

丹参酮 IIA 对 A β 25-35 引起的 Meynert 核团 神经元钙电流变化的影响

朱淑娟^{1,2}, 钱亦华¹, 史利利¹, 杨维娜¹, 冯新正¹, 李翠琴³, 刘勇¹

(1. 西安交通大学医学院人体解剖与组织胚胎学系, 神经生物学研究所, 环境与疾病相关基因教育部重点实验室, 西安 710061; 2. 重庆医科大学神经科学研究中心, 重庆 400016; 3. 陕西师范大学生命科学院, 西安 710062)

[摘要] 目的:探讨丹参酮 IIA (Tan II A) 和 β 淀粉样蛋白 25-35 (A β 25-35) 对 Meynert 核团 (nbM) 神经元电压依赖钙电流的影响。方法:运用细胞急性分离和单细胞膜片钳技术,采用全细胞记录方式,检测 SD 大鼠 nbM 神经元电压依赖钙电流、Tan II A 对 nbM 神经元钙电流的影响、加入亚毒性剂量 A β 25-35 后钙电流的变化以及 Tan II A 对其引起钙电流变化的作用。结果:通过灌流分别给予含有不同浓度 Tan II A 的细胞外液,记录到的峰值电流与正常峰值电流基本一致,在 0 mV 时对峰值电流密度进行比较,差异没有统计学意义 ($P > 0.05$);给予亚毒性剂量 A β 25-35 的细胞外液灌流,峰值电流明显增大,与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$);不同浓度 Tan II A 与 200 nmol/L A β 25-35 同时加入细胞外液灌流,其电压依赖钙电流与对照组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论:在体外, Tan IIA 能抑制 A β 引起的 nbM 神经元细胞膜上钙电流放大,减少钙内流,以保护神经元。

[关键词] 丹参酮 IIA; A β 25-35; Meynert 核团; 电压依赖钙电流

DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2010.08.011

Effect of tanshinone IIA on the change of calcium current induced by β -amyloid protein 25-35 in neurons of nucleus basalis of Meynert

ZHU Shujuan^{1,2}, QIAN Yihua¹, SHI Lili¹, YANG Weina¹,
FENG Xinzheng¹, LI Cuiqin³, LIU Yong¹

(1. Department of Human Anatomy and Histology Embryology, Institute of Neurobiology, Key Laboratory of Environment and Gene Related Diseases of Education Ministry, Xi'an Jiaotong University College of Medicine, Xi'an 710061; 2. Institute of Neurobiology, Chongqing University of Medical Science, Chongqing 400016; 3. College of Life Sciences of Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of tanshinone IIA (TanIIA) on calcium current induced by β -amyloid protein 25-35 (A β 25-35) in neurons of nucleus basalis of Meynert (nbM). **Methods** Cell acute dissociated technique and the whole-cell recording model of patch-clamp technique of single-cell were used. The voltage-dependent calcium current in neurons of nbM was recorded in SD rats first. Then the effect of TanIIA on the voltage-dependent calcium current in the neurons was assayed. The change of calcium current induced by A β 25-35 as well as the effect of TanI-

收稿日期 (Date of reception) 2009-09-04

作者简介 (Biography) 朱淑娟, 博士研究生, 讲师, 主要从事神经生物学方面的研究。

通信作者 (Corresponding author) 钱亦华, E-mail: qianyh38@mail.xjtu.edu.cn

基金项目 (Foundation items) 西安市科学技术计划资助项目 (GG04145, GG06175)。 This work was supported by Program of Science and Technology Foundaion of Xi'an, P. R. China (GG04145, GG06175)。

IA on the change of calcium current induced by A β 25-35 in neurons of nbM were analyzed. **Results**

Extracellular fluid containing different concentrations of TanIIA was irrigated, respectively. The peak current did not change obviously. There was no difference in current density between the TanIIA group and the control group at 0 mV ($P > 0.05$). Extracellular fluid containing 200 nmol/L A β 25-35 was irrigated after the normal calcium current recorded under whole patch clamp, and the peak current changed obviously. There was distinct difference in the current density between the A β group and the control group at 0 mV ($P < 0.05$). Extracellular fluid containing A β 25-35 and different concentrations of TanIIA were irrigated after the normal calcium current was recorded under whole patch clamp, respectively, and the peak current did not change. There was no difference in current density between the TanIIA + A β group and the control group at 0 mV ($P > 0.05$). **Conclusion** In vitro, TanIIA could inhibit the calcium current amplification induced by A β 25-35 in neurons of nbM. TanIIA may protect neurons against the toxicity of A β and decrease the inward flow of Ca²⁺.

Key words: tanshinone IIA; β -amyloid protein 25-35; nucleus basalis of Meynert; voltage-dependent calcium current

随着人口的老齡化,阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)发病率呈逐年上升的趋势,因此,目前AD的预防和治疗已成为神经科学领域研究的焦点问题。现代中医学家认为痴呆的病因病机不外乎虚实两端。因此,治疗大多选用补肾、活血、化痰开窍等中药,或补,或通,或通补兼施,有一定临床疗效^[1-2]。

丹参为活血化瘀类中药,具有“活血祛淤、凉血消痈、养血安神”的功效。丹参酮IIA(TanIIA)是丹参主要脂溶性有效成分之一^[3],有如抗癌、抗菌、抗炎、抗氧化、对脑缺血的保护等广泛药理作用^[4-6]。近年李龙宣等^[7]将丹参酮用于类AD病动物模型的防治,取得初步成效。

本课题组在培养的SD大鼠基底前脑神经元上通过MTT实验,提示TanIIA的有效剂量为3.125~12.5 mg/L(待发表),在此基础上,本研究运用膜片钳技术探讨其对类AD病细胞模型作用的离子通道机制,以便为临床寻找有效防治AD药物提供实验数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

正常SD大鼠100只(10~15 d),体质量

25~30 g,雄雌不拘,由西安交通大学医学院实验动物中心提供。

1.1.2 主要试剂

4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)、河豚毒素(TTX)、四乙基氯化胺(TEA-Cl)、三磷酸腺苷二钠盐(Na₂ATP)、乙二醇二乙醚二胺四乙酸(EGTA)、多聚赖氨酸等均购自美国Sigma公司;TanIIA购自西安鸿生生物技术有限公司,A β 25-35购自北京肽合成中心。

1.1.3 主要设备

膜片钳放大器(Axonpatch 200B)为美国Axon instruments公司产品,显示器与摄像头为日本JVC公司产品,倒置相差显微镜为德国Leica公司产品,数模转换器(Digitata 1322A)为美国Axon instruments公司产品,玻璃微电极拉制仪(Model P-97)为美国Sutter instruments公司产品。

1.2 方法

1.2.1 主要溶液及配制

标准细胞外液:NaCl 150 mmol/L, KCl 5 mmol/L, CaCl₂ 2 mmol/L, MgCl₂ 1 mmol/L, HEPES 10 mmol/L,葡萄糖 10 mmol/L,将以上成分按浓度溶解于三蒸水中,pH调至7.4。

TanIIA溶解于二甲基亚砜(DMSO),DMSO终浓度小于0.1%,储存于-20℃冰箱避光备用。

A β 25-35 储备液配制:用无菌蒸馏水配成 1 mmol/L 的储备液,置于 -20 °C 备用,用前再用标准细胞外液配成 200 nmol/L A β 25-35 溶液。

记录用细胞外液:NaCl 120 mmol/L, KCl 5 mmol/L, CaCl₂ 3 mmol/L, MgCl₂ 1 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, 葡萄糖 10 mmol/L, TEA-Cl 30 mmol/L, TTX 0.001 mmol/L, pH 7.3。

记录用电极内液:CsCl 140 mmol/L, TEA-Cl 10 mmol/L, EGTA 10 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, Na₂ATP 2 mmol/L, pH 7.2。

1.2.2 神经元急性分离^[8]

出生 10~15 d 正常 SD 大鼠,在 10% 水合氯醛腹腔深度麻醉下,快速断头,取脑,修剪后用 502 胶粘到干净的标本台上,切活脑片,厚度为 400 μ m,入标准细胞外液中孵育平衡 50 min; 31 °C 下,用 0.016% 链霉菌蛋白酶 E (pronase E) 消化 20~23 min;再入标准细胞外液中孵育 1.5 h,用特制的针扎取 nbM 核团,用不同内径的玻璃管吹散组织块,制成单细胞悬液。分离后的神经元在 20 min 内即可黏附于培养皿中预先涂有多聚赖氨酸的盖玻片上。用标准细胞外液轻轻冲洗培养皿 2~3 次,随机选取胞体较大、形态特征保持良好,表面光滑的梭形、锥体形或椭圆形神经元进行膜片钳全细胞记录。

1.2.3 全细胞记录

使用单细胞膜片钳全细胞模式记录电流。玻璃微电极用外径 1.5 mm 的毛细玻璃管,电极拉制仪两步拉制。记录电极阻抗为 3~6 M Ω 。记录到的膜电流经放大器,再通过 A/D 和 D/A 数

模转换器,输入到计算机上存储。用 Clampex8.2 软件进行数据采集。通过灌流使药物作用于细胞表面,记录神经元电流和相应膜电容。所有药物在使用前均用充氧饱和的标准细胞外液配制成终浓度。灌流速度为 1~2 mL/min。

1.2.4 实验分组与处理

对照组:直接记录钙电流;A β 组:用含有 200 nmol/L A β 25-35 灌流液时记录钙电流;Tan II A 组:又分为 3 个亚组,分别用含有不同浓度(5,7.5,10 mg/L) Tan II A 灌流液时记录钙电流;A β +Tan II A 组:也包括 3 个亚组,分别用含有 3 种不同浓度(5,7.5,10 mg/L) Tan II A 与 200 nmol/L A β 同时灌流并记录钙电流。

1.3 统计学处理

将 Clampex8.2 软件记录下来的原始数据文件经 Clampfit8.2 软件进行测量后,再将这些数据转换到 SPSS11.0 中进行统计学处理,并绘制峰值电流密度-电压曲线图(峰值电流密度=峰值电流/膜电容);所有资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,各组数据采用方差分析及 LSD-*t* 法进行统计分析, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 nbM 神经元形态学观察

倒置相差显微镜下可以看到 nbM 神经元胞体较大,呈梭形、锥体形及椭圆形,立体感强;胞膜光滑;胞质均一;多极神经元多见,可观察到有 2~3 条长而明显的突起(图 1)。

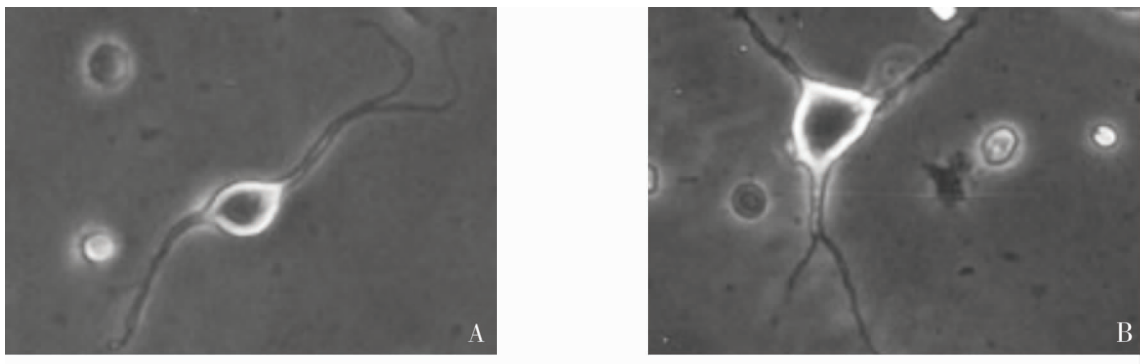


图 1 急性分离的大鼠 nbM 神经元($\times 200$)。A:椭圆形双极神经元;B:锥体形多极神经元。

Fig. 1 Acute dissociated neurons of nbM in rats($\times 200$). A: Bipolar neuron that cell body is oval; B: Multipolar neuron that cell body is conus.

2.2 Tan II A 对正常大鼠 nbM 神经元电压依赖性钙电流的影响

通过灌流给予含有 5, 7.5, 10 mg/L Tan II A 的细胞外液,记录钙电流,发现峰值电流、激活电压及翻转电位与对照组相比没有明显变化,在 0 mV 时峰值电流密度分别为 (- 36. 151 \pm

7.362) pA/pF, (- 36. 592 \pm 9. 102) pA/pF, (- 36.338 \pm 6. 675) pA/pF, 与对照组 [(- 35.686 \pm 10. 127) pA/pF] 比较,差异无统计学意义 ($P > 0. 05$)。电流曲线以及峰值电流密度 - 电压曲线分别见图 2 和图 3。

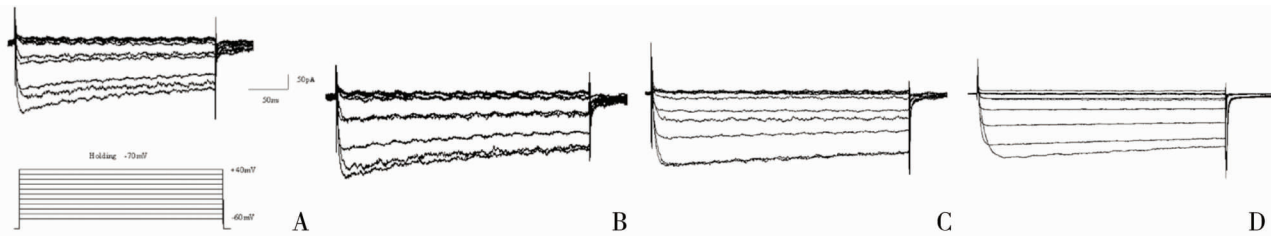


图 2 Tan II A 对 nbM 神经元电压依赖性钙电流作用。A:对照组; B:Tan II A1(5 mg/L); C:Tan II A2(7.5 mg/L); D:Tan II A3(10 mg/L)。

Fig. 2 Effect of Tan II A on voltage-dependent calcium current of neurons of nbM. A:Control group; B:Tan II A1(5 mg/L); C:Tan II A2(7.5mg/L); D:Tan II A3(10 mg/L).

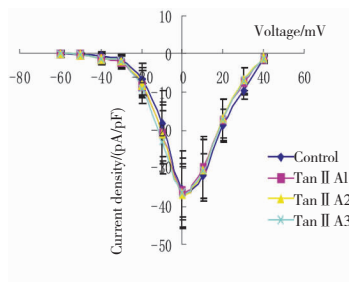


图 3 Tan II A 处理 nbM 神经元后峰值电流密度 - 电压曲线图。

Fig. 3 Curve diagram of peak current density-voltage after treatment of Tan II A.

2.3 A β 25-35 对大鼠 nbM 神经元电压依赖性钙电流的影响

在全细胞记录方式下记录正常钙离子电流,然后用含有 200 nmol/L A β 25-35 的细胞外液进行灌流,观察到在 0 mV 时其峰值电流密度为 (- 59.470 \pm 16. 385) pA/pF, 与对照组 [(- 35.600 \pm 9. 484) pA/pF] 比较明显增大,差异有统计学意义 ($P < 0. 05$),激活电压没有明显变化,峰值电流增加 8.2%。电流曲线以及峰值电流密度 - 电压曲线分别见图 4 和图 5。

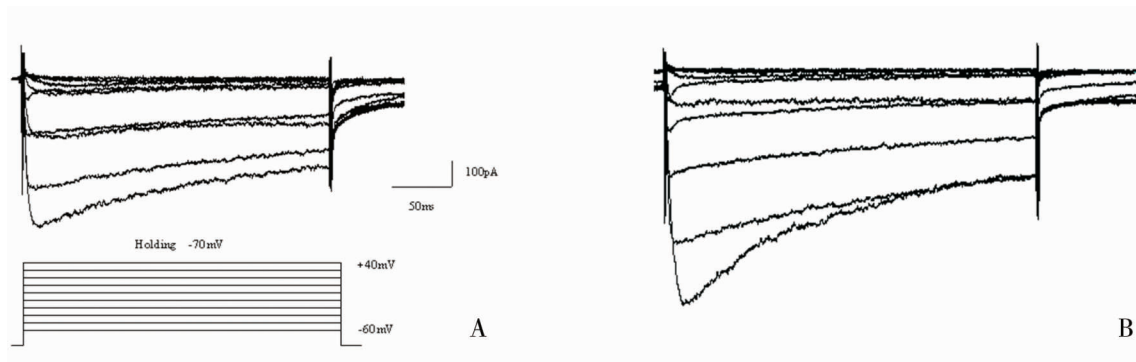


图 4 A β 25-35 对 nbM 神经元电压依赖性钙电流作用。A:对照组; B:200 nmol/L A β 25-35。

Fig. 4 Effect of A β 25-35 on voltage-dependent calcium current of neurons of nbM. A:Control group; B:200 nmol/L A β 25-35.

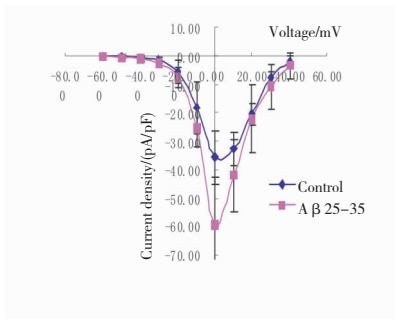


图5 A β 25-35处理nbM神经元后峰值电流密度-电压曲线图。

Fig. 5 Curve diagram of peak current density-voltage after treatment with A β 25-35.

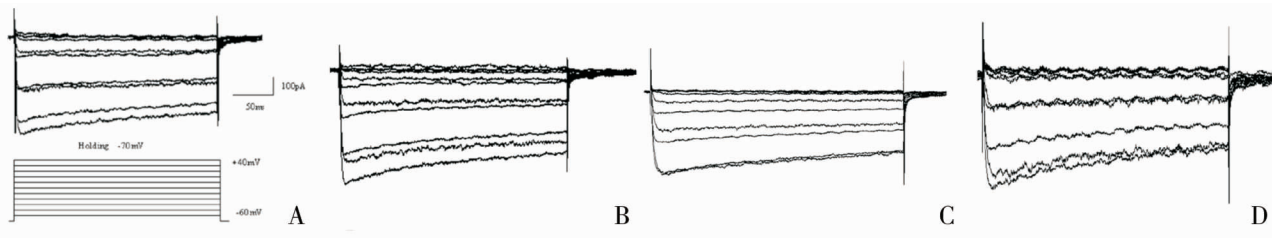


图6 Tan II A对A β 25-35引起nbM神经元电压依赖性钙电流变化的作用。A:对照组; B:A β +Tan II A1(5 mg/L); C:A β +Tan II A2(7.5 mg/L); D:A β +Tan II A3(10 mg/L)。

Fig. 6 Effect of Tan II A on the change of voltage-dependent calcium current of neurons of nbM induced by A β 25-35. A: Control group; B:A β +Tan II A1(5 mg/L); C:A β +Tan II A2(7.5 mg/L); D:A β +Tan II A3(10 mg/L)。

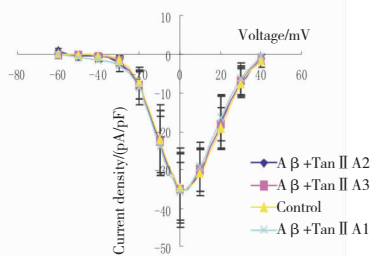


图7 A β +Tan II A对nbM神经元作用的峰值电流密度-电压曲线图。

Fig. 7 Curve diagram of peak current density-voltage after treatment with A β +Tan II A.

3 讨论

已有较多的证据表明 A β 的沉积是 AD 发病的始发事件,而且 AD 的其他病理特征如 tau 蛋

2.4 Tan II A 对 A β 25-35 引起的 Ca²⁺ 电流变化的影响

在形成全细胞记录方式后,保持参数相同,记录钙电流,然后将 5,7.5,10 mg/L Tan II A 分别与 200 nmol/L A β 25-35 同时加入细胞外液灌注,记录钙电流变化情况,发现钙电流峰值、激活电压、翻转电位与对照组比较没有明显差异,在 0 mV 时峰值电流密度分别为 (-35.874 ± 8.494) pA/pF, (-35.001 ± 9.380) pA/pF, (-34.988 ± 8.999) pA/pF,与对照组 [(-34.681 ± 10.240) pA/pF] 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),Tan II A 各剂组间差异也无统计学意义。电流曲线以及峰值电流密度-电压曲线分别见图 6 和图 7。

白的高度磷酸化以及随后的神经原纤维缠结形成等均与 A β 在脑内的沉积密不可分。

A β 在脑内的沉积引起的神经毒性机制包括:通过诱发产生自由基发挥对细胞的损伤作用^[9];通过增加神经元对谷氨酸敏感性,产生神经毒性作用,如过度激活 NMDA 受体,产生对细胞的损伤^[10];通过刺激产生炎症,由活化的小胶质细胞、星形胶质细胞和过度表达的细胞因子产生损伤作用^[11];通过影响细胞内 Ca²⁺ 稳态引起细胞内钙超载从而出现神经元的损伤^[12-13]等一系列机制。Gray 等^[14-16] 研究显示:当 A β 达 1 μ mol/L 时可以对神经细胞产生明显神经毒性作用。本研究观察到亚毒性剂量(200 nmol/L) A β 25-35 引起 nbM 神经元细胞膜上钙电流增大,提示 A β 作用于神经元钙离子通道,诱发钙离子通道异常开放,出现钙离子内流增加,引起神经元内钙稳态失衡,导致神经元损伤。

Tan II A 是丹参脂溶性有效成分之一,具有多

种功效,但有关 Tan IIA 对神经系统作用的报道较少。Meng 等^[17]研究表明 Tan IIA 能对抗由乙醇诱导的 PC12 细胞的凋亡; Xia 等^[5]研究显示 Tan IIA 通过增加脑质量和神经元密度,对新生大鼠缺氧缺血性脑病起神经保护作用。

本实验观察到一定剂量范围 Tan IIA 对急性分离 nbM 神经元细胞膜上钙通道电流影响没有统计学意义, Tan IIA 对亚毒性剂量 A β 25-35 引起的 nbM 神经细胞膜上钙内流具有抑制作用,但无剂量依赖关系。虽然本实验不能完全阐明 Tan IIA 对神经元保护作用机制,但笔者初步分析可能通过以下途径:(1) Tan IIA 和与 A β 竞争性膜上钙离子通道相关受体结合(如 NMDA),阻止了由 A β 引起的钙离子通道异常开放、钙离子内流、钙电流放大,从而起到神经保护作用; NMDA 受体被激活后,通道构像发生改变,促使更多钙离子流入细胞^[18-20]。已有文献报道^[21]: NMDA 受体介导的谷氨酸兴奋毒性在 A β 诱导的神经变性中发挥重要作用,美金刚(memantine)作为 NMDA 受体拮抗剂,可有效改善 AD 的症状。(2) 与 A β 结合,中和 A β ,减少 A β 的毒性作用。笔者观察到当 Tan IIA 存在时,A β 对神经元毒性作用明显降低,目前尚未见文献报道。(3) 抗氧化作用。研究^[9]表明:A β 导致钙失衡是由 A β 对细胞膜的氧化作用使胞外钙流入胞内所致。陈连剑等^[6]研究报道: Tan IIA 具有抗氧化作用, Tan IIA 可以通过消除脂类自由基而阻断脂质过氧化的链式反应,降低神经元细胞膜受损程度,避免钙离子内流,从而起到神经保护作用。当然,究竟是通过一条或几条途径发挥作用还是有其他途径,均需进一步研究验证。

参考文献:

[1] 崔德芝,张恭新,朱振铎.老年性痴呆的中医理论探讨[J].山东中医杂志,2006,25(10):655-657.
CUI Dezhi, ZHANG Gongxin, ZHU Zhenduo. Discussion on pathogenesis of senile dementia from the point of Zangfu-organs theory [J]. Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine, 2006, 25(10): 655-657.

[2] 卢昕,芦霜,陈民.用“补肾祛痰化癥”法辨证施护老年痴呆的研究[J].中华中医药学刊,2009,25(5):1015-1016.
LU Xin, LU Shuang, CHEN Min. Research of dialectically caring old dementia with the method of invigorating kidney

and removing phlegm and blood stasis [J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2009, 25(5): 1015-1016.

- [3] 王庆伟,杨频,张立伟.丹参酮的有效分离[J].山西大学学报:自然科学版,1994,17(3):294-298.
WANG Qinwei, YANG Pin, ZHANG Liwei. The effective isolation of tanshinone [J]. Journal of Shanxi University. Natural Science Edition, 1994, 17(3): 294-298.
- [4] 魏巍.丹参酮的临床应用进展[J].天津药学,2007,19(4):63-65.
WEI Wei. The procession of clinical application on tanshinone [J]. Tianjin Pharmacy, 2007, 9(4): 63-65.
- [5] Xia W J, Yang M, Fok T F, et al. Partial neuroprotective effect of pretreatment with tanshinone IIA on neonatal hypoxia-ischemia brain damage [J]. Pediatr Res, 2005, 58(4): 784-790.
- [6] 陈连剑,李婷,李成.丹参酮 II A 抗大鼠肝星状细胞氧应激脂质过氧化作用的研究[J].中药材,2003,7(26):504-507.
CHEN Lianjian, LI Ting, LI Cheng. The study of effects of tanshinone IIA on oxidative stress lipid peroxidation of hepatic stellate cells in rat [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2003, 7(26): 504-507.
- [7] 李龙宣,许志恩,赵斌,等.丹参酮对阿尔茨海默病样大鼠海马内白介素 1 β 和白介素 6 mRNA 表达的影响[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2004,13(2):168-173.
LI Longxuan, XU Zhi'en, ZHAO Bin, et al. Effect of tanshinone on IL-1 and IL-6 mRNA expressions in the hippocampus of rats with Alzheimer disease [J]. Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 2004, 13(2): 168-173.
- [8] 朱淑娟,钱亦华,韩学哲,等.急性分离 Meynert 核团神经元方法及其应用[J].中国老年学杂志,2006,26(6):811-813.
ZHU Shujuan, QIAN Yihua, HAN Xuezhe, et al. The method for dissociating acutely neurons of Meynert nucleus and its application [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2006, 26(6): 811-813.
- [9] Braidy N, Guillemin G, Grant R. Promotion of cellular NAD (+) anabolism: therapeutic potential for oxidative stress in ageing and Alzheimer's disease [J]. Neurotox Res, 2008, 13(3/4): 173-184.
- [10] 钱亦华,王晓玲,朱淑娟,等. β -淀粉样蛋白增加基底前脑神经元对谷氨酸敏感性研究[J].西安交通大学学报:医学版,2005,26(6):536-540.
QIAN Yihua, WANG Xiaoling, ZHU Shujuan, et al. Study on beta amyloid protein enhancing the sensibility of primary cultured basal forebrain neuron to glutamic acid [J]. Journal of Xi'an Jiaotong University. Medical Sciences, 2005, 26(6): 536-540.
- [11] Li Y, Liu L, Barger S W. Interleukin-1 mediates pathologi-

- cal effects of microglia on tau phosphorylation and on synaptophysin synthesis in cortical neurons through a p38-MAPK pathway [J]. *J Neurosci*, 2003, 23 (5): 1605-1608.
- [12] Khachaturian Z S. Calcium hypothesis of Alzheimer's disease and brain aging [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1994, 747: 1-11.
- [13] Qian Y, Ren H, Hu H, et al. Effect of the total saponin of *Dipsacus asper* on intracellular free calcium concentration in the cellular model of Alzheimer's disease-the technique of scanning confocal microscopy [J]. *Journal of Xi'an Medical University*, 2001, 13 (2): 159-163.
- [14] Gray C W, Petal A J. Neurodegeneration mediated by glutamate and beta-amyloid peptide: a comparison and possible interaction [J]. *Brain Res*, 1995, 691 (1/2): 169-179.
- [15] Qian Y H, Liu Y, Hu H T, et al. The effects of the total saponin of *Dipsacus asperoides* on the damage of cultured neurons induced by β -amyloid protein 25-35 [J]. *Anatom Sci Int*, 2002, 77 (3): 196-200.
- [16] Qian Y H, Han H, Hu X D, et al. Protective effect of ginsenoside Rb1 on amyloid protein (1-42)-induced neurotoxicity in cortical neurons [J]. *Neurol Res*, 2009, 31 (7): 663-667.
- [17] Meng X F, Zou X J, Peng B, et al. Inhibition of ethanol-induced toxicity by tanshinone IIA in PC12 cells [J]. *Acta Pharmacol Sinica*, 2006, 27 (6): 659-664.
- [18] 林奕斌, 赵同军, 展永. N-甲基-D-天氨酸受体的分子结构与生理功能 [J]. *生物学杂志*, 2007, 24 (1): 1-4.
LIN Yibin, ZHAO Tongjun, ZHAN Yong. Molecular structure and physiological function of N-methyl-D-aspartic acid receptor [J]. *Journal of Biology*, 2007, 24 (1): 1-4.
- [19] Madden D R. The structure and function of glutamate receptor ion channels [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2002, 3 (2): 91-101.
- [20] Popescu G. Principles of N-methyl-D-aspartate receptor allosteric modulation [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 68 (4): 1148-1155.
- [21] Sonkusare S K, Kaul C L, Ramarao P. Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders-memantine, a new hope [J]. *Pharmacol Res*, 2005, 51 (1): 1-17.

(本文编辑 彭敏宁)