

• 论 著 •

黏蛋白乳化剂在 1 418 例细胞蜡块制备技术中的应用研究*

吴燕杏,毛荣军[△],莫超华,韩福兰,曾 敏,陈增伟
佛山市中医院病理科,广东佛山 528000

摘 要:目的 探讨黏蛋白乳化剂制备的 1 418 例非妇科细胞蜡块的苏木素伊红(HE)染色、免疫组织化学(IHC)染色的效果和诊断价值。方法 收集 2018 年 7 月至 2022 年 1 月该院送检的 1 418 例细胞学标本,离心,弃上清液,加入甲醛-乙醇(AF)液 5 mL,黏蛋白乳化剂 250 μL,混匀,离心,弃上清液,取出沉淀细胞块放入包埋盒,按照常规石蜡切片制备程序进行固定、脱水、透明、包埋、切片和 HE 染色,对细胞块病理诊断为恶性的 285 例标本,切 2 138 张片进行 IHC 染色检测,观察黏蛋白乳化剂制备的细胞块及切片的外观大体情况;探讨细胞块切片 HE 染色和 IHC 染色的显微镜下情况和切片优良率;以患者术后病理诊断结果为金标准,综合评估黏蛋白乳化剂制备的细胞块的诊断效能。**结果** (1)黏蛋白乳化剂制备的细胞块制作成功率是 100.00%,细胞块外观呈圆形果冻样胶体的结构、细胞聚集成团、硬度适中。细胞块切片外观完整、呈规则的圆形结构、疏松度适中。(2)细胞块可连续均匀切片,HE 染色背景清晰,核浆着色鲜艳,红蓝分明,对比清晰,细胞均匀分布于圆形区域内,细胞形态呈现立体感,细胞块切片厚薄均一,IHC 染色背景干净,结构和细胞均呈特异性染色。(3)细胞块的 HE 染色切片优良率为 98.94%;IHC 染色切片优良率为 99.30%。(4)细胞块诊断的灵敏度、特异度、符合率和约登指数分别是 96.94%、100.00%、99.37%、0.9694。**结论** 黏蛋白乳化剂制备细胞块的技术操作便捷,成本低,富集率高,形态好,细胞块石蜡切片可长期保存,其 HE 染色和 IHC 染色优良率高,具有良好的诊断效能,应用前景广阔。

关键词:黏蛋白; 细胞块; 细胞学; 苏木素; 伊红; 免疫组织化学
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.02.014 **中图法分类号:**R446.8
文章编号:1673-4130(2023)02-0200-05 **文献标志码:**A

Application of mucin emulsifier in the preparation of 1418 cell wax blocks*

WU Yanxing, MAO Rongjun[△], MO Chaohua, HAN Fulan, ZENG Min, CHEN Zengwei
Department of Pathology, Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine,
Foshan, Guangdong 528000, China

Abstract: Objective To investigate the effect and diagnostic value of hematoxylin eosin (HE) staining and immunohistochemical (IHC) staining of 1418 cases of non gynecological cell wax prepared by mucin emulsifier. **Methods** One thousand four hundred and eighteen cytological samples submitted by Foshan Hospital of traditional Chinese medicine from July 2018 to January 2022 were collected, centrifuged, discarded the supernatant, added 5 mL of formaldehyde alcohol (AF) solution and 250 μL of mucin emulsifier, mixed, centrifuged, discarded the supernatant, took out the precipitated cell block, put it in the embedding box, fixed, dehydrated, transparent, embedded, sliced and he stained according to the routine paraffin section preparation procedure and 285 samples with malignant pathological diagnosis of cell block were analyzed, 2 138 slices were cut for IHC staining. Observe the appearance of cell blocks and sections prepared by mucin emulsifier. To investigate the microscopical condition of HE staining and IHC staining of cell block sections and the excellent and good rate of sections. The diagnostic efficacy of cell mass prepared by mucin emulsifier was comprehensively evaluated based on the results of postoperative pathological diagnosis. **Results** (1) The success rate of cell block prepared by mucin emulsifier is 100.00%, The appearance of the cell block is a round jelly like colloidal structure, the cells gather into clusters and the hardness is moderate. The appearance of cell block section is complete, with regular circular structure and moderate porosity. (2) The cell block can be sectioned continuously and evenly. The HE staining background is clear, the nucleoplasm is brightly colored, the red and blue are clear and the contrast is clear. The cells are evenly distributed in the circular area. The cell morpholo-

* 基金项目:广东省医学科学技术研究基金(A2019294);佛山市卫生健康局立项课题项目(20210197)。
作者简介:吴燕杏,女,主管技师,主要从事病理技术方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:3615560861@qq.com。

gy presents a three-dimensional sense. The thickness of the cell block section is uniform, the IHC staining background is clean and the structure and cells show specific staining. (3) The excellent and good rate of HE staining section of cell block was 98.94%; The excellent and good rate of IHC staining section was 99.30%. (4) The sensitivity, specificity, coincidence rate and yoden index of cell block diagnosis were 96.94%, 100.00%, 99.37% and 0.9694 respectively. **Conclusion** The technology of preparing cell block with mucin e-mulsifier has the advantages of convenient operation, low cost, high enrichment rate and good shape. The paraffin section of cell block can be preserved for a long time. Its excellent rate of HE and IHC staining are high, which have good diagnostic efficiency and broad application prospect.

Key words: mucin; cell block; cytology; hematoxylin; eosin; Immunohistochemistry

细胞病理学技术是一种疾病的病理学诊断和研究方法,该方法具有操作简便、患者痛苦少、易于接受等优点。早期的细胞学制片技术,主要是细胞涂片法和离心后直接取细胞沉淀物包埋法(如离心管沉淀法、冷冻细胞块制备法、试管包埋法、载玻片细胞聚集法等)^[1]。刘芳等^[2]研究报道,细胞涂片法易出现涂片厚薄不一,细胞重叠和细胞松散,背景较深等现象,造成诊断困难。TOBAR 等^[3]研究认为,离心后直接取细胞沉淀物包埋法由于没有介质把细胞凝聚在一起,对细胞量少的标本制作效果极差。而对细胞量较多的标本也容易在切片过程中出现掉片,造成染色不良,影响病理诊断结果。

近年来,使用琼脂、蛋清、凝血酶等制备细胞块的技术陆续被报道,这些介质材料聚拢并提高了细胞数量,但是存在一定的局限,技术上改变了组织固定、脱水、透明、浸蜡的时间,操作繁琐,实验条件需要摸索^[4],也可能会对后续的免疫组织化学染色(IHC)等实验结果造成影响^[5]。迄今为止,没有一种“金标准”的介质材料和制作细胞块的操作流程被指南或者专家共识所认可。本研究的黏蛋白是一种不含任何分子结构的介质材料,本研究收集了 1 418 例非妇科细胞学标本,探讨了黏蛋白乳化剂制备的细胞块在苏木素伊红(HE)染色、IHC 的效果和诊断价值,旨在为推广一种操作便捷、成本低、富集率高、形态好、诊断价值高的细胞块制备技术提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象 选取 2018 年 7 月至 2022 年 1 月本院送检的 1 418 例细胞学标本为研究对象,使用黏蛋白乳化剂作为基质材料制备细胞块,制作石蜡切片和 HE 染色,由两位资深病理医师对细胞块作出组织学诊断,对其中细胞块诊断为恶性的 285 例标本再次切片并进行相关免疫组化检测 2 138 项。患者年龄 19.86~85.61 岁,平均(49.85±18.32)岁。1 418 例标本按照细胞标本来源的不同分为脱落细胞学标本 1 183 例(83.43%)和细针针吸细胞学标本 235 例(16.57%)。脱落细胞学标本分为胸腹腔积液 572 例(48.35%)、乳腺溢液 153 例(12.93%)、痰液 128 例(10.82%)、尿液 104 例(8.79%)、支气管镜灌洗液 97

例(8.20%)、盆腔积液 75 例(6.34%)、心包积液 54 例(4.57%)。细针针吸细胞学标本分为甲状腺 127 例(54.04%)、乳腺 85 例(36.17%)、淋巴结 23 例(9.79%)。细胞块病理诊断为恶性的 285 例标本按照病理类型分为腺癌 115 例(40.36%)、乳头状癌 88 例(30.87%)、转移癌 59 例(20.70%)、鳞癌 23 例(8.07%)。1 418 例患者均有术后病理诊断结果作为对照。本研究获得患者知情同意和本院医学伦理委员会批准。

1.1.2 仪器与试剂 ASP6025 全自动真空组织脱水机、HistoCore Arcadia H 热石蜡包埋机、RM2235 手动轮转式切片机、ST5020 多功能染色机购自德国徕卡仪器有限公司。JH-18S 全自动免疫组化染色仪购自上海杰浩生物技术有限公司。TLXJ-IIC 低速台式大容量离心机购自上海安亭科学仪器厂。BPG-9070A 精密鼓风干燥箱购自上海一恒科学仪器有限公司。黏蛋白(货号:FJ702510, CAS: 84082-64-4)购自安徽酷尔生物工程有限公司。HE 染色液购自无锡市江原实业技贸有限公司。免疫组织化学染色一抗和二抗购自上海杰浩生物技术有限公司。甲醛溶液购自广州维格斯生物科技有限公司。乙醇购自广东光华科技股份有限公司。二甲苯购自广州化学试剂厂。

1.2 方法

1.2.1 黏蛋白乳化剂制备细胞块的方法 非妇科标本放置在标准 50 mL 锥形离心管中,2 500 r/min 离心 5min,弃上清液(对于细胞量不足的标本,可多次重复离心;对于血性标本,可加入红细胞裂解液 30 mL 后进行离心),加入甲醛-乙醇(AF)液 5 mL,2 500 r/min 离心 5 min,弃上清液后保留 1 mL 沉淀物,加入 10%黏蛋白乳化剂 250 μL(黏蛋白乳化剂与标本的混合比例为 1:4),混匀,2 500 r/min 离心 5 min,弃上清液,离心管底部可见细胞块呈胶体状态,用塑料铲轻轻取出沉淀细胞块放入包埋盒。

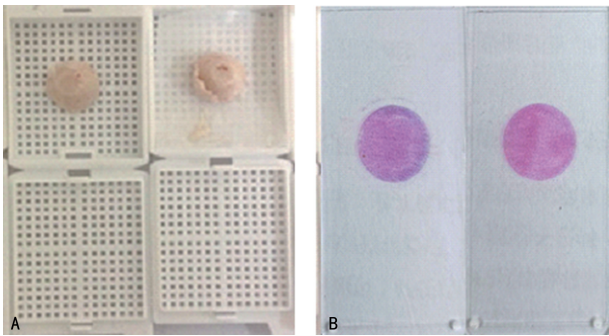
1.2.2 HE 染色及切片质量评价标准 细胞块参考中华医学会推荐的常规石蜡切片制备程序进行固定、脱水、透明、包埋、切片和 HE 染色^[6]。常规石蜡包埋-HE 染色切片质量的评价标准^[7],包含:组织切面完整度和切片切面数(10 分)、切片厚薄度和均匀度(10

分)、切片完整度(10 分)、切片平坦度(10 分)、切片纯净度(10 分)、切片整洁度(10 分)、切片透明度(10 分)、染色清晰度(10 分)、裱片位置恰当度(10 分)、切片标签贴放正确度(10 分)。优质片:≥90 分;优良片:75~89 分;基本合格片:60~74 分;不合格片:≤59 分。切片优良率=[(优质片数+优良片数)/总切片数]×100%]。

1.2.3 免疫组织化学染色方法及评价标准 免疫组织化学染色流程:石蜡切片烤片(68℃,15 min),脱蜡至水,根据一抗的要求,对组织进行抗原修复,切片上滴加 0.3% H₂O₂,孵育 10 min,PBS 冲洗,滴加一抗,孵育 60 min,PBS 冲洗,滴加二抗,孵育 15 min,PBS 冲洗,滴加 DAB 显色试剂,HE 复染,盐酸乙醇分化,氨水返蓝,二甲苯透明,中性树胶封片。评价标准^[8],包含(1)优质片:定位精准,背景清晰,着色恰当,呈特异性着色;(2)优良片:定位较精准,背景较清晰,着色较合理,有少量非特异性染色;(3)不合格片:抗原弥散现象严重,着色不合理,出现大量非特异性染色。切片优良率=[(优质片数+优良片数)/总切片数]×100%]。

2 结 果

2.1 黏蛋白乳化剂制备的细胞块及切片的外观大体情况 肉眼可见,黏蛋白乳化剂制备的 1 418 例非妇科细胞学标本的细胞块制作成功率是 100.00%,细胞块外观呈圆形果冻样胶体的结构、细胞聚集成团、硬度适中,见图 1A。黏蛋白乳化剂制备的细胞块切片外观完整、呈规则的圆形结构、疏松度适中,见图 1B。

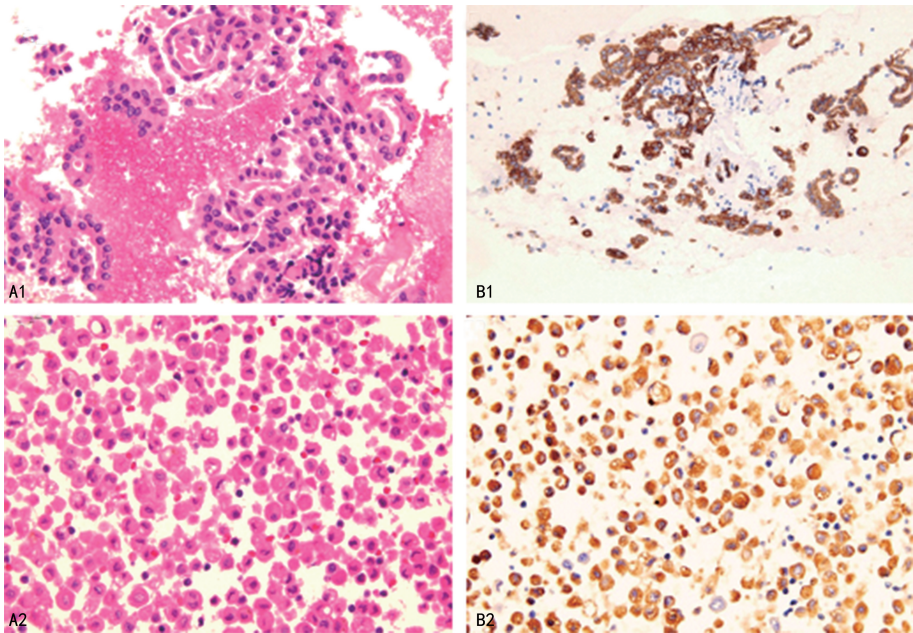


注:A 为黏蛋白乳化剂制备的细胞块外观;B 为黏蛋白乳化剂制备的细胞块石蜡切片外观。

图 1 黏蛋白乳化剂制备的细胞块及石蜡切片外观情况

2.2 黏蛋白乳化剂制备的细胞块石蜡切片 HE 染色和 IHC 染色的显微镜下情况 显微镜下可见,黏蛋白乳化剂制备的细胞块能连续均匀切片,HE 染色背景清晰,核浆着色鲜艳,红蓝分明,对比清晰,细胞核呈蓝色,细胞质、肌纤维、胶原纤维和红细胞呈不同程度的红色。钙盐和细菌可呈蓝色或紫蓝色。细胞均匀分布于圆形区域内,细胞形态呈现立体感,见图 2 A1、A2。

显微镜下可见,黏蛋白乳化剂制备的细胞块石蜡切片厚薄均一,IHC 染色的背景干净,呈特异性染色。主要表现在两方面:第一,特异反应产物分布于特定的部位,即具有结构性。第二,特异性产物在同一切片上呈现不用程度阳性染色结果,即具有细胞性。见图 2B1、B2。



注:A1 为甲状腺乳头状癌,上皮样细胞呈腺样排列,细胞排列拥挤,细胞核大,核膜增厚、不规则,核染色质淡染,可见核沟。B1 为 CK19 示瘤细胞胞质弥散强阳性。A2 为单核组织细胞源性细胞,大量的胞质红染的上皮样细胞,细胞体积较大,胞浆内可见空泡,细胞核形态不规则,部分细胞核偏位。B2 为大部分上皮样细胞 CD68 阳性。

图 2 黏蛋白乳化剂制备的细胞块石蜡切片 HE 染色(HE 法×100)和 IHC 染色(SP 二步法×100)的显微镜下情况

2.3 黏蛋白乳化剂制备的细胞块 HE 染色和 IHC 染色切片优良率 HE 染色切片共 1 418 张, 分别为: 优质片 1 142 张(80.54%)、优良片 261 张(18.40%)、基本合格片 12 张(0.85%)、不合格片 3 张(0.21%), HE 染色切片优良率为 98.94%。IHC 染色加片为 2 138 张, 分别为: 优质片 1 729 张(80.87%)、优良片 394 张(18.43%), 不合格片 15 张(0.70%), IHC 染色切片优良率为 99.30%。

2.4 黏蛋白乳化剂制备的细胞块的诊断效能 本文以患者术后病理诊断为癌的 294 例标本作为金标准的阳性病例, 1 124 例病理学诊断结果为非癌的标本作为金标准的阴性病例。黏蛋白乳化剂制备的细胞块诊断灵敏度为 96.94%; 特异度为 100.00%; 符合率为 99.37%; 约登指数为 0.9694。

3 讨论

诊断细胞学是通过采集病变处的细胞, 染色后观察细胞结构和形态变化来诊断和研究临床疾病的一门学科。细胞块制片是早期的涂片诊断的进一步优化, 该技术能为细胞学的病理诊断提供更优质的技术, 是临床疾病诊断的强有力支持依据。随着临床送检标本的日益多样化和复杂性, 给传统的涂片技术提出了严峻的挑战。简单的离心沉淀细胞块制作技术应运而生, 但是, 该方法存在诸多不足, 如: 细胞较多的标本, 容易发生细胞相互挤压严重的现象, 影响细胞形态学的辨别; 细胞量少的标本, 非常容易发生细胞丢失的现象, 反复的离心也不能制成细胞块^[9]。国内外学者开始尝试在离心沉淀的细胞中加入不同的基质材料, 取得一定的进步, 但仍然存在较多问题, 如: 操作过程复杂、制片困难、切片掉落、细胞形态变异、背景较深、严重影响病理诊断结果^[10-11]。因此, 目前仍然缺乏一种细胞块的制作的“金标准”方法。

MELEGA 等^[12] 报道, 琼脂、HistoGel 和 Collodio 等基质材料制备的细胞块法操作过程繁琐, 后续固定、脱水、透明、浸蜡等实验条件较复杂, 制作的石蜡切片质量不稳定。与之不同的是, 本研究细胞块制作程序较为便捷, 无须改变原有的处理组织程序和使用特殊的机器, 黏蛋白价格适中。本研究的 1 418 例非妇科细胞学标本的细胞块均制作成功说明了黏蛋白乳化剂制备细胞块的富集效率较高, 细胞丢失较少。与陈淑霞等^[13] 报道的 25 例眼内玻璃体液细胞蜡块制作成功率是 100.00% 的研究结论一致。但是, 本研究纳入的病例数较多, 标本来源更广, 囊括了临床送检的胸腹腔积液、乳腺溢液、痰液、尿液、支气管镜灌洗液、盆腔积液、心包积液、甲状腺、乳腺和淋巴结穿刺等标本。因此, 本研究结果更严谨, 临床适用性更强。笔者在研究过程中发现, 对于部分细胞量较少, 第一次离心后肉眼观无明显沉淀物的标本, 建议适当提高转速至 3 000 r/min, 重复离心 3~5 次, 直至满足实验的要求。

黏蛋白乳化剂制备的细胞块石蜡切片 HE 染色和 IHC 染色的形态学效果符合行业标准, 均能满足三甲医院的病理学诊断的需求。胡沙沙等^[14] 使用一种专用包埋盒、专用的细胞块数控离心包埋机和特殊的“胶”制作了 300 例细胞块。张巧全等^[15] 使用乙醇为还原剂, 戊二醛为固定剂, 4℃ 条件下制备了 26 例脑膜瘤的细胞块。高丽丽等^[16] 使用试剂盒制备了 40 例胸腹腔积液脱落细胞标本的细胞块。上述文献报道的细胞块石蜡切片 HE 染色和 IHC 染色形态学染色效果与本研究的基本一致。不同的是, 本研究使用的是自行配制的黏蛋白乳化剂, 非商品化的试剂盒, 亦无须购买特殊的设备, 检测成本低, 操作流程简便, 染色效果佳, 有利于在各个层次医疗单位病理科推广使用。值得注意的是, PARK 等^[17] 报道琼脂水平在 2.00%~5.00% 制备的细胞块硬度适中, 细胞块与蜡块融合良好。而本研究摸索的黏蛋白乳化剂最佳浓度是 10.00%, 即黏蛋白 5 g: 50 mL 蒸馏水。本研究发现黏蛋白浓度太低, 细胞块无法凝结和包埋。反之, 黏蛋白浓度太高, 细胞块会偏硬和偏脆, 细胞块和石蜡融合不好, 其间部分石蜡松浮, 在切片时就使蜡片, 造成切片质量下降明显。

本文的细胞块 HE 染色和 IHC 染色切片优良率均大于 98.00%, 达到了三甲医院的行业标准。邓雪琴等^[18] 用小牛血去蛋白凝胶试剂盒制备了 5 例胸腹腔积液的细胞蜡块, 其 HE 染色和 CK7、TTF1 染色均取得了理想的效果。而本研究严格按照病理专业医疗质量控制指标的标准^[19], 对 HE 染色和 IHC 染色切片优良率做了数据统计分析, 实验数据反映的是黏蛋白乳化剂制备的细胞块历经固定、脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、HE 染色和 IHC 染色和封片后的效果。

本文以患者术后病理诊断结果为金标准, 结合灵敏度、特异度、符合率和约登指数等诊断评价指标, 综合评估认为: 黏蛋白乳化剂制备细胞块的诊断效能较高。其操作过程较简单, 成本低, 细胞块制作效果佳, 可满足 HE 和 IHC 染色诊断的需求, 可对细胞块进行连续切片, 可长期保存, 与组织学诊断的符合率高, 应用前景广阔。尤其是对于一些组织学无法获得标本的疾病的早期诊断, 黏蛋白乳化剂制备的细胞块是组织学诊断的有益补充。

当然, 本研究也存在一些不足, 本研究的标本来源于单中心实验室的研究, 标本类型仍然不够丰富。后续实践中, 本研究将积极争取多中心医疗合作, 拓展标本来源, 如延伸到组织间液、脑脊液、眼内玻璃体液等标本的研究, 继续摸索黏蛋白乳化剂制备的细胞块在分子病理领域, 如荧光原位杂交(FISH)、显色原位杂交(CISH)、基因重排、DNA 甲基化、基因突变检测、微卫星不稳检测的效果, 以助于疾病的诊断、指导个体化治疗、预后的监控, 为患者的精准细胞学诊

断提供强力保障。

参考文献

[1] RASHEED F A, YAKASAI I A, TAKAI I U, et al. Cervical cytopathological changes in pregnancy: An experience from a low resource setting[J]. *Ann Afr Med*, 2021, 20(3):212-221.

[2] 刘芳, 刘增辉, 张丹芳, 等. 试剂盒法制备细胞块的效果及其技术要点[J]. *天津医科大学学报*, 2019, 25(6):657-658.

[3] TOBAR L G, VILLALBA-ESPARZA M, ABENGOZAR-MUELA M, et al. Utilisation of cytological samples for multiplex immunofluorescence assay[J]. *Cytopathology*, 2021, 32(5):611-616.

[4] LI J, ZHANG F. Amyloids as building blocks for macroscopic functional materials: designs, applications and challenges[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19):10698.

[5] WU C Y, WU T Y, GUAN Z Y, et al. Vapor-phased fabrication and modulation of cell-laden scaffolding materials[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):3413.

[6] 中华医学会. 临床技术操作规范病理学分册[M]. 北京: 人民军医出版社, 2012:27-33, 37-40.

[7] 中华医学会. 临床技术操作规范病理学分册[M]. 北京: 人民军医出版社, 2012:6.

[8] 陈晶晶, 张 娅, 李敏敏, 等. 全自动免疫组化仪在标准化染色质量控制中的应用体会[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2020, 36(5):610-611.

[9] HALADJOVA E, CHRYSOSTOMOU V, PETROVA M, et al. Physicochemical properties and biological performance of polymethacrylate based gene delivery vector systems: influence of amino functionalities[J]. *Macromol Biosci*,

2021, 21(2):e2000352.

[10] SAQI A, YEAGER K J. Novel disposable cell block processing device and method for high cellular yield[J]. *Cancer Cytopathol*, 2019, 127(5):316-324.

[11] 孙艳, 张海燕, 肖静文, 等. 胸腹水细胞蜡块制作的改良与运用[J]. *诊断病理学杂志*, 2021, 28(7):597-598.

[12] MELEGA M, SANTOS M, CANIATTI M, et al. Cell blocks in veterinary medicine: A comparison of two methods (cell tube and agar) in 52 effusions from dogs and cats[J]. *Vet Clin Pathol*, 2020, 49(4):632-639.

[13] 陈淑霞, 林健贤, 高欢欢, 等. 细胞块制备试剂盒在眼内玻璃体液细胞学检查中的应用[J]. *眼科学报*, 2021, 36(8):585-589.

[14] 胡沙沙, 林东亮, 卢燕姣, 等. 一种新型细胞蜡块制备技术应用体会[J]. *中华病理学杂志*, 2019, 48(11):890-892.

[15] 张巧全, 余年, 王娟, 等. 脑脊液细胞蜡块技术在脑膜癌病诊断中的应用[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2020, 36(5):608-609.

[16] 高丽丽, 苏红丹, 刘 华, 等. 试剂盒制备胸腹水细胞蜡块的应用体会[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2021, 37(7):873-874.

[17] PARK S H, LEE C R, HONG S K. Implications of agar and agarase in industrial applications of sustainable marine biomass[J]. *Review*, 2020, 104(7):2815-2832.

[18] 邓雪琴, 陈新妹, 郭寿铭, 等. 一种小牛血去蛋白凝胶制备细胞蜡块的方法[J]. *诊断病理学杂志*, 2021, 28(12):1079-1080.

[19] 王银萍. 病理专业医疗质量控制指标(2015 年版)的解读[J]. *中华病理学杂志*, 2015, 44(11):830-832.

(收稿日期:2022-03-12 修回日期:2022-07-23)

(上接第 199 页)

[14] BJERRE-CHRISTENSEN T, WINTHER S A, TOFTE N, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy and the impact on progression of diabetic kidney disease in type 1 diabetes[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2021, 9(1):e002289.

[15] SANTOS-BEZERRA D P, FILGUEIRAS L R, MONTEIRO M B, et al. Leukotriene pathway activation associates with poor glycemic control and with cardiovascular autonomic neuropathy in type 1 diabetes[J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 3(1):213-215.

[16] MICHAELIAN N, SADYBEKOV A, BESSERER-OF-FROY É, et al. Structural insights on ligand recognition at the human leukotriene B4 receptor 1[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):2971.

[17] BONYEK-SILVA I, MACHADO A, CERQUEIRA-SILVA T, et al. LTB4-Driven inflammation and increased expression of ALOX5/ACE2 during severe COVID-19 in individuals with diabetes[J]. *Diabetes*, 2021, 70(9):2120-2130.

[18] GONG M, DUAN H, WU F, et al. Berberine alleviates in-

sulin resistance and inflammation via inhibiting the LTB4-BLT1 axis[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12(11):722360.

[19] BRANDT S L, SEREZANI C H. Too much of a good thing; how modulating LTB4 actions restore host defense in homeostasis or disease[J]. *Semin Immunol*, 2017, 33(10):37-43.

[20] RAMALHO T, RAMALINGAM L, FILGUEIRAS L, et al. Leukotriene-B4 modulates macrophage metabolism and fat loss in type 1 diabetic mice[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 106(3):665-675.

[21] HERDER C, RODEN M, ZIEGLER D. Novel insights into sensorimotor and cardiovascular autonomic neuropathy from recent-onset diabetes and population-based cohorts[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2019, 30(5):286-298.

[22] DAL CANTO E, CERIELLO A, RYDÉN L, et al. Diabetes as a cardiovascular risk factor: an overview of global trends of macro and micro vascular complications[J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2019, 26(2_Suppl):25-32.

(收稿日期:2022-04-21 修回日期:2022-08-21)