尿液代谢组学筛选膀胱癌代谢标志物研究进展

吴刚峰[1],任　煜[1]综述,林标扬[2],阎家骏[1]审校
(1.绍兴市人民医院,浙江大学绍兴医院,浙江 绍兴 312000;
2.浙江大学加州国际纳米研究院,浙江 杭州 310000)

摘　要:膀胱癌是泌尿生殖系统常见的恶性肿瘤之一,其具有高进展率、高发病率和死亡率以及高复发率特征。目前,针对膀胱癌早期诊断和预后监督缺乏有效的生物标志物。代谢组学作为系统生物学重要分支之一,尿液代谢组学在膀胱癌生物标志物筛选和鉴定等方面具有显著的优势。已有大量文献研究报道了尿液代谢组学在膀胱癌中应用,并在尿液中筛选发现20多种膀胱癌代谢标志物。全文根据目前尿液代谢组学在膀胱癌中的研究进展,对尿液代谢组学以及发现的膀胱癌代谢标志物嘌呤与嘧啶、色氨酸、马尿酸、肉毒碱类和牛磺酸等进行综述。

主题词:膀胱肿瘤;尿液代谢组学;代谢标志物
中图分类号:R737.14　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-170X(2018)10-1014-05
doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2018.10.B015

The Progress of Bladder Cancer Metabolic Markers Discovery Using Urinary Metabonomics

WU Gang-feng[1],REN Yu[1],LIN Biao-yang[2],YAN Jia-jun[1]
(1.*Shaoxing People's Hospital of Zhejiang Province,Zhejiang University Shaoxing Hospital,Shaoxing* 312000,*China*; 2.*Zhejiang-California International Nano Systems Institute,Hangzhou* 310000,*China*)

Abstract:Bladder cancer(BC) is one of the most common malignant cancers of genitourinary system worldwide,with high progression,recurrence,morbidity and mortality rates. However,there is no effective biomarkers for early diagnosis and prognosis monitoring of bladder cancer at present. Metabonomics,as one of the important branches of systems biology,has significant advantages over the screening and identification of bladder cancer biomarkers. In recent years,a large number of studies have reported the application of urine metabonomics in the research of bladder cancer,and more than 20 metabolic markers of have been confirmed in the urine. The current progress of urine metabonomics and bladder cancer metabolic markers,including purine and pyrimidine metabolism,tryptophan metabolism,hippuric acid,carnitine species,taurine and so on were reviewed in this paper.

Subject words:bladder cancer;urine metabonomics;metabolic markers

膀胱癌是最常见的泌尿生殖系统恶性肿瘤,在男性恶性肿瘤中居第7位[1],且男性发病率是女性4倍以上[2]。膀胱癌超过75%为非肌层浸润性膀胱癌(non muscle-invasive bladder cancer,NMIBC),其复发率高达70%,且1/3非肌层浸润性膀胱癌复发可发展成高级别或后期膀胱癌[3]。非肌层浸润性膀胱癌若能得到早期治疗,5年生存率高达90%[4]。因此,早期诊断和终身监测是提高膀胱癌患者生存率的重要手段。目前没有高敏感性和特异性的、可以检测早期膀胱癌、且快速经济和便于复查随访的无创肿瘤生物标志物。因此,筛选具有上述特征的膀胱癌生物标志物成为当前研究热点。近年来,代谢组学作为基因组、转录组和蛋白质组的延伸,在筛选膀胱癌代谢标志物方面已经取得了重要进展。尿液,作为与膀胱癌组织最紧密接触的体液,且取样方便无创和富含代谢物,成为利用代谢组学技术开发膀胱癌代谢标志物的理想来源。现对尿液代谢组学技术筛选

基金项目:绍兴市公益性技术应用研究计划(2014B70080)
通讯作者:吴刚峰,副主任医师,学士;绍兴市人民医院泌尿外科,浙江省绍兴市中兴北路568号(312000);E-mail:13357535996@189.com
收稿日期:2017-06-02;**修回日期**:2017-10-18

膀胱癌代谢标志物的研究现状进行综述。

1 尿液代谢组学

代谢组学(metabolomics)作为继基因组学、转录组学和蛋白质组学后一个新的系统生物学分支,同时作为定量检测生物体由病理或生理等变化产生的动态代谢物质的一种技术手段[5],其研究对象主要是分子量低于2000D的内源性小分子有机代谢产物[6]。生物体代谢物是全基因组或蛋白质组作用产生的终末端产物,因而代谢组能够非常灵敏的反映生物体的最终状况。基于此,代谢组学在研究环境和基因的相互作用[7]、疾病生物标志物鉴定[8,9]和药物发现[10]等方面具有显著的优势。目前,人类代谢组学主要研究不同体液的代谢组,包括脑脊液代谢组、唾液代谢组、血清代谢组和尿液代谢组等。在开发膀胱癌代谢生物标志物时,尿液与膀胱组织由于位置上的临近,另外相对于其他体液,尿液容易收集,富含代谢物并能够反映体内膀胱组织的生化通路的调控状态,因此,尿液代谢组学成为研究膀胱癌代谢生物标志物的重要代谢组学手段。

目前,尿液代谢组学作为一种发现新的无创生物标志物的重要技术手段,针对特殊疾病或干预治疗可以检测细微的代谢差异。尿液代谢组学研究一般流程包括尿液样品收集与储存、样品处理与鉴定、数据分析等。

1.1 样品收集与储存

尿液样本的收集与预处理是尿液代谢组学研究的关键起始步骤。尿液收集及储存条件直接关系到代谢物的完整性[11]。由于尿液收集方便且无创,可根据不同研究目的采集尿样,包括随机尿、晨尿、定时尿和全天尿。其中随机尿具有采集便利的优势,但是代谢成分可能由于饮食、昼夜变化和生活习性不同而有所差异[12];全天尿则可以最小化这些差异。至于尿液储存,有报道指出尿液代谢物在-20℃或-80℃下可稳定保存6个月[13]。一般情况,尿液收集后应立即置于-80℃储存。

1.2 样品处理与鉴定

在代谢组学研究中,根据研究对象、目的和技术平台不同,对样品的预处理与代谢物的提取方法有所差异[14]。如采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS),尿液需要经过脲酶预处理去除尿素对色谱的干扰,并使用有机溶剂(如甲醇)提取代谢物,且常常需要进行衍生化增加代谢物的挥发性[15];采用核磁共振谱(NMR)技术时,通常使用高浓度缓冲液(如100mM磷酸钠缓冲液,pH7.4)稀释尿液,降低尿液pH和盐度对代谢物的影响[16];相较于GC-MS,气相色谱-质谱联用(LC-MS)样品前处理简单,尿液样品通常采用梯度洗脱方式处理[17]。目前,由于技术手段有限,缺乏一种能够提取所有代谢物的方法,因而根据不同的代谢物特性需要选择不同的提取方法。

尿液代谢组学常用的分析技术有NMR、GC-MS、LC-MS等。NMR是目前研究代谢组学的主要技术,其主要优势在于能够提供代谢物完整的结构信息,对样品实现无创、无偏向性以及高重复性检测,样品预处理简单。相较于质谱,NMR检测灵敏度相对较低[18]。GC-MS主要优点包括检测重现性好、可进行定性分析,目前该技术领域推出的GC×GC/TOFMS可显著增强代谢物检测覆盖度,并可实现高分辨数据采集。但是,GC-MS通常只能对挥发性物质进行分析,且样品需要衍生化处理,过程较为繁琐。LC-MS由于检测灵敏度高和检测动态范围宽以及预处理简单,逐渐成为代谢组学研究的重要技术手段[19]。由于内源性代谢产物的复杂性,目前尚无一种可以检测全部代谢物的技术,现有的技术平台各有优势和应用范围,实际操作以联用技术和多种方法综合分析最佳[14]。

1.3 数据分析

代谢组学得到的高通量、多维的数据信息,需要运用生物信息学进行深度挖掘。在代谢组学应用中,数据分析主要包括:预处理、模式识别、模型验证和变量筛选等步骤。对数据进行标准化和归一化等处理前,NMR输出的元数据,需要进行滤噪、基线校正、重叠峰解析、化学位移分级等预处理;GC-MS和LC-MS输出的元数据需进行保留时间匹配处理。目前质谱数据预处理的软件包括MZmine、metAlign、XCMS、MathDAMP和MSFACT等。元数据预处理后需进一步运用化学计量学方法进行分析,主要手段是模式识别技术,包括有监督学习方法和非监督学习方法。有监督学习方法通过构建一个预测模型筛选潜在代谢标志物,主要包括偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-

DA)等[20]。非监督学习方法主要采用建立代谢物与样本的原始信息的关系，筛选与原始信息相关的代谢标志物，主要有主成分分析(PCA)、聚类分析等。其中，PCA 和 PLS-DA 是代谢组学发现代谢标志物最常用的模式识别方法。代谢组学分析除了多变量数据统计分析，还需结合各类代谢数据库和生化数据库，以提供未知代谢物结构鉴定或用于已知代谢物的生物功能解释，从而对其代谢途径进行分析。

2 潜在膀胱癌代谢标志物

代谢组学在肿瘤研究中的应用主要涉及肿瘤标志物的发现、肿瘤诊断、治疗及预后相关的监测[21,22]。目前，已有大量文献研究报道了代谢组学在泌尿系统肿瘤中应用，如膀胱癌、前列腺癌和肾细胞癌。在研究膀胱癌时，尿液是很好的代谢组学分析样本，且尿液中代谢物的变化或波动对膀胱癌的诊断、药物靶点的发现及预后监测等都有重要意义。目前，在尿液中发现常见的膀胱癌代谢标志物已有 20 多种(Table 1)。下文就几种具有潜在应用价值的膀胱癌尿液代谢标志物作一详述。

Table 1 The potential of common bladder cancer metabolic markers in human urine

Metabolites	Up or down-regulation	Reference
Uridine	↑	[23,24]
Uracil	↑	[23,25]
Tryptophan	↑	[24~26]
Hippuric acid	↓	[25,27~29]
Carnitine C9:1	↓	[28,29]
Carnitine	↑	[25,30]
Taurine	↑	[25,27,29,31]
Citrate	↓	[23,24,27,32]
Lactate	↑	[24,31,32]
Phenylalanine	↑	[25,26,31,32]
Valine	↑	[23,25]
Tyrosine	↑	[25,26,31,32]
Isoleucine/leucine	↑	[25,26,32]
Creatine	↑	[25,32]
2-butenedioic acid	↓	[23,24]
Alanine	↓	[25,31]
Glycerol	↓	[23,24]
Melibiose	↑	[23,24]
Ribitol	↓	[23,24]
Gluconic acid	↓	[23,24]
Phenylacetylglutamine	↓	[28,29]
Histidine	↑	[25,26,33]
Hypoxanthine	↑	[25,26]

Note: ↑: up-regulation; ↓: down-regulation

2.1 嘌呤和嘧啶

有研究发现，膀胱癌患者尿液中嘌呤和嘧啶代谢水平波动较大，Putluri 等[25]证实鸟嘌呤、次黄嘌呤、单磷酸胞苷、胸腺嘧啶、尿嘧啶、尿苷和假尿苷在尿液中代谢水平上调。此外，核苷，特别是修饰过的核苷(如假尿苷)在乳腺癌、甲状腺癌和结直肠癌患者尿液中含量显著升高，暗示其可作为新的潜在代谢标志物。学者一致认为，核苷水平升高是由肿瘤细胞在细胞周期活动中 DNA 合成增加导致的[34]，且由于修饰过的核苷不能参与核苷体内循环，因而被细胞释放至尿液中[35]。Wittmann 等[36]采用 LC-MS/MS 和 GC-MS 对 66 例膀胱癌患者和 266 例健康人尿液进行代谢组学分析，发现腺苷、棕榈酰鞘磷脂、乳酸、葡糖酸、胍基乙酸和 2-甲基丁酰甘氨酸 6 个代谢生物标志物可作为鉴定膀胱癌和健康人的代谢标志物，其 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.81。此外，次黄嘌呤也是最大的潜在膀胱癌标志物，Putluri 和 Alberice 均证实膀胱癌患者尿液中次黄嘌呤水平显著高于正常人[25,26]。

2.2 色氨酸

在膀胱癌患者尿液中色氨酸代谢水平上调已得到大量文献证实，并伴随着邻氨基苯甲酸、N-乙酰邻氨基苯甲酸、犬尿氨酸、3-羟基犬尿氨酸和丙二酸含量升高。在膀胱癌中色氨酸上调的功能，Chung 等[37]做了深入的详述，色氨酸在肿瘤形成过程中发挥着重要作用，其主要机制是通过自氧化和与亚硝酸盐相互作用，或使金属形成反应中间体作为配体结合到芳香烃受体(AHR)促进肿瘤的形成。Opitz 等[38]发现在脑瘤和神经胶质瘤中，色氨酸-2,3-双加氧酶(TDO)生成犬尿氨酸抑制抗肿瘤免疫应答，并通过 AHR 提高肿瘤细胞生存，因而，TDO 可作为癌症治疗潜在靶标。Alberice 等[26]采用 LC-MS 对 48 例不同分期及分级的膀胱癌患者尿液代谢物进行分析，发现 N-乙酰色氨酸在早期低风险膀胱癌患者尿液中代谢水平显著升高，而在低复发风险膀胱癌患者中却相反。这提示 N-乙酰色氨酸不仅可以作为早期膀胱癌稳定的诊断标志物，而且也可作为膀胱癌复发的指标。Alberice 等[26]的研究可能对膀胱癌的早期临床诊断、进展判断和复发监测具有重要指导意义。

2.3 马尿酸

马尿酸是苯甲酸与甘氨酸通过甘氨酸 N-酰基

转移酶催化得到的酰基甘氨酸[39]，来源主要包括：环境中有毒的芳香族化合物（如苯甲酸，甲苯）、氧化应激、饮食（如食品中含有的苯酚）和肠道菌群。研究报道，膀胱癌患者相较于正常人，马尿酸水平显著下调[25,27~29]。Huang 等[29]采用 RPLC-MS 和 HILIC-MS 相结合的方法对 19 例膀胱癌患者、25 例肾癌患者和 24 例正常人进行尿液代谢组学分析，采用 OPLS-DA 模型分析判定马尿酸作为代谢标志物区分膀胱癌、肾癌和正常人的灵敏度和特异性均为 100%。类似的研究，Issaq 等[40]采用 HPLC-TOFMS 联用技术对 48 例膀胱癌和 41 例正常人进行尿液代谢组学分析，采用 OPLS-DA 模型判定膀胱癌的灵敏度和特异性也均为 100%。同时，Huang 等[29]的实验结果表明，马尿酸在膀胱癌患者尿液中的含量相较于正常人降低了约 10 倍，提示其可作为膀胱癌诊断的单一代谢标志物，灵敏度和特异性分别为 78.9%和 86.5%。

2.4 肉毒碱类

很多研究报道，膀胱癌患者中肉毒碱类的表达水平上调或下调，包括肉毒碱、肉毒碱 C8:1、肉毒碱 C9:0、肉毒碱 C9:1、肉毒碱 C10:1、肉毒碱 C10:3、异丁酰肉碱、乙酰肉毒碱、2,6-二甲庚酰肉毒碱等。肉毒碱在脂质代谢过程中发挥至关重要的作用，主要是通过促进长链脂肪酸进入线粒体产生能量，以及从线粒体中移除代谢积累的短链和中链脂肪酸[41]发挥作用。有研究认为，脂质代谢调节异常有利于膀胱癌的发生发展[42]。另外，脂肪酸运输途径改变、脂肪酸 β-氧化或者能量代谢可能解释膀胱癌患者为何易于昏睡[42]。Huang 等[28]发现肉毒碱 C9:1 在膀胱癌患者尿液中代谢水平显著下调，可作为膀胱癌诊断的代谢标志物，灵敏度和特异性分别为 66.7%、100%，AUC 为 0.88。ROC 曲线分析表明肉毒碱 C9:1 作为膀胱癌诊断标志物的特异性非常理想，但是其灵敏度较低。当采用多标志物联合诊断时，肉毒碱 C9:1 与 BAHE 组合，其灵敏度和特异性分别为 92.6%和 96.6%，AUC 为 0.963，可作为膀胱癌诊断一个非常好的联合诊断标志物组合[28]。

2.5 牛磺酸

牛磺酸作为真核生物中丰度最高的单一氨基酸，是哺乳动物细胞发育和生存所必需的氨基酸[43]。牛磺酸的主要作用是作为抗氧化剂、自由基清除剂和渗压剂抵抗氧化应力、诱导细胞损伤和缺氧诱导细胞溶胀。有文献报道，在诱导肿瘤发生机制上牛磺酸可以形成稳定的牛磺酸氯胺（Tau-Cl），并使具有强氧化和细胞毒素的次氯酸失活。接着，Tau-Cl 通过炎症因子产生下调免疫应答，进而导致肿瘤发生[43]。Srivastava 等[27]采用 ^{1}H NMR 在 103 例膀胱癌患者和正常人中，首次发现柠檬酸盐、二甲胺、苯基丙氨酸、马尿酸和牛磺酸可作为膀胱癌诊断的代谢标志物。同时发现与正常人相比，非肌层浸润性膀胱癌患者中牛磺酸含量显著升高，提示其可能作为非肌层浸润性膀胱癌患者诊断标志物。

3 展　望

目前，尿液代谢组学在发现膀胱癌标志物方面得到了较为广泛的研究，但至今为止仍未发现一种代谢标志物在临床性能上优于膀胱镜检。在研究膀胱癌尿液代谢组学时，一方面由于内在因素（如年龄、性别等）、外在因素（饮食、生活习惯等）、储存条件以及预处理等会导致代谢物波动；另一方面对鉴定发现的潜在代谢标志物缺少大量临床样本的验证。因而，尿液代谢组学在发现膀胱癌标志物方面的研究存在较大的局限性。但是，代谢组学在对膀胱癌发生的代谢通路研究，以及在膀胱癌的发生发展机制、药物治疗靶点的寻找和复发监测等方面都有着重要的意义。总的来说，作为一种开发新的膀胱癌标志物的技术手段，尿液代谢组学在研究的标准化和规范化等问题上需要进一步的完善。

参考文献：

[1] Burger M, Catto JW, Dalbagni G, et al. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer [J]. Eur Urol, 2013, 63(2): 234–241.

[2] Siegel R, Ma J, Zou Z, et al. Cancer statistics, 2014[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 9–29.

[3] Babjuk M, Bohle A, Burger M, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2016[J]. Eur Urol, 2017, 71(3): 447–461.

[4] Ieda T, Muto S, Shimizu F, et al. Development and validation of a novel recurrence risk stratification for initial non-muscle invasive bladder cancer in Asia[J]. EBioMedicine, 2016, 12: 98–104.

[5] Chan EC, Pasikanti KK, Hong Y, et al. Metabonomic profiling of bladder cancer[J]. J Proteome Res, 2015, 14(2): 587–602.

[6] Wishart DS, Jewison T, Guo AC, et al. HMDB 3.0—the human metabolome database in 2013 [J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(Database issue): D801–D807.

[7] Bundy JG, Davey MP, Viant MR. Environmental metabolomics: a critical review and future perspectives[J].

Metabolomics,2009,5(1):3–21.
[8] Riekeberg E,Powers R. New frontiers in metabolomics: from measurement to insight[J]. F1000Res,2017,6:1148.
[9] Puchades-Carrasco L,Pineda-Lucena A. Metabolomics applications in precision medicine:an oncological perspective[J]. Curr Top Med Chem,2017,17(24):2740–2751.
[10] Liu C,Alessandro A,Xia Y. Metabolomic approach in probing drug candidates[J]. Curr Top Med Chem,2017,17(15):1741–1749.
[11] Lauridsen M,Hansen SH,Jaroszewski JW,et al. Human urine as test material in ^{1}H NMR-based metabonomics: recommendations for sample preparation and storage[J]. Anal Chem,2007,79(3):1181–1186.
[12] Wang X,Lv H,Zhang G,et al. Development and validation of a ultra performance LC-ESI/MS method for analysis of metabolic phenotypes of healthy men in day and night urine samples[J]. J Sep Sci,2008,31(16–17):2994–3001.
[13] Gika HG,Theodoridis GA,Wilson ID. Liquid chromatography and ultra-performance liquid chromatography – mass spectrometry fingerprinting of human urine:sample stability under different handling and storage conditions for metabonomics studies[J]. J Chromatogr A,2008,1189(1):314–322.
[14] Xu GW,Lu X,Yang SL. Recent advances in metabonomics [J]. Acta Academiae Medicinae Sinicae,2007,29(6):701–711.[许国旺,路鑫,杨胜利. 代谢组学研究进展[J]. 中国医学科学院学报,2007,29(6):701–711.]
[15] Chan EC,Pasikanti KK,Nicholson JK. Global urinary metabolic profiling procedures using gas chromatography-mass spectrometry[J]. Nat Protoc,2011,6(10):1483–1499.
[16] Beckonert O,Keun HC,Ebbels TM,et al. Metabolic profiling,metabolomic and metabonomic procedures for NMR spectroscopy of urine,plasma,serum and tissue extracts[J]. Nat Protoc,2007,2(11):2692–2703.
[17] Want EJ,Wilson ID,Gika H,et al. Global metabolic profiling procedures for urine using UPLC–MS [J]. Nat Protoc,2010,5(6):1005–1018.
[18] Schnackenberg LK,Beger RD. Monitoring the health to disease continuum with global metabolic profiling and systems biology[J]. Pharmacogenomics,2006,7(7):1077–1086.
[19] Wagner S,Scholz K,Sieber M,et al. Tools in metabonomics:an integrated validation approach for LC-MS metabolic profiling of mercapturic acids in human urine [J]. Anal Chem,2007,79(7):2918–2926.
[20] Trygg J,Holmes E,Lundstedt T. Chemometrics in metabonomics[J]. J Proteome Res,2007,6(2):469–479.
[21] Oresic M,Vidal-Puig A,Hänninen V. Metabolomic approaches to phenotype characterization and applications to complex diseases[J]. Expert Rev Mol Diagn,2006,6(4):575–585.
[22] Bowser R,Cudkowicz M,Kaddurah-daouk R. Biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis [J]. Expert Rev Mol Diagn,2006,6(3):387–398.
[23] Pasikanti KK,Esuvaranathan K,Ho PC,et al. Noninvasive urinary metabonomic diagnosis of human bladder cancer [J]. J Proteome Res,2010,9(6):2988–2995.
[24] Pasikanti KK,Esuvaranathan K,Hong Y,et al. Urinary metabotyping of bladder cancer using two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry [J]. J Proteome Res,2013,12(9):3865–3873.
[25] Putluri N,Shojaie A,Vasu VT,et al. Metabolomic profiling reveals potential markers and bioprocesses altered in bladder cancer progression [J]. Cancer Res,2011,71(24):7376–7386.
[26] Alberice JV,Amaral AF,Armitage EG,et al. Searching for urine biomarkers of bladder cancer recurrence using a liquid chromatography-mass spectrometry and capillary electrophoresis-mass spectrometry metabolomics approach [J]. J Chromatogr A,2013,1318:163–170.
[27] Srivastava S,Roy R,Singh S,et al. Taurine –A possible fingerprint biomarker in non-muscle invasive bladder cancer:A pilot study by^{1} H NMR spectroscopy[J]. Cancer Biomarkers,2009,6(1):11–20.
[28] Huang Z,Lin L,Gao Y,et al. Bladder cancer determination via two urinary metabolites:a biomarker pattern approach [J]. Mol Cell Proteomics,2011,10 (10):M111.007922.
[29] Huang Z,Chen Y,Hang W,et al. Holistic metabonomic profiling of urine affords potential early diagnosis for bladder and kidney cancers[J]. Metabolomics,2013,9(1):119–129.
[30] Jin X,Yun SJ,Jeong P,et al. Diagnosis of bladder cancer and prediction of survival by urinary metabolomics[J]. Oncotarget,2014,5(6):1635.
[31] Tripathi P,Somashekar BS,Ponnusamy M,et al. HR-MAS NMR tissue metabolomic signatures cross-validated by mass spectrometry distinguish bladder cancer from benign disease[J]. J Proteome Res,2013,12(7):3519–3528.
[32] Cao M,Zhao L,Chen H,et al. NMR-based metabolomic analysis of human bladder cancer [J]. Anal Sci,2012,28(5):451–426.
[33] Bansal N,Gupta A,Mitash N,et al. Low-and high-grade bladder cancer determination via human serum-based metabolomics approach[J]. J Proteome Res,2013,12(12):5839–5850.
[34] Schramm G,Surmann EM,Wiesberg S,et al. Analyzing the regulation of metabolic pathways in human breast cancer[J]. BMC Med Genomics,2010,3(1):1.
[35] Lu Z,Wang Q,Wang M,et al. Using UHPLC Q-Trap/MS as a complementary technique to in-depth mine UPLC Q-TOF/MS data for identifying modified nucleosides in urine [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2017,1051:108–117.
[36] Wittmann BM,Stirdivant SM,Mitchell MW,et al. Bladder cancer biomarker discovery using global metabolomic profiling of urine[J]. PLoS One,2014,9(12):e115870.
[37] Chung KT,GadupudI GS. Possible roles of excess tryptophan metabolites in cancer [J]. Environ Mol Mutagen,2011,52(2):81–104.
[38] Opitz CA,Litzenburger UM,Sahm F,et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor[J]. Nature,2011,478(7368):197–203.
[39] van der Sluis R,Ungerer V,Nortje C,et al. New insights into the catalytic mechanism of human glycine N-acyltransferase [J]. J Biochem Mol Toxicol,2017 Jul 31.[Epub ahead of print]
[40] Issaq HJ,Nativ O,Waybright T,et al. Detection of bladder cancer in human urine by metabolomic profiling using high performance liquid chromatography/mass spectrometry[J]. J Urol,2008,179(6):2422–2446.
[41] Flanagan JL,Simmons PA,Vehige J,et al. Role of carnitine in disease[J]. Nutr Metab (Lond),2010,7:30.
[42] Mitra AP,Cote RJ. Molecular pathogenesis and diagnostics of bladder cancer[J]. Annu Rev Pathol,2009,4:251–285.
[43] Rosado JO,Salvador M,Bonatto D. Importance of the trans-sulfuration pathway in cancer prevention and promotion[J]. Mol Cell Biochem,2007,301(1–2):1–12.