

· 论 著 ·

血糖波动对糖尿病大鼠肝脏 TLR4 和 TNF- α 表达的影响

胡瑜洁¹, 姚晓霖², 钟涛³

1. 杭州市妇产科医院检验科, 浙江 杭州 310008; 2. 浙江大学医学院附属第一医院; 3. 浙北明州医院

摘要: **目的** 探讨血糖波动对糖尿病大鼠肝脏 TLR4 和 TNF- α 表达的影响。**方法** 用雄性 SD 大鼠建立糖尿病大鼠模型, 随机分为持续性高血糖 (MS) 组和波动性高血糖 (MF) 组, 各 20 只, 继续予高脂高糖饮食, MF 组交替腹腔注射葡萄糖及皮下注射短效胰岛素; 另选 10 只大鼠设为空白对照组。造模 6 周后, 测定大鼠一般体征、血糖、三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、谷丙转氨酶 (ALT) 和谷草转氨酶 (AST); 采用 RT-PCR 法检测肝组织 TLR4、TNF- α 的 mRNA 表达情况; HE 染色观察肝脏病理改变。**结果** 与对照组相比, MS 组大鼠一直处于高血糖状态, 而 MF 组大鼠血糖在峰值和低谷之间波动; MS、MF 组大鼠体质量增加缓慢, TC、TG、LDL-C 显著升高, HDL-C 显著降低 (均 $P < 0.05$); MS、MF 组大鼠 ALT、AST 活性显著增加, 且 MF 组较 MS 组增加更明显 (均 $P < 0.05$); MS、MF 组大鼠肝组织 TLR4 和 TNF- α 的 mRNA 表达量增加, MF 组较 MS 组增加更明显 (均 $P < 0.05$); MF 组大鼠肝细胞脂滴沉积程度更大, 肝细胞索排列紊乱, 脂滴空泡化严重, MS 组和 MF 组病变率分别为 83.30% 和 100.00%。**结论** 糖尿病血糖波动大鼠模型伴有脂代谢异常与肝损伤, TLR4 和 TNF- α 在血糖波动大鼠中表达增加, 可能参与血糖波动加重糖尿病肝损伤的过程。

关键词: 血糖; 2 型糖尿病; 肝损伤; TLR4; TNF- α

中图分类号: R587.1 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2019) 01-0015-05

Effects of blood glucose fluctuation on the expression of TLR4 and TNF- α in the liver of diabetic rats

HU Yu-jie*, YAO Xiao-lin, ZHONG Tao

**Department of Clinical Laboratory, Hangzhou Obstetrics and Gynecology Hospital, Hangzhou, Zhejiang 310008, China*

Abstract: Objective To investigate the effect of blood glucose fluctuation on the expression of toll-like receptor 4 (TLR4) and tumour necrosis factor- α (TNF- α) in the liver of diabetic rats. **Methods** The adult male Sprague-Dawley (SD) rats were used to establish diabetic rats model and then they were randomly assigned to sustained hyperglycemia group (MS group, $n=20$) and fluctuating hyperglycemia group (MF group, $n=20$). The two groups continued high-fat and high-sugar diet, while MF group alternately received intraperitoneal injection of glucose and subcutaneous injection of short-acting insulin. Another 10 SD rats were assigned to the control group. After 6 weeks, the physical signs, blood glucose, triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) of the rats were measured; the mRNA expression of TLR4 and TNF- α in liver tissues were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR); pathological changes of liver tissues were observed after HE staining. **Results** Compared with the control group, the rats in the MS group were always at the hyperglycemia status, the blood glucose of the rats in the MF group drifted between the peak and the trough. The weight growth of the rats in the MS group and MF group were slower. The levels of TC, TG and LDL-C significantly increased and the level of HDL-C significantly decreased in the MS group and MF group (all $P < 0.05$). The activities of ALT and AST increased both in the MS

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2019.01.004

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目 (2015-KY1-001-012); 湖州市科技计划项目 (2017GYB11)

作者简介: 胡瑜洁, 本科, 医学检验师, 主要从事糖尿病及其并发症的研究工作

通信作者: 钟涛, E-mail: 411780188@qq.com

group and MF group, with the MF group increased more significantly ($P < 0.05$). The mRNA expression levels of TLR4 and TNF- α in liver tissues of the rats in MS group and MF group increased, with the MF group increased more significantly ($P < 0.05$). HE staining results showed that the liver cells of the rats in the MF group had more lipid droplet deposition, with the disordered hepatocyte line arrangement and more severe lipid droplet vacuolation. The lesion rate of the MS group and MF group were 83.30% and 100.00%. **Conclusion** The rats in this model showed signs of hyperglycemia complicated by dyslipidemia and liver injury. The expression of TLR4 and TNF- α increased in rats with blood glucose fluctuation, which might play a role in the aggravation of diabetic liver injury.

Key words: Blood glucose; Type 2 diabetes mellitus; Liver injury; Toll-like receptor 4; Tumour necrosis factor- α

糖尿病可引起心血管和神经系统并发症, 有较高的致残率和死亡率^[1], 且波动性高血糖对机体产生的影响远高于持续性高血糖^[2]。血糖波动是指血糖水平在峰值和低谷间来回漂移的非稳定状态, 血糖波动越大, 并发症发生率越高, 预后越差^[3]。炎症是糖尿病的重要发病机制^[4], Toll样受体(toll-like receptors, TLRs)是一类模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs), 是哺乳动物将胞外抗原信息向胞内传递, 同时诱发炎症应答的关键跨膜蛋白, 可介导初始免疫炎症反应, 配体激活后的TLRS可产生大量的促炎介质, 促发机体免疫炎症级联放大。Toll样受体4 (TLR4)是机体病原识别和活化初始免疫应答的PRRs之一。肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)可通过髓样分化因子依赖性或非依赖性途径合成和分泌, 并参与糖尿病及其并发症的发生发展^[5-6]。目前有文献报道TLR4和TNF- α 在糖尿病大鼠心肌组织和糖尿病肾病大鼠模型中高表达^[7-8], 但糖尿病血糖波动与TLR4/TNF- α 的关系研究未见报道。本实验通过建立糖尿病血糖波动大鼠模型, 探讨TLR4和TNF- α 在糖尿病血糖波动加速肝损伤过程中的作用, 探讨糖尿病血糖波动对肝脏的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 60只雄性SD大鼠, 7~8周龄, 体质量140~170 g, 由上海西普尔必凯公司提供, 由浙江中医药大学动物实验研究中心饲养, 许可证号: SYXK(浙)2013-0184。

1.2 主要试剂与仪器 链脲佐菌素(STZ, Sigma公司, 批号: 20160807-2); 诺和锐30特充超短效胰岛素(批号: YP50543); 血糖试纸(Roch公司, 批号: 461221); RNA提取试剂盒、反转录试剂盒和SYBR green荧光定量PCR试剂盒(TaKaRa公司); 全自动生化仪(Hitachi公司, 型号: 7020); 血糖仪(Roch公司); RT-PCR仪(Bio-Rad公司, 型号: iQ5); 微

量核酸定量仪(赛默飞公司, 型号: Nano-drop)。

1.3 建立模型

1.3.1 建立糖尿病大鼠模型 大鼠适应性喂养7 d后根据体质量随机分为模型组50只和对照组10只。模型组大鼠以高糖高脂饲料饲养, 对照组以普通饲料饲养。4周后, 禁食不禁水12 h, 模型组大鼠尾静脉注射1%STZ 30 mg/kg, 对照组大鼠注射等量柠檬酸缓冲液。造模1周后检测大鼠空腹血糖, 筛选空腹血糖值 > 16.70 mmol/L为糖尿病大鼠^[9]。

1.3.2 建立糖尿病血糖波动大鼠模型 将筛选出的40只糖尿病大鼠根据体质量随机分为持续性高血糖组(MS组)和波动性高血糖组(MF组), 每组20只, 继续给予高脂高糖饮食。MF组大鼠每日9:00和16:00腹腔注射0.4 g/kg葡萄糖, 9:30和16:30皮下注射1 U胰岛素, 使其每日血糖大幅波动; MS组和对照组大鼠腹腔注射等量生理盐水, 持续6周, 自由饮水饮食。

1.4 评价指标

1.4.1 一般体征 记录各组大鼠的精神状态、活动、毛发、体质量、排便和排尿情况。

1.4.2 血糖 糖尿病血糖波动大鼠模型造模6周后, 取各组大鼠尾静脉血, 并监测9:00、9:30、11:00、16:00、16:30、18:00和21:00的血糖。

1.4.3 生化指标 实验结束前1天大鼠禁食12 h, 腹腔注射3%戊巴比妥钠1.5 mL/kg, 麻醉后心脏采血, 3 500 r/min离心10 min, 取上清液, 检测三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)。血生化指标均由浙江中医药大学动物实验中心检测。

1.4.4 TLR4和TNF- α 的mRNA 取20 mg新鲜肝组织, 采用RNA提取试剂盒和反转录试剂盒合成cDNA模板, 采用荧光定量PCR试剂盒检测TLR4和TNF- α 的mRNA含量。TLR4-F: 5'-GAATGA-GGACTGGGTGAGAAAC-3', TLR4-R: 5'-ACCAA-

CGGCTCTGGATAAAGT-3’; TNF- α -F: 5’-ATACA-CTGGCCCGAGGCAAC-3’, TNF- α -R: 5’-CCACA-TCTCGGATCAT- GCTTTC-3’; β -actin-F: 5’-CCC-ATCTATGAGGGTTACGC-3’, β -actin-R: 5’-TTT-AATG-TCACGCACGATTTTC-3’。

1.4.5 光镜病理学观察 每组随机选取6只大鼠取新鲜肝组织,4%甲醛固定,常规石蜡包埋并制备病理切片,HE染色后显微镜观察肝细胞病理形态学变化。

1.5 统计分析 采用SPSS 19.0软件统计分析。定量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)描述,采用广义估计方程分析;率的组间比较采用Fisher确切概率法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况 对照组大鼠状态良好,毛色自然光亮,活动自如,反应敏捷,体质量均匀增加;MS组、MF组大鼠都表现出典型的糖尿病症状:饮食、饮水和排尿增多,体质量增加缓慢,烦躁不安,毛发暗沉,反应迟钝,蜷卧懒动。三组大鼠体质量均随实验时间增加而上升($P<0.001$),且MS组、MF组大鼠体质量上升幅度均小于对照组(MS组 vs.对照组:Wald $\chi^2=26.110$, $P<0.001$;MF组 vs.对照组:Wald $\chi^2=31.250$, $P<0.001$)。见表1。

表1 三组大鼠体质量变化情况($\bar{x}\pm s$,g)

组别	第1周	第2周	第3周	第4周	第5周	第6周	时间*组间交互	
							Wald χ^2 值	P值
对照组 (n=10)	331.23 \pm 8.26	368.25 \pm 9.66	386.14 \pm 8.13	425.39 \pm 10.99	450.97 \pm 9.49	482.14 \pm 10.38		
MS组 (n=20)	328.14 \pm 12.08	341.15 \pm 18.22	359.45 \pm 14.85	379.63 \pm 14.72	385.45 \pm 20.14	390.08 \pm 27.32	219.724	<0.001
MF组 (n=20)	334.28 \pm 10.87	339.14 \pm 12.74	352.12 \pm 12.77	374.14 \pm 16.21	381.79 \pm 18.16	386.15 \pm 24.79		

2.2 血糖水平比较 MF组大鼠9:00注射葡萄糖,30 min后血糖达到峰值,此时注射胰岛素,90 min后(11:00)血糖水平降至最低,16:00再次注射葡萄糖后血糖又逐渐升至最高,血糖波动每日随药物注射反复2次。对照组大鼠血糖值在正常范围内且各时间

点波动小;MS组大鼠血糖值与对照组比较,差异有统计学意义(Wald $\chi^2=23.240$, $P<0.001$);MF组大鼠血糖值高于对照组,各时间点血糖波动较大(Wald $\chi^2=20.930$, $P<0.001$)。三组大鼠的血糖水平随实验时间增加变化明显($P<0.001$)。见表2。

表2 三组大鼠血糖水平变化情况($\bar{x}\pm s$,mmol/L)

组别	9:00	9:30	11:00	16:00	16:30	18:00	21:00	时间*组间交互	
								Wald χ^2 值	P值
对照组 (n=10)	4.81 \pm 0.22	4.60 \pm 0.15	4.93 \pm 0.22	4.82 \pm 0.33	5.08 \pm 0.24	4.94 \pm 0.14	4.81 \pm 0.21		
MS组 (n=20)	19.56 \pm 2.03	21.89 \pm 3.25	20.12 \pm 2.36	19.85 \pm 3.06	21.88 \pm 3.15	20.68 \pm 2.85	19.85 \pm 2.65	52.395	<0.001
MF组 (n=20)	20.12 \pm 2.88	29.36 \pm 4.69	10.25 \pm 2.13	20.99 \pm 3.01	28.66 \pm 3.98	11.78 \pm 2.03	21.08 \pm 3.07		

2.3 TG、TC、LDL-C和HDL-C水平比较 与对照组大鼠相比,MS组、MF组大鼠的TG、TC和LDL-C水平均明显升高,HDL-C水平明显降低(均 $P<0.05$)。MF组与MS组TG、TC、LDL-C和HDL-C水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

2.4 ALT和AST活性比较 与对照组大鼠相比,MS组和MF组大鼠ALT与AST活性均明显升高($P<0.05$);MF组大鼠ALT、AST活性均明显高于MS组大鼠($P<0.05$)。见表3。

2.5 TLR4和TNF- α 的mRNA表达比较 与对照组大鼠相比,MS组大鼠肝组织TLR4的mRNA含量、

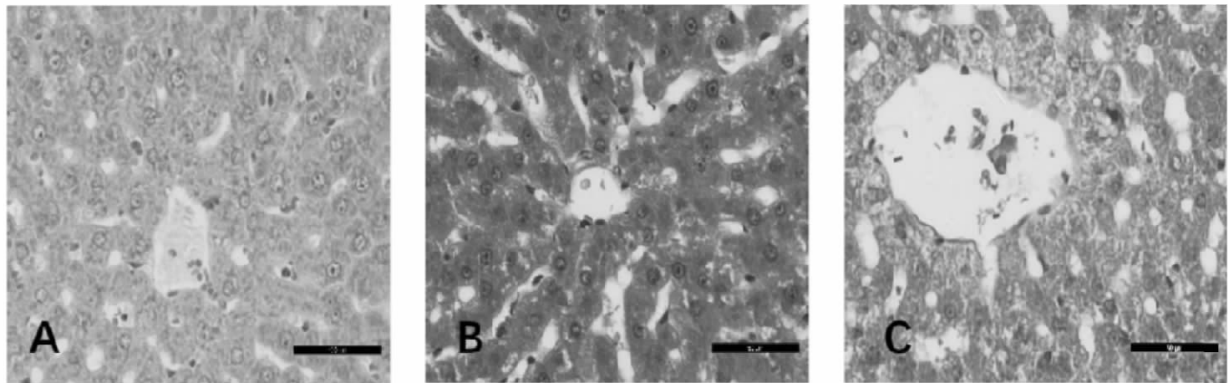
MF组大鼠肝组织TLR4和TNF- α 的mRNA含量均明显增加($P<0.05$);MF组大鼠肝组织TLR4和TNF- α 的mRNA表达量均明显高于MS组大鼠($P<0.05$)。见表3。

2.6 大鼠肝脏病理变化 对照组大鼠肝细胞分布整齐,汇管区及肝小叶结构清晰,肝索呈放射状排列,细胞无明显病变现象;MS组大鼠肝细胞核皱缩,胞质呈网丝状,细胞间可见一定程度脂滴沉积,肝细胞病变率为83.30%;MF组大鼠肝细胞脂滴沉积严重,肝索排列紊乱,脂滴空泡化严重,肝细胞病变率为100.00%。见图1。

表3 三组大鼠生化指标以及 TLR4 和 TNF- α 的 mRNA 变化情况($\bar{x}\pm s$)

组别	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	TLR4	TNF- α
对照组 (n=10)	1.85 \pm 0.12	0.96 \pm 0.11	0.31 \pm 0.06	1.68 \pm 0.28	48.78 \pm 12.48	41.55 \pm 14.17	1.68 \pm 0.21	0.56 \pm 0.05
MS 组 (n=20)	2.98 \pm 0.28 ^a	3.69 \pm 0.46 ^a	0.74 \pm 0.21 ^a	1.22 \pm 0.19 ^a	175.45 \pm 24.18 ^a	107.58 \pm 19.34 ^a	3.69 \pm 0.16 ^a	0.63 \pm 0.02
MF 组 (n=20)	3.39 \pm 0.46 ^a	3.95 \pm 0.64 ^a	0.76 \pm 0.34 ^a	1.07 \pm 0.16 ^a	279.12 \pm 12.56 ^{ab}	200.29 \pm 29.69 ^{ab}	6.89 \pm 0.64 ^{ab}	0.85 \pm 0.03 ^{ab}

注: a 表示与对照组比较, $P < 0.05$; b 表示与 MS 组比较, $P < 0.05$ 。



注: A 图为对照组, B 图为 MS 组, C 图为 MF 组。

图1 三组大鼠肝细胞病理学改变情况 (HE 染色, $\times 400$)

3 讨论

研究结果显示, MS 组和 MF 组大鼠体质量明显低于对照组大鼠, TG、TC 和 LDL-C 均有提高, 而 HDL-C 下降。与对照组大鼠相比, 第 6 周时 MS 和 MF 组大鼠血糖均明显升高; 且与 MS 组相比, 腹腔注射葡萄糖后 MF 组大鼠血糖在 9:30 和 16:30 血糖水平达到峰值, 注射胰岛素后于 11:00 和 18:00 血糖降至最低。一天内大鼠血糖在峰值和低谷之间波动, 提示糖尿病血糖波动大鼠模型成功建立, 并伴有脂代谢异常, 与王辉等^[10]报道一致。

肝脏作为糖、蛋白质和脂肪代谢的核心器官, 是人体代谢过程的主要器官^[11], 直接参与糖储存、分布和调节, 与 2 型糖尿病的发生发展联系紧密。HE 染色结果显示, 对照组大鼠肝脏细胞分布均匀, 细胞无明显病变现象, 而 MS 组、MF 组大鼠细胞核皱缩、不规则, 细胞间存在明显脂滴积累, 且 MF 组大鼠脂滴积累现象出现一定程度的加重, 表明血糖波动可加重糖尿病大鼠肝脏损伤, 肝脏结构异常比持续稳定高血糖大鼠严重。血清 AST、ALT 等酶的活性可反映肝细胞损伤和坏死的程度^[12]。与对照组相比, MS 组、MF 组大鼠 AST、ALT 升高, 且 MF 组大鼠 AST、

ALT 较 MS 组更高, 表明血糖波动对肝细胞的损伤程度更大, 这与李素娟等^[13]研究结果一致。

本研究结果显示, MS 组和 MF 组大鼠肝脏 TLR4 的 mRNA 表达上调, 且明显高于对照组大鼠, 促炎因子 TNF- α 也有一定程度上调, 其中 MF 组上调最明显。SIERRA-MONDRAGON 等^[14]研究发现, TLR4 和 TNF- α 蛋白水平在糖尿病大鼠肾脏组织中明显升高。另有研究报道糖尿病性肝损伤与 HMGB1/TLR4 炎症途径密切相关, 糖尿病状态下, 肝脏组织 TLR4 表达明显增加, 炎症因子表达升高^[15], 说明 TLR4、TNF- α 在糖尿病及其并发症中扮演重要角色。糖尿病视网膜病变可能由于血糖波动后 TNF- α 水平增加而发生^[16-17], 且血糖波动可通过激活 TNF- α 从而对血管组织造成损伤^[18]。除此之外, 糖尿病状态下可通过激活 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路诱发肝脏炎症^[19], 提示 TLR4 可能通过调控肝脏炎症机制参与血糖波动性糖尿病的发生发展。

综上所述, 血糖波动使糖尿病大鼠肝脏损伤加重, 增加脂滴沉积和肝细胞炎性浸润, TLR4 和 TNF- α 在血糖波动性糖尿病大鼠肝脏组织中高表达, 可能参与了此过程, 但其作用机制有待进一步研究。

参考文献

[1] MAYS L. Diabetes mellitus standards of care [J]. Nursing Clinics, 2015, 50 (4): 703-711.

[2] BERGENSTAL R M. Glycemic variability and diabetes complications: does it matter? Dimply put, there are better glycemic markers! [J]. Diabetes Care, 2015, 38 (8): 1615-1622.

[3] KOVATCHEV B, COBELLI C. Glucose variability: timing, risk analysis, and relationship to hypoglycemia in diabetes [J]. Diabetes care, 2016, 39 (4): 502-510.

[4] DOMINGUETI C P, DUSSE L M, CARVALHO M D, et al. Diabetes mellitus: the linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications [J]. Journal of Diabetes & Its Complications, 2015, 30 (4): 738-745.

[5] DASU M R, DEVARAJ S, PARK S, et al. Increased toll-like receptor (TLR) activation and TLR ligands in recently diagnosed type 2 diabetic subjects [J]. Diabetes care, 2010, 33 (4): 861-868.

[6] YANG M, GAN H, SHEN Q, et al. Proinflammatory CD14⁺ CD16⁺ monocytes are associated with microinflammation in patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy uremia [J]. Inflammation, 2012, 35 (1): 388-396.

[7] 李中南, 程丽华, 马超, 等. 丹蛭降糖胶囊对糖尿病大鼠心肌组织 TLR4、TNF- α 、IL-8 表达和心脏病理影响 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2017, 19 (2): 325-331.

[8] 徐小惠, 郑妮. 虎杖苷通过 TLR4/NF- κ B 信号通路调控糖尿病肾病大鼠肾脏炎症作用的研究 [J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38 (16): 1677-1680.

[9] 米文生. 血糖波动水平对糖尿病大鼠心肌组织相关基因和蛋白表达水平的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34 (21): 2529-2531.

[10] 王辉, 蔡月琴, 李守业, 等. 糖尿病血糖波动模型致大鼠海马体的炎性损伤 [J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23 (4): 37-43.

[11] CHAUMOTET C, EVEN P C, SCHWARZ J, et al. High dietary protein decreases fat deposition induced by high-fat and high-sucrose diet in rats [J]. British Journal of Nutrition, 2015, 114 (8): 1132-1142.

[12] GUO R, NAIR S, ZHANG Y, et al. Adiponectin deficiency rescues high-fat diet-induced hepatic injury, apoptosis and autophagy loss despite persistent steatosis [J]. International Journal of Obesity, 2017, 41 (9): 1403-1412.

[13] 李素娟, 高凯旋, 杨文娟, 等. 波动血糖对糖尿病大鼠肾脏和肝脏损伤的影响 [J]. 中国医学前沿杂志: 电子版, 2015, 7 (11): 33-37.

[14] SIERRA-MONDRAGON E, MOLINA-JIJON E, NAMORADO-TONIX C, et al. All-trans retinoic acid ameliorates inflammatory response mediated by TLR4/NF- κ B during initiation of diabetic nephropathy [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2018, 60 (1): 47-53.

[15] JOVANOVIC S S, MARTINOVIC V, BOGOJEVIC D, et al. Modulation of diabetes-related liver injury by the HMGB1/TLR4 inflammatory pathway [J]. Journal of Physiology & Biochemistry, 2018, 74 (2): 345-358.

[16] 许丽娟, 段滨红, 杜馥曼, 等. 糖尿病视网膜病变患者血糖波动与肿瘤坏死因子- α 的关系探讨 [J]. 糖尿病新世界, 2018, 2 (2): 185-186.

[17] 李立琴, 张云良, 郭淑芹, 等. 持续性和波动性高糖培养对人视网膜色素上皮细胞炎性因子表达的影响 [J]. 微循环学杂志, 2017, 27 (3): 22-25.

[18] 金若晨, 黄琦. 人参皂苷对波动性高糖大鼠 MCP-1 和 TNF- α 表达的影响 [J]. 新中医, 2017, 2 (10): 12-15.

[19] YIN H, HUANG L, OUYANG T, et al. Baicalein improves liver inflammation in diabetic db/db mice by regulating HMGB1/TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. International Immunopharmacology, 2017, 55 (2): 55-60.

收稿日期: 2018-07-30 修回日期: 2018-11-07 本文编辑: 陆璟璇

· 读者 · 作者 · 编者 ·

优秀论文评选结果

《预防医学》2018年第12期刊出论文经编辑部推荐, 专家审议, 评选出优秀论文5篇, 编辑部将向优秀论文作者颁发荣誉证书。优秀论文名单如下:

1. 胡如英, 展元元, 王蒙等作者 《浙江省成人吸烟行为趋势研究》
2. 朱银潮, 史兴菊, 陈洁平等作者 《宁波市儿童伤害住院病例流行特征及住院费用调查》
3. 潘稚芬, 袁亚芳, 张君丽等作者 《结核分枝杆菌耐多药相关蛋白筛选及诊断价值研究》
4. 蒋剑波, 林玲萍, 杜丽云等作者 《杭州市中年人群三种膳食模式与代谢综合征的关系研究》
5. 胡剑华, 王建跃, 俞益君等作者 《脑卒中康复患者预防跌倒健康教育效果评价》

《预防医学》编辑部