

论著·基础研究

MFG-E8 基因在梗阻性黄疸小鼠免疫组织中的表达及临床意义*

郭勇¹,熊琦²,唐永梁¹,杨俊涛^{1△}

(1. 第三军医大学大坪医院野战外科研究所肝胆外科,重庆 400042;2. 重庆市第七人民医院检验科 400054)

摘要:目的 动态观察梗阻性黄疸小鼠血浆 MFG-E8 水平,以及肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺的 MFG-E8 mRNA 和蛋白的表达情况,探讨其在梗阻性黄疸中的意义。方法 建立梗阻性黄疸小鼠模型,分为假手术组、胆总管结扎组,采用蛋白免疫印迹法检测梗阻性黄疸小鼠第 3、7、14 天血浆中 MFG-E8 蛋白水平;RT-PCR 检测肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺中 MFG-E8 mRNA 的表达变化;采用蛋白免疫印迹法检测上述组织中 MFG-E8 的蛋白表达水平。结果 梗阻性黄疸小鼠血浆中 MFG-E8 蛋白水平在每个时相点均较假手术组明显降低($P<0.05$);肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺组织中 MFG-E8 mRNA 表达明显降低($P<0.05$),同时,肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺组织中 MFG-E8 蛋白表达水平亦明显下降($P<0.05$)。结论 MFG-E8 在梗阻性黄疸免疫组织中的表达明显减少,可能对梗阻性黄疸后组织凋亡细胞的清除产生重要的影响。

关键词:黄疸,阻塞性;MFG-E8;免疫

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.16.017

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)16-2019-03

Expression and clinical significance of MFG-E8 gene in obstructive jaundice mouse immune tissue

Guo Yong¹, Xiong Qi², Tang Yongliang¹, Yang Juntao^{1△}

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, Daping Hospital and Research Institute of field Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Seventh People's Hospital of Chongqing, Chongqing 400054, China)

Abstract: Objective To dynamically observe the plasma levels of MFG-E8 in mice with obstructive jaundice and the expression of MFG-E8 mRNA and protein in liver, spleen, lymph nodes and thymus, and to investigate their significance in obstructive jaundice. Methods The mice models of obstructive jaundice were established and divided into the sham operation group and the common bile duct ligation group. Western blot was adopted to detect plasma MFG-E8 protein expression in obstructive jaundice mice on 3, 7, 14 d; the MFG-E8 mRNA expression changes in liver, spleen, lymph nodes and thymus tissue were detected by RT-PCR; the MFG-E8 protein expression in the above organizations was detected by Western blot. Results Plasma MFG-E8 protein levels at each time point in the obstructive jaundice mice were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$); MFG-E8 mRNA expression in liver, spleen, lymph nodes and thymus tissue was significantly decreased ($P<0.05$), meanwhile the MFG-E8 protein levels in liver, spleen, lymph nodes and thymus tissue were significantly decreased ($P<0.05$). Conclusion the expression of MFG-E8 in obstructive jaundice immune tissue is significantly decreased, which may have a significant impact on the clearance of apoptotic cells in obstructive jaundice.

Key words: jaundice, obstructive; MFG-E8; immunity

梗阻性黄疸(obstructive jaundice)是肝胆外科常见的临床问题,常导致肠屏障功能障碍,免疫功能损害,并发全身炎症反应综合征,可能发展为脓毒症及多器官衰竭等,上述一系列病理生理变化与组织细胞凋亡异常增多关系密切^[1-3]。

MFG-E8 是细胞分泌的一种糖蛋白,在巨噬细胞和凋亡细胞间作为桥梁,介导对凋亡细胞的吞噬,这个功能在维持免疫的稳态是必需的^[4]。在 MFG-E8 敲除的小鼠中,由于凋亡细胞的浸润,异常的内环境导致严重的炎症和自身免疫。Miksa 等^[5]研究发现 MFG-E8 在小鼠败血症损伤 20 h 后明显减少,外源性给予 MFG-E8 会减轻组织损伤。然而,在梗阻性黄疸状态下体内 MFG-E8 的表达情况,以及是否参与了梗阻性黄疸后病理生理的发生与发展,目前均不清楚。

为此,本研究建立梗阻性黄疸小鼠模型,检测 MFG-E8 血浆蛋白水平,以及免疫组织中 MFG-E8 mRNA 及其蛋白表达,为进一步研究 MFG-E8 在梗阻性黄疸免疫损伤发生、发展中的作用与地位提供基础。

1 材料与与方法

1.1 实验动物 健康雄性 C57BL/6 野生型小鼠,体质量

(25~30)g,购自第三军医大学野战外科研究所动物室,饲养在有灯光控制分 12 h 白昼变换的房间,自由饮水和进食标准食物。实验前至少 1 周在该房间适应环境。

1.2 仪器与试剂 仪器:荧光定量 PCR 仪(ABI Prism,美国),分光光度仪(Beckman,美国)、电泳仪及电泳槽(BioRad,美国),可见光/紫外凝胶扫描分析系统(UVP,美国),扫描分析软件系统(Labworks™ Analysis Software,美国);试剂:RT 反应试剂盒(TaKaRa,日本),PCR 反应试剂盒(TaKaRa,日本),仓鼠抗小鼠 MFG-E8 一抗(MBL,日本),小鼠抗 β -actin 一抗(Novus Biologicals,美国),辣根过氧化物酶标记的羊抗仓鼠二抗(Santa Cruz,美国)、山羊抗小鼠二抗(Sigma,美国)。

1.3 方法

1.3.1 实验分组及梗阻性黄疸模型的建立 将实验动物分为两组:假手术组($n=10$)、胆总管结扎组(CBDL 组, $n=30$),CBDL 组分为术后 3、7、14 d 3 个时相点,即 CBDL 3 d、CBDL 7 d、CBDL 14 d 3 个亚组。在实验之前,雄性 C57BL/6 野生型小鼠被禁食整晚,仅给自由饮水。胆总管结扎组:通过胆总管结扎制造梗阻性黄疸小鼠模型,腹腔注射 0.3%戊巴比妥麻醉,沿

* 基金项目:重庆市自然科学基金项目(30109-0840)。 作者简介:郭勇(1981-),硕士,主治医师,主要从事梗阻性黄疸的诊治。

△ 通讯作者,E-mail:juntaoyang6@gmail.com。

上腹正中线切开皮肤,剪开皮下组织、腹膜进腹,沿肝十二指肠韧带寻及胆总管,于胰腺上方近十二指肠处游离胆总管,双重结扎,并于两结扎线之间切断;连续缝合腹膜、皮下组织、皮肤关腹;待复温至动物苏醒后,移入动物房,术后动物自由饮食。假手术组:仅仅行一个简单的剖腹手术,分离胆总管但并不结扎,然后在 3、7、14 d 后处死动物取血浆、肝、脾、胸腺、淋巴结等,保存于 -80°C 待检测。

1.3.2 免疫印迹法检测组织血浆中 MFG-E8 的蛋白水平 抽取血液样品后加入 Aprotinin(1:10 000)抑制蛋白降解,离心取血浆待检测。取 $10\ \mu\text{L}$ 蛋白样品用 11% SDS-PAGE 凝胶电泳 70 V 分离 3~4 h,再将胶中分离的蛋白区带电泳转移到硝酸纤维素膜上,然后将硝酸纤维素膜用含 6% 脱脂奶粉的 PBS 封闭 1 h,取出封闭后的硝酸纤维素膜置于含仓鼠抗小鼠 MFG-E8 IgG(1:250)、小鼠抗 β -actin 单抗(1:2 000)的胎牛血清封闭液中, 4°C 摇床孵育过夜, pH7.2 的 PBS 缓冲液洗膜 3 次,每次 10 min;再将硝酸纤维素膜置于含辣根过氧化物酶标记的羊抗仓鼠 IgG(1:1 000)中室温摇床孵育 1 h,洗膜 3 次,将已用二抗标记了的膜与 ECL 化学发光试剂反应,曝光后显影。用 Labworks™ Analysis Software 软件检测条带灰度值,计算目的蛋白相对比值。

1.3.3 RT-PCR 检测免疫组织中 MFG-E8 mRNA 水平 取肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺组织各 30 mg,用 TRIzol 试剂盒提取各组织的总 RNA,按逆转录试剂盒的操作步骤反转录为 cDNA,用特异性引物行荧光 RT-PCR 扩增。MFG-E8 引物序列如下:上游 5'-TAG CCC CTC TCT CAC ACA TCA CA-3',下游 5'-AAG GGG CAA GAG AGG CAA CCA-3'。扩增条件: 94°C 变性 10 min,然后 94°C 变性 30 s, 65°C 退火 30 s, 72°C 延伸 20 s,共循环 40 次;PCR 扩增产物在 1.6% 的琼脂糖凝胶中电泳,用 Bio-Rad 凝胶成像分析仪检测条带灰度值,计算目的基因与 β -actin 的灰度比值。

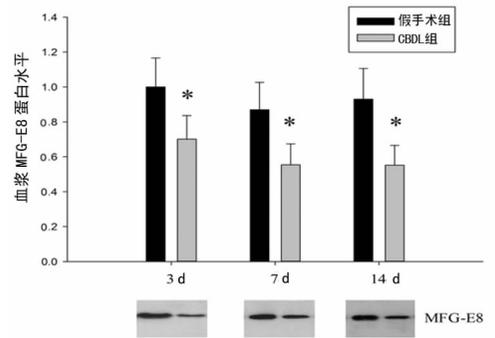
1.3.4 免疫印迹法检测免疫组织中 MFG-E8 的蛋白水平 取肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺组织各 0.2 g 加入蛋白裂解液(Tris-HCl 50 mmol/L, Triton X-100 0.1%, EDTA 1 mmol/L, EGTA 1 mmol/L, NaF 10 mmol/L, Na_3VO_4 2 mmol/L, β -巯基乙醇 10 mmol/L)提取组织总蛋白,用考马斯亮蓝法进行蛋白

定量。取 10 g 蛋白样品用 11% SDS-PAGE 凝胶电泳 80 V 分离 3~4 h,再将分离的蛋白区带电泳转移到硝酸纤维素膜上,然后将硝酸纤维素膜用含 6% 脱脂奶粉的 PBS 封闭 1 h,取出封闭后的硝酸纤维素膜置于含仓鼠抗小鼠 MFG-E8 IgG(1:250)、小鼠抗 β -actin 单抗(1:2 000)的胎牛血清封闭液中, 4°C 摇床孵育过夜, pH7.2 的 PBS 缓冲液洗膜 3 次,每次 10 min;再将硝酸纤维素膜置于含辣根过氧化物酶标记的羊抗仓鼠 IgG(1:1 000)、山羊抗小鼠 IgG(1:5 000)中室温摇床孵育 1 h,洗膜 3 次,将已用二抗标记了的膜与 ECL 化学发光试剂反应,曝光后显影。用 Labworks™ Analysis Software 软件检测条带灰度值,计算目的蛋白与 β -actin 的灰度比值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计学分析,结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料以单因素方差分析(one-way ANOVA)进行比较, Student-Newman-Keuls test 检验;计数资料用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

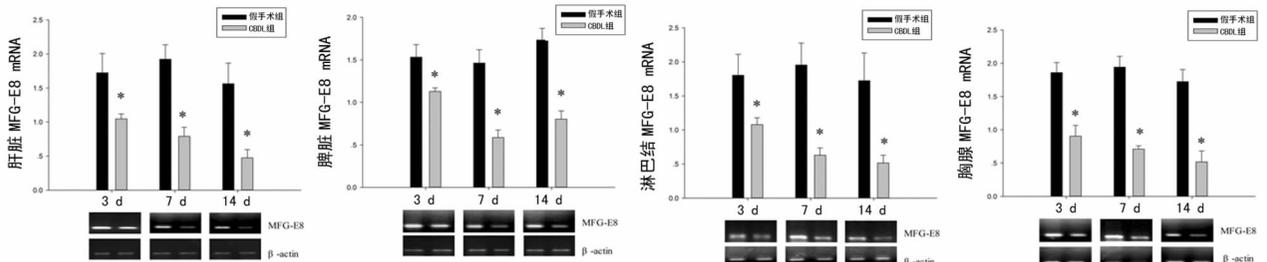
2 结果

2.1 两组小鼠血浆中 MFG-E8 蛋白表达水平比较 采用免疫印迹法检测血浆中 MFG-E8 的蛋白表达水平,发现血浆 MFG-E8 的蛋白表达在梗阻性黄疸 3、7、14 d 后较假手术组分别降低 29.90%、36.35%、40.66% ($P < 0.05$),见图 1。



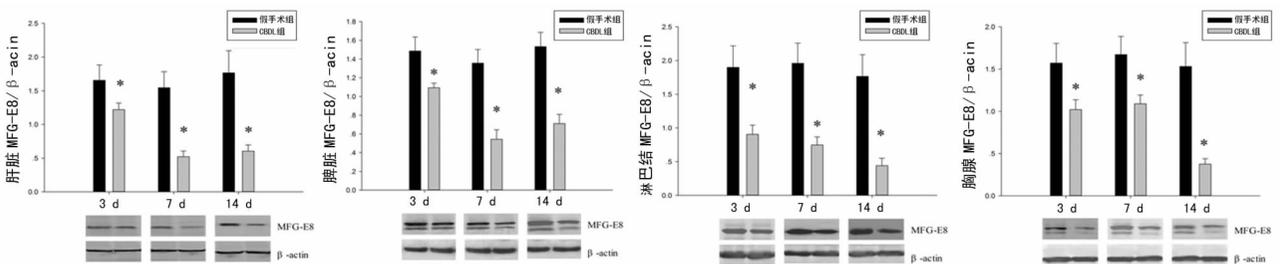
*: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

图 1 两组小鼠血浆中 MFG-E8 蛋白表达水平比较



*: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

图 2 两组小鼠肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺组织中 MFG-E8 mRNA 的表达比较



*: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

图 3 两组小鼠肝、脾、淋巴结、胸腺组织中 MFG-E8 蛋白水平的表达比较

2.2 两组小鼠肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺组织中 MFG-E8 mRNA 的表达比较 CBDL 组小鼠肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺 MFG-E8 mRNA 表达明显减少(图 2)。与假手术组比较,肝脏 MFG-E8 mRNA 水平在梗阻性黄疸 3、7、14 d 后分别降低 39.29%、58.97%、69.65%($P < 0.05$);脾脏 MFG-E8 mRNA 分别降低 26.42%、59.97%、53.67%($P < 0.05$);淋巴结 MFG-E8 mRNA 分别降低 40.29%、67.79%、70.18%($P < 0.05$);胸腺 MFG-E8 mRNA 分别降低 51.37%、63.47%、69.98%($P < 0.05$)。

2.3 两组小鼠肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺组织中 MFG-E8 蛋白水平的表达比较 采用免疫印迹法检测免疫组织 MFG-E8 的蛋白表达水平,发现肝脏 MFG-E8 的蛋白表达在梗阻性黄疸 3、7、14 d 后较假手术组分别降低 26.28%、66.28%、65.74%($P < 0.05$);脾脏 MFG-E8 蛋白分别降低 33.85%、51.14%、45.83%($P < 0.05$);淋巴结 MFG-E8 分别降低 52.40%、61.87%、75.09%($P < 0.05$);胸腺 MFG-E8 蛋白分别降低 35.01%、34.82%、75.49%($P < 0.05$),见图 3。

3 讨论

MFG-E8 是一个相对分子质量 66×10^3 的糖蛋白,其基因位于小鼠 7 号染色体,人类的 15 号染色体,1990 年在哺乳动物的乳腺标本中被首先发现。其蛋白结构包括 N 端的两个 EGF 结构域、C 端的两个 discoidin 结构域,与血液中的 V、V III 因子同源^[6]。第 2 个 EGF 结构域包含 RGD 整合素结合的模式(精氨酸、甘氨酸、天冬氨酸),使得 $\alpha v \beta 3 / \alpha v \beta 5$ 促进细胞黏附,同时也调节整合素依赖的细胞转导^[7-9]。Oshima 等^[10] 在小鼠的乳腺中发现了 MFG-E8 的 mRNA 两种变体,通过两种未成熟的 mRNA 剪接而成,其中 MFG-E8L(66×10^3) 包含 37 个脯氨酸、丝氨酸富集的结构域,而 MFG-E8S(53×10^3) 缺乏 P/T-丰富的结构域^[10-11],虽然这两种拼接变体存在空间结构的特异性,但具有同样的生物学活性^[12-13]。

有研究发现,MFG-E8 在哺乳动物大脑、心脏、肺、肠、肝和肾脏表达^[14],在小鼠结肠、肾脏、肺、肾脏等有高表达。在多种细胞包括乳腺上皮细胞、巨噬细胞、脾脏细胞、树突状细胞、纤维母细胞、血管平滑肌细胞中,MFG-E8 都有不同的表达。研究资料显示,MFG-E8 具有组织重塑的功能,包括参与巨噬细胞对凋亡细胞的移除;在进化中清除乳腺上皮细胞;维持肠上皮细胞正常结构及促进其损伤的修复;此外,作为 VEGF 信号的下游受体,还具有促进新生血管形成的作用^[15]。在多种疾病及病理状态下,体内 MFG-E8 的表达均有明显的变化,如在自身免疫疾病、阿尔茨海默病、动脉粥样硬化、急性结肠炎等疾病中,组织 MFG-E8 表达明显下降,而在系统性红斑狼疮、肺纤维化、乳腺癌、黑色素瘤、慢性胰腺炎等疾病中则显著升高。在小鼠缺血再灌注肠道模型中^[16],肠系膜的动脉闭塞 90 min,在灌注 4 h 后 MFG-E8 表达明显减少,在脾脏和肺减少分别为 50%~60%,使用 rmMFG-E8 明显抑制肠道的缺血再灌注导致的局部和系统的过度炎症,其机制可能与改善了肠缺血再灌注损伤后组织中凋亡细胞的过量聚集有关。

梗阻性黄疸可引起一系列免疫功能紊乱,包括:肝内的 Kupffer 细胞的活性受到抑制,主要表现为吞噬能力和杀伤活性的损害;文献^[17]报道梗阻性黄疸时外周血单核细胞吞噬能力下降;脾脏巨噬细胞吞噬能力明显下降;小鼠的胸腺指数(胸腺质量/小鼠体质量)明显下降;虽然,梗阻性黄疸后免疫功能障碍的发生可能与高胆红素及胆汁酸盐血症、内毒素血症、肠道细菌移位等因素有关,但其确切机制仍不十分清楚。本实验发现,小鼠梗阻性黄疸后第 3、7、14 天,血浆中 MFG-E8 蛋白表达水平明显降低,与此同时,肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺组织的 MFG-E8 mRNA 及蛋白表达水平亦明显下降。而 MFG-E8 是

从多种细胞分泌的糖蛋白,在巨噬细胞的整合素和凋亡细胞的磷脂酰丝氨酸(PS)间形成桥梁,增强清除凋亡细胞的能力。在梗阻性黄疸时,组织细胞分泌 MFG-E8 减少,势必会影响单核巨噬细胞系统吞噬能力,可能是小鼠的免疫系统受到抑制、诱发脓毒血症的原因之一。

有研究表明,MFG-E8 受多种激素调节,如生长激素、类固醇激素、胰岛素等均是 MFG-E8 强力的刺激分子^[18]。胰岛素可以激活核因子(NF)- κB ^[19],而 NF- κB 可以使趋化因子 CX3CL1 基因表达上调^[20],CX3CL1 可使巨噬细胞和小胶质细胞的 MFG-E8 表达升高^[21]。但是,在梗阻性黄疸病理状态下,小鼠血浆及肝脏、脾脏、淋巴结、胸腺组织的 MFG-E8 表达水平下降的具体调控机制并不清楚,包括胆红素、激素、细胞因子均可能影响 MFG-E8 的表达。Chen 等^[22]发现在梗阻性黄疸动物模型中,血浆胰岛素水平明显降低,这是否是梗阻性黄疸后 MFG-E8 表达下调的原因之一,还有待相关实验进一步证明。

参考文献:

- [1] Tiao MM, Wang FS, Huang LT, et al. MicroRNA-29a protects against acute liver injury in a mouse model of obstructive jaundice via inhibition of the extrinsic apoptosis pathway[J]. *Apoptosis*, 2014, 19(1): 30-41.
- [2] Zhang XP, Jiang J, Yu YP, et al. Effect of Danshen on apoptosis and NF-kappaB protein expression of the intestinal mucosa of rats with severe acute pancreatitis or obstructive jaundice [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2010, 9(5): 537-546.
- [3] Xiping Z, Chuyang L, Jie Z, et al. Protection of *Salvia miltiorrhizae* to the spleen and thymus of rats with severe acute pancreatitis or obstructive jaundice [J]. *Mediators Inflamm*, 2009: 186136.
- [4] Matsuda A, Jacob A, Wu R, et al. Milk fat globule-EGF factor VIII in sepsis and ischemia-reperfusion injury [J]. *Mol Med*, 2011, 17(1/2): 126-133.
- [5] Miksa M, Wu R, Dong W, et al. Dendritic cell-derived exosomes containing milk fat globule epidermal growth factor-factor VIII attenuate proinflammatory responses in sepsis [J]. *Shock*, 2006, 25(6): 586-593.
- [6] Aoki N, Kishi M, Taniguchi Y, et al. Molecular cloning of glycoprotein antigens MGP57/53 recognized by monoclonal antibodies raised against bovine milk fat globule membrane [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1245(3): 385-391.
- [7] Andersen MH, Graversen H, Fedosov SN, et al. Functional analyses of two cellular binding domains of bovine lactadherin [J]. *Biochemistry*, 2000, 39(20): 6200-6206.
- [8] Raymond A, Ensslin MA, Shur BD. SED1/MFG-E8: a bimotif protein that orchestrates diverse cellular interactions [J]. *J Cell Biochem*, 2009, 106(6): 957-966.
- [9] Taylor MR, Couto JR, Scallan CD, et al. Lactadherin (formerly BA46), a membrane-associated glycoprotein expressed in human milk and breast carcinomas, promotes Arg-Gly-Asp (RGD)-dependent cell adhesion [J]. *DNA Cell Biol*, 1997, 16(7): 861-869.
- [10] Oshima K, Aoki N, Negi M, et al. Lactation-dependent expression of an mRNA splice variant with an exon for a multiply O-glycosylated domain of mouse (下转第 2025 页)

- Cell Biol, 2006, 38(1): 1-5.
- [12] Guarino M, Tosoni A, Nebuloni M. Direct contribution of epithelium to organ fibrosis: epithelial-mesenchymal transition[J]. Hum Pathol, 2009, 40(10): 1365-1376.
- [13] Zeisberg M, Neilson EG. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions[J]. J Clin Invest, 2009, 119(6): 1429-1437.
- [14] Valerie SL, Gangadhar T. Origin and function of myofibroblasts in kidney fibrosis[J]. Nature Med, 2013, 19(8): 1047-1053.
- [15] Biffo S, Sanvito F, Costa S, et al. Isolation of a novel beta4 integrin binding protein(p27(BBP)) highly expressed in epithelial cells[J]. J Biol Chem, 1997, 272(48): 30314-30321.
- [16] Sanvito F, Vivoli F, Gambini S, et al. Expression of a highly conserved protein, p27BBP, during the progression of human colorectal cancer[J]. Cancer Res, 2000, 60(3): 510-516.
- [17] 袁顺宗, 吴军, 易绍萱, 等. 以酵母双杂交系统从成人肝 cDNA 文库中筛选与研究 P311 相互作用蛋白的基因序列[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(14): 1428-1431.
- [18] 袁顺宗, 谭江琳, 彭旭, 等. 荧光共振能量转移技术检测 ITGB4BP 与 P311 间的相互作用[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(16): 1555-1558.
- [19] Pan D, Zhe X, Jakkaraju S, et al. P311 induces a TGF-beta 1 independent, nonfibrogenic myofibroblast phenotype [J]. Clin Invest, 2002, 110(9): 1349-1358.
- [20] Niemer Z, Stein H, Noronha I. PDGF and TGF-beta contribute to the natural course of human IgA glomerulonephritis[J]. Kidney Int, 1995, 48(5): 1530-1541.
- [21] Brezzi B, Del Prete D, Lupo A, et al. Primary IgA nephropathy is more severe in TGF-beta1 high secretor patients[J]. Nephrol, 2009, 22(6): 747-759.
- [22] Vuong MT, Lundberg S, Gunnarsson I, et al. Genetic variation in the transforming growth factor-beta1 gene is associated with susceptibility to IgA nephropathy [J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(10): 3061-3067.
- [23] Yamamoto T, Noble NA, Cohen A, et al. Expression of transforming growth factor-beta isoforms in human glomerular diseases[J]. Kidney Int, 1996, 49(2): 461-469.
- [24] Wu FC, Chiang WC, Lai CF, et al. Transforming growth factor beta-1 stimulates profibrotic epithelial signaling to activate pericyte-myofibroblast transition in obstructive kidney fibrosis[J]. Am J Pathol, 2013, 182(1): 118-131.
- [25] Arora PD, Narani N, McCulloch CA. The compliance of collagen gels regulates transforming growth factor-beta induction of alpha-smooth muscle actin in fibroblasts[J]. Am J Pathol, 1999, 154(3): 871-882.
- [26] Hwang M, Kim HJ, Noh HJ, et al. TGF-beta1 siRNA suppresses the tubulointerstitial fibrosis in the kidney of ureteral obstruction[J]. Exp Mol Pathol, 2006, 81(1): 48-54.

(收稿日期: 2013-11-08 修回日期: 2014-01-22)

(上接第 2021 页)

- milk fat globule glycoprotein MFG-E8[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 254(3): 522-528.
- [11] Burgess BL, Abrams TA, Nagata S, et al. MFG-E8 in the retina and retinal pigment epithelium of rat and mouse [J]. Mol Vis, 2006(12): 1437-1447.
- [12] Hanayama R, Tanaka M, Miwa K, et al. Identification of a factor that links apoptotic cells to phagocytes[J]. Nature, 2002, 417(6885): 182-187.
- [13] Silvestre JS, Thery C, Hamard G, et al. Lactadherin promotes VEGF-dependent neovascularization[J]. Nat Med, 2005, 11(5): 499-506.
- [14] Watanabe T, Totsuka R, Miyatani S, et al. Production of the long and short forms of MFG-E8 by epidermal keratinocytes[J]. Cell Tissue Res, 2005, 321(2): 185-193.
- [15] Franchi A, Bocca S, Anderson S, et al. Expression of milk fat globule EGF-factor 8(MFG-E8) mRNA and protein in the human endometrium and its regulation by prolactin [J]. Mol Hum Reprod, 2011, 17(6): 360-371.
- [16] Cui T, Miksa M, Wu R, et al. Milk fat globule epidermal growth factor 8 attenuates acute lung injury in mice after intestinal ischemia and reperfusion[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2010, 181(3): 238-246.
- [17] Treglia-Dal Lago M, Jukemura J, Machado MC, et al. Phagocytosis and production of H₂O₂ by human peripheral blood mononuclear cells from patients with obstructive jaundice[J]. Pancreatol, 2006, 6(4): 273-278.
- [18] Aziz M, Jacob A, Matsuda A, et al. Review: milk fat globule-EGF factor 8 expression, function and plausible signal transduction in resolving inflammation [J]. Apoptosis, 2011, 16(11): 1077-1086.
- [19] White MF, Kahn CR. The insulin signaling system[J]. J Biol Chem, 1994, 269(1): 1-4.
- [20] Gross KL, Cidlowski JA. Tissue-specific glucocorticoid action: a family affair [J]. Trends Endocrinol Metab, 2008, 19(9): 331-339.
- [21] Noda M, Suzumura A. Sweepers in the CNS: microglial migration and phagocytosis in the alzheimer disease pathogenesis[J]. Int J Alzheimers Dis, 2012: 891087.
- [22] Chen JS, Ker CG, Lee KT, et al. Changes of insulin and somatostatin and their relationship to liver regeneration in experimental obstructive jaundice[J]. Kaohsiung J Med Sci, 1997, 13(11): 653-660.

(收稿日期: 2013-12-08 修回日期: 2014-02-22)