

## · 论著 ·

# 神经调节蛋白-1 在高糖诱导的视网膜 Müller 细胞凋亡中的作用

李宏森<sup>1,2</sup> 马连学<sup>2</sup> 曾瑞霞<sup>1</sup> 单伟<sup>1</sup>

<sup>1</sup>锦州医科大学基础医学院解剖学教研室 121001; <sup>2</sup>辽宁省健康产业集团抚矿总医院 (中国医科大学第七临床学院)检验科,抚顺 113008

通信作者:单伟,Email:604616912@qq.com

**【摘要】 目的** 探讨神经调节蛋白-1(NRG-1)对高糖培养的视网膜 Müller 细胞凋亡的影响及机制。**方法** 将培养的Müller细胞分为对照组(空白对照)、高糖组(30 mmol/L葡萄糖)、NRG-1处理组(30 mmol/L葡萄糖+80 g/L NRG-1)。噻唑蓝法检测细胞活力,试剂盒检测丙二醛含量及超氧化物歧化(SOD)活力,流式细胞仪检测Müller细胞凋亡情况,Western印迹检测Bcl-2、Bax 蛋白相对表达,JC-1检测细胞线粒体膜电位变化。**结果** 与对照组相比,高糖组细胞活力、SOD 活性、Bcl-2表达及线粒体膜电位明显降低,丙二醛含量、Bax 表达及细胞凋亡率明显增加( $F=110.80 \sim 3\,539.02$ ,  $P$ 均 $<0.01$ )。与高糖组相比,NRG-1处理组细胞活力、SOD 活性、Bcl-2表达及线粒体膜电位明显增加,丙二醛含量、Bax 表达及细胞凋亡率明显下降( $F=110.80 \sim 3\,539.02$ ,  $P$ 均 $<0.01$ )。**结论** NRG-1可抑制高糖诱导的Müller细胞凋亡,其机制可能与抑制线粒体凋亡途径有关。

**【关键词】** 神经调节蛋白-1;细胞凋亡;Müller细胞;氧化应激

**基金项目:**辽宁省教育厅自然科学基金(L2015313)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.06.003

**Role of neuregulin-1 in the apoptosis of retinal Müller cells induced by high glucose** Li Hongmiao<sup>1,2</sup>, Ma Lianxue<sup>1,2</sup>, Zeng Ruixia<sup>1</sup>, Shan Wei<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Department of Anatomy, Basic Medical College, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121001, China; <sup>2</sup>Department of Laboratory, The Fuming General Hospital of Liaoning Health Industry Group (The Seventh Clinical College of China Medical University), Fushun 113008, China  
Corresponding author: Shan Wei, Email: 604616912@qq.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect and mechanism of neuregulin-1 (NRG-1) on apoptosis of retinal Müller cells cultured with high glucose. **Methods** The cultured Müller cells were divided into control group (blank control), high glucose group (30 mmol/L glucose) and NRG-1 treatment group (30 mmol/L glucose + 80 g/L NRG-1). Cell viability was detected by methyl thiazolyl tetrazolium; malondialdehyde(MDA) content and superoxide dismutase(SOD) activity were detected by kit; the apoptosis of Müller cells was detected by flow cytometry; the relative expression of Bcl-2 and Bax protein were detected by Western blotting; mitochondrial membrane potential was detected by JC-1. **Results** Compared with control group, the cell viability, SOD activity, expression of Bcl-2 and mitochondrial membrane potential in high glucose group were decreased significantly; while the MDA content, expression of Bax and apoptotic rate of Müller cells were increased significantly( $F=110.80-3\,539.02$ , all  $P<0.01$ ). Compared with high glucose group, the cell viability, SOD activity, expression of Bcl-2 and mitochondrial membrane potential in NRG-1 treatment group were increased significantly; while the MDA content, expression of Bax and the apoptotic rate of Müller cells were decreased significantly( $F=110.80-3\,539.02$ , all  $P<0.01$ ). **Conclusion** NRG-1 can inhibit the apoptosis of Müller cells induced by high glucose, which may be related to the inhibition of mitochondrial apoptosis pathway.

**【Key words】** Neuregulin-1; Apoptosis; Müller cells; Oxidative stress

**Fund program:** Natural Science Foundation of Liaoning Provincial Department of Education(L2015313)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.06.003

Müller 细胞为视网膜胶质细胞,在糖尿病状态下,过度活化的 Müller 细胞会导致神经损伤,引起血管生成因子增加,产生新生血管,进而导致慢性炎症性视网膜环境,最终导致细胞死亡<sup>[1-3]</sup>。神经调节蛋白-1(NRG-1)为一类具有神经保护作用的细胞间信号转导蛋白,对神经元的生长、存活具有重要作用<sup>[4]</sup>。研究发现,应用 NRG-1 治疗局灶性脑缺血大鼠模型,可发挥强大的神经保护作用,有效减少神经元死亡数目<sup>[5]</sup>。尽早使用外源性 NRG-1,可有效防止视神经损伤大鼠模型中神经元损伤,对于损伤后神经再生、神经功能的恢复大有益处<sup>[6]</sup>。但 NRG-1 对糖尿病状态下 Müller 细胞损伤的影响尚不清楚。因此,本研究以高浓度葡萄糖培养 Müller 细胞,探讨 NRG-1 对高葡萄糖对 Müller 细胞的影响及机制,为寻找糖尿病视网膜损伤的治疗方案拓展思路。

## 1 材料与方法

1.1 实验细胞 Müller 细胞株购自上海钰博公司。

1.2 主要试剂和仪器 胎牛血清、DMEM 高糖培养基购自 Hyclone 生物科技有限公司;BCA 试剂盒、Annexin V-FITC 凋亡试剂盒、噻唑蓝法(MTT)试剂盒、JC-1 试剂盒、丙二醛含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性试剂盒均购自碧云天公司;Bcl-2、Bax、 $\beta$ -actin 抗体购自美国 Abcam 公司;流式细胞仪购自美国 BD 公司;CO<sub>2</sub> 细胞培养箱购自美国 SIM 公司;荧光倒置显微镜购自日本 OLYMPUS。

1.3 细胞培养及分组 将 Müller 细胞株置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养(DMEM 培养基 + 10% 胎牛血清),当细胞覆盖瓶底达 80% 左右时传代。24 h 后给予不同处理因素,对各处理因素的剂量均进行浓度梯度预实验,根据最适浓度进行分组培养,分为对照组(空白对照)、高糖组(30 mmol/L 葡萄糖)、NRG-1 处理组(30 mmol/L 葡萄糖 + 80 mg/L NRG-1),3 组均给与 DMEM 培养基 + 10% 胎牛血清,并于培养的第 3 天检测指标。

1.4 MTT 检测 Müller 细胞活力 调整 Müller 细胞悬液为  $1 \times 10^4/200 \mu\text{l}$ ,置于 96 孔板中培养,24 h 细胞贴壁后分组处理,在培养第 3 天时再换  $100 \mu\text{l}$  无血清培养基,培养 3 h 后加入 5 g/L MTT 溶液  $20 \mu\text{l}$ ,3 h 后弃溶液,加 DMSO 并振荡,使蓝色结晶物完全溶解。利用酶标仪检测 490 nm 波长处光吸收值(A 值),按如下公式计算细胞活力:细胞活力 = 实验组 A 值/对照组 A 值  $\times 100\%$ 。

1.5 试剂盒检测 Müller 细胞丙二醛含量及 SOD 活性 用 4℃ 生理盐水制备 5% Müller 细胞匀浆,5 000 r/min( $r = 10 \text{ cm}$ )离心 30 min,取上清;按试剂盒操作得到 OD 值,根据 OD 值分别计算 Müller 细胞的丙二醛含量及 SOD 活性。

1.6 流式细胞仪检测细胞凋亡率 将各组细胞处理为单细胞悬液,以  $2 \times 10^6$  个/ml 接种 6 孔板中,培养 48 h 后常规消化,5 000 r/min( $r = 10 \text{ cm}$ )离心 10 min,弃上清,收集细胞,PBS 洗 2 次,按 Annexin V-FITC 说明书操作测定细胞凋亡率。

1.7 Western 印迹检测 Müller 细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达 提取细胞总蛋白,BCA 法测蛋白浓度,蛋白上样量为  $40 \mu\text{g}$  加入  $15 \mu\text{l}$  样品缓冲液。10% SDS-PAGE 凝胶电泳,后转移至 PVDF 膜,以含 1% BSA 的 TBST 室温封闭 2 h;加入一抗 4℃ 孵育过夜;TBST 洗涤 4 次,每次 5 min;加入 HRP 标记的二抗室温 2 h,孵育后 TBST 洗涤 4 次,每次 5 min;ECL 试剂盒显影,Image J 软件分析灰度值,实验共重复 6 次。

1.8 JC-1 法检测 Müller 细胞线粒体膜电位 倾去各组 Müller 细胞培养基,预冷 PBS 洗涤 1 次,依次加入 1 ml 新培养基及 1 ml JC-1 染色液,混匀于培养箱中 37℃ 装载探针 20 min。装载探针后,将配置的 JC-1 染色缓冲液清洗各组 Müller 细胞 2 次。荧光显微镜下观察分析。

1.9 统计学处理 所有符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 20.0 统计软件进行单因素方差分析,组间比较采用 SNK 检验, $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组 Müller 细胞形态及细胞生长状态 通过显微镜简单观察可发现,高糖组细胞生长缓慢,胞体肿胀,细胞边缘折光性增强。与高糖组相比,NRG-1 处理组上述状态有所改善(图 1,封 2)。

2.2 MTT 法检测 Müller 细胞活力 与对照组相比,高糖组细胞活力明显降低;而与高糖组相比,NRG-1 处理组细胞活力有所增加( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 1。

2.3 各组 Müller 细胞丙二醛含量及 SOD 活力 与对照组相比,高糖组丙二醛含量明显增加,SOD 活力明显降低。而与高糖组相比,NRG-1 处理组丙二醛含量明显减少,SOD 活力明显增加( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 1。

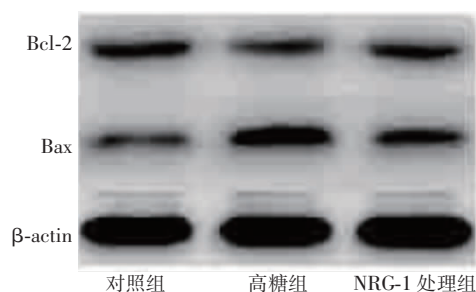
**表 1** 3 组细胞活力、丙二醛含量、SOD 活性比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	细胞活力 (%)	丙二醛 (nmol/mg)	SOD (U/ml)
对照组	100.00 $\pm$ 0.00	6.43 $\pm$ 0.10	152.52 $\pm$ 1.01
高糖组	74.92 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>	14.43 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	102.63 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>
NRG-1 处理组	89.07 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>	10.39 $\pm$ 0.14 <sup>b</sup>	134.71 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>
<i>F</i> 值	3 539.02	1 640.89	2 974.82
<i>P</i> 值	0.000	0.001	0.000

注:SOD:超氧化物歧化酶;NRG-1:神经调节蛋白-1;与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与高糖组相比,<sup>b</sup> $P < 0.01$

**2.4 流式细胞仪检测结果** 与对照组相比,高糖组细胞凋亡率明显增加;而与高糖组相比,NRG-1处理组细胞凋亡率明显降低( $P$  均  $< 0.01$ ),见表 2,图 2(封 2)。

**2.5 Western 印迹检测结果** 与对照组相比,抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达降低,促凋亡 Bax 蛋白表达明显增加,Bcl-2/Bax 比值降低;而与高糖组相比,NRG-1 处理组 Bcl-2 表达明显增加,Bax 表达明显降低,Bcl-2/Bax 比值升高( $P$  均  $< 0.01$ ),见图 3,表 2。

**图 3** Western 印迹检测 Bcl-2、Bax 蛋白相对表达

**2.6 3 组 Müller 细胞线粒体膜电位** JC-1 在正常线粒体聚集呈现红色荧光,而在线粒体损伤、膜电位降低时成单体呈现绿色荧光。与对照组相比,高糖组 Müller 细胞线粒体膜电位明显降低;而与高糖组相比,NRG-1 处理组线粒体膜电位明显增加( $P$  均  $< 0.01$ ),见图 4(封 2),表 2。

### 3 讨论

研究表明,除微血管病变外,视网膜神经组织病变在糖尿病视网膜病变的发展中也非常关键,其主要病理表现有 Müller 细胞凋亡、谷氨酸堆积的毒性作用

等<sup>[7-9]</sup>。本研究对正常的视网膜 Müller 细胞株进行高浓度葡萄糖处理进而模拟糖尿病视网膜病变时视网膜 Müller 细胞的损伤状态,结果发现,高糖状态下,Müller 细胞生长缓慢,胞体肿胀,随着培养时间的延长,氧化应激反应增强,最终会引起 Müller 细胞的凋亡。

Müller 细胞为视网膜胶质细胞,可跨越整个视网膜,几乎与每种细胞类型都有接触,其独特的位置使其对保持视网膜稳态尤为重要<sup>[1]</sup>。视网膜功能正常时,Müller 细胞可调节神经递质循环,防止谷氨酸毒性,通过空间缓冲并重新分配离子,参与视网膜循环,从而调节视网膜营养供应。任何对视网膜环境的干扰都会影响 Müller 细胞的正常功能,从而参与糖尿病视网膜病变的发生<sup>[10]</sup>。氧化应激是细胞组织病变时,活性氧簇生成增多攻击细胞及组织的现象<sup>[11]</sup>。研究发现,Müller 细胞损伤与氧化应激水平增强有关,氧化应激增强最终会引起 Müller 细胞的凋亡<sup>[12-13]</sup>。丙二醛是脂质过氧化代谢产物,SOD 是自由基清除剂。丙二醛含量上调,SOD 活性下降,可间接反映组织氧化应激程度<sup>[14]</sup>。本研究发现,高糖环境下 Müller 细胞生长缓慢,胞体肿胀,丙二醛含量升高,SOD 活性降低,细胞活力明显下降,而细胞凋亡率明显增加,提示高糖环境下会引起 Müller 细胞氧化应激增强,从而导致细胞凋亡。对高糖环境下的 Müller 细胞给予 NRG-1 治疗后,丙二醛含量降低,SOD 活性增加,细胞活力明显增加,而凋亡率明显下降。说明 NRG-1 可降低氧化应激水平,抑制高葡萄糖诱导的 Müller 细胞凋亡。NRG-1 在神经病变领域一直备受关注。最新研究发现,NRG-1 通过细胞外信号调节激酶 5 依赖的丝裂原活化蛋白激酶途径,减缓脑缺血-再灌注损伤的病变<sup>[15]</sup>。另外,NRG-1 还可通过调节酪氨酸激酶受体 2 受体通路,缓解脊髓运动神经元相关疾病的损伤<sup>[16]</sup>。也有研究发现,NRG-1 通过调节小胶质细胞炎症反应,对

**表 2** 3 组 Müller 细胞凋亡率、Bcl-2、Bax 表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	凋亡率 (%)	Bcl-2 (%)	Bax (%)	线粒体膜电位 (%)
对照组	1.87 $\pm$ 0.05	20.67 $\pm$ 0.47	14.58 $\pm$ 0.46	5.21 $\pm$ 0.03
高糖组	18.28 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	12.51 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	28.05 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>	1.77 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>
NRG-1 处理组	5.26 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	16.54 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	22.13 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>	2.37 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
<i>F</i> 值	652.32	510.09	110.80	938.10
<i>P</i> 值	0.001	0.000	0.000	0.001

注:NRG-1:神经调节蛋白-1;与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与高糖组相比,<sup>b</sup> $P < 0.01$

脑卒中大鼠具有神经保护作用<sup>[17]</sup>。Müller细胞轴突内含有丰富的线粒体,糖尿病状态下易造成线粒体损伤,从而导致线粒体膜电位降低,凋亡相关蛋白表达异常,最终引起细胞凋亡。本研究发现,高糖环境下Bcl-2表达下降,Bax表达增加,Bcl-2/Bax比值降低,线粒体膜电位降低,细胞凋亡率增加,提示高糖环境下Müller细胞的凋亡可能与线粒体凋亡通路有关。给予NRG-1处理后,Bcl-2表达增加,Bax表达下降,Bcl-2/Bax比值增加,线粒体膜电位也随之增加,细胞凋亡率明显下降,说明NRG-1可抑制Müller细胞的凋亡,其机制可能与抑制线粒体凋亡途径有关。

综上所述,高糖环境下可激活氧化应激反应,从而诱导Müller细胞凋亡。NRG-1可抑制高糖诱导的Müller细胞凋亡,其机制可能与抑制线粒体凋亡途径有关。但因糖尿病发病机制复杂,NRG-1对糖尿病时Müller细胞损伤的作用还有待进一步探讨。

### 参 考 文 献

- [1] Bringmann A, Iandiev I, Pannicke T, et al. Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis: neuroprotective and detrimental effects[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2009, 28(6): 423-451. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2009.07.001.
- [2] Nicholson BP, Schachar AP. A review of clinical trials of anti-VEGF agents for diabetic retinopathy[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2010, 248(7): 915-930. DOI: 10.1007/s00417-010-1315-z.
- [3] Gupta N, Mansoor S, Sharma A, et al. Diabetic retinopathy and VEGF[J]. *Open Ophthalmol J*, 2013, 7: 4-10. DOI: 10.2174/1874364101307010004.
- [4] Fricker FR, Bennett DL. The role of neuregulin-1 in the response to nerve injury[J]. *Future Neurol*, 2011, 6(6): 809-822.
- [5] Li Y, Xu Z, Ford GD, et al. Neuroprotection by neuregulin-1 in a rat model of permanent focal cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2007, 1184: 277-283. DOI: 10.1016/j.brainres.2007.09.037.
- [6] 冯灵美, 蔡季平, 魏锐利. Neuregulin-1 对大鼠急性视神经损伤的保护作用研究[J]. *中国实用眼科杂志*, 2010, 28(7): 789-793. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-4443.2010.07.034.
- [7] 刘晓妮, 王颖, 李桃桃, 等. 血管紧张素转换酶基因 rs4353 多态性与糖尿病微血管病变的相关性研究[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2018, 38(3): 149-153. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2018.03.002.
- [8] Karti O, Nalbantoglu O, Abali S, et al. Retinal ganglion cell loss in children with type 1 diabetes mellitus without diabetic retinopathy[J]. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina*, 2017, 48(6): 473-477. DOI: 10.3928/23258160-20170601-05.
- [9] Altmann C, Schmidt MHH. The role of microglia in diabetic retinopathy: inflammation, microvasculature defects and neurodegeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): pii: E110. DOI: 10.3390/ijms19010110.
- [10] Han N, Yu L, Song Z, et al. Agmatine protects Müller cells from high-concentration glucose-induced cell damage via N-methyl-D-aspartic acid receptor inhibition[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 1098-1106. DOI: 10.3892/mmr.2015.3540.
- [11] Maiese K. New insights for oxidative stress and diabetes mellitus[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2015, 2015: 875961. DOI: 10.1155/2015/875961.
- [12] Zhang XH, Feng ZH, Wang XY. The ROCK pathway inhibitor Y-27632 mitigates hypoxia and oxidative stress-induced injury to retinal Müller cells[J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(3): 549-555. DOI: 10.4103/1673-5374.228761.
- [13] Barber AJ, Lieth E, Khin SA, et al. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin[J]. *J Clin Invest*, 1998, 102(4): 783-791. DOI: 10.1172/JCI2425.
- [14] Hou S, Shen PP, Zhao MM, et al. Mechanism of mitochondrial connexin43's protection of the neurovascular unit under acute cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(5): pii: E679. DOI: 10.3390/ijms17050679.
- [15] Gu N, Ge K, Hao C, et al. Neuregulin-1 $\beta$  effects on brain tissue via ERK5-dependent MAPK pathway in a rat model of cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *J Mol Neurosci*, 2017, 61(4): 607-616. DOI: 10.1007/s12031-017-0902-4.
- [16] Lasiene J, Komine O, Fujimori-Tonou N, et al. Neuregulin 1 confers neuroprotection in SOD1-linked amyotrophic lateral sclerosis-mice via restoration of C-boutons of spinal motor neurons[J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2016, 4: 15. DOI: 10.1186/s40478-016-0286-7.
- [17] Simmons LJ, Surles-Zeigler MC, Li Y, et al. Regulation of inflammatory responses by neuregulin-1 in brain ischemia and microglial cells *in vitro* involves the NF-kappa B pathway[J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1): 237. DOI: 10.1186/s12974-016-0703-7.

(收稿日期: 2019-04-22)  
(本文编辑: 刘欣)

(上接第 372 页)

- [17] Cheserek MJ, Wu GR, Ntazinda A, et al. Association between thyroid hormones, lipids and oxidative stress markers in subclinical hypothyroidism[J]. *J Med Biochem*, 2015, 34(3): 323-331. DOI: 10.2478/jomb-2014-0044.
- [18] Türemen EE, Çetinarslan B, Şahin T, et al. Endothelial dysfunction and low grade chronic inflammation in subclinical hypothyroidism due to autoimmune thyroiditis[J]. *Endocr J*, 2011, 58(5): 349-354. DOI: 10.1507/endocrj.k10e-333.
- [19] Turkmen K. Inflammation, oxidative stress, apoptosis, and autophagy in diabetes mellitus and diabetic kidney disease; the Four Horsemen of the Apocalypse[J]. *Int Urol Nephrol*, 2017, 49(5): 837-844. DOI: 10.1007/s11255-016-1488-4.
- [20] Bjornstad P, Maahs DM, Cherney DZ, et al. Insulin sensitivity is an important determinant of renal health in adolescents with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(11): 3033-3039. DOI: 10.2337/dc14-1331.
- [21] Hsu CC, Chang HY, Huang MC, et al. Association between insulin resistance and development of microalbuminuria in type 2 diabetes; a prospective cohort study[J]. *Diabetes Care*, 2011, 34(4): 982-987. DOI: 10.2337/dc10-1718.
- [22] Parle JV, Franklyn JA, Cross KW, et al. Prevalence and follow-up of abnormal thyrotrophin (TSH) concentrations in the elderly in the United Kingdom[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1991, 34(1): 77-83. DOI: 10.1111/j.1365-2265.1991.tb01739.x.
- [23] Fallahi P, Ferrari SM, Elia G, et al. Myo-inositol in autoimmune thyroiditis, and hypothyroidism[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2018, 19(4): 349-354. DOI: 10.1007/s11154-018-9477-9.
- [24] Suher M, Koc E, Ata N, et al. Relation of thyroid dysfunction, thyroid autoantibodies, and renal function[J]. *Ren Fail*, 2005, 27(6): 739-742. DOI: 10.1080/08860220500243338.
- [25] 任惠珠, 王珊珊, 郑妙艳, 等. 肾小球基底膜中胶原的合成、降解与糖尿病肾病[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2015, 35(4): 252-254. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2015.04.010.

(收稿日期: 2019-04-23)  
(本文编辑: 刘欣)