

张昂,杜燕,谢洋,等. 脂质组学在慢性肺部疾病生物标志物发现中的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(7): 131-141.
Zhang A, Du Y, Xie Y, et al. Lipidomics driven biomarker discovery in chronic lung disease [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(7): 131-141.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.07.015

脂质组学在慢性肺部疾病生物标志物发现中的应用

张 昂^{1,2}, 杜 燕^{1,2,3}, 谢 洋^{1,2,4}, 刘新光^{1,2,3*}

(1.河南中医药大学呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心,郑州 450046;
2.河南省中医药防治呼吸病重点实验室,郑州 450046;3.河南中医药大学中医药科学院,郑州 450046;
4.河南中医药大学第一附属医院,郑州 450000)

【摘要】 慢性肺部疾病(CLD)通常包括慢性阻塞性肺疾病、哮喘、特发性肺纤维化等。研究表明,CLD 与脂质代谢紊乱密切相关,因此脂质作为 CLD 的生物标志物,对于疾病的诊断、预防及治疗过程中的监控可能有着重要价值。本文从脂质组学技术方法、脂质组学临床样本选择、CLD 生物标志物发现和 CLD 不同中医证候区分 4 个方面讨论脂质组学在 CLD 生物标志物研究中的应用。

【关键词】 脂质组学;慢性阻塞性肺疾病;哮喘;特发性肺纤维化;生物标志物;中医

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 07-0131-11

Lipidomics driven biomarker discovery in chronic lung disease

ZHANG Ang^{1,2}, DU Yan^{1,2,3}, XIE Yang^{1,2,4}, LIU Xinguang^{1,2,3*}

(1. Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Disease Co-constructed by Henan Province & Education Ministry of P. R. China, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China.
2. Henan Key Laboratory of Chinese Medicine for Respiratory Disease, Zhengzhou 450046. 3. Academy of Chinese Medical Sciences, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046. 4. the First Affiliated Hospital of Henan University of CM Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000)

【Abstract】 Chronic lung diseases (CLD) include chronic obstructive pulmonary disease, asthma, and idiopathic pulmonary fibrosis. Studies have shown that CLD are closely related to disorders in lipid metabolism. Therefore, lipids, as biomarkers of CLD, may be of great value in the diagnosis, prevention, and monitoring of disease treatment. This review discusses lipidomics from four major aspects: the technical methods of lipidomics, the selection of clinical samples for lipidomics, the discovery of biomarkers for CLD, and the differentiation of traditional Chinese medicine syndromes from CLD.

【Keywords】 lipidomics; chronic obstructive pulmonary disease; asthma; idiopathic pulmonary fibrosis; biomarkers; traditional Chinese medicine

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

慢性肺部疾病(chronic lung diseases,CLD)是一类复杂性、进展性肺部疾病,以慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease,COPD)、哮喘和特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis,

【基金项目】国家重点研发计划(2018YFC1704806);国家自然科学基金面上项目(82274274);国家重点研发计划中医药现代化重点专项 2023 年度“揭榜挂帅”项目(2023YFC3502605);河南省省级科技研发计划联合基金(优势学科培育类)(222301420020)。

【作者简介】张昂(1994—),女,硕士,研究方向:中医药防治呼吸病基础研究。E-mail:zhangang2019@163.com

【通信作者】刘新光(1987—),男,博士,硕士生导师,研究方向:中医药防治呼吸病基础研究。E-mail:xgliu2016@126.com

IPF)临床上最为常见。由于症状复杂、特征性低,CLD 的诊断在临床上均存在着一定困难。COPD 以不可逆的气流受限、黏液分泌过多和慢性气道炎症为特征,病情多呈进展性,其发生与吸烟、环境因素及有害颗粒或气体的吸入、呼吸道病史等因素有关^[1],会出现肺气肿、小气道重塑、支气管炎等多种病理表现^[2]。肺活量测定法是目前 COPD 临床诊断的主要方法,即采用肺活量法测量 1 秒钟用力呼气量(forced expiratory volume in one second, FEV1)和用力肺活量(forced vital capacity, FVC)的比值(FEV1/FVC)作为阻塞性或限制性通气缺陷^[3]的指标。然而,由于 FEV1 等指标也会随着年龄增长而自然下降,依据肺活量测定法常常会将正常的老年人误诊为 COPD^[4-5]。哮喘以气道炎症和可变的呼气气流受限为特征,主要表现为气喘、呼吸短促、胸闷等症状^[6]。哮喘早期诊断主要通过临床评估、病史和肺功能检查来确诊^[7]。临床上,哮喘和 COPD 患者均可表现呼吸困难、气喘等症状,往往难以区分^[8-9]。特发性肺纤维化(IPF)也是一种慢性、进行性肺部疾病^[10],其特征是肺泡上皮细胞损伤、成纤维细胞增殖和细胞外基质积累,导致肺结构的不可逆扭曲^[11]。IPF 临床症状缺乏特异性,确诊时患者往往已处于疾病终末期,除肺移植外尚缺乏有效的治疗手段,预后极差,因此早期诊断和治疗干预对改善预后有重要意义^[12]。IPF 的诊断金标准是肺组织病理检查,但属于有创操作,临床操作困难^[13-14]。

生物标志物是指可以标记系统、器官、组织、细

胞及亚细胞结构或功能发生改变的生化指标^[15]。一些研究表明,CLD 与脂质代谢紊乱密切相关,提示脂质作为 CLD 的生物标志物,对于疾病的早期诊断、预防及治疗过程中的监控可能有着重要价值。脂质组学作为一种“组学”方法,基于系统平台全面测量细胞、组织和生物体^[16]的脂质成分,并通过统计分析来确定差异脂质代谢物,是寻找诊断 CLD 的脂质生物标志物的有效方法。在这篇综述中,我们讨论了脂质组学作为 COPD、IPF 和哮喘脂质生物标志物发现方法的研究现状,为相关科研人员提供参考。

1 脂质组学

脂质组学是代谢组学的一个分支,是系统研究细胞、组织或生物体内所有脂质的学科,是研究机体脂质代谢的主要分析手段^[17]。质谱(mass spectrometry, MS)以高灵敏度、高分辨率优势成为目前脂质组学研究的主流技术,已应用于许多疾病的生物标志物筛选^[18-20]。基于质谱的脂质组学分析策略主要有 3 种:非靶向脂质组学、靶向脂质组学和拟靶向脂质组学,其工作流程见图 1^[21]。非靶向脂质组学是在没有目标脂质分子信息的情况下,对提取的样品中所有脂类(或某种脂类)进行全面和无偏的分析^[20]。该方法首先检测样本中“所有”离子的特征信息,包括精确的质量(m/z)、保留时间及峰面积等,并通过多变量统计等方法筛选差异离子,再利用人类代谢组数据库(human metabolome database, HMDB)、Lipid Maps 及 LipidBlast 等数据库

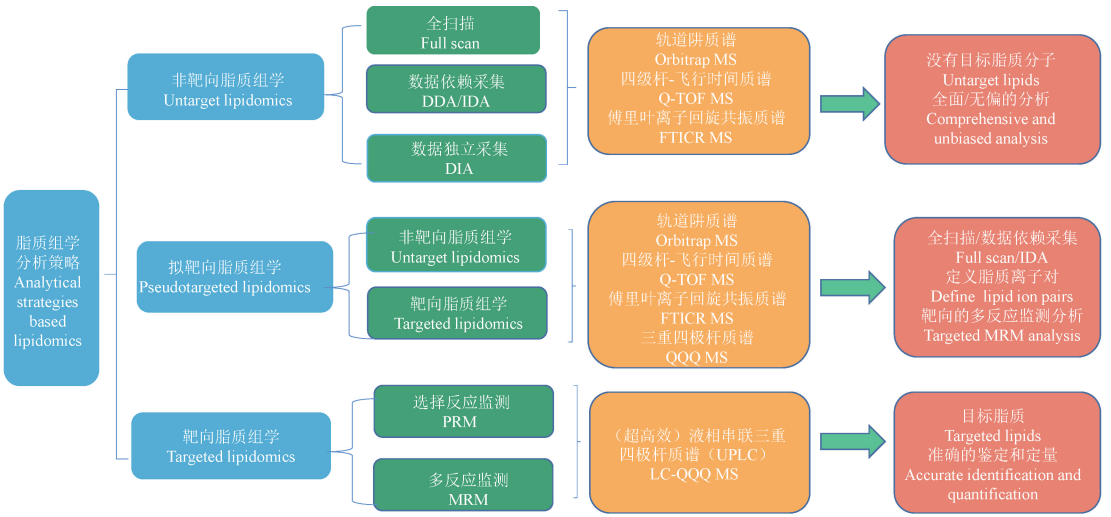


图 1 脂质组学分析策略
Figure 1 Analytical strategies based lipidomics

搜索离子的精确质量信息或二级谱图进行鉴定,获得脂质生物标志物^[22]。高分辨质谱(high resolution mass spectrum, HRMS)由于其强大的质量分辨率和高质量精度,特别适合阐明脂质结构组成,是非靶向脂质组学分析的首选,如四级杆-飞行时间质谱((quadruple) time-of-flight mass spectrometry, Q-TOF MS)、轨道阱质谱(orbitrap mass spectrometry, Orbitrap MS)和傅里叶离子回旋共振质谱(fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, FTICR MS)^[21]。数据依赖采集(data-dependent acquisition, DDA/information-dependent acquisition, IDA)和数据独立采集(data-independent acquisition, DIA)模式是非靶向脂质组学中两种主要的 MS/MS 扫描模式^[22], DDA/IDA 是一种经典的用于非靶向分析的质谱数据采集模式,该模式能自动挑选丰度较高的前体离子为目标离子,使其依次进入碰撞池解离并得到子离子谱图,但容易忽略强度较低的离子^[23]。与 DDA/IDA 相比较, DIA 具有更高的灵敏度、动态范围和分析通量。DIA 技术可以在监测窗口内获取所有前体离子的 MS/MS 光谱,以获得全质量范围内完整的 MS/MS 数据。但 DIA 数据分析比较复杂,随着多种数据分析方法的提出, DIA 技术非靶向脂质组分析中会得到更广泛的应用^[21,24]。靶向脂质组学是对可获得标准物质的目标脂质进行准确的鉴定和定量^[25],具有更高的准确性和敏感性。多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)或选择性反应监测(parallel-reaction monitoring, PRM)模式是靶向脂质组学中主要的定量模式,(超高效)液相串联三重四极杆质谱((ultra performance) liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry, (UPLC) LC-QQQ MS)为靶向脂质组学常用的仪器^[26],其优势在于对生物样品中大多数脂类的分析具有线性范围宽、灵敏度和稳定性高等特点^[27]。在靶向脂质组学分析策略中, MRM 模式可以选择性监测与结构密切相关的前体离子和相应的产物离子,有助于异构体的鉴别。同时,基于 QQQ 的 MRM 模式的高灵敏度特性在低丰度分析物的定量方面具有显著优势^[28],可以被认为是脂质定量的金标准。在 HRMS 上实现的 PRM 模式可以被认为是一种 MRM 的替代技术。PRM 可以在四极杆中选择感兴趣的前体离子,检测生成的特征片段,增加脂质组的覆盖范围^[29-31]。由于 HRMS 高质量的精度和 m/z , PRM 模式可以更准确地识别前体

离子和碎片,消除假阳性,弥补了 MRM 模式的不足。此外, PRM 可以在不预选离子对的情况下收集特定前体离子对应的整个 MS/MS 信息,而不是在实验前提供优化碰撞能量的前体离子-产物离子列表,这使我们有更多的量子离子选择^[21]。但 PRM 扫描速率相对较低,无法同时定量大量脂质分子。拟靶向脂质组学融合了非靶向脂质组学和靶向脂质组学策略,即基于非靶向脂质组学方法的信息,利用靶向技术实现高覆盖率的脂质组学数据采集^[20]。完整的拟靶向脂质组学分析程序包括^[21]:(1)基于 HRMS 的非靶向脂质组学技术分析感兴趣的混合生物基质,进行全扫描或基于 IDA 扫描,以收集丰富的 MS/MS 片段离子;(2)基于非靶向脂质组学分析产生的特征片段离子和对应的母离子定义脂质离子对;(3)利用 QQQ-MS 对构建的脂质离子对进行高覆盖的动态 MRM 分析。综上,非靶向脂质组学策略通过全面的脂质分析,可筛选出的化合物数量最多,并在发现新的差异脂质或脂质类别方面具有优势,非常适合筛选与疾病相关的新型脂质生物标志物,但使用的全扫描分析模式灵敏度较低,背景离子同时也会干扰统计分析^[21]。相比之下,靶向脂质组学适合对少数目标脂质进行分析,优化的 MRM 模式可以提供高灵敏度的定量分析^[32]。而拟靶向策略介于两者之间,结合了非靶向脂质组学和靶向脂质组学的优点,具有灵敏度高、可靠性好、线性范围宽、覆盖率高、数据处理方便等优势^[21]。

2 脂质组学研究的临床样本选择

血浆和血清是从血液中获得两种不同基质^[33-34],由于其易获得性,通常作为临床首选的脂质组学样本来源^[35]。采集血清时采血管含有促凝剂或不含添加剂,血液采集后放置于室温下 30~60 min^[36-38],凝血后离心取上清,储存于-80℃备用。在血浆采集中,应放入含有抗凝剂的采集管中制备,以尽量减少凝血。乙二胺四乙酸 K_2EDTA 是临床常用的抗凝剂,也是目前脂质组学研究中最常用的抗凝剂,其他常见的抗凝血剂包括肝素和枸橼酸钠^[35]。其中, EDTA 与枸橼酸钠可以与钙离子结合成螯合物,从而阻止血液凝固,而肝素主要通过阻止凝血酶形成,而起到抗凝的作用。因此,以钙依赖方式产生或降解的脂类应尽量避免选用 EDTA 与枸橼酸钠抗凝^[39-40]。在整个研究过程中应当使用

相同的抗凝剂,并保证进行比较研究的实验中抗凝剂选用的一致性^[35]。在凝血过程中,细胞外囊泡或血小板、白细胞和红细胞会释放各种脂质和脂质修饰酶,从而影响脂质检测^[35],另一方面,凝血的时间和环境在实际操作过程中常常难以保持一致。因此,从抗凝全血中获得的血浆比血清更适合进行脂质组分析^[34-35,40-42]。

呼出气冷凝液(exhaled breath condensate, EBC)、痰液和支气管肺泡灌洗液等与呼吸疾病高度相关的样品基质也可以用于 CLD 的风险评估^[43]。相比于反应机体全系统状态的血液,这些样本更能体现出肺部的病理变化。呼出气冷凝液、诱导痰液属于非损伤采样,获取方便,缺点在于采集过程容易受到口腔环境污染,且采集的呼出气冷凝液样本来源于整个气道,难以定位变化,而诱导痰液不能短时间重复采样^[44-53]。呼出气冷凝液主要通过定制的收集装置进行采集。受试者用纯净水漱口后进行采样,采样过程中深吸气至肺部充满气体后,通过吹气口均匀呼出,采集到设定体积,并根据呼气时间与采样体积计算平均采集流量。与其他的采样方法相比,通过冷却呼出气体来收集 EBC 操作简单,无创,易于重复,不会引起气道炎症,影响气道功能,使重复采样成为可能,但主要的缺点是唾液污染^[43]。痰液通过诱导方式进行收集,在收集前让受试者吸入 200~400 μg 沙丁胺醇,然后通过雾化高渗盐水,诱导咳出痰,并收集于无菌干燥培养皿中,挑选出黏液部分,使用 0.1% 二硫苏糖醇和磷酸盐缓冲盐水稀释,取上清液,储存在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 环境中^[45]。痰液诱导可能诱发受试者气道炎症反应,并在收集后需要立即处理,因此痰液诱导不能在短时间内重复进行,限制了其在常规临床实践中的使用^[45]。支气管肺泡灌洗液和肺组织的组织特异性最强,最适宜于肺病理标记物的发现研究,但二者均需手术进行采集,采集过程创伤性大,样本获取困难,未来难以实现临床转化^[43,54-57]。

3 脂质组学在 CLD 生物标志物发现中的应用

对于 COPD, Liu 等^[17]选取 5 例健康受试者和 20 例 COPD 不同分级(GOPD I 级~IV 级,每级 5 例)患者血清进行脂质组学研究。首先,使用氯仿-甲醇-水体系提取血清样本中的脂质部分,利用 LC-QQQ MS 对样品进行靶向脂质组学分析。之后,将对照组和 COPD 患者脂质及脂质之间的比值进行比

较,通过统计学分析发现 10 种脂质($P<0.05$, fold change >2)和 10 种脂质比($P<0.001$, fold change >2)在 COPD 患者和健康人之间具有显著差异。进一步的正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)、受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)分析得出,磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)、胆固醇酯(cholesterol ester, CE)、磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)、醚链磷脂酰胆碱(ether-linked phosphatidylcholine, ePC)、溶血磷脂酰胆碱(lyso-phosphatidylcholine, LPC)等脂质类别变化显著,其中 PI(36:6)及 PI(38:4)/C16:1 CE、PI(36:2)/C16:1 CE 等 10 种脂质比可能是诊断 COPD 的潜在生物标志物,其 ROC 曲线下面积(area under curve, AUC)均在 0.9 以上(表 1)。本课题组利用脂质组学分析了 COPD 不同阶段的脂质代谢变化^[25]。首先使用水-甲醇-MTBE 系统从血清中提取出非极性的脂质部分,之后在色谱分析中,采用 C8 反相色谱柱作为固定相,水-乙腈-异丙醇作为流动相。使用超高效液相(Ultimate 3000 UHPLC system)串联质谱(Q-Exactive Orbitrap mass)进行分析。结果发现相较于健康人,稳定期 COPD(stable chronic obstructive pulmonary disease, SCOPD)患者总体脂质水平下降。进一步,较于稳定期, COPD 急性加重期(acute exacerbation of COPD, AECOPD)患者血清中鞘脂在总脂质中的比例增加,而磷脂酰甘油(phosphatidylglycerol, PG)、烷基和烯基取代的磷脂酰乙醇胺(alkyl- and alkenyl-substituted phosphatidylethanolamine, PE-O)、烷基和烯基取代的磷脂酰胆碱(alkyl- and alkenyl-substituted phosphatidylcholine, PC-O)显著降低。鞘脂中神经酰胺类的增加可能与细胞凋亡有关,它可以通过激活 caspase-8、蛋白质磷酸酶-1/2、直接影响线粒体膜通透性等多种机制调节肺内皮细胞的凋亡^[65]。PG 是肺泡表面活性物质的主要组成部分,对气体交换和机体呼吸功能非常重要,它可以参与降低肺泡表面张力,防止肺泡塌陷,维持气道通畅,并参与免疫调节和宿主防御^[25],因此其降低与更严重的肺部损伤相关,而 PE-Os、PC-Os 的水平降低反应了机体氧化应激水平的升高,含醚类甘油磷脂(PE-Os、PC-Os)是细胞膜的重要组成部分,过氧化物酶体参与醚类脂质的合成,过氧化物酶体功能障碍、氧化应激可能使醚类脂质含量降低^[24-25,66]。通过

表 1 慢性肺部疾病生物标志物的主要发现总结

Table 1 Summary of key findings on biomarkers for chronic lung disease

序号 Number	疾病 Disease	生物标志物 Biomarker	参考文献 Reference
1	慢性阻塞性肺疾病 Chronic obstructive pulmonary disease	PI(36;6) (AUC = 0.95)	[17]
		PI(38;4)/C16;1 CE(AUC = 1)	
		PI(36;2)/C16;1 CE(AUC = 0.98)	
		C16;1 CE/C19;0 CE(AUC = 0.98)	
		ePC(38;2)/C16;1 CE(AUC = 0.97)	
		LPC(18;0)/C20;3 CE(AUC = 0.95)	
		LPC(16;1)/C16;1 CE(AUC = 0.94)	
		PC(32;0)/C16;1 CE(AUC = 0.94)	
		PC(34;3)/C16;1 CE(AUC = 0.94)	
		PC(38;1)/C16;1 CE(AUC = 0.94)	
2	稳定期慢性阻塞性肺疾病 Stable COPD 急性加重期 Acute exacerbation of COPD 痰热雍肺证 Phlegm-heat congesting lung 痰湿阻肺证 Phlegm-damp obstructing lung	PC(40;4)/ePC(38;2) (AUC = 0.94)	[25]
		TG、LPE、PE-O、PC、CE、FA、PC-O vs SCOPD;	
		SM、TG、PC、PC-O、DG、PE-O、Cer vs SCOPD;	
		PC-O、TG、CE、DG、LPC、PE-O vs SCOPD;	
		PC-O、DG、LPE、LPC-O、SM、TG、Cer、PG、LPC、SM	
		PE(38;1) (AUC = 0.746);	
		PE(18;1p/22;6) (AUC = 0.731);	
		PE(20;0/18;1) (AUC = 0.71)	
		PI(16;0/20;4) (AUC = 0.723)	
		TG(17;0/18;1/18;1) (AUC = 0.714)	
3	哮喘 Asthma	SM(d18;1/18;1) (AUC = 0.731)	[58]
		Cer(d16;0/27;2) (AUC = 0.69)	
		LPC(22;4) (AUC = 0.689)	
		PG(44;0) (AUC = 0.675)	
		TG(16;0/16;0/18;1) (AUC = 0.661)	
		PA(15;1/20;4) (AUC = 0.9239);	[59]
		PA(15;1/22;2) (AUC = 0.9236);	
		PA(16;1/22;2) (AUC = 0.9370);	
		PA(17;0/22;4) (AUC = 0.8261);	
		PA(17;1/22;2) (AUC = 0.887)	
		LPC(14;1/0;0) (AUC = 0.8688)	
		PC(18;0/22;6) (AUC = 0.8083)	
		PE(18;1/18;2) (AUC = 0.8217)	
		PG(12;0/20;3) (AUC = 0.8457);	
		PG(13;0/0;0) (AUC = 0.9667);	
		PG(19;0/22;0) (AUC = 0.95);	
		PG(19;1/20;0) (AUC = 0.8217);	
		PG(P-18;0/18;4) (AUC = 0.8848)	
		PI(16;0/18;2) (AUC = 0.8087);	
		PI(18;1/18;1) (AUC = 0.8283)	
		PS(18;3/22;4) (AUC = 0.8761)	
		PC(18;1p/18;2) (AUC = 0.687);	
		PC(16;0/18;1) (AUC = 0.685);	
		PC(18;0/22;5) (AUC = 0.677);	
		PC(18;0e/20;4) (AUC = 0.676);	[60]
		PC(18;1p/20;3) (AUC = 0.675);	
		PC(40;4) (AUC = 0.664);	
		PC(32;1 (AUC = 0.655);	
		PC(18;1/22;5) (AUC = 0.641)	

续表1

序号 Number	疾病 Disease	生物标志物 Biomarker	参考文献 Reference
3	哮喘 Asthma	SM(d18:2/24:1) (AUC = 0.923)	[61]
		TG(10:0/18:2/18:2) (AUC = 0.92) ;	
		TG(16:1/16:1/17:1) (AUC = 0.911) ;	
		TG(18:0/18:0/22:6) (AUC = 0.929) ;	
		TG(18:1/18:2/22:5) (AUC = 0.902) ;	
		TG(18:1/18:2/23:1) (AUC = 0.946) ;	
4	重症哮喘 Severe asthma	TG(18:1/18:2/24:1) (AUC = 0.964)	[62]
		PE(47:10) (AUC = 0.928)	
5	阿司匹林加重性呼吸系统疾病 Aspirin exacerbated respiratory disease	PS(40:2) (AUC= 0.923)	[63]
		鞘氨醇-1-磷酸(Sphingosine-1-phosphate) (AUC = 0.705) ;	
6	特发性肺纤维化 Idiopathic pulmonary fibrosis	鞘氨醇(Sphingosine) (AUC = 0.816)	[64]
		StE(16:1) (AUC = 1)	
		(E,E)-3,7,11-Trimethyl-2, 6, 10-dodecatrienyl dodecanoate (AUC = 1)	
		DG(O-16:0/18:1) (AUC = 1)	
		3-Deoxyvitamin D3 (AUC = 1)	
		TG(18:4/20:3/22:0) [iso6] (AUC = 1)	
		DG(18:0/18:2/0:0) [iso2] (AUC = 1)	
		TG(53:7) (AUC = 0.656) ;	
		TG(54:2) (AUC = 0.92) ;	
		TG(14:0/18:0/14:0) (AUC = 0.835) ;	
		TG(16:1(9Z)/18:0/20:0) (AUC = 0.97)	
		PC(36:3) (AUC = 0.94) ;	
		PC(15:0/15:0) (AUC = 0.973)	
		PC(14:0/22:0) (AUC = 0.646) ;	
		PC(15:0/22:0) (AUC = 0.623) ;	
		PC(14:0/22:1(13Z)) (AUC = 0.752) ;	
		PC(14:0/18:1(9Z)) (AUC = 0.661)	

多元统计分析和 ROC 曲线发现,在 TG、PC、PE、脂肪酸(fatty acid,FA)、烷基取代基的溶血磷脂酰胆碱(lyso-phosphatidylcholine with alkyl substituents, LPC-O)、溶血磷脂酰乙醇胺(lyso-phosphatidylethanolamine, LPE)等脂质类别中,15 个脂质分子能够较好区分 SCOPD 与健康人,21 个脂质分子能够较好区分 SCOPD 与 AECOPD,详细结果见表 1。

对于哮喘,Jiang 等^[58]对 28 例健康受试者和 33 例哮喘患者(18 例轻度,15 例中度)的血浆进行了脂质组学分析。首先利用水-冰甲醇-甲基叔丁基醚(methyl-tert-butylether, MTBE)体系提取血浆样本中的脂质部分。之后,基于 UHPLC-Orbitrap MS 对样品进行非靶向脂质组学分析。最后,使用 LipidSearch 软件对正负离子模式下获得的数据进行定性和定量分析。结果表明,磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamine, PE)、鞘磷脂(sphingomyelin, SM)、二酰甘油(diacylglycerol, DG)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)、神经酰胺(ceramide,

Cer)等脂质类别变化显著,其中 PE(38:1)、PE(18:1p/22:6)、SM(d18:1/18:1)等 10 种脂质分子与哮喘密切相关,可能成为区分哮喘患者和健康者的生物标志物。PE(18:1p/22:6)、PE(20:0/18:1)、PE(38:1)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)TG(16:0/16:0/18:1)和 SM(d18:1/18:1)水平变化与疾病严重程度呈正相关。磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)PI(16:0/20:4)、TG(17:0/18:1/18:1)、Cer(d16:0/27:2)、LPC(22:4)、PG(44:0)水平变化与哮喘的严重程度呈负相关,其 AUC 值在 0.6 以上(表 1)。Wang 等^[59]利用非靶向脂质组学策略分析了 20 例健康受试者和 24 例哮喘患者的血浆样本,全面探讨甘油磷脂代谢物与哮喘的关系。该方法用甲醇提取血浆中脂质部分,因此,其结果更关注于中等以上极性的脂质分子。之后使用 Waters XBridge UPLC® BEH T3 和 Amide 色谱柱作为固定相,使用 UHPLC-Q-TOF MS 对脂质进行分离鉴定。最后,通过 PCA、OPLS-DA 对差异脂质进行筛选,通过 Metlin 在线数据库对差异分析代谢物进行

注释,并根据 ROC 分析及临床相关性,得出血浆中磷脂酸 (phosphatidic acid, PA)、磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS)、PG、PE、PC、PI 等脂质水平发生显著改变,其中 PA(15:1/20:4)、PA(15:1/22:2)及 PG(12:0/20:3)等 16 种差异脂质与哮喘的诊断和预后指标有很强的相关性,可作为诊断哮喘的生物标志物。其 AUC 在 0.8 以上,见表 1。阿司匹林加重性呼吸系统疾病 (aspirin exacerbated respiratory disease, AERD) 也被称为阿司匹林敏感性哮喘,以白三烯的产生增强、嗜酸性炎症和气道肥大细胞的活化为特征^[63,67-68]。Trinh 等^[63] 分析了 44 例 AERD 患者和 45 例阿司匹林耐受性哮喘患者 (aspirin-tolerant asthma, ATA) 的血清和尿液样本中的鞘脂类代谢物。首先将血清和尿液用水和甲醇稀释后,使用 20 mmol/L 甲酸铵甲酸水 (甲酸:水=1:1000, v/v) 和 20 mmol/L 甲酸铵甲酸甲醇溶液 (甲酸:甲醇=1:1000, v/v) 作为流动相, ACQUITY UPLC BEH C18 为色谱柱,利用 UHPLC-Q-TOF MS 对样品进行分离、鉴定。之后使用 Mass Hunter Quantitative Analysis 系统对 SIP 和鞘氨醇进行定量及统计分析,结果得出鞘氨醇-1-磷酸 (Sphingosine-1-phosphate, SIP, AUC=0.705)、尿鞘氨醇 (AUC=0.816) 可作为区分 AERD 和 ATA 的潜在生物标志物。鞘氨醇-1-磷酸和鞘氨醇是神经鞘磷脂经过多步酶促反应生成的。鞘氨醇-1-磷酸和鞘氨醇的变化反映了鞘脂代谢改变^[69]。杨梦^[60] 利用非靶向脂质组学技术对 35 例支气管哮喘患者 (哮喘组) 以及 32 例健康对照者血浆进行分析,首先通过水-甲醇-MTBE 体系提取血浆样本中脂质部分,进行 UHPLC-Q-Exactive plus-MS 检测。色谱分析中,选用 ACQUITY UPLC CSH C18 色谱柱为固定相,10 mmol/L 甲酸铵乙腈水溶液 (乙腈:水=6:4, v/v), 10 mmol/L 甲酸铵乙腈异丙醇溶液 (乙腈:异丙醇=1:9, v/v) 为流动相对分析样品进行洗脱,结果表明 PC(18:1p/18:2)、PC(16:0/18:1)、PC(18:0/22:5) 等 8 种 PC 类脂质分子可能作为哮喘的潜在生物标志物,说明 PC 代谢在哮喘发病中可能存在显著变化,其 AUC 在 0.6 以上 (表 1)。李婉芳^[61] 使用 MTBE 提取小鼠过敏性哮喘模型肺组织中脂质,在色谱质谱分析中,使用 ACQUITY UPLC® BEH C18 色谱柱为固定相,10 mmol/L 甲酸铵甲酸水溶液 (甲酸:水=1:1000, v/v)、10 mmol/L 甲酸铵甲酸异丙醇乙腈溶液 (异丙醇:乙腈=2:5, v/v

v, 甲酸:异丙醇乙腈溶液=1:1000) 为流动相, UHPLC-Q-Exactive-Focus-MS 系统对样品进行非靶向分析。结果表明 SM(d18:2/24:1)、TG(10:0/18:2/18:2) 等 7 种脂质分子的 AUC 在 0.9 以上,可能成为哮喘诊断的脂质生物标志物 (表 1)。郑红梅等^[62] 通过脂质组学技术分析重症哮喘与轻中度哮喘儿童的血浆脂质分子差异,寻找重症哮喘潜在的新型血浆生物标志物。该研究使用氯仿-甲醇(2:1, v/v) 提取脂质,之后,以 10 mmol/L 乙酸铵乙腈水溶液 (乙腈:水=6:4, v/v), 10 mmol/L 乙酸铵乙腈异丙醇溶液 (乙腈:异丙醇=1:9, v/v) 为流动相,通过质谱分析检测血浆中脂质分子。多元统计分析筛选显著差异的脂质分子,并利用 ROC 明确显著差异脂质分子对重症哮喘的诊断价值。共筛选出 39 种差异脂质分子,其中 PE(47:10) 和 PS(40:2) 可能是诊断重症哮喘的潜在生物标志物,其 AUC 值分别达到 0.928 和 0.923。

对于 IPF, Yan 等^[10] 在脂质组学研究中使用缓冲液 (25% 乙腈、40% 甲醇和 35% 水) 提取血浆样本中的脂质部分。在色谱分析中,使用 Acquity UPLCTM BEH C18 色谱柱为固定相,10 mmol/L 乙酸铵水溶液、10 mmol/L 乙酸铵乙腈异丙醇溶液 (乙腈:异丙醇=1:1, v/v, 甲酸:乙腈异丙醇溶液=1:1000) 为流动相,利用 UHPLC-Q TOF MS 对预处理的样品进行非靶向分析。结果表明,豆甾醇酯 (stigmasteryl ester, StE) (16:1)、DG(18:0/18:2) 等 6 种脂质分子可能作为未来诊断 IPF 疾病的潜在生物标志物,其 AUC 值等于 1,见表 1。蔡萧君等^[64] 将 1 mL 血清与等体积 3% 磷酸溶液混合,通过 OASIS 固相萃取柱,使用 UHPLC-Q-Exactive MS 在全扫描的模式下对血清中的脂质进行非靶向分析,色谱柱为 ACQUITY UPLC TM C18 柱,甲酸水 (甲酸:水=1:1000, v/v) 和甲酸乙腈溶液 (甲酸:乙腈=1:1000, v/v), 结果得出 TG(53:7)、TG(54:2) 等 11 个脂质分子可能作为未来诊断 IPF 疾病的潜在生物标志物,其中 6 个脂质分子 AUC 在 0.9 以上,具体见表 1。

4 脂质组学用于区分不同 CLD 中医证候的研究

中医证候是指在疾病过程中机体整体的动态、病理反应,包含了疾病的病因、病位、病性,以及机体正气对邪气的相互抗争,是疾病表现于外的具体体现^[70]。中医证候具有多变性、模糊性、复杂性等

特点,因此,用现代医学概念理解中医证候困难极大,为客观量化标准、说明中医证候特点提出了挑战。在一些研究中,脂质组学也被应用于诊断 CLD 中的不同中医症候。脂质组学可以分析出某些特异性的脂质生物标记物与部分“证”之间的关系^[70-71],揭示证本质的生物标志物^[72]。如 COPD 急性加重期以实为主,常见风寒袭肺、外寒内饮、痰热壅肺、痰湿阻肺、痰蒙神窍等证,稳定期以虚为主,常见肺气虚、肺脾气虚、肺肾气虚、肺肾气阴两虚等证^[73]。本课题组通过脂质组学技术对脂质在 COPD 证候中的影响进行探索研究,分析发现 AECOPD 痰热壅肺证和痰湿阻肺证患者体内脂质代谢差异,并确定了 6 类痰热壅肺证、10 类痰湿阻肺证特异性生物标志物^[25]。因此,可以借鉴脂质组学对中医证候研究的成功方法,开展其他 CLD 证候疾病模式下的脂质组学研究,形成中医证候脂质组学研究方法^[74],阐明 CLD 中证候的脂质代谢轮廓差异,寻找不同证型的物质基础,可以为中医 CLD 的证候客观化、量化、证本质研究提供依据^[75]。但目前脂质组学对中医证候的研究还处于探索阶段,缺乏大规模的实验研究和临床验证。

5 结论和展望

脂质代谢在结构和信号转导方面具有重要生物学意义,其作为生物标记物用于 CLD 的诊断和药物疗效评价的可能也已被广泛研究。脂质组学能够全面地表征系统的脂质代谢扰动,可以作为脂质生物标记物发现的主要技术手段。目前,通过脂质组学技术已经证实一些氧化脂肪酸、鞘磷脂等与 CLD 的发生发展相关,但是距离应用于临床诊断还有许多问题需要解决,如目前的 CLD 相关临床脂质组学研究样本量较小,缺乏多中心研究验证和标准化实验流程及临床评估体系,也需要将脂质组学数据与多组学研究相结合,系统的分析疾病过程,以期得到更具临床转化价值的生物标记物(组合)。同时,在未来的研究中,仍需要基于差异的脂质代谢酶设计酶联免疫试剂盒,或者靶向某些脂质标记物分子建立方法进行质谱的快速监测,以实现基于脂质生物标记物的 CLD 临床诊断。

参考文献:

[1] WANG C, XU J, YANG L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health[CPH] study): a national cross-sectional study

[J]. *Lancet*, 2018, 391(10131): 1706-1717.

[2] 李静, 张利英, 雍文兴, 等. 慢性阻塞性肺疾病啮齿类动物模型与评估方法的研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2022, 30(5): 692-697.

LI J, ZHANG L Y, YONG W X, et al. Progress in the evaluation for chronic obstructive pulmonary disease using a rodent model [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2022, 30(5): 692-697.

[3] VOGELMEIER C F, CRINER G J, MARTINEZ F J, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report. GOLD executive summary [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 195(5): 557-582.

[4] MANNINO D M, GAGNON R C, PETTY T L, et al. Obstructive lung disease and low lung function in adults in the United States: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994 [J]. *Arch Intern Med*, 2000, 160(11): 1683-1689.

[5] JOHNS D P, WALTERS J A, WALTERS E H. Diagnosis and early detection of COPD using spirometry [J]. *J Thorac Dis*, 2014, 6(11): 1557-1569.

[6] BATEMAN E D, HURD S S, BARNES P J, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary [J]. *Eur Respir J*, 2008, 31(1): 143-178.

[7] ALMESHARI M A, STOCKLEY J, SAPEY E. The diagnosis of asthma. Can physiological tests of small airways function help? [J]. *Chron Respir Dis*, 2021, 18: 14799731211053332.

[8] 代先慧, 郝月琴. 支气管哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠、哮喘、慢性阻塞性肺疾病临床特征的对比研究 [J]. *临床肺科杂志*, 2018, 23(7): 1306-1310.

DAI X H, HAO Y Q. Comparative study of clinical features of ACO, asthma and COPD [J]. *J Clin Pulm Med*, 2018, 23(7): 1306-1310.

[9] 程梦真, 顾宇彤, 宋元林. 支气管哮喘-慢性阻塞性肺疾病重叠的治疗现状 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2019, 5(12): 958-960.

CHENG M Z, GU Y T, SONG Y L. Current status of treatment of bronchial asthma-COPD overlap [J]. *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2019, 5(12): 958-960.

[10] YAN F, WEN Z, WANG R, et al. Identification of the lipid biomarkers from plasma in idiopathic pulmonary fibrosis by Lipidomics [J]. *BMC Pulm Med*, 2017, 17(1): 174.

[11] KANG Y P, LEE S B, LEE J M, et al. Metabolic profiling regarding pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *J Proteome Res*, 2016, 15(5): 1717-1724.

[12] 杨红娇, 董昭兴, 王颖. 特发性肺纤维化生物标志物的研究进展 [J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2019, 18(2): 204-208.

YANG H J, DONG Z X, WANG Y. Research progress in the biomarkers for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Chin J Respir Crit Care Med*, 2019, 18(2): 204-208.

[13] 马磊. HRCT 对特发性肺间质纤维化的鉴别诊断价值临床研究

- 究 [J]. 罕少疾病杂志, 2019, 26(2): 41–42, 45.
- MA L. Clinical study of differential diagnosis value of HRCT on idiopathic pulmonary interstitial fibrosis [J]. J Rare Uncommon Dis, 2019, 26(2): 41–42, 45.
- [14] 范宇斌, 何荣伶, 邹丽君, 等. 生物标志物在特发性肺纤维化中的临床价值 [J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(7): 1062–1065.
- FAN Y B, HE R L, ZOU L J, et al. Clinical value of biomarkers in diagnosis and treatment of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. J South Med Univ, 2020, 40(7): 1062–1065.
- [15] STOCKLEY R A, HALPIN D M G, CELLI B R, et al. Chronic obstructive pulmonary disease biomarkers and their interpretation [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 199(10): 1195–1204.
- [16] DENNIS E A. Lipidomics joins the omics evolution [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(7): 2089–2090.
- [17] LIU D, MEISTER M, ZHANG S, et al. Identification of lipid biomarker from serum in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Respir Res, 2020, 21(1): 242.
- [18] LIU X, XU G. Recent advances in using mass spectrometry for mitochondrial metabolomics and lipidomics-A review [J]. Anal Chim Acta, 2018, 1037: 3–12.
- [19] LEE C W, LEE D, LEE E M, et al. Lipidomic profiles disturbed by the Internet gaming disorder in young Korean males [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2019, 1114/1115: 119–124.
- [20] EUM J Y, LEE G B, YI S S, et al. Lipid alterations in the skeletal muscle tissues of mice after weight regain by feeding a high-fat diet using nanoflow ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2020, 1141: 122022.
- [21] XU T, HU C, XUAN Q, et al. Recent advances in analytical strategies for mass spectrometry-based lipidomics [J]. Anal Chim Acta, 2020, 1137: 156–169.
- [22] ZHOU J, YIN Y. Strategies for large-scale targeted metabolomics quantification by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Analyst, 2016, 141(23): 6362–6373.
- [23] ZHU X, CHEN Y, SUBRAMANIAN R. Comparison of information-dependent acquisition, SWATH, and MS (All) techniques in metabolite identification study employing ultrahigh-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2014, 86(2): 1202–1209.
- [24] SCHLOTTERBECK J, CHATTERJEE M, GAWAZ M, et al. Comprehensive MS/MS profiling by UHPLC-ESI-QTOF-MS/MS using SWATH data-independent acquisition for the study of platelet lipidomes in coronary artery disease [J]. Anal Chim Acta, 2019, 1046: 1–15.
- [25] LIU X, ZHANG H, SI Y, et al. High-coverage lipidomics analysis reveals biomarkers for diagnosis of acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2022, 1201/1202: 123278.
- [26] RAINVILLE P D, STUMPF C L, SHOCKCOR J P, et al. Novel application of reversed-phase UPLC-oeTOF-MS for lipid analysis in complex biological mixtures: a new tool for lipidomics [J]. J Proteome Res, 2007, 6(2): 552–558.
- [27] MASSEY K A, NICOLAOU A. Lipidomics of oxidized polyunsaturated fatty acids [J]. Free Radic Biol Med, 2013, 59(100): 45–55.
- [28] WANG Y, ARMANDO A M, QUEHENBERGER O, et al. Comprehensive ultra-performance liquid chromatographic separation and mass spectrometric analysis of eicosanoid metabolites in human samples [J]. J Chromatogr A, 2014, 1359: 60–69.
- [29] GALLIEN S, BOURMAUD A, KIM S Y, et al. Technical considerations for large-scale parallel reaction monitoring analysis [J]. J Proteomics, 2014, 100: 147–159.
- [30] BOURMAUD A, GALLIEN S, DOMON B. Parallel reaction monitoring using quadrupole-Orbitrap mass spectrometer: Principle and applications [J]. Proteomics, 2016, 16(15/16): 2146–2159.
- [31] TAGUE E D, WOODALL B M, HARP J R, et al. Expanding lipidomics coverage: effective ultra performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometer methods for detection and quantitation of cardiolipin, phosphatidylglycerol, and lysyl-phosphatidylglycerol [J]. Metabolomics, 2019, 15(4): 53.
- [32] NAVAS-IGLESIAS N, CARRASCO-PANCORBO A, CUADROS-RODRÍGUEZ L. From lipids analysis towards lipidomics, a new challenge for the analytical chemistry of the 21st century. Part II: Analytical lipidomics [J]. Trends Anal Chem, 2008, 28(4): 393–403.
- [33] YU Z, KASTENMÜLLER G, HE Y, et al. Differences between human plasma and serum metabolite profiles [J]. PLoS One, 2011, 6(7): e21230.
- [34] LIU X, HOENE M, WANG X, et al. Serum or plasma, what is the difference? Investigations to facilitate the sample material selection decision making process for metabolomics studies and beyond [J]. Anal Chim Acta, 2018, 1037: 293–300.
- [35] BURLA B, ARITA M, ARITA M, et al. MS-based lipidomics of human blood plasma: a community-initiated position paper to develop accepted guidelines [J]. J Lipid Res, 2018, 59(10): 2001–2017.
- [36] BOWDEN J A, HECKERT A, ULMER C Z, et al. Harmonizing lipidomics: NIST interlaboratory comparison exercise for lipidomics using SRM 1950-Metabolites in Frozen Human Plasma [J]. J Lipid Res, 2017, 58(12): 2275–2288.
- [37] BEGUM H, LI B, SHUI G, et al. Discovering and validating between-subject variations in plasma lipids in healthy subjects [J]. Sci Rep, 2016, 6: 19139.
- [38] SAW W Y, TANTOSO E, BEGUM H, et al. Establishing multiple omics baselines for three Southeast Asian populations in the Singapore Integrative Omics Study [J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 653.
- [39] HAMMOND V J, O'DONNELL V B. Esterified eicosanoids:

- generation, characterization and function [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818(10): 2403–2412.
- [40] DOROW J, BECKER S, KORTZ L, et al. Preanalytical investigation of polyunsaturated fatty acids and eicosanoids in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Biopreserv Biobank*, 2016, 14(2): 107–113.
- [41] ONO Y, KURANO M, OHKAWA R, et al. Sphingosine 1-phosphate release from platelets during clot formation: close correlation between platelet count and serum sphingosine 1-phosphate concentration [J]. *Lipids Health Dis*, 2013, 12: 20.
- [42] COLAS R A, SHINOHARA M, DALLI J, et al. Identification and signature profiles for pro-resolving and inflammatory lipid mediators in human tissue [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2014, 307(1): C39–C54.
- [43] WHEELOCK C E, GOSS V M, BALGOMA D, et al. Application of omics technologies to biomarker discovery in inflammatory lung diseases [J]. *Eur Respir J*, 2013, 42(3): 802–825.
- [44] WARD R, WOLTMANN G, WARDLAW A J, et al. Between-observer repeatability of sputum differential cell counts. Influence of cell viability and squamous cell contamination [J]. *Clin Exp Allergy*, 1999, 29(2): 248–252.
- [45] PIZZICHINI E, PIZZICHINI M M, EFTHIMIADIS A, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996, 154(2 Pt 1): 308–317.
- [46] VLACHOS-MAYER H, LEIGH R, SHARON R F, et al. Success and safety of sputum induction in the clinical setting [J]. *Eur Respir J*, 2000, 16(5): 997–1000.
- [47] FAHY J V, BOUSHEY H A, LAZARUS S C, et al. Safety and reproducibility of sputum induction in asthmatic subjects in a multicenter study [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163(6): 1470–1475.
- [48] WARK P A, SIMPSON J L, HENSLEY M J, et al. Safety of sputum induction with isotonic saline in adults with acute severe asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 2001, 31(11): 1745–1753.
- [49] DJUKANOVIĆ R, STERK P J, FAHY J V, et al. Standardised methodology of sputum induction and processing [J]. *Eur Respir J Suppl*, 2002, 37: 1s–2s.
- [50] SIMPSON J L, WOOD L G, GIBSON P G. Inflammatory mediators in exhaled breath, induced sputum and saliva [J]. *Clin Exp Allergy*, 2005, 35(9): 1180–1185.
- [51] KHARITONOV S A, BARNES P J. Exhaled markers of pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 163(7): 1693–1722.
- [52] KHARITONOV S A, BARNES P J. Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath [J]. *Biomarkers*, 2002, 7(1): 1–32.
- [53] LUNDSTRÖM S L, BALGOMA D, WHEELOCK Å M, et al. Lipid mediator profiling in pulmonary disease [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2011, 12(7): 1026–1052.
- [54] KELLY C A, KOTRE C J, WARD C, et al. Anatomical distribution of bronchoalveolar lavage fluid as assessed by digital subtraction radiography [J]. *Thorax*, 1987, 42(8): 624–628.
- [55] HASLAM P L, BAUGHMAN R P. Report of ERS Task Force: guidelines for measurement of acellular components and standardization of BAL [J]. *Eur Respir J*, 1999, 14(2): 245–248.
- [56] BARNES P J, CHOWDHURY B, KHARITONOV S A, et al. Pulmonary biomarkers in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174(1): 6–14.
- [57] SERBAN K A, PRATTE K A, BOWLER R P. Protein biomarkers for COPD outcomes [J]. *Chest*, 2021, 159(6): 2244–2253.
- [58] JIANG T, DAI L, LI P, et al. Lipid metabolism and identification of biomarkers in asthma by lipidomic analysis [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2021, 1866(2): 158853.
- [59] WANG S, TANG K, LU Y, et al. Revealing the role of glycerophospholipid metabolism in asthma through plasma lipidomics [J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 513: 34–42.
- [60] 杨梦. 基于脂质组学方法的哮喘脂质生物标志物筛选 [D]. 郑州: 郑州大学, 2019.
- YANG M. Screening of asthma lipid biomarkers based on lipidomics [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2019.
- [61] 李婉芳. 卵清白蛋白诱导的 BALB/c 小鼠哮喘模型肺组织脂质组学分析 [D]. 郑州: 郑州大学, 2019.
- LI W F. Lipomics analysis of lung tissue in BALB/c mouse asthma model induced by ovalbumin [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2019.
- [62] 郑红梅, 温亚锦, 韩晓, 等. 重症哮喘儿童血浆脂质代谢特征与潜在生物标志物研究 [J]. *复旦学报(医学版)*, 2023, 50(5): 683–691.
- ZHENG H M, WEN Y J, HAN X, et al. Characterization of plasma lipidomics and potential biomarkers in children with severe asthma [J]. *Fudan Univ J Med Sci*, 2023, 50(5): 683–691.
- [63] TRINH H K, KIM S C, CHO K, et al. Exploration of the sphingolipid metabolite, Sphingosine-1-phosphate and sphingosine, as novel biomarkers for Aspirin-exacerbated respiratory disease [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36599.
- [64] 蔡萧君, 江柏华, 刘松, 等. 基于脂质组学技术探讨丹贝益肺方对特发性纤维化大鼠的作用机制 [J]. *中国医院用药评价与分析*, 2022, 22(10): 1175–1180.
- CAI X J, JIANG B H, LIU S, et al. Mechanism of Danbei yifei decoction on idiopathic pulmonary fibrosis rats based on lipidomic technology [J]. *Eval Anal Drug Use Hosp China*, 2022, 22(10): 1175–1180.
- [65] PETRACHE I, PETRUSCA D N, BOWLER R P, et al. Involvement of ceramide in cell death responses in the pulmonary circulation [J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2011, 8(6): 492–496.
- [66] ENGELMANN B. Plasmalogens: targets for oxidants and major lipophilic antioxidants [J]. *Biochem Soc Trans*, 2004, 32(Pt

- 1): 147-150.
- [67] LIU T, KANAOKA Y, BARRETT N A, et al. Aspirin-exacerbated respiratory disease involves a cysteinyl leukotriene-driven IL-33-mediated mast cell activation pathway [J]. J Immunol, 2015, 195(8): 3537-3545.
- [68] LAIDLAW T M, BOYCE J A. Aspirin-exacerbated respiratory disease—new prime suspects [J]. N Engl J Med, 2016, 374(5): 484-488.
- [69] 汤喜兰, 徐国良, 董伟, 等. 异丙肾上腺素诱导心脏肥大大鼠的血清代谢组学研究 [J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(4): 486-493.
TANG X L, XU G L, DONG W, et al. Serum metabolomics study of cardiac hypertrophy in an isoproterenol-induced rat model [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(4): 486-493.
- [70] 董振飞, 陈宇, 任健, 等. 多囊卵巢综合征中医“证”的组学研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(3): 1018-1020.
DONG Z F, CHEN Y, REN J, et al. Research progress on the omics of traditional Chinese medicine syndrome of polycystic ovarian syndrome [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(3): 1018-1020.
- [71] 董宇, 胡元会, 何健, 等. 脂质组学在心脑血管疾病研究中的应用及对中医药研究的启示 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24(6): 2487-2494.
DONG Y, HU Y H, HE J, et al. Application of lipidomics in the study of cardiovascular and cerebrovascular diseases and its enlightenment to the research of traditional Chinese medicine [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2022, 24(6): 2487-2494.
- [72] 李思汉, 黄铭涵, 林平. 中医状态与脂质组学相关性探讨 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(1): 129-131.
LI S H, HUANG M H, LIN P. Discussion on the relationship between traditional Chinese medicine state and lipidomics [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 34(1): 129-131.
- [73] 李建生, 李素云, 余学庆. 慢性阻塞性肺疾病中医诊疗指南(2011 版) [J]. 中医杂志, 2012, 58(1): 80-84.
LI J S, LI S Y, YU X Q. Guidelines on chinese medicine for chronic obstructive pulmonary disease (2011 Edition) [J]. J Tradit Chin Med, 2012, 58(1): 80-84.
- [74] 刘思美, 强喆, 吴思澜, 等. 痰湿阻肺型 COPD 大鼠模型的构建及代谢组学分析 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 51-63.
LIU S M, QIANG Z, WU S L, et al. Establishment and metabolomics analysis of a rat model of chronic obstructive pulmonary disease with phlegm-dampness syndrome [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(1): 51-63.
- [75] 朱黎霞. 基于比较脂质组学探讨冠心病中医证候的研究思路 [J]. 中医杂志, 2014, 55(8): 650-653.
ZHU L X. Research ideas of TCM syndroms of coronary heart disease based on comparative lipidomics [J]. J Tradit Chin Med, 2014, 55(8): 650-653.

[收稿日期]2023-07-09