

# 静电场轨道阱质谱法测定人泪液蛋白研究

潘晓东<sup>1</sup>, 邵潘驰<sup>2</sup>, 周亚南<sup>2</sup>, 陈苒<sup>1</sup>, 韩见龙<sup>1</sup>

1. 浙江省疾病预防控制中心理化与毒理检验所, 浙江 杭州 310051; 2. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310051

**摘要:** **目的** 采用纳升液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱法检测人泪液蛋白, 并对主要蛋白质进行生物信息学分析。**方法** 通过毛细管虹吸收集成人泪液样品于3k Da超滤管, 400  $\mu$ L超纯水, 12 000 $\times g$ 离心15 min, 重复4次提取泪液蛋白, 经胰蛋白酶消化后, 经Waters NanoAcquity peptide BEH C18色谱柱(1.7  $\mu$ m, 100  $\mu$ m $\times$ 100 mm)分离, 纳升液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱检测, 以0.1%甲酸水溶液和乙腈(0.1%甲酸)为流动相, 电喷雾正离子模式电离, Full MS/dd-MS<sup>2</sup>监测模式测定, 采用Proteome Discoverer 2.1软件检索Uniprot蛋白质数据库鉴定蛋白质种类, 采用牛血清白蛋白进行方法学验证。基于String数据库对泪液蛋白进行基因注解分析。**结果** 获得人泪液蛋白(387 $\pm$ 16)种, 相对标准偏差为4.13%, 其中脂质运载蛋白1、溶菌酶和乳铁蛋白等25种蛋白的相对丰度较高。牛血清白蛋白肽段覆盖率为(86.08 $\pm$ 2.61)% , 相对标准偏差为3.03%。25种主要泪液蛋白参与多细胞间物质传导、稳态过程、内肽酶活性的负调控、化学刺激物的检测和体液免疫反应等作用, 其中16种蛋白相互作用紧密, 相对丰度较高的催泪蛋白、脂质运载蛋白1、乳铁蛋白、溶菌酶和锌 $\alpha$ 2糖蛋白具有较多的连接。**结论** 纳升液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱法稳定可靠, 适用于泪液中多种蛋白质的检测。

**关键词:** 静电场轨道阱质谱; 泪液; 超滤管; 蛋白组学

**中图分类号:** R392 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2022) 06-0644-05

## Determination of human tear proteins using orbitrap mass spectrometry

PAN Xiaodong<sup>1</sup>, SHAO Panchi<sup>2</sup>, ZHOU Yanan<sup>2</sup>, CHEN Qing<sup>1</sup>, HAN Jianlong<sup>1</sup>

1. Department of Physicochemical and Toxicology, Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310051, China; 2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, Zhejiang 310051, China

**Abstract: Objective** To determine human tear proteins using nanoliter liquid chromatography coupled to quadrupole orbitrap mass spectrometry (NanoLC-Q-Orbitrap-MS), and perform a bioinformatics analysis of main proteins. **Methods** Human tear samples were collected with capillary, transferred to 3 kDa ultrafiltration tubes containing 400  $\mu$ L of super-pure water and centrifuged at 12 000 $\times g$  for 15 min. Repeated extraction of tear proteins were performed four times, and following digestion with trypsin, the proteins were separated using the Waters NanoAcquity peptide BEH C18 column (1.7  $\mu$ m, 100  $\mu$ m $\times$ 100 mm) and determined using NanoLC-Q-Orbitrap-MS with the mobile phase of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile (0.1% formic acid) in the full MS/dd-MS<sup>2</sup> mode. The types of proteins were characterized in the Uniprot database using the software Proteome Discoverer version 2.1 and verified using bovine serum albumin. The tear proteins were subjected to gene annotation analysis using the String database. **Results** A total of (387 $\pm$ 160) human tear proteins were yielded, with a relative standard deviation (RSD) of 4.13%, and there were 25 types of proteins with a relative high abundance, including lipocalin 1, lysozyme and lactoferrin. The peptide sequence coverage of bovine serum albumin was (86.08 $\pm$ 2.61)%, with a RSD of 3.03%. The 25 major tear proteins were involved in substance transduction among cells, homeostasis process, negative regulation of the endopeptidase activity, detection of chemical stimulants and humoral immune responses, and the 16 proteins had close interactions. Lacritin, lipocalin 1, lactoferrin, lysozyme and zinc- $\alpha$  2-glycoprotein, which had a relative high abundance, had close biological connections. **Conclu-**

**DOI:** 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.06.020

**基金项目:** 浙江省医药卫生科技计划项目(2019KY352)

**作者简介:** 潘晓东, 博士, 副研究员, 主要从事理化分析工作

**通信作者:** 陈苒, E-mail: qingchen@cdc.zj.cn

sion NanoLC-Q-Orbitrap-MS is stable, reliable and feasible for detection of multiple proteins in tears.

**Keywords:** orbitrap mass spectrometry; tear; ultrafiltration tube; proteomics

人泪液组分主要有蛋白质、有机小分子、代谢物、电解质和脂质等<sup>[1]</sup>, 其中蛋白质常作为生物标志物应用于临床研究<sup>[2]</sup>。泪液蛋白多来源于泪腺, 以及因眼部炎症、创伤、刺激等从血管脱落的上皮细胞。人泪液蛋白有 1 500 种, 含量为 6~11 mg/mL<sup>[3-4]</sup>。

生物样本中蛋白质的检测方法较多, 如高效液相色谱法、二维凝胶电泳法和酶联免疫吸附试验等<sup>[1, 5]</sup>。随着高分辨质谱技术、蛋白组学和生物信息学的发展, 已经可以基于肽段的结构分析蛋白质。常采用自下而上 (bottom-up) 策略, 将蛋白质酶解成肽段, 经色谱分离、质谱检测, 结合多肽氨基酸断裂方式, 计算多肽的氨基酸序列, 采用生物信息检索推演相应蛋白质<sup>[6-7]</sup>。较常见的高分辨质谱技术是飞行时间和静电场轨道阱质谱, 与传统的三重四级杆相比, 在分辨率和选择性方面具有一定优势<sup>[8]</sup>。泪液含有丰富的电解质和脂质, 影响蛋白质的酶解处理及质谱检测, 仪器分析前需进行蛋白提取, 一般采用凝胶电泳、有机试剂沉淀法等。但复杂的前处理步骤会造成蛋白质损失及其他污染物干扰。因此, 本研究通过具备分子截留作用的超滤管“一步提取”泪液蛋白, 采用纳升液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱检测, 并对主要蛋白进行生物信息学分析, 为后续泪液蛋白标记物的研究提供技术支持。

## 1 材料与方法

**1.1 仪器与试剂** 纳升液相色谱-静电场轨道阱质谱仪器, 液相为 Water NanoAcquity (美国 Waters 公司), 质谱为 Q Exactive (美国 Thermo 公司); 超滤管 (3k Da, 0.5 mL) 和 Millipore Q 超纯水系统 (Millipore 公司); 毛细管 5  $\mu$ L (德国 Drummond 公司); 离心机 (Sigma 1-14, 美国 Sigma 公司); 震荡加热器 (ThermoMSC-100, 杭州奥盛仪器有限公司)。

三羟甲基氨基甲烷、碳酸氢铵、二硫苏糖醇、碘代乙酰胺和胰蛋白酶 (美国 Sigma 公司); 乙腈、乙酸和甲酸为色谱纯, 盐酸和氨水为分析纯 (德国 Merck 公司); 牛血清白蛋白 (美国 Sigma 公司)。

**1.2 样品采集** 采用 5  $\mu$ L 毛细管虹吸收集 2 名女性 (23 岁, 24 岁) 和 1 名男性 (40 岁) 的泪液样品, 样品提供者均无高血压、糖尿病、干眼症和结膜炎。

**1.3 样品前处理** 采用超滤管的“一步提取法”提

取和纯化泪液蛋白。取泪液样品于超滤管, 加 400  $\mu$ L 超纯水, 12 000 $\times$ g 离心 15 min, 弃滤出液, 重复 4 次, 每次加 300  $\mu$ L 超纯水。吸取超滤管内 100  $\mu$ L 剩余液, 加 362  $\mu$ L 超纯水和 10  $\mu$ L 0.05 mol/L 二硫苏糖醇溶液混合, 反应 30 min, 加 10  $\mu$ L 0.15 mol/L 碘代乙酰胺溶液, 摇匀, 室温避光静置 30 min, 加 50  $\mu$ L 0.5 mol/L 碳酸氢铵溶液和 15  $\mu$ L 胰蛋白酶溶液, 于 40  $^{\circ}$ C 振荡加热器中反应 12 h, 加 3  $\mu$ L 甲酸, 混均后 0.22  $\mu$ m 尼龙膜滤过, 待进样。

**1.4 液相色谱质谱联用检测** 色谱条件: 色谱柱 Waters NanoAcquity peptide BEH C18 (1.7  $\mu$ m, 100  $\mu$ m $\times$ 100 mm); 流动相 A: 水 (0.1% 甲酸); 流动相 B: 乙腈 (0.1% 甲酸)。梯度洗脱条件: 0~1 min, 4%B; 1~15 min, 30%B; 15~50 min, 95%B; 50~58 min, 99%B; 58~58.1 min, 4%B; 58.1~60 min, 4%B。流速: 0.3  $\mu$ L/min; 柱温: 40  $^{\circ}$ C; 进样量: 1  $\mu$ L。

质谱条件: Nano 离子源 (HESI); 喷雾电压 1.7 kV; 离子传输管温度 320  $^{\circ}$ C; 正离子扫描模式; Full MS/dd-MS<sup>2</sup> 监测模式。一级质谱全扫描分辨率: R=70 000, C-trap 最大容量 2 $\times$ 10<sup>5</sup>, 最大注入时间 100 ms; 二级子离子全扫描 (ms<sup>2</sup>) 分辨率: R=17 500; TopN=10; 二级最低阈值 10<sup>4</sup>; 碰撞能量 NEC/step 25, 35, 45。仪器每 7 d 采用 Pierce LTQ Velos ESI 正离子校正溶液 (美国 Thermo 公司) 进行质量数校正。

**1.5 方法学验证** 采用牛血清白蛋白与样品同时进行酶消化测定, 实验重复 5 次, 以测得的肽段数量和肽段覆盖率进行方法评价。

**1.6 质谱数据处理及蛋白质鉴别** 人蛋白质序列数据来源于 Uniprot 蛋白质数据库网站 (<http://www.uniprot.org>), 并下载为 Fasta 文件。质谱数据通过 Proteome Discoverer 2.1 软件搜索, 计算蛋白质匹配度得分, 分值越高表示可信度越高。检索参数设置: 最大漏切位点数 2; 肽段范围 4~144; 母离子容差 10<sup>-5</sup>; 碎片离子容差 0.02 Da; b 离子权重 1; y 离子权重 1; 鉴定得到肽段和蛋白质要求假阳性率 < 1%, 置信度 > 95%。通过 MaxQuant 软件中的 Label-free quantification 方法分析蛋白质的相对定量。蛋白质进行基因注解分析 (<http://geneontology.org>), 包括生物过程、分子功能和细胞组分。基于 String 数据库 (<http://string-db.org>) 分析目标蛋白质相互作用网络图。

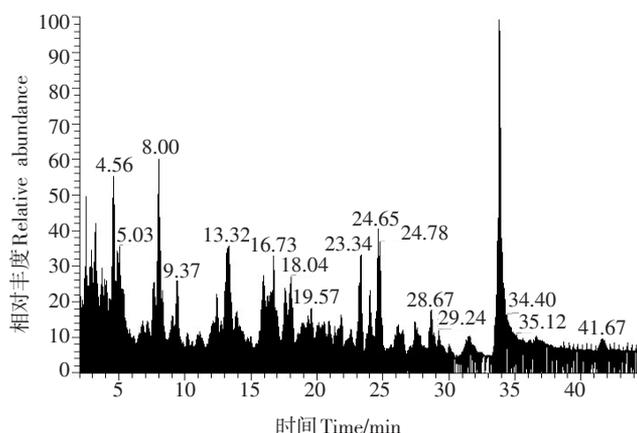


图1 人泪液蛋白酶解后多肽总离子流色谱图

Figure 1 Total ion chromatogram of peptides after protease hydrolysis of human tear proteins

## 2 结果

2.1 泪液蛋白液相色谱质谱联用检测结果 泪液蛋白酶解后肽段总离子流色谱图见图1, 肽段色谱分离集中保留时间为2~30 min, 获得的肽段主要以b-y方式断裂。

2.2 主要泪液蛋白检出情况 泪液样品检测到蛋白(387±16)种, 相对标准偏差为4.13%。脂质运载蛋白1、溶菌酶、乳铁蛋白、催泪蛋白、富含脯氨酸的蛋白质4、锌α2糖蛋白和泌乳素诱导蛋白等25种蛋白的相对丰度较高。见表1。

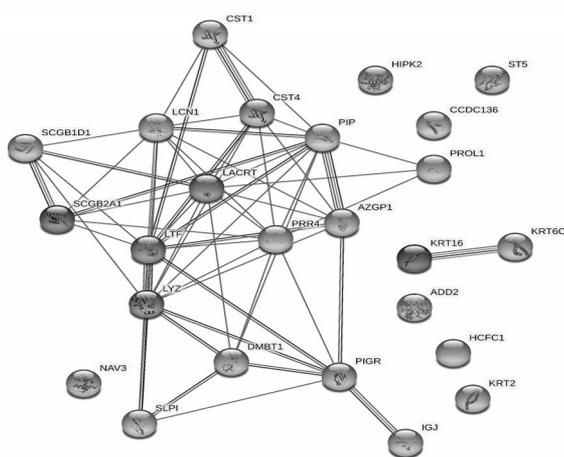
2.3 方法验证 牛血清白蛋白肽段覆盖率为(86.08±2.61)%, 相对标准偏差为3.03%; 肽段数为(71±3)条, 相对标准偏差为4.22%。

表1 泪液中25种主要蛋白检索信息及相对定量结果

Table 1 Search information and relative quantitative results of 25 main proteins in tears

ID	基因 Gene	蛋白Protein	肽段数 Peptide	覆盖率 Coverage/%	得分 Score	相对丰度 Relative abundance
P31025	<i>LCN1</i>	脂质运载蛋白1 Lipocalin 1	13	51.12	323.31	6.30×10 <sup>8</sup>
P61626	<i>LYZ</i>	溶菌酶 Lysozyme	12	54.11	154.11	4.82×10 <sup>8</sup>
P02788	<i>LTF</i>	乳铁蛋白 Lactoferrin	49	66.78	323.32	4.82×10 <sup>8</sup>
Q9GZZ8	<i>LACRT</i>	催泪蛋白 Extracellular glycoprotein lacritin	3	22.49	31.63	1.60×10 <sup>8</sup>
Q16378	<i>PRR4</i>	富含脯氨酸的蛋白质4 Proline-rich protein 4	3	21.62	37.69	6.67×10 <sup>7</sup>
P25311	<i>AZGP1</i>	锌α2糖蛋白 Zinc-α 2-glycoprotein	9	33.92	90.74	5.49×10 <sup>7</sup>
P12273	<i>PIP</i>	泌乳素诱导蛋白 Prolactin-inducible protein	5	41.10	67.10	5.30×10 <sup>7</sup>
P01036	<i>CST4</i>	胱抑素-S Cystatin-S	6	34.02	51.12	3.39×10 <sup>7</sup>
E9PNM8	<i>ST5</i>	抑瘤性蛋白5 Suppression of tumorigenicity 5	1	18.18	5.62	2.98×10 <sup>7</sup>
P35612	<i>ADD2</i>	β-加合蛋白β-adducin	1	2.77	5.94	2.39×10 <sup>7</sup>
P01833	<i>PIGR</i>	聚合物免疫球蛋白受体 Polymeric immunoglobulin receptor	4	7.34	28.58	2.37×10 <sup>7</sup>
P48668	<i>KRT6C</i>	角蛋白, II型细胞骨架6 C Keratin, type II cytoskeletal 6 C	9	3.16	71.64	2.31×10 <sup>7</sup>
Q96JN2	<i>CCDC136</i>	卷曲螺旋结构域含蛋白质136 Coiled-coil domain-containing protein 136	1	6.42	5.66	1.75×10 <sup>7</sup>
Q99935	<i>PROL1</i>	双重肽酶抑制前体蛋白 Opiorphin prepropeptide	3	20.61	20.04	1.65×10 <sup>7</sup>
Q81VL0	<i>NAV3</i>	神经元引领蛋白3 Neuron navigator 3	1	1.62	5.61	1.32×10 <sup>7</sup>
P51610	<i>HCFC1</i>	宿主细胞因子1 Host cell factor 1	1	0.32	11.30	1.29×10 <sup>7</sup>
Q9H2X6	<i>HIPK2</i>	同源结构域相互作用蛋白激酶2 Homeodomain-interacting protein kinase 2	1	1.12	5.82	1.28×10 <sup>7</sup>
P08779	<i>KRT16</i>	角蛋白, I型细胞骨架16 Keratin, type I cytoskeletal 16	7	14.30	48.41	1.03×10 <sup>7</sup>
Q95968	<i>SCGB1D1</i>	Secretoglobulin家族1D成员1 Secretoglobulin family 1 D member 1	1	12.19	7.12	9.12×10 <sup>6</sup>
P01591	<i>IGJ</i>	多聚体IgA和IgM的连接链 Joining chain of multimeric IgA and IgM	2	17.22	17.32	8.95×10 <sup>6</sup>
P35908	<i>KRT2</i>	角蛋白, II型细胞骨架2表皮 Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal	6	20.52	53.42	8.83×10 <sup>6</sup>
Q9UGM3	<i>DMBT1</i>	恶性脑肿瘤中缺失的1蛋白 Deleted in malignant brain tumors 1 protein	1	10.75	5.65	6.62×10 <sup>6</sup>
O75556	<i>SCGB2A1</i>	乳腺珠蛋白B Mammaglobin-B	1	9.52	5.83	1.45×10 <sup>6</sup>
P01037	<i>CST1</i>	半胱氨酸蛋白酶抑制剂 Cystatin-SN	3	12.82	6.14	1.38×10 <sup>6</sup>
P03973	<i>SLPI</i>	分泌性白细胞肽酶抑制剂 Secretory leukocyte peptidase inhibitor	1	9.12	6.60	1.22×10 <sup>6</sup>

**2.4 生物信息学分析** 对 25 种蛋白进行基因注解分析, 结果显示: 生物过程分析主要有多细胞间物质传导、稳态过程、内肽酶活性的负调控、化学刺激物的检测、体液免疫反应等作用; 分子功能分析主要有肽酶抑制活性; 细胞组分分析主要有细胞外间隙、细胞外小泡、分泌囊泡、分泌型 IgA 免疫球蛋白复合物。String 数据库分析结果显示, 16 种蛋白相互作用紧密, 相对丰度较高的催泪蛋白、脂质运载蛋白 1、乳铁蛋白、溶菌酶和锌  $\alpha$ 2 糖蛋白具有较多的连接。见图 2。



注: 以基因名称表示相应蛋白。Note: proteins are represented by gene symbols.

图 2 人泪液蛋白相互作用网络图

Figure 2 Interaction network among human tear proteins

### 3 讨论

高分辨质谱技术已广泛应用于生物体蛋白质组学研究中。然而, 由于生物样本基体组分复杂, 常影响检测结果, 因此前处理成为蛋白分析过程的关键步骤<sup>[2]</sup>。本研究通过超滤管的“一步提取法”纯化泪液蛋白, 经纳升液相色谱-四级杆-静电场轨道阱质谱的 Full MS/dd-MS<sup>2</sup> 监测模式测定, 并进行生物信息学分析。

本次实验获得泪液蛋白 (387±16) 种, 相对标准偏差为 4.13%, 丰度较高的蛋白共 25 种。泪液与血浆不同, 检测过程中不需要去除干扰蛋白 (如白蛋白) 即可获得较高的肽段覆盖率。但泪液还含有小分子代谢产物、电解质、脂质和葡萄糖等, 这些物质可能干扰后续蛋白酶解、质谱离子化及色谱分离。为获得更准确的检测结果, 需对蛋白质进行分离提取处理, 可采用沉淀法、SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳和凝胶

色谱法等。考虑到操作的简易性, 本实验采用分子截留量为 3k Da 的超滤管, 加入超纯水去除非蛋白物质, 并且连续处理 5 次, 过滤电解质、小分子代谢产物等, 一步即可完成蛋白质的提取和纯化。同时, 通过质控样品牛血清白蛋白进行方法学验证, 肽段覆盖率为 (86.08±2.61)%, 相对标准偏差为 3.03%, 表明该方法较稳定。

泪液常见的采集方法是 Schirmer 试验条和毛细管, 不同的收集方法获得的蛋白基本一致, 但毛细管采样能鉴定出更多的细胞外蛋白 (免疫反应途径), 而 Schirmer 试验条的样本含有更多的细胞内蛋白 (如热休克蛋白、膜联蛋白和 S100 蛋白)<sup>[9]</sup>。本实验采用带有 5  $\mu$ L 刻度的毛细管虹吸收集。

基因注解分析表明, 25 种泪液蛋白在生物过程中主要为多细胞间物质传导和稳态过程, 分子功能中具有肽酶活性调节功能, 细胞组分中多为细胞外分泌物。催泪蛋白、脂质运载蛋白 1、乳铁蛋白、溶菌酶和锌  $\alpha$ 2 糖蛋白间存在紧密连接, 与其他研究结果<sup>[10]</sup>一致。此外, 研究还发现乳铁蛋白和脂质运载蛋白 1 对于诊断干燥综合征有重要意义, 可作为干燥综合征的生物标志物<sup>[11]</sup>, 后续将着重于泪液临床标记物的筛查研究。

综上所述, 采用毛细管收集泪液, 超滤管“一步提取法”处理, 纳升液相色谱-四级杆-静电场轨道阱质谱能够检测泪液中的多种蛋白质, 方法具有较好的重现性。泪液中丰度较高的蛋白为脂质运载蛋白 1、溶菌酶、乳铁蛋白、催泪蛋白、富含脯氨酸的蛋白质 4、锌  $\alpha$ 2 糖蛋白和泌乳素诱导蛋白等。

### 参考文献

- [1] PONZINI E, SANTAMBROGIO C, DE PALMA A, et al. Mass spectrometry based tear proteomics for noninvasive biomarker discovery [J/OL]. *Mass Spectrom Rev*, 2021, 24 (2021-03-24) [2022-03-04]. <https://doi.org/10.1002/mas.21691>.
- [2] ZHOU L, BEUERMAN R W. The power of tears: how tear proteomics research could revolutionize the clinic [J]. *Expert Rev Proteomics*, 2017, 14 (3): 189-191.
- [3] ZHOU L, ZHAO S Z, KOH S K, et al. In-depth analysis of the human tear proteome [J]. *J Proteomics*, 2012, 75 (13): 3877-3885.
- [4] NG V, CHO P, MAK S, et al. Variability of tear protein levels in normal young adults: between-day variation [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2000, 238 (11): 892-899.
- [5] 牛江平, 霍军生, 孙静, 等. 同时检测多种营养标记蛋白的液相蛋白芯片检测平台条件的优化 [J]. *卫生研究*, 2021, 50 (6): 986-992.

NIU J P, HUO J S, SUN J, et al. Optimization of platform condi-

- tions for simultaneous detection of multiple nutritional marker proteins by liquid protein microarray [J]. *J Hyg Res*, 2021, 50 (6): 986-992.
- [6] 潘晓东, 黄百芬, 蔡增轩, 等. 虾过敏原蛋白质谱分析方法的酶解条件优化研究 [J]. *预防医学*, 2021, 33 (8): 768-771.  
PAN X D, HUANG B F, CAI Z X, et al. Optimization of enzymatic digestion conditions of shrimp allergens in mass spectrometry by response surface methodology [J]. *Prev Med*, 2021, 33 (8): 768-771.
- [7] 潘晓东, 黄百芬, 蔡增轩, 等. 超高效液相色谱-四极杆静电场轨道离子阱质谱分析沼虾过敏原蛋白 [J]. *预防医学*, 2020, 32 (10): 1010-1012, 1017.  
PAN X D, HUANG B F, CAI Z X, et al. Analysis of allergen protein in *Macrobrachium* by ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole orbitrap mass spectrometry [J]. *Prev Med*, 2020, 32 (10): 1010-1012, 1017.
- [8] 骆春迎, 赵璇, 罗新月, 等. 离子色谱-轨道阱质谱法测定饮用水中卤代羧酸 [J]. *卫生研究*, 2021, 50 (5): 805-813.  
LUO C Y, ZHAO X, LUO X Y, et al. Determination of halogenated carboxylic acids in drinking water by ion chromatography-orbitrap mass spectrometry method [J]. *J Hyg Res*, 2021, 50 (5): 805-813.
- [9] NÄTTINEN J, JYLHÄ A, AAPOLA U, et al. Patient stratification in clinical glaucoma trials using the individual tear proteome [J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8 (2018-08-13) [2022-03-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6089987>. DOI: 10.1038/s41598-018-30369-x.
- [10] HUANG Z, DU C X, PAN X D. The use of in-strip digestion for fast proteomic analysis on tear fluid from dry eye patients [J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13 (2018-08-03) [2022-03-04]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200702>.
- [11] VERSURA P, GIANNACCARE G, VUKATANA G, et al. Predictive role of tear protein expression in the early diagnosis of Sjögren's syndrome [J]. *Ann Clin Biochem*, 2018, 55 (5): 561-570.
- 收稿日期: 2022-01-20 修回日期: 2022-03-04 本文编辑: 吉兆洋

## (上接第 643 页)

- LIU B F, MENG X J, GENG A X. Effect of comprehensive nursing intervention on prevention of incontinence dermatitis in ICU [J]. *Tianjin Nurs*, 2018, 26 (5): 573-574.
- [3] 郑怡群, 张慧娟, 周玉意, 等. ICU 患者失禁相关性皮炎现状调查及危险因素分析 [J]. *中国护理管理*, 2018, 18 (4): 488-492.  
ZHENG Y Q, ZHANG H J, ZHOU Y Y, et al. Investigation on status and risk factors of incontinence associated dermatitis in ICU patients [J]. *Chin Nurs Manag*, 2018, 18 (4): 488-492.
- [4] 徐一松. 80 例综合护理干预预防 ICU 失禁性皮炎的临床观察 [J]. *中国现代医生*, 2018, 34 (6): 141-143.  
XU Y S. Clinical observation on prevention of ICU incontinence dermatitis by comprehensive nursing intervention in 80 cases [J]. *China Mod Doct*, 2018, 34 (6): 141-143.
- [5] 孟燕燕, 韩芳. 危重症患者失禁性皮炎的发生现况及其影响因素 [J]. *中国现代医生*, 2020, 58 (20): 100-103.  
MENG Y Y, HAN F. Prevalence and influencing factors of incontinence dermatitis in critically ill patients [J]. *China Mod Doct*, 2020, 58 (20): 100-103.
- [6] 张晓雪, 王欣然. 北京市三级甲等医院 ICU 护士失禁性皮炎知行信及知识需求调查 [J]. *护理研究*, 2017, 31 (33): 4257-4259.  
ZHANG X X, WANG X R. Investigation on the knowledge, practice and knowledge need of ICU nurses with incontinence dermatitis in Beijing Grade A hospital [J]. *Nurs Res*, 2017, 31 (33): 4257-4259.
- [7] 程亚艳. 亳州地区 1429 名护士对失禁性皮炎及结构化护理的认知现状调查 [J]. *安徽医学*, 2019, 40 (5): 573-578.  
CHENG Y Y. A survey of cognition status of incontinence dermatitis and structured nursing among 1429 nurses in Bozhou area [J]. *Anhui Med Sci*, 2019, 40 (5): 573-578.
- [8] 赵翠松, 崔妙龄, 应燕萍, 等. 基于指标管控对失禁性皮炎预防管理实践 [J]. *中国实用护理杂志*, 2019, 35 (14): 1099-1103.  
ZHAO C S, CUI M L, YING Y P, et al. Prevention and management of incontinence dermatitis based on index control [J]. *Chin J Pract Nurs*, 2019, 35 (14): 1099-1103.
- [9] 李菁菁, 梁红艳, 米小月. 北京市某医联体护士对失禁相关性皮炎认知情况调查分析 [J]. *护理研究*, 2018, 32 (8): 1318-1320.  
LI J J, LIANG H Y, MI X Y. Investigation and analysis of cognitive status of incontinence-related dermatitis among nurses of a medical union in Beijing [J]. *Nurs Res*, 2018, 32 (8): 1318-1320.
- [10] 刘巧, 朱小平, 胡芬. 西安市某三级医院护理人员失禁性皮炎知行信认知现状的调查分析 [J]. *中华现代护理杂志*, 2018, 24 (23): 2734-2736.  
LIU Q, ZHU X P, HU F. Investigation and analysis on the status of knowledge, belief and action cognition of nurses in a tertiary hospital of Xi'an in incontinence dermatitis [J]. *Chin J Mod Nurs*, 2018, 24 (23): 2734-2736.
- [11] 麦泳仪, 周四萍, 梁云芳. 培训前后临床护士对失禁性皮炎认知情况的调查分析 [J]. *中国现代医生*, 2019, 57 (20): 141-143.  
MAI Y Y, ZHOU S P, LIANG Y F. Investigation and analysis of clinical nurses' cognition of incontinence dermatitis before and after training [J]. *China Mod Doct*, 2019, 57 (20): 141-143.
- 收稿日期: 2022-02-21 修回日期: 2022-04-14 本文编辑: 吉兆洋