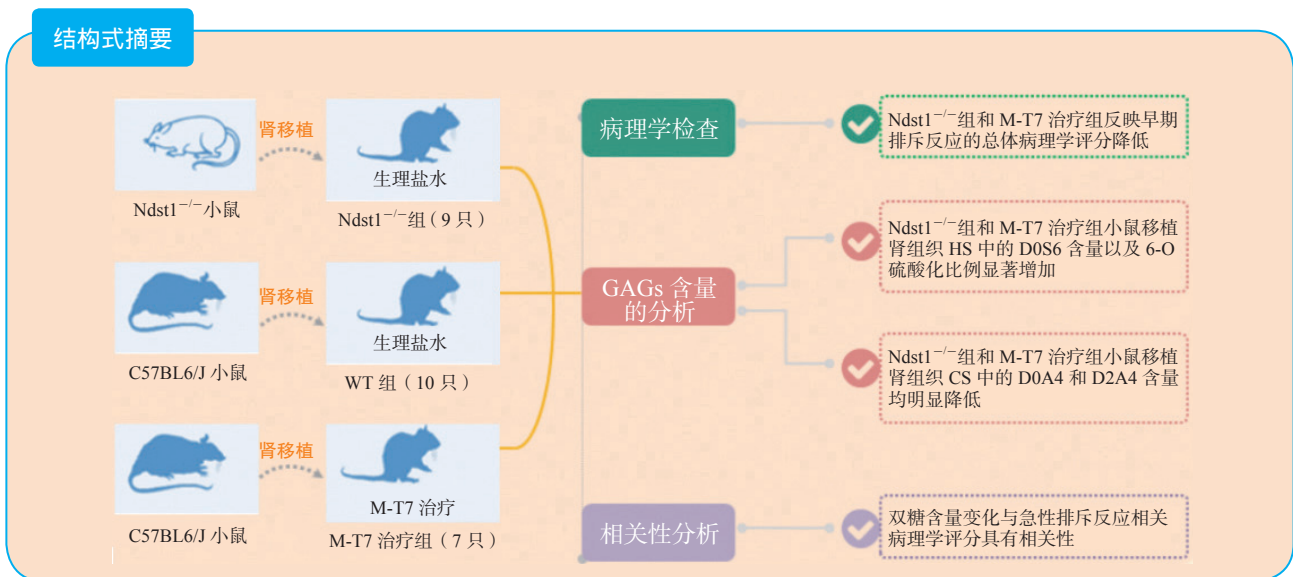


· 实验研究 ·

小鼠供肾选择性缺失Ndst1对肾移植术后急性排斥反应的影响及其机制研究

李雪梅 谷保红 胡继科 马延龄 王博方 冯泽东 张凡 陈昊



【摘要】 目的 探讨小鼠供肾选择性缺失 N-脱乙酰基酶 -N-磺基转移酶 (Ndst) 1 对肾移植术后受体小鼠急性排斥反应的影响及其机制。**方法** 建立小鼠肾移植模型。根据品系和处理方式不同,将小鼠分为 3 组:野生型 (WT) 组 ($n=10$)、Ndst1^{-/-}组 ($n=9$)、黏液瘤病毒 T7 蛋白 (M-T7) 治疗组 ($n=7$)。术后第 10 日对各组小鼠实施安乐死,对各组小鼠移植肾分别进行病理学检查和糖胺聚糖 (GAGs) 中的双糖 [硫酸乙酰肝素 (HS) 和硫酸软骨素 (CS)] 含量分析。分析病理学评分与双糖含量变化的相关性。**结果** 与 WT 组比较, Ndst1^{-/-}组和 M-T7 治疗组小鼠移植肾组织的早期排斥反应的总体病理学评分显著降低 (均为 $P<0.05$)。与 WT 组比较, Ndst1^{-/-}组小鼠移植肾组织中 HS 的 6-O 硫酸化比例、D0S6 含量显著增加 (均为 $P<0.05$), CS 的 D0A4 和 D2A4 含量显著下降 (均为 $P<0.05$)。与 WT 组比较, M-T7 治疗组小鼠移植肾组织中 HS 的 6-O 硫酸化比例、CS 的 6-O 硫酸化和 2-O 硫酸化比例、HS 的 D0S6 和 D2S6 含量均显著增加 (均为 $P<0.05$), HS 的 D2A0 含量、CS 的 D0A4 和 D2A4 含量明显降低 (均为 $P<0.05$)。小鼠移植肾组织中双糖含量变化与急性排斥反应相关病理学评分均具有相关性 (均为 $P<0.05$)。**结论** 供肾选择性缺失 Ndst1 可减轻肾移植术后的急性排斥反应,其机制可能与移植肾组织中双糖 HS 的 6-O 硫酸化比例增加有关。

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2018.06.005

基金项目: 国家自然科学基金 (81470791、81670594、81376597); 甘肃省自然科学基金 (1606RJJA328)

作者单位: 730000 兰州大学第二临床医学院 (李雪梅、谷保红、胡继科、马延龄、王博方、冯泽东、张凡、陈昊); 兰州大学第二医院肿瘤外科 (陈昊); 兰州大学第二医院消化系统肿瘤重点实验室 (陈昊)

作者简介: 李雪梅, 女, 1994 年生, 硕士, 研究方向为消化系统肿瘤及器官移植, Email: 1321491031@qq.com

通讯作者: 陈昊, 男, 1977 年生, 博士研究生导师, 主任医师, 教授, 研究方向为肝胆外科、消化系统肿瘤及器官移植, Email: chenhaodrs@163.com.

【关键词】 N-脱乙酰基酶-N-磺基转移酶-1; 肾移植; 急性排斥反应; 内皮细胞; 糖胺聚糖; 硫酸乙酰肝素; 硫酸软骨素; 透明质酸

【中图分类号】 R617, R392.4 【文献标志码】 A 【文章编号】 1674-7445 (2018) 06-0005-06

Effect and mechanism research of selective deletion of Ndst1 in donor kidney on acute rejection after renal transplantation in mouse models

Li Xuemei*, Gu Baohong, Hu Jike, Ma Yanling, Wang Bofang, Feng Zedong, Zhang Fan, Chen Hao. *The Second Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Corresponding author: Chen Hao, Email: chenhaodrs@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of selective deletion of N-deacetylase-N-sulfotransferase (Ndst) 1 in donor kidney on the acute rejection after renal transplantation in the recipient mice. **Methods** A mouse model undergoing renal transplantation was established. The mice were divided into 3 groups according to the strains of mice and treatment: wild type (WT) group ($n=10$), Ndst1^{-/-} group ($n=9$) and myxoma virus T7 protein (M-T7) treatment group ($n=7$). The mice were euthanized at postoperative 10 d. Pathological examination and the content of disaccharide [heparan sulfate (HS) and chondroitin sulfate (CS)] in glycosaminoglycans (GAGs) were analyzed. The correlation between pathological score and changes of disaccharide content was analyzed. **Results** Compared with the WT group, the overall pathological scores of early rejection of the transplanted kidney tissues were significantly lower in the Ndst1^{-/-} and M-T7 treatment groups (both $P<0.05$). Compared with the WT group, the percentage of 6-O sulfation and the content of D0S6 in HS were significantly increased, whereas the contents of D0A4 and D2A4 in CS were significantly decreased in the transplanted kidney tissues in the Ndst1^{-/-} group (all $P<0.05$). Compared with the WT group, the percentage of 6-O sulfation in HS, the percentages of 6-O sulfation and 2-O sulfation in CS and the contents of D0S6 and D2S6 in HS were significantly increased, whereas the content of D2A0 in HS, the contents of D0A4 and D2A4 in CS were significantly decreased in the transplanted kidney tissues in the M-T7 treatment group (all $P<0.05$). The changes of disaccharide content in the transplanted kidney tissues of mice were significantly correlated with pathological scores related to acute rejection (all $P<0.05$). **Conclusions** Selective deletion of Ndst1 of the donor kidney can alleviate acute rejection after renal transplantation, and the mechanism may be related to the increased 6-O sulfation ratio of disaccharide HS in the transplanted kidney tissues.

【Key words】 N-deacetylase-N-sulfotransferase 1; Renal transplantation; Acute rejection; Endothelial cell; Glycosaminoglycans; Heparan sulfate; Chondroitin sulfate; Hyaluronic acid

肾移植术后细胞性排斥反应和抗体介导的排斥反应与移植物的早期损伤密切相关,并具有长期持续性作用^[1-3]。然而,有些炎症及非抗体介导的排斥反应是在移植手术时由于手术创伤、缺血性损伤和感染引起的,多项研究表明这一现象可能与内皮细胞糖萼和糖胺聚糖(glycosaminoglycans, GAGs)的改变有关^[4]。GAGs是复合性、线性、带负电荷的聚合物,由多糖的重复亚单位组成。GAGs存在于所有细胞的表面,是形成内皮细胞糖萼的主要成分,可参与调节血管的通透性、细胞黏附及活化、白细胞趋化作用等^[5-7]。GAGs主要包括硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)、硫酸软骨素(chondroitin sulfate, CS)和透明质酸(hyaluronic acid, HA),其中HS主要存在于内皮细胞层。GAGs由酶介导的聚合作用产生,可以以游离双糖形式存在,也可以与糖蛋白结合存在。

N-脱乙酰基酶-N-磺基转移酶(N-deacetylase-N-sulfotransferase, Ndst) 1在HS中起中心修饰酶的作用,催化硫酸盐与碳水化合物的结合。已有动物模型研究表明内皮细胞和骨髓前体细胞的条件性Ndst1缺失(Ndst1^{-/-})可减少炎症细胞的浸润^[6-8]。将Ndst1^{-/-}供体主动脉移植到表达Ndst1(Ndst1^{+/+})的Balb/c小鼠体内4周后,我们发现移植物的血管病变和炎症反应均明显减轻^[9]。目前Ndst1缺失在实体器官移植早期排斥反应中的作用尚未被广泛研究。因此本文旨在探讨小鼠供肾选择性缺失Ndst1对肾移植术后受体小鼠的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物包括3种品系的小鼠:17只C57BL/6J

雄性小鼠和 26 只 Balb/c 雄性小鼠由美国 JAX 实验室和佛罗里达大学动物护理服务育种中心提供；9 只 *Ndst1*^{-/-} 雄性小鼠由美国圣迭戈加利福尼亚大学糖生物学研究和培训中心提供，其构建与鉴定由 Jeffrey D.Esko 博士完成，采用内皮酪氨酸激酶受体驱动的 Cre 选择性敲除 *Ndst1*。3 种小鼠的周龄均为 8~10 周，保持 12 h 的光暗周期，小鼠可以自由摄取水和食物。

1.2 小鼠肾移植模型建立与分组

1.2.1 肾移植模型建立 肾移植手术过程包括供肾获取和受体肾移植术。将供肾移植到受体小鼠的左侧腹腔中，并通过供肾上主动脉套囊和受体主动脉之间的端侧吻合连接。在膀胱顶部行膀胱切开术，在确保供肾输尿管的位置正确后，吻合供肾与受体的膀胱顶。具体步骤参照已发表文献 [9]。

1.2.2 分组 根据品系和处理方式不同，将小鼠分为 3 组：野生型 (wide type, WT) 组 (*n*=10)、*Ndst1*^{-/-} 组 (*n*=9)、黏液瘤病毒 T7 蛋白 (myxoma virus T7 protein, M-T7) 治疗组 (*n*=7)。WT 组：将野生型 C57BL6/J 小鼠的供肾移植至 Balb/c 受体小鼠体内，术后腹腔注射生理盐水 0.2 mL/d，连续 10 d；*Ndst1*^{-/-} 组：将 *Ndst1*^{-/-} 小鼠的供肾移植至 Balb/c 受体小鼠体内，术后腹腔注射生理盐水 0.2 mL/d，连续 10 d；M-T7 治疗组：将野生型 C57BL6/J 小鼠的供肾移植至 Balb/c 受体小鼠体内，术后给予广谱趋化因子——GAGs 抑制剂 M-T7 (100 ng/d) 干预以降低移植物排斥反应 [10]，连续 10 d。术后第 10 日对各组小鼠实施安乐死，取移植肾组织进行后续检查。

1.3 各组小鼠移植肾组织的病理学检查

对移植肾组织学切片采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色、Masson 染色和过碘

酸-雪夫 (periodic acid-Schiff, PAS) 染色，并进行组织病理学检查 [11]。采用 Olympus BX51 显微镜成像系统测量高倍视野下阳性染色细胞的均数，每个切片选取 3 个视野。反映急性排斥反应的总体病理评分分别为炎症细胞浸润、血管炎、肾小球炎、肾小管周围毛细血管炎、肾小管炎和系膜基质评分的总和。

1.4 各组小鼠移植肾组织 GAGs 含量的分析

通过高效液相色谱技术 (high performance liquid chromatography, HPLC) 分析各组小鼠移植肾组织 GAGs 含量，包括 HS、CS 的硫酸化指标以及各修饰组分的含量，如 HS 的总 N-硫酸化、总 6-O 硫酸化和总 2-O 硫酸化的比例，CS 的总 6-O 硫酸化、总 4-O 硫酸化和总 2-O 硫酸化的比例，各修饰组分有 D0S6、D2A0、D2S6、D0A4、D2A4 等。具体步骤参考文献 [12]。

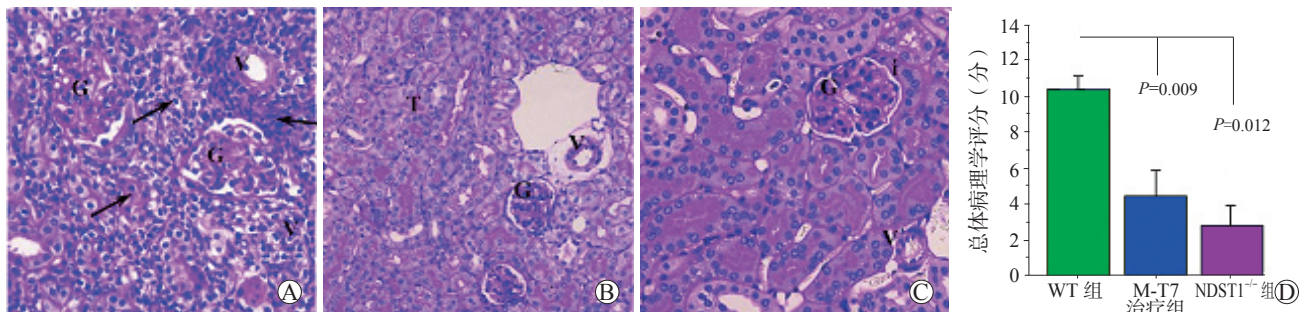
1.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。各组小鼠移植肾组织的病理学评分以及 GAGs 双糖含量比较采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD-*t* 检验。移植肾组织的病理学评分与小鼠移植肾组织中 GAGs 双糖含量变化的相关性采用线性回归分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠移植肾组织病理学检查结果

各组小鼠移植肾组织的病理学图片及相关病理学评分见图 1。与 WT 组比较，*Ndst1*^{-/-} 组小鼠移植肾组织的早期排斥反应的总体病理学评分显著降低 (*P*=0.012)，其中炎症细胞浸润、血管炎、肾小球炎、肾小管周围毛细血管炎、肾小管炎和系膜基质评分均



A 图为 WT 组小鼠的移植肾组织 (HE, ×200)；B 图为 *Ndst1*^{-/-} 组小鼠的移植肾组织 (HE, ×200)；C 图为 M-T7 治疗组小鼠的移植肾组织 (HE, ×200)；D 图为各组总体病理学评分比较

图 1 各组小鼠移植肾组织的病理学图片及病理学评分

Figure 1 Pathological images and pathology scores of transplanted kidney tissues of mice in each group

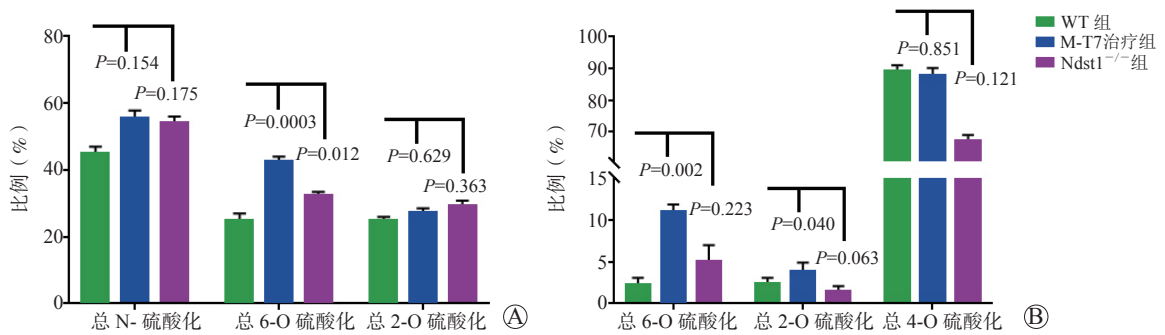
显著降低 (均为 $P < 0.05$)。与 WT 组比较, M-T7 治疗组小鼠移植肾组织的早期排斥反应的总体病理学评分显著降低 ($P = 0.009$), 其中炎症细胞浸润、血管炎、肾小球炎、肾小管周围毛细血管炎和肾小管炎评分均显著降低 (均为 $P < 0.05$)。M-T7 治疗组与 $Ndst1^{-/-}$ 组小鼠移植肾组织的相关病理指标差异无统计学意义 (均为 $P > 0.05$)。表明 $Ndst1$ 缺失可减少移植肾的血管炎症反应, 减轻早期排斥反应。

2.2 各组受体小鼠移植肾组织的 GAGs 含量分析

各组小鼠移植肾组织 GAGs 中 HS 以及 CS 的硫酸化指标见图 2。与 WT 组比较, $Ndst1^{-/-}$ 组小鼠移植肾组织中 HS 的总 6-O 硫酸化比例显著增加 ($P = 0.012$), HS 的总 N-硫酸化和总 2-O 硫酸化比例, CS 的总 6-O 硫酸化、总 4-O 硫酸化和总 2-O 硫酸化比例的差异无统计学意义 (均为 $P > 0.05$)。与 WT 组

比较, M-T7 治疗组小鼠移植肾组织中 HS 的总 6-O 硫酸化、CS 的总 6-O 硫酸化和总 2-O 硫酸化比例均显著增加 ($P = 0.0003, 0.002, 0.040$)。而 HS 的总 N-硫酸化、总 2-O 硫酸化和 CS 的总 4-O 硫酸化比例的差异均无统计学意义 (均为 $P > 0.05$)。

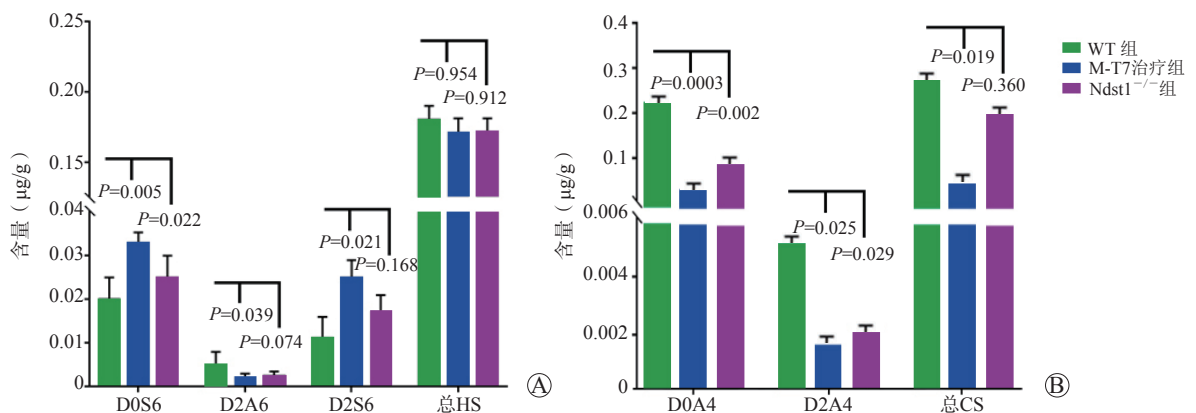
各组小鼠移植肾组织中 HS 双糖各修饰组分的含量变化见图 3A。与 WT 组比较, $Ndst1^{-/-}$ 组小鼠移植肾组织中 HS 双糖的 D0S6 含量显著增加 ($P = 0.022$); M-T7 治疗组小鼠移植肾组织中 HS 双糖的 D0S6 和 D2S6 含量均显著增加 ($P = 0.005, 0.021$), D2A0 含量明显降低 ($P = 0.039$)。CS 双糖各修饰组分的含量变化见图 3B。与 WT 组比较, $Ndst1^{-/-}$ 组小鼠移植肾组织中 CS 双糖的 D0A4 和 D2A4 含量显著下降 ($P = 0.002, 0.029$); M-T7 治疗组小鼠移植肾组织中 CS 双糖的 D0A4 和 D2A4 含量亦显著下降 ($P = 0.0003, 0.025$),



A 图为各组 HS 的硫酸化指标, 包括总 N-硫酸化、总 6-O 硫酸化和总 2-O 硫酸化比例; B 图为各组 CS 的硫酸化指标, 包括总 6-O 硫酸化、总 2-O 硫酸化和总 4-O 硫酸化比例

图 2 各组小鼠移植肾组织中 HS 以及 CS 硫酸化指标的比较

Figure 2 Comparison of sulfation indexes of HS and CS in transplanted kidney tissues of mice among each group



A 图为 HS 双糖各修饰组分含量; B 图为 CS 双糖各修饰组分含量

图 3 各组小鼠移植肾组织中 HS 和 CS 修饰组分含量的比较

Figure 3 Comparison of HS and CS modified component content in transplanted kidney tissues of mice among each group

0.025), 总含量明显下降 ($P=0.019$)。

2.3 小鼠移植肾组织的 HS 和 CS 双糖含量与病理学评分的相关性研究

线性回归分析结果显示小鼠移植肾组织中 HS 以及 CS 双糖含量变化与急性排斥反应相关病理学评分均具有相关性 ($R=0.992, 0.974; R^2=0.984, 0.949; P=0.012, 0.013$)。

3 讨 论

肾移植是终末期肾病最有效的治疗方法^[13]。在全球首例肾移植开展至今,已有近百万的患者接受了肾移植治疗。尽管随着外科技术的进步及各种免疫抑制剂的应用,肾移植受术术后生存率明显升高,但是急性排斥反应仍然是影响肾移植术后受体长期存活的重要因素^[14-15]。肾移植术后急性排斥反应一般分为细胞性排斥反应和抗体介导的排斥反应,目前对排斥反应的研究大多针对的是受体的免疫应答,只有少数学者对供体器官在移植排斥反应中的作用进行了研究。

Ndst1 是 GAGs 家族中 HS 的中心修饰酶^[16-17]。动物模型表明,内皮细胞和骨髓前体细胞中 Ndst1 的选择性缺失可减少炎症细胞的浸润以及急性抗体诱导的肾炎。M-T7 是一种广谱的趋化因子抑制剂,可降低移植排斥反应并改善移植预后。前期研究中,我们也发现 Ndst1 缺失以及 M-T7 治疗均可减轻主动脉移植物的炎症反应和血管病变^[10]。因此,本研究中我们通过敲除 Ndst1 以及使用 M-T7 治疗,探讨 Ndst1 缺失对肾移植术后受体小鼠急性排斥反应的影响以及机制。

本实验研究结果显示, Ndst1 在肾移植术后急性排斥反应中起着重要作用。由于 Ndst1 是 HS 的主要硫酸化酶,所以我们评估了移植肾组织中 HS 和 CS 含量的变化,而非仅仅评估内皮细胞中的相关变化。结果显示 M-T7 治疗组与 Ndst1^{-/-}组小鼠移植肾组织 HS 中的 D0S6 含量以及 6-O 硫酸化比例显著增加,CS 中的 D0A4 和 D2A4 含量均明显降低。HS 的 6-O 硫酸化和 CS 的 2-O 硫酸化比例的增加意味着非 Ndst1 缺乏的小鼠组织(如内皮周围)可能其对相邻的 Ndst1 缺乏的供体组织产生了反应,我们观察到 HS 的 6-O 硫酸化的增加可能是一种对急性排斥反应的保护性机制。另外, M-T7 治疗组与 Ndst1^{-/-}组小鼠移植肾组织中 HS 和 CS 含量既有相似的改变,也有许多不同,这也许和两者在降低受体移植排斥反

应中的机制不同有关,本研究尚未进行进一步探讨。

通过相关性分析发现,HS 和 CS 双糖含量的改变与排斥反应的降低具有相关性。由于 GAGs 合成和修饰的复杂性,目前研究并未证明双糖含量的改变与移植术后的早期排斥反应之间具有直接因果关系,仍需要进一步实验来证明 M-T7 和 Ndst1 缺失与急性排斥反应之间的具体作用机制。

综上所述, Ndst1 缺失可显著降低移植肾的早期免疫排斥反应,其机制可能与移植肾组织中双糖 HS 的 6-O 硫酸化比例增加有关。由此可见双糖的修饰与排斥反应密切相关,检测双糖修饰方式有可能成为移植术后急性排斥反应的诊断方法。

参考文献:

- [1] 谭建明, 王萍. 间充质干细胞改善实体器官移植效果的临床研究 [J/CD]. 中华细胞与干细胞杂志 (电子版), 2016, 6(5): 263-269. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2016.05.001.
TAN JM, WANG P. Mesenchymal stem cells to improve solid organ transplant outcome: clinical trials [J/CD]. Chin J Cell Stem Cell(Electr Edit), 2016,6(5): 263-269. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2016.05.001.
- [2] 王红宇, 焦宪法, 牛杏果, 等. 伴急性肾损伤的脑死亡器官捐献供者供肾移植治疗的体会 [J]. 器官移植, 2017, 8(6): 424-429. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2017.06.003.
WANG HY, JIAO XF, NIU XG, et al. Experience of clinical efficacy of renal transplantation from donors of donation after brain death complicated with acute kidney injury [J]. Organ Transplant, 2017, 8(6): 424-429. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2017.06.003.
- [3] NACIF LS, PINHEIRO RS, PÉCORRA RA, et al. Late acute rejection in liver transplant: a systematic review [J]. Arq Bras Cir Dig, 2015, 28(3): 212-215. DOI: 10.1590/S0102-67202015000300017.
- [4] SHIMIZU T, TANABE T, SHIRAKAWA H, et al. Clinical and pathological analysis of transplant glomerulopathy cases [J]. Clin Transplant, 2012, 26(Suppl 24): 37-42. DOI: 10.1111/j.1399-0012.2012.01639.x.
- [5] 姚杏红, 曾焯. 血管内皮糖萼研究进展 [J]. 四川解剖学杂志, 2013, 21(4): 42-46. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1457.2013.089.
YAO XH, ZENG Y. The research progress of endothelial glycocalyx [J]. Sichuan J Anat, 2013, 21(4): 42-46. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1457.2013.089.
- [6] GE XN, HA SG, RAO A, et al. Endothelial and leukocyte heparan sulfates regulate the development of allergen-

- induced airway remodeling in a mouse model[J]. *Glycobiology*, 2014, 24(8): 715-727. DOI: 10.1093/glycob/cwu035.
- [7] PROUDFOOT AE, BONVIN P, POWER CA. Targeting chemokines: pathogens can, why can't we? [J]. *Cytokine*, 2015, 74(2): 259-267. DOI: 10.1016/j.cyto.2015.02.011.
- [8] ROPS AL, LOEVEN MA, VAN GEMST JJ, et al. Modulation of heparan sulfate in the glomerular endothelial glycocalyx decreases leukocyte influx during experimental glomerulonephritis[J]. *Kidney Int*, 2014, 86(5): 932-942. DOI: 10.1038/ki.2014.115.
- [9] 陈昊, 韩志坚, 彭正奎, 等. 应用肾静脉袖套式血管吻合技术建立小鼠原位肾移植模型 [J]. *中华器官移植杂志*, 2015, 36(10): 611-615. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2015.10.008.
- CHEN H, HAN ZJ, PENG ZK, et al. Orthotopic kidney transplantation in mice: technique using cuff for renal vein anastomosis[J]. *Chin J Organ Transplant*, 2015, 36(10): 611-615. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2015.10.008.
- [10] DAI E, LIU LY, WANG H, et al. Inhibition of chemokine-glycosaminoglycan interactions in donor tissue reduces mouse allograft vasculopathy and transplant rejection[J]. *PLoS One*, 2010, 5(5): e10510. DOI: 10.1371/journal.pone.0010510.
- [11] BAR Y, BARREGARD L, SALLSTEN G, et al. Quantitative and semi-quantitative histopathological examination of renal biopsies in healthy individuals, and associations with kidney function[J]. *APMIS*, 2016, 124(5): 393-400. DOI: 10.1111/apm.12520.
- [12] ABIDI J, AMMAR S, BEN BRAHIM S, et al. Use of ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry system as valuable tool for an untargeted metabolomic profiling of *Rumex tunetanus* flowers and stems and contribution to the antioxidant activity[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 162: 66-81. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.09.001.
- [13] BUTTIGIEG J, AGIUS-ANASTASI A, SHARMA A, et al. Early urological complications after kidney transplantation: an overview[J]. *World J Transplant*, 2018, 8(5): 142-149. DOI: 10.5500/wjt.v8.i5.142.
- [14] LEMOINE M, GUERROT D, BERTRAND D. Focusing on kidney transplantation in the elderly[J]. *Nephrol Ther*, 2018, 14(2): 71-80. DOI: 10.1016/j.nephro.2017.06.003.
- [15] RODRÍGUEZ CASTELLANOS FE, DOMÍNGUEZ QUINTANA F, SOTO ABRAHAM V, et al. Classification of acute rejection episodes in kidney transplantation: a proposal based on factor analysis[J]. *Iran J Kidney Dis*, 2018, 12(2): 123-131.
- [16] DE MURO P, FAEDDA R, MASALA A, et al. Kidney post-transplant monitoring of urinary glycosaminoglycans/proteoglycans and monokine induced by IFN- γ (MIG) [J]. *Clin Exp Med*, 2013, 13(1): 59-65. DOI: 10.1007/s10238-012-0178-5.
- [17] POMIN VH, PARK Y, HUANG R, et al. Exploiting enzyme specificities in digestions of chondroitin sulfates A and C: production of well-defined hexasaccharides[J]. *Glycobiology*, 2012, 22(6): 826-838. DOI: 10.1093/glycob/cws055.

(收稿日期: 2018-09-20)
(本文编辑: 石梦辰 吴秋玲)