

# 脂肪细胞因子 CTRP4 转基因鼠的构建与鉴定

那达翔, 马 壮, 罗 阳, 李 琦, 谭伟峰, 王兰兰, 张国英,  
尹 昂, 黄 河, 吴晓彤, 王 露

(北京大学基础医学院卫生部医学免疫学重点实验室, 北京大学人类疾病基因研究中心, 北京 100191)

**【摘要】** 目的 建立人 CTRP4 基因的转基因小鼠, 为脂肪细胞因子 CTRP4 的体内功能研究奠定基础。方法 首先构建人 CTRP4 的转基因小鼠线性化表达载体, 再利用显微注射的方法将载体注射入小鼠受精卵, 从而构建人 CTRP4 的首建鼠 (Founder) 并与野生型小鼠交配繁殖得到 F1 代阳性小鼠, 再通过近亲繁殖与测交的方法, 得到 CTRP4 转基因纯合子小鼠, 并通过 PCR 和 western blot 的方法对纯合子小鼠进行鉴定。结果 得到人 CTRP4 转基因小鼠纯合子小鼠两个品系, western blot 鉴定该转基因小鼠心脏, 肝脏, 脑, 肾脏等多种组织中均呈现 CTRP4 高表达。结论 成功构建了人 CTRP4 转基因小鼠纯合子小鼠。

**【关键词】** CTRP4; 转基因鼠; 脂肪细胞因子

**【中图分类号】** R392.11 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 07-0001-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.007.001

## Establishment of adipocytokine CTRP4 transgenic mouse

NA Da-xiang, MA Zhuang, LUO Yang, LI Qi, TAN Wei-feng, WANG Lan-lan, ZHANG Guo-ying, YIN Ang,  
HUANG He, WU Xiao-tong, WANG Lu

(Ministry of Health Key Laboratory of Medical Immunology, School of Basic Medical Science,  
Center for Human Disease Genomics, Peking University, Beijing 100191, China)

**【Abstract】 Objective** To establish the CTRP4 transgenic mouse model and investigate the function of the novel adipocytokine CTRP4. **Methods** CTRP4 overexpressing vector in pCAGGS was firstly constructed and then microinjected into zygote to establish the founder transgenic mice. F1 heterozygotes were generated by founder mice mating with wildtype mice, and the CTRP4 transgenic homozygotes were generated by F1 littermates. The genotype was confirmed by PCR and test cross method. The expression level of CTRP4 in transgenic mice was detected by western blot. **Result** The human CTRP4 transgenic homozygote mice line was established, and the expression level of CTRP4 was confirmed relatively high in detected tissues including heart, liver, brain and kidney. **Conclusion** The human CTRP4 transgenic mice was successfully established.

**【Key words】** CTRP4; Transgenic mice; Adipocytokine

C1qTNF 相关蛋白 (C1qTNF-related protein, CTRP) 隶属脂肪细胞因子家族, 现已确定这个家族有 15 个成员<sup>[1]</sup>。其中的脂联素已经具有将近 20 年

的研究历史, 在肥胖、II 型糖尿病发生、胰岛素抑制, 以及在由肥胖引起的慢性炎症发生过程中具有重要的作用<sup>[2]</sup>, 目前研究发现, 在代谢与炎症的交叉

**【基金项目】** 国家自然科学基金(91129707)。

**【作者简介】** 那达翔(1989-), 男, 硕士生, 主要研究方向: 分子免疫学。Email: daxiangna@gmail.com; 马壮(1986-), 男, 硕士, 主要研究方向: 分子免疫学。两者为共同第一作者。

**【通讯作者】** 王露, 女, 教授, 主要研究方向: 分子免疫学。Email: wanglu@bjmu.edu.cn。

领域中,CTRP 家族发挥了非常重要的作用<sup>[1]</sup>。

CTRP4(C1q TNF-related protein 4)是 CTRP 脂肪细胞因子家族成员之一,由本室与国家基因组北方中心利用反向生物学的方法,通过 DLR(dual luciferase report assay)平台筛选出的对 NF- $\kappa$ B 通路具有明显活化作用的一个功能未知的新基因。我们于 2011 年首次在国际上进行了报道。前期的研究发现人 CTRP4 重组蛋白在肝癌细胞系 HepG2 中可以上调 IL-6、TNF $\alpha$  的表达,促进 STAT3 的磷酸化。还可以提高 HepG2 对化疗药的抵抗,促进细胞的克隆形成<sup>[3]</sup>。

我们体外研究已经证明 CTRP4 具有多种重要功能,进一步研究该分子在体内的生理功能及病理作用是十分必要的。为了更深入研究 CTRP4 体内的作用和机制,我们构建了人 CTRP4 转基因小鼠,并进行了鉴定,结果表明转基因鼠的构建是成功的。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

CTRP4 的转基因小鼠购自中国医学科学院医学实验动物研究所【SCXK(京)2009-0004】。小鼠品系:C57BL/6J,使用级别为 SPF 级。用于交配的 C57BL/6J 小鼠均购自维通利华公司【SCXK(京)2011-0012】,遗传背景为表面分子 CD45.2 阳性。动物饲养环境:SPF 级,北京大学医学部动物部【SYXK(京)2011-0039】。

### 1.2 实验试剂

限制性内切酶 XbaI、XhoI 等购自 TaKaRa 公司,KpnI 等购自 NEB 公司;RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit 购自 Fermentas 公司;基因特异性引物由北京擎科生物公司合成;硝酸纤维素膜(NC 膜)购自 Amersham-Pharmacia biotech 公司;IRDITMye 800-偶联的抗鼠或抗兔的 IgG 二抗购自 LICOR Bioscience 公司;聚丙烯酰胺凝胶电泳 Marker 购自 Fermentas;2TAQ PCR MASTERMIX 购自博迈德公司;RIPA 裂解液、PMSF 购自碧云天公司;鼠尾裂解液配方:1 mol/L Tris-HCl 5 mL;0.5 mol/L EDTA 2.5 mL;NaCl 5.844 g;10% SDS 25 mL。

### 1.3 转基因载体构建

真核细胞表达质粒 pcDNA3.1-CTRP4-Myc/His 由本室构建,pCAGGS 质粒由美国 Vanderbilt 大学吴冠青教授馈赠。克隆方案中,上下游引物具体序列分别为:

CTRP4-PCAGGS-F: 5'-CCGCTCGAGATGCTGC CGCTTCTGCT-3' ;

CTRP4-PCAGGS-R: 5'-CCGCTCGAGTCAATGATGATGATG-3' 。

### 1.4 转基因鼠的制备:

选用性成熟的野生型 C57BL/6J 雌性小鼠。腹腔依次注射孕马血清(50 U/mL,0.1 mL)及人绒毛膜促性腺激素(50 U/mL,0.1 mL),置于单笼饲养的正常雄性小鼠笼内,取有精栓雌性小鼠输卵管。受精卵置显微镜注射平台 M2 液滴内,选有原核的受精卵为注射对象,用显微镜操作仪将有目的基因的线性化片段注入小鼠受精卵雄性原核中,再移植到 6 周龄 ICR 孕母鼠输卵管中,待其发育后产仔。此项工作由中国医学科学院医学实验动物研究所完成。

### 1.5 鼠尾基因组 DNA 提取

剪取鼠尾 0.5 cm 左右,用 500  $\mu$ L 含有 0.1 mg/mL 蛋白酶 K 的鼠尾裂解液 55 $^{\circ}$ C 裂解过夜,之后加入 300  $\mu$ L 饱和 NaCl 冰浴 15 min,12000 r/min 转速室温离心 15 min,收上清后加入 700  $\mu$ L 异丙醇颠倒混匀直至形成絮状沉淀,12000 r/min 室温离心 15 min 后弃上清加入 70% 乙醇洗涤沉淀,弃乙醇,晾干。50  $\mu$ L 水 65 $^{\circ}$ C 溶解沉淀得鼠尾基因组 DNA。

### 1.6 PCR 鉴定 CTRP4 转基因小鼠

以 2.5 中所述提取的鼠尾基因组 DNA 为模板,利用 pCAGGS 载体的启动子序列 chicken  $\beta$ -actin 的特异性引物进行 PCR 扩增。在 10  $\mu$ L PCR 体系中加入:2  $\times$  PCR Mix 5  $\mu$ L,ddH<sub>2</sub>O 4  $\mu$ L,PCR 上下游引物各 0.2  $\mu$ L,模板 DNA 0.6  $\mu$ L。反应条件为:94 $^{\circ}$ C 变性 5 min,进入循环(94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,退火 58 $^{\circ}$ C,30 s,延伸 72 $^{\circ}$ C,30 s)。共 35 个循环,最后一个循环在 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,4 $^{\circ}$ C 保存。上游引物为:5'-CCCATAGTAACGCCAATAGG-3';下游引物为 5'-GGGAGAGTGAAGCAGAACC-3'。取 5  $\mu$ L PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳,凝胶图像分析系统分析结果。

### 1.7 转基因小鼠各个组织蛋白的提取

分离小鼠各器官组织,每种组织取 100 mg,用 500  $\mu$ L 的 RIPA 裂解液匀浆 20 s 后冰上裂解 30 min,随后 4 $^{\circ}$ C 离心,12000 r/min,20 min,吸取上清,BCA 定量法对裂解液进行蛋白定量。

### 1.8 western blot 检测 CTRP4 转基因小鼠各个组织的表达

收集上一步的组织匀浆液上清,加入 SDS 加样

缓冲液,99℃加热 10 min,经 12.5% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳分离蛋白样品后,将蛋白转移至硝酸纤维素膜上,5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后,用 TBS-T 以 1:800 比例配置 CTRP4 一抗,将膜与抗体封入杂交袋中,4℃ 过夜,之后用 TBS-T 洗膜三次,每次 10 min,再加入相应的 IRDye™ 800/700 标记的二抗避光反应 1 h, TBS-T 重复洗膜三次,最后用 Odyssey Imaging System 仪器扫描成像分析。

### 1.9 CTRP4 转基因动物繁殖及纯合子筛选

#### 1.9.1 转基因小鼠 F1 代的繁殖

我们将 CTRP4 转基因鼠首建鼠 (Founder) (雄性 5 只,雌性 8 只) 分别与育龄期的野生型 C57BL/6J 小鼠交配,交配大约两周之后观测小鼠腹部并用指揉法判断小鼠的胚胎情况,如果证实确已受孕,即把雌鼠分笼。小鼠一代生育的子鼠在 6~12 只左右,在 F1 代小鼠出生 12 d 左右对小鼠编号并鉴定小鼠的基因型,得到 CTRP4 杂合子转基因小鼠,在 4 周时将新生小鼠离乳。

#### 1.9.2 F2 代转基因小鼠的繁育

用 F1 代鉴定阳性的 CTRP4 杂合子小鼠进行近亲交配,即同窝阳性小鼠的雌雄交配,根据最适的雌雄比例(雄:雌 = 1:2) 进行,编号及鉴定方法同 F1 代。

#### 1.9.3 F2 转基因纯合子小鼠的筛选

根据孟德尔遗传定律,F2 代小鼠中有一定概率出现纯合子,因此通过测交的方法来筛选 F2 代中的纯合子小鼠,即把得到的每一只 CTRP4 阳性 F2

代小鼠与野生型的 C57BL/6J 小鼠进行交配,通过子代小鼠判断 F2 代小鼠是否为纯合子,如果子代小鼠经过 PCR 鉴定 100% 为 CTRP4 阳性,则表明亲代小鼠为纯合子小鼠,否则为杂合子小鼠。PCR 鉴定方法同 1.6 中所述。

阴性鼠的来源:F1 代小鼠中的阴性小鼠进行交配,并大量繁殖,进而得到用于实验对照的阴性小鼠。

## 2 结果

### 2.1 转基因载体构建

以 1.3 中所述真核表达质粒 pcDNA3.1-CTRP4-Myc/His 为模板,以 pCAGGS 质粒为载体进行转基因载体构建,pCAGGS-CTRP4 质粒的构建方案基本过程如下:设计包含 XhoI 酶切序列的 CTRP4 基因特异性引物(即如 1.3 中所述引物),以 pcDNA3.1-CTRP4-Myc/HisB(-) 质粒为模板,PCR 扩增得到的片段连同真核表达载体 pCAGGS 采用同样的限制性内切酶进行酶切。酶切产物通过琼脂糖凝胶电泳进行分离,切胶回收目的条带。回收的载体和 PCR 片段用 T4 DNA 连接酶连接,16℃,12 h。连接产物转化入大肠杆菌 XL1-BLUE 中,使用 LA (Amp 抗性) 固体培养基培养 14~16 h,挑取克隆扩增培养,提质粒进行鉴定。鉴定是否有插入片段、插入片段的大小、片段插入的方向。对符合目的要求的阳性克隆进行质粒测序,测序结果与 NCBI 标准数据库中的 CTRP4 CDS 序列进行比对,准确无误后进

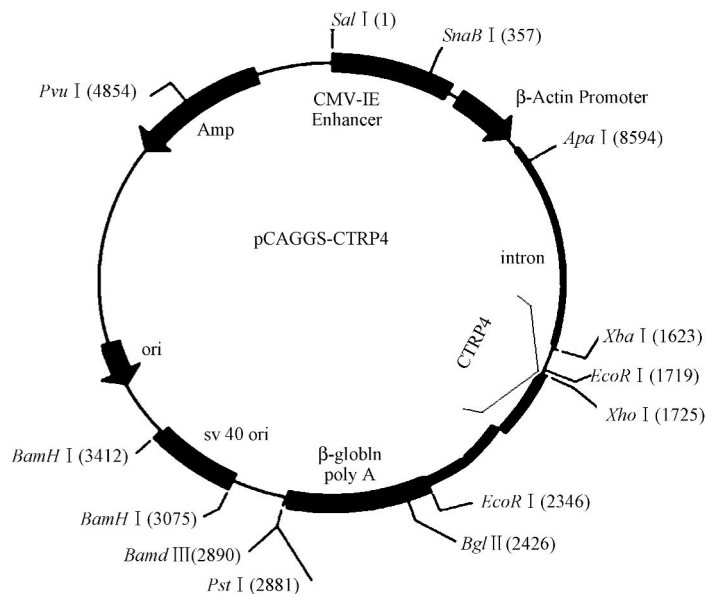


图 1 pCAGGS-CTRP4 质粒构建示意图

Fig. 1 The general view of pCAGGS-CTRP4 plasmid

行质粒大量提取,最终所得质粒结构如图 1 所示。质粒线性化,定量除菌后提供给中国医学科学院医学实验动物研究所制作转基因小鼠。

## 2.2 转基因小鼠的繁殖与鉴定

通过首建鼠和野生型 C57BL/6J 小鼠交配,得到 F1 代小鼠 135 只,经观察雌雄比例并没有异常,通过 1.5 和 1.6 中所述鉴定方法对 F1 代小鼠进行鉴定,经 1% 琼脂糖凝胶电泳,最终鉴定有 30 只阳性小鼠。以首建鼠 66 号为例。如图 1A 所示,66 号小鼠所生子代(F1 代)12 只小鼠的 PCR 鉴定结果显示,1 号和 6 号为阳性鼠。

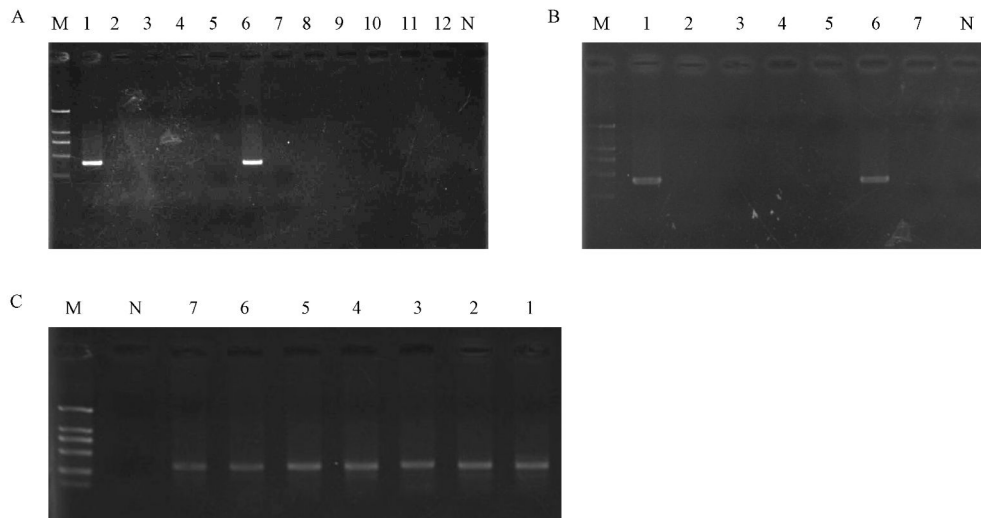
随后我们选择 F1 代小鼠同窝并且至少有 1 只雄性,1 只雌性的小鼠进行同窝交配,最终我们筛选出 4 窝小鼠进行繁殖,以其中一窝 F1 代小鼠为例,如图

1B 所示,其生产的 7 只小鼠中 1 号和 6 号为阳性。

经过上述繁殖我们总共获得 28 只阳性 F2 代小鼠。通过 1.9.3 中所述测交方法鉴定,得到两个品系纯合子转基因小鼠共 8 只。以其中一系纯合子小鼠鉴定结果为例,图 1C 中所示结果,F2 代 4 号小鼠与野生型小鼠交配生成的 7 只 F3 代小鼠均为阳性,证实该转基因小鼠为纯合子。

## 2.3 CTRP4 转基因小鼠体内表达的鉴定

为了验证外源 CTRP4 在小鼠体内的表达水平,我们取 CTRP4 纯合子小鼠的心脏,肝,脑,肾等组织进行匀浆处理后 western blot 检测 CTRP4 表达水平,同时取同窝阴性小鼠相应组织作对照,CTRP4 纯合子小鼠表达水平在各组织中明显高于同窝阴性小鼠,结果如图 3 所示:

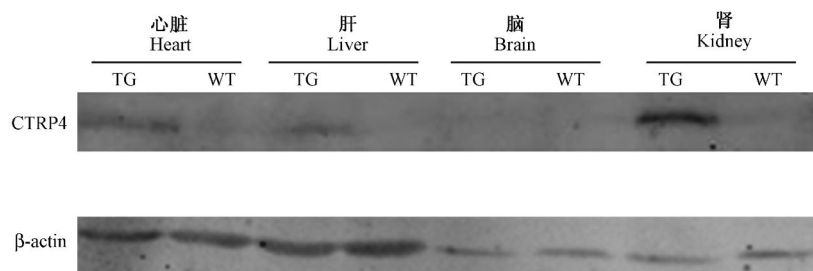


注: A: M: DS2000 Marker, 1-12: 转基因小鼠, N: 阴性对照; B: M: DS2000 Marker, 1-7: 转基因小鼠, N: 阴性对照 C: M: DS2000 Marker, 1-7: 转基因小鼠, N: 阴性对照。

图 2 CTRP4 转基因小鼠鉴定图

Note: M: A) DS2000 marker, 1-12: transgenic mice, N: Negative control; B) M: DS2000 marker, 1-7 transgenic mice, N: Negative control; C) M: DS2000 marker, 1-7 transgenic mice, N: Negative control.

Fig. 2 PCR genotyping CTRP4 transgenic mice



注: TG: CTRP4 纯合子小鼠, WT: F2 代同窝阴性小鼠 Heart: 心脏, Liver: 肝脏, Brain: 脑, Kidney: 肾脏。

图 3 western blot 检测 CTRP4 在转基因小鼠心脏,肝,脑和肾中的表达

Note: TG: Homozygote transgenic mice; WT: Littermate negative control mice of F2 generation.

Fig. 3 western blot analysis of the CTRP4 expression in heart, liver, brain and kidney

**表 1** CTRP4 转基因小鼠血生化分析结果  
**Tab. 1** Blood chemistry analysis of CTRP4 transgenic mice

	WT	TG	P value
血糖 (Blood glucose) (mmol/dL)	9.660 ± 1.348	6.490 ± 0.2930	<0.05
血清甘油三酯 (Serum triglyceride) (mg/dL)	90.02 ± 8.704	90.49 ± 8.604	NS
血清胆固醇 (Serum cholesterol) (mg/dL)	94.81 ± 3.593	63.34 ± 8.222	<0.05

注: TG: CTRP4 转基因阳性小鼠, WT: 同窝阴性小鼠, P value: P 值, Blood Glucose: 血糖, Serum Triglyceride: 血清甘油三酯, Serum Cholesterol: 血清胆固醇。

Note: TG: CTRP4 transgenic mice; WT: Littermate negative control mice of transgenic mice.

**2.4 CTRP4 转基因小鼠血生化分析结果**

CTRP4 作为潜在的脂肪因子,很可能对机体的血糖血脂等具有调控作用。为了验证这种猜测,我们对 CTRP4 转基因小鼠进行了血生化检测,包括血糖,胆固醇和甘油三酯三项,结果显示转基因小鼠体内血清胆固醇和血糖水平相对较低,如表 1 所示。

**2.5 CTRP4 转基因小鼠体重曲线,脂肪比例与脂肪形态(彩插 1 图 4)**

CTRP 家族成员中有半数以上是脂肪因子,根据目前研究表明,脂肪因子有可能对机体体重、脂肪组织占体重比例以及脂肪细胞大小发挥一定的影响。为了检测 CTRP4 是否具有类似的作用,我们检测了 CTRP4 转基因小鼠自出生后 16 周的体重变化(图 4A),同时测量了其脂肪比例(图 4B),观察了脂肪 HE 染色结果(图 4C)。在正常饮食条件下,上述指标均没有明显变化。

**3 讨论**

脂肪细胞因子是一类在肥胖和由肥胖诱导的慢性炎症过程中发挥重要作用的细胞因子<sup>[2]</sup>,通过对代谢调控通路、炎症信号通路、中枢神经系统等进行调节,在多种生理及病理过程中发挥重要作用。近 20 年来,脂肪因子越来越受到人们的关注,通过对脂肪因子的研究,人们逐渐对代谢的调节、肥胖、II 型糖尿病、炎症的关系有了更深一步的认识。

CTRP 家族是目前脂肪因子研究领域中被广泛关注的一类分子,包括脂联素在内已有 16 个成员被发现,其中大部分成员均已有功能研究报道<sup>[4-8]</sup>,脂联素在肥胖,胰岛素抵抗和由肥胖介导的慢性炎症过程中的重要作用已经被确认。该家族主要特征是具有 N 端胶原样结构域和 C 端 C1q 球状结构域<sup>[5]</sup>。CTRP4 是该家族中较为特殊的一个成员,它并不具有 N 端胶原样结构域,同时,它是唯一一个具有两个 C1q 结构域的成员<sup>[3]</sup>。这一结构上的特殊性也提示我们,CTRP4 在该家族中或许有较为特

殊的地位。

NF-κB 在细胞炎症信号的诱发和调节中具有核心作用<sup>[9]</sup>。在固有免疫系统识别病原模式分子后 NF-κB 在巨噬细胞中的活化可以启动下游一系列的炎症级联反应<sup>[10-12]</sup>。NF-κB 可以对炎症过程进行调控,研究已经证明肥胖与炎症的关系非常密切<sup>[13]</sup>。我们前期的研究表明 CTRP4 在 NF-κB 信号通路中可能具有重要的调节作用,因此对 CTRP4 进行深入研究对于阐释炎症、肥胖以及 NF-κB 信号通路都具有非常重要的意义。

本文共获得了两系 CTRP4 转基因纯合子小鼠,通过在 mRNA 和蛋白水平的鉴定,证明其在全身多种组织中均呈现高表达,表明转基因鼠的构建是成功的。这为我们对 CTRP4 的体内功能和机制研究提供了有力的工具。

**参考文献:**

[ 1 ] Schäffler A, Buechler C. CTRP family: linking immunity to metabolism [ J ]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2012, 23 ( 4 ): 194 - 204.

[ 2 ] Ouchi N, Parker J L, Lugus J J, et al. Adipokines in inflammation and metabolic disease [ J ]. Nature Reviews Immunology, 2011, 11 ( 2 ): 85 - 97.

[ 3 ] Li Q, Wang L, Tan W, et al. Identification of C1qTNF-related protein 4 as a potential cytokine that stimulates the STAT3 and NF - κB pathways and promotes cell survival in human cancer cells [ J ]. Cancer letters, 2011, 308 ( 2 ): 203 - 214.

[ 4 ] Lasser G, Guchhait P, Ellsworth J L, et al. C1qTNF-related protein - 1 ( CTRP - 1 ): a vascular wall protein that inhibits collagen-induced platelet aggregation by blocking VWF binding to collagen [ J ]. Blood, 2006, 107 ( 2 ): 423 - 430.

[ 5 ] Wong G W, Wang J, Hug C, et al. A family of Acrp30/adiponectin structural and functional paralogs [ J ]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101 ( 28 ): 10302 - 10307.

[ 6 ] Peterson J M, Wei Z, Wong G W. C1q/TNF-related protein - 3 ( CTRP3 ), a novel adipokine that regulates hepatic glucose output [ J ]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285 ( 51 ): 39691 - 39701.

[ 7 ] Peterson J M, Aja S, Wei Z, et al. CTRP1 protein enhances

- fatty acid oxidation via AMP-activated protein kinase (AMPK) activation and acetyl-CoA carboxylase (ACC) inhibition [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(2): 1576 - 1587.
- [ 8 ] Wong G W, Krawczyk S A, Kitidis-Mitrokostas C, *et al.* Identification and characterization of CTRP9, a novel secreted glycoprotein, from adipose tissue that reduces serum glucose in mice and forms heterotrimers with adiponectin [J]. *The FASEB Journal*, 2009, 23(1): 241 - 258.
- [ 9 ] Meylan E, Dooley A L, Feldser D M, *et al.* Requirement for NF- $\kappa$ B signalling in a mouse model of lung adenocarcinoma [J]. *Nature*, 2009, 462(7269): 104 - 107.
- [ 10 ] Baumgartl J, Baudler S, Schermer M, *et al.* Myeloid lineage cell-restricted insulin resistance protects apolipoproteinE-deficient mice against atherosclerosis [J]. *Cell metabolism*, 2006, 3(4): 247 - 256.
- [ 11 ] Jimi E, Aoki K, Saito H, *et al.* Selective inhibition of NF- $\kappa$ B blocks osteoclastogenesis and prevents inflammatory bone destruction in vivo [J]. *Nature medicine*, 2004, 10(6): 617 - 624.
- [ 12 ] Rocha V Z, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis [J]. *Nature Reviews Cardiology*, 2009, 6(6): 399 - 409.
- [ 13 ] Baker R G, Hayden M S, Ghosh S. NF- $\kappa$ B, inflammation, and metabolic disease [J]. *Cell metabolism*, 2011, 13(1): 11 - 22.
- [ 修回日期 ] 2014-05-30

( 下接第 53 页 )

- [ 6 ] 吴观陵. 人体寄生虫学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 580 - 584.
- [ 7 ] Safdar A, Malathum K, Rodriguez S J, *et al.* Strongyloidiasis in patients at a comprehensive cancer center in the United States: A retrospective study covering the years 1971 - 2003 [J]. *Cancer*, 2004, 100: 1531 - 1536.
- [ 8 ] Hamilton KW, Abt PL, Rosenbach MA, *e et al.* Donor-derived *Strongyloides stercoralis* infections in renal transplant recipients [J]. *Transplantation*, 2011, 91(9): 1019 - 1024.
- [ 9 ] Mokaddas EM, Shati S, Abdulla A, *et al.* Fatal strongyloidiasis in three kidney recipients in Kuwait [J]. *Med Princ Pract*, 2009, 18(5): 414 - 417.
- [ 10 ] Wirk B, Wingard JR. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Transpl Infect Dis*, 2009, 11(2): 143 - 148.
- [ 11 ] Janssen S, Rossatanga EG, Jurriaans S, *et al.* Triple infection with HIV-1, HTLV-1 and *Strongyloides stercoralis*, rendering CD4 + T-cell counts a misleading entity [J]. *Antivir Ther*, 2013, 18(7): 949 - 951.
- [ 12 ] Yanık K, Karadağ A, Odabaş H, *et al.* *Strongyloides stercoralis* in a patient with ankylosing spondylitis; case report [J]. *Turkiye Parazitol Derg*, 2013, 37(2): 143 - 146.
- [ 修回日期 ] 2014-05-28