最终实现对疾病和患者进行个性化精准治疗的目的,提高疾病诊断与预防。目前,在先天性代谢性疾病领域,大量的代谢物已经用于对疾病的诊断、进展以及治疗进行评价^[1],如葡萄糖、肌肝、尿素与尿酸已经应用于评估人类疾病

的发展状态^[2]。本文将从心血管疾病中的诊断、治疗及疾病机制等方面阐述代谢组学技术在心血管疾病中的精准应用。

1 代谢组学技术在心血管疾病诊断中的应用

1.1 提高疾病诊断率

为了进一步提高诊断率,尽早的发现疾病并进行有效的预防,国内外研究人员从不同的角度对心血管疾病诊断、机制等均进行了探索。同时,代谢组学技术的应用,将从代谢物层面将患者人群或者高危人群区分为不同的代谢亚型。而这种特异性为疾病的发生、进展及治疗等提供客观科学依据,从而有利于进行准确的诊断以及精准的预防、治疗。Brindle等^[3]采用氢谱核磁共振(¹H-Nuclear Magnetic Resonance, ¹H-NMR)技术对36例严重心血管疾病患者和30例心血管动脉硬化患者进行血清代谢组学分析,研究结果显示在NMR谱的脂质区域,代谢标记物对疾病诊断的灵敏度及专一性高于90%,从而有助于疾病及其严重程度的辅助诊断。该模型还可能判别疾病轻、中、重的严重程度和累及血管的数目,甚至可以细分出轻、中、重及轻

收稿日期:2017-02-23

修回日期:2017-03-22

* 国家自然科学基金面上项目(81373519):基于整体代谢网络的异病同证(三焦)湿热证的证候基础及病变机制研究,负责人:张永煜;上海市学位委员会[(2012)13号]:研究生交叉学科创新人才培养平台建设项目,负责人:张永煜。

** 通讯作者:张永煜,本刊编委,博士,教授,博士生导师,主要研究方向:证候及药效物质基础与体内代谢。

重等亚型。在心力衰竭诊断中,研究结果表明几种代谢物作为指标或许比单纯采用BNP脑钠肽(Brain natriuretic peptide, BNP)作为指标进行有利于疾病的诊断。经过临床筛选和验证两个研究阶段,研究发现在心力衰竭C期,二甲基精氨酸/精氨酸比值,亚精胺、丁酰基肉碱和必需氨基酸总数比BNP指标的诊断灵敏度更好,分别为85%、74%^[4]。Desmoulin等^[5]采用¹H-NMR技术对126例住院病例进行了血浆代谢谱检测,发现的差异代谢物又采用74例样本进行了验证。研究结果提示:体内呈现高水平乳酸盐和低浓度总胆固醇的患者面临死亡的几率更高。通过受试者工作特征曲线(Receiver Operating Characteristic Curve, ROC曲线)分析,发现乳酸盐、胆固醇的浓度以及两者的比例可以更好的预测30天内的生存率。其中两者比例预测率准确度达到82%。基于气相色谱-质谱联用仪(Gas Chromatography-Mass Spectrometer, GC-MS)技术对40例健康对照组和94例冠心病患者血浆进行血浆代谢谱研究,对其中的46种内源性代谢物进行了定性定量分析,其预测率及敏感度分别为98.51%、97.87%,最终筛选出4种代谢物(甘氨酸、丝氨酸、亮氨酸和尿素)可以很好地区分冠心病患者和健康者,预测率及灵敏度达到99.25%及98.94%^[6]。

1.2 根据疾病进程或类型进行诊断

根据疾病的不同严重程度或者发展阶段进行代谢组学研究,从而发现疾病不同阶段的代谢物基础变化特点,从而为相应疾病的精准治疗方案提供科学依据。Brindle等^[7]按照收缩压水平高低将患者分为三组:(Systolic Blood Pressure, SBP)≥150mm Hg、SBP131-149 mm Hg和SBP≤130 mm Hg。SBP≤130 mm Hg和SBP≥131 mm Hg人群的血清代谢谱图有明显差异,这种差异主要是由于它们的脂类代谢不同造成的;但是SBP≥150 mm Hg和SBP≥131 mm Hg的人群血清代谢谱图相似,不能被区分开,此结果说明血清代谢谱的脂类代谢改变与SBP高低有一定的关系。Jiang等^[8]采用¹H-NMR技术对高脂高胆固醇饮食诱导的高脂血症大鼠不同时间点的血浆、尿液、肝组织进行了全面的代谢谱检测,该研究表明不同阶段的代谢物存在一定的差异,从而解释了高脂血症生理状态到病理状态的转变,也为其诊断提供了一定依据。

此外,还可以针对不同类型的心血管疾病展开代谢组学研究,如心力衰竭分为缺血性心力衰竭、舒张性心力衰竭和充血性心力衰竭等^[9]。代谢组学技术可针

对不同的疾病类型筛选各自的差异物,进行辅助诊断和治疗。例如,采用超高效液相色谱与质谱联用(UPLC-MS)分析健康组、无斑块组、有斑块组及心梗组血样代谢谱,筛选并鉴定出对急性心肌梗死具有诊断效能的三种代谢物:L-苏氨酸、3-Methyl-2-butene-1-thiol和4-Hydroxy-6-docosanone。通过各组之间的统计分析,发现L-苏氨酸、3-Methyl-2-butene-1-thiol、N-乙酰-白三烯和4-Hydroxy-6-docosanone四种物质在不同组别的水平不同可能成为急性心肌梗死治疗的新靶点^[10]。

2 代谢组学技术在不同心血管疾病机制中的应用

2.1 高血压

采用高分辨率飞行时间气相质谱(Gas Chromatography-Time-of-Flight-Mass Spectrometer, GC-TOF-MS)代谢组学方法发现高血压病人血浆中游离脂肪酸和部分氨基酸水平明显异常,与人群中游离脂肪酸水平高的个体患高血压风险明显高于其他个体的结论相吻合^[11,12]。此外,氨基葡萄糖,D-山梨糖醇,L-硬脂酰甘油,和高半胱氨酸四种代谢物与高血压也存在一定的关系^[13]。近年来,高血压发病率出现低龄化趋势,对低年龄患者(18-35岁)血浆进行GC-MS代谢物检测,处于高血压I期的男性患者与健康男性志愿者的血浆代谢谱中赖氨酸(降低)、甘氨酸(降低)、胱氨酸(降低)等氨基酸的代谢紊乱可能是造成年轻人更容易患高血压的原因^[14]。也再次验证了高血压患者中存在一定的氨基酸代谢紊乱。

2.2 冠心病

运用¹H-NMR技术对冠心病心绞痛患者血清代谢物进行检测,发现冠心病组乳酸、丙氨酸、谷氨酸盐、葡萄糖、脂类和低密度脂蛋白/极低密度脂蛋白含量明显高于健康对照组,而甜菜碱、胆碱磷酸、牛磺酸与磷酸胆碱含量低于健康对照组,说明冠心病组与能量代谢、脂代谢与糖代谢紊乱关系密切^[15]。而对不同的人群患者进行NMR检测,发现苯丙氨酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸的水平变化可以作为生物标志物预测冠心病(Coronary Heart Disease, CHD)发生^[16]。冠状动脉疾病及其相关的危险因素存在一定的代谢遗传性。研究表明,冲绳地区老年人羧脯氨酸水平高,提示其可能与较少的冠状动脉疾病患病率^[17]。另一项研究^[18]检测了8个早产儿家庭的66种代谢产物,包括酰基肉毒碱类(线粒体脂肪酸、碳水化合物及氨基酸氧化的副

产物)、氨基酸、游离脂肪酸等。在所有3组患者中都发现了代谢物的高度遗传性,这些代谢物包括酮类、 β -羟丁酸、肉毒碱和氨基酸等。

2.3 动脉粥样硬化

根据心血管疾病预测结果以及动脉粥样硬化风险性研究显示,心血管疾病的致死病例中,多数伴随动脉粥样硬化或动脉局部硬化^[19,20]。采用GC-MS技术对10名健康者、9名急性冠状动脉综合征患者(NSTEACS)、10名稳定性动脉粥样硬化患者进行血浆代谢谱检测,其中急性冠状动脉综合征患者血浆柠檬酸、4-羟脯氨酸、门冬氨酸及果糖水平显著降低,而乳酸盐、尿素、葡萄糖及缬氨酸显著升高。为动脉粥样硬化的早期诊断提供必要的代谢标志物,有利于防止疾病的进一步恶化^[21]。联用¹H-NMR技术对稳定性动脉疾病患者的血浆代谢谱与健康者进行比对,发现葡萄糖、丙酮酸盐及长链脂肪酸等24种物质^[22]。这些物质水平的变化更好地了解动脉粥样硬化发生及发展进程。

2.4 心力衰竭

心力衰竭发病后,根据相应指标和并发症等又可分为缺血性心力衰竭、舒张性心力衰竭及充血性心力衰竭等。Kang等^[23]利用¹H-NMR对缺血性心力衰竭患者的尿液进行分析,15例缺血性心力衰竭患者与20例健康者进行代谢谱比对,结果显示:醋酸盐、丙酮、甲基丙二酸、胞嘧啶与苯乙尿酸在心力衰竭患者中水平升高,而甲基烟酰胺代谢水平下降。这些代谢物提示心力衰竭患者中的三羧酸循环和脂肪酸代谢发生紊乱。除了¹H-NMR技术的应用,Zheng等^[24]应用GC-MS和气相色谱-质谱联用仪和液相色谱-质谱联用技术(Liquid Chromatography-Quadrupole-Time-of-Flight-Mass Spectrometry, LC-MS)对204种血清代谢物进行检测,并评估了它们与心力衰竭之间的相关性,其中有16种代谢物与疾病有关。不同技术对不同类型的心力衰竭进行物质基础的探讨,将会筛选出各类型心力衰竭的特有差异物,从而为预防及治疗提供更加准确的指导。

3 代谢组学技术在心血管疾病治疗中的应用

3.1 不同药物作用靶点

不同的药物通过干预不同的代谢途径而达到相同的治疗效果,也就是说,通过研究不同干预方式的代谢谱变化可以提供更具有针对性的疾病治疗方案,达到精准治疗目的。研究者采用代谢组学方法对五种常用

降血压及降脂药物进行研究,希望可以发现不同药物分别引起代谢物产生何种变化,基于这些变化的代谢物提出准确药效物质基础,从而初步阐释不同患者采用不同治疗方案的必要性以及其科学依据^[25]。连续服用4周的虫草素($140 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和辛伐他丁($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的高脂血症组金黄地鼠血浆及肝脏代谢谱进行比较,发现虫草素在血浆中脂肪调节作用较小,而肝脏中脂肪调节水平明显,说明虫草素主要通过影响肝脏中脂肪水平而起到保护作用^[26],说明药物的作用靶点存在差异。Xiang等^[27]利用液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱(Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, LC-Q-TOF-MS)技术比较了麝香保心丸和其他制剂(辛伐他汀、阿替洛尔、雷米普利、氢氯噻嗪及阿司匹林)对心肌梗死的治疗干预作用机制,研究显示麝香保心丸能显示出更好的治疗效果,其不仅具有一定的抗氧化损伤(dUMP、马尿酸、高胱氨酸、5-甲基胞嘧啶及PGPC)、抗炎作用(前列腺素E2、白三烯A4甲酯),而且还能调节能量代谢(AIR、次黄嘌呤、尿囊素、乳酸和3-甲基黄嘌呤)。

3.2 不同人群的疗效差异

不同的种族人群对同一种治疗方案也会存在不同的应答。基于¹H-NMR技术对4个地区17个中心人口群(中国、日本、英国和美国)4630位参与者的24小时尿代谢产物的临床代谢表型研究,发现东西方人群中尿代谢产物存在明显差异,这种差异可能与冠心病或者中风等疾病发病率有关^[28]。该结果说明不同的人群代谢谱具有一定特异性,通过代谢物可将这些人群区分为不同的代谢亚型。而这种特异性将为疾病的发生、进展和治疗等提供客观科学依据,进而进行准确的诊断以及精准的预防及治疗。

Wikoff等^[29]研究了不同种族人群在接受降压药物治疗后其机体代谢物变化。分别给予黑种人和白种人高血压患者 β 受体阻滞剂阿替洛尔,收集患者的血浆进行GC-TOF-MS代谢物分析,发现白种人服药后血浆中饱和棕榈酸、单不饱和油酸、棕榈油酸、多不饱和和花生四烯酸、亚麻酸以及游离脂肪酸水平显著下降,酮体3-羟基丁酸水平的下降尤其明显,下降约33%,而在黑种人群中却没有明显变化。此项研究表明,阿替洛尔引起的代谢物变化可能与种群以及基因型有关系,因此,借助代谢组学技术追踪不同种族或个体的遗传基因差异所引起的代谢物水平差异,来判断药物对不同患者治疗效果的差异性。

4 展望

精准医疗的重点在于“精准”。因此,要想实现准确诊断和个体化治疗,因人而异,因病施治目标。除了代谢组学不同技术之间的结合,还需要进行不同组学技术之间以及其他技术的相互结合,全面的阐述疾病的发病机制及药物的作用靶点。最终根据疾病的分子物质基础对疾病进行重新“分类”,并在不同层面上“对症下药”,找到最适合的药物或治疗手段。

近年来研究已经发现,对于一些慢性疾病,可通过对饮食、作息、运动调整及药物的治疗达到干预目的,也就是说体内代谢物水平的改变在生物体系中起着至关重要的作用。由于心血管疾病的发生是遗传因素和环境因素共同诱发结果,应用基因组学和蛋白组学对

疾病的变异基因、表达蛋白进行筛选,有助于从源头开始阐释疾病机制。而代谢组学可以检测心血管疾病导致机体生理过程代谢产物的改变(病理变化)。因此,对变化的代谢产物进行检测及定量分析,发现代谢途径的调节机制和关键调节点,有助于阐明疾病机制,并结合传统的风险因子评估对提高心血管疾病预测的准确性以及治疗具有潜在的重大意义。

毫无疑问,精准医学计划的提出将带来一场医学界变革。心血管疾病的诊断、预防和治疗将会取得突破性进展,随着代谢组学技术的不断发展,相应分析软件及生物信息学技术的不断成熟,不同类型心血管疾病和不同阶段心血管疾病的生物标志物群的发现和应用将成为现实,大大提高对心血管风险的预测能力、诊断能力、预防能力和治疗疗效。

参考文献

- Wikoff W R, Gangoi J A, Barshop B A, *et al.* Metabolomics Identifies Perturbations in Human Disorders of Propionate Metabolism. *Clin Chem*, 2007, 53(12): 2169–2176.
- Lewis G D. The emerging role of metabolomics in the development of biomarkers for pulmonary hypertension and other cardiovascular diseases (2013 Grover Conference series). *Pulm Circ*, 2014, 4(3): 417–423.
- Brindle J, Antti H, Holmes E, *et al.* Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabolomics. *Nat Med*, 2002, 8(12): 1439–1444.
- Doehner W, Frenneaux M, Anker S D. Metabolic impairment in heart failure: the myocardial and systemic perspective. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 64(13): 1388–1400.
- Desmoulin F, Galinier M, Trouillet C, *et al.* Metabolomics Analysis of Plasma Reveals the Lactate to Cholesterol Ratio as an Independent Prognostic Factor of Short-Term Mortality in Acute Heart Failure. *PLoS One*, 2013, 8(4): e60737.
- 夏继东. 基于GC-MS的冠心病血浆代谢组学研究. 湖南: 中南大学硕士学位论文, 2012.
- Brindle J T, Nicholson J K, Schofield P M, *et al.* Application of chemometrics to ¹H-¹NMR spectroscopic data to investigate a relationship between human serum metabolic profiles and hypertension. *Analyst*, 2003, 128(1): 32–36.
- Jiang C Y, Yang K M, Yang L, *et al.* A ¹H NMR-based metabolomic investigation of time-related metabolic trajectories of the plasma, urine and liver extracts of hyperlipidemic hamsters. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66786.
- Kang S M, Park J C, Shin M J, *et al.* (1)H nuclear magnetic resonance based metabolic urinary profiling of patients with ischemic heart failure. *Clin Biochem*, 2011, 44(4): 293–299.
- 刘婕. 基于UPLC-MS的冠心病患者血清代谢轮廓研究. 天津: 天津医科大学硕士学位论文, 2014.
- Lu Y, Hao H, Wang G, *et al.* Metabolomics approach to the biochemical differentiation of Traditional Chinese Medicine syndrome types of hypertension. *Chin J Clin Pharmacol Ther*, 2007, 12(10): 1144–1150.
- Liu Y, Chen T, Qiu Y, *et al.* An ultrasonication-assisted extraction and derivatization protocol for GC/TOFMS-based metabolite profiling. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 400(5): 1405–1417.
- Liu Y, Chen T, Qiu Y, *et al.* An ultrasonication-assisted extraction and derivatization protocol for GC/TOFMS-based metabolite profiling. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 400(5): 1405–1417.
- Wang L, Hou E T, Wang L J, *et al.* Reconstruction and analysis of correlation networks based on GC-MS metabolomics data for young hypertensive men. *Anal Chim Acta*, 2015, 854: 95–105.
- Vaarhorst A M, Verhoeven A, Weller C M, *et al.* A metabolomic profile is associated with the risk of incident coronary heart disease. *Am Heart J*, 2014, 168(1): 45–52.
- Wurtz P, Havulinna A S, Soininen P, *et al.* Metabolite profiling and cardiovascular event risk: a prospective study of 3 population-based cohorts. *Circulation*, 2015, 131(9): 774–785.
- Bernstein A M, Willcox B J, Tamaki H, *et al.* First autopsy study of an Okinawan centenarian: absence of many age-related diseases. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2004, 59(11): 1195–1159.
- Shah S H, Hauser E R, Bain J R, *et al.* High heritability of metabolomic profiles in families burdened with premature cardiovascular disease. *Mol Syst Biol*, 2009, 5: 258–281.
- Vlachopoulos C, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic

- review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(13): 1318–1327.
- 20 Yang E Y, Chambless L, Sharrett A R, *et al.* Carotid arterial wall characteristics are associated with incident ischemic stroke but not coronary heart disease in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Stroke*, 2011, 43(1): 103–108.
- 21 Vallejo M, Garcia A, Tunon J, *et al.* Plasma fingerprinting with GC-MS in acute coronary syndrome. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 394(6): 1517–1524.
- 22 Teul J, Ruperez F J, Garcia A, *et al.* Improving metabolite knowledge in stable atherosclerosis patients by association and correlation of GC-MS and ¹H NMR fingerprints. *J Proteome Res*, 2009, 8(12): 5580–5589.
- 23 Kang S M, Park J C, Shin M J, *et al.* ¹H nuclear magnetic resonance based metabolic urinary profiling of patients with ischemic heart failure. *Clin Biochem*, 2011, 44(4): 293–299.
- 24 Zheng Y, Yu B, Alexander D, *et al.* Associations between metabolomic compounds and incident heart failure among african americans: the ARIC study. *Am J of Epidemiolo*, 2013, 178(4): 534–542.
- 25 Altmaier E, Fobo G, Heier M, *et al.* Metabolomics approach reveals effects of antihypertensives and lipid-lowering drugs on the human metabolism. *Eur J Epidemiol*, 2014, 29(5): 325–336.
- 26 Sun Y, Lian Z, Jiang C, *et al.* Beneficial metabolic effects of 2',3',5'-tri-acetyl-N6-(3-hydroxyaniline) adenosine in the liver and plasma of hyperlipidemic hamsters. *PLoS One*, 2012, 7(3): e32115.
- 27 Xiang L, Jiang P, Zhan C, *et al.* The serum metabolomic study of intervention effects of the traditional Chinese medicine Shexiang Baoxin Pill and a multi-component medicine polypill in the treatment of myocardial infarction in rats. *Mol Biosyst*, 2012, 8(9): 2434–2442.
- 28 Holmes E, Loo R L, Stalder J, *et al.* Human metabolic phenotype diversity and its association with diet and blood pressure. *Nature*, 2008, 453(7193): 396–400.
- 29 Wikoff W R, Frye R F, Zhu H, *et al.* Pharmacometabolomics reveals racial differences in response to atenolol treatment. *PLoS One*, 2013, 8(3): e57639.

Precision Medicine Application of Metabonomics in Cardiovascular Disease

Wang Yang¹, Cai Zhigang³, Fang Junwei¹, Sun Shujun^{4,5}, Zhang Yongy^{1,2**}

(1. Center for Traditional Chinese Medicine and Systems Biology, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 201203; 2. School of Traditional Dai Medicine, West Yunnan University of Applied Sciences, Jinghong 600100, China; 3. Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 4. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 5. Unimicro (Shanghai) Technologicals Co.,Ltd., Shanghai 201203, China)

Abstract: The essence of precision medicine (PM) is to find the disease pathogenesis, mechanism and treatment targets through large sample population and specific disease type of biomarker exploring, quantitative analysis, verifying and application. Metabolomics, as one of the technologies testing the metabolites *in vivo*, can be used to predict the level of metabolites *in vivo* and to diagnose the physiological state of the body in time for guiding the corresponding intervention. This article summarized the application of metabonomics in the precise diagnosis, pathogenesis and treatment of cardiovascular disease.

Keywords: Metabonomics, cardiovascular disease, precision medicine

(责任编辑:陈 宁,责任译审:王 晶)