

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.04.004

文章编号: 1005-8982(2016)04-0018-06

论著

不同剂量肝素对高糖诱导后的人腹膜间皮细胞水通道蛋白 1 表达的影响

李鹤¹, 赵久阳², 任泽银¹, 肖伟¹, 桂永丰¹

(1.湖南省常德市第一人民医院 肾病内科, 湖南 常德, 415000;

2.大连医科大学附属第二医院 肾内科, 辽宁 大连 116000)

摘要:目的 研究不同剂量肝素对高糖诱导后的人腹膜间皮细胞水通道蛋白 1(AQP1)mRNA 和蛋白表达水平的影响。**方法** 分离并培养人腹膜间皮细胞,并用高糖(2.5%葡萄糖溶液)诱导 4、8、12 和 24 h;采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测 AQP1 mRNA 的表达水平,从而确定表达量达峰值的诱导时间。将不同剂量的肝素添加至人腹膜间皮细胞培养液中,并经 2.5%高糖溶液诱导后,用 RT-PCR 及免疫组织化学法检测实验组与对照组 AQP1 mRNA 和蛋白表达水平。**结果** 与对照组比较,实验组 AQP1 mRNA 和蛋白表达明显增加,且 mRNA 表达呈时间依赖性,且在高糖诱导 24 h 时表达量达峰值,差异有统计学意义($P < 0.05$);RT-PCR 与免疫组织化学结果具有一致性,均提示 AQP1 mRNA 和蛋白表达水平在 2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组呈现明显上调,差异有统计学意义($P < 0.05$);免疫组织化学染色提示 2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组细胞可见胞核及胞浆有空泡样改变。**结论** 肝素在高糖环境中诱导 24 h 后可显著增加人腹膜间皮细胞水通道蛋白 AQP1 mRNA 和蛋白的表达,且大剂量的肝素能使胞浆及胞核出现明显的空泡样改变。

关键词: 肝素;人腹膜间皮细胞;水通道蛋白 1

中图分类号: R572.2

文献标识码: A

Impact of different dosages' heparin on the expression of aquaporins 1 of human peritoneal mesothelial cells induced by high concentration glucose

Ge Li¹, Jiu-yang Zhao², Ze-yin Ren¹, Wei Xiao¹, Yong-feng Gui¹

(1.Department of Nephrology, the First People's Hospital, Changde, Hunan 415000, China;

2.Department of Nephrology, the Second Hospital Affiliated to Dalian Medical University, Dalian, Liaoning 116000, China)

Abstract: Objective To investigate the impact of different dosages' heparin on the expression of aquaporin-1 (AQP1) of human peritoneal mesothelial cells (HPMCs) induced by high concentration glucose (2.5 % W/W). **Methods** HPMC were separated from patients and sub-cultured, and induced by high concentration glucose for 4, 8, 12, and 24 h respectively. This is to determinate the time when the mRNA of AQP1 reaches the maximum level. Heparin of different dosages and 2.5% glucose were added into the cell culture medium. The expression levels of AQP1 were detected by using RT-PCR and immunohistochemistry in both control and experimental groups. **Results** Compared with the control group, the mRNA expression level of AQP1 was up-regulated in an time-dependant manner, with the maximum expression at 24 h induced by high concentration glucose. The protein expression level of AQP1 was also up-regulated in all experimental groups, particularly by 2.5 % glucose and 1.5×10^{-2} mg/ml heparin. The difference was of statistical significance ($P < 0.05$). The result of RT-PCR is consistent with that of immunohistochemistry. By using immunohistochemistry, vacuolation was observed in the nucleus and cytoplasm treated by 2.5 % glu-

收稿日期: 2015-11-12

cose and 1.5×10^{-2} mg/ml heparin. **Conclusion** The mRNA and protein expression of AQP1 can be up-regulated by 2.5 % glucose and heparin. Vacuolation can be observed in the nucleus and cytoplasm treated by glucose and heparin of high concentration.

Keywords: heparin; human peritoneal mesothelial cells; aquaporin 1

腹膜透析是终末期肾衰竭患者可供选择的治疗方法之一,但临床上腹膜透析患者常发生腹膜透析管堵塞,为解决该问题,体内外抗凝剂肝素常添加于腹膜透析液中。有研究显示,大剂量肝素添加于含葡萄糖的腹膜透析液中可使腹膜透析的超滤量增加^[1],但肝素是否通过影响腹膜间皮细胞中水通道蛋白1(aquaporin 1, AQP1)的表达来实现的,国内外未见相关报道,故本实验探讨不同剂量肝素对高糖诱导后人腹膜间皮细胞水通道蛋白 AQP1 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

1.1.1 主要试剂 TRIzol 试剂盒为美国 Invitrogen 公司产品,逆转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)试剂盒及焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)水为宝生物工程(大连)有限公司产品,鼠抗人细胞角蛋白单抗、二氨基联苯胺(Diaminobenzidine, DAB)显色液、免疫组织化学法 SP 试剂盒,均为北京中杉金桥生物技术有限公司产品,鼠抗人波形蛋白抗体、抗白细胞 CD45 抗体、抗第Ⅷ因子相关抗原抗体均为武汉博士德生物技术有限公司产品, AQP1 一抗为美国 Santa Cruz 公司产品,细胞消化液[0.125%胰蛋白酶-0.02%乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)-2Na]为美国 Sigma 公司产品,1640 培养液为美国 Invitrogen 公司产品,胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)为天津 TBD 公司产品, D-葡萄糖、氯仿、异丙醇等分析纯购自天津市科密欧化学试剂有限公司,肝素钠注射液(12 500 u/2 ml, 12 500 u 相当于 100 mg)购自江苏万邦生化医药股份有限公司, PBS 液、D-Hank 平衡盐溶液为本实验室自行配置,过滤灭菌分装,室温保存。

1.1.2 主要仪器 二氧化碳 CO₂ 培养箱及高速台式冷冻离心机为德国贺力式公司生产,垂直层流洁净工作台为上海上净净化设备有限公司生产,紫外可见分光光度计(型号 UV-9100)为北京瑞利分析仪器公司生产,紫外分析仪(型号 WFH-201)购自温州市孚华分析仪器厂,倒置相差显微镜购自日本奥林巴斯公司,凝胶成像分析系统购自美国 Pharmacia

Biotech 公司,水平电泳槽购自北京市六一仪器厂,PCR 仪购自美国 Biometra 公司。

1.2 人腹膜间皮细胞的分离、培养与鉴定

本实验从连续性腹膜透析患者透出液中分离并提取人腹膜间皮细胞,无菌条件下收集患者流出液标本,4℃、1 200 r/min 离心 5 min。D-Hank 平衡盐溶液洗涤沉淀 3 次,将细胞接种于含 10%(V/V)胎牛血清的 1640 培养液中,置于二氧化碳 CO₂ 培养箱 37℃ 培养。每 3 天换液 1 次。原代培养的人腹膜间皮细胞最初呈多形性,星状及梭状占多数。待细胞生长融合后形成典型的铺路石样外观(见图 1),这与周循等人描述的人腹膜间皮细胞形态一致^[2]。用 0.125%胰蛋白酶-0.01%EDTA 2 ml 混合液消化细胞,吸管吹打均匀,使细胞密度保持在 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/ml。第 2 代细胞用于形态学及免疫组织化学鉴定,第 3 代细胞进行实验研究。免疫组织化学法显示,抗细胞角蛋白抗体阳性、抗波形蛋白抗体染色阳性(见图 2、3),抗第Ⅷ因子抗体和抗白细胞 CD45 抗体染色阴性(见图 4、5),由此可排除血管内皮细胞、成纤维细胞等^[3-4],证明其是腹膜间皮细胞。

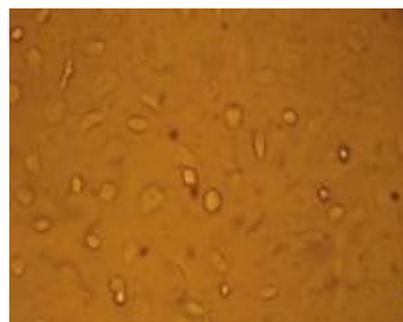


图 1 人腹膜间皮细胞 (×400)



图 2 细胞角蛋白阳性 (×100)

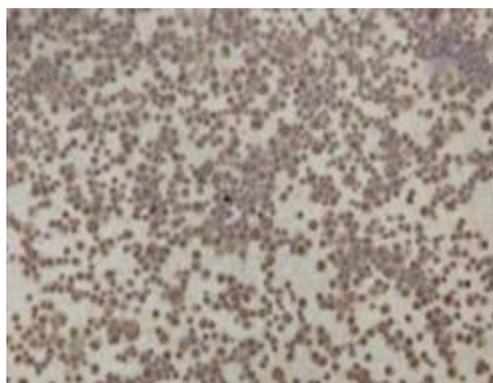


图 3 细胞波形蛋白阳性 (×100)

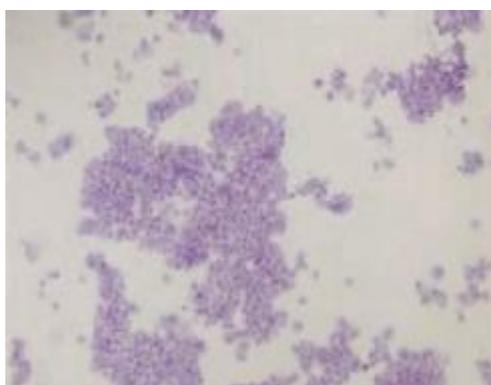


图 4 第Ⅷ因子相关抗原阴性 (×100)

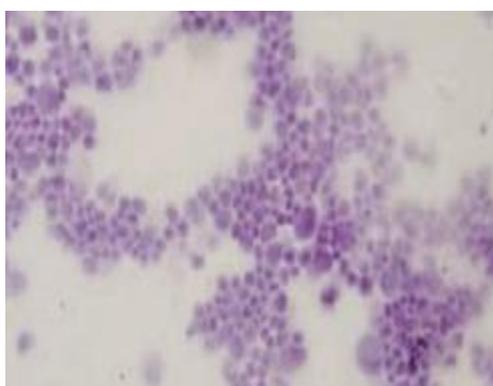


图 5 白细胞 CD45 抗原阴性 (×100)

1.3 经 2.5% 高糖诱导后 AQP1 mRNA 表达水平呈时间依赖性

将 3 次传代后的人腹膜间皮细胞均匀接种于 6 孔培养板上,用无血清的 1640 培养液同步消化 24 h。无菌称取葡萄糖 2.5 g,溶于 100 ml 无菌三蒸水中,配置成 2.5% 高糖溶液。将 2.5% 高糖添加于细胞培养液中,分别诱导 4、8、12 和 24 h,比较诱导不同时间后 AQP1 mRNA 的表达水平。提取细胞总 RNA,在 6 孔细胞板内加入 1 ml TRIzol,轻轻吹打数次,收集细胞于 2 ml 离心管内(德国 Eppendorf 公

司),室温静置 5 min。加入氯仿 200 μ l,振荡充分摇匀,室温静置 5 min,4℃、1 000 r/min 离心 10 min。加入与上清液等体积的异丙醇,上下混匀,室温静置 5 min,4℃、1 200 r/min 离心 10 min。用 75%乙醇 1 ml 清洗沉淀,4℃、1 200 r/min 离心 5 min,弃上清留沉淀,室温干燥。用 8 μ l DEPC 处理水溶解沉淀。取 2 μ l RNA 样本,在紫外分光光度计下测量 260 和 280 nm 下光密度(optical density,OD)值,A260/A280 值在 1.8~2.0。凝胶成像仪下可见 28、18 和 5S 3 条清晰的 RNA 带,说明 RNA 无降解。cDNA 的合成参照逆转录试剂盒操作程序进行。反应体系为 10 μ l,反应条件为:37℃ 预变性 10 min,42℃ 变性 60 min,99℃ 延伸 5 min。引物序列从 Genebank 中查阅,采用 Primer Premier 5 软件设计引物。 β -actin(531 bp):正向引物 5'-CCCTGGACTTCGAGCAAGAGAT-3',反向引物 5'-GTTTTCTGCGCAAGTTAGG-3';AQP1(336 bp):正向引物 5'-AGATCAGCATCTCCGTG-3',反向引物 5'-AGTTGTGTGTGATCACCG-3';PCR 反应条件:94℃ 预变性 3 min;55℃ 变性 1 min;72℃ 延伸 1 min。反应后取 5 μ l PCR 产物在 1.2% 琼脂糖凝胶上电泳,凝胶成像分析系统中观察并拍照。对图像中的内参(β -actin)和目的基因(AQP1)的 DNA 条带进行光密度分析,用 AQP1 光密度值/ β -actin 光密度值表示目的基因相对表达量。每组测 3 个数值,求平均数,然后进行统计学分析。

1.4 RT-PCR 检测不同实验组细胞 AQP1 基因表达水平

用一定剂量的无菌注射用水稀释肝素钠注射液(50 mg/ml),配置不同浓度的肝素溶液,并加入到细胞培养液中,用 2.5% 葡萄糖诱导细胞 24 h;按照不同实验要求随机分为以下 5 组:①无葡萄糖无肝素对照组(对照组);②2.5% 葡萄糖组;③2.5% 葡萄糖 + 2.5×10^{-3} mg/ml 肝素组;④2.5% 葡萄糖 + 5.0×10^{-3} mg/ml 肝素组;⑤2.5% 葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组。细胞 RNA 的提取、逆转录成 cDNA,以及 PCR 扩增方法同 1.3 所述。

1.5 免疫细胞化学法检测 AQP1 蛋白表达

收集细胞,PBS 冲洗 3 次,多聚甲醛冰上固定 30 min。PBS 再次冲洗 3 次。自然风干后,用 3% 过氧化氢 H_2O_2 室温避光孵育 30 min,PBS 冲洗 3 次。血清封闭非特异性抗原后,加 I 抗 AQP1 多克隆抗体,4℃ 孵育过夜。加入生物素化 II 抗,37℃ 孵育 30 min,PBS 洗 3 次,加入链酶亲合素-生物素-碱性磷酸

酶复合物,37℃孵育 30 min,PBS 洗 3 次。滴加 DAB 显色液,镜下观察至出现棕黄色阳性信号后蒸馏水冲洗终止反应。苏木素复染,碳酸锂水溶液返蓝,梯度乙醇逐级脱水,透明,过二甲苯溶液,中性树胶封片,自然风干。每张切片随机取 5 个视野光镜拍照,用 Image ProPlus6.0 图像分析软件测出 OD 值,并计算平均光密度。着色越深,则 OD 值越大,表明该蛋白表达水平越高,比较对照组与实验组不同剂量肝素对高糖诱导 24 h 后 AQP1 的蛋白表达水平差异是否具有统计学意义。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用重复测量设计的方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-PCR 反应

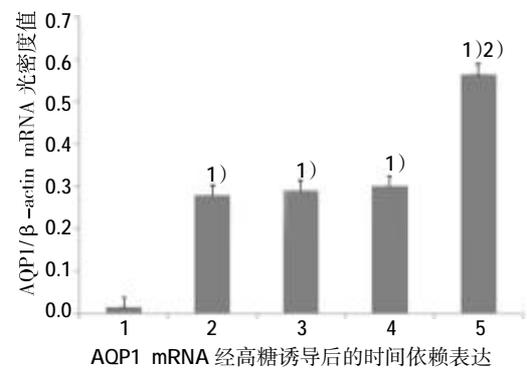
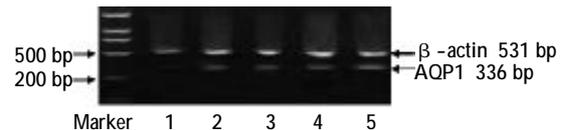
经 2.5%葡萄糖诱导 4、8、12 和 24 h 后,人腹膜间皮细胞水通道蛋白 AQP1 的 mRNA 表达水平呈现出时间依赖性,诱导 4、8、12 和 24 h 后 AQP1 mRNA 表达比诱导前有上调($F = 11.392, P = 0.004$),提示高糖可上调 AQP1 的表达。诱导 24 h 时 mRNA 表达量比诱导 4、8 和 12 h 增加($F = 7.513, P = 0.035$),而诱导 4、8 和 12 h 组间比较,差异无统计学意义($F = 0.121, P = 0.623$)(见图 6)。

2.5%葡萄糖组、2.5%葡萄糖 + 2.5×10^{-3} mg/ml 肝素组、2.5%葡萄糖 + 5.0×10^{-3} mg/ml 肝素组以及 2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组与对照组比较,AQP1 的 mRNA 表达比较,差异有统计学意义($F = 15.638, P = 0.002$)。而 2.5%葡萄糖 + 2.5×10^{-3} mg/ml 肝素组与 2.5%葡萄糖 + 5.0×10^{-3} mg/ml 肝素组中 AQP1 mRNA 的表达比较,差异无统计学意义($F = 1.085, P = 0.533$),而 2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组较前 3 组可明显增加腹膜间皮细胞上 AQP1 mRNA 的表达($F = 10.473, P = 0.027$)(见图 7)。

2.2 免疫组织化学法

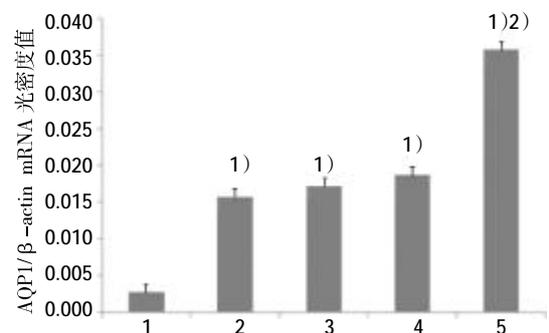
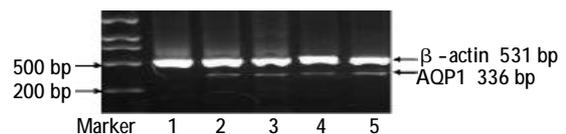
实验组与对照组中均有 AQP1 蛋白表达(见图 8、9)。与对照组比较,2.5%葡萄糖组、2.5%葡萄糖组 + 不同剂量肝素组的 AQP1 蛋白阳性表达明显增高,差异有统计学意义($F = 9.367, P = 0.003$),胞核上亦可见棕黄色深染颗粒;2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组与 3 组的 AQP1 表达比较,差异有统计学意义($F = 7.421, P = 0.016$);而 2.5%葡萄糖组、

2.5%葡萄糖 + 2.5×10^{-3} mg/ml 肝素组、2.5%葡萄糖 + 5.0×10^{-3} mg/ml 肝素组比较,差异无统计学意义($F = 2.540, P = 0.297$)(见图 10 ~ 13)。2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组免疫组织化学染色可见胞核及胞浆有空泡样变,而 2.5%葡萄糖 + 常规剂量肝素组胞浆及胞核未见明显空泡样变。



1:对照组;2:高糖诱导 4 h;3:高糖诱导 8 h;4:高糖诱导 12 h;5:高糖诱导 24 h。1)与对照组比较, $P < 0.01$;2)与高糖诱导 4、8、12 h 组比较, $P < 0.05$

图 6 AQP1 mRNA 经高糖诱导后的时间依赖表达



1:对照组;2:2.5%葡萄糖组;3:2.5%葡萄糖 + 2.5×10^{-3} mg/ml 肝素组;4:2.5%葡萄糖 + 5.0×10^{-3} mg/ml 肝素组;5:2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组。1)与对照组比较, $P < 0.01$ 。2)与 2、3、4 组比较, $P < 0.05$

图 7 不同剂量肝素 + 2.5%葡萄糖对 AQP1 mRNA 表达的影响

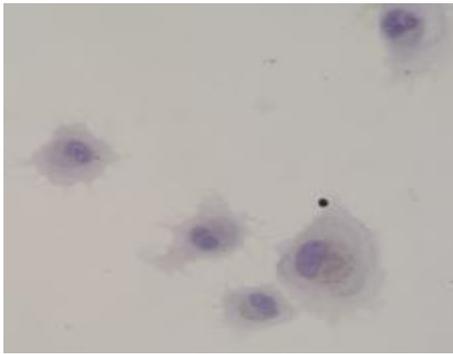


图 8 对照组 AQP1 蛋白表达阳性 (×400)



图 12 2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组 AQP1 蛋白表达阳性 (×400)

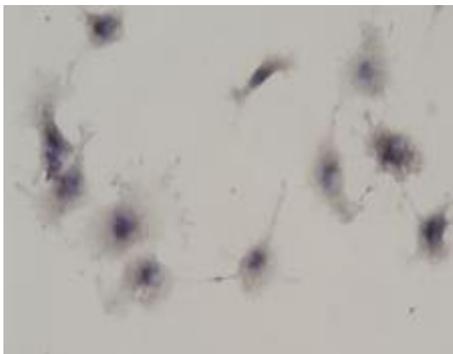
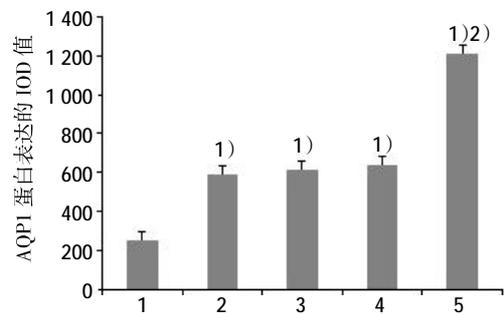


图 9 2.5%葡萄糖组 AQP1 蛋白表达阳性 (×400)



1:对照组;2:2.5%葡萄糖组;3:2.5%葡萄糖 + 2.5×10^{-3} mg/ml 肝素组;4:2.5%葡萄糖 + 5.0×10^{-3} mg/ml 肝素组;5:2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组;1)与对照组比较, $P < 0.01$ 。2)与 2、3、4 组比较, $P < 0.05$

图 13 不同剂量肝素 + 2.5%葡萄糖对 AQP1 蛋白表达的影响

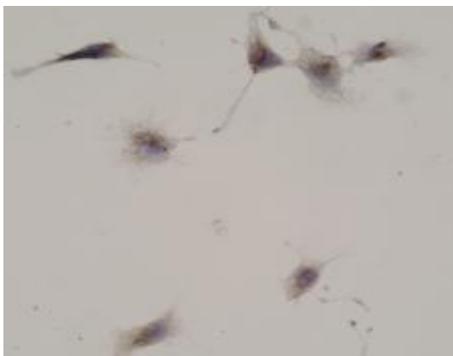


图 10 2.5%葡萄糖 + 2.5×10^{-3} mg/ml 肝素组 AQP1 蛋白表达阳性 (×400)

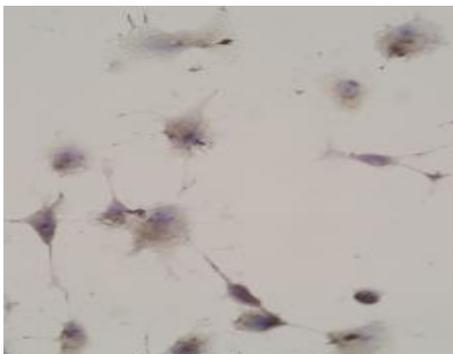


图 11 2.5%葡萄糖 + 5.0×10^{-3} mg/ml 肝素组 AQP1 蛋白表达阳性 (×400)

3 讨论

一直以来,传统观点认为腹膜透析中水分子的跨膜转运方式是简单扩散,但 Agre 等^[6]发现了 28 kD 通道整合膜蛋白,提出水转运方式是通过通道蛋白介导的。Rippe 等^[9]首次运用大孔、小孔、超微孔的 3 孔模型对水的跨膜转进行了解释。超微孔(3 ~ 5Å)对水分子具有选择通透性,水通道蛋白(aquaporins, AQPs)为超微孔的对应物,可选择性地跨膜转运水分子及甘油、尿素等某些小分子溶质。水通道蛋白广泛存在于动植物及微生物的细胞膜上,迄今为止已发现 200 余种,在哺乳动物中,已克隆并鉴定出 13 种,分为 AQP0 ~ AQP12^[7]。

在某些特定条件下,水通道蛋白的表达受到激素、渗透压改变和某些药物的影响^[8]。Tang 等^[9]提出 AQP1 存在于腹膜间皮细胞上,渗透剂葡萄糖可诱导其转录和表达。葡萄糖可引起人腹膜细胞形态改变,如微绒毛倒伏、缺失、细胞质内的线粒体出现空

泡样变等^[10]。Yang等^[11]用氯化汞 HgCl₂ 阻断大鼠腹膜细胞上的 AQP1, 66%水分子转运受到抑制。腹膜间皮细胞水通道蛋白 AQP1 数量、结构或功能的改变对腹膜透析的水超滤有一定影响。陈生晓等^[12]认为高糖腹膜透析液可以促进腹膜间皮细胞 AQP1 的表达。李正红等^[13]认为高糖能增加 AQP1 从胞质转移到胞膜上, 从而增加该细胞对水的通透性。这种转移机制的存在提示 AQP1 在细胞内分布的改变可能也与腹膜超滤衰竭的发生有关。

长期的腹膜透析使腹膜长期暴露在非生理性的高糖透析液中, 可引起腹膜组织纤维化以致超滤衰竭, 使患者被迫放弃透析治疗^[14]。临床上肝素主要用于预防腹膜透析管堵塞。肝素作为抗凝剂能够通过抑制腹腔内纤维蛋白的聚集而间接减少腹膜纤维化的发生。同时有扩张血管的作用, 增加腹膜的通透性, 从而增加溶质的滤过。Kar等^[15]的研究显示, 高糖诱导的 AQP1 主要表达在胞浆及胞膜上, 胞核亦有少量阳性表达。

本实验显示, 无葡萄糖无肝素对照组中胞膜及胞浆 AQP1 表达阳性而胞核阴性, 而 2.5%葡萄糖组及 2.5%葡萄糖 + 不同剂量肝素组与对照组比较, AQP1 表达明显上调, 同时显示胞核亦有阳性表达, 尤以 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素 + 2.5%葡萄糖组更为明显 ($P < 0.05$), 提示肝素和葡萄糖可协同上调腹膜间皮细胞水通道蛋白 AQP1 的表达。本研究的 RT-PCR 及免疫组织化学结果一致显示, 与无糖无肝素的对照组比较, 2.5%葡萄糖组及 2.5%葡萄糖 + 不同浓度肝素组均能增加 AQP1 mRNA 和蛋白的表达, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 且 AQP1 mRNA 和蛋白表达水平在 2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组呈现明显上调, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。2.5%葡萄糖 + 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素组可观察到人腹膜细胞胞核及胞浆有空泡样改变。由此推测 1.5×10^{-2} mg/ml 肝素和 2.5%葡萄糖对腹膜透析中腹膜间皮细胞可能存在一定程度的损伤作用, 这一损伤的具体过程及分子机制有待深入研究。由此可进一步推测人腹膜间皮细胞中 AQP1 表达或功能的改变可影响跨腹膜水转运, 甚至可导致腹膜超滤衰竭的发生。

总之, 本研究证实高糖环境下肝素对体外培养的腹膜间皮细胞的 AQP1 表达有上调作用, 在正常剂量下增加其表达但不引起细胞凋亡等空泡样改变, 说明中低剂量的肝素既能增加水通道蛋白

AQP1 的表达, 又可能对人腹膜间皮细胞具有一定程度的保护作用, 因此, 在腹膜透析时具有较高的安全性, 值得临床广泛应用及推广。

参 考 文 献:

- [1] Nakayama M, Kawaguchi Y, Yamada K, et al. Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end-products in the peritoneum and its possible patho-physiological role in CAPD[J]. *Kidney Int*, 1997, 51(1): 182-186.
- [2] 周循, 凌光辉, 邹莎琳, 等. 腹膜透析流出液中人腹膜间皮细胞的培养及转分化特征[J]. *中国现代医学杂志*, 2010, 20(17): 2634-2638.
- [3] 殷莉波, 赵文秀, 尹震宇, 等. 人腹膜间皮细胞的改良分离及其鉴定[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(27): 5007-5010.
- [4] 徐庆, 曾莉. 人腹膜间皮细胞的体外培养[J]. *深圳中西医结合杂志*, 2008, 18(1): 7-9.
- [5] Agre P, King LS, Yasui M, et al. Aquaporin water channels: from atomic structure to clinical medicine[J]. *J Physiol*, 2002, 542(1): 3-16.
- [6] Rippe B, Stelin G, Haraldsson B. Computer simulations of peritoneal fluid transport in CAPD[J]. *Kidney Int*, 1991, 40(2): 315-325.
- [7] 杜伟伟, 杨洪涛. AQP1 与腹膜透析超滤相关研究进展[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2012, 13(11): 1020-1023.
- [8] 彭燕, 仲建新. 水通道蛋白结构、分布与功能[J]. *中国医学创新*, 2011, 8(9): 194-196.
- [9] Tang S, Leung JC, Lam CW, et al. In vitro studies of aquaporins 1 and 3 expression in cultured human proximal tubular cells: up-regulation by transferring but not albumin[J]. *Am J Kidney Dis*, 2001, 38(2): 317-330.
- [10] 李志明, 马健飞, 赵钢, 等. 腹透液相关浓度葡萄糖对体外腹膜间皮细胞的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2007, 17(5): 513-518.
- [11] Yang B, Folkesson HG, Yang J, et al. Reduced osmotic water permeability of the peritoneal barrier in aquaporin-1 knockout mice. *Am J Physiol*[J]. 1999, 276(1): 76-81.
- [12] 陈生晓, 任昊, 刘郑荣, 等. 腹透液对大鼠腹膜间皮细胞水通道蛋白1表达的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2008, 33(1): 72-74.
- [13] 李正红, 张旭, 曹丽萍, 等. 黄芪注射液对高糖腹透液作用下人腹膜间皮细胞 AQP1 表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(4): 1148-1151.
- [14] 彭卫生, 周巧玲, 余学清, 等. 不同浓度葡萄糖透析液及 LPS 对腹膜透析大鼠腹膜组织 VEGF 及血管增生的影响及其意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2007, 17(17): 2085-2088.
- [15] Kar NL, Fu KL, Hao YL, et al. Expression of aquaporin-1 in human peritoneal mesothelial cells and its up-regulation by glucose in vitro[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2001, 12(5): 1036-1045.

(张蕾 编辑)