

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.04.017

IL-10 基因对糖尿病大鼠胰岛 β 细胞凋亡的保护作用*徐爱晶¹ 陈志红² 田 飞² 阎丽华² 朱 伟^{3△}

(1 广州市妇女儿童医疗中心内分泌代谢科 广东 广州 510623; 2 青岛大学医学院附属医院儿科 山东 青岛 266003;

3 广东医学院广东省医学分子诊断重点实验室 广东 东莞 523808)

摘要 目的:研究白细胞介素 10(IL-10)基因对链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠胰腺炎症浸润程度及胰腺组织中 Bcl-2 及 Bax 表达的影响。**方法:**建立链脲佐菌素性糖尿病模型,腺病毒介导的 IL-10 基因(Ad-mIL-10)腹腔注射。检测大鼠空腹血糖值;免疫组织化学法观察胰腺炎症浸润程度;TUNEL 法检测胰岛细胞凋亡;免疫组化方法观察 Ad-mIL-10 对实验性糖尿病大鼠胰岛 β 细胞凋亡调控基因 Bax 和 Bcl-2 表达的影响。**结果:**Ad-mIL-10 腹腔注射糖尿病发病率低,平均血糖水平低,可以降低胰腺炎症浸润程度,减少胰岛细胞凋亡。给予 Ad-mIL-10 后大鼠 Bax 基因的表达明显下降,Bcl-2 与 Bax 的比值明显增加。**结论:**IL-10 基因对实验性糖尿病大鼠有降血糖作用,减少胰岛细胞凋亡,与调节 Bcl-2 与 Bax 基因的表达有关。

关键词:腺病毒;IL-10;胰岛细胞;凋亡**中图分类号:**Q95-3,R587.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)04-671-05The Protective Effect of IL-10 Gene on Pancreatic Beta-cell
in STZ-induced Diabetic Rats*XU Ai-jing¹, CHEN Zhi-hong², TIAN Fei², YAN Li-hua², ZHU Wei^{3△}

(1 Department of Pediatric Endocrinology and Metabolism, Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou, Guangdong, 510623, China; 2 Department of Pediatrics, the Affiliated Hospital of Qingdao Medical College, Qingdao University, Qingdao, Shandong, 266003, China; 3 Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong, 523808, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of adenovirus mediated interleukin-10 gene on streptozotocin (STZ)-induced type 1 diabetic mellitus (T1DM) in SD rats, and to investigate the expression of Bcl-2 and Bax. **Methods:** Forty male SD mice aged from four to five weeks were randomly divided into 4 groups. Group 1 (vacuity group) was without special disposal; Group 2 was diabetes mellitus control group; Group 3 received the intraperitoneal injection of adenovirus vector mediated empty green fluorescence protein (Ad-eGFP); Group 4 received intraperitoneal injection of adenovirus vector mediated IL-10 gene (0.2 mL). Group 2, 3 and 4 received intraperitoneal injection of STZ 50 mg/kg in order to induce diabetic mellitus of SD mice. Pancreatic histology was measured for determination of insulinitis grades. Apoptosis was measured by using a TUNEL assay. Expressions of Bcl-2 and Bax were estimated by immunohistochemistry analysis. **Results:** Compared with that in the control group, Ad-mIL-10 group had lower incidence in diabetes and lower degree of average blood glucose; Pancreas pathology showed that inflammatory infiltration was lighter and beta-cell apoptosis decreased. Decreased expression of Bax and increased rate of Bcl-2/Bax was observed in the Ad-mIL-10 group. **Conclusions:** IL-10 gene therapy is able to decrease the average blood glucose and exhibits anti-apoptotic ability. The expressions of Bax and Bcl-2 in the pancreas showed positive correlation with apoptosis.

Key words: Adenovirus; IL-10; Islet beta cells; Apoptosis**Chinese Library Classification(CLC):** Q95-3, R587.1 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2014)04-671-05

前言

1 型糖尿病(Type 1 diabetes mellitus,T1DM)是一种器官特异性自身免疫性疾病。其发病的自身免疫过程与 Th 细胞中 Th1、Th2 亚群的失衡密切相关。越来越多的研究表明凋亡是胰岛 β 细胞死亡的主要方式。减少胰岛 β 细胞凋亡,保护受损的

β 细胞将是糖尿病防治的重要途径。Th2 亚群细胞因子 IL-10 已经证实多种细胞系具有抗凋亡的作用。本研究主要观察腺病毒介导的 IL-10 基因转导对链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)所致糖尿病大鼠胰岛 β 细胞凋亡作用的影响,分析其可能的凋亡通路,了解对实验性糖尿病大鼠胰岛 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达的影响,并且了解其对血糖的影响,从而为 IL-10 基因防治 1

* 基金项目:广东省自然科学基金项目(S2012040006330);广东省科技计划项目(2012B031800016)

作者简介:徐爱晶,女,博士,主治医师,研究方向:内分泌及遗传代谢性疾病,电话:020-38076127,E-mail:xuaj246@126.com

△通讯作者:朱伟,硕士生导师,副教授,E-mail:zhuwei168@yahoo.cn

(收稿日期:2013-06-26 接受日期:2013-07-20)

型糖尿病提供新的理论依据。

1 材料方法

1.1 质粒及主要试剂

携有腺病毒的鼠 IL-10 基因(Ad-mIL-10)及含有绿色荧光蛋白的空载体对照(Ad-eGFP)均由本实验室构建^[2]。STZ 购自美国 Sigma 公司;Trizol 购自美国 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒购自美国 Promega 公司;Tunel Kit 购自美国 Roche 公司;兔抗大鼠 Bcl-2、Bax 免疫组化试剂盒, SABC 免疫组化试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供。One Touch II 血糖仪和试纸购于美国强生公司。快速腺病毒感染滴度检测试剂盒购自本元正阳公司。

1.2 实验动物

4-5 周龄 SD 大鼠(清洁级)40 只, 体重 150 ± 10 g, 购自青岛市药检所, 饲养于青岛大学医学院附属医院动物房(SPF 级), 自由饮水喂食。

1.3 Ad-mIL-10 的扩增

取冻融在 -80°C 的 Ad-mIL-10, 在 293 细胞中反复扩增获得高滴度的病毒上清。同样条件包装扩增不含目的基因的空腺病毒载体, 作为病毒载体对照, 命名 Ad-eGFP。快速腺病毒检测试剂盒检测病毒滴度, 操作按说明书进行。

1.4 实验动物分组及模型制备

将大鼠随机分为 4 组, 正常对照组、STZ 模型对照组、Ad-eGFP 对照组和 Ad-mIL-10 组, 每组各 10 只。Ad-eGFP 对照组和 Ad-mIL-10 组在实验前 2 天分别腹腔注射 Ad-eGFP 及 Ad-mIL-10 各 0.2 mL, 其他 2 组腹腔注射等量的 PBS 做对照。STZ 模型对照组、Ad-eGFP 对照组和 Ad-mIL-10 组大鼠禁食 12 h 后, 按 50 mg/kg 体重给予一次性腹腔注射 STZ。72 h 后测空腹血糖值, 取血糖值大于 16.7 mmol/L 者为出现糖尿病。

1.5 体重及血糖检测

每日观察大鼠饮水量及尿量, STZ 注射后第 3、5 天测量血糖及体重, 用断尾法取血, 采用葡萄糖氧化酶法, 之后每天测量 1 次。2 次血糖值大于 16.7 mmol/L 为发生糖尿病。

1.6 胰腺组织病理

所取胰腺固定, 石蜡包埋, 切片, HE 染色, 由两位实验者盲法阅片, 每个胰腺从 3-4 张不同的切片观察 15~30 个胰岛。胰岛炎按下列标准计分: 胰岛周围和胰岛内无淋巴细胞浸润记 0 分; 胰岛周围有淋巴细胞浸润但未侵入胰岛记 1 分; 胰岛内淋巴细胞浸润, 受累面积小于 25% 记 2 分; 胰岛内淋巴细胞浸润, 受累面积在 25% 至 75% 之间记 3 分; 胰岛内淋巴细胞浸润, 受累面积大于 75% 记 4 分。每个胰腺胰岛炎分数 = 20~30 个胰岛的胰岛炎总分 / 观察的胰岛总数。

1.7 TUNEL 法检测凋亡细胞

末端脱氧核苷酰基转移酶介导 dUTP 切口末端标记 (TUNEL) 染凋亡细胞, 操作按试剂盒说明进行。每张切片选取 5 个阳性细胞数最多的高倍视野 ($\times 400$), 共计数 500 个胰岛细胞, 计算 100 个胰岛细胞中阳性细胞所占的百分比, 为胰岛细胞凋亡率。

1.8 IL-10 基因转导对凋亡蛋白 Bax、Bcl-2 表达的影响

采用 SABC 免疫组织化学, 显色剂为 DAB。每次染色均用

0.01 mol/L PBS (pH 7.4) 替代一抗作为阴性对照。阳性结果判定为胰岛细胞核或胞浆出现棕黄色颗粒为阳性反应细胞。计数方法同凋亡细胞计数。即在高倍镜下随机观察 5 个未重叠的视野, 分别计算表达 Bax、Bcl-2 蛋白阳性的细胞数 / 所观察的总细胞数的比值, 得出该蛋白表达阳性指数。

1.9 统计学处理

数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示, 利用方差分析和 SPSS 17.0 软件统计学分析。各组均数间差异统计学意义比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 成功扩增重组腺病毒质粒 Ad-mIL-10 并经过鉴定

重组腺病毒质粒 Ad-mIL-10 感染 293 细胞, 感染 48h 后在荧光倒置显微镜下可观察到细胞内的绿色荧光, 表明病毒扩增成功, 外源基因开始表达, 如图 1 所示。快速腺病毒感染性滴度检测, Ad-mIL-10 滴度: 5.5×10^6 pfu/mL; Ad-GFP 滴度: 2.0×10^6 pfu/mL。见图 1。

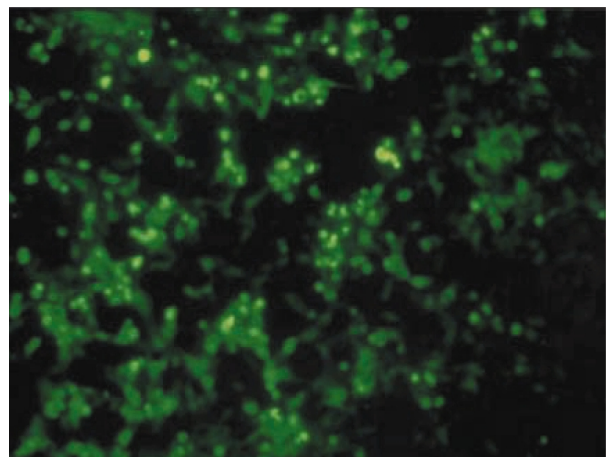


图 1 重组腺病毒感染的 293 细胞 (200 $\times$, 48 小时)

Fig.1 Adenovirus infect 293 cells (200 $\times$, 48h)

2.2 各组大鼠血糖值及糖尿病发生率

STZ 模型对照组、Ad-eGFP 对照组大鼠腹腔注射 STZ 2 d 后出现明显多饮多尿现象, 体重增长缓慢, 毛色发黄, 活动量减低; 监测血糖值发现, Ad-mIL-10 组血糖值低于以上两组, $F=174.29, P<0.05$; 并且在相同时间中, 其糖尿病发生率为 90%, 见表 1。

2.3 胰岛炎的改变

正常对照组胰岛细胞无炎性细胞浸润, 低倍镜下即可看到大量胰岛。STZ 模型对照组、Ad-eGFP 对照组胰岛及胰岛周围炎细胞浸润明显, 以淋巴细胞浸润为主, 胰岛小, 数量少, 胰岛炎积分以 3、4 级为主, Ad-mIL-10 组胰岛炎积分以 1、2 级为主, 见图 2、3。

2.4 对胰岛细胞凋亡的影响

TUNEL 染色检测凋亡细胞, 在显微镜下观察见正常的细胞核呈蓝色, 核大小正常, 而凋亡细胞的细胞核呈棕黄色。正常对照组胰岛细胞凋亡率为 7.5% 左右, STZ 模型对照组及 Ad-eGFP 对照组明显增高达 60% 左右, Ad-mIL-10 组胰岛 β 细胞凋亡率显著低于上述两组, $P<0.05$, 见图 4。

表 1 IL-10 基因转导对 STZ 大鼠血糖及糖尿病发生率的影响($\bar{X} \pm S$)Table 1 Effect of IL-10 gene transfer on the level of blood glucose and incidence of diabete in streptozotocin- induced diabetic rats($\bar{X} \pm S$)

	Blood glucose(mmol/L)	Incidence of diabetes(%)
Control group	5.05 $\pm$ 0.91	0
STZ model group	21.06 $\pm$ 0.44 ^a	100
Ad-eGFP group	19.99 $\pm$ 1.44 ^a	100
Ad-mIL-10 group	17.74 $\pm$ 1.94 ^{ab}	90

注:与正常对照组比较 a $P < 0.05$,与 STZ 组、Ad-eGFP 组比较 b $P < 0.05$ 。

Note: vs control a $P < 0.05$,vs STZ model group, Ad-eGFP group b $P < 0.05$.

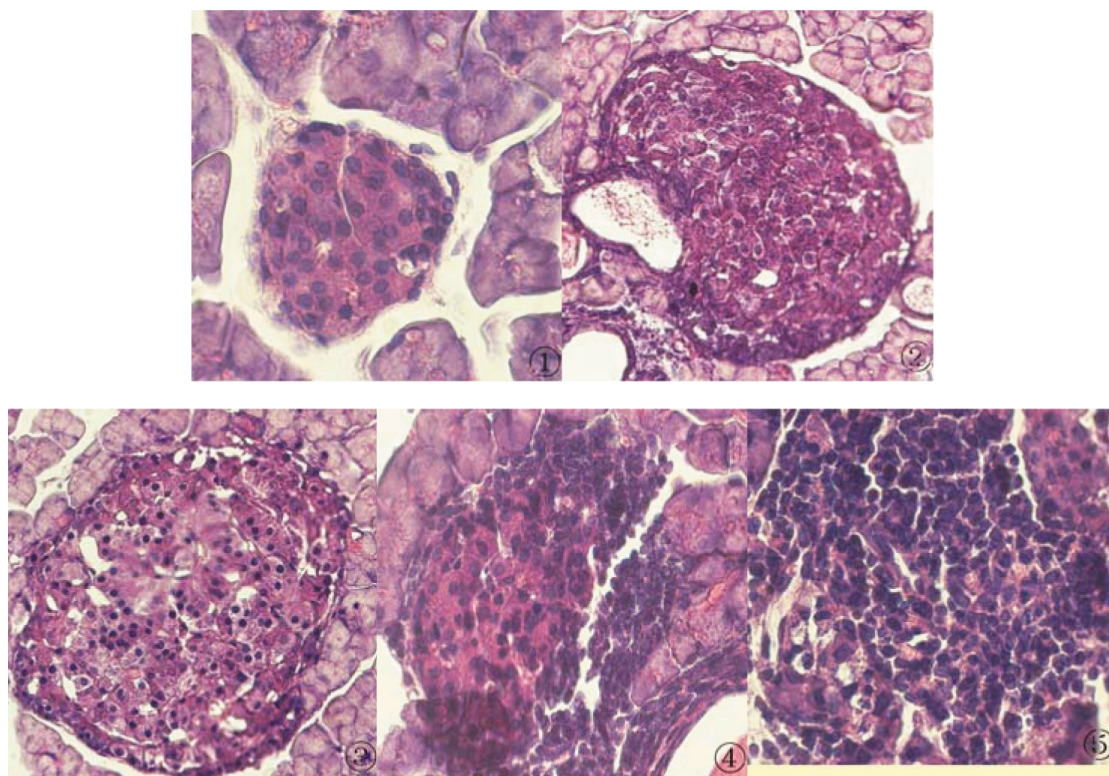


图 2 胰岛炎浸润程度积分:图①-⑤分别代表胰岛炎 0-4 分(HE 染色,光镜,× 400)

Fig.2 Insulitis score of Ad-mIL-10 transfer : ①-⑤ insulitis score 0-4 (HE-stained, light microscopy× 400)

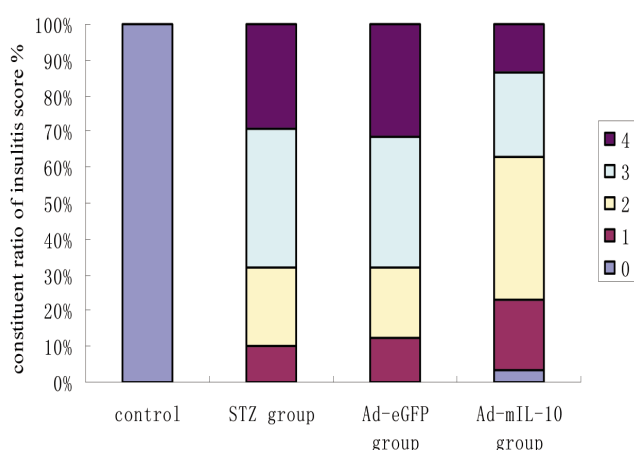
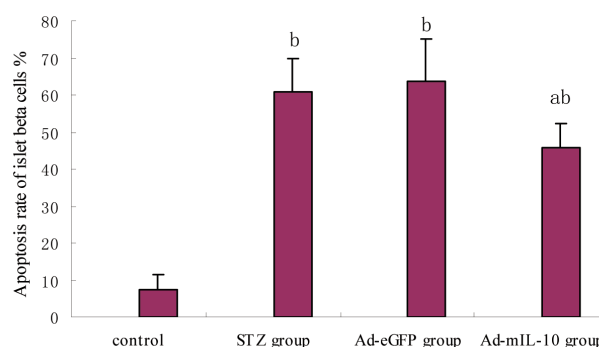


图 3 胰岛炎积分构成比

Fig.3 Constituent ratio of insulitis score

图 4 IL-10 基因转导对 STZ 大鼠胰岛细胞凋亡的影响:与正常对照组比较 $P_a < 0.05$,与 STZ 组、Ad-eGFP 组比较 $P_b < 0.05$ Fig.4 Effect of IL-10 gene transfer on apoptosis of islet beta cell in streptozotocin-induced diabetic rats:vs control $P_a < 0.05$,vs STZ group、Ad-eGFP group $P_b < 0.05$

2.5 对凋亡蛋白 Bax/Bcl-2 表达影响

正常对照组仅见极少数散在的 Bax 蛋白阳性染色胞质,STZ 模型组、Ad-eGFP 组大鼠 Bax 基因的表达明显高于正常对

照组 ($P < 0.01$); 注射 STZ 后抗凋亡的 Bcl-2 蛋白表达明显下降,而同时相对应的促进凋亡的 Bax 蛋白表达增强,Ad-mIL-10 组作用后 Bax 蛋白阳性胞质数较 STZ 组、Ad-eGFP 组减少,

表 2 IL-10 基因转导对凋亡蛋白 Bax、Bcl-2 的影响($\bar{X} \pm S$)Table 2 Effect of IL-10 gene on Bax and Bcl-2 expression in the pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats($\bar{X} \pm S$)

Group	Bax Postive cells(%)	Bcl-2 Postive cells(%)	Bcl-2/ Bax (%)
Control	5.9± 3.1	29.4± 8.1	3.43± 2.63
STZ group	61.2± 9.8 ^a	8.8± 3.2 ^a	0.14± 0.06 ^a
Ad-eGFP group	61.6± 76.9 ^a	10.6± 3.5 ^a	0.19± 0.08 ^a
Ad-mIL-10 group	48.9± 7.6 ^{ab}	18.8± 1.9 ^{ab}	0.39± 0.18 ^{ab}

注:与正常对照组比较 a $P < 0.05$,与 STZ 组、Ad-eGFP 组比较 b $P < 0.05$ 。

Note: vs control a $P < 0.05$, vs STZ group, Ad-eGFP group b $P < 0.05$.

Bcl-2/Bax 比率增加,见表 2。

3 讨论

1 型糖尿病是一种由 T 淋巴细胞介导胰岛 β 细胞损害为主要特征,在遗传基础上由环境诱发的器官特异性自身免疫性疾病^[3]。多种免疫细胞参与其发病过程,其中包括 CD⁴⁺ 和 CD⁸⁺ T 淋巴细胞、巨噬细胞(M Φ)、单核细胞、树突状细胞、B 淋巴细胞等。对非肥胖性糖尿病鼠(NOD)鼠糖尿病和 T1DM 病人研究发现,这些免疫细胞浸润胰岛,引发胰岛炎症,并进一步引起胰岛 β 细胞损伤,从而导致胰岛素分泌减少或缺乏,最终出现糖尿病的发生^[4]。而这些免疫细胞中 CD⁴⁺ T 淋巴细胞起中心性作用^[5]。按 T 细胞分泌细胞因子的异同,可分为 Th1 和 Th2 两个细胞亚群。Th1/Th2 细胞亚群失衡表现为具有损伤胰岛 β 细胞的 Th1 细胞及其细胞因子如 IFN- γ 、IL-6、IL-1 β 、TNF- β ^[6],功能强于具有 β 细胞保护作用的 Th2 细胞及其细胞因子如 IL-4、IL-10、TGF- β 时,胰岛 β 细胞被破坏。Th2 细胞因子占优势时,可下调 Th1 细胞因子产生,起到阻止胰岛 β 细胞破坏的作用。Th1 细胞/细胞因子可进一步激活一系列效应细胞如单核细胞、巨噬细胞等,诱导其产生细胞因子,直接损伤胰岛 β 细胞。产生的细胞因子也可以诱导一氧化氮(NO)的产生,介导胰岛 β 细胞凋亡。因而,提高 Th2 细胞因子的产生,逆转 Th2/Th1 细胞的偏移对于防治 1 型糖尿病具有重要意义。

白细胞介素 10(IL-10)作为一种重要的负性调节因子,在细胞免疫中发挥着重要的作用。Zhang 等研究发现 IL-10 可减少移植胰岛内淋巴细胞浸润,诱导超氧化物歧化酶、血红素加氧酶及抗氧化酶的活性,提高移植体存活时间,延迟同源胰岛移植 NOD 鼠糖尿病的复发,降低 NOD 鼠的早期死亡率^[7]。多项研究发现应用 IL-10 在多种移植模型(包括心脏移植,角膜移植等)中可以延长移植体的存活时间^[8,9],证明 IL-10 可以作为一种有效的防治 1 型糖尿病的免疫调节因素。由于 IL-10 在体内代谢快,半衰期较短,治疗时需要多次重复给药,同时静脉用药缺少靶向性,因而限制了 IL-10 的临床应用。我们所采用的基因转移技术,应用含有绿色荧光蛋白(GFP)报告基因的腺病毒,在荧光显微镜下直观的观察转染效率,为观察转染效果提供便利。

细胞凋亡受细胞内凋亡蛋白的调控,包括促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白两大类,细胞凋亡的发生就是这两类相互拮抗的蛋白之间平衡丧失的结果。在凋亡调节蛋白中,Bcl-2 家族在各类刺激信号引起的凋亡中起到关键的作用^[10]。多项研究报道,Bcl-2

和 Bax 蛋白水平高低与凋亡调控直接相关:Bax 蛋白增高,可以促进细胞凋亡^[11];Bcl-2 蛋白增高,可抑制细胞凋亡。有研究指出受凋亡刺激后的细胞生存能力是由 Bcl-2 与 Bax 的比率决定,Bcl-2 蛋白表达水平较高时,比率上调,细胞凋亡受到抑制^[12];Bax 蛋白表达水平较高时,比率下调,促进细胞凋亡。IL-10 所具有的免疫调节作用在自身免疫性疾病中发挥重要作用,其直接抗凋亡作用已经可见于多种细胞系^[13,14]。Mantej S. 等对肠上皮细胞的研究指出,IL-10 具有抗 Fas 所致的凋亡作用^[15]。Rojas 等在巨噬细胞和内皮细胞中均发现 IL-10 具有对抗 TNF- α 所致的凋亡作用^[16]。另一项有研究指出,IL-10 可以对抗由 IL-1 β 所致的软骨细胞凋亡^[17]。Furukawa H 等研究证实,IL-10 延长心脏移植存活时间是通过阻止心肌细胞 Fas/FasL 凋亡途径^[18]。Zumsteg 等研究认为在胰岛 β 细胞存在 NO 及 Fas 两种独立的细胞凋亡的途径^[19]。对关节软骨细胞的研究证实,IL-10 可改变 bax/bcl-2 的比率,增加 bcl-2 的表达,可能与抑制 caspase 的活性有关,为细胞内在的抗凋亡机制^[20]。

本研究表明应用 STZ 诱导的糖尿病模型大鼠胰岛组织 Bax 基因的表达高于正常对照组,Bcl-2 基因的表达降低,Bcl-2/Bax 的比值降低。本研究进一步探讨了 IL-10 的抗凋亡作用,研究发现 IL-10 基因可以增加 STZ 诱导的糖尿病大鼠胰岛组织中 Bcl-2 基因的表达,降低胰岛组织中 Bax 基因的表达,升高 Bcl-2/Bax 的比值,从而具有抗 STZ 诱导的糖尿病大鼠胰岛 β 细胞凋亡的作用,保护受损的胰岛 β 细胞,为 1 型糖尿病的免疫防治提供新的思路。

参考文献(References)

- [1] 徐爱晶,陈志红,田飞,等.腺病毒介导的白细胞介素 10 基因转移对胰岛 β 细胞凋亡及胰岛素释放的影响[J].中华医学杂志,2010,90(24): 1711-1715
- [2] Xu Ai-jing, Chen zhi-hong, Tian Fei, et al. Effects of adenovirus-mediated interleukin-10 gene transfer on apoptosis and insulin secretion function of beta cell[J]. Natl Med J China, 2010, 90(24): 1711-1715
- [3] Xu AJ, Zhu W, Tian F, et al. Recombinant adenoviral expression of IL-10 protects beta cell from impairment induced by pro-inflammatory cytokine[J]. Mol Cell Biochem, 2010, 344(1-2): 163-171
- [4] Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment[J]. Lancet, 2001, 358(9277): 221-229
- [5] Cnop M, Welsh N, Jonas JC, et al. Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities[J]. Diabetes, 2005, 54 (Suppl 2): 97-107

- [5] Tritt M, Sgouroudis E, d'Hennezel E, et al. Functional waning of naturally occurring CD4⁺ regulatory T-cells contributes to the onset of autoimmune diabetes[J]. *Diabetes*, 2008, 57(1): 113-123
- [6] Anderson MS, Bluestone JA. The NOD mouse: a model of immune dysregulation[J]. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23: 447-485
- [7] Zhang YC, Pileggi A, Agarwal A, et al. Adeno-associated virus-mediated IL-10 gene therapy inhibits diabetes recurrence in syngeneic islet cell transplantation of NOD mice[J]. *Diabetes*, 2003, 52(3): 708-716
- [8] Kim YH, Lim DG, Wee YM, et al. Viral IL-10 gene transfer prolongs rat islet allograft survival[J]. *Cell Transplant*, 2008, 17(6): 609-618
- [9] Gong N, Pleyer U, Volk HD, et al. Effects of local and systemic viral interleukin-10 gene transfer on corneal allograft survival [J]. *Gene Ther.*, 2007, 14(6): 484-490
- [10] Ishii HH, Gobe GC, Yoneyama J, et al. Role of p53, apoptosis, and cell proliferation in early stage Epstein-Barr virus positive and negative gastric carcinomas[J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(12): 1306-1311
- [11] Lockshin RA. Programmed cell death: history and future of a concept [J]. *J Soc Biol*, 2005, 199(3): 169-173
- [12] McClintock DS, Santore MT, Lee V Y, et al. Bcl-2 family members and functional electron transport chain regulate oxygen deprivation-induced cell death[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(1): 94-104
- [13] Zhou JH, Broussard SR, Strle K, et al. IL-10 inhibits apoptosis of promyeloid cells by activating insulin receptor substrate-2 and phosphatidylinositol 3'-kinase[J]. *J Immunol.*, 2001, 167(8): 4436-4442
- [14] Bouton LA, Ramirez CD, Bailey DP, et al. Costimulation with interleukin-4 and interleukin-10 induces mast cell apoptosis and cell-cycle arrest: the role of p53 and the mitochondrion[J]. *Exp Hematol.*, 2004, 32(12): 1137-1145
- [15] Bharhani MS, Borojevic R, Basak S, et al. IL-10 protects mouse intestinal epithelial cells from Fas-induced apoptosis via modulating Fas expression and altering caspase-8 and FLIP expression [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*, 2006, 291(5): 820-829
- [16] Rojas M, Olivier M, Gros P, et al. TNF- α and IL-10 modulate the induction of apoptosis by virulent mycobacterium tuberculosis in murine macrophages[J]. *J Immunol.*, 1999, 162(10): 6122-6131
- [17] Wang Y, Lou S. Direct protective effect of interleukin-10 on articular chondrocytes in vitro[J]. *Chin Med J (Engl.)*, 2001, 114(7): 723-725
- [18] Furukawa H, Oshima K, Tung T, et al. Overexpressed exogenous IL-4 and IL-10 paradoxically regulate allogeneic T-cell and cardiac myocytes apoptosis through FAS/FASL pathway[J]. *Transplantation.*, 2008, 85(3): 437-446
- [19] Zumsteg U, Frigerio S, Holländer GA. Nitric oxide production and Fas surface expression mediate two independent pathways of cytokine-induced murine beta-cell damage[J]. *Diabetes.*, 2000, 49(1): 39-47
- [20] John T, Müller RD, Oberholzer A, et al. Interleukin-10 modulates pro-apoptotic effects of TNF- α in human articular chondrocytes in vitro[J]. *Cytokine.*, 2007, 40(3): 226-234

(上接第 684 页)

- [17] González S, Kilpatrick ES, Atkin SL. The biological variation of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in postmenopausal women with type 2 diabetes: a case control study[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): 47191
- [18] Kallel S, Jarra A, Triki Z, et al. The use of N-terminal pro-brain natriuretic peptide as a predictor of atrial fibrillation after cardiac surgery[J]. *J Cardiovasc Surg (Torino)*, 2013, 54(3): 403-411
- [19] Mair I, Lercher A, Puschendorf B. The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of congestive heart failure[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2011, 39(7): 571
- [20] 李文, 张鸿举, 丁少娟, 等. 急性心肌梗死患者早期血浆脑钠肽水平与左室重构及预后关系的评估 [J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(14): 2747-2749
- Li Wen, Zhang Hong-ju, Ding Shao-juan, et al. Assessment of Relationship of Early Plasma Brain Natriuretic Peptide and Left Ventricular Remodeling and Prognosis in Patients with Acute Myocardial Infarction[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2011, 11(14): 2747-2749