

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.17.008

妊娠期糖尿病小鼠胎盘 EGFR 的表达与其发病关系的研究 *

张 梅¹ 王宏兰² 张 坤³ 刘秀财^{1△} 郭红艳¹ 李淑艳¹

(1 齐齐哈尔医学院生物化学教研室 黑龙江 齐齐哈尔 161042;

2 齐齐哈尔医学院临床生化教研室 黑龙江 齐齐哈尔 161042; 3 佳木斯出入境检验检疫局 黑龙江 佳木斯 154000)

摘要 目的:研究妊娠期糖尿病小鼠胎盘表皮生长因子受体(EGFR)的表达,探讨 EGFR 表达与妊娠期糖尿病发病的关系。**方法:**采用链脲佐菌素建立妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)小鼠模型,对照组为正常妊娠小鼠,腹腔注射等量缓冲溶液。测定母鼠体重、血糖;计算胎鼠的存活率;测定胎鼠、胎盘重量,计算胎盘效率;RT-PCR、免疫组化分别测定 GDM 组和对照组胎盘 EGFR mRNA 和 EGFR 蛋白的表达。Pearson 相关性分析用于母鼠血糖与 EGFR 表达的相关性分析。**结果:**GDM 组母鼠体重和血糖均高于对照组($P<0.01$);GDM 组胎鼠、胎盘重量及胎盘效率均高于对照组($P<0.01$);RT-PCR 和免疫组化结果显示 GDM 组胎盘 EGFR mRNA 和 EGFR 蛋白的表达与对照组相比差异有统计学意义($P<0.01$)。GDM 组小鼠血糖值与其胎盘 EGFR 的表达具有相关性($r=0.582$, $P<0.05$)。**结论:**GDM 导致胎盘 EGFR 表达升高,EGFR 并不是 GDM 的发病因素,EGFR 是预防 GDM 的潜在靶点。

关键词:妊娠期糖尿病;表皮生长因子;表皮生长因子受体

中图分类号:Q95-3;R714.256 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)17-3232-04

Relationship between Expression of EGFR in Placenta of GDM Mice and Gestational Diabetes Mellitus*

ZHANG Mei¹, WANG Hong-lan², ZHANG Kun³, LIU Xiu-cai^{1△}, GUO Hong-yan¹, LI Shu-yan¹

(1 Department of Biochemistry, Qiqihar Medical University, Qiqihar, Heilongjiang, 161042, China;

2 Department of Clinical Biochemistry, Qiqihar Medical University, Qiqihar, Heilongjiang, 161042, China;

3 Jiamusi entry exit inspection and Quarantine Bureau, Jiamusi, Heilongjiang, 154000, China)

ABSTRACT Objective: To study the relationship between the expression of EGFR in placenta of gestational diabetes mellitus (GDM) mice and gestational diabetes mellitus. **Methods:** Streptozotocin was used to induce GDM in mice, the control group (normal pregnancy) was given the same dose buffer solution. mother's blood glucose and body weight was obtained. The weight of fetal mice and placenta were determined after birth, then placental efficiency was measured immediately. The expression of EGFR mRNA and protein in placenta were determined by RT-PCR and immunohistochemistry. The relationship between expression of EGFR and mother's blood glucose were analyzed by Pearson correlation analysis. **Results:** Mother's blood glucose and body weight in GDM group were higher than that of control group ($P<0.01$); The weight of fetal mice and placenta and placental efficiency in GDM group were significantly higher than that of control group ($P<0.01$). The expression of EGFR mRNA and protein had significant difference between GDM group and control group ($P<0.01$), with statistical significance. There was a correlation between mother's blood glucose and the expression of EGFR ($r=0.582$, $P<0.05$). **Conclusions:** GDM is the reason of increased expression of EGFR in placenta, but EGFR is not pathogenetic factors of GDM. EGFR is the potential target for prevention.

Key words: Gestational diabetes mellitus; Epidermal growth factor; Epidermal growth factor receptor

Chinese Library Classification (CLC): Q95-3; R714.256 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)17-3232-04

前言

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)作为一种病理性妊娠,其对母体和胎儿的危害及潜在的远期影响有目共睹^[1]。因此,针对 GDM 的预防、诊断、治疗及机制的研究是十分必要的。目前,GDM 的发病率为 1.7%-11.6%^[2],并呈逐年上

升的趋势,而其发病机制尚未完全阐明^[3-5]。关于 GDM 发病机制的研究大多数围绕于胰岛素抵抗,近些年研究者对于一些因子参与 GDM 产生了浓厚的兴趣^[6-8]。

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是一种分子量为 170 kD 的特异性糖蛋白,其在胎盘的分布高于子宫内膜及蜕膜 1000 倍^[9]。EGFR 具有自身酪氨酸激

* 基金项目:黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12521643)

作者简介:张梅(1977-),女,博士研究生,讲师,主要研究方向:基因治疗,E-mail:cyczm7677@sina.com

△ 通讯作者:刘秀财(1979-),男,讲师,E-mail:39469918@qq.com

(收稿日期:2015-01-10 接受日期:2015-01-30)

酶活性,EGF 与 EGFR 结合后引发 EGFR 自身和底物磷酸化反应,刺激细胞的增殖和分化,参与胚胎发育、胎盘激素合成分泌、妊娠维持等生理过程。目前,关于 EGFR 与病理性妊娠的研究多集中于妊娠期高血压疾病^[9]。因此,本研究拟通过对 GDM 小鼠胎盘 EGFR 水平的测定来分析其与 GDM 发病的关系。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要试剂和仪器 链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(Sigma, 美国),EGF ELISA 试剂盒(上海凯博生化试剂公司),兔抗小鼠 EGF 一抗(RD 公司,美国),兔抗小鼠 EGFR 一抗(Proteintech Group, 美国),免疫组化二抗检测试剂盒(基因科技上海有限公司)。石蜡切片机 RM2235(Leica, 德国);9600 型 PCR 仪(PE, 美国);电泳仪(164-5070 通用型,Bio-rad, 美国);TGL-16G 离心机(安亭,上海)。

1.1.2 实验动物 30 只 C57BL/6 小鼠,雌性,体重(22±2)g,购自中国科学院上海实验动物中心。

1.2 方法

1.2.1 GDM 小鼠模型建立及分组 取 C57BL/6 小鼠,实验前尾静脉采血测定空腹血糖,血糖值在 3-5 mmol/L 为正常值。阴道涂片法确定小鼠动情期,按 1:2 雄雌比例合笼,次晨检查阴道口及垫料,发现乳白色栓子记为妊娠第 1 天,妊娠第 6 天早晨开始禁食 12 h(不禁水)后 GDM 组(15 只)一次性腹腔注射 40 mg/kg 的 STZ(STZ 溶于 0.1 mol/L, pH 4.2 柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液),对照组(15 只)注射等量柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液。注射后第 7 天测空腹血糖≥11.1 mmol/L^[10]即为造模成功。

1.2.2 母鼠血糖和体重检测 分别于妊娠第 6 天未造模前,妊娠第 12 天(即注射 STZ 后第 7 天),妊娠第 18 天处置前取尾静脉血测定各组母鼠空腹血糖值和体重。

1.2.3 胎盘效率测定 妊娠第 18 天每组母鼠剖取胎鼠、胎盘称重。死亡胎鼠和死亡母鼠的胎鼠、胎盘不计在内。用滤纸吸干胎鼠和胎盘表面液体,称量精确至 0.001 g,胎盘效率=胎鼠重量/胎盘重量。

1.2.4 胎鼠存活率检测 妊娠第 18 天剖取胎鼠计算各组母

鼠孕育个数,胎鼠存活个数,计算胎鼠存活率。

1.2.5 标本处理 每组取出一半数量的胎盘立即置于液氮备用,另一半数量的立即置于 10%的中性甲醛溶液固定,备用 HE 染色和免疫组化分析。

1.2.6 RT-PCR 测定胎盘 EGFR 的表达 按 Trizol 试剂说明提取各组胎盘的总 RNA,测定纯度和完整性后按照试剂盒说明进行反转录。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。EGFR:上游引物 5' GGCACCTATTGAAGACCACT3' 下游引物 5' TTGTTGCTGAATCGCACA 3' (335 bp); β -actin:上游引物 5' TGCTGTCCCTGTATGCCTCT 3' 下游引物 5' GATGTACACGACGATTTC 3' (221 bp)。PCR 反应条件:在 95 °C 5 min 预变性,94 °C 45 s,55 °C 45 s,72 °C 50 s,33 个循环,72 °C 延伸 10 min。1.7%琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像系统定量分析。每组分别取 3 个样本,实验重复 3 次。

1.2.7 免疫组化测定胎盘 EGFR 的表达 实验步骤按两步法免疫组化试剂盒操作,PBS 液代替一抗作为阴性对照。EGFR 一抗稀释浓度 1:100。镜下观察小鼠胎盘组织 EGFR 分布及表达强度,细胞浆和胞膜出现棕黄色颗粒为阳性。Image pro-Plus 5.1 图像分析软件进行分析,随机抽取每组 5 只小鼠切片各 1 张,每张随机选取 5 个视野作分析,以平均光密度值记录并统计数据。

1.3 统计分析

采用统计软件 SPSS 20.0 分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,t 检验用于两组间差异比较;Pearson 相关性分析用于两变量间的相关性分析; χ^2 检验用于计数资料的比较分析。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 母鼠空腹血糖和体重

在妊娠开始至第 18 天剖腹产期间,有 2 只 GDM 组母鼠死亡,测定结果如表 1 所示。妊娠第 6 天造模前,两组母鼠血糖值无明显差异($P > 0.05$)。妊娠第 12 天和 18 天母鼠血糖明显高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。GDM 组母鼠体重明显高于对照组($P < 0.01$)。

表 1 两组母鼠体重和空腹血糖值的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of mother's weight and fasting glucose of the two groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Weight(g)	Fasting glucose(mmol/L)		
			6 d	12 d	18 d
Control group	15	36.33±0.63	4.33±0.52	4.38±0.50	4.58±0.33
GDM group	13	37.54±0.48 [#]	4.35±0.25	14.12±1.81 [#]	11.59±0.91 [#]

Note: Compared with control group,[#] $P < 0.01$.

2.2 胎盘效率

在妊娠开始至第 18 天剖取胎鼠和胎盘,测定胎盘效率。

测定结果如表 2 所示,GDM 组胎鼠、胎盘及胎盘效率均高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 两组胎盘效率的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of placental efficiency of the two groups($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Placenta(g)	Fetal mice(g)	Placental efficiency
GDM group	70	0.112±0.005 [#]	1.120±0.086 [#]	9.991±0.942 [#]
Control group	118	0.103±0.001	0.844±0.035	8.465±0.692

Note: Compared with control group,[#] $P < 0.01$.

2.3 胎鼠存活率

在妊娠开始至 18 日有 2 只 GDM 组母鼠死亡, 剖腹发现损失共计 16 只胎鼠。足月剖腹时发现 GDM 组有 19 只死亡胎

鼠, 共计死亡 35 只胎鼠; 对照组发现 2 只死亡胎鼠。计算两组胎鼠存活率如表 3 所示。对照组胎鼠存活率高于 GDM 组, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。

表 3 两组胎鼠的存活率

Table 3 The survival rate of fetal mice of the two groups

Groups	The total number of fetal mice (n)	The number of dead mice (n)	The number of survival mice (n)	The survival rate of fetal mice (%)
Control group	120	2	118	98.3
GDM group	105	35	70	66.7*

Note: Compared with control group, * $P<0.01$.

2.4 RT-PCR 结果分析

GDM 组小鼠胎盘 EGFR mRNA 的表达量高于对照组, 具有统计学意义($P<0.01$), 如图 1 所示。

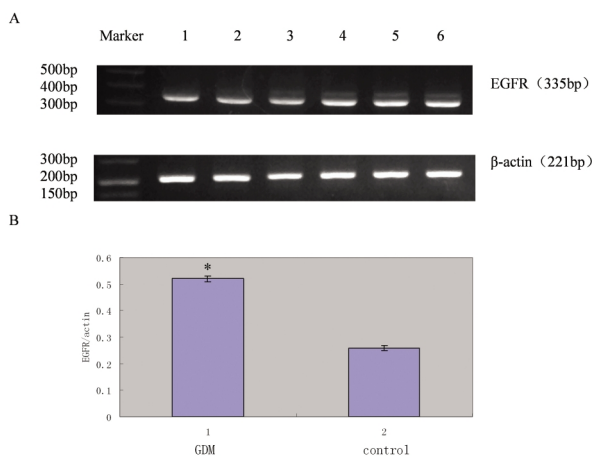


图 1 小鼠胎盘 EGFR mRNA 的表达

Fig. 1 Expression of EGFR mRNA of placenta

Note: (A) Expression of EGFR mRNA of placenta in two groups. 1-3: Control group, 4-6: GDM group; (B) Statistic results of EGFR mRNA expression. * $P<0.01$, compared with control group.

2.5 免疫组化结果分析

EGFR 蛋白经过 DAB 显色后呈棕黄色颗粒, 主要位于胎盘合体滋养细胞、细胞滋养细胞的胞膜、胞质及核膜, 如图 2 所示。GDM 组平均光密度值高于对照组, 两组小鼠胎盘 EGFR 的表达差异具有统计学意义($P<0.01$), 如表 4 所示。

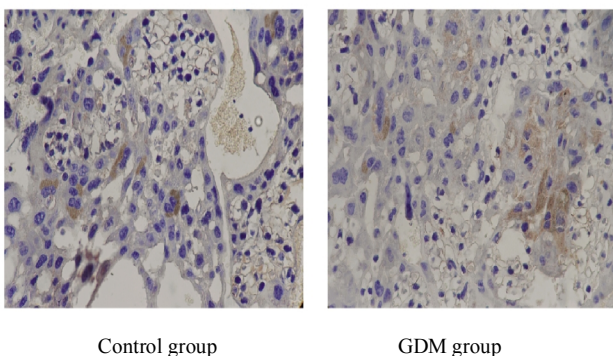


图 2 两组胎盘免疫组化 EGFR 的表达($\times 400$)

Fig. 2 Expression of EGFR of placenta in two groups(IHC $\times 400$)

表 4 两组小鼠胎盘 EGFR 蛋白表达($\bar{x} \pm s$)

Table 4 The expression of EGFR protein in placenta of the two groups ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	EGFR
Control group	5	0.25 $\pm$ 0.03
GDM group	5	0.37 $\pm$ 0.03 [#]

Note: Compared with control group, [#] $P<0.01$.

2.6 妊娠糖尿病小鼠胎盘 EGFR 表达与其血糖的关系

GDM 组小鼠血糖值与其胎盘 EGFR 的表达具有显著的相关性($r=0.582$, $P<0.05$)。

3 讨论

2010 年国际糖尿病与妊娠研究组更新了 GDM 诊断标准的建议^[12], 新建议中将诊断 GDM 的各类血糖值限值降低, 使得诊断具有更高的灵敏度。此次更新说明 GDM 的诊断、预防及治疗越来越受到人们的重视。目前关于 GDM 发病机制的研究多集中在妊娠期胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞分泌变化、遗传、妊娠相关激素, 除此之外一些炎症因子和脂肪细胞因子的作用也不容忽视^[13], 但对其研究多数也是围绕胰岛素抵抗相关机制。诸多因素影响 GDM 的发生和发展, 然而作为影响胚胎发育、胎盘激素合成分泌、妊娠维持等生理过程的 EGF 和 EGFR 对 GDM 发生的因果关系目前的研究尚少, 因此本研究针对 EGFR 在小鼠胎盘中的表达进行研究, 初步探讨 EGFR 与 GDM 发病的相互关系。

表皮生长因子受体及其配体自 1962 年被发现以来一直为研究者所重视。绝大多数表皮细胞和基质细胞都表达 EGFR, EGF、TGF- α 、表皮素等都是其配体, 其中以 EGF 和 TGF- α 最为主要^[14]。EGFR 与其配体结合后可引起钙离子内流, DNA 的复制、转录及细胞分裂。胎盘作为胎儿与母体之间的交换器官其滋养细胞中含有大量的 EGFR^[15]。本研究显示, 无论从 mRNA 水平上还是蛋白水平上 EGFR 在 GDM 小鼠胎盘中的表达量均高于对照组。我们推测原因如下: (1) GDM 小鼠通过提高胎盘 EGFR 的表达量来增加与配体结合的机率, 相当于增加其活性, 进而引起胎儿、胎盘的发育过度^[16]。本研究中也确实发现 GDM 组胎鼠和胎盘的重量均高于对照组; (2) Hakonen 等^[17]利用转基因技术建立 EGFR 缺陷小鼠模型, 观察其在妊娠期胰岛 β 细胞的扩增, 实验的结果表明 EGF/EGFR 信号通路是妊娠期间胰岛 β 细胞群增殖的必备条件。因此, 从另一方面讲 GDM 组

小鼠 EGFR 表达量增多也反映出 GDM 患者通过增加胰岛 β 细胞群而增强胰岛素分泌能力的现象,但这些却不足以对抗胰岛素抵抗,最终导致 GDM^[18,19]。本研究中 C57BL/6 小鼠造模后血糖始终高于对照组,并且我们对 GDM 组母鼠血糖和本组胎盘 EGFR 表达做了 Pearson 相关性分析,结果表明 GDM 组母鼠血糖与其胎盘 EGFR 的表达具有相关性。综上所述,我们认为 GDM 导致了胎盘 EGFR 的升高,而 EGFR 非 GDM 发病的致病因素。

在研究中我们发现 GDM 组小鼠胎盘效率高于对照组,胎盘效率的提高反映胎儿与胎盘之间的物质交换和运输的效率提高了,这可能是通过 EGFR 表达的增多而实现的^[20,21]。然而,这种胎盘效率的增加却是 GDM 病理状态导致的结果。GDM 组胎鼠存活率低于对照组,胎鼠死胎和吸收胎较多,分析原因在于虽然 GDM 小鼠胎盘重量较大,但是胎盘重量体现的却是一种缺氧的代偿现象,当妊娠晚期或临产时会出现胎儿窘迫或死产^[22,23]。综上所述,GDM 是妊娠期被发现或各种影响因素诱发的失代偿,所以对其预防和治疗尤为重要^[24]。我们认为 EGFR 的高表达是 GDM 的重要病理变化之一,EGFR 可以作为预防或监控 GDM 的潜在靶点,这有待于我们进一步的研究。

参考文献(References)

- [1] Association AD. Standards of medical care in diabetes-2013 [J]. Diabetes Care, 2013, 36 (Suppl 1): S11-S66
- [2] Schneider S, Bock C, Wetzel M, et al. The prevalence of gestational diabetes in advanced economies [J]. J Perinat Med, 2012, 40 (5): 511-520
- [3] Zhao YH, Wang DP, Zhang LL, et al. Genomic expression profiles of blood and placenta reveal significant immune-related pathways and categories in Chinese women with gestational diabetes mellitus [J]. Diabetic Med, 2011, 28(2): 237-246
- [4] Afkhami-Ardekani M, Rashidi M. Iron status in women with and without gestational diabetes mellitus [J]. J Diabetes Complications, 2009, 23(3): 194-198
- [5] Poel YH, Hummel P, Lips P, et al. Vitamin D and gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis [J]. Eur J Intern Med, 2012, 23(5): 465-469
- [6] Miehle K, Stepan H, Fasshauer M. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and preeclampsia [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2012, 76(1): 2-11
- [7] Vrachnis N, Belitsos P, Sifakis S, et al. Role of adipokines and other inflammatory mediators in gestational diabetes mellitus and previous gestational diabetes mellitus [J]. Int J Endocrinol, 2012, (549748): 1-12
- [8] 许文静, 张学真. 肿瘤坏死因子- α 在妊娠期糖尿病发病机制中的作用探讨 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(3): 132-133
Xu Wen-jing, Zhang Xue-zhen. The study of pathogenesis of TNF- α in Gestational Diabetes Mellitus [J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2014, 22(3): 132-133
- [9] 张维佳, 吴炳昕. 影响生殖的几个相关因子的研究现状 [J]. 国外医学计划生育分册, 2001, 20(3): 133-137
Zhang Wei-jia, Wu Bing-xin. The research status of some factors of reproduction [J]. Journal of International Reproductive Health/Family Planning, 2001, 20(3): 133-137
- [10] 江朵, 任军, 许向明. 妊娠期高血压疾病胎盘组织中 CASR 和 EGFR 的相关研究 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(3): 23-25
Jiang Duo, Ren Jun, Xu Xiang-ming. Related study on the role of CASR and EGFR in place of hypertensive disorder complicating pregnancy [J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2012, 20 (3): 23-25
- [11] 李佳, 魏波, 塔娜, 等. 不同剂量链脲佐菌素建立妊娠期糖尿病大鼠模型稳定性的比较 [J]. 第四军医大学学报, 2009, 30 (22): 2500-2520
Li Jia, Wei Bo, Ta Na, et al. Comparison of different dosage of streptozotocin-induced gestational diabetes mellitus on rats [J]. Journal of the Fourth Military Medical University, 2009, 30 (22): 2500-2520
- [12] International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Recommendations on the Diagnosis and Classification of Hyperglycemia in Pregnancy [J]. Diabetes Care, 2010, 33(3): 676-682
- [13] 王君, 李红星, 郭淑芹. 妊娠糖尿病的研究进展 [J]. 医学综述, 2012, 18(3): 429-431
Wang Jun, Li Hong-xing, Guo Shu-qin. Study Progress of Gestational Diabetes Mellitus [J]. Medical Recapitulate, 2012, 18(3): 429-431
- [14] 苏进, 许新华. 表皮生长因子受体在肿瘤中的研究进展 [J]. 实用医学杂志, 2010, 26(2): 172-174
Su Jin, Xu Xin-hua. Study Progress of Epidermal growth factor receptor (EGFR) in tumor [J]. The Journal of Practical Medicine, 2010, 26(2): 172-174
- [15] Gupta C. The role of epidermal growth factor receptor (EGFR) in male reproductive tract differentiation: Stimulation of EGF Rexpression and inhibition of Wolffian duct differentiation with anti-EGFR antibody [J]. Endocrinology, 1996, 137(3): 905
- [16] 姚宝林, 程海东. 妊娠期糖尿病的病因及发病机制 [J]. 现代妇产科进展, 2014, 2(1): 73-75
Yao Bao-lin, Cheng Hai-Dong. The etiology and pathogenesis of Gestational Diabetes Mellitus [J]. Prog Obstet Gynecol, 2014, 2(1): 73-75
- [17] Hakonen E, Ustinov J, Mathijs I, et al. Epidermal growth factor (EGF) -receptor signalling is needed for murine beta cell mass expansion in response to high-fat diet and pregnancy but not after pancreatic duct ligation [J]. Diabetologia, 2011, 54(7): 1735-1743
- [18] Kopp W. Role of high-insulinogenic nutrition in the etiology of gestational diabetes mellitus [J]. Med Hypotheses, 2005, 64 (1): 101-103
- [19] 庄璟怡, 应豪, 王德芬. 小剂量链脲佐菌素建立妊娠期糖尿病大鼠模型的研究 [J]. 现代妇产科进展, 2014, 23(8): 607-610
Zhuang Jing-yi, Ying Hao, Wang De-fen. A study on establishment of low-dose Streptozotocin-induced Gestational Diabetes in rats [J]. Prog Obstet Gynecol, 2014, 23(8): 607-610
- [20] Grissa O, Yessoufou A, Misak I, et al. Growth factor concentrations and their placental mRNA expression are modulated in gestational diabetes mellitus: possible interactions with macrosomia [J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2010, 10(7): 1471-1481

- 16 (9): 770-772
- [3] KWon HJ, Kang MJ, Cho JH, et al. Acoustic radiation force impulse elastography for hepatocellular carcinoma-associated radiofrequency ablation[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(14): 1874-1878
- [4] Shuang-Ming T, Ping Z, Ying Q, et al. Usefulness of acoustic radiation force impulse imaging in the differential diagnosis of benign and malignant liver lesions[J]. Acad Radiol, 2011, 18(7): 810-815
- [5] Clenert DA, Stock K, Klein B, et al. Evaluation of acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging and contrast enhanced ultrasound in renal tumors of unknown etiology in comparison to histological findings[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2009, 43(1): 95-107
- [6] D'Arcy TJ, Jayaram V, Lynch M, et al. Ovarian cancer detected non-invasively by contrast-enhanced power Doppler ultrasound[J]. Br J Obstetrics and Gynaecology, 2004, 111(6): 619-622
- [7] Kinkel K, Hricak H, Lu Y, et al. US characterization of ovarian masses: a meta-analysis. Radiology, 2000, 217(3): 803-811
- [8] 孙艳娟, 米成嵘. 经静脉与经皮下注射超声造影剂检测乳腺癌前哨淋巴结的对比研究 [J]. 宁夏医科大学学报, 2012, 34 (5): 480-482, 封3
- Sun Yan-juan, Mi Cheng-rong. Comparative study of intravenous and subcutaneous injection of ultrasound contrast agent detection of sentinel lymph node in breast cancer [J]. Journal of Ningxia Medical University, 2012, 34 (5): 480-482, 3
- [9] Marret H, Sauget S, Giraudeau B, et al. Contrast-enhanced sonography helps in discrimination of benign from malignant adnexal masses[J]. J Ultrasound Med, 2004, 23(12): 1629-1639
- [10] D'Arcy TJ, Jayaram V, Lynch M, et al. Ovarian cancer detected non-invasively by contrast-enhanced power Doppler ultrasound[J]. Br J Obstet Gynecol, 2004, 111(6): 619-622
- [11] Ophir J, Céspedes I, Ponnekanti H, et al. Elastography: a quantitative method for imaging the elasticity of biological tissues [J]. Ultrason Imaging, 1991, 13(2): 111-134
- [12] Cho SH, Lee JY, Han JK. Acoustic radiation force impulse elastography for the evaluation of focal solid hepatic lesions: preliminary findings [J]. Ultrasound Med Biol, 2010, 36(2): 202-208
- [13] Paszek MJ, Weaver VM. The tension mounts: mechanics meets morphogenesis and malignancy[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2004, (94): 325-342
- [14] 钟志方, 崔建华. 声脉冲辐射力成像技术在肝脏局灶性病变的诊断及介入治疗中的应用[J]. 当代医学, 2013, 19(2): 15-17
- Zhong Zhi-fang, Cui Jian-hua. Acoustic pulse applied radiation force imaging techniques in the diagnosis and interventional treatment of focal liver lesions[J]. contemporary medicine, 2013, 19(2): 15-17
- [15] Greenleaf JF, Fatemi M, Insana M. Selected methods for measuring elastic properties of biological tissues [J]. Annu Rev Biomed Eng, 2003, 5: 57-78
- [16] Krouskop TA, Wheeler TM, Kallel F, et al. Elastic moduli of breast and prostate tissues under compression[J]. Ultrason Imaging, 1998, 20 (4): 260-274
- [17] Tombesi P, Di Vece F, Ermili F, et al. Role of ultrasonography and contrast-enhanced ultrasonography in a case of Krukenberg tumor[J]. World J Radiol, 2013, 5(8): 321-324
- [18] Xuan JW, Bygrave M, Valiyeva F, et al. Molecular targeted enhanced ultrasound imaging of flk1 reveals diagnosis and prognosis potential in a genetically engineered mouse prostate cancer model [J]. Mol Imaging, 2009, 8(4): 209-220
- [19] Castellucci P, Perrone AM, Picchio M, et al. Diagnostic accuracy of 18F-FDG PET/CT in characterizing ovarian lesions and staging ovarian cancer: correlation with transvaginal ultrasonography, computed tomography, and histology[J]. Nucl Med Commun, 2007, 28(8): 589-595
- [20] Marret H, Veyer L, Bleuzen A, et al. How I do...contrast enhanced pelvic ultrasound[J]. Gynecol Obstet Fertil, 2008, 36(6): 665-667

(上接第 3235 页)

- [21] Larciprete G, Valensise H, Vasapollo B, et al. Fetal subcutaneous tissue thickness (SCTT) in healthy and gestational diabetic pregnancies[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2003, 22(6): 591-597
- [22] Wong SF, Chan FY, Oats JJ, et al. Fetal growth spurt and pregestational diabetic pregnancy [J]. Diabetes Care, 2002, 25(10): 1681-1684
- [23] Horvath K, Koch K, Jeitler K, et al. Effects of treatment in women with gestational diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis[J]. BMJ, 2010, 340(c1395): 1-18
- [24] 张利萍. 妊娠期糖尿病的病理生理分析 [J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(5): 562-566
- Zhang Li-ping. The pathophysiology analysis of gestational diabetes mellitus [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2013, 22(5): 562-566