

脂质组学研究进展*

蔡潭溪 刘平生 杨福全** 杨福愉

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 综述了脂质组学的研究现状和发展趋势。脂质组学是对生物体、组织或细胞中的脂质以及与其相互作用的分子进行系统分析的一门新兴学科。脂质具有多种重要的生物功能, 脂质代谢异常可引发诸多人类疾病, 包括糖尿病、肥胖症、癌症以及神经退行性疾病等。目前, 脂质组学研究已成为一个前景广阔的热门领域, 并广泛地应用到包括药物研发、分子生理学、分子病理学、功能基因组学、营养学以及环境与健康等重要领域。

关键词 脂质组学, 质谱, 代谢疾病

学科分类号 Q5

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00479

脂质是自然界中存在的一大类极易溶解于有机溶剂、在化学成分及结构上非均一的化合物, 主要包括脂肪酸及其天然发生的衍生物(如酯或胺), 以及与其生物合成和功能相关的化合物。研究表明, 哺乳动物细胞含有 1 000~2 000 种脂质, 而且随着新技术、新方法的不断发展, 各种新的脂质分子还在不断地被发现。美国国立卫生研究院(NIH) 2003 年所资助的“脂质代谢途径研究计划”(Lipid metabolites and pathways strategy, LIPID MAPS) (www.lipidmaps.org) 项目提出的脂质分类系统(The LIPID MAPS Lipid Classification System), 将脂质大体分为八大类: a. 脂肪酸类(fatty acids); b. 甘油脂类(glycerolipids); c. 甘油磷脂类(glycerophospholipids); d. 鞘脂类(sphingolipids); e. 固醇脂类(sterol lipids); f. 孕烯醇酮脂类(prenol lipids); g. 糖脂类(saccharolipids); h. 多聚乙炔类(polyketides)。脂质结构的多样性赋予了脂质多种重要的生物功能。脂质不仅参与调节多种生命活动过程, 包括能量转换、物质运输、信息识别与传递、细胞发育和分化, 以及细胞凋亡等^[1-3], 而且脂质的异常代谢还与某些疾病, 如动脉硬化症、糖尿病、肥胖症、阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)以及肿瘤发生发展密切相关^[6-7]。脂质的重要生物功能及其与疾病的关系, 加上基因组学、蛋白质组学和代谢组学的发展催生了脂质组学(Lipidomics)这一新的研究领域。脂质组学是对生

物体、组织或细胞中的脂质以及与其相互作用的分子进行全面系统的分析、鉴定, 了解脂质的结构和功能, 进而揭示脂质代谢与细胞、器官乃至机体的生理、病理过程之间的关系的一门学科。脂质组学的概念一经提出, 迅速成为国际上研究的热点。美国、欧洲、日本等都分别建立独立的脂质组学研究机构。目前, 脂质组学已经被广泛地应用于药物研发、分子生理学、分子病理学、功能基因组学、营养学以及环境与健康等重要研究领域。因此, 本文就脂质组学研究现状和发展趋势进行简要综述。

1 脂质组学的基本概念和范畴

随着 20 世纪基因组学、蛋白质组学、代谢组学等规模性、整体性、系统性“组学”概念的兴起, 2003 年国际上正式提出了脂质组学这一新的前沿研究领域^[8]。事实上, 在脂质组学概念提出之前, 国际上已经有大量关于脂质及其代谢与功能的研究。许多证据显示, 脂质在能量转换、物质运输、信息识别与传递、细胞发育和分化, 以及细胞凋亡等诸多生命过程中是不可或缺的。脂质代谢网

* 国家重点基础研究发展计划(973)资助项目(2004CB720004, 2010CB833703)。

** 通讯联系人。

Tel: 010-64888581, E-mail: fqyang@ibp.ac.cn

收稿日期: 2009-08-10, 接受日期: 2009-10-23

络和功能调控的动态变化对生命体或细胞活动的生理性功能与病理性紊乱也具有重要的影响。脂质的异常代谢与动脉硬化症、糖尿病、肥胖症、阿尔茨海默病以及肿瘤发生密切相关。但脂质及其代谢与功能的研究始终未上升到组学的水平上来,因此人们对脂质的结构和功能的认知仍然远远滞后于基因和蛋白质,主要的原因是由于脂质分子结构的多样性、复杂性,以及相应分析手段的滞后阻碍了人们对生命体的整体脂质及其复杂的代谢网络和功能调控进行规模性、整体性的系统研究。当然,对脂质的生物学功能重视不够也是原因之一。近年来,随着快速、高通量、高精度脂质分析技术的发展,特别是软电离离子化技术和高分辨质谱技术在脂质分析中的应用,已经可以实现对生物样品中各种微量脂质进行快速、高通量、高精度的分析检测,使得规模性、整体性的脂质分析及其代谢和功能研究得以实现,“脂质组学”应运而生。脂质组学研究类似于其他“组学”,是利用规模性的技术方法,通过对生命体、组织或细胞等的脂质组(lipidome)以及与其相互作用的分子进行系统研究,揭示生命体的多样性脂质及其代谢调控与生物功能,进而深入探索其与细胞、器官、生命体的生理、病理等过程之间的关系。

目前,脂质组学研究的内容主要包括脂质及其代谢物分析鉴定、脂质功能与代谢调控(包括关键基因/蛋白质/酶)、脂质代谢途径及网络等三大方面研究。这三方面研究又有各自不同的侧重点。脂质及其代谢物分析鉴定方面,主要是通过改进脂质样品制备方法和发展新的分析鉴定技术,特别是注重脂质样品制备技术与先进仪器设备如各种质谱仪的联合应用,实现脂质及其代谢物的快速、高通量的分析、鉴定。通过计算工具和生物信息学手段,建立大型的标准化脂质数据库,为进一步的深入研究与应用提供重要平台。脂质功能与代谢调控,主要是利用脂质组学技术,并结合基因组学、蛋白质组学等技术进行脂质功能与代谢调控研究并形成系统。大部分脂质功能与代谢调控的研究通常是在细胞水平或结合整体动物进行,通过基础的细胞、动物模型研究不同情况下脂质及其功能与代谢调控相关的关键蛋白质复合物的组成和动态变化规律,以及脂质功能与代谢调控相关关键蛋白质的功能调控和重要信号转导途径。结合临床疾病进行脂质功能与代谢调控研究也是脂质功能与代谢调控方面研究的核心目标之一,有助于阐明脂质的功能与代谢调

控及其相关关键蛋白质在重大疾病发生发展中的作用。脂质代谢途径及网络研究是在脂质及其代谢物分析鉴定和脂质功能与代谢调控方面工作积累的基础上,整合基因组学、蛋白质组学、代谢组学的研究结果,尝试建立不同条件下脂质的代谢途径,从而不断完善生命体复杂脂质代谢途径及网络研究的绘制。

脂质组学研究目标,不仅是要确定生命体、组织、细胞或亚细胞器中所有脂质的种类及其化学结构,更需要全面理解这些脂质的功能及其代谢的动态变化和调控,以及它们与其他生物大分子(如脂质-蛋白质相互作用)、基因表达调控、膜性结构组成,以及细胞信号转导、细胞之间、细胞与病原体、细胞乃至生命体与环境变化等的复杂关系,进而揭示生命体或细胞的脂质组代谢调控异常变化与许多重要疾病(如胆固醇、甘油三酯与心血管疾病、肥胖、脂肪肝、糖尿病及肿瘤等)的发生、发展之间的关系。

2 脂质组学的国际发展趋势

脂质组学的概念一经提出,迅速成为国际上研究的热点。美国、日本和欧洲国家的知名大学和国家科研机构纷纷成立脂质组学研究中心,如美国NIH资助的LIPID MAPS,欧盟资助的LipidomicNet,包括早期的ELife(The European Lipidomics Initiative)(<http://www.lipidomics.net>)以及日本政府资助的Lipid Bank(<http://www.lipidbank.jp>),华盛顿大学医学院的ORY研究小组和堪萨斯州立大学成立的脂质组学研究中心以及格拉茨大学、奥地利科学院及格拉茨技术大学等研究机构共同成立的格拉茨脂质组学研究中心(Lipidomics Research Center Graz, LRCGraz)。目前,脂质组学研究的策略更加注重于联合型的规模性研究,更加体现出资源共享性和策略综合性。国际上已有多个组织或研究机构在联合开展脂质组学的研究工作,具有代表性的如上述的LIPID MAPS、LipidomicNet以及Lipid Bank。LIPID MAPS是美国NIH下属的国立综合医学研究所(National Institute of General Medical Science, NIGMS)支持的研究项目,具有一支由加州大学圣地亚哥分校(UCSD)的Edward Dennis教授领衔,18家大学、研究机构和公司组成的超过30名科学家带领的研究队伍。2003年一期资助力度为3500万美金,2008年二期资助力度3800万美金,其主要目标是研究包括动脉粥样硬化病变及其引起的冠心

病与中风, 以及肿瘤、糖尿病、阿尔茨海默病等多种疾病中脂质代谢物及其功能变化. LIPID MAPS 共由 1 个核心管理机构(Core A)、10 个核心实验室(Core B~K)、4 个交叉结合“桥梁”实验室(Bridge A~D)组成, 分别负责全面管理(Core A)、生物信息相关研究和数据共享(Core B 和 C)、巨噬细胞生物学和功能基因组学的研究(Core D)、甘油酯类相关研究(Core E)、脂质标准品的设计和合成(Core F)、脂肪酸类相关研究(Core G)、甘油磷脂类相关研究(Core H)、鞘脂类相关研究(Core I)、固醇脂类相关研究(Core J)、孕烯醇酮脂类及其他脂质相关研究(Core K). LIPID MAPS Networks 主要是整合基因组学、蛋白质组学和脂质组学的研究结果, 尝试建立某种特定情况下的代谢途径(Bridge A)、利用哺乳类双杂交系统和全基因组分析技术, 结合脂质组学数据研究巨噬细胞的转录调控(Bridge B)、主要研究如何利用质谱技术产生图像来对特定组织或细胞内的脂质进行定位和相对定量分析(Bridge C)以及集中研究巨噬细胞中氧化的脂质(Bridge D). 因此, LIPID MAPS 为脂质组学的探索及相关研究结果的确认打下很好的基础. LipidomicNet 为欧盟启动的脂质组学计划, 由荷兰 UTRECHT 大学生物膜和脂质酶学研究中心 Van Meer 教授于 2005 年牵头成立, 包括在该计划启动之前一批研究人员开始的 ELife(The European Lipidomics Initiative)计划, 有欧洲 14 个国家从事脂质研究的大学、研究所及公司参加. 该项目已直接投入 2 000 万欧元, 其主要目标是开展脂质的研究, 将成果转化为医院的临床诊断和治疗手段, 并通过组织一系列的讨论会把欧洲各国的脂质研究专家、临床医师、工业界人士和信息技术科学家组合到一起, 建立公共的平台, 及时交换信息、通报研究进展. 日本脂质数据库项目(Japanese Pendant LipidBank), 最早起始于 1989 年, 由日本脂质生物化学协会(The Japanese Conference on the Biochemistry of Lipids, JCBL)启动, 一直受日本科技振兴协会(Japan Society for the Promotion of Science)和日本科技厅(Japan Science and Technology Agency)的资助, 主要目标是建立一个公开的、免费的脂质数据库(LipidBank), 其中包含脂肪酸、甘油酯、鞘脂、固醇、维生素等 6 000 余种天然脂质的命名(common name, IUPAC)、分子结构(ChemDraw cdx 格式, MDL MOL 格式)、光谱学信息(mass, UV, IR, NMR and others)和文献信息等.

3 脂质组学研究方法

脂质组学研究的技术主要包括脂质的提取、分离、分析鉴定以及相应的生物信息学技术. 生物质谱技术是目前脂质组学研究的核心工具. 基于质谱技术的脂质分析策略主要包括液相色谱-质谱联用技术和“鸟枪法”脂质组学技术(shotgun lipidomics). 液相色谱-质谱联用技术策略是利用不同的脂质提取方法分别提取不同种类脂质(lipid classes), 如脂肪酸类、甘油磷脂类、固醇类等, 或根据不同脂质种类的极性差异, 利用正相色谱在种类的水平上将生物样本的脂质分为不同的组分, 如磷脂酰胆碱类(glycerophosphocholines, GPCOs)、磷脂酰乙醇胺类(glycerophosphethanolamines, GPEtns)、鞘磷脂类(sphingomyelin, SM)以及心磷脂(cardiolipin, CL)等. 然后利用反相色谱将组分中的脂质分子(molecular species)进一步分离, 进而利用质谱进行定性、定量分析. Taguchi 及其同事^[9]利用 HPLC-ESI-MS/MS, 从老鼠 β 细胞骨髓瘤细胞 NS-1 的脂质提取物中鉴定了 500 多种磷脂类分子. “鸟枪法”技术策略通常采用直接进样(direct infusion), 不需要经过色谱分离, 而直接对脂质提取物进行分析鉴定. Han 等^[10]发展的“鸟枪法”具有一定的代表性. 其原理主要是源内分离(intrasource separation), 即根据脂质分子在不同 pH 值条件下带电倾向的差异, 通过调整样品的 pH 值, 改变脂质分子的离子化倾向, 并结合 ESI 正、负离子检测模式的切换, 达到离子化过程中分开检测不同脂质分子的目的, 最后利用串联质谱技术进行分析鉴定和定量. 另一方面, 随着脂质组学的发展, 脂质及其代谢物标准品的设计和合成, 脂质组信息和数据的协调分析, 基因组学、蛋白质组学和脂质组学研究结果的整合, 脂质代谢途径及其相关网络构建等均离不开相应的生物信息学技术系统. 目前, 随着计算机及其网络技术系统的发展, 以及目前所掌握的多个组织脂质组的图谱和基因表达谱、蛋白质谱等生物信息, 已有不少脂质组学相关的公共资源, 比如 LIPID MAPS、Lipid Bank、Cyber Lipids(<http://www.cyberlipid.org>)和 LIPIDAT(<http://www.lipidat.chemistry.ohio-state.edu/home.stm>). LIPID MAPS 数据库不仅包含了脂质的综合分类方式, 还包括脂质分子的结构信息和脂质相关的蛋白质序列信息. 脂质的一级质谱和二级质谱的片段信息也是 LIPID MAPS 的重要组成部分, 为脂质组学的探索以及相关研究结果

的确认提供了一个很好的开端. 当然, 相对于高通量的脂质组学和系统生物学研究, 目前的资源还相对有限, 还需要联合多种数据分析技术, 将多维、分散的数据进行总结、分类以及判别分析, 发现数据间的定性、定量关系, 解读数据中蕴藏的生物学意义, 阐述其与机体代谢的关系.

4 脂质组学的研究进展

脂质组学自提出伊始到现在, 已获得长足的发展. 目前已经出现了许多研究分支, 如细胞脂质组学(cellular lipidomics)^[10]、计算脂质组学(computational lipidomics)^[11]、氧化脂质组学(oxidative lipidomics)^[12]、二十烷酸脂质组学(eicosanomics)^[13]、靶向手性脂质组学(targeted chiral lipidomics)^[14]、调节介质脂质组学(mediator lipidomics)^[15]、功能脂质组学(functional lipidomics)^[16]、以及神经脂质组学(neurolipidomics)^[17]等. 总体而言, 脂质组学研究在脂质及其代谢物的系统研究、脂质功能与代谢调控研究以及脂质代谢途径及网络研究取得快速进展的同时, 在代谢疾病的检测、脂质生物标志物、药物靶点的鉴定以及新药的研发等方面都取得了重要的进展.

4.1 脂质及其代谢物的系统研究

目前, 脂质及其代谢物的系统研究主要是利用脂质组学研究技术, 结合特定的生命体、组织、体液、细胞等样品, 进行不同层面的脂质组(lipidome)研究. 实际上, 脂质组的概念已经细化到亚细胞器, 甚至是细胞膜上特定的脂质区域, 如脂筏(lipid raft). 事实证明, 这种研究模式不仅可以揭示不同组织、细胞及亚细胞等各自的脂质分子组成及其定位的关系, 也为各种新的脂质分子的发现提供了重要的技术手段, 同时也促进脂质及其代谢与功能的系统研究从基于假设(hypothesis-driven)到基于发现(discovery-driven)研究模式的转变. Ejsing等^[18]利用比较脂质组学分析技术, 对酵母的脂质组进行了系统的定量分析, 获得了250个脂质分子的定量信息, 涵盖21个主要的脂质种类, 占整个酵母脂质组的95%. Guan^[19]利用液相色谱-串联质谱联用技术对小鼠脑组织的脂质进行分析, 发现了两种新的脂质成分, N-酰基磷脂酰丝氨酸(N-acyl phosphatidylserine, N-acyl-PS)和 dolichoic acid (Dol-CA). LIPID MAPS 研究计划中, 利用脂质组学分析技术对巨噬细胞中的整体脂质开展了大规模的分析, 并鉴定了1000多种脂质代谢物. 刘平生教授研究组^[20]利用 HPLC-APCI-MS/MS、ESI-MS、MALDI-

TOF-MS 及 NMR 等技术对 CHO K2 细胞、3T3 细胞以及原代人纤维原细胞等不同细胞脂滴中的脂质进行了系统分析. 不仅完成了脂滴中完整脂质组的分析而且还发现了脂滴中大约 10%~20%的中性脂质为醚脂, 如单烯基二酰甘油(monoalk(en)yl diacylglycerol, MADAG). 该研究结果表明, 脂滴在醚脂的代谢过程中具有重要的作用, 为脂滴功能的进一步分析提供了一定的依据. Hunt^[21]对细胞核脂质组的动态变化进行了系统的研究, 在分析鉴定了核膜的脂质组成的同时, 发现即使哺乳动物细胞的核膜脱离后, 细胞核基质中仍有6%左右的细胞磷脂, 约占整个细胞核体积的10%. Pike等^[22]利用不同的去垢剂成功地分离了特异的脂筏, 快速分析鉴定其脂质组成. Brugger等^[23]利用 HIV 从淋巴细胞出膜时将脂筏包装在病毒颗粒外表面的特点, 从不同的淋巴细胞培养液中分离 HIV 颗粒, 分析来自淋巴细胞的 HIV 颗粒包装脂筏的脂质组成, 发现鞘磷脂影响了 HIV 的侵染性, 并证实抑制 HIV 侵染的淋巴细胞鞘磷脂合成, 可导致 HIV 侵染效率非常显著地下降. 以上研究结果同样表明, 生命体、细胞、亚细胞及特定脂质区域的脂质组成分能否有效分离和鉴定也是脂质代谢途径及其功能调控研究的一个瓶颈.

4.2 脂质功能与代谢调控的研究

脂质结构的多样性赋予了脂质多种重要的生物功能, 如脂质组是生物膜的必需组分, 脂质是生物体能量平衡的重要组成部分, 脂质本身也是重要的信号分子, 广泛参与细胞间、细胞内的信号转导. 脂质异常代谢也是引发严重危害人类健康的心脑血管疾病、恶性肿瘤、神经系统疾病和代谢紊乱疾病等的重要因素. 以胆固醇为例, 胆固醇对哺乳类细胞生命过程不可或缺, 大量研究表明, 人体内严格调控的胆固醇代谢平衡如果遭到破坏, 导致胆固醇过多或过少均会导致严重的病变, 主要是动脉粥样硬化病变, 进而导致冠心病、中风等心脑血管病. 动脉内皮下巨噬细胞形成的泡沫细胞(foam cells)即大量胆固醇酯堆积的细胞, 是动脉粥样硬化早期病变细胞. 因此, 美国的脂质组学研究计划 LIPID MAPS, 部署了三个核心机构从不同角度研究巨噬细胞的脂质组与脂质代谢调控, 尤其是巨噬细胞氧化脂质组学研究, 可能为阐明动脉粥样硬化早期病变即泡沫细胞形成机制提供直接理论基础. 目前, 脂质功能与代谢调控的研究主要是利用规模性的脂质及其代谢物分析手段, 结合基因组学、蛋白质组

学技术, 分析各种基础的细胞、动物模型在不同情况下脂质及其功能与调控相关关键蛋白质复合物的组成和动态变化, 进而了解相应脂质的功能与代谢调控. Cheng 等^[24]利用脂质组学方法, 对阿尔茨海默病老鼠模型的脑组织的脂质组进行研究, 发现硫苷脂的含量在阿尔茨海默病(AD)的早期显著减少, 进一步的分析发现, 硫苷脂的代谢、转运和动态平衡受阿朴脂蛋白 E(apolipoprotein E, apoE)调控. Kiebish 等^[25]以 C57BL/6J (B6)小鼠为对照, 利用“鸟枪法”脂质组学方法对具有高脑神经胶质瘤发生率的 VM/Dk (VM)小鼠非突触脑细胞的线粒体脂质组进行研究时发现, 与 B6 小鼠相比, VM 小鼠非突触脑细胞线粒体中的磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸和神经酰胺量显著提高, 而磷脂酰胆碱的量有所下降. 两者之间心磷脂的总量没有发生变化, 但心磷脂的组成却有显著的差异, B6 和 VM 小鼠非突触脑细胞的线粒体分别含有 95 个和 42 个心磷脂分子. 与此同时, 线粒体呼吸链复合物 I、I/III 和 II/III 酶活性降低, 而复合物IV的活性却升高. Kiebish 等认为, 高脑神经胶质瘤发生率和线粒体呼吸链活性变化与线粒体脂质组成的改变密切相关. Mitchell 等^[26]利用“鸟枪法”脂质组学方法对鼯鼠裸鼠(naked mole rat)和小鼠(mouse)(两者寿命最大相差 9 倍)的骨骼肌、心脏、肝脏和肝脏线粒体的磷脂分子进行定性和定量分析, 发现两者磷脂的总量相近, 但是在小鼠组织中, 含有二十二碳六烯酸的磷脂分子(docosahexaenoic acid(DHA) containing phospholipid molecules)含量高达磷脂总量的 27%~57%, 而此类分子在鼯鼠裸鼠中仅占 2%~6%. 相反, 鼯鼠裸鼠组织中缩醛磷脂(plasmalogens)的含量比小鼠高. 作者认为, 含有二十二碳六烯酸的磷脂分子更容易受氧化损害, 而缩醛磷脂能提高膜抗氧化作用, 这可能是鼯鼠裸鼠长寿命的重要原因. 当然, 结合临床疾病进行脂质代谢调控与功能研究, 也是脂质组学研究的核心目标之一. Graessler 等^[27]利用 top-down “鸟枪法”脂质组学方法, 对 19 个男性高血压病人和 50 个血压正常男性对照的血浆样本的脂质组进行系统研究, 分析了 10 个主要脂质种类中的 95 个脂质分子, 结果发现醚脂, 特别是含二十碳四烯酸(20:4)和二十二碳五烯酸链的磷脂酰胆碱醚脂和磷脂酰乙醇胺醚脂的含量显著减少. 同时, 游离胆固醇的量也减少. 这些结果对高血压的预防和缓解提供了重要的理论基础.

4.3 脂质代谢途径及网络的研究

目前, 各种生命体、组织、体液、细胞以及亚细胞器等脂质及其代谢物的规模性分析, 以及相应脂质功能与代谢调控研究的进展, 正在不断促进脂质代谢途径及网络的研究. Kagan 等^[28]在线粒体膜脂质代谢物分析和线粒体氧化研究等基础上, 做出了一个大胆的推论, 认为心磷脂和磷脂酰丝氨酸是线粒体起始凋亡的信号转导分子. Cowart 和 Hannun^[29]成功地研究了酵母中鞘磷脂的代谢途径, 发现该酯代谢途径在酵母细胞生命活动的质膜信号转导为核内信号过程发挥重要作用. LIPID MAPS 研究计划以 RAW264.7 细胞作为研究对象, 系统分析了经 KDO₂-lipid A 处理后 8 个时间点(0、0.5、1、2、4、8、12、24 h)内, 二十四烷酸类、脂肪酸类、甘油酯类和甘油磷脂类、鞘磷脂类及胆固醇类脂质的动态变化. 根据这些实验数据, 并结合相关文献报道的数据, LIPID MAPS 通过 VANTED 软件绘制了一系列脂质代谢途径, 如类二十四烷酸类脂质代谢途径, ω -3、 ω -6、 ω -9 脂肪酸的代谢途径, 含 32:0、32:1、34:0、34:1、36:0、36:1、38:0、38:1、38:4 脂肪酸链的甘油酯类和甘油磷脂类脂质的代谢途径, 部分鞘磷脂类脂质代谢途径, 类固醇类脂质代谢途径等. 这些前沿性的探索, 结合相关的重要疾病, 将为阐明相应脂质代谢调控的生理或病理机制、揭示关键性调控位点及其对应的关键基因/蛋白质/酶、挖掘新的药靶系统以及为相关疾病的预防、诊治及新药研发等提供重要基础. 然而, 目前有关直接对生命体的脂质代谢途径与网络的相关综合数据分析和系统实验的文献报道相对较少.

4.4 脂质组学在生物标志物研究的应用

如前所述, 脂质及其代谢物具有多种重要的生物功能, 而且脂质代谢异常与诸多疾病相关, 因此脂质及其代谢物可以作为健康或疾病状态的指征. 以肥胖症为例, 肥胖症可以诱发与心血管疾病相关的多种代谢功能异常, 会增加 II 型糖尿病、冠心病、高血压及某些癌症(如卵巢癌、乳腺癌和结肠癌)等的发病率和死亡率. 高血脂水平, 特别是低密度脂蛋白和三酰甘油酯显著升高、高密度脂蛋白 ChoE 降低, 是腹部肥胖症的共同特征. 脂质过氧化以及某些具有特定功能的脂质分子的脂肪酸组成发生改变是产生这种现象的主要原因. 因此, 结合特定的生物样本, 如细胞、动物模型以及病人的体液、组织等, 监测脂质代谢物将有助于发现代谢疾

病的脂质生物标志物。目前, 基于脂质组学的脂质生物标志物研究策略主要有目标脂质分析(targeted lipid analysis)、脂质谱分析(lipid profiling)和综合脂质谱分析(global lipid profiling)。顾名思义, 目标脂质分析是利用脂质组学技术方法, 针对生物样品中某特定脂质分子及其代谢物进行分析。脂质谱分析是针对生物样品中某一特定种类或某一通路的脂质代谢物进行研究。综合脂质谱分析则是对生物样品中各种脂质同时开展研究, 以期获得更多的信息。事实上, 越来越多的文献显示, 脂质组学被广泛应用于各种癌症(如胰腺癌、卵巢癌、乳腺癌等)、遗传疾病(如 Barth 综合症、Gaucher 疾病等)、神经退行性疾病(如阿尔茨海默病等)等生物标志物的研究。Wang 等^[30]利用 LC-MS/MS 的方法, 对 69 个成年人(包括 32 个 II 型糖尿病病人和 37 个正常人, 年龄在 30~80 岁)的血浆进行磷脂及其代谢物的脂质组学分析, 结果发现, 4 个磷脂分子, 包括 2 个磷脂酰胆碱和 2 个磷脂酰乙醇胺, 可以作为 II 型糖尿病的潜在生物标志物。Clish 等^[31]利用脂质组学方法, 对来自野生型和具有高脂血症和早期动脉硬化的 APOE*3-Leiden 转基因鼠的肝脏样本进行脂质谱分析, 结果发现, 两种溶血性磷脂酰胆碱 lysoPC(16:0/0:0)和 lysoPC(18:0/0:0)显著升高, 是一种潜在的生物标志物。

4.5 脂质组学在药物靶点及新药研发中的应用

目前, 已经有诸多研究者以脂质代谢物及其代谢途径为研究对象找寻新的药物靶点, 并成功研发了多种有效药物, 在药物领域发挥重要作用。降胆固醇他汀类药物(Statins)主要是通过直接抑制胆固醇合成代谢途径的关键酶 HMGCR 活性而发挥药效。溶血磷脂酸酰基转移酶异构体的特异抑制剂是治疗多发性骨髓瘤细胞癌的一类新药, 它可激活半胱天冬酶, 介导细胞死亡^[32]。前列腺癌发生过程中, 前列腺肿瘤中的很多环氧化酶和脂氧酶的表达量都增加, 这些酶类的抑制剂可减少前列腺肿瘤血管生成和肿瘤细胞的生长^[33]。环氧化酶抑制剂塞来考昔的作用靶点就是神经鞘脂类传导途径。塞来考昔可以增加大鼠乳腺癌细胞 66.1 的神经酰胺水平, 后者通过线粒体外膜神经酰胺通道的形成, 诱导线粒体释放凋亡前体蛋白, 调节细胞的凋亡。实验证据显示, 在蛋白质组资料与基因组资料的基础上, 利用相关性和多变量等统计学方法以及代谢控制等方法对给药和不给药、疾病和健康等不同状态下脂质水平的变化进行研究, 有助于发现了更多脂质相

关的药物靶点。Xia 等^[34]研究发现, 鞘氨醇激酶 1 (SK1)的过表达将导致小鼠体内细胞转化和肿瘤形成, 而 1-磷酸鞘氨醇与血管表皮生长因子(VEGF)相互作用促进血管生成, 从旧的血管生出新的毛细血管。因此, 鞘脂类脂质的合成和代谢通路也已经成为一些癌症治疗的新靶点。PI3 激酶和 3-磷酸肌醇磷酸酶活性的平衡与下游效应物(如 AKT/PKB)共同控制细胞的生长和死亡, 靶向 3-肌醇信号通路的激酶抑制剂也已经成为肿瘤和呼吸道疾病新的治疗药物^[35-36]。此外, 生物功能相关的酶类或蛋白质通常通过对脂质极性或非极性部位的识别与脂质发生相互作用, 将脂质结构信息通过结构变换和修饰等方式合成新的化学成分, 靶向与脂质相互作用的酶类或蛋白质, 也是脂质组学在先导化合物研究的一个重要应用。事实上, 就像设计靶向蛋白激酶的 ATP 同源物一样, 未来的药物开发有很大一部分将利用现有的脂质-蛋白质相互作用的信息, 特异性设计类似脂质的分子, 模拟自然存在的配体。脂质组学的研究同样有助于药物安全性评价。药物毒性会破坏正常细胞的结构功能, 改变细胞代谢途径中内源性代谢物的稳态, 进而通过直接或间接效应改变流经靶组织的血浆成分, 通过监测组织或细胞膜脂质组成的变化, 将有助于通过药物治疗引发的异常脂代谢来更好地评价药物的潜在毒性。

5 脂质组学的发展前景

作为一门新兴学科, 脂质组学研究还存在诸多挑战。首先, 到目前为止, 尽管已有很多脂质方面的研究, 但从生物样品中提取总脂质或各脂质种类的方法还没有统一可靠的标准, 也没形成针对不同生物样品的规范脂质制备方法, 且不同的研究组使用不同的脂质制备方法得到的结果有很大差异, 会造成对结果解释的差异。第二, 亚细胞器和细胞中特定脂质区域的分离过程中始终涉及匀浆的过程, 会导致脂质分子的聚集或膜结构的重组, 对脂质分子在细胞器或特定脂质区域上的定位或动态变化研究造成了一定的困难。虽然液相色谱-质谱联用技术和“鸟枪法”脂质组学技术显示具有快速、高通量、高精度等特点, 但是脂质定性和定量分析的软件还相对薄弱, 特别是自动化分析软件和脂质组数据库还相对较少。第三, 脂质代谢途径及网络研究涉及的数据整合、代谢途径及网络的绘制等相关的生物信息学技术系统还处于初步阶段, 有待进一步地发展和完善。第四, 脂质组学虽然取得了很大的

发展, 但人们对脂质组学的重视程度还远远不够, 国内还没有专门的脂质组学研究机构, 虽然有一些研究小组在开展一些相关工作, 也有一些文献报道, 但基本还处于初级阶段. 因此, 我们必须加大脂质组学技术方法的研究: a. 开发脂质制备新技术方法, 在完善适宜于不同样品脂质组学研究的脂质提取、分离等配套制备技术方法基础上, 形成不同生物样品(如体液包括血液、尿液等, 组织包括心、脑、肝等, 细胞包括血液细胞、细胞株等)的标准化脂质制备方法或系统; b. 完善快速、高通量、高精度脂质分析鉴定、定量技术系统, 特别是自动化脂质分析和定量相关的生物信息学软件的开发, 并建立综合的脂质组数据库; c. 脂质代谢途径及网络的深入研究以及相关生物信息学技术系统的建立和完善. 与此同时, 必须注重脂质组学技术的应用, 特别是加强以下几个方面的发展, 以期在未来的几年实现脂质组学研究的突破进展: a. 规模性、高精度分析鉴定体液脂质代谢物及其与重要疾病的关系; b. 细胞及其区域性脂质组的动态变化与细胞功能异常的关系; c. 胆固醇及其氧化修饰加工的代谢调控与相关代谢性疾病的关系; d. 脂肪酸类的代谢调控与相关代谢性疾病的关系; e. 脂质组及其代谢调控与生命必需的基础膜结构关系; f. 脂质代谢物及其代谢途径与相关药物的研发基础.

参 考 文 献

- [1] Cuvillier O. Sphingosine in apoptosis signaling. *Biochim Biophys Acta*, 2002, **1585**(2/3): 153-162
- [2] Baumruker T, Bornancin F, Billich A. The role of sphingosine and ceramide kinases in inflammatory responses. *Immunol Lett*, 2005, **96**(2): 175-185
- [3] Di P G, Di C P. Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics. *Nature*, 2006, **443**(7112): 651-657
- [4] Meyer zu Heringdorf D, Jakobs K H. Lysophospholipid receptors: signalling, pharmacology and regulation by lysophospholipid metabolism. *Biochim Biophys Acta*, 2007, **1768**(4): 923-940
- [5] Brinkmann V. Sphingosine 1-phosphate receptors in health and disease: Mechanistic insights from gene deletion studies and reverse pharmacology. *Pharmacol Ther*, 2007, **115**(1): 84-105
- [6] Morales A, Lee H, Goni F M, *et al.* Sphingolipids and cell death. *Apoptosis*, 2007, **12**(5): 923-939.
- [7] van Meer G. Cellular lipidomics. *EMBO J*, 2005, **24** (18): 3159-3165
- [8] Han X L, Gross R W. Global analyses of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples by ESI mass spectrometry: a bridge to lipidomics. *J Lipid Res*, 2003, **44** (6): 1071-1079
- [9] Ishida M, Hayakawa J, Taguchi R. Microanalysis of phospholipids of mammalian cells by liquid chromatography/electrospray ionization- mass spectrometry. *J Mass Spectrom Soc Jpn*, 2001, **49**: 150-160
- [10] Han X L, Gross R W. Shotgun lipidomics: electrospray ionization mass spectrometric analysis and quantitation of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples. *Mass Spectrom Rev*, 2005, **24**(3): 367-412
- [11] Forrester J S, Milne S B, Ivanova P T, *et al.* Computational lipidomics: a multiplexed analysis of dynamic changes in membrane lipid composition during signal transduction. *Mol Pharmacol*, 2004, **65**(4): 813-821
- [12] Tyurin V A, Tyurina Y Y, Kochanek P M, *et al.* Oxidative lipidomics of programmed cell death. *Methods Enzymol*, 2008, **442**: 375-393
- [13] Balazy M. Eicosanomics: targeted lipidomics of eicosanoids in biological systems. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2004, **73**(3-4): 173-180
- [14] Lee S H, Williams M V, Blair I A. Targeted chiral lipidomics analysis. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2005, **77**(1-4): 141-157
- [15] Serhan C N. Mediator lipidomics. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2005, **77**(1-4): 4-14
- [16] Gross R W, Jenkins C M, Yang J, *et al.* Functional lipidomics: the roles of specialized lipids and lipid-protein interactions in modulating neuronal function. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2005, **77**(1-4): 52-64
- [17] Han X L. Neurolipidomics: challenges and developments. *Front Biosci*, 2007, **12**: 2601-2615
- [18] Ejsing C S, Sampaio J L, Surendranath V, *et al.* Global analysis of the yeast lipidome by quantitative shotgun mass spectrometry. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(7): 2136-2141
- [19] Guan Z. Discovering novel brain lipids by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2009, **877**(26): 2814-2821
- [20] Bartz R, Li W H, Venables B, *et al.* Lipidomics reveals that adiposomes store ether lipids and mediate phospholipid traffic. *J Lipid Res*, 2007, **48**(4): 837-847
- [21] Hunt A N. Dynamic lipidomics of the nucleus. *J Cell Biochem*, 2006, **97**(2): 244-251
- [22] Pike L J. The challenge of lipid rafts. *J Lipid Res*, 2009, **50**(Suppl): S323-328
- [23] Brugger B, Glass B, Haberkant P, *et al.* The HIV lipidome: a raft with an unusual composition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103** (8): 2641-2646
- [24] Cheng H, Zhou Y, Holtzman D M, *et al.* Apolipoprotein E mediates sulfatide depletion in animal models of Alzheimer' s disease. *Neurobiol Aging*, 2008.
- [25] Kiebish M A, Han X, Cheng H, *et al.* Brain mitochondrial lipid abnormalities in mice susceptible to spontaneous gliomas. *Lipids*, 2008, **43**(10): 951-959

- [26] Mitchell T W, Buffenstein R, Hulbert A J. Membrane phospholipid composition may contribute to exceptional longevity of the naked mole-rat (*Heterocephalus glaber*): a comparative study using shotgun lipidomics. *Exp Gerontol*, 2007, **42**(11): 1053–1062
- [27] Graessler J, Schwudke D, Schwarz P E, *et al.* Top-down lipidomics reveals ether lipid deficiency in blood plasma of hypertensive patients. *PLoS ONE*, 2009, **4**(7): e6261
- [28] Kagan V E, Tyurina Y Y, Bayir H, *et al.* The "pro-apoptotic genes" get out of mitochondria: oxidative lipidomics and redox activity of cytochrome *c*/cardiolipin complexes. *Chem Biol Interact*, 2006, **163**(1–2): 15–28
- [29] Cowart L A, Hannun Y A. Using genomic and lipidomic strategies to investigate sphingolipid function in the yeast heat-stress response. *Biochem Soc Trans*, 2005, **33**(Pt 5): 1166–1169
- [30] Wang C, Kong H, Guan Y, *et al.* Plasma phospholipid metabolic profiling and biomarkers of type 2 diabetes mellitus based on high-performance liquid chromatography/electrospray mass spectrometry and multivariate statistical analysis. *Anal Chem*, 2005, **77** (10): 4108–4116
- [31] Clish C B, Davidov E, Oresic M, *et al.* Integrative biological analysis of the APOE*3-Leiden transgenic mouse. *OMICS*, 2004, **8**(1): 3–13
- [32] Hideshima T, Chauhan D, Hayashi T, *et al.* Antitumor activity of lysophosphatidic acid acyltransferase-beta inhibitors, a novel class of agents, in multiple myeloma. *Cancer Res*, 2003, **63** (2): 8428–8436
- [33] Basler J W, Piazza G A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 selective inhibitors for prostate cancer chemoprevention. *J Urol*, 2004, **171**(2 Pt 2): 59–62
- [34] Xia P, Gamble J, Wang L, *et al.* An oncogenic role of sphingosine kinase. *Curr Biol*, 2000, **10**(23): 1527–1530
- [35] Pendaries C, Tronchere H, Plantavid M, *et al.* Phosphoinositide signaling disorders in human diseases. *FEBS Lett*, 2003, **546** (1): 25–31
- [36] Giannakou M E, Goss M, Jüngeret M A, *et al.* Long-lived *Drosophila* with overexpressed dFOXO in adult fat body. *Science*, 2004, **305**(5682): 361

The Research Advances in The Field of Lipidomics*

CAI Tan-Xi, LIU Ping-Sheng, YANG Fu-Quan**, YANG Fu-Yu

(*Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China*)

Abstract Lipidomics, a newly emerging field, is systems-level analysis and characterization of lipids and their interacting moieties. Lipids play essential roles in several cellular processes, such as membrane transport, sorting and cell signaling. Previous studies have revealed possible links between deregulated lipid metabolism and a wide variety of diseases, including diabetes, obesity, cancer, as well as neurodegenerative diseases. All these make the field of lipidomics a promising area of biological research. In fact, lipidomic research has been applied to many fields, such as drug development, molecular biology, molecular pathology, functional genomics, nutriology, environmental science, and so on. The progress in the field of lipidomics, including the present situation and the future application, was summarized.

Key words lipidomics, mass spectrometry, metabolic diseases

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00479

*This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2004CB720004, 2010CB833703).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-64888430, E-mail: fqyang@ibp.ac.cn

Received: August 10, 2009 Accepted: October 23, 2009