

• 论 著 •

囊型棘球蚴病 Antigen 5 iELISA 检测方法的建立和应用*

余闻静¹, 叶航羊², 严茹心³, 左钱飞⁴, 范俊杰¹, 龙宇鹏^{1△}

1. 陆军第九五八医院检验科, 重庆 400023; 2. 西藏军区总医院肝胆科, 西藏拉萨 850000; 3. 陆军军医大学第一附属医院肿瘤科, 重庆 400038; 4. 陆军军医大学药学系微生物与生化教研室, 重庆 400038

摘要:目的 基于 Antigen 5(Ag5)建立一种具有较高灵敏度和特异度的检测囊型棘球蚴病(CE)的间接酶联免疫吸附试验(iELISA)法。方法 构建 pGEX-6p-2-Ag5 表达载体,经表达及亲和纯化后的重组蛋白作为包被抗原,经过标准品血清的检测,确定其临界值。对 184 例 CE 患者按照感染时期,包囊数量、状态,是否接受药物及手术治疗分组,利用建立的 iELISA 法进行检测,并与商品化试剂盒方法比较。结果 当临界吸光值(A)比值为 0.46 时,该 iELISA 法具有最佳的灵敏度(91.6%)和特异度(96.3%)。处于过渡期(CE3a、CE3b)的 CE 患者血清中含有较高水平的特异性抗体。iELISA 方法对于 CE4 和 CE5 期患者的阳性率分别为 83.3%和 63.0%,明显高于商品化试剂盒检测的阳性率($P<0.05$);iELISA 方法对于健康人血清的检测,阳性率为 2.4%。另外,活性包囊、多包囊以及经过药物治疗的 CE 患者具有更高的阳性率。结论 该研究建立的 iELISA 法具有较高的灵敏度及特异度,为 CE 患者的临床诊断提供了一种有价值的检测手段。

关键词:囊型棘球蚴病; Antigen 5; 间接酶联免疫吸附试验; 临床诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.11.017

中图法分类号:R446

文章编号:1673-4130(2022)11-1359-05

文献标志码:A

Establishment and application of iELISA detection method for Antigen 5 of echinococcosis*

YU Wenjing¹, YE Hangyang², YAN Ruxin³, ZUO Qianfei⁴, FAN Junjie¹, LONG Yupeng^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Army 958 Hospital, Chongqing 400023, China; 2. Department of Hepatology, General Hospital of Tibet Military Region, Lhasa, Tibet 850000, China; 3. Department of Oncology, First Affiliated Hospital, Army Military Medical University, Chongqing 400038, China; 4. Teaching and Researching Section of Microbiology and Biochemistry, Army Military Medical University, Chongqing 400038, China

Abstract: **Objective** To establish an indirect ELISA(iELISA) method with high sensitivity and specificity for detecting cystic echinococcosis(CE) based on Antigen 5 (Ag5). **Methods** The pGEX-6p-2-Ag5 expression vector was constructed, and the recombinant proteins of Ag5 after expression and affinity purification served as the coating antigen. The critical value was determined by the standard serum detection. A total of 184 cases of CE were grouped according to the infection time, cyst number, status, whether receiving medication or operation treatment. The detection was performed by using the established iELISA and the results were compared with a commercial method. **Results** iELISA had the optimal sensitivity(91.6%) and specificity(96.3%) when the critical value absorbance(A) ratio was 0.46. The serum during the transitional stage(CE3a, CE3b) in the patients with CE contained the higher level of specific antibody. For the patients with stage CE4 and CE5, the positive rates of iELISA were 83.3% and 63.0% respectively, which were significantly higher than those of the commercial method. The positive rate of serum from healthy people detected by iELISA was 2.4%. In addition, the patients with active cyst, multiple cyst and medication treatment had higher positive rate. **Conclusion** iELISA established by this study has higher sensitivity and specificity and provide a valuable detection means for the clinical diagnosis of the patients with CE.

Key words: cystic echinococcosis; Antigen 5; indirect ELISA; clinical diagnosis

棘球蚴病又称包虫病,是一种重要的人畜共患寄生虫病。棘球蚴病一般分为囊型棘球蚴病(CE)和泡

型棘球蚴病(AE),分别由细粒棘球绦虫和多房棘球绦虫感染引起^[1]。该病呈现世界性分布,每年感染率

* 基金项目:陆军军医大学重点项目(ZX2020BC04)。

作者简介:余闻静,女,主管技师,主要从事临床检验新技术研究。△ 通信作者, E-mail:lyp_emily@163.com。

超过 0.05%；在我国西部，该病的流行尤其严重，感染率可以达到 5%~10%，是平均水平的 100 余倍。据保守估计，全球由于 CE 产生的最低伤残调整寿命年（一种衡量人们健康受损的指标）约为 28.5 万年，每年可造成 1.94 亿美元经济损失^[2]，给公共健康和安

全以及农业发展造成巨大影响。

细粒棘球绦虫的感染性较强，主要寄生于肝脏。根据 WHO 分级标准，将 CE 患者分为 3 级：感染期（C1、C2 期）、过渡期（C3 期）以及潜伏期（C4、C5 期）^[3-4]。目前，对于 CE 患者主要的治疗策略为药物治疗（如阿苯达唑、苯并咪唑），但仍有 20%~40% 的深度感染期患者并不能彻底治愈^[5]，因此，早期的临床诊断具有重要的现实意义。临床上，CE 的诊断一方面依靠影像学方法，如 X 线片、CT、MRI 等^[6-8]，另一方面依靠血清学检测方法，如酶联免疫吸附试验（ELISA）等。目前，建立血清学检测方法的抗原一般采用的是包囊液粗提物，由于无法排除宿主本身的抗原蛋白，检测结果往往出现假阳性^[9-10]。Antigen 5（Ag5）是 CE 中免疫原性最强、富集程度最高的抗原之一，伴随细粒棘球绦虫整个生命周期^[11]。本研究选取 Ag5 作为目标抗原，建立间接 ELISA（iELISA）法，通过检测血清中 Ag5 抗体水平实现对 CE 患者高特异度和高灵敏度的临床诊断。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2019 年 1 月至 2021 年 1 月西藏军区总医院收治的 184 例肝 CE 患者，平均年龄（48±13）岁。采集所有患者血清，1 000 ×g 离心后冻存于 -80℃ 备用。同时，收集同期在陆军第九五八医院体检的 126 例健康人血清作为阴性对照。本研究经西藏军区总医院和陆军第九五八医院医学伦理委员会批准，所有受试者知情同意。纳入标准：（1）影像学手段（CT 或 MRI）明确诊断肝 CE；（2）基本信息完整，临床及影像资料齐全。排除标准：（1）资料信息不完善；（2）具有对试验结果产生干扰的其他疾病；（3）因某些情况不能配合检查。

1.2 主要试剂 大肠埃希菌 DH5α 及 BL21(DE3) 购自北京全式金生物科技有限公司；pGEX-6P-2 原核表达载体由陆军第九五八医院检验科实验室保存；质粒提取试剂盒购自美国 Omega 公司；高保真 DNA 聚合酶、DNA Marker、BamH I 和 Not I 限制性内切酶购自大连 TakaRa 公司；PreScission protease（PSP 酶）购自瑞士 GE Healthcare 公司；HRP 标记的小鼠抗人 IgG（H+L）抗体购自美国 Jackson Immuno-Research Laboratories；检测棘球绦虫 IgG 的商品化试剂盒购自德国 R-Biopharm AG 公司；进口或国产分析纯。

1.3 重组蛋白的构建、表达与纯化 以细粒棘球绦虫基因组 DNA 基因组为模板，通过构建引物进行 PCR。上游引物：5'-GCGGGATCC ATGGCGAGATCGCGC-

CCCTTTGGATCGTTTTTCGTCTGTC -3'（下划线为 BamH I 酶切位点）；下游引物：5'-GCGGCGGCCGC TTAGACTGCGTAGCGGTTGATCCACTGGATG ACACCTGCCCAC-3'（下划线为 Not I 酶切位点）。经 BamH I 和 Not I 双酶切后将 PCR 产物及 pGEX-6P-2 质粒进行连接获得 pGEX-6P-2-Ag5。连接产物转化至 XL-1blue，挑取单克隆于 30℃ 摇床振荡培养至 600 nm 处吸光度（A）为 0.6 终止，加入 100 μg/mL IPTG 于 30℃ 诱导 3 h。超声裂解后高速离心 15 min，分离上清液和沉淀；将 Glutathione Sepharose 4B 加入上清液中，4℃ 旋转过夜。离心收集特异性结合 GST 融合蛋白的 Glutathione Sepharose 4B，随后加入等体积 PBS 和 PSP 酶（酶量体积比为 1:10），于室温进行酶切，再次离心后吸取上清液，重悬于 PBS 中备用。

1.4 iELISA 方法的建立

1.4.1 最佳包被浓度及反应条件 将纯化后的 Ag5 蛋白按 200 ng/mL 包被于 96 孔板后置于 4℃ 过夜，次日用 1× PBST（PBS 含 0.05% 吐温）洗涤，接着利用 2% 的牛血清清蛋白（BSA）在 37℃ 封闭 2 h；将待检血清进行 1:200 稀释后于 37℃ 孵育 1 h；孵育完成后，利用 HRP 标记的抗人 IgG 二抗（1:50 000 稀释）继续孵育 30 min；彻底洗涤后，加入 TMB 室温显色 15 min；在 450 nm 条件下读取并扣除背景 A 值即为样品读值。

1.4.2 临界值的确定 为了提高 Ag5 包被的 iELISA 法的灵敏度及特异度，选取 29 例健康人血清为阴性对照；阳性对照来自经影像学及手术确诊的 34 例 CE 患者。阳性和阴性对照的血清分别经商品化棘球绦虫检测试剂盒确认。设置重复孔，检测并读取各血清标本的 A 比值，经受试者工作特征（ROC）曲线分析以确定最佳临界值。利用 $(A_{\text{待检血清}} - A_{\text{阴性对照}}) / (A_{\text{阳性对照}} - A_{\text{阴性对照}})$ 计算出 A 比值，A 比值越高，表明 Ag5 抗体水平越高。

1.5 统计学处理 使用 GrapPad Prism 7 软件进行数据分析及作图。计数资料以例数、百分率表示，组间比较采用 χ^2 检验；计量资料两组间比较采用 Wilcoxon 检验，多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验，组间两两比较采用 Mann Whitney-U 检验；采用 ROC 曲线评估本研究建立的 iELISA 方法的诊断效能；以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

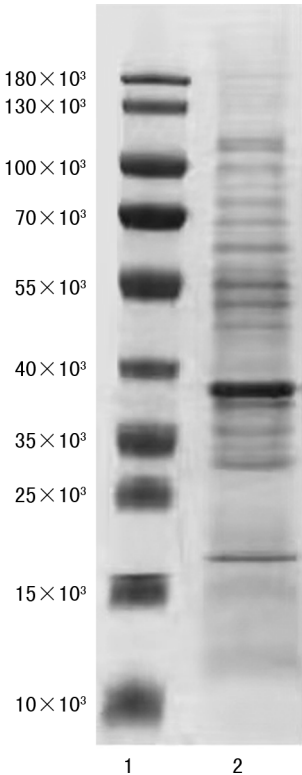
2.1 CE 患者分型 经 CT、MRI 影像学分析，约 80%（152/184）的 CE 患者表现为肝脏单一病灶，另有部分 CE 患者（32/184）呈现不同器官或组织如肺脏、肾脏、皮下等的散发病灶。所有病例中，包囊过渡型 CE 患者（CE3a、CE3b）占比（52.7%）最高，活化型（CE1、CE2）及失活型（CE4、CE5）CE 患者分别为

19.6%和 27.7%。见表 1。

表 1 CE 患者的数量及分型[n(%)]

分型	n	单一病灶	多发病灶
CE1	19	13(68.4)	6(31.6)
CE2	17	17(100.0)	0(0.0)
CE3a	32	27(84.4)	5(15.6)
CE3b	65	54(83.1)	11(16.9)
CE4	24	22(91.7)	2(8.3)
CE5	27	19(70.4)	8(29.6)
总计	184	152(82.6)	32(17.4)

2.2 重组蛋白 Ag5 的构建、表达 以细粒棘球绦虫基因组 DNA 为模板,PCR 扩增出目的条带,片段大小为 1 455 bp,与预期结果符合。融合表达载体 pGEX-6P-2-Ag5 构建后经双酶切鉴定及测序分析无误后,转入 XL-1blue,获得重组菌株。诱导表达获得 Ag5/GST 重组融合蛋白,PSP 酶酶切 Ag5/GST 重组融合蛋白,酶切后目的蛋白经 SDS-PAGE 电泳,如图 1 所示,与预期目的蛋白分子量大小一致。



注:1 为蛋白分子量标准;2 为重组表达蛋白。

图 1 重组蛋白 Ag5 电泳图

2.3 iELISA 方法的建立及应用

2.3.1 临界值的确定 利用 Ag5 包被的 iELISA 方法对阴性和阳性血清标本进行检测,ROC 曲线分析显示,曲线下面积(AUC)为 0.972,当临界 A 比值为 0.46 时,iELISA 方法具有最佳的灵敏度和特异度,其中灵敏度为 91.6%,特异度为 96.3%。见图 2。

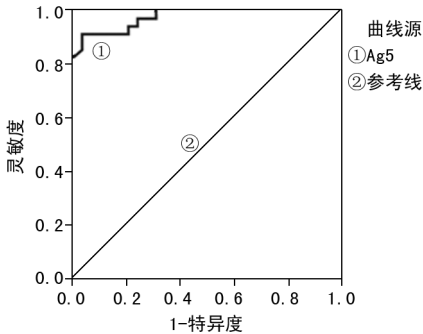
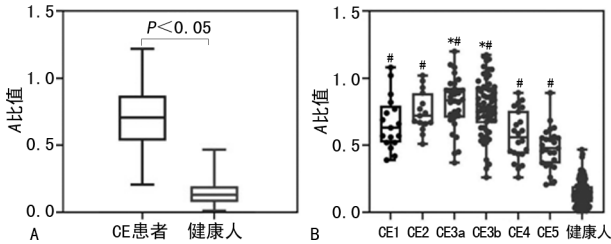


图 2 iELISA 方法诊断 CE 的 ROC 曲线

2.3.2 CE 患者及健康人 Ag5 抗体检测结果 应用本研究建立的 iELISA 方法对收集的 CE 患者及健康人血清的 Ag5 抗体进行检测。如图 3A 所示,与健康人相比,CE 患者血清中 A 比值明显高于健康人($P<0.05$),表明 CE 患者血清中存在高水平的 Ag5 抗体。图 3B 显示,相对于 CE1 和 CE2 阶段的患者,处于过渡期的 CE3a 及 CE3b 患者血清中具有较高水平的 Ag5 抗体($P<0.05$),而处于包裹无活性阶段的 CE4 和 CE5 患者血清 Ag5 抗体水平较低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。

采用本研究建立的 iELISA 方法及商品化棘球蚴病检测试剂盒分别对 CE 患者及健康人 Ag5 抗体血清进行平行检测。结果显示:iELISA 方法及商品化试剂盒在 CE1、CE2、CE3a、CE3b 阶段的 CE 患者检测中表现出相近的阳性率,并且对于 CE2、CE3b 阶段的 CE 患者,阳性率均在 90%以上。对于 CE4 和 CE5 阶段的患者,iELISA 方法检测的阳性率明显高于商品化试剂盒(CE4:83.3% vs. 70.8%,CE5:63.0% vs. 48.1%),差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。



注:A 表示 CE 患者与健康人血清中 Ag5 抗体水平比较;B 表示不同分型的 CE 患者血清中 Ag5 抗体水平比较;与健康人比较, # $P<0.05$;与 CE1、CE2 比较, * $P<0.05$ 。

图 3 利用 iELISA 方法检测 CE 患者与健康人的血清 Ag5 抗体水平

2.3.3 不同临床特征的 CE 患者检测结果 按照包裹活性、包裹数量、是否接受药物或手术治疗等将患者分组,分别统计其样本数量及阳性率。有活性包裹、多包裹、接受药物治疗的患者阳性率均高于无活性包裹、单包裹、未接受药物治疗的患者(91.7% vs. 72.5%,94.0% vs. 84.8%,94.1% vs. 72.3%),差异均有统计学意义($P<0.05$),而手术治疗患者的阳性

率与未手术治疗的患者相比差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 2 本研究建立的 iELISA 方法与商品化试剂盒检测 Ag5 抗体结果的对比

分组	分型	n	iELISA 方法		商品化试剂盒	
			阳性(n)	阳性率(%)	阳性(n)	阳性率(%)
CE 患者	CE1	19	15	78.9	16	84.2
	CE2	17	17	100.0	16	94.1
	CE3a	32	29	90.6	28	87.5
	CE3b	65	61	93.8	60	92.3
	CE4	24	20	83.3	17	70.8
	CE5	27	17	63.0	13	48.1
	总计	184	159	86.4	150	81.5
健康人		126	3	2.4	6	4.8

表 3 利用 iELISA 检测不同 CE 患者的结果

分组	阳性率[% (n/n)]	P
包囊活性		
有活性(CE1、CE2、CE3)	91.7(122/133)	<0.001
无活性(CE4、CE5)	72.5(37/51)	
包囊数量		
单包囊	84.8(129/152)	0.007
多包囊	94.0(30/32)	
药物治疗		
是	94.1(112/119)	<0.001
否	72.3(47/65)	
手术治疗		
是	82.6(19/23)	0.830
否	86.9(140/161)	

3 讨 论

CE 是一种严重的人畜共患病,对公共健康及农业经济造成巨大损失。早期诊断可以帮助 CE 患者通过药物治疗及时清除感染。细粒棘球绦虫感染后通常不表现出剧烈的症状,但机体会很快建立体液及细胞免疫反应。有证据表明,Th2 细胞是介导抗细粒棘球绦虫的重要 T 细胞亚群,其分泌的白细胞介素(IL)-4 能够参与特异性 IgG1 抗体的产生^[12];据报道,在感染细粒棘球绦虫的小鼠模型中发现,IL-12 协同 γ -干扰素(IFN- γ)可以显著上调特异性 IgG2a 抗体水平^[13],说明 Th1 细胞亚群在抗感染过程中也发挥一定的作用。

CE 的临床诊断可采用影像学方法,但该方法受限于技术操作等难以实现大范围的筛查;而血清学方法能够很好地弥补其不足,是检测 CE 的重要手段。补体结合试验(CFT)、间接红细胞凝集试验(IHA)因为缺乏较高的灵敏度和特异度,逐渐被 ELISA、间接

免疫荧光(IFAT)、免疫电泳(IEP)等所取代^[14]。除此之外,多种快速检测 CE 的方法已被建立并报道:研究者利用特异性抗原包被的试纸,在短时间内可完成对 CE 的诊断^[15];利用棘球绦虫特异性表达的 4 种抗原建立的斑点金免疫渗滤测定法(DIGFA),能够在极短时间内显示检测结果^[16];另外,针对细粒棘球绦虫线粒体基因,利用重组酶介导等温核酸扩增技术(RAA)在不依赖 PCR 仪的情况下能够快速进行基因诊断^[17]。在进一步提高灵敏度和特异度之后,这些方法都具有诊断 CE 的临床应用潜力。

据调查,在 CE 流行的地区,约 1/4 的受检者呈现包虫囊液提取物抗体阳性,但是只有少部分 CE 患者被确诊,说明血清中包虫囊液抗体水平并不能特异性地作为检测指标^[18]。抗原的交叉反应限制了包囊液在 CE 临床诊断中的价值^[19]。目前,多种抗原已被鉴定并应用于血清学检测中,如 AgB^[16]、EpC1^[20]、Eg19^[21]、C317、E14t^[22]等。与这些抗原不同的是,Ag5 能够在细粒棘球绦虫感染的不同阶段均表现出免疫原性^[10],根据这一特征,本研究选择 Ag5 作为目标抗原建立特异性检测细粒棘球绦虫抗体的 iELISA 方法。

利用本研究建立的 iELISA 方法对 184 例 CE 患者进行检测,结果发现,与商品化试剂盒检测方法相比,iELISA 方法具有更低的假阳性率(2.4% vs. 4.8%)。此外,处于活性包囊以及多包囊阶段的 CE 患者呈明显的高阳性率,提示 CE 患者血清中特异性细粒棘球绦虫抗体水平与包囊数量、活性状态密切相关。另外,经过药物治疗的 CE 患者也有较高的阳性率,推测可能是由于药物导致包囊被破坏,抗原释放至外周血中所致。因此,基于 Ag5 建立的 iELISA 方法不仅能够用于 CE 的临床诊断,对于评价药物或手术治疗的有效性同样存在应用价值。

参考文献

[1] AGUDELO HIGUITA N I, BRUNETTI E, MCCLOSKEY C. Cystic echinococcosis[J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(3):518-523.

[2] MA L, CHEN D C, ZOU S Y, et al. Epidemiological characteristics of hepatic echinococcosis, concurrent cerebral echinococcosis, and pulmonary echinococcosis in Ganzi County, Sichuan Province, China [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(15):e19753.

[3] BRUNETTI E, KERN P, VUITTON D A. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans[J]. Acta Tropica, 2010, 114(1):1-16.

[4] HOSCH W, JUNGHANSS T, STOJKOVIC M, et al. Metabolic viability assessment of cystic echinococcosis using high-field 1H MRS of cyst contents[J]. NMR Biomed, 2008, 21(7):734-754.

- [5] STOJKOVIC M, ZWAHLEN M, TEGGI A, et al. Treatment response of cystic echinococcosis to benzimidazoles: a systematic review[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2009, 3(9): e524.
- [6] DIETRICH C F, WIEM D K, HASSEN G, et al. Cystic and alveolar echinococcosis of the hepatobiliary tract - the role of new imaging techniques for improved diagnosis[J]. *Med Ultrason*, 2020, 22(1): 75-84.
- [7] HUETE A, ZALAQUETT E, MENIAS C, et al. Imaging of hydatid disease with a focus on extrahepatic involvement[J]. *Radiographics*, 2017, 37(3): 901-923.
- [8] 李婷, 鲍海华. CT 和 MRI 对肝囊型包虫病分型与活性的评价[J]. *磁共振成像*, 2021, 12(5): 25-29.
- [9] PAGNOZZI D, BIOSA G, ADDIS M F, et al. An easy and efficient method for native and immunoreactive echinococcus granulosus antigen 5 enrichment from hydatid cyst fluid[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e104962.
- [10] AHN C S, HAN X, BAE Y A, et al. Alteration of immunoproteome profile of echinococcus granulosus hydatid fluid with progression of cystic echinococcosis[J]. *Parasit Vectors*, 2015, 8: 10-16.
- [11] DÍAZ A, CASARAVILLA C, BARRIOS A A, et al. Parasite molecules and host responses in cystic echinococcosis[J]. *Parasite Immunol*, 2016, 38(3): 193-205.
- [12] ALLEN J E, MAIZELS R M. Diversity and dialogue in immunity to helminths[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(6): 375-388.
- [13] AL-QAoud K M, ABDEL-HAFEZ S K. The induction of T helper type 1 response by cytokine gene transfection protects mice against secondary hydatidosis[J]. *Parasitol Res*, 2008, 102(6): 1151-1155.
- [14] BIAVA M F, DAO A, FORTIER B. Laboratory diagnosis of cystic hydatid disease[J]. *World J Surg*, 2001, 25(1): 10-14.
- [15] VAN DOORN H R, KOELEWIJN R, HOFWEGEN H, et al. Use of enzyme-linked immunosorbent assay and dipstick assay for detection of strongyloides stercoralis infection in humans[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(2): 438-442.
- [16] FENG X, EN H, ZHANG Z, et al. Dot immunogold filtration assay (DIGFA) with multiple native antigens for rapid serodiagnosis of human cystic and alveolar echinococcosis[J]. *Acta Tropica*, 2010, 113(2): 114-120.
- [17] 周鸿让, 王晓玲, 许秋利, 等. 重组酶介导等温核酸扩增技术检测细粒棘球绦虫方法的建立及初步应用评价[J]. *中国病原生物学杂志*, 2020, 15(6): 655-660.
- [18] GAVIDIA C M, GONZALEZ A E, ZHANG W, et al. Diagnosis of cystic echinococcosis, central peruvian highlands[J]. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14(2): 260-266.
- [19] REITEROVÁ K, AUER H, ALTINTA N, et al. Evaluation of purified antigen fraction in the immunodiagnosis of cystic echinococcosis[J]. *Parasitol Res*, 2014, 113(8): 2861-2867.
- [20] LI J, ZHANG W B, MARIANNA W, et al. A novel recombinant antigen for immunodiagnosis of human cystic echinococcosis. [J]. *J Infect Dis*, 2003, 188(12): 1951-1960.
- [21] DELUNARDO F, ORTONA E, MARGUTTI P, et al. Identification of a novel 19 kDa Echinococcus granulosus antigen[J]. *Acta Tropica*, 2010, 113(1): 42-47.
- [22] HERNANDEZ-GONZALEZ A, MURO A, BARRERA I, et al. Usefulness of four different echinococcus granulosus recombinant antigens for serodiagnosis of unilocular hydatid disease(UHD) and postsurgical follow-up of patients treated for UHD[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2008, 15(1): 147-153.

(收稿日期: 2021-10-08 修回日期: 2022-03-26)

(上接第 1358 页)

- [12] ZHANG G H, YE Z H, GUAN H J, et al. Impact of serum omentin-1 concentrations on functional outcome among acute intracerebral hemorrhage patients[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 503(4): 169-174.
- [13] WATANABE T, WATANABE-KOMINATO K, TAKA HASHI Y, et al. Adipose tissue-derived omentin-1 function and regulation[J]. *Compr Physiol*, 2017, 7(3): 765-781.
- [14] PAN X, KAMINGA A C, WEN S W, et al. Omentin-1 in diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2019, 14(12): e0226292.
- [15] DE LUIS D A, GARCÍA CALVO S, LOPEZ GOMEZ J J, et al. Omentin-1 changes following biliopancreatic diversion and relationship with cardiovascular risk factors[J]. *Ann Nutr Metab*, 2018, 73(2): 106-112.
- [16] RATHWA N, PATEL R, PRAMANIK PALIT S, et al. Circulatory omentin-1 levels but not genetic variants influence the pathophysiology of type 2 diabetes[J]. *Cytokine*, 2019, 119(7): 144-151.
- [17] LI Z, LIU B, ZHAO D, et al. Omentin-1 prevents cartilage matrix destruction by regulating matrix metalloproteinases[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 92(8): 265-269.
- [18] WATANABE K, WATANABE R, KONII H, et al. Counteractive effects of omentin-1 against atherogenesis[J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 110(1): 118-128.
- [19] ZHOU J P, TONG X Y, ZHU L P, et al. Plasma omentin-1 level as a predictor of good coronary collateral circulation[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, 24(9): 940-948.
- [20] XU F, LI F X, LIN X, et al. Adipose tissue-derived omentin-1 attenuates arterial calcification via AMPK/Akt signaling pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(20): 8760-8776.

(收稿日期: 2021-08-30 修回日期: 2022-03-24)