

专
家
介
绍

杨明,教授、博士生导师,现任山东省肿瘤医院基础研究中心常务副主任,研究方向为分子肿瘤学。先后发表 SCI 论文 79 篇,被引用达 1 300 余次,H 因子 23。其中,通讯作者和第一作者(含并列第一作者)SCI 论文 55 篇,合计 SCI 影响因子 260 余分。第一及通讯作者 SCI 论文主要发表在《American Journal of Human Genetics》、《Journal of Clinical Oncology》和《Gut》等国际知名期刊上。参与编写论著 4 部(英文专著 1 部)。申请专利 6 项,已授权 1 项。作为负责人承担的科研项目包括:国家 863 计划 1 项、国家自然科学基金 3 项、省部级项目 7 项。入选国家 863 计划青年科学家、北京科技新星、北京市优秀人才和北京市青年英才等人才计划。并获教育部自然科学一等奖、北京科学技术奖二等奖和中华医学奖等奖励。

基于核磁共振的食管鳞癌血清代谢组学研究

唐小虎^{1,2},童雷³,杨明^{1*}

(¹山东省医学科学院山东大学附属山东省肿瘤医院基础研究中心,山东 济南 250117;²北京化工大学生命科学与技术学院,北京 100029;³中国人民解放军白求恩国际和平医院心胸外科,河北 石家庄 050082)

[摘要] 目的:食管鳞癌是一种在我国高发的恶性肿瘤,不易被早期发现且缺乏临床早期诊断分子标志物。因此,本研究拟使用基于核磁共振的血清代谢组学方法来寻找食管鳞癌相关的代谢分子标志物。方法:使用基于核磁共振的代谢组学方法比较了发现组(29例食管鳞癌患者和31例正常人)血清样本中代谢物的差异,进而在验证组(20例食管鳞癌和21例正常人)中验证了相关结果。使用主成分分析、最小二乘法得到了和食管鳞癌相关的代谢组学指纹图谱。结果:利用人工神经网络,我们发现脯氨酸和谷氨酰胺为食管鳞癌相关血清代谢标志物,并使用聚类分析对这两个标志物进行验证。这两个代谢物含量分析结果显示,脯氨酸和谷氨酰胺在食管鳞癌患者血清中的含量显著低于正常人。结论:基于核磁共振的血清代谢组学方法是一种潜在的食管鳞癌早期诊断方法。

[关键词] 食管鳞癌;代谢组学;核磁共振

[中图分类号] R735.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)06-659-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20160604

A serum NMR-based metabolomic study in esophageal squamous cell carcinoma

Tang Xiaohu^{1,2}, Tong Lei³, Yang Ming^{1*}

(¹Cancer Research Center, Shandong Cancer Hospital Affiliated to Shandong University, Shandong Academy of Medical Science, Jinan 250117; ²College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029; ³Cardiothoracic Surgery of Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050082, China)

[Abstract] **Objective:** As a highly lethal disease, esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) shows a relatively high prevalence in China. Since patients with early-stage tumors usually showed no symptoms or signs and there were no general screening methods, ESCC was often diagnosed at late stages, which leading to poor prognosis. Therefore, we performed a metabolomics profiling approach to discover noninvasive and reliable serum biomarkers of ESCC for rapid-screening diagnosis among Chinese Han population. **Methods:** The proton nuclear magnetic resonance (¹H NMR) spectra of 29 ESCC patients and 31 age- and sex-matched healthy controls

[基金项目] 国家 863 计划(2015AA020950);分子肿瘤学国家重点实验室开放课题(SKL-KF-2015-05)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: aaryoung@yeah.net

were firstly analyzed using partial least squares-discriminant analysis(PLS-DA), neural networks analyses and hierarchical cluster analysis(HCA). The serum metabolomic fingerprint discovered was then validated in additional 20 ESCC cases and 21 controls from another medical center. **Results:** The metabolomic PLS-DA score plot showed good separation between ESCC and healthy groups. The following neural networks analyses and HCA identified an ESCC-related metabolites combination including two markers (serum proline and glutamine/glutamate). **Conclusion:** Our results highlight the NMR-based metabolomics approach in distinguishing individuals with or without ESCC and support the potential application as early diagnosis of ESCC.

[**Key words**] esophageal squamous cell carcinoma; metabolomics; NMR

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(06): 659-664]

伴随着人口年龄的增加以及环境、生活习惯等因素的影响,癌症的发病率逐渐增长。食管癌是一种常见的消化道恶性肿瘤,包括食管鳞状细胞癌和食管腺癌。其中,食管鳞癌在我国、亚洲中部以及非洲南部都有较高的发病率。据统计,2015 年我国共有 47.79 万例新诊断的食管鳞癌患者, 占所有癌症发生率的 11%, 位列第 3; 共有 37.5 万例食管鳞癌患者死亡, 占所有肿瘤病死率的 13%, 位列第 4^[1]。食管鳞癌与饮食习惯有关, 在河北磁县食管鳞癌高发区, 发病和当地居民喜吃腌制食物有关^[2]。另外, 据 1 项对我国 2011 年食管鳞癌的危险因素进行的统计分析^[3], 食管鳞癌的发病主要与吸烟、饮酒、蔬菜水果摄入不足等相关。

食管鳞癌在临床上主要表现为食物吞食困难, 严重时致昏迷、胸痛等症状。食管鳞癌的临床检查包括食管吞钡 X 线双重对比造影、上消化道内镜检查、超声内镜以及食管拉网细胞学检查等^[4]。上消化道内镜检查是目前最常用的食管鳞癌临床检查手段, 但是仍有一定程度的漏诊, 并有部分患者感到不适^[5]。另外, 食管鳞癌的早期临床表现并不明显, 往往导致食管鳞癌诊断时已进展到晚期。因此, 发现新的、更加有效的早期诊断方法具有重要实践意义。

分子诊断是近年来随着分子生物学以及电子设备发展而形成的一种新的诊断技术, 主要针对与疾病相关的 DNA、RNA 和蛋白质等。在食管鳞癌分子诊断中, 也发现了一系列和食管鳞癌有关的分子标志物。如 P53 是一种抑癌基因, 其表达的 P53 蛋白是一种转录因子, 和细胞周期以及细胞凋亡的调控有很大关系。有研究发现 P53 变异在食管鳞癌中普遍存在, 其变异绝大多数位于各个外显子上, 这些和食管鳞癌的浸润、恶化和预后都有显著关系^[6]。另外, 包括 miR-21 家族非编码 RNA 在内的微 RNA, 参与细胞分化、细胞周期、凋亡和代谢等生物学过程, 与食管鳞癌的发生和预后显著相关^[7]。但是上述分子都具有一定的应用局限, 比如特异性差(在其他

癌症中这些生物标志物也有表达)、预测率低等。所以, 继续开发新的分子诊断技术具有重要临床意义。

代谢组学方法具有重复性好、特异性强、预测率高等特点^[8]。本研究采用代谢组学的方法, 试图为食管鳞癌的早期诊断提供新的研究思路。使用基于核磁共振技术的代谢组学检测方法比较了食管鳞癌患者和正常人血清样本中代谢物的差异, 并且探讨了这些差异代谢物的变化和食管鳞癌发病机制之间的相关关系。

1 对象和方法

1.1 对象

本研究所用血清样本 101 例, 将之分为发现组(29 例食管鳞癌患者和 31 例正常人)和验证组(20 例食管鳞癌和 21 例正常人)。发现组的 29 例食管鳞癌患者的血清样本于 2009 年 6 月—2012 年 4 月由山东省肿瘤医院收集, 31 例正常人血清样本在济南市社区居民癌症筛查的 4 500 例中随机选取, 保证患者和正常人的性别、年龄匹配。验证组的 21 例患者血清样本是 2010 年 10 月—2012 年 1 月在白求恩国际和平医院收集的, 正常对照来自同一医院同期健康体检人群。所有患者均没有得到任何化疗或放射治疗, 均由医生进行诊断并由病理证实。所有受试者都是中国汉族人, 均知情同意, 隔夜禁食后采集血清样本。所采集的正常人样本均记录了身高、年龄等基本信息, 并排除了有肿瘤、心血管疾病等病史。患者及对照个体信息见表 1。

核磁共振波谱仪 (AVANCE III 400, Bruker 公司, 美国), 核磁管 (ST500-7, NORELL 公司, 美国), 内标四甲基硅烷 (Tetra Methylsilane, TSP) (Sigma 公司, 日本), 重水 (上海 Tenglong 公司)。

1.2 方法

1.2.1 收集血清样本

将采集到的血液样本置入有抗凝剂的无菌小管中, 密封在 4℃ 冰箱中过夜, 分层。在进行代谢组学

表 1 食管鳞癌患者与正常对照的一般情况
Table 1 Distribution of selected characteristics among ESCC cases and controls

指标	发现组			验证组		
	食管癌[n(%)]	正常人[n(%)]	P 值 ^a	食管癌[n(%)]	正常人[n(%)]	P 值 ^a
年龄			0.993			0.879
≤58 岁	15(51.7)	16(51.6)		10(50.0)	11(52.4)	
>58 岁	14(48.3)	15(48.4)		10(50.0)	10(47.6)	
性别			0.881			0.929
男	22(75.9)	23(74.2)		15(75.0)	16(76.2)	
女	7(24.1)	8(25.8)		5(25.0)	5(23.8)	
吸烟状态			0.106			0.393
否	9(31.0)	16(51.6)		6(30.0)	9(42.9)	
是	20(69.0)	15(48.4)		14(70.0)	12(57.1)	
喝酒状态			0.196			0.525
否	12(41.4)	18(58.1)		8(40.0)	10(47.6)	
是	17(58.6)	13(41.9)		12(60.0)	10(52.4)	
癌症分期 ^b						
I	7(24.1)	-		5(25.0)	-	
II	12(41.4)	-		6(30.0)	-	
III	10(34.5)	-		9(45.0)	-	

a: Two-sided χ^2 检验; b: 根据 UICC TNM Classification of Malignant Tumours, seventh edition(2009)^[9]。

预处理前将血液样本从-80℃冰箱取出,置于冰上,在低温环境下慢慢融化。用移液枪小心吸出上层黄色半透明液体,至 1 个灭菌干净的 EP 管中。

1.2.2 样品的预处理

将血清样本从-80℃ 冰箱取出,置于冰上,在低温下慢慢融化。待融化完全,稍微震荡 EP 管使血清混合,使用移液枪吸出 100 μ L 血清,置入灭菌干净的 EP 管中。然后使用移液枪加入 300 μ L 重水以及 50 μ L 内标物 TSP,并将装有混合液体的 EP 管放在涡旋器上涡旋 30 s。待涡旋结束后将 EP 管放入离心机离心 10 min,转速为 15 000 r/min,离心完毕后吸取上清液置入 NMR 管中,放入 4℃冰箱低温保存。

1.2.3 样品的 NMR 检测

本研究通过对样本进行不断调整参数的测试最终确定实验参数,设置的具体参数为:实验测量的数据点数为 32K,数据的采样次数为 32 次,测试的谱宽为 12,检测的中心频率为 4,脉冲序列为 zg。由于核磁共振的样品多是溶解在水中的,而水的核磁信号是实际样品的数千甚至数万倍,这叫做溶剂效应。当出现溶剂效应时,需要将溶剂峰进行压制,否则将导致很多代谢物的信号被淹没在溶剂峰当中。本研究采用预饱和的方式来压制水峰。原理就是使用 1~2 s 的脉冲选择性地使水峰达到饱和,然后用 1 个 90° 脉冲激发样本,大幅递升信噪比从而使水峰被压制,压制水峰分脉冲序列为 zgpr。

1.3 统计学方法

利用 SPSS 软件进行数据录入及 *t* 检验和人工神

经网络等统计分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NMR 谱图代谢物指认

本研究的 NMR 谱图代谢物指认通过如下方法:首先根据相关文献^[9],通过相关血清代谢谱图上的化学位移,以及分裂的个数(二重峰、三重峰、四重峰)等来指认代谢物。接着使用 Chemomx 软件自带的化学分子库对所有代谢物特征峰进行比对,然后参考人体代谢组学数据库(The Human Metabolome Database, HMDB)提供的人体血清代谢物信息,包括代谢物结构、代谢物的代谢通路、代谢物的 NMR 谱图等等,利用这些信息可以最终确定指认代谢物的正确性,最终验证完全的代谢物指认如图 1 所示。

2.2 PLS-DA 分析

分别在发现组和验证组中进行主成分分析和偏最小二乘法运算,得到得分图(scores plot)(图 2)。得分图上的每个点代表着 1 个样本,每个点的空间分布状况代表着样本信息,点与点之间的距离代表着信息相似的程度。从图中可以看出,正常人的点(三角符号)可以凑在一起,与患者的点(圆圈符号)有着明显的区域划分,这证明这可以用积分信息将两组样本分开,即可以用 NMR 检测出的代谢物将正常人和患者分开。

然后,PLS-DA 对上述建立的食管鳞癌血清代谢组学数据的模型进行交叉验证,交叉验证的结果可以对这种代谢组学数据模型的可预测性进行评判。

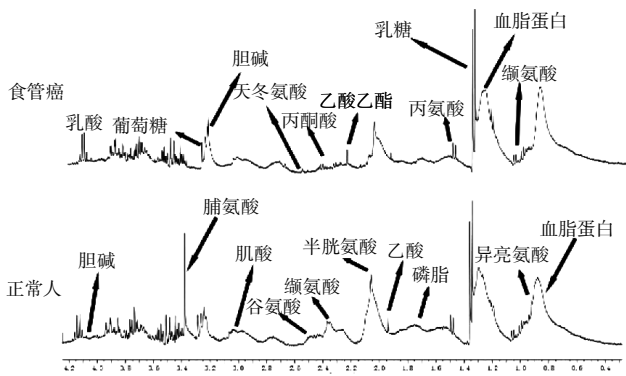


图 1 患者和正常人血清代谢物指认图

Figure 1 Metabolites identified of patients and normal human plasma

PLS-DA 得分图如图 2 所示, 在这个 PLS-DA 模型中, R^2X (模型的可解释变量) 为 0.834, R^2Y (模型监督的解释量) 为 0.934, 均接近于 1, 表明这个 PLS-DA 模型均能很好地预测个体是否患有食管鳞癌。谱图处理以及谱图积分使用的软件是 MestReNova 11.5, 主成分分析和偏最小二乘法运算使用的软件都是 Simca-P10.0。

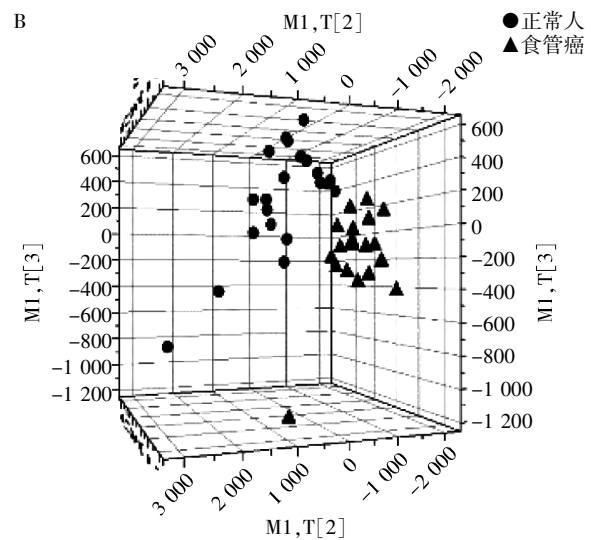
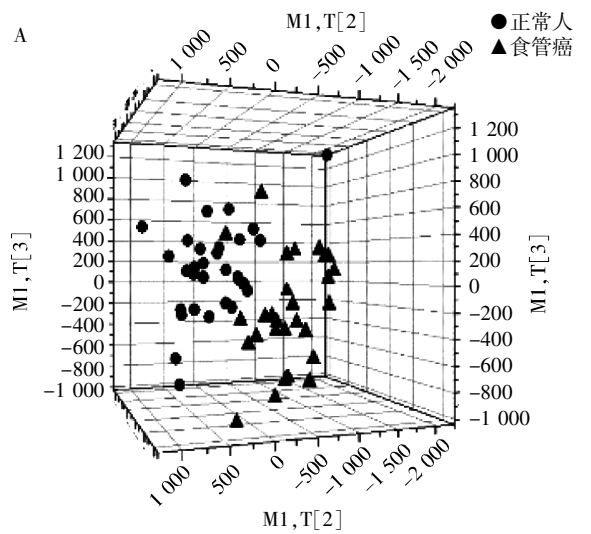
2.3 生物标志物的筛选

使用 PLS 算法不仅可以看出其是否可以分成两部分数据, 并且还可以计算其建立的数学模型(即区分正常人谱图和患者谱图)中不同变量提供的贡献值, 本研究贡献值指的就是在正常人和患者中某个代谢物差异的程度, 即 VIP (independent variable importance)。取 $VIP > 1$ 的变量, 作为接下来数据处理的基础。把这些 $VIP > 1$ 的数据进行 t 检验, 使用配对 t 检验, 取 $P > 0.05$ 的数据舍弃。

由于 PLS 仅就原来的总体数据进行建模, 并将其中代谢物按差异性大小进行排序, 有一定的局限性, 所以使用人工神经网络进行生物标志物的筛选。将以上步骤得到的数据作为数据基础, 人为建立训练集, 将这些数据进行训练, 最终得到训练后的数据, 数据大小按重要性程度大小排序, 如表 2 所示。其中, 数值大的变量越适合作为生物标志物。使用 SPSS16.0 进行 t 检验以及人工神经网络的运算。

2.4 聚类分析和含量对比

分析表 2, 前 3 个代谢物和其他代谢物相比较有非常大的差别(前 2 个均 $> 95\%$), 所以选取前 2 个作为生物标志物, 使用这 2 个标志物做聚类分析, 在发现组和验证组中都可以很好地将正常人和患者区分开来(图 3), 证明这 2 种物质可以作为食管鳞癌的生物标志物。进行聚类分析的软件是 Treeview10.0。



A: 发现组; B: 验证组。

图 2 发现组和验证组主成分分析图

Figure 2 Loading plot of the case group and the control group

为了更形象地表示 2 种物质在人体中的区别, 将积分数据作为 2 种生物标志物在人体内的含量。2 种代谢物含量在食管鳞癌组和对照组间存在显著差异, P 值均小于 0.001(图 4)。

3 讨论

代谢组来源于 19 世纪中期对糖酵解、光合作用等代谢途径的发现以及同时期核磁共振以及质谱仪器的发展。1995 年 Jeremy Nicholson 及其同事将 metabolomics 定义为“生命体系对病理生理刺激或遗传修饰所产生的动态、多指标代谢响应的定量测定”^[10]。2002 年 Oliver Fiehn 将 metabolomics 定义为“全面、定量分析体系中的所有代谢物”, 代谢组学就是研究一个体系里所有代谢物含量的变化^[11]。组学是

表 2 正常人和食管癌患者差异的代谢物
Table 2 The metabolite of healthy control and patients with ESCC

化学位移	代谢物	VIP(%)
3.36	脯氨酸	100.00
2.08	谷氨酰胺	94.00
3.40	葡萄糖	85.60
1.80	未知	44.60
1.08	缬氨酸	40.30
1.76	异亮氨酸	38.40
2.36	丙酮酸	35.60
3.20	胆碱	32.40
1.88	瓜氨酸	28.50
1.20	3-羟基丁酸	26.80
0.92	胆固醇	24.30
1.56	脂质	22.10
0.96	亮氨酸	21.30
2.32	未知	18.40
2.40	谷氨酸	17.40
1.60	未知	15.70
1.80	未知	15.30
1.64	精氨酸	12.50
3.64	甘油	11.90
1.72	未知	11.80
2.04	糖蛋白	8.50
3.68	未知	6.80
3.32	未知	4.90
1.84	瓜氨酸	4.50
1.40	未知	3.30
1.04	缬氨酸	1.80
2.52	柠檬酸	1.70
1.68	精氨酸	1.00
3.52	α -葡萄糖	0.40

研究一个完整生物系统的科学,其以总体的角度分析一个生物系统中某一类型的所有物质。与一般学科不同,组学可以一次研究大量物质,为研究带来便利的同时可以系统寻找各个物质的关联,寻找某个群体变化或者研究调控网络,这是研究单个物质没法比拟的^[12]。因此,本研究使用基于 NMR 手段的代谢组学方法对食管鳞癌患者和健康对照个体的血清进行了分析,发现了 29 个代谢物在食管鳞癌患者和正常对照的血清中具有显著差别,并在这些有差别的代谢物中找到了 2 个具有代表性的代谢物作为潜在的食管鳞癌生物标志物。

在食管鳞癌和正常人中有区别的代谢物中(表 2),基本可以分为下面几类:氨基酸类物质,包括脯氨酸、谷氨酰胺、亮氨酸等;糖代谢物质,包括葡萄糖、丙酮酸、柠檬酸等;脂类物质,包括胆碱、胆固醇、油脂等。从差异的代谢物中看到,当细胞发生癌变后,很多代谢物都产生变化。由于肿瘤细胞要大量增殖,所以需要更多的能量、物质以及更快的能量代谢和

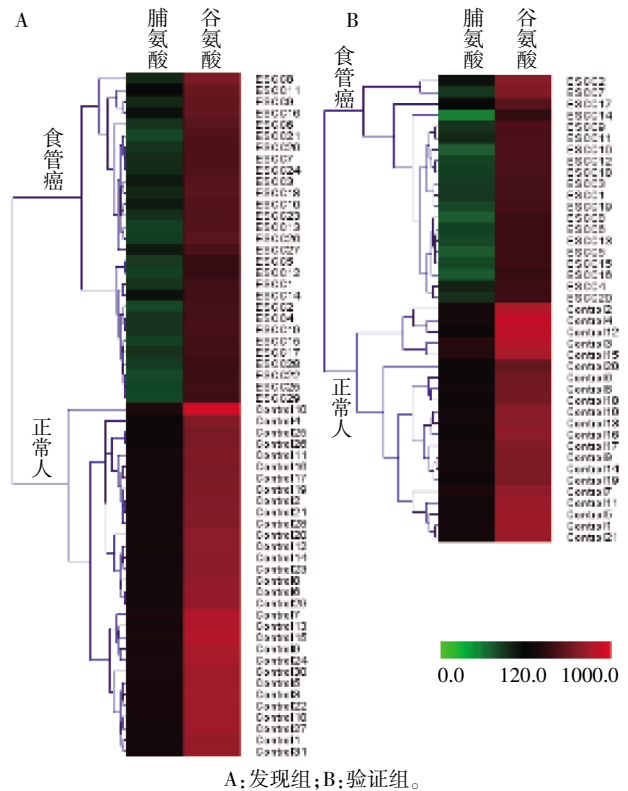


图 3 发现组和验证组的聚类分析图
Figure 3 Cluster diagram of the case group and the control group

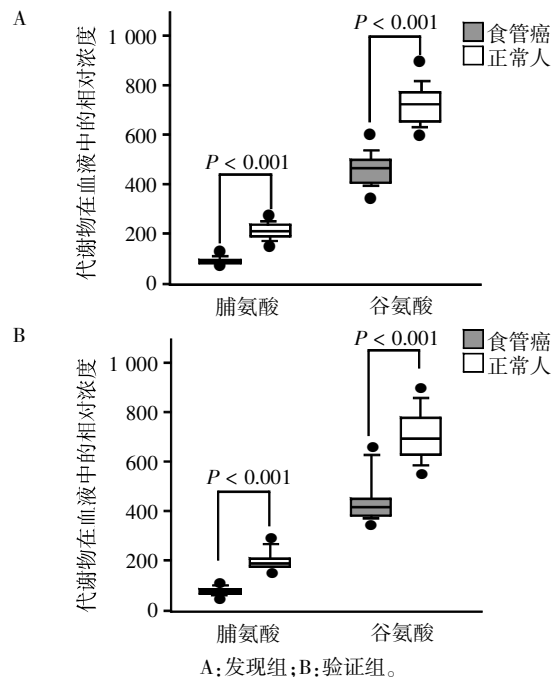


图 4 发现组和验证组的箱式图
Figure 4 Box-plot of the case group and the control group

物质合成过程。对于糖代谢而言,由于糖酵解比三羧酸循环的能量效率更高,即使其产生的 ATP 比三羧酸循环更少,但是由于其更快,所以肿瘤细胞更喜欢糖酵解,这被称为“瓦伯格效应”。由于大量丙酮酸随着

糖酵解而生成,这些丙酮会继续生成乳酸或者进入脂类物质的代谢循环。在脂类循环的物质当中,由于细胞需要生成大量磷脂来形成细胞膜,其各个成分均会有变化。在氨基酸代谢中,可能存在两种情况,首先肿瘤细胞需要大量氨基酸来进行蛋白合成,但是蛋白合成可能需要消耗大量的氨基酸,所以某种氨基酸可能在肿瘤细胞中变多,也有可能变少。

对于本研究寻找到的 2 种生物标志物而言,这 2 种代谢物在肿瘤患者的血清中都有很大程度地减少。另外在聚类分析中,可以发现这 2 种代谢物可以很好地区分肿瘤患者以及正常人,具有临床生物标志物的意义。脯氨酸是一种非必需氨基酸,在体内可以再氧化成谷氨酸。在图 4 可以看出,食管鳞癌患者体内脯氨酸异常低,一种情况是肿瘤细胞没法合成和吸收脯氨酸,另一种情况是肿瘤细胞将脯氨酸变成蛋白质或者其他氨基酸。有研究指出^[13],脯氨酸氧化酶可以参与 P53 基因诱导的细胞凋亡,细胞凋亡是一种克制肿瘤无穷繁殖的办法之一。脯氨酸氧化酶必须在脯氨酸的参与下才可以参与 P53 基因诱导的细胞凋亡,所以肿瘤细胞为了避免细胞凋亡,细胞内的脯氨酸必需保持很低的量,这项研究和我们的结果相符。

谷氨酰胺是一种条件必需氨基酸,在体内主要以游离形态存在。谷氨酰胺在体内可以合成谷胱甘肽,谷胱甘肽是一种重要的还原剂,可以将细胞的活性氧还原。活性氧可以损坏细胞中的 DNA 复制酶和 DNA 修复酶,当关于 DNA 的酶被损坏过后,会造成某些基因不受控制而导致癌变。同时,在某些肿瘤细胞中,当糖酵解没法进行时,谷氨酰胺可以代谢为柠檬酸参与三羧酸循环来给肿瘤细胞提供能量,在这些患者的血液中,谷氨酰胺的消耗量将大于普通人,和本课题的研究结果相符^[14]。

在其他代谢组研究中,比如 Zira 等^[9]通过比较 32 个肾细胞癌患者和 13 个正常对照的血清样本,发现一系列代谢物和肿瘤疾病严重程度有关,其中患者的谷氨酰胺比正常人低,同时也和疾病严重程度相关。在胶质瘤和急性白血病中,R(-)-2 羟戊二酸含量被认为和肿瘤恶化程度有关。Wanga 等^[15]比较了 305 例血清 R(-)-2 羟戊二酸含量正常的患者以及含量更高患者血清谷氨酰胺的含量,发现在 R(-)-2 羟戊二酸含量更高的患者中谷氨酰胺含量更低。综上所述,谷氨酰胺不仅可以作为疾病的生物标志物,可能还和疾病的恶性程度相关。

本研究使用以核磁共振为工具的代谢组学方法

发现了食管鳞癌的血清标志物,具有一定的临床意义。研究所发现的代谢物受限于样本的总量和人群,有可能有更多的代谢标志物值得去研究和挖掘,另外这两个代谢物变化背后的机制仍然不是很清楚,值得进一步去研究揭示。

[参考文献]

- [1] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2):115-132
- [2] 侯 浚,乔翠云,孟凡书,等. 河北省磁县食管癌危险因素病例对照研究[J]. 中国肿瘤,1999,8(6):252-255
- [3] Xiao HJ,Liang H,Wang JB,et al. Attributable causes of cancer in China:fruit and vegetable[J]. Chin J Cancer Res,2011,23(3):171-176
- [4] 王智卿,王立东,余伟伟. 食管癌诊断方法研究进展及面临的问题[J]. 医学与哲学,2006,27(12):34-35
- [5] 姜庆玲,沈双双,张 扬,等. 早期食管癌诊断与治疗进展[J]. 吉林医学,2012,33(29):6403-6405
- [6] 王立东,陈 虹,郭丽梅. 肿瘤抑制基因 P53-Rb 系统变化与食管癌变关系研究及展望[J]. 世界华人消化杂志,2001,9(4):367-371
- [7] Kaz AM,Grady WM. Epigenetic biomarkers in esophageal cancer[J]. Cancer Lett,2014,342(2):193-199
- [8] Brindle JT,Antti H,Holmes E,et al. Rapid and noninvasive diagnosis of the presence and severity of coronary heart disease using ¹H-NMR-based metabolomics[J]. Nat Med,2002,8(12):1439-1444
- [9] Zira AN,Theocharis SE,Mitropoulos D,et al. (1)H NMR metabolomic analysis in renal cell carcinoma:a possible diagnostic tool [J]. J Proteome Res,2010,9(8):4038-4044
- [10] Thomas GH. Metabolomics breaks the silence[J]. Trends Microbiol,2001,9(4):158
- [11] Fiehn O. Metabolomics--the Link between genotypes and phenotypes[J]. Plant Mol Biol,2002,48(1/2):155-171
- [12] Coen M,Holmes E,Lindon JC,et al. NMR-based metabolic profiling and metabolomic approaches to problems in molecular toxicology[J]. Chem Res Toxicol,2008,21(1):9-27
- [13] Eltahir HA,Adam AA,Yahia ZA,et al. p53 codon 72 arginine/proline polymorphism and cancer in Sudan[J]. Mol Biol Rep,2012,39(12):10833-10836
- [14] Hensley Ct WA. Glutamine and cancer:cell biology,physiology and chinal opportunities[J]. J Clin Invest,2013,123(9):3678-3684
- [15] Wang JH,Chen WL,Li JW,et al. Prognostic significance of 2-hydroxyglutarate levels in acute myeloid leukemia in china[J]. Pro Natl Acad Sci UAS,2013,10(42):17017-17022

[收稿日期] 2016-04-25