

· 综述 ·

## 肝细胞性肝癌代谢组学研究进展

刘悦<sup>1</sup>, 赵亮<sup>2</sup>, 李燕<sup>3</sup>, 朱臻宇<sup>1</sup>, 柴逸峰<sup>1</sup> ( 1. 第二军医大学药学院药物分析教研室, 上海 200433; 2. 第二军医大学附属东方肝胆外科医院药材科, 上海 200438; 3. 中国人民解放军总后勤部郑常庄干部休养所, 北京 100141)

**[摘要]** 肝细胞性肝癌(HCC)是最常见的、发病率和死亡率较高的恶性肿瘤之一,严重危害了人类的健康。代谢组学能够将高通量、高分辨率的分析技术与生物信息学相整合,对生物代谢层面进行研究,为寻找早期诊断肝细胞性肝癌的生物标志物、探索 HCC 发生的机制提供独特的视角。本文对近年来肝细胞性肝癌代谢组学研究进展进行综述,为进一步深入研究提供参考。

**[关键词]** 肝细胞性肝癌; 代谢组学; 生物标志物; 研究进展

**[中图分类号]** R735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2013)02-0081-05  
735.7 **[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2013.02.001

## Advances in metabonomics of hepatocellular carcinoma

LIU Yue<sup>1</sup>, ZHAO Liang<sup>2</sup>, LI Yan<sup>3</sup>, ZHU Zhen-yu<sup>1</sup>, CHAI Yi-feng<sup>1</sup> ( 1. Department of Pharmaceutical Analysis, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Pharmacy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China; 3. Zhengchangzhuang Clinic, Logistics Department of PLA, Beijing 100141, China)

**[Abstract]** Hepatocellular carcinoma (HCC) was one of the most common malignancies with high incidence and mortality which threatened human health. Integrating analytical technology of high throughput and high resolution with bioinformatics, metabonomics could investigate the organism on the level of metabolism, provide a unique insight into searching biomarkers for early diagnosis of HCC and exploring the mechanism of HCC. The advances of metabonomics studies on HCC in the recent years were reviewed in this paper which could provide the reference for further research.

**[Key words]** hepatocellular carcinoma; metabonomics; biomarkers; advance

肝细胞性肝癌(HCC)是恶性程度极高、预后极差的恶性肿瘤,它的发生是一个长期的、动态的、多阶段的、多基因改变的过程,具有多基因调控和多因素调节的复杂性<sup>[1]</sup>。由于 HCC 发生过程的复杂性,因此需要用整体性思维来研究它。代谢组学是采用多层次、多靶点研究来表达集体的功能状态,它通过代谢轮廓的变化表达外源性扰动带来的功能改变,能同时研究代谢物中的多种因素,从大量信息的系统集成来解释复杂性理论,并进一步解释其如何相互作用体现出相应功能,其无歧视的整体性与动态的功能性,正好符合了整体性研究 HCC 的要求。引入代谢组学的理念与方法不仅能够寻找和发现早期诊断 HCC 的生物标志物,更加有助于探索 HCC 发生的机制。本文综述了近年来肝细胞肝癌的代谢组学研究的相关文献,以期提供此方面研究

的现状并对进一步深入研究有所帮助。

### 1 肝细胞肝癌的现状

肝细胞肝癌(HCC)是最常见的腹内恶性肿瘤之一,占原发性肝癌( PHC) 的 91.5% ,在世界范围内其发病率和死亡率分别居恶性肿瘤的第 5 位和第 3 位,同时它的 5 年生存率还不到 7%<sup>[2~4]</sup>。目前我国肝癌的发病人数占全球的 55% ,其死亡率排在恶性肿瘤的第 2 位,是严重威胁我国人民生命健康的疾病。近年来,随着慢性乙肝病毒(HBV)与慢性丙肝病毒(HCV)的传播和流行,以及肥胖和 2 型糖尿病的发病率越来越高,肝细胞肝癌的发生率正在以惊人的速度增长<sup>[5~7]</sup>。

肝癌起病隐匿,早期常缺乏典型症状,大多数病人在诊断出来的时候已经发展到了疾病的中晚期,治疗的前景是很渺茫的<sup>[8]</sup>。所以,早期诊断 HCC 是非常重要的,这样就能够及时采取手术或者化疗等一系列治疗措施来延长生存期<sup>[9]</sup>。目前 HCC 的筛

**[作者简介]** 刘悦(1987-),女,硕士。E-mail: yywlymd@yahoo.com.cn.

**[通讯作者]** 柴逸峰。E-mail: yfchai@smmu.edu.cn.

查和早期诊断主要倚重两类检查手段:影像学检测和肝癌肿瘤标志物检测。超声、CT 和核磁共振成像等影像学检测手段是通过直观的肝脏占位性肿瘤包块来判断 HCC,其分辨率与准确性并不理想。肝癌肿瘤标志物的检测在 HCC 筛查、诊断、预后判断和监测复发等方面都发挥着重要作用,目前这些肿瘤标志物主要是在基因水平与蛋白质水平发现的,包括甲胎蛋白(alpha fetal protein, AFP)、异常凝血酶原(des- $\gamma$ -carboxyprothrombin, DCP)、 $\gamma$ -谷氨酰转移酶(gamma-glutamyltransferase, GGT)、人端粒酶反转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)、Parkin 基因、PTEN 抑癌基因(phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten)<sup>[10]</sup>、Survivin 基因<sup>[11]</sup>等。然而即使是临床上应用最广、灵敏性最高的标志物 AFP,其检测灵敏度也还不到 70%<sup>[12-14]</sup>。结合血液酶学及其他肿瘤标志物检查,虽然有助于提高肝癌的确诊率,但是对于早期诊断小肝癌(直径 < 3 cm)的敏感性仍有待提升。因此,现在急迫的需要寻找特定的标志物来用于早期诊断、预后判断和监测复发。

## 2 代谢组学概述

**2.1 代谢组学的概念** 代谢组学是系统生物学的重要组成部分,它是研究生物体系受基因改变、疾病和环境因素等作用所产生的所有代谢产物的变化的科学<sup>[15,16]</sup>。同样作为系统生物学重要组成部分的基因组学与蛋白质组学分别从基因层面和蛋白质层面描绘生物体的基因谱图以及研究生物体在基因调控和环境双重作用下所表达的蛋白质种类和数量,为了解不同癌症的生物学变化提供了一些线索。代谢组学主要研究生物体液、生物组织及单个细胞中的下游小分子,是基因组和蛋白质组的补充,能够综合利用代谢组学研究方法,包括各种现代化的分析技术、模式识别以及多元统计分析方法,来寻找其中的系统生物学信息,从而揭示生物体在特定时间、环境下的整体功能状态。代谢组学能够跟踪检测代谢物之间的动态转化与含量变化,将这些代谢信息与病理生理过程中的生物化学和生理学改变联系起来,可以确定发生变化的靶标和作用位点,进而确定相关的生物标志物。目前代谢组学已经广泛的应用到了疾病的诊断、探索病因机理、研究药物作用机制以及寻找新药作用靶点等多个领域。

**2.2 代谢组学的分析技术与手段** 由于代谢组学的分析对象是某一生物、系统或细胞中所有分子质量 1 000 以下的小分子代谢产物的集合,它们的种类和数量繁多、理化性质悬殊、浓度差异巨大,还存

在时空分布的差异性和复杂的相互作用,因此对检测和分析技术提出了极高的要求。目前代谢组学的分析技术主要有色谱<sup>[17]</sup>、质谱<sup>[18]</sup>、核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)<sup>[19]</sup>及液质联用和气质联用技术<sup>[20]</sup>等,它们都有各自的优势与适用范围。色谱以其高分离度、高通量而著称,但其定性分析能力薄弱;质谱具有普适性、高敏感度和高特异度的特点,同时也存在选择性检测能力不高、大量谱峰的识别力差、不同离子化程度对代谢物定量有影响等缺陷;NMR 作为最经典的代谢组学研究工具,其突出优点是样品前处理步骤简单、测定重复性好并能够对样品实现无创性、无偏向的检测,而且<sup>1</sup>H-NMR 以其对含氢代谢产物的普适性而成为最主要的分析工具,不过仍存在敏感度低、分辨率不高等不足。为了实现无偏向、大范围、高通量、高敏感度和高精度地分离和分析代谢物的目标,各种谱学技术联用与多种方法综合分析的手段越来越多的出现在代谢组学研究中,这也是今后代谢组学分析技术发展的必然趋势。通过这些现代化的分析技术得到了大量的多维的数据信息,为了充分挖掘其中潜在的信息,需要运用化学计量学理论和一系列多元统计分析新方法对采集的海量原始信息进行降维和归类分析。目前主要的数据分析手段是模式识别技术,包含监督(supervised)学习方法和非监督(unsupervised)学习方法两类。非监督方法不需要有关样品分类的任何背景信息,分析的可视化结果是基于原始谱图信息或预处理后的信息来对样品进行归类的,这使得样品内部随机误差较大,限制了其在样品之间真实差异不很明显时有效找出真实差异的能力。主要包括主成分分析(PCA)、非线性映射(non-linear mapping, NLM)、层次聚类分析(HCA)等。而监督分析则通过把样品按照组别进行分类分析滤除了随机差异,并利用训练样本建立类别间的数学模型,找出每组样品的特点和区分各组之间的差异,最后用这些多参数模型对未知样品进行预测。常用的有偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)、神经网络分析(NN)等<sup>[22]</sup>。

## 3 代谢组学在 HCC 研究中的应用

代谢组学自问世以来,方法正日趋成熟,其应用已渗入到生命科学研究的方方面面。在 HCC 相关研究中,相比于基因组学与蛋白组学等其他组学技术,代谢组学日益展现出它独到的优势:①代谢组学反映的是基因水平蛋白质水平各因素综合作用下的最终结果,各种微小变化都可能引起代谢物中的“延增效应”,产生大量的异乎寻常的代谢物<sup>[22]</sup>,因

此能够更综合、更准确、更灵敏地反映生物体系的状态; ②生物体中的小分子化合物的组成比基因组、蛋白组相对简单, 代谢物种类远少于基因与蛋白的数目; ③代谢组学研究中能够实现无创或微创的样本采集, 样本处理方法更加简单, 采用的技术更通用、简便、快速, 而且不要求完整的基因序列或庞大的表达序列标签( EST) 数据库; ④很多内源性小分子化

合物的生化代谢网络已经弄清, 能够通过 KEGG 或 HMDB 数据库找到, 而目前对基因、蛋白质功能的认识十分有限。代谢组学以自身独特的优势也奠定了它在整个生命科学研究中的重要地位, 它的兴起给 HCC 的诊治提供了新的思路。目前, 国内外的研究学者利用代谢组学研究 HCC 已经取得了一些可喜的成果( 表 1)。

表 1 代表性的 HCC 相关的代谢组学研究亮点

作者	分析对象	应用	亮点
Peiyuan Yin 等 <sup>[24]</sup>	血清	利用代谢组学寻找 HCC 的潜在生物标志物	结合亲水作用色谱与反向色谱分析样品, 并绘制了生物标志物代谢相关网络图。
Andrew 等 <sup>[25]</sup>	血浆		结合 UPLC-ESI-Q TOF/MS、UPLC-ESI-TQMS 与 GC/MS 三种分析技术对血浆脂类代谢物进行了定量分析, 同时增加了急性骨髓性白血病患者对照组, 进一步证明了这些标志物对 HCC 的专属性。
Mohamed 等 <sup>[28, 29]</sup>	尿液	用代谢标志物诊断 HCC	分别研究了 HBV 阳性尼日利亚籍肝癌患者与 HCV 阳性埃及肝癌患者的与健康志愿者的代谢物差异, 发现结果相似, 说明 HCC 不受到病因与人种的影响。
Tianlu Chen 等 <sup>[31]</sup>	血清与尿液		利用 GC-TOFMS 与 UPLC-QTOFMS 多种分析技术对多种生物样品进行定量分析, 发现的标志物相互佐证, 成功的百分之一百诊断出了 AFP 小于 20 ng/ml 的 HCC 患者与健康志愿者。

**3.1 HCC 相关的代谢标志物** 肝癌的病理变化往往造成机体基础代谢产生相应改变, 进而引起小分子代谢物种类或浓度发生对应的变化, 最终造成与正常个体之间代谢谱的差异。利用代谢组学技术对患者和健康志愿者的生物样品进行分析, 可以检测出代谢谱差异, 并鉴定与疾病密切相关的潜在生物标志物。

Cao 等<sup>[23]</sup> 利用超高效液相色谱-四极杆/飞行时间串联质谱仪( UPLC-Q TOF/MS) 对肝硬化与 HCC 患者的排泄物进行了代谢组学研究。选择了 23 例健康志愿者、22 例肝硬化患者与 23 例 HCC 患者, 经过偏最小二乘法-判别分析( PLS-DA) 发现代谢特征并成功建立了能够区分健康人与患者的模型。模式识别分析得分图能正确地将肝硬化患者与 HCC 患者归类, 并根据变量重要性鉴定出含量显著变化的 6 个潜在标志物, 它们分别是溶血卵磷脂( LPC C18 : 0、LPC C16 : 0) , 鹅去氧胆酸二聚体, 尿胆素, 尿胆素原以及 7-氧代石胆酸。肝硬化患者与 HCC 患者排泄物中显著降低的胆酸主要与他们体内胆酸合成与分泌的减少有关。溶血卵磷脂的增加暗示着患者可能有吸收障碍。

Yin 等<sup>[24]</sup> 利用液质联用技术( LC/MS) 对乙肝诱导的肝硬化患者与 HCC 患者的血清进行代谢组学研究。通过反向液相色谱( RP-LC) 与亲水作用色谱( HILIC) 两种方式获取 25 例健康志愿者、24 例肝硬化患者与 25 例 HCC 患者的血清数据, 经过化学

计量学标准化和整合的数据用 OPLS 分析, 筛选出了潜在的生物标志物。其中甘氨酸胆酸, 甘氨酸去氧胆酸, 牛磺胆酸以及牛磺鹅去氧胆酸是肝硬化的潜在生物标志物, 二氢鞘氨醇与 4-羟双氢鞘氨醇是肝癌的潜在标志物。为了更系统的了解疾病与可能的生物学意义, 文中还分别绘出了肝硬化患者与 HCC 患者的生物标志物代谢相关网络图。

Andrew 等<sup>[25]</sup> 应用超高效液相色谱-电喷雾离子化-四极杆/飞行时间串联质谱仪( UPLC-ESI-Q TOF/MS) 、超高效液相色谱-电喷雾离子化-三重四极杆质谱仪( UPLC-ESI-TQMS) 与气质联用技术( GC/MS) 对急性骨髓性白血病患者, 肝硬化患者与 HCC 患者的血浆进行代谢组学研究。选择了 6 例健康志愿者、21 例急性骨髓性白血病患者、7 例肝硬化患者与 20 例 HCC 患者, 经过随机森林机器学习算法( RF) 以及多元数据分析发现 HCC 患者与升高的甘氨酸胆酸和脱氧胆酸盐-3-硫酸盐以及下调的胆绿素与胎儿胆汁酸有关。经过进一步用 UPLC-ESI-TQMS 定量分析病人的血浆脂类代谢轮廓, 观察到 HCC 与降低的溶血性卵磷脂以及升高的溶血磷脂酸[ LPA( 16 : 0) ]密切相关, 并且 LPA( 16 : 0) 与 AFP 呈正相关。在使用 GC/MS 对脂肪酸进行定量分析时, 还发现廿四酸( 24 : 0) 神经酸( 24 : 1) 在 HCC 患者的血浆中几乎消失了。这篇文章通过结合 UPLC-ESI-Q TOF/MS 平台与 UPLC-ESI-TQMS、GC/MS 定量分析平台为深入了解癌症的病

理学提供了途径。

Gao 等<sup>[26]</sup>利用 NMR 对肝硬化与 HCC 患者的血清进行了代谢组学研究。选择了 63 例健康志愿者、36 例肝硬化患者与 39 例 HCC 患者,经过 PCA 与 PLS-DA 等模式识别的方法发现代谢特征并成功建立了能够区分健康人与肝硬化与 HCC 患者的模型。与健康人相比,肝硬化与 HCC 患者的血清中含有更高的醋酸盐、N-乙酰糖类蛋白、丙酮酸、谷氨酰胺、 $\alpha$ -酮戊二酸盐、甘油、酪氨酸、1-甲基组氨酸与苯丙氨酸,以及更低的脂蛋白、异亮氨酸、缬氨酸、乙酰乙酸、肌酸、胆碱与不饱和脂类。

**3.2 代谢组学与 HCC 诊断** 在 HCC 发生的早期阶段,利用代谢组学技术将可能监测特定代谢过程中代谢物的变化或波动情况,通过观察特定的代谢标志物可以用于诊断 HCC,并预测其进展,或是监测其对于干预的反应。

Chen 等<sup>[27]</sup>利用液质联用技术(LC/MS)对 28 例健康志愿者与 41 例 HCC 患者的血清进行代谢组学研究。文中用基于小波变换的方法来进行峰的校正,并对特征峰进行两样本 *t* 检验,分析表明主成分分析(PCA)能够很好的区分健康志愿者与 HCC 患者,关键的差异代谢物是 1-甲基腺苷。经过进一步的受试者工作曲线(ROC)计算发现 1-甲基腺苷的 AUC 值(0.802)明显高于 AFP 的 AUC 值(0.592)将两者结合在一起作为诊断的模型能够显著地提高诊断的灵敏性,并且能够发现 AFP 阴性的 HCC 患者。

Mohamed 等<sup>[28]</sup>利用 11.7T NMR 系统对尼日利亚籍的肝硬化患者与 HCC 患者的尿液进行代谢组学研究。选择了 15 例 HBsAg 阴性的健康志愿者、10 例 HBsAg 阳性的肝硬化患者与 18 例 HBsAg 阳性的 HCC 患者,经过 PCA 分析发现 3 组的尿液代谢轮廓有显著的差异,PLS-DA 分析找到 4 个对分类贡献最大的代谢物作为潜在的生物标志物,分别是肌酐酸、肉碱、肌酸与丙酮。此模型区分 HCC 患者与健康人的灵敏性与特异性能达到 100% 和 93%,区分 HCC 患者与肝硬化患者的灵敏性与特异性能达到 89.5% 和 88.9%。可见尿液的生物标志物在诊断 HCC 方面有较强的实用性且能够广泛应用。为了进一步验证实验的结论,Mohamed 等<sup>[29]</sup>又在大部分感染了 HCV 的埃及患者中用相同的 NMR 技术进行了一个类似的研究。通过正交信号校正偏最小二乘法判别分析(O-PLS)分析 17 例 HCV 阴性的健康志愿者、14 例肝硬化患者与 16 例 HCC 患者的尿液,发现这种方法区分 HCC 患者与健康人的灵敏性与特异性能达到 100% 和 94%,区分 HCC 患者与肝硬化患者的灵敏性与特异性能达到 81% 和 71%。差异最明显的代谢物包括

甘氨酸,三甲胺-N-氧化物,马尿酸盐,柠檬酸、肌酐酸、肌酸与肉碱。这个结论与在尼日利亚人种中观察到的结果十分相似,这就意味着 HCC 影响了患者的生理情况、能力生产以及染色体的异常甲基化,并且不受到病因与人种的影响。

Xue 等<sup>[30]</sup>利用 GC/MS 对 20 名健康志愿者与 20 名男性 HCC 患者的血清进行代谢组学研究。化学衍生化后的血清样本进入到 GC/MS 分析得到的数据用逐步判别分析(SDA)与支持向量机 SVM 进行分析,发现两组之间差异最显著的代谢物有丁酸、乙亚胺酸、甘油、L-异亮氨酸、L-缬氨酸、氨基丙二酸、D-赤藓糖、棕榈酸、硬脂酸与 9,12-十八碳二烯酸。用这些代谢物作为诊断的模型能够更好地区分 HCC 患者与健康志愿者。而且这个模型的错误数估计为零,SVM 经过 20 倍交叉验证的总分类准确性为 75%。

Chen 等<sup>[31]</sup>利用 GC-TOFMS 与 UPLC-QTOFMS 对良性肝脏肿瘤与 HCC 患者的血清与尿液进行了代谢组学研究。收集了 71 例健康志愿者、24 例良性肝脏肿瘤患者与 82 例 HCC 患者的血清与尿液样品,经过单变量与多变量统计分析鉴定出 43 种血清代谢物与 31 种尿液代谢物,它们包含在胆汁酸代谢、游离脂肪酸代谢、糖酵解、尿酸循环与蛋氨酸代谢等关键性的代谢通路当中。在 HCC 患者中观察到了一些有显著差异,且含量倍数改变很高的代谢物,包括胆汁酸、组氨酸和肌核苷,它们经过进一步验证后可以作为 HCC 的生物标志物。通过定量分析比较有肝硬化与肝炎的良性肝脏肿瘤患者、有肝硬化与肝炎的 HCC 患者、无肝硬化与肝炎的 HCC 患者以及健康志愿者中的 7 种胆汁酸,发现甘氨酸脱氧胆酸、甘氨酸胆酸、牛磺胆酸与鹅去氧胆酸和肝硬化与肝炎有关。文中利用一组生物标志物成功地百分之百诊断出了 AFP 小于 20 ng/ml 的 HCC 患者与健康志愿者。

#### 4 结语

代谢组学虽是“后基因组学”时期的一门新兴学科,它发展迅速并已经广泛应用于生命科学的各个领域,特别在疾病研究中代谢组学显示出了巨大潜力和良好前景。对于与体内代谢密切相关的疾病 HCC,它的发生、发展与代谢状态直接相关,检测有关代谢物的变化或波动情况可以把握 HCC 发展的阶段和状态,这为临床早期诊断提供了切实可行的新途径。目前,广大科研学者已经找到了不少 HCC 相关的标志性代谢物,但各个潜在的生物标志物之间关联性不强,缺乏交叉验证,离建立完整可靠的诊

断系统还有一定距离。不过,相信随着代谢组学技术的不断拓展更新,代谢组学应用的广度和深度将不断增加,为进一步确定 HCC 早期诊断标志物,研究其发生、发展机制与确定治疗靶标做出贡献。

### 【参考文献】

- [1] Hanahan D , Weinberg R. The hallmarks of cancer [J]. *Cell* , 2000 ,100( 1) : 57.
- [2] World Health Organization. mortality database , WHO statistical information system. available at <http://www.who.int/whosis/en/> . accessed March 19 , 2008.
- [3] Kassahun W , Fangmann J , Harms J , *et al.* Liver Resection and Transplantation in the Management of Hepatocellular Carcinoma: A Review [J]. *Exp Clin Transplant* , 2006 , 4( 2) : 549.
- [4] El-Serag HB , Rudolph L. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology and molecular carcinogenesis [J]. *Gastroenterology* , 2007 , 132( 7) : 2557.
- [5] Anthony P. Hepatocellular carcinoma: an overview [J]. *Histopathology* 2001 , 39( 2) : 109.
- [6] El-Serag HB , Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States [J]. *New Eng J Med* , 1999 , 340( 10) : 745.
- [7] El-Serag HB , Tran T , Everhart JE. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology* , 2004 , 126( 2) : 460.
- [8] El-Serag H , Mason A , Key C. Trends in survival of patients with hepatocellular carcinoma between 1977 and 1996 in the United States [J]. *Hepatology* , 2001 , 33( 1) : 62.
- [9] Onodera H , Ukai K , Minami Y. Hepatocellular-Carcinoma Cases with 5-Year Survival and Prognostic Factors Affecting the Survival-Time [J]. *Tohoku J Exp Med* , 1995 , 176( 4) : 203.
- [10] Li J , Yen C , Liaw D , *et al.* PTEN , a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain , breast , and prostate cancer [J]. *Science* , 1997 , 275( 5308) : 1943.
- [11] Fields AC , Cotsonis G , Sexton D , *et al.* Survivin expression in hepatocellular carcinoma: correlation with proliferation , prognostic parameters , and outcome [J]. *Modern Pathology* , 2004 , 17( 11) : 1378.
- [12] Furui J , Furukawa M , Kanematsu T. The low positive rate of serum alpha-fetoprotein levels in hepatitis C virus antibody-positive patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatogastroenterology* , 1995 , 42( 5) : 445.
- [13] Nguyen MH , Keeffe EB. Screening for hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Gastroenterol* , 2002 , 35( 5 Suppl. 2) : S86.
- [14] Peng YC , Chan CS , Chen GH. The effectiveness of serum alpha-fetoprotein level in anti-HCV positive patients for screening hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatogastroenterology* , 1999 , 46( 30) : 3208.
- [15] Nicholson J , Lindon J , Holmes E. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica* , 1999 , 29( 11) : 1181.
- [16] Fiehn O. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes [J]. *Plant Mol Biol* 2002 , 48( 1-2) : 155.
- [17] Zhang F , Jia Z , Gao P , *et al.* Metabonomics study of urine and plasma in depression and excess fatigue rats by ultra fast liquid chromatography coupled with ion trap-time of flight mass spectrometry [J]. *Mol BioSyst* , 2010 , 6( 5) : 852.
- [18] Chen Y , Zhang R , Song Y , *et al.* RRLC-MS/MS-based metabonomics combined with in-depth analysis of metabolic correlation network: finding potential biomarkers for breast cancer [J]. *Analyst* , 2009 , 134( 10) : 2003.
- [19] Zhou J , Xu B , Huang J , *et al.* <sup>1</sup>H NMR-based metabonomic and pattern recognition analysis for detection of oral squamous cell carcinoma [J]. *Clinica Chimica Acta* , 2009 , 401( 1-2) : 8.
- [20] Pasikanti KK , Esuvaranathan K , Ho PC , *et al.* Noninvasive urinary metabonomic diagnosis of human bladder cancer [J]. *J Proteome Res* , 2010 , 9( 6) : 2988.
- [21] Lindon J , Nicholson J , Holmes E. The handbook of metabonomics and metabolomics [M]. Amsterdam: elsevier BV 2007:201 ~226.
- [22] Schmidt C. Metabolomics takes its place as latest up-and-coming "omic" science [J]. *J Natl Cancer Inst* , 2004 , 96( 10) : 732.
- [23] Cao H , Huang H , Xu W , *et al.* Fecal metabolome profiling of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma patients by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Analytica Chimica Acta* , 2011 , 691( 1-2) : 68.
- [24] Yin P , Wan D , Zhao C , *et al.* A metabonomic study of hepatitis B-induced liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma by using RP-LC and HILIC coupled with mass spectrometry [J]. *Mol BioSyst* , 2009 , 5( 8) : 868.
- [25] Patterson AD , Maurhofer O , Beyoglu D , *et al.* Aberrant lipid metabolism in hepatocellular carcinoma revealed by plasma metabolomics and lipid profiling [J]. *Cancer Res* , 2011 , 71( 21) : 6590.
- [26] Gao H , Lu Q , Liu X , *et al.* Application of <sup>1</sup>H NMR-based metabonomics in the study of metabolic profiling of human hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis [J]. *Cancer Sci* , 2009 , 100( 4) : 782.
- [27] Chen F , Xue J , Zhou L , *et al.* Identification of serum biomarkers of hepatocarcinoma through liquid chromatography/mass spectrometry-based metabonomic method [J]. *Anal Bioanal Chem* , 2011 , 401( 6) : 1899.
- [28] Shariff MIF , Ladep NG , Cox IJ , *et al.* Characterization of urinary biomarkers of hepatocellular carcinoma using magnetic resonance spectroscopy in a Nigerian population [J]. *J Proteome Res* , 2010 , 9( 2) : 1096.
- [29] Shariff MIF , Gomaa AI , Cox IJ , *et al.* Urinary metabolic biomarkers of hepatocellular carcinoma in an Egyptian population: a validation study [J]. *J Proteome Res* , 2011 , 10( 4) : 1828.
- [30] Xue R , Lin Z , Deng C , *et al.* A serum metabolomic investigation on hepatocellular carcinoma patients by chemical derivatization followed by gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Sp* , 2008 , 22( 19) : 3061.
- [31] Chen T , Xie G , Wang X , *et al.* Serum and urine metabolite profiling reveals potential biomarkers of human hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cell Proteomics* , 2011 , 10( 7) .

[收稿日期]2012-04-16

[修回日期]2012-09-20