

# 肠三叶因子对肠上皮细胞增殖的影响及其信号转导机制的实验研究

彭曦 汪仕良 尤忠义 王裴

**【摘要】 目的** 探讨肠三叶因子(ITF)对肠上皮细胞增殖能力的影响及可能的信号转导机制。

**方法** (1)分离、提取 Wistar 大鼠的肠上皮细胞膜。分别用浓度为 0.01、0.10、1.00、10.00  $\mu\text{g/ml}$  的 ITF 刺激细胞膜,以膜结合法测定膜上 ITF 受体酪氨酸蛋白激酶(TPK)活性的变化,以 ITF 受体 TPK 活性基础值作正常对照。(2)体外培养肠上皮细胞株 IEC-6,部分细胞作为正常对照;部分细胞用 1.00  $\mu\text{g/ml}$  的 ITF 进行刺激;部分细胞用丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)家族的 3 种阻断剂——PD098059、SB202190、SB202474 分别进行预处理后,加入 1.00  $\mu\text{g/ml}$  的 ITF。采用氚标记胸腺嘧啶脱氧核苷( $^3\text{H-TdR}$ )掺入法,观察上述各种方法处理后,IEC-6 的 DNA 合成率及 MAPK 活性的变化。

**结果** 与正常对照相比,在 ITF 的刺激下,ITF 受体的 TPK 活性、IEC-6 的 MAPKs 活性及 DNA 合成率均明显增高( $P < 0.01$ )。使用 PD098059 后,能明显阻断 ITF 的后两种作用( $P < 0.01$ );使用 SB202474 能部分降低该作用,而使用 SB202190 效果不明显。**结论** 提示 ITF 主要通过细胞外信号调节激酶(ERKs)途径传递胞外信号、促进细胞增殖。

**【关键词】** 肠三叶因子; 丝裂素活化蛋白激酶; 信号转导; 肠上皮细胞

**Experimental study on the effects of intestinal trefoil factor on intestinal epithelial proliferation and its signal transduction mechanism** PENG Xi, WANG Shi-liang, YOU Zhong-yi, WANG Pei. Institute of Burn Research, Southwestern Hospital, State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, P. R. China

**【Abstract】 Objective** To explore the effects of intestinal trefoil factor (ITF) on intestinal epithelial proliferation and its possible signal transduction mechanism. **Methods** 1). The intestinal epithelial cytoplasmic membrane was isolated and harvested from Wistar rats, and it was treated with various doses of ITF in the concentration of 0.01, 0.10, 1.00 and 10.00  $\mu\text{g/ml}$ . The tyrosine protein kinase (TPK) activity from cytoplasmic membrane ITF receptor was determined by membrane-bound method. 2). The intestinal epithelial cells 6 (IEC-6) cultured in vitro were employed in the study. Some of the cells were used as normal control, while a group of cells were stimulated by 1  $\mu\text{g/ml}$  ITF, and others were treated by PD098059, SB202190 and SB202474, respectively. The last three agents were inhibitors of three members of mitogen-activated protein kinase family (MAPKs), i. e. extracellular signal regulated protein kinases (ERKs), protein kinase p38 (p38), and stress-activated protein kinase (SAPK). They were used before the addition of 1  $\mu\text{g/ml}$  of ITF. The changes in DNA synthetic rate and the MAPK activity of IEC-6 after being treated by above agents were assessed by  $^3\text{H-TdR}$  incorporation method. **Results** ITF receptor possessed TPK activity. TPK activity of ITF receptor, MAPKs activity and DNA synthetic rate of IEC-6 were increased obviously under the stimulation of ITF ( $P < 0.01$ ). The above ITF effects could be evidently blocked by PD098059 and partially attenuated by SB202474. But SB202190 showed no effect in this respect. **Conclusion** ITF could promote intestinal epithelial proliferation and transmit extracellular signals mainly by means of ERKs signaling pathway.

**【Key words】** Intestinal trefoil factor; Mitogen-activated protein kinases; Signal transduction; Intestinal epithelial cell

肠三叶因子(intestinal trefoil factor, ITF)是一种由杯状细胞分泌的特异分布于肠道的多肽物质,1991年由 Suemori 等<sup>[1]</sup>首先发现并命名。ITF 具有很强的细胞保护作用,可促进肠上皮细胞增殖,减轻

多种损伤因子介导的肠粘膜损害,因而在肠道自我保护机制中占据重要地位<sup>[2]</sup>。尽管目前对 ITF 生理功能和理化性质的研究较为深入,但其引起粘膜细胞增殖的机制尚未阐明,特别是有关 ITF 的信号转导机制报道较少。本文主要以体外培养的肠上皮细胞株 IEC-6 为模型,观察了丝裂素活化蛋白激酶家系(MAPKs) [主要包括细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated protein kinases, ERKs)、应激活化蛋白激酶(stress-activated protein kinase, SAPK)

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30200294);全军“九五”指令性攻关课题专项基金资助项目(96L043)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所、创伤烧伤复合伤国家重点实验室

和 p38 激酶<sup>[3]</sup>的抑制剂——PD098059、SB202474、SB202190 对 ITF 促细胞增殖作用的影响,初步探讨了 ITF 促进细胞增殖的信号转导机制。

### 材 料 与 方 法

#### 一、细胞来源及主要试剂

IEC-6 细胞株由中国科学院上海细胞所提供;重组肠三叶因子(rITF)由丹麦 NOVO 研究院 Thim 教授惠赠;PD098059、SB202190、SB202474 购自美国 Calbiochem 公司;酪氨酸蛋白激酶(TPK)检测试剂盒购自美国 Promega 公司;髓磷脂碱性蛋白(MBP)购自美国 Sigma 公司; $\gamma$ -<sup>32</sup>P-三磷酸腺苷(ATP)购自北京亚辉公司;DMEM 细胞培养基由武汉博士德公司提供。

#### 二、方法

1. 肠上皮细胞的分离:健康 Wistar 大鼠(本校实验动物中心)6 只,体重 180 ~ 200 g。取大鼠小肠,用 PBS(浓度为 0.01 mol/L,下同)冲洗肠腔 3 次。将肠腔面外翻后,灌入 PBS 直至小肠充盈。两端结扎后,放入装有 PBS 的烧瓶中,置恒温摇床内,于 37℃、150 转/min 振摇 5 min,收集烧瓶内液体。重复上述操作 2 次。合并 3 次操作所收集的液体,离心半径 7 cm、2 000 r/min 离心 5 min。弃上清,再用 PBS 洗沉淀 2 次,即得肠上皮细胞。

2. 肠上皮细胞膜的制备:取肠上皮细胞,加入适量的预冷缓冲液 A [50 mmol/L tris-HCl, pH 7.4; 0.25 mol/L 蔗糖;1 mmol/L 二硫苏糖醇(DDT);0.25 mmol/L 乙二醇四乙酸(EGTA);1 mmol/L 苯甲基磺酰氟(PMSF)],匀浆后,4℃、10 000 × g 离心 10 min。取上清,4℃、50 000 × g 离心 45 min。取沉淀,制成悬液,用不连续蔗糖浓度梯度(370、410、450、480 g/L)于 4℃、87 000 × g 离心 2 h,收集 370 ~ 410 g/L 界面的组分,用缓冲液 B (50 mmol/L tris-HCl, pH 7.4)8 倍稀释后,4℃、27 000 × g 离心 20 min。沉淀加入适量缓冲液 B 进行超声波分散。采用 Lowry 法测定蛋白,调节蛋白浓度为 2 g/L, -30℃ 保存,1 周内测定酶活性。

3. 不同浓度 ITF 对肠上皮细胞膜 TPK 活性的影响:参见 Harald 等<sup>[4]</sup>的方法测定。首先测定细胞膜 TPK 活性的基础值,再将等量的细胞膜分别与质量浓度 0.01、0.10、1.00、10.00 μg/ml 的 ITF 混合,25℃ 保温 30 min,随后测定膜受体 TPK 活性。最终结果以 ITF 刺激后的细胞膜 TPK 活性 - 基础状态下细胞膜 TPK 活性所得的差值表示,单位为 pmol ·

mg<sup>-1</sup> · min<sup>-1</sup>。

4. IEC-6 细胞单层培养:采用含体积分数 10% 小牛血清的 DMEM 培养液,于 37℃、体积分数 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,细胞融合为单层后用于实验。

5. 不同浓度 ITF 对 IEC-6 细胞 DNA 合成率的影响:采用氚标记胸腺嘧啶脱氧核苷(<sup>3</sup>H-TdR)掺入法。配制 ITF-DMEM 培养液(ITF 为 10 μg/ml),将其分别稀释成 0.01、0.10、1.00、10.00 μg/ml 4 种浓度, -20℃ 保存备用。待 IEC-6 融合为单层后,常规消化细胞,用上述不同浓度的 ITF-DMEM 培养液调节细胞密度为 1.5 × 10<sup>6</sup>/ml。将细胞悬液接种于 24 孔培养板中,每孔 2 ml,随后加入<sup>3</sup>H-TdR (3.7 × 10<sup>4</sup> Bq/孔),于 37℃、体积分数 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 12 h。将孔底的细胞轻轻吹打下来,制成细胞悬液。用滤纸吸取该悬液,等渗盐水洗 3 次后,用体积分数 5% 的三氯乙酸固定细胞,再用 3 ml 无水乙醇抽滤脱水,将滤片取下,80℃ 烤干,加闪烁液 5 ml,进行液体闪烁计数。每种 ITF 浓度各 10 孔细胞,并设正常 IEC-6 细胞为对照。

6. ITF 及 3 种阻断剂对 IEC-6 细胞 DNA 合成率的影响:将 IEC-6 接种于 24 孔板中(1 × 10<sup>6</sup>/ml),待细胞融合后,将其分为正常对照组、ITF 组、ITF + PD098059 组、ITF + SB202190 组和 ITF + SB202474 组,每组 12 孔。正常对照组不加任何刺激。ITF 组为:用 1.00 μg/ml 的 ITF 刺激细胞 30 min。后 3 组为:用 3 种阻断剂(均为 50 μmol/L)对细胞分别进行预处理,时间为 60 min。随后换液,加入 ITF (1.00 μg/ml)作用 30 min。以上各组处理时,每孔中加入<sup>3</sup>H-TdR 3.7 × 10<sup>4</sup> Bq。处理结束后,将孔底的各组细胞轻轻吹打下来,制成细胞悬液。其余处理同方法 5 中的相应步骤。

7. ITF 及 3 种阻断剂对 IEC-6 细胞 MAPK 活性的影响:将 IEC-6 接种于 96 孔板中(2.5 × 10<sup>5</sup>/ml),待细胞融合后,分为 5 组(分组情况、每组孔数、ITF 及阻断剂的浓度、处理时间及方法均同方法 6)。作用结束后,弃培养液,用 PBS 漂洗细胞后,加入细胞溶解液,其余步骤参见文献[5]。

#### 三、统计学分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用华西医科大学 PEMS 程序包行单因素方差分析和 *q* 检验。

### 结 果

1. 不同浓度 ITF 对肠上皮细胞膜 TPK 活性的影响:与肠上皮细胞膜 TPK 活性的基础值比较,浓

度为 0.10 ~ 10.00  $\mu\text{g/ml}$  的 ITF 与细胞膜共同孵育 30 min 后,TPK 活性明显增高 ( $P < 0.01$ ),见表 1。

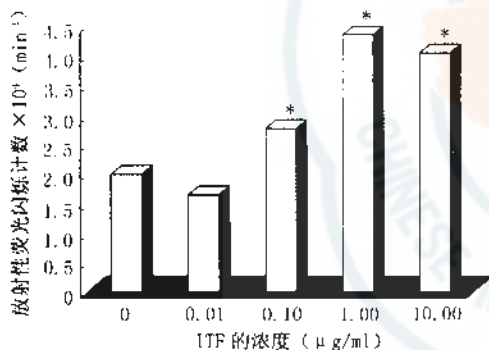
表 1 不同浓度 ITF 对肠上皮细胞膜 TPK 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 1 Effects of different concentrations of ITF on intestinal epithelial cell membrane TPK activity ( $\bar{x} \pm s$ )

ITF 浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	样本数	肠上皮细胞膜 TPK 活性 ( $\text{pmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )
0.01	10	2.17 $\pm$ 0.08
0.10	10	3.72 $\pm$ 0.29*
1.00	10	5.29 $\pm$ 0.46*
10.00	10	5.37 $\pm$ 0.59*

注:与肠上皮细胞膜 TPK 活性的基础值 [ $(1.88 \pm 0.32) \text{pmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ] 比较, \*  $P < 0.01$

2. 不同浓度的 ITF 对 IEC-6 DNA 合成率的影响:与正常 IEC-6 比较,0.10 ~ 10.00  $\mu\text{g/ml}$  的 ITF 能明显增加 IEC-6 的 DNA 合成率 ( $P < 0.01$ ),其中 ITF 浓度为 1.00  $\mu\text{g/ml}$  时作用最强,可使 DNA 合成率增加 1.20 倍,见图 1。



注:与正常对照(0  $\mu\text{g/ml}$ )比较, \*  $P < 0.01$

图 1 不同浓度 ITF 对肠上皮细胞株 IEC-6 DNA 合成率的影响

Fig 1 Effects of different concentrations of ITF on intestinal epithelial DNA synthesis in IEC-6

3. ITF 及 3 种阻断剂对 IEC-6 DNA 合成率的影响:ITF 与 IEC-6 共同孵育能明显提高 DNA 合成率 ( $P < 0.01$ )。PD098059 能明显阻断 ITF 对细胞 DNA 合成率的影响 ( $P < 0.01$ ),SB202190 和 SB202474 对 ITF 的阻断作用不明显 ( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 ITF 及 3 种阻断剂对 IEC-6 DNA 合成率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 2 Effects of ITF, PD098059, SB202190 and SB202474 on the DNA synthesis of IEC-6 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	细胞孔数	放射性荧光闪烁计数 $\times 10^4 (\text{min}^{-1})$
正常对照组	12	2.57 $\pm$ 0.34
ITF 组	12	4.38 $\pm$ 0.49*
ITF + PD098059 组	12	2.85 $\pm$ 0.36 $\Delta$
ITF + SB202190 组	12	3.93 $\pm$ 0.34*
ITF + SB202474 组	12	3.47 $\pm$ 0.41*

注:与正常对照组比较, \*  $P < 0.01$ ;与 ITF 组比较,  $\Delta P < 0.01$

4. ITF 及 3 种阻断剂对 IEC-6 MAPK 活性的影响:在 ITF 的刺激下,IEC-6 的 MAPK 活性明显增高 ( $P < 0.01$ ),增幅达 239.75%。PD098059 能明显

阻断 ITF 对 MAPK 的激活 ( $P < 0.01$ ),SB202190 和 SB202474 对 ITF 的阻断作用不明显 ( $P > 0.05$ ),见表 3。

表 3 ITF 及 3 种阻断剂对 IEC-6 MAPK 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab 3 Effects of ITF, PD098059, SB202190 and SB202474 on the change in MAPK activity of IEC-6 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	细胞孔数	放射性荧光闪烁计数 ( $\text{min}^{-1}$ )/ $\text{mg}$ 蛋白
正常对照组	12	553.25 $\pm$ 75.83
ITF 组	12	1 880.29 $\pm$ 385.62*
ITF + PD098059 组	12	866.43 $\pm$ 102.30 $\Delta$
ITF + SB202190 组	12	1 620.86 $\pm$ 233.15*
ITF + SB202474 组	12	1 398.15 $\pm$ 281.59*

注:与正常对照组比较, \*  $P < 0.01$ ;与 ITF 组比较,  $\Delta P < 0.01$

### 讨 论

肠上皮细胞在维持机体内环境的稳定中居重要地位,但因对缺血、缺氧十分敏感,又是各种病理因子损害的主要靶细胞之一。肠上皮细胞具有增殖周期短、生长旺盛的特点,因此,肠道具有较强的自我修复能力<sup>[6]</sup>。正常细胞的增殖以 DNA 合成为起点,故 DNA 的合成情况能较好反映细胞的增殖情况。

本研究中,笔者采用<sup>3</sup>H-TdR 掺入法,观察了不同浓度 ITF 对 IEC-6 DNA 合成率的影响。结果显示,在 ITF 刺激下,IEC-6 DNA 合成率明显增强,其有效浓度为 0.10 ~ 10.00  $\mu\text{g/ml}$ ,浓度为 1.00  $\mu\text{g/ml}$  时作用最强。因此,在 3 种阻断剂的实验中,笔者采用 1.00  $\mu\text{g/ml}$  作为 ITF 的实验浓度。关于 ITF 促进肠上皮细胞增殖的机制,目前尚缺乏深入研究,特别是有关 ITF 信号转导通路的报道较少。近年来,人们对生长因子、细胞因子激活相应受体,继而引发最终生物效应的中间环节进行了研究,结果表明,有两条重要的信号转导途径——Ras-MAPK 和 Janus 激酶(JAK)-信号转导及转录激活因子(STAT)参与了此过程。业已证明,大部分生长因子受体具有 TPK 活性,其信号转导以 Ras-MAPK 途径为主,而多数细胞因子和部分生长因子由于其膜受体缺乏 TPK 活性,只能通过 JAK-STAT 途径传递信息。因此,到底通过哪条途径传递信息,关键在于其膜受体是否具有 TPK 活性<sup>[7]</sup>。本研究结果显示,在 ITF 的刺激下,肠上皮细胞膜 TPK 活性明显增高,提示 ITF 的跨膜信号转导途径可能为 Ras-MAPK。预实验结果显示,经 ITF(1.00  $\mu\text{g/ml}$ )刺激 10 min 后,IEC-6 的 MAPK 活性即显著升高,刺激 30 min 时达峰值,45 min 时开始下降,60 min 时已恢复正常,说明 MAPK 信号转导系统参与了 ITF 的信号传递。

PD098059 是一种细胞渗透性、可选择性的



MAPK 激酶 (MEK)、ERK 和 MEK 激酶 (MEKK) 抑制剂,可有效抑制 ERK 通路而对 p38 和 SAPK 无影响。SB202190 是一种细胞渗透性和高选择性的 p38 激酶抑制剂,在  $\mu\text{mol/L}$  水平对 ERKs 和 SAPK 无明显抑制作用。SB202474 的情况较复杂,为混合抑制剂,主要抑制 SAPK 活性,但对 ERKs、p38 也有一定的抑制作用<sup>[8]</sup>。本研究中,笔者观察了这 3 种阻断剂对 IEC-6 DNA 合成率及 MAPK 活性的影响。结果显示,在 ITF 刺激前 60 min 加入 PD098059,能明显阻断 ITF 的促细胞增殖反应 ( $P < 0.01$ );细胞的 MAPK 活性也明显降低,但仍明显高于基础值 ( $P < 0.01$ )。采用 SB202190 后,ITF 的促细胞增殖反应以及 MAPK 活性均有所降低,但差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。采用 SB202474 的效果介于 PD098059 和 SB202190 之间,可能与其在阻断 SAPK 的同时对 ERKs、p38 也有一定抑制作用有关,但差异亦无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。提示 ITF 的信号转导通路不止 1 条,但主要是通过 ERKs 通路促进细胞增殖。关于在 ERKs 通路中相关酶的激活情况,以及还有哪些信号转导通路参与 ITF 的信号传

递,尚有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- 1 Suemori S, Lynch DK, Podolsky DK. Identification and Characterization of rat intestinal trefoil factor: Tissue and cell-specific member of the trefoil protein family. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 11017 - 11021.
- 2 Taupin DR, Kinoshita K, Podolsky DK, et al. Intestinal trefoil factor confers colonic epithelial resistance to apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 799 - 804.
- 3 张波, 许霖水, 府伟灵, 等. 严重烫伤大鼠肝细胞胰岛素信号转导缺陷机制的研究. *中华烧伤杂志*, 2002, 21: 218 - 220.
- 4 Harald HK, Brnett RJ, Fischer JE, et al. Substrate specificities of insulin and epidermal growth factor receptor kinase. *Biochem Biophys Res*, 1985, 127: 254 - 263.
- 5 刘秀华, 杨军, 王士安, 等. 丝裂素活化蛋白激酶在大鼠心脏缺血预处理中的作用. *中华医学杂志*, 1999, 79: 542 - 545.
- 6 彭曦, 汪仕良, 陶凌祥, 等. 不同营养支持途径对烧伤大鼠肠粘膜损伤和修复的影响. *中华烧伤杂志*, 2000, 21: 323 - 226.
- 7 Xiao DT, Wei H, Hong C, et al. Characterization of a putative receptor for intestinal trefoil factor in rat small intestine: identification by in situ binding and ligand blotting. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, 237: 673 - 677.
- 8 Moule SK, Denton RM. Multiple signaling pathways involved in the metabolic effects of insulin. *Am J Cardiol*, 1997, 80: 41A - 49A.

(收稿日期: 2002 - 12 - 09)

(本文编辑: 罗 勤)

### · 警钟 ·

## 湿润烧伤膏致小儿烧伤死亡 11 例分析

周玉新 张林 陈明星 员科 庞书琴

1995 年 1 月 ~ 2001 年 12 月, 笔者单位共收治小儿烧伤 1 147 例, 其中成功救治 1 136 例, 死亡 11 例, 报告如下。

临床资料: 11 例死亡患儿中男 6 例, 女 5 例, 年龄 1 ~ 8 岁。烧伤面积 13% ~ 87%, 深 II ~ III 度。创面均外用“美宝”湿润烧伤膏 (北京光明创疡研究所研制), 其中 8 例患儿在院外治疗 7 ~ 16 d 后转入笔者单位, 烧伤面积均  $\leq 35\%$  TBSA, 院外平均住院 12 d。入院时患儿嗜睡或烦躁不安, 并有严重腹胀、腹泻、消化道出血。体温  $\leq 36^\circ\text{C}$  或  $\geq 39^\circ\text{C}$ , 心率大于 180 次/min, 白细胞  $15 \times 10^9/\text{L}$ 。创面污浊或呈硬痂皮状, 痂下有大量脓性分泌物, 创周红肿, 其中 3 例伴有斑片状皮下出血坏死, 创面细菌培养有铜绿假单胞菌 5 例, 大肠杆菌 1 例; 血培养有铜绿假单胞菌 2 例。入院后立即清创、输血、全身抗感染及对症治疗, 但仍于伤后 7 ~ 20 d 死于多器官功能衰竭。11 例死亡患儿中, 因创面感染引起脓毒血症导致脏器衰竭死亡者 8 例 (72.7%); 死于中毒性休克者 3 例 (27.3%)。

典型病例: 患儿女, 2 岁。因热水烫伤胸、腹部, 总面积 12% TBSA, 在当地医院创面外用湿润烧伤膏治疗 7 d 后转入笔者单位。患儿入院时体温  $35.6^\circ\text{C}$ , 心率 182 次/min, 表情

淡漠、反应迟钝、嗜睡, 腹胀明显, 创面、创周炎性水肿, 坏死组织与湿润烧伤膏混合为黑色硬痂, 痂下出血并有坏死斑, 创缘炎性浸润。创面细菌培养有铜绿假单胞菌, 血常规检查: 白细胞  $26.5 \times 10^9/\text{L}$ ; 原始淋巴细胞:  $56.6 \times 10^9/\text{L}$ ; 血培养阳性。入院后给予输全血、大剂量地塞米松、高效抗生素、清除痂皮外用磺胺嘧啶银等治疗, 18 h 后患儿死亡。

讨论 本组 11 例患儿, 伤后创面均外用“美宝”湿润烧伤膏, 该药无抑菌作用, 对烧伤创面保护作用差, 能加速溶痂, 加重感染, 并容易导致痂下感染, 不利创面引流。本组患儿均因创面每日外用湿润烧伤膏数次, 导致痂下严重感染, 延误了治疗, 最终死亡。对于湿润烧伤膏的使用范围应引起临床医师注意, 尤其是小儿烧伤, 因其皮肤较薄, 机体免疫力差, 体温调节不完善, 创面外用药应使用有确切抗菌效果的磺胺嘧啶银等<sup>[1]</sup>。对于重度烧伤患者, 应按科学方法进行补液、抗感染等治疗, 不能单纯依赖外用湿润烧伤膏而延误救治时间。

### 参 考 文 献

- 1 岳长路, 吴竹便, 万萍, 等. 外用湿润烧伤膏致肾功能衰竭和低温脓毒症死亡二例. *中华烧伤杂志*, 2003, 3: 180.

(收稿日期: 2002 - 12 - 10)

(本文编辑: 张 红)

作者单位: 835000 伊宁, 解放军第十一医院烧伤科