

• 论 著 •

NF- κ B 参与感染诱导血管内皮细胞 DcR3 表达升高的初步研究*

陈洪卫, 侯彦强[△]

上海市松江区中心医院检验科, 上海 201600

摘 要:目的 利用体外人脐静脉血管内皮细胞(HUVEC)实验研究核转录因子- κ B(NF- κ B)参与感染诱导诱骗受体 3(DcR3)表达升高的信号转导机制。方法 针对购置的商品化 HUVEC, 分别采用低、中、高 3 种浓度的脂多糖(LPS)0.1、1.0、10.0 μ g/mL、脂磷壁酸(LTA)5、50、500 ng/mL 和酵母聚糖(zymosan)10、100、1 000 μ g/mL 刺激 HUVEC, 设置 4 个处理组:LPS 组、LTA 组、zymosan 组和正常对照组(未经过 LPS、LTA 和 zymosan 刺激的 HUVEC)。流式细胞术检测细胞表面 Toll 样受体 2(TLR2)和 TLR4 的表达, 采用特异性抑制剂阻断 NF- κ B 和 MAPK 信号通路后, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞培养上清液中 DcR3 的表达, 实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)法检测细胞内 DcR3 mRNA 表达水平, Western-blot 法检测细胞内 DcR3 蛋白的表达。结果 流式细胞术检测 HUVEC 细胞表面 TLR2 和 TLR4 的表达分别为(82.23% \pm 2.15%)和(77.87% \pm 1.06%)。以低、中、高 3 个浓度刺激 HUVEC 细胞后, 与对照组相比, 低浓度组上清液中 DcR3 水平无明显升高; 中、高浓度组 DcR3 水平明显高于正常对照组, 差异有统计学意义(均 $P < 0.05$); 高浓度组 DcR3 水平比中浓度组明显增高, 差异有统计意义(均 $P < 0.05$); 随着时间延长, 高浓度刺激后的 HUVEC 细胞上清液中 DcR3 的表达与对照组相比明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。正常对照组、高浓度 LPS 组、高浓度 LTA 组以及高浓度 zymosan 组细胞内 DcR3 mRNA 的相对表达水平分别为(1.00 \pm 0.05)、(2.28 \pm 0.26)、(1.98 \pm 0.30)、(2.10 \pm 0.16)。3 种刺激物组的 DcR3 mRNA 和 DcR3 蛋白表达明显升高, 与对照组相比, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。刺激 12 h 后, 细胞内 DcR3 mRNA 的表达即明显升高, 与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。加入 NF- κ B 抑制剂 PDTC 后, 细胞上清液以及细胞内 DcR3 表达较未加抑制剂组明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而加入 P38 MAPK 抑制剂 U0126 和 PD9859 后, 细胞上清液及细胞内 DcR3 的表达无明显影响。结论 LPS、LTA 以及 zymosan 通过激活 NF- κ B 信号通路诱导 HUVEC 表达 DcR3。

关键词:内毒素; 脂磷壁酸; 酵母聚糖; 人血管内皮细胞; 诱骗受体 3

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.05.015

中图法分类号:R459.7

文章编号:1673-4130(2022)05-0585-06

文献标志码:A

A preliminary study on the role of NF- κ B in the elevated expression of DcR3 induced by infection in vascular endothelial cells*

CHEN Hongwei, HOU Yanqiang[△]

Department of Clinical Laboratory, Shanghai Songjiang District Central Hospital, Shanghai 201600, China

Abstract: Objective To study the NF- κ B by human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) in vitro- κ B is involved in the signal transduction mechanism of increased Decoy receptor 3 (DcR3) expression induced by infection. **Methods** For commercial HUVEC purchased, HUVEC was stimulated with three concentrations of lipopoly saccharide (LPS) (0.1, 1.0, 10.0 μ g/mL), lipoteichoic acid (LTA) (5, 50, 500 ng/mL) and zymosan (10, 100, 1 000 μ g/mL), and four treatment groups were set up: LPS group, LTA group, zymosan group and normal control group (HUVEC without LPS, LTA and zymosan stimulation). The expression of Toll-like

* 基金项目:上海市卫生健康委员会面上项目(201940025)。

作者简介:陈洪卫,男,主管技师,主要从事感染免疫实验诊断方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:houyanqiang@aliyun.com。

本文引用格式:陈洪卫,侯彦强. NF- κ B 参与感染诱导血管内皮细胞 DcR3 表达升高的初步研究[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(5): 585-

receptor 2 (TLR2) and Toll-like receptor 4 (TLR4) on the cell surface was detected by flow cytometry. The NF- κ B and MAPK signaling pathways were blocked by specific inhibitors. The expression of DcR3 in cell culture supernatant was detected by ELISA, the mRNA expression of DcR3 in cells was detected by Real-Time PCR, and the protein expression of DcR3 in cells was detected by Western-blot. **Results** The expression of TLR2 and TLR4 on HUVEC cell surface by flow cytometry was $82.23\% \pm 2.15\%$ and $77.87\% \pm 1.06\%$, respectively. Compared with the control group, the DcR3 level in the supernatant of the low concentration group was not significantly increased after HUVEC cells were stimulated at low, medium and high concentrations. The level of DcR3 in medium and high concentration groups was significantly higher than that in normal control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). DcR3 level in high concentration group was significantly higher than that in medium concentration group, and the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). With the extension of time, the expression of DcR3 in the supernatant of HUVEC cells after high concentration stimulation was significantly increased compared with the control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The relative expression levels of DcR3 mRNA in normal control group, high LPS group, high LTA group and high zymosan group were 1.00 ± 0.05 , 2.28 ± 0.26 , 1.98 ± 0.30 and 2.10 ± 0.16 , respectively. Compared with the control group, the expression of DcR3 mRNA and DcR3 protein were significantly increased in the three stimulants group, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). 12 h after stimulation, the expression of DcR3 mRNA in cells was significantly increased, and the difference was statistically significant compared with the control group. The expression of cell supernatant and intracellular DcR3 in the addition of NF- κ B inhibitor PDTC was significantly decreased compared with that in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$), while the addition of P38 MAPK inhibitors U0126 and PD9859 had no significant effect on the expression of cell supernatant and intracellular DcR3. **Conclusion** LPS, LTA and zymosan upregulated DcR3 expression of HUVEC line partly through NF- κ B signal transduction pathway.

Key words: lipopoly saccharide; lipoteichoic acid; zymosan; human umbilical vein endothelial cells; Decoy receptor 3

脓毒症是由各种致病性微生物(包括细菌、真菌)侵入人体而引起的全身炎症反应。近年来脓毒症的发病率呈上升趋势,其细菌成分内毒素(LPS)、脂磷壁酸(LTA)以及酵母聚糖(zymosan)是重要的致病物质,可导致组织损伤和脓毒症的发生^[1]。有研究表明,内皮细胞的大量活化参与了脓毒症发病的病理过程^[2]。诱骗受体 3(DcR3)是新近发现的一种缺乏穿膜结构域的可溶性肿瘤坏死因子受体超家族成员,在自身免疫性疾病、炎症性疾病和肿瘤组织中的表达都有不同程度上调,其主要功能为抑制炎症、抵抗凋亡和促进肿瘤细胞的增殖与分化^[3]。本课题组前期研究发现脓毒症患者血清 DcR3 表达升高,为了进一步探讨 DcR3 在脓毒症中的功能及表达升高的机制,本研究用革兰阴性菌细胞壁的主要成分 LPS、革兰阳性菌细胞壁的主要成分 LTA 以及真菌细胞壁的主要成分 zymosan 刺激人血管内皮细胞(HUVEC),并检测细胞上清液以及细胞内 DcR3 表达水平的变化,旨在阐明核转录因子- κ B(NF- κ B)参与感染诱导 DcR3 表达升高的信号转导机制。

1 材料与方法

1.1 材料来源 采用购于上海艾研生物科技有限公司的 HUVEC,分别用 0.1 、 1.0 、 $10.0 \mu\text{g/mL}$ LPS、 5 、 50 、 500 ng/mL LTA 和 10 、 100 、 $1\ 000 \mu\text{g/mL}$ zymosan,低、中、高 3 种浓度刺激 HUVEC,设置 4 个处理组:LPS 组、LTA 组、zymosan 组和正常对照组(未经过 LPS、LTA 和 zymosan 刺激的 HUVEC)。

1.2 仪器与试剂 大肠杆菌内毒素 0111;PDTC、V0126、PD9859、B412630、CTA 以及 zymosan 均购自美国 Sigma 公司;TLR2 以及 TLR4 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;DcR3 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购置于上海蔚霆生物科技有限公司;反转录和 PCR 试剂、DcR3 和 GAPDH 抗体购置于上海生工生物工程有限公司。iMark 酶标仪购于美国伯乐公司;ABI 7500 实时荧光定量 PCR(qPCR)仪购于美国 ABI 公司;FACSCaliburTM 流式细胞仪购于美国 BD 公司。

1.3 细胞培养及传代 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出 HUVEC 细胞冻存管,迅速放入 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中,不停摇动,

使其在 1 min 内融化,无菌条件下吸出细胞,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入适量培养液重悬接种于培养瓶中,5% CO₂、37 ℃培养箱培养。待细胞长满细胞瓶时,进行传代,弃去旧培养液,磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗一次,再加入 1.5 mL 胰酶消化,镜下观察细胞回缩变圆、间隙增大时,加入新鲜培养基终止反应,反复吹打细胞重悬,1∶3 转移入培养瓶,5% CO₂、37 ℃培养箱继续培养。

1.4 药物诱导细胞 调整并计数细胞使各孔 105 个细胞,置于 24 孔细胞培养板。待细胞贴壁达到约 80% 时,PBS 洗涤细胞 2 次后,分别用 0.1、1.0、10.0 μg/mL LPS、5、50、500 ng/mL LTA 和 10、100、1 000 μg/mL zymosan,低中高 3 种浓度刺激细胞,刺激时间为 12、24、48 h,各小组设 3 个复孔,重复实验 3 次。

1.5 采用 ELSIA 检测细胞上清液 DcR3 水平 单克隆抗体(mAb)包被 ELISA 板过夜,次日洗板,5%牛血清清蛋白(BSA)封阻。将各组细胞上清液及 DcR3 纯标准品加入酶标板中室温孵育 2 h,洗液洗板 4 次,加入生物素化的二抗室温孵育 2 h,洗液洗板 4 次,加入辣根过氧化物酶结合物工作液室温孵育 30 min,洗液洗板 4 次,加入显色底物(TMB),避光孵育 15 min,加入终止液,混匀后在酶标仪上测量 A₄₅₀。以吸光度为纵坐标,以标准品浓度为横坐标,绘制标准曲线,根据标准曲线得出各组细胞上清液中 DcR3 浓度。

1.6 qPCR 技术检测细胞内 DcR3 mRNA 的表达 Trizol 裂解细胞抽提总 RNA 并逆转录成 cDNA,采用 SYBR green 法对 DcR3 mRNA 的表达水平进行检测。DcR3 特异性引物由上海生工生物工程有限公司合成(表 1)。利用 ABI 7500 qPCR 仪进行基因扩增。PCR 反应条件为:95 ℃预变性 30 s;95 ℃变性 5 s,60 ℃退火并延伸 34 s,进行 40 个循环。收集每个 PCR 延伸期的荧光,反应产物经溶解曲线检测特异性,经 SDS2.2 软件分析循环阈值(Ct)值。以 GAPDH 作为内参(表 1)。采用 2^{-ΔΔCt} 表示计算 mRNA 的表达,其中 ΔΔCt=ΔCt(实验组)-ΔCt(对照组),ΔCt=Ct(靶基因)-Ct(内参基因)。

1.7 Western blot 检测细胞内 DcR3 蛋白的表达 以 RIPA 裂解细胞,BCA 蛋白定量试剂盒定量后,取 50 μg 蛋白,水浴煮沸 10 min 后进行 10.00%十二烷基硫酸钠/聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)电泳,并转移至 PVDF 膜上。5.00%脱脂蛋白室温封闭 2 h,加入适量的 DcR3 和 GAPDH 抗体,4 ℃孵育过夜,0.10%的 PBST 漂洗 3 次,每次 5 min。加辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 1 h 后,PBST 洗 3 次,每次 5 min。结果用 ECL-Plus 化学发光试剂盒检测,以 X 线胶片

曝光、显影和定影,并观察结果。

1.8 流式细胞术检测细胞表面 TLR2 和 TLR4 的表达水平 在细胞培养 24 h 后,收集细胞,以 PBS 洗 3 次,调整细胞浓度为 2×10⁶/mL,取 100 μL 细胞悬液与 5 μL FITC-抗人 TLR2 单抗及 5 μL PE-抗人 TLR4 单抗混匀;同时设阴性对照,置 4 ℃下孵育 30 min,PBS 洗 3 次后重悬于 PBS 中,用流式细胞仪检测,以 CellQuest 软件分析。

表 1 DcR3 和内参 GAPDH 引物序列	
引物名称	引物序列(5'-3')
DcR3	F:CCA CTA CAC GCA GTT CTG GA
	R:GTG CTC CAA GCA GAA ACC AG
GAPDH	F:GTA CGA CTC ACT ATA GGG AA
	R:AGG TGA CAC TAT AGA ATA AA

1.9 统计学处理 数据采用 SPSS20.0 软件进行分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析或 *t* 检验,不同组间比较采用单因素方差分析,再进行 Post Hoc 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

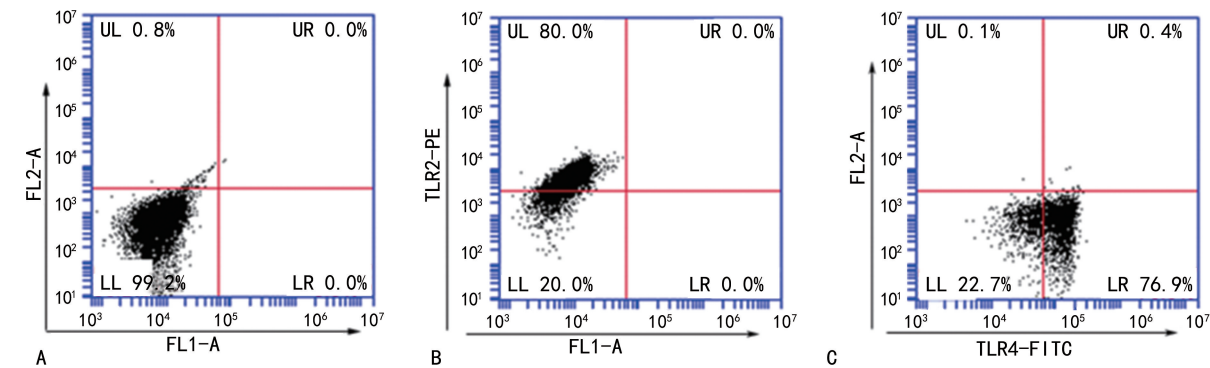
2.1 HUVEC 细胞表面 TLR2 和 TLR4 的表达水平 HUVEC 细胞培养 24 h 后,用流式细胞术检测细胞表面 TLR2 和 TLR4 的表达水平。如图 1 所示,HUVEC 细胞表面既表达 TLR2 又表达 TLR4。其中表达 TLR2 的细胞百分比为(82.23%±2.15%),表达 TLR4 的细胞百分比为(77.87%±1.06%)。

2.2 LPS、LTA 以及 zymosan 刺激细胞后上清液中 DcR3 表达水平的改变 如图 2 所示,低浓度 LPS(0.1 μg/mL)、LTA(5 ng/mL)以及 zymosan(10 μg/mL)刺激细胞后上清液中 DcR3 表达水平无明显升高,中、高浓度 LPS(1.0、10.0 μg/mL)、LTA(50、500 ng/mL)以及 zymosan(100、1 000 μg/mL)刺激细胞后上清液中 DcR3 表达水平明显高于正常对照组,差异有统计学意义(均 *P* < 0.05),且高浓度组 DcR3 表达水平比中浓度组明显增高,差异有统计学意义(均 *P* < 0.05)。高浓度刺激后 12 h,上清液中 DcR3 的表达稍有升高,随着时间延长到 24 h,上清液中 DcR3 的表达与正常对照组相比明显升高,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

2.3 LPS、LTA 以及 zymosan 刺激细胞后细胞内 DcR3 mRNA 的表达变化 高浓度 LPS(10.0 μg/mL)、LTA(500 ng/mL)以及 zymosan(1 000 μg/mL)刺激细胞后细胞内 DcR3 mRNA 的表达见图 3。正常对照组、高浓度 LPS 刺激组、高浓度 LTA 刺

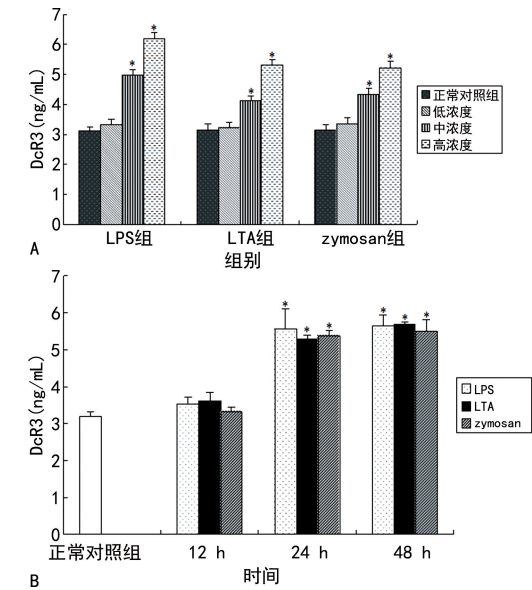
激组以及高浓度 zymosan 刺激组细胞内 DcR3 mRNA 的相对表达水平分别为(1.00±0.05)、(2.28±0.26)、(1.98±0.30)、(2.10±0.16)。经统计学分析显示,经高浓度 LPS、LTA 以及 zymosan 刺激后细胞

内 DcR3 mRNA 表达明显升高,差异有统计学意义(均 $P<0.01$)。刺激 12 h 后,细胞内 DcR3 mRNA 的表达明显升高,与对照组相比差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。



注:流式检测细胞 TLR2 和 TLR4 受体;A 为阴性对照;B 为 TLR2 表达;C 为 TLR4 表达。

图 1 HUVEC 细胞表面 TLR2 和 TLR4 表达水平



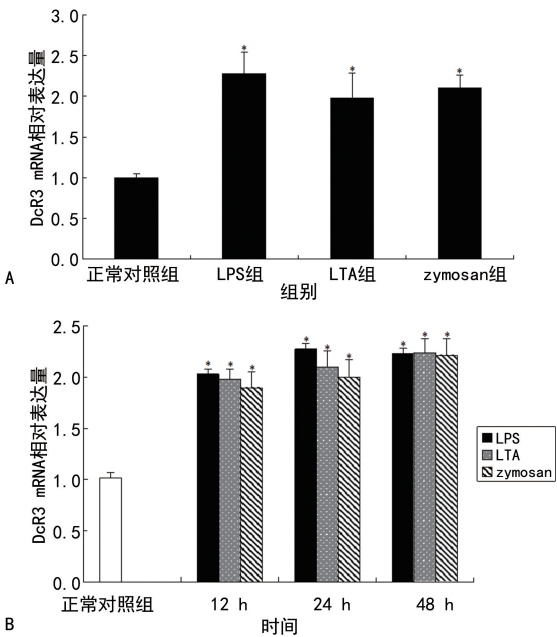
注:A 为分别用 0.1、1.0、10.0 $\mu\text{g/mL}$ LPS、5、50、500 ng/mL LTA 以及 10、100、1 000 $\mu\text{g/mL}$ zymosan 刺激细胞 24 h 后,收集细胞上清液,ELISA 法检测上清液中 DcR3 的表达;B 为分别用 10.0 $\mu\text{g/mL}$ LPS、500 ng/mL LTA 以及 1 000 $\mu\text{g/mL}$ zymosan 刺激细胞 12、24、48 h 后,收集细胞上清液,ELISA 法检测上清液中 DcR3 的表达;与对照组比较,* $P<0.05$ 。

图 2 LPS、LTA 以及 zymosan 刺激细胞后上清液中 DcR3 表达水平的改变

2.4 LPS、LTA 以及 zymosan 刺激细胞后细胞内 DcR3 蛋白的表达变化 Western blot 检测 LPS、LTA 以及 zymosan 刺激后细胞内 DcR3 蛋白的表达见图 4,用高浓度 LPS(10.0 $\mu\text{g/mL}$)、LTA(500 ng/mL)以及 zymosan(1 000 $\mu\text{g/mL}$)刺激后细胞 24 h 后,细胞内 DcR3 蛋白的表达水平明显升高,与正常对照组相比,差异有统计学意义(均 $P<0.05$)。

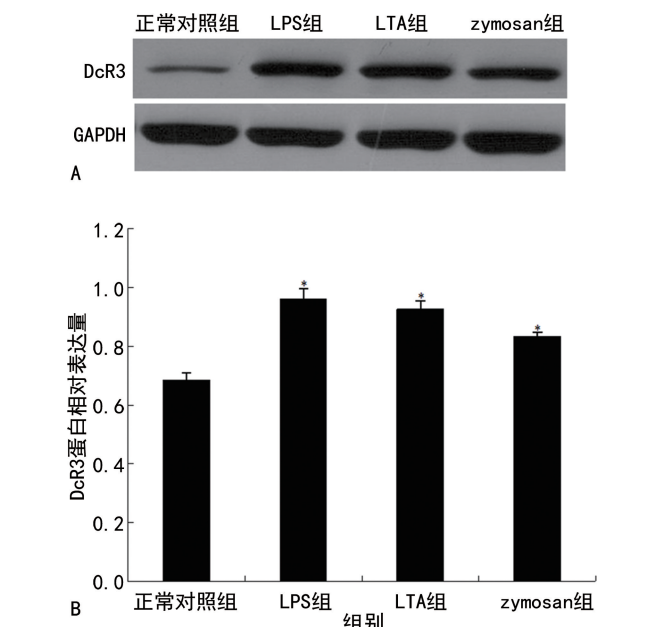
2.5 NF- κ B 信号通路参与了 DcR3 的表达 在用

LPS、LTA 以及 zymosan 刺激的同时加入 P38 MAPK 抑制剂或 NF- κ B 抑制剂,24 h 后检测细胞内以及上清液中 DcR3 的表达,结果如图 5 所示,加入 NF- κ B 抑制剂 PDTC 后,细胞上清液以及细胞内 DcR3 表达较未加抑制剂组明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$),而加入 P38 MAPK 抑制剂 U0126 和 PD9859 后,细胞上清液及细胞内 DcR3 的表达比较差异无统计学意义($P>0.05$)。



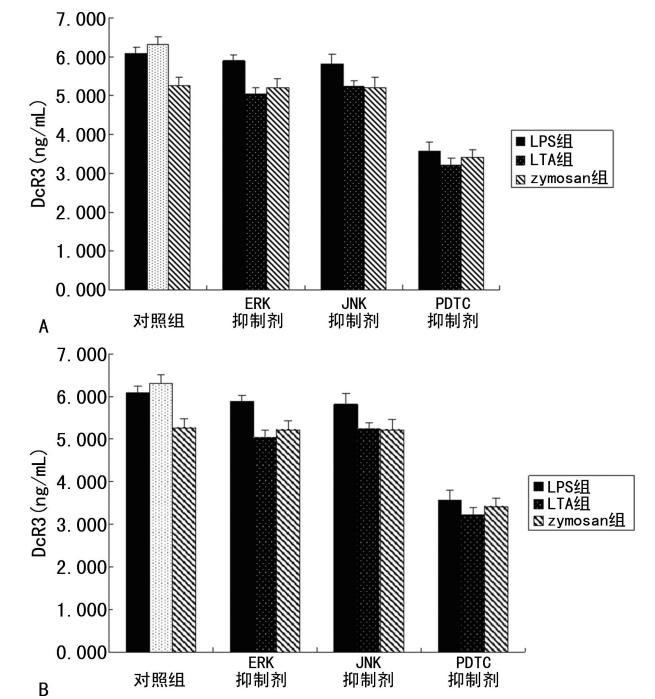
注:A 为分别用 10.0 $\mu\text{g/mL}$ LPS、500 ng/mL LTA 以及 1 000 $\mu\text{g/mL}$ zymosan 刺激细胞 24 h 后,收集细胞,qPCR 检测细胞内 DcR3 mRNA 的表达;B 为分别用 10.0 $\mu\text{g/mL}$ LPS、500 ng/mL LTA 以及 1 000 $\mu\text{g/mL}$ zymosan 刺激细胞 12、24、48 h 后,收集细胞,qPCR 检测细胞内 DcR3 mRNA 的表达;与对照组比较,* $P<0.05$ 。

图 3 LPS、LTA 以及 zymosan 刺激细胞后细胞内 DcR3 mRNA 的表达



注:A为western blot结果;B为DcR3与GAPDH的灰度比;与对照组比较,* $P<0.05$ 。

图4 LPS、LTA以及zymosan刺激细胞后细胞内DcR3蛋白的表达变化



注:HUVEC细胞分别用10.0 $\mu\text{g/mL}$ LPS、500 ng/mL LTA以及1 000 $\mu\text{g/mL}$ zymosan处理的同时加入100 μm NF- κB 抑制剂(PDTC)或20 μm ERK抑制剂(U0126)或JNK抑制剂(PD9859),细胞处理24 h后,收集上清液和细胞。A为上清液中DcR3表达水平的变化;B为细胞内DcR3 mRNA的表达水平。

图5 NF- κB 信号通路参与了DcR3的表达

3 讨论

脓毒症是由感染引起的全身性炎症反应,研究表明,多种病原微生物的细胞壁成分(如革兰阴性菌的LPS、革兰阳性菌的LTA以及真菌的zymosan等)具有强大的抗原刺激能力,均可通过与细胞表面的受体

结合,促进内皮细胞活化,释放大量炎症介质,最终导致失控性炎症反应^[1-2]。有资料表明,TLRs是病原微生物跨膜信号传导的重要受体,介导了多种病原微生物的跨膜信号传导,其中TLR2和TLR4的作用尤为显著。TLR2识别能力广泛,能够识别革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌、螺旋体以及支原体等多种病原体的成分;而TLR4的识别能力较为局限,可能主要参与了LPS的识别与信号传递过程^[4]。由于内皮细胞的激活在脓毒症中发挥了核心作用,本研究首先检测了内皮细胞表面TLRs受体的表达情况,结果显示内皮细胞系HUVEC细胞表面既表达TLR2又表达TLR4。

本课题组前期研究发现,脓毒症患者血清中DcR3表达水平明显高于健康者,且与疾病的严重程度密切相关,但DcR3在脓毒症中表达升高的机制目前尚不明确^[5]。本研究利用不同细菌的细胞壁成分作为抗原刺激HUVEC细胞后,观察细胞内以及上清液中DcR3表达的变化。结果显示,LPS、LTA以及zymosan刺激HUVEC细胞,均可引起细胞内DcR3表达升高,其程度呈时间、浓度依赖性,同时上清液中DcR3的表达也升高。已知DcR3是新近发现的一种缺乏穿膜结构域的可溶性肿瘤坏死因子受体超家族成员,其在自身免疫性疾病、炎症性疾病和肿瘤组织中都有不同程度地表达上调。有研究证实,DcR3具有调节巨噬细胞分化、炎症细胞因子和趋化因子分泌的功能,参与免疫调节和免疫监视^[6],提示DcR3可能参与脓毒症早期病理生理发病机制。

本研究结果显示,LPS、LTA以及zymosan刺激HUVEC细胞,均可引起细胞内DcR3表达升高,其中LPS的受体主要为TLR4,而LTA以及zymosan的受体主要为TLR2,由于TLR2和TLR4的胞内区在结构和功能上具有部分相似性,因此二者在细胞胞内具有一些共同途径进行信号传导,其中主要的两条途径为:(1)TLR2/TLR4-髓系分化蛋白(MyD88)/IRAK-NF- κB 途径;(2)TLR2/TLR4-MyD88/IRAK-丝裂原活化激酶(MAPK)途径^[7]。为了进一步研究DcR3表达升高的具体机制,本研究在LPS、LTA以及zymosan刺激的同时,加入NF- κB 和MAPK信号通路抑制剂,以检测DcR3的表达情况。结果表明,加入NF- κB 抑制剂PDTC后,DcR3的表达水平明显下降,而加入MAPK抑制剂U0126和PD9859后,DcR3的表达水平无明显变化,这说明DcR3的表达与激活NF- κB 通路有关,而与p38 MAPK通路无关。

NF- κB 是一种特殊的核蛋白因子,能与多种蛋白的启动子和增强子序列位点发生特异性结合,促进基

因的转录和表达,参与众多与免疫、炎症反应有关的基因转录,同时也参与细胞增殖和凋亡调控等过程^[8]。在 MAPK 通路中,ERK 和 JNK 是并列的两条通路,也是被人们了解最多的成员,该通路的激活在炎症反应过程中也起着关键作用,如产生炎症因子白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6 等,还参与细胞生长和细胞周期运行等过程^[9],但本研究发现在 HUVEC 细胞中,MAPK 抑制剂不能阻断 LPS、LTA 以及 zymosan 诱导的 DcR3 的表达升高,进一步说明了在体外培养的 HUVEC 细胞中,革兰阴性菌、革兰阳性菌以及真菌通过 TLRs-MyD88-NF- κ B 信号通路诱导 DcR3 的表达,参与炎症的发生,本研究结果初步阐述了 DcR3 在脓毒症中表达升高的机制,下一步笔者将通过过表达以及干扰实验对 DcR3 在脓毒症中的功能进行研究。

参考文献

[1] HOU Y, LIANG D, YANG L, et al. Up-regulation of DcR3 in microbial toxins-stimulated HUVECs involves NF- κ B signalling[J]. BMC Biochemistry, 2018, 19(1): 13.

[2] 王改锋,张琰,王升. 脓毒症患者内皮细胞损伤,炎症因子和凝血指标相关性研究[J]. 深圳中西医结合杂志,2019, 29(19):11-13.

(上接第 584 页)

效判断标准的补充建议[J]. 中国实用儿科杂志,1998,13 (6):384-384.

[10] SULLIVAN L A, LENBERG J P, BOSCAN P, et al. Assessing the efficacy of maropitant versus ondansetron in the treatment of dogs with parvoviral enteritis[J]. J Am Anim Hosp Assoc, 2018, 54(6):338-343.

[11] ORTIZ S, HERNANDEZ S M, YABSLEY M J, et al. Introduction and establishment of raccoon rabies on Islands: Jekyll Island, Georgia as a case study[J]. J Wildl Dis, 2018, 54(2):329-334.

[12] 刘白薇,高志勇,贾蕾. 北京市 2014—2018 年诺如病毒急性胃肠炎暴发的影响因素分析[J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40(10):1274-1278.

[13] 陈洁,王华庆,钱渊. 医防融合推进儿童轮状病毒胃肠炎的免疫预防[J]. 中华儿科杂志, 2020, 58(8):621-623.

[14] 轩妍,韦伟,张薇. 诺如病毒感染急性胃肠炎的流行病学及临床特征分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(6): 637-640.

[3] 陈洪卫,侯彦强. 诱骗受体 3 对内毒素诱导的血管内皮细胞凋亡的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(23):66-71.

[4] 许晴,吴晨薇,李义军,等. Toll 样受体信号通路在两栖类中的研究进展[J]. 野生动物学报, 2021, 42(2):575-584.

[5] HOU Y Q, XU P, ZHANG M, et al. Serum decoy receptor 3, a potential new biomarker for sepsis[J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(7/8):744-748.

[6] CHANG Y C, CHEN T C, LEE C T, et al. Epigenetic control of MHC class II expression in tumor-associated macrophages by decoy receptor 3[J]. Blood, 2008, 111(10):5054-5063.

[7] DE M, TFAILE F, SOUZA B, et al. Modulation of cell proliferation, survival and gene expression by RAGE and TLR signaling in cells of the innate and adaptive immune response: role of p38 MAPK and NF-KB[J]. J Applied Oral Sci, 2014, 22(3):185-193.

[8] 王童,聂汉祥. 核转录因子 κ B 与免疫调节和免疫耐受[J]. 国际呼吸杂志, 2021, 41(3):236-240.

[9] HE W, WANG Z, LUO Z, et al. LPS Promote the odontoblastic differentiation of human dental pulp stem cells via MAPK signaling pathway[J]. J Cell Physiol, 2015, 230(3):554-561.

(收稿日期:2021-08-13 修回日期:2021-11-29)

[15] 刘琦. 艾炙联合蒙脱石散、双歧杆菌三联活菌散治疗小儿轮状病毒性肠炎的临床效果[J]. 中国当代医药, 2019, 26(2):98-100.

[16] 盛玮,田玉珍. 金双歧联合醒脾养儿颗粒对小儿轮状病毒腹泻的疗效及对血清 IgM、IgG 和 IgA 的影响[J]. 现代消化及介入诊疗, 2018, 23(4):512-514.

[17] 李丹桂. 双歧杆菌乳杆菌活菌胶囊联合蒙脱石散治疗腹泻患儿的效果观察[J]. 吉林医学, 2020, 41(3):120-121.

[18] 韩静,梅四红. 消旋卡多曲颗粒联合双歧杆菌三联活菌片对小儿轮状病毒性肠炎的疗效分析[J]. 河北医药, 2020, 42(2):286-288.

[19] 张胤,朱衡,刘庆,等. 双歧杆菌三联活菌片辅助治疗小儿急性感染性腹泻的效果[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(9):157-161.

[20] 梁嘉艳. 双歧杆菌三联活菌片联合蒙脱石散治疗小儿腹泻的疗效[J]. 深圳中西医结合杂志, 2020, 256(3):150-151.

(收稿日期:2021-08-28 修回日期:2021-11-20)