



江苏省医学会第十八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：无锡市医学会
无锡市儿童医院
江苏大学附属医院

江苏·无锡 2023年10月27-29日



目次

一、大会发言

1. Colorectal cancer cells produce netrin-1 to the immunosuppressive activity of myeloid-derived suppressive cells Xueli Xia (1)
2. 开发并验证血清IgG4 \geq 1.35g/L患者中诊断IgG4相关疾病的模型 闫雷 (1)
3. 多粘菌素体外药物敏感性试验方法探讨 王珏 (2)
4. 基于多肽组学和多反应监测技术鉴定妊娠肝内胆汁淤积症的新型分子标志物 董蕊锐 (2)
5. S100A9通过激活NF- κ B信号通路介导妊娠期肝内胆汁淤积症中滋养层细胞的凋亡 张婷 (3)
6. 二型糖尿病患者外周血免疫炎症及机制探究 李丹 (4)
7. 结直肠癌中mTORC1活性减弱通过自噬影响I型cDC分化的机制 谢梦晓 (5)
8. 黄芩苷对泛耐药鲍曼不动杆菌抑菌作用研究 林江 (6)
9. 新型喹恶啉荧光探针针对急性肝损伤亚硫酸盐的成像与检测 胡泽阳 (6)
10. 肿瘤细胞释放自噬小体(TRAPs)通过促进成纤维细胞产生补体C3a营造肿瘤免疫微环境的机制研究 王旭茹 (7)
11. 焦亡效应分子GSDMD促进睾丸炎发生发展 马春梅 (8)
12. Tertiary lymphoid structure-associated B cells enhance CXCL13+CD103+CD8+T_{RM} cell response to PD-1 blockade in gastric cancer Chupeng Hu (9)
13. E3泛素连接酶SPOP调控RLR信号通路抑制肠道病毒71复制 杨歆煜 (9)
14. 疟原虫蛋白MAHRP1靶向免疫接头分子STING调控I型IFN反应及机制研究 孙毅凡 (10)
15. GSDMD炎症小体抑制基序研究 胡颖超 (11)
16. Circulating CD15+ LOX-1+ PMN-MDSCs are a potential biomarker for the early diagnosis of non-small-cell lung cancer 田新宇 (12)
17. 肝细胞癌进程可视化的近红外荧光/光声双模态成像方法的构建及精准诊疗研究 王凯 (13)
18. 乳酸链球菌素Nisin对临床分离的喹类耐药热带念珠菌的作用研究 高硕 (14)
19. miR-144/451调控ROS产生抑制CD8+T细胞抗肿瘤活性 蔺志杰 (14)
20. 耐碳青霉烯类解鸟氨酸拉乌尔菌分子流行病学特征研究 谢小芳 (15)

二、书面交流

· 人体微生态的基础与临床研究 ·

1. 高尿酸血症患者肠道菌群结构和功能特征与炎症反应的相关性研究 毛旭华 (16)
2. 探索类风湿关节炎患者肠道微生物移植对无菌鼠关节炎发展的影响及其机制 张露露 (16)

3.绝经后女性阴道微生态分析	陈莹 (17)
· 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.高毒力肺炎克雷伯菌ATCC43816的QseB/QseC双组份系统功能研究及机制初探	朱婕 (19)
2.副溶血弧菌分离株毒力特征和分子流行病学研究	汪惠芳 (20)
3.胆管结石形成机制的研究进展	黄丹 (20)
4.E2F7抑制胶质母细胞瘤增殖和促进替莫唑胺化疗耐药的机制研究	孟娇 (21)
5.YgiM能够通过膜相关的ceRNA网络触发肺炎克雷伯氏菌引起的败血症	韩明霄 (22)
6.丝状真菌感染的临床特点及相关危险因素	夏文颖 (22)
7.肺炎克雷伯菌与替加环素耐药性相关的一种新的ramR突变	须瑜瑶 (23)
8.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 (23)
9.2020-2022年江南大学附属医院烧伤科病原菌分布及耐药性分析	卢蕾 (24)
10.血清低 HDL-c 水平对严重发热和血小板减少综合征患者不良预后的预测价值研究	王森 (25)
11.精胺与 β -内酰胺类抗生素联合抗菌作用功能研究	刘畅 (25)
12. Analysis on the core virulence factors of <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST11 strains based on a global genomic database	Ruyuan Yan (26)
13. Fur调节非O1/O139群霍乱弧菌与鼠伤寒沙门菌共感染相互作用机制研究	颜冬梅 (27)
14.肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类的耐药性研究	王朔 (27)
15.南京地区胆汁分离细菌耐药性分析	宋为娟 (28)
16.2016-2023年非牧区常州布鲁氏菌血流感染的临床分析	杨慧 (29)
17.碳青霉烯类肺炎克雷伯菌ST11的耐药性及危险因素分析	杨慧 (29)
18. <i>Staphylococcus aureus</i> blocks host autophagy to promote bone infection progression through a cryptic circSyk/miR-5106/Sik3 axis	Haifang Zhang (30)
19.重症新型冠状病毒感染患者临床特征分析及死亡列线图模型建立	陆燕飞 (31)
20. Integrated Analysis of Key Genes and Pathways Associated with Infection of <i>Schistosoma japonicum</i>	Hanyu Shen (31)
21.间日疟原虫PvMSP1P-19结合的网织红细胞表面受体的筛选与鉴定	左晟欢 (32)
22. STAT1在感染致死型约氏疟原虫后调控宿主造血与免疫的机制研究	冯鑫 (33)
23. AdeABC外排泵在鲍曼不动杆菌对亚胺培南耐药中的作用研究	侯盼飞 (34)
24. LCN2在日本血吸虫抗原诱导巨噬细胞极化中的作用及机制研究	沈函宇 (34)
25.某综合性医院成人感染肺炎链球菌的临床特征与耐药性分析	蔡兴龙 (35)
26.间日疟原虫输出蛋白PvTRAg家族与人成纤维细胞之间互作蛋白的筛选及功能研究	孔维重 (36)
27.无锡地区尿路感染患儿病原菌分布与耐药特点分析	唐晨杰 (37)
28.锚定蛋白Sao在强致病性猪链球菌的生存和致病过程中的功能研究	王晶 (37)
29.190例念珠菌血症患者血培养报阳时间回顾性分析	纪玥玥 (38)
30. LincR-PPP2R5C deficiency enhances fungicidal activity of neutrophils in pulmonary cryptococcosis	Cheng Yang (39)
31. CRISPR/Cas9介导的adeG基因敲除大肠杆菌细菌模型的建立	朱恬仪 (39)
32.基于荧光素酶报告基因的细菌外膜囊泡标记方法的建立	刘畅 (40)
33.鲍曼不动杆菌耐药抑制基因的筛查及鉴定	苏峻锋 (40)
34.2022年江南某三甲医院微生物培养结果分析	陆娟 (41)
35.骨髓炎患者的病原学特征分析	王敏 (42)

36.MCR-1基因介导大肠杆菌药敏特点与同源性分析	赵树龙 (43)
37.碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌对头孢他啶/阿维巴坦的耐药机制研究	陈熙元 (43)
38.无菌体液样本中CRE分布、耐药性及碳青霉烯酶基因检测结果分析	毛易捷 (44)
39.108株金黄色葡萄球菌临床株生物膜形成能力无遗传异质性差异	张雯雯 (45)
40.Clone dissemination of IncX3 plasmid carrying blaNDM-1 in ST76 carbapenem resistance Klebsiella pneumoniae and bactericidal efficiency of aztreonam combined with avibactam in vitro and in vivo	Fei Jiang (45)
41.鲍曼不动杆菌非生物膜态聚集体的形成对耐药性及毒力的影响	刘佳丽 (46)
42.Epidemiological Features and Impact of High Glucose Level on Virulence Gene Expression and Serum Resistance of Klebsiella pneumoniae Causing Liver Abscess in Diabetic Patients	Hui Wang (47)
43.西弗射盾子囊霉的分离鉴定与药敏分析	徐士兰 (48)
44.某医院2020-2022年血培养病原菌分布及药敏相关分析	操燕红 (48)
· 自身免疫、肿瘤免疫、感染免疫等基础与临床免疫学研究 ·	
1.Expression and clinical role of PRDX6 in lung adenocarcinoma	Zhou Zhang (48)
2.4-octyl itaconate as a metabolite derivative suppresses the function of dendritic cells and promotes tumor growth	Bo Zhu (50)
3.Circular RNA circZNF644 facilitates circulating follicular helper T cells response in patients with Graves' disease	Huiyong Peng (51)
4.Identification of potential immune-related biomarkers in Hashimoto's thyroiditis through bioinformatics analysis and machine learning	Huiyong Peng (52)
5.EVs-encapsulated miR-10a-5p derived from MDSCs restrains germinal center B cells in experimental Sjögren's syndrome	Huimin Zhou (53)
6.Peptide arginine deiminase 2: A Potential Target for Tumor Therapy	Yi Teng (53)
7.Follicular helper T cells: potential intervention targets in atherosclerosis	Yuxuan Chen (54)
8.The landscape of novel EV-tsRNA biomarkers in lupus nephritis	Ping Yang (54)
9.2型糖尿病患者血糖水平对肿瘤标志物CEA、CA199、CA724的影响	杨瑞霞 (55)
10.Comparison of two different systems for testosterone measurement	Wei Zhang (55)
11.Clinical value of serum DJ-1 in lung adenocarcinoma	Wei Zhang (56)
12.Regulatory Effects of N6-methyladenosine (m6A) Methylation Modification in Immune Response and Autoimmune Diseases	Huiyong Peng (57)
13.荷瘤小鼠PMN-MDSCs细胞A2BR表达及功能的实验研究	黄娇娇 (57)
14.结肠炎性环境中G-MDSC来源外泌体介导M-MDSCs向巨噬细胞分化	王运刚 (58)
15.基于铁死亡基因结肠癌分子预后模型的建立与分析	黄奔 (58)
16.基于TCGA数据库肺腺癌mRNA预后风险模型的建立与分析	缪淑贤 (59)
17.Metformin-mediated inhibition of mTOR/STAT3/ROR α pathway in 17 T cell ameliorates inflammatory bowel disease	Yungang Wang (59)
18.血清5' NT、LAP、ALP与GGT检测在肝脏疾病中的临床价值	宗艺 (60)
19.METTL3小分子抑制剂STM2457通过m6A修饰调控胃癌细胞损伤、死亡	郑雨 (61)
20.Tumor microenvironment, histone modifications, and myeloid-derived suppressor cells	Xinyu Tian (62)

- 21.血清抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体在类风湿关节炎的临床诊断价值 张小云 (62)
- 22.亚临床甲状腺功能亢进症患者骨代谢标志物水平分析 褚莹 (63)
- 23.METTL3 modifying CD40L mRNA in Tfh cell promotes the pathogenesis of autoimmune arthritis
..... Huimin Zhou (64)
- 24.PAD2 介导的STAT3瓜氨酸化修饰增强荷瘤小鼠PMN- MDSCs免疫抑制功能 滕一 (64)
- 25.Alkhh5调控荷瘤小鼠MDSCs免疫抑制功能的实验研究 冯丽丽 (65)
- 26.CXCL9、CXCL11及GBP1作为潜在新型类风湿关节炎鉴别诊断标志物的应用研究..... 刘庆阳 (65)
- 27.Exploring the mechanism of sinomenine against rheumatoid arthritis using network pharmacology,
molecular docking and experimental validation Qingyang Liu (66)
- 29.Validation of JAK/STAT signaling pathway is essential in *Epimedium koreanum* Nakai treatment
of rheumatoid arthritis based on network pharmacology, molecular docking and experimental
evidence Qingyang Liu (67)
- 30.ERAD对胸腺上皮细胞发育分化及其功能的影响..... 刘婷 (68)
- 31.Reference ranges of B lymphocyte subpopulations in peripheral blood of healthy adults ... Ying Yin (68)
- 32.高危HPV感染与宫颈炎症及宫颈癌发生的相关性研究 唐丽 (69)
- 33.Changes and clinical significance of Treg/Th17 in elderly patients with non-small cell lung cancer
before and after radiotherapy Lijing Zhu (70)
- 34.Treg在非小细胞肺癌外周血中上调及Treg相关的长链非编码RNA的分析 祝丽晶 (71)
- 35.重组溶瘤病毒VG9-HGFK1对结肠直肠癌的抗肿瘤作用 杨雪 (71)
- 36.抗链球菌溶素O阳性患者的骨代谢特点..... 张志乾 (72)
- 37.Olfactory ecto-mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate murine Sjögren's syndrome
via suppressing Tfh cell response Ke Rui (73)
- 38.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 (74)
- 39.New insights into the function of Interleukin-25 in disease pathogenesis Qingfang Yuan (74)
- 40.The aryl hydrocarbon receptor in immune regulation and autoimmune pathogenesis Wei Huang (75)
- 41.血清PLA2R1与血清IgG联合检测对膜性肾病的诊断价值 巢蓓 (75)
- 42.肿瘤浸润调节性T细胞的表观遗传调控机制 龙学辉 (76)
- 43.Jmjd1c在浆细胞分化和类风湿性关节炎发病中的作用和机制 殷玉叶 (76)
- 44.Gasdermin D限制PD-L1检查点阻断治疗抗肿瘤免疫 姜玉莹 (77)
- 45.延胡索酸促进TOX琥珀酸化修饰诱导ILC1细胞免疫耗竭加速肝癌进展的机制研究 ... 赵梦亚 (78)
- 46.3,3'-二吡啶甲烷抑制胃癌细胞增殖通过Ca²⁺-ATF4通路 李雪 (78)
- 47.ZBTB3表达对胶质母细胞瘤细胞增殖和克隆形成的调控 邱文 (79)
- 48.延胡索酸促进TOX琥珀酸化修饰诱导ILC1细胞免疫耗竭加速肝癌进展的机制研究 ... 赵梦亚 (79)
- 49.cAMP通过下调C/EBP-和AP-1介导的转录来改善IgG免疫复合物诱导的急性肺损伤... 陈靓 (80)
- 50.Peripheral Lymphocyte Count and Neutrophil Count Affect the Efficacy of Breast Cancer Neoadjuvant
ChemotherapyJinpeng Chen (81)
- 51.Tumor cell-released autophagosomes (TRAPs) promote neutrophil extracellular traps formation
.....XIAOHE ZHOU (82)
- 52.Dysregulated lipids homeostasis results in resistance to FGFR-TKI via CHAC1-mediated
ferroptosis in gastric cancer..... Jingwen Chen (83)
- 53.肿瘤细胞释放自噬小体 (TRAPs) 诱导肺血管内皮细胞 PD-L1表达及其免疫抑制功能

的研究	吴宇阳 (85)
54.ZBTB3表达对胶质母细胞瘤细胞的增殖和克隆形成调控	王伟民 (86)
55.Inhibitory Effect of Diterpenoid Heterocyclic Compound DGT on Atopic Dermatitis	jingjing Gao (86)
56.载脂蛋白C-III通过Syk/cPLA2诱导巨噬细胞炎症小体活化上调CD8+ T细胞的抗肿瘤活性	胡翔宇 (88)
57.Exosome inspired photo-triggered gelation hydrogel composite on modulating immune pathogenesis for treating rheumatoid arthritis	Ke Rui (88)
58.Tissue-resident immune cells in the pathogenesis of multiple sclerosis	jie tian (89)
59.Identifying miRNA-mRNA regulation network of major depressive disorder in ovarian cancer based on bioinformatics analysis	Chengjiang Wu (89)
60.胸腺肽 α -1依赖肿瘤细胞源性凋亡小体RNA增强DC抗原提呈功能及其抗肿瘤效应的研究	韦逸婷 (90)
61.Long Non-Coding RNA Neighbor of BRCA1 Gene 2: A Crucial Regulator in Cancer Biology	Ting Wang (91)
62.alpha-II-血影蛋白分解产物SBDP145在类风湿关节炎诊断中的作用及临床意义.....	郑东 (91)
66.血浆外泌体来源miR-144-3p和miR-30b-5p作为类风湿关节炎潜在生物标志物的初步研究	陆健 (92)
64.circ_0057582在乳腺癌恶性进展中的作用机制及其作为新型标志物的临床价值研究 ..	赵玥昕 (92)
65.Tim-3 expression causes NK cell dysfunction in Type 2 diabetes patients	Hui Wang (93)
66.Down-regulation of SAMHD1 gene construction of a prognosis biomarker for overall survival in lung adenocarcinoma	liangliang cai (94)
67.真菌通过调控MDSC代谢促进肺腺癌血管生成的机制研究	瞿薇 (95)
68.NK细胞亚群与肿瘤标志物联合分析对乳腺恶性肿瘤的诊断价值	梁勇 (96)
69.CARD9敲除诱导的线粒体介导的铁死亡阻止MDSCs依赖的抗真菌免疫	张治永 (97)
70.血清ProGRP在小细胞肺癌临床诊断中的价值	刘娟 (97)
· 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.基于重组酶聚合酶等温扩增结合侧流层析试纸条(RPA-LFS)检测粪肠球菌的快速诊断 方法的建立与应用.....	朱波 (98)
2.Multi-omics Molecular Characterization and Diagnostic Biomarkers for Occult Hepatitis B Virus and HBsAg-Positive Hepatitis B Virus Infection	Xinyi Jiang (98)
3.第四代HIV电化学发光诊断试剂初筛试验假阳性原因分析	储楚 (100)
4.肝素结合蛋白、降钙素原对儿童严重脓毒症的早期诊断价值	冯晓斌 (100)
5.Identification and characterization of pancreatic infections in severe and critical acute pancreatitis patients using 16S rRNA gene next generation sequencing	Ning Sun (101)
6.mNAP在脓毒症患者诊断和预后判断中价值	王加平 (101)
7.儿童呼吸道病原体流行特征分析	任峰 (102)
8.质谱技术在鉴定血培养阳性标本中的应用研究	万洋洋 (103)
9.质谱辅助激光解析电离飞行时间质谱技术在快速鉴定无菌部位体液病原菌中的应用	邱蕴文 (104)
10.胶体金免疫层析法快速检测多重耐药革兰阴性杆菌碳青霉烯酶的临床价值	顾敏 (105)
11.宏基因组二代测序辅助鹦鹉热衣原体早期诊断应用	杨慧 (105)
12.全自动化学发光微阵列免疫分析法检测自身免疫性风湿病的抗核抗体	袁丹丹 (106)

- 13.临床分离单核细胞增生李斯特菌菌株分子特征研究 廖希玮 (107)
- 14.微滴式数字PCR在血流感染诊断和动态监测中的临床价值 李 森 (107)
- 15.MALDI-TOF MS快速鉴定金黄色葡萄球菌的应用研究 刘 乐 (108)
- 16.大蜡螟感染模型在鉴别高毒力肺炎克雷伯菌中的应用 宋 爽 (109)
- 17.XPERT MTB/RIF在396例确诊肺结核中的应用评价 纪小亭 (109)

· 细胞与分子免疫学研究与应用 ·

- 1.甲状腺球蛋白与甲状腺素作为新型联合标志物在妊娠期肝内胆汁淤积症中的检测及机制研究 王高莹 (110)
- 2.Function of reactive oxygen species in myeloid-derived suppressor cells Jiaojiao Huang (111)
- 3.Targeting STING in cancer: challenges and emerging opportunities Kexin Zhao (111)
- 4.Function of the cGAS-STING signaling pathway in metabolic disorders and cellular senescence Huiyong Peng (112)
- 5.CKS2在肺腺癌中的临床意义和预后价值 黄 奔 (112)
- 6.Exosomal S100A9 functions in colorectal cancer diagnosis and prognosis assessment Yungang Wang (113)
- 7.抗 β 2GPI抗体促进动脉粥样硬化相关血管内皮细胞活化的作用机制研究 张贵婷 (113)
- 8.妊娠期肝内胆汁淤积症新型分子标志物S100A9检测技术的研发及临床应用研究 张 婷 (114)
- 9.USP49在食管癌细胞中的表达及功能影响 余 珂 (115)
- 10.外泌体miR-6891-5p在ICP胎盘滋养细胞中的功能研究 高建一 (116)
- 11.mTOR-RUNX1通路参与调控肾小管上皮细胞DC-SIGN表达 彭 静 (117)
- 12.丁酸盐逆转DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎的作用研究 强叶涛 (117)
- 13.铁超载加重oxLDL诱导的泡沫细胞动脉粥样硬化活性 王晓燕 (118)
- 14.通过发卡竞争扩增实现血浆ctDNA稀有突变的高灵敏富集 刘兆成 (118)
- 15.新型GSDMD抑制药物靶向寡聚界面I阻断细胞焦亡 胡颖超 (119)
- 16.异甘草素通过直接结合Syk抑制巨噬细胞的活化减轻小鼠非酒精性脂肪肝 胡翔宇 (120)
- 17.丹参酮I靶向Syk抑制巨噬细胞的活化减轻小鼠DSS肠炎 胡春苗 (121)
- 18.ECSIT增强TCF-1转录表达进而促进CD8记忆T细胞形成作用研究 杨勇兵 (122)
- 19.利用广谱T细胞表位肽库建立ELISpot检测系统并临床评价慢乙肝患者的HBV特异性T细胞反应活性 吴燕丹 (123)
- 20.HBC通过CANX抑制肝癌细胞中IRF7基因的转录 张换阳 (123)
- 21.基于CRISPR-Cas9技术的CVA6感染相关宿主因子探究 李嘉铭 (124)
- 22.FEN1核酸酶的功能调控、肿瘤的检测方法及临床治疗的相关研究 何 磊 (125)
- 23.食管癌患者IFN- γ 、IL-2、IL-12水平的检测及临床价值探讨 牛玉峰 (125)
- 24.Transcriptional regulation of hsa-miR-1268a following pro-inflammatory cytokines stimulation in human adipocytes guangfeng xu (126)
- 25.sTIM-3及其配体Gal-9、HMGB1与2型糖尿病并发冠心病的相关性研究[] 刘艳秋 (127)

· 其他医学微生物与免疫学的基础与临床研究 ·

- 1.ICU患者耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌感染风险预测模型的构建 张宇琼 (128)
- 2.mcr基因在全球肺炎克雷伯菌中的分布及特点分析 翟俊斌 (128)
- 3.新形势下临床免疫学检验技术教学模式的改革与创新 杨瑞霞 (129)
- 4.tnaA基因缺失对益生菌Nissle 1917肠炎缓解作用的影响及机制研究 吴梦婷 (129)

5. ATF4 在急性呼吸窘迫综合征中的作用及其机制研究	童静如 (130)
6. 生长分化因子-15的循环水平与糖尿病风险的剂量反应关系	周中卫 (131)
7. 生命早期肠道菌群通过丁酸-IL-18轴维持肝脏驻留NK细胞的成熟	田盼盼 (131)
8. 抗酸染色、TB-IGRA与Xpert MTB/RIF联合检测在结核病中的诊断价值	宗寿洋 (132)
9. 烧伤患者病原菌药敏分析	过琴 (133)
10. 产金属酶铜绿假单胞菌的流行特点分析	翟俊斌 (134)
11. 医院未处理污水中耐碳青霉烯类细菌检测分析	钱费楠 (134)
12. 中国临床高危携带blaIMP-26的湘房肠杆菌的分子特征	高棋钊 (135)
13. 肺移植术后72小时血清乳酸峰值与受者短期死亡风险的关联	高蓉 (135)
14. 2型糖尿病足溃疡患者创口细菌感染特征及凝血功能相关性分析	姜凤英 (136)
15. 妊娠期肝内胆汁淤积症患者胎盘滋养细胞铁死亡的机制研究	宁少楷 (137)
16. 链球菌血流感染患者临床资料及预后分析	许雨乔 (138)
17. CTLA-4在急性肺损伤中的作用及其机制研究	罗铭 (138)
18. 探讨孕中期TyG联合平均动脉压和糖化血红蛋白对妊娠期糖尿病预测诊断的价值	项兰兰 (139)
19. 86例糠秕马拉色菌引起侵袭性感染患者的临床资料分析	张晓慧 (140)
20. 119株摩根根霉临床分布及耐药性变迁	张丽伟 (140)
21. 1例胰岛素自身免疫综合征检测结果异常的原因分析	金明 (141)
22. 碰撞诱导去折叠、氢氘交换质谱和分子动力学模拟揭示维生素B12转运过程中周质 结合蛋白BtuF的构象变化和结合机制	周丽君 (142)
23. Synergistic Killing of Capsaicin Combined With Colistin Against Colistin-Resistant <i>Acinetobacter</i> <i>baumannii</i> : A Metabolomics Study	Liying Yang (143)
24. 某三甲医院2021-2023年尿路感染病原菌分布及其耐药性分析	时洛洛 (145)
25. Ubiquitin E3 ligase SPOP is a host negative regulator of enterovirus 71-encoded 2A protease	Lichao Zang (145)
26. YgiM能够通过膜相关的ceRNA网络触发肺炎克雷伯氏菌引起的败血症	韩明霄 (146)
27. 新冠合并继发感染患者病原菌分布及耐药情况分析	王洋洋 (146)
28. 间日疟原虫血清学标志物筛选并初步探究抗原PvMSP1-42特异性长效免疫记忆的产 生机制	徐佳慧 (147)
29. HIV-1 Tat调控IRG1-Itaconate通路促进星形胶质细胞炎症反应	刘晓梅 (148)
30. circ_0065214/miR-188-3p/GPNMB轴在乳腺癌中的作用及临床应用研究	王凌霞 (148)
31. 联合检测半乳甘露聚糖和(1-3)- β -D葡聚糖诊断艾滋病合并马尔尼菲篮状菌病	钟菲 (149)

Colorectal cancer cells produce netrin-1 to the immunosuppressive activity of myeloid-derived suppressive cells

Xueli Xia*, Shengjun Wang
Jiangsu University

Myeloid-derived suppressive cells (MDSCs) inhibit antitumor immunity and confer a survival advantage for tumor evasion. Tumor cells also support MDSC expansion and recruitment by secreting multiple growth factors and cytokines, but the mechanisms by which tumors affect MDSC function are not completely understood. Here, we found that the neuronal guidance protein netrin-1 was selectively secreted by MC38 murine colon cancer cells, which could enhance the immunosuppressive activity of MDSCs. MDSCs predominantly express one type of netrin-1 receptor, adenosine receptor 2B (A2BR). Netrin-1 interacts with A2BR on MDSCs to activate the cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/protein kinase A (PKA) signaling pathway, which ultimately increases CREB phosphorylation in MDSCs. Furthermore, netrin-1 knockdown in tumor cells inhibited the immunosuppressive activity of MDSCs and restored antitumor immunity in MC38 tumor xenograft mice. Intriguingly, high netrin-1 levels in the plasma are closely related to the MDSC population in CRC patients. In conclusion, netrin-1 significantly enhanced the immunosuppressive function of MDSCs through A2BR on MDSCs, thus promoting the development of tumors. These findings highlight that netrin-1 may regulate the abnormal immune response in colorectal cancer and may become a potential target for immunotherapy.

开发并验证血清IgG4 \geq 1.35g/L患者中 诊断IgG4相关疾病的模型

闫雷*
南京医科大学附属淮安第一医院

目的: IgG4-RD (IgG4-related disease, IgG4-RD) 是一种可累及全身多个器官或腺体并伴有以器官肿大、组织纤维化以及IgG4阳性浆细胞浸润以及血清IgG4水平升高等为特点的自身免疫性疾病, IgG4-RD具体病理生理学机制尚不明确, 尚未发现与该疾病相关的特异性血清标志物, 导致准确地诊断IgG4-RD具有一定的困难。本研究的目的是开发并验证血清IgG4 \geq 1.35g/L患者中诊断IgG4-RD的模型。

方法: 本研究连续收纳了在2014年9月至2023年6月期间于南京医科大学附属淮安第一医院住院治疗且血清IgG4 \geq 1.35g/L的434名患者的队列。回顾性分析患者的人口统计学数据、实验室检测结果以及病理学参数。应用最小绝对收缩和选择算子 (LASSO) 回归方法对潜在变量以及预测因素进行筛选。采用多变量logistic回归方法构建列线图。通过计算曲线下面积 (AUC) 来确定模型的鉴别能力。采用自举法进行内部验证。并对该模型进行了校准分析以及决策曲线分析 (decision curve analysis, DCA), 基于其

校准性、鉴别能力以及临床实用性评估列线图的性能。

结果：434名血清IgG4 \geq 1.35g/L的患者中，共35例（8.06%）被诊断为IgG4-RD。LASSO回归分析和多变量logistic回归分析确定了3个变量：血清IgG4与血清总IgG比值（IgG4/IgG）、尿微量白蛋白（MALB）、血清镁（MG）。并基于这些变量建立了诊断模型。进行内部验证的曲线下面积（AUC）为0.818（95% CI: 0.729-0.9）。该预测模型经过了很好的校准，决策曲线分析（DCA）证明了其临床效能。

结论：在本研究中，我们开发并验证了一个在血清IgG4 \geq 1.35g/L患者中鉴别诊断IgG4-RD的模型。该模型能够为患者和临床医生提供预测在血清IgG4 \geq 1.35g/L患者中发生IgG4-RD的概率，指导患者辅助治疗的临床决策。

多粘菌素体外药物敏感性试验方法探讨

王珏*

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

1. 研究思路

随机选取我院近期的多重耐药的革兰阴性杆菌30株，采用目前我科常规使用的自动化仪器法（VITEK2-COMPACT335）检测法，与ISO-7420776标准微量肉汤稀释法[目前欧洲抗微生物药物敏感试验委员会（EUCAST）及美国临床和实验室标准协会（CLSI）多粘菌素折点组联合建议的粘菌素最低抑菌浓度（MIC）测试的参考方法]、试管宏亮稀释法[最低抑菌浓度（MIC）测试的金标准]多粘菌素B药敏试剂条法比较。

2. 结果评价

2.4.1 试验结果显示，30株菌宏量稀释法、微量肉汤稀释法、多粘菌素B药敏试剂条3种方法MIC值一致性较好，误差 \leq 1个梯度；自动化仪器法MIC值较前3种方法低2-3个梯度。

2.4.2 自动化仪器法对MIC $>$ 2.0的菌结果比前3个方法低2-3个梯度，MIC \leq 2.0的菌结果比前3个方法低1-2个梯度；

2.4.3 30株菌4种方法的批件差异均 $<$ 1个梯度属正常试验误差范围；

基于多肽组学和多反应监测技术 鉴定妊娠肝内胆汁淤积症的新型分子标志物

董蕊锐*、张婷

无锡市妇幼保健院

目的：妊娠期肝内胆汁淤积症(intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)可导致不良妊娠结局。目前临床上对ICP疾病的诊断主要依赖于总胆汁酸水平的升高，其敏感性及特异性均较低。因此本研究拟通过多肽组学技术筛选出ICP特异或异常表达的血清小分子肽标志物，探究其在ICP疾病诊断中的临床应用价值。

方法：收集ICP患者和健康妊娠者的血清样本和胎盘组织，采用LC-MS/MS质谱技术对5例ICP患者和

5例健康妊娠者的血清进行多肽组学检测。进一步扩大研究样本量（各30例），采用MRM技术对相关差异多肽在血清中进行验证。同时，应用western blot 和免疫组化技术检测ICP患者和健康妊娠者差异多肽对应前体蛋白的表达水平。

结果：LEEYTKKLNTQ的表达水平在ICP患者血清中显著升高，与TBA水平呈显著正相关，与分娩孕周和新生儿体重呈显著负相关。HALQLNN和QGAKIPKPEAS的表达水平在ICP患者血清中显著降低，与TBA水平呈显著负相关，与分娩孕周和新生儿体重呈显著正相关。LEEYTKKLNTQ，HALQLNN和QGAKIPKPEAS的ROC曲线下面积(AUC)分别为0.915、0.815和1.000。HALQLNN和QGAKIPKPEAS对应的前体蛋白C4A和ITIH4在ICP患者胎盘组织中显著升高，而LEEYTKKLNTQ对应的前体蛋白APOA1在ICP患者胎盘组织中显著降低。生物信息学分析显示，这3个多肽与脂质代谢、补体和凝血级联反应、细胞凋亡、氧化应激等通路密切相关。

讨论：在本研究中，我们发现ICP患者的分娩孕周和新生儿体重均显著低于健康妊娠者，提示ICP可导致胎儿发生早产，因此早期诊断对ICP的治疗具有重要的意义。在本研究中，我们在国内外首次构建了ICP血清差异多肽表达谱系，研究结果发现与对照组相比，ICP患者血清中有24个小分子肽显著上调，42个小分子肽显著下调。生物信息学分析显示，这些差异多肽与免疫调节、补体激活、脂质代谢、氧化应激、凋亡等通路密切相关。LEEYTKKLNTQ、HALQLNN和QGAKIPKPEAS与上述通路密切相关，同时其表达水平在组内均一，组间差异显著，因此选择它们作为验证实验的靶标。在验证实验中，我们发现QGAKIPKPEAS对ICP的诊断价值最高（AUC=1.000），未来可能取代TBA作为ICP新的独立诊断生物标志物。LEEYTKKLNTQ对ICP的诊断价值仅次于QGAKIPKPEAS（AUC=0.915），且LEEYTKKLNTQ联合HALQLNN具有更高的诊断价值（AUC=0.920），可能作为一种新的生物标志物组合来改善ICP的诊断和预后。我们发现这3种多肽与分娩孕周和新生儿体重密切相关，提示其可作为预测胎儿不良妊娠结局的生物标志物。同时，我们发现与正常孕妇相比，ICP患者胎盘中APOA1、C4A和ITIH4蛋白的表达发生了显著变化。ICP导致胎盘病变，进而导致脂质代谢异常、补体激活调节系统异常、细胞外基质稳态失衡等病理生理改变，最终导致不良妊娠结局的发生和发展。

S100A9通过激活NF- κ B信号通路介导妊娠期肝内胆汁淤积症中滋养层细胞的凋亡

张婷^{*1}、王高莹¹、史新蕊²

1. 无锡市妇幼保健院（无锡市妇女儿童保健所无锡市计划生育科学技术指导中心）；2. 江南大学

目的：妊娠期肝内胆汁淤积症（ICP）是一种与妊娠相关的疾病，主要表现为母体血清胆汁酸水平升高或肝功能指标异常，对母体及胎儿均造成不良影响。S100A9蛋白在人体中广泛表达，通过与钙离子结合，调节细胞内的各种生物过程（炎症、免疫调节和细胞迁移等）。S100A9在细胞凋亡中发挥作用，调节细胞存活和凋亡之间的平衡。S100A9与炎症密切相关，与其他炎症因子在介导细胞凋亡中发挥作用。本次研究着眼于S100A9/NF- κ B/凋亡这一机制通路在ICP中的调控作用，为临床寻找ICP预防治疗提供新的靶点。

方法：收集正常孕妇及ICP孕妇胎盘组织，通过western blot和免疫组织化学染色（IHC）检测S100A9在人胎盘组织中的表达。体外通过添加牛磺胆酸（TCA）至HTR-8/SV_{eno}模拟ICP环境，添加BAY11-7082抑制NF- κ B信号通路。通过实时定量逆转录聚合酶链式反应（qRT-PCR）检测IL-1 β 和TNF- α 的

mRNA水平，CCK-8和流式细胞术（FCM）检测细胞凋亡水平。构建S100A9慢病毒以及siRNA对细胞进行转染。

结果：Western blot结果显示，与正常孕妇相比，ICP孕妇胎盘组织中S100A9的表达更高。IHC结果显示，S100A9在ICP患者的胎盘组织中高表达，并集中在细胞膜上。CCK8结果显示，HTR-8/SVeno细胞经TCA处理后，在100 μ M 的浓度下处理细胞36小时后，细胞增殖能力受到最明显的抑制。FCM显示，TCA处理后细胞的凋亡率显著增加。相较于Neg组，TCA组细胞中S100A9的表达显著增加，促凋亡因子cleaved-caspase 3的表达显著升高，而抗凋亡因子Bcl-2的表达降低。研究发现TCA显著激活p65磷酸化，细胞中促炎因子IL-1 β 、TNF- α mRNA水平表达增加，BAY11-7082抑制NF- κ B信号通路的同时降低S100A9的表达，抑制TCA诱导的凋亡。过表达S100A9时，HTR-8/SVeno细胞中p65的磷酸化水平增加，IL-1 β 、TNF- α mRNA水平表达也增加。相对于TCA处理组，过表达S100A9时的细胞高表达cleaved-caspase 3，低表达Bcl-2，CCK8与FCM显示细胞凋亡水平增强。敲低S100A9减轻了TCA诱导的促凋亡作用。

讨论：整体研究证明S100A9作为新型钙结合蛋白，通过激活胎盘滋养层细胞NF- κ B信号通路加重ICP中细胞凋亡水平。HTR-8/Svneo细胞高表达S100A9，激活p65磷酸化，IL-1 β 、TNF- α mRNA水平表达增加，炎症反应加重，这一机制的改变在使细胞的增殖与凋亡失衡，胎盘功能受损。将S100A9作为目的分子，可为临床ICP的诊治提供新的可能。

二型糖尿病患者外周血免疫炎症及机制探究

李丹*、张芝如、李雯
苏州大学附属第二医院

目的：此研究中，我们分析了T2DM患者外周血细胞的百分比及数目，细胞因子表达水平，淋巴细胞绝对数，探究T2DM的外周炎症水平及发生机制，为临床实时监测和治疗T2DM提供临床依据。

方法：选取2023年2月~4月于苏州大学附属第二医院体检的500位空腹血糖高于7mmol/L的T2DM和500位健康体检者的血常规数据进行分析。同时随机选取20位高血糖者和20为健康者分别进行细胞因子和淋巴细胞绝对计数检测并进行统计分析。

结果：与健康体检者相比，T2DM患者外周血细胞数目增加但趋势不明显；血清促炎因子IL-6明显增加（ $P < 0.05$ ）；T2DM患者中性粒细胞与淋巴细胞比值（NLR）和单核细胞与淋巴细胞比值（MLR）均高于对照组；高血糖会降低单核细胞的活性增加单核细胞凋亡，因此T2DM患者外周血单核细胞明显减少（ $P < 0.01$ ）。

讨论：二型糖尿病T2DM（Diabetes mellitus type 2，T2DM）以体内血糖显著增高为主要的临床特征。糖尿病的危害不在于糖尿病本身，而是一系列发病率高、致残率高、死亡率高的并发症，主要包括心脑血管并发症、肾脏并发症、周围血管并发症、神经病变、眼部病变和感染，进而降低患者生存质量甚至危害生命。全身慢性低度炎症在T2DM的发生发展中发挥关键作用，但机制尚不明确。

浸润性免疫细胞和细胞因子是炎症的主要驱动因素。研究表明血糖患者脂肪组织和胰岛浸润的巨噬细胞增多，引起炎症。T淋巴细胞作为机体免疫系统最重要的组成部分，细胞水平的变化可反映机体免疫状态。中性粒细胞与淋巴细胞比值（NLR）是全身炎症反应的一个指标，在糖尿病及其微血管和糖尿病周围神经病变中可预测疾病发生发展。除此之外，外周血其他类型的免疫细胞，包括肥大细胞、嗜酸性粒细胞等在维持代谢组织稳态和控制葡萄糖代谢中扮演关键角色。

本文针对T2DM患者外周血免疫炎症指标进行分析。有意思的是，我们发现T2DM患者外周血单核细胞明显减少。进一步研究显示，高血糖会降低单核-巨噬细胞的细胞活性，增加Bcl2和caspase-3蛋白表达促进细胞凋亡，进而降低单核-巨噬细胞数目，这可能是糖尿病患者肿瘤易感和免疫低下的原因之一。此外，我们还发现血清IL-6，外周血NLR、MLR比例都明显增加。

综上，我们认为持续的高血糖能诱导外周炎症。T2DM患者高水平的IL-6引发过度的免疫反应加重炎症；外周单核-巨噬细胞数目减少使免疫低下。而炎症的持续发展和免疫力低下是T2DM患者易患并发症的机制所在。

结直肠癌中mTORC1活性减弱 通过自噬影响I型cDC分化的机制

谢梦晓^{*1}、吴皓杰¹、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. 江苏护理职业学院；3. 江苏大学医学院

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

方法：1. 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。

2. 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。

3. 检测Rapamycin处理前后BMDCs、MEFTSC2^{+/+}、MEFTSC2^{-/-}、D2SC和DC2.4细胞中Id2蛋白的变化。

4. 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。

5. 分子模拟分析Raptor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。

6. 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。

7. 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。

8. 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。

9. 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。

10. 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：

1. 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。

2. 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。

3. rapamycin抑制BMDCs、MEFTSC2+/+、MEFTSC2-/-、D2SC和DC2.4中Id2蛋白表达。

4. 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。

5. mTORC1通过Raptor直接正向调控STAT3表达和磷酸化水平。

6. STAT3促进Id2蛋白的表达。

7. 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。

8. Raptor特异性敲除和rapamycin抑制cDCs和CD8+/-like cDCs发育分化。

9. 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。

10. 与未接种MC38一侧相比, 接种侧引流淋巴结内CD8+cDCs比例减少。

讨论: 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。

黄芩苷对泛耐药鲍曼不动杆菌抑菌作用研究

林江*、张睿、侯盼飞

涟水县人民医院

目的: 探讨黄芩苷对泛耐药鲍曼不动杆菌的抑菌作用机制, 为抗感染治疗提供依据。

方法: 收集临床分离泛耐药鲍曼不动杆菌30株, 亚抑菌浓度黄芩苷共培养构建诱导菌株, 检测诱导前后对6种抗菌药物最低抑菌浓度 (MIC) 及三种外排泵结构基因adeB、adeJ、adeG表达量变化。

结果: 鲍曼不动杆菌经黄芩苷诱导后对阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟、亚胺培南、左氧氟沙星MIC有了显著下降, 差异有统计学意义; adeB基因相对表达量有了显著下降, 差异有统计学意义。

结论: 黄芩苷对泛耐药鲍曼不动杆菌具有体外抑菌作用, 其机制可能与抑制AdeABC外排泵表达有关。

新型喹恶啉荧光探针对急性肝损伤亚硫酸盐的成像与检测

胡泽阳*

江苏大学

本文介绍了一种新型荧光探针HZY, 用于监测亚硫酸盐 (SO₃²⁻) 的动态变化。首次将SO₃²⁻触发

的实现应用于急性肝损伤模型中。选择丙酮酸乙酯实现特异性和相对稳定的识别反应。加入SO₃²⁻后，HZY的荧光响应在380 nm激发下呈现出110 nm的大斯托克斯位移。其优点包括在各种pH条件下具有高选择性。与已报道的亚硫酸盐荧光探针相比，HZY表现出优异的性能，包括显著且快速的响应（40倍，在15分钟内），以及高灵敏度（检测限为0.21 μM）。此外，HZY还可以在活细胞中可视化内源性和外源性SO₃²⁻水平。此外，HZY还可以测量三种类型（由CCl₄，对乙酰氨基酚和酒精引起的）急性肝损伤模型中SO₃²⁻的变化水平。体内成像和深度穿透荧光成像均表明，HZY可以通过测量SO₃²⁻的动态变化来表征肝损伤过程的发展和治理状态。该项目的成功实施将促进对肝损伤中SO₃²⁻的准确原位检测，有望指导临床前诊断和临床实践。

通过在有或无亚硫酸盐的情况下扫描HZY的荧光和吸收光谱，揭示了HZY的重要光学特性。为了减少实验误差，每组实验设置了三个平行样本。探针本身在370 nm处有一个吸收峰，加入亚硫酸盐后会向380 nm处移动。然后，在380 nm激发波长下，HZY没有显示任何荧光信号。与此同时，亚硫酸盐水平的增加导致470 nm处荧光明显增加。发射波长基本符合绿色通道信号的要求。根据参考方法，HZY的荧光量子产率被确定为0.09。在PBS缓冲液（10 mM，pH 7.4，1% DMSO）中，记录HZY与不同浓度（1-100 eq）亚硫酸盐反应的荧光发射光谱，以展示通过HZY进行亚硫酸盐的定量检测。检测系统在470 nm处的荧光强度随着亚硫酸盐浓度的增加而增加。

此外，利用许多竞争物种评估了HZY对亚硫酸盐的选择性。包含SCN⁻、HSO₄⁻、S₂O₃²⁻、S₂O₄²⁻、S₂O₅²⁻、Hcy和GSH在内的最强的竞争物种均无法引起HZY的荧光响应。同时，在包含竞争物种和亚硫酸盐的共存系统中，HZY对亚硫酸盐的响应没有受到显著干扰。

通过采用典型的MTT方法检查LX-2和HeLa细胞系的细胞活力来检测HZY对细胞的毒性。每个细胞系的细胞存活率即使在100 μM探针下也高于80%。同时HZY也可以在HeLa细胞内成像外源性亚硫酸盐。

当亚硫酸盐浓度为500 μM时，HZY荧光强度趋于稳定。相应地，LOD为0.21 μM。数据表明，HZY可以满足亚硫酸盐的病理和生理标准的检测需求。此外，HZY在监测SO₃²⁻方面表现出良好的检测性能，如良好的选择性、灵敏度和抗干扰性。值得注意的是，HZY能够成像ALI模型中SO₃²⁻的变化。体内成像和穿透深度荧光成像均表明，通过监测SO₃²⁻动态，HZY可以表征肝脏过程发展的状态。HZY的成功运作将促进对肝损伤中SO₃²⁻的准确原位检测，预计将指导临床前诊断和临床实践。

肿瘤细胞释放自噬小体(TRAPs)通过促进成纤维细胞产生补体C3a营造肿瘤免疫微环境的机制研究

王旭茹*、周小荷、吴宇阳、吴成东、朱凤娇
东南大学

目的：肿瘤微环境具有高度异质性，而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来源和其营造肿瘤微环境的具体机制还未完全阐明；课题组前期研究证实乳腺癌原位肿瘤细胞释放的自噬小体(TRAPs)可以调节多种免疫细胞的生物学功能，因此我们想进一步探讨TRAPs能否调节早期肿瘤微环境中CAFs的形成和生物学功能？

方法：单细胞测序分析Becn1 NC/KD-4T1小鼠第10天肿瘤组织，免疫荧光和流式细胞术进一步验证成纤维细胞及单核巨噬细胞比例。在体外将TRAPs与小鼠乳腺脂肪垫原代成纤维细胞((NFs)共孵育72h

后, ELISA法检测成纤维细胞内/外C3和C3a水平; Western Blot法检测成纤维细胞内C3裂解酶CTSL(组织蛋白酶)水平。抗体预封闭TRAPs表面的DAMPs分子或抑制剂预处理成纤维细胞表面的受体分子后检测成纤维细胞内/外C3和C3a以及胞内CTSL水平。Western Blot法检测TRAPs预处理成纤维细胞后胞内信号分子活化情况; 信号通路抑制剂预处理成纤维细胞后检测细胞内/外C3和C3a以及胞内CTSL水平。体内荷瘤小鼠用C3aR抑制剂或C3a抗体处理后检测巨噬细胞的比例。

结果: 第10天小鼠Becn1 NC/KD-4T1肿瘤组织单细胞测序表明在两组存在四种类型的成纤维细胞, 分别是Fibroblasts_1(炎症型成纤维)、Fibroblasts_2(肌成纤维)、Fibroblasts_3(促血管生成型成纤维)、Fibroblasts_4(增殖型成纤维), 且与Becn1 NC-4T1组相比, Becn1 KD-4T1组有更低比例的炎症型成纤维细胞和单核巨噬细胞, 细胞互作分析表明炎症型成纤维细胞可以通过C3-C3aR互作对与单核巨噬细胞相互作用。此外, 与未处理组相比, 体内荷瘤小鼠用C3aR抑制剂或C3a抗体处理后观察到更低的巨噬细胞比例。TRAPs处理分选的原代炎症型成纤维细胞表明, TRAPs可以通过HSP70-TLR4-MyD88-ERK/p38信号通路促进成纤维细胞产生C3和CTSL酶, CTSL酶进一步在胞内将C3切割为C3a, 导致成纤维细胞释放更多的C3a趋化单核巨噬细胞。

讨论: 上述实验表明TRAPs可以促进炎症型成纤维细胞的生成和活化, 并通过促进胞内CTSL酶和底物C3产生, 最终导致炎症型成纤维细胞释放更多的C3a趋化巨噬细胞到肿瘤组织中参与肿瘤微环境的营造。炎症型成纤维产生C3和CTSL的时间顺序以及CTSL在胞内何种部位切割底物C3产生C3a还有待进一步研究。

焦亡效应分子GSDMD促进睾丸炎发生发展

马春梅¹、黄佳佳²、姜玉莹¹、刘璐¹、弓毅¹、黄少琼¹、李鸿辉¹、
张翔宇¹、温爽¹、王冰微²、杨硕¹

1. 南京医科大学; 2. 南京中医药大学

男性不育症是日趋严重的公共卫生问题, 睾丸炎是导致该疾病的重要原因之一, 其致病机制的研究对治疗男性不育症有重要意义。炎症小体作为炎症性疾病的重要调节因子, 在睾丸炎发生中有重要促进作用, 但目前大多数研究集中在Nod样受体蛋白3(Nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体上。GSDMD(Gasdermin D)是炎症小体下游细胞焦亡的关键效应分子, 在多种炎症性疾病中有重要作用, 然而其在睾丸炎中的作用尚未十分清楚。本研究发现了睾丸炎进程中, 巨噬细胞上的焦亡关键效应分子GSDMD促进睾丸炎的发生发展。进一步研究发现GSDMD主要通过增强巨噬细胞抗原提呈能力, 促进CD8⁺T细胞激活并发挥杀伤功能, 进而促进睾丸炎的发生发展。另外, 我们发现GSDMD抑制剂可显著缓解急性睾丸炎发生。本研究首次提出GSDMD在睾丸炎中具有免疫效应作用, 为开发临床治疗因睾丸炎导致的男性不育症的新疗法提供了线索和解决思路。

Tertiary lymphoid structure-associated B cells enhance CXCL13+CD103+CD8+T_{rm} cell response to PD-1 blockade in gastric cancer

Chupeng Hu*, Wenhua You, Mengya Zhao, Yedi Huang, Deyuan Kong, JinYing Lu, Yu Jin, Yun Chen
Nanjing Medical University

BACKGROUND & AIMS: Although the presence of tertiary lymphoid structures (TLS) correlates with positive responses to immunotherapy in many solid malignancies, the mechanism by which TLS enhances anti-tumor immunity is not well understood. The present study aimed to investigate the underlying cross-talk circuits between B cells and CXCL13+CD103+CD8+T_{rm} cells within the TLS and to understand their role in the context of immunotherapy.

METHODS: Immunostaining and hematoxylin and eosin staining of TLS and CXCL13+CD103+CD8+T_{rm} cells were performed on tumor sections from patients with gastric cancer (GC). The mechanism of communication between B cells and CXCL13+CD103+CD8+T_{rm} cells was determined both in vitro and in vivo. The efficacy of CXCL13+CD103+CD8+T_{rm} cells in countering tumor growth was evaluated using anti-PD-1 therapy.

RESULTS: The presence of TLS and CXCL13+CD103+CD8+T_{rm} cells in tumor tissues favored a superior response to anti-PD-1 therapy in patients with GC. Additionally, our research identified that activated B cells enhanced CXCL13 and granzyme B secretion by CD103+CD8+T_{rm} cells. Mechanistically, B cells facilitated the glycolysis of CD103+CD8+T_{rm} cells through the Lymphotoxin Alpha (LT α)/Tumour necrosis factor receptor 2 (TNFR2) axis, and the mTOR signaling pathway played a critical role in CD103+CD8+T_{rm} cells glycolysis during this process. Moreover, the presence of TLS and CXCL13+CD103+CD8+T_{rm} cells correlated with potent responsiveness to anti-PD-1 therapy in a TNFR2 dependent manner.

CONCLUSIONS: This study further reveals a crucial role for cellular communication between TLS-associated B cell and CXCL13+CD103+CD8+T_{rm} cells in anti-tumor immunity, providing valuable insights into the potential utilization of the LT α /TNFR2 axis within CXCL13+CD103+CD8+T_{rm} cells for advancing immunotherapy strategies in GC.

E3泛素连接酶SPOP调控RLR信号通路 抑制肠道病毒71复制

杨歆煜*、周围
常州市第一人民医院

目的：探讨斑点型锌指结构蛋白(Speckle-type poxvirus zinc finger 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)泛素水平的影响，Western blots(WB)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WB检测EV71结构蛋白VP1的转录水平及蛋白水平。

结果：过表达SPOP抑制EV71感染诱导的RD细胞死亡，同时EV71-2Apro的泛素水平呈SPOP梯度依赖增多；转染shSPOP质粒进行敲减内源性SPOP表达，黑色素瘤分化相关基因5(MDA5)、接头蛋白线粒体抗病毒信号(MAVS)蛋白表达和IRF3磷酸化水平呈SPOP剂量依赖减少，而转染HA-SPOP质粒后，MDA5、MAVS蛋白水平和IRF3磷酸化水平呈SPOP剂量依赖增加；EV71感染细胞中IFN- β mRNA水平与SPOP表达呈正相关，而VP1的mRNA和蛋白水平与SPOP表达呈负相关。

结论：SPOP可提高EV71-2Apro的泛素化水平从而促进2Apro降解，进而抑制2Apro对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。

疟原虫蛋白MAHRP1靶向免疫接头分子STING 调控I型IFN反应及机制研究

孙毅凡^{1*}、杜陈艳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。脾脏在疟原虫与宿主相互作用中扮演重要角色。系统分析鼠疟模型中脾脏的差异蛋白发现，I型IFN反应相关分子表达显著增强，包括固有免疫接头分子STING，且STING在宿主识别疟原虫DNA而引起I型IFN反应中至关重要。本研究围绕疟原虫感染对STING介导信号通路的调控，旨在明确可与STING相互作用的疟原虫蛋白，探究其对STING调控的分子机制，加深对疟疾免疫发病机制的理解。

方法：本研究基于约氏疟原虫致死株Py17XL的鼠疟模型中脾脏蛋白质组捕获的差异性蛋白聚类到IFN信号通路，在受染红细胞与巨噬细胞共孵育模型中，利用免疫沉淀联合质谱筛选与STING互作的疟原虫蛋白MAHRP1，应用免疫共沉淀验证二者相互作用、共聚焦验证共定位、Domain mapping分析结合结构域。进一步探究MAHRP1对STING介导信号通路的影响，双荧光素酶报告基因实验检测IFN- β 启动子活性，RT-qPCR检测IFN- β mRNA水平，共转染表达质粒后Western Blot检测相关蛋白的表达情况，同时表达纯化MAHRP1蛋白、制备多克隆抗体等。后续将利用CRISPR-Cas9技术构建Py MAHRP1敲除虫株，确定MAHRP1对STING介导信号通路的作用，及对鼠疟生存率、寄生虫血症等影响。

结果：鼠疟模型脾脏蛋白质组学分析发现，疟疾中脾脏的关键作用主要体现在影响免疫反应、尤其增强I型IFN反应。鼠疟模型脾脏和受染红细胞-巨噬细胞共孵育模型中，感染组STING表达均明显升高。在共孵育模型中免疫富集STING蛋白，筛选出Py MAHRP1为候选互作蛋白，进一步利用免疫共沉淀验证PyMAHRP1可与STING的外源性相互作用，共聚焦发现二者可发生共定位。PyMAHRP1可增强STING介导的IFN- β 启动子活性、增加STING介导的IFN- β mRNA水平，提示疟原虫MAHRP1蛋白可活化I型IFN反应。进一步研究发现，PyMAHRP1可以浓度依赖方式增加STING的蛋白表达，从而增强I型IFN反应。

讨论：已有研究明确疟疾中多种宿主分子可靶向STING调控其介导的I型IFN反应，而疟原虫蛋白参与STING信号的调节还未见报道。本研究从基于疟原虫感染后宿主脾脏蛋白质组学，以疟疾中I型IFN产生的关键蛋白STING为切入点，筛选到巨噬细胞中与STING互作的疟原虫蛋白MAHRP1，验证二者相互作用

用, 并发现PyMAHRP1可通过增加STING表达水平而增强I型IFN反应。本后续拟进一步验证MAHRP1与STING的互作、探究MAHRP1增强I型IFN反应的分子机制, 并利用敲除技术确定MAHRP1对STING介导信号通路的作用。本研究将加深人们对疟疾中固有免疫调控、尤其是疟原虫-宿主相互作用的深入理解, 进一步了解疟疾发病的分子机制, 为进一步研发抗疟药物的治疗靶点提供重要理论依据。

GSDMD炎症小体抑制基序研究

胡颖超^{★1}、姜玉莹¹、李晟¹、王冰微²、胡刚²、杨硕¹

1. 南京医科大学; 2. 南京中医药大学

背景: 炎症是机体免疫系统产生的一种重要防御效应, 然而炎症反应失控会对机体本身造成损害, 引起炎症性疾病发生。因此, 在攻克疾病的道路上, 如何抑制过度炎症, 调控免疫炎症平衡, 已成为防治相关疾病的关键环节。炎症小体是固有免疫炎症蛋白质机器, 其异常激活与多种炎症性疾病如脓毒症、炎症性肠病、神经退行性疾病等发生密切相关, 解析炎症小体激活的调控机制对防治相关疾病具有重要意义。机体已进化出多种负反馈调节机制来控制炎症, 然而炎症小体激活是否存在类似机制目前尚不清楚。GSDMD是2015年发现的炎症小体下游介导细胞焦亡的关键效应分子, 该蛋白的发现为炎症小体研究开启了新的方向, 已发现该分子在众多炎症性疾病发生过程中发挥着重要作用。GSDMD蛋白结构虽已解析, 但我们对GSDMD蛋白的结构及功能基序的认识仍不够全面。

目的: 为防止过度炎症反应发生, 机体已进化出多种负反馈调节机制对炎症进行精确调节, 然而炎症小体激活是否存在负反馈调节机制目前尚不清楚。本研究旨在探究:

- 1) 炎症小体通路下游分子GSDMD对炎症小体激活是否有负反馈调节作用;
- 2) 若GSDMD能够负反馈调控炎症小体激活, 其分子调控机理;
- 3) GSDMD负反馈调控炎症小体激活的结构基序;
- 4) 能否基于抑制基序开发设计小分子多肽靶向抑制炎症小体激活。

方法:

1) Western Blot、FAM荧光探针检测野生型和GSDMD基因缺失型小鼠骨髓来源巨噬细胞炎症小体激活;

2) HEK293T细胞表达系统分别检测GSDMD和IL-1 β 的全长, N端和C端片段对Caspase-1/11剪切活性的影响;

3) Western Blot、FAM荧光探针检测稳定表达GSDMD全长、N端、C端的永生化骨髓来源巨噬细胞炎症小体激活;

4) 构建并配繁GSDMD N端髓系细胞敲入小鼠, 细胞水平、EAE动物模型分别验证GSDMD N端对炎症小体激活的负反馈调节作用;

5) 同源建模, 分子对接预测GSDMD N端片段发挥负反馈调控的抑制基序并进一步对抑制基序进行验证;

6) 基于抑制基序设计小分子多肽并验证其对炎症小体激活和脓毒症发生的抑制作用。

结果:

1) GSDMD负反馈调控炎症小体激活和Caspase-1/11剪切;

2) GSDMD N端抑制炎症小体激活和Caspase-1/11剪切;

3) GSDMD N端髓系细胞敲入小鼠巨噬细胞炎症小体激活显著减弱, EAE模型发病减轻;

4) GSDMD N端RFWK基序抑制Caspase-1/11剪切和炎症小体激活;

5) 小分子多肽Ac-RFWK-CMK抑制原代骨髓巨噬细胞炎症小体激活和脓毒症发生。

讨论: GSDMD作为炎症小体的下游分子能够通过N端片段抑制Caspase-1/11剪切和炎症小体激活, 进一步发现GSDMD N端片段的RFWK基序发挥了抑制效应, 基于抑制基序设计的小分子多肽能够抑制炎症小体激活和脓毒症发生。该研究首次揭示了炎症小体下游的负反馈调控机制, 发现焦亡效应分子GSDMD可通过活化产生的N端片段 β 1- β 2环RFWK基序作用Caspase-1/11酶催化中心, 进而控制炎症小体Caspase的过度激活和炎症反应发生。因此, 该研究拓展了我们对GSDMD蛋白功能的认识, 为靶向炎症小体Caspases的抗炎药物开发提供了新线索。

Circulating CD15+ LOX-1+ PMN-MDSCs are a potential biomarker for the early diagnosis of non-small-cell lung cancer

Xinyu Tian^{★1}, Shengjun Wang², Han Shen¹

1. Nanjing Drum Tower Hospital; 2. Jiangsu University

AIMS: Non-small-cell lung cancer (NSCLC) is the most common clinical lung cancer. Polymorphonuclear-myeloid derived suppressor cells (PMN-MDSCs), which are the major population of MDSCs, are involved in NSCLC progression. Recently, it was found that lectin-type oxidized LDL receptor 1 (LOX-1) could identify human PMN-MDSCs. However, the role of CD15 + LOX-1 + PMN-MDSCs in NSCLC early diagnosis has not been revealed. Here, we tried to confirm the application of the newly identified CD15 + LOX-1 + PMN-MDSCs in the early diagnosis of NSCLC.

METHODS: Flow cytometry (FCM) was used to detect the proportion of CD15 + LOX-1 + PMN-MDSCs in the peripheral blood (PB) of healthy controls (HC) and NSCLC patients. The correlation of CD15 + LOX-1 + PMN-MDSC frequency with levels of cytokeratin 19-fragments (CYFRA21-1), carcinoembryonic antigen (CEA), and carbohydrate antigen 125 (CA125) was analysed. Receiver operating characteristic (ROC) curve was used to estimate the diagnostic efficacy of CD15 + LOX-1 + PMN-MDSCs for NSCLC. Additionally, the association of CD15 + LOX-1 + PMN-MDSC frequency with NSCLC prognosis/recurrence after surgery was explored.

RESULTS: The proportion of CD15 + LOX-1 + PMN-MDSCs increased in PB of NSCLC patients. CD15 + LOX-1 + PMN-MDSC proportion was positively correlated with levels of CEA, CA125 and CYFRA21-1. Detection of PMN-MDSC percentage in PB owed high sensitivity and specificity for NSCLC diagnosis. The proportion of CD15 + LOX-1 + PMN-MDSCs decreased in patients after surgery. The frequency of CD15 + LOX-1 + PMN-MDSCs was lower in NSCLC patients without recurrence compared to those with recurrence after surgery.

CONCLUSIONS: Circulating CD15 + LOX-1 + PMN-MDSCs are a potential diagnostic marker for NSCLC, and are associated with NSCLC prognosis and recurrence after surgery.

肝细胞癌进程可视化的近红外荧光/光声双模态成像方法的构建及精准诊疗研究

王凯*

无锡市儿童医院

目的:

(1) 设计一系列新型NIRF/PA双模态检测方法, 实现体外对GGT/ONOO⁻水平的检测, 通过性能评价进行优选。

(2) 在HCC模型小鼠中利用新型NIRF/PA双模态检测方法构建NIRF/PA信号、GGT/ONOO⁻水平和HCC进程三者间的联系。

(3) 利用新型NIRF/PA双模态检测方法评价HCC药物治疗效果, 引入PDT/PTT, 阐明HCC联合治疗在相关信号通路中的作用机制, 为优化HCC的临床治疗方案提供参考。

方法:

- (1) 新型NIRF/PA双模态探针的合成
- (2) 新型NIRF/PA双模态检测方法的体外性能测试
- (3) 新型NIRF/PA双模态检测方法对抑制剂进行评价
- (4) 新型NIRF/PA双模态检测方法在肝细胞中的成像研究
- (5) 新型NIRF/PA双模态检测方法在HCC进程中的模型小鼠成像研究
- (6) 临床药物对原发性HCC模型小鼠的治疗研究
- (7) 新型NIRF/PA双模态检测方法在HCC模型小鼠中的PDT/PTT研究
- (8) 信号通路研究

结果:

(1) 针对HCC的早期诊断, 目前的常规方法在动态监测及原位成像方面均存在一定不足。本项目中的NIRF/PA双模态报告信号能够提高检测的准确性、灵敏度和空间分辨率, 结合双模态报告信号的相互校正进行深入探索, 对于聚焦HCC进程中重要生物标志物活性水平的动态监测具有重要意义。尽管GGT/ONOO⁻水平与HCC具有一定相关性, 但目前通过其水平反映HCC进程的研究鲜有报道。本项目首次将GGT/ONOO⁻的NIRF/PA双模态检测方法引入HCC进程监测, 有望建立NIRF/PA信号、GGT/ONOO⁻水平和HCC进程三者间的联系。

(2) 索拉非尼和乐伐替尼是目前HCC治疗的一线药物, 但仍容易发生耐药。本项目创新性地将新型NIRF/PA双模态检测方法引入HCC治疗方案, 有望在目前HCC治疗药物的基础上, 指导PDT/PTT联合药物治疗, 有利于弥补各自的固有缺陷, 提供高效的联合治疗方案; 联合治疗更注重实用性, 能够拓宽现有的HCC治疗方式, 其分子机制的探索有助于为基础研究带来新的突破。

讨论:

(1) 如何对HCC进程实现高灵敏度、高准确度和高空间分辨率的监测。本项目拟在HCC模型小鼠中引入新型NIRF/PA双模态检测方法, 该方法对HCC模型小鼠中的GGT/ONOO⁻水平进行实时成像, 克服了单一模态检测灵敏度和分辨率方面的不足, 通过NIRF/PA信号的相互校正, 实现对HCC进程的准确评估。

(2) 如何在现有临床药物的基础上, 进一步研究联合治疗方案及相关分子机制。本项目拟对原发性HCC模型小鼠进行PDT/PTT联合药物治疗, 以改善现有临床药物在HCC治疗中的耐药性问题, 在NIRF/PA双模态检测条件下阐明各治疗方案的分子机制, 并为进一步优化提供依据。

乳酸链球菌素Nisin对临床分离的唑类耐药热带念珠菌的作用研究

高硕*、纪玥玥、徐士兰、徐学静、张燕、周万青、沈瀚
南京大学医学院附属鼓楼医院

目的: 研究乳酸链球菌素Nisin对临床分离的唑类耐药热带念珠菌的作用及对生物膜形成的影响。

方法: 收集我院2013-2023年临床侵袭性真菌感染患者分离的唑类耐药热带念珠菌共21株, 对照敏感菌株14株。通过念珠菌显色平板及VITEK MS质谱对菌株进行鉴定, 采用商品化显色微量肉汤稀释药敏板 Sensititre Yeast One YO10检测9种抗真菌药物的最低抑菌浓度(minimal inhibitory concentration, MIC)。采用微量肉汤稀释法测定Nisin对热带念珠菌的MIC, 选取3株绘制生长曲线。采用结晶紫染色法检测Nisin对热带念珠菌生物膜形成的影响。qRT-PCR检测Nisin对靶基因ERG11、泵蛋白基因MDR1和CDR1、编码转录因子UPC2基因及生物膜形成相关基因BCR-1的表达情况。

结果: 药敏结果显示, 耐药组热带念珠菌对唑类抗真菌药物的MIC依次为氟康唑128-256 $\mu\text{g/mL}$ 、伊曲康唑0.5-16 $\mu\text{g/mL}$ 、伏立康唑1-8 $\mu\text{g/mL}$ 、泊沙康唑0.25-2 $\mu\text{g/mL}$, 对5-氟胞嘧啶、两性霉素B、阿尼芬净、卡泊芬净、米卡芬净均敏感。Nisin对热带念珠菌的MIC值为64-512 $\mu\text{g/mL}$ 。生长曲线显示Nisin明显抑制热带念珠菌生长, 在8h后的相同时间点, OD600值下降5倍以上 ($P<0.05$)。结晶紫染色结果显示, 与对照组相比, Nisin作用组OD570值显著降低 ($P<0.0001$)。qRT-PCR结果显示, 耐药组与敏感组相比, ERG11及UPC2基因的相对表达量显著升高, MDR1、CDR1 及BCR-1基因未检测到显著差异。耐药组Nisin作用后UPC2及BCR-1基因表达下降。

结论: Nisin对唑类耐药的热带念珠菌的生长有抑制作用, 同时能抑制生物膜的形成, 唑类耐药热带念珠菌高表达ERG11和UPC2基因, Nisin对其作用机制可能与降低编码转录因子UPC2及粘附相关基因BCR-1表达有关。

miR-144/451调控ROS产生抑制CD8+T细胞抗肿瘤活性

蔺志杰*、解孝艳、陈倩、辜敏、贾筱琴、肖炜明、郁多男、龚卫娟
扬州大学

目的: miR-144/451在红细胞生成和肿瘤发生中被广泛研究。然而, miR-144/451是否在调节免疫应答中发挥作用尚不清楚。前期研究发现, miR-144/451敲除上调小鼠的树突状细胞的功能, 加剧DSS诱导的小鼠肠炎发病。本研究为进一步明解析miR-144/451对CD8+T细胞活性的影响及其在抗肿瘤免疫中的作用。

结果: 1、相较于对照小鼠, miR-144/451基因敲除小鼠CD8+T细胞活性上调, 其介导的抗肿瘤免疫

应答显著增强，同时这些CD8+T细胞产生高水平的活性氧ROS。2、miR-451靶向Ncf1的3'-UTR抑制其表达，从而下调CD8+T细胞中ROS产生。3、过表达miR-144/451后，胞内Ncf1水平和ROS生成降低，同时CD8+T细胞功能下调。4、敲低Ncf1可显著抑制miR-144/451基因敲除小鼠CD8+T细胞的功能。5、与正常肠组织相比，miR-144/451在结直肠癌组织中显著上调，而Ncf1表达下调。此外，与Ncf1低表达的结直肠癌组织相比，CD8+T细胞和细胞毒性细胞在Ncf1高表达的结直肠癌组织中显著富集。6、过继细胞转移免疫治疗过程中，抑制miR-451可提高CD8+T细胞抗肿瘤活性。

结论：miR-451靶向Ncf1调节ROS水平产生，进而抑制CD8+T细胞的活化和抗肿瘤活性。

耐碳青霉烯类解鸟氨酸拉乌尔菌分子流行病学特征研究

谢小芳*、钱费楠、杜鸿

苏州大学附属第二医院

目的：了解解鸟氨酸拉乌尔菌在临床的流行情况和耐药性，并对碳青霉烯类耐药菌株进行耐药机制研究。

方法：收集2015年5月至2020年12月经基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF MS）技术鉴定的解鸟氨酸拉乌尔菌临床分离株，对其中碳青霉烯类耐药的解鸟氨酸拉乌尔菌进行临床信息收集、耐药表型、碳青霉烯酶基因检测；采用脉冲场凝胶电泳（PFGE）对耐药菌株进行同源性分析；全基因组测序（WGS）确定耐药株质粒、耐药基因与毒力基因等分子特征；基于核心单核苷酸多态性（core-SNPs）构建系统发育进化树，分析耐药菌株的进化特征。

结果：共有83株临床分离株证实为解鸟氨酸拉乌尔菌，其中11株对碳青霉烯类抗生素耐药，菌株主要来源于外科、重症监护病房（ICU）和肿瘤科患者的引流液和创面分泌物；除对碳青霉烯类耐药外，11株菌对头孢类、头霉素类、氨曲南耐药性100%，但对左旋氧氟沙星、替加环素、粘菌素保持较好的体外活性；碳青霉烯酶基因检测结果提示，8株菌携带blaIMP-4,3株菌携带blaKPC-2，其中1株同时携带blaIMP-4和blaKPC-2, 2株同时携带blaIMP-4和blaNDM-1；PFGE结果提示共有7种带型，4种流行株；WGS结果提示该11株解鸟氨酸拉乌尔菌携带的质粒复制子类型主要为IncFIA、IncFIB、IncHI1B、IncU、repB和Col，除携带碳青霉烯酶耐药基因外，还携带其他10种不同类型耐药基因，但未发现常见毒力基因。系统发育进化分析显示Ro6348和Ro6050、Ro7401和Ro7242、Ro8647和Ro5832、Ro9907和Ro8856分别分组在一起，而Ro8454、Ro7349、Ro7326位于不同的分支上。

结论：解鸟氨酸拉乌尔菌总体耐药情况与肺炎克雷伯菌相近，但不同于肺炎克雷伯菌，耐碳青霉烯类解鸟氨酸拉乌尔菌主要以携带blaIMP-4为主。PFGE和系统发育进化分析结果提示该型菌株在院内有相互传播趋势，WGS发现碳青霉烯耐药解鸟氨酸拉乌尔菌携带多种耐药基因而未检测到毒力基因，可能是菌株耐药进化的结果。

· 人体微生态的基础与临床研究 ·

高尿酸血症患者肠道菌群结构和功能特征 与炎症反应的相关性研究

毛旭华*

宜兴市人民医院

目的：分析高尿酸血症患者（HUA）肠道菌群失衡模式及功能变化特征，并探究肠道菌群结构对高尿酸血症患者血清炎症因子水平的影响。

方法：纳入年龄、性别相匹配的10例高尿酸血症患者和10例健康体检者作为研究组和对照组，并收集他们的粪便及血清标本。采用Illumina Miseq高通量测序平台对粪便标本16S rRNA V3-V4区测序；采用测定血清标本炎症因子水平；采用QIIME 2分析肠道菌群组成和多样性指标、LEfSe分析差异菌群、PICRUSi预测肠道菌群功能变化特征；采用Spearman分析生化指标、肠道细菌与血清炎症因子的相关性。

结果：高尿酸血症患者全血中的炎症因子浓度显著高于对照组水平；肠道菌群结构的物种多样性降低，拟杆菌门/厚壁菌门的比例上升，菌群关于亮氨酸和异亮氨酸降解、细胞凋亡、脂多糖生物合成、赖氨酸降解等功能基因丰度显著增加。相关性分析结果表明，炎症因子水平与肝功能（胆碱酯酶和谷丙转氨酶）和肾功能指标（尿酸和肌酐）呈显著正相关，并与Subdoligranulum属、Ruminococcus gnavus属和Eggerthella属丰度呈显著正相关。

结论：高尿酸血症患者肠道菌群处于紊乱状态，其肠道菌群结构的紊乱与炎症反应的发生密切相关，在高尿酸血症患者的诊断与治疗中需要关注肠道菌群变化，本研究为进一步研究通过肠道菌群评估高尿酸血症患者引发炎症风险提供了数据基础。

探索类风湿关节炎患者肠道微生物移植 对无菌鼠关节炎发展的影响及其机制

张露露*、王秋波

无锡市第九人民医院

目的：类风湿关节炎（RA）是一种慢性、自身免疫性疾病，临床表现为持续性关节炎和系统性炎症，其发病机制多方面且复杂，而肠道微生物被认为可能与RA的发病有关。近年来，肠道微生物已被证实多种自身免疫性疾病的发病机制中起着重要作用。本研究旨在通过将RA患者的肠道微生物移植到无菌鼠中，探讨肠道微生物对RA发展的影响及其可能的机制，为寻找新的治疗途径提供理论基础。

方法：本研究纳入30名活动期类风湿关节炎患者和30名健康对照者。通过粪便样本采集，将类风湿关节炎患者的肠道微生物移植到无菌鼠中，待其体内菌群稳定后再评估无菌鼠的关节炎发生率、病理学

改变、炎症因子水平及肠道微生物群的变化。采用16S rRNA基因测序技术分析肠道微生物群的变化,并利用免疫组化和免疫印迹等方法评估炎症和免疫反应的变化。

结果:与接受健康对照者肠道微生物移植的无菌鼠相比,接受RA患者肠道微生物移植的无菌鼠显示出更高的关节炎发病率和更严重的关节病理损伤。16S rRNA基因测序结果显示,RA患者肠道微生物移植组的无菌鼠的肠道微生物群组成发生显著变化。其中,与炎症和免疫反应相关的菌群数量明显增加。同时,炎症因子如TNF- α 和IL-6的表达水平也显著升高。通过免疫组化和免疫印迹分析,发现无菌鼠关节组织中的炎症和免疫反应明显增强。

讨论:本研究首次通过肠道微生物移植的方法,展示了RA患者的肠道微生物可能对无菌鼠关节炎的发展产生重要影响。肠道微生物群的变化可能通过影响宿主的免疫反应和炎症反应,进而影响RA的发展。这些发现为进一步理解RA的复杂发病机制,以及探讨基于肠道微生物的新治疗方法提供了重要的理论依据。同时,这也为我们提供了一个有效的模型,来研究肠道微生物与RA之间的相互作用,以及肠道微生物如何影响免疫和炎症反应。未来,通过深入研究肠道微生物与宿主相互作用的机制,可能为RA的治疗提供新的方向。

绝经后女性阴道微生态分析

陈莹*

泰州市第四人民医院

目的:探讨本地区绝经后女性阴道微生态及绝经后泌尿生殖道症状,有助于临床医生提高对绝经后女性阴道微生态的认识,提供有效的诊疗。

方法:收集2021年6月至9月期间于泰州市人民医院妇科门诊就诊的296例绝经后妇女的阴道分泌物标本,进行微生态状况的分析。1.形态学检测:阴道分泌物涂片后在显微镜下湿片检测同时结合干燥、固定后革兰染色后镜下菌群分析。显微镜下主要观察菌群密集性、多样性,优势菌种类和分布,滴虫、假丝酵母菌,2.功能学检测:珠海丽拓生物阴道分析仪器和试剂检测阴道菌群酶类代谢产物及PH值和评估阴道清洁度3.同时通过查病史对就诊的绝经后女性的临床症状进行分析。

结果:1、对296例绝经后妇女阴道微生态形态学检测,研究发现微生态正常占6.76%(20/296),微生态异常93.24%(276/296)。

2、296例绝经后妇女菌群密集性Ⅱ级~Ⅲ级65.54%(194/296),Ⅰ级18.89%(56/296),Ⅳ级15.54%(46/296);菌群多样性Ⅱ级~Ⅲ级59.80%(177/296),Ⅰ级24.66%(73/296),Ⅳ级15.54%(46/296)。

3、296例阴道微生态优势菌分布结果,G+大杆菌占比为28.72%(85/296),85例G+大杆菌26例H2O2阴性,占比30.59%(26/85),G+或G-小杆菌占比为33.11%(98/296),G+球菌占比为20.61%(61/296),无优势菌占比17.57%(52/296)。

4、296例标本清洁度如下,清洁度Ⅰ-Ⅱ为64.86%(192/296),清洁度Ⅲ-Ⅳ为35.14%(104/296),大多数清洁度正常。过氧化氢阳性259例,占87.50%;白细胞酯酶阳性154例,占52.03%; β -葡萄糖醛酸酶26例,占8.78%;唾液酸酐酶阳性39例,占13.18%。

5、296例绝经后妇女阴道分泌物PH值结果,3.8~4.5为44例,占14.86%,PH4.6~5.4为133例,占44.93%,PH>5.4为119例,占40.20%,PH异常率为252例,占85.14%。

6、296例绝经后妇女阴道炎症检测如下,能够通过镜检明确的阴道炎症为126例,占42.57%,需氧性阴道炎(AV)感染率,为62例(20.95%,62/296);其次为厌氧性阴道炎(BV)64例(21.62%,64/296);

外阴阴道假丝酵母菌病(VVC)24例, (8.10%, 24/296);滴虫性阴道炎(TV)6例, (2.03%, 6/296);细菌溶解性阴道病(CV)1例, (0.34%, 1/296), 混合性阴道炎36例 (12.16%,36/296)。

7、296例绝经后妇女临床症状下腹痛41人 (13.85%, 41/296),阴道分泌物增多29人9.80%, 29/296), 阴道分泌物发黄13人(4.39%, 13/296), 外阴不适90 (30.41%,90/296),阴道排液8人 (2.70%,8/296),尿频尿急尿痛31人 (10.47%, 31/296),分泌物异味7人 (2.36%,7/296)。

8、296例绝经后妇女, 有46人进行分泌物培养, 结果解脲脲原体阳性有15例 (32.61%, 15/46),人型支原体阳性4人 (4/46,8.70%)

结论: 绝经后妇女菌群异常发生率比较高, 阴道菌群密集程度和菌群种类异常中 I 级占比较高, 优势菌乳杆菌菌群抑制明显, 绝经后妇女阴道炎症以需氧性阴道炎和厌氧性阴道炎为主, 阴道菌群乳杆菌的减少, 而G+或G-小杆菌占和G+球菌增多; 对其清洁度评估结果显示, 大多数清洁度正常, PH异常率较高, PH>4.5达86.15%, 同时, 乳杆菌功能下降, H2O2阳性83.08%。分泌物培养, 发现解脲支原体和人型支原体阳性占比很高, 解脲支原体阳性率达47.83%。对绝经后妇女临床症状进行分析显示, 主要症状是下腹痛、阴道分泌物增多, 阴道瘙痒, 有12%的人有泌尿系统症状。绝经后妇女的生殖道健康不容忽视, 对其阴道微生态的深入研究, 有助于临床对患者进行精准的诊断治疗。

· 人类病原体的致病性、耐药性及其机制的基础和临床研究 ·

高毒力肺炎克雷伯菌ATCC43816的QseB/QseC双组份系统功能研究及机制初探

朱婕*、杜鸿

苏州大学附属第二医院

研究目的：高毒力肺炎克雷伯菌(hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, hvKP)是不同于经典肺炎克雷伯菌(classical *Klebsiella pneumoniae*, cKP)的病原体分型，其与cKP相比具有更强的致病力。更为严峻的情况是，近年由于可移动基因元件的存在，有关兼具高毒力和高耐药性的多重耐药高毒力肺炎克雷伯菌(multidrug-resistant hvKP, MDR-hvKP)的报道不断攀升，这种新型超级细菌对人类健康构成了巨大威胁。QseBC双组份系统(two-component system, TCS)与细菌群体感应有关，其在大肠杆菌中具有调节生物膜形成、动力和毒力的作用，但是QseBC在hvKP中的功能未见报道，故我们旨在探究QseBC在hvKP菌株ATCC43816中所发挥的作用，以期对hvKP的预防、诊断和治疗提供新思路。

研究方法：本研究运用CRISPR-Cas9系统构建缺陷株ATCC43816 Δ qseB/ Δ qseC/ Δ qseBC，并利用pBAD24构建敲除基因的回补质粒。后续我们对野生株、缺失株以及回补株进行了生物学特性研究，主要包括生长曲线实验、药敏实验、拉丝实验、黏度半定量实验、糖醛酸定量实验、生物膜形成实验、血清杀伤实验和大蜡螟毒力实验。为进一步探讨QseBC在hvKP中的调控机制，我们利用比较转录组学对野生株和敲除株进行了差异基因比较，并通过实时荧光定量PCR验证基因的表达量是否与转录组结果趋势一致。

研究结果：1.将含有靶基因N20的质粒pSGKP-QseB/QseC-N20和相应靶基因的同源臂电转至表达Cas9蛋白的ATCC43816中，从安普霉素/利福平双抗平板上挑选菌落进行PCR验证后得到 Δ qseB、 Δ qseC、 Δ qseBC。将qseC基因克隆至表达质粒pBAD24构建重组质粒pBAD24-qseC，随后将该质粒电转至ATCC43816 Δ qseC中构成回补株ATCC43816 Δ qseC-pCqseC。

2.qseB、qseC、qseBC基因缺失株的生长速率、菌落形态、抗生素药物敏感性、黏度及荚膜含量与野生株ATCC43816相比无明显差异。生物膜形成实验结果显示，qseC基因缺失株生物膜形成量增加，而回补株ATCC43816 Δ qseC-pCqseC的生物膜形成能力与ATCC43816 Δ qseC-pBAD24相比明显减弱。血清杀伤实验结果显示，野生株和缺失株均呈现血清抵抗，qseC基因缺失增加了血清抵抗能力，而回补株ATCC43816 Δ qseC-pCqseC在一定程度上增加了 Δ qseC对血清杀伤的敏感性。蜡螟杀伤实验显示qseC基因缺失株增强了对蜡螟的致死力，而回补株ATCC43816 Δ qseC-pCqseC降低了蜡螟感染的死亡率。

3.RNA-seq分析显示， Δ qseC中共有216个差异表达基因，其中下调基因30个，上调基因186个，其中与生物膜形成相关的基因(glgC, glgP, glgA, gcvA, bcsA, ydaM, paaF, ptsG)、细菌VI型分泌系统(virB4, virB6, virB10, vgrG, hcp)、铁载体生物合成(entC, entD, entE)与ATCC43816相比显著上调。此外，qseB、ygiW和AraC家族转录调节因子IT767_23090基因在qseC缺失株中的表达量显著上升。

研究结论：1.本研究通过CRISPR-Cas9成功构建了高毒力肺炎克雷伯菌ATCC43816 qseB、qseC、qseBC基因缺失株，并且利用质粒pBAD24完成了qseC基因的回补，为进一步的研究奠定了基础。

2.本研究发现，高毒力肺炎克雷伯菌ATCC43816的qseC基因缺失增强了其菌株毒力、血清抵抗能力

以及生物膜形成能力，而qseB、qseBC基因的缺失并未产生以上影响。

3.转录组结果显示， Δ qseC中IT767_23090、ygiW、qseB三个基因表达显著上调。qseC基因的缺失所致的毒力及生物膜形成能力增加与毒力相关基因和生物膜形成相关基因的表达上调一致，而这些基因的上调可能与IT767_23090、ygiW、qseB的基因上调相关。

副溶血弧菌分离株毒力特征和分子流行病学研究

汪惠芳*、蒯守刚、尚忠波、赵培培、尚乐乐
无锡市惠山区人民医院

目的：探讨2019–2020年无锡市惠山区人民医院食源性副溶血弧菌分离株毒力基因携带情况以及分子分型特征。

方法：采用PCR技术检测耐热直接溶血素基因(tdh)、耐热相关溶血素基因(trh)和三个III型分泌系统基因(T3SS1、T3SS2 α 、T3SS2 β)，采用多位点序列分型(multilocus sequence type, MLST)技术对临床菌株进行分子分型研究。

结果：22株副溶血弧菌分离株毒力基因PCR检测发现，Tdh携带率为0%(0/22)，trh携带率为4.5%(1/22)；T3SS1携带率为100%(22/22)，T3SS2携带率为100%(22/22)；其中21株只携带T3SS2 α ，1株只携带T3SS2 β 。分子分型显示，22株分离菌株MLST分型可分为2个ST型，其中21株菌为ST-3型，1株菌为ST-199型。

结论：本研究的食源性副溶血弧菌多为tdh-/trh-菌株(21/22)，以ST-3型为主要流行株(21/22)，III型分泌系统可能是本地区食源性副溶血弧菌临床分离株的主要致病机制。

关键词：副溶血弧菌；溶血毒素；III型分泌系统；多位点序列分析

胆管结石形成机制的研究进展

黄丹*
上海交通大学医学院附属第六人民医院

胆管结石在我国是一种发病率较高、并发症多、治疗难度大的疾病，多继发于细菌感染和胆汁淤积。内镜下胆道支架植入术是治疗胆管结石的有效手段，但术后细菌感染所致的结石复发和支架堵塞仍旧是一大难题。本篇综述探讨了胆管结石(包括原发性胆管结石和胆道支架复发结石)的形成机制，尤其是胆道微生物在其中所起的作用，并总结了抗菌型胆道支架的最新研究进展。

E2F7抑制胶质母细胞瘤增殖和促进替莫唑胺化疗耐药的机制研究

孟娇*

无锡市人民医院

背景：胶质母细胞瘤（Glioblastoma, GBM）是恶性程度最高、治疗最复杂的脑部肿瘤，占成人脑肿瘤的60%以上。目前GBM标准治疗方案包括最大程度手术切除辅以放化疗，然而GBM患者的中位生存期仅为12.2~15.9个月。替莫唑胺(Temozolomide, TMZ)是一种易于通过血脑屏障的口服烷基化剂，是GBM临床治疗的标准一线化疗药物。然而，约50%的GBM患者在持续治疗下，最终会对TMZ产生耐药性，导致预后较差。因此，本文着重阐明GBM中TMZ导致耐药的机制。

方法：本文基于体内构建胶质母细胞瘤耐药模型，通过耐药组织与敏感组织的mRNA转录组测序，发现靶基因E2F7，并进行生物信息学分析和体内外实验分析E2F7在GBM中的作用，同时利用ChIPBase和PROMO数据库探索分析E2F7上游调控分子，为GBM治疗新方案提供理论依据。

结果：在本研究中，我们发现E2F7在TMZ耐药肿瘤组织中显著上调，是GBM细胞发展和维持TMZ耐药的关键功能蛋白。E2F7可以抑制GBM的增殖和迁移，同时可以通过减少药物摄取和促进外排从而导致耐药现象。此外，我们观察到TMZ耐药肿瘤组织中p53蛋白发生磷酸化，活性增高，并正向调控E2F7表达，促进耐药。我们的研究结果强调了持续TMZ治疗诱导的p53表达和活性与GBM化疗耐药之间的密切联系，且下游肿瘤抑制因子E2F7在这一过程中发挥了重要作用。

讨论：E2F家族是一类细胞周期调节因子，参与多种细胞生物学过程，E2F7属于抑制型E2F家族成员，在GBM中高表达，其表达升高与预后不良相关。然而，E2F7在介导TMZ抗性中的作用很少被研究。本研究发现E2F7在TMZ耐药细胞和组织中高表达，并且过表达E2F7可以抑制细胞增殖、克隆形成和细胞周期。同时E2F7过表达对药物刺激具有更强的耐药性，而敲低E2F7可以逆转耐药细胞的抗性。此外，体内实验同样显示E2F7可以逆转TMZ对正常肿瘤细胞生长的抑制作用，敲低E2F7可以恢复耐药细胞对TMZ的敏感性。这些数据表明，E2F7在维持GBM细胞TMZ耐药中起着至关重要的作用。

肿瘤细胞的耐药机制通常涉及药物外排增强和药物吸收减弱等方面。在本研究中，我们发现E2F7过表达可以降低细胞药物摄取能力。同时，我们还观察到ATP结合盒(ABC)转运体家族基因ABCA8和ABCB4，在过表达E2F7的细胞中高表达。因此，我们认为E2F7通过促进细胞内的外排作用来影响药物摄取能力，最终导致耐药性的产生。E2F7在DNA损伤诱导下的上调依赖于p53,是p53转录激活的直接靶点。我们发现在TMZ耐药细胞中p53的表达和磷酸化水平显著升高，并且野生型p53细胞中E2F7在药物刺激条件下的变化受到p53调控，导致耐药的发生。

综上所述，我们的研究揭示了E2F7在GBM中的双重作用。一方面，它通过抑制增殖起到肿瘤抑制作用，同时E2F7可以促进TMZ耐药。重要的是，我们已经确定p53是E2F7的上游转录调节因子。对这一发现的进一步研究可以为开发新的治疗方法提供有价值的方向，以改善GBM患者的预后。

YgiM能够通过膜相关的ceRNA网络 触发肺炎克雷伯氏菌引起的败血症

韩明霄*

苏州大学附属第二医院

败血症被定义为宿主对感染反应紊乱而引起的危及生命的器官功能障碍。在过去几十年里，败血症在医院的死亡率从20%–80%不等，是一种可导致严重死亡的疾病。在大肠杆菌中，一个新型的内膜蛋白YgiM可以靶向真核生物过氧化物酶体，过氧化物酶体被认为是败血症发展过程中免疫功能和炎症的关键调节因子。在微生物感染过程中，过氧化物酶体可以通过激活先天免疫信号来辅助吞噬细胞的过程，从而面对微生物带来的挑战；肺炎克雷伯菌是引起败血症的重要病原菌之一，但与大肠杆菌YgiM高度同源的基因VK055_4013在肺炎克雷伯菌中的功能尚未被证实。我们通过研究发现YgiM蛋白可以通过膜相关的ceRNAs互作网络参与肺炎克雷伯菌引起败血症的致病过程，这为肺炎克雷伯菌导致的败血症的发生发展提供了新的认识和见解

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2021年1月–2022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。

肺炎克雷伯菌与替加环素耐药性相关的一种新的ramR突变

须瑜瑶^{★1}、张海方²、王蕾¹

1. 张家港市中医医院; 2. 苏州大学附属第二医院

目的: 近年来, 抗生素耐药现象愈发普遍, 呈现日益增长的全球性耐药趋势, 严重威胁着人类的健康。其中, 肺炎克雷伯菌作为一种重要的病原体, 以其高耐药性而闻名。替加环素对多重耐药细菌具有有效的杀灭作用, 是临床治疗耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌感染的首选抗生素之一。本研究旨在揭示肺炎克雷伯菌在替加环素的压力下可能出现的新型耐药位点, 为临床应对耐碳青霉烯类合并替加环素耐药的肺炎克雷伯菌引起的感染提供强有力的实验室依据, 助力做好相关耐药菌株的精准防控。

方法: 本研究采用体外实验, 诱导肺炎克雷伯菌对替加环素产生不同的耐药性, 模拟临床实践中在替加环素选择压力下肺炎克雷伯菌可能发生的基因突变。采用下一代测序(NGS)和实时荧光定量PCR(RT-qPCR)方法分别在基因组和转录组水平对肺炎克雷伯菌的突变基因进行了研究。最后, 采用CRISPR/Cas9技术、肉汤微量稀释法(BMD)和耐药稳定性试验, 进一步敲除并确认上述基因突变位点的功能。

结果: 在不同浓度替加环素(4 mg/L, 8 mg/L和16 mg/L)诱导的肺炎克雷伯菌ramR基因上检测到相同的错义突变(g. 517_518 del GC), 该突变的作用通过ramR基因敲除和回补被证实。转录组分析显示, ramR在所有替加环素诱导的菌株中均有高表达。耐药稳定性实验显示, 这种突变还维持了菌株的替加环素耐药性。

讨论: 我们的研究首次发现了一个新的ramR突变, 它通过影响RamR蛋白的功能而参与替加环素耐药性。本文的工作为进一步了解肺炎克雷伯菌中替加环素耐药性的形成和传播, 以及在新的抗菌药物开发策略的指导下开发基于突变位点的抗生素提供了理论基础。

本研究的转录组分析和BMD结果表明, ramR基因表达在肺炎克雷伯菌的替加环素耐药性中起着重要作用。在逐步增加的替加环素压力选择过程中, 肺炎克雷伯菌首先通过增加ramR的表达来抑制替加环素的外排。随着替加环素浓度的进一步增加, ramR中发生了g. 517_518 del GC突变。这导致了替加环素外排抑制作用的丧失和其表达的减少, 从而形成了一个相对稳定的替加环素耐药表型。

我们的研究还发现, 许多菌株在没有本研究报道的突变的情况下不能维持稳定的替加环素耐药性。间歇或轮流使用抗生素可能有助于减缓替加环素耐药性的发展。而ramR的g. 517_518 del GC突变株将保持耐药性, 因为该突变株可以稳定地存在于该菌株中。

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。

2020-2022年江南大学附属医院烧伤科病原菌分布及耐药性分析

卢蕾*、朱岚、申卫红
江南大学附属医院

目的：探讨2020-2022年江南大学附属医院烧伤科患者的病原菌分布及耐药性分析，为烧伤科医生选用最佳抗微生物用药提供理论数据。

方法：收集2020.10-2022.12江南大学附属医院烧伤科住院患者微生物标本培养阳性菌株，采用梅里埃全自动仪器法或KB法进行药物敏感试验，分析2020.10-2022.12烧伤科临床病原菌的分布情况及耐药性。

结果：2020.10-2022.12检验科微生物室共分离出烧伤科住院患者病原菌1759株，其中革兰阴性杆菌1139株，占64.75%，革兰阳性球菌574株，占32.63%以及真菌46株，占2.62%。其中前几位主要为铜绿假单胞菌（399株，22.68%）、金黄色葡萄球菌（378株，21.49%）、肺炎克雷伯菌（302株，17.17%）、鲍曼不动杆菌（243株，13.81%）、凝固酶阴性葡萄球菌（110株，6.25%）和肠球菌属（51株，2.90%）。药物敏感试验发现：革兰阴性杆菌对氨苄西林、氨苄西林/舒巴坦、头孢哌酮/舒巴坦以及头孢唑啉的耐药率高于其它抗菌药物，但对多粘菌素敏感性较高。另外，在临床中我们发现金黄色葡萄球菌和凝固酶阴性葡萄球菌对苯唑西林的耐药率分别为88.32%和85.37%。革兰阳性球菌对青霉素类药物、环丙沙星等药物的敏感性逐渐降低，但对万古霉素、利奈唑胺等药物的敏感性均升高。

结论：2020.10-2022.12江南大学附属医院烧伤科住院患者微生物送检标本培养阳性细菌大部分为革兰阴性杆菌，其中铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌这三种细菌对碳青霉烯类药物的耐药率逐渐上升。由于碳青霉烯类耐药的细菌感染所致病死率高，传播速度快，且治疗方案有限，已成临床感染治疗的重大问题，因此，临床微生物室需要和临床合作，采取有效防控措施，从而达到遏制细菌耐药的目的。

血清低 HDL-c 水平对严重发热和血小板减少综合征患者不良预后的预测价值研究

王森*

南京大学医学院附属鼓楼医院

Background: Severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) is an acute infectious disease caused by a novel bunyavirus, characterized by high fever, thrombocytopenia, and multiple organ damage. Disturbances in lipid metabolism often occur during viral infections, but the changes and clinical significance of lipid profiles in SFTS patients remain unclear. This study aimed to investigate the alterations in lipid profiles and their clinical significance in SFTS patients.

Methods: A total of 157 SFTS patients and 157 healthy controls were enrolled in this study. Serum lipid levels were collected and analyzed among different groups and prognosis categories. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was performed to assess the ability of lipid levels in distinguishing between severe and mild cases, as well as surviving and non-surviving patients. Pearson correlation analysis was used to examine the associations between lipid levels and clinical laboratory parameters.

Results: SFTS patients exhibited significantly lower levels of HDL-c, LDL-c, cholesterol, APoAI, and ApoB compared to healthy controls, while triglyceride levels were significantly higher. Serum HDL-c and ApoAI demonstrated good performance as indicators for distinguishing between survivors and non-survivors (AUC of 0.87 and 0.85, respectively). Multivariate regression analysis indicated that HDL-c independently acts as a protective factor in patients with SFTS. HDL-c levels showed decline in non-survivors but recovered in survivors. Moreover, HDL-c exhibited significant correlations with various clinical laboratory parameters (IL-6, CRP, AST, TT, APTT, PLT, ALB, and CD4).

Conclusion: This study identified abnormalities in serum lipid metabolism among SFTS patients. HDL-c and ApoAI levels hold potential as biomarkers for distinguishing survivors from non-survivors. Additionally, HDL-c and ApoAI may serve as therapeutic targets for the management of SFTS patients.

精胺与 β -内酰胺类抗生素联合抗菌作用功能研究

刘畅*

南京大学医学院附属鼓楼医院

目的: 研究精胺与 β -内酰胺类抗生素联合应用时对于多重耐药细菌的协同治疗作用。

方法: 实验菌株选取我院临床多重耐药革兰阴性杆菌, 采用微孔稀释法测定MIC值, 评估精胺与 β -内酰胺类抗生素的协同作用。

结果: β -内酰胺类抗生素与精胺联合使用时具有协同作用, 抗菌效果增强, MIC值大幅度下降, 部分菌株FICI比值 <0.5 。

结论： β -内酰胺类抗生素与精胺联合用药方案可以有效提高临床抗感染治疗的效率。

Analysis on the core virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* ST11 strains based on a global genomic database

Ruyu Yan*, Chang Liu, Zhi-Feng Zhang, Wanqing Zhou, Han Shen, Junhao Chen, Xiaoli Cao
南京鼓楼医院

Background: The clonal dissemination of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CRKP) ST11 has been a major public health concern worldwide. But information regarding the core virulence factors of the CRKP-ST11 clone remains scarce.

Objective: To characterize the virulent characteristics of global *K. pneumoniae* ST11 strains.

Materials and methods: In this study, 62 *K. pneumoniae* strains collected from 15 hospitals in Jiangsu were genomically sequenced. Meanwhile, genome sequences of *K. pneumoniae* were downloaded from the Genbank for further analysis. Multi-locus sequence typing was implemented to explore the sequence types. Comparative analysis between ST11 strains and non-ST11 strains were implemented to explore the main VFs among ST11 strains. The phylogenetic tree was constructed to analyze the relationship between the ST11 strains. Captive 2.0 software was used to predict the serotypes of ST11 strains. The distribution of carbapenemase encoding genes among ST11 strains were investigated. Difference on the distribution of VFs between carbapenemase producing and non-carbapenemase producing *K. pneumoniae* were further explored.

Results: We found that 62 strains in our study were composed of 11 distinct STs, with ST11 (n=46) being the most prevalent clone. Among the 11427 strains with confirmed STs, ST11 (n=1571), ST258 (n=1240), ST15 (n=545), ST512 (n=451), ST307 (n=358), ST101 (n=336), ST16 (n=303) and ST23 (n=244) were the major STs. Virulence factors analysis found that ybtT, ybtX, fyuA/psn, ybtP, ybtU, ybtS, ybtA, ybtQ, ybtE, irp1 and irp2 were specifically rich within the ST11 group. Phyle-oogenetic tree displayed a diverse genetic relationship which seems to relate with serotypes of these strains. Carbapenemase encoding genes showed that KPC-2 (n=484, 30.8%), NDM-1 (n=84, 5.3%), and OXA-48 (n=45, 2.9%) were the most prevalent ones. And the most predominant serotypes were K64 (n=597, 38.0%), K47 (n=306, 19.5%) and K24 (n=171, 1.8%). **Conclusion:** The iron-acquisition system may play a key role in the pathogenicity of global ST11 strains which displays a genetic diversity associated with serotypes.

Fur调节非O1/O139群霍乱弧菌 与鼠伤寒沙门菌共感染互相作用机制研究

颜冬梅*

盐城市第三人民医院

背景：铁作为一种必需元素，参与调节细菌的毒力、致病性等。铁调节蛋白（Fur）作为全局转录调控因子，不仅与胞内铁稳态密切相关，同时涉及鞭毛趋化性、三羧酸循环、T3SS、T6SS、细菌耐药等代谢途径。近年来，非O1/O139群霍乱弧菌报道病例逐步增多，临床表现为腹泻等症状，但对其致病机制研究甚少。前期工作基础中发现，霍乱弧菌与鼠伤寒沙门菌共感染腹泻患者病程往往迁延，推测致病菌间的互相作用可影响疾病进程，其具有机制有待挖掘。

方法：采用细菌竞争实验、荧光定量PCR、转录组测序、小鼠实验等研究在不同铁环境中，霍乱弧菌与沙门菌的互相调节机制；利用基因敲除、EMSA等技术探讨铁稳态调节蛋白Fur调节霍乱弧菌与沙门菌互作下游通路。

结果：在富铁培养基中，霍乱弧菌对鼠伤寒沙门菌具有竞争抑制作用；在缺铁环境中，细菌间竞争抑制作用被解除，与小鼠实验肠道内容物16S多样性结果一致。相比单细菌感染组，共感染组霍乱弧菌编码T6SS效应蛋白及铁代谢相关蛋白的基因均有所改变。

结论：铁可影响霍乱弧菌对鼠伤寒沙门菌的抑制作用；这一过程可能依赖于霍乱弧菌铁调节蛋白（Fur）对其T6SS的激活。可为开发治疗细菌性腹泻提供新的思路。

肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类的耐药性研究

王朔*

南通市第一人民医院

目的：以南通市第一人民医院住院后感染肺炎克雷伯菌的患者为实验案例提取实验菌株，对肺炎克雷伯菌的药物敏感实验及联合药敏实验和耐药机制进行研究，以期给临床医生对感染患者的抗菌药物使用方案予合理指导；同时配合感染管理科对医院各个科室可能出现的碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌在医院的传播做到早期防范和有效控制。

方法：分离自2022年11月到2023年6月南通市第一人民医院住院患者的26株实验菌，经安图质谱Autof MS1000细菌鉴定和梅里埃药敏卡AST-GN09和药敏卡AST-N335自动化药敏系统实验确认为碳青霉烯类耐药的肺炎克雷伯菌；经丹娜生物碳青霉烯检测试剂盒（胶体金法），表型鉴定并通过聚合酶链式反应（PCR），确定耐碳青霉烯菌种表型并测定碳青霉烯耐药菌基因位点，用Kirby-Bauer法进行药敏试验和联合药物敏感试验，确定不同抗菌药物联合对碳青霉烯类耐药的肺炎克雷伯菌抗菌效果。

结果：1、对经安图质谱Autof MS1000细菌鉴定和梅里埃革兰氏阴性细菌药敏卡AST-GN09和细菌药敏卡AST-N335自动化细菌鉴定药敏系统鉴定26株实验菌株均为肺炎克雷伯菌对亚安培南耐药率为100%
2、经丹娜生物碳青霉烯检测试剂盒定性检测，26株碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌表型均为KPC型。3、

经K-B药敏法及联合药敏实验, 26株肺炎克雷伯菌对IPM(亚胺培南)和MEM(美罗培南)均耐药, 其它抗菌药物除TGC(替加环素)、粘菌素(POL)及阿米卡星(AK)外几乎都不敏感; 但CZA(头孢他啶/阿维巴坦)均敏感, CZA和FOS(磷霉素)有协同效果, TGC(替加环素)与FOS(磷霉素)有相加效果; 26株实验菌株对ATM(氨曲南), TZP(哌拉西林/他唑巴坦), SCF(头孢哌酮/舒巴坦)三种药物均耐药, 且ATM, TZP, SCF三种药物各自及与其他药物相互无关。本次实验中FOS与TCG具有累加作用占比12.5%, FOS与TCG产生协同作用占比50%。FOS与CZA产生协同作用占比100%。TCG与IPM产生协同作用占比43.8%。4、通过聚合酶链式反应(PCR)来测得: 26株碳青霉烯酶耐药基因为KPC-II型。

结论: 本次26株均为耐碳青霉烯的肺炎克雷伯菌测得其耐药基因为KPC-II型, 对 β -内酰胺类等多种抗菌药物耐药率为百分之百, 对亚胺培南, 美罗培南均耐药, 对CZA均敏感; 联合药敏显示: FOS、POL与TGC能有效提高CZA的效果, 由于上3种药物均有不可忽视的副作用, 临床应谨慎使用。经判断, KPC-2型肺炎克雷伯菌为本院高发菌株; 临床和院感应将早预防, 早发现, 早治疗, 早感控置于首要地位, 从源头上减少其传播。

南京地区胆汁分离细菌耐药性分析

宋为娟*

江苏省人民医院(南京医科大学第一附属医院)

目的: 了解胆道感染病原菌构成及耐药性, 指导临床合理使用抗菌药物, 为提高抗菌药物治疗效果提供依据。

方法: 对2018年1月-2021年12月江苏省人民医院胆道感染患者胆汁标本进行分离培养, 采用全自动微生物分析仪进行细菌鉴定和药敏试验。参照CLSI M100 30ed抗菌药物敏感性试验执行标准, 采用WHONET 5软件进行数据汇总、处理和分析。

结果: 共分离出非重复性病原菌2006株, 其中革兰阴性杆菌1253株(62.46%)、革兰阳性球菌638株(31.81%)、其他115株(5.73%)。前五位病原菌依次为大肠埃希菌517株(25.77%)、肺炎克雷伯菌255株(12.71%)、屎肠球菌226株(11.27%)、粪肠球菌164株(8.16%)、阴沟肠杆菌79株(3.94%)。大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类抗菌药物、阿米卡星、妥布霉素、哌拉西林/他唑巴坦、头孢哌酮/舒巴坦的耐药率低(<20%)。阴沟肠杆菌对喹诺酮类抗菌药物的耐药率逐年稳定下降, 低至6.7%, 对头孢他啶、头孢曲松、氨曲南的耐药率维持较高水平(>45%)。鲍曼不动杆菌对抗菌药物的耐药率仍然维持较高水平(>45%)。革兰阳性球菌耐药性: 未检出对万古霉素耐药的屎肠球菌, 粪肠球菌2020年万古霉素耐药率为1.94%。耐利奈唑胺的屎肠球菌检出率分别为2018年(2.47%), 2020年(1.37%)。耐利奈唑胺的粪肠球菌检出率分别为2018年(3.7%), 2019年(1.6%)。屎肠球菌对多数抗菌药物的耐药率高于粪肠球菌。

结论: 胆道感染病原菌以革兰阴性杆菌为主, 主要为大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌, 其次为革兰阳性球菌, 包括屎肠球菌和粪肠球菌。应加强细菌耐药性监测, 对胆道感染性疾病抗菌药物的科学管理和合理使用提供可靠的病原学证据。

2016—2023年非牧区常州布鲁氏菌血流感染的临床分析

杨慧*、韩雪、张婷、郑国军
常州市第三人民医院

目的：旨在探讨布鲁氏菌培养特点、诊断方法和临床特征。

方法：选择常州市某医院2016—2023年36例布鲁氏菌病患者，回顾性分析患者的数据，采用受试者工作特征（ROC）曲线分析布鲁氏菌病的感染生物标志物。

结果：72.2%的病例为男性。患者有明确的牛羊接触史占88.8%（32/36），其中活羊宰杀工作占58.3%（21/36）；接触生羊肉占13.8%（5/36）；围观宰羊占8.3%（3/36）；食用羊肉占8.3%（3/36）；4例没有接触史。36例患者职业，以活羊宰杀和羊肉加工居多，占66.6%（24/36）。以发热伴夜间大汗淋漓、关节酸痛、腰痛、乏力头晕和恶心纳差为主要临床特征。其中发热伴夜间大汗淋漓为主要临床症状，占83.3%（30/36），典型波状热9例；其次为关节酸痛，主要为膝关节酸痛为主，占55.5%（20/36）；还有腰痛占52.7%（19/36）；乏力头晕41.6%（15/36）；恶心纳差30.5%（11/36）；体重下降13.8%（5/36）；睾丸疼痛2.7%（1/36）。腰椎骨质破坏是最常见的并发症，占52.7%（19/36），可见并發布氏杆菌脑炎，占13.8%（5/36）。布鲁氏菌病患者有36.1%（13/36）的基础疾病，主要是高血压9例（25.0%）。实验室结果显示，CRP升高（ 24.77 ± 23.88 mg/L），占61.1%（22/36）；SAA升高（ 69.96 ± 113.23 mg/L），占44.4%（16/36）。36例患者中，21例检测IL-6，其中15例患者IL-6升高（ 19.47 ± 18.01 pg/mL），占71.4%（15/21）。28例检测GGT，其中10例患者GGT升高（ 63.19 ± 58.10 U/L），占35.7%（10/28）。3例患者中性粒细胞百分比升高，占8.3%（3/36）。白细胞计数、降钙素原（PCT）均正常。

对根据金标准诊断为布鲁氏菌病的28例患者进行分析，由AUC-ROC确定的每种生物标志物对布鲁氏菌病的鉴别能力。CRP的AUC-ROC的值为0.951（95%CI:0.885-1），当CRP的临界值为4.81 mg/L时，约登指数最大值为0.828，敏感度和特异度分别为93.30%和89.50%。

36例患者中，28例患者血培养生长布鲁氏菌，占77.7%（28/36）。细菌鉴定均为羊布鲁氏菌，且均在需氧瓶中报阳生长，血培养阳性报警时间中位数为72（48-120 h）。18例患者布鲁氏菌抗体阳性，占50.0%（18/36）。治疗以多西环素和利福平联合用药最常见。35例患者治愈、好转，1例患者放弃治疗。

结论：布鲁氏菌病临床表现多样，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。

碳青霉烯类肺炎克雷伯菌ST11的耐药性及危险因素分析

杨慧*、韩雪、杜小春、郑国军
常州市第三人民医院

目的：分析本院2016年1月—2022年12月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本院2016年1月-2022年12月住院患者临床标本分离的CRKP 83株，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；通过多位点序列分型分析菌株分型；多因素logistic回归分析CRKP感染的潜在危险因素。

结果：CRKP菌株在重症医学科检出率最高，为44株（53.01%），主要来源于痰液52株（62.65%）。CRKP菌株对头孢菌素、氨基糖苷类、喹诺酮类和碳青霉烯类药物不敏感，耐药率高达95%，对阿米卡星敏感率达57.14%，对替加环素和头孢他啶/阿维巴坦的敏感率是高达100%以上。采用一代（Sanger）测序的方法，多位点序列分析83株肺炎克雷伯菌为同一个分型ST11。对其中32株CRKP菌株采用胶体金方法进行碳青霉烯酶检测，32株CRKP均产KPC酶。对CRKP组和KPN组两组患者的基本信息进行分析，显示男性、≥70岁、放化疗、置管、乙肝肝硬化失代偿期、激素和免疫抑制剂、机械通气、碳青霉烯药物、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，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。

Staphylococcus aureus blocks host autophagy to promote bone infection progression through a cryptic circSyk/miR-5106/Sik3 axis

Haifang Zhang*

Department of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Soochow University

With the rapid increase in the number of implant operations, the incidence of bone infection increases rapidly. And Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) and other emerging fully drug-resistant strains make the management of bone infections even more challenging. Bone infections are mainly caused by *S.aureus* and required extensive surgical intervention and long-term antibiotic therapy. The host autophagy response is critical to the elimination of *S. aureus* infection. In this study, we revealed that circSyk is an ideal biological target for *S.aureus* induced-bone infection. Most importantly, as nonclassical pathway, we highlighted that *S.aureus* could dominate circSyk to block autophagy and promote the bone destruction by circSyk/miR-5106/Sik3 axis through the verification of patients' serum, dual-luciferase assay, and micro CT etc. Taken together, this study provided the first circRNA target in *S.aureus* induced-bone infection, and firstly proposed a novel perspective for the immune escape of *S. aureus* in bone infection from the term of circRNAs.

重症新型冠状病毒感染患者临床特征分析及死亡列线图模型建立

陆燕飞*

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：分析奥密克戎变异株在中国流行期间重症新型冠状病毒感染（Coronavirus disease 2019, COVID-19）患者的临床特征，评估重症患者血浆循环DNA（cell-free DNA, cfDNA）水平，分析重症患者死亡危险因素，并建立死亡预测的列线图模型。

方法：以2022年12月至2023年1月江苏省人民医院收治的重症COVID-19患者为研究对象。收集患者临床资料 and 传统实验室指标，定量检测患者入院时cfDNA水平。根据入院60d预后将患者分为生存组和死亡组。比较两组患者的临床特征、传统实验室指标和cfDNA水平。采用单变量和多变量Logistic分析筛选重症COVID-19患者死亡的独立危险因素。使用R软件建立患者死亡列线图预测模型，并进行内部验证评估模型的性能和准确性。

结果：共纳入282例患者，患者年龄80.0（71.0，86.0）岁，男性患者占67.7%（191/282）。90.1%（254/282）的患者存在合并症，其中高血压（63.8%）、糖尿病（40.8%）、冠心病（29.1%）和脑梗塞（27.3%）最为常见。发热、咳嗽和呼吸衰竭是主要的临床表现，分别占61.0%、52.5%和49.6%。患者并发症主要包括心功能不全（52.1%）、肾功能不全（35.5%）和低蛋白血症（22.3%）。患者死亡率为55.7%（157/282）。年龄、气管插管、休克、cfDNA和尿素氮是重症COVID-19患者死亡的独立危险因素，cfDNA预测重症患者死亡率的曲线下面积为0.805（95% CI: 0.713-0.898，敏感性81.4%%，特异性75.6%%，cut-off值为97.67ng/ml）。基于上述危险因素建立患者死亡列线图模型，C-index指数为0.856（95% CI: 0.832-0.918），校准曲线显示预测概率与实际概率平均绝对误差为0.007，Hosmer-Lemeshow拟合优度检验结果显示无统计学差异（ $\chi^2=6.085$ ， $P=0.638$ ）。

结论：重症COVID-19患者多为老年男性，合并症多，易发生并发症，死亡率高。cfDNA ≥ 97.67 ng/mg可显著增加死亡率。基于年龄、气管插管、休克、cfDNA和尿素氮的列线图模型在预测重症COVID-19患者死亡率方面具有较高的准确性和一致性。

Integrated Analysis of Key Genes and Pathways Associated with Infection of *Schistosoma japonicum*

Hanyu Shen*

Department of Clinical Laboratory, Wuxi Huishan District People's Hospital

Integrated Analysis of Key Genes and Pathways Associated with Infection of *Schistosoma japonicum*

Department of Clinical Laboratory, Wuxi Huishan District People's Hospital

Schistosomiasis is a zoonotic parasitic disease of tropical origins which occurs in humans. Clinically, the

disease mainly affects the liver and intestines as a result of the parasite depositing its eggs within organ tissues. Various cytokines are produced due to the presence of the parasite eggs within liver tissues, thereby mediating the immune response. Granulomas and liver fibrosis soon follows. In recent years, HTS and in silico development have contributed to innovations in molecular biology, resulting in novel techniques for decoding key genetic and epigenetic changes across several aspects of clinical medicine. In this study, microarray analysis was applied to identify DEGs between normal samples and infected samples obtained from three different mouse subjects at 6 weeks, 10 weeks, 13 weeks, and 14 weeks post-infection. In total, 38 up-regulated and 17 down-regulated genes were obtained. We found that hub genes expressions were tightly associated with several key molecules of the pathways like neutrophil degranulation, neutrophil activation, IL-17 signaling pathway and secretory granule lumen. Immune cell infiltration data (obtained using CIBERSORT) provided for an in-depth analysis of the relevant immune cell subtype distribution pattern. The researchers further investigated the differential expressions of two genes which showed high expression profiles across two GEO repository datasets (GSE59276, GSE61376), namely LCN2 and CHI3L1. Previous studies by our group have reported the profound role of LCN2 in *S. japonicum* infection model. Our research work suggests that CHI3L1 may play a vital role during development of human schistosomiasis and are of great value for further exploration.

间日疟原虫PvMSP1P-19结合的网织红细胞表面受体的筛选与鉴定

左晟欢^{★1}、陆佳晨¹、冯鑫¹、孔维重¹、孙毅凡^{1,2}、韩甦¹、程洋¹

1. 江南大学; 2. 江南大学附属医院

【摘要】间日疟原虫 (*Plasmodium vivax*, *P. vivax*) 是导致人类疟疾的最常见疟原虫, 其每年在东南亚和南美洲威胁数百万人的生命。众所周知, 疟原虫的入侵依赖裂殖子表面的配体和红细胞表面的受体之间的相互作用。然而由于缺乏连续体外培养系统和理想的动物模型, 关于 *P. vivax* 的这种相互作用的研究非常有限。间日疟原虫裂殖子表面蛋白旁系同源物1 (*Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 paralog, PvMSP1P) 是间日疟原虫裂殖子表面蛋白1 (PvMSP1) 的旁系同源物。其C端19 kda区域 (PvMSP1P-19) 已被证明可与网织红细胞结合, 并且这种结合可以被PvMSP1P-19抗体抑制。然而, *P. vivax* 侵袭过程中PvMSP1P-19与网织红细胞相互作用的分子机制尚不清楚。

目的: 筛选与PvMSP1P-19蛋白结合的网织红细胞表面受体, 阐明间日疟原虫的入侵机制, 为间日疟疫苗研发提供新思路。

方法: 构建pEGFP-HSVgD1-PvMSP1P-19真核质粒, 使PvMSP1P-19表达在293T细胞表面, 将其与不同浓度的网织红细胞共孵育, 通过花环实验验证PvMSP1P-19的网织红细胞偏好性; 利用串联亲和纯化结合质谱分析鉴定与PvMSP1P-19结合的网织红细胞受体; 通过pull down、ELISA实验验证PvMSP1P-19与网织红细胞受体的特异性相互作用; 将PvMSP1P-19抗体与网织红细胞共孵育后, 利用花环实验检测PvMSP1P-19与网织红细胞的结合活性; 利用恶性疟原虫 (*Plasmodium falciparum*, *P. falciparum*) 培养系统进行体外入侵抑制实验, 评估PvMSP1P-19蛋白对于 *P. falciparum* 入侵的抑制效果。

结果: 研究证实了PvMSP1P-19对网织红细胞的偏好性; 鉴定了与PvMSP1P-19相互作用的两个网织红细胞受体Band3和CD71; 抗Band3、CD71和PvMSP1P-19的抗体抑制了PvMSP1P-19与网织红细胞的结

合活性；PvMSP1P-19蛋白在体外以浓度依赖的方式抑制P. falciparum的侵袭。

讨论：疟疾的临床症状和病理表现均出现在红内期，阻断疟原虫入侵红细胞可显著缓解疟疾症状。疟原虫入侵红细胞是一个复杂的过程，涉及许多宿主-寄生虫分子相互作用。鉴定参与宿主-寄生虫相互作用的分子，阐明这些相互作用的机制，对于生产新的疟疾药物和疫苗至关重要。PvMSP1P-19是一种新的间日疟疫苗候选，之前的研究证明PvMSP1P-19可以与Duffy阴性的红细胞结合，因此，筛选PvMSP1P-19与网织红细胞的相互作用的关键分子对于阐明P. vivax入侵机制至关重要。本研究确定了Band3和CD71是PvMSP1P-19的网织红细胞受体，证实了PvMSP1P-19与Band3和CD71的特异性相互作用，且这种互作对PvMSP1P-19和网织红细胞结合至关重要。Band3是P. falciparum裂殖子入侵的红细胞受体，以P. falciparum为模型的体外疟原虫入侵抑制实验结果证明Band3是P. falciparum和P. vivax入侵红细胞的共同受体，PvMSP1P-19与P. falciparum的裂殖子竞争性结合Band3受体。一个疟原虫配体可以识别多个红细胞受体，多个疟原虫配体可以识别同一个红细胞受体。这种现象增加了寄生虫的入侵效率，也反映了入侵的复杂性。未来我们还将进一步研究，为新型抗疟疾药物和多价疫苗的生产提供见解。

STAT1在感染致死型约氏疟原虫后 调控宿主造血与免疫的机制研究

冯鑫*

江南大学无锡医学院

【摘要】疟疾是危害人类健康的三大传染病之一，啮齿动物模型是研究疟疾发病机制以及病原体与宿主之间相互作用较为广泛的工具模型，而约氏疟原虫（*Plasmodium yoelii* 17XL, *P. yoelii* 17XL）与恶性疟原虫（*Plasmodium falciparum*, *P. falciparum*）有相似的生物学特性。且在疟原虫感染后脾脏不仅可以通过血脾屏障黏附感染的红细胞防止成红细胞和网织红细胞受到感染，而且可以通过免疫细胞或其产生的细胞因子清除受感染的红细胞从而达到控制感染的作用。故通过蛋白质组学分析感染P. yoelii 17XL小鼠和未感染小鼠脾脏中蛋白表达的差异，发现信号转导与转录激活因子1（Signal transducer and activator of transcription 1, STAT1）与宿主造血和免疫调控高度相关。但是STAT1在感染约氏疟原虫的小鼠中发挥的具体功能和机制尚不清楚。

目的：探讨脾脏中差异蛋白STAT1在感染P. yoelii 17XL小鼠中调控造血和免疫的机制，为疟疾与宿主间相互作用以及疟疾的致病机制提供理论依据。

方法：构建感染P. yoelii 17XL鼠疟模型，检测感染小鼠和正常小鼠病理特征差异并运用蛋白质组学分析两组小鼠脾脏中差异蛋白。然后构建Stat1敲除小鼠并鉴定并通过检测虫密度、小鼠脾脏的虫荷量以及生存率来明确STAT1在小鼠感染P. yoelii 17XL后对小鼠生存的影响。进一步通过检测血红蛋白、外周血液参数、肾脏中EPO的转录水平和骨髓与外周血中网织红细胞数量判定STAT1是否参与感染小鼠造血功能；随后通过检测感染小鼠血清中IFN- γ 、TNF- α 和IL-10水平以及相关固有免疫细胞的数量变化，特异性免疫T细胞及其分泌的IFN- γ 和IL-10的变化来判定STAT1是否参与宿主对疟原虫的免疫应答。

结果：（1）Stat1^{-/-}小鼠感染P. yoelii 17XL的生存率提高，虫密度高峰出现的时间减缓，并且Stat1^{-/-}小鼠的脾细胞增殖能力提高，脾脏虫荷量降低。（2）STAT1抑制感染P. yoelii 17XL的小鼠肾脏中EPO的转录并且使骨髓和外周血中的网织红细胞减少，进一步加重了小鼠的贫血；而且STAT1通过抑制IFN- γ

的分泌和固有免疫细胞的产生，以及促进IL-10的产生加重了小鼠的感染而导致小鼠死亡。（3）综上所述STAT1可能是引起感染P. yoelii 17XL小鼠的造血和免疫被抑制的主要蛋白。

讨论：发现STAT1通过降低感染小鼠脾脏免疫细胞的生成并影响其细胞因子的分泌来降低了小鼠对疟原虫入侵后的免疫水平和受感染红细胞的清除，并且抑制感染小鼠的造血功能产生更严重的贫血而导致小鼠死亡，为揭示STAT1在疟疾感染的作用提供理论依据。

AdeABC外排泵在鲍曼不动杆菌对亚胺培南耐药中的作用研究

侯盼飞*、肖瑶
涟水县人民医院

目的：探讨AdeABC外排泵在鲍曼不动杆菌对亚胺培南耐药中的作用。

方法：收集亚胺培南耐药鲍曼不动杆菌（imipenem resistant acinetobacter baumannii, IRAB）和亚胺培南敏感株（imipenem-sensitive Acinetobacter baumannii, ISAB）各30株。用琼脂稀释法检测其对抗菌药物的最低抑菌浓度（minimum inhibition concentrations, MIC），加入外排泵抑制剂PA β N检测外排泵表型；用聚合酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）、逆转录实时荧光定量PCR（Real time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR）分别检测adeB基因阳性率及相对表达量。DNA重组技术将adeABC-RS基因转入adeB阴性的ISAB，测定MIC变化。

结果：IRAB对多黏菌素B均敏感，对头孢哌酮/舒巴坦耐药率46.7%，对其他抗菌药物耐药率高于ISAB，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。70.0% IRAB外排泵表型阳性，而ISAB全阴性。基因检测显示IRAB的adeB阳性率和相对表达量均高于ISAB，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。DNA重组证实，将adeABC-RS基因导入ISAB中，亚胺培南MIC提高64~128倍。

结论：IRAB往往表现为多重耐药，AdeABC外排泵是导致其耐药的重要原因。

LCN2在日本血吸虫抗原诱导巨噬细胞极化中的作用及机制研究

沈函宇*
无锡市惠山区人民医院

目的：通过生物信息学筛选出日本血吸虫感染小鼠肝脏表达谱中显著上调的基因脂质运载蛋白2（lipocalin 2, Lcn2），验证LCN2在日本血吸虫感染后肝脏组织中的动态表达及定位，探讨LCN2在日本血吸虫可溶性成虫抗原（soluble worm antigens, SWA）诱导下对巨噬细胞极化的影响及机制。

方法：在公开数据集GSE59276中下载日本血吸虫感染小鼠RNA-seq数据，通过差异分析找到升高最显著的基因，并在慢性血吸虫感染的数据集GSE61376中进行验证。建立日本血吸虫小鼠感染动物模型，检测肝脏组织中不同周次LCN2、iNOS、IL-6、ARG1和IL-4的表达水平，分析其与巨噬细胞极化的相

关性。分别取感染血吸虫小鼠不同周次（0W，3W，6W，12W）的肝脏组织，应用RT-qPCR检测肝脏组织中 Lcn2的表达变化，同时检测肝脏组织中巨噬细胞极化相关分子(iNOS, Il6, Arg1,Il4)的表达变化。应用免疫荧光技术观察不同周次肝脏组织中LCN2和巨噬细胞标记分子F4/80的表达及定位情况。利用不同浓度日本血吸虫成虫抗原SWA（0, 5, 10, 20, 40 μ g/mL）处理小鼠巨噬细胞株RAW264.7不同时间（0, 6, 12, 24, 48h）后，找到最佳浓度和时间，通过RT-qPCR、Western blot检测LCN2及有关极化分子的表达变化。体外敲降LCN2后通过RT-qPCR、Western blot检测巨噬细胞极化分子的表达情况。用Western blot检测巨噬细胞NF- κ B通路的活化情况，并用NF- κ B抑制剂BAY11-7082处理后检测LCN2和巨噬细胞有关极化分子的表达情况。

结果：在公共数据集GSE59276中，与对照组相比日本血吸虫感染6周小鼠肝脏组织中，表达显著上调的基因有141个，其中Lcn2升高最显著，并且活化的巨噬细胞浸润比例明显增多。构建日本血吸虫感染小鼠模型，感染6周时小鼠肝脏出现明显的肉芽肿病理变化，肝脏组织中LCN2的表达在6周达到最高，12周有所下降。M1极化的标志物iNOS在肝脏组织中的表达变化与LCN2相似。M2极化的标志物AR1在感染12周后上升较明显。经相关性分析，结果显示血吸虫感染小鼠肝脏组织中LCN2的表达变化与M1极化指标呈正相关（ $r=0.92$, $P=0.02$ ）。免疫荧光染色结果显示，在肝脏组织中，LCN2与肝脏巨噬细胞标记分子F4/80共定位，感染6周小鼠肝脏组织中共定位阳性细胞高于感染12周的小鼠，显著高于未感染组。利用SWA处理RAW264.7细胞株，分别用不同浓度（0, 5, 10, 20, 40 μ g/mL）及不同时间（6, 12, 24, 48 h）处理巨噬细胞株RAW264.7，LCN2的表达随着SWA浓度的升高而升高，持续处理24小时后LCN2的表达显著上升。以20 μ g/mL SWA 处理RAW264.7后，iNOS和IL-6表达明显上升，ARG1 和IL-4的表达没有显著的变化。但应用可溶性虫卵抗原（SEA）处理RAW264.7后，对LCN2的表达没有影响。随后实验用siLCN2敲降LCN2的表达，LCN2小干扰RNA可抑制巨噬细胞中iNOS及IL-6的表达。在SWA处理巨噬细胞后，NF- κ B通路发生活化，使用抑制剂Bay11-7082后能显著降低LCN2的表达和M1型巨噬细胞相关分子的表达。

讨论：日本血吸虫感染早期肝脏组织中LCN2表达上调，巨噬细胞是主要浸润的免疫细胞之一。LCN2表达水平与巨噬细胞M1型极化呈正相关。SWA通过NF- κ B通路促进LCN2的表达，继而促进M1型巨噬细胞极化。

某综合性医院成人感染肺炎链球菌的临床特征 与耐药性分析

蔡兴龙*、周万青、张燕、纪玥玥、王丹微、沈瀚
南京大学医学院附属鼓楼医院

目的：了解综合性医院成人感染肺炎链球菌的相关临床特征和药物敏感性情况，为临床合理用药提供依据。

方法：收集南京鼓楼医院2020年4月至2022年6月住院和门诊成人分离出肺炎链球菌，采用梅里埃VITEK微生物鉴定系统对菌株进行鉴定，并使用GP68卡或K-B法进行抗菌药物敏感性试验；通过回顾性分析患者相关临床资料并做整理分析。

结果：77例成人感染肺炎链球菌年龄为59（50.5，70）岁，冬季和春季分离占比分别为41.56%和32.47%；标本类型分别为痰液59.74%、灌洗液14.29%和分泌物12.99%；科室分布为耳鼻咽喉科15.58%、

呼吸与危重科15.58%、心胸外科15.58%。77株肺炎链球菌青霉素耐药株（PRSP）为25.97%，对红霉素、克林霉素、四环素的耐药率分别为97.26%、88.89%、80.26%。对万古霉素、利奈唑胺、泰利霉素敏感率均为100%。

结论：成人感染肺炎链球菌主要发生在冬春季节，中老年人易感。肺炎链球菌对大环内酯类和四环素耐药率高，不宜经验性应用，临床应积极送检微生物标本，根据药敏结果使用抗菌药物。

间日疟原虫输出蛋白PvTRAg家族 与人成纤维细胞之间互作蛋白的筛选及功能研究

孔维重*
江南大学

【摘要】间日疟原虫（*Plasmodium vivax*, *P. vivax*）是非洲以外地区最广为传播的引发人类疟疾的寄生虫。研究表明宿主的脾脏是疟原虫感染后宿主免疫防御的重要器官。但在感染间日疟原虫后，脾脏出现无症状的肿胀以及破裂、脾脏异位等并发症，严重损害其免疫防御的功能。有研究表明疟原虫可以通过其输出蛋白调节宿主脾脏的结构与功能实现免疫逃避，但其机制尚不明确。脾脏成纤维细胞（SF）是支持脾脏结构的免疫防御功能的主要成分，而I型胶原又是SF的细胞骨架和细胞外基质的主要成分，有维持SF结构、支持脾脏过滤和清除的重要功能。先前已有研究表明间日疟原虫输出蛋白色氨酸富集抗原23（PvTRAg23）可与人脾脏成纤维细胞（HSF）结合并降低I型胶原，可能会有助于疟原虫的逃逸，但PvTRAg家族其余蛋白功能并未揭示。

目的：探究PvTRAg蛋白家族其余蛋白与HSF之间的相互作用，从而进一步阐明PvTRAg蛋白家族在间日疟原虫免疫逃避的机制。

方法：构建pET30a(+)-PvTRAg，并通过原核表达系统表达PvTRAg蛋白；将蛋白与HSF共孵育，筛选出可结合蛋白；分别用可结合和不可结合蛋白共孵育HSF，分析I型胶原变化；使用可降低I型胶原的PvTRAg蛋白与HSF细胞共孵育，检测炎症相关因子变化情况以及与I型胶原合成相关信号通路的激活情况，并使用相应抑制剂进行抑制观察胶原变化情况。

结果：成功表达并纯化出23个PvTRAg蛋白，其中9个可与HSF结合；结合蛋白中共2个蛋白降低HSF中I型胶原，不结合蛋白中有3个降低HSF中I型胶原；5个PvTRAg蛋白均通过NF- κ B/p65信号通路实现HSF中I型胶原的降低，并且相关炎症分子表达量均有上调。

讨论：PvTRAg蛋白与HSF之间，不论结合与否，都存在降低胶原的现象，可能是一部分蛋白直接作用于HSF而另一部分间接作用与HSF，最终造成I型胶原降低的结局。PvTRAg蛋白家族中造成I型胶原降低的蛋白均能够引起HSF细胞中NF- κ B/p65信号通路的激活，同时诱导IL-1 β 、TNF- α 和IL-6表达的上调。此外p38与FAK磷酸化水平也升高，然而该信号通路的激活似乎与HSF中I型胶原的降低无关。先前也已证明IL-1 β 、TNF- α 和IL-6会抑制I型胶原的产生，说明造成I型胶原降低的PvTRAg蛋白通过激活NF- κ B/p65信号通路然后上调IL-1 β 、TNF- α 和IL-6炎症因子水平最终降低I型胶原水平。鉴于胶原在脾脏中的重要作用，其被抑制可能影响脾脏在疟原虫感染过程中清除和过滤的重要作用，最终使疟原虫更容易逃逸。

无锡地区尿路感染患儿病原菌分布与耐药特点分析

唐晨杰*

无锡市儿童医院

目的：回顾性分析我院尿路感染患儿尿液标本中病原菌的分布和耐药特点，为临床经验性用药提供支持依据。

方法：收集我院2021年7月-2023年6月近两年的尿培养阳性患儿信息，同一患儿纳入第一次尿培养结果，统计分析引起尿路感染常见病原菌的分布与耐药特点。

结果：本次研究共纳入692株尿路感染病原菌，其中革兰阴性杆菌497株，革兰阳性球菌184株，革兰阳性杆菌4株，革兰阴性球菌1株，真菌6株。本次研究发现，我院尿路感染患儿常见病原菌前五位分别为大肠埃希菌、粪肠球菌、肺炎克雷伯菌、奇异变形杆菌、屎肠球菌，占比分别为38.0%、9.8%、9.4%、6.4%、6.2%。本次研究数据显示，大肠埃希菌对氨苄西林、哌拉西林、四环素耐药率较高，对哌拉西林/他唑巴坦、亚胺培南、美罗培南、阿米卡星高度敏感，且分离得到56株产超广谱 β -内酰胺酶（ESBL）的大肠埃希菌，2株碳青霉烯类耐药（CRE）的大肠埃希菌。肺炎克雷伯菌对亚胺培南、美罗培南、阿米卡星、庆大霉素耐药率较低，且分离得到10株ESBL阳性菌株，和4株CRE阳性菌株。奇异变形杆菌对哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶、头孢吡肟、氨曲南、美罗培南、阿米卡星耐药率低，对四环素高度耐药。本次研究中，引起尿路感染的粪肠球菌和屎肠球菌对利奈唑胺、万古霉素、替考拉宁高度敏感，对四环素耐药率较高，且屎肠球菌对青霉素、氨苄西林、环丙沙星、左氧氟沙星的耐药率显著高于粪肠球菌。

讨论：本次研究中，儿童尿路感染主要为革兰阴性杆菌，其中大肠埃希菌约占尿路感染常见致病菌的2/5，为患儿尿路感染主要致病菌，与其他报道一致。尿路感染的革兰阳性球菌以粪肠球菌和屎肠球菌为主，且未发现对万古霉素耐药的肠球菌。此外，本研究发现，屎肠球菌和粪肠球菌对青霉素类和喹诺酮类抗生素耐药率差异显著，临床在抗感染治疗时，应根据不同致病菌的药敏试验结果，制定抗感染方案，合理使用抗生素，针对性治疗，避免诱发产生多重耐药菌株，提高临床疗效，促使患儿早日康复。

锚定蛋白Sao在强致病性猪链球菌的生存和致病过程中的功能研究

王晶¹、陈静²、王高莹¹、董蕊锐¹、高建一¹、宁少楷¹、张婷¹

1. 无锡市妇幼保健院；2. 江南大学

目的：阐明sao基因在S.suis生存和致病过程中发挥的作用，从新的角度揭示分子致病机制，为S.suis检测新靶点的挖掘提供新思路 and 理论参考。

方法：以野毒株S.suis 05ZYH33为研究对象，利用同源重组技术构建sao基因敲除突变株，通过对比野毒株和突变株在S.suis生长速度、生长形态、生物膜形成量和化学成分之间的差异，初步确定其生物学特性。利用iTRAQ蛋白组学与RNA-seq转录组学联合分析，从系统、整体角度出发，建立野毒株、突

变株和回复株的差异蛋白质表达谱系，筛选差异表达基因，锁定sao基因的相关细胞功能和调控通路，深入、准确的阐明sao基因在S.suis生存和致病过程中发挥的作用，

结果：利用同源重组方法构建Sao基因敲除载体，通过电转化方式成功将载体转入感受态S.suis 2，完成Sao基因敲除突变株的筛选和鉴定。结果显示，Sao基因的敲除对S.suis 2菌落的生长速率、菌落形态和溶血活性未产生显著影响。卡尔加里生物膜装置成膜法和96孔板成膜法都证实Sao基因敲除突变株生物膜的形成量显著下降。激光共聚焦显微镜结果显示Sao基因敲除突变株生物膜中死菌比例显著增加。组学联合分析对野毒株及Sao基因敲除突变株的基因表达水平进行分析比较，差异基因主要与细胞过程、膜运输、信号转导、翻译、复制和修复、碳水化合物代谢等相关。

讨论：S.suis感染已成为中国成人细菌性脑膜炎的最常见病因之一。我国曾暴发两起大规模S.suis感染疫情，患者中出现高比例的、国内外罕见的链球菌中毒性休克综合征，病程极为凶险，死亡率极高。S.suis感染引起的脑膜炎和中毒性休克综合征的致病机理仍不明确，S.suis流行菌株表现出的高致病性和高病死率特征已经成为全世界关注的公共健康的焦点。本研究围绕S.suis关键蛋白Sao开展深入研究，从新的角度揭示S.suis分子致病机制并挖掘新靶点建立S.suis感染的流行病学监测方法，具有重要的现实意义。

190例念珠菌血症患者血培养报阳时间回顾性分析

纪玥玥*、高硕、张燕、周万青
南京大学医学院附属鼓楼医院

目的：研究念珠菌血症血培养报阳时间（Time to Positivity, TTP）对念珠菌菌种鉴别的价值。

方法：收集南京鼓楼医院2018年1月至2023年3月罹患念珠菌血症患者190例，回顾性分析患者基本信息及分离真菌菌种分布；对不同念珠菌的TTP进行统计学分析，并对热带念珠菌和光滑念珠菌的TTP进行受试者曲线分析。

结果：190例念珠菌血症患者中60岁以上患者占62.11%，男性占比高于女性，患者主要分布在重症监护室、心胸外科、普通外科、急诊。190份血液样本共检出白念珠菌79株、热带念珠菌37株、近平滑念珠菌34株、光滑念珠菌26株和其他念珠菌14株。各真菌TTP分别为白念珠菌（ 35.02 ± 15.92 ）h、热带念珠菌（ 17.97 ± 6.09 ）h、近平滑念珠菌（ 31.06 ± 10.68 ）h、光滑念珠菌（ 56.70 ± 24.92 ）h；其中，热带念珠菌的TTP<其他念珠菌，差异具有统计学意义（ $P < 0.05$ ）；光滑念珠菌的TTP>其他念珠菌，差异具有统计学意义（ $P < 0.0001$ ）。受试者工作曲线显示，热带念珠菌曲线下面积0.9007，95%置信区间（0.8502–0.9513），Cut-off值 ≤ 23.76 h时的灵敏度为94.59%，特异度为82.35%，阴性预测值和阳性预测值分别为98.44%和56.45%；光滑念珠菌曲线下面积0.8131，95%置信区间（0.7184–0.9078），Cut-off值 ≥ 46.27 h时的灵敏度为61.54%，特异度为91.46%，阴性预测值和阳性预测值分别为93.75%和53.32%。

结论：念珠菌血症患者中热带念珠菌TTP<其他念珠菌，光滑念珠菌TTP>其他念珠菌，有助于热带念珠菌、光滑念珠菌与其他念珠菌的早期鉴别。

LincR-PPP2R5C deficiency enhances fungicidal activity of neutrophils in pulmonary cryptococcosis

Cheng Yang*

Nanjing Medical University

Pulmonary cryptococcosis, caused by *Cryptococcus neoformans* (*C. neoformans*), is common in immunocompromised patients. In a mouse model of pulmonary cryptococcosis, *C. neoformans* induces a type 2 immune response that is detrimental to host protection. Long non-coding RNAs (lncRNAs) emerge as key players in the pathogenesis of infectious diseases. However, roles and mechanisms of lncRNAs in the fungal infection are largely elusive. In the present study, we aimed to explore the roles of lincR-PPP2R5C in pulmonary cryptococcosis. We first observed an increase of lincR-PPP2R5C in lung tissues of C57BL/6J mice after tracheal infection with *C. neoformans*. Subsequently, we intratracheally infected lincR-PPP2R5C knockout (KO) mice and C57BL/6J mice with *C. neoformans*. LincR-PPP2R5C deficiency mitigates *C. neoformans* infection, which can be demonstrated by extending survival time and decreasing fungal burden in the lung. Type 2 cytokines (IL-4, IL-5) in lung tissue and neutrophils in BALF were increased in the infected lincR-PPP2R5C KO mice. Mechanistically, the fungicidal activity of lincR-PPP2R5C KO neutrophils stimulated by IL-4 was enhanced, while the production of neutrophils elastase and reactive oxygen species was increased. Overall, lincR-PPP2R5C deficiency mitigated pulmonary cryptococcosis by increased fungicidal activity of neutrophils. Our study presented the specific evidence of host-derived lncRNAs in the regulation of *C. neoformans* infection.

CRISPR/Cas9介导的adeG基因 敲除大肠杆菌细菌模型的建立

朱恬仪*、孔桂美、焦红梅、郭婷婷、乌日汗、刘翠翠、高成凤、李国才
扬州大学

目的：鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*, AB) 是临床常见的非发酵革兰阴性杆菌，也是引起医院内感染的重要条件致病菌之一。通过药敏实验可以检测临床分离鲍曼不动杆菌对常见抗生素的耐药性。PCR检测耐药结节分化家族 (Resistance-nodulation-division, RND) 外排泵AdeLFGH的分布，并探索其与耐药性的关系。建立adeG耐药基因模型，并利用CRISPR/Cas9系统对其进行靶向敲除的初步研究。

方法：肉汤微量稀释法检测耐药性分布，使用药物为：哌拉西林、替卡西林、头孢他啶、美罗培南、多黏菌素E、庆大霉素、妥布霉素、四环素、环丙沙星、左氧氟沙星；PCR筛查13株临床分离多重耐药鲍曼不动杆菌AdeLFGH外排泵基因；扩增RND外排泵关键基因adeG并构建耐药细菌模型；设计adeG的特异性sgRNA，并利用CRISPR/Cas9系统进行靶向敲除，药敏实验检测其敲除效果。

结果：药敏结果显示，13株临床鲍曼不动杆菌对多黏菌素E敏感，对左氧氟沙星耐药率较低，仅为

38.5%，而对头孢他啶的耐药率为92.3%，对妥布霉素耐药率为84.6%，对其他临床常见药物耐药率均为100%，提示具有很强的耐药性。PCR结果显示13株多重耐药鲍曼不动杆菌AdeLFGH携带率为100%。药敏实验结果显示，与空白对照DH5 α 相比，adeG模型耐药菌株的哌拉西林、替卡西林/克拉维酸以及哌拉西林/他唑巴坦由敏感转为耐药，氯霉素、美罗培南、米诺环素由敏感转为中介。CRISPR/Cas9系统靶向敲除后，发现不同sgRNA敲除效率不同。其中pCas9-sgRNA1(adeG)靶向后哌拉西林/他唑巴坦的耐药性得到了逆转，对妥布霉素、四环素、多西环素、米诺环素的耐药性也有不同程度的降低；pCas9-sgRNA2(adeG)和pCas9-sgRNA3(adeG)使哌拉西林/他唑巴坦由耐药恢复到了中介，但对其他药物的耐药性逆转效果并不显著。

讨论：由于抗生素的过度使用，鲍曼不动杆菌的耐药性逐年增加。因此需要开发新的抗菌策略来应对鲍曼不动杆菌日益严重的耐药性。而细菌外排泵是降低抗生素、杀菌剂敏感性的关键机制之一，并导致细菌多药耐药表型的出现。在革兰阴性菌中，与临床相关性最高的是RND外排泵家族。因此本研究基于RND外排泵基因adeG构建了耐药模式菌株，通过构建CRISPR/Cas9系统重组质粒，在大肠杆菌中对RND外排系统带来的耐药性进行抑制，结果提示特异性CRISPR/Cas9系统可以抑制部分耐药表型的出现，可为多重耐药鲍曼不动杆菌的治疗提供新的思路和方法。

基于荧光素酶报告基因的细菌外膜囊泡标记方法的建立

刘畅*

南京大学医学院附属鼓楼医院

目的：建立一种基于荧光素酶报告基因的细菌外膜囊泡标记方法。

方法：利用细菌外膜囊泡表面携带高丰度外膜蛋白的特点，构建外膜蛋白-荧光素酶融合蛋白，实现细菌外膜囊泡的“自发光”以用于后期检测。

结果：通过构建OmpA-NanoLuc融合蛋白的方式实现细菌外膜囊泡的荧光素酶标记，表达该融合蛋白的细菌所分泌的外膜囊泡具有明确的荧光素酶活性，因此可通过检测荧光素酶活性的方式对细菌外膜囊泡进行检测。

结论：成功构建了一种基于荧光素酶报告基因的细菌外膜囊泡标记方法，可在不使用细胞膜染料的情况下对细菌外膜囊泡进行检测。

鲍曼不动杆菌耐药抑制基因的筛查及鉴定

苏峻锋*

扬州大学

目的：挖掘调控鲍曼不动杆菌（*Acinetobacter baumannii*）耐药性的上游调控基因，筛查I-Fb型CRISPR-Cas系统的协同基因，深入研究鲍曼不动杆菌的耐药机制。

方法：本研究使用Tn5转座突变技术，以敏感株鲍曼不动杆菌AB43菌株为对象建立了突变库并构建了亚胺培南（IPM）和四环素（Tet）抗生素筛选模型。通过提取耐药突变株基因组DNA进行全基因组测序

序, 确认基因突变位点。

结果: 从突变库的4000余株突变株中, 筛选出6株对亚胺培南耐药性升高的突变株, 1株对四环素耐药性升高的突变株。通过全基因组测序确认, *uvrd*, *lipa*, *czcd*, *oprD*等基因突变导致鲍曼不动杆菌AB43耐药性发生改变。其中*uvrd*基因突变表现出对亚胺培南、头孢曲松、氨苄西林-舒巴坦、替卡西林-克拉维酸耐药性的升高。*czcd*, *oprD*突变表现出对亚胺培南的耐药性升高, *lipa*突变则表现出对除 β -内酰胺类抗生素外常见抗生素耐药性的大幅上升。

讨论: 查明耐药机制对鲍曼不动杆菌感染的防治具有重要意义。鲍曼不动杆菌中已报道多种耐药机制, 包括 β -内酰胺酶、氨基糖苷修饰酶、外排泵、渗透性缺陷和靶点修饰。本课题组前期研究发现, 含有完整I-Fb型CRISPR-Cas系统的鲍曼不动杆菌分离株AB43对现今临床常用抗生素均敏感, 但CRISPR-Cas系统或其组分基因敲除后则变异为全耐药株, 提示I-Fb型CRISPR-Cas系统是鲍曼不动杆菌中重要的耐药抑制基因, 对防治耐药性可能具有重要的应用价值。本研究运用Tn5转座突变的方法进行了突变库的建立, 并且建立了亚胺培南和四环素筛选模型, 从突变库的4000多株突变株中, 筛选出了7株耐药性改变的突变株, 确定了4个与耐药性相关的基因: 参与DNA损伤修复的*uvrd*, 编码脂肪酶的*lipa*, 编码阳离子外排泵的*czcd*, 编码外膜孔蛋白的*oprD*。使用转座突变技术进行鲍曼不动杆菌耐药调控基因研究与传统先确定基因再敲除后进行研究的思路不同, 采用了先产生现象再确定基因的思路, 并且通过建库的方式规模扩大化, 可以高效地对耐药调控基因进行研究, 并且对发现新的基因也具有根本性的优势。转座子插入后导致基因失活, 但不能确定插入片段对整个调控通路的影响, 尚需通过基因敲除和生物信息学分析等方法进行深入研究。

2022年江南某三甲医院微生物培养结果分析

陆娟^{★1}、吕珏²

1. 江南大学附属医院; 2. 江南大学附属中心医院

目的: 为了解2022年江南地区临床病原菌分布与抗生素敏感模式及多重耐药菌(MDRO)的分布情况, 用2014年到2022年病原菌检出排名与多重耐药菌比例数据的变迁分析COVID-19大流行对病原菌排名与多重耐药菌比例的影响, 为指导感染监测和落实感染防控措施提供依据。

方法: 收集2022年1~12月全院临床各科室送检的感染类患者的血液、尿液、粪便、呼吸道分泌物等标本。血液标本培养使用Bact/Alert 3D全自动微生物侦测系统, 由VITEK-MS质谱仪进行细菌鉴定, 药敏测定采用VITEK2-compact系统。按照CLSI 2020标准, 统计数据用WHONET5.6软件进行分析。

结果: 2022年共计分离出11898株致病菌株, 阳性标本主要来自痰(38.60%)、中段尿(25.16%)、血液(6.91%)。其中革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌及真菌分别占23.76%、69.35%和6.89%。分离率占前五位的是肺炎克雷伯菌1915(16.10%), 铜绿假单胞菌1694(14.24%)、大肠埃希菌1538(12.93%)、鲍曼不动杆菌122(10.27%)、金黄色葡萄球菌895(7.52%)。MDRO比例均高于CARSS全国平均水平, 与CHINET水平接近。2014~2022年主要病原菌分布与耐药率的变迁中, 肺炎克雷伯菌分离率从排名第三位发展到稳居第一位, 其对碳青霉烯类的耐药率从3.0%左右增加到25.1%。

讨论: 经过对2022年44251份微生物培养标本结果的分析, 送检标本以呼吸道标本占比最高, 其次是中段尿、血培养及伤口分泌物培养等, 这与我院科室设置相关。参考2014至2022年主要病原菌占比变迁与耐药菌检出率变迁, 2019冠状病毒病(COVID-19)大流行开始, CR-KPN、CR-PAE、CR-ABA、MRSA这四种与上呼吸道感染相关的多重耐药菌比例集体增高, 并在2022年缓慢回落, 不排除这些耐药

菌的增加有COVID-19爆发因素。COVID-19大流行期间，一方面民众恐慌性地在无监测、无指导的情况下滥用抗生素。另一方面，细菌在体外暴露于具有抗菌特性的抗病毒药物下，可以产生多重耐药突变，从而赋予抗生素交叉耐药，大规模使用抗病毒药物对人类和环境中的抗菌素耐药性的发展和传播产生的潜在影响。2022年检出占比最高的病原微生物是肺炎克雷伯菌1915(16.10%)，观察2014年至2022年历年微生物分离的主要病原菌分布与耐药率的变迁折线图还可以发现，肺炎克雷伯菌在检出率与耐药率两个方面都在同步增长，鉴于质粒是不同谱系肺炎克雷伯菌之间水平转移毒力和耐药基因的重要载体，因此规范隔离护防成为减少院内感染的重要措施。

骨髓炎患者的病原学特征分析

王敏*

苏州大学附属第二医院

目的：本研究对苏州大学附属第二医院骨髓炎患者患处分泌物分离出的细菌及其药敏结果进行统计，对病原菌的分布及其是否发生变化和抗菌药物敏感及耐药性进行分析，为骨髓炎的经验性用药提供参考。

方法：本研究回顾性分析2020年4月至2023年2月在苏州大学附属第二医院诊断为骨髓炎的住院及门诊患者患处分泌物培养及其药敏结果，以分析骨髓炎患者分泌物中病原菌的分离情况及耐药特征。

结果：1.病原菌分布：共培养分离菌株35株，葡萄球菌属16株（45.7%），链球菌属1株（2.9%），肠杆菌目11株（31.4%），非发酵菌属6株（17.1%），真菌1株（2.9%）。葡萄球菌属中分离率最高的是金黄色葡萄球菌12株（34.28%），其中MRSA 7株（20%）。金黄色葡萄球菌不仅是葡萄球菌属中分离率最高的细菌，而且也是本次研究中单个菌株分率最高的细菌。链球菌属分离出停乳链球菌1株（2.9%）。肠杆菌目中分离出肺炎克雷伯菌2株（5.7%），阴沟肠杆菌2株（5.7%），大肠埃希菌2株（5.7%），神户杆菌1株，粘质沙雷菌1株（2.9%），奇异变形杆菌1株（2.9%）、普通变形杆菌1株（2.9%）及潘尼变形杆菌1株（2.9%）。非发酵菌中分离出铜绿假单胞菌3株（8.6%），嗜麦芽窄食单胞菌、水谷鞘氨醇杆菌及木糖氧化产碱菌木糖氧化亚种各1株（2.9%）。真菌中分离出热带假丝酵母菌1株（2.9%）。2.药敏结果：革兰阳性菌对利福平、利奈唑胺、四环素、万古霉素及替考拉宁敏感率较高，均大于90%。革兰阴性菌对左氧氟沙星、复方新诺明、亚胺培南及美罗培南敏感率较高，均大于80%。

结论：革兰阳性菌作为骨髓炎主要的致病菌的感染率有下降趋势，而革兰阴性菌所致的骨髓炎的感染率在上升，是否有超越的倾向还需要进一步研究。因此骨髓炎感染病原菌的分布不再以金黄色葡萄球菌或其所在葡萄球菌属的革兰阳性菌为主，革兰阴性菌感染的增加打破了既往骨髓炎病原菌分布格局。在抗生素敏感率方面革兰阳性菌对喹诺酮类、四环素类、糖肽类及环脂肽类抗生素敏感性较高，尤其是头孢哌酮/舒巴坦、亚胺培南、美罗培南、厄他培南及庆大霉素。革兰阴性菌中，肠杆菌目对 β -内酰胺类、氨基糖苷类喹诺酮类抗生素敏感性高，其中头孢哌酮/舒巴坦、亚胺培南、美罗培南、厄他培南、庆大霉素及丁胺卡那霉素敏感率高。非发酵菌属对 β -内酰胺类、四环素类及喹诺酮类抗生素敏感率高，尤其是头孢他啶、派拉西林/舒巴坦、亚胺培南、美罗培南及左氧氟沙星敏感率高。

MCR-1基因介导大肠杆菌药敏特点与同源性分析

赵树龙*

徐州医科大学附属医院

目的：研究分析徐州某三甲教学医院2016年05月—2022年06月收集到多粘菌素耐药大肠杆菌耐药机制、药敏特点及其同源性的分析，为有效预防和控制其爆发以及流行，提供分子流行病学依据。

方法：收集2016年05月—2022年06月分离自临床工作中发现的多粘菌素耐药大肠杆菌，应用PCR技术筛选耐药基因MCR-1，微量肉汤稀释法用于测定临床常用的抗生素最小抑菌浓度，同时对于多粘菌素耐药大肠杆菌患者的临床资料进行调查与研究。利用脉冲场电泳技术（PFGE）对收集到的菌株进行同源性分析。其中一株菌株进行全基因组测序分析。

结果：分离并鉴定出多粘菌素耐药大肠杆菌4株，均携带有MCR-1基因，4株菌株除对替加环素均敏感外，临床常见绝大多数抗生素均表现不同程度耐药。但是临床治疗中均未发现有粘菌素使用史。同时发现4株菌可分2种类型，A型和B型，其中A型共3株，B型1株。对测序的菌株进行全基因组测序分析发现MCR-1基因位于Incl2质粒上，与报道一致。

结论：本次产MCR-1型大肠杆菌具有克隆传播的潜在威胁，同时克隆株对临床常见绝大多数抗生素均耐药，对临床的抗菌药物的选择与治疗带来极为严重的挑战，因此我们需要积极加强防护措施，防止其暴发流行。

碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌 对头孢他啶/阿维巴坦的耐药机制研究

陈熙元*、康海全

徐州医科大学附属医院

目的：了解头孢他啶/阿维巴坦耐药的碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌的分布、耐药性以及携带耐药基因情况，为临床合理使用抗菌药物及医院感染防控提供实验室依据。

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月从临床标本中分离出的75株耐头孢他啶/阿维巴坦的碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌，使用MALDI-TOF MS质谱仪、VITEK2-compact全自动微生物鉴定药敏分析仪进行细菌鉴定及药敏分析，使用胶体金法，聚合酶链式反应及双向测序对常见碳青霉烯酶基因型进行检测，

结果：进行blast分析，采用RT-qPCR对单产KPC酶的肺炎克雷伯菌进行blaKPC-2相对表达量检测。结果 75株耐他啶/阿维巴坦的碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌中，39株同时携带blaKPC、blaNDM（38株同时携带blaKPC-2、blaNDM-1，1株同时携带blaKPC-2、blaNDM-1，52.0%），31株携带blaNDM（21株blaNDM-5，10株blaNDM-1，41.4%），3株携带blaKPC-2（4.0%），1株同时携带blaKPC-2、blaVIM（1.3%），1株携带blaVIM（1.3%），未发现blaKPC突变菌株，3株单产KPC酶的CRKP与ATCC-BAA-1705相比blaKPC-2表达量有不同程度增加。

结论：本地区碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌对头孢他啶/阿维巴坦的耐药机制主要由金属酶NDM介导，且多数已整合了KPC基因，双产酶菌株的出现让碳青霉烯类耐药肺炎克雷伯菌的治疗更加困难，单产KPC酶的CRKP出现CZA耐药可能和blaKPC-2高表达有关，实验室应该加强CRKP碳青霉烯酶型的检测，精准治疗遏制这部分菌株在医疗机构内的流行。

无菌体液样本中CRE分布、耐药性及碳青霉烯酶基因检测结果分析

毛易捷*

常州市第一人民医院

目的：了解苏州大学附属第三医院2021年1月至2023年1月无菌体液标本中碳青霉烯耐药肠杆菌(CRE)的临床分布、耐药性及碳青霉烯酶基因型，为CRE感染的治疗及医院感染防控提供依据。

方法：收集该院2021年1月至2023年1月门诊及住院患者无菌体液标本中分离到的CRE,采用matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry型质谱微生物鉴定仪进行菌种鉴定；采用BD phoenix-100全自动细菌鉴定药敏仪进行细菌鉴定及药敏试验。采用碳青霉烯抑制剂增强试验检测CRE产碳青霉烯酶表型，采用胶体金免疫层析法检测CRE携带的碳青霉烯酶类型，脉冲场凝胶电泳(PFGE)对肺炎克雷伯菌进行同源性分析。

结果：在无菌体液标本中收集的CRE菌株共195株；CRE检出率处于前3位的分别是肺炎克雷伯[73.3%(143/195)]、大肠埃希菌[16.9%(33/195)]、产酸克雷伯菌[9.7%(19/195)];CRE来源的无菌体液标本类型以血液标本[61.0%(119/195)]为主，其次为腹水[21.0%(41/195)]、胸腔积液[17.9%(35/195)];CRE检出率处于前3位的科室分别为重症医学科[40.0%(78/195)]、肝胆外科[22.5%(44/195)]、血液内科[10.7%(21/195)]。碳青霉烯抑制剂增强试验检测碳青霉烯酶表型，结果显示，160株(82.1%)CRE携带丝氨酸酶，22株(11.3%)携带金属酶，同时产丝氨酸酶和金属酶的有9株，既不产丝氨酸酶也不产金属酶有4株；胶体金免疫层析法检测结果显示，188株(96.4%)携带碳青霉烯酶，其中158株(84.0%)携带KPC,20株(10.6%)携带NDM,1株携带IMP酶，1株同时携带IMP和NDM,未检测出OXA-48、VIM型碳青霉烯酶，肺炎克雷伯菌主要携带KPC(95.8%),大肠埃希菌主要携带NDM(81.4%)。PFGE检测肺炎克雷伯菌同源性，结果显示，143株肺炎克雷伯菌可分为A~O15个型，其中A型菌株最多，B型次之。

结论：该院感染的CRE以肺炎克雷伯菌为主，主要携带KPC。CRE对临床常用抗菌药物普遍有较高的耐药率，肺炎克雷伯菌的同源性较高，CRE的传播方式主要为接触传播，医院应该手卫生和接触隔离等防控措施，同时与抗菌药物合理使用相结合共同减少CRE的发生和播散。

108株金黄色葡萄球菌临床株生物膜形成能力 无遗传异质性差异

张雯雯*、何新龙
扬州大学

目的：探讨金黄色葡萄球菌生物膜的遗传异质性并确定生物膜形成株关键毒力因子。

方法：根据改良碱裂解法提取108株金黄色葡萄球菌临床样本基因组DNA，利用ERIC-PCR技术对临床样本进行遗传分型；采用微孔板联合结晶紫染色方法检测生物膜形成能力；采用刚果红染色法对金葡萄球菌胞外多糖（PIA）进行相对定量分析；通过胞外DNA（eDNA）定量分析以及高碘酸钠和蛋白酶K对生物膜抑制和解离作用分析确定金葡萄球菌生物膜的类型；同时采用红外光谱分析金葡萄球菌生物膜成分差异；采用Trizol法提取总RNA并反转录为cDNA，对毒力及生物膜相关基因进行荧光定量分析；通过提取金葡萄球菌的金黄色色素进行定量分析；通过大蜡螟体内感染实验检测金葡萄球菌体内毒性。

结果：不同遗传型金葡萄球菌临床株生物膜形成能力无明显差异。总体而言，金葡萄球菌临床株生物膜形成能力与PIA呈正相关，而与eDNA含量呈负相关关系。同一遗传型金葡萄球菌生物膜的形成存在蛋白质或胞外多糖依赖性差异。不同遗传型金葡萄球菌临床株生物膜类型与甲氧西林耐药性无显著相关性。金葡萄球菌对大蜡螟的半致死浓度无遗传型差异。与金葡萄球菌生物膜形成能力显著相关的毒力因子表达谱存在遗传差异。尽管如此，毒力因子基因*lrgA*、*atlA*、*icaA*、*ebpS*、*fnbA*、*crtM*、*crtN*和青霉素酶基因*blaZ*以及这些基因的相关调控基因*rsbV*、*rsbW*和*agrA*的表达与生物膜形成能力呈显著正相关关系且在主要遗传型ERIC-I和ERIC-IV菌株间无显著差异。

讨论：金黄色葡萄球菌临床菌株生物膜的形成能力和生物膜类型均不存在遗传型差异。不同遗传型金葡萄球菌临床株生物膜形成能力均与某些毒力因子以及青霉素耐药性表达显著相关，为金葡萄球菌感染防控以及相关研究提供科学依据。

Clone dissemination of IncX3 plasmid carrying blaNDM-1 in ST76 carbapenem resistance Klebsiella pneumoniae and bactericidal efficiency of aztreonam combined with avibactam in vitro and in vivo

Fei Jiang*, Shulong Zhao, Shuang Song, Jingfang Sun, Haiquan Kang

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

Objectives: The rapid spread of the New Delhi Metal- β -lactamase-1 (NDM-1) gene in *Klebsiella pneumoniae* poses a substantial challenge to pediatric therapeutic care. Here, we aimed to characterize the IncX3-type plasmid carrying the blaNDM-1 gene in ST76 Carbapenem Resistance *K. pneumoniae* (CRKP) strains and

assess the in vitro and in vivo bactericidal efficacy of Aztreonam (ATM) combined with Avibactam (AVI) (ATM+AVI) against CRKP.

Methods: The broth microdilution method and PCR were used to detect antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance genes. Genetic relatedness was determined using Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and Multilocus Sequence Typing (MLST). The plasmid conjugation assay was used to verify the transmissibility of drug-resistant plasmids. Whole-Genome Sequencing (WGS) was employed to elucidate the genomic attributes of the genes. The Fractional Inhibitory Concentration (FIC) was calculated based on the checkerboard titration assay to determine the antimicrobial effect of ATM+AVI. The time-kill curve assay and a mouse anti-infection model were used to investigate the in vitro and in vivo bactericidal efficiency of ATM+AVI.

Results: Seven blaNDM-1-producing strains were found to be highly resistant to carbapenems, and they all belonged to the same sequence type (ST76) and were classified into the same PFGE clusters with an 89.1% similarity. The conjugation assay showed that the blaNDM-1-carrying plasmid was successfully transferred to *E. coli* 600, resulting in transconjugants with carbapenem antibiotic resistance. A 54-kb IncX3 plasmid (pNDM-XZA88) carried the blaNDM-1 gene located on a Tn125 transposon-like element structure, demonstrating the transferability of resistance genes. Genome comparative analysis revealed that pNDM-XZA88 was highly similar to pCQ17X3 and pRor-30818cz and had relatively conserved backbones and variable accessory regions compared to the other four plasmids (pC39-334kb, pNDM-1-DY1928, pNDM-K725, and pNDM-Z244). The checkerboard titration and time-kill curve assays revealed that the ATM+AVI combination therapy exerted significant bactericidal efficacy against the blaNDM-1-producing strains in vitro. The ATM+AVI combination also significantly reduced the bacterial burden in the blood, lungs, liver, and spleen in a mouse infection model constructed using the blaNDM-1-producing *K. pneumoniae*.

Conclusion: This study demonstrated the clone dissemination of blaNDM-1-harboring IncX3 plasmids among the ST76 *K. pneumoniae* isolated from pediatric patients. Therefore, more attention should be paid to preventing this high-risk clone from harming pediatric patients. Moreover, we deduced that the ATM+AVI combination therapy is an effective strategy for treating blaNDM-1-producing *K. pneumoniae*.

鲍曼不动杆菌非生物膜态聚集体的形成对耐药性及毒力的影响

刘佳丽*、何新龙
扬州大学

目的: 探究非生物膜态聚集体的形成对鲍曼不动杆菌耐药性以及毒力的影响及机制。

方法: 在103株鲍曼不动杆菌临床菌株中筛选出同样产生聚集体的临床株; 通过药敏实验检测鲍曼耐药性; 通过细胞毒性试验和大蜡螟体内感染实验检测鲍曼体外、体内毒性; 采用刚果红染色法对胞外多糖 (PIA) 进行相对定量分析; 胞外DNA (eDNA) 定量分析以及蛋白酶K、NaIO₄分解实验确定生物膜、聚集体类型; 采用Trizol法提取RNA进行转录组测序, 通过实时定量荧光PCR进一步探究聚集体形成的机制、聚集体对鲍曼不动杆菌耐药性以及毒力的影响及机制。

结果: 聚集体的形成增加鲍曼不动杆菌对庆大霉素、多粘菌素B等抗生素的耐药性。同时聚集体的

形成也显著增强了鲍曼对A549细胞的黏附能力和侵袭能力。聚集体有无对大蜡螟的半致死浓度无统计学差异。聚集体的形成与PIA、疏水性呈正相关,而与eDNA含量呈负相关。蛋白酶K、NaIO₄抑制实验中,聚集体菌株和非聚集体菌株分别表现为蛋白质依赖型和胞外多糖依赖型。结合转录组和实时定量荧光PCR的结果分析,发现pgaABCD基因簇的表达与聚集体的形成具有显著相关性。

讨论:细菌主要以两种形式存在:生物膜菌和浮游菌,但我们在鲍曼不动杆菌adeG缺陷株以及某些临床菌株中发现第三种存在方式——非生物膜态聚集体形式。聚集体的产生导致鲍曼对抗生素耐受性及细胞毒性显著增强。鲍曼不动杆菌聚集体的形成与pgaABCD基因簇的表达密切相关。本研究为鲍曼不动杆菌的防治提供一种新思路。

Epidemiological Features and Impact of High Glucose Level on Virulence Gene Expression and Serum Resistance of *Klebsiella pneumoniae* Causing Liver Abscess in Diabetic Patients

Hui Wang*

The First Affiliated Hospital of Soochow University

Purpose: *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) is a Gram-negative bacterium that is predominantly associated with liver abscesses in global diabetic patients. High levels of glucose in the surrounding of *K. pneumoniae* increase its pathogenicity including capsular polysaccharide (CPS) and fimbriae. Other important virulent factors include outer membrane protein A (ompA) and regulator mucoid phenotype A (rmpA). The objective of this investigation was to elucidate the effects of high glucose on rmpA and ompA gene expression and serum resistance of *K. pneumoniae* causing liver abscess.

Methods: The clinical history of 57 patients suffering from *K. pneumoniae*-caused liver abscesses (KLA) was acquired and their clinical and laboratory manifestations in the presence or absence of diabetes were analyzed. The antimicrobial susceptibility, serotypes, and virulence genes were tested. Clinical isolates of 3 serotype-K1 hypervirulent *K. pneumoniae* (hvKP) were used to detect the effect of exogenous high glucose on rmpA, ompA, and clbB genes expression, and bacterial serum resistance.

Result: KLA patients with diabetes showed higher C-reactive protein (CRP) compared to non-diabetic KLA patients. Furthermore, the diabetic group showed increased incidences of sepsis and invasive infections, and their length of hospital stay was also prolonged. Pre-incubation of *K. pneumoniae* in high glucose (0.5%) concentration up-regulated rmpA, ompA, and clbB genes expression. However, cAMP supplementation, which was inhibited by environmental glucose, reversed the increase of rmpA and ompA in a cAMP-dependent manner. Moreover, hvKP strains incubated in high glucose also exhibited enhanced protection from serum killing.

Discussion: High glucose levels reflected by poor glycemic control has increased gene expression of rmpA and ompA in hvKP by the cAMP signaling pathway and enhanced its resistance to serum killing, thus providing a new and reasonable explanation for the high incidences of sepsis and invasive infections in KLA patients with diabetes.

西弗射盾子囊霉的分离鉴定与药敏分析

徐士兰*、高硕、周万青
南京大学医学院附属鼓楼医院

目的：分离鉴定从临床患者中分离的西弗射盾子囊霉，观察菌落形态特征并分析该菌种对9种常见抗真菌药物的敏感性。

方法：将该菌接种于血平板，科玛嘉显色培养基培养，观察菌落生长形态，革兰染色，镜下观察菌落特征。利用微生物全自动鉴定及药敏分析仪Vitek 2 Compact和质谱法分析鉴定西弗射盾子囊霉；同时，采用真菌显色药敏板YO10测定该菌对9种常见抗真菌药物的敏感性。

结果：西弗射盾子囊霉在血平板和科玛嘉显色培养基上均生长良好，在科玛嘉显色平板上为灰蓝色圆形凸起菌落，边缘整齐，随培养时间的延长，菌落开始粗糙，凹陷，嵌入平板，边缘不齐，难以刮起。本研究共纳入19株西弗射盾子囊霉，其中12株对抗真菌药物氟康唑的敏感性低，氟康唑最低抑菌浓度高（ $MIC \geq 32 \mu\text{g/mL}$ ）；5-氟胞嘧啶次之，有8株 MIC 值 $\geq 8 \mu\text{g/mL}$ ；对于大多数菌株，伊曲康唑、泊沙康唑、伏立康唑三者的 MIC 值 $\leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ ；所有菌株对阿尼芬净、米卡芬净、卡泊芬净三种药物均十分敏感（ MIC 值 $\leq 0.015 \mu\text{g/mL}$ ），对两性霉素B也较为敏感（ MIC 值 $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$ ）。

某医院2020–2022年血培养病原菌分布及药敏相关分析

操燕红*
淮安市楚州医院淮安市肿瘤医院

目的：调查2020–2022年淮安市淮安医院住院患者血培养常见病原菌构成与药敏分析，为临床抗菌药物合理使用提供科学参考依据。

方法：采用DL-Bt64全自动血培养仪对2020年1月–2022年12月淮安市淮安医院血培养标本进行细菌培养，DL-96 II 细菌测定系统对细菌进行鉴定和耐药分析。

结果：淮安市淮安医院3年间3512血培养标本，共检出病原菌332株，革兰阴性菌212株（63.86%），革兰阳性菌108株（32.53%），真菌12株（3.61%）。革兰阴性菌以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主，革兰阳性菌以金黄色葡萄球菌为主，真菌以白色念珠菌为主。大肠埃希菌对阿米卡星、美罗培南、亚胺培南敏感性较好，对氨苄西林耐药率高；金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌对阿米卡星、利奈唑胺、氯霉素、庆大霉素、替加环素、替考拉宁、万古霉素高敏感。

结论：该院血培养病原体以革兰阴性菌为主，2020–2022年血培养阳性率逐年升高，应加强细菌耐药监测，根据药敏合理使用抗菌药物。

· 自身免疫、肿瘤免疫、感染免疫等基础与临床免疫学研究 ·

Expression and clinical role of PRDX6 in lung adenocarcinoma

Zhou Zhang*, Shougang Kuai, Huifang Wang, Xiayi Shi, Jing Wang
Wuxi Huishan District People's Hospital

Objective: Lung cancer is a malignant tumor that poses a serious threat to human health, and its morbidity and mortality are among the best in all cancers, especially in male patients. The most common histological subtype of cancer is non-small cell lung cancer (NSCLC), mainly divided into squamous cell carcinoma (LUSC) and adenocarcinoma (LUAD). PRDX6 plays a leading role in maintaining redox homeostasis in mammalian cells by reducing a wide range of peroxides in the cells. In recent years, research has shown that PRDX6 is involved in the occurrence and development of various cancers, including liver cancer, colorectal cancer, cervical cancer and so on. However, there are few studies on the relationship between PRDX6 and the occurrence and development of lung adenocarcinoma. The purpose of this study is to explore expression and clinical role of PRDX6 in lung adenocarcinoma. **Methods:** We used a series of bioinformatics methods to detect the expression and mutation of PRDX6 in pan cancer and lung adenocarcinoma, and we used immunohistochemistry to verify the expression of PRDX6 in lung adenocarcinoma. Then, we used CCK8 technology to detect the effect of PRDX6 on the proliferation of the lung adenocarcinoma cell. Finally, we predicted the diagnostic value and survival analysis of PRDX6 for lung adenocarcinoma patients based on bioinformatics methods. **Results:** The results showed that PRDX6 was highly expressed in lung adenocarcinoma, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). we showed that PRDX6 was positively correlated with 9 out of 10 high expression genes in lung adenocarcinoma, of which 7 were statistically significant; PRDX6 is negatively correlated with 9 out of 10 low expression genes in lung adenocarcinoma, of which 8 are statistically significant. And there were five mutations at different sites. Then we found that PRDX6 can promote the proliferation of the lung adenocarcinoma cell, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Moreover, the survival time of lung adenocarcinoma patients with high PRDX6 expression is shorter than that of lung adenocarcinoma patients with low PRDX6 expression, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). This result is not affected by the different characteristics of lung adenocarcinoma patients. However, PRDX6 has poor diagnostic efficacy for lung adenocarcinoma, and it can not diagnose lung adenocarcinoma patients well. **Discussion:** As is known to all, the most common histological subtype of lung cancer is lung adenocarcinoma, comprising around 40% of all lung cancer cases. At present, despite the achievements in the research of the pathogenesis of lung adenocarcinoma and the development of new treatment methods, lung adenocarcinoma is still one of the most aggressive and deadly cancer types with a total survival period of less than 5 years unfortunately. In recent years, a large number of studies have found that molecular targeted therapy for lung cancer, especially for advanced lung cancer, has made significant research progress. Therefore, it is very important to further seek molecular targeted therapy for lung adenocarcinoma. In this study, we first explored the expression and mutation of PRDX6 in Pan-Cancer. We found that the expression level of PRDX6 in lung adenocarcinoma was higher than that in half of

Pan-Cancer. Then we further clarified the mutation frequency and mutation type of PRDX6 in Pan-Cancer. We found that the mutation frequency of PRDX6 in lung adenocarcinoma ranked fourth in Pan-Cancer. These indicates that it is meaningful to further explore the expression and clinical role of PRDX6 in lung adenocarcinoma. Then, we analyzed the genomics of lung adenocarcinoma through heat map and volcano map. The results show that there are high expression and low expression genes in lung adenocarcinoma, and we focus on labeling the top 10 high expression and low expression genes respectively. Next, we explored the expression of PRDX6 in lung adenocarcinoma through TCGA database. The results showed that PRDX6 was highly expressed in lung adenocarcinoma, and we used IHC techniques to verify this result. Later, we explored the mutation of PRDX6 in lung adenocarcinoma, and found that PRDX6 had five mutations at different sites in lung adenocarcinoma. In order to preliminarily explore the biological role of PRDX6 in lung adenocarcinoma, we used CCK8 technology to detect the changes in the proliferation of lung adenocarcinoma cells (NCI-H1395) on the basis of inhibiting PRDX6. We found that the proliferation of NCI-H1395 cell was inhibited and slowed down after inhibiting PRDX6. However, more mechanisms of PRDX6 need our follow-up study in lung adenocarcinoma. Then, we analyzed the diagnostic value of PRDX6 for lung adenocarcinoma, so as to intuitively reflect the clinical role of PRDX6. The results showed that PRDX6 had poor diagnostic efficacy for lung adenocarcinoma. We further explored the different characteristics of lung adenocarcinoma patients, including smoking history, gender, and race. The results showed that PRDX6 still had poor diagnostic efficacy for lung adenocarcinoma with different characteristics. Therefore, we believe that PRDX6 may not be used as a clinical diagnostic indicator for lung adenocarcinoma patients. In order to explore the survival time of lung adenocarcinoma patients with PRDX6, we showed the comparison between the survival time of lung adenocarcinoma patients with high and low expression of PRDX6. The results showed that the survival time of lung adenocarcinoma patients with high PRDX6 expression is shorter than that of lung adenocarcinoma patients with low PRDX6 expression, and this conclusion is not affected by the different characteristics of lung adenocarcinoma patients. Obviously, PRDX6 may be related to the poor prognosis of lung adenocarcinoma. However, there is no mature report about the relationship between PRDX6 and the prognosis of lung adenocarcinoma. In conclusion, this study found that PRDX6 is highly expressed in lung adenocarcinoma, and can promote the proliferation of the lung adenocarcinoma cell. It has a poor prognosis for lung adenocarcinoma patients, which will provide a new idea for clinical targeted therapy of lung adenocarcinoma.

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

Bo Zhu*, Ke Rui

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.

Circular RNA circZNF644 facilitates circulating follicular helper T cells response in patients with Graves' disease

Huiyong Peng*, Yingzhao Liu, Shengjun Wang

The Affiliated People's Hospital of Jiangsu University

Background. Accumulated studies have indicated that aberrant accumulation of circulating follicular helper T cells (cTfh) is involved in the development of Graves' disease (GD). However, the underlying molecular mechanisms that contribute to cTfh cells imbalance are largely unknown. Circular RNAs (circRNAs) have been implicated in autoimmune diseases via a variety of regulatory roles. Our previous study screened a GD-related circZNF644 (hsa_circ_0114427), which might be associated with cTfh cells. This study aimed to investigate the role of circZNF644 on cTfh cells in GD patients.

Methods. Thirty-six GD patients and thirty-eight healthy volunteers were enrolled in the study. The proportion of cTfh cells and mean fluorescence intensity of inducible T-cell costimulator (ICOS) in the peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were determined by flow cytometry. The transcript levels of circZNF644, ICOS, and miR-29a-3p were detected by quantitative real-time PCR. The characteristics and the corresponding biological functions of circZNF644 were assessed using sanger sequencing, RNase R treatment, RNA interference, luciferase reporter assay, FISH, and nuclear and cytoplasmic extraction. **Results.** CircZNF644 was highly stable expression in the PBMCs of GD patients, which was positively correlated with the serum levels of TSH receptor autoantibodies (TRAb). Knockdown of circZNF644 significantly inhibited ICOS expression, which consequently caused a reduction of the proportion of cTfh cells. Mechanistically, circZNF644 served as a sponge that directly targeted miR-29a-3p to regulate ICOS expression, resulting in increased cTfh cells. In GD patients, the transcript levels of circZNF644 were positively correlated with the transcript levels of ICOS and the proportion of cTfh cells, but negatively correlated with miR-29a-3p expression. Furthermore, a strong relationship between circZNF644 and cTfh cytokine, IL-21 was observed in GD patients, and silencing of circZNF644 inhibited IL-21 expression in vitro.

Conclusion. Elevated expression of circZNF644 is a key feature in the development of GD and may contribute to the pathogenic role of cTfh cells in GD.

Identification of potential immune-related biomarkers in Hashimoto's thyroiditis through bioinformatics analysis and machine learning

Huiyong Peng^{*}, Shengjun Wang, Yingzhao Liu
The Affiliated People's Hospital of Jiangsu University

Background: Hashimoto's thyroiditis (HT) is a common autoimmune disease characterized by diffuse enlargement of the thyroid gland and lymphocyte infiltration. Our study was conducted for identification of potential immune-related biomarkers in HT.

Method: Integration of high-throughput sequencing data from HT 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), random forest (RF), and support vector machine recursive feature elimination (SVM-RFE) were applied to further identify diagnostic biomarkers, and ROC curve analysis was used to estimating the diagnostic efficacy. CIBERSORT algorithm was used to evaluate the infiltration of 22 immune cells in HT and normal control (NC) samples. Spearman correlation analysis was performed to assess the correlation between biomarkers and immune cells.

Results: A total of 1,401 differentially expressed mRNAs including 1,055 upregulated and 346 downregulated ones were identified in HT patients. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway (KEGG) analyses showed that abnormally expressed mRNAs were mainly enriched in immune system-related signalling pathways. Furthermore, 192 immune-related genes were further identified by the intersection of WGCNA analysis, differentially expressed genes (DEGs), and immune-related genes (IRGs). Among them, two upregulated gene (BTK and CD19) had significant value in HT diagnosis by machine learning. The area under the ROC curve of BTK and CD19 were up to 0.984 and 0.985 in the NGS dataset, and were up to 0.846 and 0.769 in GSE138198, respectively. Immune cell infiltration analysis revealed that multiple immune cell types may be involved in the development of Hashimoto's thyroiditis, including B cells, plasma cells, M1 macrophages, CD8+ T cells, and T follicular helper cells. Intriguingly, both BTK and CD19 were positively correlated with plasma cells and M1 macrophages.

Conclusion: We constructed the immune landscape of HT and identified two potential immune-related biomarkers, BTK and CD19, which may be involved in the cellular immune mechanisms of HT.

EVs-encapsulated miR-10a-5p derived from MDSCs restrains germinal center B cells in experimental Sjögren's syndrome

Huimin Zhou*, Jie Tian, Shengjun Wang
School of Medicine, Jiangsu University

Primary Sjögren's syndrome (pSS) is a progressive systemic autoimmune disease characterized by chronic inflammation of the exocrine glands, resulting in damage to the salivary and lacrimal glands. Our group and other researchers have reported that myeloid-derived suppressor cell-derived extracellular vesicles (MDSC-EVs) could attenuate the progression of autoimmune disease by impairing T-cell function. However, the effect of MDSC-EVs on B-cell function and the underlying mechanism remain largely unknown. In this study, we found that MDSC-EVs significantly attenuated the progression of experimental Sjögren's syndrome (ESS). Moreover, treatment with MDSC-EVs via intravenous injection markedly reduced the percentage of germinal center (GC) B cells in ESS mice. In vitro, MDSC-EVs could directly suppress the generation of GC B cells and expression of B cell lymphoma 6 (Bcl-6) in B cells under GC B-cell-polarizing conditions. Mechanistically, miR-10a-5p carried by MDSC-EVs regulated the differentiation of GC B cells by targeting Bcl-6, and inhibition of miR-10a-5p in MDSC-EVs significantly reversed the effect of MDSC-EVs involved in alleviating the development of ESS. Taken together, our findings demonstrated that miR-10a-5p carried by MDSC-EVs inhibited the generation of B cells by targeting Bcl-6 and eventually alleviated the progression of ESS, which may provide novel therapeutic targets for the treatment of pSS.

Peptide arginine deiminase 2: A Potential Target for Tumor Therapy

Yi Teng*, Shengjun Wang
School of Medicine, Jiangsu University

Peptide arginine deiminase 2 (PAD2) catalyzes the conversion of arginine residues on target proteins to citrulline residues in the presence of calcium ions. This particular posttranslational modification is called citrullination. PAD2 can regulate the transcriptional activity of genes through histone citrullination and nonhistone citrullination. In this review, we summarize the evidence from recent decades and systematically illustrate the role of PAD2-mediated citrullination in tumor pathology and the regulation of tumor-associated immune cells such as neutrophils, monocytes, macrophages and T cells. Several PAD2-specific inhibitors are also presented to discuss the feasibility of anti-PAD2 therapy to treat tumors and the urgent problems to be solved. Finally, we review some recent developments in the development of PAD2 inhibitors.

Follicular helper T cells: potential intervention targets in atherosclerosis

Yuxuan Chen[★], Shengjun Wang
School of Medicine, Jiangsu University

Atherosclerosis is an arterial intima disease involving the systemic circulatory system. Lipid metabolism disorder is the pathological basis of atherosclerosis and immune injury by lipid deposition regulated by diverse cytokines is one of the main reasons for its progressive deterioration. It has been reported that follicular helper T (T_{fh}) cell played a crucial role in humoral immune response. The abnormal expression of T_{fh} cell surface molecules and cytokines might be related to the occurrence and development of atherosclerosis. It is observed that T_{fh} cells were increased and involved in the progress of atherosclerosis and coronary atherosclerotic heart disease. Thus, regulation on the T_{fh} cell and its functional molecules can be a potential therapy strategy for atherosclerosis. The review clarifies the current cognition to the role of T_{fh} cells in atherosclerosis, and emphasizes the potential of these cells as therapeutic targets.

The landscape of novel EV-tsRNA biomarkers in lupus nephritis

Ping Yang[★], Zhiyang Li, Han Shen
Department of Laboratory Medicine, Drum Tower Hospital, Nanjing University Medical School

Objective: For efficient treatment and control of systemic lupus erythematosus (SLE), it is pertinent to be able to precisely identify and predict lupus nephritis (LN). The current gold standard for this is renal biopsy but that is invasive, making it less attractive for dynamic monitoring of disease progression. In this work, we anticipated and proved that serum extracellular vesicles (EVs) enclosed tRNA-derived small noncoding RNA (tsRNA) can be emerging biomarkers for executing LN diagnosis noninvasively.

Methods: First, EVs from the serum of SLE patients and healthy controls (HCs) were extracted. Small RNA sequencing was used to carry out the identification of differentially expressed candidate EV-tsRNAs. Subsequently, validation was performed using quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR). The diagnostic usefulness of EV-tsRNAs was evaluated using a support vector machine algorithm. The structure and function of target tsRNA were analyzed using proficient bioinformatics tools.

Results: Initially, 88 upregulated and 66 downregulated tsRNAs were identified through high-throughput sequencing. We selected the top 10 upregulated tsRNAs, with high abundance, for subsequent PCR validation experiments. Specifically, tRF-Tyr-GTA-1-M2, which was expressed at a high level in the LN group (**P < 0.01), was significantly correlated with 24h urine protein, anti-dsDNA and SLE activity index (SLEDAI). The area under

the receiver operating curve (AUC) of tRF-Thr-TGT-4-M3 and tRF-Tyr-GTA-1-M2 for SLE diagnosis could reach 0.87, when combined with clinical indicators of SLE. Moreover, GO and KEGG suggest that both tRF-Thr-TGT-4-M3 and tRF-Tyr-GTA-1-M2 were involved in the immune process by manipulating the vitamin D receptor and in the repairing of muscle cell injury related signaling pathway.

Conclusions: For the first time, we are reporting that for proficient diagnosis of LN serum EV-tsRNAs can be used as biomarkers. Moreover, the candidate tsRNAs were found to be closely associated with the clinical parameters of LN and were indicative of the disease activity of LN. EV-tsRNAs might have crucial function in the physiological progression of LN, presenting a promising avenue for novel therapeutic targets in forthcoming treatment modalities.

2型糖尿病患者血糖水平 对肿瘤标志物CEA、CA199、CA724的影响

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2型糖尿病患者血糖水平对肿瘤标志物CEA、CA199、CA724的影响。

方法：收集2021年1月至2021年6月在江苏省人民医院内分泌科就诊的2型糖尿病患者96例，及同期在体检中心进行健康体检者51例，两组均排除肿瘤、肝炎以及贫血等疾病。使用罗氏Cobas e 602电化学发光分析仪检测CEA、CA199及CA724水平，使用奥林巴斯AU2700全自动生化分析仪检测空腹血糖水平，使用全自动糖化血红蛋白分析仪HLC-723G11检测HbA1c水平。分析两组人群CEA、CA199及CA724水平的差异，以及血糖、HbA1c与CEA、CA199、CA724的相关性。

结果：糖尿病组CEA、CA199的水平显著高于健康体检组，差异有统计学意义（ $P < 0.001$ ），CA724亦随血糖水平的增高而呈上升趋势，Spearman相关性分析显示，FBG与CEA、CA199呈正相关（ $P < 0.001$ ）、HbA1c与CEA、CA199呈正相关（ $P < 0.001$ ）。FBG、HbA1c与CA724呈弱相关（ $P < 0.05$ ）。

结论：2型糖尿病患者CEA、CA199及CA724水平较健康体者显著升高，且与FBG、HbA1c有相关性，推测其肿瘤标志物升高与血糖控制不佳密切相关。

Comparison of two different systems for testosterone measurement

Wei Zhang*

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.

Clinical value of serum DJ-1 in lung adenocarcinoma

Wei Zhang*

the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University

Objective: DJ-1 is an oncoprotein secreted by cancer cells. However, the physiological and pathological significance of DJ-1 secretion is not clearly understood. This study investigated the clinical value of serum DJ-1 in lung adenocarcinoma (LUAD).

Methods: The study involved 224 LUAD patients, 110 patients with benign pulmonary disease and 100 healthy controls from the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University. We detected serum concentrations of DJ-1, carcinoembryonic antigen (CEA), neuron-specific enolase (NSE), and cytokeratin 19 fragment (CYFRA21-1). The diagnostic performance of LUAD was obtained using receiver operating characteristic (ROC) curves. Kaplan-Meier, univariate and multivariate Cox regression analyses were performed for progression-free survival (PFS).

Results: Serum DJ-1 levels were significantly higher in the LUAD group compared to the benign pulmonary disease group (5.04 vs. 3.66 ng/mL, $P < 0.001$) and healthy controls (5.04 vs. 3.51 ng/mL, $P < 0.001$). DJ-1 levels were associated with gender ($P = 0.002$), smoking history ($P = 0.042$) and lymph node metastasis ($P = 0.040$). ROC curve analysis of DJ-1 revealed an area under the curve (AUC) of 0.758 (95% CI 0.714-0.803, $P < 0.001$) with a sensitivity of 63.8% and specificity of 78.6% at a cutoff value of 4.62 ng/mL for the detection of LUAD. Univariate and multivariate analyses confirmed that the preoperative serum DJ-1 level, tumor stage and smoking history were independent prognostic factors of PFS.

Conclusion: These findings highlight the clinical value of serum DJ-1 as a novel predictor for LUAD.

Regulatory Effects of N6-methyladenosine (m6A) Methylation Modification in Immune Response and Autoimmune Diseases

Huiyong Peng*, Zhangwei Zhu, Shengjun Wang, Yngzhao Liu
The Affiliated People's Hospital of Jiangsu University

N6-methyladenosine (m6A) modification is a dynamic and reversible post-transcriptional modification that occurs at the RNA levels. It is also one of the extensively prevalent methylation modifications in eukaryotic RNA. Through its regulatory impact on gene expression, m6A modification plays a pivotal role in various biological processes such as cellular immunity and tumor formation. This article aims to review the current advances on the immunomodulatory mechanism mediated by m6A modification, delve deeply into its effects on immune cell proliferation, differentiation, function, and autoimmune diseases. The objective of this review is to enhance a comprehensive understanding of the pathogenic mechanisms underlying autoimmune diseases.

荷瘤小鼠PMN-MDSCs细胞A2BR表达及功能的实验研究

黄娇娇*、王胜军
江苏大学

本文主要研究荷瘤小鼠髓源性抑制细胞(MDSCs)表面腺苷受体A2BR的表达情况及其对细胞功能的影响,并探讨可能的分子机制。FCM分析显示,荷瘤小鼠脾脏MDSCs表面A2BR表达水平的MFI值明显高于A2AR($P<0.05$);A2BR的mRNA表达水平也显著高于A2AR($P<0.001$)。荷瘤小鼠脾脏MDSCs中A2BR蛋白表达水平是野生型小鼠脾脏MDSCs中A2BR蛋白表达水平的1.5倍($P<0.05$),且荷瘤小鼠肿瘤浸润性MDSCs中A2BR蛋白表达水平是脾脏MDSCs中A2BR蛋白表达水平的1.3倍($P<0.05$)。Westernblot结果显示,PMN-MDSCs中A2BR的表达高于M-MDSCs。与DMSO对照组相比,A2BR激动剂BAY60-6583处理组的PMN-MDSCs抑制CD4⁺T和CD8⁺T细胞增殖的能力明显增强($P<0.05$),其胞内Arg-1活性水平和蛋白水平没有明显变化,产生的NO含量也没有明显变化,而胞内ROS水平增加1.58倍($P<0.05$)。BAY60-6583处理后,PMN-MDSCs中NOX2的蛋白表达水平是DMSO对照组的1.5倍($P<0.001$),mRNA表达水平是DMSO对照组的2.0倍($P<0.05$)。先使用NOX2抑制剂GSK2795039处理PMN-MDSCs后,再加入BAY60-6583处理,细胞中ROS水平明显低于对照组($P<0.05$)。敲减PMN-MDSCs中NOX2的表达后,再加入BAY60-6583处理,细胞中ROS水平也明显低于对照组($P<0.05$)。A2BR激动剂BAY60-6583处理PMN-MDSCs后,可以显著增加细胞中STAT3的磷酸化水平,且在30分钟时p-STAT3表达水平最高。使用STAT3磷酸化抑制剂Stattic处理PMN-MDSCs后,再加入BAY60-6583,Stattic和BAY60-6583联合处理组的NOX2蛋白水平和mRNA水平的明显低于对照组($P<0.01$)。Chip-qPCR结果显示PMN-MDSCs胞内STAT3分子可以结合在NOX2的启动子区域($P<0.05$);并且BAY60-6583处理PMN-MDSCs,可以增加转录因子

STAT3在NOX2启动子区域的结合 ($P < 0.05$)。PKA抑制剂H-89或PI3K抑制剂LY294002处理PMN-MDSCs后,再加入BAY60-6583,细胞中的STAT3磷酸化水平无明显变化;而PKC抑制剂Go 6983处理PMN-MDSCs后,再加入BAY60-6583,结果显示Go 6983和BAY60-6583联合处理组的STAT3磷酸化水平明显低于对照组。体内实验结果表明,与DMSO对照组相比,PSB-1115处理组荷瘤小鼠脾脏中Th1比例无明显变化,CTL比例增加;淋巴结中Th1和CTL比例无明显变化;肿瘤中Th1比例增加,CTL比例无明显变化。结果表明,A2BR拮抗剂PSB-1115作用后,PMN-MDSCs促进肿瘤进展的能力减弱。

上述结果表明,荷瘤小鼠PMN-MDSCs高水平表达腺苷受体A2BR,A2BR激动剂BAY60-6583可以增强PMN-MDSCs的免疫抑制功能,其机制主要是通过PLC/PKC信号增强胞内STAT3磷酸化水平,促进NOX2的转录和表达,进而增加细胞内ROS水平。

结肠炎性环境中 G-MDSC来源外泌体介导M-MDSCs向巨噬细胞分化

王运刚*、邵可可、郑雨、张哲、曹云
盐城市第一人民医院

背景:在炎症性肠病微环境中,MDSC的转分化和M2巨噬细胞的积累对于结肠炎向癌症的转变至关重要。研究结肠炎-癌症转化过程中髓源性抑制细胞(MDSCs)和M2巨噬细胞之间的串扰和潜在机制为结肠炎相关癌症(CAC)治疗的预防提供方向和理论基础。

方法:采用细胞实验、免疫荧光、流式细胞术、小干扰RNA等研究粒细胞性MDSCs(G-MDSCs)或外泌体(Exo)调节单核细胞性MDSCs(M-MDSCs)向M2巨噬细胞分化的作用和潜在机制。利用DSS诱导的结肠炎和CAC小鼠模型,研究抗IL-6抗体和STAT3抑制剂的体内疗效和机制。

结果:G-MDSC通过exosomal miR-93-5p抑制STAT3活性促进M-MDSC向M2巨噬细胞。IL-6促进miR-93-5p在G-MDSC外泌体(GM-Exo)中的富集。早期使用IL-6抗体可增强STAT3抑制剂对CAC的作用。

结论:IL-6促进G-MDSC exosomal miR-93-5p分泌调控M-MDSC向M2巨噬细胞分化。将STAT3抑制剂与抑制IL-6介导的G-MDSC exosomal miR-93-5p分泌策略联用,有利于CAC防治。

基于铁死亡基因结肠癌分子预后模型的建立与分析

黄奔*
江苏省人民医院(南京医科大学第一附属医院)

目的:分析结肠癌中铁死亡相关基因,构建基于铁死亡相关基因表达的分子预后模型。

方法:在癌症基因图谱数据库(the cancer genome atlas,TCGA)中下载结肠癌转录组测序数据和患者的临床信息。利用R 4.1.0软件获取结肠癌患者相应铁死亡相关基因的表达数据并进行差异基因的分析。使用功能富集分析差异基因参与的生物学作用和功能。结合患者的生存资料,利用COX回归分析筛选出与患者预后相关的基因,构建风险评分方程Risk score。根据Risk score的中位值,将结肠癌患者划分为高、低风险组两组。利用受试者工作特征曲线来评价预后模型的灵敏度和特异度。

结果：与正常组织相比，结肠癌组织中共有72个失调表达的铁死亡相关基因。功能富集分析结果显示，差异基因主要参与铁死亡以及肿瘤相关的信号通路。多因素COX回归模型结果显示有4个铁死亡相关基因（DRD4、TFAP2C、ENPP2、CAV1）与患者的预后相关（ $P < 0.05$ ），可以用于风险预后模型的构建。 $\text{Risk score} = 0.377 \times \text{DRD4EXP} + 0.115 \times \text{TFAP2C EXP} + 0.058 \times \text{ENPP2 EXP} + 0.014 \times \text{CAV1 EXP}$ 。生存分析结果显示，高风险值患者的总体生存率较差（ $P < 0.05$ ）。ROC曲线分析结果显示，模型预测患者1年、3年、5年生存率的AUC数值分别是0.714、0.750、0.759，表明模型具有较好的灵敏度和特异度。

结论：成功建构了基于铁死亡相关基因表达的风险预后模型，该模型可较好的预测结肠癌患者的预后。

基于TCGA数据库肺腺癌mRNA预后风险模型的建立与分析

缪淑贤*

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：寻找肺腺癌中失调表达的基因，筛选出与肺腺癌病人预后存在显著关联的基因，构建基于mRNA表达谱的预测肺腺癌病人预后的风险模型。

方法：从TCGA官方网站下载肺腺癌原始RNA测序数据和病人的临床资料，使用R 3.6.0软件的edgeR包筛选肺腺癌中差异表达的基因，使用单因素cox回归分析这些差异的基因中与生存显著相关的mRNA，进一步使用多因素cox回归分析筛选，建立风险预测模型。使用ROC曲线和C-index指数评价建立的模型的准确性。

结果：多因素Cox回归分析纳入了18个mRNA并建立风险预测模型。 $\text{Risk score} = 0.11 * \text{KRT6AEXP} + 0.09 * \text{IGF2BP1EXP} + 0.20 * \text{MELTFEXP} + 0.13 * \text{RTL1EXP} + 0.09 * \text{DKK1EXP} + 0.36 * \text{HMMREXP} - 0.15 * \text{CREG2EXP} + 0.31 * \text{ERO1AEXP} + 0.13 * \text{FETUBEXP} + 0.08 * \text{NTSR1EXP} + 0.07 * \text{IGFBP1EXP} + 0.26 * \text{KIF14EXP} - 0.35 * \text{PRC1EXP} - 0.24 * \text{CDKN3EXP} - 0.11 * \text{GJB3EXP} - 0.09 * \text{GRIA1EXP} - 0.15 * \text{ARNTL2EXP} - 0.14 * \text{SLC2A1EXP}$ 。模型中高风险组的病人总生存率显著低于低风险组，ROC曲线下面积数值（ $\text{AUC} = 0.743$ ）和C-index数值（ $\text{C-index} = 0.752$ ）显示模型具有良好的灵敏度和特异度。

结论：成功构建了肺腺癌mRNA风险预后模型，这18个mRNA是肺腺癌的关键基因。

Metformin-mediated inhibition of mTOR/STAT3/ROR α pathway in 17 T cell ameliorates inflammatory bowel disease

Yungang Wang*, Yu Zheng, Zhe Zhang
The First People's Hospital of Yancheng City

BACKGROUND: Metformin use has been associated with improved severity in experimental colitis. gd17

T cells play critical role in initiating and maintaining intestinal inflammation via IL-17 signaling pathways. The regulatory role of metformin on gd T cells and underlying mechanisms remain poorly defined.

METHODS: The roles of metformin on gd17 T cell polarization were observed in DSS-induced colitis mice. The mechanism involving inhibition of ROR γ t signalling was investigated. The role of gd17 T cells in Th17 cell differentiation was investigated by Th17 cell differentiation assay and the adoptive transfer of gd17 T cells to IBD mice. The relationship between gd17 T cells and Th17 cells in IBD patients was investigated by using FACS, ELISA.

RESULTS: We find that metformin suppresses gd17 T cell polarization, which is associated with the inhibition of ROR γ t as downstream targets of STAT3. The adoptive transfer of exogenous gd17 T cells blocks metformin-mediated colitis inhibition. gd17 T cells promote Th17 cell differentiation, and the adoptive transfer of gd17 T cells substantially blocks metformin-mediated Th17 cell inhibition in IBD mice. In addition, study-based IBD patients show that gd17 T cells positively are correlated with IBD stages and Th17 cell accumulation, and metformin suppresses the expression of ROR γ t in gd T cells and subsequent IL-17 production.

CONCLUSION: Our study uncovers that metformin attenuates IBD by suppressing gd17 T cell polarization by the inhibition of ROR γ t as downstream targets of STAT3 and subsequent Th17 differentiation, which can offer a new opportunity for clinical therapy for IBD.

血清5' NT、LAP、ALP与GGT检测 在肝脏疾病中的临床价值

宗艺*

江阴市中医院

目的: 探讨血清中5' 核苷酸(5' -NT)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)、碱性磷酸酶(ALP)和r-谷氨酰转移酶(GGT)在肝脏疾病中的临床价值。**方法:** 选取2018年4月1日至2018年5月31日江苏省人民医院收治的92例肝脏疾病患者为对象,按照疾病类型将96例肝脏疾病患者分为肝癌组(n=22)、肝硬化组(n=34)、肝炎组(n=36)。以同期23例健康体检者为对照组。比较各组5' -NT、LAP、ALP与GGT水平,并分析其诊断肝脏疾病的价值。**结果:** 肝癌组、肝硬化组、肝炎组5' NT、LAP、ALP和GGT水平均高于对照组(P < 0.05),肝癌组5' NT、LAP、ALP与GGT均高于肝硬化组和肝炎组(P < 0.05);肝硬化组5' NT、LAP、ALP与GGT均高于肝炎组,差异有统计学意义(P < 0.05)。ALP诊断肝癌的准确率为90.91%,高于其他指标,ALP诊断肝硬化的准确率为58.82%,高于其他指标,但诊断的价值不高,GGT诊断肝炎的准确率为41.67%。5' NT、LAP、ALP与GGT四者联合检测诊断肝癌、肝硬化、肝炎的准确率分别为95.45%、76.47%、58.33%,联合检测诊断的准确率高于四者单独诊断(P < 0.05)。**结论:** 血清5' NT、LAP、ALP与GGT在肝脏疾病的诊断中具有重要作用,联合四者进行检测可有效提升肝癌、肝硬化、肝炎诊断的准确率。

研究方法: 所有肝脏疾病患者入院后进行空腹采集静脉血。检测5' 核苷酸酶(5' -nucleotidase, 5' -NT)、亮氨酸氨基转肽酶(Leucineaminotranspeptidase, LAP)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)与r-谷氨酰转移酶(R-Glutamyltransferase, GGT)等项目。血清5' NT测定试剂盒由宁波瑞源生物科技有限公司提供,ALP、GGT测定试剂盒由贝克曼库尔特实验系统(苏

州)有限公司提供, LAP测定试剂盒由世诺临床诊断制品(上海)贸易有限公司提供。质控血清为伯乐生化质控品。

结果:

各组5' NT、LAP、ALP与GGT水平比较:

肝癌组、肝硬化组、肝炎组、对照组5' NT、LAP、ALP和GGT水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。肝癌组、肝硬化组、肝炎组5' NT、LAP、ALP和GGT水平均高于对照组($P < 0.05$)。肝癌组5' NT、LAP、ALP与GGT均高于肝硬化组($t=4.319、6.513、7.598、8.371$, 均 $P < 0.05$)和肝炎组($t=9.201、7.805、9.250、9.181$, 均 $P < 0.05$),差异有统计学意义($P < 0.05$),肝硬化组5' NT、LAP、ALP与GGT均高于肝炎组($t=5.470、2.380、2.770、2.165$),差异有统计学意义($P < 0.05$)

不同肝脏疾病组血清酶单项和联合检测阳性率比较:

ALP诊断肝癌的准确率为90.91%,高于5' NT、LAP、GGT等检测;ALP诊断肝硬化的准确率为58.82%,高于5' NT、LAP、GGT等指标,但诊断的价值不高,GGT诊断肝炎的准确率为41.67%,较5' NT、LAP、ALP等指标较高。5' NT、LAP、ALP与GGT四者联合检测诊断肝癌、肝硬化、肝炎的准确率分别为95.45%、76.47%、58.33%,联合检测诊断的准确率高于一者单独诊断($P < 0.05$)

讨论:肝脏为人体重要的物质代谢器官,期内含有丰富的酶类物质,几乎机体内所有的酶均储存在肝细胞中。发生肝胆疾病时,受损的肝细胞迅速将胞内的各种酶释放入血,引起血清中酶含量增加。临床据此了解肝胆病变的性质、程度等,做出诊断。本文结果显示肝癌组5' NT、LAP、ALP与GGT均高于肝硬化组和肝炎组,肝硬化组5' NT、LAP、ALP与GGT均高于肝炎组,提示5' NT、LAP、ALP、GGT在不同肝脏疾病中表达水平存在差异,检测上述指标可用于肝硬化或肝癌的诊断。既往研究指出,酶学相关指标在肝脏疾病的临床诊断中,单独检测的敏感度及特异度均较差,可能与上述指标易受外界因素干扰有关。目前临床推荐采用联合检测用于疾病的诊断及预后评估,联合检测可结合各指标的优势,最大限度的减少漏诊及误诊率,提升诊断的准确率。

METTL3小分子抑制剂STM2457 通过m6A修饰调控胃癌细胞损伤、死亡

郑雨*、邵可可、王运刚、马盼盼

盐城市第一人民医院

背景: N6-腺苷甲基化(m6A)是真核生物中最常见的内部RNA修饰形式,多数研究表明以METTL3和METTL14为主的m6A编码器发挥着促进肿瘤细胞生长、存活和侵袭的作用。其中, METTL3是催化腺嘌呤N6位甲基化最重要的甲基转移酶。METTL3在胃癌中高表达且与患者不良预后相关。METTL3小分子抑制剂STM2457能够抑制胃癌细胞增殖;增强胃癌细胞脂质过氧化水平;促进胃癌细胞损伤、死亡。研究STM2457调控胃癌细胞损伤的潜在机制为胃癌的靶向治疗提供重要的科学理论依据。

方法: 采用细胞实验(CCK-8、克隆增殖实验、细胞周期实验、TUNEL染色)、免疫荧光(ROS探针、C11BODIPY 581/591脂质过氧化荧光探针)、流式细胞术、透射电镜、MeRIP-qPCR、慢病毒过表达等实验方法研究METTL3小分子抑制剂STM2457促进胃癌细胞损伤、死亡的作用和潜在机制。利用裸鼠皮下移植瘤模型,研究STM2457体内疗效和作用机制。

结果：（1）STM2457能够明显抑制胃癌细胞增殖，使胃癌细胞停滞在S期；但对正常胃粘膜上皮细胞GES-1的影响较弱。（2）STM2457上调胃癌细胞脂质过氧化水，促进胃癌细胞损伤、死亡。（3）STM2457通过m6A修饰促进胃癌细胞损伤、死亡，过表达GPX4可部分回转STM2457对胃癌的抑制作用。

结论：STM2457通过抑制METTL3活性下调胃癌细胞m6A水平，抑制胃癌细胞增殖、促进胃癌细胞损伤、死亡，最终抑制胃癌的发展进程。

Tumor microenvironment, histone modifications, and myeloid-derived suppressor cells

Xinyu Tian^{★1}, Han Shen¹, Shengjun Wang²

1. Nanjing Drum Tower Hospital ; 2. Jiangsu University

Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) are important components of the tumor microenvironment (TME), which drive the tumor immune escape by inducing immunosuppression. The expansion and function of MDSCs are tightly associated with signaling pathways induced by molecules from tumor cells, stromal cells, and activated immune cells in the TME. Although these pathways have been well-characterized, the understanding of the epigenetic regulators involved is incomplete. Since histone modifications are the most studied epigenetic changes in MDSCs, we summarize current knowledge on the role of histone modifications in MDSCs within this review. We first discuss the influence of the TME on histone modifications in MDSCs, with an emphasis on histone modifications and modifiers that direct MDSC differentiation and function. Furthermore, we highlight current epigenetic interventions that can reverse MDSC-induced immunosuppression by modulating histone modifications and discuss future research directions to fully appreciate the role of histone modifications in MDSCs.

血清抗突变型瓜氨酸波形蛋白抗体在类风湿关节炎的临床诊断价值

张小云[★]

淮安市第一人民医院

ed vitamin D, 25-(OH)D) 在类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis, RA) 中的临床诊断价值。方法 466例RA患者为RA组、100例非RA自身免疫病患者为非RA组, 100例健康者为对照组, 检测患者血清抗CCP抗体、抗MCV抗体和25-(OH)D水平, 收集RA患者和对照组相关实验室指标并分析。结果 RA组血清抗CCP抗体 (583.40 ± 40.37 RU/ml) 和抗MCV抗体 (538.20 ± 46.22 u/ml) 明显高于非RA组和对照组 ($P < 0.001$), 血清25羟基维生素D水平 (15.53 ± 3.94 ng/ml) 明显低于对照组 ($P < 0.001$); ROC曲线分析结果显示, 抗CCP抗体、抗MCV抗体及25-(OH)D诊断RA的AUC分别为0.74、0.81和0.75, 抗CCP抗体在RA中的敏感性为61.20%, 特异性为87.10%; 抗MCV抗体在RA中的敏感性为83.70%, 特异性为79.40%; 25羟基维生素D在RA中的敏感性为48.80%, 特异性为89.30%。联合三项指标诊断RA的AUC为0.90, 敏感性为

83.70%，特异性为82.40%。抗MCV抗体与ESR、CRP呈正相关性($r=0.66$, $P<0.05$; $r=0.64$, $P<0.05$)，与C3、C4呈负相关性($r=-0.69$, $P<0.01$; $r=-0.62$, $P<0.01$)。结论 抗CCP抗体、抗MCV抗体和25-(OH)D诊断RA均有较好的敏感性和特异性，抗MCV抗体有助于RA疾病活动性的判断。

亚临床甲状腺功能亢进症患者骨代谢标志物水平分析

褚莹*

无锡市第九人民医院

目的：观察亚临床甲状腺功能亢进对于骨代谢的影响。

方法：选取2022年11月-2023年3月在我院查体的人员共104例。其中健康体检54例（对照组），亚临床甲状腺功能亢进患者50例（亚甲亢组）。受试者清晨空腹采集静脉血5ml，收集血清储存于 -80°C 备用。采用化学发光法定量检测两组血清中骨代谢标志物甲状旁腺激素（iPTH）、骨钙素（BGP）、25-羟基维生素D（25-OH-VD）、 β 胶原特殊序列（ β -CTx）、总I型胶原氨基端延长肽（P1NP）、Ca、P和碱性磷酸酶（ALP）的水平以及甲状腺功能指标血清游离三碘甲状腺原氨酸（FT3）、游离甲状腺激素（FT4）和促甲状腺激素（TSH）的水平。数据分析统计采用SPSS 20.0统计软件。连续定量资料用 \bar{X} 表示。独立样本间的均数采用t检验，率和频数比较采用 χ^2 检验。用Pearson相关分析进行变量间的相关性分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果：亚甲亢组与对照组年龄、性别占比、糖尿病，高血压构成比差异无统计学意义（ $P<0.05$ ），甲状腺功能指标差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。亚甲亢组外周血清 β -CTx、P1NP、25-OH-VD、Ca、P和ALP的含量与对照组比较，差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ）。亚甲亢组iPTH含量显著高于对照组（ $P<0.0001$ ），并且亚甲亢组BGP含量显著低于对照组（ $P<0.0001$ ）。双变量相关性分析显示亚临床甲状腺功能亢进患者TSH与iPTH呈现显著正相关（ $r=0.3950$, $P=0.0060$ ），FT3与BGP呈现显著正相关（ $r=0.4878$, $P=0.0005$ ）。

讨论：本研究结果显示亚甲亢组外周血清 β -CTx、P1NP、25-OH-VD、Ca、P和ALP含量与对照组比较，差异均无统计学意义。亚甲亢组iPTH含量增加，BGP含量降低。并且亚甲亢组TSH与iPTH，FT3与BGP呈现显著正相关。iPTH是由甲状旁腺主细胞合成和分泌的多肽激素。iPTH可以增强破骨细胞活性，促进骨吸收，同时动员骨钙入血。研究表明iPTH水平与骨密度呈负相关。BGP由成骨细胞合成分泌，通过血液中的BGP可以了解成骨细胞的活动状态。本研究结果中亚甲亢组iPTH升高、BGP降低提示破骨细胞活跃，成骨细胞活性降低，亚临床甲状腺功能亢进患者可能存在骨密度降低并伴随骨质疏松等风险。血清P1NP和 β -CTx可以作为预测骨折风险的生物学指标，其表达与骨折风险呈正相关。本研究结果中虽然亚甲亢组P1NP和 β -CTx的表达水平与对照组无统计学意义，但也呈现上升趋势，说明亚临床甲状腺功能亢进患者存在更高的骨折发生风险。综上所述，亚临床甲状腺功能亢进患者骨代谢异常，iPTH增加，BGP降低。临床上通过对亚临床甲状腺功能亢进患者的骨代谢情况进行筛查，可以尽早发现并干预，减少骨质疏松，骨量减少以及骨折的风险。

METTL3 modifying CD40L mRNA in Tfh cell promotes the pathogenesis of autoimmune arthritis

Huimin Zhou*, Jie Tian, huaxi xu, Shengjun Wang
Jiangsu University

Background: METTL3 is an important regulator of m6A modification, which is thought to be associated with autoimmune diseases. However, the expression of METTL3 on Tfh cells in collagen-induced arthritis (CIA) mice during disease progression and its regulatory mechanisms are unclear.

Objective: To investigate the effect of METTL3-mediated m6A methylation modification on Tfh cell function from CIA mice.

Method: METTL3 expression in Tfh cell from CIA mice was analyzed by FCM. The existence of m6A modification on mRNA of CD40L was detected by MeRIP-qPCR. CHIP-qPCR was verified whether STAT3 can combine with the transcriptional promoter region of METTL3.

Results: The proportion of Tfh cells and the expression of METTL3 in Tfh cells were significantly increased in CIA mice as the disease aggravated. In vivo, knockdown of METTL3 resulted in decreased B-cell immune response in Tfh cell-mediated CIA mice. Knockdown of METTL3 significantly reduced CD40L expression in Tfh cells, inhibiting B-cell differentiation and IgG production. MeRIP-qPCR confirmed the existence of m6A modification in CD40L mRNA. Compared with control group, the half-life of CD40L mRNA was shortened in the METTL3 knockdown group, and RIP-qPCR results showed that the level of IGF2BP3 binding to CD40L mRNA was significantly reduced. IL-21 enhanced the phosphorylation of STAT3 in Tfh cells, which can bind to the METTL3 promoter region and promote its transcription.

Conclusions: IL-21/STAT3 promotes METTL3 expression in Tfh cells during disease progression in CIA mice. METTL3 enhances CD40L mRNA stability by m6A-IGF2BP3, which in turn upregulates CD40L expression, promoting B-cell differentiation and antibody production, and exacerbating disease progression in CIA mice.

PAD2 介导的STAT3瓜氨酸化修饰增强荷瘤小鼠PMN-MDSCs免疫抑制功能

滕一*、汤新逸、王胜军
江苏大学

研究精氨酸脱亚胺酶2 (PAD2) 介导的STAT3瓜氨酸化修饰对粒细胞样髓源性抑制细胞 (PMN-MDSCs) 免疫抑制功能的调控作用, 并初步探讨其分子机制, 为进一步了解荷瘤小鼠PMN-MDSCs的功能变化提供新思路。结果发现: 荷瘤小鼠脾脏来源MDSCs中表达5种PADs亚型, 肿瘤组织来源的MDSCs中PAD2蛋白表达水平和PAD4蛋白表达水平均明显高于脾脏MDSCs。使用肿瘤组织培养上清 (TES)

处理MDSCs后,细胞内的PAD2和PAD4蛋白表达水平均明显增加;在肿瘤生长过程中,荷瘤小鼠体内MDSCs及其亚群的PAD2和PAD4表达水平明显增加。敲减细胞中PAD2后,PMN-MDSCs的免疫抑制功能明显下降($P<0.05$),而敲减PAD4后,PMN-MDSCs的免疫抑制功能无明显变化($P>0.05$)。进一步研究发现PAD2可以催化STAT3分子上精氨酸残基发生瓜氨酸化修饰,促进Arg-1的转录,增强PMN-MDSCs的免疫抑制功能。

Alkbh5调控荷瘤小鼠MDSCs免疫抑制功能的实验研究

冯丽丽*、李敏、王胜军
江苏大学

N6腺苷酸甲基化(m6A)是真核生物mRNA最常见的表观遗传修饰。本文主要研究m6A去甲基化酶Alkbh5在髓源性抑制细胞(MDSCs)中的生物学作用,并初步探讨其调控机制,为针对MDSCs的免疫疗法提供新的实验依据。CT26荷瘤小鼠脾脏MDSCs中m6A水平随荷瘤进展显著升高,去甲基化酶Alkbh5表达下调,而去甲基化酶FTO的表达无明显差异。Alkbh5能够显著降低MDSCs效应分子Arg-1和iNOS的表达及活性,其机制主要是Alkbh5通过下调Arg-1 mRNA上m6A修饰降低其mRNA稳定性和蛋白表达,从而增强MDSCs的免疫抑制功能,促进肿瘤生长。

CXCL9、CXCL11及GBP1作为潜在新型类风湿关节炎鉴别诊断标志物的应用研究

刘庆阳*、夏进军、姜风英、王秋波
无锡市第九人民医院

目的:类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是目前非常常见的慢性自身免疫性疾病,然而,由于缺乏有效的生物标志物,早期类风湿关节炎诊断与鉴别诊断仍存在困难。本研究旨在通过生物信息学分析,在转录组水平上寻找类风湿关节炎潜在新型生物标志物,并对其应用价值进行验证。

方法:从GEO数据库下载RA及骨关节炎(Osteoarthritis, OA)转录组芯片数据,筛选异表达基因(Differentially expressed genes, DEGs)。对所得DEGs进行基因功能,信号通路以及免疫浸润富集分析,构建蛋白互作网络,鉴别关键枢纽基因,并利用不同来源转录组芯片验证关键枢纽基因在类风湿关节炎样本中的表达情况。利用临床RA患者样本对筛选所得关键基因进行表达验证,建立ROC曲线,拟定临界值,并对其对类风湿关节炎诊断效果进行评价。

结果:通过对滑膜转录组芯片分析,共得到151个上调基因与217个下调基因。基因功能及信号通路分析结果提示,筛选出的DEGs主要集中在免疫调节、白细胞增殖、适应性免疫,细胞因子及趋化因子介导信号通路等生物学进程。通过网络构建,筛选出CXCL9、CXCL11及GBP1三个关键枢纽基因,通过其他转录组芯片验证,根据其表达水平可以有效鉴别RA与OA样本。临床样本ELISA验证CXCL9、CXCL11及GBP1在RA患者外周血样本中均呈高表达状态,与非RA样本对比,其ROC曲线面积分别为77.87%、78.90%及88.45%,其灵敏度与特异度均超过80%,与RF或抗CCP联合检测可以有效提高早期类

风湿关节炎的检出率。

结论：CXCL9、CXCL11及GBP1在RA样本中上调表达，并能有效区分RA样本。通过对RA患者外周血进行浓度测定，联合RF或抗CCP检测，可以提高早期类风湿关节炎的诊断效率。CXCL9、CXCL11及GBP1具有作为潜在RA诊断与鉴别诊断标志物可能，采用ELISA进行检测CXCL9、CXCL11及GBP1血清浓度，操作简单，方法成熟，易于临床转化。

Exploring the mechanism of sinomenine against rheumatoid arthritis using network pharmacology, molecular docking and experimental validation

Qingyang Liu*, Jian Wang, Haifeng Li, Qiubo Wang
Wuxi Ninth People's Hospital Affiliated to Soochow University

Objective: Sinomenine has been widely used to treat rheumatoid arthritis (RA) in east Asia. However, the molecular mechanism underlying the effect of sinomenine on RA is poorly understood. This study aimed to investigate the molecular mechanism of sinomenine in treating RA through network pharmacology and experimental validation.

Methods: The critical targets and potential mechanisms of sinomenine against RA were predicted by network pharmacology and molecule docking. Based on network pharmacology, fibroblast-like synoviocytes (FLS) was used to carried out in vitro experiments to further verify the intervention effect of sinomenine on RA. Finally, Connectivity Map (CMap) and STITCH database were applied to identify the novel anti-RA potential compounds.

Results: 29 potential targets in the therapeutic effect of sinomenine in RA were identified. GO and KEGG enrichment analysis indicated that potential targets are mostly enriched in phosphorylation regulation, kinase activity, PD-L1/PD-1 checkpoint pathway, and Th1 Th2, and Th17 cell differentiation. AURKA, CCNE1, CHEK1, IFNG, JAK2, and MAPK8 were identified the key candidate targets, and have binding sites with sinomenine respectively. In vitro experiments revealed that sinomenine exposure down-regulated target gene expression, inhibited the cytokine secretion, promoted apoptosis, and blocked JAK - STAT pathway and PI3K pathway activation in RA fibroblast-like synoviocytes (RA-FLS). Dovitinib, Cycloheximide, and BNTX was screened as the novel anti-RA potential small molecules in RA intervention.

Conclusions: In summary, based on network pharmacology and in vitro experimental validation, the present study revealed a systematic and visual overview of the probable molecular mechanisms and signaling pathways of sinomenine against RA. Our research may be useful in guiding further research to determine the molecular targets of sinomenine in RA, and suggested that network pharmacology combined with experimental validation can be applied to drug discovery against RA.

Validation of JAK/STAT signaling pathway is essential in Epimedium koreanum Nakai treatment of rheumatoid arthritis based on network pharmacology, molecular docking and experimental evidence

Qingyang Liu*, Chunhui Ding, Xiaohong You, Qiubo Wang
Wuxi Ninth People's Hospital Affiliated to Soochow University

Aim of the study: Epimedium koreanum Nakai (EKN), as a famous classical prescription in the traditional Chinese medicine (TCM), has been widely used in treatment of bone diseases. In the clinical practice of TCM, formulas containing EKN are commonly used to treat rheumatoid arthritis (RA). However, its specific ingredients and molecular mechanisms is still unclear. This study aimed to investigate the molecular mechanism of EKN in treating RA through network pharmacology and experimental validation.

Materials and methods: Based on network pharmacology approaches, the active ingredients of EKN and gene targets for treating RA were identified. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway were performed for enrichment analyses. The protein-protein interaction (PPI) network of potential target genes of EKN against RA was constructed, and the key candidate targets of EKN were selected and performed molecular docking. In vitro and in vivo experiments were carried out to verify the intervention effect of EKN on RA based on network pharmacology analyses.

Results: 53 potential targets in the therapeutic effect of EKN in RA were identified. PPI network was constructed and one module with STAT1 as seed was identified. Enrichment analysis indicated that genes of the module are mostly enriched in fibroblasts regulation related biological processes, protein kinase cellular components, and transcription related molecular functions. The pathway analyses showed that the module mainly enriched in apoptosis, JAK/STAT signaling pathway, PI3K/AKT signaling pathway, and CD4+T cells differentiation. STAT1 and EGFR were identified the key candidate targets, and have binding sites with EKN active ingredients respectively. Experiments revealed that EKN extract exposure inhibited the cytokine secretion, promoted apoptosis, and blocked JAK/STAT pathway activation in RA fibroblast-like synoviocytes (RA-FLS). EKN extract treatment alleviated arthritis related symptoms, and regulated the Th17 cells and Treg cells differentiation in collagen-induced arthritis (CIA) mice.

Conclusions: In summary, the present study revealed a systematic and visual overview of the probable molecular mechanisms of EKN against RA. EKN could inhibit the activation of JAK/STAT signaling pathway by binding to STAT1, and alleviated RA related symptoms in CIA mice. However, EKN is composed of many ingredients, further research is necessary to verify the intervention effect of EKN on RA.

ERAD对胸腺上皮细胞发育分化及其功能的影响

刘婷*

江苏大学

目的：胸腺是T细胞分化发育的中枢免疫器官。胸腺上皮细胞（Thymic Epithelial Cells）作为保障T细胞发育和建立中枢耐受性的关键细胞成分，按照定位、特征表型以及功能特异性主要分为皮质TEC (cTECs)和髓质TEC (mTECs)，并可在不同发育时期调节特征性基因的表达以及信号分子的分泌，分别调节T细胞的早期 β 选择，阳性选择以及阴性选择过程。Sel1L (Suppressor/Enhancer of Lin-12-like) 是内质网上的I型跨膜蛋白，与E3连接酶HRD1形成复合体，参与ERAD对于非正常折叠蛋白的降解过程，是ERAD的重要组成分子。有文献基础表明TEC的蛋白质稳态对于其发挥功能至关重要，且中枢耐受受损的机体自身免疫易感性增加。但Sel1L分子参与组成的ERAD在维护胸腺组织结构及TECs功能中的作用尚不明确。

材料和方法 通过Cre-Loxp重组酶系统构建TECs中定向敲除Sel1L的小鼠模型，在此基础上综合评估胸腺组织学变化；通过流式细胞术评估胸腺中TEC亚群的变化以及不同发育阶段T细胞的变化；利用流式细胞术分析外周T细胞亚群变化，并结合脾脏T细胞的TCR测序分析TCR的组成变化；最后根据外周肺、肝、结肠、肾H&E染色以及血清抗核抗体检测判断外周自身免疫水平。

结果：TECs中Sel1L缺失导致小鼠胸腺严重萎缩，胸腺上皮细胞比例与绝对数均明显降低，其中髓质上皮细胞比例降低更严重；胸腺中各发育阶段的T细胞亚群比例无明显变化，但CD8+T细胞的比例明显减少，且各发育阶段T细胞绝对数均明显减少；外周T细胞亚群比例无明显变化，但脾脏T细胞TCR组成改变，TCR多样性明显减少，克隆性明显增加；肝脏、肾脏无明显淋巴细胞浸润，肺脏和结肠中淋巴细胞浸润较为明显，且外周血自身抗体水平增加。

结论：TEC特异性缺失Sel1L,导致小鼠胸腺更早发生严重萎缩和退化,胸腺上皮细胞及胸腺细胞数总数及比例明显降低，虽然外周的T细胞亚群比例无明显改变,但外周中CD4+T以及CD8+T细胞TCR多样性降低,且外周自身免疫易感性增加，机体免疫稳态下降。

Reference ranges of B lymphocyte subpopulations in peripheral blood of healthy adults

Ying Yin*, Wei Mao, Jian Zou

The Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University

Objective: Establish a protocol for assessing B lymphocyte subpopulations before and after B cell depletion therapy and construct a reference range for B cell subpopulations in healthy adults using high-throughput flow cytometry.

Methods: Recruiting healthy individuals who have been undergoing physical examination at our hospital's physical examination center since April 2023, with inclusion criteria of 1) Age greater than 18 years; 2) No history

of hospitalization within the past year; 3) No infectious diseases within the past month; 4) Not taking any therapeutic medication; 5) No history of chronic diseases (including liver, kidney, hematology, neurology, immune system, or endocrine disorders); 6) Physical examination, blood routine, liver and kidney function, immune function, and tumor-related antigen tests were regular. Two milliliters of twelve-hour fasting blood was collected with EDTA anti-coagulated tubes and stained within 4 hours. For each sample, the B cell subpopulations were analyzed with two tubes. CD45 PerCP-Cy5.5, CD3-FITC, CD16-PE, CD56-PE, CD19-APC, CD4-PE-Cy7, CD8-APC-Cy7 antibody cocktail and CD14-BV421 were used in the first tube to evaluate the overall immune status of each sample and obtain the percent and absolute levels of B cells using a lyse/no-wash procedure based on a single-platform technique. CD3-FITC, CD14-FITC, CD27-PerCP-Cy5.5, CD19-PE-Cy7, CD38-APC, CD20 APC-Cy7, CD45-V500, IgD-R718, IgG-PE, IgM-BV421 antibodies were used in tube 2 to get the percent levels of B cell subpopulations using staining after hemolysis procedure, calculate the absolute level of B cell subpopulations based on the tube 1. Data were analyzed by SPSS software 20.0, and a reference interval of 2.5%–97.5% was calculated for each assay by nonparametric method after excluding outliers.

Results: 175 reference individuals were finally included in this study, including 86 males (47 in the 18–45 age group, 28 in the 46–60 age group, and 11 in the 60+ age group) and 89 females (53 in the 18–45 age group, 29 in the 46–60 age group, and 7 in the 60+ age group). The reference range for each sub-population of B cells were as follow: total B cell ($/\mu\text{l}$): 135.00–512.80; B precursor ($/\mu\text{l}$): 0.04–1.12; Plasmblast ($/\mu\text{l}$): 0.52–14.95; Naive B ($/\mu\text{l}$): 67.46–353.10; Double-Negative B ($/\mu\text{l}$): 3.73–29.74; total Memory B ($/\mu\text{l}$): 20.46–167.39; Un-switched Memory B ($/\mu\text{l}$): 6.61–61.74; Switched Memory B ($/\mu\text{l}$): 14.66–110.66; Switched Memory B IgG+ ($/\mu\text{l}$): 3.40–41.06; Switched Memory B IgG- ($/\mu\text{l}$): 9.14–73.356; B precursor (%B): 0.01–0.39; Plasmblast (%B): 0.20–7.54; Navie B (%B): 43.65–85.02; Double-Negative B (%B): 1.49–10.51; total Memory B (%B): 9.64–46.22; Un-switched Memory B (%B): 2.59–19.78; Switched Memory B (%B): 6.00–32.83; Switched Memory B IgG+ (%B): 1.40–12.52; Switched Memory B IgG- (%B): 3.81–23.72. Total B cell counts and some B cell subsets declined with age and the proportion of some B cell subsets to total B cells varied between gender.

Discussion: B cells are involved in autoimmune diseases through various effector mechanisms. The role of various subpopulations of B cells in autoimmune diseases has been extensively studied over the past decade with the widespread clinical use of B-cell depletion therapies (such as CD20 monoclonal antibodies), and experts have been trying to find reliable biological indicators to monitor the long-term management of these diseases, that tend to recur frequently. The deficient percent and absolute levels of B cell subpopulations under B cell depletion therapy require collecting millions of cells to improve the sensitivity of B cell detection. This study used a high-throughput flow cytometry assay to collect sufficient B cells (hemolysis followed by staining) for analysis. By detecting various subpopulations of B cells in 175 healthy reference individuals, the reference range for each subpopulation was obtained, and the differences in B cell subpopulations between different genders and ages were analyzed, providing a reference basis for the evaluation of immune status and efficacy before and after B cell depletion treatment.

高危HPV感染与宫颈炎症及宫颈癌发生的相关性研究

唐丽*、邹小义、冯同保、张平
南京医科大学附属常州第二人民医院

目的：宫颈癌是全世界仅次于乳腺癌导致妇女死亡的第二大恶性肿瘤，近年来其发病率逐年升高并有年轻化趋势。人乳头瘤病毒(human papillomavirus,

HPV)与宫颈癌的发生发展密切相关。本文主要研究HPV感染与宫颈炎症以及宫颈癌发生的关系以及临床意义。

方法：收集我院HPV检测阳性的感染患者纳入实验研究，其中体检患者452例，宫颈炎症患者449例，宫颈癌患者132例，对所有受检者均进行TCT检查、病理活检等，对不同类型的病例HPV检测阳性率进行分析比较。

结果：体检患者中单一基因高危感染阳性率为(98/452, 21.68%);多基因高危感染率为(75/452, 16.59%);宫颈炎症患者中单一基因高危感染阳性率为(185/449, 41.20%);多基因高危感染率为(135/449, 30.06%);宫颈癌患者中单一基因高危感染阳性率为(70/132, 53.03%);多基因高危感染率为(55/132, 41.67%)

结论：随着宫颈疾病的发生与进展，高危HPV单基因以及多重感染率显著增加，可通过HPV检测及早确定患者病情，也为HPV疫苗的临床应用提供实验基础。

Changes and clinical significance of Treg/Th17 in elderly patients with non-small cell lung cancer before and after radiotherapy

Lijing Zhu*

Lianshui County People's Hospital

Objective: To investigate the changes in regulatory T (Treg) cells and T helper 17 (Th17) cells and their balance (Treg/Th17) in elderly patients with non-small cell lung cancer before and after radiotherapy, and also to explore the clinical significance. Methods: A total of 20 patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) admitted between January 2019 and August 2019 were chosen as the carcinoma group, while 30 healthy people undergoing medical examination during the same period were chosen as the control group. The numbers of serum Th17 and Treg cells accounting for CD4+T cell proportions and the ratio of Th17/Treg cells were compared. Results: The numbers of serum Treg cells accounting for CD4+T cell proportions and the Treg/Th17 ratio significantly increased in the carcinoma group compared with the control group ($P < 0.05$). After radiotherapy, the number of Treg cells accounting for CD4+T cell proportions gradually increased to the highest level for the 18th time, which was significantly different from that before radiotherapy ($P = 0.00$). Then, it gradually decreased for the 30th time, with

no significant difference compared with that before radiotherapy ($P = 0.82$). The number of Th17 cells accounting for CD4+ T cell proportions decreased significantly after radiotherapy, with a significant difference compared with that before radiotherapy ($P = 0.00$). The ratio of Treg/Th17 showed a significant upward trend since radiotherapy, with a statistically significant difference for the 12th time ($P = 0.00$). Conclusions: Radiotherapy can aggravate the changes in the number of Treg and Th17 cells and the imbalance of Treg/Th17 ratio in NSCLC and affect the antitumor immune function of the body. Radiotherapy combined with immunotherapy is a novel choice for the precise treatment of tumors.

Treg在非小细胞肺癌外周血中上调及Treg相关的长链非编码RNA的分析

祝丽晶*、徐倩
涟水县人民医院

目的：探讨非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer, NSCLC）中调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)的变化及其与长链非编码RNA（long non-coding RNA, lnc RNA）的作用机制研究。

方法：按照严格的纳入和排除标准，选取我院2019年1月—2019年8月收治的20例NSCLC患者作为肺癌组，选取同期在本院体检健康者30例作为健康对照组，采集对照组以及肺癌组外周静脉血，运用流式细胞术(Flow Cytometry, FCM)和实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(reverse-transcription PCR, RT-PCR)技术分别检测肺癌与健康对照者外周血Treg占CD4+T淋巴细胞比例以及其重要转录因子叉头/翅膀状螺旋转录因子3(Forkhead/winged helix family transcription factor3, Foxp3) mRNA相对表达水平。通过Agilent ceRNA芯片技术筛选肺癌患者和健康对照者外周血中的差异表达基因，利用生物信息学技术与Foxp3 mRNA相关的lnc RNA。

结果：与健康对照组相比，肺癌组外周血Treg占CD4+T淋巴细胞百分比显著高于健康对照组($t=7.29, P<0.05$)；Foxp3 mRNA相对表达量明显高于健康组($t=21.59, P<0.05$)；在3对肺癌组和健康对照组样本中共发现4626个差异基因，2095个表达上调，2531个表达下调，其中Foxp3表达上调。以Foxp3为靶点，通过转录因子预测与Foxp3相关的lnc RNA，发现了一系列与Foxp3相关的差异表达的lnc RNA，其中lnc RNA NONHSAT197842.1差异最明显（上调6.25倍）。

结论：NSCLC中Treg升高，其机制可能与lnc RNA有关。Treg可能作为肺癌筛查的分子标记物，lnc RNA NONHSAT197842.1可能为肺癌精准治疗提供新的靶点。

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。

抗链球菌溶素O阳性患者的骨代谢特点

张志乾*、王晓明、褚莹、刘庆阳、王秋波
无锡市第九人民医院

目的:探讨抗链球菌溶素O阳性患者的骨代谢特点,研究血清ASO水平的检测在关节炎和骨质破坏的预测和评估中的价值,为临床诊治提供科学依据。

方法:1选取ASO阳性患者80例、健康对照45例,比较一般资料。2分别检测两组血清中25-羟维生素D3、I型胶原羧基末端肽(β -CTX)、甲状旁腺素(PTH)、骨钙素(BGP)、I型前胶原氨基末端肽(P1NP)骨代谢指标并进行分析。3对照组与ASO阳性组分别按性别分组,比较不同性别人群血清骨代谢指标是否有差异。4 ASO阳性组与对照组按年龄<40岁和 \geq 40岁分组,比较不同年龄段人群血清骨代谢指标是否有差异。

结果:1抗链球菌溶素O阳性组与对照组比较,性别、年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$)。2 ASO阳性组的PTH、 β -CTX和P1NP的血清浓度在要高于健康对照组,差异有统计学意义;而两组25-

(OH) D3和 BGP 差异无统计学意义。3 ASO阳性组男性与对照组男性相比,血清PTH、 β -CTX和P1NP浓度差异有统计学意义,25-(OH) D3和 BGP浓度差异无统计学意义;ASO阳性组女性与对照组女性相比,血清PTH浓度差异有统计学意义。4在<40岁人群中,ASO阳性组与对照组相比,血清PTH和P1NP浓度差异有统计学意义,25-(OH) D3、 β -CTX和 BGP浓度差异无统计学意义; ≥ 40 岁人群中,ASO阳性组与对照组相比,血清 β -CTX和P1NP浓度差异有统计学意义。

讨论:研究表明,ASO可作为链球菌感染后疾病的辅助诊断指标,链球菌感染与风湿热的发生有关,链球菌感染后反应性关节炎提示链球菌感染与关节炎表现密切相关。近年来研究显示,强直性脊柱炎患者抗链球菌溶血素 O (ASO) 滴度异常升高。有研究表明,溶血性链球菌可产生多种超抗原,其很低的浓度即可直接激活 T、B 淋巴细胞,促进肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等多种细胞因子的分泌,从而介导关节、组织的损伤。本研究中,ASO阳性组血清PTH、 β -CTX和P1NP浓度显著高于对照组,提示于对照组比较,ASO阳性患者体内钙磷代谢及骨形成和分解代谢均明显活跃,可能与其关节炎的表现有关,这与文献报道相符。根据性别分组,在男性患者中,骨代谢指标增高有统计学意义,而在女性患者中则无统计学意义。在高年龄(>40岁)患者中, β -CTX浓度明显增高,提示其骨吸收增加。这一结果表明,高年龄组ASO阳性患者与低年龄患者相比,可能更易发生骨质吸收,从而导致骨质疏松。本研究也存在一些局限。首先,本研究只分析了20-53岁的人群,未成年人及绝经期和绝经后的人群未被纳入,而儿童链球菌感染导致急性咽喉炎等的发生率很高,是ASO阳性患者的重要组成。此外,链球菌感染在关节炎和骨质破坏中的具体作用机制尚需进一步研究,这对于了解疾病发病机制、控制病情有较大的价值。

Olfactory ecto-mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate murine Sjögren's syndrome via suppressing Tfh cell response

Ke Rui¹, Xiaomeng wang¹, Shiyi Liu¹, Jie Tian², Shengjun wang²

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

Objectives: To investigate the effect of olfactory ecto-mesenchymal stem cell-derived exosomes (OE-MSC-Exos) on T follicular helper (Tfh) cell response and their implication in treating experimental Sjögren's syndrome (ESS).

Methods: C57BL/6 mice were immunized with salivary glands (SG) proteins to induce ESS mouse model. OE-MSC-Exos were added to the Tfh cell polarization condition, and the proportion of Tfh cells was detected by FCM. The PD-L1 of OE-MSCs was silenced with small interfering RNA to extract siPD-L1-OE-MSC-Exos.

Results: We found that transfer of OE-MSC-Exos markedly attenuated disease progression and reduced Tfh cell response in mice with ESS. In culture, OE-MSC-Exos potentially inhibited the differentiation of Tfh cells from naïve T cells. Moreover, OE-MSC-Exos expressed high level of the ligand for the programmed cell death protein 1 (PD-L1), knocking down PD-L1 expression in OE-MSC-Exos significantly decreased their capacity to suppress Tfh cell differentiation in vitro. Consistently, transfer of OE-MSC-Exos with PD-L1 knockdown exhibited profoundly diminished therapeutic effect in ESS mice, accompanied with sustained Tfh cell response and high levels of autoantibody production.

Conclusion: Our results suggest that OE-MSC-Exos may exert their therapeutic effect in ameliorating ESS progression via suppressing Tfh cell response in a PD-L1-dependent manner.

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*、陈子翔、姜伶俐、刘畅、许化溪、王胜军、芮棵、田洁
江苏大学

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 $Il25^{-/-}$ MDSCs的CAC小鼠病变程度减轻。体外IL-25刺激MDSC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。

New insights into the function of Interleukin-25 in disease pathogenesis

Qingfang Yuan*, Bo Zhu, Huaxi Xu, Shengjun Wang, Liwei Lu, Ke Rui, Jie Tian
Jiangsu University

Interleukin-25 (IL-25), also known as IL-17E, is a cytokine belonging to the IL-17 family. IL-25 is abundantly expressed by Th2 cells and various kinds of epithelial cells. IL-25 is an alarm signal generated upon cell injury or tissue damage to activate immune cells through the interaction with IL-17RA and IL-17RB receptors. The binding of IL-25 to IL-17RA/IL-17RB complex not only initiates and maintains type 2 immunity but also regulates

other immune cells (e.g., macrophages and mast cells) via various signaling pathways. It has been well-documented that IL-25 is critically involved in the development of allergic disorders (e.g., asthma). However, the roles of IL-25 in the pathogenesis of other diseases and the underlying mechanisms are still unclear. This review presents current evidence on the roles of IL-25 in cancers, allergic disorders, and autoimmune diseases. Moreover, we discuss the unanswered key questions underlying IL-25-mediated disease pathology, which will provide new insights into the targeted therapy of this cytokine in clinical treatment.

The aryl hydrocarbon receptor in immune regulation and autoimmune pathogenesis

Wei Huang[★], Ke Rui¹, Xiaomeng Wang¹, Wenhao Zhou¹, Shengjun Wang¹, Liwei Lu², Jie Tian¹

1. Jiangsu University ; 2. The University of Hong Kong

As a ligand-activated transcription factor, the aryl hydrocarbon receptor (AhR) is activated by structurally diverse ligands derived from the environment, diet, microorganisms, and metabolic activity. Recent studies have demonstrated that AhR plays a key role in modulating both innate and adaptive immune responses. Moreover, AhR regulates innate immune and lymphoid cell differentiation and function, which is involved in autoimmune pathogenesis. In this review, we discuss recent advances in understanding the mechanism of activation of AhR and its mediated functional regulation in various innate immune and lymphoid cell populations, as well as the immune-regulatory effect of AhR in the development of autoimmune diseases. In addition, we highlight the identification of AhR agonists and antagonists that may serve as potential therapeutic targets for the treatment of autoimmune disorders.

血清PLA2R1与血清IgG联合检测对膜性肾病的诊断价值

巢蓓[★]、丁雨、史伟峰

常州市第一人民医院

目的：本文目的是探讨血清抗磷脂酶A2（PLA2R1）和血清IgG联合检测在诊断膜性肾病（MN）中的价值。

方法：回顾性选取2022年9月至2023年4月常州市第一人民医院148名肾内科患者，将其分为MN组（n=65）和非MN组（n=83），比较两组研究对象的生化指标包括24小时尿蛋白、血肌酐、尿素氮等，本研究分析了血清中抗磷脂酶A2（PLA2R）抗体滴度和IgG水平，并探讨了二者之间的相关性。同时，采用ROC曲线评估血清PLA2R、血清IgG水平及二者联合诊断对膜性肾病（MN）的诊断价值。

结果：MN组的抗PLA2R抗体滴度（ 116.64 ± 216.57 RU/mL）和24小时尿蛋白量 6.39 ± 4.35 g明显高于非MN组（ 22.09 ± 76.05 RU/mL）和 3.20 ± 2.90 g，差异均具有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。两组研究对象的BUN和TG水平比较，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。ROC曲线分析表明，血清PLA2R1、IgG水平在诊断MN方面的曲线下面积分别为0.76和0.833，抗血清PLA2R1的敏感度为70.8%，特异度为79%，IgG的敏感度为

79%，特异度为78.5%。联合诊断的敏感度和特异度分别为80.2%和76.9%，AUC为0.84。

结论：血清PLA2R1和IgG联合检测在MN的诊断中具有更高的诊断准确性。血清中PLA2R1水平对膜性肾病（MN）的诊断具有较高的特异度，而血清IgG水平则能提高其诊断敏感度。此外，二者联合检测可显著提高MN的诊断准确性，为MN的临床诊断和鉴别提供了重要的参考指标。

肿瘤浸润调节性T细胞的表观遗传调控机制

龙学辉*、王晓明

南京医科大学

Treg细胞在免疫耐受中起着关键作用，但也阻碍了抗肿瘤免疫。通过Treg耗竭的治疗策略受到了同时发生的自身免疫障碍的限制。因此，识别可以选择性靶向肿瘤内Treg细胞而不影响全身Treg细胞的调控机制至关重要。表观遗传调控因子，尤其是酶类，在药物治疗中可以通过小分子化合物进行靶向。然而，肿瘤内Treg细胞是否存在特异的表观遗传调控因子尚未被探索。在这里，我们发现JMJD1C，在肿瘤中Treg细胞表达水平高于淋巴器官中的Treg细胞，对于肿瘤中的Treg细胞自身适应性非常重要，但对全身免疫稳态是不必要的。在机制上，JMJD1C的缺失增强了AKT和STAT3信号，分别依赖和独立于H3K9me2去甲基酶，导致大量的IFN γ 产生和肿瘤中Treg细胞易碎性增加。此外，我们利用基于深度学习的虚拟筛选方法，开发了一种可口服的JMJD1C抑制剂，可以通过靶向肿瘤内Treg细胞来抑制肿瘤生长。总的来说，我们的研究确定了JMJD1C作为整合多个下游信号以确立肿瘤中Treg细胞自身适应性的表观遗传调控中心，并提供了一种特异而有效的JMJD1C抑制剂，可以有选择性地靶向肿瘤中的Treg细胞而不影响全身免疫稳态。

Jmjd1c在浆细胞分化和类风湿性关节炎发病中的作用和机制

殷玉叶*、王晓明

南京医科大学

类风湿性关节炎是一种病因未明的慢性自身免疫性疾病，其主要的临床症状是多关节、侵袭性的炎症浸润和关节损伤。研究发现，浆细胞过度分化和自身反应性抗体的过度产生是导致类风湿性关节炎发病的重要因素之一。作为适应性免疫应答的主要组成成分，B细胞能够通过分化为浆细胞，分泌抗体，参与体液免疫应答。在一些病理状态下，免疫稳态受到损伤，B细胞会发生分化异常，浆细胞分化过度，抗体分泌增加，从而导致自身免疫性疾病的发生。虽然目前已经认识到B细胞在类风湿性关节炎发病中具有不可或缺的功能，但是对于B细胞如何过度分化为浆细胞的分子调控机制还了解甚少。我们基于病人公共数据库和自行收集的病人样品分析发现，组蛋白去甲基化酶Jmjd1c在类风湿性关节炎患者的B细胞中低表达，且其表达量与患者的临床疾病评分负相关。利用基因工程小鼠模型，我们发现，Jmjd1c在B细胞中的表达量与浆细胞的数量密切相关。B细胞中Jmjd1c表达量的降低会导致滤泡外途径及生发中心途径的浆细胞过度分化，抗体产生增加，促进类风湿性关节炎的发生。机制上，Jmjd1c在B细胞中通过

去甲基化Stat3的K140位点，促进Stat3与其磷酸酶Ptpn6之间的相互作用，抑制Stat3的磷酸化水平，从而维持浆细胞稳态，防止自身抗体的产生。并且在B细胞缺失Jmjd1c的老年鼠中，我们也观察到自发浆细胞的显著增加以及自身抗体的过量产生。总而言之，本研究揭示了Jmjd1c是浆细胞分化和类风湿性关节炎发病过程中一个关键性的调节因子。

Gasdermin D限制PD-L1检查点阻断治疗抗肿瘤免疫

姜玉莹^{★1}、杨勇兵¹、王冰微²、王曦¹、胡志斌¹、杨硕¹

1. 南京医科大学；2. 南京中医药大学

研究背景：肿瘤微环境（TME）中固有和适应性免疫细胞相互调节，形成独特的免疫微环境，影响肿瘤的发展及其对免疫疗法的响应。TME中细胞毒性CD8+ T细胞（CTL）对于肿瘤细胞的抑制和清除至关重要，然而TME中CD8+ T细胞往往高表达PD-1分子并处于耗竭状态，影响抗肿瘤免疫作用的发挥。PD-1/PD-L1检查点阻断是许多癌症的一线免疫治疗方法，但仍有大量患者对该疗法没有反应，提示TME中CD8+ T细胞效应功能下降可能还存在其他重要调控机制。目前已有相当研究报道了Gasdermin家族蛋白在肿瘤细胞中诱导细胞焦亡和调控肿瘤免疫的作用。然而，作为最早发现的免疫细胞焦亡在调节抗肿瘤免疫中的作用尚不明确。

研究目的：探索免疫细胞焦亡在调节抗肿瘤免疫中的作用及机制。

研究方法：分析TCGA数据库中肿瘤样本基因表达谱；构建基因敲除小鼠并诱导肿瘤模型；分选TME中免疫细胞进行单细胞转录组测序；体外细胞培养进行机制探索；抑制剂给药治疗寻找潜在抗肿瘤药物。

研究结果：与其他Gasdermin家族分子相比，Gasdermin D（GSDMD）主要表达于固有免疫抗原呈递细胞（APC），其表达与免疫检查点相关分子基因集成正相关，且GSDMD高表达与肿瘤病人不良预后相关；APC中GSDMD的缺失增强了干扰素刺激基因（ISG）集，并以cGAS依赖性方式促进APC细胞的抗原提呈能力，进而增强CD8+ T细胞活化和抗肿瘤免疫；GSDMD调控APC细胞ISG表达依赖于焦亡打孔效应，并部分由上游AIM2炎症小体激活诱导；使用富马酸二甲酯或mTOR抑制剂阻碍GSDMD激活和焦亡打孔可显著提高PD-L1抗体阻断的抗肿瘤免疫治疗效果。

讨论：本研究首次将焦亡效应分子GSDMD鉴定为在肿瘤微环境中影响CD8+ T细胞抗肿瘤效应的限制因子，揭示免疫细胞焦亡效应在调节CD8+ T细胞和抗肿瘤免疫反应中的重要作用和机制，突出Gasdermin家族蛋白在抗肿瘤免疫中的重要角色，且本研究还提示了GSDMD/PD-L1联合抑制在肿瘤免疫治疗中的潜在应用价值。

延胡索酸促进TOX琥珀酸化修饰 诱导ILC1细胞免疫耗竭加速肝癌进展的机制研究

赵梦亚*

南京医科大学

我国是肝癌发病率极高的国家，但目前采用系统治疗肝癌患者总体5年生存率仅为10%，因此，探索和挖掘新的治疗靶点是提高肝癌治疗效果的重要手段。肿瘤免疫微环境异质性是导致肿瘤转移、复发和耐药的主要因素，其在肿瘤进展中变化的复杂性是提高肿瘤免疫治疗所面临的重大挑战。固有淋巴细胞是一类异质性的非T、B淋巴细胞群体，其在肝脏的固有免疫及适应性免疫过程发挥着重要作用。而ILC1作为肝脏固有淋巴细胞中最丰富的亚群，其调控机制尚未阐明。

本研究以肝癌肿瘤组织中ILC1细胞处于免疫耗竭状态为切入点，通过耦合细胞生物学、小鼠肝癌模型及临床肿瘤组织评价体系全方位探索C1qbp的显著下调造成延胡索酸积累，促进下游转录因子TOX琥珀酸化修饰，进而增强Tip60介导的组蛋白乙酰化修饰，增加免疫抑制性受体的表达，导致ILC1细胞免疫耗竭作用机制。

基于上述研究，我们发现ILC1细胞中C1qbp的显著下调造成延胡索酸积累，促进下游转录因子TOX琥珀酸化修饰，进而增强Tip60介导的组蛋白乙酰化修饰，增加免疫抑制性受体的表达，导致细胞免疫耗竭，加速肝癌恶性进展。

3,3'-二吡啶甲烷抑制胃癌细胞增殖通过Ca²⁺-ATF4通路

李雪*

常州市第一人民医院

目的：我国胃癌发病率呈逐年上升趋势，膳食活性成分防治胃癌具有重要意义。3,3'-二吡啶甲烷（3,3'-Diindolelmethane, DIM）是来源于十字花科蔬菜的天然植物化学物，其可有效抑制胃癌细胞增殖，但分子机制尚未阐明。观察DIM对人胃癌细胞BGC-823增殖、钙离子和转录激活因子4（ATF4）信号通路表达的影响。旨在阐明DIM通过调控Ca²⁺-ATF4抑制胃癌细胞增殖，为膳食植物营养应用于肿瘤预防提供分子基础。

方法：采用不同浓度的DIM（0 μM, 20 μM, 40 μM, 60 μM, 80 μM, 100 μM, 120 μM）处理人胃癌细胞BGC-823 24 h, MTT方法测定各组细胞存活率, WB法检测各细胞组钙蛋白酶Calpain和ATF4蛋白表达, 探针荧光检测细胞内钙离子浓度变化; 应用siRNA特异性敲减ATF4蛋白, WB检测ATF4蛋白表达, MTT检测细胞存活率; 应用钙离子螯合剂BAPTA-AM预处理胃癌细胞BGC-823 0.5 h, 再与DIM共处理24 h, WB检测Calpain和ATF4蛋白的表达, MTT检测细胞增殖活力改变。

结果：与对照组相比, DIM以浓度依赖的方式抑制胃癌细胞BGC-823增殖, 促进Calpain和ATF4蛋白表达, 细胞内荧光强度增强, 钙离子浓度增加, 提示DIM促进细胞质钙离子浓度增加和内质网应激; 特异性敲减ATF4蛋白表达后, 与DIM+NC组相比, DIM+si-ATF4组ATF4蛋白表达降低, 细胞存活率增加;

BAPTA-AM螯合细胞内钙离子后，与单纯DIM组相比，DIM与BAPTA-AM联合处理组ATF4蛋白表达水平降低，细胞存活率增加。

讨论：DIM可抑制胃癌细胞增殖，促进Calpain和ATF4蛋白表达，增加细胞质钙离子浓度。DIM可能是通过促进Ca²⁺-ATF4信号蛋白通路表达，抑制胃癌细胞增殖。

ZBTB3表达对胶质母细胞瘤细胞增殖和克隆形成的调控

邱文*、王伟民
南京医科大学

目的：检查人胶质母细胞瘤（glioblastoma, GBM）组织和细胞系中ZBTB3的表达，并探讨ZBTB3对GBM细胞增殖和克隆形成的影响及其调控机制。方法：通过GEPID2数据库分析GBM患者肿瘤组织中ZBTB3的表达情况。RT-PCR、qPCR和Western blot检测GBM细胞系（U251、U373、U87）中ZBTB3的mRNA和蛋白表达水平，筛选出ZBTB3表达最高的U87细胞。CCK-8和克隆形成实验检测沉默ZBTB3基因对U87细胞增殖和克隆形成的影响。用p38MAPK、AMPK、Akt1抑制剂处理U87细胞后，Western blot检测p38MAPK、AMPK、Akt1的磷酸化水平，RT-PCR、qPCR和Western blot测定ZBTB3的mRNA和蛋白表达水平，CCK-8和克隆形成实验检测细胞增殖和克隆形成。结果：GBM患者肿瘤组织中ZBTB3的表达显著高于正常组织。U251、U373和U87细胞中均可见ZBTB3的表达，其中U87细胞表达最高。沉默ZBTB3基因能明显抑制U87细胞的增殖和克隆形成。抑制AMPK既能显著降低U87细胞ZBTB3的表达水平，又可明显减弱U87细胞增殖和克隆形成。结论：GBM组织和细胞系中ZBTB3的表达显著上调，GBM细胞中AMPK活化并上调ZBTB3基因的表达，促进GBM细胞的增殖和克隆形成。

延胡索酸促进TOX琥珀酸化修饰 诱导ILC1细胞免疫耗竭加速肝癌进展的机制研究

赵梦亚*、陈云
南京医科大学

我国是肝癌发病率极高的国家，但目前采用系统治疗肝癌患者总体5年生存率仅为10%，因此，探索和挖掘新的治疗靶点是提高肝癌治疗效果的重要手段。肿瘤免疫微环境异质性是导致肿瘤转移、复发和耐药的主要因素，其在肿瘤进展中变化的复杂性是提高肿瘤免疫治疗所面临的重大挑战。固有淋巴细胞是一类异质性的非T、B淋巴细胞群体，其在肝脏的固有免疫及适应性免疫过程发挥着重要作用。而ILC1作为肝脏固有淋巴细胞中最丰富的亚群，其调控机制尚未阐明。

本研究以肝癌肿瘤组织中ILC1细胞处于免疫耗竭状态为切入点，通过耦合细胞生物学、小鼠肝癌模型及临床肿瘤组织评价体系全方位探索C1qbp的显著下调造成延胡索酸积累，促进下游转录因子TOX琥珀酸化修饰，进而增强Tip60介导的组蛋白乙酰化修饰，增加免疫抑制性受体的表达，导致ILC1细胞免疫耗竭作用机制。

基于上述研究，我们发现ILC1细胞中C1qbp的显著下调造成延胡索酸积累，促进下游转录因子TOX

琥珀酸化修饰, 进而增强Tip60介导的组蛋白乙酰化修饰, 增加免疫抑制性受体的表达, 导致细胞免疫耗竭, 加速肝癌恶性进展。

cAMP通过下调C/EBP-和AP-1介导的转录来改善 IgG免疫复合物诱导的急性肺损伤

陈靓*

东南大学

背景: 急性肺损伤 (ALI) 及其更严重的形式, 急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 都是会危及生命肺部疾病, 目前临床上还缺乏有效的治疗方法。强烈的炎症反应和肺泡毛细血管膜通透性增加在急性肺损伤的病理生理机制中起重要作用, 因此, 改善炎症反应有利于治疗急性肺损伤。越来越多的研究表明磷酸二酯酶-4 (PDE4) 选择性抑制剂可以提高细胞环腺苷3', 5'-单磷酸 (cAMP) 水平, 可以抑制炎症。然而, 该抑制剂是否可以用于治疗与IgG免疫复合物 (IgG-IC) 相关的ALI有尚未确定。

方法: 通过IgG免疫复合物气道沉积诱导ALI。用罗利普兰/罗氟司特刺激小鼠或巨噬细胞可提高细胞cAMP浓度。肺损伤程度通过肺通透性、白细胞积累、组织学改变和促炎介质的表达来反映。6-Bnz-cAMP和H-89用于调节蛋白激酶A (PKA) 的活性, 8-pCPT-2'-OMe-cAMP用于激活被cAMP (Epac) 直接激活的交换蛋白。采用实时荧光定量PCR、ELISA或免疫印迹法分析基因表达。通过测定荧光素酶的产生来检测CCAAT/增强子结合蛋白 (C/EBP) 和激活蛋白1 (AP-1) 的转录活性。

结果: IgG-IC诱导的ALI被PDE4选择性抑制剂减弱, 这是由于细胞因子和趋化因子的表达减少。有趣的是, 我们发现cAMP下游效应分子PKA而不是Epac参与了IgG-IC介导的促炎介质产生的负调控。在机制上, cAMP-PKA信号轴的激活导致MAPK通路失活, 导致C/EBP-和AP-1介导的促炎介质转录的减少。

讨论: cAMP是第二信使分子之一, 它可以通过抑制促炎介质的产生来改变包括巨噬细胞在内的多种先天免疫细胞的功能。Epac和PKA是cAMP的两个关键下游靶点。细胞中cAMP的水平主要由腺苷酸环化酶 (AC) 和PDE4的活性决定。先前的研究表明, Epac而不是PKA可以抑制LPS诱导的巨噬细胞的炎症反应。在本文中, 我们还研究了它们对IgG-IC介导的促炎介质生成的影响。令我们惊讶的是, PKA而不是Epac参与了cAMP介导的细胞因子和趋化因子表达的负调控。

我们的数据首次表明, cAMP-PKA信号通过下调MAPK的激活参与IgG-IC相关炎症反应的下调, 这对C/EBP和AP-1的转录活性至关重要。综上所述, 我们的实验为PDE4选择性抑制剂在临床治疗IgG-IC相关急性肺损伤中的潜在应用提供了理论基础。

Peripheral Lymphocyte Count and Neutrophil Count Affect the Efficacy of Breast Cancer Neoadjuvant Chemotherapy

Jinpeng Chen^{★1,2}, Shiya Zheng^{1,2}, Lixin Wang¹

1. Southeast University; 2. Zhongda Hospital Southeast University

Immunotherapy combined with chemotherapy is a new strategy for neoadjuvant treatment of breast cancer, but the benefit population is limited. Therefore, it is very important to explore the influencing factors of neoadjuvant chemotherapy and the influence of peripheral lymphocyte count and proportion on the development of effective neoadjuvant combined therapy strategies.

Breast cancer patients who were treated in Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University from 2014 to 2020 and received neoadjuvant chemotherapy after clinical evaluation were included in our research. (n=148) The study analyzed baseline clinical data, pathological diagnosis, peripheral white blood cell count and neoadjuvant chemotherapy regimen of the patients. The relationship between relevant influencing factors and pathological complete response (pCR) rate was analyzed by Mann-Whitney test, Pearson chi-square or Fisher's exact test. And univariate and multivariate logistic regression models were used for further analysis. Univariate and multivariate COX proportional hazards models were used to evaluate the relationship between multiple factors and DFS.

Univariate Logistic regression showed that pCR were affected by trastuzumab (OR=3.43, P=0.001, 95%CI 1.65-7.37), pertuzumab (OR=6.61, P=0.008, 95%CI 1.74-31.95), chemotherapy cycles (OR=1.57, P=0.002, 95%CI 1.74-31.95), 95%CI 1.21-2.16), lymph node metastasis before chemotherapy (OR=0.43, P=0.040, 95%CI 0.17-0.96), Ki67 ratio (OR=1.04, P < 0.001, 95%CI 1.02-1.07), PR score (OR=0.72, P < 0.001, 95%CI 1.02-1.07), 95%CI 0.60-0.83), ER score (OR=0.76, P < 0.001, 95%CI 0.67-0.85), Her2 receptor positivity (OR=3.60, P < 0.001, 95%CI 1.72-7.91) and peripheral lymphocyte count (OR=2.26, P < 0.001, 95%CI 1.72-7.91). P=0.026, 95%CI 1.11-4.73). Multivariate logistic regression analysis showed that Her2 positive molecular typing and Ki67 before chemotherapy were independent risk factors for pCR. Subgroup analysis of patients with low Ki67 (< 60%) before chemotherapy suggested that pre-chemotherapy lymphocyte count was an independent risk factor for pCR in this subgroup. Univariate COX proportional hazards analysis showed that tumor diameter after chemotherapy (HR=1.03, P=0.016, 95%CI 1.01-1.05), inflammatory breast cancer (HR=2.96, P=0.047, 95%CI 1.02-8.64), T2 stage before chemotherapy (HR=0.062, P=0.009, HR=0.062, P=0.009, P=0.016), 95%CI 0.0076-0.50), N3 stage (HR=6.85, P=0.003, 95%CI 1.93-24.30), M1 stage (HR=5.2, P=0.007, 95%CI 1.56-17.40), T2 stage after chemotherapy (HR=4.46, P=0.021, 95%CI 1.56-17.40), 95%CI 1.26-15.80), N2 stage (HR=3.28, P=0.022, 95%CI 1.19-9.04), N3 stage (HR=8.23, P < 0.001, 95%CI 2.6-26), Y2 stage (HR=5.35, P=0.030, HR=5.35, P=0.030, HR=3.28, P=0.022, 95%CI 1.19-9.04). 95%CI 1.17-20.40), y stage 3 (HR=7.18, P=0.012, 95%CI 1.55-33.2), Ki67 after chemotherapy (HR=9.65, P=0.003, 95%CI 2.14-43.50), and pathological lymphatic invasion after chemotherapy (HR=2.68, P=0.012, 95%CI 1.55-33.2). P=0.016, 95%CI 1.20-5.99), pCR (HR=0.195, P=0.027, 95%CI 0.046-0.828), lymphocyte count before chemotherapy (HR=1.35, P=0.020, 95%CI 0.046-0.828), 95%CI

1.05–1.74), neutrophil–lymphocyte ratio (NLR) (HR=1.61, P=0.029, 95%CI 1.05–2.47), CD3+T lymphocyte proportion after chemotherapy (HR=1.13, P=0.003, 95%CI 1.04–1.23) had an impact on disease–free survival (DFS). Multivariate COX proportional hazards model suggested that inflammatory breast cancer and N3 before chemotherapy were independent risk factors for DFS.

Tumor stage, molecular subtype, tumor proliferation, peripheral lymphocyte count and neutrophil count of breast cancer patients affect the efficacy of neoadjuvant chemotherapy, including pCR and DFS. Of note, the use of targeted agents has led to a better clinical prognosis in HER2–positive patients compared with other subtypes.

Tumor cell–released autophagosomes (TRAPs) promote neutrophil extracellular traps formation

XIAOHE ZHOU*
Southeast University

Objective: Neutrophils serve as the body's primary line of defense against pathogen invasion. In addition to their role in pathogen elimination through processes such as phagocytosis, degranulation, and the production of reactive oxygen species, neutrophils are capable of a unique form of cell death distinct from necrosis and apoptosis known as Neutrophil Extracellular Traps (NETs). NETs are reticular structures released from stimulated neutrophils into the extracellular space, consisting of DNA, histones, proteases, and other cytotoxic proteins. Numerous studies have demonstrated that NETs are involved in the progression and metastasis of various malignancies. Our prior research has established that Tumor Cell–Released Autophagosomes (TRAPs), a subtype of LC3–II+ double–membrane extracellular vesicles (EVs) enriched from malignant effusions or ascites of cancer patients and tumor cell lines, can modulate the immunosuppressive activity of B cells, neutrophils, macrophages, and CD4+ T cells within the tumor microenvironment. However, the precise mechanism behind the induction of NETs formation in cancer patients remains incompletely elucidated. The purpose of this study was to investigate whether TRAPs can mediate the release of extracellular NETs from neutrophils and decipher the underlying regulatory mechanisms.

Methods: Neutrophils were isolated from healthy human peripheral blood by isolation solution, mouse bone marrow neutrophils were isolated by magnetic bead sorting method, their activity was detected by Taipan blue, and their purity was detected by flow cytometry. TRAPs were extracted from the supernatant of 4T1 and MDA–MB–231 tumor cells by high–speed differential centrifugation. They were co–incubated with neutrophils for 3 hours in vitro, and the morphology of neutrophils was observed using scanning electron microscopy (SEM). NETs–DNA was labeled with Sytox green dye, and NETs were observed by fluorescence microscopy. Image J software was used to analyze their area and fluorescence intensity (FI) to quantify NETs. Immunofluorescence staining was used to identify NETs. Free DNA (cf–DNA) in cell culture supernatant was quantified by Picogreen staining. Western blot and ELISA were used to quantify MPO–DNA, NE and cit–H3, which are important components of NETs in cell culture supernatants. In vivo, TRAPs were injected into the tail vein of mice, and NETs in plasma were detected by ELISA. Beclin1 knockdown 4T1 tumor cells were constructed with the aim of reducing TRAPs release and constructing a mouse subcutaneous tumor model. The characteristic molecules of NETs in plasma were detected by ELISA.

Results: We have successfully isolated highly active and purified human and mouse neutrophils. After 3 hours

of stimulation of neutrophils with TRAPs in vitro, a large number of reticular structures (NETs) were observed under SEM. The number of TRAPs-induced NETs formed was significantly higher than that of the control group when counted under fluorescence microscopy. Immunofluorescence staining results revealed that a large amount of MPO, NE, and cit-H3 were released to the extracellular, while cf-DNA, MPO-DNA, and NE were also significantly increased in the cell culture supernatant. NETs' characteristic molecules, cf-DNA, MPO-DNA, were significantly increased in plasma after tail vein injection of TRAPs in mice as well as in 4T1 tumor-bearing mice. In contrast, cf-DNA and MPO-DNA were significantly decreased in the plasma of Beclin1 knockdown 4T1 tumor-bearing mice.

Discussion: The role of extracellular neutrophil traps (NETs) in tumor progression and metastasis has garnered significant attention in oncology research in recent years. Our study demonstrates that TRAPs have the capability to induce NETs formation both in vitro and in vivo. Our future investigations will delve deeper into the mechanisms underlying this induction, elucidate how the formed NETs play an immunomodulatory role, and explore their potential implications in tumorigenesis and development.

Dysregulated lipids homeostasis results in resistance to FGFR-TKI via CHAC1-mediated ferroptosis in gastric cancer

Jingwen Chen¹, ye di huang²

1. The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University

2. Department of Immunology, Key Laboratory of Human Functional Genomics of Jiangsu Province, Nanjing Medical University

Background and purpose: Globally, gastric cancer (GC) is the fifth most common malignant tumor and the fourth leading cause of cancer-related deaths. Due to the heterogeneous molecular characterization of gastric adenocarcinoma, limited molecularly targeted therapeutic options are currently available. Up to 15% of GC patients have fibroblast growth factor (FGF) and corresponding receptor (FGFR) signaling dysregulation. Small-molecule tyrosine kinase inhibitors (TKIs) targeting FGFR are undergoing preclinical and clinical trials in gastric cancer, but FGFR-TKI resistance is emerging as a prominent issue. Ferroptosis, an iron-dependent way of cell death, is mainly characterized by the lethal accumulation of lipid peroxides (LPO) and can restrain tumor cell growth and participate in the regulation of tumor therapeutic response. Dysregulated lipids homeostasis is commonly observed in tumor cells, and a range of lipids, including cholesterol and fatty acids, could be involved in the modulation of ferroptosis. It is unclear whether the mechanism of development of acquired resistance to FGFR-TKI in gastric cancer is related to ferroptosis and lipid metabolism disorders.

The purpose of our study is to investigate the mechanisms of acquired resistance to FGFR-TKI in gastric cancer and to explore innovative combination therapies to overcome the occurrence of resistance to FGFR-TKI.

Methods: FGFR-TKI-sensitive and drug-resistant strains were constructed using two types of gastric cancer cells, MGC-803 and BGC-823, and subjected to RNA sequencing and ferroptosis-related bioinformatics analysis. Cell proliferation and death, clone formation, and migration of FGFR-TKI-sensitive and FGFR-TKI-resistant

cells were performed to detect the sensitivity of the cells to drugs; ROS and lipid peroxidation assays, glutathione assay, transmission electron microscopy, RT-qPCR, and western blot were used to detect ferroptosis; cholesterol content and neutral lipid content were detected using fluorescent probes staining analyzed by flow cytometry. Tumor interstitial fluid (TIF) and serum from gastric cancer patients (N=20) were collected for lipidomic sequencing and analysis, and paired tumor tissues were subjected to IHC to detect CHAC1 expression and analyzed for correlation with clinical data. CHAC1 small interfering RNAs, overexpression plasmids, and lentiviruses were used for both in vitro and in vivo experiments.

Results: FGFR-TKI resistance in gastric cancer is associated with altered ferroptosis sensitivity. Glutathione-specific γ -glutamyl cyclotransferase 1 (CHAC1), a critical regulatory gene for ferroptosis, is a glutathione GSH cytoplasmic degrading enzyme. CHAC1 expression was down-regulated in FGFR-TKI-resistant cells, leading to up-regulation of intracellular GSH levels and the tolerance of oxidative stress, which resulted in ferroptosis resistance. Moreover, the expression level of CHAC1 correlated with the expression levels of FGFR and PD-L1, and immune scores of gastric cancer patients. By analyzing the lipid profile of TME from gastric cancer patients, it was determined that saturated fatty acid SA enriched in tumor interstitial fluid (TIF) and excessive cholesterol accumulation in FGFR-TKI-resistant cells were the major reasons for stimulating the altered transcriptional levels of CHAC1. In vivo experiments demonstrated that overexpression of CHAC1 or combination with statins reversed acquired resistance to FGFR-TKI.

Discussion: Effective molecularly targeted therapeutic agents are still not available for gastric cancer. There is an increasing dysregulation of FGF/FGFR signaling in patients of gastric cancer, so targeting FGFR is a promising strategy. However, clinical trials have found poor efficacy of FGFR-TKIs such as AZD4547 in gastric cancer cohorts, which may be due to drug resistance. In our study, we found an association between ferroptosis and FGFR-TKI resistance, and we have screened for the critical ferroptosis-regulated gene CHAC1, which can degrade glutathione in the cytoplasm of tumor cells, and modulation of which can ameliorate the ferroptosis resistance and reverse the FGFR-TKI resistance. In addition, lipid metabolism disorders are prevalent in tumors and have received attention in anti-tumor therapy in recent years. Our study demonstrated that disordered lipid metabolism and cholesterol accumulation occurring in gastric cancer tissues and cells could be involved in cancer progression with FGFR-TKI resistance. Moreover, as a promising target for ferroptosis, CHAC1 could be regulated by disordered lipids. In our study it was determined that enriched saturated fatty acid SA in the tumor interstitial fluid with overabundant cholesterol in drug-resistant cells could contribute to the stimulation of altered transcriptional levels of CHAC1 by analyzing the lipid profiles in the tumor microenvironment of gastric cancer. Overall, our findings reveal a new mechanism of FGFR-TKI resistance and provide new perspectives for future dosing guidance and reversal of resistance to FGFR-TKI in gastric cancer patients.

肿瘤细胞释放自噬小体 (TRAPs) 诱导肺血管内皮细胞 PD-L1 表达及其免疫抑制功能的研究

吴宇阳*、王旭茹、王立新
东南大学

目的：免疫抑制转移前微环境的发展是乳腺癌肺转移的先决条件。然而，以前的机制主要集中在免疫细胞而不是血管内皮细胞上。本课题组前期研究表明，在小鼠模型中，细胞释放的自噬体 (TRAPs) 比乳腺癌细胞先到达肺部。TRAPs 提前到达能否通过作用于内皮细胞来促进免疫抑制的转移前微环境尚未可知。本课题进一步探讨了乳腺癌来源的自噬小体 (4T1-TRAPs) 通过诱导肺血管内皮细胞 (PVECs) 高表达 PD-L1 来增强免疫抑制性转移前微环境的机制。方法：

1、用不同浓度 4T1-TRAPs 预处理 MPMECs 后，流式细胞术检测细胞表面 PD-L1 表达情况；将 4T1-TRAPs 处理后的 MPMECs 与 T 细胞共孵育，流式细胞术检测其对 T 细胞功能的影响。

2、建立人为注射 TRAPs 小鼠模型和原位 TRAPs 低表达小鼠模型 (4T1 Becn1 KD)，流式细胞术检测小鼠肺血管内皮细胞 (PVECs) PD-L1 表达水平；分选肺血管内皮细胞后与 T 细胞共孵育，并分选肺内驻留 T 细胞，流式细胞术分别检测 T 细胞功能的变化，同时观察所有模型乳腺癌肺转移结节的数量。

3、在体外分别用抗体封闭 TRAPs 表面 DAMPs 分子，用抑制剂抑制 MPMECs 表面受体，探究 TRAPs 与 MPMECs 作用的配受体，用流式细胞术分别检测 MPMECs 表面 PD-L1 的表达情况，并用 Western blot 检测信号通路，同时用基因敲除鼠等模型在体内进行机制验证。结果：

1、在体外，4T1-TRAPs 可以诱导 MPMECs 上调表达 PD-L1，同时 PD-L1 上调水平与 4T1-TRAPs 处理浓度成正相关。此外将 4T1-TRAPs 处理后的 MPMECs 与 T 细胞共孵育，经检测可以抑制 T 细胞 IFN- γ 的分泌和增殖。

2、在体内人为注射 TRAPs 小鼠模型中发现注射 TRAPs 后可以诱导 PVECs 上调 PD-L1 水平并显著抑制 T 细胞 Ki-67 和 IFN- γ 百分比，同时肺内驻留的 T 细胞功能显著被抑制，肺转移增加。在原位 TRAPs 低表达小鼠模型 (4T1 Becn1 KD) 中发现，与对照组相比，4T1 Becn1 KD 组肺血管内皮细胞 PD-L1 水平显著下调；血管内皮细胞抑制 T 细胞能力降低；肺内驻留 T 细胞功能有所回升，肺转移减少，当回补 4T1-TRAPs 后这些优势都被削弱。

3、4T1-TRAPs 通过表面的 HMGB1 与 MPMECs 细胞表面的 TLR4 结合，活化细胞内 p38/STAT3 信号级联反应，最终诱导 PD-L1 上调。讨论：上述实验表明 TRAPs 能够诱导肺血管内皮细胞上调表达 PD-L1，并对 T 细胞功能具有抑制作用，同时肺内驻留 T 细胞的功能也显著下降，促进了乳腺癌肺转移。该免疫抑制作用是由 4T1-TRAPs 表面的 HMGB1 通过 TLR4-MyD88-p38 / STAT3 信号通路实现。

ZBTB3表达对胶质母细胞瘤细胞的增殖和克隆形成调控

王伟民^{★1}、赵晨卉²、倪思琦³、何庆玲¹、阮玉婷¹、吴宁霞¹、张婧¹

1. 南京医科大学; 2. 南京医科大学第一附属医院肿瘤科

3. 南京医科大学第一临床医学院临床医学系

目的: 检查人胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 组织和细胞系中ZBTB3的表达, 并探讨ZBTB3对GBM细胞增殖和克隆形成的影响及其调控机制。

方法: 通过GEPID2数据库分析GBM患者肿瘤组织中ZBTB3的表达情况。RT-PCR、qPCR和Western blot 检测 GBM 细胞系 (U251、U373、U87) 中 ZBTB3 的 mRNA 和蛋白表达水平, 筛选出 ZBTB3 表达最高的 U87 细胞。CCK-8和克隆形成实验检测沉默ZBTB3基因对U87细胞增殖和克隆形成的影响。用p38MAPK、AMPK、Akt1抑制剂处理U87细胞后, Western blot检测p38MAPK、AMPK、Akt1的磷酸化水平, RT-PCR、qPCR和Western blot测定ZBTB3的mRNA和蛋白表达水平, CCK-8和克隆形成实验检测细胞增殖和克隆形成。

结果: GEPID2数据库分析显示GBM 患者肿瘤组织中ZBTB3的表达显著高于正常组织。U251、U373和U87细胞中均可见ZBTB3的表达, 其中U87细胞表达最高。沉默ZBTB3基因能明显抑制U87细胞的增殖和克隆形成。抑制AMPK既能显著降低U87细胞ZBTB3的表达水平, 又可明显减弱U87细胞增殖和克隆形成。

结论: GBM组织和细胞系中ZBTB3的表达显著上调, GBM细胞中AMPK活化并上调ZBTB3基因的表达, 促进GBM细胞的增殖和克隆形成。

Inhibitory Effect of Diterpenoid Heterocyclic Compound DGT on Atopic Dermatitis

Jingjing Gao^{★1,2}, Dong Li³, Xiaoqiang Zhu³, Fei Yang³, Biyan Zhang³, Yanping Wang², Qing Xie², Yunsen Li²

1. Department of Laboratory Medicine, The Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou, China

2. Institutes of Biology and Medical Sciences, Soochow University, Suzhou, China

3. Department of Pharmacology, Suzhou Pharmavan Co., Ltd, Suzhou, China

Objectives: Atopic dermatitis (AD) is a common chronic inflammatory skin disease characterized by recurrent eczematous rash and intense itch. The pathogenesis of AD is complex and multifactorial. Current treatments for AD include topical moisturizers, anti-inflammatory drugs, phototherapy and systemic immunosuppressants. Although these treatments have good effects, most of them may cause a series of adverse effects. Therefore, there is still an urgent need for safer and more effective drugs for the treatment of AD. DGT, a novel heterocyclic diterpenoid derived from the natural product of plants, has good anti-inflammatory activity in experiments. The purpose of this project is to study the effect of DGT on AD and explore its mechanism.

Methods: Keratinocytes, the main components of the epidermis, can secrete cytokines, chemokines, costimulatory molecules, and express pattern recognition receptors to promote or maintain skin inflammation in AD. In this study, we evaluated the anti-inflammatory effect and mechanism of DGT in TNF- α /IFN- γ stimulated human keratinocytes (HaCaT). The gene transcription of IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1, TARC, MDC and ICAM-1 in HaCaT cells was detected by quantitative real-time PCR. The concentrations of IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1 and ICAM-1 in culture supernatant were measured by ELISA. Western blot was used to detect the expression level of some proteins which were related with inflammatory signal pathway and barrier function in TNF- α /IFN- γ stimulated HaCaT cells. Mast cells, the key effector cells and immunomodulatory cells in AD, play an important role in skin allergy mediated by IgE and related itch. We observed the effects of DGT on the degranulation of RBL-2H3 cells and BMMCs induced by DNP-IgE. Substrate chromogenic assay and ELISA were used to determine the release of β -hexosaminidase and histamine in mast cells. The levels of inflammatory factors such as IL-4, IL-6, TNF- α , and IL-13 were detected by qRT-PCR and ELISA. The expression levels of MAPK and JAK/STAT signal pathway related proteins and HO-1 were detected by Western blot. AD animal models are commonly used to explore the pathogenesis of AD and develop effective drugs. Two mouse models of AD induced by oxazolone (OXA) and calcipotriol (MC903) were established in our study. We observed the changes of clinical score, ear thickness and scratching behavior. Hematoxylin-eosin (HE) staining and toluidine blue (TB) staining were used to investigate the histopathological changes and mast cell infiltration in lesions. The expression levels of inflammatory factors in lesions were detected by flow cytometry and qRT-PCR. And the changes of serum IgE level in mice were detected by ELISA.

Results: In TNF- α /IFN- γ stimulated HaCaT cells, we found that DGT significantly inhibited the gene transcription of IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1, TARC, MDC and ICAM-1. Meanwhile, DGT reduced the secretion of IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1 and ICAM-1 in supernatant, as well as the expression levels of adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in cells. Furthermore, DGT inhibited the phosphorylation of JAK1, STAT6, STAT3, p38 and ERK in TNF- α /IFN- γ stimulated HaCaT cells. On the contrary, DGT enhanced the production of Filaggrin, Claudin-1 and HO-1. In addition, we also found that DGT inhibited the release of histamine and β -hexosaminidase, and reduced the expression levels of inflammatory factors (IL-4, IL-6, TNF- α , and IL-13) in RBL-2H3 cells and BMMCs stimulated by IgE. Phosphorylation of JAK1, STAT6, STAT3, p38 and ERK was downregulated in activated mast cells after treatment with DGT. Conversely, DGT upregulated the expression of HO-1 in RBL-2H3 cells and BMMCs. In addition, our results showed that DGT could not significantly inhibit the activities of histamine receptors H1 and H2. In AD mouse models, we found that topical administration of DGT reduced the clinical score of skin lesions, inhibited the increases of epidermal thickness, dermal thickness, and the whole ear thickness. Meanwhile, DGT reduced mast cell infiltration in skin lesions, inhibited the expression levels of cytokines (IL-4, IL-13, IL-31 and TNF- α) and reduced IgE secretion in serum. DGT inhibited the phosphorylation of JAK1 and STAT6 in both HaCaT cell inflammation model and mast cell degranulation model. IL-4R α is the key upstream protein of JAK1/STAT6, which is a subunit of IL-4 and IL-13 receptors. Based on the results of molecular recognition and surface plasmon resonance (SPR) experiments, we confirmed that DGT can target IL-4R α .

Conclusion: In summary, our results show that DGT can not only affect skin keratinocytes by reducing the expression of inflammatory factors, promoting the expression of barrier functional proteins and tight junctions, and maintaining the steady state of barrier function, but also inhibit the activation and degranulation of mast cells induced by IgE. In addition, we found that the possible target of DGT was IL-4R α . Meanwhile, DGT has

therapeutic effects on AD models induced by OXA and MC903. It suggests that DGT is a potential clinical candidate for AD.

载脂蛋白C-III通过Syk/cPLA2诱导巨噬细胞炎症小体活化上调CD8+ T细胞的抗肿瘤活性

胡翔宇*
扬州大学

背景与目的：肥胖者癌症发病率的增加与血脂异常引起的慢性炎症和免疫抑制有关。研究已经证实载脂蛋白C-III转基因小鼠（ApoC3TG）的血脂升高，并且体内NK细胞功能紊乱。然而，ApoC3TG小鼠体内肿瘤生长受到抑制。本研究旨在明确载脂蛋白C-III抑制肿瘤生长的原因和机制，并为预防肿瘤进展提供潜在的治疗策略。

方法：检测ApoC3TG小鼠CD8+T细胞和巨噬细胞活性的变化。应用免疫组织化学染色检测肝细胞癌（HCC）组织中ApoC3表达水平与CD8+T细胞浸润的相关性。通过荷瘤小鼠模型、细胞代谢检测和RNA测序检测CD8+T细胞抗肿瘤活性增强的机制。

结果：虽然ApoC3TG小鼠和泊洛沙姆407 (P407)处理的小鼠均有高脂血症，但在ApoC3TG小鼠中CD8+T细胞抗肿瘤活性上调，而在P407处理的小鼠中CD8+T细胞活性下调。肝癌中ApoC3表达与CD8+T细胞浸润呈正相关。重组ApoC3蛋白对CD8+T细胞无直接作用。RNA测序结果表明，ApoC3TG小鼠CD8+T细胞的上调是由于与周围细胞的相互作用。与树突状细胞相比，ApoC3TG小鼠的巨噬细胞表现出活化的表型，并增加了IL-1 β 、TNF- α 和IL-6的生成。与ApoC3TG小鼠巨噬细胞共培养后，CD8+T细胞功能显著上调。ApoC3TG小鼠巨噬细胞的过继转移抑制野生小鼠体内肿瘤的进展。此外，ApoC3结合TLR2/TLR4诱导的脾酪氨酸激酶（Syk）激活促进了胞浆磷脂酶A2（cPLA2）的激活，进而激活NADPH氧化酶2以促进巨噬细胞的非经典炎症小体通路激活。同时，游离脂肪酸氧化磷酸化增加所产生的线粒体ROS促进了经典炎症小体的激活，对巨噬细胞的炎症小体激活产生辅助作用。

结论：ApoC3诱导巨噬细胞的炎症小体激活，进而促进CD8+T细胞的抗肿瘤活性。因此，可以开发出与TLR2/4结合的模拟ApoC3肽用于肝癌的治疗。

Exosome inspired photo-triggered gelation hydrogel composite on modulating immune pathogenesis for treating rheumatoid arthritis

Ke Rui¹, Ziwei Shen¹, Qiugang Zhu¹, Shiyi Liu¹, Shengjun Wang¹, Jue Ling², Jie Tian¹

1. Jiangsu University; 2. Nantong University

Although exosome therapy has been recognized as a promising strategy in the treatment of rheumatoid arthritis (RA), sustained modulation on RA specific pathogenesis and desirable protective effects for attenuating joint

destruction still remain challenges. Here, silk fibroin hydrogel encapsulated with olfactory ecto-mesenchymal stem cell-derived exosomes (Exos@SFMA) was photo-crosslinked in situ to yield long-lasting therapeutic effect on modulating the immune microenvironment in RA. This in situ hydrogel system exhibited flexible mechanical properties and excellent biocompatibility for protecting tissue surfaces in joint. Moreover, the promising PD-L1 expression was identified on the exosomes, which potently suppressed Tfh cell polarization via inhibiting the PI3K/AKT pathway. Importantly, Exos@SFMA effectively relieved synovial inflammation and joint destruction by significantly reducing T follicular helper (Tfh) cell response and further suppressing the differentiation of germinal center (GC) B cells into plasma cells. Taken together, this exosome enhanced silk fibroin hydrogel provides an effective strategy for the treatment of RA and other autoimmune diseases.

Tissue-resident immune cells in the pathogenesis of multiple sclerosis

jie tian[★], Lingli Jiang, Zixiang Chen, Chang Liu, Shengjun Wang, Ke Rui
Jiangsu University

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory autoimmune disease of the central nervous system (CNS) in which genetic and environmental factors contribute to disease progression. Both innate and adaptive immune cells, including T cells, B cells, activated macrophages and microglia, have been identified to be involved in the pathogenesis of MS, leading to the CNS inflammation, neurodegeneration and demyelination. In recent years, there has been considerable progress in understanding the contribution of tissue-resident immune cells in the pathogenesis of MS. In this review, we comprehensively describe the characteristics of tissue-resident memory T cells and microglia, summarize their role in the pathogenesis of MS, and discuss their interaction with other immune cells in the CNS.

Identifying miRNA-mRNA regulation network of major depressive disorder in ovarian cancer based on bioinformatics analysis

Chengjiang Wu[★]
The Second Affiliated Hospital of Soochow University

Objective: The aim of this study was to identify miRNA-mRNA regulation network of major depressive disorder (MDD) in ovarian cancer by means of bioinformatics analysis. Methods: We downloaded the miRNA and mRNA expression profiles of MDD and ovarian cancer and identified the differentially expressed miRNAs and mRNA by means of GEO2R. The miRNA target genes were obtained from 5 prediction tools: TargetScan, microRNAorg, microT-CDS, miRDB and miRTarBase. We utilized the DAVID to identify KEGG pathways of target

genes. Kaplan–Meier Plotter for ovarian cancer was conducted to identify the core genes of MDD in ovarian cancer. Taking advantage of cytoscape, we have constructed miRNA–core genes–pathways network. Results: We obtained 5 DEmiRs (miR–23b–3p, miR–33b–p, miR–1265, miR–933 and miR–629–5p) from GSE61741 and GSE58105. Target genes of DEmiRs enriched in risk pathways were consider as risk genes. Finally, we pick out 11 risk genes as core genes in the miRNA–mRNA networks by Kaplan–Meier method. Conclusion: we eventually identified miRNA–mRNA regulation network of MDD in ovarian cancer by means of bioinformatics analysis. The present study may provide new insights into the mechanisms of MDD in ovarian cancer.

胸腺肽 $\alpha-1$ 依赖肿瘤细胞源性凋亡小体RNA增强DC抗原提呈功能及其抗肿瘤效应的研究

韦逸婷*、陈靓、王立新
东南大学

目的：化疗是黑色素瘤的主要治疗手段，可以诱导肿瘤细胞分泌包裹各种类型RNA的凋亡小体(ABs)。ABs抑制树突状细胞(DC)抗原提呈功能，因此增强DC功能对改善化疗后的免疫抑制具有重要意义。前期研究已经证实免疫调节剂胸腺肽 $\alpha-1$ (T $\alpha-1$)依赖溶酶体TLR7/8途径逆转M2型胞葬肿瘤相关巨噬细胞的极化，协同提高化疗抗肿瘤疗效。然而，T $\alpha-1$ 是否可以改善化疗后肿瘤组织浸润DC功能，进而增强化疗后抗肿瘤免疫应答尚无文献报道。本研究旨在探讨DC摄取提呈肿瘤细胞来源ABs抗原的过程中，T $\alpha-1$ 是否发挥免疫调节作用及其分子机制？

方法：利用顺铂诱导小鼠黑色素瘤细胞—B16F10细胞凋亡，采用差速离心法提取ABs，采用流式细胞术和透射电镜对其进行鉴定；诱导获得小鼠骨髓来源树突状细胞(BMDC)，ABs或/联合T $\alpha-1$ 体外刺激BMDC，分别采用激光共聚焦显微镜、流式细胞术观察BMDC吞噬ABs/T $\alpha-1$ 能力与胞内定位，流式细胞术和ELISA检测BMDC抗原提呈相关分子和趋化分子的表达。采用DNA酶和或RNA酶预处理固定并破膜的ABs，负载T $\alpha-1$ 后与BMDC共培养，检测BMDC在体内成熟、迁移和抗原提呈能力的改变。有无RNA酶预处理的ABs或/和T $\alpha-1$ 与BMDC(WT, TLR7/8KD, MyD88KO)共孵育，采用磷酸化蛋白芯片、WB等技术检测BMDC胞内信号通路的活化。通过RNA电泳、RIP-seq、qRT-PCR等技术检测并分析T $\alpha-1$ 结合并保护RNA的特定类型和序列。评估顺铂联合T $\alpha-1$ (DDP/T $\alpha-1$)治疗B16荷瘤小鼠的效果。

结果：顺铂诱导B16F10细胞凋亡释放的ABs并不能增强DC抗原提呈功能；ABs负载T $\alpha-1$ 体外刺激DC，可显著上调抗原提呈分子CD86、MHC I/II类分子以及CCR7表达；促进IL-12分泌。进一步检测发现ABs可通过PS分子负载T $\alpha-1$ 后被DC吞噬，并定位于吞噬溶酶体。固定破膜的ABs仍然能抑制DC表面抗原提呈相关分子的表达，但仅RNA酶预处理凋亡小体后，T $\alpha-1$ 显著上调CD86、MHC I/II类分子表达的现象全部消失。随后观察对DC成熟和淋巴结归巢影响，发现CD11c+ 细胞表达CD86、MHC I/II类分子显著增高；而且CD11c+ 细胞（尤其是CD8 α + CD11c+ 细胞）比例，均显著高于ABs-DC接种小鼠；T $\alpha-1$ 对ABs-DC在体内成熟和迁移的调控同样依赖RNA；进一步检测发现T $\alpha-1$ 能增强ABs-DC诱导OVA特异性T细胞分泌IFN- γ 的能力。检测DC胞内信号分子活化情况，发现ABs抑制DC胞内TAK1-I κ B α /NF κ B-P65/JunB的活化；T $\alpha-1$ 可以活化TAK1-I κ B α /NF κ B-P65/JunB依赖ABs包裹的RNA。RIP实验显示 α T $\alpha-1$ 抗体可以沉淀大约22.5%的ABs-RNA，RIP-Seq分析发现T $\alpha-1$ 可以与55条ABs-miRNA结合并保护部分miRNA免受RNA酶攻击降解。最后在动物荷瘤模型验证发现化疗联合T $\alpha-1$ 可以显著减缓小鼠肿

瘤生长 T α -1对化疗后肿瘤组织中DC的影响,发现小鼠引流淋巴结内DC细胞数量明显增多、且分布在CD3+ T细胞区,最具交叉提呈功能的CD8 α + CD11c+ 细胞比例明显增加,其抗原提呈相关分子CD86和MHCII类分子表达显著上调;IFN- γ + CD8+ T和IFN- γ + CD4+ T细胞比例明显增加、抗肿瘤特异性免疫应答最强。

讨论:化疗诱导黑色素瘤细胞发生凋亡并释放凋亡小体,T α -1可结合并稳定凋亡小体中特定RNA,后者可活化DC胞内TLR7/8通路改善其抗原提呈功能,进而增强化疗后抗肿瘤免疫应答,提高化疗疗效。研究结果将为增强化疗后的抗肿瘤免疫应答,提高黑色素瘤化疗联合免疫治疗的疗效提供理论基础和新思路。

Long Non-Coding RNA Neighbor of BRCA1 Gene 2: A Crucial Regulator in Cancer Biology

Ting Wang*
Jiangsu Cancer Hospital

Long non-coding RNAs (lncRNAs) are involved in fundamental biochemical and cellular processes. The neighbor of BRCA1 gene 2 (NBR2) is a long intergenic non-coding RNA (lincRNA) whose gene locus is adjacent to the tumor suppressor gene breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1). In human cancers, NBR2 expression is dysregulated and correlates with clinical outcomes. Moreover, NBR2 is crucial for glucose metabolism and affects the proliferation, survival, metastasis, and therapeutic resistance in different types of cancer. Here, we review the precise molecular mechanisms underlying NBR2-induced changes in cancer. In addition, the potential application of NBR2 in the diagnosis and treatment of cancer is also discussed, as well as the challenges of exploiting NBR2 for cancer intervention.

alpha-II-血影蛋白分解产物SBDP145 在类风湿关节炎诊断中的作用及临床意义

郑东*、尹晶平、屈赐福、邱骏
苏州大学附属第一医院

目的:探讨 α II-血影蛋白分解产物SBDP145在类风湿关节炎诊断中的作用及临床意义。

方法:收集有详细临床资料及明确诊断的类风湿关节炎患者血清58例。用人SBDP145酶联免疫试剂盒检测血清中SBDP145水平,运用ROC曲线评价SBDP145检测对类风湿关节炎的诊断价值。同时选取27例健康对照检测相应的指标。

结果:与健康对照相比,58例类风湿关节炎患者血清中SBDP145显著升高($P<0.05$);而与患者性别和年龄、是否吸烟和贫血、是否低蛋白患者间没有显著差异。随着病情的加重,SBDP145在血清中的含量逐步升高。在类风湿关节炎患者血清中SBDP145升高和CRP($r=0.454, P<0.001$)以及关节压痛数

($r=0.443$, $P<0.001$) 成正相关。ROC曲线表明SBDP145用于诊断类风湿关节炎的敏感性和特异性分别为82.2%和84.6%。

结论：SBDP145的升高与类风湿关节炎的发生发展密切相关，可能作为类风湿关节炎患者诊断及病情评估的潜在生物标志物。

血浆外泌体来源miR-144-3p和miR-30b-5p 作为类风湿关节炎潜在生物标志物的初步研究

陆健*

苏州大学附属第二医院

目的：筛选类风湿关节炎（rheumatoid arthritis, RA）患者血浆中异常表达的外泌体miRNAs，探究其潜在的生物学功能和临床应用价值。

方法：收集RA活动期患者和健康体检者血浆样本，提取外泌体并鉴定。利用Illumina高通量测序技术检测血浆外泌体中miRNAs的表达水平，以获得差异表达的miRNAs，并利用实时荧光定量PCR（quantitative real-time fluorescence PCR, qRT-PCR）进行验证。分析RA患者血浆中特定外泌体miRNAs水平与疾病活动度评分DAS28、抗环瓜氨酸肽（cyclic citrullinated peptide, CCP）抗体和类风湿因子（rheumatoid factor, RF）含量的相关性，并利用ROC曲线分析观察外泌体miRNAs对RA的诊断效能。

结果：与健康对照者相比，RA患者血浆外泌体中miR-144-3p和miR-30b-5p的水平显著下降。生信分析结果显示，IRF-4/Blimp-1和Bcl-6是miR-144-3p和miR-30b-5p作用的靶基因，提示其可能通过影响Tfh和B细胞的分化参与RA疾病进展。此外，血浆外泌体miR-144-3p和miR-30b-5p的水平与DAS28评分、抗CCP抗体和RF含量显著负相关。ROC曲线分析结果显示，血浆外泌体来源的miR-144-3p和miR-30b-5p在区分RA患者和健康对照者方面表现出了较好的性能，其AUC分别为0.662和0.678。

结论：血浆外泌体miR-144-3p和miR-30b-5p的表达水平在RA患者中显著降低，是RA疾病的潜在生物标志物。

circ_0057582在乳腺癌恶性进展中的作用机制 及其作为新型标志物的临床价值研究

赵玥昕*、徐诗靓、吴茜茜、王凌霞、杨欢

苏州大学附属第二医院

目的：目前女性乳腺癌已成为全球范围内最常见的癌症，严重危害女性生命健康。环状RNA是一类不具有5'和3'末端和polyA尾、以共价键形成闭合环形结构的RNA分子。CircRNA在多种肿瘤中表达失调，并可由肿瘤细胞分泌到外周循环在血清中检测，是肿瘤诊断、疗效监测及预后判断的良好标志物。本次实验中通过GEO数据库从乳腺癌组织circRNA表达谱芯片数据中筛选到一种与乳腺癌进展密切相关的circRNA——hsa_circ_0057582作为本次研究的目标，探讨circ_0057582在乳腺癌恶性进展中的作

用机制及其作为新型标志物的临床价值。

方法：采用qRT-PCR（荧光实时定量PCR）检测目的基因的表达，采用Western blot（蛋白免疫沉淀）检测目标蛋白表达，应用CCK-8（细胞计数试剂盒-8）评估细胞增殖能力，Wound Healing Assay（伤口愈合实验）评估细胞迁移能力和伤口愈合能力，Transwell法用于检测细胞迁移和侵袭能力，流式细胞术检测细胞周期和细胞凋亡。应用细胞核浆分离试剂盒检测分子在细胞内的分布。使用RNA-pull down（RNA沉淀检测）和质谱法检测与circRNA分子相结合的蛋白分子并应用RIP试剂盒（RNA免疫沉淀）进行鉴定。应用转录组测序分析circRNA分子下游靶基因，RNAInter等在线分析数据库分析分子间的结合位点。

结果：1、GEO数据库中筛选出circ_0057582作为研究目标，circ_0057582定位于2号染色体，由HECW2基因11-17号外显子反向剪切形成，全长901个核苷酸，具有抵抗RNase R酶消化能力，在细胞核/浆均有分布。2、circ_0057582在高侵袭性乳腺癌细胞中表达显著下调，同时相比于健康体检者，乳腺癌患者血清和组织中的circ_0057582的表达含量更低。血清circ_0057582诊断的敏感性，特异性，AUC分别为66.7%，80%，0.800。3、circ_0057582过表达抑制乳腺癌细胞的增殖、克隆形成、迁移和侵袭，同时促进凋亡。4、circ_0057582可与hnRNPF蛋白相结合，诱导hnRNPF蛋白对YAP的剪切能力增强导致YAP减少，YAP作为转录因子与下游SOX9基因的启动子结合，导致干性基因SOX9的表达减少，最终抑制乳腺癌的增殖、克隆形成、迁移和侵袭，促进凋亡。

讨论：circ_0057582通过与hnRNPF蛋白相结合调控hnRNPF蛋白对于下游YAP的剪切作用，YAP作为转录因子与下游靶基因SOX9启动子相结合调控SOX9的转录表达，从而抑制乳腺癌的增殖、克隆形成、迁移和侵袭，同时促进细胞凋亡和自噬。为乳腺癌的早期诊断、疗效监测、预后判断提供新的液体活检标志物，为乳腺癌的靶向治疗提供新的思路。

Tim-3 expression causes NK cell dysfunction in Type 2 diabetes patients

Hui Wang*

The First Affiliated Hospital of Soochow University

Objective: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is characterized by high blood glucose levels and chronic low-grade inflammation. It shows a strong association with obesity and immune dysfunction, which makes T2DM patients more susceptible to infectious diseases. NK cells play an important role in pathogen control and tumor surveillance. However, whether NK cell distribution and functional status are altered in T2DM is unclear. To address this issue, we compared surface receptor expression and cytokine production between peripheral blood NK cells from 90 T2DM patients and 62 age- and sex-matched healthy controls.

Methods: (1) Fresh peripheral blood samples were collected from T2DM patients and healthy subjects. (2) Flow cytometry was used to detect the changes of surface receptors, expression of functional molecules, apoptosis (Annexin V+) and proliferation (Ki67+) of NK cells in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). (3) K562-Galectin-9 and K562-CD66a overexpression cell lines were constructed and co-cultured with NK92 cells. The killing ability of NK92 cells and the level of IFN- γ in the supernatant of NK92 cells were detected. (4) The function of NK cells from T2DM patients stimulated with IL12+IL18 after blocking the Galectin-9/Tim-3 pathway in vitro; (5) NK cells

from T2DM patients were co-cultured with K562-CD66a overexpression cell line, and the killing function of NK cells was detected by blocking the Galectin-9/Tim-3 pathway.

Results: We found a significantly lower frequency and absolute number of NK cells in patients than in controls. Interestingly, the expression of inhibitory receptor Tim-3 was significantly increased, while the expression of the activating receptor NKG2D was significantly decreased, in T2DM NK cells. Both TNF- α secretion and degranulation capacity (evidenced by CD107a expression) were dampened in NK cells from patients. The expression of Tim-3 on NK cells correlated positively with both HbA1c and fasting blood glucose levels and negatively with the percentage and absolute number of total NK cells and was associated with increased NK cell apoptosis. In addition, we found that compared with Tim-3- NK cells, Tim-3+ NK cells had the same degranulation ability, but their ability to produce TNF- α and IFN- γ was reduced, indicating that they were in a functionally depleted state. Galectin-9 is one of the ligands of Tim-3, and we found that the level of soluble Galectin-9 was significantly increased in the serum of T2DM patients. When we blocked the Galectin-9/Tim-3 signaling pathway, the ability of NK cells to produce cytokines TNF- α and IFN- γ was restored.

Discussion: The increased expression of Tim-3 on NK cells in T2DM patients can lead to their dysfunction and apoptosis. Blocking the Galectin-9/Tim-3 pathway can partially restore the function of NK cells. These findings may reveal an increased susceptibility to infectious diseases and tumors in patients with T2DM.

Down-regulation of SAMHD1 gene construction of a prognosis biomarker for overall survival in lung adenocarcinoma

liangliang cai^{★1,2}, tingting liu³, mingfeng jiang^{1,2}, xintian xu^{1,2}, yangyang chu^{1,2}, li qian^{1,2}

1. Institute of Translational Medicine, Medical College, Yangzhou University,
2. Jiangsu Key Laboratory of Experimental & Translational Non-coding RNA Research,
2. Jiangsu Key Laboratory of Experimental & Translational Non-coding RNA Research,
3. Department of Orthopedics, The Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou University,

Background: Lung cancer is one of the malignant tumors with the fastest growth in incidence rate and mortality which is the greatest threat to human health and life. The most common histological subtype of lung cancer, lung adenocarcinoma (LUAD), represents nearly 50% of all lung cancers. The main risk factors for LUAD are smoking and air pollution. The air condition caused a rapid increase of lung adenocarcinoma among never-smoking women. In recent years, Surgical resection, Radiotherapy and Medical treatment are the main treatment for LUAD patients. Although it has made great progress in treatment of LUAD, the curative effect of LUAD is still unsatisfactory and the 5-year overall survival (OS) of LUAD remains below 20%. Therefore, we need to further investigate the relative genes of SAMHD1 progression to provide potential targets for prognostic and treatment of LUAD patients. As a natural antiviral factor, Sterile alpha motif (SAM) domain and histidine-aspartate (HD) domain-containing protein 1, SAMHD1 is mainly expressed in myeloid cells such as dendritic cells and macrophages. SAMHD1 plays a role in the innate immune response and is mutated in Aicardi - Gouti è res syndrome (AGS) and all SAMHD1 mutants identified in AGS patients lost their ability to block HIV-1 infection except for G209S.

Also, SAMHD1 was found related with a negative regulatory mechanism of dNTP pools with its dNTPase activity, which can inhibit the replication of retroviruses and DNA viruses in myeloid cells through degrading dNTPs in cells preventing supplement for virus replication. As previously reported, SAMHD1 is directly implicated in lung cancer, representing down-regulation of SAMHD1. Another study shows that SAMHD1 is a negative modulator of the LINE-1 retrotransposon in tumor cells. In this study, we definite the RNA expression characteristics, diagnostic and prognostic value of SAMHD1 gene in LUAD, and analyzed the correlation between SAMHD1 gene expression and immune cell infiltration, immune checkpoint genes and signal pathway. In our study, we aim to establish a SAMHD1 cluster method to predict the clinical outcome of LUAD patients, and we investigated the role of SAMHD1 gene in LUAD patients, further illustrating the uniqueness of SAMHD1 gene in LUAD patients.

Methods: The RNA expression, variance analysis, copy number alteration and the clinical features, prognostic value of SAMHD1 gene in LUAD patients was evaluated using TCGA data. Pathway enrichment analysis of SAMHD1 gene was conducted using the R package cluster Profiler. In addition, we deeply explored the interaction between SAMHD1 gene and immunosuppressive tumor microenvironment (iTME) at the LUAD patients.

Results: SAMHD1 gene expression was substantially lower in LUAD patients than normal. Low SAMHD1 gene expression predicted worse long-term survival in LUAD patients. We also proved that SAMHD1 gene expression was positively correlated with the immune checkpoint genes, DNA damage repair (DDR) genes, and CD8+ T cell effector genes.

Conclusions: Our results revealed that low expression of SAMHD1 gene lead to poor survival and construction of prognostic marker in LUAD patients.

真菌通过调控MDSC代谢促进肺腺癌血管生成的机制研究

瞿薇★

南京大学

目的: 微生物感染与肿瘤的发生发展存在着不可忽视的关系, 微生物群已经成为患癌过程和免疫反应对抗癌细胞的关键调节剂。在肺腺癌患病过程中, 共生微生物失调伴随癌变发生。临床数据显示, 在ICU中, 真菌感染发病率最高的即为念珠菌和烟曲霉菌。且烟曲霉菌合并实体瘤发展, 发病率最高的即为肺癌。本研究拟探讨肺部共生真菌与肺腺癌之间的调控作用及其机制。

方法: 本研究构建Lewis小鼠肺腺癌模型, 在瘤周感染白色念珠菌以及烟曲霉菌。使用流式细胞术、HE染色、免疫荧光以及免疫组化等观察肿瘤恶性程度变化。通过EILSA、细胞划痕实验以及管腔形成等实验在体外验证真菌在肺癌中的促血管生成作用。使用 anti-Ly6G 抗体清除小鼠体内G-MDSC, 观察肿瘤恶性程度变化。并通过分离骨髓原代MDSC, 使用RNA-sequence技术分析差异代谢基因。

结果: 两种真菌感染组的小鼠, 体重均下降, 肿瘤增长速度变快。HE染色和免疫组化ki67指标显示真菌感染组肿瘤恶性程度加重。此外, 在真菌感染组肿瘤血管生成指标CD31、CD34指标以及血清中VEFGA的含量均显著上调。体外实验验证, 真菌对于肿瘤细胞以及血管内皮细胞的增殖以及血管生成能力无直接影响。分析肿瘤微环境中变化的免疫细胞, 发现真菌感染组肿瘤中MDSC数量增多, 且主要分型为G-MDSC。使用anti-Ly6G 抗体, 清除G-MDSC, 缓减瘤周感染真菌导致的肿瘤负荷加重以及血管生成增多。原代MDSC经真菌刺激后, 促血管生成因子基因显著高表达。在MDSC培养液上清中, VEGF-A含量显著增加。使用经真菌刺激的MDSC培养液上清, 与内皮细胞共同培养, 发现内皮细胞的血管生成

能力增加。通过RNASequence芯片分析,我们发现,真菌会导致MDSC的氨基酸代谢发生显著变化,其中SLC7A11基因显著上调。在MDSC培养基中,加入SLC7A11的特异性抑制剂柳氮磺吡啶会抑制真菌诱导的MDSC分化增多以及G-MDSC分型增加。在体内实验中,柳氮磺吡啶能够减缓真菌感染加重的肺腺癌进程。肿瘤微环境中MDSC的生成和募集以及真菌瘤周感染导致的血管生成增加现象,也在柳氮磺吡啶加入之后被显著抑制。

讨论:本研究明确了瘤周感染真菌导致的促血管生成作用,并解释了真菌感染是通过调控肿瘤微环境中的MDSC来发挥促血管生成作用,抑制MDSC的氨基酸转运蛋白SLC7A11能够缓解真菌感染导致的血管生成增多以及肿瘤进程加快。本研究为临床肺腺癌合并真菌感染治疗提供了理论基础,临床上有望将SLC7A11作为治疗该类疾病的潜在靶点。

NK细胞亚群与肿瘤标志物联合分析 对乳腺恶性肿瘤的诊断价值

梁勇*、崔言言、周磊、杨洁
淮安市第二人民医院

目的:探讨NK细胞亚群与肿瘤标志物联合分析对乳腺恶性肿瘤的诊断价值,寻找到提高乳腺恶性肿瘤检测敏感度和特异度的诊断方法。分析各个指标对预后效果的评估作用。

方法:回顾性分析2021年1月至2023年1月在淮安市第二人民医院住院或门诊的患者数据。收集确诊的乳腺癌(breast cancer)患者47例为实验组。选择医院里同期健康体检者20例作为健康对照组。比较实验组及健康对照组血清中三种肿瘤标志物、HCY、hs-CRP、D-二聚体和淋巴细胞亚群的表达情况;比较术前和术后各项指标的表达情况。运用SPSS26.0软件对数据进行统计学处理,绘制ROC曲线并进行分析,比较单独检测与联合检测时的AUC、敏感度和特异度。

结果:1、乳腺癌患者CA153、CA125、hs-CRP和CD3-CD56brightCD16-%的水平均高于健康者;CD3+细胞百分比低于健康者,且差异有统计学意义($P<0.05$)。乳腺癌患者术前CEA、CA125、CA153、hs-CRP、D-二聚体和CD3-CD56brightCD16-%的水平均高于健康体检者,且差异有统计学意义($P<0.05$)。

2、术后CA153和D-二聚体水平显著低于术前($P<0.05$; $P=0.040$ 、 $P=0.042$)。

3、CA153和CD3-CD56brightCD16-%联合检测乳腺癌的AUC为0.891,敏感度为89.4%,特异度为85%。CA153、hs-CRP和CD3-CD56brightCD16-%联合检测术前乳腺癌的AUC为0.953,敏感度为93.3%。

结论:CA153和CD3-CD56brightCD16-%的联合检测,可提高对乳腺癌诊断的敏感度,同时诊断乳腺癌的特异度亦较高,具有较好的临床应用价值。CA153和D-二聚体可用来评估预后效果。

【关键词】乳腺癌;肿瘤标志物;NK淋巴细胞亚群;联合检测

CARD9敲除诱导的线粒体介导的铁死亡 阻止MDSCs依赖的抗真菌免疫

张治永*、李鹏飞、陈莹、陈钰兮、王婷婷

Medical College of Nanjing University

在髓系细胞中表达的Caspase募集结构域蛋白9 (CARD9) 已被证明在抵抗系统性念珠菌病中发挥抗真菌免疫作用。然而, 参与CARD9抵抗系统性念珠菌病的髓系细胞类型和分子机制仍然尚未明确。在本研究中, 我们发现CARD9缺失导致肾脏中髓源性抑制细胞 (MDSCs) 的数量降低以及SLC7A11的表达显著降低, 这增加了系统性热带念珠菌感染期间急性肾损伤和肾脏铁死亡的易感性。此外, CARD9缺失的MDSCs在热带念珠菌刺激下易发生铁死亡, 这是由于SLC7A11的表达降低导致线粒体氧化磷酸化 (OXPHOS) 增强。在机制上, C型凝集素受体 (CLRs) 介导的热带念珠菌的识别促进了MDSCs中的SLC7A11的表达, SLC7A11的表达在转录上受到Syk-PKC δ -CARD9-FosB信号轴的调控。在热带念珠菌刺激的MDSCs中, FosB通过结合SLC7A11的启动子增强SLC7A11的转录。在热带念珠菌刺激条件下, 受到SLC7A11负调控的线粒体OXPHOS诱导MDSCs的铁死亡。最后, 通过二甲双胍药理抑制线粒体OXPHOS或铁死亡的抑制剂抑制铁死亡可显著增加肾脏中MDSCs的数量, 增强宿主抗真菌免疫, 从而减轻系统性念珠菌病期间CARD9缺失加重的铁死亡和急性肾损伤。总的来说, 我们的研究表明, CARD9缺失增强了线粒体介导的MDSCs的铁死亡, 从而负调控抗真菌免疫。我们也确定了在系统性念珠菌病中, 线粒体介导的铁死亡是CARD9缺失加重急性肾损伤的一种新的分子机制, 因此靶向线粒体介导的铁死亡是一种新的治疗系统性念珠菌病的策略。

血清ProGRP在小细胞肺癌临床诊断中的价值

刘娟*

淮安市第四人民医院

目的: 探讨血清ProGRP水平用于SCLC临床诊断的应用价值。

方法: 选取2020年6月至2021年12月间收治的40例SCLC患者为实验组, 并选取NSCLC患者38例为NSCLC组, 38例健康体检者为对照组。采用电化学发光法测定血清ProGRP、CA19-9、CEA及NSE水平。对各组测定结果进行对比分析。

结果: 与对照组及NSCLC组比较, SCLC组血清ProGRP、NSE水平显著增加 ($P < 0.05$); 与对照组比较, NSCLC组血清CEA水平显著增加 ($P < 0.05$); 三组间血清CA19-9水平无显著差异 ($P > 0.05$)。

结论: 血清ProGRP水平对于SCLC的临床诊断具有较高诊断特异度。

· 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 ·

基于重组酶聚合酶等温扩增结合侧流层析试纸条 (RPA-LFS)检测粪肠球菌的快速诊断方法的建立与应用

朱波*

江苏大学附属医院

目的：建立基于重组酶聚合酶扩增结合侧流层析（RPA-LFS）快速、特异性的检测粪肠球菌的方法。

方法：设计针对粪肠球菌的磷酸糖结合转录调节因子（phosphosugar-binding transcriptional regulator）基因的引物和探针，构建RPA-LFS检测体系；利用琼脂糖凝胶电泳分析重组酶聚合酶等温扩增产物的特异性；采用RPA-LFS系统检测标准粪肠球菌菌株、临床痰标本粪肠球菌分离株及26种其他常见病原菌，分析评估RPA-LFS检测系统的特异性；通过倍比稀释法检测已知浓度粪肠球菌，评估RPA-LFS检测系统的灵敏度；同时采用传统荧光定量PCR（qPCR）法与RPA-LFS同时检测278例痰标本，比较两种检测结果的一致性。

结果：琼脂糖凝胶电泳得到单一扩增产物，且产物分子量大小与预期一致。RPA-LFS系统检测的粪肠球菌标准菌株及临床痰标本分离株结果均为阳性，而其他26种其他常见菌检测结果均为阴性。该RPA-LFS检测方法最佳反应条件为37 °C 35 min，最低检出限为10 CFU/μl。RPA-LFS法与qPCR法对278例痰标本的检测结果100%一致。

结论：本研究建立的RPA-LFS检测方法具有操作简单、反应迅速、灵敏度高、特异性强的优点，适于临床用于粪肠球菌的快速辅助诊断和监测。

Multi-omics Molecular Characterization and Diagnostic Biomarkers for Occult Hepatitis B Virus and HBsAg-Positive Hepatitis B Virus Infection

Xinyi Jiang*

The Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi People's Hospital, Wuxi Medical Center, Nanjing Medical University

Objective: Occult hepatitis B infection (OBI) is a special infection status during the process of chronic hepatitis B (CHB) infection. It is characterized by negative hepatitis B surface antigen (HBsAg) in peripheral blood but detectable hepatitis B virus (HBV) DNA in peripheral blood and/or liver tissue. Currently, the pathological and physiological characteristics, as well as the blood multi-omics features, between HBsAg-positive CHB and OBI are not clear. Liver biopsy is the gold standard for OBI diagnosis, but its invasiveness limits its widespread use.

Therefore, it is necessary to develop molecular biomarkers related to the clinical diagnosis of OBI. Our study aims to explore the characteristics of the immune microenvironment in the peripheral circulation of patients with occult hepatitis B through the integration of proteomic and non-targeted metabolomic sequencing results, and to screen molecular biomarkers for clinical diagnosis of HBsAg-positive CHB and OBI.

Methods: In this study, plasma samples were collected from 20 patients with occult hepatitis B infection (negative for plasma HBsAg but positive for HBV DNA), 20 patients with HBsAg-positive chronic hepatitis B infection, and 10 healthy individuals. Mass spectrometry-based detection (UltraOmic™) was performed for patients and healthy controls, enabling comprehensive qualitative and quantitative analysis of the proteome. Omics analysis, including gene ontology (GO) annotation, KEGG pathway annotation, and enrichment analysis, was conducted to predict and evaluate diagnostic models for protein and metabolite biomarkers using machine learning.

Results: HBsAg-positive CHB patients and OBI patients could be classified based on proteomic and metabolomic profiling. The study found that HBsAg-positive CHB patients had higher age and alanine aminotransferase (ALT) levels, indicating longer infection duration and poorer liver function. Comparative analysis between groups revealed that the characteristic pathways in the healthy control group were related to normal cellular functions such as ribosome, translation, and innate immunity, while the characteristic pathways in the HBsAg-positive CHB group were related to cellular inflammatory factors, amino acid metabolism, and heparan sulfate, and the characteristic pathways in the OBI group were related to fatty acid metabolism, retinol metabolism, and oxidative stress, suggesting that hepatitis B infection affects various metabolic functions and promotes inflammation. Further tissue tracing showed that HBsAg-positive CHB infection affected Kupffer cells in the liver, activating regulatory pathways of innate immune response and cellular defense, while in OBI patients, hepatocytes were affected, activating various pathways related to carbohydrate and lipid metabolism. This indicates that specific cells in the liver are affected by different states of hepatitis B infection, thereby activating relevant pathways. Immune profiling also effectively characterized the immune features of HBV and OBI patients, with OBI patients mainly consisting of CD4 Tem and memory B cells, which can rapidly respond to infection reactivation by secreting cytokines and producing antibodies. In contrast, HBsAg-positive CHB patients had immune cells mainly consisting of red blood cells and bone marrow-related progenitor cells, suggesting that the virus may affect the differentiation regulation of erythroid and myeloid lineages during HBV infection. Finally, the diagnostic model constructed by machine learning effectively classified the HBV and OBI populations, with AUC values greater than 0.8 for the training and testing sets of the HBsAg-positive CHB group compared to the OBI group, indicating significant classification performance of the model.

Discussion: This study, for the first time, reveals the immune microenvironment in the peripheral circulation of HBsAg-positive CHB patients and occult hepatitis B patients through multi-omics analysis, and evaluates the pathological and physiological characteristics, immune levels, and metabolic status of OBI patients. The diagnostic model constructed by machine learning shows good classification performance and potential diagnostic value.

第四代HIV电化学发光诊断试剂初筛试验假阳性原因分析

储楚*

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：探讨第四代HIV电化学发光诊断试剂初筛试验假阳性的原因。

方法：收集HIV抗体初筛试验阳性但确证试验阴性的患者84例，及同期健康体检者88例，对其实验室指标进行比较，探讨引起HIV抗体假阳性的原因。

结果：HIV抗体假阳性组的WBC、AST、LDH、HBDH水平显著高于健康对照组，有统计学差异（ $P < 0.05$ ），HIV抗体假阳性组的TC、TG、HDL-C、LDL-C水平显著低于健康对照组，有统计学差异（ $P < 0.05$ ），Spearman相关性分析显示，COI值与WBC（ $r=0.307$ ）、AST（ $r=0.336$ ）、LDH（ $r=0.335$ ）、HBDH（ $r=0.321$ ）呈正相关，与TC（ $r=-0.263$ ）、HDL-C（ $r=-0.281$ ）、LDL-C（ $r=-0.245$ ）呈负相关，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。多元线性回归分析显示AST、HBDH、HDL-C与COI值独立相关， β 值分别为0.043、0.027、-2.410。

结论：WBC、AST、LDH、HBDH升高、血脂相关指标的降低与第四代HIV电化学发光诊断试剂初筛试验假阳性关系密切。

肝素结合蛋白、降钙素原对儿童严重脓毒症的早期诊断价值

冯晓斌*、徐兰兰

无锡市儿童医院（江南大学附属无锡儿童医院）

目的：探讨肝素结合蛋白、降钙素原对儿童严重脓毒症的早期诊断价值。

方法：回顾性收集2022年1月到2023年6月176例因感染住院患儿的临床资料，根据患儿病情分成严重脓毒症组、脓毒症组、非脓毒症组。收集患儿入院后24小时内的静脉血，分别按对应SOP进行肝素结合蛋白(HBP)、降钙素(PCT)、C反应蛋白(CRP)、纤维蛋白原(FIB)的检测，其所用仪器型号分别为JS3000（杭州中翰盛泰）、NRM411-S7（南京诺尔曼）、BC-7500CRP（深圳迈瑞）、ACL TOP（美国IL），所用配套试剂均为仪器配套原装试剂。将上述四项指标全部纳入二元Logistic回归模型中，通过向前步进法筛选诊断严重脓毒症的独立危险因素，并将筛选出的独立危险因素纳入回归模型，构建严重脓毒症的联合预测模型，进一步通过受试者工作曲线（ROC）评估上述指标和联合指标对儿童严重脓毒症的诊断价值。

结果：本研究共纳入176例患儿，其中男性100例，女性76例；年龄0岁至9岁。根据患儿病情分成严重脓毒症组（32例）、脓毒症组（69例）、非脓毒症组（75例）3组。3组患儿的性别构成和年龄分布差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。严重脓毒症组和脓毒症组的HBP、CRP、FIB明显高于非脓毒症组（ $P < 0.05$ ），严重脓毒症组HBP、PCT、FIB明显高于脓毒症组（ $P < 0.05$ ），严重脓毒症组的PCT明显高于非脓毒症组（ $P < 0.05$ ）。ROC曲线显示，单项指标中HBP对儿童严重脓毒症的诊断价值最高，曲线下

面积 (AUC) 为0.942, 其灵敏度为90.6%, 特异度为89.6%, 最佳截断值为100.13 ng/mL; HBP+PCT联合检测在所有检测中诊断严重脓毒症AUC最高, 曲线下面积 (AUC) 为0.988, 其灵敏度为93.8%, 特异度为99.3%。

结论: HBP单指标检测、HBP+PCT联合检测对患儿严重脓毒症的早期诊断均有高的灵敏度和特异度, 可为临床医生提供参考依据, 降低患儿严重脓毒症的发生率。

Identification and characterization of pancreatic infections in severe and critical acute pancreatitis patients using 16S rRNA gene next generation sequencing

Ning Sun*, Yong Chen, Jiaxun Zhang, Jin Cao, Hongjuan Huang, Xiaojun Li

Department of Clinical Laboratory Science, Jinling Hospital, Affiliated Hospital of Medical School, Nanjing University, Nanjing, China

Objectives: This study aimed to identify the bacterial composition in the pancreatic fluids of severe and critical acute pancreatitis (SAP, CAP) patients and evaluate the feasibility of 16S rRNA gene next-generation sequencing (NGS) for the identification of polymicrobial infections.

Methods: A total of 78 pancreatic fluids were collected from 56 SAP and CAP patients. DNA was extracted followed by the amplification of 16S rRNA gene V3-V4 region using polymerase chain reaction. Amplicons were sequenced using NGS. The clinical data of the patients were obtained from the electronic medical records.

Results: Among the total 78 samples, 16S rRNA gene NGS identified a total of 704 bacterial taxa, belonging to 216 species in 123 genera in 56 samples. Analyzing the bacterial isolation sources revealed that gut microbiota might be the main source of pancreatic infections, while some bacteria might be translocated from the oral and airways and related environment. As compared to culturing, 95.96% (95/99) of the cultured bacteria were detected using the 16S rRNA gene NGS. There were no significant differences in the bacterial diversity between SAP and CAP; however, the common multidrug-resistant bacteria were detected more frequently in the CAP patients.

Conclusions: The pancreatic infections in the SAP and CAP patients might originate not only from the gut but also from the oral cavity and airways as well as related environments. This study also suggested that the 16S rRNA gene NGS was more suitable for the identification of polymicrobial infections as compared to culture.

mNAP在脓毒症患者诊断和预后判断中价值

王加平*

东海县人民医院

目的: 探讨外周血中性粒细胞膜碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase on the surface membrane of neutrophils, mNAP) 在脓毒症患者诊断和预后判断中的价值。

方法：选择2020年1月至2023年6月东海县人民医院收治的脓毒症患者180例，根据患者的病情分为脓毒症135例、脓毒性休克45例，以同期住院的排除感染的全身性炎症反应综合征（Systemic inflammatory response syndrome (SIRS)）患者35例作为对照组。应用流式细胞技术检测mNAP、免疫法检测血清降钙素原（PCT）、C-反应蛋白（CRP），采用相关分析mNAP与PCT及CRP相关性，应用受试者工作特征(Receiver operating characteristic curves,ROC)评价mNAP、PCT、CRP对脓毒症诊断及预后价值。

结果：脓毒症、脓毒症休克、对照组NAP、PCT、CRP检测结果中位数（P25%–75%）分别为13130（9839–18155）Ab/c、18058（12569–26462）Ab/c、5738（2613–9891）Ab/c；1.99（0.338–6.390）ng/ml、26.40（8.84–60.12）ng/ml、0.31（0.11–0.90）ng/ml；119.01（83.50–176.02）mg/ml、192.11（149.21–279.21）mg/ml、81.90（38.30–123.31）mg/ml；脓毒症、脓毒症休克患者mNAP、PCT、CRP与对照组比较， $P=0.000$ ；脓症患者28天死亡组和生存组mNAP中位数分别为22627 Ab/c、15100 Ab/c，死亡组结果高于生存组，差异有统计学意义（ $P=0.000$ ）。Spearman等级相关分析结果，脓症患者mNAP与CRP、PCT呈正相关，相关系数 r 分别为0.3358（ $P<0.01$ ）、0.4564（ $P<0.01$ ）。ROC曲线结果，mNAP、PCT、CRP诊断脓毒症 AUC（95%CI）分别为0.84（0.7619–0.9149）、0.74（0.6638–0.8230）、0.68（0.5734–0.7773）；mNAP取最佳切点10464Ab/c时，诊断敏感性和特异性分别为80.25%、69.63%；PCT取最佳切点1.055ng/ml时，诊断的敏感性和特性分别为80.01%、62.22%，CRP取最佳切点82.25mg/L时诊断的敏感性和特异性分别为76.30%、51.43%。

结论：mNAP、PCT两者无论在诊断特异性还是敏感性方面均明显优于CRP，在我们比较的三个标志物中，mNAP AUC最大，mNAP诊断脓毒症敏感性与PCT基本一致，而特异性高于PCT，mNAP有望成为一个新的标志物而应用于脓毒症诊断与预后判断。

儿童呼吸道病原体流行特征分析

任峰*、陆娟、黄璇
江南大学附属医院

目的：探讨无锡地区住院儿童呼吸道病原体流行特征。为临床呼吸道感染疾病的诊治提供数据支持。

方法：选取2023年4月至7月在江南大学附属医院住院的儿童，采集口咽拭子，采用PCR荧光探针法对六项呼吸道病原体核酸进行检测。通过检测和统计不同年龄段、不同月份、不同临床患儿病毒检出率，分析本地区住院儿童呼吸道病原体流行特征。

结果：497例患儿中呼吸道病原体检出阳性279例，阳性率为56.1%，其中单一病毒感染235例，混合2种及以上病毒感染44例。六项病毒阳性率由高到低分别为：呼吸道合胞病毒（RSV）95例（19.1%）、人鼻病毒（HRV）95例（19.1%）、肺炎支原体（MP）70例（14.1%）、腺病毒（Adv）12例（2.4%）、甲型流感病毒（Flu A）7例，而乙型流感病毒（Flu B）未检出。不同年龄段患儿病毒检出率比较，<1岁组，病毒检出49例（52.1%，49/94例）；1~3岁组病毒检出107例（56.6%，107/189）；4~6岁组病毒检出70例（58.3%，70/120）；7~16岁组病毒检出53例（56.4%，53/94），前两组主要为RSV和HRV，后两组主要为MP。不同月份病毒检出率比较，4月份病毒检出58例（89.2%，58/65例），主要为RSV；5月份病毒检出98例（69.0%，98/142），主要为RSV和HRV；6月份病毒检出57例（36.3%，57/157），主要为HRV；7月份病毒检出66例（49.3%，66/134），主要为MP。根据临床症状、实验室指标和影像学等相关信息，将临床诊断分为上呼吸道感染、下呼吸道感染和其它疾病。上呼吸道感染病毒检出

67例(45.6%, 67/147);下呼吸道感染病毒检出179例(65.3%, 179/274);其它疾病病毒检出33例(42.9%, 33/77)。各组间比较差异多具有统计学意义($P<0.05$)。

讨论:在新冠疫情仍处于流行的情况下,人员流动增加,呼吸道感染防护措施下降,儿童呼吸道感染病原体感染日趋严重,引起儿童呼吸道感染的病原谱较为复杂,明确呼吸道感染的病原体,快速、准确诊断,及时选择合适的药物治疗,对儿童呼吸道感染的预防及感染后的康复具有重要的意义。通过本次研究发现,引起本地区住院儿童呼吸道感染最常见的病原体为RSV、HRV和MP。在不同年龄段、不同月份、不同临床疾病之间,各病原体的检出率不同,说明病毒在不同年龄段、不同月份和不同疾病之间的流行具有特征性。通过研究,对本地区的病原体分布和流行特征有了初步的认识,可为临床诊断儿童呼吸道疾病、合理使用抗生素和治疗提供参考依据。本研究还存在一些不足之处,呼吸道病原体的核酸检测尚处于起步阶段,数据积累时间较短,本研究中呼吸道病原体种类较少,有待继续积累研究。

质谱技术在鉴定血培养阳性标本中的应用研究

万洋洋*

南通市第一人民医院

目的:探究质谱技术用于快速鉴定阳性培养瓶中病原菌的可行性,比较两种标本预处理方法提取报阳血培养瓶中的细菌的效率,并探讨阳性血培养瓶中质谱快速鉴定细菌后进行直接药敏试验的应用价值。

方法:

(1)实验一:收集非重复报阳血培养瓶,接种后培养,第二天用生化鉴定和常规质谱技术分别鉴定菌落,评估质谱技术的可行性。

(2)实验二:收集非重复报阳血培养瓶,转种标本后第二天用质谱技术鉴定转种后纯培养的菌落,同时,对报阳当天抽取的另一部分培养物经预处理后进行质谱快速鉴定,对比两种预处理方法。

(3)实验三:收集非重复报阳血培养瓶,根据质谱快速鉴定结果挑选其中革兰阳性菌和革兰阴性菌使用梅里埃VITEK@ 2 Compact药敏分析系统进行直接药敏试验(direct antimicrobial susceptibility testing, DAST)。以纯培养菌落的药敏结果为标准,观察直接药敏试验对临床治疗的指导意义。

结果:

(1)实验一:本实验中,以VITEK@ 2 Compact生化鉴定仪的结果为金标准,对比分析Autof MS1000质谱仪的准确性。结果显示,Autof MS1000质谱仪对于75株革兰阳性球菌、8株革兰阳性杆菌、117株革兰阴性杆菌和11株真菌的检出率均达到了100%。并且Autof MS1000质谱仪的成本显著低于VITEK@ 2 Compact生化鉴定仪,且耗时短。

(2)实验二:本实验应用质谱快速鉴定,结果显示,常见的病原菌检出率较高,如金黄色葡萄球菌88.2%、表皮葡萄球菌83.3%、屎肠球菌92.3%、肺炎克雷伯菌90.0%、大肠埃希菌93.5%、阴沟肠杆菌87.5%、铜绿假单胞菌85.7%、鲍曼不动杆菌91.7%等。而在真菌的鉴定中,质谱快速鉴定的检出率为52.9%,不及培养后对纯菌落的质谱鉴定效率。说明在非真菌的血流感染时,质谱快速鉴定技术有较好的应用价值。在质谱检测中,对于采用了两种标本预处理方法,传统方法预处理后,质谱快速鉴定细菌的检出率(81.2%)低于Triton X-100预处理后的检出率(88.1%),传统预处理方法的9分以上检出率高于Triton X-100的预处理方法。并且Triton X-100的预处理方法简便快速成本低廉。

(3)实验三:挑选161株细菌进行直接药敏与常规MIC药敏结果相比,其中103株革兰阴性杆菌对

应的血培养瓶培养液沉淀直接药敏试验 (DAST) 结果与作为参考的常规梅里埃VITEK@ 2 Compact MIC (minimum inhibitory concentration) 法抗菌药物敏感试验 (antimicrobial susceptibility testing, AST) 结果相比分类一致 (category agreement, CA) 为97.51%, 非常重大错误 (very major error, VME) 为0.49%, 重大错误 (major error, ME) 为0.17%; 58株革兰阳性球菌对应的血培养瓶培养液沉淀DAST与作为参考的常规MIC法AST结果相比CA为96.61%, VME为0.29%, ME为2.06%。

讨论:

- 1、质谱技术鉴定细菌特异性和敏感性高, 且耗时更短。
- 2、质谱快速鉴定技术检测血流感染样品有较高的检出率, 能缩短临床大部分血流感染患者的感染源鉴定所需的时间。两种标本的预处理方法中, Triton X-100的预处理方法更简便快速, 有利于在临床微生物实验室中推广。
- 3、质谱阳性标本直接药敏试验耗时较短, 可及时为临床提供合理使用抗菌药物的依据。

质谱辅助激光解析电离飞行时间质谱技术在快速鉴定无菌部位体液病原菌中的应用

邱蕴文*

南通市第一人民医院

目的: 探究MALDI-TOF MS直接检测方法对无菌部位体液标本中病原菌的鉴定价值, 为临床感染性疾病, 特别是急重症感染提供更加快速有效的检测手段。

方法: 收集南通市第一人民医院细菌室2021年1月-2022年7月血培养瓶报阳的无菌部位体液标本320份, 选择经培养确认后单数菌感染标本307例, 标本类型包括血液、胸水、脑脊液、腹水、关节腔积液。将血培养瓶中无菌体液标本进行前处理后, 分别使用常规质谱法 (转种平板取单个菌落点样) 和直接质谱法 (直接抽取标本处理后点样) 进行菌种鉴定。

结果: 1.两种方法鉴定结果比较; 常规质谱法共检出307株细菌, 包括革兰阴性菌160株, 革兰阳性菌147株, 鉴定结果分值均 ≥ 9 。直接质谱法鉴定分值 ≥ 9.5 的革兰阴性菌76.88%, 革兰阳性菌48.30%, 分值 ≥ 9.0 的革兰阴性菌94.38%, 革兰阳性菌83.67%, 分值 ≥ 6.0 的革兰阴性菌97.5%, 革兰阳性菌93.88%, 革兰阴性菌的检出率和分值均高于革兰阳性菌。对于无菌体液中检出的常见菌, 如肠杆菌、葡萄球菌属水平置信的鉴定率均大于95%, 非发酵菌、肠球菌、链球菌、真菌属水平置信的鉴定率大于90%。所有大于等于6分的直接法鉴定结果与常规法一致率为100%。2.不同标本鉴定结果比较; 本次试验菌株分别来自全血217株, 脑脊液56株, 胸水21株, 腹水9株, 关节腔积液4株。其中全血和脑脊液分值 ≥ 6.0 的鉴定率分别为97.24%和98.21%, 胸水大于90%。腹水标本和关节腔积液标本总数较少, 还需要进一步扩大样本量进行验证。关节腔积液鉴定率较低。3.两种方法处理时间比较; 常规法与直接法报阳后使用不同方法处理阳性培养液, 使用MALDI-TOF MS技术分别进行菌种鉴定。常规法鉴定培养液转种后需 $35 \pm 1^\circ\text{C}$ 5%CO₂培养18-24小时, 一些菌需要培养延长至48小时或更长时间。直接法通过培养液的处理, 可在报阳后2小时内对菌株做出鉴定, 标本周转时间缩短约20小时。

讨论: 传统的无菌部位体液培养鉴定病原菌的方法从血培养瓶报阳到发出鉴定报告, 需36-48小时。MALDI-TOF MS技术常规方法由于具有快速、准确、高效、经济等特点, 已广泛应用于临床病原微生物鉴定。为满足临床对病原菌快速检测的需求, MALDI-TOF MS直接快速鉴定培养阳性标本病原菌已成

为国内外研究的热点。由于血培养瓶中血红蛋白及其他物质影响指纹图谱，干扰病原菌鉴定，阳性培养瓶在进行质谱检测前需经过前处理使病原菌纯化富集。

本实验结果说明多数临床常见无菌体液标本及常见菌，直接法的鉴定率和准确率均有较高水平；对于鉴定率较低的菌种和体液标本类型，还需要进一步扩大样本量和进行方法改进。

传统细菌鉴定法需要至少18-24小时转种培养，再使用鉴定板条再过夜培养，才能明确病原菌。常规质谱法可将TAT时间缩短约8-16小时。直接质谱法系统报阳后2-3小时即可完成病原菌的鉴定，可进一步缩短TAT时间约20小时，极大提高了微生物鉴定效率。

胶体金免疫层析法快速 检测多重耐药革兰阴性杆菌碳青霉烯酶的临床价值

顾敏*、许雨乔

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：评估胶体金免疫层析法（Gold Immunochromatographic Assay, GICA）在快速检测多重耐药革兰阴性杆菌碳青霉烯酶酶型的临床应用价值。

方法：收集南京医科大学第一附属医院2023年1月至6月临床分离的非重复多重耐药革兰阴性杆菌 65株。以聚合酶链反应（Polymerase Chain Reaction, PCR）为参考方法，评估GICA快速检测多重耐药革兰阴性杆菌碳青霉烯酶酶型。稀释菌液样本，验证GICA法可以检测出碳青霉烯酶酶型的最小稀释倍数。评估GICA法的准确性、灵敏性及临床应用价值。

结果：PCR检测结果显示，65株多重耐药革兰阴性杆菌中表达碳青霉烯酶类基因51株，其中30株为blaKPC基因阳性（58.8%），13株为blaNDM基因阳性（25.5%），1株为blaIMP基因阳性（2.0%），5株为blaOXA-23基因阳性（9.8%），2株为blaKPC+blaNDM复合型基因阳性（3.9%）。GICA法较PCR法检测四种酶型均一致，准确性为100%。GICA法可以快速检测碳青霉烯酶酶型最小稀释倍数为1:20。

结论：GICA法可以快速、准确鉴定多重耐药革兰阴性杆菌碳青霉烯酶酶型，与PCR金标准检测结果符合率为100%，操作简便，具有很高的准确性和灵敏性。GICA法在早期监测多重耐药革兰阴性杆菌碳青霉烯类菌株和临床抗感染个体化治疗中具有重要的临床意义。

宏基因组二代测序辅助鹦鹉热衣原体早期诊断应用

杨慧*、韩雪、郑国军、杜小春、张婷

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%），鹦鹉热患者平均年龄为58(±12)岁，以中、老年患者为主。8例患者为男性（8/10,80%）。鹦鹉热患者有明确的禽类接触史占80%（8/10）。

所有鹦鹉热患者急性起病，均住院治疗，在肺泡灌洗液采样时，8例（80%）患者在感染科住院，1例（10%）患者在内分泌科住院，1例（10%）患者在呼吸与危重症医学科住院。肺泡灌洗液采样时间分散。以发热（体温均大于39℃）、乏力、咳嗽、头痛和恶心纳差为主要临床特征。其中发热（10/10,100%）、乏力（9/10，90%）、头痛（6/10,60%）、咳嗽（6/10，60%）和纳差（4/10,40%）。一名患者出现胸闷，一名患者出现四肢末梢发麻。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%±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%±4.58%），占80%（8/10）。

患者影像学检查异常，最常显示肺叶浸润。胸部计算机断层成像（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）。3例患者可见少量胸腔积液。

10例患者肺泡灌洗液mNGS均检测到鹦鹉热衣原体。在6个肺泡灌洗液样本中，鹦鹉热衣原体是唯一检测到的病原体，序列数为15~4434。其他最常见的病原体是嗜血杆菌、链球菌、结核分枝杆菌。

10例患者经验性抗感染治疗，以联合用药为主，多西环素联合莫西沙星、复方冬草口服液治疗占80%。1例患者采用多西环素联合奥玛环素治疗。10例患者治愈、好转。多数患者病情稳定，无复发。

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。

全自动化学发光微阵列免疫分析法 检测自身免疫性风湿病的抗核抗体

袁丹丹*

无锡市儿童医院

背景：系统性自身免疫性风湿病(SARDs)是由机体对自身抗原发生免疫反应，从而导致机体产生自身组织损伤而累及人体各系统组织和器官的全身性疾病。检测特异性抗核抗体（ANAs）对于SARDs患者的诊断、预后和治疗管理非常重要。目前，ANAs可采用多种免疫学检测方法。根据检测发展的进程和自动化程度分为单一检测法和多通量检测法，这些检测方法都有其独特性能，其中多重免疫测定因其可以测定多种特异性抗体，受到越来越多的关注。化学发光微阵列免疫分析法(CLMIA)是一种全自动检测方法，可同时检测多种具有临床意义的抗体。抗原物质按顺序排列附着在载体上，抗原微阵列暴露于含有自身抗体的血清样本中，其与相应的抗原结合，样品中分析物的浓度可以通过检测芯片微斑中产生的抗原-抗体复合物来确定。虽然在2000年就首次提出应用微阵列技术检测临床自身抗体的概念，但临床实验室商品化的微阵列分析尚未被大规模采用。

方法：我们建立了一种可以同时检测14种抗核抗体的CLMIA方法，通过将被测抗原Ro52、Ro60、SSB、P0、CENP-B、M2、Histone、dsDNA、Jo-1、Nucleosome、RNP、Sm、Scl-70、Pm-scl集成到一张玻璃芯片上形成“芯片实验室”，极大地节省了试剂材料和检测时间。此外，我们对建立的CLMIA法其准确性、线性、检出限和精密度等基础性指标进行评估。通过与线性免疫分析法(LIA)和间接免疫荧光

法(IIF)等传统方法比较,进一步评价了CLMIA的诊断性能。

结果:结果表明,CLMIA具有高准确性(相对偏差<15%)、高灵敏度(dsDNA \leq 3IU/mL,其他ANA \leq 1RU/mL)和良好的重复性(CV<15%)等特点。本研究建立的CLMIA检测方法也表现出良好的临床诊断性能,与LIA和IIF相比,曲线下面积最大(AUC=0.82, P<0.0001)。除抗dsDNA外,CLMIA和LIA对特异性抗核抗体的检测结果有极好的一致性,Cohen's kappa 在0.638-0.876之间。由于CLMIA和LIA在dsDNA检测中一致性较弱,我们采用单一检测法ELISA作为参考方法检测dsDNA抗体差异样本。结果显示85.7% CLMIA中dsDNA抗体阳性但LIA阴性的样品经ELISA检测为阳性,66.7% CLMIA阴性但LIA阳性的样品经ELISA检测为阴性,这表明CLMIA在诊断dsDNA方面也具有一定优势。

结论:鉴于CLMIA高灵敏度、高通量、微型化、样本用量少(只需20 μ L)以及具有良好的检测性能等优点,有望成为检测ANAs的一种潜在的常规方法。

临床分离单核细胞增生李斯特菌菌株分子特征研究

廖希玮*、周万青

南京大学医学院附属鼓楼医院

目的:回顾性分析临床分离单核细胞增生李斯特菌分子特征。

方法:收集2013-2020年南京鼓楼医院临床感染患者分离单核细胞增生李斯特菌(LM)23株。采用E-Test和纸片扩散法检测菌株药敏结果;采用多重PCR方法检测菌株血清分型;采用全基因组测序技术获得菌株基因组数据,并采用软件分析获得菌株毒力基因、耐药决定基因、MLST分型及进化关系;采用96孔板-结晶紫染色筛选菌株生物膜形成能力。

结果:23株菌株分离自20份血液、2份脑脊液和1份分泌物样本。23株菌株对青霉素、氨苄西林、美罗培南、红霉素、庆大霉素、万古霉素、左氧氟沙星、环丙沙星、利奈唑胺和庆大霉素100%敏感,对克林霉素和头孢曲松100%耐药,对四环素和复方磺胺甲恶唑敏感率均为95.7%;菌株分为3种血清型,包括1/2a 14株、1/2b 7株和4b2株;23株菌株基因组大小在2 842 139至3 158 091之间,GC%在37.81%至38.35%之间,所有菌株均携带FosX基因,其中1株菌同时携带tet(M)和dfrG基因;prfA、actA、hly、mpl、plcA、plcB、iap是菌株主要携带毒力基因;23株LM分为8个ST型,分别为ST8型9株,ST3型、ST87型和ST451型各3株,ST5型、ST1型、ST224和ST515型各1株。未检出生物膜成膜阳性菌株。

结论:临床分离单核细胞增生李斯特菌对多种药物敏感性较高,以1/2a血清型、ST8为主要流行,常携带多种毒力基因,需关注菌株流行特点。

微滴式数字PCR在血流感染诊断和动态监测中的临床价值

李森*¹、赵立伟²、欧明蓉³、陈雨欣¹

1. 南京大学医学院附属鼓楼医院检验科;
2. 南京中医药大学鼓楼临床医学院检验科
3. 南京医科大学鼓楼临床医学院检验科

目的:血流感染(bloodstream infections, BSIs)易诱发脓毒症及多器官功能障碍综合征,对公共卫生

构成重大挑战。BSIs的临床预后与其诊断的及时性、准确性，以及初始抗微生物药物的合理应用密切相关。本研究旨在评估微滴式数字PCR（droplet digital PCR, ddPCR）在BSIs的快速诊断和动态监测中的临床价值。

方法：本研究共纳入211例于南京鼓楼医院住院治疗的疑似BSIs患者。采集患者血液样本同步进行ddPCR和血培养（blood culture, BC）检测，比较两种方法检测结果的一致性和临床符合率。此外，应用Olink蛋白质组学平台分析革兰氏阴性菌感染相关BSIs的免疫炎症特征，寻找新的辅助诊断指标。

结果：本研究结果显示，在211份受检血液样本中，BC阳性20份，阳性检出率为9.48%；ddPCR阳性103份，阳性检出率为48.82%。以BC诊断为标准，ddPCR的敏感性为90.00%（18/20），特异性为55.50%（106/191）。而以临床诊断为标准时，ddPCR的诊断价值有所提升，敏感性为92.59%（75/81），特异性为78.46%（102/130）。ddPCR检测病原菌负荷与传统的临床炎症指标白细胞介素6（interleukin 6, IL-6）和C-反应蛋白（C-reactive protein, CRP）呈显著正相关。此外，Olink蛋白质组学分析结果显示血浆骨保护素（osteoprotegerin, OPG）、白细胞介素8（interleukin 8, IL-8）、白细胞介素18受体1（interleukin 18 receptor 1, IL-18R1）、C-C趋化因子20（C-C motif chemokine 20, CCL20）和IL-6水平在革兰氏阴性菌相关BSIs患者血浆中显著升高。

讨论：与血培养相比，ddPCR可以快速、准确和定量检测疑似BSIs患者血中常见病原菌。在病原菌早期预警、疾病动态监测及抗菌素的早期用药指导和治疗方案调整方面发挥潜力。OPG、IL-8、IL-18R1、CCL20和IL-6可作为辅助诊断革兰氏阴性菌相关BSIs的新型促炎生物标志物。通过蛋白组学分析挖掘新的特征性炎症指标，有助于临床对BSIs的精准诊断和治疗，为患者预后带来益处。

MALDI-TOF MS快速鉴定金黄色葡萄球菌的应用研究

刘乐*

徐州医科大学附属医院

目的：探讨基质辅助激光解析电离飞行时间质谱（MALDI-TOF MS）对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）的快速鉴定价值。

方法：收集某附属医院临床分离的200株金黄色葡萄球菌（SA），并进行种属的确认。采用头孢西丁纸片扩散法和PCR法检测mecR基因筛选MRSA。根据建库要求，选取部分耐药和敏感菌株图谱，分别建立耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（MRSA）和甲氧西林敏感金黄色葡萄球菌（MSSA）的超级质谱数据库（SuperSpectra），获得两组的特征峰，并选择建库外的SA菌株进行验证，所得结果与纸片扩散法和PCR法比较，判断验证是否准确。

结果：MALDI-TOF MS技术确认200株菌株均为SA，采用纸片扩散法筛选MRSA和PCR法检测mecR基因，结果200株SA中有125株携带mecA基因的MRSA菌株和75株不携带mecA基因的MSSA菌株。通过比较发现质荷比为3036.0、3875.3 Da为MRSA的主要特征峰，而质荷比为5054.0 Da为MSSA的主要特征峰。选取除建库以外的SA进行验证，MRSA鉴定正确率为89.8%（79/88），MSSA正确率为87.5%（63/72）。

结论：MALDI-TOF MS可快速鉴别MRSA和MSSA，有助于提高临床快速鉴定耐药菌的能力。

大蜡螟感染模型在鉴别高毒力肺炎克雷伯菌中的应用

宋爽^{★1,2}、赵树龙²、孙静芳²、徐银海²、康海全²、马萍^{1,2}

1. 徐州医科大学医学技术学院; 2. 徐州医科大学附属医院

目的: 建立高毒力肺炎克雷伯菌的大蜡螟感染模型并评价此模型在毒力鉴别中的作用。

方法: 收集徐州医科大学附属医院2020年1月至2021年12月分离自重症监护室非重复病人的肺炎克雷伯菌, 经拉丝实验和毒力基因检测鉴定出高毒力肺炎克雷伯菌15株, 而后进行荚膜血清分型和多位点序列分型。收集10株经典肺炎克雷伯菌, 与高毒力肺炎克雷伯菌一同进行大蜡螟实验, 将4个不同浓度的菌液注入大蜡螟, 每12小时记录死亡情况, 计算72小时50%致死量(LD50)。

结果: 共检出3种血清型, 分别为K1 ST23型占13.3% (2/15)、K64 ST11型占60.0% (9/15)、K112 ST15型占26.7% (4/15)。大蜡螟实验显示随着菌液浓度的升高, 大蜡螟的死亡率也随之升高, K1、K64、K112型肺炎克雷伯菌均表现出高致死率, 在菌液浓度为 1×10^6 CFU/ml时, 大蜡螟感染模型可有效区分经典肺炎克雷伯菌和高毒力肺炎克雷伯菌, LD50结果显示, 临床分离的K1、K64、K112型肺炎克雷伯菌均为高毒力菌株。

结论: 大蜡螟感染模型可用于经典肺炎克雷伯菌和高毒力肺炎克雷伯菌的鉴别。

XPRT MTB/RIF在396例确诊肺结核中的应用评价

纪小亭[★]

淮安市第四人民医院

目的: 评价XPRT MTB (结核分枝杆菌)/RIF (利福平) 在淮安地区诊断肺结核及RIF耐药的应用价值。

方法: 收集临床确诊肺结核并同时留取痰标本送检: 固体法MTB培养、抗酸杆菌涂片和XPRT MTB/RIF的396例病例为研究对象, 对不同方法的检测结果进行深入比较。

结果: XPRT MTB/RIF灵敏度高于抗酸染色, 差异有显著统计学意义 (57.8%比41.7%, $X^2=20.69$, $P<0.01$); 与培养比较差异无统计学意义 (57.8%比55.3%, $X^2=0.51$, $P>0.05$)。以培养为标准XPRT MTB/RIF在涂片阴性; 阳性; 整体患者中的灵敏度、特异度分别为: 89.3%、90.3%; 97.9%、71.4%; 95.0%、88.1%。XPRT MTB/RIF与固体培养一致性较好 (Kappa值=0.84), 准确度较高。以比例法药敏试验为标准, 在219例药敏中分析XPRT MTB/RIF检测RIF耐药在涂片阴性; 阳性; 整体患者中的灵敏度、特异度分别为: 87.5%、95.5%; 95.2%、98.4%; 93.1%、97.3%。rpoB序列E位点突变率最高。

结论: Xpert MTB / RIF 操作简单, 检测时间短, 生物安全要求低, 灵敏度、特异度高, 有较高的临床应用价值。

· 细胞与分子免疫学研究与应用 ·

甲状腺球蛋白与甲状腺素作为新型联合标志物 在妊娠期肝内胆汁淤积症中的检测及机制研究

王高莹^{*1}、张婷¹、黄欢²

1. 无锡妇幼保健院; 2. 江南大学

目的：妊娠期肝内胆汁淤积症（ICP）是严重危害母婴健康的并发症，可引起胎儿宫内窘迫、早产、死胎等不良妊娠结局，增加围产儿发病率和死亡率。胎盘滋养细胞凋亡异常与ICP发生发展密切相关。甲状腺素结合球蛋白（TBG）属于TBG家族，是一种在肝脏中产生的丝氨酸蛋白酶抑制剂。孕期TBG与性激素之间互相影响，雌激素的升高导致TBG增加。TBG可携带超过70%的甲状腺激素，对于维持血清中甲状腺素（T4）的恒定具有重要的作用。T4可减少心肌细胞凋亡，本次研究拟从T4异常代谢作为ICP发生发展机制研究的新切入点，重点阐述TBG对滋养层细胞凋亡的调控作用。

方法：对ICP患者及正常孕妇的血清进行代谢组学分析，并联合蛋白质组学寻找差异代谢物及差异蛋白。在早、中、晚孕期患者血清中进行验证，并评估代谢产物和蛋白质在ICP预测和诊断方面的敏感性和特异性。收集ICP孕妇及正常孕妇胎盘组织，通过免疫组化及western blot检测TBG在胎盘组织中的差异表达。体外以牛黄胆酸（TCA）刺激HTR-8/Svneo细胞模拟ICP环境，同时加入T4从而调节TBG对滋养层细胞的影响。构建TBG过表达质粒及siRNA片段，转染至HTR-8/Svneo细胞中，验证TBG在ICP发生过程中的作用。通过CCK8及流式细胞术检测HTR-8/Svneo细胞的凋亡水平，western blot检测TBG在细胞中的表达水平以及凋亡指标（cleaved-caspase 3、Bcl-2）的表达水平。

结果：代谢组学分析中KEGG富集分析表明，ICP患者血清差异代谢产物主要与胆汁酸生物合成、柠檬酸循环（TCA循环）、甲状腺激素合成等代谢有关。联合蛋白质组学分析，筛选出的差异代谢产物-T4和蛋白质-TBG，参与甲状腺激素的合成。在孕早、中期，ICP组患者的血清FT4和TBG水平显著低于对照组。在孕晚期，与对照组相比，ICP组患者的血清TT4、FT4和TBG水平显著升高。研究发现，在孕晚期TT4、FT4和TBG与TBA呈负相关。实验结果表明TBG主要定位于胎盘滋养层细胞的细胞质中，ICP胎盘组织中的TBG水平低于正常孕妇。CCK8与流式结果显示经TCA处理36小时后，HTR-8/Svneo细胞活力显著降低，凋亡增多，T4可逆转这一现象。TCA处理后的细胞低表达TBG，高表达cleaved-caspase 3，经T4处理后的细胞TBG表达水平升高，Bcl-2水平升高，cleaved-caspase 3表达降低。相对于经TCA处理后的细胞，过表达TBG的HTR-8/Svneo细胞增殖能力明显升高，细胞凋亡水平受到抑制，Bcl-2表达升高，cleaved-caspase 3表达降低。

讨论：TBG是联合代谢组学与蛋白质组筛选获得的在ICP患者血清中低表达的差异蛋白，T4是差异代谢物，是TBG代谢上游物质。T4及TBG联合检测可作为ICP临床诊断、妊娠结局预测及早期预测的新型标志物。T4通过TBG诱导胎盘滋养细胞凋亡促进ICP发生发展，为ICP的诊治提供新的理论依据和治疗靶点。

Function of reactive oxygen species in myeloid-derived suppressor cells

Jiaojiao Huang*, Shengjun Wang
School of Medicine, Jiangsu University

Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) are a heterogeneous myeloid cell population and serve as a vital contributor to the tumor microenvironment. Reactive oxygen species (ROS) are byproducts of aerobic respiration and are involved in regulating normal biological activities and disease progression. MDSCs can produce ROS to fulfill their immunosuppressive activity and eliminate excessive ROS to survive comply through the redox system. This review focuses on how MDSCs survive and function in high levels of ROS and summarizes immunotherapy targeting ROS in MDSCs. The distinctive role of ROS in MDSCs will inspire us to widely apply the blocked oxidative stress strategy in targeting MDSC therapy to future clinical therapeutics.

Targeting STING in cancer: challenges and emerging opportunities

Kexin Zhao*, Shengjun Wang
School of Medicine, Jiangsu University

The cyclic GMP – AMP synthase (cGAS) – stimulator of interferon genes (STING) signaling pathway is a key pathway through which the host regulates immune responses by recognizing cytoplasmic double-stranded DNA of abnormal origin, and it plays an important role in tumor growth as well as metastasis, with relevant molecular details constantly being explored and updated. The significant immunomodulatory effects make STING an attractive target for cancer immunotherapy, and STING agonists have been receiving great attention for their development and clinical translation. Despite exciting results in preclinical work, the application of STING agonists to cancer therapy remains challenging due to their poor pharmacokinetic and physicochemical properties, as well as toxic side effects they produce. Here, we summarize the dichotomous role of cGAS–STING in cancer and discuss the limitations of cancer immunotherapy based on STING activation as well as feasible strategies to overcome them to achieve tumor regression.

Function of the cGAS–STING signaling pathway in metabolic disorders and cellular senescence

Huiyong Peng^{*}, Qian Xu, Shengjun Wang, Yingzhao Liu
The Affiliated People's Hospital of Jiangsu University

The cyclic GMP–AMP synthase (cGAS) is a novel cytoplasmic DNA sensor. By catalyzing the synthesis of cyclic GMP–AMP, it binds to the downstream stimulator of interferon gene (STING), thus activating transcription factors involved in the secretion of pro-inflammatory mediators. This induction leads to the expression of inflammatory and type I interferon genes in immune cells, playing a crucial role in the innate immune system. With the in-depth research into the cGAS–STING signaling pathway, in recent years, an increasing amount of evidence has indicated that the excessive activation or impairment of this signaling pathway can intensify inflammatory responses and lead to metabolic disruptions. Furthermore, chronic inflammation has been identified as a significant contributing factor to various metabolic disorders such as type 2 diabetes and obesity. As a result, the cGAS–STING signaling pathway may play a crucial role in metabolic regulation, cellular aging, neurodegenerative diseases, and cardiovascular disorders. However, there are still many unknown aspects regarding the roles and regulatory mechanisms of the cGAS–STING signaling pathway in metabolic disruptions and cellular aging. This review presents the latest advancements in cGAS–STING signal transduction, with a particular focus on summarizing the intricate connections between this pathway and metabolic disorders as well as cellular aging. Lastly, the review also discusses the recent progress in research on potential small molecule inhibitors targeting cGAS and STING, aiming to provide novel perspectives for the treatment of metabolic disorders from a pathological mechanism standpoint.

CKS2在肺腺癌中的临床意义和预后价值

黄奔^{*}

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：研究细胞周期蛋白依赖性激酶调节亚基2 (cyclin-dependent kinases regulatory subunit 2, CKS2) 在肺腺癌中的临床意义和预后作用，并探索其在肺腺癌中分子作用机制。

方法：在癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas, TCGA）官方数据库中下载肺腺癌转录组数据和患者的临床数据，利用R 4.0.3软件提取CKS2的表达值，分析CKS2在肺腺癌中的表达情况，探究其表达水平与患者临床病理参数的相关性。结合患者的生存资料，使用Kaplan–Meier生存分析法探究CKS2与患者总体生存率的关系。利用COX回归分析探究CKS2在肺腺癌中的预后价值。基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 用于探讨CKS2在肺腺癌中的分子作用机制。同时，使用GEPIA2数据库和UALCAN数据库用于验证分析CKS2在肺腺癌中的表达情况。Kaplan–Meier数据库用于验证分析CKS2表达与患者总体生存率之间的关系。

结果：与正常组织相比，CKS2 mRNA在肺腺癌组织中显著表达上调 ($P < 0.05$)，CKS2表达水平与

患者肿瘤分期($P = 0.018$)和肿瘤远处转移($P=0.015$)显著相关。多因素COX分析显示,CKS2是肺腺癌的独立预后因素(HR=1.166, 95%CI=1.013–1.342, $P=0.032$)。GSEA富集分析结果显示CKS2参与细胞周期、RNA降解、基础转录因子、错配修复、DNA复制和P53信号通路等。

结论:CKS2在人肺腺癌组织中高表达,并与肺腺癌患者的恶性进展相关,可作为肺腺癌患者的不良预后因素。

Exosomal S100A9 functions in colorectal cancer diagnosis and prognosis assessment

Yungang Wang*, Keke Shao, Zhe Zhang
The First People's Hospital of Yancheng City

Background: Colorectal cancer (CRC) ranks third among diagnosed cancers worldwide, with a significant trend towards increase in incidence and mortality across the world. The development of emerging screening option is important for CRC prevention and therapy. We evaluated the clinical value of exosomal S100A9 in the screening, diagnosis and prognosis of CRC patients.

Methods: CRC patients treated with radical surgery were retrospectively analyzed. RDW were measured before treatment. Graphpad prism 7 program is used for statistical analysis with the statistical methods such as Student's t test, Chi-square test, Spearman correlation analysis, ROC (receiver operating characteristic) curve, and survival curve for research.

Results: Plasma exosomal S100A9 levels are significantly increased in the blood of CRC patients. Exosomal S100A9 had good diagnostic efficacy for CRC. In case of exosomal S100A9 greater than 0.328 ng/ug, the positive rate of CRC increased significantly. The overall survival was significantly increased in CRC patients with low levels of exosomal S100A9 compared with patients with high levels of S100A9. CD3+CD8+ cells in CRC patients with high exosomal S100A9 was significantly more than that in low exosomal S100A9 patients.

Conclusions: The detection of blood exosome S100A9 has important diagnostic significance for CRC. The preoperative exosomal S100A9 has important value to evaluate the prognosis of CRC patients.

抗 β 2GPI抗体促进动脉粥样硬化相关血管内皮细胞活化的作用机制研究

张贵婷*
南京大学医学院附属鼓楼医院

研究目的:探讨自身抗体对动脉粥样硬化病程中血管内皮细胞功能活化的影响,探究oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物的形成对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)表达炎症因子、黏附分子以及血栓相关分子等AS相关活性分子的影响及TLR4和p38 MAPK在其中的作用。

研究方法：分组 (media、oxLDL、oxLDL/ β 2GPI、oxLDL/anti- β 2GPI、oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI、LPS)刺激HUVEC。收集总RNA、总蛋白和培养上清，利用RT-qPCR、Western blot和ELISA检测炎症因子TNF- α 、黏附分子ICAM-1和VCAM-1、血栓相关分子vWF的表达；采用TAK-242 (TLR4阻断剂)或SB203580 (p38 MAPK阻断剂)预处理HUVEC，利用上述技术检测其活性分子的表达。

研究结果：与media相比，oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物明显上调HUVEC TNF- α 、ICAM-1、VCAM-1和vWF的mRNA和蛋白表达水平，TAK-242和SB203580可以有效抑制上述效应。

讨论：动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是一种起源于血管内皮细胞损伤和功能改变的慢性炎症性疾病。抗磷脂综合征 (antiphospholipid syndrome, APS) 是一类以反复动、静脉血栓形成、习惯性流产以及抗磷脂抗体持续中高滴度阳性为主要特征的自身免疫性疾病。其中，抗 β 2GPI抗体在APS中具有重要致病作用。新近研究发现，oxLDL与 β 2GPI、 β 2GPI与anti- β 2GPI之间存在相互作用，提示AS可能与APS之间存在一定的关联。本研究中，我们着重探讨了oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物对血管内皮细胞活化的影响及潜在机制。

为了探究oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物在AS各病理阶段中对血管内皮细胞的激活作用，我们以HUVEC为血管内皮细胞模型，选择炎症因子TNF- α 、黏附分子ICAM-1和VCAM-1、血栓相关分子vWF为检测对象。实验结果发现，oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物刺激能够显著提高HUVEC TNF- α 、ICAM-1、VCAM-1及vWF的mRNA和蛋白表达水平。提示oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物能够通过增强血管内皮细胞的炎症活化，加速AS的发展。此外，该复合物能够促进HUVEC上调vWF表达，提示oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物可能通过促进血小板的聚集，参与AS复合病变期的血栓形成。此外，相比于oxLDL，oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物对活性分子表达的上调作用明显更强，提示该复合物的形成对AS的病情发展有一定的加速作用，这也解释了APS患者高发AS的现象。

本研究采用TLR4经典激动剂LPS刺激和TLR4抑制剂TAK-242以及p38 MAPK特异性抑制剂SB203580预处理的方式，探讨了TLR4和p38 MAPK在内皮细胞活化中发挥的作用。结果发现，经LPS刺激后，HUVEC的TNF- α 、ICAM-1、VCAM-1和vWF mRNA与蛋白表达水平均能明显上调，说明活化TLR4能够促进血管内皮细胞的激活和活性分子的表达。此外，TAK-242与SB203580预处理能够显著抑制LPS和oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物介导的活性分子表达，表明TLR4及其下游信号分子P38 MAPK在HUVEC表达活性分子过程中发挥重要作用。

综上，抗 β 2GPI抗体通过oxLDL/ β 2GPI/anti- β 2GPI复合物的形式促进血管内皮细胞表达AS相关活性分子，TLR4和p38 MAPK与该过程密切相关。

妊娠期肝内胆汁淤积症新型分子标志物S100A9 检测技术的研发及临床应用研究

张婷*、董蕊锐、石英贤

无锡市妇幼保健院 (无锡市妇女儿童保健所无锡市计划生育科学技术指导中心)

目的：S100A9是我们前期通过DIA蛋白质组学技术筛选出的ICP新型血清分子诊断标志物，目前检测人血清S100A9含量的方法是ELISA，耗时长，时效性差，难以实现临床对ICP患者做出快速精准的预测及诊断。因此本研究将Nano-TRFIA技术与免疫层析技术结合，开发新型分子标志物S100A9的荧光定量检测试剂盒。同时研究不同孕周ICP患者血清S100A9水平的动态变化，全面评估该试剂盒在ICP诊断和预

测中的临床应用价值。

方法：选取2021年1月至2022年12月无锡市妇幼保健院收治入院的66例ICP患者和66例同时期入院产检的健康妊娠女性作为研究对象，收集患者孕晚期，早期与中期的(>28周)空腹血标本和临床资料。将Nano-TRFIA技术与免疫层析技术结合，开发新型分子标志物S100A9的荧光定量检测试剂盒。同时研究不同孕周ICP患者血清S100A9水平的动态变化，全面评估该试剂盒在ICP诊断和预测中的临床应用价值。

结果：S100A9试纸条的反应时间是12分钟，检测下限为0.01 ng/mL。试纸条在37℃避光条件下可保存21天。试纸条批内变异系数(CV)为5.6%、4.9%和3.7%；批间CV为7.4%、10.3%和10.7%；试纸条的批内回收率分别为103.3%、96.5%和110.5%，批间回收率分别为119.5%、118.3%和98.4%；试纸条与ELISA试剂盒的相关系数为0.96，说明两种检测方法具有较高的一致性。S100A9在妊娠早、中、晚期的ROC曲线面积分别为0.853、0.815、0.864。同时，S100A9水平与TBA水平呈显著正相关($r=0.771$, $P=0.000$)，与分娩孕周($r=-0.638$, $P=0.000$)、新生儿体重($r=-0.532$, $P=0.000$)呈显著负相关。

讨论：在本研究中，我们发现ICP患者的分娩孕周和新生儿体重均显著低于健康妊娠者，提示ICP可导致胎儿发生早产，因此早期诊断对ICP的治疗具有重要的意义。我们在国内外首次研发S100A9荧光定量检测试剂盒，该试剂盒用荧光微球Eu³⁺标记S100A9单克隆抗体，将其作为荧光探针用于免疫层析，通过读取荧光免疫分析仪上检测线的荧光值，可以对样品中的S100A9进行快速定量分析。本发明提供的荧光定量检测试剂盒具有灵敏度高、成本低廉、操作简便、快速定量检测、稳定性好、适合门诊检查等使用，市场前景广阔，易推广使用的优点。同时使用S100A9荧光定量检测试剂盒检测血清S100A9水平，我们发现妊娠早、中、晚期ICP患者血清S100A9水平明显升高。S100A9在妊娠早期、中期和晚期的ROC曲线面积均大于0.8，提示S100A9对ICP有较高的临床诊断和早期预测价值。同时分析S100A9表达水平与妊娠结局的相关性，结果显示S100A9表达水平越高，胎儿早产的可能性越大，提示S100A9对ICP也有较高的妊娠结局预测价值。

USP49在食管癌细胞中的表达及功影能响

余珂*

无锡惠山区人民医院

目的：探讨USP49对食管癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭等的影响及潜在的作用机制。

方法：采用脂质体转染转染USP49小干扰片段和质粒至食管癌EC-9706细胞、Eca-109细胞分别用克隆形成实验及MTT法检测USP49基因对食管癌细胞增殖的影响；创伤愈合实验和Transwell法检测细胞的迁移和侵袭；用Real-time PCR和Western blotting技术检测食管癌细胞株mRNA水平以及相关蛋白表达的变化情况。

结果：下调USP49能抑制食管癌细胞的增殖、迁移、侵袭和促进食管癌细胞的凋亡。过表达USP49能促进食管癌细胞增殖，迁移，侵袭和抑制食管癌细胞凋亡

结论：USP49能促进食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力，抑制食管癌细胞的凋亡。

外泌体miR-6891-5p在ICP胎盘滋养细胞中的功能研究

高建一*、张婷、袁文青

无锡市妇幼保健院

目的：妊娠期肝内胆汁淤积症（intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP）是一种妊娠期并发症，可引起早产、胎儿窘迫、甚至于胎死宫内等胎儿不良结局的发生。ICP的具体机制尚未明确。我们前期研究中应用基因芯片筛选技术构建了ICP患者血清外泌体差异miRNA表达谱。经临床试验验证发现miR-6891-5p在ICP患者血清外泌体中明显下调，通过生信分析提示miR-6891-5p与凋亡通路相关，但其具体生物作用机制尚未有研究。

方法：通过之前实验确认miRNA，使用PKH67荧光标记外泌体并与细胞共培养；用miRNA mimics转染细胞，使用qRT-PCR验证培养结果、CCK8增殖实验、流式细胞学实验、WB、荧光素酶报告基因实验等验证血清外泌体miRNA会对滋养细胞造成影响。

结果：ICP患者及正常孕妇血清提取的外泌体可进入HTR-8/SVneo细胞内。miR-6891-5p在ICP血清外泌体培养的细胞中的表达水平明显低于对照组（ $P < 0.01$ ）。ICP血清外泌体培养的细胞增殖能力在12小时、24小时以及36小时后明显低于对照组（ $P < 0.05$ ）。miR-6891-5p mimics组的细胞增殖能力在12小时、24小时以及36小时后明显高于对照组、mimics NC组及TCA处理后的细胞（ $P < 0.05$ ）。miR-6891-5p mimics组细胞中WT载体的荧光素酶活性比值相较于其他显著降低（ $P < 0.05$ ）。ICP血清外泌体组的YWHAE存在明显升高，而Cleaved-Caspase3也存在明显的升高。在上调miR-6891-5p表达时，miR-6891-5p mimics组的YWHAE以及Cleaved-Caspase3存在明显的下调。

讨论：本研究首先通过PKH67染色标记外泌体，验证外泌体可进入细胞内发生作用。CCK8细胞增殖实验表明ICP血清外泌体培养的细胞，其细胞增殖能力明显低于正常组血清外泌体培养的细胞（ $P < 0.05$ ）。这就说明，ICP血清外泌体中存在某种物质可以作用于胎盘滋养细胞从而促进胎盘滋养细胞的凋亡，从而导致ICP疾病的发生与发展。随后通过细胞转染进一步验证miR-6891-5p的表达增加可以减轻TCA对于滋养细胞的毒性作用，从而减少胎盘滋养细胞的凋亡。前期课题组通过对ICP胎盘组织与正常胎盘组织中差异蛋白的筛选，发现YWHAE的表达存在明显的升高。我们设想血清外泌体中miR-6891-5p的表达降低是否作用于胎盘组织YWHAE蛋白，使得YWHAE蛋白表达升高，从而促进了胎盘滋养细胞的凋亡。利用miRNA靶基因预测软件发现YWHAE的mRNA的3' UTR与miR-6891-5p存在可能的结合位点。通过荧光素酶报告基因实验证实miR-6891-5p可以作用于YWHAE的mRNA的3' UTR，使得YWHAE蛋白表达下降。在外泌体共培养以及转染实验中，通过提取细胞蛋白，WB实验验证，在外泌体共培养时，ICP外泌体组miR-6891-5p表达下调，YWHAE以及Cleaved-Caspase3的表达存在明显的升高，而在转染后上调miR-6891-5p表达则出现相反的情况。综上所述，ICP患者血清外泌体中miR-6891-5p低表达从而导致胎盘滋养细胞YWHAE蛋白的增加从而促进胎盘滋养细胞凋亡，由此影响ICP疾病的发生发展。

mTOR-RUNX1通路参与 调控肾小管上皮细胞DC-SIGN表达

彭静*、陈旭穹、周思源、冯同保
南京医科大学附属常州第二人民医院

目的：研究TNF- α 模拟的炎症状态下肾小管上皮细胞DC-SIGN表达的调控机制，以期为临床治疗相关疾病提供潜在靶点和策略。

方法：利用TNF- α 刺激人肾小管上皮细胞HK-2，检测DC-SIGN mRNA和蛋白水平。此外构建含DC-SIGN启动子的荧光素酶报告基因质粒，检测TNF- α 刺激对其活性的影响。利用mTOR抑制剂Rapamycin及其siRNA预处理HK-2细胞，检测DC-SIGN mRNA和蛋白水平及其启动子荧光素酶活性的变化。利用RUNX1抑制剂Ro5-3335及其siRNA预处理HK-2细胞，检测DC-SIGN mRNA和蛋白水平及其启动子荧光素酶活性的变化。进一步构建稳转RUNX1及对照的HK-2细胞，检测DC-SIGN mRNA和蛋白水平的变化。最后利用mTOR抑制剂Rapamycin及其siRNA预处理HK-2细胞，检测RUNX1的表达变化。

结果：TNF- α 刺激HK-2细胞可上调DC-SIGN mRNA和蛋白水平，亦可上调DC-SIGN启动子的荧光素酶活性。mTOR抑制剂Rapamycin及其siRNA可抑制TNF- α 诱导的DC-SIGN表达及其荧光素酶活性。TNF- α 刺激HK-2细胞可上调RUNX1表达，RUNX1抑制剂Ro5-3335及其siRNA可抑制TNF- α 诱导的DC-SIGN表达及其荧光素酶活性。而过表达RUNX1可上调TNF- α 诱导的DC-SIGN表达。最后mTOR抑制剂Rapamycin及其siRNA可抑制TNF- α 诱导的RUNX1的表达。

结论：TNF- α 模拟的炎症状态下，mTOR-RUNX1通路参与调控肾小管上皮细胞DC-SIGN表达。

丁酸盐逆转DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎的作用研究

强叶涛*、邹小义、冯同保、张平
常州市第二人民医院

目的：探讨肠道细菌代谢产物丁酸盐对由葡聚糖硫酸钠盐（dextran sulfate sodium, DSS）诱导的小鼠结肠炎模型的作用及机制。

方法：利用DSS诱导小鼠结肠炎模型，分为对照组、1%丁酸盐饮水组、2%DSS肠炎组、2%DSS加1%丁酸盐饮水处理组。每两天记录小鼠体重及粪便腹泻情况，检测粪便隐血，综合指标衡量肠炎疾病活动指数；取小鼠结肠量取长度并拍照，再进行HE染色；取小鼠结肠组织提取RNA，用实时荧光定量PCR的方法检测细胞因子IL-6、IL-12、TNF- α 及醛脱氢酶ALDH1A1及ALDH1A2的表达；取小鼠结肠组织，流式细胞术检测肠道组织中MDSCs的变化；提取小鼠结肠组织黏膜蛋白，Westernblot检测炎症相关信号分子CCR9、P65和Myd88蛋白的变化。

结果：DSS诱导的肠炎小鼠的粪便隐血随时间延长而加重，体重呈现急剧下降，而丁酸盐饮水后，粪便隐血及体重的下降得到明显改善。肠炎小鼠的DAI指数明显升高，丁酸盐饮水后DAI指数有所下降。肠炎小鼠的结肠长度有明显缩短，黏膜组织中出现大量炎性细胞浸润，肠上皮细胞丢失和杯状细胞结构

被破坏, 而丁酸盐饮水后, 结肠长度有所恢复, 炎性细胞的浸润相对减少, 上皮细胞及杯状细胞的形态破坏也明显减轻。另外, 肠炎小鼠的肠粘膜组织分泌的炎性细胞因子TNF- α 、IL-6、IL-12及表达的ALDH1A1、ALDH1A2的量显著上升, 而丁酸盐饮水后则有明显下降。肠炎小鼠肠道组织中的MDSCs百分率明显升高, 而经丁酸盐饮水后又显著降低, 同时, 丁酸盐联合治疗的肠炎小鼠CCR9、P65和Myd88蛋白水平的上调明显被抑制。

结论: 在DSS诱导的小鼠肠炎模型中, 丁酸盐可能通过与MDSCs的协同调节作用, 通过CCR9的募集迁移和聚集, 抑制IL-6、IL-12、TNF- α 的分泌, 逆转DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎。

铁超载加重oxLDL诱导的泡沫细胞动脉粥样硬化活性

王晓燕*、陈旭穹、冯同保
南京医科大学附属常州第二人民医院

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, M2型标志物CD206 mRNA表达下降, 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。

通过发卡竞争扩增实现血浆ctDNA稀有突变的高灵敏富集

刘兆成*

无锡市人民医院

目的：基因变异如DNA点突变不仅与疾病发生发展密切相关，也可作为诊断的特异性标志物。在癌症早期筛查、诊疗指导和复发监测方面，血浆ctDNA变异检测有其独特的优势，显示了巨大的潜力和需求。然而，由于大量野生模板的存在，ctDNA点突变表现为整体性稀有突变，其检测面临极大挑战。针对ctDNA稀有突变难以有效富集和检测的技术困境，设计了一种创新的高灵敏突变检测系统，基于人工发卡结构与引物的热力学竞争效应，开发了可应用于qPCR或Sanger测序的血浆稀有突变检测新方法。

方法：基于qPCR研究有利于突变富集的发卡竞争扩增反应的规律。结合qPCR和Sanger测序，衡量新方法的检测多个突变类型的灵敏度。利用临床样本，包括甲状腺癌穿刺组织DNA和肺癌血浆ctDNA样本衡量检测性能，并与商用试剂盒以及数字PCR比较。

结果：实验显示使用长度优化的发卡引物以及位置优化的竞争引物可建立有效的发卡竞争效应。结合qPCR和Sanger测序，可实现0.1%–0.01%的检测灵敏度，并且能在54–60℃的退火温度范围内实现突变富集，表现了较强的温度鲁棒性。进一步的，新方法实现了多重检测，每个突变靶标均实现了0.1%灵敏度。在临床样本检测中获得了和商用试剂盒以及数字PCR的100%一致性。

讨论：不同于已有的发卡结构方法，其利用非对称扩增、无外切酶活性的Taq酶以及溶解曲线实现基因型检测。我们首次建立基于人工发卡结构与引物的热力学竞争效应实现突变富集，具有成本低、稳定性好、灵敏度高、多重检测的优势。我们新方法既能通过荧光曲线也能通过Sanger测序判断基因型，进一步可建立结合低深度NGS的新方法。此外，如果使用PNA/LNA(锁核酸/肽核酸)修饰，进一步提高发卡引物与模板的亲合力，有可能进一步提高检测灵敏度。

新型GSDMD抑制药物靶向寡聚界面I阻断细胞焦亡

胡颖超*¹、李鸿辉¹、张翔宇¹、王冰微²、杨硕¹

1. 南京医科大学；2. 南京中医药大学

背景：GSDMD是固有免疫炎症小体下游介导细胞焦亡效应的关键效应分子，其N端片段介导的焦亡效应在脓毒症、神经退行性疾病和肿瘤等众多免疫炎症疾病中扮演重要角色。目前靶向GSDMD的抑制剂药物NSA、双硫仑和富马酸酯通过靶向GSDMD N端半胱氨酸位点阻止细胞焦亡发生，然而半胱氨酸作为唯一带有巯基的氨基酸，在构成蛋白酶的催化中心等多种机体生理过程扮演重要角色，其活性抑制可能会影响机体正常生理活动，带来一些不良反应。因此，开发特异性靶向GSDMD焦亡功能的安全药物用于免疫炎症疾病治疗具有重要科学意义和临床转化价值。

目的：目前GSDMD临床抑制剂药物作用特异性较差，易带来不良反应。本研究拟筛选和开发出针对新位点且安全性高的GSDMD焦亡抑制剂药物用于炎症性疾病和肿瘤的治疗。

方法:

- 1) 高通量虚拟筛选结合实体药物筛选鉴定靶向GSDMD N端焦亡功能的活性药物;
- 2) HEK293T细胞过表达系统通过LDH释放、GSDMD寡聚实验和Split-Luciferase系统探究候选药物对GSDMD N寡聚的特异性抑制作用;
- 3) 炎症小体激活物诱导单核巨噬细胞焦亡, 通过检测LDH释放、IL-1 β 分泌和GSDMD寡聚, 探究候选药物对GSDMD介导的细胞焦亡的抑制效应;
- 4) 根据药物结合GSDMD N端复合体结构, 构建候选药物结合位点突变, 通过Darts实验、热转移实验、MST实验和脂质体泄露实验对候选药物靶向结合GSDMD N端寡聚界面I核心位点及其细胞焦亡抑制效应进行验证;
- 5) 腹腔注射LPS或大肠杆菌(E.coli)诱导小鼠脓毒症模型, 探究候选药物对小鼠脓毒症发生的影响;
- 6) 建立小鼠皮下黑色素瘤模型, 探究候选药物对小鼠肿瘤发生的影响。

结果:

- 1) 高通量筛选鉴定出两种靶向GSDMD N端激活寡聚界面I的抑制剂“老药”68和98;
- 2) 两种候选药物能够特异性抑制GSDMD N寡聚;
- 3) 两种候选药物特异性阻滞炎症小体下游GSDMD介导的细胞焦亡;
- 4) 两种候选药物能够特异性靶向结合GSDMD寡聚界面I核心位点抑制细胞焦亡;
- 5) 候选药物显著抑制小鼠脓毒症发生, 且98药物具有同时靶向GSDMD抗炎和抗生素杀菌的双重治疗效果;
- 6) 候选药物与PD-L1抗体联合治疗可显著提高抗肿瘤作用, 且68药物具有调控焦亡和肿瘤血管生长的双靶点抗肿瘤的叠加治疗效果。

讨论: GSDMD介导的细胞焦亡效应与免疫炎症疾病的发生发展密切相关, GSDMD有望成为治疗免疫炎症疾病的新靶点。然而, 目前GSDMD临床抑制剂药物主要通过靶向GSDMD N端C191/C192位点阻止细胞焦亡发生, 作用特异性较差, 易引起不良反应, 影响临床转化效果。我们在本研究中根据GSDMD发挥焦亡效应的结构机制, 选择其孔洞结构中的寡聚界面I为药物结合口袋, 能够解决靶向药物的特异性和有效性问题。通过高通量虚拟筛选和实验筛选并结合细胞、分子、结构及药理验证, 我们鉴定出安全性高的两种化合物“老药”68和98具有显著GSDMD细胞焦亡抑制效应。并且, 作为已知的抗生素和抗肿瘤药物, 68和98在小鼠脓毒症和肿瘤模型中显示具有“1+1>2”的双靶点协同治疗效果。此外, 鉴于新药临床研究的长周期、高成本、高风险特点, 本研究依据“老药新用”药物发现策略, 通过筛选鉴定安全性高的两种化合物“老药”有望成为临床治疗焦亡相关疾病的一线候选药物。

异甘草素通过直接结合Syk 抑制巨噬细胞的活化减轻小鼠非酒精性脂肪肝

胡翔宇*
扬州大学

背景与目的: 异甘草素(Isoliquiritigenin, ISL)是从甘草根中提取的查尔酮类黄酮化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤和神经保护等多种生物学功能。ISL已被证明可以下调巨噬细胞炎症因子IL-1 β 、

TNF- α 和IL-6的产生。然而, ISL抑制巨噬细胞活化的直接靶标蛋白及其分子机制尚不明确。

方法: 在体内和体外, 分别观察ISL对巨噬细胞Syk的表达和磷酸化的作用。通过流式细胞术, 分析ISL对巨噬细胞活性和功能的影响。在MCD诱导的小鼠非酒精性脂肪肝(NAFLD)模型中, 分析ISL对小鼠NAFLD肝脏脂肪变性和纤维化的影响。通过分子对接和表面等离子体共振, 分析ISL与Syk的结合作用。

结果: 我们发现, ISL在体外抑制LPS刺激的巨噬细胞中Syk的磷酸化, 并降低CD80、CD86和促炎细胞因子(IL-1 β 、TNF- α 和IL-6)的表达。ApoC3转基因(ApoC3TG)小鼠具有更多活化的巨噬细胞。ISL同样能够下调ApoC3TG小鼠巨噬细胞的炎性活化。给予小鼠腹腔注射50 mg/kg的ISL, 在体内抑制了ApoC3TG小鼠巨噬细胞炎性活化和Syk的磷酸化。ISL(50 mg/kg)治疗显著改善了MCD饮食诱导的小鼠NAFLD肝脏脂肪变性和纤维化。对肝脏巨噬细胞的抑制作用, 是ISL缓解小鼠MCD饮食诱导的NAFLD的关键事件。此外, ISL降低了巨噬细胞胞内总活性氧(cROS)产生, 但对线粒体活性氧没有明显影响。cROS的减少归因于ISL对Syk的抑制作用介导了cPLA2/NOX2下调, 并最终抑制巨噬细胞的激活。最后, 分子对接和表面等离子体共振分析明确了Syk是ISL的直接对接蛋白。敲低Syk的表达能够阻断ISL对活化巨噬细胞的抑制作用。

结论: ISL可以通过直接结合Syk抑制巨噬细胞的活化来减轻小鼠NAFLD。

丹参酮1靶向Syk抑制巨噬细胞的活化减轻小鼠DSS肠炎

胡春苗*
扬州大学

背景与目的: 丹参酮1(Tanshinone I)是从丹参中分离得到的主要活性物质之一, 具有抗氧化、抗炎、抗癌等多种药理作用。最近, 关于丹参酮1的研究大多都集中在其抗癌活性上。然而, 丹参酮1的免疫调节作用和抗炎分子机制尚未得到详细探索。本研究旨在明确丹参酮1对脾脏酪氨酸激酶(Syk)的作用, 探讨丹参酮1通过靶向Syk对巨噬细胞活性的影响及其调控机制。

方法: 通过Western Blot观察丹参酮1在体内、外对巨噬细胞Syk的表达和活化的影响。通过流式细胞术分析丹参酮1对巨噬细胞活性和功能的影响。通过腹腔注射给予DSS肠炎模型小鼠丹参酮1治疗, 分析丹参酮1对小鼠肠炎发病的影响。通过表面等离子体共振验证丹参酮1与Syk的结合作用。

结果: 体外丹参酮1的处理不影响巨噬细胞Syk的表达, 而显著抑制巨噬细胞Syk的磷酸化, 并降低巨噬细胞CD80、CD86和IL-1 β 的表达。体内给予小鼠4 mg/kg的丹参酮1, 同样抑制了巨噬细胞的炎性活化和Syk的磷酸化。给予DSS肠炎模型小鼠腹腔注射丹参酮1(4 mg/kg)治疗, 显著改善了小鼠肠炎发病。丹参酮1治疗的小鼠肠道巨噬细胞CD80、CD86和IL-1 β 的表达下调。机制上, 由于对Syk磷酸化的抑制作用, 丹参酮1处理的巨噬细胞胞质ROS产生减少, NLRP3、裂解的GSDMD和裂解的IL-1 β 的表达下调, 表明巨噬细胞炎症小体激活受到抑制。最后, 表面等离子体共振分析明确了Syk是丹参酮1的直接对接蛋白, 解离常数(KD)为 7.655×10^{-8} M。敲低Syk的表达能够阻断丹参酮1对巨噬细胞的抑制作用。

结论: 丹参酮1可以通过靶向Syk抑制巨噬细胞的活化来减轻小鼠DSS肠炎。

ECSIT增强TCF-1转录表达进而促进CD8记忆T细胞形成作用研究

杨勇兵*

无锡市儿童医院

目的：1)：CD8记忆T细胞在机体抵御感染中发挥着至关重要的作用，能够建立强烈且快速的二次应答反应。目前已发现TCF-1、BCL-6、LEF-1等在内的许多核心转录因子能够有效调节记忆T细胞形成。但是这些关键转录因子本身的调控机制目前仍然了解较少。

2) Toll途径中进化保守信号中间体(ECSIT)是一种多功能蛋白分子，已有文献报道其在固有免疫系统中有重要功能，前期研究中发现其在固有免疫系统中有重要功能，能调节巨噬细胞炎症信号传递，诱导活性氧产生发挥杀菌作用，并介导线粒体自噬和影响巨噬细胞代谢。但是ECSIT在适应性免疫中的作用目前仍不清楚。

方法：我们构建了特异性识别OVA257-264肽段的他莫昔芬诱导敲除Ecsit基因的OT-1小鼠，并将其CD8幼稚T细胞分选出来静脉注射到WT受体鼠中，第二天给受体鼠注射VSV-OVA以特异性激活来自OT-1小鼠的CD8 T细胞。在CD8 T细胞注射后的21-25天给受体鼠腹腔注射他莫昔芬进行Ecsit敲除。35天时取出受体鼠脾脏中的OT-1细胞通过FACS、WB、RNA-seq、OMNI-ATAC-seq等多种方法进行分析，探究ECSIT对CD8记忆T细胞的影响及相关机制，最后通过CD8 T细胞体外诱导分化实验进行验证。

结果：公开数据库分析发现ECSIT在CD8记忆T细胞中的表达显著高于CD8效应T细胞及B细胞、NK细胞等其他免疫细胞。通过OT-1 CD8幼稚T细胞特异性移植及VSV-OVA感染小鼠模型，我们发现注射ECSIT缺失的OT-1 CD8 T细胞的小鼠脾脏及肝脏内病毒载量显著高于对照小鼠，与此一致的是，CD8记忆T细胞及记忆前体细胞的数目及比例在ECSIT缺失后显著下调，并且促进记忆T细胞分化的转录因子TCF-1的表达在ECSIT缺失后同样发生下降。通过联合RNA-seq及OMNI-ATAC-seq的结果，我们进一步发现ECSIT缺失主要影响TCF-1的表达及对靶基因的转录调控，进而导致CD8记忆T细胞分化受阻。为验证此结果，我们在体外CD8记忆T细胞诱导分化模型中将TCF-1过表达或缺失ECSIT的CD8 T细胞中，结果发现TCF-1过表达能显著恢复ECSIT缺失带来的记忆T细胞分化抑制的表型。

讨论：ECSIT在固有免疫中的作用已经有诸多研究，但是在适应性免疫中的作用仍未可知。在本研究中，我们通过我们检索公开数据库，发现ECSIT在T细胞，尤其是CD8记忆T细胞中高表达。并且，我们确定了急性感染中ECSIT作为CD8记忆T细胞分化形成的关键调节因子的新作用，这填补了ECSIT在适应性免疫中的研究空白。但本研究仍有许多不足之处有待完善，比如ECSIT如何影响TCF-1表达及转录调节的机制有待深入探究。

利用广谱T细胞表位肽库建立ELISpot检测系统 并临床评价慢乙肝患者的HBV特异性T细胞反应活性

吴燕丹^{1*}、刘小涛¹、毛源²、纪瑞雪¹、夏玲芝²、岳芳平¹、周子宁¹、
丁艳¹、李品青³、赵宇¹、彭敏¹、邱浩³、沈传来¹

1. 东南大学医学院病原生物学与免疫学系；2. 南京金域医学检验所免疫实验室
3. 南京第二医院肝病区

研究背景：目前缺乏通用的HBV特异性T细胞反应活性的检测方法，在临床实验室仍无法对随机患者进行日常检测，因此针对HBV特异性T细胞的临床意义存在争议。

研究目的：本研究旨在应用适用于广泛患者的HBV特异性T细胞反应活性检测系统来探讨其临床意义，为即时直接地评价乙肝患者免疫疗法的效果、预测疾病进展转归和评估停药后复发风险等提供新的免疫学指标，促进精准医疗的实施。

研究方法：利用103种经T细胞功能性实验验证的、来自HBV四种主要抗原（HBsAg、HBpol、HBx、HBeAg）的CD8⁺ T细胞表位肽组成广谱的HBV的T细胞表位肽库，适应于中国和东北亚人群的HLA基因多态性，在南京金域检验所建立了一种普适性的ELISpot方法，定量检测患者PBMC中具有反应活性HBV特异性T细胞的数量，并对广泛患者开展日常评价。

研究结果：本研究检测了203例慢性乙型肝炎（CHB）患者，并对其中33例CHB患者进行了间隔为3-5个月的动态检测。慢乙肝患者PBMCs中具有反应活性的HBV特异性T细胞的数量随着血清中病毒DNA载量、HBsAg、HBeAg和ALT水平逐渐增加而呈现明显下降的趋势，但相关系数非常低（分别为 $r = -0.21, -0.21, -0.27, -0.079$ ）。HBsAg、HBpol、HBx或HBeAg特异性T细胞的趋势与总的HBV特异性T细胞类似。与NUCs单药治疗相比，NUCs/IFN- α 联合治疗引起更强的HBV特异性T细胞反应。NUCs治疗4年以上的患者比治疗不到1年的患者具有更强的HBV特异性T细胞反应活性，特别是使用艾米替诺福韦治疗的患者；但在相同治疗时间内的不同NUCs治疗所致的HBV特异性T细胞反应性没有显著差异。在3次动态监测中，接受常规治疗的CHB患者的HBV特异性T细胞数量呈逐渐增加趋势，并伴随着血清病毒DNA、HBsAg、HBeAg和ALT水平的逐渐下降。HBV特异性T细胞的纵向趋势比横断面检测对CHB患者的肝功能进展具有更高的预测能力。

研究结论：CHB患者接受常规治疗时，HBV特异性T细胞反应活性主要取决于宿主免疫防御功能，而不是病毒DNA载量和抗原水平，其动态趋势是肝功能进展的有价值的预测指标。

HBC通过CANX抑制肝癌细胞中IRF7基因的转录

张换阳^{*}、王宇欣、鲍恩思、钟雨婕、孔凡运、尤红娟、汤仁仙
徐州医科大学病原生物学与免疫学教研室，江苏徐州 221000

研究目的：乙型肝炎病毒（HBV）编码的核心蛋白（HBC）在HBV导致肝癌的过程中发挥重要作用，但其相关机制仍不清楚。IRF7作为一种干扰素调节因子，能够通过抑制肿瘤细胞的增殖和迁移，阻

断肿瘤发展，但在肝癌中调控IRF7转录的机制尚不明确。CANX是一种分子伴侣蛋白，该蛋白能够通过参与内质网应激和免疫应答等生物学过程调控肿瘤的发生发展。本研究我们将探讨在肝癌细胞中，HBC能否能够通过CANX抑制IRF7基因的转录。

研究方法：利用HBV相关肝癌组织和相关癌旁组织，基于免疫组化实验检测CANX和IRF7在病毒阳性肝癌组织及癌旁组织中的表达；基于HBC基因阳性的肝癌细胞模型及对照细胞模型，利用real-time PCR和western blot检测HBC对CANX和IRF7基因和蛋白表达的影响；基于CANX过表达肝癌细胞模型，通过转录组测序检测CANX在肝癌细胞中调控的靶基因。利用shRNA抑制CANX的表达，检测在肝癌细胞中CANX对HBC介导的IRF7基因转录的影响。

研究结果：与癌旁组织相比，CANX在HBV相关肝癌组织中的表达显著增加，而IRF7在HBV相关肝癌组织中表达降低；在肝癌细胞模型中，HBC能够明显促进CANX蛋白的表达但对其基因表达无显著影响，但HBC能够显著抑制IRF7基因和蛋白的表达；转录组测序的结果显示，CANX在肝癌细胞中能够抑制IRF7基因的转录；real-time PCR和western blot的结果进一步明确了CANX对IRF7基因转录和蛋白表达的抑制作用；利用shRNA抑制HBC阳性肝癌组织中CANX的表达后，IRF7基因转录水平显著增强。

研究结论：以上的研究的结果表明，在肝癌细胞中HBC通过CANX抑制IRF7基因转录，CANX和IRF7可能为HBV相关肝癌的治疗潜在靶点。

基于CRISPR-Cas9技术的CVA6感染相关宿主因子探究

李嘉铭*、马菁菁、李志斌、杨晓笛
南京医科大学

目的：肠道病毒CVA6 (Coxsackievirus A6) 是无包膜的单链正义RNA病毒，致病类型广泛，是新兴的非典型手足口病的主要病原体，但目前尚无这种病毒的特异疫苗和有效药物。在本研究中，我们利用基于CRISPR-Cas9系统筛查CVA6感染相关宿主因子，进而解析病毒-宿主相互作用机制，从而为抗病毒治疗提供新的靶点。

方法：我们利用带有靶向全基因组sgRNA文库的CRISPR-Cas9系统构建慢病毒，对RD细胞进行随机基因敲除，随后用CVA6病毒进行感染。随之，我们对病毒感染前后RD细胞中的sgRNA富集程度进行对比分析，使用MAGeCK分析方法，计算出RRA得分 (Robust Ranking Aggregation Scores)，并根据得分情况对基因进行排序。依据筛选结果，我们构建了针对单个基因的一系列CRISPR-Cas9敲除质粒，在RD细胞中进行基因敲除，验证宿主因子对病毒感染的影响。

结果：对CRISPR-Cas9筛选结果进行基因功能富集分析，我们发现CVA6病毒感染相关基因在系统发育、化学反应、细胞分化、化合物生物合成及代谢等多个途径富集。在对具体病毒感染相关基因进行鉴定方面，对于CVA6病毒，CRISPR-Cas9筛选鉴定出该病毒的入侵受体KREMEN1，与研究报导的EV-A组肠道病毒的单倍体筛选结果一致。综合对照组与感染组之间的sgRNA富集程度差异分析，我们确定了CVA6感染可能候选基因SERINC3、CSRP2、TFF2与ZNF407等，并且对SERINC3在CVA6病毒感染过程中的作用进行了初步分析。

讨论：肠道病毒生命周期中需要利用多种宿主细胞因子。本研究中，我们筛选出CVA6感染相关宿主基因SERINC3，为我们理解肠道病毒宿主细胞内感染的生命现象，深入探究宿主因子在肠道病毒生命周期中发挥的作用，提供了基础数据。

FEN1核酸酶的功能调控、肿瘤的检测方法及临床治疗的相关研究

何磊*、李智洋

南京大学医学院附属鼓楼医院

Flap核酸内切酶1 (Flap endonuclease 1, FEN1) 是一种具备特异性结构多功能的核酸酶, 具有5'→3' flap核酸内切酶 (FEN)、缺口核酸内切酶 (GEN) 和核酸外切酶 (EXO) 三大酶切活力。其参与机体细胞多种DNA的代谢途径, 在维护人类基因组稳定性、防止细胞恶性转化中发挥着不可或缺的作用。近年来, FEN1的异常表达的FEN1与肿瘤发生、发展有着密切的关联, 被认为是癌症临床诊断的潜在生物标志物。FEN1的精确检测对于癌症早期诊断和预后具有重要意义。然而, 可靠、灵敏、方便检测FEN1的方法较少报道。因此, 本文主要回顾了近几年FEN1与肿瘤的关系、其检测方法及应用研究方面。本综述的主要目的是总结FEN1的分子结构、代谢途径中的主要作用、在肿瘤细胞调节中的作用、近几年检测FEN1的多种方法、在临床检测中的应用、针对FEN1的小分子抑制剂的研究等方面, 以期今后在肿瘤相关领域的确定提供辅助的检测方法、为临床研究提供新思路, 拓展其治疗潜力和应用前景。

食管癌患者IFN- γ 、IL-2、IL-12水平的检测及临床价值探讨

牛玉峰*、武双星

淮安市淮安医院

目的: 探讨食管癌患者IFN- γ 、IL-2、IL-12水平的检测及临床价值。

方法: 选取2019年2月-2020年2月我院收治的食管癌患者56例作为研究组, 同时选取同时间段在我院体检的健康人群56例作为对照组。比较两组人群干扰素 γ (IFN- γ)、白细胞介素-2 (IL-2)、白细胞介素-12 (IL-12)、研究组治疗前后IFN- γ 、IL-2、IL-12水平、研究组复发与未复发患者IFN- γ 、IL-2、IL-12水平、两组人群T细胞亚群水平。

结果: 研究组IFN- γ 、IL-2低于对照组 ($P < 0.05$), 研究组IL-12高于对照组 ($P < 0.05$); 研究组治疗后IFN- γ 、IL-2高于治疗前 ($P < 0.05$), 研究组治疗后IL-12低于治疗前 ($P < 0.05$), 研究组治疗后IFN- γ 、IL-2、IL-12水平与对照组相比, 无明显差异 ($P > 0.05$); 研究组复发患者IFN- γ 、IL-2低于未复发患者 ($P < 0.05$), 研究组复发患者IL-12高于未复发患者 ($P < 0.05$); 研究组CD3+、CD4+、CD4+/CD8+小于对照组 ($P < 0.05$), 研究组CD8+大于对照组 ($P < 0.05$)。

结论: 食管癌患者IFN- γ 、IL-2水平处于较低的状态, 而IL-12水平处于较高的状态, 在食管癌发生、发展期间IFN- γ 、IL-2、IL-12发挥着重要作用, 而经过有效地治疗后, IFN- γ 、IL-2水平升高, IL-12水平降低, 故临床对患者各项因子做好检测非常重要。

Transcriptional regulation of hsa-miR-1268a following pro-inflammatory cytokines stimulation in human adipocytes

guangfeng xu[★]

The Third People' s Hospital of Huai' an City

Objective: MicroRNAs (miRNAs) are small noncoding RNAs that regulate multiple biological processes and diseases including obesity related inflammation. Hsa-miR-1268a is a primate-specific intronic miRNA located in 15q11.2 and encoded by MIR1268A gene, moreover, it functionally involves in embryogenesis and cell differentiation. In the present study, We aimed to assess the transcriptional regulation of hsa-miR-1268a following pro-inflammatory cytokines stimulation in human adipocytes.

Methods: Human preadipocytes were cultured in Preadipocyte Medium at 37° C in 5% CO₂ and were induced to mature adipocyte. The expression of hsa-miR-1268a was examined during human pre-adipocyte differentiation. Fifteen days after induction of differentiation, mature human adipocytes were treated with pro-inflammatory cytokines.

Results: We found that hsa-miR-1268a was down-regulated during human pre-adipocyte differentiation. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) caused down-regulation of hsa-miR-1268a expression in adipocytes. These results suggest that the expression of hsa-miR-1268a is affected by TNF- α , IL-6 and that hsa-miR-1268a may be an important mediator in regulating the obesity-related inflammatory responses.

Discussion: Adipose tissue is not only a reservoir for energy, but also an immune and endocrine organ. Furthermore, adipose tissue is known to secrete a large number of proteins including TNF- α and IL-6 which regulate metabolism. TNF- α is mainly produced by M1-macrophages, but also by adipocytes which also express TNF- α receptors. In this study, a significant down-regulation of hsa-miR-1268a expression was observed at 4 h after the initiation of TNF- α stimulation in human mature adipocyte. This effect was found to be time-dependent. IL-6 is also a proinflammatory cytokine produced by a number of cells including T cell, macrophages and adipocytes. Some studies suggested IL-6 acts a positive role on metabolism via developing obesity and metabolic disorders, and some studies suggested IL-6 acts a positive role on anti-inflammatory effects and improved insulin sensitivity. Therefore, further investigations are required to clarify this issue. In the present study, the expression hsa-miR-1268a was also significantly altered by IL-6 stimulation, and the tendency declining of hsa-miR-1268a during IL-6 stimulation was found to be time-dependent too. Thus, in combination with previous studies, our data indicate that TNF- α and IL-6 may be involved in obesity-related inflammation through down-regulating the expression of hsa-miR-1268a.

sTIM-3及其配体Gal-9、HMGB1 与2型糖尿病并发冠心病的相关性研究□

刘艳秋*、范海迪、孙健
淮安市第一人民医院分院

目的：探讨血清中可溶性T细胞免疫球蛋白及黏蛋白分子-3（sTIM-3）、半乳糖凝集-9（Gal-9）、高迁移率族蛋白B1（HMGB1）水平与2型糖尿病（T2DM）并发冠心病（CHD）的关系。

方法：选取T2DM组患者50例、T2DM并发CHD组（T2DM+CHD组）患者52例，同期健康体检人员（Con组）48例。采用酶联免疫吸附试验（ELISA）检测3组血清中sTIM-3、Gal-9及HMGB1的水平。Spearman法分析血清sTIM-3、Gal-9、HMGB1、空腹血糖（FBG）、超敏C-反应蛋白（hs-CRP）间的相关性；使用受试者工作特征曲线（ROC）分析sTIM-3、Gal-9及二者联合检测对T2DM并发CHD的诊断能力；采用Logistic回归分析T2DM并发CHD的危险因素。

结果：与Con组相比，T2DM组和T2DM+CHD组sTIM-3、Gal-9、HMGB1升高（ $P < 0.05$ ）；与T2DM组相比，T2DM+CHD组sTIM-3、Gal-9升高（ $P < 0.05$ ），HMGB1差异无统计学意义。FBG、hs-CRP与sTIM-3、Gal-9、HMGB1呈正相关，sTIM-3与Gal-9、HMGB1，Gal-9与HMGB1之间呈正相关（ $P < 0.05$ ）。ROC曲线分析结果显示血清sTIM-3和Gal-9联合对诊断T2DM并发CHD曲线下面积为0.812（95%CI: 0.743~0.882）。Logistic回归分析显示体质量指数（BMI）、sTIM-3、Gal-9升高是T2DM并发CHD的危险因素。

结论：血清sTIM-3、Gal-9升高是T2DM并发CHD的危险因素。

· 其他医学微生物与免疫学的基础与临床研究 ·

ICU患者耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌感染风险预测模型的构建

张宇琼*

苏州市立医院

目的：构建ICU患者耐碳青霉烯类铜绿假单胞菌（carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*，CR-PA）感染的预测模型并验证其效能。

方法：选择2021年1月-2022年12月我院ICU发生PA感染的846例患者作为研究对象并将其分为模型组（n=507）和验证组（n=339）。收集患者的临床资料，使用单因素分析和多因素Logistic回归分析其发生CR-PA感染的危险因素，并通过R统计软件建立列线图预测模型，采用受试者工作曲线（ROC）、校准曲线、临床决策曲线（decision curve analysis, DCA）评价模型并通过验证组验证模型。

结果：住院时间 ≥ 14 天，碳青霉烯类药物使用时间 ≥ 7 天，使用机械通气，存在下呼吸道感染以及检出前使用抗菌药和低蛋白血症是ICU患者发生CR-PA感染的独立危险因素。建模组和验证组的ROC下面积（AUC）分别为0.880（95%CI:0.850-0.910）和0.878（95%CI:0.838-0.918）。校准曲线显示该模型具有较好的校准度。DCA显示该模型有较好的临床效用。

结论：构建的模型预测效果良好，为临床早期识别高风险个体并进行干预提供参考。

mcr基因在全球肺炎克雷伯菌中的分布及特点分析

翟俊斌*、曹小利、沈瀚、陈雨欣

南京大学医学院附属鼓楼医院

目的：分析mcr基因在全球肺炎克雷伯菌中的分布及携带mcr肺炎克雷伯菌的序列分型，并探讨主要mcr变异体与流行克隆之间的关系。

方法：从NCBI中下载全球肺炎克雷伯菌的基因组，使用基因注释法分析mcr基因的分布情况。对mcr基因阳性的肺炎克雷伯菌进行多位点序列分型并提取meta信息。卡方检验分析mcr基因在不同克隆菌株中的分布差异。

结果：在我们所分析的全球11427个肺炎克雷伯菌基因组中，207株细菌中检出229个mcr基因。mcr变异体有6种，以mcr-1（87/229, 38.0%）、mcr-8（59/229, 25.8%）和mcr-9（59/229, 25.8%）为主；207株细菌检出76种ST型，以ST15（21/207, 10.1%）、ST43（17/207, 8.2%）、ST11（16/207, 7.7%）和ST147（16/207, 7.7%）为主。87株mcr-1基因阳性菌株分布在31种ST中，以ST43（17/87, 19.5%）和ST15（10/87, 11.5%）为主；59株mcr-8菌株分布在17种ST中，以ST43（17/59, 28.8%）和ST11（9/59, 15.3%）为主。59株mcr-9菌株分布在27种ST中，以ST147（11/59, 18.6%）和ST274（11/59, 18.6%）为主。不同的ST型携带的mcr基因变异体也有差异。

结论：在全球肺炎克雷伯菌中，mcr的流行以mcr-1，mcr-8，mcr-9为主，mcr-1的流行以ST15和ST43为主，mcr-8的流行以ST11和ST43为主，mcr-9的流行以ST147为主，加强该类细菌的监测对于预防院内感染控制具有重要作用。

新形势下临床免疫学检验技术教学模式的改革与创新

杨瑞霞*

江苏省人民医院（南京医科大学第一附属医院）

目的：探讨新形势下临床免疫学检验技术教学模式的改革与创新。

方法：针对医学检验技术专业学生的教育特点，结合国家教育部颁布的医学检验技术专业的人才培养目标，对南京医科大学医学检验系医学检验技术专业的《临床免疫学检验技术》课程从课程体系和教学模式等多方面进行了改革与创新。

结果：在教改过程中将人文教育和探索创新有机融入医学思政课程；构建“医学+X”人才培养模式，培养多学科交叉医学检验人才；同时构建基于多元化教学环境的“线上+线下”混合式教学模式；并将科研思维和创新能力贯穿于全阶段人才培养。

结论：通过以上改革措施，在教学工作中有效地提高了教学质量，并为培养具有一定科研潜能的“应用型医学检验专门人才”的专业目标奠定了坚实基础。

tnaA基因缺失对益生菌Nissle 1917肠炎缓解作用的影响及机制研究

吴梦婷*、张若兰、高大庆

东南大学医学院病原生物学与免疫学系

目的：大肠杆菌Nissle 1917（*Escherichia coli* Nissle 1917, EcN）是一种用于治疗临床胃肠功能障碍性疾病的革兰氏阴性益生菌，有研究表明该菌存在一定的毒力，可能对临床患者带来潜在风险。实验室前期研究表明色氨酸酶（TnaA）基因缺失可减缓EcN菌株毒力，本实验拟继续探究tnaA基因缺失对EcN肠炎缓解功能的影响及机制，为优化EcN在肠炎中的应用提供思路和研究基础。

方法：本研究使用EcN野生株与课题组前期通过自杀质粒pDS132介导同源重组技术构建的tnaA基因缺失株EcN Δ tnaA株进行试验。将tnaA基因缺失株连续传代20次，PCR鉴定 Δ tnaA株的遗传稳定性；随后构建葡聚糖硫酸钠（Dextran Sulphate Sodium, DSS）诱导的急性肠炎小鼠模型，将24只C57BL/6小鼠随机均分到对照组、DSS、WT+DSS、 Δ tnaA+DSS四组，其中WT+DSS组与 Δ tnaA+DSS分别提前灌胃WT株与 Δ tnaA株菌液每天 1×10^9 CFU，连续灌胃两周进行干预，记录实验期间各组小鼠的精神状态、隐血情况和体重，收集实验最后一天小鼠的粪便进行16S rRNA测序，处死小鼠后测量结肠长度进行疾病活动指数（Disease Activity Index, DAI）评分，取结肠病变明显的组织制备病理切片进行HE染色和AB-PAS染色，另外通过qRT-PCR检测结肠组织细胞因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-10的转录水平。

结果：通过连续传代， Δ tnaA株基因未发生回复突变，具有良好的遗传稳定性。肠炎干预模型表

明,与对照组相比,DSS组小鼠精神状况明显变差,体重明显降低,结肠长度明显变短,DAI评分显著升高,结肠杯状细胞数量较少,黏膜层结构被破坏,固有层有大量炎细胞浸润,促炎因子TNF- α 、IL-1 β 、IL-6基因转录水平显著升高,抑炎因子IL-10基因转录水平降低;与DSS组相比,WT+DSS组和 Δ tnaA+DSS组小鼠上述指标均有明显改善,且与WT+DSS组相比, Δ tnaA+DSS组IL-6转录水平降低,IL-10转录水平升高。16S rRNA测序结果 α 多样性分析显示,相比Control组,其它各组小鼠肠道菌群的丰富度和均匀性均有减少; β 多样性分析结果显示Control、WT+DSS和 Δ tnaA+DSS三组样本群落组成接近,与DSS组样本群落存在差异;物种组成柱状图和关键物种差异比较柱状图结果显示,DSS组活泼瘤胃球菌、产气荚膜梭菌等与IBD发病相关的菌种相对丰度显著增高;相比DSS组,WT+DSS组和 Δ tnaA+DSS组中这两种菌丰度降低,另外 Δ tnaA+DSS组具有缓解肠炎作用的嗜黏蛋白阿克曼菌、产酸拟杆菌、罗伊氏乳杆菌等菌种相对丰度较其他组显著增高。

结论:EcN tnaA基因缺失株仍保持有野生株的肠炎缓解作用,且相比WT株,tnaA基因缺失株能增加小鼠肠道中抑炎菌种的丰度。

ATF4 在急性呼吸窘迫综合征中的作用及其机制研究

童静如*
东南大学

研究背景:急性肺损伤(ALI)/急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是由各种肺内和肺外致病因素所导致的急性弥漫性肺损伤,进而发展的急性呼吸衰竭。其临床表现为呼吸窘迫,难治性低氧血症,病死率高达60%。ATF4即激活转录因子4,是碱性亮氨酸拉链(bZIP)超家族的成员,可响应多种免疫信号,并与靶基因启动子结合,调节基因表达,在ARDS的发生发展过程中具有重要调节作用。ATF4在脓毒症诱导的急性肺损伤中表达水平显著升高,并通过PERK/eIF2 α 信号通路诱导下游靶基因如CHOP(促凋亡转录因子)的表达,进而下调抗凋亡蛋白Bax和Bcl2的表达,同时上调促凋亡蛋白Caspase-3的表达,最终诱导肺组织细胞凋亡,加剧ARDS。炎症反应是ARDS发生的关键,目前ATF4参与调节ARDS进展的研究主要聚焦于ATF4诱导肺细胞的凋亡,但ATF4作为转录因子,对炎症介质表达水平的直接调控作用未知。

目的:本研究旨在探索ATF4在ARDS炎症反应中的作用以及ATF4调控ARDS炎症反应的具体机制。

方法:将若干只C57BL/6小鼠随机分成四组:PBS+Adeno-GFP、PBS+Adeno-ATF4、LPS+Adeno-GFP、LPS+Adeno-ATF4;在LPS造模前3天,经气道分别注射Ad-GFP、pAd-ATF4腺病毒(5×10^8 /只),再对实验组经气道注射LPS(2mg/kg),对照组给予等量PBS,18h后收集肺组织和肺泡灌洗液。H&E染色分析肺组织病理损伤程度;ELISA/RT-PCR分别检测肺泡灌洗液和肺组织中炎症因子/趋化因子的表达水平。体外构建ATF4过表达/敲降细胞株,分析LPS诱导下的细胞炎症反应。

结果:与气道注射Adeno-GFP的对照组小鼠相比,Adeno-ATF4表达加重LPS诱导的ALI;Adeno-ATF4表达促进肺内皮损伤和肺泡白细胞积累;Adeno-ATF4促进LPS诱导的肺组织和肺泡灌洗液中细胞因子/趋化因子(TNF- α 、IL-6、MCP-1、KC、MIP-2)的表达;体外构建ATF4过表达/敲降的RAW264.7细胞,在LPS诱导下细胞因子/趋化因子表达上调/下调。

讨论:在目前的研究中,我们发现用LPS处理的RAW264.7细胞中ATF4的表达显著增强,且在RAW264.7细胞中过表达ATF4能促进LPS诱导的炎症介质的产生。在小鼠肺中过表达ATF4,导致肺通透性增加以及肺泡中性粒细胞积聚,进而加重LPS诱导的急性肺损伤。

生长分化因子-15的循环水平与糖尿病风险的剂量反应关系

周中卫^{*}、居会祥、孙明忠、陈红梅
盐城市第三人民医院

目的：生长分化因子-15（GDF-15）的高表达已被表明是很多不良临床事件如全因死亡、心血管死亡的预测因子，但目前关于其与糖尿病的风险关系仍存在争议，且缺少定量关系的研究，本研究旨在对循环GDF-15与糖尿病患病率的关系以荟萃分析方式进行定量评估。

方法：检索PubMed、Embase及Web of Science数据库，检索截止日期至2023年9月。本研究首先进行了二分类的随机效应荟萃分析，比较受试者在高区间循环GDF-15水平和低区间循环GDF-15水平的糖尿病患病率，然后在剂量反应关系研究中，计算1个单位浓度的GDF-15浓度所对应的特异性ORs和95%CI，使用随机效应模型聚合这些效应量。

结果：本荟萃分析共纳入25篇文章，包括27项独立的研究，共计56911例受试者，其中12778例为糖尿病病例。二分类的荟萃分析结果显示，受试者在高GDF-15水平区间的糖尿病患病率(OR 2.53, 95% CI 2.09-3.05)显著高于低区间者。剂量反应关系研究表明，当GDF-15浓度增加1 ng/mL时，糖尿病患病风险增加65% (OR 1.65, 95%CI 1.48-1.83)。然而，剂量-反应曲线显示，糖尿病患病率随着GDF-15浓度的增加呈非线性增加 (P非线性<0.001)，在GDF-15浓度大约达到5.7 ng/mL后呈现平台甚至略有下降。本聚合分析观察到较高的异质性，meta-回归分析表明糖尿病患病率与样本量 (P<0.001) 及高血压患病率 (P=0.017) 有显著相关性，提示样本量及高血压患病率是异质性的主要来源。敏感性分析显示没有单项研究显著影响总的聚合结果的稳健性。

讨论：本荟萃分析揭示了循环GDF-15与糖尿病患病率之间呈非线性关系。根据剂量反应曲线，GDF-15在升高到一定水平后呈现平台或轻微下降，提示GDF-15水平的进一步增加不会增加糖尿病风险，甚至可能降低糖尿病风险，这也意味着外源性GDF-15补充可能是治疗糖尿病的潜在途径。为了确定补充外源性GDF-15对人类糖尿病或其他代谢性疾病的影响，需要进行前瞻性的人体研究，包括临床试验。本荟萃分析的主要优势在于纳入了大量研究，并对所有这些研究进行了剂量反应分析。本研究的另一个优势是使用meta-回归分析来研究异质性的来源，表明了样本量和高血压患病率有助于解释异质性。

生命早期肠道菌群通过丁酸-IL-18轴维持肝脏驻留NK细胞的成熟

田盼盼^{*}、杨雯雯²、郭小维²、王体潇²、谭思雨²、孙仁慧²、肖榕²、王玉珍²、
焦德雁²、徐雅晨²、卫艳斐²、武专昌²、李春阳²、高立芬²、马春红²、梁晓红²

1. 南京鼓楼医院；2. 山东大学

目的：肝脏是人体重要的免疫器官，富含大量固有免疫细胞，其中肝组织中ILCs主要包括参与外周

血液循环的经典NK (conventional NK, cNK) 细胞和肝脏驻留NK (liver-resident NK, LrNK) 细胞, 在清除入侵的病原体, 维持肝脏功能稳态方面发挥重要作用。然而, 目前对于LrNK细胞在肝脏内发育成熟的调控机制尚不明确, 进一步阐明肝脏微环境在其中的作用将了解区域免疫调控机制、制定疾病治疗策略提供新的思路。生命早期, 即围产期、新生儿期和婴幼儿期, 是机体肠道菌群发育、定殖的关键时期, 决定了成年期肠道菌群组成的多样性和功能的完整性。同时, 生命早期也是肠道菌群与宿主免疫相互作用的关键时期。大量数据分析显示, 生命早期肠道菌群发育受损 (临床最常见的原因因为预防性或治疗性抗生素的使用), 会造成成年期不可恢复的肠道菌群紊乱进而增加多种免疫疾病 (如IBD、银屑病、过敏反应等) 的易感性。然而, 目前关于肠道菌群在肝脏NK细胞的发育、成熟和功能调控中的作用尚未见报道。

方法和结果: 本研究构建了生命早期抗生素暴露的小鼠模型, 流式细胞术检测生命早期抗生素暴露对LrNK和cNK细胞的数目、表型和功能的影响。结果发现, 生命早期抗生素暴露可以持续抑制小鼠LrNK细胞的成熟、分泌细胞因子的能力以及细胞毒作用并促进肝癌进程而不影响cNK细胞。利用16S rRNA测序检测成年鼠粪便中菌群的组成, 结果显示, 生命早期抗生素暴露显著降低成年期小鼠肠道菌群的丰度和多样性并且改变肠道菌群的组成。利用LC-MS和GC-MS技术检测对照组和生命早期抗生素暴露组粪便中菌群代谢产物的差异。结果显示, 与对照组小鼠相比, 生命早期抗生素暴露小鼠粪便中丁酸的水平显著降低。进一步通过细胞实验证实丁酸通过GPR109A作用于肝细胞和Kupffer细胞间接促进LrNK细胞的功能。此外, 通过组学测序以及细胞实验验证发现, IL-18/IL-18R α 通过增强LrNK细胞氧化磷酸化水平进而促进其成熟。我们还发现补充丁酸梭菌能够拯救生命早期抗生素暴露导致的LrNK细胞成熟障碍。

讨论: 本课题首次论证了生命早期肠道菌群可以维持肝脏驻留NK细胞的成熟。这种调节作用是通过肠道菌群代谢产物-丁酸以及肝细胞和Kupffer细胞产生的IL-18来实现的。我们发现生命早期抗生素暴露的小鼠成年后肠道菌群的组成异常、多样性降低, 肠道和肝脏中菌群代谢产物丁酸的水平显著降低, 丁酸通过与肝细胞和Kupffer细胞上GPR109A受体结合产生IL-18的水平也显著下降, 进而导致LrNK细胞线粒体氧化磷酸化水平障碍从而抑制LrNK细胞的成熟和功能。而补充产丁酸菌可以恢复因生命早期抗生素暴露导致的LrNK细胞成熟障碍。我们的研究揭示了“肠-肝轴”中肠道菌群和免疫细胞之间新的相互作用方式, 并为生命早期接触抗生素后的干预策略提供了可能。

抗酸染色、TB-IGRA与Xpert MTB/RIF联合检测 在结核病中的诊断价值

宗寿洋*

江苏省金湖县人民医院

目的: 探究抗酸染色、TB-IGRA与XpertMTB/RIF单项及联合检测结核病的诊断价值。

方法: 分析2020年1月至2021年12月期间我院338例结核病患者和60例健康对照者的抗酸染色、TB-IGRA和Xpert MTB/RIF实验室检测结果, 分析三种检测方法单独或联合检测在结核病中的诊断价值。

结果: 研究对象中细菌培养组338例, 健康对照组60例。细菌培养组中, TB-IGRA和Xpert MTB/RIF阳性检出率为68.3%和79.0%, 与抗酸染色 (57.1%) 相比差异均具有统计学意义 ($\chi^2 = 9.1$ 和 $\chi^2 = 37.3$, 均 $P < 0.01$)。同时, Xpert MTB/RIF阳性检出率与TB-IGRA相比, 差异也具有统计学意义 ($\chi^2 = 9.9$, $P < 0.01$)。以结核分枝杆菌培养为诊断标准, 抗酸染色、TB-IGRA、XpertMTB/RIF、抗酸染色

+TB-IGRA、抗酸染色+XpertMTB/RIF和三者联合检测的灵敏度分别为57.1%、68.3%、79.0%、71.9%、84.9%和93.8%，三者联合检测的灵敏度与抗酸染色、TB-IGRA、Xpert MTB/RIF、抗酸染色+TB-IGRA、抗酸染色+Xpert MTB/RIF相比，差异具有统计学意义（ $\chi^2=122.8$ ， $\chi^2=71.3$ ， $\chi^2=31.5$ ， $\chi^2=57.0$ ， $\chi^2=14.0$ ，均 $P<0.05$ ）。三者联合的准确度和阴性预测值也明显高于其他各项检测，差异具有统计学意义。但在特异度和阳性预测值方面，三者联合检测与其他各项检测相比，未见明显差异。

结论：TB-IGRA或Xpert MTB/RIF在结核病诊断中灵敏度明显高于抗酸染色，三者联合检测可显著提高结核病诊断的灵敏度，提升诊断效能。

烧伤患者病原菌药敏分析

过琴*

江南大学附属医院

目的：当皮肤烧伤后，其作为屏障保护作用消失，形成开放性的创面。由于具有适宜的温湿度，致使烧伤创面成为一个良好的微生物定植与繁殖的营养培养基，极易发生感染，严重者可出现多功能器官衰竭而导致死亡。因此，抗感染治疗是烧伤患者治疗中最重要的一环。针对本院烧伤患者的药敏分析，可减缓抗菌药物耐药性的发展，以及为本院烧伤科医生经验性用药以及合理使用抗菌药物提供科学依据。

方法：2022年1月-12月，生物室在接收到送检培养标本（血、痰、中段尿、创面分泌物、导管等）后，根据标本类型接种不同，接种于血平板、巧克力平板、麦康凯平板等，置于二氧化碳培养箱孵育，血培养标本放入血培养仪孵育。平板孵育24小时、48小时分别对平板进行鉴定判读。当仪器发出阳性瓶警报时，立即取出阳性培养瓶，直接涂片并革兰氏染色，同时转种血平板和巧克力平板，置二氧化碳培养箱孵育。根据质谱结果（VITEK-MS中95%以上可信度），选择VITEK2-compact微生物鉴定仪中相应的药敏卡，进行细菌药敏实验。质控菌株为：ATCC 25922、ATCC 29213、ATCC 27853。按照CLSI M100 2018标准对药敏实验结果进行判定，用WHONET5.6软件进行统计数据分析。

结果：收到烧伤科送检标本1195份，检出病原菌591株，阳性率为49.45%。在本院烧伤科，创面分泌物及血培养标本中，病原菌分离前四为：金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌。金黄色葡萄球菌中，耐甲氧西林菌株占到80%。肺炎克雷伯菌，对碳青霉烯类、头孢类、青霉素类抗菌药物呈现出高耐药性，对氨基糖苷类以及头霉素类表现出较低的耐药性；铜绿假单胞菌对哌拉西林/他唑巴坦、喹诺酮类、头孢吡肟和氨基糖苷类的耐药性相对较低；鲍曼不动杆菌对碳青霉烯类、头孢类、氨曲南耐药性高达95%以上，对头孢曲松、头霉素耐药率达到100%，对左旋氧氟沙星和米诺环素耐药性相对较低。金黄色葡萄球菌对青霉素的耐药率高达97.7%，对万古霉素、利奈唑胺均敏感。

讨论：烧伤科病房病原菌感染以革兰阴性菌为主，革兰阴性耐药菌中以鲍曼不动杆菌耐药最为严重，达到86.54%，成为本院烧伤科流行菌株，亦是引起医院内感染的重要条件致病菌。烧伤患者长期使用抗菌药物致使细菌产生耐药性，甚至出现多重耐药细菌及泛耐药菌，从而形成难治性感染，死亡率增高。因此对烧伤患者病原菌药物敏感实验进行实时监测，及时向临床医生提供可靠的药物敏感试验结果，从而减缓患者的痛苦及经济压力，大力提升本院抗感染治疗水平。

产金属酶铜绿假单胞菌的流行特点分析

翟俊斌*、徐学静、沈瀚、曹小利
南京大学医学院附属鼓楼医院

目的：分析金属酶在全球铜绿假单胞菌中的分布情况，并分析产金属酶铜绿假单胞菌的特点。

方法：从NCBI下载采用Aspera批量下载所有铜绿假单胞菌基因组序列，采用Perl程序从GenBank文件获取所有21,788个基因组的核苷酸序列文件，采用Prodigal对所有21,788株基因组进行注释，避免不同注释方法对基因组基因预测产生差异。构建结构化的碳青霉烯耐药数据库，采用blastn软件比对Prodigal注释结果获得所基因组中所有基因的核苷酸编码序列文件和结构化的耐药基因数据库，获得所有耐药基因在所有基因组中的详细分布。采用自编写的序列分型工具ST_tool对产金属酶铜绿假单胞菌进行序列分型分析。

结果：在全球21,788个基因组中，2639（12.1%）个细菌携带4,008个碳青霉烯酶基因。金属酶基因的分布以VIM为主，占77.8%，其次为IMP和NDM，分别占比为36.6%和35.6%。VIM有24个变异体，以VIM-2最为常见，占比为73.2%；IMP的变异体有39个，以IMP-1和IMP-7为主，占比分别为16.1%和14.5%。产金属酶的铜绿假单胞菌主要有109个ST型，其中，以ST235和ST111为主，占比分别为16.8%和16.7%，其次为ST308（14.1%），ST233（7.2%），ST357（5.5%），ST1203（4.1%）和ST773（4.0%）。此外，本研究发现，最早的产金属酶铜绿分离自1997年，随后的几年也有检出，但是在2019年达到高峰。虽然含有金属酶的铜绿假单胞菌主要分离自人(69.6%)，样本以尿(21.6%)为主，但是其在环境、家畜等也有一定的分布。

结论：金属酶在铜绿假单胞菌中的分布以VI-2和IM-1、IMP-7为主，主要流行在ST235、ST111和ST308菌株中。随着产金属酶铜绿假单胞菌的不断增多。应加强该类细菌的感染防控。

医院未处理污水中耐碳青霉烯类细菌检测分析

钱费楠*、杜鸿
苏州大学附属第二医院

目的：分析医院未处理污水中碳青霉烯类耐药菌的流行情况、基因组特征及临床相关性，为院内评估公共卫生情况、预防交叉感染提供参考依据。

方法：分别从医院总污水管道和病区洗手池U型排污管收集污水，利用含有美罗培南（2 μg/ml）的LB固体平板分离耐药细菌，进行菌种鉴定、药敏分析、碳青霉烯酶基因PCR检测和全基因组测序；对基因组序列进行耐药基因识别，并采用回顾性分析方法，结合多位点序列分型（multilocus sequence typing, MLST）和单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism, SNP）分析，比较其与同季度临床分离株的同源性。

结果：从医院污水中分离出56株耐碳青霉烯类革兰阴性菌，包括假单胞菌属细菌、气单胞菌属细菌和丛毛单胞菌属细菌等13个属类细菌，其中39株污水分离株携带碳青霉烯酶基因，涉及blaKPC、

blaNDM、blaIMP、blaVIM、blaIND、blaOXA-58-like、blaOXA-48-like和blaOXA-427-like。blaKPC-2和blaIMP-8分别是医院总污水和病区污水中主要的碳青霉烯酶基因。我院还发现了一株携带blaIMP-101的产碱假单胞菌。筛选4株污水分离株和11株临床分离株纳入SNP分析，其中临床和污水来源的两株ST11型肺炎克雷伯菌具有高同源性。

结论：医院未处理污水中存在多种多重耐药的致病菌，具有在环境中散播耐药基因的潜在风险；医院污水和临床分离的高度同源肺炎克雷伯菌表明医院污水与临床感染的紧密联系。医院需加强对污水环境中耐药细菌和耐药基因的监测，防止医院污水中耐药细菌和耐药基因的广泛传播，预防污水中耐药细菌引起的院内感染。

中国临床高危携带blaIMP-26的湘房肠杆菌的分子特征

高棋钊*、杜鸿

苏州大学附属第二医院

目的：虽然blaIMP-1和blaIMP-4是临床上报道最多的blaIMP中碳青霉烯酶基因，但罕见的blaIMP也逐渐出现。本文旨在研究罕见的blaIMP亚型携带菌株的基因组和临床特征。

方法：收集来自中国多中心研究的携带blaIMP的耐碳青霉烯类肠杆菌科(CRE)分离株。采用PCR和Sanger测序初步检测碳青霉烯酶基因。采用全基因组测序(WGS)确定了携带罕见blaIMP菌株的基因组序列。通过克隆实验和细菌药敏试验(AST)证实了几种IMP亚型介导碳青霉烯类耐药的功能。通过偶联实验和质粒稳定性实验验证了携带罕见blaIMP的质粒的传输能力。

结果：共收集到携带blaIMP的菌株56株。其中，我们发现了5种罕见的blaIMP亚型携带菌株。均为耐多药香坊肠杆菌，携带blaIMP-26。通过克隆实验和AST证实，IMP-26对碳青霉烯类的抗性是IMP-4和IMP-1的4-16倍。此外，blaIMP-26被IncHI2/2A或新的IncpKPC-CAV1321质粒携带。实验证实这些质粒能够以高频率自转移，并在宿主体内存在数十年。此外，无论质粒是什么，blaIMP-26都位于1类整合子上。

结论：本研究描述了5株携带blaIMP-26的香坊肠杆菌。blaIMP-26具有较高的碳青霉烯类耐药性和传播能力，因此需要加强对blaIMP-26传播的监测和预防。

肺移植术后72小时血清乳酸峰值 与受者短期死亡风险的关联

高蓉*、吴雨婷、王婷婷（通讯作者）

南京医科大学附属无锡人民医院

目的：评估肺移植(Lung transplantation, LTx)后72小时内动脉血乳酸峰值与术后早期死亡之间的关系。

方法：纳入2017年1月1日至2021年4月31日在南京医科大学附属无锡人民医院被诊断为肺纤维化，且接受LTx的成年患者(18岁及以上)，并排除有器官移植史、合并多器官移植、术中心脏骤停或移植失败

的患者,分析了共243名患者的相关数据。分别于麻醉前(T0)、手术结束时(T1)、病人到达ICU时(T2)、病人到达后6小时(T3)、12小时(T4)、24小时(T5)、48小时(T6)和72小时(T7),用床边血气机进行桡动脉血气分析,检测乳酸水平。回顾性收集供体和受体的临床特征以及LTx后受体的早期生存情况。对所有肺移植受者进行术后随访,固定随访时间点为术后30天、90天和180天,患者不定期到医院就诊的信息也将纳入管理平台。使用单因素Cox回归分析探索术后72小时内乳酸峰值与一年死亡风险的关系,然后使用多因素Cox回归模型进一步校正包括供者特征、受者术前、手术特征在内的多个变量(协变量)以明确术后72小时内乳酸峰值和1年死亡风险的关联。术后30天死亡率、90天死亡率和180天死亡率均按照1年死亡率分析过程进行了多个敏感性分析。

结果:单因素Cox回归模型分析显示72小时乳酸峰值与术后365天(HR=1.110, 95%CI: 1.040-1.180)、180天(HR=1.130, 95%CI: 1.060-1.210)、90天(HR=1.100, 95%CI: 1.020-1.190)和30天(HR=1.140, 95%CI: 1.050-1.240)的关联均有统计学意义。在单因素Cox回归分析的基础上,采用多因素Cox回归校正部分供受体临床特征后,发现术后72小时乳酸峰值与术后365天死亡风险显著相关(HR=1.080, 95%CI: 1.010-1.154)。对180天、90天和30天的死亡风险进行敏感性分析,发现其与术后72小时乳酸峰值的关联均仍然有统计学关联,相应死亡风险分别为1.136 (95%CI: 1.060-1.218)、1.019 (95%CI: 1.027-1.199)和1.131 (95%CI: 1.038-1.234)。

讨论:此次研究发现,术后72小时内的乳酸峰值与术后短期死亡风险显著相关。越来越多的证据表明,乳酸水平与接受器官移植的病人的术后死亡率有关。涉及接受肝脏移植的成年患者的研究表明,术后初始乳酸值对30天和入院死亡率有一定的预测作用。在另一项关于肝移植重症儿童的研究中,入院时血清乳酸浓度 $>3.0\text{mmol/L}$,或手术后6小时内血清乳酸浓度持续 $>2.0\text{mmol/L}$,与较高的死亡率有关。此外,当高乳酸血症被定义为乳酸值超过 3.0mmol/L 时,24小时的术后高乳酸血症峰值与心脏手术后患者较高的住院和长期死亡率有关。Anna等人还发现,在ICU入院时测量血清乳酸水平,可作为心脏移植受者院内死亡率的预测参数。大于 7.0mmol/L 的数值可以预测院内死亡率,准确率达90%。

2型糖尿病足溃疡患者创口细菌感染特征及凝血功能相关性分析

姜风英*

无锡市骨科医院

目的:分析2型糖尿病足溃疡(DFUs)患者创口细菌感染特征及凝血功能的临床分析。

方法:选择DFUs患者151例,进行创口分泌物细菌培养,根据细菌培养结果,分无细菌组和有细菌组。测定患者肝肾糖脂、血常规、凝血功能。采用t检验及 χ^2 检验分析临床特征及凝血功能;采用Pearson分析对差异因素进行相关性分析;实验组的影响因素采用多因素Logistic回归分析;

结果:实验组细菌感染种类前三位依次是铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌。实验组CR、白细胞、中性粒细胞、PLT、PT、FIB、FDP、D-Dimer水平高于对照组($P < 0.05$);实验组ALB、HDL-C、AT3水平低于对照组($P < 0.05$)。Pearson相关性分析:ALB、HDL与AT3抑制DFUs感染的风险($P < 0.05$);白细胞、中性粒细胞、PLT、FIB、FDP与D-Dimer提示机体炎症与凝血水平升高($P < 0.05$);多因素Logistic回归分析可知:FIB为实验组的独立预测因素($P < 0.05$)。

讨论:2型糖尿病足溃疡患者合并感染时,患者预后更差,由于细菌培养的滞后性,延误诊断,影

响患者的治疗与预后。实验室凝血功能的检测，炎凝交互，通过凝血状态对感染炎症状态进行评估，对于2型糖尿病足溃疡合并感染患者具有积极指导意义。本研究中，实验组革兰阴性菌株数高于革兰阳性菌株数，由于本院地处南方，地区温度潮湿，革兰阴性菌比例较高。实验组PT、AT3低于对照组，FIB、FDP、D-Dimer高于对照组。高糖环境下的慢性炎症反应使血管内皮细胞持续受到破坏，抗凝系统也会受到损害，体内先天的凝血与抗凝之间失衡，导致病变发展。FIB对凝血过程中是必不可少的，该物质水平的升高与血液高凝状态、血管内皮损伤以及急性时相反应状态相关。对炎症状态与血管病变FIB有较强预测能力，病变的内皮细胞会增强平滑肌的增生和加快迁移速度，FIB的升高最终会导致血小板聚集，血液粘稠度增加，这些促进血栓形成。FDP及D-Dimer检测值较单纯DFUs增高，可能原因是：血糖变化使体内氧化应激加剧，血管内皮细胞刺激因素长期持续存在，炎症细胞激活速率增快，各种致炎因子被集中释放，炎性因子经由不同方式瀑布式激活凝血级联反应，从而使机体处于高凝状态之中，因此机体产生各种凝血因子与凝血酶，纤溶系统随之被激活，FDP及D-Dimer升高。

综上所述，DFUs感染患者PLT、凝血功能发生紊乱，临床上监测血小板与凝血功能对于DFUs感染患者早期发现及积极治疗很有帮助。

妊娠期肝内胆汁淤积症患者胎盘滋养细胞铁死亡的机制研究

宁少楷*、张婷、黄欢
无锡市妇幼保健院

目的：在前期的研究结果中，我们应用蛋白定量技术建立了ICP大鼠胎盘差异蛋白质表达谱系，发现脂肪酸合成通路关键蛋白ACSL1在ICP组显著高表达，同时铁死亡与脂质代谢异常密切相关。因此，脂质代谢异常引起胎盘滋养细胞铁死亡可能成为ICP发生发展机制研究的新切入点。在本研究中，我们运用生物化学与分子生物学、细胞生物学实验手段在细胞中检测铁死亡的表型并进一步研究ACSL1在ICP中的作用机制，为阐明ICP的发病机制提供新思路。

方法：首先，我们选取2022年1月至2022年12月无锡市妇幼保健院收治入院的30例ICP患者为研究对象。另选取30例同时期入院产检的健康妊娠女性作为正常对照组，收集患者孕晚期(>28周)空腹血标本和临床资料。分别采用质谱及ELISA方法检测ICP患者和健康对照组血清中ACSL1水平，并运用ROC特征曲线进一步分析ACSL1表达水平与不良妊娠结局的相关性。其次，我们应用western blot和CCK8细胞存活实验分别检测了TCA处理胎盘滋养细胞后铁死亡相关蛋白的含量变化以及细胞的存活率的变化，并分析其统计学意义。最后，我们运用质谱、免疫共沉淀等方法进一步研究ACSL1的作用机制。

结果：ICP患者血清中ACSL1表达水平显著高于正常对照，且表达水平与血清总胆汁酸表达水平呈显著正相关。ROC分析显示血清ACSL1水平用于诊断ICP的AUC为0.825(95%CI: 0.750-0.899)，ACSL1表达水平与分娩孕周和新生儿体重呈显著负相关。TCA处理的细胞中GPX4表达水平明显低于空白对照组，STEAP3、CD71表达水平明显高于空白对照组，差异具有统计学意义(P<0.05)。与空白对照组相比，TCA处理下细胞的存活率明显下降，但是TCA和铁死亡抑制剂同时处理下细胞的存活率接近空白对照组，差异具有统计学意义(P<0.05)。

讨论：在本研究中，我们发现与正常对照组相比，ICP患者血清中ACSL1表达明显上调，而且ACSL1的表达水平与不良妊娠结局具有相关性，另外ACSL1表达水平与分娩孕周和新生儿体重呈显著负相关。

因此, ICP患者胎盘滋养细胞棕榈酸表达上调, 可能通过上调ACSL1表达诱导胎盘滋养细胞铁死亡, 参与ICP的发生发展。我们分别在蛋白水平和细胞存活水平检测了TCA处理下胎盘滋养细胞中铁死亡现象的变化。与空白对照组相比, TCA处理的胎盘滋养细胞中铁死亡相关蛋白含量的变化完全符合铁死亡的表型且差异显著, 且细胞存活实验的结果显示TCA和铁死亡抑制剂的同时处理会提高TCA单独处理下细胞的存活率, 验证了铁死亡在ICP细胞中发挥的调控作用。

链球菌血流感染患者临床资料及预后分析

许雨乔*

江苏省人民医院(南京医科大学第一附属医院)

目的: 分析链球菌血流感染患者临床资料及预后。

方法: 回顾性分析2017-2022年南京医科大学第一附属医院链球菌血流感染患者临床资料, 根据细菌种类分为 α 溶血链球菌组和 β 溶血链球菌组, 比较两组临床资料、实验室指标、药敏结果及预后。

结果: 共305例患者纳入研究, 其中 α 溶血链球菌组270例, β 溶血链球菌组44例。 α 溶血链球菌组基础疾病以心脏疾病最为常见, β 溶血链球菌组患者年龄主要为60岁以上老年人, 基础疾病以高血压最为常见, 主要见于放/化疗患者, 且血培养报阳时间显著低于 α 溶血链球菌组, 差异有统计学意义, $P < 0.001$ 。两组链球菌血流感染患者的预后差异无统计学意义。进一步以链球菌种类进行预后分析, 结果如表4所示, 无乳链球菌感染患者的死亡率最高, 为23.5%。其次肺炎链球菌和缓症/口腔链球菌感染的患者, 死亡率分别为22.2%和21.3%。

结论: 血培养报阳时间可辅助鉴别 α 溶血链球菌和 β 溶血链球菌血流感染。早期准确选择抗菌药物能改善患者预后。

CTLA-4在急性肺损伤中的作用及其机制研究

罗铭*、严春光

东南大学医学院

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。细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)被认为是一个关键的免疫检查点, 是CD28免疫球蛋白亚家族中的抑制性受体, 其配体为B7家族成员CD80和CD86。CTLA-4与其配体结合后产生共抑制反应, 从而抑制T细胞反应。CTLA-4是限制免疫反应和维持免疫稳态的关键免疫调节剂, 限制免疫病理反应并促进自我耐受。目前, 以CTLA-4作为靶点的药物在治疗肿瘤及自身免疫性疾病中已经体现出良好的应用, 然而针对CTLA-4的药物在治疗急性肺损伤中的作用尚未明确。因此, 本研究旨在探究CTLA-4在急性肺损伤中的作用及其机制, 为以CTLA-4为靶点的药物在治疗急性肺损伤方面提供理论参考, 进而为寻找治疗急性肺损伤的方法提供新思路。

方法: 通过构建过表达CTLA-4的腺病毒(Ad-CTLA-4), 随后将Ad-CTLA-4(5×10^8 PFU)通过气道注射入C57BL/6小鼠肺组织中, 72小时后气道注射LPS(2mg/kg)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（H&E）、BALF中白蛋白水平以及白细胞数量来反应肺组织损伤情况；通过检测肺组织中髓过氧化物酶（MPO）活性来反应中性粒细胞浸润水平；通过检测BALF以及肺组织中趋化因子（MCP-1、MIP-2、KC）、细胞因子（IL-6、TNF- α ）的表达来反应肺组织炎症水平。

结果：与对照组相比，过表达CTLA-4的小鼠肺组织损伤程度显著加重，表现为肺组织中有更多的炎症细胞浸润、MPO活性增加以及BALF中白蛋白水平升高；此外，过表达CTLA-4的小鼠肺组织炎症水平显著升高，表现为BALF中趋化因子（MCP-1、MIP-2、KC）以及细胞因子（IL-6、TNF- α ）水平显著增加。

讨论：抗CTLA-4抗体作为最早在临床上应用的免疫检查点抑制剂药物，已被证明在治疗肿瘤、类风湿性关节炎等疾病方面具有显著效果。我们的研究发现，CTLA-4在小鼠肺组织中稳定表达，并且在急性肺损伤模型中具有加重肺组织损伤、促进炎症水平的作用，这一研究发为抗CTLA-4的抗体药物在治疗急性肺损伤方面提供了理论支持，进而为治疗急性肺损伤提供新思路。

探讨孕中期TyG联合平均动脉压和糖化血红蛋白 对妊娠期糖尿病预测诊断的价值

项兰兰*、曾玉

南京市妇幼保健院

目的：探讨孕中期甘油三酯和葡萄糖指数（TyG）联合平均动脉压（MAP）和糖化血红蛋白（HbA_{1c}）对妊娠期糖尿病（GDM）预测诊断的临床价值。

方法：选择2020年4月-2021年9月在我院门诊建卡并规律产检孕妇272例，记录所选孕妇建卡时一般基线资料和实验室数据包括空腹糖脂指标、总胆红素、直接胆红素、总胆汁酸和糖化血红蛋白。根据建卡时甘油三酯（TG）和空腹血糖（FBG）计算甘油三酯和葡萄糖指数，建卡时收缩压，舒张压计算平均动脉压。所选孕妇根据建卡后口服75g葡萄糖耐量实验（75g，OGTT）结果分为妊娠糖尿病组（GDM组，152例）和健康对照组（CON组，120例）。分析GDM组与CON组生化指标，甘油三酯和葡萄糖指数，平均动脉压和糖化血红蛋白之间的差异，对两组间差异因素进行Logistic多因素回归分析，寻找GDM的独立危险因素并构建列线图（Nomo）模型，利用受试者工作特征曲线（ROC）评价Nomo模型的预测诊断价值。

结果：GDM组孕妇年龄、建卡收缩压、建卡舒张压和建卡腹围均显著高于CON组（均 $P < 0.05$ ）；两组孕妇建卡BMI和建卡孕周无统计学差异；实验室检测中GDM组总胆汁酸（TBA）、空腹血糖、糖化血红蛋白均显著高于CON组（ $P < 0.05$ ）；而高密度脂蛋白（HDL-C）、低密度脂蛋白（LDL-C）、甘油三酯（TG）、总胆固醇（CHOL）、总胆红素（TBIL）和直接胆红素（DBIL）在两组之间无统计学差异；计算得出的甘油三酯和葡萄糖指数，平均动脉压在GDM组中也显著高于CON组。将有显著差异的甘油三酯和葡萄糖指数，平均动脉压和糖化血红蛋白进行Logistic多因素回归分析之后显示三者仍然是GDM的独立危险因素。将甘油三酯和葡萄糖指数四分类后联合平均动脉压和糖化血红蛋白绘制列线图模型对GDM进行预测诊断同时绘制三者联合诊断GDM的ROC曲线，ROC曲线下面积为0.691,95%的置信区间为0.629~0.753。

讨论：甘油三酯和葡萄糖指数、平均动脉压和糖化血红蛋白是GDM的独立危险因素，三者联合绘制的Nomo模型对妊娠期糖尿病的预测诊断具有一定的价值，受试者工作特征曲线下面积显示三者联合

有较好的诊断性能。Nomo模型计算简单,指标易于获得,有利于基层临床初步筛查GDM,具有一定的推广价值。

86例糠秕马拉色菌引起侵袭性感染患者的临床资料分析

张晓慧*、金菲、陆燕飞、夏文颖
江苏省人民医院(南京医科大学第一附属医院)

目的:糠秕马拉色菌(*Malassezia furfur*, *M. furfur*)是一种亲脂性、条件致病的酵母菌,主要引起皮肤感染,但近年相关侵袭性感染的报道日益增多。本研究的目的是为医生诊治由糠秕马拉色菌引起的侵袭性感染患者提供临床依据。

方法:本文报道了一例由糠秕马拉色菌引起肺部感染的病例,该患者因再生障碍性贫血行造血干细胞移植治疗。此外,还回顾了截止2022年7月31日发表在PubMed和Web of Science上的有关糠秕马拉色菌侵袭性感染的英文文献。

结果:通过文献检索共纳入37项研究,包括85例患者,同本研究的病例一起纳入数据分析。结果显示,86例糠秕马拉色菌引起侵袭性感染的患者大多数是早产儿(44.2%),其次是成人(31.4%)。86例患者中有79.1%发生糠秕马拉色菌菌血症,其中45例明确来自导管血。其他患者出现导管相关性感染、肺炎、外周血栓栓塞、心内膜炎、脑膜炎、腹膜炎和播散性感染。38例早产儿患者有基础病史,如极低出生体重和/或多器官发育不全。其余患者有免疫力低下或严重的胃肠道疾病。97.7%的患者接受过侵入性操作,80.2%的患者接受了全胃肠外营养(total parenteral nutrition, TPN)。发热、血小板减少和白细胞增多分别占糠秕马拉色菌侵袭性感染患者的55.8%、38.4%和24.4%。69.8%的患者接受了抗真菌药物治疗,主要为两性霉素B或唑类药物。84例留置导管的患者中,58.3%的患者接受了导管拔除。69例患者中有30例停用TPN。86例患者全因死亡率为27.9%。

结论:糠秕马拉色菌可引起多种侵袭性感染,这些感染多发生于早产儿、免疫力低下者和严重胃肠道疾病患者。留置导管和TPN输注是主要的危险因素。两性霉素B、两性霉素B脂质体和唑类是最常用的药物,同时拔除导管和终止TPN输注是治疗糠秕马拉色菌侵袭性感染的重要手段。

119株摩根摩根菌临床分布及耐药性变迁

张丽伟*、王玉月
常州市第一人民医院

目的:分析摩根摩根菌的临床分布与耐药性变迁,为临床预防感染和合理用药提供参考。

方法:通过实验室信息管理系统和杏林医院感染实时监测系统收集某三级甲等医院2019年9月-2022年9月临床分离的119株摩根摩根菌(来自112例患者)及有关临床资料,分析其临床分布、标本来源、感染状态及部位、药敏结果。

结果:112例患者中男性69例(61.61%)、女性43例(38.39%),年龄16-92岁,平均年龄(64.85 ± 16.03)岁。119株菌株主要分布在重症医学科(12.61%)、泌尿外科(12.61%)及肾内科

(10.08%)；标本来源主要为尿液(45.38%)、脓液(17.65%)及痰液(15.13%)；119株菌株中医院感染22株，社区感染55株，医院感染部位主要以下呼吸道(45.45%)和菌血症(22.73%)为主，社区感染部位主要以泌尿道(65.45%)和皮肤软组织(12.73%)为主，二者分布完全不同($P<0.001$)；119株菌株中CRE比例占19.33%(23/119)，MDRO占31.93%(38/119)；药敏结果显示2019年9月-2022年9月三年来，摩根摩根菌对阿米卡星、氨曲南、头孢吡肟、哌拉西林/他唑巴坦、美洛培南类均保持较高的敏感性，均 $\geq 80\%$ 且差异无，但是对于碳青霉烯类中的亚胺培南敏感性明显降低，且差异有统计学意义($Z=13.195, P<0.001$)。

结论：摩根摩根菌可引起多种感染，社区感染比例高于医院感染，医院感染仍以下呼吸道为主。阿米卡星、哌拉西林/他唑巴坦、头孢吡肟和美洛培南等可作为临床治疗摩根菌感染的一线用药，碳青霉烯类耐药(主要指亚胺培南)的摩根菌检出率逐年升高，临床应根据药敏结果合理用药，并对其耐药性和耐药机制加强监测和研究。

1例胰岛素自身免疫综合征检测结果异常的原因分析

金明*

常州市第一人民医院

目的：通过一例罕见胰岛素自身免疫综合征患者的异常结果分析，探讨产生异常结果的干扰因素，并通过与临床有效沟通，进而对结果进行合理解释、分析并最终对该患者进行确诊。

方法：对该患者的标本进行稀释、聚乙二醇沉降实验、更换检测系统后的检验结果进行比较分析。

结果：通过对样本进行稀释检测，发现不同稀释浓度之间具有较好的线性关系，初步排除了异嗜性抗体的干扰。PEG沉降实验结果显示，该患者不同时间段的胰岛素水平回收率均 $<30\%$ ，提示大分子蛋白干扰存在。通过联系外院应用贝克曼检测系统测定了空腹胰岛素和C肽水平，胰岛素稀释后仍然是极高值，C肽却显示不被干扰，说明不同的检测系统之间受干扰的影响不同。最终通过对该患者的基因及IAA检测，明确了诊断，确诊为IAS。

结论：在国外相关研究中，大分子蛋白干扰的问题也曾被提及。与本研究相似，国内外对于IAS患者的文献报道中大多强调了一些排除IAA干扰的处理方法，并未对一些IAA高值非IAS患者进行研究。说明在不同地区和实验室之间，出现类似问题的可能性，因此标准化和方法验证变得尤为重要。尽管我们对异常结果进行了深入分析，但本研究仍然存在一些不足之处。首先，我们的研究案例仅包括1例患者，样本量较小。其次，我们的研究未涵盖更多的临床特征和生化参数，这可能会限制对异常结果的全面理解。最后，我们的研究局限于对大分子蛋白的沉降实验，以及实验室设备限制，无法进行凝胶过滤色谱(GFC)，未能进一步鉴定干扰物质的性质和来源。本研究通过深入分析1例胰岛素自身免疫综合征患者的异常结果，发现了大分子蛋白干扰的问题，强调了检测复杂性和解释结果的重要性。今后的研究方向应包括更大样本规模、多因素分析、干扰物质鉴定和方法验证等方面，以进一步提高检测的精确性和可靠性，为临床诊断和治疗提供更准确的数据支持。本研究旨在为检验工作者提供一些经验借鉴，也为日后免疫检测过程中遇到异常结果时可以更加从容地进行处理。

碰撞诱导去折叠、氘气交换质谱和分子动力学模拟揭示维生素B12转运过程中周质结合蛋白BtuF的构象变化和结合机制

周丽君*

南京大学医学院附属鼓楼医院

目的：维生素B12是大肠杆菌必要的辅助因子，参与多种代谢过程，然而大肠杆菌不能合成维生素B12，必须依靠转运系统将环境中的B12分子转运入细胞内。BtuCD-F就是大肠杆菌维生素B12转运系统的组成部分，了解其在转运B12过程中的详细构象变化，对于研究微生物膜转运体具有重要意义。本文拟运用多种质谱结合分子动力学模拟的方法，解析BtuF在B12转运过程中的构象变化。

方法：首先对BtuF和BtuCD蛋白进行表达和纯化，聚丙烯酰胺凝胶电泳和分子排阻色谱法验证蛋白质纯度。运用碰撞诱导去折叠的方法比较BtuF在结合维生素B12前后的构象稳定性变化，再运用氘气交换质谱的方法，分别比较BtuF在未结合B12、结合B12后、与B12解离后的构象变化，并结合分子动力学模拟的方法，解析BtuF与B12的结合机制。

结果和讨论：

3.1 BtuF和BtuF-B12气相稳定性的比较

Apo-和holo-BtuF分别通过不同碰撞能量而被激活（5 V-80 V，每次升高5 V）。首先，BtuF和BtuF-b12离子在最低碰撞能量处没有明显的气相激活。apo-和holo-BtuF均表现出三种状态(0:原生态;1:中间状态;2:未折叠态)和两个跃迁。然而，BtuF和BtuF-b12之间的CIU差异明显，均方根偏差(RMSD)为21.73。在25 V碰撞电压下，BtuF从状态0向状态1发生了明显的转变，而holo-BtuF的状态0几乎没有发生转变，这表明天然态apo-BtuF比holo-BtuF在气相中更容易展开。CIU_{50BtuF} = 26.9 ± 0.1 V, CIU_{50BtuF-b12} = 31.8 ± 0.1 V，证明了BtuF-B12的构象更加稳定。

3.2 HDX-MS揭示BtuF的快速交换区域

在apo-BtuF中，N端(resi 1-4)，肽段β3(resi 41-49)，肽段α4(resi 60-75)，肽段α8(resi 168-180)，肽段α9(resi 192-209)和C端(resi 241-246)这六个区域在交换反应发生15 s内，交换水平达到最大值的50%以上，这些区域称为快速交换区域，它们位于B12结合口袋的周围，对于B12结合和释放过程中BtuF的构象变化具有重要作用。

3.3 BtuF在B12结合和释放过程中的构象变化

为了全面了解BtuF在B12转运过程中的构象变化，进行了两组差异HDX实验，将氘代差值做成蝴蝶图，并将结果映射到晶体结构上，结果显示，结合B12后，BtuF中大部分区域氘代水平降低，其中肽段α7和肽段α10-11降低最明显，说明这两个区域是与B12发生结合的主要区域。包含Trp44的肽段在结合B12的过程中，发生了构象的重排。而当BtuF释放B12后，即与BtuCD结合后，位于BtuF和BtuCD结合界面的区域，被显著保护，说明该区域灵活性被限制。值得关注的是BtuF与BtuCD的结合界面位于BtuF结构的背面，这种构象可能有利于B12从BtuF中的释放

3.4 BtuF铰链区的高度灵活性

铰链区的中段对应肽段113-118，具有较高的氘代水平，然而该区域为α螺旋结构，说明溶液状态下的BtuF铰链区结构刚性比晶体结构中弱。

3.5 分子动力学模拟进一步验证质谱结果

Apo-BtuF和holo-BtuF的C α 的RMSD分别为 $2.00 \pm 0.32 \text{ \AA}$ 和 $1.74 \pm 0.24 \text{ \AA}$, 说明结合B12后, BtuF更加稳定。Apo-BtuF和holo-BtuF的回旋半径R g 分别为 $19.87 \pm 0.24 \text{ \AA}$ 和 $19.44 \pm 0.10 \text{ \AA}$, 说明结合B12后, BtuF的构象更加紧凑。

Synergistic Killing of Capsaicin Combined With Colistin Against Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*: A Metabolomics Study

Liying Yang*, Tingting Guo, Jie Yang, Na Zhou, Hongmei Jiao, Guimei Kong, Guocai Li
Yangzhou University

Objective: *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) as a nosocomial pathogen poses a serious challenge to human health worldwide. With the increasing use of polymyxins as the last-line therapy, colistin resistance *A. baumannii* emerged. Therefore, in order to prolong the clinical effect of colistin and reduce its toxicity, novel colistin combination therapy against *A. baumannii* is urgent.

Method: Our previous study found that capsaicin in combination with colistin can effectively inhibit colistin resistance *A. baumannii*. In this research, untargeted metabolomics was used to analyze metabolic changes in *A. baumannii* ATCC19606-R induced by colistin ($2 \mu\text{g/mL}$), capsaicin ($32 \mu\text{g/mL}$), and their combination at 1 h, 4 h, and 24 h, respectively.

Results: A total of 1968 putatively identified metabolites were obtained, including: 382 metabolites in amino acid metabolism, 40 carbohydrate metabolites, 8 coenzyme factors and vitamin metabolites, 222 lipid metabolites, and 99 metabolites in nucleotide metabolism. Among them, 471 metabolites were located to the KEGG pathway, accounting for 23.9 % coverage of all metabolites detected in ATCC19606-R.

There were only 3 intermediates in common between all treatment conditions at 1 h, and no intermediates in common between all treatment conditions at 4 and 24 h. The combination treatment shared 44 % of the intermediates with colistin monotherapy at 4 h, and lesser intermediates with colistin monotherapy at 1 and 24 h. The combination treatment shared about 20 % of the intermediates with capsaicin monotherapy at 1 h, and lesser intermediates with capsaicin monotherapy at 4 and 24 h. The results suggesting that the synergistic killing of colistin-capsaicin combination was primarily driven by capsaicin at 1h, and driven by colistin at 4 h. Metabolite enrichment analysis revealed that several key biochemical pathways in ATCC19606-R, including nucleotide, amino acid, lipid metabolism and carbohydrate metabolism, were significantly affected within 24 h of treatment with colistin and capsaicin alone and in combination. Especially at 4 h, the metabolic changes were more significant and continued until 24 h. At 4 h, more metabolite changes were found in colistin monotherapy and colistin and capsaicin combination groups, suggesting that the metabolic disorder at 4 h was driven by colistin. At 24 h, only a small amount of metabolite changes were caused by colistin and capsaicin monotherapy, mostly caused by the combined treatment group, which proved that colistin and capsaicin combined therapy was more effective than monotherapy in the treatment of *A. baumannii* ATCC19606-R.

The impact of colistin monotherapy has no significant difference with the combination treatment at 1 h. At

4 h, the impact of combination therapy on lipid metabolism declined, only PE (16:1(9Z)/18:1(9Z)). The impact of combination therapy on lipid metabolism disappear at 24 h, though capsaicin decreased the abundance of PE-NMe (15:0/20:2(11Z,14Z)) and PC (14:0/18:3(6Z,9Z,12Z)), colistin decreased the abundance of PE-NMe2 (16:0/18:1(11Z)). Colistin monotherapy caused a significant inhibitory effect on 17 of peptide metabolism at 4 h, while only four peptide metabolism showed a significant decrease following colistin monotherapy at 1 h, and no peptide metabolism showed a significant decrease at 24 h. No significant effect was observed in the samples treated with capsaicin monotherapy at 4 and 24 h, only induced 2 metabolisms significantly altered at both time exposures. Colistin-capsaicin combination caused a marked depletion in the levels of nucleotides predominantly at 4 h, a lesser extent at 1 h, and to a negligible effect at 24 h.

In general, it can be seen that most of the metabolite changes at 4 h are caused by colistin treatment, and will also cause metabolite changes in combination treatment, and the metabolic disorder can continue until 24 h. The metabolic pathways that affected bacterial growth and biosynthesis, including amino acid metabolism, nucleotide metabolism, carbohydrate metabolism pathway related metabolites had more significant changes.

Discussion: It has been reported in the literature that colistin targets the outer membrane LPS of bacteria that resulting the disorder of lipid metabolism, outer membrane rupture, then leading antimicrobial agents entering and killing bacteria. Phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylglycerol (PG) and cardiolipin are the main lipid components of the Gram-negative bacteria cellular envelope. These lipid precursors are vital to keep the completeness of the bacterial cell envelope to survival under various stress conditions. Thus, we first analyzed the effects of colistin and capsaicin on lipids and lipid Metabolites. However, lipid metabolites were found to have few changes in our result, this maybe because that *A. baumannii* ATCC19606-R is colistin resistance and the modified LPS or lipid A phosphate groups in cell membranes resulting in reduced binding of colistin to ATCC19606-R.

Capsaicin has a serious of properties, like antioxidant, anticancer and antimicrobial activities et al. However, the precise mode of action of how capsaicin synergistic colistin remains unknown. Previous study has proved that capsaicin suppress the growth of bacteria via decreasing membrane stability due to its hydrophobicity. Other studies proved that capsaicin can destroy the cell membrane structures and inhibit the expression of the genes relevant to bacterial cell growth. Our study found that capsaicin inhibit bacterial cell growth through inhibition of DNA and RNA metabolism, and perturbation of peptide metabolism.

In conclusion, our findings demonstrated that the synergistic killing of colistin-capsaicin combination was initially driven by capsaicin and subsequently driven by colistin. Our study found huge perturbations to amino acid metabolism, and nucleotide metabolism by colistin and its synergistic combination with capsaicin.

It is urgent to find new strategies for the treatment of colistin resistance *A. baumannii*. Although our previous research have shown that capsaicin in combination with colistin displayed synergistic killing activity against *A. baumannii*, we did not investigate the precise mechanisms. LC-MS/MS based metabolomics was utilized to investigate metabolic changes in colistin-resistant *A. baumannii* strains in response to synergistic killing by colistin combinations with capsaicin. To the best of our knowledge, this is the first study to decipher the mechanisms of synergistic killing activity of capsaicin and colistin combination therapy against *A. baumannii* using untargeted metabolomics.

某三甲医院2021–2023年尿路感染病原菌分布及其耐药性分析

时洛洛*

常州市第一人民医院

目的：探讨我院2021年4月至2023年5月尿培养病原菌的分布及耐药性变迁，为临床尿路感染的诊治提供依据。

方法：使用美国BRUKER MALDI质谱仪进行细菌鉴定，PhoenixTM 100全自动细菌鉴定药敏进行抗菌药物敏感性试验，数据采用WHONET 5.6软件进行统计分析。

结果：我中心2021年4月至2023年5月4163例患者尿培养阳性，其中女性多于男性，60岁以上患者占65%（2723/4163）。尿培养阳性率排名前3位的科室分别为泌尿外科、肾内科及重症医学科。共检出非重复病原菌5165株，其中革兰阳性菌占21.39%，革兰阴性菌占62.13%，真菌占16.48%。前5位分离菌依次为大肠埃希菌（1876株，36.32%）、肺炎克雷伯菌（466株，9.02%）、白色念珠菌（464株，8.98%）和粪肠球菌（408株，7.90%）。2021年4月至2023年5月大肠埃希菌对亚胺培南耐药率分别为2.34%、0.93%，总体耐药率为1.61%；肺炎克雷伯菌对亚胺培南的耐药率分别为18.52%、11.87%，总体耐药率为14.62%；鲍曼不动杆菌对亚胺培南的耐药率分别为52.78%、80%，总体耐药率为71.90%；铜绿假单胞菌对亚胺培南的耐药率分别为7.23%、9.20%，总体耐药率为8.24%。

结论：本院尿路感染病原菌以肠球菌、大肠埃希菌和白色念珠菌主，碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌和鲍曼不动杆菌的检出率较高，临床应高度重视。

Ubiquitin E3 ligase SPOP is a host negative regulator of enterovirus 71–encoded 2A protease

Lichao Zang*, Wei Zhou

Third Affiliated Hospital of Soochow University

The 2A protease (2Apro) encoded by enterovirus 71 (EV71) serves as an accessory protein with significant involvement in the regulation of EV71 infection and viral replication. EV71–2Apro exhibits the ability to suppress various host factors, thereby disrupting the cellular antiviral immune response. However, the question of whether host factors downregulate EV71–2Apro remains unresolved. In this investigation, we have discovered that the speckle-type POZ protein (SPOP), functioning as a host E3 ubiquitin ligase, triggers ubiquitination modifications and subsequent degradation of EV71–2Apro. The present study demonstrates that SPOP interacts with EV71–2Apro and exhibits a dose-dependent downregulation of EV71–2Apro levels. Conversely, knockdown of endogenous SPOP leads to an upregulation of EV71–2Apro expression. Subsequent investigations reveal that SPOP facilitates the lysosome-dependent degradation of EV71–2Apro through the induction of K48-linked polyubiquitination. This

mechanism ultimately restricts EV71 replication. These findings shed light on the ubiquitination and lysosome-dependent regulation of the crucial EV71-encoded protease, offering a potential therapeutic target for the treatment of EV71 infection.

YgiM能够通过膜相关的ceRNA网络触发肺炎克雷伯氏菌引起的败血症

韩明霄*

苏州大学附属第二医院

败血症被定义为宿主对感染反应紊乱而引起的危及生命的器官功能障碍。在过去几十年里，败血症在医院的死亡率从20%–80%不等，是一种可导致严重死亡的疾病。在大肠杆菌中，一个新型的内膜蛋白YgiM可以靶向真核生物过氧化物酶体，过氧化物酶体被认为是败血症发展过程中免疫功能和炎症的关键调节因子。在微生物感染过程中，过氧化物酶体可以通过激活先天免疫信号来辅助吞噬细胞的过程，从而面对微生物带来的挑战；肺炎克雷伯菌是引起败血症的重要病原菌之一，但与大肠杆菌YgiM高度同源的基因VK055_4013在肺炎克雷伯菌中的功能尚未被证实。我们通过研究发现YgiM蛋白可以通过膜相关的ceRNAs互作网络参与肺炎克雷伯菌引起败血症的致病过程，这为肺炎克雷伯菌导致的败血症的发生发展提供了新的认识和见解。

新冠合并继发感染患者病原菌分布及耐药情况分析

王洋洋*

常州市第一人民医院

目的：探讨新型冠状病毒感染合并继发感染患者的病原菌分布及耐药情况。

方法：选择2022年12月1日~2023年4月30日期间我院收治的新型冠状病毒感染住院患者817例，其中合并继发感染80例。统计分析继发感染患者细菌分布、标本分布及药敏情况。

结果：2022年12月1日~2023年4月30日期共收治新型冠状病毒感染患者817例，其中有80例新型冠状病毒感染患者并发继发感染，感染率为9.79%，标本类型主要为呼吸道标本，占比77.46%。继发感染患者共送检315株，其中鲍曼氏不动杆菌98株、金黄色葡萄球菌50株、脑膜脓毒性金黄杆菌40株、肺炎克雷伯氏菌肺炎亚种38株、铜绿假单胞菌16株、白色念珠菌16株、屎肠球菌10株。金黄色葡萄球菌对呋喃妥因、利奈唑胺、替考拉宁、氯霉素、替加环素、万古霉素的敏感率高达100%，对其余药物耐药率较高；鲍曼不动杆菌和脑膜脓毒性金黄杆菌的耐药情况较为严重，其中鲍曼不动杆菌对多数药物耐药率较高，脑膜脓毒性金黄杆菌仅对左旋氧氟沙星、复方新诺明的敏感率为100%，对哌拉西林/他唑巴坦和环丙沙星的敏感性为66.7%，对其余药物耐药；而肺炎克雷伯氏菌肺炎亚种以及铜绿假单胞菌的耐药情况相对乐观。

结论：我院新型冠状病毒继发感染率为9.79%且标本类型主要为呼吸道标本。主要病原菌为鲍曼氏不动杆菌、金黄色葡萄球菌、脑膜脓毒性金黄杆菌、肺炎克雷伯氏菌肺炎亚种、铜绿假单胞菌，且鲍曼

不动杆菌和金黄色葡萄球菌的耐药率较高。

间日疟原虫血清学标志物筛选并初步探究 抗原PvMSP1-42特异性长效免疫记忆的产生机制

徐佳慧^{1*}、任禛誉¹、李殷悦¹、尹伊¹、陆净媛¹、张雯雯¹、
刘佳丽¹、邓颖¹、刘杰¹、何新龙¹、陆凤¹、曹俊²

1. 扬州大学医学院

2. 国家卫生健康委员会寄生虫病预防和控制技术重点实验室,江苏省寄生虫与媒介控制技术重点实验室,江苏省血吸虫病防治研究所

目的: 基于蛋白芯片技术, 筛选能识别间日疟既往患者血清的间日疟原虫蛋白, 通过血清学反应评估, 鉴定出具有长效免疫记忆的候选抗原, 并初步探究PvMSP1-42特异性长效免疫记忆的产生机制, 以更好的了解宿主对疟疾的免疫反应, 为疟疾血清学监测提供分子靶标及理论依据。

方法: 通过无细胞蛋白表达技术(WGCF)获得了210种间日疟原虫候选抗原, 将候选抗原与间日疟现症患者, 以及5年前, 12年前, 30年前感染间日疟的患者血清进行反应, 经过三轮筛选, 筛选出具有高免疫原性的蛋白。将PvMSP1-42和PvGAMA这两种蛋白进行原核表达, 对蛋白进行免疫原性检测后, 免疫小鼠。在小鼠免疫后第43天, 用流式细胞术检测小鼠脾脏和骨髓中的生发中心B细胞(GC B)、辅助性T细胞(Tfh), 记忆性B细胞(MBC)和浆细胞(PC)比例, 用ELISPOT检测蛋白特异性抗体分泌细胞(ASC)数量。

结果: 通过三轮蛋白筛选, 最终筛选出10个具有高免疫原性蛋白, 其中PvMSP1-42蛋白反应性最强, 对不同间日疟暴露史的血清敏感性均在50%以上, 而PvGAMA对现症患者血清敏感性达到95%, 对间日疟既往患者血清敏感性均在25%以下, 因此将PvGAMA作为研究PvMSP1-42长效免疫记忆的对照蛋白。小鼠三次蛋白免疫后, 抗体水平不断升高。在小鼠免疫后第43天, PvMSP1-42蛋白免疫鼠脾脏中的GC B细胞数量和GC Tfh细胞均高于PvGAMA蛋白免疫鼠。PvMSP1-42蛋白免疫鼠脾脏中CD80+CD73+ MBC明显多于PvGAMA免疫小鼠, 而PvMSP1-42免疫小鼠脾脏中CD73-CD80- MBC细胞数量少于PvGAMA免疫鼠。CD80+CD73+ IgG1 MBC会产生浆母细胞, 并随后产生少量GC B细胞。PvMSP1-42蛋白免疫鼠脾脏中的浆细胞数量和骨髓中的浆母细胞数量高于PvGAMA蛋白免疫鼠。此外, 小鼠脾脏和骨髓中PvMSP1-42特异性抗体分泌细胞(ASCs)数量均多于PvGAMA特异性ASCs, 且具有统计学意义。

讨论: 所筛选的10个候选抗原, 对间日疟既往患者血清具有较高的识别率。通过初步实验, 发现GC B细胞和GC Tfh细胞的增多, 使GC B进一步分化为能分泌长寿命且高亲和力的抗体的MBC和PC, 这可能是PvMSP1-42能产生特异性长效免疫记忆, 并维持PvMSP1-42抗体较高水平的原因之一。但由于间日疟既往患者血清样本数量限制以及未能长期跟踪蛋白免疫鼠体内与B细胞记忆形成相关细胞的变化, PvMSP1-42特异性长效免疫记忆的产生机制仍需进一步研究。

HIV-1 Tat调控IRG1-Itaconate通路 促进星形胶质细胞炎症反应

刘晓梅*、韩欣、冯巧、袁博慧、张雪娇、赵子君、秦苏萍、王晓天、周峰
徐州医科大学

HIV脑病，也称为HIV相关的神经认知障碍性疾病（HIV-associated neurocognitive disorder, HAND），是AIDS常见的并发症之一，是HIV-1感染后诱发胶质细胞活化和神经炎症，介导神经元损伤，导致认知功能紊乱为特征的神经退行性疾病。HIV-1 编码的反式转录激活因子（transactivator of transcription, Tat）是诱导中枢神经系统炎症反应、星形胶质细胞活化的重要蛋白，与HAND的发生发展密切相关。免疫应答基因1（Immune-Responsive Gene 1, IRG1）-衣康酸（Itaconate）通路参与炎症、免疫调节、氧化应激等生物学功能。因此，本研究从IRG1-Itaconate通路出发，探讨在HAND的发生发展过程中IRG1-Itaconate通路对Tat诱导的神经炎症和氧化应激反应的调节作用，进一步阐明HAND的发生发展机制。结果发现，Tat显著增强星形胶质细胞和小鼠海马组织中IRG1和NRF2的蛋白表达及IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 和IP10等促炎细胞因子mRNA的转录水平。衣康酸衍生物4-OI显著抑制星形胶质细胞中Tat诱导的Itaconate的下游产物KEAP1表达及其下游抗氧化基因NRF2表达；却明显促进NRF2下游顺式作用元件抗氧化基因HO-1及NQO1的转录水平；同时，4-OI显著抑制星形胶质细胞中Tat诱导的IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 和IP10的生成及ROS的生成。体内实验研究显示，4-OI显著抑制侧脑室注射Tat的小鼠海马组织中IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 和IP10的表达，促进HO-1及NQO1的转录水平；同时，4-OI明显上调小鼠海马树突标志物MAP-2、突触前膜标志物Amphiphysin I、抗氧化基因NRF2的表达，并显著抑制凋亡标志物cleaved-Caspase 3的生成。沉默IRG1显著上调Tat诱导小鼠海马组织中IL-1 β 的表达。结果表明，Tat激活星形胶质细胞中IRG1-Itaconate通路调节Tat介导神经炎症和氧化应激反应。

circ_0065214/miR-188-3p/GPNMB轴 在乳腺癌中的作用及临床应用研究

王凌霞*、杨欢
苏州大学附属第二医院

目的：CircRNA在乳腺癌发生发展中发挥重要作用，包括肿瘤发生、血管形成、细胞凋亡等。探讨circRNAs在乳腺癌中的作用使我们能够更全面地了解乳腺癌的发生发展机制。本文旨在明确在乳腺癌circ_0065214分子作用、机制及临床应用价值。

方法：通过GEO数据库筛选出乳腺癌中异常高表达基因circ_0065214。定量RT-PCR检测circ_0065214在乳腺癌细胞、组织及血清中的表达水平。在体外，采用CCK-8、平板克隆形成和transwell迁移、划痕实验观察circ_0065214对细胞增殖、迁移及侵袭功能的影响。免疫印迹（Western blot）测定细胞增殖、转移及自噬相关蛋白的表达。流式细胞术检测circ_0065214敲减对乳腺癌细胞周期的

影响。在体内观察circ_0065214敲减对裸鼠乳腺肿瘤重量和体积的影响，并通过免疫组织化学染色检测circ_0065214对裸鼠乳腺肿瘤组织中增殖及自噬相关蛋白表达的影响。采用核质分离技术确定circ_0065214的细胞定位。生物信息学、双荧光素酶报告基因实验（Dual-luciferase reporter gene）探索circ_0065214作用的分子机制，并通过回补实验进行验证。

结果：1.circ_0065214主要在细胞质中表达，且在乳腺癌细胞中表达显著增高。2.circ_0065214在乳腺癌患者组织及血清中显著高表达，血清circ_0065214具有良好的诊断价值，诊断曲线下面积、敏感性和特异性分别为0.78、0.63和0.85。circ_0065214与CEA和CA-153的联合应用可以进一步提高诊断效率，此外血清circ_0065214表达量在术后显著降低。3.circ_0065214体外能促进乳腺癌细胞周期S期细胞比例、细胞克隆形成能力、细胞迁移及侵袭数量、细胞内增殖迁移相关基因（N-cad 和 Vimentin）mRNA及蛋白水平增加，细胞自噬相关蛋白（LC3 II/LC3 I）水平减少。4.circ_0065214通过竞争性结合miR-188-3p来调节GPNMB的表达，从而调节乳腺癌细胞的功能。

讨论：从GEO数据库中，我们发现了一种在乳腺癌中高表达的circRNA- circ_0065214。且临床研究提示血清circ_0065214有良好的诊断价值。通过细胞生物学功能实验，我们发现circ_0065214能够促进乳腺癌细胞增殖、迁移、侵袭功能，且抑制其自噬功能。接着我们对circ_0065214作用机制进行探索，发现circ_0065214能够直接靶向miR-188-3p，影响其对下游靶基因GPNMB的抑制作用。通过一些列回补实验，我们确定了circ_0065214/miR-188-3p/GPNMB轴在乳腺癌中的重要作用。总之，我们的研究发现，来源于SCAP基因的circ_0065214可以吸附miR-188-3p，降低miR-188-3p对下游靶基因GPNMB的抑制作用，从而促进乳腺癌的增殖、迁移、侵袭并抑制自噬功能。本研究为乳腺癌诊断和治疗提供了潜在的肿瘤标志物和新的靶点。

联合检测半乳甘露聚糖和（1-3）-β-D 葡聚糖 诊断艾滋病合并马尔尼菲篮状菌病

钟菲*

淮安市第二人民医院

目的：探讨半乳甘露聚糖联合（1-3）-β-D 葡聚糖检测用于诊断艾滋病合并马尔尼菲篮状菌病的价值。

方法：选取 2016—2020 年徐州医科大学附属淮安医院收治的 53 例艾滋病合并马尔尼菲篮状菌病患者作为观察对象，用酶联免疫吸附法检测半乳甘露聚糖（GM 试验）及（1-3）-β-D-葡聚糖（G 试验），并绘制 ROC 曲线判断联合检测对艾滋病合并马尔尼菲篮状菌病的诊断价值。

结果：53 例艾滋病合并马尔尼菲篮状菌病患者 G 试验阳性率为 90.6%，GM 试验阳性率为 94.3%，G 试验和 GM 试验均阳性率为 88.68%。ROC 曲线显示，G 试验单独诊断的曲线下面积为 0.880（95%CI: 0.811 ~ 0.949），灵敏度为 94.3%，特异度为 81.7%；GM 试验单独诊断的曲线下面积为 0.878（95%CI: 0.808 ~ 0.948），灵敏度为 90.6%，特异度为 85.0%；G 试验和 GM 试验均阳性诊断的曲线下面积为 0.910（95%CI: 0.848 ~ 0.972），灵敏度为 88.7%，特异度为 93.3%。

结论：半乳甘露聚糖联合（1-3）-β-D 葡聚糖检测在诊断艾滋病合并马尔尼菲篮状菌病中具有较好的价值

