

胃癌早期诊断与预后判断代谢组学研究进展*

赵丽沙¹, 吴人照¹, 陈伟¹, 柴可群¹, 董宇^{1,2**}

(1. 浙江省中医药研究院中药研究中心 杭州 310007; 2. 浙江中医药大学第二临床医学院 杭州 310053)

摘要:胃癌是最常见的消化道恶性肿瘤,其病程较长且早期无特异性症状,大多数患者被发现时已至中晚期,预后不良,因此探索非侵袭性、灵敏度高、特异性好的胃癌早期诊断及预后判断生物标志物是胃癌诊疗技术研究的关键问题。近年来,随着代谢组学技术的出现及迅猛发展,在代谢层面寻找高灵敏度和高特异性的胃癌诊断与预后判断生物标志物,已成为该研究领域的热点方向。本文从检测技术、样本数量、数据处理方法以及获得的差异代谢物及其调节的代谢通路等方面对近10年来代谢组学技术用于胃癌早期诊断与预后判断的研究与临床应用进行综述,旨在为代谢组学技术应用于胃癌早期诊断及预后判断提供参考依据。

关键词:胃癌 早期诊断 预后判断 代谢组学 研究进展

doi: 10.11842/wst.20190412001 中图分类号: R241 文献标识码: A

一 胃癌概述

胃癌(Gastric cancer, GC)是最常见的消化道恶性肿瘤之一,是世界第三大癌症^[1]。在全球范围内,每年新增胃癌病例约95.16万例及相关死亡病例约72.31万例^[2],对人类健康和社会发展造成严重危害。胃癌是一种进展性疾病,其发生一般经历五个阶段,即慢性浅表性胃炎→慢性萎缩性胃炎→胃癌前病变(萎缩→肠化生→异型增生)→胃癌。由于胃癌早期常无特异性症状,多数患者就诊时已至中晚期,导致预后不良。据统计,晚期胃癌患者的5年生存率不足20%,而早期确诊并实施手术切除的患者,5年生存率可达90%以上^[3],因此,胃癌的早期诊断并及时干预,对改善胃癌患者预后具有重要意义^[4]。目前,胃癌的诊断主要是基于内镜和组织活检的病理检查,但这一方式创伤性大、成本高、患者依从率低,很难广泛应用于早期胃癌

的临床筛查;而常见的胃肠道肿瘤标志物如CEA、CA72-4和CA19-9虽已被广泛应用于胃癌的诊断、筛查和治疗监测,但在胃癌的早期阶段诊断阳性率不足20%,不能满足胃癌早期筛查的要求;同时,当前胃癌病程判断及预后的主要依据依然是病理(包括组织学分型、侵袭性和转移),影像学表现(用于分期),以及其他的临床特点(年龄和基础疾病等),传统的临床病例特点具有明显的局限性且胃癌不同阶段之间的生物学行为及预后存在较大差异,已不能满足日益发展的临床需求。因此,开发非侵袭性、灵敏度高、特异性好的胃癌诊断及预后判断生物标志物具有重要的现实意义。

二 代谢组学介绍

代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后新近迅速发展的一门学科,用于研究生物体系(生物体液、

收稿日期:2019-04-12

修回日期:2019-10-07

* 浙江省自然科学基金委员会基础公益研究计划项目(LGD19C040005):基于代谢组学技术的亚硝基胍诱导胃癌前病变大鼠模型分型研究,负责人:赵丽沙;浙江省科技厅重点研发计划项目(2015C03033):常见恶性肿瘤中医典型证候临床诊断技术研究,负责人:柴可群。

** 董宇,副研究员,主要研究方向:中药新产品研发与代谢组学。

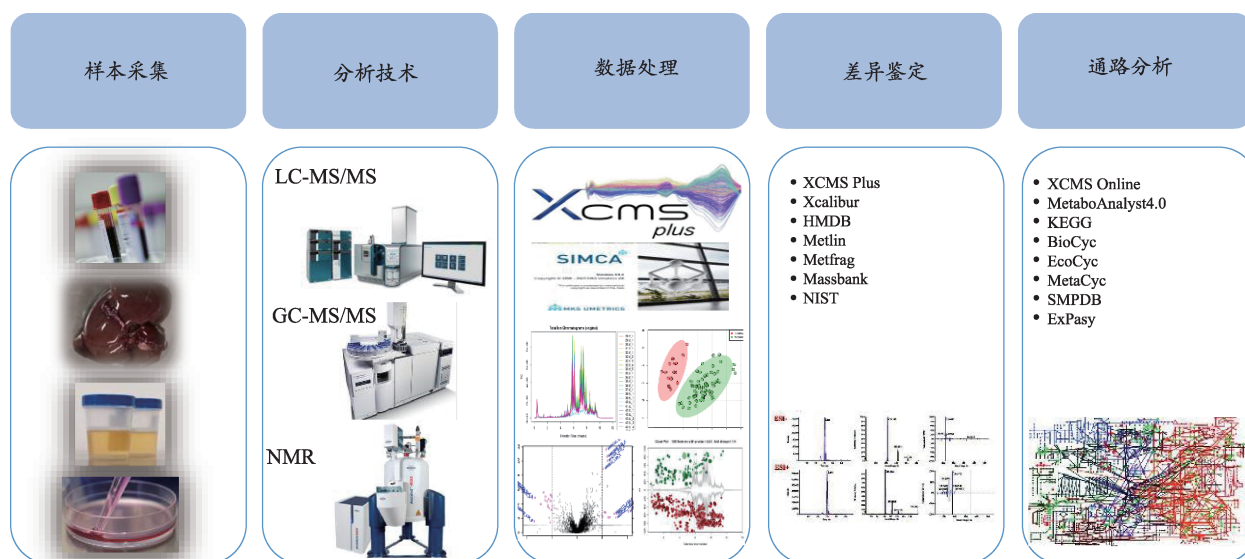


图1 代谢组学代表性工作流程

组织、细胞等)由病理或生理刺激所导致的所有代谢产物变化的科学^[5,6]。相比于其他组学研究面临的基因复杂性、转录后修饰等问题,代谢组学能够直接、全面反映机体内源性代谢信息改变^[7-8],并通过多元统计分析获得生物体特征代谢标记,是开展疾病预测、诊断、预后判断和药物疗效评价的先进技术手段。代谢组学研究常用的分析技术包括核磁共振(NMR^[9])、液相色谱-质谱(LC-MS^[10])、气相色谱-质谱(GC-MS^[11])、毛细管电泳-质谱(CE-MS^[12])等。NMR是尿液和血液代谢组学分析中最常用的分析方法之一,其无损性、无偏性和代谢物识别为分子结构提供了详细的信息,但其灵敏度偏低,代谢物覆盖不全;GC-MS主要针对具有挥发性的代谢产物,脂肪酸、有机酸和糖等代谢物是其主要检测对象;而CE-MS则适合能量代谢研究,能够同时量化带电的低分子量化合物;相比之下,LC-MS可以覆盖更为广泛的代谢物,包括挥发性和非挥发性化合物,是目前较为主流的代谢组学分析方法。

代谢组学研究一般是多组别,多中心之间的比较研究,样本量一般要满足大样本统计学意义,因此通常会获得大量的代谢产物原始数据,需要运用数据分析方法从复杂的数据中提取出有价值的信息,筛选出潜在的生物标志物。目前常用的代谢组学数据分析方法有单变量分析方法和多变量分析方法。单变量分析方法包括 *t* 检验、Wilcoxon 秩和检验和 Kruskal-

Wallis 检验等;多变量分析方法包括非监督的学习方法,如 PCA、非线性映射(NLM)等,以及有监督的学习方法,如偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、基于正交信号校正的偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)、人工神经网络(ANN)、支持向量机(SVM)等。其中,PCA、PLS-DA 和 OPLS-DA 是目前代谢组学领域中使用最为普遍的多变量统计分析方法。在实际应用中,通常先对数据进行预处理,包括归一化(standardization)、标准化(normalization),即中心化(centering)和尺度化(scaling),以及数据转换(transformation);接着采用非监督模式识别方法对样本进行初步分类,借助监督模式方法建立预测模型,筛选差异代谢物;继而运用逻辑回归,将判别分析获得的差异代谢物进一步通过单因素和多因素逻辑回归,获取具有独立危险因素的差异代谢产物,并通过 HMDB、Metlin、MetFrag、MassBank、XCMS online 等进行差异代谢物鉴定,或进一步采用 Metaboanalyst 4.0、KEGG、BioCyc 等进行相关代谢通路分析。代谢组学主要流程见图1。

目前,代谢组学已广泛应用于多个研究领域^[13-15]。在疾病早期诊断研究中,Lin Sun 等^[16]建立了基于 NMR 的血浆代谢组学和分类回归树(CART)分析方法的儿科结核病联合诊断模型,L-缬氨酸、丙酮酸和甜菜碱3种标志物的联合诊断模型的特异性、灵敏度、曲线下面积分别为 94.6%、85.7%、0.984,可用于儿童结核病的诊断。在疾病的分型及病程进展研究中,Yong Fan

表1 代谢组学在胃癌研究中的应用文献检索结果

检索词(题名&关键词&摘要)	数据库	检索结果
(“胃癌”OR“胃肿瘤”)	CNKI	178776
(“代谢组学”)AND(“胃癌”OR“胃肿瘤”)	CNKI	65
(“胃肿瘤”OR“胃癌”)AND(“代谢组学”)AND(“预后”)	CNKI	13
(“胃肿瘤”OR“胃癌”)AND(“代谢组学”)AND(“诊断”)	CNKI	34
(“胃癌”OR“胃肿瘤”)AND(“代谢组学”)AND(“蛋白质组学”)	CNKI	5
(“胃癌”OR“胃肿瘤”)AND(“代谢组学”)AND(“基因组学”)	CNKI	8
(“胃癌”OR“胃肿瘤”)AND(“代谢组学”)AND(“基因组学”)AND(“蛋白质组学”)	CNKI	3
(“Gastric cancer”OR“Stomach Neoplasms”)	Pubmed	50157
(“metabolomics”OR“metabonomics”)AND(“Stomach Neoplasms”OR“Gastric cancer”)	Pubmed	80
(“Gastric cancer”OR“Stomach Neoplasms”)AND(“metabonomics”OR“metabolomics”)AND(“Prognosis”)	Pubmed	26
(“Gastric cancer”OR“Stomach Neoplasms”)AND(“metabonomics”OR“metabolomics”)AND(“Diagnosis”)	Pubmed	47
(“Gastric cancer”OR“Stomach Neoplasms”)AND(“metabonomics”OR“metabolomics”)AND(“Proteomics”)	Pubmed	11
(“Gastric cancer”OR“Stomach Neoplasms”)AND(“metabonomics”OR“metabolomics”)AND(“Genomics”)	Pubmed	7

等^[17]采用代谢组学和生物信息学方法,首次绘制了冠心病及其不同临床阶段(冠脉硬化症、稳定型心绞痛、不稳定型心绞痛、心肌梗死)的血浆代谢组学特征谱,并筛选出12组灵敏度>85%、专属性>85%的代谢标志物群,研究结果可应用于冠心病的早期诊断及高危人群的预警。在疾病预后判断研究中,Chen等^[18]基于靶向代谢组学技术,研究了400名急性髓性白血病(AML)患者和446名健康对照的不同葡萄糖代谢特征,揭示葡萄糖代谢相关血清代谢物标志物乳酸、2-氧戊二酸盐、丙酮酸、2-HG、甘油-3-磷酸、柠檬酸盐可用于AML患者的预后判断。在药物靶点开发研究中,Zhang等^[19]在4个中心的2324份临床血浆样本非靶向代谢组学研究的基础上,发现冠心病进展相关的代谢标志物N-乙酰神经氨酸(Neu5Ac),可作为信号分子激活子Rho-ROCK通路从而触发子RhoA和Cdc42依赖性心肌损伤,证实沉默神经氨酸酶-1可有效缓解心肌缺血损伤,为冠心病药物研发提供了新的靶点。在中医药研究领域,Zhang等^[20]使用中医方证代谢组学策略,系统地评估生脉散在治疗阿尔茨海默病(AD)转基因模型APP^{swe}/PS1^{dE9}(APP/PS1)的疗效,从代谢层面阐明生脉散对APP/PS1小鼠的治疗作用,为揭示中医药治疗阿尔茨海默病的机制提供了指导。

三 代谢组学在胃癌诊断及预后判断中的应用

在本文中,作者采用6个关键字“胃癌/胃肿瘤”、“代谢组学”、“诊断”、“预后”、“蛋白质组学”、“基因组学”,检索中国知网(CNKI)、Pubmed过去10年代谢组

学技术应用于胃癌研究的文献,检索结果(见表1)。综述了近10年来代谢组学技术用于胃癌临床病人、动物和细胞模型的研究,并重点总结生物标志物在胃癌癌症诊断及预后判断中的应用。此外,对使用的技术、样本类型及样本量、统计分析方法等信息进行了汇总(表2)。

四 多组学联用在胃癌诊断及预后判断中的应用

胃癌发病机制复杂,代谢组学单个技术的使用往往不能发现其全部生物学信息的复杂性,将代谢组学与基因组学、蛋白质组学、转录组学相结合,并进行联合分析^[49,50],对胃癌的发生发展进行全面解读,显得尤为必要。Liu等^[47]采用代谢组学联合诊断,对80例胃癌患者和82例健康志愿者进行血清MicroRNA检测、GC/MS代谢组学分析以及血清CEA、CA199含量检测,结果表明5个microRNAs在胃癌患者中有显著性差异表达,MiR-19a和miR-92a的组合,曲线下最高面积(AUC)为0.850,灵敏度为91.3%,特异性为61.0%;GC/MS分析具有良好的诊断价值,AUC达到1.0;Cao等^[48]采用GC-TOF/MS、RT-PCR联用分析方法,发现miR-379中的rs61991156通过作用于PKM2的3'UTR区域参与胃癌的发生;临床资料分析显示rs187960998中的A>G与较好的分化,较小的肿瘤体积,无转移相关;miR-379中的A>G SNP可降低胃癌细胞的增殖以及PKM2的启动子活性和表达;经代谢组学分析,miR-379 GG基因型患者糖酵解明显低于AG和AA基因型。AA基因型患者PKM2表达明显低于G载体,但

表2 代谢组学在胃癌诊断及预后判断中的应用

样本	样本量	方法	统计分析	内容简介	参考文献
血浆	GC(n = 84) GU(n = 82)	LC-QTrap-MS/MS	PLS-DA t-test ROC	i)与胃溃疡患者相比,胃癌组鸟氨酸、甘氨酸、赖氨酸水平升高,谷氨酰胺、组氨酸、精氨酸、色氨酸水平降低。逻辑回归模型包括5种氨基酸为谷氨酰胺、鸟氨酸、组氨酸、精氨酸和色氨酸,该模型曲线下面积(AUC)为0.922、特异性和敏感性分别为85.5%和89.1%。	21
血清/胃液	GC(n = 35) gastritis(n = 17)	LC-TQ-MS/MS	t-test	i)血清和胃液中色氨酸代谢的大尿氨酸途径在胃癌中被激活,而大尿氨酸/色氨酸的代谢率则反映了吡哆胺-2,3-双加氧酶(IDO)酶的活性与观察到的代谢变化有关。大尿氨酸可能作为胃癌的生物标志物。	22
血清	GC T3N1-3(n = 58) GC T3N0(n = 58)	LC-QTOF-MS/MS	PCA,t-test ROC,K-M	i)两组患者之间有4种明显差异的代谢产物:Tyrosyl-Glycine、Cyclic GMP、Homophytanic acid、Farnesyl pyrophosphate 4种代谢产物与患者的生存及预后有关。	23
血清	GC(n = 27) HC(n = 30)	LC-QTOF-MS/MS	PLS-DA OPLS-DA t-test,ROC	i)组氨酸(L-Histidine)在胃癌患者与健康人血液之间有显著的差异,与健康人相比,组氨酸在胃癌患者血液中是降低的。	24
血清	GC(n = 20) HC(n = 60)	LC-TQ-MS/MS	PLS-DA t-test	i)胃癌患者包括磷脂、氨基酸、游离脂肪酸、肉碱等代谢物的代谢紊乱状态,其中二氢胆固醇在发现组及验证组中均能够对胃癌与健康对照组进行很好的区分。	25
血浆	GC(n = 30) HC(n = 30)	LC-QExactive-MS/MS	OPLS-DA t-test Heatmap	i)胃癌患者血浆中脯氨酸、苯丙氨酸等8种代谢物浓度上升,亮氨酸、赖氨酸等5种代谢物浓度下降;而精氨酸和脯氨酸代谢、苯丙氨酸代谢等代谢通路均发生明显重编程,提示胃癌患者体内形成了新的代谢调控网络。	26
血浆	GC(n = 104) HC(n = 50)	LC-TQ-MS/MS	t-test	i)胃癌患者血浆中丙氨酸(Ala)、甘氨酸(Gly)、谷氨酸(Glu)等18种氨基酸水平均较正常对照组下降,缬氨酸(Val)、精氨酸(Arg)、丝氨酸(Ser)水平较正常对照组升高(P 均 <0.05)。胃癌患者血浆氨基酸代谢物如谷氨酰胺Gln、精氨酸Arg在胃癌早期预测中有重要意义。	27
血浆	EGC(n = 50) BGD(n = 50)	LC-QTrap-MS/MS	PLS-DA t-test ROC	i)与对照组相比,Gln、Arg、His和Trp在胃癌组中水平降低,而Orn、Pip和Gly水平升高;最终建立的逻辑回归诊断模型包括3种氨基酸,分别是谷氨酰胺(Gln)、精氨酸(Arg)和鸟氨酸(Orn),回归方程为 $\logit(P) = 0.194Arg + 0.510Gln - 0.047Orn - 6.280$,ROC曲线下面积为0.937,敏感性为90.7%,特异性为90.2%。	28
血清	GC(n = 125) HC(n = 38)	LC-QTOF-MS/MS	PLS-DA t-test,COX K-M	i)5种与预后相关的代谢产物,分别为2,4-Hexadienoic acid、4-Methylphenyl dodecanoate、Glycerol tributanoate、Methionyl-Methionine、PG。	29
尿液	GC(n = 13) HC(n = 9)	LC-MS	PCA (O)PLS-DA t-test	i)胃癌患者2-氧戊二酸、丙氨酸、柠檬酸、L-脯氨酸、苹果酸、苯乙酰甘氨酸、牛磺酸、尿素、尿酸显著升高,琥珀酸、乙醇酸、甘氨酸、十六酸、马尿酸、4-脱氧苏氨酸、嘧啶显著降低。	30
血清	GC(n = 125) HC(n = 38)	HPLC-QTOF-MS/MS	PLS-DA COX K-M	i)血清中2,4-己二酸、4-甲基苯基十二酸酯和甘油三丁酸酯水平低可能是胃癌重要的独立预后因素。	31
血浆	NAG-(n = 40) CAG+(n = 38) PLGC(n = 32) GC(n = 33)	UPLC-QTOF-MS/MS	PLS-DA t-test ROC	i)色氨酸、基鸟氨酸和苯乙酰谷氨酰胺是可作为潜在的胃癌生物标志物。	32
血浆	CSG(n = 50) EGC(n = 7) AGC(n = 25)	UPLC-QTOF-MS/MS	PCA (O)PLS-DA t-test ROC	i) L-肉碱、L-脯氨酸、丙酮醛、磷脂酰胆碱(PC(14:0/18:0))、溶血磷脂酰胆碱(LysoPC(14:0))和赖氨酸丙氨酸可能具有一定的胃癌早期诊断价值 ii) L-脯氨酸、L-缬氨酸、廿二碳四烯酸、丙酮醛、溶血磷脂酰胆碱(LysoPC(20:4(SZ,BZ,11 Z,14Z)))和磷脂酰胆碱(PC(O-18:0/0:0))可以用于早期胃癌发展趋势的预警。	33

下转续表

续表2

样本	样本量	方法	统计分析	内容简介	参考文献
血清	AGC($n=17$) HC($n=33$)	UPLC-QTOF-MS/MS	PLS-DA t-test	i)PCA 统计学处理可将进展期胃癌组与健康人群组较为清楚地区分开来。同时找到3个潜在代谢标志物,经鉴定为 LPC(16:0),LPC(18:1)和 LPC(18:2)。	34
血清	GC($n=71$) FDC($n=54$)	LC-TQ-MS/MS	PLS-DA t-test ROC	i)与直系亲属相比,胃癌患者具有较低水平的羟化鞘磷脂(SM(OH)22:1,SM(OH)22:2,SM(OH)24:1)和磷脂酰胆碱(PCae40:1,PCae42:2,PCae42:3)和更高水平酰基肉碱衍生物(C2,C16,C18:1)。胃癌代谢物整合风险预测分析的特异性和敏感性分别为73.47%和83.78%,ROC曲线下面积为0.811、当代代谢物与血清PGs整合后,曲线下面积提高至0.90。	35
细胞	MGC-803 MGC-803(二氢睾酮和雌二醇刺激)	UHPLC-QTrap-MS/MS	PCA t-test Heatmap	i)结果表明,脯氨酸、丙氨酸、甘氨酸、羟基-脯氨酸、蛋氨酸、精氨酸、天冬酰胺、酪氨酸在经J3刺激后的细胞中含量明显升高,谷氨酰胺、苯丙氨酸、丝氨酸、缬氨酸、同型丝氨酸、色氨酸在经J3刺激后的细胞中含量明显降低。	36
细胞	MGC-803 GES-01	LC-QExactive-MS/MS	PCA OPLS-DA	i)SDZ17对LSD1高表达的胃癌细胞MGC-803的代谢通路具有较强的影响,可引起包括SDZ17对氨酰tRNA生物合成、精氨酸和脯氨酸代谢途径、氮平衡、缬氨酸,异亮氨酸和亮氨酸代谢在内的代谢通路的变化。	37
组织	LNM-positiveGC($n=40$) LNM-negativeGC($n=40$) HC($n=40$)	^1H NMR	PLS-DA OPLS-DA t-test,ROC	i)支链氨基酸代谢(亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸),谷胱甘肽和甜菜碱可能成为有或无淋巴结转移的胃癌患者诊断和预后的潜在因素。	38
尿液	HC($n=43$) BGD($n=40$) HC($n=40$)	^1H NMR	PLS-DA OPLS-DA t-test,ROC	i)逻辑回归模型共鉴定出3种差异代谢物:2-羟基异丁酸盐、3-吡啶基硫酸盐和丙氨酸,其模型曲线下面积ROC为0.95	39
血清	Model group ($n=96$) Control group ($n=32$)	^1H NMR	PLS-DA OPLS-DA t-test	i)结果表明,氧化应激相关的代谢途径,胆碱磷酸化和脂肪酸降解在胃癌发生过程中不断受到干扰;氨基酸代谢在胃不典型性增生和胃癌中受到显著干扰;两条激活途径(糖酵解;甘氨酸,丝氨酸和苏氨酸代谢)对胃癌的代谢变化起重要作用。	40
血浆	CSG($n=20$) GC($n=17$) postoperative GC ($n=15$)	GC-TOF/MS	PLS-DA t-test	i)对胃癌患者、术后胃癌患者以及慢性浅表性胃炎患者的组织代谢物和血浆进行了分析,结果胃癌患者的组织和血浆代谢表型明显不同于慢性浅表性胃炎。	41
组织	CSG($n=20$) GC($n=17$) postoperative GC ($n=15$)	GC-TOF/MS	PLS-DA t-test	ii)在胃癌组织中,乳糖、乳酸、柠檬酸、谷氨酰胺、半胱氨酸、赖氨酸等在胃癌组明显高于慢性胃炎组;在胃癌血浆中,蔗糖、乳酸、琥珀酸、丝氨酸、甘氨酸、半胱氨酸等在慢性胃炎组中明显高于胃癌组。	41
唾液	EGC($n=20$) AGC($n=84$) HC($n=116$)	LC-QTrap-MS/MS SERS Sensors	PCA t-test ROC	i)基于HPLC-MS和表面增强拉曼散射传感器的分析鉴定了区分早期和晚期胃癌患者的在人类唾液中十种氨基酸,其诊断模型的特异性>87.7%,灵敏度>80%。	42
尿液	metastasis group($n=8$) non-metastasis group($n=8$) Control group($n=8$)	GC-MS	PCA t-test ROC	i)结果胃癌组尿液代谢轮廓较正常组有明显变化;与非转移组相比,丙氨酸、丁酸、甘油、L-脯氨酸、L-苏氨酸水平显著下降,琥珀酸,肌醇水平在转移组的尿液中显著提高,构建的胃癌转移模型ROC曲线示AUC为1.00。	43

下转续表

续表2

样本	样本量	方法	统计分析	内容简介	参考文献
血浆	CSG(<i>n</i> = 19) CAG(<i>n</i> = 13) IM(<i>n</i> = 10) DYS(<i>n</i> = 15) GC(<i>n</i> = 22)	GC-TOF/MS	PLS-DA t-test	i)15种已被鉴定的代谢物对慢性浅表性胃炎和胃癌的鉴别贡献最大,并对胃癌的不同阶段进行了表征。统计分析显示胃癌患者2-羟基丁酸、焦谷氨酸、谷氨酸、天冬酰胺、壬二酸、鸟氨酸、尿酸盐、11-二十碳烯酸、1-单十六烷酰甘油和g-生育酚水平升高,肌酸酐、苏氨酸的水平下降。	44
血清	薄白苔健康对照(<i>n</i> = 22), 薄白苔组(<i>n</i> = 42),白厚苔组 (<i>n</i> = 9),黄薄苔组(<i>n</i> = 28) 黄厚苔组(<i>n</i> = 22)	GC-MS	PCA OPLS-DA t-test ROC	i)经筛选发现了35种血清标志代谢分子与胃癌患者舌苔类型相关,4种舌苔胃癌患者血清均表现为4-氨基丁酸水平升高并涉及酪氨酸代谢通路	45
血浆	NAG-(<i>n</i> = 19) CAG+(<i>n</i> = 20) PLGC(<i>n</i> = 21) GC(<i>n</i> = 20)	LC-TQ-MS/MS	PLS-DA t-test ROC	i)胃癌患者(GC)代谢谱可与NAG、CAG+和PLGC患者显著区分。通路分析显示色氨酸和氮代谢通路发生显著改变(FDR <i>P</i> < 0.01)。三种代谢物(组氨酸、色氨酸和苯乙酰谷氨酰胺)在非胃癌组和胃癌组之间有显著区别。	46
血清	GC(<i>n</i> = 80) HC(<i>n</i> = 82)	GC-MS RT-PCR	PLS-DA OPLS-DA t-test,ROC	i)5个microRNAs在胃癌患者中有显著性差异表达。MiR-19a和miR-92a的组合具有曲线下最高面积(AUC)为0.850、灵敏度为91.3%、特异性为61.0%。GC/MS分析具有良好的诊断价值、AUC达到1.0。	47
血浆	GC(<i>n</i> = 871) HC(<i>n</i> = 812)	GC-TOF/MS RT-PCR Western-blot	OPLS-DA t-test K-M	i)rs187960998中的A>G与较好的分化、较小的肿瘤体积、无转移相关。miR-379中的A > G SNP可降低胃癌细胞的增殖以及PKM2的启动子活性和表达。经代谢组学分析、miR-379 GG基因型患者糖酵解明显低于AG和AA基因型。	48

注:胃癌:Gastric cancer (GC);胃溃疡:Gastric ulcer (GU);健康对照:Healthy control (HC);早期胃癌:Early gastric cancer (EGC);良性胃部疾病:Benign gastric diseases (BGD);非活动性胃炎:non-active gastritis (NAG);慢性萎缩性胃炎:chronic atrophic gastritis (CAG);胃癌前病变:Precancerous lesions of gastric cancer (PLGC);进展期胃癌:Advanced gastric cancer (AGC);慢性浅表性胃炎:chronic superficial gastritis (CSG);胃癌患者一级亲属:First-Degree Relatives of Gastric Cancer Patients (FDR);肠上皮化生:intestinal metaplasia (IM);异型增生:gastric dysplasia (DYS);淋巴结转移:lymph node metastasis(LNM);人胃癌细胞株:MGC-803;人胃粘膜上皮细胞株:GES-01;K-M:Kaplan-Miere 曲线。

miR-379表达无显著性差异;AA基因型患者的生存率明显低于G型携带者。Song Y等^[51]研究了长链非编码RNA (lncRNAs),报道了赖氨酸琥珀酰化的定性和定量方法,发现了一种新的机制,通过其核心酶的赖氨酸琥珀酰化,可以调控TCA循环和戊糖磷酸途径;然后检测了赖氨酸琥珀酰化作为胃癌生物标志物的潜力,并成功地开发了一种琥珀酰化依赖性抗体,用于Caldesmon的K569位点;最后,研究了赖氨酸琥珀酰组与lncRNA之间的关系,确定了两个lncRNA和一个琥珀酰化位点之间的潜在交叉位点。这些结果拓展了我们对肿瘤发生机制的认识,为胃癌的诊断和预后提供了新的思路和方法。

五 讨论

胃癌的发生、发展是一个渐进的过程,通过代谢产物谱的研究,在这个过程中已经发现许多代谢产物的异常表达。本文对近10年胃癌代谢组学相关文献

进行整理,发现氨基酸、脂肪酸、磷脂酰胆碱、肉碱等生物标志物对胃癌的早期诊断可能具有重要意义,其中支链氨基酸(亮氨酸,异亮氨酸,缬氨酸),谷氨酰胺、精氨酸、鸟氨酸、组氨酸、色氨酸、苯乙酰谷氨酸等在胃癌早期预测中有重要意义。但由于代谢组学本身的复杂性,目前仍处于不断发展和逐步完善的阶段,代谢组学在胃癌诊断标志物研究中仍存在一些需要注意的问题。首先,因为代谢物的变化性和不稳定性,代谢组学对样本的数量和质量要求较高,因此样本数量的增大、肿瘤患者样本采样标准的统一显得尤为重要;其次代谢组学数据复杂多样,因此应用化学计量学与计算机生物学的融合、构建全数据代谢网络和代谢组动态校正定量数学建模是代谢组学工作者需要进一步完成的课题;另外,寻找代谢物中独特的生物标志物是研究热点,但寻找标志物并不是代谢组学研究的终极目标,深入挖掘其作用机理,解释生物标志物与疾病发生发展之间存在的联系通路是研究

热点,也是难点。代谢组学虽然已经能在一定程度上进行生物学解释,但在检测过程中很容易受到背景干扰,有时无法完整解释生物学过程,因此需要多组学方法的综合运用^[52],以获得更全面的结果,同时,代谢组学的发展应以临床为导向,结合临床实验和动物实验结果,联系患者疾病表型与机体内在实质变化,缩

短基础研究与临床治疗的转化进程,发现具有临床价值的肿瘤标志物^[53]。未来,随着代谢组学、基因组学和蛋白质组学等新兴技术的发展和完善,有望筛选出敏感性高、特异性强的胃癌诊断标志物或联合多种标志物用于胃癌的诊断与预后判断。

参考文献

- Chen W, Zheng R, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015. *CA: Ca-Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 等. 中国胃癌流行病学现状. *中国肿瘤临床*, 2017, 44(1): 52-58.
- Jung J, Jung Y, Bang E J, *et al.* Noninvasive Diagnosis and Evaluation of Curative Surgery for Gastric Cancer by Using NMR-based Metabolomic Profiling. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21: 736-742.
- Jayavelu N D, Bar N S. Metabolomic studies of human gastric cancer: Review. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(25): 8092-8101.
- Beeharry M K. New blood markers detection technology: A leap in the diagnosis of gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 2016, 22(3): 1202-1212.
- 陈静, 单圆鸿, 严沁, 等. 一种基于液相色谱-质谱技术进行血清代谢组学研究的方法: 从代谢指纹到潜在标志物. *中国科学: B辑*, 2009, 39(10): 1268-1276.
- Abreu M T, Peek R M. Gastrointestinal Malignancy and the Microbiome. *Gastroenterology*, 2014, 146(6): 1534-1546.e3.
- Wei G, Yue T H, Ning W, *et al.* Deciphering hepatocellular carcinoma through metabolomics: from biomarker discovery to therapy evaluation. *Cancer Management and Research*, 2018, 10: 715-734.
- Ivana J, Susana A, Carvalho R A, *et al.* Senescence and declining reproductive potential: Insight into molecular mechanisms through testicular metabolomics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2018, S0925-4439(18)30277-1.
- Smith A M, King J J, West P R, *et al.* Amino Acid Dysregulation Metabotypes: Potential Biomarkers for Diagnosis and Individualized Treatment for Subtypes of Autism Spectrum Disorder. *Biological psychiatry*, 2019, 85(4): 345-354.
- Kuboniwa M, Sakanaka A, Hashino E, *et al.* Prediction of Periodontal Inflammation via Metabolic Profiling of Saliva. *Journal of Dental Research*, 2016, 95(12): 1381-1386.
- 樊静. 基于MRB的CE-MS技术对胃癌、大肠癌和胰腺癌尿液代谢组学的研究. 苏州: 苏州大学硕士学位论文, 2012.
- 宋雪. 基于超高效液相色谱-质谱联用的肺癌代谢组学轮廓分析. 大连: 大连医科大学硕士学位论文, 2013.
- Kaushik A K, Deberardinis R J. Applications of metabolomics to study cancer metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 2018, 1870, 2-14.
- Chen Y, Zhang J, Guo L L, *et al.* A characteristic biosignature for discrimination of gastric cancer from healthy population by high throughput GC-MS analysis. *Oncotarget*, 2016, 7(52): 87496-87510.
- Sun L, Li J, Ren N, *et al.* Utility of Novel plasma metabolic markers in the diagnosis of Pediatric Tuberculosis: A Classification and Regression Tree Analysis Approach. *Journal of Proteome Research*, 2016, 9(15): 3118-3125.
- Fan Y, Li Y, Chen Y, *et al.* Comprehensive Metabolomic Characterization of Coronary Artery Diseases. *Journal of the American College of Cardiology*, 2016, 68(12): 1281-1293.
- Chen W L, Wang J H, Zhao A H. A distinct glucose metabolism signature of acute myeloid leukemia with prognostic value. *Blood*, 2014, 124(10): 1645-1654.
- Zhang L, Wei T T, Li Y, *et al.* Functional Metabolomics Characterizes a Key Role for N-Acetyl-Neuraminic Acid in Coronary Artery Diseases. *Circulation*, 2017, 137(13): 1374-1390.
- Zhang A H, Yu J B, Sun H, *et al.* Identifying quality-markers from ShengmaiSan protects against transgenic mouse model of Alzheimer's disease using chinmedomics approach. *Phytomedicine International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology*, 2018, 45, 84-92.
- Jing F, Hu X, Cao Y, *et al.* Discriminating gastric cancer and gastric ulcer using human plasma amino acid metabolic profile. *IUBMB Life*, 2018, 70(6): 553-562.
- Choi J M, Park W S, Song K Y, *et al.* Development of simultaneous analysis of tryptophan metabolites in serum and gastric juice - an investigation towards establishing a biomarker test for gastric cancer diagnosis. *Biomedical Chromatography*, 2016, 30(12), 1963-1974..
- 陈明岩. 代谢产物对T3期胃癌淋巴结转移状态的预测. 长春: 吉林大学硕士学位论文, 2016.
- 都业超. 基于液相色谱质谱联用技术的胃癌代谢组学研究. 长春: 吉林大学硕士学位论文, 2015.
- 杨太忠, 罗萍, 李艳丽, 等. 基于拟靶向液相色谱-质谱联用的胃癌患者血清代谢组分析. *色谱*, 2014, 02: 126-132.
- 祝青青, 金杰, 徐敏, 等. 基于液相色谱-质谱技术的早期胃癌血清多肽组学研究. *现代生物医学进展*, 2018, 09: 1616-1668.
- 修凤民, 张凤, 矫健鹏, 等. 胃癌患者血浆24种氨基酸代谢物水平变化. *第二军医大学学报*, 2018, 01: 62-67.
- 荆昉宇. 液相色谱-串联质谱法分析早期胃癌与胃良性疾病患者血浆氨基酸的差异性. 锦州: 锦州医科大学硕士学位论文, 2018.
- 邹齐. 胃癌血清代谢组与临床病理参数及预后关系的研究. 吉林:

- 吉林大学硕士学位论文, 2016.
- 30 Liang Q, Wang C, Li B. Metabolomic Analysis Using Liquid Chromatography/Mass Spectrometry for Gastric Cancer. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2015, 176(8): 2170–2184.
 - 31 Wang D, Li W, Zou Q, *et al.* Serum metabolomic profiling of human gastric cancer and its relationship with the prognosis. *Oncotarget*, 2017, 8(66): 110000–110015.
 - 32 Kuligowski J, Sanjuan-Herrández, Daniel, *et al.* Metabolomic analysis of gastric cancer progression within the Correa's cascade using ultraperformance liquid chromatography – mass spectrometry. *Journal of Proteome Research*, 2016: acs.jproteome.6b00281.
 - 33 黎进. 基于超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱联用的胃癌患者血浆代谢组学分析. 浙江中医药大学硕士学位论文, 2016.
 - 34 林清认. 超高效液相色谱-质谱联用对胃癌代谢组学的研究. 浙江大学硕士学位论文, 2010.
 - 35 Giuseppe C, Renato C, Gianmaria M, *et al.* Use of Metabolomics as a Complementary Omic Approach to Implement Risk Criteria for First-Degree Relatives of Gastric Cancer Patients. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(3): 750–376.
 - 36 王清利. 基于UHPLC-MS/MS技术的细胞代谢组学方法的建立及应用. 郑州大学硕士学位论文, 2018.
 - 37 徐少博. LSD1抑制剂SDZ17诱导胃癌细胞的代谢重编程机制的研究. 郑州大学硕士学位论文, 2017.
 - 38 Zhang H, Cui L, Liu W, *et al.* 1H NMR metabolic profiling of gastric cancer patients with lymph node metastasis. *Metabolomics*, 2018, 14(4): 47–60.
 - 39 Chan A W, Mercier P, Schiller D, *et al.* 1H-NMR urinary metabolomic profiling for diagnosis of gastric cancer. *British Journal of Cancer*, 2015, 114: 59–62.
 - 40 Gu J, Hu X, Shao W, *et al.* Metabolomic analysis reveals altered metabolic pathways in a rat model of gastric carcinogenesis. *Oncotarget*, 2016, 7(37): 60053–60073.
 - 41 于莲珍. 消化道肿瘤(胃癌、食管癌)的代谢特征和代谢标志物的研究. 南京医科大学博士学位论文, 2012.
 - 42 Chen Y, Zhang Y, Pan F, *et al.* Breath Analysis Based on Surface Enhanced Raman Scattering Sensors Distinguishes Early and Advanced Gastric Cancer Patients From Healthy Persons. *ACS Nano*, 2016, 10(9): 8169–8179.
 - 43 胡骏铎. 基于尿液代谢组学对胃癌诊断及转移的研究. 苏州大学硕士学位论文, 2011.
 - 44 Yu L, Aa J, Xu J, *et al.* Metabolomic phenotype of gastric cancer and precancerous stages based on gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2011, 26(8): 1290–1297.
 - 45 徐硕, 向春婕, 朱振华, 等. GC-MS分析不同舌苔胃癌患者的血清代谢组学差异. 南京中医药大学学报, 2019, 02: 194–198.
 - 46 Lario S, Ramírez-Lázaro, JoséMaria, *et al.* Plasma sample based analysis of gastric cancer progression using targeted metabolomics. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 17774.
 - 47 Liu H N, Wu H, Tseng Y J, *et al.* Serum microRNA signatures and metabolomics have high diagnostic value in gastric cancer. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 415–426.
 - 48 Na C, Meng L, Jun H, *et al.* rs61991156 in miR-379 is associated with low capability of glycolysis of gastric cancer by enhanced regulation of PKM2. *Cancer Cell International*, 2018, 18(1): 92–100.
 - 49 Slavin T, Neuhausen S L, Rybak C, *et al.* Genetic Gastric Cancer Susceptibility in the International Clinical Cancer Genomics Community Research Network. *Cancer Genetics*, 2017, 216–217: 111–119.
 - 50 Sophie G, MikaL C, Julie L, *et al.* Consequences of blunting the mevalonate pathway in cancer identified by a pluri-omics approach. *Cell Death & Disease*, 2018, 9(7): 745–757.
 - 51 Song Y, Wang J, Cheng Z, *et al.* Quantitative global proteome and lysine succinylome analyses provide insights into metabolic regulation and lymph node metastasis in gastric cancer. *Scientific Reports*, 2017, 7: 42053–42068.
 - 52 Abbassi-Ghadi N, Kumar S, Huang J, *et al.* Metabolomic profiling of oesophago-gastric cancer: A systematic review. *European journal of cancer*, 2013, 49(17): 3625–3637.
 - 53 Shiyu X, Liya Z. Gastric cancer: Metabolic and metabolomics perspectives (Review). *International Journal of Oncology*, 2017, 51(1): 5–17.

Research Progress on Diagnosis and Prognosis of Gastric Cancer Based on Metabolomics

Zhao Lisha¹, Wu Renzhao¹, Chen Wei¹, Chai Kequn¹, Dong Yu^{1,2}

(1. Department of Pharmacy/Zhejiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou, 310007;

2. The 2ND clinical medical college/Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, 310053)

Abstract: Gastric cancer is the most common malignant tumor of the digestive tract. It has a long course and no specific symptoms in the early stage. Most patients have been discovered until the advanced stage, and has poor prognosis. Therefore, exploring non-invasiveness, high sensitivity and good specificity biomarkers of early diagnosis and prognosis

of gastric cancer are the key issues. In recent years, with the emergence and rapid development of metabolomics, it has become a hotspot to find high sensitivity and good specificity biomarkers for diagnosis and prognosis of gastric cancer at the metabolic level. This paper reviewed on gastric cancer based on metabolomics in the past 10 years. The research and clinical application of metabolomics technology in early diagnosis and prognosis of gastric cancer are summarized. The sample quantity, detection technology, data processing method and the obtained differential metabolites and their regulated metabolic pathways are intended to provide a reference for the application of metabolomics in the early diagnosis and prognosis of gastric cancer.

Keywords: Gastric cancer, early diagnosis, prognosis, metabolomics, research progress

(责任编辑: 闫 群; 责任译审: 钱灵姝)