

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.12.005

氢饱和和生理盐水对大鼠重症急性胰腺炎肺损伤的保护作用^{*}

杨 培¹, 冷 波^{2△}, 李 波², 曾新桃¹, 罗 华¹

(1. 四川省绵阳市中心医院肝胆外科 621000; 2. 西南医科大学附属医院肝胆外科, 四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 探讨静脉注射氢饱和和生理盐水(HRS)对牛磺胆酸钠诱导的大鼠重症急性胰腺炎相关性肺损伤(APALI)是否具有保护作用及其可能的机制。**方法** 将 54 只健康 SD 雄性大鼠分成假手术组(Sham 组)、模型组(SAP+NS 组)和 HRS 处理组(SAP+HRS 组),各组再按时间点每个亚组分成 6、12、24 h 3 个亚组,每个时间点处死 6 只大鼠。收集血清、肺组织及胰腺组织。检测血清 TNF- α 、IL-1 β 水平;肺组织湿干质量比;测定肺组织中 TNF- α 、IL-1 β mRNA 的表达;并对胰腺组织、肺组织损伤进行病理学评价。**结果** (1)SAP+NS 组和 SAP+HRS 组血清中 TNF- α 、IL-1 β 水平、胰腺和肺组织病理评分、肺组织 TNF- α 、IL-1 β mRNA 的表达,肺组织湿干质量比在 6、12、24 h 各个时间点均高于 Sham 组($P<0.05$)。(2)SAP+HRS 组与 SAP+NS 组比较,SAP+HRS 组血清 TNF- α 水平、肺组织 TNF- α mRNA 的表达、肺组织湿干质量比在各个时间点均低于 SAP+NS 组(均 $P<0.05$)。血清 IL-1 β 水平、胰腺和肺组织病理评分、肺组织中 IL-1 β mRNA 表达在 6 h 时两组间差异无统计学意义($P>0.05$),但在 12、24 h 时 SAP+HRS 组低于 SAP+NS 组(均 $P<0.05$)。**结论** HRS 可能是通过其选择性抗氧化作用抑制了氧化应激损伤相关细胞因子表达来实现对 APALI 的保护。

[关键词] 胰腺炎,急性坏死性;呼吸窘迫综合征,成人;氢饱和和生理盐水;大鼠,sprague-dawley
[中图分类号] R576 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)12-1598-03

Protective effect of hydrogen-rich saline solution on lung injury in rats with severe acute pancreatitis^{*}

Yang Bei¹, Leng Bo^{2△}, Li Po², Zeng Xintao¹, Luo Hua¹

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, Mianyang Central Hospital, Mianyang, Sichuan 621000, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To explore whether intravenous injection of hydrogen-rich saline having the protective effect on sodium taurocholate induced severe acute pancreatitis(SAP) associated lung injury(APALI) in rats and its possible mechanisms. **Methods** Fifty-four healthy male SD rats were randomly divided into sham-operation group (Sham group), model group (SAP+NS group) and hydrogen water treatment group (SAP + HRS group), and each group was subdivided into 6, 12, 24 h subgroups. Six rats were killed at each time point for collecting serum, lung tissue and pancreas tissue. Serum TNF- α and IL-1 β levels, lung wet /dry weight ratio, expression of TNF- α mRNA and IL-1 β mRNA in the lung tissue were detected. The pathological evaluation of pancreas and lung tissue injury was performed. **Results** (1) The levels of TNF- α and IL-1 β in serum, pancreas and lung tissue pathological scores, TNF- α mRNA and IL-1 β mRNA expression levels in the lung tissue and lung wet dry weight ratio at the time points of 6, 12, 24 h in the SAP+NS group and the SAP+HRS group were higher than those in the sham group ($P<0.05$). (2) Compared with the SAP+NS group, the levels of serum TNF- α , TNF- α mRNA expression level in the lung tissue and lung wet dry weight ratio at all time points in the SAP+HRS group were lower($P<0.05$); the levels of serum IL-1 β , pancreas and lung tissue pathological score and IL-1 β -mRNA expression at 6 h in the lung tissue had no statistical difference between the SAP+NS group and SAP+HRS group, but which at time points of 12, 24 h in the SAP+HRS group were lower than those in the SAP+NS group($P<0.05$). **Conclusion** HRS realize the protection on APALI possibly via its elective anti-oxidation action for inhibiting oxidative stress injury related cytokines expression.

[Key words] pancreatitis, acute necrotizing; respiratory distress syndrome, adult; hydrogen-rich saline; rats, sprague-dawley

急性胰腺炎相关性肺损伤(acute pancreatitis associated lung injury, APALI)^[1]是重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)最常见、也是最为严重的并发症之一,常发展为急性呼吸窘迫综合征,是 SAP 早期主要死亡原因。研究表明,氧化应激反应在胰腺损伤及伴随的局部或全身并发症中起着至关重要的作用^[2]。因此,抗氧化应激治疗可能是减轻 SAP 病情发展的重要手段。本实验通过建立大鼠 SAP 模型,

探讨静脉注射氢饱和和生理盐水(hydrogen-rich saline, HRS) 是否对 APALI 具有保护作用,并从炎症细胞因子的变化方面初步探讨其保护机制,旨在为应用 HRS 治疗 APALI 提供实验依据和新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 SPF 级健康成年雄性 SD 大鼠由泸

^{*} 基金项目:四川省科技厅应用基础研究计划资助项目(2012JY0070)。 作者简介:杨培(1972—),主任医师,博士,主要从事肝胆外科学
研究。 △ 通讯作者,E-mail:305827337@qq.com。

州医学院实验动物饲养中心提供,体质量 200~250 g,分为假手术组(Sham 组)、模型组(SAP+NS 组)及 HRS 处理组(SAP+HRS 组),每组 18 只。各组再分成处理后 6、12、24 h 3 个时间点,各 6 只大鼠。

1.1.2 主要仪器和试剂 DH-300 超高纯度氢气发生器(广州深华生物技术有限公司)、大鼠 TNF- α 、IL-1 β 试剂盒(Bender 公司)、PCR 试剂盒(北京天根生化科技有限公司)、逆转录试剂盒(大连宝生物工程有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物模型的建立 Sham 组大鼠开腹后翻动十二指肠并触摸胰腺数次,随即关腹,不做其他处理。采用胆胰管逆行缓慢注入(0.1 mL/min)5%无菌牛磺胆酸钠(1 mL/kg)的方法制备大鼠 SAP 模型^[3]。SAP+NS 组和 SAP+HRS 处理组在大鼠 SAP 模型建模成功后 1 h 分别经尾静脉注射生理盐水或 HRS(5 mL/kg)。

1.2.2 标本采集 按规定时间点处死大鼠。心脏采血 3~4 mL,4℃、12 000 r/min 低温高速离心得血清 1.5~2.0 mL,−20℃保存备用。取大鼠右肺上叶和部分胰腺组织置于 10%甲醛溶液中固定 24 h,石蜡包埋,4℃保存,然后 4 μ m 切片,苏木素-伊红(HE)染色用于病理学评价。大鼠右肺中叶置于液氮中,−80℃保存备用,分别用于 TNF- α 、IL-1 β mRNA 等分子生物学检测。取右肺下叶滤纸吸干表面渗液及血迹,称湿质量后置于 80℃干燥箱内烘烤 72 h 至恒重后称质量,用于计算肺脏湿干质量比。

1.3 观测指标

1.3.1 血清 TNF- α 、IL-1 β 水平 采用 ELISA 法测定血清中 TNF- α 、IL-1 β 水平。

1.3.2 胰腺、肺组织病理损伤评价 在双盲条件下,由两名经验丰富的病理科医师独立阅片。采用改良 Schmidt 评价标准^[4]对胰腺组织损伤进行病理学分计。参照 Hofouaer 方法^[5],对肺组织损伤进行病理学评价。每张切片随机选取 5 个视野,取其平均分作为该切片的病理损伤评分,代表其损伤程度。

1.3.3 肺组织湿干质量比 取右肺下叶进行测量,反映组织水肿程度。

1.3.4 肺组织中 TNF- α 、IL-1 β mRNA 的表达 采用荧光定

量 PCR 法检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对数据进行统计学处理;计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,根据适用条件,样本均数的比较采用方差分析;检验水准 $\alpha=0.05$ 。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血清中 TNF- α 的水平变化 SAP+NS 组和 SAP+HRS 组大鼠血清中 TNF- α 水平在 6、12、24 h 3 个时间点均高于 Sham 组,但 SAP+HRS 组均低于 SAP+NS 组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$),见表 1。

2.2 血清中 IL-1 β 的水平变化 SAP+NS 组和 SAP+HRS 组大鼠血清中 IL-1 β 水平在 6、12、24 h 3 个时间点均高于 Sham 组。SAP+HRS 组与 SAP+NS 组比较,6 h 时 SAP+HRS 组略高于 SAP+NS 组,但差异无统计学意义($P>0.05$);12、24 h 时 SAP+HRS 组均低于 SAP+NS 组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 2。

表 1 各组大鼠血清 TNF- α 水平比较($n=6,\bar{x}\pm s$,pg/mL)

组别	6 h	12 h	24 h
Sham 组	58.8 \pm 7.5	57.5 \pm 5.1	59.6 \pm 6.0
SAP+NS 组	215.3 \pm 6.0 ^a	263.2 \pm 7.4 ^a	288.0 \pm 5.6 ^a
SAP+HRS 组	194.1 \pm 8.5 ^{ab}	122.4 \pm 10.3 ^{ab}	84.1 \pm 8.6 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;^b: $P<0.05$,与 SAP+NS 组比较。

表 2 各组大鼠血清 IL-1 β 水平比较($n=6,\bar{x}\pm s$,pg/mL)

组别	6 h	12 h	24 h
Sham 组	39.8 \pm 3.3	39.5 \pm 3.3	40.5 \pm 5.2
SAP+NS 组	152.8 \pm 9.8 ^a	215.4 \pm 10.4 ^a	254.3 \pm 8.6 ^a
SAP+HRS 组	154.7 \pm 6.8 ^a	80.3 \pm 8.3 ^{ab}	59.3 \pm 8.2 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;^b: $P<0.05$,与 SAP+NS 组比较。

2.3 胰腺和肺组织病理损伤评分 在 6、12、24 h 3 个时间点,SAP+NS 组和 SAP+HRS 组胰腺组织、肺组织病理损伤评分均高于 Sham 组($P<0.05$)。SAP+HRS 组与 SAP+NS 组比较,6 h 时两组差异无统计学意义($P>0.05$);12、24 h 时 SAP+HRS 组均低于 SAP+NS 组,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 3。

表 3 各组胰腺和肺组织病理评分比较($n=6,\bar{x}\pm s$,分)

组别	6 h		12 h		24 h	
	胰腺	肺	胰腺	肺	胰腺	肺
Sham 组	3.4 \pm 0.5	2.6 \pm 0.3	3.4 \pm 0.6	2.6 \pm 0.4	3.3 \pm 0.3	2.5 \pm 0.4
SAP+NS 组	8.8 \pm 0.3 ^a	4.8 \pm 0.3 ^a	9.5 \pm 0.4 ^a	5.1 \pm 0.2 ^a	9.8 \pm 0.3 ^a	6.3 \pm 0.4 ^a
SAP+HRS 组	8.7 \pm 0.3 ^a	4.7 \pm 0.5 ^a	7.5 \pm 1.1 ^{ab}	4.6 \pm 0.2 ^{ab}	7.3 \pm 0.4 ^{ab}	3.8 \pm 0.3 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;^b: $P<0.05$,与 SAP+NS 组比较。

表 4 各组肺组织湿干质量比比较($n=6,\bar{x}\pm s$)

组别	6 h	12 h	24 h
Sham 组	2.6 \pm 0.2	2.5 \pm 0.2	2.4 \pm 0.1
SAP+NS 组	4.2 \pm 0.2 ^a	4.9 \pm 0.2 ^a	4.6 \pm 0.3 ^a
SAP+HRS 组	3.7 \pm 0.2 ^{ab}	3.3 \pm 0.3 ^{ab}	3.2 \pm 0.2 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;^b: $P<0.05$,与 SAP+NS 组比较。

2.4 肺组织湿干质量比的变化 在 6、12、24 h 3 个时间点,SAP+NS 组和 SAP+HRS 组肺组织湿干质量比均高于 Sham 组($P<0.05$)。SAP+HRS 组与 SAP+NS 组比较,SAP+HRS 组各时间点均低于 SAP+NS 组($P<0.05$)。见表 4。

2.5 肺组织中 TNF- α 、IL-1 β mRNA 的表达变化 在 6、12、24 h 3 个时间点,SAP+NS 组和 SAP+HRS 组大鼠肺组织中 TNF- α 、IL-1 β mRNA 表达水平均高于 Sham 组($P<0.05$)。

表 5 各组肺组织 TNF-α mRNA、IL-1β mRNA 表达水平的比较 (n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	6 h		12 h		24 h	
	TNF-α	IL-1β	TNF-α	IL-1β	TNF-α	IL-1β
Sham 组	0.99±0.35	0.99±0.25	1.06±0.37	0.97±0.11	0.96±0.10	0.97±0.08
SAP+NS 组	3.94±0.20 ^a	1.93±0.23 ^a	4.40±0.24 ^a	1.97±0.11 ^a	6.00±0.37 ^a	2.92±0.26 ^a
SAP+HRS 组	2.81±0.09 ^{ab}	1.78±0.08 ^a	2.51±0.11 ^{ab}	1.77±0.16 ^{ab}	1.77±0.06 ^{ab}	1.29±0.03 ^{ab}

^a: $P<0.05$, 与 Sham 组比较; ^b: $P<0.05$, 与 SAP+NS 组比较。

SAP+HRS 组与 SAP+NS 组比较,各时间点 SAP+HRS 组 TNF-α mRNA 均低于 SAP+NS 组 ($P<0.05$)。6 h 时两组 IL-1β mRNA 差异无统计学意义 ($P>0.05$);12、24 h 时 SAP+HRS 组 IL-1β mRNA 明显低于 SAP+NS 组(均 $P<0.05$)。见表 5。

3 讨 论

APALI 的发病机制复杂,目前尚未完全明确。既往研究显示,炎症通路过度活化与 SAP 时多器官功能损伤关系密切,IL-1β、TNF-α 等细胞因子在 SAP 早期表达明显增加,且表达量的增加与病情严重程度和预后明显相关^[6]。TNF-α 等是促炎细胞因子,还能促进其他细胞因子如 IL-6、IL-8 等形成,其表达水平上调会导致组织受损、微循环障碍,诱发多器官功能障碍^[7]。因此,抑制促炎细胞因子的活化可能对 APALI 起到保护作用。2007 年日本学者 Ohsawa 等^[8]发现氢气具有选择性抗氧化作用,可以选择性中和毒性作用强的羟自由基和亚硝酸阴离子,而后两者是氧化应激的重要介质,目前体内尚未找到特异性清除途径。该研究迅速引起国内外学者的广泛关注,掀起了研究氢分子生物学的热潮。而后在肝、肾、心肌、脑、小肠等^[9-13]器官的缺血再灌注模型中,也相继发现氢气在细胞保护和脏器损伤防护中发挥着明显抗氧化和抗炎作用。

本实验在建立大鼠 SAP 模型的基础上,经尾静脉注射 HRS 观察其治疗效果及对炎症细胞因子的影响。结果显示: SAP+HRS 组肺组织病理损伤评分和肺水肿指标(肺湿干质量比)明显优于 SAP+NS 组,说明 HRS 能显著改善肺组织炎症损伤程度,对肺组织损伤具有保护作用。SAP+HRS 组 6、12、24 h 时血清中 TNF-α 的水平均低于 SAP+NS 组,差异有统计学意义,表明 HRS 对 TNF-α 炎症因子有明显抑制作用; SAP+HRS 组在 6 h 时血清中 IL-1β 水平与 SAP+NS 组差异无统计学意义 ($P>0.05$),随着时间的变化,在 12、24 h 时均低于 SAP+NS 组,表明 HRS 对 IL-1β 炎症因子同样具有抑制作用。再采用荧光定量 PCR 法对肺组织中 TNF-α、IL-1β 的核酸水平(TNF-α、IL-1β mRNA)进行检测时发现,SAP+HRS 组在 6、12、24 h 时肺组织中 TNF-α mRNA 的表达均低于 SAP+NS 组;SAP+HRS 组在 6 h 时肺组织中 IL-1β mRNA 表达与 SAP+NS 组差异无统计学意义 ($P>0.05$),但随着时间的延长,12、24 h 时均低于 SAP+NS 组,表明 HRS 对肺组织中的 TNF-α、IL-1β mRNA 合成均有抑制作用,提示 HRS 可能从基因水平抑制炎症细胞因子的生成。

综上所述,本实验发现静脉注射 HRS 对血清中 TNF-α、IL-1β 水平及肺组织中 TNF-α、IL-1β mRNA 水平表达具有明显抑制作用,相应的肺组织及胰腺组织病理损伤评分降低,肺湿干质量比降低,提示 HRS 可能通过其选择性抗氧化应激作用下调血清和肺组织中 TNF-α、IL-1β 的表达,改善肺组织的病理损伤,从而对 APALI 起到一定的保护作用。但其具体的

作用机制,如基因层面如何进行调控等还有待进一步研究明确。

参考文献

[1] Chooklin S. Pathogenic aspects of pulmonary complications in acute pancreatitis patients[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int,2009,8(2):186-192.

[2] Wood KM. The hydrogen highway to reperfusion therapy [J]. Nat Med,2007,13(6):673-674.

[3] Bluth MH,Patel SA,Dieckgraefe BK,et al. Pancreatic regenerating protein (reg I) and reg I receptor mRNA are upregulated in rat pancreas after induction of acute pancreatitis[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12 (28): 4511-4516.

[4] Riegert-Johnson DL,Godfrey JA,Myers JL,et al. Delayed hypersensitivity reaction and acute respiratory distress syndrome following infliximab infusion[J]. Inflammatory Bowel Dis,2002,8(3):186-191.

[5] Hofbauer B,Saluja AK,Bhatia M,et al. Effect of yecombinant Platelet activating factor acetylhydrolase on two Models of experiment acute Panereatitis[J]. Gastroenterology,1998,115(5):1238-1247.

[6] Jha RK, Ma Q, Lei Z, et al. Resveratrol ameliorates the deleterious effect of severe acute pancreatitis[J]. Cell Biochem Biophys,2012,62(2):397-402.

[7] Zhou MT,Chen BC,Sun HW,et al. Continuous regional arterial infusion with fluorouracil and octreotide attenuates severe acute pancreatitis in a canine model[J]. PLoS One,2012,7(5):e37347.

[8] Ohsawa I,Ishikawa M,Takahashi K,et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals[J]. Nat Med,2007,13(6):688-694.

[9] Tan YC,Xie F,Zhang HL,et al. Hydrogen-rich saline attenuates postoperative liver failure after major hepatectomy in rats[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2014, 38 (3):337-345.

[10] Hong Y,Shao A,Wang J,et al. Neuroprotective effect of hydrogen-rich saline against neurologic damage and apoptosis in early brain injury following subarachnoid hemorrhage;possible role of the Akt/GSK3β signaling pathway [J]. PLoS One,2014,9(4):e96212.

[11] Li H,Zhou R,Liu J. Hydrogen-rich saline attenuates lung ischemia-reperfusion injury in rabbits[J]. J Surg Res, 2012,174(1):e11-16.

(下转第 1604 页)

miRNA-21 通过 IL-6 途径上调 HBx 的表达,二者相互促进,促进癌细胞增殖^[6,8]。

c-myc 是重要的癌基因之一,其异常表达在包括 HCC 等多种癌细胞中发现,参与细胞癌变、增殖、抑制凋亡等过程^[8,17-19]。本实验通过构建 miRNA-21 真核过表达载体证实,Hepg2. 2. 15 细胞在转染该载体后 miRNA-21 的表达显著升高,c-myc 基因的表达随之升高,细胞增殖增快。因此,在 HBV 感染细胞模型中,miRNA-21 可上调 c-myc 基因的表达,促进癌细胞增殖。本实验构建的 miRNA-21 真核过表达载体可为今后进一步实验奠定基础。

参考文献

- [1] Bartel DP. MicroRNAs:genomics,biogenesis,mechanism, and function[J]. Cell,2004,116(2):281-297.
- [2] Kumarswamy R, Volkmann I, Thum T. Regulation and function of miRNA-21 in health and disease[J]. RNA Biol,2012,8(5):706-713.
- [3] Selcuklu SD, Donoghue MT, Spillane C. miR-21 as a key regulator of oncogenic processes[J]. Biochem Soc Trans, 2009,37(Pt 4):918-925.
- [4] Yang GD, Huang TJ, Peng LX, et al. Epstein-Barr virus_ encoded LMP1 upregulates microRNA-21 to promote the resistance of nasopharyngeal carcinoma cells to cisplatin-induced apoptosis by suppressing PDCD4 and Fas-L[J]. PLoS One,2013,8(10):e78355.
- [5] Qiu X, Dong S, Qiao F, et al. HBx-mediated miR-21 up-regulation represses tumor-suppressor function of PDCD4 in hepatocellular carcinoma[J]. Oncogene,2013,32(27): 3296-3305.
- [6] Damania P, Sen B, Dar SB, et al. Hepatitis B virus induces cell proliferation via HBx-induced microRNA-21 in hepatocellular carcinoma by targeting programmed cell death protein4 (PDCD4) and phosphatase and tensin homologue (PTEN)[J]. PLoS One,2014,9(3):e91745.
- [7] Li CH, Xu F, Chow S, et al. Hepatitis B virus X protein promotes hepatocellular carcinoma transformation through interleukin-6 activation of microRNA-21 expression[J]. Eur J Cancer,2014,50(15):2560-2569.
- [8] Wang L, Zhang X, Jia LT, et al. c-Myc-mediated epigenetic silencing of MicroRNA-101 contributes to dysregulation of multiple pathways in hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology,2014,59(5):1850-1863.
- [9] Crews S, Barth R, Hood L, et al. Mouse c-myc oncogene is

located on chromosome 15 and translocated to chromosome 12 in plasmacytomas[J]. Science,1982,218(4579): 1319-1321.

- [10] Sun L, Song L, Wan Q, et al. c-Myc-mediated activation of serine biosynthesis pathway is critical for cancer progression under nutrient deprivation conditions[J]. Cell Res, 2015,25(4):429-444.
- [11] John K, Hadem J, Krech T, et al. MicroRNAs play a role in spontaneous recovery from acute liver failure[J]. Hepatology,2014,60(4):1346-1355.
- [12] Francis H, McDaniel K, Han Y, et al. Regulation of the extrinsic apoptotic pathway by microRNA-21 in alcoholic liver injury [J]. J Biol Chem, 2014, 289 (40): 27526-27539.
- [13] Zhu Q, Wang Z, Hu Y, et al. miR-21 promotes migration and invasion by the miR-21-PDCD4-AP-1 feedback loop in human hepatocellular carcinoma[J]. Oncol Rep,2012, 27(5):1660-1668.
- [14] Rawat S, Bouchard MJ. The hepatitis B virus (HBV) HBx protein activates AKT to simultaneously regulate HBV replication and hepatocyte survival[J]. J Virol, 2015,89(2):999-1012.
- [15] Gearhart TL, Bouchard MJ. The hepatitis B virus X protein modulates hepatocyte proliferation pathways to stimulate viral replication [J]. J Virol, 2010, 84 (6): 2675-2686.
- [16] Benhenda S, Cougot D, Buendia MA, et al. Hepatitis B virus X protein molecular functions and its role in virus life cycle and pathogenesis [J]. Adv Cancer Res, 2009, 103 (1):75-109.
- [17] Prensner JR, Chen W, Han S, et al. The long non-coding RNA PCAT-1 promotes prostate cancer cell proliferation through cMyc[J]. Neoplasia,2014,16(11):900-908.
- [18] Ding X, Zhou X, Jiang B, et al. Triptolide suppresses proliferation, hypoxia-inducible factor-1 α and c-Myc expression in pancreatic cancer cells[J]. Mol Med Rep,2015,12 (3):4508-4513.
- [19] Wu C, Wang S, Xu C, et al. WT1 enhances proliferation and impedes apoptosis in KRAS mutant NSCLC via targeting cMyc[J]. Cell Physiol Biochem,2015,35(2):647-662.

(收稿日期:2015-11-08 修回日期:2015-12-16)

(上接第 1600 页)

- [12] Shigeta T, Sakamoto S, Li XK, et al. Luminal injection of hydrogen-rich solution attenuates intestinal ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Transplantation, 2015, 99 (3):500-507.
- [13] Gu H, Yang M, Zhao X, et al. Pretreatment with hydro-

gen-rich saline reduces the damage caused by glycerol-induced rhabdomyolysis and acute kidney injury in rats[J]. J Surg Res,2014,188(1):243-249.

(收稿日期:2015-12-08 修回日期:2016-01-12)