

# 广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$ 基因克隆与组织表达分析

严雪瑜<sup>1</sup>, 敖秋桅<sup>1</sup>, 严小东<sup>2</sup>, 蒋钦杨<sup>1</sup>, 郭亚芬<sup>1</sup>, 兰干球<sup>1</sup>

(1. 广西大学动物科学技术学院, 南宁 530004; 2. 广西防城港市畜牧站, 广西 防城港 538021)

**【摘要】** 目的 克隆广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因编码区(CDS)序列, 利用 RT-PCR 和 QRT-PCR 方法分析 PGC-1 $\alpha$  mRNA 组织表达情况。方法 本实验以广西巴马小型猪背最长肌 cDNA 为模版, PCR 扩增 PGC-1 $\alpha$  基因 CDS 序列, 将其连接至 pEASY-T5 载体, 转染细菌、验证和序列测定; 通过 RT-PCR 半定量和 QRT-PCR 实时荧光定量检测 PGC-1 $\alpha$  基因在小型猪多个组织中的表达情况。结果 克隆获得广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因 CDS 序列, 全长 2391 bp, 编码 796 个氨基酸, 与参考序列的同源性为 99.9%, 两处碱基发生同义突变, 分别是 C-A1105 和 G-A1524; PGC-1 $\alpha$  基因在广西巴马小型猪心脏和肾脏中的表达丰度最高, 其次是肝脏、皮下脂肪和背最长肌, 而在胰腺中未检测到其表达。结论 成功克隆了广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因编码区序列并进行了多种组织表达分析, 为后续研究 PGC-1 $\alpha$  在小型猪 2 型糖尿病发生过程中作用途径打下基础。

**【关键词】** 广西巴马小型猪; PGC-1 $\alpha$  基因; 序列分析; 组织表达

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2014) 05-0027-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2014.05.006

## Cloning and analysis of tissue expression of PGC-1 $\alpha$ gene in Guangxi Bama mini-pigs

YAN Xue-yu<sup>1</sup>, AO Qiu-wei<sup>1</sup>, YAN Xiao-dong<sup>2</sup>, JIANG Qing-yang<sup>1\*</sup>, GUO Ya-fen<sup>1</sup>, LAN Gan-qiu<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China;

2. Animal Husbandry Station of Fangchenggang City, Fangchenggang 538021)

**【Abstract】 Objective** To clone the coding sequence of Guangxi Bama mini-pig PGC-1 $\alpha$  gene, and to analyze the expression of PGC-1 $\alpha$  gene in various tissues of mini-pigs using RT-PCR and QRT-PCR techniques. **Methods** The PGC-1 $\alpha$  gene coding sequence (CDS) was amplified by PCR from the cDNA of longissimus muscle of Guangxi Bama mini-pig. The PCR products were inserted into pEASY-T5 vector, transfected *E. coli*, identified and sequenced. The PGC-1 $\alpha$  gene expression in different tissues of the Bama mini-pigs was detected by RT-PCR and QRT-PCR assays. **Results** The PGC-1 $\alpha$  gene CDS of Guangxi Bama mini-pig was cloned. It was 2391 bp in length. It had 99.9% homology with the reference sequence, and had two synonymous mutations that were C-A1105 and G-A1524. The expression level of PGC-1 $\alpha$  gene was higher in the heart and kidney, followed by liver, subcutaneous fat and longissimus muscle, but the expression was not detected in pancreas of Guangxi Bama mini-pig. **Conclusions** We have successfully cloned the PGC-1 $\alpha$  gene of Guangxi Bama mini-pig, and detected this gene expression in six tissues. The results of this study will provide a basis for studying the effect of PGC-1 $\alpha$  on type 2 diabetes mellitus (T2DM) in Bama mini-pigs.

**【Key words】** Guangxi Bama mini-pig; PGC-1 $\alpha$  gene; Sequencing analysis; Tissue expression

过氧化物酶体增殖活化受体  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) 辅助活化因子 1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha, PGC-1 $\alpha$ ) 是近年来备受

关注的辅激活因子。PGC-1 $\alpha$  主要参与线粒体生物合成、调节适应性产热、脂肪酸  $\beta$  氧化、肝糖异生等代谢调节。PGC-1 $\alpha$  基因具有组织表达特异性, 主要

[基金项目] 广西自然科学基金项目(2013GXNSFAA019187); 国家自然科学基金项目(81360135)。

[作者简介] 严雪瑜(1988-), 女, 博士, 研究方向: 动物遗传育种。

[通讯作者] 蒋钦杨(1981-), 博士, 副教授, 主要从事动物遗传育种和小型猪疾病模型研究工作, E-mail: jiangqinyang@126.com。

分布于有高能量需求或适应性产热作用的组织中<sup>[1]</sup>。数量性状遗传研究表明,人 PGC-1 $\alpha$  所在染色体区域与许多代谢性指标存在连锁关系;遗传学以及分子流行病学研究发现,PGC-1 $\alpha$  突变可能与糖尿病、肥胖等代谢性疾病发生有关联<sup>[2]</sup>。资料显示,2 型糖尿病 (T2DM) 患者肝脏中的 PGC-1 $\alpha$  水平较高<sup>[3]</sup>,其在肝脏中过表达会导致肝糖元输出增加,血糖升高<sup>[4]</sup>。肌肉组织是胰岛素刺激的葡萄糖摄取的主要器官,2 型糖尿病则最早表现出骨骼肌的胰岛素抵抗 (IR)。PGC-1 $\alpha$  在骨骼肌中表达丰富,研究其对骨骼肌 IR 发生的调控作用,是了解 2 型糖尿病致病机制的重要方面。

与小鼠相比,猪的基因组与人的大小相似( $3 \times 10^9$  bp)、复杂程度和染色体组成较为一致<sup>[5]</sup>。研究表明,猪是最接近人类的模式动物,小型猪与人类在某些生理结构、功能及生化指标上具有相似性<sup>[6]</sup>,其血糖和血清胰岛素的正常值与人类接近,糖耐量试验过程与人类基本一致<sup>[7,8]</sup>,使小型猪成为人类肥胖、糖尿病、心血管疾病和营养代谢研究的理想的动物模型<sup>[9]</sup>。

猪 PGC-1 $\alpha$  基因位于染色体的 8p21 区域,包含 13 个外显子和 12 个内含子,编码 796 个氨基酸的蛋白质<sup>[10]</sup>。在基础水平对猪的 PGC-1 $\alpha$  组织分布情况的研究发现,PGC-1 $\alpha$  基因在多种组织中均有广泛表达,尤其在耗氧量高、富含线粒体的组织中,如在骨骼肌、肝脏,心脏及肾脏中表达最高<sup>[11]</sup>。而目前尚没有关于广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因克隆和组织表达分析方面的文献报道。本研究拟通过克隆分析广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因编码区序列,定量检测该基因在小型猪心、肝、肾、胰、皮下脂肪、背最长肌中的表达情况,为后续研究 PGC-1 $\alpha$  在小型猪 2 型糖尿病模型制作过程中作用打下基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

实验所需广西巴马小型猪来自广西大学巴马小型猪繁育场封闭群【SCXK(桂)2013-0003】。采集 3

表 1 定量 PCR 引物

Tab. 1 Primers of the QRT-PCR

基因 Genes	GenBank 登录号	引物序列 Primers (5'→3')	产物大小 Size/bp	T <sub>m</sub> /°C
18SrRNA	NR046261	F:CCCACGGAATCGAGAAAGAG R:TTGACCGAAGGGCACCA	122	60
PGC-1 $\alpha$	NM213963	F:GTGTCGCCTTCTTGTCTCTTTT R:CGCATCCTTTGGGTCTTT	92	60

### 1.5 实时荧光定量 PCR 反应

采用 SYBR green I 染料法,以 18S rRNA 为内参

头 15 月龄、体重 45 kg 左右实验普通级广西巴马小型猪新鲜组织样品(心、肝、肾、胰、皮下脂肪、背最长肌),装入灭菌的冻存管中立即置于液氮中冷冻,而后迅速转入 -80°C 冰箱备用。

### 1.2 引物的设计与合成

参考 NCBI 上 GenBank 报道的猪 PGC-1 $\alpha$  基因序列(序列号 AB106108),设计特异性引物,并在上下游引物 5' 端分别添加 Sal I 和 BamH I 酶切位点,PGC-1 $\alpha$ -F1: 5'-GAATTCTGCAGTCGACATGGCGTGGGACATGTGC-3',PGC-1 $\alpha$ -R1:5'-TAGATCCGGTGGATCCTTACCTGCGCAAGCTTCTCT-3'。

18S rRNA 基因实时荧光定量 PCR(QRT-PCR)引物序列参照单体中<sup>[12]</sup>设计合成,PGC-1 $\alpha$  基因 QRT-PCR 引物序列参照姚国佳<sup>[13]</sup>设计合成,定量引物序列如表 1 所示。上述引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成。

### 1.3 RNA 提取及 RT-PCR

采用 Trizol 法提取广西巴马小型猪的组织总 RNA,并以其为模板,用 PrimeScript™ RT reagent kit with gDNA Eraser 试剂盒(TaKaRa,日本)反转录合成 cDNA。

PCR 扩增体系(15.0  $\mu$ L):cDNA 1.0  $\mu$ L,PGC-1 $\alpha$ -F1(10  $\mu$ mol/L)0.5  $\mu$ L,PGC-1 $\alpha$ -R1(10  $\mu$ mol/L)0.5  $\mu$ L,Ex Taq 酶(TaKaRa,日本)7.5  $\mu$ L,ddH<sub>2</sub>O 补足至 15.0  $\mu$ L。反应程序:98°C 预变性 3 min;98°C 30 s,60°C 30 s,72°C 2 min 30 s,进行 35 个循环;72°C 延伸 10 min;4°C 保存。

### 1.4 克隆及序列测定

PCR 扩增产物利用胶回收纯化试剂盒(BioFlux,中国)进行纯化,回收后与 pEASY-T5 克隆载体(TransGen,中国)连接,转化至 Trans-T1 感受态细胞(TransGen,中国)中,扩大培养细菌。经鉴定的阳性菌液分别送至上海英骏生物技术有限公司和北京六合华大基因科技股份有限公司进行测序。测序结果用 Lasergene7.0 软件进行序列分析及同源性比对。

基因,目的基因、内参基因的质粒标准品作为阳性对照,ddH<sub>2</sub>O 作为阴性对照,目的基因相对表达量采用

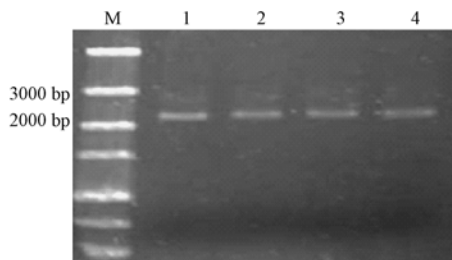
$2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算目的基因相对定量结果, 在 Roche Light Cycler 480 实时荧光定量 PCR 仪上进行 PCR 扩增和数据分析。

实时荧光定量 PCR 体系 (20.0  $\mu$ L): SYBR Premix Ex Taq (Roche, 美国) 10.0  $\mu$ L, Prime-F (10  $\mu$ mol/L) 0.5  $\mu$ L, Prime-R (10  $\mu$ mol/L) 0.5  $\mu$ L, 模板 5.0  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 补足至 20.0  $\mu$ L。反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95 $^{\circ}$ C 10 s, 60 $^{\circ}$ C 10 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 进行 40 个循环。

## 2 结果与分析

### 2.1 目的基因 PCR 扩增

以广西巴马小型猪背最长肌总 RNA 反转录产物为模板, PGC-1 $\alpha$  基因 CDS 序列 PCR 扩增产物的凝胶电泳结果如图 1 所示, 其片段大小在 2000 ~ 3000 bp, 与预期序列长度相近。



注: 1~4. 目的基因 PCR 产物; M. DNA 相对分子量标准 DL5000。

图 1 广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因 PCR 结果

Note. Lane 1-4. PCR products; M. Marker DL5000.

Fig. 1 PCR results of PGC-1 $\alpha$  gene from Guangxi Bama mini-pig

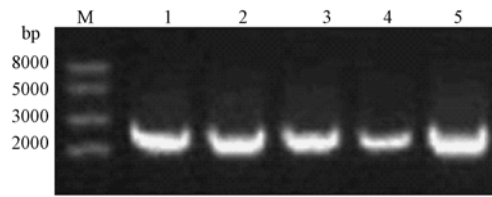
### 2.2 pEASY-T5-PGC-1 $\alpha$ 重组质粒鉴定

对转化有 pEASY-T5-PGC-1 $\alpha$  的细菌, 进行菌液 PCR 扩增电泳检测以及提取质粒进行 Sal I、BamH I 双酶切鉴定, 结果如图 2、图 3 所示。结果显示, 菌液 PCR 产物位置与阳性对照结果一致, 并符合预期大小; 重组质粒双酶切产物大小分别与目的片段及 pEASY-T5 载体大小相符。

### 2.3 PGC-1 $\alpha$ 基因序列测定与分析

将阳性菌液分别送两家测序公司的测序结果完全一致。广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因 CDS 序列全长 2391 bp, 编码 796 个氨基酸, 与参考序列 (AB106108) 进行比较, 同源性达 99.9%, 两处碱基发生同义突变, 分别为 +1105 位的碱基由 C $\rightarrow$ A, +1524 位的碱基由 G $\rightarrow$ A。

广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因与 Genbank 上发

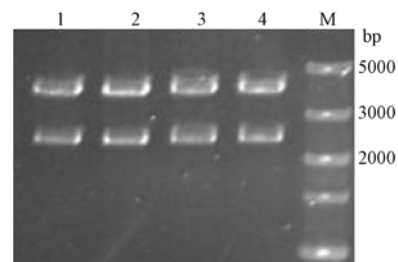


注: 1. 阳性对照; 2~5. 菌液 PCR 产物; M. DNA 相对分子量标准 DL8000。

图 2 菌液 PCR 结果

Note. 1. Positive control; 2-5. PCR products; M. Marker DL8000.

Fig. 2 PCR results of the bacterial liquid



注: 1~4. 双酶切产物; M. DNA 相对分子量标准 DL5000。

图 3 重组质粒双酶切电泳

Note. Lane 1-4. Products of enzyme digestion; M. Marker DL5000.

Fig. 3 Electrophoretic results of double enzyme digestion of the plasmid

表多个物种序列进行比较, 构建系统进化树, 如图 4 所示, 小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因与普通猪 (*Sus scrofa*, No. AB106108) 的序列同源性最高, 先聚在一枝, 其次是与牛 (*Bos taurus*, No. NM177945) 和羊 (*Ovis aries*, No. JF449960) 聚为一枝, 再与人 (*Homo sapiens*, No. NM013261) 聚类, 最后与小鼠 (*Mus musculus*, No. AF049330)、大鼠 (*Rattus norvegicus*, No. NM031347) 聚类。

### 2.4 PGC-1 $\alpha$ 基因组织表达分析

采用 QRT-PCR 相对定量的方法, 检测 3 头 15 月龄广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因 mRNA 在多个组织中的表达情况。结果发现, PGC-1 $\alpha$  基因在小型猪心脏、肝脏、肾脏、背最长肌、皮下脂肪等组织中均有表达, 其中, 在心脏和肾脏中的表达丰度最高, 其次是肝脏、皮下脂肪和背最长肌, 而在胰腺中未检测到其表达。实验结果如图 5 所示。

通过 RT-PCR 半定量的方法, 验证广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因 mRNA 在不同组织中的表达情况。结果如图 6 所示, PGC-1 $\alpha$  基因在小型猪的心脏、肝脏、肾脏、背最长肌以及皮下脂肪组织具有表

达,而胰脏中没有检测到 PGC-1 $\alpha$  基因表达。

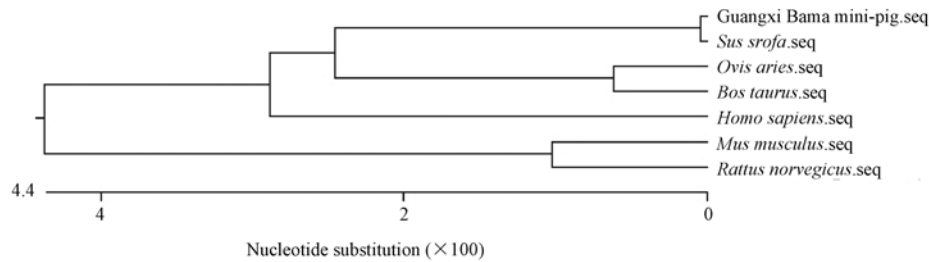


图 4 PGC-1 $\alpha$  基因进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of PGC-1 $\alpha$

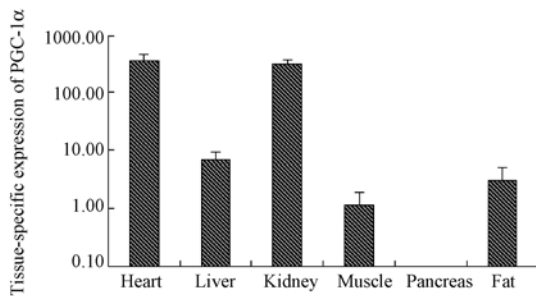


图 5 广西巴马小型猪不同组织 PGC-1 $\alpha$  基因表达情况

Fig. 5 Expression of PGC-1 $\alpha$  in different tissues of Guangxi Bama mini-pigs

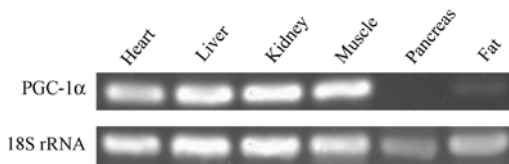


图 6 广西巴马小型猪不同组织 PGC-1 $\alpha$  基因 RT-PCR 检测

Fig. 6 Expressions of PGC-1 $\alpha$  gene were detected in different tissues of the Guangxi Bama min-pigs

### 3 讨论

本研究成功克隆获得了广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因的 cDNA 序列,其与普通猪的基因同源性高达 99.9%,仅存在两处碱基的同义突变。同源性对比、构建系统进化树表明,小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因与其他动物的基因序列同源性较高,进一步表明不同物种间 PGC-1 $\alpha$  基因具有高度的保守性<sup>[14]</sup>。

文献报道表明,在机体中,PGC-1 $\alpha$  基因主要在心、肾、棕色脂肪、骨骼肌等有高能量需求或适应性产热作用的组织中表达,而在大肠、小肠及白色脂肪组织中的表达水平较低<sup>[15]</sup>。本研究发现,广西巴马

小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因在心脏和肾脏中的高表达,其次是肝脏、皮下脂肪和背最长肌,而胰腺中未检测到其表达。研究结果与前人的文献报道相似。Norrbom 等<sup>[16]</sup>发现 PGC-1 $\alpha$  mRNA 在棕色脂肪组织、骨骼肌等部位大量表达,而在白色脂肪组织、胰腺及大脑中的分布较少或几乎没有。Larrouy 等<sup>[17]</sup>则发现人的 PGC-1 $\alpha$  mRNA 在心脏、肾脏、肝脏和骨骼肌中表达较高,在白色脂肪组织和肠道中的表达水平较低。Esterbauer 等<sup>[18]</sup>用 Northern 杂交显示,PGC-1 $\alpha$  在人的心脏、骨骼肌、肾脏都有表达,在肝脏、脑、胰腺等组织中表达较低。Jacobs 等<sup>[19]</sup>检测到 PGC-1 $\alpha$  基因在猪脂肪、肌肉、肾脏、肝脏、和心等与机体适应性产热相关的组织中存在表达。文旭辉<sup>[11]</sup>利用 RT-PCR 的方法检测基础水平 4 月龄八眉猪 PGC-1 $\alpha$  基因组织表达差异,发现其在肝脏、肌肉、皮下脂肪、肾脏、脾脏、内脏脂肪中均有表达,在肺中没有检测到表达,其中肝脏、心脏和肌肉的表达丰度最高,内脏脂肪中的表达量最低。闵小红<sup>[20]</sup>利用荧光定量探针的方法检测了 PGC-1 $\alpha$  基因在长白猪肾脏、肝脏、十二指肠、肠淋巴结、脾脏、心脏、背膘、股四头肌、腰大肌和背最长肌中的表达情况,以肾中的表达量最高,且极显著高于其他组织,三个不同部位肌肉中的表达最低。PGC-1 $\alpha$  基因在猪的多个组织均有表达,其中以耗氧量高和富含线粒体的组织中表达丰富。

克隆获得广西巴马小型猪 PGC-1 $\alpha$  基因 CDS 序列,长 2391 bp;PGC-1 $\alpha$  基因在广西巴马小型猪心脏和肾脏中的表达水平最高,其次是肝脏、皮下脂肪和背最长肌,而在胰腺中未检测到其表达。

#### 参 考 文 献

- [1] Knutti D, Kaul A, Kralli A. A tissue-specific coactivator of steroid receptors, identified in a functional genetic screen [J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(7):2411-2422.

- [ 2 ] 孙亮, 朱小泉, 王沂, 等. 核辅激活因子 PGC-1 表达的分子调控机制 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2005, 21(4):431-439.
- [ 3 ] Kakuma T, Wang ZW, Pan W, et al. Role of leptin in peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 expression [J]. *Endocrinology*, 2000, 141(12):4576-4582.
- [ 4 ] Koo SH, Satoh H, Herzig S, et al. PGC-1 promotes insulin resistance in liver through PPAR-alpha-dependent induction of TRB-3 [J]. *Nat Med*, 2004, 10(5):530-534.
- [ 5 ] Ellegren H, Chowdhary BP, Johansson M, et al. A primary linkage map of the porcine genome reveals a low rate of genetic recombination [J]. *Genetics*, 1994, 137(4):1089-1100.
- [ 6 ] 赵玉琼, 姚春涛, 刘亚千, 等. 我国特有三个小型猪品系 PPAR $\alpha$  基因的多态性分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2008, 18(10):41-44.
- [ 7 ] Vodicka P, Smetana KJ, Dvorankova B, et al. The miniature pig as an animal model in biomedical research [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1049:161-171.
- [ 8 ] Bellinger DA, Merricks EP, Nichols TC. Swine models of type 2 diabetes mellitus; insulin resistance, glucose tolerance, and cardiovascular complications [J]. *ILAR J*, 2006, 47(3):243-258.
- [ 9 ] KT L. Swine as animal models in cardiovascular research [M]. In: Tumbleson ME, ed. *Swine in Biomedical Research*. New York: Plenum Publishing Corp, 1986.
- [ 10 ] 赵玉琼, 陈华. PGC-1 基因与 II 型糖尿病 [J]. 实验动物科学, 2008, 25(6):45-47.
- [ 11 ] 文旭辉. 猪 PGC-1 $\alpha$ 、线粒体相关基因组织表达及 Leptin 对 PGC-1 $\alpha$ 、UCPs mRNA 表达的影响 [D]. 西北农林科技大学, 2007.
- [ 12 ] 单体中. Sirt1 基因表达对猪脂肪分解的影响及其分子机制研究 [D]. 浙江大学, 2008.
- [ 13 ] 姚国佳. PPAR $\delta$  和 Myoglobin 基因表达对猪肉色的影响及机制研究 [D]. 浙江大学, 2010.
- [ 14 ] 马燕, 常荣, 祁玉娟, 等. 藏羚羊 PGC-1 $\alpha$  基因编码区的克隆与分析 [J]. 动物学杂志, 2012, 47(1):25-35.
- [ 15 ] Melloul D, Stoffel M. Regulation of transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$  [J]. *Sci Aging Knowledge Environ*, 2004, 2004(9):e9.
- [ 16 ] Norrbom J, Sundberg CJ, Ameln H, et al. PGC-1 $\alpha$  mRNA expression is influenced by metabolic perturbation in exercising human skeletal muscle [J]. *J Appl Physiol (1985)*, 2004, 96(1):189-194.
- [ 17 ] Larrouy D, Vidal H, Andreelli F, et al. Cloning and mRNA tissue distribution of human PPARgamma coactivator-1 [J]. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 1999, 23(12):1327-1332.
- [ 18 ] Esterbauer H, Oberkofler H, Krempler F, et al. Human peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 (PPARGC1) gene: cDNA sequence, genomic organization, chromosomal localization, and tissue expression [J]. *Genomics*, 1999, 62(1):98-102.
- [ 19 ] Jacobs K, Rohrer G, Van Poucke M, et al. Porcine PPARGC1A (peroxisome proliferative activated receptor gamma coactivator 1A): coding sequence, genomic organization, polymorphisms and mapping [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2006, 112(1-2):106-113.
- [ 20 ] 闵小红. 猪 PPARGC1A 基因在不同组织和生长发育阶段中的差异表达 [D]. 四川农业大学, 2008.

[收稿日期] 2014-04-25

## (上接第 26 页)

- [ 10 ] 晓开提, 范妙丽. 沙尘暴 PM<sub>2.5</sub> 对大鼠呼吸系统免疫损伤机制研究 [J]. 新疆医科大学学报, 2012, 34(10):1097-1099.
- [ 11 ] Toy P, Gajic O, Bacchetti P, et al. Transfusion-related acute lung injury: incidence and risk factors [J]. *Blood*, 2012, 119(7):1757-1767.
- [ 12 ] 王海云, 盛净, 朱健. 法舒地尔对脂多糖诱导的急性肺损伤大鼠肺组织中核因子- $\kappa$ B 激活的影响 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(2):155-158.
- [ 13 ] 魏东, 刘英, 贾宁, 等. H9N2 亚型猪流感病毒诱导小鼠急性肺损伤中 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 和 IL-10 的变化和作用 [J]. 中国实验动物学报, 2013, 21(2):72-74.
- [ 14 ] Bastarache JA, Sebag SC, Grove BS, et al. Interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  act synergistically to up-regulate tissue factor in alveolar epithelial cells [J]. *Exp Lung Res*, 2011, 37(8):509-517.
- [ 15 ] Zemans RL, Colgan SP, Downey GP. Transepithelial migration of neutrophils: mechanisms and implications for acute lung injury [J]. *Am J Resp Cell Mol Biol*, 2009, 40(5):519.
- [ 16 ] 杨东, 仇玮玮, 张畅, 等. 地塞米松治疗 LPS 诱导急性肺炎模型小鼠病理学评价方法的建立 [J]. 实验动物科学 ISTIC, 2013, 30(4):9-12.
- [ 17 ] Sochor M, Richter S, Schmidt A, et al. Inhibition of matrix metallo-proteinase-9 with doxycycline reduces pancreatitis-associated lung injury [J]. *Digestion*, 2009, 80(2):65-73.
- [ 18 ] Ayyagari VN, Januszkiewicz A, Nath J. Effects of nitrogen dioxide on the expression of intercellular adhesion molecule-1, neutrophil adhesion, and cytotoxicity: studies in human bronchial epithelial cells [J]. *Inha Toxicol*, 2007, 19(2):181-194.
- [ 19 ] 高冬娜, 张彧. 中性粒细胞弹性蛋白酶致急性肺损伤机制的研究进展 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(8):510-512.
- [ 20 ] Rimal B, Greenberg AK, Rom WN. Basic pathogenetic mechanisms in silicosis: current understanding [J]. *Current Opinion Pul Med*, 2005, 11(2):169-173.
- [ 21 ] 文婕, 殷少军. 老龄大鼠 PA 肺部感染时 CINC 及 MCP-1 表达的动态变化 [J]. 同济大学学报 (医学版), 2012, 1:004.

[收稿日期] 2014-05-19