

万雪超,卢秋芬,何玉玲,等. 妊娠糖尿病母鼠胎儿心脏组织 CD4<sup>+</sup>T 细胞水平表达及相关机制研究[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(8): 93-98.

Wan XC, Lu QF, He YL, et al. Down-regulation of CD4<sup>+</sup> T cells in fetal heart tissue of rats with gestational diabetes mellitus [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(8): 93-98.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.08.015

# 妊娠糖尿病母鼠胎儿心脏组织 CD4<sup>+</sup> T 细胞水平表达及相关机制研究

万雪超,卢秋芬,何玉玲,方 艳

(贵州省铜仁市人民医院,贵州 铜仁 554300)

**【摘要】 目的** 探讨分析妊娠糖尿病母鼠胎儿心脏组织 CD4<sup>+</sup> T 细胞水平表达及其相关机制。**方法** 将怀孕的 84 只雌性 SD 大鼠随机分为正常对照组(NC 组)和 STZ 诱导的妊娠糖尿病模型组(gestational diabetes mellitus, GDM 组),免疫组化检测不同组别胎鼠心脏组织中 CD4<sup>+</sup>T 细胞水平, Western blotting 检测 IL-17、IL-4、Tim-3、PD-1 表达,RT-PCR 检测 miR-223-3p 表达。**结果** GDM 组 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 阳性细胞表达数量[(46.41±10.94)%]低于 NC 组[(21.63±10.94)%],差异有统计学意义( $P<0.01$ )。GDM 组 IL-17、Tim-3 及 PD-1 表达量均高于 NC 组,而 IL-4 低于 NC 组,差异有统计学意义( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。GDM 组 miR-233-3p 相对表达量(0.682±0.104)低于 NC 组(0.466±0.117),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** GDM 子鼠心脏组织异常可能与 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达下降有关,而这一作用机制可能与胎鼠心脏组织中 miR-233-3p 表达下调及其介导的炎症反应有关。

**【关键词】** 糖尿病;妊娠期;CD4<sup>+</sup>T 细胞;心脏组织;miR-233-3p

**【中图分类号】** R-33      **【文献标识码】** A      **【文章编号】**1671-7856(2019) 08-0093-06

## Down-regulation of CD4<sup>+</sup> T cells in fetal heart tissue of rats with gestational diabetes mellitus

WAN Xuechao, LU Qiufen, HE Yuling, FANG Yan  
(Tongren City People's Hospital, Tongren 554300, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the level of CD4<sup>+</sup> T cells and related mechanisms in fetal heart tissue from female rats with gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods** Eighty pregnant female Sprague-Dawley rats were randomly divided into normal control (NC) group and GDM group induced by streptozotocin. CD4<sup>+</sup> cell levels were detected in the fetal heart tissues of different groups. Western blotting was performed to detect the interleukin (IL)-17, IL-4, T-cell immunoglobulin mucin (Tim)-3, and programmed cell death protein (PD)-1 expressions, and real-time PCR was used to detect the expression of miR-233-3p. **Results** The expression of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg cells in the GDM group (46.41±10.94%) was significantly higher than in the NC group (21.63±10.94%) ( $P<0.01$ ). Expression levels of IL-17, Tim-3, and PD-1 were also significantly higher in the GDM group than in the NC group, while the expression of IL-4 was significantly lower ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The relative expression of miR-233-3p in the GDM group (0.682±0.104) was significantly lower than in the NC group (0.466±0.117) ( $P<0.05$ ). **Conclusions** Cardiac tissue abnormalities in GDM rats may be associated with the down-regulated expression of CD4<sup>+</sup> T cells, and the underlying mechanism may be

associated with the down-regulation of miR-233-3p expression in the fetal rat heart tissue.

【Keywords】 diabetes mellitus; pregnancy; CD4<sup>+</sup> T cells; cardiac tissue; miR-233-3p; rat

妊娠糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)发病率呈逐年上升的趋势,研究发现妊娠期高血糖可导致胎儿各种先天畸形,如导致心血管畸形和神经系统畸形的几率是正常妊娠的 3~5 倍<sup>[1]</sup>。GDM 引起子代心肌微结构异常的比例明显增多<sup>[2]</sup>。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞作为部分高表达 IL-2 受体  $\alpha$  链分子的 CD4<sup>+</sup> T 细胞,其表达水平降低与病毒性心肌炎、心力衰竭、冠心病等多种心脏疾病的发生发展密切相关,Tregs 的激活具有抑制 CD4<sup>+</sup> T 细胞介导的炎症反应以及免疫细胞杀伤功能<sup>[3-5]</sup>;炎症状态下,CD4<sup>+</sup>细胞亚群中 Th2 细胞(分泌 IL-4)及 Th17 细胞(分泌 IL-17)表达失衡。研究发现<sup>[6]</sup>,程序性凋亡分子-1(PD-1)及免疫球蛋白黏蛋白结构域相关分子 3(Tim-3)对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞具有调节作用,且介导 CD4<sup>+</sup> T 细胞所产生的炎症反应。2 型糖尿病存在明显的免疫功能下降,而 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞水平下降参与了 2 型糖尿病的发生发展,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞及 IL-4 高表达有助于机体胰岛功能的保护<sup>[7]</sup>。需要指出的是,在妊娠高血糖状态下 CD4<sup>+</sup> T 细胞水平表达是否存在差异,妊娠糖尿病母鼠胎鼠心脏功能异常是否与 CD4<sup>+</sup> T 细胞水平有关,值得研究报道。

miRNAs 是真核生物钟较为常见的一类内源性具有基因或蛋白调控作用的非编码 RNA,其具有调控糖尿病及其并发症发生发展的作用。通过现有文献以及课题组前期研究显示,糖尿病患者存在多种 miRNAs 表达差异。其中,miR-233-3p 在 2 型糖尿病及其并发症中呈显著低表达<sup>[8]</sup>;miR-233-3p 除了参与血糖代谢以外,还参与动脉粥样硬化病变,其在冠心病机体表达量显著降低<sup>[9]</sup>;在烟曲霉诱导的 CD4<sup>+</sup>细胞中,miR-233-3p 低表达致多种炎性因子呈高表达状态<sup>[10]</sup>。但需要指出的是,miR-233-3p 是否参与 GDM 的发生以及其对 GDM 子代心脏功能是否有影响,miR-233-3p 是否具有调节 CD4<sup>+</sup> T 细胞及其介导的炎症反应,进而导致 GDM 子代心脏功能异常是值得进一步深入研究的。

本研究目的主要在于探讨 GDM 胎鼠心脏组织中 miR-233-3p 表达情况,以及其对 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达水平与其介导的炎症因子释放的影响,以期为临床有效预防及治疗 GDM 子代心脏功能异常提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

清洁级 SD 大鼠(采购于广东省实验动物中心, [SCXK(粤)2018-0027],雌、雄性分别为 100 只、50 只(雌性 250~290 g,雄性 270~300 g)。动物饲养于恒温(25℃左右)、相对湿度在 40%~70%、安静的动物房中。实验期间所有动物均正常进食、饮水,不给予胰岛素以及其他任何降糖药物。所有动物实验均经伦理委员会审查(动物伦理审查号:201803033)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 模型建立

实验前大鼠自由进食饲料,每天维持 12 h 灯光照明,每隔一天更换垫料一次,记录体重以及血糖含量(血糖含量在 7 mmol/L 者剔除)。参照国外 Rees 等<sup>[11]</sup>的造模方法复制 GDM 模型,具体方法为:受试动物按照雌雄 2:1 的比例进行合笼,次日早晨 5:00 检查阴栓,查到有阴栓则定为交配成功,并记为妊娠 0 d。将妊娠成功的 84 只母鼠进行编号,随机分为模型组(链脲佐菌素 streptozotocin, STZ 组,  $n=42$  只)和正常对照组(NC 组,  $n=42$  只)。其中 STZ 组孕鼠于确定受精后的 12 h 后,注射含量为 45 mg/kg 的 STZ(溶于柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液中),NC 组注射相应体积的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。注射 72 h 后即妊娠第 4 天,经眼眶取血,离心分离血清测定空腹血糖含量在 11.1 mmol/L,随机血糖在 17.9 mmol/L,尿糖 > ++,表明为妊娠糖尿病,即造模成功。

#### 1.2.2 心脏标本组织收集及处理

所有孕鼠均于妊娠第 20 天麻醉,剖腹取出子宫,观察胎鼠的个数(是否存在死胎、吸收胎等),将胎鼠置于天平上称重并观察是否存在其他畸形情况。取出每只孕鼠中所有子鼠心脏组织一并称重,洗净后按照心脏组织每 5.00 mg 置于液氮中保存,用于 RT-PCR 检测以及相关蛋白检测用。剩余心脏组织用于 HE 染色及免疫组化病理学检查。

#### 1.2.3 免疫组化检测胎鼠心脏组织中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞表达

采用福州迈新生物技术开发有限公司提供的两步法检测 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞表达情况。具体

操作步骤为:将切好的标本置于 60℃ 烤箱中 1 h,石蜡切片经常规脱蜡、水化、蒸馏水冲洗 3 次,每次冲 3 min,取 800 mL 柠檬酸缓冲液于压力锅中,加热至沸腾,将经水化后的组织放置于耐高温塑料架上,并置于沸腾的柠檬酸缓冲液中 1.5 min,取出后自然冷却至室温,采用 PBS 冲洗 3 次,每次冲洗 3 min;将切片浸入 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液中,室温放置 20 min 后取出,采用 PBS 冲洗 3 次,每次 3 min,加入一抗(兔抗人 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 多克隆抗体,体积比 1:500,购自美国 Stana 公司)室温孵育 1.5 h;收集一抗后,采用 PBS 冲洗 3 次,每次 3 min,用滤纸轻轻吸干 PBS 后加入二抗(过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG,体积比为 1:1000)室温孵育 1 h, PBS 冲洗 3 次,每次 3 min;加入 DAB 显色剂,苏木素复染,切片经梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性胶固定,显微镜下观察。以细胞膜以及细胞浆中出现棕黄色信号为阳性细胞。

1.2.4 胎鼠心脏组织中 miR-233-3p 表达

采用实时荧光定量 PCE 法,以 NADPH 作为内参,检测胎鼠心脏组织中 miR-233-3p 表达情况。采用 Trizol 法提取胎鼠心脏组织中总 RNA,逆转录为 cDNA,取 2 μL 用于 PCR 反应,反应体系为 25 μL, miR-233-3p 正向引物: 5'-GTCATTGTTGAGTGCTCGTAACGC-3',反向引物: 5'-CGTGGTCGGTCGGTAAACGCGTCCG-3'; NADPH 正向引物: 5'-CAGGAGGTTAGTGCTACGTATGCTTGC-3',反向引物: 5'-CAAGGCTGCGTGC GGCTCTCGA-3'。反应条件为 95℃ 预变性 1 min,94℃ 变性 15 s,延伸 72℃ 25 s,退火 65℃ 30 s,共 40 个循环;NADPH 退火条件为 60℃ 20 s,其他同上。采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法进行数据的相对定量分析。

1.2.5 Western blotting 检测组织中 IL-17、IL-4、Tim-3 及 PD-1 表达

取胎鼠心脏组织约 100 mg 置于匀浆器中,并加入蛋白酶抑制剂的裂解液 500 μL 在冰上进行裂解。

按照试剂盒说明要求提取蛋白,加入 5× SDS 上样缓冲液煮沸 7~8 min,经电泳、转膜,脱脂奶粉封闭、洗膜加入一抗、室温孵育 4℃ 封闭过夜;TBST 洗膜 3 次,加入二抗。将化学荧光发光底物均匀地加到膜的表面,置于曝光试剂盒中曝光,显影、定影等,采用凝胶图像处理系统分析条带灰度值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件包处理所得数据,计量资料以平均数±标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,采用两个独立样本的 *t* 检验,计数资料以百分率表示,采用  $\chi^2$  检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况分析

GDM 组母鼠平均血糖值 (17.36±0.62) mmol/L 高于 NC 组母鼠 (5.81±0.57) mmol/L 且差异有统计学意义 (*P*<0.01)。GDM 组子鼠吸收胎、死胎、畸形胎例数高于 NC 组,差异有统计学意义。(表 1)

2.2 各组胎鼠心脏组织病理变化

通过 HE 染色显示,GDM 组与 NC 组比较,心肌组织增厚明显,高倍镜下可见 GDM 组心肌纤维排列稀疏,心肌显微断裂,心肌细胞肿胀,细胞核肥大或固缩,而 NC 组袭击细胞排列整齐、致密,心肌显微无断裂,细胞核染色清晰。(图 1)

2.3 免疫组化检测 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞表达情况

采用免疫组化检测显示,GDM 组 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 阳性细胞表达数量 [(46.41±10.94)%] 低于 NC 组 [(21.63±10.94)%],差异有统计学意义 (*P*<0.05)。(图 2)

2.4 RT-PCR 检测组织中 miR-233-3p 表达

采用 RT-PCR 检测组织中 miR-233-3p 表达,结果显示,GDM 组 miR-233-3p 相对表达量 (0.682±0.104) 低于 NC 组 (0.466±0.117),差异有统计学意义 (*P*<0.01)。(图 3)

表 1 两组胎鼠畸形胎比率比较(*n*=42,%)  
Table 1 Comparison of abnormal fetal malformation rate of the fetal rats in two groups

| 组别<br>Groups | 正常活胎<br>Normal live birth | 畸形胎<br>Malformations   |                  |                            |            | $\chi^2$ | <i>P</i> 值<br><i>P</i> value |
|--------------|---------------------------|------------------------|------------------|----------------------------|------------|----------|------------------------------|
|              |                           | 吸收胎<br>Absorbing fetus | 死胎<br>Stillbirth | 畸心胎<br>Heart malformations | 合计<br>All  |          |                              |
| NC           | 257 (91.79)               | 11 (3.93)              | 8 (2.86)         | 5 (1.79)                   | 23 (8.21)  | 39.554   | 0.000                        |
| GDM          | 167 (70.46)               | 20 (8.44)              | 24 (10.13)       | 26 (10.97)                 | 70 (29.54) |          |                              |

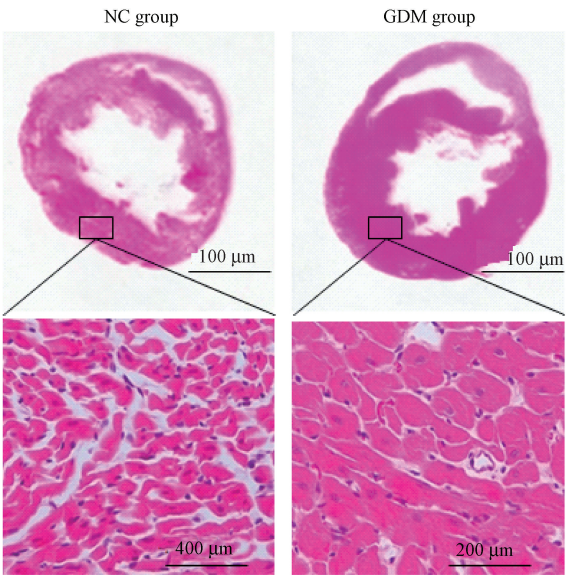


图 1 心脏组织的病理学改变。HE 染色。  
Figure 1 Histological changes in the heart tissues of fetal rats. HE staining.

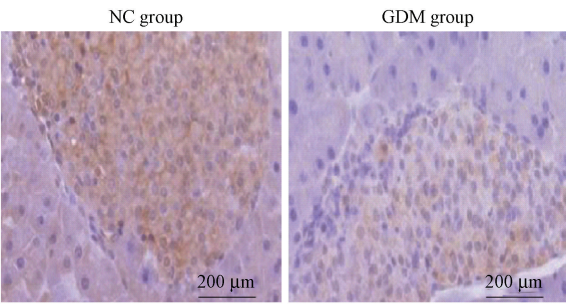


图 2 免疫组化检测胎鼠心脏组织中 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达  
Figure 2 CD4<sup>+</sup> T cells in the fetal rat heart tissues. Immunohistochemical staining.

2.5 Western blotting 检测 IL-17、IL-4、Tim-3 及 PD-1 表达

采用 Western blotting 检测分析显示,GDM 组 IL-17、Tim-3 及 PD-1 表达量均高于 NC 组,而 IL-4 显著低于 NC 组,差异有统计学意义( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )(图 4)。

3 讨论

GDM 可导致胎儿发育异常,尤其是导致胎儿心脏畸形的发生率明显增高。研究显示<sup>[12]</sup>,GDM 孕妇中胎儿心血管畸形发生率是正常孕妇的 3~5 倍,但高血糖或糖尿病导致胚胎发育畸形的机制研究尚不明确。有研究认为<sup>[13]</sup>,高血糖或 GDM 与细胞免疫功能失衡有关,高血糖与 CD4<sup>+</sup>细胞表达降低显著相关,研究发现<sup>[14]</sup>,糖尿病患者 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞比例显著低于健康人员,且与糖化血红蛋白呈负相关;通过胰岛素治疗或降血糖药物治疗,患者血清中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞水平及 IL-4 等显著升高。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 作为 CD4<sup>+</sup> T 细胞特有的一个亚群,其表达量降低导致多种心脏疾病,如冠心病,病毒性心肌炎、慢性心力衰竭等疾病的发生发展;以上表明血糖升高与机体免疫功能紊乱存在显著相关性,而免疫功能紊乱是诱发多种心脏疾病的重要原因。通过本研究,发现 GDM 组胎鼠心脏组织中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 表达量显著低于 NC 组,提示妊娠高血糖引起的免疫功能紊乱,可能导致胎儿心脏发育不良。

CD4<sup>+</sup> T 细胞介导多种炎症因子参与糖尿病、心肌重构、心肌炎等疾病的发生发展。不同的 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群发挥不同的作用,促炎性 Th 细胞亚群包括 Th1、Th17 等比例上调或功能亢进,而抗炎性的 Th2、Treg 等比例下降或功能受损是促发慢性炎症状态的直接因素<sup>[15]</sup>。血糖增高可导致巨噬细胞吞噬功能下降、Th1/Th2 比例失调、细胞因子表达异常等。研究发现<sup>[16]</sup>,在血管紧张素 II 诱导的高血压大鼠模型中,当灌注血管紧张素 II 后 Th2 型细胞因子 IL-4 的数量明显下降,而 Th1 型细胞因子 IFN- $\gamma$  明显增高,表明 Th1/Th2 失衡参与了临床心血管事件的发生。Th17 细胞主要参与介导慢性炎症、自身免疫性疾病以及肿瘤等疾病的发生,其特异性的分泌 IL-17 细胞因子,能够发挥较强的促炎症作用,参与

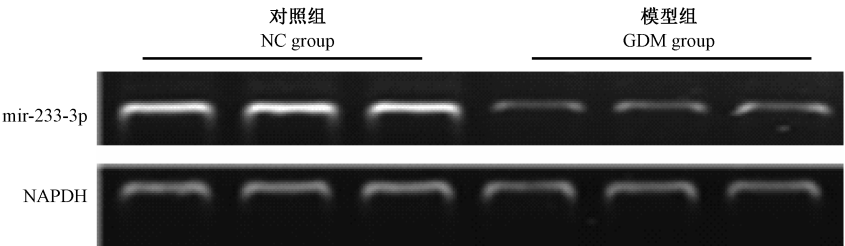
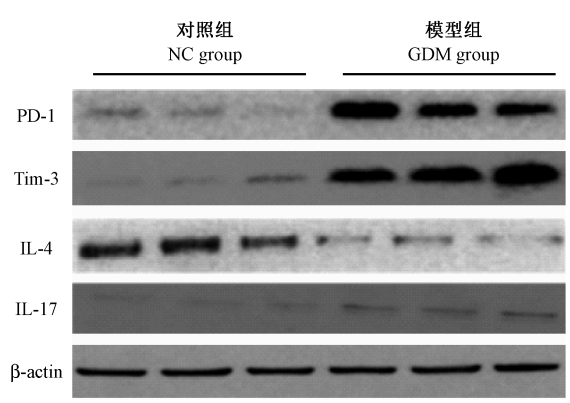


图 3 RT-PCR 检测胎鼠心脏组织中 miR-233-3p 表达  
Figure 3 Detection of miR-233-3p expression in fetal rat heart tissues by RT-PCR



**图 4** Western blotting 检测两组胎鼠心脏组织中 PD-1、Tim-3、IL-4、IL-17 表达情况  
**Figure 4** Western blotting detection of PD-1, Tim-3, IL-4, IL-17 expressions in the fetal rat heart tissues

诱导炎症细胞因子、趋化因子的表达<sup>[17]</sup>。那么, CD4<sup>+</sup> T 细胞介导的炎症反应是否参与 GDM 子代心肌结构与功能异常, 研究报道较少。通过本研究, 相关人员发现 GDM 组胎儿心脏组织中 IL-17 表达量显著增高, 而 IL-4 表达量显著降低, 提示 GDM 胎儿存在明显的 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达差异。

PD-1 在多种疾病中发挥重要作用, 其与程序性细胞死亡分子受体 1 (PD-L1) 结合后组成 PD-1/PD-L1 信号通路, 具有诱导 T 淋巴细胞的凋亡, 抑制 T 细胞的活化与增殖。研究显示<sup>[18]</sup>, 在 2 型糖尿病患者血清中 CD4<sup>+</sup>PD-1<sup>+</sup> 细胞占比显著增高, 而 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞比例下降, 提示在高血糖下, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞水平与 PD-1 表达呈负相关。在心房颤动、动脉粥样硬化等疾病中也显示<sup>[19-20]</sup>, PD-1 在 CD4<sup>+</sup> 细胞中呈高表达, 且具有促进炎症细胞因子的释放作用。Tim3 被研究证实特异性表达于 Th1 细胞, 具有活化 Th1 细胞的作用。研究发现, 在糖尿病肾病、先天性心脏病患者血清中 Tim3 呈高表达。但 CD4<sup>+</sup> 细胞中 PD-1、Tim3 表达是否与 GDM 胎鼠心脏结构和功能异常有关, 是值得研究的。通过本研究, 相关人员发现 GDM 胎鼠心脏组织中 PD-1、Tim3 均显著高于 NC 组, 提示 PD-1、Tim3 高表达参与了 GDM 子代心脏组织结构功能异常的发生发展。

多项研究显示<sup>[21-22]</sup>, microRNAs 参与调控 T 淋巴细胞亚群表达, 调控糖尿病及其并发症、心脏疾病的发生发展, 对于 GDM 胎儿心脏组织存在哪些 microRNAs 表达差异值得研究。研究发现<sup>[23-24]</sup>, miR-233-3p 在缺血性心肌微血管内皮细胞中呈低

表达, 而且与糖尿病肾病严重程度呈负相关, 糖尿病肾病严重程度越高, miR-233-3p 表达量越低, 以上提示 miR-233-3p 表达可能参与了糖尿病、心脏疾病的发生发展。另有研究发现, miR-CD4<sup>+</sup> T 细胞中 miR-233-3p 低表达促进了 Th17 分化以及 IL-17 表达, 进而诱导炎症级联反应。目前, miR-233-3p 在 GDM 胎鼠中表达如何研究较少。通过本研究发现, GDM 组胎鼠心脏组织中 miR-233-3p 表达量显著低于 NC 组, 提示 GDM 胎鼠心脏功能异常可能是与 miR-233-3p 表达小调, 进而介导 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达下降, 导致多种炎症因子表达异常有关。

综上, GDM 子鼠心脏结构与功能异常可能与 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达下降有关, 而这一作用机制可能与胎鼠心脏组织中 miR-233-3p 表达下调及其介导的炎症因子表达异常有关。

# 参考文献:

- [ 1 ] 吴瑕, 黄婉仪, 韩莎莎, 等. 转录因子 Hand2 在妊娠期糖尿病胎鼠心脏发育过程中的表达 [J]. 中国病理生理杂志, 2014, 30(10): 1765-1771.
- [ 2 ] Kermani ES, Nazari Z, Mehdizadeh M, et al. Gestational diabetes influences the expression of hypertrophic genes in left ventricle of rat's offspring [J]. Iran J Basic Med Sci, 2018, 21(5): 525-528.
- [ 3 ] Lu Y, Ma SF, Wang H, et al. The expression and clinical correlations of 4-1BB on peripheral CD4<sup>+</sup> T cell subsets in patients with coronary artery disease. A cross-sectional pilot study [J]. Clin Chim Acta, 2018, 487: 341-348.
- [ 4 ] Perera MJ, Reina SA, Elfassy T, et al. Gestational diabetes and cardiovascular risk factors and disease in U.S. Hispanics/Latinas in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos (HCHS/SOL) [J]. Women Health, 2018, 59(5): 481-495.
- [ 5 ] Zhou DP, Ge LS, Chen GY, et al. The cholinergic anti-inflammatory pathway ameliorates acute viral myocarditis in mice by regulating CD4<sup>+</sup> T cell differentiation [J]. Virulence, 2018, 9(1): 1364-1376.
- [ 6 ] Gao DN, Yang ZX, Qi QH. Roles of PD-1, Tim-3 and CTLA-4 in immunoregulation in regulatory T cells among patients with sepsis [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(10): 18998-19005.
- [ 7 ] 邓利娟, 吴永新, 林霖, 等. 成人隐匿性自身免疫性糖尿病患者血糖变化对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 调节性 T 细胞的影响 [J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(16): 3605-3607.
- [ 8 ] Tang Q, Li MY, Su YF, et al. Absence of miR-223-3p ameliorates hypoxia-induced injury through repressing cardiomyocyte apoptosis and oxidative stress by targeting KLF15 [J]. Eur J Pharmacol, 2018, 841: 67-74.
- [ 9 ] Hourigan ST, Solly EL, Nankivell VA, et al. The regulation of miRNAs by reconstituted high-density lipoproteins in diabetes-

impaired angiogenesis [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13596.

[10] 唐晴琴. 烟曲霉诱导 CD4<sup>+</sup> T 细胞下调 miR-223-3p 的表达及其对 Th17 细胞分化的作用机制 [D]. 上海: 第二军医大学, 2016.

[11] Ress DA, Amoladu JC. Animal models of diabetes mellitus [J]. *Diabet Med*, 2005, 22(4): 359-370.

[12] Zhu J, Gao B. Simvastatin combined with aspirin increases the survival time of heart allograft by activating CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg cells and enhancing vascular endothelial cell protection [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2015, 24(3): 173-178.

[13] 尹小芳, 葛海波, 马建华, 等. 肺结核合并糖尿病患者 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞与血糖的相关分析 [J]. *临床肺科杂志*, 2015, 20(11): 1946-1948.

[14] 郭丽侠, 杨宇艳, 高彩云. 早产儿免疫功能变化及其感染危险因素分析 [J]. *山东医药*, 2015, 55(23): 44-45.

[15] Misra R, Shah S, Fowell D, et al. Preterm cord blood CD4<sup>+</sup> T cells exhibit increased IL-6 production in chorioamnionitis and decreased CD4<sup>+</sup> T cells in bronchopulmonary dysplasia [J]. *Hum Immunol*, 2015, 76(5): 329-338.

[16] Zhang Y, Zhang Y, Gu W, et al. Th1/Th2 cell differentiation and molecular signals [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 841: 15-44.

[17] Kuriya G, Uchida T, Akazawa S, et al. Double deficiency in IL-17 and IFN- $\gamma$  signalling significantly suppresses the development of diabetes in the NOD mouse [J]. *Diabetologia*, 2013, 56(8): 1773-1780.

[18] Wang L, Wang X, Tong L, et al. Recovery from acute lung injury can be regulated via modulation of regulatory T cells and Th17 cells [J]. *Scand J Immunol*, 2018, 88(5): e12715.

[19] Kohnken R, Kodigepalli KM, Mishra A, et al. MicroRNA-181 contributes to downregulation of SAMHD1 expression in CD4<sup>+</sup> T-cells derived from Sèzary syndrome patients [J]. *Leuk Res*, 2017, 52: 58-66.

[20] Celada LJ, Kropski JA, Herazo-Maya JD, et al. PD-1 up-regulation on CD4<sup>+</sup> T cells promotes pulmonary fibrosis through STAT3-mediated IL-17A and TGF- $\beta$ 1 production [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(460): eaar8356.

[21] Fayyad-Kazan H, Hamade E, Rouas R, et al. Downregulation of microRNA-24 and -181 parallels the upregulation of IFN- $\gamma$  secreted by activated human CD4 lymphocytes [J]. *Hum Immunol*, 2014, 75(7): 677-685.

[22] Lin X, Yang P, Reece EA, et al. Pregestational type 2 diabetes mellitus induces cardiac hypertrophy in the murine embryo through cardiac remodeling and fibrosis [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2017, 217(2): 216. e1-216.e13.

[23] Qin D, Wang X, Li Y, et al. MicroRNA-223-5p and -3p cooperatively suppress necroptosis in ischemic/reperfused hearts [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(38): 20247-20259.

[24] 何君一, 李斓, 李嵘, 等. miR-223-3p 在不同分期的糖尿病肾脏疾病血浆中的表达差异及意义 [J]. *昆明医科大学学报*, 2018, 39(5): 45-49.

[ 收稿日期 ] 2018-11-22

(上接第 78 页)

[2] 李菲, 黄琦, 李向阳, 等. 金钗石斛提取物对肾上腺素所致血糖升高的影响 [J]. *遵义医学院学报*, 2008, 31(1): 11-12.

[3] 张明辉. 金钗石斛总生物碱对 db/db 小鼠血糖的影响及机制研究 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2016.

[4] 张羽飞, 孟娜娜, 李厚忠, 等. 柚皮苷对糖尿病大鼠心肌病氧化应激及内质网应激的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(3): 596-602.

[5] 陈海英, 刘欣欣, 张趁华, 等. 染料木黄酮对糖尿病大鼠骨微结构的影响及其机制初探 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2016, 8(6): 356-360.

[6] 张家庆. 新的 HOMA-IR——从空腹血糖、空腹胰岛素测胰岛素抵抗 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2005, 13(4): 245-246.

[7] 寿升芸, 魏骏骏, 何晓芬, 等. 低频电针对 2 型糖尿病神经痛大鼠 DRGP2X3 受体的抑制作用 [J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(1): 54-59.

[8] 上官若男, 朱斌, 尚画雨, 等. 改善 II 型糖尿病大鼠糖代谢运动模型的建立 [J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(3): 275-280.

[9] 罗惠金, 刘艳, 陈容平, 等. 沙格列汀对糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病大鼠模型肝脏炎症损伤的保护作用及机制 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2015, 31(6): 538-540.

[10] 龚云, 张鑫. 运动对糖尿病大鼠胰岛的影响及其机制探讨 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(8): 22-27.

[11] 杨璐, 宋美情, 张秋玲, 等. 吡格列酮、二甲双胍对 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者血清视黄醇结合蛋白 4、脂联素水平的影响比较 [J]. *中国医学科学院学报*, 2014, 36(3): 309-312.

[12] 王战建, 张耀, 宋庆芳, 等. 二甲双胍对高糖高脂饮食诱导的糖尿病大鼠脂肪肝治疗作用的研究 [J]. *中国实用内科杂志*, 2006, 26(20): 1603-1605.

[13] 张雪琴, 赵庭梅, 刘静, 等. 石斛化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中草药*, 2018, 49(13): 3174-3182.

[14] 周威, 夏杰, 孙文博, 等. 金钗石斛的化学成分和药理作用研究现状 [J]. *中国新药杂志*, 2017, 26(22): 2693-2700.

[15] 吴昊姝, 徐建华, 陈立钻, 等. 铁皮石斛降血糖作用及其机制的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2004, 29(2): 160-163.

[16] 施红, 陈玲. 石斛合剂对高血糖动物模型作用的实验研究 [J]. *中国组织工程研究*, 2004, 8(9): 1782-1783.

[ 收稿日期 ] 2018-12-31