

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.13.011

miR-375 在 AGEs 介导糖尿病血管损伤细胞中的生物学功能

彭 炬¹ 熊 丹² 马晓东¹ 兰时乐¹ 卢向阳^{1△}

(1 湖南农业大学生物科技学院 湖南 长沙 410128; 2 中南大学湘雅医院心内科 湖南 长沙 410008)

摘要 目的: 探讨 miR-375 在血管损伤细胞中的表达及生物学功能。**方法:** 利用基因克隆技术构建 miR-375 表达载体; 然后将 miR-375 表达质粒转染至血管损伤细胞中, 同时分别设立 Huvec12 对照组, 血管损伤细胞组, 血管损伤抑制组, Huvec12 转染 miR-375 组。24h 后收集细胞, 在 mRNA 和蛋白水平检测 Mtpn、NFκB、profilin1、sICAM1 的表达, 经荧光染色观察细胞 F-actin 的变化, 再用流式细胞仪检测细胞凋亡。**结果:** 血管损伤细胞中过表达 miR-375 后, 在 mRNA 和蛋白水平靶基因 Mtpn 下降, NFκB 的表达活性下降, 使糖尿病血管病变的标志 profilin1 下调; F-actin 表达恢复; 细胞粘附因子(sICAM1)表达下降, 细胞凋亡减少。**结论:** 初步证明 miR-375 可以抑制 AGEs 介导的糖尿病血管细胞损伤的发生, 可能成为糖尿病血管损伤并发症基因治疗的靶点。

关键词: miR-375; AGEs; 转染; 血管损伤细胞

中图分类号: Q291, R587.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)13-2441-05

The Biological Function of miR-375 in Vascular Cells Injury Induced by AGEs-mediated Diabetes

PENG Ju¹, XIONG Dan², MA Xiao-dong¹, LAN Shi-le¹, LU Xiang-yang^{1△}

(1 College of Biological Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan, 410128, China;

2 Department of Cardiovascular Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan, 410008, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and biological function of miR-375 in injured vascular cells. **Methods:** Cloning technology was used to construct miR-375 expression vector and subsequently mir-375 expression plasmid was transfected into injured vascular cells. Meanwhile, we set for further study: Huvec12 as control, injured vascular cells, vascular cells after injury inhibition and cells with miR-375 overexpression. Cells were harvested 24 hours after treatments. The expression of Mtpn, NFκB, profilin1 and sICAM1 were measured in both mRNA and protein level. F-actin was examined via fluorescence staining. Cell apoptosis was assessed by flow cytometry. **Results:** In injured vascular cells with miR-375 overexpression, the mRNA and protein expression of targeted gene Mtpn declined. It was also observed the reduction of NFκB activity, downregulation of the diabetic vascular injury marker profilin1, restoration of F-actin expression, a decrease of sICAM1 expression and reduced cell apoptosis. **Conclusions:** miR-375 may inhibit the injuries of vascular cells caused by AGEs-mediated diabetes and may become a new target for gene therapy to treat vascular complications caused by diabetes.

Key words: miR-375; AGEs; Transfection; Injured vascular cells

Chinese Library Classification(CLC): Q291, R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)13-2441-05

前言

糖尿病发病率逐年上升, 糖尿病血管病变引发的并发症是糖尿病致残、致死的主要原因之一。大量研究证实, 糖尿病血管病变很大一部分因素是由体内糖基化终产物(AGEs)介导的^[1], AGEs 代谢诱导细胞产生大量氧自由基, 通过细胞内信号级联反应, 激活蛋白激酶 C(PKC)和核因子-κB(NFκB), 最终活化糖尿病相关并发症发生的通路^[2-4], 引起糖尿病血管病变标志肌动蛋白调节蛋白(profilin1)上调, 使细胞骨架重组再分

布^[5-7], 导致细胞通透性增加引起细胞凋亡。

miR-375 是近年来发现的一种 microRNA, 最初是在胰腺中发现, 它的正常表达与否对胰腺的形态、发育和功能至关重要。它的靶蛋白有很多, 其中与 MTPN(神经递质儿茶酚胺释放基因)结合可调节胰岛素分泌^[11,12]。已有研究显示^[11]: Mtpn 是细胞中 NFκB 的激活因子, miR-375 调控 Mtpn 的改变可以导致 NFκB 活性改变。本研究旨在应用基因技术, 在糖尿病血管损伤细胞中表达 miR-375, 调节 NFκB 活性, 降低 profilin1 表达, 减少细胞凋亡, 抑制血管细胞损伤的发生。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 人脐静脉血管内皮细胞系(Huvec12)由本实验室冻存。用含 10%FBS 的 RPMI1640 培养基, 置于 37℃, 5% CO₂ 培养箱中培养。细胞换液时间为 2-3 天, 3-5 天传代。实验分为

作者简介: 彭炬(1984-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 分子生物学, 电话 0731-84010432; E-mail: pengju0825@foxmail.com

△通讯作者: 卢向阳, 男, 教授, 博士生导师, 电话: 0731-84638246; E-mail: xiangyangcn@163.com

(收稿日期: 2013-11-28 接受日期: 2013-12-24)

5 组:

Huvec12 对照组:未作任何处理的人脐静脉血管内皮细胞系,Huvec12 对照组;

血管损伤细胞组:用 AGEs(200ug/mL)处理的 Huvec12 细胞系,AGEs-Huvec12 组;

血管损伤抑制组:加入 BAY-117082(2ug/mL) NFκ B 抑制剂的 AGEs (200ug/mL) 处理 huvec12 细胞系,BAY-AGEs-Hu-vec12 组;

Huvec12 细胞转染 miR-375 表达质粒组：
pEGFP-N1-miR375 转染的 Huvec12 细胞系，miR375-Huvec12
组：

血管损伤细胞转染 miR-375 表达质粒组：
pEGFP-N1-miR375 转染的 AGEs(200ug/mL)处理的 huvec12 细
胞系,miR375-AGEs-Huvec12 组。

1.1.2 主要试剂和仪器 FBS,RPIM1640 培养基为 Gibco 产品; Trizol, lipofectamine2000、F-actin 染料、DIPA、RT-PCR 引物为 Invitrogen 产品; SYBR GREEN 为 Roche 产品; miRNA 检测试剂为 Ambion 产品; NF κ B、profilin1 为 CST 公司产品; MTPN 为 BD 产品; sICAM-1 检测试剂为南京建成公司产品; BAY 11-7082、AGE-BSA 为 Merck 产品; NF κ B 活性检测试剂为 promega 产品; 自动酶标仪、细胞培养箱为 Thermo 产品; 电泳

设备为 BIO-RAD 公司产品; RealtimePCR 仪为 Roche 产品;流式细胞分析仪为 BD 产品;激光共聚焦扫描显微镜为 Olympus 产品。

1.2 方法

1.2.1 血管损伤细胞培养 将 Huvec-12 细胞用含 10%FBS 的 RPIM1640 培养基培养细胞, 待细胞密度达 40%时, 加入 200ug/mL AGEs 37℃, 5% CO₂ 维持培养细胞 24h 以上即是 AGEs 介导的糖尿病血管损伤细胞^[6]。

1.2.2 构建 pEGFP-N1-miR375 质粒 本研究以人的 gDNA 为模板,PCR 扩增 miR-375 前体序列 (126bp), 扩增引物为: 5'-AAGCTTGGCTGATGCTGAGAAG-3' 和 5'-TCTAGACGGC CCCGGTCTTC-3', 回收纯化后与 pMD18-T 相连,得到质粒 pMD18-T-miR375, 将目的片段插入质粒 pEGFP-N1-MCS 的多克隆位点中,构建了质粒 pEGFP-N1-miR375(图 1A),测序验证。miR-375 的前体序列为: 5'-TCTAGAGCCGCCCGGC CCCGGTCTTCGCTCCGGCCCCGCGACGAGCCCCCTCGC ACAAACCGGACCTGAGCGTTTTGTTCGTTTCGGCTCGCGT GAGGCAGGGGCGGCTTCTCAGCATCAGAAGCTT-3'。miR-375 成熟序列: 5'-CCCGCGACGAGCCCC TCGCACAAACCG GACCTGAGCGTTTTGTTCGTTTCGGCTCGCGTGAGGC-3'(图 1B)。

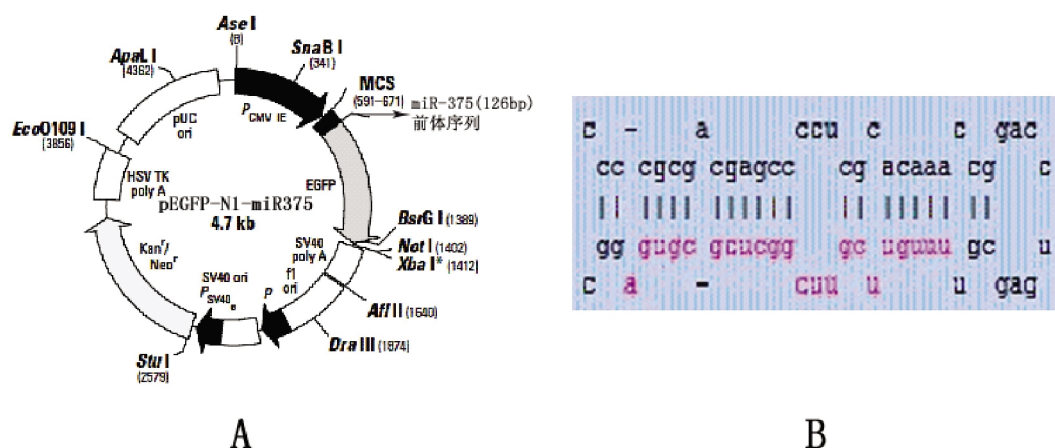


图 1 miR-375 表达质粒的构建: A.pEGFP-N1-miR375 质粒图 B.成熟 miR-375 图(标记区域为功能区)

Fig. 1 Construction of miR-375 expression plasmid: A.pEGFP-N1-miR375 plasmid map B .Mature miR-375 map(marked ares is functional areas)

1.2.3 转染 pEGFP-N1-miR375 质粒至细胞 分组培养细胞，待密度 80%时，按转染试剂说明将 2 μ g pEGFP-N1-miR375 质粒和 10 μ L lipofectamine2000 在无血清培养基中混匀，室温静置 20min，然后再缓慢加入到培养基中，37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 培养，24h 后收获细胞。

1.2.4 检测 miR-375 表达水平 细胞转染 24h 后,收获细胞,用 Ambion 公司的 mirVana™qRT-PCR miRNA Detection Kit 提取 mRNA 逆转录后做 RT-PCR 检测,U6 snRNA 作为内参基因;反应体系为:10 μ L SYBR Green supermix;0.5 μ L mir Vana PCR primers;0.5 μ L product from TR reaction;9 μ L Nuclease-free Water;反应条件:95 $^{\circ}$ C for 3 min;95 $^{\circ}$ C for 15 sec,60 $^{\circ}$ C for 30 sec(40cycles),运用 LightCycler 480 系统分析数据。

1.2.5 RT-PCR 检测 Mtpn,profilin1,NFκBp65 基因表达 细胞转染 24h 后收获细胞,用 Trizol 提取总 RNA 再逆转录,反应体

系为 20 μ L,置于 42 $^{\circ}$ C 1h,70 $^{\circ}$ C 10min 后,按照 SYBR GREEN 说明进行 RT-PCR,体系为 20 μ L,其中四种基因(GAPDH、NF κ Bp65、pfofilin1、Mtpn 序列见表 1)引物(1 μ mol/L)各 2 μ L,混匀后离心上机检测。反应条件:95 $^{\circ}$ C 5min;95 $^{\circ}$ C 10sec;60 $^{\circ}$ C 10sec;72 $^{\circ}$ C 退 10sec,共 40 循环;72 $^{\circ}$ C 10min。运用 LightCycler 480 系统分析数据。

1.2.6 Western blot 检测 Mtpn、NF κ Bp65、prfilin1 蛋白表达

分组培养细胞,收集细胞提取总蛋白,BCA 法进行蛋白定量。以每泳道 30ug 上样,经 12%SDS-PAGE 电泳分离蛋白,将蛋白转移至 PVDF 膜上(恒流 300mA)室温下 5%脱脂奶粉封闭 1h,用一抗 4℃ 孵育过夜,TBST 漂洗 10min× 3 次,再用 HRP 标记二抗室温孵育 1h,漂洗 10min× 3 次后 ECL 发光显色,用化学发光成像系统分析结果。

1.2.7 免疫荧光染色检测 F-actin 表达

表 1 引物序列信息
Table 1 Sequence of primers

Gene	Gene ID	Sequence of primers	Size(bp)
GAPDH-F:	2597	5'-GGACTCATGACCACAGTCCATGCC-3'	133
GAPDH-R:		5'-CAGCCTTGGCAGCGCCAGTA-3'	
MTPN-F	136319	5'-TGCTTCTGTCAAAGGGTGCT-3'	78
MTPN-R		5'-CCTGGTTGTCAGTGGCTTCA-3'	
profilin1-F:	5216	5'-GTTCGTCAACATCACGCCAG-3'	112
profilin1-R:		5'-GTCCCGGATCACCGAACATT-3'	
NFκ B-p65-F:	5970	5'-GGGGACTACGACCTGAATGC-3'	122
NFκ B-p65-R:		5'-TTGGGGGCACGATTGTCAAA-3'	

养,再转染细胞,24h 后取爬片用 4%多聚甲醛固定 30min,PBS 清洗爬片,3%BSA 封闭 1h,F-actin 染料 37℃ 染色 1h,PBS 漂洗 5min× 5 次,DAPI 复染后 PBS 漂洗 5min× 3 次,吸干水分用封片剂封片,4℃ 避光保存。用激光共聚焦扫描显微镜观察结果。

1.2.8 检测细胞中的 NFκ B 活性水平 分组培养细胞后,根据 NFκ B 活性检测说明将 pGL4 32 [luc2 NF-κB-RE Hyrgo] Vector 转染至实验细胞中,24h 后收获细胞,裂解取 20 μL 裂解液和 100 μL 荧光素底物,混匀后用化学发光检测仪收集数据。

1.2.9 ELISA 检测细胞上清中 sICAM1 按实验分组培养细胞,收集细胞培养上清。用南京建成公司的 sICAM1 试剂盒进行酶联免疫实验,酶标仪扫描样本,计算结果。

1.2.10 流式细胞仪检测细胞凋亡 分组培养细胞,将细胞收集离心 800rpm,5min。用预冷的 PBS 清洗 2 次调整细胞数目至 5×10^5 个/mL,然后加入 500 μL 的 Binding Buffer 重悬细胞,加

入 5 μL 的 Annexin V/FITC 混匀后,加入 5 μL Propidium Iodide,混匀,室温避光 15min。流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.3 统计学分析

所有实验数据均以均数± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组细胞数据之间的比较采用非配对 t 检验和方差分析。以 P<0.05 作为具有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 Realtime PCR 结果

细胞转染 24 小时后 RT-PCR 结果可见:miR375-Huvec12 组和 miR375-AGEs-Huvec12 组的 miR-375 表达明显上调(图.2A)。在 mRNA 水平,AGEs-Huvec12 组的 NFκB p65 和 profilin1 表达上调,而在 BAY-AGEs-Huvec12 组、miR375-Huvec12 组、miR375-AGEs-Huvec12 组实验中 mtpn、NFκB p65 和 profilin1 表达又显著下降(图.2B)。

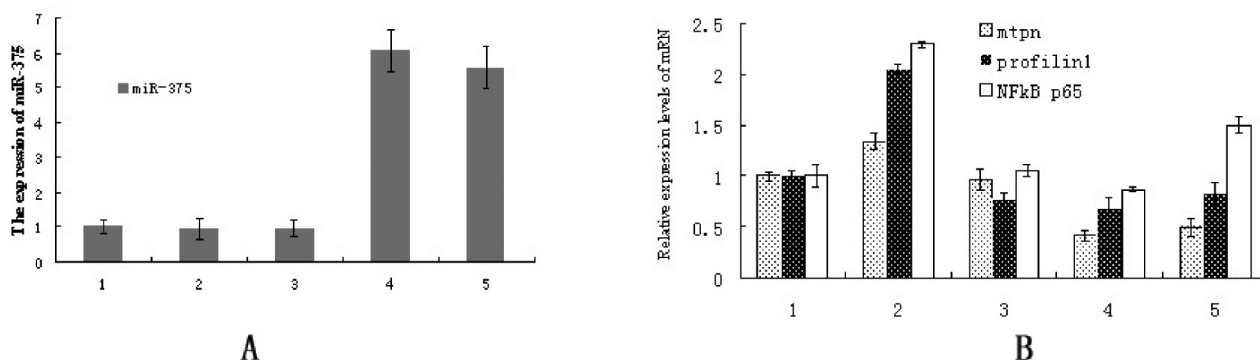


图 2 miR-375,MTPN,profilin1 和 NFκB p65 表达水平检测

A 转染 24h 后 miR-375 表达情况;B Mtpn、profilin1 和 NFκ Bp65 的 mRNA 表达差异(注与对照组比较,#P<0.05)。1:Huvec12 对照组;
2:AGEs-Huvec12 组;3:BAY-AGEs-Huvec12 组;4:miR375-Huvec12 组;5:miR375-AGEs-Huvec12 组。

Fig. 2 Detection expression levels of miR-375,MTPN,Profilin1 and NFκBp65

A The expression of miR-375 after transfection of 24h;B Mtpn, profilin1 and NF κ Bp65 expression difference of mRNA(Compared with the control group, #P<0.05)。1:Huvec12 control group;2:AGEs-Huvec12 group;3:BAY-AGEs-Huvec12 group;4:miR375-Huvec12 group;
5:miR375-AGEs-Huvec12 group。

2.2 Western blot 结果

western blot 实验显示:在 AGEs-Huvec12 组中 profilin1 有显著上调,Mtpn 和 NFκBp65 略有上调。在 BAY-AGEs-Hu-

vec12 组、miR375-Huvec12 组、miR375-AGEs-Huvec12 三组实验中 Mtpn 和 profilin1 明显下降,NFκB p65 略有下降(图.3)。

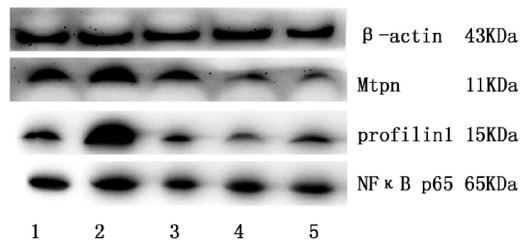


图3 Western blotting 分析 Mtpn、profilin1 和 NFκB p65 蛋白表达结果。1:Huvec12 对照组;2:AGEs-Huvec12 组;3:BAY-AGEs-Huvec12 组;4:miR375-Huvec12 组;5:miR375-AGEs-Huvec12 组。

Fig. 3 Western blotting of the protein expression of mtpn, profilin1 and NFκB p65 in different groups. 1:Huvec12 control group; 2: AGEs-Huvec12 group; 3:BAY-AGEs-Huvec12 group; 4: miR375-Huvec12 group; 5: miR375-AGEs-Huvec12 group。

2.3 免疫荧光染色结果

固定细胞做免疫荧光染色,红色为 F-actin;蓝色为核;绿色

为转染 pEGFP-N1-miR375 后表达的绿色荧光蛋白。从图 4 中明显可以看出:与 Huvec12 对照组相比(A),AGEs-Huvec12 组(B)中 F-actin 表达异常,而 BAY-AGEs-Huvec12 组(C)、miR375-Huvec12 组(D)、miR375-AGEs-Huvec12 组(E)三组中 actin 的表达正常。

2.4 NFκB 活性检测结果

提取细胞裂解液检测荧光值,由图 5A 可知,AGEs-Huvec12 组中 NFκB 的活性升高,在 BAY-AGEs-Huvec12 组、miR375-Huvec12 组、miR375-AGEs-Huvec12 三组中 NFκB 的活性下降。

2.5 细胞培养液 ELISA 检测结果

细胞培养液 sICAM-1 检测结果显示:与 Huvec12 对照组比较,AGEs-Huvec12 组的 sICAM-1 表达上调,而在 BAY-AGEs-Huvec12 组、miR375-Huvec12 组、miR375-AGEs-Huvec12 三组中 sICAM-1 表达下降(图 5B)。

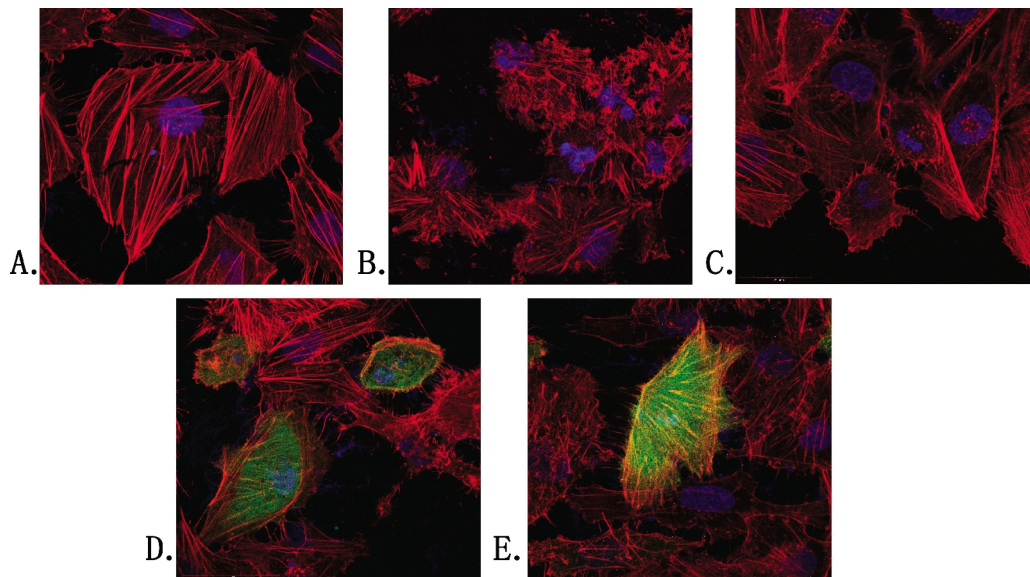


图4 免疫荧光染色照片(× 1000)1:Huvec12 对照组;2:AGEs-Huvec12 组;3:BAY-AGEs-Huvec12 组;4:miR375-Huvec12 组;5:miR375-AGEs-Huvec12 组。

Fig. 4 Immunofluorescence staining photos(× 1000). 1:Huvec12 control group; 2:AGEs-Huvec12 group; 3:BAY-AGEs-Huvec12 group; 4:miR375-Huvec12 group; 5:miR375-AGEs-Huvec12 group。

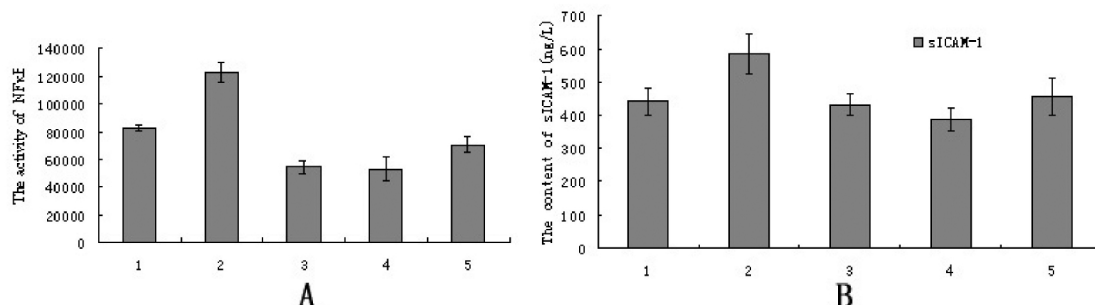


图5 NFκB 活性和 sICAM1 检测结果

A NFκB 活性检测结果(#P<0.05); B 细胞培养液中 sICAM-1的含量(#P<0.05) 1:Huvec12 对照组;2:AGEs-Huvec12 组;3:BAY-AGEs-Huvec12 组;4:miR375-Huvec12 组;5:miR375-AGEs-Huvec12 组。

Fig. 5 The NFκB activity and sICAM1 test result

A Results the NFκB activity; B The cell sICAM1 content in the cell culture medium. 1:Huvec12 control group; 2:AGEs-Huvec12 group; 3:BAY-AGEs-Huvec12 group; 4:miR375-Huvec12 group; 5:miR375-AGEs-Huvec12 group。

2.6 流式细胞仪检测结果

用激发波长 488nm,发射波长 530nm 检测结果显示:AGEs-Huvec12 组凋亡率升高,而在 BAY-AGEs-Huvec12 组、miR375-Huvec12 组、miR375-AGEs-Huvec12 三组中,细胞凋亡减少。

表 2 细胞凋亡检测结果($\%, \bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2 Cell apoptosis detection results($\%, \bar{x} \pm s, n=5$)

The experimental group	Apoptosis rate
Huvec12 control group	2.8±0.9
AGEs-Huvec12 group	17.4±4.8 [#]
BAY-AGEs-Huvec12 group	5.6±2.3 [#]
miR375-Huvec12 group	3.8±1.5 [#]
miR375-AGEs-Huvec12 group	8.9±2.7 [#]

[#]P<0.05 vs Huvec12 对照组。#P<0.05 vs Huvec12 control group。

3 讨论

miRNA 是重要的转录后调控因子,参与调控生长、细胞增殖、凋亡、分化、代谢等生物基本过程。miRNA 在不同细胞中扮演着不同的角色。在胰腺中,miR-375 表达直接影响其形态、发育和功能。研究发现 miR-375 调节不同的 mRNA 表达起到不同的生物学作用。在胃癌中 miR-375 通过调控 JAK2 为靶基因起抑癌基因的作用^[8]。miR-375 通过调控 YAP 的表达抑制肝癌细胞的增殖和迁移^[9]。还有研究 PDK1 显示也是 miR-375 的靶基因之一,可影响食管癌细胞的生物学功能^[10]。

目前治疗糖尿病及其并发症的主要是通过控制血糖,调节体内胰岛素水平控制病情,但是对于糖代谢在体内积累产生“代谢记忆”,造成 AGEs 介导的血管病变却没有更好的治疗方案。有学者通过血管病变机理的研究,发现 NFkB 蛋白表达活性的高低,直接影响着 profilin1 的表达,后者是关键的肌动蛋白调节蛋白,它的增加将引起细胞骨架重组再分布使血管内皮细胞收缩,通透性增加引起细胞病变。

研究发现,血管损伤细胞中过表达 miR-375 后,在 mRNA 和蛋白水平 Mtpn 作为靶基因表达下降,NFkBp65 的表达活性也随之下降,最终糖尿病血管病变的标志 profilin1^[9]下调。而在免疫荧光染色中,与正常对照细胞和血管损伤细胞比较,过表达 miR-375 的血管损伤细胞中 F-actin 表达情况有明显恢复。ELISA 检测细胞粘附因子(sICAM1)表达下降,细胞凋亡减少。而这些结果与血管损伤受抑制细胞一致,进一步证明在 AGEs 介导的血管损伤细胞中,miR-375 表达后是通过降低 NFkB 的表达活性,使血管损伤细胞中的 profilin1 和 sICAM1 下降,肌动蛋白恢复正常,细胞凋亡减少。

综上所述,miR-375 可以抑制血管损伤细胞病变的发生,甚至可以恢复和缓解损伤的作用,可能成为糖尿病血管病基因治疗的潜在靶点,但 miR-375 作用的机理仍需进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Kiuchi K, Nejima J, Takano T, et al. Increased serum concentrations of advanced glycation end products: a marker of coronary artery disease activity in type 2 diabetic patients [J]. Heart, 2001, 85(1):87-91
- [2] Guo ZJ, Niu HX, Hou FF, et al. Advanced oxidation protein products activate vascular endothelial cells via a RAGE-mediated signaling pathway [J]. Antioxid Redox Signal, 2008, 10(10):1699-1712
- [3] Forbes JM, Yee LT, Thallas V, et al. Advanced glycation end product

interventions reduce diabetes-accelerated atherosclerosis [J]. Diabetes, 2004,53(7):1813-1823

- [4] Bogatcheva NV, Garcia JG, Verin AD. Molecular mechanisms of thrombin-induced endothelial cell permeability [J]. Biochemistry (Mosc), 2002, 67(1):75-84
- [5] Wang JP, Guo XH, Wang LJ, et al. Effects of Rho/ROCK signal pathway on AGEs-induced morphological and functional changes in human dermal microvascular endothelial cells [J]. Acta Physiologica Sinica, 2009,61(2):132-138
- [6] Dardik R, Savion N, Gal N, et al. Flow conditions modulate homocysteine induced changes in the expression of endothelial cell genes associated with cell-cell interaction and cytoskeletal rearrangement [J]. Thromb Haemost, 2002, 88(6):1047-1053
- [7] Romeo GR, Kazlauskas A. Oxysterol and diabetes activate STAT3, and control endothelial expression of profilin-1 via OSBP1.[J]. J Biol Chem, 2008, 283(15):9595-9605
- [8] Ding L, Xu Y, Zhang W, et al. MiR-375 frequently downregulated in gastric cancer inhibits cell proliferation by targeting JAK2 [J]. Cell Res, 2010, 20(7):784-793
- [9] Liu AM, Poon RT, Lu JM. MicroRNA-375 targets Hippo signaling effector YAP in liver cancer and inhibits tumor progression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010,394 (3):623-627
- [10] Li X, Lin R, Li J. Epigenetic Silencing of MicroRNA-375 Regulates PDK1 Expression in Esophageal Cancer [J]. Dig Dis Sci, 2011, 56 (10):2849-2856
- [11] Gauthier BR, Wollheim CB. MicroRNAs: ribo-regulators of glucose homeostasis [J]. Nat. Med, 2006, 12:36-38
- [12] Taoka M, Ichimura T, Wakamiya TA, et al. A protein expressed transiently during murine cerebellar development, regulates action polymerization via interaction with capping protein [J]. J Biol Chem, 2003,278:5864-5870
- [13] Genuth S, Sun W, Cleary P, Sell DR, et al. Glycation and carboxymethyllysine levels in skin collagen predict the risk of future 10-year progression of diabetic retinopathy and nephropathy in the diabetes control and complications trial and epidemiology of diabetes interventions and complications participants with type 1 diabetes [J]. Diabetes, 2005,54(11):3103-3111
- [14] Vlassara H, Striker LJ, Teichberg S, et al. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats [J]. PNAS, 1994,91(24):11704-11708
- [15] Yamagishi S, Nakamura K, Imaizumi T. Advanced glycation end products (AGEs) and diabetic vascular complications [J]. Curr Diabetes Rev, 2005,1(1):93-106
- [16] Ceriello A, Ihnat MA, Thorpe JE. The "metabolic memory": is more than just tight glucose control necessary to prevent diabetic complications[J]. Clin Endocrinol Metab, 2009,94(2):410-415
- [17] Moldovan NI, Milliken EE. Regulation of endothelial cell adhesion by profilin[J]. Curr Biol, 1997,7(1):24-30
- [18] Romeo G, Frangioni JV, Kazlauskas A. Profilin acts downstream of LDL to mediate diabetic endothelial cell dysfunction [J]. FASEB, 2004,18(6):725-727
- [19] Guo XH, Huang QB, Chen B, et al. Advanced glycation end products induce actin rearrangement and subsequent hyperpermeability of endothelial cells[J]. APMIS, 2006,114(12):874-883
- [20] Sliman SM, Eubank TD, Kotha SR, et al. Hyperglycemic oxoaldehyde, glyoxal, causes barrier dysfunction, cytoskeletal alterations, and inhibition of angiogenesis in vascular endothelial cells: aminoguanidine protection[J]. Mol Cell Biochem, 2010,333(1-2):9-26