

- [4] 汪春荣, 邱士军, 沈比先, 等. 稳定期慢性阻塞性肺疾病患者脑灰质体积的改变[J]. 中国医药导报, 2016, 13(28): 60~63.
- [5] Karloh M, Fleig Mayer A, Maurici R, et al. The COPD assessment test: what do we know so far: a systematic review and meta-analysis about clinical outcomes prediction and classification of patients into GOLD stages[J]. Chest, 2016, 149(2): 413~425.
- [6] 黄邓高, 王婵, 陈扬, 等. IL-35 在肺炎支原体感染患者血清的表达水平及在不同性别、年龄的差异[J]. 山西医科大学学报, 2017, 48(7): 698~701.
- [7] 王晨, 李俏俏, 叶舒婷, 等. 胸腺肽 $\alpha 1$ 治疗对老年慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者白细胞介素-33 水平及免疫功能的影响[J]. 中国慢性病预防与控制, 2017, 25(6): 450~452.
- [8] 林玛丽, 蔡旭龙, 冯巍巍, 等. 白细胞介素-33 在慢性呼吸系统疾病中的作用研究进展[J]. 广西医学, 2017, 39(7): 1053~1056.

【文章编号】1006-6233(2019)10-1620-05

siRNA 沉默 BRM 增强胰腺癌细胞对吉西他滨敏感性的作用机制研究

屈涛¹, 张弘刚¹, 汤海舰², 刘伟²

(1. 中国医学科学院肿瘤医院内科, 北京 100021

2. 北京三环肿瘤医院内科, 北京 100021)

【摘要】目的:探讨 siRNA 沉默 BRM 增强胰腺癌细胞对吉西他滨敏感性的作用。**方法:**体外培养人胰腺癌 Panc-1 细胞, 将阴性对照 NC 和 BRM siRNA 转染到 Panc-1 细胞, 用 RT-PCR 和 Western Blot 法检测 Panc-1 细胞 BRM 的表达, 以鉴定 BRM 特异性 siRNA 沉默效果。用不同浓度的吉西他滨进行干预, 检测细胞增殖率, 计算半数抑制浓度 (IC₅₀), 同时检测 Panc-1 细胞凋亡率和 Panc-1 细胞中 JAK2、STAT3、p-STAT3 和 Survivin 蛋白表达水平。**结果:**BRM siRNA 组 Panc-1 细胞中 BRM mRNA 和蛋白表达较空白对照组和 NC 对照组显著降低 ($P < 0.05$); BRM siRNA 组吉西他滨对 Panc-1 细胞增殖的抑制较空白对照组和 NC 对照组增强 ($P < 0.05$), 通过计算, 空白对照组、NC 对照组和 BRM siRNA 组的 IC₅₀ 分别为 5.18ug/mL、5.05ug/mL 和 3.05ug/mL; 给予终浓度为 3.0ug/mL 的吉西他滨干预, BRM siRNA 组 Panc-1 细胞凋亡率较空白对照组和 NC 对照组显著增高 ($P < 0.05$), STAT3 变化不显著 ($P > 0.05$), JAK2、p-STAT3 和 Survivin 蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$)。**结论:**通过 siRNA 沉默 BRM 的表达后可以增加 Panc-1 细胞对西他滨的敏感性, 可能与 BRM 激活 JAK2/STAT3 通路促进胰腺癌生长和耐药有关。

【关键词】 siRNA 沉默; 胰腺癌; 吉西他滨

【文献标识码】 A

【doi】10.3969/j.issn.1006-6233.2019.10.009

Study on the Mechanism of siRNA Silencing BRM Enhancing the Sensitivity of Pancreatic Cancer Cells to Gemcitabine

QU Tao, ZHANG Honggang, et al

(Cancer Hospital of Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China)

【Abstract】Objective: To investigate enhancement of silencing BRM gene by siRNA on the sensitivity of human pancreatic cancer cell line to gemcitabine. **Methods:** Panc-1 cells from human pancreatic cancer in vitro were cultured. Negative control NC and BRM siRNA were transfected into Panc-1 cells cultured in vitro. The expression of BRM in Panc-1 cells was detected by RT-PCR and Western Blot, so as to identify the silencing effect of BRM-specific siRNA. Different concentrations of gemcitabine were used to detect the cell proliferation rate, and the half-inhibitory concentration (IC₅₀) was calculated. The apoptosis rate of Panc-1 cells and the protein expression levels of JAK2, STAT3, p-STAT3 and Survivin in Panc-1 cells were detected. **Results:** The expression of BRM mRNA and protein in Panc-1 cells of BRM siRNA group was signifi-

cantly lower than that of blank control group and NC control group ($P < 0.05$). The inhibition rate of gemcitabine on Panc-1 cell proliferation in BRM siRNA group was higher than that in blank control group and NC control group ($P < 0.05$); The IC₅₀ of the blank control group, the NC control group and the BRM siRNA group were 5.18 ug/mL, 5.05 ug/mL and 3.05 ug/mL, respectively; After gemcitabine treatment with the final concentration of 3.0ug/mL, the apoptotic rate of Panc-1 cells in BRM siRNA group was significantly higher than that in blank control group and NC control group ($P < 0.05$), STAT3 was not significantly changed ($P > 0.05$), while the expression of JAK2, p-STAT3 and Survivin protein was significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Silencing BRM expression by siRNA can increase the sensitivity of Panc-1 cells to citrate, which may be related to the activation of JAK2/STAT3 pathway by BRM to promote pancreatic cancer growth and drug resistance.

【Key words】 Silencing of siRNA; Pancreatic cancer; Gemcitabine

胰腺癌的发病率一直在以潜在的速度增长,1972-2005年期间,上海居民的胰腺癌发病率增加了大约70%。胰腺癌往往在晚期或转移期才被诊断出来,其中位生存时间不足6个月,是预后最差的肿瘤之一^[1]。化疗成为胰腺癌的主要治疗方案。吉西他滨单药治疗目前是国家综合癌症网络(NCCN)专家组推荐的一线治疗方案,能轻微延长患者的总体生存期,并减轻与疾病相关的症状,但大多数患者对吉西他滨具有耐药性^[2]。吉西他滨治疗的耐药性主要归因于胰腺肿瘤细胞凋亡阈值的改变,导致细胞增殖的增加^[3]。在哺乳动物中,SWI/SNF家族是由多亚单核染色质重构复合物组成,其包含两个相关且进化保守的催化ATP酶亚基: Brahma (BRM) 和 Brahma 相关基因1 (BRG1)^[4]。BRM与转录因子等细胞蛋白相互作用,调节多个基因的转录活性,在细胞增殖和细胞粘附方面发挥重要作用。有证据表明,SWI/SNF复合物(包括BRM)的亚基可能在肿瘤发展中发挥重要作用^[5]。BRM的异常过表达也被报道与肺癌患者的疾病进展和不良预后有关^[6]。然而,BRM表达是否导致胰腺癌细胞对吉西他滨产生耐药性尚不清楚。因此,本研究通过使用小干扰RNA(siRNA)沉默胰腺癌Panc-1细胞中BRM的表达,通过药敏实验观察Panc-1细胞对吉西他滨的敏感性变化,探索沉默BRM对胰腺癌细胞吉西他滨敏感性的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器:人胰腺癌Panc-1细胞(批号:CM-1250,中国科学院典型培养物保藏中心昆明细胞库);注射用盐酸吉西他滨(规格:0.2g/瓶,批号:170910,江苏豪森药业股份有限公司);胎牛血清(美国Gibco公司);RPMI-1640培养基(天津润泰科技发展有限公司);四噻唑蓝(Methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)(美国Amresco公司);RNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司);RNA反转录试剂盒和荧光定量PCR试剂盒(大连TaKaRa公司,中国);针对BRM基

因系列NM_003070.4,用Ambion在线软件分别设计1个BRM特异性siRNA靶系(5'-GCAGCAGACCGATGAGTATGT-3'),阴性对照(negative control,NC)(5'-TTCTCCGAACGTGTCACGTTTC-3'),由上海吉玛生物科技有限公司合成;BRM、JAK2、STAT3、p-STAT3和Survivin抗体(美国Santa Cruz公司); β -actin和辣根过氧化物酶HRP标记山羊抗IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司);Western blot试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司);细胞蛋白抽提试剂(碧云天生物技术有限公司);凝胶成像仪(美国UVP公司);实时荧光定量PCR仪(BIO-RAD公司);二氧化碳培养箱(美国Thermo Revco公司);倒置显微镜(日本Nikon公司);HBS-1096B酶标仪(南京德铁实验设备有限公司,中国);NanoDrop2000c型蛋白核酸检测仪(美国Thermo公司);细胞凋亡检测AnnexinV/PI试剂盒、BIO-RAD垂直电泳仪、实时荧光定量PCR仪和流式细胞仪(美国BD公司)。

1.2 细胞培养及转染:用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养液在37℃、5% CO₂的条件下培养Panc-1细胞,当细胞融合率达到60%时进行转染。实验分为空白对照组、NC对照组和S1pr1沉默组。NC对照组和BRM siRNA组分别用Lipofectamine法将阴性对照NC和BRM siRNA转染到Panc-1细胞,转染72h后进行相关检测。

1.3 MTT法检测细胞增殖率:按照1.2方法转染细胞,消化后以 5×10^3 /孔接种于96孔板中(200 μ L/孔),待细胞融合加入不同浓度的吉西他滨,继续培养72h,实验结束前4h加入MTT(50 μ L/孔)继续培养,离心弃上清,加入DMSO(200 μ L/孔),检测吸光度并进行分析,采用曲线拟合方法计算半数抑制浓度(IC₅₀)。

1.4 流式细胞术检测Panc-1细胞凋亡率:按照1.2方法处理细胞,消化后以 3×10^5 /孔接种于6孔板中,待细胞融合加入终浓度为3.0ug/mL的吉西他滨,继续培养72h后接ANNEXIN V-FITC/PI凋亡检测试剂盒

测定 Panc-1 细胞凋亡率。

1.5 RT-PCR 检测 BRM mRNA 表达按照 1.2 方法处理细胞,消化后以 3×10^5 /孔接种于 6 孔板中,待细胞融合加入终浓度为 3.0ug/mL 的吉西他滨,继续培养 72h 后进行总 RNA 提取,根据反转录试剂盒说明合成 cDNA,根据荧光定量 PCR 试剂盒说明,制备 20uL 反应体系,在 CFX-96 PCR 扩增仪中进行扩增。反应条件为预变性 95℃ 30s、变性 95℃ 5s、60℃ 44s、40 个循环,61℃ 时采集荧光,对其表达量进行结果分析,以 β -actin 作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 BRM mRNA 的相对表达量。

1.6 Western Blot 法检测 BRM、JAK2、STAT3、p-STAT3 和 Survivin 蛋白表达水平:按照 1.2 方法处理细胞,细胞在冷细胞蛋白抽提试剂中裂解,用 BCA 蛋白试剂盒测定总蛋白浓度,进行电泳、切胶,用 5% 脱脂奶粉和 0.1% Tween20 缓冲盐水封闭膜,孵育二抗,用凝胶成像系统采集图像并分析,计算目的蛋白与 β -actin 蛋白条带灰度值的比值。

1.7 统计学分析:用 SPSS19.0 进行统计学分析。计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$),采用单因素方差分析进行判断,组间两两比较用 SNK-q 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 siRNA 沉默 BRM 对 Panc-1 细胞中 BRM mRNA 和蛋白表达的影响:与空白对照组比较,NC 对照组 Panc-1 细胞中 BRM mRNA 和蛋白表达变化不明显,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);BRM siRNA 组 Panc-1 细胞中 BRM mRNA 和蛋白表达较空白对照组和 NC 对照组显著降低 ($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

表 1 siRNA 沉默 BRM 对 Panc-1 细胞中 BRM mRNA 和蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

分组	BRM mRNA	BRM 蛋白
空白对照组	1.00 \pm 0.04	0.38 \pm 0.10
NC 对照组	0.99 \pm 0.06	0.45 \pm 0.12
BRM siRNA 组	0.24 \pm 0.02 **	0.17 \pm 0.03 **

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$;与 NC 对照组比较,# $P < 0.05$

2.2 siRNA 沉默 BRM 和吉西他滨处理对 Panc-1 细胞的增殖率的影响:在 0.04~25ug/mL 浓度范围内,吉西他滨对 Panc-1 细胞的增殖均有抑制作用。空白对照组和 NC 对照组吉西他滨对 Panc-1 细胞增殖的抑制作用没有显著差异 ($P > 0.05$);与空白对照组和 NC 对照组相比,BRM siRNA 组吉西他滨对 Panc-1 细胞

增殖的抑制明显增强 ($P < 0.05$)。通过计算,空白对照组、NC 对照组和 BRM siRNA 组的 IC50 分别为 5.18ug/mL、5.05ug/mL 和 3.05ug/mL,

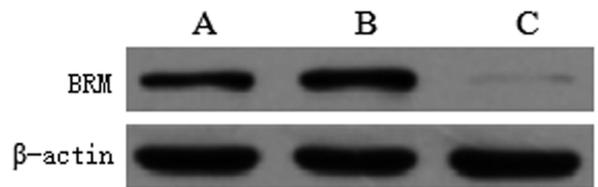


图 1 siRNA 沉默 BRM 对 Panc-1 细胞中 BRM 蛋白表达的影响

注:A:空白对照组;B:NC 对照组;C:BRM siRNA 组

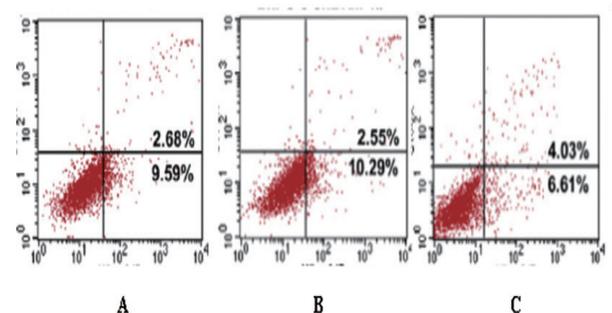


图 2 siRNA 沉默 BRM 和吉西他滨处理对 Panc-1 细胞凋亡的影响

注:A:空白对照组;B:NC 对照组;C:BRM siRNA 组

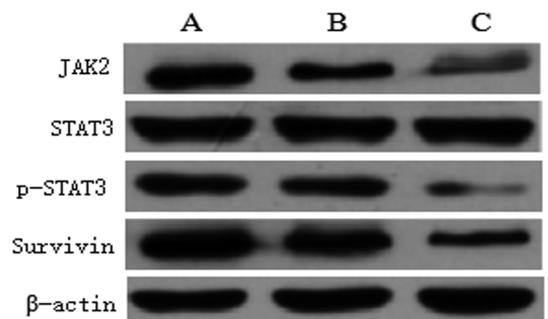


图 3 siRNA 沉默 BRM 和吉西他滨处理对 Panc-1 细胞中 JAK2、STAT3、p-STAT3 和 Survivin 蛋白表达的影响

注:A:空白对照组;B:NC 对照组;C:BRM siRNA 组

2.3 siRNA 沉默 BRM 和吉西他滨处理对 Panc-1 细胞凋亡的影响:与空白对照组比较,NC 对照组 Panc-1 细胞凋亡率变化不显著 ($P > 0.05$);BRM siRNA 组 Panc-1 细胞凋亡率较空白对照组和 NC 对照组显著增高 ($P < 0.05$),见表 3、图 2。

2.4 siRNA 沉默 BRM 和吉西他滨处理对 Panc-1 细胞中 JAK2、STAT3、p-STAT3 和 Survivin 蛋白表达的影响:与空白对照组比较, NC 对照组 Panc-1 细胞中 JAK2、STAT3、p-STAT3 和 Survivin 蛋白表达变化不显

著 ($P>0.05$); BRM siRNA 组 Panc-1 细胞中 JAK2、p-STAT3 和 Survivin 蛋白表达较空白对照组和 NC 对照组显著降低 ($P<0.05$), STAT3 变化不显著 ($P>0.05$)。见表 4、图 3。

表 2 siRNA 沉默 BRM 和吉西他滨处理对 Panc-1 细胞的增殖率的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

分组	吉西他滨 (ug/mL)					
	0	0.04	0.2	1	5	25
空白对照组	100.00±1.53	95.24±1.46	93.15±1.18	78.16±2.54	53.71±2.34	22.98±2.15
NC 对照组	100.00±0.29	95.35±3.17	92.29±2.06	78.38±2.95	51.62±0.94	21.31±1.57
BRM siRNA 组	100.00±2.18	90.64±1.35 ^{*#}	85.31±2.16 ^{*#}	65.31±1.68 ^{*#}	37.26±1.28 ^{*#}	14.25±1.27 ^{*#}

注:与空白对照组比较, * $P<0.05$; 与 NC 对照组比较, # $P<0.05$

表 3 siRNA 沉默 BRM 和吉西他滨处理对 Panc-1 细胞凋亡的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

分组	细胞凋亡率 (%)
空白对照组	2.60±0.24
NC 对照组	2.35±0.19
BRM siRNA 组	4.11±0.40 ^{*#}

注:与空白对照组比较, * $P<0.05$; 与 NC 对照组比较, # $P<0.05$

表 4 siRNA 沉默 BRM 和吉西他滨处理对 Panc-1 细胞中 JAK2、STAT3、p-STAT3 和 Survivin 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

分组	JAK2	STAT3	p-STAT3	Survivin
空白对照组	0.69±0.24	1.29±0.24	0.63±0.08	1.68±0.34
NC 对照组	0.55±0.12	1.33±0.16	0.59±0.05	1.54±0.21
BRM siRNA 组	0.36±0.02 ^{*#}	1.40±0.37	0.30±0.04 ^{*#}	0.48±0.04 ^{*#}

注:与空白对照组比较, * $P<0.05$; 与 NC 对照组比较, # $P<0.05$

3 讨论

吉西他滨是一种脱氧胞苷类似物,已被证明能改善疾病相关症状,并能延长生存时间,尤其是与其他细胞毒性药物(如顺铂或伊立替康)联合使用时^[7]。脱氧胞苷激酶(DCK)将吉西他滨磷酸化为单磷酸吉西他滨,再将其转化为二磷酸吉西他滨和三磷酸吉西他滨,阻碍了 DNA 合成,导致凋亡^[8]。然而大多数患者对吉西他滨具有耐药性,影响了其治疗效果。因此,开发一种有效的胰腺癌治疗方法仍然是一项紧迫的任务。

吉西他滨的治疗耐药性与细胞增殖的促进和凋亡的抑制有关。通过上调抗凋亡基因的表达抑制凋亡即线粒体的内源性耐药已被证明是吉西他滨治疗胰腺癌及其他肿瘤(如乳腺癌)失败的主要原因^[9]。越来越多的证据表明,SWI/SNF 复合物的 ATP 酶亚基 BRM 和 BRG1 在致癌基因中发挥重要作用,但其机制尚不清楚。研究显示, BRM 和 BRG1 在胰腺癌细胞中共同表达,而 Panc-1 细胞中只包含 BRM 而不包含

BRG1^[10]。一些经典的肿瘤抑制基因,如 p53 和 Rb,在功能上与调控 BRM 的一系列关键蛋白有关。BRM 在大多数原发性乳腺癌中过表达,并通过不同的机制促进细胞增殖进展^[11]。此外,过度 BRM 与胰腺癌患者较差的临床病理特征相关, BRM 表达高的患者总体生存率较差,是生存不良的独立预后指标。我们通过对 Oncomine 数据库的访问进行系统分析,确定了 BRM 表达模式。同时,基于 NCBI GEO 数据库的进一步数据挖掘表明,胰腺癌组织中 BRM 表达上调。

siRNA 特异性抑制靶基因的表达,是研究恶性肿瘤基因功能和潜在治疗的常用方法^[12,13]。本研究利用 BRM siRNA 转染人胰腺癌 Panc-1 细胞,发现 BRM 在 mRNA 和蛋白水平上均显著被抑制。利用 siRNA 介导的基因沉默技术,我们成功地建立了稳定的 BRM 沉默 Panc-1 细胞。本研究结果表明, BRM 基因沉默在体外抑制了 Panc-1 细胞增殖。BRM 沉默降低了参与细胞凋亡(Survivin)的一些基因的表达,这些基因都

是 STAT3 的靶基因^[14]。此外,我们首次报道了 BRM 可以促进 STAT3 磷酸化,激活 JAK2/STAT3 信号通路。

JAK2/STAT3 信号转导对胰腺癌耐药具有重要作用,靶向 STAT3 已被认为是胰腺癌治疗的一种新兴策略^[15]。因此,我们研究了 BRM 是否可能是胰腺癌治疗失败的原因。我们发现 BRM 沉默显著增加吉西他滨诱导细胞凋亡,增强其对胰腺癌细胞的化疗作用, BRM 的下调导致 JAK2/STAT2 信号通路的激活减少,进而提高了对吉西他滨的化学敏感性。这些数据进一步证实了 BRM 的沉默可以通过下调 STAT3 的磷酸化水平和转录活性使细胞对化疗敏感。

综上所述, BRM 在胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性中发挥重要作用,通过 siRNA 沉默 BRM 的表达后可以增加 Panc-1 细胞对吉西他滨的敏感性并导致 Panc-1 细胞对吉西他滨化疗下调亡增加,可能与 BRM 沉默后抑制了 JAK2/STAT3 通路有关。

【参考文献】

[1] 项金峰,施思,梁丁孔,等.2015年胰腺癌研究及诊疗前沿进展[J].中国癌症杂志,2016,26(4):281~289.
[2] 朱飞,魏宇峰,王增,等.吉西他滨相关血小板减少对晚期非小细胞肺癌患者生存时间的影响[J].中国药师,2018,21(3):429~431.
[3] Shinozuka K, Tang H, Jones RB, et al. Impact of polymorphic variations of gemcitabine metabolism, DNA damage repair and drug-resistance genes on the effect of high-dose chemotherapy for relapsed or refractory lymphoid malignancies[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2016, 22(5):843~849.
[4] Tang Y, Wang J, Lian Y, et al. Linking long non-coding RNAs and SWI/SNF complexes to chromatin remodeling in cancer[J]. Molecular Cancer, 2017, 16(1):42.
[5] Yu Y, Cheng D, Parfrey P, et al. Two functional indel polymorphisms in the promoter region of the Brahma gene (BRM) and disease risk and progression-free survival in colorectal cancer[J]. PLOS ONE, 2018, 13(6):e0198873.
[6] Marquez-Vilendrer SB, Rai SK, Gramling SJ, et al. Loss of the SWI/SNF ATPase subunits BRM and BRG1 drives lung

cancer development[J]. Oncoscience, 2016, 3(11-12):322~336.
[7] Park K, Cho EK, Bello M, et al. Efficacy and safety of first-Line necitumumab plus gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin in east asian patients with stage IV squamous non-small cell lung cancer: a subgroup analysis of the phase 3, open-label, randomized SQUIRE study[J]. Cancer Res Treat, 2017, 49(4):937~946.
[8] Karampelas T, Skavatsou E, Argyros O, et al. Gemcitabine based peptide conjugate with improved metabolic properties and dual mode of efficacy[J]. Mol Pharm, 2017, 14(3):674~685.
[9] Neoptolemos JP, Palmer DH, Ghaneh P, et al. Comparison of adjuvant gemcitabine and capecitabine with gemcitabine monotherapy in patients with resected pancreatic cancer (ES-PAC-4): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial[J]. Lancet, 2017, 389(10073):1011~1024.
[10] Raab JR, Runge JS, Spear CC, et al. Co-regulation of transcription by BRG1 and BRM, two mutually exclusive SWI/SNF ATPase subunits[J]. Epigenetics Chromatin, 2017, 10(1):62~73.
[11] Priedigkeit N, Hartmaier RJ, Chen Y, et al. Intrinsic Subtype Switching and Acquired ERBB2/HER2 Amplifications and Mutations in Breast Cancer Brain Metastases[J]. JAMA Oncol, 2017, 3(5):666~671.
[12] 雷越,万婕,文韬宇,等.siRNA 沉默 FOXM1 基因表达对人鼻咽癌细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响[J].肿瘤,2018,38(1):25~34.
[13] Zhu H, Liu W, Cheng Z, et al. Targeted delivery of siRNA with pH-Responsive hybrid gold nanostars for cancer treatment[J]. Int Mol Sci, 2017, 18(10):2029~2038.
[14] Zhang Z, Wang F, Du C, et al. BRM/SMARCA2 promotes the proliferation and chemoresistance of pancreatic cancer cells by targeting JAK2/STAT3 signaling[J]. Cancer Lett, 2017, 402:213~224.
[15] Doi T, Ishikawa T, Okayama T, et al. The JAK/STAT pathway is involved in the upregulation of PD-L1 expression in pancreatic cancer cell lines[J]. Oncol Rep, 2017, 37(3):1545~1554.

【文章编号】1006-6233(2019)10-1624-04

比索洛尔联合福多司坦治疗 COPD 的疗效及对血清 CC16 sE-SLT SAA 的影响

刘 魏, 张 毅

(新疆第三人民医院呼吸与危重症医学科, 新疆 乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的:研究比索洛尔联合福多司坦治疗 COPD 的疗效及对血清人克拉拉细胞蛋白

【基金项目】新疆维吾尔自治区自然科学基金,(编号:2012211B35)