

线粒体 DNA3243A > G 突变糖尿病外周血 单个核细胞生物力学变化特征

耿新倩 张宜男 王从容

摘要 **目的** 探索线粒体 DNA3243A > G (mt. 3243A > G) 突变糖尿病患者和正常对照外周血单个核细胞 (PBMC) 表面形貌和力学性能差异。**方法** 采集 5 例 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者和 5 例年龄、性别匹配的正常对照外周血 2ml, 然后利用聚蔗糖 - 泛影葡胺 (Ficoll - hypaque) 密度梯度离心法分离出 PBMC。应用原子力显微镜 (AFM) 对突变患者和正常对照的 PBMC 进行表面形貌和力学性能测量。**结果** 运用 AFM 测量和分析发现, 在表面形貌方面, mt. 3243A > G 突变糖尿病患者的 PBMC 高度 ($0.73 \pm 0.24 \mu\text{m}$ vs $2.49 \pm 1.17 \mu\text{m}$, $P = 0.011$) 低于正常对照组; 但其表面粗糙度 (Ra: $161.8 \pm 33.2 \text{nm}$ vs $66.4 \pm 16.3 \text{nm}$, $P = 0.000$; Rq: $202.2 \pm 40.9 \text{nm}$ vs $85.4 \pm 17.1 \text{nm}$, $P = 0.000$) 高于正常对照组。在力学性能方面, mt. 3243A > G 突变糖尿病患者 PBMC 黏附力约比正常对照组高 3 倍 ($779.6 \pm 190.0 \text{pN}$ vs $161.1 \pm 83.1 \text{pN}$, $P = 0.000$)。与正常对照组相比, mt. 3243A > G 突变糖尿病患者 PBMC 杨氏模量 ($138.3 \pm 77.2 \text{kPa}$ vs $421.4 \pm 140.0 \text{kPa}$, $P < 0.01$) 显著增加, 病变细胞表面硬度增加。**结论** 本研究利用 AFM 从单细胞水平上揭示了 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者 PBMC 的表面形貌和力学性能变化, 有助于加深对该疾病病理生理机制的理解。

关键词 mt. 3243A > G 突变 糖尿病 外周血单个核细胞 原子力显微镜

中图分类号 R587.1 R445.9

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.05.014

Biomechanical Characteristics of Peripheral Blood Mononuclear Cells in Mitochondrial Diabetes Caused by mt. 3243A > G Mutation. *Geng Xinqian, Zhang Yinan, Wang Congrong. Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, Department of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Diabetes Institute, Shanghai Key Laboratory of Diabetes Mellitus, Shanghai Clinical Center for Diabetes, Shanghai 200233, China*

Abstract Objective To explore the surface morphological and biomechanical properties differences of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) between groups of patients with mitochondrial diabetes caused by mt. 3243A > G mutation and healthy controls. **Methods** 2 milliliters blood were obtained from each subject of the mitochondrial diabetes group ($n = 5$) and the control group ($n = 5$). The PBMCs were separated from the blood using the standard Ficoll - Hypaque density - gradient centrifugation method and detected by atomic force microscope (AFM). **Results** The morphological analysis revealed that compared with control group, the PBMCs of diabetic patients tended to have a lower cell height ($0.73 \pm 0.24 \mu\text{m}$ vs $2.49 \pm 1.17 \mu\text{m}$, $P = 0.011$) and a much rougher cell membrane (Ra: $161.8 \pm 33.2 \text{nm}$ vs $66.4 \pm 16.3 \text{nm}$, $P = 0.000$; Rq: $202.2 \pm 40.9 \text{nm}$ vs $85.4 \pm 17.1 \text{nm}$, $P = 0.000$). The adhesion force distribution was nearly three times higher in PBMCs of diabetic patients than that of the control group ($779.6 \pm 190.0 \text{pN}$ vs $161.1 \pm 83.1 \text{pN}$, $P = 0.000$). The Young's modulus of PBMCs was significantly increased in diabetic patients ($421.4 \pm 140.0 \text{kPa}$ vs $138.3 \pm 77.2 \text{kPa}$, $P < 0.01$), indicating that diabetic PBMCs were stiffer than control cells. **Conclusion** Our study demonstrated the surface morphological and biomechanical properties changes in mitochondrial diabetes caused by mt. 3243A > G mutation at PBMCs level, which was beneficial to the better understanding of the pathophysiological mechanisms of mitochondrial diabetes associated with mt. 3243A > G mutation.

Key words mt. 3243A > G mutation; Diabetes mellitus; Peripheral blood mononuclear cell; Atomic force microscope

基金项目:上海市重大疾病临床生物样本实体库专业技术服务平台项目(15DZ2292100);上海交通大学多学科交叉项目培育(医工)基金资助项目(YG2016MS16);上海交通大学医学院转化医学创新基金资助项目——精准医学研究项目(15ZJ4006)

作者单位:200233 上海交通大学附属第六人民医院内分泌代谢科、上海市糖尿病研究所、上海市糖尿病重点实验室、上海市糖尿病临床医学中心(耿新倩、王从容);200233 上海交通大学附属第六人民医院转化医学中心、上海市糖尿病重点实验室、上海交通大学附属第六人民医院代谢性疾病样本库(张宜男)

通讯作者:王从容, 电子信箱: crwang@sjtu.edu.cn

近年来,生物力学已发展成有助于研究人类疾病的新兴领域。疾病不仅引起细胞生物功能改变,还可导致病变细胞物理结构异常^[1]。研究表明,在肿瘤和镰状细胞疾病等不同病理状态下均存在相关的细胞力学性能改变^[2,3]。原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM)可在近生理条件和纳米尺度下观察样品形貌特征和测量其杨氏模量等力学参数,是探索临床疾病和细胞生物力学性能联系的重要工

具^[1,4]。

白细胞作为一类对各种伤害性刺激反应灵敏的免疫细胞,在不同病理条件下其生物力学特性也发生不同变化^[5,6]。2型糖尿病状态下白细胞激活增加,但高糖环境使白细胞发生变形能力降低、黏附力增加等血液流变学异常^[7,8]。线粒体 DNA3243A > G 突变 (mt. 3243A > G) 所致糖尿病是一种特殊类型糖尿病。该疾病不仅引起患者眼部和心脏等多系统临床表现,亦导致突变细胞发生线粒体膜电位下降及胞内活性氧产生增加等异常^[9,10]。然而,mt. 3243A > G 突变糖尿病是否会引起血液细胞生物力学性能改变尚未见报道。本研究旨在运用 AFM 探索 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者和正常对照外周血单个核细胞 (PBMC) 表面形貌和力学性能变化,从而加深对该疾病病理生理机制的理解。

材料与方法

1. 研究对象:招募 2015 年 12 月 ~ 2017 年 2 月在上海市第六人民医院就诊的 5 例 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者及 5 名年龄、性别匹配的正常对照。所有受试者签署知情同意书。糖尿病诊断符合 1999 年 WHO 标准,mt. 3243A > G 突变由高分辨率熔解曲线及焦磷酸测序的“二步法”定量分析技术确定^[11,12]。确诊的 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者目前均接受胰岛素治疗。所有受试者均无血脂异常,无心脑血管疾病,无其他严重血管合并症。

2. 资料收集:(1)一般资料:年龄、血压、体重和身高。体重指数 (BMI) = 体重 (kg) ÷ 身高 (m)²。(2)生化指标检测:采用氧化酶法测定空腹血浆葡萄糖 (fasting plasma glucose, FPG)、餐后 (口服 75g 葡萄糖) 2h 的血浆葡萄糖 (2h - PG)、血清总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和甘油三酯 (triglyceride, TG); 采用高效液相色谱法检测糖化血红蛋白 (hemoglobin A1c, HbA1c)。

3. 实验材料:收集 2ml 人外周血于乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗凝的试管中;人外周血淋巴细胞分离液 (挪威 Axis - Shield 公司);红细胞裂解液;磷酸盐缓冲液 (1 ×) (phosphate buffered solution, PBS, 美国 Gibco 公司);0.5% 戊二醛固定液;台式离心机;多聚赖氨酸包被的载玻片;生物快速扫描原子力显微镜 (美国 Bruker 公司)。

4. 人 PBMC 分离:利用聚蔗糖 - 泛影葡胺 (Ficoll - hypaque) 密度梯度离心法分离 PBMC。收集所有受试者各 2ml EDTA 抗凝血,用 2ml PBS 等体积稀释血液

样本并吹打混匀,然后将血液贴壁加入 4ml 淋巴细胞分离液中,2000r/min,20min 离心后,吸取中间白细胞层,加 10ml PBS,1500r/min,10min 离心,弃上清,加 8ml 红细胞裂解液,4℃ 放置 15min,1500r/min,10min 离心,弃上清,再用 PBS 清洗一次弃上清,剩下的白色细胞团块即为 PBMC。

5. PBMC 固定及 AFM 测量:用适量 PBS 重悬 PBMC,然后将细胞悬液滴到多聚赖氨酸包被的载玻片上,约 10min 后细胞单层吸附在载玻片上,移去多余的细胞悬液并加 0.5% 戊二醛固定液室温静置 15min,然后 PBS 清洗 3 次,并置于干净 PBS 溶液中用于 AFM 测定。将制备好的样品置于 AFM 扫描台上,实验采用 100μm 扫描器,微悬臂的弹性系数为 0.32N/m,扫描速率 0.501Hz,像素点 256 × 256,液相中采取 Peak Force QNM 成像模式。每个样本至少测量 5 个不同细胞。AFM 图像仅用自带软件 NanoScope Analysis 1.8 处理,以消除背景噪音。

6. 统计学方法:采用 NanoScope Analysis 1.8 和 Origin 9.0 对数据进行分析、拟合。各组数据计量资料均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,用 SPSS 16.0 统计学软件做统计分析,组间比较采用独立 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组人群一般临床指标:mt. 3243A > G 突变糖尿病患者 FPG 和 2h - PG 均高于正常对照组 (*P* < 0.05, 表 1)。突变患者平均 BMI 低于正常对照组,可能是 mt. 3243A > G 突变的大部分患者体重低且肌肉组织减少所致^[9]。两组人群血压、HbA1c、TC 和 TG 水平比较差异均无统计学意义 (*P* > 0.05)。

表 1 两组人群一般临床指标 ($\bar{x} \pm s$)

指标	对照组	正常对照组	突变组	<i>P</i>
年龄 (岁)		43.2 ± 12.8	43.4 ± 15.8	0.983
BMI (kg/m ²)		22.4 ± 1.3	19.1 ± 0.8	0.001
FPG (mmol/L)		5.4 ± 0.5	10.2 ± 4.0	0.03
2h - PG (mmol/L)		5.7 ± 1.6	17.9 ± 3.4	0.000
HbA1c (%)		5.5 ± 0.3	8.2 ± 2.7	0.055
SBP (mmHg)		124.2 ± 10.8	118.4 ± 17.4	0.544
DBP (mmHg)		76.2 ± 14.6	81.8 ± 7.2	0.464
TC (mmol/L)		4.6 ± 1.3	5.0 ± 0.8	0.516
TG (mmol/L)		1.2 ± 0.5	2.5 ± 1.7	0.139

2. 两组人群 PBMC 的 AFM 图像及形貌参数比较:用 AFM 测量的 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者和

正常对照 PBMC 的相关形貌图像参数,见表 2。与正常对照组相比,突变组平均细胞高度 (height) 降低约 70% ($2.49 \pm 1.17 \mu\text{m}$ vs $0.73 \pm 0.24 \mu\text{m}$, $P = 0.011$)。用 NanoScope Analysis 1.8 处理图像,得到细胞表面粗糙度 (roughness), 包括粗糙度的算数平方根 (Ra) 和几何平方根 (Rq)。突变组 PBMC 的表面粗糙度 (Ra 和 Rq) 显著高于对照组,突变患者 PBMC 的细胞膜表面更粗糙。

表 2 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者和正常对照 PBMC 表面形态参数 ($\bar{x} \pm s$)

参数	正常对照组	突变组	P
高度 (μm)	2.49 ± 1.17	0.73 ± 0.24	0.011
粗糙度 (nm)			
算数平方根 (Ra)	66.4 ± 16.3	161.8 ± 33.2	0.000
几何平方根 (Rq)	85.4 ± 17.1	202.2 ± 40.9	0.000

3. 两组人群 PBMC 的局部纳米力学性能比较: 本实验中, 通过 AFM 得到的力 (force) - 距离 (separa-

tion) 曲线分析 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者和正常对照 PBMC 细胞膜上的力学性能。突变患者和正常对照的力 - 距离曲线见图 1。根据趋近力 - 距离曲线和回撤力 - 距离力曲线可分别计算 PBMC 表面的杨氏模量 (Young's modulus) 和黏附力 (adhesion), 二者大小范围符合高斯分布。通过力 (force) - 距离 (separation) 曲线得出, 对照组 PBMC 表面黏附力分布在 $161.1 \pm 83.1 \text{pN}$ 范围, 而突变组 PBMC 表面黏附力约是对照组的 4.8 倍, 分布在 $779.6 \pm 190.0 \text{pN}$ 范围 (图 2)。杨氏模量反映细胞膜表面的硬度。力 - 距离曲线斜率越大, 细胞杨氏模量越大, 表明细胞表面硬度越大, 细胞越不容易变形^[13]。因 Sneddon 模型更适合诸如细胞、组织、生物分子等生物样品的测量, 故本研究采用 Sneddon 模型计算 PBMC 的杨氏模量^[14]。与正常对照组比较, 突变组 PBMC 杨氏模量显著增加 ($138.3 \pm 77.2 \text{kPa}$ vs $421.4 \pm 140.0 \text{kPa}$, $P < 0.01$), 突变患者的 PBMC 表面硬度增强, 变形能力减弱 (图 3)。

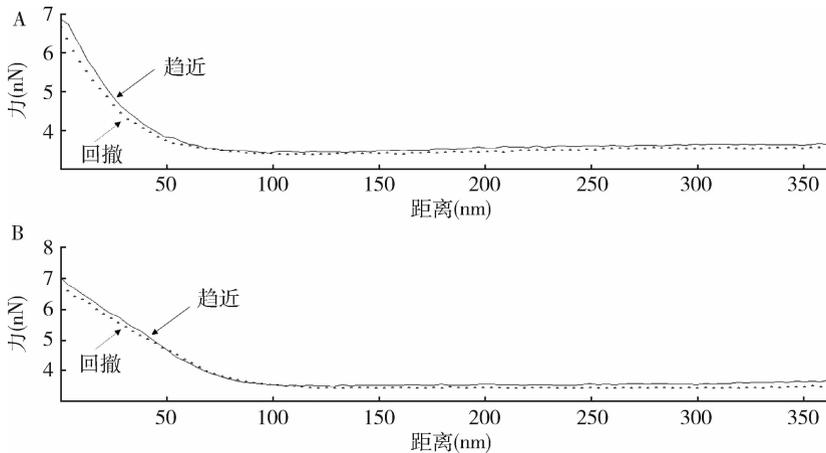


图 1 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者和正常对照 PBMC 力 - 距离曲线代表图

A. 突变患者; B. 正常对照; 实线. 趋近曲线; 虚线. 回撤曲线

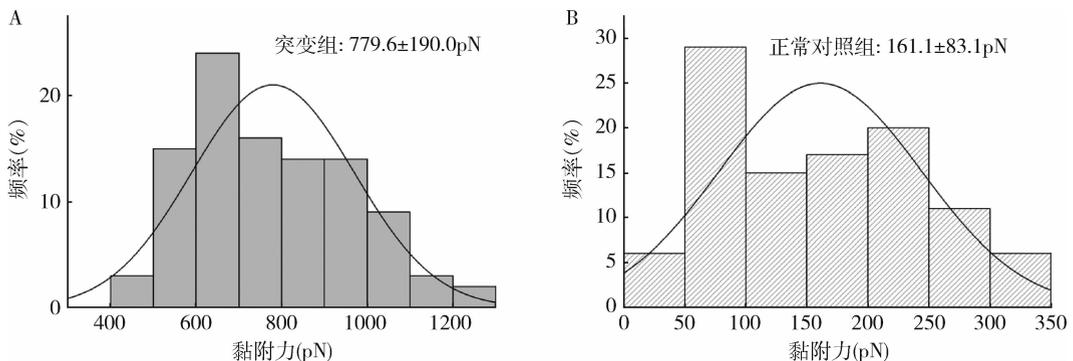


图 2 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者和正常对照 PBMC 黏附力 (adhesion) 直方分布图

A. 突变组; B. 正常对照组

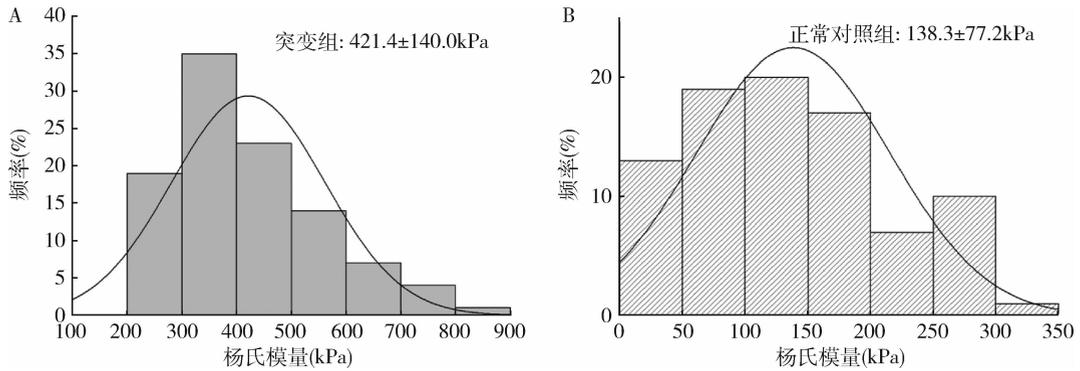


图3 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者和正常对照 PBMC 杨氏模量 (Young's modulus) 直方分布图

A. 突变组; B. 正常对照组

讨 论

白细胞包括粒细胞、单核细胞和淋巴细胞 3 大类,具有识别、递呈和杀伤抗原的功能,参与机体的免疫调控。糖尿病状态下除发生血小板黏附力增加、红细胞变形性减弱等血液流变学异常外,白细胞也大量激活,黏附性增加。大量白细胞黏附在相应组织器官的内皮细胞上是早期动脉粥样硬化及糖尿病肾病、视网膜病变等微血管并发症的病理生理机制之一^[15]。

本研究利用 AFM 比较 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者和正常对照 PBMC 的表面黏附力,发现患者的 PBMC 黏附力较正常人显著升高。细胞膜表面有很多糖脂和糖蛋白,其中黏附分子(adhesion molecules, AMs)在白细胞聚集、黏附上发挥关键性作用^[16]。长期高血糖导致炎症介导的内皮细胞功能失调,AMs 分泌异常,是引起糖尿病微血管病变的重要机制之一。既往研究亦表明,在糖尿病神经病变、肾病和视网膜病变中,均存在细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)等 AMs 表达水平异常^[15-17]。在一项糖尿病视网膜病变的机制研究中, Yang 等^[18]发现高糖环境下人 PBMC 与视网膜内皮细胞间黏附率增加。mt. 3243A > G 突变糖尿病患者 PBMC 的表面黏附力增高、表面粗糙度增加和平均高度降低是否与糖尿病状态细胞表面 AMs 异常表达有关,有待于进一步研究。

越来越多的证据表明,随疾病进展白细胞生物学性能也发生改变。研究表明与正常对照相比,慢性淋巴细胞白血病患者体内淋巴细胞表面硬度降低^[5]。本研究中 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者 PBMC 杨氏模量约是正常人的 3 倍,说明该病变使患者的 PBMC 表面硬度增加。此结果与既往一个微管吸吮技术研究一致,其发现 1 型糖尿病鼠的淋巴细胞表

面硬度比正常对照鼠的增加^[8]。值得一提的是,AFM 可以更直观、精确的在单细胞水平上获得表面力学性能,具有传统技术无法比拟的优势。糖尿病患者因长期糖代谢紊乱,使白细胞硬度增加,变形能力减弱,以及表面黏附性增加,导致白细胞在血管内异常聚集或引起微小血管阻塞,造成血流灌注减少,从而引起糖尿病视网膜病变等微血管病变^[8, 15, 16]。mt. 3243A > G 突变糖尿病患者眼部、心脏等多系统表现除与细胞杂胞质性及不同组织对能量代谢的依赖程度有关外,可能也与疾病状态 PBMC 的黏附力、表面硬度等机械性能改变有关。近年来研究认为,细胞表面硬度(或细胞弹性)与细胞骨架结构及细胞内细胞器紧密相关。例如,乳腺癌细胞内结构完整的丝状肌动蛋白减少,会导致其表面硬度比正常细胞降低^[14]。Kandel 等对不同细胞系研究亦发现, mt. 3243A > G 突变性质水平与细胞内骨架蛋白含量及细胞机械性能改变具有相关性。mt. 3243A > G 突变糖尿病患者 PBMC 表面硬度增加是否与疾病状态下细胞骨架蛋白及胞内细胞器变化有关以及该影响的具体机制尚不明确,有待于深入研究。此外,既往研究大多是探讨 1 型或 2 型糖尿病状态下红细胞、心肌细胞等的表面形貌和力学性能变化,在其他类型糖尿病中 PBMC 的形态结构和力学性能是否会发生改变尚未见文献报道。

综上所述,本研究利用 AFM 首次从单细胞水平揭示 mt. 3243A > G 突变糖尿病患者与正常对照 PBMC 表面形貌和力学特性的变化,为深入理解该疾病状态下 PBMC 的病理变化提供了一个强有力的实验依据。将细胞力学性能变化与疾病状态相联系,有利于从纳米水平了解疾病的病理特点和深入理解疾病病理生理机制。

参考文献

- 1 Lee GY, Lim CT. Biomechanics approaches to studying human diseases [J]. Trends Biotechnol, 2007, 25(3):111-118
- 2 Yallapu MM, Katti KS, Katti DR, et al. The roles of cellular nanomechanics in cancer [J]. Med Res Rev, 2015, 35(1):198-223
- 3 Wandersee NJ, Maciaszek JL, Giger KM, et al. Dietary supplementation with docosahexanoic acid (DHA) increases red blood cell membrane flexibility in mice with sickle cell disease [J]. Blood Cells Mol Dis, 2015, 54(2):183-188
- 4 Kilpatrick JI, Revenko I, Rodriguez BJ. Nanomechanics of cells and biomaterials studied by atomic force microscopy [J]. Adv Health Mater, 2015, 4(16):2456-2474
- 5 Skorkina MY, Fedorova MZ, Muravyov AV, et al. The use of nanomechanic sensor for studies of morphofunctional properties of lymphocytes from healthy donors and patients with chronic lymphoblastic leukemia [J]. Bull Exp Biol Med, 2012, 154(1):163-166
- 6 Lam WA, Rosenbluth MJ, Fletcher DA. Increased leukaemia cell stiffness is associated with symptoms of leucostasis in paediatric acute lymphoblastic leukaemia [J]. Br J Haematol, 2008, 142(3):497-501
- 7 de Vries MA, Alipour A, Klop B, et al. Glucose-dependent leukocyte activation in patients with type 2 diabetes mellitus, familial combined hyperlipidemia and healthy controls [J]. Metabolism, 2015, 64(2):213-217
- 8 Perrault CM, Bray EJ, Didier N, et al. Altered rheology of lymphocytes in the diabetic mouse [J]. Diabetologia, 2004, 47(10):1722-1726
- 9 Murphy R, Turnbull DM, Walker M, et al. Clinical features, diagnosis and management of maternally inherited diabetes and deafness (MIDD) associated with the 3243A>G mitochondrial point mutation [J]. Diabet Med, 2008, 25(4):383-399
- 10 de Andrade PB, Rubi B, Frigerio F, et al. Diabetes-associated mitochondrial DNA mutation A3243G impairs cellular metabolic pathways necessary for beta cell function [J]. Diabetologia, 2006, 49

- (8):1816-1826
- 11 Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation [J]. Diabet Med, 1998, 15(7):539-553
- 12 Yan JB, Zhang R, Xiong C, et al. Pyrosequencing is an accurate and reliable method for the analysis of heteroplasmy of the A3243G mutation in patients with mitochondrial diabetes [J]. J Mol Diagn, 2014, 16(4):431-439
- 13 Visser J, van Staden PJ, Soma P, et al. The stabilizing effect of an oligomeric proanthocyanidin on red blood cell membrane structure of poorly controlled Type II diabetes [J]. Nutr Diabetes, 2017, 7(5):e275
- 14 Calzado-Martin A, Encinar M, Tamayo J, et al. Effect of actin organization on the stiffness of living breast cancer cells revealed by peak-force modulation atomic force microscopy [J]. ACS Nano, 2016, 10(3):3365-3374
- 15 Noda K, Nakao S, Zandi S, et al. Retinopathy in a novel model of metabolic syndrome and type 2 diabetes: new insight on the inflammatory paradigm [J]. FASEB J, 2014, 28(5):2038-2046
- 16 Hocaoglu-Emre FS, Saribal D, Yenmis G, et al. Vascular cell adhesion molecule 1, intercellular adhesion molecule 1, and cluster of differentiation 146 levels in patients with type 2 diabetes with complications [J]. Endocrinol Metab:Seoul, 2017, 32(1):99-105
- 17 Roy MS, Janal MN, Crosby J, et al. Markers of endothelial dysfunction and inflammation predict progression of diabetic nephropathy in African Americans with type 1 diabetes [J]. Kidney Int, 2015, 87(2):427-433
- 18 Yang X, Scott HA, Monickaraj F, et al. Basement membrane stiffening promotes retinal endothelial activation associated with diabetes [J]. FASEB J, 2016, 30(2):601-611

(收稿日期:2017-08-15)

(修回日期:2017-09-20)

(上接第54页)

参考文献

- 1 王彦春,张俊峰,魏殿军,等. 胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白对糖尿病肾病早期诊断的价值及相关性[J]. 广东医学, 2014, 24(17):2715-2717
- 2 王诚,余红岚,何伶俐,等. 胱抑素 C、尿 β_2 -MG 及 mALB/Cr 联合检测早期诊断糖尿病肾病的临床意义[J]. 山东医药, 2014, 12(21):59-61
- 3 肖家凤,罗建蓉,吕锦春,等. 血清胱抑素 C 和 β_2 -微球蛋白检测在糖尿病肾病早期诊断的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2015, 16(4):561-563
- 4 王卫. 微量白蛋白联合 β_2 -微球蛋白和血清光抑素在糖尿病肾病早期诊断中的应用[J]. 海南医学, 2014, 25(5):685-687
- 5 吴凤丽,马晓光. 联合检测血清 CysC、血清 hsCRP、和尿 β_2 -MG 在 2 型糖尿病早期肾病中的诊断价值[J]. 中国实验诊断学, 2014, 25(5):778-780
- 6 黄(王莹). 肾功能指标联合检测在糖尿病肾病早期的诊断价值[J]. 现代预防医学, 2015, 42(2):323-325
- 7 中华中医药学会肾病分会. 糖尿病肾病诊断、辨证分型及疗效评定标准(试行方案)[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(7):7-8
- 8 李莉,陈斌娟,林志艳,等. 超声造影定量分析技术联合血清胱抑素 C 及 β_2 微球蛋白在糖尿病肾病早期诊断中的价值[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(19):4781-4782
- 9 Pan D, Zhang D, Wu J, et al. A novel proteoglycan from Ganoderma lu-

- cidum fruiting bodies protects kidney function and ameliorates diabetic nephropathy via its antioxidant activity in C57BL/6 db/db mice[J]. Food Chem Toxicol, 2014, 63(5):111-118
- 10 陈薇薇. 血清胱抑素 C 与 β_2 微球蛋白在糖尿病肾病早期诊断中的意义[J]. 海南医学院学报, 2014, 20(6):776-778
- 11 Kim YS, Jung DH, Sohn E, et al. Extract of Cassiae semen attenuates diabetic nephropathy via inhibition of advanced glycation end products accumulation in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology, 2014, 21(5):734-739
- 12 Fujita H, Tani H, Murayama H, et al. DPP-4 inhibition with alogliptin on top of angiotensin II type 1 receptor blockade ameliorates albuminuria via up-regulation of SDF-1 α in type 2 diabetic patients with incipient nephropathy[J]. Endocrine J, 2014, 61(2):159-166
- 13 王波,董金颖,常波,等. 自身抗体联合检测对糖尿病肾病诊断的应用价值[J]. 中国实验诊断学, 2016, 8(2):262-265
- 14 Rabbani N, Thormalley PJ. The critical role of methylglyoxal and glyoxalase 1 in diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2014, 63(1):50-52
- 15 Engler FA, Zheng B, Balthasar JP, et al. Investigation of the influence of nephropathy on monoclonal antibody disposition: a pharmacokinetic study in a mouse model of diabetic nephropathy[J]. Pharmaceut Res, 2014, 31(5):1185-1193

(收稿日期:2017-07-14)

(修回日期:2017-09-15)