中国科学: 生命科学 2026 年 第 56 卷 第 3 期: 647 ~ 656
SCIENTIA SINICA Vitae lifecn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS
CrossMark click for updates
论 文

基于非靶向脂质组学对卵巢子宫内膜异位症及合并卵巢癌脂质代谢的探索

段雨含[1], 王鹤霖[2], 张琨[3*]

1. 吉林大学第二医院输血科, 长春 130041
2. 吉林大学第二医院检验科, 长春 130041
3. 吉林大学第二医院医学研究中心, 长春 130041
* 联系人, E-mail: zk303@jlu.edu.cn

收稿日期: 2024-12-15; 接受日期: 2025-09-09; 网络版发表日期: 2026-01-22
吉林省卫生健康科技能力提升项目(批准号: 2023LC016)资助

摘要 卵巢子宫内膜异位症(ovarian endometriosis, OEMs)病因复杂, 近几年发病率显著上升. 本文选择10名患有OEMs、10名患有卵巢良性肿瘤(benign ovarian tumor, BOT)和10名患有OEMs合并卵巢癌(ovarian cancer, OC)的育龄期妇女的血清及尿液样本, 采用非靶向超高效液相色谱-质谱(untargeted ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry, UPLC-LC-MS)分析方法, 通过多变量偏最小二乘判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)模型分析比较OEMs与BOT和OEMs合并OC患者血清及尿液中脂质代谢产物的差异, 进一步通过KEGG注释筛选相关代谢途径, 初步探究与OEMs发生及其恶化相关的脂质成分, 进一步深入了解OEMs的发生发展机制. 结果显示, BOT组与对照组血清及尿液脂质代谢物均存在显著差异, 其中血清中有13种显著不同的脂质代谢物, 尿液中有9种. KEGG结果注释分析显示, 花生四烯酸代途径在血清及尿液中均富集, 自噬途径在血清样本中富集. 恶性组与对照组血清及尿液脂质代谢物均存在显著差异, 其中血清中有81种显著不同的脂质代谢物, 尿液中有6种, 血清和尿液样本均存在显著差异的脂质代谢物为主要有甘油磷脂酸(phosphatidic acid, PA)和磷脂酰胆碱(phosphatidyl cholines, PC). KEGG结果注释分析显示, 亚油酸代谢途径在血清及尿液中均富集, 血清样本中还揭示了鞘脂信号通路、花生四烯酸代谢途径的富集. 本次OEMs合并卵巢癌患者及BOT患者相比单纯OEMs患者血清及尿液脂质代谢物表达均存在差异, 提示了OEMs的发生及合并卵巢癌与脂质代谢可能有关.

关键词 卵巢子宫内膜异位症, 脂质组学, 卵巢癌, 血清, 尿液, 脂质代谢

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)是一种慢性妇科疾病, 其特征是子宫内膜腺和子宫外间质的异常存在, 并伴有慢性炎症. 最常见的盆腔器官是卵巢[1], 可引起慢性盆腔疼痛、痛经等一系列症状以及不孕等严重后果[2]. 随着近年来对EMs更深入的认识, 它不仅仅是一种局限于盆腔的疾病, 而是一种全身性、系统性的疾病[3], 可能影响外周血, 甚至尿液中代谢物的变化. 根据世界卫生组织的数据, 全球约有10%的育龄妇

引用格式: 段雨含, 王鹤霖, 张琨. 基于非靶向脂质组学对卵巢子宫内膜异位症及合并卵巢癌脂质代谢的探索. 中国科学: 生命科学, 2026, 56: 647–656
Duan Y H, Wang H L, Zhang K. Alterations in lipid metabolism in ovarian endometriosis and combined ovarian cancer revealed by untargeted lipidomics (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2026, 56: 647–656, doi: 10.1360/SSV-2024-0352

© 2026《中国科学》杂志社

女(1.9亿)患有这种疾病[4]. 目前EMs的发病机制尚不明确, 异质性使其早期诊断较为困难. 据报道, EMs从出现症状到明确诊断平均需要8~11年, 且妇科检查和超声检查等无创检查十分依赖医生的临床经验, 现以血清CA125为代表的大多数生物学指标的敏感性和特异性均欠佳[5]. 早在1925年, Sampson就提出了子宫内膜异位症与恶性转化之间的潜在相关性, 子宫内膜异位症与15%~50%的透明细胞和子宫内膜样卵巢肿瘤相关, 子宫内膜异位症患者的卵巢癌(ovarian cancer, OC)发病率增加2~3倍[6]. 迄今为止, 也有许多研究表明, 子宫内膜异位症女性患OC的风险可能增加[7~9]. 研究发现[10], EMs患者血清脂代谢相关指标总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、载脂蛋白A1(apolipoprotein A1, ApoA1)、脂蛋白-a(lipoprotein-a, Lp(a))水平升高, 证明脂代谢可能与EMs有密切关系. 而卵巢癌细胞为了满足生长和能量需求, 需要不断摄入脂质. 因此, EMs患者合并卵巢癌后, 可能存在进一步的脂质代谢紊乱.

脂质组学是基于分析化学原理和技术手段, 特别是质谱技术, 通过定性定量分析生物样本中的脂质, 挖掘与其他脂质、蛋白质之间关系, 进而阐明相关的生物机制[11], 为理解许多小分子内源性脂质代谢物及其相关的代谢途径提供线索[12], 已被证明可为复杂疾病领域提供进一步的见解. 液相色谱-质谱联用技术(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)脂质组学是色谱分离与质谱检测的耦合, 增加了额外的选择性. 该技术引入保留时间作为鉴定的手段, 从而降低了质谱分析的复杂性, 并增加了每个样品的峰容量, 可以进行定性和定量分析[13]. 对EMs患者血清及尿液的检测可能会获得不同的脂质代谢标志物和脂质代谢谱, 这些定量参数反映了EMs病理状态. 截至目前, EMs及合并卵巢癌脂质代谢紊乱的详细机制尚未被完全阐明. 本研究的目的是通过比较单纯卵巢子宫内膜异位症(ovarian endometriosis, OEMs)与卵巢良性肿瘤(benign ovarian tumor, BOT)和OEMs合并卵巢癌患者的血清及尿液不同的脂质代谢产物和分析相关的代谢途径, 获得差异脂质代谢谱, 从脂质代谢的角度探讨血清和尿液之间的联系, 同时为进一步探索EMs的发生及OEMs合并卵巢癌的可能机制提供理论依据, 也为后续筛选潜在的有价值的鉴别诊断标志物提供思路.

1 材料与方法

1.1 样本收集与制备

所有受试者均招募自2022年3月至2022年10月在吉林大学第二医院首诊且术后经病理证实为OEMs(对照组)、BOT(BOT组, 包括成熟畸胎瘤、卵巢浆液性囊腺瘤、卵巢黏液性囊腺瘤等)、OMEs同时合并卵巢癌(恶性组, 卵巢癌病理类型包括卵巢子宫内膜样癌、卵巢透明细胞癌等)的妇女. 其中BOT组10例, 恶性组10例, 对照组10例. 所有受试者采集入院当日经检验后剩余的外周静脉血清样本及次日清晨中段尿. 纳入标准: (ⅰ) 病例组患者符合入组的病理诊断、首诊; (ⅱ) 年龄处于20~40岁之间的育龄期女性; (ⅲ) 非妊娠期; (ⅳ) 术前3个月内未使用任何激素治疗; (ⅴ) 不合并严重内外科疾病(心、肝、脑、肾等系统病变或恶性肿瘤等); (ⅵ) 无免疫系统等内科合并症. 排除标准: (ⅰ) 近期出现严重急性感染或炎症反应、有活动性出血者; (ⅱ) 合并内分泌、免疫系统疾病或其他恶性肿瘤; (ⅲ) 临床资料不完整者; (ⅳ) 标本不合格者. 本研究经吉林大学第二医院医学伦理委员会审核批准.

血清标本用高速离心机3000 r/min离心10 min, 尿液标本在室温条件下用高速离心机3000 r/min离心15 min后, 分别取其上清液密封置于EP管中, 于−80℃冰箱中进行保存.

1.2 仪器和试剂

质谱: TripleTOF5600(SCIEX, 美国), 液相色谱: ExionUPLC(SCIEX), 甲醇, 96孔板, 氮吹仪, 乙腈, 振荡器.

1.3 代谢产物提取

从−80℃冰箱取出样本, 4℃缓慢解冻. 将样本用电子天平称重, 加入10倍质量的50%甲醇(比如25 mg组织加入250 μL缓冲液), 充分匀浆. 吸取匀浆液200 μL转EP管, 加入 1 mL 乙腈混匀, −20℃放置 2 h沉淀蛋白. 15000×g离心取上清, 真空浓缩抽干. 20 μL 50%甲醇复溶. 每个样本取5 μL混匀制成QC样本.

1.4 代谢物检测

所有样品均通过LC-MS系统按照机器指令获得.

首先采用超高效液相色谱(ultra-performance liquid chromatography, UPLC)系统(SCIEX)进行分离, 反相分离采用XBridge BEH C18柱(3.5 μm, 2.1 mm×100 mm, 沃茨, 英国). 柱温箱保持在50℃. 流速为0.3 mL/min, 移动的相由溶剂A(水+0.1%甲酸)和溶剂B(乙腈+0.1%甲酸)组成. 梯度洗脱条件为: 0~0.5 min, B相5%; 0.5~5 min, B相5%~80%; 5~7 min, B相80%~100%; 7~8 min, B相100%; 8~8.1 min, B相100%~5%; 8.1~10 min, B相5%.

使用高分辨率串联质谱仪TripleTOF5600(SCIEX)检测色谱柱洗脱的代谢物. Q-TOF在正离子模式, 毛细管电压设置为5 kV. 在负离子模式下, 毛细管电压设定为−4.5 kV. 质谱数据在IDA模式下获得. TOF质量范围为50~1200 D. 在MS/MS检测中, 前8个前体被破碎. 此外, 为了评估LC-MS在整个采集过程中的稳定性, 本研究还采集了一个质量控制样品(所有样品的集合).

1.5　数据收集、处理和统计分析

1.5.1　峰提取及鉴定

峰提取使用软件为XCMS, 其处理包括峰对齐、峰提取、归一化、去卷积等步骤. 然后保留QC样本中变异系数(coefficientof variance, CV)小于30%的代谢物作为最终的结果用于后续定量(差异分析)及鉴定. 本研究基于 HMDB数据库进行加合离子的鉴定.

1.5.2　多变量分析和单变量统计分析

典型的基于KL散度或互信息的方法依赖于较多样本. 为了在小样本条件有效分析代谢物对不同对照组的影响, 本研究选择适用于小样本的PLS-DA模型前两个主成分的VIP(variable important for the projection)值, 结合单变量分析变异倍数分析(fold change)和*t*检验(*P*-value)值来筛选差异表达的代谢物. 筛选条件[12]: (ⅰ) VIP≥1; (ⅱ) fold-change≥1.5或者≤0.66; (ⅲ) *P*-value<0.05. 三个条件都满足后的离子即差异离子, 最终结果以火山图(volcano plot)形式呈现fold change和*P*-value两个指标.

1.5.3　代谢通路富集

通过差异代谢物的KEGG注释整理映射到相应物种(人)的所有途径. 通过富集分析对差异代谢产物所在的代谢途径进行综合分析, 进一步筛选出主要代谢途径. 用MetaboAnalyst 6.0进行可视化分析各组间的差异代谢物主要富集的通路. 为了使偏态分布归一化, 对数据进行了非线性转换, 使用了对数变换.

1.5.4　一般统计分析

测量数据以平均值±标准差表示. *P*<0.05为显著性水平.

2　结果

2.1　各组样本一般情况的比较分析

经统计学分析, 各组患者年龄及BMI无显著差异(*P*>0.05), 见表1.

2.2　质量控制分析

检测开始时, 先使用3~10个连续的QC样本对“液相-质谱”系统进行平衡和检测, 而后进行实验样本的检测. 每10个检测样本会穿插一个QC样本, 用以监测样本检测过程中的仪器状态, 以保证足够的质控数据量. 如网络版附图1所示, QC样本聚类良好, 表明本次实验具有良好的准确性及可重复性, 仪器检测稳定, 满足定量分析要求.

2.3　BOT患者与OEMs患者血清及尿液差异代谢产物的筛选及数据分析

PCA模型负、正离子模式下均显示, 恶性BOT组与对照组患者血清及尿液之间均无明显的分离趋势(网络版附图2). 为了更好地获取组间差异信息, 本研究进行PLS-DA分析, 该模型显示, BOT组和对照组血清和尿液之间均存在明显的分离趋势(网络版附图3), 二者之间脂质相关的代谢产物存在显著差异. 在 PLS-DA模型中, 用参数R2(R2Y)表示模型的解释率, Q2(Q2Y)表示模型的预测率. 模型Q2>0.5, 可靠; 0.3<Q2≤0.5, 较好; 若Q2<0.3, 可靠性较低. 血清样本模型评价参数结果显示: 负离子模式R2Y=0.977, Q2=0.394, 稳定性较好. 尿液样本模型评价参数结果显示: 负离子模式R2Y=0.915, Q2=0.73, 稳定性可靠. 差异代谢物筛选的结果分别由火山图表示(网络版附图4). 在BOT组与对照组患者的血清中鉴定出13种显著差异脂质代谢物, 且能在HMDB数据库中鉴定到: 胆固醇戊酸酯、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、氧化磷

表 1 各组样本的年龄和BMI分析
Table 1 Analysis of age and BMI for each group of samples

组别	年龄(岁)	BMI(kg/m^2)
BOT组	32(24, 39)	22.43±3.14
OEMs组	35(28, 41)	23.21±4.32
恶性组	38(32, 43)	22.73±4.54

脂酰丝氨酸、氧化磷脂酰甘油、N-十二烷酰-鞘氨醇-4-烯-1-磷酸酯、氧化磷酸甘油磷酸盐等(网络版附表1). 尿液中鉴定出9种显著差异脂质代谢物, 且能在HMDB数据库中鉴定到胆固醇酯、氧化鞘脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酸(网络版附表2).

2.4 OEMs合并OC患者与OEMs患者血清差异代谢产物的筛选及数据分析

PCA模型负、正离子模式下均显示, 恶性组与对照组患者血清及尿液之间均无明显的分离趋势(网络版附图5). 而PLS-DA模型显示, 恶性组和对照组血清及尿液之间存在明显的分离趋势(网络版附图6), 二者之间脂质相关的代谢产物存在显著差异. 血清样本模型评价参数结果显示: 负离子模式R2Y=0.964, Q2=0.831, 稳定性可靠. 尿液样本模型评价参数结果显示: 负离子模式R2Y=0.849, Q2=0.399, 稳定性较好; 而正离子模式R2Y=0.835, Q2=0.694, 稳定性可靠. 血尿样本差异代谢物筛选的结果分别由火山图表示(网络版附图7). 在恶性组和对照组患者的血清中鉴定出81种显著差异脂质代谢物, 且均能在HMDB数据库中鉴定到(网络版附表3), 其中上调的有15种, 下调的有66种. 尿液中鉴定出6种显著差异脂质代谢物, 且均能在HMDB数据库中鉴定到(网络版附表4), 其中上调的有3种, 下调的有3种.

2.5 OEMs合并OC患者与BOT患者血清差异代谢产物的筛选及数据分析

PCA模型负、正离子模式下均显示, 良性组与恶性组患者血清及尿液之间均无明显的分离趋势(网络版附图8). 而PLS-DA模型显示, 恶性组和良性组血清及尿液之间存在明显的分离趋势(网络版附图9), 二者之间脂质相关的代谢产物存在显著差异. 血清样本模型评价参数结果显示: 负离子模式R2Y=0.953, Q2=0.742, 稳定性可靠; 正离子模式R2Y=0.928, Q2=0.592, 稳定性可靠. 尿液样本模型评价参数结果显示: 正离子模式R2Y=0.747, Q2=0.468, 稳定性较好. 血尿样本差异代谢物筛选的结果分别由火山图表示(网络版附图10). 在恶性组和良性组患者的血清中鉴定出12种显著差异脂质代谢物(网络版附表5), 且全部处于上调趋势. 尿液中鉴定出7种显著差异脂质(网络版附表6), 其中上调的有6种, 下调的有1种.

2.6 差异代谢物相关代谢途径

本实验基于HMDB数据库对差异代谢产物进行加合离子的鉴定, 同时基于KEGG数据库进行代谢通路的注释, 有助于了解代谢物所参与的主要生化代谢途径和信号转导通路. 对所有鉴定的各组间血液及尿液差异代谢物合并后使用Metaboanalyst 6.0进行分析, 结果如图1所示. BOT组与对照组血清及尿液差异脂质代谢物同时主要富集在花生四烯酸(arachidonic acid, AA)代谢通路中, 血清样本差异代谢物还富集在自噬相关通路中. 恶性组与对照组血清及尿液差异脂质代谢物同时主要富集在亚油酸代谢通路中, 血清样本差异代谢物还富集在鞘脂信号通路和花生四烯酸代谢途径中.

3 讨论

3.1 主要发现

本研究通过鉴定10例OEMs患者分别与10例BOT和OEMs合并卵巢癌患者的血清及尿液样本中代谢物的结构, 经PLS-DA模型分析前两个主成分的VIP值, 结合单变量分析fold change和*t*检验*P*值来筛选差异表达的代谢物. 在BOT组与对照组患者的血清中鉴定出13种显著差异脂质代谢物, 在尿液中鉴定出9种显著差异脂质代谢物, 详细结果见网络版附表1和附表2. KEGG通路富集结果显示, 两组差异脂质代谢物主要富集在花生四烯酸代谢通路、自噬相关通路中. 恶性组与对照组的血清中鉴定出81种显著差异脂质代谢物, 在尿液中鉴定出6种显著差异脂质代谢物, 详细结果见网络版附表3和附表4. KEGG通路富集结果显示两组差异脂质代谢物主要富集在亚油酸代谢通路、鞘脂信号通路和花生四烯酸代谢途径中. 恶性组与BOT组的血清中鉴定出12种显著差异脂质代谢物, 在尿液中鉴定出7种显著差异脂质代谢物, 详细结果见网络版附表5和附表6.

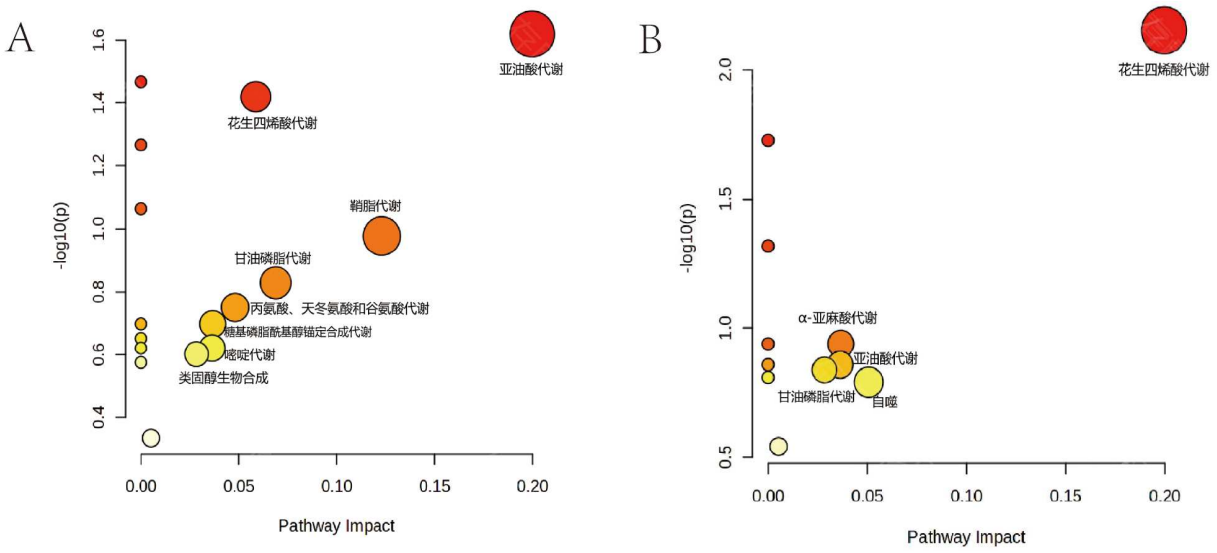

图 1　差异脂质代谢物主要富集通路. A: 恶性组和对照组差异脂质代谢物主要富集通路; B: BOT组和对照组差异脂质代谢物主要富集通路

Figure 1　Main enriched pathways of lipid metabolites differing. A: Main enriched pathways of lipid metabolites differing between the malignant group and the control group; B: main enriched pathways of lipid metabolites differing between the BOT group and the control group

3.2　优势和局限性

以往的研究表明，EMs的发生发展与脂质代谢紊乱有关[14,15]. 机体内外环境发生改变会导致机体的血液、尿液及组织中的相对分子量小于1000的代谢产物发生迅速而显著的变化. 非靶向代谢组学是针对生物系统内小分子代谢物(<1000 D)全面、系统的定性和定量分析代谢组学研究[16]，因此，在阐明疾病发病机制和鉴定生物标志物方面具有巨大的应用潜力. 本次实验结果发现，甘油磷脂等脂质代谢产物可能参与EMs的病理生理过程，包括自噬等细胞死亡过程. 近年来，比较热门的以脂质过氧化物增多为主要特征之一的新型程序性细胞死亡——铁死亡[17]，也被提出与EMs的发生发展相关[18]，也有研究证实了PE等磷脂成分是铁死亡信号传递的最关键磷脂[19]，未来可以进一步从脂质代谢的角度探究铁死亡参与EMs的病理机制. 以前的研究试图在血清中找到诊断EMs的生物标志物，或者在尿液中找到可以反映EMs病理变化的脂质代谢物. 但截至目前，还没有将二者结合在一起来探索它们之间的代谢联系的研究. 子宫内膜异位症相关性卵巢癌(endometriosis-associated ovarian cancer, EAOC)得到越来越多的关注[20]，但EAOC相对罕见，导致不同研究间纳入标准不统一且偏倚较大. 由于样本量有限，本研究以OEMs合并卵巢癌作为研究对象，仅对EAOC的研究做出了初步探索. 在此基础上，未来可以利用脂质组学联合其他个性化诊疗方法识别并确定EMs恶变的驱动突变、候选基因，进行EAOC发病机制及分子遗传学的研究，明确EMs恶变早期诊断的生物学标志物. 该实验是一项小样本研究，有待进行大样本、多中心、重复性实验以提高结果准确性. 另外，本研究缺少对非靶向脂质组学结果的验证实验，未来可以联合靶向分析模式对筛选到的差异代谢物进行验证.

3.3　解释说明

脂质组学作为代谢组学的重要分支，是对生物体内的脂质进行系统分析[21]，旨在通过各种方法对生物体液、组织以及细胞中的脂质进行研究，探究不同疾病状态下的机体脂质代谢变化，从脂质代谢网络角度研究疾病的可能发生机制，寻找能够表征疾病的关键脂质生物标志物. 本实验结果初步揭示了血清及尿液样本中多种甘油磷脂成分, 如磷脂酰胆碱(phosphatidyl cholines, PC)、磷脂酰乙醇胺(phosphatidyl ethanolamines, PE)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidyl serines, PS)、甘油磷脂酸(phosphatidic acid, PA)等在BOT组与OEMs组的显著差异，且OEMs组相比BOT组，大部分脂质相关代谢物处于下调趋势；PA和PC也在OEMs合并卵巢

癌与单纯OEMs血清和尿液中存在显著差异. 同时本研究对BOT组和恶性组进行了差异代谢物的鉴定, 发现PA等代谢物也有一定的变化, 但本研究还有一定的局限性, 需要进一步的实验证明PA和PC等脂质代谢物在OEMs疾病进展过程中的重要作用. 甘油磷脂参与机体内细胞信号转导、能量储存等过程, 进而调控脂代谢. 一项研究[22]显示, 磷脂可以通过减少脂质过氧化和氧化应激缓解酒精性脂肪肝引起的脂肪异常积累. 有研究报道[23], 减少易被过氧化脂质的合成, 特别是PE的过氧化, 可以显著抑制细胞死亡. 但这类氧化型磷脂导致细胞死亡的根本机制尚不明确, 目前较为广泛接受的推测: 一是磷脂的过氧化破坏了细胞膜结构的完整性; 二是亲电子产物对细胞生存相关蛋白的抑制. 因此, PE可能参与子宫内膜基质细胞死亡过程从而影响EMs的发生发展过程. 抑制过氧化脂质PE的合成进而抑制细胞死亡, 为临床上治疗相关疾病提供了新的策略.

一项细胞实验研究结果表明, PS暴露于细胞表面可介导细胞凋亡信号, 其水平下降提示EMs患者在位内膜的凋亡受抑制[24], 而本次OEMs患者血清中PS相比对照组的结果上调, 考虑可能存在其他途径调控PS的水平, 从而影响机体外周血中PS的代谢状况, PS参与EMs发生发展的具体机制仍需进一步基础实验证明. PC具有良好的表面活性作用和乳化特性, 能结合并增加胆固醇及三酰甘油的溶解度, 改善机体的脂质代谢. 研究发现, 腹膜型EMs患者的腹腔积液及血清中PC表达升高, 是新的疾病早期诊断标志物[25], 这与本实验OEMs血尿样本中多种PC亚型升高的研究结果一致. 分析其机制, PC结合体内的胆固醇和三酰甘油, 通过抑制脂质代谢信号通路, 抑制细胞凋亡, 进而促进OEMs的疾病进展[26]. 研究也发现, PC的表达上调能够促进巨噬细胞重编程, 促进巨核细胞由M1向M2型巨噬细胞转化, M2巨噬细胞分泌产生单核细胞趋化蛋白, 招募单核细胞的同时, 还能够促进子宫内膜组织的异位生长[27]. PA作为一种信号分子, 通过其对靶蛋白酶活性和囊泡运输的影响来调节各种细胞过程[28]. 与其他磷脂相比, PA具有独特的物理化学性质, 已成为一类影响膜结构、动力学和蛋白质相互作用的新型脂质介质. 由于此特性, PA与细胞运动有关, 可能促进子宫内膜细胞的迁移和侵袭, 同时负责激活NADPH氧化酶产生活性氧, 从而参与炎症过程[29]. 这些脂质差异代谢物提示, EMs患者机体存在着脂质代谢的变化, 可能成为鉴别OEMs及其他卵巢良恶性肿瘤疾病的有效指标.

本实验OEMs合并卵巢癌、BOT分别与OEMs对比, KEGG通路富集分析结果显示, 血清和尿液两组间花生四烯酸代谢途径都发生了改变. 在该通路中, 卵巢EMs组相比BOT组血清及尿液中PC上调, PC的上调促进前列腺素的生成. AA是细胞膜脂质的主要成分, 主要通过三种代谢途径转化为多种代谢物, 引发不同的炎症反应: 通过COX途径代谢为前列腺素; 通过LOX途径转化为白三烯和脂氧素; 通过细胞色素P450途径代谢[30]. Lai等人[31]研究发现, COX-2参与EMs的发病机制, 在激素、低氧等调节下, 异位病变腺上皮细胞和ESCs中COX-2增多, 导致EMs高增殖、低凋亡、高侵袭和血管生成, 细胞毒性NK细胞分化受损, 进一步促进EMs的发生发展. 因此, 本研究初步探索了PC可能通过花生四烯酸代谢途径促进EMs的疾病进展, 具体机制有待进一步研究.

另一个值得注意的是自噬途径在OEMs患者的血清中富集. 自噬是一种保守的细胞内降解系统, 在细胞死亡中起着双重作用, 可以为细胞在营养缺乏条件下提供一些必要的营养物质促进细胞存活, 但是自噬过度发生会导致细胞内一些正常组分被降解从而加速细胞死亡[32]. 研究表明[33], 哺乳动物的肝脏和脂肪组织作为机体能量储备和转换的场所, 其代谢状态同样受到细胞自噬的影响, 高血脂、糖尿病、肥胖症、脂肪肝等疾病的发生也与自噬密切关联. 在自噬过程中, *ATG3*基因是自噬体形成不可缺少的基因, ATG3在ATG8接合系统中充当E2泛素样接合酶, 有助于吞噬细胞延伸, 同时在该过程中ATG3的N-末端需与PE结合[34], PE使得自噬蛋白募集至细胞膜上并增强自噬信号[35]. Allavena等人[36]通过分析13例Ⅲ~Ⅳ期卵巢EMs组织发现, LC3-Ⅱ和BECN1的蛋白表达水平增加, 自噬起始基因*ATG4*和*ATG7*的mRNA表达水平也升高, 而p62蛋白的表达降低, 证实卵巢EMs异位内膜组织中自噬过程是激活的. PE参与细胞的自噬过程, 但具体机制还有待进一步确定, 通过研究该通路可能为进一步了解EMs异位病灶的迁移机制提供思路.

KEGG通路富集结果显示, OEMs合并卵巢癌组与OEMs组血清差异脂质代谢物还富集在亚油酸代谢通

路、鞘脂信号通路中. 在鞘脂信号通路中, Cer是鞘脂代谢的中心, SM可在多种酶催化下转化生成Cer, Sph和S1P等其他鞘脂. 鞘脂代谢与甘油磷脂代谢紧密相关, SM可生成多种甘油磷脂, 如PC和PE等. SM是构成血浆脂蛋白的关键脂质, 参与循环中的脂质运输. 有研究表明, Cer/SM失衡促进脂质代谢紊乱并募集死亡受体Fas诱导细胞凋亡, 还可导致肝损伤[37]. Njoku等人[38]分析了体重指数(body mass index, BMI) ≥30 kg/m^2、子宫内膜样子宫内膜癌、子宫内膜组织学正常女性的血浆样本, 认为血浆代谢物具有早期检测子宫内膜癌的潜力, SM与子宫内膜样癌和透明细胞癌的发生风险呈正相关. Vouk等人[39]的实验提出, 高浓度的鞘磷脂及卵磷脂与EMs疾病的进展相关, 这可能与抑制细胞凋亡与脂质代谢信号通路有关. Dutta等人[40]通过动物实验得出结论, EMs组的小鼠血清中鞘磷脂及卵磷脂表达升高, 而甘油三酯及鞘磷脂表达降低, 认为血清中卵磷脂、鞘磷脂、甘油三酯及卵磷脂与鞘磷脂的比值与EMs具有明显相关性, 且均可作为EMs特异性表达脂质的相关指标, 并提出EMs的发病机制可能与内源性脂质代谢相关. 另外, 有研究表明, 鞘脂信号异常可增加OC患病风险, 细胞Cer和S1P之间的平衡在OC发生中起关键作用, OC患者血浆、腹水和肿瘤组织中长链Cer水平上调和血清中的各种SM水平下降与肿瘤减小相关, 并影响OC患者生存期. SM代谢紊乱、氧化损伤和线粒体功能障碍会导致鞘磷脂合酶2(sphingomyelin synthase 2, SMS2)水平降低, 而SMS2降低又可导致SM水平显著降低和Cer水平显著升高[41].本实验中的恶性组血清样本代谢产物SM与对照组相比下调, 与上述结果一致. 因此, SM可能通过鞘脂代谢途径参与OC的发病过程, 具体调控通路有待进一步实验证明.

本次研究显示尿液中差异代谢物数量具有一定变化: BOT组与对照组相比, 尿液中有9种显著差异的脂质代谢物, 而恶性组与对照组相比, 尿液中仅有6种差异代谢物. 针对这一问题, 可能的原因是尿液极性大、水分及电解质含量高、脂质含量较低等因素, 构成了尿液脂质组学的研究屏障, 目前国内较少进行尿液的脂质组学研究. 生物样品脂质常规的处理方法是液液萃取法, 但尿液的高极性特点, 使常规的萃取试剂难以有效分层而不能顺利萃取获得脂质. 因此, 以后的研究需进一步改进尿液标本的前处理方法, 通过−80℃, 1 Pa的真空冷冻干燥, 既除去尿液占比极高的水分, 保持脂质的稳定性, 避免脂质的氧化, 同时又富集脂质, 使脂质充分转移到溶剂中, 有利于提高脂质回收率. 另外, 脂质代谢物可能受到环境因素、饮食习惯和用药史等因素对的潜在影响, 本实验为了尽可能规避这些影响, 选择近3个月内无用药史的首诊患者作为实验对象, 但生活习惯、饮食、肠道菌群等个体差异对脂质仍有一定的影响, 因此现有研究所发现的差异脂质多属于探索性工作, 需通过前瞻性研究进行大样本临床验证.

4　结论

(1) BOT患者相比OEMs患者, 血清及尿液脂质代谢物表达均存在差异.

(2) OEMs合并卵巢癌患者相比单纯OEMs患者, 血清及尿液脂质代谢物表达均存在差异.

(3) 不同的代谢物与多种代谢途径有关, 其中花生四烯酸代谢通路在BOT和OEMs两组血清及尿液中均有富集, 且在OEMs合并卵巢癌和单纯OEMs两组血清中富集.

参考文献

1 Saunders P T K, Horne A W. Endometriosis: etiology, pathobiology, and therapeutic prospects. Cell, 2021, 184: 2807–2824

2 Ochoa Bernal M A, Fazleabas A T. The known, the unknown and the future of the pathophysiology of endometriosis. Int J Mol Sci, 2024, 25: 5815

3 Jia X M, Liu H Y, Zhong X Y. Research progress on systemic effects of endometriosis (in Chinese). Chin J Obstetr Gynecol, 2023, 58: 712–715 [贾雪敏, 刘海元, 钟晓盈. 子宫内膜异位症全身系统性影响的研究进展. 中华妇产科杂志, 2023, 58: 712–715]

4 Lamceva J, Uljanovs R, Strumfa I. The main theories on the pathogenesis of endometriosis. Int J Mol Sci, 2023, 24: 4254

5 Lin C C, Chen Z Y, Wang C Y, et al. Research progress on biomarkers for endometriosis based on lipidomics (in Chinese). J Zhejiang Univ (Med Sci), 2020, 49: 779–784 [林翠翠, 陈正云, 王春艳, 等. 基于脂质组学的子宫内膜异位症生物标志物研究进展. 浙江大学学报(医学版), 2020,

49: 779–784]
6 Herreros-Villanueva M, Chen C C, Tsai E M, et al. Endometriosis-associated ovarian cancer: what have we learned so far? Clin Chim Acta, 2019, 493: 63–72
7 Chen F, Zhu M, Li W. Advances in research on malignant transformation of endometriosis-associated ovarian cancer. Front Oncol, 2024, 14: 1475231
8 Giannini A, Massimello F, Caretto M, et al. Factors in malignant transformation of ovarian endometriosis: a narrative review. Gynecol Endocrinol, 2024, 40: 2409911
9 Ioannidou A, Sakellariou M, Sarli V, et al. New evidence about malignant transformation of endometriosis—a systematic review. J Clin Med, 2025, 14: 2975
10 Lin C C. Study on the mechanism of resveratrol regulating lipid metabolism and treating endometriosis (in Chinese). Dissertation for Master's Degree. Hangzhou: Zhejiang University, 2020 [林翠翠. 白藜芦醇调节脂代谢及治疗子宫内膜异位症的相关机制研究. 硕士学位论文. 杭州: 浙江大学, 2020]
11 Di Gioia M, Zanoni I. Dooming phagocyte responses: inflammatory effects of endogenous oxidized phospholipids. Front Endocrinol, 2021, 12: 626842
12 Guan S, Liu Y, Guo Y, et al. Potential biomarkers for clinical outcomes of IVF cycles in women with/without PCOS: searching with metabolomics. Front Endocrinol, 2022, 13: 982200
13 Gonen A, Miller Y I. From inert storage to biological activity—in search of identity for oxidized cholesteryl esters. Front Endocrinol, 2020, 11: 602252
14 Guo P, Gan J, Xu L, et al. Causal links and mediating effects of lipid metabolism, immune cells, and inflammatory proteins in endometriosis: evidence from Mendelian randomization. Medicine, 2025, 104: e43163
15 Ye X, Song X, Zhou S, et al. Integrative bioinformatics analysis of lipid metabolism-related genes and immune infiltration in endometriosis. Medicine, 2025, 104: e42816
16 Töpfer N, Kleessen S, Nikoloski Z. Integration of metabolomics data into metabolic networks. Front Plant Sci, 2015, 6: 49
17 Pan Q, Luo Y, Xia Q, et al. Ferroptosis and liver fibrosis. Int J Med Sci, 2021, 18: 3361–3366
18 Nulianti R, Bayuaji H, Ritonga M A, et al. Correlation of ferritin and glutathione peroxidase 4 (GPX4) level as a marker of ferroptosis process in endometrioma. Sci Rep, 2025, 15: 4357
19 Kagan V E, Mao G, Qu F, et al. Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis. Nat Chem Biol, 2017, 13: 81–90
20 Yachida N, Yoshihara K, Yamaguchi M, et al. How does endometriosis lead to ovarian cancer? The molecular mechanism of endometriosis-associated ovarian cancer development. Cancers, 2021, 13: 1439
21 Reghupaty S C, Dall N R, Svensson K J. Hallmarks of the metabolic secretome. Trends Endocrinol Metab, 2024, 35: 49–61
22 Lin Z D. Effects of phospholipid on lipid metabolism of Chinese mitten crab (in Chinese). Dissertation for Doctoral Degree. Shanghai: East China Normal University, 2021 [林志灯. 磷脂对中华绒螯蟹脂代谢影响的研究. 博士学位论文. 上海: 华东师范大学, 2021]
23 Li Y. Ischemia-induced ACSL4 activation contributes to ferroptosis mediated tissue injury in intestinal ischemia/reperfusion (in Chinese). Dissertation for Doctoral Degree. Dalian: Dalian Medical University, 2019 [李扬. 缺血诱导的ACSL4引起铁死亡并导致肠缺血再灌注后组织损伤. 博士学位论文. 大连: 大连医科大学, 2019]
24 Nagata S, Suzuki J, Segawa K, et al. Exposure of phosphatidylserine on the cell surface. Cell Death Differ, 2016, 23: 952–961
25 Loy S L, Zhou J, Cui L, et al. Discovery and validation of peritoneal endometriosis biomarkers in peritoneal fluid and serum. Reprod Biomed Online, 2021, 43: 727–737
26 Singh B, Chaudhary R, Katharia R, et al. Prognostic significance and prevalence of IgG subtypes in Rh haemolytic disease of fetus and newborn. Ind J Hematol Blood Transfus, 2021, 37: 442–447
27 Cauvi D M, Hawisher D, Dores-Silva P R, et al. Macrophage reprogramming by negatively charged membrane phospholipids controls infection. FASEB J, 2019, 33: 2995–3009
28 Zhou H, Huo Y, Yang N, et al. Phosphatidic acid: from biophysical properties to diverse functions. FEBS J, 2024, 291: 1870–1885
29 Wang X, Devaiah S, Zhang W, et al. Signaling functions of phosphatidic acid. Prog Lipid Res, 2006, 45: 250–278
30 Wang T, Fu X, Chen Q, et al. Arachidonic acid metabolism and kidney inflammation. Int J Mol Sci, 2019, 20: 3683
31 Lai Z Z, Yang H L, Ha S Y, et al. Cyclooxygenase-2 in endometriosis. Int J Biol Sci, 2019, 15: 2783–2797

32 Murrow L, Debnath J. Autophagy as a stress-response and quality-control mechanism: implications for cell injury and human disease. Annu Rev Pathol Mech Dis, 2013, 8: 105–137

33 Tian L, Guo S Y, Wu W M, et al. Autophagy-mediated lipid metabolism in animals and its detection (in Chinese). Acta Entomol Sin, 2017, 60: 347–356 [田铃, 郭三友, 吴文梅, 等. 细胞自噬介导的动物脂代谢及其检测. 昆虫学报, 2017, 60: 347–356]

34 Fang D, Xie H, Hu T, et al. Binding features and functions of ATG3. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 685625

35 Calzada E, Onguka O, Claypool S M. Phosphatidylethanolamine metabolism in health and disease. Int Rev Cell Mol Biol, 2016, 321: 29–88

36 Allavena G, Carrarelli P, Del Bello B, et al. Autophagy is upregulated in ovarian endometriosis: a possible interplay with p53 and heme oxygenase-1. Fertil Steril, 2015, 103: 1244–1251.e1

37 Su D, Liao Z, Feng B, et al. Pulsatilla chinensis saponins cause liver injury through interfering ceramide/sphingomyelin balance that promotes lipid metabolism dysregulation and apoptosis. Phytomedicine, 2020, 76: 153265

38 Njoku K, Campbell A E, Geary B, et al. Metabolomic biomarkers for the detection of obesity-driven endometrial cancer. Cancers, 2021, 13: 718

39 Vouk K, Hevir N, Ribič-Pucelj M, et al. Discovery of phosphatidylcholines and sphingomyelins as biomarkers for ovarian endometriosis. Hum Reprod, 2012, 27: 2955–2965

40 Dutta M, Anitha M, Smith P B, et al. Metabolomics reveals altered lipid metabolism in a mouse model of endometriosis. J Proteome Res, 2016, 15: 2626–2633

41 Li Z Y, Sun X T, Xing G Y, et al. Research progress on sphingolipid metabolism and benign and malignant gynecological diseases (in Chinese). J Int Obstet Gynecol, 2023, 50: 649–654 [李振英, 孙晓彤, 邢广阳, 等. 鞘脂代谢与妇科良恶性疾病的研究进展. 国际妇产科学杂志, 2023, 50: 649–654]

Alterations in lipid metabolism in ovarian endometriosis and combined ovarian cancer revealed by untargeted lipidomics

DUAN YuHan[1], WANG HeLin[2] & ZHANG Kun[3*]

[1] *Department of Transfusion Medicine, the Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, China*
[2] *Department of Clinical Laboratory, the Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, China*
[3] *Medical Research Center, the Second Hospital of Jilin University, Changchun 130041, China*
* *Corresponding author, E-mail: zk303@jlu.edu.cn*

Ovarian endometriosis (OEMs) is a complex condition with a rising rate of incidence. This study aimed to investigate the lipid components associated with the development and progression of OEMs, and to clarify the mechanisms underlying the development of EMs. For this, serum and urine samples were selected from ten women of childbearing age with OEMs (control group), ten with BOT (BOT group), and ten with OEMs+ovarian cancer (malignant group). These samples were analyzed using untargeted ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry. The lipid metabolism products were compared using a multivariate partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) to identify differences among the three groups. Further KEGG annotation was used to screen the relevant metabolic pathways. Differences in the lipid metabolite contents of the serum and urine samples from the BOT and control groups were identified, with 13 in the serum and 9 in the urine varying markedly. KEGG annotation results revealed that the arachidonic acid substitution pathway was enriched in both serum and urine, and the autophagy pathway only in the serum. There were significant differences in lipid metabolites in both the serum and urine samples of the malignant and control groups, with 81 varying significantly in serum and 6 in urine. The lipid metabolites that differed conspicuously in both serum and urine samples were phosphatidic acid and phosphatidylcholines (PC). KEGG annotation results showed that the linoleic acid pathway was enriched in both serum and urine, while the sphingolipid signaling and arachidonic acid pathways were enriched only in the serum samples. There were differences in the levels of serum and urinary lipid metabolites in the malignant and BOT group patients compared to the OEM group. These results suggest that the occurrence of OEMs in combination with ovarian cancer may be related to lipid metabolism.

ovarian endometriosis, lipidomics, ovarian cancer, serum, urine, lipid metabolism

doi: 10.1360/SSV-2024-0352