

沿面空气等离子体对 HaCaT 细胞因子 mRNA 表达及分泌的影响

钟世玉^{1,2}, 董颖颖^{1,2}, 刘定新^{2,3}, 肖生祥¹, 孔刚玉²⁻⁴

[摘要] 目的 探讨等离子体对 HaCaT 细胞活性、细胞因子表达的影响及作用机制,为其在皮肤创伤愈合的应用提供理论依据。方法 CCK-8 法测定不同时间等离子体处理对 HaCaT 细胞活性的影响,流式细胞术检测处理后细胞内活性氧水平改变,并与有 NAC 存在条件下的改变进行比较;酶标仪检测处理介质 PBS 中 H₂O₂ 浓度;采用 ELISA 及 Realtime PCR 方法分析等离子体处理后 HaCaT 生成细胞因子在蛋白和 mRNA 水平的改变。结果 沿面空气等离子体对 HaCaT 细胞具有细胞毒性,呈剂量-时间依赖性。等离子体处理可升高细胞内 ROS 水平,NAC 能够明显抑制等离子体处理引起的 HaCaT 细胞活性下降及细胞内 ROS 水平的增加。与对照组相比,等离子体照射可在不同程度上引起细胞因子 IL-1 β mRNA 水平的增加,可明显增加 IL-6、IL-8、VEGF 蛋白及 mRNA 的水平。结论 空气沿面等离子体可通过提高细胞内 ROS 水平发挥细胞毒性作用,其一定程度上的促炎作用及促进生长因子的分泌作用可能在创伤愈合治疗中具有重要意义。

[关键词] 低温等离子体;角质形成细胞;细胞内活性氧;细胞因子;创伤愈合;等离子体医学

[中图分类号] R 751 [文献标识码] A [文章编号] 1001-7089(2015)10-1004-05

[DOI] 10.13735/j.cjdv.1001-7089.201503063

Effect of Surface Air Plasma on the mRNA expression and secretion of cytokines in HaCaT cells

ZHONG Shi-yu^{1,2}, DONG Ying-ying^{1,2}, LIU Ding-xin^{2,3}, XIAO Sheng-xiang¹, KONG Michael G²⁻⁴

(1. Hospital of Dermatology, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; 2. Center of Plasma Biomedicine, State Key Laboratory of Electrical Insulation and Power Equipment, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710054, China; 3. School of Electrical Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China; 4. Center for Bioelectronics, Old Dominion University, Virginia, 23508, USA)

[Corresponding author] DONG Ying-ying, E-mail: dyying97@163.com; KONG Gang-yu, E-mail: mglin5g@gmail.com

[Abstract] **Objective** To investigate the effects and mechanism of plasma treatment on cell viability and cytokines expression of HaCaT cells and to provide theoretical basis for its application in wound healing. **Methods** The viability of HaCaT cells exposed to plasma for 0~3 min was measured by CCK 8 assay at 4h, 24h and 48h, respectively. Flow cytometry was used to detect the intracellular reactive oxygen species (ROS) level and compared the results with that in the presence of NAC. H₂O₂ concentration was analyzed by microplate reader. By ELISA and Realtime PCR analysis, the changes of cytokines generated by plasma-treated HaCaT cells were observed in both protein and mRNA levels. **Results** Surface air plasma had cytotoxicity effect on HaCaT cells with a dose and time dependence pattern. Plasma treatment could increase intracellular ROS level, whereas NAC could significantly inhibit the toxic effect and decrease the intracellular ROS level. Compared with the control, the plasma irradiation could induce the levels of IL-1 β mRNA and increase the expression of IL-6, IL-8 and VEGF in both protein and mRNA levels. **Conclusion** Surface air plasma induces cytotoxicity by enhancing the level of intracellular ROS. The proinflammatory role and the secretion of growth factors may be of a great significance in plasma therapy of wound healing.

[Key words] Cold atmospheric plasma; Keratinocytes; Intracellular reactive oxygen species (ROS); Cytokine; Wound healing; Plasma medicine

[基金项目] 国家自然科学基金(51221005);电力设备电气绝缘国家重点实验室专项基金(EIPE14129)

[作者单位] 1. 西安交通大学医学院第二附属医院皮肤科院,陕西 西安 710004;2. 西安交通大学电力设备电气绝缘国家重点实验室,陕西 西安 710054;3. 西安交通大学电气工程学院,陕西 西安 710049;4. 老道明大学生物电学中心,弗吉尼亚州 23508

[通讯作者] 董颖颖, E-mail: dyying97@163.com; 孔刚玉, E-mail: mglin5g@gmail.com

[网络出版时间] 2015-09-11 17:43 [网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1197.R.20150911.17:43.007.html>

随着等离子体医学的不断发展,利用其产生的带电粒子、自由基、紫外线等各种活性成分,等离子体在皮肤科领域的应用受到了人们的极大关注^[1],被应用于皮肤美容^[2]、皮肤创口愈合^[3]等多个方向。然而,低温等离子体对皮肤发挥生物学效应的有效成分及具体作用机制尚不完全清楚,这在一定程度上阻碍了其在皮肤科领域的进一步拓展应用。本研究采用空气中沿面放电等离子体装置处理 HaCaT 细胞,观察并探讨对细胞活性、细胞因子分泌及 mRNA 表达水平的影响,为在皮肤科的临床应用尤其是创伤愈合治疗方面提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 酶标仪(Thermo,3001),流式细胞仪(BD,Accuri C6),透射电镜(HITACHI,H7650),MEM-EBSS 培养基(Hyclone),PBS(Corning)胎牛血清及 0.25% 胰酶/EDTA 消化液(Gibco),青/链霉素(PAA),CCK-8 试剂(七海生物),NAC(Sigma),Annexin V-FITC 凋亡检测试剂盒 I(BD),DCFH-DA 及过氧化氢检测试剂盒(Invitrogen)细胞因子 ELISA 检测试剂盒(R&D)逆转录试剂盒(Fermentas)。

空气中沿面等离子体装置由西安交通大学电气学院等离子体生物医学研究中心制造并提供,见图 1。装置采用聚四氟乙烯板作为阻挡介质,六边形不锈钢微孔网作为放电电极, $V_{pp} = 10kV$ $f = 10kHz$ 工作条件下六边形微孔处可见均匀放电形成等离子体,经测定能量密度约为 $0.06 W/cm^2$ 。

1.2 细胞培养及处理过程 HaCaT 细胞株购于北京协和细胞资源中心。细胞培养在 MEM 完全培养基(含 10% 胎牛血清及 $100\mu g/mL$ 青/链霉素),置于 $37^\circ C$ 并含 5% CO_2 培养箱进行培养,取对数生长期的细胞按一定密度接种到相应的培养板或培养皿中。96 孔细胞培养板用于细胞活性检测,直径 35mm 细胞培养皿用于后续其他实验。处理 96 孔板前,将培养基更换为 $50\mu L$ PBS 作为处理介质进行处理;35mm 培养皿处理前,吸出培养基后加入 1mL PBS。处理结束后,更

换新鲜的 MEM 完全培养基继续培养。

1.3 细胞活性检测 处理结束后继续培养 4h,24h 和 48h 后分别进行细胞活性检测。实验采用 CCK-8 试剂盒(Cell Counting Kit-8),按 $10\mu L/孔$ 加入待测孔中。培养箱中孵育 2h 后,酶标仪在 450nm 波长测定吸光度。实验观察了在无或有抗氧化剂 N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine,NAC)存在条件下,等离子体处理对 HaCaT 细胞活性的影响。

1.4 细胞内活性氧测定 利用荧光探针 2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(2',7'-Dichlorofluorescein diacetate,DCFH-DA)观察在无或有 NAC 存在的处理条件下,细胞内 ROS 水平。除去细胞培养液,加入 1mL 含 DCFH-DA 终浓度为 $10\mu mol/L$ 的 PBS 溶液,培养箱中继续孵育 30min,每隔 5min 轻晃数次。胰酶消化并收集细胞,PBS 洗涤细胞 3 次后, $500\mu L$ PBS 重悬细胞,1h 内上流式细胞仪检测细胞内 ROS 水平。

1.5 PBS 溶液中 H_2O_2 含量 应用商业化 H_2O_2 检测试剂盒,对 PBS 溶液及接受不同剂量等离子体处理的 PBS 溶液分别进行溶液内 H_2O_2 含量的测定。按说明书进行操作。酶标仪测定 560nm 波长处吸光度,根据标准曲线求得各样本中 H_2O_2 水平。

1.6 ELISA 方法检测 IL-1 β 、IL-6、IL-8、VEGF 水平 处理后的细胞继续培养 24h,收集细胞上清液, $4^\circ C$ 、3 000r/min 离心 15min 取上清。采用商品化的 ELISA 试剂盒测定上清液中各细胞因子的水平。操作严格按照说明书执行,酶标仪测量 450nm 波长处吸光度,540nm 作为校正波长。根据标准曲线间接地求出各样品中细胞因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、VEGF 含量。

1.7 Realtime PCR 检测 IL-1 β 、IL-6、IL-8、VEGF 水平 处理后细胞继续培养 24h,用 Trizol 试剂按说明提取细胞总 RNA,取 $1\mu g$ RNA,在 $20\mu L$ 反应体系中逆转录合成 cDNA。应用 SYBR Green 荧光染料及相应引物进一步扩增目的产物。引物由上海生工公司合成,实验中每组设 2 个复孔。从扩增曲线获得 Ct 值,基因相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$ $\Delta\Delta Ct = (Ct_{目的基因} - Ct_{管家基因})_{实验组} - (Ct_{目的基因} - Ct_{管家基因})_{对照组}$ 。

1.8 统计学处理 每组实验均重复 3 次,计量资料以均数 \pm 标准差表示,所有数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行处理,采用 t 检验或单因素方差分析方法进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。Graph Prism 5 软件绘制统计图。

2 结果

2.1 对细胞活性的影响 由图 2 可见,随着等离子体处理时间从 0~3min 的延

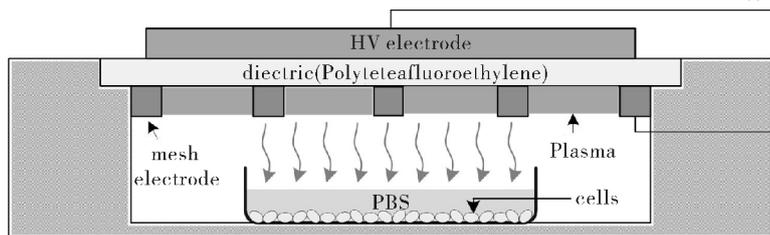
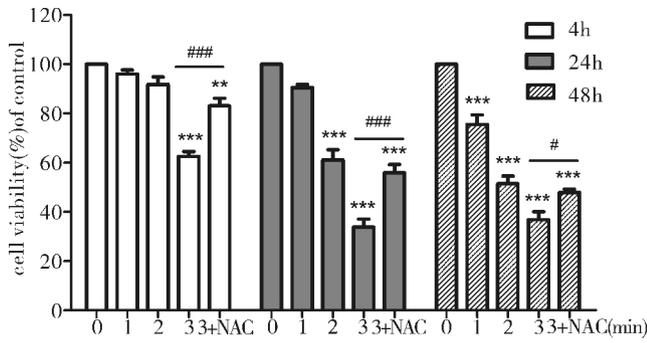


图 1 空气中沿面等离子体装置及细胞处理模式图

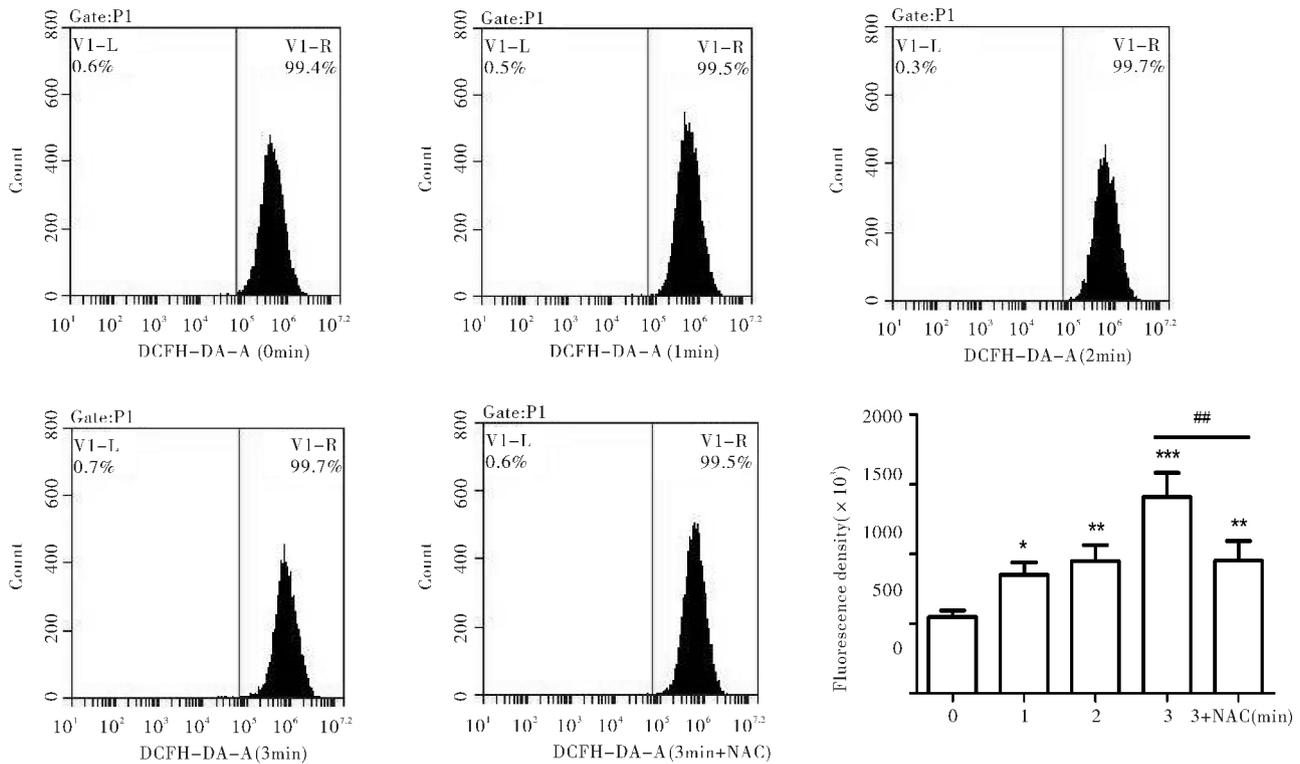
Fig. 1 Schematic setup of the surface air plasma source and the cell sample under treatment



VS control , ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; VS 3min group , # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$

图 2 空气中沿面等离子体与 NAC 对 HaCaT 细胞活性的影响

Fig. 2 Effect of surface air plasma and NAC on cell viability of HaCaT cells



VS control , * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; VS 3min group ## $P < 0.01$

图 3 空气中沿面等离子体与 NAC 对 HaCaT 细胞内 ROS 水平的影响

Fig. 3 Effect of surface air plasma and NAC on intracellular ROS level in HaCaT cells

间的增加 , 溶液中 H_2O_2 的浓度逐渐升高 , 与对照组相比 , 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.001) 。

2.4 对 IL-1 β 、IL-6、IL-8、VEGF 蛋白水平的影响 由表 1 可见 静息状态的 HaCaT 细胞即可以分泌一定量的 IL-6、IL-8、VEGF (分别为 72.31 ± 11.94 , 596.92 ± 53.01 及 1587.96 ± 242.87 , 单位为 pg/mL , 下同) , 等离子体处理能够增加细胞因子 IL-6、IL-8、VEGF 的分泌。不同处理时间对各细胞因子分泌的影响略有差异 , 与对照组相比 , 1min 等离子体处理即可引起 VEGF 水平明显升高 (2139.04 ± 287.29 , $P <$

长 , HaCaT 细胞活性逐渐降低 , 且随着观察时间的推移 细胞活性也依次下降。其结果表明 , 等离子体处理对 HaCaT 细胞具有细胞毒性 , 且具有剂量及时间依赖性。相比于无 NAC 加入的 3min 处理组 , 当 NAC 存在条件下可观察到细胞活性升高 , 但仍低于对照组的水平。

2.2 对细胞内 ROS 的影响 由图 3 可见 , 与对照组相比 , 处理组细胞内 ROS 水平明显升高 , 且随着处理时间的延长而不断升高。抗氧化剂 NAC 的存在能够减少等离子体诱导的细胞内 ROS 水平升高 , 但仍高于对照组水平。

2.3 PBS 中 H_2O_2 含量的测定 由图 4 可见 , 未处理的 PBS 溶液中 H_2O_2 含量极低 , 而随着等离子体处理时

0.001) 2min 等离子体处理可引起 IL-8 分泌水平的显著升高 (1454.11 ± 245.42 , $P < 0.001$) , 而当处理时间达到 3min 时才引起 IL-6 分泌水平的显著升高 (445.28 ± 36.94 , $P < 0.001$) 。对照组及处理组的 IL-1 β 水平均低于可检测水平。

2.5 对 IL-1 β 、IL-6、IL-8、VEGF mRNA 水平的影响 如图 5 所示 接受等离子体处理的 HaCaT 细胞 , 其 IL-6、IL-8、VEGF mRNA 表达明显增加 , 其中 3min 处理可导致 IL-6 mRNA 表达增加 ($P < 0.001$) 2min 及 3min 处理均可引起 IL-1 β 、IL-8 及 VEGF mRNA 的表达明显增加

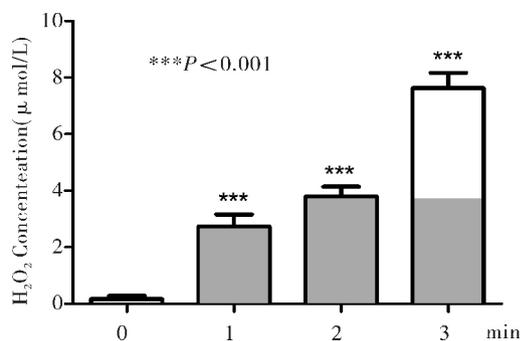
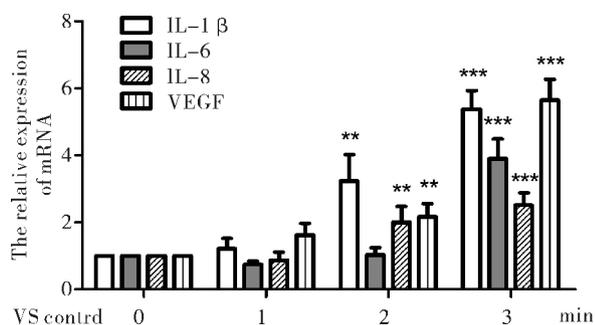


图 4 空气中沿面等离子体处理 PBS 溶液中 H₂O₂ 浓度

Fig. 4 The concentration of H₂O₂ in surface air plasma-treated PBS



** P < 0.01 ,*** P < 0.001

图 5 空气中沿面等离子体对 HaCaT 细胞因子 mRNA 表达的影响

Fig. Effect of surface air plasma on mRNA level of cytokines in HaCaT cells

(P < 0.01 及 P < 0.001) ,mRNA 表达的影响与蛋白水平的改变基本趋于一致。

3 讨论

等离子体医学兴起之初,人们的研究主要集中在等离子体灭菌方面,细菌定植的慢性伤口的治疗是低温等离子体在皮肤科临床应用的初步探索^[4-6]。随着瘙痒性皮肤病^[7]、家族性慢性良性天疱疮^[8]、银屑病^[9]等疾病治疗的有效性报道,提示低温等离子体生物学效应的产生并不完全归于其灭菌效应,还可能会通过其他途径来发挥作用。HaCaT 细胞是最常用于皮肤研究的细胞模型,当前针对低温等离子体对 HaCaT 细胞作用的研究报道有限,均未提及与临床研究有效

性之间的联系。因此,本研究进一步观察了等离子体处理对 HaCaT 细胞活性、细胞内 ROS 水平、细胞因子分泌及 mRNA 表达的影响并对其发挥临床有效性的可能机制进行初步探索。

本研究结果证明等离子体处理对 HaCaT 细胞具有细胞毒性,并呈剂量和时间依赖性。由于各研究中所用装置、工作气体、电压等条件的差异,以及细胞活性检测方法的不同,其结果无法进行直接的比较,但这种作用的趋势基本相同,与之前报道的研究结论均一致^[10-12]。

作为可参与多种生物学效应发生的信号分子,ROS 可诱导细胞凋亡和介导皮肤光老化等。应用不同工作气体产生等离子体时所产生的 ROS 种类和粒子浓度不同^[13]。鉴于本研究中装置的结构,一般认为短寿命的活性粒子如 O 和 OH 等不会产生重要的生物学效应,因此本研究对处理后 PBS 溶液中长寿的 H₂O₂ 进行测定,结果显示等离子处理的 PBS 溶液中 H₂O₂ 水平显著升高,说明随着等离子体处理时间的延长,产生的 ROS 渐增多。与处理介质 PBS 中 H₂O₂ 水平改变一致,HaCaT 细胞内 ROS 水平亦出现随处理时间延长而渐升高的趋势。加入抗氧化剂 NAC 的处理组,细胞内 ROS 水平相应下降,同时细胞活性增加。以上研究结果提示,等离子体产生的 ROS 可穿过细胞膜进入细胞内部,从而引起一系列生物学效应,故认为 ROS 在等离子体对 HaCaT 细胞的作用中具有重要作用^[11]。

皮肤创伤愈合是一个涉及到一系列精密协调反应的复杂动态过程,由凝血期、炎症期、增生期、组织重建期组成连续性阶段^[14],在此过程中,各种细胞因子形成网络式的相互调节作用。本研究针对 HaCaT 细胞分泌的参与皮肤创伤愈合过程的细胞因子 IL-1β、IL-6、IL-8、VEGF 进行研究,结果表明一定剂量的等离子体处理可以诱导这些细胞因子的表达和分泌。在皮肤损伤发生后,IL-1β、IL-6 及 IL-8 等促炎症因子即可由角质形成细胞等分泌,发挥趋化和激活炎症细胞的作用^[14],参与到创伤愈合的早期炎症过程中。角质形成细胞分泌的各种生长因子在随后的愈合过程中发挥着重要的作用,其中 VEGF 是一种与血管再生相关的细胞生长因子,在伤口炎症晚期和修复增生期可以促进真皮毛细血管的新生和管腔扩张,促进伤口表皮再生,从而促进皮肤溃疡的愈合过程^[15-16]。Arndt 等^[17]在皮肤创伤愈合的研究中,应用氩等离子体处理成纤维细胞,亦发现可促进 IL-6、IL-8 等表达。本

表 1 空气中沿面等离子体对 HaCaT 细胞因子蛋白水平的影响 (pg/mL)

Tab. 1 Concentrations of various cytokines in culture supernatants from DBD plasmas-treated HaCaT cells (pg/mL)

Group	IL-6	IL-8	VEGF
Control	72.31 ± 11.94	596.92 ± 53.01	1587.96 ± 242.87
1min	43.47 ± 2.37	378.11 ± 76.05	2139.04 ± 287.29***
2min	118.70 ± 20.41	1454.11 ± 245.42***	2786.50 ± 428.14***
3min	445.28 ± 36.94***	3996.40 ± 370.71***	2505.95 ± 349.49***

VS control, *** P < 0.001

研究的结果在一定程度上为低温等离子体可促进皮肤创伤愈合提供了理论基础。

低温等离子体应用于皮肤科领域仅数年时间,随着研究的不断深入,在部分皮肤疾病的治疗方面取得一定的成就。沿面放电等离子体与其他结构的低温等离子体装置相比,可形成相对较大的处理面积,更适合应用于皮肤疾病的治疗中。在不断完善作用机制的基础上,通过进一步调整装置结构、放电气体的种类和配比等,降低过量 ROS 的产生,在达到治疗疾病目的的同时,以期对正常细胞及组织的损伤达到最小,减少不良反应的发生。

[参 考 文 献]

- [1] Heinlin J, Isbary G, Stolz W, et al. Plasma applications in medicine with a special focus on dermatology [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2011, 25(1): 1-11.
- [2] Bentkover SH. Plasma skin resurfacing: personal experience and long-term results [J]. *Facial Plast Surg Clin North Am*, 2012, 20(2): 145-162.
- [3] Isbary G, Heinlin J, Shimizu T, et al. Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial [J]. *Br J Dermatol*, 2012, 167(2): 404-410.
- [4] Kong MG, Kroesen G, Morfill G, et al. Plasma medicine: an introductory review [J]. *New J Phys*, 2009, 11(11): 115012.
- [5] Isbary G, Morfill G, Schmidt HU, et al. A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients [J]. *Br J Dermatol*, 2010, 163(1): 78-82.
- [6] Nosenko T, Shimizu T, Morfill GE. Designing plasmas for chronic wound disinfection [J]. *New J Phys*, 2009, 11(11): 115013.
- [7] Heinlin J, Isbary G, Stolz W, et al. A randomized two-sided placebo-controlled study on the efficacy and safety of atmospheric non-thermal argon plasma for pruritus [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2013, 27(3): 324-331.
- [8] Isbary G, Morfill G, Zimmermann J, et al. Cold atmospheric plasma: a successful treatment of lesions in Hailey-Hailey disease [J]. *Arch Dermatol*, 2011, 147(4): 388-390.
- [9] Klebes M, Lademann J, Philipp S, et al. Effects of tissue-tolerable plasma on psoriasis vulgaris treatment compared to conventional local treatment: A pilot study [J]. *Clin Plasma Med*, 2014, 2(1): 22-27.
- [10] Blackert S, Haertel B, Wende K, et al. Influence of non-thermal atmospheric pressure plasma on cellular structures and processes in human keratinocytes (HaCaT) [J]. *J Dermatol Sci*, 2013, 70(3): 173-181.
- [11] Wende K, Strassenburg S, Haertel B, et al. Atmospheric pressure plasma jet treatment evokes transient oxidative stress in HaCaT keratinocytes and influences cell physiology [J]. *Cell Biol Int*, 2014, 38(4): 412-425.
- [12] Haertel B, Strassenburg S, Oehmigen K, et al. Differential Influence of Components Resulting from Atmospheric-Pressure Plasma on Integrin Expression of Human HaCaT Keratinocytes [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 761451.
- [13] Weltmann KD, Kindel E, von Woedtke T, et al. Atmospheric-pressure plasma sources: Prospective tools for plasma medicine [J]. *Pure Appl Chem*, 2010, 82(6): 1223-1237.
- [14] Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms [J]. *J Int Med Res*, 2009, 37(5): 1528-1542.
- [15] Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, et al. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing [J]. *J Surg Res*, 2009, 153(2): 347-358.
- [16] Kwon MJ, An S, Choi S, et al. Effective healing of diabetic skin wounds by using nonviral gene therapy based on minicircle vascular endothelial growth factor DNA and a cationic dendrimer [J]. *J Gene Med*, 2012, 14(4): 272-278.
- [17] Arndt S, Unger P, Wacker E, et al. Cold Atmospheric Plasma (CAP) Changes Gene Expression of Key Molecules of the Wound Healing Machinery and Improves Wound Healing In Vitro and In Vivo [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(11): e79325.
- [收稿日期] 2015-03-12 [修回日期] 2015-03-31
- [上接第 1003 页] receptor CCR4 [J]. *Int J Biochem Cell Biol* 2008, 40(5): 909-919.
- [7] Kong LL, Hu, Zhang W, et al. C19, a C-terminal peptide of chemokine-like factor 1, protects the brain against focal brain ischemia in rats [J]. *Neuroscience Letters* 2012, 508(1): 13-16.
- [8] Zheng Y, Guo C, Zhang Y, et al. Alleviation of murine allergic rhinitis by C19, a C-terminal peptide of chemokine-like factor 1 (CKLF1) [J]. *Int Immunopharmacol* 2011, 11(12): 2188-2193.
- [9] Williams HC, Burney PG, Hay RJ, et al. The U. K. Working Party's Diagnostic Criteria for Atopic Dermatitis. I. Derivation of a minimum set of discriminators for atopic dermatitis [J]. *Br J Dermatol* 1994, 131(3): 383-396.
- [10] Yamanka K, Mizutani H. The role of cytokines/chemokines in the pathogenesis of atopic dermatitis [J]. *Curr Probl Dermatol* 2011, 41: 80-92.
- [11] Novak N, Valenta R, Bohle B, et al. FeepsilonR1 engagement of Langerhans cell-like dendritic cells and inflammatory dendritic epidermal cell-like dendritic cells induces chemotactic signals and different T-cell phenotype types in vitro [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 113(5): 949-9571.
- [12] Wenling Han, Yaxin Lou, Junmin Tang, et al. Molecular cloning and characterization of chemokine-like factor 1 (CKLF1), a novel human cytokine with unique structure and potential chemotactic activity. *Biochem J*, 2001; 357: 127-135.
- [13] 王应, 马大龙. 抗炎多肽新药-CKLF1-C19 的开发研究 [Z]. 2011 新型疫苗与抗体创制关键技术及质量控制研讨会, 2011: 32-40.
- [14] Yang G, Chen X, Sun YC, et al. Chemokine-like factor 1 (CLFK1) is over-expressed in patients with atopic dermatitis [J]. *Int J Biol Sci*, 2013, 9(8): 759-765.
- [收稿日期] 2015-02-27 [修回日期] 2015-04-20