

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20256645

· 论 著 ·

## 胃癌术后肺炎患者口咽标本代谢组学研究

陈碧贞, 李紫梦, 蒋雅昕, 魏婷妤, 贾锐, 史超

(福建中医药大学附属第二人民医院医院感染管理处, 福建 福州 350001)

**[摘要]** **目的** 采用非靶向代谢组学探讨胃癌术后肺炎(POP)与非 POP 患者口咽代谢物特征, 为揭示其发病机制及临床防控提供参考。**方法** 收集 2022 年 1 月—2023 年 12 月福建省某三级甲等医院胃肠外科行胃癌手术治疗患者的口咽拭子, 采用巢式病例对照, 最终纳入胃癌 POP 组和非 POP 组各 30 例, 使用超高效液相色谱-串联质谱联用(UHPLC-MS/MS)技术进行检测, 采用多元统计分析。**结果** POP 组与非 POP 组术前与术后、POP 组术前与术后、非 POP 组术前与术后的代谢物在主成分分析(PCA)、偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)得分图上未显示出明显的分离趋势, 但差异代谢物筛选发现, POP 组术前抗坏血酸、硫辛酸相对丰度较非 POP 组术前低; POP 组术前 5'-腺嘌呤核苷酸等相对丰度较术后低, 丁二酸、苯乙醛等相对丰度高; 苯丙氨酸等代谢通路存在差异。**结论** 胃癌 POP 发生发展过程中存在具体代谢通路异常所致的代谢物含量改变, 可能与 POP 的发病有关。

**[关键词]** 胃癌; 术后肺炎; 口咽代谢物; 非靶向代谢组学

**[中图分类号]** R735.2 R563.1

## Metabolomics of oropharyngeal specimens from postoperative pneumonia patients with gastric cancer

CHEN Bizhen, LI Zimeng, JIANG Yaxin, WEI Tingyu, JIA Rui, SHI Chao (Department of Healthcare-associated Infection Management, The Second Affiliated Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350001, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the characteristics of oropharyngeal metabolites of postoperative pneumonia (POP) and non-POP patients with gastric cancer by non-targeted metabolomics, and to provide reference for revealing the pathogenesis as well as clinical prevention and control. **Methods** Oropharyngeal swabs were collected from patients who underwent surgical treatment for gastric cancer in the department of gastrointestinal surgery of a tertiary hospital in Fujian Province from January 2022 to December 2023, nested case-control study was adopted, with 30 cases in POP group and non-POP group, respectively, ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) technique was adopted for detection, and multivariate statistical analysis was performed. **Results** The metabolites of POP group and non-POP group preoperatively, POP group and non-POP group postoperatively, POP group preoperatively and postoperatively, as well as non-POP group preoperatively and postoperatively did not show a clear trend of separation on the score graph of principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), but the screening of the differential metabolites revealed that the relative abundances of ascorbic acid and lipoic acid in the POP group preoperatively were lower than non-POP group preoperatively. The relative abundance of 5'-adenylic acid in the POP group preoperatively was lower than postoperatively, while the relative abundances of succinic acid and phenylacetaldehyde were higher. There were differences in metabolic pathways such as phenylalanine.

[收稿日期] 2024-10-20

[基金项目] 福建省自然科学基金计划项目(2021J01875)

[作者简介] 陈碧贞(1976-), 女(汉族), 福建省福州市人, 主任护师, 主要从事医院感染管理研究。

[通信作者] 陈碧贞 E-mail: 573073198@qq.com

**Conclusion** Alteration of metabolite level due to abnormalities in specific metabolic pathways presents in the development of gastric cancer POP and may be related to the development of POP.

**[Key words]** gastric cancer; postoperative pneumonia; oropharyngeal metabolites; non-targeted metabolomics

术后肺炎 (postoperative pneumonia, POP) 是外科手术患者在术后 30 d 内新发的肺炎<sup>[1]</sup>。不同手术部位 POP 发生率差异较大,胃癌 POP 发生率较高且波动大,为 13.20%~40%<sup>[2-5]</sup>。POP 发生不仅显著延长手术患者的住院时间,还增加其医疗费用<sup>[6]</sup>,且患者术后 5 年总体生存率低于无此并发症者<sup>[7]</sup>。POP 是影响患者手术成功及术后康复的重要因素,精准快速地识别其发生至关重要,然而 POP 发生是多重因素综合作用的结果,其发病机制目前尚不明确。代谢是微生物的重要功能,检测其代谢物变化有利于感知微生物和宿主相互作用后机体病理生理的变化,从而揭示疾病发生发展的潜在机制。非靶向代谢组学对代谢物进行全面而系统的分析,能为复杂的疾病机制研究提供新见解<sup>[8]</sup>。研究<sup>[9-10]</sup>显示,呼吸道菌群结构和功能改变与 POP 发生密切相关,而口咽部微生物组成与下呼吸道类似,且具有采集无创、简便等优势,对评估 POP 发生发展具有重要价值。因此本研究采用非靶向超高效液相色谱-串联质谱联用 (UHPLC-MS/MS) 技术分析胃癌 POP 患者口咽代谢组学特征,以期探讨 POP 的发病机制,为 POP 预防和诊疗提供新思路。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 选取 2022 年 1 月—2023 年 12 月福建省某三级甲等医院胃肠外科行胃癌手术治疗的 100 例患者为研究对象,采用前瞻性巢式病例对照研究,按照 POP 诊断标准<sup>[1]</sup> 收集胃癌 POP 患者为感染组 (POP 组),同时以胃癌病理分期、年龄、性别、基础疾病匹配,按照 1:1 比例选取未发生 POP 者作为对照组 (非 POP 组)。本研究获得该院伦理委员会批准 (批准号:SPHFJP-K2021025-01),所有入选研究对象均知情同意并签署知情同意书。

### 1.2 纳入、排除、脱落标准

**1.2.1 纳入标准:** (1)患者神志清楚、无全身系统性疾病;(2)年龄 40~75 岁;(3)符合中华临床肿瘤学会《胃癌临床诊疗指南》(2021 版)<sup>[11]</sup> 的胃癌诊断,拟在气管插管全麻下行腹腔镜胃癌根治术者。

**1.2.2 排除标准:** (1)胃癌继发病例和复发病例,合并其他部位癌症或远处转移者;(2)术前合并肺部

感染或其他感染性疾病者;(3)术前合并重度慢性阻塞性肺疾病 (COPD)、哮喘、Lung-RADS 分类<sup>[12]</sup> 中 4 类肺结节等肺部疾病;(4)合并甲亢等代谢性疾病;(5)其它心、肝、肾等部位重大器质性疾病;(6)入院前 1 个月内使用过抗菌药物、益生菌制剂、激素、放射治疗、化学治疗、免疫抑制剂等治疗。

**1.2.3 脱落标准:** (1)标本收集不全或标本质量不合格者;(2)中途退出者;(3)研究数据缺失者。

**1.3 主要试验仪器和试剂** 见表 1。

表 1 主要试验仪器/试剂使用一览表

Table 1 List of instruments/reagents used in the main test

仪器/试剂	型号/批号(规格/剂量)	厂家
质谱仪	Q Exactive™ HF/ Q Exactive™ HF-X	德国 Thermo Fisher 公司
色谱仪	Vanquish UHPLC	德国 Thermo Fisher 公司
色谱柱	Hypesil Gold column (100×2.1 mm, 1.9 μm)	美国 Thermo Fisher 公司
低温离心机	D3024R	美国 Scilogex 公司
甲醇	67-56-1(4 L)	美国 Thermo Fisher 公司
水	7732-18-5(2.5 L)	德国 Merck 公司
甲酸	64-18-6(50 mL)	美国 Thermo Fisher 公司
醋酸铵	631-61-8(50 g)	美国 Thermo Fisher 公司

### 1.4 方法

**1.4.1 资料及标本** 收集所有符合入选条件胃癌手术患者的年龄、性别、身体质量指数 (BMI)、贫血、高血压史、糖尿病史、肺部疾病史 (根据 Lung-RADS 分类标准评估肺结节、GOLD 分类系统评估 COPD<sup>[13]</sup>)、肿瘤病理分期等临床资料;并于术前 1 天 (两组)、POP 感染未使用抗菌药物前 (POP 组),术后第 5 天 (非 POP 组) 分别取咽部分泌物。标本采集方法:采集前患者用清水漱口,调整至合适体位,张嘴充分暴露咽喉深部,采用咽拭子轻柔迅速地擦拭两侧腭弓、咽及扁桃腺部位,同时取 2 份,置于无菌试管中密封,迅速转移至 -80℃ 冰箱保存备用。

**1.4.2 标本处理** 取口腔拭子标本置于 EP 管中,加入 1 000 μL 的 80% 甲醇水溶液;震荡混匀,冰浴放置 5 min,15 000 g,4℃ 离心 20 min;吸取上清液至新离心管中,冻干成干粉;按所取标本体积加入相应的 10% 甲醇溶液溶解,进样 LC-MS 进行分析。

1.4.3 色谱检测 采用 HypersilGoldcolumn (C18) 色谱柱, 柱温 40℃, 流速 0.2 mL/min。负离子模式: 流动相 A 为 5 mM 醋酸铵, pH 9.0, 流动相 B 为甲醇。液相条件: 首先使用含 98% 流动相 A 的溶液平衡色谱柱 1.5 min, 使化合物结合到色谱柱上, 然后在 1.5 min 内提高流动相 B 的比率至 85%, 逐步洗脱结合的化合物, 再在 7 min 内提高到 100% 流动相 B 洗脱, 最后平衡色谱柱 2 min。

1.4.4 质谱检测 扫描范围选择质荷比 100~1 500; ESI 源的设置如下: 喷雾电压 3.5 kV, 鞘气流速 35 L/min, 辅助气流速 10 L/min, 离子传输管温度 320℃, 离子导入射频电平 60 V, 辅助气加热器温度 350℃, 极性为阴性 (negative), MS/MS 二级扫描为数据依赖性扫描 (data-dependent scans)。

1.5 数据处理 应用 Proteowizard 软件 (v3.0.8789) 将 LC-MS 原始数据文件转换成 mzXML 格式, 然后应用 R 软件 (v3.1.3) 的 XCMS 程序包进行峰识别、峰过滤、峰对齐处理, 得到包括质荷比、保留时间、峰面积等信息的数据矩阵。应用 R 软件进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)、偏最小二乘法判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)、正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)。采用置换检验分析评价模型的过拟合风险及模型的可用性。采用 VIP > 1, P < 0.05, 倍数变化 (fold change, FC) > 2 或 FC < 0.5 为筛选条件筛选潜在在差异代谢物。使用 KEGG 数据库 (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>)、HMDB 数据库 (<https://hmdb.ca/metabolites>) 和 LIPIDMaps 数据库 (<http://www.lipidmaps.org/>) 对鉴定到的代谢物进行注释。通过 R 语言 MetaboAnalystR 包进行潜在生物代谢物通路富集分析, 根据筛选好的差异代谢物做过表达分析 (over-representation analysis, ORA), P ≤ 0.05 表示差异代谢物在代谢通路中显著富集。

1.6 物质鉴定 应用 CD3.3 软件对下机原始数据进行预处理。通过保留时间、质荷比等参数简单筛选, 对不同标本先进行峰对齐、峰提取, 同时对峰面积进行定量, 然后比对高分辨二级质谱图数据库 mzCloud 和 mzVault, 以及 MassList 一级数据库进行代谢物鉴定, 从每个样本中取等体积样本混合作为质控样本 (QC), 保留 QC 标本中变异系数 (coefficient of variance, CV) < 30% 的代谢物作为最终的鉴定结果。

1.7 统计学处理 应用 SPSS 24.0 软件进行统计学处理, 符合正态分布的计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 计数资料以例数 (百分比) 表示。组间比较, 计量资料采用 *t* 检验, 计数资料采用  $\chi^2$  检验, P ≤ 0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般资料 POP 组和非 POP 组各纳入 32 例, 其中 POP 组脱落 2 例 (标本质量不合格), 非 POP 组脱落 2 例 (标本质量不合格 1 例, 中途退出 1 例), 最终共收集病例 60 例。两组患者术前 30 min 均使用头孢呋辛进行预防性用药, 其年龄、性别、BMI、贫血、高血压史、糖尿病史、肺部疾病史 (含肺结节、轻度 COPD)、肿瘤病理分期等基线资料比较, 差异均无统计学意义 (均 P > 0.05), 具有可比性, 见表 2。

表 2 两组研究对象一般资料比较

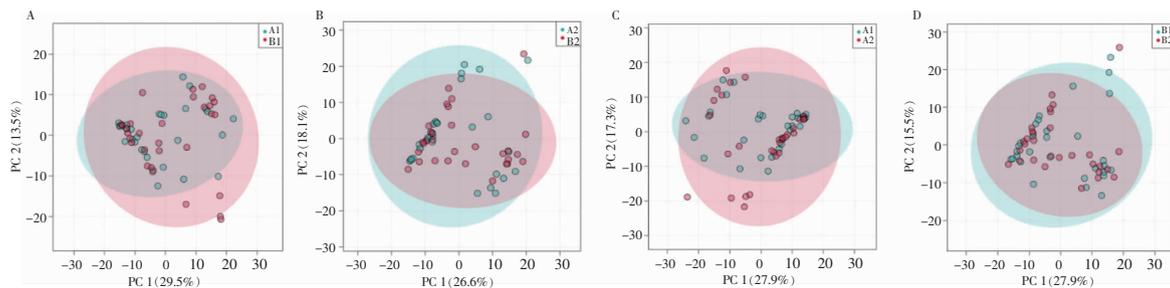
Table 2 Comparison of general information between two groups of research subjects

特征	POP 组 (n = 30)	非 POP 组 (n = 30)	<i>t</i> / $\chi^2$	<i>P</i>
年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	65.60 ± 10.27	65.30 ± 9.61	0.117 <sup>a</sup>	0.787
性别 [例 (%)]			0.317 <sup>b</sup>	0.573
男	22 (73.33)	20 (66.67)		
女	8 (26.67)	10 (33.33)		
BMI ( $\bar{x} \pm s$ , kg/m <sup>2</sup> )	23.37 ± 2.37	22.41 ± 3.57	1.228 <sup>a</sup>	0.224
高血压史 [例 (%)]	8 (26.67)	9 (30.00)	0.082 <sup>b</sup>	0.774
糖尿病史 [例 (%)]	5 (16.67)	3 (10.00)	0.577 <sup>b</sup>	0.448
贫血 [例 (%)]	3 (10.00)	7 (23.33)	0.098 <sup>b</sup>	0.754
肺部疾病史 [例 (%)]	7 (23.33)	4 (13.33)	1.002 <sup>b</sup>	0.317
肿瘤病理分期 [例 (%)]			0.348 <sup>b</sup>	0.840
I 级	13 (43.34)	11 (36.67)		
II 级	7 (23.33)	7 (23.33)		
III 级	10 (33.33)	12 (40.00)		

注: a 表示两独立样本 *t* 检验; b 表示卡方检验。

## 2.2 口咽代谢组学分析结果

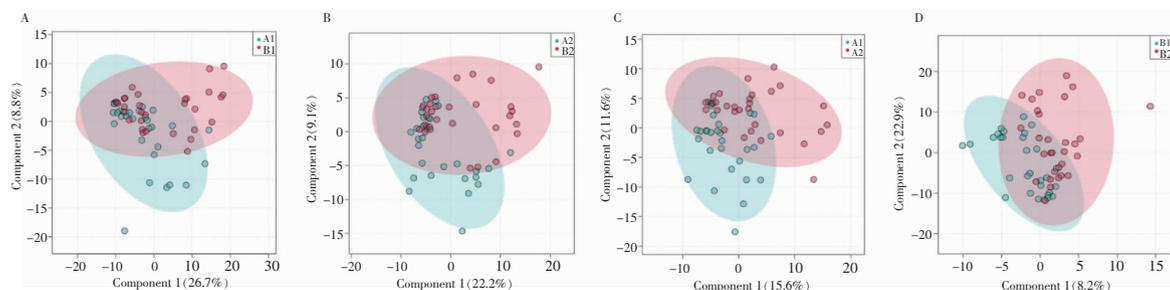
2.2.1 各组代谢谱差异 采用无监督的 PCA 对各组代谢谱进行分析, 组间两两比较, 在 PCA 得分图上, 重叠的标本较多, 难以区分, 见图 1。随后分别使用有监督 PLS-DA 和 OPLS-DA 对各组进行区分, 但组间两两比较时, 得分图上仍有较多重叠标本, 见图 2、3, 提示各组代谢谱差异不明显。



注:A为POP组术前与非POP组术前;B为POP组术后与非POP组术后;C为POP组术前与术后;D为非POP组术前与术后。A1表示POP组术前;A2表示POP组术后;B1表示非POP组术前;B2表示非POP组术后。

图 1 负离子模式下 PCA 得分图

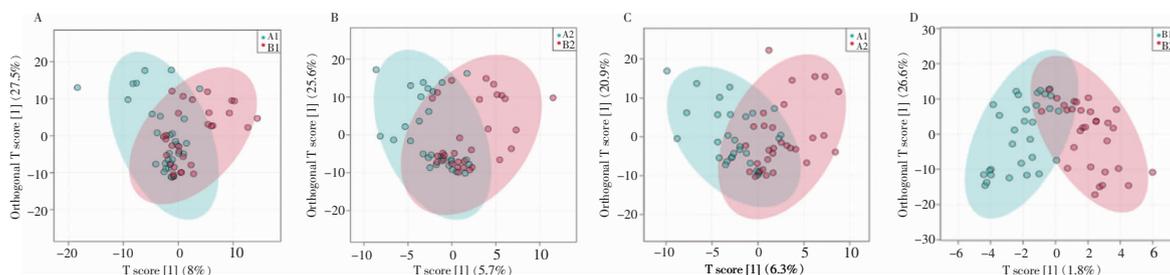
Figure 1 PCA score in negative ion pattern



注:A为POP组术前与非POP组术前;B为POP组术后与非POP组术后;C为POP组术前与术后;D为非POP组术前与术后。A1表示POP组术前;A2表示POP组术后;B1表示非POP组术前;B2表示非POP组术后。

图 2 负离子模式下 PLS-DA 得分图

Figure 2 PLS-DA score in negative ion pattern



注:A为POP组术前与非POP组术前;B为POP组术后与非POP组术后;C为POP组术前与术后;D为非POP组术前与术后。A1表示POP组术前;A2表示POP组术后;B1表示非POP组术前;B2表示非POP组术后。

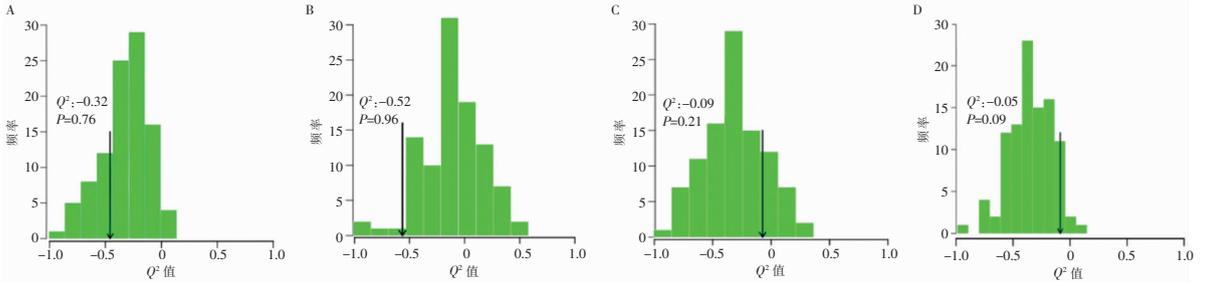
图 3 负离子模式下 OPLS-DA 得分图

Figure 3 OPLS-DA score in negative ion pattern

2.2.2 OPLS-DA 模型效能评价 各组数据经置换检验,均  $Q^2 < 0.5$ ,见图 4,提示 OPLS-DA 模型效能较差,结合 PLS-DA 和 OPLS-DA 得分图的区分效果优于 PCA,说明各组之间代谢谱总体差异不明显,但存在个别差异代谢物。

2.2.3 差异代谢物筛选 共筛选到 20 种差异代谢物。与非 POP 组术前对比,POP 组术前抗坏血酸、硫辛酸相对丰度低,3,4-二甲氧基噻吩-2,5-二羧酸、N,5-双(3-硝基苯基)咪唑-2-胺相对丰度高。与 POP 组术后对比,非 POP 组术后 N-(2,5-二乙氧基-4-吗啉苯基)-4-甲氧基苯磺酰胺相

对丰度高。与 POP 组术前对比,POP 组术后苦参素 F、鸟苷-磷酸、5'-腺嘌呤核苷酸相对丰度降低,而 N-(2,5-二乙氧基-4-吗啉苯基)-4-甲氧基苯磺酰胺、反式肉桂酸、丁二酸、N-乙酰基-D-异亮氨酸、苯乙醛、N-乙酰基-L-苯丙氨酸、N-乙酰基-L-酪氨酸、溶血磷脂酰胆碱 16:1,5-(叔丁基)-2-甲基-N-(5-甲基-3-异噁唑基)-3-咪喃酰胺、17-AAG、PB-22N-戊酸-3-羧基咪唑代谢物相对丰度升高。与非 POP 组术前对比,非 POP 组术后新蝶呤相对丰度降低,丁二酸、L-半胱氨酸的相对丰度升高。见表 3。



注:A 为 POP 组术前和非 POP 组术前( $R_x^2 = 0.36$ ,  $R_y^2 = 0.27$ ,  $Q^2 = -0.32$ );B 为 POP 组术后和非 POP 组术后( $R_x^2 = 0.31$ ,  $R_y^2 = 0.36$ ,  $Q^2 = -0.52$ );C 为 POP 组术前与术后( $R_x^2 = 0.27$ ,  $R_y^2 = 0.46$ ,  $Q^2 = -0.09$ );D 为非 POP 组术前与术后( $R_x^2 = 0.36$ ,  $R_y^2 = 0.68$ ,  $Q^2 = -0.05$ )。

图 4 OPLS-DA 模型的置换检验

Figure 4 Permutation test of OPLS-DA model

表 3 鉴定的代谢物及其在各组的丰度

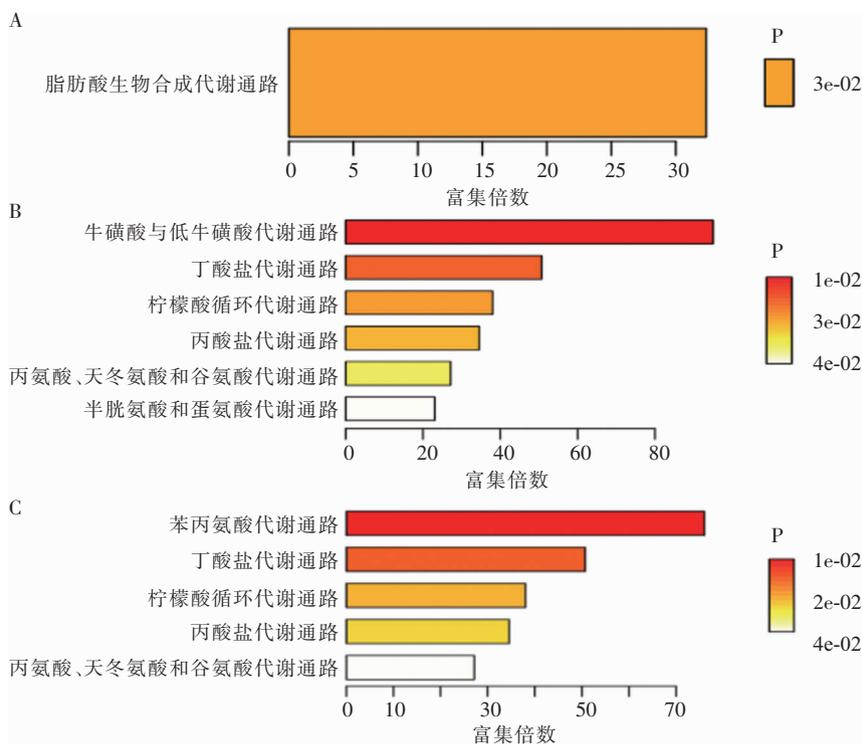
Table 3 The identified metabolites and their abundance in each group

中文名	英文名	分子式	质荷比	变化倍数				保留时间 (min)	变异系数 (%)
				A1/B1	A2/B2	A1/A2	B1/B2		
抗坏血酸	ascorbic acid	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	175.024 07	0.27 <sup>a</sup>	0.21	1.21	1.58	2.02	15.35
硫辛酸	lipoic acid	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	205.034 66	0.37 <sup>a</sup>	1.41	4.88	1.28	2.43	8.40
3,4-二甲氧基噻吩-2,5-二羧酸	3, 4-dimethoxythiophene-2,5-dicarboxylic acid	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> S	230.996 44	5.50 <sup>a</sup>	0.73	0.44	3.36	4.84	1.44
N,5-双(3-硝基苯基)噁唑-2-胺	N,5-Bis(3-nitrophenyl)oxazol-2-amine	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>	326.066 76	2.06 <sup>a</sup>	0.85	0.65	1.58	5.57	9.93
N-(2,5-二乙氧基-4-吗啉苯基)-4-甲氧基苯磺酰胺	N-( 2, 5-diethoxy-4-morpholinophenyl) - 4-methoxybenzenesulfonamide	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S	435.155 91	0.96	2.88 <sup>a</sup>	3.07 <sup>a</sup>	1.02	4.72	27.49
苦瓜素 F	corchorifatty acid F	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	327.217 45	1.23	0.51	0.43 <sup>a</sup>	1.03	6.19	1.86
鸟苷一磷酸	guanosine monophosphate	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>5</sub> O <sub>8</sub> P	362.050 61	1.21	0.78	0.47 <sup>a</sup>	0.73	1.94	17.52
5'-腺嘌呤核苷酸	5'-adenylic acid	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub> P	346.055 42	1.49	0.43	0.41 <sup>a</sup>	1.43	1.62	2.21
反式肉桂酸	trans-cinnamic acid	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	147.044 24	0.67	1.02	2.57 <sup>a</sup>	1.69	5.64	2.13
丁二酸	succinic acid	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	117.018 29	0.57	0.79	2.37 <sup>a</sup>	1.71 <sup>a</sup>	2.45	2.71
N-乙酰基-D-异亮氨酸	N-acetyl-D-alloisoleucine	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	172.097 12	0.72	1.17	2.06 <sup>a</sup>	1.28	5.60	2.66
苯乙醛	phenylacetaldehyde	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	119.049 33	0.75	1.16	2.41 <sup>a</sup>	1.58	5.64	2.97
N-乙酰基-L-苯丙氨酸	N-acetyl-L-phenylalanine	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	206.081 60	0.65	1.29	3.03 <sup>a</sup>	1.53	5.61	1.59
N-乙酰基-L-酪氨酸	N-acetyl-L-tyrosine	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub>	222.076 61	0.69	1.61	2.39 <sup>a</sup>	1.02	5.15	2.12
溶血磷脂酰胆碱 16:1	lysophosphatidylcholine 16:1	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> NO <sub>7</sub> P	492.307 84	1.28	2.06	2.69 <sup>a</sup>	1.68	5.64	3.26
5-(叔丁基)-2-甲基-N-(5-甲基-3-异噁唑基)-3-呋喃酰胺	5-( tert-butyl)-2-methyl-N-( 5-methyl-3-isoxazolyl )-3-furamide	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	261.124 18	0.51	0.60	2.45 <sup>a</sup>	2.10	5.38	13.25
17-AAG	tanespimycin	C <sub>31</sub> H <sub>43</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	566.269 04	0.99	1.10	2.04 <sup>a</sup>	1.83	4.61	12.59
PB-22 N-戊酸-3-羧基吲哚代谢物	PB-22 N-pentanoic acid-3-carboxyindole metabolite	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>	260.092 57	1.01	2.66	3.77 <sup>a</sup>	1.43	5.81	24.46
新蝶呤	neopterin	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	252.073 22	0.99	1.49	0.61	0.40 <sup>a</sup>	5.11	14.95
L-半胱氨酸	L-cysteic acid	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>5</sub> S	167.996 24	2.08	0.77	1.00	2.70 <sup>a</sup>	1.37	20.17

注:A1 表示 POP 组术前;A2 表示 POP 组术后;B1 表示非 POP 组术前;B2 表示非 POP 组术后。两两比较采用 t 检验,a 表示 P ≤ 0.05。

2.2.4 差异代谢物 KEGG 富集通路分析 POP 组术前与非 POP 组术前在脂肪酸生物合成代谢通路上存在富集(图 5A)。暂未在 POP 组术后与非 POP 组术后中发现具有差异的代谢通路。非 POP 组术前与术后在牛磺酸与低牛磺酸、丁酸盐、柠檬酸循环、丙酸盐、丙氨酸、天冬氨酸与谷氨酸、半胱氨酸

和蛋氨酸等代谢通路上存在差异(图 5B)。POP 组术前与术后在苯丙氨酸、丁酸盐、柠檬酸循环、丙酸盐、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸等代谢通路上存在差异(图 5C)。结合苯丙氨酸代谢通路异常及苯乙醛在差异代谢物中相对丰度升高,考虑二者之间存在联系,见图 6。



注:A为POP组术前与非POP组术前;B为非POP组术前术后;C为POP组术前术后。

图 5 各组负离子模式下差异代谢物的 KEGG 通路富集

Figure 5 Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment for differential metabolites in negative ion pattern of each group

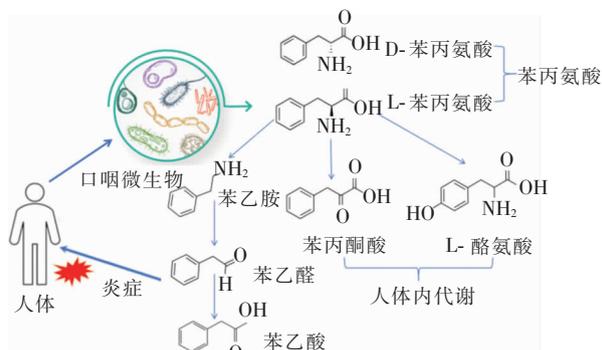


图 6 苯丙氨酸代谢通路

Figure 6 Phenylalanine metabolic pathway

### 3 讨论

代谢组学是研究疾病发生发展中涉及菌群关系变化的有力工具。目前 POP 发病机制尚不明确,对于其全面代谢组学特征,特别是胃癌 POP 这一特定人群中的特点仍不了解。本研究利用非靶向 UH-PLC-MS/MS 技术对胃癌 POP 与非 POP 患者的口咽拭子进行代谢组学分析,为揭示 POP 的发病机制提供参考。

本研究显示,POP 发生发展过程中代谢物出现动态变化,与非 POP 组术前相比,POP 组术前抗坏血酸、硫辛酸相对丰度较低。抗坏血酸和硫辛酸具有抗炎作用,可以降低慢性炎症性疾病的风险。Patel 等<sup>[14]</sup>研究显示抗坏血酸能显著提高肺部和气道中细菌清除率,进而降低呼吸机相关肺炎的发生。硫辛酸可通过调节不同信号通路参与减轻氧化应激、抑制炎症反应和减弱气道重塑<sup>[15]</sup>,还可以抑制 NF- $\kappa$ B 介导的 iNOS/NO 通路,降低大鼠肺部急性炎症反应<sup>[16]</sup>。因此,推测抗坏血酸和硫辛酸浓度降低时,对机体的保护作用减弱,患者更易发生 POP。另一方面,硫辛酸在机体脂肪酸代谢过程中具有重要作用,其降低会影响脂肪酸代谢。脂肪酸代谢与脂肪酸生物合成相互影响,机体病理状态下会破坏两者平衡状态。脂肪酸生物合成过程中会产生具有促炎作用的前列腺素和白三烯,可能引起胃癌 POP 的发生发展。王瑞娟等<sup>[17]</sup>发现腹部手术 POP 患者外周血前列腺素明显高于无肺部感染患者,任艳玲等<sup>[18]</sup>研究显示,肺炎患者血清白三烯异常高表达与肺炎患者病情呈正相关。脂肪酸合成酶在脂肪酸合成中起核心作用,当其表达过度时会促进炎症的发生<sup>[19-20]</sup>。基于以上情况,推测胃癌患者体内抗坏血酸和硫辛酸的降低与 POP 发生相关。

本研究中胃癌 POP 组术后与术前相比,苯乙醛相对丰度显著升高,同时结合其所在的苯丙氨酸代谢通路异常,考虑苯丙氨酸代谢变化与 POP 相关。苯乙醛在人体内既不能直接作为底物合成其他氨基酸,也不会由其他氨基酸代谢产生,其生成是通过微生物的代谢<sup>[21-22]</sup>。苯丙氨酸代谢通常被认为参与氧化应激和炎症反应,L-苯丙氨酸是苯丙氨酸的常见形式,作为前体可生成苯乙胺,并通过酶的催化形成苯乙醛;而苯乙醛作为苯丙氨酸代谢的中间体,其蓄积表明炎症干扰了苯丙氨酸的代谢<sup>[23]</sup>。苯丙氨酸代谢途径是一种微生物常见的促炎途径,当机体内苯丙氨酸含量增高时,可作为诊断肺炎的独立风险因素<sup>[24-25]</sup>,而苯乙醛作为苯丙氨酸代谢的下游,亦可作为肺炎诊断的参考。基于苯乙醛这一关键差异代谢物,提示胃癌 POP 的发生发展与苯丙氨酸及其衍生物的代谢密切相关。

本研究在差异代谢物筛选中发现,与 POP 组术后相比,POP 组术前 5'-腺嘌呤核苷酸相对丰度较

低。5'-腺嘌呤核苷酸是腺嘌呤核苷酸异构体之一,其诱导一种低代谢状态,可以减缓线粒体呼吸,减少需氧量,并延缓缺氧和再灌注后器官中线粒体受损过程。有研究<sup>[26]</sup>证实,5'-腺嘌呤核苷酸能迅速减少小鼠和人类神经元的线粒体呼吸,导致代谢低迷状态,从而延长小鼠在缺氧条件下的存活时间。因此,5'-腺嘌呤核苷酸可能在胃癌 POP 发生中扮演了保护者角色,当机体内 5'-腺嘌呤核苷酸含量较高时,能够更好地应对手术及人工通气造成的冲击,因此,术前 5'-腺嘌呤核苷酸相对丰度较低可能是 POP 发生的风险因素;同时还发现与 POP 组术后相比,POP 组术前丁二酸相对丰度较高。丁二酸是三羧酸循环的中间代谢产物,在应激和炎症条件下会在细胞外组织环境中积累<sup>[27]</sup>,这也提示尽管 POP 患者术前在症状和实验室指标上还没有出现特征性的炎症征象,但实际上已经处于应激和炎症条件下。此外,丁二酸会改变微生物群落的代谢,并被病原体所利用,病原体的增殖进一步激活机体的免疫系统,启动炎症反应,进而加重炎症,提示丁二酸含量增加可能是胃癌患者 POP 的风险之一。本研究还筛选出其他的差异代谢物,如鸟苷一磷酸、反式肉桂酸等,但由于缺少其在感染方面的相关研究或循证依据,故没有进一步展开讨论,未来需要更多研究来论证其在炎症过程中的影响,明确相关差异代谢物和代谢通路的具体作用。

本研究利用 UHPLC-MS/MS 的方法从代谢组学角度对胃癌 POP 患者口咽代谢物进行分析,虽然总体代谢谱差异不明显,但仍存在具体的差异代谢通路和代谢物,主要涉及苯丙氨酸及其衍生物苯乙醛的特异性代谢,表现为与非 POP 组术前相比,POP 组术前抗坏血酸、硫辛酸等代谢物相对丰度较低;与 POP 组术后相比,POP 组术前 5'-腺嘌呤核苷酸等代谢物相对丰度较低,而 POP 组术前丁二酸等代谢物相对丰度较高,为胃癌 POP 发生机制的解析提供了参考依据。本研究局限性在于缺乏健康人群的口咽标本,无法确认微生物代谢物是否受到了其他因素(如癌症本身等)的影响。此外,尚未发现高效预测 POP 发生的生物标志物,以及差异代谢物与患者年龄、性别、炎性指标等相关性;由于本研究样本量较小,后续需扩大样本量,以便更好预测 POP 发生的风险。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

## [参 考 文 献]

- [1] 中华预防医学会医院感染控制分会第四届委员会重点部位感染防控学组. 术后肺炎预防和控制专家共识[J]. 中华临床感染病杂志, 2018, 11(1): 11-19.  
Key Site Infection Prevention and Control Group of the 4th Committee of Hospital Infection Control Branch of Chinese Preventive Medicine Association. Expert consensus on prevention and control of postoperative pneumonia[J]. Chinese Journal of Clinical Infectious Diseases, 2018, 11(1): 11-19.
- [2] Kosuga T, Ichikawa D, Komatsu S, et al. Clinical and surgical factors associated with organ/space surgical site infection after laparoscopic gastrectomy for gastric cancer[J]. Surg Endosc, 2017, 31(4): 1667-1674.
- [3] 谢建忠, 李林, 黄彬, 等. 胃癌腔镜手术后肺部感染危险因素[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(7): 653-656.  
Xie JZ, Li L, Huang B, et al. Risk factors for pulmonary infection after laparoscopic surgery for gastric cancer[J]. Chinese Journal of Infection Control, 2020, 19(7): 653-656.
- [4] 单玉兰, 沈舒文, 马安红. 呼吸功能锻炼对老年胃癌患者手术后肺部感染的预防作用[J]. 中华医院感染学杂志, 2013, 23(18): 4389-4390, 4393.  
Shan YL, Shen SW, Ma AH. Effect of respiratory function exercise on prevention of postoperative pulmonary infections in senile patients with gastric cancer[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2013, 23(18): 4389-4390, 4393.
- [5] Chen BZ, Chen YH, Li CH, et al. Incidence and risk factors of postoperative pneumonia in abdominal operations patients at a teaching hospital in China[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2018, 39(4): 504-506.
- [6] Xiang BB, Jiao SL, Si YY, et al. Risk factors for postoperative pneumonia: a case-control study[J]. Front Public Health, 2022, 10: 913897.
- [7] Tu RH, Lin JX, Li P, et al. Prognostic significance of postoperative pneumonia after curative resection for patients with gastric cancer[J]. Cancer Med, 2017, 6(12): 2757-2765.
- [8] Fu JB, Zhu F, Xu CJ, et al. Metabolomics meets systems immunology[J]. EMBO Rep, 2023, 24(4): e55747.
- [9] 彭武君, 张文林, 刘君德, 等. 气道定植菌对肺癌患者术后肺部感染的影响因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(4): 508-511.  
Peng WJ, Zhang WL, Liu JD, et al. Effect of airway colonization bacteria on postoperative pulmonary infection in patients with lung cancer [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2019, 29(4): 508-511.
- [10] Charlson ES, Bittinger K, Haas AR, et al. Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 184(8): 957-963.
- [11] Wang FH, Zhang XT, Li YF, et al. The Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO): clinical guidelines for the diagnosis and treatment of gastric cancer, 2021 [J]. Cancer Commun (Lond), 2021, 41(8): 747-795.
- [12] Christensen J, Prosper AE, Wu CC, et al. ACR lung-RADS v2022: assessment categories and management recommendations[J]. Chest, 2024, 165(3): 738-753.
- [13] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组, 中国医师协会呼吸医师分会慢性阻塞性肺疾病工作委员会. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2021年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2021, 44(3): 170-205.  
Chronic Obstructive Pulmonary Disease Group of Chinese Thoracic Society, Chronic Obstructive Pulmonary Disease Committee of Chinese Association of Chest Physician. Guidelines for the diagnosis and management of chronic obstructive pulmonary disease (Revised version 2021)[J]. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 2021, 44(3): 170-205.
- [14] Patel VS, Sampat V, Espey MG, et al. Ascorbic acid attenuates hyperoxia-compromised host defense against pulmonary bacterial infection[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2016, 55(4): 511-520.
- [15] Guo XJ, Wu SJ, Shang J, et al. The effects of lipoic acid on respiratory diseases[J]. Int Immunopharmacol, 2023, 116: 109713.
- [16] Lin YC, Lai YS, Chou TC. The protective effect of alpha-lipoic acid in lipopolysaccharide-induced acute lung injury is mediated by heme oxygenase-1 [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 590363.
- [17] 王瑞娟, 杨艳, 景建闯, 等. NLR、PCT、PGE2 预测全麻腹部术后肺部感染的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(5): 824-827.  
Wang RJ, Yang Y, Jing JC, et al. Value of NLR, PCT and PGE2 in predicting pulmonary infection after abdominal surgery under general anesthesia[J]. Journal of Molecular Diagnostics and Therapy, 2022, 14(5): 824-827.
- [18] 任艳玲, 刘芳, 王静. 肺炎患者血清 LTB4、ADA、内毒素水平变化及其病原体鉴别诊断价值分析[J]. 山东医药, 2020, 60(17): 49-51.  
Ren YL, Liu F, Wang J. Changes of serum LTB4, ADA and endotoxin levels in patients with pneumonia and their value in differential diagnosis of pathogens[J]. Shandong Medical Journal, 2020, 60(17): 49-51.
- [19] Anggraeni TD, Rustamadji P, Aziz MF. Fas ligand (FasL) in association with tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in early stage cervical cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2020, 21(3): 831-835.
- [20] 马冰新, 高勇, 李欣, 等. Fas/Fasl 基因多态性与急性心肌梗死患者术后肺部感染的关联[J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33(2): 176-180.  
Ma BX, Gao Y, Li X, et al. Correlation between Fas/Fasl gene polymorphisms and postoperative pulmonary infection in

patients with acute myocardial infarction[J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2023, 33(2): 176 - 180.

- [21] Mota-Gutierrez J, Barbosa-Pereira L, Ferrocino I, et al. Traceability of functional volatile compounds generated on inoculated cocoa fermentation and its potential health benefits[J]. Nutrients, 2019, 11(4): 884.
- [22] Qi W, Guo HL, Wang CL, et al. Comparative study on fermentation performance in the genome shuffled *Candida versatilis* and wild-type salt tolerant yeast strain[J]. J Sci Food Agric, 2017, 97(1): 284 - 290.
- [23] Xiong H, Li N, Zhao LQQ, et al. Integrated serum pharmacochemistry, metabolomics, and network pharmacology to reveal the material basis and mechanism of Danggui Shaoyao San in the treatment of primary dysmenorrhea[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 942955.
- [24] 邹琛, 徐润灏, 张泓, 等. 小分子代谢物在肺癌和肺炎鉴别诊断中的潜在作用[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2020, 40(8): 1041 - 1047.
- Zou C, Xu RH, Zhang H, et al. Potential roles of small metabolites in the differential diagnosis between lung cancer and pneumonia[J]. Journal of Shanghai Jiao Tong University (Medical Science), 2020, 40(8): 1041 - 1047.
- [25] Ren YY, Xu ZX, Qiao ZX, et al. Flaxseed lignan alleviates

the paracetamol-induced hepatotoxicity associated with regulation of gut microbiota and serum metabolome[J]. Nutrients, 2024, 16(2): 295.

- [26] Kondo Y, Sueyoshi K, Zhang JP, et al. Adenosine 5'-monophosphate protects from hypoxia by lowering mitochondrial metabolism and oxygen demand[J]. Shock, 2020, 54(2): 237 - 244.
- [27] Connors J, Dawe N, Van Limbergen J. The role of succinate in the regulation of intestinal inflammation[J]. Nutrients, 2018, 11(1): 25.

(本文编辑:翟若南)

**本文引用格式:**陈碧贞,李紫梦,蒋雅昕,等.胃癌术后肺炎患者口咽标本代谢组学研究[J].中国感染控制杂志,2025,24(3):372 - 380. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20256645.

**Cite this article as:** CHEN Bizhen, LI Zimeng, JIANG Yaxin, et al. Metabolomics of oropharyngeal specimens from postoperative pneumonia patients with gastric cancer[J]. Chin J Infect Control, 2025, 24(3): 372 - 380. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20256645.