

- (4):277-284.
- [12] 林珍香,潘在兴,郑志强,等.正常人群咬合接触的研究进展[J].口腔医学,2017,37(9):833-836.
- [13] MORTON S, PANCHERZ H. Changes in functional occlusion during the postorthodontic retention period: a prospective longitudinal clinical study[J]. American Journal of Orthodontics & Dentofacial Orthopedics, 2009, 135(3): 310-315.
- [14] VARGA S, SPALJ S, ANIC MILOSEVIC S, et al. Changes of bite force and occlusal contacts in the retention phase of orthodontic treatment: A controlled clinical trial[J]. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 2017, 152(6): 767-777.
- [15] SONNESEN L, BAKKE M. Bite force in children with unilateral crossbite before and after orthodontic treatment. A prospective longitudinal study[J]. The European Journal of Orthodontics, 2007, 29(3): 310-313.
- [16] 李玉如,李敬谦,苑瑾瑾,等.咬合分析仪在正畸治疗末期的临床效果[J].河南医学研究,2018,27(7):1196-1198.
- (收稿日期:2019-05-24,修回日期:2019-07-25)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.12.030

◇临床医学◇

## 香烟提取物对人支气管上皮细胞抗衰老因子 Klotho 的影响分析及应对措施的效果研究

杨林<sup>1</sup>,贾钦尧<sup>2</sup>,宋珊<sup>2</sup>作者单位:<sup>1</sup>四川省仪陇县人民医院呼吸内科,四川 仪陇 637600;<sup>2</sup>川北医学院附属医院呼吸内科,四川 南充 637000

**摘要:**目的 分析香烟提取物对人支气管上皮细胞(HBE)抗衰老因子 Klotho 的影响及应对措施的效果。方法 选择2016年3月至2017年8月在仪陇县人民医院进行体检的健康人员30例作为对照组,选择同期在该院治疗的具有10年吸烟史慢性阻塞性肺疾病(简称“慢阻肺”)病人30例作为观察组,对两组人群外周血细胞因子白细胞介素(IL)-8、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、Klotho蛋白表达水平进行评估。同时以香烟提取物刺激HBE细胞构建支气管炎模型,并采用地塞米松进行干预。结果 慢阻肺病人外周血IL-8、IL-6及TNF- $\alpha$ 含量均显著高于对照组,差异有统计学意义( $t=3.012, P=0.013; t=4.092, P=0.000; t=3.421, P=0.008$ );慢阻肺病人外周血Klotho蛋白含量( $0.000\ 23\pm 0.000\ 03$ )pg/mL显著低于对照组( $0.008\ 42\pm 0.000\ 01$ )pg/mL,差异有统计学意义( $t=4.112, P=0.000$ )。B组细胞培养上清液IL-8、IL-6、TNF- $\alpha$ 含量显著高于A组,差异有统计学意义( $t=2.917, P=0.025; t=3.411, P=0.000; t=3.498, P=0.000$ )。B组细胞IL-8、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达水平高于A组,均差异有统计学意义( $t=2.802, P=0.027; t=3.212, P=0.000; t=3.092, P=0.000$ )。结论 香烟提取物体外刺激HBE细胞,可显著降低Klotho因子含量,同时上调多种炎性因子基因的表达,体外给予地塞米松干预能够降低HBE细胞炎症反应。

**关键词:**上皮细胞; 支气管; 肺疾病,慢性阻塞性; 白细胞介素类; 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; 香烟提取物; 人支气管上皮细胞; 抗衰老因子 Klotho

## Analysis of the effect of cigarette extract on Klotho factor in HBE cells

YANG Lin<sup>1</sup>, JIA Qinyao<sup>2</sup>, SONG Shan<sup>2</sup>

Author Affiliations: <sup>1</sup>Department of Respiratory Medicine, Yilong People's Hospital, Yilong, Sichuan 637600, China; <sup>2</sup>Department of Respiratory Medicine, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China

**Abstract: objective** to analyze the effect of cigarette extract on Klotho factor in HBE cells. **Methods** from March 2016 to August 2017, 20 healthy persons in our hospital were selected as control group and 30 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) with 10 years of smoking history treated in our hospital as observation group. The expression of IL-8, IL-6, TNF- $\alpha$  and Klotho protein in peripheral blood was evaluated. At the same time, bronchitis model was established with cigarette extract to stimulate bronchial epithelial cells and treated with dexamethasone. **Results** The content of IL-8, IL-6 and TNF- $\alpha$  in patients with chronic obstructive pulmonary disease were significantly higher than those in the control group ( $t=3.012, P=0.013; t=4.092, P=0.000; t=3.421, P=0.008$ ), and the content of Klotho protein in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease was significantly lower than that of the control group [ $(0.000\ 23\pm 0.000\ 03)$  pg/mL vs.  $(0.008\ 42\pm 0.000\ 01)$  pg/mL,  $t=4.112, P=0.000$ ]. There was a significant difference ( $P<0.05$ ) between group B and group A ( $P<0.05$ ). The content of IL-8, IL-

6, TNF- $\alpha$  in group B was significantly higher than that in group A ( $t = 2.917, P = 0.025; t = 3.411, P = 0.000; t = 3.498, P = 0.000$ ). The expression level of the mRNA of IL-8, IL-6 and TNF- $\alpha$  in group B was higher than that in group A ( $t = 2.802, P = 0.027; t = 3.212, P = 0.000; t = 3.092, P = 0.000$ ). **Conclusion** Cigarette extract can significantly reduce the content of Klotho factor and up-regulate the expression of gene of many inflammatory factors in HBE cells in vitro. Dexamethasone treatment in vitro can reduce the inflammatory response of HBE cells.

**Key words:** Epithelial cells; Bronchi; Pulmonary disease, chronic obstructive; Interleukins; Tumor necrosis factor-alpha; Cigarette extract; HBE cells; Klotho factor

慢性阻塞性肺疾病(简称“慢阻肺”)是一种慢性炎性疾病,临床以持续、进行性发展的气流受限为主要特征,研究表明其发生与人体过多吸入香烟烟雾或颗粒等有害刺激物引发的气道炎症有关<sup>[1-2]</sup>。气道上皮是肺与外界接触的第一道屏障,人支气管上皮细胞(Human bronchial epithelial cells, HBE)分布于气管腔内表面,在抵御病原体、有害气体、过敏原等外来刺激过程中发挥重要作用,对于维持正常的气道功能具有重要作用,其异常调控会影响肺组织对外来刺激物的防御能力<sup>[3-5]</sup>。在病理条件下,受到致病因素的反复刺激, HBE细胞会释放多种炎性介质和趋化因子,使机体局部免疫反应增强,进而活化多种炎症细胞<sup>[6-8]</sup>。有研究表明抗衰老因子Klotho在HBE细胞中有着较高的表达量,且其在健康人群中的表达水平高于吸烟人群,在慢阻肺病人中的表达水平偏低<sup>[9]</sup>。同时外源性重组Klotho蛋白能够下调白细胞介素(Interleukin, IL)-6、单核细胞趋化蛋白1(Monocyte chemoattractant protein - 1, MCP - 1) mRNA的表达水平<sup>[10]</sup>。相关研究认为吸烟可增加慢阻肺的发生风险<sup>[11]</sup>,因此本研究拟以HBE细胞为研究对象,探讨香烟提取物对HBE细胞抗衰老因子Klotho的影响及相关治疗措施的效果。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 以2016年3月至2017年8月在仪陇县人民医院进行体检的健康人员30例作为对照组,其中男20例,女性10例,年龄( $61.32 \pm 6.78$ )岁,范围为45~73岁。选择同期在该院经肺功能检查确诊的慢阻肺病人30例,除合并高血压、糖尿病、冠心病、自身免疫系统疾病、癌症、哮喘、结核病等严重疾病,且近2周内未使用茶碱或糖皮质激素,其中男性21例,女性9例,年龄( $60.54 \pm 6.44$ )岁,范围为45~72岁。两组人群性别比例( $\chi^2 = 1.021, P = 0.102$ )、年龄( $t = 0.812, P = 0.412$ ),差异无统计学意义。HBE细胞购于北京肿瘤研究所。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求,病人或近亲属对研究方案签署知情同意书。

**1.2 香烟提取物制备** 取两根剪去过滤嘴的香烟,在改良的注射器驱动装置一端点燃,使香烟燃烧产生的烟雾以50 mL/min的速度通过该装置,并使其溶在10 mL 1640培养基中。之后调节溶液PH值为7.4,再以0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤器过滤。香烟提取物需用现制,并保证每次在制备后的30 min内开始使用。上述方法制备的香烟提取物为100%,使用时以1640培养基稀释至合适浓度。

**1.3 细胞培养及处理** HBE细胞使用含10%胎牛血清的高糖DMEM完全培养基培养,在37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%二氧化碳、饱和湿度条件下常规培养,每2~3天进行1次传代,在细胞对数期进行实验。

取对数生长期HBE细胞,以 $2 \times 10^5/\text{mL}$ 的密度接种于6孔板,分为对照组(A组),模型组(B组),阳性对照组(C组),地塞米松低剂量组(D组)、地塞米松中剂量组(E组)、地塞米松高剂量组(F组)(其中D、E、F组为实验组),每组设3个复孔,共3块6孔板。阳性对照组和实验组在常规培养24 h后加入1%香烟提取物处理24 h,之后阳性对照组给予外源性 $200 \times 10^{-12}$  mol/L Klotho蛋白处理,实验组分别在共培养1 h后分别给予 $1 \times 10^6$  mol/L,  $1.5 \times 10^6$  mol/L和 $2 \times 10^6$  mol/L的地塞米松。

**1.4 观察指标及方法** (1)健康与慢阻肺人群外周血细胞因子mRNA表达检测,采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测两组外周血细胞因子IL-8、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、Klotho表达水平。(2)ELISA检测不同刺激条件下HBE细胞释放炎性因子水平,收集药物处理24 h及对照组细胞培养上清液, -20  $^{\circ}\text{C}$ 保存,测定时从冰箱取出试剂盒,在室温下平衡,各孔分别加入50  $\mu\text{L}$ 样品或标准品,轻轻混匀1 min,以密封膜密封,25  $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h;之后倒掉板内液体,每个孔中加入250  $\mu\text{L}$ 洗涤液洗涤,再次倒掉液体,反复洗涤5次,最后拍干。之后依次进行加50  $\mu\text{L}$ 生物素标记抗体于样品或标准品孔内,洗板,加100  $\mu\text{L}$ 辣根过氧化物酶标记的抗生物素链菌素(Streptavidin-HRP)酶联二抗溶液于各孔,用密封膜封住板孔,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育45 min;洗板,加100  $\mu\text{L}$  3, 3',

5,5'-四甲基联苯胺(TMB)底物溶液,室温避光反应孵育 30 min;每孔分别加入 100 μL 终止反应液;使用酶标仪在 450 nm 波长处测定。(3)逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测不同刺激条件下 HBE 细胞释放炎症因子 mRNA 水平,收集药物刺激 3 h 及对照组细胞样品,每个样品加入 1 mL Trizol 试剂,吹打收集细胞样品于 1.5 mL 无 RNA 酶离心管,指弹,室温静置 15 min,存放于 -20 °C 保存备用。测定时,采用 RNA 提取试剂盒提取 RNA,并反转录得到 cDNA,最后采用 RT-qPCR 进行测定。引物由 Invitrogen 公司合成,引物序列如下,Human IL-8: sense, 5'-CTCTTGGCAGCCTTCCTGATT - 3' Antisense, 5' - TATGCACTGACATCTAAGTTCTTTAGCA-3'; Human IL-6: sense, 5'-AGCCCTGAGAAAGGAGACATGTA-3' Antisense, 5'-CATCTTTGGAAGGTTTCAGGTTGT-3'。

**1.5 统计学方法** 采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理,计量资料满足方差齐性和正态分布,采用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用两独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,在方差分析有意义的基础上,再采用 LSD-*t* 检验进行多组间的两两比较;计数资料采用  $\chi^2$  检验。均以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 健康与慢阻肺人群外周血细胞因子检测** 慢阻肺病人外周血 IL-8, IL-6 及 TNF-α 含量均显著高于对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );慢阻肺病人外周血 Klotho 蛋白含量显著低于对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

**表 1** 健康与慢阻肺人群外周血细胞因子检测/(pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	IL-8	IL-6	TNF-α	Klotho
健康人群	30	1.35±0.32	1.46±0.21	0.75±0.16	0.00842±0.00001
慢阻肺人群	30	2.37±0.21	2.64±0.41	1.82±0.32	0.00023±0.00003
<i>t</i> 值		3.012	4.092	3.421	4.112
<i>P</i> 值		0.013	0.000	0.008	0.000

注:HBE 为人支气管上皮细胞,IL 为白细胞介素,TNF 为肿瘤坏死因子,Klotho 属于抗衰老因子

**2.2 ELISA 检测各组 HBE 细胞炎症因子表达水平** 如下表 2 所示,单因素方差分析结果显示,各组间 IL-8、IL-6 和 TNF-α 均差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),经 LSD-*t* 检验组间两两比较结果显示,B 组细胞上清液中 IL-8、IL-6、TNF-α 表达水平显著高于 A 组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。B 组细胞上清液中 IL-8、IL-6、TNF-α 表达水平高于 D、E、F 组,均差

异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。D、E、F 组细胞上清液中 IL-8、IL-6、TNF-α 含量依次降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**表 2** ELISA 检测各组 HBE 细胞培养上清液中炎症因子含量/(pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	复孔数	IL-8	IL-6	TNF-α
A组	3	9.35±0.32	9.46±0.21	9.8±0.011
B组	3	19.21±1.43 <sup>a</sup>	24.03±1.23 <sup>a</sup>	21.2±0.003 <sup>a</sup>
C组	3	12.37±2.21 <sup>ab</sup>	13.64±0.41 <sup>ab</sup>	13.45±0.04 <sup>ab</sup>
D组	3	16.17±2.11 <sup>ab</sup>	19.22±3.02 <sup>ab</sup>	18.02±2.12 <sup>ab</sup>
E组	3	14.48±1.83 <sup>ab</sup>	16.25±2.17 <sup>ab</sup>	15.23±3.11 <sup>ab</sup>
F组	3	13.11±1.68 <sup>ab</sup>	11.23±1.23 <sup>ab</sup>	12.37±2.14 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值		34.124	35.091	41.245
<i>P</i> 值		0.005	0.005	0.001

注:ELISA 为酶联免疫吸附测定法,HBE 为人支气管上皮细胞,IL 为白细胞介素,TNF 为肿瘤坏死因子。a 表示与 A 组比  $P < 0.05$ ; b 表示与 B 组比  $P < 0.05$

**2.3 RT-PCR 检测各组 HBE 细胞炎症因子表达水平** 如下表 3 所示,单因素方差分析结果显示,各组间 IL-8 mRNA、IL-6 mRNA、TNF-α mRNA 表达水平均差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),经 LSD-*t* 检验组间两两比较结果显示,B 组细胞 IL-8 mRNA、IL-6 mRNA、TNF-α mRNA 表达水平显著高于 A 组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。B 组细胞 IL-8 mRNA、IL-6 mRNA、TNF-α mRNA 表达水平高于 D、E、F 组,均差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。D、E、F 组细胞 IL-8 mRNA、IL-6 mRNA、TNF-α mRNA 表达水平依次降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

**表 3** RT-PCR 检测各组 HBE 细胞炎症因子 mRNA 表达水平/ $\bar{x} \pm s$

组别	复孔数	IL-8	IL-6	TNF-α
A组	3	1.23±0.32	1.49±0.13	0.79±0.11
B组	3	2.17±0.21 <sup>a</sup>	2.54±0.23 <sup>a</sup>	1.74±0.12 <sup>a</sup>
C组	3	1.28±0.18 <sup>ab</sup>	1.54±0.17 <sup>ab</sup>	0.85±0.04 <sup>ab</sup>
D组	3	2.07±0.09 <sup>ab</sup>	2.23±0.14 <sup>ab</sup>	1.52±0.12 <sup>ab</sup>
E组	3	1.78±0.11 <sup>ab</sup>	1.87±0.18 <sup>ab</sup>	1.13±0.12 <sup>ab</sup>
F组	3	1.31±0.12 <sup>ab</sup>	1.34±0.13 <sup>ab</sup>	0.74±0.13 <sup>ab</sup>
<i>F</i> 值		22.113	25.048	27.021
<i>P</i> 值		0.013	0.032	0.022

注:RT-PCR 为逆转录-聚合酶链反应,HBE 为人支气管上皮细胞,IL 为白细胞介素,TNF 为肿瘤坏死因子。a 表示与 A 组比  $P < 0.05$ ; b 表示与 B 组比  $P < 0.05$

### 3 讨论

烟草烟雾中含有大量的自由基和其他多种有毒物质,对人体可造成多种危害,如细胞癌变、气道损伤以及肺功能障碍等<sup>[12-13]</sup>。其中,长期吸烟病人慢阻肺的发病率明显偏高,其主要发病机制为慢性气道炎症、上皮细胞氧化应激损伤。研究表明,中性粒细胞激活在吸烟引起的肺功能损伤过程中发挥关键性作用,其中IL-8、IL-6和TNF- $\alpha$ 等炎症因子在中性粒细胞趋化过程中发挥重要作用<sup>[14-15]</sup>。在此背景下,本研究首先对健康人群及慢阻肺人群肺功能和外周血细胞炎症因子表达水平进行分析,进而通过以HBE细胞构建模型,探讨抗炎药地塞米松对香烟提取物诱导的HBE细胞炎症因子升高的影响,为临床选择合理的治疗方式提供依据。

本研究结果表明慢阻肺病人外周血IL-8、IL-6及TNF- $\alpha$ 水平均显著高于对照组;慢阻肺病人外周血Klotho蛋白表达水平显著低于对照组。上述结果说明慢阻肺病人外周血炎症因子含量显著升高,这与相关研究<sup>[14-15]</sup>报道基本相符。此外,慢阻肺Klotho蛋白含量表达显著降低,Klotho作为一种I型跨膜蛋白,在肾脏、大脑组织分别较多,具有重要的生物功能。有研究表明Klotho基因发生突变的小鼠可表现出类似肺气肿的多种症状,如出现肺泡壁断裂、肺泡腔变大、呼吸时间变长等。因此,Klotho蛋白功能异常可能与肺气肿形成,进而影响慢阻肺病情进展。

此外,体外实验表明,B组细胞培养上清液IL-8、IL-6、TNF- $\alpha$ 含量显著高于A组,这一结果表明以香烟提取物作为体外刺激HBE细胞构建支气管慢性炎症的模型是成功的。B组细胞IL-8、IL-6、TNF- $\alpha$ 含量高于D、E、F组。D、E、F组细胞IL-8、IL-6、TNF- $\alpha$ 含量依次降低,差异有统计学意义。根据RT-qPCR结果,B组细胞IL-8、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达水平显著高于A组。B组细胞IL-8、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达水平高于D、E、F组。D、E、F组细胞IL-8、IL-6、TNF- $\alpha$  mRNA表达水平依次降低。上述结果说明,地塞米松能够下调香烟提取物引起的HBE细胞炎症因子分泌增加。其原因可能是地塞米松能够减轻和避免组织对炎症的过度反应,从而有助于减轻临床多种炎症表现。此外,作为一种激素类药物,其能抑制包括巨噬细胞和白细胞等炎症细胞在炎症部位聚集,同时抑制吞噬作用、溶酶体酶的释放,对多种炎症化学中介物的合成和释放均可产生影响<sup>[16-17]</sup>。从而有助于炎症因子水平的降低,缓解炎症症状。

综合上述分析,可得出结论,香烟提取物体外

刺激HBE细胞,可显著降低Klotho因子含量,同时上调多种炎症因子基因的表达,体外给予地塞米松干预能够降低HBE细胞炎症反应。

### 参考文献

- [1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组.慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)[J].中华结核和呼吸杂志,2013,36(4):255-264.
- [2] MIRAVITLLES M. Cough and sputum production as risk factors for poor outcomes in patients with COPD [J]. Respir Med, 2011, 105(8): 1118-1128.
- [3] 严彦,王昭妮,洪海裕,等.呼吸道病毒与气道上皮细胞的免疫调控[J].解放军医学杂志,2017,42(10):848-853.
- [4] 钱晓君,张雪,朱代峰,等.调节性T细胞在慢性阻塞性肺疾病中的免疫调节作用[J].安徽医学,2015,36(6):767-769.
- [5] 赵振钧,邓炯.慢性阻塞性肺疾病发生相关因素的研究进展[J].上海交通大学学报(医学版),2016,36(1):128-132.
- [6] 洪志聪,骆献阳,蔡成福,等.大气细颗粒物对人支气管上皮细胞的活性抑制和炎症作用[J].中南大学学报(医学版),2017,42(9):1042-1047.
- [7] 桑楠,岳慧峰.冬季细颗粒物对人支气管上皮细胞的毒性效应[J].山西大学学报(自然科学版),2017,40(3):615-621.
- [8] 李红丽,解秋艳,刘秀玲,等.焦炉逸散物致支气管上皮细胞Th17细胞因子改变[J].中国药理学与毒理学杂志,2014,28(2):199-204.
- [9] 孙昕,陈林,董晓慧,等.Klotho蛋白与疾病的研究进展[J].中国药理学通报,2014,30(2):153-155.
- [10] LI L, WANG Y, GAO W, et al. Klotho reduction in alveolar macrophages contributes to cigarette smoke extract-induced inflammation in chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Biol Chem, 2015, 290(46): 27890-27900.
- [11] 赵莹,唐文慧,韩丽丽,等.慢性阻塞性肺病患者吸烟和戒烟状况初析[J].首都医科大学学报,2016,37(5):579-582.
- [12] 姚伦凯,柳广南,黄斯明,等.烟草烟雾暴露对肺腺癌患者外周血HDAC2、IL-8和TNF- $\alpha$ 表达的影响[J].中国呼吸与危重监护杂志,2016,15(4):361-364.
- [13] 廖科,陈亚娟,赵绿翠,等.烟草烟雾提取物通过TGF- $\beta$ 1/Smad2通路诱导RLE-6TN细胞凋亡[J].第三军医大学学报,2015,37(14):1412-1416.
- [14] 黄宏,王如娟,朱慧芬,等.COPD患者外周血中性粒细胞表面PSGL-1、CD44的表达以及香烟烟雾提取物对其表达的影响[J].华中科技大学学报(医学版),2017,46(5):575-578.
- [15] 刘振峰,刘建英,刘代顺,等.香烟烟雾提取物诱导呼吸道上皮细胞间质性转化的实验研究[J].重庆医学,2017,46(3):318-321.
- [16] 李培峰,郝炳锋.术前肌肉注射地塞米松对剖宫产产妇机体免疫力及炎症反应水平影响分析[J].山西医药杂志,2018,47(16):1882-1885.
- [17] 张艳.地塞米松小剂量与阿奇霉素联用对支原体肺炎患儿的临床疗效及其对炎症因子的影响[J].抗感染药理学,2018,15(2):311-313.

(收稿日期:2018-09-20,修回日期:2018-11-21)