

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.24.007  
文章编号: 1005-8982(2020)24-0035-06

## 结直肠癌患者血浆代谢物水平研究\*

史祚秀<sup>1</sup>, 冯杰<sup>2</sup>, 刘洋<sup>3</sup>, 李硕<sup>1</sup>, 乔世峰<sup>1</sup>

(1. 锦州医科大学附属第一医院 普外科, 辽宁 锦州 121001; 2. 锦州医科大学附属第三医院 病理科, 辽宁 锦州 121000; 3. 山东大学齐鲁医院 ICU, 山东 济南 250000)

**摘要: 目的** 研究结直肠癌患者血浆代谢物水平的变化, 寻找其肿瘤生物标志物。**方法** 选取2018年9月—2019年8月在锦州医科大学附属第一医院普通外科住院的166例患者血液样本, 将其分为实验组120例和对照组46例。采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)检测血浆23种氨基酸、26种酰基肉碱, 比较结直肠癌患者与正常人群、结直肠癌不同临床分期及手术前后的变化。**结果** 实验组血浆中丙氨酸(Ala)、精氨酸(Arg)、瓜氨酸(Cit)、谷氨酰胺(Gln)、甲硫氨酸(Met)、鸟氨酸(Orn)、脯氨酸(Pro)、苏氨酸(Thr)、酪氨酸(Tyr)、丁二酰基肉碱(C4DC)、癸酰基肉碱(C10)及二十四酰基肉碱(C24)均较对照组升高( $P < 0.05$ )。不同临床分期结直肠癌患者血浆中的C4DC比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。术后Ala、Cit、Gln、Pro、C10、C24水平较术前降低( $P < 0.05$ ), 而Orn、Thr水平较术前升高( $P < 0.05$ )。**结论** 结直肠癌患者血浆代谢物, 如Ala、Cit、Orn、Pro、C4DC及C10在结直肠癌诊断中有重要意义。

**关键词:** 结直肠肿瘤; 血浆; 氨基酸类; 早期诊断

**中图分类号:** R735.35, R735.37

**文献标识码:** A

## The plasma metabolite levels in patients with colorectal cancer\*

Zuo-xiu Shi<sup>1</sup>, Jie Feng<sup>2</sup>, Yang Liu<sup>3</sup>, Shuo Li<sup>1</sup>, Shi-feng Qiao<sup>1</sup>

(1. Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China; 2. Department of Pathology, The Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121000, China; 3. ICU, Qilu Hospital, Shandong University, Jinan, Shandong 250000, China)

**Abstract: Objective** To explore the changes in plasma metabolite levels in patients with colorectal cancer (CRC) and to screen for potential tumor biomarkers. **Methods** Blood samples of 166 patients admitted to the Department of General Surgery of the First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University from September 2018 to August 2019 were selected and divided into the experimental group (120 cases) and the control group (46 cases). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS / MS) was used to detect 23 amino acids and 26 acylcarnitines in plasma, and the differences in changes before and after surgery were compared among CRC patients and normal controls as well as CRC patients with different tumor stages. **Results** Alanine (Ala), arginine (Arg), citrulline (Cit), glutamine (Gln), methionine (Met), ornithine (Orn), proline (Pro), threonine (Thr), tyrosine (Tyr), succinylcarnitine (C4DC), decanoylcarnitine (C10), and tetracosanoylcarnitine (C24) in the plasma of the experimental group were all higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). There was a statistically significant difference in C4DC in plasma of patients with stage I, II, III and IV of CRC ( $P < 0.05$ ). The levels of Ala, Cit, Gln, Pro, C10, and C24 were lower than those before surgery ( $P < 0.05$ ), while the levels of Orn and Thr were higher than those before surgery ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Plasma metabolites such as Ala, Cit, Orn, Pro, C4DC, and C10 in colorectal cancer patients are of important significance in the diagnosis of colorectal cancer.

**Keywords:** colorectal cancer; plasma; amino acids; early diagnosis

收稿日期: 2020-06-30

[通信作者] 乔世峰, E-mail: shifengqiao@163.com; Tel: 15904161717

结直肠癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,在全球范围内其发病率位居第 4 位,死亡率居第 3 位<sup>[1]</sup>。早期结直肠癌的 5 年生存率约达 90%,晚期则不到 10%。因此,结直肠癌的早期诊断显得尤为重要<sup>[2]</sup>。结肠镜作为结直肠癌诊断的金标准,难以用于普通人群的筛选,且易受肠道准备及医生操作经验的影响。

代谢组学是近年来用于定量分析氨基酸、脂肪酸、核酸及糖类小分子物质的新技术。随着对恶性肿瘤的深入研究,发现氨基酸、脂肪酸及糖类等可能在恶性肿瘤早期就已出现变化<sup>[3]</sup>。研究还显示,氨基酸代谢物的变化与恶性肿瘤的关系更为密切<sup>[4]</sup>。

本研究拟分析结直肠癌患者手术前后血浆氨基酸及肉碱代谢物水平的差异,探究结直肠癌患者血浆氨基酸代谢物及肉碱中有无可作为结直肠癌诊断的生物标志物,并为肿瘤代谢治疗提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2018 年 9 月—2019 年 8 月在锦州医科大学附属第一医院普通外科住院的 166 例患者血液样本,将其分为实验组 120 例和对照组 46 例。实验组男性 62 例,女性 58 例;年龄 32 ~ 89 岁,平均(65.29 ± 10.40)岁。对照组男性 21 例,女性 25 例;年龄 36 ~ 88 岁,平均(63.13 ± 12.45)岁。结直肠癌临床分期依据美国癌症联合委员会第八版结直肠癌分期标准<sup>[5]</sup>。纳入标准:①病理检查明确诊断为结直肠癌;②年龄 18 ~ 90 岁;③手术前未接受其他抗肿瘤治疗;④常规实验室检查未见异常;⑤常规影像学检查未见异常;⑥入院后经病理诊断为结直肠息肉或者腺瘤或者伴有消化道出血。排除标准:①其他部位肿瘤;②采用放化疗或靶向治疗;③严重代谢系统疾病;④血液系统疾病。本研究通过医院伦理委员会批准,患者及其家属知情同意。两组年龄比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 方法

**1.2.1 仪器** 美国 AB SCIEX 公司 API 3200MD 质谱分析仪,日本岛津株式会社 LC20A 液相色谱仪,系统控制和数据收集采用美国 AB SCIEX 公司分析软件 v1.6.0,数据预处理采用仪器自带的 Chemo views 软件,配备的离子源是正离子电喷雾离子源(ESI+).

**1.2.2 试剂** 美国 Thermo Fisher 公司乙腈和高纯度

的水,美国 Sigma-Aldrich 公司正丁醇和乙酰氯,甲醇(商业购买),12 种氨基酸同位素内标(NSK-A)和 8 个肉碱内标(NSK-B)购自美国 Cambridge Isotope 实验室,质量控制(quality control, QC)标准品购自德国 Chromsystems 公司。

**1.2.3 样本收集** 所有受试者于晨起空腹条件下采用干血滴滤纸片法(DBS)针刺指尖采集血样,所有 DBS 血样保存于 4℃及时送检。

**1.2.4 样本处理** 用打孔器将送检的 DBS 滤纸片切割为直径 3 mm 的纸盘(相当于 3.2 μl 全血),然后将其置于 96 孔过滤板中,每孔加入含内标的无水甲醇,置于孔板震荡器室温下震荡 20 min。用孔板离心机以 1 500 r/min 离心 2 min,将上层液中的提取液通过滤膜过滤并收集于下层液板中。每个液板随机选取 4 个空白孔,分别添加 2 个低水平和 2 个高水平的 QC 溶液,将上述滤出液和 QC 溶液在氮气 N<sub>2</sub> 保护下吹干,干燥后的样本在 65℃条件下用 60 μl 乙酰氯和正丁醇(1 : 9)混合液衍生化 20 min,衍生化的溶液在 N<sub>2</sub> 保护下再次吹干,最后将每个干燥的样本溶解在 100 μl 新鲜流动相溶液中以备进行代谢组学分析。

### 1.3 代谢组学分析

通过美国 AB SCIEX 公司 API 3200MD 质谱分析仪进行直接注射法质谱分析,该仪器在正离子电喷雾离子源下运行,每次运行时注入 20 μl 样本,以 50%+50% 乙腈,进行梯度洗脱。洗脱程序以 0.2 ml/min 开始,随后在 0.08 min 内降到 0.01 ml/min 并维持 1.50 min,之后在 0.01 min 内再次升高到 0.2 ml/min 并维持 0.5 min。离子源喷雾电压设为 4.5 kV,离子源气体压力设定为 35 磅/平方英寸(psi)(1 psi=6.895 kPa),屏障气体压力设为 20 psi,辅助气体温度保持在 350℃,液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)分析仪扫描方式采用母离子扫描(precursor ion, Prec)、中性丢失(neutral loss, NL)及多反应监测(multiple reaction monitor, MRM)3 种扫描模式。

### 1.4 统计学方法

数据分析采用 Excel 和 SPSS 25.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,比较用  $t$  检验或配对  $t$  检验或方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组血浆代谢物水平比较

两组丙氨酸 (Ala)、精氨酸 (Arg)、瓜氨酸 (Cit)、谷氨酰胺 (Gln)、甲硫氨酸 (Met)、鸟氨酸 (Orn)、脯氨酸 (Pro)、苏氨酸 (Thr)、酪氨酸 (Tyr)、丁二酰基肉碱 (C4DC)、癸酰基肉碱 (C10) 及二十四酰基肉碱 (C24) 比较, 经独立样本 *t* 检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 实验组较对照组升高。而天冬酰胺 (Asn)、天门冬氨酸 (Asp)、半胱氨酸 (Cys)、谷氨酸 (Glu)、甘氨酸 (Gly)、同型半胱氨酸 (Hcy)、组氨酸 (His)、亮氨酸 (Leu)、赖氨酸 (Lys)、苯丙氨酸 (Phe)、胡椒酰胺 (Pip)、色氨酸 (Trp)、丙

酰基肉碱 (C3)、丁酰基肉碱 (C4)、羟丁酰基肉碱 (C4-OH)、缬氨酸 (Val)、游离肉碱 (C0)、乙酰基肉碱 (C2)、异戊酰基肉碱 (C5)、羟异戊酰基肉碱 (C5-OH)、戊二酰基肉碱 (C5DC)、戊烯酰基肉碱 (C5: 1)、己酰基肉碱 (C6)、辛酰基肉碱 (C8)、月桂酰基肉碱 (C12)、肉豆蔻酰基肉碱 (C14)、羟肉豆蔻酰基肉碱 (C14-OH)、肉豆蔻二酰基肉碱 (C14DC)、棕榈酰基肉碱 (C16)、羟棕榈酰基肉碱 (C16-OH)、羟棕榈烯酰基肉碱 (C16: 1-OH)、十八碳酰基肉碱 (C18)、二十碳酰基肉碱 (C20)、二十二碳酰基肉碱 (C22)、二十六碳酰基肉碱 (C26) 及肉豆蔻烯酰基肉碱 (C14: 1) 比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组血浆代谢物水平比较 ( $\mu\text{mol/L}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | <i>n</i> | Ala              | Arg           | Asn             | Asp             | Cit             | Cys           | Gln           |
|------------|----------|------------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|---------------|
| 对照组        | 46       | 146.685 ± 51.362 | 5.643 ± 3.394 | 68.463 ± 23.749 | 24.494 ± 8.760  | 24.674 ± 9.084  | 1.345 ± 0.730 | 8.003 ± 4.134 |
| 实验组        | 120      | 164.927 ± 52.247 | 7.537 ± 4.096 | 67.577 ± 22.757 | 27.722 ± 12.542 | 29.089 ± 10.738 | 1.492 ± 0.734 | 9.485 ± 3.987 |
| <i>t</i> 值 |          | 2.023            | 2.912         | -0.236          | 1.654           | 2.582           | 1.229         | 2.257         |
| <i>P</i> 值 |          | 0.045            | 0.004         | 0.814           | 0.099           | 0.010           | 0.220         | 0.025         |

  

| 组别         | Glu              | Gly              | Hcy           | His             | Leu              | Lys              | Met            |
|------------|------------------|------------------|---------------|-----------------|------------------|------------------|----------------|
| 对照组        | 176.900 ± 55.727 | 191.458 ± 61.584 | 8.622 ± 0.826 | 66.775 ± 55.929 | 99.656 ± 30.560  | 127.119 ± 76.229 | 15.833 ± 4.429 |
| 实验组        | 177.338 ± 58.360 | 206.929 ± 73.143 | 8.791 ± 0.952 | 67.813 ± 40.126 | 102.481 ± 33.215 | 151.880 ± 78.904 | 17.671 ± 5.598 |
| <i>t</i> 值 | 0.046            | 1.329            | 1.110         | 0.146           | 0.527            | 1.930            | 1.998          |
| <i>P</i> 值 | 0.963            | 0.185            | 0.268         | 0.884           | 0.598            | 0.055            | 0.047          |

  

| 组别         | Orn            | Phe             | Pip               | Pro               | Ser             | Thr            | Trp             |
|------------|----------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------|----------------|-----------------|
| 对照组        | 12.790 ± 4.915 | 46.817 ± 21.731 | 242.953 ± 94.378  | 405.181 ± 199.432 | 47.969 ± 13.417 | 22.603 ± 7.927 | 40.823 ± 10.193 |
| 实验组        | 15.494 ± 6.857 | 42.474 ± 13.106 | 275.573 ± 129.372 | 464.549 ± 174.898 | 51.815 ± 16.636 | 26.172 ± 9.063 | 44.640 ± 11.889 |
| <i>t</i> 值 | 2.527          | -1.760          | 1.613             | 2.020             | 1.402           | 2.462          | 1.922           |
| <i>P</i> 值 | 0.012          | 0.080           | 0.108             | 0.045             | 0.163           | 0.015          | 0.056           |

  

| 组别         | C3            | C4            | C4-OH         | Tyr             | Val              | C0              | C2             |
|------------|---------------|---------------|---------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------|
| 对照组        | 1.446 ± 0.504 | 0.161 ± 0.069 | 0.042 ± 0.024 | 54.830 ± 16.219 | 143.245 ± 36.039 | 26.072 ± 8.309  | 14.200 ± 5.335 |
| 实验组        | 1.486 ± 0.675 | 0.181 ± 0.081 | 0.046 ± 0.030 | 61.322 ± 16.636 | 136.524 ± 33.414 | 28.125 ± 10.619 | 13.275 ± 5.672 |
| <i>t</i> 值 | 0.378         | 1.56          | 0.746         | 2.266           | -1.212           | 1.227           | -1.008         |
| <i>P</i> 值 | 0.706         | 0.120         | 0.456         | 0.025           | 0.227            | 0.221           | 0.314          |

  

| 组别         | C4DC          | C5            | C5-OH         | C5DC          | C5: 1         | C6            | C8            |
|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 对照组        | 0.221 ± 0.099 | 0.113 ± 0.055 | 0.127 ± 0.043 | 0.069 ± 0.051 | 0.026 ± 0.015 | 0.082 ± 0.033 | 0.095 ± 0.059 |
| 实验组        | 0.291 ± 0.171 | 0.116 ± 0.062 | 0.142 ± 0.071 | 0.075 ± 0.045 | 0.030 ± 0.025 | 0.087 ± 0.050 | 0.117 ± 0.097 |
| <i>t</i> 值 | 3.684         | 0.296         | 1.895         | 0.713         | 0.958         | 0.616         | 1.477         |
| <i>P</i> 值 | 0.000         | 0.768         | 0.061         | 0.476         | 0.339         | 0.539         | 0.141         |

续表 1

| 组别         | C10           | C12           | C14           | C14-OH        | C14DC         | C16           | C16-OH        |
|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 对照组        | 0.082 ± 0.051 | 0.062 ± 0.030 | 0.055 ± 0.021 | 0.022 ± 0.010 | 0.026 ± 0.012 | 0.858 ± 0.295 | 0.025 ± 0.014 |
| 实验组        | 0.108 ± 0.084 | 0.068 ± 0.036 | 0.063 ± 0.035 | 0.023 ± 0.014 | 0.024 ± 0.015 | 0.909 ± 0.380 | 0.023 ± 0.013 |
| <i>t</i> 值 | 2.377         | 1.128         | 1.827         | 0.653         | -1.041        | 0.852         | -1.030        |
| <i>P</i> 值 | 0.019         | 0.260         | 0.070         | 0.514         | 0.299         | 0.395         | 0.304         |

  

| 组别         | C16: 1-OH     | C18           | C20           | C22           | C24           | C26           | C14: 1        |
|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 对照组        | 0.034 ± 0.013 | 0.421 ± 0.161 | 0.019 ± 0.010 | 0.040 ± 0.017 | 0.022 ± 0.012 | 0.024 ± 0.009 | 0.082 ± 0.047 |
| 实验组        | 0.035 ± 0.017 | 0.459 ± 0.177 | 0.020 ± 0.010 | 0.044 ± 0.021 | 0.028 ± 0.013 | 0.025 ± 0.011 | 0.079 ± 0.046 |
| <i>t</i> 值 | 0.470         | 1.306         | 0.804         | 1.300         | 2.657         | 0.739         | -0.394        |
| <i>P</i> 值 | 0.639         | 0.193         | 0.422         | 0.195         | 0.008         | 0.461         | 0.694         |

## 2.2 不同临床分期结直肠癌患者血浆代谢物水平比较

结直肠癌患者 0 期 1 例 (由于数据过少, 为防止对结果造成偏倚现象, 故去掉), 结直肠癌患者 I 期 14 例, 年龄 53 ~ 81 岁, 平均 (66.79 ± 8.74) 岁。结直肠癌患者 II 期 50 例, 年龄 43 ~ 86 岁, 平均 (64.96 ± 9.74) 岁。结直肠癌患者 III 期 40 例, 年龄

46 ~ 89 岁, 平均 (64.63 ± 10.16) 岁。结直肠癌患者 IV 期 15 例, 年龄 51 ~ 82 岁, 平均 (70.2 ± 8.97) 岁。不同临床分期结直肠癌患者年龄比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。不同临床分期结直肠癌患者 C4DC 水平比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而 Ala、Arg、Cit、Gln、Met、Orn、Pro、Thr、Tvr、C10 及 C24 水平比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 不同临床分期结直肠癌患者血浆代谢物水平比较 ( $\mu\text{mol/L}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

| 分期         | <i>n</i> | Ala              | Arg           | Cit             | Gln            | Met            | Orn            |
|------------|----------|------------------|---------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|
| I 期        | 14       | 164.484 ± 40.252 | 6.176 ± 2.330 | 30.468 ± 9.145  | 10.464 ± 2.905 | 18.711 ± 6.019 | 14.922 ± 4.332 |
| II 期       | 50       | 167.348 ± 55.789 | 6.992 ± 4.405 | 28.688 ± 8.524  | 9.655 ± 3.833  | 16.892 ± 4.862 | 15.133 ± 5.236 |
| III 期      | 40       | 166.621 ± 54.157 | 8.167 ± 4.322 | 31.966 ± 14.226 | 9.068 ± 3.795  | 17.321 ± 5.431 | 14.881 ± 6.093 |
| IV 期       | 15       | 149.742 ± 47.040 | 7.091 ± 3.513 | 25.471 ± 8.881  | 10.436 ± 6.139 | 20.231 ± 7.563 | 15.934 ± 6.912 |
| <i>F</i> 值 |          | 0.323            | 1.486         | 0.02            | 0.876          | 0.206          | 0.425          |
| <i>P</i> 值 |          | 0.570            | 0.223         | 0.887           | 0.349          | 0.650          | 0.514          |

  

| 分期         | Pro               | Thr             | Tvr             | C4DC          | C10           | C24           |
|------------|-------------------|-----------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|
| I 期        | 473.424 ± 147.125 | 27.483 ± 6.962  | 65.204 ± 15.734 | 0.309 ± 0.219 | 0.115 ± 0.070 | 0.029 ± 0.017 |
| II 期       | 467.875 ± 133.380 | 23.569 ± 7.503  | 60.739 ± 15.848 | 0.242 ± 0.146 | 0.094 ± 0.081 | 0.026 ± 0.013 |
| III 期      | 502.134 ± 244.446 | 26.777 ± 8.684  | 63.879 ± 14.283 | 0.295 ± 0.143 | 0.106 ± 0.069 | 0.026 ± 0.013 |
| IV 期       | 463.825 ± 187.388 | 27.442 ± 10.244 | 52.943 ± 23.767 | 0.344 ± 0.180 | 0.147 ± 0.131 | 0.033 ± 0.017 |
| <i>F</i> 值 | 1.093             | 1.667           | 1.708           | 4.728         | 0.213         | 2.368         |
| <i>P</i> 值 | 0.296             | 0.197           | 0.191           | 0.030         | 0.645         | 0.124         |

## 2.3 结直肠癌患者手术前后血浆代谢物水平比较

结直肠癌患者术前与术后 Ala、Cit、Gln、Orn、Pro、Thr、C10 及 C24 血浆代谢物比较, 经配对样本 *t* 检验, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而 Arg、Met、

Tvr 及 C4DC 比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。术后 Ala、Cit、Gln、Pro、C10、C24 水平较术前降低 ( $P < 0.05$ ); 而 Orn、Thr 水平较术前升高 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 结直肠癌患者手术前后血浆代谢物水平比较 ( $n=119$ ,  $\mu\text{mol/L}$ ,  $\bar{x}\pm s$ )

| 时间         | Ala              | Arg           | Cit             | Gln           | Met            | Orn             |
|------------|------------------|---------------|-----------------|---------------|----------------|-----------------|
| 术前         | 162.667 ± 48.421 | 7.213 ± 4.031 | 29.846 ± 11.121 | 9.687 ± 4.185 | 17.237 ± 5.233 | 14.944 ± 5.323  |
| 术后         | 134.346 ± 42.861 | 7.545 ± 8.766 | 19.948 ± 11.222 | 8.212 ± 4.257 | 18.242 ± 6.125 | 23.321 ± 27.223 |
| <i>t</i> 值 | 5.294            | -0.414        | 6.991           | 2.619         | -1.480         | -3.212          |
| <i>P</i> 值 | 0.000            | 0.680         | 0.000           | 0.010         | 0.142          | 0.002           |

  

| 时间         | Pro               | Thr             | Tvr             | C4DC          | C10           | C24           |
|------------|-------------------|-----------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|
| 术前         | 479.133 ± 190.451 | 25.501 ± 8.103  | 61.548 ± 14.586 | 0.263 ± 0.143 | 0.104 ± 0.077 | 0.027 ± 0.013 |
| 术后         | 353.314 ± 134.323 | 28.170 ± 11.436 | 64.390 ± 20.070 | 0.238 ± 0.138 | 0.063 ± 0.050 | 0.023 ± 0.012 |
| <i>t</i> 值 | 6.160             | -2.341          | -1.26           | 1.955         | 5.133         | 2.579         |
| <i>P</i> 值 | 0.000             | 0.021           | 0.210           | 0.053         | 0.000         | 0.011         |

### 3 讨论

结直肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一<sup>[6]</sup>, 其体内的代谢方式发生改变, 特别是氨基酸代谢。氨基酸作为组成蛋白质的基本单位, 参与体内多种生理及病理变化, 本研究中使用 LC-MS/MS 检测血浆代谢物水平的改变, 并分析其是否可用于结直肠癌的早期诊断。

本研究结果显示结直肠癌组血浆中的 Ala、Arg、Cit、Gln、Met、Orn、Pro、Thr、Tvr、C4DC、C10、C24 较对照组升高, 与 MIYAGI 等<sup>[7]</sup> 研究结果基本一致。其中 Gln 水平的变化与 NISHIUMI 等<sup>[8]</sup> 的研究结果相一致。Gln 是机体最丰富的非必须氨基酸, 也是恶性肿瘤消耗最多的氨基酸。TODOROVA 等<sup>[9]</sup> 认为, 补充 Gln 能够抑制 IGF-1 激活的 PI-3K/Akt 信号通路, 而此通路是肿瘤生成和延长肿瘤细胞存活时间所必须的。Gln 也是肿瘤细胞中, 除葡萄糖外的主要供能物质<sup>[10]</sup>, 德国学者 WARBURG<sup>[11]</sup> 教授曾提出, 肿瘤细胞即使在氧充足的情况下也主要依靠糖酵解来提供能量即 Warburg 效应。由于 Warburg 效应, 恶性肿瘤产生的丙酮酸不能进入三羧酸循环, 在 ALT 作用下接受谷氨酸的氨基生成 Ala。IKEDA 等<sup>[12]</sup> 研究发现, 结直肠癌患者血清中的 Ala 水平也较对照组高。

此外, 对结直肠癌患者行常规根治性手术治疗后, 为减少手术对患者的影响, 术后约 1 周于晨起空腹采血行串联质谱检查。本实验结果显示, 术后 Ala、Gln、Cit、Pro、C10、C24 水平较术前降低, 而 Orn、Thr 水平较术前升高。推测 Ala、Gln、Cit 及 Pro 代谢物水平的前后变化最可能是因为手术去除肿瘤的结果, 因此 Ala、Gln、Cit、Pro、C10 及 C24 与结直肠

癌的关系更为密切, 作为早期诊断结直肠癌标志物的可靠性更高。MA 等<sup>[13]</sup> 分析大肠癌患者术前、术后的血清氨基酸, 发现 Val、5- 氧化 -L- 脯氨酸等代谢物含量下降, 而 Tvr 上升, 但哪些氨基酸更具有价值, 还需要进一步研究。

本实验还对不同临床分期结直肠癌患者的血浆代谢物进行比较, 以进一步研究其与该疾病严重程度的关系, 结果显示 I 期、II 期、III 期及 IV 期比较, 仅发现 C4DC 水平变化有差异, 其他代谢物水平无差异。HIRAYAMA 等<sup>[14]</sup> 研究显示, 未发现结直肠癌患者代谢物水平与癌症分期有相关性。QIU 等<sup>[15]</sup> 报道结直肠癌患者代谢物谱与癌症进展无相关性。也有研究表明, 不同临床分期肿瘤患者的代谢物水平变化有差异<sup>[16-17]</sup>。本实验的结果可能也与血浆代谢物的测量方法、血浆代谢物的种类不全、覆盖的人群不够广泛、地域差异等诸多因素有关。因此, 结直肠癌患者的严重程度是否与血浆代谢物水平相关, 仍需进一步研究。

酰基肉碱是肉碱与氨基酸代谢物或脂肪酸结合的一种酯类物质, 肉碱是氨基酸代谢和脂肪酸  $\beta$ - 氧化代谢的中间体。当氨基酸代谢或脂肪酸氧化代谢发生异常, 会造成相应的酰基辅酶 A 蓄积, 导致血浆中的酰基肉碱发生改变。肉碱的主要生理功能包括: ①肉碱作为长链脂肪酸唯一载体, 将长链脂肪酸转入线粒体内进行氧化, 提供能量; ②肉碱是调节细胞内外游离 CoA 与酰基 CoA 平衡的调节器。酰基肉碱的变化部分归因于肉碱棕榈酰转移酶 2 (CPT2) 的下调, 其下调促进了肝癌的发生。LU 等<sup>[18]</sup> 研究揭示, 15 种酰基肉碱在肝癌中存在统计学差异, 其中不同临床分期的肝癌患者, 其酰基肉碱也有差异。WILLIAMS

等<sup>[19]</sup>研究证明, 酰基肉碱、氨基酸及核苷等代谢谱在区分结肠癌样本与非肿瘤上皮, 以及疾病不同阶段( $T_1 \sim T_4$ )中发挥作用。目前检测血酰基肉碱是诊断脂肪酸氧化代谢最有特异性和最直接的方法<sup>[20]</sup>。

综上所述, 本实验结果表明 Ala、Arg、Cit、Gln、Met、Orn、Pro、Thr、Tyr、C4DC、C10 及 C24 在结肠癌早期预测中具有重要参考价值, Ala、Cit、Orn、Pro、C4DC 及 C10 在结肠癌早期诊断中具有重要意义。但由于样本量相对较少, 对结肠癌的早期诊断仍需要大规模的临床研究来进一步验证。

#### 参 考 文 献:

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2018[J]. *Ca A Cancer Journal for Clinicians*, 2018, 68(1): 7-30.
- [2] COURTNEY R J, PAUL C L, CAREY M L, et al. A population-based cross-sectional study of colorectal cancer screening practices of first-degree relatives of colorectal cancer patients[J]. *Bmc Cancer*, 2013, 13(1): 13-23
- [3] PENG B, LI H, PENG X X. Functional metabolomics: from biomarker discovery to metabolome reprogramming[J]. *Protein Cell*, 2015, 6(9): 628-637.
- [4] BERTERO T, OLDHAM W M, GRASSET E M, et al. Tumor-stroma mechanics coordinate amino acid availability to sustain tumor growth and malignancy[J]. *Cell Metab*, 2018, 29(1): 124-140.
- [5] AMIN M B, EDGE S B, GREENE F L, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*[M]. 8th ed. New York: Springer, 2017.
- [6] SIEGEL R L, MILLER K D, FEDEWA S A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017[J]. *Ca A Cancer Journal for Clinicians*, 2017, 67(3): 104-117.
- [7] MIYAGI Y, HIGASHIYAMA M, GOCHI A, et al. Plasma free amino acid profiling of five types of cancer patients and its application for early detection[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24143.
- [8] NISHIUMI S, KOBAYASHI T, KAWANA S, et al. Investigations in the possibility of early detection of colorectal cancer by gas chromatography/triple quadrupole mass spectrometry[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(10): 17115-17126.
- [9] TODOROVA V K, HARMS S A, LUO S, et al. Oral glutamine(AES-14) supplementation inhibits PI-3K/Akt signaling in experimental breast cancer[J]. *Journal of Parenteral & Enteral Nutrition*, 2003, 27(6): 404-410.
- [10] PAN T J, GAO L, WU G J, et al. Elevated expression of glutaminase confers glucose utilization via glutaminolysis in prostate cancer[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 456(1): 452-458.
- [11] WARBURG O. On the origin of cancer cells [J]. *Science*, 2016 (123): 309-314.
- [12] IKEDA A, NISHIUMI S, SHINOHARA M, et al. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for gastrointestinal cancer[J]. *Biomedical Chromatography*, 2012, 26(5): 548-558.
- [13] MA Y L, LIU W J, PENG J Y, et al. A pilot study of gas chromatograph/mass spectrometry-based serum metabolic profiling of colorectal cancer after operation[J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37(3): 1403-1411.
- [14] HIRAYAMA A, KAMI K, SUGIMOTO M, et al. Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry. *Cancer Res*. 2009, 69(11): 4918-4925.
- [15] QIU Y P, CAI G X, SU M M, et al. Serum metabolite profiling of human colorectal cancer using GC-TOFMS and UPLC-QTOFMS[J]. *Journal of Proteome Research*, 2009, 8(10): 4844-4850.
- [16] SIRNIÖ P, VÄYRYNEN J P, KLINTRUP K, et al. Alterations in serum amino-acid profile in the progression of colorectal cancer: associations with systemic inflammation, tumour stage and patient survival[J]. *British Journal of Cancer*, 2018, 120(2): 238-246.
- [17] 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[J]. *Annals of Surgical Oncology*, 2014, 21(4): 736-742.
- [18] LU X, ZHANG X H, ZHANG Y J, et al. Metabolic profiling analysis upon acylcarnitines in tissues of hepatocellular carcinoma revealed the inhibited carnitine shuttle system caused by the downregulated carnitine palmitoyltransferase 2[J]. *Molecular Carcinogenesis*, 2019, 58(5): 749-759.
- [19] WILLIAMS M D, ZHANG X, PARK J J, et al. Characterizing metabolic changes human colorectal cancer[J]. *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(16): 4581-4595.
- [20] SCHULZE A, SCHMIDT C, KOHLMÜLLER D, et al. Accurate measurement of free carnitine in dried blood spots by isotope-dilution electrospray tandem mass spectrometry without butylation[J]. *Clinica Chimica Acta*, 2003, 335(1): 137-145

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 史祚秀, 冯杰, 刘洋, 等. 结肠癌患者血浆代谢物水平研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(24): 35-40.