

· 论著 ·

文章编号: 1007-8738(2013)07-0677-04

## 白藜芦醇对小鼠 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞活化的影响

王卓龙<sup>1\*</sup>, 曾小峰<sup>2</sup>, 李梦涛<sup>2</sup>, 罗小芳<sup>2</sup> (<sup>1</sup>广州医学院第二附属医院风湿病科, 广东 广州 510260; <sup>2</sup>中国医学科学院, 北京协和医学院, 北京协和医院风湿免疫科, 北京 100032)

**[摘要]** 目的 研究白藜芦醇对小鼠 CD4<sup>+</sup> T 细胞活化的影响。方法 将 BALB/c 鼠 (SPF, 雌性, 9~10 周龄) 脾脏单个核细胞与不同浓度 (0、10、20、40 mmol/L) 的白藜芦醇共同孵育 30 min 后, 分别采用刀豆蛋白 A (ConA)、抗 CD3 抗体、抗 CD3/抗 CD28 抗体刺激继续培养; 分别共培养 6 h、36 h 后收集细胞采用单克隆抗体抗 CD4-PerCP 和抗 CD69-FITC 或抗 CD71-FITC 染色后, 流式细胞术检测 CD4<sup>+</sup> T 细胞 CD69、CD71 的表达。结果 白藜芦醇 (≥10 mmol/L) 可显著抑制抗 CD3 抗体引起的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 CD69 表达 ( $P < 0.01$ ), 其抑制作用呈剂量依赖关系。白藜芦醇 (≥20 mmol/L) 可显著抑制由 ConA、抗 CD3/CD28 抗体引起的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 CD69 表达 ( $P < 0.05$ ), 其抑制作用呈剂量依赖关系。白藜芦醇 (≥10 mmol/L) 可显著抑制 ConA 引起的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 CD71 表达 ( $P < 0.05$ ), 其抑制作用呈剂量依赖关系。白藜芦醇 (≥20 mmol/L) 可显著抑制由抗 CD3 抗体、抗 CD3/抗 CD28 抗体引起的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞 CD71 表达 ( $P < 0.05$ ), 其抑制作用呈剂量依赖关系。结论 白藜芦醇具有抑制小鼠 CD4<sup>+</sup> T 细胞活化的作用, 其抑制作用呈剂量依赖关系。

**[关键词]** 白藜芦醇; T 淋巴细胞; CD4; 活化

**[中图分类号]** R392.12, Q949.745.1 **[文献标志码]** A

## Effect of resveratrol on the activation of murine CD4<sup>+</sup> T lymphocytes

WANG Zhuolong<sup>1\*</sup>, ZENG Xiaofeng<sup>2</sup>, LI Mengtao<sup>2</sup>, LUO Xiaofang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Rheumatology, Second Affiliated Hospital, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510260; <sup>2</sup>Department of Rheumatology, Peking Union Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100032, China

**[Abstract]** **Objective** To study the effect of resveratrol on murine CD4<sup>+</sup> T lymphocyte activation. **Methods** Splenic mononuclear cells (SMCs) from specific pathogen free (SPF) BALB/c mice (female, aged 9-10 weeks) were cultured with resveratrol (0, 10, 20, and 40 mmol/L) for 30 min *in vitro*, and then were activated with ConA, anti-CD3 or anti-CD3/anti-CD28. At 6 h (for CD69) and 36 h (for CD71), cells were harvested for being stained with anti-CD4-PerCP and anti-CD69-FITC, or anti-CD4-PerCP and anti-CD71-FITC, and the expressions of CD69 and CD71 were detected respectively using flow cytometry. **Results** Resveratrol (≥10 mmol/L) significantly decreased CD69 levels on CD4<sup>+</sup> T lymphocytes activated with anti-CD3 in a dose-dependent manner ( $P < 0.01$ ). In addition, resveratrol (≥20 mmol/L) decreased CD69 levels on CD4<sup>+</sup> T lymphocytes activated with ConA, and anti-CD3/anti-CD28 in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). When concentrations ≥10 mmol/L, resveratrol depressed CD71 expression on ConA stimulated CD4<sup>+</sup> T lymphocytes ( $P < 0.05$ ), and resveratrol (≥20 mmol/L) decreased CD71 levels on anti-CD3 and anti-CD3/anti-CD28 stimulated CD4<sup>+</sup> T lymphocytes ( $P < 0.05$ ), all in a dose-dependent manner. **Conclusion** Resveratrol inhibits the activation of murine CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in a dose-dependent manner.

**[Key words]** resveratrol; T lymphocyte; CD4; activation

白藜芦醇 (resveratrol, Res) 化学名 3, 5, 4-三羟基苯二烯, 广泛存在于植物和水果中, 因具有心血管保护作用而受到人们重视。研究表明它具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等作用<sup>[1]</sup>。白藜芦醇对免疫系统作

用已有报道<sup>[2-4]</sup>。T 细胞是重要的免疫应答细胞。CD4<sup>+</sup> T 细胞异常活化是系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病发病的重要机制<sup>[5]</sup>。白藜芦醇具有抑制小鼠 T 细胞活化、增殖的作用<sup>[6]</sup>, 但有关其对亚群 CD4<sup>+</sup> T

收稿日期: 2012-12-25; 接受日期: 2013-02-21

基金项目: 广州医学院博士科研项目 (2012C83)

作者简介: 王卓龙 (1967-), 男, 江西余干人, 副主任医师, 医学博士

Tel: 020-34152831; E-mail: wzhuolong@163.com

\* Corresponding author, 王卓龙, E-mail: wzhuolong@163.com



细胞作用报道较少。CD69 是淋巴细胞活化最早表达的膜表面分子。静止状态的 T 细胞不表达 CD69<sup>[7]</sup>。CD71 是识别相对分子质量( $M_r$ )95 000 的转铁蛋白受体(transferrin receptor 1),是细胞生长铁代谢所必需的受体,表达在大多数增殖的细胞上,包括活化的淋巴细胞、单核细胞等,是 T 淋巴细胞中晚期活化标志之一<sup>[8]</sup>。静止状态的 T 细胞不表达 CD71<sup>[8]</sup>。本研究通过体外实验研究白藜芦醇对小鼠 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD69、CD71 表达以了解其对 CD4<sup>+</sup>T 细胞活化的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

SPF 级雌性 BALB/c 鼠,9~10 周龄,体质量 19.6~20.7 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。白藜芦醇、刀豆蛋白 A (concanavalin, ConA) 为 Sigma 公司产品。PerCP 标记的大鼠抗小鼠 CD4 抗体、FITC 标记的仓鼠抗小鼠 CD69 抗体、FITC 标记的大鼠抗小鼠 CD71 抗体、纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD3e 抗体、纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD28 抗体为 BD Pharmingen 公司产品。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 脾单个核细胞(splenic mononuclear cell, SMC)分离和培养

颈椎脱臼法处死小鼠。将无菌分离的脾脏轻轻研磨,匀浆液经 300 目网过滤,经淋巴细胞分层液分离出单个核细胞。通过台盼蓝染色检查细胞活力。计数细胞后将细胞重悬于 RPMI1640 完全培养液中,调整细胞密度为( $1 \times 10^7$ /mL)。将 SMC 悬液( $1 \times 10^7$ /mL)接种于 48 孔培养板(培养体系为 1 mL),细胞培养设 5 组:SMC 对照组(不加活化剂和 Res)、活化剂对照组(加活化剂,不加 Res)、Res10 组(加活化剂,加 10 mmol/L Res)、Res20 组(加活化剂,加 20 mmol/L Res)、Res40 组(加活化剂,加 40 mmol/L Res)。细胞活化分别采用 ConA(终浓度 2.5  $\mu$ g/mL)刺激、纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD3e 抗体(1  $\mu$ g/mL)刺激、纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD3e 抗体(1  $\mu$ g/mL)和纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD28(1  $\mu$ g/mL)联合刺激。各组细胞先和 Res 于 37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 30 min 后,再加活化剂于 37 $^{\circ}$ C、50 mL/L CO<sub>2</sub> 培养箱孵育。共培养 6 h 后收集细胞检测 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD69 的表达;共培养 36 h 后收集细胞检测 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD71 的表达。

#### 1.2.2 CD69 表达的检测

SMC 悬液( $1 \times 10^7$ /mL)100  $\mu$ L 中加入 FITC 标记的仓鼠抗小鼠 CD69 抗体和 PerCP 标记的大鼠抗小鼠 CD4 抗体,室温避光作用 30 min。PBS 洗涤后重悬细胞。BD FACSAria 流式细胞仪检测。设阴性和单阳管对照。

#### 1.2.3 CD71 表达的检测

SMC 悬液( $1 \times 10^7$ /mL)100  $\mu$ L 中加入 FITC 标记的大鼠抗小鼠 CD71 抗体和 PerCP 标记的大鼠抗小鼠 CD4 抗体,室温避光染色 30 min。PBS 洗涤后重悬细胞。BD FACSAria 流式细胞仪检测。设阴性管和单阳管对照。

#### 1.2.4 统计学分析

计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS17.0 软件处理。组间比较采用  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CD4<sup>+</sup>T 细胞设门

SMC 中由 Gate1 圈定淋巴细胞(图 1A),由 Gate2 圈定 CD4<sup>+</sup>T 细胞(图 1B)。

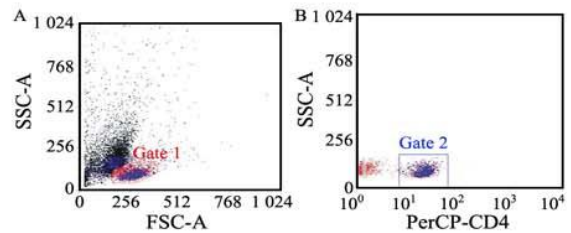


图1 CD4<sup>+</sup>T 细胞设门

### 2.2 白藜芦醇对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD69 表达的影响

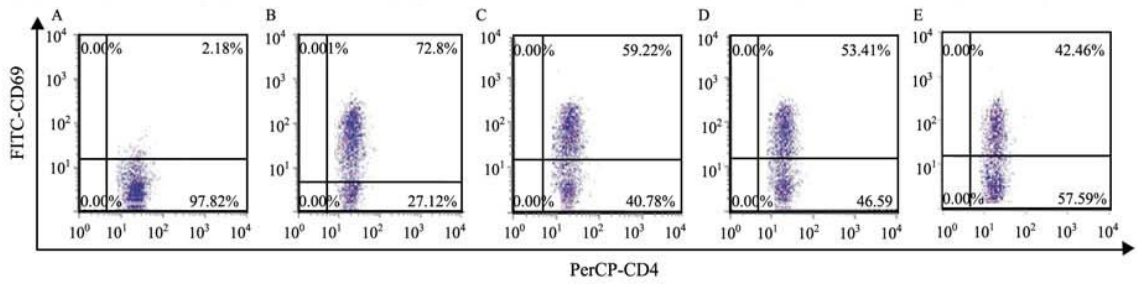
以 ConA 为活化剂,观察 Res 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD69 表达的影响(图 2 和图 3A)。SMC 经 ConA 刺激后 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>T 细胞比例明显增高,有显著性差异[(3.72  $\pm$  1.18)% vs (82.24  $\pm$  5.46)% ,  $t = 38.27$ ,  $P < 0.01$ ]。SMC 经 10、20、40 mmol/L Res 干预后再和 ConA 共培养,CD4<sup>+</sup>T 细胞中 CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>T 细胞比例分别为(75.33  $\pm$  11.51)%、(71.52  $\pm$  6.49)%、(62.51  $\pm$  10.93)%。Res ( $\geq 20$  mmol/L)可显著抑制 ConA 引起的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 CD69 表达( $P < 0.05$ ),并且存在量效依赖关系。

以纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD3e 抗体为活化剂,观察 Res 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD69 表达的影响(图 3B)。发现 SMC 经抗小鼠 CD3e 抗体刺激后 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>T 细胞比例明显增高,有显著性差异[(4.98  $\pm$  3.16)% vs (66.92  $\pm$  7.97)% ,  $t = 14.53$ ,  $P < 0.01$ ]。SMC 经 10、20、40 mmol/L Res 干预后再和抗 CD3e 抗体共培养,CD4<sup>+</sup>T 细胞中 CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>T 细胞比例分别为(51.74  $\pm$  6.53)%、(46.11  $\pm$  8.12)%、(33.07  $\pm$  7.37)%。Res ( $\geq 10$  mmol/L)可显著抑制抗 CD3e 抗体引起的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 CD69 表达( $P < 0.01$ ),并且存在量效依赖关系。

以纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD3e 抗体联合纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD28 抗体为活化剂,观察 Res 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD69 表达的影响(图 3C)。SMC 经抗小鼠 CD3e 抗体和抗小鼠 CD28 抗体联合刺激后,CD4<sup>+</sup>T 细胞中 CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>T 细胞比例明显增高,有显著性差异[(3.68  $\pm$  0.71)% vs (82.37  $\pm$  5.14)% ,  $t = 34.49$ ,  $P < 0.01$ ]。SMC 经 10、20、40 mmol/L Res 干预后再和抗 CD3 抗体/CD28 抗体共培养,CD4<sup>+</sup>T 细胞中 CD4<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>T 细胞比例分别为(72.93  $\pm$  13.11)%、(69.16  $\pm$  14.87)%、(61.80  $\pm$  12.88)%。Res ( $\geq 20$  mmol/L)可显著抑制抗 CD3 抗

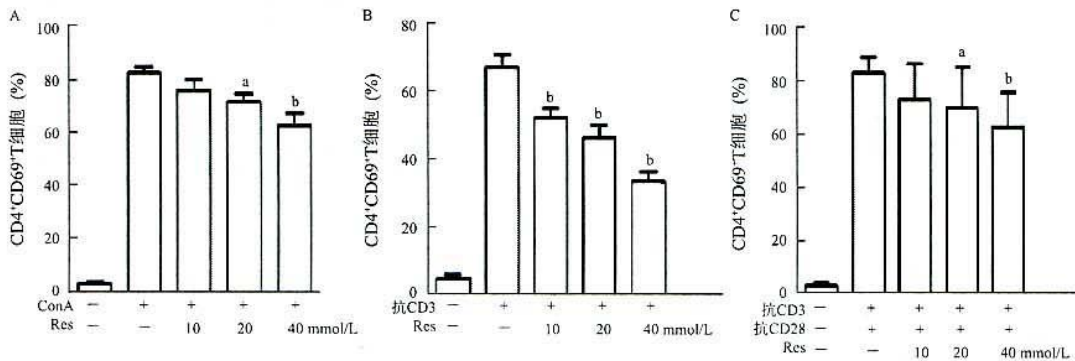


体/抗 CD28 抗体引起的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 CD69 表达 ( $P < 0.05$ ), 并且存在量效依赖关系。



A: SMC 对照组; B: ConA 对照组; C: Res10 组; D: Res20 组; E: Res40 组。

图 2 Res 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD69 表达的影响 (ConA 为刺激剂)



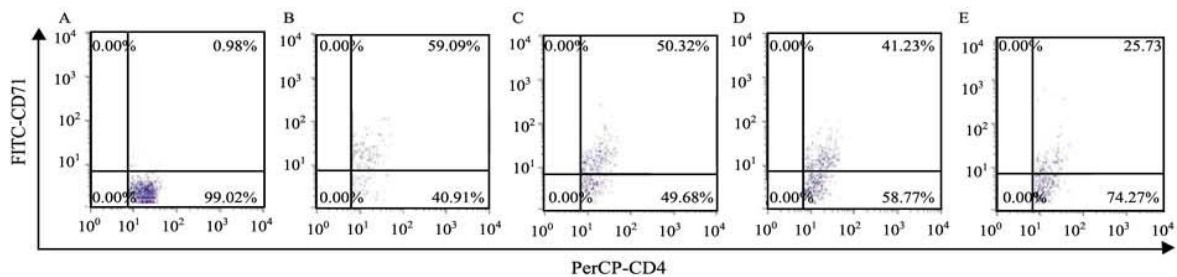
\* $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 活化剂 (+) Res (-) 组。

图 3 Res 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD69 表达影响 ( $n = 6$ )

### 2.3 白藜芦醇对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD71 表达的影响

以 ConA 为活化剂, 观察 Res 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD71 表达的影响 (图 4, 图 5A)。SMC 经 ConA 刺激后 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD71 表达水平明显升高 [(74.67 ± 11.14)% vs (3.63 ± 2.16)%],  $t = 17.35$ ,  $P < 0.01$ 。

与活化剂对照组比较, 不同浓度的 Res 处理组 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 CD4<sup>+</sup>CD71<sup>+</sup>T 细胞比例均明显下降 (图 3A), 白藜芦醇 (≥10 mmol/L) 可显著抑制 ConA 引起的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 CD71 表达, 并且存在量效依赖关系。



A: SMC 对照组; B: ConA 对照组; C: Res10 组; D: Res20 组; E: Res40 组。

图 4 Res 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD71 表达的影响 (ConA 为刺激剂)

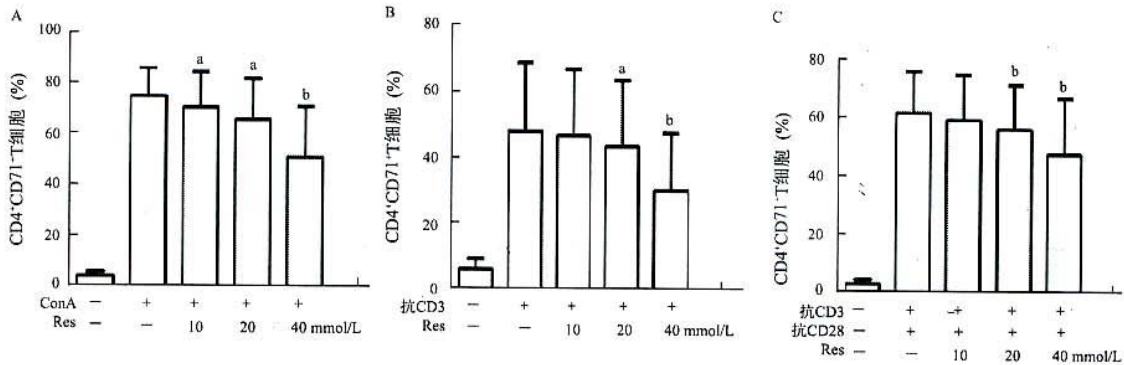
以纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD3e 抗体为活化剂, 观察 Res 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD71 表达的影响 (图 5B)。SMC 经抗 CD3e 抗体刺激后 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD71 表达水平明显升高 [(48.06 ± 20.75)% vs (5.77 ± 3.34)%],  $t = 5.70$ ,  $P < 0.01$ 。Res 各组和活化剂对照组比较, 其中白藜芦醇 (≥20 mmol/L) 可显著抑制

抗 CD3 抗体引起的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 CD71 表达, 具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 并且存在量效依赖关系。

以纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD3e 抗体联合纯化的 NA/LE 仓鼠抗小鼠 CD28 抗体为活化剂, 观察 Res 对 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD71 表达的影响 (图 5C)。SMC 经抗 CD3e 抗体和抗 CD28 抗体联合刺激后, CD4<sup>+</sup>T

细胞 CD71 表达水平明显升高[(61.43 ± 14.42)% vs (2.26 ± 1.73)% ,  $t = 10.64$ ,  $P < 0.01$ ]。Res 各组和活化剂对照组比较, 其中 Res( $\geq 20$  mmol/L)可显著

抑制抗 CD3 $\epsilon$  抗体和抗 CD28 抗体联合刺激引起的 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞 CD71 表达, 具有统计学意义( $P < 0.01$ ), 并且存在量效依赖关系。



\* $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 活化剂(+) Res(-)组.

图5 Res对CD4<sup>+</sup>T细胞CD71表达的影响( $n = 6$ )

### 3 讨论

CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞在系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病发病中起重要作用<sup>[5]</sup>。在CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞持续刺激下, B细胞异常活化产生自身抗体是系统性红斑狼疮的重要发病机制<sup>[5]</sup>。本实验以CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞为研究对象, 观察白藜芦醇对CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞活化的作用。

T细胞活化有赖于其受体TCR与抗原的特异性结合和抗原提呈细胞上的协同刺激分子与T细胞表面的相应受体的相互作用<sup>[9]</sup>。T淋巴细胞抗原受体要借助于CD3、CD4/CD8和CD28等分子的辅助才能将胞外刺激信号传导至细胞内部, 使转录因子活化, 转位到核内, 活化相关基因<sup>[9]</sup>。

CD25是淋巴细胞中期活化的标志。白藜芦醇可抑制CD25的表达, 抑制T淋巴细胞活化<sup>[6]</sup>。白藜芦醇对CD4<sup>+</sup>T细胞CD69、CD71表达的影响报道极少。本研究通过检测细胞早期活化标志CD69和晚期活化标志CD71, 结果发现白藜芦醇可抑制由抗CD3、抗CD3/CD28、ConA刺激引起的CD4<sup>+</sup>T细胞CD69和CD71的表达, 其抑制作用呈剂量依赖关系。本实验结果表明白藜芦醇对CD4<sup>+</sup>T细胞的活化具有抑制作用, 结果与文献报道结果相似<sup>[6]</sup>。

白藜芦醇抑制CD4<sup>+</sup>T细胞活化的机制尚不清楚。T细胞活化的信号转导通路需要转录因子AP-1、NF- $\kappa$ B等参与<sup>[9]</sup>。白藜芦醇是Sirt1的特异性激动剂<sup>[1]</sup>。Sirt1是依赖NAD的去乙酰化酶, 存在于细胞核和胞质中<sup>[10]</sup>。它可催化蛋白质赖氨酸残基发生去乙酰化反应, 作用底物包括组蛋白、NF- $\kappa$ B、FOXO家族、AP-1、P53、PPAR- $\gamma$ 、内皮细胞NO合酶、

PARP1、STAT3、组蛋白甲基转移酶SUV39H1等<sup>[11-14]</sup>。AP-1由c-Jun和c-fos组成, Sirt1可催化c-Jun发生去乙酰化反应导致AP-1活性下降<sup>[10-11]</sup>。NF- $\kappa$ B是由p50和p65两个亚单位形成的同源或异源二聚体。Sirt1可将NF- $\kappa$ B的p65亚基K310去乙酰化而影响相关基因转录<sup>[10]</sup>。推测白藜芦醇抑制CD4<sup>+</sup>T细胞活化可能与其激动Sirt1表达有关, 后者再通过催化AP-1、NF- $\kappa$ B发生去乙酰化反应导致AP-1、NF- $\kappa$ B活性下降, 最终表现为抑制CD4<sup>+</sup>T细胞活化作用, 这有待于在以后的实验中验证。

总之, 本研究结果提示白藜芦醇具有抑制小鼠CD4<sup>+</sup>T细胞活化的作用, 其抑制作用呈剂量依赖关系。

### 参考文献:

- [1] Nakata R, Takahashi S, Inoue H. Recent advances in the study on resveratrol[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(3): 273-279.
- [2] Xuzhu G, Komai-koma M, Leung BP, et al. Resveratrol modulates murine collagen-induced arthritis by inhibiting Th17 and B-cell function[J]. Ann Rheum Dis, 2012, 71(1): 129-135.
- [3] Imler TJ Jr, Petro TM. Decreased severity of experimental autoimmune encephalomyelitis during resveratrol administration is associated with increased IL-17<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup>T cell, CD4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> cell, and decreased macrophage IL-6 expression[J]. Int Immunopharmacol, 2009, 9(1): 134-143.
- [4] Sharma S, Chopra K, Kulkarni SK, et al. Resveratrol and curcumin suppress immune response through CD28/CTLA-4 and CD80 co-stimulatory pathway[J]. Clin Exp Immunol, 2007, 147(1): 155-163.
- [5] Tsokos GC. Systemic Lupus Erythematosus[J]. N Engl J Med, 2011, 365(22): 2110-2121.

(下转 684 页)



### 3 讨论

一氧化氮(NO)和TNF- $\alpha$ 是细胞之间信息传递的调节因子,具有介导细胞免疫和炎症反应的作用。当机体发生炎症反应,致炎物质和炎症介质会增加NO和TNF- $\alpha$ 的合成和释放。过量的NO及其稳定性衍生物过氧亚硝基阴离子对细胞具有毒性作用。过量的TNF- $\alpha$ 会加重炎症损伤和诱导其它细胞因子的生成。在活化的巨噬细胞中诱生型一氧化氮合酶(iNOS)是合成NO的限速酶,iNOS的变化会直接调控NO的生成。TNF- $\alpha$ 具有上调iNOS的表达,促进NO的生成<sup>[10]</sup>。因此限制过量NO和TNF- $\alpha$ 的生成可以预防和治疗炎症的,调节NO合成或影响TNF- $\alpha$ 变化是研究预防和治疗炎症的靶点。

降香具有抗炎活血作用,常被用来治疗心血管疾病和外伤出血等多种炎症疾病。本研究选择NO和TNF- $\alpha$ 作为靶点来研究降香中化合物抗炎活性的分子机制。结果显示降香中异甘草素、甘草素、柚皮素和sativanone对LPS诱导的RAW264.7细胞NO释放有抑制作用,并且呈明显剂量依赖关系。有文献报道降香中的甘草素、异甘草素等抗炎作用<sup>[11]</sup>,但其他成分的抗炎作用还不清楚。本研究发现sativanone抗炎活性较佳,sativanone抑制炎症因子TNF- $\alpha$ 的分泌,随着sativanone浓度的增加,TNF- $\alpha$ 的分泌量减少,且呈明显的剂量依赖关系。推测sativanone通过抑制TNF- $\alpha$ 的分泌,抑制iNOS的表达,减少NO的生成。降香中的异甘草素、甘草素、柚皮素和sativanone通过降低NO水平发挥抗炎作用。Sativanone通过抑制炎症因子TNF- $\alpha$ 的生成和减少NO的生成发挥抗炎作用。

### 参考文献:

- [1] Feng J, Xiao Y, Guo Z, et al. Purification of compounds from *Lignum Dalbergia Odorifera* using two-dimensional preparative chromatography with Click oligo (ethylene glycol) and C18 column[J]. J Sep Sci, 2011, 34(3): 299-307.
- [2] 郭丽冰,孙丽丽.降香中黄酮类化学成分研究[D].广东:广东药学院,2009.
- [3] Songsiang U, Wanich S, Pitchuanom S, et al. Bioactive constituents from the stems of *Dalbergia parviflora*[J]. Fitoterapia, 2009, 80(7): 427-431.
- [4] 刘志刚.抗肿瘤中药在临床中的应用[J].中国当代医药,2010,17(13): 99-100.
- [5] Umehara K, Nemoto K, Matsushita A, et al. Flavonoids from the heartwood of the Thai medicinal plant *Dalbergia parviflora* and their effects on estrogenic-responsive human breast cancer cells [J]. J Nat Prod, 2009, 72(12): 2165-2167.
- [6] 黄胜阳,屠鹏飞.红车轴草异黄酮化合物的分离与鉴定[J].北京大学报(自然科学版),2004,40(7): 544-553.
- [7] Ma CJ, Li GS, Zhang DL, et al. One step isolation and purification of liquiritigenin and isoliquiritigenin from *Glycyrrhiza uralensis* Risch using high-speed counter-current chromatography [J]. J Chromatogr A, 2005, 1078(1-2): 188-192.
- [8] 陈佩东,严辉,张丽,等.蒲黄化学成分研究II[J].海峡药学,2008,20(12): 64-67.
- [9] Diaz Napal GN, Carpinella MC, Palacios SM. Antifeedant activity of ethanolic extract from *Flourensia olepis* and isolation of pinocembrin as its active principle compound [J]. Bioresour Technol, 2009, 100(14): 3669-3673.
- [10] Hauek SB, Taffet GE, Schneider MD, et al. TNF provokes cardiomyocyte apoptosis and remodeling through activation of multiple cell death pathways[J]. J Clin Invest, 2007, 117(9): 2692-2701.
- [11] Lee SH, Kim JY, Seo GS, et al. Isoliquiritigenin, from *Dalbergia odorifera*, up-regulates anti-inflammatory heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages[J]. Inflamm Res, 2009, 58(5): 257-262.
- [12] and physiology of sirtuins[J]. Nature, 2009, 460(7255): 587-591.
- [13] Zhang J, Lee SM, Shannon S, et al. The type III histone deacetylase Sirt1 is essential for maintenance of T cell tolerance in mice[J]. J Clin Invest, 2009, 119: 3048-3058.
- [14] Vaquero A, Scher M, Erdjument-Bromage H, et al. SIRT1 regulates the histone methyl-transferase SUV39H1 during heterochromatin formation[J]. Nature, 2007, 450(7168): 440-444.
- [15] Nie Y, Erion DM, Yuan Z, et al. STAT3 inhibition of gluconeogenesis is downregulated by Sirt1[J]. Nat Cell Biol, 2009, 11(4): 492-500.
- [16] Baur JA. Biochemical effects of SIRT1 activators [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1804(8): 1626-1634.

(上接 680 页)

- [6] 俞瑜,曾耀英,季煜华,等.白藜芦醇对小鼠T细胞活化、增殖及细胞因子分泌的影响[J].细胞与分子免疫学杂志,2005,21(6): 697-699.
- [7] Gupta S, Marcel N, Talwar S, et al. Developmental heterogeneity in DNA packaging patterns influences T-cell activation and transmigration[J/OA]. PLoS One, 2012, 7(9): e43718.
- [8] Shipkova M, Wieland E. Surface markers of lymphocyte activation and markers of cell proliferation[J]. Clin Chim Acta, 2012, 413(17-18): 1338-1349.
- [9] Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation[J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27: 591-619.
- [10] Finkel T, Deng CX, Mostoslavsky R. Recent progress in the biology