

外源性趋化因子在高糖环境下对人脐静脉内皮细胞功能的影响

胡海林, 罗敏

引用: 胡海林, 罗敏. 外源性趋化因子在高糖环境下对人脐静脉内皮细胞功能的影响. 国际眼科杂志 2020;20(5):773-777

基金项目: 上海市重点实验室资助项目 (No.17DZ2260100)
作者单位: (200011) 中国上海市, 上海交通大学医学院附属第九人民医院眼科 上海市眼眶病眼肿瘤重点实验室
作者简介: 胡海林, 毕业于同济大学医学院, 主治医师, 研究方向: 糖尿病视网膜病变、泪道疾病、眼整形美容。
通讯作者: 罗敏, 毕业于上海交通大学医学院, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 白内障、屈光手术、眼部整形美容. qiangson@sh163.net
收稿日期: 2019-06-04 修回日期: 2020-04-15

摘要

目的: 探讨高糖环境下外源性趋化因子 CXCL9、CXCL10、CXCL11 对人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 功能的影响及其机制。

方法: 将对数生长期的细胞分为对照组 (葡萄糖浓度 5.5mmol/L)、低糖组 (葡萄糖浓度 5mmol/L)、高糖组 (葡萄糖浓度 30mmol/L), 分别加入 CXCL9 (100ng/mL)、CXCL10 (10ng/mL)、CXCL11 (100ng/mL), 培养 24、48、72h, 采用 CCK-8 法检测细胞增殖能力, RT-PCR 检测 CXCR3 mRNA 的表达, 免疫荧光法检测细胞增殖标志分子 Ki-67 阳性表达情况。

结果: CCK-8 法检测结果显示, 加入三种外源性趋化因子后, 随着时间的延长, 对照组细胞吸光度值逐渐增强; 低糖组细胞吸光度值呈现先增强后降低的趋势, 48h 达到高峰; 高糖组细胞吸光度值总体呈降低趋势。RT-PCR 检测结果显示, 加入三种外源性趋化因子后 48、72h, 低糖组和高糖组细胞 CXCR3 mRNA 表达水平均高于对照组, 且均较同组 24h 时升高。免疫荧光检测结果显示, 加入三种外源性趋化因子后 72h, 低糖组与高糖组细胞 Ki-67 荧光强度降低, 高糖组变化更明显。

结论: 高糖环境下外源性加入 CXCL9、CXCL10、CXCL11 可使 HUVEC 细胞活力下降并诱导 CXCR3 表达增强, 且以外源性加入 CXCL10、CXCL11 配体后, CXCR3 表达增幅最高, 这可能成为临床干预糖尿病视网膜病变的靶点。

关键词: CXCL9; CXCL10; CXCL11; 高糖; 人脐静脉内皮细胞

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.5.06

Effect of exogenous chemokines on the function of human umbilical vein endothelial cells under the environment of high glucose

Hai-Lin Hu, Min Luo

Foundation item: Science and Technology Commission of Shanghai (No.17DZ2260100)

Department of Ophthalmology, Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine; Shanghai Key Laboratory of Orbital Diseases and Ocular Oncology, Shanghai 200011, China

Correspondence to: Min Luo. Department of Ophthalmology, the Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine; Shanghai Key Laboratory of Orbital Diseases and Ocular Oncology, Shanghai 200011, China. qiangson@sh163.net

Received:2019-06-04 Accepted:2020-04-15

Abstract

• **AIM:** To investigate the effects of exogenous CXCL9, CXCL10 and CXCL11 on human umbilical vein endothelial cells under a high glucose environment and explore its mechanisms.

• **METHODS:** The cells in logarithmic growth stage were divided into control group (glucose concentration 5.5mmol/L), low glucose group (glucose concentration 5mmol/L), high glucose group (glucose concentration 30mmol/L). CXCL9 (100ng/mL), CXCL10 (10ng/mL) and CXCL11 (100ng/mL) were added respectively, cultured for 24, 48 and 72h. CCK-8 method was used to detect cell proliferation, RT-PCR was used to detect CXCR3 mRNA expression, and immunofluorescence was used to detect Ki-67 expression.

• **RESULTS:** The results of CCK-8 method showed that the absorbance value of the control group increased gradually with the increase of time after adding three exogenous chemokines. The absorbance value of the low glucose group increased first and then decreased, reaching the peak at 48h. The absorbance value of the high glucose group decreased generally. The results of RT-PCR showed that the expression of CXCR3 mRNA in low glucose group and high glucose group was higher than that in 24h after adding CXCL9, CXCL10 and CXCL11 for 48 and 72h. The results of immunofluorescence showed that the fluorescence intensity of Ki-67 decreased in the low and high glucose 72h after adding CXCL9, CXCL10 and CXCL11. The change in the high glucose group is more obvious.

• **CONCLUSION:** Exogenous CXCL9, CXCL10 and CXCL11 can decrease the activity of human umbilical vein cell under high glucose environments and induce the increase in CXCR3 expression. The increase of CXCR3 reached the highest after adding exogenous CXCL10 and CXCL11, suggesting a target for clinical intervention of diabetic retinopathy.

• **KEYWORDS:** CXCL9; CXCL10; CXCL11; high glucose; human umbilical vein endothelial cells

Citation: Hu HL, Luo M. Effect of exogenous chemokines on the function of human umbilical vein endothelial cells under the environment of high glucose. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020; 20(5):773-777

0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病患者眼部最常见的并发症之一,是世界范围内主要的致盲性眼病^[1-2]。DR患者表现为视力模糊,眼前有暗点或闪烁的灯光以及视力丧失,眼底检查表现为微血管瘤、出血、渗出、视网膜内微血管异常、静脉串珠样改变、新生血管等。糖尿病患者由于高血糖引起血管内皮细胞凋亡,氧化酶损伤,微血栓形成,细胞黏附分子活化,白细胞淤积和细胞因子活化,继之缺氧调节的生长因子表达增加和细胞因子产生导致微循环障碍。DR的发病机制包括异常代谢途径、氧化应激和慢性炎症等学说^[3-4]。近年来,慢性炎症学说越来越受到国内外学者的关注。靶向抗炎治疗,如抗血管内皮生长因子(VEGF)或皮质类固醇类药物玻璃体腔注射等,可以在一定程度上延缓DR的发展^[4-5]。

白细胞在视网膜微血管的黏附可能是激活DR复杂病理过程的起始途径,趋化因子参与了这一过程。趋化因子是细胞因子超家族中的一种由70~80个氨基酸组成,对白细胞等细胞具有趋化作用的小分子蛋白质^[6]。 γ -干扰素诱导的单核因子(CXCL9)、干扰素诱导蛋白10(CXCL10)、干扰素诱导的T细胞 α 化学引诱剂(CXCL11)是趋化因子CXCR3的3个配体^[7-8]。CXCR3是表达在T细胞表面的趋化因子受体,能诱导趋化、细胞迁徙和黏附。临床研究表明,CXCR3在临床监测DR病情严重程度具有一定价值^[9]。动物研究也表明,CXCR3家族趋化因子参与了DR的病程变化^[10]。然而,CXCR3的3个配体在DR发展过程中所起的作用不明。因此,本研究从细胞学角度研究CXCR3的3个配体与DR病情之间的关联,以便为寻找治疗DR的靶点提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞和试剂 人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)(上海细胞生物研究所);DMEM(Gibco,美国),抗生素(青-链霉素)、0.25%胰蛋白酶、胎牛血清(Hyclone,美国),CXCL9、CXCL10、CXCL11(Bioleng,美国),CXCR3抗体(Abcam,美国),CCK-8细胞活性检测试剂盒(同仁公司,日本),鼠抗Ki67单克隆抗体、Alexa Fluor 488羊抗鼠二抗、SYBR green one Real-time PCR试剂盒(TaKaRa,日本),Trizol试剂盒(Life technology,美国)。

1.1.2 主要仪器 恒温CO₂培养箱(Thermal,美国),倒置显微镜(OLYMPUS,日本),程序降温冻存盒(Nalgene,美国),-80℃低温冰箱(SANYO,日本),JB90-1定时磁力搅拌器(上海衡平仪器厂),PHS-2C型酸度计(上海伟业仪器厂),旋涡混合器MAXIMIX plus TM(Thermolyne,美国),台式低温离心机(Beckman Coulter,法国),电热恒温水浴箱(上海医疗器械五厂),高速离心机(Beckman Coulter,美国),精密天平BS110S(Sartorius,德国),电泳仪及电转仪Mini Protein II型(Bio-Rad,美国),制冰机F-120C-50型(HOSHIZAKI,日本),Envision全波段酶标检测仪(PE,美国),电泳系统(电泳仪、电泳槽等),Bio-Rad

GelDoc 2000 成像系统,Stratagene Mxp3000 荧光PCR仪。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与分组 HUVEC置于含10%胎牛血清的培养液中,37℃、5% CO₂恒温孵育箱内培养,1~2d更换培养液,细胞融合率达到90%~95%后按1:3以上的比例进行传代培养,约2~3d消化传代一次。将对数生长期的细胞分为对照组(葡萄糖浓度5.5mmol/L的培养基培养)、低糖组(葡萄糖浓度5mmol/L的培养基培养)、高糖组(葡萄糖浓度30mmol/L的培养基培养)进行实验。

1.2.2 CCK-8法检测细胞增殖能力 根据实验分组将HUVEC细胞接种至96孔板,每孔5000个细胞(200 μ L相应的培养基),分别加入趋化因子CXCL9、CXCL10、CXCL11,终浓度分别为100、10、100ng/mL。培养24、48、72h,向待测孔中加入20 μ L CCK-8试剂孵育2h后,在酶标检测仪450nm下检测吸光度值(OD)。检测3次,取平均值。

1.2.3 Real-time PCR检测CXCR3 mRNA的表达 根据实验分组将HUVEC细胞接种至6孔板中,每孔2 \times 10⁴个细胞,分别加入趋化因子CXCL9、CXCL10、CXCL11,终浓度分别为100、10、100ng/mL。培养24、48、72h。利用Trizol法抽提细胞总RNA,进行浓度检测后,使用反转录试剂盒合成cDNA。采用SYBR green法对CXCR3进行Real-time PCR检测,管家基因GAPDH作为内参,以2^{- $\Delta\Delta$ Ct}值计算CXCR3 mRNA的相对表达量。CXCR3正向引物5'-CCACCTAGCTGTAGCAGACAC-3',反向引物5'-AGGGCTCCTGCGTAGAAGTT-3'。GAPDH正向引物5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3',反向引物5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。

1.2.4 免疫荧光法检测细胞增殖标志分子Ki67含量 将HUVEC细胞接种至放置爬片的6孔板中,每孔2 \times 10⁴个细胞,孵育24h,换不同葡萄糖浓度的培养基并分别加入趋化因子CXCL9、CXCL10、CXCL11,终浓度分别为100、10、100ng/mL。72h后,去除培养基,PBS漂洗3次。用4%多聚甲醛固定10min,PBS漂洗3次,10%驴血清封闭30min;加入鼠抗Ki67单克隆抗体(1:1000),4℃孵育过夜;次日用PBS漂洗3次,加入Alexa Fluor 488羊抗鼠二抗室温避光孵育2h,随后漂洗3次,10min/次,加入DAPI染色20min,PBS冲掉染色液后用滤纸吸干,封片后在荧光显微镜下进行观察。以细胞核出现绿色荧光为Ki67阳性染色,计数每视野荧光细胞数和总细胞数,并计算荧光细胞百分比。

统计学分析:采用SPSS 25.0软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采取重复测量数据的方差分析和单因素方差分析,进一步组间两两比较采用LSD-t检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外源性趋化因子对HUVEC细胞增殖的影响

CCK-8法检测结果显示,加入外源性趋化因子CXCL9、CXCL10、CXCL11后,随着时间的延长,对照组细胞吸光度值逐渐增强;低糖组细胞吸光度值呈现先增强后降低的趋势,48h达到高峰;高糖组细胞吸光度值总体呈降低趋势(表1)。加入三种趋化因子后24h,三组细胞吸光度值差异均无统计学意义($P>0.05$);加入三种趋化因子后48h,高糖组与对照组细胞吸光度值差异有统计学意义($P<0.05$),且加入CXCL11时低糖组与对照组细胞吸光度值

表 1 外源性趋化因子对 HUVEC 细胞增殖的影响

($\bar{x} \pm s, OD$)

趋化因子	组别	培养 24h	培养 48h	培养 72h
CXCL9	对照组	0.42±0.05	0.88±0.16	1.09±0.17
	低糖组	0.40±0.10	0.60±0.12	0.55±0.12
	高糖组	0.45±0.06	0.38±0.07	0.26±0.09
	<i>P</i> (对照组 vs 低糖组)	0.772	0.193	0.008
	<i>P</i> (对照组 vs 高糖组)	0.542	0.023	0.001
	<i>P</i> (低糖组 vs 高糖组)	0.499	0.430	0.115
CXCL10	对照组	0.38±0.10	0.89±0.18	1.07±0.16
	低糖组	0.41±0.08	0.61±0.14	0.57±0.11
	高糖组	0.42±0.11	0.35±0.13	0.23±0.08
	<i>P</i> (对照组 vs 低糖组)	0.706	0.189	0.007
	<i>P</i> (对照组 vs 高糖组)	0.665	0.014	<0.001
	<i>P</i> (低糖组 vs 高糖组)	0.905	0.245	0.042
CXCL11	对照组	0.50±0.13	0.96±0.09	1.11±0.13
	低糖组	0.44±0.06	0.56±0.11	0.55±0.11
	高糖组	0.41±0.10	0.43±0.16	0.25±0.08
	<i>P</i> (对照组 vs 低糖组)	0.508	0.022	0.003
	<i>P</i> (对照组 vs 高糖组)	0.396	0.006	<0.001
	<i>P</i> (低糖组 vs 高糖组)	0.679	0.766	0.056

注: CXCL9: $F_{\text{时间}} = 11.14, P_{\text{时间}} = 0.002; F_{\text{组间}} = 15.18, P_{\text{组间}} = 0.004; F_{\text{组间} \times \text{时间}} = 12.51, P_{\text{组间} \times \text{时间}} < 0.001$ 。 CXCL10: $F_{\text{时间}} = 11.46, P_{\text{时间}} = 0.002; F_{\text{组间}} = 19.38, P_{\text{组间}} = 0.002; F_{\text{组间} \times \text{时间}} = 12.35, P_{\text{组间} \times \text{时间}} < 0.001$ 。 CXCL11: $F_{\text{时间}} = 13.13, P_{\text{时间}} = 0.001; F_{\text{组间}} = 29.95, P_{\text{组间}} = 0.001; F_{\text{组间} \times \text{时间}} = 13.61, P_{\text{组间} \times \text{时间}} < 0.001$ 。

表 2 外源性趋化因子对 HUVEC 细胞 CXCR3 mRNA 表达的影响

$\bar{x} \pm s$

趋化因子	组别	培养 24h	培养 48h	培养 72h
CXCL9	对照组	1.01±0.20	1.07±0.19	1.04±0.18
	低糖组	3.20±1.20	4.20±0.80	4.37±0.51
	高糖组	4.46±0.95	5.40±0.67	5.30±0.51
	<i>P</i> (对照组 vs 低糖组)	0.071	0.002	<0.001
	<i>P</i> (对照组 vs 高糖组)	0.009	<0.001	<0.001
	<i>P</i> (低糖组 vs 高糖组)	0.398	0.157	0.019
CXCL10	对照组	1.05±0.21	1.00±0.20	1.01±0.19
	低糖组	3.20±1.08	4.60±0.80	4.33±0.51
	高糖组	4.80±1.30	6.10±0.40	6.00±1.11
	<i>P</i> (对照组 vs 低糖组)	0.108	0.010	0.004
	<i>P</i> (对照组 vs 高糖组)	0.010	0.002	<0.001
	<i>P</i> (低糖组 vs 高糖组)	0.280	0.291	0.036
CXCL11	对照组	0.98±0.21	0.98±0.18	1.02±0.23
	低糖组	3.14±1.15	3.73±1.12	4.06±0.39
	高糖组	4.33±0.76	5.67±0.72	5.50±0.49
	<i>P</i> (对照组 vs 低糖组)	0.051	0.015	<0.001
	<i>P</i> (对照组 vs 高糖组)	0.007	0.001	<0.001
	<i>P</i> (低糖组 vs 高糖组)	0.364	0.066	0.003

注: CXCL9: $F_{\text{时间}} = 19.41, P_{\text{时间}} < 0.001; F_{\text{组间}} = 35.42, P_{\text{组间}} < 0.001; F_{\text{组间} \times \text{时间}} = 4.48, P_{\text{组间} \times \text{时间}} = 0.019$ 。 CXCL10: $F_{\text{时间}} = 45.12, P_{\text{时间}} < 0.001; F_{\text{组间}} = 23.22, P_{\text{组间}} = 0.001; F_{\text{组间} \times \text{时间}} = 13.74, P_{\text{组间} \times \text{时间}} < 0.001$ 。 CXCL11: $F_{\text{时间}} = 12.26, P_{\text{时间}} = 0.001; F_{\text{组间}} = 38.8, P_{\text{组间}} < 0.001; F_{\text{组间} \times \text{时间}} = 3.71, P_{\text{组间} \times \text{时间}} = 0.034$ 。

差异有统计学意义($P < 0.05$);加入三种趋化因子后 72h 后,低糖组和高糖组细胞吸光度值分别与对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),且加入 CXCL10 时低糖组与高糖组细胞吸光度值差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 外源性趋化因子对 HUVEC 细胞 CXCR3 mRNA 表达的影响 RT-PCR 检测结果显示,外源性趋化因子 CXCL9、CXCL10、CXCL11 加入 48、72h 后,低糖组和高糖组细胞 CXCR3 mRNA 表达水平高于 24h(表 2)。加入外源性趋化因子 CXCL9、CXCL10、CXCL11 后 24h,高糖组细

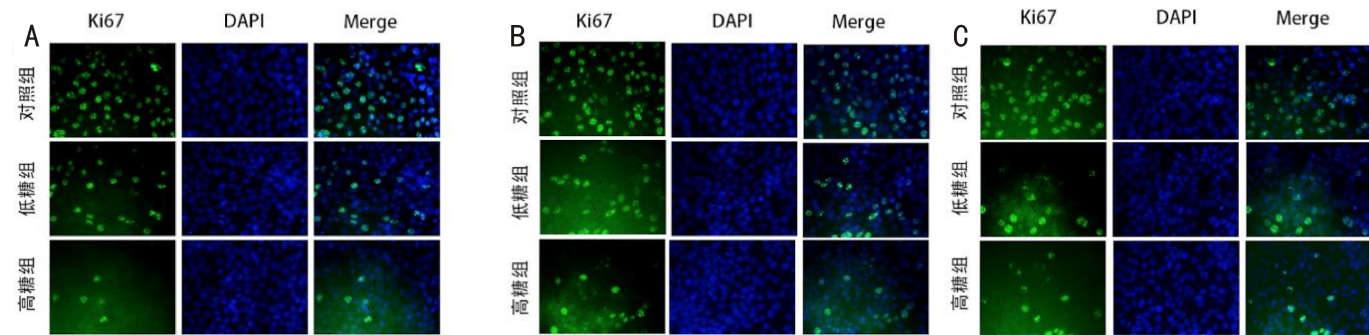


图1 加入外源性趋化因子后72h Ki-67免疫荧光显色图(×40) A:加入CXCL9;B:加入CXCL10;C:加入CXCL11。

表3 外源性趋化因子对HUVEC细胞Ki67阳性表达的影响

组别	CXCL9	CXCL10	CXCL11
对照组	37.0±5.2	44.2±4.1	40.7±4.6
低糖组	20.7±4.5	16.7±4.3	24.5±3.5
高糖组	16.8±2.5	16.2±2.6	15.2±4.9
<i>P</i> (对照组 vs 低糖组)	0.015	0.001	0.008
<i>P</i> (对照组 vs 高糖组)	0.004	0.001	0.003
<i>P</i> (低糖组 vs 高糖组)	0.260	0.872	0.056

($\bar{x} \pm s, \%$)

注: $F_{CXCL9} = 19.302, P_{CXCL9} = 0.002; F_{CXCL10} = 54.939, P_{CXCL10} < 0.001; F_{CXCL11} = 26.102, P_{CXCL11} = 0.001$ 。

胞CXCR3 mRNA表达水平比对照组高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);加入三种趋化因子后48h,低糖组、高糖组细胞CXCR3 mRNA表达水平与对照组差异均有统计学意义($P < 0.05$);加入三种趋化因子后72h后,低糖组、高糖组细胞CXCR3 mRNA表达水平与对照组,低糖组和高糖组差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 外源性趋化因子对HUVEC细胞增殖标志分子Ki67表达的影响 免疫荧光检测结果显示,加入外源性趋化因子CXCL9、CXCL10、CXCL11后72h,与对照组相比,低糖组与高糖组细胞Ki-67荧光强度降低,阳性细胞数明显减少,差异均有统计学意义($P < 0.05$),且高糖组降低更明显(图1,表3)。

3 讨论

随着糖尿病患者人数的增多,DR的发病率也越来越高^[11]。有研究人员在2017年对我国山东等省糖尿病患者进行调查发现,DR发病率高达34.08%^[12]。随着DR病情的进展,可造成不可逆的视力损害,对视觉健康造成巨大的影响,因此找到DR的治疗靶点至关重要^[13]。研究表明,DR是一种高血糖引起的视网膜慢性低度炎症性疾病^[14]。动物和临床实验均证实,CXCR3参与这一炎症反应过程,但其配体CXCL9、CXCL10、CXCL11和CXCR3结合后在DR发展过程中所起的作用不明,本研究从细胞学角度研究CXCR3的3个配体与DR病情之间的关联,从而为发现DR治疗的靶点提供一定的依据。

有研究认为,CXCL9通过与相应受体相互作用,活化各类白细胞并趋化至病灶处,调节免疫细胞的迁移,在炎症性疾病的发病过程中起着关键性作用^[15]。CXCL10对于T细胞的发育、迁移、黏附起着重要作用,还能够活化单核细胞及自然杀伤细胞,参与多种自身免疫疾病的发生发展过程^[16]。CXCL11和受体结合后,可以诱导T细胞迁移,产生促炎作用,抑制血管内皮生长,调控血管生成等^[17]。

本研究中,CCK-8法检测结果显示,在加入三种外源性趋化因子后,随着时间的延长,对照组细胞吸光度值逐渐增强,低糖组48h达到高峰,72h又呈下降趋势,而高糖组除加入CXCL11 48h时略有增长外,总体呈降低趋势。该结果表明高糖环境下,加入三种外源性趋化因子后,细胞生长抑制,细胞活力下降,这与既往研究结果一致^[18]。此外,RT-PCR检测结果表明,加入三种外源性趋化因子后,低糖组和高糖组细胞CXCR3 mRNA较对照组均出现增高的趋势,且在48、72h时有统计学差异,提示三种外源性趋化因子和CXCR3的作用存在一定的时间性。高糖环境下,三种外源性趋化因子与CXCR3作用引起其表达下降拐点出现在48h,分析早期高糖环境下趋化因子能招募免疫细胞(如Th1细胞),发挥抑制血管新生作用^[19]。目前,国内关于CXCL9、CXCL10及CXCL11与DR的相关报道较少,推测可能是该三种外源性趋化因子有不同的调控机制,其表达有不同的时间性和空间性,在不同的条件下有不同的优势因子,所以该三种趋化因子与DR及其临床表现的相关性并不完全一致。

综上,本研究表明,高糖环境下外源性加入CXCL9、CXCL10、CXCL11可使HUVEC细胞活力下降并诱导CXCR3表达增强,且以外源性加入CXCL10、CXCL11配体后,CXCR3表达增幅最高,这可能成为临床干预糖尿病视网膜病变的靶点。

参考文献

- Kim K, Kim ES, Yu SY, et al. Longitudinal relationship between retinal diabetic neurodegeneration and progression of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Am J Ophthalmol* 2018; 196: 165-172
- Leasher JL, Bourne RR, Flaxman SR, et al. Global Estimates on the Number of People Blind or Visually Impaired by Diabetic Retinopathy: A Meta-analysis From 1990 to 2010. *Diabetes Care* 2016; 39(9): 1643-1649
- 张凤俊, 易敬林, 李晶明, 等. 糖尿病视网膜病变发病机制研究进展. *眼科新进展* 2016; 36(6): 584-587

- 4 汪东生, 杨金奎. 糖尿病视网膜病变发病情况调查与发病机制研究的新进展. 中华眼科医学杂志(电子版) 2016; 6(6): 273-282
- 5 卜倩, 高云仙, 阿依努·努拉厚, 等. 康柏西普联合激光对 DR 患者炎症因子、氧化应激水平及视网膜血流动力学的影响. 国际眼科杂志 2018; 18(8): 1443-1446
- 6 Teixidó J, Martínez-Moreno M, Díaz-Martínez M, *et al.* The good and bad faces of the CXCR4 chemokine receptor. *Int J Biochem Cell Biol* 2018; 95: 121-131
- 7 Kim CH, Rott L, Kunkel EJ, *et al.* Rules of chemokine receptor association with T cell polarization *in vivo*. *J Clin Invest* 2001; 108(9): 1331-1339
- 8 Yamamoto J, Adachi Y, Onoue Y, *et al.* Differential expression of the chemokine receptors by the Th1- and Th2-type effector populations within circulating CD4⁺ T cells. *J Leukoc Biol* 2000; 68(68): 568-574
- 9 朱鸿, 胡海林, 苏梦茹, 等. 早期糖尿病视网膜病变患者外周血 CXC 趋化因子水平变化的临床意义. 中华实验眼科杂志 2012; 30(2): 146-149
- 10 李晶晶, 朱鸿, 施彩虹. CXC 族趋化因子与糖尿病视网膜病变的实验研究. 上海交通大学学报(医学版) 2012; 32(6): 720-725
- 11 Liu L, Zhou C, Du H, *et al.* The prevalences of impaired fasting glucose and diabetes mellitus in working age men of North China: Anshan Worker Health Survey. *Sci Rep* 2014; 4(17): 4835
- 12 Liu Y, Song YF, Tao LY, *et al.* Prevalence of diabetic retinopathy among 13473 patients with diabetes mellitus in China: a cross-sectional epidemiological survey in six provinces. *BMJ Open* 2017; 7(1): e013199
- 13 程晨, 周玲, 毛红, 等. 25-羟基维生素 D 水平与 2 型糖尿病视网膜病变严重程度相关性. 中国生化药物杂志 2016; 36(4): 54-57
- 14 陈丹丹, 帅天姣, 李娟, 等. 糖尿病视网膜病变微血管神经病变发病机制的研究进展. 国际眼科杂志 2018; 18(5): 844-846
- 15 Elia G, Guglielmi G. CXCL9 chemokine in ulcerative colitis. *Clin Ter* 2018; 169(5): e235-e241
- 16 Xu C, Zhang C, Ji J, *et al.* CD36 Deficiency Attenuates Immune-Mediated Hepatitis in Mice by Modulating the Proapoptotic Effects of CXCL10. *Hepatology* 2018; 67(5): 1943-1955
- 17 祝先进, 苏东辉. 一种新的趋化因子 I-TAC. 国际免疫学杂志 2006; 29(5): 330-334
- 18 Nawaz MI, Van Raemdonck K, Mohammad G, *et al.* Autocrine CCL2, CXCL4, CXCL9 and CXCL10 signal in retinal endothelial cells and are enhanced in diabetic retinopathy. *Exp Eye Res* 2013; 109: 67-76
- 19 张瑞萍, 刘红凌. 小分子 RNA 干扰 HIF-1 α 对糖尿病视网膜病变小鼠视网膜的保护作用及机制. 国际眼科杂志 2019; 19(12): 2017-2021