·论　　著·

高毒力肺炎克雷伯菌的临床特征及分子流行病学研究

幸　运，袁其米，覃晓宇，鲁卫平，李　进，唐　霜△
中国人民解放军陆军特色医学中心检验科，重庆 400042

摘　要：目的　探讨高毒力肺炎克雷伯菌的临床特征及分子流行病学研究。**方法**　收集 2021 年 1—3 月该院临床分离的肺炎克雷伯菌 145 株，采用拉丝实验对高毒力肺炎克雷伯菌进行初筛，并将初筛阳性菌株的 DNA 作为模板，分别对毒力基因 peg-344、peg-589、iroB、iucA、terB、c-rmpA、p-rmpA 和 p-rmpA2 等进行常规 PCR 扩增和琼脂糖凝胶电泳，检测高毒力肺炎克雷伯菌毒力基因的携带情况，并通过 WHONET 5.6 软件对菌株的临床分布和耐药特征进行统计分析。**结果**　收集的 145 株菌种中初筛阳性的高毒力肺炎克雷伯菌 56 株，阳性率为 38.62%(56/145)。56 株初筛阳性菌株中，iucA 基因阳性菌 53 株(94.64%)，iroB 基因阳性菌 54 株(96.42%)，terB 基因阳性菌 51 株(91.07%)，peg-344 基因阳性菌 55 株(98.21%)，peg-589 基因阳性菌 51 株(91.07%)，p-rmpA 基因阳性菌 51 株(91.07%)，p-rmpA2 基因阳性菌 51 株(91.07%)，c-rmpA 基因阳性菌仅有 4 株(7.14%)。145 株菌株标本主要分离自痰液，菌株来源最多科室是重症监护室。高毒力肺炎克雷伯菌对 11 种常用抗菌药物的耐药率均显著低于经典肺炎克雷伯菌。**结论**　高毒力肺炎克雷伯菌的临床分布广泛，对临床上常用的抗菌药物均较敏感，毒力基因 peg-344、peg-589、iroB、iucA、terB、p-rmpA 和 p-rmpA2 是引起高毒力肺炎克雷伯菌的主要原因，临床应加强对高毒力肺炎克雷伯菌的检测和监控，制定合理有效的感染控制措施，最大限度阻止高毒力肺炎克雷伯菌的播散。

关键词：高毒力肺炎克雷伯菌；　抗菌药物；　临床特征
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2023.16.013　　**中图法分类号：**R446.5
文章编号：1673-4130(2023)16-1979-05　　**文献标志码：**A

Clinical characteristics and molecular epidemiology of hypervirulent Klebsiella pneumoniae

XING Yun, YUAN Qimi, QIN Xiaoyu, LU Weiping, LI Jin, TANG Shuang△
Department of Clinical Laboratory, Army Medical Center of the PLA, Chongqing 400042, *China*

Abstract: Objective　To investigate the clinical characteristics and molecular epidemiology of hypervirulent Klebsiella pneumoniae. **Methods**　145 strains of Klebsiella pneumoniae clinically isolated in a hospital from January to March 2021 were collected, and the DNA of the highly virulent strains was used for preliminary screening, and the DNA of the initially screened positive strains was used as a template to perform routine PCR amplification and agarose gel electrophoresis for the virulence genes peg-344, peg-589, iroB, iucA, terB, c-rmpA, p-rmpA and p-rmpA2, respectively. The carrying of virulence genes of Klebsiella hypervirulence pneumoniae was detected, and the clinical distribution and resistance characteristics of strains were statistically analyzed by WHONET 5.6 software. **Results**　Among the 145 strains collected, 56 strains of hypervirulent Klebsiella pneumoniae were positive for preliminary screening, the positive rate was 38.62% (56/145). Among the 56 positive strains, 53 strains (94.64%) were iucA gene positive, 54 strains (96.42%) were iroB gene positive, 51 strains (91.07%) were terB gene positive, and 55 strains (98.21%) were peg-344 gene positive. There were 51 strains (91.07%) positive for peg-589 gene, 51 strains (91.07%) positive for p-rmpA gene, 51 strains (91.07%) positive for p-rmpA2 gene, and only 4 strains (7.14%) positive for c-rmpA gene. The 145 strains were mainly isolated from sputum, and most of them came from intensive care unit. The resistance rate of hypervirulent Klebsiella pneumoniae to 11 commonly used antibiotics was significantly lower than that of classical Klebsiella pneumoniae. **Conclusion**　The clinical distribution of Klebsiella pneumoniae is widely distributed, and the antibacterial drugs commonly used in clinical practice are more sensitive, the virulence genes peg-344, peg-589, iroB, iucA, terB, p-rmpA and p-rmpA2 are the main causes of the high virulence of Klebsiella pneumoniae, and the clinical department should strengthen the detection and monitoring of Klebsiella pneumoniae with high virulence, and formulate reasonable and effective infection control measures to

作者简介：幸运，男，主管技师，主要从事临床微生物方面研究。　△　**通信作者**，E-mail：452830273@qq.com。

prevent the spread of Klebsiella pneumoniae with high virulence to the greatest extent.

Key words: hypervirulent Klebsiella pneumoniae; antibacterial drugs; clinical characteristics

肺炎克雷伯菌是医院及社区感染的重要条件致病菌，也是我国肠杆科细菌中排名第二的条件致病菌，近年来耐药性也不断上升[1]。在 20 世纪 90 年代，有研究报道了一种独特的社区获得性、组织侵袭性肺炎克雷伯菌感染的临床综合征，主要表现为化脓性肝脓肿，感染灶可出现在多个部位并可能发生转移性传播[2]，临床上，该菌相比于经典肺炎克雷伯菌，感染性更强、转移程度更高、预后也较差，因此将其定义为高毒力肺炎克雷伯菌。高毒力肺炎克雷伯菌感染特征是其主要是社区获得性的，能感染任何年龄的健康个体，对抗菌药物敏感，且倾向于在感染后发生转移[3]，肺炎克雷伯菌在高毒力和多重耐药基因上并没有重叠[4]，即高毒力不一定高耐药。但随着抗菌药物的广泛使用及耐药质粒的传播，高毒力肺炎克雷伯菌耐药性不断提高，逐渐出现了碳青霉烯的耐药株，给临床治疗带来了极大的挑战，相关数据显示高毒力肺炎克雷伯菌可能正在逐渐代替经典肺炎克雷伯菌成为临床主要的致病类型[5]。因此，亟待进一步提高治疗质量，快速做出诊断，为临床治疗提供帮助，现报道如下。

1 材料与方法

1.1 标本来源 收集 2021 年 1—3 月本院住院及门诊 132 名患者临床分离的肺炎克雷伯菌 145 株，根据临床资料剔除同一患者同一部位菌种，其中高毒力肺炎克雷伯菌 56 株，经典肺炎克雷伯菌 89 株。患者主要为中老年人，50 岁以上患者人数 116 人（占 80.0%），最小患者年龄为 11 岁。

1.2 仪器与试剂 台式高速冷冻离心机（Thermo Fisher Scientific 公司，型号 ST8R）、IKA 干浴锅、混匀器（型号 Votex3）、赛多利斯电子天秤（型号 BSA223S）、PCR 仪（Applied Biosystems 公司，型号 2720）、BIO-RAD 化学发光成像系统（型号 ChemiDoc XRS+）、BIO-RAD 电泳仪。引物由北京六合华大基因有限公司合成，其他试剂包括核酸染料（北京鼎盛生物有限公司）、BBI 琼脂糖粉、DL2000 DNA 标志物、GoTaq® Green Master Mix、无菌水。

1.3 方法

1.3.1 细菌核酸提取 145 株细菌转种血平板，37 ℃培养 24 h 后，选取拉丝试验阳性的菌种；即用接种环在血平板上垂直向上挑起 1～2 个菌苔，若有拉丝，其拉丝长度≥5 mm 的菌种为拉丝试验阳性[6]。本实验提取核酸的方法是煮沸法。用接种环刮取 1～2 环菌苔加入约 150 μL 无菌水中，混匀，100 ℃煮沸 10 min，及时取出，在 12 000 r/min，4 ℃离心 10 min，分离取出上清，提取的核酸－20 ℃保存备用。

1.3.2 细菌核酸扩增 本实验采用 PCR 对细菌核酸进行扩增。PCR 设置条件：95 ℃预变性 2 min，72 ℃变性 15 s，55 ℃退火 15 s，30 次循环，72 ℃延伸 5 min，4 ℃保持。PCR 反应体系：总体积 25.0 μL，2×TaqFrogga Mix 12.5 μL，上游引物 1.0 μL，下游引物 1.0 μL，DNA 模板 1.5 μL，无菌水 9.0 μL。本实验各引物、产物长度和 PCR 条件见表 1。

1.3.3 琼脂糖凝胶电泳 缓冲液为 0.5×TBE，琼脂凝胶配比为 0.5 g 琼脂糖粉加入到 50 mL 预配缓冲液，在微波炉中加热，每分钟旋转 1 次，直至琼脂糖完全溶解。冷却一段时间后向其中加入核酸染料 0.5 μL，轻轻混匀，避免产生气泡。冷却至 60 ℃，准备好凝胶托盘以倒入凝胶，使其在凝固前不会流出，将梳子置于凹槽中，并将托盘置于平坦水平位置。慢慢倒入琼脂糖溶液，使其均匀地分布在托盘内，在室温下固化。取出梳子，将凝胶转移到电泳槽，加入 0.5×TBE 缓冲液，直到凝胶被缓冲液覆盖。用移液枪将扩增产物及 DNA 标志物加入孔中，上样量均为 0.5 μL，盖上电泳槽盖，连接电源，调整电压 120 V，电泳时间为 30 min。电泳完毕将凝胶转移至凝胶成像仪，获取凝胶图像，DNA 标志物及阳性样本可显示有亮带。

表 1 各基因引物、产物大小、PCR 反应条件

基因	引物	扩增产物大小(bp)	退火温度(℃)	延长时间(s)
iucA	F1：AATCAATGGCTATTCCCGCTG			
	R1：CGCTTCACTTCTTTCACTGACAGG	239	59	30
iroB	F1：ATCTCATCATCTACCCTCCGCTC			
	R1：GGTTCGCCGTCGTTTTCAA	235	59	30
terB	F1：TATCGCTGTTGCCAGTGAC			
	R1：CGGACAGCACTCTTCTCATC	288	59	30
peg-344	F1：CTTGAAACTATCCCTCCAGTC			
	R1：CCAGCGAAAGAATAACCCC	508	53	40

续表 1　各基因引物、产物大小、PCR 反应条件

基因	引物	扩增产物大小(bp)	退火温度(℃)	延长时间(s)
peg-589	F1:TGAACCCCTGAAGGTCTATC			
	R2:GTGATGAATAAACTACTGCGGC	236	55	30
p-rmpA	F:GAGTAGTTAATAAATCAATAGCAAT			
	R:CAGTAGGCATTGCAGCA	332	50	40
p-rmpA2	F:GTGCAATAAGGATGTTACATTA			
	R:GGATGCCCTCCTCCTG	430	50	40
c-rmpA	F:GTAATAGAGATATAAATATCATATTGA			
	R:CATCTTTCATCAACCATTTC	588	50	60

1.4 统计学处理　采用 WHONET 5.6 软件对菌株的临床分布和耐药特征进行统计分析。

2 结　果

2.1 高毒力肺炎克雷伯菌毒力基因阳性率比较　收集的 145 株菌种中初筛阳性的高毒力肺炎克雷伯菌 56 株，阳性率为 38.62%(56/145)，经典肺炎克雷伯菌 89 株经典肺炎克雷伯菌，阳性率为 61.38%(89/145)。对 56 株初筛阳性的高毒力肺炎克雷伯菌核酸扩增和凝胶电泳，检测结果显示，56 株初筛阳性菌株中，iucA 基因阳性菌 53 株(94.64%)，iroB 基因阳性菌 54 株(96.42%)，terB 基因阳性菌 51 株(91.07%)，peg-344 基因阳性菌 55 株(98.21%)，peg-589 基因阳性菌 51 株(91.07%)，p-rmpA 基因阳性菌 51 株(91.07%)，p-rmpA2 基因阳性菌 51 株(91.07%)，c-rmpA 基因阳性菌仅有 4 株(7.14%)。除 c-rmpA 外，其余高毒力肺炎克雷伯菌毒力基因阳性率均在 90% 以上，peg-344 阳性率最高，为 98.21%。同一基因两种引物的结果相关性也较为明显，见图 1。

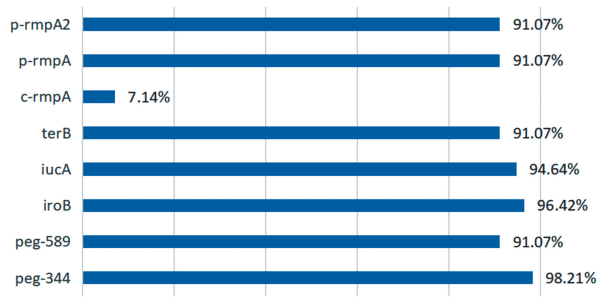

图 1　高毒力肺炎克雷伯菌毒力基因阳性率比较

2.2 菌株标本来源　145 株菌株标本主要分离自痰液 91 株，其次为尿液 15 株、血液 12 株、分泌物 8 株、脓液 7 株、灌洗液 6 株、胆汁 3 株、腹水 2 株、脑脊液 1 株。

2.3 菌株感染患者年龄段分布　145 株菌株感染患者年龄分布依次为 11～<20 岁 1 人(占 0.69%)，20～<30 岁 6 人(占 4.14%)，30～<40 岁 8 人(占 5.51%)，40～<50 岁 14 人(占 9.66%)，50～<60 岁 35 人(占 24.14%)，60～<70 岁 44 人(占 30.34%)，70～<80 岁 27 人(占 18.62%)，80～<90 岁 5 人(占 3.45%)，≥90 岁 5 人(占 3.45%)，其中 60～<70 岁患者人数最多，11～<20 岁患者人数最少，50 岁以上患者人数明显增多。

2.4 菌株来源科室分布情况　145 株菌株来源于 24 个科室，菌株来源最多科室是重症监护室，其次是神经外科、神内科监护室和胸外科。见表 2。

表 2　菌株来源科室分布情况

科室	菌株(*n*)	占比(%)
重症监护室	41	28.28
神经外科	23	15.86
神内科监护室	12	8.28
胸外科	12	8.28
肝胆外科	9	6.21
呼吸内科	9	6.21
创伤外科	6	4.14
肿瘤科	6	4.14
耳喉外科二	3	2.07
泌尿外科	3	2.07
心外科重症病房	2	1.38
呼吸科重症病房	2	1.38
颌面头颈外科门诊	2	1.38
急诊内科	2	1.38
神经内科	2	1.38
肾脏内科	2	1.38
心内科	2	1.38
体检中心病房	1	0.69
妇科	1	0.69
脊柱外科	1	0.69
皮肤科	1	0.69
胃结肠直肠肛门外科	1	0.69
消化内科	1	0.69
血液科	1	0.69

2.5　经典肺炎克雷伯菌与高毒力肺炎克雷伯菌耐药率比较　89 株经典肺炎克雷伯菌与 56 株高毒力肺炎克雷伯菌耐药性分析见表 3。克雷伯菌属对氨苄西林和替卡西林天然耐药，因此未在表 3 中列出。

表 3　经典肺炎克雷伯菌与高毒力肺炎克雷伯菌耐药率比较[n(%)]

抗菌药物	高毒力肺炎克雷伯菌(n=56)	经典肺炎克雷伯菌(n=89)
环丙沙星	8(14.3)	34(38.2)
头孢曲松	11(19.6)	40(44.9)
庆大霉素	8(14.3)	28(31.5)
氨曲南	8(14.3)	28(31.5)
左氧氟沙星	8(14.3)	26(29.2)
头孢他啶	10(17.9)	28(31.5)
头孢吡肟	6(10.7)	38(42.7)
头孢替坦	10(17.9)	44(49.4)
哌拉西林/他唑巴坦	7(12.5)	32(36.0)
亚胺培南	2(3.6)	24(27.0)
阿米卡星	2(3.6)	18(20.2)

3　讨　论

高毒力肺炎克雷伯菌已经被报道多年，但高毒力肺炎克雷伯菌并无统一明确的定义，在对其进行划分时也有多种不同的分类方法，目前分类方法如下：(1)基于临床特征的分类，即造成严重感染如肝脓肿、脑膜炎、肺炎等；(2)基于细菌学表型的分类，高毒力肺炎克雷伯菌的细菌学特征之一是其具有高黏液表型[7]，这种特征表现在拉丝试验阳性，即用用接种环竖直向上轻轻挑起单个菌落，若挑起的黏液丝长度≥5 mm，则为拉丝试验阳性，称其为具有高黏液表型，在血琼脂平板上，高毒力肺炎克雷伯菌通常呈高黏稠性，并与邻近菌株相互融合[8]，但其在发病率低的地区，高黏液表型的特异性并不高，因此学者们更多地把它作为一种初筛方法，也是最为简便的方法；(3)基于细菌标志物的定义，研究发现高毒力肺炎克雷伯菌存在一种毒力质粒 PLVPK，可编码一系列毒力相关因子，缺乏该质粒可导致高毒力肺炎克雷伯菌菌株毒力降低[9]，可用于分类高毒力肺炎克雷伯菌，但对于怎么进行分类，用哪些毒力基因进行分类，尚无明确定义，不过针对此分类，可以用于研究快速检测高毒力肺炎克雷伯菌核酸的方法，可以不需借助临床特征判断是否是高毒力肺炎克雷伯菌，应用范围较广[10]。

目前研究发现，高毒力肺炎克雷伯菌相对于经典肺炎克雷伯菌，具有更强的毒力和致病力，高毒力肺炎克雷伯菌在全球范围内都有病例出现[11]。冯相铭等[12]对广东省 102 株肺炎克雷伯菌临床分离株病原特征分析发现，47.06%为高毒力肺炎克雷伯菌。有研究报道，导致患者血流感染、肺部感染及腹腔感染的 230 株肺炎克雷伯菌的多中心研究发现，37.8%为高毒力肺炎克雷伯菌[13]。本院初筛阳性的高毒力肺炎克雷伯菌 56 株，阳性率为 38.62%，与上述报道比例吻合。

89 株经典肺炎克雷伯菌与 56 株高毒力肺炎克雷伯菌耐药性分析结果显示，两者对 β-内酰胺类、喹诺酮类、氨基糖苷类耐药性较高；具体比较而言，氨基糖苷类(庆大霉素)的耐药率(14.6% *vs*. 31.5%)；喹诺酮类(左氧氟沙星)的耐药率(14.3% *vs*. 29.2%)；头孢类的耐药率[头孢他啶(17.9% *vs*. 31.5%)、头孢曲松(19.6% *vs*. 44.9%)、头孢吡肟(10.7% *vs*. 42.7%)]。高毒力肺炎克雷伯菌与经典肺炎克雷伯菌对碳青霉烯类(亚胺培南)抗菌药物较为敏感，耐药率分别为 3.6%和 27.0%，可以看出此类抗菌药物高毒力肺炎克雷伯菌耐药率明显较低。2021 年全国细菌耐药监测网数据显示肺炎克雷伯菌对亚胺培南耐药率为 23.4%[14]，与此数据比较，本院肺炎克雷伯菌对亚胺培南的耐药率 17.9%(26/145)低于相关报道结果，这与本院结合病情合理利用抗菌药物，以及采取限制超广谱抗菌药物的经验用药等策略有关。

本研究结果显示，50 岁以上患者人数明显增多，可以认为中老年人更容易感染肺炎克雷伯菌，而且菌株来源最多科室是重症监护室，肺炎克雷伯菌在重症患者中更为常见，可能与患者收治时间长、病情危重，抗菌药物使用的剂量较大相关；而患者标本的采集部位，62.76%来自痰液，痰液是相对简便的采集标本的方式，对于细菌检查十分重要，痰液标本占比较高也说明与肺炎克雷伯菌定植呼吸道有关[15]。

虽然有研究表明，肺炎克雷伯菌多重耐药与高毒力并不存在联系，即高毒力肺炎克雷伯菌虽然具有高致病力但对抗菌药物的耐药性并不高，推测有可能是因高毒力肺炎克雷伯菌菌株不能获得相关的耐药质粒，或者某些耐药基因在菌株转变为高毒力菌株过程中丢失[16]；经典肺炎克雷伯菌致病力相对不高，但因其耐药基因携带率高使得对抗菌药物敏感的概率增加，但随着抗菌药物的不断使用和耐药质粒的传播，高毒力肺炎克雷伯菌的耐药性不断提高，多重耐药在高毒力肺炎克雷伯菌中也有病例出现。有研究报道，碳青霉烯类抗菌药物是临床治疗多重耐药菌的重要手段，但随着抗菌药物的不合理使用，肺炎克雷伯菌对多种抗菌药物均出现了耐药[17]。因此，如何应对耐药性的提高，提高治疗质量和效率，如何合理的用药，对临床已经成为新的挑战。由于本研究的菌株数并不大，所得结果可能存在局限性和偶然性，后续可以收集更多样本进行进一步研究，也可以据毒力基因的检测对现有检测方法做出改进，提供更快速灵敏的检

测方式。

综上所述，高毒力肺炎克雷伯菌在本院肺炎克雷伯菌的中比例并不低，数据也提示 50 岁以上中老年人感染肺炎克雷伯菌概率更大，并且重症患者中分离出的肺炎克雷伯菌比例较高，因此及时就诊治疗是预防高毒力肺炎克雷伯菌感染转移、病情加剧的重要方式。

参考文献

[1] 张可依，陶传敏. 高毒力肺炎克雷伯菌的定义和毒力相关因素研究进展[J]. 四川医学，2021，42(1)：86-92.

[2] 黄韵，李从荣. 高毒力肺炎克雷伯菌研究进展[J]. 检验医学，2021，36(11)：1181-1185.

[3] RUSSO T A，MARRA C M. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae[J]. Clin Microbiol Rev，2019，32(3)：1-19.

[4] 郑茂，袁成良，鄂建飞，等. 高毒力肺炎克雷伯菌实验室鉴定方法的研究进展[J]. 中国抗生素杂志，2022，47(8)：772-778.

[5] LIU C，DU P，XIAO N，et al. Klebsiella pneumoniae hypervirulent is emerging as an increasingly prevalent pathotype responsible for nosocomial and healthcare-associated infections in Beijing，China[J]. Virulence，2020，11(1)：1215-1224.

[6] 李小丽，邱世洁，范晓怡，等. 2017－2019 年我院高毒力肺炎克雷伯菌毒力基因的分子流行特征[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版)，2021，42(4)：397-405.

[7] 孙运芳，沈定霞. 高毒力肺炎克雷伯菌的实验室检测标志[J]. 临床检验杂志，2016，34(9)：677-678.

[8] 徐琴. 高毒力肺炎克雷伯菌的临床研究进展[J]. 抗感染药学，2022，19(1)：1-4.

[9] LIN A C，LIAO T L，LIN Y C，et al. Complete genome sequence of Kleb-siella pneumoniae 1084，a hypermucoviscosity-negative K1 clinical strain[J]. J Bacteriol，2012，194(22)：6316.

[10] RUSSO T A，OLSON R，FANG C T，et al. Identification of biomarkers for differentiation of hypervirulent Klebsiella pneumoniae from classical K. pneumoniae[J]. J Clin Microbiol，2018，56(9)：e00776.

[11] MARR C M，RUSSO T A. Hypervirulent Klebsiella pneumoniae：a new public health threat[J]. Expert Rev Anti Infect Ther，2019，17(2)：71-73.

[12] 冯相铭，李柏生，陈嘉琳，等. 广东省肺炎克雷伯菌临床分离株病原特征分析[J]. 中国抗生素杂志，2020，45(10)：109-115.

[13] 吕承秀，王飞，杨玉丹，等. 某三甲医院肺炎克雷伯菌毒力基因分布、耐药性及患者临床特征分析[J]. 国外医药(抗生素分册)，2022，43(2)：125-129.

[14] 全国细菌耐药监测网. 全国细菌耐药监测网 2014－2019 年细菌耐药性监测报告[J]. 中国感染控制杂志，2021，20(1)：15-31.

[15] 李耘，吕媛，郑波，等. 中国细菌耐药监测研究 2017－2018 年革兰氏阴性菌监测报告[J]. 中国临床药理学杂志，2019，35(19)：2508-2528.

[16] 陈辞言，杜艳. 高毒力肺炎克雷伯菌研究进展[J]. 中华实验和临床感染病杂志，2019，13(2)：89-92.

[17] 荣芳，吴峰，周俊，等. 耐碳青霉烯类肺炎克雷伯菌对替加环素的耐药机制研究进展[J]. 实用临床医药杂志，2021，26(9)：134-138.

(收稿日期：2022-08-30　修回日期：2023-07-06)

(上接第 1978 页)

[9] 张辉，吴秋歌，张坤，等. T 淋巴细胞亚群、MMP9、MMP2 在原发性肺癌中的表达及临床意义[J]. 癌症进展，2020，18(3)：245-248.

[10] 牛越，石晓宇. 外周血淋巴细胞亚群检测在肺癌患者临床评估及辅助治疗中的意义[J]. 实用癌症杂志，2019，34(5)：785-787.

[11] 李爱杰，刘超，贺科文，等. 非小细胞肺癌患者外周血淋巴细胞亚群水平检测临床意义[J]. 中华肿瘤防治杂志，2020，27(9)：74-78.

[12] LEE P H，YANG T Y，CHEN K C，et al. Higher CD4/CD8 ratio of pleural effusion predicts better survival for lung cancer patients receiving immune checkpoint inhibitors[J]. Sci Rep，2021，11(1)：9381.

[13] 赵美淇，崔英，梁新强，等. 肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞比例检测的临床意义[J]. 中国实验诊断学，2019，23(3)：381-384.

[14] 吴红波，穆晓倩，吴慧娟，等. 肺癌患者多周期化疗中淋巴细胞亚群数量及 T 细胞表面共抑制分子的动态表达研究[J]. 癌症进展，2020，18(10)：49-52.

[15] 张丽英，傅冠华，吴俊琪. 4 项血清肿瘤标志物在肺癌辅助诊断和疗效评估中的价值[J]. 检验医学，2019，34(4)：55-58.

[16] LI Y，TIAN X，GAO L，et al. Clinical significance of circulating tumor cells and tumor markers in the diagnosis of lung cancer[J]. Cancer Med，2019，8(8)：3782-3792.

[17] 罗娟，李嵘，黄春梅，等. 培美曲塞二钠联合顺铂治疗晚期肺腺癌的疗效及对血清 CYFRA21-1 CA125 CEA 的影响[J]. 河北医学，2019，25(5)：747-751.

[18] 郑轩，胡毅. 晚期非小细胞肺癌患者抗 PD-1 治疗前后血清 TNF-α 水平变化与疗效的关系[J]. 解放军医学院学报，2019，40(3)：231-234.

[19] 姚力僕，唐友东. 血清中 PD-1、TPS 与 Ferritin 水平联合检测在非小胞肺癌诊断中的价值[J]. 标记免疫分析与临床，2019，26(4)：662-666.

[20] 高锋，钱文霞，冯一中. 非小细胞肺癌中 TIM-3，PD-1，PD-L1 的表达与临床意义[J]. 海南医学，2019，30(2)：24-28.

(收稿日期：2022-11-16　修回日期：2023-07-30)