

## 代谢组学与泌尿系结石相关研究新进展

李宾<sup>1</sup> 吕蔡<sup>1△</sup>

**[摘要]** 泌尿系结石是泌尿系统常见的非肿瘤疾病,其逐年升高的患病率和发病率给社会带来沉重的医疗负担,而目前泌尿系结石的确切病因尚未明确,早期诊断、预防及术后随访等均缺乏较简便、易行的方法。代谢组学是继基因组学、蛋白组学和转录组学之后的新兴“组学”,代谢组学通过检测生物体在受到外源刺激或基因修饰后机体内代谢物质的变化,从而探索整个生物体的代谢机制变化。利用代谢组学的方法研究泌尿系结石,有望为泌尿系结石病因、早期诊断、预防及术后随访提供新的思路。本文就代谢组学相关概念和研究方法及其在泌尿系结石方面的基础及临床研究最新进展作一综述。

**[关键词]** 代谢组学;泌尿系结石;生物标志物

**DOI:**10.13201/j.issn.1001-1420.2022.01.017

**[中图分类号]** R691.4 **[文献标志码]** A

## New progress in the study of metabonomics and urinary urolithiasis

LI Bin LV Cai

(Department of Urology, Central South University Xiangya School of Medicine Affiliated Haikou Hospital, Haikou, 570000, China)

Corresponding author: LV Cai, E-mail: lvcai815@163.com

**Abstract:** Urolithiasis is a common nonneoplastic disease of urinary system, and its increasing prevalence and incidence contribute heavy medical burden to the society. However, the exact etiology of urolithiasis is not yet clear. There are no simple or feasible methods for early diagnosis, prevention and postoperative follow-up. Metabonomics is a new "omics" after genomics, proteomics and transcriptome, which explores the metabolic mechanism of the whole organism by detecting the changes of metabolites in vivo after exogenous stimulation or gene modification. The study of urolithiasis by means of metabonomics is expected to provide new ideas for the etiology, early diagnosis, prevention and postoperative follow-up of urolithiasis. This article reviews the concepts and methods of metabonomics, also the recent basic and clinical progress of metabonomics in urolithiasis.

**Key words** metabonomics; urolithiasis; biomarker

泌尿系结石是泌尿系统常见的非肿瘤疾病。近几十年来,泌尿系结石发病率和患病率逐年升高<sup>[1]</sup>。NHANES 的最新研究表明,结石患病率约为 8.8%<sup>[2]</sup>,预计我国泌尿系结石患病率约为 6.4%<sup>[3]</sup>。有研究表明,我国泌尿系结石 5 年复发率达 20%<sup>[4]</sup>,美国的研究数据表明 5 年复发率甚至高达 50%<sup>[5]</sup>。目前泌尿系结石的病因仍不明确,我国南、北方的研究数据均发现 40~60 岁人群是结石的高发人群,且男性发病率明显高于女性<sup>[6-7]</sup>。目前研究普遍认为泌尿系结石与年龄、饮食习惯、性别、种族、气候,地理特征等多种因素相关<sup>[2,8-9]</sup>。结石的高复发率和逐年升高的患病率给社会带来了沉重的医疗负担,国外的统计数据表明,1984 年时每年因尿路结石造成的医疗负担为 8.98 亿美元,2014 年则增至 53 亿美元<sup>[10]</sup>,预计到 2030 年,将额外每年增加 12.4 亿美元<sup>[11]</sup>。近年来随着腔镜技术的不断进步,泌尿系结石的治疗发生了革命

性变化,改变了长期以来以开放性手术为主的治疗方法。然而,结石治疗后较高的残石率和复发率仍是泌尿外科医师必须面临的一大难题。其中肾结石是慢性肾脏疾病或终末期肾脏疾病的危险因素,严重损害肾脏功能<sup>[12-13]</sup>,给患者带来严重危害。故泌尿系结石的病因研究,早期诊断、预防及术后随访显得尤为重要。有关泌尿系结石的病理生理机制的研究并未明确揭示确切的病因。除年龄、饮食习惯、性别、种族、气候,地理特征等多种因素相关外<sup>[2,8-9]</sup>,肥胖、糖尿病、高血压病、代谢综合征等也被认为是泌尿系结石形成的危险因素<sup>[14-16]</sup>。Zampini 等<sup>[17]</sup>的研究表明,尿路微生物菌群失调与结石形成具有相关性。甚至有研究认为,结石患者体外冲击波碎石治疗的次数与结石的复发之间有很强的相关性<sup>[18]</sup>。AUA 及 EUA 指南均要求对高危结石患者进行代谢评估<sup>[19-20]</sup>,以指导结石的预防,但目前代谢评估比例低<sup>[21]</sup>,且代谢评估主要针对结石事件后预防结石的复发,对于预防初次结石事件意义不大。综上所述,目前泌尿系结石的确切病因尚不明确,相关研究只揭示结石的危险因素,而代谢组学的出现,为泌尿系结石的病因、早期诊断、预

<sup>1</sup> 中南大学湘雅医学院附属海口医院泌尿外科(海口, 570000)

<sup>△</sup> 审校者

通信作者:吕蔡, E-mail:lvcai815@163.com

防及术后随访带来了新的希望。

## 1 代谢组学

### 1.1 代谢组学概述

代谢组学是继转录组学、蛋白组学和基因组学之后的新兴“组学”,由英国 Nicholson 教授于 1999 年将其定义为:“生物系统对病理生理刺激或遗传修饰的动态多参数代谢反应的定量测量”,代谢组学通过检测生物体在受到外源刺激或基因修饰后机体内所有代谢物质的变化,从而探索整个生物体的代谢机制变化。其研究对象主要为生物体内小分子代谢物(分子量 $<1000$  Da)<sup>[22]</sup>。代谢组学研究主要通过运用现代分析技术定量地测定生物体在不同状态下(如生理病理状态)参与物质传递、能量代谢和信息传导等代谢调控的小分子代谢物质即代谢物组的变化,然后利用模式识别将这种应答与体内生物学事件关联起来,进而定位事件发生的靶器官或确定该事件的生物标记物,揭示生物体在特定时间、环境下整个机体的功能状态<sup>[23]</sup>。故代谢组学研究不仅能体现生物体体内内源性代谢途径的改变,还包括来自饮食、环境和微生物组等的外源性因素的影响,这种整合内源性和外源性变化的能力显示了代谢组学在复杂疾病,尤其是饮食、环境等外源性因素参与疾病发生发展研究中的重要优势。代谢组学的研究过程主要包括生物样品采集和预处理、数据采集和分析解释、代谢途径分析等三个主要的步骤。由于代谢组学研究的内源性小分子代谢物位于人体代谢途径下游,可以更全面准确表达特定时间、环境下生物体代谢状态,所以代谢组学在各种疾病的诊断、预防、机制研究等方面的研究得到广泛关注<sup>[24]</sup>。因此,代谢组学用于泌尿系结石方面的研究将为泌尿系结石病因,早期诊断、预防及术后随访提供重要思路。接下来,本文将进一步介绍代谢组学研究的三个主要步骤,及其在泌尿系结石中的研究现状。

### 1.2 生物样品的采集和预处理

目前代谢组学涉及的生物样品主要包括血液、尿液、培养液、组织或细胞等。对生物样品进行全面的分析前,往往需要根据不同的实验对象、分析平台等对生物样品进行预处理。处理方法主要包括冷冻、沉淀、萃取、化学衍生等。如对细胞和组织来说,许多重要的代谢物会在几秒钟内自然转化。因此,要获得准确的代谢概况,需要几乎立即停止代谢活动,处理方法包括冷冻或酶变性。如对于基于液相色谱-质谱的方法,通常使用有机提取液对样品进行沉淀,沉淀出蛋白质并停止代谢,同时将感兴趣的代谢物保留在溶液中。提取后的上清液通过干燥步骤进行浓缩,或者直接注入液相色谱-质谱联用仪。对于气相色谱-质谱联用仪,由于样品在高温下蒸发并在气相中进行色谱分离,样品制

备通常需要在分析前进行化学衍生。

### 1.3 数据采集和分析平台

代谢物鉴定是代谢组学研究中的关键步骤。目前代谢组学研究平台三种最常用的代谢物鉴定技术是核磁共振、液相色谱-质谱、气相色谱-质谱。核磁共振利用选定原子核(如  $^1\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ )的磁性来确定生物样品中代谢物的结构和丰度,适用于检测所有含有氢原子的化合物。另外,还有用于研究固态基质(组织或完整细胞)的魔角旋转核磁共振方法<sup>[25]</sup>。质谱根据电离分子的质荷比来测量物质。为了通过质谱检测,液体提取物必须被离子化,通常是使用相应的质谱分析仪完成,常用的分析仪有电喷雾、飞行时间(TOF)和四极杆等。色谱通过在色谱柱上物理分离分析物,色谱增强了代谢组学的覆盖范围并提高了质谱分析的准确度。因而色谱和质谱通常联合运用,如气相色谱-质谱或液相色谱-质谱。气相色谱要求分析物蒸发,并根据它们在气相(“流动相”)和色谱柱内部的液相(“固定相”)之间的分配来分离它们。液相色谱根据代谢物在溶剂和填充在柱内的微米级颗粒之间的分配来分离代谢物。其他方法包括直接进样、毛细管电泳质谱、二极管阵列检测器、红外和拉曼光谱等。不同分析平台具有不同的优缺点,Wishart 等<sup>[26]</sup>系统总结了三种主要分析方法的优缺点(表 1)。尽管目前的分析技术并不是最准确的,但基本上能够满足目前代谢组学研究的要求。

由于目前代谢组学研究中应用的分析技术的敏感性以及生物样品的复杂性,数据分析时往往需要进行多变量数据分析,以同时考虑所有检测到的代谢物。主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)是代谢组学研究中最常用的多变量方法,其他多元分析方法如聚类分析降低高维数据的复杂性,分层聚类分析(HCA)可以揭示类别之间的差异。方差分析和  $t$  检验等往往用于单变量分析。不同研究方法原理及适用范围可参考文献<sup>[27-28]</sup>。

### 1.4 数据处理软件及常用数据库

数据分析过程中往往需要将原始核磁共振谱、质谱、色谱数据转换成相应的代谢物定性定量分析。由于代谢组学数据的复杂性,这一过程由相应的数据分析处理软件及通过搜索相应的数据库来完成。目前开发的软件,能实现数据预处理,数据注释,峰提取,代谢物识别等一系列分析过程。针对不同的数据平台,开发有不同的处理软件,如处理核磁共振平台数据的 rNMR,处理质谱数据的 LipidPro,还有针对不同数据类型的处理软件,如处理数据格式、数据缺失值等。常用的软件如 MATLAB(MathWorks)、AMDIS、XCMS、MetaboAnalyst 等。对代谢物鉴定使用的代谢物库包括

HMBD、MassBank、METLI、LipidMaps、Metabolomics Workbench 等。目前开发的软件及数据库已达数百种,具体每一种处理软件下载地址、运用

范围、优缺点等不是本文叙述的重点,推荐参考文献[29-32]。

表 1 不同代谢组学技术的比较

| 技术     | 优点   | 缺点   |
|--------|--|--|
| 核磁共振   | 定量分析<br>不破坏样本<br>快速(每个样品 2~3 min)<br>不需要衍生化<br>无需分离<br>能检测大多数有机类<br>允许识别新的化学物质<br>可识别大多数的光谱特征<br>强大、成熟的技术<br>可用于代谢物成像(fMRI 或 MRS)<br>可以完全自动化分析<br>兼容液体和固体<br>仪器使用寿命长(超过 20 年)          | 不敏感(LOD=5 μmol/L)<br>启动成本高(100 万美元)<br>仪器占地面积大<br>无法检测或识别盐和无机离子<br>无法检测非质子化合物<br>需要更大的样品量(0.1~0.5 mL)  |
| 气相色谱质谱 | 强大、成熟的技术<br>启动成本适中(约 15 万美元)<br>定量分析(能校准)<br>样品体积适中(0.1~0.2 mL)<br>良好的灵敏度(LOD=0.5 μmol/L)<br>开发有大量的软件和数据库供代谢物鉴定<br>检测大多数有机分子和一些无机分子<br>良好的分离重现性<br>可识别大部分光谱特征<br>大部分可以自动化分析<br>兼容气体和液体 | 破坏样本(样本不可恢复)<br>要求样本衍生化<br>需要分离<br>慢速(每个样品 20~40 min)<br>不能用于成像<br>无法兼容固体<br>新化合物的识别比较困难   |
| 液相色谱质谱 | 极高的灵敏度(LOD=0.5 nmol/L)<br>非常灵活的技术<br>能检测大多数有机分子和一些无机分子<br>样本量小(10~100 μL)<br>可用于代谢物成像(MALDI 或 DESI)<br>无需分离即可完成(直接注射)<br>具有检测大部分的代谢物的潜力<br>大部分可以自动化分析<br>兼容固体和液体                       | 破坏性(样本不可恢复)<br>不定量<br>启动成本较高(30 万美元)<br>慢速(每个样品 15~40 min)<br>通常需要分离<br>与气相色谱质谱相比,分离分辨率差、重现性低<br>仪器稳定性不如核磁共振或气相色谱质谱<br>与气体不兼容<br>大多数光谱特征尚无法识别<br>新化合物的识别比较困难<br>仪器寿命短(9 年) |

## 2 代谢组学在泌尿系结石中的研究现状

目前对于泌尿系结石代谢组学的研究比较有限,大部分集中在尿液代谢组学研究方面,且大部分研究关注的是结石事件发生后尿液中小分子代谢物的变化情况及代谢物涉及的代谢通路,这些研究将为泌尿系结石病因、早期诊断、预防及术后随访提供重要思路。

### 2.1 泌尿系结石动物模型

在泌尿系结石代谢组学研究动物模型方面, Garcia-Perez 等<sup>[33]</sup>通过运用核磁共振波谱结合毛细管电泳-紫外检测技术,分析普通小鼠与 slc26a6(氯化物-草酸盐交换体)缺失小鼠尿液中代谢物的差异,发现交换体缺失组小鼠尿液中草酸、间羟基苯丙基硫酸酯(m-HPPS)、三甲胺-N-氧化物、乙醇

酸和肌醇含量升高,而马尿酸、牛磺酸、三甲胺和柠檬酸含量降低,这项研究主要探讨交换体功能缺失,导致草酸代谢异常小鼠模型尿液中代谢物的变化情况,但作者并未进一步分析相应代谢物所涉及的代谢通路情况。Gao 等<sup>[34]</sup>利用羟脯氨酸诱导的大鼠草酸钙结石模型,分析草酸钙结石大鼠模型尿液及血清代谢物的变化情况,采用超高效液相-四极杆飞行时间串联质谱(UPLC-Q-TOF/MS)的方法,鉴别出尿液中 42 种、血液中 13 种重要的差异代谢物。涉及氨基酸代谢、牛磺酸代谢、胆汁酸合成、能量代谢、柠檬酸循环(TCA 循环)、嘌呤代谢、维生素代谢、烟酸、烟酰胺代谢等代谢途径。Chao 等<sup>[35]</sup>利用代谢组学的分支——脂质组学,研究腹腔注射乙醛酸盐诱导的小鼠肾结石模型,分析该模型小鼠血清及肾脏脂类的变化,采用 UPLC-Q-TOF/MS 的方法,分别在肾脏和血清中筛选了 179 和 196 种不同的脂代谢产物,包括脂酰、甘油磷脂、鞘脂、甘油磷脂和孕烯醇酮脂类等,其中涉及的部分脂类与炎症反应、氧化应激等与结石的形成密切相关,其研究有助于我们探讨肾结石与炎症反应、氧化应激等代谢通路的关系,揭示与结石形成相关的脂质代谢变化情况。王学雷等<sup>[36]</sup>利用腹腔注射乙醛酸盐诱导的小鼠草酸钙结晶肾损伤模型,分析草酸钙结晶造成的肾损伤过程中尿液中内源性代谢物的变化情况,采用基于 UPLC-Q-TOF/MS 的方法从对照组与实验组小鼠尿液中筛选出 21 个差异代谢物,主要涉及氨基酸代谢、能量代谢、牛磺酸和次牛磺酸代谢、嘌呤代谢和维生素 B6 代谢,其研究为泌尿系结石发病机制研究以及早期生物标志物的筛选提供了重要思路,但并未进一步阐明。同样,Gao 等<sup>[37]</sup>、Chen 等<sup>[38]</sup>、赖丽常等<sup>[39]</sup>、刘晓晨等<sup>[40]</sup>均使用相似的方法对小鼠肾结石模型代谢组学方面进行了研究,发现相应代谢物的差异,并探讨了背后涉及的代谢通路。

## 2.2 泌尿系结石患者生物标志物的研究

目前代谢组学在泌尿系结石患者方面的研究比较有限。Duan 等<sup>[41]</sup>研究健康儿童及肾结石儿童(部分有三聚氰胺暴露史)的尿液,运用 UPLC-Q-TOF/MS 的方法,发现 7 种代谢物在健康儿童和三聚氰胺暴露患儿尿液中有显著差别,认为次黄嘌呤可作为三聚氰胺肾结石的尿液标志物,同时发现有 4 种成分在健康儿童和肾结石儿童中有差异,与患者是否接触三聚氰胺无关联。这项主要针对三聚氰胺暴露儿童结石形成的研究,发现了三聚氰胺结石患者尿液潜在的生物学标记物。高瑶等<sup>[42]</sup>利用高效液相色谱/电喷雾飞行时间质谱的联用技术(HPLC-ESI-TOF/MS)分析健康人与结石患者尿液样本,发现健康人群与结石患者之间 780 种代谢物的差异,该研究建立了泌尿系结石的尿液代谢

组学模型,用于泌尿系结石的快速预测和诊断,但该研究没有对相关差异代谢物所涉及的代谢通路进一步分析。而 Wang 等<sup>[43]</sup>运用 UPLC-Q-TOF/MS 的方法,分析 36 位健康人及 36 位双侧上尿路结石患者的尿液标本,鉴定出 18 种差异代谢物,涉及 11 种代谢途径,发现其中最相关的代谢途径是涉及咖啡因、苯丙氨酸、半乳糖和酪氨酸等代谢途径,研究结果可为草酸钙结石患者的新治疗靶点提供潜在的理论基础。同样,Duan 等<sup>[44]</sup>利用核磁共振法分析 106 例健康人群和 110 例肾结石患者尿液,共鉴定出 15 种差异代谢物,其中 4 条代谢途径与肾结石密切相关,包括乙醛酸和二羧酸盐代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、苯丙氨酸代谢和柠檬酸循环(TCA 循环),且认为与能量稳态、氨基酸代谢、氧化应激(OS)和肠道菌群平衡相关的肌酐、柠檬酸、甘氨酸、马尿酸和乙醇酸是肾结石形成的潜在生物标志物。张优、马超等<sup>[45-46]</sup>也均用相似的方法研究结石患者尿液中的代谢物差距,并分析了涉及的代谢通路。

综上,目前对于泌尿系结石代谢组学方面的研究主要集中于结石事件后生物样本中代谢物种类的变化,通过对差异代谢物的进一步分析,揭示代谢物背后所涉及的代谢通路,提出结石形成的潜在机制。综合目前的研究来看,泌尿系结石形成往往与体内氨基酸代谢、能量代谢及核酸代谢等异常相关,相关代谢途径的改变,导致体液分子中异常物质的增多,从而促进结石的形成。但目前的研究较表浅,如大部分研究集中于体液中代谢物的改变情况以及相关代谢物背后涉及的代谢通路,从而推断其与结石之间的关联性,及相关代谢物作为分子生物标志物的潜力,对进一步验证相关代谢通路与结石形成的机制研究仍处于探索阶段。

## 3 展望

目前代谢组学的研究方法及技术已经有了较大的发展,但仍有一定局限性,如代谢组学涉及的数据的庞大、研究技术及数据分析的复杂性等,数据分析是一个大难题,从复杂的数据中分析出有意义的代谢变化仍是一个具有挑战性的任务,且目前还没有完整的人类代谢组和其他生物代谢组的数据库,因此,经常会遇到未知代谢物,这是代谢组学分析和解释中的一个复杂问题。同样,缺乏可供参考的所有已知代谢物的核磁共振谱或质谱,使得准确识别代谢物仍具有挑战性<sup>[47]</sup>,且目前代谢组学研究只能揭示病理生理状态下整体的代谢变化,及背后涉及的代谢通路,对疾病的确切病因及相关机制等的研究还要结合其他研究方法。接下来,代谢组学的发展主要包括数据分析平台的进一步完善、数据分析处理步骤的进一步规范化、相应数据库的完善、以及多组学技术的联合等。其中

多组学技术联合的发展在探讨疾病机制方面更加迫切,利用代谢组学发现代谢物的变化,结合基因组学、转录组学、蛋白组学等技术,全面分析相应代谢物及其通路中基因及蛋白的变化规律,将更好地帮助我们理解相关代谢通路所发生的改变,为研究复杂疾病的病理生理机制提供新方法。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] Kittanamongkolchai W, Vaughan LE, Enders FT, et al. The Changing Incidence and Presentation of Urinary Stones Over 3 Decades [J]. *Mayo Clin Proc*, 2018, 93(3):291-299.
- [2] Scales CD Jr, Smith AC, Hanley JM, et al. Prevalence of kidney stones in the United States [J]. *Eur Urol*, 2012, 62(1):160-165.
- [3] Zeng GH, Mai ZL, Xia SJ, et al. Prevalence of kidney stones in China: an ultrasonography based cross-sectional study [J]. *BJU Int*, 2017, 120(1):109-116.
- [4] Rule AD, Lieske JC, Li X, et al. The ROKS nomogram for predicting a second symptomatic stone episode [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25 ( 12 ): 2878-2886.
- [5] Fink HA, Wilt TJ, Eidman KE, et al. Medical management to prevent recurrent nephrolithiasis in adults: a systematic review for an American College of Physicians Clinical Guideline [J]. *Ann Intern Med*, 2013, 158(7):535-543.
- [6] 王友铭,许长宝,王晓甫,等.河南省泌尿系结石住院患者流行病学特点及分析 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2021, 36(6):458-463.
- [7] 魏汉平,焦志敏,刘晓武,等.江苏常州 885 例泌尿系结石成分特点及与患者临床特征的关系 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2020, 35(10):791-794,799.
- [8] Romero V, Akpınar H, Assimos DG. Kidney stones: a global picture of prevalence, incidence, and associated risk factors [J]. *Rev Urol*, 2010, 12(2-3):e86-e96.
- [9] 王施广,王娟,王振,等.泌尿系结石的流行病学研究进展 [J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16 ( 3 ): 597-600,592.
- [10] Ghani KR, Roghmann F, Sammon JD, et al. Emergency department visits in the United States for upper urinary tract stones: trends in hospitalization and charges [J]. *J Urol*, 2014, 191(1):90-96.
- [11] Antonelli JA, Maalouf NM, Pearle MS, et al. Use of the National Health and Nutrition Examination Survey to calculate the impact of obesity and diabetes on cost and prevalence of urolithiasis in 2030 [J]. *Eur Urol*, 2014, 66(4):724-729.
- [12] Shang W, Li L, Ren Y, et al. History of kidney stones and risk of chronic kidney disease: a meta-analysis [J]. *PeerJ*, 2017, 5:e2907.
- [13] El-Zoghby ZM, Lieske JC, Foley RN, et al. Urolithiasis and the risk of ESRD [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(9):1409-1415.
- [14] Aune D, Mahamat-Saleh Y, Norat T, et al. Body fatness, diabetes, physical activity and risk of kidney stones: a systematic review and meta-analysis of cohort studies [J]. *Eur J Epidemiol*, 2018, 33 ( 11 ): 1033-1047.
- [15] Sancak EB, Reşorlu M, Akbas A, et al. Do Hypertension, diabetes mellitus and obesity increase the risk of severity of nephrolithiasis? [J]. *Pak J Med Sci*, 2015, 31(3):566-571.
- [16] Wong Y, Cook P, Roderick P, et al. Metabolic Syndrome and Kidney Stone Disease: A Systematic Review of Literature [J]. *J Endourol*, 2016, 30 ( 3 ): 246-253.
- [17] Zampini A, Nguyen AH, Rose E, et al. Defining Dysbiosis in Patients with Urolithiasis [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):5425.
- [18] Parks JH, Coe FL, Evan AP, et al. Urine pH in renal calcium stone formers who do and do not increase stone phosphate content with time [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24(1):130-136.
- [19] Pearle MS, Goldfarb DS, Assimos DG, et al. Medical management of kidney stones: AUA guideline [J]. *J Urol*, 2014, 192(2):316-324.
- [20] Skolarikos A, Straub M, Knoll T, et al. Metabolic evaluation and recurrence prevention for urinary stone patients: EAU guidelines [J]. *Eur Urol*, 2015, 67(4):750-763.
- [21] Milose JC, Kaufman SR, Hollenbeck BK, et al. Prevalence of 24-hour urine collection in high risk stone formers [J]. *J Urol*, 2014, 191(2):376-380.
- [22] Nicholson JK, Lindon JC, 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):1181-1189.
- [23] 黄晓晨,宿树兰,郭建明,等.代谢组学在中医药若干科学问题研究中的应用与思考 [J]. *中草药*, 2014, 45 ( 2 ): 147-153.
- [24] 王翔宇,王苗苗,肖荆,等.泌尿系结石代谢组学研究进展 [J]. *现代泌尿外科杂志*, 2019, 24(3):242-245.
- [25] Chauton MS, Storseth TR, Johnsen G. High-resolution magic angle spinning 1H NMR analysis of whole cells of *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae): broad range analysis of metabolic composition and nutritional value [J]. *J Appl Phycol*, 2003, 15 ( 6 ): 533-542.
- [26] Wishart DS. Emerging applications of metabolomics in drug discovery and precision medicine [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(7):473-484.
- [27] Worley B, Powers R. Multivariate Analysis in Metabolomics [J]. *Curr Metabolomics*, 2013, 1 ( 1 ): 92-107.
- [28] Szymańska E, Saccenti E, Smilde AK, et al. Double-

- check; validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies [J]. *Metabolomics*, 2012, 8(Suppl 1): 3-16.
- [29] Misra BB, van der Hoof J. Updates in metabolomics tools and resources; 2014-2015 [J]. *Electrophoresis*, 2016, 37(1): 86-110.
- [30] Spicer R, Salek RM, Moreno P, et al. Navigating freely-available software tools for metabolomics analysis [J]. *Metabolomics*, 2017, 13(9): 106.
- [31] O'Shea K, Misra BB. Software tools, databases and resources in metabolomics: updates from 2018 to 2019 [J]. *Metabolomics*, 2020, 16(3): 36.
- [32] Misra BB, Mohapatra S. Tools and resources for metabolomics research community: A 2017-2018 update [J]. *Electrophoresis*, 2019, 40(2): 227-246.
- [33] Garcia-Perez I, Villaseñor A, Wijeyesekera A, et al. Urinary metabolic phenotyping the *slc26a6* (chloride-oxalate exchanger) null mouse model [J]. *J Proteome Res*, 2012, 11(9): 4425-4435.
- [34] Gao S, Yang R, Peng Z, et al. Metabolomics analysis for hydroxy-L-proline-induced calcium oxalate nephrolithiasis in rats based on ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 30142.
- [35] Chao Y, Gao S, Wang X, et al. Untargeted lipidomics based on UPLC-QTOF-MS/MS and structural characterization reveals dramatic compositional changes in serum and renal lipids in mice with glyoxylate-induced nephrolithiasis [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 1095: 258-266.
- [36] 王学雷, 晁玉凡, 高松燕, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 平台的结晶肾损伤小鼠的尿液代谢组学研究 [J]. *药学实践杂志*, 2019, 37(2): 126-134.
- [37] Gao S, Chen W, Peng Z, et al. Urinary metabolomics elucidate the therapeutic mechanism of *Orthosiphon stamineus* in mouse crystal-induced kidney injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 166: 323-332.
- [38] Chen W, Liu WR, Hou JB, et al. Metabolomic analysis reveals a protective effect of Fu-Fang-Jin-Qian-Chao herbal granules on oxalate-induced kidney injury [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(2): BSR20181833.
- [39] 赖丽嫦, 陈丰连, 王术玲, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 的广金钱草水提物抗肾草酸钙结石大鼠的血清代谢组学研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(8): 950-959.
- [40] 刘晓晨. 金钱草和广金钱草中黄酮类化合物的鉴定比较及基于体内成分分析的金钱草抗大鼠肾草酸钙结石作用机制研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2019.
- [41] Duan H, Guan N, Wu Y, et al. Identification of biomarkers for melamine-induced nephrolithiasis in young children based on ultra high performance liquid chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry (U-HPLC-Q-TOF/MS) [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2011, 879(30): 3544-3550.
- [42] 高瑶, 林东红, 陈敏, 等. 基于液相色谱/电喷雾飞行时间质谱技术的结石症尿液代谢组学探讨 [J]. *分析试验室*, 2015, 34(6): 625-629.
- [43] Wang X, Wang M, Ruan J, et al. Identification of urine biomarkers for calcium-oxalate urolithiasis in adults based on UPLC-Q-TOF/MS [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2019, 1124: 290-297.
- [44] Duan X, Zhang T, Ou L, et al. <sup>1</sup>H NMR-based metabolomic study of metabolic profiling for the urine of kidney stone patients [J]. *Urolithiasis*, 2020, 48(1): 27-35.
- [45] 张优, 卢宏涛, 谌卫, 等. 肾结石患者行输尿管镜术后尿液代谢产物轮廓分析 [J]. *上海医学*, 2015, 38(5): 409-414.
- [46] 马超. 含钙肾结石病人血和尿液代谢组学研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2018.
- [47] Wishart DS, Tzur D, Knox C, et al. HMDB: the Human Metabolome Database [J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(Database issue): D521-D526.

(收稿日期: 2020-09-07)

(上接第 73 页)

- [32] Rini BI, Motzer RJ, Powles T, et al. Atezolizumab plus Bevacizumab Versus Sunitinib for Patients with Untreated Metastatic Renal Cell Carcinoma and Sarcomatoid Features: A Prespecified Subgroup Analysis of the IMmotion151 Clinical Trial [J]. *Eur Urol*, 2021, 79(5): 659-662.
- [33] Powles T, Plimack ER, Soulières D, et al. Pembrolizumab plus axitinib versus sunitinib monotherapy as first-line treatment of advanced renal cell carcinoma (KEYNOTE-426): extended follow-up from a randomised, open-label, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(12): 1563-1573.
- [34] Choueiri TK, Powles T, Burotto M, et al. Nivolumab plus Cabozantinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(9): 829-841.
- [35] Choueiri TK, Larkin J, Pal S, et al. Efficacy and correlative analyses of avelumab plus axitinib versus sunitinib in sarcomatoid renal cell carcinoma: post hoc analysis of a randomized clinical trial [J]. *ESMO Open*, 2021, 6(3): 100101.

(收稿日期: 2021-08-27)