基于非靶向代谢组学的酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化患者尿液代谢特征差异分析——单中心初步探索性研究

郑雨竹[1]，马文霞[1]，马佳艺[2]，王晓茹[2]，李雅迪[1]，王珊珊[2]，丁惠国[1]，吕翎娜[1]（1. 首都医科大学附属北京佑安医院 肝病消化中心 首医基础临床联合实验室，北京 100069，2. 首都医科大学附属北京佑安医院 北京肝病研究所，北京 100069）

摘要：目的 采用非靶向代谢组学方法比较酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化患者尿液代谢特征的差异，筛选核心差异代谢物及相关代谢通路，并联合临床指标评估其对两种病因肝硬化的鉴别诊断效能。**方法** 以 2024 年 12 月 3 日至 2025 年 5 月 20 日在首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化中心住院的 56 例肝硬化患者为研究对象，根据肝硬化病因分为酒精性肝硬化组（23 例）和乙型肝炎肝硬化组（33 例），采用液相色谱-质谱联用（liquid chromatography-mass spectrometry，LC-MS）技术检测患者尿液代谢物，使用正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA）进行多元统计分析，以 $P \leqslant 0.05$ 且变量投影重要度（variable importance projection，VIP）≥ 1 初步筛选差异代谢物。在此基础上以 $|\log_2$ 差异倍数$| > 0.5$ 进一步过滤，将关键差异代谢物导入 MetaboAnalyst，基于 SMPDB 数据库进行代谢物集富集分析（metabolite set enrichment analysis，MSEA），筛选潜在的差异代谢通路。采用 LASSO 回归进行高维特征降维确定核心代谢物，并利用受试者工作特征（receiver operator characteristic，ROC）曲线评估核心代谢物及其联合 γ-谷氨酰转移酶（γ-glutamyl transferase，GGT）的鉴别诊断效能。**结果** OPLS-DA 模型显示两组代谢谱存在分离（$R^2Y = 0.623$，$Q^2 = 0.331$），初步筛选出 148 种候选差异代谢物，其中 146 种在酒精性肝硬化组中上调，2 种下调，差异代谢物主要富集于胆汁酸生物合成、烟酰胺代谢及甲基组氨酸代谢通路。进一步采用更严格的筛选标准（$P \leqslant 0.05$，VIP ≥ 1，$|\log_2$ 差异倍数$| > 0.5$）进行过滤，最终获得 27 个关键差异代谢物。经 LASSO 回归特征筛选，从 27 种关键差异代谢物中确定 9 种核心代谢物。Spearman 相关性分析显示，GGT 与其中 5 种核心代谢物具有显著相关性。ROC 分析表明，8 种内源性核心代谢物诊断模型的 ROC 曲线下面积为 0.909，8 种内源性核心代谢物联合 GGT 的 ROC 曲线下面积进一步提升至 0.922，二者鉴别效能均显著优于 GGT 单独诊断（$Z = -2.361$，$P = 0.018$；$Z = -2.745$，$P = 0.006$）。**结论** 酒精性肝硬化和乙型肝炎肝硬化患者尿液代谢谱存在显著差异，8 种内源性核心代谢物联合 GGT 构建的模型对两种病因肝硬化的鉴别效能较好，具有作为无创鉴别候选工具的潜力。

关键词：酒精性肝硬化；乙型肝炎肝硬化；代谢组学；液相色谱-质谱联用；胆汁酸代谢；烟酰胺代谢

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2026.03.005
基金项目：国家自然科学基金项目（82372260）；北京佑安医院人才库项目（YARCKB2023003、BJYAYY-YN2025-16）
通信作者：吕翎娜 Email: lvlingna003@mail.ccmu.edu.cn

Analysis of differences in urinary metabolic characteristics between patients with alcoholic cirrhosis and hepatitis B virus cirrhosis based on untargeted metabolomics: a single-center preliminary exploratory study

Zheng Yuzhu[1], Ma Wenxia[1], Ma Jiayi[2], Wang Xiaoru[2], Li Yadi[1], Wang Shanshan[2], Ding Huiguo[1], Lyu Lingna[1] *(1. Department of Gastroenterology and Hepatology, Laboratory for Clinical Medicine, Beijing You'an Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2. Beijing Institute of Hepatology, Beijing You'an Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China)*

Abstract: Objective To compare the urinary metabolic differences between patients with alcoholic cirrhosis and hepatitis B virus cirrhosis by untargeted metabolomics, screen core differential metabolites and related metabolic pathways, and evaluate their differential diagnostic efficacy for cirrhosis of the two etiologies combined with clinical indicators. **Methods** A total of 56 patients with cirrhosis admitted to the Department of Hepatology and Gastroenterology, Beijing You'an Hospital, Capital Medical University from December 3rd, 2024 to May 20th, 2025 were enrolled and divided into alcoholic cirrhosis group (23 cases) and hepatitis B virus cirrhosis group (33 cases) based on the etiology of cirrhosis. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) was used to detect urinary metabolites. Orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) was applied for multivariate statistical analysis. Differential metabolites were preliminarily screened with $P \leqslant 0.05$ and variable importance projection (VIP) $\geqslant 1$, and further filtered by $|\log_2 (\text{fold change})| > 0.5$. Key differential metabolites were imported into MetaboAnalyst and metabolite set enrichment analysis (MSEA) was performed based on the SMPDB database to identify potential altered metabolic pathways. LASSO regression was used for high-dimensional feature dimensionality reduction to determine core metabolites, and receiver operating characteristic (ROC) curve was adopted to evaluate the differential diagnostic efficacy of core metabolites alone and their combination with γ-glutamyl transferase (GGT). **Results** The OPLS-DA model ($R^2Y = 0.623$, $Q^2 = 0.331$) showed obvious separation of metabolic profiles between the two groups. A total of 148 candidate differential metabolites were preliminarily identified, among which 146 were upregulated and 2 were downregulated in alcoholic cirrhosis group. The differential metabolites of the two groups were mainly enriched in bile acid biosynthesis, nicotinamide metabolism and methylhistidine metabolism pathways. Further filtering was performed using stricter screening criteria [$P \leqslant 0.05$, VIP $\geqslant 1$, $|\log_2(\text{fold change})| > 0.5$] and 27 key differentially expressed metabolites were identified across the two groups. Nine core metabolites were identified from the 27 key differentially expressed metabolites by LASSO regression. Spearman correlation analysis showed that GGT was significantly correlated with five of the core metabolites. ROC analysis indicated that the area under the ROC curve of the combined diagnostic model based on 8 endogenous core metabolites was 0.909, which was further increased to 0.922 after being combined with the clinical indicator GGT, and both of them were significantly superior to GGT alone in diagnosis ($Z = -2.361$, $P = 0.018$; $Z = -2.745$, $P = 0.006$). **Conclusions** There were significant differences in urinary metabolic profiles between patients with alcoholic cirrhosis and hepatitis B virus cirrhosis. The differential diagnostic model constructed by 8 endogenous core metabolites combined with GGT demonstrated a good performance and showed potential as a candidate tool for non-invasive differential identification of the two etiologies.

Keywords: Alcoholic cirrhosis; Hepatitis B virus cirrhosis; Metabolomics; Liquid chromatography-mass spectrometry; Bile acid metabolism; Nicotinamide metabolism

酒精性肝硬化和乙型肝炎肝硬化是我国肝硬化住院患者最主要的两大病因[1]，两者在临床表现、疾病进展及预后方面存在明显差异。酒精性肝硬化常伴有严重的胆汁淤积[2]，而乙型肝炎肝硬化患者进展为肝细胞癌的风险显著升高[3]。目前，两者的早期鉴别主要依赖病史采集和影像学检查，客观性不足，而两种肝硬化在代谢层面的异同尚缺乏系统性研究。代谢组学作为系统生物学的重要组成部分，能够在整体水平上反映机体内小分子代谢物的综合变化，揭示不同病理状态下的代谢表型差异及潜在的代谢通路重塑[4]。基于液相色谱-质谱联用（liquid chromatography-mass spectrometry，LC-MS）的非靶向代谢组学技术已被广泛应用于肝脏疾病的生物标志物筛选和代谢机制研究[5-7]。与血清样本相比，尿液样本具有采集无创、操作简便、可重复获取、不受血浆蛋白基质干扰等优势[8]，能够富集并反映机体代谢终产物的整体变化，可较为敏感地捕捉肝脏病理状态下的代谢异常信号，是无创筛查与病因鉴别诊断的理想生物样本[9]。目前，针对酒精性肝硬化和乙型肝炎肝硬化的尿液代谢谱研究有限。本研究采用基于 LC-MS 的非靶向代谢组学技术，结合正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA）多元统计分析和 LASSO 回归，系统比较酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化患者的尿液代谢谱差异，筛选核心差异代谢物，阐明相关代谢通路的变化，并评估核心代谢物联合临床指标对两种病因肝硬化的鉴别诊断效能，旨在为两种肝硬化的无创鉴别和代谢机制研究提供数据支撑和科学依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象　以 2024 年 12 月 3 日至 2025 年 5 月 20 日在首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化中心住院的 56 例肝硬化患者为研究对象进行横断面研究。根据肝硬化病因将患者分为酒精性肝硬化组（23 例）和乙型肝炎肝硬化组（33 例）。酒精性肝硬化患者的诊断参照《酒精性肝病防治指南（2018 年更新版）》[10]：①有长期饮酒史（一般超过 5 年），饮酒折合乙醇量男性 ≥ 40 g/d、女性 ≥ 20 g/d，或 2 周内有大量饮酒史，折合乙醇量 > 80 g/d；②临床症状为非特异性，可无症状，或有右上腹胀痛、食欲不振、乏力、体质量减轻、黄疸等；随着病情加重，可有神经精神症状、蜘蛛痣、肝掌等表现；③有肝硬化的临床表现和血清生物化学指标、瞬时弹性成像及影像学的改变。乙型肝炎肝硬化患者的诊断参照《慢性乙型肝炎防治指南（2022 年版）》[11]：①目前乙型肝炎病毒表面抗原（hepatitis B virus surface antigen，HBsAg）阳性，或 HBsAg 阴性、乙型肝炎病毒核心抗体（hepatitis B virus core antibody，HBcAb）阳性且有明确的慢性乙型肝炎病毒（hepatitis B virus，HBV）感染史（既往 HBsAg 阳性 > 6 个月），并除外其他病因者；②有肝硬化的临床表现和血清生物化学指标、瞬时弹性成像及影像学的改变。排除标准：①合并 2 种及以上病因的混合性肝硬化，或同时存在自身免疫性肝炎、原发性胆汁性胆管炎、肝豆状核变性、代谢相关脂肪性肝病等其他肝脏疾病者；②合并肝细胞癌或其他恶性肿瘤者；③合并严重肾功能不全［估算肾小球滤过率（estimated glomerular filtration rate，eGFR）< 30 ml/（min · 1.73 m^2）］者；④妊娠期或哺乳期女性；⑤采集样本前 4 周内使用过糖皮质激素、免疫抑制剂、抗结核药物或中草药制剂等可能显著影响代谢谱的药物者［不包括规律使用核苷（酸）类似物抗病毒治疗乙型肝炎肝硬化患者］；⑥合并严重心肺功能不全或活动性感染等系统性疾病者；⑦尿液标本采集不规范或质控不合格者。本研究已获首都医科大学附属北京佑安医院伦理委员会批准，伦理批准编号：京佑科伦字〔2024〕001 号，所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 临床资料的收集　通过医院电子病历系统和检验科报告系统收集患者的一般资料和实验室检查指标，包括性别、年龄、白细胞、血红蛋白、中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、γ-谷氨酰转移酶（γ-glutamyl transferase，GGT）、血小板（platelet，PLT）、丙氨酸氨基转移酶（alanine aminotransferase，ALT）、天冬氨酸氨基转移酶（aspartate aminotransferase，AST）、总胆红素（total bilirubin，TBil）、直接胆红素（direct bilirubin，DBil）、白蛋白（albumin，Alb）、肌酐（creatinine，Cr）、eGFR、凝血酶原时间（prothrombin time，PT）、凝血酶原活动度（prothrombin time activity，PTA）、国际标准化比值（international normalized ratio，INR），计算 Child-Pugh 评分及 MELD 评分。MELD 评分 = 3.78 × ln（TBil）+ 11.2 × ln（INR）+ 9.57 ×ln（Cr）+ 6.43。

1.3 代谢组学检测　采集所有患者入院后首次晨尿，分装，－ 80 ℃ 保存待用。采用基于 LC-MS 的非靶向代谢组学技术进行代谢物检测。

1.3.1 样本提取　将 96 孔蛋白沉淀板-收集板组合放入自动化工作站进行代谢物提取。移取 400 μl － 40 ℃ 预冷的提取液（甲醇 : 乙腈= 1 : 1，含内标），

加入100 μl样本至96孔蛋白沉淀板中，750 r/min振荡荡5 min，静置5 min，过滤并收集过滤液。所有样品另取等量过滤液混合成质控样品。

1.3.2 液相色谱条件 采用Vanquish超高效液相色谱仪，通过Waters ACQUITY UPLC BEH Amide液相色谱柱（2.1 mm×50 mm，1.7 μm）对目标化合物进行色谱分离[12]。流动相A为水相（含25 mmol/L乙酸铵和25 mmol/L氨水），流动相B为乙腈。样品盘温度4 ℃，进样量2 μl。

1.3.3 质谱条件 采用Orbitrap Exploris 120质谱仪，在Xcalibur软件控制下进行一级和二级质谱数据采集。离子源为电喷雾离子源（electrospray ionization，ESI），正负离子模式扫描。正离子喷雾电压3.8 kV，负离子喷雾电压3.4 kV，鞘气流速50 Arb，辅助气流速15 Arb，毛细管温度320 ℃。一级质谱分辨率60 000，二级质谱分辨率15 000，碰撞能量为阶梯式归一化碰撞能量（stepped normalized collision energy，SNCE）20/30/40。

1.3.4 数据分析与处理 对原始数据进行清洗和预处理，具体步骤如下[13]：①基于相对标准偏差（relative standard deviation，*RSD*）对单个峰进行过滤，去除噪声峰；②保留单组空值不多于50%或所有组中空值不多于50%的峰面积数据；③对缺失值进行模拟填补，填补方法为最小值的一半；④利用内标进行数据标准化处理。在样本序列中穿插质控样本，计算质控样本中所有代谢物峰面积的*RSD*，以评价仪器稳定性和数据重复性。本研究中，3 100个代谢物特征峰的质控样本峰面积中位*RSD*为0.075%，平均值为0.104%，表明仪器系统稳定，数据重复性良好[14]。将标准数据矩阵导入R软件（v4.5.2）进行多元统计分析初步筛选差异代谢物。首先进行OPLS-DA以最大化组间差异，通过置换检验（200次）验证OPLS-DA模型的可靠性[15]。本研究筛选差异代谢物的标准为：*t*检验的$P \leqslant 0.05$，且OPLS-DA模型第一主成分的变量投影重要度（variable importance projection，VIP）≥1。为减少生物学噪声及聚焦关键代谢物，在进行代谢物富集分析（metabolite set enrichment analysis，MSEA）前，进一步以$|\log_2 FC| > 0.5$ [FC为差异倍数（fold change）]为标准对差异代谢物进行过滤。将过滤后的代谢物导入MetaboAnalyst，基于SMPDB数据库进行MSEA[16]，以$P < 0.05$为富集阈值。代谢物的鉴定级别参照代谢组学标准倡议（metabolomics standards initiative，MSI）：Level 1为经标准品确认；Level 2为与公共数据库匹配；Level 3为推定特征[17]。为进一步从关键差异代谢物（$P \leqslant 0.05$，VIP ≥1，$|\log_2 FC| > 0.5$）中筛选对区分两种肝硬化贡献最大的核心代谢物，采用LASSO回归进行高维特征降维[18]。通过十折交叉验证确定最优惩罚参数λ，分别以交叉验证误差最小时对应的λ值（λ_{min}）和1个标准误内最简洁模型对应的λ值（λ_{1SE}）筛选代谢物[19]。λ_{1SE}模型在预测效能无明显下降的前提下代谢物数量更少，更利于临床应用，因此本研究最终以λ_{1SE}作为筛选标准[20]筛选出核心代谢物用于后续分析。采用留一法交叉验证评估模型的稳健性，每次留取1个样本作为验证集，剩余样本作为训练集，重复*n*次（*n*为总样本量），计算平均分类准确率及其95%*CI*。为排除尿液浓缩、稀释带来的潜在偏倚，后续敏感性分析中将代谢物峰面积除以对应样本的尿Cr浓度，完成Cr比值归一化处理。

1.4 统计学处理 采用GraphPad Prism（v10.4.2）软件进行临床资料的统计分析。ALT、AST、GGT等不符合正态分布的计量资料以M（P_{25}，P_{75}）表示，两组间比较采用Mann-Whitney *U*检验。性别为计数资料，以例数表示，两组间比较采用*Fisher*精确概率法。采用Spearman秩相关分析差异代谢物与临床指标间的相关性。采用R语言（v4.5.2）的pROC包进行受试者工作特征（receiver operator characteristic，ROC）曲线分析，并计算曲线下面积，评价差异代谢物对酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化的区分效能，采用DeLong检验比较不同诊断模型ROC曲线下面积的差异。以$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 酒精性肝硬化组患者GGT、AST、DBil、INR、eGFR、Child-Pugh评分及MELD评分均高于乙型肝炎肝硬化组（P均＜0.05），其余指标差异无统计学意义，见表1。

2.2 差异代谢物的筛选结果 OPLS-DA得分图（图1A）显示，酒精性肝硬化组与乙型肝炎肝硬化组在得分空间中呈现明显分离，提示两组患者的尿液代谢谱存在显著差异。置换检验（图1B）表明，原始Q^2值（0.331）高于所有置换后模型的Q^2值，证实模型不存在过拟合。OPLS-DA模型综合参数为$R^2Y = 0.623$，$R^2X = 0.587$，$Q^2 = 0.331$，表明可初步实现两组样本的区分，但预测能力有限。以$P \leqslant 0.05$且VIP ≥1为筛选标准，基于OPLS-DA多元统计分析共初步筛选出148种候选差异代谢物（未校正*P*值）。以乙型肝炎肝硬化组为对照，酒精性肝

表 1　酒精性肝硬化组与乙型肝炎肝硬化组患者的基线资料

临床指标	酒精性肝硬化组（23 例）	乙型肝炎肝硬化组（33 例）	统计量值	*P* 值
男性[例（%）]	23（100）	22（66.7）	–	0.002
年龄[*M*（P_{25}，P_{75}），岁]	57（51，62）	61（42，68）	*Z* = 0.334	0.739
白细胞[*M*（P_{25}，P_{75}），× 10^9/L]	3.16（2.17，4.08）	3.06（2.36，4.22）	*Z* = − 0.067	0.947
血红蛋白[*M*（P_{25}，P_{75}），g/L]	100.00（86.20，124.80）	112.5（92.50，132.50）	*Z* = − 0.892	0.373
中性粒细胞[*M*（P_{25}，P_{75}），× 10^9/L]	1.84（1.30，2.42）	1.97（1.18，2.64）	*Z* = − 0.075	0.940
淋巴细胞[*M*（P_{25}，P_{75}），× 10^9/L]	0.74（0.55，0.92）	0.85（0.50，1.18）	*Z* = − 0.659	0.510
单核细胞[*M*（P_{25}，P_{75}），× 10^9/L]	0.25（0.20，0.44）	0.24（0.15，0.31）	*Z* = − 0.993	0.321
GGT[*M*（P_{25}，P_{75}），U/L]	51.00（22.00，119.00）	22.0（14.00，42.50）	*Z* = − 2.958	0.003
PLT[*M*（P_{25}，P_{75}），× 10^9/L]	70.50（48.80，88.00）	65.00（50.00，118.50）	*Z* = − 0.050	0.960
ALT[*M*（P_{25}，P_{75}），U/L]	21.50（16.50，32.20）	19.50（15.20，26.00）	*Z* = − 0.899	0.368
AST[*M*（P_{25}，P_{75}），U/L]	33.00（24.50，51.50）	26.50（21.50，32.50）	*Z* = − 2.108	0.035
TBil[*M*（P_{25}，P_{75}），μmol/L]	30.50（14.20，73.40）	17.70（14.90，36.50）	*Z* = − 1.141	0.254
DBil[*M*（P_{25}，P_{75}），μmol/L]	16.55（6.90，51.70）	7.85（5.35，15.03）	*Z* = − 2.067	0.039
Alb[*M*（P_{25}，P_{75}），g/L]	32.90（29.60，40.70）	36.50（32.80，40.60）	*Z* = − 1.249	0.212
Cr[*M*（P_{25}，P_{75}），μmol/L]	61.00（52.50，72.00）	59.50（54.20，83.80）	*Z* = − 0.821	0.412
eGFR[*M*（P_{25}，P_{75}），ml/（min · 1.73 m^2）]	108.00（100.60，114.30）	96.50（85.80，105.00）	*Z* = − 2.678	0.007
PT[*M*（P_{25}，P_{75}），s]	13.35（12.08，15.70）	11.35（10.53，14.10）	*Z* = − 1.676	0.094
PTA[*M*（P_{25}，P_{75}），%]	66.10（50.60，73.60）	68.70（63.90，78.60）	*Z* = − 1.454	0.146
INR[*M*（P_{25}，P_{75}）]	1.25（1.16，1.47）	1.21（1.07，1.33）	*Z* = − 2.005	0.045
Child-Pugh 评分[*M*（P_{25}，P_{75}），分]	8.00（6.00，9.00）	6.00（5.00，7.00）	*Z* = − 2.806	0.005
MELD 评分[*M*（P_{25}，P_{75}），分]	12.87（8.85，15.22）	9.90（7.39，11.73）	*Z* = − 2.499	0.014

注：GGT 为 γ-谷氨酰转移酶，PLT 为血小板，ALT 为丙氨酸氨基转移酶，AST 为天冬氨酸氨基转移酶，TBil 为总胆红素，DBil 为直接胆红素，Alb 为白蛋白，Cr 为肌酐，eGFR 为估算肾小球滤过率，PT 为凝血酶原时间，PTA 为凝血酶原活动度，INR 为国际标准化比值，MELD 为终末期肝病模型；“–”为采用 *Fisher* 确切概率法，无具体统计量值。

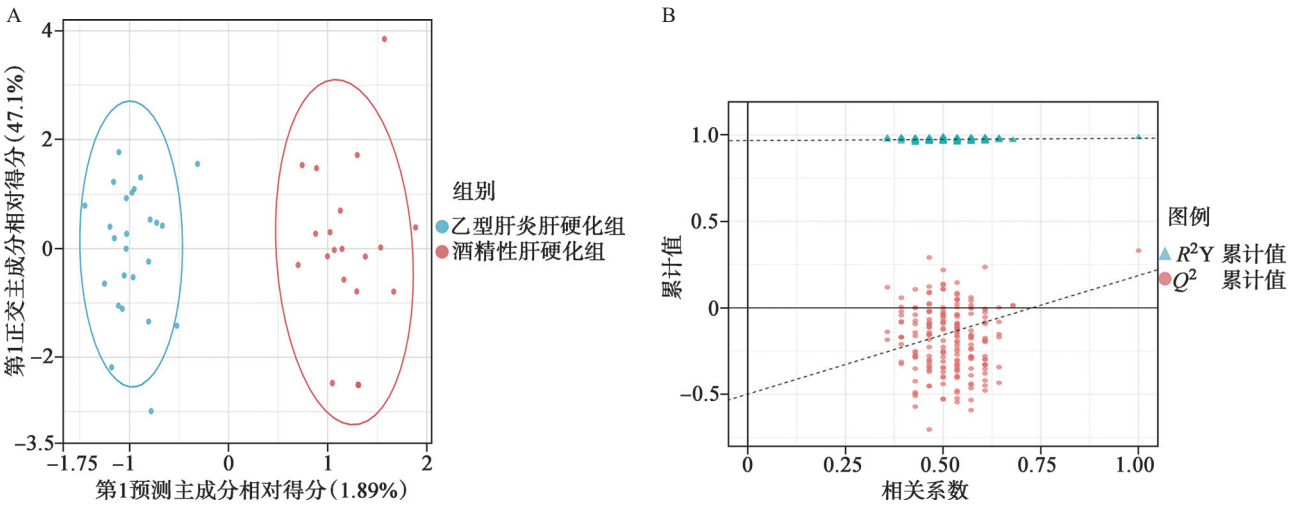


图 1　酒精性肝硬化组与乙型肝炎肝硬化组尿液代谢谱的 OPLS-DA 判别分析及模型验证

注：A 为正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）得分图，两组在得分空间中呈现明显分离，提示尿液代谢谱存在显著差异；B 为置换检验图，虚线为回归线，结果提示模型无过拟合。

硬化组共有146种代谢物呈上调趋势，2种代谢物呈下调趋势（图2A），提示酒精性肝硬化以广泛的代谢物上调为主要特征。图2B展示了|$\log_2$FC|排名前20位的差异代谢物，上调代谢物主要集中于结合型胆汁酸类（包括牛磺脱氧胆酸、甘氨鹅脱氧胆酸、牛磺胆酸等），提示与乙型肝炎肝硬化相比，酒精性肝硬化患者存在更为突出的胆汁酸代谢紊乱。在排名前20位的差异代谢物中，恩替卡韦是唯一显著下调的代谢物（$\log_2$FC = − 5.14），且仅在乙型肝炎肝硬化组中检出。恩替卡韦为乙型肝炎患者抗病毒治疗的药物暴露标志物，而非人体内源性代谢物，其下调趋势反映了乙型肝炎肝硬化组患者的抗病毒治疗史。此外，酒精性肝硬化组尿液中检出烟碱相关代谢物水平升高，其生物学意义及潜在影响因素有待后续研究进一步阐明。

2.3 关键差异代谢物的通路富集分析 为深入揭示两种病因肝硬化在代谢机制层面的差异，在148个差异代谢物的基础上进一步采用更严格的筛选标准（$P \leqslant 0.05$，VIP $\geqslant 1$，|$\log_2$FC| > 0.5）进行过滤，最终获得27个关键差异代谢物，见表2。将上述代谢物导入MetaboAnalyst平台，基于SMPDB数据库进行MSEA，结果显示，富集的代谢通路主要集中于胆汁酸生物合成、烟酰胺代谢及甲基组氨酸代谢，提示上述通路在两种病因肝硬化的代谢差异中可能发挥关键作用，见图3、表3。

2.4 关键差异代谢物与临床指标的相关性分析 为探究差异代谢物的临床意义，将上述27个差异代谢物与主要临床指标（AST、GGT、INR、Child-Pugh评分、MELD评分等）进行Spearman秩相关

表2 酒精性肝硬化组与乙型肝炎肝硬化组关键差异代谢物的鉴定信息与统计特征

代谢物名称	VIP	FC	$\log_2$FC	*P* 值
N-（氨基甲酰基）-*L*-苯丙氨酸	3.96	4.46	2.16	0.005
DL-间酪氨酸	3.59	4.99	2.32	＜0.001
恩替卡韦[a]	3.06	0.03	− 5.14	0.002
2-糠酰甘氨酸	3.01	3.61	1.85	0.009
2-羟基-3，4-二甲氧基苯甲酸	2.71	4.28	2.10	0.022
（2*R*）-2，4-二羟基-3，3-二甲基丁酸	2.62	7.60	2.92	0.034
中叶啉Ⅸ	2.59	25.21	4.66	0.011
S-腺苷同型半胱氨酸	2.57	1.90	0.92	0.034
葡萄糖醛酸-6，3-内酯	2.42	1.93	0.95	0.005
牛磺胆酸	2.39	11.55	3.53	0.031
羟基苯乳酸[b]	2.31	2.16	1.11	0.020
藜芦酸[b]	2.31	2.16	1.11	0.020
牛磺脱氧胆酸 3-葡萄糖醛酸苷	2.28	16.82	4.07	0.008
龙胆酸 5-*O*-葡萄糖苷	2.26	2.55	1.35	0.037
苯丙酮酸	2.18	1.78	0.83	0.027
谷胱甘肽结合物	2.17	1.46	0.55	0.007
L-精氨酸	2.12	2.99	1.58	0.009
牛磺脱氧胆酸	2.03	11.88	3.57	0.001
3，5-二羟基苄醇	2.01	3.69	1.88	0.020
（*E*）-燕麦蒽酰胺 D	1.99	1.82	0.86	0.036
吲哚乳酸	1.97	2.39	1.26	0.049
苯丙氨酰-天冬氨酸	1.94	2.38	1.25	0.018
1-甲基烟酰胺	1.77	1.46	0.55	0.010
D-尿胆素	1.70	3.65	1.87	0.011
N-乙酰异腐胺	1.68	1.57	0.65	0.012
甘氨胆酸	1.60	4.04	2.01	0.028
缬氨酰-甘氨酰-缬氨酸	1.54	2.08	1.06	0.014

注：VIP为变量投影重要度；FC为两组间代谢物表达差异倍数；[a]恩替卡韦为乙型肝炎肝硬化患者抗病毒治疗药物暴露标志物，非人体内源性代谢物；[b]羟基苯乳酸和藜芦酸为同分异构体。

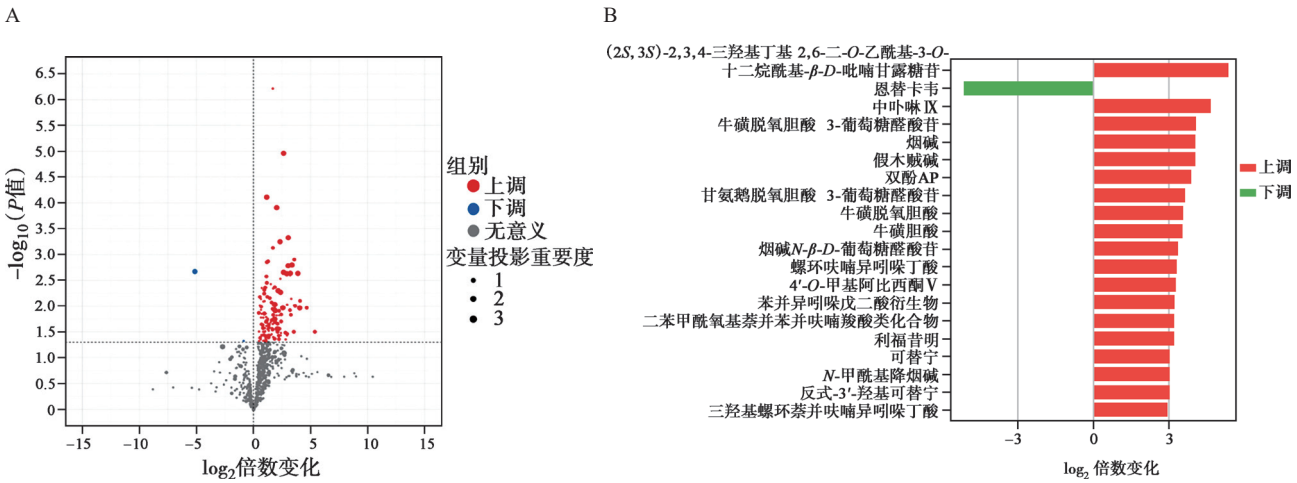


图2 酒精性肝硬化组与乙型肝炎肝硬化组间尿液谱差异代谢物的筛选与分布特征

注：A为火山图，展示了两组间差异代谢物的分布情况；B为条形图，展示了差异倍数的绝对值排名前20的差异代谢物。

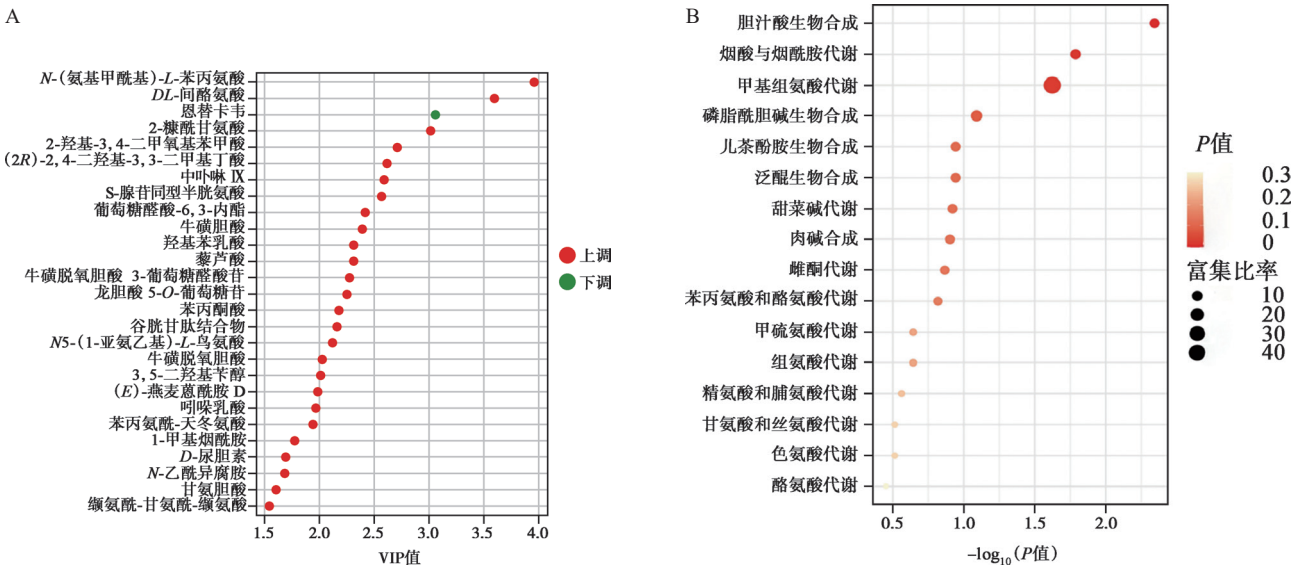


图 3　酒精性肝硬化组与乙型肝炎肝硬化组关键差异代谢物的 VIP 值分布及代谢通路富集分析

注：A 为气泡图，展示了 $P \leqslant 0.05$，VIP $\geqslant 1$，$|\log_2$ 差异倍数$| > 0.5$ 筛选后的差异代谢物 VIP 分布情况；B 为富集分析气泡图，展示排名前 16 的富集代谢通路；VIP 为变量投影重要度。

表 3　酒精性肝硬化组与乙型肝炎肝硬化组关键差异代谢物的代谢通路富集分析（个）

代谢通路名称	代谢物总数	富集到的差异代谢物	预期富集数	*P* 值
胆汁酸生物合成	65	3	0.389	0.005
烟酸和烟酰胺代谢	35	2	0.210	0.016
甲基组氨酸代谢	4	1	0.024	0.023
磷脂酰胆碱生物合成	14	1	0.084	0.081
儿茶酚胺生物合成	20	1	0.120	0.114
泛醌生物合成	20	1	0.120	0.114
甜菜碱代谢	21	1	0.126	0.120
肉碱合成	22	1	0.132	0.125
雌酮代谢	24	1	0.144	0.136
苯丙氨酸和酪氨酸代谢	27	1	0.162	0.152
甲硫氨酸代谢	42	1	0.251	0.227
组氨酸代谢	42	1	0.251	0.227
精氨酸和脯氨酸代谢	52	1	0.311	0.274
甘氨酸和丝氨酸代谢	59	1	0.353	0.306
色氨酸代谢	59	1	0.353	0.306
酪氨酸代谢	70	1	0.419	0.353

性分析（图 4），结果表明 27 种关键差异代谢物与临床指标间存在不同程度的相关性，提示这些代谢物与肝功能损伤程度间存在密切关联，具有潜在的临床表征意义。

2.5　基于 LASSO 回归的核心代谢物筛选　为进一步从 27 种关键差异代谢物中提取对两种病因肝硬化区分贡献最大的核心代谢物，采用 LASSO 回归进行特征筛选。经十折交叉验证确定最优惩罚参数 λ（图 5A），λ_{min} 模型对应 14 种代谢物，λ_{1SE} 模型对应 9 种代谢物（图 5B）。两个模型的性能对比见表 4，综合考量模型预测效能与简洁性，本研究以 λ_{1SE} 模型所筛选出的 9 种代谢物作为核心差异代谢物用于后续分析。9 种核心代谢物依次为：牛磺脱氧胆酸、中叶啉Ⅸ、*DL*-间酪氨酸、1-甲基烟酰胺、2-羟基-3，4-二甲氧基苯甲酸、（2*R*）-2，4-二羟基-3，3-二甲基丁酸、葡萄糖醛酸-6，3-内酯、谷胱甘肽结合物及恩替卡韦。上述代谢物中，牛磺脱氧胆酸、1-甲基烟酰胺、葡萄糖醛酸-6，3-内酯为 MSI Level 1（经标准品确认）；中叶啉Ⅸ、*DL*-间酪氨酸、2-羟基-3，4-二甲氧基苯甲酸、（2*R*）-2，4-二羟基-3，3-二甲基丁酸及恩替卡韦为 MSI Level 2（与公共数据库匹配）；谷胱甘肽结合物为 MSI Level 3（推定特征）。与乙型肝炎肝硬化组相比，酒精性肝硬化组中上述多数核心代谢物呈显著上调趋势，仅恩替卡韦呈下调趋势，与其作为乙型肝炎抗病毒治疗药物的暴露特征一致（图 5C）。留一法交叉验证显示，基于上述 9 种核心代谢物的模型平均分类准确率为 82.14%（95%*CI*：69.6%～91.1%），表明模型具有良好的稳健性，未出现过拟合。进一步 Spearman 相关性分析显示，在 9 种核心差异代谢物中，GGT 与其中 5 种代谢物［2-羟基-3，4-二甲氧基苯甲酸、1-甲基烟酰胺、*DL*-间酪氨酸、葡萄糖醛酸-6，3-内酯、（2*R*）-2，4-二羟基-3，3-二甲基丁酸］呈显著相关（图 5D），提示 GGT 所反映的胆汁淤积状态与酒精性肝硬化特征性代谢紊乱间存在密切关联。

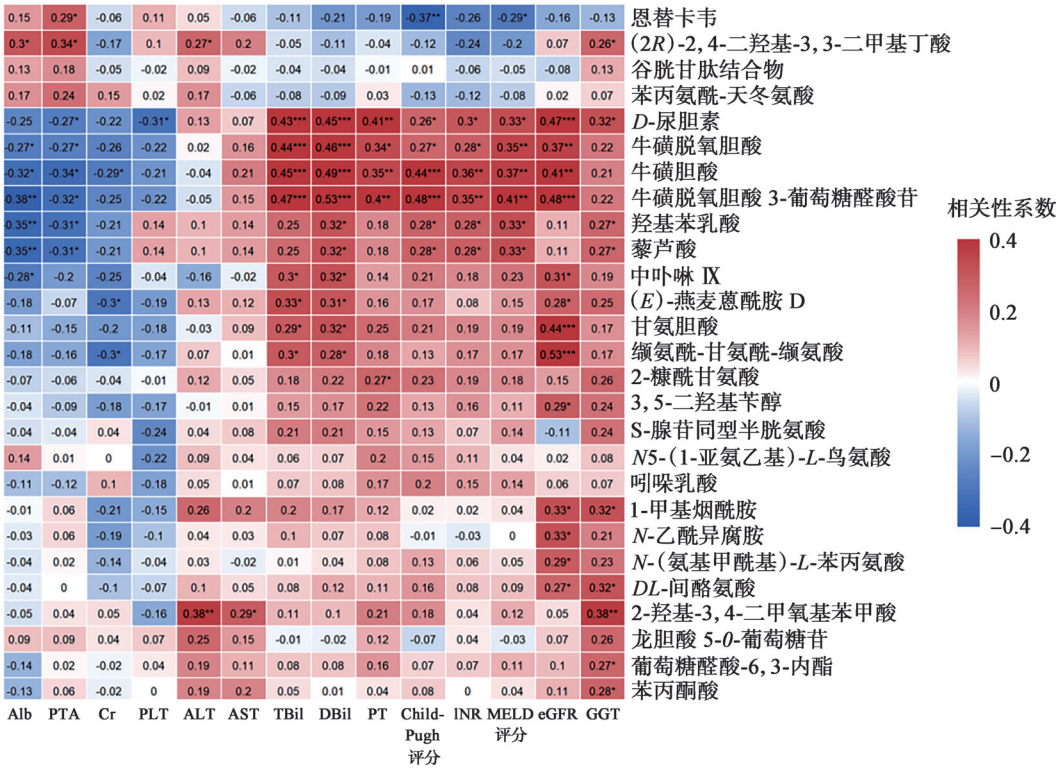


图4　酒精性肝硬化组与乙型肝炎肝硬化组关键差异代谢物与主要临床指标的Spearman秩相关分析

注：Alb为白蛋白，PTA为凝血酶原活动度，Cr为肌酐，PLT为血小板，ALT为丙氨酸氨基转移酶，AST为天冬氨酸氨基转移酶，TBil为总胆红素，DBil为直接胆红素，PT为凝血酶原时间，INR为国际标准化比值；MELD为终末期肝病模型，eGFR为估算肾小球滤过率，GGT为γ-谷氨酰转移酶；$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

表4　LASSO回归λ_{min}模型和λ_{1SE}模型性能对比

项目	λ值	代谢物种类（种）	ROC曲线下面积	准确率（%）
λ_{min}模型	0.0258	14	0.996	96.4
λ_{1SE}模型	0.0719	9	0.989	96.4

注：ROC为受试者工作特征。

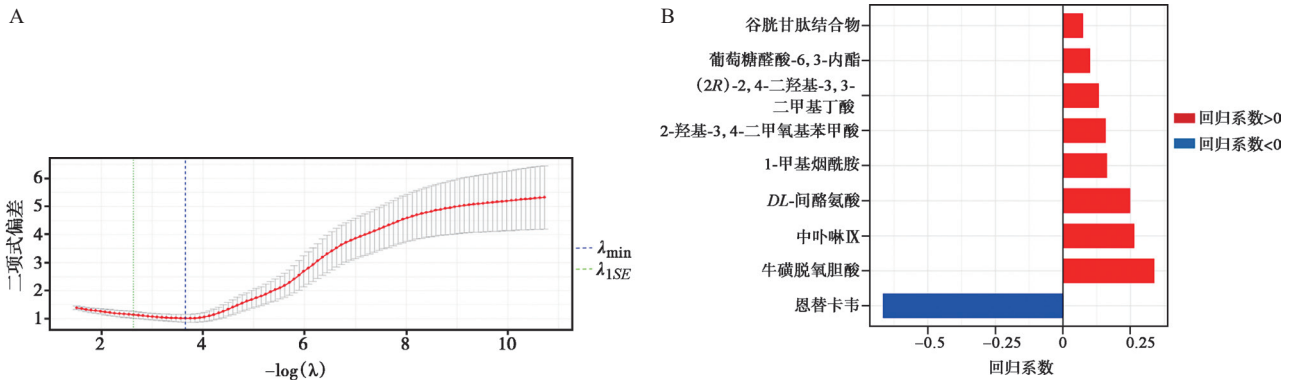
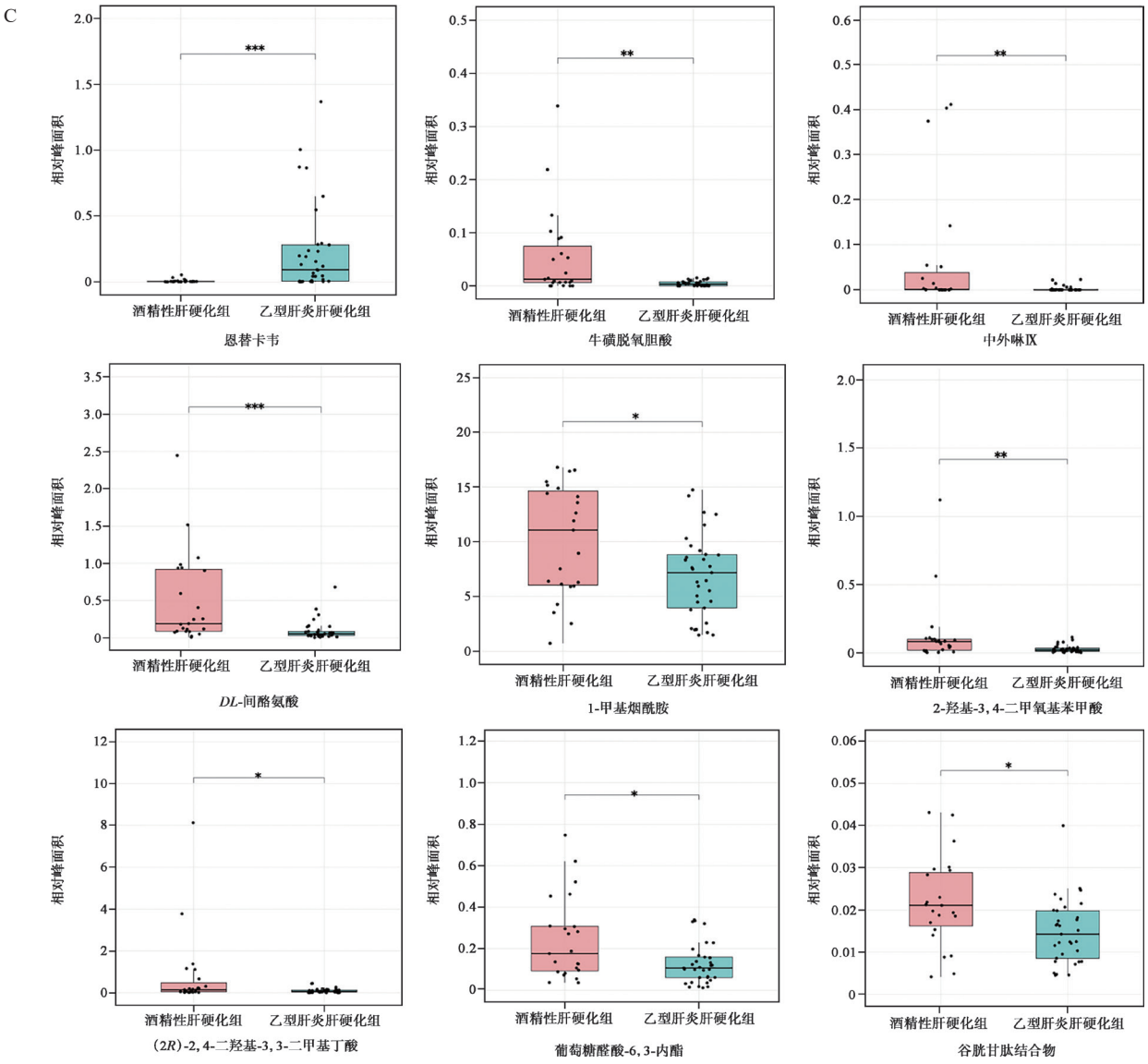


图5　基于LASSO回归的核心差异代谢物筛选



续图 5　基于 LASSO 回归的核心差异代谢物筛选

注：A 为 LASSO 回归交叉验证曲线，虚线表示交叉验证选择的最优 λ 值；B 为 LASSO 回归系数分布图，蓝色为负相关，红色为正相关；C 为箱线图，显示核心代谢物在两组肝硬化患者中的表达差异；D 为核心代谢物与临床指标的相关性热图，Alb 为白蛋白，PTA 为凝血酶原活动度，Cr 为肌酐，PLT 为血小板，ALT 为丙氨酸氨基转移酶，AST 为天冬氨酸氨基转移酶，TBil 为总胆红素，DBil 为直接胆红素，PT 为凝血酶原时间，INR 为国际标准化比值，MELD 为终末期肝病模型，eGFR 为估算肾小球滤过率，GGT 为 γ-谷氨酰转移酶；$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$。

2.6 核心代谢物对两种肝硬化的鉴别效能 GGT 是临床评估肝脏损伤及胆汁淤积的常用生物化学指标，ROC 分析表明，GGT 鉴别酒精性肝硬化和乙型肝炎肝硬化的 ROC 曲线下面积为 0.734（95%*CI*：0.602～0.866），根据约登指数确定最佳截断值为 33.5 U/L，敏感度为 69.6%，特异度为 69.7%，提示 GGT 对酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化具有一定的区分价值，但效能有限。剔除恩替卡韦后，以剩余 8 种由 LASSO 回归筛选出的核心内源性代谢物构建诊断模型（8 种内源代谢物模型），其 ROC 曲线下面积为 0.909，较 GGT 单独诊断显著提升（$Z=-2.36$，$P=0.018$）。8 种内源代谢物模型与 GGT 联合的 ROC 曲线下面积为 0.922，最佳截断值为 0.459（预测概率），敏感度为 82.6%，特异度为 97.0%，与 8 种内源代谢物模型相比，ROC 曲线下面积差异无统计学意义（$Z=-1.04$，$P=0.298$）。为排除性别混杂效应，仅纳入男性患者（44 例，剔除 1 例数据不完整的样本）开展敏感性分析，结果与总样本一致，提示性别并非主要混杂因素。见图 6、表 5。考虑到两组患者尿液浓缩程度可能存在差异，为进一步验证上述结论是否受尿液浓度干扰，对上述 8 种内源性代谢物进行 Cr 归一化校正。校正后 8 种内源代谢物模型的 ROC 曲线下面积为 0.923（95%*CI*：0.832～1.000），联合 GGT 后 ROC 曲线下面积为 0.938（95%*CI*：0.850～1.000），见图 7、表 6，与校正前结果一致，提示本研究的核心鉴别诊断结论受尿液浓缩效应干扰较小，结果具备稳健性。以上结果表明，8 种核心内源性代谢物联合模型具有良好的鉴别效能，GGT 的增量价值有限，需在更大样本中进一步验证。

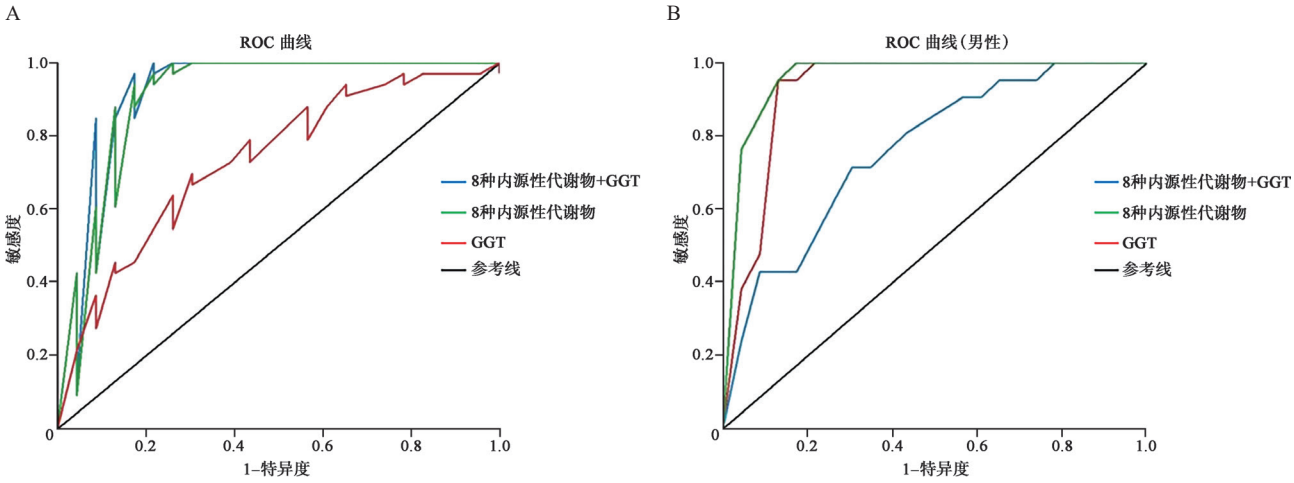


图 6 GGT 和 8 种内源代谢物模型鉴别酒精性肝硬化和乙型肝炎肝硬化的 ROC 曲线

注：A 为总体样本；B 为男性亚组；GGT 为 γ-谷氨酰转移酶。

表 5 总样本及男性亚组中 GGT 和 8 种内源性代谢物对酒精性肝硬化和乙型肝炎肝硬化的鉴别效能

项目	ROC 曲线下面积（95%*CI*）	截断值	敏感度（%）	特异度（%）
总样本				
GGT	0.734（0.602～0.866）	33.5[b]	69.6	69.7
8 种内源性代谢物	0.909（0.814～1.000）	0.395	82.6	93.9
8 种内源性代谢物＋GGT	0.922（0.833～1.000）	0.459	82.6	97.0
男性亚组[a]				
GGT	0.751（0.603～0.898）	33.5[b]	69.6	71.4
8 种内源性代谢物	0.907（0.814～0.999）	0.484	87.0	95.2
8 种内源性代谢物＋GGT	0.954（0.889～1.000）	0.671	82.6	100.0

注：[a]男性亚组剔除 1 例缺失值后实际纳入 44 例（酒精组 23 例，乙型肝炎组 21 例），该亚组中未出现假阳性，可能与样本量较小有关；[b]单位为 U/L；GGT 为 γ-谷氨酰转移酶，ROC 为受试者工作特征。

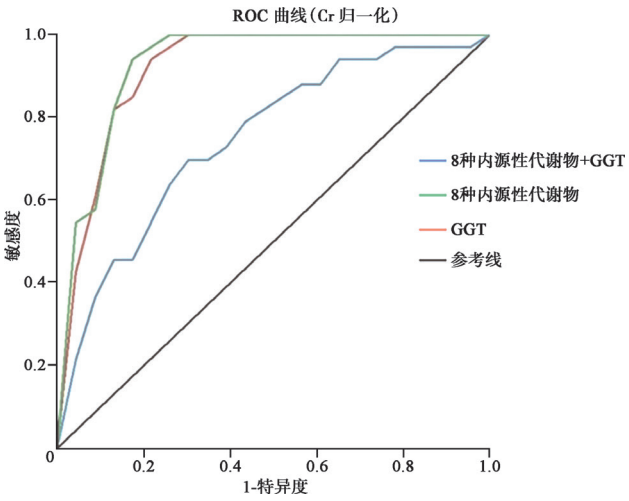


图 7　Cr 归一化后 GGT 和 8 种内源代谢物模型鉴别酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化的 ROC 曲线（总样本）

注：Cr 为肌酐，GGT 为 γ-谷氨酰转移酶，ROC 为受试者工作特征。

表 6　肌酐归一化后 GGT 和 8 种内源性代谢物模型对酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化的鉴别效能（总样本）

模型	ROC 曲线下面积（95%*CI*）	截断值	敏感度（%）	特异度（%）
GGT	0.734（0.602～0.866）	33.5[a]	69.6	69.7
8 种内源性代谢物	0.923（0.832～1.000）	0.4801	78.3	96.9
8 种内源性代谢物＋GGT	0.938（0.85～1.000）	0.3801	91.3	90.6

注：GGT 为 γ-谷氨酰转移酶，ROC 为受试者工作特征；[a] 单位为 U/L。

3　讨论

本研究采用基于 LC-MS 的非靶向尿液代谢组学技术，系统比较了酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化患者的尿液代谢谱，初步识别出 148 种候选差异代谢物（未校正 *P* 值），涉及胆汁酸生物合成、烟酰胺代谢及甲基组氨酸代谢等多条代谢通路，并基于 LASSO 回归构建了有潜在应用价值的模型，结果表明，与乙型肝炎肝硬化相比，酒精性肝硬化患者尿液中多种结合型胆汁酸显著上调，MSEA 亦证实胆汁酸生物合成通路为最显著富集通路，提示胆汁酸代谢异常是酒精性肝硬化的核心代谢特征之一。胆汁酸是胆固醇代谢的终末产物，在肝脏合成后经胆道分泌至肠道，经肠道菌群修饰后通过肠肝循环再吸收[21]。酒精性肝硬化患者胆汁酸代谢紊乱的机制可能涉及以下方面：酒精及其代谢产物乙醛可直接损伤肝细胞[22]，破坏胆汁酸合成酶系的功能并抑制胆汁酸转运蛋白的表达[23]；长期大量饮酒可诱导肠道菌群结构失调，进而干扰胆汁酸的肠道生物转化与肠肝循环过程[24]。值得注意的是，本研究中 GGT 与 5 种核心差异代谢物具有显著相关性，GGT 作为胆汁淤积的敏感生物化学标志物[25]，其与胆汁酸代谢物的强相关性从临床角度进一步印证酒精性肝硬化患者存在更严重的胆汁排泄障碍。同时，本研究中酒精性肝硬化组中位 MELD 评分为 12.87 分，显著高于乙型肝炎肝硬化组的 9.90 分，与两组 DBil、Child-Pugh 评分及 GGT 水平的差异方向一致，进一步支持酒精性肝硬化患者整体肝功能受损及胆汁淤积程度更重的结论。

烟酰胺代谢通路是本研究中另一个显著富集的差异代谢通路，1-甲基烟酰胺是 LASSO 回归筛选出的核心差异代谢物之一，其是烟酰胺经烟酰胺 *N*-甲基转移酶催化甲基化后的产物，可经尿液排泄[26]。烟酰胺作为维生素 B_3 的活性形式[27]，是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（nicotinamide adenine dinucleotide，NAD）$^+$从头合成的重要前体，参与细胞能量代谢、氧化还原平衡、DNA 损伤修复及表观遗传调控等多项关键生物过程。已有研究表明，NAD^+ 从头合成途径在肝损伤状态下受到明显抑制，而补充 NAD^+ 前体物质可有效缓解肝脏炎症反应和纤维化进程[28]。本研究中酒精性肝硬化组尿液 1-甲基烟酰胺水平显著高于乙型肝炎肝硬化组，提示酒精性肝损伤可能伴随更严重的 NAD^+ 代谢紊乱，烟酰胺代谢通路或可作为酒精性肝硬化代谢干预的潜在靶点。MSEA 还发现甲基组氨酸代谢通路在酒精性肝硬化中显著富集。甲基组氨酸是骨骼肌中肌动蛋白和肌球蛋白水解的特异性代谢终产物，其尿液排泄量可反映机体骨骼肌蛋白的分解代谢速率。肝硬化患者普遍存在肌肉减少症和蛋白能量营养不良[29]，本研究中该通路在酒精性肝硬化中的异常富集提示，与乙型肝炎肝硬化相比，酒精性肝硬化患者可能面临更严重的骨骼肌消耗，这与长期酒精摄入对肌肉蛋白合成的直接抑制效应相符，值得临床营养管理重点关注。

在 9 种核心代谢物中，恩替卡韦仅在乙型肝炎肝硬化组中检出，反映了该组患者长期接受核苷（酸）类似物抗病毒治疗的用药暴露史，而非疾病本身的内源性代谢特征。为排除其对诊断模型的干扰，本研究剔除恩替卡韦后进行了 ROC 分析，结果证实内源性代谢物的独立诊断贡献稳健可靠。谷胱甘肽结合物在酒精性肝硬化组中显著上调，提示酒精性肝损伤状态下肝脏谷胱甘肽介导的解毒通

路处于激活状态[30]，这与酒精代谢过程中活性氧大量生成、氧化应激负荷加重的病理机制一致。此外，本研究还观察到酒精性肝硬化组相比乙型肝炎肝硬化组呈现广泛的代谢物上调（146种上调，2种下调）。这一极端分布可能由技术和生物学两方面的因素共同导致。尽管采用了内标法校正仪器波动，但不同个体间尿液浓度的固有差异（如酒精性肝硬化患者可能因饮水减少、肾功能改变等导致尿液浓缩）仍可能导致代谢物峰面积系统性偏高。为评估该混杂因素带来的影响，本研究额外开展Cr比值归一化的敏感性分析，结果提示尿液浓缩对本研究主要鉴别结论干扰较小。从生物学层面看，长期酒精摄入可抑制肾小管对多种小分子代谢物的重吸收功能，同时酒精性肝硬化患者更为显著的胆汁淤积、氧化应激及肠道菌群紊乱也可能广泛影响代谢谱，后续仍需借助靶向代谢组学在独立队列中进一步验证核心代谢物的差异方向。本研究尚存在以下局限性：首先，样本量较小且为单中心研究，结论的外部推广性有待多中心大样本研究验证；其次，部分基线信息缺失，如酒精性肝硬化患者的饮酒情况和乙型肝炎肝硬化患者的抗病毒情况，可能对代谢谱差异分析存在混杂干扰；第三，本研究未纳入健康对照组，无法评估肝硬化患者相对于正常人群的整体代谢偏移，同时，差异代谢物筛选中未进行FDR多重比较校正，所有差异代谢物均为探索性发现，需在后续独立队列中验证；最后，本研究为横断面设计，所发现的代谢通路异常与肝硬化发生发展的因果关系尚需基础实验进一步验证。

综上，本研究基于非靶向尿液代谢组学技术，系统揭示了酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化患者间的代谢谱差异，基于LASSO回归筛选出的8种核心代谢物联合GGT构建的鉴别诊断模型展现出良好的区分效能，为深入理解两种病因肝硬化的差异化代谢机制提供了新的视角，同时为临床无创鉴别诊断提供了潜在的生物标志物组合。后续研究将在更大规模的多中心队列中对上述标志物及诊断模型进行外部验证，并结合机制实验进一步阐明相关代谢通路异常在两种肝硬化发生发展中的生物学意义，以期为肝硬化的精准诊疗提供科学依据。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

人工智能使用声明 本文未使用任何人工智能相关工具对文字、表格及图片进行处理

参考文献

[1] 单姗，赵连晖，马红，等. 肝硬化的定义、病因及流行病学[J]. 临床肝胆病杂志，2021，37（1）：14-16.
[2] 庞陆鑫，江振洲，张陆勇. 胆汁酸代谢紊乱对酒精性肝病的影响及其作用机制[J]. 药学研究，2025，44（5）：474-479，511.
[3] Varbobitis I，Papatheodoridis G V. The assessment of hepatocellular carcinoma risk in patients with chronic hepatitis B under antiviral therapy[J]. Clin Mol Hepatol，2016，22（3）：319-326.
[4] Qiu S，Cai Y，Yao H，et al. Small molecule metabolites：discovery of biomarkers and therapeutic targets[J]. Signal Transduct Target Ther，2023，8（1）：132.
[5] Wang S，He T，Wang H. Non-targeted metabolomics study for discovery of hepatocellular carcinoma serum diagnostic biomarker[J]. J Pharm Biomed Anal，2024，239：115869.
[6] Chen J，Lu R S，Diaz-Canestro C，et al. Distinct changes in serum metabolites and lipid species in the onset and progression of NAFLD in Obese Chinese[J]. Comput Struct Biotechnol J，2024，23：791-800.
[7] Li X，Wang R，Zhou H，et al. Serum-urine metabolic integration via UPLC-QTOF/MS uncovers shared pathway biomarkers for cirrhosis diagnosis[J]. Front Med，2026，12：1646323.
[8] Zhan S，Zhou X，Fu J. Noninvasive urinary biomarkers for obesity-related metabolic diseases：diagnostic applications and future directions[J]. Biomolecules，2025，15（5）：633.
[9] Zhu G，Luo Y，Su N，et al. Urine metabolomics of gout reveals the dynamic reprogramming and non-invasive biomarkers of disease progression[J]. Metabolites，2025，15（9）：580.
[10] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组，中国医师协会脂肪性肝病专家委员会. 酒精性肝病防治指南（2018年更新版）[J]. 临床肝胆病杂志，2018，34（5）：939-946.
[11] 中华医学会肝病学分会，中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南（2022年版）[J]. 中华临床感染病杂志，2022，15（6）：401-427.
[12] Wang J L，Zhang T，Shen X T，et al. Serum metabolomics for early diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma by UHPLC-QTOF/MS[J]. Metabolomics，2016，12（7）：116.
[13] Dunn W B，Broadhurst D，Begley P，et al. Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry[J]. Nat Protoc，2011，6（7）：1060-1083.
[14] Want E J，Wilson I D，Gika H，et al. Global metabolic profiling procedures for urine using UPLC-MS[J]. Nat Protoc，2010，5（6）：1005-1018.
[15] Triba M N，Le Moyec L，Amathieu R，et al. PLS/OPLS models in metabolomics：the impact of permutation of dataset rows on the K-fold cross-validation quality parameters[J]. Mol Biosyst，2015，11（1）：13-19.
[16] Schermer Y，Wagner F，Stegmüller S，et al. Comparison of popular enrichment methods for untargeted in vitro metabolomics[J]. Metabolomics，2025，21（4）：103.
[17] Sumner L W，Amberg A，Barrett D，et al. Proposed minimum reporting standards for chemical analysis Chemical Analysis Working Group（CAWG）Metabolomics Standards Initiative（MSI）[J]. Metabolomics，2007，3（3）：211-221.
[18] Tibshirani R. Regression shrinkage and selection via the lasso[J]. J R Stat Soc Ser B，1996，58（1）：267-288.
[19] Friedman J，Hastie T，Tibshirani R. Regularization paths for generalized linear models via coordinate descent[J]. J Stat Softw，

2010，33（1）：1-22.
[20] Lin N，Jin J，Yang S，et al. A nomogram for predicting hemorrhagic shock in pediatric patients with multiple trauma [J]. Sci Rep，2024，14（1）：13308.
[21] Zhuang T，Wang X，Wang Z，et al. Biological functions and pharmacological behaviors of bile acids in metabolic diseases [J]. J Adv Res，2025，75：779-792.
[22] Park S H，Seo W. Key mechanisms in alcohol-associated liver disease：hepatic ADH deficiency, dysregulated hepatic lipid metabolism，and nonoxidative ethanol metabolites [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol，2025，328（4）：G426-G428.
[23] Liu Y，Liu T，Zhao X，et al. New insights into the bile acid-based regulatory mechanisms and therapeutic perspectives in alcohol-related liver disease [J]. Cell Mol Life Sci，2022，79（9）：486.
[24] Kuo C H，El-Omar E，Kao C Y，et al. Compositional and metabolomic shifts of the gut microbiome in alcohol-related liver disease [J]. J Gastroenterol Hepatol，2025，40（9）：2176-2189.
[25] 中华医学会肝病学分会. 胆汁淤积性肝病管理指南（2021）[J]. 临床肝胆病杂志，2022，38（1）：62-69.
[26] Covarrubias A J，Perrone R，Grozio A，et al. NAD^+ metabolism and its roles in cellular processes during ageing [J]. Nat Rev Mol Cell Biol，2021，22（2）：119-141.
[27] 徐晚枫，厉平，李玲. 烟酰胺 N-甲基转移酶的研究进展 [J]. 中国医科大学学报，2021，50（3）：254-257.
[28] Guo Y，Wang Y，Wu S，et al. NAD^+ in fatty liver disease：mechanistic insights and associated targets [J]. Cell Biol Toxicol，2025，41（1）：156.
[29] 敖紫淳，朱洁，吴清明. 肝硬化患者营养不良、肌肉减少症及脂质代谢异常的研究进展 [J]. 武汉大学学报（医学版），2024，45（10）：1263-1271.
[30] Mathan Kumar S，Dey A. Regulation of glutathione in health and disease with special emphasis on chronic alcoholism and hyperglycaemia mediated liver injury：a brief perspective [J]. Springer Sci Rev，2014，2：1-13.

收稿日期：2026-05-15

郑雨竹，马文霞，马佳艺，等. 基于非靶向代谢组学的酒精性肝硬化与乙型肝炎肝硬化患者尿液代谢特征差异分析——单中心初步探索性研究 [J/CD]. 中国肝脏病杂志（电子版），2026，18（3）：29-41.

·读者·作者·编者

本刊对来稿参考文献格式的要求

本刊执行 GB/T 7714-2025《信息与文献　参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录，依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出，并将序号置于方括号中，排列于文后。内部刊物、未发表资料（不包括已被接受的待发表资料）、个人通信等请勿作为文献引用，确需引用时，可将其在正文相应处注明。日文汉字请按日文规定书写，勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过 3 人全部著录；超过 3 人可以只著录前 3 人，后依文种加表示“，等”的文字。作者姓名一律姓氏在前、名字在后，外国人的名字采用首字母缩写形式，缩写名后不加缩写点；不同作者姓名之间用“,”隔开，不用“和”“and”等连词。请于文献题名项后增加标注文献类型标志项目，示例如下：

[1] 张伯伟. 全唐五代诗格汇考 [M]. 南京：江苏古籍出版社，2002：288.

[2] 张群，程志宝，石志飞. 惯性增强动力吸振器—浮置板轨道低频减振性能研究 [J]. 铁道学报，2024，46（8）：102-111.

[3] 李幼平，王莉. 循证医学研究方法：附视频 [J/OL]. 中华移植杂志（电子版），2010，4（3）：225-228. https://qikan.cqvip.com/Qikan/Article/Detail?id=36658332&from=Qikan Search Index.

本刊编辑部