

## 论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.07.020

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211215.1145.004.html\(2021-12-16\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211215.1145.004.html(2021-12-16))

# 糖尿病视网膜病变患者 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 与 VCAM-1、ICAM-1 的变化及意义\*

孙娜<sup>1</sup>,何明海<sup>1</sup>,杨文翔<sup>1</sup>,李雪璐<sup>2△</sup>

(1.四川省南充市中心医院内分泌科 637000;2.川北医学院微生物学与免疫学教研室,四川南充 637000)

**[摘要]** **目的** 观察糖尿病视网膜病变患者 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>调节性 T 细胞(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg)与细胞血管黏附分子-1(VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的变化并探讨其临床意义。**方法** 回顾性收集并分析南充市中心医院 2017 年 10 月至 2019 年 5 月收治的 112 例糖尿病视网膜病变患者设为观察组,同期选择糖尿病而无视网膜病变患者 112 例设为对照组,并选择门诊体检的健康志愿者 112 例设为空白组。抽取 3 组研究对象空腹静脉血 5 mL,采用流式细胞术检测 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 细胞的比例,ELISA 法检测血清 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达水平。比较 3 组研究对象的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 阳性率与 VCAM-1、ICAM-1 表达水平差异。**结果** 3 组患者年龄、腰臀比(WHR)比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );观察组和对照组 BMI、空腹血糖(FPG)和糖化血红蛋白(HbA1c)表达水平与空白组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );而观察组与对照组 BMI、FPG 和 HbA1c 水平比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。观察组和对照组 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 阳性率低于空白组,C 反应蛋白(CRP)高于空白组,且观察组 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 阳性率低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。观察组和对照组 VCAM-1 和 ICAM-1 均高于空白组,观察组 VCAM-1 和 ICAM-1 表达水平高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 糖尿病视网膜病变的发生与 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 及 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达密切相关,临床医生可根据这些指标给予糖尿病患者针对性治疗。

**[关键词]** 糖尿病视网膜病变;CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 细胞;血管细胞黏附分子-1;细胞间黏附分子-1

**[中图分类号]** R774.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2022)07-1181-05

## Changes and significance of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg cells, VCAM-1 and ICAM-1 in patients with diabetic retinopathy\*

SUN Na<sup>1</sup>, HE Minghai<sup>1</sup>, YANG Wenxiang<sup>1</sup>, LI Xuelu<sup>2△</sup>

(1. Department of Endocrinology, Nanchong Central Hospital, Nanchong, Sichuan 637000, China; 2. Department of Microbiology and Immunology, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the changes of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg cells, vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in patients with diabetic retinopathy and to explore its clinical significance. **Methods** A total of 112 cases of diabetic retinopathy admitted to this hospital from October 2017 to May 2019 were retrospectively collected and analyzed as the observation group. And a total of 112 patients with diabetes without retinopathy at the same time were selected as the control group, and 112 healthy volunteers from out-patient clinic were selected as the blank control group. 5 mL of fasting venous blood was drawn from the three groups. The proportion of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg cells was detected by flow cytometry, and the expression levels of serum VCAM-1 and ICAM-1 were detected by ELISA. The expression levels of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg cells, VCAM-1 and ICAM-1 in the three groups were compared. **Results** There were no significant difference in age and WHR among the three groups ( $P>$

\* 基金项目:四川省南充市校合作项目(18SXHZ0093)。 作者简介:孙娜(1986-),副主任医师,硕士,主要从事糖尿病的临床和基础研究。 △ 通信作者,E-mail:774913907@qq.com。

0.05)。The BMI, FPG and HbA1c levels in the observation group and the control group were significantly different from those in the blank group ( $P < 0.05$ )。There was no significant difference in BMI, FPG and HbA1c between the observation group and the control group ( $P > 0.05$ )。The positive rate of  $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$  Treg cells in the observation group and the control group was lower than that in the blank control group, and C-reaction protein (CRP) was higher than that in the blank control group, and the positive rate of  $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$  Treg cells in the observation group was lower than that in the control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ )。The expression levels of VCAM-1 and ICAM-1 in the observation group and the control group were higher than those in blank control group, and the expression levels of VCAM-1 and ICAM-1 in the observation group were higher than those in the control group, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ )。**Conclusion** The occurrence of diabetic retinopathy is closely related to the expression of  $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$  Treg cells and VCAM-1 and ICAM-1. Clinicians can give targeted treatment to diabetic patients according to these indicators.

**[Key words]** diabetic retinopathy;  $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$  Treg cells; vascular cell adhesion molecule-1; intercellular adhesion molecule-1

据国际糖尿病联盟(international diabetes federation, IDF)的数据显示,2014 年全世界有 3.87 亿糖尿病患者。预计至 2035 年,糖尿病患者人数将达到 6 亿<sup>[1-3]</sup>。我国是全球糖尿病患者人数最多的国家,据 2013 年 IDF 统计数据,我国 20~79 岁糖尿病患者为 0.98 亿,预计至 2035 年将增至 1.43 亿<sup>[4-5]</sup>。国内的 1 项研究报道了 2007 年 6 月至 2008 年 5 月的大样本抽样调查结果,我国糖尿病及糖尿病前期患者人数分别为 0.92 亿和 1.48 亿;而 2010 年的流行病学调查显示分别增至 1.14 亿和 4.93 亿,由此可见我国面临着巨大的糖尿病预防和治疗压力<sup>[6]</sup>。视网膜病变是糖尿病患者最常见的并发症之一,其发病因素与高血糖对血管壁的损伤及免疫因素密切相关,而免疫因素在近年来越来越被研究者们认可,但具体的发病机制尚不十分清楚。 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$  调节性 T 细胞( $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$  Treg)在免疫系统调节过程中扮演着重要的角色,有研究报道称  $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$  Treg 有助于减少牛奶蛋白过敏的发生,并帮助诱导免疫耐受<sup>[7]</sup>。而  $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$  Treg 的改变会影响机体的炎性反应,改变细胞血管黏附分子-1(VCAM-1)和细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的表达<sup>[8]</sup>。亦有研究表明,糖尿病视网膜病变患者 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达会显著上调<sup>[9]</sup>。但其参与糖尿病视网膜病变发生发展的机制尚无研究报道,本研究拟收集并分析糖尿病视网膜病变患者  $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$  Treg 与 VCAM-1、ICAM-1 的变化并探讨其临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

回顾性收集并分析四川省南充市中心医院 2017 年 10 月至 2019 年 5 月收治的 112 例糖尿病视网膜病

变患者设为观察组,其中男 65 例,女 47 例;平均年龄( $44.56 \pm 10.05$ )岁;病程 2~7 年,平均( $3.92 \pm 1.13$ )年。同期选择糖尿病而无视网膜病变患者 112 例设为对照组,其中男 58 例,女 54 例;平均年龄( $45.08 \pm 11.21$ )岁;病程 1~7 年,平均病程( $3.68 \pm 0.91$ )年。观察组和对照组患者平时血压控制良好,无高血脂、冠状动脉粥样硬化性心脏病等心血管并发症。2 组患者的纳入标准:(1)所有糖尿病患者均符合 WHO 推荐的 2 型糖尿病的诊断标准;(2)观察组患者的糖尿病视网膜病变分期为 IV~VI 期;(3)所有患者及家属均知情同意,签署知情同意书。排除标准:(1)1 型糖尿病及继发性糖尿病患者;(2)近期使用(口服或静脉注射)免疫抑制剂或糖皮质激素者;(3)眼部具有疾病史者;(4)近期具有感染史者;(5)具有肿瘤等消耗性疾病者。选取 2017 年 10 月至 2019 年 5 月门诊体检的 112 例健康志愿者设为空白组,其中男 62 例,女 50 例,平均年龄( $45.69 \pm 12.36$ )岁,纳入标准:无高血压、糖尿病、高血脂及其他慢性病史,近期无感染史及眼部疾病史。本研究得到了南充市中心医院伦理委员会的批准。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标本的采集与分离

使用真空抗凝采血管采集所有研究对象的晨起静脉血约 5 mL×3 管, PBS 洗涤后制成单核细胞悬液。另取单核细胞悬液 150  $\mu$ L,向其中分别加入 15  $\mu$ L FITC 标记的  $CD4$  单克隆抗体(RM-4,货号:45-0042-82,美国 eBioscience 公司)与 PE 标记的  $CD25$  单克隆抗体(PC61.5,货号:17-0251-82,美国 eBioscience 公司),避光后室温放置 0.5 h,之后加入 2 mL 事先预冷的 PBS,离心机 1 000 r/min 震荡洗涤 5 min,随后加入 1 mL 的破膜剂(货号:A24261,美国

eBioscience 公司), 1 h 后加入透膜缓冲液(规格: 00-19001, 美国 eBioscience 公司), 10 min 后离心重悬, 紧接着加入 10  $\mu$ L PE-Cy5 标记的 Foxp3 抗体 (PCH101, 货号: 35-4776-41, 美国 eBioscience 公司), 避光后室温放置 0.5 h, 之后加入 2 mL 事先预冷的 PBS, 离心机 1 000 r/min 震荡洗涤 5 min, 然后加入 500  $\mu$ L 的 PBS 重悬。

### 1.2.2 空腹血糖 (FBG) 及糖化血红蛋白 (HbA1c) 检测

取清晨空腹外周静脉血 5 mL, 采用葡萄糖氧化酶法测定血清 FBG 水平, 试剂盒购自浙江蓝森生物科技有限公司; 采用高效液相离子层析分析仪(美国安捷伦科技公司)检测 HbA1c 水平。

### 1.2.3 全自动生化分析仪检测 C 反应蛋白 (CRP) 水平

取清晨空腹外周静脉血 5 mL, 3 500 r/min(离心半径 7.5 cm)离心 20 min, 取上清液, 血清 CRP 水平采用 7600-020 型全自动生化仪(日本日立公司产品)测定。

### 1.2.4 流式细胞术检测 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg

采用 Coulter Epics XL 流式细胞仪(美国 Beckman 公司)对各组悬液进行细胞计数。在 FSC-SSC 点图上选定淋巴细胞群选项, 分析 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞内 Foxp3 的表达情况。根据同型对照中的阴性细胞确定 Foxp3 空白和阳性阈值, 以此阳性阈值求得测定管的 Foxp3 在 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞的阳性率。

### 1.2.5 ELISA 法检测 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达水平

采用 ELISA 试剂盒分别检测血清 VCAM-1(批号: ab47355, 英国 Abcam 公司)和 ICAM-1(批号: ab174445, 英国 Abcam 公司)的表达水平。所有的操作流程均按照试剂盒说明书要求严格执行。具体步骤如下: 室温下从密封袋中取出实验所需板条, 事先预留空白孔, 分别将标本血清和不同浓度的试剂标准品置于相应孔中(100 微升/孔), 密封板孔后置于烤箱 37  $^{\circ}$ C 反应 60 min。密封避光保存, 洗板机洗板 3 次, 每次 15 min, 加入 TMB 显色工作液(包括空白孔)每孔 100  $\mu$ L, 置于 37  $^{\circ}$ C 保温箱避光孵育, 待各板孔出现梯度颜色时即可加入终止液, 每孔 100  $\mu$ L, 根据样品吸光度(A)值计算样本浓度。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件对全文数据进行统计分析。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  的形式表示, 3 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 3 组患者的一般资料比较

3 组患者年龄、腰臀比(WHR)比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 观察组及对照组 BMI、FPG 和 HbA1c 水平与空白组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 而观察组与对照组 BMI、FPG 和 HbA1c 水平比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 3 组患者的一般资料比较( $\bar{x} \pm s, n=112$ )

组别	年龄(岁)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	WHR	FPG(mmol/L)	HbA1c(%)
空白组	45.69 $\pm$ 12.36	22.99 $\pm$ 2.45	0.89 $\pm$ 0.08	4.62 $\pm$ 1.06	4.72 $\pm$ 0.44
对照组	45.08 $\pm$ 11.21	19.81 $\pm$ 2.57 <sup>a</sup>	0.91 $\pm$ 0.07	15.54 $\pm$ 2.32 <sup>a</sup>	10.88 $\pm$ 1.03 <sup>a</sup>
观察组	44.56 $\pm$ 10.05	20.91 $\pm$ 2.66 <sup>a</sup>	0.90 $\pm$ 0.07	15.37 $\pm$ 2.65 <sup>a</sup>	11.12 $\pm$ 1.08 <sup>a</sup>
F	0.283	8.549	2.074	28.274	26.248
P	0.754	0.018	0.127	<0.001	<0.001

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与空白组比较。

### 2.2 3 组患者血清细胞检测结果

3 组患者 IgE 水平比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 观察组和对照组 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 阳性率均低于空白组, CRP 水平均高于空白组, 且观察组 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg 阳性率低于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 观察组 CRP 水平与对照组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 3 组 VCAM-1 和 ICAM-1 表达水平比较

观察组和对照组患者 VCAM-1 和 ICAM-1 表达水平均高于空白组, 且观察组 VCAM-1 和 ICAM-1 表达水平均高于对照组, 差异均有统计学意义( $P <$

0.05), 见表 3。

表 2 3 组患者血清细胞检测结果( $\bar{x} \pm s, n=112$ )

组别	CRP(mg/L)	CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> Treg(%)	IgE(ng/mL)
空白组	0.73 $\pm$ 0.15	5.09 $\pm$ 1.01	5.52 $\pm$ 1.02
对照组	1.39 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	4.15 $\pm$ 1.28 <sup>a</sup>	5.61 $\pm$ 1.05
观察组	1.34 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	3.57 $\pm$ 1.06 <sup>ab</sup>	5.58 $\pm$ 1.02
F	35.939	12.273	0.222
P	<0.001	<0.001	0.801

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与空白组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

表 3 3 组 VCAM-1 和 ICAM-1 表达水平比较  
( $\bar{x} \pm s, n=112, \text{ng/mL}$ )

组别	VCAM-1	ICAM-1
空白组	221.45 ± 45.27	431.78 ± 58.37
对照组	352.65 ± 68.14 <sup>a</sup>	519.31 ± 66.92 <sup>a</sup>
观察组	402.18 ± 54.02 <sup>ab</sup>	669.36 ± 54.91 <sup>ab</sup>
F	38.614	27.307
P	<0.001	<0.001

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与空白组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

### 3 讨论

糖尿病视网膜病变是糖尿病常见的十分严重的微血管并发症之一,是导致视力丧失的主要原因<sup>[10-12]</sup>。糖尿病视网膜病变是糖尿病代谢紊乱和内分泌系统与血液系统损害在视网膜上的综合反映,其发病率随糖尿病病程的发展而增高,40 岁以上糖尿病患者,大约有 40% 存在视网膜病变,大约 8.2% 存在视力损伤<sup>[13-14]</sup>。而在临床实践中发现,许多患者在发现糖尿病视网膜病时,已经错过了预防性治疗的最佳时机,因此及时准确地给予治疗,对于挽救患者视力,提高其生活质量具有极其重要的意义。

CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 是 1995 年 SAKAGUCHI 等<sup>[15]</sup>发现的对免疫反应有重要调控功能的 T 细胞亚群,通过主动调节的方式抑制存在于正常机体内潜在的自身反应性 T 细胞的活化与增殖,并识别自身抗原肽和分泌抑制因子;而 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 表达多种表面分子,其中 Foxp3<sup>+</sup> 是目前公认的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 的特异性标志物<sup>[16-18]</sup>。本研究结果显示,观察组和对照组 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 阳性率均低于空白组,CRP 水平均高于空白组,且观察组 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 阳性率低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。说明糖尿病视网膜病患者的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 明显低于糖尿病无视网膜病变患者。原因可能是患者 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 减少从而损伤视网膜,与既往报道较为一致<sup>[18]</sup>。

VCAM-1 是一类与动脉粥样硬化密切相关的黏附分子。在许多疾病病理过程中,VCAM-1 有利于炎症细胞浸润到局部组织,炎症反过来又促进组织新生血管生成<sup>[19-20]</sup>。本研究结果显示观察组和对照组患者 VCAM-1 和 ICAM-1 均高于空白组,且观察组 VCAM-1 和 ICAM-1 水平高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。该结果说明 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达在糖尿病患者血清中表达水平较高,而在糖尿病视网膜病病变患者中表达水平更高,与本研究预期相符,临床上在糖尿病治疗的过程中应给与重视,定期检测血清 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 数量及 VCAM-1

和 ICAM-1 的表达水平,为明确病因和患者的早期诊疗提供可靠的实验依据。但其具体的机制尚不明确,需进一步研究探索。

综上所述,糖尿病视网膜病变的发生与 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 及 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达密切相关,临床医生可根据这些指标给予糖尿病患者针对性治疗。

### 参考文献

- [1] AMIRKALALI B, FAKHRZADEH H, SHARIFI F, et al. Prevalence of metabolic syndrome and its components in the iranian adult population: a systematic review and meta-analysis [J]. Iran Red Crescent Med J, 2015, 17(12): e24723.
- [2] KELISHADI R, HOVSEPIAN S, DJALALINIA S, et al. A systematic review on the prevalence of metabolic syndrome in Iranian children and adolescents [J]. J Res Med Sci, 2016, 21: 90.
- [3] CHAUDHURY A, DUVOOR C, REDDY DENDI V S, et al. Clinical review of antidiabetic drugs: implications for type 2 diabetes mellitus management [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2017, 8: 6.
- [4] NANDITHA A, MA R C, RAMACHANDRAN A, et al. Diabetes in Asia and the Pacific: implications for the global epidemic [J]. Diabetes Care, 2016, 39(3): 472-485.
- [5] YUAN H, LI X, WAN G, et al. Type 2 diabetes epidemic in East Asia: a 35-year systematic trend analysis [J]. Oncotarget, 2017, 9(6): 6718-6727.
- [6] MENKE A, CASAGRANDE S, GEISS L, et al. Prevalence of and trends in diabetes among adults in the United States [J], 1988-2012, JAMA, 2015; 314(10): 1021-1029.
- [7] 杨希晨, 刘静, 华亚军. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 在牛奶蛋白过敏发生及耐受中的作用 [J]. 中国妇幼健康研究, 2016, 27(7): 859-860, 863.
- [8] 马东亮, 刘石健, 蔡国华, 等. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 细胞与心血管疾病研究新进展 [J]. 心肺血管病杂志, 2014, 33(2): 308-311.
- [9] 李春深, 苗戎, 蔡青, 等. ICAM-1 和 VCAM-1 在糖尿病视网膜病病变中的作用 [J]. 国际眼科杂志, 2012, 12(1): 1-3.
- [10] DELGOSHA EI B, MOBINIZADEH M, MOJDEKAR R, et al. Telemedicine: a systematic review of

- economic evaluations[J]. *Med J Islam Repub Iran*, 2017;31:113.
- [11] BROADGATE S, KIIRE C, HALFORD S, et al. Diabetic macular oedema: under-represented in the genetic analysis of diabetic retinopathy[J]. *Acta Ophthalmol*, 2018, 96(Suppl A111): 1-51.
- [12] DORSEY-TREVINO E G, CONTRERAS-GARZA B M, GONZALEZ-GONZALEZ J G, et al. Systematic review and meta-analysis of the effect of SGLT-2 inhibitors on microvascular outcomes in patients with type 2 diabetes: a review protocol[J]. *BMJ Open*, 2018, 8(6): e020692.
- [13] MIZUKAMI T, HOTTA Y, KATAI N. Higher numbers of hyperreflective foci seen in the vitreous on spectral-domain optical coherence tomographic images in eyes with more severe diabetic retinopathy[J]. *Ophthalmologica*, 2017, 238(1/2): 74-80.
- [14] SASONGKO M B, WIDYAPUTRI F, AGNI A N, et al. Prevalence of diabetic retinopathy and blindness in Indonesian adults with type 2 diabetes[J]. *Am J Ophthalmol*, 2017, 181: 79-87.
- [15] SAKAGUCHI S, SAKAGUCHI N, ASANO M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases[J]. *J Immunol*, 1995, 155(3): 1151-1164.
- [16] AFZAL N, JAVAID K, ZAMAN S, et al. Enumeration of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T regulatory cells in type-II diabetes retinopathy[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2014, 27(5): 1191-1197.
- [17] AFZAL N, ZAMAN S, SHAHZAD F, et al. Immune mechanisms in type-2 diabetic retinopathy[J]. *J Pak Med Assoc*, 2015, 65(2): 159-163.
- [18] YANG T T, SONG S J, XUE H B, et al. Regulatory T cells in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus retinopathy by miR-155[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19(11): 2010-2015.
- [19] AMOAKU W M, SAKER S, STEWART E A. A review of therapies for diabetic macular oedema and rationale for combination therapy[J]. *Eye (Lond)*, 2015, 29(9): 1115-1130.
- [20] SIMÓ-SERVAT O, SIMÓ R, HERNANDEZ C. Circulating biomarkers of diabetic retinopathy: an overview based on physiopathology[J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 5263798.

(收稿日期: 2021-11-10 修回日期: 2021-12-29)

(上接第 1180 页)

- Mental fatigue, cognitive bias and safety paradox in Chinese coal mines[J]. *Resour Policy*, 2017, 52: 165-172.
- [22] ABDOLLAHI L, MIRGHAFORVAND M, BA BAPOUR J K, et al. Effectiveness of cognitive-behavioral therapy (CBT) in improving the quality of life and psychological fatigue in women with polycystic ovarian syndrome: a randomized controlled clinical trial[J]. *J Psychosom Obst Gyn*, 2019, 40(4): 283-293.
- [23] QI P, RU H, GAO L, et al. Neural mechanisms of mental fatigue revisited: new insights from the brain connectome[J]. *Engineering PRC*, 2019, 5(2): 183-350.
- [24] 张俐, 徐晓晓, 靳灿灿, 等. 运动疲劳对人体心率变异性和肌电的影响[J]. *华南国防医学杂志*, 2019, 33(3): 177-180.
- [25] 李芷悦. 抗疲劳复方精油的应用及其机理研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018, 20.
- [26] GU S, WANG F, YUAN T, et al. Differentiation of primary emotions through neuromodulators: review of literature[J]. *Int J Neurol*, 2015, 1(2): 43-50.
- [27] 杨丽冰. 积极情绪的陷阱-自豪与快乐的生理与认知差异[D]. 上海: 华东师范大学, 2020.

(收稿日期: 2021-11-10 修回日期: 2021-12-30)