

• 呼吸系统疾病的实验室检测专题 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2025.09.004

不同外周血 EOS% 阈值下 AECOPD 患者血清代谢谱分析*

邓昱涵¹, 吴佳颐¹, 孙 媛², 于国竞², 成柳杨², 彭桂英³, 李 杰^{2△}

1. 北京中医药大学岐黄学院, 北京 100029; 2. 北京中医药大学东直门医院呼吸科, 北京 100700;

3. 北京中医药大学生命科学学院, 北京 100029

摘要:目的 研究慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者在不同外周血嗜酸性粒细胞(EOS)百分比(EOS%)阈值下血清小分子代谢谱的变化,以期找到与 AECOPD 患者 EOS 相关的潜在诊断生物标志物。**方法** 纳入 38 例 AECOPD 患者,采用超高效液相色谱质谱联用技术(UPLC-MS)检测血清代谢物,分别以 2%、3% 作为外周血 EOS% 的阈值,将患者分为高 EOS 组和低 EOS 组,利用正交偏最小二乘判别法(OPLS-DA)分析高 EOS 组与低 EOS 组之间的差异代谢物,筛选潜在生物标志物,并通过全信息串联质谱技术(MSE)鉴定组间差异代谢物,使用代谢组学通路分析(MetPA)进行相关代谢途径分析。**结果** 当 EOS% 以 2% 为阈值时,高 EOS 组($\geq 2\%$)与低 EOS 组($< 2\%$)AECOPD 患者血清代谢组学存在明显差异,并且找到 26 个差异代谢物,主要涉及甘油磷脂代谢通路。而 EOS% 以 3% 为阈值时,高 EOS 组($\geq 3\%$)与低 EOS 组($< 3\%$)患者血清代谢组学差异更为明显,找到 31 个差异代谢物,主要涉及甘油磷脂代谢及醚酯类代谢通路。不论 EOS% 的阈值为 2% 或 3%,与低 EOS 组比较,高 EOS 组 AECOPD 患者血清中鞘磷脂(SM)、磷脂酰胆碱(PC)、溶血磷脂酰胆碱(LysoPC)均出现明显上调,甘油磷脂代谢通路均有明显扰动。与以 2% 为 EOS% 阈值的差异代谢物相比,以 3% 为 EOS% 阈值的差异代谢物种类更多,并且甘油磷脂代谢、醚酯类代谢等差异性代谢通路的改变更为显著。**结论** 不同外周血 EOS% 阈值下 AECOPD 患者存在特异性的致病代谢谱,提示 3% 可以作为 AECOPD 患者使用吸入性糖皮质激素(ICS)的外周血 EOS% 参考阈值,以期筛选精确的磷脂类代谢物作为 COPD 诊断的生物标志物,进而为 ICS 在 AECOPD 治疗中的应用提供精准指导。

关键词:慢性阻塞性肺疾病急性加重期; 嗜酸性粒细胞; 代谢组学; 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱技术; 阈值

中图法分类号: R563.9; R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2025)09-1170-08

Analysis on serum metabolic profile of AECOPD patients under different peripheral blood EOS% threshold values*

DENG Yuhan¹, WU Jiayi¹, SUN Yuan², YU Guojing², CHENG Liuyang², PENG Guiying³, LI Jie^{2△}

1. Qihuang Chinese Medicine School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Department of Respiration, Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China; 3. School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To investigate the changes in serum small molecule metabolic profiles in the patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) under different eosinophil (EOS) percentage (EOS%) threshold values in the peripheral blood in order to identify potential diagnostic biomarkers related to EOS in AECOPD patients. **Methods** Thirty-eight AECOPD patients were included. Serum metabolites were detected by using ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS). With 2% and 3% as the cutoff threshold values for peripheral blood EOS%, the patients were divided into the high EOS group and low EOS group. The orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) was used to analyze the differential metabolites between the high EOS group and the low EOS group, screen the potential biomarkers, and identify the differential metabolites between groups by full-information tandem mass spectrometry (MSE), and the relevant metabolic pathway analysis was performed by u-

* 基金项目: 北京中医药大学 2022 年基本科研业务费揭榜挂帅重点项目(2022-JYB-JBZR-028); 第七批全国老中医药专家学术经验继承工作项目; 第五批全国临床优秀人才研修项目(国中医药人教函[2022]1 号)。

作者简介: 邓昱涵, 女, 九年制在读, 主要从事中医药防治肺系疾病方向的研究。△ 通信作者, E-mail: lijie2007@126.com。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1167.r.20250410.1611.008\(2025-04-11\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1167.r.20250410.1611.008(2025-04-11))

sing metabolomics pathway analysis (MetPA). **Results** When the EOS% threshold value was 2%, there were significant differences in the serum metabolome between the high EOS group ($\geq 2\%$) and low EOS group ($< 2\%$) of AECOPD patients, and 26 differential metabolites were found, mainly involving glycerophospholipid metabolic pathways. When the EOS% threshold value was 3%, the differences in the serum metabolome between the high EOS group ($\geq 3\%$) and low EOS group ($< 3\%$) were more obvious, and 31 differential metabolites were found, mainly involving glycerophospholipid metabolism and ether ester metabolism pathways. Regardless of whether the EOS% threshold value was 2% or 3%, compared with the low EOS group, serum sphingomyelin (SM), phosphatidylcholine (PC) and lysophosphatidylcholine (LysoPC) in the AECOPD patients of the high EOS group were significantly upregulated, and the glycerophospholipid metabolic pathway was significantly disturbed. Compared with the differential metabolites with an EOS% threshold value of 2%, there were more types of differential metabolites with an EOS% threshold value of 3%, and the changes in differential metabolic pathways such as glycerophospholipid metabolism and ether lipid metabolism were more significant. **Conclusion** The patients with AECOPD have specific pathogenic metabolic profiles at different peripheral blood EOS% threshold values, suggesting that 3% could be used as a reference threshold value of peripheral blood EOS% for the use of inhaled corticosteroids (ICS) in AECOPD, in order to screen the precise phospholipid metabolites as biomarkers for the diagnosis of COPD, and thereby provide the precise guidance for the treatment of ICS in AECOPD.

Key words: acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; eosinophils; metabolomics; UPLC-Q-TOF/MS technology; threshold value

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种非特异性炎症性疾病, COPD 急性加重期(AECOPD)是 COPD 病程中重要的不良事件,嗜酸性粒细胞(EOS)水平与 AECOPD 患者病情严重程度呈正相关^[1]。2023 年的“慢性阻塞性肺疾病全球倡议”(GOLD)^[2]建议使用血 EOS^[3]计数来指导 AECOPD 患者的治疗,但目前对于血 EOS 计数的临界值尚无定论。临床将外周血 EOS 百分比(EOS%) $\geq 2\%$ 和(或)痰 EOS% $> 3\%$ 的 COPD 称为 COPD 嗜酸性表型^[4],同时外周血 EOS 水平可以很好地预测诱导痰 EOS 水平,当外周血 EOS% $\geq 2\%$ 时,诱导痰 EOS 计数升高的阳性预测值为 90%,可用于指导 COPD 的临床用药及预后评估。不同 EOS 计数阈值下 AECOPD 患者病理生理情况存在差异, EOS 计数升高与 COPD 患者肺功能降低和病情加重风险增加相关^[5],且代谢谱有独特性。故本研究分别以 2%、3%作为外周血 EOS%的阈值,运用超高效液相色谱(UPLC)与四极杆飞行时间质谱(Q-TOF/MS)分析 AECOPD 患者不同外周血 EOS%阈值下的潜在生物标志物及相关代谢通路,期望从代谢水平层面放大 AECOPD 特定过程的生物学信号,为防治 COPD 提供客观的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 1 月至 2019 年 1 月北京中医药大学东直门医院呼吸科门诊及病房收治的 38 例 AECOPD 患者为研究对象,诊断标准及病情严重程度分级参照《慢性阻塞性肺病全球预防、诊断和管理战略》(GOLD 2018)^[6]。38 例患者中男 29 例,女 9 例;平均年龄(68.3 $\pm$ 12.7)岁;第 1 秒用力呼气量占

预计值百分比(FEV₁%)为(37.8 $\pm$ 11.5)%,第 1 秒用力呼气量/用力肺活量比值(FEV₁/FVC)为(58.3 $\pm$ 15.9)%。按外周血 EOS%阈值将 AECOPD 患者分为 4 组:以 2%为阈值时,分为高 EOS 组($\geq 2\%$)19 例、低 EOS 组($< 2\%$)19 例;以 3%为阈值时,分为高 EOS 组($\geq 3\%$)14 例、低 EOS 组($< 3\%$)24 例。纳入标准:(1)符合 COPD 的西医诊断标准,病情符合急性加重期诊断标准,急性发病在 1 周以内;(2)年龄 55~80 岁;(3)肺功能 I~IV 级,能够完成肺功能检测,FEV₁/FVC $< 70\%$;(4)心电图无明显异常;(5)胸部 X 线片显示为慢性支气管炎、肺气肿。排除标准:(1)COPD 伴有呼吸衰竭需要机械通气者;(2)合并严重心肝肾功能不全、自身免疫性疾病、造血系统疾病,肺结核、肺癌等呼吸系统其他疾病,血糖未经控制的糖尿病患者;(3)精神疾病患者;(4)妊娠及哺乳期女性。本研究经北京中医药大学东直门医院医学伦理委员会审核并批准(2018-JYBZZ-XS180)。所有患者对本研究均知情同意,并签署知情同意书。

1.2 实验仪器与试剂 Waters AcquityTM 快速高分辨液相色谱飞行时间联用仪;XevoTM G2 Q/TOF 串联四极杆飞行时间质谱系统(Water MS Technologies,英国曼彻斯特公司);Millipore Synergy UV 型超纯水机;D-37520 Osterode 高速冷冻离心机(德国 ThermoFisher 公司);MIX-3000 型多管涡旋振荡器(杭州米欧仪器有限公司)。甲醇(LC/MS 级, Thermo Fisher 公司);超纯水;甲酸(LC/MS 级, Thermo Fisher 公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集和制备 患者于抽血前晚禁食 8 h, 次日清晨采集餐前空腹静脉血检测血常规(含 EOS%),另取静脉血 2 mL,2 h 内进行离心,在 4 ℃ 条件下 3 000 r/min 离心 10 min,分离血清后于 -80 ℃ 冰箱储存,避免反复冻融。

1.3.2 代谢物检测和分析 代谢组学的检测和分析与北京中医药大学中药学院高晓燕教授合作。

1.3.3 标本前处理 室温解冻血清标本后取 150 μ L,加入 450 μ L 甲醇沉淀蛋白,涡旋振荡 30 s,静置 10 min,经 12 000 r/min 离心 10 min 后,标本分层。取 400 μ L 上清液,经氮气吹干后,加入 100 μ L 超纯水进行复溶,涡旋 30 s,静置 10 min,经 12 000 r/min 离心 10 min,取上清液于带内衬管的进样小瓶行 UPLC 质谱联用技术(UPLC-MS)分析。

1.3.4 UPLC-质谱分析条件 色谱条件:采用 UPLC 系统进行分离,同时选用 HSS T3 色谱柱(型号: 2.1 mm $\times$ 100 mm,1.8 μ m)。梯度流动相选取 0.1% 甲酸水溶液(A)和纯甲醇溶液(B)的混合物。色谱柱温和自动进样器温度分别为 45 ℃ 和 4 ℃,每次进样量 2 μ L,流速设置 0.30 mL/min。使用梯度洗脱程序:100%A 持续 0~1.0 min,40%A 持续 1.0~2.0 min,0%A 持续 2.0~5.0 min,0%持续 5.0~10.0 min,100%A 持续 10.0~14.5 min。质谱条件:采用 XevoTM G2 Q/TOF 进行分析。将电喷雾电离源(ESI)设为正、负离子模式。记录 m/z 50~1 200 的轮廓数据。正离子扫描中毛细管电压和锥孔电压分别为 3.0 kV 和 28V,在 400 ℃ 将去溶剂气流速设置为 800 L/h,锥孔气流速为 30 L/h,离子源温度为 100 ℃;负离子扫描中毛细管电压和锥孔电压分别为 2.2 kV 和 30 V,锥孔气流速设为 40 L/h,其余同前。所有数据均使用 LockSpray 获得以保证准确性和可重复性。

1.3.5 数据处理与分析 采用 MarkerLynx 软件(V4.0)对原始数据进行采集分析,转换成包含 tR-m/z 离子对、样品名、峰强度的单一数据矩阵。将矩阵经过离子强度标准化后导入多变量统计软件 EZinfo 2.0 行正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)筛选潜在生物标志物。每一个样品都有一个基峰离子流图(BPI)。对于数据的提取和收集,其参数设置: Retention time range 0~10 min; Mass range 50~1 200; Mass tolerance 0.01; Apex Track Peak Parameters, Peak width at 5% height 1.00, Peak-to-peak baseline noise 0.00; Collection parameters, Marker intensity threshold 1 000, Mass window 0.02; Retention time window 0.20; Noise elimination level 6。根据差异权重贡献值(VIP 值)、 $P<0.05$ 的条件,采用全信息串联质谱技术(MSE)对代谢物峰进行筛选,对比 METLIN、KEGG、LIPID MAPS 等代谢

物谱库,鉴定差异性内源性代谢物,后代入代谢组学通路分析(MetPA)整合代谢途径。

1.3.6 UPLC Q-TOF/MS 方法学验证 质量控制样本(QC)由各组所有血清样品中取适量进行等量混合,采用与分析标本相同的方法处理和检测。分别选取正、负离子模式下 BPI 图中不同极性的 5 个 tR-m/z 离子对进行基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的代谢组学轮廓分析中仪器精密度、操作重复性和系统稳定性方法学考察。

1.4 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,2 组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以例数、百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 高、低 EOS 组患者一般资料比较 分别以 2%、3%作为 EOS%阈值设置的高 EOS 组、低 EOS 组 2 组间性别、年龄及有哮喘史、有过敏性鼻炎史、有吸烟史比例比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 1、2。

表 1 以 2%作为 EOS%阈值时高、低 EOS 组患者基线情况

组别	n	性别	年龄	有哮喘史	有过敏性鼻炎	有吸烟史
		(男/女,n/n)	($\bar{x}\pm s$,岁)	(%)	鼻炎史(%)	(%)
高 EOS 组	19	14/5	67.26 $\pm$ 7.25	15.79	5.26	31.58
低 EOS 组	19	15/4	66.84 $\pm$ 6.89	26.32	15.79	26.32
χ^2/t		0.146	0.183	0.158	1.164	0.128
P		0.703	0.855	0.691	0.281	0.721

表 2 以 3%作为 EOS%阈值时高、低 EOS 组患者基线情况

组别	n	性别	年龄	有哮喘史	有过敏性鼻炎	有吸烟史
		(男/女,n/n)	($\bar{x}\pm s$,岁)	(%)	鼻炎史(%)	(%)
高 EOS 组	14	10/4	65.64 $\pm$ 7.44	28.57	7.14	28.57
低 EOS 组	24	19/5	67.21 $\pm$ 6.47	16.67	12.5	29.17
χ^2/t		0.293	0.681	0.208	0.284	0.002
P		0.588	0.500	0.648	0.594	0.969

2.2 以 2%作为 EOS%阈值时高 EOS 组和低 EOS 组血清代谢物比较

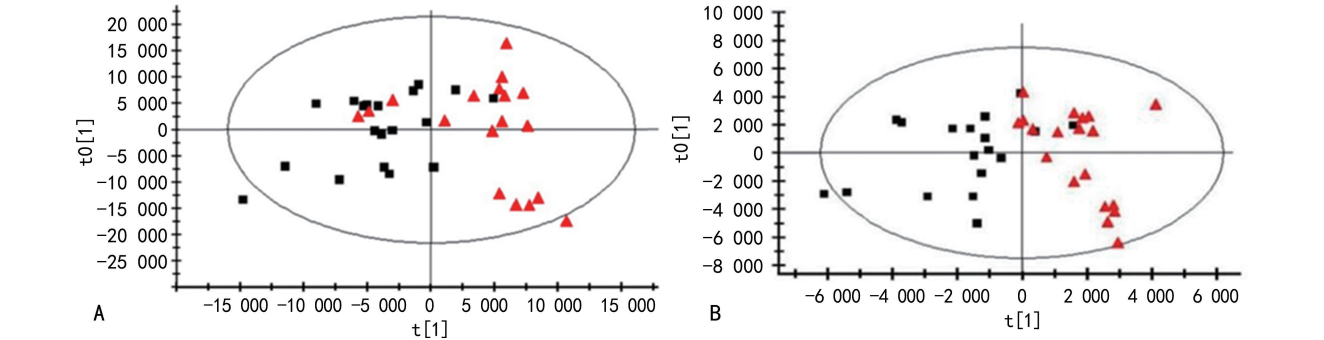
2.2.1 高 EOS 组与低 EOS 组代谢组学轮廓分析 将收集到的数据使用 MarkerLynx XS 方法进行处理,获取血清代谢组学轮廓。为了进一步了解 2 组之间的差异,并寻找高 EOS 组的潜在生物标志物,根据 OPLS-DA(差异分析)模型进一步筛选(图 1),图中显示了高 EOS 组和低 EOS 组正、负离子源下的评分图,可见 2 组存在明显差异。通过 VIP 值筛选出最具代表性的生物标志物,见 S-plot 图(图 2)。

2.2.2 差异代谢物及其相关代谢通路分析 根据

VIP 值>2、标本之间代谢物浓度的差异倍数(FC)>1 和 $P<0.05$,并通过精确质量数搜索、MSE 数据采集到的碎片裂解信息推断以及生化数据库裂解信息比对,对差异代谢物进行结构鉴定,挑选出具有较高贡献的 26 个变量作为 S-plot 图中的潜在标志物。表 3 显示了 26 个潜在生物标志物的详细信息。其中壬二酸(azelaic acid)、羟脂肪酸支链脂肪酸酯(FAHFA)

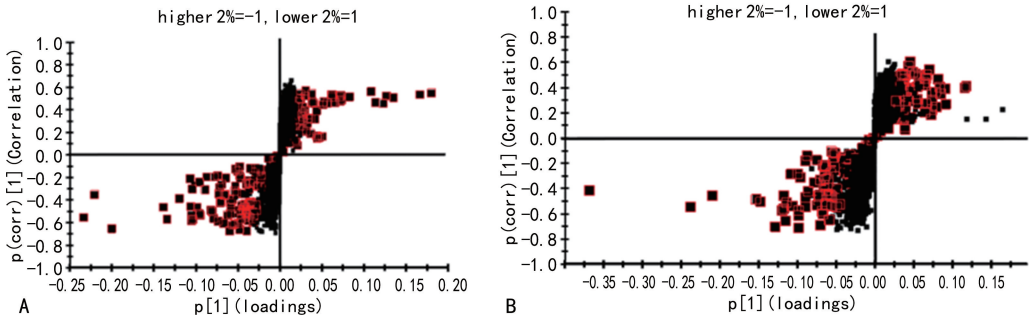
等 7 种在高 EOS 组中呈下降趋势,其余 19 种呈上升趋势,如鞘磷脂(SM)、磷脂酰胆碱(PC)、溶血磷脂酰胆碱(LysoPC)、磷脂酰乙醇胺(PE)等。

筛选出的潜在生物标志物涉及多条代谢通路,将差异化合物代入 MetPA 进行代谢通路分析。根据通路影响值>0.05,筛选出高 EOS 组中的机体代谢通路主要是甘油磷脂代谢通路。见图 3。



注:A 表示正离子模式 OPLS-DA 得分图;B 表示负离子模式 OPLS-DA 得分图;■表示高 EOS 组($\geq 2\%$);▲表示低 EOS 组($<2\%$);横轴(t[1])代表模型中第 1 个预测性主成分;纵轴(t0[1])代表第 1 个正交主成分。

图 1 以 2%作为 EOS%阈值时高 EOS 组和低 EOS 组 OPLS-DA 得分比较



注:A 表示正离子模式下 S-plot 图;B 表示负离子模式下 S-plot 图。

图 2 以 2%作为 EOS%阈值时高 EOS 组和低 EOS 组 S-plot 图比较

表 3 AECOPD 在以 2%作为 EOS%阈值时潜在差异代谢标志物

序号	差异代谢物	分子式	m/z	VIP 值	变化趋势	FC
1	SM(d18:1/24:1)	C ₄₇ H ₉₃ N ₂ O ₆ P	813.684	15.99	↑ *	1.20
2	LysoPC(18:1/0:0)	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	522.356	11.58	↑ *	1.15
3	SM(d18:1/24:1)	C ₄₇ H ₉₃ N ₂ O ₆ P	857.674	10.38	↑ *	1.20
4	SM(d17:1/24:1)	C ₄₆ H ₉₂ N ₂ O ₆ P	799.668	8.60	↑ **	1.25
5	PC(o-18:0/20:4)	C ₄₆ H ₈₆ NO ₇ P	796.621	7.19	↑ *	1.14
6	Porson	C ₂₂ H ₂₆ O ₆	387.181	6.52	↓ **	1.49
7	5a-tetrahydrocorticosterone	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	395.243	6.46	↓ *	2.27
8	SM(d16:1/24:1(15Z))	C ₄₅ H ₉₀ N ₂ O ₆ P	829.643	6.34	↑ *	1.23
9	SM(d17:1/24:1)	C ₄₆ H ₉₂ N ₂ O ₆ P	843.658	5.29	↑ *	1.26
10	FAHFA(22:6/13-O-18:2)	C ₄₀ H ₆₂ O ₄	607.470	5.12	↓ *	2.65
11	LysoPE(0:0/20:2)	C ₂₅ H ₄₈ NO ₇ P	524.335	5.10	↑ **	1.32
12	LysoPC(20:2)	C ₂₈ H ₅₄ NO ₇ P	548.370	5.05	↑ *	1.33
13	SM(d18:1/20:0)	C ₄₃ H ₈₇ N ₂ O ₆ P	803.627	4.28	↑ *	1.22
14	CE(22:6)	C ₄₉ H ₇₆ O ₂	719.570	3.73	↑ *	1.22
15	PC(O-16:0/18:0)	C ₄₂ H ₈₆ NO ₇ P	770.605	3.69	↑ *	1.20

续表 3 AECOPD 在以 2%作为 EOS% 阈值时潜在差异代谢标志物

序号	差异代谢物	分子式	m/z	VIP 值	变化趋势	FC
16	PE(22:5/P-16:0)	C ₄₃ H ₇₆ NO ₇ P	748.528	3.61	↑ *	1.68
17	LysoPC(22:5/0:0)	C ₃₀ H ₅₂ NO ₇ P	614.346	3.59	↑ *	1.29
18	LysoPC(20:2/0:0)	C ₂₈ H ₅₄ NO ₇ P	592.361	3.34	↑ *	1.23
19	LysoPC(P-18:0/0:0)	C ₂₆ H ₅₄ NO ₆ P	552.366	3.30	↑ *	1.36
20	azelaic acid	C ₉ H ₁₆ O ₄	187.097	3.23	↓ *	2.31
21	chenodeoxycholic acid	C ₂₄ H ₄₀ O ₄	391.285	3.16	↓ *	1.27
22	5α-pregnane-3,20-dione	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	317.246	3.10	↑ *	1.94
23	SM(d18:0/20:0)	C ₄₃ H ₈₉ N ₂ O ₆ P	783.640	2.82	↑ *	1.32
24	LysoPC(20:3/0:0)	C ₂₈ H ₅₂ NO ₇ P	590.345	2.47	↑ *	1.19
25	12,13-EpOME	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	295.227	2.43	↓ *	1.53
26	pentadecanoic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	241.217	2.01	↓ *	1.62

注:m/z 表示物质特征离子的质荷比;高 EOS 组与低 EOS 组相比,↑表示上升,↓表示下降,* P<0.05,** P<0.01。

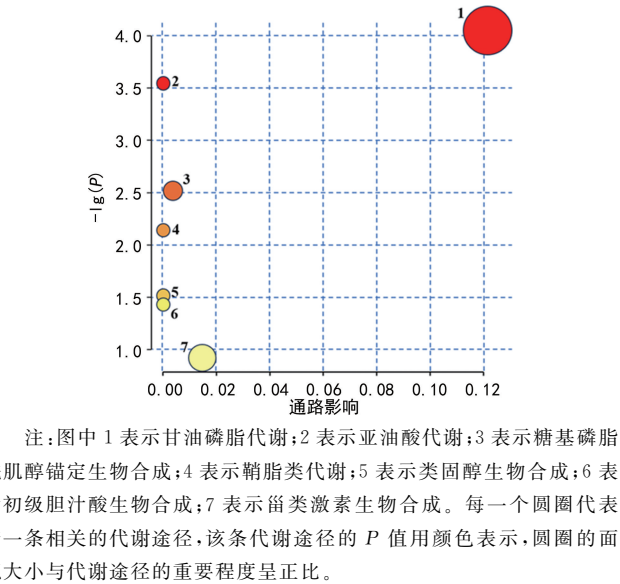
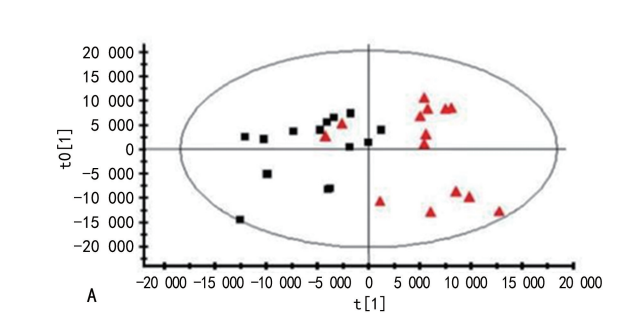


图 3 以 2%作为 EOS% 阈值时 AECOPD 患者血清代谢通路分析

2.3 以 3%作为 EOS% 阈值时高 EOS 组和低 EOS 组血清代谢物比较



注:A 表示正离子模式 OPLS-DA 得分图;B 表示负离子模式 OPLS-DA 得分图;■表示高 EOS 组(≥3%);▲表示低 EOS 组(<3%);横轴(t[1])代表模型中第 1 个预测性主成分;纵轴(t[2])代表第 1 个正交主成分。

2.3.1 高 EOS 组与低 EOS 组代谢组学轮廓分析

高 EOS 组与低 EOS 组正、负离子源下的评分见 OPLS-DA 得分图(图 4),2 组评分明显分离,说明组间存在着代谢谱的显著差别。根据 OPLS-DA 模型进一步筛选,对变量行标准化后得到了 S-plot 图(图 5)。

2.3.2 差异代谢物及其相关代谢通路分析

根据 VIP 值>2、FC>1 和 P<0.05,并通过精确质量数搜索、MSE 数据采集到的碎片裂解信息推断以及生化数据库裂解信息比对,对差异代谢物进行结构鉴定,挑选出具有较高贡献的 31 个变量作为 S-plot 图中的潜在标志物。表 4 显示了 31 个潜在生物标志物的详细信息,其中 SM、PC、LysoPC、脂酰甘油(PG)、磷脂醇(PA)等 24 种代谢物在高 EOS 组中呈上升趋势,另 7 种如甘油二酯(DG)等呈下降趋势。

本研究发现的 31 种已鉴定和定量的代谢物均使用 MetPA 分析途径,根据通路影响值>0.05,在高 EOS 组中观察到显著改变的途径,包括甘油磷脂代谢、醚脂类代谢 2 条相关的差异性代谢通路。见图 6。

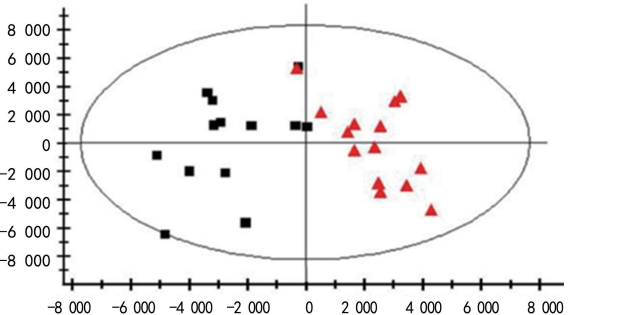
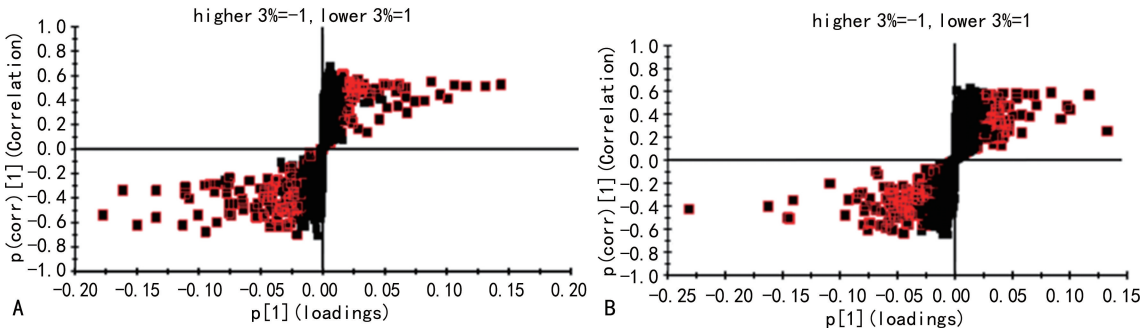


图 4 以 3%作为 EOS% 阈值时高 EOS 组和低 EOS 组 OPLS-DA 得分比较



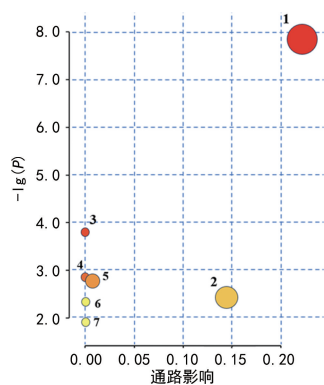
注:A 表示正离子模式下 S-plot 图;B 表示负离子模式下 S-plot 图。

图 5 以 3% 作为 EOS% 阈值时高 EOS 组和低 EOS 组 S-plot 图比较

表 4 AECOPD 在以 3% 作为 EOS% 阈值时潜在差异代谢标志物

序号	差异代谢物	m/z	分子式	VIP 值	变化趋势	FC
1	SM(d18;1/24;1)	813.684	C ₄₇ H ₉₃ N ₂ O ₆ P	14.25	↑ *	1.22
2	LysoPC(18;1/0;0)	522.356	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	13.17	↑ * *	1.24
3	harderoporphyrinogen	637.306	C ₃₅ H ₄₂ N ₄ O ₆	9.71	↓ *	2.33
4	DG(18;3(9Z,12Z,15Z)/16;0/0;0)	591.497	C ₃₇ H ₆₆ O ₅	9.63	↓ *	2.69
5	SM(d18;1/24;1)	857.674	C ₄₇ H ₉₃ N ₂ O ₆ P	9.00	↑ *	1.19
6	SM(d18;1/22;1(13Z))	785.653	C ₄₅ H ₈₉ N ₂ O ₆ P	8.71	↑ *	1.17
7	LysoPC(18;1)	566.346	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	8.60	↑ *	1.18
8	PC(o-18;0/20;4)	796.621	C ₄₆ H ₈₆ NO ₇ P	8.31	↑ * *	1.21
9	SM(d17;1/24;1)	799.668	C ₄₆ H ₉₂ N ₂ O ₆ P	7.87	↑ * *	1.28
10	5a-tetrahydrocorticosterone	395.243	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	6.72	↓ *	2.97
11	SM(d18;1/18;1(9Z))	729.591	C ₄₁ H ₈₁ N ₂ O ₆ P	6.54	↑ *	1.27
12	PC(22;2(13Z,16Z)/16;0)	814.633	C ₄₆ H ₈₈ NO ₈ P	5.87	↑ *	1.35
13	LysoPC(18;1(11Z)/0;0)	544.338	C ₂₆ H ₅₂ NO ₇ P	5.41	↑ * *	1.22
14	Porson	387.181	C ₂₂ H ₂₆ O ₆	4.75	↑ *	1.43
15	FAHFA(22;6/13-O-18;2)	607.470	C ₄₀ H ₆₂ O ₄	4.70	↓ *	2.97
16	PC(O-18;1(9Z)/16;0)	746.606	C ₄₂ H ₈₄ NO ₇ P	4.57	↑ *	1.18
17	1-acetoxy-2-hydroxy-16-heptadecen-4-one	327.254	C ₁₉ H ₃₄ O ₄	4.30	↓ *	2.68
18	PG(i-14;0/i-13;0)	653.442	C ₃₃ H ₆₅ O ₁₀ P	4.28	↑ *	2.39
19	LysoPC(20;2)	548.370	C ₂₈ H ₅₄ NO ₇ P	4.00	↑ *	1.33
20	PA(a-25;0/i-18;0)	847.645	C ₄₆ H ₉₁ O ₈ P	3.95	↑ *	1.18
21	PC(O-18;0/18;2)	772.622	C ₄₄ H ₈₆ NO ₇ P	3.90	↓ * *	1.24
22	LysoPE(0;0/20;2)	524.335	C ₂₅ H ₄₈ NO ₇ P	3.55	↑ *	1.28
23	SM(d18;1/18;1)	773.580	C ₄₁ H ₈₁ N ₂ O ₆ P	3.49	↑ *	1.23
24	PC(22;5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/P-18;0)	820.621	C ₄₈ H ₈₆ NO ₇ P	3.29	↑ *	1.18
25	LysoPC(P-18;0/0;0)	552.366	C ₂₆ H ₅₄ NO ₆ P	2.98	↑ *	1.44
26	homodolicholide	493.351	C ₂₉ H ₄₈ O ₆	2.94	↓ *	2.80
27	LysoPC(20;2/0;0)	592.361	C ₂₈ H ₅₄ NO ₇ P	2.94	↑ *	1.27
28	PE(22;2(13Z,16Z)/P-18;1(9Z))	826.595	C ₄₅ H ₈₄ NO ₇ P	2.87	↑ *	1.50
29	LysoPC(20;1(11Z)/0;0)	550.387	C ₂₈ H ₅₆ NO ₇ P	2.60	↑ *	1.30
30	PC(o-18;0/20;4)	840.611	C ₄₆ H ₈₆ NO ₇ P	2.54	↑ *	1.32
31	azelaic acid	187.097	C ₉ H ₁₆ O ₄	2.39	↑ *	2.15

注:m/z 表示物质特征离子的质荷比;高 EOS 组与低 EOS 组相比,↑ 表示上升,↓ 表示下降,* P<0.05,* * P<0.01。



注:图中 1 表示甘油磷脂代谢;2 表示醚脂类代谢;3 表示亚油酸代谢;4 表示 α -亚麻酸代谢;5 表示亚油酸代谢糖基磷脂酰肌醇锚定生物合成;6 表示鞘脂类代谢;7 表示花生四烯酸代谢;8 表示初级胆汁酸生物合成。每一个圆圈代表着一一条相关的代谢途径,该条代谢途径的 P 值用颜色表示,圆圈的面积大小与代谢途径的重要程度呈正比。

图 6 以 3%作为 EOS%阈值时 AECOPD 患者血清代谢通路分析

3 讨 论

AECOPD 是 COPD 的急性进展期,其发作使患者生活质量下降、经济负担加重、病死率升高,尚未有生物标志物对 COPD 的急性加重进行准确预测,积极寻找有助于识别、诊断 AECOPD,可评估 AECOPD 病情严重程度及预后的有效生物学标志物有其必要性。而将多种生物标志物和临床指标结合对 AECOPD 进行综合评估具有临床意义。

基于血 EOS 值获取、检测简便,易于作为特异性标志物推广的特点,临床多以外周血 $\text{EOS}\% \geq 2\%$ 作为 COPD 气道 EOS 增多的生物学特征之一,且稳定性较好^[7],可用于评估患者对激素治疗的敏感性,也为特异性抑制 EOS 相关炎症反应以防治 COPD 提供了理论依据,但是目前对于 EOS 增多及其作为潜在生物标志物的阈值尚未达成共识。研究表明,在气道炎症的差异方面,较高的 EOS 阈值(例如 $\text{EOS}\%$ 为 3%)下能观察到更大的差异性,而在较低的 EOS 阈值(例如 $\text{EOS}\%$ 为 2%)下可观察到更好的重复性^[7]。故本研究应用 UPLC-MS 对 38 例 AECOPD 患者的血清代谢物进行了检测,将 AECOPD 患者按照不同 EOS% 阈值(2%、3%)进行划分,分别探讨不同 EOS% 阈值下, AECOPD 患者的血清潜在代谢标志物及相关代谢通路。研究表明,在较高的 EOS 阈值(例如 $\text{EOS}\%$ 为 3%)下,随 EOS% 上升提示 AECOPD 患者机体处于感染状态或原有感染程度增加,提示较高阈值的 EOS% 可用于评估 AECOPD 的病情严重程度及作为预测恢复期再入院的生物学标志物^[8]。目前 COPD 的治疗以支气管扩张剂、吸入性糖皮质激素(ICS)为主,外周血 EOS 可协助 AECOPD 患者的病情评估,有助于指导 ICS 的使用,同时,规范 EOS 阈值的临床价值体现在其能缩窄 ICS 等激素使用的

窗口期,从而为个体化治疗、减少不良反应等提供依据^[5]。

3.1 不同外周血 EOS% 阈值下 AECOPD 患者血清代谢物的差异 在差异代谢物方面,差异的脂质成分主要为 SM、PC、LysoPC 等,这 3 种代谢物均为脂质代谢中的磷脂类。磷脂是构成生物膜的主要成分,可以减少肺泡表面张力^[9-10];同时,磷脂也是重要的信号分子,其中磷脂酰肌醇是第二信使的前体。SM 及其代谢分解产物神经酰胺(Cer)在 COPD 病理进程中发挥关键作用,后者的异常积聚可诱导肺泡上皮细胞及血管细胞凋亡,并通过抑制巨噬细胞清除功能加剧肺损伤^[11]。氧化应激促进磷脂氧化及免疫激活,导致炎症持续存在^[12]。研究发现,肺功能恶化及住院时间延长与 SM 水平相关^[13-14],其中 5 种 SM 亚型与肺气肿表型具有关联,7 种 Cer 与 COPD 中重度急性加重风险相关^[15]。本研究表明,在以 3% 为 EOS% 阈值的高 EOS 组中,SM 水平显著升高,提示 SM 积累可能驱动 AECOPD 进展;同时高 EOS 组 DG 水平下降,其通过抑制蛋白激酶 C 活化缓解支气管收缩,与 EOS 增多型患者预后较好现象一致^[16]。此外,PC 可被卵磷脂胆固醇酯转移酶(LCAT)催化后代谢产生 LysoPC 和胆固醇酯, LysoPC 则在溶血磷脂酶 D 的作用下转化为溶血磷脂酸。在 COPD 中, LysoPC 水平变化可能与炎症反应、肺组织损伤等机制有关。值得一提的是,PC 在 AECOPD 进程中多被认为是维持肺泡结构的脂代谢产物,本研究中 PC 在高 EOS 组中上调的特异性后续有待结合多组学数据进行验证。尽管 AECOPD 病变局限于气道及肺实质,但其代谢紊乱(如 SM、Cer、PC 等变化)与系统性炎症及免疫调控网络广泛关联,为靶向代谢通路干预 AECOPD 的防治提供了新方向。

SM、PC、LysoPC 这几种磷脂类代谢物在阈值分别为 2%、3% 的高 EOS 组中均呈上升趋势,提示可通过进一步扩大临床样本量从中筛选用于诊断 COPD 的生物标志物。

3.2 不同外周血 EOS% 阈值下 AECOPD 患者代谢通路的差异 在代谢通路方面,代谢通路富集分析显示高 EOS 组中甘油磷脂代谢紊乱最为显著,且 EOS 阈值为 3% 时较为 2% 时扰动更明显。与先前的研究一致,甘油磷脂代谢与 COPD 气流阻塞和病情恶化有关^[17]。在以 3% 为 EOS% 阈值的高 EOS 组中 AECOPD 患者醚脂类代谢扰动相对明显,可能是 EOS 增多导致其干扰 AECOPD 患者肺泡 II 型上皮细胞的脂质代谢过程及表面活性物质生成而产生的结果^[18]。

鉴于 COPD 的复杂性,不同的代谢途径可能与特定的临床表型有关^[13]。而气道 EOS 增多性炎症可以存在于特殊类型的 COPD 患者中,使得 COPD 的异

质性更加突出。因此,综合机制研究、代谢途径分析与其他组学的方法可以锁定特定的致病性代谢途径^[19]。在确定了相关代谢途径后,其组成部分如基因表达、蛋白质/酶活性、代谢产物浓度等可以成为进一步研究的切入点,进而探讨代谢谱改变背后的机制,来进一步解释 EOS 在 COPD 中的作用。目前, COPD 的代谢组学研究涉及不同分期,如急性加重期、稳定期。后期可以扩大样本量进行同一患者不同分期的代谢组学动态研究,从而远期评估 EOS% 阈值的变化及与恶化率的相关性,同时排除其他潜在因素对外周血 EOS 水平的干扰,以期分析 COPD 中基于 EOS 计数的生物标志物的动态变化,研究 COPD 的病理生理过程及发病机制。

综上所述,不同外周血 EOS% 阈值下 AECOPD 患者存在特异性的致病代谢途径,临床中精确外周血 EOS% 阈值可为规范使用 ICS 等药物提供精准指导,进而提高临床疗效,也可能用于指导 COPD 稳定期患者 ICS 的个性化治疗^[20]。当然,外周血 EOS% 阈值选择等方面仍然存在许多争议,还需要对 AECOPD 患者进行更多的临床研究来验证。

参考文献

- [1] 陈新乐,张涛,黄淑君.嗜酸性粒细胞水平变化在 COPD 急性加重期患者病情评估中的应用价值[J].中国卫生工程学,2023,32(6):826-827.
- [2] AGUSTÍ A,CELLI B R,CRINER G J,et al. Global initiative for chronic obstructive lung disease 2023 report: GOLD executive summary [J]. Eur Respir J, 2023, 61 (4):2300239.
- [3] 孙永昌.从慢性阻塞性肺疾病全球倡议看指南更新与临床实践[J].国际呼吸杂志,2024,44(6):621-623.
- [4] ANTUS B,BARTA I. Blood eosinophils and exhaled nitric oxide:surrogate biomarkers of airway eosinophilia in stable COPD and exacerbation [J]. Biomedicines,2022,10 (9):2128.
- [5] 魏东晖,李津娜,周宁,等.不同水平血嗜酸性粒细胞的慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者临床特征及预后比较[J].实用医学杂志,2022,38(16):2037-2041.
- [6] MUNESWARAO J,VERMA A K,HASSALI M A A. Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD) 2018 report:highlighting an incorrect information [J]. Pulm Pharmacol Ther,2018,49:10.
- [7] 陈典,隆寰宇,李姝润,等.2024 年 GOLD 慢性阻塞性肺疾病诊断、治疗、管理及预防全球策略更新要点解读[J].中国全科医学,2024,27(13):1533-1543.
- [8] 冯小艺,李沁雪,梁斌苗,等.外周血嗜酸粒细胞对慢性阻塞性肺疾病急性加重患者恢复期再入院的预测价值研究[J].国际呼吸杂志,2022,42(24):1895-1901.
- [9] WANG B,RONG X,DUERR M A,et al. Intestinal phos-

pholipid remodeling is required for dietary-lipid uptake and survival on a high-fat diet [J]. Cell Metab,2016,23 (3):492-504.

- [10] BERNHARD W. Lung surfactant: function and composition in the context of development and respiratory physiology [J]. Ann Anat,2016,208:146-150.
- [11] XIANG H,JIN S,TAN F,et al. Physiological functions and therapeutic applications of neutral sphingomyelinase and acid sphingomyelinase [J]. Biomed Pharmacother, 2021,139:111610.
- [12] MARTIN R,NORA M,ANNA L,et al. Altered hypoxia-induced cellular responses and inflammatory profile in lung fibroblasts from COPD patients compared to control subjects [J]. Respir Res,2024,25(1):282.
- [13] DING H Z,WANG H,WU D,et al. Serum metabolomics analysis of patients with chronic obstructive pulmonary disease and frequent exacerbator phenotype[J]. Mol Med Rep,2024,30(2):137.
- [14] JIA Q,CHEN Y,ZEN Q,et al. Development and validation of machine learning-based models for prediction of intensive care unit admission and in-hospital mortality in patients with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Chronic Obstr Pulm Dis,2024,11 (5):460-471.
- [15] SHAIKH S R,FESSLER M B,GOWDY K M. Role for phospholipid acyl chains and cholesterol in pulmonary infections and inflammation [J]. J Leukoc Biol,2016,100 (5):985-997.
- [16] 陈明明,许云鹏,昌淑婷,等.藏红花素在慢性阻塞性肺疾病中的研究进展[J].临床肺科杂志,2023,28(11):1740-1744.
- [17] BEN ANES A,BEN NASR H,TABKA Z,et al. Plasma lipid profiling identifies phosphatidylcholine 34:3 and triglyceride 52:3 as potential markers associated with disease severity and oxidative status in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Lung,2022,200(4):495-503.
- [18] FAN L C,MCCONN K,PLATAKI M,et al. Alveolar type II epithelial cell FASN maintains lipid homeostasis in experimental COPD [J]. JCI Insight, 2023, 8 (16): e163403.
- [19] LABAKI W W,GU T,MURRAY S,et al. Serum amino acid concentrations and clinical outcomes in smokers: SPIROMICS metabolomics study [J]. Sci Rep, 2019, 9 (1):11367.
- [20] MATHIOUDAKIS A G,BATE S,SIVAPALAN P,et al. Rethinking blood eosinophils for assessing ICS response in COPD:a post-hoc analysis from FLAME [J]. Chest,2024,166(5):987-997.