

基于代谢组学的支气管哮喘生物标志物研究进展

孙益¹, 万力生², 李佳曦², 陈争光²

(1. 遵义医学院珠海校区, 广东 珠海 519041; 2. 深圳市儿童医院, 广东 深圳 518026)

摘要:支气管哮喘是以反复发作的喘息、咳嗽、胸闷、气促、可逆性气流受限为主要临床表现,是一种慢性气道炎症的异质性疾病。支气管哮喘是儿童最常见的慢性呼吸系统疾病,其患病率在世界范围内呈上升趋势,若得不到及时有效的治疗,常迁延至成年,严重影响患儿的身心健康。代谢组学是关于生物体系受刺激或扰动后其内源性代谢物质的变化及其变化规律的科学。该文就近年来代谢组学应用于支气管哮喘生物标志物研究的进展作一简单综述。

关键词:代谢组学;支气管哮喘;生物标志物;中医学

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.03.002

Research progress of the biomarkers of bronchial asthma based on the metabonomics

SUN Yi¹, WAN Lisheng², LI Jiayi², CHEN Zhengguang²

(1. Zhuhai Campus of Zunyi Medical College, Zhuhai, Guangdong 519041, China;

2. Shenzhen Children's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518026, China)

Abstract: Bronchial asthma is a heterogeneous disease characterized by chronic airway inflammation, with recurrent wheezing, coughing, chest tightness, shortness of breath and reversible airflow limitation as the main clinical features. Bronchial asthma is the most common chronic respiratory disease of children. In recent years, its prevalence rate in the world tended to rise. Without timely and effective treatment, it will defer to adult and affect the child's physical and mental health. Metabonomics is about researching the whole and the changing of the endogenous metabolism of biological system that is stimulated or disturbed. This review is to summarize the advances of the application of the metabonomics in the study of the biomarkers of bronchial asthma.

Keywords: metabonomics; bronchial asthma; biomarkers; traditional medicine

支气管哮喘是一种异质性的疾病,本质为气道的慢性炎症,临床表现为反复发作的喘息、咳嗽、气促、胸闷以及可逆性的气流受限^[1]。近年来哮喘的发病率和病死率有逐年增加的趋势,特别是儿童,全世界目前发病率约为4.3%~8.6%^[2],至少有3亿人罹患此病^[3],我国约有1 000~2 000万患者^[4]。同时,哮喘的治疗费用在世界许多国家卫生支出所占的比重越来越高。因此,支气管哮喘严重危害人类身体健康,尤其是儿童,对儿童生理和心理产生极大影响。哮喘不仅仅是一种卫生问题,同时也是严重的社会公共问题,引起了各国政府的高度重视,更多的学者从哮喘的发病机制出发,寻找有效、便捷地诊断支气管哮喘,以及控制和治疗支气管哮喘的方法显得极为重要。

支气管哮喘是一种慢性的呼吸道疾病,是非特异性的气道炎症,有研究证实,支气管哮喘是由炎症细胞活化后产生一系列的炎性介质而引起的气道高反应,而这些炎性介质可作为支气管哮喘的生物标志物^[5]。Nadi等^[6]通过酶联免疫吸附法研究90例哮喘患者与健康对照组血浆中可溶性选择素-L的水平,得出哮喘患者血浆中可溶性选择素-L水平明显高于健康对照组,将可溶性选择素-L与支气管哮喘的发病有关,可作为支气管哮喘的一种标志物。Vercelli^[7]通过对小鼠哮喘模型表达谱的芯片分析显示高浓度的精氨酸酶I和精氨酸酶II的活性与哮喘的炎性介质白细胞介素-4(IL-4)和白细胞介素-13(IL-13)表达具有相关性,从而可以得出精氨酸通路哮喘的发病机制有重要关联。Peters-Golden等^[8]研究发现花生四烯酸代谢通路与支气管哮喘急性发作有关,可能为其特异性生物标志物。李永霞等^[9]通过检测支气管哮喘患者急性发作期与缓解期两个不同时期血清中的8-异前列腺素(8-ISO-PG)水平,并分析其水平与第1秒用力呼

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81574019);深圳市科技计划项目(JCYJ20150403100317078)

通信作者:万力生,男,主任医师,硕士生导师,研究方向:小儿呼吸系统疾病, E-mail: wlsh2001@sina.com

气容积占预计值百分比(FEV1% pred)相关性,得出哮喘患者急性发作期血清中的8-ISO-PG明显升高,经过治疗后的支气管哮喘达缓解期,缓解后血清中的8-ISO-PG水平较急性发作期明显降低,但与健康组人群相比,水平仍较高。因此可以将8-ISO-PG作为一种标志物用于评价哮喘患者的病情严重程度以及随访其治疗的效果。然而,由于支气管哮喘表型复杂,受到环境因素及遗传异质性的共同影响,传统的检验方法受到一定限制^[10]。代谢组学技术的发展以及运用于支气管哮喘的研究极大的弥补了传统检验方法的缺陷,它不仅仅提高了检测的准确性以及灵敏度,还将统计学分析融合其中,可以在一次的检测分析中同时查找出多个可能与疾病相关的生物标志物,并分析出主要的生物标志物。通过测定不同时期、不同状态下机体代谢物质的变化可了解机体的整体功能状态。

1 代谢组学简介

代谢组学是关于生物体在受到外来刺激后机体各系统产生内源性代谢物质的变化,包括代谢物的种类、数量及代谢物质的变化规律。由于小分子代谢物是生物体功能活动的最终表现,可以真实的体现机体在刺激下对外界的应答与调节,并且表现及时、灵敏、特异性高。因而被视为生物体功能状态的“生物表型”^[11]。代谢组学的研究方法常见的有高效液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)、磁共振同位素检测技术(NMR)、气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)等^[12-14],代谢组学技术是一种无靶向性、动态性研究技术,产生的内源性代谢产物种类多,利用多元的统计学方法,动态分析差异性代谢产物^[15]。随着其技术的不断进步与优化,逐步运用于各个领域的研究。

1.1 代谢组学技术运用于支气管哮喘研究 近年来,国内外一些学者通过采集支气管哮喘患者的外周血液、尿液、呼气冷凝液以及肺泡灌洗液来测定哮喘患者的生物标志物。通过研究可以发现支气管哮喘发病过程中的代谢标志物,对存在的代谢物进行分析,寻找与支气管哮喘发病机制相关的代谢标志物,了解其可能的发病机制,以进一步为支气管哮喘的治疗及预防提供理论依据。

1.1.1 代谢组学血液生物标志物研究 血液是人体重要的体液,可反映机体不同时期、不同生理病理状态下机体的代谢状态。Jung等^[16]运用NMR对哮喘患者血浆中的代谢产物进行研究,发现哮喘患者血浆中的蛋氨酸、精氨酸、谷氨酸、甲酸、乙酸、甲醇、组氨酸、胆碱等物质水平与正常健康人群相

比发生了变化,探讨了这些代谢物与支气管哮喘之间的相互关系,从而得出这些物质可能是支气管哮喘的生物标志物。Ried等^[17]利用代谢组学技术探讨支气管哮喘患者与健康对照组人群血浆中代谢物物质的变化,发现哮喘组患者磷脂酰胆碱浓度较正常组人群降低,而血清中卵磷脂浓度较正常人升高。Ceylan等^[18]通过检测哮喘患者血清中一氧化氮(NO)、精氨酸含量,证实了精氨酸-NO这一代谢通路在哮喘发病的机制中起着重要的作用。陈馨馨等^[19]利用该代谢组学技术研究哮喘家兔模型组血清与正常对照组的代谢产物,研究发现半乳糖醛酸、异柠檬酸含量升高,而6-脱氧吡喃甘露糖、果糖含量较正常对照组降低,明确过敏性哮喘可能存在的标志物。

1.1.2 代谢组学尿液生物标志物研究 尿液的收集是无创的,适用于任何年龄阶段标本的收集与研究,简便易行。Saude等^[20]利用NMR技术分析支气管哮喘儿童尿液的代谢产物,通过分析尿液中的代谢物质,可以识别出支气管哮喘儿童,并进一步鉴别稳定型哮喘和不稳定型哮喘。通过研究这些生物标志物的变化,能更好的识别和诊断支气管哮喘,并根据代谢标志物的不同分析出与支气管哮喘严重程度有关的生物标志物。Mattarucchi等^[21]应用LC-MS代谢组学的方法分析了不同表型支气管哮喘儿童尿液中的代谢产物变化,探明了不同哮喘表型的代谢组学本质。谢颖等^[31]利用GC-MS技术研究麻黄-杏仁配伍在支气管哮喘模型尿液中的代谢产物变化,发现氨基酸代谢、脂肪酸代谢、糖代谢三大通路代谢物质均有变化,整体上探讨了麻杏配伍对哮喘内源性代谢物的影响。

1.1.3 代谢组学呼气冷凝液生物标志物研究 近年来,学者们广泛运用代谢组学技术研究支气管哮喘呼气冷凝液中代谢物质的变化,具有简便、无创安全、可重复等优点^[22]。Carraro等^[23]通过代谢组学的质谱分析对非重症哮喘患儿与重症哮喘患儿的呼气冷凝液中的代谢物质进行分析,得出维甲酸、维生素D、腺苷等物质与哮喘的严重程度相关。而通过对比分析哮喘患儿与正常健康儿童的呼气冷凝液的代谢产物,发现哮喘患儿呼气冷凝液中乙酰化物、NO、氧化物的含量明显升高,与健康儿童比较差异有统计学意义^[24]。Sinha等^[25]研究学者利用NMR技术分析支气管哮喘患者于正常组呼气冷凝液中代谢物质的变化,发现铵离子水平哮喘患者较正常对照组降低,得出支气管哮喘可能存在的生物标志物。

1.1.4 代谢组学肺泡灌洗液生物标志物研究 随着纤维支气管镜技术的逐渐发展,肺泡灌洗液中代谢物质的变化能更直观的反映支气管哮喘发病机制。Ho 等^[26]利用代谢组学技术测定哮喘模型小鼠肺泡灌洗液中代谢物质的变化,发现了哮喘模型组中苹果酸、乳酸、胆碱及肌酐含量升高,而甘油二酯、磷脂酰胆碱、甘油三酯含量降低,从而明确这些代谢产物与气道炎症发生相关,可以区分哮喘组与正常组。陈馨馨等^[27]利用该组学技术研究哮喘家兔模型组肺泡灌洗液代谢物质如天冬氨酸、甘氨酸、十四酸、半乳糖含量较正常组高。并探讨了仙味保金方在治疗后这些代谢产物的变化趋势,为中药治疗过敏性哮喘提供依据。

由以上研究可知,应用代谢组学技术能筛选出支气管哮喘发病机制中可能存在的生物标志物,并分析出可能的存在的代谢通路,包括氨基酸代谢、脂质代谢以及能量代谢。而精氨酸-NO、花生四烯酸-白三烯与哮喘的发病具有显著相关性,因此可以推测精氨酸-NO、花生四烯酸-白三烯两大代谢通路可能与哮喘的发病有着密切的关系。这些研究都更好的提示与支气管哮喘发病机制相关的生物标志物,更为清晰的探索哮喘发生的病理生理机制,在理论上为哮喘的进一步诊断和治疗提供依据。

1.2 代谢组学技术运用于支气管哮喘证候的研究 代谢组学改变了传统的检验方法,不是以单一的标志物来研究某种疾病,而是研究可能存在的代谢物,这便和中医学的“整体观”相结合。而生物体是动态活动的,其内在代谢物在外界刺激下也是动态变化的,这便使得代谢组学与中医“动态观”不谋而合。代谢组学技术和方法,从代谢网络变化的角度探究证候客观化、标准化提供了支持。已有大量研究证实,不同中医证候其代谢产物谱存在着显著差异^[28],使“证候”得到客观、定性、定量的描述,从而促进中医证候本质的研究。

李威等^[29]在利用 NMR 技术研究支气管哮喘中医的“同病异质”时发现,肾虚痰瘀型哮喘患者血浆中甘氨酸、丙酮酸升高,亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、缬氨酸、酪氨酸、乳酸、糖蛋白、丙酮、1-甲基组氨酸降低,这些代谢产物可能与哮喘发生相关,进一步为证候的划分提供依据。吴泽明等^[30]通过 LC-MS 技术开展维医异常黑胆质证哮喘患者的血清代谢组学研究,分离出 15 个可能异常的生物标志物,得出这些代谢物质与异常黑胆质型哮喘的发生相关,为维医治疗支气管哮喘建立基础。

运用代谢组学技术研究中医证候,不仅找出可

能与支气管哮喘发病机制相关的代谢物质,也可运用中医药在治疗支气管哮喘的前后对其内在的代谢物进行测定,以研究其生物标志物的变化,探索不同证候支气管哮喘可能存在的代谢通路。张启云等^[31]运用 LC-MS 技术研究不同麻杏石甘汤在哮喘模型大鼠血浆中运用后引起的内源性代谢物质的变化及其整体状态的影响,得出可能的代谢物质为 9,10-DHOME、花生四烯酸、前列环素(PGI₂)中,这些代谢物质的变化可能是麻杏石甘汤对邪热壅肺证哮喘治疗作用的生物标志物,花生四烯酸通路与支气管哮喘存在密切联系。盖江华等^[32]利用代谢组学的 NMR 技术研究外寒内饮组小鼠与正常对照组小鼠尿液中代谢物质的变化规律,得出模型组小鼠中代谢物质如牛磺酸、胍基乙酸、肌酸酐、三甲胺、尿囊素导尿管物质的含量较正常组小鼠均有升高,甘氨酸、琥珀酸、2-酮戊二酸(2-OG)、乳酸、甲基烟碱等代谢物含量则降低,而这些物质都与能量消耗和代谢有关。宋红等^[33]利用磁共振技术探讨益肾喘宁汤治疗支气管哮喘肾气虚证的可能作用机制,结果发现肾气虚证组支气管哮喘大鼠血清中参与三羧酸循环及脂质代谢的代谢物质如丙酮酸、乙酰乙酸含量较正常组差异有统计学意义,而益肾喘宁汤治疗组大鼠血清中的脂类物质明显低于肾气虚证组,从而得出益肾喘宁汤通过促进机体的脂类代谢途径,改善机体能量缺乏状态。谢颖等^[34]利用 GC-MS 技术研究麻黄-杏仁配伍在支气管哮喘模型尿液中的代谢产物变化,发现氨基酸代谢、脂肪酸代谢、糖代谢三大通路代谢物质均有变化,整体上探讨了麻杏配伍对哮喘内源性代谢物的影响。陶嘉磊等^[35]利用代谢组学的 LC-MS 技术分析支气管哮喘患儿痰热阻肺证与非痰热阻肺组处于急性发作期时尿液的代谢物质变化,发现支气管哮喘急性发作期不同证候之间存在特别的生物标志物以及其基础的代谢通路。通过这些研究表明采用代谢组学方法研究哮喘中医证候的量化、客观化的可行性,为支气管哮喘中医证候的识别、治疗提供理论基础。

2 展望

儿童支气管哮喘是儿科最常见的慢性呼吸道疾病,长期反复发作对患儿的身心健康产生严重影响,随着其发病率的逐年增加,已经越来越多的引起社会关注。《中医儿科学》将儿童支气管哮喘急性发作期分为四大证型,分别为风寒束肺证、痰热阻肺证、外寒内热证、肺实肾虚证^[36]。对于儿童支气管哮喘急性发作期不同证候生物标志物研究较

少,利用代谢组学技术研究支气管哮喘,筛选出的各证候生物标志物种类较多,特异性的生物标志物不明确,因此如何利用代谢组学技术找出各证候特异性的标志物以及支气管哮喘急性发作期与缓解期其内在生物标志物显得尤为重要,为研究中医药治疗不同证候儿童支气管哮喘提供理论依据。

参考文献

- [1] The Global Strategy for Asthma Management and Prevention. Global Initiative for Asthma(GINA), 2015[EB/OL]. [2016-01-03]. <http://www.ginasthma.org/documents/4>.
- [2] TO T, STANOJEVIC S, MOORES G, et al. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey[J]. BMC Public Health, 2012, 12(1): 204.
- [3] MASOLI M, FABIAN D, HOLT S, et al. The global burden of asthma: executive summary of the GIAN Dissemination Committee Report[J]. Allergy, 2004, 59(5): 469-478.
- [4] 万力生, 温鹏强, 陈争光, 等. 天灸疗法对支气管哮喘患儿血清中 IL-4, IL-6 和 TGF- α 的影响[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(4): 888-890.
- [5] 山内广平, 赵广东. 气道炎症标记物测定[J]. 日本医学介绍, 2002, 23(3): 122-123.
- [6] NADI E, HAJILOOI M, PAJOUHAN S, et al. Soluble L-Selectin as an Independent Biomarker of Bronchial Asthma[J]. J Clin Lab Anal, 2015, 29(3): 191-197.
- [7] VERCELLI D. Arginase: marker, effector, or candidate gene for asthma[J]. J Clin Invest, 2003, 111(12): 1815-1817.
- [8] PETERS-GOLDEN M, HENDERSON WR Jr. Leukotrienes[J]. N Engl J Med, 2007, 357(18): 1841-1854.
- [9] 李永霞, 陈敏, 钟红, 等. 支气管哮喘患者血清中 8-异前列腺素水平研究[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2010, 9(6): 598-601.
- [10] WHEELLOCK CE, GOSS VM, BALGOMA D, et al. Application of omics technologies to biomarker discovery in inflammatory lung diseases[J]. European Respiratory Journal, 2013(3): 802-825.
- [11] 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.
- [12] SMOLINSKA A, BLANCHET L, BUYDENS LM, et al. NMR and pattern recognition methods in metabolomics: from data acquisition to biomarker discovery: a review[J]. Anal Chim Acta, 2012, 750: 82-97.
- [13] PACCHIAROTTA T, NEVEDOMSKAYA E, CARRASCO-PANCORBO A, et al. Evaluation of GC-APCI/MS and GC-FID as a complementary platform[J]. J Biomol Tech, 2010, 21(4): 205-213.
- [14] DETTMER K, ARONOV PA, HAMMOCK BD. Mass spectrometry-based metabolomics[J]. Mass Spectrom Rev, 2007, 26(1): 51-78.
- [15] TRYGG J, HOLMES E, LUNDSTEDT T. Chemometrics in metabolomics[J]. J Proteome Res, 2007, 6(2): 469-479.
- [16] JUNG J, KIM SH, LEE HS, et al. Serum metabolomics reveals pathways and biomarkers associated with asthma pathogenesis[J]. Clin Exp Allergy, 2013, 43(4): 425-433.
- [17] RIED JS, BAURECHT H, STÜCKLER F, et al. Integrative genetic and metabolite profiling analysis suggests altered phosphatidylcholine metabolism in asthma[J]. Allergy, 2013, 68(5): 629-636.
- [18] CEYLAN E, AKSOY N, GENCER M, et al. Evaluation of oxidative-antioxidative status and the L-arginine-nitric oxide pathway in asthmatic patients[J]. Respir Med, 2005, 99(7): 871-876.
- [19] 陈馨馨, 李友林. 仙味保金方治疗过敏性支气管哮喘模型家兔的血清代谢组学研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(2): 579-581.
- [20] SAUDE EJ, SKAPPAK CD, REGUSH S, et al. Metabolomic profiling of asthma: diagnostic utility of urine nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. J Allergy Clin Immunol, 2011, 127(3): 757-764.
- [21] MATTARUCCHI E, BARALDI E, GUILLOU C. Metabolomics applied to urine samples in childhood asthma: differentiation between asthma phenotypes and identification of relevant metabolites[J]. Biomed Chromatogr, 2012, 26(1): 89-94.
- [22] 洪玲玲, 周贤梅. 支气管哮喘患者呼出气冷凝液标志物研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(3): 420-422.
- [23] CARRARO S, GIORDANO G, RENIERO F, et al. Asthma severity in childhood and metabolomic profiling of breath condensate[J]. Allergy, 2013, 68(1): 110-117.
- [24] CARRARO S, REZZI S, RENIERO F, et al. Metabolomics Applied to Exhaled Breath Condensate in Childhood Asthma[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2007, 175(10): 986-990.
- [25] SINHA A, KRISHNAN V, SETHI T, et al. Metabolomic signatures in nuclear magnetic resonance spectra of exhaled breath condensate identify asthma[J]. Eur Respir J, 2012, 39(2): 500-502.
- [26] HO WE, XU YJ, XU F, et al. Metabolomics reveals altered metabolic pathways in experimental asthma[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2013, 48(2): 204-211.
- [27] 陈馨馨, 李友林. 仙味保金方治疗过敏性支气管哮喘模型家兔的支气管肺泡灌洗液代谢组学研究[J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(10): 2098-2100.
- [28] 李亚, 李素云, 李建生, 等. 支气管哮喘急性发作期中医证素分布规律的文献研究[J]. 中医研究, 2010, 23(1): 74-77.
- [29] 李威, 巴吐尔·买买提明, 吴燕, 等. 基于代谢组学分析支气管哮喘中医“同病异证”性研究[J]. 新疆医科大学学报, 2014, 37(6): 696-700.
- [30] 吴泽明, 赵春霞, 许国旺, 等. 基于液相色谱质谱联用系统的维吾尔医异常黑胆质证哮喘病的血清代谢组学研究[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2009(1): 134-141.
- [31] 张启云, 李冰涛, 李文宏, 等. 麻杏石甘汤对哮喘豚鼠的血浆代谢组学研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(1): 12-15.
- [32] 盖江华, 何丽清, 郭鑫. 基于核磁共振技术的小青龙汤证的证本质研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2013, 8(3): 230-233.
- [33] 宋红, 郑小伟, 王颖, 等. 基于核磁共振技术的益肾喘宁汤对支气管哮喘肾气虚证模型大鼠血清代谢组学的影响[J]. 中医杂志, 2016, 57(11): 962-965.
- [34] 谢颖, 汤庆发, 宋帅, 等. 药对麻黄-杏仁配伍对哮喘大鼠干预的尿液代谢组学研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(4): 815-817.
- [35] 陶嘉磊, 汪受传, 田曼, 等. 基于 LC-MS 的小儿哮喘发作期痰热阻肺与非痰热阻肺证代谢标记物研究[J]. 世界中医药, 2016, 11(9): 1674-1678.
- [36] 汪受传, 中医儿科学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012: 91-97.

(收稿日期:2017-05-02, 修回日期:2017-05-31)