

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00167

通络方剂对实验性糖尿病大鼠胸腺 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的影响

张兰予,冯晓云,邹俊杰,刘志民*

第二军医大学长征医院内分泌科,上海 200003

[摘要] **目的** 探讨通络方剂对实验性糖尿病大鼠胸腺 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(Treg)的影响。**方法** 112 只 SD 大鼠随机分为 3 组:正常对照组、糖尿病模型组、通络方剂干预组。后两组一次性腹腔注射链脲佐菌素 60 mg/kg 制备 1 型糖尿病大鼠模型。通络方剂干预组再分为 2 组:分别于糖尿病造模成功后当天及普通饲养 12 周后 0.4 g·kg⁻¹·d⁻¹灌胃给药,即预防性给药组(TL-1)和治疗性给药组(TL-2)。灌胃时间均为 12 周。实验周期 6 个月,不同时间点(对照组和模型组:4、8、12、16、20、24 周;通络方剂组:12 和 24 周)处死大鼠,流式细胞仪检测胸腺 CD4⁺CD25⁺Treg 数量及其占 CD4⁺T 细胞比例, H-E 染色观察胸腺形态,免疫组化检测 Foxp3 蛋白表达。**结果** 随糖尿病病程发展,与正常对照组相比,糖尿病大鼠胸腺逐渐萎缩,Treg 占 CD4⁺T 细胞比例逐渐减少,Foxp3 表达减少。两组通络方剂组较糖尿病组 Treg 比例升高($P<0.01$),胸腺指数升高($P<0.05$),Foxp3 有表达。**结论** 通络方剂可显著提高 Treg 比例,提高胸腺指数,提高 Foxp3 表达,可能对实验性糖尿病大鼠的胸腺 Treg 有保护作用。

[关键词] CD4⁺CD25⁺调节性 T 淋巴细胞;实验性糖尿病;通络方剂;胸腺;Foxp3

[中图分类号] R 587.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)02-0167-05

Effect of *Tongluo* recipe on CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in the thymus of experimental diabetic rats

ZHANG Lan-yu, FENG Xiao-yun, ZOU Jun-jie, LIU Zhi-min*

Department of Endocrinology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] **Objective** To observe the effect of *Tongluo* recipe (TLR) on CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell in the thymus of experimental diabetic rats. **Methods** Totally 112 SD rats were randomly divided into three groups: control group, diabetes mellitus (DM) group, and TLR treatment group. Rat diabetic model was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin (60 mg/kg). The TLR treatment group was further divided into two subgroups: prevention group was given intragastric TLR (0.4 g·kg⁻¹·d⁻¹) for 12 weeks starting from the day of streptozotocin injection (TL-1 group), and the treatment group was given intragastric TLR (0.4 g·kg⁻¹·d⁻¹) for 12 weeks starting from 12 weeks after streptozotocin injection (TL-2). The animals were sacrificed at different time points (The control and DM group: 4, 8, 12, 16, 20, and 24 weeks; TLR group: 12 and 24 weeks after administration of TLR). Flow cytometry, H-E staining, and immunohistochemistry were performed to investigate the change of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell ratio in CD4⁺T cells, the thymus morphology, and the expression of Foxp3 protein in the thymus. **Results** Compared with the normal control group, diabetic group had a gradually shrunk thymus, a decreased ratio of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in CD4⁺T cells, and a decreased expression of Foxp3. The ratios of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells and the thymus indices in the two TLR groups were significantly higher than those in the diabetic model group ($P<0.05$). **Conclusion** *Tongluo* recipe can greatly increase the ratio of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells, thymus index, and Foxp3 expression in the thymus, and may protect the thymus CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in experimental diabetic rats.

[Key words] CD4⁺CD25⁺ regulatory T-lymphocytes; experimental diabetes mellitus; *Tongluo* recipe; thymus gland; Foxp3

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(2):167-171]

1 型糖尿病是一种 T 细胞介导的胰岛 B 细胞进行性损伤的自身免疫病^[1]。有学者发现,发生 1 型糖尿病的非肥胖小鼠 (NOD) 的调节性 T 细胞

(Treg) 数量减少、功能减弱^[2]; 而另一些研究提示 NOD 小鼠炎症的淋巴结中 Treg 数量增加, 可能与阻止 1 型糖尿病的发展有关^[3-4]。研究发现实验性

[收稿日期] 2010-08-25 **[接受日期]** 2010-12-25

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划 (“973” 计划) 项目 (2005CB523304)。Supported by the National Program on Key Basic Research (“973” Projects, 2005CB523304)。

[作者简介] 张兰予, 博士。E-mail: zhanglanyucelia@yahoo.cn

* 通信作者 (Corresponding author)。Tel: 021-81885371, E-mail: zmliu_yzhao@hotmail.com

糖尿病小鼠胰岛部分被破坏并伴有淋巴细胞和单核细胞浸润,血清中检测到胰岛素自身抗体^[5],说明实验性糖尿病的发生有免疫应答的参与。

Treg 是一种 T 细胞亚群,共表达 CD4、CD25、Foxp3^[6],它们可通过抑制效应性 T 细胞增生而达到阻止自身免疫性疾病(如实验性糖尿病)的发生,在维持机体免疫功能稳态中起着重要作用^[7]。

中医络病学说是中医学学术体系的独特组成部分,通络方剂由人参、水蛭、全蝎、蜈蚣、土鳖虫、赤芍等药物组成,是络病理论指导下的代表性药物。本研究通过链脲佐菌素(STZ)制备 1 型糖尿病模型,探讨实验性糖尿病大鼠胸腺 Treg 的变化及通络方剂对其的保护作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物 清洁级雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠,5 周龄,体质量(180±20)g,购自中国科学院上海实验动物中心。动物分笼饲养,5 只/笼,保持室内相对湿度(60±5)%,温度 20~22℃,室内 12 h 明暗自动切换,自由饮水,标准大鼠饲料(购自中国科学院上海实验动物中心)饲养。

1.2 主要实验药品及试剂 STZ(Sigma 公司),通络方剂(Tongluo recipe, TLR)由河北以岭药业研究所提供。TRIZOL(Invitrogen 公司),FITC-抗大鼠 CD4 mAb、PE-抗大鼠 CD25 mAb(BD Pharmingen 公司),Foxp3 单抗(eBioscience 公司),二抗(Proteintech 公司),微量血糖测定仪(美国强生公司),流式细胞仪、标本处理仪(Beckman Coulter 公司)。

1.3 动物分组及处理 健康雄性 SD 大鼠适应性饲养 7 d 后,按以下方法随机分组:将 112 只 SD 大鼠以苦味酸标记 1~112 编号,然后称量,按体质量大小升序排列。根据随机数字表将 112 只大鼠随机分为 3 组:对照组、糖尿病模型组和通络方剂干预组,对照组 36 只。将除对照组外的 76 只 SD 大鼠禁食不禁水 12 h 后按相应剂量(60 mg/kg)尾静脉注射 STZ 溶液(临用前以 pH 4.2 的 0.1 mol/L 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液新鲜配制),对照组 36 只仅注射柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。72 h 后尾静脉采血,ACCU-CHEK 快速血糖测定仪测定随机血糖,7 d 后复测随机血糖,以两次随机血糖大于 16.7 mmol/L 确定为 1 型糖尿病大鼠。其中 68 只大鼠建模成功;建模成功率 89.5%。

将 36 只对照组大鼠于不同时间点(4、8、12、16、20、24 周)分别处死,每个时间点 6 只大鼠。将 68 只建模成功的 1 型糖尿病大鼠分为:(1)糖尿病模型组($n=48$),正常饲养,于不同时间点(4、8、12、16、20、

24 周)分别处死,每个时间点 8 只大鼠。(2)通络方剂干预组($n=20$),分为两个亚组(各 10 只大鼠)。分别于 1 型糖尿病造模成功后当天及普通饲养 12 周后以 $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃给药,即预防性给药组(TL-1)和治疗性给药组(TL-2)。灌胃时间均为 12 周,每日定时给药。分别于第 12 周和第 24 周处死。上述时间点处死大鼠时均取其胸腺,备后续检测用。

1.4 观测指标和检测方法

1.4.1 一般状态观察及血糖测定 观察造模前后及药物干预后各组大鼠神态、毛色、摄食、饮水、尿量、体质量以及活动状况等变化。大鼠饮水量以刻度瓶计量。实验开始后每 2 周尾静脉采血测定一次血糖,葡萄糖氧化酶法测定。

1.4.2 胸腺指数的计算及胸腺病理变化观察 麻醉后取大鼠胸腺,称量,计算胸腺指数:胸腺指数=胸腺质量(mg)/体质量(10 g)。以 40 g/L 多聚甲醛固定胸腺标本后,依次进行系列梯度脱水、浸蜡、包埋及切片,常规苏木精-伊红(H-E)染色,于光镜下观察结果。

1.4.3 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ Treg 数量及占 CD4^+ T 细胞比例变化 大鼠麻醉后取胸腺,剪碎胸腺组织,1 只大鼠胸腺作为 1 个样本,滤网过滤,进行流式细胞术检测:依次加入淋巴细胞分离液,离心,最后加入 $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$ 抗体,避光 15 min,上机检测。

1.4.4 免疫组化法检测 Foxp3 蛋白表达 将石蜡包埋的胸腺组织切成 $4 \mu\text{m}$ 厚的切片,经 100%二甲苯 I、II 溶液浸泡各 5 min,蒸馏水冲洗;无水乙醇 1 min,95%乙醇 1 min,85%乙醇 1 min,75%乙醇 1 min,蒸馏水冲洗 2 min,脱蜡至水,经消除内源性过氧化物酶及抗原复性处理后,进行免疫组化染色,染色参照免疫组化二步法试剂盒说明书操作,苏木精复染后封片。在高分辨率摄像显微镜下摄片,再用 Motic3.2 图像分析软件测量免疫阳性灰度值。

1.5 统计学处理 数据统计结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析比较组间差异,差异有统计学意义的变量采用 LSD 法进行两两比较,检验水平(α)为 0.05。

2 结果

2.1 一般状态 造模成功后,糖尿病大鼠出现显著的多饮、多尿、多食,毛色无光泽,夜间活动显著减少,体质量增长缓慢。糖尿病大鼠给予药物干预后多饮、多尿、多食减轻,毛色缺乏光泽,体质量渐长。正常对照组大鼠则表现为饮食、饮水及活动正常,毛色光亮,体质量增长迅速。

2.2 各组大鼠血糖测定值 与正常对照组相比,各组糖尿病大鼠血糖显著升高,通络方剂干预的2组

大鼠血糖也显著升高(图1)。实验期间未经血糖干预,大鼠存活率100%。

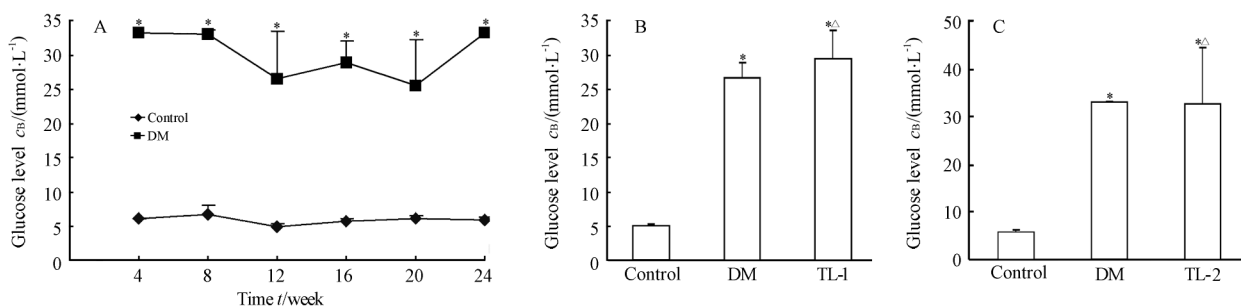


图1 各组大鼠血糖比较

Fig 1 Comparison of glucose level between different groups

A: Glucose levels of control and DM(diabetic mellitus) group; B: Glucose levels of control, DM, and TL-1 groups (12 weeks' intragastric TLR [0.4 g · kg⁻¹ · d⁻¹] starting from 12 weeks after streptozotocin injection); C: Glucose levels of control, DM, and TL-2 group (12 weeks' intragastric TLR [0.4 g · kg⁻¹ · d⁻¹] starting from 24 weeks after streptozotocin injection). * $P < 0.05$ vs Control group; $\Delta P < 0.05$ vs DM group. $n(\text{control}) = 6$, $n(\text{DM}) = 8$, $n(\text{TL-1}) = 10$, $n(\text{TL-2}) = 10$; $\bar{x} \pm s$

2.3 胸腺指数的检测 随糖尿病病程进展,STZ 诱导的糖尿病大鼠胸腺的体积均明显变小。12 周时糖尿病组大鼠有部分胸腺缺如,而 12 周后正常对照组、糖尿病组、通络方剂预防组和通络方剂治疗组大鼠胸腺并未出现缺如现象。除 12 周外,同一时间点糖尿病大鼠的胸腺指数均低于正常对照组 ($P < 0.05$),说明发生糖尿病时大鼠的胸腺遭到破坏,出现萎缩,4 周时两组差别显著,考虑可能是 STZ 直接毒性作用的结果。第 12 周和第 24 周分别处死两组通络方剂干预组,12 周时 3 组(正常对照组、糖尿病模型组、通络方剂预防组)大鼠的胸腺指数无统计学差异;考虑是因为 12 周时部分大鼠胸腺缺如,可能影响统计结果。24 周时通络方剂治疗组胸腺指数低于正常组,高于糖尿病模型组 ($P < 0.05$),说明长期应用通络方剂对糖尿病大鼠的胸腺有保护作用。

2.4 大鼠胸腺病理变化的观察 在不同时间点取大鼠胸腺标本,做组织 H-E 染色,大鼠胸腺病理切片观察。正常对照组大鼠胸腺皮质较厚,皮髓质界限清楚;糖尿病模型大鼠胸腺皮质变薄,皮髓质交界模糊。两组通络方剂干预组胸腺皮髓质较糖尿病模型组有所改善,但仍可见皮髓质交界不清。

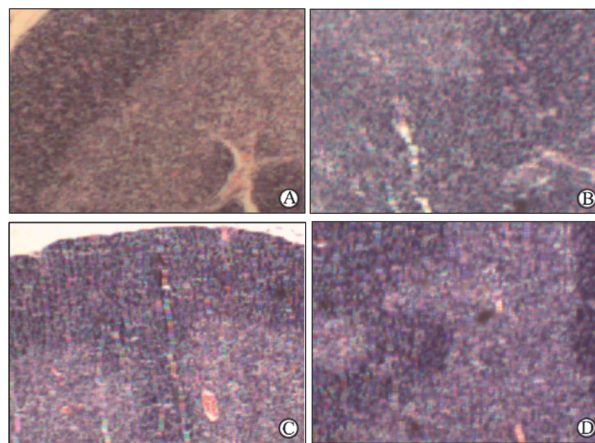


图3 大鼠胸腺病理变化

Fig 3 Pathological change of rat thymus

A: Control group(the control group was sacrificed at 4 weeks); B: DM group (the DM group was sacrificed at 24 weeks); C: TL-1 group(12 weeks' intragastric TLR [0.4 g · kg⁻¹ · d⁻¹] starting from 12 weeks after streptozotocin injection); D: TL-2 group (12 weeks' intragastric TLR [0.4 g · kg⁻¹ · d⁻¹] starting from 24 weeks after streptozotocin injection). Original magnification: $\times 4$

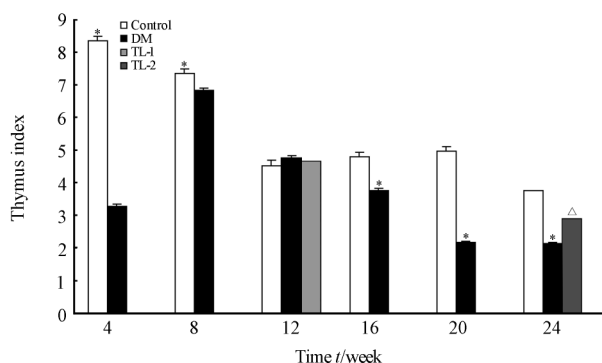


图2 正常组、糖尿病组与通络方剂干预组大鼠胸腺指数比较

Fig 2 Thymus indices of control, DM, TL-1, and TL-2 groups

* $P < 0.05$ vs Control group; $\Delta P < 0.05$ vs DM group. $n(\text{control}) = 6$, $n(\text{DM}) = 8$, $n(\text{TL-1}) = 10$, $n(\text{TL-2}) = 10$; $\bar{x} \pm s$

2.5 CD4⁺CD25⁺Treg 数量及占 CD4⁺T 细胞比例变化 随着糖尿病自然病程发展,CD4⁺CD25⁺Treg 数量逐渐减少;预防性给药组与正常对照组差异无

统计学意义,但高于糖尿病模型组($P < 0.01$);通络方剂治疗3个月后Treg的数量较糖尿病模型组升

高($P < 0.01$),但仍低于正常对照组($P < 0.01$)。结果见表1。

表1 各组CD4⁺CD25⁺Treg占CD4⁺T细胞比例
Tab 1 Ratios of CD4⁺CD25⁺Treg in CD4⁺T cells in each group

Group	Time <i>t</i> /week					
	4	8	12	16	20	24
Control	8.320±0.24	5.522±0.32	3.3128±0.29	2.478±0.24	1.144±0.12	0.968±0.05
DM	7.064±0.12**	4.628±0.14**	2.57±0.10**	1.732±0.05**	0.678±0.03**	0.278±0.13**
TLR			3.34±0.24△△ ^a			0.57±0.06**△△ ^b

DM: Diabetic mellitus; TLR: Tongluo recipe. ^a: TL-1, ^b: TL-2. ** $P < 0.01$ vs Control group; △△ $P < 0.01$ vs DM group. $n(\text{control}) = 6$, $n(\text{DM}) = 8$, $n(\text{TLR})^a = 10$, $n(\text{TLR})^b = 10$

2.6 免疫组化染色检查 Foxp3 蛋白主要定位于细胞核。胸腺染色结果(图4):正常对照组可见Foxp3蛋白表达,糖尿病组未见其表达,两组通络方剂预防组亦可见其表达,但比正常对照组数量少。Foxp3表达越强灰度值越低,免疫检测结果表明:正常对照组、糖尿病模型组、通络方剂预防组、通络方剂治疗组免疫灰度值分别为:82.024±0.1909、67.252±1.6621、77.512±0.8934、78.712±0.5587,后3组明显低于正常对照组($P < 0.01$),后两组明显高于糖尿病模型组($P < 0.01$)。

自身免疫性糖尿病,是由于Th1细胞介导细胞免疫应答破坏胰岛B细胞^[8-10];是以遗传为基础,在某些环境因素的作用下,诱发以胰岛炎为病理特征的胰岛B细胞自身免疫反应,损伤B细胞使其丧失合成和分泌胰岛素的功能,引起糖代谢紊乱^[11]。因此建立稳定的动物模型模拟临床病例对研究1型糖尿病非常重要。

STZ是一种广谱抗菌素,具有抗菌、抗肿瘤的性能和致糖尿病的不良反应,对动物的胰岛B细胞具有高度选择性的毒性作用^[12-13]。利用STZ制备糖尿病动物模型已经广泛应用。较大剂量STZ诱导糖尿病大鼠,其机制是破坏胰岛细胞导致胰岛功能衰竭,血糖明显升高,临床表现与人类1型糖尿病类似。蒋升等^[14]研究表明一次性腹腔注射STZ 60 mg/kg大鼠成模率高,为86.6%;所诱导的1型糖尿病大鼠模型中,血糖稳定性与性别有关,雄性大鼠血糖于14 d趋于稳定;雌性大鼠则于第4周才趋于稳定。故本实验采用雄性SD大鼠,一次性腹腔注射STZ 60 mg/kg,成模率为89.5%,与蒋升等^[14]报道一致。同时,为了尽量控制其他非研究因素,减少系统误差,控制可能的感染、死亡率,该1型糖尿病模型建立过程中选用品系、性别相同,周龄、体质量相近的SD大鼠,于同一时间按体质量注射相同浓度的STZ,采用相同的饲养方式,未经血糖干预,尽量减少外界因素对实验动物生理状态的干扰。

本实验过程中,除12周时部分糖尿病组大鼠胸腺缺如外,其他时间段的各组大鼠未见胸腺缺如;考虑可能是STZ初期对胸腺的延续作用所致;待STZ对大鼠胸腺的毒性作用消除后,各糖尿病组大鼠随糖尿病自然病程的演变,胸腺逐渐萎缩,第6个月未近乎消失。胸腺中调节性T细胞(Treg)数量、Treg占CD4⁺T细胞比例及其特征性标志Foxp3随糖尿病自然病程的发展逐渐减少。在糖尿病病程中还可

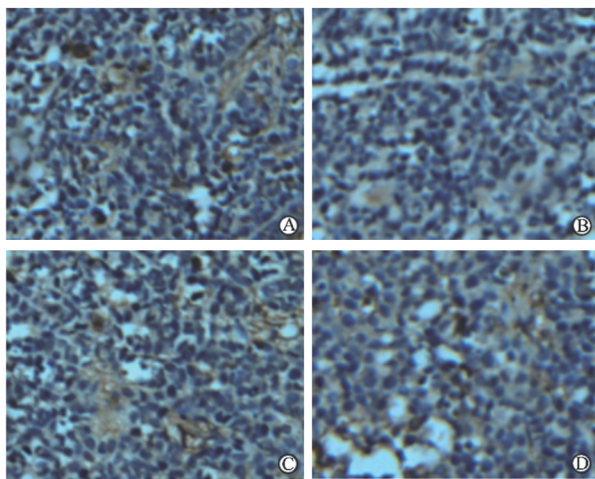


图4 免疫组化检测Foxp3的表达
Fig 4 Immunohistochemistry examination of Foxp3 expression in thymuses

A: Control group(the control group was sacrificed at 4 weeks); B: DM group (the DM group was sacrificed at 24 weeks); C: TL-1 group (12 weeks' intragastric TLR [0.4 g · kg⁻¹ · d⁻¹] starting from 12 weeks after streptozotocin injection); D: TL-2 group (12 weeks' intragastric TLR [0.4 g · kg⁻¹ · d⁻¹] starting from 24 weeks after streptozotocin injection). Original magnification: ×10

3 讨论

国内外大量的实验研究表明,1型糖尿病属于

以发现,大剂量 STZ 构建 1 型糖尿病大鼠模型,第 1 个月末糖尿病模型组胸腺指数、调节性 T 细胞数量及其 Treg 占 CD4⁺T 细胞比例与正常对照组相比明显下降,第 1 个月后胸腺指数略有回升,但仍低于正常对照组。结果说明 STZ 不仅可直接作用于胸腺,引起胸腺功能紊乱和器质性损伤;还可以破坏胰岛细胞,导致胰岛素分泌减少,间接影响胸腺 Treg 细胞的发育和功能。继而外周 Treg 细胞数量减少,导致外周免疫耐受失调,引起自身免疫性糖尿病的发生。

实验过程中,我们发现,预防性给予通络方剂治疗 12 周后,调节性 T 细胞占 CD4⁺T 细胞比例与正常对照组无明显统计学差异,与糖尿病模型组比较,又有显著提高;在治疗性通络方剂组,这一比例较糖尿病模型组升高,但仍低于正常对照组。上述结果提示,早期给予通络方剂预防性治疗可有效保护胸腺中调节性 T 细胞。

CD4⁺CD25⁺Treg 是具有免疫调节功能的调节性 T 细胞亚群,有学者根据 CD4⁺CD25⁺Treg 的起源、抗原特异性和效应机制的不同,将其分为天然 Treg 和获得性 Treg。天然 Treg 细胞主要是指那些在胸腺发育成熟后进入外周淋巴组织的 Treg 细胞,在预防病理性自身免疫反应方面起作用。我们通常所说的 CD4⁺CD25⁺Treg 主要指的是天然 Treg 细胞。Morgan 等^[15]研究表明叉头转录因子 Foxp3 是 CD4⁺CD25⁺Treg 的一个重要特征,目前认为 Foxp3 可能是 Treg 细胞启动免疫抑制功能的“开关”。本实验结果提示,正常对照组大鼠胸腺是 Treg 细胞的来源之一,故可见大量 Foxp3 表达;1 型糖尿病大鼠免疫功能紊乱,Treg 细胞表达减少,未见 Foxp3 表达;两组通络方剂干预组均可见 Foxp3 表达,虽较正常对照组减少,但较糖尿病组有所改善,进一步说明通络方剂可能对 1 型糖尿病大鼠胸腺的 Treg 有保护作用。

综上所述,通络方剂提高了 1 型糖尿病大鼠胸腺 Treg 占 CD4⁺T 细胞比例,上调了 1 型糖尿病大鼠的胸腺指数,增加了 1 型糖尿病大鼠的胸腺中 Foxp3 的表达。上述结果提示通络方剂可能参与了对 1 型糖尿病大鼠胸腺的保护作用,这一结果提示其可能对 1 型糖尿病的治疗有一定帮助。

[参考文献]

[1] Tritt M, Sgouroudis E, d' Hennezel E, Albanese A, Piccirillo C

- A. Functional waning of naturally occurring CD4⁺ regulatory T-cells contributes to the onset of autoimmune diabetes[J]. Diabetes, 2008, 57: 113-123.
- [2] Salomon B, Lenschow D J, Rhee L, Ashourian N, Singh B, Sharpe A, et al. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes[J]. Immunity, 2000, 12: 431-440.
- [3] Green E A, Gorelik L, McGregor C M, Tran E H, Flavell R A. CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells control anti-islet CD8⁺ T cells through TGF-beta-TGF-beta receptor interactions in type 1 diabetes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 10878-10883.
- [4] Herman A E, Freeman G J, Mathis D, Benoist C. CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells dependent on ICOS promote regulation of effector cells in the prediabetic lesion[J]. J Exp Med, 2004, 199: 1479-1489.
- [5] 赵召霞, 刘 阳, 于春雷, 李 一. 链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠胸腺中 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的变化[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2006, 22: 324-326.
- [6] Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, Ono M. Regulatory T cells and immune tolerance[J]. Cell, 2008, 133: 775-787.
- [7] Mor A, Kloog Y, Keren G, George J. Ras inhibition increases the frequency and function of regulatory T cells and attenuates type-1 diabetes in non-obese diabetic mice[J]. Eur J Pharmacol, 2009, 616: 301-305.
- [8] Overbergh L, Decallonne B, Branisteau D D, Valckx D, Kasran A, Bouillon R, et al. Acute shock induced by antigen vaccination in NOD mice[J]. Diabetes, 2003, 52: 335-341.
- [9] Eizirik D L, Darville M I. beta-cell apoptosis and defense mechanisms: lessons from type 1 diabetes[J]. Diabetes, 2001, 50 Suppl 1: S64-S69.
- [10] Lamhamedi-Cherradi S E, Luan J J, Eloy L, Fluteau G, Bach J F, Garchon H J. Resistance of T cell to apoptosis in autoimmune diabetic(NOD) mice is increased early in life and is associated with dysregulated expression of Bcl-x[J]. Diabetologia, 1998, 41: 178-184.
- [11] 王 竞, 齐秀英. 自身免疫性糖尿病研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24: 310-311.
- [12] 于德民, 吴 锐, 尹 潍, 袁 咏. 实验性链脲佐菌素糖尿病动物模型的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 1995, 3: 105-109.
- [13] Rakieten N, Rakieten M L, Nadkarni M R. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917) [J]. Cancer Chemother Rep, 1963, 29: 91-98.
- [14] 蒋 升, 谢自敬, 张 莉. 链脲佐菌素诱导 1 型糖尿病大鼠模型稳定性观察[J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16: 1-18.
- [15] Morgan M E, van Bilsen J H, Bakker A M, Heemskerk B, Schilham M W, Hartgers F C, et al. Expression of FOXP3 mRNA is not confined to CD4⁺CK25⁺ T regulatory cells in humans[J]. Human Immunol, 2005, 66: 13-20.

[本文编辑] 孙 岩