doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.11.001

·基础研究· 基于液相色谱串联高分辨质谱技术的小细胞肺癌血浆代谢组学研究*

阿衣娜扎尔·艾合买提1 李雨婧2 邹沛辰1

王珏3赵雪雯3沙攀3朱亮14 唐亚斌14

(1上海交通大学基础医学院药理学与化学生物学系上海 200025;

2上海交通大学附属胸科医院 呼吸内科 上海 200030;3上海交通大学医学院 上海 200025)

摘要目的:对小细胞肺癌患者血浆开展质谱代谢组学研究,表征其基线代谢特征,为小细胞肺癌诊疗提供基础代谢数据及线索。 方法:基于液相色谱串联四极杆飞行质谱技术,以45 例小细胞肺癌患者和53 例对照组(健康人群)血浆为研究对象,进行非靶向 代谢组学分析及代谢表征。结果:与对照组相比,基线期小细胞肺癌患者血浆代谢发生显著改变,共发现113 种差异代谢物,其中 2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate(FC=9.17)、cyclic adenosine monophosphate(FC=7.72)、inosine(FC=6.38)等59 种代谢物水平 升高,2-aminobenzoic acid(FC=0.24)、glutathione(FC=0.27)、xanthine(FC=0.29)等54 种代谢物水平下降,差异代谢通路主要涉及 色氨酸等氨基酸代谢。结论:小细胞肺癌患者基线血浆代谢轮廓与健康人群存在显著差异,相关差异代谢物及通路的挖掘有助于 推动小细胞肺癌新型诊断标志物发现和代谢干预靶点的揭示,改善其治疗手段有限等现状。

关键词:小细胞肺癌;血浆;代谢组学;高分辨质谱

中图分类号:R-33;R734.2;R446.11 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)11-2001-08

Plasma Untargeted Metabolomics of Small Lung Cancer Cell Based on Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry*

Ayinazhaer · Ahemaiti¹, LI Yu-jing², ZOU Pei-chen¹, WANG Jue³, ZHAO Xue-wen³, SHA Pan³, ZHU Liang^{1△}, TANG Ya-bin^{1△} (1 Department of Pharmacology and Chemical Biology, College of Basic Medical Sciences, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200025, China; 2 Department of Pulmonary Medicine, Shanghai Chest Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 20030, China; 3 College of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200025, China)

ABSTRACT Objective: Conduct metabolomic research on the plasma of patients with small cell lung cancer to characterize their baseline metabolic characteristics and provide basic metabolic data and clues for the treatment of small cell lung cancer. **Methods:** Based on liquid chromatography couple with quadrupole time-of-fight mass spectrometry, plasma untargeted metabolomics studies and metabolic characterization on 53 controls (healthy people) and 48 patients with small cell lung cancer were developed. **Results:** The plasma metabolism was significantly altered in patients with small cell lung cancer at baseline compared to controls and a total of 113 differential metabolites were identified. The 59 up-regulated metabolites such as 2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate (FC=9.17), cyclic adenosine monophosphate (FC=7.72), and inosine (FC=6.38), and 54 down-regulated metabolites such as 2-aminobenzoic acid (FC=0.24), glutathione (FC=0.27) and xanthine (FC=0.29), mainly participated in amino acid metabolism. **Conclusions:** Metabolic profiling was changed significantly between patients with small cell lung cancer and controls. The discovery of relevant differential metabolites and pathways will help promote the development of new targeted drugs for small cell lung cancer, thereby improving the current situation of limited treatment options and lack of targeted treatments.

Key words: Small Cell Lung Cancer; Plasma; Metabolomics; High Resolution Mass Spectrometry Chinese Library Classification (CLC): R-33; R734.2; R446.11 Document code: A Article ID:1673-6273(2024)11-2001-08

前言

肺癌是全球发病率和死亡率最高的恶性肿瘤凹。小细胞肺

癌(Small Cell Lung Cancer, SCLC)约占肺癌病例的 15%,是一种高度恶性的肺部神经内分泌肿瘤^[2],其侵袭力强、浸润性高、生存期短、预后差,大约 70%的患者诊断时已发生远处转移^[34]。

*基金项目:国家自然科学基金项目(82103050)

朱亮(1974-),男,教授,主要研究方向:药理学,E-mail: jyzhul@shsmu.edu.cn

(收稿日期:2023-12-19 接受日期:2024-01-16)

作者简介:阿衣娜扎尔·艾合买提(1997-),女,硕士研究生,主要研究方向:药理学,E-mail: Aynazar0601@163.cm

[△] 通讯作者: 唐亚斌(1986-), 男, 高级实验师, 主要研究方向: 肿瘤代谢及代谢组学, E-mail: leonyabin2018@shsmu.edu.cn;

根据 SCLC 的分期分型,综合治疗手段包括靶向治疗、手术、放 疗或化疗等,然而早期症状不明显、个体化差异巨大、放疗抵抗 和化疗耐药等问题限制了患者的诊断和治疗效果[3]。因此,揭示 SCLC代谢特征,寻找早期诊断标志物并阐明其机制是临床亟 需解决的问题。代谢重编程是肿瘤发生发展的核心特征乃至驱 动因素¹⁰。肿瘤细胞及其所处的肿瘤微环境常暴露于恶劣的条 件和压力下,从而导致参与能量产生和生物合成的代谢过程发 生异常¹⁷,包括糖代谢、核苷酸代谢、氨基酸代谢、脂肪酸氧化、 一碳代谢等改变[811]。这种组织细胞的代谢重分布将导致生物 体内代谢轮廓谱发生变化。了解代谢重编程与肿瘤发生发展之 间的关系,将有助于发现与 SCLC 诊断或预后相关的生物标志 物。代谢组学是组学研究的一个新兴分支,旨在研究生物体系 受内部(遗传)或外部(环境)刺激反应后其内源性代谢物的变 化规律[12]。因具有侵入性小、分析快速等独特优势,在生命科 学、流行病学和临床研究等领域得到广泛应用。近年来,高效液 相色谱 - 质谱联用技术以其高灵敏度和高分辨率, 在肿瘤早期 诊断、预测及预后方面表现出巨大的潜力[13]。靶向和非靶向分 析是代谢组学中的两个主要策略^[14],非靶向代谢组学通过对内 源性小分子代谢物的整体评估,能够全面揭示生物体在疾病治 疗过程中发生的变化。目前,包括肺癌在内的多种类型的肿瘤 代谢特征已被报道,但对 SCLC 却少有研究。故本文从代谢组 学角度出发,探索 SCLC 的代谢重塑特征。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

-80 ℃低温冰箱与真空离心浓缩机购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,高速冷冻离心机购自德国 Sigma 公司,涡旋振 荡仪购自美国 Scientific Industries 公司,Mettler Toledo 电子天 平购自上海梅托计量仪器科技有限公司。

色谱级甲醇和乙腈购自德国 Merck 化工公司,碳酸氢铵和 氨水购自美国 Sigma-Aldrich 公司,制备血浆样本与流动相所 用的超纯水来自 Milli-Q[®] Integral 3 纯水系统。

1.2 临床入组及分组信息

本研究共分 2 组,即 SCLC 组和对照组(Normal),共 98 人,均来自上海市胸科医院。其中 SCLC 组,纳入 2021.10-2022.08 期间收治的 45 例 SCLC 患者。本研究 SCLC 患者纳入标准:(1)既往未接触过系统性全身治疗的 SCLC 患 者;(2)术后组织经病理确诊为 SCLC;(3)无代谢性疾病。排除 标准:(1)病历资料缺失者;(2)血浆质量不达标者(如溶血)。健 康对照组:无明显疾病,无肺癌相关疾病史的健康成年人。

1.3 血浆样本收集与处理

1.3.1 基线血浆收集 用美国 Babson Diagnostics 公司生产的 乙二胺四乙酸二钾盐(Ethylenediaminetetraacetic Acid Dipotassium Salt, EDTA-2K)采血管采集 SCLC 组和对照组全血各 1 mL。其中 SCLC 组全血样本为其基线血样,也即初治(手术及 药物治疗等)之前的血样。采集完所有全血样本后,在4℃条件 下,3500 rpm 离心 10 min,取上清液,即血浆,放于超低温冰箱 储存。本实验 53 例健康人和 45 例 SCLC 患者全血由上海市胸 科医院收集。所有人均签署知情同意书,研究协议已获得上海 市胸科医院伦理委员会批准(受理号:IS2109-(LGZ))。

1.3.2 血浆样本前处理 精密吸取血浆 100 μL,加入预冷的 甲醇 400 μL,涡旋振荡 30 s。4 ℃,15000×g 离心 10 min,取上清 液并将其真空浓缩挥干。挥干后加入 200 μL 50 %乙腈水溶液 复溶,涡旋振荡 5 min,4 ℃,15000×g 离心 10 min,取上清液 150 μL 至色谱瓶用于后续代谢检测。

1.4 色谱与质谱参数

研究中所用的仪器为超高效液相色谱(Nexera UPLC System, Shimadzu, 日本)串联四级杆飞行时间质谱(TripleTOF™ 6600 plus, SCIEX,美国)。

色谱条件: 色谱柱为 ZIC-HILIC (2.1 × 100 mm, 3.5 μm; Merck);柱温为 40 ℃,流速为 0.25 mL/min,进样量为 2 μL;流 动相 A 为水,含 10 mM 碳酸氢铵及 0.1 %氨水。流动相 B 为乙 腈。色谱分离采用梯度洗脱,具体的洗脱条件见表 1。

Table 1 Gradient elution of mobile phase				
Time (min)	Flow rate (mL/min)	A %	В %	
0	0.25	20	80	
2	0.25	20	80	
22	0.25	60	40	
27	0.25	60	40	
27.01	0.25	20	80	
33	0.25	20	80	

表1流动相洗脱梯度

质谱条件:电喷雾电离离子源,采用全扫描模式,TOF MS 扫描范围:m/z 70-1000。毛细管电压为 5500 V,离子源温度为 550 ℃,雾化气 GS1,辅助加热气 GS2 以及气帘气压力分别为 55 psi,55 psi 和 35 psi。

1.5 数据统计

本研究使用 SCIEX 仪器自带软件对原始质谱数据进行峰

提取、峰对齐以及归一化等预处理以减少实验过程中带来的误差。使用 MetaboAnalyst 5.0 对预处理后得到的数据进行统计分析。Metaboanalyst 5.0 是一个基于网络的平台,拥有丰富的化合物数据库和路径库,已被广泛用于多种物种的综合代谢组学数据分析、解释和多组学数据整合^[15]。本研究的数据主要通过偏最小二乘判别分析(Partial Least Squares-Discriminant Analysis,

PLS-DA)和热图(Heatmap)进行分类,结合 P 值及倍数变化 (Fold Change, FC)筛选差异代谢物,并对差异代谢物进行通路 富集分析。

2 结果

2.1 临床基线比较

为避免非疾病因素干扰血浆代谢组学分析,研究对象的性别、年龄、吸烟史等基线特征均被记录及分析,结果见表 2。结果显示,SCLC 组与对照组在性别、年龄及吸烟状态等方面无统计学显著差异,P值均大于 0.05。

表 2 队列的临床特征					
Table 2 Clinical characteristics of cohorts					
Normal SCLC P					
Number	53	45			
Gender					
Male	46 (86.8 %)	37 (82.2 %)	0.5312		
Female	7 (13.2 %)	8 (17.8 %)			
Age(years)					
<65	11(20.8 %)	15 (33.3 %)	0.1599		
≥ 65	42(79.2 %)	30 (66.7 %)			
Smoking status					
Ever	13(24.5 %)	10(22.2 %)	0.7884		
Never	40(75.5 %)	35(77.8 %)			

2.2 总离子图提示 SCLC 血浆代谢改变

SCLC 患者 vs 对照组,两组人群的血浆代谢轮廓对应的总 离子流色谱如图 1 所示。在相同色谱质谱检测条件下,SCLC 血浆代谢物在种类、丰度等方面可提供更多信息,无论是保留 较弱的脂质代谢物,以及保留较强的亲水代谢物,SCLC 组血 浆样本的离子信息更为丰富。然而这种直观的组间代谢轮廓谱 差异仅能从个体水平说明问题,可能存在偶然误差,群体水平 则需借助单维或多维统计分析手段(例如 PLS-DA 等)进行信 息挖掘才能进一步量化及显化其代谢差异。



Fig.1 Total ion chromatograms of control (A) and SCLC patients (B)

2.3 模式识别发现两组存在明显代谢差异

PLS-DA 是一种用于多元统计分析的有监督模式识别方法。相对于主成分分析,PLS-DA 更加注重组间差异,因此在组间代谢差异的深度数据挖掘方面优势明显且效率较高^{10,17}。如图 2A 所示,PLS-DA 得分图表明 SCLC 组样本之间距离较近并明显聚集,对照组则远离 SCLC 组并明显聚集,两组之间血浆存在明显代谢差异。进一步,热图分析被应用于上述组间代谢差异的可视化分析。如图 2B 热图所示,SCLC 血浆代谢轮廓显著区别于健康人群,部分代谢物的倍数变化数值甚至接近10 倍。

2.4 差异代谢物筛选及 SCLC 代谢表征

上述组间代谢差异可通过绘制火山图进行可视化及数据 挖掘。如图 3 所示,在 FC<0.9 或 FC>1.1、P<0.05 的筛选标准 下,SCLC vs 对照组共鉴定出 113 个差异代谢物。差异代谢物 的结构鉴定采用保留时间匹配、精确质量匹配和二级谱图匹配 的方法,并结合人类代谢组数据库 HMDB(Human Metabolome Database, https://hmdb.ca/)。具体而言,主要通过对比血浆样本 中代谢物的实测值与对应标准品(或 HMDB)的理论值进行分 析,对比四维数据:精确分子量、保留时间 RT(Retention Time)、二级碎片离子及同位素分布等。然后将上述生物样本中 代谢物的四维数据通过 LibraryViewT^M软件(SCIEX 公司,美 国)与实验室自建的标准品代谢物数据进行匹配鉴定,对比实 测值与理论值,软件通过匹配程度最后给出代谢物鉴定评分, 评分越高,可信度越高,达到 70 分以上,一般认为可信度较高, 也即该特征离子被成功鉴定。以色氨酸为例,其在正离子模式 下,血浆样本中分子离子峰主要为加氢峰,也即[M+H]+,实测 精确分子量 m/z 为 205.0977(理论值为 m/z 205.0971),实测保 留时间 RT 为 8.65 min(理论值为 8.58 min),实测主要碎片离 子包括 m/z 188.07、m/z 146.06、m/z 118.06、m/z 91.05(标准品数 据 库 提 供 的 理 论碎 片 离 子 为 m/z 188.07、m/z 146.06、m/z 118.06、m/z 91.05),同时对比两者的同位素分布数据,结果显示 实测值与理论值匹配良好,最终评分为 100。其中 59 个代谢物 在 SCLC 患者血浆中水平升高,主要包括 2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate (FC=9.17)、cyclic adenosine monophosphate (FC=7.72)、inosine (FC=6.38)、L-cystathionine (FC=4.70)、 guanosine monophosphate(FC=3.19)等;54 个代谢物水平降低, 主要包括 2-aminobenzoic acid(FC=0.24)、glutathione(FC=0.27)、 xanthine (FC=0.29)、tyramine (FC=0.29)、guanosine(FC=0.31) 等。其中变化最为显著的代谢物(top20)请参见表 3 和表 4。



图 2 SCLC 患者和健康人的代谢轮廓分析 Fig.2 Metabolic profiling of SCLC patients and control



SCLC vs Normal

图 3 SCLC 患者与健康人的差异代谢物分析

Fig.3 Differential metabolite analysis between SCLC patients and control

2.5 差异代谢物通路富集

为从整体及通路水平发掘 SCLC 患者基线血浆代谢特征, 将上述所有差异代谢物映射到 KEGG 进行差异通路富集。如 图 4 所示, SCLC 组 vs 对照组,差异代谢通路主要富集在氨基 酸代谢,尤其是色氨酸代谢(Tryptophan Metabolism),支链氨基酸代谢(Branched Chain Amino Acid Metabolism)以及酪氨酸代谢(Tyrosine Metabolism)等。

		8 5		1 (')	
Index	Name	FC(SCLC/Ctrl)	Р	RT(min)	Score*
1	2'-Deoxyguanosine 5'-monophosphate	9.17	2.06*10 ⁻²	12.90	85
2	Cyclic Adenosine monophosphate	7.72	8.79*10-3	13.30	87
3	Inosine	6.38	8.93*104	7.80	100
4	L-Cystathionine	4.70	2.34*10-9	7.50	88
5	Guanosine monophosphate	3.19	1.03*104	13.40	100
6	8-Hydroxyguanosine	3.07	3.26*10-7	6.20	100
7	Cytidine diphosphate	2.92	1.80*10-3	15.59	95
8	Guanosine diphosphate	2.64	2.76*10-3	16.12	90
9	Inosinic acid	2.59	4.58*10-4	14.85	85
10	Cytidine monophosphate	2.56	2.58*10-3	14.65	95
11	Agmatine	2.21	7.09*10-3	8.42	92
12	5-Methoxytryptophan	2.14	3.99*10-3	4.25	90
13	1-Methylnicotinamide	1.95	5.59*10 ⁻⁴	5.62	90
14	Hypoxanthine	1.92	6.70*10 ⁻⁴	5.66	100
15	Aminobenzoic acid	1.85	7.68*10-4	7.22	80
16	5-Methyltetrahydrofolic acid	1.79	2.59*10-4	13.22	85
17	Inosine diphosphate	1.73	1.79*10-2	15.26	95
18	Adenosine diphosphate	1.69	2.15*10-2	15.45	100
19	Thymidine	1.68	$1.01*10^{-4}$	16.20	80
20	Homocitrulline	1.66	2.51*10-5	8.10	100

表 5 SCLC 思有小十亚有开向的血浆化谢彻(10F20

Table 3 Plasma metabolites with significantly elevated levels in SCLC patients (TOP20)

3 讨论

SCLC 的主要特点是恶性程度高、易转移且极易耐药。 SCLC 在病理表型、生物学特征及治疗策略等均与非小细胞肺 癌(Non-Small Cell Lung Cancer, NSCLC)形成鲜明对比。可用 的临床生物样本或检材稀缺是困扰 SCLC 研究进展的重大瓶 颈。现有 SCLC 研究主要以细胞或动物模型为中心,这导致基 础研究与临床结果之间存在较大差距。此外,分子表征及系统 生物学研究不足大大限制了 SCLC 的基础和临床进展。迄今为 止,只有少量研究报道 SCLC 临床样本的基因、RNA 及蛋白等 生物学特征^[18,19],而与表型最接近的代谢组特征更是鲜有报道。 因此,迫切需要收集高质量的临床样本,并利用组学技术为其 勾画全景代谢特征谱图,以此加快加强 SCLC 分子生物学研究。

本文累计收集 98 例临床大样本队列血浆,结合液相色谱 串联高分辨质谱技术,开展血浆非靶向代谢组学分析表征 SCLC 全景代谢特征谱图。结果发现 SCLC 患者和对照组之间 存在显著的代谢轮廓谱差异。PLS-DA 分析结果表明,SCLC vs 对照组共有 113 种血浆差异代谢物,其中 59 种代谢物水平在 SCLC 组较高(P<0.05),54 种代谢物水平在 SCLC 组较低 (P<0.05)。上述差异代谢物,通过通路富集发现主要涉及色氨 酸、支链氨基酸及酪氨酸等氨基酸代谢。

需要指出的是,上述差异代谢物筛选及代谢通路富集等工 作的基础是代谢物鉴定。代谢物鉴定是代谢组学中的一项复杂 且极具挑战性的工作,本文代谢物鉴定方法主要参考 MSI (Metabolomics Standards Initiative)等权威标准^[20-22]。目前,基于 液相色谱串联高分辨质谱的代谢物鉴定主要存在以下挑战:软 电离规律不一、液相条件影响电离、碰撞能量设置影响电离、同 分异构体干扰、数据库适用性不强、自建数据库成本高昂等诸 多方面[23]。同一代谢物即便在相同生物基质以及相同色谱 - 质 谱条件,其离子化效率、母离子加合形式、裂解规律等质谱表现 均可能存在较大差异。仍以色氨酸为例,Leticia 等使用与本文 类似的液相色谱串联高分辨质谱技术条件开展血浆代谢组学 研究,其发现色氨酸在电喷雾电离(Electrospray Ionization, ESI) 正离子模式下主要的母离子加合形式为脱氨峰([M+H-NH₃]⁺), 精确分子量为 m/z 188.0707, 而本文为加氢峰([M+H]+), 精确分 子量为 m/z 205.0977,两者的分子离子峰差异明显。此外,本文 中即便流动相为碱性(pH 约为 9),色氨酸的脱氢峰([M-H])信 号仍较弱, 而 Leticia 等的研究中色氨酸可在负离子下形成较 高的色氨酸脱氢峰([M-H]⁻)^[24]。总体而言,Leticia等研究中色氨 酸质谱行为与本文不同,可能与其设置的去簇电压(Declustering Potential, DP)过大有关,合适的 DP 电压可以为质谱内的离 子传输提供动力,但 DP 电压过大导致离子动能过高,最终可

Index	Name	FC(SCLC/Ctrl)	Р	RT(min)	Score*
1	2-Aminobenzoic acid	0.24	4.70*10-9	7.62	85
2	Glutathione	0.27	$1.05*10^{-4}$	13.82	100
3	Xanthine	0.29	3.42*10-8	7.25	100
4	Tyramine	0.29	6.51*10 ⁻¹⁰	7.20	90
5	Guanosine	0.31	9.67*10-11	4.85	100
6	Indole-3-carboxylic Acid	0.32	7.59*10-10	8.24	100
7	3-Methylhistamine	0.34	7.07*10-3	12.69	98
8	Theobromine	0.35	2.06*10-7	2.28	85
9	L-Tryptophan	0.41	9.31*10 ⁻²⁰	8.65	100
10	Lipoamide	0.42	6.60*10 ⁻¹⁹	8.46	85
11	3-Hyrdoxybutarate	0.48	8.71*10-3	7.10	90
12	Thyroxine	0.53	1.11*10-9	6.68	90
13	Cyanocobalamin	0.56	2.32*10-2	11.66	85
14	Dihydroxyacetone phosphate	0.57	5.13*10-5	12.80	90
15	1-Methylhistamine	0.57	3.07*10-2	13.26	85
16	Uridine 5'-diphosphate	0.59	2.26*10-5	15.64	90
17	Cysteinyl glycine	0.63	2.47*10-7	12.13	80
18	2'-Deoxyuridine-5'-diphos- phate	0.65	2.98*10-7	7.12	90
19	L-Valine	0.65	2.69*10*8	10.08	100
20	Norvaline	0.66	6.21*10 ⁻⁸	9.81	90

表 4 SCLC 患者水平显著降低的血浆代谢物(TOP20)

Table 4 Plasma metabolites with significantly reduced levels in SCLC patients (TOP20)

*Score represents the confidence that the feature ion was identified by the in-house metabolites library and online database search.



Overview of Enriched Metabolite Sets (Top 25)

图 4 差异代谢物通路富集分析 Fig.4 Metabolic pathway enrichment analysis

能会引起代谢物在离子源区域就发生裂解从而脱去氨分子或 水分子等。由此可见,对血浆中所有代谢物进行鉴定是不现实 的,只能借助实验室自建代谢文库及 HMDB 等在线数据库进 行整合分析,最大程度提高其鉴定可靠性、效率及覆盖度,只有 特征离子被正确注释及鉴定,才能为肿瘤代谢研究提供有力支 撑与技术保障^[5]。

肿瘤细胞生活在营养相对匮乏的微环境中,因此它们必须 调整其代谢以支持营养供应、ATP生成和维持氧化还原稳 态[26.27],而破坏这些过程会干扰肿瘤的生长和增殖[28]。氨基酸与 其他生物大分子一样,在癌细胞快速增殖过程中发挥关键作 用,作为碳和氮的供体,使癌细胞摆脱营养限制^[29]。Mossmann 等发现肿瘤细胞通过重塑精氨酸分解代谢从而维持胞内精氨 酸在较高水平,而高浓度精氨酸通过与 RBM39 结合进而发挥 促癌作用^[30]。同理,本文中 SCLC 患者血浆中色氨酸、酪氨酸等 通路发生显著改变,可能是肺癌细胞通过代谢重编程氨基酸代 谢以获得更多的能量和营养。这与既往结直肠癌及黑色素瘤代 谢重编程的研究结果较为一致^[31,32]。Liu 等发现相较于癌旁组 织,SCLC 肿瘤组织中半胱氨酸 - 天冬氨酸蛋白酶 CASP10 表 达显著下调,肿瘤组织通过抑制氨基酸分解代谢进而维持高水 平蛋白合成用于肿瘤生长^[18]。而本文未见 SCLC 血浆相关代谢 物变化,可能是生物检材不同,且肿瘤组织中含量显著变化的 代谢物一旦进入血液系统,这种变化倍数就会被稀释,从而被 后续统计分析方法过滤。Xu 等对肺腺癌开展大规模、高通量、 系统性的基因-蛋白质组学研究,数据提示肺腺癌组糖酵解及 谷胱甘肽通路发生显著变化³³¹,虽为不同肺癌亚型,我们同样 看到 SCLC 血浆存在类似代谢重塑特征。Chen 等利用多组学 技术揭示东亚人群的肺癌分子特征,结果显示肺癌组织中糖代 谢、氨基酸生物合成等代谢失调^[34],这与本文发现的 SCLC 患 者血浆代谢重编程特征类似。

色氨酸代谢主要参与炎症应答、氧化压力应激反应及免疫应答激活等,在肿瘤代谢中发挥着重要作用。Meng等发现肺癌组织高表达色氨酸关键酶吲哚胺 2,3-双加氧酶(In doleamine 2,3-Bioxygenase, IDO),肿瘤细胞通过上调 IDO 表达进而抑制 T 细胞的肿瘤杀伤能力^[35]。本文研究中 SCLC 患者血浆色氨酸水平显著低于正常对照组,这可能与色氨酸分解代谢增强有关。色氨酸分解代谢导致大量色氨酸消耗和积累 犬尿氨酸等中间代谢物,最终导致肿瘤免疫逃逸。当色氨酸显 著消耗时,体内效应 T 细胞减少,进而导致免疫功能降以及 蛋白质生物合成下降^[36,37]。

支链氨基酸包括亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸,其与全身代 谢之间的相互作用尚不完全清楚,但最近的临床数据研究表 明,支链氨基酸血浆水平升高与胰腺癌风险密切相关^[38],目前 被视为胰腺导管腺癌的早期诊断标志物。肿瘤患者血浆或血清 中支链氨基酸的水平变化一直是研究热点,然而,支链氨基酸 的作用在不同类型肿瘤患者中不尽相同,在乳腺癌患者中观察 到血浆支链氨基酸含量升高与其疾病风险呈相关^[39],而在结直 肠癌中却成负相关^[49],因此支链氨基酸与肿瘤发生发展的关系 还需更深入的研究。

酪氨酸在人体内通过代谢途径可产生多种重要的生物活

性物质。目前的研究已证明,酪氨酸分解代谢途径中的限速酶 酪氨酸转氨酶(Tyrosine Aminotransferase, TAT)具有诱导细胞 凋亡的作用^[41],而抑制 TAT 的活性会促进肿瘤的发生。Nguyen 等通过整合组学,系统研究酪氨酸分解代谢及其相关的酶在肝 癌中的作用,发现酪氨酸分解代谢明显改变,并且多种代谢酶 尤其是 TAT 的表达水平与肝癌患者的总生存期呈正相关^[42]。 本文发现 SCLC 患者血浆中的酪氨是明显下降的,这可能是代 谢酶导致的结果。

当前,SCLC 基础研究及临床治疗策略均远不及 NSCLC, 亟需探索新靶点新方案新方向。本文利用临床大样本,结合代 谢组学技术率先对 SCLC 患者血浆代谢图谱进行表征,有力促 进尚处起步阶段的 SCLC 生物学及诊断生物标志物研究。 SCLC 代谢脆弱点的发现将有力推动疾病诊断、靶向治疗及新 型抗代谢药物研发。最后希望上述结果及发现可为基础和临床 研究人员提供理论依据及数据支撑。

参考文献(References)

- Siegel R L, Miller K D, Fuchs H E, et al. Cancer statistics, 2022[J]. CA Cancer J Clin, 2022, 72(1): 7-33.
- [2] Rudin C M, Brambilla E, Faivre-Finn C, et al. Small-cell lung cancer [J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7(1): 3.
- [3] Megyesfalvi Z, Gay C M, Popper H, et al. Clinical insights into small cell lung cancer: Tumor heterogeneity, diagnosis, therapy, and future directions[J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(6): 620-652.
- [4] Thai A A, Solomon B J, Sequist L V, et al. Lung cancer [J]. Lancet, 2021, 398(10299): 535-554.
- [5] Sabari J K, Lok B H, Laird J H, et al. Unravelling the biology of SCLC: implications for therapy [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2017, 14(9): 549-561.
- [6] Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions[J]. Cancer Discov, 2022, 12(1): 31-46.
- [7] Hsu P P, Sabatini D M. Cancer cell metabolism: Warburg and beyond[J]. Cell, 2008, 134(5): 703-707.
- [8] Sullivan L B, Gui D Y, Vander H M. Altered metabolite levels in cancer: implications for tumour biology and cancer therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2016, 16(11): 680-693.
- [9] Mullen N J, Singh P K. Nucleotide metabolism: a pan-cancer metabolic dependency[J]. Nat Rev Cancer, 2023, 23(5): 275-294.
- [10] Ling Z N, Jiang Y F, Ru J N, et al. Amino acid metabolism in health and disease[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 345.
- [11] Li Z, Zhang H. Reprogramming of glucose, fatty acid and amino acid metabolism for cancer progression[J]. Cell Mol Life Sci, 2016, 73(2): 377-392.
- [12] Johnson C H, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2016, 17(7): 451-459.
- [13] Wang S, Blair I A, Mesaros C. Analytical Methods for Mass Spectrometry-Based Metabolomics Studies [J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1140: 635-647.
- [14] Chen L, Lu W, Wang L, et al. Metabolite discovery through global annotation of untargeted metabolomics data [J]. Nat Methods, 2021, 18(11): 1377-1385.
- [15] Pang Z, Chong J, Zhou G, et al. MetaboAnalyst 5.0: narrowing the

gap between raw spectra and functional insights [J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(W1): W388-W396.

- [16] Rodriguez-Perez R, Fernandez L, Marco S. Overoptimism in cross-validation when using partial least squares-discriminant analysis for omics data: a systematic study [J]. Anal Bioanal Chem, 2018, 410(23): 5981-5992.
- [17] Jolliffe I T, Cadima J. Principal component analysis: a review and recent developments [J]. Philos Trans A Math Phys Eng Sci, 2016, 374(2065): 20150202.
- [18] Liu Q, Zhang J, Guo C, et al. Proteogenomic characterization of small cell lung cancer identifies biological insights and subtype-specific therapeutic strategies[J]. Cell, 2024, 187(1): 184-203.
- [19] Chen H, Drapkin B J, Minna J D. Proteomics: A new dimension to decode small cell lung cancer[J]. Cell, 2024, 187(1): 14-16.
- [20] Sumner L W, Amberg A, Barrett D, et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI) [J]. Metabolomics, 2007, 3(3): 211-221.
- [21] Salek R M, Steinbeck C, Viant M R, et al. The role of reporting standards for metabolite annotation and identification in metabolomic studies[J]. Gigascience, 2013, 2(1): 13.
- [22] Zhou L, Wang Q, Yin P, et al. Serum metabolomics reveals the deregulation of fatty acids metabolism in hepatocellular carcinoma and chronic liver diseases [J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 403 (1): 203-213.
- [23] Schmidt D R, Patel R, Kirsch D G, et al. Metabolomics in cancer research and emerging applications in clinical oncology [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(4): 333-358.
- [24] Diaz-Beltran L, Gonzalez-Olmedo C, Luque-Caro N, et al. Human Plasma Metabolomics for Biomarker Discovery: Targeting the Molecular Subtypes in Breast Cancer [J]. Cancers (Basel), 2021, 13 (1).
- [25] Patti G J, Yanes O, Siuzdak G. Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(4): 263-269.
- [26] Pavlova N N, Thompson C B. The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism[J]. Cell Metab, 2016, 23(1): 27-47.
- [27] Zhang Y, Morar M, Ealick S E. Structural biology of the purine biosynthetic pathway[J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(23): 3699-3724.
- [28] Sivanand S, Vander H M. Emerging Roles for Branched-Chain Amino Acid Metabolism in Cancer [J]. Cancer Cell, 2020, 37 (2): 147-156.
- [29] Butler M, van der Meer L T, van Leeuwen F N. Amino Acid Depletion Therapies: Starving Cancer Cells to Death [J]. Trends Endocrinol Metab, 2021, 32(6): 367-381.

- [30] Mossmann D, Muller C, Park S, et al. Arginine reprograms metabolism in liver cancer via RBM39 [J]. Cell, 2023, 186 (23): 5068-5083.
- [31] Huang A, Fuchs D, Widner B, et al. Serum tryptophan decrease correlates with immune activation and impaired quality of life in colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2002, 86(11): 1691-1696.
- [32] Weinlich G, Murr C, Richardsen L, et al. Decreased serum tryptophan concentration predicts poor prognosis in malignant melanoma patients[J]. Dermatology, 2007, 214(1): 8-14.
- [33] Xu J Y, Zhang C, Wang X, et al. Integrative Proteomic Characterization of Human Lung Adenocarcinoma[J]. Cell, 2020, 182 (1): 245-261.
- [34] Chen Y J, Roumeliotis T I, Chang Y H, et al. Proteogenomics of Non-smoking Lung Cancer in East Asia Delineates Molecular Signatures of Pathogenesis and Progression [J]. Cell, 2020, 182(1): 226-244.
- [35] Meng Y, Wang W, Chen M, et al. GBP1 Facilitates Indoleamine 2,3-Dioxygenase Extracellular Secretion to Promote the Malignant Progression of Lung Cancer[J]. Front Immunol, 2020, 11: 622467.
- [36] Wang W, Zou W. Amino Acids and Their Transporters in T Cell Immunity and Cancer Therapy[J]. Mol Cell, 2020, 80(3): 384-395.
- [37] Eleftheriadis T, Pissas G, Antoniadi G, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase depletes tryptophan, activates general control non-derepressible 2 kinase and down-regulates key enzymes involved in fatty acid synthesis in primary human CD4⁺T cells [J]. Immunology, 2015, 146(2): 292-300.
- [38] Mayers J R, Wu C, Clish C B, et al. Elevation of circulating branched-chain amino acids is an early event in human pancreatic adenocarcinoma development[J]. Nat Med, 2014, 20(10): 1193-1198.
- [39] Zhang L, Han J. Branched-chain amino acid transaminase 1 (BCAT1) promotes the growth of breast cancer cells through improving mTOR-mediated mitochondrial biogenesis and function[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 486(2): 224-231.
- [40] Budhathoki S, Iwasaki M, Yamaji T, et al. Association of plasma concentrations of branched-chain amino acids with risk of colorectal adenoma in a large Japanese population [J]. Ann Oncol, 2017, 28(4): 818-823.
- [41] Fu L, Dong S S, Xie Y W, et al. Down-regulation of tyrosine aminotransferase at a frequently deleted region 16q22 contributes to the pathogenesis of hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2010, 51(5): 1624-1634.
- [42] Nguyen T N, Nguyen H Q, Le DH. Unveiling prognostics biomarkers of tyrosine metabolism reprogramming in liver cancer by crossplatform gene expression analyses[J]. PLoS One, 2020, 15(6): e229276.