

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.14.012

辛伐他汀纳米粒对脓毒症致 ALI 小鼠肺组织中 TLR9 信号通路表达水平及预后的影响

侯昌权¹, 韩红伟¹, 袁女娜¹, 邹 蕴², 魏玉英^{1△}
新疆军区总医院:1. 重症医学科;2. 放疗科, 新疆乌鲁木齐 830000

摘要:目的 探讨辛伐他汀纳米粒对脓毒症致急性肺损伤(ALI)小鼠体内 Toll 样受体 9(TLR9)表达水平及预后的影响。方法 将所选取的小鼠分为对照组(CO 组)、脓毒症组(SE 组)、静脉注射组(LI 组)、纳米粒组(NA 组),每组 13 只。采用免疫印迹法检测肺组织中 TLR9 蛋白表达水平,记录各组小鼠 7 d 内生存率,计算各组小鼠湿干重比值(W/D),采用 HE 染色法检测各组小鼠肺组织病理形态,采用实时荧光定量 PCR 检测肺组织中 TLR9 mRNA 表达水平。结果 LI 组、NA 组小鼠 W/D 低于 SE 组(均 $P<0.05$),NA 组小鼠 W/D 低于 LI 组($P<0.05$)。与 SE 组、LI 组比较,NA 组小鼠肺体积有所减小,微血管扩张好转。SE 组肺组织 TLR9 mRNA 表达水平高于 LI 组、NA 组(均 $P<0.05$),NA 组小鼠肺组织中 TLR9 mRNA 表达水平低于 LI 组($P<0.05$)。LI 组、NA 组小鼠肺组织 TLR9 蛋白表达水平低于 SE 组(均 $P<0.05$),NA 组小鼠肺组织中 TLR9 蛋白表达水平低于 LI 组($P<0.05$)。LI 组、NA 组小鼠生存率高于 SE 组(均 $P<0.05$),LI 组小鼠生存率低于 NA 组($P<0.05$)。结论 辛伐他汀对脓毒症致 ALI 小鼠具有一定治疗作用,可改善小鼠肺组织病理结构,提高小鼠的生存率,其机制可能与降低 TLR9 信号通路表达水平有关。

关键词:辛伐他汀纳米粒; Toll 样受体 9; 生存率; 脓毒症; 急性肺损伤
中图分类号:R45 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2021)14-2029-05

Effects of simvastatin nanoparticles on the expression level and prognosis of TLR9 signal pathway in the lung tissues of ALI mice with sepsis

HOU Changquan¹, HAN Hongwei¹, YUAN Nyuna¹, ZOU Yun², WEI Yuying^{1△}
1. Department of Critical Care Medicine; 2. Department of Radiotherapy,
General Hospital of Xinjiang Military Region, Wulumuqi, Xinjiang 830000, China

Abstract: Objective To investigate the effect of simvastatin nanoparticles on Toll-like receptor 9 (TLR9) expression level and prognosis in sepsis-induced acute lung injury (ALI) mice. **Methods** The selected mice were divided into control group (CO group), sepsis group (SE group), intravenous injection group (LI group), and nanoparticle group (NA group), with 13 mice in each group. Western blot was used to detect the expression level of TLR9 protein in lung tissue, the survival rate of mice in each group was recorded within 7 d, and the wet-to-dry weight ratio (W/D) of each group was calculated. The HE staining method was used to detect the pathological morphology of the lung tissue of each group of mice, and the expression level of TLR9 mRNA in the lung tissue was detected by real-time fluorescent quantitative PCR. **Results** The W/D of mice in the LI group and NA group were lower than that of the SE group ($P<0.05$), and the W/D of mice in the NA group was lower than that of the LI group ($P<0.05$). Compared with the SE group and the LI group, the lung volume of the NA group decreased, and the microvascular expansion improved. The expression level of TLR9 mRNA in the lung tissue of the SE group was higher than that of the LI group and NA group ($P<0.05$). The expression level of TLR9 mRNA in the lung tissue of the NA group was lower than that of the LI group ($P<0.05$). The expression level of TLR9 protein in the lung tissue of mice in the LI group and NA group were lower than that in the SE group ($P<0.05$), and the expression level of TLR9 protein in the lung tissue of the NA group was lower than that in the LI group ($P<0.05$). The survival rate of mice in the LI group and NA group was higher than that in the SE group ($P<0.05$), and the survival rate of mice in the LI group was lower than that in the NA group ($P<0.05$). **Conclusion** Simvastatin has a certain therapeutic effect on sepsis-induced ALI mice. It can improve the pathological structure of lung tissue in mice and increase

作者简介:侯昌权,男,医师,主要从事脓毒症相关研究。△ **通信作者,** E-mail: wyying@fmmu.edu.cn.
本文引用格式:侯昌权,韩红伟,袁女娜,等.辛伐他汀纳米粒对脓毒症致 ALI 小鼠肺组织中 TLR9 信号通路表达水平及预后的影响[J]. 检验医学与临床,2021,18(14):2029-2033.

the survival rate of mice. The mechanism may be related to the reduction of the expression level of TLR9 signaling pathway.

Key words: simvastatin nanoparticles; Toll-like receptor 9; survival rate; sepsis; acute lung injury

脓毒症是由感染所引起的全身性疾病,因其致病原因极其广泛,临床上脓毒症发病率极高,并以每年 6% 左右的速度在不断增长^[1]。脓毒症可以由任何部位的感染导致,常见有尿道感染、脑部感染等^[2]。该病通常发生在手术后、重症疾病、恶化疾病患者体内,这些患者由于疾病影响等多种原因,继而并发脓毒症^[3-4]。脓毒症的发病原因还未明确,该病的发生涉及人体的多个方面,与系统、器官等均存在密切关系^[5]。严重脓毒症可诱发心肌损伤、肺损伤等多种并发症,脓毒症按轻重程度可分三类。其中,脓毒症休克是脓毒症最为严重的阶段,可导致死亡。近几年来,脓毒症已经成为严峻的世界性医学问题,研究报道,脓毒症可导致急性肺损伤(ALI),对患者肺部造成不可逆的伤害^[6]。Toll 样受体 9(TLR9)是一类天然的免疫受体,在多种疾病中均有 TLR9 信号通路的参与,TLR9 能识别致病性相关的分子模式及损伤相关的分子模式^[7]。他汀类药物既是内皮细胞的保护药物,亦具有改善肺泡结构的效果,所以是治疗肺部疾病最具潜力的一种药物。脂质纳米粒具有促进控制药物释放、预防药物泄露等多种优势,目前已成为临床研究的热点^[8]。本研究通过免疫印迹法(Western blot)检测肺组织中 TLR9 蛋白表达水平,实时荧光定量 PCR(qPCR)检测肺组织中 TLR9 mRNA 表达水平,HE 染色法鉴别小鼠肺组织病理形态的差异,拟探讨辛伐他汀纳米粒对脓毒症致 ALI 小鼠肺组织中 TLR9 信号通路表达水平及预后的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 在广东省医学 SD 小鼠中心购买 52 只雄性 SD 小鼠,体质量(250±30)g。实验动物适应环境饲养一周。将所选取的小鼠分为对照组(CO 组):该组小鼠仅在腹部做切口后缝合,不做其他处理;脓毒症组(SE 组):该组小鼠制作脓毒症小鼠模型;静脉注射组(LI 组):在脓毒症小鼠基础上给予辛伐他汀制剂尾部静脉注射;纳米粒组(NA 组):在脓毒症小鼠基础上给予辛伐他汀纳米粒尾部注射,每组 13 只。

1.2 模型制备 采用氯胺酮对实验小鼠进行麻醉,剂量为 2~4 mg,对小鼠及实验环境进行消毒,保持无菌状态,CO 组小鼠仅在腹部做切口后缝合,不做其他处理,LI 组及 NA 组小鼠在腹部处作 1~2 cm 切口,将小鼠盲肠取出,用医学专用手术针穿刺盲肠,间距为 4 cm,穿刺 3 次,形成创口,最后将盲肠的末端缝合,回归原位,缝合皮肤组织,皮下注射丁苯诺啡,每次 0.05 mg,每 6 小时注射一次。手术完成后,维持小鼠正常生命体征,正常进食、饮水。脓毒症模型建立

成功的标准:与动物全身炎症反应综合征的标准相符,且存在明显的脓毒症表现。48 h 后采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测小鼠血液中肺泡表面活性蛋白 C(SP-C)的表达水平判断小鼠是否出现肺损伤。舍去造模失败的小鼠,同时,给予 LI 组小鼠尾部注射辛伐他汀制剂(1 mg/kg),NA 组小鼠尾部注射辛伐他汀纳米粒(1 mg/kg),在此期间,所有小鼠在相同环境下生活。治疗结束后,抽取小鼠静脉血,取肺组织标本,常规保存,用于后续实验。

1.3 仪器与试剂 天平购自常州万泰天平仪器公司;甲醛购自山东国正化工科技公司;TTBS 购自上海翊圣生物科技有限公司。

1.4 方法

1.4.1 ELISA 法检测炎症因子水平 将小鼠静脉血进行常规方法取血清,采用 ELISA 法检测小鼠血清中 SP-C 水平,本实验要求在 20 min 内完成并取平均值。

1.4.2 肺组织湿干重比值(W/D)测定 将摘取的肺组织用滤纸擦干,电子分析天平上称量湿重(W),随后放于 56 °C 封闭电炉中干燥 72 h 后再次称量干重(D),计算肺的 W/D。

1.4.3 HE 染色法检测小鼠肺组织病变程度 甲醛溶液固定肺组织,石蜡包埋,切片 4 μm,封闭处理,苏木精染色液复染分别为 6~8 min 和 10 s,切片用 HE 染色,于显微镜下观察并进行分析。将剩余肺组织在 -80 °C 下封存,以便后续实验中检测蛋白。

1.4.4 Western blot 检测 TLR9 的蛋白表达水平 将肺组织进行裂解并提取核蛋白,并对核蛋白的表达水平进行测量,分装后,保存在 -20 °C 的环境中。将提取出的蛋白溶液和缓冲溶液进行混匀,按照 4:1 的比例进行,为了让蛋白质变性需将蛋白溶液全部进行煮沸处置。50 μmol/L 蛋白样品放置在聚偏二氟乙烯膜上,加脱脂奶粉,封闭 1 h。加入一抗后进行漂洗,每次漂洗 10 min,一共进行 3 次漂洗,最后加入二抗对溶液进行稀释,封闭 1 h。TTBS 漂洗,DAB 显色,拍照。

1.4.5 qPCR 检测 TLR9 mRNA 的表达水平 取出肺组织研磨,提取总 RNA 反转录得 cDNA,并进行 qPCR 实验。所有反应严格按照反应的条件进行扩增,内参采用 GAPDH。反应程序如下:95 °C 变性 3 min;95 °C 变性 5 s;60 °C 退火 1 min,共进行 40 个循环。取循环阈值(Ct),并采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行分析。引物序列见表 1。

1.5 小鼠生存情况 每 24 小时观察小鼠的生存情

况,并记录小鼠造模后的生存状况。

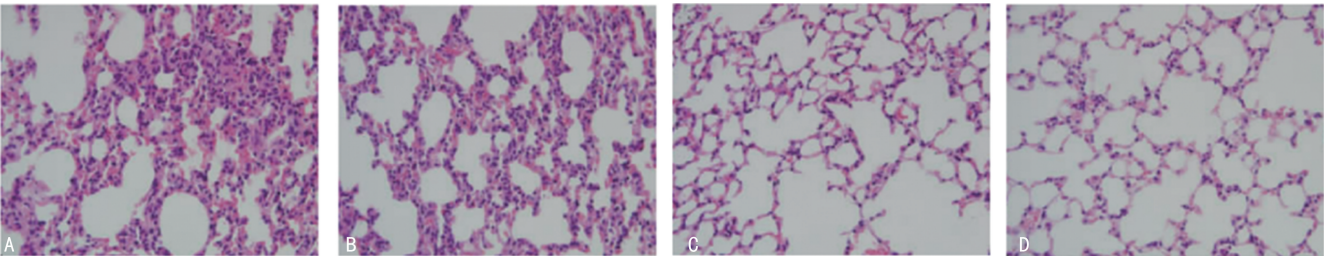
1.6 统计学处理 采用 SPSS23.00 统计软件对数据进行处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验或方差分析;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 引物序列		
基因	方向	引物序列(5'-3')
TLR9	F	TGACAGCCATCATCAAAGAGA
	R	CAGGAAATCCCATAGCAATAAT
GAPDH	F	TGAACGGGAAGCTCACTGG
	R	TCCACCACCCTGTTGCTGTA

注:F 为正向引物;R 为反向引物。

2 结 果

2.1 CO 组和 SE 组小鼠血清中 SP-C 表达水平比



注:A 为 SE 组小鼠肺组织病理形态;B 为 LI 组小鼠肺组织病理形态;C 为 NA 组小鼠肺组织病理形态;D 为 CO 组小鼠肺组织病理形态。

图 1 各组小鼠肺组织病理形态(HE 染色,400×)

2.4 qPCR 法检测肺组织中 TLR9 mRNA 表达水平 SE 组、LI 组、NA 组、CO 组小鼠肺组织 TLR9 mRNA 表达水平分别为 1.03 ± 0.16 、 0.89 ± 0.13 、 0.51 ± 0.11 、 0.34 ± 0.08 ,CO 组小鼠肺组织中 TLR9 mRNA 表达水平最低,SE 组肺组织 TLR9 mRNA 表达水平高于 LI 组、NA 组(均 $P < 0.05$),NA 组小鼠肺组织中 TLR9 mRNA 表达水平低于 LI 组($P < 0.05$)。

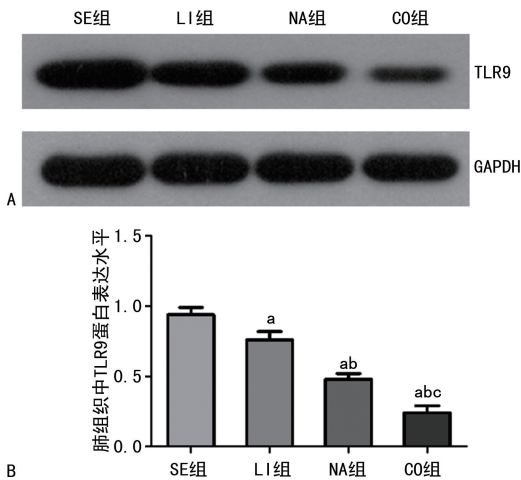
2.5 Western blot 检测肺组织中 TLR9 蛋白表达水平 SE 组、LI 组、NA 组、CO 组小鼠肺组织中 TLR9 蛋白表达水平分别为 0.98 ± 0.13 、 0.77 ± 0.09 、 0.48 ± 0.06 、 0.25 ± 0.04 ,CO 组小鼠肺组织中 TLR9 蛋白表达水平最低,LI 组、NA 组小鼠肺组织 TLR9 蛋白表达水平低于 SE 组(均 $P < 0.05$),NA 组小鼠肺组织中 TLR9 蛋白表达水平低于 LI 组($P < 0.05$)。见图 2。

2.6 各组小鼠 7 d 内生存率比较 随着时间的延长,SE 组小鼠生存率下降最快,7 d 后,CO 组小鼠无死亡,LI 组、NA 组小鼠生存率高于 SE 组(均 $P < 0.05$),LI 组小鼠生存率低于 NA 组($P < 0.05$)。见表 2。

较 CO 组和 SE 组小鼠血清中 SP-C 表达水平分别为 $(326.25 \pm 45.14) \mu\text{g/L}$ 和 $(211.59 \pm 32.08) \mu\text{g/L}$,SE 组小鼠血清中 SP-C 表达水平明显低于 CO 组($P < 0.05$)。

2.2 各组肺组织 W/D 比较 SE 组、LI 组、NA 组、CO 组小鼠肺组织 W/D 分别为 7.65 ± 1.32 、 5.98 ± 1.01 、 3.43 ± 0.76 、 2.36 ± 0.52 ,其中,SE 组小鼠 W/D 最高,CO 组小鼠 W/D 最低,LI 组、NA 组小鼠 W/D 明显低于 SE 组(均 $P < 0.05$),NA 组小鼠 W/D 低于 LI 组($P < 0.05$)。

2.3 各组小鼠肺组织病理形态比较 CO 组小鼠肺组织结构形态完好,未见炎症细胞浸润;SE 组小鼠肺组织可见炎症细胞浸润,肺泡壁破损,完整性被破坏;LI 组小鼠肺组织少量中性粒细胞浸润,肺间质可见少量水肿,细胞排列紊乱;与 SE 组、LI 组比较,NA 组小鼠肺体积有所减小,微血管扩张好转。见图 1。



注:A 为各组小鼠肺组织中 TLR9 蛋白表达水平的 Western blot 显影图;B 为各组小鼠肺组织中 TLR9 蛋白表达水平统计图;与 SE 组比较,^a $P < 0.05$;与 LI 组比较,^b $P < 0.05$;与 NA 组比较,^c $P < 0.05$ 。

图 2 各组小鼠肺组织中 TLR9 蛋白表达水平

表 2 各组小鼠 7 d 内生存率比较[n(%)]					
组别	n	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
SE 组	13	13(100.00)	7(53.85)	4(30.77)	1(7.69)
LI 组	13	13(100.00)	10(76.92)	7(53.85)	5(38.46)
NA 组	13	13(100.00)	12(92.31)	10(76.92)	9(69.23)
CO 组	13	13(100.00)	13(100.00)	13(100.00)	13(100.00)

3 讨 论

脓毒症是重症监护室患者死亡的主要原因之一。虽然现代医学发展迅速,但脓毒症仍然是困扰重症医学科医生的棘手问题,在多种情况下均可并发脓毒症,其中,大手术、烧伤、感染等是临床中较常见的原因,据统计,脓毒症的发生率和病死率在 40%~50%,最高能达到 80%^[9]。脓毒症进一步发展可导致循环系统衰竭等严重继发疾病,严重者甚至导致患者死亡。脓毒症发病机制复杂,而严重脓毒症患者更是面临着高额的治疗费和高病死率^[10]。

脓毒症是代谢性障碍和组织缺氧引起的一种临床综合征,由于缺血缺氧导致肺细胞凋亡、肺组织损伤等病理生理改变^[11]。他汀类药物属于羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂,此类药物具有多向性药理作用,如抗炎、保护血管和降血脂等。辛伐他汀既可改善血清胆固醇水平,且在抗氧化、抗炎和改善组织血管内皮功能等方面具有潜在的作用^[12-13]。本研究结果显示,LI 组、NA 组小鼠 W/D 低于 SE 组,NA 组小鼠 W/D 低于 LI 组。显微镜下可见 NA 组小鼠肺体积有所减小,微血管扩张好转。LI 组、NA 组小鼠生存率高于 SE 组,LI 组小鼠生存率低于 NA 组。已有动物实验研究发现,他汀类药物具有保护机械通气相关肺损伤的作用,其原因可能与肺血管通透性降低密切相关,并且肺泡 II 型细胞是辛伐他汀减轻肺缺血再灌注损伤的新型靶点^[14]。研究显示,纳米粒是一种新型载药系统,具有高效、靶向、低毒性等优势^[15]。有研究发现辛伐他汀纳米粒及普通静脉制剂对脓毒症小鼠均有较好的治疗效果,但具体哪种作用方式效果更佳,需要进一步研究证实^[16]。相关研究表明辛伐他汀纳米粒能够明显改善脓毒症 ALI 小鼠的肺组织病变程度,防止患病小鼠肺组织继续受到损伤^[17],它具有保护效应的潜在处理位点,其作用机制可能与肺组织中诱导型一氧化氮合酶/内皮细胞性一氧化氮合酶的表达水平相关。郭明杰等^[18]研究显示,辛伐他汀对脓毒症 ALI 小鼠的治疗效果较好,但不同药物制剂对小鼠作用效果不同,不同的辛伐他汀制剂具有不同的效应,其中,纳米粒制剂作用时间较短、效果更佳,能够靶向作用于损伤部位,为临床脓毒症致肺损伤患者的治疗提供新的途径。

本研究结果显示,SE 组肺组织 TLR9 蛋白表达水平、TLR9 mRNA 表达水平高于 LI 组、NA 组,NA 组小鼠肺组织中 TLR9 蛋白表达水平、TLR9 mRNA 表达水平低于 LI 组。有研究表明他汀类药物改善血管炎性反应的机制可能与刺激 TLR9 转录,抑制核因子- κ B(NF- κ B)活性降低,进而逐渐改善小鼠肺组织病理程度有关。辛伐他汀可抑制 TLR9 在肺组织中的生成,阻滞 NF- κ B 的产生,因此具有抑制脓毒症致 ALI 的作用^[19]。研究表明采用辛伐他汀纳米粒可保

护脓毒症致 ALI 小鼠肺组织免受损伤,提示辛伐他汀纳米粒对脓毒症致 ALI 小鼠肺组织具有重要的保护效应^[20]。TLR9 高表达可提示肺组织损伤,而 TLR9 水平升高往往是因小鼠肺组织内炎症因子被诱导和激活而引起,TLR9 在细胞中表达的多样性使得其在肺损伤发生和发展过程中具有复杂性,TLR9 的平衡可反映肺组织损伤的程度^[21]。研究表明,TLR9 受体相互作用和触发下游通路的激活,导致下游因子的磷酸化和易位,引起 NF- κ B 的后期激活和炎症小体的诱导,使机体受到肿瘤坏死因子(TNF)- α 的毒性迫害,当 NF- κ B 失调时,会成为致病的驱动力^[22]。研究表明辛伐他汀纳米粒可保护脓毒症致 ALI 小鼠肺组织免受损伤,调节 TLR9 平衡,可能是脓毒症致 ALI 具有保护效应的潜在处理位点^[23]。

综上所述,辛伐他汀对脓毒症致 ALI 小鼠具有一定治疗作用,能够改善小鼠肺组织病变程度,提高小鼠的生存率,这一作用机制可能与降低 TLR9 信号通路表达水平有关。其中,辛伐他汀纳米粒的治疗效果明显优于辛伐他汀制剂,表明纳米粒降解速率快、靶向性良好。

参考文献

- [1] 金善子,胡博,栾正刚. 高迁移率族蛋白 1 在脓毒症急性肺损伤中作用的研究进展[J]. 中华急诊医学杂志,2018,45(4):459-462.
- [2] WANG Y, WANG X F, ZHANG L C, et al. Alleviation of acute lung injury in rats with sepsis by resveratrol via the phosphatidylinositol 3-kinase/nuclear factor-erythroid 2 related factor 2/heme oxygenase-1 (PI3K/Nrf2/HO-1) pathway[J]. Med Sci Monit, 2018, 24(65):3604-3611.
- [3] 黄旺业,黄庆,曾德福,等. 川芎嗪在脓毒症致急性肺损伤患者中的应用效果[J]. 广西医学,2018,40(1):94-96.
- [4] 施荣,熊旭东,王倩. TRAF6-NF- κ B/p38MAPK 通路活性在脓毒症致急性肺损伤中肺泡巨噬细胞过度极化的作用及炎调方干预的可能性探讨[J]. 临床急诊杂志,2018,19(1):37-39.
- [5] YANG L, HAO G, ZHANG J L, et al. Acute downregulation of miR-199a attenuates sepsis-induced acute lung injury by targeting SIRT1[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2018, 314(4):449-455.
- [6] 关岚,刘志伟,黄冬梅,等. 二氧化硫对脓毒症致急性肺损伤大鼠炎症反应的抑制作用[J]. 北京医学,2018,40(5):446-450.
- [7] LOGANATHAN R, NAZEER M, GODA V, et al. Genetic variants of TLR4 and TLR9 are risk factors for chronic helicobacter pylori infection in South Indian Tamils[J]. Hum Immunol, 2017, 78(2):216-220.
- [8] 佟琳,张标,姚华国,等. 辛伐他汀抑制 survivin 表达对减轻内毒素急性肺损伤的作用[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(12):35-38.
- [9] MO Y, LOU Y Y, ZHANG A Q, et al. PICK1 deficiency

induces autophagy dysfunction via lysosomal impairment and amplifies sepsis-induced acute lung injury[J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018: 6757368.

[10] 邱诗宝, 胡艺婷, 何钦, 等. 一起焊接作业致七例急性肺损伤事故调查分析[J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2019, 37(1): 60-62.

[11] 卜克, 王璐, 刘林刚. 保护素 DX 对脓毒症小鼠急性肺损伤的保护作用[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(9): 28-32.

[12] 杨尧, 朱耀斌, 李刚, 等. 辛伐他汀联合间充质干细胞治疗急性肺损伤效果研究[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2016, 30(12): 1170-1173.

[13] 杨文萍, 孔冰冰, 赵欣, 等. 辛伐他汀对脓毒症小鼠肺损伤的保护作用[J]. *实用药物与临床*, 2017, 20(7): 733-736.

[14] SIONKOWSKA A, WALCZAK M, MARTA M. Preparation and characterization of collagen/chitosan composites with silver nanoparticles[J]. *Polym Compos*, 2020, 41(3): 951-957.

[15] WANG C Z, FU Y C, JIAN S C, et al. Synthesis and characterization of cationic polymeric nanoparticles as simvastatin carriers for enhancing the osteogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *J Colloid Interface Sci*, 2014, 432(2): 190-199.

[16] 邵换璋, 王存真, 朱文亮, 等. 辛伐他汀对脓毒症和严重脓毒症患者外周血单核细胞 Toll 样受体 4 的影响[J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28(2): 159-163.

[17] 胡萍, 胡倩, 张秀霞. 辛伐他汀纳米粒对脓毒症致急性肺损伤小鼠肺组织 iNOS/eNOS 平衡的调节及对预后的影响[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(4): 341-344.

[18] 郭明杰, 郑霞. 辛伐他汀纳米粒通过调节诱导型一氧化氮合酶/内皮型一氧化氮合酶系统对小鼠脓毒症相关急性肺损伤的影响[J/CD]. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2018, 11(6): 393-399.

[19] TENHU E, TERSJRVI J, CRUZEIRO M L, et al. Gene polymorphisms of TLR4 and TLR9 and haemophilus influenzae meningitis in angolan children[J]. *Genes*, 2020, 57(42): 52-60.

[20] 刘洋, 王守田. 右美托咪啶对内毒素血症大鼠急性肺损伤 TLR9 信号相关因子的作用[J]. *解剖科学进展*, 2015, 21(6): 635-638.

[21] 陈欧, 汤展宏, 胡军涛. Toll 样受体 4 在脓毒症并发急性肺损伤中的作用[J]. *广东医学*, 2019, 40(8): 1048-1052.

[22] ALI I, MANZOOR Z, KOO J E, et al. 3-Hydroxy-4, 7-megastigmadien-9-one, isolated from *ulva pertusa*, attenuates TLR9-mediated inflammatory response by down-regulating mitogen-activated protein kinase and NF- κ B pathways[J]. *Pharm Biol*, 2017, 55(1): 435-440.

[23] 苏俊孟, 郭晖, 夏飞, 等. 脾多肽对急性肺损伤大鼠 TLR9 信号相关因子的影响[J]. *贵州医科大学学报*, 2017, 42(3): 296-299.

(收稿日期: 2020-11-06 修回日期: 2021-04-10)

(上接第 2028 页)

参考文献

[1] 徐湘民. 地中海贫血预防控制操作指南[M]. 1 版. 北京: 人民军医出版社, 2011: 55-59.

[2] 毛家丽, 董巍, 刘友, 等. 四川地区地中海贫血基因型分析[J]. *检验医学与临床*, 2017, 10(1): 58-62.

[3] 杨嫒, 朱丽丹, 张颖, 等. 重庆地区 108 140 例疑似贫血患者地中海贫血筛查及检出基因型分析[J]. *第三军医大学学报*, 2020, 42(17): 1750-1756.

[4] 李春莉, 杨梅, 李秋红. 重庆地区 34 800 例育龄期夫妇异常血红蛋白病分析[J]. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(4): 1316-1320.

[5] BENDER M A, YUSUF C, DAVIS T, et al. Newborn screening practices and alpha-thalassemia detection-United States, 2016[J]. *MMWR*, 2020, 69(36): 166-170.

[6] KATTANIS A, FORNI G L, AYDINOK Y. Changing patterns in the epidemiology of β -thalassemia[J]. *Eur J Haematol*, 2020, 105(6): 692-703.

[7] NUNCHAI C, SIRICHOTIYAKUL S, TONGSONG T. Optimal cutoff of mean corpuscular volume (MCV) for screening of alpha-thalassemia 1 trait[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2020, 46(5): 774-778.

[8] SINGHA K, TAWEEANAN W, FUCHAROEN G, et al. Erythrocyte indices in a large cohort of β -thalassemia carrier: implication for population screening in an area with high prevalence and heterogeneity of thalassemia[J]. *Int J Lab Hematol*, 2019, 41(4): 513-518.

[9] VIPRAKASIT V, EKWATTANAKIT S. Clinical classification, screening and diagnosis for thalassemia[J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2018, 32(2): 193-211.

[15] BRANCALEONI V, DI-PIERRO E, MOTTA I, et al. Laboratory diagnosis of thalassemia[J]. *Int J Lab Hematol*, 2016, 38(1): 32-40.

[10] LU F, DAI Q, ZHANG X, et al. Comparison between capillary zone electrophoresis and capillary isoelectric focusing for thalassemia screening in southern China[J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(8): e22567.

[11] JIANG F, ZUO L, LI D, et al. Molecular epidemiology and hematologic characterization of $\delta\beta$ -thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin in 125, 661 families of greater Guangzhou area, the metropolis of southern China[J]. *BMC Med Genet*, 2020, 21(4): 230-235.

(收稿日期: 2020-12-09 修回日期: 2021-04-23)