

蛋白质组学在医学研究中的应用与进展

李玉香, 戎浩, 胡群英, 李文华(西藏民族大学医学部, 西藏民族大学医学院生命科学基础实验室, 陕西省咸阳市 712082)

引用本文: 李玉香, 戎浩, 胡群英, 李文华. 蛋白质组学在医学研究中的应用与进展[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(33):4985-4992.

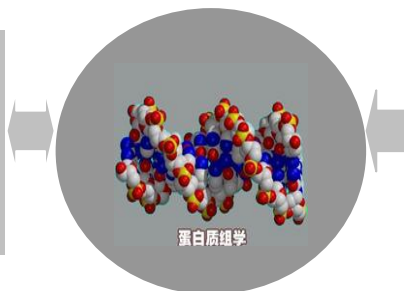
DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.33.017

ORCID: 0000-0002-4191-2271(李玉香)

文章快速阅读:

蛋白质组学在高原医学中的研究与应用

目前国内外蛋白质组学系列研究产生的数据将精确表达各种病理状态下蛋白质组的变化及其机制, 构建基于人类蛋白质组的生理图谱和病理图谱, 将揭示许多新的治疗靶点, 新的诊断标志物和新的药物, 为整体提升防治疾病水平提供新策略新手段。



蛋白质组学已经成为国内外的前沿和热点研究领域, 包括组织、细胞或生物体所表达的全部蛋白质, 成为了基因组与临床应用之间的桥梁。

李玉香, 女, 1964年生, 河南省新郑县人, 汉族, 1983年西藏大学化学系毕业, 副教授, 主要从事有机化学方向蛋白组学研究。

通讯作者: 李文华, 教授, 硕士生导师, 西藏民族大学医学部, 西藏民族大学医学院生命科学基础实验室, 陕西省咸阳市 712082

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)33-04985-08

稿件接受: 2016-06-08

文题释义:

蛋白质组: 其概念最先由 Marc Wilkins 提出, 指由一个基因组(Genome), 或一个细胞、组织表达的所有蛋白质。蛋白质组的概念与基因组的概念有许多差别, 它随着组织、甚至环境状态的不同而改变。在转录时, 一个基因可以多种 mRNA 形式剪接, 一个蛋白质组不是一个基因组的直接产物, 蛋白质组中蛋白质的数目有时可以超过基因组的数目。蛋白质组学(Proteomics)处于早期“发育”状态, 这个领域的专家否认它是单纯的方法学, 就像基因组学一样, 不是一个封闭的、概念化的稳定的知识体系, 而是一个领域。

质谱: 又叫质谱法, 是一种与光谱并列的谱学方法, 通常意义上是指广泛应用于各个学科领域中通过制备、分离、检测气相离子来鉴定化合物的一种专门技术。质谱法在一次分析中可提供丰富的结构信息, 将分离技术与质谱法相结合是分离科学方法中的一项突破性进展。在众多的分析测试方法中, 质谱学方法被认为是一种同时具备高特异性和高灵敏度且得到了广泛应用的普适性方法。质谱仪器一般由样品导入系统、离子源、质量分析器、检测器、数据处理系统等部分组成。

摘要

背景: 蛋白质组的研究不仅为生命活动规律提供物质基础, 也为多种疾病机制的阐明及攻克提供理论根据和解决途径。

目的: 总结了研究蛋白质组学在高原医学中的应用。

方法: 以关键词“蛋白质组学”和“Medical research, 医学研究, Plateau medicine, 高原医学”检索 PubMed 数据库和万方数据库 1995 至 2015 年相关文献, 按相关性进行排序最终获得近 200 余篇英文文献, 60 余篇中文文献, 最后筛选出 59 篇符合标准的文献。

结果与结论: 目前国内外蛋白质组学系列研究产生的数据将解读人类基因组学的精密内容, 将精确表达各种病理状态下蛋白质组的变化及其机制, 构建基于人类蛋白质组的生理图谱和病理图谱, 将揭示许多新的治疗靶点, 新的诊断标志物和新的药物, 为整体提升防治疾病水平提供新策略新手段。蛋白质组学已经成为国内外的前沿和热点研究领域, 包括组织、细胞或生物体所表达的全部蛋白质, 成为了基因组与临床应用之间的桥梁。

关键词:

组织构建; 组织工程; 蛋白质组学; 基因; 高原医学; 国家自然科学基金

主题词:

蛋白质组学; 高海拔; 基因

基金资助:

2013 国家自然科学基金项目(81360299); 2015 西藏自然科学基金, 课题名称: 西藏移居内地藏汉族

Li Yu-xiang, Associate professor, School of Medicine, Xizang Minzu University, Xianyang 712082, Shaanxi Province, China

人群不适症状的血清蛋白水平分析

Proteomics application progress in medical research

Li Yu-xiang, Rong Hao, Hu Qun-ying, Li Wen-hua (Life Science Laboratory, School of Medicine, Xizang Minzu University, Xianyang 712082, Shaanxi Province, China)

Corresponding author:

Li Wen-hua, Professor, Master's supervisor, Life Science Laboratory, School of Medicine, Xizang Minzu University, Xianyang 712082, Shaanxi Province, China

Abstract

BACKGROUND: Studies on the proteomics contribute not only to exploring the laws governing life activities, but also to elucidating the pathogenesis of a variety of diseases to find the treatment strategies.

OBJECTIVE: To summarize the application of proteomics in the plateau medical research.

METHODS: A computer-based online search was conducted in PubMed and Wanfang databases from 1995 to 2015 to screen the relevant literatures using the key words "proteomics, medical research, plateau medicine" in English and Chinese, respectively. A total of approximately 200 English and 60 Chinese relevant literatures were selected and the 59 eligible literatures were included after screening finally.

RESULTS AND CONCLUSION: Currently, the human genome has been decoded through the studies on exploring the proteomics changes under the pathological conditions and the underlying mechanisms. Construction of physiological and pathological mapping based on the human proteome contributes to revealing the novel treatment targets, diagnostic markers, and drugs for the prevention and treatment of diseases. Proteomics has become the frontier and hot research field both at home and abroad, including all the proteins expressed in the tissue, cell or organism, and becomes a bridge between the genome and clinical application.

Subject headings: Proteomics; Altitude; Genes

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81360299; the Natural Science Foundation of Tibet, China, in 2015

Cite this article: Li YX, Rong H, Hu QY, Li WH. *Proteomics application progress in medical research. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2016;20(33):4985-4992.*

0 引言 Introduction

2014年5月28日,《自然》杂志发表了全球人类蛋白质组计划草图,其中,中国的目标是完成任务的30%。目前中国蛋白质组计划已经启动实施,以贺福初院士等为首的中国科学家开始了人类肝脏国际蛋白质组计划(Human Liver Proteome Project, HLPP)^[1]。蛋白质组包括某特定时间内一种细胞乃至一种生物所表达的全部蛋白质,不仅直接从基因序列上翻译的,也包括剪接,翻译后的修饰及两者结合的蛋白与蛋白相互作用^[2]。

蛋白质组学能识别并鉴定细胞、组织脏器及机体的全部蛋白质,提供一组蛋白质的功能和信息,由此获得蛋白质水平上的关于疾病发生、细胞代谢等过程的整体而全面的认识,这个概念最早是由Marc Wilkins在1994年提出的^[3],它的提出成为了跨越基因组与临床应用之间的桥梁,提出后得到了快速的发展。蛋白质组的研究不仅为生命活动规律提供物质基础,也为多种疾病机制的阐明及攻克提供理论根据和解决途径^[4-5]。

中国是一个高原较多的国家,海拔3 000 m以上的高原、高山地区占国土总面积的1/6,青藏高原上

的藏、汉族人群生活在地球第三极的高海拔地区,特殊的生态环境和文化背景铸就了特殊的高原低氧适应机制^[6-8],引起了国内外学者的广泛关注和浓厚的研究兴趣。机体对高原低氧环境的适应包括生理性适应和遗传性适应,两者的机制有所不同^[9]。高原适应的产生与维持是一个长期的过程,长时程的细胞行为变化必然有其基因表达的基础^[10-11]。

中国高原世居藏族人群与其他国家高原人群相比,居住年代最长且较为封闭,对高原的低氧适应能力明显高于南、北美高原世居人群,是研究人类高原低氧适应机制的极好的遗传学对象^[12-15]。目前基于血清蛋白质组学研究应用于世居高原藏族人群之高原低氧适应的研究报道少见。

近5年,中国在血清蛋白质组学领域国内外核心刊物发表文章数千篇以上,跃居世界第二,取得了系列原创成果。因此,文章从PubMed数据库中以关键词“proteomics”和“Plateau medicine”进行文献检索,按相关性进行排序,最终获得近260篇中、英文文献,通过阅读文献进行总结。文章针对蛋白质组学生物标记物的研究展开总结和分析,期待为高原医学研究借鉴。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 检索PubMed数据库和万方数据库以及ScienceDirect外文文献数据库。

1.2 检索词 以关键词“蛋白质组学, proteomics”和“医学研究, Medical research, 高原医学, Plateau medicine”进行文献检索。检索词的逻辑组配: 按相关性进行排序, 总结蛋白质组学在医学研究中应用进展。检索的时间范围为1995至2015年。

1.3 文献筛选流程和筛选标准

文献筛选流程: 按照图1的步骤进行。

文献的筛选标准: 具有针对性, 具有原创性, 论据可靠相关度较高的文章, 选择近期发表或权威期刊文献。

排除的文献: 一些重复性研究以及较陈旧的基础研究文章。

文献筛选结果的输出形式: 按相关性进行排序最终获得近200篇英文文献, 60篇中文文献, 最后筛选出59篇符合标准的文献。文献检索和筛选结果的输出采用文献的引用形式, 且保持了格式的一致性, 文献的引用形式包括作者、题名、期刊名称、发表年代、卷数(期数)、页码等。经筛选纳入评价的文献提供了全文。

2 结果 Results

2.1 蛋白质组学的飞速发展 蛋白质组学是研究生物体、组织、细胞中所有蛋白质的组成、结构、功能及其蛋白相互作用的一门科学^[2], 其技术主要包括质谱技术、蛋白质芯片技术、双向电泳、表面等离子体共振技术、蛋白质复合物纯化技术和生物信息学分析等^[16], 近年来飞行质谱联用技术, 具有大规模、高通量和系统化等特点及优势, 在蛋白质组学研究中发挥着重要作用^[17]。蛋白质的鉴定技术主要为质谱法(MS), 即利用样品离子化后, 离子间的质荷比(m/z)的差异来分析确定样品的分子质量现最常用的有两种, 即基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(MALDI-TOF/MS)和电喷雾质谱(ESI-MS)^[18]。

MALDI-TOF-MS是近年来应用较广, 发展较快的软电离生物质谱, 具有较高的灵敏度和分辨率, 具有准确度高, 重复性好, 检测费用低等特点, 已被广泛用于膀胱癌, 胃癌, 前列腺癌, 肺癌, 乳腺癌, 卵巢癌, 白血病, 神经系统等疾病中, 它与磁珠技术相结合, 可有效地寻找出各类血清生物标志物, 并在应用

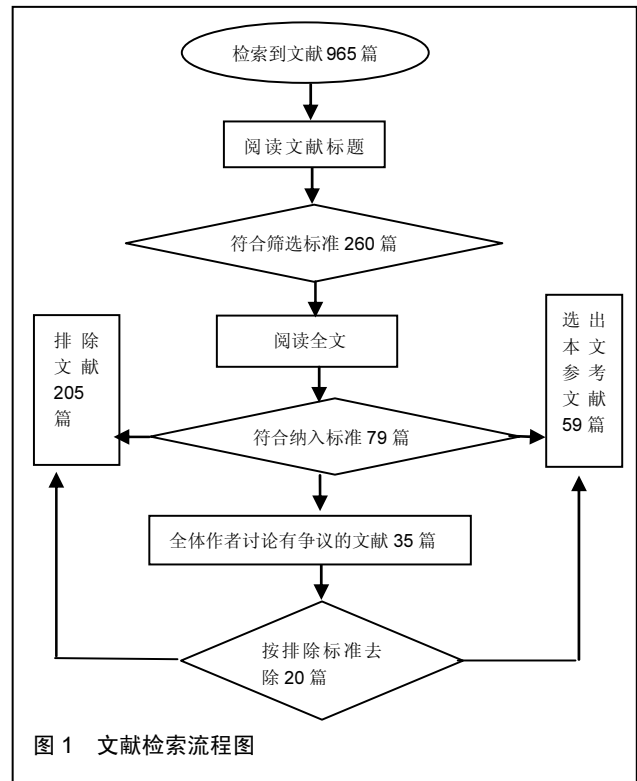


图1 文献检索流程图

ClinProTools软件数据筛选出的蛋白质组可视化^[19]。

血清蛋白组的研究内容大致可分为两个即: 蛋白质表达模式的研究和蛋白质功能模式的研究。但是必须将血清进行特殊处理并结合多项技术才能很好的呈现蛋白质^[20]。不同策略导致同样技术达成不同的结论和价值, 同时海量数据并不能自然转化为知识或智慧。

蛋白质组是基因组的逻辑延伸, 但研究策略是不同的, 总结了4点关于蛋白质组学的研究策略: ①以理解细胞内生命活动为出发点和目标的研究策略; ②探寻蛋白质相互作用和调控的网络关系的研究策略; ③高度重视动态研究及其策略。蛋白质组学已经成为细胞生物学的基础, 动态和体内是蛋白质组学的目前趋势; ④蛋白质组学干预与筛选交替进行的扇形拓展策略。此研究策略达到的效果: ①有可能找到更多新的包括更好的标志蛋白; ②有可能逐步拼出调控网络中的相关部分(一定意义上类似于测序的拼接)^[9, 21]。

2.2 蛋白质组学国内外研究现状 目前国内外蛋白质组学系列研究产生的数据将解读人类基因组这部“天书”, 系统地揭示人体蛋白质组的组成、相互作用及其调节规律, 书写后基因组研究篇章。将精确表达各种病理状态下蛋白质组的变化及其机制, 构建基于人类蛋白质组的生理图谱和病理图谱, 将揭示许多新的治疗靶点, 新的诊断标志物和新的药物, 为整体提升

防治疾病水平提供新策略新手段。

2.2.1 蛋白质组学在恶性肿瘤研究中的应用 研究显示, 基于质谱的蛋白质组技术广泛应用于癌症特异性生物标志物的研究。邓敬桓等^[22]针对肝癌高发家族和无癌家族患者的血清进行分析, 得到血清蛋白质指纹图谱, 再经过计算机进行分析, 从而建立肝癌高发家族和无癌家族患者的比较筛选模型。王子赫等^[23]认为基质辅助激光解析电离飞行时间质谱在肺癌早期诊断、筛查、疗效评价等方面有着良好的应用前景。范乃军等^[24]应用弱阳离子磁珠联合基质辅助激光解吸离子化飞行时间质谱, 建立胃癌与正常人血清蛋白质谱, 共有48个差异蛋白峰, 利用其中8个差异峰(质荷比分别为3 316.28, 1 213.99, 2 934.23, 1 214.86, 760.02, 1 779.70, 3 884.85及1 945.67)建立诊断胃癌模型。熊万成等^[25]筛选出血清蛋白质谱中的29个显著差异蛋白质峰, 据此建立的诊断乳腺癌模型。

综上所述, 蛋白质组学在肝癌、肺癌、胃癌、乳腺癌、直肠癌、甲状腺癌、前列腺癌、等具有良好的应用前景。一方面, 能筛选出相关的血清蛋白标志物, 并建立相关疾病的诊断模型, 提供一种全新的血清学诊断方法; 另一方面, 可通过这些特异性标志物, 为易感人群的筛查、早期诊断、治疗选择和随访提供参考依据。

2.2.2 蛋白质组学在遗传性疾病中的应用 Yang等^[26]应用MALDI-TOF MS/MS技术, 鉴别出信号转导和细胞凋亡相关的肽基脯氨酸反式异构酶A和丝切蛋白-1, α -2-珠蛋白, 分离出差异表达蛋白14种, 建立大鼠阿尔兹海默病模型进行蛋白质组学的分析, 有利于进一步深入了解阿尔兹海默病的发病机制。Rabilloud等^[27]通过质谱技术和双向凝胶电泳, 研究病态时和健康状态的人的线粒体蛋白质, 可见疾病影响了核编码蛋白的稳定性。这种影响包括细胞色素C氧化酶亚单位的蛋白质表达水平下调。综上所述, 蛋白质组学在遗传病, 如遗传学球形红细胞增多症和阿尔兹海默病等, 具有良好的应用前景。可通过蛋白质组学的技术, 深入剖析这些遗传病的病理生理机制。在一定程度上, 能增加对这些疾病的认识, 也为疾病的预防和诊疗提供强有力的依据, 寻找诊疗遗传病的生物标记物和关键的药物靶点。

2.2.3 蛋白质组学在药物研究中的应用 Li等^[28]应用质谱技术和双向凝胶电泳, 研究了导致神经退行性病变和记忆损伤发生的蓝藻细菌衍生物的微囊藻素-

精氨酸-亮氨酸(MCRL)诱导神经毒性相关的蛋白发生改变所致。O'Connell等^[29]通过采用液相色谱-质谱联用技术对3种前列腺癌细胞系, 如DU145、22RV1和PC-3, 与其对应的多西他赛抗性的子代细胞间进行比较分析, 发现这有利于进一步了解其生化机制, 提高临床诊疗效果。Jia等^[30]通过采用2-D凝胶电泳和串联质谱技术, 研究用乙醇诱导的肝硬化模型, 发现16中差异蛋白可能成为酒精性肝硬化的新药靶点。研究表明, 利用蛋白质组学技术寻找新药物的靶点是一把利器。

2.2.4 蛋白质组学在微生物学研究中的应用 基于质谱的蛋白质组技术应用于微生物学特异性生物标志物的研究。Fernandez等^[31]通过采用双向凝胶电泳和MALDI-TOF MS技术, 分析羧甲基纤维素培养的葡萄球菌蛋白质中分离出的蛋白斑点, 发现诸多蛋白质促使其发挥致病作用。Fang等^[32]通过采用2-DE和MALDI-TOF MS技术, 研究草莓幼苗叶子, 发现凯尔文循环、糖酵解途径受阻和49就差异表达蛋白, 使得了解其病原抗性机制。Ansong等^[33]通过液相色谱-质谱联用技术, 分别对对数期、静止期、和在低pH/低Mn条件下的沙门菌属的蛋白质进行分析, 发现高表达S.thphi Ty2蛋白, 而这蛋白可能与宿主和S.thphi的病原性特异性相关。综上所述, 蛋白质组学在微生物学研究中发挥着重要的作用, 其研究深入到生命科学的诸多领域, 一方面, 有利于研究病原微生物的病原抗性机制、致病机制等; 另一方面, 有利于研制疫苗, 促进健康。

2.2.5 蛋白质组学在高原医学研究中的应用 血清蛋白质组学分析系统包括质谱系统、磁珠分离系统、可选的体液样品自动处理系统和分析软件。将收集的患者或正常对照组的血浆^[34]、血清^[35]、脑脊髓液^[36]、尿液等样本^[37]; 磁珠分离去除样本中的其他杂质和高丰度蛋白, 如盐等, 收集低丰度目的蛋白; 加入基质混合后, 直接点在AnchorChip靶上, 进行飞行时间质谱分析; 通过软件筛选患者或正常对照组的差异表达蛋白, 获得两者的特异质谱图谱。该研究方法目前主要应用于肿瘤标志物的筛选与诊断^[38-40]。由于高原习服过程中, 机体会发生严重的生理生化的变化, 在很大程度上会反映在血清的组份变化上, 预期会有很好的研究和应用前景。

近年来学者已经意识到蛋白质组学在高原医学研究中的应用是一新的技术手段, 目前蛋白质组学应

用于高原医学研究中, 有些聚焦在发现高原低氧适应机制方面, 如: 低氧大鼠海马CA3区和CA1区蛋白质组学研究中^[41], 99个蛋白质点被鉴定, 其中15个蛋白质点表达有明显差异多位于CA1区, 相关的蛋白可能有细胞新陈代谢相关蛋白和结构蛋白以及凋亡相关蛋白, 低氧导致CA1区损伤发生的机制可能与应激蛋白增强、新陈代谢增强和细胞凋亡有关, 为了解神经组织适应低氧环境的分子机制和提高神经组织低氧的耐受性提供帮助。有些研究采用质谱技术联合双向电泳, 比较平原地区的藏族、世居高原藏族和低海拔地区的尼泊尔世居者的肌肉蛋白质组, 7个差异蛋白质被鉴定, 研究显示藏族高海拔世居者和低海拔地区的藏民可能存在某些防止氧化性损伤机制^[42]。进行质谱技术和双向电泳分析基因敲除肌红蛋白的小鼠对低氧环境的良好适应, 显示其脂肪酸连接蛋白和热休克蛋白27表达下降, 可能是肌肉蛋白质组脂肪能量代谢变化所致^[43]。

为了研究急进高原时习服的规律和机制, 作者课题组将平原雄性SD大鼠运往高原, 光、电镜观察大鼠心脏、肺脏、脑组织, 应用 RT-PCR、Western Blot、实时定量PCR, 系统观察了不同高原实地低氧暴露时间对相关基因表达蛋白的影响。将60只随机分为6组, 每组10只, 分别为高原低氧1, 2, 3, 7, 30 d组和对照组(西安地区, 海拔5 m)。高原低氧1 d组由西安地区途中耗时1 d带到海拔2 700 m青海格尔木地区, 高原低氧2 d组途中耗时2 d带到海拔5 000 m唐古拉地区, 高原低氧3, 7, 30 d组途中耗时3 d带到海拔4 500 m西藏那曲地区, 7 d组在那曲饲养7 d。30 d组在那曲饲养30 d。经过高原低氧习服后心肺组织病变明显减轻^[44-45], 同时可以观察到HIF-1 mRNA表达水平逐渐升高^[46]; 缺氧30 d组右心室明显代偿性肥大伴右心功能显著上调, 同时右心室血管紧张素转换酶2(ACE2)mRNA、蛋白合成均有明显增加($P < 0.01$)^[47](如图2)。脑组织热休克蛋白70(Hsp70)生成量与高原暴露时间成正比^[48]。不同基因型的大鼠其血浆肾素, 血管紧张素II, 醛固酮的浓度变化存在差异, ACE2基因型为GG的, 血浆肾素, 血管紧张素II含量显著上升, 醛固酮含量明显下降($P < 0.01$)。ACE2基因型AA个体血浆肾素、AT II含量上升, 醛固酮含量下降($P < 0.05$), 而ACE2基因型AG血浆肾素、血管紧张素II, 醛固酮变化不明显($P > 0.05$)^[49]。从平原进入高原, 机体从整体、器官、细胞及分子水平

等不同层次适应高原低氧环境。其中HIF-1 α 在细胞水平低氧应答反应中起核心作用, 直接或间接的控制着百余种基因, 包括细胞生长, 凋亡, 能量代谢, 血管生成等基因的表达。肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)是整体水平低氧应答反应的重要环节, 在高原低氧习服中发挥着重要的作用。

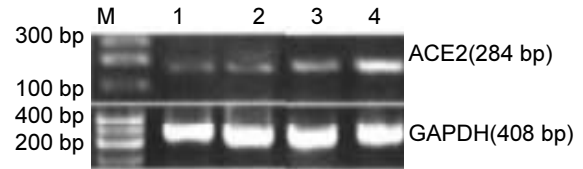


图2 低氧对大鼠心脏右心室 ACE2 mRNA 表达的影响

图注: M: 标准; 1: 对照组; 2: 缺氧1 d组; 3: 缺氧3 d组; 4: 缺氧30 d组^[47]。

罗勇军等^[50]抽取拉萨市(海拔3 658 m)6例高原肺水肿患者和6例健康对照者的血浆, 采用表面增强激光解吸电离-飞行时间质谱技术(MALDI-TOF/MS)检测多肽指纹谱, 并在GenBank数据库中进行比对分析。结果显示高原肺水肿患者免疫球蛋白k1轻链、血清转铁蛋白前体、 α -胰蛋白酶抑制剂重链相关蛋白表达上调, 人纤维胶凝蛋白3表达下调, 研究表明血浆中上述4种蛋白的差异表达可能与高原肺水肿的发生有关, 有可能成为预测高原肺水肿的新靶点。

张元元等^[51]采用二维凝胶电泳(2D)结合质谱的方法分析了1例高原脑水肿患者与高原肺水和急性高原反应患者血浆蛋白, 研究比较高原脑水肿与高原肺水肿患者血浆有6个差异蛋白质点, 比较高原脑水肿与急性高原反应患者血浆亦有6个差异蛋白质点, 质谱鉴定结果表明两组比较中都有载脂蛋白E含量变化, ELISA验证结果与2D结果一致。该实验尝试蛋白质组学技术应用到高原脑水肿研究中, 该研究显示载脂蛋白E与高原脑水肿发病密切相关, 在高原脑水肿分子发病机制、诊断、治疗的意义有必要进一步研究。

刘琦等^[52]研究应用MALDI-TOF/MS技术, 对比汉、藏族肺结核患者和非结核对照者的血清, 以寻找各自的质谱诊断模型并比较两个民族肺结核的蛋白质差异。研究表明, SELDI-TOF/MS可用于诊断汉、藏族肺结核。该研究还发现汉、藏族肺结核患者, 存在16个差异峰, 完成了从血清全蛋白质组学的层面证明肺结核的民族复杂性。并且用双向凝胶电泳技术分离出了目标蛋白质, 研究显示, 双向凝胶电泳和SELDI-TOF/MS两种技术层面在肺结核中的蛋白表

达方向上是一致的。随着SELDI-TOF/MS技术发展, 实施大样本, 多地区, 多中心的对照随机研究, 完善血清质谱肺结核诊断模型, 该项技术有可能用于临床快速准确地诊断多民族肺结核, 对明确肺结核的分子免疫病理学机制以及寻找肺结核的特异血清标志物提供帮助。

综上所述, 蛋白质组学在高原医学的研究是很有必要的。在高原, 通过蛋白质组学研究人类对于低氧、高压、低温等恶劣环境下的习服与适应, 对于在高海拔地区生活的人群意义重大。

2.3 蛋白质组学在组织工程中的应用 目前组织工程是通过组织细胞再生、再造有正常代谢功能的组织的方法, 进行植入体内或者体外支持。植入机体则希望获得长期或者永久性的存活。体外支持是期望在器官衰竭之前的一段时间, 对患者进行短时期的支持。肝组织工程研究开始于20世纪90年代并迅速发展, 但由于肝具有强大的多样的代谢功能, 因此控制急性、慢性肝衰竭要求替代的组织工程产物必须发挥基本的代谢功能, 蛋白质组学可以通过筛选替代物的代谢功能, 从而找到适合的组织工程替代产物^[53]。丁金平等^[54]通过蛋白质组学分析方法筛选组织工程化软骨成熟过程中变化显著的细胞外基质蛋白, 通过线性相关分析, 研究与软骨力学性能相关的蛋白, 为骨组织工程应用提供了新思路。骨组织工程起源于骨形态发生蛋白诱导间充质细胞形成进而分化为成骨细胞。目前, 骨组织工程学有不同的复合形式, 生物材料复合成骨细胞和生长因子则是近年来的研究热点。治疗骨缺损基因工程所需要的目的基因主要是一些生长因子基因: 骨形态生成蛋白、胰岛素样生长因子、转化生长因子、血管内皮生长因子A、B、E促进血管以出芽的方式生成, 血管内皮生长因子C、D则促进淋巴管生成甲状旁腺素等, 蛋白质组学可作为有力的检测手段^[55]。

3 展望 Prospects

蛋白质组学是继基因组学后又一重大的认识生命科学的领域。其研究深入到的诊疗、寻找药物靶点等方面。研究蛋白质组学的仪器价位高, 限制了该技术的推广, 基因组和蛋白质组学的研究结果可达到互补的效果。这有利于基因组和蛋白质组学的研究。随着蛋白质组学研究的推进, 将会有更多的技术、多学科相互交叉。而这些各方面知识、技术

的交融, 使得生命科学的研究丰富多彩, 促使生命科学研究迈入新时代。在不久的将来, 通过将基因组学、蛋白质组学和生物信息学等交叉, 利用先进的技术制作出种类繁多的蛋白质组芯片, 那么对于鉴别疾病等信息则具有快速、灵敏、准确的特点, 也为疾病的临床诊疗提供科学的理论依据。

前期, 本课题组分别分析了高原习服人群与AMS人群的血清蛋白组, 以及西藏藏族人群高原适应与平原脱适应的血清蛋白质组, 均发现血清蛋白组在不同分析组之间存在差异^[56], 并通过比对血清蛋白组差异模型, 鉴别出高原习服人群以及平原脱适应人群。近年研究发现, 低氧可以使机体或细胞的糖及糖蛋白组发生改变。在真核生物表达的蛋白质中, 有近50%会发生不同类型的糖基化修饰。根据糖苷链类型, 蛋白质糖基化可以分为3类, 即以Ser、Thr、Hpy和Hly的羟基的氧原子为连接点, 形成O-糖苷键型。以Asn的酰胺基、N-末端氨基酸的 α -氨基以及Lys或Arg的 ω -氨基为连接点, 形成N-糖苷键型。由乙醇胺磷酸盐、三个甘露糖苷、葡萄糖胺以及纤维醇磷脂组成的GPI糖基磷脂酰肌醇锚。不同的糖基转移酶参与不同的糖的蛋白修饰。其中, 常见的糖基转移酶包括岩藻糖转移酶、N-乙酰葡萄糖胺转移酶以及唾液酸转移酶。在低氧环境下, 低氧诱导因子1活性增加, 从而通过调控GLUT高表达促进葡萄糖的吸收, 并通过转录调控促进如PFK、乳酸脱氢酶等糖酵解相关的限速酶, 进而引起各种糖的合成改变^[57]。同时, 低氧诱导因子1通过影响糖基转移酶的表达, 调节糖基化过程, 例如: 低氧诱导因子1可以下调 $\alpha 1, 2$ 岩藻聚糖在胰腺腺癌细胞表面的表达^[58]; 通过调节乙酰葡萄糖胺影响肿瘤的代谢; 通过激活NEU3唾液酸酶而抑制骨骼肌细胞的凋亡。蛋白质的糖基化修饰具有重要的生理功能, 例如O-乙酰葡萄糖胺化修饰是心脏干细胞的保护信号^[59]。以上证据表明, 低氧可以诱导糖的合成以及糖蛋白的修饰。高原习服是一种对低氧的适应过程, “糖或糖蛋白是否参与该过程”是一个未经探索的领域。进一步探索高原习服过程的糖组学和糖蛋白质组学的变化规律, 将为高原习服的分子机制提供新的线索。

作者贡献: 构思设计为李玉香、李文华, 资料收集为戎浩、胡群英, 分析并解析数据为李玉香、李文华。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家审核, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] He F. Human liver proteome project: plan, progress, and perspectives. *Mol Cell Proteomics*.2005;4(12): 1841-1848.
- [2] Kahn P.From gnomes to proteomes: looking at a cell's proteins *Science*.1995;270(5235):369-370.
- [3] Elzek MA,Rodland KD.Proteomics of ovarian cancer: functional insights and clinical applications. *Cancer and Metastasis Reviews*.2015;34(1): 83-96.
- [4] Ebhardt HA,Root A,Sander C,et al. Applications of targeted proteomics in systems biology and translational medicine. *Proteomics*.2015;15(18): 3193-3208.
- [5] Yan X,Yuan F,Chen X,et al. Bioinformatics analysis to identify the differentially expressed genes of glaucoma. *Molecular Medicine Reports*.2015;12:4829-4836.
- [6] Simonson TS,McClain DA,Jorde LB,et al. Genetic determinants of Tibetan high-altitude adaptation. *Human Genetics*.2012;131:527-533.
- [7] Ji LD,Qiu YQ,Xu J,et al. Genetic Adaptation of the Hypoxia-Inducible Factor Pathway to Oxygen Pressure among Eurasian Human Populations. *Molecular Biology And Evolution*.2012;29:3359-3370.
- [8] Ge RL,Simonson TS,Cooksey RC,et al.Metabolic insight into mechanisms of high-altitude adaptation in Tibetans. *Molecular Genetics And Metabolism*.2012; 106:244-247.
- [9] 李文华,刘忠,袁东亚,等.高原分子医学[M].上海:复旦大学出版社,2011:12.
- [10] Richalet JP.Cardiopulmonary Adaptation to High Altitude.*Cardiac Adaptations*. Springer New York.2013: 233-249.
- [11] Hussey D, Koul P, Prchal JT. High Altitude Genetic Adaptation In Tibetans Does Not Include Increased Hemoglobin-Oxygen Affinity. *Blood*.2013;122(21): 937-937.
- [12] Luks AM, Hackett PH.High Altitude and Common Medical Conditions.High Altitude. Springer New York. 2014:449-477.
- [13] Yi X, Liang Y, Huerta-Sanchez E, et al. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude. *Science*.2010;329:75-78.
- [14] DeLellis SM, Anderson SE, Lynch JH, et al. Acute Mountain Sickness Prophylaxis: A High-Altitude Perspective. *Current sports medicine reports*.2013; 12(2):110-114.
- [15] Carter EA, Mayo JR, MacInnis MJ, et al.Individual Susceptibility to High Altitude and Immersion Pulmonary Edema and Pulmonary Lymphatics. *Aviation.Space. and Environmental Medicine*.2014; 85(1): 9-14.
- [16] 尹稳,伏旭,李平.蛋白质组学的应用研究进展[J].生物技术通讯, 2014,(1):32-38.
- [17] 高雪,郑俊杰,贺福初.我国蛋白质组学研究现状及展望[J].生命科学, 2007,19(3):257-263.
- [18] Picotti P, Bodenmiller B, Aebersold R. Proteomics meets the scientific method. *Nature Methods*.2013;10: 24-27.
- [19] Peng M, Taouatas N, Cappadona S, et al. Protease bias in absolute protein quantitation. *Nature Methods*. 2012;9:524-525.
- [20] Allison Doerr. Mass spectrometry-based targeted proteomics.*Nature Methods*.2013;10:23.
- [21] Altelaar AF, Munoz J, Heck AJ.Next-generation proteomics: towards an integrative view of proteome dynamics*Nature Reviews Genetics*. 2013;14,35-48.
- [22] 邓敬桓,陈智平,李山,等. 应用SELDI-TOF-MS技术筛选肝癌遗传性血清蛋白标志物[J].世界华人消化杂志, 2014, 5: 018.
- [23] 王子赫,刘晓晴. MALDI-TOF质谱技术在肺癌中的应用[J].国际肿瘤学杂志, 2014, 41(5): 344-347.
- [24] 范乃军,魏东,赵艇.应用磁珠联合质谱技术建立胃癌诊断模型[J].中华实验外科杂志, 2014, 31(11):2559-2561.
- [25] 熊万成,高春芳,范乃军.应用液体蛋白芯片-飞行时间质谱系统研究乳腺癌血清差异蛋白表达[J].河南科技大学学报:医学版, 2014,32 (2): 89-93.
- [26] Yang H, Qiao H, Tian X. Proteomic analysis of cerebral synaptosomes isolated from rat model of alzheimer's disease. *Indian J Exp Biol*.2011;49(2):118-124.
- [27] Rabilloud T, Sturb JM, Carte N, et al.Comparative proteomics as a new tool for exploring human mitochondrial tRNA disorders. *Biochemistry*.2002; 41(1):144-150.
- [28] Li G, Cai F, Yan W, et al. A proteomic analysis of MCLR-induced neurotoxicity :implications for Alzheimer's disease. *Toxicol Sci*.2012;127(2):485-495.

- [29] O'Connell K, Prencipe M, O'Neill A, et al. The use of LC-MS to identify differentially expressed proteins in docetaxel-resistant prostate cancer cell lines. *Proteomics*. 2012;12(13):2115-2126.
- [30] Jia XF, Yin L, Feng YL, et al. A dynamic plasma membrane proteome analysis of alcohol-induced liver cirrhosis. *Proteome Science*. 2012;10:39.
- [31] Fernández-Acero FJ, Colby T, Harzen A, et al. Proteomic analysis of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* during cellulose degradation. *Proteomics*. 2009;9(10):2892-2902.
- [32] Fang X, Chen W, Xin Y, et al. Proteomic analysis of strawberry leaves infected with *Colletotrichum fragariae*. *J Proteomics*. 2012;75(13):4074-4090.
- [33] Carter EA, Mayo JR, MacInnis MJ, et al. Individual Susceptibility to High Altitude and Immersion Pulmonary Edema and Pulmonary Lymphatics. *Aviation, Space, and Environmental Medicine*. 2014;85(1): 9-14.
- [34] Solier C, Langen H. Antibody - based proteomics and biomarker research-Current status and limitations. *Proteomics*. 2014;14(6): 774-783.
- [35] Gaudet P, Michel PA, Zahn-Zabal M, et al. The neXtProt knowledgebase on human proteins: current status. *Nucleic acids research*. 2015;43(D1): D764-D770.
- [36] Gopal J, Muthu M, Chun SC, et al. State-of-the-art nanoplatfrom-integrated MALDI-MS impacting resolutions in urinary proteomics. *PROTEOMICS-Clinical Applications*. 2015;9(5-6):469-481.
- [37] Almeida AM, Bassols A, Bendixen E, et al. Animal board invited review: advances in proteomics for animal and food sciences. *Animal*. 2015;9(1):1-17.
- [38] Zeidan BA, Townsend PA, Garbis SD, et al. Clinical proteomics and breast cancer. *The Surgeon*. 2015;13(5):271-278.
- [39] Garcia-Santamarina S, Boronat S, Dombneeh A, et al. Monitoring in vivo reversible cysteine oxidation in proteins using ICAT and mass spectrometry. *Nat Protoc*. 2014;9(5):1131-1145.
- [40] 赵倩倩, 张自强, 李岩. 质谱技术在肿瘤蛋白质标志物研究中的应用与发展[J]. *中华检验医学*, 2015, 38(2):82-84.
- [41] Carter EA, Mayo JR, MacInnis MJ, et al. Individual Susceptibility to High Altitude and Immersion Pulmonary Edema and Pulmonary Lymphatics. *Aviat Space Environ Med*. 2014;85(1):9-14.
- [42] Fulco CS, Beidleman B A, Muza SR. Effectiveness of Preacclimatization Strategies for High-Altitude Exposure. *Exerc Sport Sci Rev*. 2013;41(1):55-63.
- [43] Richalet JP. *Cardiopulmonary Adaptation to High Altitude*. Cardiac Adaptations. Springer New York. 2013: 233-249.
- [44] Li WH, Liu ZH, Yuan DY, et al. *Plateau molecular medicine*[M]. Fudan University press. 2011:12.
- [45] Simonson TS, McClain DA, Jorde LB, et al. Genetic determinants of Tibetan high-altitude adaptation. *Human Genetics*. 2012;131: 527-533.
- [46] 李文华, 袁东亚, 孙芳云, 等. 高原低氧环境对大鼠肺组织影响[J]. *中国公共卫生*, 2012, 28(7): 945-948.
- [47] Li WH, Liu Z. High Altitude Hypoxia Environment changes of the Content of RAAS and right ventricular ACE2 activity in adult SD rats. *IEEE*. 2011;(10): 8300-8302.
- [48] Li WH, Yuan DY, Zhang M, et al. Altitude hypoxia on the ultrastructure of rat brain and Hsp70 expression. *Amino Acids*. 2011;7:S20-S21.
- [49] 李文华, 刘忠. 高原低氧环境下大鼠RAAS水平与ACE2基因多态性[J]. *现代预防医学*, 2011, 38(15):2944-2946.
- [50] 罗勇军, 陈郁, 高钰琪. 高原肺水肿的血浆蛋白质组学研究[J]. *解放军医学杂志*, 2012, 37(1): 31-33.
- [51] 张元元, 段瑞峰, 汪海. 高原脑水肿患者血浆的蛋白质组学研究[J]. *中国应用生理学杂志*, 2011, 27(2):180-184.
- [52] 刘琦, 刘新宇, 张仁卿, 等. 汉、藏族肺结核患者血清差异蛋白质的质谱分析[J]. *第三军医大学学报*, 2010, 32(18): 1986-1990.
- [53] 闫成, 薛改, 吴丽颖, 等. 两种肝组织匀浆上清液诱导人脐带间充质干细胞向肝细胞分化的比较[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(19): 2993-2998.
- [54] 丁金萍, 刘宏伟, 晏丹, 等. 应用比较蛋白质组学技术筛查组织工程化软骨力学性能相关蛋白[J]. *中华整形外科杂志*, 2013, 29(001): 49-54.
- [55] 郭宜姣, 李文华. 骨缺损修复生物工程研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(8):988-993.
- [56] Yang J, Li WH, Liu S, et al. Identification of novel serum peptide biomarkers for high-altitude adaptation: a comparative approach. *Sci Rep*. 2016;6:25489.
- [57] Shirato K, Nakajima K, Korekane H, et al. Hypoxic regulation of glycosylation via the N-acetylglucosamine cycle. *J Clin Biochem Nutr*. 2011;48(1):20-25.
- [58] Belo AI, van Vliet SJ, Maus A, et al. Hypoxia inducible factor 1 α down regulates cell surface expression of α 1,2 - fucosylated glycans in human pancreatic adenocarcinoma cells. *FEBS letters*. 2015;589(18): 2359-2366.
- [59] Ferrer CM, Lynch TP, Sodi VL, et al. O-GlcNAcylation regulates cancer metabolism and survival stress signaling via regulation of the HIF-1 pathway. *Molecular Cell*. 2014; 54(5): 820-831.