

· 论著 ·

内质网应激诱导小鼠棕色脂肪组织代谢紊乱的脂质组学研究

周围¹ 何萍² 马鹏³ 杜冠华³ 强桂芬³

¹国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022; ²中山大学附属第八医院,深圳 518033; ³北京协和医学院 中国医学科学院药物研究所药物靶点研究与新药筛选北京市重点实验室,北京 100050

通信作者:强桂芬,Email:qianggf@imm.ac.cn

【摘要】 目的 探究内质网应激对棕色脂肪组织(BAT)脂质组成的影响。**方法** 雄性 C57BL/6 小鼠腹腔注射衣霉素溶液(2.5 mg/kg) 18 h 后取肩胛区 BAT,采用超高效液相色谱(UPLC)仪串联 SCIEX QTRAP 6500 PLUS 质谱仪进行 UPLC-MS/MS 高覆盖率靶向脂质组学检测和分析。**结果** 内质网应激导致 BAT 脂质组成发生显著改变,其中溶血磷脂二酸(LBPA)总含量升高最显著,此外,17 种脂质亚类也显著升高,1 种脂质亚类显著降低。**结论** 内质网应激对 BAT 脂质组学整体有明显影响,其差异脂质代谢物有望为代谢性疾病的诊断与治疗提供潜在的靶点。

【关键词】 棕色脂肪组织;内质网应激;脂质组学

基金项目:国家自然科学基金资助项目(82070877);中国医学科学院创新工程重大协同创新项目(2021-I2M-1-005);深圳市福田区卫生健康系统科研项目(FTWS2022057)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20230724-07033

Lipidomics study on ER stress-induced abnormal metabolism of brown adipose tissue in mice Zhou Wei¹, He Ping², Ma Peng³, Du Guanhua³, Qiang Guifen³. ¹Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022, China; ²The Eighth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Shenzhen 518033; ³Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College and Beijing Key Laboratory of Drug Target and Screening Research, Beijing 100050, China
Corresponding author: Qiang Guifen, Email:qianggf@imm.ac.cn

【Abstract】 Objective To quantify the metabolic profile of BAT upon induction of endoplasmic reticulum (ER) stress. **Methods** Male C57BL/6 mice were intraperitoneally injected with tunicamycin solution (2.5 mg/kg) for 18 h and BAT from the interscapular region was quickly excised. Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) analysis was performed using an UPLC coupled with Sciex QTRAP 6500 Plus. **Results** The lipid composition of BAT changed significantly following ER stress induction, with a notable increase in the total contents of lyso-bisphosphatidic acids (LBPA). Furthermore, 17 lipid species were significantly increased, and one was markedly decreased. **Conclusion** ER stress significantly alters the BAT lipidome, and its differential lipid metabolites are expected to provide potential lipid targets for the diagnosis and treatment of metabolic diseases.

【Keywords】 Brown adipose tissue; ER Stress; Lipidomics

Fund program: National Natural Science Foundation of China (NSFC 82070877); CAMS Innovation Fund for Medical Sciences (CIFMS) (2021-I2M-1-005); Futian Healthcare Research Project (FTWS2022057)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20230724-07033

近年来,肥胖问题已经成为全球性的健康挑战。肥胖不仅会引发心血管疾病、糖尿病、脂肪肝等疾病,还会导致各种恶性肿瘤的发生。据世界卫

生组织估计,到 2030 年 57.8% 的全球人口将受到肥胖影响^[1]。棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)能够在寒冷环境下消耗大量的脂肪和葡萄糖,

并将其转化为热能。因此, BAT 在体内能够调节能量代谢和体温平衡。近年来的研究表明, BAT 的活性与肥胖、糖尿病等代谢疾病的风险呈负相关^[2]。因此, 研究 BAT 的代谢和调控机制对预防和治疗肥胖和相关代谢疾病具有重要意义。

内质网应激是一种重要的细胞应激反应, 通常由细胞中的蛋白质折叠异常或脂质代谢紊乱引起^[1]。内质网应激通路被激活后, 会导致脂肪细胞中的脂肪酸合成、转运和氧化代谢异常, 从而导致脂肪细胞增大、脂肪积累和胰岛素抵抗等病理变化。内质网应激还可以影响脂质代谢, 进一步抑制 BAT 的代谢活性, 从而促进肥胖的发生^[4]。脂质组学是一种利用质谱技术分析细胞、组织和生物体内脂质代谢变化的方法, 可以揭示出脂质代谢异常与肥胖、糖尿病等代谢性疾病之间的关系, 同时也可以研究 BAT 功能及其调控机制^[5]。因此, 脂质组学在肥胖、BAT 和内质网应激的研究中具有重要的应用价值。

前期研究阐述了内质网应激导致 BAT 功能障碍的调控因子^[6], 在此基础上, 本研究采用高覆盖率靶向脂质组学方法探究了内质网应激发生时 BAT 中的脂质组变化, 以期对肥胖及其并发症提供潜在的诊断与治疗的脂质靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠, 体重 22~24 g, 购买于北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证编号 SCXK(京)2016-0006], 动物福利和实验过程均遵循中国医学科学院动物伦理委员会的规定。

1.2 动物分组与给药 适应性喂养 3 d 后, 将小鼠随机分为两组, 每组 6 只, 参考前期研究建立的方法^[6], 将 TUNI 先溶解于少量 DMSO 中, 再稀释于含 100 mmol/L 葡萄糖的磷酸盐缓冲溶液 PBS 溶液中, 按 2.5 mg/kg 剂量腹腔注射 TUNI 处理组小鼠, 同时空白对照组小鼠腹腔注射空白溶剂。18 h 后, 腹腔注射 0.45% 戊巴比妥钠 (45 mg/kg) 麻醉小鼠, 于肩胛区取出 BAT, 液氮冻存。

1.3 脂质提取 精确称取 50 mg BAT, 用 900 μ l 预冷的氯仿-甲醇 (1:2) 混合液灭活。后续提取方法参照前期研究方法^[7]。

1.4 脂质组学分析 依据前期研究方法测定极性脂质: 磷脂酰肌醇 (PI)、卵磷脂 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰丝氨酸 (PS)、磷脂酸 (PA)、磷脂酰甘油 (PG)、溶血磷脂酰胆碱 (LPC)、溶血磷脂酰丝氨酸 (LPS)、心磷脂 (CL)、溶血磷脂二酸 (LBPA)、鞘磷脂 (SM)、神经酰胺 (Cer)、葡萄糖酰鞘氨醇 (GluCer)、半乳糖神经酰胺 (GalCer)、游离脂肪酸 (FFA) 和中性脂质: 甘油三酯 (TAG)、胆固醇酯 (CE)、胆固醇、甘油二酯 (DAG)^[7]。

1.5 脂肪分解分析 培养原代棕色脂肪细胞并进行诱导分化, 采用 DMSO 或 TUNI 处理 24 h, 然后用 KRBH 缓冲液 (120 mM NaCl, 25 mM HEPES, 4.6 mM KCl, 1 mM MgSO₄, 1.2 mM KH₂PO₄ 和 1.9 mM CaCl₂, pH 7.4) 饥饿处理 1 h, 然后采用 1 μ M 异丙肾上腺素刺激 2 h, 收取上清液并采用 AdipoLyze 脂肪分解检测试剂盒 (Lonza) 检测细胞外甘油含量。

1.6 统计学分析 本研究所有数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示。使用 Prism 软件 (GraphPad software Inc.) 进行数据处理。两组间比较采用双尾 *t* 检验进行统计学分析。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学差异。

2 结果

2.1 内质网应激诱导 BAT 代谢紊乱 结果显示, 内质网应激标志物 Bip 与 Chop 的 mRNA 表达水平显著升高 (图 1B), 表明内质网应激小鼠模型造模成功。继而探究内质网应激对 BAT 代谢的影响, 结果显示, 内质网应激抑制脂肪分解 (图 1C), 抑制关键脂解酶以及产热相关基因 mRNA 表达水平 (图 1D)。上述结果表明内质网应激诱导 BAT 代谢紊乱。

2.2 内质网应激对 BAT 脂质组成的影响 本研究采用靶向脂质组学对 19 大类, 342 亚类脂质含量进行检测。主成分分析 (principal component analysis, PCA) 显示内质网应激使 BAT 脂质组成出现明显变化 (图 2A), 引起 17 种脂质亚类含量显著升高, 包括 9 种甘油酯、2 种 CE、6 种磷脂, 同时引起 1 种 PI 含量显著降低 (图 2B)。

2.3 内质网应激升高 BAT 中甘油酯含量 脂质组学分析显示, 内质网应激能够升高 BAT 中 TAG 含量 (图 3A), 同时显著升高 TAG 亚类 48:0 (16:0)、50:1 (18:0)、50:1 (18:1)、52:2 (18:1) 及

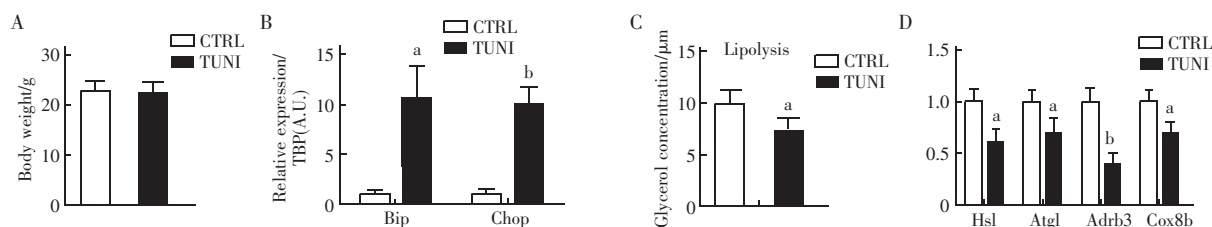
52:1(18:1)含量(图 3B)。DAG 的含量也显示出升高趋势(图 3A),且 DAG 亚类 40:6(18:0/22:6)含量显著上升(图 3C)。此外,内质网应激也增加了 BAT 中 FFA 含量(图 3A),其中 FFA 亚类 22:5、20:5、18:3 最为显著地升高(图 3D)。

2.4 内质网应激轻度升高 BAT 中甾醇类脂质含量

内质网应激仅轻度升高 BAT 中胆固醇含量,同时轻度增加 CE 含量(图 4A),进一步研究发现,14:0 与 18:0 是最为显著上升的 CE 亚类(图 4B)。

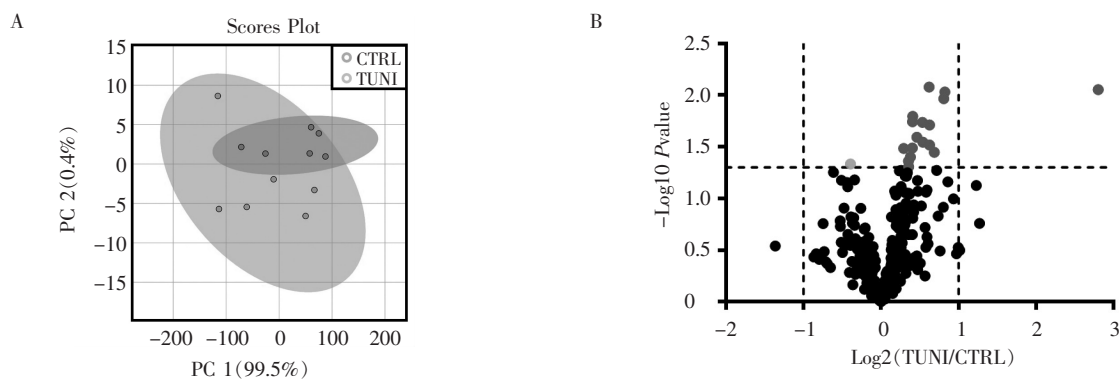
2.5 内质网应激显著增加 BAT 中 LBPA 含量 本研究分析了内质网应激对于 BAT 中 10 种磷脂含量的影响,并发现 LBPA 出现显著增加(图 5A),同时 CL 与 LPS 也出现升高趋势。分析磷脂亚类含量变化发现,6 种磷脂亚类含量显著升高,包括 LBPA36:1、36:2、36:3、36:4、CL72:6(16:1)、PC38:4,而 PI36:4 含量则显著降低(图 5B)。

2.6 内质网应激降低 BAT 鞘脂含量 内质网应激降低 BAT 中 Cer、GluCer 以及 GalCer 含量(图 6A),



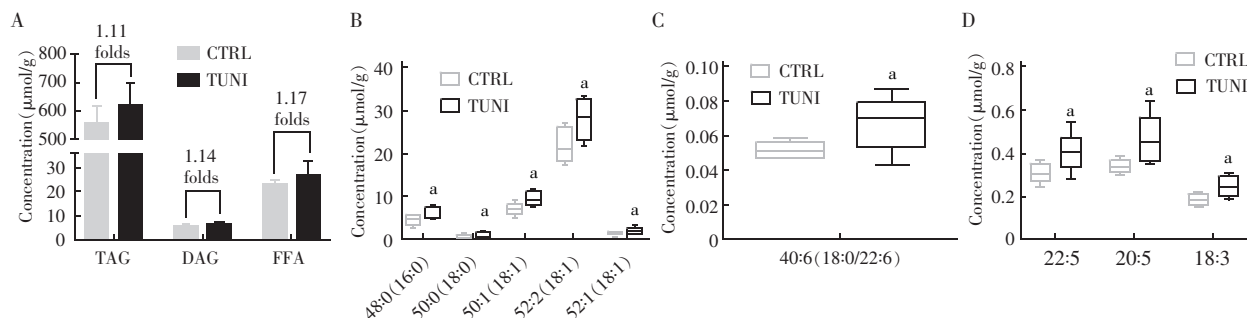
注:A:体重;B:内质网应激标志物 mRNA 表达变化;C:脂肪分解变化;D:关键脂酶与产热基因 mRNA 表达变化;a 表示 $P < 0.05$;b 表示 $P < 0.01$,数值以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, $n=6$

图 1 内质网应激诱导棕色脂肪组织代谢紊乱



注:PC:卵磷脂;A:主成分分析方法探究 CTRL 组与 TUNI 组整体脂质组成变化;B:火山图分析棕色脂肪组织中 342 个脂类亚类的变化;水平虚线: P 值为 0.05;垂直虚线:倍数变化为 0.5 或 2.0 倍;深灰色部分:含量显著增加的亚类;浅灰色部分:含量显著降低的亚类;CTRL:对照组;TUNI:衣霉素注射组

图 2 内质网应激诱导棕色脂肪组织脂质组成显著变化



注:TAG:甘油三酯;DAG:甘油二酯;FFA:游离脂肪酸;A:TAG、DAG、FFA 总含量变化;B:甘油三酯中显著变化亚类;C:甘油二酯中显著变化亚类;D:游离脂肪酸中显著变化亚类;CTRL:对照组;TUNI:衣霉素注射组;a: $P < 0.05$,数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $n=6$

图 3 内质网应激升高棕色脂肪组织中甘油酯含量

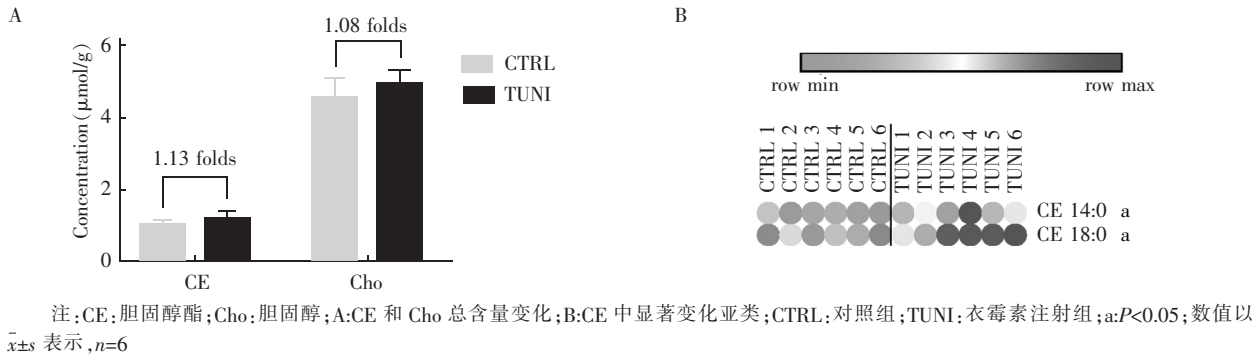


图 4 内质网应激诱导棕色脂肪组织中甾醇类脂质含量轻度升高

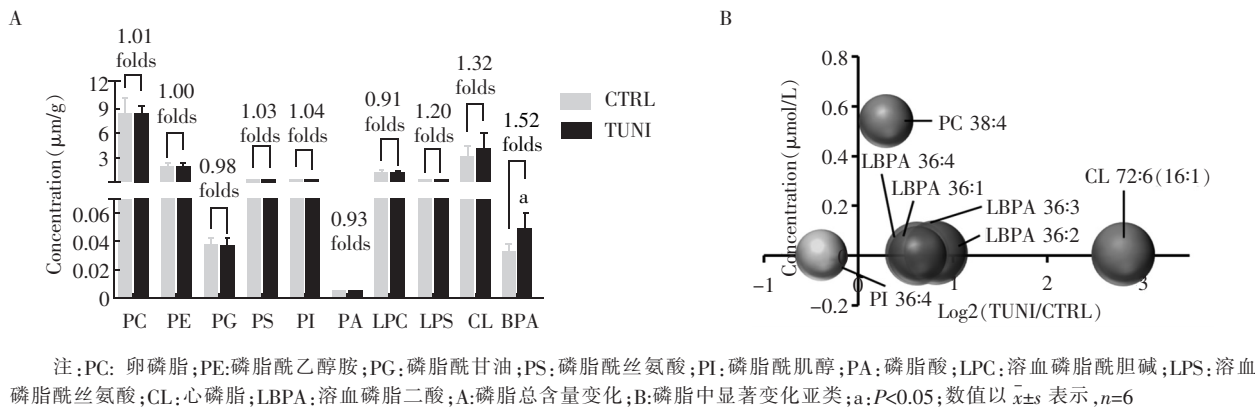


图 5 内质网应激导致棕色脂肪组织中溶血磷脂二酸含量显著升高

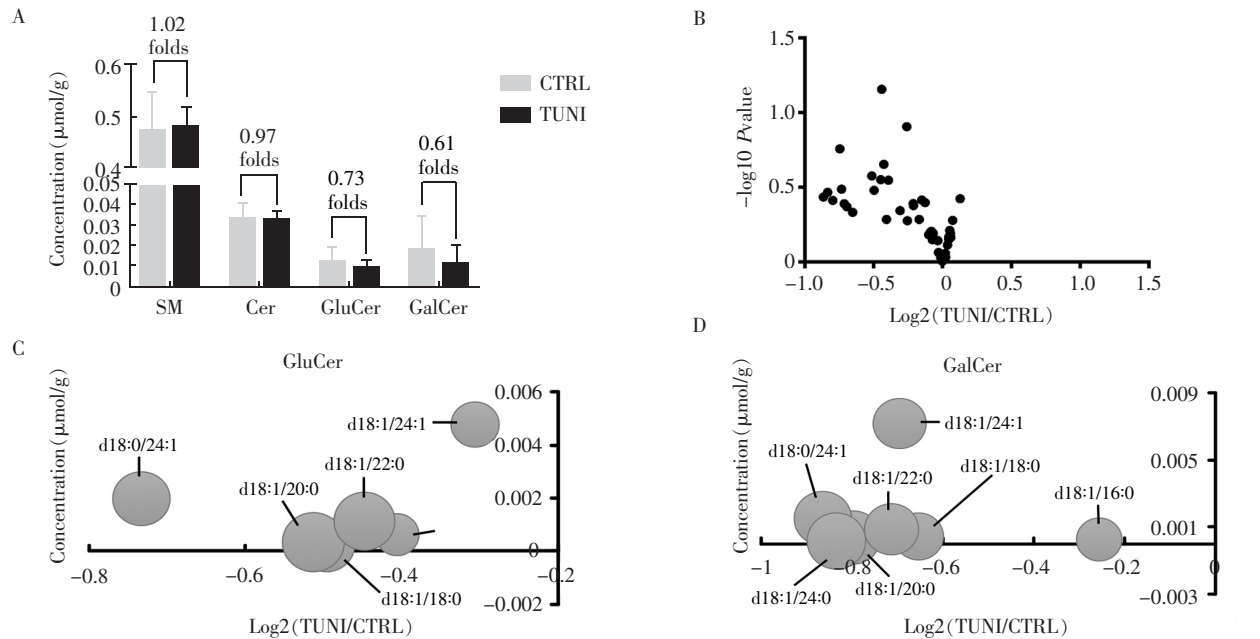


图 6 内质网应激降低棕色脂肪组织中鞘脂含量

且所有检测的 46 中鞘脂亚类中, 35 种含量呈降低趋势(图 6B), 其中检测的全部 6 种 GluCer 亚类(图 6C)与 7 种 GalCer(图 6D)均降低。

3 讨论

BAT 是重要的代谢器官, 其功能异常与肥胖症等代谢性疾病密切相关。内质网应激已被证明能够引起 BAT 功能失调, 但其作用机制尚未完全明确。脂质代谢稳态对于脂肪细胞结构与功能完整

性具有重要意义。本研究采用脂质组学方法分析发现内质网应激能够引起 BAT 中 18 种脂质亚类含量出现显著变化,其中 LBPA 是含量变化最为显著的一类脂质。

TAG 是主要的能量贮存分子,研究显示 TAG 的致病性与其所含酰基链的长度及饱和程度相关,低碳原子数与双键含量的 TAG 亚类会增加糖尿病风险,而高碳原子数及双键含量的 TAG 亚类能够降低糖尿病风险^[8]。在本研究中,内质网应激导致 5 种低碳原子数低双键数的 TAG 亚类 48:0(16:0)、50:1(18:0)、50:1(18:1)、52:2(18:1)及 52:1(18:1)含量显著升高,从而可能导致 BAT 中 TAG 的致病性增加。此外,DAG 的过量积累也被发现与肥胖、胰岛素抵抗以及心功能受损密切相关^[9-12]。因此,本研究中 DAG40:6(18:0/22:6)含量升高可能与 BAT 功能异常相关。本研究还发现内质网应激会显著升高 3 种不饱和 FFA22:5、20:5 及 18:3 含量。既往研究发现超重/肥胖糖尿病患者血清上述 FFA 水平显著升高^[13]。此外,FFA18:3 能够促进肥胖及多囊卵巢综合征患者代谢综合征的发生发展^[13,14],并增加胃癌和前列腺癌病变进展风险^[15-16]。因此,3 种 FFA 在 BAT 中含量升高可能会增加机体代谢紊乱发生风险。

LBPA 高度定位于晚期的核内体与溶酶体,能够促进胆固醇再分配以及糖脂转运和降解,并在胞内通路、膜曲率改变、蛋白辅因子募集和胞内体转运中发挥关键作用^[19]。临床上,LBPA 含量升高或酰基链的改变与多种病理状态相关。研究显示,酒精性和非酒精性肝硬化患者血清中 LBPA 含量升高,36:2 亚型在酒精性肝硬化中显著增加,36:3、36:4 亚型在酒精性和非酒精性肝硬化中均显著升高^[20],提示 LBPA 可能是终末期肝病的诊断标志物。此外,LBPA 含量在高脂饮食诱导代谢性疾病小鼠的肾脏、肝脏和血浆中均显著增加^[20-22]。本研究中,内质网应激导致 BAT 中 LBPA 总含量及 36:1、36:2、36:3、36:4 亚型含量显著升高,提示 LBPA 有望成为内质网应激引起代谢异常的脂质生物标志物。另外,本研究发现内质网应激显著增加 BAT 中 PC 38:4、CL72:6(16:1)含量,同时显著降低 PI 36:4 含量,与既往研究一致,高脂饮食诱导肥胖小鼠的血清 PC 38:4 含量显著升高,PI 36:4 含量显著降低,同时 PC 38:4 含量的增

加会升高肥胖小鼠空腹血糖水平^[23]。上述结果提示 PC 38:4 可能是代谢紊乱的重要诊断标志物。

糖鞘脂是生物膜双分子层中关键的结构性脂质,并参与多种生物过程、信号通路和细胞死亡的调控。本研究发现内质网应激降低 GluCer 与 GalCer 总含量及所有亚类含量。既往研究对 GluCer 的作用存在争议,有研究发现抑制其合成能够改善血糖控制,增加胰岛素敏感性^[24-25]。另有报道称增加 GluCer 合成能够改善脂毒性胰岛 β 细胞凋亡、内质网应激和蛋白质转运缺陷^[26]。而 GalCer 则被报道能够触发胰岛 β 细胞分泌炎症因子,导致动脉粥样硬化的发生发展^[27]。鉴于糖鞘脂在疾病进程中作用的复杂性和不确定性,需要进行更多研究以确定内质网应激诱导的 BAT 中糖鞘脂降低的生理含义。

本研究采用靶向脂质组学方法鉴定出多种与内质网应激具有显著相关性的 BAT 差异脂质代谢物,为内质网应激和 BAT 代谢紊乱的基础研究提供了新思路,并可能为代谢性疾病的诊断与治疗提供潜在的脂质靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Chooi YC, Ding C, Magkos F. The epidemiology of obesity [J]. *Metabolism*, 2019, 92: 6-10. DOI: 10.1016/j.metabol.2018.09.005.
- [2] Cheng L, Wang J, Dai H, et al. Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus [J]. *Adipocyte*, 2021, 10(1): 48-65. DOI: 10.1080/21623945.2020.1870060.
- [3] Ajoolabady A, Liu S, Klionsky DJ, et al. ER stress in obesity pathogenesis and management [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(2): 97 - 109. DOI: 10.1016/j.tips.2021.11.011.
- [4] Zha BS, Zhou H. ER stress and lipid metabolism in adipocytes [J]. *Biochem Res Int*, 2012, 2012: 312943. DOI: 10.1155/2012/312943.
- [5] Wang R, Li B, Lam SM, et al. Integration of lipidomics and metabolomics for in-depth understanding of cellular mechanism and disease progression [J]. *J Genet Genomics*, 2020, 47(2): 69-83. DOI: 10.1016/j.jgg.2019.11.009.
- [6] Qiang G, Whang Kong H, Gil V, et al. Transcription regulator TRIP-Br2 mediates ER stress-induced brown adipocytes dysfunction [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40215. DOI: 10.1038/srep40215.
- [7] He P, Hou B, Li Y, et al. Lipid profiling reveals browning heterogeneity of white adipose tissue by B3-Adrenergic stimulation [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(9): 444. DOI: 10.3390/biom9090444.
- [8] Rhee EP, Cheng S, Larson MG, et al. Lipid profiling identifies a triacylglycerol signature of insulin resistance and improves diabetes prediction in humans [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(4): 1402-

1411. DOI:10.1172/JCI44442.
- [9] Szendroedi J, Yoshimura T, Phielix E, et al. Role of diacylglycerol activation of PKC θ in lipid-induced muscle insulin resistance in humans[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(26):9597-9602. DOI:10.1073/pnas.1409229111.
- [10] Liu L, Trent CM, Fang X, et al. Cardiomyocyte-specific loss of diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) reproduces the abnormalities in lipids found in severe heart failure[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(43):29881-29891. DOI:10.1074/jbc.M114.601864.
- [11] Akoumi A, Haffar T, Moustert M, et al. Palmitate mediated diacylglycerol accumulation causes endoplasmic reticulum stress, Plin2 degradation, and cell death in H9C2 cardiomyoblasts[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 354(2):85-94. DOI:10.1016/j.yexcr.2017.03.032.
- [12] Jayasinghe SU, Tankeu AT, Amati F. Reassessing the role of diacylglycerols in insulin resistance[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2019, 30(9):618-635. DOI:10.1016/j.tem.2019.06.005.
- [13] Ni Y, Zhao L, Yu H, et al. Circulating unsaturated fatty acids delineate the metabolic status of obese individuals[J]. *EbioMedicine*, 2015, 2(10):1513-1522. DOI:10.1016/j.ebiom.2015.09.004.
- [14] Zhao X, Feng X, Zhao X, et al. How to screen and prevent metabolic syndrome in Patients of PCOS early: implications from metabolomics[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12:659268. DOI:10.3389/fendo.2021.659268.
- [15] Liu ZC, Wu WH, Huang S, et al. Plasma lipids signify the progression of precancerous gastric lesions to gastric cancer: a prospective targeted lipidomics study[J]. *Theranostics*, 2022, 12(10):4671-4683. DOI:10.7150/thno.74770.
- [16] Zhou X, Mei H, Agee J, et al. Racial differences in distribution of fatty acids in prostate cancer and benign prostatic tissues[J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1):189. DOI:10.1186/s12944-019-1130-4.
- [17] Lu J, Lam SM, Wan Q, et al. High-Coverage targeted lipidomics reveals novel serum lipid predictors and lipid pathway dysregulation antecedent to type 2 diabetes onset in normoglycemic Chinese adults[J]. *Diabetes Care*, 2019, 42(11):2117-2126. DOI:10.2337/dc19-0100.
- [18] Zhou X, Mao J, Peng W, et al. The association of prostatic lipids with progression, racial disparity and discovery of biomarkers in prostate cancer[J]. *Transl Oncol*, 2021, 14(12):101218. DOI:10.1016/j.tranon.2021.101218.
- [19] Showalter MR, Berg AL, Nagourney A, et al. The emerging and diverse roles of bis(monoacylglycerol) phosphate lipids in cellular physiology and disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21):8067. DOI:10.3390/ijms21218067.
- [20] Grabner GF, Fawzy N, Pribasniq MA, et al. Metabolic disease and ABHD6 alter the circulating bis(monoacylglycerol) phosphate profile in mice and humans[J]. *J Lipid Res*, 2019, 60(5):1020-1031. DOI:10.1194/jlr.M093351.
- [21] Rampanelli E, Ochodnick P, Vissers JP, et al. Excessive dietary lipid intake provokes an acquired form of lysosomal lipid storage disease in the kidney[J]. *J Pathol*, 2018, 246(4):470-484. DOI:10.1002/path.5150.
- [22] d'Avignon DA, Puchalska P, Ercal B, et al. Hepatic ketogenic insufficiency reprograms hepatic glycogen metabolism and the lipidome[J]. *JCI Insight*, 2018, 3(12):e99762. DOI:10.1172/jci.insight.99762.
- [23] Eisinger K, Liebisch G, Schmitz G, et al. Lipidomic analysis of serum from high fat diet induced obese mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(2):2991-3002. DOI:10.3390/ijms15022991.
- [24] Aerts JM, Ottenhoff R, Powlson AS, et al. Pharmacological inhibition of glucosylceramide synthase enhances insulin sensitivity[J]. *Diabetes*, 2007, 56(5):1341-1349. DOI:10.2337/db06-1619.
- [25] Zhao H, Przybylska M, Wu IH, et al. Inhibiting glycosphingolipid synthesis improves glycemic control and insulin sensitivity in animal models of type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2007, 56(5):1210-1218. DOI:10.2337/db06-0719.
- [26] Boslem E, MacIntosh G, Preston AM, et al. A lipidomic screen of palmitate-treated MIN6 β -cells links sphingolipid metabolites with endoplasmic reticulum (ER) stress and impaired protein trafficking[J]. *Biochem J*, 2011, 435(1):267-276. DOI:10.1042/BJ20101867.
- [27] Yang L, Li M, Shan Y, et al. Recent advances in lipidomics for disease research[J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(1):38-50. DOI:10.1002/jssc.201500899.

(收稿日期:2023-07-24)

(上接第 395 页)

- [13] Jimenez C, Erwin W, Chasen B. Targeted radionuclide therapy for patients with metastatic pheochromocytoma and paraganglioma: from low-specific-activity to high-specific-activity iodine-131 metaiodobenzylguanidine[J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(7):1018. DOI:10.3390/cancers11071018.
- [14] Plouin PF, Amar L, Dekkers OM, et al. European society of endocrinology clinical practice guideline for long-term follow-up of patients operated on for a pheochromocytoma or a paraganglioma[J]. *Eur J Endocrinol*, 2016, 174(5):G1-G10. DOI:10.1530/EJE-16-0033.
- [15] Varikuti S, Singh B, Volpedo G, et al. Ibrutinib treatment inhibits breast cancer progression and metastasis by inducing conversion of myeloid-derived suppressor cells to dendritic cells[J]. *Br J Cancer*, 2020, 122(7):1005-1013. DOI:10.1038/s41416-020-0743-8.
- [16] Mak IYF, Hayes AR, Khoo B, et al. Peptide receptor radionuclide therapy as a novel treatment for metastatic and invasive pheochromocytoma and paraganglioma[J]. *Neuroendocrinology*, 2019, 109(4):287-298. DOI:10.1159/000499497.
- [17] Nölting S, Grossman A, Pacak K. Metastatic pheochromocytoma: spinning towards more promising treatment options[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2019, 127(2-03):117-128. DOI:10.1055/a-0715-1888.
- [18] Jaiswal SK, Sarathi V, Memon SS, et al. ¹⁷⁷Lu-DOTATATE therapy in metastatic/inoperable pheochromocytoma-paraganglioma[J]. *Endocr Connect*, 2020, 9(9):864-873. DOI:10.1530/EC-20-0292.
- [19] Jha A, Taïeb D, Carrasquillo JA, et al. High-specific-activity-¹³¹I-MIBG versus ¹⁷⁷Lu-DOTATATE targeted radionuclide therapy for metastatic pheochromocytoma and paraganglioma[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(11):2989-2995. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-20-3703.

(收稿日期:2022-10-29)