

• 论 著 •

基于 Olink 靶向蛋白质组学技术的高原习服和平原人血清差异表达蛋白研究*

潘镜余¹, 谷天艳², 陈 玲³, 马筱洁⁴, 史清海^{3△}

1. 石河子大学医学院, 新疆石河子 832000; 2. 新疆医科大学研究生院, 新疆乌鲁木齐 830000; 3. 新疆军区总医院临床检验诊断中心, 新疆乌鲁木齐 830000; 4. 新疆维吾尔自治区人民医院输血科, 新疆乌鲁木齐 830000

摘要:目的 应用 Olink 靶向蛋白质组学技术筛选高原习服和平原人血清中细胞代谢相关差异表达蛋白, 了解其在机体组织或细胞缺氧适应性代谢中的功能。**方法** 纳入 2020 年 12 月至 2021 年 7 月移居平均海拔 4 500 m、居住时间为 6~12 个月的高原习服男性 40 例(高原习服组), 以及与之相匹配的久居平原的健康汉族男性 40 例(对照组)作为研究对象, 收集两组基础资料和血压、心率、血氧饱和度等指标, 采用 Olink 靶向蛋白质组学技术检测血清中 92 种细胞代谢相关蛋白的差异表达情况并进行富集分析。**结果** 与平原对照组相比, 高原习服组舒张压、心率较高, 血氧饱和度较低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 血清中细胞代谢相关的差异表达蛋白有 34 个, 其中上调 16 个($P < 0.05$), 下调 18 个($P < 0.05$); 差异表达蛋白在阿米巴病、嘧啶代谢、溶酶体、细胞凋亡、胰岛素代谢、细胞黏附分子等通路显著富集, 还有一些为氮素代谢、精氨酸生物合成、烟酸盐和烟酰胺代谢、磷酸戊糖途径等通路中的关键蛋白。**结论** 高原习服人群血清中多种与细胞缺氧代谢相关的蛋白表达发生变化, 表明机体组织或细胞发生缺氧适应性代谢改变。

关键词:高原习服; 蛋白质组学; 缺氧; 代谢; 生物信息学分析

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.20.002

中图分类号: R82; R594.3

文章编号: 1673-4130(2023)20-2439-08

文献标志码: A

Differentially expressed proteins in serum of high-altitude acclimatized population and plain habitants based on Olink targeted proteomics technology*

PAN Jingyu¹, GU Tianyan², CHEN Ling³, MA Xiaojie⁴, SHI Qinghai^{3△}

1. Medical College, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China; 2. Graduate School, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 3. Clinical Laboratory Diagnostic Center, General Hospital of Xinjiang Military Command, Urumqi, Xinjiang 830000, China; 4. Department of Blood Transfusion, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonmonous Region, Urumqi, Xinjiang 830000, China

Abstract: **Objective** To screen the differentially expressed proteins related to cell metabolism in human serum of plateau acclimatized population and plain habitants by Olink targeted proteomics technology, and to understand their function in the adaptive metabolism of tissue or cell hypoxia. **Methods** A total of 40 plateau acclimatized males who migrated to an average altitude of 4 500 meters and lived for 6–12 months from December 2020 to July 2021 (plateau acclimatization group), and 40 matched healthy Han Chinese males (plain control group) who have been living in the plain for a long time were selected as the research subjects. The basic data and blood pressure, heart rate, and blood oxygen saturation of the subjects were collected. Olink targeted proteomics technology was used to detect the differential expression of 92 cell metabolism-related proteins in serum and enrichment analysis was performed. **Results** Compared with the plain control group, the diastolic blood pressure and heart rate of the plateau acclimatization group were higher, and there were 34 differentially expressed proteins related to cell metabolism in the serum of the plateau acclimatization group, of which 16 were up-regulated ($P < 0.05$) and 18 were down-regulated ($P < 0.05$). Differentially expressed proteins were significantly enriched in pathways such as amoeba disease, pyrimidine metabolism, lysosome, cell apoptosis, insulin metabolism, and cell adhesion molecules, and some were key proteins in pathways such as nitrogen metabolism, arginine biosynthesis, nicotinate and nicotinamide metabolism, and pentose phosphate

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81871020)。

作者简介: 潘镜余, 女, 硕士研究生在读, 主要从事临床检验诊断学研究。△ 通信作者, E-mail: shiqinghai@aliyun.com。

pathway. **Conclusion** The expression of various proteins related to hypoxia metabolism in serum of plateau acclimatized population changes, indicating that hypoxia adaptive metabolism changes occur in body tissues or cells.

Key words: plateau acclimatization; proteomics; hypoxia; metabolism; bioinformatics analysis

高原地区以低压低氧、高寒及强紫外线为主要特征,其中对人类生命活动影响最为显著的主要是低氧因素^[1]。人体暴露于高原低氧环境后,机体会从整体水平调动其内在机制发生一系列的代偿适应性变化以应对高原低氧环境,使机体内环境由不平衡到平衡,最终达到内、外环境的统一,这一过程称为高原习服^[2]。机体对高原环境的习服是一个时间依赖的渐进过程,多数人可通过习服获得对高原环境良好的适应。高原习服的机制是高原缺氧阶段机体神经-体液调节系统及生理、生化代谢的适应性改变^[3],以往的研究集中在组织和细胞层面低氧诱导因子激活的造血系统、脂类代谢、炎症反应等适应性代谢改变,而循环系统外周血中组织或细胞代谢过程中的各类终产物或中间产物的表达变化蕴含着丰富的代谢变化信息,其中痕量、微小蛋白分子由于易被血液中高丰度蛋白的掩盖或遮蔽一直以来都是相关研究的难点和瓶颈。近年来,蛋白质组学技术主要应用于识别新的生物标志物和(或)潜在的治疗靶点,以液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)^[4]、蛋白芯片^[5]、Olink 蛋白质组学技术^[6]为代表的高覆盖度的蛋白质定性与定量的分析技术为疾病诊断、药物研发和致病机制研究提供了多种选择。

Olink 蛋白质组学技术是基于邻位延伸技术(PEA)的高通量靶向检测血液(或各种体液)中特定种类蛋白质的技术,其最大的优势在于灵敏度达到飞克(fg)级别,更易检测出低丰度表达蛋白,已广泛应用于多种疾病的基础和临床研究。为深入了解高原习服人群外周血中与细胞代谢过程特异性相关的小分子蛋白差异表达情况,探索高原习服机体组织和细胞代谢性相关缺氧适应性功能机制,本研究拟应用 Olink 靶向蛋白质组学技术,筛选高原习服人群与平原人群血清中细胞代谢相关的血清差异表达蛋白,分析其在细胞缺氧代谢调控作用中的功能,为探索高原适应性机制和促进高原习服提供参考依据和药物新靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2020 年 12 月至 2021 年 7 月移居西藏阿里地区 6~12 个月的 40 例汉族青壮年男性作为高原习服组,均居住于平均海拔 4 500 m 的地区,身体适应高原,体检无异常(在陆军某部医院完成体检);另选取与高原习服组年龄等相匹配的 40 例新疆军区总医院体检中心的平原汉族男性作为平原对照组,均长期居住于海拔<1 000 m 的地区,体检结果为健康。

1.2 纳入及排除标准 依据新疆军区总医院医学伦

理委员会的要求,获得研究对象知情同意。高原习服组研究对象的纳入标准:(1)由海拔 1 000 m 以下移居至平均海拔 4 500 m 地区的汉族青壮年男性,居住时间为 6~12 个月,已适应高原生活且无身体不适者;(2)此前均未到过高原地区,且无心、肺等基础病史;(3)除外真性红细胞增多症和其他继发性红细胞增多;(4)近期无外伤及手术病史,无发热、炎症及其他可能影响检测结果的情况(如身体状态欠佳,有饮酒、用药等情况)。平原对照组研究对象纳入标准:(1)常驻海拔<1 000 m,近 6 个月无长期海拔 2 000 m 以上旅居史的汉族青壮年男性;(2)无慢性疾病史,经过体检,肝、肾功能指标,以及心电图、胸片、腹部超声等检查指标均无异常;(3)近期无外伤及手术病史,无发热、炎症及其他可能影响检测结果的情况。

1.3 仪器与试剂 分别采用上臂式电子血压计(大连欧姆龙 HEM-7127J)和指夹式脉搏血氧仪(江苏鱼跃 YX307),在静息状态下测量并记录研究对象血压、心率和指脉氧饱和度。由杭州联川生物技术有限公司提供血清 Olink 蛋白质组学检测服务,Olink 92 种靶标代谢 Panel 试剂盒可检测靶标见表 1。

1.4 方法

1.4.1 血液样本的采集 所有研究对象禁食 12 h,于次日清晨黄帽分离胶采血管采肘静脉血 5 mL,4℃、3 000 r/min 离心 10 min,取上层血清,于-80℃冰箱冻存用于蛋白质组学检测。

1.4.2 血清差异表达蛋白检测 采用 Olink 靶向蛋白质组学技术——邻近延伸分析技术(瑞典 Olink Proteomics 公司)进行检测。基本原理是使用一对互补可杂交 DNA 寡核苷酸标记的抗体同时与一个靶标蛋白结合,待测的靶标蛋白使这对抗体接近,通过杂交反应使抗体上配对的 DNA 寡核苷酸形成双链 DNA 标签,采用微流控定量 PCR(qPCR)对双链 DNA 标签进行相对定量检测和分析,扩增子数量与待测靶标蛋白的初始浓度呈正比。基本操作步骤包括加样、杂交孵育、延伸与扩增、芯片预处理及上机操作、数据分析。使用 3 个用于计算检测限(LOD)的阴性对照和 3 个含有 92 组抗体的板间对照(IPC)对所得循环阈值(Ct)进行质量控制和标准化,测定数值以标准化蛋白质表达值(NPX)的 log₂ 对数转换值表示,计算公式:靶标 dCt=靶标 Ct-阴性对照 Ct-板间对照 Ct;靶标 ddCt=校正因子(试剂批次变量)-靶标 dCt。使用 Olink 靶向蛋白质组学技术对高原习服组和平原对照组研究对象血清中代谢相关靶标蛋白表达水平进行检测,将获得的 NPX 进行聚类分析。

1.4.3 生物信息学分析 对筛选的差异表达蛋白应用基因本体论(GO)数据库(<http://www.geneontology.org/>)按照其生物学功能及机体内参与的生理学反应过程进行 GO 分类和富集分析,绘制 GO 分析柱

状图和气泡图。对差异表达蛋白应用京都基因和基因组百科全书(KEGG)数据库(<http://www.kegg.jp/>)中的信号通路提供代谢途径查询并进行富集,绘制 KEGG 分析柱状图和气泡图。

表 1 Olink 92 种靶标代谢 Panel 试剂盒靶标

靶标	ID	靶标	ID	靶标	ID	靶标	ID
SOST	Q9BQB4	KLK10	O43240	CDHR5	Q9HBB8	CLUL1	Q15846
CRKL	P46109	CHRD12	Q6WN34	FBP1	P09467	DPP7	Q9UHL4
NADK	O95544	ANXA11	P50995	LILRA5	A6NI73	ENO2	P09104
RNASE3	P12724	SDC4	P31431	CLSTN2	Q9H4D0	IGFBPL1	Q8WX77
CA13	Q8N1Q1	FAM3C	Q92520	CANT1	Q8WVQ1	CD1C	P29017
SNAP23	O00161	GLRX	P35754	ALDH1A1	P00352	LRIG1	Q96JA1
GHRL	Q9UBU3	NECTIN2	Q92692	SIGLEC7	Q9Y286	REG4	Q9BYZ8
APEX1	P27695	MCFD2	Q8NI22	SERPINB8	P50452	GAL	P22466
SUMF2	Q8NBJ7	CTSO	P43234	NT-proBNP	NA	SEMA3F	Q13275
CTSH	P09668	ARG1	P05089	LRP11	Q86VZ4	AHCY	P23526
TYMP	P19971	APLP1	P51693	CLEC5A	Q9NY25	MEP1B	Q16820
NPDC1	Q9NQX5	NOMO1	Q15155	TYRO3	Q06418	PILRB	Q9UKJ0
CCDC80	Q76M96	SERPINB6	P35237	ADGRE2	Q9UHX3	FCRL1	Q96LA6
靶标	ID	靶标	ID	靶标	ID	靶标	ID
PPP1R2	P41236	ACP6	Q9NPH0	BAG6	P46379	ADGRG2	Q8IZP9
CD164	Q04900	NQO2	P16083	ENPP7	Q6UWV6	THOP1	P52888
ANGPT2	O15123	PAG1	Q9NWQ8	CLMP	Q9H6B4	FKBP4	Q02790
TXNDC5	Q8NBS9	DDC	P20711	NPTXR	O95502	TSHB	P01222
GRAP2	O75791	ITGB7	P26010	QDPR	P09417	METRNL	Q641Q3
VCAN	P13611	ANGPTL1	O95841	DAB2	P98082	CD79B	P40259
CDH2	P19022	TFF2	Q03403	ANXA4	P09525	HDGF	P51858
COMT	P21964	DIABLO	Q9NR28	ENTPD5	O75356	USP8	P40818
SSC4D	Q8WTU2	ROR1	Q01973	CD2AP	Q9Y5K6	RTN4R	Q9BZR6
KYAT1	Q16773	TINAGL1	Q9GZM7	S100P	P25815	ANGPTL7	O43827

注:NA 表示不适用。

1.5 统计学处理 应用 SPSS25.0 统计学软件对数据进行分析,呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较采用 t 检验;非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,两组比较采用 Mann-Whitney 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用 Olink NPX Signature 1.5.3.0 软件分析数据,差异表达蛋白确定标准为两组 NPX 比较 $P < 0.05$,差值 > 0 为上调,差值 < 0 为下调。

2 结果

2.1 基本资料和生理指标比较 本研究纳入的两组研究对象为非自身对照关系。为了排除性别和民族影响,故两组纳入者均为汉族青年男性人群。经统计分析,两组间年龄、身高、体重、收缩压差异无统计学意义($P > 0.05$);与平原对照组相比,高原习服组舒

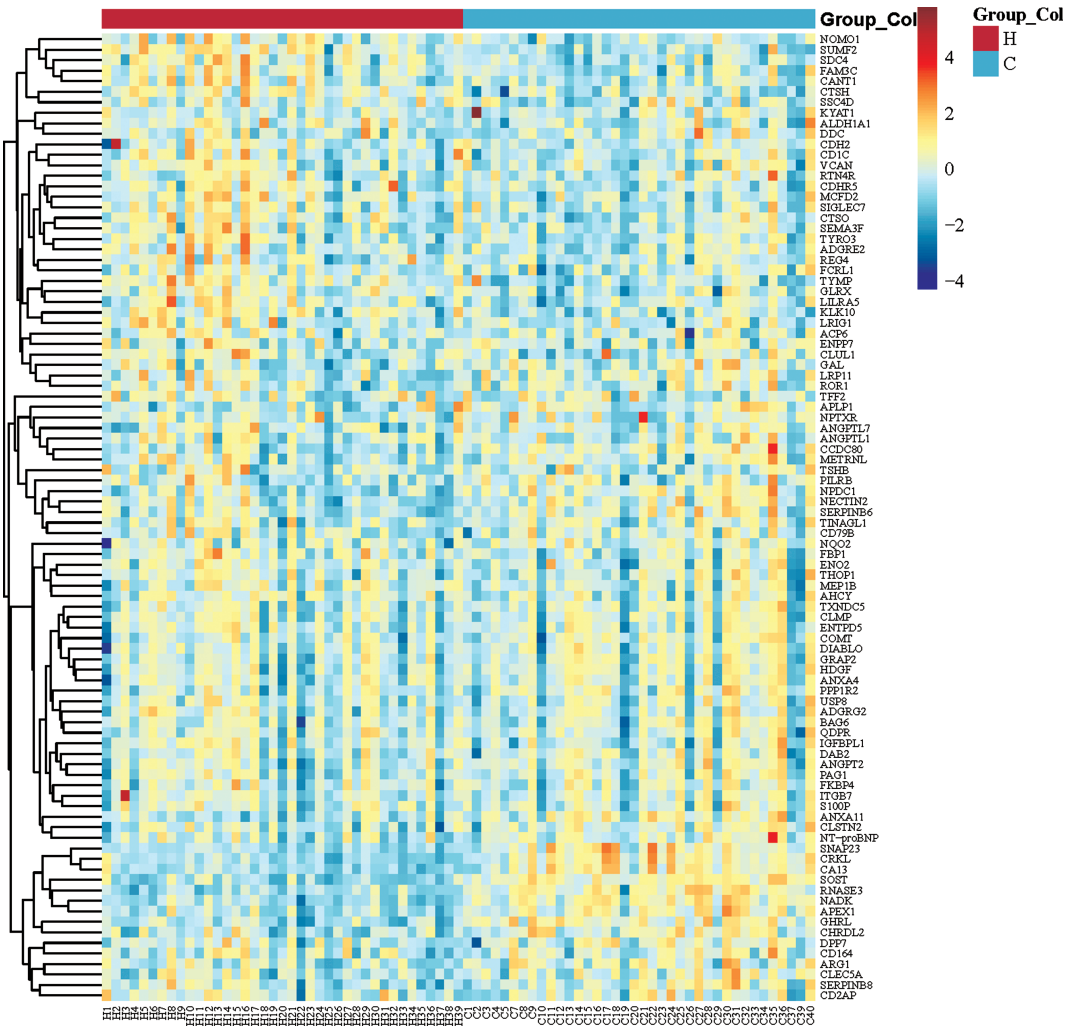
张压、心率较高,血氧饱和度较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 血清中代谢相关差异表达蛋白的分析结果 使用 Olink 靶向蛋白质组学技术对高原习服组和平原对照组研究对象血清中代谢相关 92 个靶标蛋白表达水平进行检测,将获得的 NPX 进行聚类分析,结果见图 1。计算两组 NPX 均数的差值,筛选得到差异表达蛋白 34 个,其中上调 16 个,按照 P 值从小到大排序分别是:SUMF2、CTSH、TYMP、KLK10、SDC4、FAM3C、GLRX、MCFD2、CTSO、NOMO1、CDHR5、FBP1、LILRA5、CANT1、ALDH1A1、SIGLEC7($P < 0.05$);下调 18 个,分别是:SOST、CRKL、NADK、RNASE3、CA13、SNAP23、GHRL、APEX1、NPDC1、CCDC80、CHRD12、ANXA11、NECTIN2、ARG1、

APLP1、SERPINB6、CLSTN2、SERPINB8 ($P < 0.05$)。分别对上调和下调 P 值最小的排名前 5 位 (TOP 5) 显著差异表达蛋白进行分析, 结果见图 2。

表 2 两组基本资料及生理指标比较 [$\bar{x} \pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$]

组别	<i>n</i>	年龄(岁)	身高(cm)	体重(kg)	收缩压(mmHg)	舒张压(mmHg)	心率(次/分)	血氧饱和度(%)
平原对照组	40	21.80±1.71	173.03±5.31	66.63±6.08	120.45±13.25	70.10±7.24	71.90(64.25,78.75)	98.88±0.34
高原习服组	40	21.33±2.06	174.83±5.62	69.83±9.65	117.88±12.05	76.45±9.51	85.10(71.00,95.75)	87.43±4.40
<i>t/Z</i>		1.12	-1.47	-1.77	0.91	-3.35	-4.53	16.40
<i>P</i>		0.27	0.15	0.08	0.37	<0.01	<0.01	<0.01

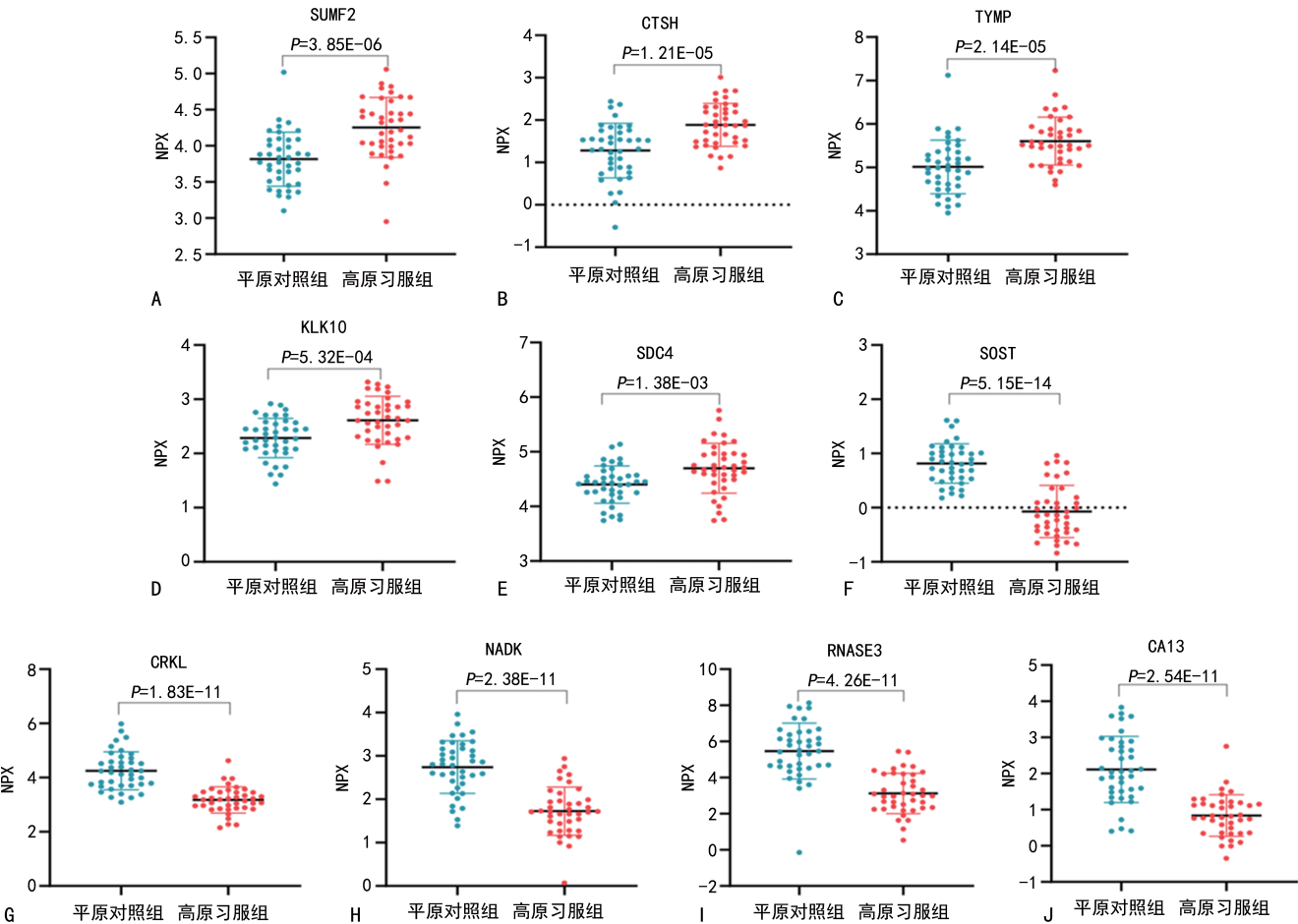


注: X 轴的每个坐标代表一个样本, Y 轴的每个坐标代表一个靶标蛋白, 右侧颜色条从蓝色到红色的渐变代表表达水平的高低, 蓝色越深代表表达水平越低, 红色越深代表表达水平越高。

图 1 高原习服组和平原对照组血清中代谢相关 92 个靶标蛋白表达水平热图

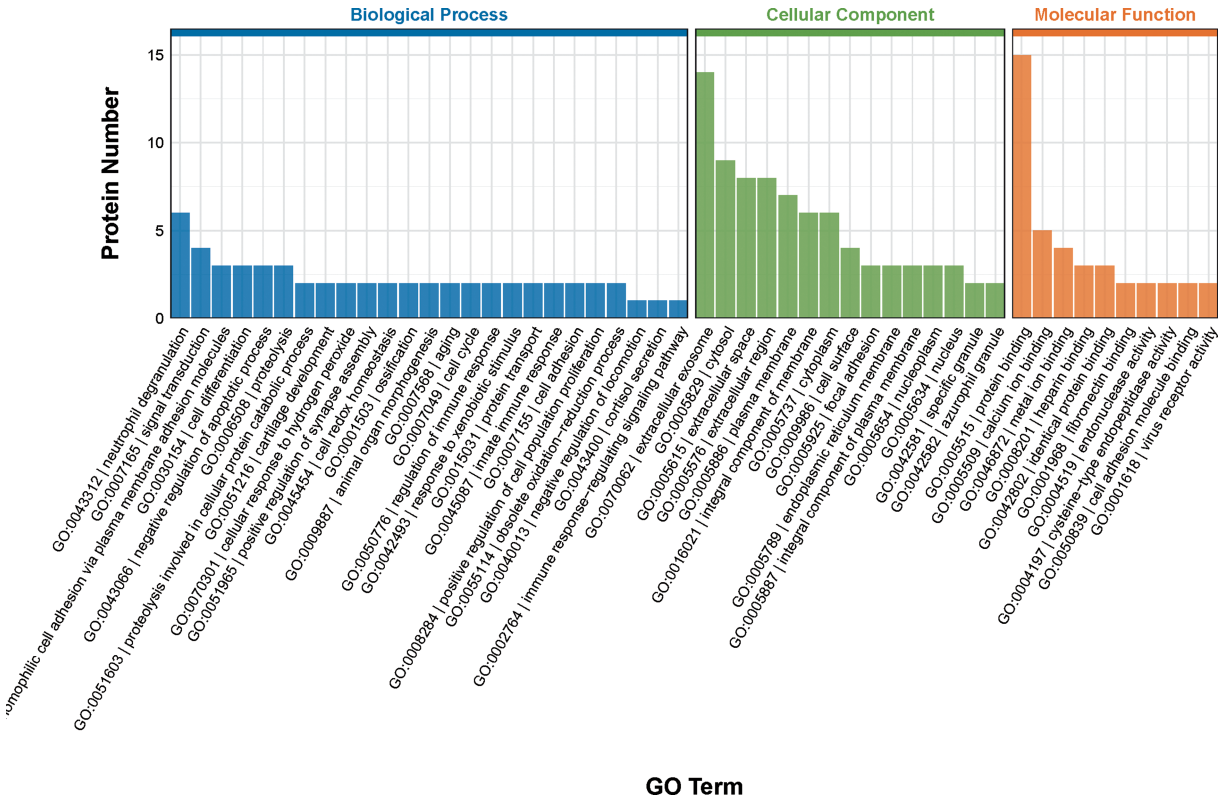
2.3 血清中代谢相关差异表达蛋白 GO 富集分析 Olink 蛋白质组代谢 panel 共检测 92 种靶标蛋白, 对两组比较显著上调的 16 种蛋白和下调的 18 种蛋白进行 GO 分类分析, 结果表明: 差异蛋白在细胞组分分类中主要富集在细胞外泌体; 在生物学过程分类中主要富集在中性粒细胞脱颗粒、通过细胞质膜黏附分子黏附、免疫调节等生物学过程; 在分子功能分类中主要富集在蛋白质结合、钙离子结合、金属离子结合等, 见图 3。

2.4 血清中代谢相关差异表达蛋白 KEGG 富集分析 进一步对参与各类生物过程的差异表达蛋白在细胞过程、环境信息处理、遗传信息处理、人类疾病、新陈代谢、生物系统 6 个部分进行富集分析, 发现差异表达蛋白分别在阿米巴病、嘧啶代谢、溶酶体、凋亡、胰岛素代谢、细胞黏附分子等通路富集, 见图 4。此外, 还有一些差异表达蛋白是氮素代谢、精氨酸生物合成、烟酸盐和烟酰胺代谢、磷酸戊糖途径等通路中的关键蛋白。



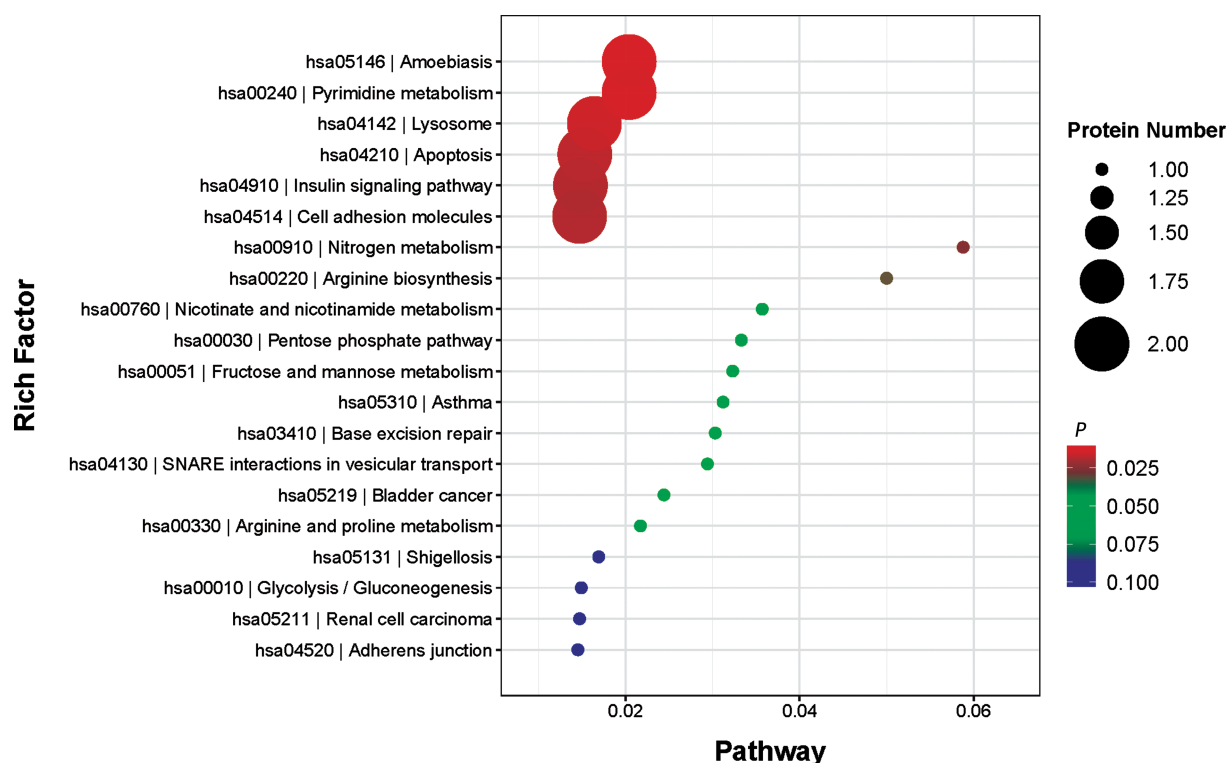
注:A~E为 TOP 5 上调表达蛋白,F~J 为 TOP 5 下调表达蛋白;P 值中 E-06 为 $\times 10^{-6}$,依次类推;NPX 为标准化蛋白表达值。

图 2 高原习服组和平原对照组 92 个靶标蛋白中 P 值最小的前 5 位差异表达蛋白



注:横坐标为差异表达蛋白在 GO 条目(GO Term)中的存在方式或意义,纵坐标为总蛋白数(Protein Number);Biological Process,生物过程;Cellular Component,细胞组分;Molecular Function,分子功能。

图 3 高原习服组和平原对照组血清中差异表达蛋白的 GO 富集分析



注:纵坐标 Rich Factor 表示位于该 KEGG 的差异蛋白个数/位于该 KEGG 的总蛋白数(Protein Number),Rich Factor 值越大,KEGG 富集程度越高;点的大小代表蛋白数目,点的颜色代表富集分析的 P 值,即富集的显著性;该 KEGG 富集分析气泡图是根据富集的 P 值取前 20 位的信号通路进行绘图展示。

图 4 高原习服组和平原对照组血清中差异表达蛋白的 KEGG 富集分析

3 讨 论

高原缺氧会对机体造成一定损伤,但机体也可以通过一段时间的代偿性适应来维持体内内环境的平衡达到高原习服,如果不能有效适应和习服,则可能导致严重的肺水肿或脑水肿^[7]。本研究纳入的移居海拔 4 500 m、居住 6~12 个月的高原习服研究对象血氧饱和度降低、心率增快均符合移居高原人群基本生理特征。

机体组织细胞有氧呼吸以氧为电子传递链中的电子受体,产生 ATP 为细胞代谢提供能量。细胞缺氧将引发多种生理和病理生理改变,无论是急性高原反应、急慢性高原病还是高原习服,它们的中心调节蛋白都是缺氧诱导因子(HIF)蛋白家族^[8],而 HIF-1 被认为是低氧代谢适应的主要驱动因素,在体内维持氧稳态,氧供受限时能调控数百个基因的表达,包括血管新生因子(VEGF)、促红细胞生成素(EPO)、一氧化氮合酶(NOS)等一系列与无氧呼吸和葡萄糖转运相关的酶等^[9]。缺氧暴露后,代谢适应对正常组织功能至关重要,细胞氧浓度的维持能使其从有氧氧化到无氧糖酵解代谢过程间完成快速和可逆的代谢转换^[10-11],而组织或细胞在缺氧适应性代谢过程中的多种产物将释放到外周血循环系统中,有些产物是通过循环系统转运到相应靶器官发挥调控作用,有些则可能是代谢中间产物或废物等依靠循环系统完成清除,这些产物分子的表达和水平变化蕴含着丰富的代谢

变化信息。

LU 等^[12]使用 iTRAQ 蛋白质组学技术分析高原习服者血浆后发现,与三羧酸循环、核糖体、代谢途径、甘油酯代谢、抗坏血酸和盐酸盐代谢、丙酸代谢、蛋白酶体等相关的蛋白表达量减少;ZHANG 等^[13]利用 iTRAQ 4-plex 蛋白质组学技术研究了慢性高原病与非慢性高原病者之间的差异表达蛋白,富集分析表明主要在过氧化物酶体、氮代谢、碳代谢、代谢途径、嘌呤代谢和磷酸戊糖途径中积累;YANG 等^[14]利用 Olink 蛋白质组学技术在急进高原习服良好和习服不良者中筛选血清差异表达蛋白谱,发现其参与碳水化合物的代谢、葡萄糖/能量代谢的蛋白表达升高。由于血浆中白蛋白、免疫球蛋白等高丰度表达蛋白的遮蔽作用,其中一些痕量且微小的蛋白分子因丰度低难以被检测。本研究应用 Olink 蛋白质组学技术对高原习服人群和平原人群外周血清中代谢相关的 92 个靶标蛋白表达水平进行检测,筛选得到差异表达蛋白谱共 34 个蛋白质,其中表达上调的蛋白 16 个,表达下调的蛋白 18 个。本研究通过 KEGG 富集分析发现,34 个差异表达蛋白在阿米巴病、嘧啶代谢、溶酶体、凋亡、胰岛素代谢、细胞黏附分子等通路显著富集,还有一些差异表达蛋白是氮素代谢、精氨酸生物合成、烟酸盐和烟酰胺代谢、磷酸戊糖途径等通路中的关键蛋白。上述结果与前述研究报道的结果不完全一致^[12-14],存在结果差异可能是与不同研究人群的

高原习服状态、移居高原时长不同等因素有关。

本研究筛选获得的差异表达蛋白谱中,部分蛋白是与细胞缺氧代谢过程相关的蛋白。硬骨素(SOST)主要是由骨细胞分泌的一种蛋白^[15],通过抑制成骨细胞中经典的 Wnt 信号转导负向调控骨形成^[16]。缺氧时,HIF-1 α 能直接结合到 SOST 的启动子序列上,下调 SOST 的表达,增强了 Wnt/ β -catenin 信号通路^[17-18]。GENETOS 等^[19]研究也证实,1% O₂ 细胞缺氧下调 SOST 转录和蛋白表达,上调 Wnt 信号通路和 β -catenin 激活。CRK 样蛋白(CRKL)是适配蛋白家族的一员,具有黏附、增殖、迁移、存活等多种生物学功能^[20]。ZHANG 等^[21]研究通过对缺氧/复氧(H/R)大鼠 H9C2 心肌细胞敲除 CRKL 基因后发现,其通过 Bax 和下调 p-ERK1/2 来抑制心肌细胞凋亡,提示 CRKL 调控缓解低氧诱导的心肌细胞损伤。血管舒张剂激活磷酸蛋白(VASP)是一种肌动蛋白,连接细胞骨架系统与信号转导通路,在细胞黏附、细胞骨架动力学等方面发挥关键作用^[22]。LIU 等^[23]研究发现,在缺氧时 HIF-1 α 能直接结合到 VASP 启动子的缺氧反应元件上,VASP 还与 CRKL 的 SH3N 结构域直接相互作用进而介导其功能,并且 VASP 还能增强 β -catenin 的转录活性,都与低氧条件下调控骨形成有关。NAD 激酶(NADK)能催化磷酸基团,使 ATP 转移到 NAD 上生成 NADP,其在细胞代谢和抗氧化等多种生物功能中发挥着重要作用^[24]。高原环境不仅低压低氧,还存在强紫外线强等氧化应激因素。GROSE 等^[25]研究发现,在紫外线照射条件下吡啶核苷酸还原水平下降,可激活 NADK 活性,还原型 NADP(NADPH)则能缓解细胞氧化应激损伤。硫酸酯酶修饰因子 2(SUMF2)是甲酰基甘氨酸生成酶家族的成员,可与白细胞介素 13(IL-13)发生相互作用^[26-27]。据此推测,SUMF2 可能是高原良好习服后气道反应性降低的调控分子。胸苷磷酸化酶(TYMP)是一种血管生成因子,可促进组织血管生成并刺激多种内皮细胞的体外生长,且能抵抗缺氧诱导的凋亡。IKEDA 等^[28]研究证实,TYMP 酶活性对其血管生成是不可或缺的,提示 TYMP 在细胞缺氧代谢过程中发挥积极作用。

综上所述,本研究通过 Olink 高敏靶向蛋白质组学技术,筛选出了高原习服人群与平原人群之间细胞代谢相关的血清差异表达蛋白谱,丰富补充了以往质谱或芯片技术较难捕获的较低丰度的血清差异表达蛋白谱,进一步分析了与细胞缺氧代谢相关的差异表达蛋白的生物学功能机制,但仍有较多蛋白鲜见与细胞缺氧代谢相关的文献报道。本研究尚存在一定的局限性,两组人群为非自身对照,饮食、工作强度等有差异,可能存在结果偏倚;其次,研究对象相对较少,缺乏多种方法的差异表达验证。因此,后续将完善实

验设计、扩大样本量验证这些差异表达蛋白,研究这些蛋白在细胞缺氧代谢适应性功能机制中的作用,为探索高原适应性机制和促进高原习服提供理论依据和药物新靶点。

参考文献

- [1] 刘宝. 高原习服及习服不良过程中基因表达特征及其病理生理学意义研究[D]. 重庆:第三军医大学,2017.
- [2] 史喜德,周世强,刘峰舟,等. 高原低氧习服的研究进展[J]. 中国现代医学杂志,2022,32(24):40-49.
- [3] MALLET R T, BURTSCHER J, PIALOUX V, et al. Molecular mechanisms of high-altitude acclimatization[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(2):1698.
- [4] 易可可,谢洁,江游,等. 液相色谱-串联质谱技术在临床检验中的应用研究进展[J]. 质谱学报,2022,43(6):804-816.
- [5] 王晨,蒋晨,李博. 蛋白质芯片的介绍及应用[J]. 广东化工,2022,49(18):99-101.
- [6] BAO X H, CHEN B F, LIU J, et al. Olink proteomics profiling platform reveals non-invasive inflammatory related protein biomarkers in autism spectrum disorder[J]. Front Mol Neurosci, 2023, 16:1185021.
- [7] 张卫花,康龙丽. 高原习服的重要性及研究现状[J]. 国外医学(医学地理分册),2018,39(2):108-112.
- [8] 贺启莲,格日力,李占强,等. 高原适应遗传学缺氧诱导因子通路相关基因及其药理学研究进展[J]. 药学报,2019,54(4):611-619.
- [9] 陈敬威,杨艺,魏艳娜,等. 缺氧诱导因子-1 α 在高原低氧脑损伤中的研究进展[J]. 解剖学杂志,2022,45(1):61-65.
- [10] HAN R, LIANG J, ZHOU B. Glucose metabolic dysfunction in neurodegenerative diseases-new mechanistic insights and the potential of hypoxia as a prospective therapy targeting metabolic reprogramming[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(11):5887.
- [11] EATON L, PAMENTER M E. What to do with low O₂: redox adaptations in vertebrates native to hypoxic environments[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2022, 271:111259.
- [12] LU H, WANG R, LI W, et al. Plasma proteomic study of acute mountain sickness susceptible and resistant individuals[J]. Sci Rep, 2018, 8(1):1265.
- [13] ZHANG P, LI Z, YANG F, et al. Novel insights into plasma biomarker candidates in patients with chronic mountain sickness based on proteomics[J]. Biosci Rep, 2021, 41(1):BSR20202219.
- [14] YANG J, JIA Z, SONG X, et al. Proteomic and clinical biomarkers for acute mountain sickness in a longitudinal cohort[J]. Commun Biol, 2022, 5(1):548.
- [15] MCCLUNG M R. Sclerostin antibodies in osteoporosis: latest evidence and therapeutic potential[J]. Ther Adv Musculoskelet Dis, 2017, 9(10):263-270.

- [16] ROBLING A G, BONEWALD L F. The osteocyte: new insights[J]. *Annu Rev Physiol*, 2020, 82: 485-506.
- [17] LI F, TAN Q, LI F, et al. Hypoxia-induced Wnt/beta-catenin signaling activation in subchondral bone osteoblasts leads to an osteoarthritis-like phenotype of chondrocytes in articular cartilage[J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1057154.
- [18] STEGEN S, STOCKMANS I, MOERMANS K, et al. Osteocytic oxygen sensing controls bone mass through epigenetic regulation of sclerostin[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2557.
- [19] GENETOS D C, TOUPADAKIS C A, RAHEJA L F, et al. Hypoxia decreases sclerostin expression and increases Wnt signaling in osteoblasts [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 110(2): 457-467.
- [20] ROY N H, MAMMADLI M, BURKHARDT J K, et al. CrkL is required for donor T cell migration to GvHD target organs[J]. *Oncotarget*, 2020, 11(17): 1505-1514.
- [21] ZHANG Z S, YANG D Y, FU Y B, et al. Knockdown of CrkL by shRNA deteriorates hypoxia/reoxygenation-induced H9C2 cardiomyocyte apoptosis and survival inhibition Via Bax and downregulation of P-Erk1/2[J]. *Cell Biochem Funct*, 2015, 33(2): 80-88.
- [22] FAIX J, ROTTNER K. Ena/VASP proteins in cell edge protrusion, migration and adhesion[J]. *J Cell Sci*, 2022, 135(6): jcs259226.
- [23] LIU Z, WANG Y, DOU C, et al. Hypoxia-induced up-regulation of VASP promotes invasiveness and metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *Theranostics*, 2018, 8(17): 4649-4663.
- [24] OKA S I, TITUS A S, ZABLOCKI D, et al. Molecular properties and regulation of NAD⁺ kinase (NADK)[J]. *Redox Biol*, 2023, 59: 102561.
- [25] GROSE J H, JOSS L, VELICK S F, et al. Evidence that feedback inhibition of NAD kinase controls responses to oxidative stress[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(20): 7601-7606.
- [26] NING F, TAKEDA K, SCHEDEL M, et al. Hypoxia enhances CD8⁺ TC2 cell-dependent airway hyperresponsiveness and inflammation through hypoxia-inducible factor 1 α [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143(6): 2026-2037.
- [27] ZHANG W Y, LIANG H Y, YANG C, et al. Sos recruitment system for the analysis of the interaction between sulfatase-modifying factor 2 subtypes and interleukin-13 [J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12(4): 5664-5672.
- [28] IKEDA R, FURUKAWA T, KITAZONO M, et al. Molecular basis for the inhibition of hypoxia-induced apoptosis by 2-deoxy-D-ribose[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 291(4): 806-812.

(收稿日期: 2023-02-12 修回日期: 2023-06-13)

(上接第 2438 页)

- 据库和生物信息学分析筛选小鼠心肌缺血再灌注损伤相关的潜在枢纽基因[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2022, 42(1): 51-62.
- [4] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020 全球癌症统计报告解读 [J/CD]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2021, 7(2): 1-14.
- [5] 赵仁成, 林子棠, 余卫军, 等. 2017—2019 年深圳市宝安区 40~74 岁常住居民五癌风险流行状况分析[J]. *实用肿瘤学杂志*, 2020, 34(4): 315-320.
- [6] 杨浩, 王军, 严雪琴, 等. 血清 CXC 趋化因子受体 5 和血小板内皮细胞黏附分子-1 对胃癌的诊断和预后评估价值 [J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44(5): 576-581.
- [7] 吴旭, 宋旭东, 陶国全. 外周 T 淋巴细胞亚群在胃癌预后评估中的研究进展[J]. *医学综述*, 2022, 28(3): 505-509.
- [8] 王华. 间充质干细胞及其来源的胞外囊泡[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2023, 39(3): 354-363.
- [9] 陈亦琦, 顾津菁, 丁晓凌, 等. 运动调节 T 细胞抗肿瘤免疫应答研究进展[J]. *中国运动医学杂志*, 2023, 42(2): 141-151.
- [10] 段红霞, 熊朝亮, 景林, 等. CD146 三十年研究的回顾与展望[J]. *中国科学: 生命科学*, 2020, 50(12): 1339-1387.
- [11] 刘慧, 李丽, 刘洋汉, 等. 肿瘤相关巨噬细胞靶向治疗研究进展[J]. *广西师范大学学报(自然科学版)*, 2022, 40(5): 286-299.
- [12] 陈希琦, 解广东, 荣宝海, 等. 中医药调控胃癌免疫细胞的研究进展[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2022, 28(3): 425-428.
- [13] 宋厚盼, 刘恒铭, 仇婧玥, 等. 胃癌发病关键基因调控网络构建及其靶向治疗中药活性成分筛选研究[J]. *中草药*, 2021, 52(22): 6939-6952.
- [14] 鲁修明, 李小祺, 徐皓, 等. COL4A1 是胃癌患者预后不良的独立预测因素[J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(1): 123-130.
- [15] 包楠丁, 贾永峰. THBS1 在肿瘤中作用的研究进展[J]. *标记免疫分析与临床*, 2021, 28(4): 703-707.
- [16] 唐效成, 吴君辉, 林昌伟. 基于数据挖掘分析 COL1A1 在胃癌中的表达及意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(9): 1543-1546.
- [17] 王芮, 沈雨苗, 赵爱光. 基于胃癌关键基因的中药抗肿瘤研究现状分析[J]. *中医杂志*, 2022, 63(23): 2239-2245.
- [18] 李戴牟, 吴留成, 梁榜辉, 等. 基于转录组测序分析弥漫型胃癌特征及其核心基因 LUM 的表达[J]. *中国癌症防治杂志*, 2022, 14(2): 160-166.
- [19] 孙国岩, 李晓飞, 吴贺明, 等. TIMP1 在胃癌中的表达及作用机制的多数据库分析和实验研究[J]. *中国现代普通外科进展*, 2022, 25(4): 253-258.
- [20] 张谦, 梁鱼, 安彩艳. 基于 TCGA 和 GEO 数据库探讨 VCAN 基因及其甲基化在胃癌预后判断中的价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2022, 43(4): 388-393.
- [21] 李杨, 吴继锋, 赵文娣, 等. 胃癌组织中 SPARC、MMP-9 的表达及意义[J]. *山东医药*, 2015, 55(44): 48-50.

(收稿日期: 2023-04-02 修回日期: 2023-05-24)