

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.11.013

SpA 刺激单核巨噬细胞表达早期致炎因子的实验研究*

马兴龙¹, 黄俞霖², 陈晓晴², 李明强³, 刘清蒙^{3Δ}

(1. 遵义医学院第三附属医院重症医学科, 贵州遵义 563002; 2. 遵义医学院 2011 级检验专业本科生, 贵州遵义 563099; 3. 遵义医学院微生物教研室, 贵州遵义 563099)

[摘要] **目的** 探讨金黄色葡萄球菌蛋白 A(SpA)对单核巨噬细胞表达早期致炎因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的影响。**方法** 用一定浓度 SpA 与 THP-1 细胞培养不同时间,用 MTT 法测定 SpA 对 THP-1 细胞增殖的影响;用 ELISA 测定培养液中 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的水平;用 RT-PCR 检测细胞 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 相应 mRNA 的表达,并对结果进行统计学分析。**结果** SpA 对 THP-1 细胞增殖的影响与其作用剂量有关。SpA 可促进巨噬细胞分泌 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 及表达相应 mRNA,且呈一定剂量-效应和时间-效应关系。SpA 刺激巨噬细胞分泌 TNF- α 、IL-1、IL-6 和表达相应 mRNA 均在 12 h 达高峰。SpA 刺激组 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的表达和释放均显著升高($P < 0.01$)。**结论** SpA 可明显促进单核巨噬细胞表达和分泌早期致炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-6。SpA 在启动金黄色葡萄球菌脓毒症及促进其发展中,具有不可忽视的作用。

[关键词] 金黄色葡萄球菌蛋白 A; THP-1; 肿瘤坏死因子; 白细胞介素-1; 白细胞介素-6

[中图分类号] R378.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)11-1484-04

Effect of staphylococcal protein A on pro-inflammatory cytokines expression in mononuclear macrophage*

Ma Xinglong¹, Huang Yulin², Chen Xiaoping², Li Mingqiang³, Liu Qingmeng^{3Δ}

(1. Department of ICU, the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563002, China; 2. Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563099, China; 3. Department of Microbiology, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563099, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression and regulation of pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL-1, IL-6 in mononuclear macrophages stimulated with staphylococcal protein A (SpA). **Methods** THP-1 was incubated with PMA and induced into mononuclear macrophages. Then the macrophages were incubated with varying concentrations of SpA under different time points. The effect of SpA on macrophage proliferation was measured by MTT method. The levels of inflammatory cytokines, TNF- α , IL-1 and IL-6 from the cultured cell media were measured by ELISA respectively. The levels of mRNA expression corresponding to TNF- α , IL-1 and IL-6 were detected by RT-PCR from the macrophages stimulated with SpA. All statistical analyses were performed by SPSS17.0 software. **Results** The MTT result indicated that SpA had a positive effect on the proliferation of THP-1 cells in a dosage depended manner. The addition of SpA could enhance the mRNA expression of TNF- α , IL-1 and IL-6 in the stimulated macrophages. It also showed a specific dose-effect and time-effect correlation. The macrophages secreted inflammatory cytokines and its corresponding mRNA reached its peak levels at 12 h post stimulation. Compared with the control group, the expression and release of TNF- α , IL-1 and IL-6 in macrophages from the experimental group was increased with statistical significance ($P < 0.01$). **Conclusion** SpA can promote the secretion and expression of early pro-inflammatory cytokines, such as TNF- α , IL-1 and IL-6 in macrophages. Therefore, SpA plays a very important role in the initiation and development of the staphylococcus aureus sepsis.

[Key words] staphylococcal protein A; THP-1; tumor necrosis factor-alpha; interleukin-1; interleukin-6

脓毒症(Sepsis)是指由感染引起的全身炎症反应综合征。进一步发展可导致脓毒性休克、多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。MODS 是导致脓毒症患者多器官衰竭和死亡的主要原因,其发生率在世界范围内仍然呈上升趋势,病死率依然居高不下^[1-2]。全球发起拯救脓毒症运动(surviving sepsis campaign, SSC),以及 SSC 指南希望能提高脓毒症的抢救成功率^[3]。

鉴于 MODS 发病特点是继发性、顺序性和进行性,一旦启动,必然按一定顺序进行,因此,启动脓毒症的早期致炎细胞因子备受基础和临床研究者重视^[4-7]。单核巨噬细胞(macrophage, M ϕ)在抗感染免疫应答过程中可产生多种细胞因子和(或)诱导炎症的致炎因子,特别是早期致炎细胞因子^[8-9]。M ϕ

在脓毒症的发生和发展中具有重要的作用。

近年,耐药金黄色葡萄球菌脓毒症明显增加,对临床防治增加了巨大难度^[10-11]。金黄色葡萄球菌蛋白 A(staphylococcal protein A, SpA)是金黄色葡萄球菌表面抗原,可刺激多种免疫细胞活化,分泌活性细胞因子,包括巨噬细胞分泌致炎细胞因子。文献显示^[12], SpA 与肿瘤坏死因子受体 1(TNF-R1)结合,发挥 TNF 样作用,启动 TNF 信号级联放大反应,发挥促炎效应。本文就 SpA 刺激对 M ϕ 表达早期致炎细胞因子的影响进行了初步探讨。

1 材料与方法

1.1 材料 人 M ϕ 株。按本室常规将 THP-1 细胞株放入含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中,在 37 °C、5% CO₂ 的培

* 基金项目:贵州省大学生创新课题(201413653004)。 作者简介:马兴龙(1972-),副主任医师,在职硕士,主要从事脓毒症研究。

Δ 通讯作者, E-mail: 2446545484@qq.com。

养箱中培养,取对数生长期细胞,调整细胞浓度为 1×10^5 /mL,接种 24 孔培养板,每孔 1 mL,加入 PMA(终浓度 100 ng/mL),培养 24 h 后,贴壁细胞即为 M ϕ 。台盼兰染色活细胞数大于 95%。

1.2 方法

1.2.1 SpA 的制备 标准金黄色葡萄球菌菌株(S1800)由本室保存,按本室常规制备粗提 SpA,并与购买纯化 SpA 比较,实验效果相一致。本实验均采用自提 SpA。

1.2.2 THP-1 细胞增殖的测定 取对数生长期细胞,调整细胞浓度为 1×10^5 /mL,接种 96 孔培养板,每孔 200 μ L,37 $^{\circ}$ C、5%CO $_2$ 培养 12 h;加入不同浓度 SpA,孵育 24 h,每孔加入 20 μ L MTT 溶液(5 mg/mL),继续培养 4 h。1 000 r/min,弃上清,每孔加入 150 μ L 二甲基亚砷,置摇床低速振荡 10 min,酶联免疫检测仪 OD $_{490nm}$ 测量吸光值。

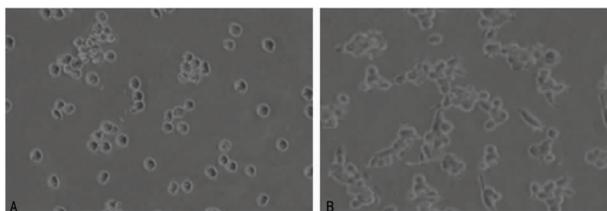
1.2.3 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的测定 用双抗夹心法 ELISA 测定培养上清液中 TNF- α 、IL-1、IL-6 的水平,试剂盒购自 Thermo Fisher Scientific 公司,具体操作严格按检测试剂盒说明书进行。

1.2.4 TNF- α 、IL-1、IL-6 mRNA 的检测 用 RT-PCR 法检测培养细胞 TNF- α 、IL-1、IL-6 mRNA 表达水平,试剂盒购自 Thermo Fisher Scientific 公司,具体操作严格按检测试剂盒说明书进行。所有引物均由上海捷瑞生物工程有限公司合成。内参基因 GAPDH,目的基因 TNF- α 、IL-1、IL-6 扩增条件为:预变性 95 $^{\circ}$ C 3 min,变性 95 $^{\circ}$ C 30 s,退火 57 $^{\circ}$ C 30 s,再次延伸 72 $^{\circ}$ C 7 min,预变性、变性和退火循环 30 次,延伸 72 $^{\circ}$ C 45 s,4 $^{\circ}$ C 保存。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件对实验数据进行统计分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PMA 诱导 THP-1 细胞株转化为 M ϕ 使用 PMA 与 THP-1 细胞株共育 24 h 后,诱导使其转化为 M ϕ ,显微镜下观察可见细胞由悬浮生长变为贴壁生长,见图 1。



A:刺激前;B:刺激后。

图 1 PMA 刺激前、后的细胞

2.2 SpA 对 M ϕ 增殖的影响 SpA 刺激 THP-1 细胞株 24 h 后,细胞增殖明显增加,见表 1、图 2。

表 1 SpA 对 M ϕ 增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

SpA (μ g/mL)	OD
0	0.423 \pm 0.015
1	0.452 \pm 0.011
10	0.567 \pm 0.018
100	0.574 \pm 0.020
500	0.578 \pm 0.017

2.3 SpA 浓度对 M ϕ 分泌 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的影响 不同浓度 SpA 与 M ϕ 孵育 12 h 后,取培养上清液测定 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的水平,结果呈现一定的剂量和时间效应关系。SpA 刺激组与空白组相比,TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的水平明显升高

($P < 0.05$),100 与 500 μ g/mL SpA 组间无明显差异($P > 0.05$),见表 2、图 3。

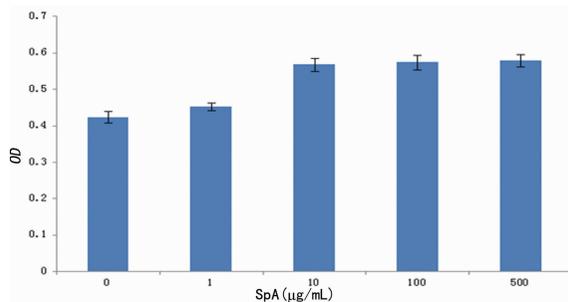


图 2 SpA 对 M ϕ 增殖的影响

表 2 SpA 刺激浓度对 M ϕ 表达 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的影响 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

SpA (μ g/mL)	TNF- α	IL-1	IL-6
0	127.23 \pm 11.83	47.19 \pm 4.86	19.26 \pm 2.51
1	201.53 \pm 9.58	50.72 \pm 4.53	19.86 \pm 2.81
10	214.67 \pm 8.37	61.74 \pm 5.77	27.35 \pm 3.56
100	248.81 \pm 9.24	81.01 \pm 4.89	35.27 \pm 3.76
500	246.78 \pm 9.31	80.51 \pm 6.33	45.62 \pm 4.32

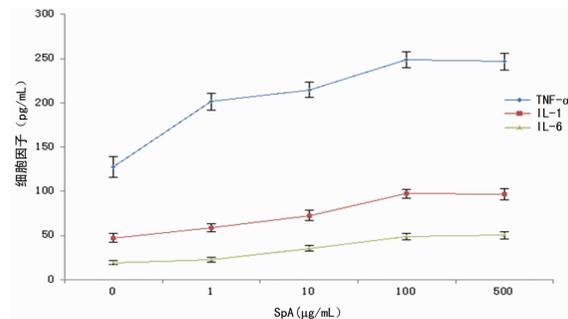


图 3 SpA 水平对 M ϕ 分泌细胞因子的影响

2.4 SpA 刺激时间对 M ϕ 分泌 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的影响 用 100 μ g/mL SpA 与 M ϕ 孵育 6、12、24、48 h 后取上清液,测定 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的水平。结果显示 SpA 刺激组 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的水平显著升高($P < 0.01$),约 12 h 达到高峰($P < 0.01$),12、24 与 48 h 组间比较无明显差异($P > 0.05$),见表 3、图 4。

表 3 SpA 刺激时间对 M ϕ 分泌 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的影响 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

时间(h)	TNF- α	IL-1	IL-6
0	25.75 \pm 4.89	5.68 \pm 3.94	4.56 \pm 2.23
6	224.19 \pm 9.46	67.22 \pm 5.62	24.51 \pm 3.61
12	233.98 \pm 13.87	87.92 \pm 6.47	38.35 \pm 4.08
24	256.12 \pm 12.86	88.52 \pm 6.84	42.81 \pm 5.12
48	262.56 \pm 11.23	92.12 \pm 7.08	46.52 \pm 4.21

2.5 SpA 刺激水平对 M ϕ 表达 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 mRNA 的影响 用 10 μ g/mL SpA 与 M ϕ 孵育 12 h,测定沉淀细胞 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 mRNA 水平。PCR 扩增产物经凝胶电泳后,图像经 Bandscan 软件进行密度分析,以目的基因电泳条带总灰度值与 β -actin 电泳条带总灰度值之比(RQ)作为目的基

因 mRNA 的相对表达量。结果显示 SpA 刺激组 TNF- α 、L-1 和 IL-6 mRNA 的表达明显升高($P < 0.05$), 100 $\mu\text{g/mL}$ 与 500 $\mu\text{g/mL}$ 组间无明显差异($P > 0.05$), 见表 4、图 5。

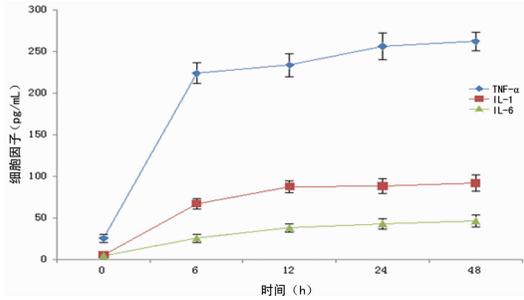


图 4 SpA 刺激时间对 M ϕ 分泌细胞因子的影响

表 4 SpA 浓度对 M ϕ 表达细胞因子 mRNA 的影响($\bar{x} \pm s$)

SpA($\mu\text{g/mL}$)	TNF- α	IL-1	IL-6
0	0.256 \pm 0.021	0.149 \pm 0.012	0.101 \pm 0.012
1	0.425 \pm 0.039	0.223 \pm 0.021	0.175 \pm 0.018
10	0.858 \pm 0.056	0.426 \pm 0.038	0.218 \pm 0.025
100	1.078 \pm 0.074	0.512 \pm 0.045	0.385 \pm 0.041
500	0.926 \pm 0.071	0.501 \pm 0.043	0.424 \pm 0.039

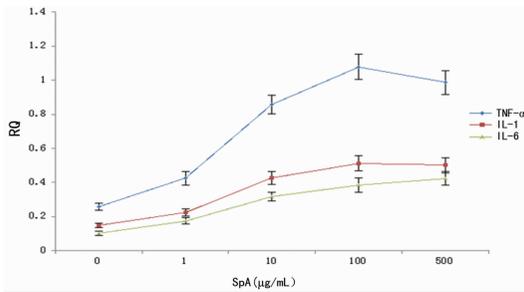


图 5 SpA 刺激浓度对 M ϕ 表达细胞因子 mRNA 的影响

2.6 SpA 刺激时间对 M ϕ 表达 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 mRNA 的影响 结果显示 SpA 刺激组在各时间点均高于空白组, 且于 12 h 达到高峰($P < 0.01$), 12 h 与 24 h 和 48 h 组间无明显差异($P > 0.05$), 见表 5, 图 6、7。

表 5 SpA 刺激时间对 M ϕ 表达 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 mRNA 的影响($\bar{x} \pm s$)

时间(h)	TNF- α	IL-1	IL-6
0	0.112 \pm 0.015	0.089 \pm 0.013	0.068 \pm 0.011
6	0.615 \pm 0.022	0.302 \pm 0.027	0.182 \pm 0.022
12	0.856 \pm 0.033	0.425 \pm 0.028	0.267 \pm 0.031
24	0.826 \pm 0.042	0.552 \pm 0.042	0.323 \pm 0.038
48	0.843 \pm 0.048	0.576 \pm 0.048	0.355 \pm 0.042

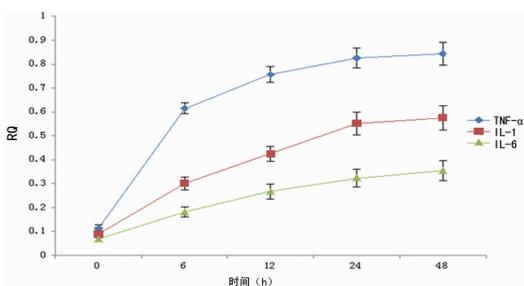


图 6 SpA 刺激时间对 M ϕ 表达细胞因子 mRNA 的影响

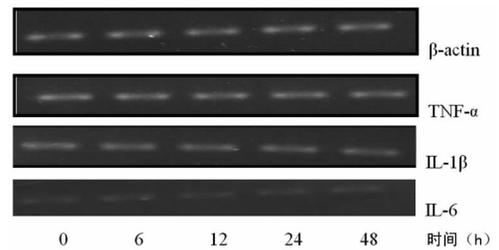


图 7 SpA 刺激 M ϕ 表达 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 mRNA 凝胶电泳图

3 讨论

早期致炎细胞因子能启动脓毒症按顺序性、进行性, 甚至是不可逆性方向发展。因此, 深入研究致炎细胞因子与脓毒症的确切发病机制, 寻找防治脓毒症的新靶点, 是当今医学亟待解决的重要课题。

SpA 是金葡菌表面蛋白抗原, 可激活多种免疫细胞表达和释放多种与炎症相关因子, 特别是 M ϕ 表达和释放的早期致炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-6。TNF- α 可使血管内皮细胞功能改变, 造成微循环血栓形成及组织损伤。IL-1 为多功能细胞因子, 其与相应受体结合, 触发早期感染免疫应答, 导致组织损伤, 具有促进炎症的作用。IL-6 被认为与 SIRS 的严重程度和致死率密切相关, 它除对血管内皮细胞及炎性细胞具有直接的激活和毒性作用外, 更主要是催化和放大炎症反应和毒性作用, 造成组织细胞的损害^[13-15]。因此, TNF- α 、IL-1 和 IL-6 是机体炎症反应和免疫调节过程中的重要介质, 作为早期致炎因子, 在启动 SIRS, 诱导 MODS 中扮演极其重要的角色。

本实验结果显示, 不同浓度 SpA 与 THP-1 细胞株共育 24 h 后, THP-1 细胞增殖明显增加, 与对照组比较有显著差异($P < 0.05$)。SpA 浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时, 刺激细胞增殖作用达高峰, 而 100 $\mu\text{g/mL}$ 与 500 $\mu\text{g/mL}$ SpA 组结果无明显差异($P > 0.05$), 表明 SpA 在一定浓度范围内可明显增强 THP-1 细胞增殖。用 PMA 将 THP-1 诱导为 M ϕ 后, 与不同浓度的 SpA 共同孵育一定时间, 测定上清液中 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的量。SpA 浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 时 M ϕ 分泌 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 达高峰, 提示 SpA 须达到一定的浓度才具备促进细胞因子分泌的作用。SpA 刺激 M ϕ 6 h 就可使培养上清液中 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的水平升高, 12 h 达高峰, 与对照组比较, 有显著差异($P < 0.01$), 12 h 与 24 h 相比, 无明显差异($P > 0.05$), 表明 SpA 促进 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 的分泌遵循一定的剂量-效应和时间-效应关系, 且在释放细胞因子的时间点上符合早期致炎细胞因子的特点。M ϕ 表达 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 mRNA 水平的实验结果与上述实验结果相一致, 100 $\mu\text{g/mL}$ SpA 可明显促进 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 相应 mRNA 的表达, 与对照组相比, 有显著差异($P < 0.01$), 且其促进作用遵循一定的剂量-效应和时间-效应关系, 即在一定剂量和时间内, SpA 可明显增强 M ϕ 表达 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 mRNA。

本实验表明 SpA 可刺激 M ϕ 表达和释放大量早期致炎细胞因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-6。SpA 在启动金葡菌性脓毒症中, 应具有不可忽视的作用。本报道为实验室研究, SpA 在体内如何参与启动脓毒症尚待深入研究。

参考文献

[1] Cheng BL, Xie GH, Yao SL, et al. Epidemiology of severe sepsis in critical ill surgical patients in ten university hospitals in China[J]. Crit Care Med, 2007, 35 (11): 2538-2546.

- [2] 商娜,周荣斌. 脓毒症流行病学研究[J]. 中国急救医学, 2013,33(1):8-11.
- [3] Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012 [J]. Crit Care Med, 2013,41:580-637.
- [4] 肖莉. 细胞因子对感染性休克作用的新进展[J]. 国外医学:生理病理科学与临床分册, 2003,23(1):100-102.
- [5] Dinarello CA. Proinflammatory cytokines [J]. Chest, 2000, 118(2):503-508.
- [6] Heper Y, Akalin EH, Mistik R, et al. Evaluation of serum C-reactive protein, procalcitonin, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-10 levels as diagnostic and prognostic parameters in patients with community-acquired sepsis, severe sepsis, and septic shock [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2006, 25(8):481-491.
- [7] Takahashi N, Hasegawa H, Komiyama M, et al. Elective excretion of anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in a superantigen-inducing neonatal infectious disease [J]. Cytokine, 2009, 45(1):39-43.
- [8] 杨小梅, 韩根成, 马远方, 等. 巨噬细胞在脓毒症中的免疫调节作用研究进展[J]. 军事医学, 2013, 37(6):469-471.
- [9] Santana Reyes C, García-Muoz F, Reyes D, et al. Role of cytokines (interleukin-1beta, 6, 8, tumor necrosis factor-alpha, and soluble receptor of interleukin-2) and C-reactive

protein in the diagnosis of neonatal sepsis [J]. Acta Paediatr, 2003, 92(3):221-227.

- [10] Naber CK. Future strategies for treating Staphylococcus aureus bloodstream infections [J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(Suppl 12):26-34.
- [11] 刘杜姣, 张新玲, 李菊莲, 等. 脓毒症金黄色葡萄球菌感染监测及治疗体会 [J]. 中国实用内科杂志, 2011, 31(2):149-151.
- [12] Johnson AP, Pearson A, Duckworth G, et al. Surveillance and epidemiology of MRSA bacteraemia in the UK [J]. J Ant Chem, 2005, 56:455-462.
- [13] Gomez MI, Seaghdha MO, Magargee M, et al. Staphylococcus aureus Protein A activates TNFR1 signaling through conserved IgG binding domains [J]. J Biol Chem, 2006, 281(29):20190-20196.
- [14] Gomez MI, Lee A, Reddy B, et al. Staphylococcus aureus protein A induces Airway epithelial inflammatory responses by activating TNFR1 [J]. Nat Med, 2004, 10(8):842-848.
- [15] Kumar A, Tassopoulos AM, Li Q, et al. Staphylococcus aureus protein A induced inflammatory response in human corneal epithelial cells [J]. Bioc Biophys Res Commun, 2007, 354(4):955-961.

(收稿日期:2015-11-08 修回日期:2016-01-16)

(上接第 1483 页)

作用最明显。结合与 Rayjada 等^[15]在临床方面使用 rhEPO 对治疗早产儿 BPD 研究结果,在推测 rhEPO 作用 Ang/Tie 通路下游的 PI3K/AKT 信号传导通路,可以有效地减轻新型 BPD 的肺组织的损伤程度,提前预防和治疗对提高患儿今后的生活质量具有重要的意义。

参考文献

- [1] 高晓燕. 宫内感染与胎儿肺发育异常关系的研究进展 [J]. 临床儿科杂志, 2010, 28(9):887-890.
- [2] Westover AJ, Moss TJ. Effects of intrauterine infection or inflammation on fetal lung development [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2012, 39(9):824-830.
- [3] 喻云, 刘艳兵. 宫内感染与新型支气管肺发育不良 [J]. 江西医药, 2013, 48(1):89-92.
- [4] Zhang F, Xing J, Liou AK, et al. Enhanced delivery of erythropoietin across the Blood-Brain barrier for neuroprotection against ischemic neuronal injury [J]. Transl Stroke Res, 2010, 1(2):113-121.
- [5] 刘漫君, 张华, 赵日红. 重组人促红细胞生成素对宫内炎性暴露和高氧肺损伤新生大鼠细胞凋亡及 PI3K 表达的影响 [J]. 临床儿科杂志, 2013, 31(2):178-181.
- [6] Klinger G, Sokolover N, Boyko V, et al. Perinatal risk factors for bronchopulmonary dysplasia in a National cohort of very-low-birthweight infants [J]. Am J Obstet Gynecol, 2013, 208(2):e110-115.
- [7] 张婷, 卢红艳, 王秋霞, 等. GRP78 和 caspase-12 在支气管

肺发育不良大鼠肺组织中的表达及意义 [J]. 基础医学与临床, 2013, 33(11):1460-1464.

- [8] 王少华, 党红星, 范倩倩, 等. 早产新生大鼠高氧肺损伤 Shh 信号转导途径 Smo 和 Gli1 蛋白表达和意义 [J]. 中国新生儿科杂志, 2014, 29(1):49-53.
- [9] Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR pathway in angiogenesis [J]. Front Mol Neurosci, 2011, 4(51):51.
- [10] 马兴娜. 促进肺血管生成发育的细胞因子及信号通路研究进展 [J]. 中国当代儿科杂志, 2013, 15(9):800-805.
- [11] 陈颖, 吴多江, 杨亦彬, 等. 促红细胞生成素干预肾缺血再灌注损伤后肾小管间质的纤维化 [J]. 中国组织工程研究, 2012(40):7514-7519.
- [12] 黄文志, 李倩庆, 王露, 等. 阻断促红细胞生成素抑制小鼠视网膜新生血管生成 [J]. 国际眼科杂志, 2015, 4(4):605-607.
- [13] 张华, 赵日红, 刘漫君. 重组人促红细胞生成素对高氧肺损伤新生大鼠细胞凋亡及蛋白激酶 B 表达的影响 [J]. 医学研究生学报, 2013, 26(5):469-472.
- [14] 岳嗣凤, 张华. 重组人促红细胞生成素对新型支气管肺发育不良模型肺发育及肺 Bcl-2、Caspase-9 表达的影响 [J]. 广东医学, 2014, 35(23):3632-3636.
- [15] Rayjada N, Barton L, Chan LS, et al. Decrease in incidence of bronchopulmonary dysplasia with erythropoietin administration in preterm infants: a retrospective study [J]. Neonatology, 2012, 102(4):287-292.

(收稿日期:2015-11-20 修回日期:2015-12-17)