

1-磷酸鞘氨醇后适应对 H9c2 心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用

郑新彬¹, 苏健², 高卫真^{1*}, 温克^{1*} (1.天津医科大学药理教研室, 天津 300070; 2.天津市中心妇产科医院药剂科, 天津 300100)

摘要: 目的 研究 1-磷酸鞘氨醇(S1P)后适应对 H9c2 心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用, 并探讨其作用机制。方法 将培养的 H9c2 心肌细胞随机分为 5 组, 即正常对照组、缺氧/复氧组、S1P 低浓度组、S1P 中浓度组和 S1P 高浓度组。测定各组 H9c2 心肌细胞的存活率; 收集细胞培养液测定超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量; 流式细胞仪检测心肌细胞凋亡百分率; Fura 2-AM 标记细胞内游离钙离子, 检测荧光强度以反映细胞内游离钙离子浓度的变化; Western blot 法测定保护性蛋白热休克蛋白 70(HSP70)的表达情况。结果 对于缺氧/复氧损伤的 H9c2 心肌细胞, S1P 能够提高细胞的存活率, 降低细胞内 MDA 含量及细胞内钙离子浓度, 提高细胞内 SOD 活力, 增强抗凋亡蛋白 HSP70 的表达, 且呈一定的浓度依赖性。结论 S1P 可以减轻心肌细胞氧化应激损伤, 改善心肌细胞活力并减少凋亡。S1P 对心肌细胞的保护作用可能是通过减少 Ca²⁺超负荷, 增加抗凋亡蛋白 HSP70 表达来实现的。

关键词: 1-磷酸鞘氨醇; 缺氧/复氧损伤; 心肌细胞; 细胞凋亡; 细胞内钙离子; 热休克蛋白 70

中图分类号: R965

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)01-0001-05

Protective Effects of Sphingosine-1-phosphate Postconditioning on Hypoxia/Reoxygenation Injury in Rat H9c2 Cardiomyocytes

ZHENG Xinbin¹, SU Jian², GAO Weizhen^{1*}, WEN Ke^{1*} (1.Department of Pharmacology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2.Department of Pharmacy, Tianjin Central Hospital of Gynecology Obstetrics, Tianjin 300100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate protective effect and mechanism of sphingosine 1-phosphate(S1P) postconditioning on H9c2 cardiomyocytes exposed to hypoxia/reoxygenation injury. **METHODS** H9c2 cardiomyocytes were randomly divided into five groups: normal control group, hypoxia/reoxygenation group, S1P low-dose group, S1P middle-dose group and S1P high-dose group. The survival rates of cardiomyocytes were detected. The activity of superoxide dismutase(SOD) and the content of malondialdehyde(MDA) in the culture medium was measured. The apoptotic percentage was measured with flow cytometry. The free intracellular calcium ions were labeled by Fura 2-AM and the fluorescent intensity produced by Fura 2-AM was measured, which reflected the changes of the concentration of the free intracellular calcium ions. Western blot was performed to examine expression of heat shock protein 70(HSP70) in cardiomyocytes respectively. **RESULTS** S1P could protect H9c2 cardiomyocytes against hypoxia/eoxygenation injury, increase cell survival rate, decrease the content of MDA and free intracellular calcium, increase the activity of SOD, increase the expression of HSP70, with a certain concentration dependent manner. **CONCLUSION** S1P can reduce hypoxia/reoxygenation induced oxidative stress in cardiac myocytes, improve myocardial viability and reduce the apoptotic rate. The mechanism may depend on reducing intracellular calcium overload and increasing the expression of HSP70.

KEY WORDS: sphingosine 1-phosphate; hypoxia/reoxygenation; cardiomyocytes; apoptotic; intracellular calcium; HSP70

缺血/再灌注(ischemia reperfusion, I/R)损伤是心肌缺血后, 再次恢复供血后, 在随后的一定时间内组织或器官的损伤不仅不会减轻, 反而加重的现象^[1]。1986年 Murry 等^[2]发现可通过心肌缺血预适应(ischemia preconditioning, IPC)诱发心肌内源性自我保护作用, 但是该方法为有创性操作,

使其临床应用受限。基于对 IPC 机制的认识, 人们发现在缺血损伤或再灌注前给予药物干预(如腺苷、吸入性麻醉药、硝酸酯类、ATP 敏感性钾通道开放剂等)可模拟机体内源性保护机制, 以发挥类似 IPC 的心肌保护作用, 称作药理性预适应或药理性后适应^[3]。与 IPC 比较, 药理性后适应更适

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81173058); 天津市应用基础及前沿技术 research 计划(10JCZDJC20900)

作者简介: 郑新彬, 男, 硕士生 Tel: 18622789986 E-mail: zhengxinbin14@163.com *通信作者: 高卫真, 女, 教授, 硕士 Tel: (022)23542523 E-mail: weizhengao33@163.com 温克, 男, 博士, 副教授 Tel: 13820883653 E-mail: wenke@tjmu.edu.cn

用于临床应用。

1-磷酸鞘氨醇(sphingosine 1-phosphate, S1P)是细胞神经鞘磷脂代谢产物之一^[4-5]。研究发现, S1P具有调节细胞增殖、再生、迁移及细胞内钙离子移动、黏附分子表达和激活单核细胞黏附内皮细胞等生物功效^[6]。本实验室前期研究亦发现, S1P具有心血管系统保护作用, 可抑制氧化应激或炎症状态下血管内皮细胞损伤, 减缓通透性增加^[7-8], 但是对心肌细胞是否具有保护作用尚不清楚。本研究拟通过体外心肌细胞缺氧/复氧模型, 模拟在体心肌 I/R 损伤, 观察 S1P 对心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用。并通过观察 S1P 对心肌细胞 Ca^{2+} 浓度($[Ca^{2+}]_i$)、心肌细胞凋亡、心肌细胞热休克蛋白 70(heat shock protein 70, HSP70)表达的影响, 初步探讨 S1P 对心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用的机制。

1 材料

H9c2 心肌细胞株(中国协和医科大学基础医学研究所细胞中心); S1P(美国 Cayman 公司, 批号: 0429998-8); Fura 2-AM(批号: S1052)、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒(批号: C1063)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠抗体(批号: A0216)均购自碧云天生物技术研究所; MDA、SOD 检测试剂盒(批号: 20121124)均购自南京建成生物工程研究所; 鼠抗人 HSP70 单克隆抗体(批号: D2658)、 β -actin 抗体(批号: L0511)均购自美国 Santa Cruz 公司。HEPA class 100 CO₂ 培养箱(美国 Thermo 公司); Olympus CK2 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司); Model 680 型酶标仪(美国 BIO-RAD 公司); 缺氧箱(美国 Billups-rothenberg 公司); FACSCalibur 型流式细胞仪(美国 BD 公司)。

2 方法

2.1 细胞分组

将培养的大鼠 H9c2 心肌细胞随机分为 5 组, 即正常对照组、缺氧/复氧(H/R)组、S1P 低浓度(L)组、S1P 中浓度(M)组、S1P 高浓度(H)组。正常对照组常规培养; H/R 组缺氧培养 16 h, 复氧 4 h; 其他各组则在复氧前加入相应浓度的 S1P 复氧 4 h, 终浓度分别为 2, 4, 6 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2 模型的建立

预先用 95% N₂+5% CO₂ 的混合气饱和和模拟缺氧液 30 min, 将 H9c2 心肌细胞用模拟缺氧液置换正常培养液, 37 °C 培养箱缺氧培养 16 h; 然后再将缺氧后的心肌细胞换用预先用 95% O₂+5% CO₂

饱和的含药 DMEM 低糖培养基在正常培养条件下培养 4 h, 建立 H/R 损伤模型。

2.3 测定指标

2.3.1 细胞存活率 各组细胞经缺氧 16 h 以及复氧 4 h 处理后, 利用 MTT 法测定 490 nm 下每孔光吸收度值(OD 值), 并计算各组细胞存活率。

2.3.2 MDA 含量、SOD 活性的检测 按“2.2”项下实验结束后收集培养液, 按 MDA、SOD 试剂盒说明操作, 比色法测定各组细胞培养液 MDA 含量及 SOD 活性。

2.3.3 流式细胞仪检测心肌细胞凋亡百分率 按“2.2”项下实验结束后, 消化法收集细胞, 采用 Annexin V/PI 双染法对凋亡细胞进行染色, 流式细胞仪测定荧光强度, 并以 Expo32 软件处理分析、计算凋亡率。

2.3.4 Western blot 测定心肌细胞 HSP70 的蛋白表达 按“2.2”项下实验结束后裂解细胞, BCA 法蛋白定量, 将蛋白样本进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 电转膜法将胶中蛋白转移至硝酸纤维素膜, 封闭液室温封闭 1 h, 一抗 4 °C 孵育过夜, 二抗室温孵育 1 h, 加入 ECL 发光液 1 min 显色。经显影、定影后测定特异性条带光密度值。

2.3.5 心肌细胞内钙离子测定 参照文献[9]中的方法, 再结合实验室的情况进行改进: 实验结束后, 弃培养液, 用含 0.2% BSA 的 PBS 冲洗 3 次。加入 3 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Fura-2/AM, 37 °C 避光下负载 35 min。负载结束后, 用 2 mL 含 0.2% BSA 的 PBS 冲洗 3 次, 最后加入 1 mL PBS, 荧光显微镜下观察各组荧光强度的变化, 用 ImageJ2x 软件处理分析、计算各组的荧光强度。

2.4 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均数间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)检验。显著性检验水平 $\alpha=0.05$, 显著性检验标志 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。所有统计分析采用 SPSS 16.0 软件对数据进行处理。

3 结果

3.1 S1P 对 H9c2 心肌细胞 H/R 损伤存活率的影响 与正常对照组相比, H/R 组细胞的存活率明显降低($P<0.01$); S1P 各个浓度干预组存活率比 H/R 组有明显升高, 损伤明显减轻, 其中 S1P 的 M 组及 H 组与 H/R 组比较, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 结果见表 1。

表 1 S1P 对 H9c2 心肌细胞 H/R 损伤细胞活力、MDA 含量、SOD 活性和凋亡率的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of S1P on cell viability, MDA, SOD and apoptotic rate in H9c2 cardiomyocytes exposed to H/R injury ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	细胞存活率/%	MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	凋亡率/%
正常对照组	100±0	1.37±0.097	21.14±1.33	5.6±3.27
H/R 组	68.72±6.02 ²⁾	2.55±0.132 ²⁾	11.18±1.15 ²⁾	20.2±9.37 ²⁾
S1P L 组	73.90±10.77 ²⁾	1.98±0.125 ²⁾⁴⁾⁵⁾	14.00±0.89 ²⁾³⁾⁶⁾	13.7±11.78 ²⁾³⁾
S1P M 组	80.15±9.78 ²⁾³⁾	1.71±0.095 ¹⁾⁴⁾	17.77±1.60 ¹⁾⁴⁾	10.5±8.66 ¹⁾⁴⁾
S1P H 组	80.85±9.50 ²⁾³⁾	1.67±0.193 ¹⁾⁴⁾	18.45±1.52 ¹⁾⁴⁾	11.1±7.39 ¹⁾⁴⁾

注: 与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与 H/R 组比较, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$; 与 S1P H 组比较, ⁵⁾ $P<0.05$, ⁶⁾ $P<0.01$

Note: Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with H/R group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$; compared with S1P H group, ⁵⁾ $P<0.05$, ⁶⁾ $P<0.01$

3.2 S1P 对 H9c2 心肌细胞 H/R 损伤 MDA 含量和 SOD 活性的影响

与正常对照组比较, H/R 组 MDA 含量升高、SOD 活性降低($P<0.01$); 与 H/R 组相比, S1P 各个浓度组可降低 MDA 含量, 并升高 SOD 活性升高($P<0.01$), 且 S1P 的 L 组与 H 组比较差异具有统计学意义($P<0.01$), S1P 的 M 组与 H 组比较差异不具有统计学意义($P>0.05$), 结果见表 1。

3.3 S1P 对 H9c2 心肌细胞 H/R 损伤凋亡率的影响

正常对照组的 H9c2 细胞发生凋亡较少, H/R 组与正常对照组相比细胞凋亡显著增加($P<0.01$); S1P 的 L 组、M 组、H 组经 S1P 处理后与 H/R 组比较, 凋亡率有所下降(分别为 $P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.01$), 结果见表 1 和图 1。

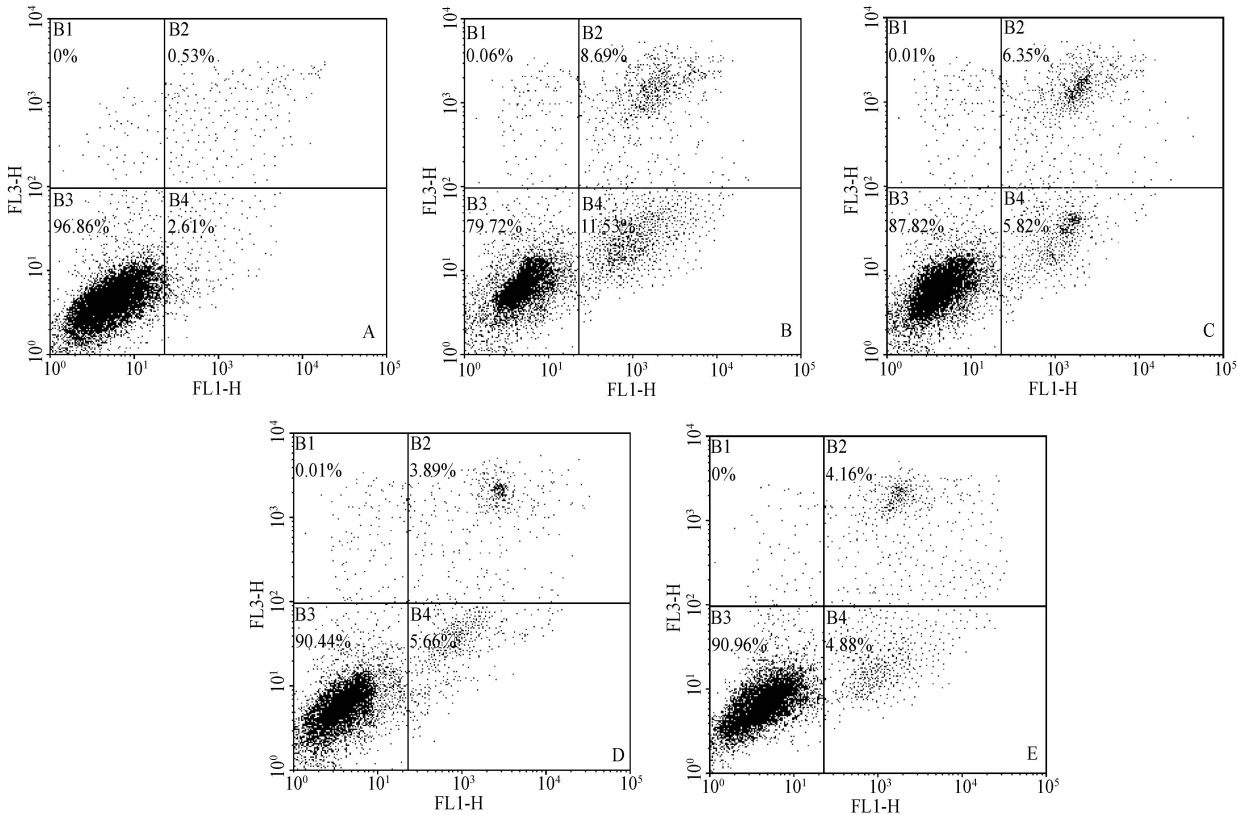


图 1 S1P 对 H9c2 心肌细胞 H/R 损伤凋亡率的影响

A-正常对照组; B-缺氧/复氧组; C-S1P L 组; D-S1P M 组; E-S1P H 组

Fig 1 Effect of S1P on the apoptotic rate of H9c2 cardiomyocytes exposed to hypoxia /reoxygenation injury

A-normal control group; B-H/R group; C-S1P L group; D-S1P M group; E-S1P H group

3.4 S1P 对 H9c2 心肌细胞 H/R 损伤 HSP70 蛋白表达的影响

Western blot 检测结果显示, 正常对照组有一定的 HSP70 蛋白表达, 缺氧/复氧损伤使 HSP70

蛋白表达有所升高, 条带强度明显增强($P<0.01$); 加入不同浓度 S1P 干预后, HSP70 蛋白表达明显增强, 条带强度更强, 并呈一定的剂量依赖性 ($P<0.01$), 结果见图 2 和图 3。

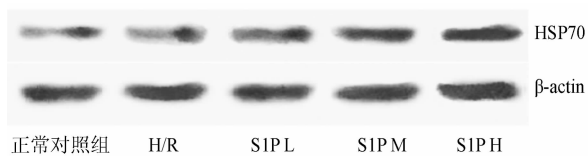


图2 S1P对H9c2心肌细胞H/R损伤HSP70蛋白表达的影响

Fig 2 Effect of S1P on the expression of protein HSP70 of H9c2 cardiac myocytes exposed to simulated hypoxia/reoxygenation

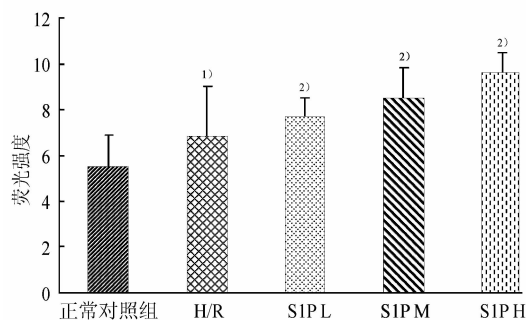


图3 S1P对H9c2心肌细胞H/R损伤HSP70蛋白表达的影响(n=3, $\bar{x} \pm s$)

与正常对照组比较, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

Fig 3 Effect of S1P on the expression of HSP70 of H9c2 cardiomyocytes exposed to hypoxia/reoxygenation injury (n=3, $\bar{x} \pm s$)

Compared with normal control group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

3.5 S1P对H9c2心肌细胞H/R损伤细胞内钙离子的荧光强度的影响

实验结果显示,正常对照组的细胞荧光强度维持在(62.04±1.61)水平;当缺氧/复氧损伤后,H/R组细胞荧光强度明显增高,与正常对照组比较差异具有统计学意义(P<0.01)。加入S1P干预后,不同药物浓度组的细胞荧光强度均有所降低,且S1P的H组与H/R组比较差异具有统计学意义(P<0.05),结果见表2和图4。

表2 S1P对H9c2心肌细胞H/R损伤细胞内钙离子的荧光强度的影响(n=3, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of S1P on the fluorescent intensity of intracellular Ca²⁺ of H9c2 cardiomyocytes exposed to simulated hypoxia/reoxygenation injury(n=3, $\bar{x} \pm s$)

分组	荧光强度
正常对照组	62.04±1.61
H/R组	82.65±2.21 ¹⁾
S1P L组	77.76±0.45 ¹⁾²⁾⁴⁾
S1P M组	72.97±0.97 ¹⁾²⁾³⁾
S1P H组	69.96±2.02 ¹⁾²⁾

注:与正常组比较¹⁾P<0.01;与H/R组比较,²⁾P<0.01;与S1P的H组比较,³⁾P<0.05,⁴⁾P<0.01

Note: Compared with control group, ¹⁾P<0.01; compared with H/R group, ²⁾P<0.01; compared with S1P H group, ³⁾P<0.05, ⁴⁾P<0.01

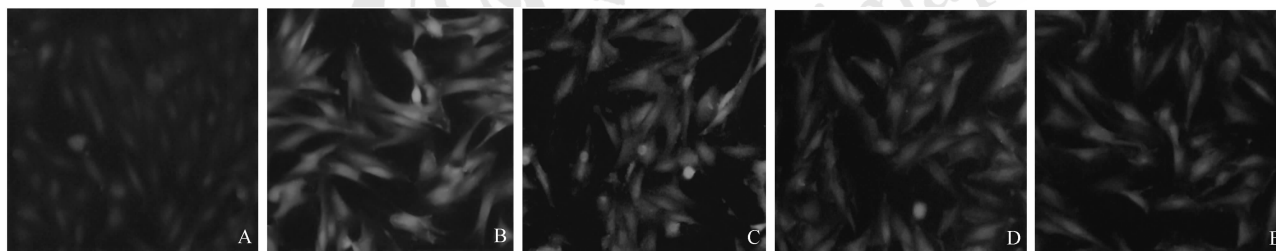


图4 通过荧光显微镜观察S1P对H9c2心肌细胞H/R损伤细胞内钙离子的荧光强度的影响(200×)

A-正常对照组; B-缺氧/复氧组; C-S1P L组; D-S1P M组; E-S1P H组

Fig 4 Effect of S1P on the fluorescent intensity of intracellular Ca²⁺ of H9c2 cardiac myocytes exposed to simulated hypoxia/reoxygenation observed by fluorescence microscope(200×)

A-normal control group; B-H/R group; C-S1P L group; D-S1P M group; E-S1P H group

4 讨论

心肌I/R损伤过程可诱导细胞凋亡,细胞凋亡是MIRI的特征之一^[10]。MIRI过程诱导细胞凋亡的主要机制为氧自由基损伤、线粒体损伤与能量代谢障碍、钙超负荷、中性粒细胞损伤、细胞因子参与等。本实验应用体外心肌细胞缺氧/复氧模型模拟在体心肌I/R损伤,以观察S1P对心肌I/R损伤的作用。研究显示,对于H/R损伤的H9c2心肌细胞,经过S1P后处理能明显提高细胞存活率,减少MDA漏出,提高SOD活力,纠正缺氧/复氧损伤过程中的氧化应激状态,减少Ca²⁺超

负荷,降低细胞凋亡率。其他实验室研究亦发现,中性粒细胞及单核细胞也能释放少量S1P,可以与脂质G蛋白偶联受体S1PR₁₋₅特异性结合,继而激活下游各种信号通路,最终发挥其对抗I/R损伤的心肌保护作用^[11]。Schmitz等^[12]研究发现,S1P预处理可减弱人角质形成细胞的凋亡。为进一步研究S1P的抗凋亡作用,本研究观察了S1P对H/R损伤状态下心肌细胞中的HSP-70的表达的影响。

热休克蛋白也称应激蛋白,是生物体或离体培养细胞在多种损伤性应激原(如热休克、缺血、氧化剂、创伤、病原体感染、缺氧、某些细胞因

子)应激状态下产生的一类内源性保护蛋白^[13]。相对分子质量为 70 kDa 的 HSP70 在正常细胞中表达水平较低, 应激状态下其表达可显著升高, 是 HSP 中最受关注、研究最深入的。HSP70 在某些情况下的表达与应激程度呈正比, 赵祯等^[14]研究发现 HSP70 的表达随着应激程度的增加而增多。有研究表明 HSP70 表达的增加, 可降低 H/R 对肠上皮细胞的损伤^[15]。本研究结果显示, 经过 H/R 处理后, 心肌细胞的 HSP70 表达增加, 与模型组相比, S1P 后处理各组的 HSP70 的表达均有不同程度的增加, 另外随着 HSP70 的表达增加, 心肌细胞的凋亡率逐渐下降。

综上所述, S1P 可以减轻心肌细胞氧化应激损伤, 改善心肌细胞活力并减少凋亡。S1P 对心肌细胞的保护作用可能是通过减少心肌细胞钙超载, 增加 HSP70 表达来实现的。至于有关 S1P 心肌细胞的保护作用分子机制, 尚需进一步的实验加以验证。

REFERENCES

- [1] ZHANG J J, ZHANG Z Y, WANG N. Effect and mechanism of action of hydroxysafflor yellow A on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志) 2012, 32(19): 1526-1530.
- [2] MURPHY E, STEENBERGEN C. Mechanisms underlying acute protection from cardiac ischemia-reperfusion injury [J]. Physiol Rev, 2008, 88(2): 581-609.
- [3] ANDREADOU I, ILIODROMITIS E K, KOUFAKI M, et al. Pharmacological pre- and post-conditioning agents: reperfusion-injury of the heart revisited [J]. Mini Rev Med Chem, 2008, 8(9): 952-959.
- [4] YATOMI Y, OHMORI T, RILE G, et al. Sphingosine 1-phosphate as a major bioactive lysophospholipid that is released from platelets and interacts with endothelial cells [J]. Blood, 2000, 96(10): 3431-3438.
- [5] ZHANG L, SU J, WEN K. Effect of sphingosine 1-phosphate on the increased microvessel permeability induced by H₂O₂ [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(1): 6-9.
- [6] GUPTA V K, YOU Y, KLITORNER A, et al. Focus on molecules: Sphingosine 1 phosphate(S1P) [J]. Exp Eye Res, 2012, 103: 119-120.
- [7] ZHANG L Z, SU J, WEN K. Effect of sphingosine 1-phosphate on the increased microvessel permeability induced by H₂O₂ [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2013, 30(1): 6-9.
- [8] ZANG C Y, KANG Y, WEN K, et al. Effect of sphingosine 1-phosphate on increase in microvessel permeability induced by platelet activating factor [J]. Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志), 2010, 26(4): 681-685.
- [9] TANG B, WANG H X, WANG D P, et al. Studies on effect of morphine on apoptosis in cardiomyocyte of neonatal rats [J]. J Chin Microcirc(中国微循环), 2008, 12(4): 197-201.
- [10] SUN C, ZANG C Y, WU Y N, et al. Antiapoptotic effects and mechanism of pinacidil, metoprolol, glutamine, insulin single and combination on H9c2 cardiacmyocytes exposed to simulated hypoxia/reoxygenation [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2011, 27(12): 1723-1727.
- [11] SCHUCHARDT M, TÖLLE M, PRÜFER J, et al. Pharmacological relevance and potential of sphingosine 1-phosphate in the vascular system [J]. Br J Pharmacol, 2011, 163(6): 1140-1162.
- [12] SCHMITZ E I, POTTECK H, SCHÜPPEL M, et al. Sphingosine 1-phosphate protects primary human keratinocytes from apoptosis via nitric oxide formation through the receptor subtype S1P₃ [J]. Mol Cell Biochem, 2012, 371(1/2): 165-176.
- [13] CHEN H D, SI Z Y. Advancements in using heat shock protein70 for myocardial protection [J]. Adv Cardiovasc Dis(心血管病学进展), 2010, 31(2): 321-315.
- [14] ZHAO Z, AN D Y, QIN L J, et al. Effects of HSP70 on hepatic ischemia reperfusion injury after heat preconditioning in rats [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2005, 21(4): 454-457.
- [15] YUAN Z Q, ZHANG Y, LI X L, et al. HSP70 protects intestinal epithelial cells from hypoxia/reoxygenation injury via a mechanism that involves the mitochondrial pathways [J]. Eur J Pharmacol, 2010, 643(2/3): 282-288.

收稿日期: 2013-06-04

芙蓉李总多酚提取物对 D-半乳糖所致亚急性衰老小鼠的抗氧化作用

任瑞琴, 陈丹*, 程清, 郑利, 曾令军, 蔡韦炜, 连赟芳(福建中医药大学药学院, 福州 350122)

摘要: 目的 观察芙蓉李总多酚提取物对 D-半乳糖所致亚急性衰老小鼠的 SOD、GSH-Px、MDA 的影响。方法 昆明种小鼠 60 只, ♂, 随机分为空白对照组、衰老模型组、阳性对照组、芙蓉李低剂量组、中剂量组、高剂量组。阳性对照组以维生素 E 软胶囊 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃给药, 芙蓉李总多酚低、中、高剂量组分别以 100, 200, 300 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃给药, 空白对照组与衰老模型组灌胃同体积的生理盐水, 1 次·d⁻¹, 连续灌胃 42 d。给药的同时, 衰老模型组与给药组小鼠,

基金项目: 福建省教育厅 A 类科技重点项目(JA10159); 福建省科技计划项目(2010Y2004)

作者简介: 任瑞琴, 女, 硕士生 Tel: (0591)22861037 E-mail: 490116985@qq.com *通信作者: 陈丹, 女, 博士, 教授 Tel: (0591)22861009 E-mail: 13515026709@163.com