

精子 DNA 碎片指数(DFI)与体外受精结局的多因素 Logistic 回归分析*

梁晓东,莫淦文,纪 鹏,沈炳连,廖勇彬 (江门市中心医院生殖医学诊疗中心,广东江门 529000)

摘要:目的 探讨精子 DNA 完整性与体外受精结局的关系。方法 回顾分析 2011~2018 年 35 岁以下卵巢储备功能良好并使用标准长方案的共 3 576 个体外受精(IVF)/补救性单精子卵浆内注射(R-ICSI)周期的资料,根据男方精子 DNA 碎片指数(DFI)检测值分为 $<20\%$ 、 $20\%\sim 30\%$ 、 $30\%\sim 40\%$ 和 $\geq 40\%$ 共四组,分析比较各组的女方平均年龄、体重指数、基础激素水平及 IVF 总受精率、R-ICSI 周期的比例和 R-ICSI 受精率等指标,并且采用 Logistic 多因素回归模型分析体外受精结局与 DFI 之间的关系及找出相关的伴随因素。结果 四组的 IVF/R-ICSI 周期数分别为 2 516,601,295 和 164 个,女方平均年龄分别为 31.88,31.72,31.56 和 31.18 岁;平均体重指数分别为 21.72,21.74,21.64 和 21.43 kg/m²;血清平均基础卵泡刺激素(FSH)水平分别为 6.10,6.24,6.15 和 5.86 U/L;R-ICSI 周期的比例分别为 11.8%,11.5%,16.9%和 22.0%;IVF 总受精率分别为 74.4%,74.6%,70.0%和 64.7%。其中女方年龄、体重指数和基础 FSH 水平组间比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。而 IVF 总受精率随着 DFI 的升高呈现逐渐下降趋势($P<0.05$),使用 R-ICSI 的周期数和卵子数占比则呈现逐渐上升的趋势($P<0.05$)。用 Logistic 多因素回归模型分析发生低受精率相关风险因素中,精子 DFI 的 OR 值为 1.013(95%可信区间:1.004~1.023, $P<0.05$),提示精子 DFI 越高,发生受精率降低的风险逐渐升高。结论 精子 DFI 是常规体外受精过程中的一个重要的负面影响因素。

关键词: DNA 碎片指数;个体外受精受精率;Logistic 回归

中图分类号:R446.19 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2019)05-059-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2019.05.015

Multivariate Logistic Regression Analysis of Sperm DNA Fragment Index (DFI) and Outcome in Vitro Fertilization

LIANG Xiao-dong, MO Gan-wen, JI Peng, SHEN Bing-lian, LIAO Yong-bin

(Reproductive Medicine Center, Jiangmen Central Hospital, Guangdong Jiangmen 529000, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between sperm DNA integrity and outcome in vitro fertilization. **Methods**

The data of 3 576 in vitro fertilization (IVF)/rescue intracytoplasmic sperm injection (R-ICSI) cycles with good ovarian reserve function under 35 years old from 2011 to 2018 were retrospectively analyzed. According to the male sperm DNA fragmentation index (DFI) detection values, the four groups were divided into $<20\%$, $20\%\sim 30\%$, $30\%\sim 40\%$ and $\geq 40\%$. The average age, body weight index of women, basal hormone level in serum and IVF total fertilization rate, R-ICSI cycle ratio and R-ICSI in each group were analyzed and compared. Logistic multivariate regression model was used to analyze the relationship between IVF outcomes and DFI and find out the associated factors. **Results** The number of IVF/R-ICSI cycles in the four groups were 2 516, 601, 295 and 164, respectively. The average age of the women were 31.88, 31.72, 31.56 and 31.18 years, respectively. The average body mass index was 21.72, 21.74, 21.64 and 21.43 kg/m², respectively. The average level of serum basic follicle stimulating hormone (FSH) was 6.10, 6.24, 6.15 and 5.86 U/L, respectively. The proportion of R-ICSI cycles was 11.8%, 11.5% and 16.9%, respectively, and the total fertilization rates of IVF were 74.4%, 74.6%, 70.0% and 64.7%, respectively. There was no significant difference in age, BMI and baseline FSH level between groups ($P>0.05$). The total fertilization rate of IVF decreased gradually with the increase of DFI ($P<0.05$), while the cycle number and the proportion of eggs using R-ICSI increased gradually ($P<0.05$). The OR value of sperm DFI was 1.013 (95% confidence interval: 1.004~1.023, $P<0.05$), which indicated that the higher the sperm DFI, the higher the risk of fertilization rate decreasing. **Conclusion** Sperm DFI is an important negative factor in the process of conventional in vitro fertilization.

Keywords: DNA fragmentation index; in vitro fertilization fertilization rate; logistic regression model

随着辅助生殖技术的发展,体外受精(IVF)技术已经得到了广泛的应用,为不孕不育患者找到了孕育生命的希望。在体外条件下使精子和卵子结

合受精形成受精卵,是孕育胚胎成功的第一步,也是较为关键的一步。然而,有不少患者夫妇在常规 IVF 后,仍然没有能够使精子和卵子结合受精,其

* 作者简介:梁晓东(1983—),男,硕士研究生,主管技师,主要研究方向为生殖医学技术,E-mail:229290147@qq.com。

通讯作者:廖勇彬,男,主任医师,医学博士,主要从事男性疾病的诊断与治疗,E-mail:836944528@qq.com。

中所发生的病理机制至今依然不太明确,极大地困扰着患者和医务人员。虽然单精子卵浆内注射(ICSI)技术能一定程度上解决IVF失败的问题,但是这项技术却带来子代安全性的风险。因此探讨IVF失败原因及风险因素,至今依然具有重要的现实意义。目前已知这些风险因素除了卵子因素^[1]以外,也存在精子因素,其中,精子DNA碎片与IVF受精率之间的关系受到学界的关注,然而研究结论却大相径庭,有学者认为造成这些研究结论不同的原因主要是纳入研究对象时女方基础条件特别是年龄因素和卵巢储备能力对研究结果造成的影响^[2]。的确患者自身或者在超促排卵过程中某些原因可能引起卵母细胞成熟度下降,卵子透明带还没有发育成熟,使精卵结合能力下降,可能也会对IVF结局产生影响,也是不容忽视的因素。而Logistic多因素分析模型可筛选出一些疾病的危险因素并且可说明变量间的相互影响,因此可考虑用其来分析影响IVF结局的各个因素,从而找到精子DNA碎片对IVF结局的实际作用或影响。本文将对此进行探讨。

1 材料与方法

1.1 研究对象 回顾分析2011~2018年在我中心进行体外受精(IVF)/补救性单精子卵浆内注射(R-ICSI)周期治疗的患者夫妇资料。纳入标准:①受精方式包括常规IVF和R-ICSI;②女方年龄≤35岁;③采用标准长方案治疗的周期。排除标准:①经皮附睾/睾丸穿刺取精(PESA/TESA)周期;②女方卵巢储备功能低下:参照ZHANG等^[3]对卵巢储备功能低下的定义标准:基础窦卵泡数<5,或者基础卵泡刺激素>10 U/L,或者曾经出现在前一个卵巢刺激周期获卵数<5的卵巢低反应史;③卵母细胞冷冻周期。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 试剂:精子染色质结构分析试验(SCSA)试剂盒购自深圳华康生物有限公司;密度梯度离心液PureCeption™(40/80)(REF ART-2040, ART-2080),精子培养液Quinn's HTF medium(REF ART-1020),卵子冲洗液HTF-HEPES购自CooperSurgical公司;聚乙烯吡咯烷酮(PVP)购自Vitrolife公司。

1.2.2 仪器:NovoCyte流式细胞仪购自艾森生物科技有限公司,ICSI显微注射针购自澳大利亚TPC公司,显微操作系统NT88-V3来自于日本尼康公司。

1.3 方法

1.3.1 促排卵方案:在促排卵的前1个月经周期的黄体中期开始用促性腺释放激素激动剂(Gn-

RH-a)进行降调。用GnRH-a后16~20天,达到降调标准后使用促性腺激素(Gn)启动,同时B超监测卵泡发育以及测量血清卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌二醇(E2)和孕酮(P)水平。当至少1个卵泡直径达18 mm或至少3个卵泡直径达17 mm时,注射人绒毛膜促性腺激素(HCG)。注射HCG后34~36 h取卵。

1.3.2 精液采集及处理:男方禁欲3~5天,取卵日用手淫法收集精液,参照WHO第五版标准操作规程进行精子浓度、活力及形态分析。使用上游法或密度梯度离心法分离优选精子。

1.3.3 体外受精和胚胎培养:取卵术得到的卵丘复合物经过冲洗和洗涤后,收集并置于受精滴中,观察其形态以初步判断卵子成熟度。向受精滴加入处理后的精子进行常规IVF,采用短时授精技术,即精子加入4 h后剥离颗粒细胞和冠细胞观察受精情况。若受精率<25%,则采取R-ICSI方案。R-ICSI受精卵需要在R-ICSI后13~15 h观察原核,以判断R-ICSI卵子的受精情况。

1.3.4 SCSA检测精子DNA碎片指数(DFI):精液液化后用Tris-NaCl-EDTA(TNE)缓冲液进行稀释,取0.05 ml稀释后的悬液置于流式细胞仪进样管中,加入0.1 ml酸处理液处理30 s,再加入0.3 ml吖啶橙染色液,调整精子流速。检测5 000个精子的荧光,用软件分析各种荧光精子的比例并且计算出精子DFI。

1.4 统计学分析 计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,分类资料以百分率表示。各DFI组间定量指标的比较,若满足正态分布及方差齐性的条件,采用单因素方差分析,若不符合则采用Kruskal-Wallis检验。各DFI组间受精率的分析,采用Mantel-Haenszel卡方检验。分析IVF结局与各变量之间的关系使用二分类Logistic回归分析。所有数据分析用SPSS25.0统计学软件完成, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者夫妇一般资料及体外受精状况分析 见表1。从表中可见,组间女方基本条件的差异无统计学意义($P>0.05$),而IVF总受精率随着DFI的升高呈现逐渐下降趋势,R-ICSI的周期数和卵子数占比则呈现逐渐上升的趋势,提示精子DNA损伤可能对体外受精有负面的影响。

2.2 多因素回归模型分析 见表2。把相关风险因素纳入Logistic回归模型进行分析,其中:以是否需要使用R-ICSI技术作为因变量,把因受精率低而使用了R-ICSI技术进行受精的周期设定为1,把只使用了IVF技术进行受精的周期设为0;选

定的孕产史自变量中夫妇间有孕产史设定为 1,无孕产史设定为 0,其他变量则直接使用定量数值。结果显示,精子 DFI 的 OR 值为 1.013 ($P=0.005$),提示精子 DFI 越高,受精率降低的风险逐

渐升高。另外从模型分析结果得出,夫妇间孕产史、HCG 注射日血清 E2, LH 水平、获卵数、前向运动精子(PR)总数,精子形态正常率也是低受精率的风险因素。

表 1 女方患者的基础条件和体外受精状况

项 目	DFI				H/χ^2	P
	<20%($n=2516$)	20%~30%($n=601$)	30%~40%($n=295$)	>=40%($n=164$)		
女方平均年龄(岁)	31.88±4.57	31.72±4.53	31.56±4.15	31.18±4.37	7.139	0.068
体重指数(kg/m ²)	21.72±3.06	21.74±3.26	21.64±3.07	21.43±3.24	4.720	0.195
不孕年限(年)	4.42±3.21	4.54±3.24	4.04±2.70	4.32±2.95	2.556	0.466
基础 FSH(U/L)	6.10±2.24	6.24±2.97	6.15±1.87	5.86±2.00	3.638	0.303
基础 E2(pg/ml)	57.25±36.34	56.69±27.47	56.02±28.03	57.68±38.85	2.608	0.456
平均获卵数	11.65±6.95	12.05±6.73	12.42±7.21	11.71±6.87	3.523	0.318
原发性不孕占比(%)	50.9	52.2	52.5	56.1	1.828	0.176
R-ICSI 总周期数	296	69	50	36		
R-ICSI 周期数占比(%)	11.8	11.5	16.9	22.0	15.425	0.000
IVF 总卵子数	29 356	7 234	3 639	1 944		
IVF 总受精率(%)	74.4	74.6	70.0	64.7	89.416	0.000
R-ICSI 卵子数	2 950	623	473	324		
R-ICSI 受精率(%)	83.7	84.8	88.2	84.9	3.120	0.077
R-ICSI 卵子数占比(%)	8.8	8.6	13.0	16.7	145.099	0.000

表 2 低受精率相关风险因素的 Logistic 回归分析

项 目	B	WALD	P	OR	95%CI
女方年龄	-0.019	1.046	0.306	0.981	0.946~1.018
体重指数	0.002	0.012	0.912	1.002	0.967~1.038
不孕年限	0.024	1.649	0.199	1.024	0.988~1.062
基础 FSH	0.044	3.133	0.077	1.045	0.995~1.097
基础 LH	0.004	0.062	0.803	1.004	0.974~1.035
基础 E2	0.000	0.011	0.917	1.000	0.997~1.003
基础 P	-0.158	1.485	0.223	0.854	0.662~1.101
Gn 总量	0.003	0.307	0.580	1.003	0.992~1.015
HCG 日 E2	0.000	3.889	0.049	0.996	0.992~1.000
HCG 日 LH	-0.044	4.649	0.031	0.957	0.919~0.996
HCG 日 P	-0.002	0.655	0.418	0.998	0.994~1.003
获卵数	0.026	5.525	0.019	1.026	1.004~1.049
男方年龄	0.028	3.610	0.057	1.028	0.999~1.058
精子正常形态率	-0.140	41.168	0.000	0.869	0.833~0.907
精子 DFI	0.013	7.888	0.005	1.013	1.004~1.023
PR 总数	-0.003	22.598	0.000	0.997	0.996~0.998
夫妇间孕史	-0.494	17.529	0.000	0.610	0.484~0.769

3 讨论 IVF 技术问世以来给不孕不育患者重新带来孕育新生命的希望,然而仍然存在不少患者夫妇在使用了常规体外受精技术后,仍然没有能够使精子和卵子受精,存在受精率低的情况。后来单精子卵浆内注射技术(ICSI)出现,一定程度上可以解决常规 IVF 过程中不受精的问题,然而已经有报道证实,使用 ICSI 技术虽然人工使精卵结合,其优

胚率、囊胚形成率等比 IVF 低,胚胎移植后流产率比 IVF 要高^[4]。而且 ICSI 技术人工把精子注入卵子内,这些胚胎操作存在着一定的风险,对于代安全性未明。所以探讨影响常规 IVF 结局的风险因素,预测 IVF 结局的好坏,依然具有重要的现实意义。

先前已经有相关的报道曾探讨精子 DNA 碎

片对 IVF 结局的影响,结论也大不相同,其中,对于女方年龄及其基础条件的控制和研究对象的选择是影响结论的关键因素^[5]。所以,研究精子因素对 IVF 结局的影响应该从卵巢储备功能良好的女方患者中选择。尽管如此,仍然存在着一些可能影响结论的不可控制的伴随因素,比如卵母细胞成熟度^[6-7],卵巢反应性等。本研究选取了女性年龄 35 岁以下,卵巢功能良好的女方患者夫妇作为研究对象,通过对各因素进行多因素分析,提示女方卵子成熟度相关的激素水平、孕产史、男方精液质量对受精情况有着显著的影响,在以上伴随因素情况下,分析结果依然提示精子 DNA 碎片指数是 IVF 受精过程中的一个重要的负面影响因素。

通过以上分析,我们发现精子 DFI 主要影响 IVF 过程,而对后面的 R-ICSI 受精影响不大,说明某些患者可通过 R-ICSI 获得受精,提示了精子 DNA 完整率可能主要影响自然的精卵结合过程。过去,IVF 受精率低,人们通常从顶体酶、顶体反应等方面寻找原因。最近的研究也表明,精子 DFI 也能影响精子和卵母细胞的结合^[8-11]。然而,精子的 DNA 损伤发生在精子的核,而精子与卵母细胞的识别只发生在两者的表面,精子与卵母细胞发生接触时,是精子膜而不是精子核与卵母细胞膜发生黏附识别。这暗示了精子的 DNA 损伤可能影响了与卵母细胞的识别过程,目前研究发现这个过程可能与精子表面的热休克蛋白-70 (HSPA2) 有关^[12]。在热应激或精索静脉曲张等不利条件时 HSPA2 表达上调,可能起保护精子免受外界因素损伤或启动 DNA 自我修复的作用。AGARWAL 等^[13]发现,高 DFI 精子往往伴有 HSPA2 减少,暗示在精索静脉曲张时精子 DNA 的损伤可能与 HSPA2 表达不足有关。而 HSPA2 能促进精子与卵子透明带的结合,与 IVF 受精率存在着正相关的关系^[14],这可能是精子高 DFI 影响体外受精过程的其中一种解释。精子具有一定的自我修复能力^[15],至于为何 HSPA2 表达不足比较容易产生 DNA 损伤,以及 HSPA2 在启动 DNA 修复中的生理作用,目前还没有直接详细的报道,因此还需要做进一步深入研究探讨。

综上所述,本文利用多因素模型分析研究精子 DNA 完整性与体外受精结局的关系,发现了精子 DNA 碎片指数是 IVF 受精过程中的一个重要的影响因素。精子 DNA 完整性对于 IVF 受精情况可能有一定的预测价值,是否可作为选择受精方法的预测指标及 DNA 损伤的影响机制,仍需要深入的、多中心的进一步研究。

参考文献:

- [1] CITO G, COCCIA M E, PICONE R, et al. Impact of advanced paternal age on the intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcomes in donor egg cycles[J]. *Transl Androl Urol*, 2019, 8(Suppl 1): S22-S30.
- [2] JIN Jianyuan, PAN Chengshuang, FEI Qianjin, et al. Effect of sperm DNA fragmentation on the clinical outcomes for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in women with different ovarian reserves[J]. *Fertil Steril*, 2015, 103(4): 910-916.
- [3] ZHANG H H, XU P Y, WU J, et al. Dehydroepiandrosterone improves follicular fluid bone morphogenetic protein-15 and accumulated embryo score of infertility patients with diminished ovarian reserve undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial[J]. *J Ovarian Res*, 2014, 7(1): 93.
- [4] OSMAN A, ALSOMAIT H, SESHADRI S, et al. The effect of sperm DNA fragmentation on live birth rate after IVF or ICSI: a systematic review and meta-analysis[J]. *Reprod Biomed Online*, 2015, 30(2): 120-127.
- [5] SIMON L, EMERY B R, CARRELL D T. Review: Diagnosis and impact of sperm DNA alterations in assisted reproduction[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2017, 44: 38-56.
- [6] 董萌, 邱佳慧, 谭季春. HCG 日血清雌激素水平对不同年龄段女性活产率的预测价值[J]. *生殖医学杂志*, 2019, 28(3): 249-257.
DONG Meng, QIU Jiahui, TAN Jichun. Predictive value of serum estradiol level on HCG day for live birth rate in women with different age[J]. *J Rep Med*, 2019, 28(3): 249-257.
- [7] 蒋益群, 王珊珊, 张宁媛, 等. ICSI 周期卵子成熟度对胚胎发育与临床结局的影响[J]. *中国性科学*, 2015, 24(8): 84-87.
JIANG Yiqun, WANG Shanshan, ZHANG Ningyuan, et al. The influence of oocyte maturation on embryo development and clinical outcomes in intracytoplasmic sperm injection cycles[J]. *Chinese J Hum Sex*, 2015, 24(8): 84-87.
- [8] BACH P V, SCHLEGEL P N. Sperm DNA damage and its role in IVF and ICSI[J]. *Basic Clin Androl*, 2016, 26: 15.
- [9] TELLO-MORA P, HERNANDEZ-CADENA L, PEDRAZA J, et al. Acrosome reaction and chromatin integrity as additional parameters of semen analysis to predict fertilization and blastocyst rates[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2018, 16(1): 102.
- [10] 江伟杰, 金帆, 周黎明. 优选后精子畸形指数、顶体异常率、DNA 碎片指数预测 IVF 受精失败的价值[J]. *中华男科学杂志*, 2016, 22(2): 147-152.
JIANG Weijie, JIN Fan, ZHOU Liming. Values of the sperm deformity index, acrosome abnormality

- rate, and sperm DNA fragmentation index of optimized sperm in predicting IVF fertilization failure [J]. *Nat J And*, 2016, 22(2):147-152.
- [11] SIMON L, ZINI A, DYACHENKO A, et al. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome [J]. *Asian J Androl*, 2017, 19(1):80-90.
- [12] HEIDARI M, DARBANDI S, DARBANI M, et al. Evaluating the potential of three sperm surface antigens as egg-adhesion biomarkers for human sperm selection [J]. *J Reprod Infertil*, 2018, 19(4):203-210.
- [13] AGARWAL A, SHARMA R, SAMANTA L, et al. Proteomic signatures of infertile men with clinical varicocele and their validation studies reveal mitochondrial dysfunction leading to infertility [J]. *Asian J Androl*, 2016, 18(2):282-291.
- [14] NIXON B, BROMFIELD E G, DUN M D, et al. The role of the molecular chaperone heat shock protein A2 (HSPA2) in regulating human sperm-egg recognition [J]. *Asian J Androl*, 2015, 17(4):568-573.
- [15] 何海洪, 郭伟权, 兰希, 等. 严重生精障碍患者精子DNA碎片指数与血清Hcy水平的相关性研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2017, 32(4):83-86.
- HE Haihong, GUO Weiwan, LAN Xi, et al. Study on the relationship between sperm DNA fragmentation index and Hcy level in patients with severe spermatogenesis [J]. *J Mod Lab Med*, 2017, 32(4):83-86.
- 收稿日期:2019-06-07
修回日期:2019-07-01
-
- (上接 58 页)
- [4] SEVVANA M, AHNSTROM J, EGERER-SIEBER C. Serendipitous fatty acid binding reveals the structural determinants for ligand recognition in apolipoprotein M [J]. *J Mol Biol*, 2009, 393(4):920-936.
- [5] ELSOE S, AHNSTROM J, CHRISTOFFERSEN C, et al. Apolipoprotein M binds oxidized phospholipids and increases the antioxidant effect of HDL [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 221(1):91-97.
- [6] KARUNA R, PARK R, OTHMAN A. Plasma levels of sphingosine-1-phosphate and apolipoprotein M in patients with monogenic disorders of HDL metabolism [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 219(2):855-863.
- [7] LIU Mingxia, ALLEGOOD J C, ZHU Xuewei, et al. Uncleaved ApoM signal peptide is required for formation of large ApoM/sphingosine 1-phosphate (S1P)-enriched HDL particles [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(12):7861-7870.
- [8] SUTTER I, PARK R, OTHMAN A. Apolipoprotein M modulates erythrocyte efflux and tubular reabsorption of sphingosine-1-phosphate [J]. *J Lipid Res*, 2014, 55(8):1730-1737.
- [9] POTI F, SIMONI M, NOFER J R. Atheroprotective role of high-density lipoprotein (HDL)-associated sphingosine-1-phosphate (S1P) [J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 103(3):395-404.
- [10] MURPHY A J, WOOLLARD K J, HOANG A. High-density lipoprotein reduces the human monocyte inflammatory response [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(11):2071-2077.
- [11] CHRISTOFFERSEN C, OBINATA H, KUMARASWAMY S B, et al. Endothelium-protective sphingosine-1-phosphate provided by HDL-associated apolipoprotein M [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(23):9613-9618.
- [12] LAI W Q, IRWAN A W, GOH H H. Anti-inflammatory effects of sphingosine kinase modulation in inflammatory arthritis [J]. *Journal of Immunology*, 2008, 181(11):8010-8017.
- [13] GU Jingang, ZHU Chengliang, CHENG Duoqi. Enhanced levels of apolipoprotein M during HBV infection feedback suppresses HBV replication [J]. *Lipids Health Dis*, 2011, 10(1):154.
- [14] KITANO M, HLA T, SEKIGUCHI M, et al. Sphingosine 1-phosphate/sphingosine 1-phosphate receptor 1 signaling in rheumatoid synovium: regulation of synovial proliferation and inflammatory gene expression [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(3):742-753.
- [15] 戴晓勇, 陈永珍, 华玮, 等. 血清淀粉样蛋白 A, C 反应蛋白和降钙素原在脓毒性休克中的应用价值与相关性分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(1):47-50.
- DAI Xiaoyong, CHEN Yongzhen, HUA Wei, et al. Application and correlation analysis of serum amyloid A, C-reactive protein and procalcitonin in septic shock [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(1):47-50.
- [16] NOJIRI T, KURANO M, TOKUHARA Y, et al. Modulation of sphingosine-1-phosphate and apolipoprotein M levels in the plasma, liver and kidneys in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *J Diabetes Investig*, 2014, 5(6):639-648.
- [17] WINKLER M S, NIERHAUS A, HOLZMANN M. Decreased serum concentrations of sphingosine-1-phosphate in sepsis [J]. *Crit Care*, 2015, 19(1):372.
- [18] BEKPINAR S, YENIDUNYA G, GURDOL F. The effect of nephropathy on plasma sphingosine 1-phosphate concentrations in patients with type 2 diabetes [J]. *Clin Biochem*, 2015, 48(18):1264-1267.
- [19] 任党利, 韩海燕, 周鑫, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值在区分不同病原菌引起血流感染的价值 [J]. *现代检验医学杂志*, 2017, 32(2):102-105.
- REN Dangli, HAN Haiyan, ZHOU Xin, et al. Clinical evaluation on ratio of neutrophil-to-lymphocyte in different pathogens [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2017, 32(2):102-105.
- 收稿日期:2019-06-13
修回日期:2019-07-03