

文章编号 1006-8147(2021)06-0608-06

论著

利拉鲁肽对人胰岛淀粉样多肽聚集性及胰岛细胞毒性的影响

赵夕琛¹, 靳育静¹, 孙晓薇¹, 李代清², 朱铁虹¹

(1.天津医科大学总医院内分泌与代谢科,天津 300052;2.天津医科大学朱宪彝纪念医院代谢病科,天津 300134)

摘要 目的:探讨利拉鲁肽对人胰岛淀粉样多肽聚集性及细胞毒性的影响。方法:采用硫磺素T荧光法检测淀粉样纤维聚集的动力学,采用透射电镜检测淀粉样纤维的形态。分离 Wistar 大鼠胰岛,采用简单随机化分组的方法将大鼠胰岛随机分配成空白对照组、人胰淀素组、人胰淀素+利拉鲁肽组。24 h 后采用 Annexin-V/PI 荧光染色及逆转录聚合酶链反应检测细胞凋亡及炎症因子白细胞介素(IL)-1 β 、肿瘤坏死因子 α (TNF α)、单核细胞趋化蛋白-1(CCL-2) mRNA 的表达。结果:人胰淀素单独孵育时,荧光于 1.6 h 左右开始上升,并随时间延长逐渐增加,3.4 h 后平稳,动力学曲线呈 S 型曲线;人胰淀素与利拉鲁肽(500 nmol/L)以 10:1 分子浓度共同孵育时,荧光信号上升延迟缓慢;以 1:1 分子浓度共同孵育时,荧光信号未见明显增加,动力学曲线呈直线型。透射电镜结果显示,人胰淀素单独孵育可见大量长条状纤维聚集,人胰淀素与利拉鲁肽(2 μ mol)以 10:1 浓度共同孵育后纤维数量明显减少,且短小模糊;1:1(20 μ mol 利拉鲁肽)浓度共同孵育后,无法找到纤维结构。与空白对照组相比,人胰淀素组 IL-1、TNF α 、CCL-2 基因的 mRNA 表达均增加,而人胰淀素+利拉鲁肽组表达均下降($F=429.68, 48.79, 153.39$, 均 $P<0.05$)。人胰淀素组细胞凋亡率与空白对照组相比明显升高;人胰淀素+利拉鲁肽组凋亡率比人胰淀素组降低($F=514.34, 16.14, 18.47$, 均 $P<0.05$)。结论:利拉鲁肽抑制胰淀素聚集,减少胰岛细胞炎症及凋亡。

关键词 利拉鲁肽;人胰淀素;聚集;胰岛细胞

中图分类号 R587.1

文献标志码 A

Effect of liraglutide on the human islet amyloid polypeptide aggregation and cell toxicity

ZHAO Xi-chen¹, JIN Yu-jing¹, SUN Xiao-wei¹, LI Dai-qing², ZHU Tie-hong¹

(1.Department of Endocrinology and Metabolism, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China; 2.Department of Metabolism, Chu Hisen-I Memorial Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300134, China)

Abstract Objective: To explore the effect of liraglutide on human islet amyloid polypeptide (hIAPP) aggregation and cell toxicity.

Methods: Thioflavin T (ThT) binding assays were used to test the real time characterization of hIAPP fibrils formation kinetics. The electron microscopy tests were used to test the morphology of hIAPP fibrils. Pancreatic islets were isolated from adult Wistar rats. The experiment groups included normal islets, hIAPP incubated islets, hIAPP and liraglutide co-incubated islets. The incubation time of three groups was 24 h. Annexin V/PI double-staining was used to detect islet cells apoptosis. The expression of inflammation-related and apoptosis-related genes was analyzed by reverse transcription-polymerase chain reaction. **Results:** ThT tests showed that 5 μ mol/L hIAPP had undergone fibrillation after 1.6 h, reaching a maximum after 3.4 h, and the kinetic curve was S-shaped. When co-incubate with 500 nmol/L liraglutide (10:1), hIAPP fibrillation delayed. When the molecular ratio reached 1:1, the fluorescence signal did not increase significantly, and the kinetic curve was linear. Electron microscopy tests showed that 20 μ mol hIAPP aggregates into the abundant fibrils, whereas in the presence of 2 μ mol liraglutide (10:1), the fibrils were much less and shorter. And when increasing the concentration of liraglutide (20 μ mol, 1:1), there were no fibrils. Compared with the blank control group, the mRNA expression of IL-1, TNF and CCL-2 in amylin group was increased, while the expression in liraglutide intervention group was decreased with statistical significance ($F=429.68, 48.79, 153.39$, all $P<0.05$). The annexin V/PI double-staining tests and RT-PCR showed that when treated with hIAPP, the apoptosis increased, which was decreased by liraglutide ($F=514.34, 16.14, 18.47$, all $P<0.05$). **Conclusion:** Liraglutide inhibits the aggregation of hIAPP and protects islets from inflammation and apoptosis.

Key words liraglutide; human islet amyloid polypeptide; aggregation; islet cell

人胰岛淀粉样多肽(hIAPP)是胰岛 β 细胞分泌的淀粉样物质,也称为人胰淀素^[1-3]。已有研究表明,

hIAPP 聚集过程的中间产物对胰岛细胞具有毒性作用,且为 2 型糖尿病患者胰岛细胞功能异常及凋亡的主要原因之一^[4-7],而临床上尚缺乏能有效抑制 hIAPP 聚集的药物。最近研究表明,利拉鲁肽可以减少阿尔兹海默病模型鼠脑内的 A β 淀粉样蛋白沉积与相关炎症反应,改善鼠的记忆功能^[8-9]。A β 与 hI-

基金项目 国家自然科学基金项目(H0713:81241030);天津市自然科学基金(M0102)

作者简介 赵夕琛(1993-),女,硕士在读,研究方向:内分泌与代谢病;通信作者:朱铁虹, E-mail: zhutiehong@163.com。

APP 具有相似的二级折叠结构与致病机制。因此本研究主要探讨利拉鲁肽是否可以通过抑制 hIAPP 聚集并减少 hIAPP 相关的胰岛细胞损伤。

1 材料与方法

1.1 实验动物 250~300 g 雄性 Wistar 大鼠购自中国人民解放军医学科学院卫生学环境医学研究所动物实验中心,动物级别为 SpF 级。

1.2 主要试剂 胶原酶(V型)、hIAPP 购自 Sigma 公司;Annexin-V/PI 荧光染色试剂盒购自万类生物有限公司;利拉鲁肽注射液由诺和诺德公司提供。

1.3 实验方法

1.3.1 硫磺素 T 实验 新鲜配置硫磺素 T、hIAPP 的母液,分别为 1 mmol/L 与 100 μ mol/L。在黑色 96 孔酶标板中,每孔中加入相应体积的母液和 PBS 缓冲液构建 100 μ L 反应体系:硫磺素 T 终浓度为 10 μ mol/L, hIAPP 终浓度为 5 μ mol/L, 单独或联合相应浓度利拉鲁肽(500 nmol/L 和 5 μ mol/L)共同孵育。酶标板中的体系液按照上述比例配置完毕后,置于全波长扫描多功能读数仪上,37℃孵育。每 5 min 摇 10 s, 静置 10 s 后读数,记录在 440 nm 激发波长和 485 nm 发射波长下的荧光强度。每组设立 4 个复孔,本底孔为未加药物仅含硫磺素 T 的检测液,各组最终荧光强度为实测荧光数值与本底孔荧光数值的差值。

1.3.2 磷钨酸负染滴染法电镜实验 于 EP 管中分别配置 3 组体系:20 μ mol hIAPP(人胰淀素)、20 μ mol hIAPP 和 2 μ mol 利拉鲁肽、20 μ mol hIAPP 和 20 μ mol 利拉鲁肽。将反应液室温过夜后,在 37℃温箱中孵育 2 h 后,取 20 μ L 待检测的孵育样品滴在 200 目-碳包铜网上,静置 3 min,用滤纸从铜网周边小心吸干未吸收的样品,再用 200 μ L 1%磷钨酸溶液染色 3 min,之后用滤纸吸干铜网周边多余染液,室温晾干或白炽灯下烤干后利用透射电子显微镜(Hitachi-HT7700)在 180 KV 加速电压下检测各组胰淀素淀粉样纤维形成情况。

1.3.3 大鼠胰岛分离与培养 10%水合氯醛经腹腔注射麻醉 Wistar 大鼠,以 75%乙醇消毒皮肤,无菌剖腹,从胆总管进针,逆行缓慢注入 4℃预冷的胶原酶 p(0.8 g/L)8~10 mL,使胰腺充分膨胀。剪心放血处死大鼠,剥离出胰腺组织,快速将完整胰腺放入含有 3 mL 4℃预冷胶原酶 p 的 50 mL 离心试管中。37℃水浴消化 10~15 min,振荡使其呈细砂状,加入 4℃含 10%新生牛血清(FBS)的 Hanks 液约 30 mL,终止消化,冰浴 5 min 待静置分层后小心吸弃上层液体,再次加入 40~50 mL 冰 Hanks 液,重复 2 次。于体视镜下手工挑取形状规则的圆形或椭圆形的

胰岛细胞团。最后将分离纯化好的胰岛细胞团加入含有 100 U/mL 青霉素、100 mg/L 链霉素、10%胎牛血清、10 mmol/L Hepes、11.1 mmol/L 葡萄糖的 RP-MI1640 培养液中,5%CO₂、37℃培养箱中培养。

1.3.4 采用台盼蓝以染色鉴定胰岛的活性 在 96 孔板中将 0.4%的台盼蓝溶液与含有胰岛细胞的培养基 1:9 混合,10 min 内镜下观察细胞死亡情况。细胞损伤或死亡时,台盼蓝可穿透变性的细胞膜,与解体的 DNA 结合,使其着色,而活细胞能阻止染料进入细胞内。死亡细胞被染成蓝色,活细胞不着色。

1.3.5 细胞分组 将获取的胰岛简单随机化分为 3 组,每组 15 个胰岛:空白对照组(NC);胰淀素组(10 μ mol/L hIAPP);胰淀素+利拉鲁肽组(10 μ mol/L hIAPP+100 nmol/L Lira)。

1.3.6 Annexin-V/PI 荧光染色法检测胰岛细胞的凋亡 按照试剂说明,配好 Annexin-V/PI 凋亡染色液(250 μ L Binding buffer, 5~10 μ L Annexin V-FITC, 10 μ L propidium Iodide),加入到干预 12 h 后的胰岛中,室温避光孵育 15 min,随即进行荧光显微镜观察。正常活细胞无着色,细胞的早期凋亡呈绿色荧光,细胞晚期凋亡与坏死红色荧光。用 Image proplus7.0 软件分析计算细胞凋亡的比率。

1.3.7 实时荧光定量检测 mRNA 表达水平 胰岛细胞处理完成后,Trizol 法提取胰岛的 RNA,根据 Thermo First Strand cDNA Synthesis Kit 进行反转录反应,合成 cDNA 第 1 链。然后采用荧光法进行 RT-PCR 扩增反应,所用试剂盒为生工 Sybr-Green qPCR Master Mix(2 \times)。按照说明书完成体系后瞬时离心,放入罗氏 LightCycler96 荧光定量 PCR 仪进行 PCR 扩增。结果采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 相对定量比较,以 β -actin 为内参照基因进行标准化^[10],见表 1

表 1 PCR 中基因引物序列

Tab 1 Primer sequences of genes in the PCR

基因名称	引物序列(5'→3')	引物长度(bp)	退火温度(℃)
β -actin	Forward CGTGAAAAGATGACCCAGAT	159	53
	Reverse ACCCTCATAGATGGGCACA		
Bax	Forward CCGAGTGTCTCAGGCGAAT	144	53
	Reverse CCCAGTTGAAGTTGCCGTCT		
Bcl-2	Forward GACAACATCGCTCTGTGGAT	137	53
	Reverse GACAGCCAGGAGAAATCAAA		
TNF	Forward GCTACAGCTTCACCACCACA	94	58
	Reverse GCCATCTCTTGCTCGAAGTC		
IL-1	Forward TGGCAACTGTCCCTGAACT	271	53
	Reverse GTGCTTGGGTCTCATCCT		
CCL-2	Forward GCACCAGCACCAGCAACTCT	112	58
	Reverse TGGATGCTCCAGCCGGCAACT		

注: Bcl-2: B 淋巴细胞瘤-2 基因; TNF: 肿瘤坏死因子; IL-1: 白细胞介素-1; CCL-2: 单核细胞趋化蛋白-2

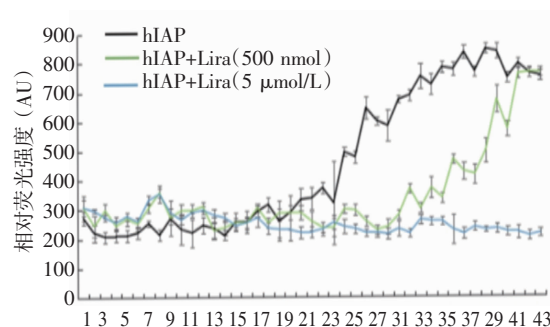
1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件分析,正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用两独立样本 t 检验,3 组以上组间比较采用单因素方差分析 LSD 法检验。非正态分布的计量资料采用 $Kruskal-Wallis H$ 秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 利拉鲁肽对 hIAPP 聚集的影响

2.1.1 硫磺素 T 实验结果 $5 \mu\text{mol/L}$ 胰淀素单独孵育时,荧光于 1.6 h 左右开始上升,并逐渐增加,3.4 h 后平稳。动力学曲线呈“S”型。 $5 \mu\text{mol/L}$ 胰淀素与 500 nmol/L 的利拉鲁肽(浓度比 10:1)共同孵育后,荧光信号直到 2.5 h 后才开始上升,出现延迟。 $5 \mu\text{mol/L}$ 胰淀素与 $5 \mu\text{mol/L}$ 利拉鲁肽(浓度比 1:1)孵育后,几乎检测不到胰淀素的聚集信号。胰淀素的聚集信号减弱,未见明显上升(图 1)。

2.1.2 透射电镜结果 $20 \mu\text{mol}$ hIAPP 单独孵育可见大量纤维状聚集物质,表明其聚集性良好(图 2A);

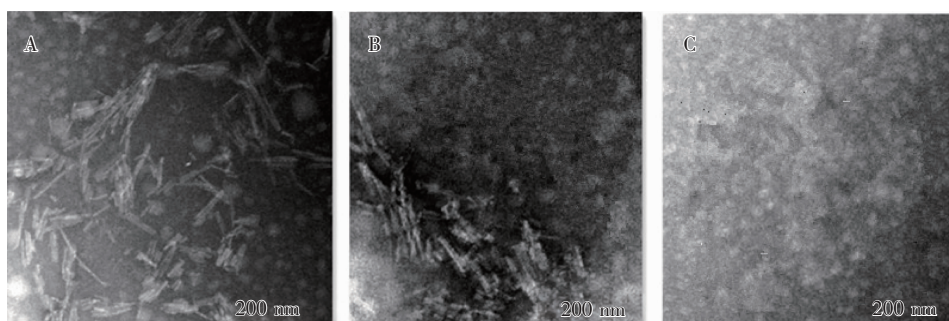


注:每 5 min 读数,横轴表示机读次数,纵轴表示相对荧光强度;hIAPP:人胰岛淀粉样多肽;Lira:利拉鲁肽

图 1 硫磺素 T 染色实验结果

Fig 1 Results of thioflavin T assays

但是 $20 \mu\text{mol}$ hIAPP 和 $2 \mu\text{mol}$ 利拉鲁肽(浓度比 10:1)共同孵育后纤维数量明显减少,并且聚集物形态较模糊且短小(图 2B); $20 \mu\text{mol}$ hIAPP 和 $20 \mu\text{mol}$ 利拉鲁肽(浓度比 1:1)共同孵育后,无法找到 hIAPP 所聚集的纤维状结构(图 2C)。

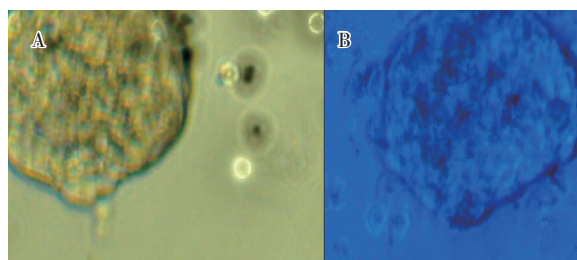


注:A: $20 \mu\text{mol}$ hIAPP 组;B: $20 \mu\text{mol}$ hIAPP+ $2 \mu\text{mol}$ 利拉鲁肽共同孵育组;C: $20 \mu\text{mol}$ hIAPP+ $20 \mu\text{mol}$ 利拉鲁肽共同孵育组

图 2 透射电镜下各组淀粉样纤维形成情况

Fig 2 Formation of amyloid like fibrils in the electron microscopy tests

2.2 胰岛分离后的活性检测 台盼蓝染色结果如图 3 所示:新分离的胰岛细胞团大小不一,呈圆形或卵圆形,大多数胰岛细胞团胞膜完整,折光性好。胰岛分离过夜后,台盼蓝染色显示胰岛细胞膜完整活力良好。



注:A:正常胰岛;B:台盼蓝据染实验

图 3 正常胰岛与台盼蓝染色后细胞形态

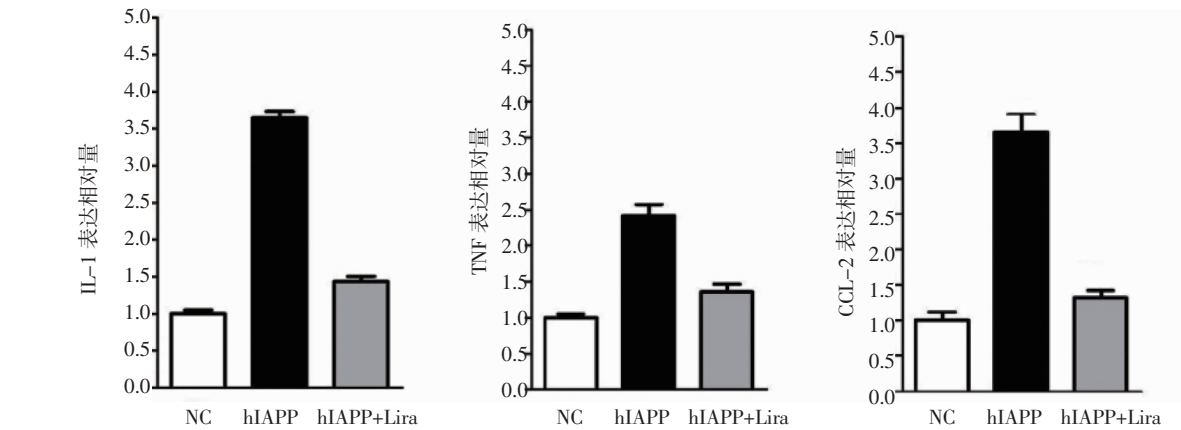
Fig 3 The natural islet and cell morphology after Trypan blue excluding test

2.3 不同干预组胰岛细胞炎症相关因子的表达与分泌 荧光定量结果如图 4 所示:与空白对照组相比,胰淀素组的白细胞介素(IL)-1、肿瘤坏死因子(TNF)、单核细胞趋化蛋白-2(CCL-2)基因的 mRNA 表达均增加,分别为 3.65 ± 0.14 、 2.41 ± 0.29 、 3.65 ± 0.44 ;利拉鲁肽干预后 IL-1、TNF、CCL-2 基因的 mRNA 表达均下降,分别为 1.44 ± 0.12 、 1.36 ± 0.18 、 1.33 ± 0.17 ,差异具有统计学意义($F=429.68$ 、 48.79 、 153.39 , P 均 < 0.05),见表 2。

2.4 同干预组胰岛细胞凋亡及凋亡相关基因表达的变化 Annexin-V/PI 荧光染色如图 5A 所示, $10 \mu\text{mol}$ 的 hIAPP 干预 24 h 后,胰岛细胞凋亡增加了 22.9 倍(17.16% vs. 0.75%);利拉鲁肽干预后凋亡显著减少(3.33% vs. 17.16%),差异具有统计学意义($F=514.34$, $P < 0.05$)。

RT-PCR 结果如图 5B 所示:与空白对照组相比,胰淀素组促凋亡基因 Bax mRNA 相对表达量增加(1.21 ± 0.05 vs. 1.00 ± 0.05),抗凋亡基因 Bcl-2 mRNA 相对表达量显著下降(0.51 ± 0.12 vs. 1.00 ± 0.09),差

异具有统计学意义(P 均 <0.05);与胰淀素组相比,利拉鲁肽组 Bax mRNA 表达没有减少(1.20 ± 0.05 vs. 1.21 ± 0.05),抗凋亡基因 Bcl-2 表达增加(0.78 ± 0.08 vs. 0.51 ± 0.12),差异具有统计学意义(P 均 <0.05),见表 2。



注:IL-1:白细胞介素-1;TNF:肿瘤坏死因子;CCL-2:单核细胞趋化蛋白;NC:空白对照组;hIAPP:胰淀素组;hIAPP+Lira:胰淀素+利拉鲁肽组

图 4 不同干预组炎症相关基因 IL-1、TNF、CCL-2 mRNA 的表达

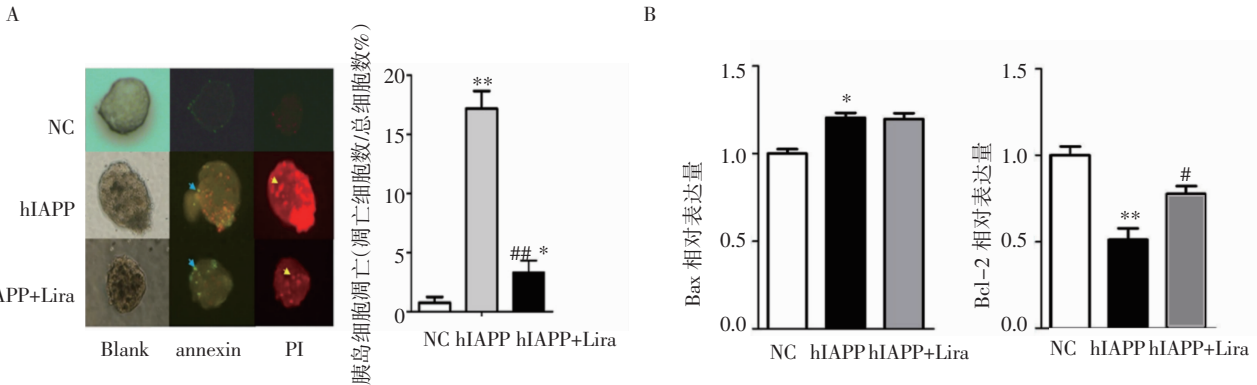
Fig 4 The mRNA expression of the inflammatory factors, including IL-1, TNF and CCL-2 in different group

表 2 各组胰岛细胞凋亡相关基因的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Comparison of apoptosis related genes in each groups($\bar{x}\pm s$)

组别	IL-1	TNF	CCL-2	Bax	Bcl-2
空白对照组	1.00±0.06	1.00±0.05	1.00±0.09	1.00±0.05	1.00±0.09
IAPP 组	3.65±0.14	2.41±0.29	3.65±0.44	1.21±0.05	0.51±0.12
IAPP+Lira 组	1.44±0.12	1.36±0.18	1.33±0.17	1.20±0.05	0.78±0.08
F	467.60	40.46	83.27	16.71	20.48
P	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001

注:IL-1:白细胞介素-1;TNF:肿瘤坏死因子;CCL-2:单核细胞趋化蛋白-2;NC:空白对照组;hIAPP:胰淀素组;hIAPP+Lira:胰淀素+利拉鲁肽组



注:A:蓝色箭头表示绿色荧光,细胞的早期凋亡;黄色箭头表示红色荧光,细胞的晚期凋亡;B:各组凋亡基因 Bax 与抗凋亡基因 Bcl-2 的相对表达量;与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与胰淀素组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$;NC:空白对照组;hIAPP:胰淀素组;hIAPP+Lira:胰淀素+利拉鲁肽组

图 5 各组细胞凋亡情况

Fig 5 The apoptosis of each groups

3 讨论

本研究结果提示 hIAPP 本身具有聚集性,并且与胰岛细胞共同孵育时,促进炎症因子表达、细胞凋亡,以上均表明 hIAPP 对胰岛细胞的毒性作用,与之前研究一致^[3,11]。利拉鲁肽可以浓度依赖性抑制 hIAPP 自我聚集,并且与 hIAPP 共同孵育胰岛细胞时,炎症与细胞凋亡减少,对胰岛细胞具有一定保护作用。

与糖尿病类似,阿尔兹海默病的是一种蛋白沉积性疾病,其主要构成成分为 A β 多肽,导致靶器官的损害。最近,在阿尔兹海默病的实验研究中发现:利拉鲁肽的早期干预可以减少 A β 寡聚体水平,减少阿尔兹海默病模型鼠脑内斑块样沉积,从而改善鼠的记忆功能^[12]。Park 等^[13]以人胰岛为体外模型发现,胰高血糖素样肽(GLP)-1 类药物可以使胰岛淀粉样寡聚体及蛋白的沉积减少。利拉鲁肽是否可以直接通过抑制多肽的自我聚集或改变其动力学曲线,减少寡聚体的数量或其纤维形成尚不清楚。本研究采用硫磺素 T 荧光实验观察 hIAPP 的聚集动力学,该聚集性试验参照 IAPP 相关分子抑制实验采用常规比例^[14-15],细胞实验采用利拉鲁肽常用细胞学浓度^[16-17],发现胰淀素与利拉鲁肽以 10:1 分子浓度共同孵育时,胰淀素聚集过程延缓,提高利拉鲁肽浓度(1:1)后,胰淀素未出现明显聚集,动力学曲线由 S 型变为直线型。并且进一步透射电镜的实验结果同样显示了利拉鲁肽可以浓度依赖性抑制 hIAPP 自我聚集的作用:利拉鲁肽与人胰淀素共同孵育后纤维数量明显减少。提示利拉鲁肽抑制了 hIAPP 的聚集。研究显示艾塞那肽不能抑制胰淀素聚集^[18],利拉鲁肽与其不同的是分子中独特的疏水作用脂肪酸侧链^[9],或许使其具有抑制胰淀素聚集潜能。进一步的分子结构相互作用的研究将有助于胰淀素自我折叠过程的理解以及抗聚集类药物的研发。

本课题组既往研究显示:hIAPP 造成的胰岛细胞凋亡与炎症损伤有关,IL-1 信号通路在其中发挥了重要作用^[11]。利拉鲁肽可以减少阿尔兹海默病的 β -淀粉样斑块相关的炎症损伤^[8-9]。本次实验结果显示在利拉鲁肽与 hIAPP 共同孵育时,IL-1、TNF α 、CCL-2 炎症因子表达下降。既往细胞学、动物学及临床试验也表明利拉鲁肽具有一定抗炎作用。利拉鲁肽可以与 GLP-1 受体结合,通过激活细胞内 PKA 通路减少炎症因子的表达,从而起到细胞保护作用^[20]。然而,本研究发现在体外相对独立环境下,利拉鲁肽可以直接抑制胰淀素的聚集,因此减少 hIAPP 聚集过程的毒性产物也许是利拉鲁肽发挥细胞保护作用的重要原因之一。

本实验中经 hIAPP 孵育后,胰岛细胞凋亡比率增加,Bax mRNA 表达增加,抗凋亡基因 Bcl-2 mRNA 表达下降。提示胰淀素导致细胞凋亡增加。hIAPP 可改变细胞膜的通透性,增加内质网应激以及激活降钙素受体等影响胰岛细胞的功能及存活^[4,21-22]。利拉鲁肽孵育后,除炎症因子表达下降外,抗凋亡基因 Bcl-2 表达增加,细胞凋亡比率减少。hIAPP 相关的细胞损伤作用与其聚集性密切相关,利拉鲁肽是否直接通过抑制其聚集发挥作用或间接通过抗炎等机制保护胰岛细胞尚需要更深入研究。

总之,hIAPP 可以造成胰岛细胞炎症损伤,增加胰岛细胞凋亡,利拉鲁肽可直接抑制胰淀素聚集,并减少 IL-1、TNF α 、CCL-2 炎症因子表达,增加 Bcl-2 抗凋亡基因,发挥胰岛细胞保护作用,为利拉鲁肽与淀粉样沉积物间的关系提供基础研究证据及新思路。

参考文献:

- [1] OPIE E L. On the relation of chronic interstitial pancreatitis to the islands of Langerhans and to diabetes mellitus[J]. J Exp Med, 1901, 5(4): 397
- [2] CLARK A, WELLS C A, BULEY I D, et al. Islet amyloid, increased A-cells, reduced B-cells and exocrine fibrosis: quantitative changes in the pancreas in type 2 diabetes[J]. Diabetes Res, 1988, 9(4): 151
- [3] EHSES J A, LACRAZ G, GIROIX M H, et al. IL-1 antagonism reduces hyperglycemia and tissue inflammation in the type 2 diabetic GK rat[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(33): 13998
- [4] GUARDADO-MENDOZA R, DAVALLI A M, CHAVEZ A O, et al. Pancreatic islet amyloidosis, beta-cell apoptosis, and alpha-cell proliferation are determinants of islet remodeling in type-2 diabetic baboons[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(33): 13992
- [5] EFTEKHARZADEH B, HYMAN B T, WEGMANN S. Structural studies on the mechanism of protein aggregation in age related neurodegenerative diseases[J]. Mech Ageing Dev, 2016, 156: 1
- [6] CAILLON L, HOFFMANN A R, BOTZ A, et al. Molecular structure, membrane interactions, and toxicity of the islet amyloid polypeptide in type 2 diabetes mellitus[J]. J Diabetes Res, 2016, 2016: 5639875
- [7] AKTER R, CAO P, NOOR H, et al. Islet amyloid polypeptide: structure, function, and pathophysiology[J]. J Diabetes Res, 2016, 2016: 2798269
- [8] FEMMINELLA G D, FRANGOU E, LOVE S B, et al. Evaluating the effects of the novel GLP-1 analogue liraglutide in Alzheimer's disease: study protocol for a randomised controlled trial (ELAD study)[J]. Trials, 2019, 20(1): 191
- [9] SALLES G N, CALIÓ M L, HÖLSCHER C, et al. Neuroprotective and restorative properties of the GLP-1/GIP dual agonist DA-JC1 compared with a GLP-1 single agonist in Alzheimer's disease[J]. Neuropharmacology, 2020, 162: 107813
- [10] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method[J]. Methods, 2001, 25(4): 402

- [11] 靳育静,孙晓薇,李晓通,等.白细胞介素1在介导人胰岛淀粉样多肽对胰岛细胞毒性中的作用及机制[J].中华糖尿病杂志,2017,9(3):179
- [12] MCCLEAN P L,HÖLSCHER C. Liraglutide can reverse memory impairment,synaptic loss and reduce plaque load in aged APP/PS1 mice,a model of Alzheimer's disease[J]. Neuropharmacology,2014,76(Pt A):57
- [13] PARK Y J,ZHANG Y,WARNOCK G L,et al. Amyloid formation reduces protein kinase B phosphorylation in primary islet β -cells which is improved by blocking IL-1 β signaling[J]. PLoS One,2018,13(2):e0193184
- [14] FORTIN J S,BENOIT-BIANCAMANO M O. Inhibition of islet amyloid polypeptide aggregation and associated cytotoxicity by nonsteroidal anti-inflammatory drugs[J]. Can J Physiol Pharmacol,2016;94(1):35
- [15] WANG H,RIDGWAY Z,CAO P,et al. Analysis of the ability of pramlintide to inhibit amyloid formation by human islet amyloid polypeptide reveals a balance between optimal recognition and reduced amyloidogenicity[J]. Biochemistry,2015,54(44):6704
- [16] El Bekay R,Cofn-Araguez L,Fernández-García D,et al. Effects of glucagon-like peptide-1 on the differentiation and metabolism of human adipocytes[J]. Br J Pharmacol,2016,173(11):1820
- [17] FAN R,LI X,GU X,et al. Exendin-4 protects pancreatic beta cells from human islet amyloid polypeptide-induced cell damage: potential involvement of AKT and mitochondria biogenesis[J]. Diabetes Obes Metab,2010,12(9):815
- [18] ASTON-MOURNEY K,HULL R L,ZRAIKA S,et al. Exendin-4 increases islet amyloid deposition but offsets the resultant beta cell toxicity in human islet amyloid polypeptide transgenic mouse islets[J]. Diabetologia,2011,54(7):1756
- [19] HTIKE Z Z,ZACCARDI F,PAPAMARGARITIS D,et al. Efficacy and safety of glucagon-like peptide-1 receptor agonists in type 2 diabetes: a systematic review and mixed-treatment comparison analysis[J]. Diabetes Obes Metab,2017,19(4):524
- [20] DAI Y,DAI D,WANG X,et al. GLP-1 agonists inhibit ox-LDL uptake in macrophages by activating protein kinase A[J]. J Cardiovasc Pharmacol,2014,64(1):47
- [21] TOMITA T. Islet amyloid polypeptide in pancreatic islets from type 2 diabetic subjects[J]. Islets,2012,4(3):223
- [22] PARK Y J,WARNOCK G L,AO Z,et al. Dual role of interleukin-1 β in islet amyloid formation and its β -cell toxicity: implications for type 2 diabetes and islet transplantation[J]. Diabetes Obes Metab,2017,19(5):682

(2020-11-27 收稿)

·读者·作者·编者·

《天津医科大学学报》对运用统计学方法的有关要求

1.统计学符号:按 GB/T 3558.1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体。

2.研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究),实验设计(应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等),临床试验设计(应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等);主要做法应围绕4个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3.资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(QR)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于20,要注意区分百分率与百分比。

4.统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选择合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5.统计结果的解释和表达:应写明所用统计学方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 $t=3.45$, $\chi^2=4.68$, $F=6.79$ 等);在用不等式表示 P 值的情况下,一般情况下选用 $P>0.05$ 、 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 3种表达方式,无须再细分为 $P<0.001$ 或 $P<0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,应再给出95%可信区间。

本刊编辑部