

钙化。本组 16 例患儿中,10 例合并肺实变,可能由于入侵结核菌数量多,而新生儿免疫功能尚未完善,导致较多肺组织发生坏死形成实变,且右肺为多(6/10),可能与右支气管粗短,走形较陡直,吸入的结核杆菌多进入右肺有关^[9]。2 例患儿表现为原发综合征,肺内病灶较大,密度较高,且伴有右肺门淋巴结肿大钙化,诊断无特异性。16 例患儿中,肺门淋巴结肿大 8 例,纵隔淋巴结肿大 7 例,其中伴蛋壳或沙粒样钙化 7 例,说明病灶时间较长,所有患儿均无空洞及渗出表现,与一般结核进展不同。6 例患儿行 MRI 检查,4 例诊断为结核性脑膜炎,此 4 例患儿遗留有严重的神经后遗症状,可能由于年龄较小影响神经系统的发育,因此早期诊断,防止脑炎的发生很重要。

结合文献及笔者的相关研究,对母亲有结核,生后 2 周内发病,而且婴儿无特异征象,且以新生儿肺炎治疗 1 周加重或无反应,临床结核指标检测阴性,白细胞计数不高,C 反应蛋白增高,肝脾肿大,影像学表现为两肺弥漫粟粒结节或广泛分布结节-斑片影,首先考虑结核。本病预后不良,必须积极治疗,除加强支持疗法外,提倡较早应用抗结核药,治疗至少包括两种抗结核药,结核性脑膜炎需加用皮质激素^[10]。

鉴别诊断:(1)新生儿湿肺:多数在出生后 6h 内即出现呼吸加速,肺部阳性体征不多,听诊可有呼吸音减低和粗湿啰音,X 线检查可见两侧肺野透明度较低,肺纹理增多、增粗及斑点状密度增深的阴影,边界模糊,往往于生后 72h 完全吸收^[11]。(2)新生儿吸入性肺炎:胎儿吸入羊水、胎粪或乳汁引起,常有明确的缺氧病史,临床主要表现为气道阻塞征象,胸片表现为持续时间较长的肺部炎症改变,多为密度较淡斑片

影,且边界欠清,易伴发肺气肿,治疗多为改善通气和氧疗。(3)肺炎:临床症状与结核相似,白细胞常升高,肺部听诊啰音明显,X 线表现多样,多为斑片影,但数量往往较结核少,且分布两下肺多,边界欠清,密度较淡,抗炎治疗 1 周后明显好转。

参考文献

- 1 Smith KC. Congenital tuberculosis: a rare manifestation of a common infection[J]. *Curr Opin Infect Dis*,2002,15(3):269-274
- 2 徐 晔,甘兰丰,余世才,等. 先天性肺结核:胸片在诊断中的价值[J]. *临床放射学杂志*,2001,20(3):228-230
- 3 Grover SB, Pati NK, Mehta R, *et al*. Congenital spine tuberculosis: early diagnosis by imaging studies[J]. *Am J Perinatol*,2003,20(3):147-152
- 4 Bhat RY, Rao A, Althaf, *et al*. An evolved diagnosis of congenital tuberculosis in a very low birth weight premature neonate[J]. *Int J Tuberc Lung Dis*,2008,12(3):344-345
- 5 Patel S, DeSantis ER. Treatment of congenital tuberculosis[J]. *Am J Health Syst Pharm*,2008,65(21):2027-2031
- 6 Diar H, Velaphi S. Congenital tuberculosis as a proxy to maternal tuberculosis: a case report[J]. *J Perinatol*,2009,29(10):709-711
- 7 Abalain ML, Petsaris O, Héry - Arnaud G, *et al*. Fatal congenital tuberculosis due to a Beijing strain in a premature neonate[J]. *J Med Microbiol*,2010,59(6):733-735
- 8 龚春竹,朱朝敏. 婴儿肺结核胸部 X 线和 CT 影像学特征分析[J]. *中国循证儿科杂志*,2012,7(6):431-434
- 9 熊伟芬. 老年肺结核病 247 例临床分析[J]. *中国医刊*,2013,48(6):57-58
- 10 Peker E, Bozdofian E, Dogan M. A rare tuberculosis form: congenital tuberculosis[J]. *Tuberk Toraks*,2010,58(1):93-96
- 11 沈全力. 小儿肺结核的影像学诊断[J]. *国外医学·儿科学分册*,2002,29(6):322-325

(收稿日期:2013-08-19)

(修回日期:2013-09-09)

TNF- α 增强主动脉平滑肌细胞内 1 型 1,4,5-三磷酸肌醇受体表达参与感染性休克的发生机制

周 莹 韩 峰 刘 沛

摘 要 目的 研究 TNF- α 对主动脉平滑肌细胞(VSMC)内 1 型 1,4,5-三磷酸肌醇受体(IP₃R I)表达的影响,揭示 TNF- α 影响 VSMC 收缩功能参与感染性休克的发生机制。方法 原代分离培养大鼠 VSMC。按 TNF- α 处理的不同时间点(0、4、8、24h)分 4 组。分别应用 Western blot、免疫荧光、RT-PCR、双荧光素酶检测方法,观察 TNF- α 对 IP₃R I mRNA、蛋白表达及其

作者单位:110001 沈阳,中国医科大学附属第一医院传染科(周莹、刘沛);中国医科大学附属盛京医院(韩峰)

通讯作者:刘沛,电子信箱:syliupeit2013@163.com

启动子活性的影响。**结果** TNF- α 处理组细胞内 IP₃R I 分布未见变化,8、24h 组荧光强度增强提示 IP₃R I 蛋白含量增加,IP₃R I 蛋白表达升高(4h:1.059 $\pm$ 0.005 vs 1.000 $\pm$ 0.002, $P=0.010$;8h:2.416 $\pm$ 0.042 vs 1.000 $\pm$ 0.002, $P<0.01$;24h:2.138 $\pm$ 0.010 vs 1.000 $\pm$ 0.002, $P<0.01$, $n=9$),IP₃R I mRNA 表达明显增加(4h:2.260 $\pm$ 0.889 vs 1.00 $\pm$ 0.02, $P=0.193$;8h:5.449 $\pm$ 2.279 vs 1.00 $\pm$ 0.02, $P=0.000$;24h:3.049 $\pm$ 1.684 vs 1.00 $\pm$ 0.02, $P=0.042$, $n=9$)。转染 PGL₃-IP₃R I promoter 质粒后 TNF- α 组 IP₃R I 启动子活性明显增强(3.56 $\pm$ 0.65 vs 1.00 $\pm$ 0.05, $P=0.020$, $n=9$)。**结论** TNF- α 可上调 IP₃R I 基因启动子活性,从而引起 IP₃R I 蛋白表达升高,增强 VSMC 内 IP₃Rs 系统介导的 Ca²⁺ 释放作用,这可能是 TNF- α 影响 VSMC 收缩功能参与感染性休克血管调控的机制之一。

关键词 感染性休克 1,4,5-三磷酸肌醇受体 主动脉平滑肌细胞 肿瘤坏死因子 α

[中图分类号] R63 [文献标识码] A

Expression of Inositol 1,4,5-trisphosphate Receptor type 1 in the Vascular Smooth Muscle Cells Induced by Tumor Necrosis Factor Alpha.

Zhou Ying, Han Feng, Liu Pei. Department of Infectious Diseases, Affiliated No. 1 Hospital of China Medical University, Liaoning 110001, China

Abstract Objective To investigate the effect of TNF- α on the expression of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 (IP₃R I) in vascular smooth muscle cells (VSMC), in order to delineate the mechanism of TNF- α causing the change of VSMC contraction function in septic shock. **Methods** We primarily cultured VSMC, divided them into TNF- α -treated 0h, 4h, 8h, 24h groups. We identified the effect of TNF- α on the expression of IP₃R I mRNA, protein and the activity of IP₃R I promoter by immunofluorescence staining, Western blot, RT-PCR and dual luciferase reporter gene assay. **Results** TNF- α could increase the IP₃R I protein level (WB) (4h:1.059 $\pm$ 0.005 vs 1.000 $\pm$ 0.002, $P=0.01$;8h:2.416 $\pm$ 0.042 vs 1.000 $\pm$ 0.002, $P<0.01$;24h:2.138 $\pm$ 0.010 vs 1.000 $\pm$ 0.002, $P<0.01$, $n=9$), but no expression on the distribution of IP₃R I in VSMC (IF) was seen, and increase the IP₃R I mRNA level (RT-PCR) (4h:2.260 $\pm$ 0.889 vs 1.00 $\pm$ 0.02, $P=0.193$;8h:5.449 $\pm$ 2.279 vs 1.00 $\pm$ 0.02, $P=0.000$;24h:3.049 $\pm$ 1.684 vs 1.000 $\pm$ 0.002, $P=0.042$, $n=9$). After PGL₃-IP₃R I promoter plasmid was transiently transfected into VSMC, the activity of IP₃R I promoter could be increased by TNF- α (3.56 $\pm$ 0.65 vs 1.00 $\pm$ 0.05, $P=0.02$, $n=9$). **Conclusion** TNF- α can increase the activity of IP₃R I promoter, and increase the release of Ca²⁺ in VSMC mediated by IP₃Rs. This function of TNF- α may affect the contraction function of VSMC and participate in vascular control in septic shock.

Key words Septic shock; Inositol 1,4,5-trisphosphate receptors; Vascular smooth muscle cells; Tumor necrosis factor- α

TNF- α 是单核-吞噬细胞产生的具有多种生物活性的细胞因子,参与抗感染、凝血、发热、休克、多脏器衰竭、恶病质等多种病理生理过程^[1,2]。可对感染性休克时血管的收缩及舒张功能造成影响,而血管的收缩受细胞内钙离子浓度影响,已知的细胞内钙离子调控体系包括对胞质内 IP₃ 浓度升高敏感 IP₃ 受体系统(inositol 1,4,5-trisphosphate receptor system, IP₃Rs)和由 Ca²⁺、cADP 核糖及咖啡因等直接激活的 ryanodine 受体系统(RyRs)^[3]。VSMC 内的钙离子浓度在缩血管物质存在时主要依靠 IP₃Rs 调控,本课题组前期试验已证明 TNF- α 可引起心肌细胞内 IP₃Rs 表达变化^[4],为了明确 TNF- α 是否对 VSMC 内 IP₃Rs 造成影响,本研究在 TNF- α 刺激 VSMC 细胞后对 IP₃Rs 的表达及启动子的活性进行检测,进一步阐明 TNF- α 影响 VSMC 收缩功能参与感染性休克发生的机制。

对象与方法

1. 材料:选取雄性 Wistar 大鼠,来自中国医科大学实验动物部,清洁级,6~8 周龄,体重 180~200g;TNF- α , R&D 公

司;兔抗 IP₃R I 多克隆抗体,Abcam 公司;小鼠抗 α -肌动蛋白抗体、FITC 标记山羊抗兔 IgG 抗体及 TRITC 标记山羊抗小鼠 IgG 抗体,HRP 标记山羊抗兔及山羊抗小鼠 IgG 抗体,北京中山生物技术有限公司;BCA 蛋白浓度测定及双荧光素酶报告基因检测试剂盒,碧云天生物技术研究;ECL 试剂盒,pierce 公司;RNAiso Reagent 试剂、反转录试剂盒 ExScript™ RT Reagent Kit、PCR 试剂盒 SYBR® premix EX Taq™、Vitro Transcription T7 Kit、大鼠 IP₃R I 及 GAPDH 标准品及引物,大连宝生物工程有限公司。数码凝胶成像系统、图像分析仪,上海天能科技有限公司;Line-Gene 66 PCR 仪,杭州博日公司;酶标反应仪,芬兰 THERMO 公司;Berthold FB12 单管式化学发光检测仪,德国 Berthold 公司。

2. 分组:前期预实验 TNF- α 的浓度为 10、20、50、100、200 μ g/L,因为 100 μ g/L 的实验结果趋势最明显,故采用此浓度。按 TNF- α (100 μ g/L)处理 VSMC 的不同时间点(0、4、8、24h)分 4 组。

3. 大鼠 VSMC 的分离、培养与鉴定:改进的原代 VSMC 培养及鉴定:参照文献[5]归纳的几种 SMC 培养方法。无菌取出 Wistar 大鼠主动脉,冲洗后剥去外膜,纵向剖开血管,0.25%胰蛋白酶室温消化后刮去内膜,将留下的中膜切成

1mm 大小的组织碎块, 间隔 0.5cm 置于培养瓶内, 置 37℃、5% CO₂ 孵箱中 2~4h, 加入 5ml 含 20% 胎牛血清的 DMEM 培养。约 3~7 天可见组织块边缘出现新生细胞, 细胞生长融合后传代。在光镜下进行形态鉴定, 抗 α -肌动蛋白抗体荧光染色鉴定细胞及纯度。

4. VSMC 中 IP₃R I 的免疫荧光染色: 用 PBS 液代替一抗做空白对照, 待 VSMC 爬片后, TNF- α 处理 0、4、8、24h, 弃液, 4% 多聚甲醛固定, 0.5% TritonX-100 打孔, 5% BSA 封闭; 加一抗(兔抗 IP₃R I 多克隆抗体)1:100, 4℃ 过夜; 避光加二抗(FITC 标记山羊抗兔 IgG)37℃、30min; 避光 50% 甘油封片, 4℃ 放置 30min; 荧光显微镜观察。

5. Western blot 分析: 生长于 25cm² 培养瓶, 铺满单层后, 换无血清 DMEM 培养液, 经 TNF- α 处理 0、4、8、24h 后, 弃液, RIPA 蛋白裂解液裂解后离心收上清, BCA 法测定蛋白浓度。选用 6% SDS-PAGE 凝胶, 上样(100 μ g/孔), 80V 电泳约 30min 后调到 100V 电泳约 3h 后转膜, PVDF 膜用 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭过夜, 加一抗(1:1000 兔抗 IP₃R I 多克隆抗体)4℃ 过夜; 加二抗(1:3000 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体)室温 2h; ECL 法显影, 观察分子质量 230kDa 条带, 并以分子质量 42kDa 的 β -actin 作为内参, 应用数码凝胶成像软件分析。IP₃R I 蛋白含量 = 样本 IP₃R I 蛋白灰度值/同一样本 β -actin 灰度值。

6. 实时定量 PCR 检测 IP₃R I mRNA 的相对含量: 生长于 25cm² 培养瓶中的 VSMC 铺满单层后, 经 TNF- α 处理 0、4、8、24h 后, 弃液, 加入 RNAiso Reagent (1 毫升/瓶) 裂解提取 RNA。采用 SYBR Green I 荧光染料嵌合法, 引物序列(IP₃R I - F: 5'-GGAAACAGCAGCCAAGAAGG-3', IP₃R I - R: 5'-ACACACCTCTGGACTTGGATGA-3' 产物片段 122bp; GAPDH - F: 5'-GACAACTTTGGCATCGTGGA-3', GAPDH - R: 5'-ATGCAGGGATGATGTTCTGG-3', 产物片段 133bp)。IP₃R I mRNA 的相对表达量计算: IP₃R I mRNA 的相对表达量 = IP₃R I 基因拷贝数/GAPDH 基因拷贝数, 校正结果以对照组为 1, 其余组与之相比较。

7. PGL₃-IP₃R I promoter 重组质粒转染 VSMC: 将 PGL₃-IP₃R I promoter 重组质粒与 PhRL-TK 质粒共同转染 VSMC。细胞 80% 融合时弃去 24 孔板中的有血清 DMEM, 冲洗 2 次, 加入转染液复合物(每孔: 0.4 μ g PGL₃-IP₃R I + 0.4 μ g PhRL-TK + 25 μ l 无血清无抗生素 DMEM, 轻轻混匀; 脂质体 1 μ l + 25 μ l 无血清无抗生素 DMEM, 轻轻混匀; 将上述 2 种液体合并混匀, 室温 30min, 至溶液呈云雾状; 加入 350 μ l 无血清无抗生素 DMEM, 轻轻混匀), 37℃ 5% CO₂ 孵箱中孵育 6h, 每 1h 轻轻摇动 1 次, 弃转染液复合物, 加 400 μ l 含血清无抗生素 DMEM 培养 24h, 用 TNF- α (100 μ g/L) 处理 0、8h (每组 9 个孔), 弃液, 加 100 μ l 裂解液, 离心取上清 20 μ l, 加入专用试管中, 加 100 μ l 萤火虫荧光素酶检测试剂, 放入单管手动化学发光检测仪中检测, 检测时间 10s, 每样本读数 2 次; 加 100 μ l 含海肾荧光素酶底物, 检测时间 10s, 每个样本读数 2

次。计算每个样本的萤火虫荧光素酶活性与海肾荧光素酶活性的比值, 即以海肾荧光素酶活性作内对照加以校正。

8. 统计学方法: 采用 SPSS 10.0 软件分析, 数据以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 计量资料各组间的比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. VSMC 鉴定: VSMC 细胞呈长梭形, 胞质多有突起, 核呈圆形、卵圆形; 细胞可出现重叠生长现象, 光镜下观察呈峰谷样生长; 免疫荧光抗 α -肌动蛋白抗体染色阳性, 延细胞长轴与肌丝相同呈丝状排列, 阳性细胞占总细胞数的 95% 以上, 表明所获细胞为 VSMC, 纯度可达 95% 以上, 电镜下可见细胞内束状肌丝结构(图 1)。

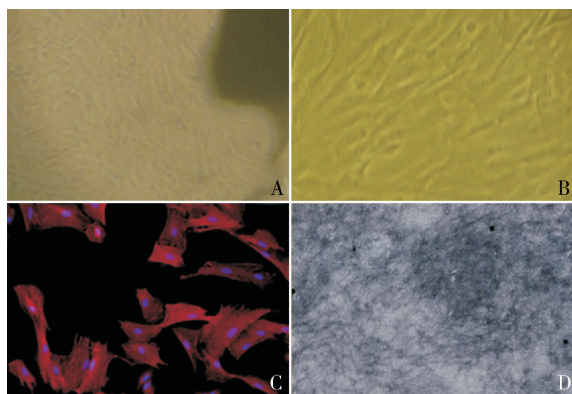


图 1 VSMC 细胞鉴定

A. 新生 VSMC ($\times 100$); B. 传代 VSMC ($\times 400$); C. α -肌动蛋白抗体荧光染色 ($\times 100$); D. 光镜下细胞内的肌丝结构 ($\times 10000$)

2. IP₃R I 免疫荧光染色: IP₃R I 主要分布于 VSMC 的胞质内, 以靠细胞核附近的胞质中分布较为集中。经 TNF- α 处理后各组细胞的 IP₃R I 分布未见明显变化, 8、24h 组与其他组比较荧光强度有所增强, 提示 VSMC 内 IP₃R I 含量增加(图 2)。

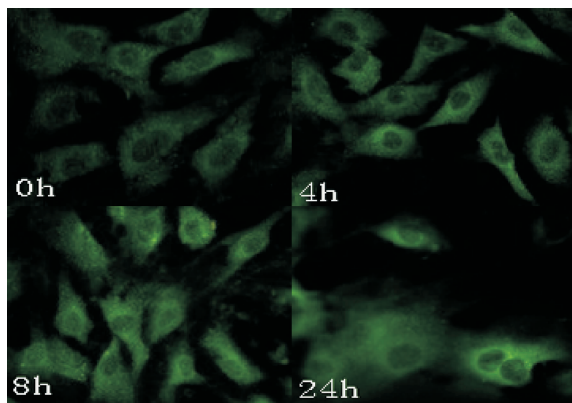


图 2 VSMC 中 IP₃R I 免疫荧光 ($\times 400$)

3. Western blot 分析 IP₃R I 蛋白表达: 各组在 230kDa 处可见特异性 IP₃R I 蛋白条带及 42kDa 处内参 β-actin 蛋白条带。对各条带进行灰度分析并计算(每组 9 个标本, 每个标本重复 3 次取平均值)。发现 TNF-α 处理组与对照组相比 IP₃R I 蛋白表达明显增加, 4h 开始升高, 8、24h 时显著增多, 以 8h 最为明显(4h: 1.059 ± 0.005 vs 1.000 ± 0.002, *P* = 0.01; 8h: 2.416 ± 0.042 vs 1.000 ± 0.002, *P* < 0.01; 24h: 2.138 ± 0.010 vs 1.000 ± 0.002, *P* < 0.01, *n* = 9)(图 3)。

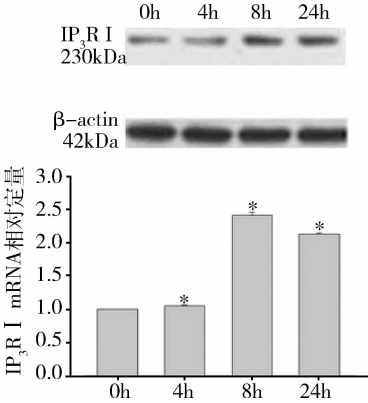


图3 TNF-α 对 IP₃R I 蛋白表达的影响
与 0h 组相比, * *P* < 0.05

4. 实时定量 PCR: TNF-α 处理组与对照组相比 IP₃R I mRNA 的表达明显增加(每组 9 个标本, 每个标本重复 3 次取平均值), 4h 开始升高, 8、24h 显著增多(4h: 2.260 ± 0.889 vs 1.00 ± 0.02, *P* = 0.193; 8h: 5.449 ± 2.279 vs 1.00 ± 0.02, *P* = 0.000; 24h: 3.049 ± 1.684 vs 1.00 ± 0.02, *P* = 0.042, *n* = 9), 以 8h 最为明显(图 4)。

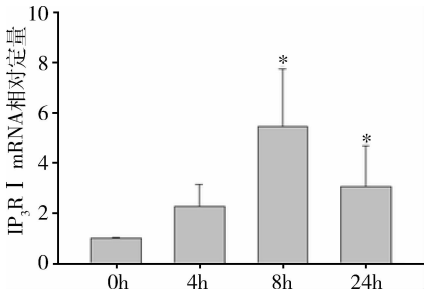


图4 TNF-α 对 IP₃R I mRNA 表达的影响
与 0h 组相比, * *P* < 0.05

5. IP₃R I 基因启动子活性检测: PGL₃ - IP₃R I promoter 质粒经琼脂糖电泳确定质粒分子质量为 7kb 左右, 测序结果显示插入片段共 1992 个碱基, 其中第

1992 ~ 99 碱基与 HSU88725 (Human type 1 inositol 1, 4, 5 - triphosphate receptor gene, promoter region and exon 1. 2093 bp) 序列的第 123 - 1995 碱基互补。在 VSMC 中 PGL₃ - IP₃R I promoter 显示很弱的启动子活性, PhRL - TK 则显示了中等强度的启动子活性。TNF-α 处理后 PhRL - TK 的启动子活性无变化, IP₃R I 基因启动子的活性却明显增加(每组 9 个标本, 每个标本重复 3 次取平均值), TNF-α 组萤火虫荧光素酶活性明显高于对照组(3.56 ± 0.65 vs 1.00 ± 0.05, *P* = 0.020, *n* = 9)(图 5)。

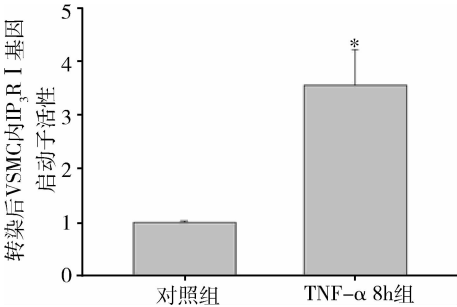


图5 TNF-α 对 IP₃R I 基因启动子活性影响
与 0h 组相比, * *P* < 0.05

讨 论

TNF-α 是一种由单核 - 吞噬细胞产生的具有多种生物活性的细胞因子。目前已有报道证明 TNF-α 可影响肾血管等的收缩功能, 并能对细胞内 Ca²⁺ 水平产生影响, 因此感染性休克时 VSMC 收缩功能紊乱与 TNF-α 等细胞因子相关, 其作用机制及 TNF-α 与受体结合后的信号转导的机制尚不清楚^[6-10]。在哺乳动物细胞中至少存在 3 种 IP₃R 基因, 几乎所有组织及细胞株中均不同程度的表达 3 种 IP₃R 亚型, 但 IP₃R I 的表达最为普遍, 在血管系统中内皮细胞只表达 IP₃R I, 而 VSMC 表达 IP₃R I 和 IP₃R III, 且 IP₃R I 对 Ca²⁺ 释放的调控作用强于 IP₃R III^[11-14]。因此测定 VSMC 中 IP₃R I 的表达水平可解释 TNF-α 对 VSMC 收缩作用的影响机制。

本实验应用免疫荧光、免疫印迹、实时定量 PCR 方法, 从不同水平检测了不同 TNF-α 处理时间点的 IP₃R I 的表达情况。结果提示正常情况下 IP₃R I 在 VSMC 胞质内散在分布, 以细胞核附近的胞质中分布较为集中, TNF-α 处理后细胞内荧光强度有所增强, 8h 组最明显, 但胞内的 IP₃R I 分布情况无差别。应用免疫印迹法证明了 TNF-α 处理组后 IP₃R I 蛋白的表达于 4h 开始升高, 8、24h 组显著增多, 以 8h

组最为明显,提示 IP_3R I 蛋白产生增加或 IP_3R I 蛋白降解减少。随后又通过实时定量 PCR 方法检测 IP_3R I mRNA 的表达情况,结果表明 TNF- α 处理后 IP_3R I mRNA 的表达量从 4h 开始增加,8h 达到最高水平,24h 虽高于 0h 但已经开始下降,与蛋白表达的变化趋势一致,说明 TNF- α 通过上调 IP_3R I mRNA 的转录水平使 IP_3R I 蛋白表达增加,这一结果与 TNF- α 可增强肾小球前小动脉平滑肌细胞内 IP_3R I 表达的结果一致^[7]。为了进一步证明 TNF- α 增加 IP_3R I 表达的作用机制,在转染 PGL₃- IP_3R I promoter 质粒后检测 TNF- α 对 IP_3R I 基因启动子活性的影响,结果发现 TNF- α 能明显增加外来 IP_3R I 基因启动子的活性,说明 TNF- α 可能作用于某种信号因子或核因子而激活 IP_3R I 基因启动子。

本实验的结果提示,TNF- α 作为信号转导因子可上调 IP_3R I 基因启动子活性,从而引起 VSMC 内 IP_3R I mRNA 水平升高使 IP_3R I 表达升高,进而可增强 IP_3Rs 系统介导的 VSMC 内 Ca^{2+} 释放作用,可引起 VSMC 内钙离子释放增加并影响 VSMC 收缩功能,这可能是 TNF- α 参与感染性休克血管调控的机制之一,而 TNF- α 作为信号调控因子有哪些下游活性因子的活性受其影响还有待进一步研究。

参考文献

- 1 金惠铭,刘清行,曹翔. TNF- α 引起的微血管内皮细胞功能障碍及其细胞分子机制[J]. 微循环学杂志,2000,10:5-10
- 2 Qiu P, Cui X, Barochia A, *et al.* The evolving experience with therapeutic TNF inhibition in sepsis: considering the potential influence of risk of death [J]. Expert Opin Investig Drugs,2011,20(11):1555-1564

- 3 崔婕. 胞内钙的稳态调节[J]. 细胞生物学杂志,1995,17:97-102
- 4 王雪莲,刘冬妍,李颖等. 内毒素休克大鼠心脏 IP_3 I 型及 III 型受体表达的变化及意义[J]. 中国医科大学学报,2007,36(5):508-510
- 5 李锦华,余学清. 反义 TNF- α 寡脱氧核苷酸降低感染性休克小鼠病死率[J]. 中国病理生理杂志,1999,15:623-625
- 6 Gill DL, Pssova MA, Oboloff J. Signal transduction. Calcium entry signals - trickles and torrents[J]. Science,2006,313:183-184
- 7 Bolton TB. Calcium events in smooth muscles and their interstitial cells,physiological roles of sparks[J]. J Physiol,2006,570:5-11
- 8 闻颖,王静艳,刘沛. 肿瘤坏死因子- α 增强肾血管收缩作用的研究[J]. 中华肝脏病杂志,2003,11(10):583-585
- 9 Rivera L, Brading AF. The role of Ca^{2+} influx and intracellular Ca^{2+} release in the muscarinic-mediated contraction of mammalian urinary bladder smooth muscle[J]. BJU Int,2006,98:868-875
- 10 Carrasquel G, Camejo MI, Michelangeli F, *et al.* Effect of tumor necrosis factor- α on the intracellular Ca^{2+} homeostasis in human sperm [J]. Am J Reprod Immunol,2013,70(2):153-161
- 11 Taylor CW, Genazzani AA, Morris SA. Expression of inositol triphosphate receptors[J]. Cell Calcium,1999,26:237-251
- 12 Afroze T, Sadi AM, Momen MA, *et al.* c-Myb-dependent inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type-1 expression in vascular smooth muscle cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2007,27(6):1305-1311
- 13 Parys JB, De Smedt H. Inositol 1,4,5-trisphosphate and its receptors[J]. Adv Exp Med Biol,2012,740:255-279
- 14 Wang Y, Chen J, Wang Y, *et al.* Crucial role of type 1, but not type 3, inositol 1,4,5-trisphosphate ($IP(3)$) receptors in $IP(3)$ -induced $Ca(2+)$ release, capacitative $Ca(2+)$ entry, and proliferation of A7r5 vascular smooth muscle cells[J]. Circ Res,2001,88:202-209

(收稿日期:2013-08-05)

(修回日期:2013-09-25)

慢性阻塞性肺疾病急性加重期血清脂联素与 8-异前列腺素 $F_{2\alpha}$ 的相关性研究

符沙沙 欧宗兴

摘要 目的 探讨慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者血清脂联素(APN)与 8-异前列腺素 $F_{2\alpha}$ (8-iso-PGF_{2 α})水平的变化及相关性。**方法** 收集 2012 年 12 月~2013 年 7 月笔者医院呼吸内科住院的 AECOPD 患者(42 例)及正常对照者(42 例)血清,采用酶联免疫吸附方法检测血清 APN 与血清 8-iso PGF_{2 α} 水平。**结果** AECOPD 患者血清 APN 与血清 8-iso PGF_{2 α} 明显高于正常对照组,差异有统计学意义($t_1 = 14.51, P < 0.01; t_2 = 17.99, P < 0.01$);AECOPD 患者血清 APN 与血清

作者单位:570208 中南大学湘雅医学院附属海口医院(海口市人民医院)

通讯作者:欧宗兴,主任医师,电子信箱:383054138@qq.com