

谷氨酸化学交换饱和转移成像评估 直肠癌病理特征的可行性研究

葛宇曦¹ 吴晓妃¹ 胡丽丽¹ 张衡¹ 王子¹ 肖刚² 韩伟峰³ 周怀勤⁴ 胡曙东¹

¹江南大学附属医院影像科, 无锡 214122; ²韩山师范学院数学与统计学院, 潮州 521041; ³江南大学附属医院胃肠外科, 无锡 214122; ⁴东海县人民医院影像科, 连云港 222300

通信作者: 胡曙东, Email: hsd2001054@163.com

【摘要】 **目的** 探讨谷氨酸化学交换饱和转移 (GluCEST) 成像在直肠癌诊断中的可行性及其对肿瘤病理学特征的预测价值。**方法** 前瞻性队列研究。收集江南大学附属医院生物样本库的 4 例配对直肠癌及正常肠壁组织进行代谢组学分析, 比较两者的谷氨酸水平。建立人源性结直肠癌细胞株皮下移植瘤模型 (BALB/c 裸鼠, $n=3$), 验证 GluCEST 成像的可行性。纳入 2022 年 1 月至 2023 年 11 月期间江南大学附属医院收治的 41 例经病理证实的直肠腺癌患者 (男 31 例、女 10 例, 年龄 45~88 岁), 患者均行 GluCEST 检查。通过测量 3.0 百万分比浓度 (ppm) 处的磁化转移率不对称性 (MTR_{asym}) 量化 GluCEST 信号, 比较肿瘤区域与正常肠壁区域的 MTR_{asym} 值, 并分析其与 TNM 分期、分化程度、脉管侵犯、外周神经侵犯及细胞增殖核抗原 Ki-67 的相关性。采用两独立样本 t 检验分析 MTR_{asym} 值的组间差异, 采用 Spearman 秩相关评估 MTR_{asym} 值与不同指标的相关性。**结果** 代谢组学分析显示, 肿瘤组织中谷氨酸相对丰度明显高于正常肠壁组织 [$(2.85\pm 0.18)\times 10^9$ 与 $(1.53\pm 0.20)\times 10^9$; $t=9.79, P<0.001$]。京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析显示肿瘤组织中谷氨酸相关的神经活性配体-受体相互作用及铁死亡通路均明显激活。皮下移植瘤模型中, 肿瘤组织可检测到明显的 GluCEST 信号 (MTR_{asym} 值: 1.60%~2.20%)。临床队列中, 肿瘤区域 MTR_{asym} 值明显高于正常肠壁区域 [$(2.49\pm 1.13)\%$ 与 $(0.97\pm 0.23)\%$; $t=5.73, P<0.001$], 且肿瘤区域 MTR_{asym} 值与 N 分期、分化程度、脉管侵犯、外周神经侵犯及 Ki-67 呈轻度至中等程度相关 (r_s 值: 0.32~0.49, P 值: 0.001~0.040)。**结论** GluCEST 成像有望成为评估直肠癌病理学特征的潜在无创生物标志物。

【关键词】 结直肠肿瘤; 磁共振成像; 谷氨酸; 化学交换饱和转移

基金项目: 国家自然科学基金 (82502323); 2023 年无锡市卫生健康委员会项目 (M202309)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20241209-00422

Feasibility study of glutamate chemical exchange saturation transfer imaging in evaluating pathological features of rectal cancer

Ge Yuxi¹, Wu Xiaofei¹, Hu Lili¹, Zhang Heng¹, Wang Zi¹, Xiao Gang², Han Weifeng³, Zhou Huaiqin⁴, Hu Shudong¹

¹Department of Medical Imaging, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214122, China; ²School of Mathematics and Statistics, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China; ³Department of Gastrointestinal Surgery, Affiliated Hospital of Jiangnan University, Wuxi 214122, China; ⁴Department of Medical Imaging, Donghai County People's Hospital, Lianyungang 222300, China

Corresponding author: Hu Shudong, Email: hsd2001054@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the feasibility of glutamate chemical exchange saturation transfer (GluCEST) imaging for diagnosing rectal cancer and its potential value in predicting pathological characteristics. **Methods** This was a prospective cohort study. Metabolomic analysis was performed using four pairs of matched rectal cancer tissues and normal intestinal wall tissues sourced from the Biobank of the Affiliated Hospital of Jiangnan University to compare glutamate levels. Human colorectal cancer cell line xenograft models (BALB/c, male nude mice, $n=3$) were established to validate the feasibility of GluCEST imaging. A total of 41 patients (31 males, 10 females, age 45–88 years) with pathologically confirmed rectal adenocarcinoma who underwent GluCEST imaging at the Affiliated Hospital of Jiangnan University between January 2022 and November 2023 were prospectively enrolled. GluCEST signal was quantified by measuring the magnetization transfer ratio asymmetry (MTR_{asym}) at 3.0 parts per million (ppm). MTR_{asym} values were compared between tumor and normal intestinal wall regions, and correlations with TNM stage, differen-

tiation grade, lymphovascular invasion, perineural invasion, and Ki-67 were analyzed. The differences in MTRAsym values among groups were compared using independent-sample *t* test. Correlations of MTRAsym values with various metrics were assessed by Spearman rank correlation analysis. **Results** Metabolomic analysis confirmed a higher relative abundance of glutamate in tumor tissues compared with normal intestinal walls tissues ($(2.85 \pm 0.18) \times 10^9$ vs $(1.53 \pm 0.20) \times 10^9$; $t = 9.79$, $P < 0.001$). Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis revealed significant activations of both glutamate-related neuroactive ligand-receptor interactions and the ferroptosis pathway in tumor tissues. In the xenograft model, GluCEST signals were elevated in tumor tissues (MTRAsym: 1.60%–2.20%). In the clinical cohort, tumor regions showed significantly higher MTRAsym values than normal intestinal wall regions ($(2.49 \pm 1.13)\%$ vs $(0.97 \pm 0.23)\%$; $t = 5.73$, $P < 0.001$), with weak to moderate correlations observed with N stage, differentiation grade, lymphovascular invasion and perineural invasion, and Ki-67 (r_s values: 0.32–0.49, P values: 0.001–0.040). **Conclusion** GluCEST imaging shows potential as a non-invasive biomarker for evaluating pathological characteristics of rectal cancer.

【Key words】 Colorectal neoplasms; Magnetic resonance imaging; Glutamic acid; Chemical exchange saturation transfer

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82502323); Project of Wuxi Municipal Health Commission (2023) (M202309)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20241209-00422

直肠癌术前 TNM 分期广泛用于评估肿瘤局部浸润、淋巴结受累及远处转移情况^[1],但其难以反映肿瘤分子特征,且形态学改变存在一定的滞后性^[2]。研究表明,谷氨酸在结直肠癌的生长和侵袭过程中起关键作用,癌细胞内的谷氨酸代谢活性明显高于正常肠上皮细胞^[3]。谷氨酸通过激活受体介导的信号通路,促进谷胱甘肽合成,增强癌细胞对乏氧和氧化应激的抵抗能力,进而调控其增殖与转移^[4-5]。因此,开发可靠的谷氨酸代谢成像技术对精准评估直肠癌的生物学特性具有重要意义。谷氨酸化学交换饱和转移 (glutamate chemical exchange saturation transfer, GluCEST) 是一种新型分子成像技术,可通过选择性磁性标记游离谷氨酸的内源性胺质子,生成体内谷氨酸分布的影像图谱,实现活体谷氨酸代谢的定量评估^[6]。已有文献报道, GluCEST 信号强度与胶质瘤病理分级相关^[7],但其在直肠癌术前分期及病理特征预测中的价值尚不明确。本研究旨在评估 GluCEST 成像在直肠癌诊断中的应用价值,现报道如下。

资料与方法

1. 研究对象。(1) 动物模型。取 6 周龄 BALB/c 雄性裸鼠 3 只(体质量约 25 g/只),购自杭州子源实验动物科技有限公司[许可证号:SCXK(浙)2019-0004]。动物饲养于无特殊病原体级环境,温度(22±2)℃,相对湿度 50%~60%,12 h 明暗循环。动物实验遵守江南大学动物实验伦理规范和江南大学实验动物中心的要求。采用人源性结直肠癌 HCT116 细胞株建立皮下移植瘤模型:将对数生长期的 HCT116 细胞以 1×10^6 个/只悬浮于 100 μ l 无血清

DMEM 培养基中,注射于裸鼠右侧腹股沟区皮下。每周测量肿瘤体积,待肿瘤最大径达 1 cm 时行影像学检查。动物实验方案经江南大学动物伦理委员会批准(批准号:20221130R0240415)。

(2) 组织标本采集与代谢组学分析。收集江南大学附属医院生物样本库的 4 例经手术切除的直肠癌新鲜组织标本,每例同时采集肿瘤组织和距肿瘤边缘 >5 cm 的正常肠壁组织。标本获取后立即液氮速冻, -80℃ 保存。采用液相色谱-质谱联用法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS) 行非靶向代谢组学分析:样本经甲醇-水(4:1, V/V) 提取代谢物后,使用 Waters ACQUITY 超高效液相色谱(美国 Waters 公司)与 Q Exactive 质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)进行分析。色谱分离采用 ACQUITY 超高效液相色谱系统 BEH C18 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μ m; 美国 Waters 公司),流动相体积分数 0.1% 甲酸水溶液(A 相)和体积分数 0.1% 甲酸乙腈溶液(B 相)。质谱采集采用电喷雾电离,在正、负离子模式下扫描。所有样本经病理确诊,并获得患者知情同意(江南大学附属医院伦理批准号:LS2022045)。数据分析采用偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)、火山图分析、差异代谢物聚类、谷氨酸含量定量分析、京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路富集分析及代谢网络分析。

(3) 直肠癌患者。采用前瞻性队列研究设计,纳入 2022 年 1 月至 2023 年 11 月期间江南大学附属医院符合以下标准的直肠癌病例。纳入标准:①肠镜下病理与穿刺结果确诊为直肠癌;②术前 2 周

内行 MRI 检查(含 GluCEST 序列);③行直肠全系膜切除术(total mesorectal excision, TME),术后病理证实为直肠腺癌。排除标准:① MRI 检查后行新辅助治疗未行 TME 手术;② GluCEST 图像质量欠佳无法评估。最终入组 41 例患者,男 31 例、女 10 例,年龄 45~88(66.6±8.5)岁。

2. MRI 检查。患者检查前需禁食 4 h 并排空肠道,扫描前 10 min 注射山莨菪碱(杭州民生药业股份有限公司)20 mg 以抑制肠蠕动。采用 3.0 T MR 仪(Architect, 美国 GE 公司)及 32 通道体部相控阵线圈进行扫描。扫描序列:定位像、高分辨率 T₂ 加权成像、GluCEST 成像。GluCEST 采用二维快速自旋回波序列获取单层面化学交换饱和和转移(chemical exchange saturation transfer, CEST)成像数据,扫描参数:重复时间 3 000 ms,回波时间 15 ms,视野 240×240 mm²,矩阵 128×128,层厚 8 mm,激发次数 1。CEST 成像采用射频饱和功率 3.6 μT,饱和时间 3 200 ms。在±5 百万分比浓度(parts per million, ppm)范围内以 0.2 ppm 为步长施加 49 次频率偏移饱和脉冲采集 Z 谱,同时采集未饱和的 S₀ 图像。CEST 成像总扫描时间约 2~3 min。

3. GluCEST 数据处理与分析。计算 3.0 ppm 处的磁化转移率不对称性(magnetization transfer ratio asymmetry, MTR_{asym}),以量化 GluCEST 对比度,计算公式如下:MTR_{asym}(3.0 ppm)=[S(-3.0 ppm)-S(+3.0 ppm)]/S₀×100%,其中 S 表示特定频率偏移处的信号强度,S₀ 为未饱和信号强度。采用水饱和和频移参考法校正 B₀ 场不均匀性。由 2 名具有 8 年以上经验的放射科医师对照 T₂ 加权图像,在全部 52 幅 GluCEST 图像中选取第 2 幅,沿病灶边缘手动勾画 ROI,避开坏死区及肠腔内容物。采用 MATLAB 软件(R2019b, 美国 MathWorks 公司)进行后处理,计算 ROI 的平均 MTR_{asym} 值、最大 MTR_{asym} 值及中位 MTR_{asym} 值。同时统计入组患者的 MRI 报告指标:T 分期、N 分期、肿瘤长径。

4. GluCEST 图像的观察者间一致性分析。由 3 名具有 5 年以上经验的放射科医师独立评估 41 例患者的 GluCEST 图像。评估前进行统一培训,内容包括肿瘤边界判定、伪影识别、信号强度分级。采用组内相关系数(intraclass correlation coefficient, ICC)评价不同医师间 MTR_{asym} 测量值的一致性。

5. 病理学分析。所有手术标本按照标准病理流程处理,行 HE 染色和免疫组织化学检查。由 2 名病理科医师采用盲法独立评估。严格遵循美国癌症

联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)第 8 版标准^[8]:(1)脉管侵犯:HE 染色下观察肿瘤细胞是否侵入血管或淋巴管腔内,记录为阳性/阴性;(2)外周神经侵犯:观察肿瘤细胞是否侵犯神经周围间隙,记录为阳性/阴性;(3)细胞增殖核抗原 Ki-67 增殖指数:行免疫组织化学染色,选取肿瘤增殖活性最活跃区域,在 400 倍光学显微镜下计数至少 1 000 个肿瘤细胞,计算 Ki-67 阳性细胞核百分比。

6. 统计学处理。应用 IBM SPSS Statistics 22.0 和 MedCalc 11.4 软件进行统计分析。符合正态分布的定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两独立样本 *t* 检验或单因素方差分析(多重比较行 Bonferroni 校正)比较不同组间 MTR_{asym} 值的差异。Ki-67 与 MTR_{asym} 的关系、各病理指标与谷氨酸 MTR_{asym} 值的关系采用 Spearman 秩相关分析进行评估。*P*<0.05 为差异或相关性有统计学意义(双侧检验)。

结 果

1. 代谢组学分析揭示肠癌组织中谷氨酸代谢的特征性改变。经代谢组学分析可知,肠癌组织与癌旁正常组织具有明显不同的代谢特征。基于代谢物谱建立的 PLS-DA 模型可清晰区分 2 组样本,且该模型具有优异的拟合度和预测能力(拟合度 $R^2=0.998$, 预测能力 $Q^2=0.827$)。火山图分析识别出多个差异代谢物,其中谷氨酸在肠癌组织中的相对丰度明显上调。差异代谢物聚类热图进一步确认,谷氨酸是区分肠癌组织和正常肠壁组织的关键代谢物之一。定量分析显示,肠癌组织中谷氨酸的相对丰度明显高于正常肠壁组织[(2.85±0.18)×10⁹ 与 (1.53±0.20)×10⁹; *t*=9.79, *P*<0.001]。KEGG 通路富集分析显示,肠癌组织与正常肠壁组织的差异代谢物明显激活多条信号通路,其中与谷氨酸密切相关的包括神经活性配体-受体相互作用、长期抑制和铁死亡通路。代谢网络分析显示,谷氨酸在代谢网络中占据重要节点位置,并与神经递质受体相关分子及铁死亡通路相关代谢物存在密切的功能关联。上述提示,谷氨酸代谢重编程可能在肠癌发生发展中发挥重要作用。

2. 小鼠皮下移植瘤模型中 GluCEST 参数的优化。当射频饱和功率(B₁)为 3.6 μT、饱和时间为 3 200 ms 时,在皮下移植瘤模型中可检测到明显的 GluCEST 效应,肿瘤组织 MTR_{asym} 值达 1.60%~2.20%(图 1),成功验证 GluCEST 成像在恶性肿瘤中具有检测价值。

3. GluCEST 成像的观察者间可重复性分析。41 例

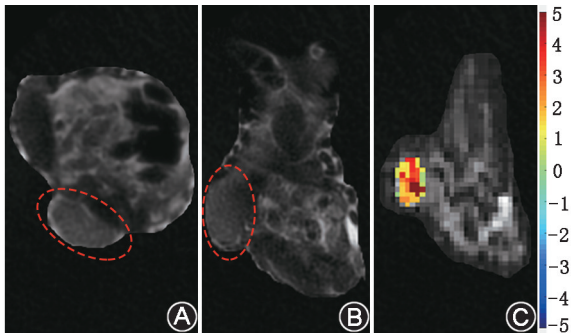


图 1 小鼠结肠癌皮下瘤谷氨酸化学交换饱和转移 (GluCEST) 成像图 T₂ 加权成像 (WI) 轴位 (A) 及冠状位 T₂ WI 图像 (B) 显示,皮下肿瘤呈均匀稍高信号 (红色椭圆示肿瘤);GluCEST 成像 (C) 中,磁化转移不对称率 (MTR_{Asym}) 值约为 2.20%

患者肿瘤最大径为 (3.80±1.37) cm;肿瘤位置以中高位为主 (29 例,占 71%),低位 12 例 (29%)。3 名医师的观察者间一致性分析显示,病灶内平均 MTR_{Asym} 值具有最佳一致性 (ICC = 0.83),其次为最大 MTR_{Asym} 值 (ICC = 0.81),而中位 MTR_{Asym} 值的一致性相对较低 (ICC = 0.70)。基于上述结果,选择平均 MTR_{Asym} 值作为最终评估指标。在 20 例同时获得肿瘤区域和正常肠壁区域测量数据的患者中,直肠癌病灶区域的 MTR_{Asym} 值高于正常肠壁组织 [(2.49±1.13)%与(0.97±0.23)%; *t* = 5.73, *P* < 0.001],表明 GluCEST 成像能够有效区分肿瘤组织与正常组织。

4. GluCEST 成像与直肠癌病理特征的相关性分析 (表 1)。不同 N 分期肠癌患者 GluCEST 成像 MTR_{Asym} 值存在差异,其中 N0 期和 N1 期间的差异有统计学意义 (*P* = 0.008),而 N0 期与 N2 期 (*P* = 0.218)、N1 期与 N2 期 (*P* = 0.946) 间的差异无统计学意义;将 N1 期和 N2 期合并为淋巴结转移阳性组,其 MTR_{Asym} 值明显高于淋巴结转移阴性组 [(2.80±1.15)%与(1.72±0.60)%; *t* = -3.06, *P* = 0.010]。外周神经侵犯阳性组 MTR_{Asym} 值高于阴性组 (*t* = -2.08, *P* = 0.044)。不同 Ki-67 水平组间 MTR_{Asym} 值存在差异,其中 Ki-67 > 80% 组高于 Ki-67 ≤ 60% 组 (*P* = 0.007),亦高于 60% ~ 80% 组 (*P* = 0.035)。相关性分析显示, MTR_{Asym} 值与 N 分期、分化程度、脉管侵犯、外周神经侵犯及 Ki-67 呈轻度至中等程度的正相关 (*r_s* 值: 0.32 ~ 0.49, *P* 值: 0.001 ~ 0.040)。患者典型 GluCEST 成像与病理图见图 2。

讨 论

直肠癌的精准诊疗依赖于对肿瘤生物学特征的全面评估,而传统解剖成像在反映分子代谢异常方

表 1 不同病理特征的直肠癌患者 GluCEST 成像 MTR_{Asym} 值的比较及相关性分析

| 病理特征 | 例数 | MTR _{Asym} 值 (%; $\bar{x} \pm s$) | <i>F</i> / <i>t</i> 值, <i>P</i> 值 | <i>r_s</i> 值, <i>P</i> 值 |
|-----------|----|---|------------------------------------|------------------------------------|
| T 分期 | | | <i>F</i> = 2.79, <i>P</i> = 0.074 | <i>r_s</i> = 0.19 |
| T1~2 | 10 | 1.83±0.65 | | <i>P</i> = 0.235 |
| T3 | 17 | 2.85±1.12 | | |
| T4 | 14 | 2.51±1.27 | | |
| N 分期 | | | <i>F</i> = 5.20, <i>P</i> = 0.010 | <i>r_s</i> = 0.38 |
| N0 | 12 | 1.72±0.60 | | <i>P</i> = 0.013 |
| N1 | 19 | 2.94±1.31 | | |
| N2 | 10 | 2.53±0.75 | | |
| 分化程度 | | | <i>F</i> = 2.36, <i>P</i> = 0.108 | <i>r_s</i> = 0.32 |
| 高 | 4 | 1.69±1.06 | | <i>P</i> = 0.040 |
| 中 | 25 | 2.38±0.96 | | |
| 低 | 12 | 2.97±1.35 | | |
| 脉管侵犯 | | | <i>t</i> = -1.48, <i>P</i> = 0.147 | <i>r_s</i> = 0.33 |
| 阴性 | 27 | 2.30±1.07 | | <i>P</i> = 0.037 |
| 阳性 | 14 | 2.84±1.18 | | |
| 外周神经侵犯 | | | <i>t</i> = -2.08, <i>P</i> = 0.044 | <i>r_s</i> = 0.40 |
| 阴性 | 34 | 2.33±1.15 | | <i>P</i> = 0.001 |
| 阳性 | 7 | 3.26±0.63 | | |
| Ki-67 (%) | | | <i>F</i> = 6.20, <i>P</i> = 0.005 | <i>r_s</i> = 0.49 |
| ≤60% | 6 | 1.61±0.40 | | <i>P</i> = 0.001 |
| 60%~80% | 23 | 2.31±0.87 | | |
| >80% | 12 | 3.26±1.38 | | |

注:GluCEST 为谷氨酸化学交换饱和转移, MTR_{Asym} 为磁化转移率不对称性, Ki-67 为细胞增殖核抗原

面存在局限。谷氨酸作为关键的肿瘤代谢物,已被证实通过调控增殖、侵袭及抗应激等通路在肠癌发展中发挥重要作用。GluCEST 成像作为一种新兴分子成像技术,能够无创量化体内谷氨酸浓度,为活体评估肿瘤代谢状态提供了独特手段。本研究结合代谢组学、移植瘤模型及前瞻性临床队列,探讨了 GluCEST 成像在直肠癌中的诊断价值及其与病理特征的相关性。

本研究 LC-MS 分析显示,直肠癌组织中谷氨酸相对丰度明显高于正常肠壁组织 (*t* = 9.79, *P* < 0.001),提示谷氨酸代谢重编程在直肠癌发生发展中具有重要作用。基于此发现,本研究进一步探讨了 GluCEST 成像的诊断价值。结果显示,不同观察者对肿瘤区域平均 MTR_{Asym} 的测量具有良好的一致性 (ICC = 0.83),表明该法具有较高可重复性。直肠癌病灶 MTR_{Asym} 值较正常肠壁组织明显升高 (*t* = 5.73, *P* < 0.001),与 LC-MS 结果一致。此外, GluCEST 信号强度与 N 分期、分化程度、脉管侵犯、外周神经侵犯及 Ki-67 等病理特征呈轻度至中度正相关 (*r_s* 值: 0.32 ~ 0.49, *P* 值: 0.001 ~ 0.040),提示该技术可作为评估直肠癌侵袭性生物学行为的潜在影像标志物。

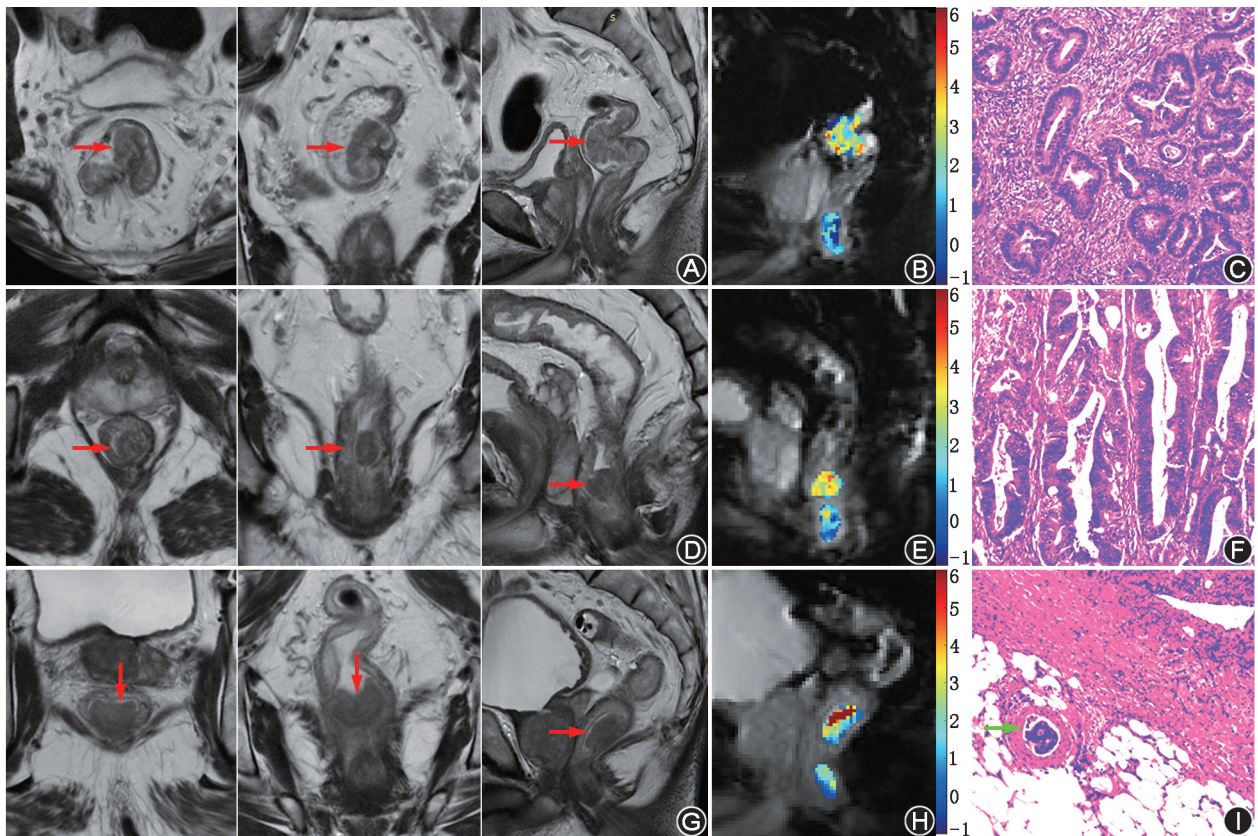


图 2 不同病理类型的直肠癌患者谷氨酸化学交换饱和和转移 (GluCEST) 成像图及病理图 [各行由左至右依次为横断位、冠状位及矢状位 T₂ 加权成像 (WI) 图, GluCEST 图和病理图 (HE ×20)] A~C. 中位直肠癌患者 (男, 70 岁)。A. T₂WI 显示位于直肠中段的“菜花”状肿块, 呈稍高信号 (箭头示); B. GluCEST 图像显示肠癌部位的信号对比 (2.27%) 明显高于下段肛管 (0.56%); C. 病理诊断为高分化直肠腺癌; D~F. 低位直肠癌患者 (男, 65 岁)。D. T₂WI 显示位于直肠下段的稍高信号肿块 (箭头示); E. GluCEST 图像显示肠癌部位的信号对比 (3.14%) 明显高于下段肛管 (0.92%); F. 病理诊断为中分化直肠腺癌; G~I. 低位直肠癌患者 (男, 64 岁)。G. T₂WI 显示位于直肠下段的稍高信号肿块 (箭头示); H. GluCEST 图像显示肠癌部位的不均匀信号对比, 表现为红、黄、绿多种伪彩颜色编码, 平均信号强度 (4.31%) 明显高于下段肛管 (0.86%); I. 病理诊断为低分化直肠腺癌, 伴有脉管 (箭头示) 和神经侵犯

代谢组学分析证实直肠癌组织中谷氨酸水平明显升高, 与既往研究一致^[9]。KEGG 通路富集分析显示, 谷氨酸相关的神经活性配体-受体相互作用、长时程抑制和铁死亡通路在肿瘤组织中明显激活。既往研究支持谷氨酸在结直肠癌中的促癌作用: 肿瘤微环境中高浓度谷氨酸通过自分泌和 (或) 旁分泌作用激活 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异唑丙酸 (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA) / *N*-甲基-*D*-天冬氨酸 (*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA) 受体信号。其中, AMPA 受体亚基相关蛋白 AMPA 受体 4 亚基的表达受启动子甲基化动态调控^[5], 而 NMDA 受体相关蛋白 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体 1 亚基 (*N*-methyl-*D*-aspartate receptor subunit 1, GRIN1) 通过稳定乏氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 亚基增强癌细胞的乏氧适应能力^[10], 此类神经样信号转导驱动肿瘤增殖与微环境重塑。此外, 谷氨酸作为谷胱甘肽合成前体, 通过谷氨酸半

胱氨酸连接酶催化反应增强抗氧化防御, 并促进转移表型^[11]。总之, 谷氨酸通过神经信号轴和铁死亡轴共同参与了结直肠癌代谢-信号网络的调控。

谷氨酸代谢通过调控多种信号通路促进肿瘤转移和增殖^[12-15], 为 GluCEST 的应用提供了分子机制支持。既往研究表明, 基于 CEST 的酰胺质子转移 (amide proton transfer, APT) 成像可用于评估直肠癌的侵袭性^[16], 推测肿瘤内信号增强与肿瘤细胞增殖及蛋白质代谢亢进有关。相比之下, GluCEST 特异性靶向谷氨酸代谢, 而非多种蛋白质及肽类的混合信号, 可能具有更好的生物可解释性。此外, GluCEST 在肿瘤微环境弱酸性条件下 (pH 6.5~7.4) 信号可能增强^[17], 与 APT 在酸性环境中信号减弱的特点形成对比^[18]。因此, GluCEST 成像有望成为评估直肠癌侵袭性更精准的分子影像工具。

本研究存在一些局限性。首先, 作为单中心研究, 样本量有限, 未开展多中心验证, 也未实现代谢

组学与 GluCEST 信号的同步检测,后续将联合多家医疗中心扩大样本并建立标准化同步检测方案;其次,仅纳入 4 例癌及正常肠壁组织样本,并采用单一细胞株构建动物模型,可能影响结论的普适性,计划增加不同来源的组织与细胞类型以构建更全面的实验模型体系;最后,仅关注了病理特征与 GluCEST 的相关性,缺乏对新辅助治疗反应评估和预后分析,未来需要探索 GluCEST 在疗效评估和预后预测中的应用价值。

综上,本研究通过代谢组学分析提示,谷氨酸代谢可能在直肠癌发生发展中发挥重要作用,初步支持 GluCEST 成像技术用于评估直肠癌侵袭性特征的潜在价值。MTR_{asym} 值与淋巴结转移、脉管侵犯、外周神经侵犯等病理特征相关,提示 GluCEST 成像有望成为评估直肠癌局部侵袭性的无创影像学生物标志物。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 葛宇曦:研究实施、数据收集、论文撰写;吴晓妃、胡丽丽:研究实施、论文修改;张衡、王子、韩伟峰:数据收集;肖刚:统计学分析;周怀勤、胡曙东:研究指导、论文修改、经费支持

参 考 文 献

- [1] Mahmoud NN. Colorectal cancer: preoperative evaluation and staging[J]. Surg Oncol Clin N Am, 2022, 31(2): 127-141. DOI:10.1016/j.soc.2021.12.001.
- [2] Bates DDB, Homs ME, Chang KJ, et al. MRI for rectal cancer: staging, mrCRM, EMVI, lymph node staging and post-treatment response[J]. Clin Colorectal Cancer, 2022, 21(1): 10-18. DOI: 10.1016/j.clcc.2021.10.007.
- [3] Xie Y, Li J, Tao Q, et al. Identification of glutamine metabolism-related gene signature to predict colorectal cancer prognosis[J]. J Cancer, 2024, 15(10): 3199-3214. DOI:10.7150/jca.91687.
- [4] Eddy K, Eddin MN, Fateeva A, et al. Implications of a neuronal receptor family, metabotropic glutamate receptors, in cancer development and progression[J]. Cells, 2022, 11(18): 2857. DOI: 10.3390/cells11182857.
- [5] Vega-Benedetti AF, Loi E, Moi L, et al. Colorectal cancer promoter methylation alteration affects the expression of glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 4 alternative isoforms potentially relevant in colon tissue[J]. Hum Cell, 2022, 35(1): 310-319. DOI: 10.1007/s13577-021-00640-x.
- [6] Cai K, Haris M, Singh A, et al. Magnetic resonance imaging of glutamate[J]. Nat Med, 2012, 18(2): 302-306. DOI:10.1038/nm.2615.
- [7] Zhou J, Sun W, Li H, et al. Application of 5T glutamate chemical exchange saturation transfer imaging in brain tumors: preliminary results[J]. J Neurooncol, 2024, 169(3): 581-589. DOI: 10.1007/s11060-024-04759-3.
- [8] Weiser MR. AJCC 8th Edition: colorectal cancer[J]. Ann Surg Oncol, 2018, 25(6): 1454-1455. DOI: 10.1245/s10434-018-6462-1.
- [9] Yang Y, Wang Z, Li X, et al. Profiling the metabolic disorder and detection of colorectal cancer based on targeted amino acids metabolomics[J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 824. DOI: 10.1186/s12967-023-04604-7.
- [10] Yan Z, Li P, Xue Y, et al. Glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate-associated protein 1 promotes colorectal cancer cell proliferation and metastasis, and is negatively regulated by miR-296-3p[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(4): 700. DOI: 10.3892/mmr.2021.12339.
- [11] Laoukili J, van Schelven S, Küçükköse E, et al. BRAF^{V600E} in colorectal cancer reduces sensitivity to oxidative stress and promotes site-specific metastasis by stimulating glutathione synthesis[J]. Cell Rep, 2022, 41(9): 111728. DOI: 10.1016/j.celrep.2022.111728.
- [12] Ou Y, Wu N, Shu L, et al. The high expression of SLC7A11 and GPX4 are significantly correlated with β -catenin in colorectal cancer[J]. Cancer Manag Res, 2024, 16: 1639-1648. DOI: 10.2147/CMAR.S483526.
- [13] Marin BM, Leclair NK, Shen E, et al. Genomic characterization of an esthesioneuroblastoma with spinal metastases: illustrative case[J]. J Neurosurg Case Lessons, 2023, 6(23): CASE23164. DOI: 10.3171/CASE23164.
- [14] Xu C, Bian Z, Wang X, et al. SNORA56-mediated pseudouridylation of 28 S rRNA inhibits ferroptosis and promotes colorectal cancer proliferation by enhancing GCLC translation[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 331. DOI: 10.1186/s13046-023-02906-8.
- [15] Song Z, Wei B, Lu C, et al. Glutaminase sustains cell survival via the regulation of glycolysis and glutaminolysis in colorectal cancer[J]. Oncol Lett, 2017, 14(3): 3117-3123. DOI: 10.3892/ol.2017.6538.
- [16] Peng Y, Zou X, Chen G, et al. Chemical shift-encoded sequence (IDEAL-IQ) and amide proton transfer (APT) MRI for prediction of histopathological factors of rectal cancer[J]. Bioengineering (Basel), 2023, 10(6): 720. DOI: 10.3390/bioengineering10060720.
- [17] Lai K, Pritišanac I, Liu ZQ, et al. Glutamate acts on acid-sensing ion channels to worsen ischaemic brain injury[J]. Nature, 2024, 631(8022): 826-834. DOI:10.1038/s41586-024-07684-7.
- [18] Ray KJ, Simard MA, Larkin JR, et al. Tumor pH and protein concentration contribute to the signal of amide proton transfer magnetic resonance imaging[J]. Cancer Res, 2019, 79(7): 1343-1352. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-2168.

(收稿日期:2024-12-09)