

代谢组学在骨质疏松症研究中的应用

寇钧 王维 刘达 夏宁

摘要 代谢组学通过全面分析生物样品中低相对分子质量内源性代谢物,帮助了解疾病在代谢水平的发生和进展机制,可提供与疾病早期识别相关的代谢标志物信息,有助于开发疾病预测性生物标记物。目前已开展较多骨质疏松症的代谢组学研究,涉及临床诊断、治疗以及预后等方面,发现潜在生物标记物,并进一步揭示了骨质疏松症的发病机制。该文对代谢组学在骨质疏松症研究领域的应用进展作一综述,并对未来的研究方向进行展望。

关键词 骨质疏松症;代谢组学;研究进展

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2021.02.007

骨质疏松症是以骨密度降低,骨量减少,进而引起脆性增加,易发生骨折为特点的全身性疾病^[1-2]。骨质疏松性骨折是患骨质疏松症后的较严重临床表现,其好发部位为脊柱、髌部和腕部等,具有较高的致残率和致死率^[1,3]。

代谢组学以体液、细胞、组织中相对分子质量小于1 000的小分子代谢物为研究对象,运用色谱-质谱联用技术或核磁共振技术等高分辨率、高灵敏度、高通量的仪器分析方法,对机体的内源性小分子化合物进行定性或定量研究,其通过揭示体内代谢通路的改变为临床诊断提供依据。目前,代谢组学已被广泛应用于疾病诊断、新药研发、药物作用机制研究以及食品科学等领域^[4]。

基于代谢组学方法对骨质疏松症的相关研究涉及临床诊断、治疗、预后评估等方面。学者们从机体整体角度出发,利用先进的分析检测技术,结合多种统计分析方法,通过对细胞、动物模型或骨质疏松症患者体内代谢物水平和种类的动态变化,探究与骨质疏松症密切相关的生物标记物,为疾病的预防、早期诊断、药物治疗效果及预后评估提供新途径。

1 代谢组学研究及其方法

作为整体性研究方法,代谢组学主要检测、量化和编目完整的生物系统中与时间相关的代谢过程,最终将这些过程与病理生理事件的轨迹联系起来

来^[5]。通过全面分析生物样品中低相对分子质量内源性代谢物,帮助了解疾病在代谢水平的发生和发展机制,并为筛选预测性生物标记物提供机会^[6]。

代谢组学技术主要涉及3个基本步骤:①样品制备;②代谢物测定;③分析与鉴定以及后期的数据分析与模型建立^[7]。代谢组学方法以许多不同的隔室(如血液、唾液、尿液、软组织和细胞条件培养基)制备样品^[8],将样品进行标准化处理后,通过各种高分辨率、高灵敏度、高通量的仪器分析方法对样品中的小分子化合物进行定性或定量研究。这些分析技术中,液相色谱-质谱、气相色谱-质谱、毛细管电泳-质谱以及核磁共振等应用最为广泛^[9]。代谢物定性或定量分析后,需通过专用的统计软件对大量复杂的原始数据进行多维统计分析,以筛选出差异代谢物,常用多维统计方法包括主成分分析和偏最小二乘法判别分析^[10]。

2 骨质疏松症代谢组学研究

2.1 基于细胞的研究

Gong等^[11]通过对成骨细胞进行代谢组学分析发现,当归补血汤中的花萼素可以协调其他多种成分实现其最大成骨性能。

2.2 基于动物模型的研究

目前,代谢组学应用于骨质疏松动物模型的研究主要为相关药物的治疗效果评价。

2.2.1 骨疏丹治疗效果评价

骨疏丹是防治原发性骨质疏松症的药物,大量基于动物模型的代谢组学实验对其疗效进行了研究。黄月等^[12]基于骨质疏松模型大鼠尿液代谢变化的研究发现,骨疏丹可以调节骨质疏松大鼠体内

基金项目:四川省科技计划项目(2019YJ0278)

作者单位:610083 成都, 西部战区总医院骨科(寇钧、王维、刘达、夏宁);610031 成都, 西南交通大学医学院(寇钧、王维、刘达、夏宁)

通信作者:王维 E-mail: 08309020012@fudan.edu.cn

的代谢通路,并使其恢复正常状态。Wu等^[13]对骨质疏松模型大鼠尿液中代谢变化进行分析发现,骨疏丹能明显逆转强的松龙诱导的骨质疏松大鼠代谢紊乱。Yuan等^[14]对骨质疏松模型大鼠血浆进行代谢组学分析发现,骨疏丹对糖皮质激素诱导的骨质疏松大鼠具有显著抗骨质疏松作用,这可能与调控多种代谢途径有关。Huang等^[15]通过分析骨质疏松模型大鼠经骨疏丹治疗后代谢谱的变化,发现骨疏丹通过调节多种代谢途径对大鼠骨质疏松症有治疗作用。

2.2.2 淫羊藿治疗效果评价

淫羊藿被认为可以治疗骨质疏松症,学者们在动物模型上开展了进一步研究。Xue等^[16]对骨质疏松模型小鼠进行蛋白组学分析和血清代谢组学分析,发现淫羊藿昔是治疗骨质疏松症的多靶点化合物,包括促进成骨细胞形成、抑制脂肪形成和预防破骨细胞分化。Zhao等^[17]对去卵巢致骨质疏松症模型大鼠进行血清分析,进一步解释了淫羊藿对骨质疏松症的干预作用。Pan等^[18]对糖皮质激素性骨质疏松模型大鼠的代谢组学特征进行分析发现,淫羊藿可逆转涉及能量代谢,脂质、氨基酸和磷脂代谢,肠道微生物群紊乱等多种代谢途径的代谢改变,对防治骨质疏松症有显著作用。

2.2.3 其他药物治疗效果评价

学者们采用代谢组学分析对其他骨质疏松治疗药物的疗效也进行了研究。Jiang等^[19]通过分析骨质疏松模型大鼠血浆样品代谢谱的变化发现,骨碎补可以降低骨质疏松症的发病风险。王方杰等^[20]对骨质疏松模型大鼠血清代谢谱进行分析,推测杜仲可能通过调控氨基酸代谢、氧化应激等途径缓解骨质疏松症状。盛玲玲等^[21]利用尿液代谢组学方法进行研究,发现豆豉通过调节肌醇磷酸代谢、初级胆汁酸生物合成代谢和嘌呤代谢等多种代谢途径对12个生物标记物产生明显回调作用,证实豆豉可有效干预绝经后骨质疏松症的发生和发展。Ye等^[22]对去卵巢骨质疏松模型大鼠血清样品进行分析,发现牦牛骨胶原肽对骨质疏松症的保护或恢复作用主要通过调节氨基酸代谢和脂质代谢(特别是不饱和脂肪酸)来实现。Zhang等^[23]通过大鼠血清代谢分析研究发现,牛膝多糖可调节脂质代谢,治疗骨质疏松症。Xia等^[24]通过代谢途径分析和蛋白质印迹法进一步证实,熟地黄通过干扰类固醇激素的生物合成对地塞米松诱导的骨丢失具有保护作用。

Xia等^[25]经代谢途径分析和蛋白质印迹法分析发现,巴戟天具有显著抗骨质疏松作用,其机制可能与调节花生四烯酸的代谢有关。Luo等^[26]利用代谢组学分析揭示,复方贞术调脂方可通过调节1-磷酸鞘氨醇、溶血磷脂酸和花生四烯酸代谢产生抗骨质疏松作用。Zhang等^[27]的研究表明,刺五加根茎总木质素可影响内源性代谢物的相关代谢机制,这可能是治疗绝经后骨质疏松症的药理基础。Xu等^[28]通过临床生化指标和骨密度分析发现,齐墩果酸可改善糖皮质激素诱导的骨质疏松大鼠的糖代谢紊乱、分子转运和脂质代谢异常。Si等^[29]通过代谢组学分析发现,蛇藤碱通过影响内源性代谢相关机制可有效缓解卵巢切除引起的大鼠骨质疏松症。

2.2.4 骨质疏松症发病机制研究

一些学者对骨质疏松症发病机制进行探索,以寻找与诊断相关的生物标记物。Zhao等^[30]通过脂质体组学结合代谢组学分析研究骨质疏松模型小鼠的股骨组织,发现11种极性代谢物和93种脂质代谢物出现显著变化,这些代谢物参与氨基酸代谢、核苷酸代谢和脂质代谢。卵巢切除小鼠可表现出明显的脂质代谢紊乱,并与骨吸收和骨形成的不平衡密切相关,这可能是绝经后骨质疏松症的发生基础。

2.3 基于骨质疏松症患者的研究

目前,基于骨质疏松症患者的代谢组学研究以绝经后女性为主要研究对象,已发现大量代谢相关生物标记物。

Cabrera等^[31]对新加坡华人绝经期女性血浆中脂质和极性代谢物的分布进行分析,发现低骨密度绝经女性血浆中8种甘油磷脂和鞘磷脂水平显著降低,2种甘油磷脂(磷脂酰肌醇和磷脂酸)水平升高,氨基酸代谢物无显著改变。然而,低骨密度女性血浆中4-氨基丁酸、松二糖、脯氨酸、氨基丙腈、苏氨酸和蛋氨酸水平有下降趋势。

Pontes等^[32]对绝经后女性的血清代谢组学进行分析,发现极低密度脂蛋白、低密度脂蛋白、亮氨酸、异亮氨酸、尿囊素、牛磺酸和不饱和脂质等可被考虑作为生物标记物。Miyamoto等^[33]进行血清代谢组学分析,发现低骨密度组女性的双甘肽和胱氨酸水平显著低于高骨密度组,而羟脯氨酸水平显著高于高骨密度组;低骨密度组血清骨吸收标志物抗酒石酸酸性磷酸酶水平显著升高。Miyamoto等^[34]进行血清代谢组学分析,发现绝经后低骨密度女性的柠檬酸盐、顺乌头酸盐、羟脯氨酸、精氨酸、瓜氨

酸、鸟氨酸、尿素和肌酸支链氨基酸(包括缬氨酸、异亮氨酸和亮氨酸)水平显著增加,而肌基乙酸水平下降。Qi等^[35]对中国女性骨质疏松症进展的代谢情况进行评估,以研究代谢变化与低骨密度或雌激素缺乏的关系。他们分析了12个代谢物,其中花生四烯酸、亚油酸、油酸等最可能被用作骨质疏松症的生物标记物。Wang等^[36]将血清代谢组学与骨生物学结合进行分析,发现精氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、缬氨酸和肌氨酸与男性骨密度水平显著相关,精氨酸、反式-4-羟基-L-脯氨酸和甘氨酸与绝经后女性骨密度水平显著相关,同时血清肉碱水平在男性与绝经后女性间存在显著差异。

3 展望

目前,关于骨质疏松症的代谢组学研究集中于动物模型相关药物研究,以传统中药的疗效评估为主。许多学者发现,骨质疏松模型动物常伴有脂质代谢紊乱,治疗骨质疏松症后脂质代谢紊乱常获逆转,这提示脂质代谢紊乱可能与骨质疏松症相关。未来研究可从以下方面进行探索:第一,对脂质代谢产物作进一步筛选,寻找关键代谢产物作为检测和早期诊断骨质疏松症的候选生物标志物;第二,对脂质代谢紊乱与骨质疏松症病程的关系作进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 程晓光,袁慧书,程敬亮,等. 骨质疏松的影像学及骨密度诊断专家共识[J]. 中华骨科杂志, 2020, 40(6): 1039-1046.
- [2] 程晓光,王亮,曾强,等. 中国定量CT(QCT)骨质疏松症诊断指南(2018)[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(6): 733-737.
- [3] 程晓光,董剩勇,王亮,等. 应用双能X线骨密度仪调查中国人群骨密度水平和骨质疏松症患病率—多中心大样本体检人群调查[J]. 中华健康管理学杂志, 2019, 13(1): 51-58.
- [4] 李彦东,吴琪. 代谢组学技术在临床诊断中的研究进展[J]. 天津医药, 2015, 43(8): 942-945.
- [5] 唐惠儒,王玉兰. 代谢组学:一个迅速发展的新兴学科[J]. 生物化学与生物物理进展, 2006, 33(5): 401-417.
- [6] Zhang A, Sun H, Wang X. Serum metabolomics as a novel diagnostic approach for disease: a systematic review[J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 404(4): 1239-1245.
- [7] Jang C, Li C, Rabinowitz JD. Metabolomics and isotope tracing[J]. Cell, 2018, 173(4): 822-837.
- [8] James EM, Parkinson EK. Serum metabolomics in animal models and human disease[J]. Curr Opin Clin Nutr, 2015, 18(5): 478-483.
- [9] Oresic M. Metabolomics, a novel tool for studies of nutrition, metabolism and lipid dysfunction[J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2009, 19(11): 816-824.
- [10] 孙志坚,邱贵兴,赵宇. 代谢组学在骨科领域的应用及研究进展[J]. 中华外科杂志, 2015, 53(6): 476-480.
- [11] Gong AGW, Duan R, Wang HY, et al. Calycosin orchestrates osteogenesis of danggui buxue tang in cultured osteoblasts: evaluating the mechanism of action by omics and chemical knock-out methodologies [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 36.
- [12] 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, 51(23): 2045-2052.
- [13] Wu X, Huang Y, Sun J, et al. A HILIC-UHPLC - MS/MS untargeted urinary metabolomics combined with quantitative analysis of five polar biomarkers on osteoporosis rats after oral administration of Gushudan[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2018, 1072: 40-49.
- [14] Yuan X, Wen J, Jia H, et al. Integrated metabolomic analysis for intervention effects of Gushudan on glucocorticoid-induced osteoporotic rat plasma based on RP/HILIC-UHPLC-Q-Orbitrap HRMS [J]. Anal Biochem, 2020, 591: 113559.
- [15] Huang Y, Bo Y, Wu X, et al. An integrated serum and urinary metabolomic research based on UPLC-MS and therapeutic effects of Gushudan on prednisolone-induced osteoporosis rats[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2016, 1027: 119-130.
- [16] Xue L, Jiang Y, Han T, et al. Comparative proteomic and metabolomic analysis reveal the antiosteoporotic molecular mechanism of icariin from Epimedium brevicornu maxim[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 192: 370-381.
- [17] Zhao J, Xu J, Xu Y, et al. High-throughput metabolomics method for discovering metabolic biomarkers and pathways to reveal effects and molecular mechanism of ethanol extract from Epimedium against osteoporosis[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 1318.
- [18] Pan S, Chen A, Han Z, et al. 1H NMR-based metabolomic study on the effects of Epimedium on glucocorticoid-induced osteoporosis[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2016, 1038: 118-126.
- [19] Jiang Y, Li Y, Zhou L, et al. UPLC-MS metabolomics method provides valuable insights into the effect and underlying mechanisms of Rhizoma Drynariae protecting osteoporosis[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2020, 1152: 122262.
- [20] 王方杰,王婷,罗芳梅,等. 基于GC-MS代谢组学技术的杜仲抗骨质疏松作用研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(22): 5555-5560.
- [21] 盛玲玲,李先娜,霍金梅,等. 基于尿液代谢组学研究豆豉抗骨质疏松作用机制[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(2):

182-190.

- [22] Ye M, Zhang C, Jia W, et al. Metabolomics strategy reveals the osteogenic mechanism of yak (*Bos grunniens*) bone collagen peptides on ovariectomy-induced osteoporosis in rats [J]. *Food Funct*, 2020, 11(2): 1498-1512.
- [23] Zhang M, Wang Y, Zhang Q, et al. UPLC/Q-TOF-MS-based metabolomics study of the anti-osteoporosis effects of *Achyranthes bidentata* polysaccharides in ovariectomized rats [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 112: 433-441.
- [24] Xia T, Dong X, Jiang Y, et al. Metabolomics profiling reveals *Rehmannia radix preparata* extract protects against glucocorticoid-induced osteoporosis mainly via intervening steroid hormone biosynthesis [J]. *Molecules*, 2019, 24(2): 253
- [25] Xia T, Dong X, Lin L, et al. Metabolomics profiling provides valuable insights into the underlying mechanisms of *Morinda officinalis* on protecting glucocorticoid-induced osteoporosis [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2019, 166: 336-346.
- [26] Luo D, Li J, Chen K, et al. Untargeted metabolomics reveals the protective effect of Fufang Zhenshu Tiaozhi (FTZ) on aging-induced osteoporosis in mice [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 9: 1483.
- [27] Zhang A, Ma Z, Sun H, et al. High-throughput metabolomics evaluate the efficacy of total lignans from *Acanthopanax senticosus* stem against ovariectomized osteoporosis rat [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 553.
- [28] Xu Y, Chen S, Yu T, et al. High-throughput metabolomics investigates anti-osteoporosis activity of oleanolic acid via regulating metabolic networks using ultra-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *Phytomedicine*, 2018, 51: 68-76.
- [29] Si Z, Zhou S, Shen Z, et al. High-throughput metabolomics discovers metabolic biomarkers and pathways to evaluating the efficacy and exploring potential mechanisms of osthole against osteoporosis based on UPLC/Q-TOF-MS coupled with multivariate data analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 741.
- [30] Zhao H, Li X, Zhang D, et al. Integrative bone metabolomics-lipidomics strategy for pathological mechanism of postmenopausal osteoporosis mouse model [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 16456.
- [31] Cabrera D, Kruger M, Wolber FM, et al. Association of plasma lipids and polar metabolites with low bone mineral density in Singaporean-Chinese menopausal women; a pilot study [J]. *Int J Env Res Public Health*, 2018, 15(5): 1045
- [32] Pontes TA, Barbosa AD, Silva RD, et al. Osteopenia-osteoporosis discrimination in postmenopausal women by 1H NMR-based metabolomics [J]. *PLoS One*, 2019, 14(5): e0217348.
- [33] Miyamoto T, Hirayama A, Sato Y, et al. A serum metabolomics-based profile in low bone mineral density postmenopausal women [J]. *Bone*, 2017, 95: 1-4.
- [34] Miyamoto T, Hirayama A, Sato Y, et al. Metabolomics-based profiles predictive of low bone mass in menopausal women [J]. *Bone Rep*, 2018, 9: 11-18.
- [35] Qi H, Bao J, An G, et al. Association between the metabolome and bone mineral density in pre- and postmenopausal Chinese women using GC-MS [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(7): 2265-2275.
- [36] Wang J, Yan D, Zhao A, et al. Discovery of potential biomarkers for osteoporosis using LC-MS/MS metabolomic methods [J]. *Osteoporosis Int*, 2019, 30(7): 1491-1499.

(收稿日期:2020-12-28)

(本文编辑:杨晓娟)