

# 丹蛭降糖胶囊联合运动对糖尿病大鼠胰腺 NADPH 氧化酶亚单位 p22phox 表达水平的影响

吴元洁<sup>1</sup> 方朝晖<sup>2</sup> 郑书国<sup>3</sup> 吴元波<sup>4</sup> 王 正<sup>5</sup> 吕明安<sup>6</sup>

**摘要 目的** 探讨益气养阴活血方丹蛭降糖胶囊联合运动对糖尿病大鼠胰腺烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶亚单位 22 kD 多肽(p22phox)蛋白表达水平的影响。**方法** 雄性 Wistar 大鼠 60 只,分为正常组、模型组、运动组、丹蛭降糖胶囊组(简称中药组)及丹蛭降糖胶囊加运动组(简称中药加运动组),用小剂量链脲佐菌素(STZ)联合高脂饲料的方法建立糖尿病大鼠模型,用免疫组化法检测大鼠胰腺组织中 p22phox、8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy-2-deoxyguanine, 8-OHdG)的表达,用 Western blot 检测各组 p22phox 表达水平。**结果** 模型组 p22phox、8-OHdG 的表达水平明显高于正常组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),免疫组化观察到 p22phox、8-OHdG 主要在胰岛细胞胞浆中表达,中药、运动能明显降低 p22phox、8-OHdG 水平( $P < 0.01$ ),运动与中药联用对降低 p22phox、8-OHdG 水平有协同作用( $P < 0.05$ )。**结论** 运动、丹蛭降糖胶囊及两者联用能降低 NADPH 氧化酶的表达,减少氧化应激的来源,从而保护胰岛  $\beta$  细胞。

**关键词** 运动;丹蛭降糖胶囊;糖尿病大鼠;氧化应激;NADPH 氧化酶

Effect of Danzhi Jiangtang Capsule Combined Exercise on the Protein Expression of NADPH Oxidase p22phox in Pancreatic Tissues of Diabetic Rats WU Yuan-jie<sup>1</sup>, FANG Zhao-hui<sup>2</sup>, ZHENG Shu-guo<sup>3</sup>, WU Yuan-bo<sup>4</sup>, WANG Zheng<sup>5</sup>, and LU Ming-an<sup>6</sup> 1 Department of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei (230038), China; 2 Department of Endocrinology, First Hospital Affiliated to Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei (230031), China; 3 Department of Pharmacology, Wannan Medical College, Anhui (241002), China; 4 Department of Neurology, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei (230001), China; 5 Department of Orthopedics, First Hospital Affiliated to Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei (230031), China; 6 Department of Formula Sciences, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei (230038), China

**ABSTRACT Objective** To explore effects of exercise combined Danzhi Jiangtang Capsule (DJC) on the protein expression of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase p22phox in pancreatic tissues of diabetic rats. **Methods** Sixty male Wistar rats were injected with low dose of streptozotocin and fed with high fat diet to establish a diabetic rat model. The levels of p22phox and 8-hydroxy-2-deoxyguanine (8-OHdG) protein in pancreatic tissues were detected by immunohistochemical method, and the level of p22phox protein was also detected by Western blot in the normal group, the model group, the exercise group, the DJC group, and the DJC + exercise group, respectively. **Results** The expression levels of p22phox and 8-OHdG protein in pancreatic tissues were significantly higher in the model group than in the normal group ( $P < 0.01$ ). p22phox and 8-OHdG were mainly expressed in the cytoplasm of pancreatic cells. After administration of exercise or DJC, the expression lev-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81102626H2716);安徽省高等学校省级自然科学基金重点项目(No. KJ2010A211);国家中医药临床研究基地—糖尿病重点研究病种(2008 年立项)

作者单位:1. 安徽中医学院中医基础学教研室(合肥 230038); 2. 安徽中医学院第一附属医院内分泌科(合肥 230031); 3. 皖南医学院药理学教研室(芜湖 241002); 4. 安徽医科大学附属医院省立医院神经内科(合肥 230001); 5. 安徽中医学院第一附属医院骨科(合肥 230031); 6. 安徽中医学院方剂学教研室(合肥 230038)

通讯作者:方朝晖, Tel: 0551-62850092, E-mail: fangzhaohui@medmail.com.cn

els of p22phox or 8-OHdG protein in pancreatic tissues decreased significantly ( $P < 0.01$ ). Exercise combined DJC had synergistic effects in decreasing expressions of p22phox and 8-OHdG ( $P < 0.05$ ). Conclusion Exercise, DJC, and exercise combined DJC could protect islet  $\beta$  cells by decreasing the expression of NADPH oxidase in  $\beta$  cells and reducing sources of oxidative stress.

KEYWORDS exercise; Danzhi Jiangtang Capsule; diabetic rat; oxidative stress; NADPH oxidase

胰岛  $\beta$  细胞功能缺陷在糖尿病发病机制中的作用正日益受到重视,其发病机制迄今尚未完全阐明。近来有学者提出“氧化应激学说”,认为糖尿病胰岛  $\beta$  细胞功能的减退与活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)产生过多或代谢障碍形成的氧化应激有关<sup>[1]</sup>。组织细胞中 ROS 的生成与线粒体中电子传递链密切相关,糖尿病过多的葡萄糖能激活电子传递链复合物尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶,促进 ROS 产生增多,导致  $\beta$  细胞损伤。因此,抗氧化治疗已是保护糖尿病胰岛功能的积极手段。研究表明,运动能抑制氧化应激,改善  $\beta$  细胞功能<sup>[2]</sup>,而中药复方亦能从多环节、多靶点上整体治疗糖尿病,将中药复方与运动合用,理论上能起到协同治疗糖尿病的优化效应。本实验以氧化应激作为中西结合研究的切入点,拟通过观察中药复方丹蛭降糖胶囊与运动联合干预对胰腺内 NADPH 氧化酶表达水平的影响,探讨其对糖尿病的作用效果及可能机制。

## 材料与方法

1 动物 Wistar 雄性大鼠 78 只,体重(180 ± 20)g,购于南京医科大学实验动物中心,许可证号 SCXK(苏)2008-0004。

2 药物 丹蛭降糖胶囊:由太子参 1 000 g 生地 800 g 丹皮 800 g 菟丝子 400 g 泽泻 600 g 水蛭 100 g 等加工配制而成,安徽省中医院药物制剂中心生产(批号:20061215),0.4 g/粒,相当于生药 0.5 g,成人每日用量 6 g。

3 试剂及仪器 链脲佐菌素(STZ)购自美国 Sigma 公司;兔抗鼠 NADPH 氧化酶亚单位 22 kD 多肽(p22phox)、8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy-2-deoxyguanine, 8-OHdG)多克隆抗体购自美国 Santa 公司; $\beta$ -actin 抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔 IgG 均购自北京中杉金桥生物公司;免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物公司;BCA 蛋白定量试剂盒购自北京赛驰生物公司;增强化学发光法(ECL)试剂盒购自美国 Santa 公司;聚偏二氟乙烯(PVDF)膜购自美国 Millipore 公司; -80 °C 低温冰箱

(日本 SANYO 公司);亚鹏 TS-12A 生物组织自动脱水机(湖北孝感宏业医用器材有限公司);RM 2135 石蜡切片机(德国 Leica 公司);转移脱色摇床(海门其林贝尔仪器制造有限公司);垂直电泳槽、转移电泳槽(美国 Bio-Rad 公司);BX 51 正置显微镜及其处理系统(日本 Olympus 公司);凝胶成像系统(美国 UVP 公司)。

4 造模及分组方法 随机选取 12 只大鼠作为正常组,喂以普通饲料。其余大鼠作为造模组,参照文献[3]高脂喂饲联合小剂量 STZ 的方法制作糖尿病大鼠模型。其中高脂饲料以基础料加胆固醇 5%、猪油 10%、蔗糖 5%、蛋黄粉 10%、牛胆盐 0.2% 自行配制。4 周后按 25 mg/kg 体重的剂量给造模组大鼠一次性腹腔内注射 STZ 25 mg/kg(用 0.1 mmol/L、pH 4.4 的枸橼酸缓冲液溶解,配成 2% 浓度现用),正常组腹腔注射等体积枸橼酸缓冲液。72 h 后禁食 12 h,按 2 g/kg 体重灌喂 20% 葡萄糖溶液做糖耐量实验,0、2 h 血糖分别 >7.0 mmol/L 及 11.1 mmol/L,即为模型成功,造模成功率约 75%。将造模成功的 60 只大鼠按血糖值 >30 mmol/L、20<sup>+</sup> ~30 mmol/L、11.1 ~ 20 mmol/L 分层随机分为模型组、运动组、丹蛭降糖胶囊组(简称中药组)、丹蛭降糖胶囊加运动组(简称中药加运动组)。

5 运动与给药方法 造模后,运动组、中药加运动组进行有氧运动训练,参照改良的 Ploug T 等<sup>[4]</sup>的方法进行游泳训练。每周 5 次,共训练 8 周。第 1 周每次游泳 45 min,第 2 周以后则在体重 5% 的负荷下每次游泳 1 h,水温约 32 ~ 38 °C,水深约 50 cm,水池平均表面积 200 cm<sup>2</sup>/大鼠。中药组、中药加运动组按人与大鼠单位体重折算系数给予丹蛭降糖胶囊灌胃,大鼠(200 g)与人(70 g)比较,折算系数为 0.018,以体重 60 kg 成人每日丹蛭降糖胶囊用量 6 g 计算,丹蛭降糖胶囊灌胃剂量为 0.63 g/(kg · d);模型组、运动组、正常组灌胃等体积生理盐水。给药 8 周。实验末次给药后禁食 12 h,各组大鼠均以戊巴比妥钠溶液腹腔麻醉,腹主动脉抽血,每组随机取 6 只大鼠,将部分胰腺组织经 10% 中性甲醛液固定,常规石蜡包埋,4  $\mu$ m 切片,进行免疫组化检测。其余组织置入 -80 °C 冰箱保存,用于 Western blot 检测。

## 6 指标观察及检测方法

**6.1 免疫组化染色** 将各组胰腺切片脱蜡至水,浸入 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 20 min 以封闭内源性过氧化物酶。再以枸橼酸缓冲液沸水浴(约 92 ~ 95 °C) 15 min 修复抗原。滴加兔抗鼠 p22phox、8-OHdG 多克隆抗体(1:100),4 °C 过夜。然后依次滴加聚合物辅助剂和 HRP 标记山羊抗兔 IgG,分别 37 °C 孵育 30 min。DAB 显色 7 min,苏木素轻度复染,酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。每组设阴性对照,以 PBS 代替一抗进行孵育,细胞核和(或)胞浆呈现棕黄色为阳性细胞。染色标本每组随机选 5 张切片,每张切片选 5 个视野进行观察。用日本 Olympus BX51 正置显微镜及其处理系统分析切片,测定胰岛内棕黄色颗粒的平均光密度值。

**6.2 Western blot 检测** 每组随机取 4 只大鼠,每只取胰腺组织约 200 mg,充分剪碎加入 RIPA 裂解液,组织匀浆器匀浆,12 000 r/min,4 °C 离心 10 min,静置取上清备用,BCA 比色法定量。将待测蛋白加热变性后按序加样,10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,65 V 4 °C 转移至 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶 37 °C 封闭 1 h,滴加一抗 p22phox(1:1 000)4 °C 孵育过夜,HRP 标记的羊抗兔二抗(1:3 000)常温孵育 1 h。ECL 化学发光曝光 4 min,由美国 UVP 凝胶成像系统采集图像,用美国 UVP 分析仪器读取各个目的蛋白条带的校正积分光密度值,以  $\beta$ -actin 作为内参照,p22phox 蛋白含量用  $A_{p22phox}/A_{\beta-actin}$  表示。

**7 统计学方法** 采用 SPSS 13.0 软件进行统计,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  描述。数据行正态分布检验,多样本均数比较用单因素方差分析,并进行方差齐性分析,方差齐用 LSD 检验,方差不齐用 Tamhane's  $t_2$  检验,组间交互作用用析因分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

**1 各组大鼠 8-OHdG 阳性细胞表达比较(图 1,表 1)** 胰腺 8-OHdG 的阳性染色主要位于胰岛细胞浆中,亦散见于胰腺外分泌腺中。与正常组比较,模型组胰腺 8-OHdG 阳性表达明显增高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );中药组、运动组、中药加运动组与模型组比较,8-OHdG 在胰腺的阳性表达显著降低( $P < 0.01$ );析因分析提示运动、中药联用对大鼠胰腺 8-OHdG 表达水平降低有协同作用( $F_{交互} = 6.9, P < 0.05$ )。

**2 各组大鼠 p22phox 阳性细胞表达比较(图 2,表 1)** 胰腺 p22phox 的阳性染色主要位于胰岛细

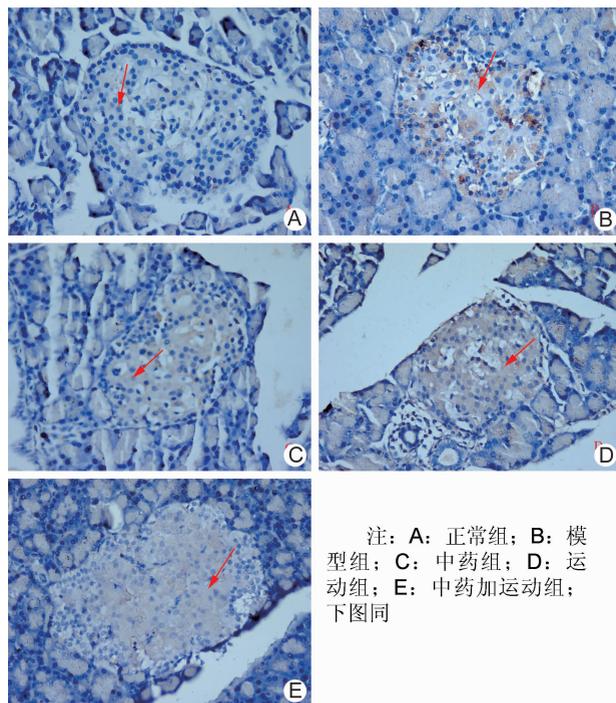


图 1 5 组大鼠胰腺中 8-OHdG 表达比较 (SP 染色,  $\times 400$ )

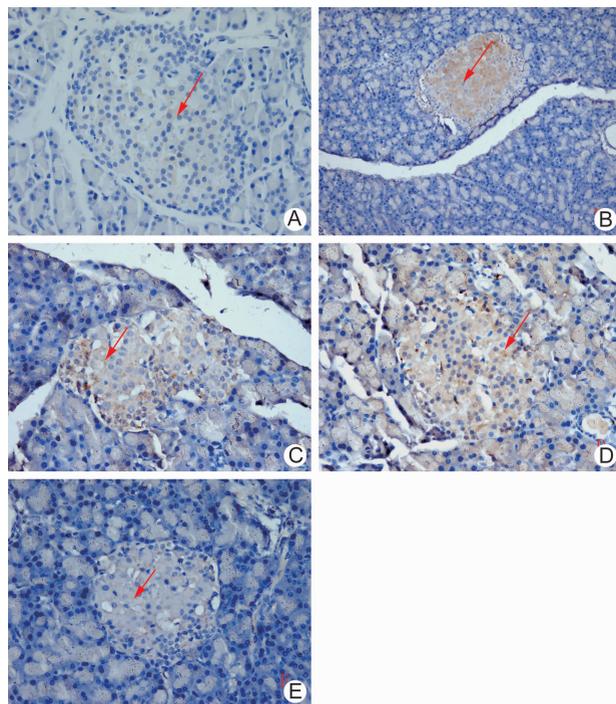


图 2 5 组大鼠胰腺中 p22phox 表达比较 (SP 染色,  $\times 400$ )

胞浆中,亦散见于胰腺外分泌腺中。与正常组比较,模型组胰腺 p22phox 阳性表达明显增高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );中药组、运动组、中药加运动组与模型组比较,p22phox 在胰腺的阳性表达显著降低( $P < 0.01$ );析因分析提示运动、中药联用对大鼠胰腺

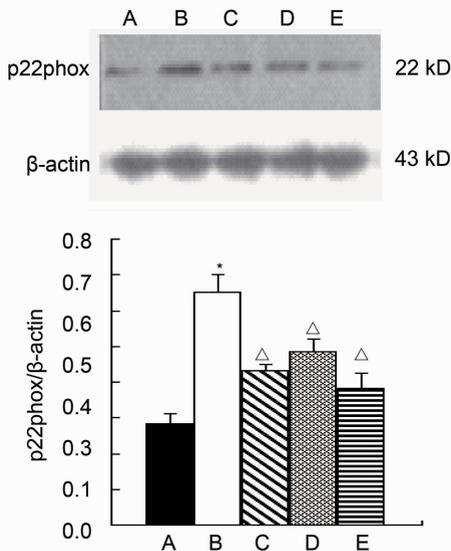
p22phox 表达水平降低有协同作用( $F$ 交互 = 10.73,  $P < 0.01$ )。

表 1 各组大鼠胰腺 8-OHdG 及 p22phox 的变化比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	8-OHdG	p22phox
正常	6	0.117 ± 0.001	0.136 ± 0.006
模型	6	0.288 ± 0.014 *	0.293 ± 0.016 *
中药	6	0.178 ± 0.005 $\Delta$	0.188 ± 0.014 $\Delta$
运动	6	0.212 ± 0.026 $\Delta$	0.243 ± 0.010 $\Delta$
中药加运动	6	0.168 ± 0.021 $\Delta$	0.188 ± 0.013 $\Delta$

注:与正常组比较, \* $P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.01$

3 各组大鼠胰腺组织 p22phox 蛋白表达量比较(图 3) 模型组胰腺组织中 p22phox 蛋白的表达水平明显高于正常组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。中药组、运动组、中药加运动组与模型组比较,胰腺组织中 p22phox 蛋白表达水平降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。析因分析提示运动、中药联用对大鼠胰腺中 p22phox 表达水平降低有协同作用( $F$ 交互 = 6.43,  $P < 0.05$ )。



注:A:正常组;B:模型组;C:中药组;D:运动组;E:中药加运动组;与正常组比较, \* $P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $\Delta P < 0.01$

图 3 p22phox 蛋白在胰腺组织中的表达

## 讨 论

目前,氧化应激在糖尿病中的作用日益受到医学者的重视,已被公认为糖尿病统一机制的启动环节<sup>[5]</sup>。它是指体内具有较强氧化作用的 ROS 产生过多或发生代谢障碍,超过了内源性抗氧化防御系统的消除能力,从而导致细胞脂质过氧化并诱导溶酶体、线粒体损伤。 $\beta$  细胞因其本身的抗氧化酶表达相对较

低,常常成为氧化应激最易攻击的靶点之一。因此积极拓展延缓氧化应激,保护  $\beta$  细胞功能的有效途径是糖尿病治疗的重要任务。近年来,中医多层次、多靶点的整体治疗在应对糖尿病复杂病机中凸显优势,糖尿病属中医学“消渴”范畴,在气虚阴亏的基础上往往兼夹血瘀痰湿之患。复方丹蛭降糖胶囊针对病机,以太子参、生地黄、菟丝子补气养阴;丹皮、水蛭活血通瘀;泽泻清热化痰,全方标本同治,能够有效改善糖尿病患者糖脂紊乱、胰岛细胞功能和血管内皮氧化应激<sup>[6,7]</sup>。运动亦是延缓氧化应激,保护  $\beta$  细胞功能的重要手段。Coskun O 等<sup>[8]</sup> 研究发现轻中重度等不同强度运动中,中等强度的运动在改善胰腺氧化应激,保护胰岛功能方面最强。复方中药与适量运动联合应用,具有不良反应少,作用全面,相互补充的诸多优势,理论上说应是较为合理的治疗措施。

活性氧无论是内源性的还是外源性的,一旦产生都可以攻击在活细胞中的脂肪、蛋白质、核酸。8-OHdG 作为核和线粒体 DNA 中的一种氧化核苷酸,是检测 DNA 氧化损伤最常用的指标,Shin CS 等<sup>[9]</sup> 通过检测发现 2 型糖尿病患者血清 8-OHdG 的含量明显高于健康人。Ku YP 等<sup>[10]</sup> 用免疫组化观察 STZ 诱导的糖尿病大鼠胰岛内 8-OHdG 水平在注射 STZ 后 1 h 变化最大,而后与胰岛细胞的形态破坏呈平行趋势下降,提示 DNA 氧化损伤的增加可能参与诱导糖尿病的发生。本研究以高脂饲料联合小剂量 STZ 腹腔注射造成糖尿病模型,通过对糖尿病大鼠胰腺 8-OHdG 的测定分析,发现其比正常组水平显著升高。而前期实验发现糖尿病大鼠存在糖代谢紊乱和  $\beta$  细胞分泌功能受损,推测升高的血糖参与了自由基的形成,从而引起氧化应激导致  $\beta$  细胞受损;给予运动、丹蛭降糖胶囊及两者联用后,大鼠糖代谢紊乱、 $\beta$  细胞分泌功能受损和氧化应激状态得到改善<sup>[11]</sup>。本实验通过免疫组织化学检测又发现,运动、中药组大鼠胰腺 8-OHdG 表达明显降低,且运动加中药在降低胰腺 8-OHdG 表达上有协同作用,提示运动、中药可有效改善糖代谢紊乱引起的氧化应激,两者联用有增效效应。

近年来认为,线粒体中电子传递链是高糖引起 ROS 生成过多的主要途径<sup>[12]</sup>,NADPH 氧化酶的激活是其关键,NADPH 氧化酶是细胞膜上一类特殊的电子传递链复合物,由多个亚基组成,p22phox 是 NADPH 氧化酶分布于膜表面细胞色素的轻链亚基,胞质因子通过与 p22phox 亚单位结合激活细胞色素,将电子从 NADH/NADPH 运输到血管内或细胞外的

氧原子,从而形成超氧阴离子( $O_2^-$ )及其衍生物等活性氧簇。可见,p22phox 亚单位与 NADPH 氧化酶的活性密切相关<sup>[13,14]</sup>。体内葡萄糖过多,线粒体氧化代谢就会增加,线粒体内 NADH 和胞浆 NADPH 随之增多,NADPH 氧化酶催化底物 NADH/NADPH,使 ROS 产生增多。临床研究表明糖尿病患者单核细胞中 ROS 增多,存在 p22phox 上调和 p47phox 易位的 NADPH 氧化酶高度活化现象,且 p22phox 和 MDA 水平与葡萄糖含量呈明显的正相关。在体外实验也表明,葡萄糖能以 NADPH 氧化酶依赖的方式刺激 ROS 的产生<sup>[15]</sup>。上述研究证实了糖尿病的确存在 NADPH 氧化酶依赖的氧化应激。Uchizono Y 等<sup>[16]</sup>发现 p22phox 在胰岛  $\beta$  细胞亦有表达。长期高糖条件下  $\beta$  细胞过度暴露给 ROS,不仅自身会遭受氧化损伤而过度凋亡,同时也可在动力学和活性氧物种差异下与 NADPH 氧化酶形成异构体,调节胰岛素分泌和存活<sup>[17]</sup>。本实验研究通过免疫组化证实了 p22phox 在胰岛  $\beta$  细胞中确有表达,比较糖尿病与正常大鼠胰腺 p22phox 的蛋白水平,发现糖尿病大鼠 p22phox 的含量明显高于正常组,给予丹蛭降糖胶囊、运动及两者联用均能明显抑制 p22phox 表达水平。提示运动及丹蛭降糖胶囊可明显改善糖尿病大鼠胰腺 p22phox 蛋白表达水平,且两者联用有协同作用。

综上所述,本研究显示了糖尿病大鼠存在氧化应激,提示应积极给予抗氧化治疗以保护胰岛功能。丹蛭降糖胶囊与适量运动能降低胰腺 8-OHdG 和 p22phox 表达含量,起到了治疗氧化应激的良好作用,分析可能是通过降低氧化应激上游因子 NADPH 氧化酶 p22phox 亚基的表达水平从而改善胰岛微环境,减轻氧化应激损伤,保护胰岛  $\beta$  细胞的,但两者联用增效的具体作用机制尚不明瞭,有待于进一步研究。

#### 参 考 文 献

- [1] Fridlyand LE, Philipson LH. Oxidative reactive species in cell injury: mechanisms in diabetes mellitus and therapeutic approaches[J]. Ann NY Acad Sci USA, 2005, 1066: 136 - 151.
- [2] Williamson DF. Exercise interventions and glycaemic control in patients with diabetes[J]. JAMA, 2011, 306(6): 608, 609 - 610.
- [3] 司晓晨, 尚文斌, 卞慧敏, 等. 链脲佐菌素加高脂膳食诱导 2 型糖尿病大鼠模型[J]. 安徽中医临床杂志, 2003, 15(5): 383 - 395.
- [4] Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen O, et al. Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in

- rat skeletal muscle[J]. Am J Physiol, 1990, 259(6 Pt 1): E778 - E786.
- [5] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism[J]. Diabetes, 2005, 54(6): 1615 - 1625.
- [6] 刘怀珍, 刘剑, 鲍陶陶, 等. 丹蛭降糖胶囊对 2 型糖尿病患者  $\beta$  细胞功能的影响[J]. 安徽中医学院学报, 2007, 26(4): 5 - 7.
- [7] 方朝晖, 倪英群. 丹蛭降糖胶囊对 2 型糖尿病患者血管内皮氧化应激状态的影响[J]. 中国全科医学, 2008, 11(10A): 1745 - 1746.
- [8] Coskun O, Ocakci A, Bayraktaroglu T, et al. Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas[J]. Tohoku J Exp Med, 2004, 203(3): 145 - 154.
- [9] Shin CS, Moon BS, Park KS, et al. Serum 8-hydroxy-guanine levels are increased in diabetic patients[J]. Diabetes Care, 2001, 24(4): 733 - 737.
- [10] Ku YP, Jin M, Kim KH, et al. Immunolocalization of 8-OHdG and OGG1 in pancreatic islets of streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Acta Histochem, 2009, 111(2): 138 - 144.
- [11] 吴元洁, 方朝晖, 郑书国, 等. 丹蛭降糖胶囊联合运动对糖尿病大鼠胰腺氧化应激及胰岛功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(11): 1531 - 1534.
- [12] Pop-Busui R, Sima A, Stevens M. Diabetic neuropathy and oxidative stress[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2006, 22(4): 257 - 273.
- [13] Nomiya T, Tanaka Y, Piao L, et al. The polymorphism of manganese superoxide dismutase is associated with diabetic nephropathy in Japanese type 2 diabetic patients[J]. J Hum Genet, 2003, 48(3): 138 - 141.
- [14] Pettersson-fernholm K, Forsblom C, Hudson BI, et al. The functional-374 T/A RAGE gene polymorphism is associated with proteinuria and cardiovascular disease in type 1 diabetic patients[J]. Diabetes, 2003, 52(3): 891 - 894.
- [15] Huang X, Sun M, Li D, et al. Augmented NADPH oxidase activity and p22phox expression in monocytes underlie oxidative stress of patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2011, 91(3): 371 - 380.
- [16] Uchizono Y, Takeya R, Iwase M, et al. Expression of isoforms of NADPH oxidase components in rat pancreatic islets[J]. Life Sci, 2006, 80(2): 133 - 139.
- [17] Newsholme P, Morgan D, Rebelato E, et al. Insights into the critical role of NADPH oxidase(s) in the normal and dysregulated pancreatic beta cell[J]. Diabetologia, 2009, 52(12): 2489 - 2498.

(收稿:2012-11-16 修回:2013-01-15)