

姚媛. 银杏提取物 50 通过调节自噬降低 ROS 水平保护高糖对血管内皮细胞的损伤作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30 (3): 71-76.

Yao Y. Ginkgo biloba extract 50 protects vascular endothelial cells from hyperglycemia by lowering the ROS level via regulating autophagy [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(3): 71-76.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020. 03. 012

银杏提取物 50 通过调节自噬降低 ROS 水平 保护高糖对血管内皮细胞的损伤作用

姚媛*

(四川大学华西第四医院, 成都 610011)

【摘要】 目的 研究银杏叶提取物 50 在高糖环境下对血管内皮细胞(HUVECs)的保护作用。**方法** 通过 MTT 法研究了 GBE50 对 HUVECs 细胞活性的影响,通过荧光反应法研究了谷胱甘肽的含量变化,通过流式细胞实验研究了 HUVECs 中活性氧含量和 GBE50 对细胞自噬的影响。**结果** MTT 实验结果显示 GBE50 可显著提高高糖环境下 HUVECs 细胞活性。在流式细胞实验中,高糖环境下 HUVECs 中 ROS 阳性细胞比率明显升高,而 GBE50 可显著降低 ROS 生成。并且 GBE50 可显著升高高糖环境下 HUVECs 中 GSH 含量,降低 MDA 阳性细胞比率。免疫荧光实验和蛋白印迹实验结果显示,GBE50 可显著降低 HUVECs 中的自噬水平。**结论** GBE50 可通过降低细胞自噬水平、降低 ROS 产物含量降低高糖环境对血管内皮细胞细胞活性的影响。

【关键词】 GBE50;HUVECs;ROS;细胞自噬

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】**1671-7856(2020) 03-0071-06

Ginkgo biloba extract 50 protects vascular endothelial cells from hyperglycemia by lowering the ROS level via regulating autophagy

Yao Yuan*

(West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610011, China)

【Abstract】 Objective To study the protective effect of Ginkgo biloba extract 50 (GBE50) on vascular endothelial cells in a high glucose environment. **Methods** MTT assays were utilized to examine the HUVECs cell viability after the treatment of GBE50, changes in glutathione content were assessed by using the 7-amino-4-chloromethylcoumarin (CMAC) fluorescent stain technique, the effects of reactive oxygen species and GBE50 on autophagy were investigated by flow cytometry. **Results** MTT assay result showed that GBE50 significantly improved the viability of HUVECs in a high glucose environment. Flow cytometry showed that ROS-positive HUVECs were increased significantly in the high glucose environment, but GBE50 significantly reduced ROS production. GBE50 significantly increased the GSH content in HUVECs in the high glucose environment and decreased the ratio of MDA-positive cells. Immunofluorescence and western blot result showed that GBE50 significantly decreased the level of autophagy in HUVECs. **Conclusions** GBE50 reduces the effects of a high glucose environment on the activity of vascular endothelial cells by reducing autophagy and ROS production.

【Keywords】 GBE50; HUVECs; ROS; autophagy

[作者简介]姚媛(1985—)女,硕士,主治医师,研究方向:老年/心内科。E-mail:baibaixiaoli1588@163.com

糖尿病,作为一种以高血糖为特征的慢性代谢紊乱,对人类的生命和健康造成严重威胁。近年来糖尿病逐渐发展成为一个全球性的卫生问题,目前亚洲糖尿病的患病总人数超过 2.3 亿(约占世界糖尿病患病人数的 55%),预计到 2040 年,这一数字将超过 3.55 亿^[1]。由于长期存在的高血糖,糖尿病可导致各种组织,尤其是眼、肾、心脏、血管、神经的慢性损害等并发症^[2]。内皮细胞功能障碍是 II 型糖尿病常见的并发症之一,患者对胰岛素的不敏感化可加速动脉粥样硬化病变和血管功能障碍,从而增加心血管疾病的发生风险^[3-4]。长期高糖环境暴露可破坏内皮细胞内代谢平衡,现在的研究显示,血管内皮细胞损伤与糖尿病微血管病变密切相关。高糖水平下导致眼部血管内皮细胞损伤从而引起视网膜病变,或抑制四肢血管生成,导致伤口愈合缓慢引发足部溃疡^[5]。

银杏提取物 50 (Ginkgo Biloba Extract 50, GBE50)是一种新型银杏叶提取物,现在研究分析发现 GBE50 含有 44.1%银杏黄酮糖苷和 6.4%的银杏内酯,且银杏酸含量低于 5 ppm^[6]。一些研究表明,GBE50 具有抗氧化和抗炎作用,并已用于老年人群心血管疾病的预防或治疗^[7]。有文献报道,GBE50 可通过抑制人脐静脉内皮细胞 (Human Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVECs) ROS 生成起到抗凋亡作用^[8],然而在高糖环境下 GBE50 对 HUVECs 的作用未见报道^[9]。

本研究主要通过高葡萄糖 (glucose) 浓度建立细胞高糖环境,通过 MTT 法研究了 GBE50 对 HUVECs 细胞活性的影响,通过荧光反应法研究了谷胱甘肽 (glutathione, r-glutamyl cysteinyl + glycine, GSH) 的含量变化,通过流式细胞实验研究了 HUVECs 中活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 含量和 GBE50 对细胞自噬的影响。

1 材料和方法

1.1 实验材料

人脐静脉内皮细胞系 HUVECs 购自美国 ATCC (ATCC-CRL-1730TM) 公司。

1.2 主要试剂与仪器

GBE50 购自中国山西千汇药业有限公司 (0004320181202)。免疫荧光中鼠兔抗 Anti-LC3 等抗体均购买自美国 Abcam 公司。细胞培养实验中胎牛血清 (FBS) 以及 DME 培养基购买自美国

Hyclone, 青霉素和链霉素购买自美国 Invitrogen。MTT 和实验中其它试剂均购自美国 Sigma。细胞培养箱购买自美国 Thermo (3111), 酶标仪购自美国 Bio-Rad, 倒置荧光显微镜购自日本 Olympus (IX51), 流式细胞仪购自美国 BD (FACSAria III)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养与处理

HUVECs 细胞培养条件为 37℃, 5% CO₂。DMEM 培养基中添加 10% 胎牛血清, 100 U/mL 青霉素或 100 μg/mL 链霉素。取对数期细胞转移至 96 孔板, 在培养基中营造正常 (5×10^{-3} mol/L 葡萄糖) 和高糖环境 (3×10^{-2} mol/L 葡萄糖)。GBE50 以二甲基亚砷溶解后添加至培养基 (9×10^{-2} mol/L), 培养 72 h 后进行相关细胞实验。

1.3.2 MTT

用 MTT 法检测细胞活性。取对数期细胞接种于 96 孔板, 培养基中加入 5×10^{-2} mol/L 培养 24 h, 加入 MTT 溶液室温孵育 4 h, 随后加入 DMSO 溶解结晶。10 min 后测量 570 nm 处 OD 值。

1.3.3 GSH 检测

为了检测谷胱甘肽的活性, 通过特异性染料 CMAC 标记谷胱甘肽。取对数生长期细胞, 以 1×10^3 密度接种在 6 孔板。培养一段时间后弃去培养基加入蓝色 CMAC 染料 (1:1000), 在 37℃ 下孵育 20 min, PBS 冲洗两次。检测 353~446 nm 处的荧光强度。

1.3.4 免疫荧光

取对数生长期细胞接种于 8 孔板。GBE50 处理 72 h 后, 甲醇固定 10 min, 1% BSA 封闭, 0.1% Triton X-100 洗涤, 与兔抗 LC3 一抗 (1:200) 室温下孵育 1 h。PBS 洗涤后荧光显微镜下观察, CellSense 软件分析。

1.3.5 MDC 检测

MDC 是成熟自噬空泡的特异性标记物。为了观察 MDC 标记的自噬空泡, 将 HUVECs 与 MDC 溶液 (5×10^{-5} mol/L) 在 37℃ 下孵育。24 h 收集细胞, 用 PBS 洗涤 2 次, 固定于 4% 多聚甲醛中。通过 CellSense Software Ver.1.4 采集荧光图像。荧光强度通过流式细胞仪 FACSCalibu 测定, 使用 FlowJo 软件对数据进行处理。

1.3.6 ROS 检测

荧光探针 DCFH-DA 可在细胞内被氧化为高荧光化合物 DCF, 随后进行流式分选测定 ROS 阳性细

胞数目。细胞与 10 $\mu\text{mol/L}$ DCFH-DA 在 37℃ 下洗涤 30 min,再用冰凉 PBS 洗涤两次。用活细胞成像系统(奥林巴斯 LCS 系统,日本)对细胞荧光强度进行量化。采用流式细胞仪测定 GBE50 处理后细胞内 ROS 含量。取对数生长期细胞,在 48 孔板中培养 72 h。在室温下,加入 10 $\mu\text{mol/L}$ DCFDA 孵育 30 min,用 PBS 洗涤 3 次。FACSCalibur 流式细胞系统测量荧光强度,Flowjo 软件分析数据。

1.3.7 蛋白质免疫印迹

收集细胞经匀浆后,经 RIPA(碧云天,上海)裂解提取蛋白。通过 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天,上海)测定蛋白浓度。蛋白经 SDS-PAGE 电泳后,将蛋白电转至 PVDF 膜,PVDF 膜经封闭后,室温分别孵育一抗(1:1000 稀释的 LC3 抗体,Cell Signaling Technology,美国)1.5 h,TBST 洗膜 3 次后,室温孵育 1:2000 稀释的二抗(HRP 标记的 IgG,Cell Signaling Technology,美国)45 min,TBST 洗膜 3 次后,利用增强的 ECL 化学发光试剂盒(#P0018AS,碧云天,上海)对目的条带显影,以 β -actin(#AF0003,碧云天,上海)为内参,采用 AlphaView 软件测量目的条带的光密度。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组之间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

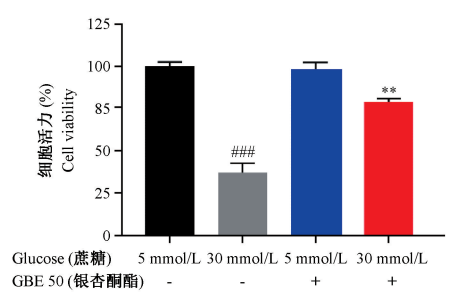
2 结果

2.1 高糖环境下 GBE50 增强 HUVECs 细胞活性

首先,本研究通过 MTT 实验研究了 GBE50 对高葡萄糖环境下 HUVECs 细胞活性的影响。实验结果显示,相比于正常培养环境组细胞,高糖环境下($3 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$) HUVECs 细胞活性显著降低(图 1, $P < 0.001$),而 GBE50 处理后可显著升高 HUVECs 细胞活性($P < 0.01$)。并且我们还发现,在低糖环境下($5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$) GBE50 对 HUVECs 细胞活性并没有影响。

2.2 高糖环境下 GBE50 降低 HUVECs 中 ROS 生成

随后本研究通过流式细胞实验研究了 HUVECs 内 ROS 产物的变化情况。DCF 染色后流式细胞分析结果显示,高糖处理可显著升高 HUVECs 细胞 ROS 产物累积,ROS 阳性细胞比例(图 2A、2B, $P <$



注:GBE50 可缓解高糖环境引起的细胞活性降低。与 Glu5mMGBE50-相比,### $P < 0.001$;与 Glu30mMGBE50-相比,** $P < 0.01$ 。

图 1 高糖环境下 GBE50 对 HUVECs 细胞活性的影响

Note. GBE50 alleviated high glucose-induced cell viability decreasing.### $P < 0.001$ vs Glu5mmol/LGBE50-,** $P < 0.01$ vs Glu30mmol/LGBE50-.

Figure 1 Effect of GBE50 on cell viability of HUVECs in a high glucose environment

0.001),而 GBE50 处理后,HUVECs ROS 阳性细胞比例明显下降($P < 0.05$)。因此,GBE50 可显著降低 HUVECs 内 ROS 产物生成水平。

2.3 高糖环境下 GBE50 升高 HUVECs 中 GSH 的表达

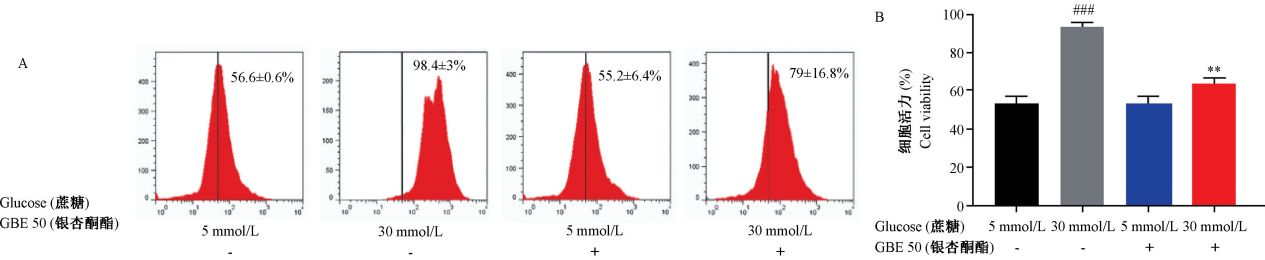
随后本研究通过 CMAC 荧光反应研究了 HUVECs 中 GSH 的表达情况。实验结果显示,相比于正常培养条件下细胞,高糖环境下 HUVECs 中 GSH 荧光强度显著降低(图 3A、3B, $P < 0.001$),而 GBE50 处理后可显著升高 GSH 的表达($P < 0.01$)。

2.4 高糖环境下 GBE50 降低 HUVECs 细胞自噬

为了研究 GBE50 对 HUVECs 细胞自噬的影响,本研究通过丙二醛(Malondialdehyde,MDA)标记 HUVECs 自噬空泡,通过流式细胞实验筛选 MDA 阳性细胞。实验结果显示,高糖环境可显著升高 HUVECs 中 MDA 荧光密度(图 4A、4B, $P < 0.001$),说明高糖环境增强了细胞正常自噬。而 GBE50 处理后,MDC 阳性细胞数显著降低(图 4B, $P < 0.01$)。因此,GBE50 可显著降低 HUVECs 在高糖环境下的自噬水平。

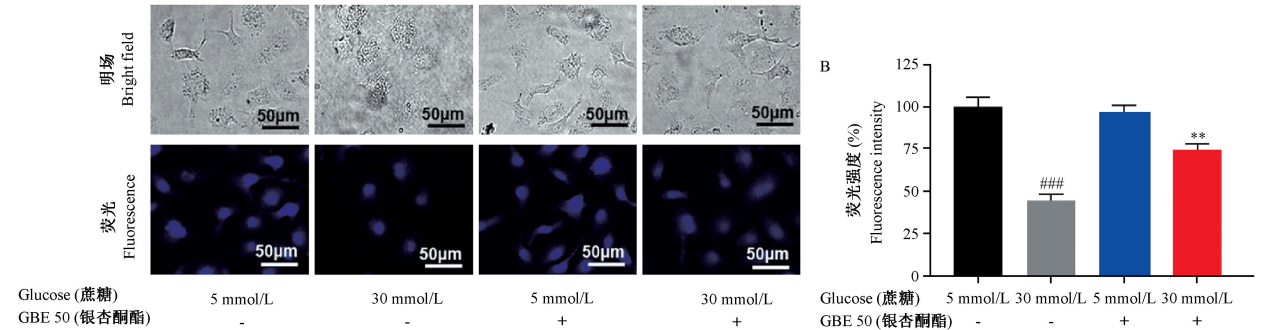
2.5 高糖环境下 GBE50 降低 HUVECs 中 LC3 表达

为了进一步研究 GBE50 对 HUVECs 细胞自噬的影响,本研究通过免疫荧光实验研究了微管相关蛋白 1 轻链 3- β (microtubule-associated protein1light chain3- β ,MAP1LC3- II ,LC3)的表达情况。免疫荧光实验结果显示,高糖环境下 LC3 荧光强度明显升高(图 5A、5B, $P < 0.001$)。而 GBE50 处理可显著降



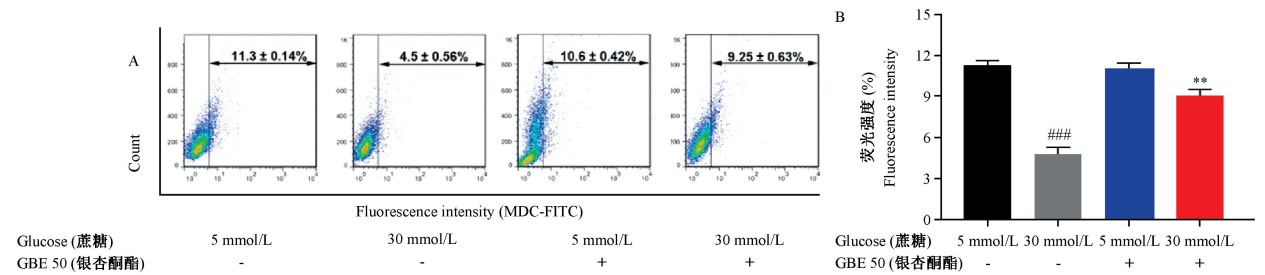
注:A;HUVECs 中的 ROS 产物含量;B:ROS 阳性细胞百分比。与 Glu5mMGBE50-相比,### $P<0.001$;与 Glu30mMGBE50-相比,** $P<0.01$ 。
图 2 高糖环境下 GBE50 对 HUVECs 中 ROS 生成的影响
Note. A, Representative flow cytometric analysis of ROS contents in HUVECs. B, Percentage of ROS-positive cells.### $P<0.001$ vs Glu5mmol/LGBE50-, ** $P<0.01$ vs Glu30mmol/LGBE50-.

Figure 2 Effect of GBE50 on ROS content in HUVECs in a high glucose environment



注:A;GSH 荧光染色示意图;B:荧光密度统计图。与 Glu5mMGBE50-相比,### $P<0.001$;与 Glu30mMGBE50-相比,** $P<0.01$ 。
图 3 高糖环境下 GBE50 对 HUVECs 中 GSH 表达的的影响
Note. A, Representative immunofluorescence images of glutathione (GSH). B, Fluorescence intensity of GSH in HUVECs.### $P<0.001$ vs Glu5mmol/LGBE50-, ** $P<0.01$ vs Glu30mmol/LGBE50-.

Figure 3 Effect of GBE50 on GSH expression in HUVECs in a high glucose environment



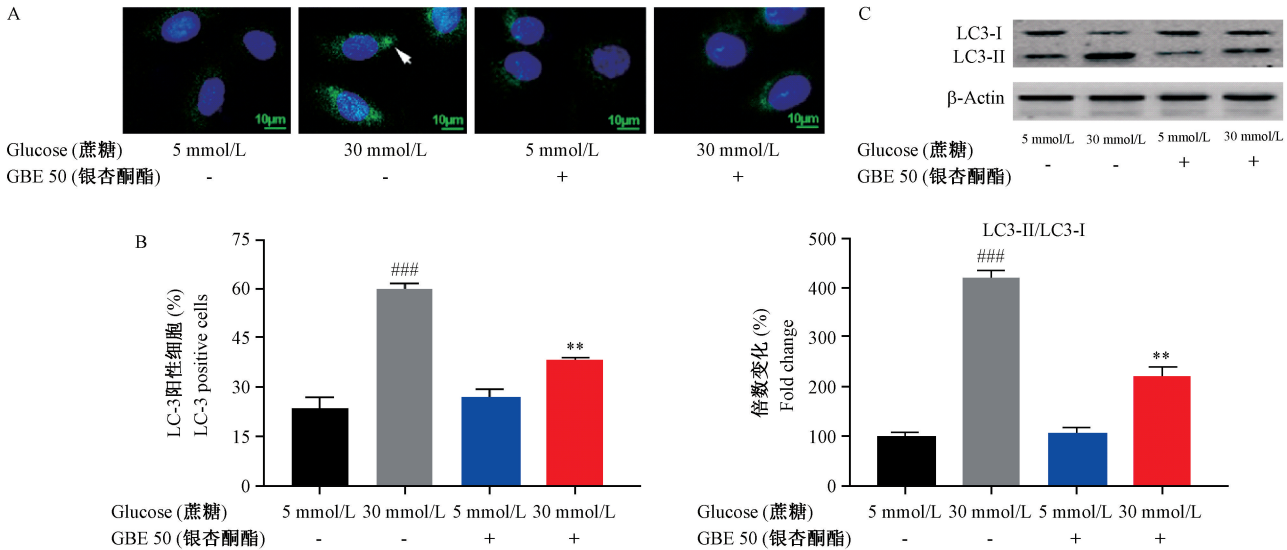
注:A:MDC 阳性细胞流式细胞结果示意图;B:MDC 阳性细胞比。与 Glu5mMGBE50-相比,### $P<0.001$;与 Glu30mMGBE50-相比,** $P<0.01$ 。
图 4 高糖环境下 GBE50 对 HUVECs 细胞自噬的影响
Note. A, Representative flow cytometric analysis of MDC contents in HUVECs.B, Percentage of MDC-positive cells. ### $P<0.001$ vs Glu5mmol/LGBE50-, ** $P<0.01$ vs Glu30mmol/LGBE50-.

Figure 4 Effect of GBE50 on autophagy in HUVECs in a high glucose environment

低 LC3 荧光水平,统计结果显示 LC3 阳性细胞比例明显下降(图 5A、5B, $P<0.01$)。随后,本研究使用蛋白印迹实验观察了 LC3-II/LC3-I 的表达水平,高糖处理时,LC3-II/LC3-I 比值显著增加而 GBE50 降低了 LC3-II/LC3-I 比值。以上结果进一步证明了 GBE50 可显著降低细胞自噬水平。

3 讨论

本研究表明 GBE50 处理 HUVECs 能逆转高糖环境对细胞的损伤作用,并能增强抗氧化能力。本研究结果显示,GBE50 对 HUVECs 的保护作用与降低细胞自噬水平相关。糖尿病是一组以慢性高血



注:A:LDC 荧光染色示意图;B: 荧光密度统计图;C: LC3-II/ LC3-I 蛋白印迹实验及其统计图。与 Glu5mMGBE50-相比,^{###}*P* <0. 001; 与 Glu30mMGBE50-相比,^{**}*P* <0. 01。

图 5 高糖环境下 GBE50 对 HUVECs 中 LC3 表达的影响

Note. A, Representative immunofluorescence images of LC3. B, Statistical results of LC-3 positive cells (%). C, Representative western blot of LC3-II/LC3-I and statistical results.^{###}*P*<0. 001 vs Glu5mmol/LGBE50-, ^{**}*P*<0. 01 vs Glu30mmol/LGBE50-.

Figure 5 Effect of GBE50 on LC3 expression in HUVECs in a high glucose environment

糖为主要特征的分泌代谢性疾病,主要分为 I 型糖尿病 II 型糖尿病和妊娠糖尿病^[10],近年来我国糖尿病的患病率正逐年提升。现在的研究认为,糖尿病是遗传因素免疫功能和环境因素共同作用的结果^[11]。由于患者体内长期较高的血糖水平而引起的一系列多系统器官慢性并发症如视网膜病变、肾病、神经疾病、心脏疾病等^[11-13]是现在临床糖尿病主要面临的挑战。血管内皮作为血管保护屏障,最容易受到血液微环境变化的影响,长期暴露于高糖水平下可导致内皮细胞动态平衡紊乱^[14]。

现在临床用于治疗 and 预防糖尿病血管病变的药物效果仍然具有局限性,并且具有降低患者体重等副作用^[15]。如今,抗氧化治疗作为对抗糖尿病患者氧化损伤的一种方法已经引起了极大的关注,是接下来十年控制或预防糖尿病血管病变最有希望的候选药物^[16]。GBE50 是从银杏叶中提取的综合活性成分,其主要成分为银杏黄酮和银杏内酯。最近的研究表明,GBE 在中枢神经系统中具有广泛的作用范围。GBE 能调节胆碱能神经元功能,起到抗氧化和清除自由基的作用,减轻细胞损伤。此外,银杏叶提取物还能降低一氧化氮合酶、环氧合酶-2 的表达,并降低细胞因子 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平^[17]。沈建颖等^[18]研究发现,GBE50 可显著降低缺氧引起的 HUVECs 内 ROS 水平并抑制细胞凋亡,

对缺氧所致的内皮细胞功能障碍有一定的保护作用,然而 GBE50 在高糖环境引起的内皮细胞功能障碍中的作用并不清楚。

本研究通过高葡萄糖浓度建立细胞高糖环境,首先通过 MTT 法研究了 GBE50 对 HUVECs 细胞活性的影响。实验结果显示,GBE50 可显著提高高糖环境下 HUVECs 细胞活性。有研究表明高葡萄糖含量可诱导细胞内 ROS 的产生,导致内皮功能障碍甚至细胞凋亡。糖尿病中的高糖环境激活了葡萄糖代谢途径,并导致细胞过氧化^[19]。本研究实验结果同样显示,在流式细胞实验中,高糖环境下 HUVECs 中 ROS 阳性细胞比率明显升高,而 GBE50 可显著降低 ROS 生成。谷胱甘肽是细胞内主要的非酶抗氧化防御系统,可清除体内氧自由基^[20],保护许多蛋白质和酶等分子中的巯基。随后本研究通过 CMAC 荧光标记 HUVECs 中 GSH,实验结果显示,GBE50 可显著升高高糖环境下 HUVECs 中 GSH 含量。

在氧化条件下,氧化生物分子和受损的 DNA 可能触发自噬机制和相关信号通路。自噬是一个动态的、维持生命的细胞降解过程,通过降解蛋白质和受损细胞器来保护细胞,而过度自噬将会引起细胞凋亡^[21]。在高糖浓度引起的细胞应激中,自噬现

象在早期阶段产生^[21]。随后本研究通过 MDA 标记了细胞自噬空泡,评估 GBE50 对 HUVECs 细胞自噬的影响。流式细胞实验结果显示,GBE50 可显著降低 HUVECs 在高糖环境下 MDA 阳性细胞比率,说明细胞自噬水平下降。自噬反应启动后,LC3-I 与 LC3-II 的相互转化是自噬早期的标志^[22]。随后本研究通过免疫荧光实验研究了 LC3 的表达情况。实验结果显示,GBE50 可显著降低 HUVECs 中 LC3 荧光水平,此结果进一步证明了 GBE50 降低了高糖环境下细胞自噬水平。

综上,本研究揭示了 GBE50 可通过降低细胞自噬水平、降低 ROS 产物含量降低高糖环境对血管内皮细胞活性的影响,本研究的研究为糖尿病血管损伤并发症提供了新的治疗手段。

参考文献:

[1] 朱海清,杨文英. 亚洲人群糖尿病患病情况:现状和未来 [J]. 中华流行病学杂志, 2011, 32(11): 1065-1067.

[2] Favard C, Ortega N, Bayard F, et al. Vascular endothelial growth factor and retinal neovascularisation: a new therapeutic approach for diabetic retinopathy [J]. Diabetes Metab, 1996, 22(4): 268-273.

[3] Lee IG, Chae SL, Kim JC. Involvement of circulating endothelial progenitor cells and vasculogenic factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy [J]. Eye(Lond), 2006, 20(5): 546-552.

[4] 高珊珊,姜莹. 糖尿病合并大血管病变及其防治 [J]. 卷宗, 2012(6): 12.

[5] 唐霓,唐显玲. 糖尿病血液流变性改变与微血管病变关系的研究进展 [J]. 微循环学杂志, 2007, 17(3): 60-61.

[6] Li L, Zhao Y, Du F, et al. Intestinal absorption and presystemic elimination of various chemical constituents present in GBE50 extract, a standardized extract of Ginkgo biloba leaves [J]. Curr Drug Metab, 2012, 13(5): 494-509.

[7] 刘爱华,张志雄,王星禹. 银杏酮酯对模拟缺血豚鼠心室肌细胞 I_K 的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2010, 26(4): 444-448.

[8] 沈建颖,孙爱军,张庆华,等. 银杏叶提取物 GBE50 及其主

成分总黄酮对缺氧致人脐静脉内皮细胞凋亡及活性氧自由基生成的作用 [J]. 上海医学, 2007(s1): 173.

[9] 汪素娟,康安,狄留庆,等. 银杏叶提取物主要活性成分药动学研究进展 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 626-631.

[10] 叶华莹,李华萍. 妊娠期糖尿病产后发展为 2 型糖尿病的相关因素研究进展 [J]. 国际妇产科学杂志, 2018, 45(1): 28-32.

[11] 向红丁. 导致 2 型糖尿病的遗传因素和环境因素 [J]. 保健与生活, 2016(3): 40.

[12] 周杨琳,陈雪燕,陈雪艺. 糖尿病视网膜病变患者相关生化指标测定及其预测意义 [J]. 中国全科医学, 2014(15): 1715-1718.

[13] 张林. 老年糖尿病并发症的临床分析 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(94): 54-55.

[14] 郑玲,刘秋爽,金晶,等. 糖尿病并发症治疗靶点的研究进展 [J]. 海峡药学, 2014, 26(1): 13-17.

[15] 何丹丹,郑毅,陈闯,等. 治疗糖尿病并发症的药物研究进展 [J]. 中南药学, 2017, 15(6): 714-721.

[16] 张倩,梁晓春. 黄连抗氧化作用与糖尿病的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(12): 2285-2288.

[17] Liu FQ, Gao Q, Wang DD, et al. [Effects of GBE50 on LPS/ATP induced NLRP3 inflammasome activation in primary rat microglia] [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2018, 43(16): 3346-3352.

[18] 沈建颖,孙爱军,顾笑梅,等. 银杏叶提取物 GBE50 对缺氧致内皮细胞功能的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2007, 27(2): 151-154.

[19] Ozdemir G, Kilinc M, Ergun Y, et al. Rapamycin inhibits oxidative and angiogenic mediators in diabetic retinopathy [J]. Can J Ophthalmol, 2014, 49(5): 443-449.

[20] 孙全贵,龙子,张晓迪,等. 抗氧化系统研究新进展 [J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(11): 2197-2200.

[21] 黄坚毅,王进,黄燕宁,等. FOXO3 相关信号途径影响细胞自噬的研究进展 [J]. 医学综述, 2019, 25(7): 1249-1254.

[22] 魏砚明,任晋宏,栾智华,等. 多种细胞自噬调节剂对自噬标记物 LC3 II 及 p62 表达的影响 [J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(3): 341-347.

[收稿日期] 2019-09-23