

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.19.026

数字聚合酶链反应技术在 DNA 甲基化检测中的应用^{*}

张 静,吉旭瑶,迟伟群 综述,刘 禹[△]审校

哈尔滨医科大学附属第四医院检验科,黑龙江哈尔滨 150001

摘 要:DNA 甲基化作为最重要的表观遗传学机制之一,与人类疾病,如癌症、神经系统疾病、心血管疾病等密切相关。近年来,随着生物技术的不断发展,数字聚合酶链反应(dPCR)技术逐渐应用于甲基化检测领域,dPCR 技术作为一种新兴的绝对定量技术,通过将反应体系分割为大量微单元并结合泊松分布公式统计,明显提高了 DNA 甲基化检测的灵敏度和精确度。该文系统综述了 dPCR 技术在 DNA 甲基化检测中的原理、技术优势及其在恶性肿瘤诊断、年龄预测和慢性疾病筛查等临床应用中的最新进展。同时,该文探讨了当前 dPCR 技术面临的成本高、操作复杂及通量有限等挑战,并展望了其单细胞分析、多组学整合等技术的结合潜力。未来,dPCR 技术有望通过技术优化与多学科融合,为精准医疗和疾病早期诊断提供更高效、可靠的检测手段。

关键词:数字聚合酶链反应; DNA 甲基化; 表观遗传学; 临床应用; 生物技术

中图分类号:R446.1;O652.9 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2025)19-2732-05

Application of digital polymerase chain reaction technology in DNA methylation detection^{*}

ZHANG Jing,JI Xuyao,CHI Weiqun,LIU Yu[△]

Department of Clinical Laboratory,the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University,Heilongjiang,Harbin 150001,China

Abstract:As one of the most important epigenetic mechanisms,DNA methylation is closely related to human diseases,such as cancer,nervous system diseases,and cardiovascular diseases. In recent years,with the continuous development of biotechnology,digital polymerase chain reaction (dPCR) technology has been gradually applied to the field of DNA methylation detection. As an emerging absolute quantitative technology,dPCR technology significantly improves the sensitivity and accuracy of DNA methylation detection by dividing the reaction system into a large number of micro-units and combining Poisson distribution formula statistics. This article systematically reviews the principle and technical advantages of dPCR technology in DNA methylation detection,and its latest progress in clinical applications such as malignant tumor diagnosis,age prediction and chronic disease screening. At the same time,this review discusses the challenges of current dPCR technologies such as high cost,complex operation,and limited throughput,and looks forward to its potential in combination with single-cell analysis and multi-omics integration. In the future,dPCR technology is expected to provide a more efficient and reliable detection method for precision medicine and early diagnosis of diseases through technical optimization and multidisciplinary integration.

Key words:digital polymerase chain reaction; DNA methylation; epigenetics; clinical application; biotechnology

表观遗传调控在机体的生长发育中发挥着重要作用,其中 DNA 甲基化作为基因表观遗传调控的主导修饰形式^[1],对基因表达水平的精准调控至关重要。DNA 甲基化依托于 DNA 甲基转移酶的催化活动,利用 S-腺苷甲硫氨酸作为甲基来源,在经过催化作用后将甲基转移至 DNA 特定碱基,其涉及多个关

键的生物学事件,包括胚胎早期发育、基因组印记作用、X 染色体活化及重复序列沉默等^[2],维系着真核生物基因组的稳态。然而,DNA 甲基化异常会诱发癌症、心血管疾病、神经系统疾病及自身免疫性疾病等多种疾病的发生和发展^[3]。因此,精确检测机体中 DNA 甲基化水平对深入探讨相关疾病的发病机制,

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(82272389)。

[△] 通信作者,E-mail:rainfall1982@163.com。

引用格式:张静,吉旭瑶,迟伟群,等.数字聚合酶链反应技术在 DNA 甲基化检测中的应用[J].检验医学与临床,2025,22(19):2732-2736.

以及实现疾病的早期诊断、有效医疗的干预和后续健康状况检测具有决定性意义。随着 DNA 甲基化领域研究的不断深入,众多检测技术应运而生,常见的 DNA 甲基化检测技术包括甲基化特异性聚合酶链反应(MSP)、实时荧光定量 PCR(qPCR)、甲基化敏感性限制性内切酶 PCR(MSRE-PCR)及各种甲基化测序技术等^[4]均存在灵敏度低或重复性差等问题,给精准检测带来了严峻挑战。数字 PCR(dPCR)作为近年来快速发展的高通量分子分析方法,凭借其独特优势在 DNA 甲基化检测中展现出广阔的应用前景。本文主要介绍数字 PCR 技术及其在 DNA 甲基化检测中的应用。

1 基于 dPCR 的 DNA 甲基化检测技术

1.1 PCR 技术在 DNA 甲基化检测中的发展历程

PCR 技术在 DNA 甲基化检测中的应用历史悠久,早在 1996 年,HERMAN 等^[5]报道了 MSP 技术,该技术首先设计区分经亚硫酸氢盐处理后的 DNA 甲基化位点和非甲基化位点的引物,经 PCR 扩增后通过凝胶电泳进行检测,根据条带的有无判断基因是否发生了甲基化^[6]。虽然 MSP 技术简单易行,但仅能进行已知序列的定性检测,难以满足定量评估甲基化 DNA 水平的迫切需求。随后,有研究者开发出了 qPCR 甲基化检测方法,除了设计针对甲基化和非甲基化序列的引物外,还在 PCR 的反应体系中引入了荧光基团,实时检测每个 PCR 循环产物的荧光信号^[7],并通过标准曲线对亚硫酸盐转化后的 DNA 进行定量分析。qPCR 虽在一定程度上有所进步,但仍然存在易受 PCR 抑制剂干扰、检测罕见甲基化等位基因的灵敏度有限及标准化过程中可能存在偏移等问题。在此形式下,研究人员在 qPCR 的基础上开发了 dPCR 技术,成功实现对单个甲基化分子高灵敏度检测,为疾病检测和筛选提供了强有力的手段。

1.2 基于 dPCR 的 DNA 甲基化检测技术的基本原理 dPCR 技术是 20 世纪 90 年代末兴起的高精度核酸分子绝对定量技术,其基本原理可视为将 qPCR 体系分而治之,即将传统 qPCR 的单反应体系分散为数万个独立的微小单元,实现对 DNA 模板的绝对定量。在这一过程中,各微小单元不含 DNA 模板,或仅含有 1 个至多个 DNA 模板,这些微小单元同步进行 PCR 扩增反应,随后对扩增后的终点信号进行集体检测与分析,从而精确计算出原始模板 DNA 的浓度^[8]。当反应单元存在 DNA 模板则读取为阳性信号,而反应单元不存在 DNA 模板读取为阴性信号,DNA 模板在反应单元的分布符合泊松分布,通过统计反应单元总数和阴、阳性反应单元数目,依据泊松分布公式可精确计算出原始模板 DNA 的浓度,实现 DNA 的精确

定量^[9]。由于 DNA 甲基化过程中序列不变,直接检测无法识别甲基化和未甲基化的状态,故使用 dPCR 进行甲基化水平检测时,需先对 DNA 样本进行亚硫酸氢盐处理或应用特定的限制性酶预分解。亚硫酸氢盐转化可使未经甲基化 DNA 中的胞嘧啶将转变为尿嘧啶,而甲基化的胞嘧啶(5-甲基胞嘧啶)则保持不变^[10],这一过程可以将甲基化的变化显现为可辨识的序列变异,从而通过设计能够特异性结合甲基化或未甲基化序列的引物和探针,实现对 DNA 甲基化程度的精确量化。限制性内切酶处理则利用对甲基化区域和非甲基化区域不同切割特性,使 DNA 被分解为不同大小的片段,便于 dPCR 分析目标位点的甲基化水平^[11]。

2 dPCR 在 DNA 甲基化检测中的优势

2.1 高灵敏度 相对于其他检测方法,dPCR 技术在检测微量 DNA 甲基化水平方面表现卓越,其通过将反应体系分隔为大量独立的微反应单元,有效降低反应体系的信号本底噪音,避免了罕见目标基因淹没在大量背景信号中。若进行多重 PCR 扩增时,每个反应单元最多含一种模板分子,消除了不同模板分子扩增的竞争抑制,使罕见目标基因更容易被检出^[12]。例如,在针对罕见肿瘤相关基因甲基化的检测中,dPCR 技术能够从海量的 DNA 背景中敏锐地捕捉到极其微量的甲基化信号,为疾病的早期发现和精准诊断提供了可能。众多研究实例,如 BEINSE 等^[13]基于微滴式数字 PCR(ddPCR)技术对子宫内膜癌患者血浆中的循环肿瘤 DNA(ctDNA)进行高度特异性和敏感性检测;YU 等^[14]对 ddPCR 甲基化检测方法与传统运用的 qPCR 甲基化检测方法性能进行了比较,结果表明 ddPCR 甲基化检测方法比传统的 qPCR 甲基化检测方法灵敏度高 25 倍;WU 等^[15]将 MSRE-PCR 与高灵敏度 ddPCR 技术相结合,与标准 MSRE-PCR 比较,2 种方法联合更适合于 DNA 浓度较低(0.651 ng)样本的 DNA 甲基化分析,具有更高的灵敏度。以上研究实例均充分证明了 dPCR 技术在检测灵敏度方面的明显优势,为不同肿瘤中其他基因甲基化位点的分析开辟了新途径。

2.2 高精度度 dPCR 技术相比其他甲基化检测方法具有较高的精确度,为甲基化水平的精确定量检测提供了全新的可靠技术。dPCR 技术通过对大量微反应单元阴、阳性荧光信号进行精确计数,并运用泊松分布进行校正,能够直接准确统计出反应初始模板数量,实现了对目标基因的绝对定量。同时,将反应体系分隔的特点也有助于将模板和抑制物分配到不同单元,提高了对抑制剂的耐受程度^[12]。多项研究,如 VAN WESENBEECK 等^[16]将优化后的 ddPCR 与传

统 qPCR 针对一组结肠腺瘤石蜡包埋样本上 2 个独立 CpG 位点的检测结果进行了比较,数据表明,使用 ddPCR 对低输入样本的甲基化检测更准确;NELLE 等^[17]建立了 MSRE-PCR 和 dPCR,以量化与亚硫酸氢盐转化无关的 DNA 甲基化的目标密度,并通过校准曲线对各种健康和恶性肿瘤样本 Ras 相关区域家族基因启动子甲基化的量化证实了 dPCR 的高精确度;ARROYO 等^[18]证明了 ddPCR 能够检测和验证与产前烟草暴露相关区域相邻 CpGs 之间的 DNA 甲基化水平和复杂模式,并研究了下一代亚硫酸氢盐测序的 DNA 甲基化检测性能,结果表明,ddPCR、dPCR 都是可重复的,并且 ddPCR 在大规模群体研究中显示出高通量 DNA 甲基化分析的独特优势,并提供了精确测量复杂区域目标 CpGs DNA 甲基化的特异性。以上研究均有力地证实了 dPCR 技术在甲基化检测中的高精确度,为大规模群体研究中的高通量 DNA 甲基化分析提供了有力支持。

3 dPCR 甲基化检测技术在临床中的应用

3.1 恶性肿瘤的诊治 液体活检技术作为一种新兴的非侵入性检测手段发展迅速,尤其是 ctDNA 检测在肿瘤筛查与诊断方面应用广泛^[19]。由于 DNA 甲基化异常多发生在癌症早期阶段且具有组织特异性,因此,ctDNA 甲基化成为肿瘤筛查、诊断、疗效评估及预后风险分层最有潜力的标志物,但体液中的 DNA 极其微量,健康个体血浆中 DNA 浓度为 0~25 ng/mL,恶性肿瘤患者为 349~475 ng/mL^[20-21],其中仅有部分携带异常的 DNA 甲基化模式,给甲基化检测带来了技术方面的挑战。dPCR 技术高灵敏度使其在肿瘤甲基化标志物检测中具有广阔的应用前景,可辅助临床诊断、治疗及肿瘤早诊筛查。如 FUNG 等^[22]使用 ddPCR 检测 50 例头颈部鳞癌(HNSCC)和 58 例对照受试者的口腔冲洗液中肿瘤抑制基因的甲基化水平,包括配对盒基因 5(PAX5)、内皮素受体 B 型(EDNRB)、结直肠癌缺失基因(DCC),分析 ddPCR 检测 PAX5、EDNRB、DCC 甲基化用于 HNSCC 诊断准确率及治疗后监测复发率;在另一项研究中采用 ddPCR 对 73 例急性髓细胞白血病(AML)患者和 68 例健康对照者的外周血标本中 Grainyhead 样蛋白 2 基因(GRHL2)甲基化水平进行检测,探讨 GRHL2 甲基化在 AML 诊断、治疗反应及预后中的价值。虽然 dPCR 具有更优越的检测性能,但多通路检测能力有限。因此,ZHAO 等^[23]开发了多重数字 MSP(mdMSP)平台,利用该平台同时分析 4 种甲基化生物标志物,用于液体活检基础上的非小细胞肺癌(NSCLC)检测,结果显示,与传统 MSP 比较,mdMSP 在无创检测早期 NSCLC 方面充分展示了 dPCR 在肿

瘤诊治中的优越性能和明显优势。

3.2 年龄预测 DNA 甲基化与衰老过程紧密相关,其修饰随着时间的推移在某些基因上逐渐积累,能够在一定程度上反映出身体实际的年龄和衰老程度,因此,DNA 甲基化标记成为有效的年龄预测生物标志物。dPCR 技术凭借高精度定量能力,被广泛用于检测和分析与年龄相关的甲基化标记实现高精度的表观遗传年龄预测。例如 LEE 等^[24]通过 ddPCR 检测 76 例个体唾液标本中 4 种靶基因 CpG 位置的甲基化程度,准确地追踪唾液标本的年龄,并构建了基于 ddPCR 的年龄预测模型;MANCO 等^[25]开发了一种双重 ddPCR 检测 56 例健康人外周血标本中超长链脂肪酸延伸酶 2 基因(ELOVL2)基因 CpG 位点的甲基化水平,基于检测结果构建表观遗传年龄预测模型,以实现准确估计年龄的目的;在另一项相似研究中,DIAS 等^[26]基于 ddPCR 使用双标记探针靶向甲基化和非甲基化 DNA 序列,检测了 58 例健康个体血源性 DNA 标本中已被充分记录的年龄相关基因 ELOVL2、四 LIM 结构域蛋白 2 基因和磷酸二酯酶 4C 基因的 DNA 甲基化水平,建立了年龄预测模型。目前,ddPCR 的大多数仪器只能同时检测 2 个目标,导致成本高、样品浪费等,因此,ZHOU 等^[27]开发了一个针对 8 个 DNA 甲基化靶点的多重 ddPCR 系统,验证了 8-plex 高通量 ddPCR 系统在 DNA 甲基化分析各个方面的有效性和可取性,获得的 DNA 甲基化值与年龄有很强的相关性,建立了一个高度准确的年龄预测模型。以上研究构建了基于 dPCR 的年龄预测模型,这些模型在法医学和健康研究等领域展现出了极为广阔的应用前景和巨大潜力。

3.3 慢性疾病诊断 DNA 甲基化的改变是人体内外环境相互作用的结果,可作为慢性疾病早期筛查和早期诊断极具前景的分子标志物。已有多项研究利用 dPCR 技术检测 DNA 甲基化生物标志物,成功实现了慢性疾病的早期诊断。例如,在糖尿病的研究中,研究人员利用 dPCR 技术检测与胰岛素分泌相关基因的甲基化水平,为糖尿病的早期预警和发病机制的研究提供了全新的视角与思路^[28];CARDOSO 等^[29]利用 dPCR 技术评估慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者唾液标本中的甲基化谱,建立了与 COPD 和新型冠状病毒感染的紧密联系。另有项研究通过 dPCR 甲基化检测方法实现了心肌梗死的诊断^[30];USMANI-BROWN 等^[31]使用 ddPCR 检测 1 型糖尿病患者血清中甲基化水平以预测发病等。以上研究为慢性疾病的早期诊断和治疗提供了全新的思路、方法和途径。

4 结语与展望

4.1 现有成果总结 dPCR 技术通过将反应体系分

割为微单元并基于泊松分布实现绝对定量,已成为 DNA 甲基化检测领域的重要工具,通过检测 DNA 甲基化生物标志物对疾病筛查、患者分层和个性化治疗方法具有潜在价值。dPCR 技术的高灵敏度和多通路检测能力使其在疾病早期诊断和筛查领域具有广阔应用前景^[32]。

4.2 现阶段所面临的问题 虽然 dPCR 技术具有众多优势,但在实际应用中仍然存在一些局限性:(1)较高的实验成本是其广泛应用的一大阻碍,限制了其普及范围;(2)操作流程的复杂性对操作人员的专业素养和经验提出了更高要求,增加了培训成本,提升了操作失误的风险;(3)面对大规模标本检测时效率较低,影响疾病诊断和研究进度;(4)dPCR 在 DNA 甲基化检测中的应用虽已取得了一定的积极成果,但仍需要通过进一步大规模临床验证来夯实其科学基础和临床应用价值。

4.3 应用前景 dPCR 甲基化检测与其他新兴技术的深度融合将成为未来发展的重要趋势。例如,当与基因编辑技术紧密结合时,不仅可以检测 DNA 的甲基化,还可以对异常的甲基化位置进行精确修复和调整,从而从根本上修正基因表达的不正常现象。通过与单细胞分析技术的密切合作^[33],可以更深入地研究单个细胞内 DNA 甲基化的多样性和动态变化,这将为细胞生物学和疾病发生机制的深入研究提供一个更加细致的视角。结合多组学的发展趋势,将 DNA 甲基化的数据与基因组、转录组、蛋白质组等多种组学数据进行深入整合分析,构建更为系统和完整的疾病模型,全方位揭示疾病的发生、发展机制及个体健康状态,为精准医疗的发展提供强大的技术支持。

总之,dPCR 技术在甲基化检测领域具有巨大的应用潜力。通过不断的优化和创新,有望使 dPCR 技术在甲基化检测中发挥更大的作用,为生物学研究和临床应用提供有力支持。

参考文献

- [1] LI Y Y. Modern epigenetics methods in biological research [J]. *Methods*, 2021, 187: 104-113.
- [2] MOORE L D, LE T, FAN G P. DNA methylation and its basic function [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38(1): 23-38.
- [3] GREENBERG M V C, BOURC' HIS D. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(10): 590-607.
- [4] LI S Z, TOLLEFSBOL T O. DNA methylation methods: Global DNA methylation and methylomic analyses [J]. *Methods*, 2021, 187: 28-43.
- [5] HERMAN J G J, MYÖHÄNEN S, NELKIN B D, et al.

- Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996, 93(18): 9821-9826.
- [6] MORENO M A, CALABUIG F S, OBRADOR H A, et al. dPCR application in liquid biopsies: divide and conquer [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2020, 21(1): 3-15.
- [7] TRINH B N, LONG T I, LAIRD P W. DNA methylation analysis by MethyLight technology [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 456-462.
- [8] POHL G, SHIH I M. Principle and applications of digital PCR [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2004, 4(1): 41-47.
- [9] 李慧调, 潘建章, 方群. 数字 PCR 技术的发展及应用 [J]. *化学进展*, 2020, 32(5): 581-593.
- [10] KU J L, JEON Y K, PARK J G. Methylation-specific PCR [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 791: 23-32.
- [11] MELNIKOV A A, GARTENHAUS R B, LEVENSON A S, et al. MSRE-PCR for analysis of gene-specific DNA methylation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(10): e93.
- [12] SIDSTEDT M, RÅDSTRÖM P, HEDMAN J. PCR inhibition in qPCR, dPCR and MPS-mechanisms and solutions [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(9): 2009-2023.
- [13] BEINSE G, BORGHESE B, MÉTAIRIE M, et al. Highly specific droplet-digital PCR detection of universally methylated circulating tumor DNA in endometrial carcinoma [J]. *Clin Chem*, 2022, 68(6): 782-793.
- [14] YU M, CARTER K T, MAKAR K W, et al. MethyLight droplet digital PCR for detection and absolute quantification of infrequently methylated alleles [J]. *Epigenetics*, 2015, 10(9): 803-809.
- [15] WU Z H, BAI Y N, CHENG Z L, et al. Absolute quantification of DNA methylation using microfluidic chip-based digital PCR [J]. *Biosens Bioelectron*, 2017, 96: 339-344.
- [16] VAN WESENBEECK L, JANSSENS L, MEEUWS H, et al. Droplet digital PCR is an accurate method to assess methylation status on FFPE samples [J]. *Epigenetics*, 2018, 13(3): 207-213.
- [17] NELL R J, VAN STEENDEREN D, MENDER N V, et al. Quantification of DNA methylation independent of sodium bisulfite conversion using methylation-sensitive restriction enzymes and digital PCR [J]. *Hum Mutat*, 2020, 41(12): 2205-2216.
- [18] ARROYO K, NARGIZYAN A, ANDRADE F G, et al. Development of a droplet digitalTM PCR DNA methylation detection and quantification assay of prenatal tobacco exposure [J]. *Biotechniques*, 2022, 72(4): 121-133.
- [19] NIKANJAM M, KATO S, KURZROCK R. Liquid biopsy: current technology and clinical applications [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 131.
- [20] SHARMA M, VERMA R K, KUMAR S, et al. Computational challenges in detection of cancer using cell-free DNA methylation [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022,

20;26-39.

[21] WAN J C M, MASSIE C, GARCIA-CORBACHO J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(4):223-238.

[22] FUNG S Y H, CHAN K C A, WONG E W Y, et al. Droplet digital PCR of tumor suppressor gene methylation in serial oral rinses of patients with head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Head Neck*, 2021, 43(6):1812-1822.

[23] ZHAO Y, O'KEEFE C M, HSIEH K, et al. Multiplex digital methylation-specific PCR for noninvasive screening of lung cancer[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(16):e2206518.

[24] LEE M H, HWANG J H, SEONG K M, et al. Application of droplet digital PCR method for DNA methylation-based age prediction from saliva[J]. *Legal Medicine*, 2022, 54:101992.

[25] MANCO L, DIAS H C. DNA methylation analysis of ELOVL2 gene using droplet digital PCR for age estimation purposes[J]. *Forensic Sci Int*, 2022, 333:111206.

[26] DIAS H C, MANCO L. Predicting age from blood by droplet digital PCR using a set of three DNA methylation markers[J]. *Forensic Sci Int*, 2024, 356:111950.

[27] ZHOU Y X, WANG Y Y, SONG M Y, et al. A high-throughput droplet digital PCR system aiming eight DNA methylation targets for age prediction[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2024, 240:115943.

[28] OU K L, SONG J L, ZHANG S Q, et al. Prenatal exposure to a mixture of PAHs causes the dysfunction of islet cells in adult male mice: association with type 1 diabetes mellitus[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 239:113695.

[29] CARDOSO G C, GANZELLA F A D, MINISKISKOSKY G, et al. Digital methylation-specific PCR: new applications for liquid biopsy[J]. *Biomol Concepts*, 2024, 15(1):1.

[30] REN J, JIANG L, LIU X M, et al. Heart-specific DNA methylation analysis in plasma for the investigation of myocardial damage[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1):36.

[31] USMANI-BROWN S, LEBASTCHI J, STECK A K, et al. Analysis of β -cell death in type 1 diabetes by droplet digital PCR[J]. *Endocrinology*, 2014, 155(9):3694-3698.

[32] QUAN P L, SAUZADE M, BROUZES E. dPCR: a technology review[J]. *Sensors (Basel)*, 2018, 18(4):1271.

[33] FANG W, LIU X, MAIGA M, et al. Digital PCR for single-cell analysis[J]. *Biosensors (Basel)*, 2024, 14(2):64.

(收稿日期:2025-01-25 修回日期:2025-06-16)

(上接第 2731 页)

[10] 李亭, 敖青华, 周立旺, 等. 妊娠期高血压患者围术期血容量变化及液体治疗效果分析[J]. *中国妇幼保健*, 2023, 38(17):3181-3184.

[11] 张蕊, 张瑾. 妊娠期高血压疾病外周血 IL-12、TNF- α 水平变化及其与妊娠结局的相关性[J]. *现代免疫学*, 2022, 42(2):121-126.

[12] 曹晶, 王蕾蕾. 足月妊娠期高血压及非重度子痫前期孕妇引产后严重产后出血的危险因素分析[J]. *实用妇产科杂志*, 2022, 38(9):689-693.

[13] 于建宝, 赵立武, 张新颖. 妊娠期高血压疾病肾脏损伤与尿 NGAL 和 LIM-1 的相关性及对妊娠结局的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2022, 37(3):427-430.

[14] WU H L, YANG J, WEI Y C, et al. Analysis of the prevalence, risk factors, and clinical characteristics of osteoporosis in patients with essential hypertension[J]. *BMC Endocr Disord*, 2022, 22(1):165.

[15] 张勤. 孕早期丙泊酚、氯胺酮暴露对子代大鼠海马 NR2B 及 HGN 蛋白表达的影响[D]. 南昌:南昌大学, 2013.

[16] 王永萍, 王莉. 妊娠期高血压疾病的危险因素和母儿结局分析[J]. *中国临床医生杂志*, 2022, 50(5):600-602.

[17] 刘洋, 赵巧棉, 李海燕, 等. miR-181b miR-210 miR-126 在妊娠期高血压疾病中的表达及与炎症反应的相关性[J]. *河北医学*, 2024, 30(1):147-152.

[18] 余雪梅, 李志芳, 江锡环. 基于产后出血高危因素评估表的前瞻性护理在妊娠期高血压产妇中的应用效果[J]. *中国性科学*, 2023, 32(8):65-68.

[19] 王敏, 魏小清, 赵艳妮. 妊娠期糖尿病合并妊娠期高血压疾病患者血清 miR-518、炎症因子水平及临床意义[J]. *检验医学与临床*, 2024, 21(10):1391-1395.

[20] 张妃, 刘信春. 妊娠期阑尾炎患者治疗方案营养状况及炎症水平对不良妊娠结局的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2024, 39(14):2577-2580.

[21] 曹星, 姚华琪, 梅丽娜. 益母草联合米索前列醇和缩宫素治疗妊娠期高血压疾病产妇宫缩乏力性产后出血的临床效果观察[J]. *中国妇幼保健*, 2023, 38(14):2539-2542.

[22] 郭晓玥, 原鹏波, 魏瑗, 等. 双胎妊娠阴道分娩孕妇发生严重产后出血的危险因素分析[J]. *中华妇产科杂志*, 2025, 60(4):260-267.

[23] 翁云云, 厉佳, 王璐. 中等强度抗阻运动对妊娠期糖尿病患者血糖控制及妊娠结局的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2023, 38(23):4564-4567.

[24] 黄毅, 蔡婉婉, 林嬉. 妊娠期高血压疾病产妇产后出血影响因素分析及回归预测模型建立[J]. *中国妇幼保健*, 2024, 39(17):3248-3252.

(收稿日期:2025-01-11 修回日期:2025-06-06)