

# 代谢组学在药物毒理学中的应用

黄 瑛 (上海市中医药科技产业促进中心,上海 201203)

**摘要** 代谢组学是利用多元统计分析方法对特定条件下的某个生物系统(细胞,组织,器官)的所有代谢产物进行研究从而探索特异性的生物标志物和代谢途径的新兴学科。本文就代谢组学在药物毒理学中的应用进行了简要评述,并对现阶段代谢组学在药物毒理学研究中存在的问题和发展趋势进行了探讨。

**关键词** 代谢组学;药物毒理学

**中图分类号**: R99      **文献标识码**: A      **文章编号**: 1006 - 0111(2009)03 - 0165 - 03

药物毒理学是研究药物对机体有害作用的一门学科,它一方面探讨药物对机体的损伤作用,阐明药物分子结构与其毒性作用之间的关系;另一方面它研究药物在体内的吸收、分布、代谢、排泄的过程和规律,阐述机体防御体系对药物毒性作用的影响。传统的药物毒理学研究为人类提供了重要的以剂量效应关系为中心的数据库,为药物的毒性评价和药物对人类危险度的量化评估提供了一定依据。即便如此,传统的毒理学研究依然存在许多不足,使得毒理学研究进展缓慢。随着药物研发水平的提高,外源化合物也日渐增多,传统的毒性筛选方法已不能满足当前药物毒理学研究的需求。

进入本世纪以来,以整体性、系统性为标志的系统生物学得到了迅速发展,为生物学研究指出了一个新的方向。代谢组学作为系统生物学的重要组成部分是 20 世纪 90 年代中期继基因组学和蛋白质组学之后发展起来的一门新兴学科,主要应用核磁共振<sup>[1-5]</sup>和质谱技术<sup>[6]</sup>进行代谢产物的检测、分析与鉴定工作。代谢组学通过对生物样本中所有代谢物的分析得到的是能够反映生物体功能活动状况或基因表型的代谢物模式,并具有广泛的应用领域。近年来,人们进一步尝试利用代谢组学进行药物毒理学的研究,发现代谢组学能够快速、有效地分析多条代谢通路,帮助定位靶组织及判定毒副作用程度,寻找出相应的生物学标志物,大大缩短了药物毒性研究的周期<sup>[7]</sup>。本世纪以来,代谢组学的飞速发展和其应用领域的不断扩展,为毒理学发展提供了新的研究理念。本文主要从代谢物水平上来阐述药物毒理学研究,即代谢组学在药物毒理学研究中的应用。

## 1 药物毒性作用机制的研究

药物毒理学的首要任务之一是研究药物的毒性作用机制。传统的药物毒理学将药物暴露与药物引起的各种损伤终点直接联系起来进行研究,所以对于药物损伤机制信息的了解极其有限。现代生物学研究表明,大多数病理过程是在基因调控下进行的(迅速坏死除外)。药物往往会直接或间接地引起基因表达的改变,特定基因表达的差异在代谢物水平上被进一步放大,可以说,代谢物的变化与药物的毒性作用密切相关。代谢组学是利用高通量检测技术在代谢物的整体水平上检测机体在药物暴露后的各种生理生化指标,这些指标几乎涵盖整个损伤发生的所有的环节,再结合传统的病理学终点,可以对药物的毒性作用机制进行深入的了解<sup>[8]</sup>。

William s 等利用 HPLC-MS 研究 D 丝氨酸给药大鼠的尿液,发现色氨酸本身浓度升高而其代谢物含量下降,得出丝氨酸毒性损伤与抑制色氨酸分解代谢有关。后来,William s 在研究中发现同时给与一定剂量安息香酸钠盐能抑制 D 丝氨酸引起的尿液代谢轮廓的紊乱<sup>[9]</sup>。安息香酸钠盐是肾脏毛细血管上皮细胞 D 氨基酸氧化酶的竞争性抑制剂<sup>[10,11]</sup>,据此推断出 D 氨基酸氧化酶在 D 丝氨酸毒理机制中的作用。Slim 等利用 NMR 研究磷酸二酯酶抑制剂 CF1081 形成的血管损伤与炎症反应的关系时,发现 CF1081 组和 (CF1081 + 抗炎药) 组的谱图并未分开,得出 CF1081 引起的尿代谢组图谱改变是血管损伤造成的,而不是继发的炎症反应<sup>[12]</sup>。Liao 等利用 NMR 技术,并结合基因组学和蛋白质组学技术,对异烟肼和利福平联合作用所致肝毒性进行了研究,发现两药联用比单一用药毒性增加的原因不仅与过氧化反应增加有关,而且还与利福平增加细胞色素 P<sub>450</sub> 和 P<sub>450</sub> 2E1 活力有关<sup>[13]</sup>。

## 2 药物安全性评价

代谢组学通过高通量组学技术在短时间内就可

以筛选出许多药物作用后特征性表达的代谢物群。这些代谢物很可能代表着药物毒性作用的物质靶标、机能损伤的执行分子以及药物损伤作用的最终产物,更重要的是,这些特征性代谢物的出现一般要远远早于传统的病理学终点,再利用特定的靶向技术,如实时定量 PCR、抗体分析技术和质谱色谱等,可以很快地发现并确定药物毒性作用的生物标记物。这些标志物可以作为药物对人类健康危害的科学依据用于药物安全性评价,进一步预测药物对人体健康的危害程度。目前,代谢组学已经作为一种独立的技术被广泛地应用于药物的安全性评价。

Soga等应用 CE-TOFMS研究对乙酰氨基酚给药小鼠血清代谢谱时发现,在给药 1 h后血清 ophthalmate水平上升了近 5 倍,而此时肝谷胱甘肽(GSH)水平明显降低,两者的变化趋势相反。谷胱甘肽是细胞内普遍存在的抗氧化剂,可以保护线粒体免受内源性氧化作用损伤,一旦缺失,可导致细胞快速死亡。谷胱甘肽水平与细胞的氧化-还原状态密切相关,因而血清 ophthalmate可以作为氧化应激反应的生物标志物<sup>[14]</sup>。

毒物代谢组联盟(Consortium for Metabonomic Toxicology, COMET)计划在研究化合物毒性评价方面最具代表性,他们对多种化合物进行了研究,如:具有肾皮质毒性的氯化汞、2氨基苯酚等;具有肾髓质毒性的丙烯亚胺等;具有肝毒性的胍类、丙烯醇、四氯化碳等;具有睾丸毒性的氯化镉等。同时建立了以 NMR 技术为基础的代谢组学平台和能够对化合物毒性效应进行预测的专家系统,用于新药的临床前评价<sup>[15,16]</sup>。另外, Bollard 等利用 NMR 技术,监测到胍引发损伤的起始、进展、反应最大的时间点及恢复过程,并预测出胍毒性作用的靶器官<sup>[17]</sup>。目前,美国食品与药品管理局(FDA)已经接受代谢组学研究的结果作为新药申报和注册的重要参考指标<sup>[18]</sup>。

### 3 中药毒理学的研究

中药成分复杂,具有多靶点交互作用的特点,在毒性的发生上难以用单一器官或组织的毒性反应进行评价。代谢组学研究的对象是能够反映机体的各种细胞、组织和器官功能变化的终端代谢产物。根据代谢物的变化评价中药的毒性反应,既简便快速,又能从代谢物的角度解释中药毒性的作用机制,进而开辟了中药毒理学研究的新思路。

Li等利用 NMR 技术研究中药制品黑顺片的毒理效应时,通过分析不同剂量下小鼠尿液代谢图谱的改变,发现三个给药组(88.1 g/kg·d、35.6 g/kg·d、

17.6 g/kg·d)尿液中的牛磺酸和 N 三甲胺氧化物与对照组相比明显减少,而柠檬酸盐、戊酮异二酸、琥珀酸盐和马尿酸盐的含量相对增加。同时发现,这些代谢物在低剂量组的变化程度不如高剂量组明显,经过多次给药后,这些代谢物在低剂量组也发生了明显的变化,这说明黑顺片的毒性效应具有剂量依赖性和积累效应<sup>[19]</sup>。赵剑宇等人利用 NMR 技术研究了中药关木通毒性引起的大鼠尿液代谢图谱的改变和靶器官损伤。实验分为 3 个剂量组(36 g/kg·d、32 g/kg·d、28 g/kg·d),连续 6 d 对雄性 wistar 大鼠进行灌胃给药,收集给药后 12 h 的尿样。发现大鼠尿样中氧化三甲胺、牛磺酸的含量迅速下降,柠檬酸、肌酐、2 酮戊二酸等代谢物也均有不同程度的下降;乙酸、丙氨酸则显著上升。其中,乙酸、丙氨酸的显著上升表明动物出现了肾小管坏死,与以前报道的肾脏病理和血浆生化改变相一致<sup>[20]</sup>。

### 4 展望

代谢组学近年来迅速崛起,给研究者们带来了新的研究理念,成为了新生代的宠儿。它可以帮助人们更好地了解生物系统在生理因素和环境因素影响下的应答反应,从而有助于药物的研发和药物作用机理的研究。但生物体是一个极其复杂的系统,任何一个学科都不可能囊括机体的各个方面,只有将各个学科的研究内容整合起来才能全面、系统地阐明药物复杂的毒性效应。发挥出自己的优势,并与其他相关学科相互结合,将是代谢组学不断发展的正确理念。

### 参考文献:

- [1] Raamsdonk LM, Teusink B, Broadhurst D, *et al* A functional genomics strategy that uses metabolome data to reveal the phenotype of silent mutations[J]. *Nat Biotech*, 2001, 19(1): 45.
- [2] Anthony ML, Sweatman BC, Beddell CR, *et al* Pattern recognition classification of the site of nephrotoxicity based on metabolic data derived from proton nuclear magnetic resonance spectra of urine[J]. *Mol Pharmacol*, 1994, 46: 199.
- [3] Holmes E, Nicholson JK, Nicholls AW, *et al* The identification of novel biomarkers of renal toxicity using automatic data reduction techniques and PCA of proton NMR spectra of urine[J]. *Chemom Intell Lab Syst*, 1998, 44: 245.
- [4] Beckonert O, Monnerjahn J, Bonk U, *et al* Visualizing metabolic changes in breast-cancer tissue using <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy and self-organizing maps[J]. *NMR Biomed*, 2003, 16: 1.
- [5] Martinez I, Bathen T, Standal B, Halvorsen J, *et al* Use of selective TOCSY NMR experiments for quantifying minor components in complex mixtures: Application to the metabonomics of amino acids in honey [J]. *Anal Chem*, 2005, 77: 2455.

- transcription factor HIF-1 : critical regulation of inflammatory cell function[J]. *Cell cycle*, 2003, 2(3): 192
- [2] Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, *et al* HIF-1 alpha is essential for myeloid cell - mediated inflammation [J]. *Cell*, 2003, 112(5): 645.
- [3] Dichtl W, Dulak J, Frick M. *et al* HMG-CoA reductase inhibitors regulate inflammatory Transcription factors in human endothelial and vascular smooth muscle cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(1): 58.
- [4] Wilson SH, Herrmann J, Lemman LO, *et al* Simvastatin preserves the structure of coronary adventitial vasa vasorum in experimental hypercholesterolemia independent of lipid lowering [J]. *Circulation*, 2002, 105(4): 415.
- [5] Steinberg, D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(34): 20963.
- [6] Semenza GL, Agani F, Feldser D, *et al* Hypoxia, HIF-1, and the pathophysiology common human diseases[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2000, 475: 123.
- [7] Bjornheden T, Levin M, Ewaldsson M. Evidence of hypoxic areas within the arterial wall in vivo[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999, 19(4): 870.
- [8] Shatrov VA, Sumbayev VV, Zhou J, *et al* Oxidized low-density lipoprotein (oxLDL) triggers hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 alpha) accumulation via redox-dependent mechanisms [J]. *Blood*, 2003, 101(12): 4847.
- [9] Jiang G, Li T, Qiu Y, *et al* RNA interference for HIF-1 inhibits foam cells formation in vitro[J]. *Eur J Pharm*, 2007, 562(3): 183.
- [10] Ridker PM. Inflammatory biomarkers, statins, and the risk of stroke: cracking a clinical conundrum [J]. *Circulation*, 2002, 105(22): 2583.
- [11] 杨胜利, 薛爱英, 刘惠亮. 他汀类药物抗炎作用研究进展[J]. *心血管康复医学杂志*, 2006, 15(4): 409.

收稿日期: 2008-06-03

## (上接第 166页)

- [6] Fiehn O, Kopka J, Dormann P, *et al* Metabolite profiling for plant functional genomics [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(11): 1157.
- [7] Robosky LC, Robertson DG, Baker JD, *et al* In vivo toxicity screening programs using metabolomics [J]. *Comb Chem High Throughout Screen*, 2002, 5(8): 651.
- [8] Heijne WH, Kienhuis AS, van Ommen B, *et al* Systems toxicology: Applications of toxicogenomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics in toxicology [J]. *Expert Rev Proteomics*, 2005, 2: 767.
- [9] Williams RE, Lock EA. Sodium benzoate attenuates d - serine induced nephrotoxicity in the rat[J]. *Toxicology*, 2005, 207(1): 35.
- [10] D Silva C, Williams CH, Massey V. Electrophilic amination of a single methionine residue located at the active site of d-amino acid oxidase by O - (2, 4 - dinitrophenyl) hydroxylamine [J]. *Biochemistry*, 1986, 25(19): 5602.
- [11] Pibne MS d - Amino acid oxidase: new findings[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57(12): 1732.
- [12] Slim RM, Robertson DG, Ajbassam M, *et al* Effect of dexamethasone on the metabolomics profile associated with phosphodiesterase inhibitor - induced vascular lesions in rats[J]. *Toxicol Appl Res*, 2003, 183(2): 108.
- [13] 彭双清, 廖艳, 颜贤忠. 药物毒性作用机制的代谢组学研究 [J]. *毒理学杂志*, 2005, 19(3): 175.
- [14] Soga T, Baran R, Suenatsu M, *et al* Differential metabolomics reveals ophthalmic acid as an oxidative stress biomarker indicating hepatic glutathione consumption[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(24): 167.
- [15] Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E, *et al* Contemporary issues in toxicology the role of metabolomics in toxicology and its evaluation by the COMET project [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2003, 187(3): 137.
- [16] Lindon JC, Keun HC, Ebbels TMM, *et al* The Consortium for Metabonomic Toxicology (COMET): aims, activities and achievements [J]. *Pharmacogenomics*, 2005, 6(7): 691.
- [17] Bollard AW, Keun HC, Beckonert O, *et al* Comparative metabolomics of differential hydrazine toxicity in the rat and mouse [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2005, 204: 135.
- [18] Raamsdonk LM, Teusink B, Broadhurst D, *et al* A functional genomics strategy that uses metabolome data to reveal the phenotype of silent mutations[J]. *Nat Biotechnol*, 2001, 19: 45.
- [19] Li L, Sun B, Yan XZH, *et al* Metabonomics study on the toxicity of Hei-Shun-Pian, the processed lateral root of *Aconitum camichaelii* Debx (Ranunculaceae) [J]. *J Ethnopharmacology*, 2008, 110: 1.
- [20] 赵剑宇, 颜贤忠, 彭双清. 关木通肾毒性的代谢组学研究 [J]. *中草药*, 2006, 37(5): 725.

收稿日期: 2009-02-23