

· 论 著 ·

## miRNA 在哮喘患儿呼出气冷凝物中的表达水平及诊断价值\*

樊青曼<sup>1</sup>, 刘士霞<sup>1</sup>, 高 娟<sup>2</sup>, 穆艳顺<sup>1</sup>, 张冬婕<sup>1</sup>, 刘卫华<sup>3</sup>1. 华北石油管理局总医院儿科, 河北任丘 062552; 2. 迁西县人民医院儿科, 河北唐山 064300;  
3. 肃宁县人民医院儿科, 河北沧州 062350

**摘要:**目的 探讨呼出气冷凝物(EBC)中微小 RNA(miRNA)作为诊断哮喘患儿生物标志物的诊断价值。方法 选取 2021 年 3 月至 2022 年 12 月华北石油管理局总医院收治的 7~12 岁哮喘患儿 80 例作为哮喘组,并选取同期同年龄段的健康志愿者 80 例作为对照组。检测 2 组受试者 EBC 中 11 种相关 miRNA 的表达水平。应用主成分分析法和因子分析法对 miRNAs 进行聚类分析。采用受试者工作特征(ROC)曲线的曲线下面积(AUC)分析 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 在哮喘患儿中的诊断意义。结果 哮喘组 EBC 中 miR-21-5p 和 miR-133-3p 的相对表达水平低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 miR-328-3p 和 miR-155-5p 的相对表达水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。根据对照组和哮喘组 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 的相对表达水平可以形成两个独立亚群,即体检健康者和哮喘患儿。因子分析法发现 miR-21-5p、miR-155-5p 可以聚成一个亚类(因子载荷分别为 0.93 和 0.90),miR-133-3p、miR-328-3p 聚成一个亚类(因子载荷分别为 0.86 和 0.80)。哮喘患儿与健康儿童的 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 的灵敏度分别为 93.77%、92.41%、95.23%、92.57%,特异度分别为 94.01%、91.07%、91.48%、91.35%。miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 联合对哮喘患儿的诊断灵敏度为 97.50%,特异度为 92.50%,准确度为 95.00%。结论 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 可作为诊断哮喘患儿的潜在标志。

**关键词:**miR-133-3p; miR-328-3p; miR-21-5p; miR-155-5p; 呼出气冷凝物; 哮喘

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2023.21.003

**中图法分类号:**R563.9

**文章编号:**1673-4130(2023)21-2570-05

**文献标志码:**A

**Expression of miRNA in exhaled condensation in children with asthma and its diagnostic value\***FAN Qingman<sup>1</sup>, LIU Shixia<sup>1</sup>, GAO Juan<sup>2</sup>, MU Yanshun<sup>1</sup>, ZHANG Dongjie<sup>1</sup>, LIU Weihua<sup>3</sup>

1. Department of Pediatrics, General Hospital of North China Petroleum Administration Bureau, Renqiu, Hebei 062552, China; 2. Department of Pediatrics, Qianxi County People's Hospital, Tangshan, Hebei 064300, China; 3. Department of Pediatrics, Suning County People's Hospital, Cangzhou, Hebei 062350, China

**Abstract: Objective** To explore the diagnostic value of miRNA in exhaled breath condensate (EBC) as a biomarker for the diagnosis of asthma in children. **Methods** A total of 80 children with asthma aged 7–12 in General Hospital of North China Petroleum Administration Bureau from March 2021 to December 2022 were selected as the asthma group, and 80 healthy volunteers of the same age were selected as the control group during the same period. The expression levels of 11 related miRNA in EBC of the two groups were detected. Principal component analysis and factor analysis were used to cluster miRNAs. The AUC of receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the diagnostic significance of miR-133-3p, miR-328-3p, miR-21-5p and miR-155-5p in children with asthma. **Results** The relative expression levels of miR-21-5p and miR-133-3p in EBC of asthma group were lower than those of control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ), while the relative expression levels of miR-328-3p and miR-155-5p were higher than those of control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). According to the relative expression

\* 基金项目:河北省卫健委医学科学研究项目(20211007)。

作者简介:樊青曼,女,主治医师,主要从事儿童哮喘诊断方面的研究。

levels of miR-133-3p, miR-328-3p, miR-21-5p and miR-155-5p in EBC of subjects in the control group and asthma group, two independent subgroups could be formed, namely healthy physical examination subjects and children with asthma. Factor analysis showed that miR-21-5p and miR-155-5p could be clustered into a subclass (factor loading were 0.93 and 0.90, respectively), and miR-133-3p and miR-328-3p could be clustered into a subclass (factor loading were 0.86 and 0.80, respectively). The sensitivity of miR-133-3p, miR-328-3p, miR-21-5p and miR-155-5p in children with asthma and healthy children were 93.77%, 92.41%, 95.23% and 92.57%, respectively. The specificity were 94.01%, 91.07%, 91.48% and 91.35%, respectively. The diagnostic sensitivity, specificity and accuracy of miR-133-3p, miR-328-3p, miR-21-5p and miR-155-5p combined for children with asthma were 97.50%, 92.50% and 95.00%, respectively. **Conclusion** miR-133-3p, miR-328-3p, miR-21-5p and miR-155-5p in EBC can be used as potential markers for the diagnosis of children with asthma.

**Key words:** miR-133-3p; miR-328-3p; miR-21-5p; miR-155-5p; exhaled breath condensate; asthma

目前用于临床目的的大多数哮喘生物标志物均从血液、呼气或尿液中取样,而诱导痰仅在专业中心可以使用<sup>[1]</sup>。呼出气冷凝物(EBC)收集简单,安全,无创且高度可重复,并且可以评估气道炎症的生物标志物,越来越多地被用作生物标志物的检测指标<sup>[2]</sup>。EBC中的物质可以被测量,并且一些研究已经集中在非挥发性有机化合物,包括近年研究的微小RNA(miRNA)上<sup>[3]</sup>。因此,寻找EBC中新型生物标志物有助于哮喘儿童的诊断和个性化治疗。有研究发现,11种miRNA(let7a-5p、miR-21-5p、miR-126-3p、miR-133a-3p、miR-145-5p、miR-146a-5p、miR-155-5p、miR-221-3p、miR-328-3p、miR-1248和miR-423-3p)与哮喘发生具有高度相关性<sup>[4-10]</sup>。基于此,本研究旨在探讨EBC中这11个miRNA在哮喘患儿中的相对表达水平,并评估其作为诊断哮喘患儿生物标志物的诊断价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2021年3月至2022年12月华北石油管理局总医院(下称本院)收治的7~12岁哮喘患儿80例作为哮喘组,其中男51例,女29例,平均年龄( $8.58 \pm 2.34$ )岁,平均体质指数(BMI)为( $24.66 \pm 3.44$ ) $\text{kg}/\text{m}^2$ 。并选取同期同年龄段健康志愿者80例作为对照组,其中男49例,女31例,平均年龄( $8.39 \pm 3.05$ )岁,平均BMI为( $24.49 \pm 3.28$ ) $\text{kg}/\text{m}^2$ 。两组受试者性别、年龄和BMI比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。使用呼气式空气冷凝系统(便携式TurboDECCS)从两组受试者中收集EBC样本。纳入标准:(1)哮喘使用基于实验阳性支气管扩张的金标准定义,定义为吸入400 $\mu\text{g}$ 沙丁胺醇后第1秒用力呼气容积(FEV1)至少增加12%或超过200 mL;(2)自我报告有哮喘症状的医学诊断(喘息、呼吸困难或干咳)。排除标准:(1)有智力或认知障碍者;(2)合并有甲状腺疾病及其他内分泌疾病

者;(3)合并其他心、肝、肾等严重慢性疾病者;(4)合并恶性肿瘤者;(5)对调查不配合或拒绝者。本研究获得本院伦理委员会批准。

**1.2 呼气凝结水采集及实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测EBC中相关miRNA** 根据ROSIAS公布的EBC收集方法<sup>[11]</sup>,从两组受试者中收集EBC样本,使用呼气式空气冷凝系统。收集前将设备冷却到0 $^{\circ}\text{C}$ 。正常呼吸至少15 min,戴鼻夹获取EBC样本。通常样本量在800~1500 $\mu\text{L}$ 之间。体积的变化与儿童肺部的潮气量和分钟体积相关。收集后,将样品储存-35 $^{\circ}\text{C}$ 的加盖玻璃管中,直至进行分析。程序在层流柜下进行,以确保环境受控,避免环境空气污染。根据之前的相关文献报道<sup>[4-10]</sup>选择let7a-5p、miR-21-5p、miR-126-3p、miR-133a-3p、miR-145-5p、miR-146a-5p、miR-155-5p、miR-221-3p、miR-328-3p、miR-1248和miR-423-3p的11种特异性miRNA用于分析,其中let7a-5p为内参对照。用硫氰酸胍酚氯仿萃取法从0.5 mL EBC样品中提取总的RNA。在RNA提取之前,EBC样品掺入来自Exiqon(Qiagen)的合成UniSp6 RNA用于提取控制目的。根据制造商的说明书操作,使用小RNA试剂盒(Agilent),用Bioanalyzer(Agilent Technologies)对提取的RNA进行质量控制。采用锁定核酸(LNA)试剂进行逆转录和qPCR技术检测。采用Universal cDNA synthesis kit II(Exiqon)将从每个EBC样品中提取的RNA一式两份逆转录。每个RT反应使用10 $\mu\text{L}$  RNA溶液。将得到的cDNA稀释10倍,并使用miRNA特异性LNA寡核苷酸和ExiLENT SYBR Green master mix(Exiqon)在10 $\mu\text{L}$ 反应中通过qPCR进行定量。使用StepOnePlus实时PCR系统(Applied Biosystems)在两步程序下进行qPCR检测:95 $^{\circ}\text{C}$  10 s,60 $^{\circ}\text{C}$  1 min,45个循环。使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法评估样本中miRNA的相对表达水平。

**1.3 统计学处理** 采用 R 3.4 软件进行统计学分析。采用 *t* 检验分析两组 EBC 中相关 miRNA 的表达水平。应用主成分分析法(PCA)和因子分析对 miRNAs 进行聚类分析。应用受试者工作特征(ROC)曲线及曲线下面积(AUC)分析 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 对哮喘患儿的临床诊断价值。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 对照组和哮喘组 EBC 中相关 miRNA 的相对表达水平** 哮喘组 EBC 中 miR-21-5p、miR-133-3p 的相对表达水平低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。哮喘组 EBC 中 miR-328-3p、miR-155-5p 的相

对表达水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

**2.2 PCA 和因子分析对照组和哮喘组受试人员 EBC 中相关 miRNA** 将差异有统计学意义的 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 进行 PCA,发现根据对照组和哮喘组 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 的相对表达水平可以形成两个独立亚群,即体检健康者和哮喘患儿,见图 1。因子分析结果发现 miR-21-5p、miR-155-5p 可以聚成一个亚类(因子载荷分别为 0.93 和 0.90),miR-133-3p、miR-328-3p 聚成一个亚类(因子载荷分别为 0.86 和 0.80),见图 2。

表 1 对照组和哮喘组 EBC 中相关 miRNA 的表达水平( $\bar{x} \pm s$ )

组别	miR-21-5p	miR-126-3p	miR-133-3p	miR-145-5p	miR-146a-5p	miR-155-5p	miR-221-3p	miR-328-3p	miR-423-3p	miR-1248
对照组	0.10±0.03	0.17±0.03	0.23±0.07	0.12±0.04	0.49±0.15	0.04±0.01	0.18±0.06	0.35±0.11	0.15±0.05	0.45±0.14
哮喘组	0.29±0.05	0.17±0.03	0.58±0.09	0.13±0.04	0.47±0.15	0.09±0.02	0.19±0.06	0.88±0.13	0.14±0.04	0.47±0.15
<i>t</i>	29.140 0	1.530 0	27.460 0	1.580 0	0.840 0	20.000 0	1.050 0	27.840 0	1.400 0	0.870 0
<i>P</i>	<0.000 1	0.127 0	<0.000 1	0.115 8	0.400 4	<0.000 1	0.294 3	<0.000 1	0.464 4	0.384 6



图 1 PCA 和因子分析对照组和哮喘组受试人员 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p

**2.3 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 对哮喘的诊断效能** 为了评估 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 在哮喘患儿与健康儿童中的诊断价值,绘制 80 例哮喘患儿和 80 例健康儿童的 ROC 曲线(图 3)。以 miR-133-3p 的阳性临界值,其诊断灵敏度为 93.77%,特异度为 94.01%。以 miR-328-3p 的阳性临界值,其诊断灵敏度为 92.41%,特异度为 91.07%。以 miR-21-5p 的阳性临界值,其诊断灵敏度为 95.23%,特异度为 91.48%。以 miR-155-5p 的阳性临界值,其诊断灵敏度为 92.57%,特异度为 91.35%,见图 3 和表 2。

**2.4 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 联合对哮喘患儿的诊断价值** 患有哮喘为真阳性,未患有哮喘的为真阴性。miR-133-3p、miR-328-3p、

miR-21-5p、miR-155-5p 联合对哮喘患儿的诊断灵敏度为 97.50%(78/80),特异度为 92.50%(74/80),准确度为 95.00%(152/160),见表 3。

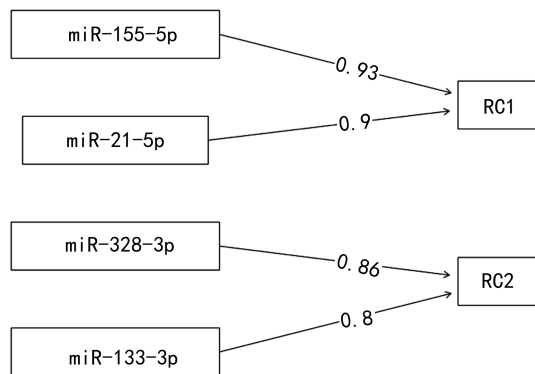


图 2 因子分析对照组和哮喘组受试人员 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p

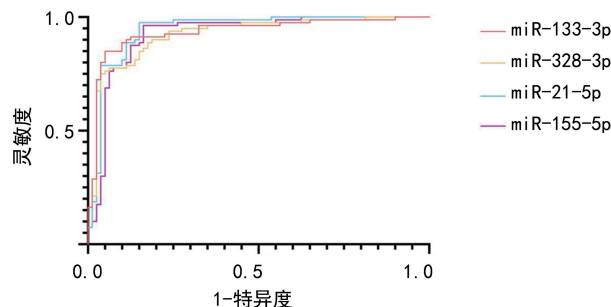


图 3 健康儿童与哮喘患儿 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 的 ROC 曲线

表 2 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 鉴别诊断健康儿童与哮喘患儿的 AUC、灵敏度、特异度和约登指数

检测变量	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数	AUC	P	95%CI
miR-133-3p	93.77	94.01	0.877 8	0.93	<0.000 1	0.892 2~0.976 0
miR-328-3p	92.41	91.07	0.834 8	0.92	<0.000 1	0.881 4~0.966 7
miR-21-5p	95.23	91.48	0.867 1	0.94	<0.000 1	0.905 4~0.982 4
miR-155-5p	92.57	91.35	0.839 2	0.92	<0.000 1	0.877 8~0.970 0

表 3 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 联合诊断对哮喘患儿的诊断价值(n)

诊断方法	类型	病理结果		合计
		阳性	阴性	
联合诊断	阳性	78	7	85
	阴性	2	73	75
合计		80	80	160

### 3 讨 论

哮喘是儿童常见的慢性疾病之一,给患儿及家庭带来了健康威胁和经济负担<sup>[1]</sup>。在临床实践中,基于肺活量测定法对诊断儿童哮喘的敏感性很低,对诊断儿童哮喘的准确客观测试的需求仍未得到满足<sup>[12]</sup>。本研究结果显示哮喘患儿与健康儿童 EBC 中的 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 的灵敏度分别为 93.77%、92.41%、95.23%、92.57%,特异度分别为 94.01%、91.07%、91.48%、91.35%。miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 联合对哮喘患儿的诊断灵敏度为 97.50%,特异度为 92.50%,准确度为 95.00%,显示了较好的诊断效能。

呼气凝结物是一种无创收集的生物流体,含有挥发性和非挥发性化合物,在肺部疾病中可能会发生改变<sup>[13]</sup>。PINKERTON 等<sup>[14]</sup>报道,EBC 中的 miR-21-5p、miR-133-3p、miR-155-5p 和 miR-328-3p 在哮喘成人患者中明显降低。本研究发现,哮喘组 EBC 中 miR-21-5p 和 miR-133-3p 的相对表达水平低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),与 PINKERTON 等<sup>[14]</sup>报道一致。但是 miR-328-3p 和 miR-155-5p 的相对表达水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。这些研究结果的差异可能与年龄组及样本量有关。根据对照组和哮喘组 EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 的相对表达水平可以形成两个独立亚群,即体检健康者和哮喘患儿。因子分析结果发现 miR-21-5p、miR-155-5p 可以聚成一个亚类(因子载荷分别为 0.93 和 0.90),miR-133-3p、miR-328-3p 聚成一个亚类(因子载荷分别为 0.86 和 0.80)。因子分析中的因子负荷可以解释为 miRNAs 对聚类有显著贡献的相关系数。因此,miR-133-

3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 可以很好地区分哮喘患儿和健康儿童。

一些关于 miRNA 表达谱的研究报告了 miRNA 在哮喘调节中的重要性<sup>[15]</sup>。miR-155-5p 在哮喘儿童的血浆中明显增加,是血浆中的生物标志物<sup>[16]</sup>。Th1/Th2 平衡对哮喘的发生发展具有重要作用<sup>[17]</sup>。miR-21-5p 可以促进 Th2 并减弱 Th1 途径,而轻度哮喘患者中 miR-155-5p 的上调似乎可以抑制白细胞介素(IL)-13 诱导的细胞因子表达<sup>[18-19]</sup>。在 miR-21 和无症状的积极支气管扩张之间发现的关联可以解释为这种 miR-21 在负向调节 IL-12 方面的作用,这对调节 Th1/Th2 平衡很重要,因为这种 IL 的表达减少会诱发过度的 Th2 反应<sup>[20]</sup>。miR-133-3p 可以调节 IL-13,这表明这一途径的失调可能对 Th2 细胞因子的表达和信号有重大影响<sup>[21]</sup>。

综上所述,EBC 中 miR-133-3p、miR-328-3p、miR-21-5p、miR-155-5p 可作为诊断哮喘的潜在标志物。

### 参考文献

- POŁOMSKA J, BAR K, SOZANSKA B. Exhaled breath condensate: a non-invasive approach for diagnostic methods in asthma[J]. J Clin Med, 2021, 10(12): 2697.
- GHOSH N, CHOUDHURY P, JOSHI M, et al. Global metabolome profiling of exhaled breath condensates in male smokers with asthma COPD overlap and prediction of the disease[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 1-14.
- AN J, MCDOWELL A, KIM Y K, et al. Extracellular vesicle-derived microbiome obtained from exhaled breath condensate in patients with asthma[J]. Ann Allergy Asthma Immunol 2021, 126(6): 729-731.
- MENDES F C, PACIÊNCIA I, CAVALEIRO RUFO J, et al. Dietary acid load modulation of Asthma-Related miRNAs in the exhaled breath condensate of children[J]. Nutrients, 2022, 14(6): 1147.
- LIU F, QIN H B, XU B, et al. Profiling of miRNAs in pediatric asthma: upregulation of miRNA-221 and miRNA-485-3p[J]. Mol Med Rep, 2012, 6(5): 1178-1182.
- MALMHÄLL C, JOHANSSON K, WINKLER C, et al.

- Altered miR-155 expression in allergic asthmatic airways [J]. *Scand J Immunol*, 2017, 85(4):300-307.
- [7] TRINH H K T, PHAM D L, KIM S C, et al. Association of the miR-196a2, miR-146a, and miR-499 polymorphisms with asthma phenotypes in a Korean population [J]. *Mol Diagn Ther*, 2017, 21(5):547-554.
- [8] PANGANIBAN R P, WANG Y, HOWRYLAK J, et al. Circulating microRNAs as biomarkers in patients with allergic rhinitis and asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 137(5):1423-1432.
- [9] WU X B, WANG M Y, ZHU H Y, et al. Overexpression of microRNA-21 and microRNA-126 in the patients of bronchial asthma [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(5):1307.
- [10] LACEDONIA D, PALLADINO G P, FOSCHINO BARBARO M P I A, et al. Expression profiling of miRNA-145 and miRNA-338 in serum and sputum of patients with COPD, asthma, and asthma-COPD overlap syndrome phenotype [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12:1811-1817.
- [11] ROSIAS P. Methodological aspects of exhaled breath condensate collection and analysis [J]. *J Breath Res*, 2012, 6(2):027102.
- [12] FERRANTE G, LICARI A, MARSEGLIA G L, et al. Digital health interventions in children with asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 2021, 51(2):212-220.
- [13] VON HOLST H, NAYAK P, DEMBEK Z, et al. Perfluoroalkyl substances exposure and immunity, allergic response, infection, and asthma in children: review of epidemiologic studies [J]. *Heliyon*, 2021, 7(10):e08160.
- [14] PINKERTON M, CHINCHILLI V, BANTA E, et al. Differential expression of microRNAs in exhaled breath condensates of patients with asthma, patients with chronic obstructive pulmonary disease, and healthy adults [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 132(1):217-219.
- [15] WEIDNER J, BARTEL S, KILIÇ A, et al. Spotlight on microRNAs in allergy and asthma [J]. *Allergy*, 2021, 76(6):1661-1678.
- [16] XU L, YI M, TAN Y, et al. A comprehensive analysis of microRNAs as diagnostic biomarkers for asthma [J]. *Thorax Adv Respir Dis*, 2020, 14:1753466620981863.
- [17] CHEN C M, CHENG S H, CHEN Y H, et al. Supplementation with heat-inactivated *Lactobacillus paracasei* K47 ameliorates allergic asthma in mice by regulating the Th1/Th2 balance [J]. *Benef Microbes*, 2022, 13(1):73-82.
- [18] VARIKUTI S, VERMA C, HOLCOMB E, et al. MicroRNA-21 deficiency promotes the early Th1 immune response and resistance toward visceral leishmaniasis [J]. *J Immunol*, 2021, 207(5):1322-1332.
- [19] ZHU Y, YE F, FU Y, et al. MicroRNA-155-5p regulates the Th1/Th2 cytokines expression and the apoptosis of group 2 innate lymphoid cells via targeting TP53INP1 in allergic rhinitis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101:108317.
- [20] AL-HEETY R A, TURKI K M. Association of circulating miRNA-21-5p and miRNA-146a-5p expression level with disease activity of ankylosing spondylitis [J]. *Human Gene*, 2022, 34:201094.
- [21] LIU S, YANG H, SONG J, et al. Keloid: genetic susceptibility and contributions of genetics and epigenetics to its pathogenesis [J]. *Exp Dermatol*, 2022, 31(11):1665-1675.

(收稿日期:2023-01-10 修回日期:2023-06-06)

(上接第 2569 页)

- [18] KLEIN T, BISCHOFF R. Active metalloproteases of the disintegrin and metalloprotease (ADAM) family: biological function and structure [J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(1):17-33.
- [19] KLEIN T, BISCHOFF R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases [J]. *Amino Acids*, 2011, 41:271-90.
- [20] BREW K, NAGASE H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1803(1):55-71.
- [21] DORHOI A, KAUFMANN S H. Pathology and immune reactivity: understanding multidimensionality in pulmonary tuberculosis [J]. *Semin Immunopathol*, 2016, 38(2):153-166.
- [22] KUMAR N P, MOIDEEN K, NANCY A, et al. Association of plasma matrix metalloproteinase and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase levels with adverse treatment outcomes among patients with pulmonary tuberculosis [J]. *JAMA Netw Open*, 2020, 3(12):e2027754.
- [23] KATHAMUTHU G R, KUMAR N P, MOIDEEN K, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases are potential biomarkers of pulmonary and Extra-Pulmonary tuberculosis [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:419.
- [24] ROBAK A, KISTOWSKI M, WOJTAS G, et al. Diagnosing pleural effusions using mass spectrometry-based multiplexed targeted proteomics quantitating mid- to high-abundance markers of cancer, infection/inflammation and tuberculosis [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1):3054.

(收稿日期:2023-03-07 修回日期:2023-07-06)