

实验研究

消渴痹通胶囊对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞损伤的保护作用及其机制

张文静 孙亚克

(山东省聊城市第二人民医院药学部,聊城,252600)

摘要 目的:探讨消渴痹通胶囊对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞损伤的保护作用及其机制。方法:将 RSC96 雪旺细胞复苏及培养,采用免疫细胞化学法检测 RSC96 细胞的特异性蛋白 S-100 的表达情况,进行雪旺细胞鉴定;以高糖诱导造成 RSC96 雪旺细胞损伤,梯度高糖浓度比较,确定后续研究所采用的高糖浓度;通过 MTT 法检测消渴痹通胶囊对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞的保护作用,采用免疫组织化学检测 NGF 蛋白水平和蛋白质印迹法检测 P-AKT/AKT 通路及 caspase-3 的蛋白水平。结果:1) RSC96 雪旺细胞存活率随着消渴痹通胶囊药物浓度的升高而增加($P < 0.05$)。2) NGF 蛋白表达量随着消渴痹通胶囊药物浓度增加($P < 0.05$)。3) p-AKT/t-AKT 和 caspase-3 蛋白表达下调,且随着消渴痹通胶囊药物浓度增加而减少($P < 0.05$)。结论:消渴痹通胶囊可能通过抑制 PI3K/AKT 信号转导通路的激活,从而下调 caspase-3 蛋白的表达水平,抑制雪旺细胞的细胞凋亡,同时又上调 NGF 的表达水平,为周围神经的髓鞘细胞提供神经营养物质,从而对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞起到保护作用。

关键词 消渴痹通胶囊;高糖;RSC96 雪旺细胞;损伤;保护作用;机制;NGF;AKT

Protective Effects of Xiaoke Bitong Capsules on High Glucose-Induced Injury of RSC96 Schwann Cells and Its Mechanism

Zhang Wenjing, Sun Yake

(Department of Pharmacology, Liaocheng Second People's Hospital, Liaocheng 252600, China)

Abstract Objective: To investigate the protective effects of Xiaoke Bitong Capsules on RSC96 Schwann cell injury induced by high glucose and its mechanism. **Methods:** RSC96 Schwann cells were resuscitated and cultured. The expression of specific protein S100 in RSC96 cells was detected by immunocytochemistry and identified by Schwann cells. The damage of RSC96 Schwann cells induced by high glucose was compared with the gradient high glucose concentration, and the high glucose concentration used in the follow-up study was determined. The protective effects of Xiaoke Bitong Capsule on RSC96 Schwann cells induced by high glucose was detected by MTT method. The level of NGF protein was detected by immunohistochemistry and the protein level of P-AKT/AKT pathway and caspase-3 was detected by Western blot. **Results:** 1) The survival rate of RSC96 Schwann cells increased with the increase of Xiaoke Bitong Capsules concentration. 2) The expression of NGF protein increased with the concentration of Xiaoke Bitong Capsules. 3) The expression of p-AKT/t-AKT and caspase-3 protein was down-regulated and decreased with the increase of the concentration of Xiaoke Bitong Capsules ($P < 0.05$). **Conclusion:** Xiaoke Bitong Capsules may down-regulate the expression of caspase-3 protein, inhibit the apoptosis of Schwann cells and up-regulate the expression of NGF by inhibiting the activation of PI3K/AKT signal transduction pathway. The myelin sheath cells of peripheral nerves are provided with neuronutrients, which can protect RSC96 Schwann cells induced by high glucose.

Key Words Xiaoke Bitong Capsules; High glucose; RSC96 Schwann cell; Injury; Protective effects; Mechanism; NGF; AKT

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.11.013

糖尿病是临床上常见的慢性疾病之一,其发生不同程度的糖尿病周围神经病变的概率达 60% 以上^[1],患者出现以远端对称性感觉和运动性多发性神经病变等临床症状^[2],主要由神经元的损伤和血

管病变等病理因素所致^[3]。然而复杂的发病机制使得糖尿病周围神经病变的治疗相当棘手,尽管控制血糖可以缓解糖尿病周围神经病变的临床症状,但是却不能遏制该疾病的进一步发展。本团队在临床

基金项目:国家自然科学基金项目(81070641)

作者简介:张文静(1983.01—),女,硕士,主管药师,研究方向:中医药药理学研究,E-mail:zhangwenjing0123@163.com

通信作者:孙亚克(1990.04—),女,本科,初级药师,研究方向:中医药药理学研究,E-mail:984453858@qq.com

上除控制患者血糖外,采用院内制剂消渴痹痛胶囊治疗患者,经益气活血,化瘀通络进一步延缓糖尿病周围神经病变的进展^[4]。目前关于消渴痹痛胶囊对糖尿病周围神经病变的机制研究报道较少,基于雪旺细胞是周围神经的髓鞘细胞^[5],对周围神经损伤的修复和再生具有重要的作用^[6],因此本研究采用高糖诱导 RSC96 雪旺细胞模拟糖尿病周围神经病变,并以消渴痹痛胶囊进行干预探究其保护作用及机制,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 所用的 RSC96 雪旺细胞购买于 ATCC 细胞库(批号: CRL-2765)。RSC96 雪旺细胞复苏及培养:从液氮罐中快速取出 RSC96 细胞,37℃水浴快速解冻约 1 min,将细胞悬浮液(1 mL)吸入 15 mL 离心管内并加入 1 mL DMEM 完全培养基,混匀后 1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 5 mL 含 10% FBS、1% 双抗、5 mmol/L 葡萄糖的完全 DMEM 培养基;置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。显微镜下观察复苏的 RSC96 细胞生长状态,当细胞生长状态良好且铺满 T25 培养瓶的 90% 时进行细胞传代。1~2 d 换液 1 次,2~4 d 传代。取对数生长期的 RSC96 细胞进行后续实验。

1.1.2 药物 消渴痹痛胶囊(黄芪 30 g、桑枝 10 g、威灵仙 10 g、牛膝 10 g、鸡血藤 15 g、豨莶草 15 g、全蝎 3 g 等)为本院院内制剂,取 1.5 mL EP 管,每个 EP 管分装消渴痹痛胶囊内容物 50 mg,-20℃冰箱保存待用。

1.1.3 试剂与仪器

1.1.3.1 试剂 1640 培养基购买于 Hyclone 公司;胎牛血清(FBS)购买于 Gibco 公司;MTT 检测试剂盒购买于美国 Amresco 公司;二甲基亚砜(DMSO)和多聚左旋赖氨酸购买于 Sigma 公司;Anti-rabbit IgG、HRP-linked Antibody 购买于 CST 公司;Anti-mouse IgG、HRP-linked Antibody 购买于 CST 公司,兔抗鼠 NGF 抗体购买于 Eptomics 公司;鼠抗 GAPDH 抗体、Caspase-3 Antibody、p-Akt1/2/3 Antibody (Ser473)-R 和 Akt1/2/3 Antibody (H-136) 购买于 Santa 公司;免疫组化试剂盒购买于碧云天生物技术公司。

1.1.3.2 仪器 CO₂ 细胞培养箱(日本 SANYO 公司,型号: MCO-170AICUVL)、96 孔板(CORNING 公司,型号: Costar 3897);荧光显微镜购买于日本 Nikon 公司,型号: E200;全波长酶标仪购买于美国 ThermoFisher 公司,型号: multiskan-go;超声波细胞

破碎仪购买于南京凡帝朗信息科技有限公司,型号: FDL-1000D;垂直电泳仪和转膜仪购买于美国 Bio-Rad 公司,型号: 165-8001, 170-3940;凝胶成像系统购买于美国 Bio-Rad 公司,型号: Gel-Doc XR+。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 用 96 孔板接种细胞,每孔加入 200 μL 培养液,设置空白对照、control 对照组和高糖处理组,于正常培养 24 h 后,在高糖处理在中用不同浓度(50 mmol/L、100 mmol/L、200 mmol/L、400 mmol/L)的高糖对细胞进行处理,在培养 24 h 后行 MTT 实验。测定并记录各孔的 OD 值,计算细胞存活率。结果显示,随着高糖浓度的增加,RSC96 雪旺细胞的存活率下降($P < 0.05$),其中 400 mmol/L 的存活率约 21%,太低,不适宜后续试验的开展,因此高糖浓度确定为 200 mmol/L,其细胞存活率约 53%,处于中线水平,即通过高糖诱导出 RSC96 雪旺细胞损伤模型,又适宜后续试验的开展。见表 1。

表 1 不同浓度高糖对 RSC96 雪旺细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	MTT 值
对照组	1.04 ± 0.19
高糖组	
50 mmol/L	0.89 ± 0.27*
100 mmol/L	0.67 ± 0.31*
200 mmol/L	0.53 ± 0.15*
400 mmol/L	0.21 ± 0.09*

注:与对照组比较,* $P < 0.05$

1.2.2 给药方法

1.2.2.1 对照组 含糖 0 mmol/L、10% FBS、1% 双抗的 DMEM 培养基、200 μL RSC96 雪旺细胞细胞悬液。

1.2.2.2 高糖组 含糖 200 mmol/L、10% FBS、1% 双抗的 DMEM 培养基、200 μL RSC96 雪旺细胞细胞悬液。

1.2.2.3 干预组 10% FBS、1% 双抗的 DMEM 培养基、200 μL RSC96 雪旺细胞细胞悬液,在用高糖处理之前,我们先用不同浓度(0.01 mmol/L、0.1 mmol/L、1 mmol/L)的消渴痹痛胶囊对 RSC96 细胞干预处理 3 h,然后再加入 200 mmol/L 的高糖共培养 24 h。

1.2.3 检测指标与方法

1.2.3.1 RSC96 雪旺细胞的鉴定方法 采用免疫细胞化学法对 RSC96 雪旺细胞进行鉴定,首先取经多聚赖氨酸处理后的六孔板上铺好玻片,做细胞爬

片,将第4代细胞接种到六孔板上(5×10^4),培养24 h后采用免疫细胞化学法检测 RSC96 细胞的特异性蛋白 S-100 的表达情况,进行鉴定,试验中设置阴性对照组(正常培养的细胞),每组设置3个复孔。

1.2.3.2 MTT 法检测消渴痹痛胶囊对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞的保护作用 取生长状态良好的3~5代细胞接种于96孔培养板中,用血球计数板计数后,按照 2×10^4 个/mL密度的接种,实验分为空白对照组、正常对照组和葛根素干预组3个组,空白对照组中每孔仅加入200 μ L的1640基础培养基,其余各组中每孔均加入200 μ L的细胞混悬液,各组分别设置5个复孔。于37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下培养24 h后,将葛根素干预组的各孔内的培养基吸出,换为含不同浓度葛根素的1640培养基,其中葛根素的浓度设置为0.01、0.1、1、10、100 mmol/L,放回培养箱继续培养。3 h后,每孔各加入20 μ L MTT液(5 mg/mL),继续孵育4 h后终止培养。小心吸弃孔内上清液,每孔加入150 μ L DMSO,室温下震荡5~10 min,操作需避光。在酶标仪上选择570 nm波长,测定OD值,重复3次实验,记录并分析结果。

1.2.3.3 免疫组织化学检测 NGF 蛋白的表达情况 各组细胞以磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗5次后,在含有4%福尔马林中固定约10 min,PBS冲洗后在细胞上滴加0.3%的 H_2O_2 覆盖盖玻片,室温孵育10 min;再以pH值7.4 0.2 mol/L PBS清洗后,滴加BSA于细胞中,室温封闭孵育20 min,仅用吸水纸从细胞边吸去多余液体,注意不要碰到细胞以免造成破坏。滴加鼠抗兔 NGF 一抗(1:500),4 $^{\circ}$ C冰箱中过夜。第2天将切片拿出后以pH值7.4 0.2 mol/L磷酸盐缓冲液清洗3次 \times 3 min后,滴加生物素化山羊抗兔 IgG 并于室温下孵育30 min。以pH值7.4 0.2 mol/L磷酸盐缓冲液清洗后滴加试剂 SABC,室温孵育30 min,然后滴加DAB显色液,室温下孵育30 min,双蒸水多次洗涤,经上行梯度乙醇脱水;再经二甲苯透明;中性树脂胶封片。室温晾干后,光学显微镜下观察、摄片。每只大鼠分别随机选取10个切片,分别计数每张切片3个视野的细胞中NGF阳性细胞表达数目,确平均值纳入统计分析。

1.2.3.4 蛋白质印迹法检测 P-AKT/AKT 通路及 caspase-3 的蛋白表达情况 收集各组细胞,充分裂解并用超声波细胞破碎仪进行破碎处理,放置样品细胞间的粘连;随即在100 $^{\circ}$ C恒温水浴中进行蛋白变性,并用BCA法测定样品蛋白浓度,-20 $^{\circ}$ C保存待用。将标记蛋白的masker和各组样品加样到已

经装好电泳液的电泳胶槽后,进行蛋白分离电泳,随即根据目标蛋白切胶,进行转膜电泳,将电泳胶上的目标蛋白转到相对稳定不易碎的PVDF膜上,将PVDF膜放入5%脱脂奶粉的封闭液中30 min,TBST洗膜后孵育P-AKT/AKT、caspase-3和GAPDH一抗,4 $^{\circ}$ C孵育过夜TBST洗膜后孵育各指标相应的二抗,室温孵育2 h,TBST洗膜后ECL发光,在凝胶成像系统上查看各组蛋白条带及其灰度值。

1.3 统计学方法 采用SPSS 20.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。首先对各组数据进行正态性及方差齐性检验,若呈正态性分布且方差齐,则采用单因素方差分析(one-way ANOVA)同时选择最小显著性差异检验(Least Significant Difference, LSD)进行组间和组内的统计;若呈正态性分布且方差不齐,则采用单因素方差分析(one-way ANOVA)同时选择非参数检验(Tamhane's T2)进行组间和组内的统计;若不满足正态性和方差齐性,采用多样本秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RSC96 雪旺细胞的鉴定结果 正常培养的 RSC96 细胞在经免疫细胞化学方法处理后,其结果显示,对照组中的细胞胞体和轴突呈现棕色,说明 RSC96 雪旺细胞的特异性抗体 S-100 表达为阳性;而相应的阴性对照组中细胞胞体不显色,细胞核为蓝色。见图1。

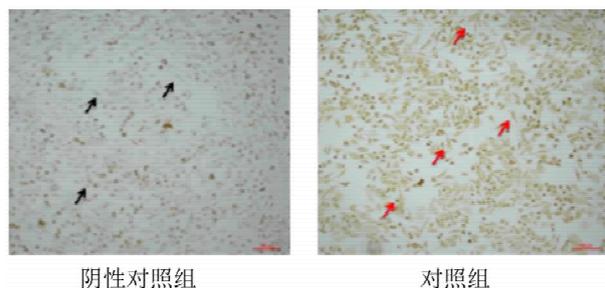


图1 RSC96 雪旺细胞的鉴定结果

2.2 消渴痹痛胶囊对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞的保护作用 对照组比较,高糖组和干预组明显 RSC96 雪旺细胞存活率降低($P < 0.05$),与高糖组比较,干预组中 RSC96 雪旺细胞存活率增高($P < 0.05$),且 RSC96 雪旺细胞存活率随着消渴痹痛胶囊药物浓度的升高而增加($P < 0.05$)。见表2。

2.3 消渴痹痛胶囊对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞中 NGF 蛋白表达的影响 对照组中 RSC96 雪旺细胞、轴突上 NGF 蛋白表达均呈棕色,即为阳性表达,与之比较,高糖组和干预组均减少($P <$

0.05), 而与高糖组比较, 干预组中 NGF 蛋白表达量增加, 且随着消渴痹痛胶囊药物浓度增加 ($P < 0.05$)。见图 2。

表 2 各组细胞 MTT 测定结果比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	MTT 值
对照组	1.05 ± 0.21
高糖组	0.49 ± 0.17*
干预组	
0.01 mmol/L	0.57 ± 0.13*
0.1 mmol/L	0.75 ± 0.26* [△]
1 mmol/L	0.89 ± 0.38* [△]

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与高糖组比较, [△] $P < 0.05$

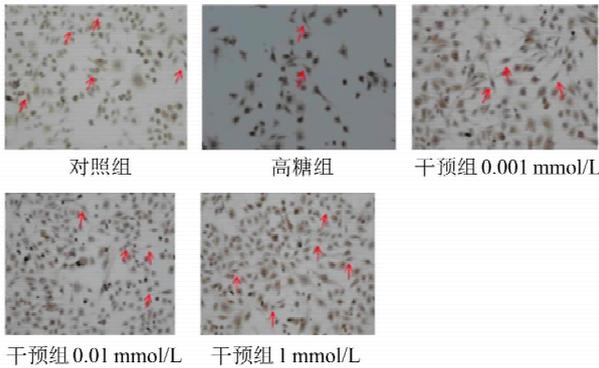


图 2 各组高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞中 NGF 蛋白表达的比较

2.4 各组细胞 p-AKT/t-AKT 和 caspase-3 比值的比较 与对照组比较, 高糖组和干预组中 RSC96 雪旺细胞 p-AKT/t-AKT 和 caspase-3 比值正高 ($P < 0.05$), 而与高糖组比较, 干预组中 p-AKT/t-AKT 和 caspase-3 蛋白表达下调, 且随着消渴痹痛胶囊药物浓度增加而减少 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组细胞 p-AKT/t-AKT 和 caspase-3 比值的比较结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	p-AKT/t-AKT	caspase-3/GAPDH
对照组	0.48 ± 0.15	0.49 ± 0.13
高糖组	1.53 ± 0.11	1.67 ± 0.55
干预组		
0.01 mmol/L	1.15 ± 0.47	1.22 ± 0.18
0.1 mmol/L	0.86 ± 0.24	0.94 ± 0.22
1 mmol/L	0.64 ± 0.12	0.71 ± 0.13

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与高糖组比较, [△] $P < 0.05$

3 讨论

糖尿病周围神经病变在中医学中属于“消渴痹症”, 由于机体正气亏虚, 内外感邪气在体内瘀滞而化热化燥, 伤阴耗液, 发为消渴; 消渴病况日久, 气血阴阳受损, 其病机虚实夹杂, 多见阴阳两虚, 以虚为本而以邪实为标, 进而痰浊瘀血, 阻滞经络^[7]; 正如叶天士所说: “病久气血推行不利, 血络之中, 必有瘀

凝……久存脉道, 络中气血阻滞不通, 必猝然而痛”。消渴痹症病久伤络, 故主张治疗时多将“祛瘀通络”贯穿始终, 故多以“扶正祛邪通络”进行治疗^[8-10]。而消渴痹痛胶囊中以黄芪为君药, 益气健脾, 固本之时亦能敛疮生肌; 臣以桑枝祛风通络, 鸡血藤补血行血, 舒经活络; 豨莶草和牛膝, 同归肝肾经, 共奏补肝肾, 强筋骨之功, 威灵仙祛风除湿, 通络止痛, 同为佐药; 全蝎息风止痉, 通经止痛, 引诸药到肢体末端, 为佐使药^[11]。全方补血活血, 补益肝肾以治本, 化瘀通络以治标。本研究结果显示消渴痹痛胶囊干预后增加了 RSC96 雪旺细胞的存活率, 提示消渴痹痛胶囊对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞的损伤具有保护作用。

为进一步探讨其保护机制, 由于在糖尿病周围神经病变病理演变进程中, 判定糖尿病周围神经受损的重要标志是神经传导速度的异常, 相应的周围神经再生也存在着缺陷。而在神经营养因子家族中, 神经生长因子 (NGF) 是最具活力的能够营养神经的生物活性因子之一, 存在于周围神经的雪旺氏细胞及神经节等部位^[12]。当糖尿病周围性神经病变患者胰岛素缺乏或雪旺细胞受损均能够减少 NGF 合成, 而 NGF 通过逆向轴浆运输障碍进一步引起神经营养缺乏、神经再生障碍^[13-14]。有研究显示^[15], 采用不同浓度 NGF 对 RSC96 大鼠雪旺细胞株进行干预, 发现 NGF 对高糖所引起的雪旺细胞损伤和生长抑制有明显的改善作用。本研究结果显示, 消渴痹痛胶囊对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞干预后可上调 NGF 的蛋白表达, 保护受损雪旺细胞。有实验研究显示^[16-18] NGF 能够调控 PI3K/Akt 和 ERK1/2 以及 GSK3 β 等 3 条信号转导通路, 抑制由高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞内 ERS 的过度激活, 降低雪旺细胞的细胞凋亡水平, 从而达到治疗糖尿病周围性神经病变的目的。本研究进一步探讨研究发现, 消渴痹痛胶囊对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞干预后, 降低 p-AKT 和 caspase-3 的蛋白表达水平; 提示消渴痹痛胶囊可能通过抑制 PI3K/AKT 信号转导通路的激活, 从而下调 caspase-3 蛋白的表达水平, 抑制雪旺细胞的细胞凋亡, 同时又上调 NGF 的表达水平, 为周围神经的髓鞘细胞提供神经营养物质, 从而对高糖诱导的 RSC96 雪旺细胞起到保护作用。

参考文献

- [1] 万芳, 付达金, 李文斌, 等. 糖尿病周围神经病变治疗研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(23): 5360-5361.

(下接第 2892 页)

- 的意义[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(11): 1973-1974.
- [3] 杨世刚. 老年支气管哮喘临床特点及治疗效果观察[J]. 中国伤残医学, 2013, 21(9): 234-235.
- [4] 常爱玲. 全球约3亿人患有哮喘病[J]. 首都医药, 2004, 11(5): 25.
- [5] Karol MH. Animal models of occupational asthma[J]. Eur Respir J, 1994, 7(3): 555-568.
- [6] 吕洪臻, 黄诚. 支气管哮喘动物模型的研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(19): 3216-3220.
- [7] 李新辰, 张妍迪, 白根本, 等. 高浓度臭氧暴露法建立大鼠哮喘模型[J]. 热带医学杂志, 2014, 14(1): 23-25, 封4.
- [8] 陈馨馨, 李友林. 仙味保金方治疗过敏性支气管哮喘模型家兔的血清代谢组学研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(2): 579-581.
- [9] 张亚娟, 王亚楠, 丁亚骏, 等. 卵清蛋白诱导小鼠建立支气管哮喘模型[J]. 河南医学研究, 2012, 21(3): 268-270.
- [10] Waserman S, Olivenstein R, Renzi P, et al. The relationship between late asthmatic responses and antigen-specific immunoglobulin[J]. J Allergy Clin Immunol, 1992, 90(4 Pt 1): 661-669.
- [11] 施焕中. 正确认识和合理应用支气管哮喘的动物模型[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28(11): 749-750.
- [12] Bellofiore S, Martin J G. Antigen Challenge of Sensitized Rats Increases Airway Responsiveness to Methacholine[J]. J Appl Physiol, 1988, 65: 1642-1646.
- [13] Ceyhan B B, Sungur M, Celikel C A, et al. Effect of Inhaled Cyclosporine on the Rat Airway: Histologic and Bronchoalveolar Lavage Assessment[J]. Respiration, 1998, 65: 71-78.
- [14] 李国豪, 徐邦牢, 雷秀霞, 等. 壁虎粉对哮喘豚鼠模型干预作用的实验研究[J]. 热带医学杂志, 2007, 7(2): 143-144, 168.
- [15] 何会霞, 李自红. 支气管哮喘实验动物模型的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(20): 2074-2076.
- [16] 刘佳, 郑健, 于涛. 小鼠过敏性哮喘模型的研究进展及评价[J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(2): 65-68.
- [17] 刘贵颖, 张慧琪, 朱振刚, 等. 卵清蛋白致敏大鼠支气管哮喘模型的制备[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(7): 1167-1169.
- [18] 王雅娟. 3种大鼠哮喘模型比较[C]. 中医药理论与应用研究——安徽中医药继承与创新博士科技论坛论文集, 2008: 464-467.
- [19] 钱振福, 崔芳因. 国内支气管哮喘气道重塑动物模型的研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(1): 14-18.
- [20] 刘中成, 张艳芬. 一种大鼠慢性哮喘模型的建立与评价[J]. 药学报, 2010, 45(6): 718-723.

(2018-11-06 收稿 责任编辑: 芮莉莉)

(上接第2886页)

- [2] 马饶, 周显礼. 糖尿病周围神经病变诊断方法的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(17): 3462-3466.
- [3] Costa YM, Karlsson P, Bonjardim LR, et al. Trigeminal nociceptive function and oral somatosensory functional and structural assessment in patients with diabetic peripheral neuropathy[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 169.
- [4] 石蓓, 王彩梅, 石立鹏, 等. 中医药治疗糖尿病周围神经病变的研究进展[J]. 湖南中医杂志, 2018, 34(10): 194-196.
- [5] Jia L, Chopp M, Wang L, et al. Exosomes derived from high-glucose-stimulated Schwann cells promote development of diabetic peripheral neuropathy[J]. FASEB J, 2018: fj201800597R.
- [6] Rachana KS, Manu MS, Advirao GM. Insulin-induced upregulation of lipoprotein lipase in Schwann cells during diabetic peripheral neuropathy[J]. Diabetes Metab Syndr, 2018, 12(4): 525-530.
- [7] 曹晓红, 李霞, 翟卷平. 中西医结合治疗糖尿病周围神经病变临床研究[J]. 河北医药, 2018, 40(16): 2411-2415.
- [8] 莫于才. 糖尿病周围神经病变治疗的研究进展[J]. 医药前沿, 2017, 7(27): 8-9.
- [9] 王可天, 岳蛟, 周培, 等. 糖尿病周围神经病变的中西医疗综合述[J]. 按摩与康复医学, 2017, 8(16): 8-11.
- [10] 辜沅. 糖尿病中医治疗研究进展[J]. 饮食保健, 2018, 5(4): 295.
- [11] 辛欢. 消渴痹通胶囊治疗糖尿病周围神经病变(气虚血瘀证)的疗效及对炎症反应因子 hs-CRP、IL-6、TNF- α 的影响[D]. 长春: 长春中医药大学, 2017.
- [12] Yilmaz M, Aktug H, Oltulu F, et al. Neuroprotective effects of folic acid on experimental diabetic peripheral neuropathy[J]. Toxicol Ind Health, 2016, 32(5): 832-840.
- [13] Li X, Zhang J, Zhao W, et al. Effect of Tongxinluo on nerve regeneration in mice with diabetic peripheral neuropathy[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2015, 61(5): 103-107.
- [14] 李江雁, 李青菊. 不同糖浓度培养雪旺细胞对 NGF 及 CGT 基因表达的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2010, 13(7): 16-18.
- [15] Li R, Ma J, Wu Y, et al. Dual Delivery of NGF and bFGF Coacervate Ameliorates Diabetic Peripheral Neuropathy via Inhibiting Schwann Cells Apoptosis[J]. Int J Biol Sci, 2017, 13(5): 640-651.
- [16] Sun Q, Tang DD, Yin EG, et al. Diagnostic Significance of Serum Levels of Nerve Growth Factor and Brain Derived Neurotrophic Factor in Diabetic Peripheral Neuropathy[J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 5943-5950.
- [17] Chen L, Gong HY, Xu L. PVT1 protects diabetic peripheral neuropathy via PI3K/AKT pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(20): 6905-6911.
- [18] 徐敏, 庄向华, 孙爱丽, 等. 高糖对 RSC96 雪旺细胞的损伤机制[J]. 山东大学学报: 医学版, 2014, 52(5): 44-48.

(2019-05-31 收稿 责任编辑: 王明)