代谢组学在乳腺癌生物标志物研究中的现状及展望

谭斌斌^{†*}, 向迪[†], 贾蒙, 付利^{*}

深圳大学医学部基础医学院药理学系, 深圳 518060

[†] 同等贡献

^{*} 联系人, E-mail: tanbinbin@szu.edu.cn; gracelfu@szu.edu.cn

收稿日期: 2017-09-28; 接受日期: 2017-10-15; 网络版发表日期: 2018-01-16

广东省自然科学基金(批准号: 2016A030313044)、国家自然科学基金(批准号: 81702104, 81372583)和深圳市基础研究项目(批准号: CXZZ20150430092951135, JCYJ20150422150029094)资助

摘要 代谢组学是近年来系统生物学研究领域中最活跃的分支学科之一, 通过研究生命体在不同生理病理状态下所产生的内源性代谢物变化规律来揭示疾病相关的代谢本质. 作为系统生物学研究中的后起之秀, 代谢组学以其特独的研究视角和技术优势迅速而广泛地应用于癌症研究领域, 已初步展现出广阔的临床应用前景. 乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤, 严重威胁着女性健康且呈年轻化趋势. 利用代谢组学技术平台对乳腺癌进行研究, 寻找潜在的代谢性生物标志物, 有助于乳腺癌的早期诊断、疗效评价、预后监控及制定合适的个体化治疗方案, 对改善乳腺癌患者的存活率具有重要意义. 本文将对代谢组学的概念、研究方法及其在乳腺癌生物标志物研究中的应用进行综述.

关键词 代谢组学, 乳腺癌, 生物标志物, 早期诊断

乳腺癌(breast cancer, BC)是当今女性癌症中最常见的恶性肿瘤, 近年来已跃居女性肿瘤发病率的首位, 严重威胁着女性健康. 据统计^[1], 2011年全球有超过160万的乳腺癌新增病例, 约占女性所有癌症新增病例的25%, 其死亡例数约占女性所有癌症死亡病例的15%. 在我国, 随着人们饮食结构的改变, 工作压力的增加, 以及环境等问题的日益严重, 乳腺癌的发病率正逐年增加且呈年轻化趋势^[2]. 国际顶级期刊*CA Cancer J Clin*上发表了我国近年来大规模的癌症数据统计结果^[3], 预计2015年我国新增乳腺癌病例约有26.86万人,

新增乳腺癌死亡病例约6.95万人. 乳腺癌的发生发展是一个多因素、多步骤的过程, 除遗传因素外, 还受多种因素的影响, 如年龄、月经、生育与否、外源性雌激素、饮食、环境等^[4]. 早期乳腺癌患者经治疗后治愈率可达90%, 而晚期患者的治疗效果一般不理想, 容易发生复发和转移, 建立良好的早期诊断和筛查方法是改善乳腺癌患者生存率的有效途径之一. 目前乳腺癌的临床筛查主要依赖于影像学检查(B超及钼靶X线照射术)及一些常用肿瘤标志物(CEA, CA153)筛查, 往往由于敏感度和特异性不够而显得不足, 为了进一

引用格式: 谭斌斌, 向迪, 贾蒙, 等. 代谢组学在乳腺癌生物标志物研究中的现状及展望. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 15–23

Tan B B, Xiang D, Jia M, et al. The current status and perspective of metabolomics in breast cancer biomarker research (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2018, 48: 15–23, doi: [10.1360/N052017-00221](https://doi.org/10.1360/N052017-00221)

步确诊还需要组织活检, 不适合大规模人群普查。

肿瘤生物标志物能够反映肿瘤发生、发展、复发与预后的情况, 对肿瘤的早期诊断、疗效评价、预后监控、及新药开发等方面具有重要价值^[5,6]。代谢组学(metabolomics/metabonomics)应运而生, 通过现代分析方法研究肿瘤的代谢谱特征, 筛选代谢性生物标志物并检测它们在生命体中的异常变化, 在乳腺癌的早期筛查、转移与复发、疗效评价和预后监控等方面已崭露头角, 取得了不错的进展, 有望为乳腺癌的诊断治疗提供新的思路。

1 代谢组学研究概况介绍

1.1 代谢组学的概念

代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后在学术界兴起的又一门系统生物学分支^[7,8]。它主要研究生物体系(细胞、组织或生物体)受外部刺激或扰动后所产生的代谢产物的变化规律^[7,9], 从而揭示机体生命活动的代谢本质。代谢产物是基因-蛋白-新陈代谢这样一个生命活动链的终点集合体, 反映的是生物体内各种生命活动所产生效应的最终结果和表现^[10,11], 故代谢组学被认为是基因组学、转录组学和蛋白质组学的补充和延伸, 是“组学”研究的最终方向^[12,13]。因此有人认为, “如果说基因组学和蛋白质组学告诉我们可能发生什么, 那么代谢组学则告诉我们已经发生了什么”。

1.2 代谢组学的研究方法

代谢组学采用高灵敏度、高通量的现代仪器分析手段^[14], 定性、定量地研究肿瘤发生发展过程中代谢物的变化, 筛选和鉴别新型肿瘤生物标志物, 其研究过程主要包括以下4个部分:

(1) 生物样本采集。代谢组学研究的生物样本非常广泛, 包括各种生物体液(如血液、尿液、唾液)、组织、粪便、细胞或培养液等^[15-18]。血液、尿液等体液样本在临床上容易获得, 前处理方法相对简单, 是肿瘤代谢组学研究最主要的生物样品^[19]。组织样本收集较为困难, 但可提供局部病灶源的代谢物信息^[20], 为发现肿瘤标志物提供可靠依据。总的来说, 组织代谢谱有利于寻找肿瘤特异性的生物标志物, 适用于临床前的生物标志物筛选; 体液样本容易获取, 有利于开

发无创诊断技术, 适合于生物标志物的验证及其临床转化研究。高质量的临床样本是获得稳定可靠研究结果的重要保证, 为了尽量减少疾病因素之外的代谢物差异来源, 需要对样本收集进行严格规范的管理^[21]。

(2) 代谢产物的检测与鉴定。代谢产物的分离、检测、与鉴定是代谢组学技术的核心部分。最常用的分析技术平台主要分为两大类^[22,23]。核磁共振技术(nuclear magnetic resonance technology, NMR)和色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS; liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS)。近年来, 随着色谱-质谱联用技术的发展, 已逐渐成为代谢组学研究的主力军。利用色谱高效的分离作用和质谱的高灵敏度及专属性, 能够对代谢物进行快速的定性定量分析。气相色谱-飞行时间质谱仪(gas chromatography time-of-flight mass spectrometry, GC-TOF-MS)具有检测速度快及强大的反卷积功能, 常被用于全谱分析的代谢组学研究中^[24]。超高效液相色谱-四极杆-飞行时间-质谱(ultraperformance liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)联用技术是目前比较前沿的液相色谱-质谱联用技术^[21], 具有超高灵敏度、高分辨率、高通量等特点, 广受研究者们的青睐。

(3) 数据分析。代谢组学研究的数据分析一般分为3个步骤: (i) 数据提取, 将原始图谱转变成可计算的数据; (ii) 对数据进行预处理及代谢物鉴定; (iii) 将预处理后的数据进行多维统计分析。常用的多维统计分析方法主要分为两大类^[25]: (i) 无监督的分析方法, 常用主成分分析(principal component analysis, PCA)^[26], 该方法无需提供样本类别信息, 只对样本的X变量(即代谢物变量)进行分析, 抽提各样本之间的差异信息, 将多维的数据压缩成几个主要成分来描述数据特征, 以到达降维效果。(ii) 有监督的分析方法, 如正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least square-discriminate analysis, OPLS-DA)^[27], 该方法同时对数据矩阵的Y变量(样本类别信息变量)和X变量(代谢物变量)进行分析, 能尽可能地抽提到与分类结果最相关的差异信息, 且可以屏蔽一些其他不相关因素的影响。

(4) 生物学信息的挖掘及阐释。数据分析的最终目的是希望能挖掘数据中蕴藏的生物学信息, 解读病理状态下机体代谢与疾病之间的关系。人体内代谢物

种类繁多, 涉及各种纷繁复杂的代谢通路, 而且各代谢通路之间还相互关联, 相互调节, 构成了人体复杂的代谢网络. 因此, 不能孤立地看待这些代谢物, 需要对它们进行代谢通路分析, 才能更准确地反映出病理状态下的整体变化特征. 借助于各种代谢网络数据库 (如KEGG, HMDB, Lipid Maps) 以及相关文献报道, 对差异代谢物进行系统、深入的分析, 挖掘相关的代谢调控途径, 探讨其与疾病发生发展的关系, 并筛选出潜在的生物标志物.

1.3 代谢组学研究的整合化趋势

随着代谢组学研究的不断深入, “整合化”研究策略已成为其发展趋势, 主要体现在以下3个方面: (i) 多种样本的整合. 收集来自同一病人的组织和体液样本, 将多种生物样本的代谢谱数据进行整合, 既扩充了差异代谢物库 (有利于系统全面了解相关疾病的代谢谱特征), 又能相互印证结果, 为实验结论的阐述提供相互佐证的依据. (ii) 多种技术平台的整合. 代谢组学的分析对象具有种类繁多、理化性质差异大、且动态范围极宽等特点, 联合多个平台一方面有助于扩大所鉴定到的代谢物数量, 从而更全面地挖掘代谢物所蕴含的生物学信息; 另一方面, 多个平台之间即相互验证又相互补充, 提高了研究结果的可靠性和全面性. (iii) 数据处理方法的整合. 可以通过多种途径在不同水平上实现, 一般需要特殊的统计方法和对多种模式识别方法的运用. Bang等人^[28]提出的STOCSY (statistical total correlation spectroscopy) 是一种基于NMR谱图数据的潜在生物标志物辅助鉴定方法, STOCSY与模式识别方法结合将成为代谢组学数据分析的新框架, 有助于代谢物的生物学重要性阐释. 另外, 多谱学统计 (statistical heterospectroscopy, SHY) 是针对复杂样本的多种谱图数据建立的一种新型统计方法^[29], 可以将NMR与MS所得数据进行整合, 为代谢组学数据处理方法的整合提供了新思路.

1.4 代谢组学在肿瘤生物标志物研究中的应用

越来越多的研究表明, 代谢在肿瘤发生发展过程中发挥着重要作用^[30,31], 为揭示癌症发病机制及寻找生物标志物提供了新的突破口. 近年来, 代谢组学在胰腺癌、肝癌、结直肠癌、食管癌等恶性肿瘤研究中得到了广泛应用^[32-36], 越来越多的代谢产物被发现

和报道可用作潜在的代谢性生物标志物. *Nature*上报道了有关前列腺癌的代谢组学研究, Sreekumar等人^[33]发现尿液代谢产物中的肌氨酸(sarcosine)可以作为前列腺癌诊断和预后评估的标志物分子, 在鉴别诊断前列腺癌组织活检阳性和阴性的患者时, 其诊断准确性显著高于传统血清标志物前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA). 陈竺院士研究组^[34]针对急性白血病的代谢组学研究发现, 血清代谢产物中的2-羟基戊二酸(2-hydroxyglutarate, 2-HG)是一个很好的急性白血病预后诊断标志物, 且独立于其他临床分子特征. 随访结果显示, 血清中2-HG水平高的急性白血病患者生存率显著低于2-HG水平低的急性白血病患者.

2 代谢组学在乳腺癌生物标志物研究中的应用

近年来, 利用代谢组学技术寻找乳腺癌相关的生物标志物逐渐成为乳腺癌早期诊断、复发与转移、疗效评价及预后评估、肿瘤分型等方面的研究热点, 并取得了一定进展.

2.1 乳腺癌早期诊断的代谢性生物标志物

对于早期乳腺癌患者, 手术治疗是一个比较有效的治疗措施, 因而保乳手术是可行的, 术后加以放疗可降低肿瘤局部复发和远处转移的风险. 然而很多乳腺癌患者被发现时已经处于中晚期, 失去了手术机会, 治疗效果也往往不理想. 因此, 寻找乳腺癌有效的早期诊断和筛查方法是改善患者生存率的有效途径之一. 目前代谢组学在乳腺癌早期诊断方面已经有了比较成熟的研究. Budczies等人^[37]在基于GC-TOF-MS技术的乳腺癌代谢组学研究中, 对271例乳腺癌肿瘤组织和98例正常组织进行代谢物组分析, 发现嘌呤代谢及甘油酯代谢在乳腺肿瘤组织中显著增加. 其中, 5-单磷酸-胞嘧啶核苷/十五烷酸(cytidine-5-monophosphate/pentadecanoic acid)的比值可用来很好地区分乳腺肿瘤组织和正常组织, 其诊断灵敏度和特异性分别高达94.8%和93.9%. Sitter等人^[38]利用HRMAS-NMR技术对85例乳腺癌患者的癌组织和18例癌旁组织进行了代谢谱分析, 发现癌组织中的甘油磷酸胆碱、磷酸胆碱及胆碱等代谢物水平显著高于癌旁组织, 且仅通过非监督的PCA法建立判别模型, 其诊

断敏感度和特异性就分别达82%和100%。Mountfourd等人^[39]基于NMR平台对140例乳腺癌(83例恶性和57例早期)患者的穿刺组织进行代谢组分析,¹HNMR谱结果显示,可以很好地区分恶性肿瘤和早期肿瘤患者,其早期诊断灵敏度和特异性分别为93%和92%。贾伟教授研究组^[40]利用GC-TOF-MS和LC-TOF-MS两大质谱平台研究乳腺癌血浆代谢谱,找到了41个血清差异代谢物,其中天冬氨酸在乳腺癌病人中降低最为显著,能够很好地区分乳腺癌病人和健康人,并在新的一批血清样本和组织样本中得到了验证。另外,Nam等人^[41]针对50例乳腺癌患者和50例健康对照者的尿液样本进行代谢组学分析,结果发现有4种差异代谢物(高香草酸酯、4-羟基苯乙酸、5-羟吡啶乙酸、尿素)被鉴定为潜在的生物标志物,可用来区分乳腺癌患者和健康人群。乳腺癌代谢组学研究除了常用的组织、血清、尿液样本外,唾液样本也是不错的选择,且具有收集简便、无创、成本低等优点,因此也被用来寻找乳腺癌早期诊断标志物。Sugimoto等人^[42]对30例乳腺癌患者和87例健康人的唾液样本进行代谢组学研究,鉴定出28种唾液代谢物可用作潜在的候选标志物,ROC分析结果显示,其区分乳腺癌患者和健康人的AUC值可达0.973。

2.2 乳腺癌转移相关的代谢性生物标志物

乳腺癌的转移复发是导致患者死亡的重要因素,也是其治疗的关键,然而对于复发和转移的监控技术目前尚不完善,因此,进一步探索与乳腺癌侵袭转移相关的生物标志物、阐明其复发转移的分子机制是国内外的研究热点,有利于制定最佳的个体化治疗方案。近年来,一些基于细胞的代谢组学研究发现乳腺癌细胞(MCF-7)会利用酮尿和乳酸盐来增加其干性,从而促进肿瘤的生长、转移、复发及不良预后^[43]。Kim等人^[44]运用GC-MS和DI-MS技术对人乳腺癌上皮细胞系MCF-10A、轻度转移的乳腺癌细胞系MCF-7和高度转移的乳腺癌细胞系MDA-MB-231进行研究,发现黄嘌呤(xanthine)、6-磷酸葡萄糖(glucose-6-phosphate)、6-磷酸甘露糖(mannose-6-phosphate)、鸟嘌呤(guanine)、腺嘌呤(adenine)是乳腺癌转移的标志物分子,所有转移组的磷脂类代谢物(phospholipids)都比正常组高,这些标志物可以用来鉴别正常细胞、原位癌和转移性乳腺癌,有望成为未来转移性乳腺癌治疗的潜在靶标。

联合利用NMR和GC/GC-MS技术平台,Asiago等人^[45]对20例乳腺癌复发患者和36例乳腺癌未发生复发患者的血清代谢谱进行分析,筛选出了11个潜在的生物标志物,包括甲酸盐(formate)、组氨酸(histidine)、脯氨酸(proline)、胆碱(choline)、酪氨酸(tyrosine)、3-羟基丁酸(3-hydroxybutyrate)、乳酸(lactate)、谷氨酸(glutamic acid)、N-乙酰甘氨酸(N-acetyl-glycine)、3-羟基-2-甲基丁酸(3-hydroxy-2-methyl-butanoic acid)、壬二酸(nonanedioic acid)。基于这11个差异代谢物运用逻辑回归算法建立了一个预测模型,其区分乳腺癌复发患者和非复发患者的敏感度和特异性分别为86%和84%。Oakman等人^[46]基于乳腺癌血清代谢组学研究发现,早期乳腺癌患者和发生了转移的乳腺癌患者可以很好地被区分开,他们还发展了一种通过计算早期患者到转移患者集群重心的距离来监测早期乳腺癌患者代谢风险的方法。目前该方法还需进一步验证和完善。

2.3 乳腺癌预后相关的代谢性生物标志物

乳腺癌目前首选治疗手段还是手术,然后根据不同的分子分型再辅以放化疗、内分泌治疗、靶向治疗等。尽管随着临床手段的发展乳腺癌的治愈率相对提高了很多,但仍有约20%的患者会出现预后不良的结果。乳腺癌是一种高度异质性肿瘤,即使一些相同分子亚型及TNM分期相同的患者面对同一治疗方案,也会表现出不同的治疗效果。所以,个体化精准治疗仅靠现有的疗效评价及预后手段仍不够。研究者们开始运用代谢组学方法来寻找疗效评价及预后监测的新技术。有研究报道称ER阳性的Luminal A型乳腺癌对于激素治疗具有不同的反应,针对Luminal A型乳腺癌的代谢组学分析结果发现,利用葡萄糖、氨基酸、肌醇、脂质残基可以将患者分为有反应组和无反应组^[47]。Sitter等人^[48]对13例预后良好和16例预后不良的乳腺癌患者组织样本进行代谢物分析发现,牛磺酸/甘氨酸、总胆碱/甘氨酸、甘油磷酸胆碱/甘氨酸在预后不良组显著低于预后良好组。Miolo等人^[49]将用曲妥珠单抗治疗的Her-2阳性的乳腺癌病人按治疗效果分成两个组(其中预后良好组15例,预后不良组19例),对两组患者治疗前的血清代谢谱进行分析发现,相比于预后不良组,预后良好组的亚精胺(spermidine)含量高,而色氨酸(tryptophan)含量低。还有研究对乳腺癌患者术前及术后1周的尿液修饰核苷代谢谱进行检测,根

表 1 乳腺癌(早期诊断、转移、预后、分型)相关的候选代谢性生物标志物^{a)}

乳腺癌早期诊断候选代谢性生物标志物	样本类型	分析方法	代谢通路	参考文献
5-单磷酸-胞嘧啶核苷/十五烷酸	组织	GC-TOF-MS	嘌呤代谢 甘油酯代谢	Budczies 等人 ^[37]
甘油磷酸 胆碱 磷酸胆碱	组织	HR-MAS-NMR	胆碱代谢	Sitter 等人 ^[38]
天冬氨酸	血浆	GC-TOF-MS LC-TOF-MS	氨基酸代谢	Xie 等人 ^[40]
高香草酸酯 4-羟基苯乙酸 5-羟吡啶乙酸 尿素	尿液	GC-MS	酪氨酸代谢 色氨酸代谢 嘧啶代谢 嘌呤代谢	Nam 等人 ^[41]
28种唾液代谢物 ^{a)}	唾液	CE-TOF-MS	氨基酸代谢	Sugimoto 等人 ^[42]
乳腺癌转移相关候选代谢性生物标志物	样本类型	分析方法	代谢通路	参考文献
酮尿 乳酸盐	细胞	Exon-array	能量代谢 TCA 循环	Martinez-Outschoorn 等人 ^[43]
黄嘌呤 6-磷酸葡萄糖 6-磷酸甘露糖 鸟嘌呤 腺嘌呤	细胞	GC-MS DI-MS	磷脂类代谢 嘌呤代谢	Kim 等人 ^[44]
甲酸盐、组氨酸、脯氨酸、胆碱、酪氨酸、3-羟基丁酸、乳酸、谷氨酸、N-乙酰甘氨酸、3-羟基-2-甲基丁酸、壬二酸	血清	NMR GC×GC-MS	氨基酸代谢 脂肪酸代谢 胆碱代谢	Asiago 等人 ^[45]
乳腺癌预后相关候选代谢性生物标志物	样本类型	分析方法	代谢通路	参考文献
葡萄糖、氨基酸、肌醇、脂质	组织	HR-MAS-MRS	氨基酸代谢 葡萄糖代谢 脂质代谢	Borgan 等人 ^[47]
牛磺酸/甘氨酸 总胆碱/甘氨酸 甘油磷酸胆碱/甘氨酸	组织	HR-MAS-MRS	胆碱代谢	Sitter 等人 ^[48]
亚精胺 色氨酸	血清	LC-MS/MS	色氨酸代谢	Miolo 等人 ^[49]
假尿苷 乙酰胞嘧啶核苷 1-甲基鸟苷 2-甲基鸟苷	尿液	Micellar electrokinetic chromatography	尿苷代谢	Zheng 等人 ^[50]
乳腺癌分型相关候选代谢性生物标志物	样本类型	分析方法	代谢通路	参考文献
谷氨酸盐 谷氨酰胺 胆碱	组织	HR-MAS-MRS	谷氨酸代谢 胆碱代谢	Cao 等人 ^[53]
甘氨酸 乳酸	组织	HR-MAS-MRS	氨基酸代谢 糖代谢	Borgan 等人 ^[47]

a) *: 唾液代谢物详见参考文献^[42]

据假尿苷(pseudouridine)、乙酰胞嘧啶核苷(N4-acetylcytidine)、甲基鸟苷(1-methylguanosine)和甲基鸟苷(2-methylguanosine)修饰核苷水平在术后1周是否恢复正常水平来判定乳腺癌患者术后的预后情况^[50]。这些研究提示,将来的临床治疗有望根据患者代谢产物的个体差异性,为其提供更合适的个体化治疗方案。

2.4 乳腺癌分型相关的代谢性生物标志物

目前,除了肿瘤TNM分期外,临床上根据雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、人类表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor 2, Her-2)的表达水平将乳腺癌分为: Luminal A型、Luminal B型、Her-2阳性型、基底细胞样(basal-like)型4种主要的亚型,其中Luminal A型乳腺癌是最常见的分子亚型^[51]。另外,还有一种特殊的乳腺癌亚型——三阴性乳腺癌,其肿瘤组织的ER, PR, Her-2表达均为阴性^[52]。针对不同的乳腺癌亚型患者经常会采用不同的治疗方案,然而,即使针对同一亚型的乳腺癌患者也常会出现预后效果存在较大差异的情况。因此,有必要对乳腺癌的分型进一步探讨以便于实施更精准的治疗方案。目前,关于这方面的研究还并不多,代谢组学研究在这方面已崭露头角。Gao等人^[53]运用HR-MAS-MRS对三阴性乳腺癌患者和非三阴乳腺癌患者进行研究,发现三阴乳腺癌患者谷氨酸盐(glutamate)、胆碱(choline)水平较非三阴乳腺癌患者升高,但谷氨酰胺(glutamine)却是降低的。有报道基于乳腺癌组织代谢组学研究发现^[47],在ER呈阳性的乳腺癌人群中,甘氨酸和乳酸水平高的一部分患者结果具有比较低的生存率,导致其预后比较差。而另一部分ER呈阳性的乳腺癌患者具有比较好的预后,但在ER呈阴性的乳腺癌患者中并未观察到甘氨酸和乳酸水平高的现象。这些研究结果提示,根据代谢性生物标志物的差异有望为乳腺癌患者更精确的临床分型提供新的思路。

综合文献报道,现将利用代谢组学技术寻找到主要的乳腺癌相关候选代谢性生物标志物总结如表1。

3 展望

综前所述,代谢组学在乳腺癌的早期筛查、复发与转移、疗效评价及预后监测、肿瘤分型等相关的代谢性生物标志物研究方面已经取得了不错的成果,但将来进一步的研究也面临着不少挑战,例如,(i)与其他组学研究结果的整合,建立从基因水平、功能性蛋白水平到终端代谢产物水平的系统模型,从系统生物学角度对乳腺癌有更深入全面的认识,筛选特异性的生物标志物;(ii)乳腺癌的候选代谢性生物标志物报道已有不少,但真正运用到乳腺癌的临床诊治上还有待进一步探索和开发,因此,必须与临床转化研究紧密结合,做到研以致用;(iii)代谢物浓度动态变化跨度大,且容易受到影响,仍需不断提高技术手段和分析方法,反复验证结果以排除假阳性;(iv)乳腺癌并非一个孤立的肿瘤,其代谢过程还受所处微环境的影响,目前研究中所利用的组织样本一般都独立于肿瘤微环境体系,因此这也是进一步研究中值得探索的问题。

代谢组学作为一门迅速崛起的系统生物学分支,在癌症研究领域展现出了巨大的发展潜力。虽然代谢组学技术的临床应用前景被看好,但要转化为临床应用,还有较长的路要走。为了减少不同研究平台及不同研究小组所得结果的不均一性,将来进一步建立代谢组学研究的标准操作程序是很有必要的,包括样本采集、实验设计、样品检测分析、代谢物鉴定、数据处理、以及信息挖掘等。通过标准的操作程序,有助于不同研究组之间所得结果的整合,促进代谢组数据的扩充,提高所鉴定出的潜在生物标志物的可重复性和可信度。最终,推动代谢组学技术发展成为一种有效可行的临床应用平台。相信在不久的将来,代谢组学会发现特异性更好、灵敏度更高的肿瘤标志物,为患者的精准个体化治疗方案提供理论依据和实验支持。

参考文献

- 1 Beiki O, Hall P, Ekblom A, et al. Breast cancer incidence and case fatality among 4.7 million women in relation to social and ethnic background: a population-based cohort study. *Breast Cancer Res*, 2012, 14: 1-13
- 2 陈万青, 郑荣寿, 曾红梅. 1989~2008年中国恶性肿瘤发病趋势分析. *中华肿瘤杂志*, 2012, 34: 517-524

- 3 Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115–132
- 4 Cronin K A, Ravdin P M, Edwards B K. Sustained lower rates of breast cancer in the United States. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 117: 223–224
- 5 Biomedical F. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Therapeut*, 2001, 69: 89–95
- 6 郭明洲. 肾癌预后监测和靶向治疗的新型表观标记物: 5-羟甲基胞嘧啶. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 227–229
- 7 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. *Xenobiotica*, 1999, 29: 1181–1189
- 8 Fiehn O, Kopka J, Dörmann P, et al. Metabolite profiling for plant functional genomics. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 1157–1161
- 9 Nicholson J K, Connelly J, Lindon J C, et al. Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function. *Nat Rev Drug Disc*, 2002, 1: 153–161
- 10 Kikuchi K, Takeya H. A bridge between chemistry and biology. *Nat Chem Biol*, 2006, 2: 392–394
- 11 邓子新. 代谢科学: 解密自然代谢, 谋划生物“智”造. *中国科学: 生命科学*, 2017, 47: 459
- 12 Aboud O A, Weiss R H. New opportunities from the cancer metabolome. *Clin Chem*, 2013, 59: 138–146
- 13 Wang H, Tso V K, Slupsky C M, et al. Metabolomics and detection of colorectal cancer in humans: a systematic review. *Future Oncol*, 2010, 6: 1395–1406
- 14 Zhang A, Sun H, Wang P, et al. Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *Analyst*, 2012, 137: 293–300
- 15 Beckonert O, Keun H C, Ebbels T M D, et al. Metabolic profiling, metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine, plasma, serum and tissue extracts. *Nat Protoc*, 2007, 2: 2692–2703
- 16 Monleón D, Morales J M, Barrasa A, et al. Metabolite profiling of fecal water extracts from human colorectal cancer. *NMR Biomed*, 2009, 22: 342–348
- 17 Plumb R S, Johnson K A, Rainville P, et al. UPLC/MSE: a new approach for generating molecular fragment information for biomarker structure elucidation. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20: 1989–1994
- 18 Zhang A, Sun H, Wang X. Saliva metabolomics opens door to biomarker discovery, disease diagnosis, and treatment. *Appl Biochem Biotechnol*, 2012, 168: 1718–1727
- 19 Zhang A, Sun H, Wang X. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for disease: a systematic review. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 404: 1239–1245
- 20 Huang Q, Tan Y, Yin P, et al. Metabolic characterization of hepatocellular carcinoma using nontargeted tissue metabolomics. *Cancer Res*, 2013, 73: 4992–5002
- 21 Zelena E, Dunn W B, Broadhurst D, et al. Development of a robust and repeatable UPLC-MS method for the long-term metabolomic study of human serum. *Anal Chem*, 2009, 81: 1357–1364
- 22 Lindon J C, Holmes E, Nicholson J K. Peer reviewed: so what’s the deal with metabonomics? *Analyt Chem*, 2003, 75: 384A–391A
- 23 Dunn W B, Bailey N J C, Johnson H E. Measuring the metabolome: current analytical technologies. *Analyst*, 2005, 130: 606–625
- 24 Begley P, Francis-McIntyre S, Dunn W B, et al. Development and performance of a gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry analysis for large-scale nontargeted metabolomic studies of human serum. *Anal Chem*, 2009, 81: 7038–7046
- 25 贾伟. 医学代谢组学. 上海: 上海科学技术出版社, 2011. 33–42
- 26 Abdi H, Williams L J. Principal component analysis. *WIREs Comp Stat*, 2010, 2: 433–459
- 27 Trygg J, Wold S. Orthogonal projections to latent structures (O-PLS). *J Chemometrics*, 2002, 16: 119–128
- 28 Bang J W, Crockford D J, Holmes E, et al. Integrative top-down system metabolic modeling in experimental disease states via data-driven bayesian methods. *J Proteome Res*, 2008, 7: 497–503
- 29 Crockford D J, Holmes E, Lindon J C, et al. Statistical heterospectroscopy, an approach to the integrated analysis of NMR and UPLC-MS data sets: application in metabonomic toxicology studies. *Anal Chem*, 2006, 78: 363–371
- 30 Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144: 646–674
- 31 赵健元, 赵世民. 代谢物感知失调的分子致病机理. *中国科学: 生命科学*, 2016, 46: 392–396
- 32 Nicholson J K, Holmes E, Kinross J M, et al. Metabolic phenotyping in clinical and surgical environments. *Nature*, 2012, 491: 384–392
- 33 Sreekumar A, Poisson L M, Rajendiran T M, et al. Metabolomic profiles delineate potential role for sarcosine in prostate cancer progression. *Nature*, 2009, 457: 910–914
- 34 Wang J H, Chen W L, Li J M, et al. Prognostic significance of 2-hydroxyglutarate levels in acute myeloid leukemia in China. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 17017–17022
- 35 Tan B, Qiu Y, Zou X, et al. Metabonomics identifies serum metabolite markers of colorectal cancer. *J Proteome Res*, 2013, 12: 3000–3009
- 36 Spratlin J L, Serkova N J, Eckhardt S G. Clinical applications of metabolomics in oncology: a review. *Clin Cancer Res*, 2009, 15: 431–440

- 37 Budczies J, Denkert C, Müller B M, et al. Remodeling of central metabolism in invasive breast cancer compared to normal breast tissue—a GC-TOFMS based metabolomics study. *BMC Genomics*, 2012, 13: 1–13
- 38 Sitter B, Lundgren S, Bathen T F, et al. Comparison of HR MAS MR spectroscopic profiles of breast cancer tissue with clinical parameters. *NMR Biomed*, 2006, 19: 30–40
- 39 Mountford C E, Somorjai R L, Malycha P, et al. Diagnosis and prognosis of breast cancer by magnetic resonance spectroscopy of fine-needle aspirates analysed using a statistical classification strategy. *Br J Surg*, 2001, 88: 1234–1240
- 40 Xie G, Zhou B, Zhao A, et al. Lowered circulating aspartate is a metabolic feature of human breast cancer. *Oncotarget*, 2015, 6: 33369–33381
- 41 Nam H, Chung B C, Kim Y, et al. Combining tissue transcriptomics and urine metabolomics for breast cancer biomarker identification. *Bioinformatics*, 2009, 25: 3151–3157
- 42 Sugimoto M, Wong D T, Hirayama A, et al. Capillary electrophoresis mass spectrometry-based saliva metabolomics identified oral, breast and pancreatic cancer-specific profiles. *Metabolomics*, 2010, 6: 78–95
- 43 Martinez-Outschoorn U E, Prisco M, Ertel A, et al. Ketones and lactate increase cancer cell “stemness,” driving recurrence, metastasis and poor clinical outcome in breast cancer. *Cell Cycle*, 2011, 10: 1271–1286
- 44 Kim H Y, Lee K M, Kim S H, et al. Comparative metabolic and lipidomic profiling of human breast cancer cells with different metastatic potentials. *Oncotarget*, 2016, 7: 67111–67128
- 45 Asiago V M, Alvarado L Z, Shanaiah N, et al. Early detection of recurrent breast cancer using metabolite profiling. *Cancer Res*, 2010, 70: 8309–8318
- 46 Oakman C, Tenori L, Claudino W, et al. Identification of a serum-detectable metabolomic fingerprint potentially correlated with the presence of micrometastatic disease in early breast cancer patients at varying risks of disease relapse by traditional prognostic methods. *Ann Oncol*, 2011, 22: 1295–1301
- 47 Borgan E, Sitter B, Lingjærde O C, et al. Merging transcriptomics and metabolomics advances in breast cancer profiling. *BMC Cancer*, 2010, 10: 1–14
- 48 Sitter B, Bathen T F, Singstad T E, et al. Quantification of metabolites in breast cancer patients with different clinical prognosis using HR MAS MR spectroscopy. *NMR Biomed*, 2010, 23: 424–431
- 49 Miolo G, Muraro E, Caruso D, et al. Pharmacometabolomics study identifies circulating spermidine and tryptophan as potential biomarkers associated with the complete pathological response to trastuzumab-paclitaxel neoadjuvant therapy in HER-2 positive breast cancer. *Oncotarget*, 2016, 7: 39809–39822
- 50 Zheng Y F, Kong H W, Xiong J H, et al. Clinical significance and prognostic value of urinary nucleosides in breast cancer patients. *Clin Biochem*, 2005, 38: 24–30
- 51 Prat A, Perou C M. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Mol Oncol*, 2011, 5: 5–23
- 52 Bidard F C, Conforti R, Boulet T, et al. Does triple-negative phenotype accurately identify basal-like tumour? An immunohistochemical analysis based on 143 “triple-negative” breast cancers. *Ann Oncol*, 2007, 18: 1285–1286
- 53 Cao M D, Lamichhane S, Lundgren S, et al. Metabolic characterization of triple negative breast cancer. *BMC Cancer*, 2014, 14: 1–12

The current status and perspective of metabonomics in breast cancer biomarker research

TAN BinBin, XIANG Di, JIA Meng & FU Li

Department of Pharmacology, School of Basic Medical Sciences, Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China

Metabonomics is a developing branch of the systems biology methodology. It mainly concentrates on the metabolic variations of biological systems in various physiological and pathological states to discover the essence of abnormal metabolism. For the last decade, metabonomics has been rapidly and widely applied in cancer research with its unique research perspective and technological advantages, which have shown a broad prospect of clinical application. Currently, breast cancer is the second most common type of cancer found overall and is prevalent in women worldwide. Metabonomics had been performed to screen potential biomarkers of breast cancer that include an early diagnosis, a therapeutic evaluation, prognostic monitoring, and individualized management, which are crucial in improving the survival rate of breast cancer patients. This review mainly presents an introduction to the concept and research techniques of metabonomics and its current status and prospect of applications in breast cancer.

metabonomics, breast cancer, biomarker, early diagnosis

doi: [10.1360/N052017-00221](https://doi.org/10.1360/N052017-00221)