

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.23.005

不同流式微球分析法多重细胞因子检测试剂对比与分析*

高丽丽¹, 赵仁彬¹, 王娅婕¹, 李增政¹, 撒亚莲², 杨同华^{1△}

昆明理工大学附属医院/云南省第一人民医院/云南省血液疾病临床医学中心/云南省血液病医院:

1. 血液科; 2. 临床医学中心, 云南昆明 650032

摘要:目的 比较 3 种不同品牌的流式微球分析法多重细胞因子检测试剂(A、B、C 试剂)检测结果。方法 选取 2020 年 1 月至 2021 年 12 月在云南省第一人民医院确诊为急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓系白血病(AML)、慢性髓系白血病(CML)、噬血细胞综合征(HPS)和多发性骨髓瘤(MM)的 50 例患者(病例组)分别作为 ALL 组、AML 组、CML 组、HPS 组和 MM 组, 每组 10 例。另选取同期健康体检者(健康组)12 例。采集各组外周血, 获取血清标本。采用 A、B、C 试剂检测健康组血清标本 6 种细胞因子[白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、 γ 干扰素(IFN- γ)]水平, 分析检测结果有无可比性。采用筛选出的试剂检测健康组及病例组血清标本 14 种细胞因子(IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12P70、IL-1 β 、IL-2、IFN- γ 、TNF- α 、TNF- β 、IL-17A、IL-17F、IL-22)水平, 评估各试剂是否满足临床需求。结果 A、B、C 试剂分别检测健康组血清 6 种细胞因子的结果显示, A 试剂和 C 试剂对 IL-6、IL-10、IFN- γ 的检测结果显示, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); A 试剂和 B 试剂对 IL-4、IL-6、IL-10、IFN- γ 的检测结果显示, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); C 试剂和 B 试剂对 6 种细胞因子的检测结果比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。A 试剂的检测值范围宽, 高、低值差异明显, 变异系数(CV)较均一。筛选的 A 试剂对各组 14 种细胞因子的检测结果显示, ALL 组、AML 组、CML 组 IL-6、IL-8 检测结果明显高于正常参考值, HPS 组 IL-10 检测结果明显高于正常参考值, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 不同品牌细胞因子检测试剂存在差异, 3 种细胞因子检测试剂盒在检测相同的标本时, A 试剂的检测值范围宽, 高、低值差异明显, 可满足临床需求; B 试剂和 C 试剂的检测值范围窄, 且较集中。

关键词:流式微球分析法; 细胞因子; 试剂; 变异系数

中图法分类号: R733; R446.11

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)23-3185-05

Comparison and analysis of multiple cytokine detection reagents with different flow microsphere assay*

GAO Lili¹, ZHAO Renbin¹, WANG Yajie¹, LI Zengzheng¹, SA Yalian⁴, YANG Tonghua^{1△}

1. Department of Hematology; 2. Clinical Medical Center, the First People's Hospital of Yunnan Province Affiliated to Kunming University of Science and Technology/Clinical Medical Center for Blood Diseases of Yunnan Province/Yunnan Provincial Hospital of Hematology, Kunming, Yunnan 650032, China

Abstract: **Objective** To compare the detection results of multiple cytokine detection reagents (reagents A, B and C) of three different brands of flow microsphere analysis. **Methods** From January 2020 to December 2021, 50 patients (case group) diagnosed with acute lymphoblastic leukemia (ALL), acute myeloid leukemia (AML), chronic myeloid leukemia (CML), haemophilic cell syndrome (HPS) and multiple myeloma (MM) in First People's Hospital of Yunnan Province were selected as ALL group, AML group, CML group, HPS group and MM group, 10 cases in each group. In addition, 12 healthy subjects were selected as healthy group. Peripheral blood of each group was collected and serum samples were obtained. The levels of 6 cytokines [interleukin (IL) -2, IL-4, IL-6, IL-10, tumor necrosis factor- α (TNF- α), γ interferon (IFN- γ)] in serum samples of healthy group were detected by reagent A, B and C, and the results were compared. The selected reagent was used to detect the levels of 14 cytokines (IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-1 β , IL-2, IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-17A, IL-17F and IL-22) in serum samples of the healthy group and the case group. Meanwhile, each brand reagent were evaluated if met clinical needs. **Results** The results of detecting 6 cytokines in the healthy group with reagent A, B and C showed that there were statistically significant differences in the detection re-

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(82060028); 云南省血液病临床医学中心开放课题(2020LCZXKF-XY07)。

作者简介: 高丽丽, 女, 医师, 主要从事血液学精准诊断方向研究。△ 通信作者, E-mail: ynanblood@aliyun.com。

sults of IL-6, IL-10 and IFN- γ between reagent A and reagent C ($P < 0.05$). There were significant differences in the detection results of IL-4, IL-6, IL-10 and IFN- γ between reagent A and reagent B ($P < 0.05$). There was no significant difference in the detection results of 6 cytokines between C reagent and B reagent ($P > 0.05$). The detection value range of reagent A was wide, and the difference between high and low values was obvious. Moreover, the coefficient of variation (CV) of detection results of reagent A was uniform. The detection results of 14 cytokines in each group by screening reagent A showed that the detection results of IL-6 and IL-8 in ALL group, AML group and CML group were significantly higher than the normal reference values, and the detection results of IL-10 in HPS group were significantly higher than the normal reference values, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** There are differences in cytokine detection reagents of different brands. When the three cytokine detection kits detect the same specimen, reagent A has a wide range of detection values, and the difference between high and low values is obvious, which can meet clinical needs. However, the detection ranges of reagent B and reagent C are narrow and concentrated.

Key words: flow microsphere assay; cytokines; reagents; coefficient of variation

细胞因子是由免疫原、丝裂原或其他刺激剂诱导多种细胞合成、分泌的一类具有广泛生物学活性的小分子蛋白或多肽,可分为白细胞介素(IL)、干扰素(IFN)、肿瘤坏死因子(TNF)、集落刺激因子(CSF)、趋化因子和生长因子等,其同机体的免疫细胞和免疫器官构成人体复杂的网络关系,并作用于靶细胞后介导各种疾病的保护性或破坏性免疫应答^[1-2]。正常生理状态下,人体内细胞因子的水平是不可检测或是非常低的。但在病理状态下,细胞因子会出现异常表达。因此,对细胞因子的检测有助于判断机体的免疫功能,指导治疗,评估患者的疗效与预后。

双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)是检测细胞因子最经典的一种方法,但由于所需标本量较大,灵敏度低,稳定性差,操作起来耗时耗力,效率低,缺乏多重性,一次只能检测一种细胞因子,已不能满足临床所需。而流式微球分析法所需标本量少,且一次检测可快速实现多个目标蛋白的定性和定量检测,能反应细胞因子之间的网络关系,体现出免疫动态演变关系。有研究显示,流式微球分析法和 ELISA 的结果具有很好的一致性,且流式微球分析法具有更高的特异度和灵敏度,对于小体积标本的适用性良好,可广泛适用于临床研究及实验室进行高通量细胞因子检测^[3-4]。本实验中所用的 3 种试剂盒都是基于流式微球技术研发而成,不同的是各试剂盒的具体操作步骤和检测的细胞因子组合。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月至 2021 年 12 月在云南省第一人民医院(下称本院)确诊为急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓系白血病(AML)、慢性髓系白血病(CML)、噬血细胞综合征(HPS)和多发性骨髓瘤(MM)的 50 例患者(病例组)分别作为 ALL 组、AML 组、CML 组、HPS 组和 MM 组,每组 10 例。病例组男 28 例、女 22 例,年龄 27~65 岁。ALL、AML、

CML、HPS 和 MM 的诊断及分型标准分别参照 2016 版《中国成人急性淋巴细胞白血病诊断与治疗指南》^[5]、2017 版《成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南》^[6]、2016 版《中国慢性髓性白血病诊断与治疗指南》^[7]、2018 版《噬血细胞综合征诊治中国专家共识》^[8]、2018 版《多发性骨髓瘤诊治指南解读》^[9]。另选取同期健康体检者 12 例作为健康组,其中男 5 例、女 7 例,年龄 25~60 岁。本研究经本院伦理委员会批准,所有受试者签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 NovoCyte 2060R 流式细胞仪[艾森生物(杭州)有限公司];A 试剂(天津矿博同生生物技术有限公司);B 试剂(青岛瑞思凯尔生物科技有限公司);C 试剂(江西诺德医疗器械有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 标本采集及处理 采集各组受试者入院或体检时外周血 3~5 mL,注入真空分离胶促凝管,室温自然凝固,离心 5 min,取上层血清 500 μ L 备用,标本收集后于 4~6 h 内检测,如无法及时检测,收集后立即 -20 $^{\circ}$ C 保存,长期保存 1 置于 -80 $^{\circ}$ C 条件下,忌反复冻融。血清标本的处理过程严格按照各试剂盒说明书操作。采用 3 种不同试剂(A、B、C 试剂)检测健康组血清标本 6 种细胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ)水平,并用筛选后试剂检测 6 组血清标本 14 种细胞因子(IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12P70、IL-1 β 、IL-2、IFN- γ 、TNF- α 、TNF- β 、IL-17A、IL-17F、IL-22)水平。

1.3.2 检测数据获取及分析 标本上机前行流式细胞仪质控检测分析,检查各参数的测试数据是否在标准范围内,以此确保仪器的稳定可靠运行;完成实验后收集数据,使用回归系数来拟合标准曲线,检测结果参照标准曲线得出精确水平,输出数据文件,A 试剂和 C 试剂的数据分析软件为 BD FCAP Array

v3.0.1,B 试剂的数据分析软件为其自带的分析软件。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS21.0 及 GraphPad Prism 7.00 进行分析。计数资料以例数或率表示,比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析及 SNK-*q* 检验,两组比较采用独立样本 *t* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 健康组 6 种细胞因子检测结果比较 采用 A、B、C 试剂分别检测健康组 6 种细胞因子水平,检测结

果见表 1。A 试剂的检测值范围宽,高、低值差异明显,C 试剂和 B 试剂的检测值低,且较集中。C 试剂和 A 试剂对 IL-6、IL-10、IFN- γ 的检测结果比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);A 试剂和 B 试剂对 IL-4、IL-6、IL-10、IFN- γ 的检测结果比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);C 试剂和 B 试剂对 IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN- γ 6 种细胞因子的检测结果比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 健康组 6 种细胞因子的变异系数(CV) A、B、C 试剂检测结果的 CV 见表 2,A 试剂检测结果的 CV 比较均一。

表 1 A、B、C 试剂分别对健康组 6 种细胞因子检测结果比较($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

试剂	<i>n</i>	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF- α	INF- γ
C 试剂	12	1.22±0.19	1.18±0.35	3.17±0.88 ^a	1.69±0.58 ^a	0.94±0.11	0.72±0.18 ^a
A 试剂	12	14.06±4.12	7.81±2.12	15.74±5.18	7.21±2.06	7.84±2.45	15.33±3.89
B 试剂	12	0.90±0.08	0.56±0.12 ^a	3.53±0.24 ^a	0.98±0.15 ^a	2.27±0.72	5.71±0.69 ^a

注:与 A 试剂比较,^a $P<0.05$ 。

表 2 A、B、C 试剂分别检测 6 种细胞因子的 CV

细胞因子	A 试剂	B 试剂	C 试剂
IL-2	0.29	0.09	0.16
IL-4	0.27	0.21	0.30
IL-6	0.33	0.07	0.27
IL-10	0.28	0.15	0.34
TNF- α	0.31	0.32	0.12
INF- γ	0.25	0.12	0.25

2.3 A 试剂检测各组 14 种细胞因子水平 筛选的 A 试剂对各组 14 种细胞因子的检测结果显示,ALL 组、AML 组、CML 组和 MM 组 IL-8 检测结果明显高于正常参考值,HPS 组 IL-10 检测结果明显高于正常参考值,差异均有统计学意义($P<0.05$)。健康组血清标本的检测结果显示在 A 试剂正常参考值或正常参考值上限的 3 倍以内,病例组 5 组患者的检测结果覆盖范围宽。筛选的 A 试剂能很好地区分健康组与病例组标本。见表 3。

表 3 A 试剂对各组 14 种细胞因子的检测结果比较($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

组别	<i>n</i>	IL-4	IL-5	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12P70
健康组	12	3.22±0.62	1.23±0.38	2.03±0.63	14.43±4.19	2.37±0.75	4.29±0.83
ALL 组	10	5.43±2.45	1.39±0.57	33.62±10.54	30.69±9.77	6.28±2.20	7.26±1.46
AML 组	10	6.14±1.52	2.53±0.68	47.81±15.03	38.81±12.81	8.95±2.55	9.41±1.10
CML 组	10	7.46±2.23	2.51±0.55	30.98±9.58	166.72±55.47	10.65±2.71	5.17±1.84
HPS 组	10	5.06±1.52	1.99±0.34	10.99±2.42	16.21±5.58	186.84±52.36	5.35±1.47
MM 组	10	5.21±1.68	2.15±0.67	6.06±2.80	127.48±40.77	15.06±3.45	6.64±1.93

组别	<i>n</i>	IL-1 β	IL-2	IFN- γ	TNF- α	TNF- β	IL-17A	IL-17F	IL-22
健康组	12	1.91±0.15	3.32±1.05	2.29±0.63	1.94±0.59	2.26±0.63	1.26±0.11	3.60±1.10	2.14±0.53
ALL 组	10	1.83±0.30	4.54±0.88	3.36±0.75	3.20±0.70	3.61±0.40	3.22±0.34	3.92±1.27	1.62±0.43
AML 组	10	2.20±0.23	18.40±6.07	3.56±1.06	4.19±1.07	3.47±1.14	4.25±1.11	4.63±1.03	2.65±0.83
CML 组	10	2.68±0.26	5.56±1.58	3.55±1.03	3.55±1.13	3.99±1.12	2.59±0.71	2.24±0.54	2.04±0.65
HPS 组	10	1.77±0.39	3.85±1.22	3.75±1.15	2.98±0.56	3.61±1.12	2.40±0.54	2.64±0.32	0.98±0.25
MM 组	10	2.06±0.78	5.56±1.38	3.52±0.77	3.03±0.26	3.88±0.68	2.66±0.33	4.66±1.07	2.17±0.63

注:A 试剂正常参考值:IL-4 $\leq$ 4.19,IL-5 $\leq$ 4.15,IL-6 $\leq$ 11.09,IL-8 $\leq$ 15.71,IL-10 $\leq$ 4.50,IL-12P70 $\leq$ 10.18,IL-1 β $\leq$ 3.40,IL-2 $\leq$ 6.64,IFN- γ $\leq$ 4.43,TNF- α $\leq$ 4.50,TNF- β $\leq$ 2.54,IL-17A $\leq$ 4.74,IL-17F $\leq$ 4.66,IL-22 $\leq$ 3.64;以上指标单位均为 pg/mL。

3 讨 论

流式微球技术是一种仅需少量标本即可快速完成多种可溶性蛋白成分的定性和定量检测的分析技术,是集微球技术、ELISA 和流式细胞术等优点于一身的液相蛋白检测技术,具有高通量、高灵敏度、重复性好、成本低等诸多优点^[10]。流式微球技术的原理是将一系列带有不同荧光强度、包被有捕获抗体的不同大小的微球作为载体,特异性捕获液相标本中相应的抗原,再结合生物素检测抗体,形成双抗体夹心结构,以流式细胞术作为检测平台,探测不同荧光信号的强度达到对待测标本抗原定性和定量的目的^[11]。

因各试剂盒中使用的微球、抗体及孵育时间不同,细胞因子的检测结果有所差异^[12]。不仅如此,标本的留取及处理、标准品的稀释倍数、标曲的拟合、仪器设备的条件及数据分析,每个步骤若操作不当均可影响检测结果。在标本的留取及处理过程中需着重注意以下 3 点:(1)首先要确保标本的合格,若标本发生溶血,血细胞碎片、血红蛋白等均会影响细胞因子与微球的结合。通过多次洗涤细胞及标本上机前将流式细胞仪调至最佳状态可以有效去除血清中的杂质^[13]。此外,细胞因子标本的留取采用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝全血获取,并于收集后 0℃ 立即离心,或暂存于 4℃ 条件下 4 h 内离心分离出血浆的标本是最好的^[14]。(2)标本与微球结合的过程中若混匀的不够充分,会造成微球成团,导致细胞因子分群异常,影响结果的分析^[13]。(3)当标本中待测指标的水平过低时会出现检测值不在标准曲线上,以致没有检测结果。低灵敏度主要是由标准曲线的设计而引起的,通过增加标准曲线的低水平标准点或重新制作标准曲线可以解决此问题^[13,15-16]。

本实验室中 3 种试剂的标本处理及标准品的制备各有不同。标本处理:C 试剂和 B 试剂标本孵育均在流式管中进行,C 试剂标本孵育一步完成,B 试剂标本孵育分两步完成,孵育过程中未持续振荡混匀,单枪加样,效率低,洗涤后需离心去上清,容易致微球损失。A 试剂标本孵育分三步完成,使用 96 孔滤膜板,排枪加样,孵育过程中持续振荡混匀,每完成一步都通过真空泵抽滤反复洗涤细胞,微球不易丢失,整个操作过程方便快捷,极大地降低了人力、物力和时间成本。标准品的制备:C 试剂 2 倍倍比稀释,覆盖范围较窄,较低浓度的细胞因子不易检出;A 试剂 3 倍倍比稀释,覆盖范围更宽,低值更灵敏,同时兼顾中高值;B 试剂 4 倍倍比稀释,跨度过大,CV、重复性差。可见标准品的稀释倍数不同可致每组检测敏感区间有所差异。通过对比三者的实验操作过程及检测结果,A 试剂相对于 C 试剂和 B 试剂有更多的优势所在,更适用于临床。在多项研究中,A 试剂也体现了其可用性^[17-19]。

总之,细胞因子的准确检测对于诊断和评估不同

的疾病状态至关重要。优化细胞因子检测试剂盒的设计和提 高实验人员的操作水平,可提高细胞因子结果的准确性,有利于指导临床诊疗。

参考文献

- [1] 王敏,葛颂.牙周炎 CD4⁺T 细胞应答的研究进展[J].临床口腔医学杂志,2019,35(9):572-574.
- [2] 王玉亮,王峰,耿洁.细胞因子与细胞因子风暴[J].天津医药,2020,48(6):494-499.
- [3] 叶静,廖张元,孙慧,等.视神经脊髓炎特异性抗体三种检测方法比较[J].中华内科杂志,2011,50(10):848-850.
- [4] BOMERT M,KÖLLISCH G,ROPONEN M,et al. Analytical performance of a multiplexed, bead-based cytokine detection system in small volume samples[J]. Clin Chem Lab Med,2011,49(10):1691-1693.
- [5] 中国抗癌协会血液肿瘤专业委员会.中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组.中国成人急性淋巴细胞白血病诊断与治疗指南(2016 年版)[J].中华血液学杂志,2016,37(10):837-845.
- [6] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组.成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南(2017 年版)[J].中华血液学杂志,2017,38(3):177-182.
- [7] 中华医学会血液学分会.中国慢性髓性白血病诊断与治疗指南(2016 年版)[J].中华血液学杂志,2016,37(8):633-639.
- [8] 噬血细胞综合征中国专家联盟,中华医学会儿科学分会血液学组.噬血细胞综合征诊治中国专家共识[J].中华医学杂志,2018,98(2):91-95.
- [9] 汪英颖,刘尚勤.多发性骨髓瘤诊治指南解读(2018 年)[J].临床内科杂志,2018,35(7):503-504.
- [10] BONGONI A K,LANZ J,RIEBEN R,et al. Development of a bead-based multiplex assay for the simultaneous detection of porcine inflammation markers using xMAP technology[J]. Cytometry A,2013,83(7):636-647.
- [11] MONCUNILL G,CAMPO J J,DOBAN O C. Quantification of multiple cytokines and chemokines using cytometric bead arrays[J]. Methods Mol Biol,2014,1172:65-86.
- [12] KHAN S S,SMITH M S,REDA D,et al. Multiplex bead array assays for detection of soluble cytokines: comparisons of sensitivity and quantitative values among kits from multiple manufacturers[J]. Cytometry B Clin Cytom,2004,61(1):35-39.
- [13] 陈业敏.流式细胞术检测血清细胞因子常见问题与对策[J].家庭医药,2019(11):81.
- [14] HENNØ L T,STORJORD E,CHRISTIANSEN D,et al. Effect of the anticoagulant, storage time and temperature of blood samples on the concentrations of 27 multiplex assayed cytokines: consequences for defining reference values in healthy humans[J]. Cytokine,2017,97:86-95.
- [15] DABITAO D,MARGOLICK J B,LOPEZ J,et al. Multiplex measurement of proinflammatory cytokines in human serum: comparison of the meso scale discovery electrochemiluminescence assay and the cytometric (下转第 3194 页)

肺结核中有较高的灵敏度和特异度,但其临床价值仍需大量的高质量研究来验证。

参考文献

[1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2020[R]. Geneva:WHO,2020.

[2] 董思佳,王鑫.结核分枝杆菌检测技术研究进展[J].中国热带医学,2020,20(4):320-324.

[3] 王婷梅,曲丽娜,李莹辉. LncRNA 的结构、功能及其与疾病的关系[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2015,31(7):659-666.

[4] FU Y R,XU X Q,XUE J F,et al. Deregulated lncRNAs in B cells from patients with active tuberculosis[J]. PLoS One,2017,12(1):e0170712.

[5] 林剑文,王辉,师志云,等. 长链非编码 RNA 在结核病发病过程中的作用[J]. 医学综述,2021,27(5):862-867.

[6] 赵宇. 活动期结核病患者外周血单个核细胞(PBMC)中长链非编码 RNA(lncRNA)和 mRNA 表达谱的初步研究[D]. 长春:吉林大学,2020.

[7] WHITING P F,RUTJES A W, WESTWOOD M E, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies[J]. Ann Intern Med,2011,155(8):529-536.

[8] 曲艳吉,杨智荣,孙凤,等. 偏倚风险评估系列:(六)诊断试验[J]. 中华流行病学杂志,2018,39(4):524-531.

[9] 黄元升,杨智荣,詹思延. 简单合并模型与双变量模型在诊断试验 Meta 分析中的使用现状调查[J]. 北京大学学报(医学版),2015,47(3):483-488.

[10] 吴艳玲. 循环微小 RNA 在活动性结核病中的诊断价值[D]. 重庆:重庆医科大学,2020.

[11] 陈敏,余韵,张燕,等. 长链非编码 RNA NEAT1、IL-6 和 TNF- α 在结核感染中的表达水平及诊断价值研究[J]. 国际检验医学杂志,2020,41(17):2061-2065.

[12] 胡玉婷. 耐多药肺结核病及其中医证候潜在生物学标志物的筛选与鉴定[D]. 广州:华南理工大学,2019.

[13] 罗杰. 细胞因子及长链非编码 RNA 在结核菌不同感染状态中的诊断价值[D]. 重庆:中国人民解放军陆军军医大学,2018.

[14] 杨晓帆. 结核分枝杆菌感染巨噬细胞 lncRNA 和 mRNA 表达谱的初步研究[D]. 广州:南方医科大学,2017.

[15] 赵继利,刘微,曹帅丽,等. lncRNA 在结核病患者外周血

的差异性表达[J]. 中国病原生物学杂志,2017,12(4):328-334.

[16] SUN Q,SHEN X,MA J,et al. LncRNA NEAT1 participates in inflammatory response in macrophages infected by mycobacterium tuberculosis through targeted regulation of miR-377-3p [J]. Microb Pathog, 2021, 150: 104674.

[17] HU X,LIAO S,BAI H,et al. Long noncoding RNA and predictive model to improve diagnosis of clinically diagnosed pulmonary tuberculosis[J]. J Clin Microbiol,2020, 58(7):e01973-19.

[18] CHEN Z L,WEI L L,SHI L Y,et al. Screening and identification of lncRNAs as potential biomarkers for pulmonary tuberculosis[J]. Sci Rep,2017,7(1):16751.

[19] SUN W,LOU H,CAO J,et al. LncRNA MEG3 control Mycobacterium Tuberculosis infection via controlled MiR-145-5p expression and modulation of macrophages proliferation[J]. Microb Pathog,2020,149:104550.

[20] 房雅伦. 活动性肺结核中长链非编码 RNA 差异性表达分析及初步验证[D]. 济南:山东大学,2020.

[21] 宋佳佳,白梦鸽,刘堂喻亨,等. 活动性肺结核患者外周血中长链非编码 RNA lnc-PAPSS2-2 的表达及其诊断价值的探究[J]. 华西医学,2018,33(8):953-957.

[22] 罗清,姚芳苒,彭亦平,等. 血清长链非编码 RNA 肺腺癌转移相关转录本 1 在肺结核中的诊断价值[J]. 中华传染病杂志,2017,35(11):684-687.

[23] 刘海宁,吴昊,张宁萍,等. 诊断准确性试验 Meta 分析四格表数据的提取方法[J]. 中国循证医学杂志,2018,18(9):995-1000.

[24] 王杰. 结核分枝杆菌分子检测与痰涂片查结核分枝杆菌阳性率比较[J/CD]. 临床检验杂志(电子版),2019,8(1):131.

[25] MARQUES A C,PONTING C P. Catalogues of mammalian long noncoding RNAs: modest conservation and incompleteness[J]. Genome Biol,2009,10(11):R124.

[26] 欧青叶,顾大勇,周俭中,等. 潜伏性结核菌感染者血浆长链非编码 RNA 表达谱差异分析[J]. 中华检验医学杂志,2016,39(11):857-863.

(收稿日期:2022-03-28

修回日期:2022-09-15)

(上接第 3188 页)

bead array[J]. J Immunol Methods,2011,372(1/2):71-77.

[16] RABENSTEIN J,LUAN F,CHAU V,et al. The enhanced sensitivity cytometric bead array to detect cytokines present in low concentrations[J]. Cytokine,2010, 52(12):96-97.

[17] 张莹,王志国,孙丹丹,等. 加巴喷丁对骨癌痛模型大鼠的镇痛作用及机制研究[J]. 中国生化药物杂志,2014(3):8-11.

[18] BOUTSIKOU E,DOMVRI K,HARDAVELLA G,et al.

Tumour necrosis factor,interferon-gamma and interleukins as predictive markers of antiprogrammed cell-death protein-1 treatment in advanced non-small cell lung cancer:a pragmatic approach in clinical practice[J]. Ther Adv Med Oncol,2018,10:1758835918768238.

[19] SHABRISH S,KELKAR M,CHAVAN N,et al. Natural killer cell degranulation defect:a cause for impaired NK-cell cytotoxicity and hyperinflammation in fanconi anemia patients[J]. Front Immunol,2019,10:490.

(收稿日期:2021-11-22

修回日期:2022-09-15)