

· 综述 ·

代谢组学在骨质疏松症中的应用进展

王高祥¹ 尹恒² 王建伟^{2*}

1.南京中医药大学,江苏 南京 210000

2.南京中医药大学无锡附属医院,江苏 无锡 214000

中图分类号: R589.5 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2019) 04-0570-04

摘要: 骨质疏松症好发于中老年人群,是一种危害巨大的全身代谢性骨骼疾病。代谢组学是近年来兴起的科学,可以对生物样本中的全部代谢产物进行定量测量分析,从而直观、全面地反映生物体内的代谢物变化。将代谢组学运用到骨质疏松症中或有一定优势,目前已成为研究热点之一。基于代谢组学在骨质疏松症中的应用,本文综述了将代谢组学运用于骨质疏松症的早期诊断及中药干预机制等方面的研究文献,初步总结部分可能可用于诊断骨质疏松症的特异性代谢标志物,展望代谢组学在骨质疏松症的中药干预机制研究及临床应用方面的前景。

关键词: 骨质疏松症;代谢组学;中医药;应用;进展

Advances in the application of Metabolomics in osteoporosis

WANG Gaoxiang¹, YIN Heng², WANG Jianwei^{2*}

1.Nanjing University of Chinese Medicine Graduate School, Nanjing 210000

2.Wuxi TCM Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine Nanjing University of Chinese Medicine, Wuxi 214000, China

* Corresponding author: WANG Jianwei, Email: 772866022@qq.com

Abstract: Osteoporosis often occurs in middle-aged and elderly people, it is a kind of harmful whole body metabolic skeletal disease. Metabolomics is the science that has arisen in recent years, which can carry out the quantitative measurement analysis to all metabolites in biological samples. Thus, it can directly and comprehensively reflect the metabolic changes in the organism. Applying metabolomics to osteoporosis has certain advantage, and now it has become one of the research hotspots. Based on the application of metabolomics in osteoporosis, this paper summarizes the literature on the application of metabolomics in the early diagnosis of osteoporosis and the intervention mechanism of Chinese herbal medicine, and summarizes some specific metabolic markers that may be used to diagnose osteoporosis. Prospects for the research and clinical application of metabolomics in the intervention mechanism of Chinese medicine for osteoporosis was also discussed.

Key words: osteoporosis; metabolomics; Chinese medicine; application; progress

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种早期没有典型症状的全身代谢性骨骼疾病^[1]。中老年人一旦发病易导致骨折。骨质疏松性骨折危害巨大,可致残致死^[2]。因此,早发现、早治疗对于 OP 患者而言尤为重要^[3]。代谢组学作为系统生物学的一员,可直观、全面地反映生物体内的代谢物变化^[4],其在 OP 的早期诊断方面潜力巨大。代谢组学的综合、系统、动态等分析特性与中医的整体、辨证、恒动

等观念不谋而合^[5],能为 OP 的中医诊疗提供新的思路和方法。笔者就近年来代谢组学技术在 OP 中的应用作综述如下。

1 代谢组学研究概况

1.1 代谢组学的概念

代谢组学是一门定量测量生物样本中全部代谢物的组成以及这些代谢物在内外刺激下动态改变的学科^[6]。

1.2 代谢组学技术

代谢组学技术目前主要有核磁共振法、色谱法和质谱法三种,它们各有其优缺点^[7]。从运用时间

基金项目: 无锡市卫计委重点项目(YGZXZ1517);无锡市卫计委科教强卫工程(QNRC042)

* 通信作者: 王建伟, Email: 772866022@qq.com

上来说核磁共振法最早,可以检测出绝大部分的化合物,它的优点是进行预处理比较简单、不损伤样品并可进行定量数据分析。缺点为不够灵敏、检测窗较窄;色谱法能够对复杂的混合化合物进行组分分离且分离速度较快,具有较广的应用范围。但同时也存在着定性能力不够等缺点;质谱法比起核磁共振法,在专属性和灵敏度方面具有很大的优势,质谱法可以同时针对多种类型的代谢化合物进行检测鉴定和分析且检测分析速度很快,具有很高的效率。但也存在着整体性、均一性较差的缺点。目前,不同的技术常被联合应用以优势互补。联合应用较多的是色谱-质谱综合联用技术^[8],其既具有很好的选择性和较高的灵敏度,又能够实现对复杂代谢化合物的定性、定量分析。

1.3 代谢组学数据分析

代谢组学流程有以下几个步骤:采样、预处理、采集数据、数据分析和解释,其中数据的分析和解释^[11-12]是最关键的一步。数据分析解释又分为三大步:①数据的提取即图谱的可视化;②预处理即滤波、峰对齐、标准化、归一化等;③模式识别,包括非监督模式和有监督模式。前者有主成分分析、簇类分析和非线性映射等,后者包括人工神经网络、偏最小二乘-判别分析、正交最小二乘-判别分析等^[13-14]。

2 代谢组学技术在骨质疏松症诊断方面的研究进展

OP作为一种代谢性疾病,可使患有该病的生物体内的代谢物种类和浓度发生变化。目前,已有越来越多的人尝试通过代谢组学技术寻找可用于诊断OP的代谢标志物,并试着通过这些代谢标志物进一步研究OP的发病机制。

Ma^[15]进行了对卵巢切除骨质疏松大鼠与正常大鼠血浆的代谢分析,发现了花生四烯酸、十八碳二烯酸、支链氨基酸、高半胱氨酸、羟脯氨酸和酮体(3-羟基丁酸)、十二碳六烯酸、十二烷酸和赖氨酸等11种成分发生了显著变化。从对这些潜在生物标志物的分析上来看,该模型骨质疏松症与糖脂等能量代谢密切相关。Chen^[16]采用卵巢切除骨质疏松症大鼠为模型,运用代谢组学技术对模型的血液进行分析,发现以下13种代谢标志物即富马酸、柠檬酸、琥珀酸、3-羟基丁酸、天冬氨酸、苹果酸、牛磺酸、甘氨酸、2-酮戊二酸、乙醇。梁伟东^[17]在采用核磁共振的代谢组学技术研究OP的发病机制时,发现OP患者的O-乙酰糖蛋白、脯氨酸、柠檬酸较正常组下降,

推断糖尿病性OP的发病机制可能与糖代谢、氨基酸代谢、能量代谢紊乱有关。罗荣生^[18]采用液相色谱-质谱法技术分析OP小鼠模型与正常组之间的代谢物差异,发现了22种OP的代谢标志物,并认为OP的发病可能主要与脂类代谢异常有关。You等^[19]在对绝经后女性的血尿代谢产物的分析后发现,绝经后女性的骨密度水平与体内乳酸、丙酮、脂质和极低密度脂蛋白等代谢物水平呈负相关。

目前已有部分研究者利用代谢组学技术检测分析出正常组和OP组体液中的代谢物种类、浓度及两组之间的代谢差异,并找到一些OP潜在代谢标志物,有一定的借鉴意义。但大多为以大鼠、小鼠等动物作为模型,临床研究较少。

3 代谢组学技术在骨质疏松症中医证型判别方面的研究进展

目前在运用代谢组学研究OP中医证型判别方面的研究较少,笔者查阅文献后仅见吴健雄等有相关研究。吴健雄等^[20]研究后认为,雌二醇和胰岛素样生长因子可以用来鉴别OP的肝肾阴虚证以及气滞血瘀证。其他疾病如糖尿病、高血压、冠心病等已有较多运用代谢组学在中医证型判别方面的研究,且大多取得一定成果,这进一步说明运用代谢组学研究OP的中医证型判别具有广阔的前景。

4 代谢组学技术在骨质疏松症中药干预机制方面的研究进展

中药作用于机体具有多靶点调节的作用,在干预前后机体的代谢将发生变化。代谢组学技术可检测出中药在多靶点干预前后的OP生物体内的代谢物差异,通过这些代谢物差异研究不同中药或方剂干预的作用靶点及作用机制。目前已有研究者通过代谢组学技术研究中药干预前后OP生物体内的代谢差异。

熊莉华等^[21]通过运用核磁共振法分析双黄益骨方治疗糖尿病性OP治疗前后的代谢产物变化后发现,双黄益骨方治疗糖尿病性OP是通过改善机体代谢途径的紊乱、改善骨合成的原料及物质的调控来发挥功效的。吴凡^[22]在《疏肝补肾方治疗骨质疏松症的代谢组学研究》中指出,丙酮、乳酸、N-乙酰糖蛋白、脂肪酸为具有显著分类意义的骨质疏松模型的生物标记物,可从这4个生物标记物的变化水平来提示药物是否具有治疗骨质疏松症的作用。黄月等^[23]在进行骨疏丹对糖皮质激素性骨质疏松

模型大鼠干预作用的血尿液代谢组学的研究时,共发现了22个潜在代谢标志物,发现OP的发病主要与氨基酸代谢、脂代谢、能量代谢、肠道菌群代谢及肾损伤和体内的氧化应激状态相关,并发现骨疏丹可通过以上通路对OP大鼠进行调节。李灿^[24]在基于液相色谱-质谱法技术对大鼠血浆及组织的多变量统计分析中发现,正常对照组、维甲酸造模的骨质疏松对照组和参灵健骨胶囊给药组样本之间的血浆代谢谱存在明显差异性。潘思娜^[25]通过对血清、尿液、骨髓和肾脏的代谢组学研究,从整体水平上阐述了淫羊藿对糖尿病性骨质疏松症模型代谢异常的调控作用,发现淫羊藿通过调控糖酵解(乳酸)、有氧氧化(柠檬酸、 α -酮戊二酸和琥珀酸)、脂质代谢、脂肪酸氧化(3-羟基丁酸和乙酸)、能量代谢(肌酸和肌酐)、氨基酸代谢(谷氨酸、丙氨酸、亮氨酸、牛磺酸和甘氨酸)、磷脂代谢(PC/GPC)、胆碱代谢和肠道菌群失调(马尿酸和苯乙酰甘氨酸)来发挥其对糖尿病性骨质疏松症的改善作用。

以上研究者们通过给药前后机体的代谢组学的变化来研究中药对机体多靶点的作用机制,并找到一些可能用于反映中药改善OP的靶点代谢标志物,对OP发病机制研究、中药对机体的调节机制研究以及OP临床实验室评价指标的扩大具有一定意义。

5 结论与展望

笔者通过查阅近年来的相关文献后发现,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸、丙氨酸、亮氨酸、乙酸、琥珀酸、乳酸、2-酮戊二酸、琥珀酸、3-羟基丁酸等可能是OP的代谢标志物。

中医临床辨证论治缺乏量化、客观化的指标,给研究带来了一定困难^[26]。以代谢组学为切入点,是一种积极的尝试。以代谢组学技术为研究手段,检测不同“证”之间分子代谢物的异同,尝试建立“证”与特异性代谢标志物之间的关联^[27],可以为中医药治疗的规范化、客观化研究开辟新的途径。中药具有多成分、多靶点、综合调节等作用,在治疗OP这类病机复杂的代谢性疾病方面具有优势。运用代谢组学技术建立符合其自身特点评价体系,阐明其多成分、多靶点的整合作用,可在一定程度上使中药作用机制研究更具客观化。

目前代谢组学技术在临床常见疾病中的应用越来越热门,但其在骨质疏松领域的应用起步较晚,笔者查阅文献后发现多为动物实验。但动物实验与临

床研究存在巨大差异,如物种间代谢产物差异大、中医证型难以模拟等,预示着代谢组学技术在OP的临床应用方面有着广阔的发展空间。

【参考文献】

- [1] 游利.骨质疏松症的现状、筛查和预防[J].中国全科医学, 2016,19(14):1616-1619.
- [2] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会.原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2017,20(5):413-443.
- [3] 张琼.不同年龄段医务人员对骨质疏松症认知程度的比较[J].中国全科医学, 2017,20(S2):257-260.
- [4] 李阳,王莹,郭琳.高血压病代谢组学研究进展[J].中华针灸电子杂志, 2014(5):16-18.
- [5] 李鑫,谷捷,王宝新,等.基于代谢组学的中医证候本质研究进展[J].湖南中医药大学学报, 2014(4):58-61,65.
- [6] Bezabeh T, Ijare OB, Nikulin AE, et al. MRS-based Metabolomics in Cancer Research[J]. Magnetic Resonance Insights, 2014, 13(7):1-14.
- [7] 马丽华,杨宏静,徐晓艳,等.代谢组学研究进展[J].现代医药卫生, 2017,33(17):2636-2639.
- [8] 葛继荣,郑洪新,万小明,等.中医药防治原发性骨质疏松症专家共识(2015)[J].中国骨质疏松杂志, 2015, 21(9):1023-1028.
- [9] Gou XJ, Tao Q, Feng Q, et al. Urinary metabolomics characterization of liver fibrosis induced by CCl₄ in rats and intervention effects of Xia Yu Xue Decoction [J]. J PharmBiomedAnal, 2013, 72(2): 62-65.
- [10] Liu ML, Zheng P, Liu Z, et al. GC-MS based metabolomics identification of possible novel biomarkers for schizophrenia[J]. Mol Biosyst in peripheral blood mononuclear cells, 2014, 10(9): 2398-2406.
- [11] 赵珊,王鹏程,冯健,等.代谢组学技术及其在中医药研究中的应用[J].中草药, 2015, 46(5):756-765.
- [12] 许国旺,路鑫,杨胜利.代谢组学研究进展[J].中国医学科学院学报, 2007, 29(6):701-711.
- [13] Keun HC. Metabonomic modeling of drug toxicity [J]. Pharmacology & Therapeutics, 2006, 109(1):92-106.
- [14] Trygg J, Holmes E, Lundstedt T. Chemometrics in metabolomics [J]. Journal of proteome research, 2007, 6(2): 469-479.
- [15] Bo Ma. Metabolomic Profiles Delineate Signature Metabolic Shifts during Estrogen Deficiency-Induced Bone Loss in Rat by GC-TOF/MS[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e54965.
- [16] ShinYu Chen. An NMR Metabolomic Study on the Effect of Alendronate in Ovariectomized Mice [J]. PLoS One, 2014, 9(9): e106559.
- [17] 梁伟东.从代谢组学分析糖尿病性骨质疏松病机与中药干预机理[D].广州中医药大学, 2014.
- [18] 罗荣生.调肝启枢化浊法治疗原发性骨质疏松症代谢组学研究[D].广州中医药大学, 2016.

- [14] Beck BR, Snow CM. Bone Health Across the Lifespan—Exercising Our Options[J]. *Exerc Sport Sci Rev*, 2003, 31(3): 117-122.
- [15] Anderson-Wurf J, Harding C, Seal A. Increasing the knowledge, identification and treatment of osteoporosis through education and shared decision-making with residents living in a retirement village community[J]. *Australasian Journal on Ageing*, 2018, 37(1): E17-E22.
- [16] Komm BS, Chines AA. An update on selective estrogen receptor modulators for the prevention and treatment of osteoporosis[J]. *Maturitas*, 2012, 71(3): 221-226.
- [17] MacLean C, Newberry S, Maglione M, et al. Systematic review: comparative effectiveness of treatments to prevent fractures in men and women with low bone density or osteoporosis[J]. *Ann Intern Med*, 2008, 148(3): 197.
- [18] Walters S, Khan T, Ong T, et al. Fracture liaison services: improving outcomes for patients with osteoporosis[J]. *Clinical Interventions in Aging*, 2017, 12: 117-127.
- [19] Evenson AL, Sanders GF. Educational Intervention Impact on Osteoporosis Knowledge, Health Beliefs, Self-Efficacy, Dietary Calcium, and Vitamin D Intakes in Young Adults [J]. *Orthopedic Nursing*, 2016, 35(1): 30-36.
- (收稿日期: 2018-07-21; 修回日期: 2018-12-26)

(上接第 572 页)

- [19] You YS, Lin CY, Liang HJ, et al. Association Between the Metabolome and Low Bone Mineral Density in Taiwanese Women Determined by ¹H NMR Spectroscopy[J]. *Journal of Bone & Mineral Research*, 2014, 29(1): 212-222.
- [20] 吴健雄, 黄崇博, 蔡桦, 等. 骨质疏松症中医证型与细胞因子、性激素、骨钙素的相关性临床研究[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2008, 16(6): 1-4.
- [21] 熊莉华, 梁伟东, 叶端妍, 等. 双黄益骨方治疗糖尿病骨代谢疾病的代谢组学研究[J]. *湖南中医药导报*, 2014, 10: 18-22.
- [22] 吴凡. 疏肝补肾方治疗骨质疏松症的代谢组学研究[D]. 浙江中医药大学, 2015.
- [23] 黄月, 武晓, 薄云海, 等. 基于 RP-UPLC-MS 和 HILIC-UPLC-MS 的骨疏丹对糖皮质激素性骨质疏松模型大鼠干预作用的尿液代谢组学研究[J]. *中国药理学杂志*, 2016, 23: 2045-2052.
- [24] 李灿. 参灵健骨胶囊基于代谢组学的抗骨质疏松机制研究[D]. 河北医科大学, 2016.
- [25] 潘思娜. 淫羊藿改善糖皮质激素性骨质疏松症的代谢组学研究[D]. 广东药科大学, 2017.
- [26] 吴峻豪. 心律失常的中医辨证研究[D]. 广州中医药大学, 2011.
- [27] 徐文娟, 张良晓, 黄宇虹, 等. 基于血浆中脂肪酸代谢谱及非线性判别分析方法的糖尿病中医证候分型[J]. *色谱*, 2012, 30(9): 864-869.
- (收稿日期: 2018-06-30; 修回日期: 2018-07-29)