

1 型糖尿病小鼠模型构建及胰岛 B 细胞中胰岛素表达^{*}

张 璞^{**}, 李容蓉, 李一欣, 李占淳, 梁文妹^{***}

(贵阳医学院 组织学与胚胎学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘 要] 目的: 构建 1 型糖尿病(T1DM)小鼠模型, 研究 T1DM 小鼠胰岛 B 细胞表达胰岛素(Ins)及血清 Ins 水平的变化。方法: 正常雄性 C57BL/6J 小鼠 104 只, 随机分为实验组、盐水对照组和正常对照组; 模型的诱导采用连续多次小剂量链脲佐菌素给药法(MLDSTZ)制作 T1DM 小鼠模型; 分别于注射后第 3、7、10、14、21 及 28 天检测小鼠的空腹血糖、体重, 取血清及胰腺组织, 应用免疫组织化学 SABC 单染法观察胰岛 B 细胞 Ins 表达, 图像分析、形态计量法检测 Ins 阳性细胞平均灰度值、计算面数密度(N_A), 酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 Ins 水平。结果: 与正常及盐水对照组比较, 实验组小鼠第 10 天以后出现明显的多饮、多尿、活动减少等典型糖尿病(DM)表现, 空腹血糖水平从实验第 14 天开始明显升高, 以第 28 天组最高, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 实验组小鼠胰岛面积有所减小。胰岛 Ins 阳性细胞在实验第 10、14 及 21 天组染色加深, 免疫反应强度增强, 平均灰度值降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$); N_A 从第 7 天开始减小, 呈逐渐下降趋势, 与正常及盐水对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 实验组小鼠与对照组相比, 血清 Ins 浓度从实验第 7 天后均处于较低水平。结论: T1DM 模型小鼠胰岛面积减小, 胰岛 B 细胞数量减少, 合成和分泌 Ins 总量减少且表达下调, 血清 Ins 水平下降。

[关键词] 链脲佐菌素; 糖尿病, 胰岛素依赖型; 模型, 动物; 胰岛素

[中图分类号] R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2014)02-0171-05

Establishment of Type 1 Diabetic Mouse Models and Study on the Expression Changes of Insulin in Islet B Cells

ZHANG Pu, LI Rongrong, LI Yixin, LI Zhanchun, LIANG Wenmei

(Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To establish mouse models of type 1 diabetes mellitus (T1DM), and to investigate the expression changes of insulin in islet B cells and serum insulin levels of mice with T1DM. **Methods:** A total of 104 normal male C57BL/6J mice were randomly divided into three groups: experiment group (EG), saline control group (SCG) and normal control group (NCG). Mouse models of T1DM were induced through injecting low dose of streptozotocin (MLDSTZ) continuously and repeatedly. Fasting blood-glucose and weights of the mice were measured subsequently on the 3rd, 7th, 10th, 14th, 21st and 28th days after the first injection, and the serum and pancreatic tissues of the mice were taken at the same time. The expressions of Ins in islets were detected by immunohistochemical SABC staining method. Islet area, numerical density on area(N_A), and Ins positive cell number in islet were detected with image analysis method. Serum Ins levels were determined with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method. **Results:** Compared with NCG and SCG, mice in EG appeared typical diabetes mellitus manifestations such as polydipsia, polyuria and less activity on the 10th day. Fasting blood-glucose level was increased from the 14th day onwards, and with the highest value on the 28th day ($P < 0.01$); The area of islets in EG was reduced. Compared with NCG and SCG, the immune

^{*} [基金项目] 贵州省国际合作计划项目[黔科合外 G 字(2010)7017 号]; 贵州省教育厅“125”重大科技专项[黔教合重大专项字(2012)007 号]

^{**} 贵阳医学院 2010 级硕士研究生, 现在遵义医专工作

^{***} 通信作者 E-mail: wenmeiliang@126.com

网络出版时间: 2014-04-25 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20140425.1956.007.html>

staining intensity of islet Ins immunoreaction (Ins-IR) cells was enhanced on the 10th, 14th, 21st days in EG, and the mean gray value was decreased at the same time ($P < 0.01$); N_A of Ins-IR cells was apparently decreased in EG from the 7th day onwards ($P < 0.01$); The ELISA results showed that the concentration of serum insulin in EG was at a low level from the 7th day onwards. **Conclusions:** The area of pancreatic islet of T1DM mice is reduced, the number of B cells in islet is decreased, the synthesis and secretion of insulin is down-regulated, the serum insulin level is low.

[**Key words**] streptozotocin; diabetes mellitus, insulin-dependent; model, animal; insulin

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是一个世界范围内的健康问题, 其中 1 型糖尿病 (type 1 diabetes mellitus, T1DM) 临床症状较严重且多累及年轻人, 其患病率也以 2% ~ 5% 的速度增长^[1]。目前普遍认为 T1DM 是 T 细胞介导的胰岛 B 细胞选择性被破坏的自身免疫性疾病, 但该病及其并发症的病因、发病机理尚未完全阐明, 预防和治疗措施仍不完善。胰岛 A、B 细胞是机体内控制血糖动态平衡的主要细胞。两种细胞的协同作用能保持血糖水平处于动态平衡。迄今为止, 相关文献中鲜见 T1DM 期间胰岛 A、B 细胞形态与功能改变的相关报道。链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 是诱发动物糖尿病模型的化学诱导剂, 一次大剂量或多次小剂量腹腔或静脉注射均可制备 T1DM 模型^[2]。小剂量多次注射 STZ (multiple low-dose of streptozotocin, MLDSTZ) 诱导 C57BL/6J 小鼠发生 T1DM, 更加贴近人类 T1DM 的发病进程^[3-6]。本实验通过建立理想的 T1DM 小鼠模型, 应用免疫组织化学 SABC 单染法、图像分析、形态计量法及酶联免疫吸附法 (ELISA) 等, 对胰岛素 (Insulin, Ins) 阳性细胞形态及血清 Ins 浓度进行检测, 为 T1DM 的发病机制和临床治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物及分组 正常 6 ~ 8 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 104 只 (16 ~ 26 g/只), 由贵阳医学院实验动物中心提供。按随机原则分为实验组 (experiment group, EG) 48 只、盐水对照组 (saline control group, SCG) 48 只及正常对照组 (normal control group, NCG) 8 只。实验组和盐水对照组又按时间点分为第 3、7、10、14、21 及 28 天 6 个小组, 每组 8 只。

1.1.2 T1DM 小鼠模型^[3] 104 只雄性 C57BL/6J 小鼠常规适应性喂养 1 周后, 实验组小鼠连续 5 d 腹腔注射 STZ 溶液 (美国 Sigma 公司, 40 mg/kg),

1 次/d, 用 0.01 mmol/L 柠檬酸盐缓冲液中 (pH 4.5) 配制; 盐水对照组按体重腹腔注射与实验组相当剂量的生理盐水, 连续 5 次, 1 次/d; 正常对照组不作处理。所有动物均自由饮水、进食。实验过程中观察小鼠一般状态、饮水、进食、尿量和活动等情况。

1.1.3 取材及标本制备 分别在注射后第 3、7、10、14、21 及 28 天于小鼠尾尖取血测其空腹血糖 (血糖仪及血糖试纸由强生医疗器械有限公司提供) 并记录体重, 按上述时间点麻醉动物, 眼球取血, 静置 60 min 后分离血清, 保存于 -80 °C, 用于 ELISA 法测定; 取胰腺组织, 4% 多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 制成 4 μm 厚连续切片, 每例 3 张切片, 切片间隔 56 μm。

1.2 观察指标

1.2.1 胰岛 Ins 免疫反应阳性细胞检测 用 SABC 法检测胰岛 Ins 免疫反应阳性细胞 (Ins-IR)。主要步骤为: 切片常规脱蜡至水, 甲醇-H₂O₂ 封闭 10 min, 正常山羊血清 (1:50) 室温下封闭 20 min, 依次滴加豚鼠 Ins 抗血清, 工作浓度 1:400 (海军总医院提供), 4 °C 孵育过夜, 羊抗兔 IgG (1:100) 37 °C 孵育 20 min, SABC 复合物 (1:100) 37 °C 孵育 20 min, DAB-H₂O₂ 液显色, 苏木精复染细胞核, 中性树胶封片。以 PBS 缓冲液代替特异性抗血清建立方法对照。

1.2.2 Ins-IR 细胞灰度值、胰岛面积、有核 Ins-IR 细胞数、面数密度 (N_A) 随机选取实验组和盐水对照组 6 个时间点小鼠各 5 只, 正常对照组取 5 只, 每只动物计数 5 个胰岛, 在 40 × 物镜下, 用 Bio-Mias 图像分析系统 (四川大学) 检测 Ins-IR 细胞的平均灰度值; 用 QWIN LITE 图像分析系统 (LEICA 公司) 测胰岛面积、有核 Ins-IR 细胞数。以胰岛组织作为参照系, 按下列公式求 N_A (个/4 000 μm²)

$$N_A = N_x / Ar$$

N_A 为面数密度, N_x 为计数有核阳性细胞总数, Ar 为计数胰岛组织的总面积。

1.2.3 血清 Ins 使用 Mouse insulin ELISA 试剂盒(美国 Millipore 公司提供)并按说明书进行操作(在本院中心实验室进行),用酶标仪(芬兰雷勃公司)测定血清 Ins 含量($\mu\text{g/L}$)。

1.3 统计学方法

所有数据采用 SPSS 11.5 统计软件包进行单因素方差分析,数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

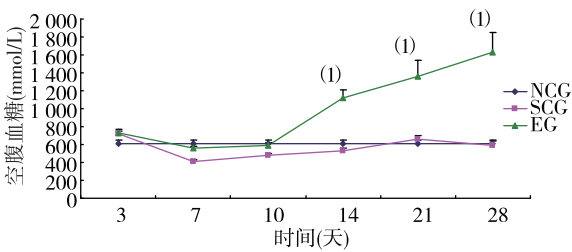
表 1 各组小鼠不同时间点空腹体重($\text{g}, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Test results of fasting weights of mice in each group at different time points

组别	小鼠体重(g)					
	第 3 天	第 7 天	第 10 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
NCG	22.10 \pm 1.25	22.10 \pm 1.25	22.10 \pm 1.25	22.10 \pm 1.25	22.10 \pm 1.25	22.10 \pm 1.25
SCG	21.00 \pm 0.33	19.38 \pm 0.89	20.50 \pm 0.87	20.00 \pm 0.89	21.75 \pm 1.01	21.89 \pm 0.73
EG	21.13 \pm 0.30	19.50 \pm 0.50	20.22 \pm 0.62	20.30 \pm 0.72	21.00 \pm 0.87	21.78 \pm 0.72

2.2 空腹血糖

各组小鼠空腹血糖检测结果见图 1。与正常及盐水对照组比较,在注射 STZ 后短期内(10 d 之内)实验组小鼠的血糖升高不明显,差异无统计学



(1)与 NCG 和 SCG 比较, $P < 0.01$

图 1 各组小鼠不同时间点空腹血糖水平

Fig. 1 Test results of fasting blood-glucose levels of mice in each group at different time points

2 结果

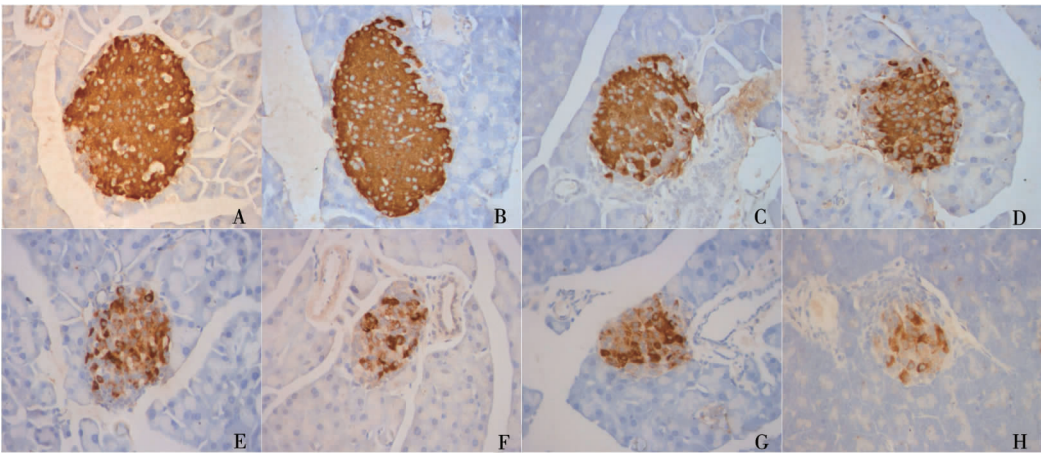
2.1 小鼠一般状况

与正常及盐水对照组相比,在注射 STZ 第 7 天开始,实验组小鼠出现多尿现象但未出现饮水量的增加,第 10 天开始出现明显的多尿、多饮、活动减少等典型的 DM 临床表现。3 组各时间点空腹体重比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

意义($P > 0.05$);从第 14 天开始实验组小鼠的血糖明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),且随实验时程延长呈进行性升高,以第 28 天时间最高。

2.3 胰岛 B 细胞

2.3.1 免疫组织化学观察 光镜下,与正常及盐水对照组比较,实验组小鼠在注射 STZ 第 3 天开始胰岛面积明显变小(图 2A - H)。经 DAB- H_2O_2 液显色,可见小鼠胰岛 B 细胞 Ins 免疫反应阳性产物呈棕黄至棕黑色细颗粒状,存在于胞质内。正常小鼠胰岛 B 细胞主要分布于胰岛中央,细胞呈椭圆形,三角形或不规则形,排列成条索状(图 2A)。与正常对照组比较,盐水对照组未见明显区别(图 2B);实验第 10、14 及 21 天时间实验组 B 细胞免疫染色强度较正常及盐水对照组明显增强(图 2C - H)。



A. 正常组,B. 盐水组,C - H. 分别为实验第 3、7、10、14、21 及 28 天时间组

图 2 Ins 阳性细胞 (SABC, $\times 400$)

Fig. 2 Insulin positive cells in each group

2.3.2 Ins 阳性细胞 各组小鼠胰岛 Ins 阳性细胞平均灰度值见表 2。正常对照组与盐水对照组胰岛 Ins 阳性细胞的平均灰度值差异无统计学意义($P>0.05$),盐水对照组各时间点的平均灰度值差异无统计学意义($P>0.05$)。实验组小鼠胰

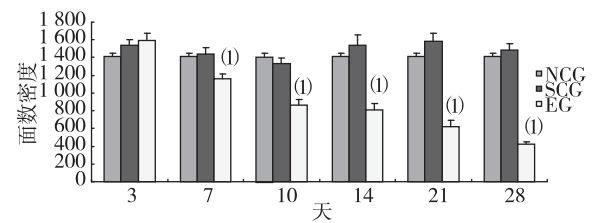
岛 Ins 阳性细胞在第 3、7 及 28 天时间组平均灰度值无明显变化,差异无统计学意义($P>0.05$),但在第 10、14 及 21 天时间组显著降低($P<0.01$)。图像分析结果与同期形态学观察基本一致。

表 2 小鼠胰岛 Ins 阳性细胞的平均灰度值($\bar{x}\pm s$)
Tab.2 The mean grey values of Ins-IR cell in islets of rats

组别	Ins 阳性细胞平均灰度值					
	第 3 天	第 7 天	第 10 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
NCG	98.18±1.05	98.18±1.05	98.18±1.05 ⁽¹⁾	98.18±1.05 ⁽¹⁾	98.18±1.05 ⁽¹⁾	98.18±1.05
SCG	99.45±0.74	102.70±1.40	102.19±1.88 ⁽¹⁾	102.79±2.40 ⁽¹⁾	99.75±1.43 ⁽¹⁾	101.68±1.31
EG	101.84±1.81	99.60±2.13	84.66±1.15	86.76±1.28	87.35±0.87	98.28±1.47

⁽¹⁾与 EG 组比较, $P<0.01$

2.3.3 Ins 阳性细胞 N_A 各组小鼠胰岛 Ins 阳性细胞 N_A 的变化见图 3。盐水对照组与正常对照组



(1)与 NCG 和 SCG 比较, $P<0.01$

图 3 小鼠胰岛 B 细胞面数密度($\bar{x}\pm s,4\ 000\ \mu\text{m}^2$)
Fig.3 Numerical density on area of B cell in mouse islets

胰岛 Ins 阳性细胞的 N_A 比较,差异无统计学意义($P>0.05$);盐水对照组各时间点比较,差异无统计学意义($P>0.05$);实验组第 7 天开始胰岛 Ins 阳性细胞的 N_A 减小,与正常及盐水对照组比较,差异有统计学意义($P<0.01$),呈逐渐下降趋势,尤以第 28 天时最低。

2.4 血清 Ins

用 ELISA 法检测各组小鼠血清 Ins。盐水对照组与正常对照组小鼠血清 Ins 测定值差异无统计学意义($P>0.05$);与正常及盐水对照组比较,实验组小鼠血清 Ins 测定值从第 7 天开始降低。结果见表 3。

表 3 各组小鼠不同时间点血清 Ins 水平

Tab.3 Test results of serum insulin levels of mice in each group at different time points

组别	血清 Ins($\mu\text{g/L}$)					
	第 3 天	第 7 天	第 10 天	第 14 天	第 21 天	第 28 天
NCG	0.72±0.23	0.72±0.23	0.72±0.23	0.72±0.23	0.72±0.23	0.72±0.23
SCG	0.67±0.07	0.69±0.25	0.76±0.23	0.73±0.18	0.75±0.10	0.65±0.08
EG	0.64±0.08	0.44±0.04	0.44±0.06	0.42±0.02	0.44±0.03	0.45±0.04

3 讨论

目前普遍认为 T1DM 是 T 淋巴细胞介导的胰岛 B 细胞选择性被破坏的自身免疫性疾病,为研究 DM 的发病机理以及如何治疗 DM,建立相应的动物模型已成为人类研究 DM 的重要手段之一,常用的 DM 动物模型有实验性 DM 动物模型和自发性 DM 动物模型^[7]。自发性 DM 动物模型更接近人类 DM 的自然起病及发展,但因实验动物价格昂贵,来源和饲养困难,实验周期长等而难以广泛应

用^[8]。诱导动物发生 DM 的药物很多,如 STZ、四氧嘧啶、灭鼠优、双硫脲等,其中 STZ 对实验动物的胰岛 B 细胞具有高度选择性的毒性作用,导致胰岛功能衰竭,且对机体组织毒性相对较小,动物存活率高,造模长期稳定性好等,是目前国内外普遍用于制备 DM 动物模型的药物^[7]。C57BL/6J 小鼠是近交系小鼠,因其实验结果精度高、可比性好、应激反应均一等优点受到较多的应用^[9-10]。本实验采用 MLDSTZ 的方法诱导雄性 C57BL/6J 小鼠发生 T1DM,在实验中对各组小鼠进行了观察。与正常及盐水对照组相比,在注射 STZ 后 7 d 开始,

实验组小鼠出现多尿现象但未出现饮水量的增加,10 d 开始,出现明显的多尿、多饮、活动减少等典型的 DM 临床表现。实验组小鼠的血糖从 14 d 开始显著升高,大于 DM 成模标准 11.1 mmol/L^[11],且随实验时程延长,血糖呈进行性升高,提示造模成功。

胰岛 B 细胞分泌功能缺陷致 Ins 不足引起血糖升高成为 DM 发病的必要条件,而 B 细胞功能衰竭又可驱动 DM 的病情进展^[12]。血清 Ins 含量的测定是评价 DM 病人胰岛 B 细胞功能的常用临床指标。T1DM 患者由于胰岛 B 细胞遭致破坏,Ins 释放试验常表现为 Ins 分泌绝对缺乏^[13]。本实验检测血清 Ins 结果表明,从 7 d 开始,血清 Ins 浓度降低,提示实验组小鼠胰岛 B 细胞分泌 Ins 总量减少;免疫组化结果显示,实验组胰岛面积减小,胰岛 Ins 阳性细胞的 N_A 在 7 d 以后减少,呈逐渐下降趋势,以 28 d 时最低。但实验组小鼠胰岛 Ins 阳性细胞的免疫染色强度在 10 d、14 d、21 d 时间组增强,平均灰度值显著降低,则表明在此期间胰岛内未被破坏的 B 细胞中 Ins 分泌增多。本文分析这主要是由于采用小剂量多次注射 STZ,在 T1DM 初期仅破坏部分胰岛 B 细胞,其他未被破坏的胰岛 B 细胞的代偿反应,通过增加分泌 Ins 来适应机体的需要,所以在造模早期(3~10 d)血糖的升高并不明显。随着胰岛 B 细胞进一步被破坏,细胞进行性减少,最终分泌 Ins 的功能减弱甚至丧失,Ins 表达下调。

免疫耐受的破坏和 Th1/Th2 失调是 T1DM 发病的重要环节^[14,15],Ins 是一种广泛调节细胞功能的激素,研究显示 Ins 对 Th1 和 Th2 的表达具有调节作用^[16]。体外培养研究显示:较高浓度的 Ins 抑制 Th1 类细胞因子分泌、增加 Th2 类细胞因子分泌,Th1/Th2 平衡向 Th2 方向倾斜;反之,低水平或者缺乏 Ins,Th1/Th2 平衡向 Th1 方向倾斜^[17]。本文分析,在 T1DM 期间,由于 Ins 分泌减少,表达下调,有可能 Th2 细胞的分化受到抑制,不能抵抗 Th1 细胞对胰岛 B 细胞的免疫杀伤,最终阻止不了 T1DM 的发生发展;另一方面表明从胰岛 B 细胞损伤到糖尿病发作经过一定的时间,胰岛受到的损害是一个渐进发生、逐步加重的过程,早期血糖升高也不明显。但目前仍不清楚 Ins 如何参与和调节 Th1 和 Th2 淋巴细胞分化的过程^[18]。

综上所述,T1DM 发生时,实验组胰岛面积有所减小;胰岛 Ins 阳性细胞数量减少,合成和分泌

Ins 总量减少,Ins 表达下调,血清 Ins 水平下降。

4 参考文献

- [1] Daneman D. State of the world's children with diabetes [J]. *Pediatric Diabetes*,2009(2):120-126.
- [2] Rackietan N,Rackietan ML,Nadkarni MR. Studies on diabetogenic action of streptozotocin (NSC-367917) [J]. *Cancer Chemother Rep*,1963(1):91-98.
- [3] Li Z,Karlsson FA,Sandler S. Islet loss and alpha cell expansion in type 1 diabetes induced by multiple low-dose streptozotocin administration in mice [J]. *J Endocrinol*,2000(1):93-99.
- [4] Müller A,Schott-Ohly P,Dohle C,et al. Differential regulation of Th1-type and Th2-type cytokine profiles in pancreatic islets of C57BL/6J and BALB/c mice by multiple low doses of streptozotocin [J]. *Immunobiology*,2002(1):35-50.
- [5] Yang Z,Chen M,Fialkow LB,et al. The novel anti-inflammatory compound,lisofylline,prevents diabetes in multiple low-dose streptozotocin-treated mice [J]. *Pancreas*,2003(4):99-104.
- [6] Shehata AM,Quintanilla-Fend L,Bettio S,et al. Prevention of multiple low-dose streptozotocin (MLD-STZ) diabetes in mice by an extract from gum resin of *Boswellia serrata* (BE) [J]. *Phytomedicine*,2011(12):1037-1044.
- [7] Rees DA,Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus [J]. *Diabetes Med*,2005(4):359-370.
- [8] 魏荣锐,苗明三. 糖尿病动物模型及特点分析[J]. *中医研究*,2010(2):7-11.
- [9] 刘科宇,王春华,杜智敏. 链脲佐菌素致大鼠高血糖模型的实验研究[J]. *哈尔滨医科大学学报*,2006(4):272-274.
- [10] 宋旸,朴松兰,盛春华,等. STZ 诱导 C57BL 小鼠 T1DM 模型优化的研究[J]. *中国实验诊断学*,2007(1):36-39.
- [11] Matteucci E,Giampietro O. Proposal open for discussion;defining agreed diagnostic procedures in experimental diabetes research[J]. *J Ethnopharmacol*,2008(2):163-172.
- [12] Purrello F,Rabuazzo AM. Metabolic factors that affect beta-cell function and survival [J]. *Diabetes Nutr Metab*,2000(2):84-91.
- [13] 何敏,眭道顺. 2 型糖尿病患者检测空腹血清胰岛素的临床价值[J]. *现代医院*,2006(7):26-27.
- [14] Sia C. Imbalance in Th cell polarization and its relevance in type 1 diabetes mellitus [J]. *Rev Diabet Stud*,2005(4):182-186.

(下转第 179 页)

患者向城市医院流动,一方面,推动了大医院轮番扩张,以适应不断增加的患者就医需求,解决所谓的“看病难”问题,但反而加剧了“看病贵”问题;另一方面,基层医院则由于工作量逐年减少,人才流失,技术萎缩,生存发展困难,从而进一步促使居民就诊向大医院集中,反过来又加剧了“看病难”问题。可见,这两方面共同作用的结果是恶性循环:“医疗资源配置不合理—病人就医流向不合理—加剧卫生资源的不合理配置—居民看病既不方便也不经济”^[3]。患者向大医院流动,使得本应“保基本”的新农合资金被“劫贫济富”,影响基层医疗机构发展和新农合资金使用效率^[4]。可见,患者向大医院流动不符合医改的目的。

综上所述,贵州省医改的目标远未实现,无论是医疗保障制度、基本药物制度等制度建设,还是基层医疗机构的能力建设方面都还有许多工作要做。建议:(1)进一步加强乡镇卫生院等基层医疗机构的能力建设,特别是以全科医生为主的人才队伍建设,提高其医疗服务质量和水平。可采取鼓励建立“县—乡—村”和“省—市—县”等纵向医疗集团,快速解决基层医疗卫生机构能力不足的问题;允许城市医务人员到乡、村等基层医疗卫生机构进

行多点执业,快速解决基层医疗机构人力资源不足,人员专业素质低的问题。(2)建立分级诊疗制度,进一步完善医疗保障制度和基本药物制度,使各项制度相互衔接,引导患者向基层流动。(3)尽快出台鼓励举办非公立医疗机构的相关政策^[5],鼓励高品质非公立医院,尤其是专科医院的建立,满足群众多层次医疗服务需求。

4 参考文献

- [1] 陈竺. 把医改推向深入[J]. 中国科技产业, 2012(4): 18.
- [2] 一轩. 贵州:新农合让“大病一日穷”成为历史[J]. 医院领导决策参考, 2012(7): 42–44.
- [3] 于德志, 张毓辉. 我国居民就诊流向对看病难看病贵的影响[J]. 中国卫生资源, 2007(3): 135–138.
- [4] 巩志宏, 范世辉. 河北病人无序流向大医院新农合资金被“劫贫济富”[J]. 医院领导决策参考, 2012(4): 11–13.
- [5] 黄端, 王耀刚. 我国非公立医院发展现状及发展建议研究[J]. 前沿, 2011(2): 4: 13–15.

(2013-12-08 收稿, 2014-03-05 修回)
中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 周 凌

(上接第 175 页)

- [15] Ryden A, Stechova K, Durilova M, et al. Switch from a dominant Th1-associated immune profile during the pre-diabetic phase in favour of a temporary increase of a Th3-associated and inflammatory immune profile at the onset of type 1 diabetes[J]. Diabetes Metab Res Rev, 2009(4): 335–343.
- [16] Strandell E, Kaas A, Hartoft-Nielsen ML, et al. Cytokine production in NOD mice on prophylactic insulin therapy[J]. APMIS, 1999(4): 413–419.

- [17] 高云, 何权瀛, 马艳良. 胰岛素对体外培养人淋巴细胞生成 Th1/Th2 因子平衡的调节作用[J]. 中国糖尿病杂志, 2007(2): 107–108.
- [18] 谢正福, 何权瀛, 叶阮健, 等. 大鼠胰岛 B 细胞功能对 Th1/Th2 淋巴细胞分化的影响[J]. 中国实用内科杂志, 2004(7): 414–416.

(2014-01-15 收稿, 2014-03-01 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌

参数与偏差范围的表示

数值范围: 五至十可写为 $5 \sim 10$; $3 \times 10^3 \sim 8 \times 10^3$, 不能写成 $3 \sim 8 \times 10^3$ 。百分数范围: $20\% \sim 30\%$ 不能写成 $20 \sim 30\%$ 。具有相同单位的量值范围: $1.5 \sim 3.6 \text{ mA}$ 不必写成 $1.5 \text{ mA} \sim 3.6 \text{ mA}$ 。偏差范围: $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 不写成 $25 \pm 1^\circ\text{C}$; $(85 \pm 2)\%$ 不写成 $85 \pm 2\%$ 。