论著

文章编号:1000-5404(2012)20-2070-05

# 新生儿呼吸窘迫综合征 SP-B +1 580 基因表达及遗传多态性分析

曲雯雯[1,2],范含笑[1],谢 露[1],王 钰[1],魏 巍[1],尹晓娟[1,2] (100700 北京,北京军区总医院:附属八一儿童医院新生儿科[1],大连医科大学临床学院[2])

[摘要] **目的** 探讨新生儿呼吸窘迫综合征肺表面活性物质蛋白 B 的基因突变类型及基因型频率。**方法** 在北京地区选择无血缘关系的汉族新生儿 RDS 40 例作为 RDS 组,汉族 40 例其他病例作为对照组,以胎龄与 RDS 组相匹配。免疫组化检测 SP-B 蛋白在肺部细胞的表达,Western blot 检测 SP-B 蛋白在肺部和支气管肺泡灌洗液的表达,PCR 及基因测序技术分析 SP-B +1 580 位点的基因突变。**结果** RDS 组 SP-B 蛋白表达阳性细胞数显著低于对照组($t = 10.191$, $P < 0.01$)。RDS 组中,8 例肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟 SP-B 蛋白表达同时减少,7 例仅支气管肺泡灌洗液成熟 SP-B 蛋白表达减少。2 组 SP-B 基因 +1 580 位点均存在纯合和杂合基因突变,RDS 组占 20 例,12 例为纯合突变(C/C),8 例为杂合突变(C/T);对照组占 8 例,1 例为纯合突变(C/C),7 例为杂合突变 C/T。RDS 组 C/C 基因型频率为 30.0%,C/T 基因型频率为 20.0%;对照组 C/C 基因型频率为 2.5%,C/T 基因型频率为 1.75%。RDS 组 C/C 基因型频率较对照组显著增高($\chi^2 = 11.114$, $P < 0.01$)。**结论** 新生儿呼吸窘迫综合征 SP-B +1 580 位点存在纯合和杂合基因突变两种类型,其纯合突变(C/C)可能参与了 RDS 的发病。

[关键词] 新生儿;呼吸窘迫综合征;肺表面活性物质蛋白 B;基因突变

[中图法分类号] R394.2;R722.12 [文献标志码] A

# Expression and polymorphism of surfactant protein B gene +1 580 in neonatal respiratory distress syndrome

Qu Wenwen[1,2], Fan Hanxiao[1], Xie Lu[1], Wang Yu[1], Wei Wei[1], Yin Xiaojuan[1,2] ([1]Department of Newborns, Affiliated Bayi Children's Hospital, [2]Clinic College of Dalian Medical University, General Hospital of Beijing Military Command, Beijing, 100700, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the types of mutation and genotypic frequency of surfactant protein B (SP-B) in neonatal respiratory distress syndrome (RDS). **Methods** Unrelated 40 cases with neonatal RDS of Han ethnic group in Beijing region in our department from August 2006 to April 2011 were selected as RDS group, while unrelated 40 other cases of Han ethnic group in same period were selected as control group. Two groups matched with gestational age. Expression of SP-B in lung cells was tested with immunohistochemical assay. Expression of SP-B in lung tissue and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was determined with Western blotting. Types of genetic mutations in SP-B +1 580 locus were screened with polymerase chain reaction (PCR) and gene sequencing. **Results** The number of SP-B positive cells were less in RDS group than in control group($t = 10.191$, $P < 0.01$). Eight cases in RDS group simultaneously had lower expression level of mature SP-B in lung tissue and BALF, while 7 cases in the same group had lower level of mature SP-B only in BALF. Genetic mutations including homozygous and heterozygous mutation existed in SP-B exon 4 of both 2 groups, which located in +1 580 site of SP-B gene. Twenty cases had gene mutation of SP-B in RDS group, including 12 homozygous mutations with C/C genotypes and 8 heterozygous mutations with C/T genetic types. Eight cases had gene mutations of SP-B +1 580 in control group including 1 homozygous mutation with C/C genotype and 7 heterozygous mutations with C/T genotypes. Genotypic frequency of homozygous mutation

[基金项目] 国家自然科学基金(30871397)

[通信作者] 尹晓娟,电话:(010)84012199,E-mail:yyinxiaojuan@163.com

(C/C) of SP-B +1 580 in RDS group was 30.0% while that of heterozygous mutation (C/T) was 20.0%. Genotypic frequency of homozygous mutation(C/C) of SP-B +1 580 in control group was 2.5% while that of heterozygous mutation(C/T) was 1.75%. Genotypic frequency of heterozygous mutation(C/C) in RDS group had higher level than that in control group (*Chi square* = 11.114, $P < 0.01$). **Conclusion** Genetic mutations including homozygous and heterozygous mutation exist in SP-B gene +1 580 in neonatal RDS, and the homozygous mutation (C/C) at the SP-B +1 580 site is associated with occurrence of RDS.

[**Key words**] newborn; respiratory distress syndrome; pulmonary surfactant-associated protein B; genetic mutation

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30871397). Corresponding author: Yin Xiaojuan, Tel:86-10-84012199, E-mail:yyinxiaojuan@163.com

肺表面活性物质(pulmonary surfactant,PS)是由肺表面活性物质磷脂和肺表面活性物质蛋白组成的复合物,具有降低肺泡表面张力和维持呼吸末肺泡膨胀状态的功能,受发育和遗传的调节。多种致病因素导致的肺表面活性物质缺乏引起早产儿呼吸窘迫综合征(respiratory distress syndrome,RDS)[1-2],肺表面活性物质相关蛋白B(surfactant protein B,SP-B)缺陷与足月儿RDS发病相关联[3-5]。尽管目前采取了类固醇激素产前预防、出生后应用外源性的肺表面活性物质替代治疗、人工机械通气以及肺移植等一系列防治措施,临床仍存在"不可治性RDS"。国外研究发现了SP-B遗传缺陷病,在黑种人发生率多于白种人,但有关SP-B在新生儿RDS中的研究仅局限在蛋白、多态性方面。研究结果表明,肺部SP-B蛋白较少或SP-B基因多态性具有RDS易感性[6-7],且SP-B遗传缺陷有家族特异性,同时,不同种族、研究群体和疾病的基因突变种类不同。因此,本研究在2006年8月至2011年4月间,采用免疫组化、Western blot、PCR、DNA测序等技术,对40例北京市汉族群体不可治性新生儿RDS患儿SP-B蛋白在肺部的表达以及SP-B +1 580位点基因遗传多态性进行分析,最终探明SP-B +1 580基因突变是否为新生儿RDS的遗传因素。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象及样本

纳入标准:按《实用新生儿学》第3版RDS诊断标准[8]在北京地区35家医院新生儿监护病房的汉族群体中选择彼此无血缘关系的汉族新生儿RDS 40例作为RDS组,体质量2 163~4 128 g,胎龄34~42周,又根据胎龄分为晚期早产儿组(胎龄为$34^{0}$~$36^{+6}$周),足月儿组(胎龄≥37周)2个亚组,每个亚组20例,男女各10例,40例患儿均治疗无效死亡;并选择彼此无血缘关系的40例其他新生儿病例作为对照组,这些患儿患有先心病、持续肺动脉高压、坏死性小肠结肠炎、休克等疾病,并以年龄、性别与RDS组以1∶1相匹配分成2个亚组($P > 0.05$)。所有研究对象在临床确诊或住院后取血样本及支气管肺泡灌洗液,RDS组和对照组在患儿死后30 min内取肺组织。排除标准:患有遗传性疾病、遗传代谢病和肺疾病的新生儿。以上研究对象在父母签署同意书、并经北京军区总医院伦理委员会同意后方可参加本研究。

### 1.2 临床资料

RDS组患儿出生后30 min至3 h发病,临床表现为进行性呼吸困难,呼吸急促,双肺呼吸音减低。孕妇无胎膜早破、孕后期及产时无感染、无孕期糖尿病史,患儿无宫内窘迫和出生时窒息、羊水污染及胎粪吸入等病史,无择期剖宫产史,血气分析示高碳酸血症和低氧血症,血常规及急性C反应蛋白(CRP)无异常,血培养无细菌生长,TORCH检查阴性。B超示患儿无肺动脉高压及先天性心脏病史,胸部X线片确诊为Ⅲ和Ⅳ级RDS。住院后立即予以高频振荡机械通气,使用猪肺磷脂治疗,按每次200 mg/kg给药,住院期间反复使用,最多用药4次,所有患儿在10~14 d内死亡。死亡后肺组织行病理检查可见广泛的肺不张,肺泡、肺泡管和细支气管壁上附有1层透明膜,在肺泡和间质中可见到大单核细胞和多核细胞的浸入,进一步支持RDS诊断。

### 1.3 主要试剂及仪器

DNA产物纯化试剂盒购自Omega公司;100 bp DNA Ladder marker购自TaKaRa公司;兔抗人SP-B多克隆抗体(ab40876)购自Abcam公司;β-actin (13E5) Rabbit mAb(4970)购自Cell Signaling公司;碱性磷酸酶标记的羊抗兔IgG购自北京中杉公司;DAB显色试剂盒及SABC兔鼠通用试剂盒购自中杉公司;扩增包含SP-B外显子3、内含子3、外显子4的引物序列为:上游5′-AGAACCTCCCCATTGGAGC-3′,下游5′-CTCCCCATGGGTGGGCAC-3′,由上海Invitrogen生物技术贸易有限公司合成,扩增目的片段长度为699 bp;4种脱氧核苷酸(dNTP)、10×扩增缓冲液(10×PCR Buffer)以及*Taq* DNA聚合酶购自加拿大Sangon公司;其他试剂均为国产分析纯;PCR仪购自美国ABI公司;ABI3730XL测序仪购自美国ABI公司。

### 1.4 样本采集

所有研究对象在临床确诊或住院后取血样本各1 ml,ACD液抗凝,用于DNA抽提。RDS组和对照组在患儿确诊后取支气管肺泡灌洗液和死亡后1 h内取肺组织。用1.5 ml/(kg·次)无菌生理盐水,经气管导管注入呼吸道,气囊加压5 min,抽出支气管肺泡灌洗液分装置0.5 ml Ef管中;获取的部分肺组织立即浸入4%多聚甲醛固定,石蜡包埋后5 μm连续切片,从5叶肺组织均取一定量,机械分散初步研碎后分装,置2 ml冻存管中,-80 ℃冰箱保存备用。

### 1.5 SP-B蛋白在肺部的表达

采用常规SABC法,参照文献[9]进行。

### 1.6 Western blot分析SP-B蛋白在气道和肺部的表达

从-80 ℃冰箱取出支气管肺泡灌洗液室温解冻;取出初步研碎的肺组织以1∶5加入裂解缓冲液,匀浆机支撑匀浆4 ℃ 12 000 r/min离心1 h,取上清10 μl进行SDS凝胶电泳,电泳前加SDS凝胶加样缓冲液。电泳完后转移至硝酸纤维素膜上,Tween-20的Tris盐酸缓冲液(TBST)漂洗,3%牛血清白蛋白封闭1 h,加用3%牛血清白蛋白,按1∶3 000稀释的兔抗人SP-B多克隆抗体,将硝酸纤维素膜放入其中,4 ℃过夜,摇床摇动。将硝酸纤维素膜放入1×TBST中清洗,二抗碱性磷酸酶标记的羊抗兔IgG用TBST按1∶5 000稀释,将硝酸纤维素膜放入其中,室温2 h,摇床摇动。TBS洗膜,最后显色观察,兔抗人β-actin多克隆抗体作为蛋白内参。

### 1.7 SP-B基因+1 580位点基因遗传多态性分析

常规方法提取人白细胞DNA后,以$D(260)/D(260)=1.8$为纯度满意,然后行PCR扩增(反应体系25 μl:DNA模板1 μl;10×Buffer 2.5 μl;dNTPs混合物1 μl;上下游引物各1 μl;DNA *Taq*聚合酶1 U,加去离子水至25 μl)。PCR反应条件:95 ℃ 2 min,95 ℃ 15 s,50 ℃ 15 s,60 ℃ 90 s,35个循环周期。每次设阳性和阴性对照。PCR产物用2%的琼脂糖凝胶电泳检测。ABI3730XL测序仪进行双向测序,Chromas软件进行分析。SP-B外显子4序列参照NCBI参考序列。

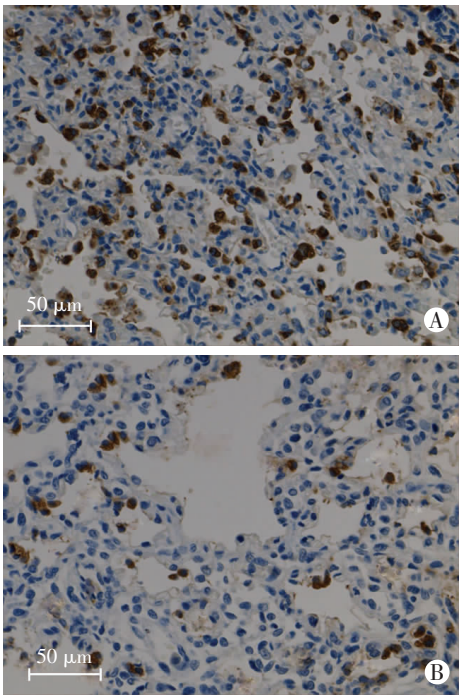
### 1.8 统计学方法

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 13.0统计软件,用率表示突变发生的基因型频率,组间数量比较采用$t$检验,组间突变不同基因型频率比较的显著性采用四方表$\chi^2$检验。

## 2 结果

### 2.1 SP-B蛋白肺部免疫组化观察

SP-B蛋白被DAB染成棕黄色,位于细胞的细胞质中,随组别及疾病严重程度不同其着色深浅、范围不一。RDS患儿肺部SP-B蛋白表达明显少于对照组患儿,有些特别严重的RDS患者肺组织的有些部位甚至看不到SP-B蛋白表达,RDS组SP-B蛋白表达阳性细胞数(18.5±10.7)显著低于对照组(94.9±31.8)($t=10.191$,$P<0.01$)。见图1。

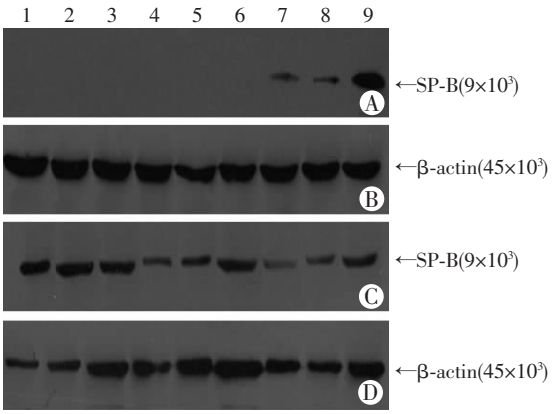



A:对照组;B:RDS组

**图1 免疫组化观察两组肺组织SP-B蛋白的表达** (SABC)

### 2.2 Western blot分析SP-B蛋白在气道和肺部的表达

对RDS组及对照组检测SP-B发现,RDS组8例肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达同时减少,7例仅支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达减少;对照组4例肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达同时减少,3例仅支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达减少。SP-B蛋白减少个体的蛋白条带缺失或变淡(图2、3)。



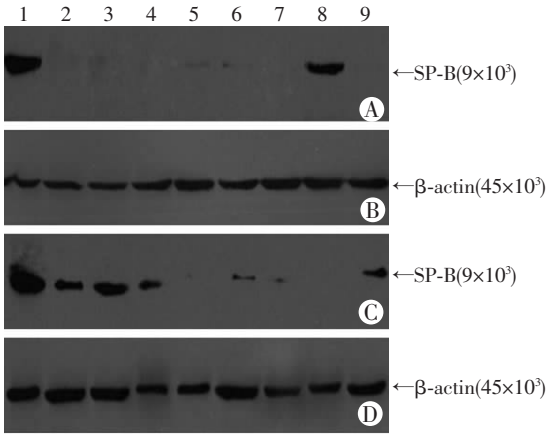

A:RDS组SP-B;B:相应的β-actin;C:对照组SP-B;D:相应的β-actin 1~9:样本编号

**图2 Western blot检测2组肺组织SP-B蛋白的表达**

### 2.3 SP-B+1 580位点基因遗传多态性及其与SP-B蛋白下降的依从性分析

对RDS组40例及对照组40例SP-B基因的扩增的相应基因进行测序并与NCBI SP-B基因序列进行比对分析后发现,2组在SP-B外显子4均存在基因突变,基因突变位置在+1 580,

此位点存在3种基因型:TT、C/C、C/T,TT为野生型,C/C、C/T为突变型,C/C为纯合突变,C/T为杂合突变型。RDS组SP-B基因突变20例,12例为纯合突变(C/C),其中6例肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达同时减少,2例仅支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达减少;8例为杂合突变(C/T),其中仅2例肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达同时减少,5例仅支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达减少。对照组SP-B基因突变8例,1例为纯合突变(C/C),其肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达同时减少;7例为杂合突变(C/T),其中3例肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达同时减少,3例仅支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达减少。




A:RDS组SP-B;B:相应的β-actin;C:对照组SP-B;D:相应的β-actin 1~9:样本编号

**图3 Western blot检测2组支气管肺泡灌洗液SP-B蛋白的表达**

### 2.4 SP-B基因+1 580位点突变不同基因型频率与RDS发病的关系

RDS组纯合突变(C/C)基因型频率为30.0%(12/40),C/T基因型频率为20.0%(8/40);对照组C/C基因型频率为2.5%(1/40),C/T基因型频率为17.5%(7/40)。RDS组C/C基因型频率较对照组显著增高($\chi^2=11.114$,$P<0.01$);2组杂合C/T突变差异比较无统计学意义($\chi^2=0.082$,$P>0.05$)。

## 3 讨论

PS是维持正常肺功能所需的磷脂蛋白复合物,主要功能是降低肺泡气液界面的表面张力,防止呼吸末肺泡萎陷,PS由90%脂类和10%蛋白组成,磷脂占表面活性物质的80%~90%[10]。SP-A、SP-B、SP-C和SP-D 4种蛋白与表面活性物质复合物有关,在表面活性物质功能和代谢中起着重要的作用[11]。RDS的发生率随胎龄的减少而增加,胎龄34周时,RDS的发生率达25%,而<28周时RDS的发生率可上升至80%[11]。尽管采用类固醇预防性治疗和外源性的肺表面活性物质替代治疗大大改善了新生儿RDS的预后,但RDS仍然被引起高度关注。RDS的病因是多因素和多基因的,遗传可能在RDS发病机制中起着重要的作用。在研究RDS的遗传发病机制中,表面活性物质蛋白基因被用作候选基因。SP-B多态性和突变的存在被认为与RDS有关[12]。SP-B是由肺泡Ⅱ型上皮细胞分泌的疏水性蛋白,是维持正常肺功能所必需的[9],SP-B还可促进前体肺表面活性物质蛋白C(precursor surfactant protein C,proSP-C)向成熟肺表面活性物质蛋白C(surfactant protein C,SP-C)转化,继而促进肺表面活性物质向气液界面快速吸附,并且与表面活性物质蛋白A也具有协同作用[13]。SP-B参与板层体的合成,减少气液界面张力。管状髓磷脂和肺的形成以及SP-C的加工需要SP-B介入。动物和人类如果缺乏SP-B可导致呼吸衰竭,并在生后不久死亡[11]。几项研究评估了SP-A和SP-B多态性与RDS的相关性[14],但SP等位基因变异的功能性预后尚未得到很好的理解。

SP-B遗传缺陷可引起新生儿RDS,其遗传方式为常染色体隐性遗传[15]。目前最常见的突变为存在于外显子4上的突变,占发现的所有突变的60%~70%。现今发现的这些基因突变主要分布在SP-B基因的前9个外显子上,以外显子4和外显子7分布尤甚。SP-B遗传缺陷具有家族特异性,且不同的种族、研究群体和疾病,其基因突变的种类不同,黑种人发生率多于白种人;同时正常群体发生率低于患病群体[16-18]。国内外学者高度关注SP-B基因多态性、基因突变体以及肺部SP-B蛋白的减少在肺疾病中的作用。国外研究发现SP-B基因多态性与慢性阻塞性肺疾病(COPD)发病相关联[15]。国内研究发现肺部SP-B蛋白减少与早产儿RDS发病有关[19];SP-B基因多态性与新生儿RDS发病有关[7]。我们在前期研究中发现,SP-B蛋白在肺部存在缺陷[9,20];SP-B基因内含子4存在遗传缺陷[7,9]。以上这些研究都提示,SP-B基因突变或SP-B蛋白缺陷易患肺部疾患。本研究发现,RDS组SP-B蛋白阳性表达细胞较对照组明显减少;SP-B基因+1 580位点存在基因突变,其基因突变中存在纯合突变(C/C)和杂合突变(C/T)两种形式,且基因突变与肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达减少呈现出很好的依从性,RDS组纯合突变(CC)的基因型频率明显高于对照组。以上支持SP-B基因+1 580位点纯合突变易患新生儿RDS,其可能的机制是通过+1 580位点纯合突变,改变编码131位置氨基酸的密码子,从而引起氨基酸的改变,由原来的苏

氨酸变成了异亮氨酸,最终使SP-B蛋白在肺部及支气管的表达减少,引起新生儿RDS发生,由于是基因的改变引起SP-B蛋白原发性合成减少,因而使RDS不可逆转,最终导致患儿死亡。

本研究还发现,RDS组8例肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达同时减少、7例仅支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达减少的15例患儿中,仅14例存在基因突变,还有1例支气管肺泡灌洗液SP-B蛋白下降;以上结果支持新生儿RDS为多基因遗传病的学说,可能是多种遗传因素的共同作用引发新生儿RDS发生,有必要在国内进行多群体、多民族、多中心研究进一步证实,同时不排除气道取样引起的误差,由于所有样本是在同一条件下进行的,所以这种可能性小。让人费解的是,对照病例也存在肺组织和支气管肺泡灌洗液成熟SP-B蛋白表达减少,这可能是由于患儿最终死亡时并发心力衰竭、肺水肿,一方面是由于肺水肿稀释了肺表面活性物质,另一方面是肺表面活性物质通过血管壁漏入血液中所致[21],因为这些新生儿患有原发性、复杂性、不能根治的先天性心脏病。

本研究结果表明,SP-B基因+1 580位点纯合突变(CC)引起RDS患儿SP-B蛋白在肺部和在气管肺泡灌洗液的表达减少,SP-B基因+1 580位点纯合突变(CC)与北京市汉族群体新生儿RDS发病相关联,SP-B基因+1 580位点纯合突变(CC)可能是RDS发病的遗传因素。

**参考文献:**


[1] Mazela J, Merritt T A, Gadzinowski J, *et al*. Evolution of pulmonary surfactants for the treatment of neonatal respiratory distress syndrome and paediatric lung diseases[J]. Acta Paediatr, 2006, 95(9): 1036-1048.

[2] Kramer B W. The respiratory distress syndrome (RDS) in preterm infants: physiology, prophylaxis and new therapeutic approaches[J]. Intensiv Med, 2007, 44(2): 403-408.

[3] Clark R H. The epidemiology of respiratory failure in neonates born at an estimated gestational age of 34 weeks or more[J]. J Perinatol, 2005, 25(4): 251-257.

[4] Hamvas A, Heins H B, Guttentag S H, *et al*. Developmental and genetic regulation of human surfactant protein B *in vivo*[J]. Neonatology, 2009, 95(2): 117-124.

[5] 尹晓娟, 罗分平, 李爱华, 等. 20例汉族新生儿呼吸窘迫综合征肺表面活性物质蛋白遗传缺陷的研究[J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(1): 9-12.

[6] Hallman M, Haataja R. Surfactant protein polymorphisms and neonatal lung disease[J]. Semin Perinatol, 2006, 30(6): 350-361.

[7] 卢维城, 向伟, 吴明, 等. 肺表面活性物质蛋白B基因多态性与新生儿呼吸窘迫综合征易感性的相关性研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(1): 24-27.

[8] 金汉珍,黄德珉,官希吉. 实用新生儿学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 421-427.

[9] 尹晓娟, 李丽华, 王艳, 等. 新生儿呼吸窘迫综合征患儿肺表面活性物质蛋白B表达的研究[J]. 中国新生儿科杂志, 2011, 26(5): 336-339.

[10] Lyra P P, Diniz E M, Abe-Sandes K, *et al*. Surfactant protein B gene polymorphism in preterm babies with respiratory distress syndrome[J]. Braz J Med Biol Res, 2011, 44(1): 66-72.

[11] Sweet D G, Halliday H L. The use of surfactants in 2009[J]. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2009, 94(3): 78-83.

[12] Hamvas A, Cole F S, Nogee L M. Genetic disorders of surfactant proteins[J]. Neonatology, 2007, 91(4): 311-317.

[13] Haataja R, Marttila R, Uimari P, *et al*. Respiratory distress syndrome: evaluation of genetic susceptibility and protection by transmission disequilibrium test[J]. Hum Genet, 2001, 109(3): 351-355.

[14] Schurch D, Ospina O L, Cruz A, *et al*. Combined and independent action of proteins SP-B and SP-C in the surface behavior and mechanical stability of pulmonary surfactant films[J]. Biophys J, 2010, 99(10): 3290-3299.

[15] Bakvad-Hansen M, Nordestgaard B G, Dahl M. Surfactant protein B polymorphisms, pulmonary function and COPD in 10,231 individuals[J]. Eur Respir J, 2011, 37(4): 791-799.

[16] Woodworth B A, Wood R, Bhargave G, *et al*. Surfactant protein B detection and gene expression in chronic rhinosinusitis[J]. Laryngoscope, 2007, 117(7): 1296-1301.

[17] Puthothu B, Forster J, Heinze J, *et al*. Surfactant protein B polymorphisms are associated with severe respiratory syncytial virus infection, but not with asthma[J]. BMC Pulm Med, 2007, 7: 6.

[18] Lyra P P, Vaz F A, Moreira P E, *et al*. Comparison of surfactant protein B polymorphisms of healthy term newborns with preterm newborns having respiratory distress syndrome[J]. Braz J Med Biol Res, 2007, 40(6): 779-786.

[19] 李敏才, 时燕, 李娜萍, 等. 表面活性蛋白B在新生儿肺透明膜病中的作用[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2007, 36(3): 169-172, 280.

[20] 尹晓娟, 谢露, 池婧涵, 等. SP-B遗传缺陷导致足月儿新生儿呼吸窘迫综合征三例[J]. 中国新生儿科杂志, 2011, 26(5): 268.

[21] De-Pasquale C G, Arnolda L F, Doyle I R, *et al*. Plasma surfactant protein-B: a novel biomarker in chronic heart failure[J]. Circulation, 2004, 110(9): 1091-1096.


(**收稿**:2012-06-05;**修回**:2012-08-11)

(编辑 王 红)