

# 尿液生物标志物\*

高友鹤<sup>†</sup>

(基因工程药物与生物技术北京市重点实验室, 北京师范大学生命科学学院, 100875, 北京)

**摘要** 疾病的早期诊断是医学最重要的问题, 早期诊断可以给医生有效治疗的机会. 尿液不像血液那样受身体稳态效应的控制, 能够汇集大量的疾病相关变化, 因此尿液能够更好地反映早期微小的变化, 是生物标志物的更好体液来源. 动物模型研究证明了尿液作为早期标志物来源的潜力. 部分研究利用了临床样本, 但是很多研究没有认真考虑可以影响尿液的大量各种混杂因素. 我们提出如果疾病引起的变化足够大、足够独特的时候, 才能利用疾病对健康人群分组的方式发现疾病尿液标志物. 如果能利用同一个人的前后对照, 可以解决大量混杂影响因素的对照问题, 让尿液标志物更早地用于临床. 在没有疾病前样本的情况下, 还可以利用一个病人对多个健康对照样本的方法找到疾病线索. 本文将总结现代尿液生物标志物理论的发生发展和现状, 并展望未来的发展前景.

**关键词** 尿液; 生物标志物; 疾病; 早期发现

**中图分类号** S152.7

**DOI:** 10.12202/j.0476-0301.2022090

## 1 疾病的早期诊断是医学最重要的关键问题

虽然每个人终将离开这个世界, 但是人类世代依然追求着长寿和健康. 这也是人类交给医学的任务. 人类的长寿和健康取决于能否预防和战胜各种疾病. 疫苗和有效药物在一定程度上帮助人类战胜了一部分疾病. 现在还有很多疾病, 特别是慢性非传染性疾病还在很大程度上影响着人类的健康. 尽早地认识到这些疾病的发生发展对于早期干预, 争取更好的预后至关重要. 比如早期的肿瘤总是比晚期的肿瘤有更高的治愈率、更低的死亡率. 其他的疾病通常也是这样. 早期发现给医生更多的时间和方法干预疾病的发展. 而晚期的疾病往往较难被停止, 更难以逆转. 所以说疾病的早期诊断是医学最重要的关键问题.

## 2 血液一直是被认为是的疾病标志物的最重要来源

血液连接着所有的器官, 并为它们带去氧气和养料, 同时带走废物, 维持着每一个器官的正常功能. 没有任何一个其他的体液能与所有器官有如此紧密的关联. 由于有浅表的血管, 血液相比之下更容易获

得, 取血的创伤已经小到可以忽略不计了. 所以血液一直被广泛地研究, 用来反映身体各个器官的功能状态. 我们也希望能从血液中寻找疾病早期的蛛丝马迹.

当我们发现找到的线索对于疾病的治疗还不够早期的时候, 我们就不断地改进分析的方法, 争取能够做到观察得更加细致, 察觉到更微小的变化. 有时我们能找到更微小的变化, 但是它们和疾病的联系又不够确定, 时有时无. 当联系足够确定的时候, 我们又觉得这样的标志物已经不够早期了. 在确定性和早期之间我们很难兼得. 尽管如此艰难, 还是很少有人怀疑有没有可能问题出在我们给予很大期望的血液上, 很少有人怀疑我们根本就可能是找错了地方, 而不是方法不够敏感的原因.

## 3 什么是生物标志物?

生物标志物的定义有不少版本, 总结起来强调其实用性的特点比较多. 一般都强调应该比较容易获得, 比较容易准确测量, 一定程度上能够反映疾病的状态. 是一种从外往里的思考模式. 假如我们从里向外思考, 从疾病发生发展的角度考虑, 我们会想到疾病总会让身体产生各种各样的变化, 有些变化比较隐蔽很难监测, 有些变化比较明显而且容易监测, 后者

\* 医学生命组学数据质量控制关键技术研发与应用示范项目资助(2020KJZX002); 中央高校基本科研业务费专项资金

<sup>†</sup> 通信作者: 高友鹤(1964—), 男, 教授. 研究方向: 尿液生物标志物. E-mail: gaoyouhe@bnu.edu.cn

收稿日期: 2022-04-19

应该就是标志物。由此我们得出自己的生物标志物定义:生物标志物就是与疾病相关的可监测的变化物,标志物必须和疾病相关,必须好监测,好的标志物不止是好测量,还要变化早,变化相对大。

## 4 尿液才应该是好的疾病标志物的来源

从上面的分析我们认识到,如果是好的标志物,最好随着疾病变化早、变化大。血液能容得下变化早、变化大吗?直觉上我们也能想出来,如果血液大幅度变化,各个器官的细胞们肯定不舒服,它们适应不了这么大的变化,也没法在这么大幅度变化的环境下执行好自己的功能。生理学的前辈们早就发现了这个问题。他们指出生理学最重要的概念就是内环境的稳态<sup>[1]</sup>。血液作为内环境的重要组成部分,也受到稳态机制的调节,变化幅度被控制在一定的范围之内,也就是说和疾病相关的早期的小的变化,即便到了血液里也会被稳态机制清除掉。所以理论上血液很难反映疾病早期的变化。等到稳态的储备用尽之后,血液才会出现明显的相对稳定的变化,这时疾病已经很难说是早期了。其被逆转的可能性已经在变小了。

在稳态机制还没有用尽之前,也就是说在血液还能保持相对稳定正常的时候,尿液其实一直在接收血液丢掉的废物,也包括在血液中没法稳定存在的那些与疾病相关的变化。尿液没有任何必要维持稳定,也没有任何稳态的机制,尿液有效地收集废物实际上是最有利于保持血液的稳定,有利于机体维持正常状态。所以我们可以说尿液应该都可以反映正常生理状态维持的情况。能反映生理范围的变化,就更能反映超过生理范围的病理生理的变化,也就是疾病早期的变化<sup>[2]</sup>。当然这都是理论上的推导。

## 5 利用动物模型验证尿液标志物理论

其实很久以前科学家就做了一些关于尿液标志物的研究,虽然没有用血液做的研究那么多。但是这些研究都是用人的临床样本,毕竟人尿的收集完全无创,与采集血液相比也更容易了。很多科学家也认为直接对人的研究更高级,更接近应用。但是这类研究的缺点是影响因素太多,很难完全控制,也就不能作为证明尿液标志物理论的实验证据。这些研究只能假设这些因素不构成对尿液的影响,但是这个假设严格意义上不太成立。尿液受各种因素的影响,包括饮食生活习惯等,人的对照很难同时考虑到这么多因

素,做到如此完美。

而动物模型在控制影响因素上优势明显<sup>[3]</sup>。参加实验的动物可以是同一时期同一来源的近亲,甚至是完全相同的遗传背景。饲养的条件和食物可以完全相同。2组直接的差别可以限制在只有引入的疾病的差别,并且对疾病的发生发展过程的全面观察,还可以排除药物的影响。这在临床上违背伦理的,很难做到。

动物模型的另一个优势是可以观察和收集疾病绝对早期的样本。临床上人的样本通常只有病人感到不适去看医生,或者体检的时候才能收集。我们很难知道各种慢性疾病确切开始的时间。而利用动物模型,我们可以确切地知道开始造模的时间,能够取到疾病绝对早期的尿样。这样的尿样才是我们需要的用来证明尿液可以反映更早期疾病必需的样本。这样的绝对早期尿样在临床上也是很难获得的。

利用动物模型证明尿液标志物理论的研究,已经在最近的综述里比较全面地覆盖了<sup>[4]</sup>。

## 6 尿液标志物如何走向临床应用?

现在越来越多的生物标志物研究人员认识到,标志物很难是一个能够高灵敏、高特异地反映一个疾病状态的指标。我们认识到的疾病越多,疾病的发展阶段越多,使用单一指标的可能性就越小。毕竟影响人的状态的因素是非常复杂的,疾病的生物学过程也有很多是相近的,甚至一样的。很难想象有某一个指标能高灵敏高特异。好在随着组学技术的发展,我们观察的细致程度有了巨大的提高,可以通过大量指标的各种组合反映复杂的、生理的或者病理生理的状态,这样的标志物的组合才有可能达到比较高的灵敏度和特异性。

尿液标志物进入临床面临的最大的考验就是影响因素多、复杂程度大。这些情况都是我们在动物模型的研究中曾经避免了的,但是在人的研究上我们无法回避。比如我们不可能像动物模型那样,长时间不给予病人必要的治疗干预。在动物模型上反映疾病的尿蛋白质组变化,在临床样本上反映的经常就是疾病和药物对尿蛋白的共同影响。而且我们很难找到可以互为对照的2个或者2组人,恰好反映了患病和正常或者不同的疾病之间的差异。人的生活方式影响因素多样,而且可能还不能完全忽视。

一个解决的办法就是单个人的前后对照。这样对于整个观察比较过程中生活方式没有明显改变的个人,2种状态的前后对照就是近乎完美无缺的,除

了观察阶段前后的年龄相关的衰老过程是无法排除的因素,有很多这样的应用场景,其中一个最容易理解的就是常规体检。假如某个人今年的尿蛋白质组和去年体检时的尿蛋白质组非常接近,没有明显的差异,应该可以比较安全地说,这个人这一年来身体的健康状况没有明显地变化。这类的应用比发现确定的疾病要容易很多,可以更早应用于临床,后者需要更多的数据积累才能达到足够满意的准确程度。当然除了健康状态的比较,也可以是治疗前后的比较<sup>[5]</sup>,或者手术前后的比较<sup>[6]</sup>,或者是康复过程中前后的比较等。这种比较需要的前提是要有意识地保存第一个时间点的尿液样本。如果今年体检想和去年的样本做比较,必须得从去年就开始保存好样本。现在尽管尿液的保存方法已经被提出很多年了,方法又经济又简单,成本还低,但是主动保存尿液的个人或者医院的样本库还是不够多,主要是对尿液反映健康状态的能力认识不足。

假如没有保存前一个时间点的样本,也不是就完全没法找到对照。一个简单的办法是,用一组和病人接近的人作为对照。这样病人是单独的一方,保持着自己独有的病理生理学状态,对照是一组健康人,生活方式等的影响在组里被平均。利用这种方法我们试图比较发热待查病人和一组正常人的差别<sup>[7]</sup>,发现有的病人和正常人的差别中,与病毒相关的通路排名靠前,有的病人与自身免疫相关的通路排名靠前。这也许会对医生是否应该用激素进行治疗提供参考信息。

## 7 最近的研究进展

对这个领域的研究进展我们已经做过了一些综述,包括生理因素对尿液的影响<sup>[8]</sup>,脑疾病<sup>[9]</sup>及各种影响因素对尿液的影响<sup>[10]</sup>,各种动物模型的尿液标志物<sup>[4]</sup>等方向的研究。非泌尿系统疾病的尿液标志物临床应用研究的综述也在撰写中。在这里比较恰当地覆盖新的进展又不和以前的文章重复的做法是,综述我们实验室最近的还在预印本阶段的研究进展。

以往做过的肿瘤模型的研究都是肿瘤细胞的植入。我们发现了各种和免疫相关的尿蛋白质组的变化。问题是人的肿瘤都是自发的,自发的肿瘤也会有免疫系统相关的尿蛋白变化吗?我们采用了2种诱导的肿瘤模型,即AOM DSS诱导炎症引起的小鼠结肠癌模型<sup>[11]</sup>和DEN诱导大鼠肝癌-炎癌模型<sup>[12]</sup>,发现在诱导的模型中也还是会产生免疫相关的尿蛋白质组变化。这为我们在临床实验中发现与肿瘤相关的尿蛋白变化增强了信心。

以前我们虽然尝试了各种疾病模型,但是没有涉

及2类最重要、最常见的人类疾病的模型——高血压和高血脂。最近我们研究了易卒中高血压(SHRSP)大鼠<sup>[13]</sup>和ApoE<sup>-/-</sup>小鼠高脂饮食模型<sup>[14]</sup>的尿蛋白质组变化,发现很多与高血压治疗药物相关的通路可以在尿蛋白质组反映出来。这也许可以为未来高血压治疗药物的选择提供信息。在高脂饮食的模型上,很多的尿蛋白质组变化都和脂质代谢相关,说明尿液中的尿蛋白可以很好地反映机体脂质代谢的改变。

外科医生最关心的一个问题是能不能尽早发现肿瘤是否切除干净。我们试图用动物模型模拟这个过程,并观察尿蛋白质组的变化,发现尿蛋白质组具有未来能够在手术后比较早期确定手术是否完全切除肿瘤的潜力<sup>[15]</sup>。

尿蛋白质组能否很好地监测免疫系统的变化一直是我们的问题。我们在动物模型上尝试了是否加入佐剂的不同免疫状态在尿蛋白质组的反映<sup>[16]</sup>。发现尿蛋白能够在早期反映这2种强弱不同的免疫原引发的免疫反应。如果在现实疫苗的研发上,能够利用尿蛋白质组早期辅助筛选出抗原性强的抗原佐剂组合,可能有助于提高疫苗研发的效率,在传染病突发,例如在新冠肺炎疫情突发的情况下,意义尤其重要。在观察志愿者疫苗接种前后尿蛋白的变化上,我们也发现了早期克隆增殖相关的通路和抗体分泌相关的通路<sup>[17]</sup>,为早期评价疫苗接种后被接种者的免疫反应状态提供新的思路。

胎盘在胎儿和母体之间提供了连接和屏障。我们尝试观察孕鼠不同时期的尿蛋白质组变化,看是否能反映胎鼠发育相关的状态以及孕鼠身体状态的变化。我们发现,尿蛋白质组能够非常好地反映妊娠的过程,这为以后完全无创地通过尿蛋白质组监测人的整个妊娠过程打下基础<sup>[18]</sup>。

我们还发现,在动物模型上尿蛋白质组能够非常敏感地反映低氧状态。低氧引起的变化是我们研究尿蛋白标志物以来见到过的最大的病理生理学相关的变化,体现了低氧对机体的巨大影响<sup>[19]</sup>。

在上述讨论过的发热待查的研究中,我们尝试以一对多的比较方式,突出病人的个性,平均对照组的个性而突出他们的共性,取得了一定的效果。用同样的方法,我们尝试应用尿蛋白质组学预测抗抑郁药物艾司西酞普兰的药效<sup>[20]</sup>,我们发现的通路和以前梅奥诊所用遗传学方法得出的结果居然完全一致<sup>[21]</sup>。虽然研究的规模还比较小,但是这依然很难用巧合来解释。

尿蛋白质组还可以用来发现很微小的变化。我们尝试比较没有表现型的转基因动物与其对照动物的尿蛋白质组,可以发现转基因后所产生的效果。这为

通过转基因和基因敲除研究基因功能提供了更灵敏的工具<sup>[22]</sup>。

需要指出的是,本文中我们只选择性地重点综述了以前没有被综述过的、我们在北京师范大学生命科学学院近期研究的结果。

## 8 尿液标志物领域发展的障碍

尿液标志物的潜力还没有得到充分的认识和广泛的认可。这还需要更多地宣传,特别需要鼓励有见识的年轻人加入其中。

没有对尿液标志物潜力的认识,就很难有计划有政策地收集保存尿液样本,虽然我们早就有了简单、经济、容易控制质量的,甚至最近已经做到可以自动地保存尿液大分子的尿膜方法<sup>[23]</sup>。

尿液和人体的其他部分相比具有特殊性,它可以完全无创地大量长期获取。我们对通过尿液做的人体研究也应该有不同的伦理要求。只要不暴露样品捐赠者的身份相关信息,就能做到只对人类认识疾病有利,而对病人个体无害。

如果将某人体检或者看病时尿常规检查剩余的尿液样本做成尿膜,并且随病历一起保存起来,我们将可以在其疾病发生后从病历中找到疾病发生前的尿液样本。通过研究这些样本,我们可以将疾病线索的发现推向更早期。这需要政策方面的支持。有了这方面的政策支持,尿液生物标志物领域的发展将会走在世界的前面。

## 9 展望

近年来越来越多的科学家、临床医生、投资人和政策制定者已经或将要投入尿液标志物的研究中。尿液标志物将从个体化的精准医学应用开始,为疾病的早期发现、治疗监测提供信息。随着大量尿液样本和数据的积累和分析,尿液标志物对人体健康和疾病的描绘会更加早期、更加精准,人类的健康水平将大幅提高。新的健康产业将形成,并且成为新的经济增长点。医学和未来的人类社会将因此而改变。

## 10 参考文献

- [1] CANNON W B. Physiological regulation of normal states: some tentative postulates concerning biological homeostatics [M]. Paris: Editions Medicales, 1926
- [2] 高友鹤. 尿液有可能成为生物标志物的金矿吗? [J]. 中国科学: 生命科学, 2013, 43(8): 708
- [3] GAO Y H. Roadmap to the urine biomarker era[J]. MOJ Proteomics & Bioinformatics, 2014, 1(1): 00005
- [4] WEI J, GAO Y H. Early disease biomarkers in urine proteomes of animal models[J]. Expert Rev Proteomics, 2021, 7: 1
- [5] 张亚萌, 衡姊琦, 魏静, 等. 晚期肺癌患者药物治疗前后尿蛋白质组的变化[EB/OL]. (2020-03-20) [2022-04-18]. <http://www.paper.edu.cn/releasepaper/content/202003-251>
- [6] WU J Q, ZHANG J, WEI J, et al. Urinary biomarker discovery in gliomas using mass spectrometry-based clinical proteomics[J]. Chinese Neurosurgical Journal, 2020, 6: 11
- [7] 赵晨阳, 魏利龙, 魏静, 等. 利用一对多尿液蛋白质组比较为发热待查提供线索[EB/OL]. (2022-03-09) [2022-04-18]. <http://biotech.chinaxiv.org/abs/202203.00025>
- [8] WU J Q, GAO Y H. Physiological conditions can be reflected in human urine proteome and metabolome[J]. Expert Review of Proteomics, 2015, 12(6): 623
- [9] AN M X, GAO Y H. Urinary biomarkers of brain diseases[J]. Genomics, Proteomics & Bioinformatics, 2015, 13(6): 345
- [10] 郇宇航, 秦伟伟, 高友鹤. 尿液蛋白生物标志物验证时要考虑的因素[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48(2): 171
- [11] 衡姊琦, 高友鹤. AOM DSS诱导炎症引起的小鼠结肠癌模型尿液蛋白质组的研究[EB/OL]. (2021-12-01) [2022-04-18]. <http://biotech.chinaxiv.org/abs/202112.00007>
- [12] 王云龙, 高友鹤. 探究DEN诱导大鼠肝癌-炎癌模型中尿液蛋白质组的变化[EB/OL]. (2022-01-09) [2022-04-18]. <http://biotech.chinaxiv.org/user/search.htm?serverID=2>
- [13] 孟文书, 高友鹤. 易卒中高血压(SHRSP)大鼠尿液蛋白质组学变化的研究[EB/OL]. (2022-02-28) [2022-04-18]. <http://biotech.chinaxiv.org/user/search.htm?serverID=2>
- [14] 华元瑞, 孟文书, 魏静, 等. 动脉粥样硬化ApoE<sup>-/-</sup>小鼠模型尿液蛋白质组变化探究[EB/OL]. (2021-04-08) [2022-04-18]. <http://eprint.las.ac.cn/abs/202104.00023>
- [15] 衡姊琦, 赵晨阳, 高友鹤. 荷瘤与切除肿瘤小鼠尿液蛋白质组的比较[EB/OL]. (2022-03-14) [2022-04-18]. <http://chinaxiv.org/user/search.htm>
- [16] 王云龙, 高友鹤. 观察免疫过程中大鼠尿蛋白组的动态变化[EB/OL]. (2022-04-04) [2022-04-18]. <http://chinaxiv.org/user/search.htm>
- [17] 潘宣圳, 刘永涛, 鲍艺今, 等. 流感疫苗接种前后尿液蛋白质组变化[EB/OL]. (2022-03-09) [2022-04-18]. <http://chinaxiv.org/user/search.htm>
- [18] 汤抒璇, 高友鹤. 大鼠妊娠过程的尿蛋白组变化[EB/OL]. (2022-04-01) [2022-04-18]. <http://chinaxiv.org/user/search.htm>
- [19] 鲍艺今, 成祥, 朱玲玲, 等. 大鼠急性低氧模型尿液蛋白质组的变化[EB/OL]. (2022-03-03) [2022-04-18]. <http://chinaxiv.org/user/search.htm>
- [20] 汤抒璇, 郇宇航, 高友鹤, 等. 尿蛋白质组学预测艾司西

- 酞普兰药效[EB/OL]. (2022-03-11) [2022-04-18]. <http://chinaxiv.org/user/search.htm>
- [21] JI Y, HEBBRING S, ZHU H, et al. Glycine and a glycine dehydrogenase (GLDC) SNP as citalopram/escitalopram response biomarkers in depression; pharmacometabolomics-informed pharmacogenomics[J]. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2011, 89(1): 97
- [22] 华元瑞, 郭晓甜, 高友鹤. 通过尿蛋白质组发现无表型基因修饰动物的改变[EB/OL]. (2021-12-15)[2022-04-18]. <http://chinaxiv.org/user/search.htm>
- [23] JIA L L, LIU X J, LIU L, et al. Urinemem, a membrane that can store urinary proteins simply and economically, makes the large-scale storage of clinical samples possible[J]. *Science China: Life Sciences*, 2014, 57(3): 336

## Urine biomarker

GAO Youhe

(Gene Engineering Drug and Biotechnology Beijing Key Laboratory, College of Life Sciences, Beijing Normal University, 100875, Beijing, China)

**Abstract** Early diagnosis of disease is the most important problem in medicine. Early diagnosis can give doctors a chance to treat the disease effectively. Urine, unlike blood, is not subject to homeostasis controls and is able to accumulate many disease-related changes. Therefore it can reflect early and small changes and is a better biomarker sources. Animal model studies have demonstrated the potential of urine as a source of early markers. There have been some studies using clinical samples, but many have not taken into account the large variety of confounders that can affect urine. If the changes caused by the disease are large enough and unique enough, urine markers of disease can be found by comparing disease group to healthy control group. If urine samples from the same person before and after the disease can be compared, it can minimize the effects of confounding factors. In this way, urine biomarker may be able to be translated into clinical practice earlier. In the absence of samples before the disease, clues to disease can also be found by using the patient compare to multiple healthy control samples as a group. This review will summarize the start, development, current situation and perspectives of modern urine biomarker theory.

**Keywords** urine; biomarker; disease; early detection

【责任编辑: 武 佳】