

人参皂甙 Rg3 对脓毒症小鼠炎症反应及淋巴细胞内 Cleaved Caspase-3 蛋白的影响

李青青 贾雅楠 丁恽虹 陆刚 唐建国 张学敏

【摘要】 目的 探讨人参皂甙 Rg3 对脓毒症小鼠炎症反应的保护作用和对淋巴细胞内凋亡相关蛋白裂解的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3 (Cleaved Caspase-3) 蛋白表达的影响。**方法** 采用区组随机法将 40 只小鼠分为对照组、人参皂甙 Rg3 组、脂多糖 (LPS) 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组, 每组 10 只。其中 LPS 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组小鼠通过腹腔注射 LPS 的方法制备脓毒症模型。对照组用 0.3 ml 0.9% 氯化钠溶液灌胃, 1 次/d, 连续 7 d, 第 4 天腹腔注射 0.3 ml 0.9% 氯化钠注射液; 人参皂甙 Rg3 组将人参皂甙 Rg3 按 30 mg/kg 溶于 0.3 ml 0.9% 氯化钠溶液后, 灌胃, 1 次/d, 连续 7 d, 第 4 天腹腔注射 0.3 ml 0.9% 氯化钠注射液; LPS 组用 0.3 ml 0.9% 氯化钠溶液灌胃, 1 次/d, 连续 7 d, 第 4 天腹腔注射 0.3 ml LPS 溶液 (15 mg/kg LPS 溶于 0.3 ml 0.9% 氯化钠注射液); 人参皂甙 Rg3+LPS 组将人参皂甙 Rg3 按 30 mg/kg 溶于 0.3 ml 0.9% 氯化钠溶液后, 灌胃, 1 次/d, 连续 7 d, 第 4 天腹腔注射 0.3 ml LPS 溶液 (15 mg/kg LPS 溶于 0.3 ml 0.9% 氯化钠注射液)。第 7 天通过腹主动脉采血, 采用 ELISA 法检测各组小鼠血清炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平; 并处死小鼠, 取小鼠脾脏组织, 称重、记录脾脏指数; 分离脾脏淋巴细胞采用 Western blot 法检测淋巴细胞 Cleaved Caspase-3 蛋白表达。**结果** 与对照组比较, LPS 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组小鼠 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平、脾脏指数、Cleaved Caspase-3 蛋白表达水平均升高 (均 $P < 0.05$); 与 LPS 组比较, 人参皂甙 Rg3 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组小鼠 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平、脾脏指数、Cleaved Caspase-3 蛋白表达水平均降低 (均 $P < 0.05$)。**结论** 人参皂甙 Rg3 具有降低脓毒症小鼠体内炎症反应的作用, 并能降低淋巴细胞内 Cleaved Caspase-3 的表达。

【关键词】 人参皂甙 Rg3 脓毒症 炎症反应 淋巴细胞 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3

Effects of ginsenoside Rg3 on inflammatory response and lymphocyte Cleaved Caspase-3 protein expression in septic mice

LI Qingqing, JIA Yanan, DING Yihong, LU Gang, TANG Jianguo, ZHANG Xuemin

First-author's address: Department of Trauma Emergency & Critical Care Medicine, Shanghai Fifth People's Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200240, China

Corresponding author: ZHANG Xuemin, E-mail: zhangxm922@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of ginsenoside Rg3 on inflammatory response and lymphocyte Cleaved Caspase-3 protein expression in septic mice. **Methods** Forty male BALB/c mice were randomly divided into control group, ginsenoside Rg3 group, lipopolysaccharide (LPS) group and ginsenoside Rg3+LPS group with 10 mice in each group. Mice in control group were given 0.3 ml normal saline by gavage q.d for 7 d, and 0.3 ml normal saline by intraperitoneal injection on d4; mice in ginsenoside Rg3 group were given ginsenoside Rg3 30 mg/kg by gavage q.d for 7 d, and 0.3 ml normal saline by intraperitoneal injection on d4; mice in LPS group were given normal saline by gavage q.d for 7 d, and 0.3 ml LPS solution by intraperitoneal injection on d4; mice in Rg3+LPS group were given ginsenoside Rg3 30 mg/kg by gavage q.d for 7 d, then 0.3 ml LPS solution by intraperitoneal injection on d4. On d7, blood samples were collected by

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2022.44.20.2022-1559

基金项目: 上海市闵行区自然科学研究项目 (2020MHZ096)

作者单位: 200240 复旦大学附属上海市第五人民医院创伤急救危重症中心 (李青青、丁恽虹、陆刚、唐建国、张学敏), 老年医学科 (贾雅楠)

通信作者: 张学敏, E-mail: zhangxm922@126.com

abdominal aorta, serum TNF- α , IL-6 and IL-1 β levels were detected by ELISA. The mice were sacrificed and the spleen was removed and weighed, the expression of Cleaved Caspase-3 protein in spleen lymphocytes were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the levels of TNF- α , IL-6, IL-1 β , Spleen index and Cleaved Caspase-3 protein expression were significantly increased in LPS group and ginsenoside Rg3+LPS group (all $P<0.05$). Compared with the LPS group, the levels of TNF- α , IL-6, IL-1 β , spleen index and Cleaved Caspase-3 protein expression were significantly decreased in ginsenoside Rg3 group and ginsenoside Rg3+LPS group (all $P<0.05$). **Conclusion** Ginsenoside Rg3 can inhibit inflammatory response and down-regulate the Cleaved Caspase-3 expression of lymphocyte in mice with sepsis.

【Key words】 Ginsenoside Rg3 Sepsis Inflammatory reaction Lymphocyte Cysteine-containing aspartate-specific proteases-3

脓毒症是宿主对感染的一种失控反应,常常导致严重的多器官功能障碍。脓毒症是急诊、ICU、老年科等科室急重症患者主要死亡原因之一。脓毒症治疗现在多以抗生素为基础,同时治疗原发疾病,治疗周期长、费用高,给患者造成很大的经济负担。脓毒症患者晚期常存在免疫抑制或免疫麻痹,针对脓毒症的免疫应答机制研究及免疫反应调控的药物探寻具有重要意义^[1]。免疫功能监测指导下的免疫调节治疗可能为改善脓毒症预后开辟一种新的途径。

人参为五加科多年生草本植物,人参皂甙 Rg3 是人参的有效成分,是从人参中提取的四环三萜类人参二型皂甙单体。人参皂甙 Rg3 本身是免疫增强剂,能增强人体对炎症的抵抗作用^[2]。本研究采用脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激模拟脓毒症状态小鼠,观察人参皂甙 Rg3 对脓毒症状态小鼠炎性因子水平、脾脏指数及淋巴细胞内裂解的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3 (cleaved cysteine-containing aspartate-specific proteases-3, Cleaved Caspase-3) 蛋白表达的影响,来探讨人参皂甙 Rg3 对脓毒症小鼠炎症反应的保护作用及淋巴细胞凋亡的影响。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器 小鼠 TNF- α 试剂盒(批号:TNDE1021am)、IL-6 试剂盒(批号:16NV1021m)、IL-1 β ELISA 试剂盒(批号:I1FE1021bm)均购自加拿大 ANOGEN 公司;LPS 购自上海环硕生物科技有限公司;人参皂甙 Rg3 购自成都曼思特生物科技有限公司;Cleaved Caspase-3 兔单克隆抗体(批号:3)购自美国 Cell Signaling 公司。酶标仪(型号:318C+)购自上海市沛欧分析仪器有限公司;电热恒温水槽(DK-420)购自上海精宏实验设备有限公司电泳仪;转膜仪(型号:DYZ-40D)购自北京市六一仪器厂;荧光及化学发光成像系统(型号:ChemiScope 6100)购自上海勤翔科学

仪器有限公司。

1.2 实验动物 SPF 级 BALB/c 雄性小鼠 40 只,6~8 周龄,体重 18~23 g,由上海中医药大学实验动物中心提供,动物合格证号:SYXK(沪)2014-0008。所有小鼠饲养在温度和湿度受控的动物房中,具有 12 h/12 h 的光/暗循环,小鼠自由进食与饮水。本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准,经复旦大学实验动物科学部动物福利和伦理小组批准。

1.3 分组及模型制备 采用区组随机法将小鼠分为对照组、人参皂甙 Rg3 组、LPS 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组,每组 10 只。其中 LPS 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组小鼠通过腹腔注射 LPS 的方法制备脓毒症模型。对照组用 0.3 ml 0.9% 氯化钠溶液灌胃,1 次/d,连续 7 d,第 4 天腹腔注射 0.3 ml 0.9% 氯化钠注射液;人参皂甙 Rg3 组将人参皂甙 Rg3 按 30 mg/kg 溶于 0.3 ml 0.9% 氯化钠溶液后,灌胃,1 次/d,连续 7 d,第 4 天腹腔注射 0.3 ml 0.9% 氯化钠注射液;LPS 组用 0.3 ml 0.9% 氯化钠溶液灌胃,1 次/d,连续 7 d,第 4 天腹腔注射 0.3 ml LPS 溶液(15 mg/kg LPS 溶于 0.3 ml 0.9% 氯化钠注射液);人参皂甙 Rg3+LPS 组将人参皂甙 Rg3 按 30 mg/kg 溶于 0.3 ml 0.9% 氯化钠溶液后,灌胃,1 次/d,连续 7 d,第 4 天腹腔注射 0.3 ml LPS 溶液(15 mg/kg LPS 溶于 0.3 ml 0.9% 氯化钠注射液)。

1.4 检测指标及方法 第 7 天所有小鼠用 0.3% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,剪开腹腔,通过腹主动脉采血,取血置于塑料离心管中,室温离心分离出血清(3 000 r/min, 10 min),取上层血清-70℃ 保存,用于测定炎性因子水平;然后采用颈椎脱臼法处死小鼠,取出脾脏,计算脾脏指数;将脾脏剪成小块,研磨过 200 目筛网,收集细胞悬液,采用淋巴细胞分离液分离出淋巴细胞置入冻存管-70℃ 保存,用于检测蛋白表达。

1.4.1 血清炎性因子水平测定 取出血清后 4℃ 复

融,按照 ELISA 试剂盒说明书步骤检测 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平。

1.4.2 脾脏指数检测 将小鼠的脾脏结缔组织剪除,用滤纸吸净表面的血液,用分析天平称重,按以下公式计算出脾脏指数:脾脏指数=脾重量(mg)/体重(g) \times 10。

1.4.3 Cleaved Caspase-3 蛋白表达水平检测 采用 Western blot 法。取出淋巴细胞,解冻后用裂解液裂解,提取组织蛋白,应用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)进行蛋白质分离,上样后在 12% 聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳,以电转膜方法将蛋白质转移至醋酸纤维素膜,5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后,加入相关一抗孵育,4 $^{\circ}$ C 振荡过夜,次日 5% 磷酸盐吐温缓冲液(PBST)洗膜,加入对应二抗孵育,振荡 1 h,5% PBST 洗膜,置于显影仪中曝光显影。以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参,用凝胶分析软件 Quantity One 分析 Cleaved Caspase-3 蛋白条带灰度值。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组小鼠血清炎性因子水平比较 与对照组比较,LPS 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组小鼠 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均升高(均 $P < 0.05$);与 LPS 组比较,人参皂甙 Rg3 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组小鼠 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均降低(均 $P < 0.05$),见表 1。

表 1 4 组小鼠血清炎性因子水平比较(pg/ml)

组别	<i>n</i>	TNF- α	IL-6	IL-1 β
人参皂甙 Rg3+LPS 组	10	6.37 \pm 3.01 $^{\Delta}$	13.12 \pm 5.43 $^{\Delta}$	5.22 \pm 2.85 $^{\Delta}$
人参皂甙 Rg3 组	10	3.11 \pm 1.43 $^{\Delta}$	4.56 \pm 1.99 $^{\Delta}$	3.19 \pm 1.12 $^{\Delta}$
LPS 组	10	8.12 \pm 3.83 *	16.37 \pm 6.98 *	6.49 \pm 3.74 *
对照组	10	3.13 \pm 1.48	4.41 \pm 1.45	3.23 \pm 1.56
<i>P</i> 值		< 0.05	< 0.05	< 0.05

注:LPS 为脂多糖;与对照组比较, $^*P < 0.05$;与 LPS 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

2.2 4 组小鼠脾脏指数比较 与对照组比较,LPS 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组小鼠脾脏指数均升高(均 $P < 0.05$);与 LPS 组比较,人参皂甙 Rg3 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组小鼠脾脏指数均降低(均 $P < 0.05$),见表 2。

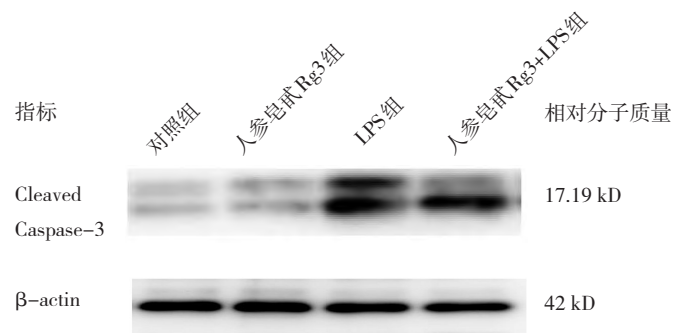
2.3 4 组小鼠脾脏淋巴细胞 Cleaved Caspase-3 蛋白表

表 2 4 组小鼠脾脏指数比较

组别	<i>n</i>	脾脏指数
人参皂甙 Rg3+LPS 组	10	78.12 \pm 19.01 $^{\Delta}$
人参皂甙 Rg3 组	10	34.04 \pm 6.97 $^{\Delta}$
LPS 组	10	91.21 \pm 19.76 *
对照组	10	33.69 \pm 5.76
<i>P</i> 值		< 0.05

注:LPS 为脂多糖;与对照组比较, $^*P < 0.05$;与 LPS 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

达水平比较 与对照组比较,LPS 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组小鼠 Cleaved Caspase-3 蛋白表达水平均升高(均 $P < 0.05$);与 LPS 组比较,人参皂甙 Rg3 组、人参皂甙 Rg3+LPS 组 Cleaved Caspase-3 蛋白表达水平均降低(均 $P < 0.05$),见图 1、表 3。



注:LPS 为脂多糖;Cleaved Caspase-3 为裂解的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3; β -actin 为 β -肌动蛋白

图 1 4 组小鼠脾脏淋巴细胞 Cleaved Caspase-3 蛋白表达的电泳图

表 3 4 组小鼠淋巴细胞内 Cleaved Caspase-3/ β -actin 蛋白灰度值比较

组别	<i>n</i>	Cleaved Caspase-3/ β -actin
人参皂甙 Rg3+LPS 组	10	1.126 \pm 0.475 $^{\Delta}$
人参皂甙 Rg3 组	10	0.419 \pm 0.195 $^{\Delta}$
LPS 组	10	1.395 \pm 0.518 *
对照组	10	0.413 \pm 0.187
<i>P</i> 值		< 0.05

注:LPS 为脂多糖;Cleaved Caspase-3 为裂解的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3; β -actin 为 β -肌动蛋白;与对照组比较, $^*P < 0.05$;与 LPS 组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

3 讨论

脓毒症的发病过程涉及到复杂的全身炎症反应、免疫功能障碍、凝血功能异常、组织损伤等多个方

面,它可以由任何部位的感染引起。脓毒症常常发生在原有慢性疾病或年老体衰、外科手术后等患者。LPS 刺激是制作动物脓毒症模型的一种常用方法,本研究采用 LPS 腹腔注射模拟脓毒症状态小鼠,小鼠均在刺激后逐渐出现竖毛、萎靡、腹泻、饮食及活动次数减少,几天后症状才逐渐缓解好转。

机体发生脓毒症时感染因素可激活机体单核巨噬细胞系统及其他炎症反应细胞,产生并释放大炎症因子,脓毒症期间 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等炎症因子水平均会升高^[3-5],它们的协同作用被喻为是细胞因子诱发病理生理级联反应的扳机,抑制脓毒症的炎症,可以降低 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平^[6],通过检测这些炎症因子的动态变化可以在一定程度上反映体内炎症的严重程度。本实验中,小鼠腹腔注射 LPS,刺激后 3 d 炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平和脾脏指数均高于对照组,而给予人参皂苷 Rg3 灌胃处理后小鼠 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平和脾脏指数均低于 LPS 组,提示人参皂苷 Rg3 能减少脓毒症小鼠炎症因子分泌,降低炎症反应。

淋巴细胞凋亡是脓症患者免疫抑制的主要原因,脓毒症时机体大量淋巴细胞会发生凋亡,脓毒症诱导的免疫抑制的主要特征包括 T 细胞功能障碍,其特征是脾脏 T 细胞凋亡,分化抗原 4 叉头翼状螺旋转录因子调节性 T 细胞(CD4 FoxP3 Tregs)升高,Th1 免疫反应抑制^[7],高水平的 T 淋巴细胞凋亡不仅导致大量免疫效应细胞的丢失,而且会激活多种信号通路,导致机体内免疫系统受到明显抑制,因此减少 T 淋巴细胞的凋亡可以改善机体的免疫功能,提高脓毒症患者的生存率^[8]。既往研究表明脾脏中淋巴细胞凋亡状况与炎症的严重程度和预后密切相关^[9],28 d 内死亡的脓症患者外周血淋巴细胞凋亡百分比明显高于存活患者,死亡患者体内淋巴细胞计数明显低于存活患者^[10]。

多种凋亡途径最终激活凋亡执行分子天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3 (cysteine-containing aspartate-specific proteases-3, Caspase-3),Caspase-3 在正常情况下以酶原的形式存在,当细胞发生凋亡时,Caspase-3 会被活化成为 Cleaved Caspase-3,发挥促进细胞凋亡的作用^[11]。Ibrahim 等^[12]通过实验证明盲肠结扎穿孔术后的大鼠炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、NF- κ B 水平升高,凋亡介质 Caspase-3 和 p-JNK 蛋白表达上调,通过非布索坦治疗后,各测量参数均有明显好转,此外,还能改善组织病理变化,提高整体存活率。本实验中,小鼠腹腔注射 LPS,刺激后 3 d 小鼠脾脏淋巴细胞

中 Cleaved Caspase-3 蛋白表达水平高于对照组,而给予人参皂苷 Rg3 灌胃处理组小鼠的 Cleaved Caspase-3 蛋白表达水平低于 LPS 组,提示人参皂苷 Rg3 有减少小鼠脓毒症时淋巴细胞凋亡的作用。

既往研究发现人参皂苷 Rg3 能通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号通路调节线粒体自噬,改善线粒体功能障碍,保护脓毒症引起的细胞和器官损伤^[13]。人参皂苷 Rg3 能通过 NF- κ B 和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路发挥强抗炎效果,抑制一氧化氮、诱导型一氧化氮合酶、环氧化酶-2、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达^[14]。

综上所述,本实验通过检测人参皂苷 Rg3 对脓毒症小鼠炎症因子及 Cleaved Caspase-3 蛋白表达的影响,提示人参皂苷 Rg3 具有降低脓毒症小鼠炎症因子水平、脾脏指数及凋亡相关蛋白 Caspase-3 活化水平的作用。本研究为动物实验,存在一定的局限性和不足之处,为进一步探讨其机制需进一步深入研究,同时在临床上的有效性需要通过临床试验去验证。

4 参考文献

- [1] Kong BB, Wang XF, Yang WP, et al. Effects of simvastatin on the function of splenic CD4+ and CD8+ T cells in sepsis mice [J]. Immunol Res, 2018, 66(3): 355-366. DOI:10.1007/s12026-018-8994-7.
- [2] Saba E, Jeong D, Irfan M, et al. Anti-inflammatory activity of Rg3-enriched Korean red ginseng extract in murine model of sepsis[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018, 2018: 6874692. DOI:10.1155/2018/6874692.
- [3] Ge WW, Hu QH, Fang XS, et al. LDK378 improves micro- and macro-circulation via alleviating STING-mediated inflammatory injury in a sepsis rat model induced by cecal ligation and puncture[J]. J Inflamm (Lond), 2019, 16:3. DOI:10.1186/s12950-019-0208-0.
- [4] Cakir M, Tekin S, Oka A, et al. The ameliorating effect of cannabinoid type 2 receptor activation on brain, lung, liver and heart damage in cecal ligation and puncture-induced sepsis model in rats[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 78: 105978. DOI:10.1016/j.intimp.2019.105978.
- [5] Ding L, Gong YH, Yang ZF, et al. Lactobacillus rhamnosus GG ameliorates liver injury and hypoxic hepatitis in rat model of CLP-induced sepsis[J]. Dig Dis Sci, 2019, 64(10): 2867-2877. DOI:10.1007/s10620-019-05628-0.
- [6] Xie WF, Chen L, Chen L, et al. Silencing of long non-coding RNA MALAT1 suppresses inflammation in septic mice: role of microRNA-23a in the down-regulation of MCEP1 expression[J]. Inflamm Res, 2020, 69(2): 179-190. DOI:10.1007/s00111-019-01306-z.

- [7] Li W, Tu J, Liu X, et al. Farnesyltransferase inhibitor FTI-277 inhibits PD-L1 expression on septic spleen lymphocytes and promotes spleen lymphocyte activation[J]. Clin Exp Immunol, 2017, 190(1): 8-18. DOI:10.1111/cei.12995.
- [8] Li S, Zhu FX, Zhao XJ, et al. The immunoprotective activity of interleukin-33 in mouse model of cecal ligation and puncture-induced sepsis. Immunology letters[J]. Immunol Lett, 2016, 169: 1-7. DOI:10.1016/j.imlet.2015.11.009.
- [9] Yasuda T, Takeyama Y, Ueda T, et al. Splenic atrophy in experimental severe acute pancreatitis[J]. Pancreas, 2002, 24(4): 365-372. DOI:10.1097/00006676-200205000-00007.
- [10] Jiang WQ, Zhong WH, Deng YY, et al. Evaluation of a combination "lymphocyte apoptosis model" to predict survival of sepsis patients in an intensive care unit[J]. BMC Anesthesiol, 2018, 18(1): 89. DOI:10.1186/s12871-018-0535-3.
- [11] Jiang H, Zhao PJ, Su D, et al. Paris saponin I induces apoptosis via increasing the Bax/Bcl-2 ratio and caspase-3 expression in gefitinib-resistant non-small cell lung cancer in vitro and in vivo[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(6): 2265-2272. DOI: 10.3892/mmr.2014.2108.
- [12] Ibrahim YF, Fadl RR, Ibrahim S, et al. Protective effect of febuxostat in sepsis-induced liver and kidney injuries after cecal ligation and puncture with the impact of xanthine oxidase, interleukin 1 β , and c-Jun N-terminal kinases[J]. Hum Exp Toxicol, 2020, 39(7):906-919. DOI:10.1177/0960327120905957.
- [13] Xing W, Yang L, Peng Y, et al. Ginsenoside Rg3 attenuates sepsis-induced injury and mitochondrial dysfunction in liver via AMPK mediated autophagy flux[J]. Biosci Rep, 2017, 37(4): BSR20170934. DOI:10.1042/BSR20170934.
- (收稿日期:2022-05-31)
(本文编辑:陈丽)

(上接第2138页)

- Soc, 2015, 12(1):101-104. DOI:10.1513/AnnalsATS.201408-358BC.
- [21] Zhou YZ, Gao YP, Zhang N, et al. Clinical effects of cisplatin plus recombinant human endostatin (rh-endostatin) intratumoral injection on malignant central airway obstruction: a retrospective analysis of 319 cases[J]. J Thorac Dis, 2021, 13(2): 1100-1105. DOI:10.21037/jtd-20-1493.
- [22] Jiang WQ, Yang XP, Wang XK, et al. Bronchoscopic intratumoral injections of cisplatin and endostar as concomitants of standard chemotherapy to treat malignant central airway obstruction[J]. Postgrad Med J, 2022, 98(1156):104-112. DOI: 10.1136/postgradmedj-2020-138823.
- [23] Weill D, Mack M, Roth J, et al. Adenoviral-mediated p53 gene transfer to non-small cell lung cancer through endobronchial injection[J]. Chest, 2000, 118(4): 966-970. DOI:10.1378/chest.118.4.966.
- [24] DeMaio A, Sterman D. Bronchoscopic intratumoural therapies for non-small cell lung cancer[J]. Eur Respir Rev, 2020, 29(156): 200028. DOI:10.1183/16000617.0028-2020.
- [25] Koizumi T, Tsushima K, Tanabe T, et al. Bronchoscopy-guided cooled radiofrequency ablation as a novel intervention therapy for peripheral lung cancer[J]. Respiration, 2015, 90(1): 47-55. DOI:10.1159/000430825.
- [26] Shin JH, Song HY, Ko GY, et al. Esophagorespiratory fistula: long-term results of palliative treatment with covered expandable metallic stents in 61 patients[J]. Radiology, 2004, 232(1): 252-259. DOI:10.1148/radiol.2321030733.
- [27] Deschamps C, Bernard A, Nichols FC, et al. Empyema and bronchopleural fistula after pneumonectomy: factors affecting incidence[J]. Ann Thorac Surg, 2001, 72(1):243-247; discussion 248. DOI:10.1016/s0003-4975(01)02681-9.
- [28] Pforr A, Pagès PB, Baste JM, et al. A predictive score for bronchopleural fistula established using the French database epithor[J]. Ann Thorac Surg, 2016, 101(1):287-293. DOI:10.1016/j.athoracsur.2015.06.026.
- [29] Han XW, Yin MP, Li L, et al. Customized airway stenting for bronchopleural fistula after pulmonary resection by interventional technique: single-center study of 148 consecutive patients[J]. Surg Endosc, 2018, 32(10):4116-4124. DOI:10.1007/s00464-018-6152-x.
- [30] Zeng YM, Gao HZ, Zhang XB, et al. Closure of bronchopleural fistula with mesenchymal stem cells: case report and brief literature review[J]. Respiration, 2019, 97(3):273-276. DOI:10.1159/000493757.
- (本文由浙江省医学会推荐)
(收稿日期:2022-05-21)
(本文编辑:陈丽)