



江苏省医学会第十九次 医学微生物与免疫学学术会议

传承 创新 融合发展

论文汇编

主办单位：江苏省医学会 江苏省医学会微生物与免疫学分会

协办单位：南通市医学会 南通大学 江苏大学附属医院



江苏·南通

2024年10月18~20日

目次

一、大会发言

1. 细菌异质性持留细胞的鉴别和清除 叶杨慧 (1)
2. 探索研究慢性HBV感染患者外周血淋巴细胞线粒体代谢检测的临床意义 韩清珍 (1)
3. IL-25调控T_H细胞分化参与系统性红斑狼疮小鼠疾病进程的机制研究 王晓萌 (2)
4. miR-125b通过靶向PIAS3调控Graves病患者外周血中Th17细胞反应 彭辉勇 (4)
5. 重组溶瘤病毒VG9-HGFK1对结肠直肠癌的抗肿瘤作用 杨 雪 (4)
6. 基于多组学分析技术探索外泌体介导的多发性肌炎/皮肌炎分子调控网络机制 高明珠 (5)
7. 结直肠癌中mTORC1活性减弱通过自噬影响I型cDCs分化的机制 谢梦晓 (6)
8. Metformin Suppresses gdT17 Cell Differentiation Alleviating Inflammatory Bowel Disease
..... Yungang Wang (7)
9. SBDP145, a calpain-mediated breakdown product of α II-spectrin, is a potential blood biomarker
for systemic lupus erythematosus Dong Zheng (8)
10. 中国人群优势 HLA-A分子限制性AFP抗原T细胞表位谱的研究 朱苏月 (8)
11. 胆道梗阻合并华支睾吸虫感染患者胆道菌群特征分析 韩 甦 (9)
12. Early life gut microbiota sustains liver-resident natural killer cells maturation via butyrate-
IL-18 axis Panpan Tian (10)
13. METTL3调控CIA小鼠MDSC功能变化的实验研究 查 璇 (11)
14. Low CD8+CD45RO+CCR7+ Memory T cells in the Peripheral Blood of People With Respiratory
Syncytial Virus Disease Yan Wang (11)
15. Pan-drug resistance and hypervirulence in a human fungal pathogen are enabled by mutagenesis
induced by mammalian body temperature Jingjing Huang (12)
16. 基于CHA-FICA系统的肺炎支原体快速即时检测 蔡诗婕 (12)
17. Rapid Identification of Bloodstream Infection Pathogens and Drug Resistance Using Raman
Spectroscopy Enhanced by Convolutional Neural Networks Lin Ye (13)
18. m6A- and immune-related lncRNA signature confers robust predictive power for immune
efficacy in lung squamous cell carcinoma Shishengnan Song (14)
19. TIGIT在结核病患者免疫细胞中的表达及其对细胞毒性功能的影响研究 秦永伟 (16)

二、书面交流

· 人类病原体的致病性、耐药性及其机制的基础和临床研究 ·

- 1.E3泛素连接酶斑点型锌指结构蛋白调控RLR信号通路抑制肠道病毒71复制 周 围 (17)
- 2.USP21增强2Apro稳定性负向调控RLR信号通路促进EV71复制 周 围 (17)
- 3.布鲁氏菌感染合并肝损伤炎症因子谱改变及机制探究 王 娟 (18)
- 4.院内混合血流感染患者临床特征及预后危险因素分析 缪淑贤 (19)
- 5.丝状真菌感染的临床特点及相关危险因素 夏文颖 (19)
- 6.真菌血流感染的临床特点及死亡危险因素分析 杨明瑜 (20)
- 7.2019年-2023年我院病原菌耐药性变迁 侯盼飞 (20)
- 8.Cas3 of type I-Fa CRISPR-Cas system upregulates bacterial biofilm formation and virulence
in *Acinetobacter baumannii* by affecting cilia-related and ompA genes expression
..... Tingting Guo (21)
- 9.与胎儿死亡相关的高致病性B族链球菌的表征和全基因组测序 王 晶 (21)
- 10.Emergence of multiple carbapenemases-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from a
multicenter study in China Xiaofang Xie (22)
- 11.Emerging, molecular characteristics and resistance mechanisms of Colistin-resistant
Enterobacteriaceae in Xuzhou, China Shulong Zhao (23)
- 12.RpoE通过调控T3F控制毒力和RpoE突变体作为弱毒活疫苗的开发策略 翟雅轩 (23)
- 13.苏州地区艰难梭菌感染的临床特征及分子流行病学分析 林佳瑶 (24)
- 14.按蚊伊丽莎白菌流行病学及耐药性研究：两个病例的报告 蔡 啸 (25)
- 15.The causal relationship between gut microbiota and preterm birth Tao Zhu (25)
- 16.中国某西南地区医院产NDM酶成肠杆菌分子特征研究 付宏煜 (26)
- 17.补体 C3-C3aR 通路介导脑脓肿后的突触丢失和认知障碍 金启渊 (27)
- 18.KL-6联合CRP和血常规评估甲流患者早期肺损伤的意义 韩忠燕 (27)
- 19.耐碳青霉烯粘质沙雷菌对头孢他啶敏感性差异的机制研究 张 燕 (28)
- 20.鲍曼不动杆菌碳青霉烯类抗菌药物耐药性表型与基因型关联研究 金心怡 (29)
- 21.全球屎肠球菌中利奈唑胺耐药基因的分布和流行特征分析 严茹钰 (29)
- 22.全球屎肠球菌耐药基因分布、序列分型及流行特点分析 严茹钰 (30)
- 23.Comparative Genomic Analysis of the Core Virulence Factor in *Klebsiella pneumoniae* ST11,
Based on a Global Genomic Database Ruyu Yan (31)
- 24.Global Distribution and Epidemiology of Vancomycin Resistance Genes in *Enterococcus*
faecium Ruyu Yan (32)
- 25.Identification and Antifungal Susceptibility Analysis of *Cystobasidium slooffiae* Isolated for
the First Time from Human Wounds Lijing Guo (32)
- 26.PCT、CRP与IL-6联合检测在细菌感染诊断中的应用 袁忠林 (34)
- 27.STAT1的缺失促进IFN- γ 产生并抑制红细胞生成而提高宿主疟疾红内期生存率的研究
..... 孙毅凡 (35)
- 28.CRKP对头孢他啶/阿维巴坦耐药机制研究 叶 琳 (36)
- 29.某教学医院碳青霉烯耐药阴沟肠杆菌流行病学分析 陈建军 (36)
- 30.MALDI-TOF MS负离子模式下快速鉴别肠杆菌目细菌多粘菌素耐药机制的研究 主 淑 (37)

31.铁摄取调节蛋白在高毒力肺炎克雷伯菌致病中的作用机制研究	宋 爽 (37)
32.妊娠期肝内胆汁淤积症孕妇血清巨细胞病毒miRNA表达水平的临床应用价值研究 ..	王 榕 (38)
33.沙门菌对黏菌素的耐药机制研究	梅彩月 (39)
34.传染病医院ST11型耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的危险因素分析	杨 慧 (40)
35.2016-2023年某传染病医院ICU多重耐药菌分布特点和耐药性分析	杨 慧 (41)
36.基于ABC分类控制下的多学科协作在多重耐药菌感染防控中的实践探讨	顾玲莉 (41)
37.NICU检出铜绿假单胞菌耐药特点及抗菌药物的选择	王 丽 (42)
38.only included in the conference proceedings	Shuang Song (43)
39.肺炎克雷伯菌bav基因的生物学功能初探	陈 琦 (43)
 · 感染性疾病病原体的检查、分离鉴定新技术、新方法及其临床应用 ·	
1.数字PCR技术在血流感染精准诊断中的应用研究	黄紫薇 (45)
2.南京某三甲医院2013-2021年耐碳青霉烯类弗劳地柠檬酸杆菌的基因组学及临床特征 分析.....	谢 晖 (45)
3.宏基因组二代测序技术在血液科患者病原体检测中的应用价值	夏 松 (46)
4.急性肾盂肾炎伴黑尔嗜脓菌菌血症1例	蒯守刚 (47)
5.PML-RAR α 候选参考物质的研制及应用	袁丹丹 (47)
6.微生物送检标本病原菌分布及药敏分析	过 琴 (48)
7.HBsAg 定量检测在慢性HBV感染患者诊疗中的临床价值	杨瑞霞 (48)
8.外周血白细胞形态、散点图及其参数在发热伴血小板减少综合征、传染性单核细胞 增多症和肾综合征出血热早期诊断中的应用	程 晨 (49)
9.血清IL-6、抗MDA5抗体联合检测对中老年梅毒患者疾病诊疗的临床意义	张 英 (49)
10.ddPCR在血流感染快速诊断中的性能评价及应用	李贵玲 (50)
11.质谱鉴定联合直接快速药敏试验在细菌血流感染中的应用	张小云 (50)
12.肝素结合蛋白、C反应蛋白、血常规在急性阑尾炎中的早期诊断价值	冯晓斌 (51)
13.MALDI-TOF MS 在快速鉴别利奈唑胺耐药粪肠球菌中的应用	高 硕 (51)
14.幽门螺旋杆菌抗体与血常规和生化指标关联分析	熊雪松 (52)
15.基于双重凝集素修饰的磁性 SERS 和金纳米花拉曼标签对 3种病原菌快速检测新方法 研究	程斯运 (53)
16.基于NGS的 南京市儿童发热伴呼吸道症候群病原学分析	刘 云 (54)
17.基于膜状磁性多层量子点免疫层析用于粪便中高灵敏检测幽门螺杆菌	黄婷婷 (54)
18.淮安地区公立医疗机构真菌感染检测能力调查	黄维晨 (55)
19.鲍曼不动杆菌使用N335药敏卡头孢哌酮舒巴坦结果发生非常重大误差对耐药监测网 数据的影响	顾玲莉 (56)
20.非脱羧拉克菌伤口感染1例并文献复习	黄廷廷 (56)
21.Xpert MTB/RIF在肺结核病诊断中的应用价值	姜 曦 (57)
22.中药复方颗粒穴位贴敷辅助治疗儿童细菌性肺炎疗效观察	唐 彬 (57)
23.一种快速预测血液感染疾病中微生物的药敏检测系统	桑玉玉 (58)
24.基于LAMP-NALF技术建立儿童人腺病毒3型感染的新型病原学检测策略的研究	恽 琪 (59)
25.2016-2023年常州恙虫病的临床特征和实验室诊断	杨 慧 (59)
26.宏基因组测序诊断鹦鹉热衣原体肺部感染	杨 慧 (60)

27.一种用于尿路感染的自动快速尿液培养方法的评价	梁昕怡 (61)
28.新冠假病毒包装系统及中和抗体细胞检测系统优化	阳晶晶 (61)
· 人体微生态的基础与临床研究 ·	
1.巴利昔单抗联合粪菌移植治疗激素耐药的肠道急性移植物抗宿主病的临床研究	赵 晔 (63)
2.一例由鸟肠球菌引发的糖尿病足溃疡患者伤口菌群分析	朱 涛 (63)
3.Characteristics and Influencing Factors of Intestinal Microbiota in Patients Colonized or Infected with Carbapenem-Resistant Enterobacterale (CRE)	Jun Ji (64)
4.嗜黏蛋白阿克曼菌通过调节肝肠轴中的核黄素代谢减轻肝纤维化	张 璐 (65)
· 细胞与分子免疫学研究与应用 ·	
1.Multi-omics analysis reveals critical regulators in Ischemic Stroke	Dandan Li (66)
2.Deciphering the roles of m6A demethylases FTO and ALKBH5	高泽伟 (66)
3.The Role of Citrullination Modification in CD4+ T cells in the Pathogenesis of Immune-related Diseases	陈宇航 (67)
4.剪接因子QKI通过调节E-Syt2的替代剪接抑制甲状腺乳头状癌转移	赵梦亚 (67)
5.Routine evaluation of HBV-specific T cell reactivity in chronic hepatitis B using a broad-spectrum T-cell epitope peptide library and ELISpot assay	Yandan Wu (68)
6.肿瘤细胞释放的自噬体 (TRAPs) 通过诱导炎症性肿瘤相关成纤维细胞 (CAFs) 的 形成重塑乳腺癌肿瘤微环境	吴成东 (69)
7.Research Progress of Dendritic Cells in Hepatocellular Carcinoma Immune Microenvironment	Wenya Li (70)
8.基于抑制性受体构建安全可控的双 CAR-NK 系统及其功能验证	梁 勇 (70)
9.分子实验室PCR仪规范化校准与质量控制	涂海霞 (71)
10.CGI-58缺失通过SETDB1下调ETS1表达抑制NK细胞的发育和功能成熟	胡翔宇 (72)
11.探究男性患者人乳头瘤病毒 (HPV) 拭子不同浸泡时间以及比较不同温度放置时长 对检测的影响	朱 涛 (73)
12.奥氮平对3T3-L1脂肪细胞分泌炎症因子的影响	徐广峰 (74)
13.2型糖尿病患者外周血淋巴亚群及细胞因子水平与疾病进展的相关性分析	唐 瑶 (75)
14.N4BP1通过编码序列介导底物mRNA的降解	郑 雯 (75)
15.TRIM31对肝癌细胞放疗敏感性的影响	景蓉蓉 (76)
16.Treg上调ITG β 1促细胞黏附致代谢相关脂肪性肝病恶性转化	陆毓铭 (77)
17.N4BP1 调控 IL-17 信号通路的作用及机制研究	李艳丽 (78)
18.铁屎米酮衍生物通过影响Hippo/YAP信号通路抑制滑膜成纤维细胞的迁移/侵袭特性	张宗颖 (79)
19.妊娠期肝内胆汁淤积患者炎症细胞因子的变化及分析	张 婷 (80)
20.CD73 在心肌炎症损伤修复过程中参与 Reg3 β 调控巨噬细胞再编程的作用和机制研究	邵晓轶 (80)
· 自身免疫、肿瘤免疫、感染免疫等基础与临床免疫学研究 ·	
1.Immunoglobulin superfamily 6 is a molecule involved in the anti-tumor activity of macrophages in lung adenocarcinoma	Xinyu Tian (82)

2.MDSCs在脓毒血症中的应用	周延杰 (83)
3.Hypoxia promotes metastasis by relieving miR-598-3p-restricted glycolysis in gastric cancer	Wei Zhou (84)
4.JMJD1c通过Stat3去甲基化抑制B细胞分化延缓干燥综合征发生发展的机制研究	车楠 (84)
5.Identification of BTK as an immune-related biomarker for Hashimoto's thyroiditis by bioinformatic analysis and machine learning.....	Huiyong Peng (85)
6.Expression And Prognostic Role of PRDX1 In Gastrointestinal Cancers	Zhou Zhang (86)
7.DA-DRD5信号在肿瘤免疫中的调控作用及机制研究	吴昱青 (87)
8.Distribution and clinical significance of tumor-infiltrating $\gamma\delta$ T cells in non-small cell lung cancer patients	Wenwen Shang (88)
9.肿瘤细胞释放自噬小体(TRAPs)通过“成纤维细胞-C3a-巨噬细胞轴”营造肿瘤免疫微环境的机制研究.....	王旭茹 (88)
10.Consensus clustering and development of a risk signature based on trajectory differential genes of cancer-associated fibroblast subpopulations in colorectal cancer	Ke Yu (89)
11.METTL3 in colorectal cancer: From mechanisms to the therapeutic potential.....	张乐莹 (90)
12.Insight into the regulatory mechanism of m6A modification: From MAFLD to hepatocellular carcinoma	查璇 (91)
13.ALKBH5 regulates arginase 1 expression in MDSCs and their immunosuppressive activity in tumor-bearing host	冯丽丽 (91)
14.NK cells with ILC1-like phenotype mediate response to immunotherapy in MHC-I heterogeneous hepatocellular carcinoma	Wenhua You (92)
15.Comparison of HBV-specific T cell reactivity across the pregnant, postpartum and non-pregnant women with chronic HBV infection	Fangping Yue (93)
16.中国人群优势HLA-A和DR分子限制性新冠病毒T细胞表位谱的分析及群体免疫力检测	赵宇 (95)
17.抗可提取核抗原抗体、抗C1q抗体和抗 β 2-糖蛋白1抗体联合检测对系统性红斑狼疮的诊断价值	张小云 (96)
18.血清IgG4的截断值对IgG4相关性疾病的诊断价值	嵇金陵 (96)
19.胸腺肽 α -1调节脓毒症免疫平衡稳态的机制研究	陈靓 (97)
20.胸部恶性肿瘤放疗前后外周血细胞因子的检测及临床意义	祝丽晶 (98)
21.组蛋白乳酸化修饰TET2调控ARG1增强MDSCS免疫抑制功能的实验研究.....	笪文信 (98)
22.Tgf β 1信号调控结直肠癌MO-MDSC分化的机制研究	李敏 (99)
23.CXCR5+Myeloid-Derived Suppressor Cells Drive B Cell Mediated Immune Response In Primary Sjögren's Syndrome	Zixiang Chen (100)
24.MHR、CAR联合NLR在预测寻常型银屑病患者病情严重程度中的相关性研究	沈红梅 (100)
25.4-octyl itaconate as a metabolite derivative suppresses the function of dendritic cells and promotes tumor growth	Bo Zhu (101)
26.Netrin-1-UNC5B/neogenin axis enhances the stemness of colorectal cancer cells.....	夏雪莉 (102)
27.The Prognostic Significance of FMR1 Expression and its Immunomodulatory Implications in Esophageal Carcinoma	Qingqin Tang (102)
28.干燥综合征合并血液系统损害患者实验室特征及唇腺组织NK细胞分布特点	梁勇 (103)

29.基于免疫状态的多指标联合检测在多发性骨髓瘤病程中的诊断作用	梁 勇 (103)
30.HBC通过NUSAP1促进肝癌细胞增殖和迁移的机制研究	杨 璐 (104)
31.成人急性B淋巴细胞白血病合并EB病毒感染的实验室指标及预后分析	李 森 (105)
32.PAD2-Mediated Citrullination of STAT3 Enhances Immunosuppressive Function of PMN-MDSCs in Tumor-bearing Hosts	滕 一 (106)
33.ATRA promotes the differentiation of acute promyelocytic leukemia NB4 cells by regulating METTL3 mediating PU.1 mRNA m6A	赵 越 (106)
34.rTM 通过 HIF-1 α /PFKM 轴抑制巨噬细胞炎症因子产生以缓解脓毒症的机制研究	吉彬彬 (107)
35.利用化学发光微粒子免疫法(CMIA)与梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)联合检测梅毒 特异性抗体提高梅毒螺旋体检测的准确性和效率	王文静 (108)
36.N4BP1在细胞内的分布及形成聚集体的机制和作用研究	郭晓红 (108)
37.日本血吸虫多肽SJMHE1和负载SJMHE1水凝胶干预银屑病的研究	汪雪峰 (109)
38.探讨多种生物标志物在溃疡性结肠炎中的诊断作用	梁 勇 (110)
39.深度蛋白质组学筛选胃癌中免疫相关外泌体蛋白	丁小青 (111)
40.髓源性抑制细胞在原发性干燥综合征中致病作用研究	芮 棵 (111)
41.IL-25通过增强MDSCs功能促进炎症相关性肠癌的发生发展	袁庆芳 (112)
42.Olfactory ecto-mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles ameliorate collagen-induced arthritis via modulating IL-10-producing B cells	Qiugang Zhu (113)
43.制备具有“清道夫”功能的聚多巴胺原位凝胶疫苗用于肿瘤的联合治疗	房正邹 (113)
44.Antibody Fc-mediated neutrophil phagocytosis induced by inactive COVID-19 vaccine tracks with different clinical outcomes to COVID-19	Chuang Li (114)
45.RSV感染干预新策略: 靶向ATP 依赖性干扰素反应蛋白TOR3A抑制RSV复制研究	李小平 (115)
46.铁超载加重oxLDL诱导的泡沫细胞动脉粥样硬化活性	王晓燕 (116)
47.结直肠癌中顺铂对肿瘤免疫微环境的影响	陈泽宇 (116)
48.Pelargonidin alleviates acute lung injury induced by Klebsiella pneumoniae via targeting CD38-mediated pyroptosis	Fei Jiang (117)
49.多组学分析EGFR突变型肺腺癌肿瘤微环境中T细胞免疫抑制的分子机制	左 玲 (118)
50.细胞因子检测在儿童肺炎支原体肺炎病情评估中的作用	张骆军 (119)
51.桑叶成分鸢尾甲黄素 A 缓解炎症性肠病的机制研究	刘永超 (119)
52.Nanobody-based trisppecific T cell engager (Nb-TriTE) enhances therapeutic efficacy by overcoming tumor-mediated immunosuppression	Ziqiang Ding (120)
53.m6A 和免疫相关 lncRNA 标签为肺鳞状细胞癌的免疫疗效提供了强大的预测能力	张海健 (121)
54.血小板减少的肺恶性肿瘤患者外周血淋巴亚群的临床意义	黄 霜 (122)
55.Delivery of circular RNA encoding IL-23 sustained enhance the antitumor effects of STING agonists by promoting the proliferation of effector T cells	Tian He (122)
56.巨噬细胞源性Metn β 介导脓毒症免疫抑制的作用机制和临床价值研究	李 霄 (124)
· 其他医学微生物与免疫学的基础与临床研究 ·	
1.Comparison of two different systems for testosterone measurement	Wei Zhang (126)
2.血清25-羟维生素D与桥本甲状腺炎的相关性研究	储 楚 (126)
3.PD-1在急性肺损伤中的作用及其机制研究	刘张捷 (127)

4.支气管上皮细胞来自噬小体诱导的中性粒细胞对支气管上皮细胞作用的初步研究	高 蓉 (128)
5.葛根素通过直接抑制 DSS小鼠的巨噬细胞M1极化改善结肠炎	陶 晴 (129)
6. γ -干扰素释放试验假阴性的影响因素分析	王玉月 (129)
7. Stability Assessment of Housekeeping Genes for qRT-PCR in <i>Yersinia enterocolitica</i> Cultured at 22°C and 37°C	Chang Liu (130)
8. 柠檬酸菌属: 粪便标本中易于忽视的隐患	潘强龙 (131)
9. <i>Faecalibaculum rodentium</i> protects mice from IR-induced damage by promoting gut hemostasis and hematopoiesis	Hanyong Zhu (132)
10. 利用CRISPR/Cas9系统构建STING基因敲除HepG2细胞系及其对沙门菌增殖的影响	孙兰清 (132)
11. LRRc4 improves neuronal apoptosis and cognitive impairment in obese mice induced by high-fat diet	Suping Qin (133)
12. 脓毒症诱导的多器官功能障碍综合征患者预测模型的开发和验证	潘胜男 (134)
13. 超敏C-反应蛋白结合血沉在清创术后感染诊断中的意义研究	潘胜男 (135)
14. 约氏疟原虫富含色氨酸的抗原7 (PyTRA7) 与巨噬细胞膜CD71结合调节宿主的炎症反应	程 洋 (135)
15. 中老年食管癌患者术后肺部感染的一级预防: 构建并验证风险预测列线图模型便于临床提前干预	李前辉 (136)
16. 口腔综合治疗台水路清洗消毒技术规范实践中的问题与对策	林 涛 (137)
17. 骨科有植入物手术部位感染监测及风险因素分析	彭 城 (137)
18. Establishment and Validation of a Risk Prediction Model for Sepsis-Associated Liver Injury A Retrospective Cohort Study	Chang Li (138)
19. A novel risk-predicted nomogram for sepsis-associated hypoxic hepatitis among critically ill patients	Chang Li (139)
20. Rapid Identification of Carbapenemase Subtypes in <i>Klebsiella pneumoniae</i> by MALDI-TOF MS Combined with CNN	Lin Ye (140)
21. 某三甲医院新生儿ST692型NDM-5和OXA-181联产大肠埃希菌血流感染流行病学特征分析	吕艳关 (141)
22. Phenotypic changes and gene expression profiles of <i>Vibrio parahaemolyticus</i> in response concentrations of ampicillin	Xi 罗 (141)
23. 徐州地区女性HPV感染流行病学特征	朱迎星 (142)
24. 无免疫原性的卵清蛋白功能水凝胶构建及其促进创面愈合机制研究	张瑞雅 (142)
25. 膳食纤维缺乏饮食通过肠道菌群诱导抑郁样行为的作用和机制研究	周梦露 (143)

细菌异质性持留细胞的鉴别和清除

叶杨慧、洪宇植

苏州大学

目的：细菌持留抵御抗生素导致临床抗感染治疗失败、感染反复发作和耐药性产生，然而半个多世纪以来，因分离条件不足和缺少合适检测方法等原因，细菌持留机理探索一直进展缓慢，其危害性尚未被充分重视，临床上还未有针对持留的检测项目。因此本研究存在两个关键问题：（1）持留性细胞在抗生素压力下高水平存活的分子基础是什么？（2）如何彻底清除持留性细胞？通过探索这两个科学问题，从而为细菌持留机制研究提供新见解，为临床治疗细菌感染提供可能的新药物。

方法：依据抗生素杀伤和细菌死亡机理，我们建立了一种新型的细菌持留分析体系，通过荧光定量显微镜和流式细胞仪分析，获悉细菌持留性细胞与敏感性细胞的区别；根据细菌持留性细胞高持留的分子基础，通过药物筛选、细菌快速杀伤和持留分析方法挖掘能够清除持留细胞的抗生素药物。

结果：通过新的细菌持留分析体系，我们发现细菌敏感性细胞能正常累积ROS，从而被抗生素药物杀死。然而持留性细胞不仅显示低水平的ROS，且药物靶点损伤和细胞代谢活性均显著降低。因此我们通过不依赖于ROS杀伤细胞的筛选方法，寻找到一种能够接近完全杀死持留细菌（与现有五大类经典抗生素相比，细胞存活率下降105倍）、具有潜在临床应用价值的药物，并命名为安泰普星。该药物通过细胞膜损伤杀伤持留细菌，但对正常人源细胞THP-1安全。（文章投稿待发表。Nature Microbiology. 2024. Submission）

讨论：细菌持留是指细菌小部分细胞亚群代谢非常缓慢（甚至处于休眠状态），在抗生素压力下几乎不产生靶标的初级损伤，当抗生素停用后，这部分持留性细胞重新复苏并存活，引起临床感染复发，病情恶化和长治疗周期。持留细胞能够抵御几乎所有的抗生素等致死性压力，且该细胞累积会促进细菌耐药的爆发和传播。然而持留细胞在野生型群体中占比极少（通常为10.6 - 10.4），因缺少合适的分离手段和研究方法，导致其机理研究困难重重，进展缓慢。本研究通过一种新的细菌持留分析体系，即利用氨苄青霉素等破膜药物杀除细菌敏感性细胞，去除抗生素药物后对存活下来的持留性细胞进行靶标损伤、代谢能力和ROS水平分析等，鉴别细菌持留性细胞的形成特点和机制。依据细菌持留机制，通过特定的药物筛选流程，寻找到能够清除持留细菌，具有潜在临床应用价值的药物安泰普星。从而为研究细菌持留机制提供新思路，为细菌持留感染性疾病的临床治疗提供新策略。

关键字 抗生素；细菌死亡；持留菌；活性氧自由基；安泰普星；细胞膜损伤

探索研究慢性HBV感染患者 外周血淋巴细胞线粒体代谢检测的临床意义

韩清珍

苏州大学附属第四医院（苏州市独墅湖医院）

目的：慢性乙型肝炎病毒（HBV）感染影响全球约2.96亿人，为全球健康卫生事业带来极大负担。

HBV并不直接损伤肝细胞,而是通过诱导免疫反应间接导致肝损害,从肝细胞炎症性坏死、肝纤维化逐渐发展为肝硬化、肝癌等终末期肝病。近些年研究者发现,病毒可以通过调控线粒体代谢控制免疫细胞的活化、增殖、分化等免疫反应。利用线粒体靶向荧光探针,使用流式细胞术检测淋巴细胞线粒体功能,评估感染性疾病进展逐渐成为新型的免疫监测手段。本研究旨在,初步探索研究外周血淋巴细胞线粒体功能障碍与乙肝进展的相关性,评估其临床意义并寻找HBV调控免疫细胞线粒体代谢的关键因素。

方法:本研究收集苏州大学附属第四医院、苏州大学附属第一医院的60例慢性HBV感染患者以及45例健康体检对照作为研究对象,分别作为实验组与对照组。采集EDTA抗凝全血1.5mL,流式细胞术检测外周血免疫细胞绝对计数和百分比,使用线粒体靶向荧光探针检测细胞线粒体质量(MM)和线粒体低膜电位细胞百分比(MMP_{low}%),反应线粒体代谢功能。使用GraphPad Prism和SPSS软件进行作图和数据统计分析。

结果:与对照组相比,HBV感染组外周血总T细胞和Th细胞计数呈现减低趋势但是无统计学差异,MM显著降低和MMP_{low}%显著升高,Tc细胞无显著变化。另外,ROC分析显示,总T、Th、Tc细胞线粒体MMP_{low}%对乙肝性肝损伤的发生具有显著的预测价值。中性粒细胞和单核细胞作为非特异性吞噬细胞,肝损伤发生时外周血计数显著降低。我们的研究还发现,淋巴细胞内HBV DNA阳性是线粒体功能参数MM和MMP_{low}%改变的关键因素。

讨论:慢性HBV感染患者外周血T淋巴细胞线粒体功能改变早于细胞计数,表现为低ATP供应状态(MMP_{low}%升高)和受损的线粒体代谢潜力(MM降低)。T细胞线粒体ATP能量供应状态(MMP_{low}%)和吞噬细胞数量可预测肝损伤。另外,细胞内HBV感染可能是线粒体功能改变的高危因素。总之,本研究首次证实免疫细胞线粒体代谢检测可以作为监控乙肝患者免疫状态的灵敏指标,同时为建立“淋巴细胞内HBV—线粒体功能—免疫功能损伤”的调控假说提供了新颖的研究思路。

关键字 慢性乙型肝炎病毒感染;外周血淋巴细胞;线粒体代谢;线粒体质量;线粒体低膜电位百分比

IL-25调控T_H细胞分化 参与系统性红斑狼疮小鼠疾病进程的机制研究

王晓萌¹、刘诗懿¹、王胜军²、许化溪²、吕力为³、田洁²、芮棵¹

1. 江苏大学附属医院检验医学科,中国镇江

2. 江苏大学医学院免疫学系,江苏省检验医学重点实验室,中国镇江

3. 香港大学病理学系及深圳创新研究院,中国香港

目的:明确白细胞介素-25对系统性红斑狼疮小鼠疾病严重程度及滤泡辅助性T细胞分化和功能的调控,进一步探究IL-25调控T_H细胞分化和功能的分子机制。

方法:(1)构建SLE小鼠模型,在初次免疫后的第21和35天,尾静脉注射重组IL-25蛋白,检测血清中尿素氮水平和肌酐水平,通过酶联免疫吸附试验检测血清抗双链DNA抗体水平。制备小鼠肾脏病理切片,通过苏木精-伊红染色、过碘酸-希夫染色、通过免疫荧光检测肾脏组织病理变化。利用流式细胞术检测小鼠脾脏和局部引流淋巴结中T_H细胞、生发中心B细胞的比例和数目,同时检测脾脏、淋巴结和骨髓的浆细胞比例和数目。

(2)利用野生型和IL-25^{-/-}小鼠构建SLE小鼠模型,检测血清中尿素氮水平、肌酐水平和抗dsDNA抗体水平,HE染色、PAS染色和免疫荧光观察肾脏组织病理变化。FCM检测小鼠脾脏和局部引流淋巴结

中Tfh细胞、GC B细胞的比例和数目，同时检测脾脏、淋巴结和骨髓的浆细胞比例和数目。

(3) 利用WT和IL-25^{-/-}小鼠构建SLE小鼠模型，在初次免疫的第50天，磁珠分选CD45.1小鼠脾脏中的naïve CD4⁺T细胞，经尾静脉过继转移至上述SLE小鼠模型中，分别为WT-SLE组和IL-25^{-/-}-SLE组。在过继转移后的第5天，FCM检测不同组别小鼠脾脏和局部引流淋巴结中CD45.1+Tfh细胞、CD45.1+IL-21+Tfh细胞、CD45.1+ICOS+Tfh细胞和CD45.1+CD40L+Tfh细胞比例。制备小鼠引流淋巴结切片，免疫荧光观察T细胞归巢情况，计算归巢指数。

(4) 利用CD45.1小鼠构建SLE模型，在初次免疫的50天，磁珠分选WT小鼠和IL-17rb^{-/-}小鼠脾脏中的naïve CD4⁺T细胞，经尾静脉过继转移至CD45.1-SLE小鼠模型中。在过继转移后的第5天，FCM检测CD45.2+Tfh细胞和CD45.2+IL-21+Tfh细胞、CD45.2+ICOS+Tfh细胞和CD45.2+CD40L+Tfh细胞比例。

(5) 建立体外Tfh细胞诱导体系，加入重组IL-25蛋白，实时荧光定量PCR检测腺病毒E4启动子结合蛋白4的mRNA水平变化，蛋白免疫印迹和FCM检测E4BP4蛋白水平的变化。FCM检测上述(4)中不同组别小鼠脾脏和局部引流淋巴结中CD45.2+CD4⁺细胞中E4BP4的表达。

结果：(1) 与SLE小鼠相比，注射IL-25后的SLE小鼠脾脏和淋巴结肿胀程度缓解，蛋白尿指数降低，血清中肌酐、尿素氮和抗dsDNA抗体的水平也有所降低。病理结果显示：注射IL-25后的SLE小鼠肾小球内炎症细胞增生减少，肾小球系膜组织增生减少。此外，免疫荧光结果发现，注射IL-25后的SLE小鼠肾小球中IgG沉积明显减少。FCM结果发现：与SLE小鼠相比，注射IL-25后的SLE小鼠脾脏和局部引流淋巴结中Tfh细胞和GC B细胞的比例降低和数目减少，脾脏、淋巴结和骨髓中的浆细胞比例和数目同样减少。

(2) 与野生型SLE小鼠相比，IL-25^{-/-}-SLE小鼠脾脏和淋巴结体积增大，蛋白尿指数升高，血清中肌酐、尿素氮和抗dsDNA抗体的水平也有所增高。HE染色结果发现：IL-25^{-/-}-SLE小鼠肾小球内炎症细胞浸润增多，肾小球基质被破坏严重；PAS染色结果显示：IL-25^{-/-}-SLE小鼠肾小球基质的弥漫性扩张，系膜细胞增多。此外，免疫荧光结果显示，IL-25^{-/-}-SLE小鼠肾小球中IgG沉积增多。FCM结果显示：IL-25^{-/-}-SLE小鼠体内Tfh细胞和GC B细胞比例和数目升高，脾脏、淋巴结和骨髓中的浆细胞比例和数目同样升高。

(3) 与WT-SLE组小鼠相比，IL-25^{-/-}-SLE组小鼠脾脏和淋巴结中的CD45.1+Tfh细胞、CD45.1+IL-21+Tfh细胞、CD45.1+ICOS+Tfh细胞和CD45.1+CD40L+Tfh细胞比例增多，且CD45.1+CD4⁺细胞的归巢指数升高。

(4) 在CD45.1-SLE小鼠的脾脏和淋巴结中，与CD45.2+Tfh细胞相比，IL-17rb^{-/-}的CD45.2+Tfh细胞比例增多，CD45.2+IL-21+Tfh细胞、CD45.2+ICOS+Tfh细胞和CD45.2+CD40L+Tfh细胞比例同样增多。

(5) 在Tfh细胞诱导体系下，加入IL-25重组蛋白后，CD4⁺T细胞中E4BP4的mRNA及蛋白水平升高。在CD45.1-SLE小鼠的脾脏和淋巴结中，IL-17rb^{-/-}的CD45.2+CD4⁺细胞中E4BP4表达明显减少。

结论：(1) IL-25缓解SLE小鼠疾病严重程度。

(2) IL-25抑制SLE小鼠Tfh细胞的分化 and 功能。

(3) IL-25通过E4BP4抑制Tfh细胞分化和功能。

关键字 系统性红斑狼疮；白介素-25；滤泡辅助性T细胞；腺病毒E4启动子结合蛋白4

miR-125b通过靶向PIAS3调控Graves病患者外周血中Th17细胞反应

彭辉勇

江苏大学附属人民医院

背景: MicroRNAs (miRNAs)是一种微小的内源性非编码RNA,在转录后调节基因组表达,并参与许多自身免疫性疾病。既往研究表明, Th17细胞在Graves病(GD)的发病机制中起关键作用。然而,促进GD患者体内Th17细胞反应的分子机制仍不完全清楚。本研究旨在探讨miRNAs在GD患者Th17细胞中的作用。

方法: 二代基因测序用于检测Graves病患者和健康对照者外周血单个核细胞(PBMCs)中miRNAs水平的变化。流式细胞术用于检测Th17细胞比例,采用qRT-PCR检测ICOS mRNA、IL-17A mRNA、STAT3 mRNA、miR-125b水平。荧光素酶报告基因用于检测miR-125b和PIAS3的结合关系。蛋白免疫印迹实验用于检测PIAS3的蛋白水平。

结果: 我们的数据显示, GD患者外周血Th17细胞比例、IL-17A转录水平和STAT3转录水平均升高,并且Th17细胞比例与患者自身抗体TRAb水平呈正相关。在GD患者PBMCs中, Th17细胞的抑制分子PIAS3表达显著降低,并与GD中Th17细胞的百分比呈负相关。下调PBMCs中PIAS3表达能够导致Th17细胞比例和IL-17A mRNA水平升高。再者, miRNA测序筛选的miR-125b表达上调,与GD患者的PIAS3表达和Th17细胞的比例呈正相关。荧光素酶报告基因证实, PIAS3是miR-125b的直接靶基因, miR-125b可以在转录和翻译水平上抑制PIAS3。过表达miR-125b上调Th17细胞的比例及IL-17A mRNA水平,反之则下调Th17细胞比例及IL-17A mRNA水平。此外,在GD患者中, miR-125b的表达与TRAb水平呈正相关。

结论: 在GD患者中, miR-125b表达增高促进Th17细胞反应,并可能参与GD的发病机制。

关键字 Graves病; miRNA测序; miR-125b; Th17细胞; PIAS3

重组溶瘤病毒VG9-HGFK1对结肠直肠癌的抗肿瘤作用

杨雪¹、胡泽阳²、邓黎莉⁴、黄飏³、胡志刚¹

1. 无锡市儿童医院; 2. 江苏大学医学院; 3. 浙江理工大学; 4. 江苏省原子医学研究所

目的: 基因治疗是指将外源性遗传物质有针对性地转导入目标细胞,以修复或补偿由基因缺陷和异常所引起的疾病。基因治疗概念有望取代传统的手术、放疗和化疗等治疗手段。肝细胞生长因子(HGF)于1984年首次从肝切除大鼠的血清中发现,是一种强效刺激肝细胞DNA合成和生长的肝源性营养因子。后续研究表明, HGF也广泛存在于其他组织中,对细胞增殖、运动性和血管生成具有显著影响。HGF是 α 链和 β 链通过二硫键连接形成的异源二聚体。 α 链含有N端结构域和4个kringle结构域,其中HGFK1是第一个结构域。HGFK1可以抑制牛主动脉内皮细胞的 β -成纤维细胞生长因子介导的增殖,是一种潜在的抗血管生成因子。痘苗病毒属于牛痘病毒科的一种包膜病毒。本研究采用的广州9号痘苗病毒株(VG9)源自天坛痘苗株,其胸苷激酶(TK)区域发生缺失。TK对DNA合成至关重要,TK缺失的VG9需要高浓度的

TK才能复制和增殖。正常组织中的TK含量低,而肿瘤组织中的TK含量通常较高。正因为痘苗病毒可在肿瘤细胞中具有选择性复制和增殖,导致细胞溶解性坏死,且曾在抗天花病毒时作为疫苗大规模使用从而具有独特的安全性。人肝细胞生长因子(HGF)的K1结构域(HGFK1)是一种新型的抑制肿瘤细胞增殖、转移和肿瘤血管生成的细胞因子。故在本研究中,我们构建了带有HGFK1的靶向溶瘤重组痘苗病毒,以评估其对结肠直肠癌及抗血管生成的强大抗肿瘤作用。

方法:通过破坏痘苗病毒胸苷激酶(TK)基因区域,构建携带HGFK1基因的广州9号痘苗病毒株(VG9-HGFK1)。通过聚合酶链式反应(PCR)鉴定插入基因HGFK1。MTT法检测VG9、VG9-EGFP和VG9-HGFK1对肿瘤细胞的杀伤效果。通过Western blot鉴定VG9-HGFK1感染的结肠直肠癌细胞系中HGFK1基因的表达。进一步在HCT116裸鼠异种移植瘤模型中观察体内抗肿瘤作用。

结果:体外实验发现, VG9-HGFK1可以有效感染并选择性杀伤结肠直肠癌细胞,对正常细胞无明显细胞毒性。体内实验中, VG9-HGFK1组肿瘤体积增长显著低于VG9组、VG9-EGFP组与NC组,且VG9-HGFK1组中一只裸鼠的肿瘤逐渐缩小,最终由226.24 mm³减少至6.24 mm³。生存曲线分析可知VG9-HGFK1组中最长的存活期为57天, VG9-EGFP组、VG9组与NC组最长存活时间分别为32、29和25天。已有报道显示,晚期结肠直肠癌患者会发生转移。然而在本研究中,我们并未观察到转移。免疫组化结果显示VG9-EGFP组Ki67阳性细胞显著低于NC、VG9和VG9-EGFP组。此外,与NC、VG9和VG9-EGFP组相比, VG9-HGFK1组CD31、CD34和VEGF阳性细胞的数量均较低,提示VG9-HGFK1可以有效抑制实体瘤内血管生成。

讨论:我们的研究证明VG9-HGFK1可以有效抑制结肠直肠癌细胞增殖,并减少肿瘤中的血管生成。

关键字 重组溶瘤病毒;抗肿瘤作用;人肝细胞生长因子K1结构域;血管生成抑制

基于多组学分析技术探索外泌体介导的多发性肌炎/皮肌炎分子调控网络机制

高明珠

江苏省无锡市第二人民医院(江南大学附属中心医院)

目的:多发性肌炎/皮肌炎(PM/DM)属于自身免疫性疾病,发病机制尚不明确,通过多组学联合生物信息方式分析探索外泌体介导的PM/DM的潜在发生机制,为PM/DM提供诊断新靶标和治疗新思路。

方法:基于HiSeq高通量测序技术和iTRAQ定量蛋白组学技术对PM/DM组与健康对照组血清外泌体中的miRNA和蛋白组开展测序分析,并使用R语言进行limma差异分析,GO、KEGG、GSEA功能分析及免疫相关性分析,筛选核心基因并建立miRNA-靶基因-转录因子共表达分子网络。最后使用qRT-PCR对核心基因进行实验验证,以T检验的统计学方法进行数据分析,并绘制ROC曲线评价核心基因的检验效能。

结果:初步筛选出42个上调差异蛋白,61个DEP下调差异蛋白,以及22个上调差异miRNA,19个下调miRNA,最终确定7个核心基因,13个关联差异miRNA以及4个转录因子。根据功能分析我们认为核心基因CTSG、MPO、H1-5涉及的中性粒细胞胞外诱捕网的形成、NF- κ B通路等炎症相关途径在外泌体介导的PM/DM发生机制中起重要作用。肥大细胞、未成熟树突状细胞、自然杀伤细胞、调节性T细胞、辅助性T细胞2等免疫细胞在疾病的血清外泌体中表达程度较高。T检验中, MPO($t = -3.50$,

$p=3.86e-03$)、CTSG ($t = -2.72$, $p=2.19e-02$)、H1-5 ($t = -2.89$, $p=1.89e-02$) 具有显著的统计学差异, ROC曲线中, MPO (AUC=0.92, 95% CI: 0.78-1)、CTSG (AUC=0.81, 95% CI: 0.59-1)、H1-5 (AUC=0.84, 95% CI: 0.64-1) 表明三个核心基因精度良好。

结论: 本研究鉴定了PM/DM血清外泌体中的关键差异分子, 并构建了miRNA-靶基因-转录因子的调控网络, 确定了PM/DM通过血清外泌体介导的致病机制是经由中性粒细胞胞外诱捕网的形成、NF- κ B通路这两大关键通路实现的, CTSG、MPO、H1-5为其通路中的核心基因, 并明确了与其相关miRNA及转录因子, 这些因子或可成为PM/DM诊断和治疗的潜在靶点和生物标志物。

关键字 皮肤炎; 外泌体; 蛋白质组学; 基因组学; 多发性肌炎

结直肠癌中mTORC1活性减弱 通过自噬影响I型cDCs分化的机制

谢梦晓^{1,2}、吴皓杰^{1,2}、邵启祥^{2,3}

1. 江苏省人民医院(南京医科大学第一附属医院)

2. 江苏大学医学院; 3. 江苏护理职业学院

目的: 探究CRC发生时, 肿瘤微环境内mTORC1信号对DCs发育分化的影响与具体机制。

方法: 收集CRC患者的肿瘤组织和癌旁组织, 流式检测其中DCs的比例及其CD83、CD80和CD86的表达; 体外诱导人moDCs, 流式检测健康人群和CRC患者两组外周血中DCs比例和CD83、CD80、CD86的表达; 流式检测健康人群和CRC患者外周血DCs中pS6k(T389)的表达水平; 体外诱导人moDCs和BMDCs, 检测Rapamycin处理前后DCs比例和CD80、CD86的变化; 检测Rapamycin处理前后BMDCs、MEFTSC2+/+、MEFTSC2-/-、D2SC和DC2.4细胞中Id2蛋白的变化; 检测Rapamycin处理前后BMDCs、MEFTSC2+/+、MEFTSC2-/-中Id2的mRNA水平; 检测放线菌酮处理前后MEFTSC2+/+、MEFTSC2-/-中Id2蛋白变化; 检测CQ、3mA、BafA1处理前后D2SC和DC2.4中Id2蛋白变化; 分子模拟分析Ratpor是否能与STAT3直接作用及其结构域, co-IP进行验证, 并检测rapamycin处理前后MEFTSC2+/+、MEFTSC2-/-、D2SC和DC2.4中STAT3及其磷酸化水平的变化; 检测IL-6或Stattic处理前后D2SC和DC2.4中Id2、p62和LC3B蛋白水平的变化; DC2.4细胞转染ptf-LC3质粒后, 共聚焦显微镜观察rapamycin和Stattic处理前后, 绿色荧光和红色荧光的变化; 体外诱导小鼠BMDCs, 流式检测rapamycin和IL-6处理前后DCs的比例和CD80、CD86的表达变化; 体外诱导WT小鼠和DC-Raptor Δ 小鼠BMDCs, 流式检测两组中DCs的比例和CD80、CD86的表达; 体外诱导小鼠cDCs, 流式检测rapamycin处理前后cDCs和CD8+/-like cDCs的比例变化; 体外培养WT和DC-Raptor Δ 小鼠cDCs, 流式检测两组中cDCs和CD8+/-like cDCs的比例变化; 流式检测WT和DC-Raptor Δ 小鼠脾脏、淋巴结和肠系膜淋巴结中CD8+cDCs的比例; 流式检测肺、肝、胸腺和肠固有层中CD103+cDCs的比例; 小鼠右侧腋窝下皮内接种MC38细胞, 14天后, 取左侧和右侧淋巴结, 流式检测其中CD8+cDCs的比例。

结果: CRC肿瘤组织中DCs比例减少, CD83、CD80和CD86表达降低; CRC来源的moDCs比例降低, 而CD83和CD80、CD86未见明显变化; CRC来源的外周血里的DCs中pS6k(T389)表达降低; rapamycin抑制人moDCs和小鼠BMDCs的发育分化, CD80和CD86表达降低; rapamycin抑制BMDCs、MEFTSC2+/+、MEFTSC2-/-、D2SC和DC2.4中Id2蛋白表达; rapamycin对BMDCs、MEFTSC2+/+、MEFTSC2-/-中Id2的mRNA无明显影响; mTORC1减缓Id2蛋白降解; 抑制自噬可稳定Id2蛋白的表达水平; mTORC1通过

Raptor直接正向调控STAT3表达和磷酸化; STAT3促进Id2蛋白的表达; IL-6能逆转rapamycin对BMDCs的抑制作用, DCs中特异性敲除Raptor抑制BMDCs发育分化, CD80和CD86表达降低; Raptor特异性敲除和rapamycin抑制cDCs和CD8+-like cDCs发育分化; Raptor特异性敲除的小鼠中, 脾脏、淋巴结和肠系膜淋巴结中 CD11b-CD8+cDCs的比例减少, 肺、肝、胸腺和肠固有层中CD11b-CD103+cDCs的比例减少; 与未接种MC38一侧相比, 接种侧引流淋巴结内CD8+cDCs比例减少。

结论: CRC发生时, 肿瘤部位浸润的DCs比例、成熟度和功能均降低, 同时结直肠癌中外周血中的DCs比例也降低; CRC患者中, 外周血里DCs中 mTORC1信号活性降低, 从而抑制了DCs的发育分化。mTORC1可以通过 Raptor直接与STAT3作用促进其表达和磷酸化, 进而抑制细胞自噬水平, 减缓Id2蛋白的降解, 促进了cDC1s的发育分化。

关键字 结直肠癌; cDCs; Raptor; STAT3; 自噬

Metformin Suppresses gdT17 Cell Differentiation Alleviating Inflammatory Bowel Disease

Yungang Wang, Mingzhong Sun, Huixiang Ju, Hongmei Chen, Aiting Cai, Rui Yang
Yancheng Third People's Hospital

Metformin use has been associated with improved severity in experimental colitis. gdT17 cells play critical role in initiating and maintaining intestinal inflammation. The regulatory role of metformin on gdT17 cells and underlying mechanisms remain poorly defined. The roles of metformin on gdT17 cell polarization were observed in DSS-induced colitis mice. The mechanism involving inhibition of RORgt signalling was investigated. The role of gdT17 cells in Th17 cell differentiation was investigated by Th17 cell differentiation assay and the adoptive transfer of gdT17 cells to IBD mice. The relationship between gdT17 cells and Th17 cells in IBD patients was investigated by using FACS, ELISA. We find that metformin suppresses gdT17 cell polarization, which is associated with the inhibition of RORgt as downstream targets of STAT3. The adoptive transfer of exogenous gdT17 cells blocks metformin-mediated colitis inhibition. gdT17 cells promote Th17 cell differentiation, and the adoptive transfer of gdT17 cells substantially blocks metformin-mediated Th17 cell inhibition in IBD mice. In addition, study-based IBD patients show that gdT17 cells positively are correlated with IBD stages, and metformin suppresses the expression of RORgt in gd T cells and subsequent IL-17 production. Our study uncovers that metformin attenuates IBD by suppressing gdT17 cell polarization by the inhibition of RORgt as downstream targets of STAT3 and subsequent Th17 differentiation, which proposes a promising therapeutic strategy for IBD.

Key Words Inflammatory bowel disease; metformin; gdT17 cell; RORgt; IL-17

SBDP145, a calpain-mediated breakdown product of α II-spectrin, is a potential blood biomarker for systemic lupus erythematosus

Dong Zheng, Jing Chen, Cifu Qu, Jun Qiu

The First Affiliated Hospital of Soochow University 215006

Background: Systemic lupus erythematosus (SLE) is a recalcitrant autoimmune disorder that impinges upon multiple organs. In this study, we assessed serum calpain activity and α II-spectrin breakdown products (SBDP145) as potential indicators of the diagnosis, severity, and prognosis of SLE to assist in evaluating appropriate treatment modalities.

Methods: Blood samples from 124 patients with SLE and 75 healthy controls (HC) were enrolled in the study. We analyzed datasets (GSE50772) from the GEO database to investigate the transcript levels of calpain proteins in SLE patients. Using commercial kits, we determined the calpain activity and SBDP145 levels in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and serum samples from patients with SLE and HC.

Results: By analyzing transcriptome data, we found that calpain-1 mRNA levels were upregulated in the PBMC of patients with SLE. Calpain activity and SBDP145 levels were also significantly elevated in the serum and PBMC of patients with SLE. The area under the curve for serum SBDP145 and calpain activity was 0.891 (95% CI: 0.845 – 0.936) and 0.762 (95% CI: 0.697 – 0.827), respectively. Notably, serum calpain activity and SBDP145 concentrations were closely associated with SLE disease activity index 2000 scores [A1] ($r = 0.531$, $P < 0.001$ and $r = 0.439$, $P < 0.001$, respectively). Comparison of calpain activity with SLE severity revealed significant differences between patients with high and low disease activity ($P < 0.05$).

Conclusions: Our findings suggest that the serum levels of SBDP145 and calpain activity may serve as potential biomarkers for diagnosis and disease evaluation in patients with SLE.

Key Words Systemic lupus erythematosus, Calpain, SBDP145, Biomarker

中国人群优势 HLA-A 分子限制性 AFP 抗原 T 细胞表位谱的研究

朱苏月、吴怡、赵宇、吴燕丹、岳芳平、沈传来

东南大学医学院

目的: 针对肝细胞癌 (HCC) 高表达的肿瘤抗原甲胎蛋白 (AFP), 研究被 13 种中国人群优势 HLA-A 分子限制的 T 细胞表位谱。

方法: 利用多种 T 细胞表位预测数据库, 虚拟预测 AFP 抗原被 13 种 HLA-A 分子限制的候选表位肽。采用多肽-肝癌患者 PBMCs 共刺激实验 (peptide-PBMCs 实验) 和胞内细胞因子染色验证候选表位肽的免

疫原性。利用表达特定 HLA-A分子的12种HMy2.CIR细胞株进行HLA-A分子的多肽竞争结合实验,分析每种HLA-A分子与相应表位肽的亲合力和交叉限制性。

结果:利用67例AFP阳性HCC患者外周血的多肽-PBMCs共刺激实验,从42种候选表位肽中获得20种能刺激患者CD8⁺ T细胞反应的阳性表位肽。HLA-A分子的多肽竞争结合实验显示,与特定HLA-A分子呈高、中、低亲和力的表位肽分别有22种、13种和6种候选表位肽,另有10种无亲和力;20种经多肽-PBMCs共刺激实验验证的阳性表位肽均呈现与相应HLA-A分子的高或中亲和力结合,且多数肽能与多种HLA-A分子交叉结合。

讨论:HCC占原发性肝癌的90%以上,70%以上患者在确诊时仍无手术以及肝移植机会。大多数新型免疫疗法也旨在扩增肿瘤抗原特异性CD8⁺ T细胞,增强特异性杀瘤效应。AFP是HCC的常见肿瘤相关抗原。因此,筛选鉴定被特定地区人群中优势HLA分子限制的T细胞表位谱具有十分重要的意义。本研究获得了20种新的AFP特异性CD8⁺ T细胞表位肽,而且被中国人群中13种优势HLA-A分子所交叉提呈。这13种HLA-A分子在中国汉族人群中的基因频率均超过1%,总基因频率约为95.5%,能覆盖绝大多数的中国主要人群。由这一系列HLA-A分子提呈的AFP抗原T细胞表位肽则具有中国人群普适性。本研究建立计算机模拟预测、HCC患者外周血T细胞刺激实验和细胞株阵列的HLA-A分子多肽竞争结合实验等技术平台,进行CD8⁺ T细胞表位肽的筛选验证。这是一种高效、低成本、简便可行且易于大批量筛选T细胞表位的技术系统。在患者PBMCs与多肽共培养6 h的实验中,多肽特异性的记忆CD8⁺ T细胞被活化的机制尚不明确,有多种可能:在多肽-PBMCs共培养的微环境中,9-mer或10-mer的短肽可能直接与B细胞膜上的HLA I类分子结合而提呈给处于记忆状态的CD8⁺ T细胞,也可能直接与特异性记忆型CD8⁺ T细胞膜上的TCR结合,或者被单核细胞和B细胞等抗原提呈细胞摄取而通过交叉提呈途径与HLA I类分子结合并提呈给特异性CD8⁺ T细胞。本研究利用重组的HLA-A分子细胞株阵列进行多肽竞争结合实验,通过流式分析技术能快速地比较分析不同表位肽与同一HLA-A分子的相对结合力,也能分析同一表位肽与不同HLA-A分子的交叉结合力,是一种少见的简便且客观的分析平台。

总之,本研究筛选并验证的20种新的AFP抗原T细胞表位肽,为开发能够覆盖更广泛中国人群的、针对更广谱T细胞克隆的AFP抗原特异性T细胞普适性检测系统奠定了基础,也为AFP多肽疫苗的设计提供了较系统的T细胞表位基础数据。

关键字 HCC; AFP; T细胞表位; HLA-A; 抗原特异性T细胞

胆道梗阻合并华支睾吸虫感染患者胆道菌群特征分析

韩甦^{1,2}、李响²、程洋¹、孙毅凡¹、万杰¹

1. 江南大学医学院; 2. 哈尔滨医科大学

目的:华支睾吸虫是一种重要的食源性人畜共患寄生虫,长期感染可能导致多种肝胆疾病,甚至胆管癌,但其致病机制尚未完全明确。研究表明胆道菌群异常与肝胆疾病密切相关。因此,本研究旨在探索华支睾吸虫感染患者胆汁菌群变化特点及其可能发挥的作用,加深对华支睾吸虫致病机制的理解。

方法:本研究自2020年8月到2021年7月,在哈尔滨医科大学附属第一医院和附属第四医院消化科收集符合纳入标准的胆道梗阻合并华支睾吸虫感染患者和与之年龄、性别相匹配的单纯胆道梗阻患者,通过经内镜逆行胰胆管造影收集受试者胆汁样本,同时收集其临床资料。采用16S rRNA测序技术检测胆道菌群,ELISA法检测胆汁中细菌代谢产物脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)、短链脂肪酸(Short-chain Fatty Acids, SCFA)和抗体免疫球蛋白G(Immunoglobulin G, IgG)、免疫球蛋白A

(Immunoglobulin A, IgA) 的含量, 并采用 spearman 相关性分析探索各指标与胆道菌群的相关性。

结果: (1) 基于16s rRNA测序的胆道菌群分析显示, 感染组患者胆道菌群丰富度和多样性显著增加。两组在门水平上具有明显差异, 感染组变形菌门和放线菌门等菌群丰度高; 在属水平上, 感染组假单胞菌属和葡萄球菌属等菌群丰度显著增高, 而肠球菌属较低。肠球菌属和肉杆菌属为区分两组患者的关键标志物。功能预测分析显示两组在氨基酸代谢、ABC转运蛋白、脂多糖生物合成等新陈代谢通路有显著差异; (2) ELISA 检测结果显示, 感染组患者胆汁中 LPS、IgG、IgA 含量均高于未感染组, 而 SCFA 含量明显低于未感染组; LPS 含量与劳尔氏菌属的丰度呈正相关; IgA 含量与红球菌属、罗尔斯通菌属和拟普雷沃氏菌属的丰度呈正相关, 与肠球菌属的丰度呈负相关。

讨论: 本研究获得了胆道梗阻合并华支睾吸虫感染患者的胆道菌群谱。我们发现胆道梗阻合并华支睾吸虫感染患者的胆道菌群多样性增加, 以变形菌门为主, 假单胞菌属和葡萄球菌属等菌群丰度显著增加, 肠球菌属等菌群丰度显著减少, 提示胆道梗阻合并华支睾吸虫感染患者存在明显的胆道菌群失调, 感染患者胆道中假单胞菌属的显著增加可能是华支睾吸虫感染破坏了机体免疫系统, 导致机体免疫力低下所致。胆道菌群功能分析推测其紊乱可能引起宿主代谢功能的失调, 进而参与华支睾吸虫病的病理进展。以上结果将有助于理解华支睾吸虫病的致病机理, 为宿主和寄生虫相互作用的分子机制提供新思路。

关键字 胆道梗阻; 华支睾吸虫; 胆道菌群; 16S测序

Early life gut microbiota sustains liver-resident natural killer cells maturation via butyrate-IL-18 axis

Panpan Tian¹, xiaohong Liang²

1. Department of Clinical Laboratory, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing University, Nanjing Jiangsu, China
2. Key Laboratory for Experimental Teratology of Ministry of Education, Key Laboratory of Infection and Immunity of Shandong Province and Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Cheeloo Medical College of Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China

Liver-resident natural killer cell, a unique lymphocyte subset in liver, develops locally and plays multifaceted immunological roles. However, the mechanisms for the maintenance of liver-resident natural killer cell homeostasis remain unclear. Here we show that early-life antibiotic treatment blunt functional maturation of liver-resident natural killer cells even at adulthood, which is dependent on the durative microbiota dysbiosis. Mechanistically, early-life antibiotic treatment significantly decreases butyrate level in liver, and subsequently led to defective liver-resident natural killer cell maturation in a cell-extrinsic manner. Specifically, loss of butyrate impairs IL-18 production in Kupffer cells and hepatocytes through acting on the receptor GPR109A. Disrupted IL-18/IL-18R signaling in turn suppress the mitochondrial activity and the functional maturation of liver-resident natural killer cells. Strikingly, dietary supplementation of experimentally or clinically used *Clostridium butyricum* restore the impaired liver-resident natural killer cell maturation and function induced by early-life antibiotic treatment. Our findings collectively unmask a previously unrecognized regulatory network of gut-liver axis, highlighting the importance of the early-life microbiota in the development of tissue-resident immune cells.

Key Words Early-life antibiotic exposure; gut microbiota; LrNK cells maturation; butyrate; IL-18

METTL3调控CIA小鼠MDSC功能变化的实验研究

查璇、王胜军
江苏大学附属医院

髓源性抑制细胞（MDSC）是一种重要的免疫抑制细胞，但在类风湿性关节炎中的作用存在争议。本研究分析MDSCs在胶原诱导性关节炎（CIA）小鼠疾病进展过程中的动态变化，探讨METTL3介导的m6A甲基化修饰在MDSCs功能及分化中的作用。结果发现，在CIA发病早期，MDSCs中METTL3表达显著下调，随疾病进展METTL3表达逐渐升高。METTL3的表达与MDSCs的免疫抑制功能呈负相关。抑制METTL3可以通过m6A-YTHDF2方式上调NOX2及iNOS mRNA的表达，增强MDSCs的免疫抑制功能，缓解CIA小鼠的疾病进程。同时METTL3还可以通过m6A-IGF2BP1方式介导MafB mRNA的稳定性，影响骨髓诱导MDSCs的分化。本研究从m6A甲基化这一新的视角解释CIA小鼠MDSC功能变化，为阐明疾病机制提供新思路。

关键字 胶原诱导性关节炎；髓源性抑制细胞；N6甲基腺苷修饰；甲基转移酶样3

Low CD8+CD45RO+CCR7+ Memory T cells in the Peripheral Blood of People With Respiratory Syncytial Virus Disease

Yan Wang, Ping Zhang
The Affiliated Changzhou No. 2 People's Hospital of Nanjing Medical University

Objective To study the percentages of naive, effector and memory T cells and its relationship with respiratory syncytial virus (RSV) disease. **Methods** Thirty four RSV patients admitted to Changzhou No.2 People's Hospital from January 2024 to May 2024 were collected and divided into severe RSV disease and mild RSV disease based on the clinical symptoms. Twenty healthy subjects at the same period were selected as the control group. This cohort was then divided into two age-based groups (the children's group and the elderly group). We measured the percentages of naive, effector and memory T cells in peripheral blood via flow cytometry. The results of flow cytometry were analyzed by Flowjo software, and the differences were analyzed by one-way ANOVA or rank sum test. **Results** Our study demonstrated that the percentages of CD3+T cells and CD8+CD45RO+CCR7+ memory T cells decreased with the severity of RSV disease in the children's group. Our results revealed that the percentage of CD4+T cells in severe RSV patients was lower than this in mild RSV patients and controls; however, the percentage of CD8+T cells in severe RSV patients was higher than this in mild RSV patients and controls. We only found that the percentage of CD8+CD45RO+CCR7+ memory T cells decreased with the severity of RSV disease in the elderly group (all $P < 0.05$). **Conclusion** We suggest that the percentage of CD8+CD45RO+CCR7+ memory T cells significantly decreases and is related with the severity of RSV disease.

Key Words Respiratory Syncytial Virus; Peripheral Blood; T cells; CCR7; CD45RO

Pan-drug resistance and hypervirulence in a human fungal pathogen are enabled by mutagenesis induced by mammalian body temperature

Jingjing Huang^{1,2}, Pengjie Hu³, Leixin Ye³, Yingchun Xu², Linqi Wang³

1. The Affiliated Huai'an No. 1 People's Hospital of Nanjing Medical University

2. Peking Union Medical College Hospital

3. Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences

The continuing emergence of invasive fungal pathogens poses an increasing threat to public health. Here, through the China Hospital Invasive Fungal Surveillance Net programme, we identified two independent cases of human infection with a previously undescribed invasive fungal pathogen, *Rhodosporidiobolus fluvialis*, from a genus in which many species are highly resistant to fluconazole and caspofungin. We demonstrate that *R. fluvialis* can undergo yeast-to-pseudohyphal transition and that pseudohyphal growth enhances its virulence, revealed by the development of a mouse model. Furthermore, we show that mouse

infection or mammalian body temperature induces its mutagenesis, allowing the emergence of hypervirulent mutants favouring pseudohyphal growth. Temperature-induced mutagenesis can also elicit the development of pan-resistance to three of the most commonly used first-line antifungals (fluconazole, caspofungin and amphotericin B) in different *Rhodosporidiobolus* species. Furthermore, polymyxin B was found to exhibit potent activity against the pan-resistant *Rhodosporidiobolus* mutants. Collectively, by identifying and characterizing a fungal pathogen in the drug-resistant genus *Rhodosporidiobolus*, we provide evidence that temperature-dependent mutagenesis can enable the development of pan-drug resistance and hypervirulence in fungi, and support the idea that global warming can promote the evolution of new fungal pathogens.

Key Words emerging pathogens; virulence; resistance; *Rhodosporidiobolus*

基于CHA-FICA系统的肺炎支原体快速即时检测

蔡诗婕、高珣、吴国球

东南大学附属中大医院

目的：肺炎支原体（*M.pneumoniae*）是全球社区获得性肺炎（CAP）最重要的病原体之一，其感染引发的肺炎支原体肺炎（MPP）发病率及传染率高，具有季节性爆发的特点。MPP缺乏特异性临床表现，早期快速诊断困难，导致误诊风险和后续治疗难度提升。除此之外，Mp病原体培养周期漫长，PCR等分子诊断技术则需要昂贵的设备和高标准的实验条件。因此，急需一种高灵敏度、高特异性的检测方法，以应对Mp感染大流行。本研究拟基于催化发夹自组装（CHA）和荧光免疫层析技术（FICA）开发一种快捷、敏感、特异的早期诊断工具，用于预防和监测由Mp引起的急性呼吸道感染爆发，相关内容未

见报道。

方法：1) 利用公共数据库及多序列比对软件确定Mp的特异性序列并设计CHA探针；2) 应用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳验证CHA反应的可行性；3) CHA-FICA反应条件的优化：包括反应温度、反应时间、发夹探针的浓度和比例、FICA试纸条检测时间等参数的优化；4) CHA-FICA系统的灵敏度检测：通过梯度稀释目标RNA，验证该系统的最低检测限；5) CHA-FICA系统的特异性检测：评估不匹配RNA序列是否会影响检测结果；6) 使用临床咽拭子样本评估CHA-FICA方法的临床检测性能。

结果：CHA-FICA系统可在等温、无酶条件下实现信号放大。最适发夹探针浓度为H1:H2=5nM:10nM；最适反应温度和时间分别为20-25℃和1h；FICA试纸条检测时间为1-5min。CHA-FICA系统最低检测限为1pM，且不易被非特异性物质干扰。临床样本检测特异性可达100%，敏感度可达90%。

讨论：本研究通过将CHA的信号放大系统与FICA的地高辛-生物素双标记系统结合，建立了一种快速、灵敏、可靠的Mp检测方法。该方法操作简单，成本低廉，适用于大规模床旁检测，也易于在资源受限的地区快速实施和广泛应用，有望成为临床Mp筛查和诊断的标准化工具。

关键字 肺炎支原体；催化发夹组装；荧光免疫层析法；快速检测

Rapid Identification of Bloodstream Infection Pathogens and Drug Resistance Using Raman Spectroscopy Enhanced by Convolutional Neural Networks

Lin Ye¹, Jingfang Sun², Shulong Zhao², Haiquan Kang²

1. Xuzhou Medical University; 2. Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University

Bloodstream infections (BSIs) are a critical medical concern, characterized by elevated morbidity, mortality, extended hospital stays, substantial healthcare costs, and diagnostic challenges. The clinical outcomes for patients with BSI can be markedly improved through the prompt identification of the causative pathogens and their susceptibility to antibiotics and antimicrobial agents. Traditional BSI diagnosis via blood culture is often hindered by its lengthy incubation period and its limitations in detecting pathogenic bacteria and their resistance profiles. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) has recently gained prominence as a rapid and effective technique for identifying pathogenic bacteria and assessing drug resistance. This method offers molecular fingerprinting with benefits such as rapidity, sensitivity, and non-destructiveness. The objective of this study was to integrate deep learning (DL) with SERS for the rapid identification of common pathogens and their resistance to drugs in BSIs. To assess the feasibility of combining DL with SERS for direct detection, erythrocyte lysis and differential centrifugation were employed to isolate bacteria from blood samples with positive blood cultures. A total of 12,046 and 11,968 SERS spectra were collected from the two methods using Raman spectroscopy and subsequently analyzed using DL algorithms. The findings reveal that convolutional neural networks (CNNs) exhibit considerable potential in identifying prevalent pathogens and their drug-resistant strains. The differential centrifugation technique outperformed erythrocyte lysis in bacterial isolation from blood, achieving a detection accuracy of 98.68% for pathogenic bacteria and an impressive 99.85% accuracy in identifying carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. In summary, this research successfully developed an innovative approach by combining DL with SERS

for the swift identification of pathogenic bacteria and their drug resistance in BSIs. This novel method holds the promise of significantly improving patient prognoses and optimizing healthcare efficiency. Its potential impact could be profound, potentially transforming the diagnostic and therapeutic landscape of BSIs.

Key Words Bloodstream infection (BSI), Raman spectroscopy, Convolutional neural network, Pathogen, Drug resistance

m6A- and immune-related lncRNA signature confers robust predictive power for immune efficacy in lung squamous cell carcinoma

Shishengnan Song^{1,2}, Haijian Zhang^{1,2}

1. Affiliated Hospital of Nantong University; 2. Medical School of Nantong University

Background: Lung squamous cell carcinoma (LUSC) presents a significant challenge in oncology due to its high prevalence and complex treatment requirements. As a major subtype of non-small cell lung cancer, LUSC accounts for a substantial portion of lung cancer cases globally, contributing to the high mortality associated with lung cancer. The intricate nature of LUSC treatment stems from its aggressive behavior and the limited effectiveness of conventional therapies. Recent advancements in immunotherapy, particularly immune checkpoint blockade therapies, have revolutionized the treatment landscape for LUSC. These therapies function by activating the immune system to target and destroy cancer cells, offering a promising alternative to traditional treatments like chemotherapy and radiation. Despite these advancements, the effective response rate to immunotherapy remains disappointingly low, at less than 30%. This limited efficacy is largely attributed to the absence of reliable predictive markers for immune response, which hinders the ability to identify patients who are most likely to benefit from these treatments. In this context, the role of N6-methyladenosine (m6A) modifications and immune-related long non-coding RNAs (lncRNAs), collectively termed mirlncRNAs, has garnered significant interest. These molecular entities are believed to play crucial roles in modulating immune responses, yet their clinical value in predicting immune efficacy in LUSC remains unexplored. This study aims to bridge this gap by identifying specific mirlncRNAs and categorizing LUSC patients into distinct clusters based on these markers, thereby enhancing the understanding of immune response variability and improving therapeutic strategies. By doing so, the study seeks to pave the way for more personalized and effective treatment approaches in LUSC.

Methods: The study leveraged RNA-seq transcriptome data and associated clinical annotations from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, a comprehensive resource for cancer genomics. This database provides a wealth of information that is crucial for understanding the genetic and molecular underpinnings of various cancers, including LUSC. A total of 494 LUSC patients with complete data from the TCGA database were incorporated into the training cohort, and half of them were randomly selected as the validation cohort. This approach ensured a robust dataset for analysis and validation of findings. The initial phase involved identifying m6A- and immune-related lncRNAs (mirlncRNAs) through correlation analysis with differentially expressed immune genes (DEI genes). The criteria for selecting DEI genes included a log fold change (logFC) of 1 and a false discovery rate (FDR) of 0.05, ensuring robust identification of relevant genes. This rigorous selection process was crucial for isolating genes

that are truly relevant to immune response in LUSC. Unsupervised clustering analysis was employed to categorize patients into miRNA clusters A, B, and C, based on the expression profiles of these lncRNAs. This clustering approach allowed for the identification of distinct immune phenotypes within the patient population, providing insights into the heterogeneity of immune responses in LUSC. Further, the study constructed a prognostic risk model using the least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) method to calculate risk scores. These scores were instrumental in risk stratification and survival probability prediction, providing a quantitative measure of immune response potential. The integration of these methodologies aimed to enhance the precision of immunotherapy by tailoring treatment strategies to individual patient profiles, thereby optimizing therapeutic outcomes.

Results: The analysis successfully identified a specific set of miRNAs that facilitated the optimal division of LUSC patients into three distinct clusters: A, B, and C. This division was based on the expression profiles of the identified miRNAs, which revealed significant differences in immune characteristics among the clusters. Cluster A was characterized as an immune-inflamed phenotype, marked by the infiltration of numerous immune cells, including tumor-infiltrating lymphocytes (TILs). This cluster was associated with pathways such as the regulation of myeloid leukocyte differentiation, indicating a robust immune response. The presence of these pathways suggests that patients in Cluster A have a more active immune environment, which could enhance their response to immunotherapy. In contrast, clusters B and C corresponded to immune-desert and immune-excluded phenotypes, respectively, each with distinct immune characteristics and implications for treatment. These clusters exhibited lower levels of immune cell infiltration and different patterns of immune signaling, which may contribute to their reduced responsiveness to immunotherapy. The immune-inflamed phenotype (Cluster A) exhibited the highest immune infiltration, the lowest chromatin accessibility, and the best immune efficacy, as evidenced by improved survival rates and lower half inhibitory concentration (IC₅₀). The risk scores derived from the miRNA signature effectively identified patient subgroups that could significantly benefit from immunotherapy, particularly in populations with poor responses to targeted drugs. This stratification underscores the potential of miRNAs as biomarkers for tailoring immunotherapy in LUSC. The findings suggest that patients in Cluster A, with their enhanced immune characteristics, are more likely to respond favorably to immunotherapy, highlighting the importance of personalized treatment approaches. By identifying these distinct immune phenotypes, the study provides a framework for developing more targeted and effective treatment strategies for LUSC, ultimately improving patient outcomes.

Conclusions: The miRNA signature not only identifies molecular typing and distinguishes chromatin accessibility but also further highlights the immune efficacy and drug sensitivity, which might contribute to developing a new strategy for immunotherapy-based individualized treatment of patients with LUSC.

Key Words Chromatin accessibility, N6-methyladenosine (m6A) methylation, Long-chain non-coding RNA, Immune efficacy, Lung squamous cell carcinoma

TIGIT在结核病患者免疫细胞中的表达 及其对细胞毒性功能的影响研究

石曼琪 陈良琼 张健 徐建浩 史加海、秦永伟
南通大学

目的：结核病每年导致约150万人死亡。尽管约有四分之一的世界人口感染了Mtb，但大多数人通过强大的细胞免疫反应控制了感染。评估结核病患者外周血免疫细胞中的免疫检查点与宿主免疫状态的关系，阐明其作用机制至关重要。本研究旨在探讨结核病患者外周血免疫细胞中TIGIT表达的变化及其对T细胞和NK细胞功能的影响，为开发个性化免疫治疗策略提供依据。

方法：研究纳入了73名结核病患者和58名健康对照者。采用流式细胞术分析TIGIT在结核病患者和健康对照者外周血单个核细胞（PBMCs）中的表达。此外，将健康人PBMCs体外感染Mtb后，评估TIGIT表达的变化；利用中和抗体阻断TIGIT后研究其对T细胞、NK细胞释放穿孔素(perforin)、颗粒酶A/B、IFN γ 、TNF α 、及其表面死亡配体FasL、TRAIL等的影响，以评估这些物质对胞内菌的清除和对靶细胞杀伤的能力。通过RNA测序和生物信息学数据分析，探讨TIGIT在Mtb感染中的生物学功能。

结果：研究发现，与健康对照组相比，结核患者的CD4⁺ T细胞、CD8⁺ T细胞、NKT细胞和CD56dimCD16⁺NK细胞中高表达TIGIT（TIGIT^{hi}）细胞群显著减少，而低表达TIGIT（TIGIT^{lo}）细胞比例上升。在Mtb感染的PBMCs中，TIGIT^{lo}表达的T和NK细胞亚群能够分泌更高水平的IFN γ 。通过TIGIT阻断实验，发现TIGIT缺失显著增强了NK-92细胞介导的对Mtb感染THP-1细胞的杀伤作用，并提高了T细胞介导的清除靶细胞内细菌的能力。原代人NK细胞中TIGIT能明显增强NK细胞杀菌能力。生物信息学分析结果显示TIGIT主要影响NK细胞的免疫突触组装与细胞粘附。阻断TIGIT后，明显增强了NK细胞与靶细胞的结合能力。

讨论：本研究结果表明，TIGIT在结核患者的T细胞和NK细胞亚群中表达下调，可能与免疫细胞的激活和功能密切相关。TIGIT的阻断能够影响穿孔素和颗粒酶以及细胞因子的表达，进而增强NK细胞的细胞毒性作用和T细胞的抗菌能力，这为结核病的免疫治疗提供了新的策略。通过WGCNA分析，我们鉴定了与TIGIT相关的基因模块，并发现这些模块富集在与细胞趋化、突触组装和信号传导相关的生物学功能中。这些发现为理解TIGIT在结核病免疫应答中的作用提供了新的视角，并为开发新的免疫治疗靶点提供了潜在的分子基础。未来的研究需要进一步探索TIGIT在结核病中的免疫调节机制，并评估其作为治疗靶点的潜力。

关键字 免疫检查点；结核；NK细胞；T细胞；

· 人类病原体的致病性、耐药性及其机制的基础和临床研究 ·

E3泛素连接酶斑点型锌指结构蛋白调控RLR信号通路 抑制肠道病毒71复制

周围

江苏省常州市第一人民医院

目的：探讨斑点型锌指结构蛋白[speckle-type POZ(pox virus and zinc finger protein) protein, SPOP]在肠道病毒71型(EV71)感染中的作用。

方法：免疫共沉淀分析SPOP对EV71非结构蛋白2A蛋白酶(2Apro)泛素化水平的影响，Western blot检测干扰素调节因子3(IRF3)蛋白磷酸化水平，过表达或敲低细胞中SPOP后感染EV71，RT-qPCR分析IFN- β 转录水平，RT-qPCR和Western blot检测EV71结构蛋白VP1的转录水平及蛋白水平。

结果：过表达HA-SPOP后感染EV71，发现EV71感染RD细胞受抑，同时EV71-2Apro的泛素水平呈HA-SPOP梯度依赖增多。转染shSPOP质粒进行内源性SPOP敲低后，黑色素瘤分化相关基因5(MDA5)、接头蛋白线粒体抗病毒信号蛋白(MAVS)、磷酸化干扰素调节因子3 (p-IRF3)水平呈剂量依赖地减少，而转染HA-SPOP质粒后，MDA5、MAVS、p-IRF3蛋白水平呈剂量依赖地增加。SPOP高、低表达促进或降低EV71感染的细胞表达IFN- β mRNA,同时抑制和增加VP1在mRNA或蛋白水平表达。

结论：SPOP可提高EV71-2Apro的泛素化水平从而促进2Apro降解，推测SPOP可通过抑制2Apro对视黄酸诱导基因蛋白-1 (RIG-I)样受体 (RLR)信号通路中关键分子MAVS和MDA5的降解，从而上调IRF3磷酸化水平促进IFN- β 释放，最终活化宿主细胞抗病毒固有免疫抑制EV71复制。

关键字 斑点型锌指结构蛋白；肠道病毒71型；RLR信号通路

USP21增强2Apro稳定性负向调控RLR信号通路 促进EV71复制

周围

江苏省常州市第一人民医院

目的：探究泛素特异性蛋白酶21 (Ubiquitin-specific protease 21, USP21)在肠道病毒71型(Enterovirus 71, EV71)感染中的作用。

方法：采集EV71感染患儿与健康儿童各24例外周全血，分离出外周血单核细胞(Peripheral blood mononuclear cell, PBMC)，RT-qPCR检测PBMC中USP21 mRNA表达水平。采用RT-qPCR或Western blot观察过表达USP21或敲除USP21后对EV71复制影响；WB检测EV71结构蛋白VP1、RIG-I样受体(RIG-I-like Receptors, RLR)通路关键分子蛋白水平及干扰素调节因子3 (Interferon regulatory factor 3, IRF3)磷酸化。免疫共沉淀(Co-IP)分析USP21对EV71非结构蛋白2A蛋白酶(2Apro)泛素水平的影响。

结果：与健康儿童相比，EV71感染患儿PBMC中USP21 mRNA表达明显升高。过表达USP21后显著提升EV71所致的细胞病变效应，上调VP1 mRNA和蛋白水平并促进EV71复制，细胞活性也随USP21的转染水平增高而明显下降；而敲除USP21基因后发现EV71 VP1 mRNA水平较对照组显著下调。另外，过表达USP21并不影响EV71-2Apro的转录水平，但可以上调2Apro的蛋白表达，同时降低2Apro的泛素化水平，抑制线粒体抗病毒蛋白(Mitochondria antiviral signaling protein, MAVS)、黑色素瘤分化相关基因5 (Melanoma differentiation-associated gene 5, MDA5)的蛋白表达以及IRF3的磷酸化水平，下调干扰素- β (Interferon- β , IFN- β) mRNA水平。敲除USP21可挽救EV71感染导致的MAVS和MDA5蛋白水平下调，促进IRF3的磷酸化并上调IFN- β mRNA水平。

结论：USP21可通过降低2Apro的泛素化水平，降低MAVS和MDA5蛋白表达，负向调控干扰素信号通路而促进EV71复制。

关键字 肠道病毒71型；USP21；2A蛋白酶；RLR信号通路

布鲁氏菌感染合并肝损伤炎症因子谱改变及机制探究

王娟

常州市中医医院

目的：肝脏是重要的免疫器官之一，本文旨在探讨布鲁氏菌合并肝损伤炎症因子谱改变及机制。本文旨在研究常州地区，即非牧区肝性布鲁氏菌感染的相关实验室特征以揭示肝性布鲁氏菌引起炎症因子的改变，进一步探讨布鲁氏菌与肝细胞可能的作用机制，寻找肝性布鲁氏菌病控制感染新靶点。

方法：收集2016年-2023年疑似常州市布鲁氏菌感染病例，使用血培养、飞行质谱鉴定菌株，入组28例确诊病例。回顾性分析合并肝损伤布鲁氏菌感染是否影响其流行特征，以及炎症因子谱的改变。

结果：相较于对照组，虽然61-70岁在患病年龄段中占比最高，但布鲁氏肝病组患者年龄分布更广，更为分散。此外，布鲁氏肝病组则不存在明显的季节效应，在每年的12月份达到峰值。另外，相较于对照组，布鲁氏肝病组患者白细胞计数(WBC)没有明显差异；但中性粒细胞比例(N%)下调($P<0.05$)，淋巴细胞比例(L%)($P<0.05$)上调；血沉(ESR)明显下调($P<0.05$)，而CRP, PCT, IL-6则相较对照组无明显差异。

讨论：本研究分析对照组和布鲁氏肝病组感染性指标(WBC, N%, L%, CRP, ESR, PCT, IL-6)差异发现：两组患者WBC并没有明显的差异，而布鲁氏肝病组N%明显降低，而L%明显升高。这一结果可能机制在于布鲁氏菌感染后，中性粒细胞发生中毒样改变，释放内毒素使机体发生变态性改变，中性粒细胞被组织细胞破坏，从而引起中性粒细胞减少，而肝脏的实质和门管中存在大量的淋巴细胞，肝脏内淋巴细胞应激性发挥抗感染和抗原递呈作用而增多。然而IL-6在布鲁氏菌肝病中并未有明显的上调，发生这一现象的机制可能在于：一方面IL-6作为固有免疫系统对损伤和感染最初反应所表达的重要细胞因子，可促进机体抗感染；另一方面在肝脏再生过程中IL-6大力发挥肝实质修复的作用[27]。ESR, 红细胞在一定条件下沉降的速度。大量研究表明布鲁氏菌感染ESR, L%等其他常见炎症指标均有不同程度升高[28]，有趣的是，我们发现布鲁氏肝病组ESR水平明显下调。造成这一有趣现象的部分原因可能由于Kupffer cells。该细胞是肝脏常驻巨噬细胞[29]，其通过粘附在肝窦内的肝窦内皮细胞上发挥其作为清道夫的功能，通过模式识别受体(PRR)从门静脉血中清除蛋白质复合物、小颗粒、衰老红细胞和细胞碎片[30]，从而导致衰老红细胞的减少，ESR降低。

关键字 布鲁氏菌，肝脏，炎症因子

院内混合血流感染患者临床特征及预后危险因素分析

缪淑贤

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：分析院内混合血流感染（nosocomial polymicrobial bloodstream infection, nPBSI）患者的临床特征及预后危险因素，为nPBSI患者治疗及预后判断提供依据。

方法：回顾性分析2017–2020年南京医科大学第一附属医院nPBSI患者的临床资料及病原菌分布情况，采用Logistic 回归分析患者的死亡危险因素。

结果：共159例患者纳入研究，其中男性占68.6%（109/159），患者平均年龄 60.1 ± 15.5 岁，主要来自ICU（51/159，32.1%）和肝胆胰外科（33/159，20.8%），消化系统疾病（101/159，63.5%）是最常见的基础疾病，患者多有外科手术史（127/159，79.9%），死亡率为34.0%（54/159）；共分离病原菌345株，排名前三位的病原菌分别为肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、屎肠球菌，以两种病原菌混合感染为主（134/159，84.3%），最常见的细菌组合为大肠埃希菌+肠球菌属（16/159，10.1%）；多重耐药鲍曼不动杆菌（MDRAB）nPBSI、机械辅助通气、连续性血液净化、合并肺部感染、感染性休克是nPBSI患者死亡的独立危险因素。

结论：nPBSI患者多为存在消化道疾病的老年男性；临床用药应考虑到不同病原菌组合模式；患者存在MDRAB nPBSI、机械辅助通气、感染性休克、肺部感染、连续性血液净化时死亡风险增加。

关键字 混合血流感染；病原菌分布；临床特征；预后危险因素

丝状真菌感染的临床特点及相关危险因素

夏文颖

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：调查江苏省人民医院丝状真菌感染临床特点并研究其感染相关危险因素，推测易感人群。

方法：采用回顾性调查方法对江苏省人民医院2022年1月–2023年12月临床丝状真菌感染患者的临床资料进行统计分析，包括年龄、性别、所属病区、感染菌种、样本类型、基础疾病、治疗记录等。

结果：丝状真菌感染患者主要为高龄患者，以年龄65岁以上患者居多；感染病例主要集中于ICU病区、感染病科和呼吸与危重症医学科；感染菌种以曲霉菌为主，包括烟曲霉菌、黄曲霉菌、黑曲霉菌、土曲霉菌等；感染的危险因素有高血压、糖尿病、COPD、手术后、器官衰竭、肿瘤、移植等。

结论：丝状真菌感染临床分布具有一定特点，危险因素多，感染情况复杂，应在早期采取各类措施进行预防。

关键字 丝状真菌；临床分布；危险因素

真菌血流感染的临床特点及死亡危险因素分析

杨明瑜、任传利、阚刘月、李贵玲

江苏省苏北人民医院

目的：探讨真菌血流感染患者病原菌分布及其预后，并对其相关危险因素进行分析，为临床诊治真菌血流感染患者提供经验和依据。

方法：选取2013年12月至2022年12月江苏省苏北人民医院真菌血流感染患者为研究对象，回顾性分析这些患者的真菌分布类型、药物敏感性、相关危险因素及其预后。

结果：195例真菌血流感染病例中，男性133例，平均年龄66岁；女性62例，平均年龄65岁；以白念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌为主，分别占45.4%、16.9%、15.3%；死亡101例，死亡率为51.8%；死亡患者中检出最高的为白念珠菌(50.5%，51/101)；单因素分析显示住院时长、肾功能不全、肝功能不全、基础疾病 ≥ 2 种、ICU入住、机械通气、气管插管、留置导管、碳青霉烯类药物使用与死亡率有关($P < 0.05$)，多因素logistic二元回归分析结果提示住院时长、基础疾病 ≥ 2 种和气管插管是与真菌血流感染患者死亡率相关的独立危险因素。

结论：患者的住院时长、基础疾病 ≥ 2 种和气管插管可能作为真菌血流感染死亡独立危险因素存在，本研究真菌血流感染中最常见的是白念珠菌感染，热带念珠菌和光滑念珠菌对唑类药物的敏感性较低。

关键字 真菌；念珠菌；血流感染；临床特点；死亡危险因素；

2019年—2023年我院病原菌耐药性变迁

侯盼飞、祝丽晶、华香

涟水县人民医院

目的：分析我院分离病原菌特征及耐药性变化趋势，为临床用药和院感防控提供依据。

方法：收集2019年至2023年我院住院患者送检标本，按标准操作规程进行培养鉴定及药敏试验，采用WHIONET 5.6软件进行数据分析。

结果：五年间共送检标本97378份，以血液标本为主。分离病原菌种类以大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌和表皮葡萄球菌为主。大肠埃希菌对碳青霉烯类亚胺培南和美罗培南耐药率均低于2%，对复方新诺明、庆大霉素、头孢他啶耐药率均高于30%，但呈逐年下降趋势。肺炎克雷伯菌对亚胺培南、美罗培南耐药率分别为2.66%–13.16%、2.66%–12.25%，对复方新诺明、亚胺培南、美罗培南、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦、氨苄西林/舒巴坦耐药率呈整体下降趋势。鲍曼不动杆菌除对多粘菌素B、米诺环素耐药率较低，对其他抗菌药物耐药率均较高。铜绿假单胞菌对所有检测药物耐药率均低于30%。金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌对青霉素耐药率均在90%以上，对苯唑西林耐药率分别为20.94%–42.16%、64.14%–76.71%，未发现万古霉素、利奈唑胺耐药葡萄球菌。

结论：多种病原菌耐药率有所下降，但应继续做好细菌耐药性监测和抗菌药物管理工作，减少耐药菌的产生和流行。

关键字 病原菌；耐药率；耐药性监测；抗菌药物

Cas3 of type I–Fa CRISPR–Cas system upregulates bacterial biofilm formation and virulence in *Acinetobacter baumannii* by affecting cilia–related and ompA genes expression

Tingting Guo, Jie Yang, Guocai Li
Medical College, Yangzhou University

Acinetobacter baumannii (*A.baumannii*) is an important pathogen causing various nosocomial infections. CRISPR–Cas system is the adaptive immune system of bacteria, which is also closely related to the drug resistance and virulence of bacteria. In this study, we successfully constructed a *cas3* deletion mutant (19606 Δ *cas3*) and complemented strain (19606 Δ *cas3*/pcas3) to study the regulatory mechanism of type I–Fa *cas3* on bacterial virulence. Our results showed that deletion of *cas3*(type I–Fa) significantly reduced the biofilm formation, virulence and pathogenicity to mice, the organ bacterial load of mice infected with *cas3* deletion strain was significantly reduced; the lung inflammation was slightly changed; and the serum cytokine level was also decreased. The results demonstrated that *cas3* enhanced the virulence and pathogenicity of *A.baumannii*. Mechanism analysis shown that deletion of *cas3* can lead to the down–regulation of virulence factors such as biofilm formation related factors and outer membrane protein A(ompA). In addition, *cas3* was also involved in the regulation of carbon metabolism and oxidative phosphorylation pathway of *A.baumannii*.

Key Words *Acinetobacter baumannii*; virulence; *cas3*; CRISPR–Cas system; mechanism

与胎儿死亡相关的高致病性B族链球菌的表征和全基因组测序

王晶¹、陈静²、张婷¹

1. 无锡市妇幼保健院；2. 江南大学无锡医学院

目的：本研究从一名发生胎儿死亡的败血症产妇血液中分离出B族链球菌（Group B Streptococcus, GBS）并进行全基因组测序和表征，揭示其基因功能、耐药性、致病性和毒力因子，为GBS的病原机制和宿主–病原体相互作用研究提供新的见解，并为临床诊断、抗生素选择和治疗策略以及传播控制提供重要的临床参考。

方法：本研究采用多种方法对与死产相关的GBS–B4009进行了全面的表征，包括菌株分离和鉴定、全基因组测序和组装、基因组成分预测、基因注释和蛋白质分类、毒力因子和耐药基因预测、比较基因组学和系统发育分析以及基因家族分析等。

结果：全基因组测序结果显示，该菌株拥有一个完整的环状染色体，大小为2,277,992 bp，GC含量为35.97%。基因组包含2,256个编码序列，包括21个rRNA、81个tRNA和24个sRNA。毒力因子数据库注释结果表明，GBS-B4009携带139个与毒力相关的基因，这些基因可能与其突破胎盘屏障导致胎儿宫内死亡以及侵入血液导致母体败血症密切相关。值得注意的是，GBS-B4009拥有八个独特的基因家族，其中PTHR30083家族尤为突出。该家族包含两个成员：功能未知的DUF3440结构域蛋白和ParB/RepB/Spo0J家族分配蛋白，后者在细菌染色体分离、复制和细胞分裂中发挥重要作用。

讨论：全基因组测序可以从根本上帮助我们了解病原菌的致病机制和病原菌与宿主之间的相互作用。通过对直接导致胎儿死亡的GBS-B4009进行全基因组测序，我们为病原菌的流行病学调查和传播追踪提供了高分辨率的遗传信息。然而，为了更深入地了解GBS致病性的潜在作用，特别是对人类临床感染的影响，还需要进一步的表型和体内研究。可以预见，未来高通量测序技术的开发将更加快速和简单，可视化生物信息学分析的标准化和普及将在临床环境中为GBS感染的预防和治疗做出新的贡献，并为未来的微生物检测提供新的见解。

关键字 B族链球菌；死产；全基因组测序；毒力因子；抗生素耐药性

Emergence of multiple carbapenemases-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from a multicenter study in China

Xiaofang Xie, Feinan Qian, Zhichen Zhu, Hong Du

The Second Affiliated Hospital of Soochow University

Purpose: To demonstrate the characteristics of multiple carbapenemases-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from a multicenter study in China.

Methods: In this study, we identified *K. pneumoniae* isolates coproducing multiple carbapenemases between 2016 and 2022 from six tertiary hospitals in China. The isolates were collected for further clinical information and drug-resistant phenotype. The whole genome sequencing was used to determine the molecular characteristics of drug-resistant strains such as plasmids, drug-resistant genes, and virulence genes.

Results: The result revealed that 16 *K. pneumoniae* isolates coproducing multiple carbapenemases. The coexistence of KPC and NDM are the most common, including KPC-2 and NDM-1 (6/16, 37.5%), KPC-2 and NDM-5 (4/16, 25%), KPC-2 and NDM-4 (1/16, 6.25%). The following are IMP-4 and NDM-1 (3/16, 18.75%), KPC-2 and OXA-232 (2/16, 12.5%). The antibiotic susceptibility testing showed that all isolates were multidrug resistant and exhibited high-level resistance on meropenem compared with single carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. Whole genome sequencing analysis indicated that thirteen isolates harboring blaKPC/NDM and blaKPC-2/OXA-232 belonged to ST11, while the other three isolates harboring blaIMP-4/NDM-1 were ST367, ST1107, ST6115, respectively. Besides, multiple carbapenemase genes were carried on different conjugative plasmids.

Conclusions: Our study demonstrated that the emergence and transferability of multiple carbapenemase genes in *K. pneumoniae*, which deserves further monitoring.

Key Words multiple; carbapenemase; *Klebsiella pneumoniae*; resistance; plasmids

Emerging, molecular characteristics and resistance mechanisms of Colistin-resistant Enterobacteriaceae in Xuzhou, China

Shulong Zhao

Laboratory Department of Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University

Abstract: Infection caused by carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) has become a global threat to public health. Colistin is considered as the last line of defense in the treatment of CRE. Increasing resistance rate of colistin has brought challenges to its clinical use. This study aimed to illuminate the molecular characteristics and resistance mechanisms of clinical colistin-resistant (ColR) CRE strains by broth microdilution method, pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), multilocus sequence typing (MLST) and whole genome sequencing (WGS). In ColR-carbapenem-resistant *K. pneumoniae* (ColR-CRKP), inactivation of the *mgrB* gene lead to colistin resistance. However, the *mcr-1* gene carried by the plasmid mediated colistin resistance in ColR-carbapenem-resistant *E. coli* (ColR-CREC). PFGE revealed potential cloning epidemics both in ColR-CRKP and ColR-CREC. Whole-genome sequencing for *E. coli* 104 showed that multiple important resistance genes were distributed on 4 plasmids. Especially, *mcr-1* was located on the IncI2 plasmid and NDM-5 was located on the IncFII plasmid. Phylogenetic trees based on single nucleotide polymorphism (SNP) and core genome multilocus sequence typing (cgMLST) showed that the clonal epidemic strains represented by *E. coli* 104 has the potential to spread across regions and species. In conclusion, our study showed that mutations in the *mgrB* gene and the existence of *mcr-1* gene lead to the development of colistin resistance in CRE, and enriched the local epidemiological information so as to better understand and control the spread of *mcr-1*.

Key Words Keywords: colistin; *mgrB*; *mcr-1*; carbapenem-resistant; Enterobacteriaceae

RpoE通过调控T3F控制毒力和RpoE突变体作为弱毒活疫苗的开发策略

翟雅轩、杜鸿

苏州大学附属第二医院

目的: 高毒力肺炎克雷伯菌 (简称为 hvKP) 是一种与临床严重疾病相关的人类病原体。明确细菌毒力的特异性调控, 使临床上控制细菌毒力引起的严重脓肿和其他损伤成为可能。但是现阶段对 hvKP 的毒力调控还未完全明确。在本文中我们研究了一个转录因子 RpoE, 该转录因子在除 hvKP 外的其他细菌中参与了细菌毒力的调节, 所以我们旨在阐明 hvKP 的调控机制。而随着对多种抗生素耐药 hvKP 的出现, 而临床缺少合适的抗生素应对耐药的病原体, 使之成为一种主要的临床和公共卫生威胁。世界卫生组织呼吁运用疫苗来应对微生物耐药的重大公共卫生问题。在我们的研究中, hvKP 敲除 *rpoE* 基因的菌株

($\Delta rpoE$) 有低毒力的表型是一种优秀的弱毒活疫苗候选物。因此本文旨在克服现有技术中的不足,验证由 $\Delta rpoE$ 制备的弱毒活疫苗,解决现阶段面临的耐药 hvKP 难治的问题。

方法: 首先使用 Red 同源重组技术,在 hvKP 的基础上构建 $\Delta rpoE$ 。然后通过小鼠腹腔感染模型和血流感染模型确定 $rpoE$ 参与 hvKP 的毒力调节。随后观察 $rpoE$ 基因敲除后细菌表型的变化,尤其是三型菌毛 (T3F) 相关的基因、表型和表达量的变化。进一步结合转录组的结果推测 $rpoE$ 基因参与细菌毒力调节的机制。并且通过 lacZ 报告融合基因实验和电泳迁移率实验 (EMSA) 实验证明 $RpoE$ 与 T3F 表达调控的关系。最后我们还通过免疫保护实验验证 $\Delta rpoE$ 能否为宿主提供良好的保护性,以确定是否有潜能成为临床需要的细菌疫苗。

结果: 我们成功获得了 $\Delta rpoE$, 并通过比较 ATCC43816 野生株与 $\Delta rpoE$ 感染小鼠后的小鼠杀伤实验结果、小鼠器官菌载量结果,我们确定 $rpoE$ 敲除后细菌的毒力有明显的降低。其次通过荧光定量实验、生物膜形成实验、电镜拍摄和转录组结果我们观察到随着 $rpoE$ 基因的敲除,细菌的 T3F 表达量降低。并且我们通过 lacZ 和 EMSA 实验证明 $rpoE$ 通过直接调控 T3F 实现对细菌毒力的调节。最后我们确认了 $\Delta rpoE$ 制备的弱毒活疫苗对宿主提供了令人满意的保护。

结论: 本研究进一步阐明了 hvKP 的毒力调控网络,并为开发针对 hvKP 感染风险的健康人群的相关疫苗提供了临床前证据。

关键字 高毒力肺炎克雷伯菌, 毒力, $RpoE$, 弱毒活疫苗。

苏州地区艰难梭菌感染的临床特征及分子流行病学分析

林佳瑶、尤中阳、赵丹、杜鸿、王敏
核工业总医院 (苏州大学附属第二医院)

目的: 分析 2020–2024 年苏州地区艰难梭菌感染患者的临床特征及 2023 年艰难梭菌的分子流行病学、耐药分子和毒力分子的分布特征,为艰难梭菌感染防控及临床治疗提供参考依据。

方法: 收集 2020 年 9 月至 2024 年 3 月苏州大学附属第二医院 Gene Xpert 方法检测为 tcdB+ 的艰难梭菌感染患者的临床资料,分析患者临床信息。收集 2023 年 3 月至 9 月检测为 tcdB+ 的粪便标本,培养出 21 株艰难梭菌临床分离株,采用琼脂稀释法检测艰难梭菌对 9 种常用抗菌药物的敏感性,并结合多位点序列分型、系统发育进化树及艰难梭菌基因组中耐药基因、毒力基因的分布,分析其分子特征。

结果: 所有疑似艰难梭菌感染的临床标本中,检出 240 个 tcdB 阳性的标本,检出率为 20.39%,来自 198 位不同的患者,大部分为男性患者 (64.14%), 60 岁以上患者占比最多 (44.44%), 大多数患有消化系统疾病 (63.64%) 且有多种抗生素的用药史。其中分离培养出的 21 株艰难梭菌临床分离株对氯霉素、甲硝唑、万古霉素、美罗培南、四环素、利福平高度敏感,对氨苄西林、克林霉素和环丙沙星敏感性较差。分离株的多位点序列分型结果显示,共检出 10 种 ST 型,ST 型分布较为离散,其中以 ST8 (5 株) 和 ST54 (4 株) 最为常见,未发现 ST1 型高毒力 RT027 艰难梭菌。系统发育分析结果显示,21 株艰难梭菌被分成 3 个分支,同一 ST 型的菌株亲缘关系较近,且大多艰难梭菌都同时携带多种毒力基因和耐药基因。

结论: 苏州地区艰难梭菌感染好发于老年男性患者、患有消化系统疾病及有抗生素用药史的患者。目前治疗艰难梭菌感染还有较多的用药选择,但仍然应合理使用抗生素治疗并加强对艰难梭菌感染的监测,减少艰难梭菌感染的发病率。

关键字 艰难梭菌; 抗生素; 多位点序列分型; 系统发育分析

按蚊伊丽莎白菌流行病学及耐药性研究：两个病例的报告

蔡啸、金袁苓、潘强龙、朱涛、缪寒琪
南京医科大学附属逸夫医院

目的：分析南京地区按蚊伊丽莎白金菌临床分离株的流行病学及耐药性研究，基于重症监护病房（ICU）爆发的按蚊伊丽莎白金菌提供有效的治疗方案，通过分子生物学研究揭示了病原体耐药机制，为临床提供实验依据。

方法：在2024年8月某医院临床接连检测到2株同一病房分离的按蚊伊丽莎白金菌。使用VITEK® 2系统进行分离株生化反应鉴定与最小抑菌浓度测定。通过16 S rRNA测序菌株。构建邻接法系统发育树。并对发生地感染环境进行微生物溯源检测。利用全基因组测序技术检测毒力基因，阐述耐药机制。

结果：分离培养菌株鉴定为伊丽莎白菌属（命名为Xq 1、Qq 2），16 S rRNA测序结果进行BLAST比对，比对结果与按蚊伊丽莎白菌具有较高的同源性，达100%。邻接法进化树显示与EF426429.1:13–1465 *Elizabethkingia anopheles* strain株自展值为66。患者分离株基因序列相近。其菌株传播途径可能是通过水平传播方式。测定30种抗菌药物对所有分离株的最低抑菌浓度。这些菌株仅对甲氧苄啶/磺胺甲恶唑、多西环素和米诺环素敏感。抗性基因组显示出高度多样性，包括5种不同的内酰胺酶和18种外排蛋白编码基因。44个毒力因子编码基因在菌株间具有保守性。

结论：按蚊伊丽莎白金菌是潜在的多重耐药菌，其传播途径存在引发大范围感染的风险，尤其是对于重症监护病房（ICU）患者。我们的研究为临床对于按蚊伊丽莎白金菌所导致的院内感染提供了适当的诊断和治疗选择。

关键字 按蚊伊丽莎白菌;药物敏感性;分子分型;多重耐药;院内感染

The causal relationship between gut microbiota and preterm birth

Tao Zhu, Haixia Tu, Shouxing Wang
Sir Run Run Hospital, Nanjing Medical University

Purpose To investigate the potential causal relationship between gut microbiota imbalances and preterm birth.

Methods We conducted a two-sample Mendelian randomization (MR) study using genome-wide association study (GWAS) data from the MiBioGen consortium focusing on microbiota and preterm birth. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with the microbiota were selected as instrumental variables. The inverse variance weighting (IVW) method was used to estimate causality. We confirmed pleiotropy and identified and excluded outlier SNPs using MR-PRESSO and MR-Egger regression. Cochran's Q test was applied to assess heterogeneity among SNPs, and a leave-one-out analysis was performed to evaluate the influence of individual SNPs on overall estimates.

Results Our findings provide evidence for a causal link between specific components of the gut microbiota and

preterm birth, with the identification of relevant metabolites.

Conclusion This study highlights the causal role of gut microbiota imbalances in preterm birth, offering novel insights into the development of preterm birth and potential targets for prevention strategies.

Key Words Mendelian randomization, Gut microbiota, Preterm birth, Causality, Metabolites

中国某西南地区医院产NDM酶成都肠杆菌分子特征研究

付宏煜¹、杜鸿²

1. 苏州大学附属儿童医院; 2. 苏州大学附属第二医院

目的：肠杆菌属是人类肠杆菌科细菌中第三大致病物种，仅次于埃希菌属和克雷伯菌属，可引发各种临床感染。在肠杆菌属中，成都肠杆菌于2019年被定义为肠杆菌属中的新种，然而，关于耐碳青霉烯类抗生素成都肠杆菌的报道几乎没有。本研究描述了从中国西南地区一家三甲医院采集的四株耐碳青霉烯类抗生素成都肠杆菌菌株的分子特征。

方法：从中国西南地区的一家三级医院共收集了4株耐碳青霉烯类抗生素成都肠杆菌菌株，并通过标准化规范从病历中获得的患者的临床数据。使用全基因组测序（whole genome sequencing, WGS）通过NovaSeq 6000测序仪平台确定4株耐碳青霉烯类抗生素成都肠杆菌菌株的基因组序列。然后使用SPAdes v3.11软件进行组装。其他组装包括将contig映射到参考质粒序列、检查重叠配对末端并通过基于PCR的缺口闭合方法确认组装。通过平均核苷酸同一性（average nucleotide identity, ANI）和计算机模拟DNA-DNA杂交（in silico DNA - DNA hybridization, isDDH）鉴定菌株的精确种类，并根据在线多位点序列分型（multilocus sequence typing, MLST）方案鉴定肠杆菌菌株的序列类型（<https://pubmlst.org/>）。通过系统发育分析和核心单核苷酸多态性（core single nucleotide polymorphism, SNP）比较，对4株成都肠杆菌及来自NCBI数据库的另外15株成都肠杆菌进行克隆相关性分析。通过详细注释和比较基因组学分析，结合接合转移实验和生长曲线分析，确定了耐碳青霉烯类抗生素成都肠杆菌携带的碳青霉烯酶编码质粒的分子特征。

结果：结果显示，中国出现了携带blaNDM-1的成都肠杆菌菌株。这四株菌株（HD5030、HD7411、HD7423和HD7427）是从中国西南地区一家三级医院的急诊重症监护室或胃肠病科收集的。所有菌株均对头孢菌素（头孢他啶、头孢吡肟、头孢噻吩、头孢唑林、头孢曲松等）、碳青霉烯（美罗培南、亚胺培南、厄他培南）、哌拉西林/他唑巴坦和氟喹诺酮类（环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星）表现出耐药性，但对阿米卡星、磺胺甲恶唑敏感。通过ResFinder进行的抗生素耐药基因筛查显示，所有四株成都肠杆菌菌株均携带blaNDM-1基因。MLST分析表明19株成都肠杆菌（包括NCBI的15株和本研究报道的4株）均属于同一ST414序列类型。系统发育分析表明19株菌株分为3个进化枝（进化枝I-III）。4株携带blaNDM-1的菌株均属于进化枝III。进一步的核心SNP分析和临床数据提示ST414成都肠杆菌可能存在院内克隆传播。4株菌株的blaNDM-1基因均由IncC质粒携带。进一步注释显示这4个blaNDM-1基因均位于截断的转座子Tn125上。这些截断的转座子Tn125进一步截断的整合子In7作为可变区捕获，并被整合到单元转座子Tn6358中。接合转移实验及生长曲线分析结果表明，IncC型质粒具有自我转移能力，且对大肠杆菌J53菌株在LB中的生长影响较小。

讨论：本研究首次报道了携带blaNDM-1的成都肠杆菌的出现和潜在的克隆传播。应进一步监测中国耐碳青霉烯类抗生素成都肠杆菌和携带blaNDM-1的IncC型质粒的传播。

关键字 成都肠杆菌, 碳青霉烯, blaNDM-1, ST414, IncC质粒

补体 C3-C3aR 通路介导脑脓肿后的突触丢失和认知障碍

金启渊、杜鸿、张海方

苏州大学附属第二医院

目的：颅内感染是脑损伤的常见临床症状，也是神经外科手术后的常见并发症。颅内感染包括脑脓肿等局灶性或多灶性感染，以及化脓性脑膜炎等全身性或弥漫性感染。最近的一项荟萃分析显示，18%培养阳性的脑脓肿可归因于葡萄球菌感染。金黄色葡萄球菌（*S. aureus*, SA）是一种常见的革兰氏阳性病原体，可导致脑脓肿、肺炎、关节炎、心内膜炎等侵袭性感染。金黄色葡萄球菌可损害神经元并导致神经功能缺损，这对成年人和发育中的大脑都构成了潜在风险。尽管金黄色葡萄球菌可对神经系统造成重大损害，但人们对中枢神经系统受感染的情况及其对行为和神经系统表现的影响知之甚少。

方法：我们通过纹状体注射金葡菌构建脑脓肿模型，通过磁珠纯化出小胶质细胞做RNA-seq来探究可能的通路，通过Western blot 和免疫荧光等手段揭示出补体通路的变化，通过IMARIS进行3D重建出小胶质细胞吞噬突触，最后通过构建补体敲除的基因鼠进一步探究补体通路在脑脓肿过程中的作用。

结果：①金葡菌感染后，小胶质细胞和星形胶质细胞均发生激活 ②金葡菌感染能够引起突触的丢失和认知障碍 ③金葡菌感染能够增加小胶质细胞对突触的吞噬 ④RNA-seq显示出补体通路在脑脓肿过程中发挥关键作用 ⑤在纹状体处观察到补体系统的激活 ⑥通过C3-/- C3AR-/- 和条件性C3敲除鼠观察到在抑制了补体通路后，突触丢失减少和认知障碍恢复。

结论：我们的实验结果表明，金黄色葡萄球菌感染可导致突触缺失和认知障碍，而这是由经典补体系统介导的。通过阻断补体通路能够改善认知障碍。这些发现扩展了我们对脑脓肿的认识，并可能为治疗后续脑脓肿提供靶点和潜在的治疗策略。

关键字 金葡菌；感染；脑脓肿；补体

KL-6联合CRP和血常规评估甲流患者早期肺损伤的意义

韩忠燕、李梦雪、唐瑶、王守星

南京医科大学附属逸夫医院

目的：探讨涎液化糖链抗原（KL-6）、CRP和血常规中部分指标联合检测在甲型流感病毒感染患者肺损伤中的诊断价值，以期提高临床医生对甲型流感患者肺损伤程度的综合评估。

方法：依据《成人流行性感冒诊疗规范急诊专家共识(2022版)》和《甲型H1N1流感重症肺炎影像诊断中国专家共识》诊断标准，选取92例我院2023年12月收治的甲型流感患者，根据X线检查是否出现肺内斑片状、磨玻璃影等明显纹理改变特征，将甲流患者分为肺损伤阳性组（T1组，30例）和肺损伤阴性组（T2组，62例），另选取53例同期健康体检中心性别、年龄匹配的健康体检者作为健康对照组。对照组与甲流患者组及T1与T2组之间性别、年龄比较差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ），具有可比性。分别采用流式细胞术、免疫比浊法和磁微粒化学发光法检测外周血细胞、CRP和KL-6指标。比较患者组和对照组KL-6及血常规以及T1组与T2组间并发症发生的概率、KL-6、CRP和血常规指标的水平，运用logistic

回归分析结合受试者工作特征（ROC）曲线下面积分析单独指标与联合检测的诊断效能。

结果：与健康对照组相比，患者组白细胞计数、中性粒细胞百分比、单核细胞百分比、中性/淋巴比值（NLR）、单核/淋巴比值（MLR）、血小板/淋巴比值（PLR）及KL-6升高，淋巴细胞百分比、血小板计数降低（ $P < 0.05$ ）。与肺损伤阴性组相比，肺损伤阳性组KL-6升高，贫血的发生率升高（ $P < 0.05$ ）。回归法分析结果显示，KL-6和CRP被保留，KL-6、CRP、血常规、KL-6联合CRP及KL-6联合CRP和血常规的AUC分别为0.679、0.641、0.604、0.727和0.781。其中KL-6和CRP的灵敏度和特异度分别为40%、92.7%和56.7%、70.9%，单指标的诊断效能略差。KL-6联合CRP及KL-6联合CRP和血常规的灵敏度和特异度分别为46.7%、96.4%和56.7%、78.2%；KL-6联合CRP的灵敏度较差，KL-6、CRP和血常规联合检测诊断效能最大。

结论：KL-6联合CRP和血常规检测对甲流患者肺损伤的评估具有较高的临床实用价值和经济价值。

关键字 甲型流感病毒；肺损伤；KL-6；血常规；CRP

耐碳青霉烯粘质沙雷菌对头孢他啶敏感性差异的机制研究

张燕

南京大学医学院附属鼓楼医院

目的：分析耐碳青霉烯粘质沙雷菌（carbapenem resistant *Serratia marcescens*, CRSM）对头孢他啶敏感性差异的机制。

方法：收集南京大学医学院附属鼓楼医院2018年6月至2019年9月临床分离的CRSM菌株53株，采用Vitek 2.0 Compact 配套GN13药敏板卡和纸片扩散法对头孢他啶进行药物敏感性试验；提取53株CRSM菌株RNA，逆转录后进行荧光定量PCR检测blaKPC-2基因表达量；提取53株CRSM的基因组DNA进行细菌基因组重复序列PCR（Repetitive extragenic palindromic elements-PCR, REP-PCR），依据REP-PCR的分型结果，挑取6株（其中3株遗传背景完全相同，3株遗传背景完全不同）细菌提取基因组DNA进行全基因组测序，分析blaKPC-2基因的侧翼序列。

结果：53株CRSM菌株中有24株对头孢他啶敏感，21株中介，8株耐药；53株CRSM中blaKPC-2基因表达量分析显示，头孢他啶敏感组与耐药组的Ct值、中介组与耐药组的Ct值具有统计学差异（ $P < 0.0001$ ），而敏感组与中介组的Ct值不具有统计学差异（ $P = 0.4116$ ）；REP-PCR分型结果显示遗传多样性，以Ⅰ型（27株）和Ⅱ型（11株）最为常见；6株CRSM的全基因组测序结果显示，这些菌株均携带5种相同耐药基因，分别是aac(6')-Ic、blaSRT-1、blaKPC-2、blaCTX-M-14和qnrS1；侧翼序列分析显示，这6株细菌blaKPC-2的侧翼序列是相同的。

结论：本院CRSM菌对CAZ的敏感性差异可能由blaKPC-2的表达差异引起；虽然6株分析细菌中blaKPC-2的侧翼序列结构基本相同，但blaCTX-M的存在及AmpC酶的表达等也可能是CRSM对头孢他啶敏感性差异的原因，应进一步分析。

关键字 【关键词】粘质沙雷菌；碳青霉烯耐药；REP-PCR；荧光定量PCR；blaKPC-2

鲍曼不动杆菌碳青霉烯类抗菌药物耐药性表型与基因型关联研究

金心怡、黄维晨、黄晶晶、唐朝贵

淮安市第一人民医院（南京医科大学附属淮安第一医院）

鲍曼不动杆菌（*Acinetobacter baumannii*）是一种广泛存在于医院环境中的革兰阴性杆菌，以其对多种抗菌药物的耐药性而闻名。近年来，鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药性日益增加，严重威胁公共卫生安全。研究目的：确定鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物的耐药表型，并鉴定与之相关的主要耐药基因，同时分析这些耐药基因的遗传背景及其变异情况。材料与方法：1、菌株来源本研究共收集了2023年4月至2023年12月期间，本院临床送检的肺泡灌洗液、血液、脑脊液和引流液标本中的多重耐药鲍曼不动杆菌临床分离株51株。所有菌株均通过生化反应确认为鲍曼不动杆菌。2、药敏试验应用纸片扩散法（Kirby-Bauer, K-B）和MH肉汤微量稀释法评估了这些菌株对美罗培南（一种碳青霉烯类抗菌药物）的敏感性。3、通过全基因组分析技术，检测了与碳青霉烯耐药性相关的基因，包括blaOXA-23、blaKPC-2和blaKPC-3等，并进行了全基因组测序以分析耐药基因的遗传背景，提供细菌全面的耐药基因谱，并预测其耐药表型，揭示了相关耐药机制。此外，全基因组测序技术还可以发现新的潜在耐药基因，对确定耐药基因型和预测耐药表型至关重要。结果：研究结果显示，98.1%的菌株对至少一种碳青霉烯类抗生素表现出耐药性。基因组数据分析显示，blaOXA-23基因在耐药菌株中最为常见，占比94.1%（48/51），blaKPC-3基因占比3.9%（2/51）。全基因组测序结果揭示了这些耐药基因的多种遗传背景，包括基因的插入、缺失和突变。此外，我们还发现了一些新的耐药基因变异，这些变异可能与鲍曼不动杆菌的耐药性发展相关。讨论：本研究结果表明，blaOXA-23是鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类抗菌药物耐药性的主要决定因素，强调了对鲍曼不动杆菌碳青霉烯类抗菌药物耐药性进行持续监测的重要性。全基因组测序的分析结果进一步揭示了耐药基因的遗传多样性，这对于理解耐药性的分子机制和制定有效的治疗策略具有重要意义。然而，本研究也存在一定的局限性，例如样本量相对较小，且主要来自医院环境，这可能限制了研究结果的普遍适用性。未来的研究应扩大样本量，并考虑不同环境来源的鲍曼不动杆菌，以获得更全面的数据。

关键字 鲍曼不动杆菌；碳青霉烯类抗生素；耐药性；基因型；全基因组测序

全球屎肠球菌中利奈唑胺耐药基因的分布和流行特征分析

严茹钰、季俊、沈瀚、曹小利

检验科，南京鼓楼医院，南京中医药大学鼓楼临床医学院

目的：分析利奈唑胺耐药基因在全球屎肠球菌中的分布及流行特点。

方法：从NCBI网站下载了3,256个屎肠球菌基因组序列，通过Perl程序提取核苷酸序列并使用Prodigal软件进行注释。使用CheckM v1.1.3和Quest 5.0.2软件进行基因组质量检测，获得了2,235个高质量基因组。构建耐药基因数据库，并利用blastn比对2,235个基因组和耐药基因数据库中的耐药基因核苷

酸序列, 以获取详细的耐药基因分布情况。从pubMLST网站获取了屎肠球菌7个管家基因的序列文件和序列谱文件, 通过blastn比对携带利奈唑胺耐药基因菌株和7个管家基因的序列文件, 最终得到序列分型(sequence type, ST)结果。通过Perl程序从携带利奈唑胺耐药基因屎肠球菌基因组的GenBank文件中提取菌株相关信息, 包括分离时间、分离国家、宿主及样本来源。

结果: 2,235个屎肠球菌基因组中, 发现有244 (10.92%) 株细菌携带利奈唑胺耐药基因, 主要包括optrA (182株, 8.14%)、poxtA (155株, 6.94%) 和cfr (50株, 2.24%)。244株携带利奈唑胺基因的菌株鉴定出了90种ST, 主要的ST型包括ST22 (12株, 0.54%)、ST324 (8株, 0.36%) 和ST104 (7株, 0.31%)。流行特点分析发现, 这244株菌主要分布在中国 (74株, 3.31%)、比利时 (43株, 1.92%) 和巴基斯坦 (41株, 1.83%) 等地区; 来源以人类 (52株, 2.33%)、猪 (38株, 1.70%) 以及牛 (16株, 0.72%) 为主。在人类中, 主要的样本来源是粪便/直肠拭子 (27株, 1.21%)、尿液 (6株, 0.27%) 和血液 (5株, 0.22%) 等。

结论: 利奈唑胺耐药基因optrA、poxtA和cfr在全球屎肠球菌多个克隆株中存在, 可能以水平基因转移为主, 主要在中国流行, 主要流行于人类。因此, 加强手部卫生, 并严格执行院内感染控制措施, 防止该类基因的水平转移播散, 对于延缓屎肠球菌对利奈唑胺耐药的发展具有重要的作用。

关键字 关键词: 屎肠球菌; cfr; optrA; poxtA; 序列分型、流行热点;

全球屎肠球菌耐药基因分布、序列分型及流行特点分析

严茹钰、沈瀚、曹小利

检验科, 南京鼓楼医院, 南京中医药大学鼓楼临床医学院

目的: 本研究旨在分析全球屎肠球菌耐药基因分布、序列分型及流行特点, 以期抗菌药物的合理使用和院内感染防控提供理论依据。

方法: 本研究从NCBI网站下载了3,256个屎肠球菌基因组序列, 并通过 Perl 程序从 GenBank 文件中提取核酸序列, 使用 Prodigal 软件进行注释。利用 CheckM v1.1.3 和Quest 5.0.2 软件对基因组进行质量过滤, 筛选出 2,235 个高质量基因组。随后构建了一个结构化的耐药基因数据库, 并使用 blastn 软件比对基因组中的基因, 详细分析其耐药基因分布。同时, 从 pubMLST 网站获取了7个屎肠球菌看家基因序列文件及其Profile文件, 通过 blastn比对得到序列分型 (sequence type, ST)。通过 Perl 程序从基因组的 GenBank 文件中提取关键菌株信息, 包括分离时间、国家、宿主及样本来源, 并进行深入分析。

结果: 多位点序列分型结果显示, ST17 (104, 6.9%) 是全球屎肠球菌中的主要序列类型。耐药基因检测显示, 99.7%的菌株检测出氨基糖苷类耐药基因, 而 94.1%的菌株携带大环内酯类/链阳菌素耐药基因。

结论: 全球屎肠球菌的MLST分型以ST17型为主, 中国的屎肠球菌分型以ST78为主。全球和中国最常见的耐药基因是抗氨基糖苷类的 aac(6)-I 基因。为规范抗菌药物使用, 并加强屎肠球菌的监测和院内感染的防控, 防止其大规模流行, 迫切需要加强对耐药基因携带情况的监测和研究。【关键词】屎肠球菌; 耐药基因; 流行分布

关键字 屎肠球菌; 耐药基因; 流行分布

Comparative Genomic Analysis of the Core Virulence Factor in *Klebsiella pneumoniae* ST11, Based on a Global Genomic Database

Ruyu Yan, Han Shen, Kai Zhou, Wei Chen, Chang Liu, Zhi-Feng Zhang,

Wanqing Zhou, Junhao Chen, Xiaoli Cao

Department of Laboratory Medicine, Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu, China

Background: The global spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) ST11 poses a significant public health challenge. However, detailed insights into the core virulence factors (VFs) of the CRKP-ST11 clone are still limited.

Objective: To characterize the virulence profiles of global *K. pneumoniae* ST11 strains and explore the associations between major VFs, serotypes and carbapenemase encoding genes.

Materials and methods: In this study, 62 *K. pneumoniae* strains were collected from 15 hospitals in Jiangsu and subjected to whole genome sequencing (WGS). Additional genome sequences of *K. pneumoniae* were obtained from Genbank for further analysis. Multi-locus sequence typing (MLST) was used to determine the sequence types (STs) of the strains. Comparative analysis of genomes between ST11 and non-ST11 strains were conducted to identify key VFs prevalent among ST11 strains. Phylogenetic trees were constructed to elucidate the relationships between the 62 strains and global ST11 strains. The distribution of serotypes and carbapenemase encoding genes within the ST11 group were investigated. Additionally, comparisons of the distribution of VFs between strains with predominant serotypes and carbapenemase-encoding genes were also performed.

Results: Analysis of 62 *K. pneumoniae* strains collected for this study revealed 11 distinct STs, with ST11 being the most prevalent, accounting for 46 of the isolates. A broader review of 11429 genomically confirmed strains highlighted ST11 (n=1571), ST258 (n=1240), ST15 (n=545), ST512 (n=451), ST147 (n=425), ST307 (n=358), ST101 (n=336), ST16 (n=303), ST23 (n=244) and ST14 (n=230) as the major STs. A focused analysis on VFs showed that yersiniabactin gene cluster—including ybtT, ybtX, fyuA/psn, ybtP, ybtU, ybtS, ybtA, ybtQ, ybtE, irp1 and irp2—was predominantly enriched in the ST11 group. The phylogenetic tree indicated a diverse genetic relationship among global ST11 strains, with evidence of regional epidemic trends. Examination of carbapenemase encoding genes revealed that blaKPC-2 (n=484, 30.8%), blaNDM-1 (n=84, 5.3%), and blaOXA-48 (n=45, 2.9%) were the most prevalent. The most predominant serotypes identified were K64 (n=597, 38.0%), K47 (n=306, 19.5%) and K24 (n=171, 1.8%). The Ybt cluster and receptor fyuA were predominantly found in ST11-K64 and K47 strains.

Conclusion: This study underscores the significant prevalence and a complex genetic landscape with regional epidemic trends of *K. pneumoniae* ST11, suggesting adaptive evolution in response to geographical and environmental pressures. Particularly noteworthy is the enrichment of the yersiniabactin gene cluster in ST11 strains, highlighting a potential virulence mechanism that may explain the widespread success and adaptability of this clone. These findings advocate for enhanced global surveillance and targeted interventions to manage the spread of this pathogen.

Key Words *Klebsiella pneumoniae*; ST11; virulence genes; phylogenetic tree; comparative genomics; serotypes.

Global Distribution and Epidemiology of Vancomycin Resistance Genes in *Enterococcus faecium*

Ruyu Yan, Jun Ji, Han Shen, Xiao li Cao

Department of Laboratory Medicine, Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu, China

Objective: This study analyzes the global prevalence and distribution of vancomycin resistance genes (*van*) in *Enterococcus faecium* and examines the genetic relationship and epidemiological characteristics of strains carrying these genes.

Method: A total of 3256 *E. faecium* genome sequences were downloaded, and 2235 high-quality genomes were retained after quality filtering. The *blastn* tool was used to screen these genomes for *van* genes, and sequence types (STs) were determined using *pubMLST* profiles.

Result: Among the 2235 genomes, 1071 (47.9%) harbored *van* genes, with eight genotypes identified, including *vanA*, *vanB*, *vanD*, and *vanM*, accounting for 47.6%. There were 83 distinct STs among the *van*-positive strains, with ST17 being the most prevalent. Most *van*-positive strains were isolated from humans, primarily in the United States, and commonly from rectal swabs. In 2015, *vanA* was the most prevalent *van* gene, particularly in ST17 strains.

Conclusion: This study highlights the widespread distribution of *van* genes and their significant presence in human populations and clinical settings, emphasizing the importance of monitoring and intervening in the spread of ST17 strains.

Key Words *E. faecium*; *van*; sequence types; phylogenetic tree; prevalence characteristics.

Identification and Antifungal Susceptibility Analysis of *Cystobasidium slooffiae* Isolated for the First Time from Human Wounds

Lijing Guo

The Affiliated Huai'an No. 1 People's Hospital of Nanjing Medical University

Objective: This study explores the first isolation of *Cystobasidium slooffiae*, from the secretion samples of skin wounds of two patients.

Methods: Two clinical strains of the *Cystobasidium* genus (Z30790 and Z30215), isolated from the wound secretion specimens of two patients, were cultivated. Then, genomic component analysis and gene function analysis of the strains were conducted. The sequences of the 18S rDNA, D1/D2 region, and ITS region of the strains were

amplified using PCR technology for species identification, and the in vitro susceptibility of the strains to nine antifungal drugs was determined.

Result: Two patients with compromised immune systems, one with a post-operative wound infection caused by a car accident and the other with occlusive vasculitis. Two clinical strains, Z30215 and Z30790, were identified as *Cystobasidium slooffiae*. The total genome length of Z30215 is 21,737,351 bp, and the number of annotated coding genes is 3,851; the total genome length of Z30790 is 21,680,366 bp, and the number of annotated coding genes is 3,881. After 48 hours of cultivation, the minimum inhibitory concentrations of the Z30215 and Z30790 strains to voriconazole, posaconazole, micafungin and caspofungin were relatively low, all being $< 0.008 \mu\text{g/mL}$.

Conclusion: This is the first report on the isolation of *C. slooffiae* from human wound secretion samples. The prevalence of *Cystobasidium* is believed to increase the likelihood of opportunistic infections in immunocompromised individuals. Since *Cystobasidium* is phenotypically indistinguishable from *Rhodotorula*, the use of molecular identification for monitoring in the clinical setting is crucial for accurate diagnosis and treatment of uncommon yeast infections.

Discussion: In this study, in Case One (Z30215), the patient was infected with *Cystobasidium slooffiae* due to surgical procedures, mucosal and skin damage. The symptoms of fungal infection in the patient were not obvious, and the clinical manifestations were similar to those of bacterial infections, such as sinus tract formation and bleeding. However, *Staphylococcus haemolyticus* detected in the drainage fluid was considered a local colonizing bacterium rather than the main pathogen. Despite the patient undergoing multiple debridements and negative pressure aspiration surgeries, the wound infection persisted, which might indicate the presence of an infection source that was difficult to control, including fungi. Bacterial culture of the sinus tract secretion detected *Rhodotorula*, indicating fungal infection. In Case Two (Z30790), the patient used a large amount of glucocorticoids and had diabetic foot, resulting in infection with *Cystobasidium slooffiae*. The patient had multiple ulcers and infections in both lower extremities. Combined with the patient's history of connective tissue diseases and occlusive vasculitis, the rash was accompanied by pain, then ulcerated and scabbed, which are also common skin symptoms of fungal infections. The patient's blood culture was negative, the bacterial culture was negative, and the 1-3- β -D glucan concentration was 0.12S/CO, which was negative. However, the fungal culture was *Rhodotorula*, which is the direct evidence for the diagnosis of fungal infections.

In the natural world, *Cystobasidium slooffiae* is prevalent and can also be discovered in washing machines. It is known that individuals with oily skin tend to be infected with *Cystobasidium slooffiae*. Once the body gets in touch with the source of infection due to skin trauma, elderly people with underlying conditions and patients with low immunity are susceptible to infection. Compared with other species, the genus *Cystobasidium* has been rarely reported. In 2020, the first case of fungemia caused by *Cystobasidium minutum* was reported in Brazil. In 2022, researchers reported for the first time that an atypical yeast, *Cystobasidium calyptogenae*, was isolated from the oral samples of patient with angular cheilitis.

Cystobasidium slooffiae, a well-known producer of carotenoids and known as "red yeast", has recently been extensively studied for its synthesis of carotenoid mixtures from low-cost carbon sources. It has been reported that *Cystobasidium slooffiae* isolates can promote plant growth and seed germination.

In this study, the *Cystobasidium slooffiae* strain was more sensitive to 5-FC at both 48h and 72h of incubation. Amphotericin B was resistant to it after 48h of incubation, and its MIC was $1 \mu\text{g/mL}$ after 72h. The changes in sensitivity of the same drug at 48 hours and 72 hours indicate that some antifungal drugs may reduce their inhibitory effect on fungi after long-term exposure. By using a combination of multiple antifungal drugs, the therapeutic effect

can be improved and the occurrence of drug resistance can be reduced.

In recent years, it has been reported that several clinically relevant red-pigmented *Rhodotorula* species can cause opportunistic infections, such as meningitis, endocarditis, fungemia, central venous catheter infections, keratitis, and non-healing oral ulcers. Since *Rhodospiridium* and *Rhodotorula* are difficult to distinguish phenotypically, molecular screening is necessary to provide accurate identification for these opportunistic fungi.

Key Words Keywords: *Cystobasidium sloffiae*, kin wounds, Superficial fungal infections

PCT、CRP与IL-6联合检测在细菌感染诊断中的应用

袁忠林、郑俊楠

淮安市中医院

目的：了解临床常用的感染性疾病标志物包括降钙素原（PCT）、C反应蛋白（CRP）与白介素6（IL-6）检测联合细菌培养结果在感染性疾病诊治中的临床意义。

方法：选取本院肺病科/RICU、重症监护中心（ICU）、脑外科等重点科室2024年1月至3月收治的患者共148例为研究组，根据患者细菌培养的结果分为感染组（n=77）与未感染组（n=71）。比较两组患者在同一时期内血清中降钙素原（PCT）、C反应蛋白（CRP）与白介素6（IL-6）的水平，探讨和分析临床患者各种感染性疾病对上述炎症指标的变化情况，及时指导临床诊治。

结果：与未感染组相比，感染组血清中的PCT、CRP、IL-6水平均升高（ $p<0.05$ ）。三种常用的炎症指标在一定程度上均可反映患者细菌感染的情况。

讨论：感染性疾病是临床中常见的疾病，多分为细菌感染与病毒感染。其病原体种类繁多、感染途径多样、病程变化态势较为迅速。因此，如何对感染性疾病进行早期诊断是临床急需解决的问题。目前，细菌感染常常采用细菌培养的方法进行诊断。但由于细菌培养通常需要两到三天的时间，以及临床标本由于采集不规范、标本保存不当等因素导致假阴性，细菌培养结果往往不能为临床提供即时指导。因此，当患者出现感染的症状时，临床医生需要参考PCT、CRP、IL-6等检测结果。必要时联合细菌培养、药物敏感试验结果进行综合分析和治疗，鉴于临床错综复杂炎症感染项目、指标较多，为了更好地为临床及患者提供高质量的诊疗服务，本文对医院常用的数项炎症指标进行统计并分析其在临床感染性疾病的相关性及其诊断价值。结果显示，当患者细菌培养为阳性时，血清中PCT、CRP与IL-6的水平较高。说明这三种炎症指标在一定程度上可以反应患者细菌感染的情况。当临床上由于细菌培养过程较慢或者各种原因引起的假阴性而导致难以判断患者是否发生细菌感染时，可结合血清中PCT、CRP以及IL-6的水平进行经验性用药。随着医学研究的不断深入，PCT、CRP以及IL-6联合检测在临床工作中势必会发挥越来越重要的作用，成为临床诊疗中不可或缺的重要手段之一。

关键字 降钙素原 C-反应蛋白 白介素-6 细菌培养

STAT1的缺失促进IFN- γ 产生并抑制红细胞生成而提高宿主疟疾红内期生存率的研究

孙毅凡^{1,2}、杜陈艳²、徐琴雯²、黄璇¹、程洋²

1. 江南大学附属医院; 2. 江南大学无锡医学院

目的：疟疾是由疟原虫感染引起的传染性疾病，严重危害人类健康，我国面临输入性疟疾的巨大挑战。脾脏在疟疾感染的免疫反应中起核心作用，然而，调控疟疾宿主脾脏复杂免疫反应的关键分子机制仍有待进一步研究。

方法：本研究首先建立约氏疟原虫致死型虫株Py17XL的小鼠感染体内模型，利用蛋白质组学联合生物信息学分析，筛选脾脏中差异表达蛋白并通过Western Blot验证。利用STAT1敲除小鼠建立鼠疟模型，观察小鼠生存率、监测寄生虫血症，利用RT-qPCR检测脾脏中寄生虫负荷。利用RT-qPCR、ELISA检测小鼠脾脏和血清中IFN- γ 水平，流式细胞术检测脾脏中产生IFN- γ 的细胞类型、外周血和骨髓中网织红细胞及脾脏中M ϕ 、DC、NK细胞。同时，利用血细胞分析仪检测小鼠外周血血红蛋白水平、红细胞计数等，ELISA检测血清中EPO水平。

结果：本研究筛选出STAT1是疟原虫感染小鼠脾脏中的关键显著上调分子，并是上调蛋白相互作用网络的核心分子，并验证STAT1高表达。鼠疟模型提示，STAT1的缺失可提高宿主存活率，显著抑制寄生虫血症，减轻脾脏寄生虫负荷。STAT1缺失可显著增加CD8⁺ T细胞和NK细胞产生的保护性细胞因子IFN- γ 。进一步发现，STAT1 KO小鼠显著增加外周血血红蛋白浓度和红细胞计数，并上调骨髓和外周血中的网织红细胞，且寄生虫血症与网织红细胞的比值呈正相关。同时，STAT1缺失可显著抑制脾脏中M1型M ϕ 、DC、NK细胞。综上所述，STAT1在疟原虫感染宿主脾脏中的关键致病作用，进一步揭示了STAT1抑制保护性IFN- γ 的产生并加重疟疾贫血。

讨论：脾脏作为疟原虫感染的关键免疫器官，在宿主-疟原虫相互作用中起重要作用。深入全面了解疟疾发病过程中脾脏蛋白表达的变化，对进一步理解疟疾发病机制和制定干预策略具有重要意义。本研究中，我们发现STAT1是宿主脾脏显著上调表达的关键蛋白。多个研究也通过系统筛选脾脏和肝脏中STAT1的转录水平显著升高，这与本研究结果一致。临床数据显示在传播季节之前，与受保护儿童相比，临床疟疾儿童的外周血单核细胞中STAT1基因表达上调，表明基因表达差异可能影响临床疟疾易感性。进一步证实本研究结果，STAT1在疟原虫感染中起致病作用。严重疟疾性贫血是严重疟疾的重要临床表现，是危及生命的疟疾并发症。以往研究发现STAT6在疟疾贫血实验模型中抑制红细胞生成，本研究亦显示STAT1可加重疟疾性贫血。综上所述，本研究筛选确定STAT1是疟疾宿主脾脏中关键上调蛋白，并进一步揭示经典信号分子STAT1在疟疾寄生虫中的致病作用，这加深了人们对疟疾宿主脾脏蛋白动态变化的认识，为制定新的疟疾贫血治疗策略提供了重要理论依据。

关键字 STAT1, 疟原虫, 脾脏, IFN- γ , 贫血

CRKP对头孢他啶/阿维巴坦耐药机制研究

叶琳²、陈熙元¹、王紫玲¹、宋爽¹、孙静芳¹、赵树龙¹、康海全¹

1. 徐州医科大学附属医院；2. 徐州医科大学

目的：研究碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌（carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP）的分子流行病学特点，揭示其对头孢他啶/阿维巴坦（ceftazidime-avibactam, CZA）耐药的机制。

方法：回顾性分析徐州医科大学附属医院2021年1月至2023年9月从临床首次分离的CZA耐药CRKP，同时使用基因扩增法和胶体金法检测五种碳青霉烯酶基因，分别为blaKPC、blaNDM、blaOXA、blaVIM和blaIMP。产肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶肺炎克雷伯菌（KPC-producing *K. pneumoniae*, KPC-Kp）采用RT-qPCR方法进行相对拷贝数以及表达量检测。KPC突变株采用全基因组测序方法分析突变位点。

结果：共分离出73株CZA耐药的CRKP，KPC-NDM联产菌株为37株（50.68%），单产NDM的菌株33株（45.21%），其中NDM-5 23株、NDM-1 10株，单产KPC的菌株3株；发现菌株Kp-2842为ST11型KPC-33突变株，菌株Kp-2127和Kp-2189为产KPC-2菌株，与肺炎克雷伯菌ATCC BAA-1705相比其blaKPC拷贝量分别上调2.04~4.86倍，而表达量分别增加了7.66~13.93倍；胶体金法与PCR结合双向测序方法两者结果具有良好一致性，同时可以覆盖KPC-33突变体的检测。

结论：本地区CRKP对CZA耐药机制主要由金属酶NDM介导，其中NDM、KPC联产是本地区的主要特点，部分菌株对头孢他啶/阿维巴坦耐药可能由blaKPC-2高拷贝和高表达导致，同时本研究在江苏地区的ST11型CRKP中首次发现了KPC-33突变体，这些特点应该引起临床的高度重视，加强碳青霉烯酶的实验室检测，实现此类耐药的精准防治。

关键字 肺炎克雷伯菌；碳青霉烯酶；突变；头孢他啶/阿维巴坦

某教学医院碳青霉烯耐药阴沟肠杆菌流行病学分析

陈建军¹、宋爽²、孙静芳²、赵树龙²、康海全²

1. 徐州医科大学；2. 徐州医科大学附属医院

目的：了解碳青霉烯耐药阴沟肠杆菌的耐药性及分子流行病学特性，为此类耐药的防控提供实验室依据。

方法：收集2021-2023年间徐州医科大学附属医院碳青霉烯耐药阴沟肠杆菌的药敏实验结果，采用MLST（多位点序列分型）分析及检测碳青霉烯类耐药基因型，通过Hsp60基因检测分析阴沟肠杆菌亚种分析流行菌株的分子特征。

结果：2021-2023年间共分离出非重复碳青霉烯耐药阴沟肠杆菌50株，综合ICU分离率最高（28/50，56%），标本来源以痰液占比最高（30/50，60%），对临床常用β-内酰胺类以及喹诺酮类抗菌药物呈高度耐药；对氨基糖苷类药物阿米卡星、替加环素、多粘菌素敏感率较高；碳青霉烯基因检测结果显示所有菌株均携带NDM基因，其中NDM-1占90%，NDM-5占10%，其他β内酰胺酶基因主要为blaSHV-12（20/50）、blaCTX-M-1型（9/50）、blaSHV-1（1/50）；MLST分型共获得14种，以ST171

(18/50, 36%) 和ST418 (17/50, 34%) 为主要流行株, 在本地区流行传播中具有密切亲缘关系; hsp60 基因分型结果以第Ⅵ簇为主 (37/50, 74%)。

结论: 我院耐碳青霉烯类阴沟肠杆菌携带的耐药基因型以blaNDM-1型为主, MLST分子分型呈动态多样性, 优势克隆为ST171型和ST418型, Hsp60基因分型菌株亚种间存在耐药率差异, 医疗机构需加强此类耐药的监测, 预防在医疗机构内的传播流行。

关键字 耐碳青霉烯酶; 阴沟肠杆菌; 多位点分子分型; 耐药基因; 分子流行病学

MALDI-TOF MS负离子模式下 快速鉴别肠杆菌目细菌多粘菌素耐药机制的研究

主淑¹、孙静芳²、宋爽²、康海全²

1. 徐州医科大学; 2. 徐州医科大学附属医院

目的: 探究徐州地区多粘菌素耐药的肠杆菌目细菌主要耐药机制及其快速检测技术, 为临床合理规范使用多粘菌素提供全面的实验室依据。

方法: 收集徐州医科大学附属医院2023年1月至11月分离的多粘菌素耐药肠杆菌目菌株, 采用PCR扩增法检测双组分系统调控基因pmrA、pmrB、phoP、phoQ、mgrB和mcr-1, 采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱仪 (MALDI-TOF MS) 在负离子模式下检测脂质A基础峰发生的位移变化。

结果: 共收集24株非重复多粘菌素耐药的肠杆菌目细菌, 其中肺炎克雷伯菌19株, 大肠埃希菌5株。基因检测显示大肠埃希菌均为mcr-1基因阳性菌株, 肺炎克雷伯菌中有4株携带mcr-1基因, 3株mgrB基因发生过早终止, 6株pmrB基因发生G256R突变, 另外2株pmrB基因同时发生G256R和A246T突变, 2株phoQ基因分别发生L26Q和A351D突变, 1株phoP基因发生D191G突变, 还有1株不仅携带mcr-1基因还发生了mgrB的碱基137C→G突变。负离子模式下的MALDI-TOF MS检测显示mcr-1阳性菌株在天然脂质A基础峰上发生+123m/z位移, 而染色体上基因突变菌株在天然脂质A基础峰上发生+131m/z位移。

结论: 徐州地区的肠杆菌目细菌对多粘菌素主要存在两种耐药机制, 即携带mcr-1基因和双组分系统调控基因的突变, 负离子模式下的MALDI-TOF MS可以实现主要肠杆菌目细菌因脂多糖修饰导致的多粘菌素耐药表型检测及耐药机制的鉴别。

关键字 MALDI-TOF MS; 肠杆菌目细菌; 多粘菌素; 耐药机制; 快速检测

铁摄取调节蛋白在高毒力肺炎克雷伯菌致病中的作用机制研究

宋爽

徐州医科大学附属医院

目的: 铁是细菌生存所必需的金属离子, 铁摄取调节蛋白 (Fur) 能够感受环境中铁离子浓度, 通过激活或抑制铁摄取基因转录水平使菌体内铁离子浓度维持在稳定水平, 还可通过调节毒力因子对宿主

产生致病性，但Fur在高毒力肺炎克雷伯菌(hvKP)致病中的作用机制还有待进一步探讨。本研究以Fur为切入点初步探索其在hvKP的致病机制，为临床精准防控治疗提供依据。

方法：利用同源重组技术构建高毒力肺炎克雷伯菌ATCC43816的fur基因敲除株和回补株，通过绘制生长曲线评估菌株生长速率变化，通过血清杀菌实验、大蜡螟实验、生物膜实验及黏度半定量实验等毒力实验分析fur基因对毒力的影响。

结果：本研究成功构建fur基因敲除株ATCC43816- Δfur 和回补株ATCC43816-C- Δfur 。ATCC43816、ATCC43816- Δfur 和ATCC43816-C- Δfur 在整体生长趋势上较为一致，对血清均有抗性，但ATCC43816- Δfur 的菌落计数略低于ATCC43816和ATCC43816-C- Δfur 。敲除fur基因后菌株的黏度增加，生物膜形成减少。大蜡螟实验结果显示，fur基因敲除株对大蜡螟的致死力减弱，回补fur基因后，大蜡螟死亡率增加。

结论：高毒力肺炎克雷伯菌fur基因缺陷会减弱细菌的致病力，fur基因可能在细菌致病力方面发挥重要作用。

关键字 高毒力肺炎克雷伯菌；致病；Fur

妊娠期肝内胆汁淤积症孕妇血清巨细胞病毒miRNA表达水平的临床应用价值研究

王榕、张婷
无锡市妇幼保健院

目的：检测妊娠期肝内胆汁淤积症(Intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)孕妇血清巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)微小核糖核酸(microRNA, miRNA)的表达水平变化，探究其临床应用价值。

方法：收集2022年4月~2023年10月于无锡市妇幼保健院就诊并确诊的125例ICP孕妇血清，同时收集年龄相匹配的健康孕妇血清122例，采用荧光定量逆转录PCR(qRT-PCR)在45例ICP孕妇和47例健康孕妇中初步检测24种HCMV miRNA的表达水平变化；进一步扩大样本量，在76例ICP及80例健康孕妇中检测筛选出来的4种差异HCMV miRNA(miR-UL22a-5p、miR-US4-3p、miR-US25-2-5p和miR-UL148d)表达水平。接着收集ICP和健康孕妇胎盘组织各20例，qRT-PCR验证4种差异HCMV miRNA表达水平。

结果：qRT-PCR血清24种HCMV miRNA筛选结果显示，与健康对照孕妇相比，ICP孕妇血清中4种HCMV miRNA表达显著上调，且具有显著统计学差异($P < 0.05$)；进一步扩大样本量qRT-PCR验证结果表明，ICP孕妇血清中4种HCMV miRNA表达水平较健康对照组亦显著升高，具有显著统计学差异($P < 0.05$)。同时，ICP孕妇胎盘组织中4种HCMV miRNA表达水平较正常孕妇胎盘组织显著升高，亦具有显著统计学差异($P < 0.05$)。受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC)分析结果显示，4种HCMV miRNA中，hcmv-miR-UL22a-5p具有最大ROC曲线下面积(AUC)为0.702(95%CI: 0.637~0.767)，4种HCMV miRNA联合检测用于区分ICP与对照组的AUC为0.732(95%CI: 0.669~0.795)。

讨论：ICP是一种常见于妊娠中晚期的肝脏相关性疾病，其病因往往被认为是复杂多变的，因此准确的诊断与及时的治疗仍然是临床亟待解决的问题。巨细胞病毒属于疱疹病毒 β 疱疹病毒亚家族成员，

在全球范围内，育龄妇女血清总阳性率高达80%以上。人HCMV初次感染后将伴随终生。目前已经鉴定出26个成熟的HCMV miRNA及其潜在靶点。这些 miRNA 可以与病毒蛋白合作，调节病毒和/或宿主基因的表达，在病毒的潜伏期和再激活中发挥至关重要的作用。同时，HCMV在潜伏感染期间也可以影响细胞和病毒miRNA的表达。本研究发现，与健康对照者相比，ICP孕妇母体4种血清HCMV miRNA表达水平显著升高，其中hcmv-miR-UL22a-5p具有最大的AUC，然而4种HCMV miRNA联合具有更大的AUC，较单个血清HCMV miRNA具有更高的区分价值。该研究为ICP分子层面的评估和临床诊治提供了新的思路 and 理论依据。

关键字 巨细胞病毒，妊娠期肝内胆汁淤积症，miRNA

沙门菌对黏菌素的耐药机制研究

梅彩月、邵鹏云、王振宇、焦新安、李求春、王晶

江苏省人兽共患病学重点实验室

江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心，扬州大学

背景与目的：黏菌素是治疗由多重耐药革兰阴性菌引起的严重感染的最后一道防线，黏菌素耐药机制主要包括染色体基因编码的PmrAB和PhoPQ双组分系统突变和质粒介导的可水平转移的黏菌素耐药基因mcr。沙门菌是一种重要的食源性病原菌，多重耐药沙门菌被美国疾病控制与预防中心认定为“严重威胁级病原体”。本研究旨在调查mcr基因在国内动物及动物性食品源沙门菌的流行分布及传播特征，并通过体外诱导探究沙门菌对黏菌素耐药演变及其机制。

材料方法：通过PCR和测序对445株动物和食品源沙门菌进行mcr的检测，采用琼脂稀释法或肉汤微量稀释法测定mcr阳性菌株对15种抗菌药物的最小抑菌浓度（minimum inhibitory concentration, MIC），并对mcr阳性沙门菌进行全基因组测序。选取鼠伤寒沙门菌SL1344作为模式菌株进行黏菌素体外诱导实验，并对获得的突变子进行黏菌素MIC和体外适应性测定，通过全基因组测序并结合基因敲除、定点突变、qRT-PCR、转录组测序等揭示其耐药演变的可能机制。

结果：445株沙门菌中仅9株（2.02%）携带mcr基因，包括mcr-1（n=8）和mcr-4.3（n=1）。9株mcr阳性沙门菌对黏菌素的MIC值为0.25~8 mg/L，并显示出对多种抗菌药物的耐药性。全基因组测序结果显示，印第安纳和鼠伤寒沙门菌中完整的mcr-1基因分别位于可接合转移的IncN1-IncHI2质粒和IncX4质粒上，与其他携带mcr-1的同一类型质粒具有高度相似性。不完整的mcr-1与13个耐药基因位于印第安纳沙门菌YZ20MCS6染色体上81,442 bp的多重耐药区中，6株印第安纳沙门菌中包含Δmcr-1-pap2和一组硝化物抗性决定簇（terYXWZABCDEF）的片段与其他携带mcr-1的IncHI2质粒骨架高度相似。伦敦沙门菌中mcr-4.3基因位于一个不可分型的质粒pYULZMPS10上。体外诱导实验显示，除第2天外，其余突变子的黏菌素MIC值升高了4-16倍；其中突变子SL-D14-P2的MIC最高（16 μg/mL），且在没有药物压力下其黏菌素耐药性可以稳定存在。此外，突变子获得耐药性的同时产生适应性代价，且MIC值越高，适应性代价越大。全基因组测序显示部分突变子在pmrB、SL1344_RS10710、SL1344_RS11365和aceE存在突变。敲除SL1344_RS10710、SL1344_RS11365和aceE后发现黏菌素MIC并未发生改变。本研究从30个突变子中共鉴定出5种不同pmrB突变（V161G、M186I、V199M、G206E、V161G/G206E）。进一步分析全球23,990株鼠伤寒沙门菌全基因组序列发现H152Y是最流行的pmrB突变。为验证不同pmrB突变对黏菌素耐药的作用，构建6种不同的pmrB突变，可导致黏菌素的MIC上升2-4倍，且部分突变导致pmrC、pmrH或pmrE表达水平显著上调，尤其是V161G/G206E和M186I这两种突变。转录组测序发现突变子SL-D14-P2

的pmrB上调最多,另外与LPS修饰、外膜相关、外排泵基因也显著上调。

结论:综上所述,mcr在动物及动物性食品源沙门菌中的检出率较低,鉴于其对黏菌素耐药性和公共卫生的影响,mcr的出现仍值得关注。质粒在mcr的传播中起着重要作用,mcr-1虽然不完整,但可以在移动元件的帮助下被染色体捕获。不同的pmrB突变是沙门菌SL1344在药物压力下产生黏菌素耐药性的主要原因。

关键字 黏菌素;沙门菌;耐药机制;耐药基因;mcr

传染病医院ST11型耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌的危险因素分析

杨慧

常州市第三人民医院

目的:分析本院临床耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌菌株ST11临床特点、耐药性、碳青霉烯酶基因型及危险因素。

方法:收集常州市第三人民医院住院患者临床标本分离的CRKP株,通过多位点序列分型分析菌株分型;采用全自动微生物鉴定和药敏仪检测CRKP的药敏结果,胶体金方法分析产碳青霉烯酶情况;多因素logistic回归分析CRKP感染的潜在危险因素。

结果:多位点序列分析肺炎克雷伯菌分型为ST11有83株。ST11-CRKP菌株在重症医学科检出率最高,为44株(53.01%),其次为感染科17株(20.48%)、泌尿外科8株(9.64%)、感染性肝病7株(8.43%);主要来源于痰液52株(62.65%),其次为尿15株(18.07%)、全血12株(14.46%)、体液11株/13.25%等。CRKP菌株对常见抗菌药物耐药率逐年上升。对头孢菌素、氨曲南、喹诺酮类和碳青霉烯类药物不敏感,耐药率高达95%。目前的抗菌药物监测提示对阿米卡星耐药率达68%,对替加环素和头孢他啶/阿维巴坦的耐药率低于5%。82株CRKP产KPC酶,1株CRKP产NDM酶。男性、≥70岁、放化疗、置管、乙型肝炎肝硬化失代偿期、激素和免疫抑制剂、机械通气、碳青霉烯类药物、他院转入、住院时间≥2周、抗菌药物时长≥2周和携带其他耐药菌与CRKP感染密切相关,差异有统计学意义($P<0.05$)。多因素回归分析结果显示机械通气和患者≥70岁是CRKP感染的独立危险因素。

结论:加强对重点科室和重点人群的病原菌药敏结果的监测和分析,减少导致感染CRKP的相关性操作。

关键字 药敏试验;病原菌;多位点序列分析;耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌;危险因素

2016–2023年某传染病医院ICU多重耐药菌分布特点和耐药性分析

杨慧

常州市第三人民医院

目的：回顾性分析本院ICU近8年临床多重耐药菌的检出率和耐药特征。

方法：回顾性分析2016年1月至2023年12月ICU住院患者临床标本分离的5种多重耐药菌的检出率，包括CR-AB、CR-PA、CRE、MRSA和VRE，并分析碳青霉烯类耐药革兰阴性杆菌的耐药率。

结果：收集常州市第三人民医院2016年1月—2023年12月ICU分离的临床菌株共1303株，检出多重耐药菌株共406株，检出率为31.15%。CR-AB检出数量最多，为195株，占48.02%，其次为CR-PA共95株（23.39%），CRE共67株（16.50%），MRSA共48株（11.82%），VRE共1株（0.24%）。收集临床非重复CR-AB菌株主要来源于痰液（85.12%），其次为中段尿（5.64%）、分泌物（3.59%）等。MRSA菌株主要来源于痰液（85.41%），其次为分泌物（6.25%）、全血（4.16%）等。CR-PA菌株主要来源于痰液（78.94%），其次为全血（9.47%）、中段尿（6.31%）等。CRE菌株主要来源于痰液（65.67%），其次为中段尿（17.91%）、全血（7.46%）等。本研究多重耐药菌检出率在2023年总体呈上升趋势。2021–2023年CR-AB、CR-PA、CRE和MRSA检出率分别波动在72.37~100.00%、52.54%~78.26%、27.15%~37.57%、50.00%~58.82%。近8年，CR-AB在ICU检出数量为195株。ICU的CR-AB检出率明显高于全院CRAB检出率，从2016年72.73%的检出率一直呈上升趋势，尤其是从2020年开始，检出率一直维持在90%以上，居高不下。CRPA整体在ICU检出率明显高于全院检出率。CRPA耐药检出率在ICU仍呈上升趋势，尤其是从2021年以来，CR-PA检出率升高至78.26%左右。近8年MRSA在ICU检出共48株。由于MRSA菌株样本量较少，耐药趋势波动比较大，MRSA在ICU整体检出率明显高于全院检出率。MRSA检出率从2021年呈下降趋势，但耐药检出率仍保持在50.00%左右。CR-AB和CRE对 β 内酰胺酶抑制剂复合制剂、喹诺酮类和头孢类抗菌药物耐药率达90.0%；CRE对头孢他啶/阿维巴坦敏感率最高为85.00%。67株CRE中，耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌36株，耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌检出率呈上升趋势。

结论：CR-AB、CR-PA、CRE、MRSA耐药相对严重，应引起重视，尤其应关注重症医学科碳青霉烯类耐药革兰阴性杆菌耐药株。

关键字 多重耐药菌；耐碳青霉烯类肠杆菌目细菌；碳青霉烯酶；耐药性

基于ABC分类控制下的多学科协作 在多重耐药菌感染防控中的实践探讨

顾玲莉、刘香、刘海萍、黄琳玲、沈红梅、许美蓉、戴世荣

南通市第二人民医院

目的：探讨以ABC分类控制下的多学科协作的模式在多重耐药菌(Multidrug-resistant organism, MDRO)

感染防控中的实践效果。

方法：收集某三级医院2022年1月至2023年12月MDRO目标性监测菌株相关资料。2022年1—12月为实施前阶段，2023年1—12月为实施后阶段。根据2022年MDRO菌株风险评估结果，2023年引入ABC分类控制下的多学科协作模式对住院患者 MDRO感染防控实施管理，比较实施前后 MDRO检出率、感染率及防控项目和措施执行率的情况，探索适合本医院的 MDRO 感染防控模式。

结果：实施前纳入 MDRO患者413例，实施后纳入621例。实施后CRECO(大肠埃希菌)检出率1.10%低于实施前7.00%、MRSA(金黄色葡萄球菌)检出率43.62%低于实施前的51.69%，差异均有统计学意义($P<0.05$)，实施后防控项目总执行率71.00%显著高于实施前59.18%($P<0.01$)，其中手卫生依从率、手卫生正确率、接触隔离系列措施执行率、出科检查/转科防控措施落实率、MDRO感染防控教育考核率、荧光监测环境物体表面清洁消毒、MDRO感染防控教育考核率、抗菌药物治疗前病原学送检率、危急值管理共8项感控项目和措施的执行率均较实施前显著升高($P<0.01$)，

结论：实施ABC分类控制下的多学科协作模式可提高MDRO防控项目和措施的执行率，使MDRO检出率和感染率在抗菌药物治疗前病原学送检率上升的前提下得以降低。感控端口前移，落实了从源头上住院患者多重耐药菌感染防控的全程闭环管理。

关键字 多重耐药菌；感染防控；ABC分类控制；MDT

NICU检出铜绿假单胞菌耐药特点及抗菌药物的选择

王丽

淮安市妇幼保健院

目的：分析某三甲儿童医院新生儿科分离的铜绿假单胞菌临床分布和耐药性特征，为临床合理用药和院感防控提供参考依据。

方法：收集2019年1月至2021年12月间，淮安市妇幼保健院新生儿监护病房住院患儿标本中分离出的不重复铜绿假单胞菌的菌株，采用VITEK 2-compact全自动微生物鉴定及药敏分析系统进行菌株鉴定和药敏试验，并进行统计学分析。

结果：共分离铜绿假单胞菌207株，以痰标本多见，占90%；铜绿假单胞菌对阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星和妥布霉素耐药率一直保持很低的水平，3年来耐药率都 $<7\%$ ；对亚胺培南、美罗培南耐药率分别为68%和65%一直处于较高水平；对头孢他啶、哌拉西林/他唑巴坦的耐药率则分别由16%和8%上升到57%和72.3%，有大幅度的升高。2019–2021年共检出多重耐药PAE 56例，各年份分别为24、10和20例，检出率分别为：25.8%、28.57%、28.98%，呈较缓慢的上升趋势。

结论：铜绿假单胞菌的耐药性呈缓慢上升趋势，新生儿重症监护病房是预防控制的重点科室。

关键字 铜绿假单胞菌 耐药性 新生儿

only included in the conference proceedings

Shuang Song,Xiaorun Zhang,Liying Zhu,Wenjing Wang
Nanjing First Hospital

Background: Ligustrazine is active in Szechwan lovage rhizome, and its anti-inflammatory effect has been well established. The current study aimed to investigate the roles and related mechanisms of ligustrazine in staphylococcus aureus (S.aureus) osteomyelitis.

Methods: Mice and MC3T3-E1 cells were infected with S.aureus. Cell viability, mineralization, and ALP activity were examined by CCK-8, ARS staining and ALP staining. MicroRT imaging, HE staining, and TRAS staining were conducted to determine cortical bone destruction and histological changes. Gene expression was evaluated by ELISA and western blotting.

Results: For in vitro analysis, ligustrazine promoted osteogenic differentiation of S.aureus-infected MC3T3 cells. For in vivo analysis, ligustrazine ameliorated bacterial infection and cortical bone destruction in mice with osteomyelitis. Additionally, ligustrazine alleviated inflammatory response in mice with osteomyelitis. Moreover, ligustrazine increases bone formation in mice with osteomyelitis. Mechanistically, ligustrazine inactivated TLR4/NF- κ B signaling.

Conclusion: Ligustrazine ameliorates osteomyelitis by inhibiting inflammation and bone resorption and promoting osteogenic differentiation in S.aureus osteomyelitis through inactivating TLR4/NF- κ B signaling.

Key Words osteomyelitis; staphylococcus aureus; ligustrazine; osteogenesis; inflammation; TLR4/ NF- κ B

肺炎克雷伯菌bav基因的生物功能初探

陈琦、张海方
苏州大学附属第二医院

研究背景:肺炎克雷伯菌(klebsiella pneumoniae)是一种有荚膜、无鞭毛的革兰氏阴性临床重要病原菌,其感染的主要群体为新生儿、老年人和免疫功能低下的个体,可以造成多种严重的疾病如肝脓肿、脑脓肿和败血症等。近年来,肺炎2.克雷伯菌的耐药性日益严重,且临床上出现了高毒力、高耐药的肺炎克雷伯菌菌株,给临床治疗相关感染造成了严重的困扰。已知肺炎克雷伯菌的毒力与荚膜、脂多糖、菌毛(1型和3型)和铁载体等有关,但其致病机制尚未完全明确。因此,对肺炎克雷伯菌的分子致病机制进行深入的探究具有重要的科学意义。

研究目的:本文以肺炎克雷伯菌ATCC43816为研究对象,经生物信息学预测选择一功能未知基因并将其命名为bav,利用CRISPR/Cas9基因编辑技术及功能筛选实验,旨在探究bav基因在肺炎克雷伯菌致病过程中的生物学功能。

研究方法:1. 本文首先通过利用NCBI、PUBMED、SMART等网站,筛选出具有潜在功能的基因bav,利用CRISPR/Cas9系统对其进行基因敲除,使用pBAD24质粒构建回补株。

2. 对野生型肺炎克雷伯菌ATCC43816和缺陷株 Δ bav进行了手工肉汤稀释法测定生长曲线、拉丝试验、黏度半定量实验、电镜分析、生物膜形成实验、药物敏感性实验、大蜡螟幼虫致死实验,对基因功能可能的研究方向进行初筛。

3. 然后,使用全血抑菌实验、氧化物抑菌实验、小鼠腹腔感染和小鼠尾静脉感染实验对bav的致病机制进行了初步探索。

研究结果:1. 利用CRISPR/Cas9系统,将选定的靶基因通过同源重组的方法进行基因敲除成功构建了缺陷株,通过分子克隆对基因进行回补。

2. 在大蜡螟感染模型中,发现 Δ bav缺陷株在大蜡螟幼虫感染模型中毒力减弱。我们首先考虑是否是菌株自身的生存情况和大蜡螟幼虫体内的适应度是否影响细菌毒力,发现bav只影响细菌在大蜡螟中的生长。

3. 本研究采用手工肉汤稀释法测定生长曲线、拉丝试验、黏度半定量实验、电镜分析、生物膜形成实验、药物敏感性实验发现基因敲除并未对细菌的生长、代谢、荚膜生成、生物膜生成和药物敏感性产生影响。

4. 使用临床全血样本对细菌的毒力的影响进行进一步的探究,在全血抑菌实验中, Δ bav总是受到血液抑制更为明显,且结果与中性粒细胞数量呈正相关性。使用巨噬细胞侵染实验、氧化物抑菌实验、小鼠腹腔感染和小鼠尾静脉感染实验对bav的全血抑菌结果进行补充和验证,得到 Δ bav对超氧自由基的敏感性升高,腹腔感染模型中缺陷株的器官载量少于野生株,而血液感染模型中缺陷株的器官载量多于野生株。

研究结论:1.肺炎克雷伯菌bav基因不影响细菌的生长、生物膜和荚膜的生成,以及细菌的耐药性。

2.bav基因的敲除导致细菌的毒力下降,并有助于细菌在人体内的生存。

3.动物实验数据表明bav基因促进细菌定植于宿主器官,这进一步促进了细菌的免疫逃逸,揭示肺炎克雷伯菌一种机制,通过该机制细菌可以在宿主体内建立感染并保持持续性感染。

关键字 肺炎克雷伯菌;毒力;bav基因;定植;免疫

· 感染性疾病病原体的检查、分离鉴定新技术、新方法及其临床应用 ·

数字PCR技术在血流感染精准诊断中的应用研究

黄紫薇、马锦洪、周围

常州市第一人民医院

目的：数字PCR技术是一种新兴的核酸扩增技术，是在传统PCR、实时荧光定量PCR基础上发展起来的第3代PCR技术，可以对核酸进行绝对定量。本实验旨在通过与血培养技术进行比较，评估数字PCR技术对于血流感染的诊断性能，同步分析数字PCR检测的定量病原体载量与实验室指标C反应蛋白（CRP）、白细胞（WBC）和降钙素原(PCT)之间的关系，探讨数字PCR在血流感染精准诊断、抗生素应用指导及血流感染预后判断方面的潜力。

方法：统计2021年-2023年常州市第一人民医院住院送检的血培养标本，共检出阳性菌株1794株，其中革兰阴性菌共1055株，占58.81%，革兰阳性菌共670株，占37.35%，真菌共检出69株，占3.85%；主要检出菌株为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌。分离出的菌株主要来自重症医学科、急诊抢救室、血液科。根据以上统计结果确定数字PCR检测所包含的病原体种类及采样科室。1.采集本院血液科、重症医学科、急诊科疑似血流感染患者的血液样本同步进行血培养和使用数字PCR平台检测，同时进行包括CRP、PCT等常规检测和血常规检查。2.分别计算血培养及数字PCR的检出率以及数字PCR的敏感性和特异性。3.对数字PCR和血培养之间的检测时间进行比较。

结果：数字PCR对血流感染的检出率为56%，血培养检出率为13%，与血培养相比，数字PCR阳性检出率增加了200%以上。数字PCR检测结果提示，单纯病原体感染占检测总数的27.81%，复合病原体感染占28.09%，且两者病原体种类都以病毒为主。阳性标本数字PCR定量病原体载量与CRP、PCT指标存在一定的相关性。数字PCR技术平均检测时间为3-4小时，血培养检测时间为48-96小时。

结论：与血培养相比，数字PCR检出率更高，检测时间更短，且其检测限可低至单拷贝，对于低拷贝数的病原体检测有较大优势。由于其整个过程几乎是在封闭的芯片中进行，所以污染的风险较低。同时，数字PCR技术可以覆盖血培养无法检测的病毒感染，提升诊断效能的同时，可以指导临床合理用药，减少抗生素的滥用，提高患者治愈率。

关键字 血流感染 数字PCR技术 血培养

南京某三甲医院2013-2021年耐碳青霉烯类弗劳地柠檬酸杆菌的基因组学及临床特征分析

谢晖、曹小利

南京大学医学院附属鼓楼医院

目的：产碳青霉烯酶弗劳地枸橼酸杆菌(Carbapenemase-producing *Citrobacter freundii*, CRCP)的出现对

公共卫生,尤其是高危人群构成重大威胁。因此,了解CRCF的基因组流行病学特征,分析CRCF感染的临床特征及相关危险因素至关重要。

方法:收集2012-2021年南京鼓楼医院分离的21株CRCF,并通过全基因组测序和组装,分析耐药基因(resistant determinants, ARGs)、可移动遗传元件(Mobile genetic element, MGEs)、质粒复制子的分布以及序列分型(sequence types, ST)探讨其耐药机制。

结果:在21株CRCF中,最常见的耐药基因为blaNDM-1(18株, 85.7%),其次为sul1(17株, 80.9%)。ST型呈多样化表现,最常见的ST型为ST17 (n=4, 19.0%)和ST396(n=3, 14.3%)。在21种质粒复制子中, IncX3数量最多(11例, 52.4%)。共计检出16个插入序列(Insertion sequences, ISs)和3个转座子(transposons, Tns),其中IS6100 (n=17, 81.0%)最为常见。在15株枸橼酸杆菌中发现了mph(A)和IS6100的共现现象。在对21例CRCF感染/定植患者的分析中发现,年龄均数为62.7岁(19~88岁),其中男性有17例(80.9%),老年患者大于65岁有11例(52.4%),住院时间大于10天有17例(80.9%)。基础疾病以高血压(12例, 57.1%)为主。危险因素分析结果显示,侵入性操作($P=0.032$)是CRCF获得的独立危险因素。

结论:blaNDM-1是碳青霉烯类耐药的主要基因。21株CRCF的多个ST型别呈现出CRCF的遗传多样性。这些菌株中存在ISs和Tns的种类,表明这些可移动遗传元件发挥了关键作用。CRCF感染/定植主要见于老年男性患者,高血压是其主要基础疾病。避免有创操作可能有助于减少CRCF的发生。

关键字 弗劳地枸橼酸杆菌,全基因组测序,NDM-1, IncX3

宏基因二代测序技术在血液科患者病原体检测中的应用价值

夏松、周围

常州市第一人民医院

目的:分析宏基因二代测序(metagenomics next-generation sequencing, mNGS)技术在血液科患者发热感染中的诊断价值,并为临床及时调整治疗方案提供依据。

方法:收集2021年8月-2023年7月常州市第一人民医院血液科的84例样本,包括血液、肺泡灌洗液和痰液,进行病原体培养和mNGS检测。

结果:病原体培养总阳性率7.1%(6/84), mNGS总阳性率83.3%(70/84),两者比较,差异具有统计意义($P<0.01$)。血液样本mNGS阳性率73.3%(33/45),培养阳性率8.9%(4/45);肺泡灌洗液为91.2%(31/34),培养阳性率5.9%(2/34);痰液为100.0%(5/5),培养阳性率0.0%(0/5),差异均具有统计意义($P<0.01$)。病原体培养和mNGS均为阳性样本6例,均为阴性14例,结果不一致数量64例,两种检测方式阳性符合率8.6%(6/70),阴性符合率100%(14/14),整体符合率23.8%(20/84)。mNGS检出复合感染(病原体两种及以上)率为63.1%(53/84),培养为0%(0/84)。mNGS检出数前5位病原体是肠球菌属、嗜血杆菌属、假丝酵母菌属、链球菌属、曲霉菌属。临床依据mNGS结果更改或调整抗感染治疗策略比率为39.6%(21/53),患者好转率85.7%(18/21)。

结论:mNGS适合用于血液科患者血流或肺部感染的病原体诊断,病原体检出率、检出病原体种类及数量均高于传统培养方法,对血液科患者感染的病原学诊断和用药调整有较大帮助

关键字 mNGS;微生物培养;血培养;血液病

急性肾盂肾炎伴黑尔嗜脓菌菌血症1例

蒯守刚

无锡市惠山区人民医院

报道1例急性肾盂肾炎伴黑尔嗜脓菌菌血症患者，黑尔嗜脓菌是一种革兰氏阳性厌氧性球菌。该菌广泛分布于人类皮肤、口腔、上呼吸道、消化道和泌尿生殖道，也是临床上常被忽视的条件致病菌，对营养和培养条件要求较高。伴随测序等分子生物学技术和蛋白质谱技术逐步应用临床，临床上对厌氧菌的认知逐步提高，但急性肾盂肾炎伴黑尔嗜脓菌菌血症的报道罕见。临床应提高对黑尔嗜脓菌感染相关疾病的认识，以早期诊断与采取针对性治疗。

【关键词】 肾盂肾炎；菌血症；革兰氏阳性厌氧性球菌；嗜脓菌

PML-RAR α 候选参考物质的研制及应用

袁丹丹

无锡市儿童医院

目的：PML-RAR α 融合基因的检测对急性早幼粒细胞白血病（APL）的诊断有显著意义，断裂点不同，可以产生bcr1(L型)、bcr2(V型)和bcr3(S型)三种不同分型的PML-RAR α 融合基因，分别占55%，5%和45%。近年来，人们已经对PML-RAR α 融合基因的检测方法进行了大量的探索，如染色体检查、流式细胞仪，定性或半定量PCR等技术方法，这些方法不同程度地提高了PML-RAR α 的检测水平。但目前融合基因定量检测仍存在可比性差等问题，国际上始终没有现存的PML-RAR α 有证参考物质，无法满足我国PML-RAR α 基因分型试剂方法标准化、性能评价、室内和室间质量评价的需要。为了促进检测的标准化，本实验室构建了PML-RAR α 三基因候选质粒参考物质。

方法：采用分子克隆技术构建三基因候选质粒参考物质并进行电泳及测序验证，紫外分光光度法对参考物质进行定值，qPCR进行均匀性、稳定性性能评价，最后采用《测量不确定度表示指南》（GUM）法对制备的参考物质进行不确定度评价。

结果：本研究基于分子克隆技术成功构建了含有bcr1、bcr3以及临床常见内参基因ABL的候选质粒参考物质，通过凝胶电泳，生工测序，序列比对完全符合GenBank公布的结果。该三基因质粒候选参考物质的三个目的片段分别为621bp、938bp和989bp，覆盖了大部分试剂公司的引物和探针。构建的候选质粒参考物质的拷贝数浓度为 $(1.04 \pm 0.122) \times 10^8 \text{cp}/\mu\text{L}$ ，不确定度为11.7%。

讨论：本实验应用分子克隆成功制备了基于质粒的候选参考物质，它包含bcr1、bcr3以及临床常见内参基因ABL，经分析，质粒的均匀性、稳定性良好。在研究过程中，采用GUM法评定PML-RAR α 候选参考物质浓度的不确定度，按照测量模型（计算公式）计算各个分量的不确定度，避免了按照测量过程计算不确定度分量时可能产生的不确定度分量的重复或遗漏。实验所用仪器均经过校准和期间核查，保证了结果的准确性以及溯源性。均匀性稳定性实验按照导则35执行与评定，保证了评定结果的规范性。由于国际上经过认证的候选参考物质还十分匮乏，白血病融合基因方面仅有欧盟研制的BCR-ABL1质粒有

证参考物质, 而关于PML-RAR α 的有证参考物质尚未研制, 因此构建PML-RAR α 候选参考物质有着广泛的应用前

关键字 PML-RAR α 参考物质

微生物送检标本病原菌分布及药敏分析

过琴

江南大学附属医院

临床诊疗过程中, 常使用广谱抗菌药物进行抗感染治疗; 同时, 随着医疗技术的快速发展, 介入性诊断操作及治疗手段不断增加, 院内感染呈现上升趋势。细菌对抗生素产生耐药现象与日俱增, 研发新型抗菌药物的速度跟不上细菌耐药变迁的速度。因此, 细菌耐药成为全世界临床抗感染治疗中面对的难题。细菌耐药受多种因素影响而存在一定地域性差异, 对本地区细菌耐药的监测, 可更好的为临床医生规范使用抗菌药物提供理论依据。

关键字 病原菌、耐药性分析

HBsAg 定量检测在慢性HBV感染患者诊疗中的临床价值

杨瑞霞

江苏省人民医院 (南京医科大学第一附属医院)

目的: 探讨HBsAg 定量检测在慢性HBV感染患者诊疗中的临床价值。

方法: 收集南京医科大学第一附属医院感染科就诊的慢性乙型肝炎患者143例, 分析HBsAg 含量与HBV-DNA、肝功能相关指标、AFP及乙肝血清学标志物的相关性。

结果: HBsAg>10001 IU/mL组的ALT、AST、AFP水平显著高于0-50 IU/mL组、51-1000 IU/mL组、1001-2000 IU/mL组、2001-5000 IU/mL组, 差异有统计学意义 ($p < 0.05$), 在HBsAg 5001-10000 IU/mL组中, HBeAg的阳性率显著高于51-1000 IU/mL组和1001-2000 IU/mL, 差异有统计学意义 ($p < 0.05$), HBeAg阳性组的HBsAg水平显著高于HBeAg阴性组, 差异有统计学意义 ($p < 0.001$)。

结论: HBsAg定量检测可反映患者乙型肝炎病毒复制水平, 有助于临床医生对乙肝患者进行病情判断及抗病毒效果评估。

关键字 HBsAg 定量 慢性HBV感染

外周血白细胞形态、散点图及其参数 在发热伴血小板减少综合征、传染性单核细胞增多症 和肾综合征出血热早期诊断中的应用

程晨、张丽霞

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：比较外周血白细胞形态、散点图及其参数在发热伴血小板减少综合征（severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS）、传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis, IM)和肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)的差异，探讨上述指标的诊断价值。

方法：收集南京医科大学第一附属医院2023年3月至2024年2月确诊为上述三种疾病早期的患者血常规镜下细胞图、散点图及白细胞参数进行两两比较，并同时与健康体检者比较。

结果：三种病毒感染疾病均有核左移，但血常规散点图与镜下白细胞特征均不相同，各组间白细胞参数差异显著。

讨论：SFTS、HFRS和IM早期在临床上容易漏诊误诊，且病原学检查时间较长，早发现早诊断早治疗能够有效降低患者疾病严重程度，改善患者预后。血常规作为三大常规检测之一，应用广泛，便捷快速，便于早期筛查诊断。上述三种病毒感染外周血细胞和血小板计数变化以及出现异型淋巴细胞等表现并不特异，与其他一些疾病的血常规检测结果无显著性区别，但我们的结果发现增加血常规的白细胞散点图参数，并结合镜下细胞形态和散点图特点则可提高血常规检测结果的特异性，从而提高早期诊断疾病的准确率。通过外周血白细胞形态、散点图及其参数在区分SFTS、IM和HFRS三种病毒感染疾病方面具有很高的临床鉴别价值。

关键字 发热伴血小板减少综合征；传染性单核细胞增多症；肾综合征出血热；外周血细胞形态；散点图；白细胞参数

血清IL-6、抗MDA5抗体联合检测对中老年梅毒患者 疾病诊疗的临床意义

张英

连云港市第二人民医院

目的：研究血清IL-6、抗MDA5抗体联合检测对连云港地区中老年梅毒患者疾病诊疗的临床意义。

方法：收集50名健康人和135名不同感染阶段的梅毒患者血清，按照人IL-6（Interleukin-6，IL-6）、MDA-5酶联免疫吸附试验（ELISA）试剂盒说明书检测血清IL-6和抗MDA5抗体浓度，相关实验室血清学参数按照ISO15189临床医学实验室质量标准检测。

结果：与潜伏期梅毒感染者相比，显性中老年梅毒感染者IL-6、抗MDA5抗体、GLU血清水平明显增高；血清IL-6、抗MDA5抗体水平随着疾病加重，浓度不断增加，二者联合检测可以有效区分隐性梅毒。

毒感染和显性感染者，诊断敏感性为70.21%，特异性为97.73%。基于DCA曲线评估各指标的临床影响价值，二者联合的阳性例数与实际例数更接近，表明二者联合有着更好的临床影响价值。

结论：血清IL-6、抗MDA5抗体联合检测可作为中老年梅毒患者隐性感染和显性感染者的诊断指标。

关键字 梅毒;诊断；梅毒分期；潜伏期；血清;联合检测

ddPCR在血流感染快速诊断中的性能评价及应用

李贵玲、刘春梅、任传利

江苏省苏北人民医院

目的：使用临床菌株和标准菌株验证微滴式数字 PCR（ddPCR）试剂检测性能，并评估ddPCR技术临床应用的有效性和实用性。

方法：使用临床菌株和标准菌株验证ddPCR试剂盒符合率、特异性、精密度、最低检出限等。收集74例疑似血流感染患者血液样本，同时采用ddPCR和血培养两种方法测定同一患者血液标本的病原体。

结果：ddPCR血流感染病原体检测平均检测时间为3.5小时，可以同时检测十几种常见病原体，本研究中ddPCR血流感染病原体检测试剂盒的符合率、特异性、精密度、最低检测限均满足临床要求。疑似血流感染的74例患者中，采用ddPCR方法检测的阳性率为64.86%，采用血培养检测的阳性率为40.54%，阳性率差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。

结论：ddPCR可快速、批量、高效地检测血流感染常见病原体，其主要检测性能可以满足临床需要，血培养联合ddPCR技术检测血流感染，有利于临床血流感染患者的早期快速诊断。

关键字 微滴式数字 PCR；血流感染；血培养；性能验证

质谱鉴定联合直接快速药敏试验在细菌血流感染中的应用

张小云

淮安市第一人民医院

目的：评估质谱快速鉴定联合直接药敏试验在革兰阴性细菌血流感染诊断中的临床应用价值。

方法：对2021年8月-2022年3月我院133瓶血培养阳性标本经SDS沉淀离心富集细菌后，使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF/MS）直接鉴定，对阳性血培养液进行直接快速药敏试验（RAST），同时对培养后的菌落进行质谱鉴定和VITEK 2 Compact药敏分析，比较两种方法的一致性。

结果：133例血培养阳性标本经鉴定后革兰阴性细菌共122株，直接细菌鉴定的准确率为91.73%，包括大肠埃希菌56株、肺炎克雷伯菌26株、鲍曼不动杆菌12株和铜绿假单胞菌12株，其中鲍曼不动杆菌检出率最高为100.00%，阴沟肠杆菌最低为66.67%；所有药物结果符合（CA）比例在4、6、8 h呈现逐渐升高现象；在8 h时除了哌拉西林/他唑巴坦（TZP）和美罗培南（MEN），其他药物的CA均高于可接受值（ $CA>90\%$ ），仅有1例铜绿假单胞菌对TZP的药敏结果在6、8 h时为非常重大错误（VME），1例大肠埃希菌对TZP、阿米卡星（AK）在4、6、8 h时均为重大错误（ME），2例肺炎克雷伯菌对TZP、

头孢他啶（CAZ）在4、6、8 h 时为ME，1 例铜绿假单胞菌对妥布霉素（TOB）和庆大霉素（CN）在6、8 h 时为微小错误（mE）。

结论：5% SDS 沉淀法联合MALDI-TOF MS 直接鉴定细菌菌种准确性高，RAST 的CA 比例高，8 h 可作为革兰阴性菌RAST 药敏判读的最佳时间点，对于及时指导临床用药及改善患者预后具有重要意义。

关键字 血流感染；革兰阴性杆菌；质谱快速鉴定；直接快速药敏试验；基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱

肝素结合蛋白、C反应蛋白、血常规在急性阑尾炎中的早期诊断价值

冯晓斌、沈雯、高蕾

无锡市儿童医院（江南大学附属儿童医院）

目的：探讨肝素结合蛋白（HBP）、C反应蛋白（CRP）、白细胞（WBC）、中性粒细胞百分比（NE）、淋巴细胞百分比（LY）对儿童急性阑尾炎的早期诊断价值。

方法：回顾性收集2022年1月到2023年6月210例因腹痛住院患儿的临床资料，根据患儿病情分为急性阑尾炎组、普通腹痛组。比较2组患儿HBP、CRP、WBC、NE、LY及红细胞分布宽度（RDW）、血小板分布宽度（PDW）、平均血小板体积（MPV）水平的差异，通过二元Logistic回归和受试者工作曲线（ROC）评估上述指标和联合指标对儿童急性阑尾炎的早期诊断价值。

结果：急性阑尾炎组HBP、CRP、WBC、NE水平明显高于普通腹痛组，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）；急性阑尾炎组LY水平明显低于普通腹痛组，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）；RDW、PDW、MPV水平在两组中无差异（ $P>0.05$ ）。ROC曲线显示，单项指标中HBP对儿童急性阑尾炎的诊断价值最高，曲线下面积（AUC）为0.915，其灵敏度为77.3%，特异度为92.0%，最佳截断值为29.74ng/mL；HBP、CRP、WBC、NE、LY联合检测在所有检测中诊断急性阑尾炎的AUC最高，曲线下面积（AUC）为0.933，其灵敏度为84.5%，特异度为90.0%。

结论：与普通腹痛患儿相比，急性阑尾炎患儿中HBP、CRP、WBC、NE在体内呈高水平状态，LY在体内呈低水平状态，这五种指标联合检测对患儿急性阑尾炎的早期诊治具有重要的指导意义。

关键字 急性阑尾炎；肝素结合蛋白；C反应蛋白；白细胞

MALDI-TOF MS 在快速鉴别利奈唑胺耐药粪肠球菌中的应用

高硕¹、高晶晶²、钟桥²、牛冬梅³、周万青¹、沈瀚¹

1. 南京大学医学院附属鼓楼医院；2. 苏州市立医院；3. 南京市中医院

目的：由利奈唑胺耐药的粪肠球菌（linezolid resistant *Enterococcus faecalis*, LREfs）造成的感染给临床治疗带来巨大的挑战。快速识别耐药病原菌，尤其是对重症患者至关重要。本研究的目的是应用基质

辅助激光解析飞行质谱 (MALDI-TOF MS) 快速鉴别利奈唑胺耐药的粪肠球菌。

方法: 收集2017年1月-2023年12月南京鼓楼医院临床分离的利奈唑胺耐药粪肠球菌共70株, 同时收集相同时间段分离的利奈唑胺敏感粪肠球菌 (linezolid sensitive *Enterococcus faecalis*, LSEfs) 共69株。应用MALDI-TOF MS技术对所有菌株进行鉴定。采用Vitek 2 Compact配套药敏板卡及E-Test法进行药敏试验。应用ClinProTools 3.0软件对纳入研究的利奈唑胺敏感和耐药菌株蛋白峰图进行统计学分析, 获得耐药组和敏感组平均峰面积和峰强度比值 (Ave)、标准差 (SD)、变异系数 (CV), 分别使用遗传算法 (Genetic Algorithm, GA)、监督神经网络算法 (Supervised Neural Network, SNN) 以及快速分类算法 (Quick Classifier, QC) 对数据进行分析并建立相应的模型。获取差异表达蛋白峰位用于鉴别LREfs对应的曲线下面积, 比较差异峰在区别LREfs和LSEfs菌株间的诊断效能。

结果: 药敏结果显示临床分离的LREfs中利奈唑胺的最低抑菌浓度(MIC)为 8-32 $\mu\text{g/mL}$ 。通过对70株LREfs和69株LSEfs菌株蛋白质谱峰图差异分析, 发现质荷比为4369.76、4440.71、4732.02、6359.65、6659.2、8848.1、4815.07、4875.13、7572.76、7632.24、9629.37、9700.03及9750.4 m/z的13个质谱峰在LREfs和LSEfs菌株间有显著差异 ($P<0.001$)。ROC曲线分析发现, 上述蛋白峰对应的曲线下面积 (AUC) 均高于0.7, 其中4732.02 m/z、9700.03 m/z 及9750.4 m/z AUC高于0.8。9750.4 m/z AUC为0.827, 敏感度和特异性分别为58.57%和94.20%。9700.03 m/z 的AUC为0.821, 敏感度和特异性分别为81.43%和73.91%。GA、SNN及QC 3种算法模型比较发现, GA算法模型最优, 识别能力为86.95%。

结论: MALDI-TOF MS技术联合ClinProTools 3.0软件能够实现利奈唑胺耐药粪肠球菌的快速鉴别, 操作简便, 具有较好的临床应用前景。

关键字 MALDI-TOF MS, 利奈唑胺耐药, 粪肠球菌, 快速鉴定

幽门螺旋杆菌抗体与血常规和生化指标关联分析

熊雪松

扬州大学附属淮安医院 (淮南市第五人民医院)

目的: 探讨幽门螺旋杆菌抗体与血常规和生化指标间的相互关系。

方法: 选取我院154名健康体检人群为研究对象, 检测其幽门螺旋杆菌抗体的类型、血常规和生化常规指标, 分析幽门螺旋杆菌抗体与各检测指标间的相关性。

结果: 幽门螺旋杆菌抗体阳性 (感染组) 94人, 阴性 (对照组) 60人。幽门螺旋杆菌感染组和对照组比较结果显示, 白细胞 (white blood cell count, WBC)、中性粒细胞计数 (neutrophil count, NEU#)、淋巴细胞计数 (lymphocyte count, LYM#)、血小板 (platelet count, PLT)、总胆红素 (total bilirubin, TB)、直接胆红素 (Direct Bilirubin, DB)、球蛋白 (Globulin, GLOB) 和白球比 (albumin/Globulin, A/G) 指标之间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。幽门螺旋杆菌 I 型和 II 型感染者的红细胞平均分布宽度变异系数 (Red Cell volume Distribution Width-CV, RDW-CV) 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。细胞毒素相关蛋白 A 抗体 (Antibody cytotoxin associated protein A, CagA Ab)、空泡毒素相关蛋白 A 抗体 (Antibody Vacuotoxin associated protein A, VacA Ab) 不同分组比较结果显示, CagA/VacA (+/+) 和 CagA/VacA (+/-) 两组间红细胞平均体积 (mean corpuscular volume, MCV)、平均血红蛋白量 (Mean Corpuscular hemoglobin, MCH)、红细胞分布宽度标准差 (Red Cell volume Distribution Width-SD, RDW-SD)、天门冬氨酸氨基转移酶/丙氨酸氨基转移酶 (Aspartate aminotransferase/Alanine aminotransferase, AST/ALT) 四个指标间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。VacA Ab 阴阳组在 LYM#、MCV、MCH、RDW-SD 间差异有统计学意义 (P

<0.05)。

结论：幽门螺旋杆菌抗体可提示稳定期人体感染状态。

关键字 幽门螺旋杆菌；血常规；生化指标；细胞毒素相关蛋白 A 抗体；空泡毒素相关蛋白 A 抗体

基于双重凝集素修饰的磁性 SERS 和金纳米花拉曼标签 对 3 种病原菌快速检测新方法研究

程斯运¹、杨平¹、沈瀚¹、顾兵²

1. 南京大学医学院附属鼓楼医院；2. 广东省人民医院

目的：病原菌感染依然是严重的全球性公共卫生问题。常规的检测方法需要 3~5 天才能确诊，无法满足快速准确的检测要求。本研究旨在 1 小时内通过一次拉曼照射实现临床样本中 3 种常见菌的同时、高灵敏、定量检测。

方法：（1）采用“PEI 介导的种子生长法”合成单分散的磁分离捕获基底—金壳磁珠。麦胚凝集素和刀豆凝集素修饰在金壳磁珠表面，制备超广谱磁性分离基底。（2）采用“种子生长法”合成稳定的 40 nm 金纳米花，3 种特异性抗体通过链霉亲和素修饰在金纳米花表面，制备高性能 SERS 探针。（3）建立双重凝集素和抗体双识别的 SERS 检测平台，以大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和肺炎克雷伯菌为例，研究此检测平台的灵敏度、特异性、重复性和多通道检测能力。（4）将提出的检测平台应用于临床尿液、血液样本检测，优化实验条件，探究其实际应用潜能。

结果：（1）设计制备的双重凝集素修饰的金壳磁珠对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌、肠炎沙门氏菌、宋内志贺菌、鲍曼不动杆菌等有超过 71% 的捕获效果，显著高于单一凝集素修饰的金壳磁珠。双重凝集素金壳磁珠在 15 分钟内即可捕获完成，实现对临床样本中 3 种常见细菌的高效识别和磁分离。（2）性能检测证明本研究提出的链霉亲和素和抗体共修饰的金纳米花拉曼标签比传统拉曼标签有更强的结合能力和抗盐稳定性。（3）基于双重凝集素和抗体建立的双识别 SERS 检测平台，细菌浓度和拉曼信号符合线性关系，大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、肺炎克雷伯菌检测限低至 15 cfu/mL、7 cfu/mL 和 20 cfu/mL。

（4）此检测平台有着良好的特异性、和重复性（ $RSD < 7.03\%$ ），可以在 1 小时快速内完成高灵敏的多通道细菌检测。

讨论：我们首次报道了基于麦胚凝集素和刀豆凝集素修饰的金壳磁珠，制备了一种超广谱磁性分离基底，实现复杂样本中 3 种常见细菌的高效分离，和传统基于抗体、适配体等识别元件的分离系统，我们提出的双重凝集素磁分离方法可以更广谱和高效，同时具有成本低，多种病原菌同步抓取的优势。链霉亲和素和抗体共修饰的金纳米花拉曼标签可以精准识别特定细菌，并放大 SERS 信号。我们提出的检测平台在临床尿液、血液样中被证明有较好的应用潜能，可以排除临床样本中多组分干扰，达到特异性的灵敏检测。整个检测流程可以在 1 小时内快速完成，通过更换不同抗体可以拓展到其他病原菌的检测。

关键字 表面增强拉曼光谱；麦胚凝集素；刀豆凝集素；抗体；病原菌

基于NGS的 南京市儿童发热伴呼吸道症候群病原学分析

刘云

南京市妇幼保健院

目的：探究南京市2023年8月~2024年1月儿童发热呼吸道症候群的病原谱及主要流行特征，以期为进一步制定防控措施、降低发病率、早期诊治等提供科学依据。

方法：以2023年8月~2024年1月于南京市妇幼保健院住院治疗的1 171例符合发热呼吸道症候群定义的患儿为研究对象，收集其基本信息和临床资料，采集咽拭子、脑脊液或痰液，用病原体靶向测序技术进行病原体鉴定。

结果：1171例样本共检测出45类病原体，阳性检出率97.35%，有700例为混合感染，细菌与病毒同时感染占比最高，为35.53%。检出率最高的前四位病原体分别为肺炎支原体397例（33.9%）、鲍曼不动杆菌358例（30.57%）、人呼吸道合胞病毒284例（24.25%）、流感嗜血杆菌210例（17.93%）。病原谱在性别分布无差异，在各年龄段、各月份之间有显著差异。肺炎支原体在学龄期组检出率最高，鲍曼不动杆菌在新生儿期组检出率最高，人呼吸道合胞病毒在婴儿期检出率最高，支原体在10月阳性检出率较高。

结论：本研究为南京市发热伴呼吸道症候群的提前预防与精确诊治提供了一定的思路。

关键字 发热呼吸道症候群；下一代测序技术；儿童；病原学分析

基于膜状磁性多层量子点免疫层析用于粪便中高灵敏检测幽门螺杆菌

黄婷婷

淮安市第五人民医院

目的：幽门螺杆菌感染是导致胃癌的重要因素，且具有较强的传染性，急需简单、快捷、准确的低成本检测方法来控制传播和指导及时治疗。目前的临床诊断方法主要基于胃镜、快速尿素酶试验等侵入性检查法，依赖专业的仪器设备和人员检测，难以满足临床快速筛查或者居家自检的需要。免疫层析是最便捷的快速检测技术，但灵敏度较低，目前仍难以用于粪便样本中幽门螺杆菌的准确检测。

方法：在本研究中，通过离心分离选择超薄（1-2 nm）的二维氧化石墨烯（GO）纳米片（500-800 nm）作为磁性纳米片的支撑物。在超声处理下，大量Fe₃O₄纳米颗粒通过静电相互作用组装到GO-PEI纳米片的表面，形成柔性GFe纳米片，再通过静电吸附介导的三层小量子点在GFe纳米片上逐层组装，合成了具有大表面积、高量子点（QD）负载、优异发光性和良好稳定性的柔性三维纳米薄膜（GF@TQD），用特异性抗体修饰，在免疫层析试纸条中用作增强荧光标记，用于定量检测幽门螺杆菌。

结果：通过透射电子显微镜（TEM）和扫描电子显微镜（SEM）观察了三维GF@TQD纳米薄膜的微观结构和形貌，验证了三维GF@TQD纳米薄膜的成功合成。傅立叶变换红外光谱（FTIR）和zeta电位的结果证实了特异性针对幽门螺旋杆菌的抗体成功修饰到GF@TQD标签上。通过一系列优化实验，构建最

佳的免疫层析体系，最终确定了GF@TQD标签在含有2 %吐温和10%FBS的PBS缓冲液中和2 mg/mL的试纸条浓度上，产生了最强的荧光亮度和最佳的对比抑制效应，且标签捕获幽门螺杆菌的最佳孵育时间为15分钟时，具有最佳检测效果。该检测方法具有低检测限，可检测出50 CFU/mL的幽门螺杆菌，检测时间快（15分钟），稳定性好，重现性高。

讨论：抗体修饰的GF@TQD快速富集出样本中幽门螺旋杆菌，通过“高荧光载量和磁富集”双重信号放大作用在试纸条的检测线上对靶标菌体进行高灵敏定量检测。在粪便样本中的检测效果远远高于市面上的免疫层析试纸条产品，具有巨大的开发潜力。本项目的实施将为幽门螺旋杆菌感染的防控提供一种准确、可靠的高灵敏检测新方法。

关键字 幽门螺杆菌、高灵敏检测、膜状磁性纳米薄膜

淮安地区公立医疗机构真菌感染检测能力调查

黄维晨¹、唐朝贵^{1,3}、梁松^{2,3}、李阔¹、黄晶晶¹、林宁^{1,3}

1. 南京医科大学附属淮安第一医院；2. 淮安市第一人民医院第二分院；3. 淮安市临床检验中心

目的：调查及评估淮安地区公立医疗机构真菌感染检测能力，寻找实现地区性真菌检测能力提升的可能途径。

方法：2023年12月采用国家卫生健康委员会设计的“真菌感染临床诊断能力调查电子问卷”进行在线调查，收集淮安地区医疗机构的实验室结构、人力、设备和诊断测试方法等真菌检测相关信息。并采用国家卫生健康委员会设计的“综合能力评估计分系统”，以所得分数来评估整体诊断能力，并对21家二级甲等及三级医院的调查结果进行了分析。

结果：21家医疗机构中，95.2%的实验室至少配备了1名能独立从事真菌检测工作的员工，52.4%的实验室有专门的真菌检测相关设备，但80.9%被调查的医院没有单独的真菌实验室空间。革兰染色和墨汁染色方法被广泛使用（>70%），而六胺银染色在本地区仅有1家实验室使用。在17家进行真菌鉴定的实验室中，94.1%的机构采用全自动微生物鉴定及药敏系统，有50%的三级甲等医院采用MALDI-TOF MS进行菌种鉴定。57.1%的实验室开展了G试验等真菌血清学检测项目，但是本研究纳入的医疗机构均未开展念珠菌抗原和抗体检测。66.7%的受访医院采用全自动微生物鉴定及药敏系统进行酵母菌的体外抗真菌药物敏感性试验，暂未开展丝状真菌的药物敏感性试验。21家医疗机构中参与室间质量评价的实验室比例为42.9%。被调查的11家三级医院的平均得分为33 ± 11.2分，而在6家三级甲等医院中有33.3%的实验室得分>50分，仅1家三级甲等综合医院开展了真菌相关科学研究。

结论：江苏省淮安市地区医疗机构总体上对真菌感染的临床检测能力不足。需要在薄弱的方面进行更多的关注和培训，以此促进获得高质量的诊断服务。

关键字 真菌；检测能力；地市级；医疗机构

鲍曼不动杆菌使用N335药敏卡头孢哌酮舒巴坦结果 发生非常重大误差对耐药监测网数据的影响

顾玲莉、沈红梅、黄琳玲、许美蓉、刘培龙、刘香、顾屏、戴世荣
南通市第二人民医院

目的：以肉汤微量稀释法（broth microdilution method, BMD）实验为参考方法，评估VITEK 2仪器法配套N335卡片检测鲍曼不动杆菌（*A.baumannii*, AB）对头孢哌酮-舒巴坦药物敏感性结果发生非常重大误差对耐药监测网数据的影响。

方法：对2023年临床分离318株AB菌株采用BMD、VITEK 2仪器法和纸片扩散法对头孢哌酮-舒巴坦进行抗菌药物敏感性试验。

结果：318株鲍曼不动杆菌碳青霉烯类耐药菌株（carbapenem-resistant *A.baumannii*, CRAB）占57.2%(182/318)，碳青霉烯类敏感菌株（carbapenem-susceptible *A.baumannii*, CSAB）占42.8%(136/318)，对头孢哌酮-舒巴坦的耐药率分别为96.7%、2.9%。BMD方法为金标准，318株AB对头孢哌酮-舒巴坦的药敏检测显示,VITEK 2仪器法分类一致率（categorical Agreement, CA）87.7%、非常重大误差(very major errors,VME)6.0%、重大误差(major errors,ME)0%、小误差(minor error,mE)4.4%，CA和VME均偏离了可接受误差范围；纸片扩散法CA97.8%、VME0%、ME0.3%、mE0.3%，均在可接受误差范围；其中VITEK 2仪器法误差均发生在最低抑菌圈浓度（Minimum inhibitory concentration, MIC） $8\mu\text{g/mL}$ – $32\mu\text{g/mL}$ ，MIC $32\mu\text{g/mL}$ 时，BMD和纸片扩散法CA均为0%；MIC $16\mu\text{g/mL}$ 时，BMD和纸片扩散法CA均为5.3%、VME分别为84.2%、89.5%，均严重偏离了可接受误差范围；MIC $8\mu\text{g/mL}$ 时，BMD和纸片扩散法CA均 $\geq 90\%$ ；VME分别为2.1%、1.4%，接近可接受范围。

结论：VITEK 2仪器法检测鲍曼不动杆菌对头孢哌酮-舒巴坦敏感性的VME 为 6.0%（不符合 $\leq 1.5\%$ 的可接受率），MIC 8 – $32\mu\text{g/mL}$ 的CRAB必须进行复核，使用N335卡的耐药监测网成员单位上报的数据降低了耐药监测网AB对头孢哌酮舒巴坦的耐药率。

关键字 鲍曼不动杆菌；头孢哌酮-舒巴坦；耐药率；耐药监测网；非常重大误差

非脱羧勒克菌伤口感染1例并文献复习

黄廷廷
东海县人民医院

目的：分析非脱羧勒克菌伤口感染患者的临床特征及药敏试验，为临床治疗提供治疗方案。

方法：报道东海县人民医院1例非脱羧勒克菌伤口感染患者的病历资料，通过文献检索英文数据库PubMed、Embase、Springer、Web of Science，中文数据库中国知网、万方、维普、中国生物医学文献服务系统，纳入符合标准的文献29篇(其中两篇每篇均报道2例)，加上该医院1例患者共32例。回顾性分析32例患者的年龄、性别、免疫状态、基础情况、药敏试验、治疗药物以及临床转归，总结特点，为临床治疗提供参考。

结果：32例非脱羧勒克菌血流感染患者的性别无显著差异，年龄分布为儿童5例，青年人19例，老年人7例，一例女性患者年龄不详；有14例患者免疫功能低下，18例患者免疫功能正常。非脱羧勒克菌对大多数抗菌药物敏感性较好，产超广谱 β 内酰胺酶菌株及耐碳青霉烯类菌株也有检出；药物治疗选择主要基于药敏试验结果。有1例为非脱羧勒克菌感染导致死亡，1例随访丢失。

结论：非脱羧勒克菌血流感染主要为免疫功能低下人群，中心静脉置管植入患者应引起临床重视。

关键字 非脱羧勒克菌；伤口感染；临床治疗

Xpert MTB/RIF在肺结核病诊断中的应用价值

姜曦

东海县人民医院

目的：评价Xpert MTB / RIF（Xpert Mycobacterium tuberculosis/ Rifampin,简称“Xpert MTB / RIF”）在肺结核病诊断中的应用价值。

方法：回顾性分析2022年8月–2023年7月就诊于东海县人民医院疑似肺结核患者痰样本，共427例，剔除2例非结核分枝杆菌感染的患者，对425份样本同时进行痰涂片镜检、固体培养和Xpert MTB/RIF，计算并比较3种方法的阳性检出率。

结果：Xpert MTB/RIF在唾液样痰标本中的阳性检出率为30.30%（40/132），高于痰涂片镜检法的12.12%（16/132）和固体培养法的18.18%（24/132）。差异均有统计学意义（ $\chi^2=13.06$ ， $P<0.001$ ； $\chi^2=5.28$ ， $P=0.02$ ）。Xpert MTB/RIF在涂片阴性肺结核病患者中的阳性检出率为60.00%（60/100），明显高于固体培养法的38.00%（38/100）。差异有统计学意义（ $\chi^2=9.68$ ， $P=0.002$ ）。以临床诊断结果作为参照标准进行分析，Xpert MTB/RIF的灵敏度73.68%（126/171），显著高于痰涂片镜检法的41.52%（71/171）和固体培养法的58.48%（100/171），差异均有统计学意义（ $\chi^2=36.22$ ， $P<0.001$ ； $\chi^2=8.82$ ， $P=0.003$ ）。

结论：Xpert MTB/RIF可以快速、准确地检测出结核分枝杆菌，提高诊断阳性率，为肺结核病的早期临床诊断和治疗提供重要依据。

关键字 肺结核；结核分枝杆菌；Xpert MTB/RIF

中药复方颗粒穴位贴敷辅助治疗儿童细菌性肺炎疗效观察

唐彬、宗寿洋、徐士浩

金湖县人民医院

目的：观察中药复方颗粒穴位贴敷辅助治疗儿童细菌性肺炎的临床疗效。

方法：将金湖县人民医院儿科收治的80例细菌性肺炎患者以随机数字表法分为对照组和观察组，每组40例。对照组采用常规治疗，在此基础上观察组加用中药复方颗粒穴位贴敷辅助治疗。比较两组治疗前后感染及免疫功能指标，同时分析观察组中重症和轻症肺炎治疗前后感染性指标变化；比较两组体温回归正常时间、肺部影像学表现、肺部啰音持续时间、咳嗽缓解时间、住院时间以及治疗有效率和不良

反应发生率。

结果：治疗前观察组中重症肺炎中性粒细胞CD64（nCD64）和降钙素原（PCT）水平均高于轻症肺炎（ $P < 0.05$ ），治疗后观察组nCD64、PCT、白细胞介素-6（IL-6）、白细胞介素-10（IL-10）、 γ 干扰素（IFN- γ ）水平均低于对照组（ $P < 0.05$ ）。观察组体温回归正常时间、肺部影像学表现、肺部啰音持续时间、咳嗽缓解时间、住院时间以及治疗有效率均低于对照组（ $P < 0.05$ ）。两组治疗期间均无严重不良反应出现，不良反应发生率无统计学差异（ $P > 0.05$ ）。

结论：中药复方颗粒穴位贴敷联合抗生素治疗效果更佳，值得临床推广应用。

关键字 中药复方颗粒；细菌性肺炎；穴位贴敷；nCD64；儿童

一种快速预测血液感染疾病中微生物的药敏检测系统

桑玉玉

南通市中医院

目的：建立一种快速预测血液感染疾病中微生物的药敏检测系统。

方法：本研究拟将血液感染疾病患者的血培养标本直接用普通分离胶促凝管抽取，菌体富集后直接利用MALDI-TOF MS技术鉴定菌种。将本院在用的东华LIS系统与EXCEL表格的筛选功能联合应用，建立一个本院专属的微生物动态药物敏感数据库。将血培养的质谱分析鉴定菌种结果输入本研究建立的微生物药敏动态数据库中，直接查找到本院该菌的可能敏感性药物，先发出血培养微生物药敏分析的初步报告，提供给临床作为经验用药的参考依据。待普通药敏报告发出后，其作为患者的最终报告，验证初步报告的正确性，并供临床调整用药。

结果：经验证，MALDI-TOF MS技术鉴定出菌种后，利用本院建立的动态药敏数据库初步出具的药敏报告，和普通培养鉴定后的药敏数据一致度较高，缩短了菌种鉴定及药敏报告时间，降低了人体内感染性菌体耐药性出现的机率，对临床实施精准治疗的意义重大。

讨论：本实验研究的分离胶促凝管法富集血培养阳性标本的菌体，抽取疑似菌血症患者的血标本于分离胶促凝管中直接进行菌体富集，再将其用质谱分析法鉴定菌种，省去了将细菌纯分、培养的时间，同时降低了试剂成本，极大地缩短了临床微生物鉴定菌体的时间。基于飞行时间质谱技术的Smart MS 5020质谱分析仪具有高通量、快速、准确、宽谱的特点，能通过细菌直接将菌种鉴定到种属水平，改变了传统的微生物技术带来的认识局限性，提升了慢生长菌及难鉴定菌的检测效率，并有可能让流行病学的分析更简快捷本实验建立的药敏数据库方法缩短了检测血液微生物的药敏时间，为抢救疑似菌血症人创造了“黄金时间”，同时为临床的经验性用药提供了可靠依据。

当然，虽然本院自建的药敏数据库在一定程度上缩减了本院病人用药时间，为医生的及时救助提供了较为可靠的依据，但是由于本院的病种及病源相对较少，数据库相对局限，我们还需根据日常工作量对数据库进行动态删减。且MALDI-TOF MS技术对于菌种的鉴定能力普遍强于传统的鉴定方式，但也存在一定的局限性，主要取决于数据库的完整程度和质量。随着数据库的不断扩展和计算方法的改善，我们坚信这些局限性会逐渐减少。

关键字 MALDI-TOF MS；药敏试验

基于LAMP-NALF技术建立儿童人腺病毒3型感染的 新型病原学检测策略的研究

恽琪、顾猛

常州市第六人民医院常州市儿童医院

目的：基于环介导等温扩增（LAMP）与核酸侧向层析技术（NALF）建立儿童呼吸道感染腺病毒的快速、便捷、精准的可视化病原体检测方案。

方法：分析呼吸道感染患儿病原体tNGS检测结果，探究本地区儿童感染腺病毒的流行血清型。在此基础上，以腺病毒六邻体基因（Hexon）为检测靶标设计多组LAMP引物，通过比较荧光CT值筛选最佳引物组合，添加dUTP/UDG酶改良反应体系以及探索最适反应温度优化扩增程序，达到病原体分子靶标的高效扩增，进一步结合NALF，利用链霉亲和素包被的红色乳胶微粒吸附生物素修饰的阳性核酸扩增产物，通过免疫层析技术实现不依赖于仪器的可视化核酸检测。最后围绕该方案的灵敏度、特异性、方法学一致性评价进行系列验证。

结果：这一时期本地区儿童感染腺病毒主要为血清型3型，筛选出LAMP最佳引物组最适扩增温度为65℃，联合LAMP与NALF可检出飞克级浓度的Hexon基因阳性质粒，同时与其它5类儿童常见呼吸道病原体无交叉反应。LAMP-NALF技术与tNGS/qPCR法在100例呼吸道感染患儿临床标本中检出腺病毒的符合率为95%。

结论：联合LAMP与NALF技术可以实现人腺病毒3型快速、便捷、精准的可视化检测，为临床腺病毒感染患儿的病原学诊断提供有力支撑，本研究可以为病原体即时检测方案提供思路。

关键字 关键词：人腺病毒3型；LAMP；NALF；tNGS；POCT

2016-2023年常州恙虫病的临床特征和实验室诊断

杨慧

常州市第三人民医院

目的：探讨恙虫病患者的诊断方法和临床特点。

方法：选择常州市某医院2016年至2023年50例恙虫病患者，回顾性分析患者的数据，采用受试者工作特征（ROC）曲线分析恙虫病的感染生物标志物。

结果：56.00%的病例为男性,以中、老年患者为主。每年的病例数和年发病率逐年增加。患者有明确的流行病学接触史占80%，主要是野外草地活动史。临床上恙虫病呈季节性发病，病例主要集中在10月-12月份。临床特征以发热伴畏寒、皮肤焦痂伴皮疹、头痛、纳差乏力和淋巴结肿大为主，其中发热伴畏寒占92%（46/50）。在女性中，焦痂主要出现在腹部，其次是胸部；然而，男性焦痂的分布各不相同，主要见于胸前，腹部，腠窝，颈部，下肢。主要并发症是肝功能障碍，占46.00%。实验室结果显示,AST升高（70.95 ± 62.92U/L），占73.81%（31/42）；LDH-H升高（346.25 ± 136.59U/L），占71.43%（30/42）；ALT升高（81.55 ± 85.51U/L），占64.29%（27/42）；CRP升高（43.28 ± 39.32 mg/L），占

80.95%(34/42); SAA升高 (269.64 ± 202.46 mg/L), 占94.12%(16/17); PCT升高 (3.73 ± 9.67 ng/mL), 占80.00% (12/15); FER升高 (733.12 ± 474.13 ng/mL), 占90.00% (18/20); ESR升高 (27.68 ± 13.5 mm/h), 占92.86% (22/36); D-二聚体升高 (2.89 ± 3.39 ug/ml), 占96.67% (29/30); β 2-MG升高 (3.65 ± 1.28 mg/L), 占60.00% (18/30)。ALB降低 (35.01 ± 5.97 g/L), 占85.71% (36/42); PA降低 (15.29 ± 6.78 mg/L), 占76.19% (32/42); Fe降低 (7.77 ± 4.64 umol/L), 占59.52% (25/42)。白细胞计数正常。50例患者血培养、呼吸道标本培养、肺泡灌洗液培养结果均为阴性。36例ELISA检测恙虫病阳性。20例患者mNGS检测到恙虫病东方体。胸部影像学异常占60.00%; 腹部B超检查异常27例。ROC分析表明当FER的临界值为167.14 ng/mL时, 约登指数最大值为0.950, 敏感度和特异度分别为95.00%和95.00%。50例患者中出现首诊误诊19例 (38.00%), 其中误诊为上呼吸道感染或流行性感冒为18例。入院前平均发热时间为 8.8 ± 4.1 天。治疗以多西环素联合复方冬草口服液治疗最常见, 药物治疗方案的平均治疗时间为10天。50例患者治愈、好转。

结论: 恙虫病临床表现多样, 患者有流行病学史。实验室检测无特异性。临床应开拓诊疗思路。

关键字 恙虫病; 斑疹伤寒; 临床特点; 感染生物标志物

宏基因组测序诊断鹦鹉热衣原体肺部感染

杨慧

常州市第三人民医院

目的: 探讨宏基因组二代测序在鹦鹉热衣原体肺炎早期诊治中的意义以及了解鹦鹉热衣原体肺炎患者的临床特点。

方法: 本文回顾性分析了2021年1月至2023年06月在常州市第三人民医院宏基因组二代测序 (Metagenomic next-generation sequencing, mNGS) 检测的433个肺泡灌洗液样品。回顾性分析鹦鹉热衣原体肺炎患者的临床资料, 包括流行病学特征、临床表现、实验室检测结果、治疗及预后。

结果: 常州市第三人民医院2021年1月至2023年06月mNGS检测的10个肺泡灌洗液样品 (10/433, 2.3%) 呈鹦鹉热衣原体阳性。8例患者为男性 (8/10, 80%), 平均年龄为58岁。鹦鹉热患者有明确流行病学的接触史, 主要是禽类接触史占80% (8/10)。所有鹦鹉热患者急性起病, 均住院治疗, 以发热 (10/10, 100%)、乏力 (9/10, 90%)、头痛 (6/10, 60%)、咳嗽 (6/10, 60%) 和纳差 (4/10, 40%) 为主。其中1例患者并发胸闷, 1例患者合并四肢末梢发麻。一例患者并发症为严重的急性肾衰竭。实验室结果显示, CRP升高 (104.09 ± 82.19) mg/L, 占100%(10/10); IL-6升高 (57.55 ± 34.37) pg/mL, 占100%(4/4); SAA升高 (872.38 ± 493.58) mg/L, 占80%(8/10); 中性粒细胞百分比升高 ($84.5\% \pm 5.53\%$), 占60% (6/10); GGT升高 (118.11 ± 80.37) U/L, 占60% (6/10); 白细胞计数、降钙素原 (PCT) 仅有1例升高; 淋巴细胞百分比降低 ($10.68\% \pm 4.58\%$), 占80% (8/10)。患者影像学检查异常, 最常显示肺叶浸润。胸部计算机体层成像 (CT) 显示患者单侧肺部受累, 以肺部单个肺叶实变、斑片状模糊影为主, 以下叶感染多见 (7例)。10例患者血培养、呼吸道标本培养、肺泡灌洗液培养结果均为阴性。10例患者肺泡灌洗液mNGS均检测到鹦鹉热衣原体, 以多西环素联合莫西沙星或奥玛环素治疗, 10例患者治愈、好转。

结论: 鹦鹉热临床表现多样, 患者有流行病学史。实验室检测无特异性。临床应开拓诊疗思路。

一种用于尿路感染的自动快速尿液培养方法的评价

梁昕怡、康海全

徐州医科大学

目的：评价尿液标本使用HB&L快速培养联合尿常规在尿路感染（UTI Urinary tract infection）诊治中的性能。

方法：收集2024年4月-5月在徐州医科大学尿常规标本，对于尿常规发现疑似尿路感染的202例患者作为研究对象，采集其尿液标本，分别采用HB&L微生物快速培养与尿培养，以尿培养作为诊断尿路感染诊断金标准，对比两者结果一致性，以及评估尿常规检查（白细胞酯酶、亚硝酸盐、尿蛋白、尿沉渣等）联合HB&L快速培养在尿路感染诊断与治疗中的性能。

结果：202例患者尿液标本中4.5小时内HB&L微生物培养仪共检出177份，尿培养阳性检出率（48/177 27.12%）与HB&L微生物培养仪阳性检出率（47/177 26.55%）比较，差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），且HB&L微生物培养仪检测敏感性97.87%，特异性98.46%，阳性预测值95.83%，阴性预测值98.46%，5小时HB&L微生物培养仪检出202份，尿培养阳性检出率（73/202 36.14%）与HB&L微生物培养仪阳性检出率（47/202 23.27%）比较，差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），且HB&L微生物培养仪检测敏感性97.87%，特异性82.58%，阳性预测值63.01%，阴性预测值82.58%。通过结果分析可知，HB&L快速培养系统可显著缩短尿路感染的诊断时间，可知强阳性样本在45min即可报阳，4.5h可给出阴性诊断，而传统尿细菌培养结果至少需要24小时，48小时后才可获得抗生素敏感结果，HB&L快速培养系统检测时间明显短于尿培养，能够有效缩短培养时间，从而极大缩短检验结果报告时间，实现尿路感染5小时内快速诊断，提高尿路感染临床诊断效率。此外，HB&L微生物培养仪培养对于尿路感染的检测，5小时内检出样本量更大，但4.5小时内HB&L系统在UTI诊断方面的准确度和灵敏度似乎更高，其阳性预测值95.83%，阴性预测值98.46%，提示HB&L微生物培养仪对于诊断UTI具有重要应用价值。

讨论：判定对于UTI的诊断，HB&L微生物培养仪可大幅度缩短培养时间，菌株检出率高，为UTI的诊断和给出合理用药方案，提供有力可靠的实验室数据支撑并赢得了宝贵时间。然而，本研究标本容量较小，部分菌株数量较少，检出菌株多局限于单一细菌感染，检测结果可能存在一定误差，下一步将扩大标本容量，并进一步完善多重菌感染检测并将其与药敏试验相结合，进行大规模临床研究。

关键字 HB&L;尿路感染;尿常规检测

新冠假病毒包装系统及中和抗体细胞检测系统优化

阳晶晶¹、李盼²、马艳¹、于莹²、王悦¹、孙迎娣²、曾晨²、田扬²、孙阳²、郭峰¹

1. 徐州医科大学，江苏省免疫与代谢重点实验室

2. 徐州医科大学，江苏省肿瘤生物治疗研究所

目前随着新型冠状病毒（SARS-CoV-2）突变株不断出现，感染人数再度攀升，造成了全球公共卫生安全的重大挑战。SARS-CoV-2是经呼吸道传播的单正链RNA病毒，通过表面的刺突（Spike, S）蛋白与细胞表面的血管紧张素转化酶2（ACE2）受体结合入侵细胞；而机体通过产生中和抗体结合病毒的S

蛋白,从而抑制SARS-CoV-2结合ACE2受体,降低病毒感染宿主细胞的能力,因此血清中中和抗体的水平可以提示机体对SARS-CoV-2的抵抗能力。通过检测群体中和抗体的水平可以了解人群的整体免疫水平,从而为疫苗的有效性评估及免疫接种策略制定等提供依据。

我们通过改进带有新冠S蛋白和检测标签的假病毒制备系统和中和抗体细胞检测系统,进一步提高了检测效率,提升了检测的安全性及稳定性。具体改造步骤包括:(1)利用水泡性口炎病毒(Vesicular stomatitis virus, VSV)包装系统进行假病毒包装,提升假病毒的产量及安全性。(2)通过实验确认了S蛋白发生棕榈酰化修饰的具体位点为Cys1235/1236,并明确了该位点的棕榈酰化修饰酶;我们通过在包装细胞系中过表达该修饰酶,提高了S蛋白的棕榈酰化修饰水平,提高了新冠假病毒的感染效率。(3)通过增加检测细胞表面ACE2受体的表达量,提高了受体细胞与假病毒结合的能力,增加了检测系统的敏感性和稳定性。

综上所述,我们初步构建了一种敏感度更高,稳定性更好的新冠假病毒包装及中和抗体检测系统,可以为疫苗效果评价、人群免疫水平评估、疫苗接种策略制定等提供一种安全、高效的高通量检测工具。

关键字 新冠病毒;假病毒;刺突蛋白;水泡口炎病毒;中和抗体;灵敏度

· 人体微生态的基础与临床研究 ·

巴利昔单抗联合粪菌移植治疗激素耐药的肠道急性移植物抗宿主病的临床研究

赵晔¹、祁小飞^{1,2}、吴德沛^{1,2,3}

1. 苏州大学附属第一医院; 2. 江苏省血液研究所; 3. 苏州大学造血干细胞移植研究所

目的: 观察巴利昔单抗联合粪菌移植(FMT)治疗激素耐药的肠道急性移植物抗宿主病(aGVHD)的安全性和有效性。

方法: 2023年间, 11例异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后发生激素耐药的肠道aGVHD患者入组, 男性6例, 女性5例, 中位年龄45岁, 同胞全相合造血干细胞移植 2例, 亲缘单倍体造血干细胞移植 9例。患者均接受了清髓性预处理化疗, 常规预防aGVHD治疗, 造血重建顺利。移植后, 患者发生II-IV度肠道aGVHD(其中II度3例, III度3例, IV度5例), 给予甲泼尼龙(2mg.kg⁻¹.d⁻¹)治疗, 在评估为激素耐药后, 应用巴利昔单抗联合无关健康供体来源的FMT进行治疗, 观察其安全性和有效性, 主要观察终点是28天时肠道aGVHD的完全缓解(CR)率。

结果: 11例患者分别接受了2-5剂的巴利昔单抗(20mg/次, d1、d3、d8、此后每周1次)及1-3次的FMT(间隔5-10天)治疗。治疗后28天对患者肠道aGVHD表现进行评估, 7例(63.6%)患者获得了CR, 2例(18.2%)获得了部分缓解(PR), 另2例(18.2%)患者未缓解(NR)。FMT的主要不良反应包括低热、恶心、呕吐、腹部不适等, 但治疗过程中无严重不良事件发生。治疗后, 有6例(54.5%)患者出现新发的CMV感染, 无细菌感染发生。

讨论: 巴利昔单抗联合FMT治疗激素耐药的肠道aGVHD安全、有效, 值得进一步研究。

关键字 巴利昔单抗, 粪菌移植, 肠道急性移植物抗宿主病

一例由鸟肠球菌引发的糖尿病足溃疡患者伤口菌群分析

朱涛、金袁苓、潘强龙、蔡啸

南京医科大学附属逸夫医院

目的: 糖尿病足溃疡是糖尿病的严重并发症, 大多数糖尿病足溃疡患者由于延迟治疗或经验用药往往措施最佳时机, 导致不良预后。本研究是对一例罕见的鸟肠球菌所引发的糖尿病足溃疡伤口感染, 进行伤口菌群动态分析, 通过分子生物学为临床提供有效的诊断和治疗方案。

方法: 采集溃疡底部深层拭子进行细菌培养分离, 使用VITEK® 2系统进行生化反应鉴定与最小抑菌浓度测定。通过16 S rRNA测序菌株, 构建邻接法进化树。对清创组织进行宏基因组微生物菌群多样性分析。

结果: 伤口分离培养菌株鉴定为肠球菌属, 进一步通过患者病理HE染色与MRI证实, 存在明显细菌感染, 16 S rRNA测序结果进行BLAST比对, 比对结果与鸟肠球菌具有较高的同源性, 达100%。邻接

法进化树显示与Enterococcus avium strain E6844株自展值为91。参考CLSI肠球菌属最小抑菌浓度结果为：氨苄西林、环丙沙星、达托霉素、红霉素、高浓度庆大霉素、利奈唑胺、呋喃妥因、奥利万星、青霉素G、利福平、高浓度链霉素、替考拉宁、万古霉素敏感；四环素中介；头孢西丁、头孢罗膦、庆大霉素、复方新诺明耐药。伤口菌群分析显示金黄色葡萄球菌和大肠杆菌丰度在第二次清创组织中比第一次有所降低，按照药敏结果调整抗生素后，第三次清创达到了创口无菌的效果。通过及时有效鉴定、明确诊断、给出可靠精准的药敏结果，能够帮助临床合理使用抗生素，可以更好的控制患者发生院内感染，防止不良预后。

讨论：本次研究，鸟肠杆菌感染与糖尿病足伤口菌群分析相互叠加，增加了其新颖性和临床意义。揭示了鸟肠杆菌分子生物学特征及感染病例的诊疗管理，从而提高临床人员对罕见病原菌的重视，并为临床诊疗提供精准可靠的实验室依据。

关键字 糖尿病足溃疡；鸟肠球菌；伤口菌群；感染控制

Characteristics and Influencing Factors of Intestinal Microbiota in Patients Colonized or Infected with Carbapenem-Resistant Enterobacterale (CRE)

Jun Ji

Department of Laboratory Medicine, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine

Objective This study aims to analyze the characteristics and influencing factors of the intestinal microbiota in patients colonized or infected with Carbapenem-Resistant Enterobacterale (CRE).

Method Stool samples from patients (excluding duplicates) collected between January 1 and April 1, 2024, at Nanjing Drum Tower Hospital were analyzed alongside samples from a healthy control group. CRE screening was performed using MacConkey agar plates supplemented with 0.5 µg/ml meropenem. Suspected CRE strains were identified via Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS). Patients were divided into CRE-positive and non-CRE patient groups (Non_CRE_H), with a concurrent non-CRE control group (Non_CRE_C). Total DNA was extracted from fecal samples for 16S rDNA sequencing to compare the structure and composition of the intestinal microbiota among the groups, clinical data were collected for all groups to analyze the corresponding risk factor.

Results A total of 107 stool samples were collected, including 30 in the CRE group, 54 in the Non_CRE_H group, and 23 in the Non_CRE_C group. The gut microbiota of patients in the CRE group was lower in species abundance and evenness than that in the non-CRE group; further species-level analysis revealed significant differences. Cluster analysis showed that the gut microbiota of the CRE group was clearly separated from the non-CRE group. Statistical analysis showed that factors such as antibiotics ($p < 0.001$) and probiotics use ($p = 0.012$), chronic diseases (hypertension $p = 0.018$) and major surgery ($p = 0.048$) were significantly associated with CRE carriage status ($P < 0.05$), while age, ICU hospitalization, open injury and hospitalization length were not significantly associated with CRE carriage status ($P > 0.05$). In logistics regression analysis, $p = 0.00$ concluded that antibiotic use was an independent risk factor for CRE colonization / infection.

Conclusion Compared to non-CRE patients, significant changes in the diversity and composition of the intestinal microbiota in CRE colonized patients were observed, which could facilitate subsequent infections. Moreover, antibiotic use was identified as an independent risk factor for intestinal CRE colonization/infection.

Key Words Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae; infection; colonization; intestinal flora

嗜黏蛋白阿克曼菌通过调节肝肠轴中的核黄素代谢 减轻肝纤维化

张璐^{1,2}、陈婧^{1,2}、陆翠华²

1. 南通大学; 2. 南通大学附属医院

目的：肝纤维化是进行性慢性肝病各种表现的必然结果，其中肝星状细胞活化导致细胞外基质（Extracellular Matrix, ECM）沉积是多种并发症和随之而来的死亡率的关键因素之一。嗜黏蛋白阿克曼菌（*Akkermansia muciniphila*, AKK）因其在治疗代谢紊乱（如肥胖、糖尿病和代谢性脂肪肝）方面的潜力而备受关注的明星益生菌。然而，AKK菌是否参与肝纤维化的发病机制仍不明确。在本研究中，我们评估了AKK及其代谢作用对肝纤维化发展的潜在贡献。

方法：在本次研究中，本研究探讨了治疗AKK菌干预肝纤维化的作用及机制-四氯化碳（carbon tetrachloride, CCl₄）诱导的肝纤维化小鼠模型，首先通过16S测序、肠屏障相关指标、肠道通透性等检测验证AKK菌通过肠肝轴改善肝纤维化的潜在机制。其次，我们进行了非靶向代谢和宏基因组学分析，以确定AKK菌的通过改善核黄素代谢治疗肝纤维化。最后，通过无菌鼠以及体外实验，明确了核黄素通过调节氧化应激从而抑制肝星状细胞活化和抗肝纤维化的作用。

结果：AKK菌灌胃治疗的小鼠可以有效逆转肝脏中的肝纤维化，如炎症浸润、星状细胞活化和细胞外基质沉积。在抗生素治疗的肝纤维化小鼠中，AKK菌治疗显著改善了肠道屏障功能和通透性，导致肠道微生物群组成的重塑。非靶向代谢组学结果显示，随着从肠道运输到肝脏的核黄素水平增加，肝纤维化指标有所改善。进一步的宏基因组学分析表明，补充AKK可以增强与核黄素代谢相关的菌群（*Clostridium*）和相关酶（如ribA和ribH）的表达。核黄素在体外或小鼠体内的给药显示出类似的治疗效果，通过抗氧化应激以及抑制TGF- β /SMAD2/3通路激活，有效改善了肝纤维化。

结论：本研究通过多组学分析揭示了AKK菌通过调节核黄素代谢来抗氧化应激，并抑制TGF- β /SMAD2/3通路的激活，从而阻碍肝星状细胞的活化。本研究结果提示AKK菌通过肠肝轴改善核黄素代谢抑制ECM沉积，这一发现为治疗肝纤维化提供了一个有前景的途径。

关键字 肝纤维化、肠肝轴、嗜黏蛋白阿克曼菌、核黄素代谢

· 细胞与分子免疫学研究与应用 ·

Multi-omics analysis reveals critical regulators in Ischemic Stroke

Dandan Li

Department of Clinical Laboratory, Affiliated Taikang Xianlin Drum Tower Hospital, Medical School of Nanjing University

Background: The crosstalk between genome-wide DNA methylation and transcriptomic patterns in Ischemic Stroke is largely unknown. A deep understanding of the interactions between epigenetic drivers and gene expression changes will provide novel opportunities for early diagnosis of IS.

Methods: Four Ischemic Stroke specimens with paired normal blood samples were subjected to 850K methylation arrays and RNA-sequencing by next-generation sequencing technology. We applied the methods to multi-omics data combining the DNA methylation and gene expression profile for validation.

Results: We found 1297 differentially methylated (DM) CpG sites including 1089 hypomethylated and 1189 hypermethylated CpG sites in IS versus control samples that vary in frequency across genomic compartment, especially notable in promoters and islands. The results of GO and KEGG enrichment revealed that the methylated genes were associated with some biological processes and pathways. A total of 969 mutated genes in IS were identified. Correlation analysis of differentially methylated probes (DMPs) and differentially expressed genes (DEGs) revealed 15 genes had highly correlated DNA methylation and expression. Two genes, including KIF16B and KIF16B, were further validated potential markers that warrant future studies.

Conclusions: This study provides a comprehensive and systematic analysis, focusing on identifying key markers that may contribute to IS diagnosis. Further understanding and verification of the differentially methylated genes and their role in the progression of IS will help to identify new diagnostic targets.

Key Words Ischemic Stroke, DNA methylation

Deciphering the roles of m6A demethylases FTO and ALKBH5

高泽伟、王胜军

江苏大学附属医院

N6-methyladenosine (m6A) is dynamically regulated by methyltransferases (termed “writers”) and demethylases (referred to as “erasers”), facilitating a reversible modulation. Changes in m6A levels significantly influence cellular functions, such as RNA export from the nucleus, mRNA metabolism, protein synthesis, and RNA

splicing. They are intricately associated with a spectrum of pathologies. Moreover, dysregulation of m6A modulation has emerged as a promising therapeutic target across many diseases. m6A plays a pivotal role in controlling vital downstream molecules and critical biological pathways, contributing to the pathogenesis and evolution of numerous conditions. This review provides an overview of m6A demethylases, explicitly detailing the structural and functional characteristics of FTO and ALKBH5. Additionally, we explore their distinct involvement in various diseases, examine factors regulating their expression, and discuss the progress in inhibitor development.

关键字 m6A, demethylases, FTO, ALKBH5

The Role of Citrullination Modification in CD4+ T cells in the Pathogenesis of Immune-related Diseases

陈宇航、王胜军
江苏大学附属医院

Posttranslational modifications (PTMs) of proteins play a crucial role in increasing the functional diversity of proteins and are associated with the pathogenesis of various diseases. This review focuses on a less explored PTM called citrullination, which involves the conversion of arginine to citrulline. This process is catalyzed by peptidyl arginine deiminases (PADs). Different members of the PAD family have distinct tissue distribution patterns and functions. Citrullination is a post-translational modification of native proteins that can alter their structure and convert them into autoantigens, thus, it mediates the occurrence of autoimmune diseases. CD4+ T cells, including Th1, Th2, and Th17 cells, are important immune cells involved in mediating autoimmune diseases, allergic reactions, and tumor immunity. PADs can induce citrullination in CD4+ T cells, suggesting a role for citrullination in CD4+ T cell subset differentiation and function. Understanding the role of citrullination in CD4+ T cells may provide insights into immune-related diseases and inflammatory processes.

关键字 Citrullination, CD4+ T cells, Immune-related Diseases

剪接因子QKI通过调节E-Syt2的替代剪接抑制甲状腺乳头状癌转移

赵梦亚、陈云
南京医科大学

Alternative splicing (AS) plays a crucial role in the hallmarks of cancer and can open new avenues for targeted therapies. However, the aberrant AS events and the metastatic cascade in papillary thyroid carcinoma (PTC) remain largely unclear. Here, we identify the splicing factor, quaking protein (QKI), which was significantly downregulated in PTC and correlated with poor survival outcomes in patients with PTC. Functional studies indicated that low expression of QKI promoted the PTC cell growth and metastasis in vitro and in vivo. Mechanistically, low QKI

induced exon 14 retention of extended synaptotagmin 2 (E-Syt2) and produced a long isoform transcript (termed E-Syt2L) that acted as an important oncogenic factor of PTC metastasis. Notably, overexpression of long non-coding RNA eosinophil granule ontogeny transcript (EGOT) physically binds to QKI and suppressed its activity by inhibiting ubiquitin specific peptidase 25 (USP25) mediated deubiquitination and subsequent degradation of QKI. Collectively, these data demonstrate the novel mechanistic links between the splicing factor QKI and splicing event in PTC metastasis and support the potential utility of targeting splicing events as a therapeutic strategy for PTC.

关键字 Papillary thyroid carcinoma, QKI, Alternative splicing, E-Syt2, EGOT, USP25

Routine evaluation of HBV-specific T cell reactivity in chronic hepatitis B using a broad-spectrum T-cell epitope peptide library and ELISpot assay

Yandan Wu, Chuanlai Shen
southeast university

Purpose: The clinical routine test of HBV-specific T cell reactivity is still limited for random patients due to the lack of universal detection kit, thus the clinical implication remains disputed.

Methods: An universal ELISpot assay was set up using a peptide library which consists of 103 functionally validated CD8+ T-cell epitopes spanning overall HBsAg, HBeAg, HBx and HBpol proteins and fits to the human leukocyte antigen polymorphisms of China and Northeast Asia populations. 203 CHB patients were detected, and 33 CHB patients were longitudinally detected for 3 times with an interval of 3–5 months.

Results: Although the numbers of reactive HBV-specific T cells in PBMCs presented a significantly declined trend along with gradually increased serum viral DNA loads, HBsAg, HBeAg and ALT levels in CHB patients, but with a very low negative correlation coefficient ($r = -0.21, -0.21, -0.27, -0.079$, respectively). HBsAg-, HBpol-, HBx- or HBeAg-specific T cells maintained the tendencies similar to total HBV-specific T cells. NUCs/IFN- α combination led to much more reactive HBV-specific T cells than NUCs monotherapy. NUCs treatment more than 4 years presented higher reactivity of HBV-specific T cells than the NUCs treatment less than one year, especially TMF treatment, but different NUCs at the same treatment duration did not bring different reactivity of HBV-specific T cells. The dynamic numbers of reactive HBV-specific T cells were obviously increasing in CHB patients undergoing routine treatment, and came along with the gradual decline of serum viral DNA, HBsAg, HBeAg and ALT levels. The longitudinal trend of HBV-specific T cells possess an increased predictive power than the cross-sectional detection for liver function progression in CHB patients.

Conclusion: HBV-specific T cell reactivity mainly depends on host immune defense function rather than viral DNA load and antigens level in CHB patients undergoing routine treatment and their dynamic trend is a valued predictor for liver function progression.

Key Words Chronic hepatitis B, Antigen-specific T cell, T-cell epitopes, ELISpot

肿瘤细胞释放的自噬体（TRAPs） 通过诱导炎症性肿瘤相关成纤维细胞（CAFs）的 形成重塑乳腺癌肿瘤微环境

吴成东、王立新
东南大学

背景：癌相关成纤维细胞（CAFs）是肿瘤微环境中最显著的基质细胞，对肿瘤的发生，发展，转移起着重要作用。然而，CAFs的形成及其在重塑肿瘤微环境中的具体机制尚不清楚。课题组先前的研究表明，乳腺癌原位肿瘤细胞释放的自噬小体(TRAP)经血流到达肺组织中，通过调节肺成纤维细胞的功能形成具有炎性、免疫抑制性的肿瘤转移前微环境，最终促进乳腺癌的肺转移。

目的：本研究旨在探讨TRAPs诱导CAFs形成的机制以及CAFs在乳腺癌肿瘤微环境中的免疫调节作用。

方法：通过高速离心4T1肿瘤细胞培养上清提取TRAPs；从小鼠第四乳脂肪垫中提取原代乳脂肪成纤维细胞（NFs），与TRAPs共培养48小时。通过ELISA测量收集的上清液中的趋化因子。通过流式细胞术（FCM）测量成纤维细胞表面的PD-L1表达和抑制T细胞的能力。使用抗体阻断TRAP表面的DAMPs，预处理的成纤维细胞用抑制剂检测TRAP和NFs之间的配体受体。小鼠实验如下：1）使用表达TRAP低的细胞系（Beclin1 KD/NC）构建荷瘤小鼠；2）将TRAP刺激与否的NFs和4T1细胞混合荷瘤（4T1+NFs、4T1+NFs/TRAP），用FCM检测肿瘤微环境中各种免疫细胞和成纤维细胞的比例和功能，通过磁珠分选成纤维细胞并用q-PCR及ELISA检测趋化因子表达。

结果：体外实验显示，TRAP表面的蛋白（HSP27/70）与NFs上的TLR4结合，通过HSP27/70-TLR4-MYD88-NF- κ B信号级联发挥其功能，分泌更多的CXCL1/2、CXCL9/10、CCL5和表达更高水平的PD-L1。与正常对照组（NC）相比，肿瘤微环境中中性粒细胞和单核细胞的比例减少，相反T细胞增加。此外，T细胞分泌IFN- γ 的能力部分恢复。成纤维细胞表面的PD-L1水平降低，其抑制T细胞的能力减弱。

结论：TRAPs通过分泌CXCL1/2和CCL5来吸引中性粒细胞和单核细胞进入肿瘤微环境，诱导形成炎性和免疫抑制成纤维细胞。此外，TRAPs直接抑制T细胞，最终促成肿瘤微环境的形成。这为肿瘤微环境的信息提供了新的见解。

关键字 肿瘤细胞释放的自噬小体（TRAP）；肿瘤相关成纤维细胞；CXCL1

Research Progress of Dendritic Cells in Hepatocellular Carcinoma Immune Microenvironment

Wenya Li^{1,2}, Guojie Chen^{1,3}, Hailin Peng¹, Qingfang Zhang¹, Dengyun Nie^{1,2},
Ting Guo^{1,2}, Yuhang Zhang⁴, Mei Lin^{1,2}

1. Taizhou People's Hospital affiliated to Nanjing Medical University

2. Nanjing University of Chinese Medicine; 3. Nantong University

4. The First School of Clinical Medicine Southern Medical University

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a common malignant tumor in China and the sixth most common type of cancer worldwide. HCC has an insidious onset, and most patients are often in the advanced stage of the disease when they are diagnosed, at which time, early treatments, including surgical resection and liver transplantation, are no longer applicable. Targeted therapy and immune and immunotherapy are used for advanced treatment. Immunotherapy, in particular, has received widespread attention in recent years, and the use of immune checkpoint inhibitors has significantly improved the prognosis of patients with advanced HCC, and has been used as a first-line treatment in clinical guidelines. Immunotherapy uses the immune system to kill tumors, which is safe and has few side effects. Dendritic cells (DCs), as a kind of immune cells, play a key role in anticancer immunity, bridging innate and adaptive immunity and triggering anti-tumor immune responses by taking up antigens and presenting them to T cells. DCs, as antigen-presenting cells, are able to cross-present antigens to CD8+ T cells and CD4+ T cells through major histocompatibility complex molecules, promoting the proliferation and differentiation of T cells into helper T cells and cytotoxic T cells. However, in the tumor immune microenvironment of HCC, the maturation and antigen-presenting ability of DCs are impaired, resulting in defective T cell-mediated immune responses. Therefore, close attention to the activation and function of DCs can promote T cell activation and thus enhance the anti-hepatocellular carcinoma immune response. Based on the immune characteristics of DCs, in this review, DCs activation and the influencing factors in HCC microenvironment are analyzed and summarized, and the activation strategies for DCs in the context of HCC immunotherapy are outlined, which are instrumental in guiding research on DCs-based immunotherapy for HCC.

Key Words dendritic cells; hepatocellular carcinoma; tumor immunity

基于抑制性受体构建安全可控的双 CAR-NK 系统 及其功能验证

梁勇、唐文静、庄雯、肖冠宇
淮安市第二人民医院

目的：嵌合抗原受体（CAR）细胞在血液系统肿瘤取得了公认的疗效，最近在实体瘤和自身免疫病

治疗方面也有突破性进展,但临床应用过程中易出现脱靶毒性(OTOT, on-target off-tumor toxicity),严重威胁到患者生命安危。研究发现,通过改造 CAR 结构增加识别靶标,利用 NOT 逻辑门可以限制效应细胞的过度活化。我们研究的靶向 B7H3 非 EMCN 逻辑门控 CAR NK 细胞治疗方法旨在提高免疫细胞对肿瘤细胞杀伤力的同时利用胞内抑制性受体减少脱靶效应带来的不良反应。

方法: 1.构建表达 EMCN 膜蛋白的慢病毒载体,通过流式细胞术、荧光显微镜、共聚焦显微镜和 WB 验证过表达细胞系。2.通过分子克隆技术设计抑制性 CAR 结构。将其构建在逆转录病毒载体,感染扩增至第六天的 NK 细胞,获得高 CAR 阳性率的 CAR NK 细胞。3.筛选 CAR 结构中不同抑制性胞内结构域并验证其功能。4.通过 CD107a 脱颗粒、胞内细胞因子及 RTCA 检测比较 NK、CAR NK 细胞在不同效靶比下对表达 EMCN 细胞的杀伤或者抑制效果。5.构建 NSG 小鼠卵巢癌皮下瘤模型,体内评价 NK 细胞、CAR NK 细胞对是否表达 EMCN 的细胞存在不同抑制效果。

结果: 1.构建出 EMCN 过表达细胞系,利用流式细胞术、荧光显微镜、共聚焦显微镜和 WB 验证蛋白成功表达在细胞膜表面。2.制备靶向 B7H3 的 CAR NK 细胞(B7H3 CAR NK)、以 KIR2DL1 为胞内抑制性结构域的同时靶向 B7H3 和 EMCN 的双 CAR NK 细胞(B7H3-EMCN CAR NK)以及仅靶向 EMCN 的 NK 细胞(EMCN CAR NK): 三种细胞感染 48 小时后 CAR 阳性率均可达 80%。CD107a 脱颗粒检测表明 B7H3-EMCN CAR NK 细胞相较于 B7H3 CAR NK 细胞对高表达 EMCN 细胞的杀伤存在明显的抑制。RTCA 结果显示: 即使是在效靶比降低的情况下, B7H3-EMCN CAR NK 细胞仍能有效的杀伤表达 B7H3 的肿瘤细胞,但对高表达 EMCN 的肿瘤细胞的杀伤抑制效果不明显,即保护作用较弱。3.筛选胞内抑制性结构域为 KIR3DL1、TIGIT、Siglec-7、Siglec-9 的抑制性 CAR。CD107a 脱颗粒实验结果表明在不同效靶比共培养下 EMCN CAR NK 细胞中 KIR3DL1 和 Siglec-9 作为胞内抑制性结构域的抑制效果较好。4.制备优化的不同胞内抑制性结构域的 B7H3-EMCN CAR NK 细胞: 设计构建了以 KIR3DL1 和 Siglec-9 为胞内结构域的 B7H3-EMCN CAR NK 细胞。CD107a 脱颗粒实验结果表明含有 KIR3DL1 胞内抑制性结构域的 B7H3 EMCN CAR NK 细胞对过表达 EMCN 的细胞有较明显的抑制杀伤的效果。胞内细胞因子分泌检测发现含有 KIR3DL1 胞内结构域的 B7H3-EMCN CAR NK 对过表达 EMCN 的肿瘤细胞杀伤存在较为明显的抑制,即分泌 TNF- α 和 IFN- γ 较少,并且对仅表达 B7H3 的细胞杀伤效果与 B7H3 CAR NK 细胞无差异。RTCA 结果也证实了含有 KIR3DL1 胞内结构域的 B7H3-EMCN CAR NK 能选择性抑制对高表达 EMCN 肿瘤细胞的杀伤作用,表现出较优的安全保护作用。6.NSG 卵巢癌皮下瘤小鼠模型体内评估 B7H3-EMCN CAR NK 细胞的选择性抑瘤能力。结果可见: 与对照组相比, B7H3-EMCN CAR NK 细胞治疗可以显著抑制仅高表达 B7H3 细胞生长,且能选择性保护高表达 EMCN 的细胞。

结论: 1.设计不同胞内抑制性结构域的 EMCN CAR NK 细胞,筛选出 KIR3DL1 和 Siglec-9 作为胞内抑制性结构域的抑制效果较好,筛选出较优的含有 KIR3DL1 的 B7H3-EMCN CAR NK 细胞能在体内外有效杀伤仅表达 B7H3 的细胞而保护过表达 EMCN 的细胞。

关键字 NK; B7H3; CAR NK; EMCN; 逻辑门; 安全性

分子实验室PCR仪规范化校准与质量控制

涂海霞、朱涛

南京医科大学附属逸夫医院

目的: 在检验科分子实验室中, PCR 仪器是不可或缺的工具。确保这些精密设备提供可靠结果的关键在于严格的校准过程。本文将探讨现行的校准标准, 比较它们在 PCR 仪校准(温度校准、荧光校准和

整机性能方面)的相同之处与不同之处。

方法:我们参考多种PCR仪说明书对仪器校准的需求,以及JJF 1527-2015《聚合酶链反应分析仪校准规范》、YY/T 1173-2010《聚合酶链反应分析仪》校准规范和JJF(苏)222-2019《实时荧光定量PCR仪校准规范》,对校准参数进行分析。

结果:目前,检验科PCR仪校准大多由计量单位进行,且大多都是依据JJF 1527-2015《聚合酶链反应分析仪校准规范》的标准进行检测。JJF 1527-2015对PCR仪的温度校准包括温度示值误差、温度均匀度、平均升温速率和平均降温速率。对荧光检测系统和整机性能的校准是通过样本示值误差和样本线性的检测实现的。其通过使用质粒DNA标准物质或者核糖核酸标准物质,配制至少5个梯度的未知样溶液进行校准;YY/T 1173-2010和JJF(苏)222-2019在JJF 1527-2015的基础上进行了校准参数的补充。YY/T 1173-2010是另一个目前使用较广泛的校准标准,其对PCR仪的温度校准包括升温速率、降温速率、模型温度均匀性、模块控温精度、温度准确度及温度持续时间准确度。荧光校准包括荧光强度检测重复性、精密度。整机性能校准包括不同通道荧光干扰、样本检测重复性、线性-样本线性、线性-荧光线性;JJF(苏)222-2019是江苏省地方规范,其对PCR仪的温度校准在JJF 1527-2015基础上,增加了温度过冲量和温度波动性的校准。它将对荧光定量检测分成物理项目和生物化学项目的校准,物理项目包括Ct值示值误差、Ct值均匀度、Ct值精密度、通道峰值高度一致性、线性灵敏系数、熔解温度漂移、熔解温度比等,生物化学项目包括荧光强度精密度、样本精密度、荧光线性相关系数、样本线性相关系数等。目前,由于标准物质保存具有难度,PCR仪荧光检测系统的校准逐渐由生物化学方法转向物理光学方法。

讨论:使用标准物质的校准方法对PCR仪进行校准,其操作过程受多种因素影响,如使用的荧光试剂、PCR反应体系、人工操作(试剂稀释)等都给测量结果引入一定的误差。因此,单纯参考JJF 1527-2015使用样本示值误差和样本线性进行PCR仪校准,对于荧光定量校准是不全面的。YY/T 1173-2010和JJF(苏)222-2019更能满足PCR仪的校准要求。具体校准参数,也应根据PCR仪的工作原理设置不同的分析参数,以满足临床检测的需要,为精准医疗做好分析前的质量工作。

关键字 PCR仪;仪器校准;质量控制

CGI-58缺失通过SETDB1下调ETS1表达抑制NK细胞的发育和功能成熟

胡翔宇、胡春苗、路国涛、龚卫娟
扬州大学医学院

研究背景:淋巴细胞的功能受到局部微环境和自身能量代谢变化的调控。前期,我们发现高脂微环境诱导NK细胞代谢重编程抑制NK细胞的功能。比较基因识别58(comparative gene identification 58, CGI-58)与甘油三酯脂肪酶结合是启动细胞内甘油三酯分解的关键环节。CGI-58介导的胞内脂代谢对NK细胞活性的调控作用目前尚不明确。

研究目的:探讨CGI-58基于胞内脂代谢对NK细胞活性和功能的调控作用及其机制。

研究方法:分析CGI-58缺失对NK细胞发育和功能的影响。通过转录组、代谢组和ATAC测序探讨CGI-58缺失影响NK细胞发育和功能的分子机制。通过人群结肠癌标本和体内外模型分析肿瘤微环境对NK细胞CGI-58的调控作用。通过特异性抑制剂明确靶向抑制SETDB1对肿瘤浸润NK细胞功能的改善作

用。

研究结果：与对照小鼠相比，在NK细胞特异性缺失CGI-58小鼠中CD3-NKp46+细胞的频率和绝对数显著下降，其活性和功能受到下调，在骨髓中的发育受到阻滞。我们通过转录组测序分析发现，CGI-58缺失NK细胞发育的关键转录因子ETS1表达显著下调。通过非靶向代谢组学和靶向代谢组学分析发现，CGI-58缺失NK细胞脂肪酸合成增加，并且胞内硬脂酸(SA)含量增加。进一步研究发现，SA诱导组蛋白甲基转移酶SETDB1通过增加H3K9的甲基化下调ETS1的表达，导致NK细胞发育阻滞和功能障碍。另外，随着肿瘤的进展，人结肠癌标本中NK细胞CGI-58表达下调。体外模拟肿瘤微环境能够降低NK细胞CGI-58表达。最后，靶向抑制SETDB1能够改善CGI-58缺失NK细胞的发育和功能，并抑制移植瘤的生长。

研究结论：CGI58缺失诱导NK细胞胞内SA增加，通过组蛋白甲基转移酶SETDB1下调ETS1的表达，导致NK细胞发育阻滞和功能障碍。

关键字 NK细胞；CGI-58；代谢；ETS1；肿瘤

探究男性患者人乳头瘤病毒（HPV）拭子 不同浸泡时间以及比较不同温度放置时长对检测的影响

朱涛、王守星、涂海霞

南京医科大学附属逸夫医院

目的：探讨在进行男性患者人乳头瘤病毒（HPV）标本实验检测中，男性患者采样拭子在保存液中不同浸泡时间、以及放置温度时长对检验结果的影响，继而为其精准检测提供数据支持。

方法：分析南京市江宁区某三级医院2024年7月-2024年8月30例临床男性患者 HPV采样检测情况，利用多通道实时荧光定量聚合酶链反应（PCR）进行 HPV-DNA分型检测，检测型别包括17种HPV高危型（HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、53、56、58、59、66、68、73、82）及7种HPV低危型（HPV6、11、42、43、44、81、83），统计分析男性患者HPV采样拭子在保存液的不同放置时间（5min、10min、15min、20min、30min、40min、60min），以及比较男性患者采样拭子常温放置24h、48h对者HPV-DNA内参和检出分型的影响。

结果：①在浸泡时间方面，在保存液浸泡40min、60min男性患者HPV-DNA内参和检出分型Ct值明显低于5min、10min,差异有统计学意义（ $P<0.05$ ），40min和60min无明显统计学差异（ $P>0.05$ ）；②在常温放置时长方面,常温放置24h与2-8° 冷藏放置相比，HPV-DNA内参和检出分型Ct值无明显统计学差异（ $P>0.05$ ）；常温放置48h，HPV-DNA内参和检出分型Ct值有明显统计学差异（ $P<0.05$ ）。

讨论：男性患者人乳头瘤病毒（HPV）标本采样后在保存液浸泡时间过短，以及在常温放置时间过长，会对结果检出造成影响，需要至少浸泡40min,并且采取正确的保存温度和时长，以确保检测结果的可靠准确，更好的为临床提供精准的诊疗服务。

关键字 男性；人乳头瘤病毒；浸泡时间；温度；精准诊疗

奥氮平对3T3-L1脂肪细胞分泌炎症因子的影响

徐广峰

淮安市第三人民医院

目的：精神分裂症是一种常见的精神障碍性疾病，具有高复发率、高致残率、慢性、迁延难愈等特点，其发病机制尚不完全明确。临床上对精神分裂症患者治疗以药物为主，其中非典型抗精神病药奥氮平应用广泛。但奥氮平使用过程中容易引起患者肥胖及其相关并发症的发生，本研究探讨了不同浓度水平奥氮平对3T3-L1脂肪细胞分泌炎症因子的影响。

方法：采用DMEM高糖培养基加入10%的胎牛血清和1%的P/S溶液配制成完全培养基，在37℃、5% CO₂环境下培养3T3-L1前体脂肪细胞，每两天更换完全培养基一次，待细胞完全融合后，采用PBS清洗细胞两次。采用1-甲基-3-异丁基黄嘌呤(MIX)、地塞米松、胰岛素方案诱导3T3-L1前体脂肪细胞向成熟脂肪细胞分化，分别采用2.5、5.0、10.0 μM奥氮平干预成熟脂肪细胞，分别收集干预后12、24、48、72h的细胞培养液，采用R&D公司的ELISA试剂盒分别检测脂联素、肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-6和白细胞介素-10表达水平。采用SPSS16.0进行数据统计，计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，不同浓度奥氮平干预组与对照组比较采用配对t检验，各组检测指标随时间变化趋势采用方差分析， $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果：采用不同浓度奥氮平干预成熟脂肪细胞后，各组细胞上清液中IL-6及IL-10含量随干预时间增加逐渐增加。脂肪细胞随着不同浓度奥氮平的加入，干预24 h后，在不同时间点收集的上清液中IL-6及IL-10含量开始出现差异，IL-6至干预72 h，差异有统计学意义，相较于对照组，以奥氮平5.0 μM组变化最为显著。IL-10至干预48 h，差异有统计学意义，对照组VS 10.0 μM组在干预72 h，差异有统计学意义，相较于对照组以奥氮平2.5和5.0 μM组变化较为显著。采用不同浓度奥氮平干预成熟脂肪细胞后，在干预后不同点上清液中均为检测到Adiponectin。而在干预后不同点上清液中TNF-α浓度均较低，无法计算浓度，未做进一步分析。

讨论：奥氮平在精神分裂症患者发生肥胖过程中发挥独特的代谢作用，涉及奥氮平致肥胖相关代谢紊乱的人体、动物、细胞研究见诸报道，但其分子机制复杂且不完全清楚。IL-6、TNF-α是最常见的促炎因子。而脂肪源性IL-10可能在女性肥胖相关的慢性炎症中发挥保护作用，Adiponectin亦是一种重要的脂肪源性细胞因子。关于奥氮平影响脂肪细胞分泌脂源性细胞因子的研究也见诸报道。有研究表明，奥氮平能够促进脂肪细胞瘦素基因的表达，而未对脂肪细胞的分化产生影响。本研究提示奥氮平可能通过促进脂肪细胞分泌IL-6和抑制分泌IL-10而参与奥氮平所致的肥胖相关代谢紊乱。

关键字 奥氮平；精神分裂症；IL-6；IL-10

2型糖尿病患者外周血淋巴亚群 及细胞因子水平与疾病进展的相关性分析

唐瑶、于青云、李妍、王守星、韩忠燕
南京医科大学附属逸夫医院

目的：临床常用免疫指标以监测免疫状态和疗效，然而检测指标的稳定性、灵敏性和特异性相差较大，给临床诊断和疗效监测带来一定的困惑。因此，本研究旨在探讨2型糖尿病（T2D）患者外周血淋巴亚群、细胞因子和NKG2D表达水平的变化及其与糖化血红蛋白之间的相关性，分析它们与血糖控制、疾病治疗与进展的相关性，为T2D患者免疫疗法的治疗与预后提供理论依据。

方法：依据《美国糖尿病学会2019年版糖尿病医学诊疗标准》诊断标准，选取该院2019年7月至10月2型糖尿病患者65例作为疾病组，年龄范围30~62岁，平均年龄[51.00（40.00，57.00）]岁，其中男性30例，女性35例。根据《中国2型糖尿病防治指南（2020年版）》中糖尿病的控制目标标准，按HbA1c控制程度将T2D组进一步分为三组：控制理想组（T1；N=25；HbA1c<6.5%）、控制良好组（T2；N=19；6.5%≤HbA1c≤7.5%）和控制差组（T3；N=21；HbA1c>7.5%）。选取60例同期健康体检中心性别、年龄匹配的健康体检者，年龄范围30~62岁，平均年龄[51.00（36.00，55.25）]岁，其中男性28例，女性32例。对照组和T2D组性别、年龄、血压均无统计学差异（P>0.05）。用流式细胞术检测全血淋巴亚群和NKG2D及血清细胞因子表达水平，并进行差异化分析。

结果：与ND组相比，T2D组NKG2D、CD3-CD19+、CD3+CD16+CD56+细胞比例及细胞因子IL-1β、IL-17表达水平升高，IL-10水平降低，且在T2D亚组间表达具有显著差异（p<0.05），其中NKG2D、IL-17、CD3-CD19+、CD3+CD16+CD56+、细胞比例及水平与糖化血红蛋白有良好的相关性（r分别为0.4610、0.5301、0.4884和0.4543），差异有显著的统计学意义（p<0.05）。

结论：检测外周血淋巴亚群、NKG2D和细胞因子的表达水平，对了解T2D患者免疫功能及血糖控制情况有一定的临床价值，可为T2D患者的免疫治疗和疗效监测提供依据，从而优化血糖控制用药方案。

关键字 2型糖尿病；淋巴亚群；细胞因子；NKG2D；糖化血红蛋白

N4BP1通过编码序列介导底物mRNA的降解

郑雯
南通大学

目的：核糖核酸内切酶（RNases）参与真核生物细胞核和细胞质RNA代谢的多个过程，特定RNases通过控制目标转录物的表达量变化进而精细调控RNA的稳定性和降解，在塑造疾病进展方面发挥至关重要的作用。Regnase-1作为一种RNase，可调节机体免疫细胞的激活，维持免疫稳态。Regnase-1识别并切割3' UTR中具有特定茎环结构的mRNA，并且在此过程中需要UPF1的解旋酶功能来解开茎环结构。N4BP1属于Regnase-1同家族成员，拥有类似的NYN RNase结构域。在小鼠银屑病模型中N4BP1通过下

游靶mRNA如Fos-C, Fos-B, JunB和CXCL1等来限制皮肤炎症,但它如何特异地识别和降解靶mRNA尚不清楚。本论文将进一步明确N4BP1的目标mRNA,鉴定N4BP1的识别基序和N4BP1负责mRNA识别和(或)降解的结构域,寻找N4BP1的关联蛋白,最终阐明N4BP1调控靶mRNA降解的分子机制。

方法:1、使用CRISPR-Cas9技术在人永生化角质形成细胞(HaCaT)和HEK293T中敲除N4BP1,RT-PCR检测先前在小鼠银屑病模型中预测的靶mRNA变化;2、构建编码包括靶标mRNA CDS区域和3' UTR的表达载体以及单独表达靶mRNA CDS区域的表达载体,在HEK293T细胞中与N4BP1共表达,检测靶标基因的表达水平;3、构建表达N4BP1蛋白的不同结构域缺失质粒和重要结构域中关键氨基酸残基突变质粒,在HEK293T中与靶标基因共表达,明确N4BP1识别和(或)降解靶标的结构域;4、敲除预测参与降解途径的蛋白分子,验证N4BP1对底物的降解作用是否减弱,判断该预测分子的作用。

结果:1、在HaCaT细胞中敲除N4BP1显著上调了Fos-C和Fos-B的mRNA水平;在HEK293T细胞中敲除N4BP1,Fos-C、JunB和CXCL1有所上调;2、过表达N4BP1可显著抑制HEK293T细胞中Fos-C-CDS的转录本;3、全长N4BP1以剂量依赖性方式抑制Fos-C的转录本的mRNA和蛋白表达,但缺失KH结构域或NYN结构域的突变体未能显著抑制;4、G71D突变体能有效抑制Fos-C,G93D和D623N突变体失去了抑制功能;5、在用NMDI14抑制无义介导的mRNA降解通路时,N4BP1依然能有效地抑制Fos-C的表达;6、N4BP1可有效抑制UPF-1缺陷细胞中Fos-C的转录本,在UPF3A缺陷细胞,以及UPF3B缺陷细胞同样如此。

讨论:本文中我们证明无论是在皮肤的角质形成细胞还是HTK293T细胞中N4BP1对Fos-C和Fos-B的mRNA均有限制作用。RNases对mRNA的识别通常发生在3' UTR中,为此我们通过构建单独表达靶mRNA编码区的质粒来探究N4BP1的识别序列,有趣的是,实验表明N4BP1介导的mRNA降解发生在编码区而非3' UTR,并且KH结构域的RNA结合活性和NYN结构域的内切酶活性是N4BP1功能所必需的。与同家族Regnase-1不同,N4BP1的作用机制不依赖UPF蛋白的参与,因此与无义介导的mRNA降解通路无关。

关键字 N4BP1、核糖核酸内切酶、NYN 结构域、mRNA降解、CDS

TRIM31对肝癌细胞放疗敏感性的影响

景蓉蓉、肖琳

南通大学附属医院

目的:1.分析TRIM31在肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)中的表达及其与临床病理特征的关联性;分析TRIM31对肝细胞癌患者预后的作用;对肝癌细胞株中的TRIM31表达水平进行检测。2.探究TRIM31对肝癌细胞的生物学功能及分子机制研究。3.探究TRIM31调节ROS稳态和提高肿瘤细胞放疗敏感性的机制。

方法:1.免疫组织化学染色检测TRIM31在肝细胞癌和癌旁组织中的表达;Kaplan-Meier plotter预测TRIM31的表达对肝细胞癌患者预后的影响;实时荧光定量PCR检测TRIM31在肝正常细胞和肝癌细胞中的表达。2.构建TRIM31的干扰和过表达质粒载体,利用CCK-8、EdU、细胞活性和毒性实验测定TRIM31对肝癌细胞增殖能力的影响;活性氧(ROS)检测TRIM31对胃癌细胞中ROS的变化;细胞免疫荧光实验分析TRIM31调节ROS稳态的分子机制。3.利用细胞生存率、ROS检测、细胞活性和毒性实验、DNA损伤实验验证靶向TRIM31联合放疗对肝癌细胞的影响;细胞免疫荧光分析TRIM31与c-MYC蛋白以及Wnt/ β -catenin信号通路之间的相关性。

结果：1. TRIM31在肝癌组织中高表达并与AFP的含量（ $P=0.007$ ）和邻近肝组织炎症严重程度（ $P=0.012$ ）相关；TRIM31有区分肝恶性与否的能力（ $AUC=0.789$ ）以及高表达TRIM31的患者更差的预后情况；qRT-PCR实验结果显示TRIM31在肝癌细胞株中高表达（ $P=0.019$ ）。

2. CCK-8、EdU、细胞活性和毒性实验显示，干扰TRIM31后，肝癌细胞的增殖能力显著下降；ROS检测结果显示干扰TRIM31后，显著增加了肝癌细胞内ROS的产生（ $P<0.01$ ）。GESA通路分析和细胞免疫荧光实验都验证了TRIM31通过激活c-MYC通路调控ROS的产生（ $P<0.0001$ ）。

3. 细胞存活率检测实验显示在肝癌细胞中靶向干扰TRIM31联合放疗后，显著降低了细胞的存活率（ $P<0.01$ ）；与NC对照组相比，靶向干扰TRIM31联合放疗后，显著增加了活性氧的产生（ $P<0.01$ ）；细胞活性和毒性实验显示干扰了TRIM31并联合放射疗法后的肝癌细胞细胞活性显著下降，死亡率显著上升；DNA损伤实验也显示与其他组别相比，干扰TRIM31并联合放疗的肝癌细胞组别有着严重的DNA损伤；细胞免疫荧光实验证实了干扰TRIM31可以显著抑制Wnt/ β 通路的激活，提高癌细胞的放疗敏感性（ $P<0.01$ ）。

结论：1. TRIM31在肝癌组织和肝癌细胞中均呈高表达且与AFP的含量和邻近肝组织炎症严重程度相关；高表达TRIM31的患者比低表达TRIM31的患者有着更差的预后。

2. TRIM31通过激活c-MYC通路调控ROS稳态，从而增强了肝癌细胞的增殖能力。

3. 靶向TRIM31通过抑制Wnt/ β -catenin通路的激活并联合放疗增强肝癌细胞的放疗敏感性。

关键字 TRIM31, ROS, 肝癌, 放疗

Treg上调ITG β 1促细胞黏附 致代谢相关脂肪性肝病恶性转化

陆毓铭、王一帆、王玲玲、王仪含、周梦雅、居林玲、姚敏
南通大学

目的：代谢相关脂肪性肝病（MAFLD）是欧美等发达国家及我国富裕地区慢性肝病的重要病因。调节性T细胞（Treg）是CD4⁺T细胞的一种亚群，发挥免疫调节抑制作用。关于Treg细胞在代谢性疾病中的复杂机制，尤其在MAFLD中的调控作用尚未阐明。据此对Treg细胞在MAFLD的发生及进展中的机制进行探索研究，发现Treg细胞通过上调整合素家族成员ITG β 1介导Treg细胞与内皮细胞的相互作用，从而促进细胞粘附，导致MAFLD向肝细胞癌（HCC）的转变。

方法：将6周龄的雄性C57BL/6小鼠分为对照组（CD）、高脂组（HFD）和癌变组（HCC），CD组喂食正常饮食，HFD组喂食高脂饮食诱导MAFLD，癌变组喂食高脂饮食及诱癌剂2-AAF灌胃诱导HCC，共建模26周。采用流式细胞术、免疫组化、单细胞测序等技术进行分析，以探索Treg在MAFLD肝组织微环境中的分化、调控和致病机制。

结果：与CD组小鼠相比，HFD组和HCC组小鼠肝脏T细胞总数减少，其中CD8⁺T细胞数增加，CD4⁺T细胞数减少，推测由MAFLD微环境中免疫代谢紊乱和淋巴细胞失调所致。经观察，HFD组小鼠肝脏Treg细胞数显著增加，而HCC组小鼠肝脏Treg细胞数无显著变化；外周血中，Treg细胞数在HFD组和HCC组中的显著上调，可能由Treg细胞在MAFLD肝脏微环境下大量活化并发生迁移所致。单细胞测序结果显示，ITG β 1作为与细胞黏附密切相关的分子，在HFD组和HCC组小鼠Treg细胞中表达上调。实验结果及TCGA数据库分析均验证了肝脏ITG β 1表达与Treg细胞数呈正相关。

讨论：研究结果表明HFD组和HCC组小鼠肝脏发生了免疫代谢紊乱，致免疫细胞失衡，其中Treg细胞发挥着致病性作用，促进了 MAFLD 的发生及恶性转化。研究结果提示，Treg细胞可能作为MAFLD向HCC恶性转变过程中调控细胞黏附的重要参与者，为靶向Treg细胞治疗MAFLD相关HCC提供新的思路

关键字 调节性T细胞，代谢相关脂肪性肝病，细胞黏附

N4BP1 调控 IL-17 信号通路的作用及机制研究

李艳丽、郑雯、徐卓龙、郭晓红、过劲婧、陈刘婷、毛仁芳、范义辉

南通大学医学院

实验目的：研究 N4BP1 对 IL-17 信号通路的调控作用及其具体调控机制。

实验步骤：（1）为了研究 N4BP1 是否参与调控 IL-17 信号通路。在 3T3 与 HaCat 细胞中用 Crispr-Cas9 技术敲除 N4BP1，并用 Western Blot 检测 N4BP1 KO 细胞系是否构建成功；（2）为了探究 N4BP1 的敲除是否影响 IL-17 信号通路靶基因的表达，qPCR检测对照组与敲除组细胞 IL-17 信号通路靶基因的表达水平(检测的 IL-17 信号通路靶基因包括 CXCL1、CCL20、CCL2、MMP9 等)，Western Blot 检测对照组与敲除组细胞的 CCL2、MMP9 蛋白表达水平；（3）N4BP1 敲除后，为了研究 IL-17 信号通路靶基因的表达上调是否与靶基因降解速率的减慢有关，使用 Act1 抑制 mRNA 合成，qPCR 检测 mRNA 降解速率；（4）N4BP1 敲除后，为了检测 IL-17 信号通路靶基因表达上调是否与有关激酶磷酸化水平变化相关，Western Blot 检测对照组和敲除组细胞本底 p-p38、p-ERK、p-JNK蛋白的表达水平，Western Blot 检测对照组和敲除组细胞 IL-17 处理后 p-p38、p-ERK、p-JNK、P65 蛋白的表达水平，IF 检测 HaCat 细胞对照组和敲除组 IL-17 处理后 P65 蛋白的变化水平；（5）N4BP1 敲除后，为了确认相关激酶磷酸化水平的增加导致了 IL-17 信号通路靶基因表达的上调，用激酶抑制剂处理细胞，qPCR 检测对照组和敲除组 IL17信号通路靶基因的表达水平；（6）N4BP1 敲除后，为了探究相关激酶磷酸化水平的增加是否与 Act1 表达的变化有关，Western Blot 检测对照组与敲除组细胞 Act1 蛋白的表达水平，qPCR检测对照组和敲除组细胞 Act1 的 mRNA 表达水平；Western Blot 检测对照组和敲除组 IL-17 处理后 Act1 蛋白表达水平；（7）N4BP1 敲除后，为了验证 IL-17 靶基因水平的增加与 Act1 上调有关，用 Act1 抑制剂 Igaratimod 处理对照组和敲除组细胞，qPCR 检测细胞 IL-17 信号通路靶基因的表达水平。

实验结果：N4BP1 敲除上调了 IL-17 信号通路靶基因与蛋白的表达；N4BP1 敲除后，靶基因表达的上调与 mRNA 降解速率变快无关；N4BP1 敲除导致了激酶磷酸化的水平增加；抑制激酶减少了由于 N4BP1 敲除导致的靶基因表达上调；N4BP1敲除导致了 Act1 表达上调；N4BP1 降低 Act1 抑制了靶基因的表达。

实验结论：N4BP1 抑制了 IL-17 信号通路靶基因与蛋白的表达。具体而言，N4BP1 通过上调 Act1，降低相关激酶磷酸化水平，最终阻碍了靶基因的转录。

关键字 N4BP1; IL-17; Act1; 炎症因子

铁屎米酮衍生物通过影响Hippo/YAP信号通路抑制滑膜成纤维细胞的迁移/侵袭特性

张宗颖、毛立明

南通大学医学院

类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis, RA) 是一种炎症性疾病, 会导致关节严重软骨退化和滑膜损伤, 具有多种全身影响。既往研究表明, 滑膜成纤维细胞 (fibroblast-like synoviocytes, FLS) 在 RA 的发病机制中起关键作用。适当调节 FLS 功能是治疗这种疾病的有效方法。这些细胞表现出独特的侵袭性特征, 并在疾病发展和进展中发挥积极作用。FLS 细胞产生大量基质金属蛋白酶 (MMP), 包括 MMP1、MMP3 和 MMP13, 可破坏关节组织的结构, 使 FLS 能够侵入。同时, FLS 还分泌几种促炎细胞因子和趋化因子, 如 IL-1 β 、IL-6 和 IL-8, 这些因子会加重 RA 的病理过程。因此, 适当调节 FLS 功能被认为是 RA 治疗的有效方法。Methyl Canthin-6-one-2-carboxylate (Cant) 是我们最近研究中发现的铁屎米酮 (canthin-6-one) 的一种新型吡啶生物碱衍生物。先前的研究表明, 几种铁屎米酮衍生物具有多种生物活性, 包括通过各种机制抑制糖尿病和炎症性肠病等许多疾病中的炎症。然而, Cant 在炎症反应中的作用尚不清楚。在本研究中, 我们探讨了 Cant 对 FLS 功能的影响。通过 Transwell 迁移/侵袭实验, 细胞划痕实验, WB, qPCR 和 ELISA 等实验发现, Cant 以剂量依赖性方式显著抑制 RA-FLS 迁移和侵袭特性。同时, Cant 预处理对几种促炎细胞因子的释放也有抑制作用, 包括 IL-6 和 IL-1 β , 以及 MMP1 和 MMP3 的产生, 它们是 FLS 侵袭的重要介质。在进一步的机制研究中, 我们发现 Cant 对 Hippo/YAP 信号通路有抑制作用。Cant 处理抑制了 YAP 在丝氨酸 127 和丝氨酸 397 上的表达和磷酸化, 同时增强了 LATS1 和 MST1 水平, 两者都是 YAP 的重要上游调节因子。此外, YAP 特异性 siRNA 或 YAP 抑制显著抑制伤口愈合以及 FLS 细胞的迁移和侵袭速率, 其影响类似于 Cant 治疗。同时, YAP 的过表达显著逆转了 Cant 诱导的 FLS 细胞迁移和侵袭的下降, 表明 YAP 是 Cant 对 FLS 细胞迁移和侵袭的抑制作用所必需的。此外, 在培养上清液中添加 MMP1 而不是 MMP3 可显著逆转 Cant 对 FLS 细胞侵袭的抑制作用。我们的数据共同表明, Cant 可能通过抑制 YAP 信号通路抑制 MMP1 的产生来抑制 RA-FLS 迁移和侵袭, 这表明 Cant 具有进一步开发抗 RA 药物的潜力。总之, 我们的研究调查了一种新型 canthin-6-one 生物碱 Cant 对 RA-FLS 细胞功能的影响。我们的数据提供了证据, 表明 Cant 可以抑制 RA-FLS 细胞的促炎功能, 包括迁移、侵袭以及 MMP 和促炎细胞因子的产生。对于机制, Cant 的抑制作用是通过抑制 Hippo/YAP 信号通路来实现的。据我们所知, 这是第一项描述 canthin-6-one 化合物家族对 RA-FLS 细胞影响的研究。文献中也未报道 Cant 对 Hippo/YAP 信号通路的抑制作用。我们的研究结果共同表明, Cant 可能通过靶向 RA-FLS 细胞的炎症功能成为进一步开发 RA 治疗药物的有前途的候选者。

关键字 类风湿关节炎; 基质金属蛋白酶; 滑膜成纤维细胞; Hippo/YAP

妊娠期肝内胆汁淤积患者炎症细胞因子的变化及分析

张婷、李凌、高建一
无锡市妇幼保健院

目的：检测妊娠期肝内胆汁淤积症（Intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP）孕妇全血炎症细胞因子的表达水平变化，探究其临床应用价值。

方法：收集2024年1月~2024年8月于无锡市妇幼保健院就诊并确诊的66例ICP孕妇血清，同时收集年龄相匹配的健康孕妇血清66例，采用流式细胞术在ICP孕妇和健康孕妇中初步检测炎症细胞因子白介素2（IL-2）、白介素4（IL-4）、白介素6（IL-6）、白介素10（IL-10）、肿瘤坏死因子 α （TNF- α ）和干扰素 γ （IFN- γ ）的表达水平变化，同时收集谷丙转氨酶（ALT）、谷草转氨酶（AST），总胆汁酸（TBA）、总胆红素（TBil）和直接胆红素（DBil）的变化，同时采用孟德尔随机化（MR）探究炎症细胞因子与ICP的因果关联。

结果：流式细胞术结果显示，与健康孕妇对比，ICP患者全血中炎症细胞因子IL-6、IL-10、TNF- α 和IFN- γ 的表达显著升高，具有统计学意义（ $P < 0.05$ ），IL-2和IL-4的表达升高，但无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。受试者工作特征曲线（receiver operating characteristic, ROC）分析结果显示，IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 和IFN- γ 的曲线下面积（AUC）分别为0.450、0.600、0.867、0.790、0.640、0.637。MR分析提示，IL-2（OR = 2.068, $P = 0.004$ ）和TNF- α （OR = 1.359, $P = 0.011$ ）与ICP具有潜在的因果关联，结果不存在异质性和多效性。

讨论：ICP是孕妇妊娠中晚期常见的一种肝脏相关疾病，其病因尚不完全明确，临床上以胆汁酸升高和瘙痒为特征，并且可能会导致流产等不良妊娠结局，因此及时的早期诊断显得尤为重要。炎症细胞因子是一组由淋巴细胞、单核-巨噬细胞和血管内皮细胞等产生的免疫活性分子，包括白介素、肿瘤坏死因子和干扰素等，在炎症的发生和发展中起到重要作用，与ICP密切相关。本研究结果发现IL-6、IL-10、TNF- α 和IFN- γ 在ICP患者外周血中显著升高，其中IL-6具有最大的AUC，提示其在ICP发生发展中的潜在重要作用和较高的临床检测价值。孟德尔随机化是流行病学研究中基于孟德尔遗传定律评估病因推断的一种方法，其优势在于剔除了混杂因素的干扰，本研究发现IL-2和TNF- α 具有潜在的增加ICP风险的作用。该研究为ICP分子层面的评估和临床诊治提供了新的思路和理论依据。

关键字 妊娠期肝内胆汁淤积，炎症细胞因子，孟德尔随机化

CD73 在心肌炎症损伤修复过程中参与 Reg3 β 调控巨噬细胞再编程的作用和机制研究

邵晓轶、王雪松、王姿佚、张世超、朱范帆、陈静雯
南通大学

研究实验性自身免疫性心肌炎（Experimental autoimmune myocarditis, EAM）小鼠心肌炎症损伤修复过程中Reg3 β 对心肌浸润巨噬细胞再编程的影响，探讨Reg3 β 通过CD73调节腺苷受体活性诱导巨噬

细胞再编程的分子机制，阐明CD73在EAM小鼠心肌炎症损伤与修复中的作用。方法：通过检测EAM小鼠心肌浸润巨噬细胞表型变化，分析巨噬细胞由M1向M2的再编程在心肌组织损伤修复中的作用；体外以Reg3 β 处理RAW264.7和BMDM来源的M1型巨噬细胞，明确Reg3 β 在巨噬细胞向M2极化过程中的作用；通过RNA-Seq技术分析筛选M1和M2差异表达基因CD73；敲降或阻断巨噬细胞中CD73的表达或使用腺苷受体激动剂或抑制剂，观察对Reg3 β 诱导的巨噬细胞再编程的影响，并分析腺苷受体活性在其中的作用；体内阻断CD73，探究对EAM小鼠心肌组织炎症修复进程的影响。结果：心肌浸润巨噬细胞参与EAM小鼠心肌炎症的损伤和修复过程，心肌组织由炎症损伤期向损伤修复期发展过程中，心肌浸润巨噬细胞从M1向M2再编程；EAM小鼠损伤心肌细胞释放Reg3 β ，参与心肌组织炎症修复，促进M1型巨噬细胞向M2极化；Reg3 β 通过诱导巨噬细胞内CD73的表达，催化细胞外AMP水解生成腺苷，腺苷通过结合和激活巨噬细胞表面腺苷受体（以A2B受体为主），刺激胞内STAT3信号通路激活，进而促进巨噬细胞向M2再编程；体内阻断CD73，可加重EAM小鼠心肌炎症损伤，影响心肌组织修复。结论：Reg3 β 通过CD73调节腺苷受体活性诱导巨噬细胞再编程参与EAM心肌炎症损伤与修复。

关键字 实验性自身免疫性心肌炎，CD73，再生胰岛衍生蛋白3 β （Reg3 β ），巨噬细胞再编程，腺苷

· 自身免疫、肿瘤免疫、感染免疫等基础与临床免疫学研究 ·

Immunoglobulin superfamily 6 is a molecule involved in the anti-tumor activity of macrophages in lung adenocarcinoma

Xinyu Tian¹, Ting Wang²

1. Nanjing Drum Tower Hospital; 2. Jiangsu Cancer Hospital

Background: Immunoglobulin superfamily 6 (IGSF6) is a novel member of the immunoglobulin superfamily and has been implicated in various diseases. However, the specific role of IGSF6 in the anti-tumor immunity within lung adenocarcinoma (LUAD) remains unclear.

Methods: We analyzed the IGSF6 expression in LUAD using data from TCGA, and we performed qRT-PCR and western blotting to validate these findings using tissue samples obtained from LUAD patients. Images of IHC staining were obtained from HPA. To assess the clinical relevance of IGSF6 expression, we utilized UALCAN and SPSS to analyze its association with major clinical features of LUAD. Additionally, we employed ROC curves and survival analysis to evaluate the potential diagnostic and prognostic value of IGSF6 in LUAD. To gain insights into the functional implications of IGSF6, we performed enrichment analysis using the R software clusterProfiler package. Moreover, we utilized TIMER2.0 and TISIDB to investigate the relationship between IGSF6 and immune infiltrates in LUAD. The proportion of tumor-infiltrating immune cells in LUAD was assessed using FCM, and their correlation with IGSF6 expression in tumor tissues was analyzed. The localization of IGSF6 protein on macrophages was confirmed using the HPA and FCM. To determine the regulatory role of IGSF6 on macrophage activity in LUAD, we employed ELISA, FCM, and tumor-bearing models.

Results: We discovered that both IGSF6 mRNA and protein levels were significantly decreased in LUAD. Additionally, we observed a negative correlation between IGSF6 expression and TNM stages as well as pathologic stages in LUAD. Notably, IGSF6 exhibited high sensitivity and specificity in diagnosing LUAD, and was positively associated with the survival rate of LUAD patients. Furthermore, IGSF6 expression was closely linked to gene sets involved in immune response. IGSF6 expression showed a positive correlation with immune infiltrates exhibiting anti-tumor activity, particularly M1 macrophages. We confirmed the predominant localization of the IGSF6 protein on the membrane of M1 macrophages. Importantly, the knockdown of IGSF6 resulted in a reduction in the anti-tumor activity of M1 macrophages, thereby promoting tumor progression.

Conclusion: IGSF6 is a molecule that is essential for the anti-tumor activity of macrophages in LUAD.

Key Words Immunoglobulin superfamily 6, Lung adenocarcinoma, Macrophages, Anti-tumor activity

MDSCs在脓毒症中的应用

周延杰、汤紫瑄、黄霜

江阴市人民医院

目的：了解脓症患者外周血MDSCs水平，探讨MDSCs在脓症患者中的临床应用价值。

方法：选择本院2024年4月到2024年5月期间收治的 24 例脓症患者作为脓毒组，同时期10例普通炎症病人作为普通组，以及20例健康人群作为健康组；根据脓症患者的预后转归，分为好转组与未愈组；根据样本追踪治疗时间，分为入院当日组、入院三日组、入院七日组。收集检测者的临床资料，用流式细胞仪检测其外周血MDSCs，淋巴细胞亚群计数及细胞因子十二项。

结果：炎症组、脓症组的外周血MDSC比例显著高于健康组，且脓症组比炎症组增高更显著（ $P<0.05$ ）；经治疗后，脓症好转组外周血MDSCs中PMN-MDSC比例显著低于未愈组（ $P<0.05$ ）；在脓症患者组中，总MDSC比例与CTL/Abs呈负相关（ r 值为 -0.379 ， $P<0.05$ ）M-MDSC与T/Abs、CTL/Abs、CD8+CD4+/Abs、NK/Abs 负相关（ r 值分别为 -0.410 、 -0.536 、 -0.467 、 -0.413 ， $P<0.05$ ），其中与CTL相关性最高；随着治疗时间的延长，入院三日、入院七日组的外周血MDSCs相关指标比例较入院当日组呈显著下降（ $P<0.05$ ）。结果：脓症患者外周血MDSCs比例升高，其与患者疾病严重程度和预后有关，同时，MDSCs与细胞因子、淋巴细胞绝对值具有相关性。

讨论：本研究发现，与健康组相比MDSC在脓症中的显著性升高，MDSCs扩增可能是由于脓症的早期阶段就通过中性粒细胞上调PD-L1/PD-1诱导T细胞增殖下降，本研究认为外周血MDSCs比例可作为诊断脓症的一个潜在辅助指标。预后方面，此前就有学者认为，早期MDSCs比例高的脓症患者预后较差，本研究进一步发现，好转组的PMN-MDSC显著低于未愈组，说明PMN-MDSC 的扩增超过了脓症中其他 MDSCs 亚群的扩增，抑制PMN-MDSC的数量在提高脓症好转率中的发挥积极作用。这一研究目前已在抗癌中进行，考虑到宿主对癌症和脓症的免疫反应之间的相似之处，PMN-MDSC上存在的关键免疫抑制因子可能也会为脓症免疫治疗提供潜在靶点。同时，本研究中MDSCs比例与脓症患者的免疫调节具有相关性。尽管MDSCs在脓症早期通过可增强先天免疫发挥一定的抗感染作用，但脓症后期IL-10升高并通过激活特定细胞信号通路促进MDSC的扩增，而MDSCs会通过抑制iNOS、ROS和IFN- γ 促进抗炎因子IL-10的产生，最终，MDSCs会协同IL-10抑制T细胞免疫应答，此研究结果与国内研究基本相同。本研究建议，脓症患者入院初期就将外周血MDSCs比例、淋巴细胞分群计数及细胞因子联合检测，不仅可以为病程进展判断提供理论依据，亦可帮助医生做出个性化治疗方案，改善患者预后。最后，研究发现MDSCs比例与病情进程密切相关，美罗培南、哌拉西林他唑巴坦、利奈唑胺米诺环素等抗感染药物治疗后，能检测到第七日的患者外周血MDSCs比例均下降，并且好转；但更多的病人出现感染难以控制，对脏器功能持续衰竭的情况而不能继续追踪，因此仍需动态检测脓症患者外周血MDSCs比例以便辅助疗效评估。

关键字 脓毒症；髓源性抑制细胞；免疫抑制；生物标志物

Hypoxia promotes metastasis by relieving miR-598-3p-restricted glycolysis in gastric cancer

Wei Zhou

The first people's hospital of Changzhou

The activation of glycolysis, particularly in the context of reprogrammed energy metabolism, is increasingly recognized as a significant characteristic of cancer. However, the precise mechanisms by which glycolysis is promoted in metastatic gastric cancer cells under normal oxygen conditions remain poorly understood. MicroRNAs (miRNAs) play a crucial role in the development of malignant phenotypes in gastric cancer. Nevertheless, our understanding of the specific involvement of miRNAs in hypoxia-induced metabolic shifting and the subsequent metastatic processes is limited. Hypoxia-induced downregulation of miR-598-3p mechanistically leads to the upregulation of RMP and IGF1r, thereby promoting glycolysis. Either overexpression of miR-598-3p or R406 treatment effectively suppresses the metastasis of gastric cancer cells both in vitro and in vivo. Collectively, the depletion of miR-598-3p alters glucose metabolism from oxidative phosphorylation to glycolysis, thereby exacerbating the malignancy of gastric cancer cells. The present findings indicate a potential target for the development of therapeutics against gastric cancers with increased miR-598-3p expression.

Key Words Glucose metabolism; metastasis; hypoxia; microRNAs; gastric cancer

JMJD1c通过Stat3去甲基化抑制B细胞分化 延缓干燥综合征发生发展的机制研究

车楠

南京市第一医院

目的：原发性干燥综合征（pSS）是一种常见的风湿性疾病，目前尚缺乏有效的治疗手段。已有研究表明B细胞过度分化继而产生大量自身抗体导致组织炎性损伤是pSS的重要致病机制之一。既往研究显示，组蛋白去甲基化酶Jmjd1c可通过促进STAT3的去甲基化抑制B细胞分化，减少致病抗体产生来延缓类风湿关节炎的发生发展，且初步研究显示pSS患者的外周血B细胞中Jmjd1c的表达量明显减少，且与疾病活动度显著负相关。本研究拟进一步通过机制研究验证上述生物学效应。

方法：通过构建Jmjd1c条件性敲除的模型小鼠，并运用qPCR、蛋白印迹、免疫共沉淀、质谱流式等分子生物学方法。

结果：①ESS小鼠和SS患者唾液腺组织中B细胞内Jmjd1c表达量减低，且与pSS疾病评分负相关；②Jmjd1c缺失不影响B细胞发育情况，促进B细胞免疫应答；③Jmjd1c通过作用于IL6-JAK-STAT3信号通路抑制B细胞免疫应答，并通过促进STAT3去甲基化抑制B细胞分化。

结论：Jmjd1c低表达抑制Stat3去甲基化促进B细胞分化加剧pSS免疫炎症和组织损伤。本研究通过体

内体外实验系统研究Jmjd1c低表达后介导B细胞过度分化的调控通路，为阐明pSS炎症损伤的分子机制、进一步发展pSS新的临床诊疗手段提供了理论和实验依据。

关键字 干燥综合征；浆细胞；JmJD1c

Identification of BTK as an immune-related biomarker for Hashimoto's thyroiditis by bioinformatic analysis and machine learning

Huiyong Peng

The Affiliated People's Hospital of Jiangsu University

Background: Hashimoto's thyroiditis (HT) is one of the most common autoimmune disorders characterized by diffuse enlargement of the thyroid gland, lymphocyte infiltration, and thyroid-specific autoantibodies. Cellular and humoral immune disorders have been implicated in the development of HT. However, little is known regarding the role of immune-related molecules in HT. This study was aimed to identify key immune-related biomarkers in HT by using bioinformatics and machine learning algorithms.

Method: Integration of next-generation sequencing (NGS) data from HT and normal control (NC) in the GSA and GTEx databases yielded a dataset named NGS. The GSE138198 dataset from the GEO database was downloaded as a validation set. WGCNA analysis was performed to identify key modules associated with HT. Lasso regression analysis (LASSO) and random forest (RF) were performed to further identify potential diagnostic biomarkers. The potential biomarker value was assessed by using Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. CIBERSORT algorithm was used to evaluate the infiltration of 22 immune cells in HT and NC samples. The transcript levels of verified genes from expanded samples were detected by quantitative real-time PCR.

Results: A total of 1,401 differentially expressed genes (DEGs) including 1,055 upregulated and 346 downregulated genes were identified in HT patients. Gene Ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway analyses indicated that these DEGs were mainly enriched in immune system-related pathways. Furthermore, 192 immune-related genes were further identified by the intersection of WGCNA analysis, DEGs, and immune-related genes (IRGs). Among them, two upregulated gene ((Bruton's tyrosine kinase, BTK) and CD19) had the potential value in HT diagnosis by machine learning. ROC curve showed that BTK had a higher diagnostic value than CD19 in the two datasets. Intriguingly, only elevated BTK mRNA levels were observed in the peripheral blood mononuclear cells of HT patients, and were significantly positively correlated with the serum levels of autoantibodies. Further studies confirmed a significant positive correlation between BTK and increased proportion of plasma cells in HT patients.

Conclusion: This study identified BTK was significantly increased in HT patients, which might be the involved in the pathogenesis of HT by regulating plasma cells and represented a potential immune-related biomarker of HT.

Key Words Hashimoto's thyroiditis; Immune-related biomarker; Bioinformatics analysis; Machine learning; Immune cells; BTK

Expression And Prognostic Role of PRDX1 In Gastrointestinal Cancers

Zhou Zhang, Shougang Kuai
Wuxi Huishan District People's Hospital

Abstract. **Aim:** This purpose is to explore the expression and prognostic role of PRDX1 in gastrointestinal cancers. **Methods:** This study mainly applied bioinformatics methods to analyze PRDX1's expression, diagnosis, and prognosis in gastrointestinal cancers and to summarize current research advancements. **Results:** Evidence from the bioinformatics database suggested that the high expression of PRDX1 was a prominent characteristic of these four gastrointestinal cancers, with this observation reaching statistical significance. The high expression of PRDX1 in gastrointestinal cancer cells also confirms this result. Notably, the primary alteration in PRDX1 within these cancers is the presence of genetic mutations. PRDX1 demonstrated the highest diagnostic efficacy for colorectal cancer. Nevertheless, elevated PRDX1 levels only significantly diminished the survival time of liver cancer patients, exerting no statistically significant impact on the survival duration of patients afflicted by the other three types of gastrointestinal cancers. Recent research has indicated variability in PRDX1 expression across different cancer types, with high expression being predominantly observed in these four gastrointestinal cancers and, in most instances, unfavorable prognosis. These findings broadly align with the results derived from bioinformatics. **Discussion:** Gastrointestinal cancers, encompassing esophageal cancer, gastric cancer, liver cancer, and colorectal cancer, constitute a primary category of malignancies posing significant threats to human health due to their high incidence and mortality rates. Unraveling the molecular mechanisms that underpin the diagnosis and treatment of gastrointestinal cancers is imperative for facilitating early detection and forecasting prognostic outcomes. As a vital component of the PRDXs family, the peroxidase activity of PRDX1 plays a key role in maintaining the equilibrium of intracellular reactive oxygen species (ROS), thereby influencing the onset, progression, and prognosis of cancer. This investigation primarily focuses on reporting the expression and mechanism of PRDX1 in gastrointestinal cancers via bioinformatics methods and review of existing literature, with the goal of offering guidance for the diagnosis and prognosis of gastrointestinal cancers. Initial bioinformatics analysis indicates that PRDX1 expression in gastrointestinal cancers exceeds the median level across pan-cancer. Furthermore, the expression of PRDX1 in the majority of cancers is typically higher than in the corresponding adjacent tissues, with this trend being especially pronounced in gastrointestinal cancers. This forms the groundwork for studying the diagnosis and prognosis of PRDX1 in gastrointestinal cancers, aligning with the research findings of Gao et al. Subsequent utilization of the TCGA database enabled the creation of volcanic maps for gastrointestinal cancers to highlight differentially expressed genes (DEGs). To further elucidate the expression of PRDX1 in gastrointestinal cancers, box-plots were generated to display PRDX1 expression in four types of gastrointestinal cancers and their adjacent tissues. Results indicated high PRDX1 expression in all four types of gastrointestinal cancers, all of which were statistically significant. And we used RT-qPCR technology to validate the cells of gastrointestinal cancers, and the results were consistent with the box-plot. However, literature review disclosed some discordance regarding the expression level of PRDX1 in esophageal cancer and colorectal cancer. The heightened PRDX1 expression in

gastric cancer and liver cancer is consistent with the box-plot results. In effort to delve deeper into the molecular mechanism of PRDX1 in gastrointestinal cancers, a statistical analysis of gene mutations and related genes of PRDX1 in gastrointestinal cancers was conducted. These mutations were characterized primarily by amino acid changes, with Missense Mutation and SNP being the predominant forms. Additionally, the analysis suggested that three other types of gastrointestinal cancers exhibit related genes, with the exception of gastric cancer. This implies that PRDX1 mutations may be significant in the onset and progression of gastrointestinal cancers. The related genes of PRDX1 set the stage for future exploration of specific PRDX1 molecules in gastrointestinal cancers. ROC curves were used to demonstrate the diagnostic efficacy of PRDX1 in gastrointestinal cancers. PRDX1 demonstrated the highest diagnostic efficiency for colorectal cancer and the lowest for gastric cancer. No current literature provides clear evidence regarding the diagnostic efficacy of PRDX1 in gastrointestinal cancers. The prognostic role of PRDX1 in gastrointestinal cancers was examined by presenting the survival curve of PRDX1 in gastrointestinal cancers through the TCGA database. Interestingly, high PRDX1 expression only decreased the survival time in liver cancer patients. No statistical difference was observed among the three other types of gastrointestinal cancers. Literature review also indicated that high PRDX1 expression promotes the proliferation, invasion, and metastasis of liver cancer cells, thereby fostering the onset and progression of liver cancer. These findings align with the results of the survival analysis. However, our study still has some limitations. In this study, we mainly summarized the role of PRDX1 in gastrointestinal cancers by bioinformatics and previous study. In general, our exploration of PRDX1 in gastrointestinal cancers is meaningful. It is a pity that we did not conduct extensive molecular and cellular experiments to confirm the role of PRDX1 in gastrointestinal cancers apart from RT-qPCR technology. Moreover, we did not rely on real patients of gastrointestinal cancers to improve our study. In the future, we will validate and refine our study from these aspects. In summary, this study provides evidence that PRDX1 is highly expressed in gastrointestinal cancers and is associated with the diagnosis and prognosis of these malignancies, thus offering potential guidance in the clinical management of gastrointestinal cancers.

Key Words PRDX1, gastrointestinal cancers, expression, prognosis

DA-DRD5信号在肿瘤免疫中的调控作用及机制研究

吴昱青¹、朱磊²、李晟³、胡颖超⁴、丁强¹、潘世扬¹

1. 江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

2. 南京市妇幼保健院（南京医科大学附属妇产医院）

3. 上海东方医院（同济大学附属东方医院）；4. 南京医科大学

Neuronal signals have emerged as pivotal regulators of B cells that regulate antitumor immunity and tumor progression. The functional relevance and mechanistic basis of effects of the neurotransmitter dopamine (DA) on tumor immunity remain unclear. Here, we reveal that the abundance of plasma DA was positively correlated with circulating B cell numbers and potently activated B cell responses in a DRD5-receptor-dependent manner. The deficiency of DRD5 signaling reduced B cell responses and promoted tumor progression. We found that the DRD5 receptor, via Box1-like motif and Box2-like motif in its CT loop, can respectively binds to JAK1 FERM domain and SH2 domain to further enable STAT1 phosphorylation and translocate to the nucleus to initiate transcription of related genes. DRD5 agonist boosted antitumor immunity and anti-programmed cell death protein 1(anti-PD-1)

immunotherapy. Our results demonstrate that dopamine signaling which suppresses tumor progression and suggest DRD5 as a potential target for cancer immunotherapy.

关键字 Dopamine; B cells; tumor immunity; JAK-STAT pathway

Distribution and clinical significance of tumor-infiltrating $\gamma\delta$ T cells in non-small cell lung cancer patients

Wenwen Shang

Jiangsu Province Hospital

Objective: To investigate the role of tumor-infiltrating $\gamma\delta$ T cells and its clinical significance in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. Methods: The percentages of $\gamma\delta$ T cells and its subset derived from 15 paired NSCLC and paracancerous specimens, as well as peripheral blood were analyzed by flow cytometry. The cytokines levels of IFN- γ and IL-17A secreted by $\gamma\delta$ T cells were detected by flow cytometry. Results: The percentages of tumor-infiltrating $\gamma\delta$ T cells ($P < 0.05$) and V δ 1 T cells ($P < 0.05$) were significantly increased in patients with NSCLC, which $\gamma\delta$ T cells and V δ 1 T cells were positively related to lymph node metastasis ($P < 0.05$). While there were no significant difference in $\gamma\delta$ T cells and its subset of peripheral blood between NSCLC patients and healthy controls ($P > 0.05$), but V δ 2 T cells was significantly lower than healthy controls ($P < 0.001$). Meanwhile, IFN- γ is decreased and IL-17A is increased secreted by $\gamma\delta$ T cells both in peripheral blood and in tumor tissues. Conclusions: These findings suggest that $\gamma\delta$ T cells and its subsets may be involved in the progression of NSCLC.

Key Words Non-small cell lung cancer (NSCLC); $\gamma\delta$ T cells; V δ 1 T cells; IL-17A; lymph node metastasis

肿瘤细胞释放自噬小体(TRAPs) 通过“成纤维细胞-C3a-巨噬细胞轴” 营造肿瘤免疫微环境的机制研究

王旭茹、周小荷、潘宁、王立新

东南大学

目的：肿瘤相关成纤维细胞(CAFs)是肿瘤微环境中最突出的基质细胞，在肿瘤的发生，发展和转移中具有显著的作用。但CAF的分化机制以及在营造肿瘤免疫微环境中的作用还未完全阐明。课题组前期研究证实乳腺癌原位肿瘤细胞释放自噬小体(TRAPs)能诱导巨噬细胞成为IL-10+PD-L1^{high}CD206^{high} M2型TAM，本项目进一步探讨TRAP能否诱导CAF分化以及招募TAM营造肿瘤免疫微环境？

方法：体外构建TRAPs释放减少的Becn1 KD-4T1 及对照Becn1 NC-4T1 细胞，单细胞测序分析Becn1 NC/KD-4T1荷瘤小鼠第10天肿瘤组织，免疫荧光和流式细胞术验证测序结果。在体外将TRAPs与小鼠原代乳腺成纤维细胞(NFs)共孵育，ELISA和流式细胞术检测NFs胞内/外C3和C3a水平及炎症型成纤维

(iCAFs)比例; Western Blot法检测NFs胞内C3裂解酶—CTSL水平。抗体预封闭TRAPs表面DAMPs分子或抑制剂预处理NFs表面受体分子后检测NFs胞内/外上述分子; Western Blot法检测TRAPs预处理NFs后胞内信号分子; 同时用C3a/CCL2抗体预处理培养上清后趋化骨髓来源巨噬细胞。在体内, 用流式细胞术检测荷瘤小鼠肿瘤组织iCAFs胞内C3、C3a、CTSL含量和巨噬细胞比例; ELISA检测肿瘤组织和血浆中C3、C3a水平; 免疫荧光分析肿瘤组织中iCAFs和巨噬细胞定位; 用C3aR抑制剂、C3a抗体或CTSL抑制剂处理荷瘤小鼠后同步检测上述指标。

结果: 在肿瘤组织中存在4群CAFs, 其中CAFs总数没有明显改变, 但CAFs亚型—iCAFs比例在Becn1 KD组显著减少; 此外Becn1 KD组中MPs (巨噬细胞/单核细胞/DC)的比例显著下降; 交互对分析结果表明: C3—C3aR介导的iCAF—巨噬细胞交互是肿瘤微环境中成纤维细胞最为紧密的细胞间交互对之一, 减少肿瘤细胞TRAPs的释放, 显著降低C3—C3aR介导的iCAF—巨噬细胞交互关系。体外实验证实TRAPs可以促进iCAFs形成并通过HSP70—TLR4—ERK/P38信号通路刺激NFs产生C3和CTSL, 活性CTSL进一步在胞内切割C3产生并释放C3a, 趋化实验进一步证实C3a比CCL2更显著趋化巨噬细胞, 体内实验同步证实减少TRAPs释放, 可以显著减少iCAFs比例及胞内C3、C3a、CTSL含量及巨噬细胞与iCAFs相邻分布; C3aR抑制剂、C3a抗体或CTSL抑制剂处理荷瘤小鼠可显著减少巨噬细胞的比例及与iCAFs相邻分布。

讨论: TRAP能诱导iCAF的形成, 并通过HSP70—TLR4—ERK/P38信号通路促进C3和CTSL产生, 活性CTSL进一步在胞内切割C3产生并释放C3a, C3a随后趋化单核/巨噬细胞到达肿瘤组织并与iCAFs相邻分布, 促进肿瘤免疫微环境形成。研究结果提示TRAP及其表面HSP70或补体C3a片段能作为乳腺癌患者诊断或治疗的重要靶向分子。

关键字 肿瘤细胞释放自噬小体(TRAPs);炎症型成纤维(iCAFs);C3a ;巨噬细胞; C3aR

Consensus clustering and development of a risk signature based on trajectory differential genes of cancer-associated fibroblast subpopulations in colorectal cancer

Ke Yu

Wuxi Huishan District Peoples Hospital

Background: Cancer-associated fibroblasts (CAFs) play a crucial role in the progression of colorectal cancer (CRC). However, the impact of CAF subpopulation trajectory differentiation on CRC remains unclear.

Methods: In this study, we first explored the trajectory differences of CAFs subpopulations using bulk and integrated single-cell sequencing data, and then performed consensus clustering of CRC samples based on the trajectory differential genes of CAFs subpopulations. Subsequently, we analyzed the heterogeneity of CRC subtypes using bioinformatics. Finally, we constructed relevant prognostic signature using machine learning and validated them using spatial transcriptomic data.

Results: Based on the differential genes of CAFs subpopulation trajectory differentiation, we identified two CRC subtypes (C1 and C2) in this study. Compared to C1, C2 exhibited worse prognosis, higher immune evasion microenvironment and high CAF characteristics. C1 was primarily associated with metabolism, while C2 was primarily associated with cell metastasis and immune regulation. By combining 101 combinations of 10 machine learning algorithms, we developed a High-CAF risk signatures (HCAFRS) based on the C2 characteristic gene.

HCAFRS was an independent prognostic factor for CRC and, when combined with clinical parameters, significantly predicted the overall survival of CRC patients. HCAFRS was closely associated with epithelial–mesenchymal transition, angiogenesis, and hypoxia. Furthermore, the risk score of HCAFRS was mainly derived from CAFs and was validated in the spatial transcriptomic data.

Results: Based on the differential genes of CAFs subpopulation trajectory differentiation, we identified two CRC subtypes (C1 and C2) in this study. Compared to C1, C2 exhibited worse prognosis, higher immune evasion microenvironment and high CAF characteristics. C1 was primarily associated with metabolism, while C2 was primarily associated with cell metastasis and immune regulation. By combining 101 combinations of 10 machine learning algorithms, we developed a High-CAF risk signatures (HCAFRS) based on the C2 characteristic gene. HCAFRS was an independent prognostic factor for CRC and, when combined with clinical parameters, significantly predicted the overall survival of CRC patients. HCAFRS was closely associated with epithelial–mesenchymal transition, angiogenesis, and hypoxia. Furthermore, the risk score of HCAFRS was mainly derived from CAFs and was validated in the spatial transcriptomic data.

Conclusion: In conclusion, HCAFRS has the potential to serve as a promising prognostic indicator for CRC, improving the quality of life for CRC patients.

Key Words Cancer-associated fibroblasts (CAFs); colorectal cancer (CRC); prognostic

METTL3 in colorectal cancer: From mechanisms to the therapeutic potential

张乐莹、王胜军
江苏大学附属医院

N6-methyladenosine (m6A), the most abundant modification in mRNAs, affects the fate of the modified RNAs at the post-transcriptional level and participants in various biological and pathological processes. Increasing evidence shows that m6A modification plays a role in the progression of many malignancies, including colorectal cancer (CRC). As the only catalytic subunit in methyltransferase complex, methyltransferase-like 3 (METTL3) is essential to the performance of m6A modification. It has been found that METTL3 is associated with the prognosis of CRC and significantly influences various aspects of CRC, such as cell proliferation, invasion, migration, metastasis, metabolism, tumor microcirculation, tumor microenvironment, and drug resistance. The relationship between METTL3 and gut-microbiota is also involved into the progression of CRC. Furthermore, METTL3 might be a viable target for CRC treatment to prolong survival. In this review, we comprehensively summarize the function of METTL3 in CRC and the underlying molecular mechanisms. We aim to deepen understanding and offer new ideas for diagnostic biomarkers and therapeutic targets for colorectal cancer.

关键字 METTL3, colorectal cancer

Insight into the regulatory mechanism of m6A modification: From MAFLD to hepatocellular carcinoma

查璇、王胜军
江苏大学附属医院

In recent years, there has been a significant increase in the incidence of metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD), which has been attributed to the increasing prevalence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and obesity. MAFLD affects more than one-third of adults worldwide, making it the most prevalent liver disease globally. Moreover, MAFLD is considered a significant risk factor for hepatocellular carcinoma (HCC), with MAFLD-related HCC cases increasing. Approximately 1 in 6 HCC patients are believed to have MAFLD, and nearly 40% of these HCC patients do not progress to cirrhosis, indicating direct transformation from MAFLD to HCC. N6-methyladenosine (m6A) is commonly distributed in eukaryotic mRNA and plays a crucial role in normal development and disease progression, particularly in tumors. Numerous studies have highlighted the close association between abnormal m6A modification and cellular metabolic alterations, underscoring its importance in the onset and progression of MAFLD. However, the specific impact of m6A modification on the progression of MAFLD to HCC remains unclear. Can targeting m6A effectively halt the progression of MAFLD-related HCC? In this review, we investigated the pivotal role of abnormal m6A modification in the transition from MAFLD to HCC, explored the potential of m6A modification as a therapeutic target for MAFLD-related HCC, and proposed possible directions for future investigations.

关键字 m6A , MAFLD , hepatocellular carcinoma

ALKBH5 regulates arginase 1 expression in MDSCs and their immunosuppressive activity in tumor-bearing host

冯丽丽、王胜军
江苏大学附属医院

Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) are closely related to the occurrence and development of many cancers, but the specific mechanism is not fully understood. It has been found that N6-methyladenosine (m6A) plays a key role in RNA metabolism, but its function in MDSCs has yet to be revealed. In this study, we found that MDSCs in mice with colorectal cancer (CRC) have significantly elevated levels of m6A, while ALKBH5 expression is decreased. Overexpression of ALKBH5 can reduce the immunosuppressive function of MDSCs in vivo and in vitro, and attenuates the protumorigenic ability of MDSCs. Mechanism study found that the overexpression of ALKBH5 in MDSCs reduced the m6A modification level of Arg-1 mRNA, and then weakened the stability of Arg-1 mRNA and protein expression. These data suggest that the decreased expression of ALKBH5 in CRC tumor mice may promote

the expression of Arg-1, enhance the immunosuppressor function of MDSCs, and promote tumor growth. These findings highlight that ALKBH5 may regulate the function of MDSCs in tumor-bearing mice and may be a new target for immunotherapy. This research provides a new perspective for our understanding of the role of MDSCs in cancer development, and also brings new hope for cancer treatment.

关键字 myeloid-derived suppressor cells, ALKBH5, N6-methyladenosine (m6A), tumor immunology

NK cells with ILC1-like phenotype mediate response to immunotherapy in MHC-I heterogeneous hepatocellular carcinoma

Wenhua You, Chupeng Hu, JingYing Lu, Deyuan Kong, Yun Chen
Nanjing Medical University

BACKGROUND & AIMS: Despite the improved clinical outcomes of antiangiogenic therapy combined with immune checkpoint inhibitors (ICIs) in treating advanced hepatocellular carcinoma (HCC), over 50% of patients acquired resistance. Tumor-specific MHC-I (tsMHC-I) expression is crucial for CD8+ T cell mediated cytotoxicity during immunotherapy. However, certain HCC tumors with low MHC-I expression are instead associated with favorable response. The present study aimed to investigate the underlying antitumor mechanisms of type 1 innate lymphoid cell (ILC1)-like NK cells in HCC patients with heterogeneous tsMHC-I expression and to understand their role in the context of immunotherapy.

METHODS: Immunostaining of MHC-I and PAN-CK and spatial transcriptomics were used to evaluate the expression of tsMHC-I. Single-cell RNA-sequencing, flow cytometry, cytometry by time-of-flight, and in vitro and in vivo studies were performed to investigate the heterogeneity and function of CD56+ NK cells as well as the interplay between ILC1-like NK cells and GITRL+ macrophages.

RESULTS: HCC patients with low tsMHC-I expression could be divided into loss and heterogeneous type. Higher infiltration of ILC1-like NK cells in heterogeneous-type HCC tumors favored a superior response to anti-PD-1 therapy. In addition, our research found macrophages-derived GITRL signaling promoted IFN- γ secretion by ILC1-like NK cells. Mechanistically, GITR signaling enhances IFN- γ secretion by facilitating oxidative phosphorylation of ILC1-like NK cells and subsequent H3K27ac modification on RBPJ through GITRL-GITR axis. Moreover, combined GITR triggering and anti-PD-L1 represents effective therapy strategies for HCC patients with heterogeneous tsMHC-I expression.

CONCLUSIONS: This in-depth analysis further reveals the crucial role of ILC1-like NK cells in antitumoral immunity and their crosstalk with macrophages, shedding light on the potential use of the GITRL/GITR signaling within ILC1-like NK cells for enhancing the efficacy of immunotherapy in HCC.

Key Words Hepatocellular carcinoma, ILC1-like NK cell, Immunotherapy, GITR signaling

Comparison of HBV-specific T cell reactivity across the pregnant, postpartum and non-pregnant women with chronic HBV infection

Fangping Yue, chuanlai shen
Southeast University

Objective: To investigate the features of HBV-specific T cell reactivity across the pregnant, postpartum or non-pregnant women with chronic HBV infection.

Methods: A total of 283 patients with chronic HBV infection were enrolled in this study, including 129 patients during pregnancy, 58 patients during postpartum less than 6 months and 96 non-pregnant patients at childbearing age. A universal ELISpot assay was set up using a broad-spectrum T-cell epitope peptide library which containing 103 functionally validated CD8+ T-cell epitopes derived from overall HBsAg, HBc/eAg, HBx and HBpol proteins and fitting to the human leukocyte antigen polymorphisms of Chinese populations. Then, The functional HBV-specific T cells in peripheral blood were detected.

Results: The spot-forming units (SFUs) of HBV-specific T cells in the pregnant group showed no statistical difference from the postpartum group, but significantly less than that in the non-pregnant group ($p = 0.046$). In the untreated patients, the pregnant group displayed HBe/cAg-specific T cells (SFUs) less than the non-pregnant group ($P = 0.025$) and the postpartum group ($P = 0.045$). Meanwhile, in the NUCs-treated patients, the three groups presented similar HBV-specific T cell reactivity. Furthermore, the SFUs in the NUCs-treated pregnant group were similar to that in the NUCs-untreated pregnant group. Importantly, ROC analysis demonstrated that the HBV-specific T cells (SFUs) ($AUC = 0.742$) and combined with HBsAg levels ($AUC = 0.775$) or with HBeAg level ($AUC = 0.78$) had a good predictive performance for hepatitis progression during pregnancy group.

Discussion: Before pregnancy, during pregnancy, prenatal and postpartum, the women with chronic HBV infection need to implement comprehensive monitoring and management. Pregnancy and postpartum can induce hepatitis due to various factors, but there is no specific parameter to monitor and evaluate patient's ability to clear virus, and to guide the appropriate time point for intervention. The number of reactive HBV-specific T cells is an precise indicator to reflect the specific cellular immune function of host antiviral infection. However, the detection of HBV-specific T cells (number or function) is much more difficult than that of antigens, antibodies and viral DNA, thus it has not been routinely carried out in clinical laboratory so far. The main limitations are as follow: 1) The HLA molecules are highly polymorphic in the population, and the antigen peptides presented by different HLA molecules have distinct sequences; 2) The T cell epitope profile in HBV antigens remains unclear and the validated epitopes are limited. In the past 34 years, only 205 CD8+ T cell epitope peptides and 79 CD4+ T cell epitope peptides have been functionally validated, and they are presented only by a few dominant HLA allotypes, thus these epitopes are unable to cover the main population in an indicated geographical region. Consequently, there is no universal and commercial test kit for HBV-specific T cells in clinical or research laboratories at the present.

Among the various methods to detect antigen-specific T cells, ELISpot is one of the most classical methods, which is widely used and recognized by many researchers around the world. It not only has good specificity, low

reagent cost, no special instruments, easy to popularize, but also has high sensitivity in which a single cell secreting cytokine can be detected among one million cells. Due to the lack of broad-spectrum T-cell epitope peptide library, most of the previous clinical studies on HBV-specific T cells were tested using the overlapping peptide library or in silico predicted epitope peptide in ELISpot assay. Unfortunately, both the overlapping and predicted peptide libraries are not real-world epitope peptides verified by cell functional experiments, and recent studies have confirmed that most of them are false epitopes.

The 103 CD8+ T-cell epitope peptides used in this study were functionally validated using the co-cultures of predicted candidate epitope peptides with the fresh PBMCs from more than 700 HBV-infected patients. Then, the peptide competition experiments of HLA-A molecules were further carried out using 13 engineered HMy2.CIR cell lines expressing the indicated HLA-A molecules, and followed by the molecular docking and molecular dynamics simulation experiments. The results showed that these epitope peptides can be cross-presented by 13 HLA-A allotypes. The gene frequency of each HLA-A allotype is greater than 1% in the Chinese population, and the 13 allotypes can cover more than 95% of the Chinese population. That means the in-house peptide library not only consists of real-world T-cell epitopes of HBV antigens, but also fits to the HLA polymorphism of Chinese cohort, thus can be used for random patients in ELISpot assay. Comparably, our data here should be more closer to the real-world functional status of HBV-specific T cells in patients than the data detected by using the overlapping and predicted peptide libraries.

Previous studies in non-pregnant patients have shown that the HBV-specific CD8+ T cell responses are barely detectable in the peripheral blood of patients with chronic HBV infection, but little information is available in pregnant patients. In this study, the ex vivo ELISpot method was set up using an original and universal kit to quantify the number of reactive HBV-specific T cells (mainly CD8+ T cells), and the results show that the reactivity of HBV-specific T cells was further inhibited during pregnancy as compared with no-pregnant patients, and can not be improved by TDF treatment. Although clinical experiences have already demonstrated that the treatment with TDF at the late pregnancy can reduce the peripheral HBV DNA load and control the hepatitis progression of pregnant patients with HBV DNA greater than 105 copy/mL, but host anti-viral cellular immunity remains lower than the postpartum or no-pregnant women. The corresponding mechanisms deserve further investigation. In addition, the double-edged relationship of HBV-specific T cell reactivity to liver function remains difficult to be defined. Our data suggest that the number of reactive HBV-specific T cells, as a indicator of host adaptive immunity, is a valued predictor for hepatitis progression in pregnant patients with chronic HBV infection, especially when combined with the HBsAg level or viral DNA load. But a larger patient cohort is need to further confirm the predictive power for the hepatitis progression 6 months or 12 months later.

Taken together, although the limitations on patient cohort and detection technique, this study truly compared the HBV-specific T cell reactivity across the pregnant, the postpartum within 6 months and non-pregnant women with chronic HBV infection, which provided preliminary observational data for further exploring the characteristics and mechanisms of specific immunity in pregnant women.

Key Words Key words: Chronic hepatitis B infection; Pregnancy; Antigen-specific T cell detection

中国人群优势HLA-A和DR分子 限制性新冠病毒T细胞表位谱的分析及群体免疫力检测

赵宇、沈传来
东南大学

目的：在前期本课题组已成功筛选并验证了中国人群13种优势HLA-A分子限制性的新冠病毒优势CD8+T细胞表位谱。本研究旨在筛选验证中国人群的12种优势HLA-DR分子限制性的新冠病毒CD4+T细胞表位谱，并在体内验证部分表位的免疫原性；通过群体检测，明确已验证的CD4+T和CD8+T细胞表位肽库中的群体优势表位；整合表位肽库，建立新冠病毒特异性CD4+T和CD8+T细胞的ELISPOT定量检测方法，初步分析中国未接触人群和新冠病毒感染恢复者人群的特异性细胞免疫力的强度与广度。

方法：1) 利用多种结构生物信息学预测方法，针对新冠病毒的4种结构蛋白（E, N, M, S）和一种非结构蛋白（RdRp），虚拟预测被中国人群中基因频率大于1%的12种DRB1分子提呈的表位肽，从中筛选候选表位肽。

2) 利用健康献血者PBMCs，通过DC-多肽-PBL共培养实验体系以及胞内细胞因子染色技术验证候选表位肽的免疫原性，确定阳性表位肽。

3) 利用新冠康复者PBMCs对阳性表位肽进行群体检测，即用单肽与PBMCs共孵育6h，通过流式检测IFN- γ + 的记忆性T细胞频率来验证该表位肽在真实感染世界中的免疫原性以及群体中的阳性率。

4) 利用HLA-A和DR双转基因小鼠，将相应HLA-DR分子限制性的表位肽多肽疫苗进行接种，流式检测特异性T细胞反应。

5) 组建HLA-A和DR限制性的T细胞表位肽库，建立定量检测具有反应活性的新冠病毒特异性T细胞的ELISpot方法，并检测中国人群中的健康献血者和新冠病毒感染康复者。

结果：1) 通过预测，兼顾蛋白长度以及DR分型的频率，获得185种候选表位肽。

2) 通过DC-T实验，最终185种候选表位肽中筛选出93种阳性表位肽。

3) 利用每种表位肽检测80例康复者样本，明确93种阳性肽为阳性表位肽，并得到其在中国群体中的阳性率。

4) 在接种转基因小鼠的20种DR1限制性表位肽中，有19种表位肽能在体内诱导出明显的特异性CD4+T细胞反应。

5) 利用组建好的HLA-A和DR限制性表位肽库以及建立的ELISpot方法，分别检测了50例未接触者以及新冠康复者血样，初步得到我国健康人群以及康复人群的参考值范围。

讨论：本研究筛选并验证了93条被多种中国人群优势HLA-DR限制的CD4+T细胞表位肽，通过群体检测确定了每条表位肽在中国人群中的阳性率，并自组装了HLA-A和DR限制性的表位肽库对未接触者及康复者样本进行群体检测，初步得到不同人群的参考值范围。

关键字 新冠病毒，HLA，优势T细胞表位谱，细胞免疫

抗可提取核抗原抗体、抗C1q抗体和抗 β 2-糖蛋白1抗体联合检测对系统性红斑狼疮的诊断价值

张小云

淮安市第一人民医院

目的: 探讨抗可提取核抗原(anti-ENA)抗体、抗C1q抗体和抗 β 2糖蛋白1 (anti- β 2 GPI)抗体联合检测对系统性红斑狼疮(SLE)患者的临床诊断价值。

方法: 随机选取2016年8月至2023年12月南京医科大学附属淮安第一医院收治的703例SLE患者作为研究对象, 同时选取同期非SLE患者2115例作为对照组。检测患者的血清抗可提取核抗原(ENA)抗体、抗C1q抗体和抗 β 2 GPI抗体水平, 并采用二元logistic回归和受试者工作特征曲线(ROC)分析其对SLE的诊断价值。

结果: SLE患者组抗Rnp抗体、anti-Sjögren's syndrome (SS-A) 抗体、抗SS-B抗体阳性率均显著高于对照组, 有统计学差异($P<0.05$)。SLE患者组抗C1q抗体阳性率及水平均显著高于对照组, 有统计学差异($P<0.05$)。同样SLE患者组抗 β 2 GPI抗体阳性率及水平均显著高于对照组, 有统计学差异($P<0.01$)。性别、年龄、抗rnp抗体阳性、抗SS-A抗体阳性、抗C1q抗体阳性、高水平抗C1q抗体和抗 β 2 GPI抗体阳性SLE发展的独立危险因素($P<0.05$)。综合使用年龄、性别、抗ENA抗体、抗C1q抗体和抗 β 2 GPI抗体诊断SLE的敏感性为83.53%(81.22%~84.31%), 特异性为81.21%(77.65%~82.68%)。

结论: 年龄、性别、抗ENA抗体、抗C1q抗体和抗 β 2 GPI抗体联合检测对SLE具有较高的敏感度和特异性, 可作为SLE的辅助诊断工具, 具有极大的临床应用潜力。

关键字 系统性红斑狼疮; 抗可提取核抗原抗体; 抗C1q抗体; 抗 β 2-糖蛋白1抗体; 诊断价值

血清IgG4的截断值对IgG4相关性疾病的诊断价值

嵇金陵¹、姜玉章¹、韩崇旭²、王丽³、靳德甫¹、叶耘峰⁴、刘家秀⁴

1. 淮安市第一人民医院; 2. 苏北人民医院

3. 徐州市第一人民医院; 4. 江苏护理职业学院

目的: 探讨IgG4相关性疾病(IgG4-RD)人群的临床特征以及血清IgG4浓度对IgG4-RD等免疫性疾病的诊断价值。

方法: 回顾性研究2013年1月至2021年7月期间在淮安市第一人民医院、苏北人民医院和徐州市第一人民医院就诊且临床资料完整的5059名成人患者的医疗记录, 包括38例确诊IgG4-RD患者和5021例非IgG4-RD患者, 同时以131例健康人作为对照组。采用德国西门子公司BN II全自动蛋白分析仪检测血清IgG4含量, 分析患者的人口统计学特征并基于不同IgG4的截断值分析患者的临床特征和诊断性能。

结果: 38例IgG4-RD患者中有35例(92.1%)患者IgG4浓度 >1.35 g/L, 23例(60.5%)患者多器官受累。5021例非IgG4-RD患者中有430例(8.6%)患者IgG4检测结果 >1.35 g/L, 203例(4.0%)患者IgG4检测结果 >2.01 g/L。IgG4-RD患者血清IgG4浓度显著高于非IgG4-RD患者, 差异有统计学意义($H=9.99$,

$P < 0.001$), 非IgG4-RD患者与健康对照组的IgG4浓度也存在统计学差异 ($H=2.65$, $P=0.02$)。ROC曲线分析显示血清IgG4诊断IgG4-RD的最佳截断值为1.59g/L, 敏感性和特异性分别为92%和94%。在IgG4-RD的诊断中, IgG4截断值大于1.35g/L的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值、阳性似然比和阴性似然比分别为92%, 91%, 8%, 99%, 10.8, 0.09; IgG4截断值 >1.40 g/L时相应的数据分别为92%, 92%, 8%, 99%, 11.6, 0.09; IgG4截断值 >2.01 g/L时, 相应的数据分别为89%, 96%, 14%, 99%, 21.4, 0.1。IgG4截断值 >2.80 g/L时相应的数据分别为79%, 97%, 20%, 99%, 32.8, 0.22。

结论: IgG4水平升高不仅见于IgG4-RD, 在非IgG4-RD患者中也较常见。运用德国西门子仪器检测患者血清IgG4时, 以1.59g/L为截断值对IgG4-RD的诊断具有较高的敏感性和特异性。

关键字 IgG4相关性疾病; 截断值; 自身免疫疾病; 临床特征

胸腺肽 $\alpha-1$ 调节脓毒症免疫平衡稳态的机制研究

陈靓、韦逸婷、严春光、王立新

东南大学

目的: 探讨内源性胸腺肽 $\alpha-1$ (Thymosin $\alpha-1$, $T\alpha-1$) 水平与脓毒症免疫紊乱的相关性, 阐明补充外源性 $T\alpha-1$ 调节脓毒症B细胞功能的分子机制, 为外源性 $T\alpha-1$ 辅助治疗脓毒症的临床应用提供依据。

方法: 依托东南大学附属中大医院重症医学科收集了106例脓毒症患者外周血, ELISA检测在脓毒症发病24h内的内源性 $T\alpha-1$ 和IgM水平, 结合病历进行相关性分析; 每只C57BL/6小鼠腹腔注射40mg盲肠匀浆 (Cecal Slurry, CS) 构建脓毒症小鼠模型, 于不同时间点 (造模后1h、6h、12h、24h) 皮下注射 $T\alpha-1$ (0.5mg/kg), 观察7天生存情况, 并采用ELISA法检测小鼠外周血 $T\alpha-1$ 和IgM水平, 平皿涂布培养法计数外周血生长菌落数量; 对小鼠体内B细胞预清除, 给予外源性 $T\alpha-1$ 治疗后观察脓毒症小鼠存活率; 将脓毒症脾脏细胞培养上清进一步纯化分离不同大小的囊泡, 包括外泌体 (Exosome)、微囊泡 (Microvesicles, MVs) 和大囊泡 (Large EVs), 用不同大小的囊泡协同 $T\alpha-1$ 刺激B细胞, ELISA检测IgM分泌水平的变化; 分离纯化脓毒症小鼠脾细胞分泌的MVs, 对其粒径和组分进行分析与鉴定; MVs与 $T\alpha-1$ 预孵育后与新鲜脾脏B细胞共培养, 流式检测 $T\alpha-1$ 与MVs结合能力以及B细胞吞噬MVs和 $T\alpha-1$ 的情况, ELISA检测脾脏B细胞分泌IgM和杀菌能力, 转录组测序观察B细胞内信号通路的活化。

结果: ①脓毒症患者血清中内源性循环 $T\alpha-1$ 水平显著低于健康志愿者, 并且血清中内源性循环 $T\alpha-1$ 水平与IgM正相关, 内源性循环 $T\alpha-1$ 水平越低、IgM水平越低; ②感染当天给予 $T\alpha-1$ 的时间越早、脓毒症小鼠存活率越高; 但感染发生24h后, 内源性 $T\alpha-1$ 水平下降至最低、即使给予外源性的 $T\alpha-1$ 也无法降低脓毒症小鼠的死亡率; 当天补充 $T\alpha-1$ 可显著提高脓毒症小鼠血清中IgM水平、降低外周血中病原菌载量; 并且 $T\alpha-1$ 体外可以直接刺激脓毒症小鼠脾脏分泌大量IgM、促进病原菌溶解在脓毒症小鼠模型中证实腹腔感染发生后血清内源性 $T\alpha-1$ 水平迅速下降, 在24h $T\alpha-1$ 水平下降到最低值; 进一步回顾分析发现, 感染24h内、死亡脓毒症小鼠的血清IgM和内源性 $T\alpha-1$ 水平显著低于存活小鼠; ③对小鼠体内B细胞预清除, 发现即使给予外源性 $T\alpha-1$ 治疗也无法提高脓毒症小鼠存活率; $T\alpha-1$ 仅能协同增强MVs刺激的B细胞分泌IgM。进一步检测发现: 脓毒症脾细胞分泌的MVs可以与 $T\alpha-1$ 结合, 随后二者被吞噬进入B细胞的吞噬溶酶体; $T\alpha-1$ 能促进吞噬MVs的B细胞活化相关信号分子Irak1/4、Tak1和Nfkb等表达上调。

结论: ①脓毒症患者存活率与内源性循环 $T\alpha-1$ 水平与IgM正相关; ②急性期及时补充外源性

T α -1可以降低脓毒症小鼠死亡率，其机制可能是：T α -1依赖MVs促进B细胞分泌IgM、后者介导病原体的快速清除。

关键字 脓毒症；胸腺肽；B细胞

胸部恶性肿瘤放疗前后外周血细胞因子的检测及临床意义

祝丽晶

涟水县人民医院

目的：通过检测胸部恶性肿瘤患者放疗前后外周血中白细胞介素2 (Interleukin 2, IL-2)、IL-4、IL-6、IL-10、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素- γ (interferon- γ , INF- γ) 的含量水平变化，探讨其临床意义。

方法：按照严格的纳入和排除标准，选取我院2021年10月—2023年5月收治的50例胸部恶性肿瘤患者作为肿瘤组，选取同期体检健康者30例作为对照组。采集肿瘤组放疗前、放疗期间（放疗3周后）、放疗结束时、放疗结束后1月和4月，5个观察点的外周静脉血，运用流式细胞术检测患者放疗前后外周血中IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 、INF- γ 的含量并与健康对照组比较。

结果：与健康对照组相比，肿瘤组外周血IL-2、INF- γ 的水平明显低于健康组对照组，IL-6和TNF- α 的水平明显高于健康组，均有统计学差异（ $P < 0.05$ ）；IL-4、IL-10的水平在两组中比较无统计学差异（ $P > 0.05$ ）。放疗期间肿瘤组外周血TNF- α 自放疗后开始上升，至放疗结束后1月升至最高，显著高于放疗前（ $P < 0.05$ ），然后逐渐下降，至放疗结束后4月与放疗前相比无显著性差异（ $P > 0.05$ ）；肿瘤组外周血IL-6和INF- γ ，二者均自放疗后开始上升，放疗结束时达高峰后开始下降，放疗结束后4月与放疗前相比无显著性差异（ $P > 0.05$ ）。放射性肺损伤(radiation induced lung injury, RILI)组与非RILI组比较，IL-6和TNF- α 水平在放疗的不同时期RILI组均升高；在放疗不同时期两组IL-2、IL-4、IL-10、和INF- γ 水平无统计学差异。

结论：放疗会不同程度的影响胸部肿瘤患者外周血细胞因子的水平，放疗过程中监测细胞因子的浓度可为机体的免疫危机状态以及肺的放射性损伤提供预警，为放疗过程中实施尽早的免疫预防和纠正措施提供理论依据。

关键字 恶性肿瘤；放疗；细胞因子；放射性肺损伤

组蛋白乳酸化修饰TET2调控ARG1增强MDSCs 免疫抑制功能的实验研究

笪文信、栾和伟、冯静怡

句容市人民医院

目的：探究组蛋白乳酸化是否修饰髓源性抑制细胞（myeloid-derived suppressor cells, MDSCs）中TET2，从而对Arg1进行去甲基化，最终调控MDSCs免疫抑制功能的作用与分子机制。

方法：体外免疫磁珠分离纯化肺癌移植瘤小鼠模型脾脏组织中的MDSCs，将其分为对照组和乳

酸处理组 (20mmol/L)、c646处理组 (10 μ mol/L)、MS275处理组 (10 μ mol/L)、Canbinol处理组 (10 μ mol/L)、c188-9处理组 (10 μ mol/L) 以及转染p300过表达质粒组。应用流式细胞术检测MDSCs对于T细胞增殖的抑制作用、qRT-PCR检测MDSCs中Arg1、TET2的mRNA表达水平, Western blot检测MDSCs中Arg1、TET2、Kla、H3k18la、H4k12la的蛋白表达水平, MSP-PCR检测Arg1启动子区域甲基化水平变化情况, ChIP-qPCR检测TET2启动子区域组蛋白乳酸化的富集情况、Arg1启动子区域TET2以及p-STAT3富集情况, Co-IP检测TET2与p-STAT3之间相互作用。

结果: 与对照组比较, 20mmol/L乳酸处理MDSCs后, MDSCs对T细胞增殖的免疫抑制功能明显增强, MDSCs的Arg1、TET2表达水平显著上升, 同时MDSCs中组蛋白乳酸化水平显著增强, TET2启动子区域组蛋白乳酸化富集水平显著上升, Arg1启动子区域甲基化水平明显下降, Arg1启动子区域TET2以及p-STAT3富集水平上升, TET2与p-STAT3存在蛋白-蛋白之间相互作用。与相应对照组相比, 使用c188-9抑制STAT3磷酸化能够显著上调Arg1启动子区域甲基化水平, 同时能显著下调TET2在Arg1启动子区域的富集情况。

结论: 乳酸可以介导组蛋白乳酸化, 上调MDSCs中TET2表达水平, TET2与STAT3形成二聚体对Arg1启动子区域进行去甲基化, 最终上调MDSCs免疫抑制功能。

关键字 MDSCs、TET2、STAT3、乳酸化

Tgf β 1信号调控结直肠癌MO-MDSC分化的机制研究

李敏、王胜军

江苏大学附属医院

目的: Tgf β 1是肿瘤发展过程中极为重要的细胞因子, 其经典Tgf β 1/Smad2/3信号通路能够促进多种细胞分化, 例如Treg细胞、成纤维细胞、巨噬细胞等。髓源性抑制细胞 (Myeloid-derived suppressor cells, MDSC) 在肿瘤进展过程中发挥强大的免疫抑制功能, 是一群来源于髓系前体细胞, 在肿瘤发展过程中分化受阻、大量扩增的异质性细胞群体, 主要分为MO-MDSC以及PMN-MDSC两个亚群。现有研究显示Tgf β 1促进肿瘤MO-MDSC扩增, 虽然具体机制并不明确。因此, 我们对肿瘤中Tgf β 1信号未能促进MDSC分化成熟的原因进行探索, 探究Tgf β 1信号通路在肿瘤MDSC分化阻滞及扩增中的角色及作用机制。

研究方法: 结直肠癌移植瘤小鼠以及结直肠癌患者外周血MDSC中检测Smad2/Smad3表达及活化情况; Lyz2-Smad3/Vector-AAV骨髓腔注射, 分析Smad3在髓系成熟以及肿瘤MDSC分化中的作用; 体内外实验分析Tgf β 1/Smad3信号通路对荷瘤MO-MDSC分化的影响及作用阶段; 分析Tgf β 1促进MO-MDSC扩增的作用机制; 数据库联合Mettl3抑制剂、MeRIP、RIP等实验分析Mettl3/m6A对Smad3的调控机制; 分析临床肿瘤患者血清Tgf β 1浓度与MDSC比例的相关性。

研究结果: 肿瘤MDSC中Smad3表达随肿瘤进展进行性降低; 骨髓过表达Smad3促进正常单核系细胞分化成熟, 抑制粒系分化; 荷瘤模型中髓系过表达Smad3使得MO-MDSC减少, 减缓肿瘤进展; Tgf β 1/Smad3促进MO-MDSC分化成熟, Tgf β 1/PI3K/AKT促进MO-MDSC扩增; Smad3 mRNA稳定性受Mettl3/m6A修饰负向调控; 肿瘤患者血浆Tgf β 1浓度与外周血MO-MDSC/PMN-MDSC%正相关。

研究结论: 我们证实Smad3是一种单核系促分化因子, 在分化早期即可发挥作用, 其在肿瘤进展中表达降低是MO-MDSC分化阻滞的重要原因, 而Tgf β 1/PI3K/AKT的异常激活导致MO-MDSC大量扩增。机制上, Smad3的mRNA稳定性受Mettl3介导的m6A修饰的严格负向调控, 抑制Mettl3/m6A水平或增强Smad3

表达显著减少MO-MDSC数量。此外,我们提出肿瘤患者血浆中Tgf β 1浓度有望成为MO-MDSC/PMN-MDSC%的潜在标志物,以进一步指导肿瘤免疫治疗。

关键字 Tgf β 1; Smad3; PI3K/AKT; MO-MDSC; 结直肠癌

CXCR5+Myeloid-Derived Suppressor Cells Drive B Cell Mediated Immune Response In Primary Sjögren' s Syndrome

Zixiang Chen¹, Yidan Zhang¹, Lingli Jiang¹, Huaxi Xu¹, Shengjun Wang², Liwei Lu³, Ke Rui², Jie Tian¹

1. Jiangsu University; 2. Affiliated Hospital of Jiangsu University; 3. The University of Hong Kong

Background: Although the pathogenic role of myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in primary Sjögren' s syndrome (pSS) has been reported, it is largely unclear the underlying mechanism for MDSCs with high heterogeneity contributing to the pathogenesis of the disease. Methods: Frequencies of MDSCs and B cell subsets in ESS mice and patients with pSS were analyzed by flow cytometry. The location of CXCR5+MDSCs was measured by confocal microscopy. In culture, CXCR5+MDSCs from ESS mice were co-cultured with B cells, the survival, proliferation and differentiation of B cells were analyzed by flow cytometry. Sorting-purified CXCR5+MDSCs were adoptively transferred into ESS mice, in which B cell response were investigated. Results: Here we identified a specialized subset of MDSCs that expressed the chemokine receptor CXCR5, selectively entered B cell follicles. The CXCR5+ subset showed greater potential in driving B cell response than the CXCR5- subset when adoptively transferred to experimental Sjögren' s syndrome (ESS). Mechanistically, in contrast to CXCR5-MDSCs, CXCR5+MDSCs expressed abundant BAFF to promote the survival, proliferation and differentiation of B cells. Furthermore, we identified the Id2/E2A axis as an important regulator for the generation of this subset. In patients with pSS, we also identified a CXCR5+MDSC subset, and its number was positively correlated with percentages of multiple B subsets. Likewise, circling CXCR5+MDSCs also secreted substantial BAFF, and was closely correlated with B cell response as well as disease severity. Conclusion: This study defines a unique subset of MDSCs that plays pivotal role in humoral immune responses during the progression of pSS.

Key Words myeloid-derived suppressor cells; primary Sjögren' s Syndrome; B cells; BAFF

MHR、CAR联合NLR在预测寻常型银屑病患者病情严重程度中的相关性研究

沈红梅、顾雪芹、顾玲莉、刘培龙、顾屏、沈晓雯、葛金芳
南通市第二人民医院

目的: 探讨银屑病患者单核细胞与高密度脂蛋白胆固醇比率 (Monocyte-High density lipoprotein cholesterol Ratio,MHR)、 C反应蛋白与白蛋白比率 (C-Reactive Protein - Albumin Ratio,CAR)、中性粒细胞与淋巴细胞比率 (Neutrophil-Lymphocyte Ratio,NLR) 水平与病情严重程度的相关性。

方法：收集2018年1月至2022年12月在我院接受治疗的124例银屑病患者作为实验组，根据银屑病皮损面积与严重程度指数(Psoriasis area and severity index,PASI)对患者病情进行评估,分为轻中度组81例(PASI<10)和重度组43例(PASI≥10)，选取同期体检的114例健康患者作为对照组。采集患者清晨空腹肘静脉血，检测血常规和血脂水平。计算MHR、CAR、NLR和PASI评分，比较各组差异，分析MHR、CAR、NLR水平与PASI评分的相关性。进一步利用受试者工作特征曲线(Receiver Operating Characteristic Curve,ROC)分析血细胞衍生指标对银屑病病情严重程度的诊断价值。

结果：银屑病患者MHR水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)；银屑病患者重度组MHR、NLR明显高于对照组($P=0.002$, $P=0.013$)；银屑病患者重度组MHR、CAR水平高于轻中度组，差异有统计学意义($P=0.02$, $P<0.001$)。Spearman相关分析显示，银屑病患者MHR、CAR、NLR均与PASI评分呈正相关。ROC曲线显示，MHR(AUC:0.652,95%CI: 0.554 ~ 0.751, $P=0.005$)、CAR(AUC:0.682,95%CI: 0.583 ~ 0.781, $P=0.001$)、NLR(AUC:0.622,95%CI: 0.522 ~ 0.725, $P=0.0024$)，三者联合后(AUC:0.716,95%CI: 0.623 ~ 0.809, $P=0.0026$)，对银屑病病情严重程度有预测价值。

结论：银屑病患者MHR高表达，MHR、CAR、NLR均与PASI评分呈正相关，MHR、CAR联合NLR对预测银屑病严重程度具有一定的价值。

关键字 银屑病；PASI；MHR；CAR；NLR；相关性分析

4-octyl itaconate as a metabolite derivative suppresses the function of dendritic cells and promotes tumor growth

Bo Zhu

Department of Laboratory Medicine, Affiliated Hospital of Jiangsu University

Background Dendritic cells (DCs) play a pivotal role in orchestrating anti-tumor immune responses by presenting tumor antigens to T cells and activating their cytotoxic activity. However, various factors can suppress DCs function and compromise anti-tumor immunity. Itaconate, a metabolite that is upregulated during inflammation and infection, has been found to exhibit immunomodulatory properties. In this study, we aim to investigate the role of itaconate in regulating anti-tumor function of DCs.

Methods Bone marrow-derived dendritic cells (BMDCs) were treated with 4-octyl itaconate (4OI). The role of itaconate in regulating maturation and function of BMDCs was investigated using FACS, qPCR, and ELISA. In vivo function studies were conducted with B16-OVA tumor-bearing mice.

Results 4OI significantly promotes IL-12 production, increases expression of MHC II and co-stimulatory molecules in BMDCs, and enhances CD4⁺ and CD8⁺ T cell responses. Furthermore, 4OI-treated BMDCs have attenuated capability of suppressing tumor growth and inducing anti-tumor immune responses.

Conclusion This study demonstrated that 4OI as a metabolite derivative suppresses the function of DCs, which offers new insights into the biological functions of itaconate in tumor immunity and identifies it as a potential target for cancer immunotherapy.

Key Words itaconate, DCs, immune response, tumor immunotherapy

Netrin-1-UNC5B/neogenin axis enhances the stemness of colorectal cancer cells

夏雪莉、许化溪、王胜军
江苏大学附属医院

Cancer stem cells were prominent responsible for cancer initiation, metastasis, and invasion as well as therapeutic resistance in colorectal cancer (CRC). The extracellular axon guidance factor netrin-1 has been found to be overexpressed in several malignant cancers such as glioma, lung cancers, and colorectal cancer. However, the role of netrin-1 on cancer stemness in CRC remains unveiled. Our study revealed high expression of netrin-1 in colorectal cancer tissues and its ability to promote cancer stemness by interacting with receptors UNC5B and neogenin on murine colorectal cancer cell. Mechanistically, the netrin-1-UNC5B/neogenin axis activates the downstream NF- κ B and ERK1/2 signaling pathways, reinforcing the stemness properties of tumor cells, and further exacerbating tumor progression. Clinically, netrin-1 expression associated with poor survival and high CD133 expression in patients with CRC. Taken together, these results suggest that netrin-1 blockade could be a compelling therapeutic strategy to improve the poor outcomes and trigger cancer stemness inhibition in CRC treatment.

关键字 netrin-1, UNC5B, neogenin, NF- κ B, ERK1/2, cancer stemness, colorectal cancer

The Prognostic Significance of FMR1 Expression and its Immunomodulatory Implications in Esophageal Carcinoma

Qingqin Tang¹, Yanqiu Zhang², Yuting Liang¹, Jun Qiu¹,
Sheng Zhang¹, Jieyu Jin¹, Jun Cao¹, Longwei Qiao³, Bin Feng¹

1. Center for Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China;
2. the First Affiliated Hospital of Soochow University 215006
3. Center for Reproduction and Genetics, School of Gusu, The Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou Municipal Hospital, Nanjing Medical University, Suzhou 215008, China;

Background: Esophageal carcinoma (ESCA) is deemed a highly lethal malignancy with a grim prognosis and stands as the fourth leading cause of cancer-related mortality. Recent researches have unveiled the potential crucial role of fragile X mental retardation 1 (FMR1) protein in tumor development and progression. However, the correlation between FMR1 and immune regulation in ESCA remains unclear. In this study, we aimed to assess the clinicopathological and prognostic significance of FMR1 expression, and its relationship with immune cell infiltration, immune biomarkers and the pathway involved in ESCA.

Methods: The Cancer Genome Atlas (TCGA) pan-cancer data and the Gene Expression Omnibus (GEO) database were used to analyze the expression of FMR1. The correlation between FMR1 and cancer stage, time-

dependent survival curve and receiver operating characteristic (ROC) curve were performed using R package. Immune cell infiltration was assessed using the samples found in TCGA. Functional enrichment analyses were performed to investigate the potential signaling pathway and biological functions.

Results: FMR1 was upregulated in 7 tumors and downregulated in 4 tumors. Overexpression of FMR1 considerably associated with cancer stage and poor prognosis in ESCA. The ROC area was 0.745 and 0.830 for 3-year and 5-year respectively. FMR1 exhibited a positive correlation with common lymphoid progenitor and T cell CD4+ Th2, and a negative correlation with B cell memory, B cell plasma, endothelial cell, monocyte, neutrophil, T cell CD4+ Th1, and T cell CD4+ effector memory in ESCA. The enrichment analysis revealed FMR1 was primarily associated with cell development and predominantly enriched in immune-related pathways.

Conclusion: FMR1 may act as a prognostic biomarker for ESCA and participate in immune regulation in ESCA.

Key Words esophageal carcinoma, prognosis, immune cell infiltration, immune regulation

干燥综合征合并血液系统损害患者实验室特征 及唇腺组织NK细胞分布特点

梁勇、蒋欣、周磊
淮安市第二人民医院

目的：探讨原发性干燥综合征（pSS）合并血液系统损害患者血常规指标、抗核抗体、补体及免疫学指标特征，观察唇腺组织中NK细胞的分布特点。

方法：选取自2016年8月~2023年9月间淮安市第二人民医院收治的pSS患者117例作为研究对象，依据是否伴有血液系统损害分为两组，统计分析两组受检者外周血实验室指标水平；选取部分病例唇腺组织石蜡块切片后进行CD56免疫组化明确NK细胞的分布特点。

结果：117例pSS患者中合并血液系统损害61例，发生率为52.14%。单因素分析显示，WBC、Hb、PLT、ESR、抗SSA阳性、抗SSB阳性、IgG、RF等指标差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）；二元Logistic回归分析显示，ESR、抗SSA阳性、抗SSB阳性、IgG、RF均是导致pSS患者合并血液系统损害的独立影响因素（ $P<0.05$ ）。

结论：pSS患者继发血液系统损害发生率较高，炎性因子、特异性抗体、免疫指标共同成为pSS合并血液系统损害的影响因素。

关键字 干燥综合征；实验室特征；NK细胞；免疫细胞；唇腺组织免疫组化

基于免疫状态的多指标联合检测在多发性骨髓瘤病程中的 诊断作用

梁勇、陈静怡、杨洁
淮安市第二人民医院

目的：探究 $\beta 2$ -微球蛋白（ $\beta 2$ -microglobulin, $\beta 2$ -MG）、白介素6（IL-6（interleukins-6）、免

疫球蛋白、C3、C4、及T淋巴细胞亚群在多发性骨髓瘤（multiple myeloma, MM）病程中的诊断作用

方法：利用免疫比浊法测定患者血液中 β 2-MG和免疫球蛋白及补体的浓度。利用化学发光法检测患者血液中IL-6的分泌情况。利用流式细胞仪检测患者体内T淋巴细胞亚群各种细胞的百分比与数目。并利用同样的检测方法检测正常人或者非多发性骨髓瘤患者体内同种物质的浓度及分泌情况。利用医学统计学原理对数据进行分析，将患者与对照组进行对比分析，研究 β 2-MG、IL-6、免疫球蛋白、C3、C4、T淋巴细胞亚群在多发性骨髓瘤（multiple myeloma, MM）患者体内的变化及以正常人的不同，探究其在多发性骨髓瘤中的诊断作用。

结果：1.免疫比浊法确定骨髓瘤患者血液中 β 2-MG的浓度升高。

2.免疫比浊法确定患者血液中免疫球蛋白及补体呈不同异常程度的升高与降低。

3.利用化学发光法检测患者血液中IL-6的分泌增多。

4.流式细胞仪检测患者体内CD4+CD8+T细胞的百分比与正常人相比升高，但CD4+CD8+T细胞数目与正常人相比无明显差异。总T淋巴细胞百分比、辅助T淋巴细胞百分比和总T淋巴细胞数目、辅助T淋巴细胞数目与正常人相比降低，细胞毒T淋巴细胞百分比、细胞毒T淋巴细胞数目与正常人无明显差异。

5. β 2-MG与IL-6的联合检测有利于多发性骨髓瘤的检出。

结论：通过对 β 2-MG、IL-6、免疫球蛋白、C3、C4、T淋巴细胞亚群在多发性骨髓瘤患者与正常人之间的对比分析，可以得出 β 2-微球蛋白、IL-6、免疫球蛋白及补体、T淋巴细胞亚群可以提高多发性骨髓瘤疾病的检出率，且在多发性骨髓瘤疾病中有诊断意义。

关键字 β 2-微球蛋白、IL-6、免疫球蛋白、C3、C4、CD4+CD8+T细胞

HBC通过NUSAP1促进肝癌细胞增殖和迁移的机制研究

杨璐、江荣、鲍恩思、钟雨婕、尤红娟、汤仁仙、孔凡运

徐州医科大学 免疫与代谢平台

实验背景与目的：肝细胞癌（简称肝癌，Hepatocellular carcinoma, HCC）是全球最常见的癌症之一。并且在全球范围内，约56%的HCC与乙型肝炎病毒（Hepatitis B virus, HBV）感染有关。HBV核心蛋白（HBV core protein, HBC）在HBV介导的致癌过程发挥重要作用，但致病机制仍需深入阐明。核仁纺锤体相关蛋白1（Nucleolar and spindle-associated protein 1, NUSAP1）是一种微管结合蛋白，该蛋白在包括肝癌等多种肿瘤中表达增强，并调控肿瘤细胞增殖、凋亡和转移等生物学过程，但NUSAP1在HBV相关肝癌中的调控机制仍未完全阐明。本课题通过研究在肝癌中HBC能否调控NUSAP1及相关分子机制，为寻找治疗HBV相关的HCC的潜在靶点提供实验依据。

实验方法：利用HBC阳性肝癌细胞模型，采用qPCR和Western Blot等实验检测NUSAP1的mRNA及蛋白水平；利用shRNA抑制NUSAP1表达，通过CCK-8、平板克隆成瘤实验、裸鼠皮下成瘤实验、transwell、划痕愈合实验和基于裸鼠的肿瘤肺转移模型，检测NUSAP1在体外和体内对HBC介导的肝癌细胞增殖和迁移的影响；基于Cistrome DB数据库联合ChIP实验，预测并证实转录因子c-Myc与NUSAP1启动子的相互作用；利用c-Myc过表达肝癌细胞模型和对照细胞模型，检测c-Myc对NUSAP1表达的影响；采用Co-IP和免疫荧光等实验检测c-Myc与HBC在肝癌细胞中的相互作用；利用HBC阳性肝癌细胞及相关对照细胞模型，检测HBC对c-Myc表达及c-Myc与NUSAP1启动子相互作用的影响；在HBC阳性肝癌细胞中，利用shRNA抑制c-Myc，检测c-Myc对HBC介导的NUSAP1表达的影响。

实验结果：qPCR和Western blot的结果显示HBC可增强肝癌细胞中NUSAP1基因和蛋白表达。在体外

和体内增殖和迁移模型中,利用shRNA下调HBC阳性肝癌细胞中的NUSAP1表达后,能显著抑制HBC介导的肝癌细胞增殖和迁移能力。基于Cistrome DB数据库中ChIP-sequecing的结果显示,转录因子c-Myc能够与NUSAP1启动子结合。而且,我们利用ChIP实验,进一步证实了c-Myc与NUSAP1启动子的相互作用;基于c-Myc过表达的肝癌细胞模型及对照细胞模型发现,c-Myc能够显著促进NUSAP1的表达;并且,HBC能够与c-Myc在肝癌细胞相互作用并共定位于细胞核中。虽然HBC不影响c-Myc的表达,但HBC能促进c-Myc结合到NUSAP1启动子上。在HBC阳性肝癌细胞中抑制c-Myc能够显著降低NUSAP1的表达。

实验结论: 综上实验结果表明,在肝癌细胞中,HBC能够与c-Myc相互作用,增强c-Myc与NUSAP1启动子结合,促进其基因转录,进而调控HBC介导的肝癌细胞增殖和迁移。c-Myc和NUSAP1可能为HBV相关肝癌的潜在治疗靶点。

关键字 肝癌; HBV; HBC; NUSAP1;

成人急性B淋巴细胞白血病合并EB病毒感染的 实验室指标及预后分析

李森

南京大学医学院附属鼓楼医院

目的: 分析成人急性B淋巴细胞白血病(B-ALL)合并EB病毒(EBV)感染患者的实验室指标特征及预后,为临床诊断和治疗提供依据。

方法: 收集南京鼓楼医院71例B-ALL患者的临床资料及实验室检测指标,根据外周血单个核细胞EBV-DNA检测结果分为EBV感染组和未感染组。比较两组患者外周血常规、生化、免疫表型、继发感染及预后等存在的差异。

结果: 71例B-ALL患者中有31例合并EBV感染,感染率为43.66%,显著高于急性髓系白血病(AML)和急性T淋巴细胞白血病(T-ALL)患者的EBV感染率。B-ALL合并EBV感染组的淋巴细胞计数和淋巴细胞百分率显著低于未感染组,中性粒细胞百分率显著高于未感染组;谷酰转氨酶、总胆红素、直接胆红素、总胆汁酸及甘油三酯均高于未感染组,差异有统计学意义($P<0.05$),且EBV-DNA载量与谷酰转氨酶水平呈正相关关系。骨髓流式分析结果显示,B-ALL合并EBV感染组B系抗原CD19和CD10的阳性率分别为85.19%和77.78%,均高于未感染组(66.67%, 69.70%);而伴随髓系抗原CD33和CD13的阳性率分别为25.93%和11.11%,均低于未感染组(42.42%, 24.24%)。此外,EBV感染组患者的继发感染率为58.06%,明显高于未感染组(25%, $P<0.05$),且该组化疗后的缓解率低、复发率高,预后较未感染组差。

结论: B-ALL合并EBV感染患者肝功能损伤严重,继发感染率高,预后不良,且EBV感染可能与B-ALL患者免疫表型有关。

关键字 急性B淋巴细胞白血病; EB病毒; 成人; 实验室指标; 预后

PAD2-Mediated Citrullination of STAT3 Enhances Immunosuppressive Function of PMN-MDSCs in Tumor-bearing Hosts

滕一、王胜军
江苏大学附属医院

Aim Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) play a key role in inhibiting antitumor immunity and helping tumor cells escape from the immune system. Citrullination is a unique posttranslational modification of proteins that has been found to play a role in tumorigenesis and development. We aimed to determine the role of citrullination regulating MDSCs function in tumor bearing hosts.

Methods: Immunosuppressive function of PMN-MDSCs was examined in coculture with CD8⁺T cells. Both phenotype and function of MDSCs upon PAD-2 knockdown were analyzed in vitro and in vivo. PAD2-mediated STAT3 citrullination was analyzed by immunoprecipitation and immunofluorescence. **Results**

In this study, we found that knockdown of peptidylarginine deiminase (PAD) 2 can reduce the immunosuppressive function of PMN-MDSCs and Arg-1 expression. PAD2-mediated STAT3 citrullination can promote its transcription to Arg-1. PAD2 knockdown attenuates the protumorigenic ability of PMN-MDSCs in tumor-bearing mice.

Conclusion: These findings demonstrate the PAD2, which mediates the citrullination of STAT3, could enhance the immunosuppressive function of PMN-MDSCs by increasing arg-1 expression and promoting tumor development.

关键字 myeloid-derived suppressor cells, citrullination, PAD2, tumor immunity

ATRA promotes the differentiation of acute promyelocytic leukemia NB4 cells by regulating METTL3 mediating PU.1 mRNA m6A

赵越、王胜军
江苏大学附属医院，江苏大学

Methyltransferase-like 3 (METTL3) is highly expressed in acute myeloid leukemia (AML) and promotes the progression of AML mainly by regulating m6A modification on mRNA. The regulatory effect of all-trans retinoic acid (ATRA) on METTL3 in acute promyelocytic leukemia (APL) cells has not been reported. Here, we found that ATRA can reduce the level of m6A and the expression of METTL3 in human acute promyelocytic leukemia NB4 cells, which is conducive to cell differentiation. Mechanistically, we determined that retinoic acid receptor alpha

(RAR α) is a negative transcription factor for METTL3. ATRA inhibits the transcription of METTL3 and down-regulates its expression through RAR α receptor. Down-regulation of METTL3 reduces the m6A modification level of PU.1 mRNA, a key transcription factor activated during ATRA-induced differentiation, and increases its mRNA stability and protein expression, thus promoting the differentiation of NB4 cells. In summary, our results reveal a potential molecular mechanism of ATRA in the treatment of APL.

关键字 acute myeloid leukemia; ATRA; RAR α ; m6A; METTL3

rTM 通过 HIF-1 α /PFKM 轴抑制巨噬细胞炎症因子产生以缓解脓毒症的机制研究

吉彬彬、杨晶、潘宇晨

徐州医科大学

目的：探讨重组血栓调节蛋白（Recombinant thrombomodulin, rTM）通过抑制磷酸果糖激酶肌型（6-phosphofructokinase, muscle type, PFKM）的表达影响巨噬细胞功能以缓解脓毒症的分子机制。从巨噬细胞重编程的角度，为脓毒症的治疗提供新的策略参考。

方法：通过人类蛋白质图谱数据库分析 PFKM 在人体各免疫细胞中的表达情况。利用流式细胞术分选健康志愿者和脓毒症患者外周血 CD14⁺单核细胞并使用蛋白免疫印迹检测单核细胞中糖酵解关键酶蛋白水平。利用 GEO 数据库（GSE54514）分析 PFKM 与脓毒症的相关性。利用 CRISPR/Cas9 技术联合 Cre-Loxp 系统构建髓系特异性 Pfk 敲除鼠（Pfk^{tm1a}/f; LyzCre⁺）；构建脂多糖（Lipopolysaccharide, LPS）及盲肠结扎穿刺术（Cecal ligation and puncture, CLP）诱导的脓毒症小鼠模型并利用多因子检测试剂盒或 ELISA 检测其血清中白细胞介素-1 β （Interleukin-1, IL-1 β ）、IL-6、IL-27 以及肿瘤坏死因子（Tumor necrosis factor- α , TNF- α ）等细胞因子的水平。通过慢病毒感染小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞，分别构建过表达 PFKM 或过表达缺氧诱导因子-1 α （Hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α ）的稳转细胞株，利用蛋白免疫印迹和 Real-time RT-PCR 检测稳转株细胞中 iNOS 和 Arg-1 的蛋白及 mRNA 表达水平。利用细胞能量代谢仪检测 rTM 处理后巨噬细胞的糖酵解水平。使用 HIF-1 α 抑制剂棘霉素（Echinomycin）、过表达体系或基因干扰技术检测 HIF-1 α 对 PFKM 蛋白水平的影响。利用斑点印迹、甲基化 RNA 免疫共沉淀联合实时荧光定量 PCR 等方法探讨 rTM 通过 HIF-1 α 调控 PFKM 表达的分子机制。

结果：1. 单核细胞中 PFKM 的表达与脓毒症患者的严重程度呈正相关；2. 敲除 Pfk 可抑制巨噬细胞分泌促炎因子的能力，降低脓毒症小鼠血清炎症因子水平，缓解小鼠脓毒症；3. rTM 可抑制巨噬细胞中 PFKM 的表达及炎症因子产生；4. rTM 通过 HIF-1 α 抑制 PFKM 的蛋白水平；5. HIF-1 α 通过调控 m6A 甲基转移酶样 3（Methyltransferase-like 3, METTL3）介导的 m6A 修饰正向调节 PFKM 的蛋白水平。

结论：rTM 通过抑制 HIF-1 α /METTL3 通路降低 PFKM 的蛋白水平，从而下调巨噬细胞糖酵解水平及其向促炎表型极化的能力，进而缓解脓毒症。

讨论：在本研究中，发现敲除 Pfk 能够降低早期脓毒症小鼠血清中炎症因子的水平，缓解小鼠肺损伤。尽管生存曲线显示敲除 Pfk 能够提升一周内脓毒症小鼠的存活率，但目前仍不清楚敲除 Pfk 后对脓毒症中后期免疫抑制的影响，我们将在下一项研究中探索 PFKM 对免疫抑制的具体作用。

我们目前的研究表明,过表达 HIF-1 α 会增加 METTL3 的水平,而抑制 HIF-1 α 则会降低 METTL3 的水平。上述结果提示, HIF-1 α 和 METTL3 之间可能存在相互作用或反馈机制,值得进一步探讨。

关键字 脓毒症;巨噬细胞;磷酸果糖激酶肌型;血栓调节蛋白;m6A 甲基转移酶样 3;糖酵解

利用化学发光微粒子免疫法(CMIA)与梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)联合检测梅毒特异性抗体 提高梅毒螺旋体检测的准确性和效率

王文静

南京医科大学附属逸夫医院

目的:梅毒是一种临床表现极为复杂,严重危害人类健康的性传播疾病。探讨当化学发光微粒子免疫(CMIA)测定梅毒特异性抗体发现有反应时,利用梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)进行特异性抗体复核,对比分析两种梅毒特异性抗体检测方法的阳性符合率,进一步提高梅毒螺旋体检测的准确性和效率。

方法:分析南京市某三级医院2023年7月-2024年7月24732例临床患者化学发光微粒子免疫(CMIA)测定梅毒螺旋体特异性抗体情况,对有反应的标本进行梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)进行特异性抗体复核。统计分析不同S/CO值区间梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)阳性符合率。

结果:分析化学发光微粒子免疫(CMIA)测定不同S/CO值区间与梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)阳性符合率。按照不同分区 $1 \leq S/CO < 2$, $2 \leq S/CO < 3$, $3 \leq S/CO < 4$, $4 \leq S/CO < 6$, $6 \leq S/CO < 8$, $8 \leq S/CO < 10$, $10 \leq S/CO < 20$, $20 \leq S/CO < 40$, 阳性符合率分别为:36.62%, 60.00%, 60.87%, 80.77%, 96.30%, 100%, 100%, 100%。通过数据分析得出当 $8 \leq S/CO$ 时,化学发光微粒子免疫(CMIA)测定结果与梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)检测结果的阳性符合率为100%。

讨论:CMIA作为梅毒特异性抗体血清学检测中的重要组成部分具有高特异性,敏感性,快速,高通量等特点,广泛应用于临床,但其面临假阳性问题,特别对于S/CO低值患者。当化学发光微粒子免疫(CMIA)测定结果 $8 \leq S/CO$ 时,与梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)检测结果的阳性符合率为100%,由此避免由检测方法引起的假阳性结果对病患造成极大的心理负担,甚至引起的医疗纠纷。S/CO低值患者及时进行梅毒螺旋体明胶凝集试验(TPPA)进行特异性抗体复核,也为病患就诊和治疗争取到更早时间。

关键字 梅毒;化学发光微粒子免疫检测;梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验;阳性符合率;准确性

N4BP1在细胞内的分布及形成聚集体的机制和作用研究

郭晓红、范义辉

南通大学

目的: N4BP1作为核糖核酸内切酶,其在抑制免疫应答过程中发挥着重要作用,但在分子水平上对N4BP1的机制研究较少,特别是N4BP1在细胞内的定位和存在形式还有很多争议。因此探索N4BP1在细

胞内的分布特征,并深入研究其在细胞内分布的调控机制及生物学意义显得至关重要,也为进一步研究N4BP1在体内的作用机制以及疾病的预防和治疗提供新的思路。

方法:在HEK293T和HeLa细胞中过表达N4BP1全长和截短质粒,使用进出核抑制剂,通过免疫荧光和核质分离实验确定N4BP1在细胞内的分布特征及穿梭机制;免疫荧光双荧光染色分析与N4BP1共定位的关键蛋白,并在HeLa细胞中过表达N4BP1全长、截断质粒和调控该结构域关键位点的点突变质粒,通过免疫荧光双荧光分析其共定位机制;构建N4BP1敲除细胞系或使用MLN 4924抑制剂,通过免疫荧光或热休克实验研究N4BP1相关生物学功能。

结果:N4BP1在细胞中定位于细胞质可溶组分和细胞质/细胞核的不溶组分中,并可进行核质穿梭,其出核是由CRM1介导的;N4BP1的出入核机制是由151-396氨基酸序列参与调控的;N4BP1在细胞中可形成聚集体,且该聚集体在细胞核中不结合DNA;N4BP1聚集体在细胞中可与拟素化蛋白NEDD8共定位,但不与泛素共定位;N4BP1的CoCUN结构域的866位点参与调控其结合拟素化蛋白NEDD8;N4BP1在细胞热休克状态下发挥重要作用,其可在热休克状态下形成N4BP1/NEDD8聚集体,从而发挥保护细胞的作用。

讨论:N4BP1作为Regnase-1亚家族的成员之一,其在生物体内发挥着重要功能。研究表明N4BP1可抑制病毒复制,也可作为细胞因子的负调节剂,但其在细胞内的分布特征还不明确。本课题阐明N4BP1在细胞内主要分布在细胞质可溶组分和细胞质/细胞核的不溶组分中,并可进行核质穿梭,其穿梭机制是由151-396氨基酸序列参与调控的,但调控其出入核的关键位点还尚不明确。研究过程中发现N4BP1可以聚集体的形式存在,且该聚集体可通过CoCUN结构域的866位点结合拟素化蛋白NEDD8。细胞在热应激状态下可形成N4BP1/NEDD8聚集体,从而起到保护作用。目前已知拟素化蛋白NEDD8参与的拟素化修饰在细胞代谢、细胞周期进展、免疫和肿瘤发生发展中都发挥着重要作用,但结合NEDD8的N4BP1聚集体还可发挥哪些生物学意义?这还需要我们的进一步研究。

关键字 N4BP1、NEDD8、CoCUN、热休克

日本血吸虫多肽SJMHE1和负载SJMHE1水凝胶 干预银屑病的研究

汪雪峰、刘茜、江喻芸、杨艳伟、霍利月、叶济贤

江苏大学附属医院

目的:银屑病是一种免疫介导的皮肤炎症性疾病,目前尚无有效的治疗方法。利用蠕虫诱导的免疫调节可作为自身免疫和炎症性疾病的一种新的治疗方式,但有关蠕虫对银屑病的研究仍然有限。本研究评估了来自日本血吸虫免疫调节性多肽 SJMHE1对咪喹莫特(imiquimod, IMQ)诱导的银屑病小鼠和 LPS 诱导的角质细胞炎症反应的影响,并评估了SJMHE1负载水凝胶对银屑病小鼠的作用。

方法:连续7天IMQ局部涂抹小鼠背部构建银屑病小鼠模型;IMQ涂抹后6h SJMHE局部涂抹或皮下注射治疗银屑病小鼠;或者泊洛沙姆(Poloxamer)结合SJMHE1构建负载多肽水凝胶治疗银屑病小鼠;体外, SJMHE1处理LPS刺激的HaCaT细胞;检测小鼠银屑病面积和严重程度指数(PASI)、计算小鼠脾脏指数、脾细胞中Th17 和 Treg 细胞比例;HE染色检测小鼠皮损病理及炎症改变;检测小鼠皮损中炎症细胞因子、NF- κ B p-p65、p-STAT3的表达;体外,检测SJMHE1处理的HaCaT中炎症细胞因子、NF- κ B p-p65、p-STAT3的表达;

结果: SJMHE1局部涂抹和皮下注射可减轻小鼠的银屑病样皮损, 改善 PASI 评分, 减少表皮厚度和真皮炎性细胞浸润, 降低角质形成细胞增殖或分化标志物 Ki67 的表达; SJMHE1处理可减少 LPS刺激的 HaCaT 细胞中IL-1 β 、IL-17A、TNF- α mRNA的表达, 增加IL-10 mRNA的表达; 下调 NF- κ B、STAT3 的活化; 负载SJMHE1水凝胶和 SJMHE1 涂抹减轻小鼠IMQ 诱导的银屑病样皮损和 PASI 评分, 减少表皮中 Ki67 阳性细胞的数量, 降低脾指数, 增加调节性 T 细胞 (Tregs) 的比例, 降低 Th17 细胞的比例, 减少皮损中IL-6、IL-17A、TNF- α mRNA的表达, 增加IL-10 mRNA的表达; 减少NF- κ B、STAT3 的活化。而且, 在IMQ给药后第6、7、8天, 负载SJMHE1水凝胶组小鼠的体重变化小于倍他米松阳性对照组。

结论: 负载SJMHE1水凝胶和SJMHE1处理抑制银屑病小鼠皮损中NF- κ B、STAT3的活化, 改善小鼠 Th17/Treg平衡, 降低银屑病小鼠炎症细胞因子的表达, 从而改善小鼠银屑病病变。而且, 负载SJMHE1水凝胶的副作用小于倍他米松。负载SJMHE1水凝胶可能是治疗银屑病的一种有效策略。

关键字 日本血吸虫多肽SJMHE1; 负载SJMHE1水凝胶; 干预; 银屑病

探讨多种生物标志物在溃疡性结肠炎中的诊断作用

梁勇、张晗、杨洁

淮安市第二人民医院

目的: 探讨IL-6、D-乳酸, 二胺氧化酶, 细菌内毒素联合对溃疡性结肠炎疾病诊断的预测价值, 和血清学标志物及免疫细胞在溃疡性结肠炎中发挥的作用机制研究来提高诊断溃疡性结肠炎效率。

方法: (1) 统计溃疡性结肠炎患者的白细胞数, 中性细胞数, 血红蛋白浓度, 血小板, 血沉, C反应蛋白, IL-6、D-乳酸, 二胺氧化酶, 细菌内毒素的变化, 将患病组与健康组的数据用独立样本t检验比较分析。

(2) 磁微粒化学发光免疫分析法做细胞因子六项, 分析IL-6所发挥的调节功能。做肠道屏障功能检测, 分析与DAO、D-乳酸, 细菌内毒素有关的IL-13的调节机制, 将IL-6、D-乳酸, 二胺氧化酶, 细菌内毒素联合起来做ROC分析和二元Logistic分析。

(3) 对临床上收集的标本进行流式, 分析CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3+CD56+, CD16+CD56+所占的百分比, 讨论NK T细胞对溃疡性结肠炎的作用。

结果: 1、与对照组相比, 溃疡性结肠炎病人白细胞总数, 中性细胞数, 血红蛋白浓度, 血小板数, 血沉, CRP, IL-6、D-乳酸, 二胺氧化酶, 细菌内毒素, 统计学上有差异 ($P < 0.05$)。

2、ROC曲线分析发现, 当IL-6最佳截断值为52.5pg/ml时, 敏感性和特异性分别为62.5%和90%。当D-乳酸最佳截断值为5.0mg/L时, 敏感性和特异性分别为75%和30%。当DAO最佳截断值为35U/L时, 敏感性和特异性分别为75%和60%。当细菌内毒素最佳截断值为17.5U/L时, 敏感性和特异性分别为37.5%和80%。ROC曲线下面积最大的是联合诊断指标 ($AUC=0.875$), 然后依次是细菌内毒素 ($AUC=0.750$), IL-6 ($AUC=0.600$), DAO ($AUC=0.575$), D-乳酸 ($AUC=0.400$), IL-6和DAO敏感度, 特异度和AUC三个值较好, 在UC病情活动度评估方面性能比较突出, IL-6、D-乳酸, 二胺氧化酶, 细菌内毒素四种指标联合判断时能提高该病的诊断效能, 有很好的预测能力。

结论: IL-6和DAO敏感度, 特异度和AUC三个值较好, 在UC病情活动度评估方面性能比较突出, 与D-乳酸, 二胺氧化酶, 细菌内毒素等炎症指标联用时能提高诊断效能, 预测价值高。

关键字 溃疡性结肠炎; 白介素-6; D-乳酸; 二胺氧化酶; 细菌内毒素

深度蛋白质组学筛选胃癌中免疫相关外泌体蛋白

丁小青

江南大学附属医院

目的：利用4D-label-free定量蛋白质组学分析胃癌（gastric cancer, GC）患者血清及组织来源外泌体（exosomes）的蛋白质表达谱，筛选胃癌中免疫相关外泌体蛋白。

方法：收集GC患者及健康对照者（healthy control, HC）血清标本（GC=36例；HC=40例）。同时收集部分GC手术患者癌和癌旁正常组织(8对)，并通过胶原酶IV及DNA酶I消化获得组织上清。样本分组混合后使用超速离心法分离血清及组织上清中的外泌体，通过透射电子显微镜、纳米粒子示踪分析和Western blot分析对外泌体进行鉴定。应用4D-label-free定量蛋白质组学分析血清及组织外泌体中的差异表达蛋白（differentially expressed proteins, DEPs）。选择血清及组织外泌体中均上调的DEPs作为关键DEPs，并对这些关键蛋白进行生物功能和免疫相关性分析。最后通过4D-PRM靶向质谱对目标蛋白进行验证（GC=10例；HC=8例）。

结果：GC患者血清及组织外泌体均呈圆形、椭圆形的“杯口状”膜性囊泡，粒径主峰值100nm左右。血清及组织外泌体中均表达CD9和Alix蛋白，而未检测出阴性标志蛋白Calnexin的表达。经4D-label-free定量蛋白质组学技术在血清外泌体和组织外泌体样品中分别鉴定出2066和3430个蛋白。以2.0倍变化的临界点，与对照组相比，在胃癌患者血清外泌体样品中筛选出305种上调蛋白质，在胃癌患者组织外泌体样品中筛选出967种上调蛋白质。其中，89种DEPs在血清外泌体和组织外泌体都上调。生信分析显示了这89种DEPs主要参与免疫反应、信号传导等生物过程。进一步胃癌免疫浸润分析发现外泌体蛋白PTX3与巨噬细胞极化密切相关。最后经4D-PRM靶向质谱证实，对于正常组，胃癌患者外泌体蛋白PTX3显著增高。

讨论：外泌体通过传输免疫相关蛋白质，在肿瘤免疫中发挥着重要作用。本研究通过深度蛋白质组学分析从胃癌来源外泌体中筛选出了免疫相关外泌体蛋白PTX3，为胃癌肿瘤免疫相关研究提供了分子基础。

关键字 胃癌;外泌体;4D蛋白质组学;肿瘤免疫

髓源性抑制细胞在原发性干燥综合征中致病作用研究

芮棵¹、洪悦¹、田洁²

1. 江苏大学附属医院; 2. 江苏大学

目的：本研究主要观察了在小鼠实验性干燥综合征（ESS）发病过程中髓源性抑制细胞（MDSCs）的比例和功能的动态变化，探究了不同时期MDSCs对ESS小鼠的治疗作用；通过体内和体外实验探究糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体（GITR）及其配体 GITRL对MDSCs功能的调控。

方法以及结论：（1）通过流式细胞术动态观察不同时期ESS小鼠体内MDSCs及其亚群的变化。研究发现，在ESS小鼠疾病发展的进程中，小鼠体内各个部位MDSCs的比例明显升高，并且局部唾液腺组织

中也出现MDSCs的浸润。进一步分析不同时期MDSCs及其亚群的功能。分选出小鼠脾脏中的MDSCs及其亚群,结果显示,早期ESS小鼠脾脏中的MDSCs及其亚群具有较强的抑制能力,而随着疾病的发展,晚期脾脏中MDSCs及其亚群的抑制能力明显减弱。

(2) 通过过继转移不同时期的MDSCs于ESS小鼠体内,发现早期的MDSCs能够有效延缓ESS的发生发展,而晚期的MDSCs却没有明显的治疗效果。

(3) 通过流式细胞术动态观察ESS小鼠发生发展中的GITRL表达,发现随着疾病的进程,ESS小鼠体内GITRL的表达显著升高。体外GITRL蛋白刺激早期MDSCs,能够下调MDSCs的免疫抑制能力并且刺激后的MDSCs丧失了对于ESS小鼠的治疗作用。

(4) 为了进一步观察GITRL对ESS小鼠体内MDSCs的调控,我们给ESS小鼠注射外源性GITRL蛋白,发现外源性的GITRL能够显著下调ESS小鼠体内MDSCs的免疫抑制功能。进一步地,我们利用小干扰RNA下调MDSCs表面GITR的表达后,将其过继转移至ESS小鼠体内,结果发现干扰GITR后的MDSCs能够有效地治疗小鼠。这些结果都进一步证明了GITRL通过与MDSCs表面GITR结合,下调MDSCs的免疫抑制能力,从而促进小鼠ESS的发生发展。

讨论: ESS发病过程中体内逐渐升高的GITRL可结合MDSCs表面的GITR受体,下调ESS小鼠体内MDSCs的免疫抑制功能,从而持续加重疾病的发生发展。该研究利用ESS模型,探讨MDSCs在干燥综合征发生发展中的变化以及作用,从GITRL/GITR这一新的角度揭示MDSCs在干燥综合征发展中所受到的微环境的调控,拓展我们对MDSCs在自身免疫性疾病中作用的认识,为临床自身免疫性疾病的治疗提供新的思路。

关键字 髓源性抑制细胞,原发性干燥综合征

IL-25通过增强MDSCs功能促进炎症相关性肠癌的发生发展

袁庆芳¹、陈子翔¹、姜伶俐¹、刘畅¹、许化溪¹、王胜军²、芮棵²、田洁¹

1. 江苏大学; 2. 江苏大学附属医院

研究背景: 炎症相关性肠癌(colitis-associated cancer, CAC)是结直肠癌的一种,但恶性程度更高,患者生存率更低。IL-25参与多种肿瘤的发生发展,但其在CAC发展进程中的作用尚不明确。

研究目的: 本研究通过探究IL-25在CAC疾病进展中的作用,进一步明确IL-25对CAC中MDSCs免疫抑制功能的调控及其分子机制,为靶向IL-25治疗炎症相关性肠癌提供理论依据,有助于开辟临床治疗癌症的新策略。

研究方法: 小鼠CAC模型的构建、流式细胞术、免疫磁珠分选技术、逆转录PCR技术、转染、淋巴细胞增殖实验、酶联免疫吸附实验、H&E染色等。

研究结果: 随着CAC进展,小鼠外周血及结直肠组织中IL-25的表达均明显升高。注射IL-25重组蛋白后,CAC小鼠结直肠的病变更加重,肠道肿瘤数目明显增多,外周免疫器官中CTL和Th1细胞的比例和数目明显降低;敲除IL-25后,CAC小鼠疾病严重程度明显减轻;随着CAC进展,髓源性抑制细胞(myeloid derived suppressor cells, MDSCs)及其亚群的比例逐渐升高,免疫抑制功能逐渐增强。注射IL-25后,CAC小鼠外周免疫器官中MDSCs的数目和比例明显升高,免疫抑制功能显著增强;敲除IL-25后,MDSCs比例降低,免疫抑制功能下降。此外,与对照组相比,过继转移IL25r/-MDSCs的CAC小鼠病变

程度减轻。体外IL-25刺激MDSCs后，MDSCs中BATF表达升高；与对照组相比，敲减BATF后，IL-25增强MDSCs免疫抑制功能的作用被削弱。

研究结论：IL-25能够促进MDSCs数目和比例升高，增强其免疫抑制功能，从而加快CAC的疾病进程；IL-25可通过BATF调控MDSCs的免疫抑制功能。

关键字 炎症相关性肠癌；白介素-25；髓源性抑制细胞

Olfactory ecto-mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles ameliorate collagen-induced arthritis via modulating IL-10-producing B cells

Qiugang Zhu¹, Minghui Wang¹, Lingli Jiang¹, Shengjun Wang², Ke Rui², Jie Tian¹

1. Jiangsu University; 2. Affiliated Hospital of Jiangsu University

Rheumatoid arthritis (RA) is a tissue specific autoimmune disease (AID) characterized by progressive synovial inflammation and joint damage. Recent studies have demonstrated that regulatory B cells (Bregs) played a protective role in the development of RA but were numerically and functionally impaired in RA patients and mouse model. Our previous studies have revealed that olfactory ecto-mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles (OE-MSV-EVs) could alleviate the severity of experimental Sjögren syndrome (ESS) and inflammatory bowel disease (IBD). However, it remains unclear whether OE-MSV-EVs could alleviate the progression of collagen-induced arthritis (CIA) by regulating Bregs. In this study, we found that OE-MSV-EVs ameliorated the development of CIA via promoting the generation of interleukin-10-producing B cells (IL-10⁺ B cells), accompanied by the reduced C II-specific B cell responses. In vitro, OE-MSV-EVs promoted the generation of IL-10⁺ B cells under Breg induction condition. Mechanistically, OE-MSV-EV-contained Epstein-Barr virus-induced gene 3 (EBI3) promoted the generation of IL-10⁺ B cells via activating gp130-mediated JAK2/STAT3 signaling. In summary, our results identified that OE-MSV-EVs might be a promising cell-free therapy for the treatment of RA via expanding IL-10⁺ B cells, possibly constituting a new strategy for the treatment of RA and other AIDs.

Key Words olfactory ecto-mesenchymal stem cells; extracellular vesicles; CIA; IL-10⁺ B cells; EBI3

制备具有“清道夫”功能的聚多巴胺原位凝胶疫苗用于肿瘤的联合治疗

房正邹

江苏大学附属医院

目的：制备能降解密集细胞外基质的药物体系，促进药物分子及免疫细胞在肿瘤组织的浸润，实现对肿瘤细胞的精准杀伤，并抑制肿瘤的转移及复发的目的。

方法：利用多巴胺氧化聚合形成聚多巴胺（Polydopamine, PDA）的性能，成功装载化疗药物多柔

比星 (Doxorubicin, DOX) 并在其表面修饰叶酸分子, 最后以叶酸修饰和负载阿霉素的聚多巴胺纳米粒子和纳豆激酶为基础, 与苯硼酸化透明质酸中的硼脂键交联成具有“披荆斩棘”功能的光敏原位凝胶药物载体 (NK/FA-PDA@DOX HA), 用于实体瘤的联合治疗。首先, 将NK/FA-PDA@DOX HA浸入到体外模拟的肿瘤微环境中, 观察NK/FA-PDA@DOX HA药物载体的环境响应降解性能。随后, 将NK/FA-PDA@DOX HA分别与4T1细胞和GES-1细胞共孵育, 通过共聚焦显微镜观察两种细胞在不同时间点的荧光强度; 随后, 建立4T1小鼠移植瘤模型, 观察小鼠移植瘤体积变化并收集小鼠肿瘤组织制作病理切片, 评价NK/FA-PDA@DOX HA药物载体联合近红外光对小鼠移植瘤的抑制作用及肿瘤组织中免疫细胞浸润情况。

结果: NK/FA-PDA@DOX HA药物载体不仅具有环境响应释放性能, 且能促进药物及免疫小在肿瘤组织浸润。NK/FA-PDA@DOX HA药物载体联合近红外光治疗不仅能抑制肿瘤生长, 而且所释放的FA-PDA@DOX NAs能被肿瘤细胞高效摄取。

结论: 成功制备了具有环境响应性能NK/FA-PDA@DOX HA药物载体, 所释放的NK不仅能有效降解细胞外基质中所含的纤维连接蛋白, 也能抑制肿瘤相关成纤维细胞产生纤维化, 导致肿瘤硬度降低, 有效克服实体瘤的生理屏障, 促进药物及免疫细胞在实体瘤中的浸润, 有效抑制实体瘤的生长。此外, 释放的FA-PDA@DOX NAs表面所含的叶酸分子能与肿瘤细胞表面的叶酸受体结合, 进而增强肿瘤细胞对其摄取, 并根据偏酸的细胞质释放出装载的DOX, 实现肿瘤细胞的精准杀伤。更重要的是, 在NIR的激发下NK/FA-PDA@DOX HA能有效诱导肿瘤细胞表面相关模式分子的表达, 进而促进DC细胞对其进行吞噬, 促进CD8+ T细胞及记忆性T细胞的表达, 有效抑制肿瘤细胞的转移及复发。

关键字 环境响应; 细胞外基质; 靶向摄取; 联合治疗

Antibody Fc-mediated neutrophil phagocytosis induced by inactive COVID-19 vaccine tracks with different clinical outcomes to COVID-19

Chuang Li,yuxin chen

Department of clinical laboratory, Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Nanjing University of Chinese Medicine

Although each severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) variant renews concerns about the decreased vaccine neutralization weakening efficacy, vaccines continue to confer robust protection in humans, which implicates immunity beyond neutralization in vaccine efficacy. We previously demonstrated that CoronaVac induced durable and cross-reactive Fc-mediated phagocytosis activities. Nevertheless, whether specific Fc activities track with vaccine-mediated protection and clinical outcomes remained elusive. Therefore, to fully define the immune correlates of protective humoral immunity, we dissected the protective role of Fc-mediated activities in two study cohorts, including binding antibody titer, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC), antibody-dependent cellular phagocytosis (ADCP) and antibody-dependent neutrophil phagocytosis (ADNP). In the CoronaVac vaccinee cohort, individuals without breakthrough infection showed higher magnitude of ADCP and ADNP activities with high degree of cross-reactivity, compared to non-breakthrough infected individuals. A predictive model incorporating ADNP activities and IgG titer achieved an area under curve (AUC) of 0.837. In

COVID-19 patient cohort, BA.5 specific ADCP and ADNP responses were significantly diminished in fatal patients compared to mild, moderate, and severe patients. To predict the fatality of COVID-19 patients, the established prognosis model incorporating ADNP activities specific to wildtype, BA.5 and XBB.1.5 achieved an AUC of 0.890. Moreover, transcriptomic analysis of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from COVID-19 patients at early phase of infection demonstrating remarkable up-regulated genes associated with neutrophil and phagocytosis, further supporting an essential role of ADNP responses. Collectively, our data highlight that Fc-mediated effector activities, especially neutrophil phagocytosis, might serve as important biomarkers for immune correlates associated with the prevention and resolution of SARS-CoV-2 infection.

Key Words COVID-19 Vaccine, SARS-CoV-2, antibody-dependent neutrophil phagocytosis, Fc effector function;

RSV感染干预新策略：靶向ATP 依赖性干扰素反应蛋白TOR3A抑制RSV复制研究

李小平^{1,2}、朱雪松¹、张进平²

1. 苏州大学附属第一医院; 2. 苏州大学生物医学研究院

目的：本研究旨在深入探讨TOR3A在呼吸道合胞病毒（RSV）感染中的作用及其调控I型干扰素（IFN- I）通路的分子机制，以期RSV感染的临床治疗提供潜在的新靶点。

方法：首先，我们检测了RSV感染对RAW264.7细胞中TOR3A表达的影响，并使用全蛋白质谱分析筛选出TOR3A作为研究靶分子。接着，构建了TOR3A敲低的RAW264.7稳转株，通过一系列分子生物学技术（包括qPCR、Western blot、免疫荧光等）探究TOR3A对IFN- I通路及病毒复制的调控作用。此外，通过共聚焦显微镜、免疫共沉淀和Western blot等方法分析TOR3A与RIG-I及E3泛素连接酶STUB1的相互作用，并研究了RSV诱导TOR3A上调的机制。

结果：研究发现，RSV感染显著上调了巨噬细胞中TOR3A的表达。TOR3A通过抑制IFN- I通路促进RSV病毒复制。机制研究发现，TOR3A诱导RIG-I发生K48连接的多聚泛素化修饰，导致蛋白酶体途径的降解，并抑制了RIG-I与ATP的相互作用。此外，TOR3A通过STUB1靶向调控RIG-I的泛素化修饰，促进了RIG-I的降解。RSV感染后，STUB1与TOR3A及RIG-I的相互作用增强，且TOR3A促进了STUB1诱导的RIG-I泛素化修饰和蛋白酶体途径降解。RSV诱导的TOR3A表达受IFN- I下游通路转录因子STAT1的调控。

结论：RSV病毒感染巨噬细胞后，通过转录因子STAT1上调TOR3A的表达，TOR3A通过与RIG-I及STUB1相互作用，促进STUB1诱导RIG-I的K146位点K48连接多聚泛素化与蛋白酶体途径降解。本研究揭示了TOR3A在抗病毒先天免疫反应中的负调控作用，为临床抗RSV病毒治疗提供了潜在的新靶点。

关键字 RSV; TOR3A; RIG-I; STUB1; 泛素化

铁超载加重oxLDL诱导的泡沫细胞动脉粥样硬化活性

王晓燕

常州市第二人民医院

目的：本研究旨在探讨铁超载在泡沫细胞促动脉粥样硬化激活中的作用。

方法：RAW264.7和MOVAS细胞扩增培养，按照Media，oxLDL，oxLDL+柠檬酸铁胺，oxLDL+柠檬酸铁胺+去铁胺四个组分别刺激。收集标本，普鲁士蓝和油红O染色检测铁沉积和泡沫细胞的生成。CCK-8试验、DHE探针、ELISA、RT-qPCR等方法检测细胞死亡率、ROS，MDA，GPX4，GSH等脂质过氧化分子、ABCA1及ABCG1等胆固醇逆向转运分子mRNA，平滑肌细胞表型转化分子mRNA（ α -SMA，MYH11，SM22a，OPN），及炎症因子mRNA（TNF- α ，IL-1 β ）的表达。

结果：铁超载组巨噬细胞和平滑肌细胞泡沫化程度加重，ABCA1及ABCG1 mRNA下降。细胞死亡率增加，上调ROS，MDA，GPX4，GSH等脂质过氧化分子的表达，巨噬细胞M1型标志物iNOS mRNA表达上升，平滑肌细胞收缩型标志物 α -SMA，MYH11 mRNA含量下降，合成型标志物OPN mRNA含量上升，大量释放炎症因子TNF- α ，IL-1 β 。这一系列改变在去铁胺实验组均得到逆转。

讨论：本研究结果显示铁超载组细胞铁沉积加重，泡沫化程度加重，ABCA1及ABCG1 mRNA下降，表明铁超载降低了胆固醇逆向转运，促进细胞对oxLDL吸收。而细胞的存活率的降低，脂质过氧化分子的大量释放表明过量铁对细胞产生明显毒性，加重细胞过氧化程度。去铁胺治疗后GPX4和GSH含量显著上升，说明去除过量铁可大大恢复细胞的抗氧化能力。而脂质过氧化程度的加重又是动脉粥样硬化的发展中重要的环节。在细胞功能验证方面，铁超载促进巨噬细胞向炎症性的M1型转化，平滑肌细胞由收缩型向致动脉粥样硬化的合成型转化。去铁胺治疗后，这些现象均出现逆转。此外，铁超载还促进细胞大量炎症因子的释放。

以上这些数据表明，铁超载加强泡沫细胞多种功能活化，诱导细胞炎症反应及脂质过氧化，参与动脉粥样硬化的进展。

关键字 铁超载，泡沫细胞，脂质过氧化，表型转化

结直肠癌中顺铂对肿瘤免疫微环境的影响

陈泽宇

江苏大学附属医院

目的：探究顺铂（CDDP）对结直肠癌（CRC）免疫微环境的影响。

方法：（1）使用R软件（版本4.2.3）对单细胞测序数据集进行分析。在聚类分析之前过滤低质量细胞，使用Seurat包对单细胞数据集进行降维聚类、差异分析和可视化。使用Harmony包对2个数据集进行整合及去批次化，整合的数据再进行降维聚类，使用FindAllMarkers函数进行差异基因的筛选，使用UMAP函数对整合的数据集进行可视化分析。利用CRC单细胞测序数据，分析CDDP对CRC免疫微环境的影响。基于基因表达数据，结合信号转导配体、受体和其辅助因子之间的相互作用，构建细胞间通讯的

概率模型。CellChat展示各类免疫细胞之间互作数量与强度的变化,以及免疫细胞中保守与特异性信号通路的变化,识别差异信号通路。筛选促炎抗肿瘤相关信号通路,比对其在免疫细胞间互作的数量与强度。

(2) 差异分析展示CDDP处理后TAM的差异基因。分离小鼠腹腔巨噬细胞,用CD11b和F4/80流式抗体染色,检测纯度,高纯度巨噬细胞用于后续实验。在Transwell小室中,将CT26结直肠癌细胞与腹腔巨噬细胞按照一定比例共同培养后,获得TAM。CDDP体外处理TAM,RT-qPCR技术体外验证差异基因的mRNA水平。差异分析展示CRC单细胞测序数据中促炎型TAM相关转录因子的表达,RT-qPCR技术验证生信分析结果。

结果:(1) CDDP处理后,CRC组织中总免疫细胞比例增加,其中以巨噬细胞、单核细胞以及粒细胞比例变化最为明显,免疫细胞之间的互作数量和强度都明显增高。与NS组的总体信号模式相比,CDDP组免疫细胞的特异性信号通路明显增多,保守性信号通路明显增强,其中以巨噬细胞、单核细胞以及NK细胞中的信号通路变化最为明显,细胞的传出信号与传入信号的数量和强度都显著升高。网络图显示,TWEAK, TNF, NKG2D, COMPLEMENT促炎相关信号通路都与巨噬细胞有显著关联。且相较于NS组,CDDP组巨噬细胞与其他免疫细胞间有关促炎相关信号通路的互作明显更强。CDDP处理显著增强巨噬细胞与其他免疫细胞相关促炎信号通路的交互作用。

(2) 气泡图显示CDDP组中的促炎型巨噬细胞相关转录因子基因包括Hif1a、Irf5和Stat1表达高于对照组。RT-qPCR结果显示,与对照组相比,CDDP处理后TAM中的Irf3、Irf5和Stat1的mRNA水平增加。

结论:(1) CDDP改变CRC中免疫细胞的比例与功能,加强TAM的促炎信号通路。

(2) CDDP促进TAM向促炎型再编程。

关键字 顺铂、结直肠癌、肿瘤相关巨噬细胞

Pelargonidin alleviates acute lung injury induced by *Klebsiella pneumoniae* via targeting CD38-mediated pyroptosis

Fei Jiang, Haiquan Kang

Department of Laboratory Medicine, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University

Purpose: *Klebsiella pneumoniae* (KP) is one of the most important pathogens that cause pulmonary infection. Acute lung injury (ALI) caused by KP infection poses a serious threat to human health. Pelargonidin showed anti-inflammatory effects, but its effect against KP-induced ALI and underlying mechanism remain unclear. This study aimed to elucidate the protective and therapeutic effects of Pelargonidin on KP-induced ALI mouse models and MH-S cells, and further explored the potential mechanism.

Methods: The protective effect of Pelargonidin on KP-induced ALI in mice was evaluated by testing pulmonary edema, pulmonary histopathological changes, leukocyte count and classification in alveolar lavage fluid (BALF), and inflammatory cytokine levels in lung tissue and BALF. Besides, the KP-induced inflammation model in murine alveolar macrophage were used to investigate the underlying molecular mechanisms of Pelargonidin against ALI.

Results: Administration of Pelargonidin notably ameliorated the histological alterations in the lung tissues, decreased lung edema and expression of inflammatory cytokines in lung, as well as the number of white blood cells, mononuclear cells, polymorphonuclear cells, secretion of inflammatory cytokines in BALF. Molecular

docking and surface plasmon resonance (SPR) showed that Pelargonidin effectively binds to CD38. Further study founded that Pelargonidin reduced the expression of CD38, increased NAD⁺ level and the expression of SIRT1, with inhibition of NF- κ B-p65 acetylation, thereby inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis.

Conclusion: This study suggests that Pelargonidin has a potential protective effect against KP-induced ALI by inhibiting pyroptosis via the CD38/SIRT1/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway, which suggested that Pelargonidin could serve as a potential agent in the treatment of ALI.

Key Words Pelargonidin, Klebsiella pneumoniae, acute lung injury, CD38, pyroptosis

多组学分析EGFR突变型肺腺癌肿瘤微环境中 T细胞免疫抑制的分子机制

左玲

南通大学

目的: EGFR 突变是肺腺癌 (LUAD) 中常见的驱动基因, 也决定了酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 治疗的有效性。但大多数患者最终对EGFR-TKI产生耐药。另外, 免疫检查点抑制剂 (ICI), 如PD-1/PD-L1 抑制剂, 可以增强 CD8⁺ T 细胞的细胞毒性并激活癌症的免疫反应。然而, 临床试验表明, PD-1/PD-L1 抑制剂对 EGFR 突变型 (EGFR-MU) LUAD 基本无效。最近的研究指出, EGFR 突变与免疫抑制性肿瘤微环境 (TME) 之间存在密切关系。然而, EGFR 突变促进癌细胞存活同时抑制免疫反应的确切机制仍未充分阐明, 本课题将全面分析EGFR-MU LUAD的免疫景观, 重点关注 T 细胞, 了解T细胞功能障碍和免疫抑制的关键分子事件, 探索EGFR-TKI耐药潜在的原因。

方法: 利用数据库中单细胞 RNA和组织 RNA 测序数据集进行高维加权基因共表达网络 (WGCNA) 分析, 以确定导致免疫抑制性 TME 的关键基因和免疫相关途径。利用细胞间通讯等方法分析了在EGFR 突变背景下肿瘤细胞和基质细胞的相互作用, 以及趋化因子在调节性T细胞 (Treg) 迁移中的作用。多色免疫组化分析了EGFR-MU和EGFR-WT之间MHC类分子表达差异以及MHC类分子与肿瘤相关成纤维细胞 (CAFs) 之间共定位情况。

结果: EGFR-MU肿瘤 细胞下调 MHC I 类基因以逃避 CD8⁺ 细胞毒性T细胞, 表达大量 MHC II 类分子, 并与 CD4⁺ 调节性 T 细胞 (Tregs) 结合。EGFR-MU 肿瘤可能主要通过 CCL17/CCL22/CCR4 轴募集 Tregs, 导致 Tregs 富集 TME。在 EGFR-MU 肿瘤中发现高水平的 MHC II 类阳性CAFs和肿瘤内皮细胞。由于缺乏共刺激因子, 它们可能会抑制肿瘤抗原特异性 CD4⁺ T 细胞反应, 从而进一步促进免疫抑制。LUAD 队列中的多色免疫组化分析也证实 EGFR-MU LUAD中癌细胞和成纤维细胞中 MHC II 类分子的表达增加。

结论: 本课题研究结果表明, EGFR-MU LUAD 的特征是 CD8⁺ T 细胞免疫反应抑制、Tregs浸润增加以及 CAFs 和肿瘤内皮细胞异常分化。这些因素可能在 EGFR-MU LUAD 中交织在一起, 并随着肿瘤的进展而逐渐增强, 共同促进了高度免疫抑制性TME。因此, 尽管 EGFR-TKI 治疗似乎在一定程度上逆转了免疫抑制, 但可能不足以诱导有效的免疫反应以有效消除癌细胞。我们的研究为 EGFR-MU LUAD 中肿瘤免疫逃逸的潜在机制提供了新的见解, 并可能有助于设计新的免疫疗法以改善治疗结果。

关键字 EGFR突变; 肿瘤免疫治疗; 肺癌; 单细胞测序; 肿瘤微环境

细胞因子检测在儿童肺炎支原体肺炎病情评估中的作用

张骆军、张曙晴
南通市第二人民医院

目的：研究儿童肺炎支原体肺炎（MPP）患儿各类细胞因子水平的变化，分析其在重症MPP诊断中的临床价值。

方法：选择我院91例住院MPP患儿进行血液采集、分离，并检测IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-17、TNF- α 、IFN- γ 。依据病情严重程度将受试者分为轻症、重症组，通过统计学分析比较各组上述指标的差异及重症MPP发生的危险因素及诊断指标。

结果：重症MPP组IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-17、TNF- α 、IFN- γ 高于轻症MPP组，重症MPP组MP-IgM抗体低于轻症MPP组。其中IL-6、IL-10及TNF- α 为发生重症MPP的独立危险因素，其值越高，发生SMPP的可能性越大。并且当IL-6 ≥ 16.099 pg/ml时，预测重症MPP发生的灵敏度为83.9%，特异度为76.7%；当IL-10 ≥ 4.72 pg/ml时，预测重症MPP发生的灵敏度为54.8%，特异度为86.7%；当TNF- $\alpha \geq 19.045$ pg/ml时，预测重症MPP发生的灵敏度为58.1%，特异度为75.0%。

讨论：正常机体感染MP后，经历免疫激活、抑制、调节、逃逸等一系列过程，产生的抗体与细胞因子相互制约、诱导，形成复杂的免疫调节机制。本研究显示重症MPP患儿MP-IgM抗体表达低于轻症MPP患儿，可能重症患儿B淋巴细胞的活化以及机体对炎症刺激后的正向免疫应答能力差，并且重症患儿因症状较重，入院早，IgM抗体升高还在早期上升阶段。MP感染患者Th17细胞致病作用与Treg细胞的保护作用处于动态平衡：Th17上升，分泌IL-6、IL-8等多种促炎细胞因子，Treg细胞分泌的IL-10抑制T细胞及抗原传递，降低炎性因子及抗体水平，防止过度炎症。同时患者还存在Th1/Th2细胞比例失衡，Th2类细胞因子IL-4、IL-6、IL-10等占主导优势，其中IL-6为内源性致热源及肝细胞刺激因子，促使肝脏产生CRP，纤维蛋白原，纤溶酶原激活物抑制剂，诱导机体凝血、纤溶功能紊乱。Th1细胞分泌细胞因子主要有IL-2、TNF- α 、IFN- γ 等，TNF- α 可诱导炎性细胞累积，刺激IL-6，IL-8的生成和释放。本研究显示重症MPP患儿较轻症患儿存在多种细胞因子的升高，其中促炎因子IL-6、TNF- α 和抗炎因子IL-10是重症MPP发生的危险因素及诊断指标。故重症MPP患儿机体内大量的促炎因子，抗炎因子以及免疫调控因子释放，过度的免疫应答，患儿表现为病情加重，气道高反应，凝血、纤溶紊乱等多系统的损伤。同时动态检测患儿的细胞因子，可以准确评估患儿的SIRS、CARS或MARS免疫状态，指导临床合理使用抗生素、激素、免疫增强剂等药物。

关键字 肺炎支原体肺炎；细胞因子；白介素-6；白介素-10；肿瘤坏死因子- α

桑叶成分鸢尾甲黄素 A 缓解炎症性肠病的机制研究

刘永超
南通大学

研究目的：探讨桑叶治疗炎症性肠病（IBD）主要的活性成分；揭示桑叶活性成分鸢尾甲黄素

A(Iristectorigenin A, IriA)是否通过调控铁死亡改善炎症性肠病;揭示IriA发挥功能的效应途径,鉴定其调控的信号通路和分子机制;IriA能否在改善IBD中发挥作用。

研究方法:利用TCMSP,ETCM,BATMAN-TCM中药数据库,以 $OB \geq 30\%$; $DL \geq 0.18$ 为筛选条件查找文献筛选桑叶的主要活性成分,从TCMSP的Related Targets中收集MF活性成分的靶基因。以Crohn's disease和ulcerative colitis为关键词从GeneCard,OMIM,PharmGKB,TTD,和DrugBank五个疾病相关数据库中筛选IBD的相关基因。对桑叶主要活性成份的相关靶基因和IBD的靶基因取交集,即为桑叶治疗IBD的潜在靶基因。对这部分基因做后续分析,利用STRIN输出蛋白质互作图(PPI),将这一结果输入到cytoscape中筛选出degree>5(中位值)的核心靶基因。另外,使用MCODE查找高度相互连接的10个cluster。对筛选出的核心靶基因与相对应的桑叶活性成分进行分子对接。对桑叶治疗IBD的靶基因进行GO和KEGG富集分析。通过RT-PCR检测促炎细胞因子IL-1 β ,IL-6,TNF- α 的表达,利用Western blot检测p38 α ,ERK,JNK以及铁死亡相关蛋白GPX4,ferritin,FTL,COX-2的表达,最后对MDA和ROS进行检测。

研究结果:本研究从TCMSP,ETCM,BATMAN-TCM中药数据库和查找文献筛选了48种桑叶的主要活性成分,并从TCMSP中获取桑叶主要活性成分的218个靶基因。从GeneCard,OMIM,PharmGKB,TTD,和DrugBank疾病相关数据库中筛选了7430 IBD相关基因。两者取交集共获得166个桑叶治疗IBD的潜在靶基因。利用string输出了PPI, cytoscape中degree>5(中位值)与MCODE中查找到的基因做交集,共有46个核心基因。另外KEGG富集分析中the lipid and atherosclerosis pathway最显著,富集了44个基因,与核心基因及铁死亡相关基因共有7个交集基因(TP53,MAPK1,MAPK14,IL1B,IL6,GSK3B,PRKCA),对其进行分子对接,IriA与p38 α 具有最佳分子结合。随后的验证研究表明,在RAW264.7细胞上IriA可通过增强p38 α 磷酸化抑制促炎细胞因子IL-1 β ,IL-6,TNF- α ,抑制了巨噬细胞的铁死亡,抑制了GPX4,ferritin,FTL,COX-2的蛋白表达水平,抑制了MDA和ROS的表达。

结论:我们的发现表明,IriA是p38 α 的天然激动剂,其本身或进一步结构修饰后可能成为开发新型抗IBD药物的先导化合物。同时,我们的发现也将干预巨噬细胞铁死亡角度为IBD的临床治疗提供新思路

关键字 桑叶; 鸢尾甲黄素A; 网络药理学; 分子对接; MAPK14; 铁死亡

Nanobody-based trispecific T cell engager (Nb-TriTE) enhances therapeutic efficacy by overcoming tumor-mediated immunosuppression

Ziqiang Ding^{1,2}, Shuyang Sun², Xiaomei Yang², Xiaoling Lu²

1. Nanjing Drum Tower hospital; 2. Guangxi Medical University

Background: T cell engagers (TCEs) have been established as an emerging modality for hematologic malignancies, but solid tumors remain refractory. However, the upregulation of programmed cell death 1 (PD-1) is correlated with T cell dysfunction that confer tumor-mediated immunosuppression. Developing a novel nanobody-based trispecific T cell engager (Nb-TriTE) would be a potential strategy to improve therapeutic efficacy.

Methods: Given the therapeutic potential of nanobodies (Nbs), we first screened Nb targeting fibroblast activation protein (FAP) and successfully generated a Nb-based bispecific T cell engager (Nb-BiTE) targeting FAP.

Then, we developed a Nb-TriTE by fusing an anti-PD-1 Nb to the Nb-BiTE. The biological activity and antitumor efficacy of the Nb-TriTE were evaluated in vitro and in both cell line-derived and patient-derived xenograft mouse models.

Results: We had for the first time successfully selected a FAP Nb for the generation of novel Nb-BiTE and Nb-TriTE, which showed good binding ability to their targets. Nb-TriTE not only induced robust tumor antigen-specific killing, potent T cell activation and enhanced T cell function in vitro, but also suppressed tumor growth, improved survival and mediated more T cell infiltration than Nb-BiTE in mouse models of different solid tumors without toxicity.

Conclusions: This novel Nb-TriTE provides a promising and universal platform to overcome tumor-mediated immunosuppression and improve patient outcomes in the future.

Key Words nanobody (Nb), trispecific T cell engager (TriTE), fibroblast activation protein (FAP), programmed cell death 1 (PD-1), solid tumor immunotherapy

m6A 和免疫相关 lncRNA 标签为肺鳞状细胞癌的免疫疗效提供了强大的预测能力

张海健、宋石盛楠

南通大学附属医院和南通大学

背景：免疫检查点阻断彻底改变了肺鳞状细胞癌 (LUSC) 的免疫治疗，但由于没有有效可靠的免疫反应预测方法，有效率不到 30%。然而，N6-甲基腺苷 (m6A) 和免疫相关 lncRNA (mirlnRNA) 对免疫疗效的临床价值仍不清楚。

方法：从 TCGA (The Cancer Genome Atlas) 数据库中选取 494 名数据完整的 LUSC 患者作为训练队列，随机选取其中一半作为验证队列。

结果：首先，我们确定了一组与 m⁶A 调节剂和差异表达免疫基因相关的特定 lncRNA。基于此，LUSC 患者被最佳地分为 mirlnRNA 簇 A、B 和 C。mirlnRNA 簇 A 被归类为免疫炎症表型，其特点是大量免疫细胞（如肿瘤浸润淋巴细胞）的浸润，并通过调节髓系白细胞分化等途径突出显示，而簇 B 和 C 分别对应于免疫沙漠和免疫排斥表型。此外，免疫炎症表型具有最高的免疫浸润、最低的染色质可及性、存活率、半抑制集中和最佳的免疫功效。最后，从 mirlnRNA 特征得出的风险评分有助于识别可从免疫疗法中显著受益的患者亚群。

结论：mirlnRNA 特征不仅可以识别分子分型、区分染色质的可及性，还可以进一步突出免疫功效和药物敏感性，这可能有助于制定基于免疫治疗的 LUSC 患者个性化治疗新策略。

关键字 染色质可及性，N6-甲基腺苷 (m6A) 甲基化，长链非编码 RNA，免疫功效，肺鳞状细胞癌

血小板减少的肺恶性肿瘤患者外周血淋巴亚群的临床意义

黄霜、林江
江阴市人民医院

目的：探讨肺恶性肿瘤患者外周血淋巴细胞亚群及血小板的变化及临床意义，并初步比较血小板减少的肺恶性肿瘤患者与血小板正常的肺恶性肿瘤患者的外周血淋巴亚群变化差异，同时观察外周血小板数量与淋巴亚群变化的相关性。

方法：将本院2024年1月-8月收治的143例肺恶性肿瘤患者作为肺癌组，并将143例肺癌患者按照血小板数量分为血小板减少肺癌组18例以及血小板正常肺癌组125例，健康体检者65例作为健康对照组。并采用流式细胞术分析比较各组别患者外周血淋巴亚群的变化。

结果：肺癌组的总T细胞绝对值、辅助T细胞绝对值、杀伤T细胞绝对值、NK细胞绝对值、B细胞的百分比及绝对值均低于健康对照组（ $P<0.05$ ），但肺癌组的NK细胞百分比高于健康对照组（ $P<0.05$ ），此外，肺癌组与健康对照组之间的外周血小板数量的变化无统计学差异（ $P>0.05$ ）；血小板减少肺癌组的总T细胞绝对值、辅助T细胞绝对值、NK细胞百分比及绝对值、B细胞绝对值均低于血小板正常肺癌组（ $P<0.05$ ），而血小板减少肺癌组的杀伤性T细胞绝对值高于血小板正常肺癌组（ $P<0.05$ ）；肺癌患者中血小板数量与外周血总T细胞绝对值呈正相关（ $r=0.188$ ， $P<0.05$ ），血小板数量与外周血辅助T细胞绝对值成正相关（ $r=0.34$ ， $P<0.01$ ），血小板数量与外周血辅助T细胞百分比成正相关（ $r=0.248$ ， $P<0.01$ ），血小板数量与外周血杀伤T细胞百分比成负相关（ $r=-0.228$ ， $P<0.01$ ），血小板数量与外周血辅助T/杀伤T细胞比值成正相关（ $r=0.313$ ， $P<0.01$ ），血小板数量与外周血NK细胞绝对值呈正相关（ $r=0.237$ ， $P<0.05$ ）。

讨论：肺恶性肿瘤患者的外周血淋巴亚群细胞发生改变，患者总T细胞、辅助T细胞、杀伤T细胞、B细胞以及NK细胞的绝对数量呈下降趋势，虽然肺癌患者的外周血小板数量与健康对照组并无统计学差异，但血小板降低的肺癌患者相较于血小板正常肺癌患者的淋巴细胞亚群的绝对数量的下降具有统计学差异，且本研究发现血小板与淋巴亚群细胞之间存在相关性，这可能预示着血小板降低的肺癌患者预后更差，疾病进展不良。因此，监测肺癌患者的外周血小板数量与外周血淋巴亚群的变化对评估肺癌患者的疾病进展和制定治疗方案具有重要临床意义。

关键字 肺恶性肿瘤；淋巴细胞亚群；血小板减少

Delivery of circular RNA encoding IL-23 sustained enhance the antitumor effects of STING agonists by promoting the proliferation of effector T cells

Tian He, Wenqing Li
Nantong University

Background: The orally available non-nucleotide human interferon gene stimulator (STING) agonist MSA-2

initiates innate immunity by activating the cGAS–STING signaling pathway. Previous studies have utilized platinum salts to modify MSA–2, which not only induces tumor cell death but also activates the cGAS–STING pathway in immune cells, thereby enhancing the anti–tumor effect. However, the progressive decline in T cell effector function has become a major obstacle to the clinical translation of STING agonists. Therefore, exploring improved strategies for STING agonists to restore the vitality of exhausted T cells is of great importance to enhance anti–tumor efficacy. It is known that IL–23, as a dual–subunit cytokine, can promote the proliferation of memory T cells and T helper type 17 cells. Hence, developing an efficient lipid nanomaterial delivery system and designing strategies that can sustain local expression of IL–23 are crucial to reverse the T cell exhaustion caused by STING agonists and activate additional immune system mechanisms to maintain durable anti–tumor effects.

Objectives: This study aims to investigate the improved strategy of anti–tumor immunotherapy based on STING agonists, examining the anti–tumor effects of the combined treatment of LNP@circIL–23 and the STING agonist MSA–2–Pt in mouse melanoma and lung metastasis models, as well as the changes in the number, phenotype, transcriptome, and biological functions of immune cells and cytokines produced in the tumor microenvironment (TME).

Methods: Synthesis and screening of ionizable phospholipid nanoparticles and cationic lipid nanoparticles. Design, preparation, and delivery of circular RNA using lipid nanomaterials. Synthesis of MSA–2–Pt. Construction of WT mouse B16F10 subcutaneous tumor implantation model and lung metastasis model. Immunostimulatory effects induced by the combined treatment of LNP@circIL–23 and MSA–2–Pt were analyzed using techniques such as multiparameter flow cytometry, Luminex liquid phase cytokine chip, eukaryotic transcriptome sequencing analysis, immunofluorescence, western blotting, and ELISA.

Results: 1. Optimization of ionizable phospholipid nanoparticles (ZP81) assembled with cationic lipid nanoparticles (Y50) for RNA efficient delivery in B16F10 cells.

We formulated lipid nanoparticles using ionizable phospholipids, DOPE, cholesterol, DMG–PEG, and cationic lipids. First, we synthesized 81 phospholipid nanoparticles and 1 cationic lipid nanoparticle. Secondly, we evaluated the delivery efficacy of 81 phospholipid nanoparticles in delivering GFP RNA in B16F10 cells; fluorescence images showed that the ZP81@GFP RNA had a high delivery efficiency in phospholipid nanoparticles with low cytotoxicity. Then, we added cationic lipid Y50 to the formulation at different molar ratios (0, 10, 20) and evaluated their delivery efficacy of GFP RNA in B16F10 cells; fluorescence images revealed that ZP81–Y50(20)@GFP RNA had the highest delivery efficiency in phospholipid nanoparticles and did not produce significant cytotoxicity.

2. LNP@circIL–23 enhances the anti–tumor effect of MSA–2–Pt in the B16F10 tumor model.

We used ZP81–Y50(20) lipid nanoparticles to deliver circIL–23, which can continuously express IL–23 protein after being injected into tumor tissue, and subsequently exert anti–tumor immune function together with MSA–2–Pt. First, we investigated that LNP@circIL–23 can express and secrete more IL–23 protein in B16F10 cells cultured in vitro. Second, we established a subcutaneous implantation model and a lung metastasis model of B16F10 melanoma in mice to evaluate the anti–cancer activity of LNP@circIL–23, MSA–2–Pt, and LNP@circIL–23+MSA–2–Pt in vivo. We found that there was no significant difference in body weight changes among the groups. After treatment with LNP@circIL–23, MSA–2–Pt, and LNP@circIL–23+MSA–2–Pt, tumor growth was significantly inhibited, especially in the LNP@circIL–23+MSA–2–Pt group, which significantly prolonged the survival time of the mice.

3. The combined treatment of LNP@circIL–23 with MSA–2–Pt increases the production of effector T cells and inflammatory cytokines.

Then we investigated the immune-activating effects produced by LNP@circIL-23+MSA-2-Pt in vivo. We found that compared to the other treatment groups, the LNP@circIL-23+MSA-2-Pt treatment group showed a significant increase in the count of tumor-infiltrating CD4+ T helper cells and CD8+ T effector cells, and the recruitment of NK cells and granulocytes increased by 2- to 5-fold, respectively. In addition, we detected the levels of cytokines in the blood, and the results indicated that LNP@circIL-23+MSA-2-Pt treatment induced a higher level of cytokine production. These findings highlight the effective role of combined treatment with LNP@circIL-23 and MSA-2-Pt in promoting the infiltration and activation of immune cells in the TME.

Conclusion: In this study, we designed a circular RNA for IL-23 (circIL-23), which has a longer half-life and superior stability compared to mRNA. We also synthesized a series of new ionizable phospholipid nanoparticles and optimized phospholipid nanoparticles (ZP81) assembled with cationic lipid nanoparticles (Y50) as a lipid nanomaterial delivery system for circIL-23, improving the expression efficiency of IL-23 in vivo. Our research evidence indicates that the combined treatment of LNP@circIL-23 with MSA-2-Pt increases the production of effector T cells and the secretion of more cytokines. In B16F10 melanoma and lung metastasis models, it can significantly inhibit tumor growth, increase the survival rate of mice, without causing any systemic toxicity. This study provides a new strategy for the improved anti-tumor immunotherapy of STING agonists and is expected to provide important reference for clinical translation.

Key Words Lipid nanoparticles, circular RNA therapy, STING agonist, cancer immunotherapy

巨噬细胞源性Metn β 介导脓毒症免疫抑制的作用机制和临床价值研究

李霄¹、高琰^{1,2}

1. 东南大学; 2. 东南大学附属中大医院

目的：脓毒症是当前世界范围内感染致死的主要原因，免疫失衡所致的多器官功能障碍是脓毒症患者死亡的关键因素，但分子机制亟待阐明。Metn β （Meteorin-like protein, Metnl, IL-41）是一种新颖的免疫调节分子，广泛参与先天性和获得性免疫应答，但其在脓毒症中的免疫调控作用未见报道。本研究拟通过大宗临床脓毒症样本探明Metn β 作为新型免疫学预警在脓毒症早期诊断和预测预后中的临床价值，并通过体内模型研究Metn β 在脓毒症的免疫调控作用及分子机制，以期在脓毒症的诊疗提供一种新颖的生物标志物，并为其诊疗提供新靶点。

方法：采用ELISA检测成人及儿童脓毒症患者血清中的Metn β 表达水平，通过相关性分析、ROC曲线，Kaplan-Meier生存分析等评估Metn β 与脓毒症的临床相关性。采用盲肠结扎穿孔术（CLP）构建小鼠脓毒症模型，通过ELISA检测Metn β 在脓毒症小鼠血液、腹腔灌洗液（PLF）及多器官中的表达；同时，通过免疫荧光染色、特异性敲除等研究Metn β 的细胞来源及分子机制。建模后给予重组Metn β 蛋白（rmMetn β ）处理，通过生存率实验、细菌载量检测、凋亡实验，多器官病理损伤评估来明确Metn β 在脓毒症中的免疫调控作用；进一步通过单细胞测序、Bulk RNA测序解析Metn β 在脓毒症中的免疫调控机制。

结果：相比于健康体检者，脓毒症患者入院时的血清Metn β 水平显著升高，并与脓毒症不良预后呈明显正相关，可有效预测脓毒症患者的28天死亡。动物实验中，Metn β 在脓毒症小鼠外周血、PLF

及多器官中的表达量显著上调，免疫荧光和流式发现这种升高的 Metn β 主要来源于巨噬细胞；体外实验证实，给予铜绿假单胞菌（P.a）刺激可诱导巨噬细胞Metn β 表达增强，呈时间依赖性；而体内敲除小鼠巨噬细胞后，脓毒症小鼠血清及多器官中的Metn β 含量明显下降。进一步发现给予rmMetn β 处理后，脓毒症小鼠生存率显著降低，伴随其血液、PLF、脾匀浆中的细菌载量显著增加、多器官损伤明显加重；单细胞测序和Bulk RNA测序发现rmMetn β 处理后的脓毒症小鼠M2型巨噬细胞和抗炎性炎症介质表达及相关通路均明显上调。

讨论：Metn β 在脓毒症中的表达显著升高，并与脓毒症不良预后成正相关，因此，Metn β 可作为脓毒症早期诊断及预后的新型生物标志物。在脓毒症中，Metn β 主要来源于巨噬细胞，并可通过促进M2型巨噬细胞极化，抑制巨噬细胞介导的抗菌免疫应答进而介导脓毒症免疫抑制；靶向抑制巨噬细胞源性Metn β 是脓毒症的治疗新靶点。

关键字 Metn β ；免疫抑制；脓毒症；生物标志物

· 其他医学微生物与免疫学的基础与临床研究 ·

Comparison of two different systems for testosterone measurement

Wei Zhang

Jiangsu Province Hospital (The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University)

Objective: To evaluate the concordance of two different detection systems of CLIA in the testosterone levels measurement.

Methods: Serum specimens from 155 patients were collected at Jiangsu Province Hospital June 2018. Testosterone levels were assayed using Beckman and Roche, two different chemiluminescence immunoassays platforms. Liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) were used to reanalyze the top ten samples which had the maximum difference between Beckman and Roche. Passing-Bablok regression equations, Spearman correlation coefficient (r) and Bland-Altman plots were used to assess the relationship and bias of testosterone results between Beckman and Roche. The results of different methods were analysed by χ^2 test.

Results: The regression equation ($y = 0.538 + 1.020 x$) emphasized the presence of proportional systematic difference, there was significant deviation from linearity ($P < 0.01$). Spearman correlation coefficient ($r = 0.971$, $P < 0.001$) indicated that the results of Beckman and Roche had good correlation. Bland-Altman plots showed a significant systematic difference between Beckman and Roche, Beckman results were in average 22.4% (95% CI, 7.88 to 36.83) higher than Roche ones. The total coincidence rate between Beckman and Roche methods was 91.84%.

Conclusions: Two detection systems do not have the consistency of the testosterone assays, it is recommended to use LC-MS/MS to confirm the testosterone level.

Key Words Testosterone; Roche; Beckman; Comparison

血清25-羟维生素D与桥本甲状腺炎的相关性研究

储楚

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：分析血清25-羟维生素D[25-(OH)D]水平与桥本甲状腺炎之间的相关性，为桥本甲状腺炎的发病、治疗和预防提供新的思路 and 理论依据。

方法：采用队列研究设计，回顾性分析2021年1月至2023年5月于南京医科大学第一附属医院内分泌科就诊的201例桥本甲状腺炎初诊患者作为研究组，并同期收集195例于健康管理中心进行健康体检者的资料作为对照组，比较两组血清25-(OH)D及甲状腺功能指标的差异，并进一步研究桥本甲状腺炎患者血清25-(OH)D水平与甲状腺功能指标的相关性。

结果：桥本甲状腺炎组的25-(OH)D、FT3及FT4水平显著低于健康对照组，TSH、TPO-Ab及TG-Ab水平显著高于健康对照组（ $P<0.05$ ），维生素D（vitamin D, VD）缺乏者患病率高于健康对照组；25-(OH)D与FT3、FT4呈正相关，与TSH呈负相关，与TPO-Ab、TG-Ab呈弱负相关（ $P<0.05$ ）；甲功正常组25-(OH)D、FT3及FT4水平均高于亚临床甲减组和甲减组，TSH水平低于亚临床甲减组和甲减组（ $P<0.05$ ）。

结论：VD缺乏会导致桥本甲状腺炎患病风险增加，在桥本甲状腺炎的治疗过程中应监测并科学合理地补充VD水平来改善预后，进而可以减少甲状腺功能减退症及亚临床甲减的患病率。

关键字 桥本甲状腺炎；25-羟维生素D；甲状腺功能；维生素D；甲状腺

PD-1在急性肺损伤中的作用及其机制研究

刘张捷、严春光

东南大学

目的：免疫检查点是免疫系统的负面调节器，它调节自我耐受，抑制免疫细胞活化，防止自身免疫并保护组织免受免疫攻击。程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1)是一种免疫检查点分子，是具有负调节功能的细胞表面受体，通过与其配体 PD-L1 和 PD-L2 结合抑制T细胞活化，由CD4 和CD8 T细胞、B细胞、自然杀伤细胞和一些髓系细胞群表达，是限制免疫反应和维持免疫稳态的关键免疫调节剂，在多种与炎症相关的疾病以及自身免疫疾病中具有重要作用。目前，以PD-1作为靶点的药物在治疗肿瘤及自身免疫性疾病中已取得突破性进展，与传统化疗药物相比，靶向 PD-1 免疫检查点通路的抗体可以提高患者的生存率，毒性更小，并且可以通过激活患者自身的免疫系统来诱导抗肿瘤免疫。然而 PD-1 在ARDS中的作用及其机制尚未明确。因此，本研究旨在探究 PD-1 在ARDS中的作用及其机制，为以 PD-1为靶点的药物在治疗ARDS方面提供理论参考，进而为治疗ARDS的方法提供新思路。

方法：通过构建过表达PD-1的腺病毒质粒，在293A细胞中包装出腺病毒（Ad-PD-1）并进行扩增纯化，将Ad-PD-1（ 5×10^8 PFU）通过气道注射入C57小鼠肺组织中，72小时后气道注射LPS（2mg/g）构建急性肺损伤小鼠模型，18h后处死小鼠，收集全肺以及肺泡灌洗液（BALF）。通过肺组织学切片（HE）、检测肺组织中MPO活性、BALF中白蛋白水平以及白细胞数量来反应肺组织损伤情况；通过检测BALF以及肺组织中细胞因子IL-6、TNF- α ，趋化因子MCP-1、KC的表达水平来反应肺组织炎症水平。

结果：与对照组相比，过表达PD-1的小鼠肺组织损伤程度显著减轻，表现为肺组织中炎症细胞浸润渗出明显减少和MPO活性下降以及BALF中白蛋白水平降低；此外，过表达PD-1的小鼠肺组织炎症水平显著下降，表现为BALF中趋化因子（MCP-1、KC）以及细胞因子（IL-6、TNF- α ）水平显著降低。

讨论：PD-1是一种重要的免疫抑制分子，以PD-1为靶点的免疫调节对抗肿瘤、抗感染、抗自身免疫性疾病及器官移植存活等均有重要的意义。临床上，PD-1抑制剂达伯舒（信迪利单抗注射液）获得国家药品监督管理局批准，联合贝伐珠单抗、培美曲塞和顺铂，用于经表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂（EGFR-TKI）治疗失败的EGFR基因突变阳性的局部晚期或转移性非鳞状非小细胞肺癌（NSCLC）患者的治疗。有研究表明，小鼠 PD-1 缺乏会导致多种自身免疫性疾病，包括系统性红斑狼疮、牛皮癣和扩张型心肌病。然而，PD-1的表达还可促进炎症，导致相关疾病的恶化（如结肠炎、肺纤维化等）。总之，PD-1在不同疾病中的作用不可一概而论。我们的研究发现，PD-1在小鼠急性肺损伤模型中具有减轻肺组织损伤和炎症水平的作用，为PD-1在急性肺损伤中的作用及其机制研究提供参考，进而为治疗急

性肺损伤提供新思路。

关键字 急性肺损伤；急性呼吸窘迫综合征；炎症；PD-1

支气管上皮细胞来源自噬小体诱导的中性粒细胞 对支气管上皮细胞作用的初步研究

高蓉、吴雨婷、王婷婷（通讯作者）

无锡市人民医院

目的：研究支气管上皮细胞（16HBE）释放的自噬小体诱导的中性粒细胞对支气管上皮细胞的调节作用及其作用机制。

方法：1.用2 $\mu\text{g/mL}$ 屋尘螨(House dust mite, HDM)抗原刺激16HBE释放自噬小体，透射电镜及免疫印迹实验检测自噬小体的产生。收获人外周血中性粒细胞和自噬小体共培养后的细胞上清，与16HBE共孵育，流式细胞术测定16HBE细胞凋亡比例，免疫印迹实验测定蛋白BAX、Bcl2、Cleaved Caspase 3的表达。人外周血中性粒细胞，或将其先用7.5 mmol/L NAC预处理30 min，与呈浓度梯度的自噬小体共孵育30 min，流式细胞术测定中性粒细胞产生的ROS含量；人外周血中性粒细胞与10 $\mu\text{g/mL}$ 自噬小体共培养6 h后收集上清，或将上清用7.5 mmol/L NAC预处理2 h，分别培养16HBE，流式细胞术测定16HBE细胞凋亡比例。

2.Balb/c 雄性小鼠10只，分为对照组和急性哮喘模型组，每组各5只，第1、2、3天，25 μg HDM滴鼻致敏，第8~15天连续8天，25 μg HDM滴鼻激发（模型组给予HDM刺激，对照组予以等体积1 $\times$ PBS刺激），最后一次激发24 h后处死小鼠获取肺组织标本，肺组织切片HE染色检测肺组织结构是否损伤判断造模是否成功。

结果：1.屋尘螨抗原刺激支气管上皮细胞释放自噬小体；自噬小体诱导的中性粒细胞上清可促进支气管上皮细胞凋亡，与未处理组相比，自噬小体组16HBE细胞凋亡比例升高，且促凋亡蛋白BAX、Cleaved Caspase 3表达增强，而抑制凋亡蛋白Bcl2的表达减弱；自噬小体可刺激中性粒细胞产生ROS增加，经NAC处理后诱导支气管上皮细胞凋亡的比例降低。

2.急性哮喘模型组小鼠肺泡结构损坏，肺泡萎陷挤压明显，炎症细胞浸润其间，肺泡壁变厚，边界不清晰；而对照组肺泡壁薄，分布整齐，边界清晰。

讨论：屋尘螨诱发的过敏性疾病难以被目前临床上使用的大部分缓解哮喘症状的药物有效缓解，明确HDM诱导疾病发生的病理生理机制，有望为临床治疗提供新的思路。本实验用HDM刺激支气管上皮细胞，通过对产生的自噬小体的鉴定，明确了支气管上皮细胞在HDM的刺激下，能够释放自噬小体到细胞外，说明HDM能够使支气管上皮细胞启动自噬过程，并参与到后续的病理生理反应中。课题组前期研究结果证明中性粒细胞可以大量快速吞噬自噬小体，本实验通过将自噬小体与中性粒细胞共培养，探究自噬小体对中性粒细胞的作用，发现自噬小体组凋亡相关蛋白BAX、Cleaved Caspase 3的表达增强，Bcl2表达减弱，证明了自噬小体诱导的中性粒细胞能够促进支气管上皮细胞的凋亡，并通过流式细胞术检测ROS的含量和支气管上皮细胞的凋亡，证明了自噬小体能够通过促进中性粒细胞释放ROS，来诱导支气管上皮细胞的凋亡。基于HDM刺激16HBE细胞释放自噬小体，我们选用HDM作为致敏物构建小鼠哮喘模型，急性哮喘模型组小鼠肺组织结构的改变可初步证明造模成功。

关键字 支气管上皮细胞释放自噬小体；中性粒细胞；支气管上皮细胞凋亡；哮喘

葛根素通过直接抑制 DSS小鼠的巨噬细胞M1极化 改善结肠炎

陶晴¹、梁乔²、付雨²、钱俊³、徐靖²、王勇²、王螺⁴、高千²

1. 南京大学医学院附属鼓楼医院

2. 南京大学医学院转化医学中心，江苏省分子医学重点实验室

3. 南京大学医学院附属口腔医院；4. 南京中医药大学附属中西医结合医院

目的：在本研究中，我们旨在建立葛根素的抗炎作用与DSS诱发的结肠炎中的主要炎症细胞介质巨噬细胞之间的直接联系，探究葛根素对巨噬细胞的潜在作用机制。

方法：通过H&E染色、qPCR、ELISA、Western蛋白印迹和免疫荧光方法评估了葛根素在DSS诱导的结肠炎引起的肠道局部和全身炎症中的抗炎作用。通过动物体内成像、免疫荧光、Western印迹、qPCR和PAS染色测量肠道通透性参数。通过巨噬细胞耗竭/输注实验研究巨噬细胞在结肠炎中的核心作用。通过CCK8、流式细胞术和体外qPCR检查了葛根素对巨噬细胞的直接影响。此外，通过16S rRNA基因和液相色谱-质谱法进行肠道微生物群和代谢组分析。通过Trans-Omics方法进行关键致病菌群的鉴定，并在体外和体内进行验证。

结果：葛根素在体外对巨噬细胞的 M1 样极化具有直接而强大的抑制作用，足以在结肠病变和全身炎症方面产生治疗效果。我们发现，当注入葛根素预处理的巨噬细胞时，葛根素直接抑制了体外巨噬细胞的 M1 样极化，这足以在结肠炎中发挥治疗作用。在我们的实验环境中，结肠炎小鼠的 *Akkermansia muciniphila* 丰度显著上调，葛根素可下调结肠炎小鼠肠道中 *Akkermansia muciniphila* 的丰度。进一步的研究表明，*Akkermansia muciniphila* 分泌蛋白 Amuc_2172 在体外可诱导M1型巨噬细胞，而葛根素可以逆转该作用，从而改变了 DSS诱导的结肠炎模型中的肠道病理和全身炎症反应。

讨论：我们的研究表明DSS诱导结肠炎的发病机制是由宿主细胞对有毒外来分子和肠道微生物群的反应介导的，而葛根素靶向巨噬细胞等特定细胞群具有潜在的治疗价值。本研究为了解巨噬细胞和葛根素在DSS诱导的结肠炎中的作用提供了新证据，并为今后研究结肠炎病理的详细分子机制提供了新线索。

关键字 结肠炎，葛根素，巨噬细胞，肠道微生物，*Akkermansia*，Amuc_2172

γ -干扰素释放试验假阴性的影响因素分析

王玉月

常州市第一人民医院

目的：探讨 γ -干扰素释放试验中（interferon- γ release assays, IGRAs）对痰涂片抗酸阳性患者出现假阴性的影响因素。

方法：选取我院 2022年1月至 2024年3月初次确诊的肺结核患者76例作为研究对象，采用t检验及多因素 Logistic回归分析危险因素出现假阴性的影响因素。

结果：76例痰涂片阳性的肺结核患者中IGRAS 检测阳性50例，IGRAS检测阴性26例。其中男性41例，女性35例；平均年龄为66.46（23-90）岁。IGRAS阳性组WBC（ 7.77 ± 3.59 ）、淋巴细胞计数（ 1.32 ± 0.68 ）和中性粒细胞计数（ 5.78 ± 3.27 ）、ALB（ 32.37 ± 4.05 ）和CRP（ 38.92 ± 27.25 ）和假阴性组WBC（ 5.05 ± 1.978 ）、淋巴细胞计数（ 0.82 ± 0.43 ）和中性粒细胞计数（ 3.55 ± 1.75 ）、ALB（ 28.21 ± 6.09 ）和CRP（ 70.44 ± 52.18 ）之间比较，差异有统计学意义。将IGRAS测定假阴性作为因变量，并将在单因素分析中最有统计价值的WBC、淋巴细胞计数、CRP、合并贫血及恶性肿瘤纳入多因素Logistic回归分析，结果显示WBC（OR=1.585，95%CI 1.076-2.33）计数降低时，为痰涂片阳性肺结核患者IGRA检测结果出现假阴性的危险因素，且患者合并恶性肿瘤（OR=5.596，95%CI 2.048-15.295）更易导致IGRA检测结果出现假阴（ $P < 0.05$ ）。

讨论：结核分枝杆菌主要引起呼吸系统的感染，可通过飞沫进行传播。现阶段病原学检查仍然是最重要的实验室检查，也是诊断结核病的金标准。实验室通过抗酸染色、痰培养、胸水培养等为结核病的诊断提供重要的临床证据。利用结核诊断的金标准，即痰培养、痰涂片镜检等，往往在诊断和治疗上被延误。IGRA是近几年商业应用比较广泛的一种检测手段，作为一种简单、广泛应用的诊断技术，被美国、欧洲等多国的临床诊疗指南所推荐。IGRAs的基本原理是感染结核分枝杆菌的患者体内会诱导分化出特异性T淋巴细胞，通过对特异性T细胞和 γ 干扰素的检测以评估结核分枝杆菌感染的风险。本研究回顾性分析结果显示，WBC、淋巴细胞和中性粒细胞计数、ALB和CRP在IGRAS阳性组和假阴性组之间比较，说明WBC计数减少、淋巴细胞计数减少、CRP升高等可能导致确诊肺结核患者出现IGRA检测结果假阴性。其次通过多因素回归分析表明恶性肿瘤、白细胞计数降低与IGRA出现假阴性相关， P 可能是由于恶性肿瘤、贫血患者其免疫功能低下、营养不良等，抑制IGRA的细胞免疫应答反应，降低细胞中 γ 干扰素免疫活性。

关键字 γ -干扰素释放试验，抗酸阳性，假阴性

Stability Assessment of Housekeeping Genes for qRT-PCR in *Yersinia enterocolitica* Cultured at 22°C and 37°C

Chang Liu

Nanjing Drum Tower Hospital

Yersinia enterocolitica, a species within the genus *Yersinia*, thrives optimally at 22–25° C but can also grow at the mammalian core body temperature of 37° C. This dual temperature adaptability necessitates establishing both temperature conditions in research to examine the effects on various biological processes. In quantitative real-time PCR (qRT-PCR) assays, the selection of appropriate housekeeping genes is vital for data accuracy. Nevertheless, the lack of alternatives and information often leads to the default use of the 16S rRNA gene, despite potential limitations. This investigation sourced 16 potential reference genes through a comprehensive review of the literature and transcriptome sequencing data analysis. We validated the expression stability of these genes via qRT-PCR across 12 *Y. enterocolitica* strains, representing the four prevalent serotypes O:3, O:5,27, O:8, and O:9, isolated from diarrheal patient stool samples. This approach aimed to minimize the impact of serotype heterogeneity. After acquiring Cq values, gene stability was evaluated using four established algorithms— ΔCq , geNorm, NormFinder, and BestKeeper—and subsequently synthesized into a consolidated ranking through the Robust Rank Aggregation

(RRA) method. Our study suggests that the genes *glnS*, *nuoB*, *glmS*, *gyrB*, *dnaK*, and *thrS* maintain consistent expression across varying culture temperatures, supporting their candidacy as robust housekeeping genes. We advise against the exclusive use of 16S rRNA for this purpose. Should tradition prevail in its utilization, it must be employed with discernment, preferably alongside one or two of the housekeeping genes identified in this study as internal controls.

Key Words *Yersinia enterocolitica*, housekeeping gene

柠檬酸杆菌属：粪便标本中易于忽视的隐患

潘强龙、金袁苓、蔡啸、缪寒琪
南京医科大学附属逸夫医院

目的：柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)也叫枸橼酸杆菌属，对于免疫力低下患者，柠檬酸杆菌属部分菌种也具有致病性，可引起腹泻、败血症、脑膜炎、呼吸道和泌尿道感染等疾病，但是在日常工作中很容易被技术人员忽略，本研究通过分子生物学对一例非典型“肠道热”病例，进行致病菌鉴别诊断，为临床提供有效的诊断和治疗方案。

方法：使用SS、麦康凯选择平板对粪便标本培养分离，对疑似菌落使用沙门血清学实验初筛，VITEK® 2系统进行生化反应鉴定与最小抑菌浓度测定。采用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱与16 S rRNA测序菌株，作为种属鉴定的参考标准。

结果：SS平板粪便标本培养分离菌株将粪便接种于SS平板，置 37℃，5%CO₂ 环境培养 48h 后，菌落光滑、低凸、湿润、半透明或不透明，呈黑色，表面光滑，边缘整齐，疑似沙门氏菌，致病菌落3+。沙门血清学实验初筛为阴性。菌落涂片为革兰氏阴性杆菌。16 S rRNA测序结果进行BLAST比对，比对结果与柠檬酸杆菌属相似度99.86%，基质辅助激光解析电离飞行时间质谱也进一步证实。测定31种药敏结果为：哌拉西林/他唑巴坦、黏菌素、亚胺培南、美罗培南、头孢哌酮/舒巴坦、替加环素、妥布霉素、阿米卡星敏感；米诺环素、诺氟沙星、替卡西林/克拉维酸中介；其余均耐药。

患者炎症指标IL-6:16.49 pg/ml、PCT: 0.611 ng/ml、hs-CRP:26.03 mg/L均有所上升。粪便隐血试验FOB阳性。

讨论：本次研究发现，柠檬酸杆菌属是一种机会性的病原体，常常预示着肠道菌群失调，引起肠热症。本身具有基础病的患者，有加重并发症的潜在风险。技术人员对于柠檬酸杆菌属应该引起重视，确保检测结果的可靠准确，更好的为临床提供精准的诊疗服务。

关键字 柠檬酸杆菌属；肠道热；沙门血清学；16 S rRNA；飞行时间质谱

Faecalibaculum rodentium protects mice from IR-induced damage by promoting gut hemostasis and hematopoiesis

Hanyong Zhu, Jing Yang

Jiangsu Province Key Laboratory of Immunity and Metabolism, The Department of Pathogenic Biology and Immunology, Xuzhou Medical University, 209 Tongshan Road, Xuzhou, 221004, Jiangsu, China

Under ionizing radiation (IR) conditions, the gut flora affects mice survival. However, which specie(s) of probiotics and the underlying mechanisms involved in protecting mice from IR-induced damages need to be further clarified. In this study, we utilized mitochondrial STAT3 knockin mice to discover that probiotics *Faecalibaculum rodentium* (*F. rodentium*) abundance was reduced and required for protecting mice from IR-induced damage. We found that feeding mice with *F. rodentium* directly and/or indirectly increased butyrate concentration via elevating the abundance of butyrate-producing bacteria. On one hand, butyrate increased ZO-1 and antimicrobial peptide expression in intestines. On the other hand, in hematopoietic stem cells (HSC), butyrate sustained ERK signaling to inhibit PKM2 nuclear localization, attenuating p53 transcriptional activity and protecting HSC from IR-induced apoptosis, which subsequently in turn prolonged mice survival. These results suggested that in response to IR, *F. rodentium* protected mice from IR-caused damage by maintaining gut hemostasis and inhibition of HSC damage, at least partially.

Key Words *F. rodentium*, Butyrate, gut hemostasis, HSC, apoptosis

利用CRISPR/Cas9系统构建STING基因敲除HepG2细胞系及其对沙门菌增殖的影响

孙兰清¹、黄凯²、黄璇¹

1. 江南大学附属医院; 2. 苏州大学附属无锡九院

目的: 利用聚类规则间隔短回文重复序列 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR) /Cas9系统构建STING基因敲除 (STING^{-/-}) 的人肝癌细胞系HepG2, 探讨STING敲除对细胞增殖能力和沙门菌胞内增殖的影响, 为深入探讨以沙门菌为代表的病原体与宿主相互作用机制提供依据。

方法: 1. STING基因敲除HepG2细胞株的构建 将pGL3-U6-2sgRNAs空载质粒和含有U6启动子以及sgRNAs的PCR产物经内切酶消化、T4酶连接后获得重组质粒。将重组质粒和表达Cas9蛋白的质粒共转进HepG2细胞, 用嘌呤霉素筛选细胞并进行单克隆纯化。提取单克隆细胞基因组DNA, 经PCR扩增目标片段进行Sanger测序; 提取单克隆细胞蛋白, 用Western blot检测STING蛋白表达, 从基因和蛋白水平分别验证STING的敲除情况。

2. 研究STING基因敲除对HepG2细胞增殖的影响 将野生型和STING^{-/-} HepG2细胞分别接种于96孔

板,加入CCK-8试剂,于1、2、3、4 h后分别在450 nm处测定吸光度,比较野生型和STING-/-细胞不同测定时间吸光度的差异。

3. 研究STING基因敲除对沙门菌增殖的影响 使用鼠伤寒沙门菌以感染复数为10与野生型和STING-/-细胞分别共培养,0.5 h后加入庆大霉素去除胞外细菌,继续感染0.5 h后用平板菌落计数细胞内的沙门菌数量,比较野生型和STING-/-细胞的胞内菌量差异。

结果:利用CRISPR/Cas9系统构建STING-/- HepG2细胞系,通过Sanger测序和Western blot在基因和蛋白水平上分别证实了STING分子的敲除。用CCK8法评估细胞活力和增殖水平,结果显示STING-/- HepG2细胞的增殖能力低于野生型细胞。用鼠伤寒沙门菌感染野生型和STING-/- HepG2细胞,发现鼠伤寒沙门菌在STING-/-细胞内的增殖水平高于野生型细胞。

讨论:鼠伤寒沙门菌是一种典型的革兰阴性致病菌和重要的模式细菌。该菌经口感染机体易引起胃肠炎,严重时可能播散至肝脏等多个脏器导致全身感染。STING因其能调节机体对病毒感染的免疫反应而受到广泛关注,一些研究表明,该分子可能通过调节炎症和免疫反应而调控细菌感染。CRISPR/Cas9系统是一种高效且广泛使用的基因编辑工具,本研究使用该系统成功构建了STING-/-人肝癌细胞系HepG2并用于后续实验。研究发现STING-/- HepG2细胞的细胞活力下降。染色体不稳定性是人类癌症的显著标志之一,该结果可能与最新报道cGAS-STING通路驱动染色体不稳定癌症的存活相关。本研究还发现STING抑制鼠伤寒沙门菌增殖,这可能与I型干扰素和促炎细胞因子的产生能介导对病原体的免疫防御,以及STING和其他抗感染分子间存在相互作用以增强免疫应答等机制相关。综上所述,本研究通过CRISPR/Cas9系统构建了STING-/- HepG2细胞系,发现STING基因缺失抑制HepG2细胞增殖和促进鼠伤寒沙门菌增殖。本研究所构建的细胞系可以作为未来深入研究细菌感染及其与宿主相互作用的有效工具。

关键字 CRISPR/Cas9; STING; 沙门菌; HepG2

LRRC4 improves neuronal apoptosis and cognitive impairment in obese mice induced by high-fat diet

Suping Qin, JiaXin Deng, Bin Hu, Xuejiao Zhang, Yifan Wang, Qiao Feng, Xin Han, Bohui Yuan,
Xiaotian Wang, Xiangyang Li, Wanpeng Chen, Feng Zhou, Xiaomei Liu
Xuzhou Medical University

Obesity as a chronic metabolic disease increased the risk of the development of neurodegenerative disorders and cognitive deficits. Cumulative evidences revealed obesity impaired hippocampal synaptic plasticity and induced neuronal apoptosis. Leucine Rich Repeat Containing 4 (LRRC4) is a member of the Netrin G ligand (NGL) family, and plays a crucial role in maintaining neuronal morphology, function, and structure of synapses. However, it remains unclear whether LRRC4 has an impact on obesity-induced cognitive impairment and the mechanism underlying. Herein, we show that high-fat diet (HFD) induced cognitive deficits in obesity mice using Morris water maze and Nest building tests. The transcription and protein expression of LRRC4 were downregulated in the hippocampus of HFD fed obesity mice by RNA-seq, RT-PCR, immunofluorescence staining, western blotting assays, respectively. Furthermore, the impact of LRRC4 on neurological function and synapses were performed by LRRC4 knockout mice (Lrrc4^{-/-} mice) and LRRC4 overexpression mice (AAV-Lrrc4). The data from behavioral and electrophysiological studies demonstrated that knockout of LRRC4 led to cognitive impairment and synaptic

plasticity reduction in hippocampus of mice. Golgi staining displayed a significant reduction in the length and number of dendritic branches of neurons. Moreover, the expression levels of postsynaptic dense protein 95 (PSD-95) and BCL-2 were decreased, but the expression of cleaved caspase 3 and Bax were increased in the hippocampus of *lrcc4*^{-/-} mice induced by HFD, which aggravated the neuronal injury and apoptosis. Overexpression of LRRC4 in hippocampus of HFD mice, reduced the behavioral abnormalities of HFD mice and strengthened synaptic transmission. LRRC4 overexpression also increased the expression levels of PSD-95 and Bcl-2, and decreased the expression of Cleaved caspase 3 and Bax in the hippocampus of HFD mice.

Overall, these findings suggest that the downregulation of LRRC4 in the hippocampus is related to synaptic plasticity impairment and neuronal apoptosis in high-fat diet (HFD) mice. Overexpression of LRRC4 in the hippocampus of mice can improve cognitive function, synaptic structure damage and neuronal apoptosis in HFD mice. Targeting LRRC4 may have therapeutic potential for neurodegenerative disorders and cognitive deficits.

Key Words High-fat diet; Leucine Rich Repeat Containing 4; Neuron; Cognitive deficits

脓毒症诱导的多器官功能障碍综合征患者预测模型的开发和验证

潘胜男

淮安市第一人民医院（南京医科大学附属淮安第一医院）

目的：脓毒症诱导的多器官功能障碍综合征（sepsis-induced multiple organ dysfunction syndrome, SI-MODS）常导致重症监护室（intensive care unit, ICU）危重患者预后不良。目前尚无评估SI-MODS风险的专用工具。本研究旨在开发并验证一种能够预测ICU住院脓毒症患者发生SI-MODS风险的模型。

方法：在这项回顾性队列研究中，收集了2019年1月至2022年1月连续入住淮安市第一人民医院ICU的415例患者的数据。根据Sepsis 3.0标准确定脓毒症，并使用Marshall等人开发的评分系统诊断多器官功能障碍综合征（multiple organ dysfunction syndrome, MODS）。收集人口统计学详细信息、病理特征和实验室检查结果的数据。使用Boruta特征筛选分析确定潜在变量。然后通过多因素逻辑（Logistic）回归开发列线图。使用自助抽样的方法进行内部验证，最后，通过区分度、校准度和临床适用度评估列线图的性能。

结果：在415例诊断为脓毒症的患者队列中，确定了46例（11.1%）SI-MODS患者，进行Boruta特征筛选和多因素Logistic回归分析以建立诊断模型。该模型确定了6个关键变量：乳酸，多重耐药菌存在，脓毒性休克，凝血障碍，肾功能衰竭，以及机械通气的使用。该模型的内部验证产生了0.894的曲线下面积（area under the curve, AUC）[95% 置信区间（confidence interval, CI）：0.852–0.936]。该模型的准确性良好（ $P > 0.05$ ），决策曲线分析（decision curve analysis, DCA）的结果表明，所创建的列线图在1–66%的阈值概率范围内为预测SI-MODS提供了净收益。

结论：开发了一个包含SI-MODS患者6个临床和人口统计学特征的列线图，这一工具为早期预测脓毒症患者发生MODS的风险提供了宝贵的见解。

关键字 MODS；变量；列线图；风险；概率；脓毒症

超敏C-反应蛋白结合血沉在清创术后感染诊断中的意义研究

潘胜男

淮安市第一人民医院（南京医科大学附属淮安第一医院）

目的：探讨超敏C-反应蛋白结合血沉在清创术后感染诊断中的意义。

方法：回顾性选取2021年1月~2023年6月于我院行清创术的400例患者作为研究对象，根据有无发生术后感染将其分为未感染组375例和感染组25例。分别于手术前后度感染组患者行菌株培养及鉴定，分析感染组患者术前及感染后病原菌分布情况；检测并比较两组术前及术后第1、3、5、7天超敏C反应蛋白（hs-CRP）、血沉（ESR）；超敏C反应蛋白（hypersensitive C-reactive protein, hs-CRP）为机体炎症反应标志物，其水平上调一般代表着炎症反应机制被激活，且灵敏度高。血沉（erythrocyte sedimentation rate, ESR）是判断疾病发展、性质重要指标，在正常生理状况下，其在一狭窄范围内波动。采用受试者工作特征（ROC）曲线评价hs-CRP结合ESR对清创术后感染的诊断价值。

结果：根据有无发生术后感染将其分为未感染组375例和感染组25例，在25例感染组中于术前共分离出8株病原菌，其中革兰阴性杆菌占75.00%，为肺克雷伯杆菌，革兰阳性菌占25.00%，为金黄色葡萄球菌；在25例感染组中于感染后共分离出33株病原菌，其中革兰阴性杆菌占90.91%，包括鲍氏不动杆菌（33.33%）、铜绿假单胞菌（12.12%）、阴沟肠杆菌（3.03%）、大肠埃希菌（6.06%）及肺克雷伯杆菌（36.36%），革兰阳性菌占9.09%，包括金黄色葡萄球菌（6.06%）和粪肠球菌（3.03%）；与术前1天比较，术后第1、3、7天两组hs-CRP、ESR显著升高，且术后第7天感染组hs-CRP、ESR显著高于未感染组（ $P<0.05$ ）；hs-CRP结合ESR诊断清创术后感染的灵敏度（89.56%）、特异性（92.48%）、准确度（92.91%）、阳性预测值（98.43%）、阴性预测值（80.36%）、ROC曲线下面积（AUC）（0.966）显著高于单一指标检测的值（ $P<0.05$ ）。

结论：清创术后早期发现、诊断及处理对控制感染、促进预后改善有着极为重要的临床意义，旨在为早起防治提供更多科学参考依据，hs-CRP结合ESR在清创术后感染诊断中的意义重大，对临床早期防治有着重要价值。

关键字 超敏C-反应蛋白；血沉；清创术；术后感染；诊断

约氏疟原虫富含色氨酸的抗原7（PyTRAg7）与巨噬细胞膜CD71结合调节宿主的炎症反应

程洋、杜陈艳

江南大学

目的：探究 PyTRAg7 能否与巨噬细胞相互作用，调控炎症反应，明确 PyTRAg7 与巨噬细胞相互作用的机制。

方法：1.蛋白表达：将 PyTRAg 家族5个蛋白PyTRAg1、PyTRAg2、PyTRAg7、PyTRAg8、PyTRAg11 片段分别克隆到表达载体,将重组载体转入大肠杆菌细胞中进行表达及纯化。2. PyTRAg 对巨噬细胞免疫调节：重组蛋白PyTRAg1、PyTRAg2、PyTRAg7、PyTRAg8、PyTRAg11分别与巨噬细胞共孵育，流式检测蛋白与巨噬细胞结合情况。qRT-PCR、ELISA及 Western blot 检测与巨噬细胞结合的蛋白PyTRAg7对巨噬细胞促炎因子水平及相关信号通路的调控作用。为探究 PyTRAg7 产生作用的具体分子机制，通过串联亲和层析法及质谱分析筛选出与PyTRAg7结合的巨噬细胞膜受体分子。3.表型分析:利用P.yoelii 17XL虫株建立疟疾红内期感染模型，采用CRISPR/Cas9 基因编辑技术构建PyTRAg7基因敲除株(Δ TRAg7)，通过WB验证基因敲除。BALB/c小鼠分别腹腔注射 Δ TRAg7和野生株，观察宿主生存率和寄生虫血症，检测宿主血清促炎因子水平。

结果：流式结果表明PyTRAg家族蛋白中只有 PyTRAg7 与巨噬细胞结合。qRT-PCR、ELISA结果显示PyTRAg7上调巨噬细胞中 NO水平和IL-1 β 、IL-6、TNF- α 促炎因子水平。Western blot 结果表明PyTRAg7 激活巨噬细胞中 NF- κ B p65 及 MAPK 信号通路。Co-IP 结果表明，CD71 是与PyTRAg7 特异性结合的巨噬细胞膜受体分子，在用 CD71 多克隆兔抗封闭巨噬细胞表面受体后，Western blot 结果表明PyTRAg7 重组蛋白与巨噬细胞结合能力下降，NF- κ B p65信号通路蛋白的磷酸化水平降低。ELISA 结果表明，CD71抗体封闭巨噬细胞表面受体后，PyTRAg7蛋白调控促炎反应水平降低，巨噬细胞分泌NO减少，IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 促炎因子的蛋白水平下降。动物实验结果显示 Δ TRAg7 感染组小鼠生存率达到 100%，且虫密度显著降低，最终小鼠恢复至健康状态；与 WT 感染组相比， Δ TRAg7 虫株感染小鼠的脾体比更高。血清IL-6水平降低。

结论：PyTRAg7 通过与巨噬细胞膜表面 CD71 分子结合，激活下游NF- κ B p65 信号通路，调控IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的产生。PyTRAg7 能够促进感染宿主寄生虫密度的增加，增强促炎反应，持续的促炎反应导致宿主死亡。

关键字 约氏疟原虫；PyTRAg7；巨噬细胞；炎症反应

中老年食管癌患者术后肺部感染的一级预防：构建并验证风险预测列线图模型便于临床提前干预

李前辉、蒋飞

淮安市第一人民医院

目的：探讨食管癌术后发生肺部感染的危险因素，构建预测其发生的列线图模型。

方法：回顾性分析2022年1月1日-12月31日南京医科大学附属淮安第一医院收治的择期进行食管癌手术的1082例中老年患者的临床资料，分别使用单因素和多因素Logistic回归分析患者术后肺部感染感染的独立危险因素，纳入筛选出的独立危险因素建立 列线图预测模型，另选取2023年1-6月份457例中老年食管癌手术患者建立验证组，对建模组数据进行验证。

结果：Logistic回归分析结果显示，性别男、有心肺基础病、年龄升高、使用有创呼吸机、手术时间 <3 h是中老年患者食管癌术后发生肺部感染的独立影响因素 ($P<0.05$)；基于Logistic回归分析结果构建预测中老年食管癌患者术后肺部感染发生风险的列线图模型，预测组曲线下面积为0.754 (95%CI: 0.704-0.803)，验证组曲线下面积为0.804 (95%CI: 0.738-0.870)。预测模型具有较好的预测能力，决策分析曲线显示该模型有较高的获益性。

结论：基于5项独立风险因素构建的预测中老年食管癌患者术后肺部感染发生风险列线图模型的区分度和一致性较好，有利于早期识别食管癌术后发生肺部感染的高危因素，及时采取防控措施，实现一级预防。

关键字 食管癌；肺部感染；危险因素；列线图模型

口腔综合治疗台水路清洗消毒技术规范实践中的问题与对策

林涛、顾昊
淮安市第一人民医院

目的：实践规范的过程中查找口腔综合治疗台水路清洗消毒存在的问题并给出解决方案。

方法：按照新口腔综合治疗台水路清洗消毒技术规范对该院的15台口腔综合治疗台进行管理、清洗消毒、监测及维护，对输入水及口腔治疗用水进行微生物学检测，根据检测结果分析不合格原因并采取针对性改进措施。

结果：使用持续臭氧水路消毒前后水路合格率分别为73.75%、100%，菌落数中位数（四分位数）分别为12（5，117.5）、4.5（0，9.5）CFU/mL，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。水路日常维护观察研究显示每日开诊前、开诊结束及每次诊疗结束冲洗操作规范性分别为90%、76.67%、50.54%，比较每日开诊前及每次诊疗结束不同人群冲洗规范性均有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。统计发现每次诊疗结束83.92%的工作人员能进行冲洗操作，但时间 $< 30s$ ，观察发现未进行冲洗操作多发生在临近下班时段。对两台牙椅每次诊疗结束冲洗0s、5s、15s、20s、30s、60s后的漱口水、牙科手机、三用枪共42份水样采样微生物监测合格率97.62%，规范冲洗30s以上各水路菌落数中位数（四分位数）由7（1.5，11.75）CFU/mL下降至1（0，4.25）CFU/mL，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ），微生物质谱鉴定该院水路菌株为蜡样芽胞杆菌和舒伯特气单胞菌。

结论：水路消毒方法不正确，日常维护不规范，水路采样无质控、操作无规范流程，微生物培养过程无质控是此次新规范实践中发现的问题，针对性改进后得已解决。为保障医疗质量安全，医疗机构应积极处理影响水路消毒不合格的因素并督促临床科室执行新规范。

关键字 口腔综合治疗台水路；实践；臭氧水路消毒；消毒效果

骨科有植入物手术部位感染监测及风险因素分析

彭城、顾昊
淮安市第一人民医院

目的：研究骨科植入物手术部位感染监测时限及风险因素，以优化手术部位感染监测及提升手术部位感染精准防控。

方法：收集南京医科大学附属淮安一院2015–2023年179例骨科手术感染患者的临床资料进行回顾性分析。

结果：9年间骨科手术部位感染率0.37%，以革兰阳性菌为主占59.62%。将感染监测时限调整为90天，手术部位感染率下降为0.35%，遗漏的7例感染病例均为有植入物的手术。比较两种监测时限下骨科手术部位感染发生率无差异。9年间骨科植入物手术部位感染患者165例，调整监测时限发现遗漏手术部位感染患者为感染革兰氏阴性杆菌的多次手术患者（ $P<0.05$ ）。

结论：为优化感染监测，建议与国际指南接轨，将骨科有植入物手术部位感染监测时限更新为90天，但对涉及多次手术的患者监测时，建议适当延长监测时限。

关键字 手术部位感染；植入物；骨科；监测时限

Establishment and Validation of a Risk Prediction Model for Sepsis-Associated Liver Injury A Retrospective Cohort Study

Chang Li

the Affiliated Huaian No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University

Objective Sepsis often leads to acute organ failure and organ dysfunction, with the liver being a frequently affected organ. In comparison to those with general sepsis, those who are afflicted with sepsis-associated liver injury (SALI) have an elevated mortality risk. Presently, there are no specialized tools available to assess the SALI risk. We aimed to develop an early risk prediction model, rather than a classification model, to identify patients at high risk of developing SALI before they meet the full diagnostic criteria.

Design A retrospective cohort study.

Setting and participants Patients admitted to the Affiliated Huaian No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University with a diagnosis of sepsis from January 2019 to December 2021 were enrolled in this retrospective cohort study. Data on 415 sepsis patients were analysed.

Methods: We enrolled 415 consecutive patients from January 2019 to January 2022. Data on demographic information, pathological characteristics, and laboratory test results were obtained To identify potential variables, least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) regression analysis was used. Subsequently, a nomogram was generated using multivariate logistic regression. The bootstrapping method was used for internal validation. Eventually, calibration, discrimination, and clinical utility analyses were conducted to evaluate the nomogram's performance.

Results: Among the cohort of 415 sepsis-diagnosed patients, SALI was identified in 97 individuals (23.4%). LASSO and multivariate logistic regression analyses were performed to establish a diagnostic model. This model identified five key variables: total bilirubin, alanine aminotransferase, γ -glutamyl transpeptidase, mechanical ventilation, and kidney failure. The model's internal validation yielded an area under the curve of 0.841 (95% CI: 0.795-0.887). The model's calibration was strong, and results from a decision curve analysis showed that the created nomogram provided a net benefit across a threshold probability range of 4 - 87% for predicting SALI.

Conclusion This nomogram goes beyond classification by integrating five clinical and demographic features of patients with SALI to provide early risk assessment, potentially before patients meet full SALI criteria. It offers a tool for early identification and intervention in high-risk patients, though further external validation is needed to confirm

its clinical utility.

Key Words SALI, variable, nomogram, risk, probability

A novel risk-predicted nomogram for sepsis-associated hypoxic hepatitis among critically ill patients

Chang Li

the Affiliated Huaian No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University

Objective: Sepsis frequently leads to organ dysfunction and acute organ failure, with the liver being a commonly affected organ. Patients with Sepsis-Induced Coagulopathy (SIC) face a higher mortality risk compared to general sepsis patients. Currently, we lack specific tools to assess the risk of SIC. This study aims to develop and validate a prediction model for identifying the risk of SIC in hospitalized patients.

Methods: From January 2020 to January 2023, 620 sepsis patients were consecutively recruited for our study. We collected and analyzed demographic information, laboratory test results, and pathological parameters. We employed the least absolute shrinkage and selection operator (LASSO) regression method to identify potential variables. Subsequently, a multivariate logistic regression approach was used to construct the nomogram. We conducted internal validation using the bootstrap method. The performance of the prediction model was evaluated through calibration, discrimination, and clinical utility analyses.

Results: Among the cohort of 620 sepsis patients, 197 patients (31.8%) were diagnosed with SIC. To construct the diagnostic model, we utilized LASSO regression and multivariate logistic regression. The model identified 8 key variables: International Normalized Ratio (INR), Partial Pressure of Carbon Dioxide (PaCO₂), tracheal intubation, D-dimer antigen (D2), renal failure, malignant tumors, cardiopulmonary arrest, and Multiple Organ Dysfunction Syndrome (MODS). Internal validation of the model yielded an Area Under the Curve (AUC) of 0.864 (95% confidence interval: 0.810–0.896). The model demonstrated good calibration, and decision curve analysis (DCA) indicated that using this prediction model would provide net benefit within a threshold probability range of 5% to 95%.

Discussion: This prediction model has several limitations. Firstly, it was constructed based on data from a 3-year retrospective study. It should be noted that the prevalence of SIC may vary by region. Therefore, multi-center validation is needed to assess the applicability of this nomogram in other regions or countries. Additionally, we only considered clinical and laboratory data from the initial 24 hours after admission, without analyzing subsequent serum markers, which would aid in the dynamic assessment of patient conditions. Despite these limitations, this study represents the first attempt to predict SIC risk in sepsis patients, and this prediction model is expected to provide useful insights for early prediction of SIC risk.

Key Words prediction; SIC;sepsis

Rapid Identification of Carbapenemase Subtypes in *Klebsiella pneumoniae* by MALDI-TOF MS Combined with CNN

Lin Ye, Haiquan Kang

Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University

Objective: To explore the feasibility of using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) combined with convolutional neural networks (CNN) for rapid identification of carbapenemase subtypes in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP). **Methods:** A total of 205 clinical isolates of CRKP, identified by MALDI TOF MS and VITEK-2 Compact susceptibility testing from the bacterial repository of the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University between 2018 and 2023, were selected. The strains were preliminarily screened for carbapenemase genes using polymerase chain reaction (PCR) and categorized into NDM (47 strains), KPC (111 strains), and OXA (47 strains) groups. Spectra were collected using formic acid extraction, with 12 spots per strain, yielding 12 spectra per strain. The convolutional neural network algorithm from the EX Smartspec software was used for experimental research, with 2-3 spectra per strain selected for the test set and the rest for the training set, undergoing 100 training epochs with a mass-to-charge ratio range of 2000-20000. **Results:** The constructed machine learning model achieved test set accuracy rates of 91.58% for NDM, 98.21% for KPC, and 96.81% for OXA subtypes, with an overall accuracy rate of 96.36%. Feature peak analysis of 2-3 spectra per strain revealed that peak 2267.6 appeared with frequencies of 0.09, 0.56, and 0.80 in KPC, NDM, and OXA strains, respectively, while peak 4682.2 appeared with frequencies of 0.02, 0.02, and 0.80, suggesting these peaks could serve as characteristic markers to differentiate these three types of strains. **Discussion:** This study utilized the CNN algorithm of the EX Smartspec software to analyze the mass spectrometry data of CRKP strains, with 2-3 spectra per strain used for the test set and the remainder for the training set. The machine learning model demonstrated high diagnostic accuracy in distinguishing between NDM, KPC, and OXA strains, with accuracy rates all above 90%. This indicates that the model established by the algorithm is highly accurate for clinical strain identification. The potential characteristic peaks for differentiating these strains were identified through statistical analysis of their spectral peak information. Further validation with additional data is necessary. The diagnostic accuracy of the model is influenced not only by the algorithm but also by the number of strains selected, the preprocessing process, the selection and optimization of noise peaks, and variations in instrument parameters such as voltage, laser, and energy, which can affect the experimental outcomes. The stability of the model is crucial for clinical application. The machine learning model constructed using the MALDI-TOF MS combined with CNN method showed high consistency in detecting CRKP enzyme types, is simple to operate, time-saving, and suitable for widespread adoption, guiding clinicians in selecting treatment plans based on carbapenemase types. However, due to variations in prevalent strains across different regions or medical institutions, models developed in one area or laboratory should not be directly applied elsewhere without consideration of local strain characteristics.

Key Words *Klebsiella pneumoniae*, Carbapenemase, MALDI-TOF MS, CNN

某三甲医院新生儿ST692型NDM-5和OXA-181 联产大肠埃希菌血流感染流行病学特征分析

吕艳关

淮安市妇幼保健院

目的：探讨ST692型联产NDM-5和OXA-181碳青霉烯酶大肠埃希菌血流感染的流行病学特征，为临床合理使用抗菌药物提供参考依据。

方法：收集某三级甲等医院2022年3月至6月新生儿血流感染分离的碳青霉烯耐药大肠埃希菌（carbapenem-resistant *Escherichia coli*, CRECO），采用微量肉汤稀释法进行抗菌药物MIC测定，采用改良Hodge试验、改良碳青霉烯灭活试验和乙二胺四乙酸碳青霉烯灭活试验检测碳青霉烯酶，采用PCR扩增法检测碳青霉烯酶基因（blaKPC、blaNDM、blaVIM、blaIMP、blaOXA-48），采用多位点序列分型（MLST）和脉冲场凝胶电泳（PFGE）方法检测其同源性。

结果：2022年3月至6月分离出17例CRECO，其中发现4株血流感染CRECO，均来自新生儿监护室，其中有3株是blaNDM-5和blaOXA-181联产的CRECO，为ST692型。3株联产碳青霉烯酶的CRECO菌株对头孢菌素类、喹诺酮类、复方磺胺类、碳青霉烯类100%耐药，对四环素类、多肽类和氨基糖苷类均敏感。同源性分析显示，3株联产血流感染CRECO菌株高度同源。

结论：3株blaNDM-5和blaOXA-181联产的CRECO菌株对多种抗菌药物均呈现高水平耐药，均为ST692型，应当加强对此类碳青霉烯酶联产菌株的检测，控制此类细菌在医疗机构内的流行。

关键字 大肠埃希菌；碳青霉烯酶；联产；克隆性传播

Phenotypic changes and gene expression profiles of *Vibrio parahaemolyticus* in response concentrations of ampicillin

Xi 罗

The Third People's Hospital of Nantong

Vibrio parahaemolyticus is a leading cause of seafood-associated gastroenteritis and possesses intrinsic resistance to ampicillin. While ampicillin can trigger transcriptional responses of global genes, the behavioral and molecular changes that occur in *V. parahaemolyticus* when exposed to ampicillin are not fully understood. In this work, we investigated the effects of low concentrations of ampicillin on the physiology and gene expression of *V. parahaemolyticus* by combining phenotypic assays and RNA sequencing (RNA-seq) analysis. Our results showed that the growth of *V. parahaemolyticus* were notably delayed, and both motility and c-di-GMP production were significantly inhibited in the response to low concentrations of ampicillin stress. In contrast, biofilm formation by *V. parahaemolyticus* was enhanced by exposure to low concentrations of ampicillin. However, low concentrations of ampicillin had no effect on the cytotoxicity or adherence activity of *V. parahaemolyticus*. The RNA-seq data

revealed that a low concentration of ampicillin significantly affected the expression levels of 676 genes, including those involved in antibiotic resistance, virulence, biofilm formation, and regulation. This work contributes to our understanding of how *V. parahaemolyticus* alters its behavior and gene expression in response to ampicillin exposure.

Key Words *Vibrio parahaemolyticus*, ampicillin, phenotype, RNA-seq, gene expression

徐州地区女性HPV感染流行病学特征

朱迎星

徐州医科大学附属医院

目的：了解徐州地区HPV感染流行病学特征，为徐州地区HPV感染及宫颈癌防治提供依据。

方法：收集2022年1月1日至2023年12月31日于徐州医科大学附属医院行HPV检查的30,605例女性患者检测结果及相关临床资料，按感染型别、年龄、年份等分组分析徐州地区HPV感染情况。

结果：徐州地区HPV总感染率为18.77%，单一感染占73.08%，多重感染占26.92%，纯高危型阳性占74.08%，纯低危型阳性占3.62%，高低危混合阳性占22.30%；高危型别阳性率前6位为HPV52，HPV16，HPV58，HPV53，HPV39，HPV56(HPV39，HPV56并列第5位)，低危型别阳性率从高到底为HPV81，HPV6，HPV11；HPV感染阳性率在不同年龄组呈V字形分布，<20岁组及>60组感染率高，分别为47.41%及21.13%，30-40岁年龄组感染率低，为14.57%；2022年度与2023年度HPV感染率前5位的高危型别分别为HPV52，HPV16，HPV58，HPV53，HPV39及HPV52，HPV16，HPV58，HPV53，HPV39，HPV56，阳性率及排序略有差别，低危型别感染率排序相同，为HPV81，HPV6，HPV11。

结论：徐州地区HPV总体感染率偏高，以单一高危感染为主；高危型HPV感染以52型、16型、58型等为主，低危型HPV感染以81型为主；随着年龄的增加，HPV感染率先下降再上升；不同年份，不同型别HPV感染率略有变化，需要及时密切关注。

关键字 HPV感染，女性，流行病学，宫颈癌

无免疫原性的卵清蛋白功能水凝胶构建 及其促进创面愈合机制研究

张瑞雅、王磊、林心茹、周晓荣、孟润

南通大学

目的：皮肤损伤是常见的皮肤病变疾病，以卵清蛋白、多糖等天然材料构建的功能水凝胶，是加速皮肤损伤修复的理想材料。然而，目前市面上所售卖的皮肤损伤修复水凝胶，存在免疫原性强、价格相对昂贵、制备工艺复杂等缺点。基于此，本文研究旨在利用卵清蛋白、石斛多糖等常见生物材料，开发一款无免疫原性、制作方法简单且低成本，能有效促进皮肤创面修复的功能水凝胶。

方法：本研究利用卵清蛋白、石斛多糖及红霉素等，按照一定的比例溶解于去离子水中，并在55℃条件下温浴40 min，可以有效形成卵清蛋白功能水凝胶。再结合细胞实验及全皮肤层损伤实验大鼠模

型,评价所构建的卵清蛋白功能水凝胶的创面修复效果。

结果:0.4 g卵清蛋白、0.05 g石斛多糖、0.01 g红霉素溶解于1 ml去离子水中,能有效地形成水凝胶。该卵清蛋白功能水凝胶显示了良好的促细胞增殖、抗炎、抗菌、无免疫原性等效果。全皮肤层损伤SD大鼠实验结果显示,卵清蛋白功能水凝胶能在14天内使创面完全愈合。

讨论:本研究开发了一款卵清蛋白功能水凝胶,该功能水凝胶展现出优异的促创面愈合效果,同时具有无免疫原性、抗菌、抗炎和促进血管生成等优点。体外实验结果显示,卵清蛋白功能水凝胶展现了良好的机械性能、保水性、再生性能。细胞实验结果显示,卵清蛋白功能水凝胶展现出良好的生物相容性,且能有效加速细胞划痕愈合。动物实验结果显示,卵清蛋白功能水凝胶能有效促进CD31和VEGF的表达,同时减少IL-10和TNF- α 的表达,展现了较强的医用潜力。该功能水凝胶的构建不仅为创面修复提供了一种新选择,也拓宽了传统中药铁皮石斛中石斛多糖的应用范围,为中药材的深度加工、应用提供了新思路。

关键字 无免疫原性 卵清蛋白水凝胶 创面愈合

膳食纤维缺乏饮食通过肠道菌群诱导抑郁样行为的作用和机制研究

周梦露

徐州医科大学

目的:抑郁症是现代社会较为普遍的精神障碍类疾病之一。许多国家,普遍存在膳食纤维摄入量不足的现象。并且,膳食纤维缺乏导致肠道菌群紊乱。流行病学研究表明,高水平的膳食纤维摄入量与较低的抑郁风险相关。动物研究表明,补充膳食纤维可以改善小鼠的抑郁样行为。但是膳食纤维缺乏饮食是否可以导致抑郁样行为、是否与肠道菌群和代谢紊乱相关,未见报道。铁死亡是一种非凋亡、依赖铁的细胞程序性死亡方式,主要特点是铁蓄积、脂质过氧化物的过量累积和谷胱甘肽的消耗。近年来,大量研究表明,肠道菌群代谢产物参与铁死亡,而铁死亡参与抑郁症的发生和发展。因此,我们提出问题:膳食纤维缺乏是否通过肠道菌群代谢产物,引起铁死亡,进而影响小鼠的抑郁样行为。因此,本文旨探究膳食纤维缺乏饮食调节肠道微生物和代谢产物与抑郁的相关性,以及其诱导抑郁的关键作用和相关信号通路。

方法:1. C57小鼠分为对照(Con)组、膳食纤维饮食缺乏(FD)组喂养12周。进行抑郁相关指标、粪便宏基因组、脑组织代谢组、神经元凋亡指标、脂质过氧化物、铁死亡指标检测。

2. 将Con组、FD组小鼠的肠道菌群移植到经抗生素处理的C57小鼠中,进行对抑郁相关指标、神经元凋亡指标、脂质过氧化物、铁死亡指标检测。

3. C57小鼠分为Con组、FD组、Nac(脑组织代谢物:半胱氨酸)组、FD+Nac组喂养12周。进行对抑郁相关指标、神经元凋亡指标、脂质过氧化物、铁死亡指标检测。

4. C57小鼠分为Con组、FD组、Fer(铁死亡抑制剂)组、FD+Fer组喂养12周。进行对抑郁相关指标、神经元凋亡指标、脂质过氧化物、铁死亡指标检测。

结果:1. FD可引起小鼠抑郁样行为。

2. FD通过“微生物-肠-脑”轴介导抑郁样行为,其中菌群代谢产物半胱氨酸减少及神经元发生铁死亡是引起抑郁样行为的重要原因。

3. 补充半胱氨酸可改善FD小鼠的抑郁样行为。

4. 抑制铁死亡可以缓解FD小鼠的抑郁样行为。

讨论：膳食纤维缺乏通过微生物群-肠-脑轴引起的抑郁样行为与半胱氨酸缺乏导致的神将元铁死亡有关，为改善膳食纤维缺乏引起的抑郁样行为提供干预靶标和治疗策略。

关键字 膳食纤维缺乏饮食，肠道菌群，微生物-肠-脑轴，抑郁

