Progress in Colorectal Cancer Based on Metabolomics

Kejian Liu[1,2] Mingxing Hou[2*]

1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010030, China
2. The Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010030, China

Abstract

Colorectal cancer (CRC) is a malignant tumor of the lower digestive tract. Colorectal cancer (CRC) is the third most frequently detected malignancy in the world and the fourth leading cause of cancer-related deaths in men and women. One study showed that the diagnosis and treatment of early colorectal cancer has a significant effect on improving the five-year survival rate, and it is expected to achieve 90% treatment effect. Therefore, the early detection and treatment of CRC is very critical. Metabolomics is an emerging "omics", an innovative field after genomics, proteomics, and transcriptomics, which detects biological changes at the micro level, while also providing accurate early detection methods for metabolic markers that induce disease. Colorectal cancer (CRC) is a widespread condition, and current diagnostic methods either have high invasion power or lack adequate sensitivity. Therefore, the biomarkers with high sensitivity and specificity should be selected when making the diagnosis of colorectal cancer. Metabolomics is a research technique with promising applications in identifying biomarkers, and is often closely associated with specific disease manifestations. In general, metabolomics has significant practical value for the early diagnosis and treatment of colorectal cancer.

Keywords

colorectal cancer; metabolomics; markers of early diagnosis

基于代谢组学对结直肠癌的研究进展

刘科健 [1,2] 侯明星 [2*]

1. 内蒙古医科大学，中国 · 内蒙古 呼和浩特 010030
2. 内蒙古医科大学附属医院，中国 · 内蒙古 呼和浩特 010030

摘 要

结直肠癌（colorectal cancer，CRC）是发生于下消化道的一种恶性肿瘤，结直肠癌（CRC）是全球第三大最常被发现的恶性肿瘤，也是导致男性和女性癌症相关死亡的第四大原因。一项研究表明，早期结直肠癌的诊断和治疗对提高五年生存率具有显著作用，有望达到90%的治疗效果。因此，CRC的早期发现和治疗是非常关键的。代谢组学是一种新兴的“组学”，这是一种在基因组学、蛋白质组学和转录组学之后的创新领域，它从微观层面对生物的变化进行检测，同时也为诱发疾病的代谢标志物提供准确的早期检测方法。结直肠癌（CRC）是一种广泛存在的病症，目前的诊断手段要么具有较高的侵袭力，要么缺乏充足的敏感度。因此，在进行结直肠癌的诊断时，需要选择具有高灵敏度和特异性的生物标志物。代谢组学是一种在识别生物标志物方面具有广阔的应用前景的研究技术，并且通常与特定疾病表现密切相关。总的来看，代谢组学对于结直肠癌的早诊早治具有显著的现实价值，论文就代谢组学分别在结直肠癌患者的粪便、血液、尿液、组织中的研究进展进行综述。

关键词

结直肠癌；代谢组学；早诊标志物

1 引言

目前对于结直肠癌的筛查试验，如血清肿瘤标志物和粪便隐血试验特异性低，敏感性低；而结肠镜或乙状结肠镜检查是一种侵入性检查，费用较高，依从性较差，且存在一定的并发症风险。此类检查在大规模人群中推广难度较大。因此，探索新的具有生物学意义的生物标志物对于 CRC 的早期诊断具有关键性作用。我们的研究需要对代谢组学进行深入探讨，以探寻并揭示具有实际应用价值的生物标志物[1]。

代谢组学是继基因组学、转录组学、蛋白质组学出现之后，以定量描述生物体内代谢物变化为研究对象，探索生物整体、系统、组织器官细胞代谢物的代谢途径及其影响的一门新兴专业学科，这是一个关于特定细胞代谢过程中遗留的特殊化学指纹（分子量小于 1000 Da 的微分子）的研究领域[2]。采用代谢组学方法对样本中的大量中间产物和终产物的小分子代谢物进行分析，从而揭示它们的上游基因组学、

【作者简介】刘科健（1999–），男，中国内蒙古赤峰人，在读硕士，从事胃肠道肿瘤研究。

【通讯作者】侯明星（1964–），男，蒙古族，中国内蒙古呼和浩特人，硕士，教授，从事胃肠道肿瘤、胃肠外科疾病临床研究。

转录组学以及蛋白质组学变化的显著性和最终结果 [3]。

2 代谢组学的简介

代谢组学研究通常包括样品采集、预处理、代谢物分析、数据分析以及生命现象阐释等多个环节，目前，用于结直肠癌的研究中，常采用的生物体样本包括组织、血液、尿液和粪便等 [4]。论文将详细探讨四种样本在结直肠癌领域的代谢组研究进展。

代谢组学的技术分析平台：用于代谢组学的主要技术包括核磁共振（NMR）[5] 和质谱（MS）[6]。过去的试验采用基于核磁共振的方法来筛选出一部分循环代谢物，以区别结直肠癌病人群与非癌症人群 [7]；其优势在于样品前处理较为简便，高通量，能够对生物样本进行无创、无偏倚的检测，被视为描述代谢物结构的金标准。然而，在核磁共振技术方面，其具有较低的灵敏度、检测动态范围有限、样本需求量较高等不足之处 [8]。质谱因其广泛的动态范围，目前被广泛用于代谢组学的研究。由于检测样本种类复杂，为了尽可能多地检测代谢物，在质谱分析之前往往需要进行分离，常用的联用方法有气相色谱质谱联用（GC-MS）、液相色谱质谱联用（LC-MS、CE-MS）。其中 GC-MS 是分析挥发性化学物质的有效组合，主要用于易挥发、热稳定的化合物，相比于其他方法，有分离效率高、分离速度快、样品用量少和检测灵敏度高的特点，主要适用于有针对性的代谢组学分析。LC-MS 结合了液相色谱仪有效分离热不稳定及高沸点化合物的分离能力与质谱仪很强的组分鉴定能力，因此，LC-MS 检测的化合物种类范围比 GC-MS 更广泛，适合作为未知代谢物研究中的探索办法。但缺少代谢物数据库是 LC-MS 技术的缺点 [9]。

3 代谢组学在结直肠癌中的研究进展

3.1 粪便中的代谢组学研究

由于肠道微生物组成与 CRC 发病率之间存在显著相关性，通过基因组分析方法分析这些代谢物与粪便标本中肠道微生物组成之间的相互作用成为了一个新兴趋势。众所周知，这些细菌可以产生自身的致癌代谢物和炎症因子，可能参与 CRC 的整体发病机制。在粪便代谢组学研究中，杜等发现 CRC 患者肠道菌群的多样性降低了，还发现了与 CRC 相关的特定细菌，如弯曲杆菌门、拟杆菌门和梭杆菌门，Yang 等和 Sinha 等在 CRC 粪便样本的 16S 核糖体 RNA 基因序列上也发现梭菌在 CRC 样本中丰度较高，Kim 等发现毛螺菌属在 CRC 样本中丰度较高。此外，值得一提的是，Yachida 等人发现了几种多胺在结直肠癌患者中与对照组存在差异表达，包括 N1，n8 二乙酰亚精胺和 N1，n12- 二乙酰亚精胺。由于所选患者和所用仪器的差异，一些研究也呈现出不同的结果，甚至完全相反，如 Weir 等人发现丙酸（丙酸 SCFA 的衍生物）在结直肠癌患者中存在差异调节，即丙酸在结直肠癌中上调，而另一项研究发现丙酸在结直肠癌中下调。虽然研究结果存在差异，在多项研究中发现的最多（CRC 中上调）的代谢物是赖氨酸、鞘氨氨酸和棕榈酸，而上调最多的菌属是艾克曼菌属和梭状芽胞杆菌。

3.2 血液中的代谢组学研究

血清一直是鉴定生物标志物的首选样品，因为它反映了样品采集时特定时间的代谢物概况。在正常情况下观察到的代谢物的差异可以作为病理状态的重要指标。全球血清代谢组学已被用于识别早期结直肠癌的生物标志物。其中氨基酸代谢已被认为在癌症发病机制中发生了显著改变，因此在已确定的研究中，大多数经常发现的、差异调节的代谢物都是氨基酸。在多项研究发现的代谢物中，丙氨酸、酪氨酸、天冬氨酸、天冬氨酸、色氨酸、蛋氨酸和谷氨酰胺在结直肠癌患者中下降最为显著，而谷氨酸、甘氨酸、组氨酸和异亮氨酸则显著上调。顾等用核磁共振波谱对健康人、结直肠息肉患者和结直肠癌患者血清进行了检测，确定结直肠息肉潜在生物标志物：谷氨酰胺、琥珀酸盐、甘油、天冬氨酸和乳酸。结直肠癌潜在生物标志物：乳酸、甘氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺和天冬氨酸。这些潜在的生物标志物可以转化为结直肠息肉和结直肠癌的早期诊断指标。Claudiu 等对脂质代谢物进行了进一步分析，并证明胆碱相关磷脂可被认为是 CRC 的良好生物标志物。Ariadna 等对 65 名转移性结直肠癌患者和 60 名健康人血清用 LC-HRMS 分析，结果用 ROC 分析，筛选出鞘氨醇、内源性大麻素、半乳糖 [Gal α 1-3（Fuc α 1-2）Gal β 1-4Glc β -Cer（d18:1/16:0）]、聚乙烯 [PE（18:2（9Z,12Z）/0:0）] 和聚碳酸酯 [PC（18:1（9Z）/0:0）] 五种差异代谢物，表明这五种候选代谢物可能作为转移性 CRC 的生物标志物。此外，还有研究发现结肠癌患者的甘氨酸改变与直肠癌患者相反，因此吴等进行了基于 GC-MS 的代谢组学研究，并确定了 CC 和 RC 患者的不同代谢标志物，包括用于 CC 诊断的 d- 葡萄糖和 d- 甘露糖，以及用于 RC 诊断的 2- 氨基丁酸、3- 羟基吡啶、d- 葡萄糖、d- 甘露糖、异亮氨酸、l- 色氨酸、尿素和尿酸。

3.3 尿液中的代谢组学研究

尿液因其丰富和可以持续的无创监测而通常被用作生物样本，这有利于疾病的早期诊断。吴等使用基于 GC-TOF/MS 的不同统计分析方法，从两组尿液样本中筛选和验证了 CRC 患者和健康对照者之间的 5 种代谢物（组氨酸、酪氨酸、色氨酸、5- 氧代脯氨酸和羟脯氨酸二肽）增加，1 种代谢物（甘氨酸）减少。此外，CRC 患者的尿液中葡萄糖，葡萄糖醛酸和苏糖酸的浓度明显高于健康对照组。这可能与 Warburg 效应有关，即在有氧条件下，恶性肿瘤细胞中的糖酵解也很活跃，所以癌症对葡萄糖的摄取增加，正常组织中的葡萄糖含量降低。Toru 等收集了患有 216 个结直肠癌患者、36 个结肠直肠腺瘤患者以及 34 个健康人的尿液样本，使用毛细管电泳 - 质谱法，发现腺瘤组和健康人组之间唯一显著差异的物质是 2- 氧代戊二酸，这种代谢物在癌症患者中也显著升高。因此，并不能说明腺瘤特异性的代谢物。这可能与本研究未区分腺瘤的多种类型有关（管状、绒毛状和

锯齿状）。而 Toru 等在比较健康人和患者（CRC+AD）时，N8- 乙酰亚精胺，N1，N8- 二乙酰亚精胺和 2- 氧代戊二酸显示出显著差异，在此之前，也有文献报道，两种多胺，即 N1，N8- 二乙酰亚精胺和 N8- 乙酰亚精胺可作为结直肠癌标志物，王等进一步将结直肠癌患者分期，与健康人对比，使用核磁共振波谱分析鉴定出 I/II 期 CRC 患者尿液中乙酰乙酸、谷氨酰胺、胍乙酸、顺式乌头酸和同型乌头酸增加，而肌酐、胆碱、二甲基砜、天冬酰胺、丙氨酸、甲胺和异柠檬酸 / 马尿酸 / 半胱氨酸 / 苯丙氨酸降低。其中丙氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸和乙酰乙酸在区分早期 CRC 患者和 HC 方面具有相对较高的 AUC 值、敏感性和特异性。而且他们的联合应用对于区分早期 CRC 患者和 HC 方面比单独使用任何单一代谢物具有更好的诊断能力。

3.4 组织中的代谢组学研究

与使用血清、尿液、粪便等其他标本不同，对癌组织内代谢物的检测能够直接反映癌细胞的真实代谢状态。关于脂质代谢，Zaytseva 等人证实了癌细胞需要脂质才能增殖这一事实，因此更好地了解癌的代谢紊乱，可能会开辟新的治疗前景。而脂质代谢的变化当前并无定论，这与临床上有用的脂质生物标志物缺乏一致的研究方法，而以前的研究在这个问题上具有相当大的异质性。以前研究的另一个缺点是样本量有限，这可能会阻碍其结果对整个 CRC 患者群体的推广。关于核苷酸代谢，它不仅满足细胞增殖的需要，还影响增殖之外的多种活动，如肿瘤免疫、抗肿瘤耐药、肿瘤细胞与微环境的相互作用等康春波等人用超高效液相色谱（UHPLC）- 质谱（MS）的综合代谢组学对 35 个 CRC 患者切除的癌症组织进行了代谢谱分析，结果发现 CRC 组织中核苷酸代谢物的水平降低，包括胞氨酸、5’ - 脱氧 - 5’ -（甲基硫）腺苷、脱氧核糖 5 - 磷酸和 2’ - 脱氧 - 5’ - 单磷酸。这些代谢物的减少可能表明 CRC 细胞中活性核苷酸合成的核苷酸代谢物补充不足。与脂质和蛋白质不同，癌细胞可能无法从肿瘤微环境中获得足量的核苷酸及其组分。结直肠癌组织中 5’- 脱氧 -5’-（甲基硫）腺苷水平的降低，指示了半胱氨酸和蛋氨酸代谢途径的改变。此外，康等人还发现结直肠癌不同阶段的差异代谢物活性也有所不同，2- 氨基苯磺酸、对磺胺酸、喹啉 -4- 羧酸、N- α - 乙酰基 - ε -（2- 原）赖氨酸、甲基半胱氨酸和 5’- 脱氧 -5’-（甲基硫）腺苷等 6 种差异代谢物在结直肠癌不同阶段的变化具有显著性。可这与之前的研究结果并不相同（7）。值得一提的是，本次研究首次在结直肠癌的组织中发现了两种 CDPs，即 cyclo（Glu - Glu）和 cyclo（Phe-Glu）在结直肠癌组织中增加。CDPs 是最小的环状肽，自然存在，也是由微生物、植物和哺乳动物产生的次生代谢产物。CDPs 具有特定的化学和多种生物学功能，如抗肿瘤、抗菌和清除自由基活性。虽然组织中 CDPs 的来源和作用尚不清楚，但它们可能是内源性或微生物代谢物，因为存在于结直肠癌组织中的细菌在结直肠癌的肿瘤发生中起作用。

4 结语

综上所述，CRC 患者的组织、血、尿、粪便中的代谢物均发生改变，通过检测这些代谢产物，可以筛选出差异的代谢物。此外，通过融合数据库信息进行分析，还能得到相关的紊乱代谢通路，代谢组学为结直肠癌的非侵入性筛查提供了一种新的创新方法。因此，通过使用代谢组学的方法，结直肠癌的非侵入性筛查已经成为一种创新性的手段。应用代谢生物标志物对结直肠腺瘤和腺癌的筛查具有很高的潜力。然而，随着样本类型、数量，研究人员、技术手段等要素的调整，代谢组学研究分析的结果也呈现了差异。由于标本收集处理标准不一、无标准化实验流程、技术平台操作复杂、数据分析软件功能较少等局限使代谢组学的运用还需要进行更多的实验和临床研究探索。笔者相信随着样本收集和仪器使用的工作流程更加一致，以及模型的一致性验证，未来的研究可能会为巩固结直肠腺瘤、腺癌和健康患者之间代谢谱的差异，以及早发性和晚发性结直肠癌之间的差异提供更多的信息和帮助，从而使代谢生物标志物的临床验证取得进展。

参考文献

[1] Ferlay Jacques,Soerjomataram Isabelle,Dikshit Rajesh, et al.Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Int J Cancer,2015,136(5):E359-386.

[2] Moghimi-Dehkordi Bijan, Safaee Azadeh. An overview of colorectal cancer survival rates and prognosis in Asia[J]. World J Gastrointest Oncol, 2012,4(4):71-75.

[3] Jarak Ivana, Almeida Susana, Carvalho Rui A, et al. Senescence and declining reproductive potential: Insight into molecular mechanisms through testicular metabolomics[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2018,1864(10):3388-3396.

[4] 杜鑫浩.结直肠癌患者肠道微生物组和粪便代谢组的改变[D].南充:川北医学院,2024.

[5] Weir Tiffany L, Manter Daniel K,Sheflin Amy M, et al. Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults[J]. PLoS One,2013,8(8):e70803.

[6] Yachida Shinichi, Mizutani Sayaka, Shiroma Hirotsugu, et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer[J]. Nat Med, 2019,25(6):968-976.

[7] Gold Andrew, Choueiry Fouad, Jin Ning, et al. The Application of Metabolomics in Recent Colorectal Cancer Studies: A State-of-the-Art Review[J]. Cancers (Basel), 2022,14(3):725.

[8] Gu Jinping, Xiao Yaqing, Shu Dan, et al. Metabolomics Analysis in Serum from Patients with Colorectal Polyp and Colorectal Cancer by (1) H-NMR Spectrometry[J]. Dis Markers, 2019,2019:3491852.

[9] Wang Xijun, Zhang Aihua, Sun Hui. Power of metabolomics in diagnosis and biomarker discovery of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2013,57(5):2072-2077.