

• 论 著 •

# 骨关节炎滑膜中 PLCD3 mRNA 的表达情况及其与免疫细胞浸润的关系\*

应 璞, 郑 治, 许 岳, 周 焯, 戈昱凡, 薛 燚, 缪逸鸣<sup>△</sup>

南京中医药大学常熟附属医院骨科, 江苏常熟 215500

**摘要:**目的 探究骨关节炎(OA)滑膜中磷脂酶 Cδ3(PLCD3) mRNA 的表达情况及其与免疫细胞浸润的关系。方法 基于前期发现的 OA 差异表达基因,通过收集临床 OA 组和对照组的滑膜组织,检测相关差异表达基因 PLCD3 mRNA 的表达差异,并采用 CIBERSORT 算法分析免疫细胞在 OA 组及对照组中的浸润模式,并进一步对 PLCD3 与浸润性免疫细胞的相关性进行分析。结果 相较于对照组,PLCD3 mRNA 相对表达水平在 OA 组滑膜组织中明显升高( $P < 0.05$ ),OA 滑膜组织中幼稚 B 细胞、活化 NK 细胞、M2 巨噬细胞和活化肥大细胞的比例相对较高( $P < 0.05$ ),PLCD3 与这 4 种免疫细胞比例呈正相关( $P < 0.05$ )。结论 PLCD3 可能是诊断 OA 的关键生物标志物,其可能通过与浸润性免疫细胞的相互作用参与了 OA 的发病过程。

**关键词:**骨关节炎; 磷脂酶 Cδ3; 免疫细胞浸润

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.02.017

中图法分类号:R446.6

文章编号:1673-4130(2024)01-0208-05

文献标志码:A

## Expression of PLCD3 mRNA in synovium of osteoarthritis and its relationship with immune cell infiltration\*

YING Pu, ZHENG Zhi, XU Yue, ZHOU Ye, GE Yufan, XUE Yi, MIAO Yiming<sup>△</sup>

Department of Orthopaedics, Changshu Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Changshu, Jiangsu 215500, China

**Abstract: Objective** To investigate the expression of PLCD3 mRNA in the synovium of osteoarthritis (OA) and its relationship with immune cell infiltration. **Methods** Based on the differentially expressed genes of OA found in the previous study, the expression of phospholipase Cδ3 (PLCD3) mRNA was detected by collecting synovial samples from OA group and control group. CIBERSORT algorithm was used to analyze the infiltration pattern of immune cells in OA group and control group, and the correlation between PLCD3 and infiltrating immune cells was further analyzed. **Results** Compared with the control group, the relative expression level of PLCD3 mRNA was significantly increased in synovial samples of OA group ( $P < 0.05$ ). The proportions of B cells naive, NK cells activated, M2 macrophages and mast cells activated in synovial tissues of OA group were relatively high ( $P < 0.05$ ). PLCD3 was positively correlated with the proportion of these four immune cells ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** PLCD3 may be a key biomarker for the diagnosis of OA, which may be involved in the pathogenesis of OA by interacting with infiltrating immune cells.

**Key words:** osteoarthritis; phospholipase Cδ3; immune cell infiltration

骨关节炎(OA)是临床常见的骨骼系统退行性疾病之一,通常可累及 1 个或多个关节,其在全球范围内发病率很高,且发病机制复杂。目前,研究者认为其发病可能与遗传、肥胖、衰老、创伤、过度关节劳损、代谢紊乱、炎症等有关<sup>[1-3]</sup>。近年来,随着生物信息学的发展,免疫相关基因被证明在 OA 的发生发展中起

重要作用,免疫细胞浸润与 OA 的发生发展密切相关<sup>[4-8]</sup>。本研究基于笔者前期发现的 OA 差异表达基因<sup>[9]</sup>,通过收集临床 OA 组和对照组的滑膜组织,检测相关差异表达基因磷脂酶 Cδ3(PLCD3) mRNA 的表达差异,并采用 CIBERSORT 算法分析免疫细胞在 OA 组及对照组的浸润模式,并进一步对 PLCD3 与

\* 基金项目:苏州市科技发展计划指导性项目(SKJYD2021007,SKJYD2021202);苏州市“科教兴卫”青年科技项目(KJXW2020068);常熟市卫健委科技计划项目资助性重点项目(CSWS202118);南京中医药大学常熟附属医院课题(cszzy201910)。

作者简介:应璞,男,副主任医师,主要从事骨关节炎疾病方向的研究。△ 通信作者,E-mail:52891497@qq.com。

浸润性免疫细胞的相关性进行分析,从而为研究 OA 的发生发展提供潜在的新的生物标志物。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 从 GEO 数据库下载 GSE55457、GSE82107 和 GSE55235 3 个数据集。其中 GSE55457 数据集包括 10 例 OA 患者和 10 例健康对照者滑膜组织, GSE82107 数据集包括 10 例 OA 患者和 7 例健康对照者滑膜组织, GSE55235 数据集包括 26 例 OA 患者和 20 例健康对照者滑膜组织。此外,纳入 2021 年 5 月至 2023 年 4 月在本院行全膝关节置换术的 15 例膝关节 OA 患者作为 OA 组,同时收集同期因创伤致髌骨骨折在本院行内固定术的 15 例年轻患者作为对照组。本研究已获得本院伦理委员会的批准,并按照赫尔辛基宣言进行了试验。所有受试者均通过书面知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 滑膜组织中基因 mRNA 表达检测** 取出冻存组织,使用小样本 RNA 提取试剂盒(德国 Qiagen 公司)提取总 RNA,测量提取 RNA 浓度(Nanodrop 2000)。通过逆转录试剂盒(Golden Star™ RT6,北京擎科生物科技股份有限公司)将等量 RNA 逆转录成 cDNA。随后使用荧光定量 PCR 试剂盒(Master qPCR Mix SYBR GREEN I,北京擎科生物科技股份有限公司)配制 PCR 反应体系:cDNA 1.0 μL; 2×TSINGKE Master qPCR Mix(SYBR Green I) 10.0 μL;正向引物 0.8 μL;反向引物 0.8 μL; 50×ROX Reference Dye 0.4 μL; ddH<sub>2</sub>O 7.0 μL。CXCL2 引物:正向 5'-AAGTGTGAAGGTGAAGTCC-3',反向 5'-CGAGACTTACATGACTTCCGG-3'; JUN 引物:正向 5'-AAGTCATGAACCACGTTAACAG-3',反向 5'-AAATGTTTGCAACTGCTGC-3'; CXCL3 引物:正向 5'-GAATTCACCTCAAGAACATCCA-3',反向 5'-AGTGTGGCTATGACTTCCGG-3'; MMP1 引物:正向 5'-ACAGTAAGCTAACCTTTGATGC-3',反向 5'-TTGTGCGCATGTAGAATCTG-3'; PLCD3 引物:正向 5'-CTAGACCACTGGATCCACTC-3',反向 5'-TCAGCAGGCTCTTGATCTC-3'; 内参 GAPDH 引物:正向 5'-GATCATCAGCAATGCCTCC-3',反向 5'-TCCACGATACCAAAGTTGTC-3'。采用 Biosystems 7500 Fast 实时系统进行 RT-PCR 检测,反应条件:95 °C 1 min, 1 个循环,95 °C 10 s, 60 °C 30 s, 40 个循环。使用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 CXCL2、JUN、CXCL3、MMP1、PLCD3 的 mRNA 相对表达水平。

**1.2.2 PLCD3 和 MMP1 对 OA 的诊断价值分析** 使用 GraphPad Prism 软件分析 OA 滑膜组织中两种

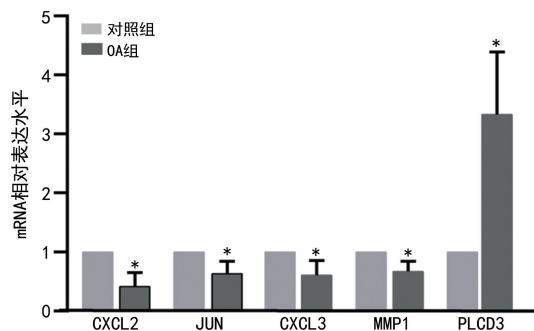
差异表达基因的 mRNA(MMP1 和 PLCD3)的临床诊断价值,并绘制了受试者工作特征(ROC)曲线,用曲线下面积(AUC)确定对诊断 OA 的有效性。

**1.2.3 免疫细胞浸润分析** 采用 CIBERSORT 算法分析 OA 组织和正常组织的免疫浸润水平。使用 R 语言中的“vioplot”包分析 OA 组织和正常组织中 19 种不同比例的免疫细胞亚型。使用 R 语言中的“corrplot”包进一步可视化分析 OA 中 4 种不同比例的免疫细胞与 PLCD3 表达之间的相关性,并采用 GraphPad 绘制相关性曲线。

**1.3 统计学处理** 采用 GraphPad Prism 进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用 ROC 曲线分析相关指标对 OA 的诊断价值。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 OA 组与对照组滑膜组织 CXCL2、JUN、CXCL3、MMP1 和 PLCD3 mRNA 相对表达水平比较** OA 组 PLCD3 mRNA 相对表达水平高于对照组 (*P* < 0.05),而 MMP1、CXCL2、JUN、CXCL3 mRNA 相对表达水平均低于对照组 (*P* < 0.05),见图 1,仅 PLCD3 和 MMP1 mRNA 相对表达水平与 GEO 数据集的结果一致, JUN、CXCL3 和 CXCL2 mRNA 相对表达水平与生物信息学分析结果存在不一致,见表 1。



注: \* 为 *P* < 0.001。

图 1 OA 组与对照组滑膜组织 CXCL2、JUN、CXCL3、MMP1 和 PLCD3 mRNA 相对表达水平比较

表 1 GSE55457、GSE82107 和 GSE55235 数据集中 OA 患者与健康对照者 CXCL2、JUN、CXCL3、MMP1 和 PLCD3 mRNA 相对表达水平比较

基因	log <sub>2</sub> (差异倍数)		
	GSE55457	GSE82107	GSE55235
CXCL2	2.002 1	1.560 2	1.119 6
JUN	1.763 3	1.980 7	1.618 2
CXCL3	2.256 9	4.595 2	1.057 05
MMP1	-1.482 1	-5.480 0	-1.410 5
PLCD3	3.055 0	2.933 8	1.897 8

**2.2 MMP1 和 PLCD3 对 OA 的诊断价值分析** 采用 GraphPad Prism 分析两种差异表达基因(MMP1 和 PLCD3)mRNA 相对表达水平在 OA 滑膜组织中的临床诊断价值,并绘制了 ROC 曲线,见图 2。MMP1 和 PLCD3 诊断 OA 的曲线下面积(AUC)分别为 0.799 4( $P < 0.001$ )和 0.760 7( $P < 0.001$ ),二者的灵敏度和特异度分别为:90.13%和 62.95%(MMP1),68.09%和 74.01%(PLCD3),诊断价值均较高。

**2.3 免疫细胞浸润分析** 使用 CIBERSORT 分析 OA 滑膜组织和正常组织之间的免疫细胞浸润水平。分析结果显示,相较于正常组织 OA 滑膜组织中幼稚 B 细胞、活化 NK 细胞、M2 巨噬细胞和活化肥大细胞的比例相对较高( $P < 0.05$ )。

**2.4 PLCD3 与浸润性免疫细胞的相关性分析** 结

果显示,幼稚 B 细胞、活化 NK 细胞、M2 巨噬细胞和活化肥大细胞比例与 PLCD3 mRNA 相对表达水平均呈正相关( $r = 0.511, 0.519, 0.791, 0.704, P < 0.05$ )。见图 3。

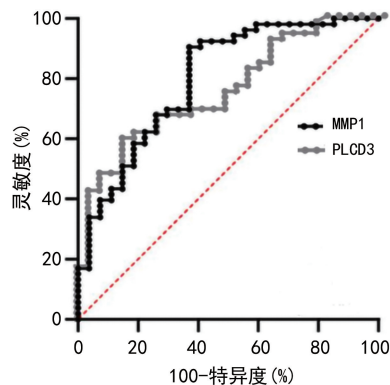
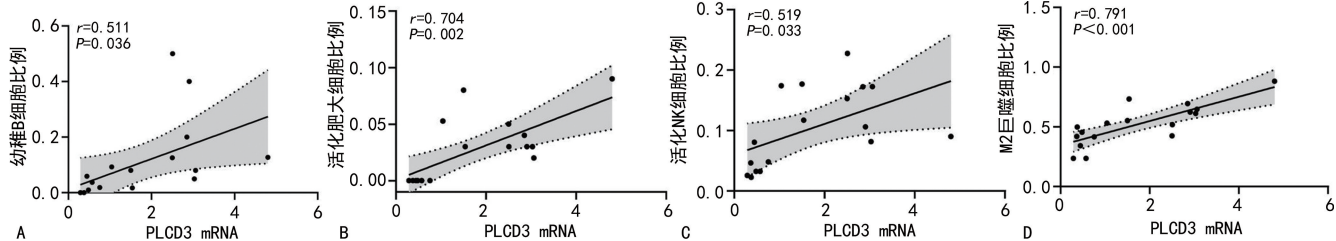


图 2 MMP1 和 PLCD3 诊断 OA 的 ROC 曲线



注:A为幼稚B细胞,B为活化肥大细胞,C为活化NK细胞,D为M2巨噬细胞。

图 3 OA 滑膜组织中 4 种免疫细胞比例与 PLCD3 mRNA 相对表达水平之间相关性分析

### 3 讨 论

OA 是一种慢性退行性骨关节疾病,可能是由先天性和适应性免疫反应引起的持续炎症引起,可导致不可逆的滑膜和软骨组织损伤<sup>[10]</sup>。慢性炎症被发现在 OA 的病理中起着重要作用<sup>[11-13]</sup>,尤其是滑膜组织的炎症促进了 OA 的疼痛进展和功能障碍。炎症细胞浸润与炎症细胞因子的释放导致关节滑膜组织增生并加速释放相关促炎因子,从而进一步参与 OA 的炎症微环境改变和加速滑膜、软骨组织的损伤<sup>[14]</sup>。多项研究表明,浸润性免疫细胞的激活和相互作用对 OA 滑膜组织炎症的形成和持续软骨组织损伤起着重要作用<sup>[4-8,15]</sup>。但目前对于免疫细胞参与 OA 炎症的发生发展的机制仍不清楚。基于此,本研究通过生物信息学分析发现免疫细胞浸润与 OA 的相关性,并通过临床滑膜组织验证了 PLCD3 的表达及其与免疫细胞浸润的相关性。

本研究免疫细胞浸润分析结果显示,OA 滑膜组织中幼稚 B 细胞、活化 NK 细胞、M2 巨噬细胞和活化肥大细胞的比例相对较高。DENG 等<sup>[16]</sup>通过生物信息学分析同样发现静息肥大细胞、活化 NK 细胞可能参与 OA 发生发展过程,这一结果与本研究结果存在

部分一致。TRAJEROVA 等<sup>[17]</sup>通过检测膝 OA 患者的滑液发现,“骨髓进行性”和“侵袭性”表型均存在 NK 细胞和巨噬细胞的高活化。由于滑膜是 OA 炎症的主要部位,通常以炎症细胞(主要是巨噬细胞)浸润为特征。而巨噬细胞通过产生炎症细胞因子、趋化因子、生长因子和蛋白酶等,在早期炎症反应中起着至关重要的作用。作为滑膜组织中最丰富的免疫细胞之一,巨噬细胞介导的免疫调节在 OA 发病和软骨损伤中起着至关重要的作用<sup>[18]</sup>。因而,巨噬细胞调节目前被认为是一种治疗 OA 的有前途的策略,尤其是通过抑制滑膜组织巨噬细胞 M1 极化,促进 M2 极化,可缓解滑膜组织炎症,缓解关节疼痛,抑制关节软骨组织退化<sup>[19-21]</sup>。肥大细胞是另一类常见于关节滑膜组织的免疫细胞。肥大细胞在肥胖的 OA 患者滑膜组织中存在高表达<sup>[22]</sup>,与类风湿关节炎患者相比,肥大细胞是唯一在 OA 患者滑膜组织中水平更高的免疫细胞类型<sup>[23]</sup>。OA 中肥大细胞的激活导致促炎介质的释放,最终导致滑膜组织炎症、骨重塑和软骨组织损伤<sup>[24]</sup>。因而,释放组胺的肥大细胞同样被认为是 OA 的潜在治疗靶点<sup>[25]</sup>。COPP 等<sup>[26]</sup>认为,未来免疫调节细胞治疗可能会成为 OA 治疗的有效途径。

磷脂酶 C(PLC)是磷脂酰肌醇途径中的关键酶,参与真核生物的信号转导。PLCD3 是磷脂酶 C 家族的一个成员,它催化水解磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸(PIP<sub>2</sub>),生成二酰甘油(DAG)和肌醇 1,4,5-三磷酸(IP<sub>3</sub>)两个第二信号分子<sup>[27]</sup>。PLCD3 在许多生物学过程中起着至关重要的作用,如心肌细胞存活等,并可促进甲状腺癌的进展<sup>[28-29]</sup>。HU 等<sup>[30]</sup>发现,在大多数癌症中,同样发现 PLCD3 表达与巨噬细胞呈正相关。本研究检测了 OA 组和对照组滑膜组织中 PLCD3 mRNA 相对表达水平的差异,结果发现 PLCD3 mRNA 在 OA 组中表达明显升高,而 PLCD3 表达与 4 种免疫细胞比例均呈正相关,上述结果表明 PLCD3 可能通过调节免疫细胞(如巨噬细胞)的活化参与 OA 的发生与发展。但目前关于 PLCD3 与 OA 的相关性的研究较少,需要更多功能及机制试验以明确 PLCD3 在 OA 发生、发展中的作用。

综上所述,本研究通过 CIBERSORT 软件,利用基因表达数据和临床滑膜组织综合分析发现,OA 滑膜组织中 PLCD3 mRNA 高表达,同时幼稚 B 细胞、活化 NK 细胞、M2 巨噬细胞和活化的肥大细胞的比例也相对较高;PLCD3 与这 4 种免疫细胞比例呈正相关;PLCD3 可能是诊断 OA 的关键生物标志物,其可能通过与浸润性免疫细胞的相互作用参与 OA 的发病机制,但本研究结果还需多中心大样本研究进一步证实。

## 参考文献

- [1] ENGLUND M. Osteoarthritis, part of life or a curable disease? A bird's-eye view[J]. *J Intern Med*, 2023, 293(6):681-693.
- [2] GIORGINO R, ALBANO D, FUSCO S, et al. Knee osteoarthritis: epidemiology, pathogenesis, and mesenchymal stem cells; what else is new? An update[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7):6405.
- [3] RICHARD D, CAPELLINI T D, DIEKMAN B O. Epigenetics as a mediator of genetic risk in osteoarthritis: role during development, homeostasis, aging, and disease progression[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2023, 324(5): C1078-C1088.
- [4] CHENG P, GONG S, GUO C, et al. Exploration of effective biomarkers and infiltrating immune cells in osteoarthritis based on bioinformatics analysis[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2023, 51(1):242-254.
- [5] LI J, WANG G, XV X, et al. Identification of immune-associated genes in diagnosing osteoarthritis with metabolic syndrome by integrated bioinformatics analysis and machine learning[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1134412.
- [6] PAN L, YANG F, CAO X, et al. Identification of five hub immune genes and characterization of two immune subtypes of osteoarthritis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14:1144258.
- [7] TAN Z, CHEN R, LIN H, et al. The identification of Immune-related biomarkers for osteoarthritis immunotherapy based on single-cell RNA sequencing analysis[J]. *Genet Res (Camb)*, 2023, 2023:5574636.
- [8] XU J, CHEN K, YU Y, et al. Identification of immune-related risk genes in osteoarthritis based on bioinformatics analysis and machine learning[J]. *J Pers Med*, 2023, 13(2):367.
- [9] 应璞,路通,许岳等. 基于生物信息学挖掘骨关节炎潜在的关键生物标志物[J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44(4):406-411.
- [10] NEDUNCHEZHIAN U, VARUGHESE I, SUN A R, et al. Obesity, inflammation, and immune system in osteoarthritis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:907750.
- [11] WU X, SUN A R, CRAWFORD R, et al. Inhibition of leukotriene a hydrolase suppressed cartilage degradation and synovial inflammation in a mouse model of experimental Osteoarthritis[J]. *Cartilage*, 2023, 21:19476035231169940.
- [12] IULIANO M, SANTILLI V, MINEO A, et al. Inflammatory response modulation by low-dose anti-inflammatory drugs treatment in an in vitro osteoarthritis cellular model[J/OL]. *Curr Med Chem*, 2023. (2023-04-07)[2023-05-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37032507/>.
- [13] BAGGIO C, LUISETTO R, BOSCARO C, et al. Leucocyte abnormalities in synovial fluid of degenerative and inflammatory arthropathies[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6):5450.
- [14] NEES TA, ROSSHIRT N, REINER T, et al. Inflammation and osteoarthritis-related pain[J]. *Schmerz*, 2019, 33(1):4-12.
- [15] DENG Z, ZHANG Q, ZHAO Z, et al. Crosstalk between immune cells and bone cells or chondrocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101(Pt A):108179.
- [16] DENG Y J, REN E H, YUAN W H, et al. GRB10 and E2F3 as diagnostic markers of osteoarthritis and their correlation with immune infiltration[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2020, 10(3):171.
- [17] TRAJEROVA M, KRIEGOVA E, MIKULKOVA Z, et al. Knee osteoarthritis phenotypes based on synovial fluid immune cells correlate with clinical outcome trajectories[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30(12):1583-1592.
- [18] WU C L, HARASYMOWICZ N S, KLIMAK M A, et al. The role of macrophages in osteoarthritis and cartilage repair[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2020, 28(5):544-554.
- [19] WANG W, CHU Y, ZHANG P, et al. Targeting macrophage polarization as a promising therapeutic strategy for



- the treatment of osteoarthritis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 116:109790.
- [20] LIANG C, WU S, XIA G, et al. Engineered M2a macrophages for the treatment of osteoarthritis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1054938.
- [21] KUPPA S S, KIM H K, KANG J Y, et al. Role of mesenchymal stem cells and their paracrine mediators in macrophage polarization: an approach to reduce inflammation in osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21):13016.
- [22] TSUKADA A, TAKATA K, TAKANO S, et al. Increased NMUR1 expression in mast cells in the synovial membrane of obese osteoarthritis patients[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19):11237.
- [23] DE LANGE-BROKAAR B J, KLOPPENBURG M, ANDERSEN S N, et al. Characterization of synovial mast cells in knee osteoarthritis: association with clinical parameters [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(4):664-671.
- [24] LOUCKS A, MAERZ T, HANKENSON K, et al. The multifaceted role of mast cells in joint inflammation and arthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2023, 31(5):567-575.
- [25] ZHAO X, YOUNIS S, SHI H, et al. RNA-seq characterization of histamine-releasing mast cells as potential therapeutic target of osteoarthritis[J]. *Clin Immunol*, 2022, 244:109117.
- [26] COPP G, ROBB K P, VISWANATHAN S. Culture-expanded mesenchymal stromal cell therapy: does it work in knee osteoarthritis? A pathway to clinical success [J]. *Cell Mol Immunol*, 2023, 20(6):626-650.
- [27] PAWELCZYK T, MATECKI A. Phospholipase C-delta3 binds with high specificity to phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and phosphatidic acid in bilayer membranes [J]. *Eur J Biochem*, 1999, 262(2):291-298.
- [28] DOU X L, XIA F D, LI X Y. Circ\_0003747 promotes thyroid cancer progression by sponging miR-338-3p to up-regulate PLCD3 expression[J]. *Epigenetics*, 2023, 18(1):2210339.
- [29] NAKAMURA Y, KANEMARU K, KOJIMA R, et al. Simultaneous loss of phospholipase Cδ1 and phospholipase Cδ3 causes cardiomyocyte apoptosis and cardiomyopathy[J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(5):e1215.
- [30] HU H, YIN Y, JIANG B, et al. Cuproptosis signature and PLCD3 predicts immune infiltration and drug responses in osteosarcoma[J]. *Front Oncol*, 2023, 13:1156455.
- (收稿日期:2023-06-15 修回日期:2023-09-02)
- 
- (上接第 207 页)
- [7] 朱子煜. 神经元特异性烯醇化酶、D-二聚体、纤维蛋白原降解产物、细胞色素 C 对脑出血患者的临床评价价值 [J]. *医学理论与实践*, 2022, 35(2):307-309.
- [8] 邹永妮, 杨健, 马云峰. 血清细胞角蛋白 19 片段抗原 21-1、神经元特异性烯醇化酶在结肠癌中的表达情况及与预后的关系 [J]. *癌症进展*, 2021, 19(21):2189-2191.
- [9] 谭宝东, 崔连旭, 陆大鸿, 等. 中枢神经特异蛋白 S-100β 在慢性硬膜下血肿术后的临床意义 [J]. *癫痫与神经电生理学杂志*, 2021, 30(6):338-342.
- [10] 葛均波, 徐永健. *内科学* [M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [11] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014 [J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4):246-257.
- [12] 刘恒, 郭春英, 刘永健. 急性一氧化碳中毒患者早期检测 BIS、sST2、Copeptin 的临床价值 [J]. *中国急救复苏与灾害医学杂志*, 2021, 16(9):1024-1027.
- [13] 陈玉昆, 滕佳岐. HR-MRI, 3D-ASL 综合评价 ACI 患者 MCA 重构、斑块特征及脑灌注水平的变化及其意义 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2022, 21(17):1887-1890.
- [14] SIDDIQUI M K, SMITH G, ST JEAN P, et al. Diabetes status modifies the long-term effect of lipoprotein-associated phospholipase A2 on major coronary events [J]. *Diabetologia*, 2022, 65(1):101-112.
- [15] 龚翠兰. 脑梗死患者血清 LP-PLA2 和 Hey 水平与临床神经功能缺损程度评的相关性分析 [J]. *医学食疗与健康*, 2021, 19(2):195-196.
- [16] MÜLLER J, BISSMANN B, BECKER C, et al. Neuron-specific enolase (NSE) predicts long-term mortality in adult patients after cardiac arrest: results from a prospective Trial [J]. *Medicines (Basel)*, 2021, 8(11):72.
- [17] 冯飙, 顾正华. 血清 S100β, NSE, BDNF, Hey 水平联合检测对 ACI 预后不良的预测价值 [J]. *心血管康复医学杂志*, 2022, 31(5):556-561.
- [18] ZHENG L, FAN Q M, WEI Z Y. Serum S-100β and NSE levels after off-pump versus on-pump coronary artery bypass graft surgery [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2015, 15:70.
- [19] LI K, JIA J, WANG Z, et al. Elevated serum levels of NSE and S-100β correlate with increased risk of acute cerebral infarction in Asian populations [J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21:1879-1888.
- (收稿日期:2023-04-15 修回日期:2023-11-02)