

文章编号:1673-1689(2006)01-0010-05

外源质粒 DNA 对小鼠肝脏基因表达谱的影响

刘建文¹, 施用晖², 乐国伟¹

(1. 江南大学 教育部食品科学与安全重点实验室, 江苏 无锡 214036; 2. 江南大学 食品营养与安全研究所, 江苏 无锡 214036)

摘要: 研究了外源质粒 DNA 经胃肠道吸收可能对肝脏产生的作用机制。给 Balb/c 小鼠灌胃质粒 pcDNA3 200 μ g, 在灌胃后 4 h 分离肝脏, 提取肝脏的总 RNA。利用寡核苷酸芯片对灌胃质粒 pcDNA3 后的 Balb/c 小鼠肝脏进行基因表达谱研究。结果发现 17 664 个基因中, 表达上调 100 条, 表达下调 41 条。按基因功能分类, 表达上调的基因可分为免疫应答基因、转录因子基因、信号转导基因、转运相关基因及代谢相关基因等; 表达下调的基因主要为脂质代谢基因。灌胃外源质粒 DNA 后, 肝脏组织主要表现为急性时相反应的加强、免疫反应的活化、细胞信号通路的活化以及脂质代谢途径的抑制。表明外源质粒 DNA 通过胃肠道途径可广泛调控肝脏的基因表达。

关键词: 外源质粒 DNA; 寡核苷酸芯片; 肝脏; 基因表达

中图分类号: Q 34

文献标识码: A

Effect of Foreign Plasmid DNA on Gene Expression Profile of Liver in Mice

LIU Jian-wen¹, SHI Yong-hui², LE Guo-wei¹

(1. The Key Laboratory of Food Science and Safety, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Institute of Food Nutrition and Safety, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: To have more insight into the possible mechanism of effect of foreign plasmid on liver in mice, mice were oral administered with 200 μ g of plasmid pcDNA3 and liver were isolated at 4 h after oral administration. Total RNA was extracted from liver and liver gene expression profile of Balb/c mice was analyzed by using oligonucleotide array after oral administration of plasmid pcDNA3. The result showed 100 genes were up-regulated and 41 were down-regulated among the total 17664 genes. The up-regulated genes could be functionally categorized into immune response, transcription factors, signal, transport and metabolic genes; and the down-regulated genes were mainly lipid metabolism genes. The biological processes are mainly involved in the acute phase response, the activation of immune response, cellular signal pathway, and the suppression of lipid metabolism in liver after oral administration of plasmid DNA. Foreign plasmid DNA may widely modulated gene expression in the liver after oral administration, this brings new clues for studying the mechanism of absorption and effect of foreign plasmid DNA in the liver.

Key words: foreign plasmid DNA; oligonucleotide array; liver; gene expression

收稿日期: 2005-03-10; 修回日期: 2005-04-05.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30270970).

作者简介: 刘建文 (1977-), 男, 福建仙游人, 分子营养学博士研究生.

外源质粒 DNA 通过胃肠道途径能够被机体吸收,并且以碎片的形式分布于各个器官中^[1]。研究发现肝脏是吸收外源质粒 DNA 的主要器官,质粒 DNA 可以与肝脏中非薄壁组织细胞(nonparenchymal cells)上的清道夫受体结合,从而被肝脏组织吸收^[2~4]。外源质粒 DNA 经胃肠道途径吸收后,可在肝脏中以碎片形式聚集,并逐渐地被降解,外源质粒 DNA 片段可能插入到肝脏基因组中,引起宿主基因组的甲基化等不可预的后果^[5,6]。因此,外源质粒 DNA 进入体内必然会引起机体在生理及代谢上发生相应的变化,机体在代谢上的变化其本质是由基因表达调控的改变造成的。肝脏是哺乳动物体内具有多种代谢功能的重要器官,它不仅和糖类、脂类、蛋白质、维生素及激素的代谢密切相关,而且它还是体内绝大多数血浆蛋白质合成和分泌的场所,与非特异性防御相关的急性时相蛋白等主要是由肝脏合成分泌。作者采用基因芯片观察摄入外源质粒 DNA 后观察肝组织基因表达谱的变化,在分子水平上初步观察外源质粒 DNA 吸收后可能引起肝组织生理上的变化。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

T₇-Oligo(dT)₁₅:上海博亚生物技术有限公司产品; Superscript II (Invitrogen); DNA Polymerase (Invitrogen); T4 DNA polymerase (Invitrogen); RNeasy Mini Kit (Qiagen); Random Primer DNA Labeling Kit (TaKaRa, Dalian, China); T₇ RiboMAX Express Large Scale RNA Production System(Promega);小鼠 Oligo 芯片(Qiagen)。

1.2 动物模型

实验采用 6 周龄 Balbc/C 雄性小鼠(购自中科院上海实验动物中心)6 只,随机分成 2 组,一组为实验对照组,灌胃 200 μL 生理盐水,另一组给小鼠灌胃 1 g/L 质粒 pcDNA3 溶液 200 μL,质粒 pcDNA3 为生理盐水溶解,灌胃后 4 h,眼球采血宰杀小鼠,在超净台上迅速分离肝脏,同组 3 只小鼠的肝脏合并在一起,迅速置于 RNAlater 中,于 4 ℃ 过夜,-20 ℃ 保存。

1.3 应用 Oligo 芯片检测外源质粒 DNA 对小鼠免疫基因表达的影响

1)Trizol 总 RNA 抽提试剂盒提取小鼠肝脏总 RNA,电泳及分光光度计测 A₂₆₀/A₂₈₀ 以鉴定总 RNA 质量。2)RNA 定量,反转录合成双链 cDNA 并进行纯化。3)用 T₇ RiboMAX Express Large

Scale RNA Production System (Promega) 将双链 cDNA 进行体外转录合成 cRNA。4)cRNA 再次反转录成 cDNA,Cy5-dCTP 标记实验组 cDNA,Cy3-dCTP 标记实验组 cDNA。5)标记的 DNA 与芯片进行杂交洗涤,并进行扫描。6)数据分析:采用 GenePix Pro 4.0 图像分析软件(Axon Instruments 公司)对芯片图像进行分析,把图像信号转化为数字信号;最后以差异为两倍(Cy5/Cy3)的标准来确定差异表达基因,其中 Cy5/Cy3≥2 表示表达显著上调,Cy5/Cy3≤0.5 表示表达显著下调。

2 结果与讨论

2.1 差异表达基因分类

对两组肝脏组织芯片杂交,杂交结果通过计算机扫描定量。基因芯片扫描图见图 1,散点图见图 2。

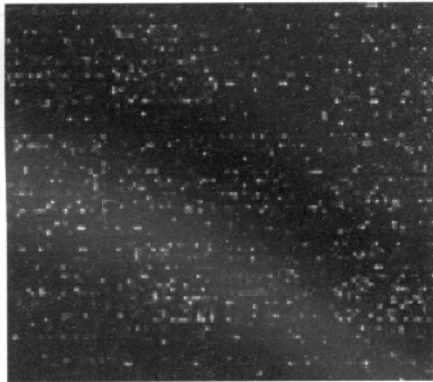


图 1 基因芯片扫描图
Fig. 1 Scanning picture of microarray

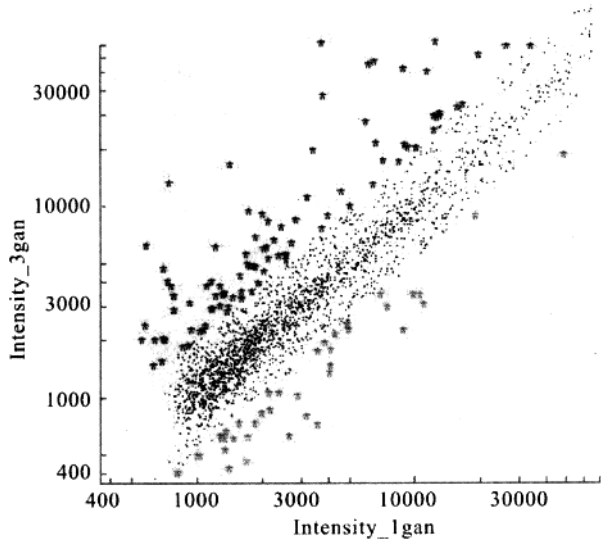


图 2 肝脏基因表达谱的散点图
Fig. 2 Scatter plot of liver gene expression profile
结果显示 17 664 个基因中,一共有 3 400 条基因表达,其中明显差异表达的基因有 141 条,表达

上调 100 条,表达下调 41 条。对差异表达基因进行分类,分类结果见表 1、表 2。

表 1 灌胃质粒 DNA 后肝脏组织中表达上调的基因
Tab. 1 The up-regulated genes in the liver after oral administration

登陆号	编码蛋白	Cy5/Cy3
免疫应答		
BC005591	骨髓分化初次应答基因 88	2. 253
NM_008176	趋化因子配体基因	15. 855
NM_008200	组织相容性抗原	12. 245
NM_008530	淋巴细胞抗原 6 复合物 F	2. 741
NM_010738	淋巴细胞抗原 6 复合物 A	2. 803
NM_011314	血清淀粉样蛋白 A2	3. 612
NM_011315	血清淀粉样蛋白 A3	330. 682
NM_011316	血清淀粉样蛋白 A4	2. 204
NM_015783	干扰素诱导蛋白	2. 698
NM_017370	触珠蛋白	3. 357
NM_018866	趋化因子配体 13	26. 567
NM_054098	ATP 结合 DNA 序列	7. 527
转录因子		
NM_007679	增强子结合蛋白	5. 680
NM_007924	延长因子 RNA 聚合酶	2. 377
NM_009637	AE binding protein 2	17. 593
NM_009716	转录因子 4	2. 219
NM_009883	增强子结合蛋白	4. 454
NM_013736	转录延伸因子	4. 612
信号转导相关基因		
AK002567	金属硫蛋白 2	9. 211
BC005591	骨髓分化初次应答基因 88	2. 253
BC010334	网状激活系统同源基因家族	3. 218
NM_007539	缓激肽受体	4. 316
NM_007707	细胞因子信号 3 抑制基因	2. 894
NM_008359	白细胞介素 17 受体	
NM_008362	白细胞介素 1 受体	
NM_009896	细胞因子细胞 1 抑制基因	
U50413	磷脂酰肌醇 3 激酶	
X53802	白细胞介素 6 受体	
与转运相关基因		
AK004975	连接相关蛋白复合物	3. 202
AK007424	溶质载体家族	2. 073
BC010334	分类微管连接蛋白 10	3. 218
BC022114	RIKEN cDNA 1110030N17 gene	2. 778
NM_054098	ATP 结合 DNA 序列	7. 528

续表 1		
登陆号	编码蛋白	Cy5/Cy3
与代谢相关基因		
AK020437	RIKEN cDNA 2310050B20 gene	2. 779
BC003237	expressed sequence AI462438	2. 655
BC008162	核糖体蛋白激酶多肽 3	6. 628
BC022110	氨基乙酰丙酸合成酶	5. 445
NM_008175	颗粒体蛋白	2. 604
NM_008490	卵磷脂胆固醇乙酰转移酶	2. 006
NM_008898	细胞色素氧化还原酶	2. 431
NM_009637	AE binding protein 2	17. 593
NM_010699	乳酸脱氢酶 1,A 链	2. 170
NM_011201	蛋白质酪氨酸磷酸酶	3. 038
NM_011664	泛素 B	3. 299
NM_011868	过氧化物酶体 peroxisomal delta3	2. 258
NM_019911	色氨酸 2,3-加二氧酶	2. 090
NM_021281	组织蛋白酶 S	2. 601
NM_008341	胰岛素样生长因子结合蛋白	7. 654
NM_011579	T-cell specific GTPase	7. 399

表 2 灌胃质粒 DNA 后肝脏组织中表达下调的基因
Tab. 2 The down-regulated genes in the liver after oral administration

登陆号	编码蛋白	Cy5/Cy3
代谢相关基因		
乙醇代谢		
AB016248	固醇 C5 脱饱和酶	0. 303
AF071068	多巴脱羧酶	0. 330
AK009083	UDP 半乳糖-4-差向异构酶	0. 356
BC019207	低密度脂蛋白受体	0. 363
NM_019911	Tryptophan 2,3-dioxygenase	2. 090
脂质代谢		
AB016248	sterol-C5-desaturase (fungal ERG3, delta-5-desaturase) homolog (S. cerevisiae)	0. 303
AF127033	脂肪酸合成酶	0. 265
BC019207	低密度脂蛋白	0. 363
NM_007703	长链脂肪酸延伸基因	0. 346
NM_008294	hydroxysteroid dehydrogenase-4, delta<5>-3-beta 羟基类固醇脱氢酶	0. 308
NM_130450	ELOVL family member 6, elongation of long chain fatty acids (yeast)	0. 267

续表 2

登陆号	编码蛋白	Cy5/Cy3
核酸代谢		
AF201285	transforming growth factor beta 1 induced transcript 4	0.452
AK009083	UDP 半乳糖-4-差向异构酶	0.355
NM_011850	核受体家族, nuclear receptor subfamily 0, group B, member 2	0.158
转运相关基因		
BC008171	RIKEN cDNA C330005L02 gene	0.473
BC019207	低密度脂蛋白受体	0.363
BC021496	ATP 酶, ATPase, Na ⁺ /K ⁺ transporting, alpha 1 polypeptide	0.421
NM_007474	aquaporin 8	0.215
NM_019682	动力蛋白 dynein, cytoplasmic, light chain 1	0.476
NM_021329	RNA 鸟苷释放因子	0.473

2.2 外源质粒 DNA 对急性相应答的影响

灌胃质粒 DNA 4 h 后,肝脏中许多与免疫应答和应激应答的基因表达发生上调。包括趋化因子 (Chemokine (C-X-C motif) ligand 1 和 chemokine (C-X-C motif) ligand 13), 淋巴细胞抗原复合物 (Lymphocyte antigen 6 complex), 白细胞介素 1 受体, 白细胞介素 6 受体, 白细胞介素 17 受体, 生长停滞和 DNA 损伤诱导蛋白 (Growth arrest and DNA-damage-inducible 45 gamma), 干扰素 α 诱导蛋白 (Interferon, alpha-inducible protein), 血清淀粉样蛋白 (Serum amyloid A 2, serum amyloid A 3, serum amyloid A 4), 触珠蛋白 (Haptoglobin), 磷脂酰肌醇 3 激酶 (Phosphatidylinositol 3-kinase) 等。

肝脏急性时相反应 (Acute phase response, APR), 是机体产生炎症应答的一种表现, APR 带来的变化可分为血浆蛋白浓度的变化和一系列生理、生物化学、营养状态等的改变^[7,8]。本实验发现血浆淀粉样 A 物质、触珠蛋白、胰岛素样生长因子结合蛋白、金属硫蛋白等急性期蛋白 (APP) 基因表达发生上调, 其中血清淀粉样 A 物质 3 显著上调 (变化倍数为 30.7)。血清淀粉样蛋白 A 是由同一簇基因编码的一组多形性蛋白, 在急性和许多慢性炎症时, 血浆 SAA 水平会明显升高^[9]。金属硫蛋白 2 是在白细胞介素的作用下合成的, 该物质是一种生命半衰期很短的蛋白质, 能够调节肝脏与血清中锌的浓度。其中热休克蛋白基因表达发生下调, 在小肠基因表达中也发现热休克蛋白基因表达下调, 热

休克蛋白在各种应激表现出对机体的一种保护作用^[10]。

同时, 白细胞介素 1 受体和白细胞介素 6 受体基因表达上调。肝脏急性炎症应答也是机体接受外源质粒 DNA 刺激产生先天性免疫应答, 进行自我调节的一种方式。IL-1 和 IL-6 是调节肝脏急性时相反应的主要因素, 因为在炎症反应中, 炎症部位的单核细胞/巨噬细胞产生的细胞因子是 APP 的主要调节因子。这些细胞因子统称为炎症相关因子, 包括 IL-6、IL-1 β 、TNF α 、IFN γ 、TGF β 、IL-8 等^[11]。细胞因子与其可溶性受体、受体拮抗剂及激素等以瀑布级联 (cascade) 方式或网络 (network) 方式调节 APP。IL-6 诱导 CRP、血浆淀粉样 A 蛋白需要 IL-1 或 TNF α 的共同参与; IL-1、TNF α 和 TGF β 可以抑制 IL-6 诱导的纤维蛋白原产生^[12]; IL-6 可以增加 IL-1 β 诱导的 IL-1 受体表达^[12]。IL-6 刺激肝脏急性相蛋白的合成, 如血清淀粉样物质, 触珠蛋白, C 反应蛋白, α -抗胰凝乳蛋白酶以及纤维蛋白原等合成增加, 对肝脏代谢也产生影响, 如刺激肝脏对氨基酸的摄取, 刺激金属硫蛋白的合成, 诱生肝铜兰蛋白, 从而促使血清铜水平升高^[13]。

2.3 外源质粒 DNA 对脂质代谢基因的影响

肝脏是机体主要代谢器官, 参与了蛋白质代谢、糖代谢、脂肪代谢及维生素代谢等。本实验发现许多与脂质代谢相关的基因表达下调。这些基因主要参与脂肪酸合成和固醇代谢等。参与脂质代谢基因有脂肪酸合成酶、低密度脂蛋白受体、羟基固醇脱氢酶、固醇-C5-脱氢酶、长链脂肪酸延伸基因等。脂肪酸合成酶是脂肪酸合成的一种关键酶, 它是由许多酶组成的一个复合体系, 主要通过缓慢调控来实现对脂肪酸合成的调节。本实验发现低密度脂蛋白受体 (ldlr) 表达水平下降, 与 Joo-Yeon Yoo (2003)^[14] 采用 LPS 处理小鼠后, 肝脏中 ldlr mRNA 水平降低四倍结果一致。Joo-Yeon Yoo (2003)^[14] 发现肝脏处于急性相反应时, 其脂肪酸合成、磷脂合成、脂肪酸氧化、胆酸合成及胆固醇合成途径受到抑制, 提示先天性免疫应答及获得性免疫应答与肝脏脂质代谢存在着必然的联系。在急性相反应时, 血清中的甘油三酯的水平升高, 脂肪酸合成等途径受到抑制可能是血清甘油三酯水平发生变化的主要原因, 从而导致脂肪酸摄入的下降。

2.4 对信号转导途径的影响

一些信号通路基因表达上调, 包括金属硫蛋白 2、骨髓分化初次应答基 (MyD88)、分类微管连接蛋白、网状激活系统同源基因家族、缓激肽受体、磷脂

酰肌醇 3 激酶、细胞因子信号基因(细胞因子信号 3 抑制基因和细胞因子细胞 1 抑制基因)以及细胞因子基因受体基因,如白介素 17 受体、白介素 6 受体、白介素 1 受体。肝脏产生急性相应答及代谢上的变化可能是通过某些信号转导途径来调节的(如 3.1 所述)。

免疫和造血细胞之间的相互通讯依靠一种可溶性的细胞因子介导。细胞因子通过靶细胞上的特异性受体相互作用介导靶细胞的生长、分化和凋谢等。目前知道细胞因子介导的信号途径有两条:即 Ras-MAPK 途径和 JAK-STAT 途径。信号转导的第一步是细胞因子与受体结合,从而触发受体二聚化,这种二聚化是信号转导所必需。受体的二聚化使受亚基膜内区相互靠近,从而是结合于受体亚基膜内域的非受体型酪氨酸激酶发生相互磷酸化,从而使相关的胞内信号分子与受体结合,并且使其酪氨酸残基被磷酸化,接着再吸引其它信号分子与之结合,包括一些接头分子(只具有 SH2、SH3 结构域),如此反复将信号转导下去。信号分子的这种系列活化可激活一些转录因子,最终影响基

因转录。有些信号分子也可影响转录后加工和蛋白质翻译。

磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3-K)是细胞内信号转导系统的一条通道,是肌醇磷脂信使系统的重要组成部分,介于细胞受体与第二信使之间的信号转导途径。PI3K 是肌醇磷脂信使系统的一条重要通道,其作用通过将第二信使前体磷酸化而转导信息,所产生的第二信使可能参与的细胞的糖代谢、生长分化、基因表达、细胞凋亡等过程,其上游信号主要是一些生长因子,如 EGF、IGF、神经生长因子(NGF)等^[15]。PI3-K 可激活丝/苏氨酸激酶-Akt^[16-18](蛋白激酶 B),并可能级联放大下游抑癌基因表达,达到抑制细胞凋亡目的。同时 PI3-激酶可与白细胞介素 I 型受体(IL-1RI)结合,调控 IL-1 诱导的 NF- κ B 活化。

3 小 结

灌胃外源质粒 DNA 后,肝脏组织的主要表现为急性时相反应的加强、免疫反应的活化、细胞信号通路的活化以及脂质代谢途径的抑制。

参考文献:

- [1] 刘建文,施用晖,乐国伟,等. 外源质粒 DNA 经小鼠胃肠道吸收代谢动力学[J]. 世界华人消化杂志, 2004, 12(5):1108—1113.
- [2] Yoshinaga T, Yasuda K, Ogawa Y, et al. Efficient uptake and rapid degradation of plasmid DNA by murine dendritic cells via a specific mechanism[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 299(3):389—394.
- [3] Takakura Y, Takagi T, Hashiguchi M, et al. Characterization of plasmid DNA binding and uptake by peritoneal macrophages from class A scavenger receptor knockout mice[J]. *Pharm Res*, 1999, 16(4):503—508.
- [4] Takagi T, Hashiguchi M, Mahato RI, et al. Involvement of specific mechanism in plasmid DNA uptake by mouse peritoneal macrophages[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 245(3):729—733.
- [5] Schubbert R, Renz D, Schmitz B, et al. Foreign (M13) DNA ingested by mice reaches peripheral leukocytes, spleen, and liver via the intestinal wall mucosa and can be covalently linked to mouse DNA[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(3):961—966.
- [6] Doerfler W, Hohlweg U, Muller K, et al. Foreign DNA integration—perturbations of the genome—oncogenesis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 945:276—288.
- [7] Hernandez-Pando R, Arriaga AK, Panduro C A, et al. The Response of Hepatic Acute Phase Proteins during Experimental Pulmonary Tuberculosis[J]. *Experimental and Molecular Pathology*, 1998, 65(1):25—36.
- [8] Kurash JK, Shen CN, Tosh D, et al. Induction and regulation of acute phase proteins in transdifferentiated hepatocytes[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 292(2):342—358.
- [9] Kisilevsky R. Serum amyloid A protein[J]. *Biofutur*, 1997, 165(3):47.
- [10] 冯刚,周元国. 应激反应的细胞损伤和抗损伤机制及其调控[J]. 创伤外科杂志, 1999, 1(1):51—53.
- [11] Wigmore S J, Fearon K C, Ross J A. Interleukin-8 can mediate acute-phase protein production by isolated human hepatocytes[J]. *Am J Physiol*, 1997, 273: E720—E726.

mol/L 乙酰丙酮苯溶液 30 mL,分两次萃取除去 Fe(Ⅳ)。水相转入 100 mL 容量瓶中,用水定容,作为样品待测液。移取 1.0 mL 于 50 mL 比色管中,再按实验方法测定,结果见表 1。

3.2 小麦

准确称取 5 g 已粉碎的样品于烧杯中,加水 1~2 mL,加入 $V(\text{HNO}_3):V(\text{HClO}_4):V(\text{H}_2\text{O}_2)=(3:1:1)$ 混合液 20 mL,搅拌均匀后在室温下放置 12 h。在 160 ℃ 浓缩至 1~2 mL,冷却到室温。以下处理同鸡蛋样品,结果见表 1。

表 1 食品中硒(Ⅳ)的测定结果
Tab.1 Analysis Results and Recoveries for Foods Samples

												(μg/g)	
样品		Se(Ⅳ) 测定值						平均值	Se(Ⅳ) 测定值		Se(Ⅳ) 回收量	回收率/%	RSD/%
									Se(Ⅳ) 加入量				
鸡蛋	0.178	0.174	0.178	0.176	0.169	0.168	0.174	0.1	0.276	0.102	102	2.6	
小麦	0.087	0.074	0.081	0.082	0.076	0.072	0.079	0.05	0.128	0.049	98.0	7.2	

参考文献:

[1] COMBS G F, COMBS J R, COMBS S B. The Role of Selenium in Nutrition [M]. Orlando:Academic Press, 1986.

[2] GERALD F C, WILLIAM P G. Chemopreventive agents: selenium [J]. **Pharmacology and Therapeutics**, 1998, 79 (3): 179—192.

[3] 闫永胜,张国营,陆晓华. 溶剂浮选缔合物光度法测定痕量硒[J]. **分析试验室**,2001,20(5):56—58.

[4] 王秀梅,单金媛,周海洋. 催化动力学光度法测定富硒茶叶中痕量硒[J]. **分析科学学报**,2003,19(5): 480—481.

[5] 刘长久,羊细群,刘继声. 阻抑氧化甲基橙动力学光度法测定硒[J]. **分析化学**,2001,29(9):1030—1032.

[6] ABBAS A, TAYYEBEH M. Kinetic - spectrophotometric determination of selenium in natural water after preconcentration of elemental selenium on activated carbon [J]. **Talanta**, 2002,58 (2): 311—317.

[7] 仇佩虹,林丽,杨小凤. 痕量硒的催化褪色法测定[J]. **分析化学**,2002,30(8):935—937.

[8] 王锋,唐纪芳. 催化动力学光度法测定禽蛋中的痕量硒(Ⅳ)[J]. **光谱实验室**,2003,20(3):475—478.

[9] 白林山,胡晓翠. 靛蓝胭脂红-溴酸钾催化光度法测定茶叶中微量硒[J]. **当代科学仪器**,2001,30(5):56—59.

[10] SAFAVI A, MIRZAEI M. Spectrofluorimetric kinetic determination of selenium (IV) by flow injection analysis in cationic micellar medium [J]. **Talanta**,2000,51 (2): 225—230.

[11] ABSALAN G, SAFAVI A, MAESUM S. Application of artificial neural networks as a technique for interference removal: kinetic - spectrophotometric determination of trace amounts of Se (IV) in the presence of Te (IV) [J]. **Talanta**, 2001,55(6): 1227—1233.

[12] 戚文彬,浦炳寅. 表面活性剂与分析化学[M]. 北京:中国计量出版社,1984. 123—124.

[13] 林新生. 复杂样品的分离和分析[M]. 北京:高等教育出版社, 1984.

(责任编辑:朱 明)

(上接第 14 页)

[12] Xing Z, Gauldie J, Cox G, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required or controlling local or systemic acute inflammatory response[J]. **J Clin Invest**,1998 ,101(2) :311—320.

[13] Mackiewicz A, Speroff T, Ganapathi MK, et al. Effects of cytokine combinations on acute phase protein production on two human hepatoma cell line[J]. **J Immunol**,1991,146(9) :3032—3037.

[14] Yoo JY, Desiderio S. Innate and acquired immunity intersect in a global view of the acute-phase response[J]. **Proc Natl Acad Sci USA**, 2003, 100(3):1157—1162.

[15] Yao R ,Copper G M. Requirement for phosphatidylinositol-3 kinase in the prevention of apoptosis by nerve growth factor [J]. **Science**,1995,267 (5206) :2003—2006.

[16] Franke TF, Yang SI, Chan TO, et al. The protein kinase encoded by the Akt proto-oncogene is a target of the PDGF -activated phosphatidylinositol-3 kinase[J]. **Cell**,1995,81 (5) :7272—7361.

[17] Burgering BM, Coffey PJ . Protein kinase B(c-Akt) in phosphatidylinositol-3-OH kinase signal transduction[J]. **Nature**, 1995, 376(6541) :5992—6021.

[18] Toker A, Cantley LC. Signalling through the lipid products of phosphoinositids-3-OH kinase[J]. **Nature**,1997 , 387 (6634) :6732—6761.

(责任编辑:杨 萌)