

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.09.052

# 脂质组学分析方法进展及其在癌症研究中的应用\*

潘喆敏 李丽 杨婵 薛芸 王彦<sup>△</sup> 闫超

(上海交通大学药学院 上海 200240)

**摘要:**脂质占人体内源性代谢物的一半以上,种类繁多,结构复杂,因而具有多种生物功能,与多种生命活动密切相关。脂质组学是代谢组学分支的新兴学科,它可以通过比较不同生理状态下脂质含量的变化,寻找代谢通路中关键的脂质生物标志物,最终揭示脂质在各种生命活动中的作用机制。随着质谱技术的进步,脂质组学在疾病脂类生物标志物的识别、疾病诊断、药物作用机制的研究等方面已展现出广泛的应用前景。本文主要就脂质组学近几年的分析方法进展及其在癌症中的最新应用进行了综述。

**关键词:**脂质组学;LC-MS/MS;GC-MS;目标脂质组学;鸟枪脂质组学

**中图分类号:**O657.63;Q591;R730.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)09-1793-05

## Recent Advances in Analysis of Lipidomics and Its Applications in Cancer Relevant Research\*

PAN Zhe-min, LI Li, YANG Chan, XUE Yun, WANG Yan<sup>△</sup>, YAN Chao

(School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200240, China)

**ABSTRACT:** Lipids accounted for more than the half of the total endogenous metabolite. Due to their diversity and complex structures, lipids have various biological functions and play essential roles in many important biological activities. As a brand new branch of metabolomics, lipidomics focused on the lipid profiles in different physiological status and searched the lipid biomarker to reveal the mechanism of various biological activities. With the development of mass spectrometry, lipidomics displayed broad application prospect in the identification of the lipid biomarkers of disease, diagnosis, as well as the study on the mechanism of drug action. In this review, the current state of art methods for lipidomics analysis and the applications of lipidomics in cancer study are reviewed.

**Key words:** Lipidomics; LC-MS/MS; GC-MS; Targeted Lipidomics; Shotgun Lipidomics

**Chinese Library Classification(CLC):** O657.63; Q591; R730.231 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2017)09-1793-05

### 前言

脂质由于其高度复杂性和多样性从而具有多种重要生物功能。如组成细胞膜的磷脂双分子层维持细胞稳定性、为细胞膜蛋白和他们的相互作用提供合适的疏水环境,参与细胞生长、增殖、凋亡,同时近年来一些研究表明脂质是恶性肿瘤等疾病的潜在生物标志物。脂质组学作为代谢组学的分支,实现了对生物样本中脂质全面的系统分析。然而由于脂质结构的复杂性和多样性以及不同种类脂质在生命体中含量水平的巨大差异给脂质组学的分析检测带来挑战。伴随着脂质组学的提出,最先用于脂质组学研究的技术手段是以鸟枪法为代表的多维质谱联用。近年来,液相色谱质谱联用平台因其高灵敏度、高特异性的优点逐渐成为脂质组学研究的主流技术手段。本文试图通过选择近三年的典型实例,综述脂质组学分析方法的最新进展,重点讨论不同种类分析技术在脂质组学研究应用中的特点,以及脂质组学在癌症相关研究中的应用,以期对脂质组学以及脂质组学在癌症研究中的应用提供新思路。

### 1 脂质组学概述

#### 1.1 脂质的分类和生物学功能

脂质包括一大类化学性质上有很大差异的化合物,它们的共同特征是结构中具有一定数量的脂肪酸,且不溶于水而易溶于有机溶剂。LIPID MAPS 委员会后将脂质更准确地定义为:部分或全部碳正离子基与疏脂缩合的疏水或两亲性的小分子,和/或部分或全部碳正离子基与异戊二烯单元缩合的疏水或两亲性小分子。第一类小分子包括脂肪酸类(FA)、甘油酯类(GL)、磷脂类(GP)、鞘脂类(SP)、糖脂类(SL)以及多聚乙烯类(PK),第二类小分子包括固醇脂类(SP)和异戊烯醇脂(PR)<sup>[1]</sup>。每种脂质根据化学结构可以进一步拆分为不同的亚类,比如根据极性头基的不同,磷脂可分为磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰甘油(PG)和磷脂酰肌醇(PI)等。

脂质由于其高度复杂性和多样性从而具有多种重要生物功能。磷脂是组成细胞膜双分子层主要成分,能维持细胞稳定性、为细胞膜蛋白和他们的相互作用提供合适的疏水环境;磷

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(21175092);上海市科委科研计划项目(15142200200);上海市教育委员会科研创新项目(14YZ170);中国博士后科学基金资助项目(2015M581628)

作者简介:潘喆敏(1991-),女,硕士研究生,主要研究方向:脂质组学,电话:021-34205988, E-mail: zm\_pan@126.com

<sup>△</sup> 通讯作者:王彦,副教授,主要研究方向:药物分析技术, E-mail: wangyan11@sju.edu.cn

(收稿日期:2016-04-30 接受日期:2016-05-21)

脂酰肌醇通过调节特定蛋白复合物的聚集、装配、拆分调节细胞的运动性和膜的转运功能<sup>[2]</sup>;神经鞘磷脂能隔绝并保护神经元<sup>[3]</sup>;鞘氨醇磷酸及相关的分子起着调节细胞凋亡的作用<sup>[4]</sup>;花生四烯酸在环氧酶作用下生成前列腺素、白三烯等,能激活炎症诱导炎症反应;类二十烷酸和溶血磷脂类物质在细胞信号传导过程中起着信使的作用<sup>[5]</sup>。近年来研究表明磷脂和甘油酯类化合物还可以作为肥胖、阿尔茨海默症和恶性肿瘤<sup>[6]</sup>等疾病的潜在生物标志物。

## 1.2 脂质组学

代谢组学从 20 世纪 90 年代末兴起以来,由于其对内源性代谢物质的代谢途径及所受内在或外在因素的影响研究,一直处于生命科学领域的研究热点。人体内的内源性代谢物一般包括脂质、核酸、氨基酸和糖类物质等,其中脂质占据了 65% 以上。而由于脂质的种类繁多,结构复杂,且与多种生命活动密切相关。为了全面研究脂质的异常代谢与多种疾病如阿尔茨海默病、肥胖症、恶性肿瘤的发生之间的联系,2003 年美国圣路易斯华盛顿大学 Han XL 等人正式提出了脂质组学(Lipidomics)<sup>[7]</sup>,即对生物样本中脂质进行全面的系统分析,并以此为依据推测其他与脂质作用的生物分子的变化,进而解释脂质在各种生命现象中的重要作用机制。这一新的前沿研究领域是代谢组学的一个重要分支,与基因组学及蛋白质组学相互结合、相互补充,可以对生物现象进行不同层次的分析,加深对生命本质的了解。

近年来脂质组的研究主要集中于从脂质生物标志物的发现到更深层次病理生理学角度探索疾病发生的机理,进而把这些探索应用到创新药物研发,以及脂质代谢和信号传导过程中其底物-产物之间关系的考察。

## 2 脂质组学研究策略

总的来说脂质组学的研究策略主要有三种:非目标性脂质组学、目标性脂质组学以及最近兴起的拟靶向分析策略。

### 2.1 非目标性脂质组学

非目标性脂质组学(无偏性脂质组学)是较常用的分析策略,用于广谱脂质轮廓的分析。该方法所检测的分子种类没有限制,并且无需先验知识,对标准品要求较少。非目标性脂质组学可以进行细胞、组织或其他体液样本的整体脂质变化分析,因而格外适用于新标志物的探索,尤其是那些被目标脂质组学遗漏的潜在标志物。

对于非目标脂质组学的研究,往往要求质谱能提供精确分子质量,并且有较高的分离度用于定性和定量。飞行时间质谱(TOF-MS)与傅里叶转换质谱(FT-MS)在这方面有巨大的优势,它们能在高分离度模式下获得分析物的精确分子质量。而这对于结构相似的脂质分子的定性至关重要。Wood 等<sup>[8]</sup>用非目标性脂质组学分析方法于脑脊液、灰质、白质组织,以寻找认知完整组和老年痴呆组的潜在生物标志物。找到了 26 种脂质亚类中 650 种脂质分子,通过差异脂质在不同组中含量的比较,增加了大脑中脂质组在老化及老化相关的认知损伤过程中病理学作用的理解。

### 2.2 目标脂质组学

与非目标性脂质组学不同,目标性脂质组学只关注特定的分子或者特定的具有相似化学特性的某一类或某几类脂质。使

用目标性脂质组学分析方法需要有分子结构、精确分子质量等先验信息,并通过标准品的标准曲线对脂质进行全定量。因而检测得到的分子具有高灵敏度和高特异性的特点,尤其适用于低丰度脂质组学的定量分析,目标脂质组学在药物干预下或疾病发生发展过程中代谢通路脂质分子含量变化的监测中有着非常显著的优势。

目标脂质组学分析方法通常使用三重四级杆质谱(QQQ-MS)或四级杆离子阱质谱(QTRAP-MS)的多反应监测模式(MRM)。该模式在同一色谱时间里可以通过不同离子对快速切换扫描来完成多个反应的监测,实现复杂基质中特定物质的监测和定量,避免共洗脱物的干扰。Song 等<sup>[9]</sup>建立了 U-PLC-MRM/MS 高通量分析平台下同时检测人全血中多种脂质的分析方法,在 6.5 分钟里完成了 122 种花生四烯酸类物质的绝对定量,定量限在 0.4-460 pg 之间。

### 2.3 拟靶向

许国旺课题组在目前脂质组学分析策略的基础上提出拟靶向策略<sup>[10,11]</sup>。通过 UPLC-QTOF MS 平台非目标性分析方法,选择每个循环(0.25 秒)中响应最强的 5 个物质,并自动确定第二步目标分析所需的母离子、子离子、保留时间及质谱参数。然后于 UPLC-QQQ MS 平台的对前期选择的物质进行高特异性的目标分析,进行准确定量。该方法结合了目标性与非目标性两种分析策略的优点,并引入算法自动确定用于目标性分析的物质及质谱参数,可以找到更多的潜在标志物同时对其进行较为准确的定量。Chen 等<sup>[10]</sup>利用拟靶向策略,对健康人、肝癌患者血样进行分析,发现肝癌患者中溶血磷脂酰胆碱显著性下调,验证了拟靶向分析方法的可行性。

## 3 脂质组学的分析手段

由于极性头基、脂肪酸链、碳骨架的多样性,脂质的种类多而繁杂,而这些结构上的多样性为脂质分析带来了一定的挑战。近年来,随着分析仪器的不断发展,多种分析手段根据研究的不同目的被广泛用于脂质组学相关研究。

### 3.1 多维质谱

鸟枪法(Shot-Gun)是 Han XL 基于 ESI 离子源和串联质谱技术开发的创新性脂质组学检测新技术。通常使用三重四级杆质谱,其 Q1 和 Q3 通常用于质量分离,Q2 作为碰撞池进行碰撞活化诱导解离(CAD)碎裂。通过调节三个四级杆的功能,可以实现母离子扫描(Precursor Ion Scan)、子离子扫描(Product Ion Scan)、中性丢失扫描(Neutral Loss Scan, NL)、选择离子扫描(Selected Ion Scan)和多反应监测(Multiple Reaction Monitor, MRM)等功能。由于同一类脂质在 CAD 过程中会具有共同的子离子碎片或中性质量丢失,所以可以根据脂质的质谱碎裂特性,利用串联三重四级杆母离子扫描、中性丢失扫描等实现不同脂质的特异性扫描和鉴定。

该方法不需要样品的前期分离,使用质谱直接进样,大大节省了分析时间因而被广泛用于脂质组学分析。鸟枪法格外适用于两种差异情况的初始识别也就是轮廓分析,比如通过细胞外配体或者基因敲除对细胞干预后差异情况的分析等。目前利用鸟枪脂质组学方法对多种疾病相关脂类变化的研究已经获得初步进展<sup>[12]</sup>。但同时值得一提的是,虽然鸟枪法可以完成约

90%脂质样品的分析,然而当下的鸟枪法并不是痕量水平脂质理想的分析方法,它最明显的限制就是对于低丰度的脂质样品无法实现精确定量。

### 3.2 气相色谱-质谱联用(GC-MS)

GC的高灵敏度以及对同分异构体的高分离度使它成为脂质组学分析的重要手段,尤其适用于那些液-质联用情况下难以离子化的长链脂肪酸类物质。James等最早将GC-MS应用于分析脂肪酸。Hejazi等<sup>[13]</sup>采用气相色谱-场解析电离质谱法(GC-FIMS)成功分离了9,12,15-亚麻酸甲酯(18:3)的8种顺反异构体。近年来多维气相系统因其高分离度高峰容量被广泛应用于复杂样品的脂质组学的检测<sup>[14]</sup>。然而由于大部分脂质是不挥发性的,并且在高温下易氧化和异构化,因而限制了GC在测定复杂脂质分子中的应用。大多数情况下,如要应用GC,首先必须对脂质进行衍生化反应,而这将显著性地减少所能获得的脂质分子类型的结构信息,并且样品衍生化过程会耗费额外的时间。

### 3.3 液相色谱-质谱联用(LC-MS)

尽管鸟枪法在复杂混合物中尤其是磷脂的分析方面有许多优点,但是对于等重的物质、离子抑制以及精确的脂质识别则需要一个不同的分析手段。LC-MS技术可以解决以上的部分问题。尤其是而LC-MS技术更适用于精确定量。近年来LC-MS技术是多种生物样本如血样、细胞样品和组织样品的脂质组学研究过程中最广泛使用的技术手段。

**3.3.1 正相色谱-质谱联用(NPLC-MS)** NPLC可以将脂类化合物根据其分子极性差异进行分离。尤其对磷脂来说,NPLC可以实现将不同极性头基磷脂的分离。并且质谱检测器可以用于未分离的同类脂质化合物的检测以弥补正相条件下难以达到组内单个化合物分离的不足。朱超<sup>[15]</sup>建立了NPLC-MS的磷脂组学平台,实现了7大类磷脂的分离,并对65种化合物进行定性定量分析,利用该平台完成了中药方剂“糖肾方”对自发性II型糖尿病鼠磷脂代谢的影响研究。Michal等<sup>[16]</sup>在正相色谱-超高效液相色谱-质谱(NP UPLC-MS)平台建立非极性脂质定量新方法,在正己烷-异丙醇-乙腈正相体系下18分钟内实现了胆固醇酯(CE)、胆固醇、甘油三酯(TG)、甘油二酯(DG)和甘油一酯(MG)的基线分离,应用于血浆、红细胞、血浆脂蛋白中脂质的检测。然而NPLC需要较长的平衡时间,这会造成潜在的重现性问题,并且流动相挥发性造成洗脱剂极性变化导致的保留时间漂移也是不容忽视的。

**3.3.2 亲水作用色谱-质谱联用(HILIC-MS)** 相比NPLC,HILIC兼顾了NPLC优势的同时还具有流动相简单、分离效率高、与质谱兼容性好等优势,尤为适合于极性化合物的分离。朱超<sup>[15]</sup>建立了基于HILIC-MS的磷脂分离检测新方法,使用乙腈/水体系流动相,以相对高浓度的甲酸铵作为离子改性剂,在梯度洗脱条件下实现了9种磷脂化合物的分离,缩短了检测所需时间,可以在同一批次内对上百个样本进行处理和检测,并将该平台应用于血浆和肝脏组织磷脂的定性定量。但是HILIC因其与NPLC机理的相似性,同样无法完成同一极性头基磷脂的组内分离。

**3.3.3 反相色谱-质谱联用(RPLC-MS)** RPLC-MS是目前脂质组学中使用最广泛的技术手段。NPLC是利用极性差异将各

种磷脂分离,而RPLC则是根据脂类化合物酰基链的长度不同导致的疏水性差异,从而在反相柱上的保留时间不同而顺序流出得以分离。RPLC-MS可以实现将同一类脂类的不同分子种类进行分离以得到样品更多更详细的信息。多项研究利用该手段对脂肪酸、磷脂、鞘磷脂进行目标性脂质组学检测。同时,该平台也广泛适用于非目标性脂质轮廓研究。如Zhang等<sup>[17]</sup>在RPLC-QTOF MS平台建立了血清样本的非目标性脂质轮廓研究,用来衡量二甲双胍和格列吡嗪对同时患有冠心病和二型糖尿病患者的治疗效果,对118种血清脂质进行定性、定量,解释了二甲双胍潜在的冠心病治疗效果。然而RPLC分离脂质时,不同种类的脂质色谱峰重叠现象仍有可能较为严重,由于潜在的离子抑制效应对低丰度脂质定量可能会造成一定的影响。

**3.3.4 二维液相色谱-质谱(2D-LC-MS)** 一维LC-MS脂质分析方法的局限性在于不能实现单个化合物之间的完全分离,尤其是脂类化合物。NPLC能够较好实现脂质的组间分离,而RPLC对于同一种脂质中不同化合物有较好的分离效果,2D-LC可以将NPLC与RPLC方法串联在一起实现绝大部分脂质的分离,得到脂质组更全面的信息。虽然这也带来了过程繁琐,耗时久的缺点。Weng等<sup>[18]</sup>建立了在线正相-反相二维色谱-四级杆飞行时间质谱联用(NP/RP 2D LC-QTOF MS)检测平台,通过对-氯苯丙氨酸干预下5-羟色胺缺陷动物模型的脂质轮廓的分析,寻找到18种5-羟色胺缺陷疾病的新型脂质生物标志物。论证了5-羟色胺缺陷对脂质代谢的显著影响,对疾病代谢通路机理的研究有着重要意义。该平台通过溶剂蒸发接口的设计以及十通阀的应用实现了NP-RP二维色谱在线联用的兼容性,解决了离子抑制效应,增加了检测灵敏度的同时提高了二维色谱的回收率,使高通量检测成为可能。

## 4 脂质组学在癌症研究中的应用

癌症的发生发展是一个复杂的过程,包含如信号传导调控、能量和物质代谢、细胞增殖、自体免疫等多种生物过程的改变。脂质作为细胞膜的重要组成部分,并且具有储存能量及信号分子功能,这使其在癌症发生发展中起着重要作用。在过去的十年里,应用软电离电喷雾质谱高通量平台,脂质组学分析在癌症研究中取得了重要的进展。本文拟通过综述各癌症发生发展过程中脂质组的变化规律,解释脂质组异常与癌症发生发展之间的联系,揭示脂质组学对癌症研究的重要意义,为后续癌症的脂质组学研究提供参考。

### 4.1 肝癌

Chen等<sup>[19]</sup>在超高效液相色谱-离子阱飞行时间质谱平台测定了健康人、乙型肝炎患者、肝硬化患者、肝癌患者的血清脂质轮廓。找到了75种差异脂质代谢物,包括溶血磷脂酰胆碱LPC、磷脂酰胆碱PC、鞘磷脂SP、甘油三酯TG、胆固醇等。其中发现有十种多不饱和PC在乙肝、肝硬化、肝癌患者中与健康志愿者相比呈下调趋势。主要由于多不饱和PC主要在PEMT通路由磷脂酰乙醇胺PE发生连续三个甲基化反应转化而来,PEMT活性在肝癌患者中明显低于健康志愿者,因此随着肝癌的发生多不饱和PC呈现下调趋势。与此同时作者发现三种高饱和PC在乙肝患者、肝硬化患者、肝癌患者中与健康志愿者相比呈上调趋势,可能由于高饱和PC主要在CDP-胆碱通路

由甘油二酯和胆碱生物合成,其高饱和的脂肪酸链能保护癌细胞免于氧化应激而导致的细胞死亡。因此随着癌症的发生,高饱和 PC 呈上调趋势。Jeremiah 的研究验证了这一结果,他发现与丙型肝炎相比,高饱和 PC(PC 18:0-18:0)在肝癌患者血清中含量显著上调<sup>[20]</sup>。Lina 通过肝癌患者血清非目标脂质轮廓研究发现相比正常对照组,肝癌患者血清中溶血磷脂酰胆碱 LPC、溶血磷脂酰乙醇胺 LPE 含量显著下调<sup>[21]</sup>,并进一步推广到肝癌患者术后复发时间探索<sup>[22]</sup>,发现较早复发的患者血清 LPC、LPE 含量显著低于较晚复发的患者,揭示 LPC、LPE 下调可能与肝癌的发展有密切的关系。Chen 的另一篇研究也呈现相同现象<sup>[11]</sup>,并解释 LPC 的下调可能由于 LPC 是溶血磷脂酶 D(Lyso PLD)和自体毒素(ATX)的亚基,LysoPLD/ATX 将 LPC 转化为溶血甘油磷脂酸 LPA。在癌症发展过程中,Lyso PLD 和 ATX 过表达,这就解释了血清 LPC 随着肝脏疾病发展不断下调的现象。Andrew<sup>[23]</sup>的研究也发现肝癌发生过程中随着 LPC 的下调,LPA 有上调的趋势,验证了以上解释。以上结果表明 PC、LPC、LPE 类化合物不仅能作为潜在肝癌的生物标志物衡量患者疾病发生发展情况,更有望成为预后效果指标,预测复发时间及概率。

#### 4.2 乳腺癌

大量研究表明环磷酸酯酶 A2(cPLA2)在乳腺癌细胞中高表达,You<sup>[24]</sup>进一步研究发现由 cPLA2 调控的 4 种磷脂酰胆碱 PC 和相应的溶血磷脂酰胆碱 LPC 的比例与 cPLA2 的激活程度一致,可以进一步用来衡量乳腺癌细胞的转移潜能。Roy 和 Shuvro 等<sup>[25]</sup>通过血样及乳腺组织中长链  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸(PUFA)检测,证明循环  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸与乳腺组织中  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸含量的一致性,解释了循环  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸含量与乳腺癌发生风险的负相关性。Yang 等<sup>[26]</sup>通过良性乳腺肿瘤患者、恶性乳腺肿瘤患者和健康志愿者血清脂质轮廓的研究,鉴定得到 512 种脂类。发现:1)GluCer(35:1、40:6、40:3)只在健康人中能检测到;2)磷脂酰肌醇 PI(16:0/16:1)、PI(18:0/20:4)因其在良性和恶性乳腺肿瘤中含量的显著性差异,可作为潜在的恶性乳腺肿瘤的生物标志物,区分良性和恶性乳腺肿瘤;3)磷脂酰胆碱 PI(16:0/18:1)磷脂酰甘油 PG(36:3)GluCer(d18:1/15:1)在健康组、良性组、恶性组都有显著性差异,并且随着疾病的发展呈现连续性的变化,可能作为潜在的标志物用来衡量乳腺癌肿瘤的恶性程度。其中磷脂酰肌醇 PI(16:0/18:1)的连续性变化可能与 PI3K/AKT 通路的激活有关。PI 是 PIP3 的前体,而 PIP3 作为信号脂质参与 PI3K/AKT 通路。PI3K/AKT 通路在细胞(包括乳腺癌细胞)的代谢、生存、生长、增殖,极性和细胞凋亡过程中起重要作用。癌症的发生刺激了 PI3K/AKT 下游的信号传导和肿瘤生长,促进了 PI 的消耗,导致了 PI 的下调。以上研究阐释了乳腺癌发生过程中脂质组代谢通路的变化规律,并揭示 PI 对乳腺癌的临床诊断可能具有重要意义,后续可进一步研究以期找到高灵敏度高特异性的诊断标志物。

#### 4.3 前列腺癌

目前最常用的前列腺癌生物标志物是血清前列腺特异性抗原<sup>[27]</sup>,然而其较低的特异性限制了它在前列腺癌早期诊断和预测中的应用。近年来,关于前列腺癌的脂质组学研究表明前列腺癌患者血清中磷脂水平尤其是溶血磷脂酰胆碱 LPC 和

磷脂酰乙醇胺 PE 的含量显著性低于正常人<sup>[28]</sup>。Lim 等<sup>[29]</sup>在 U-PLC-ESI-MS/MS 平台,对 22 例良性前列腺增生患者(对照组),45 例前列腺癌患者的尿样进行目标磷脂组学研究。通过 AUC 曲线下面积、显著性差异筛选得到 3 种磷脂酰胆碱类化合物 PC 和 7 种磷脂酰肌醇类化合物 PI 在癌症患者样本中的含量显著高于对照组( $p/c > 3$  倍),可能作为潜在的新生物标志物用于前列腺癌的早期诊断。最新的基于高分辨率基质辅助激光解吸电离成像质谱(HR-MALDI-IMS)平台的前列腺癌组织的脂质组学研究进一步可视化验证,与周边良性前列腺上皮细胞相比 PI 在前列腺癌区域显著上调<sup>[30]</sup>,这差异性表达为前列腺癌的预测,以及前列腺癌脂质代谢研究提供了新的方向。

## 5 总结与展望

本文通过近三年脂质组学分析方法的最新进展,重点讨论了不同种类分析技术在脂质组学研究应用中的特点,为后续脂质组学研究中分析方法的选择提供参考。综述了各癌症中脂质组的变化规律、代谢通路及重要差异代谢物,为后续脂质组学在癌症机制中的研究及癌症早期诊断标志物的发现提供新思路。

总的来说,脂质组学自 2003 年提出的这十余年里,在细胞生物学、疾病早期诊断、疾病机理研究等方面发挥了巨大作用。但由于脂质结构的复杂性,仍有许多挑战亟待解决,如:1)基质效应对低丰度脂质的影响,需建立快速、高灵敏度、高分离度、高特异性的分析方法进一步完成对低丰度脂质组的探索。2)需找到高特异性的脂质生物标志物,用于癌症的早期诊断、抗癌过程有效性和毒性的监测。3)与基因组学、蛋白质组学结合,而不是简单的脂质定量,形成整合脂质组学,从系统生物学角度解释信号转导途径及疾病发生发展机理。因此脂质组学还有巨大的研究潜力。

#### 参考文献(References)

- [1] Eoin Fahy, Shankar Subramaniam, Robert C Murphy, et al. Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50: S9-S14
- [2] M A Lemmon. Membrane recognition by phospholipid-binding domains[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(2): 99-111
- [3] Y A Hannun, L M Obeid. The Ceramide-centric universe of lipid-mediated cell regulation: stress encounters of the lipid kind [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(29): 25847-25850
- [4] H Le Stunff, I Galve-Roperh, C Peterson, et al. Sphingosine-1-phosphate phosphohydrolase in regulation of sphingolipid metabolism and apoptosis[J]. *J Cell Biol*, 2002, 158(6): 1039-1049
- [5] T Pawson, P Nash. Assembly of cell regulatory systems through protein interaction domains[J]. *Science*, 2003, 300(5618): 445-452
- [6] M Margolis, O Perez, M Martinez, et al. Phospholipid makeup of the breast adipose tissue is impacted by obesity and mammary cancer in the mouse: Results of a pilot study[J]. *Biochimie*, 2015, 108: 133-139
- [7] X L Han, R W Gross. Global analyses of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples by ESI mass spectrometry: a bridge to lipidomics[J]. *J Lipid Res*, 2003, 44(6): 1071-1079
- [8] P L Wood, B L Barnette, J A Kaye, et al. Non-targeted lipidomics of CSF and frontal cortex grey and white matter in control, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease subjects[J]. *Acta Neuropsych*

- chiatica, 2015, 27(5): 270-278
- [9] J Song, X J Liu, J J Wu, et al. A highly efficient, high-throughput lipidomics platform for the quantitative detection of eicosanoids in human whole blood[J]. *Anal Biochem*, 2013, 433(2): 181-188
- [10] Y N Zhao, C X Zhao, X Lu, et al. Investigation of the Relationship between the Metabolic Profile of Tobacco Leaves in Different Planting Regions and Climate Factors Using a Pseudotargeted Method Based on Gas Chromatography/Mass Spectrometry [J]. *J Proteome Res*, 2013, 12(11): 5072-5083
- [11] S L Chen, H W Kong, X Lu, et al. Pseudotargeted Metabolomics Method and Its Application in Serum Biomarker Discovery for Hepatocellular Carcinoma Based on Ultra High-Performance Liquid Chromatography/Triple Quadrupole Mass Spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2013, 85(17): 8326-8333
- [12] Miao Wang, Xian-lin Han. Advanced Shotgun Lipidomics for Characterization of Altered Lipid Patterns in Neurodegenerative Diseases and Brain Injury [J]. *Methods in molecular biology*, 2016, 1303: 405-422
- [13] Leila Hejazi, Diako Ebrahimi, Michael Guilhaus, et al. Determination of the Composition of Fatty Acid Mixtures Using GC x FI-MS: A Comprehensive Two-Dimensional Separation Approach [J]. *Anal Chem*, 2009, 81(4): 1450-1458
- [14] R Michael-Jubeli, J Bleton, A Baillet-Guffroy. High-temperature gas chromatography-mass spectrometry for skin surface lipids profiling [J]. *J Lipid Res*, 2011, 52(1): 143-151
- [15] 朱超. 基于液相色谱质谱联用技术的磷脂组学平台的建立、改进及应用[D]. 华东理工大学, 2011
- Zhu Chao. Development and Application of Phospholipidomics Platform Based on LC-MS [D]. East China University of Science and Technology, 2011
- [16] M Holcapek, E Cifkova, B Cervena, et al. Determination of nonpolar and polar lipid classes in human plasma, erythrocytes and plasma lipoprotein fractions using ultrahigh-performance liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2015, 1377: 85-91
- [17] Y F Zhang, C X Hu, J Hong, et al. Lipid Profiling Reveals Different Therapeutic Effects of Metformin and Glipizide in Patients With Type 2 Diabetes and Coronary Artery Disease [J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(10): 2804-2812
- [18] R Weng, S S Shen, L Yang, et al. Lipidomic analysis of p-chlorophenylalanine-treated mice using continuous-flow two-dimensional liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2015, 29(16): 1491-1500
- [19] S L Chen, P Y Yin, X J Zhao, et al. Serum lipid profiling of patients with chronic hepatitis B, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma by ultra fast LC/IT-TOF MS [J]. *Electrophoresis*, 2013, 34(19): 2848-2856
- [20] J Bowers, E Hughes, N Skill, et al. Detection of hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients: Biomarker discovery by LC-MS [J]. *J Chromatogr B*, 2014, 966: 154-162
- [21] L Zhou, Q Wang, P Yin, 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
- [22] L Zhou, Y Liao, P Yin, et al. Metabolic profiling study of early and late recurrence of hepatocellular carcinoma based on liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2014, 966: 163-170
- [23] A D Patterson, O Maurhofer, D Beyoglu, et al. Aberrant Lipid Metabolism in Hepatocellular Carcinoma Revealed by Plasma Metabolomics and Lipid Profiling [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(21): 6590-6600
- [24] J C You, J Yang, R P Fang, et al. Analysis of Phosphatidylcholines (PCs) and Lysophosphatidylcholines (LysoPCs) in Metastasis of Breast Cancer Cells [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2015, 42(6): 563-573
- [25] S Roy, T M Brasky, M A Belury, et al. Associations of erythrocyte-3 fatty acids with biomarkers of-3 fatty acids and inflammation in breast tissue[J]. *Inter J Cancer*, 2015, 137(12): 2934-2946
- [26] L Yang, X Cui, N Zhang, et al. Comprehensive lipid profiling of plasma in patients with benign breast tumor and breast cancer reveals novel biomarkers[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407(17): 5065-5077
- [27] Karol Jelonek, Malgorzata Ros, Monika Pietrowska, et al. Cancer biomarkers and mass spectrometry-based analyses of phospholipids in body fluids[J]. *Clin Lipidol*, 2013, 8(1): 137-150
- [28] B Cvetkovic, V Vucic, Z Cvetkovic, et al. Systemic alterations in concentrations and distribution of plasma phospholipids in prostate cancer patients[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(2): 809-814
- [29] S Lim, D Y Bang, K H Rha, et al. Rapid Screening of Phospholipid Biomarker Candidates from Prostate Cancer Urine Samples by Multiple Reaction Monitoring of UPLC-ESI-MS/MS and Statistical Approaches[J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2014, 35(4): 1133-1138
- [30] T Goto, N Terada, T Inoue, et al. The Expression Profile of Phosphatidylinositol in High Spatial Resolution Imaging Mass Spectrometry as a Potential Biomarker for Prostate Cancer[J]. *Plos One*, 2014, 9(2): e90242