

药物代谢组学在肿瘤诊治中的应用与研究进展

文柳静*, 王晨

(天津医科大学肿瘤医院, 天津市肿瘤防治重点实验室, 天津 300060)

摘要 随着代谢组学和现代分析技术、生物信息学技术的不断发展, 药物代谢组学在肿瘤诊治方面的应用也日益成为研究热点, 特别是在肿瘤药物疗效判断、毒性作用、耐药预测、个性化用药以及肿瘤标志物发现上有着重要作用。本文就药物代谢组学的概念、研究方法及其在肿瘤诊治中的应用等方面的研究进展进行综述。

关键词 代谢组学; 药物代谢组学; 肿瘤; 耐药; 毒性; 个性化用药

中图分类号 R969 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2015)04-0400-06
doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150403

Application and research progress of pharmaco-metabonomics in the diagnosis and treatment of tumor

WEN Liujing*, WANG Chen

Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Treatment, Tianjin Medical University Cancer Institute & Hospital, Tianjin 300060, China

Abstract With the development of metabolomics and modern instrumental analysis and bioinformatics, pharmaco-metabonomics has been rapidly put into the diagnosis and treatment of tumor, with a particularly important role in the evaluation and prediction of efficacy, toxicity and resistance of anti-tumor drugs, individualized medication and detection of tumor markers. This paper reviews the concept and methodologies of pharmaco-metabonomics, as well as the latest research advances of pharmaco-metabonomics in the diagnosis and treatment of tumors.

Key words metabonomics; pharmaco-metabonomics; tumor; drug resistance; toxicity; individualized medication

药物代谢组学(pharmaco-metabonomics)是在后基因时代和系统生物学的背景下,以代谢组学为平台,并与药学紧密交叉且有机结合而形成的一门新兴学科。它依托现代分析技术、化学计量学和生物信息学技术,通过分析比较给药前后生物体液中小分子代谢物轮廓的改变,进行药物疗效和毒性的评价和预测^[1]。在肿瘤的发生及进展中,肿瘤细胞中的微小变化都会引起代谢物的“延增效应”,产生大量的代谢物^[2],而这些小分子的产生和代谢是这一系列事件的最终结果,它能够更准确地反映生物体系的状态^[3]。因此,药物代谢组学在肿瘤诊治、药物使用安全和预后评价中的作用越来越受到关注。本文就药物代谢组学的概念、研究方法及其在肿瘤诊治中的应用等方面的研究进展进行综述。

1 代谢组学和药物代谢组学的概念

1999年,英国学者 Nicholson等^[4]将代谢组学(metabolomics)定义为:以动物的体液和组织为研究对象,运用核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)、色谱、质谱(mass spectrometry, MS)等分析技术,研究生物体对病理生理刺激或基因修饰产生的代谢物质如糖、脂质、氨基酸、维生素等的质和量的动态变化,它关注的对象是相对分子质量在1 000以下的小分子化合物。2000年,德国学者 Fiehn等^[5]将代谢组学定位为一个静态的过程,也可称为“代谢物组学”,即对限定条件下的特定生物样品中所有代谢产物的定性定量分析,并按照研究目的不同,将生物体系的代谢产物分析分为4个层次,即代谢物靶标分析(metabolite target

analysis)、代谢轮廓(谱)分析(metabolic profiling analysis)、代谢指纹分析(metabolic fingerprinting analysis)和代谢组学分析(metabolomics analysis)。随着代谢组学的发展,Clayton 等^[6]于 2006 年提出了药物代谢组学的概念:借助代谢组学技术平台,通过对个体给药前代谢物所包含的信息研究,预测个体对药物的代谢和毒性反应及其差异。药物代谢组学从系统生物学的角度,通过研究药物引起的内源性代谢物的动态变化,能够直接反映体内生物化学过程和状态变化,进而有助于在整体水平了解药物作用及其与内源性物质变化的关联^[7],从而阐明药物的药效、作用机制和毒性进行预测。近年来,药物代谢组学在肿瘤诊治中的研究越来越广泛,特别是在肿瘤药物疗效判断、毒性作用、耐药预测、个性化用药以及肿瘤标志物发现上发挥重要作用。

2 药物代谢组学的研究方法

药物代谢组学的分析流程主要包括:生物样品的采集与前处理、样品的制备和数据的采集、分析及解释等步骤。

2.1 生物样品的采集与前处理

生物样品来自生物体液如唾液、眼泪、呼出空气、脑脊液、支气管肺泡灌洗液、胆汁、乳液、细胞提取物及组织提取液,其中血液和尿液最为常用。一般液体生物样品(尿液、血液、唾液)的采集量为毫升级,固体生物样品(组织、器官)的采集量为毫克级,细胞培养样品按细胞数计为 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 级。为减少活性酶的影响,一般采取快速改变样本温度或 pH 来实现实代谢灭活^[8]。目前生物样品的提取方法主要包括液液萃取、冷冻干燥、加速溶剂萃取、超声波萃取、固相萃取、固相微萃取等,其中以预冷(-20 ℃ 或 4 ℃)甲醇、甲醇-氯仿(3:1)液液萃取最为常用。Schaub 等^[9]通过建立样本快速转移、灭活和定量化提取流程,有效提高了生物样品的回收率、准确性和重复性。

2.2 生物样品的制备

根据不同的实验目的、样品种类和数据分析仪器,样品的提取制备步骤有所不同^[10-11]。比如,采用 NMR 为数据采集手段时,对样品制备要求相对简单,样品一般只需要加入缓冲盐溶液调节 pH,以减少酸碱度变化造成的化学位移偏差;若以气质联

用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 技术采集数据,样品在进样前需要做复杂的衍生化处理,最常用的是甲氧基胺肟化结合氮-甲基-氮-(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(MSTFA) 硅烷化的两步衍生化法,以降低待测物的沸点、提高稳定性、增强质谱响应、调节色谱行为;若以液质联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 技术采集数据,需要在样品中加入有机试剂或过滤膜以除去大分子蛋白^[1]。

2.3 数据采集和处理

代谢组学的数据采集和处理分析技术主要包括 NMR、MS 以及与气相、液相及毛细管电泳质谱联用技术,这些技术各有优缺点,互为补充。NMR 技术样品预处理简单、无损伤性、无偏向性,但灵敏度低、分辨率差^[12]。MS 技术灵敏度强、专一性高、有标准谱图库,但选择性低、识别力差、离子化程度易波动等^[13]。因此,MS 常与其他色谱技术联用,如气相色谱-质谱(GC-MS)、液相色谱-质谱(LC-MS)、超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)、高分辨气相色谱-飞行时间质谱(gas chromatography time of flight mass spectrometry, GC-TOF/MS)、超高效液相色谱/高分辨飞行时间质谱技术(UPLC/TOF-MS)、傅里叶变换离子回旋共振技术(FT-ICR)、直接输注大气压电离化质谱技术(DIMS) 等^[14]。目前,LC-MS/MS 技术是药物代谢组学的重要工具,主要包括串联质谱系统(MS/MS 或 MSⁿ 技术)、信息依赖扫描(IDA) 和能量相关二级质谱(MS^E) 数据采集方法。其中,串联质谱系统有子离子扫描、母离子扫描、中性丢失扫描和多反应监测或选择反应监测 4 种数据采集方式。

2.4 数据分析及解释

代谢组学的数据分析是指将海量多维和分散的谱学数据进行提取、峰对齐、去噪等处理,通过整理、转换、统计、输出,最终解释其生物学意义。分析方法主要包括主成分分析(principal component analysis, PCA)、非线形映射(non linear mapping, NLM) 和聚类分析(cluster analysis, CA) 等非监督分类方法,以及显著性分析(discriminant analysis, DA)、独立建模分类法(SIMCA)、偏最小二乘法(PLS) 和偏最小二乘法显著性分析(PLS-DA) 等监督分类方法^[15]。为了快速对代谢物进行鉴定,提高数据分析效率,研究人员建立了代谢组学分析数

数据库[如美国国家健康研究院(NIH)数据库和人类代谢数据库(HMDB)等],目前数据库包含的代谢条目已超过7 900 条^[16]。

3 药物代谢组学在肿瘤诊治中的应用

3.1 药物代谢组学在肿瘤治疗效果评价中的应用

手术切除肿瘤病灶和放化疗治疗,体内肿瘤的负荷明显下降,代谢谱也会发生变化,可以通过药物代谢组学来判断肿瘤患者的手术、放化疗效果。Feng 等^[17]采用反相高效液相色谱法检测 52 例结直肠癌患者术前 1 d 与术后 8 d 尿中 14 种正常与修饰核苷水平,同时以 62 例健康志愿者作为对照组,结果发现 40 例结直肠癌患者的假尿嘧啶核苷(Pseu)、1-甲基腺苷(m1A)、2,2-二甲基鸟苷(m22G)等在根治性手术后 8 d 显著降低,说明尿核苷在结直肠癌诊断和手术疗效评价中有临床实用价值。Ma 等^[18]采用 GC-MS 与模式识别技术(pattern recognition technique)对 30 例结直肠癌患者手术前后的血清进行检测分析,结果发现术后患者血清中的 L-缬氨酸、1-脱氧葡萄糖等 7 种代谢物的含量下降,而 L-酪氨酸上升,提示药物代谢组学可以作为结肠癌患者预后和手术疗效评价的重要技术。Wibom 等^[19]采用立体定向显微透析法收集胶质母细胞瘤患者放疗前、后 5 d 内瘤组织及毗邻脑组织的细胞外液,发现代谢物具有显著差异。化疗药物作用于机体后,代谢物的变化先于可测得的临床或病理变化,提示代谢物监测可用于早期判断化疗疗效,调整化疗方案。Kim 等^[20]连续 5 d 对小鼠人胃癌移植瘤模型行阿霉素腹腔注射,利用 NMR 检测分析治疗前和治疗后 2、5 d 的尿液,结果显示治疗后尿液中氧化三甲胺、马尿酸和牛磺酸的含量显著升高,而 2-酮戊二酸、三甲胺、柠檬酸等物质的含量则明显降低,提示药物代谢组学可以反映阿霉素的抗肿瘤效果,指导临床用药。Pan 等^[21]发现暴露于顺铂后的 4 种脑肿瘤细胞株的葡萄糖胺(UDP-GlcNAc)和尿苷二磷酸-N-乙酰基半乳糖胺(UDP-GalNAc)的含量较暴露前明显增加,而对顺铂无响应的细胞株中的代谢物则无明显变化,提示该方法可以作为提示肿瘤细胞增殖和恶性转移的重要依据。

3.2 药物代谢组学在肿瘤药物安全性评价中的应用

在治疗疾病的同时,化疗药物亦引起机体功能

损害,可以利用药物代谢组学技术分析血液或尿液的代谢物变化,反映药物对器官的毒性,从而监测药物的不良反应。Nakayama 等^[22]将 14 例胃癌和 8 例结直肠癌术后患者分为 S-1(含替加氟、奥替拉唑和 5-氯-2,4-羟吡啶)治疗组和其他药物(尿嘧啶/替加氟或去氧氟尿苷)治疗组,用 HPLC 法测定尿中二氢尿嘧啶(UH2)、尿嘧啶(Ura)水平,并监测氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)严重毒性反应以判断二氢嘧啶脱氢酶(DPD)是否存在缺陷,结果发现尿中 Ura 和 UH2/Ura 能准确预测 DPD 的缺乏,避免使用 5-Fu 带来的不良反应。Backshall 等^[23]运用¹H NMR 技术,对 54 例使用卡培他滨的结直肠癌患者治疗前后的血浆进行代谢特征分析,发现低密度脂蛋白衍生脂质含量与治疗期间的药物毒性呈正相关。Fan 等^[24]运用 NMR 技术,发现厄罗替尼药物依赖和非依赖型肺肿块代谢产物不同,并在蛋白和磷脂相关性降解的细支气管肺泡腺癌(bronchioloalveolar carcinoma, BAC)进展中发挥作用。Paleari 等^[25]通过细胞增殖分析、荧光激活细胞分类等技术,对经乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制剂 polymeric alkylpyridinium salts(Poly-APS)治疗的非小细胞肺癌(NSCLC)患者的活检标本和 NSCLC 细胞株进行分析,结果显示 Poly-APS 对 NSCLC 的细胞有选择性的细胞毒性,对正常的细胞和组织没有明显毒性。田亚平等^[26]基于 RRLC-MS/MS 技术的快速发现与识别药物原型成分和代谢产物的整合性分析方法,并采用该方法开展了抗肿瘤候选新药 S-(+)-去氧娃儿藤宁碱(CAT)在正常大鼠与 Walker 256 肿瘤模型大鼠中的代谢特异性及其代谢产物分析研究,结果筛选出 3 个与 CAT 药效作用相关的内源性代谢物和 2 个与 CAT 毒性作用相关的内源性代谢物。

3.3 药物代谢组学在肿瘤细胞耐药性评价中的应用

肿瘤细胞在产生耐药后,耐药细胞在蛋白、半胱氨酸合成通路、谷氨酰胺、苯丙氨酸、氨循环等代谢通路显著增强,可以通过药物代谢组学检测细胞的代谢变化和对药物的反应,及早监测耐药情况。Lutz 等^[27]分别将长春新碱、地尔硫草和 a-2b 干扰素作用于 2 株不同的人肾癌细胞系(KTCTL-2 和 KTCTL-26),结果发现耐药性较强的 KTCTL-2 细胞磷酸二酯酶水平低于耐药性相对较弱的 KTCTL-26

细胞,KTCTL-26 细胞的甘油磷酞乙醇胺水平高于 KTCTL-2 细胞,提示细胞磷酸盐代谢产物的变化可能与肿瘤耐药机制有关。Kominsky 等^[28]应用 NMR 和 GS 研究发现,当使用伊马替尼时,肿瘤敏感细胞株中葡萄糖摄入以及乳酸盐产生减少,氧化性的三羧酸循环得到改善,而在耐药细胞中,仍然保持较高的糖酵解代谢表型。通过葡萄糖-6-磷酸脱氢酶氧化¹³C-葡萄糖合成的 RNA 核糖下降,而经非氧化的转羟乙醛酶途径合成 RNA 增加,这种差异可作为早期预测肿瘤药物敏感性的指标。El-Deredy 等^[29]在应用亚硝基脲治疗人脑胶质瘤前,利用¹H NMR 对体外培养的细胞进行代谢组学分析,成功预测和分离出耐药和敏感细胞群。Wang 等^[30]通过应用 TOF-MS 技术对人胃癌裸鼠转移模型化疗后的代谢组学研究发现,对顺铂和 5-Fu 敏感性不同的肿瘤的 1-酰基溶血磷脂酰胆碱和多不饱和脂肪酸等代谢产物存在明显差异,准确性可达 90.4%。Huuse 等^[31]通过应用动态对比增强磁共振成像(DCE-MRI)、弥散加权磁共振(DW-MRI)、磁共振波谱(MRS)和高分辨魔角旋转磁共振波谱(HR-MAS MRS)等技术对多西他赛治疗人乳腺癌裸鼠种植模型的代谢组学研究发现,伴随着凋亡指数的增加,肿瘤细胞中-(CH₂)_n 和-CH₃ 脂肪酸增加。Cavill 等^[32]对 NCI60 肿瘤衍生细胞系给予 4 种铂类药物,结果发现代谢组学数据可以预测细胞对于铂类化疗药物的敏感性,如丙酮酸激酶代谢、脂蛋白摄取等代谢通路。Zha 等^[33]对慢性粒细胞白血病(CML)患者的代谢模式进行分析,结果发现治疗前患者的代谢存在紊乱,经伊马替尼治疗后,耐药患者和未经治疗患者的代谢模式相似,而药物敏感患者的尿素循环、三羧酸循环、脂质代谢及氨基酸代谢明显恢复正常,提示药物代谢组学可及早监测患者的耐药性。

3.4 药物代谢组学在肿瘤标记物发现上的应用

肿瘤的发展是机体代谢网络发生改变的外在表现,通过药物代谢组学分析代谢网络,有助于发现肿瘤治疗的新靶点。Thysell 等^[34]利用 GC-MS 检测前列腺癌骨转移灶内的代谢模式变化,发现灶内胆固醇的含量明显高于对照组,并可成为潜在治疗靶点。Neckers^[35]发现新型分子靶向药物热休克蛋白(heat shock protein 90, Hsp90)抑制剂可以通过破坏肿瘤细胞的致癌蛋白(原癌蛋白)来发挥

作用。沈国庆^[36]以给予抗肿瘤药物 10-羟基喜树碱(HCPT)的正常大鼠 Walker256 肿瘤模型大鼠尿液样本为研究对象,建立了药物代谢组学分析方法,通过对给予高、低剂量 HCPT 的正常大鼠与 Walker 256 肿瘤大鼠尿液样本的系统比较分析,从中获得了 14 个与 HCPT 毒性、药效作用相关的内源性代谢物,并从已发现的可能生物标志物中筛选出 6 个更可靠的生物标志物和 3 个 HCPT 敏感性标志物。Kalluri 等^[37]通过检测肺癌细胞株代谢过程中产生的挥发性有机化合物(volatile organic compounds, VOCs),寻找肺癌特征性的气体标记物,结果发现细胞培养代谢组学不仅可以用来寻找病理状态下的标记物,还可以研究产生这些标记物的代谢途径。Kim 等^[38]回顾分析了代谢组学在肿瘤中的应用,阐述了代谢组学在发现肿瘤基因、标记物和糖代谢、能量代谢、酶活性等之间联系中的重要作用。Ewald 等^[39]通过检测大肠癌患者和正常人对照组血清、粪便中的 M2 丙酮酸激酶(M2-PK),发现大肠癌患者血清和粪便中的 M2-PK 水平都明显高于正常人,提示 M2-PK 检测为大肠癌筛查提供了一种新的手段。

3.5 药物代谢组学在肿瘤个性化用药上的应用

由于肿瘤本身以及患者个体之间异质性的存在,同一部位的肿瘤对标准化疗的敏感性及化疗产生的不良反应差异很大^[40]。既有患者个体差异不同造成治疗期间的生物化学状态差异,更重要的是与患者的代谢表型有关^[41]。药物代谢组学通过分析不同个体间的代谢表型差异,指导和优化临床用药,从而实现肿瘤的个性化用药和治疗。Murphrey 等^[42]应用 LC-MS 法对 37 名健康志愿者和 19 例不能切除的非小细胞肺癌患者的尿液中的 PGE2 和 PGE-M 水平进行检测,结果发现 COX-2 对内生性 PGE2 的产生有着重要作用,但采用非选择性环氧酶抑制剂和选择性 COX-2 抑制剂治疗能够明显降低这一水平。该研究对肿瘤个性化用药和治疗提供了指导性意见。Wilson 等^[43]在回顾分析药物代谢组学的研究中发现,药物代谢组学有利于促进患者个体化用药研究,进而影响药物的研发。Kwon 等^[44]等运用 NMR 为基础的药物代谢组学方法,以顺铂所致肾毒性模型大鼠为研究对象,根据染毒后血清尿素氮水平的高低将大鼠分为染毒组和染毒抵抗组,以给药前药物代谢组学数据分为两

个亚组,从而分析预测顺铂的毒性,结果显示模型预测毒性的准确度达66%,可以通过分析该药物的代谢轮廓,指导肿瘤患者的个性化用药。

4 展望

近年来,随着基因组学、蛋白质组学、生物信息学等技术的快速发展,药物代谢组学通过预测个体对药物的代谢和毒性反应的差异,在肿瘤药物疗效判断、安全性评价、耐药预测等方面的研究日益深入,尤其在肿瘤标志物发现、个体化用药和抗肿瘤药物研发方面具有广泛的研究前景和临床应用价值。但是,作为药物代谢组学分析的重要基础,个体的代谢表型会受到生理因素(如年龄、性别、压力、疾病等)和环境因素(如饮食、生活方式、环境毒素暴露等)的影响,如何更加准确地区分代谢图谱改变的来源是目前存在的一大难题^[43]。同时,如何更加快速准确处理、分析、解释代谢组学得到的大量信息数据,实现转录组学、蛋白质组学、遗传学等各种组学技术的有效整合,对细胞、组织、器官和机体内的代谢产物进行更加全面、科学的定性和定量分析,仍需要更加深入的研究和探索。

参考文献

- [1] Huang Y, Xu FG, Zhang W, et al. Progress for pharmacometabolomics and its applications [J]. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报), 2013, 44(2):105–112.
- [2] German JB, Bauman DE, Burrin DG, et al. Metabolomics in the opening decade of the 21st century: building the road to individualized health [J]. *J Nutr*, 2004, 134(12):2729–2732.
- [3] Nicholson JK, Wilson ID. Opinion: understanding ‘global’ systems biology: metabolomics and the continuum of metabolism [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, 2(8):668–676.
- [4] Nicholson JK, Lindon JC, Holmes E. Metabonomics: understanding the metabolic response of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11):1181–1189.
- [5] Fiehn O, Kopka J, Dörmann P, et al. Metabolite profiling for plant functional genomics [J]. *Nat Biotechnol*, 2000, 18(11):42–43.
- [6] Clayton TA, Lindon JC, Cloarec O, et al. Pharmacometabolic phenotyping and personalized drug treatment [J]. *Nature*, 2006, 440(7087):1073–1077.
- [7] Bugrim A, Nikolskaya T, Nikolsky Y. Early prediction of drug metabolism and toxicity: systems biology approach and modeling [J]. *Drug Discov Today*, 2004, 9(3):127–135.
- [8] Jaki BU, Franzblau SG, Cho SH, et al. Development of an extraction method for mycobacterial metabolome analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2006, 41(1):196–200.
- [9] Schaub J, Schiesling C, Reuss M, et al. Integrated sampling procedure for metabolome analysis [J]. *Biotechnol Prog*, 2006, 22(5):1434–1442.
- [10] Bruce SJ, Tavazzi I, Parisod V, et al. Investigation of human blood plasma sample preparation for performing metabolomics using ultrahigh performance liquid chromatography/mass spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2009, 81(9):3285–3296.
- [11] Rmisch-Margl W, Prehn C, Bogumil R, et al. Procedure for tissue sample preparation and metabolite extraction for high-throughput targeted metabolomics [J]. *Metabolomics*, 2011, 8(1):133–142.
- [12] Korfsmacher WA. Foundation review: principles and applications of LC-MS in new drug discovery [J]. *Drug Discov Today*, 2005, 10(20):1357–1367.
- [13] Gao H, Materne OL, Howe DL, et al. Method for rapid metabolite profiling of drug candidates in fresh hepatocytes using liquid chromatography coupled with a hybrid quadrupole linear ion trap [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(22):3683–3693.
- [14] Tiller PR, Yu S, Castro-Perez J, et al. High-throughput, accurate mass liquid chromatography/tandem mass spectrometry on a quadrupole time-of-flight system as a ‘first-line’ approach for metabolite identification studies [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22(7):1053–1061.
- [15] Tulpan D, Leger S, Belliveau L, et al. MetaboHunter: an automatic approach for identification of metabolites from ¹H-NMR spectra of complex mixtures [J]. *BMC Bioinformatics*, 2011. doi: 10.1186/1471-2105/12/400.
- [16] Wishart DS, Jewison T, Guo AC, et al. HMDB 3.0—the human metabolome database in 2013 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012. doi: 10.1093/nar/gks1065.
- [17] Feng B, Zheng MH, Zheng YF, et al. Normal and modified urinary nucleosides represent novel biomarkers for colorectal cancer diagnosis and surgery monitoring [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(12):1913–1919.
- [18] Ma Y, Liu W, Peng J, et al. A pilot study of gas chromatograph/mass spectrometry-based serum metabolic profiling of colorectal cancer after operation [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(3):1403–1411.
- [19] Wibom C, Surwiec I, Mörén L, et al. Metabolomic patterns in glioblastoma and changes during radiotherapy: a clinical microdialysis study [J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(6):2909–2919.
- [20] Kim KB, Yang JY, Kwack SJ, et al. Potential metabolomic biomarkers for evaluation of adriamycin efficacy using a urinary ¹H-NMR spectroscopy [J]. *J Appl Toxicol*, 2012, 33(11):1251–1259.
- [21] Pan X, Wilson M, Mirbahai L, et al. *In vitro* metabonomic study detects increases in UDP-GlcNAc and UDP-GalNAc, as early

- phase markers of cisplatin treatment response in brain tumor cells [J]. *J Proteome Res*, 2011, **10**(8):3493–3500.
- [22] Nakayama Y, Matsumoto K, Inoue Y, et al. Correlation between the urinary dihydrouracil-uracil ratio and the 5-FU plasma concentration in patients treated with oral 5-FU analogs [J]. *Anticancer Res*, 2010, **26**(5):3983–3988.
- [23] Backshall A, Sharma R, Clarke SJ, et al. Pharmacometabonomic profiling as a predictor of toxicity in patients with inoperable colorectal cancer treated with capecitabine [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, **17**(9):3019–3028.
- [24] Fan TWM, Lane AN. Structure-based profiling of metabolites and isotopomers by NMR [J]. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc*, 2008, **52**(2/3):69–117.
- [25] Paleari L, Trombino S, Falugi C. Marine sponge-derived polymeric alkylpyridinium salts as a novel tumor chemotherapeutic targeting the cholinergic system in lung tumors [J]. *Int J Oncol*, 2006, **29**(6):1381–1388.
- [26] Tian YP, He JM, Zhang RP, et al. Integrated rapid resolution liquid chromatography-tandem mass spectrometric approach for screening and identification of metabolites of the potential anti-cancer agent 3,6,7-trimethoxyphenanthroindolizidine in rat urine [J]. *Anal Chim Acta*, 2012, **731**(20):60–67.
- [27] Lutz NW, Franks SE, Frank MH, et al. Investigation of multidrug resistance in cultured human renal cell carcinoma cells by ³¹P-NMR spectroscopy and treatment survival assays [J]. *MAGMA*, 2005, **18**(3):144–161.
- [28] Kominsky DJ, Klawitter J, Brown JL, et al. Abnormalities in glucose up-take and metabolism in imatinib-resistant human BCR-ABL-positive cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, **15**(10):3442–3450.
- [29] El-Deredy W. Pattern recognition approaches in biomedical and clinical magnetic resonance spectroscopy: a review [J]. *NMR Biomed*, 1997, **10**(3):99–124.
- [30] Wang X, Yan SK, Dai WX, et al. A metabonomic approach to chemosensitivity prediction of cisplatin plus 5-fluorouracil in a human xenograft model of gastric cancer [J]. *Int J Cancer*, 2010, **127**(12):2841–2850.
- [31] Huuse EM, Jensen LR, Goa PE, et al. Monitoring the effect of docetaxel treatment in MCF7 xenografts using multimodal *in vivo* and *ex vivo* magnetic resonance methods, histopathology, and gene expression [J]. *Trans Oncol*, 2010, **3**(4):252–263.
- [32] Cavill R, Kamburov A, Ellis JK, et al. Consensus-phenotype integration of transcriptomic and metabolomic data implies a role for metabolism in the chemosensitivity of tumour cells [J]. *PLoS Comput Biol*, 2011, **7**(3):e1001113.
- [33] Zha W, Jiye A, Qian S, et al. Chronic myeloid leukemia patients sensitive and resistant to imatinib treatment show different metabolic responses [J]. *PLoS One*, 2010, **5**(10):e13186.
- [34] Thysell E, Surowiec I, Hörnberg E, et al. Metabolomic characterization of human prostate cancer bone metastases reveals increased levels of cholesterol [J]. *PLoS One*, 2010, **5**(12):e14175.
- [35] Neckers L. Using natural product inhibitors to validate Hsp90 as a molecular target in cancer [J]. *Curr Top Med Chem*, 2006, **6**(11):1163–1171.
- [36] Shen GQ. Study of animal tumor model based metabolomics and pharmaco-metabolomic approach using LC-MS/MS [D/OL]. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, 2011. <http://cdmd.cnki.com.cn/Article/CDMD-10023-1011163897.htm>.
- [37] Kalluri U, Naiker M, Myers MA. Cell culture metabolomics in the diagnosis of lung cancer—the influence of cell culture conditions [J]. *J Breath Res*, 2014. doi: 10.1088/1752-7155/8/2/027109.
- [38] Kim YS, Maruvada P, Milner JA. Metabolomics in biomarker discovery: future uses for cancer prevention [J]. *Future Oncol*, 2008, **4**(1):93–102.
- [39] Ewald N, Schaller M, Bayer M, et al. Fecal pyruvate kinase-M2 (tumor M2-PK) measurement: a new screening concept for colorectal cancer [J]. *Anticancer Res*, 2007, **27**(4A):1949–1952.
- [40] He WQ, Qian XP, Liu BR. STAT3 and individualized treatment of tumors [J]. *J Med Postgraduates (医学研究生学报)*, 2009, **22**(9):981–983.
- [41] Holmes E, Wilson I, Nicholson J. Metabolic phenotyping in health and disease [J]. *Cell*, 2008, **134**(5):714–717.
- [42] Murphree LJ, Williams MK, Sanchez SC, et al. Quantification of the major urinary metabolite of PGE₂ by a liquid chromatographic/mass spectrometric assay: determination of cyclooxygenase-specific PGE₂ synthesis in healthy humans and those with lung cancer [J]. *Anal Biochem*, 2004, **334**(2):266–275.
- [43] Wilson ID. Drugs, bugs, and personalized medicine: Pharmacometabonomics enters the ring [J]. *PNAS*, 2009, **106**(34):14187–14188.
- [44] Kwon YK, Jung YS, Park JC, et al. Characterizing the effect of heavy metal contamination on marine mussels using metabolomics [J]. *Mar Pollut Bull*, 2012, **64**(9):1874–1879.