

张怡,周晓红,靳晓飞,等. 黄芪甲苷通过抑制细胞凋亡减轻缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞损伤的研究[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(4): 46 – 51.

Zhang Y,Zhou XH,Jin XF, et al. Astragaloside IV alleviates the HT22 cell injury after oxygen and glucose deprivation/reoxygenation by inhibiting apoptosis [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(4): 46 – 51.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2019. 04. 008

# 黄芪甲苷通过抑制细胞凋亡减轻缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞损伤的研究

张 怡,周晓红,靳晓飞,董贤慧,于文涛,张 颖,成 媛,高维娟\*

(河北中医学院,河北省中医药防治心脑血管病基础研究重点实验室,石家庄 050091)

【摘要】 目的 探讨黄芪甲苷对缺氧缺糖/复氧复糖小鼠海马神经元细胞系 HT22 细胞凋亡的影响。方法 取对数生长期的 HT22 细胞,随机分为 4 组:正常对照组 (Control)、缺氧缺糖/复氧复糖 (oxygen and glucose deprivation/ reoxygenation, OGD/R) 组 (Model)、黄芪甲苷组 (AS-IV)、溶剂对照组 (DMSO)。除正常对照组外,其余各组细胞均在缺氧缺糖 6 h 后进行复氧复糖。倒置显微镜观察细胞形态,CCK-8 法检测细胞活力,LDH 法检测细胞损伤情况,Bax、Bcl-2 免疫荧光染色及流式细胞术检测细胞凋亡情况。结果 Control 组细胞呈两极或多极,突起明显,突起之间相互交织成网状,胞体折光性强;Model 组细胞胞体突触减少,细胞皱缩、变圆,胞质凝聚,细胞间连接大量减少;AS-IV 组细胞损伤情况较 Model 组显著缓解。与 Control 组比较,Model 组细胞活力显著降低,LDH 漏出率、Bax/Bcl-2 值及凋亡率显著升高 ( $P<0.05$ );与 Model 组比较,AS-IV 组细胞活力显著升高,LDH 漏出率、Bax/Bcl-2 及凋亡率显著降低 ( $P<0.05$ ),DMSO 组无差异 ( $P>0.05$ )。结论 黄芪甲苷可能通过抑制细胞凋亡发挥对缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞的保护作用。

【关键词】 黄芪甲苷;缺氧缺糖/复氧复糖;HT22 细胞;细胞凋亡

【中图分类号】 R-33      【文献标识码】 A      【文章编号】 1671-7856(2019) 04-0046-06

## Astragaloside IV alleviates the HT22 cell injury after oxygen and glucose deprivation/reoxygenation by inhibiting apoptosis

ZHANG Yi, ZHOU Xiaohong, JIN Xiaofei, DONG Xianhui, YU Wentao, ZHANG Ying, CHENG Yuan, GAO Weijuan\*

(Hebei Key Laboratory of Chinese Medicine Basic Research on Prevention and Treatment of Cardio-Cerebrovascular Disease, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of astragaloside IV on the apoptosis of HT22 cells after oxygen and glucose deprivation/reoxygenation. **Methods** HT22 cells in the logarithmic growth phase were randomly divided into four groups: Control, Model, AS-IV, and DMSO. In addition to the Control group, cells in other groups were reoxygenated after 6 h of oxygen and glucose deprivation. Cell morphology was observed using an inverted microscope, the CCK-8 method was used to test the cell survival rate, the LDH assay was performed to detect cell damage, and Bax/Bcl-2 immunofluorescence

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (81873180), 河北省教育厅科研计划资助项目 (ZD2016101, QN2017111), 河北省中医药管理局课题 (QN2017008), 河北省研究生创新资助项目 (CXZZBS2018154)。

[作者简介] 张怡 (1988—), 女, 博士研究生, 专业: 中西医结合临床。E-mail: 734910343@163.com

[通信作者] 高维娟 (1966—), 女, 博士生导师, 教授。研究方向: 缺血性脑血管病的发生机制及中医药防治。E-mail: gwj6088@163.com

and flow cytometry was used to detect apoptosis. **Results** HT22 cells in the control group were bipolar or multipolar, with obvious synapses, multiple synapses being woven into a network, and strong cell refractivity. Meanwhile, in the model group, the axons of the cell bodies decreased, the cells shrank and became rounded, the cytoplasm agglutinated, and the number of intercellular connections decreased. However, the cell injury in the AS-IV group was significantly alleviated compared with that in the model group. Compared with the findings in the control, cell viability was significantly reduced, LDH leakage was significantly increased, and the Bax/Bcl-2 ratio and apoptosis rate were significantly increased in the model group ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, cell viability was significantly increased and LDH leakage, Bax/Bcl-2 ratio, and the apoptosis rate were significantly decreased in the AS-IV group ( $P < 0.05$ ). There were no significant differences between the DMSO group and the model group. **Conclusions** Astragaloside IV may exert protective effect on OGD/R HT22 cells by inhibiting apoptosis.

**[Keywords]** astragaloside IV; oxygen and glucose deprivation/reoxygenation; HT22 cell; apoptosis

中风(stroke)具有高发病率及高致死致残率的特点,是造成我国居民死亡的首位原因。中风分为出血性中风和缺血性中风,其中大多数患者属于缺血性中风(87%)<sup>[1]</sup>。大量研究证实梗死组织周边缺血半暗带血流的恢复再通是减轻脑缺血临床症状的最有效的治疗策略,然而,伴随而来的脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)的发生有时却会造成更为严重的脑损伤<sup>[2]</sup>。脑组织中心缺血区内神经元以坏死为主,而缺血半暗带内可逆性的细胞凋亡是主要的细胞死亡机制,与最终的梗死面积密切相关<sup>[3]</sup>。中药黄芪是传统的益气活血药,在治疗中风方面具有数千年的历史<sup>[4]</sup>。本课题组前期研究发现:黄芪注射液可有效减轻大鼠脑缺血再灌注损伤,抑制神经元凋亡的发生<sup>[5]</sup>。黄芪甲苷是黄芪的主要活性成分之一,其是否能通过抑制细胞凋亡减轻缺氧缺糖/复氧复糖(oxygen and glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R) HT22 细胞损伤有待进一步探究。因此,本研究以常用于神经系统疾病研究的 HT22 细胞为对象,通过 OGD/R 模拟脑缺血再灌注损伤过程,探讨黄芪甲苷在 OGD/R 损伤中的神经保护作用及具体作用机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞

HT22 细胞(小鼠海马神经元细胞系),由河北医科大学附属第一医院实验中心许顺江教授惠赠。

### 1.2 主要试剂与仪器

胎牛血清购自浙江天杭生物科技股份有限公司;DMEM 高糖培养基、DMEM 无糖培养基、胰蛋白酶均购于美国 Gibco 公司;青链霉素混合液购自 BIOND 公司;Triton X-100、多聚赖氨酸均购自北京

索莱宝科技有限公司,Bcl-2 单克隆抗体购自 Abcam 公司;Bax 多克隆抗体、Alexa Fluor488 标记的山羊抗小鼠 IgG、Cy3 标记驴抗兔 IgG、DAPI 染色均购自武汉谷歌生物科技有限公司;CCK-8 试剂盒购自北京庄盟国际生物基因科技有限公司;LDH 试剂盒购自南京建成生物工程研究所;Annexin V-FITC/PI 双染色试剂盒购于 BD 公司;黄芪甲苷(纯度>98%)购于上海源叶生物科技有限公司。

超净工作台 SW-CJ-ID 型购于苏州净化公司;二氧化碳(CO<sub>2</sub>)培养箱 3111 型、三气培养箱 3131 型及多功能微孔板读数仪 Varioskan LUX 型购于 Thermo 公司;倒置显微镜 DMI3000B 型、荧光显微镜 DM5000B 型购于 Leica 公司;流式细胞仪 FC 500 MCL 型购于 Beckman 公司。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 HT22 细胞培养

HT22 细胞采用含 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素混合液的 DMEM 高糖细胞培养液并置于 CO<sub>2</sub> 培养箱(37℃, 5% CO<sub>2</sub>, 饱和湿度)中进行培养,细胞复苏后培养 1~2 代后进行 OGD/R 模型建立。

### 1.3.2 HT22 细胞缺氧缺糖/复氧复糖模型的建立及实验分组

将 HT22 细胞随机分为 4 组:正常对照组(Control)、缺氧缺糖/复氧复糖(oxygen and glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R)组(Model)、黄芪甲苷组(AS-IV)和溶剂对照组(DMSO)。除正常对照组外,其余各组细胞均氧糖剥夺 6 h 后进行复氧复糖,建立缺氧缺糖/复氧复糖细胞模型;弃去 HT22 细胞正常细胞培养液(含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素混合液的 DMEM 高糖培养液),PBS 洗 2 次后加入 DMEM 无糖培养基,然后放入含 94% N<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> + 1% O<sub>2</sub> 的 37℃ 三气培养箱中培养 6 h,将

DMEM 无糖培养基更换为正常细胞培养液,放入 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中继续培养。AS-IV 组于复氧复糖的同时给予黄芪甲苷处理(终浓度为 100 μmol/L),24 h 后观察细胞形态并进行指标检测。

1.3.3 CCK-8 测细胞活性

各组细胞于 OGD/R 24 h 后分别于 96 孔板中每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,于 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 45 min 后在多功能微孔板读数仪中测 OD 450 nm 值,检测细胞活性。

1.3.4 LDH 漏出率检测

在 96 孔板中加入细胞上清液及 LDH 试剂,混匀,室温静置 5 min 后在多功能微孔板读数仪中测 OD 450 nm 值,此为细胞上清中 LDH 释放量。向原含细胞的培养板中加入 1% Tritonx-100,室温反应 20 min 后取细胞反应液及 LDH 试剂混匀,室温静置 5 min,450 nm 测定吸光值为细胞破膜液 LDH 释放量。LDH 漏出率(%)= 上清 LDH / (上清 LDH + 细胞破膜液 LDH) × 100%。

1.3.5 Bax、Bcl-2 免疫荧光检测

将细胞爬片用含 4% 多聚甲醛的磷酸盐缓冲液(PBS)固定 20 min;含 1% Triton X-100 的 PBS 液破膜 15 min;BSA 室温孵育 30 min;甩掉封闭液后先后滴加配好的 Bax 多克隆抗体(1:100)和 Bcl-2 单克隆抗体(1:100),4℃ 孵育过夜;PBS 洗去一抗后滴

加 Alexa Fluor488 标记的山羊抗小鼠 IgG(1:300)和 Cy3 标记驴抗兔 IgG(1:100),避光室温孵育 50 min;PBS 洗去二抗后滴加 DAPI 染液,避光室温孵育 10 min;封片;每张细胞爬片随机选取 3 个视野进行拍照。

1.3.6 流式细胞术检测细胞凋亡率

吸出并收集细胞上清液,用 0.25% 胰蛋白酶消化细胞,离心收集细胞后用预冷的 PBS 清洗两遍,加入 100 μL 1×binding buffer 重悬细胞后再分别加入 FITC 和 PI 染液各 5 μL,室温避光反应 15 min,加入 400 μL 1×binding buffer,上机检测细胞凋亡率。

1.4 统计学方法

本研究所有数据均应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。数据采用平均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较应用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为有显著性差异。

2 结果

2.1 倒置显微镜观察缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞的形态变化

Control 组细胞表现为贴壁生长,细胞呈两极或多极,突起明显,突起之间相互交织成网状,胞体折光性强;与 Control 组相比,Model 组和 DMSO 组细胞胞体突触明显减少,细胞皱缩、变圆,胞质凝聚,细

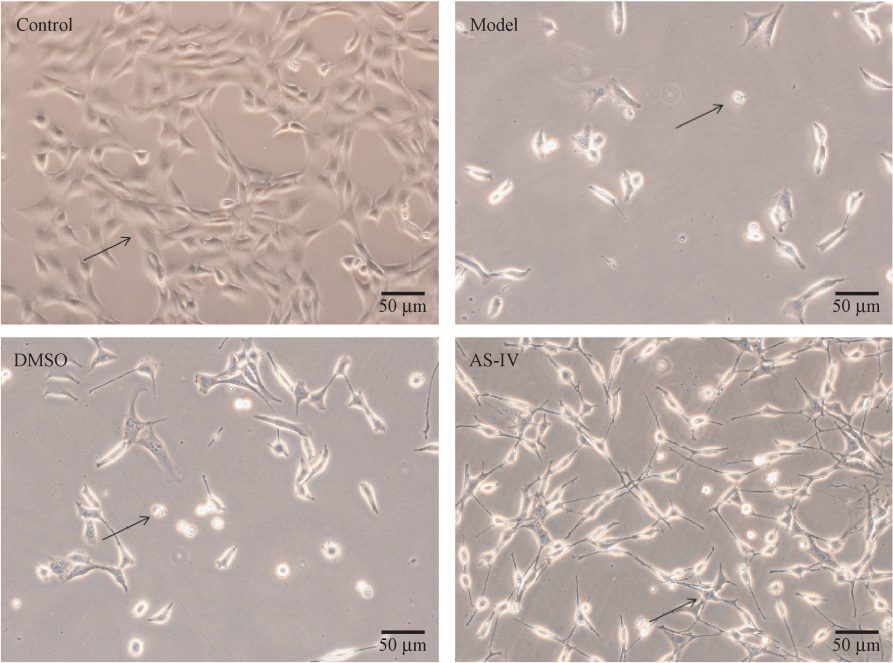


图 1 光学显微镜下各组细胞形态学观察(×200)

Figure 1 Morphological observation of the cell morphology in each group under an optical microscope



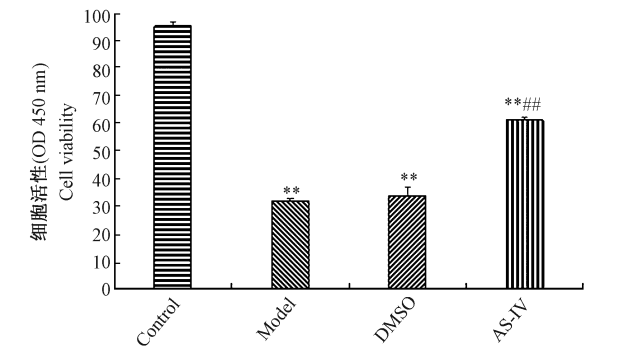
胞间连接大量减少,细胞贴壁不紧,部分细胞团脱落,胞体折光性下降;与 Control 组比较,AS-IV 组上述表现有所缓解。见图 1。

2.2 CCK-8 检测缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞活性

与 Control 组相比,Model 组、DMSO 组及 AS-IV 组细胞活性均显著下降 ( $P<0.05$ );与 Model 组比较,AS-IV 组细胞活性显著升高 ( $P<0.05$ ),DMSO 组细胞活性无差别。见图 2。

2.3 缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞 LDH 漏出率

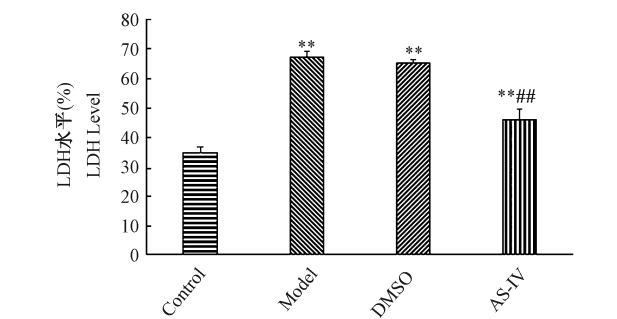
与 Control 组相比,Model 组、DMSO 组及 AS-IV 组 LDH 漏出率均显著升高 ( $P<0.05$ );与 Model 组比较,AS-IV 组 LDH 漏出率显著降低 ( $P<0.05$ ),DMSO 组细胞 LDH 漏出率无差别。见图 3。



注:与对照组相比, \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ 。与模型组相比, #  $P<0.05$ , ##  $P<0.01$ 。

图2 缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞活性检测 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )  
Note. Compared with the Control group, \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ .  
Compared with the Model group, #  $P<0.05$ , ##  $P<0.01$ .

Figure 2 Viability of the HT22 cells treated by OGD/R was determined by CCK-8 assay



注:与对照组相比, \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ 。与模型组相比, #  $P<0.05$ , ##  $P<0.01$ 。

图3 缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞 LDH 漏出率 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )  
Note. Compared with the Control group, \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ .  
Compared with the Model group, #  $P<0.05$ , ##  $P<0.01$ .

Figure 3 LDH level (%) of the HT22 cells treated by OGD/R

2.4 免疫荧光检测缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞 Bcl-2、Bax 表达

与 Control 组相比,Model 组细胞 Bax/Bcl-2 显著升高 ( $P<0.05$ ),AS-IV 组细胞 Bax/Bcl-2 仅有升高趋势 ( $P>0.05$ );与 Model 组比较,AS-IV 组细胞 Bax/Bcl-2 显著降低 ( $P<0.05$ )。见图 4。

2.5 流式细胞术检测缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞凋亡率

与 Control 组相比,Model 组及 AS-IV 组细胞凋亡率均显著升高 ( $P<0.05$ );与 Model 组比较,AS-IV 组细胞凋亡率显著降低 ( $P<0.05$ )。实验结果与免疫荧光检测结果相似。见图 5。

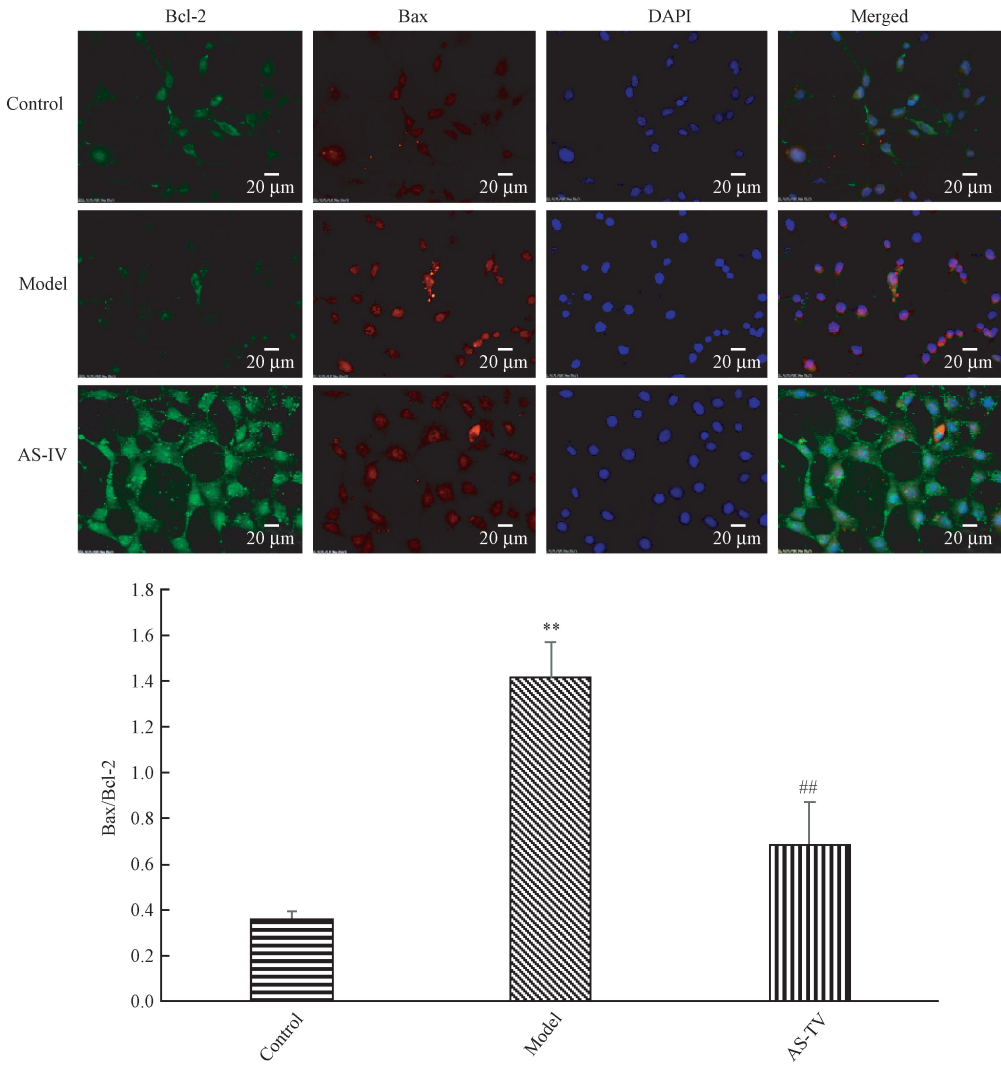
3 讨论

脑缺血再灌注损伤是脑缺血溶栓治疗及外科手术治疗中的常见并发症,指脑组织在缺血情况下恢复血流供应后损伤加重的现象<sup>[6]</sup>。CIRI 发生机制十分复杂,细胞内  $Ca^{2+}$  超载、自由基过量生成、兴奋性氨基酸毒性、炎症级联反应、细胞凋亡等各种机制先后或重叠发生<sup>[7]</sup>,各种因素累积叠加,形成恶性循环,最终造成脑组织不可逆的损伤。

研究证实细胞凋亡为 CIRI 继发性损伤发生的重要机制。脑缺血发生后,缺血中心区内血流减少并伴随着不可逆的神经细胞坏死,而细胞凋亡则主要存在于缺血半暗带并对最终脑梗死面积具有决定作用<sup>[8]</sup>。脑缺血后线粒体外膜通透性增加,细胞色素 C (cytochrome C) 由线粒体释放入胞质,从而激活 caspase-3 级联反应,最终导致 DNA 降解<sup>[9]</sup>。此过程中, Bcl-2 家族成员调控着蛋白的易位和激活<sup>[10]</sup>,CIRI 后由于缺血等刺激使 Bax 易位至线粒体并增强线粒体膜通透性,导致 cytochrome C 和 AIF 的释放,从而引发细胞凋亡的发生,而 Bcl-2 则通过稳定线粒体膜电位和阻止 cytochrome C 释放来抑制细胞凋亡,Bcl-2 与 Bax 两者的比例是决定细胞凋亡发生与否的重要因素<sup>[11-12]</sup>。

黄芪始载于《神农本草经》,为豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的根,味甘,性微温,具有补气固表、利尿消肿、托毒生肌之功效,临床上常用于治疗脾胃虚弱、表虚自汗、脓毒溃疡、半身不遂等症<sup>[13]</sup>。黄芪用于治疗中风具有数千年的历史,更为治疗缺血性中风常用方——补阳还五汤中的君药,目前广泛应用于临床脑血管病的治疗。黄芪甲苷为黄芪主要活性成分之一,具有清除氧自由基、抑制细胞凋





注: 荧光图片: 绿色, Bcl-2; 红色, Bax; 蓝色, DAPI。注: 与对照组相比, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。与模型组相比, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ 。

图 4 免疫荧光染色检测缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞 Bax 和 Bcl-2 的比例 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Note. Fluorescent images: green, Bcl-2; red, Bax; blue, DAPI. Compared with Control group, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ . Compared with Model group, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ .

Figure 4 Comparison of the Bax/Bcl-2 ratios of the OGD/R treated HT22 cells. Immunofluorescence staining

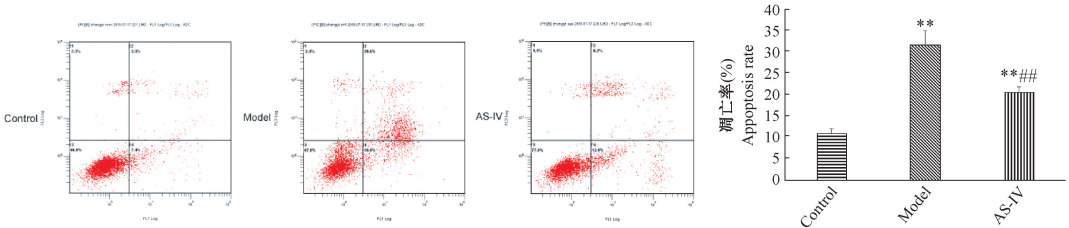


图 5 流式细胞术检测缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞凋亡率

Figure 5 Changes of the apoptosis rates in HT22 cells examined by flow cytometry with Annexin V-FITC/PI staining

亡、抗炎、抗血小板凝集等生物活性<sup>[14]</sup>。研究证实黄芪甲苷能有效降低脑缺血再灌注损伤小鼠海马 CA1 区神经细胞凋亡率,抑制 caspase-3 蛋白的表达,对受损脑组织发挥神经保护作用<sup>[15]</sup>。

缺氧缺糖/复氧复糖是一种公认的用以模拟脑缺血再灌注损伤研究的体外模型<sup>[16]</sup>,本研究以 HT22 细胞为实验对象,通过缺氧缺糖/复氧复糖模拟脑缺血再灌注损伤过程,采用黄芪甲苷对缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞进行处理,旨在探讨黄芪甲苷对脑缺血再灌注损伤后发挥神经保护作用的机制。研究结果证实:缺氧缺糖/复氧复糖导致细胞活力显著下降,LDH 漏出率增加,细胞损伤严重;而给予黄芪甲苷处理后,细胞活力显著升高,LDH 漏出率显著下降,细胞损伤明显减轻,证实黄芪甲苷对缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞具有保护作用。在此基础上又进一步探索了黄芪甲苷的作用机制。通过观察 HT22 细胞 Bax/Bcl-2 及凋亡率的变化,探索黄芪甲苷对缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞凋亡的影响。研究发现,缺氧缺糖/复氧复糖导致 HT22 细胞 Bax/Bcl-2 及凋亡率显著升高,细胞凋亡严重;而给予黄芪甲苷处理后 HT22 细胞 Bax/Bcl-2 及凋亡率均显著下降,说明黄芪甲苷可通过抑制细胞凋亡发挥对缺氧缺糖/复氧复糖 HT22 细胞的保护作用。基于上述研究,本课题组拟通过离体和在体实验两方面进一步探讨黄芪甲苷发挥凋亡调控作用的具体通路。

# 参考文献:

- [ 1 ] Chen CM, Wu CT, Yang TH, et al. Preventive effect of low intensity pulsed ultrasound against experimental cerebral ischemia/reperfusion injury via apoptosis reduction and brain-derived neurotrophic factor induction [ J ]. Sci Rep, 2018, 8 (1):5568.
- [ 2 ] 黄丽,朱彩霞,张芹欣,等.四种开窍药对急性不完全性脑缺血再灌注损伤模型大鼠的脑保护作用[J].中国比较医学杂志,2018,28(8):77-82.
- [ 3 ] Deng YH, He HY, Yang LQ, et al. Dynamic changes in neuronal autophagy and apoptosis in the ischemic penumbra following permanent ischemic stroke [ J ]. Neural Regen Res, 2016, 11(7):1108-1114.
- [ 4 ] Wang HL, Zhou QH, Xu MB, et al. Astragaloside IV for

experimental focal cerebral ischemia: preclinical evidence and possible mechanisms [ J ]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017:8424326.

- [ 5 ] 张霞,高维娟,钱涛,等.黄芪注射液对脑缺血/再灌注大鼠海马神经元 Caspase-3 表达的影响[J].中国药理学通报,2012,28(6):867-871.
- [ 6 ] Xu J, Kong X, Xiu H, et al. Combination of curcumin and vagus nerve stimulation attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury-induced behavioral deficits [ J ]. Biomed Pharmacother, 2018, 103:614-620.
- [ 7 ] Wang J, Han D, Sun M, et al. Cerebral ischemic post-conditioning induces autophagy inhibition and a HMGB1 secretion attenuation feedback loop to protect against ischemia reperfusion injury in an oxygen glucose deprivation cellular model [ J ]. Mol Med Rep, 2016, 14(5):4162-4172.
- [ 8 ] Hu GQ, Du X, Li YJ, et al. Inhibition of cerebral ischemia/reperfusion injury-induced apoptosis: nicotiflorin and JAK2/STAT3 pathway [ J ]. Neural Regen Res, 2017, 12(1):96-102.
- [ 9 ] Chen X, Zhang X, Xue L, et al. Treatment with enriched environment reduces neuronal apoptosis in the periinfarct cortex after cerebral ischemia/reperfusion injury [ J ]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(4):1445-1456.
- [ 10 ] Kuwana T, Mackey MR, Perkins G, et al. Bid, Bax, and lipids cooperate to form supramolecular openings in the outer mitochondrial membrane [ J ]. Cell, 2002, 111(3):331-342.
- [ 11 ] Liu QS, Deng R, Li S, et al. Ellagic acid protects against neuron damage in ischemic stroke through regulating the ratio of Bcl-2/Bax expression [ J ]. Appl Physiol Nutr Metab, 2017, 42(8):855-860.
- [ 12 ] Hatok J, Racay P. Bcl-2 family proteins: master regulators of cell survival [ J ]. Biomol Concepts, 2016, 7(4):259-270.
- [ 13 ] Auyeung KK, Han QB, Ko JK. Astragalus membranaceus: a review of its protection against inflammation and gastrointestinal cancers [ J ]. Am J Chin Med, 2016, 44(1):1-22.
- [ 14 ] Li L, Hou X, Xu R, et al. Research review on the pharmacological effects of astragaloside IV [ J ]. Fundam Clin Pharmacol, 2017, 31(1):17-36.
- [ 15 ] 黄小平,欧阳国,丁煌,等.黄芪甲苷与三七有效成分配伍对小鼠脑缺血再灌注后神经细胞凋亡和内质网应激的影响 [ J ]. 中草药, 2015, 46(15):2257-2264.
- [ 16 ] Morún J, Perez-Basterrechea M, Garrido P, et al. Effects of estrogen and phytoestrogen treatment on an in vitro model of recurrent stroke on HT22 neuronal cell line [ J ]. Cell Mol Neurobiol, 2017;37(3):405-416.

[ 收稿日期 ] 2018-09-19