

清肺承气汤对严重腹腔感染大鼠肺组织细胞凋亡的影响

张艳敏^{1,2}, 崔乃强², 张淑坤²

(1. 天津医科大学, 天津 300070; 2. 天津市南开医院, 天津 300100)

【摘要】目的 观察清肺承气汤对严重腹腔感染大鼠肺组织细胞凋亡、凋亡相关蛋白以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 水平的影响。**方法** 选择 30 只雄性 Wistar 大鼠, 按随机数字表法分为假手术组、模型组、中药组, 每组 10 只。模拟临床上消化道穿孔病理生理过程建立严重腹腔感染模型; 中药组于制模前 1 d 予以中药清肺承气汤灌胃, 每日 3 次, 每次 2 mL; 假手术组以等量 10% 硫酸钡 (BaSO₄) 营养肉汤代替菌液注射。制模后 6 h 分别处死各组大鼠取全部肺组织, 用原位末端标记法 (TUNEL) 检测肺组织细胞凋亡率; 蛋白质免疫印迹法 (Western Blot) 检测 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达水平; 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测肺组织匀浆中 TNF- α 、IL-6 水平; 光镜和电镜下观察肺组织病理学改变。**结果** 与假手术组比较, 模型组肺组织细胞凋亡率 [(12.7 $\pm$ 5.4)% 比 0]、Bax 蛋白表达 [吸光度 (A) 值: 8416.89 $\pm$ 875.16 比 6654.09 $\pm$ 1130.18]、TNF- α (ng/L: 3132.56 $\pm$ 457.96 比 1948.55 $\pm$ 269.32)、IL-6 (ng/L: 75.14 $\pm$ 1.63 比 31.17 $\pm$ 0.81) 水平均明显增高 (均 $P<0.05$), Bcl-2 蛋白表达水平明显降低 (A 值: 7490.59 $\pm$ 200.34 比 12289.02 $\pm$ 535.93, $P<0.05$); 与模型组比较, 中药组肺组织细胞凋亡率 [(7.9 $\pm$ 0.3)%]、Bax 蛋白表达 (A 值: 7619.50 $\pm$ 999.30)、TNF- α (ng/L: 3114.34 $\pm$ 454.32)、IL-6 (ng/L: 52.46 $\pm$ 0.96) 均降低, Bcl-2 蛋白表达水平 (A 值: 11155.07 $\pm$ 1018.87) 增高 (均 $P<0.05$)。大体观察可见: 假手术组肺组织颜色均匀, 模型组肺组织明显肿胀, 部分表面可见片状的淤斑和出血; 光镜下可见: 假手术组肺血管、肺泡间质和肺泡上皮小叶间质均正常, 模型组肺间质水肿、出血, 肺泡腔内可见炎性细胞浸润; 电镜下可见: 模型组肺组织 II 型肺泡上皮细胞增多, 并且出现不同程度形态学改变, 细胞体积缩小变圆, 细胞核呈不规则形, 中药组上述病理改变均较模型组减轻。**结论** 清肺承气汤可减轻严重腹腔感染导致急性肺损伤 (ALI) 大鼠肺组织细胞凋亡, 其机制可能与中药干预后降低了炎症介质水平、提高 Bcl-2 表达有关。

【关键词】 清肺承气汤; 严重腹腔感染; 肺损伤, 急性; 细胞凋亡

The effect of Qingfei Chengqi decoction on lung tissue cell apoptosis in rats with severe intraperitoneal infection Zhang Yanmin*, Cui Naiqiang, Zhang Shukun. *Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Corresponding author: Cui Naiqiang, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China, Email: nctsui@126.com

【Abstract】Objective To observe the effects of Qingfei Chengqi decoction on lung tissue cell apoptosis and its associated protein, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) of lung tissues in rats with severe intra-peritoneal infection (SII). **Methods** Thirty male Wistar rats were randomly divided into three groups: sham operation group, model group and traditional Chinese medicine (TCM) group (each $n=10$). Simulating clinical pathophysiological process of digestive tract perforation, the rat model of SII was reproduced by injecting *E. coli* intraperitoneally. The TCM group was treated by gavage with Qingfei Chengqi decoction one day in advance of the study, 3 times per day, once 2 mL. The same amount of nutrient broth which contained 10% barium sulfate (BaSO₄) to replace the bacteria solution was injected into the sham operation group. Six hours after model establishment, all rats were killed and lung tissues were harvested for pathohistological evaluation and for the determination of apoptosis rate with TdT-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) method, of Bax, Bcl-2 protein expression with Western Blot method, and of the level of TNF- α , IL-6 with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method, and the pathological changes of lung tissues were observed under the light and electron microscopes. **Results** Compared with sham operation group, the apoptosis rate [(12.7 $\pm$ 5.4)% vs. 0], the expression of Bax protein [absorbance (A) value: 8416.89 $\pm$ 875.16 vs. 6654.09 $\pm$ 1130.18], the level of TNF- α (ng/L: 3132.56 $\pm$ 457.96 vs. 1948.55 $\pm$ 269.32), the level of IL-6 (ng/L: 75.14 $\pm$ 1.63 vs. 31.17 $\pm$ 0.81) of lung tissues were significantly increased (all $P<0.05$), meanwhile Bcl-2 protein expression decreased observably (A value: 7490.59 $\pm$ 200.34 vs. 12289.02 $\pm$ 535.93, $P<0.05$) in model group induced by SII. After treatment with TCM, apoptosis rate [(7.9 $\pm$ 0.3)%], the expression of Bax protein (A value: 7619.50 $\pm$ 999.30), the level of TNF- α (ng/L: 3114.34 $\pm$ 454.32) and IL-6 (ng/L: 52.46 $\pm$ 0.96) of lung tissues were decreased and Bcl-2 protein expression (A value: 11155.07 $\pm$ 1018.87) increased (all $P<0.05$) compared with model group. General observation: the color of lung tissues was uniform in sham operation group; the lung tissues of model group swelled obviously, and parts of lung tissues had patches of ecchymosis and hemorrhage. The light microscope showed: the pulmonary vessels, the alveolar interstitium, alveolar epithelium and lobular interstitium

of sham operation group were all normal, while in the model group, the pulmonary interstitium was edematous and hemorrhagic, and in the alveolar cavities there was infiltration of inflammatory cells. Under the electron microscope, the lung tissue type II alveolar epithelial cells of model group were increased, and they had morphological changes in various degrees, such as cell shrinkage and change becoming round, and cell nucleus presenting irregular in shape. After treatment with TCM, the above pathological changes were all alleviated compared with those in the model group. **Conclusions** Qingfei Chengqi decoction can ameliorate the SII leading to acute lung injury, and reduce the cell apoptosis rate of lung tissues in SII rats. Its mechanism may be related to the intervention of above TCM which can lower the levels of inflammatory media and elevate the protein expression of Bcl-2.

【Key words】 Qingfei Chengqi decoction; Severe intra-peritoneal infection; Acute lung injury; Cell apoptosis

急性肺损伤 (ALI) 是各种直接和间接致伤因素导致的肺泡上皮细胞及毛细血管内皮细胞损伤为主要表现的临床综合征,其往往在多器官功能障碍综合征 (MODS) 中最先出现,在 MODS 的整个发病过程中居重要甚至是决定性的地位^[1-4]。现代医学主要采用气管插管、正压通气及对症处理等疗法,但病死率仍较高^[5]。因此我们对腹腔感染所致的 ALI 进行中药防治研究,采用清肺解毒、泻热通便的治则,以自拟清肺承气汤治疗严重腹腔感染合并 ALI。本实验在前期研究基础上,模拟临床消化道穿孔的病理生理过程,建立严重腹腔感染模型,通过观察清肺承气汤干预后肺组织细胞凋亡相关蛋白表达水平的变化和炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 浓度的改变,进一步探讨中药在大鼠严重腹腔感染导致 ALI 发病过程中所发挥的作用,报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物及主要试剂:选取 30 只健康雄性 Wistar 大鼠,由解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所动物实验中心提供,动物合格证号: SCXK (军) 2009-003,体质量 250~300 g。取 10.5% 盐酸 16.4 mL,胃蛋白酶 10 g,加生理盐水至 1 000 mL,配制成 pH 值 1.5 的人工胃液。大肠杆菌菌株来自临床腹膜炎患者,经全自动微生物分析系统 (VITEK-AMS) 鉴定为大肠杆菌;将大肠杆菌接种在营养琼脂培养基上,37℃ 培养 18 h,生理盐水冲洗菌苔,应用比浊法测定大肠杆菌浓度,配制成浓度为 2×10^9 cfu/mL 的细菌悬浊液。

1.2 模型复制和分组:将大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组和中药组,每组 10 只。大鼠适应性饲养 1 周,实验前自由进食、饮水。采用腹腔内注射人工胃液联合大肠杆菌的方法制备大鼠腹腔感染模型^[6];假手术组以等量 10% 硫酸钡 (BaSO₄) 营养肉汤代替菌液注射;中药组于制模前 1 d 予以中药清肺承气汤灌胃,每只大鼠每次 2 mL,每日 3 次;于

制模前 30 min 再给药 1 次。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法:制模后 6 h 分别处死各组大鼠取全部肺组织,用 10% 中性甲醛水溶液固定右上肺叶,进行石蜡切片,苏木素-伊红 (HE) 染色后于光镜下观察肺组织病理学改变;以 2.5% 的戊二醛溶液固定右中肺叶,进行透射电镜检查;其余组织于 -80℃ 冻存备检。

1.3.1 原位末端缺刻标记法 (TUNEL) 检测细胞凋亡情况:制备肺组织标本切片,按试剂盒说明书操作,使用共聚焦显微镜观察凋亡细胞 (绿色荧光颗粒为阳性,即凋亡细胞)。每张切片在高倍镜下 ($\times 400$) 随机选取 5 个视野,每个视野分别计算凋亡率 (凋亡细胞数 / 总细胞数 $\times 100\%$)。取 5 个视野的平均值作为每张切片的实际凋亡率。

1.3.2 蛋白质免疫印迹法 (Western Blot) 检测肺组织凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 的表达变化:使用 RIPA 裂解液 (购自武汉博士德生物工程有限公司) 提取肺组织总蛋白,Improved-Lowry 法定量蛋白浓度,取样品经凝胶电泳、转膜、封闭后分别加入一抗和二抗,室温孵育,洗膜后使用化学发光 (ECL) 试剂盒显色。经电脑扫描成像并采用 Quantity one 软件分析,记录相应蛋白条带的吸光度 (A) 值,以 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 表达水平为内参照。

1.3.3 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测肺组织匀浆中 TNF- α 及 IL-6 浓度:操作按试剂盒说明书进行。

1.3.4 肺组织病理学观察:制备肺组织切片标本,分别在光镜和透射电镜下观察肺组织病理学变化。

1.4 统计学处理:应用 SPSS 17.0 统计软件,计量数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 检验各组间差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

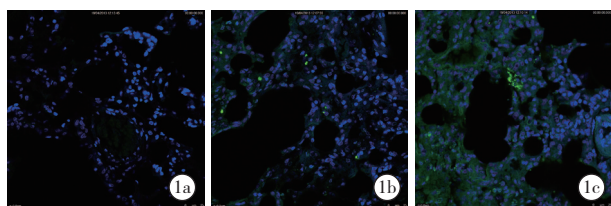
2.1 肺组织细胞凋亡率 (表 1; 图 1):假手术组肺

组织细胞凋亡率为 0; 模型组细胞凋亡率较假手术组明显增高; 中药组肺组织细胞凋亡率显著低于模型组 (均 $P < 0.05$)。

表 1 各组肺组织细胞凋亡率、凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 表达及细胞因子水平的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	细胞凋亡率 (%)	Bax (A 值)	Bcl-2 (A 值)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)
假手术组	10	0	6 654.09 $\pm$ 1 130.18	12 289.02 $\pm$ 535.93	1 948.55 $\pm$ 269.32	31.17 $\pm$ 0.81
模型组	10	12.7 $\pm$ 5.4 ^a	8 416.89 $\pm$ 875.16 ^a	7 490.59 $\pm$ 200.34 ^a	3 132.56 $\pm$ 457.96 ^a	75.14 $\pm$ 1.63 ^a
中药组	10	7.9 $\pm$ 0.3 ^b	7 619.50 $\pm$ 999.30	11 155.07 $\pm$ 1 018.87 ^{ab}	3 114.34 $\pm$ 454.32	52.46 $\pm$ 0.96 ^{ab}

注: 与假手术组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$



①: 假手术组; ②: 模型组; ③: 中药组

图 1 各组大鼠肺组织细胞凋亡情况 (TUNEL 高倍放大)

2.2 肺组织凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 的表达 (表 1; 图 2): 模型组 Bax 蛋白表达较假手术组明显增高 ($P < 0.05$); 予以清肺承气汤干预后 Bax 表达水平呈下降趋势, 但与模型组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。模型组 Bcl-2 表达水平明显低于假手术组 ($P < 0.05$); 予以中药干预后 Bcl-2 表达水平较模型组明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

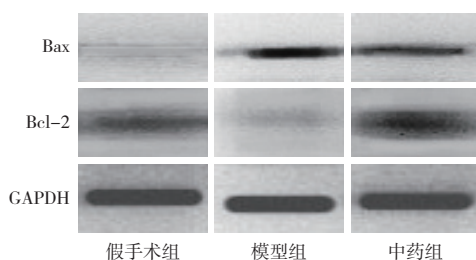


图 2 各组大鼠肺组织中 Bax、Bcl-2 蛋白表达水平

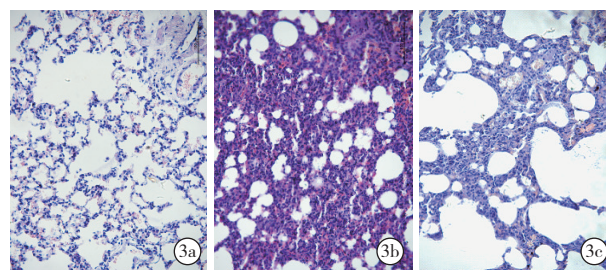
2.3 肺组织匀浆 TNF- α 、IL-6 水平的变化 (表 1): 模型组 TNF- α 及 IL-6 水平均明显高于假手术组 ($P < 0.05$); 予以清肺承气汤干预后 TNF- α 水平较模型组无明显下降 ($P > 0.05$), IL-6 水平较模型组明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.4 肺组织病理学分析

2.4.1 大体观察: 假手术组肺组织颜色均匀, 包膜光滑, 略呈粉红色, 组织柔软弹性好, 模型组肺组织明显肿胀, 呈暗红色, 部分表面可见片状淤斑和出血。中药组肺组织略肿胀, 表面散在点状淤斑。

2.4.2 光镜观察 (图 3): 光镜下可见, 假手术组大鼠肺血管、肺泡间质和肺泡上皮小叶间质均正常; 模型组肺间质水肿、出血, 肺泡壁纤维组织增生变宽、

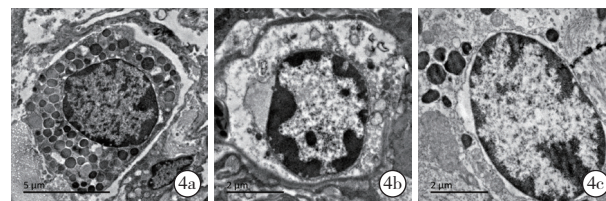
有断裂、融合, 肺泡腔内可见炎性细胞浸润; 中药组肺泡间质水肿、出血、炎性细胞浸润及肺泡壁纤维组织增生等病理损伤均有所减轻。



①: 假手术组; ②: 模型组; ③: 中药组

图 3 光镜下观察各组大鼠肺组织病理学变化 (HE 染色 中倍放大)

2.4.3 电镜观察 (图 4): 透射电镜下可见, 模型组肺组织 II 型肺泡上皮细胞增多, 并且出现不同程度形态学改变, 细胞体积缩小变圆, 细胞核呈不规则形, 核被膜外折或内陷, 核固缩并边集在核膜下呈月牙状或腰带状, 胞质浓缩, 胞质内嗜碱性板层体减少, 排空增多。中药组较模型组明显改善。



①: 假手术组; ②: 模型组; ③: 中药组

图 4 透射电镜下观察各组大鼠肺组织变化

3 讨论

细胞凋亡是指细胞受内在遗传机制的控制自动结束生命的过程。细胞凋亡与细胞坏死不同, 它不是一个被动的过程, 而是主动过程, 它涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用^[7-8]。凋亡过程的紊乱可能与许多疾病的发生有直接或间接的关系^[9-14]。肺泡上皮细胞的凋亡在 ALI 的病理过程中起到重要作用^[15]。肺泡上皮细胞的过度凋亡可导

致肺组织结构的破坏,分泌表面活性物质减少,肺泡萎陷,加重肺损伤;抑制肺组织细胞凋亡可有效防治肺损伤^[16-20]。

另有研究表明,肺纤维化即为细胞凋亡紊乱而引起的,肺上皮细胞具有抑制成纤维细胞增殖的功能,其过度凋亡导致成纤维细胞过度增生,加之肺巨噬细胞凋亡增多而引发肺纤维化^[21],其中肺泡上皮细胞的凋亡起到尤其重要的作用^[22]。研究发现,肺纤维化时细胞凋亡与多种基因及其表达产物如 p53、人细胞色素 C (Cyt-c)、Bcl-2 家族、Fas/FasL、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 (caspase) 等密切相关^[23]。其中 Bcl-2 基因家族是最受重视的凋亡因子之一,其高表达表示细胞能够耐受多种毒性因子的杀伤作用,从而延迟细胞凋亡。目前已经发现的 Bcl-2 蛋白家族按功能可分为两类,一类是像 Bcl-2 一样具有抑制凋亡作用,如 Bcl-XL、Bcl-W 等,而另一类具有促进凋亡作用,如 Bax、Bcl-Xs、Bak 等。有研究表明, Bcl-2 可与 Bcl-2 家族具有促进凋亡作用的 Bcl-Xs、Bax、Bak 等形成同源蛋白二聚体,而特定的蛋白二聚体可作为在细胞死亡信号通路上的分子开关,从而调控细胞凋亡^[24],细胞是否凋亡可由 Bax/Bcl-2 两蛋白间的比例关系决定^[25-27]。Kuwano 等^[23]也发现,细胞凋亡失衡,促凋亡基因 Bax 表达增强,可能是引起肺纤维化的重要因素。

本课题组前期的临床及动物实验已证实,清肺承气汤可清肺解毒、泻热通便。在防治肠屏障损伤方面有着重要的作用,同时对肺脏可以起到保护作用。主要包括以下几方面机制^[6]: ① 提高肠上皮细胞功能、改善肠屏障功能和维持肠黏膜正常通透性; ② 促进肠蠕动,缩小内毒素细菌池; ③ 降低肠道缺血/再灌注 (I/R) 损伤,减轻氧自由基损害; ④ 促进血液循环。为了探讨清肺承气汤在严重腹腔感染大鼠导致 ALI 发病过程中的作用,本研究观察了其对肺组织细胞凋亡及凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 表达的影响。通过 TUNEL 法定量观察到模型组肺组织凋亡率明显增加,而予以中药干预后肺组织细胞凋亡率显著降低,提示清肺承气汤可以减轻肺组织细胞凋亡,从而减轻肺损伤。此结果与病理学观察结果相一致。

严重腹腔感染大鼠肺组织细胞的促凋亡基因 Bax 表达增强,而抑凋亡基因 Bcl-2 表达明显降低。Bax 表达的上调,在拮抗 Bcl-2 的抑凋亡作用的同时,还可以直接促进细胞的凋亡^[28-29]。清肺承气汤干预后, Bax 蛋白表达较模型组降低虽差异无统计

学意义,但呈减弱趋势; Bcl-2 蛋白表达明显增强。由于 Bcl-2 是一种重要凋亡调控蛋白,其抗凋亡机制目前认为主要有拮抗促凋亡基因 Bax、抑制促凋亡的蛋白质细胞色素 C 自线粒体释放到胞质、阻止胞质中的细胞色素 C 激活 caspase、抗氧化及维持细胞内钙稳态等作用,从而降低细胞凋亡率。提示清肺承气汤可能通过调节 Bax/Bcl-2 比值从而降低了肺组织的细胞凋亡。

严重腹腔感染时最重要的并发症即器官功能障碍,而肺组织为最早受累的器官之一。在严重腹腔感染所致 ALI 中,细胞凋亡的作用机制可能为: ① 肺泡弥散功能下降:肺毛细血管内皮细胞和肺泡上皮细胞过度凋亡,导致血管壁及肺泡壁通透性增高,渗出增加^[30]; ② 促炎与抗炎反应失衡:淋巴细胞大量凋亡,使机体免疫功能紊乱^[31]。还有研究表明,炎症细胞因子如 TNF- α 、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 均可增加体内外细胞的凋亡^[32-33]。

故本实验通过检测促炎因子 TNF- α 、IL-6 水平,进一步观察炎症因子与细胞凋亡间的关系^[34]。结果显示,中药作用后严重腹腔感染大鼠肺组织中炎症介质 TNF- α 呈下降趋势,而 IL-6 含量则明显下降,提示中药可降低炎症因子的运输和释放。可能的作用机制为: ① TNF- α 及 IL-6 等多种炎症因子可通过神经酰胺等多种信号转导途径启动细胞凋亡程序,促进细胞凋亡^[35-37],故肺组织细胞凋亡的严重程度与炎症因子释放的多少有直接关系。② TNF- α 等多种细胞因子可调节凋亡抑制基因 Bcl-2 的表达^[38],通过提高抑凋亡基因的表达,降低促凋亡基因的表达,调节二者之间的相对平衡而使细胞凋亡减轻。

通过本实验我们观察到严重腹腔感染时肺组织内大量细胞发生凋亡,予以清肺承气汤干预后,肺组织细胞凋亡减轻,提示中药可通过调控细胞凋亡而有助于防治严重腹腔感染时所导致的远隔器官 (尤其是肺组织) 损伤。

参考文献

- [1] Koltuksuz U, Ozen S, Uz E, et al. Caffeic acid phenethyl ester prevents intestinal reperfusion injury in rats [J]. J Pediatr Surg, 1999, 34 (10): 1458-1462.
- [2] Bhatia M, Mochhala S. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome [J]. J Pathol, 2004, 202 (2): 145-156.
- [3] Magnotti LJ, Upperman JS, Xu DZ, et al. Gut-derived mesenteric lymph but not portal blood increases endothelial cell permeability and promotes lung injury after hemorrhagic shock [J]. Ann Surg, 1998, 228 (4): 518-527.
- [4] Deitch EA, Adams C, Lu Q, et al. A time course study of the

- protective effect of mesenteric lymph duct ligation on hemorrhagic shock-induced pulmonary injury and the toxic effects of lymph from shocked rats on endothelial cell monolayer permeability [J]. Surgery, 2001, 129 (1): 39-47.
- [5] 顾勤. 急性呼吸窘迫综合征的死亡率与危险因子[J]. 国外医学内科学分册, 1995, 22 (1): 17-18.
- [6] 喻文立, 崔乃强, 刘洪斌, 等. 清热解毒方剂对腹腔感染大鼠肠黏膜屏障功能的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2009, 15 (3): 305-308.
- [7] 蒋祝昌, 毕桂南, 石胜良. 黄皮酰胺对高血压局灶性脑缺血/再灌注大鼠 Bcl-2 蛋白表达和细胞凋亡的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17 (5): 289-292.
- [8] 赵燕玲, 曲友直, 王宗仁. 黄芪对脑缺血/再灌注后神经细胞凋亡及凋亡相关基因表达的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12 (6): 341-343.
- [9] Kerr JF, Winterford CM, Harmon BV. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy [J]. Cancer, 1994, 73 (8): 2013-2026.
- [10] Ogawa N, Dang H, Talal N. Apoptosis and autoimmunity [J]. J Autoimmun, 1995, 8 (1): 1-19.
- [11] Gougeon ML, Montagnier L. Apoptosis in AIDS [J]. Science, 1993, 260 (5112): 1269-1270.
- [12] Raff MC, Barres BA, Burne JF, et al. Programmed cell death and the control of cell survival: lessons from the nervous system [J]. Science, 1993, 262 (5134): 695-670.
- [13] Biffl WL, Moore EE, Zallen G, et al. Neutrophils are primed for cytotoxicity and resist apoptosis in injured patients at risk for multiple organ failure [J]. Surgery, 1999, 126 (2): 198-202.
- [14] 董月青, 黄军华, 姚咏明. 脓毒症中 T 淋巴细胞凋亡及其调控研究进展[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16 (6): 381-384.
- [15] Michalska A, Jurczyk AP, Machala W, et al. Pulmonary contusion and acute respiratory distress syndrome (ARDS) as complications of blunt chest trauma [J]. Arch Med Sadowej Kryminol, 2009, 59 (2): 148-154.
- [16] 门秀丽, 张连元, 董淑云, 等. 牛磺酸对大鼠肢体缺血再灌注后肺损伤时细胞凋亡的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20 (3): 421-424.
- [17] 徐正衿, 倪世容, 王万铁, 等. 三七总皂甙对肺缺血再灌注损伤时细胞凋亡及 Fas/FasL 的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21 (9): 1731-1734.
- [18] Kim JS, Jin Y, Lemasters JJ. Reactive oxygen species, but not Ca^{2+} overloading, trigger pH- and mitochondrial permeability transition-dependent death of adult rat myocytes after ischemia-reperfusion [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 290 (5): H2024-2034.
- [19] Xia ZY, Gao J, Ancharaz AK, et al. Ischaemic post-conditioning protects lung from ischaemia-reperfusion injury by up-regulation of haeme oxygenase-1 [J]. Injury, 2010, 41 (5): 510-516.
- [20] 耿庆, 乌达, 谢远财, 等. 人参皂甙 Rb1 对肺缺血/再灌注损伤细胞凋亡及其调控基因表达的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12 (3): 159-161.
- [21] Krein PM, Winston BW. Roles for insulin-like growth factor I and transforming growth factor-beta in fibrotic lung disease [J]. Chest, 2002, 122 (6 Suppl): 289S-293S.
- [22] Zhang M, Qian J, Xing X, et al. Inhibition of the tumor necrosis factor-alpha pathway is radioprotective for the lung [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14 (6): 1868-1876.
- [23] Kuwano K, Hagimoto N, Tanaka T, et al. Expression of apoptosis-regulatory genes in epithelial cells in pulmonary fibrosis in mice [J]. J Pathol, 2000, 190 (2): 221-229.
- [24] Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival [J]. Science, 1998, 281 (5381): 1322-1326.
- [25] Yin XM, Oltvai ZN, Korsmeyer SJ. BH1 and BH2 domains of bcl-2 are required for inhibition of apoptosis and heterodimerization with Bax [J]. Nature, 1994, 369 (6478): 321-323.
- [26] 刘英, 郭世杰, 孙景辉, 等. 缺氧缺血性脑损伤新生大鼠心肌细胞凋亡及凋亡蛋白 Bax, Bcl-2 表达的变化[J]. 临床儿科杂志, 2009, 27 (12): 1172-1176.
- [27] 上官海娟, 徐江, 官洪山, 等. 当归对心肌梗死后心肌细胞凋亡和心室重构的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15 (1): 39-44.
- [28] Oltvai ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death [J]. Cell, 1993, 74 (4): 609-619.
- [29] 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 等. 胃癌组织中促凋亡基因 Bax 的表达及意义[J]. 第三军医大学学报, 1998, 20 (2): 121-123.
- [30] 石富胜, 鲁刚英, 狄桂萍, 等. 细胞凋亡在烫伤鼠肺组织损伤中的作用及其机制的实验研究[J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14 (2): 78-82.
- [31] Green DR, Beere HM. Apoptosis: gone but not forgotten [J]. Nature, 2000, 405 (6782): 28-29.
- [32] Dunger A, Augstein P, Schmidt S, et al. Identification of interleukin 1-induced apoptosis in rat islets using in situ specific labelling of fragmented DNA [J]. J Autoimmun, 1996, 9 (3): 309-313.
- [33] Liu ZH, Striker GE, Stetler-Stevenson M, et al. TNF- α and IL-1 α induce mannose receptors and apoptosis in glomerular mesangial but not endothelial cells [J]. Am J Physiol, 1996, 270 (6 Pt 1): C1595-1601.
- [34] 张或, 任延波, 蒋丽. 脓毒症早期大鼠肾脏细胞凋亡及炎症细胞因子的变化 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18 (2): 89-91.
- [35] Takeda Y, Watanabe H, Yonehara S, et al. Rapid acceleration of neutrophil apoptosis by tumor necrosis factor-alpha [J]. Int Immunol, 1993, 5 (6): 691-694.
- [36] 王颖, 张淑文, 王宝恩. 细胞凋亡在大鼠急性肺损伤发生机制中的意义[J]. 中国危重病急救医学, 2001, 13 (2): 90-94.
- [37] Klein JB, Rane MJ, Scherzer JA, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor delays neutrophil constitutive apoptosis through phosphoinositide 3-kinase and extracellular signal-regulated kinase pathways [J]. J Immunol, 2000, 164 (8): 4286-4291.
- [38] 何凤田, 朱锡华, 黄云辉. bcl-2 对 IL-1 和 TNF- α 表达的调节作用初探[J]. 生物化学与生物物理进展, 1999, 26 (5): 500-501.

(收稿日期: 2013-11-07)

(本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊对标注染色方法及放大倍数的有关要求

本刊从 2012 年 1 期起, 凡文章内及图片说明中标注的染色方法及放大倍数, 均使用“低倍放大”、“中倍放大”或“高倍放大”表示。图片放大倍数低于 200 倍为低倍, 等于 200 倍为中倍, 大于 200 倍为高倍, 例如“HE $\times 40$ ”将标注为“HE 低倍放大”, 不再标注具体放大倍数。