

心房钠尿肽对脓毒症早期诊断、严重程度及预后的临床应用价值

王 虎 夏修军 王龚奋飞 朱 焱

摘 要 **目的** 探讨心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)对脓毒症的早期诊断作用及其在评估脓毒症严重程度及预后的临床应用价值。**方法** 连续收集笔者院内科重症监护病房(intensive care unit, ICU)近期收治的 86 例全身炎症反应或脓症患者进行研究。根据诊断时的病情分为:全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)组(34 例)、脓毒症组(26 例)、重症脓毒症组(26 例)。于入院后立即抽取静脉血,检测血清中 ANP、降钙素原(procalcitonin, PCT)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和乳酸的水平,并计算急性生理和慢性健康状况评分 II(acute physiology and chronic health evaluation, APACHE II)。比较各组血清标志物和 APACHE II 评分的差异,采用逐步回归分析影响疾病严重程度的危险因素,比较不同预后情况的患者的各指标差异。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析各指标对脓毒血症的诊断价值。**结果** 脓毒症组、重症脓毒症组 ANP、PCT、CRP 和乳酸水平及 APACHE II 评分均高于 SIRS 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。重症脓毒症组 ANP、PCT、CRP 和乳酸水平及 APACHE II 评分均高于脓毒症组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。86 例患者死亡 16 例,死亡组 ANP、PCT、CRP 和乳酸水平均及 APACHE II 评分高于存活组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。逐步回归显示 APACHE II 和 ANP 与脓毒症严重程度均呈正相关($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示,ANP 曲线下面积与 APACHE II 相近,分别为 0.873 和 0.897($P = 0.000$)。**结论** 检测 ANP 有利于脓毒症的早期诊断和评估脓毒症的严重程度,可作为判断脓毒症预后的参考指标。

关键词 心房钠尿肽 脓毒症 早期诊断 预后

中图分类号 R63

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.11.013

Values of Early Diagnosis, Severity Assessment and Prognosis of Sepsis by Atrial Natriuretic Peptide. Wang Hu, Xia Xiujun, Wang Gongfen-fei, et al. Xinhua Hospital Emergency Critical Care Medicine, Xinjiang 835000, China

Abstract **Objective** To investigate the effect of atrial natriuretic peptide (ANP) in early diagnosis and assessment of severity and prognosis of sepsis. **Methods** Eighty cases of sepsis patients treated in the Department of internal medicine of hospital intensive care unit (ICU) were selected for prospective study. According to the diagnosis criteria of sepsis, patients were divided into: systemic inflammatory response syndrome (SIRS) group ($n = 34$), sepsis group ($n = 26$), and severe sepsis group ($n = 26$). Venous blood samples of patients were drawn to detect serum concentration of ANP, procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP) and the level of lactate acid, and calculate the acute physiology and chronic health evaluation (APACHE II). APACHE II score and biomarkers were compared in each group. Stepwise regression was used to confirm risk factor for severity, and the value of each biomarker in early diagnosis of sepsis was analyzed with receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Concentration of ANP, PCT, CRP lactate acid level and APACHE II score in sepsis group and severe sepsis group were higher than those in SIRS group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Concentration of ANP, PCT, CRP, lactate acid level and APACHE II score in severe sepsis group were higher than those in sepsis group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Sixteen patients died, and concentration of ANP, PCT, CRP, lactate acid level and APACHE II score in death group were higher than those in survival group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Stepwise regression analysis showed that APACHE II and ANP were positively associated with the severity of sepsis in ($P < 0.05$). ROC curve analysis of biomarkers in the sepsis patients, the area under curve for ANP (0.873, $P = 0.000$) was similar with that for APACHE II (0.897, $P = 0.000$). **Conclusion** The severity of detection of ANP is conducive to the early diagnosis of sepsis and sepsis, and may be used as a reference index for judging the prognosis of sepsis.

Key words Atrial natriuretic peptide; Sepsis; Early diagnosis; Prognosis

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81371439)

作者单位:835000 伊宁,新疆维吾尔自治区伊犁州新华医院急诊重症医学科(王虎、夏修军),神经内科(王龚奋飞);277102 山东枣庄市立医院(朱焱)

脓毒症是危重患者最为严重的并发症之一,据统计,我国重症监护病房(ICU)每年出现脓毒症的病患达到300万例^[1]。危重患者本身经历重大创伤,机体抵抗力极弱,一旦感染就极易出现全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),而发展为脓毒症,进而引起脓毒性休克或发展为多器官功能衰竭,导致患者死亡^[2]。因而早期诊断和有效的评估病情进而采取正确的治疗措施是防止病情发生、发展的关键,然而在目前的临床实践中,仍缺乏有效的客观指标。研究发现心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)在早期脓毒症患者血清中表达增加,但其在脓毒症早期诊断的价值仍不十分清楚^[3]。为提高该病的诊断率,更好的把握患者的实际病情,笔者医院内科ICU对86例脓毒症患者血清ANP水平与降钙素原(procalcitonin, PCT)、C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和乳酸等传统血清标志物进行比较,旨在探讨心房钠尿肽对脓毒症的早期诊断作用和评估脓毒症严重程度及预后中的临床应用价值。

资料与方法

1. 病例资料:收集2009年6月~2014年9月笔者医院内科ICU收治的86例全身炎症反应综合征或脓毒症患者作为研究对象,均符合脓毒症诊断标准^[4]。在所有患者中,慢性阻塞性肺疾病急性加重25例,尿路感染19例,胸膜炎或胸腔积液等胸腔感染9例,大手术后13例,胆囊炎4例,腹腔感染16例。病例排除标准:①患者年龄<18岁;②病情过重或发生急性休克而导致入院3h内死亡者;③合并严重的全身性疾病者,如严重高血压、糖尿病尿毒症、HIV感染等;④合并严重心血管疾病者,如心肌梗死,急性冠脉综合征等;⑤癌症、肿瘤需要全身放、化疗者;⑥凝血功能障碍患者;⑦患者知情后,不愿配合研究的患者。本研究经过医学伦理委员会批准同意进行,一切操作与实践活动均符合医学伦理学标准。所有研究对象均签署知情同意书。

2. 病例分组:根据脓毒症诊断标准,将所有患者分为全身炎症反应综合征(SIRS)组、脓毒症组和重症脓毒症组,其中

SIRS为体温异常或白细胞计数异常合并心率或呼吸频率增快,且除外其他非感染因素,脓毒症为SIRS合并经病原学或影像学证实的感染,重症脓毒症为脓毒症合并心血管功能障碍或急性呼吸窘迫综合征,或两个及两个以上心肺以外的器官功能障碍。SIRS组34例,其中,男性19例,女性15例;患者年龄44~82岁,平均年龄 58.2 ± 11.4 岁。脓毒症组26例,其中,男性11例,女性15例;患者年龄36~80岁,平均年龄 57.4 ± 13.1 岁。重症脓毒症组26例,其中男性13例,女性13例;患者年龄39~79岁,平均年龄 56.6 ± 12.7 岁。3组患者在年龄、性别、感染情况等一般临床资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。根据患者的预后情况,分为死亡组和存活组(如均存活,则取消分组)。

3. 检测指标及方法:患者入院后,经过相关检查一旦确诊为脓毒症,立即抽取静脉血,检测血清中ANP、PCT、CRP和乳酸水平,并计算急性生理和慢性健康状况评分II(APACHE II)。采用放射免疫荧光法测量血清ANP含量,试剂盒购自于北方生物技术研究所(北京,批号:SI0950156);采用双抗夹心免疫荧光法测定血浆中PCT;采用特种蛋白分析仪检测CRP;采用血气生化分析仪(ABL 7000型)检测血乳酸。

4. 统计学方法:研究数据采用SPSS 17.0软件进行统计学处理。正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)的形式表示,两组间比较采用 t 检验,采用单因素方差分析比较各组APACHE II评分及各种生物学指标差异。采用逐步回归分析影响病情严重程度的危险因素。采用受试者工作特征曲线(ROC曲线)分析APACHE II评分及各种生物学指标对早期脓毒症的检验效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 各组血清标志物和APACHE II评分的比较:3组在ANP、PCT、CRP和乳酸水平及APACHE II评分的比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),详见表1。随病情严重程度的增加,各组APACHE II评分、ANP、PCT逐渐升高,其中重症脓毒症组APACHE II评分、ANP、PCT较SIRS组、脓毒症组显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 各组血清标志物和APACHE II评分的比较

项目	SIRS组($n=34$)	脓毒症组($n=26$)	重症脓毒症组($n=26$)	F	P
ANP($\mu\text{g/L}$)	0.17 ± 0.04	0.23 ± 0.06	0.29 ± 0.04	13.451	0.007
PCT($\mu\text{g/L}$)	0.62 ± 0.21	0.95 ± 0.31	1.27 ± 0.25	6.621	0.034
CRP(mg/L)	55.3 ± 14.2	67.7 ± 15.8	71.2 ± 12.3	1.462	0.047
乳酸(mmol/L)	1.56 ± 0.21	1.82 ± 0.33	1.82 ± 0.44	1.477	0.045
APACHE II(分)	16.33 ± 4.01	20.21 ± 4.42	23.82 ± 3.88	12.210	0.011

2. 不同预后情况的患者的各指标差异:86例患者死亡16例,死亡组ANP、PCT、CRP和乳酸水平均

及APACHE II评分高于存活组,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表2。

表 2 不同的预后情况的患者血清标志物和 APACHE II 评分的比较

项目	生存组 (n = 70)	死亡组 (n = 16)	F	P
ANP(μg/L)	0.19 ± 0.05	0.31 ± 0.06	6.451	0.036
PCT(μg/L)	0.81 ± 3.51	2.56 ± 8.11	1.585	0.042
CRP(mg/L)	55.3 ± 34.2	73.2 ± 38.8	1.563	0.044
乳酸(mmol/L)	1.56 ± 1.23	1.91 ± 1.43	1.576	0.042
APACHE II(分)	17.33 ± 4.51	24.25 ± 4.62	9.770	0.036

3. 危险因素分析:以病情严重程度为因变量,以 APACHE II 评分、ANP、PCT、CRP、乳酸为自变量,建立回归模型,得到方程 $y = 0.070x + 0.88$ APACHE II 评分 + 2.186 ANP,这表明 APACHE II 评分及 ANP 与脓毒症病情严重程度呈正相关(P 均 <0.05)。

4. ROC 曲线分析:脓毒血症患者 APACHE II 评分、ANP、PCT、CRP 及乳酸脱氢酶 ROC 曲线分析结果显示,ANP 曲线下面积为 0.873,与 APACHE II 评分相似(0.879),二者均有诊断价值(P 均 = 0.000),详见图 1。所有指标曲线下面积(area under curve,

AUC)、95% 可信区间、敏感度及特异性见表 3,ANP 敏感度(72.5%)及特异性(74.0%)均高于 APACHE II。

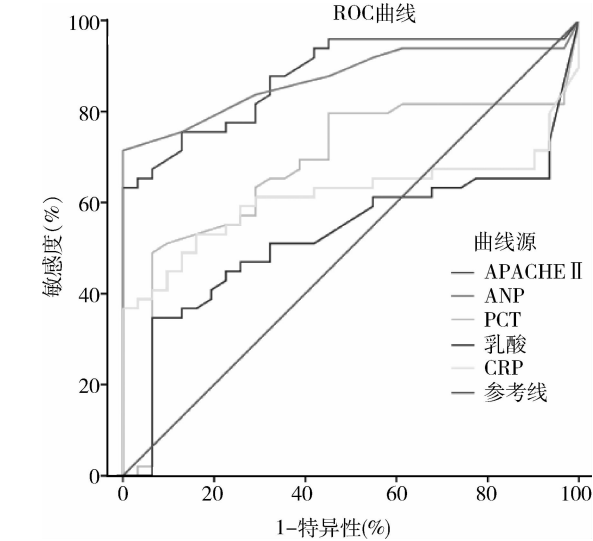


图 1 脓毒症患者 APACHE II 评分及 各种生物标志物的 ROC 曲线

表 3 脓毒症患者 APACHE II 评分及各种生物标志物诊断准确率比较

项目	AUC	P	95% CI	敏感度(%)	特异性(%)
APACHE II	0.879	0.000	0.805 ~ 0.954	69.2	73.1
ANP	0.873	0.000	0.793 ~ 0.952	72.5	74.0
PCT	0.677	0.008	0.555 ~ 0.800	62.1	60.3
乳酸	0.527	0.686	0.398 ~ 0.656	74.9	43.2
CRP	0.614	0.088	0.488 ~ 0.739	73.7	40.7

讨 论

脓毒症是世界健康事业的巨大难题,其病死率相当高,在一些经济不发达地区可达到 60% 以上,即使在美国的医院亦超 20%^[5,6]。对于还在处于疾病状态的危重患者来说,器官功能的下降和心、脑供氧不足进一步加重了患者的病情,故患者极易死亡。传统的几种血清标志物,如 PCT、血清乳酸、CRP 等在早期预警该病上起到了一定作用,但对于疾病的严重程度区分并不明显^[6,7]。同时,目前对于传统标志物在评价脓毒症预后方面的价值,各研究报道的结论不尽一致^[8]。APACHE II 评分系统在临床上被广泛应用于评估脓毒症患者的病情,但该评分较为繁琐,可用于了解脓毒症患者的基础病情,但不适于追踪脓毒症患者病情变化过程^[9]。因此,找到一个既能早期诊断,又能时刻反映患者客观病情的新指标成为目前脓毒症相关研究的主要方向。近年来,有报道称 ANP 对脓毒症的早期诊断和预后分析可能有提示作用,因而

本研究通过对比脓毒症血清 ANP 水平、APACHE II 及传统血清学指标的检验效能,探讨其在脓毒症早期诊断的价值^[10]。

ANP 最早是由 De Bold 在动物心房肌细胞中发现的一种多肽,人类 ANP 由 28 个氨基酸残基组成,有 α 、 β 和 γ 3 种亚型。在人体内有多种生物学效应,如钠、利尿、扩张血管、拮抗肾素-血管紧张素-醛固酮系统等作用^[11,12]。ANP 是体内为数不多的急性期反应蛋白之一,机体在受强烈刺激或应激状态下,会产生大量血浆 ANP^[13]。有研究结果显示,在缺氧、严重感染、急性创伤时,ANP 水平会显著升高^[14]。在本研究中,所有脓毒症患者的 ANP 水平比正常值高,证实了 ANP 在发病急性期大量分泌的特点。在 3 个病情严重程度不同的分组中,ANP 的浓度在各组间差异有统计学意义,其数值显示 ANP 的浓度可能随病情的加重而增高,提示了 ANP 对脓毒症严重程度的指示作用,然而对于 ANP 在发生脓毒症时水平

升高的具体机制目前还不完善。Wann 等^[15]研究发现,内毒素血症小鼠的 ANP 水平比正常值高,表明细菌内毒素释放入血可引起 ANP 升高。康福新等^[16]的研究显示,IL-1、IL-6 和 TNF- α 等炎性细胞因子可刺激心肌分泌 ANP。这些结论说明在脓毒症的早期(SIRS 期)ANP 由炎性介质和细菌共同刺激产生。

本研究中,SISR 组的 ANP 量达到 0.17 $\mu\text{g/L}$,但在炎性因子含量并未明显增多的脓毒症组和重症脓毒症组,中位 ANP 却继续升高至 0.23 $\mu\text{g/L}$ 和 0.29 $\mu\text{g/L}$,这提示在脓毒症后期,炎性介质和细菌已经不是 ANP 分泌主要刺激因素。可能在脓毒症后期,休克早期的组织器官的低灌注引起的缺氧,起了主要作用^[17]。缺氧对于 ANP 的刺激,一方面是由于缺氧时,钠泵功能下调,引起离子紊乱,刺激 ANP 生成;另一方面,血管内皮细胞生成的内皮素(ET)、血管紧张素 II、NO 等亦对 ANP 的分泌起促进作用。由于在脓毒症早期和后期,ANP 的分泌刺激因素不同,故 ANP 的差异会较为明显,这可能是 ANP 对于疾病的严重程度区分明显的原因。本研究中死亡组的 ANP 比存活组高,表明 ANP 对的预后预测作用。李青等^[18]动态监测脓毒症患者 ANP,同样发现 ANP 判断预后效果良好。

本研究中,PCT、CRP 和乳酸的浓度亦在各严重程度不同的分组中差异有统计学意义($P < 0.05$)。这与国内外部分研究结果相似,但研究提示其敏感度与 ANP 相比较差^[19,20]。在对脓毒症相关危险因素的分析中,APACHE II 评分与 ANP 作为高相关因子入选回归方程,而其他生物学指标均被淘汰。表明 APACHE II 评分与 ANP 可作为判断脓毒症严重程度的独立因素。ROC 曲线分析结果显示,ANP 检验效能与 APACHE II 相近,但其敏感度及特异性均高于 APACHE II。APACHE II 评分系统在评价脓毒症的严重程度已得到国内外的认可^[21],ANP 在早期诊断、疾病严重程度及预后评价中与 APACHE II 一致,提示 ANP 在脓毒症诊断中有重要价值,且 ANP 检测相对简单,可能是脓毒症的重要生物学指标。但本研究样本量较少,ANP 在脓毒症临床诊断中的价值仍需要大样本、多中心的临床研究支持。

综上所述,经过研究笔者发现检测 ANP 有利于脓毒症的早期诊断和评估脓毒症的严重程度;在评价脓毒症严重程度方面,ANP 的评价与 APACHE II 评分相似,且比其他生物学标志物如 PCT 等的价值有

效;在预后分析方面,有一定的预后判断作用,可作为判断脓毒症预后的参考指标。

参考文献

- 1 王正国. 当前脓毒症研究的思考[J]. 解放军医学杂志, 2012, 37(11): 1011-1014
- 2 Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, *et al.* Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012[J]. Intensive Care Medicine, 2013, 39(2): 165-228
- 3 Piechota M, Barylski M, Hannam S, *et al.* Natriuretic peptides in septic patients[J]. Curr Med Chem, 2009, 16: 4020-4031
- 4 姚咏明, 盛志勇, 林洪远. 脓毒症定义及诊断的新认识[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(6): 321-324
- 5 Mica L, Vomela J, Keel M, *et al.* The impact of body mass index on the development of systemic inflammatory response syndrome and sepsis in patients with polytrauma[J]. Injury, 2014, 45(1): 253-258
- 6 Mehta RL, Bouchard J, Soroko SB, *et al.* Sepsis as a cause and consequence of acute kidney injury: program to improve care in acute renal disease[J]. Intensive Care Medicine, 2011, 37(2): 241-248
- 7 Verma N, Kapoor S, Rao D, *et al.* PCT as a prognostic marker in cardiac patients with neutropenic sepsis: two case reports[J]. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2014, 29(1): 107-111
- 8 Vouloumanou EK, Plessa E, Karageorgopoulos DE, *et al.* Serum procalcitonin as a diagnostic marker for neonatal sepsis: a systematic review and meta-analysis[J]. Intensive Care Medicine, 2011, 37(5): 747-762
- 9 冷伟建, 宋勇, 刘世峰, 等. APACHE II 评分对全身炎症反应综合征患者预后的评估作用[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 12(2): 32
- 10 Lipinska-Gediga M, Mierzchala M, Durek G. Pro-atrial natriuretic peptide (pro-ANP) level in patients with severe sepsis and septic shock: prognostic and diagnostic significance[J]. Infection, 2012, 40(3): 303-309
- 11 Miguel D, Prieto B, Costa M, *et al.* Cord blood plasma reference intervals for potential sepsis markers: pro-adrenomedullin, pro-endothelin, and pro-atrial natriuretic peptide[J]. Clinical Biochemistry, 2011, 44(4): 337-341
- 12 Cannone V, Boerrigter G, Cataliotti A, *et al.* A genetic variant of the atrial natriuretic peptide gene is associated with cardiometabolic protection in the general community[J]. Journal of the American College of Cardiology, 2011, 58(6): 629-636
- 13 王璇, 李爱敏, 初清. 感染性疾病急性期反应蛋白的研究进展[J]. 山东医药, 2010, 50(45): 105-106
- 14 Magnusson M, Jujic A, Hedblad B, *et al.* Low plasma level of atrial natriuretic peptide predicts development of diabetes: the prospective Malmö Diet and Cancer Study[J]. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2011, 97(2): 638-645
- 15 Wann BP, Audet MC, Gibb J, *et al.* Anhedonia and altered cardiac atrial natriuretic peptide following chronic stressor and endotoxin treatment in mice[J]. Psychoneuroendocrinology, 2010, 35(2): 233-240

- 16 康福新,王瑞兰.生物标志物在脓毒症诊断和危险分层中的临床价值探讨[J].临床外科杂志,2011,19(3):164-166
- 17 张杨,康秋红,何川,等.缺氧时心房钠尿肽分泌及其机制的研究进展[J].中国老年学杂志,2013,33(17):4376-4379
- 18 李青,刘玥,耿斌,等.动态监测心房钠尿肽对脓毒症患者预后的评估价值[J].中国综合临床,2014,30(3):257-260
- 19 Varghese B, Schwartz DN, Singh KS, *et al.* A distinguishing feature of procalcitonin elevation in sepsis due to presumed abdominal sources [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189(5): A3786
- 20 谈定玉,曹鹏,夏仲芳,等.急诊脓毒症死亡风险评分对急诊脓毒症患者危险分层的价值研究[J].中国急救医学,2013,33(3):200-204
- 21 王海波,徐丽娟,李克鹏,等.KDIGO 标准 APACHE II 与 SOFA 评分对脓毒症急性肾损伤患者的预后评估[J].中国急救医学,2013,33(6):499-502
- (收稿日期:2014-08-28)
- (修回日期:2014-09-10)

稳定敲低 MYH10 基因细胞株的建立

周晨辰 陆 琤 张鹏飞 张 璐

摘 要 **目的** 构建稳定敲低 MYH10 基因的 COS-7 细胞株。**方法** 在 293TX 细胞中进行病毒的包装,用获得的高效价慢病毒感染 COS-7 细胞,通过免疫印迹和荧光显微镜,检测病毒感染后 COS-7 细胞 MYH10 蛋白表达的变化。**结果** 在构建的两种重组质粒中,MYH10-lentiviral shRNA-2 在转染后表现出明显的干扰作用,感染后能明显下调 COS-7 细胞的 MYH10 蛋白表达。**结论** 病毒感染的 COS-7 细胞可明显抑制 COS-7 细胞内源 MYH10 的表达,说明了稳定敲低 MYH10 基因的 COS-7 细胞株的建立,为进一步研究 MYH10 在相关疾病中的功能奠定了基础。

关键词 MYH10 基因 COS-7 细胞株 慢病毒感染

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.11.014

Establishment of Stable COS-7 Cell Strain with MYH10-knock-down. Zhou Chenchen, Lu Cheng, Zhang Pengfei, *et al.* Medical Engineering Department, The 307th Hospital of the PLA, Beijing 100071, China

Abstract Objective To establish COS-7 cell strain stable knockdown of MYH10 gene. **Methods** The lentiviral plasmids were transfected into 293TX cells to package into lentiviral particles. Then COS-7 cells was transduced with the lentiviral particles. Western blot and fluorescence microscope were carried out to analyze the suppression of MYH10 in COS-7 Cells. **Results** In the construction of two recombinant plasmid, MYH10-lentiviral shRNA-2 showed significant interference after transfection, and can obviously reduced expression of MYH10 in COS-7 cells. **Conclusion** Infected COS-7 cells can inhibit the expression of the MYH10 COS-7 cells, indicating that a stable COS-7 cell strain has been successively established.

Key words MYH10 gene; COS-7 cell strain; Lentivirus transfection

非肌肉肌球蛋白重链 10(nonmuscle myosin heavy chain II B, MYH10 或 NM II-B)是一种由人第 17 号染色体上的 MYH 10 基因编码的蛋白,存在于非肌细胞中如血小板、神经细胞、巨核细胞等^[1~4],在细胞黏附、迁移、胞质分裂及细胞趋药性等方面发挥着重要的作用,但有关以上作用的机制尚未得到有效阐明^[5~8]。为了进一步研究 MYH10 的作用机制,需要构建稳定敲低该基因表达的细胞株。

慢病毒包装质粒感染体系是目前常用的病毒体系。与其他反转录病毒相比,慢病毒载体的构建以及包装过程相对简单,且包装好的病毒可以感染分裂期和非分裂期的细胞,并能长时间、稳定表达导入的目的基因^[9]。此外在脊椎动物体内,大部分组织都同时含有非肌肉肌球蛋白 II(nonmuscle myosin II)的两个亚型:MYH 9 和 MYH 10,而 COS-7 细胞中不含有 MYH 9,且其 MYH 10 的含量高达 86% 左右^[10]。为防止 MYH 9 对实验结果的影响以及最大程度的表现 MYH 10 敲低后对细胞的影响,本实验选用 COS-7 细胞作为目标细胞,体外包装病毒后对 COS-7 细胞进行病毒感染,并结合嘌呤霉素筛选方法成功构建了稳定敲低 MYH10 的 COS-7 细胞株。

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(31400739);北京市自然科学基金资助项目(5144033)

作者单位:100071 北京,中国人民解放军 307 医院医学工程科

通讯作者:张璐,电子信箱:marbleluo@126.com