

# 吡格列酮对 2 型糖尿病大鼠骨骼肌脂联素受体 1 表达的影响

刘洁<sup>1,2</sup>, 刘宽芝<sup>1</sup>, 刘琼<sup>1</sup>

(1. 河北医科大学第三医院内分泌科, 河北省石家庄市 050051; 2. 河北大学附属医院内分泌科, 河北省保定市 071000)

[关键词] 脂联素; 脂联素受体 1; 吡格列酮; 骨骼肌; 2 型糖尿病

[摘要] **目的** 观察吡格列酮对 2 型糖尿病大鼠血清脂联素以及骨骼肌脂联素受体 1 (AdipoR1) 表达的影响, 探讨吡格列酮对 2 型糖尿病胰岛素抵抗的改善作用及机制。**方法** 40 只 8 周龄健康雌性 SD 大鼠, 随机分为正常对照组 ( $n=10$ )、糖尿病组 ( $n=15$ ) 及吡格列酮组 ( $n=15$ )。用高糖高脂饲料加小剂量链脲佐菌素建立 2 型糖尿病大鼠模型, 成模后吡格列酮组给予 10 mg/(kg·d) 吡格列酮灌胃, 正常对照组和糖尿病组给予同体积生理盐水灌胃, 共 12 周。3 个月后股静脉取血, 酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定血清脂联素水平, 留取大鼠骨骼肌, 光、电镜观察骨骼肌结构, 免疫组织化学染色法测定骨骼肌 AdipoR1 蛋白的表达。**结果** 与正常对照组 ( $1.73 \pm 0.32$  mg/L) 比较, 糖尿病组血清脂联素 ( $1.01 \pm 0.27$  mg/L) 水平显著降低, 而吡格列酮组 ( $1.34 \pm 0.43$  mg/L) 较糖尿病组显著升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。骨骼肌 AdipoR1 免疫组织化学染色正常对照组着色深且广泛, 糖尿病组较正常对照组染色浅, 吡格列酮组较糖尿病组染色深, 但较正常对照组浅。光镜及电镜结果显示大鼠骨骼肌结构未见明显异常。**结论** 2 型糖尿病大鼠血清脂联素水平及骨骼肌 AdipoR1 表达降低并导致糖脂代谢紊乱及胰岛素抵抗。吡格列酮可上调血清脂联素及骨骼肌 AdipoR1 的表达, 从而调节糖脂代谢, 改善胰岛素抵抗。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## Effect of Pioglitazone on Expression of AdipoR1 in Skeletal Muscle of Type 2 Diabetic Rats

LIU Jie, LIU Kuan-Zhi, and LIU Qiong

(Department of Endocrinology, the Third Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050051, China)

[KEY WORDS] Adiponectin; Adiponectin Receptor 1; Pioglitazone; Skeletal Muscle; Type 2 Diabetes Mellitus

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of pioglitazone on the expression of skeletal muscle AdipoR1 in type 2 diabetic rats, and explore the improvement effect and its mechanisms of pioglitazone on type 2 diabetes and insulin resistance. **Methods** Forty healthy eight-week-old female Sprague Dawley (SD) rats were randomly divided into normal control group ( $n=10$ ), diabetic group ( $n=15$ ), and pioglitazone group ( $n=15$ ). Type 2 diabetes rat model was reproduced by feeding a high-sugar-fat diet followed by an intraperitoneal injection of a low dose of streptozotocin (STZ). Rats in pioglitazone group were laraged with pioglitazone 10 mg/(kg·d), while those in control group and diabetic group received the same amount of normal saline for 12 weeks. After 3 months, blood was taken from femoral vein and serum adiponectin was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The structure of skeletal muscle was observed with light microscope and electron microscope. The protein expression of AdipoR1 in skeletal muscle was detected by immunohistochemical staining. **Results** Serum adiponectin ( $1.01 \pm 0.27$  mg/L) in T2DM group was significantly decreased compared with normal control group ( $1.73 \pm 0.32$  mg/L), but that of pioglitazone group ( $1.34 \pm 0.43$  mg/L) was significantly increased compared with T2DM group ( $P < 0.05$ ). Immunohistochemical staining showed that the expression of AdipoR1 in skeletal muscle was the most obvious in normal control group and was attenuated in T2DM group. The expression of AdipoR1 in skeletal muscle of pioglitazone group was more significant than that in T2DM group, but was weaker than that in normal control group. Light microscope and electron microscope showed no obvious abnormalities in skeletal muscle structure. **Conclusions** The levels of serum adiponectin and AdipoR1 in skeletal muscle decline in type 2 dia-

[收稿日期] 2011-02-14

[基金项目] 河北省科技厅基金项目 (062761245)

[作者简介] 刘洁, 博士, 医师。通讯作者刘宽芝, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为糖尿病慢性并发症发病机制及防治, Email 为 liu-kuanzhi@163.com。

betic rats. Pioglitazone can up-regulate the levels of serum adiponectin and AdipoR1 in skeletal muscle thus it can down-regulate the circulating levels of glucose and lipids and improve insulin sensitivity.

近年来研究发现脂联素(adiponectin)是由脂肪细胞分泌的惟一与体脂含量呈负相关的激素<sup>[1]</sup>,除具有改善胰岛素抵抗的作用外,还具有降糖、降脂、抗高血压、抗炎、抗动脉粥样硬化等作用。Yamauchi等<sup>[2]</sup>于2003年2月首次克隆出人和小鼠的脂联素受体(AdipoR)基因,有研究表明脂联素及其受体的改变与2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)等代谢性疾病的发生发展密切相关。吡格列酮是近年来广泛应用的一种噻唑烷二酮类(TZD)胰岛素增敏剂,是过氧化体增殖物激活型受体 $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )的特异性激动剂<sup>[3]</sup>。本研究通过建立T2DM大鼠模型,检测血清脂联素水平、骨骼肌AdipoR1的表达和相关糖脂代谢指标,探讨吡格列酮改善胰岛素抵抗的可能机制,为TZD类药物临床广泛应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

40只清洁级雌性Sprague-Dawley(SD)大鼠,8周龄,体重180~200 g,购自河北医科大学动物实验中心。大鼠脂联素ELISA试剂盒购自美国BPB生物技术公司,兔抗大鼠AdipoR1多克隆抗体购自美国Phoenix生物制剂公司,抗兔免疫组织化学试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司,链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)为美国Sigma公司产品,吡格列酮由日本武田公司赠送。

### 1.2 动物模型制备及分组

40只雌性SD大鼠随机分为正常对照组( $n=10$ )、糖尿病组( $n=15$ )和吡格列酮组( $n=15$ )。其中正常对照组给予普通饲料,糖尿病组和吡格列酮组大鼠给予高糖高脂饮食(普通饲料中加入2.5%胆固醇、20%蔗糖、15%熟猪油)。4周后,糖尿病组和吡格列酮组腹腔内一次性注射小剂量STZ(30 mg/kg,溶于0.1 mol/L枸橼酸缓冲液中, pH4.4),正常对照组腹腔注射等体积的枸橼酸缓冲液。2周后测空腹血糖(fasting plasma glucose, FBG)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS),并计算胰岛素敏感性指数,以空腹血糖大于正常对照组大鼠血糖 $\bar{x}+3s$ (7.8 mmol/L)且伴有胰岛素敏感性降低者为造模成功<sup>[4]</sup>。吡格列酮组给予10 mg/(kg·d)吡格列酮灌胃,糖尿病组和正常对照组给予等量生理盐水灌

胃,共12周。实验期间,所有大鼠可自由饮水,未使用任何降糖药物。

### 1.3 标本采集

12周后,于实验结束的前一天禁食12~14 h,10%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉大鼠,股静脉取血,迅速离心,留取血清标本,-20℃保存,待用于生物化学指标及血清脂联素检测。迅速取部分股四头肌以10%多聚甲醛固定,脱水,石蜡包埋,常规切片,待光镜观察、免疫组织化学染色,部分以4%戊二醛固定,待电镜观察。

### 1.4 生物化学指标检测

FBG以Roch血糖仪测定;FINS采用双抗体放射免疫分析法测定;血脂采用德国拜耳1650全自动生物化学分析仪测定;胰岛素敏感指数(ISI)以公式 $ISI=1/(FBG \times FINS)$ 计算得出;血清脂联素采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定。

### 1.5 免疫组织化学法检测 AdipoR1 表达

石蜡切片常规脱蜡至水;胰蛋白酶37℃孵育10 min 抗原修复;蒸馏水冲洗,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗1次;3%过氧化氢孵育15 min;蒸馏水冲洗, PBS浸泡5 min×3次;不经水洗直接滴加1:200稀释的AdipoR1兔抗大鼠多克隆抗体,4℃过夜;PBS冲洗5 min×3次;滴加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG,37℃孵育30 min;PBS冲洗5 min×3次;显色剂显色;自来水充分冲洗,苏木素复染,脱水,透明,封片;光镜下每张切片随机选取5个视野,以病理图像分析系统处理,测定AdipoR1阳性表达的平均IOD值。

### 1.6 光镜、电镜观察

切片常规脱蜡至水,苏木素染色5 min,自来水洗1 min,1%盐酸乙醇分化20 s,自来水反蓝5 min,伊红染色2 min,自来水洗1 min,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,加拿大树胶封片,光镜观察。骨骼肌组织4%戊二醛前固定,1%锇酸后固定,丙酮系列脱水,EPON 812包埋,超薄切片,铅铀双重染色,透射电镜观察。

### 1.7 统计学处理

使用SPSS 13.0统计软件处理实验结果。各组数据均进行正态检验,正态分布的资料以 $\bar{x}+s$ 表示,偏态分布的资料以中位数(下四分位数,上四分位数)[M(QL,QU)]表示。各组数据比较前进行方差齐性检验,多组比较采用单因素方差分析,组间比较采用SNK-q检验。相关性分析使用Pearson直

线相关性分析。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 生物化学指标变化

糖尿病组大鼠 FBG、FINS 及甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDLC)、极低密

度脂蛋白胆固醇(VLDLC)水平均高于正常对照组,高密度脂蛋白胆固醇(HDLC)水平及 ISI 均低于正常对照组,差异有统计学意义(均  $P<0.05$ );吡格列酮组大鼠 FBG、FINS 和 TG、TC、LDLC、VLDLC 水平均低于糖尿病组,但仍高于正常对照组,HDLC 水平及 ISI 均高于糖尿病组,但仍低于正常对照组,差异有统计学意义(均  $P<0.05$ ;表 1)。

表 1. 大鼠生物化学指标变化

Table 1. Change of Biochemical parameters in rats

指 标	正常对照组	糖尿病组	吡格列酮组
FBG (mmol/L)	4.89 ± 0.35	12.43 ± 1.48 <sup>a</sup>	9.01 ± 1.14 <sup>b</sup>
TG (mmol/L)	0.79 ± 0.07	1.92 ± 0.25 <sup>a</sup>	1.17 ± 0.14 <sup>b</sup>
TC (mmol/L)	2.05 ± 0.06	3.36 ± 0.09 <sup>a</sup>	2.78 ± 0.08 <sup>b</sup>
LDLC (mmol/L)	1.16 ± 0.11	1.87 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.57 ± 0.07 <sup>b</sup>
VLDLC (mmol/L)	0.32 ± 0.03	0.90 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.05 <sup>b</sup>
HDLC (mmol/L)	0.94 ± 0.04	0.57 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.03 <sup>b</sup>
FINS (mIU/L)	17.66(16.83,18.27)	20.95(19.81,22.11)	18.45(17.97,18.76)
ISI	0.0111(0.01041,0.0121)	0.0039(0.0036,0.0041) <sup>a</sup>	0.0065(0.0057,0.0069) <sup>b</sup>

a 为  $P<0.05$ ,与正常对照组比较;b 为  $P<0.05$ ,与糖尿病组比较。

### 2.2 血清脂联素水平

糖尿病组 ( $1.01 \pm 0.27$  mg/L)、吡格列酮组 ( $1.34 \pm 0.43$  mg/L)大鼠血清脂联素均低于正常对照组 ( $1.73 \pm 0.32$  mg/L, $P<0.05$ )。与糖尿病组比较,吡格列酮组大鼠血清脂联素显著升高 ( $P<0.01$ )。相关分析表明大鼠血清脂联素水平与 FBG、FINS 和 LDLC 呈负相关( $r$  分别为  $-0.656$ 、 $-0.359$  和  $-0.637$ ,均  $P<0.01$ ),与 HDLC 和 ISI 呈正相关( $r$  分别为  $0.614$  和  $0.615$ ,均  $P<0.01$ )。

### 2.3 骨骼肌 AdipoR1 表达

以出现棕黄色颗粒物质为阳性表现,正常对照组大鼠骨骼肌可见大量棕褐色颗粒沉着。糖尿病组

大鼠骨骼肌着色深度及范围较正常对照组明显减轻。吡格列酮组大鼠骨骼肌着色深度及范围较糖尿病组增强,但仍少于正常对照组(图 1)。糖尿病组大鼠骨骼肌 AdipoR1 蛋白表达的 IOD 值( $106.03 \pm 25.70$ )是正常对照组( $224.81 \pm 58.19$ )的 47.2%,吡格列酮组( $151.47 \pm 30.63$ )是糖尿病组的 1.43 倍,差异有统计学意义(均  $P<0.05$ )。相关分析表明大鼠骨骼肌 AdipoR1 表达水平与 FBG、FINS、LDLC 呈负相关( $r$  分别为  $-0.712$ 、 $-0.437$  和  $-0.763$ ,均  $P<0.01$ ),与 HDLC 和 ISI 呈正相关( $r$  分别为  $0.781$  和  $0.725$ ,均  $P<0.01$ )。

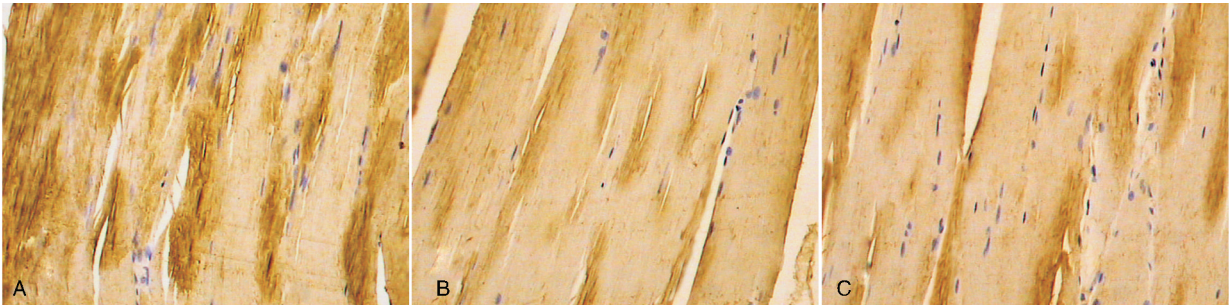


图 1. 免疫组织化学染色法检测大鼠骨骼肌 AdipoR1 表达(×200) A 为正常对照组,B 为糖尿病组,C 为吡格列酮组。

Figure 1. Protein expression of AdipoR1 in skeletal muscle by immunohistochemical staining



2.4 骨骼肌病理形态学改变

HE 染色显示各组大鼠骨骼肌纤维排列整齐,胞浆着色均匀,细胞核形态正常,细胞间隙无增宽及狭窄(图 2)。透射电镜下可见各组大鼠骨骼肌细胞

中肌原纤维排列规则紧密,肌丝整齐,肌小节完整,明暗带清晰,细胞核形态正常;线粒体为长椭圆形,结构清楚,嵴较密、呈板层状;糖原含量正常,分布均匀(图 3)。

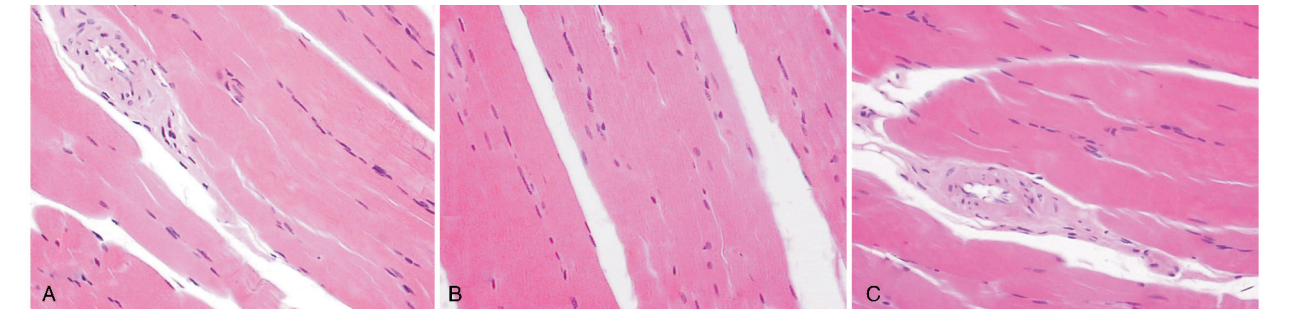


图 2. 大鼠骨骼肌 HE 染色(×200) A 为正常对照组,B 为糖尿病组,C 为吡格列酮组。

Figure 2. Skeletal muscle HE staining in three groups rats

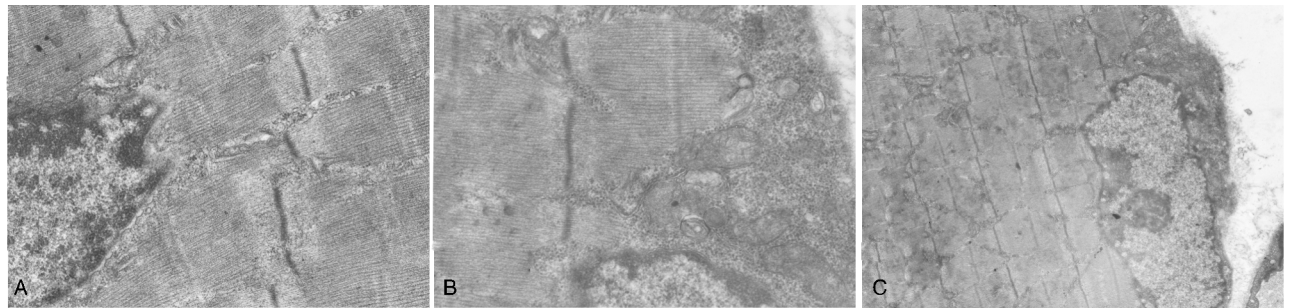


图 3. 电镜下大鼠骨骼肌超微结构 A 为正常对照组(×20000),B 为糖尿病组(×20000),C 为吡格列酮组(×6000)。

Figure 3. Skeletal muscle ultrastructure by electron microscope

3 讨论

脂联素是一种由脂肪组织分泌的细胞因子,具有显著改善胰岛素抵抗和抗动脉粥样硬化的生物效应<sup>[5,6]</sup>。研究发现 2 型糖尿病患者血清脂联素水平明显降低,低脂联素血症是 2 型糖尿病独立预测指标并可预测大血管病变的发生,补充脂联素可能为胰岛素抵抗、2 型糖尿病的治疗提供全新的手段。Hotta 等<sup>[7]</sup>对有胰岛素抵抗遗传倾向的恒河猴的研究发现,在向 2 型糖尿病发展的过程中,血循环中脂联素水平逐渐降低,且与胰岛素抵抗和 2 型糖尿病的发展呈平行关系。Weyer 等<sup>[8]</sup>研究发现,脂联素与空腹胰岛素浓度呈负相关,与胰岛素敏感指数呈正相关,较其与肥胖和血糖的关系更为密切,提示 2 型糖尿病患者中脂联素水平下降主要归因于胰岛素抵抗和高胰岛素血症。本研究结果显示,2 型糖尿病大鼠血清脂联素水平比正常对照组明显降低,并与 FBG、FINS、LDLC 呈负相关,与 HDLC、ISI 呈正相关,与上述研究结果一致。提示在 2 型糖尿病发展

过程中,脂联素水平发生明显变化,其水平的下降导致糖脂代谢紊乱、胰岛素敏感性下降。

新近发现的脂联素受体存在两种异构体,分别称为 AdipoR1 和 AdipoR2,其中 AdipoR1 主要分布于骨骼肌,AdipoR2 主要分布于肝脏。Wang 等<sup>[9]</sup>认为 AdipoR1 基因可能是 2 型糖尿病和胰岛素抵抗的候选基因,并提出 AdipoR1 基因或其附近的序列连续改变增加了发生 2 型糖尿病和代谢综合征危险的假说。Civitarese 等<sup>[10]</sup>研究报道,人骨骼肌中 AdipoR1 和 AdipoR2 的表达水平与胰岛素敏感性呈正相关。Inukai 等<sup>[11]</sup>也认为,胰岛素对 AdipoR1 的表达有抑制作用。本实验结果显示,2 型糖尿病大鼠骨骼肌 AdipoR1 的表达水平比正常对照组明显降低,并与 FBG、FINS、LDLC 呈负相关,与 HDLC、ISI 呈正相关,说明 AdipoR1 表达水平下降与胰岛素抵抗密切相关,这与上述研究结果相符,但与 Debard 等<sup>[12]</sup>和姚辉等<sup>[13]</sup>在 2 型糖尿病患者及大鼠骨骼肌中脂联素受体的表达没有改变结论不同。其原因可能与动物模型的建立方法不同,动物对高糖高脂饲

料的耐受性、体内糖脂代谢差异以及组织取材的部位不同等有关。

脂联素与 AdipoR 之间的作用机制尚不清楚,本研究结果显示 2 型糖尿病时,脂联素水平下降,同时 AdipoR1 表达减少,分析其原因可能为:①脂联素降低作用于 AdipoR,使其表达代偿性增加,但由于胰岛素抵抗、高胰岛素血症、糖脂毒性、炎症因子等对 AdipoR 的抑制作用超过了其代偿作用,导致 AdipoR 表达水平下降;② 2 型糖尿病时存在脂联素基因单核苷酸多态性及基因错义突变导致脂联素下降<sup>[14]</sup>,推测 2 型糖尿病时 AdipoR 可能也存在基因突变使其表达下降;③另外 AdipoR 不同于与 G 蛋白耦联的受体,是一个新的受体家族,可能其与脂联素之间的调节机制不同于其他激素与受体之间的作用机制,即脂联素的下降可直接导致 AdipoR 表达的下降。但具体作用机制尚待进一步研究。

吡格列酮属于 TZD,是一类新型的胰岛素增敏剂,能明显增强靶组织对胰岛素的敏感性,改善胰岛素抵抗<sup>[15]</sup>。新近研究发现,TZD 可通过 PPAR $\gamma$  以剂量-时间依赖方式增强脂联素 mRNA 的表达和分泌,提高胰岛素抵抗和糖尿病患者血浆脂联素浓度<sup>[16]</sup>,脂联素受体的表达也受 PPAR $\gamma$  和 PPAR $\alpha$  的诱导,是 PPAR 作用的新靶点<sup>[17]</sup>。本研究结果显示,吡格列酮组大鼠脂联素水平和 AdipoR1 的表达水平与 2 型糖尿病大鼠相比较明显升高,血糖、血脂水平明显降低,胰岛素敏感性显著改善,说明吡格列酮可增加血浆脂联素水平和上调 AdipoR1 的表达。

综上所述,脂联素及 Adipo R1 表达下降与胰岛素抵抗及 T2DM 密切相关,罗格列酮能提高血清脂联素水平及骨骼肌 Adipo R1 的表达,明显增强靶组织对胰岛素的敏感性,改善胰岛素抵抗。因此,研发人类重组脂联素将为临床治疗胰岛素抵抗和糖尿病提供新的理论依据,针对脂联素及脂联素受体基因缺陷的基因治疗也将成为胰岛素抵抗和糖尿病防治的新靶点。

[参考文献]

[1] Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors [J]. *Endocr Rev*, 2005, 26(3): 439-451.

[2] Yamauchi T, Kamon J, Ho Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects[J]. *Nature*, 2003, 423(41): 762-769.

[3] Lazar MA. PPAR gamma, 10 years later[J]. *Biochimic*, 2005, 87(1): 9-13.

[4] 李 竞, 李珍瑾, 崔 静, 等. VEGF 和色素上皮衍生因子的表达失衡对糖尿病肾病的影响[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2009, 35: 202-205.

[5] Kawano J, Arora R. The role of adiponectin in obesity, diabetes, and cardiovascular disease[J]. *J Cardiometab Syndr*, 2009, 4(1): 44-49.

[6] Shimano H. Obesity and atherosclerosis[J]. *Nippon Rinsho*, 2009, 67(2): 333-337.

[7] Hotta K, Funahashi T, Bdkin NL, et al. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitiaty during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys[J]. *Diabetes*, 2001, 50(5): 1 126-133.

[8] Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(5): 1 930-935.

[9] Wang H, Zhang H, Jia Y, et al. Adiponectin receptor 1 gene (adipor1) as a candidate for type 2 diabetes and insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2004, 53(8): 2 132-136.

[10] Civitarese AE, Jenkinson CP, Richardson D, et al. Adiponectin receptors gene expression and insulin sensitivity in non-diabetic Mexican Americans with or without a family history of type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2004, 47(5): 816-820.

[11] Inukai K, Nakashima Y, Watanabe M, et al. Regulation of adiponectin receptor gene expression in diabetic mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2005, 288(5): 876-882.

[12] Debard C, Laville M, Berbe V, et al. Expression of key genes of fatty acid oxidation, including adiponectin receptor, in skeletal muscle of type 2 diabetic patients[J]. *Diabetologia*, 2004, 47: 917-925.

[13] 姚 辉, 林汉华, 王宏伟, 等. 2 型糖尿病大鼠脂肪组织脂联素和骨骼肌组织脂联素受体 R1 基因表达的变化[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2006, 22(3): 284-285.

[14] Mohammadzadeh G, Zarghami N. Associations between single-nucleotide polymorphisms of the adiponectin gene, serum adiponectin levels and increased risk of type 2 diabetes mellitus in Iranian obese individuals[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2009, 69(7): 764-771.

[15] Sugiyama Y, Taketomi S, Ikeda H, et al. Effects of pioglitazone on glucose and lipid metabolism in Wistar fatty rats[J]. *Arzneim Forsch Drug Res*, 1990, 40(2): 263-267.

[16] Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, et al. PPARgamma ligand-sincrease expression and plasma concentratons of adiponectin an adipose-derived protein[J]. *Diabetes*, 2001, 50(9): 2 094.

[17] Chinetti G, Zawadski C, Fruchart JC, et al. Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPARgamma, and LXR[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 314(1): 151.

(此文编辑 许雪梅)