

白花蛇舌草提取物对表皮生长因子诱导的 HaCaT 细胞增殖、凋亡和 TNF- α 诱导的炎症因子影响

付丹丹¹ 宋向凤² 李占国¹ 李 敏¹ 刘 冬¹ 夏永华¹ 田中伟¹

摘要 **目的** 观察白花蛇舌草提取物(*Hedyotis diffusa* extract, HDE)对 HaCaT 细胞增殖、凋亡和炎症因子的影响,并探究可能的分子机理。**方法** 实验分为 3 组:空白组不加表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和 HDE 处理,对照组只加 EGF 而不加 HDE 处理,白花蛇舌草组分别用 25、50、100 mg/mL HDE 和 EGF 共培养。CCK-8 法检测 HaCaT 细胞增殖情况,流式细胞仪检测 HaCaT 细胞生长周期和凋亡率,Western blot 法测定 Ki67、Bcl-xL、cIAP1、procaspase-3、cleaved caspase-3 的蛋白表达,ELISA 法检测 HaCaT 细胞培养基上清液中 IL-6、IL-8、IL-10 的浓度,Western blot 检测 NF- κ B p65 亚基磷酸化(p-p65)水平。**结果** 与空白组比较,对照组 HaCaT 细胞吸光度及 Ki67 蛋白表达升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),p-p65、IL-6、IL-8 水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),IL-10 水平降低($P < 0.01$);与对照组比较,白花蛇舌草组 25、50、100 mg/mL 浓度时 HaCaT 细胞吸光度及 Ki67 蛋白表达降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),p-p65、IL-6、IL-8 水平降低,IL-10 水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);同时白花蛇舌草组各浓度组凋亡率较对照组增加($P < 0.05$, $P < 0.01$)。对照组处于 G1 期的细胞数量百分比为 52.85%,白花蛇舌草组 25、50、100 mg/mL 浓度时分别是 58.51%、73.12%和 79.95%,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与白花蛇舌草组 25 mg/mL 比较,白花蛇舌草组 50 和 100 mg/mL 处于 G1 期的细胞数量百分比及凋亡率升高($P < 0.01$),且白花蛇舌草组 100 mg/mL 时处于 G1 期的细胞数量百分比及凋亡率高于白花蛇舌草组 50 mg/mL ($P < 0.05$)。与对照组比较,白花蛇舌草组 100 mg/mL 时 Bcl-xL 和 cIAP1 蛋白表达降低($P < 0.01$);caspase-3 总量变化差异无统计学意义($P > 0.05$),cleaved caspase-3 表达升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** HDE 可能通过将 HaCaT 细胞阻滞在 G1 期而抑制其增殖,通过抑制 Bcl-xL 和 cIAP1 蛋白表达、提高 cleaved caspase-3 蛋白表达而促进 HaCaT 细胞凋亡,通过调控 NF- κ B 而抑制 HaCaT 细胞炎症反应。

关键词 白花蛇舌草提取物;人永生化表皮细胞;增殖;凋亡;炎症因子

Effects of *Hedyotis diffusa* Extract on Epidermal Growth Factor Induced Proliferation, Apoptosis, and TNF- α Induced Inflammatory Factors of HaCaT Cells FU Dan-dan¹, SONG Xiang-feng², LI Zhan-guo¹, LI Min¹, LIU Dong¹, XIA Yong-hua¹, and TIAN Zhong-wei¹ 1 Department of Skin and Venereal Disease, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Henan (453100); 2 Department of Immunology, Xinxiang Medical College, Henan (453000)

ABSTRACT **Objective** To observe the effects of *Hedyotis diffusa* extract (HDE) on the proliferation, apoptosis, and inflammatory factors of HaCaT cells, and to explore its possible molecular mechanisms. **Methods** HaCaT cells were divided into 3 groups, the vehicle group, the control group, and 3 dose HDE groups. No epidermal growth factor (EGF) or HDE was added in the vehicle group. EGF was added with no HDE treatment in the control group. HDE (25, 50, 100 mg/mL) and EGF were added in the 3 HDE groups to co-culture HaCaT cells. The effects of HDE on EGF-induced proliferation of HaCaT cells were detected using CCK-8 assay. The effects of HDE on the growth cycle and apoptosis rate of HaCaT cells were

基金项目:河南省教育厅科学技术研究重点项目(No. 13A320852);新乡市科技发展计划项目(No. 15SF26);河南省卫生科技创新型人才工程(No. 201004159);河南省医学科技攻关计划项目(No. 20150216)

作者单位:1.河南省新乡医学院第一附属医院皮肤性病科(河南 453100);2.河南省新乡医学院免疫学教研室(河南 453000)

通讯作者:田中伟, Tel:15937385401, E-mail: zhonwt@163.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2016. 08. 0975

measured using flow cytometry. Moreover, protein expression levels of Ki67, Bcl-xL, cIAP1, procaspase-3, and cleaved caspase-3 were determined using Western blot. In addition, levels of IL-6, IL-8, and IL-10 in the supernatant were detected using ELISA. The level of phosphorylation of NF- κ B p65 (p-p65) was measured using Western blot. Results Compared with the vehicle group, the absorbance of HaCaT cells and the expression level of Ki67 increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); levels of p-p65, IL-6, and IL-8 were elevated ($P < 0.05$, $P < 0.01$); IL-10 level was lowered ($P < 0.01$) in the control group. Compared with the control group, the absorbance of HaCaT cells and the expression level of Ki67 decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); levels of p-p65, IL-6, and IL-8 were reduced ($P < 0.05$, $P < 0.01$); IL-10 level was elevated ($P < 0.05$, $P < 0.01$) in the 3 dose HDE groups. Meanwhile, the apoptosis rate of HaCaT cells increased more in the 3 dose HDE groups than in the control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The percentage of HaCaT cells at G1 phase was 58.51%, 73.12%, and 79.95% in 25, 50, and 100 mg/mL HDE groups, respectively, showing statistical difference when compared with that in the control group (52.85%; $P < 0.05$, $P < 0.01$). The percentage and apoptosis rate of HaCaT cells at G1 phase were elevated more in 50 and 100 mg/mL HDE groups than in 25 mg/mL HDE group ($P < 0.01$). Besides, the percentage and apoptosis rate of HaCaT cells at G1 phase were elevated more in 100 mg/mL HDE group than in 50 mg/mL HDE group ($P < 0.05$). Compared with the control group, protein expression levels of Bcl-xL and cIAP1 were reduced in 100 mg/mL HDE group ($P < 0.01$). There was no statistical difference in caspase-3 total amount ($P > 0.05$), but cleaved caspase-3 expression increased with statistical difference ($P < 0.01$). Conclusion HDE inhibited the proliferation of HaCaT cells possibly by arresting HaCaT cell growth at G1 phase, promoted the apoptosis of HaCaT cells by stressing protein expressions of Bcl-xL and cIAP1, and elevating protein expressions of cleaved caspase-3, and suppressed inflammatory response of HaCaT cells via regulating NF- κ B expression.

KEYWORDS *Hedyotis diffusa* extract; HaCaT cell; proliferation; apoptosis; inflammatory factor

白花蛇舌草系茜草科植物,中医学认为其味苦、淡,性寒,归心、肝、肺、大肠经,有清热解毒、消痈散结、利水消肿等功效,为抗肿瘤之良药。既往研究表明,白花蛇舌草影响体外多种肿瘤细胞的增殖和凋亡^[1-3],但对人永生化表皮细胞(HaCaT)的影响报道较少。本实验观察了白花蛇舌草提取物(*Hedyotis diffusa* extract, HDE)对体外培养的 HaCaT 细胞的增殖、凋亡和炎症因子的影响,并进一步探究其分子机制。

材料与方法

1 细胞 人永生化表皮细胞 HaCaT 细胞株由新乡医学院实验中心提供。

2 药物 白花蛇舌草由河南省新乡医学院第一附属医院中药房提供。取 50 g 过 200 目筛后的白花蛇舌草粉末,双蒸水煎煮 3 次,合并的滤液 10 000 r/min 离心 15 min,上清液浓缩至 50 mL,即为 1.0 g/mL 的 HDE 溶液。稀释为终浓度分别为 25、50、100 mg/mL 备用。

3 主要试剂及仪器 RPMI1640 培养基和胎牛血清购于美国 GIBCO 公司;胰酶购于 Ameresco 公司;CCK-8 试剂购于同仁化学株式会社;碘化丙啶

(propidium iodide, PI) 购于美国 Sigma 公司;Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒购于美国 EMD 公司;鼠抗人 Ki67 单克隆抗体购于英国 Abcam 公司;鼠抗人 Bcl-XL 单克隆抗体、cIAP1 单克隆抗体、caspase-3 单克隆抗体、cleaved caspase-3 单克隆抗体、p-p65 单克隆抗体和 GAPDH 单克隆抗体购于美国 Santa Cruz Biotech 公司;UR-4100 酶标仪购于美国 Dynatech 公司;HF212UV CO₂ 培养箱购于上海 Heal Force 公司;生物安全柜购于美国 Forma 公司;Gel DOC 2000 凝胶成像系统、APC 300 型电泳仪购于美国 Bio-Rad 公司。

4 分组 本实验分为 3 组:空白组不加表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)和 HDE 处理,对照组只加 EGF 而不加 HDE 处理,白花蛇舌草组分别用 25、50、100 mg/mL HDE 和 EGF 共培养。细胞增殖实验及炎症因子检测空白组、对照组和白花蛇舌草组;凋亡率及细胞周期实验仅检测对照组和白花蛇舌草组;凋亡蛋白表达检测对照组及白花蛇舌草作用效果最佳一组。

5 细胞增殖情况 将 1×10^7 /mL 的 HaCaT 细胞接种于含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基中,每 2 日换液 1 次。空白组不做其他处理。对照组待细胞

贴壁增至 80% ~ 90% 时, 弃去培养基换为含 30 ng/mL EGF 的完全培养基, 白花蛇舌草组以 25、50、100 mg/mL HDE 共培养, 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中继续培养 48 h。清洗细胞后加入胰酶消化成单细胞悬液。每孔加入 10 μL 的 CCK-8 试剂, 孵育 1.5 h 后于酶标仪上 490 nm 波长处检测吸光值。

6 细胞周期及凋亡率检测 取 HaCaT 细胞接种于培养板, 每孔含 1×10^6 个细胞, 对照组和白花蛇舌草组均于 5% CO₂、37 ℃ 条件下培养 48 h。PBS 洗净的 HaCaT 细胞严格按照 Annexin V/FITC 检测试剂盒操作说明书进行染色, 用流式细胞仪测定凋亡率。另外, 乙醇固定的细胞经 RNA 酶处理后进行碘化丙啶染色, 流式细胞仪测定细胞 DNA 含量。比较处于 G1 期细胞数量百分比。

7 相关凋亡蛋白检测 采用 Western blot 法检测^[4]。冷冻离心法提取 HaCaT 细胞的总蛋白。Western blot 法检测 Ki67、caspase-3、cleaved caspase-3、Bcl-XL、cIAP1、p65、p-p65 的表达。ImageQuant 图像处理软件分析蛋白条带, 比对相对灰度值, GAPDH 蛋白为内参。

8 炎症因子检测 空白组、对照组及白花蛇舌草组培养板预先孵育 4 h 后加入 250 μg/mL TNF-α 共同培养 48 h。收集共培养上清液, 于 -20 ℃ 保藏。实验严格按照试剂盒操作说明, 检测 IL-6、IL-8 和 IL-10 的浓度。Western blot 法检测 NF-κB 磷酸化 p65 亚基的表达量。

9 统计学方法 采用统计学软件 SPSS 19.0, 计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本均数间比较用 Student's *t* 检验, 多样本均数间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组细胞增殖结果比较(图 1) 与空白组比



注: A 为 HaCaT 细胞增殖情况; B 为 HDE 对 Ki67 蛋白影响的电泳图; C 为 Ki67 相对蛋白表达量; 与空白组比较,

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与对照组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

图 1 各组细胞增殖结果比较 ($n = 3$)

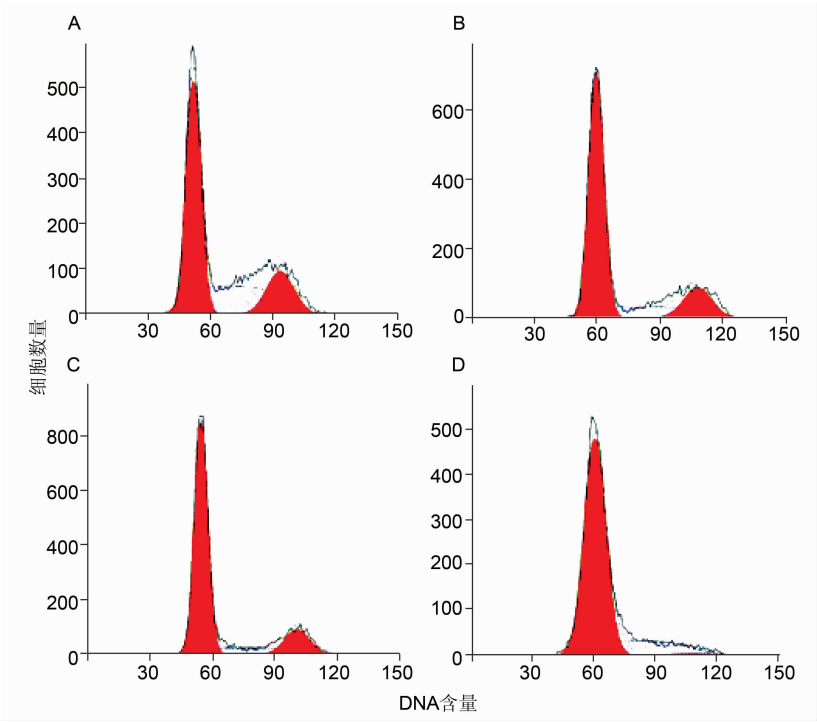
较, 对照组 HaCaT 细胞吸光度及 Ki67 蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与对照组比较, 白花蛇舌草组 25、50、100 mg/mL 浓度时 HaCaT 细胞吸光度及 Ki67 蛋白表达降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

2 各组细胞周期结果比较(图 2) 对照组处于 G1 期的细胞数量百分比为 52.85%, 白花蛇舌草组 25、50、100 mg/mL 浓度时 HaCaT 处于 G1 期的细胞数量百分比分别是 58.51%、73.12% 和 79.95%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与白花蛇舌草组 25 mg/mL 比较, 白花蛇舌草 50 和 100 mg/mL 组处于 G1 期的细胞数量百分比升高差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。白花蛇舌草组 100 mg/mL 时高于白花蛇舌草组 50 mg/mL ($P < 0.05$)。

3 各组 HaCaT 细胞凋亡率比较(图 3) 与对照组比较, 凋亡率随着白花蛇舌草提取物浓度增大而增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与白花蛇舌草组 25 mg/mL 比较, 白花蛇舌草组 50 和 100 mg/mL 凋亡率升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。且白花蛇舌草组 100 mg/mL 凋亡率高于白花蛇舌草组 50 mg/mL, 差异亦有统计学意义 ($P < 0.05$)。

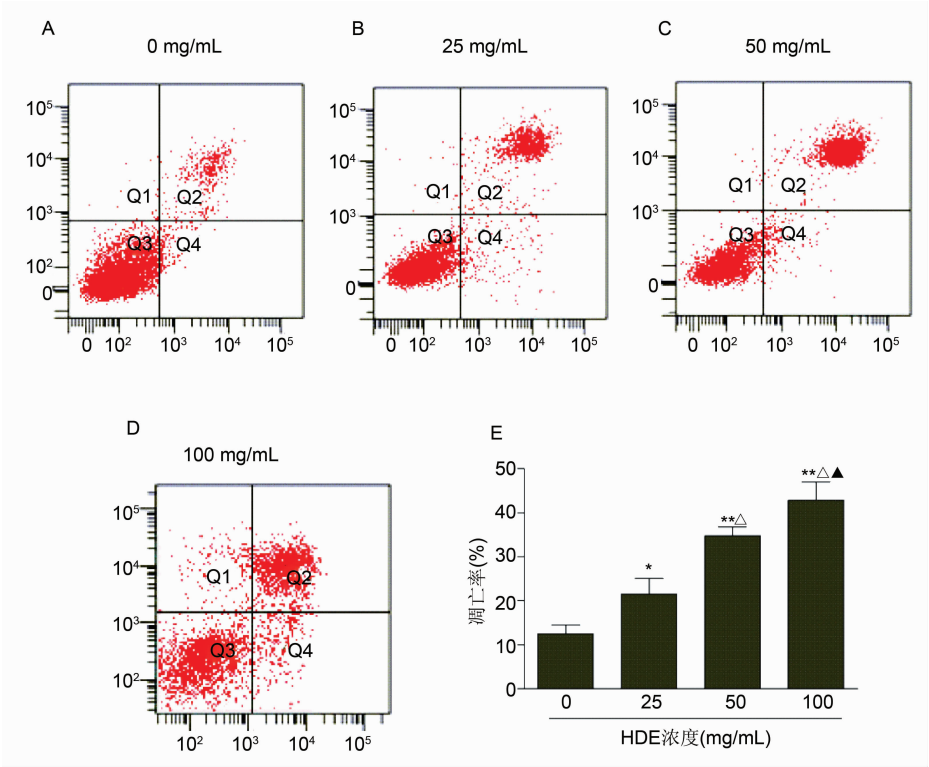
4 各组凋亡相关蛋白表达水平比较(图 4) 与对照组比较, 白花蛇舌草组 100 mg/mL 时 Bcl-xL 和 cIAP1 蛋白表达降低 ($P < 0.01$); caspase-3 总量变化差异无统计学意义, 但 cleaved caspase-3 表达升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

5 各组炎症因子表达水平比较(表 1, 图 5) 与空白组比较, 对照组 p-p65、IL-6、IL-8 水平升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), IL-10 水平降低 ($P < 0.01$)。与对照组比较, 白花蛇舌草组各浓度 p-p65、IL-6、IL-8 水平降低, IL-10 水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。



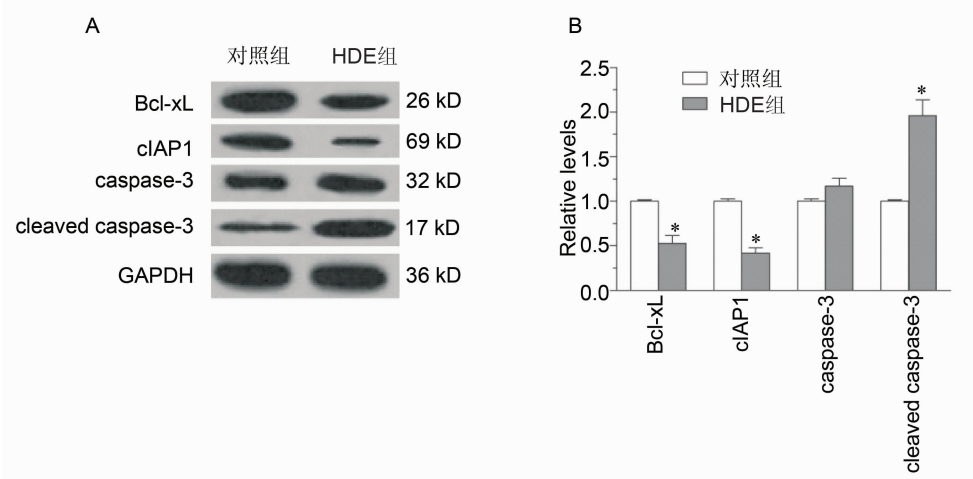
注:A 为对照组;B 为白花蛇舌草组 25 mg/mL ;C 为白花蛇舌草组 50 mg/mL ;
D 为白花蛇舌草组 100 mg/mL

图 2 各组 HaCaT 细胞细胞周期结果比较



注:A ~D 为不同浓度 HDE 促进 HaCaT 细胞凋亡,E 为凋亡率比较;与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与白花蛇舌草 25 mg/mL 比较,▲ $P < 0.01$;与白花蛇舌草 50 mg/mL 比较,▲ $P < 0.05$

图 3 不同浓度的 HDE 对 HaCaT 细胞凋亡的影响 ($n = 3$)



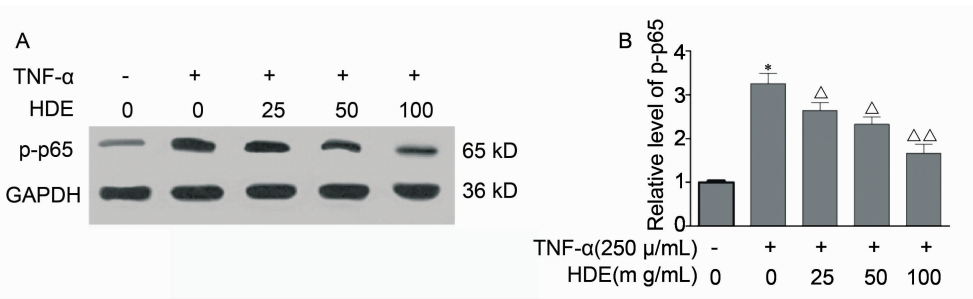
注:A 为凋亡蛋白 Bcl-xL、cIAP1、caspase-3 及 cleaved caspase-3 的电泳图;B 为蛋白相对表达量;与对照组比较,**P* < 0.01

图 4 各组凋亡相关蛋白表达比较 (*n* = 3)

表 1 不同浓度 HDE 对 HaCaT 细胞炎症因子的影响 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-6	IL-8	IL-10
空白	6	432.67 ± 42.34	16.37 ± 2.34	1.95 ± 0.87
对照	6	623.93 ± 25.25 *	266.85 ± 51.38 **	0.76 ± 0.16 **
白花蛇舌草 25 mg/mL	6	586.34 ± 16.37 Δ	224.87 ± 30.46 Δ	1.13 ± 0.41 Δ
50 mg/mL	6	513.67 ± 11.74 Δ	187.35 ± 38.61 Δ	1.84 ± 0.29 $\Delta\Delta$
100 mg/mL	6	468.29 ± 9.61 $\Delta\Delta$	134.28 ± 21.25 $\Delta\Delta$	2.37 ± 0.32 $\Delta\Delta$

注:与空白组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01;与对照组比较, Δ *P* < 0.05, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01



注:A 为 p-p65 电泳图;B 为 HDE 抑制 TNF-α 诱导的 p65 激活;与空白组比较,**P* < 0.01;与对照组比较, Δ *P* < 0.05, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01

图 5 HDE 对 HaCaT 细胞 NF-κB p65 亚基的影响 (*n* = 3)

讨 论

有研究表明,HDE 能够抑制乳腺癌细胞 MCF-7 增殖,然而对正常的乳腺上皮细胞 MCF-10A 无影响。从 HDE 中提取的活性成分乌索酸和齐墩果酸能加强雌激素受体 α /Sp1 复合体结合至 p53 启动子区,诱导肿瘤抑制基因 p53 的表达,从而抑制其增殖^[1]。乌索酸对 HaCaT 细胞的研究表明,乌索酸降低 HaCaT 细胞的活性,并呈时间和浓度依赖性。机理研究表明,乌索酸上调细胞周期调控因子 p21WAF1 表达,将 HaCaT 细胞阻滞在 G1 期^[5]。本实验中,HDE 对

HaCaT 细胞增殖的抑制呈浓度依赖性,Ki67 蛋白表达水平亦随 HDE 浓度的增加而降低,并且 HDE 作用于 HaCaT 细胞后,细胞被阻滞在 G1 期,从而抑制其增殖,与文献报道一致。

Bcl-xL 是 Bcl-2 基因家族中重要的成员,具有抗细胞凋亡作用,在细胞程序性凋亡中起重要作用^[6]。caspase-3 是细胞凋亡的效应分子,能使维持细胞正常生长的相关蛋白或激酶失活,致使细胞发生凋亡^[7]。研究发现,Bcl-xL 对细胞的凋亡作用主要是抑制 cleaved caspase-3 的表达而实现。一方面,Bcl-xL 可以稳定线粒体膜电位,阻止 Cyt C 漏出;另一方面,

Bcl-xL 可与 caspase-8 结合,从而阻断死亡诱导信号复合体的形成。而上述 Bcl-xL 的两种功能,也是 Bcl-xL 抑制 caspase-3 激活的主要途径^[8]。凋亡抑制蛋白(IAP)家族是一类重要的凋亡抑制因子,参与细胞分裂、凋亡和信号传导^[9]。作为 IAP 家族重要的成员之一,CIAP1 亦可直接抑制 caspase-3 的活性^[10]。本实验中,cleaved caspase-3 的表达水平随 HDE 浓度增加而上升,而 Bcl-xL 和 cIAP1 的表达水平被 HDE 抑制。可能 HDE 通过降低 Bcl-xL 和 cIAP1 表达而激活 caspase-3,诱导 HaCaT 细胞凋亡。

细胞因子参与角质形成细胞的增殖、分化、生理病变及细胞动力学,影响毛细血管的增生及扩张^[11]。IL-6、IL-8 等细胞因子通过结合角质形成细胞表面相应抗体,激活细胞内信号通路,引起细胞一系列生理生化改变,包括细胞异常增殖、分化及合成多种炎症因子^[12, 13]。本研究观察到 TNF- α 诱导 HaCaT 细胞炎症因子 IL-6、IL-8 高表达而降低 IL-10 的表达,而 HDE 抑制这种作用。此外, HDE 降低 HaCaT 细胞中 NF- κ B p65 亚基的表达。NF- κ B 可与细胞因子的 DNA 序列结合,在激活的状态下促进细胞因子基因转录,调控炎症反应^[14]。例如,NF- κ B p50/p65 异二聚体通过刺激的应答而被激活,继而引起趋化因子 IL-8 上调,加重炎症反应^[15]。本实验中,HaCaT 细胞中 HDE 对细胞因子表达水平的抑制可能是通过降低 NF- κ B 的表达实现的。

综上所述,HDE 对 HaCaT 细胞增殖、凋亡、炎性反应皆有调控作用。然而,HDE 包含多种生物活性成分,其对 HaCaT 细胞调控的确切分子机制有待进一步深入探究。

参 考 文 献

- [1] Gu G, Barone I, Gelsomino L, et al. *Oldenlandia diffusa* extracts exert antiproliferative and apoptotic effects on human breast cancer cells through ER α /Sp1-mediated p53 activation [J]. J Cellular Physiol, 2012, 227(10): 3363–3372.
- [2] Song YH, Jeong SJ, Kwon HY, et al. Ursolic acid from *Oldenlandia diffusa* induces apoptosis via activation of caspases and phosphorylation of glycogen synthase kinase 3 beta in SK-OV-3 ovarian cancer cells [J]. Biolog Pharmac Bull, 2012, 35(7): 1022–1028.
- [3] Sunwoo YY, Lee JH, Jung HY, et al. *Oldenlandia diffusa* promotes antiproliferative and apoptotic effects in a rat hepatocellular carcinoma with liver cirrhosis [J]. Evid-Based Complement Alternat

Med, 2015: 501508.

- [4] Mohan CD, Bharathkumar H, Bulusu KC, et al. Development of a novel azaspirane that targets the Janus kinase-signal transducer and activator of transcription (STAT) pathway in hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo* [J]. J Biol Chemistry, 2014, 289(49): 34296–34307.
- [5] Harmand PO, Duval R, Liagre B, et al. Ursolic acid induces apoptosis through caspase-3 activation and cell cycle arrest in HaCat cells [J]. Int J Oncol, 2003, 23(1): 105–112.
- [6] Kumar D, Shankar S, Srivastava RK. Rottlerin induces autophagy and apoptosis in prostate cancer stem cells via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. Cancer Lett, 2014, 343(2): 179–189.
- [7] Takaki K, Higuchi Y, Hashii M, et al. Induction of apoptosis associated with chromosomal DNA fragmentation and caspase-3 activation in leukemia L1210 cells by TiO₂ nanoparticles [J]. J Biosci Bioeng, 2014, 117(1): 129–133.
- [8] 郭万新,江悦琴. Caspase-3 和 bcl-XL 在胃癌中的表达及意义 [J]. 癌症 (英文版), 2001, 20(7): 726–729.
- [9] LaCasse E, Mahoney D, Cheung H, et al. IAP-targeted therapies for cancer [J]. Oncogene, 2008, 27(48): 6252–6275.
- [10] D'Amelio M, Sheng M, Cecconi F. Caspase-3 in the central nervous system: beyond apoptosis [J]. Trends Neurosci, 2012, 35(11): 700–709.
- [11] Chiricozzi A, Guttman-Yassky E, Suárez-Farinas M, et al. Integrative responses to IL-17 and TNF- α in human keratinocytes account for key inflammatory pathogenic circuits in psoriasis [J]. J Invest Dermatol, 2011, 131(3): 677–687.
- [12] Arican O, Aral M, Sasmaz S, et al. Serum levels of TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity [J]. Mediators Inflamm, 2005, 2005(5): 273–279.
- [13] O'Shea JJ, Plenge R. JAK and STAT signaling molecules in immunoregulation and immune-mediated disease [J]. Immunity, 2012, 36(4): 542–550.
- [14] Blackwell TS, Christman JW. The role of nuclear factor- κ B in cytokine gene regulation [J]. Am J Respir Cell Molec Biol, 1997, 17(1): 3–9.
- [15] Sachse F, Von Eiff C, Becker K, et al. Proinflammatory impact of *Staphylococcus epidermidis* on the nasal epithelium quantified by IL-8 and GRO- α responses in primary human nasal epithelial cells [J]. Int Arch Allergy Immunol, 2007, 145(1): 24–32.

(收稿:2015-07-29 修回:2016-05-15)