

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001979

大黄素对重症急性胰腺炎小鼠 Treg/Th17平衡的影响及机制研究

伍 洋, 刘 英, 刘济滔, 尹德锋

(西南医科大学附属医院急诊医学部, 泸州 646000)

【摘要】目的:探讨大黄素对重症急性胰腺炎小鼠 Treg/Th17 平衡的影响及可能的机制。**方法:**将 60 只 C57BL/6 小鼠按照随机数表法分为 3 组: 正常对照组 ($n=20$)、模型对照组 ($n=20$) 和药物组 ($n=20$), 采用雨蛙素联合脂多糖法制备重症急性胰腺炎小鼠模型。模型构建成功后, 药物组腹腔注射 2.5 mg/(kg·d) 大黄素, 模型对照组和正常对照组均给予同等剂量的生理盐水。给药后 48 h, 将小鼠麻醉后处死。ELISA 法检测血清中淀粉酶、脂肪酶、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO) 和白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) 水平; 流式细胞术法检测脾脏组织中调节性 T 细胞 (regulatory T-cell, Treg) 及辅助性 Th17 细胞 (T helper cell 17, Th17) 比例; q-PCR 法检测脾脏组织叉头状/翼状螺旋转录因子 3 (forkhead or winged helix transcription, FOXP3)、视黄酸相关的孤儿受体 γ t (retinoid acid related orphan receptor gamma t, ROR γ t) 和 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) mRNA 的表达。**结果:**与正常对照组比较, 模型对照组血清脂肪酶、血清淀粉酶、TNF- α 、DAO、IL-10 水平及 Foxp3、ROR γ t 和 TLR4 mRNA 表达量明显升高; Treg 及 Th17 细胞数均升高, 但 Th17 细胞上升比例高, Treg/Th17 降低。与模型对照组比较, 药物组血清脂肪酶、血清淀粉酶、TNF- α 、DAO、IL-10 水平及 Foxp3、ROR γ t 和 TLR4 mRNA 表达量明显降低。Treg 及 Th17 细胞数均有所降低, Treg/Th17 升高, 均具有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论:**大黄素可明显降低 TNF- α 、DAO 和 IL-10 的表达, 缓解炎症应激和氧化应激反应, 同时可调节 Treg/Th17 平衡, 改善免疫紊乱, 从而发挥治疗重症急性胰腺炎的作用。

【关键词】大黄素; 重症急性胰腺炎; 小鼠; Treg 细胞; Th17 细胞

【中图分类号】R917

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-09-12

Effect of emodin on regulatory T cell/T helper 17 cell balance in mice with severe acute pancreatitis and related mechanism

Wu Yang, Liu Ying, Liu Jitao, Yin Defeng

(Emergency Medical Department, Affiliated Hospital of Southwest Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of emodin on regulatory T cell (Treg)/T helper 17 cell (Th17) balance in mice with severe acute pancreatitis and the possible mechanism. **Methods:** A total of 60 C57BL/6 mice were divided into normal control group, model control group, and drug group using a random number table, with 20 mice in each group. Cerulein combined with lipopolysaccharide was used to establish a mouse model of severe acute pancreatitis. After the model was established successfully, the mice in the drug group were given intraperitoneally injected with emodin at a dose of 2.5 mg/kg/day, and those in the model control group and the normal control group were given normal saline at the same dose. The mice were sacrificed after anesthesia at 48 hours after administration. ELISA was used to measure the serum levels of amylase, lipase, tumor necrosis factor- α (TNF- α), diamine oxidase (DAO), and interleukin-10 (IL-10); flow cytometry was used to measure the percentages of Treg cells and Th17 cells in the spleen; q-PCR was used to measure the mRNA expression of forkhead or winged helix transcription factor (Foxp3), retinoid acid-related orphan receptor gamma t (ROR γ t), and Toll-like receptor 4 (TLR4) in the spleen. **Results:** Compared with the normal control group, the model control group had significant increases in the serum levels of lipase, amylase, TNF- α , DAO, and IL-10, the mRNA expression of Foxp3, ROR γ t, and TLR4, and the number of Treg and Th17 cells, as well as a significantly greater increase in the percentage of

Th17 cells and a significant reduction in Treg/Th17 ratio (all $P<0.05$). Compared with the model control group, the drug group had significant reductions in the serum levels of lipase, amylase, TNF- α , DAO, and IL-10, the mRNA expression of Foxp3,

作者介绍: 伍 洋, Email: wy125686@163.com,

研究方向: 急诊重症医学。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190515.1014.002.html>

(2019-05-15)

ROR γ t, and TLR4, and the number of Treg and Th17 cells and a significant increase in Treg/Th17 ratio (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Emodin can significantly reduce the expression of TNF- α , DAO, and IL-10 and relieve inflammatory stress and oxidative stress response. It can also regulate Treg/Th17 balance, improve immune disorders, and thus play a role in the treatment of severe acute pancreatitis.

【Key words】 emodin; severe acute pancreatitis; mouse; regulatory T cell; T helper 17 cell

急性胰腺炎是临床常见的消化内科疾病,主要是胰酶被激活后引起胰腺组织自身消化而导致炎症反应^[1]。重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是急性胰腺炎的特殊类型,具有较高的致死率^[2]。对重症急性胰腺炎患者进行更为有效的预防及治疗,是目前的临床工作重点。而研发出疗效稳定 and 安全性高的新型药物是防治重症急性胰腺炎的热点。大黄素是中草药大黄的有效成分之一,具有抗炎、扩张血管、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤和导泄利尿的作用^[3]。研究报道,大黄素可通过降低胰腺细胞的凋亡,进而治疗重症急性胰腺炎小鼠^[4]。但其在重症急性胰腺炎免疫功能方面的研究较少。本研究通过构建 SAP 小鼠模型,探讨其对 SAP 小鼠免疫功能的影响及可能的机制,对大黄素临床应用有重要意义。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

大黄素购自上海晶都生物技术有限公司;雨蛙素和脂多糖购自上海北诺生物科技有限公司;淀粉酶和脂肪酶 ELISA 试剂盒均购自上海江莱生物科技有限公司;TNF- α 、DAO 和 IL-10 ELISA 试剂盒均购自上海古朵生物科技有限公司;Anti-Mouse/Rat CD4-FITC、Anti-Mouse/Rat Foxp3 APC 和 Anti-Mouse/Rat IL-17A-PE 均购自 BD 中国分公司,Trizol 总 RNA 试剂盒购自上海名劲生物科技有限公司,逆转录试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司;SYBR 染料法荧光定量试剂盒购自武汉科昊佳生物科技有限公司;Foxp3、TLR4 和 GAPDH 引物序列购自生工生物工程(上海)股份有限公司。FACS Calibur 流式细胞仪购自 BD 中国分公司;Thermo 赛默飞世尔 Multiskan FC 酶标仪购自赛默飞世尔科技有限公司;Eppendorf 5920 R 高速大容量冷冻离心机购自 Eppendorf 艾本德中国有限公司。

1.2 主要方法

1.2.1 实验动物 SPF 级,雄性,C57BL/6,体质量 20~25 g,

由复旦大学(实验动物科学部)提供,实验动物生产许可证为 SCXK(沪)2014-0004,使用许可证为 SYXK(沪)2014-0029。

1.2.2 模型构建 构建模型小鼠,需禁食不禁水 12 h。将 60 只 C57BL/6 小鼠按照随机数表法分为 3 组,正常对照组、模型对照组和药物组,每组各 20 只。模型对照组和药物组腹腔注射 50 μ g/kg 雨蛙素,间隔 1 h 注射 1 次,共 6 次,末次注射雨蛙素后立即腹腔注射 10 mg/kg 脂多糖。正常对照组腹腔注射相同剂量的生理盐水,间隔 1 h 注射 1 次,共 7 次。40 只小鼠模型构建均成功,1 h 后,药物组腹腔注射 2.5 mg/(kg·d) 大黄素,模型对照组和正常对照组均给予同等剂量的生理盐水。48 h 后使用乙醚麻醉小鼠,采用眼球取血法,取血 750 μ L,4 $^{\circ}$ C 静置过夜使用离心机离心取上层血清,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。处死小鼠后无菌条件下解剖小鼠,取出脾脏,剥离外层结缔组织后,放置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。

1.2.3 ELISA 法检测血清中淀粉酶、脂肪酶、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)和白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)水平取出置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱的血清,严格按照试剂盒说明书进行实验操作,检测血清淀粉酶、脂肪酶、TNF- α 、DAO 和 IL-10 水平。

1.2.4 流式细胞仪检测调节性 T 细胞(regulatory T-cell, Treg)及辅助性 Th17 细胞(T helper cell 17, Th17)比例 ①取出冰箱中放置的脾脏,剪取部分组织制备脾淋巴细胞分离液。②取 2 只试管,分别加入 PMA(终浓度 50 ng/mL)、离子霉素(终浓度 1 μ g/mL)和莫能霉素(终浓度 1.7 μ g/mL),置于 37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂ 培养箱刺激培养 4 h;每管中加入 Anti-Mouse/Rat CD4-FITC 抗体,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中避光孵育 20 min,以 1:1 加入细胞固定液,室温孵育 20 min。③每 4 \times 10⁵ 个细胞中加入 200 μ L 细胞破膜剂,2 只管分别加入 Anti-Mouse/Rat IL-17A-PE 抗体和 Anti-Mouse/Rat Foxp3 APC,避光室温孵育 30 min, PBS 洗涤后上流式仪检测 Treg 和 Th17 细胞比例。④采用 FlowJo 10 软件对数据进行分析。

1.2.5 q-PCR 法检测叉头状/翼状螺旋转录因子 3(forkhead or winged helix transcription, FOXP3)、视黄酸相关的孤儿受体 γ t(retinoid acid related orphan receptor gamma t, ROR γ t)和 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)mRNA 的表达 ①剪取部分脾脏组织,依据 Trizol 试剂盒说明书提取组织总 RNA。②测定 RNA 的浓度和纯度后,依据逆转录试剂盒说明书将总 RNA 逆转录为总 cDNA。③依据 SYBR 染料法荧光定

量试剂盒说明书进行荧光定量反应。引物序列如下:Foxp3, F: AAGAATGCCATCCGCCACAACC; R: GGCGTTGGCTCCTC-TTCTTGC; ROR γ t, F: CCTGGGCTCCTCGCCTGACC; R: TCTC-TCTGCCCTCAGCCTTG; TLR4, F: ACAAGGCATGGCATGGC - T TACAC; R: TGTCTCCACAGCCACCAGATTCTC; GAPDH, F: AGAAGGCTGGGGCTCATTG; R: AGGGGCCATCCACAGTC-TTC。

1.3 统计学处理

所有数据使用 SPSS 20.0 统计学软件处理,本研究 TNF- α 、DAO 和 IL-10 等水平经统计学检验符合正态分布,均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间进行方差分析,组内两两比较采用 SNK- q 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组小鼠一般清况观察和死亡率比较

正常对照组小鼠皮毛光泽,呼吸正常,行为活跃,饮食饮水正常,48 h 未发现死亡。模型组小鼠皮毛光泽度较低,呼吸急促,反应较缓慢,全身颤抖,腹泻,48 h 死亡 4 只,死亡率为 20.00%。药物组小鼠症状有所缓解,反应相对活跃,呼吸相对正常,给药后腹泻情况有所好转,48 h 死亡 2 只,死亡率为 10.00%,3 组死亡率比较无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.2 各组小鼠血清淀粉酶和脂肪酶水平比较

与正常对照组比较,模型对照组淀粉酶和脂肪酶水平明显上升 ($q_1=31.645, P_1=0.000; q_2=33.356, P_2=0.000$);与模型对照组比较,药物组淀粉酶和脂肪酶水平明显下降 ($q_1=23.446, P_1=0.000; q_2=24.265, P_2=0.000$),见表 1。

表 1 各组血清小鼠淀粉酶和脂肪酶水平比较 (U/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	淀粉酶	脂肪酶
正常对照组 (n=20)	1 335.71 \pm 134.75	187.98 \pm 19.12
模型对照组 (n=16)	4 125.73 \pm 413.24 ^a	654.25 \pm 66.21 ^a
药物组 (n=18)	2 058.61 \pm 210.36 ^b	315.47 \pm 33.11 ^b
F 值	269.731	297.640
P 值	0.000	0.000

注:a,与正常对照组组比较, $P<0.05$; b:与模型对照组比较, $P<0.05$

2.3 各组小鼠血清 TNF- α 、DAO 和 IL-10 水平比较

与正常对照组比较,模型对照组 TNF- α 、DAO 和 IL-10 水平明显上升 ($q_1=39.991, P_1=0.000; q_2=15.301, P_2=0.000; q_3=37.891, P_3=0.000$);与模型对照组比较,药物组 TNF- α 、DAO 和 IL-10 水平明显下降 ($q_1=24.026, P_1=0.000; q_2=12.531, P_2=0.000; q_3=26.665, P_3=0.000$),见表 2。

2.4 各组小鼠 Treg 及 Th17 比例比较

与正常对照组比较,Treg 及 Th17 细胞数均升高,但 Th17 细胞上升比例高,Treg/Th17 降低 ($q_1=13.224, P_1=0.000; q_2=17.076, P_2=0.000; q_3=4.027, P_3=0.000$)。与模型对照组比较,药物组 Treg 及 Th17 细胞数均有所降低,Treg/Th17 升高,均具有统计学意义 ($q_1=8.449, q_2=15.815, q_3=5.352, P<0.05$),见表 3、图 1。

2.5 Foxp3、ROR γ t 和 TLR4 mRNA 表达量比较

与正常对照组比较,模型对照组脾脏组织 Foxp3、ROR γ t 和 TLR4 mRNA 表达量明显升高 ($P<0.05$);与模型对照组比较,药物组脾脏组织 Foxp3、ROR γ t 和 TLR4 mRNA 表达量明显降低 ($P<0.05$),如图 2 所示。

表 2 各组小鼠血清 TNF- α 、DAO 和 IL-10 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	肿瘤坏死因子- α (pg/mL)	二胺氧化酶(μ g/L)	白细胞介素-10(pg/mL)
正常对照组 (n=20)	36.21 \pm 3.21	121.23 \pm 12.94	41.58 \pm 4.25
模型对照组 (n=16)	187.32 \pm 18.13 ^a	198.38 \pm 20.01 ^a	200.75 \pm 20.77 ^a
药物组 (n=18)	96.54 \pm 9.45 ^b	135.21 \pm 13.95 ^b	88.73 \pm 8.94 ^b
F 值	405.260	66.482	378.750
P 值	0.000	0.000	0.000

注:a,与正常对照组组比较, $P<0.05$; b:与模型对照组比较, $P<0.05$

表 3 各组小鼠 Treg 及 Th17 比例比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	调节性 T 细胞(%)	辅助性 T 细胞 17(%)	调节性 T 细胞/辅助性 T 细胞 17
正常对照组	11.81 \pm 2.17	16.97 \pm 2.08	0.70 \pm 0.19
模型对照组	21.32 \pm 2.41 ^a	35.46 \pm 4.55 ^a	0.60 \pm 0.07 ^a
药物组	15.24 \pm 2.24 ^b	18.34 \pm 3.18 ^b	0.83 \pm 0.12 ^b
F 值	44.785	90.608	7.202
P 值	0.000	0.000	0.003

注:a,与正常对照组组比较, $P<0.05$; b:与模型对照组比较, $P<0.05$

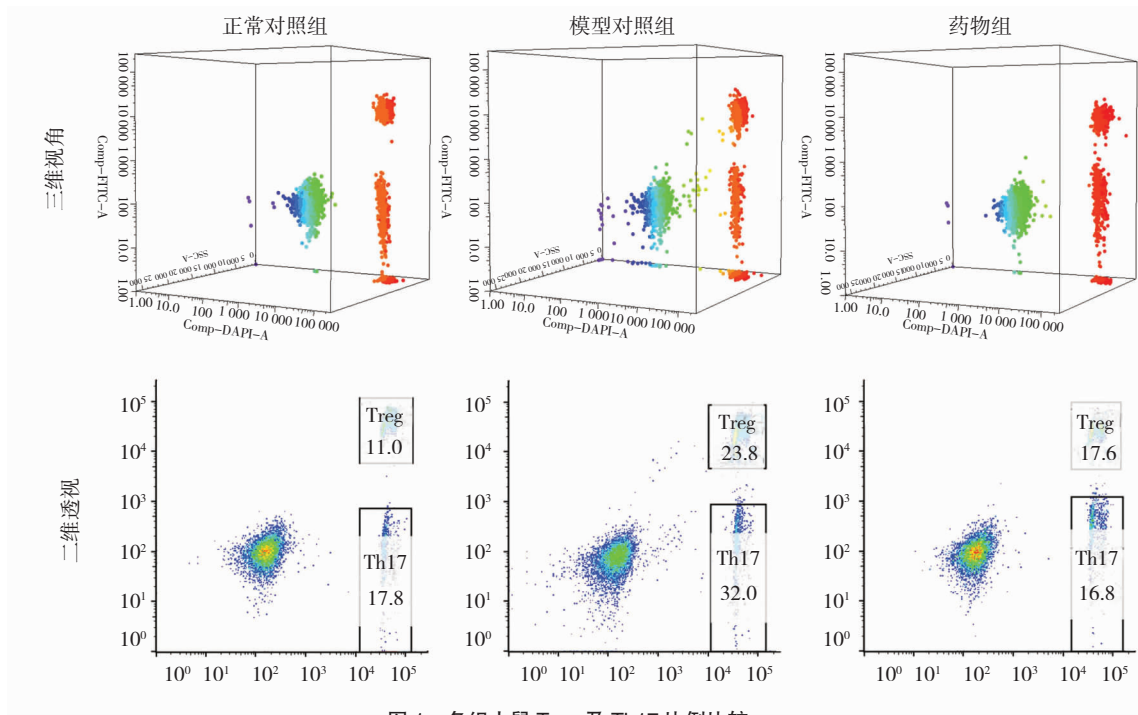
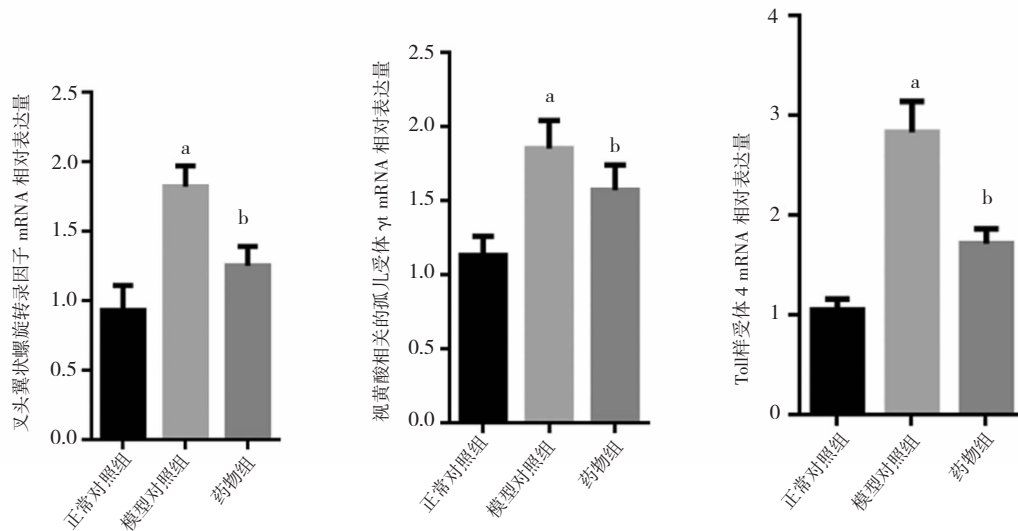


图 1 各组小鼠 Treg 及 Th17 比例比较



a: 与正常对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型对照组比较, $P < 0.05$; 正常对照组、模型对照组、药物组例数分别为 20、16、18

图 2 FcγR3、RORγt 和 TLR4 mRNA 表达量比较

3 讨论

SAP病死率较高,其发病机制较复杂。已有研究表明,细胞因子、氧化应激、细胞凋亡和胰酶自身消化等参与疾病的发生发展^[5]。临床报道,SAP为全身性疾病,该疾病发生时,肠道屏障功能受损,激活大量炎症因子,引起免疫功能紊乱,导致多种脏器受损^[6]。大黄主要成分有大黄素、大黄酚、大黄酸等,药理作用广泛,具有抗炎、排除毒素、改善胰腺循环的药理作用,已经应用于临床SAP的辅助治疗^[7]。而大

黄素是从大黄、虎杖、决明子中提取的一种活性成分,文献报道大黄素在SAP模型鼠中应用具有一定的治疗效果^[8-9],但目前对其具体机制报道较少,且中药治疗具有多靶点的特点,其具体机制仍有待挖掘。本研究通过构建SAP模型,研究其对免疫功能的影响。

血清淀粉酶和脂肪酶是胰腺炎常见的临床诊断指标。当发生胰腺炎时,血清淀粉酶会短时间内迅速上升,其含量超过正常值3倍以上。血清脂肪酶主要来自胰腺,一般在胰腺炎发作3d后其含量会迅速上升,持续时间较长^[10]。本研究发现,与正

常对照组比较,模型对照组淀粉酶和脂肪酶水平明显上升;与模型对照组比较,药物组淀粉酶和脂肪酶水平明显下降。结果表明:SAP 小鼠胰腺功能受损,侧面验证模型构建成功;大黄素可减轻胰腺损伤,缓解疾病的严重程度。其可能的机制是:雨蛙素可引起胰酶自身消化,诱发胰腺炎,脂多糖可促进炎症因子的释放,促进疾病的发生和发展;大黄素具有抗炎的作用,可减轻胰腺损伤。

SAP常合并多种并发症,例如全身炎症反应综合征、多器官功能障碍症等。研究发现,SAP 存在 Treg/Th17 免疫失衡和细胞因子异常分泌的情况^[1]。Th17 细胞与自身免疫病和炎症反应有密切关系,其可分泌 IL-17,促进炎症因子 TNF- α 和 IL-6 等多种因子的释放^[2]。Treg 细胞可抑制自身免疫反应的发生,具有负向免疫调节作用,主要分泌 IL-10 和 TGF- β 等抑炎因子,发挥抗炎作用^[3]。虽然两者作用并不相同,但是两者相互制约,维持动态平衡,有助于保持机体内稳态。DAO 水平可反映肠黏膜损伤程度。本研究发现与正常对照组比较,模型对照组 TNF- α 、DAO 和 IL-10 水平明显上升,Treg 及 Th17 细胞数均升高,Treg/Th17 降低;与模型对照组比较,药物组 TNF- α 、DAO 和 IL-10 水平明显下降,药物组 Treg 及 Th17 细胞数均有所降低,Treg/Th17 升高。结果表明:SAP 小鼠肠黏膜受损,存在 Treg/Th17 免疫失衡和炎症因子异常分泌的情况,加重 SAP 进程;大黄素可以减轻 SAP 小鼠肠黏膜损伤,改善 Treg/Th17 免疫失衡,调节相关炎症因子分泌,从而治疗 SAP。这与杨宝晶的研究结果^[4]一致,其也认为大黄素可改善 Treg/Th17 免疫失衡,降低疾病的严重程度。

Foxp3 是影响 Treg 细胞发育和功能的重要转录因子^[5]。ROR γ t 和 Foxp3 的平衡决定了 CD4⁺初始 T 细胞分化为 Th17 细胞还是 Treg 细胞。TLR4 是 TLR 家族成员之一,其主要表达于髓源性细胞,与相应配体结合后可激活 TLR4 相关信号通路,促进多种炎症因子的释放。研究报道,TLR4 信号途径可导致 Treg/Th17 平衡失调^[6]。本研究发现,与正常对照组比较,模型对照组脾脏组织 Foxp3、ROR γ t 和 TLR4 mRNA 表达量明显升高;与模型对照组比较,药物组脾脏组织 Foxp3、ROR γ t 和 TLR4 mRNA 表达量明显降低。结果表明:ROR γ t 和 Foxp3 的异常表达可能导致 Treg/Th17 失衡;TLR4 高表达促进炎症反应的发生;大黄素可通过下调 Foxp3、ROR γ t 和 TLR4 的表达,恢复 Treg/Th17 平衡,并降低炎症反应,从而治疗 SAP。这与龚小军等^[7]的研究

是一致的,其也发现大黄素可通过下调 TLR4 的表达,从而发挥治疗 SAP 的效果。

综上所述,大黄素通过改善 Treg/Th17 失衡,降低炎症反应,减轻胰腺损伤,达到治疗 SAP 的目的。本研究结果对大黄素的临床应用有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 唐学军,王小云,彭晓斌. 生长抑素联合肠内营养对老年急性胰腺炎患者肠通透性与免疫反应的影响[J]. 实用老年医学,2016,30(10):812-814.
- [2] 洗丽娜,杨远征,陈伟. VitB1 联合新斯的明足三里注射治疗重症急性胰腺炎胃肠动力障碍的作用[J]. 海南医学,2017,28(24):4059-4060.
- [3] 齐文杰,张苗苗,文艳,等. 重症急性胰腺炎大鼠舌组织小窝蛋白表达及大黄素干预的实验研究[J]. 北京中医药,2018,37(1):40-43.
- [4] 石占利,方堃,孙静,等. 大黄素对重症急性胰腺炎大鼠胰腺腺细胞凋亡的干预作用[J]. 中华全科医学,2017,15(11):1830-1834.
- [5] Lew D, Afghani E, Pandol S. Chronic pancreatitis: current status and challenges for prevention and treatment[J]. Dig Dis Sci, 2017, 62(7): 1702-1712.
- [6] 郭静,张双双,牛国平. 以 3 倍正常上限值为 cut off 值评价血清脂肪酶和淀粉酶对急性胰腺炎的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(3): 336-337, 340.
- [7] 刘海珊,符照康,李永超,等. 生大黄灌肠辅助治疗急性胰腺炎的临床疗效及对淀粉酶与炎症因子的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(5): 962-965.
- [8] 刘瑞霞,齐文杰. 大黄素治疗重症急性胰腺炎的作用与机制研究进展[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(2): 193-195.
- [9] Rohan JD, Osman HG, Patel S. Severe acute pancreatitis attacks are associated with significant morbidity and mortality[J]. Curr Probl Surg, 2014, 51(9): 370-372.
- [10] 杨宝晶,尤胜义,张志远,等. 大黄素治疗重症急性胰腺炎肺损伤机制研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(24): 2943-2947.
- [11] 陈静. 急性胰腺炎患者外周血中 Th17 和 Treg 细胞及其细胞因子水平变化[J]. 空军医学杂志, 2016, 32(6): 368-371.
- [12] 马镇,苏彧. 早期腹腔灌洗对重症急性胰腺炎患者外周血中 Th17/Treg 细胞平衡的影响[J]. 中国急救医学, 2016, 36(9): 829-833.
- [13] 张志远. 大黄素治疗重症急性胰腺炎作用机制的研究[D]. 天津:天津医科大学, 2015.
- [14] 杨宝晶. TLR4 信号途径对重症急性胰腺炎 Treg/Th17 平衡的影响及大黄素治疗作用机制的研究[D]. 天津:天津医科大学, 2016.
- [15] 邱会芬,王雯,王忠永,等. 白癜风患者外周血 Th17 和 Treg 细胞特异性转录因子的检测及意义[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(17): 2881-2883.
- [16] 杨小猛,赵丹,杜丽伟,等. 习惯性流产患者绒毛和蜕膜中 Toll 样受体 4 与 Treg/Th17 细胞免疫平衡的相关性研究[J]. 临床检验杂志, 2015, 33(3): 193-196.
- [17] 龚小军,郜朝霞,王传明. 大黄素对急性胰腺炎大鼠相关炎症因子表达的影响[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(12): 2095-2098.

(责任编辑:冉明会)