

本文引文格式:黄宇珊,黄娟,李斯毅,等. iTRAQ 技术筛选差异蛋白 S100A8 在特发性膜性肾病中的表达及意义[J]. 右江民族医学院学报, 2023, 45(2): 298-303.

【论著与临床报道】

iTRAQ 技术筛选差异蛋白 S100A8 在特发性膜性肾病中的表达及意义

黄宇珊^{1,2}, 黄娟², 李斯毅², 吴勇², 唐凤英^{1,2}

(1. 汕头大学医学院, 广东 汕头 515041;

2. 广东省惠州市中心人民医院肾内科, 广东 惠州 516001)

摘要:目的 应用同位素标记相对与绝对定量蛋白组学(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)技术鉴定和筛选特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN)患者外周血中的差异蛋白, 验证 IMN 患者差异蛋白 S100A8 表达水平及其意义。方法 收集 IMN 组、非膜性肾病组(not-idiopathic membranous nephropathy, NIMN)和健康对照组的外周血标本, 结合生物信息学分析获得差异表达蛋白。采用蛋白质免疫印迹(Western Blot, WB)及酶联免疫吸附方法(ELISA 法)检测 S100A8 蛋白在 3 组的表达, 分析其表达与 IMN 的关系。结果 ①通过 iTRAQ 方法并结合生物信息学分析筛选出 S100A8 作为目标蛋白; ②S100A8 在 30 例 IMN 患者中表达增高, 与 NIMN 组差异有统计学意义($P < 0.001$); ③ROC 曲线显示 S100A8 蛋白对 IMN 有高诊断价值。结论 检测 S100A8 蛋白的表达对诊断 IMN 具有一定价值, S100A8 可能是 IMN 的候选生物标志物。

关键词:肾小球肾炎, 膜性; 同位素标记相对与绝对定量蛋白组学; S100A8 蛋白; 生物标志物

中图分类号: R692.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2023)02-0298-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.02.023

Expression and significance of differential protein S100A8 screened by iTRAQ in idiopathic membranous nephropathy

Huang Yushan^{1,2}, Huang Juan², Li Siyi², Wu Yong², Tang Fengying^{1,2}

(1. Shantou University Medical College, Shantou 515041, Guangdong, China; 2. Department of Nephrology, Huizhou Municipal Central Hospital, Huizhou 516001, Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To identify and screen differential proteins in peripheral blood of patients with idiopathic membranous nephropathy (IMN) by isobaric tags for relative and absolute quantification (iTRAQ), and to verify the expression and significance of differential protein S100A8 in patients with IMN. **Methods** Peripheral blood samples were collected from patients in idiopathic membranous nephropathy (IMN) group, non-idiopathic membranous nephropathy (NIMN) group and healthy control group, and differentially expressed proteins were obtained based on bioinformatics analysis. Western Blot (WB) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to detect the expression of S100A8 protein in the three groups, and the relationship between its expression and IMN was analyzed. **Results** ① S100A8 was screened out as the target protein by iTRAQ combined with bioinformatics analysis. ② S100A8 expression increased in 30 patients in IMN group, and the difference was statistically significant compared with that of NIMN group ($P < 0.001$). ③ The

第一作者简介:黄宇珊(1982-),女,在读硕士研究生,副主任医师,研究方向:慢性肾脏病, E-mail: 321458476@qq.com

通讯作者简介:唐凤英(1976-),女,博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:慢性肾脏病, E-mail: tangfengying_1976@

ROC curve showed that S100A8 protein had high diagnostic value for IMN. **Conclusion** Detection of S100A8 protein expression has certain value for the diagnosis of IMN, and S100A8 may be a candidate biomarker for IMN.

Key words: glomerulonephritis, membranous; isobaric tags for relative and absolute quantification; protein S100A8; biomarkers

特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy,IMN)是一种免疫复合物介导的肾脏疾病^[1],由足细胞抗原自身抗体引起,包括磷脂酶A2受体(phospholipase A2 receptor,PLA2R)和含有7A的凝血酶反应蛋白1型结构域(thrombospondin type-1 domain-containing 7A,THSD7A),临床多表现为肾病综合征,早期诊断依赖肾活检病理。肾活检是有创检查,有出血风险^[2]。血清 PLA2R 抗体(anti-PLA2R)是目前公认且可用于临床检验的 IMN 生物标志物^[3],但仅约 51.6%~82.0% IMN 患者 PLA2R 阳性^[4],3%~5%患者 THSD7A 阳性^[5]。因此,需寻找新的可靠的生物标志物。同位素标记相对与绝对定量蛋白质组学(isobaric tags for relative and absolute quantification,iTRAQ)技术是一种定量蛋白质组学的经典方法,具有敏感性高、重复性好的特点。本研究采用基于 iTRAQ 技术的蛋白质组学方法进行比较蛋白质组学分析寻找目标蛋白,对目标蛋白通过蛋白质免疫印迹(Western Blot,WB)及酶联免疫吸附方法(ELISA法)进一步确认目标蛋白表达情况,以期发现 IMN 的候选生物标志物。

1 材料与方法

1.1 病例收集 收集 2021 年 1 月至 2021 年 8 月惠州市中心人民医院肾内科住院的初治肾病综合征患者及我院体检中心健康体检者的外周血样本。分组:① IMN 组 30 例;②非特发性膜性肾病组(not-idiopathic membranous nephropathy,NIMN)组 30 例,病理类型为系膜增生性肾小球肾炎;③健康组 30 例。IMN 组和 NIMN 组患者均符合肾病综合征诊断标准:大量蛋白尿(>3.5 g/24 h),低蛋白血症(<30 g/L),高脂血症和高度水肿。所有患者均未使用激素及免疫抑制剂治疗。血清样品均为清晨空腹时采集,至少禁食 8 h,3 000 r/min 10 min,收集上清液,分装后 -80 °C 保存备用。同时获取 3 组受检者的性别、年龄等一般信息,血清肌酐、24 h 尿蛋白、甘油三酯等结果。本研究所遵循的程序符合伦理学要求,并经本院伦理委员会批准(伦理号:kyl12022022)。所有受试者均签署知情同意书。

1.2 实验方法 首先对 6 例 IMN 患者(女 4 例,男 2 例,平均年龄 33.13 岁)、6 例 NIMN 患者(女 4 例,男 2 例,平均年龄 32.23 岁)和 4 例年龄和性别匹配的健

康对照者进行基于 iTRAQ 的蛋白质组分析,包括 iTRAQ 肽标记、分类、质谱分析和数据库比较。其后对 30 例 IMN 患者、30 例 NIMN 患者和 30 名健康受试者的外周血用 Western Blot 及 ELISA 法进行 S100A8 蛋白定量验证。

1.2.1 iTRAQ 蛋白质组学分析 将每组等量的蛋白质变性(8 mmol/L 尿素、4% 丙磺酸、30 mmol/L HEPES、1 mmol/L PMSF、2 mmol/L EDTA、10 mmol/L 二巯基苏糖醇),还原(二巯基苏糖醇),烷基化(碘乙酰胺),消化(胰蛋白酶),并用 iTRAQ 试剂标记,健康对照品 iTRAQ 113 和 114;IMN 组 iTRAQ 115、117、121;NIMN 组 iTRAQ 116、118、119。将 iTRAQ 标记的肽混合,用 2D 液相色谱(HILIC/SCX 和保留相)分析,然后用 Q-exactive 质谱仪(ThermoFisher)进行质谱分析。用 Proteome Discoverer 1.3 软件转化原始图谱文件为 .mgf 文件,将其提交 MASCOT 2.3.0 服务器检索,通过 MASCOT 服务器上形成的搜库文件,根据 $FDR < 0.01$ 标准对数据进行筛选,完成蛋白质鉴定和定量,得到差异蛋白。对差异蛋白进行生物信息学分析。

1.2.2 Western Blot(WB)法验证目标蛋白 选取目标蛋白 S100A8 进一步验证。对 30 例 IMN 患者、30 例 NIMN 患者和 30 名健康受试者的外周血用 WB 法检测 3 组 S100A8 蛋白表达量。取受试者样本,蛋白质裂解液提取外周血蛋白质,BCA 法测得蛋白质浓度,分别于对应孔中加入 40 μ g 蛋白质,在 10.0% Tris-HCl SDS/PAGE 凝胶上还原分离,将分离后的蛋白质转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,使用封闭液对转印膜封闭处理后,用 S100A8 单克隆抗体等进行一级抗体封阻和探测,在 4 °C 下过夜,根据制造商方案,加入二级抗体,通过增强型化学发光检测,与 β -肌动蛋白的内部对照相比较,通过测量相应带的光密度(OD)来量化 S100A8 蛋白的相对水平。数据报告为相对强度单位。蛋白条带经 ImagJ 软件定量分析。

1.2.3 酶联免疫吸附试验(ELISA 试验)定量检测目标蛋白 双抗体夹心法对 3 组外周血标本进行 S100A8 蛋白定量检测。用人 S100A8 ELISA 试剂盒(美国 SAB 公司),按说明书进行标准品制备、酶标包被板加样、温育、洗板、加酶等操作后用酶标仪 450 nm 波长依序测量各孔的吸光度(OD 值),根据标准品浓

度计算出 S100A8 蛋白浓度。

1.3 统计学方法 上调蛋白丰度改变倍数 >1.5 倍, 下调蛋白丰度改变倍数 <0.3 倍, $P < 0.05$ 的蛋白被视为差异蛋白。根据蛋白质丰度水平差异, IMN 组与 NIMN 组之间采用 t 检验进行差异显著性评估。采用 SPSS 25.0 和 Graphpad Prism 8.0 软件进行统计分析。计量资料进行正态分布检验, 符合正态分布的数据采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 3 组间比较用单因素方差分析; 不符合正态分布的数据采用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示, 3 组间比较用 Kruskal-Wallis H 检验; 计数资料采用构成比

表示, 组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组基本资料对比结果 3 组在年龄、性别构成比、血压、体重指数 (BMI), 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。IMN 组和 NIMN 组的 24 h 尿蛋白定量、血清肌酐、尿酸、总胆固醇、甘油三酯高于健康对照组 ($P < 0.05$), 血清白蛋白低于健康对照组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组基本资料对比结果

指标	IMN 组 ($n=30$)	NIMN 组 ($n=30$)	健康对照组 ($n=30$)	F/χ^2	P
年龄/岁	47.77 \pm 11.02	42.00 \pm 12.99	42.83 \pm 14.73	1.724	0.184
男/例	20	12	14	4.625	0.099
收缩压/kPa	18.20 \pm 2.12	17.40 \pm 1.97	17.28 \pm 2.35	1.623	0.203
舒张压/kPa	11.63 \pm 1.46	11.31 \pm 1.43	11.42 \pm 1.15	0.433	0.650
体重指数/($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$)	25.84 \pm 4.17	24.47 \pm 3.68	24.03 \pm 3.28	1.924	0.152
24 h 尿蛋白/($\text{mg} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)	5202.43 \pm 3290.46	2236.17 \pm 2249.08	54.57 \pm 33.85	37.823	<0.001
肌酐/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	76.36 \pm 31.43	90.66 \pm 40.53	64.67 \pm 17.73	5.181	0.007
血清白蛋白/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	26.27 \pm 7.21	36.06 \pm 7.88	45.66 \pm 2.66	69.901	<0.001
尿素氮/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	5.12 \pm 1.97	5.79 \pm 2.41	4.82 \pm 1.42	1.862	0.161
尿酸/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	432.58 \pm 110.66	409.76 \pm 145.16	318.77 \pm 109.42	7.205	0.001
总胆固醇/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	7.32 \pm 2.30	5.86 \pm 2.81	4.41 \pm 0.69	13.984	<0.001
甘油三酯/($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	3.27 \pm 2.69	1.73 \pm 1.14	1.10 \pm 0.49	12.883	<0.001

注: 表内计量资料数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。

2.2 蛋白质组鉴定结果

2.2.1 蛋白质差异性变化 通过 iTRAQ 分析鉴定 IMN 患者和 NIMN 组之间血清差异表达蛋白, 共鉴定到总蛋白数量为 938 个, 通过蛋白质定量分析, 与

NIMN 组相比, IMN 组的 8 个蛋白质显示出表达上调, 6 个蛋白质显示出表达下调, 差异蛋白信息, 见表 2。

表 2 差异表达蛋白

编号	蛋白编码	名称	IMN 组与 NIMN 组蛋白定量比值	P 值 (IMN 对比 NIMN)
IMN 患者下调蛋白				
1	gi 119601423	hCG2028724	2.9448	0.001448288
2	gi 119395709	凝血因子 IIIA 链前体 (coagulation factor IIIa chain precursor)	2.8048	0.003035808
3	gi 114155144	原肌球蛋白 α -3 链亚型 (tropomyosin alpha-3 chain isoform 4)	2.6676	0.006760135
4	gi 1374792	硒结合蛋白 (selenium-binding protein)	2.6174	0.017402322
5	gi 119613093	WD 重复结构域 1, CRA-b 亚型 (WD repeat domain 1, isoform CRA_b)	2.4331	0.033175363
6	gi 4885375	组蛋白 H1.2 (histone H1.2)	2.6862	0.016186
IMN 患者上调蛋白				
7	gi 9966777	抵抗素 (resistin)	0.4208	0.020804164
8	gi 21614544	S100A8 蛋白 (protein S100A8)	0.4214	0.021410031
9	gi 1065033	链接蛋白 A (chain A)	0.4249	0.02487904
10	gi 2627129	聚泛素 (polyubiquitin)	0.4377	0.037749551
11	gi 119606836	GDP 解离抑制剂 2, CRA-a 亚型 (GDP dissociation inhibitor 2, isoform CRA_a)	0.4378	0.037871091
12	gi 4504025	谷胱甘肽氧化还原蛋白-1 (glutaredoxin-1)	0.4432	0.04324409
13	gi 221045102	未命名蛋白产物 (unnamed protein product)	0.4439	0.043924953
14	gi 4503303	中性粒细胞防御素 4 前蛋白 (neutrophil defensin 4 preproprotein)	0.4441	0.044093614

2.2.2 生物信息学分析 对筛选的 14 个差异表达蛋白进行蛋白质互作(PPI)网络分析。本研究发现这些差异蛋白涉及细胞分裂、细胞分化、细胞浆移动、细胞凋亡、细胞存活、DNA 甲基化、活性氧生成、细胞增殖等生物进程。图 1、图 2 显示了与这些蛋白质相关的 9 个生物过程及各差异蛋白之间的相互关系。结果表明,目标蛋白 S100A8 生物学功能主要集中在细胞增殖、细胞分化及细胞凋亡过程。

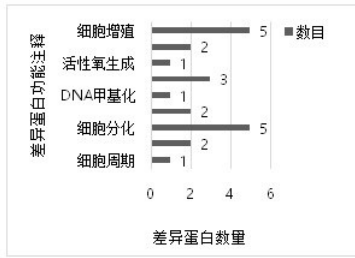


图 1 IMN 患者差异表达蛋白质相关的 9 个生物过程

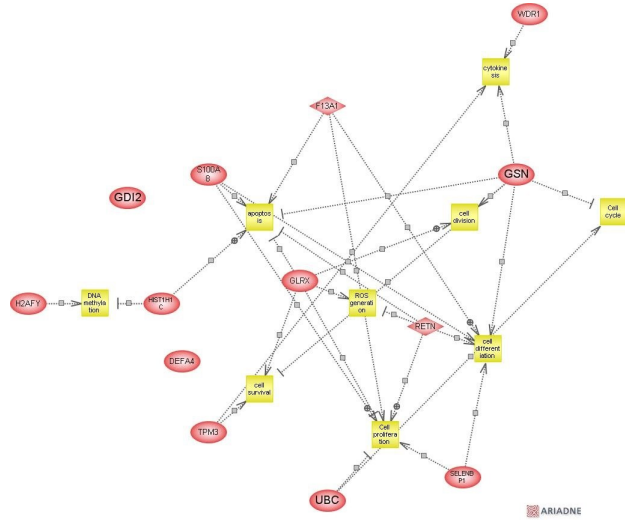
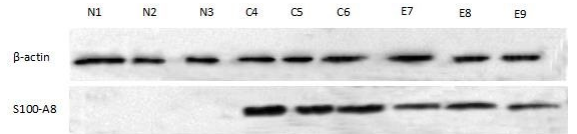


图 2 蛋白质互作(PPI)网络分析

2.3 S100A8 蛋白的 Western Blot 法验证 从 14 种不同水平的蛋白质中选择了 S100A8 蛋白质进一步研究,这种蛋白质以前没有被报道为 IMN 的生物标志物,并且可以通过 WB 法检测。然后对 S100A8 的 WB 数据进行了统计分析。结果示 S100A8 在 IMN 组和 NIMN 组有表达差异,条带灰度 ($P < 0.05$)。见图 3、图 4。

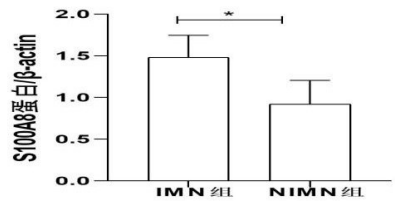
2.4 ELISA 检测结果 IMN 组 S100A8 蛋白水平为 (124.64 ± 35.5) ng/mL,高于 NIMN 组 $[(80.69 \pm$

$20.98)$ ng/mL]和健康对照组 $[(47.73 \pm 9.58)$ ng/mL],差异有统计学意义 ($P < 0.001$),见图 5。ROC 曲线分析显示 S100A8 蛋白 cut-off 值为 80.16 ng/mL,其对于诊断 IMN 的敏感性为 93.30%,特异性为 75.00%,曲线下面积(area under the curve, AUC)为 0.911,95%可信区间为 0.844~0.978。S100A8 蛋白可以很好地对 IMN 组与非 IMN 组和健康对照组进行区分。见图 6。



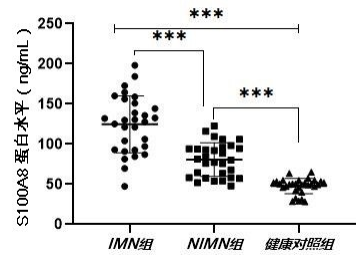
注:3 例正常对照组为 N1~N3,3 例 IMN 患者为 C4~C6,NIMN 患者为 E7~E9;检测 β -肌动蛋白作为每个样本的内部对照。

图 3 S100A8 Western Blot 检测条带



注: * $P < 0.05$ 。

图 4 S100A8 Western Blot 灰度分析



注:图中的点表示样本 S100A8 蛋白水平;*** $P < 0.001$ 。

图 5 3 组 S100A8 蛋白水平对比结果

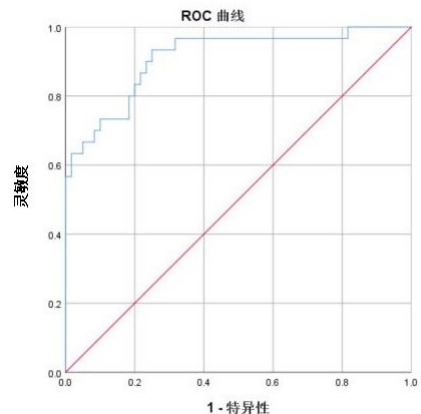


图 6 S100A8 蛋白水平 ROC 曲线

3 讨论

膜性肾病是非糖尿病成年人中最常见的原发性肾小球疾病^[6]。约 30% 的 MN 膜性肾病患者在长期随访中进展为终末期肾病(ESRD),因此在诊断时预测对特定治疗方案的反应或 MN 膜性肾病的最终结果和预后可能有助于精准治疗^[7]。iTRAQ 技术是一种可同时对 4 种或 8 种样品进行相对和绝对定量研究的定量蛋白质组学方法^[8],已被用于鉴定敏感和特异的疾病状态预后标志物,在肾脏疾病领域应用广泛^[9]。

本研究采用 iTRAQ 技术研究 IMN、NIMN 患者和健康者之间的差异表达蛋白,发现 S100A8 蛋白在 IMN 患者组表达明显升高。通过 Western Blot 和 ELISA 进一步证实 S100A8 蛋白是 IMN 患者的高表达蛋白。S100A8 蛋白来自 S100 蛋白家族,是晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end products,RAGE)的配体,晚期糖基化终产物(advanced glycation end products,AGEs)是蛋白质和脂质的非酶糖基化和氧化的产物,糖尿病肾病是证明 AGEs 在肾脏疾病中致病作用的经典模型^[10]。最近研究表明^[11],AGEs 会在非糖尿病肾病尿毒症患者体内积累。在慢性肾脏病(chronic kidney disease,CKD)患者中,由于产量增加和肾排泄受损,AGEs 水平显著增加^[12]。AGEs 通过交联结构蛋白或与 RAGE 相互作用启动多个细胞内信号通路,激活核因子 κ -B(NF- κ B)^[13],增加氧化应激,从而导致 CKD^[14]。因此,抑制 AGEs/RAGE/NF- κ B 通路,对预防 CKD 具有重要意义。本研究发现 S100A8 蛋白在 IMN 组及 NIMN 组均升高,表明 S100A8 蛋白参与 CKD 进程,推测 AGEs/RAGE/NF- κ B 通路激活所致,确切机制需要后续研究探索。IMN 患者的 S100A8 蛋白生物学功能主要集中在细胞增殖、细胞分化及细胞凋亡过程,推测 S100A8 蛋白引起 IMN 的机制与机体的细胞分化、异常增殖及凋亡等相关。而 S100A8 蛋白在 IMN 组升高更明显,ROC 曲线分析显示 S100A8 蛋白可以很好地对 IMN 组与非 IMN 组和健康对照组进行区分,表明 S100A8 表达在肾脏病不同病理类型中存在差异。有研究表明,S100A8 蛋白参与免疫介导炎症反应,与炎症严重程度相关^[15],提示 IMN 的免疫损伤较 NIMN 严重。通过检测外周血 S100A8 的表达有助于诊断 IMN,S100A8 可能是 IMN 的候选生物标志物,这需要进一步探索研究。

本研究有几个局限性。首先 S100A8 浓度并不仅在 IMN 患者升高^[16-19],S100A8 的升高能否特异性反映 IMN 情况仍有待进一步研究。其次,本研究为单中心研究,纳入病例数较少,未设置继发性膜性肾病组对照,需要更多标本量行前瞻性研究来验证研究结果。

为了进一步研究 S100A8 在 IMN 的可能机制,必须招募更多的 IMN 患者来分析 S100A8 是否可能是 IMN 的生物标志物。

总之,本研究表明 IMN 患者外周血 S100A8 蛋白水平升高。S100A8 蛋白有成为新的诊断与监测 IMN 患者的生物标志物的潜力,可能是 IMN 的候选生物标志物。

参考文献:

- [1] UNCANIN S,DZEMIDZIC J,SERDAREVIC N,et al. Idiopathic membranous nephropathy and treatment related complications[J]. Med Arch,2020,74(3):228-232.
- [2] TIE C,LIU L L,FENG T,et al. Differential analysis of urinary albumin for membranous nephropathy patients by online capillary isoelectric focusing-Mass spectrometry [J]. J Proteom,2020,216:103676.
- [3] HERWIG J,SKUZA S,SACHS W,et al. Thrombospondin type 1 domain-containing 7A localizes to the slit diaphragm and stabilizes membrane dynamics of fully differentiated podocytes [J]. J Am Soc Nephrol,2019,30(5):824-839.
- [4] 蒋真斌,蔡美顺,董葆,等. 适合中国人的抗磷脂酶 A2 受体抗体临界值的界定[J]. 中华肾脏病杂志,2020,36(5):379-384.
- [5] CAI Q,HENDRICKS A R. Membranous nephropathy: a ten-year journey of discoveries [J]. Semin Diagn Pathol,2020,37(3):116-120.
- [6] 崔昭,张潇丹,赵明辉. 日益增多的肾脏疾病:膜性肾病[J]. 中华内科杂志,2020,59(2):157-160.
- [7] 裴瑶,刘婷婷,张晓艳. 特发性膜性肾病发病机制的研究进展[J]. 长治医学院学报,2022,36(1):76-80.
- [8] HE Y J,LIN J Y,TANG J F,et al. ITRAQ-based proteomic analysis of differentially expressed proteins in sera of seronegative and seropositive rheumatoid arthritis patients[J]. J Clin Lab Anal,2022,36(1):e24133.
- [9] CHEN C J,CHOU C Y,SHU K H,et al. Discovery of novel protein biomarkers in urine for diagnosis of urothelial cancer using iTRAQ proteomics [J]. J Proteome Res,2021,20(5):2953-2963.
- [10] PERWEEN S,ABIDI M,FAIZ FAIZY A,et al. Biophysical changes in methylglyoxal modified fibrinogen and its role in the immunopathology of type 2 diabetes mellitus [J]. Int J Biol Macromol,2022,202:199-214.
- [11] CHAGHOURI P,MAALOUF N,PETERS S L,et al. Two faces of vitamin C in hemodialysis patients: relation to oxidative stress and inflammation[J]. Nutrients,2021,13(3):791.
- [12] FOTHERINGHAM A K,GALLO L A,BORG D J,et al. Advanced glycation end products (AGEs) and chronic kidney disease: does the modern diet AGE the kidney?

- [J]. *Nutrients*, 2022, 14(13): 2675.
- [13] WANG M, YANG L Y, YANG J, et al. Shen Shuai II Recipe attenuates renal injury and fibrosis in chronic kidney disease by regulating NLRP3 inflammasome and Sirt1/Smad3 deacetylation pathway[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 107.
- [14] XIE J Y, YUAN Y, YAO G, et al. Nucleoporin 160 (NUP160) inhibition alleviates diabetic nephropathy by activating autophagy[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 6390-6402.
- [15] DAVIES J C, MIDGLEY A, CARLSSON E, et al. Urine and serum S100A8/A9 and S100A12 associate with active lupus nephritis and may predict response to rituximab treatment[J]. *RMD Open*, 2020, 6(2): e001257.
- [16] KIM J W, JUNG J Y, LEE S W, et al. S100A8 in serum, urine, and saliva as a potential biomarker for systemic lupus erythematosus[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 886209.
- [17] FARAG A, SHOAI B M, LABEED A, et al. S100A8 (rs3806232) gene polymorphism and S100A8 serum level in psoriasis vulgaris patients: a preliminary study[J]. *J Cosmet Dermatol*, 2022, 22(10): 4974-4982.
- [18] TANAKA K, ENOMOTO N, HOZUMI H, et al. Serum S100A8 and S100A9 as prognostic biomarkers in acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Respir Investig*, 2021, 59(6): 827-836.
- [19] SPRENKELER E G G, ZANDSTRA J, VAN KLEEF N D, et al. S100A8/A9 is a marker for the release of neutrophil extracellular traps and induces neutrophil activation[J]. *Cells*, 2022, 11(2): 236.

收稿日期: 2022-11-03; 修回日期: 2022-11-25

(上接第 275 页)

参考文献:

- [1] BOUNDS A D, GIRKIN J M. Early stage dental caries detection using near infrared spatial frequency domain imaging[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 2433.
- [2] SIMMER J P, HARDY N C, CHINOY A F, et al. How fluoride protects dental enamel from demineralization[J]. *J Int Soc Prev Community Dent*, 2020, 10(2): 134-141.
- [3] GUNTHER E, PARK K J, MEISSNER T, et al. Assessment of non-cavitated root caries lesions by quantitative light-induced fluorescence-an in vivo feasibility study[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2020, 30: 101671.
- [4] BATAINEH M, MALINOWSKI M, DUGGAL M S, et al. Comparison of the newer preventive therapies on remineralisation of enamel in vitro[J]. *J Dent*, 2017, 66: 37-44.
- [5] GUCLU Z A, ALACAM A, COLEMAN N J. A 12-Week assessment of the treatment of white spot lesions with CPP-ACP paste and/or fluoride varnish[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 8357621.
- [6] DE OLIVEIRA P R A, BARBOZA C M, DA COSIA BARRETO L S, et al. Effect of CPP-ACP on remineralization of artificial caries-like lesion: an in situ study[J]. *Braz Oral Res*, 2020, 34: e61.
- [7] DAI Z X, LIU M, MA Y S, et al. Effects of fluoride and calcium phosphate materials on remineralization of mild and severe white spot lesions[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 1271523.
- [8] 邢向辉, 王小竞, 渡部茂. 定量光导荧光法研究含氟涂膜对离体牛牙釉质再矿化的影响[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2010, 20(3): 131-134.
- [9] 沈红, 胡德渝. 定量光激发荧光技术检测乳磨牙窝沟封闭效果的临床研究[J]. *口腔医学*, 2013, 33(3): 148-150.
- [10] TAO S Y, ZHU Y, YUAN H, et al. Efficacy of fluorides and CPP-ACP vs fluorides monotherapy on early caries lesions: a systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2018, 13(4): e196660.
- [11] THIENS L A M, MOERMAN S, ELST C V, et al. The in vitro remineralizing effect of CPP-ACP and CPP-ACPF after 6 and 12 weeks on initial caries lesion[J]. *J Appl Oral Sci*, 2019, 27: e20180589.
- [12] THIMMAIAH C, SHETTY P, SHETTY S B, et al. Comparative analysis of the remineralization potential of CPP-ACP with fluoride, tri-calcium phosphate and nano hydroxyapatite using SEM/EDX-an in vitro study[J]. *J Clin Exp Dent*, 2019, 11(12): e1120-e1126.
- [13] YAZICIOGLU O, YAMAN B C, GULER A, et al. Quantitative evaluation of the enamel caries which were treated with casein phosphopeptide-amorphous calcium fluoride phosphate[J]. *Niger J Clin Pract*, 2017, 20(6): 686-692.
- [14] AL-BATAYNEH O B, JBARAT R A, AL-KHATEEB S N. Effect of application sequence of fluoride and CPP-ACP on remineralization of white spot lesions in primary teeth: an in-vitro study[J]. *Arch Oral Biol*, 2017, 83: 236-240.
- [15] AL-BATAYNEH O B, BANI H E, AL-KHATEEB S N. Assessment of the effects of a fluoride dentifrice and GC tooth mousse on early caries lesions in primary anterior teeth using quantitative light-induced fluorescence: a randomised clinical trial[J]. *Eur Arch Paediatr Dent*, 2020, 21(1): 85-93.

收稿日期: 2022-11-07; 修回日期: 2022-12-02