

文章编号:2095-7386(2016)02-0012-04

DOI:10.3969/j.issn.2095-7386.2016.02.002

代谢组学技术及其在药学研究领域的应用

陈晓¹, 李涵³, 陈曦³, 胡海²·张红菱²

(1. 武汉轻工大学 生物与制药工程学院, 湖北 武汉 430023;

2. 武汉轻工大学 医学技术与护理学院, 湖北 武汉 430023;

3. 华中科技大学 同济医学院 公共卫生学院, 湖北 武汉 430032)

摘要: 代谢组学是近年来兴起的一门学科, 其研究对象主要是能反映生物体所处环境的生物体液、生物标本、细胞提取物、细胞培养液和组织, 并利用核磁共振和质谱等技术进行分析。在药学研究领域已成为研究的热点。对代谢组学的概况、分析技术及其近些年在药学研究领域中的应用进行了综述, 并对代谢组学这一研究方法的优缺点进行小结。

关键词: 代谢组学; 药学; 毒理学

中图分类号: R 96

文献标识码: A

Metabonomics technology and its application in the field of pharmaceutical research

CHEN Xiao¹, LI Han³, CHEN Xi³, HU Hai², ZHANG Hong-ling²

(1. School of Biology and Pharmaceutical Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. School of Health Science and Nursing, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

3. School of Public Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430032, China)

Abstract: Metabonomics is a new science and technology developed in recent years. Major research objects of metabonomics are biological fluids which could reflect the environment of organisms, biological specimen, cell extracts, cell culture fluid and tissue, while NMR and MS are used as analysis methods. Metabonomics has been a research hotspot in the field of pharmacy. This paper reviews the analytical methods and the applications of metabolomics and summarize the advantages and disadvantages of metabolomics.

Key words: metabonomics; pharmacy; toxicology

1 引言

随着生命科学的迅速发展, 人们对生命体的研究逐渐从局部转向为整体, 并由此产生了许多种组学的研究方法。在蛋白质组学和基因组学兴起之后, 又发展起来了一种全新的组学技术, 即代谢组

学, 它是系统生物学的重要组成部分。英国的 Nicholson 教授于 1999 年首次提出代谢组学概念^[1]。代谢组学因其全局性的研究理念, 迅速发展并渗透到多个领域, 比如营养食品科学、植物学、环境学、医学、药学等。如今, 代谢组学在这些领域都展现了其广阔的应用前景, 尤其在药学研究领域发

收稿日期: 2016-01-05.

作者简介: 陈晓(1992-), 女, 硕士研究生, E-mail: goodgir@qq.com.

通信作者: 张红菱(1965-), 女, 教授, E-mail: zhlwjb163.com.

挥的作用不可估量。笔者就代谢组学的概况及其在药学研究领域中的应用现状和前景等进行阐述。

2 代谢组学概况

2.1 代谢组学的概念

代谢组学指的是一种研究方式, 它能定性或者定量分析生物体内的代谢物, 并寻找代谢物与机体发生生理病理变化的相对关系。代谢组学主要考察生物体系受干扰(环境变化或某个特定基因的变异)或刺激后其代谢产物的变化或随时间的变化^[2], 其研究对象是小分子物质, 相对分子质量大多在 1 000 以内。这些代谢物既能反映细胞营养状态和细胞所处的环境, 也能反映环境污染物和药物等外界因素对细胞的作用。Nicholson 最初给代谢组学的定义是: 定量测量生物体因基因改变或病理生理刺激引起的相应的代谢变化^[3]。故而有人认为“通过蛋白质组学和基因组学你知道可能会发生什么, 而通过代谢组学你则会明白确实发生了什么”^[4]。

2.2 代谢组学的研究方法

Oliver Fiehn^[5] 根据研究对象和目的不同, 以四个层次来划分对生物体系代谢物的分析, 即: 代谢指纹分析 (metabolomics fingerprinting)、代谢轮廓分析 (metabolomics profiling)、代谢组学 (metabonomics) 和代谢物靶标分析 (metabolite target analysis)。

代谢指纹分析是对全部代谢物进行的模糊分析, 也就是不测量或分析样品的具体组分, 只是对其进行整体性定性分析、分类和快速鉴别。具有快速、高通量、全局分析的特点^[6]。代谢轮廓分析是指利用已有的技术尽可能多地分析鉴别出样本中的代谢物, 反映机体所处不同状态的代谢轮廓, 并探寻某个或某组特异敏感的代谢物, 用以描绘和区分生物体系状态的差异^[7]。代谢组学则定义为生命体系所有代谢物动态应答的系统性度量。而代谢物靶标分析是有选择的定性或定量测定生物样品中的一个或数个特定代谢物^[8]。

2.3 代谢组学的分析技术

目前, 核磁共振波谱分析技术 (NMR), 质谱分析技术 (MS), 光谱分析技术和色谱分析技术是代谢组学的主要分析技术。然而, 代谢组学分析对象的性质差异较大, 种类繁多, 如果仅靠某一种分析手段, 是不可能完成代谢产物的整体性精确分析的, 所以经常需要多种分析技术的联用^[9]。例如气相色谱—质谱 (GC-MS) 联用, 这种技术具有可检库鉴定

已知物、高重复性、高灵敏度等特点^[10]。再比如, 液相色谱—质谱 (LC-MS) 联用可对代谢物进行定量和定性分析, 同时也可避免气相色谱—质谱中样品前处理带来的困难与损失, 另外, 对于复杂的生物样品基质, 即使含量非常低的代谢物类型也可被鉴别出, 所以说液相色谱—质谱是最具应用前景的代谢组学分析技术之一^[11]。高效液相色谱—四极杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS) 技术因具有高分离度、高灵敏度、高分辨率、快速以及适用范围广等特点, 也被广泛应用于代谢组学研究^[12]。

3 代谢组学在药学研究领域中的应用

3.1 代谢组学在药物毒理学研究领域的应用

药物毒性作用机制的研究是药物毒理学的首要任务之一。药物一般会直接或间接地使基因表达发生改变, 这种改变在代谢物水平上进一步被放大, 所以说药物的毒性作用与代谢物的变化紧密相关。代谢组学是在代谢物的整体水平上, 利用高通量检测技术检测机体在药物作用后的各种生理生化指标, 再结合传统的病理学终点, 更深入地了解药物的毒性作用机制^[13]。Slim 等^[14] 利用基于核磁共振波谱分析技术的代谢组学方法研究炎症反应与磷酸酯酶抑制剂 (CI-1081) 导致的血管损伤的关系时, 发现 CI-1081 组和加入抗炎药的 CI-1081 组的谱图没有分开, 得出是血管损伤而不是继发的炎症反应造成了 CI-1081 引起的尿代谢组图谱改变。王勇等^[15] 在研究三聚氰胺影响儿童尿液代谢时也运用了代谢组学法, 结果发现三聚氰胺利用肾结石导致的物理性损伤来干扰机体的柠檬酸代谢。因此, 我们可将代谢组学应用于三聚氰胺导致的代谢异常的研究及三聚氰胺导致肾损伤的无创检测。

3.2 代谢组学在药理学研究中的应用

药物可影响人体的代谢并导致代谢物出现差异, 因此可利用代谢组学分析代谢物的组成研究药物的作用机制。药理学的任务主要是研究药效学和药动学, 这两个过程在体内是同时进行的且紧密相连。药效学主要研究药物是如何作用于机体的, 以阐明药物防治疾病的规律。Kaddurah Daouk 等^[16] 比较了精神分裂症患者经奥氮平、利哌利酮和阿立哌唑治疗前后的代谢谱, 并评价这三种抗精神分裂药物对脂类生化代谢的调节作用, 发现除了都可以调节脂质代谢外, 还各有其特有的效应: 机体经奥氮平和利哌利酮治疗后, 游离脂肪酸减少, 甘油三酯升高, 而阿立哌唑却没有这种效果。皮子凤等^[17] 研究

五味子治疗糖尿病肾病的作用机制,发现五味子是通过影响肠内菌代谢、脂肪酸代谢、色氨酸代谢、嘌呤代谢等通路对糖尿病肾病发挥治疗作用,也是采用了基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的代谢组学方法来分析大鼠血清内源性代谢物的变化而得以实现的。

药动学主要研究机体对药物的处置的动态变化,可为临床合理用药提供科学依据。例如,由于个体间的差异对药物反应也存在差异,为了提高用药安全性和有效性,可根据患者的个体特征实行个体化治疗。Clayton 等^[18]曾提出利用“药物代谢组学”的方法来实现给药方案个体化,以大鼠给予扑热息痛做初步的动物实验,结果发现给药后大鼠的组织学检测结果与给药前其尿的生化代谢谱呈显著的统计相关。由此曹蓓等^[19]以为:“药物代谢组学”可以作为群体筛选的一个基础,根据个体的特殊情况来预测药物的作用结果,针对性地改变给药剂量或挑选某类药物进行治疗。

综上所述,代谢组学方法应用于药理学研究具有巨大的潜力,对药理学的深入研究有推动作用。

3.3 代谢组学在中药研究中的应用

将代谢组学应用于中药研究中,对认识中药产生毒副作用的物质基础、药效作用的物质基础,正确认识用药剂量和疗程、配伍减毒,对中药质量控制和优选资源、实现资源的可持续发展等都很有意义。

中药成分复杂,表现出的低毒性往往会影响中药的使用,而研究药物低毒性的比较全面且灵敏的方法之一便是基于化学计量学的药物代谢组学。吕天等^[20]设置空白对照组和以柴胡总皂苷(SS)给药组大鼠,并于给药后的第3天和第5天取其尿液样本,运用 UPLC-MS 代谢组学技术进行分析检测,获得了以质荷比和保留时间为变量的矩阵数据。结果发现给药累积剂量和肝毒性之间呈正相关,有累积肝毒性和明显的急毒性。

此外,同一药材由于采收季节、生产环境及加工方式等的不同,其所含化学成分的差异可能很大,其药性和临床用途也会有所不同。吴宏伟等^[21]利用基于 GC-MS 的代谢组学分析方法,建立了能够分析来源于不同地区的姜科植物姜黄(*Curcuma. Longa* L.)的块根(中药郁金)和根茎(中药姜黄)的次生代谢产物的方法,利用主成分得分图(Score plot)成功地区分了姜黄的块根和根茎样品,表明块根和根茎的次生代谢产物在表达上是有差别的;利用载荷图>Loading)和 t 检验(t-test)发现了 14 种可能是导致姜黄根茎与块根药性差异和临床用途不同的化合

物。Yongli Hua 等^[22]运用代谢组学方法研究了当归经不同方式加工后提取出的多糖的保肝作用机理,结果表明,尽管当归的加工工艺不同,但其提取出的多糖作用机制相似,都是通过干预脂质和氨基酸代谢来发挥护肝作用的。

由此可见,代谢组学在中药研究领域中的应用已取得了很多的重要成果,而且随着代谢组学体系的逐渐完善,将会与中药研究更加紧密。所以代谢组学在中药研究方面的应用前景是不可估量的。

4 结束语

近年来,代谢组学发展迅速,在药学研究领域已逐步显示出其独特的优势,然而,作为一门新兴的学科,代谢组学存在很大的发展空间,需要逐步完善,例如在分析技术和研究领域方面都可以继续创新和拓展。在分析技术方面,代谢组学的每种分析技术都有其优势和不足,若将其整合进行优势互补,使分析结果能统一、交叉验证是代谢组学发展的一个趋势。就代谢组学自身而言,代谢产物的标准值数据库也将进一步完善,可参考的价值也越来越大,越可靠。在研究领域方面,代谢组学将广泛应用到药物作用靶点的发现、新药的开发、中药现代化研究等领域,甚至可以深入藏医药基础理论^[23]、维吾尔族医药理论^[24]及其临床诊疗现代化研究中。以上这些都说明代谢组学具有巨大的发展空间,值得我们去研究,并将其发展和完善。

代谢组学是系统生物学的新兴学科,已是目前的热点研究领域,并在多个行业中得到应用,尤其在药学研究领域,如药理学、毒理学、药物筛选、药效评价、中药研究等方面发挥了极其重要的作用。相对于蛋白质组学和基因组学来说,代谢组学有着较明显的优势,例如代谢组学的研究标本容易获取,种类较少,前处理也较简单;代谢物可以放大蛋白质合成和基因表达时细小的差异,从而使检测更简便。尽管如此,代谢组学仍存在一些不足,例如分析技术不够成熟,选择的体液是否具有代表性,提供参考的数据是否全面、可靠等,还需要我们进一步研究探索。

参考文献:

- [1] Nicholson J K, Lindon J C, 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] Nicholson J K, Connelly J, Lindon J C, et al. Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2002, 1(2): 153-161.
- [3] Lindon J C, Holmes E, Nicholson J K. So what's the deal with metabonomics? [J]. *Anal Chem*, 2003, 75(17): 384A-391A.
- [4] German J, Bauman D, Burrin D, et al. Metabolomics in the opening decade of the 21 st Century: building the roads to individualized health [J]. *J Nutr*, 2004, 134(10): 2729-2732.
- [5] Fiehn O, Kopka J, Dormann P, et al. Metabolite profiling for plant functional genomics [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(11): 1157-1161.
- [6] 梁强, 郭晓辉, 周蓓莉, 等. 代谢指纹分析及其在食品科学中的应用 [J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(10): 134-136.
- [7] Khan M T H, Ather A. Metabolomics-systematic studies of the metabolic profiling [J]. *Advances in Phytomedicine*, 2006, 22(7): 411-419.
- [8] Dunn W B, Ellis D I. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies [J]. *Trends in Anal Chem*, 2005, 24(4): 285-294.
- [9] 刘姗姗, 陶金忠, 赵兴绪, 等. 代谢组学分析技术及其在生殖领域中的应用 [J]. *动物医学进展*, 2014, 35(3): 109-115.
- [10] Dunn W B, Ellis D I. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies [J]. *TrAC Trends in Anal Chem*, 2005, 24(4): 285-294.
- [11] Gellppi E. Contributions of liquid chromatography-mass spectrometry to "highlights" of biomedical research [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 1000(1): 567-581.
- [12] 张瑞兴, 刘舒, 皮子凤, 等. 汞离子对细胞代谢通路影响的代谢组学 [J]. *高等学校化学学报*, 2014, 35(6): 1146-1151.
- [13] 黄璵. 代谢组学在药物毒理学中的应用 [J]. *药学实践杂志*, 2009, 3(27): 165-167.
- [14] Slim R M, Roberstson D G, Ajbassam M, et al. Effect of dexamethasone on the metabonomics profile associated with phosphodiesterase Inhibitor-induced vascular lesions in rat [J]. *Toxicol Appl Res*, 2003, 183(2): 108-109.
- [15] 王勇, 江芝婷, 梁琼麟, 等. 代谢组学法研究三聚氰胺对儿童尿液代谢的影响 [J]. *高等学校化学学报*, 2010, 31(1): 57-60.
- [16] Kaddurah-Daouk R, McEvoy J, Baillie R A, et al. Metabolomic mapping of atypical antipsychotic effects inschizophrenia [J]. *Mol Psychiatry*, 2007, 12(10): 934-45.
- [17] 皮子凤, 门丽慧, 张静, 等. 五味子治疗大鼠糖尿病肾病作用机制的血清代谢组学研究 [J]. *分析化学*, 2015, 43(2): 169-175.
- [18] Clayton TA, Lindon JC, Cloarec O, et al. Pharmacometabonomic phenotyping and personalized drug treatment [J]. *Nature*, 2006, 440(7087): 1073-1077.
- [19] 曹蓓, 阿基业, 王广基, 等. 代谢组学在临床研究中的应用及进展 [J]. *生命科学*, 2010, 22(8): 761-771.
- [20] 吕天, 牟红元, 冯江江, 等. 中药柴胡总皂苷急性肝毒性的代谢组学研究 [J]. *化学研究与应用*, 2013, 25(6): 789-792.
- [21] 吴宏伟, 李洪梅, 唐力英, 等. 代谢组学方法研究姜黄根茎及块根次生代谢产物表达差异 [J]. *分析化学研究报告*, 2012, 40(5): 713-717.
- [22] Yongli Hua, Wenxin Xue, Man Zhang, et al. Metabonomics study on the hepatoprotective effect of polysaccharides from different preparations of *Angelica sinensis* [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 151(2014): 1090-1099.
- [23] 德洛, 罗尚华, 周林, 等. 代谢组学研究在藏医药理论及临床诊疗现代研究中的应用前景分析 [Z]. *全国藏医药学术交流与适宜技术培训会(五藏区会议)*, 甘肃合作市, 2012.
- [24] 帕它木·莫合买提, 哈木拉提·吾甫尔. 代谢组学与维吾尔医现代研究 [J]. *中国民族医药杂志*, 2008, 1(1): 63-65.