

· 综 述 ·

定量蛋白质组学在急性高原病研究中的应用进展

涂博丹^{1,2}, 魏雪², 尚慧莹², 刘作旭², 王一豪^{2*}, 高月^{1,2*}

1 江西中医药大学药学院, 江西 南昌 330004

2 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850

涂博丹, 魏雪, 尚慧莹, 刘作旭, 王一豪, 高月. 定量蛋白质组学在急性高原病研究中的应用进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(9): 3594-3604.

TU Bodan, WEI Xue, SHANG Huiying, LIU Zuoxu, WANG Yihao, GAO Yue. Application of quantitative proteomics in the study of acute mountain sickness[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(9): 3594-3604.

摘 要: 急性高原病(acute mountain sickness, AMS)是人体急性暴露于高原低压低氧环境后出现多系统生理紊乱的临床综合征。定量蛋白质组学技术可以系统定量并描述机体蛋白质组成和动态变化规律,近年来在多种疾病的预防、诊断、治疗和发生机制等方面研究应用广泛。本文系统综述了定量蛋白质组学技术及其在AMS的预防、诊断、治疗和急进高原习服机制研究中的应用进展,以期对AMS的发病机制、提前干预、临床治疗和AMS的蛋白质组学研究提供参考。

关键词: 定量蛋白质组学; 急性高原病; 高原习服; 生物标志物; 低压低氧

Application of quantitative proteomics in the study of acute mountain sickness

TU Bodan^{1,2}, WEI Xue², SHANG Huiying², LIU Zuoxu², WANG Yihao^{2*}, GAO Yue^{1,2*}

1 School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, Jiangxi, China

2 Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China

Abstract: Acute mountain sickness (AMS) is a clinical syndrome of multi-system physiological disorder after acute exposure to low pressure and low oxygen at high altitude. Quantitative proteomics can systematically quantify and describe protein composition and dynamic changes. In recent years, quantitative proteomics has been widely used in the prevention, diagnosis,

资助项目: 国家自然科学基金(82204774); 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目(ZYYCXTD-D-202207)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (82204774) and the Innovation Team and Talents Cultivation Program of National Administration of Traditional Chinese Medicine (ZYYCXTD-D-202207).

*Corresponding authors. E-mail: Gao Yue, gaoyue@bmi.ac.cn; Wang Yihao, hao_1216@126.com

Received: 2022-10-30; Accepted: 2022-12-31; Published online: 2023-01-05

treatment and pathogenesis of many diseases. This review summarizes the progress of quantitative proteomics techniques and its application in the prevention, diagnosis, treatment of AMS and mechanisms of rapidly acclimatizing to plateau, in order to provide a reference for the pathogenesis, early intervention, clinical treatment and proteomic research of AMS.

Keywords: quantitative proteomics; acute mountain sickness; plateau acclimatization; biomarkers; hypobaric hypoxia

我国是世界上高原地区面积最大、平均海拔最高、定居人口最多的国家,随着西部地区经济的快速发展,人群出入高原地区的频次显著增多^[1]。未经适应的平原人急进高原 2 500 m 以上时,常发生以头疼为主,并伴有眩晕、食欲缺乏、失眠、疲劳等临床症状的急性高原病(acute mountain sickness, AMS)^[2]。AMS 大多数情况不致命,但其发病急、进程快,不及时干预严重时可发展成高原肺水肿(high altitude pulmonary edema, HAPE)、高原脑水肿(high altitude cerebral edema, HACE)等重型高原病,威胁生命^[2]。

疾病的发生、发展,常伴随着某些蛋白质的异常表达。近年来,定量蛋白质组学技术取得了重大突破,已广泛用于临床疾病研究^[3]。系统综述定量蛋白质组学技术在 AMS 中的研究进展,对 AMS 的发病机制、预警干预、临床治疗以及 AMS 进一步的蛋白质组学研究具有重要意义。因此,本文简述了定量蛋白质组学技术,并从 AMS 的防治和急进高原习服机制的角度出发,对定量蛋白质组学的应用研究进行了概述和展望。

1 定量蛋白质组学的研究进展

蛋白质组概念最早于 1995 年由 Williams 提出,是细胞、组织和生物体在某一时刻基因组表达的全部蛋白质^[4]。随着高效液相色谱分离技术和生物质谱技术的不断发展完善,液相色谱-生物质谱联用技术已经成为研究蛋白质

组学的主流工具。与此同时,蛋白质组学的研究重点也从单纯的定性发现,过渡到定性、定量分析的同时兼顾。根据定量分析的目的和原理,可以将定量蛋白质组学技术分为靶向定量和非靶向定量(图 1)。靶向定量主要包括以三重四级杆串联质谱应用为主的离子选择反应监测技术/多重反应监测技术(selected reaction monitoring/multiple reaction monitoring, SRM/MRM)^[5]和以轨道阱或飞行时间质谱等高分辨质谱为主的平行反应监测技术(parallel reaction monitoring, PRM),以及基于数据非依赖采集模式的所有理论质谱的顺序窗口采集(sequential window acquisition of all theoretical mass spectra, SWATH-MS)技术^[6]。非靶向定量包括非标记定量和标记定量^[7],非标记定量又根据定量依据分为谱图数(spectral counting, SC)定量和离子强度(extracted ion chromatogram, XIC)定量,该方法样品前处理较为简单,但是需要控制实验流程相同、仪器稳定、方法一致,否则定量结果波动较大。常见的标记定量方法包括代谢标记(stable isotope labeling with amino acids in cell culture, SILAC; neutron encoding, NeuCode)、化学标记(isotope-coded affinity tag, ICAT; isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ; tandem mass tag, TMT)和酶解标记(¹⁸O),其中 SILAC 和 ICAT 利用一级谱图进行定量^[8-9],iTRAQ 和 TMT 方法常用二级谱图进行定量^[10]。以 SILAC 为代表的代谢标记方法具有较好的定量准确性,但其通量较低且是体内标记,多适用于疾病发生机制研究中的细胞和

动物实验分析。而以 TMT 为代表的化学标记方法具有标记定量准确的优势, 虽然有比值抑制现象、共洗脱肽段干扰^[11]等, 但是随着其分析通量的逐步提升, 在临床生物样本的定量分析中发挥着越来越重要的作用。

定量蛋白质组学通过检测不同状态、不同

时期蛋白质组的动态信息, 对疾病发生机制的预防、诊断、治疗等研究都有重要意义。通过 PubMed 数据库检索发现相关论文数目近 10 年来迅速增长(图 2), 表明定量蛋白质组学技术越来越受重视。与此同时, 人类蛋白质组学计划逐渐进入新的阶段, 我国科学家提出蛋白质组

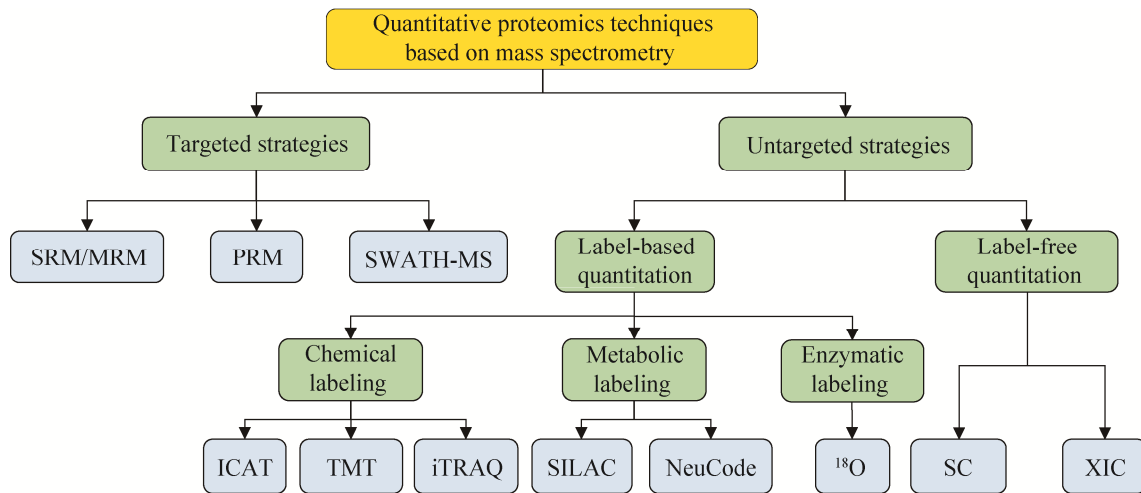


图 1 基于质谱的定量蛋白质组学常用技术分类

Figure 1 Classification of commonly used quantitative proteomics techniques based on mass spectrometry.

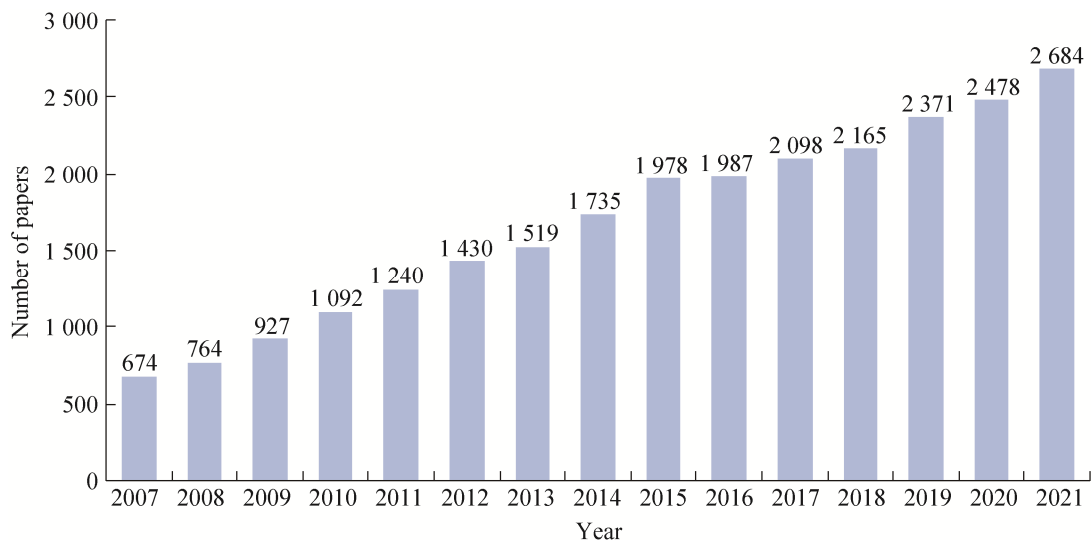


图 2 定量蛋白质组学文献数目统计 以“quantitative proteomics”为关键词在 PubMed 上进行检索, 统计期为 2007 年 1 月 1 日–2021 年 12 月 31 日

Figure 2 Numbers of quantitative proteomics literature: counting the total number of relevant literature based on the keyword “quantitative proteomics” in PubMed database from 2007.01.01 –2021.12.31.

学驱动精准医学发展的新时代已然开启^[12], 蛋白质组学的研究应用将更多地着眼于临床疾病, 预期在生物标志物、诊断试剂、诊断标准和治疗药物等潜在医疗市场发挥重要作用。

2 定量蛋白质组学在 AMS 预防诊治研究中的应用

AMS 是迄今最常见的高原病, 流行病学数据显示未经适应的平原人急进高原地区后, AMS 的平均发病率为 75%, 重度急性高原病引起的死亡率约为 1%^[13-14], 并且随着海拔升高, AMS 发病率和死亡率也随之增加。对 AMS 病人样本的定量蛋白质组学分析, 为早期预警分子、药物作用靶点和药效作用机制解析提供了有效的研究策略。

2.1 急性高原反应

急性高原反应指短时间内由低海拔地区进入高海拔地区, 由于低压、低氧、寒冷等因素, 机体在短时期内发生头疼、厌食、恶心、疲劳等一系列的典型表现。急性高原反应的风险取决于个体易感性、海拔高度以及登高速度, 目前尚无可靠的客观诊断指标, 常根据临床典型症状进行判断。其治疗常采用对症治疗或辅助供氧, 限制体力活动等保守治疗方法。

(1) 提前预测: 个体差异是急性高原反应发生与否的重要因素。为提前筛选适应高原的平原人群, Yang 等定量比较了高原适应人群和急性高原反应人群在平原地区的血清多肽, 发现并验证 α 间胰蛋白酶抑制剂重链 1 和 4 (inter- α trypsin inhibitor heavy chain 1/4, ITIH1/ITIH4) 蛋白存在差异表达^[15]。Lu 等通过细胞因子阵列分析比较了低海拔地区易感和抗性个体之间的血浆细胞因子谱, 鉴定了 75 种差异表达的细胞因子。随后通过验证发现急性高原反应易感个

体中胰岛素样生长因子结合蛋白 6 (insulin-like growth factor binding protein 6, IGFBP-6) 水平显著降低, 相反, 血清淀粉样蛋白 A1 (serum amyloid A1, SAA1)、Dickkopf 家族蛋白 4 (dickkopf-related protein 4, DKK4) 和白介素 17 受体 A (interleukin 17 receptor A, IL17RA) 水平显著高于耐受个体^[16]。在动物水平, Padhy 等通过非标记定量方法比较缺氧耐受和易感大鼠的血浆蛋白质组, 发现载脂蛋白 A-I (apolipoprotein A-I, APOA1) 在缺氧敏感大鼠中高表达, 而 3 种抗氧化蛋白: 对氧磷脂酶 1 (paraoxonase 1, PON1)、甲状腺素转运蛋白 (transthyretin, TTR) 和谷胱甘肽过氧化物酶 3 (glutathione peroxidase 3, GPX3) 在缺氧耐受大鼠中高表达^[17]。这些蛋白的表达水平可以用来提前筛选急进高原耐受人群和不耐受人群, 为预测低海拔人群急性高原反应的易感性提供了可能。

(2) 机制解析: Lu 等利用 iTRAQ 定量方法比较了急性高原反应耐受和敏感人群的血浆蛋白质组, 发现糖酵解、三羧酸循环、蛋白酶体相关蛋白在急性高原反应耐受人群中显著降低, 暗示两类人群中存在能量代谢的差异, 同时耐受人群通过减少蛋白质的降解-合成循环来降低能量消耗, 对减少急性高原反应异常重要^[18]。Julian 等通过非标记定量蛋白质组学手段比较急性高原反应易感和耐受人群的外周血蛋白组, 发现具有抗氧化特性的蛋白质如: 过氧化物酶 6 (peroxiredoxin-6, PRDX6)、谷胱甘肽过氧化物酶 GPX 和巯基氧化酶 1 (sulfhydryl oxidase 1, QSOX1) 在易感人群中显著增多, 因此他们认为在易感人群中, 会产生病态增多的氧化应激^[19]。通过综述文献发现急性缺氧后各器官中的氧化应激普遍增高, 而易感人群中相关蛋白的失调程度与发生急性高原反应之间的

关系仍需更多的人群样本进一步明确。

(3) 危险标志物筛选: Kalpana 团队通过非标记定量方法, 比较了急进海拔 4 200 m 人群和平原人群的唾液蛋白质组, 发现人群在 4 200 m 待 7 d 之后, 唾液中涉及糖酵解、炎症和呼吸性碱中毒相关的蛋白发生明显变化, 并提示 α -烯醇化酶(alpha enolase, ENO1)、碳酸酐酶 6 (carbonic anhydrase 6, CA6)、泌乳素诱导蛋白 (prolactin-inducible protein, PIP)、凋亡诱导因子 2 (apoptosis inducing factor 2, AIF-2) 以及半胱氨酸蛋白酶抑制剂 Cystatin S 和 Cystatin SN 或许可以作为急进高原相关疾病的诊断标志物^[20]。郭桅等基于前期用蛋白质组学发现的血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和急性高原反应的关系, 通过实验验证进一步明确急性高原反应患者血清中 VEGF 高表达, 并且其含量和急性高原反应的严重程度呈正相关, 提出 VEGF 可以作为急性高原反应临床观察和处置的生物标志物^[21], 血液中游离 VEGF 的含量和急性高原反应的相关性也被 Viktor 团队证实^[22]。此外, Yang 等追踪了 53 名急进高原人群, 分析急性高原反应的临床指标和血浆蛋白质组学特征, 通过蛋白质组定量分析、差异筛选、机器学习等, 提出将去整合素金属蛋白酶 15 (ADAM metalloproteinase domain 15, ADAM15)、磷酸甘油酸脱氢酶 (phosphoglycerate dehydrogenase, PHGDH) 和肿瘤坏死因子受体相关因子 2 (tumor necrosis factor receptor-associated factor 2, TRAF2) 分别用作急性高原反应的保护性、预测性和诊断性生物标志物^[23]。

2.2 高原肺水肿

HAPE 是一种危及生命的非心源性肺水肿, 低压低氧引起肺血-气屏障破坏, 导致血管外液在肺泡腔聚集, 严重影响气体交换。HAPE

具有个体易感差异性, 但易感性的遗传学研究尚难以得出明确结论^[24-26]。HAPE 的早期识别和立即干预是确保良好结局的关键, 成功治疗 HAPE 的首要原则是降低肺动脉压, 可以通过降低海拔、氧疗或者服用硝苯地平、西地那非等药物进行治疗^[27-28]。

免疫炎症反应是导致 HAPE 的关键因素。Ahmad 等通过非标记定量方法发现触珠蛋白 (haptoglobin, HP) 和载脂蛋白 APOA1 在 HAPE 患者血浆中显著高表达^[29]。高钰琪等采集 6 例 HAPE 患者和 6 例健康志愿者的血浆, 使用非标记定量方法, 发现 HAPE 患者中免疫球蛋白 κ 1 轻链 (immunoglobulin kappa 1 light chain, Ig κ 1)、血清转铁蛋白前体 (serotransferrin precursor) 和 α -胰蛋白酶抑制剂重链相关蛋白 (inter-alpha-trypsin inhibitor family heavy chain-related protein, IHRP) 表达上调; 纤维凝乳蛋白 3 (hakata antigen, FCN3) 表达下调^[30]。吴刚通过 iTRAQ 标记定量蛋白质组学手段比较 HAPE 患者和健康志愿者血浆蛋白组, 发现免疫、炎症相关蛋白在 HAPE 患者中显著升高, 之后通过实验证明 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 介导的炎症反应增强是 HAPE 发生的重要机制, 提出 HIF-1 α /TLR4 信号通路可能是防治 HAPE 的新靶标^[31]。

在标志物研究方面, 通过比较 HAPE 患者急性期和恢复期血浆蛋白质组的表达差异, 格日力团队发现载脂蛋白 APOA1 和 APOA4 的变化与 HAPE 的发生有关, 提出它们或许可以作为 HAPE 发病风险的血浆生物标志物^[32]。此外, Kalpana 团队利用非标记定量蛋白质组学方法探究低压低氧对肺部的损伤, 发现能量代谢、氧化应激相关蛋白与急性低压低氧肺损伤相关, 并且进一步验证了氧化应激蛋白磺基转移酶 1A1 (sulfotransferases 1A1, SUL1A1) 在高原

肺水肿大鼠和人群中显著高表达,具有作为 HAPE 诊断标志物的潜力^[33]。未来该方向的研究有望提出新的生物标志物来诊断、评估 HAPE 的预后,以及风险分层。

2.3 高原脑水肿

大脑对缺氧最为敏感,虽然大脑只有身体质量的 2%,却消耗机体 20%的氧气^[34]。血管通透性增加、血脑屏障完整性丧失导致的红细胞外渗是引起脑水肿的主要原因^[35]。高原脑水肿表现为严重头痛、呕吐、共济失调、进行性意识障碍等。目前尚无可靠预测 HACE 易感性的生理学或遗传学特征。HACE 的早期诊断常通过脑病症状、体征和脑部影像学检测进行判断。降低海拔是根治 HACE 的方法,但由于条件限制多数情况下不能立即降低海拔,因此早期诊断和治疗至关重要,及早将患者撤离至海拔较低地区,避免患者病情恶化导致不能自理或处于不能配合降低海拔的风险条件下。

汪海等对 HACE、HAPE 以及急性高原反应患者的血浆进行定量蛋白质组学差异比较,发现载脂蛋白 APOE 可能是 HACE 的特异性标志物^[36]。Zhang 等建立急性低压低氧脑水肿大鼠模型,通过对大鼠的大脑皮层线粒体进行非标记定量蛋白质组学研究,发现参与电子传递链和 ATP 合酶功能的 10 种蛋白质含量发生明显变化,表明低氧影响的脑线粒体蛋白质组功能紊乱是急进高原脑损伤的重要原因^[37]。然而在脑组织中,不同的区域对缺氧敏感性不同,Kalpana 团队发现急性缺氧后皮质中能量代谢相关蛋白三磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、磷酸甘油酸变位酶 1(phosphoglycerate mutase1, PGAM1)、 α -烯醇化酶 ENO1 以及超氧化物歧化酶 1(superoxide dismutase1, SOD1)的水平显著高于海马组织中

的水平,表明海马组织对缺氧更加敏感,为皮质和海马组织对缺氧易感性的不同提供了分子依据^[38]。研究者进一步通过 SILAC 定量蛋白质组学方法比较了急性缺氧后小鼠海马 HT22 细胞磷酸化蛋白质组的变化,发现急性缺氧后细胞内磷酸化水平整体上调,其中 HIF-1 α 的 S652 位点,BNIP3 的 T86 位点磷酸化修饰明显增加,并且发现急性缺氧和缺铁后细胞呈现相似的磷酸化修饰变化趋势^[39]。

3 定量蛋白质组学在急进高原习服机制研究中的应用

急进高原快速习服过程主要涉及人体的生理、生化和分子调控改变。能否快速适应高原环境取决于外在因素:海拔高度、上升速度、登高持续时间等;以及个体易感性:氧气运输能力、氧气消耗强度、代谢特征以及抵达高原后的行为反应^[40]。定量蛋白质组学为解析急进高原习服的个体易感性分子机制提供了有力手段。和平原相比,高海拔环境下血液、尿液、组织等生物样品中蛋白质组特征以及缺氧特异性蛋白的发现,在阐明高原习服机制中发挥着重要作用。

3.1 高原环境人血浆/血清的定量蛋白质组学研究

Jochen 团队利用低压模拟舱,将志愿者短期(30 min 和 60 min)暴露于不同海拔高度(2 400 m 和 4 500 m),研究急性缺氧后人体血浆蛋白质组变化^[41-42]。2 400 m 海拔高度处理组,低压缺氧前后,在血浆中发现 10 个蛋白的含量显著改变,其中血清白蛋白(serum albumin, ALB)、磷酸甘油酸激酶(phosphoglycerate kinase 1, PGK1)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、碳酸酐酶 CA1 显著下调,而载脂蛋白 APOE、三磷酸甘油醛脱氢酶 GAPDH、补体 C1q 亚基 A/B

(C1QA/C1QB)、凝血酶原(prothrombin, F2)和聚集素(clusterin, CLU)显著上调,这些蛋白主要参与免疫反应、凝血等生物过程。4 500 m 海拔高度处理组,研究者设置两组志愿者分别缺氧 30 min 和 60 min,定量蛋白质组学结果显示,缺氧时间增加后差异蛋白的数目和差异幅度也随之增加。同样是利用低压模拟舱,志愿者在模拟 4 875 m 海拔暴露 9 h 后,耐受个体暴露前后的血浆蛋白质组结果表明,血清淀粉样蛋白 P (serum amyloid P-component, SAMP)、胰岛素样生长因子酸不稳定亚基(insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile chain, IGFALS)、补体成分 C7、甘露糖结合凝集素 2 (mannose-binding protein C, MBL2)、载脂蛋白 APOC4、血清淀粉样蛋白 SAA4、载脂蛋白 APOC1 和血管性血友病因子(von willebrand factor, VWF)是高原习服的关键蛋白^[19]。

一氧化氮(nitric oxide, NO)是调控高原习服的重要分子。Padhy 等^[43]对旅居高原人群进行血浆 iTRAQ 定量蛋白质组分析,发现习服过程引发了 NO 生成通路相关蛋白的显著上调,是促进血管扩张、提高氧气运输能力等高原习服的关键环节。此外 Gangwar 等研究发现间歇性低氧训练可以促进急进高原快速习服,血浆定量蛋白质组学揭示可能的机制是,间歇性低氧训练引发了 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、血清淀粉样蛋白 SAA 以及部分载脂蛋白含量的变化。后续再进行高海拔暴露时,明显减少了低压低氧诱导的炎症和血脂异常,进而促进快速习服^[44]。

3.2 高原环境人尿液、唾液的定量蛋白质组学研究

尿液、唾液与血液相比,具有采集方便、可重复取材、无创等优点,其组分变化可以反映机体生理状态以及对环境的适应性改变,因

此,人群队列的尿液和唾液蛋白质组学应用研究越来越受关注。通过定量比较平原和攀登珠穆朗玛峰人员的尿液蛋白质组,Parati 等^[45]发现尿调解素(urea mediators, UMOD)和 α 1-抗胰蛋白酶(alpha-1 antitrypsin, A1AT)在珠峰攀登人群中显著降低。研究表明,血清中较高含量的 A1AT 是 HAPE 的危险因子, A1AT 的上调会抑制激肽系统的活性进而导致全身血管收缩阻碍高原习服^[46-47]。因此,珠峰攀登人群中 A1AT 下调可能促进 NO 的生成和血管舒张使机体快速适应高原环境。Kalpana 团队采用 2DE^[20]和 iTRAQ^[48]定量蛋白质组学方法,比较平原人群迁移高原前后的唾液蛋白质组变化,在未发生急性高原反应的平原人群中,发现糖酵解相关蛋白如 ENO1 显著降低,暗示糖酵解过程的减少是高原习服的重要环节,唾液蛋白质组学的这一结果和血液中的结果相吻合。Vandana 等^[40]通过 IPA (ingenuity pathway analysis)软件对高原适应性反应蛋白进一步分析,明确 LXR/RXR (liver X receptor/retinoid X receptor)激活、急性期反应信号以及 NO 产生通路是高原习服的关键调节过程,这些证据表明脂质和能量代谢途径在急进高原习服中发挥着重要作用。

3.3 高原环境人其他组织和动物模型的定量蛋白质组学研究

Vigano 等^[49]使用 2DE 方法定量比较人体暴露于 4 559 m 海拔前后肌肉蛋白质组的差异,其中大部分蛋白呈现下调趋势,包括铁转运蛋白、三羧酸循环、氧化应激和氧化磷酸化蛋白等。这些结果在 CXER 研究小组和 Louise 团队分别针对攀登珠穆朗玛峰运动员和模拟缺氧条件下志愿者的肌肉组织研究中得到证实^[50-51]。在高原耐受个体中,三羧酸循环和氧化磷酸化中大多数酶的丰度在高海拔地区降低,并且在极端海拔高度降低更为明显,表明降低能量消

耗在高原习服中的关键作用。与此同时,蛋白质合成通路相关延伸因子表达水平降低,而热休克伴侣蛋白水平增加,说明高原环境下肌肉组织中蛋白质合成减少,自噬水平增加。

目前也有团队通过定量蛋白质组学研究动物模型对急性缺氧后的适应性改变。高友鹤等^[52]分析比较了低压低氧处理前后大鼠尿液蛋白质组,差异蛋白的功能富集分析显示,抗氧化应激、糖酵解、补体和凝血级联反应等生物学通路显著富集。周思敏等^[53]对低压低氧暴露小鼠的海马组织进行定量磷酸化蛋白质组学分析,缺氧暴露后海马组织磷酸化肽段和蛋白发生明显扰动,差异磷酸化修饰蛋白富集于囊泡运输、树突发育、认知等生物学过程,为了解急进高原海马组织的磷酸化调控网络变化提供了数据支撑。此外,高原动物也为研究高原适应性分子机制提供了良好的材料。牦牛臀肌^[54]、骨骼肌^[55]以及牦牛和藏鸡心脏^[56-57]等器官的定量蛋白质组学研究结果表明,氧化磷酸化、葡萄糖摄取等和能量代谢相关的蛋白在肌肉组织中显著差异表达;而谷胱甘肽代谢、Ca²⁺通道等分子在高原适应性动物心脏中明显高表达。对高原本土动物组织的定量蛋白质组学研究为高原适应分子机制提供了新的见解。

4 总结展望

定量蛋白质组学的研究策略和分析技术正在不断完善成熟,随着人类蛋白质组学计划的推进,疾病蛋白质组学的研究热潮正席卷而来^[12]。本文综述相关文献发现,定量蛋白质组学技术正逐步应用于AMS各类研究中,包括AMS的预防、诊断、治疗以及急进高原的习服机制等。在不同阶段,对各种器官和生物样本的定量蛋白质组学研究,为提高AMS的防诊治能力提供了有力科学支撑。然而,和其他疾病相比,AMS

的蛋白质组学应用研究尚在初期,仍然存在一些问题:(1)大部分定量蛋白质组学研究止步于差异蛋白筛选和功能富集分析,生物标志物的进一步人群验证以及药物靶标的体内外实验确证研究并没充分开展;(2)AMS初期是多系统的功能障碍,致病机制较为复杂,而目前的组学研究手段比较单一,应将蛋白质组学、基因组学、表观组学等有机结合,多器官、多维度解析AMS的发病机制;(3)蛋白质的翻译后修饰调节在机体面对外界环境变化时会优先启动,因此,随着多种翻译后修饰蛋白/肽段富集方法的成熟稳定,其有望成为定量蛋白质组学技术在AMS研究中新的重要方向。

REFERENCES

- [1] 霍妍,赵安鹏,李雪,李加忠,王荣.急性高原病的动物模型研究现状[J].中国药理学通报,2021,37(1):26-30.
HUO Y, ZHAO AP, LI X, LI JZ, WANG R. Animal models of acute plateau disease[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2021, 37(1): 26-30 (in Chinese).
- [2] LUKS AM, SWENSON ER, BÄRTSCH P. Acute high-altitude sickness[J]. European Respiratory Review: an Official Journal of the European Respiratory Society, 2017, 26(143): 160096.
- [3] BOYS EL, LIU J, ROBINSON PJ, REDDEL RR. Clinical applications of mass spectrometry-based proteomics in cancer: where are we?[J]. Proteomics, 2022, 23(7-8): e2200238.
- [4] WASINGER VC, CORDWELL SJ, CERPA-POLJAK A, YAN JX, GOOLEY AA, WILKINS MR, DUNCAN MW, HARRIS R, WILLIAMS KL, HUMPHERY-SMITH I. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*[J]. Electrophoresis, 1995, 16(7): 1090-1094.
- [5] VIDOVA V, SPACIL Z. A review on mass spectrometry-based quantitative proteomics: targeted and data independent acquisition[J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 964: 7-23.
- [6] ANKNEY JA, MUNEER A, CHEN X. Relative and absolute quantitation in mass spectrometry-based proteomics[J]. Annual Review of Analytical Chemistry

- (Palo Alto, Calif), 2018, 11(1): 49-77.
- [7] ROZANOVA S, BARKOVITS K, NIKOLOV M, SCHMIDT C, URLAUB H, MARCUS K. Quantitative mass spectrometry-based proteomics: an overview[J]. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N J), 2021, 2228: 85-116.
- [8] ONG SE, BLAGOEV B, KRATCHMAROVA I, KRISTENSEN DB, STEEN H, PANDEY A, MANN M. Stable isotope labeling by amino acids in cell culture, SILAC, as a simple and accurate approach to expression proteomics[J]. *Molecular & Cellular Proteomics: MCP*, 2002, 1(5): 376-386.
- [9] GYGI SP, RIST B, GERBER SA, TURECEK F, GELB MH, AEBERSOLD R. Quantitative analysis of complex protein mixtures using isotope-coded affinity tags[J]. *Nature Biotechnology*, 1999, 17(10): 994-999.
- [10] LAN YT, ZENG XY, XIAO J, HU LB, TAN L, LIANG MD, WANG XF, LU SH, LONG F, PENG T. New advances in quantitative proteomics research and current applications in asthma[J]. *Expert Review of Proteomics*, 2021, 18(12): 1045-1057.
- [11] HULTIN-ROSENBERG L, FORSHED J, BRANCA RMM, LEHTIÖ J, JOHANSSON HJ. Defining, comparing, and improving iTRAQ quantification in mass spectrometry proteomics data[J]. *Molecular & Cellular Proteomics: MCP*, 2013, 12(7): 2021-2031.
- [12] 姜颖, 张普民, 贺福初. 人类蛋白质组计划研究现状与趋势[J]. *中国基础科学*, 2020, 22(4): 1-6, 50. JIANG Y, ZHANG PM, HE FC. Current situation and trend of human proteome project[J]. *China Basic Science*, 2020, 22(4): 1-6, 50 (in Chinese).
- [13] 魏婧韬. 高寒低氧环境下旅游人群急性高原病发病率调查[J]. *社区医学杂志*, 2017, 15(7): 22-24. WEI JT. Investigation of incidence of acute mountain sickness in tourist population at high altitude hypoxic and cold environment[J]. *Journal of Community Medicine*, 2017, 15(7): 22-24 (in Chinese).
- [14] ZUBIETA-CALLEJA GR, ZUBIETA-DEURIOSTE N. High altitude pulmonary edema, high altitude cerebral edema, and acute mountain sickness: an enhanced opinion from the High Andes-La Paz, Bolivia 3, 500 m[J]. *Reviews on Environmental Health*, 2022, 38(2): 327-338.
- [15] YANG J, LI WH, LIU SY, YUAN DY, GUO YJ, JIA C, SONG TS, HUANG C. Identification of novel serum peptide biomarkers for high-altitude adaptation: a comparative approach[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25489.
- [16] LU H, WANG R, LI WB, XIE H, WANG C, HAO Y, SUN YH, JIA ZP. Plasma cytokine profiling to predict susceptibility to acute mountain sickness[J]. *European Cytokine Network*, 2016, 27(4): 90-96.
- [17] PADHY G, SETHY NK, GANJU L, BHARGAVA K. Abundance of plasma antioxidant proteins confers tolerance to acute hypobaric hypoxia exposure[J]. *High Altitude Medicine & Biology*, 2013, 14(3): 289-297.
- [18] LU H, WANG R, LI WB, XIE H, WANG C, HAO Y, SUN YH, JIA ZP. Plasma proteomic study of acute mountain sickness susceptible and resistant individuals[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 1265.
- [19] JULIAN CG, SUBUDHI AW, HILL RC, WILSON MJ, DIMMEN AC, HANSEN KC, ROACH RC. Exploratory proteomic analysis of hypobaric hypoxia and acute mountain sickness in humans[J]. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md: 1985), 2014, 116(7): 937-944.
- [20] JAIN S, AHMAD Y, BHARGAVA K. Salivary proteome patterns of individuals exposed to high altitude[J]. *Archives of Oral Biology*, 2018, 96: 104-112.
- [21] 杨丽君, 强巴旦增, 郭桅. 急性高原反应的临床生物标志物研究初探[J]. *西藏科技*, 2020(5): 54-55. YANG LJ, QIANG BDZ, GUO W. Preliminary study on clinical biomarkers of acute altitude sickness[J]. *Tibet Science and Technology*, 2020(5): 54-55 (in Chinese).
- [22] WINTER C, BJORKMAN T, MILLER S, NICHOLS P, CARDINAL J, O'ROURKE P, BALLARD E, NASRALLAH F, VEGH V. Acute mountain sickness following incremental trekking to high altitude: correlation with plasma vascular endothelial growth factor levels and the possible effects of dexamethasone and acclimatization following re-exposure[J]. *Frontiers in Physiology*, 2021, 12: 746044.
- [23] YANG J, JIA ZL, SONG XY, SHI JL, WANG XR, ZHAO XJ, HE KL. Proteomic and clinical biomarkers for acute mountain sickness in a longitudinal cohort[J]. *Communications Biology*, 2022, 5: 548.
- [24] SWENSON ER, BÄRTSCH P. High-altitude pulmonary edema[J]. *Comprehensive Physiology*, 2012, 2(4): 2753-2773.
- [25] EICHSTAEDT CA, MAIRBÄURL H, SONG J, BENJAMIN N, FISCHER C, DEHNERT C, SCHOMMER K, BERGER MM, BÄRTSCH P, GRÜNIG E, HINDERHOFER K. Genetic predisposition to high-altitude pulmonary edema[J].

- High Altitude Medicine & Biology, 2020, 21(1): 28-36.
- [26] EICHSTAEDT CA, BENJAMIN N, GRÜNIG E. Genetics of pulmonary hypertension and high-altitude pulmonary edema[J]. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md: 1985), 2020, 128(5): 1432-1438.
- [27] LUKS AM, AUERBACH PS, FREER L, GRISSOM CK, KEYES LE, MCINTOSH SE, RODWAY GW, SCHOENE RB, ZAFREN K, HACKETT PH. Wilderness medical society clinical practice guidelines for the prevention and treatment of acute altitude illness: 2019 update[J]. *Wilderness & Environmental Medicine*, 2019, 30(4S): S3-S18.
- [28] LUKS AM. Do we have a “best practice” for treating high altitude pulmonary edema?[J]. *High Altitude Medicine & Biology*, 2008, 9(2): 111-114.
- [29] AHMAD Y, SHUKLA D, GARG I, SHARMA NK, SAXENA S, MALHOTRA VK, BHARGAVA K. Identification of haptoglobin and apolipoprotein A-I as biomarkers for high altitude pulmonary edema[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2011, 11(3): 407-417.
- [30] 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.
LUO YJ, CHEN Y, GAO YQ. Study on plasma proteomics in patients with high altitude pulmonary edema (HAPE)[J]. *Medical Journal of Chinese PLA*, 2012, 37(1): 31-33 (in Chinese).
- [31] 吴刚. TLR4 信号通路介导的炎症反应在高原肺水肿发生中的作用及机制研究[D]. 重庆: 中国人民解放军陆军军医大学博士学位论文, 2019.
WU G. Hypoxia exacerbates inflammatory in high altitude pulmonary edema via the Toll-like receptor 4 signaling pathway[D]. Chongqing: Doctoral Dissertation of Army Medical University, 2019 (in Chinese)
- [32] YANG YZ, MA L, GUAN W, WANG YP, DU Y, GA Q, GE RL. Differential plasma proteome analysis in patients with high-altitude pulmonary edema at the acute and recovery phases[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2014, 7(5): 1160-1166.
- [33] AHMAD Y, SHARMA NK, AHMAD MF, SHARMA M, GARG I, SRIVASTAVA M, BHARGAVA K. The proteome of hypobaric induced hypoxic lung: insights from temporal proteomic profiling for biomarker discovery[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10681.
- [34] JIANG DR, LU HZ. Cerebral oxygen extraction fraction MRI: techniques and applications[J]. *Magnetic Resonance in Medicine*, 2022, 88(2): 575-600.
- [35] TURNER REF, GATTERER H, FALLA M, LAWLEY JS. High-altitude cerebral edema: its own entity or end-stage acute mountain sickness?[J]. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md: 1985), 2021, 131(1): 313-325.
- [36] 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.
ZHANG YY, DUAN RF, WANG H. The study of plasma proteomic changes in a patient with high-altitude cerebral edema[J]. *Chinese Journal of Applied Physiology*, 2011, 27(2): 180-184 (in Chinese).
- [37] LI JY, QI YT, LIU H, CUI Y, ZHANG L, GONG HY, LI YX, LI LZ, ZHANG YL. Acute high-altitude hypoxic brain injury: identification of ten differential proteins[J]. *Neural Regeneration Research*, 2013, 8(31): 2932-2941.
- [38] SHARMA NK, SETHY NK, BHARGAVA K. Comparative proteome analysis reveals differential regulation of glycolytic and antioxidant enzymes in cortex and hippocampus exposed to short-term hypobaric hypoxia[J]. *Journal of Proteomics*, 2013, 79: 277-298.
- [39] ERBER LN, LUO A, GONG Y, BEESON M, TU ML, TRAN P, CHEN Y. Iron deficiency reprograms phosphorylation signaling and reduces O-GlcNAc pathways in neuronal cells[J]. *Nutrients*, 2021, 13(1): 179.
- [40] SHARMA V, VARSHNEY R, SETHY NK. Human adaptation to high altitude: a review of convergence between genomic and proteomic signatures[J]. *Human Genomics*, 2022, 16(1): 21.
- [41] SCHMITZ J, KOLAPARAMBIL VARGHESE LJ, LIEBOLD F, MEYER M, NERLICH L, STARCK C, THIERRY S, JANSEN S, HINKELBEIN J. Influence of 30 and 60 min of hypobaric hypoxia in simulated altitude of 15, 000 ft on human proteome profile[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(7): 3909.
- [42] HINKELBEIN J, JANSEN S, IOVINO I, KRUSE S, MEYER M, CIRILLO F, DRINHAUS H, HOHN A, KLEIN C, ROBERTIS E, BEUTNER D. Thirty minutes of hypobaric hypoxia provokes alterations of immune response, haemostasis, and metabolism proteins in human serum[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(9): 1882.
- [43] PADHY G, GANGWAR A, SHARMA M,

- HIMASHREE G, SINGH K, BHAUMIK G, BHARGAVA K, SETHY NK. Plasma kallikrein-bradykinin pathway promotes circulatory nitric oxide metabolite availability during hypoxia[J]. *Nitric Oxide*, 2016, 55/56: 36-44.
- [44] GANGWAR A, Pooja, SHARMA M, SINGH K, PATYAL A, BHAUMIK G, BHARGAVA K, SETHY NK. Intermittent normobaric hypoxia facilitates high altitude acclimatization by curtailing hypoxia-induced inflammation and dyslipidemia[J]. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 2019, 471(7): 949-959.
- [45] MAININI V, GIANAZZA E, CHINELLO C, BILO G, REVERA M, GIULIANO A, CALDARA G, LOMBARDI C, PIPERNO A, MAGNI F, PARATI G. Modulation of urinary peptidome in humans exposed to high altitude hypoxia[J]. *Molecular BioSystems*, 2012, 8(4): 959-966.
- [46] PAVLICEK V, MARTI HH, GRAD S, GIBBS JSR, KOL C, WENGER RH, GASSMANN M, KOHL J, MALY FE, OELZ O, KOLLER EA, SCHIRLO C. Effects of hypobaric hypoxia on vascular endothelial growth factor and the acute phase response in subjects who are susceptible to high-altitude pulmonary oedema[J]. *European Journal of Applied Physiology*, 2000, 81(6): 497-503.
- [47] BLAKE GJ, RIFAI N, BURING JE, RIDKER PM. Blood pressure, C-reactive protein, and risk of future cardiovascular events[J]. *Circulation*, 2003, 108(24): 2993-2999.
- [48] JAIN S, PAUL S, MEENA RN, GANGWAR A, PANJWANI U, AHMAD Y, BHARGAVA K. Saliva panel of protein candidates: a comprehensive study for assessing high altitude acclimatization[J]. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*, 2020, 95: 1-11.
- [49] VIGANÒ A, RIPAMONTI M, de PALMA S, CAPITANIO D, VASSO M, WAIT R, LUNDBY C, CERRETELLI P, GELFI C. Proteins modulation in human skeletal muscle in the early phase of adaptation to hypobaric hypoxia[J]. *Proteomics*, 2008, 8(22): 4668-4679.
- [50] LEVETT DZ, RADFORD EJ, MENASSA DA, GRABER EF, MORASH AJ, HOPPELER H, CLARKE K, MARTIN DS, FERGUSON-SMITH AC, MONTGOMERY HE, GROCCOTT MPW, MURRAY AJ, GROUP CXER. Acclimatization of skeletal muscle mitochondria to high-altitude hypoxia during an ascent of Everest[J]. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2012, 26(4): 1431-1441.
- [51] D'HULST G, FERRI A, NASLAIN D, BERTRAND L, HORMAN S, FRANCAUX M, BISHOP DJ, DELDICQUE L. Fifteen days of 3 200 m simulated hypoxia marginally regulates markers for protein synthesis and degradation in human skeletal muscle[J]. *Hypoxia (Auckland, N Z)*, 2016, 4: 1-14.
- [52] 鲍艺今, 成祥, 朱玲玲, 范明, 高友鹤. 大鼠急性低氧模型尿液蛋白质组的变化[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(10): 3878-3887.
- BAO YJ, CHENG X, ZHU LL, FAN M, GAO YH. Changes in the urine proteome in an acute hypoxic rat model[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2022, 38(10): 3878-3887 (in Chinese).
- [53] 董华平, 钟志凤, 李鹏, 黄沛, 田怀军, 谢佳新, 周思敏. 模拟高原低压低氧暴露小鼠记忆损伤与脑海马体磷酸化蛋白质组学分析[J]. *陆军军医大学学报*, 2022, 44(4): 291-301.
- DONG HP, ZHONG ZF, LI P, HUANG P, TIAN HJ, XIE JX, ZHOU SM. Memory impairment induced by exposure to simulated hypobaric hypoxia and phosphoproteomic analysis of hippocampus in mice[J]. *Journal of Army Medical University*, 2022, 44(4): 291-301 (in Chinese).
- [54] XIN JW, CHAI ZX, ZHANG CF, ZHANG Q, ZHU Y, CAO HW, JI CY, CHEN XY, JIANG H, ZHONG JC, JI QM. Signature of high altitude adaptation in the gluteus proteome of the yak[J]. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 2020, 334(6): 362-372.
- [55] WEN WT, ZHAO ZZ, LI RL, GUAN JQ, ZHOU ZW, LUO XL, SUMAN SP, SUN Q. Skeletal muscle proteome analysis provides insights on high altitude adaptation of yaks[J]. *Molecular Biology Reports*, 2019, 46(3): 2857-2866.
- [56] XIN JW, CHAI ZX, ZHANG CF, ZHANG Q, ZHU Y, CAO HW, YANGJI CD, CHEN XY, JIANG H, ZHONG JC, JI QM. Differences in proteomic profiles between yak and three cattle strains provide insights into molecular mechanisms underlying high-altitude adaptation[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2022, 106(3): 485-493.
- [57] ZHANG Y, ZHENG XT, ZHANG YW, ZHANG HL, ZHANG XY, ZHANG H. Comparative transcriptomic and proteomic analyses provide insights into functional genes for hypoxic adaptation in embryos of Tibetan chickens[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 11213.

(本文责编 陈宏宇)