

麻杏石甘汤对肺炎模型小鼠的疗效观察 及对共刺激分子 CD137 水平的影响

柴少卿 于少飞 朱 华

(内蒙古自治区人民医院儿科,呼和浩特,010010)

摘要 目的:观察麻杏石甘汤对肺炎模型小鼠的疗效,同时探讨其对共刺激分子 CD137 水平的影响。方法:选取 60 只无特定病原体(SPF 级)幼龄小鼠纳入研究,并随机分为空白组、模型组及中药组,每组 20 只。其中模型组及中药组小鼠接受肺炎克雷伯菌混悬液滴入鼻腔,空白组小鼠接受等剂量生理盐水滴鼻,24 h 中药组小鼠接受麻杏石甘汤灌胃,1 剂/d,共干预 7 d。比较 3 组小鼠一般活动情况、外周血中的白细胞计数、多核粒细胞激素(PMN)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、肺组织病理改变以及外周血单核细胞中共刺激分子 CD137 水平的变化。结果:空白组小鼠未出现任何阳性体征,模型组及中药组小鼠出现精神萎靡、体质量下降、活动减少等相关阳性症状,其中中药组较模型组改善;模型组及中药组小鼠外周血白细胞计数、PMN、IL-6 及 IL-8 均较空白组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中中药组优于对照组($P < 0.05$)。模型组及中药组小鼠肺组织细胞结构错乱、肺泡大小不一,各级支气管周围、小叶间及肺泡间隔等存在大量炎性细胞浸润,部分有纤维增生。其中中药组较模型组病理明显改善。模型组及中药组小鼠外周血共刺激分子 CD137 表达增高,与空白组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其中中药组水平低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:麻杏石甘汤加减对肺炎有明显临床效果,其作用机制可能与抑制共刺激分子 CD137 的分泌有关。

关键词 肺炎模型;肺炎克雷伯菌;小鼠;麻杏石甘汤;CD137

Effects of Maxing Shigan Decoction on Pneumonia Model Mice and Its Effect on CD137 Level of Costimulatory Molecule

Chai Shaoqin, Yu Shaofei, Zhu Hua

(Pediatric Department, People's Hospital of Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010010, China)

Abstract Objective: To observe the curative effect of Maxing Shigan Decoction on pneumonia model mice, and to explore its effects on the level of costimulatory molecule CD137. **Method:** A total of 60 SPF-free young mice were randomly divided into blank group, model group and Traditional Chinese Medicine group with 20 mice in each group. The mice in the model group and Traditional Chinese Medicine group were given *Klebsiella pneumoniae* suspension by dripping into the nasal cavity, the mice in the blank group were given the same dose of normal saline nasal drops, the mice in Traditional Chinese Medicine group were given Maxing Shigan Decoction intragastric administration for 24 hours, one dose per day, for 7 days. The general activity, peripheral blood (WBC), polymorphonuclear hormone (PMN), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), lung histopathology and the concentration of costimulatory molecule CD137 in peripheral blood mononuclear cells were compared. **Results:** There were no positive signs in the blank group mice, but the model group mice and Traditional Chinese Medicine group mice showed mental dispirity, weight loss, decreased activity, and decreased fur gloss, and Traditional Chinese Medicine group mice were better than the model group mice. WBC, PMN, IL-6 and IL-8 in the peripheral blood of the model group mice and Traditional Chinese Medicine group mice were higher than the blank group mice, the difference was statistically significant ($P < 0.05$), Traditional Chinese Medicine group was better than the control group ($P < 0.05$). There were a lot of inflammatory cells infiltrating around bronchi, interlobular and alveolar septum, and some fibrosis in the model group and Traditional Chinese Medicine group. Traditional Chinese Medicine group improved significantly compared with the model group. The expression of costimulatory molecule CD137 in peripheral blood of mice in model group and Traditional Chinese Medicine group was higher than that in blank group ($P < 0.05$). The level of costimulatory molecule CD137 in Traditional Chinese Medicine group was lower than that in model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Maxing Shigan Decoction has obvious clinical effect on pneumonia, and its mechanism may be related to the inhibition of the secretion of costimulatory molecule CD137.

Key Words Pneumonia model pneumonia; *Klebsiella* mice; Maxing Shigan Decoction; CD137

中图分类号:R289.4;R563.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.02.019

细菌性肺炎是常见的肺炎类型,是临床常见的感染性疾病之一,亦是导致我国儿童死亡的主要病因,远超过因艾滋病、疟疾和麻疹死亡儿童人数的总和,但由于病原体的变迁、抗生素滥用等因素导致临床疗效差强人意。据目前已知研究^[1-3],细菌性肺炎的发生发展与多种炎性细胞及活性因子的级联效应导致气道慢性炎症反应有关,在此病理环节中T淋巴细胞的活化具有重要作用,贯穿炎症级联反应始终,而T淋巴细胞的异常激活与与其表面共刺激分子的活化关系密切。有研究发现,细菌性肺炎患儿外周血T淋巴细胞表面共刺激分子被明显活化,因此我们设想,抑制T淋巴细胞表面共刺激分子可能是细菌性肺炎的靶向治疗。中医古籍并无“细菌性肺炎”的病名记载,根据其临床症状将其归属于“咳嗽”“喘证”等范畴,好发于儿童,中医认为小儿脏腑娇嫩,形气未充,极易外感风邪,夹寒夹热入侵与肺,影响肺气宣发肃降,最终致肺气郁遏,痰阻肺络而成此病。麻杏石甘汤首载于《伤寒论》,有辛凉宣泄,清肺平喘之功效,具有严谨的用药配伍,与细菌性肺炎的病机一一对应,临床亦不乏麻杏石甘汤治疗细菌性肺炎有效的临床报道^[4-6],但对其作用机制尚无统一论,基于此,我们利用麻杏石甘汤对60只SPF级小鼠进行研究,并对其作用机制进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 选取60只无特定病原体(SPF级)幼龄小鼠,体质量30~40 g,平均体质量(31 ± 1.1)g。鼠龄2~3个月,平均鼠龄(2.1 ± 0.5)月。所有小鼠均购自济南金丰实验动物有限公司,许可证号:SCXX(沪)2011-00241。所有动物饲养于本院动物实验中心,饲养条件:温度(23.5 ± 0.5)℃,湿度(52 ± 1.5)%,以12/12 h为光暗周期。

1.1.2 药物 麻杏石甘汤由本院中药研究院提供,中药组成:麻黄6 g、杏仁9 g、生石膏24 g、甘草6 g。

1.1.3 试剂与仪器 肺炎克雷伯菌株(本院检验科细菌室提供);IL-6 ELISA试剂盒(货号kt37687,购自武汉默沙克生物科技有限公司);IL-8 ELISA试剂盒(货号kt32377,购自武汉默沙克生物科技有限公司);全自动生化仪(AU5800,购自美国贝克曼库尔特公司);酶标仪(购自美国Molecular Devices公司);CD137抗体(货号ab9822,购自Abcam公司); β -actin抗体(货号28341,购自CST公司);二抗羊抗小鼠Ig-HRP(货号3928347,购自北京中杉生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 选取只无特定病原体(SPF级)幼龄小鼠纳入研究,随机分为空白组(20只)、模型组(模型制备20只)及中药组(20只)。3组小鼠体质量、鼠龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究方案经过本院伦理委员会批准。

模型制备参照参考文献^[7-8]中的模型制备方法:将小鼠充分麻醉后置于手术台上,颈部备皮后消毒,将气管充分暴露于操作者视野,用1 mL注射器刺入气管滴入克雷伯菌悬浊液0.15 mL(用生理盐水稀释成 1.2×10^{11} cfu/L),空白组小鼠注入等剂量的生理盐水,造模后缝合小鼠皮肤、常规消毒后使小鼠保持竖立状态20 s。

1.2.2 干预方法 根据小鼠与人体间等效剂量换算0.66 g/mL对中药组小鼠进行灌胃,每日灌胃1次,空白组及模型组大鼠接受等剂量的生理盐水灌胃,3组均连续灌胃7 d,麻杏石甘汤:麻黄3 g、苦杏仁3 g、石膏9 g、甘草2 g。

1.2.3 检测指标与方法 1)一般状况评分:对3组小鼠精神状况、体质量、活动量、皮毛光泽度进行观察比较。2)血细胞计数比较:对3组小鼠外周血白细胞计数、多核粒细胞激素(PMN)计数进行比较。白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)水平比较:干预后从3组随机选取3只小鼠,充分麻醉后抽取腹主动脉血10 mL,置于4℃,2 000 r/min条件下充分离心15 min,抽取上清液,采用酶联免疫吸附试验法(ELISA)进行检测,将IL-6及IL-8抗体用碳酸盐包被缓冲液稀释后适量浓度后加至反应孔中,每孔加入0.1 mL,将反应板置于4℃条件下孵育过夜,随后用0.01 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS)反复冲洗3次,1 min/次,随后加入3组样本,室温下静置1 h,随后往各反应孔中加入TMB底物溶液0.1 mL,室温下充分反应1 h后加入硫酸0.05 mL显色,将反应孔板置于酶标仪内读取A值。整个过程严格按照说明书进行。3)肺组织病理改变:干预后从3组随机选取3只小鼠,充分麻醉后取肺部组织,采用苏木精-伊红(HE)染色对3组小鼠肺组织的病理形态学进行观察,具体操作如下:将肺组织取出后置于多聚甲醛内固定24 h,二甲苯(I)15 min→二甲苯(II)15 min→95%乙醇(I)5 min→95%乙醇(II)5 min→80%乙醇3 min→70%乙醇3 min→蒸馏水(I)3 min→蒸馏水(II)3 min过程进行脱水,随后将3组样本进行石蜡包埋,切片后捞片,用苏木精染色后将

表 1 3 组血细胞及 IL-6、IL-8 水平变化($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	白细胞计数($\times 10^9/L$)	PMN($\times 10^9/L$)	IL-6(pg/mL)	IL-8(pg/mL)
空白组	6.02 ± 0.28	2.24 ± 1.02	38.28 ± 9.38	68.28 ± 1.09
模型组	7.87 ± 0.71 *	7.38 ± 2.01 *	139.31 ± 17.44 *	59.31 ± 1.78 *
中药组	6.78 ± 0.57 * Δ	25.22 ± 9.76 * Δ	57.28 ± 5.12 * Δ	58.94 ± 2.12 * Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

玻片置于显微镜镜检,图像采集分析。4)肺组织 CD137 检测:干预后从 3 组随机选取 3 只小鼠,充分麻醉后取肺部组织,采用免疫蛋白印迹(Western blotting)对肺组织内 CD137 水平进行检测,具体过程如下:将 3 组样本中加入裂解液对组织进行充分裂解,随后将充分裂解的样本在 4℃,12 000 r/min 条件下进行离心后,吸取上清液,用 BCA 试剂盒进行蛋白水平测定,将样本加入事先配制好的电泳凝胶内,进行电泳、转膜、封闭、孵育 CD137 及 β -actin 一抗、孵育二抗后取出聚偏氟乙烯(PDVF)膜,加入 ECL 显影液进行显影,在凝胶成像系统中对显影结果进行采集及分析。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件进行研究数据统计分析。计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm S$)表示,组间比较采用秩和检验;组内比较采用配对秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组小鼠一般情况比较 模型组及中药组小鼠接受造模当天即出现烦躁活动增强,造模第 2 天、第 3 天后小鼠逐渐出现活动量减少,食欲减退,第 4 天小鼠逐渐出现精神萎靡,体质量下降,部分小鼠出现明显的呼吸喘鸣音,第 5 天、第 6 天部分小鼠出现呼吸急促、颜面部、四肢发绀。与模型组比较,中药组小鼠症状明显改善。空白组小鼠未出现明显阳性症状体征。

2.2 3 组小鼠外周血白细胞计数、PMN 计数、IL-6、IL-8 比较 模型组及中药组小鼠外周血白细胞计数、PMN 计数、IL-6、IL-8 均较空白组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中中药组优于对照组($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 2 组小鼠肺组织病理学比较 模型组及中药组小鼠肺组织细胞结构错乱、肺泡大小不一,各级支气管周围、小叶间及肺泡间隔等存在大量炎性细胞浸润,部分有纤维增生。其中中药组较模型组病理明显改善。见图 1。

2.4 3 组小鼠肺组织 CD137 比较 模型组及中药组小鼠外周血共刺激分子 CD137 表达增高,与空白组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其中中药组

水平低于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2 及图 2。

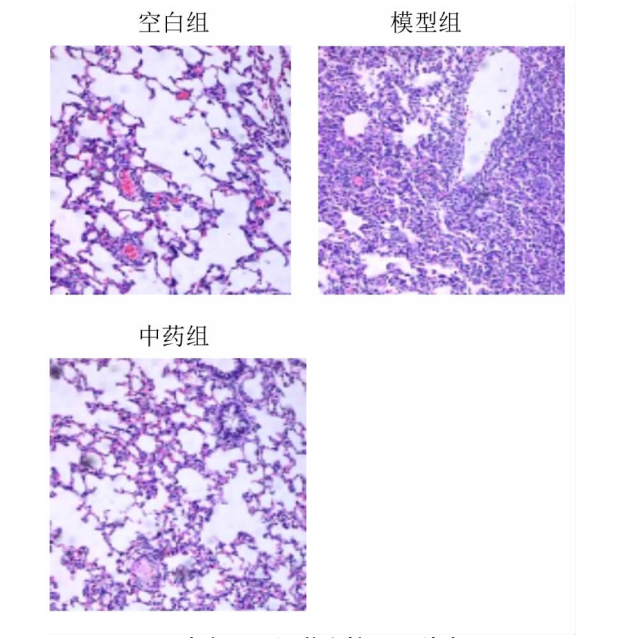


图 1 3 组肺病理组织学比较(HE 染色, $\times 200$)

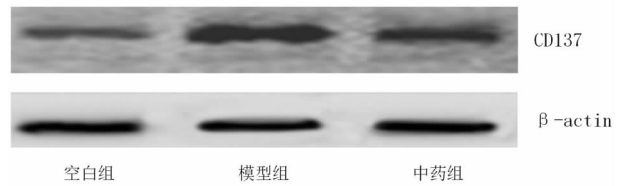


图 2 3 组大鼠肺组织 CD137 蛋白表达比较

表 2 3 组 CD137/内参(A 比值)比较

组别	CD137/内参(A 比值)
空白组($n = 3$)	2.38 ± 0.28
模型组($n = 3$)	11.46 ± 0.57 *
中药组($n = 3$)	7.16 ± 0.029 * Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

3 讨论

细菌性肺炎属于中医“咳嗽”“喘证”范畴,多由风邪外感而导致。风邪性分寒热二类,风热侵表,表邪不解入里,或风寒之邪从口鼻或皮毛入侵后寒随化热,肺经被壅束,肺失宣降,郁而化热,最终里热大盛,炼液为痰,壅堵气道,最终加剧肺气宣降无权之势。病情轻者者仅有发热咳嗽,病情重者则里热大盛,故患儿出现壮热不退,咳嗽喘憋,呼吸困难等一

系列临床症状^[9-11]。基于上述病机,中医治疗喘息性肺炎以宣肺散邪、清泻肺热为主。麻杏石甘汤首载于《伤寒论》,是治疗外感风邪、邪热壅肺之方,方中麻黄有开宣肺气平喘之功,亦可开腠理以散表邪;石膏辛甘大寒,可清泻肺热及生津止渴,还可透邪解表。麻黄、石膏合用,一温一寒,即可宣肺又可清肺,且均可祛邪外出,二药合用相辅相成,即可清除致病之因,又可恢复肺气宣发肃降之功。杏仁味苦,可降利肺气,助肺气肃降之功而平喘,此药与麻黄合用则宣降相因,与石膏共用则清肃协同。炙甘草有益气和中之功,与石膏合用可增强君药生津之功,更可调和平和于寒温宣降之间。麻黄、石膏、杏仁、炙甘草四药合用,共奏解表、宣肺、降气之功^[12-14]。故本研究发现,模型组及中药组小鼠在接种克雷伯菌后出现出现咳喘、呼吸急促等肺部相关症状,与此同时小鼠在接受麻杏石甘汤干预后阳性症状明显缓解,这提示麻杏石甘汤对细菌性肺炎确有理想疗效,同时我们对3组小鼠的肺脏进行HE染色,观察其病理变化,发现接受克雷伯菌接种的小鼠出现肺组织细胞结构错乱、肺泡大小不一,各级支气管周围、小叶间及肺泡间隔等存在大量炎性细胞浸润,部分有纤维增生,这提示本研究造模是成功的,我们对中药组小鼠进行麻杏石甘汤灌胃后显示小鼠肺脏组织的病理较模型组有明显改善,这与相关研究结果相似^[15-17]。

细菌性肺炎是婴幼儿常见的临床疾病,目前研究资料显示T淋巴细胞异常激活是细菌性肺炎发生的触发点,其活化过程需要共刺激信号的诱发,而信号由T淋巴细胞膜表面共刺激分子与抗原提呈细胞(APC)表面相应配体结合后产生^[18-19]。近年来体内外实验结果显示,多种共刺激分子在T淋巴细胞活化、增殖、凋亡等不同阶段均有中药的介导效应。CD137是近年来新发现的T淋巴细胞共刺激分子,属于肿瘤坏死因子(TNF)家族的重要因子,CD137在T淋巴细胞内存在磷酸化位点,正常整理状态下该位点处于稳定状态,从而使CD137在T淋巴细胞表面处于静止状态,不进行表达,一旦CD4⁺、CD8⁺等T淋巴细胞被异常活化,则CD137磷酸化位点被激活出现了高表达。CD137高表达可进一步促进T淋巴细胞异常活化,从而进一步影响T淋巴细胞介导的免疫功能,加重病情发展,因此抑制CD137的表达被认为是细菌性肺炎的治疗新靶向。在本研究中我们发现模型组及中药组小鼠肺组织CD137水平明显高于空白组小鼠,经过麻杏石甘汤干预后中药组小鼠肺组织CD137水平明显下调,

这提示麻杏石甘汤有效抑制细菌性肺炎机体CD137的活化,从而纠正T淋巴细胞的功能^[20-22]。

总之,麻杏石甘汤治疗细菌性肺炎疗效理想,其作用机制可能与抑制共刺激分子CD137的分泌,从而改善了患者的免疫系统功能有关。

参考文献

- [1] Souza-Oliveira AC, Cunha TM, Passos LB, et al. Ventilator-associated pneumonia: the influence of bacterial resistance, prescription errors, and de-escalation of antimicrobial therapy on mortality rates[J]. Braz J Infect Dis, 2016, 20(5): 437-443.
- [2] 方春艳, 陈群英, 吴军华, 等. 142例儿童感染肺炎链球菌的耐药性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(12): 1401-1403.
- [3] 徐绍, 胡爱民. 细菌性肺炎患者IL-6及IL-8及C反应蛋白的测定及其意义[J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(6): 702-703, 706.
- [4] 刘海霞. 小儿喘息性支气管肺炎的中西医结合治疗方案研究[J]. 当代医药论丛, 2014, 12(16): 171.
- [5] 李丽. 麻杏石甘汤在小儿喘息性支气管肺炎治疗中的应用效果分析[J]. 中国医药指南, 2017, 15(23): 189-190.
- [6] 廉淑敏. 麻杏石甘汤加味治疗小儿哮喘的临床效果[J]. 中国医药导报, 2013, 10(21): 117-118 + 122.
- [7] 王书伟, 黄德海, 靳静, 等. 噬菌体PF23生物学特性及其对小鼠肺炎克雷伯菌全身感染疗效观察[J]. 中国病原生物学杂志, 2016, 11(9): 808-811.
- [8] 路荣, 顾敬敏, 刘晓贺, 等. NDM-1肺炎克雷伯菌裂解性噬菌体的分离鉴定及其对小鼠菌血症的治疗研究[J]. 中国兽医学报, 2012, 32(12): 1747-1751.
- [9] 薛香菊, 高洁. 中西医结合治疗细菌性肺炎临床观察[J]. 山西中医, 2010, 26(4): 19-20.
- [10] 龙建新. 泻白温胆汤合中药外敷治疗小儿支气管肺炎的临床观察[J]. 内蒙古中医药, 2018, 37(7): 37-38.
- [11] 刘双燕. 脑梗死合并细菌性肺炎大鼠模型建立及清热化痰通腑方对模型大鼠肠道菌群的影响[D]. 南宁: 广西医科大学, 2016.
- [12] 杨淑慧, 蔡永敏. 基于名老中医医案探讨麻杏石甘汤的证治规律[J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(6): 746-750.
- [13] 黄晓洁, 魏刚, 张龙, 等. 麻杏石甘汤的药理作用和临床应用研究进展[J]. 广东药学院学报, 2014, 30(1): 110-114.
- [14] 陈娜, 梁仁. 麻杏石甘汤的现代药理研究及临床应用[J]. 广东药学院学报, 2004, 20(5): 545-546.
- [15] 徐佳, 林胜友. 加味麻杏石甘汤对急性放射性肺炎大鼠Smad蛋白表达的干预作用[J]. 浙江中西医结合杂志, 2015, 25(12): 1093-1096, 1099.
- [16] 王叶芳, 王艳波, 边逊. 麻杏石甘汤对幼龄大鼠肺炎支原体肺炎的辅助治疗及相关机制研究[J]. 江苏中医药, 2013, 45(11): 69-71.
- [17] 陆金华, 林胜友, 代琳, 等. 麻杏石甘汤对放射性肺炎TGF-β1、SMAD7调控的实验研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2012, 36(7): 795-797, 802.
- [18] Martínez Gómez JM, Koh VH, Yan B, et al. Role of the CD137 ligand(CD137L) signaling pathway during Mycobacterium tuberculosis infection[J]. Immunobiology, 2014, 219(1): 78-86.

(下接第353页)

FOXO1 蛋白的磷酸化水平却升高明显。这说明降糖消渴颗粒含药血清促进了 FOXO1 高表达 INS-1 细胞中 FOXO1 的磷酸化,造成 FOXO1 核输出,降低了其转录活性。而这很可能是通过激活了 PI3K/AKT 途径,达到保护胰岛 B 细胞的作用^[12]。基于此,我们为进一步证实降糖消渴颗粒是否通过激活 PI3K/AKT/FOXO1 信号通路而发挥作用,本实验对细胞用或不用 PI3K 抑制剂 LY294002 干预后细胞中总 FOXO1、p-FOXO1、Akt、p-Akt 和细胞核内外的 FOXO1、p-FOXO1 的蛋白表达以及 FOXO1、Akt 的 mRNA 含量进行检测。结果表明在总蛋白中,含药血清对 FOXO1 和 Akt 表达影响较少,而磷酸化的表达升高;在胞质和胞核中,含药血清使 FOXO1 的表达降低,磷酸化表达升高,抑制剂 LY294002 使 FOXO1 和 p-FOXO1 表达均降低。在基因检测中发现含药血清使 Akt 表达升高,FOXO1 表达降低,抑制剂使 FOXO1 表达降低,结果与 Western blotting 结果相似。这提示降糖消渴颗粒含药血清可通过 PI3K/AKT/FOXO1 通路促进 FOXO1 磷酸化出核以抑制 FOXO1 核转录,实现保护胰岛 B 细胞的作用。

参考文献

- [1] Worldwide trends in diabetes since 1980; a pooled analysis of 751 population-based studies with 4. 4 million participants [J]. *Lancet*, 2016, 387(10027):1513-1530.
- [2] GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015; a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 [J]. *Lancet*, 2016, 388(10053):1659-1724.
- [3] Cinti F, Bouchi R, Kim-Muller JY, et al. Evidence of β -Cell Dedifferentiation in Human Type 2 Diabetes [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(3):1044-1054.

- [4] Biggelaar LJ, Eussen SJ, Sep SJ, et al. Associations of Dietary Glucose, Fructose, and Sucrose with β -Cell Function, Insulin Sensitivity, and Type 2 Diabetes in the Maastricht Study [J]. *Nutrients*, 2017, 9(4): pii: E380.
- [5] 高思华, 龚燕冰, 倪青, 等. 肝脾肾同治法辨证治疗 2 型糖尿病的临床研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2009, 24(8):1007-1010.
- [6] 莫芳芳, 刘海霞, 华静, 等. 降糖消渴颗粒含药血清对 INS-1 细胞 FoxO1 表达的影响 [J]. *世界中医药*, 2017, 12(12):3046-3049.
- [7] 赵丹丹, 穆倩倩, 方心, 等. 降糖消渴颗粒含药血清对 C2C12 细胞胰岛素抵抗的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(5):1577-1579.
- [8] Cao B, Zhang Z, Zhang Y, et al. Effect of Smilax china L. -containing serum on the expression of POLD1 mRNA in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells [J]. *Exp Ther Med*, 2013, 6(4):1070-1076.
- [9] Potente M, Urbich C, Sasaki K, et al. Involvement of Foxo transcription factors in angiogenesis and postnatal neovascularization [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(9):2382-2392.
- [10] Baracho GV, Cato MH, Zhu Z, et al. PDK1 regulates B cell differentiation and homeostasis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(26):9573-9578.
- [11] Folli F, Okada T, Perego C, et al. Altered insulin receptor signalling and β -cell cycle dynamics in type 2 diabetes mellitus [J]. *PLoS One*, 2011, 6(11):e28050.
- [12] Kim-Muller JY, Zhao S, Srivastava S, et al. Metabolic inflexibility impairs insulin secretion and results in MODY-like diabetes in triple FoxO-deficient mice [J]. *Cell Metab*, 2014, 20(4):593-602.
- [13] Liu P, Kao TP, Huang H. CDK1 promotes cell proliferation and survival via phosphorylation and inhibition of FOXO1 transcription factor [J]. *Oncogene*, 2008, 27(34):4733-4744.
- [14] Anuradha R, Saraswati M, Kumar KG, et al. Apoptosis of beta cells in diabetes mellitus [J]. *DNA Cell Biol*, 2014, 33(11):743-748.
- [15] Martinez SC, Cras-Méneur C, Bernal-Mizrachi E, et al. Glucose regulates Foxo1 through insulin receptor signaling in the pancreatic islet beta-cell [J]. *Diabetes*, 2006, 55(6):1581-1591.

(2018-03-09 收稿 责任编辑:杨觉雄)

(上接第 348 页)

- [19] 王素梅, 潘同国, 杨玉梅. 喘息性肺炎患儿外周血 CD137 和 CD28 及 T 细胞亚群的表达研究 [J]. *河北医药*, 2010, 32(19):2678-2679.
- [20] 陈亚儿. 肺炎支原体肺炎患儿外周血共刺激分子 CD137 和 CD28 的表达及临床意义 [J]. *中国初级卫生保健*, 2010, 24(4):96-97.
- [21] 柴少卿. 共刺激分子 CD137 在儿童喘息性肺炎发病机制中的作

用 [D]. 苏州:苏州大学, 2008.

- [22] Hodge G, Hodge S, Reynolds PN, et al. Targeting peripheral blood pro-inflammatory CD28null T cells and natural killer T-like cells by inhibiting CD137 expression: possible relevance to treatment of bronchiolitis obliterans syndrome [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2013, 32(11):1081-1089.

(2018-09-29 收稿 责任编辑:芮莉莉)