

革兰氏阴性菌外膜囊泡在抗肿瘤治疗中的研究进展

李一帆¹, 王丹¹, 王瑞琳¹, 费冰¹, 刘莹¹, 任彦颖¹, 郭梦雨¹, 刘心伟², 李永伟²

(1. 河南中医药大学, 郑州 450046; 2. 河南中医药大学第二附属医院, 郑州 450002)

摘要: 革兰氏阴性菌释放的细胞外囊泡源于细胞最外层膜, 被称为外膜囊泡 (outer membrane vesicles, OMVs), 含有磷脂、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、外膜蛋白 (outer membrane proteins, OMPs) 和细菌特异性抗原等细菌外膜成分。鉴于 OMVs 的纳米中空结构、高度的免疫原性以及有效激活宿主免疫系统等功能, 其作为免疫佐剂、肿瘤免疫治疗剂及抗肿瘤药物递送载体和肿瘤疫苗方面具有良好的应用前景。从 OMVs 的结构组成、形成机制和抗肿瘤应用等方面综述 OMVs 进行靶向和免疫治疗肿瘤的潜力, 为临床上抗肿瘤治疗开发新的策略。

关键词: 外膜囊泡; 肿瘤靶向治疗; 肿瘤免疫; 药物载体; 肿瘤疫苗

中图分类号: R730.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 04-201-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.04.037

Research Progress of Gram-negative Bacterial Outer Membrane Vesicles in Anti-tumor Therapy

LI Yifan¹, WANG Dan¹, WANG Ruilin¹, FEI Bing¹, LIU Ying¹, REN Yanying¹, GUO Mengyu¹,
LIU Xinwei², LI Yongwei² (1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;
2. the Second Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Gram-negative bacteria release extracellular vesicles originating from the outermost membrane of the cell, called outer membrane vesicles (OMVs), which contain bacterial outer membrane components such as phospholipids, lipopolysaccharide (LPS), outer membrane proteins (OMPs), and bacterial-specific antigens. In view of the nano hollow structure, high immunogenicity and effectively activate the host immune system, OMVs have good application prospects as immune adjuvants, tumor immunotherapeutic agents, and delivery vectors for anti tumor drugs and tumor vaccines. The potential of OMVs for targeting and immunotherapy of tumors is reviewed in terms of their structural composition, formation mechanism, and anti-tumor applications, and develops new strategies for clinical anti-tumor therapy.

Keywords: outer membrane vesicles; targeted tumor therapy; tumor immunity; drug carrier; tumor vaccines

据 2019 年世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 统计, 癌症目前是全球主要死亡原因之一, 造成了巨大的经济负担, 也是阻碍人类期望寿命延长的重要因素^[1]。传统的肿瘤治疗方法如手术切除易受到肿瘤部位或肿瘤转移的限制, 而化疗的主要缺点是药物吸收到正常或肿瘤组织中的不良反应以及抗肿瘤药物耐药性的出现。因此, 以分子靶向治疗和免疫治疗为代表的精准治疗逐渐成为肿瘤治疗的重点。

外膜囊泡 (outer membrane vesicles, OMVs) 是由革兰氏阴性菌释放的直径约为 20 ~ 250nm 的脂质双层囊泡状结构, 含有多种亲本菌的成分, 包括酶、毒力因子、细菌特异性抗原和各种病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 如 LPS, 脂蛋白、肽聚糖、DNA 和 RNA 等^[2]。OMVs 含有的细菌抗原和各种

PAMPs 可被宿主模式识别受体识别, 从而增强细胞因子和共刺激分子的表达, 促进抗原呈递, 有效激活宿主免疫系统, 达到肿瘤免疫治疗效果。此外, OMVs 的纳米中空结构有利于进行工程设计, 使其作为抗肿瘤药物的递送载体, 实现肿瘤靶向治疗和化疗-光疗的结合。鉴于 OMVs 在细菌疫苗、佐剂、肿瘤免疫治疗剂、药物递送载体中的开发和应用, 其被认为是抗肿瘤治疗的新型手段, 具有良好的应用前景^[3-5]。因此本文综述 OMVs 的结构组分、提取方式、产生机制以及在抗肿瘤治疗中的研究进展, 为将来 OMVs 的深入研究和临床抗肿瘤应用提供参考。

1 外膜囊泡概述

1.1 外膜囊泡的结构组成 OMVs 是由革兰氏阴性 (G⁻) 菌分泌的直径约为 20 ~ 250nm 的球形囊泡状结构, 其由内膜 (inner membrane, IM) 和外膜

作者简介: 李一帆 (1998-), 女, 在读硕士, 研究方向: 医学技术, E-mail: m18437236705@163.com。

通讯作者: 李永伟 (1969-), 男, 博士, 主任技师, 主要从事医学检验工作, E-mail: lyw@hactcm.edu.cn。

刘心伟 (1983-), 男, 硕士, 副主任技师, 主要从事微生物检验工作, E-mail: 43154727@qq.com。

(outer membrane, OM) 双层膜组成, 中间是肽聚糖层 (peptidoglycan, PG) 和周质空间 (periplasmic space), 外膜和肽聚糖层通过膜锚定蛋白 (如 Lpp, OmpA 和 Tol-Pal 复合物) 连接。OMVs 起源于细菌外膜, 含有大量细菌外膜成分, 如磷脂 (phospholipid, PL), LPS, OMPs 以及一些来自 IM 和 OM 之间的周质成分, 它们在释放过程中被包裹在囊泡腔中^[6]。OMVs 包含多种 PAMPs, 能够与宿主模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 结合, 从而激活宿主免疫系统, 促进细胞因子分泌和细胞焦亡^[7]。此外, OMVs 还可携带大量来自细菌的毒素、黏附素等, 通过与宿主细胞相互作用, 对癌细胞发挥细胞毒性作用, 具有内在的抗肿瘤活性^[8]。由于 OMVs 独特的中空结构和组成成分, 其在革兰氏阴性菌的感染、微生物-宿主间相互作用及其作为抗菌和抗肿瘤药物递送的载体等方面发挥着至关重要的功能。

1.2 外膜囊泡的形成机制 致病性和非致病性 G⁻ 菌都会产生 OMVs。目前关于 OMVs 生物发生的研究成果提出了几种主要的 OMVs 模型。其中外膜曲率增加是被研究报道最多的一种 G⁻ 菌 OMVs 形成的机制。在细菌周质空间中, 错误折叠的蛋白质或包膜成分 (脂多糖和肽聚糖片段) 的局部积累会对细菌外膜产生压力, 导致外膜膨胀, 曲率增加并最终形成 OMVs 这种小泡的形式释放出来^[9]。还有研究发现, 铜绿假单胞菌喹诺酮信号分子 (*Pseudomonas* quinolone signal, PQS), 可插入外膜的外小叶来诱导其曲率增加, 促进 OMVs 形成^[10]。

第二种机制是脂蛋白和肽聚糖交联率降低。在大肠埃希菌中, 与 PG 共价交联的脂蛋白 (lipoprotein, Lpp) 是一种维持细菌包膜结构完整性的脂蛋白。有研究对 Lpp-PG 交联作用相关的基因进行敲除, 发现 PG 结构和代谢的调节可以通过交联 Lpp 的水平上下调节 OMVs 的产生^[11]。OmpA 是另一种外膜脂蛋白, 与肽聚糖层非共价结合。MARCHANT 等^[12] 的研究也表明缺乏 OmpA 的伤寒沙门菌突变体表现出 OMVs 的产生增加。

磷脂的积累也会增加 OMVs 的产生。最新的研究发现, VacJ/Yrb 基因沉默或删除时会增加 OM 外层小叶中的磷脂数量, 导致富含磷脂的 OMVs 从外膜表面分离^[13]。此外, 噬菌体介导的爆炸性细胞裂解和抗生素等也会促使 OMVs 产生增加^[14-15]。

1.3 外膜囊泡的分离鉴定 OMVs 从细菌细胞表面自然分泌, 因此位于细菌培养物的无细胞上清液中。目前 OMVs 的提取有多种方法, 其中超速离心和密度梯度离心是分离和纯化 OMVs 最常用的方法, 被称为 OMVs 分离的“金标准”^[16]。超速离心

和密度梯度离心的主要原理是根据培养上清液中不同颗粒的大小和密度设置不同的离心力, 并利用平衡沉降原理完成 OMVs 的纯化。

当前, 对于 OMVs 鉴定的三大主流方法分别是: 从 OMVs 的形态、大小以及组分进行表征。透射电子显微镜 (TEM) 观察 OMVs 形态的方法被认为是鉴定 OMVs 的“金标准”。纳米颗粒跟踪分析 (NTA) 被用来测量 OMVs 的粒径大小。关于 OMVs 的组分, 脂质可使用液相色谱-质谱联用仪 (LC-MS) 进行鉴定, 蛋白质组分通常使用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分析 OMVs 的蛋白质谱^[17]。

2 OMVs 在抗肿瘤治疗中的应用

OMVs 是源自革兰氏阴性菌的天然生物纳米材料, 由于其纳米级球形囊泡结构, 具有轻易穿过血管、淋巴管和组织的优势。OMVs 还含有细菌抗原和病原体相关分子模式 (PAMPs), 可以很容易地与免疫细胞相互作用或被免疫细胞摄取, 被作为潜在的肿瘤治疗的免疫佐剂或肿瘤靶向治疗的药物载体。重要的是, OMVs 可以通过细菌的基因工程进行功能修饰, 从而为作为肿瘤纳米疫苗递送平台的应用奠定了基础。

2.1 肿瘤靶向治疗

2.1.1 OMVs 是纳米级脂质双层囊泡结构: OMVs 是细菌在生长过程中连续释放的 20 ~ 250nm 的脂质双层囊泡状结构, 其纳米级的大小有助于它们通过淋巴引流或被吞噬的途径被抗原呈递细胞 (antigen-presenting cells, APCs) 携带进入淋巴结, 通过激活免疫系统达到治疗肿瘤的作用^[18]。此外, OMVs 作为纳米颗粒还具有高渗透长滞留效应 (EPR), 与正常组织相比, 其更容易渗透进入肿瘤组织并保持在肿瘤中积聚的能力, 以诱导局部免疫。如源自大肠埃希菌的 OMVs 在小鼠黑色素瘤的治疗中, 可以广泛渗透进入角质层和真皮层, 通过透皮治疗的方式直接将外部治疗分子递送到黑色素瘤部位^[19]。OMVs 作为透皮和肿瘤靶向药物递送的纳米平台, 具有高效率和生物安全性, 在浅表肿瘤的治疗中具有巨大潜力。

2.1.2 OMVs 作为抗肿瘤药物靶向递送的载体: 为了避免肿瘤免疫治疗过程中的免疫抑制状态, 需要联合药物治疗来进一步增强 OMVs 的肿瘤免疫治疗潜力, 从而彻底根除肿瘤并防止肿瘤复发和转移。OMVs 在复杂的革兰氏阴性细胞包膜上递送生物大分子的独特能力, 为其作为药物递送载体提供了较大的优势。KUEBAN 等^[20] 的研究证明了来自减毒肺炎克雷伯菌的 OMVs 作为一种生物药物递送载体, 已成功用于将抗肿瘤药物阿霉素 (DOX) 转运到非小细胞肺癌细胞系中, 并抑制小鼠模型中的

肿瘤生长。该研究还提出 OMVs 可以募集 TME 巨噬细胞, 触发适当的免疫反应, 从而增强 DOX 的抗肿瘤作用, 且未观察到明显的毒性。另外还有研究将紫杉醇 (PTX)、小干扰 RNA 等通过巨噬细胞摄取或电穿孔的方法加载到 OMVs 中, 以到达肿瘤部位发挥抗肿瘤作用^[21]。最新的一项关于 OMVs 抗肿瘤治疗的研究还联合光动力疗法/化疗/免疫疗法来治疗三阴性乳腺癌肿瘤, 发现这种治疗策略在根除肿瘤上具有很强的功效, 还能有效地防止肿瘤向肺部的转移^[22]。

2.2 肿瘤免疫治疗 OMVs 可激活宿主免疫系统, 攻击和清除肿瘤细胞。细菌抗原和多种 PAMPs 的共存使 OMVs 作为免疫刺激剂具有巨大的潜力。其在细胞外和细胞内可被宿主模式识别受体 (PRR) 所识别, 从而激活宿主免疫系统, 刺激抗原呈递细胞, 并导致 T 细胞成熟, 进而对 OMVs 产生强大的体液和细胞免疫应答^[23]。OMVs 还携来自亲本菌的 LPS, 黏附素和毒力因子。这些物质可通过分泌抗肿瘤免疫反应的细胞因子如干扰素- γ , 肿瘤坏死因子- α 等, 进而引起肿瘤损伤^[24-25]。OMVs 通过干扰素- γ 介导的抗肿瘤反应不仅能清除肿瘤, 而且其抗肿瘤反应具有长期记忆作用, 可减少肿瘤的复发^[25]。还有研究表明来自鼠伤寒沙门氏菌的 OMVs 可通过激活宿主免疫系统和逆转免疫抑制肿瘤微环境来促进肿瘤消退^[26]。其中注射 OMVs 的小鼠肿瘤细胞不仅受到 NK 细胞的杀伤而且发生了细胞自噬和凋亡。由此可见, 细菌 OMVs 作为新型肿瘤免疫治疗剂具有巨大潜力, 可以触发对各种癌症的有效抗肿瘤反应, 而不会产生显著的不良反应。

2.3 肿瘤疫苗 OMVs 是脂质纳米囊泡结构, 含有多种蛋白和特异性抗原, 由于其免疫调节和向宿主细胞呈递多种异源抗原的能力, OMVs 可以设计为一种有效的肿瘤治疗性疫苗, 通过基因工程将肿瘤抗原或小分子药物递送到 APCs 甚至靶向癌细胞, 因此在疫苗开发中具有巨大潜力。相比被动免疫治疗, 肿瘤疫苗的优势在于 T 细胞驱动的反应和相关记忆可能在疾病复发期间提供帮助。

基因工程领域的进步促使 OMVs 作为肿瘤疫苗平台的进一步改进, 从而提高产量, 降低 LPS 和磷壁酸对 OMVs 的毒性, 并用同源和异源抗原进行修饰, 以增强免疫原性并提供更广泛的保护。OMVs 经基因和化学修饰将被赋予更多的功能。为了解决自然释放 OMVs 的低产量和脂多糖可能带来的毒性作用, 有研究人员开发了一种膜抗原的通用模块 (GMMA), 即工程化的 OMVs^[27], 以增强自然 OMVs 的形成、降低反应性和毒性及过表达免疫原性抗原。ROSSI 等^[28]的研究通过敲除酰基转移酶

基因 *msbB* 或 *htrB* 来修饰 LPS 的内毒性部分脂质 A, 从而降低其反应原性。据报道, 通过基因工程方法将肿瘤抗原人瘤病毒 16 型早期蛋白 E7 (HPV16E7) 呈递在大肠埃希菌衍生的 OMVs 上, 获得重组的 OMVs 疫苗。将该疫苗接种在移植 TC-1 宫颈癌细胞的小鼠可显著抑制肿瘤的生长^[29]。还有研究人员通过基因工程技术改进了 OMVs 的递送能力, 使用纳米膜过滤器通过连续挤出制备表面表达肿瘤靶向的细菌原生质体纳米囊泡, 为实体肿瘤部位提供受体介导的被动靶向。加载化疗药物的原生质体纳米囊泡显示出剂量依赖性细胞毒性和肿瘤组织靶向特异性, 并有效预防肿瘤异种移植小鼠的肿瘤生长^[30]。基因工程 OMVs 在抗肿瘤作用中的巨大贡献, 为其作为有效和安全的抗肿瘤疫苗提供了巨大的潜力, 以优化和促进肿瘤治疗的发展。

3 未来与展望

近年来肿瘤发病率的激增促使研究人员致力于开发新型抗肿瘤药物和手段。尽管大量的研究发现 OMVs 作为佐剂、肿瘤治疗剂和药物递送载体以及工程细菌 OMVs 作为肿瘤疫苗平台的巨大潜力。在 OMVs 的抗肿瘤治疗中, 提高 OMVs 的安全性并保持佐剂效力以及使用 OMVs 进行个性化治疗仍需要进一步改进。此外, 肿瘤的异质性可能需要开发出具有普遍抗肿瘤效应类型的 OMVs。当前, OMVs 作为肿瘤治疗剂或进行肿瘤疫苗开发还在实验室研究阶段, 在广泛临床应用之前, 仍有许多问题需要解决。

参考文献:

- [1] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020 全球癌症统计报告解读 [J/OL]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-13.
LIU Zongchao, LI Zhexuan, ZHANG Yang, et al. Interpretation on the report of Global Cancer Statistics 2020[J]. Electronic Journal of Comprehensive Treatment of Tumor, 2021, 7(2): 1-13.
- [2] FURUYAMA N, SIRCILI M P. Outer membrane vesicles (OMVs) produced by gram-negative bacteria: structure, functions, biogenesis, and vaccine application [J]. Biomed Res Int, 2021, 2021:1490732.
- [3] HUANG Wenlong, MENG Lingxi, CHEN Yuan, et al. Bacterial outer membrane vesicles as potential biological nanomaterials for antibacterial therapy [J]. Acta Biomaterialia, 2022, 140: 102-115.
- [4] ZHU Zhuang, ANTENUCCI F, VILLUMSEN K R, et al. Bacterial outer membrane vesicles as a versatile tool in vaccine research and the fight against antimicrobial resistance[J]. mBio, 2021, 12(4): e0170721.
- [5] COLLINS S M, BROWN A C. Bacterial outer membrane vesicles as antibiotic delivery vehicles [J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 733064.
- [6] LI Min, ZHOU Han, YANG Chen, et al. Bacterial outer membrane vesicles as a platform for biomedical applications: an update[J]. Journal of Controlled

- Release, 2020, 323: 253-268.
- [7] GIORDANO N P, CIAN M B, DALEBROUX Z D. Outer membrane lipid secretion and the innate immune response to gram-negative bacteria[J]. Infection and Immunity, 2020, 88(7): e00920-19.
 - [8] THOMAS S C, MADAAN T, KAMBLE N S, et al. Engineered bacteria enhance immunotherapy and targeted therapy through stromal remodeling of tumors[J]. Advanced Healthcare Materials, 2022, 11(2): e2101487.
 - [9] TOYOFUKU M, NOMURA N, EBERL L. Types and origins of bacterial membrane vesicles[J]. Nature Reviews Microbiology, 2019, 17(1): 13-24.
 - [10] LI Ao, SCHERTZER J W, YONG Xin. Molecular conformation affects the interaction of the *Pseudomonas quinolone* signal with the bacterial outer membrane[J]. Journal of Biological Chemistry, 2019, 294(4): 1089-1094.
 - [11] JUODEIKIS R, CARDING S R. Outer membrane vesicles: biogenesis, functions, and issues[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR, 2022, 86(4): e0003222.
 - [12] MARCHANT P, CARREÑO A, VIVANCO E, et al. "One for all" : Functional transfer of OMV-mediated polymyxin B resistance from salmonella enterica sv. typhi Δ tolr and Δ degS to susceptible bacteria [J]. Front Microbiol, 2021, 12: 672467.
 - [13] QING Guangchao, GONG Ningqiang, CHEN Xiaohui, et al. Natural and engineered bacterial outer membrane vesicles[J]. Biophysics Reports, 2019, 5(4): 184-198.
 - [14] MANDAL P K, BALLERIN G, NOLAN L M, et al. Bacteriophage infection of *Escherichia coli* leads to the formation of membrane vesicles via both explosive cell lysis and membrane blebbing[J]. Microbiology(Reading), 2021, 167(4): 001021.
 - [15] KIM S Y, KIM M H, SON J H, et al. Outer membrane vesicles produced by *Burkholderia cepacia* cultured with subinhibitory concentrations of ceftazidime enhance pro-inflammatory responses[J]. Virulence, 2020, 11(1): 995-1005.
 - [16] LI Pin, KASLAN M, LEE S H, et al. Progress in exosome isolation techniques[J]. Theranostics, 2017, 7(3): 789-804.
 - [17] 翁震, 何杨. 分泌体蛋白质组学分析在心血管疾病中应用的研究进展 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(4): 157-159.
WENG Zhen, HE Yang. Research progress of proteomic analysis of exosomes and its application in cardiovascular disease[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(4): 157-159.
 - [18] GERRITZEN M J H, MARTENS D E, WIJFFELS R H, et al. Bioengineering bacterial outer membrane vesicles as vaccine platform[J]. Biotechnology Advances, 2017, 35(5): 565-574.
 - [19] GU Tingwei, WANG Maoze, NIU Jie, et al. Outer membrane vesicles derived from *E. coli* as novel vehicles for transdermal and tumor targeting delivery[J]. Nanoscale, 2020, 12(36): 18965-18977.
 - [20] KUERBAN K, GAO Xiwen, ZHANG Hui, et al. Doxorubicin-loaded bacterial outer-membrane vesicles exert enhanced anti-tumor efficacy in non-small-cell lung cancer[J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2020, 10(8): 1534-1548.
 - [21] GUO Qin, LI Xuwen, ZHOU Wenxi, et al. Sequentially triggered bacterial outer membrane vesicles for macrophage metabolism modulation and tumor metastasis suppression[J]. ACS Nano, 2021, 15(8): 13826-13838.
 - [22] LI Yongjiang, WU Junyong, QIU Xiaohan, et al. Bacterial outer membrane vesicles-based therapeutic platform eradicates triple-negative breast tumor by combinational photodynamic/chemo-/immunotherapy [J]. Bioact Mater, 2023, 20: 548-560.
 - [23] SURI K, D' SOUZA A, HUANG Di, et al. Bacterial extracellular vesicle applications in cancer immunotherapy [J]. Bioact Mater, 2023, 22: 551-566.
 - [24] LEE H M, LEE H J, CHANG J E. Inflammatory cytokine: an attractive target for cancer treatment[J]. Biomedicines, 2022, 10(9): 2116.
 - [25] KIM O Y, PARK H T, DINH N T H, et al. Bacterial outer membrane vesicles suppress tumor by interferon- γ -mediated antitumor response[J]. Nature Communications, 2017, 8(1): 626.
 - [26] ALY R G, EL-ENBAAWY M I, ABD EL-RAHMAN S S, et al. Antineoplastic activity of *Salmonella typhimurium* outer membrane nanovesicles[J]. Experimental Cell Research, 2021, 399(1): 112423.
 - [27] MANCINI F, MICOLI F, NECCHI F, et al. GMMA-based vaccines: the known and the unknown [J]. Front Immunol, 2021, 12: 715393.
 - [28] ROSSI O, PESCE I, GIANNELLI C, et al. Modulation of endotoxicity of *Shigella* generalized modules for membrane antigens (GMMA) by genetic lipid A modifications: relative activation of TLR4 and TLR2 pathways in different mutants[J]. Journal of Biological Chemistry, 2014, 289(36): 24922-24935.
 - [29] WANG Shijie, HUANG Weiwei, LI Kui, et al. Engineered outer membrane vesicle is potent to elicit HPV16E7-specific cellular immunity in a mouse model of TC-1 graft tumor [J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12: 6813-6825.
 - [30] KIM O Y, DINH N T, PARK H T, et al. Bacterial protoplast-derived nanovesicles for tumor targeted delivery of chemotherapeutics [J]. Biomaterials, 2017, 113: 68-79.

收稿日期: 2022-12-08

修回日期: 2023-03-21

(上接第195页)

- [19] HU Guanying, YANG Peng, ZENG Yu, et al. Danggui buxue decoction promotes angiogenesis by up-regulation of VEGFR1/2 expressions and down-regulation of sVEGFR1/2 expression in myocardial infarction rat[J]. Journal of the Chinese Medical Association, 2018, 81(1): 37-46.
- [20] 崔泽岩, 孙倩, 周红霞. 血清糖类抗原 125 和 N 末端 B 型脑钠肽前体对射血分数保留的心力衰竭的

诊断与疗效判定及预后的评估价值 [J]. 中国医药, 2021, 16(4): 503-507.

CUI Zeyan, SUN Qian, ZHOU Hongxia. Evaluation of serum carbohydrate antigen 125 and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in diagnosis, efficacy judgment and prognosis of heart failure with preserved ejection fraction [J]. China Medicine, 2021, 16(4): 503-507.

收稿日期: 2023-01-02

修回日期: 2023-02-21