

参松养心胶囊对缺血再灌注心肌细胞 IGF-1、 chemerin 表达的影响

肖金平, 付景秋, 李小雷, 纪道兵, 陈俊

(湖北医药学院附属东风医院心内科, 湖北省十堰市 442008)

[关键词] 参松养心胶囊; 心肌细胞; 胰岛素样生长因子 1; chemerin; 心肌缺血再灌注损伤

[摘要] 目的 探讨参松养心胶囊对心肌细胞胰岛素样生长因子 1(IGF-1)、chemerin 表达的影响。方法 采用 SD 大鼠分离心肌细胞,分为 3 组,正常组进行常规培养,I/R 组通过缺氧复氧方法建立了心肌缺血再灌注损伤模型,胶囊组在模型建立前加入 320 $\mu\text{mol/L}$ 参松养心胶囊溶液预处理 24 h。记录心肌细胞 IGF-1、chemerin 在各时间点的表达情况。结果 细胞处理 24 h、36 h 与 48 h 后,与正常组比较,I/R 组和胶囊组的细胞存活率显著降低($P < 0.05$),活性氧(ROS)水平显著增加($P < 0.05$),胶囊组与 I/R 组比较差异也有统计学意义($P < 0.05$)。细胞处理 48 h 后,与正常组比较,I/R 组与胶囊组 G0/G1 期细胞比例增加($P < 0.05$),IGF-1、chemerin 蛋白相对表达量显著增加($P < 0.05$),S 期与 G2 期/M 期细胞比例减少($P < 0.05$),胶囊组与 I/R 组比较差异也有统计学意义($P < 0.05$)。结论 参松养心胶囊可抑制心肌细胞 IGF-1、chemerin 表达,降低细胞 ROS 水平与平衡细胞周期,提高心肌细胞存活率,发挥对心肌缺血再灌注损伤的保护作用。

[中图分类号] R542.2

[文献标识码] A

The effect of Shensong Yangxin Capsule on the expression of IGF-1 and chemerin in I/R myocardial cells

XIAO Jinping, FU Jingqiu, LI Xiaolei, JI Daobing, CHEN Jun

(Department of Cardiovascular Medicine, Dongfeng Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442008, China)

[KEY WORDS] Shensong Yangxin capsule; cardiomyocytes; IGF-1; chemerin; myocardial ischemia reperfusion injury

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of Shensong Yangxin Capsule on the expression of IGF-1 and chemerin in myocardial cells. **Methods** Myocardial cells were isolated from SD rats and were divided into three groups. The normal group were routinely cultured, the I/R group were treated by hypoxia-reoxygenation to establish model of myocardial ischemia-reperfusion injury, the Capsule group were added final concentration of 320 $\mu\text{mol/L}$ Shensong Yangxin Capsule pretreated for 24 hours before the model were established, and the expression of IGF-1 and chemerin in cardiomyocytes were recorded in different time. **Results** After 24 h, 36 h and 48 h treatment, the cell survival rate of the I/R group and the Capsule group were significantly lower ($P < 0.05$) and the ROS level were significantly increased ($P < 0.05$), the difference between the Capsule group and the I/R group were also statistically significant ($P < 0.05$). After 48 h treatment, compared with the normal group, the ratio of G0/G1 phase cells in the I/R group and the Capsule group were increased ($P < 0.05$), and the relative expression of IGF-1 and chemerin protein were increased significantly ($P < 0.05$). The proportion of cells in the S phase and G2/M phase were decreased ($P < 0.05$), and the difference compared between Capsule group and I/R group were also statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Shensong Yangxin Capsule can inhibit the expression of IGF-1 and chemerin in cardiomyocytes, thereby improving the survival rate of cardiomyocytes, reducing the level of ROS and balancing the cell cycle, and exerting protective effects on myocardial ischemia-reperfusion injury.

[收稿日期] 2019-04-24

[修回日期] 2019-05-30

[基金项目] 湖北省科技计划项目(2016CFB529)

[作者简介] 肖金平, 硕士, 主治医师, 研究方向为心脏电生理学, E-mail 为 xiaojp254@163.com。

心肌损伤在临床上较为常见,心肌缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, I/R)是多种造成心肌损伤的重要原因之一^[1-2]。能量代谢障碍、心肌细胞凋亡、自由基生成、钙超载、细胞自噬等都可诱发心肌缺血再灌注损伤,缺氧复氧过程可模拟心肌缺血再灌注过程^[3-4]。心肌缺血再灌注损伤在祖国医学上属于“心悸”、“怔忡”、“胸痹”等范畴,气阴两虚、瘀血阻络为重要病机^[5]。参松养心胶囊属于一种复方制剂,组成包括了人参、麦冬等,可补中益气、生津养血^[6-7]。胰岛素样生长因子系统(insulin-like growth factor system, IGFs)的组成包括了胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、IGF 结合蛋白(insulin-like growth factor protein, IGFBP)等,具有诸多生物学作用,比如促使细胞分化、生长等^[8-9]。IGF-1 属于一种 IGF, 不仅可模拟出生长激素中发生的生物学效应,可对很多器官组织产生生物学功能^[10]。Chemerin 又被称为维甲酸受体反应元件 2, 具有促炎作用,从而与胰岛素抵抗、血脂、血糖和动脉粥样硬化等存在相关性^[11]。本文具体探讨了参松养心胶囊对心肌细胞 IGF-1、chemerin 表达的影响,希望能初步阐明参松养心胶囊的作用效果与机制。现总结报道如下。

1 材料和方法

1.1 动物和主要试剂

0~3 天 SD 仔鼠购自本院实验动物中心。胎牛血清、DMEM 培养基、羊抗兔抗 IGF-1 抗体、羊抗兔抗 chemerin 抗体、羊抗兔抗 GAPDH 抗体均购自美国 Sigma 公司。噻唑蓝(methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT)溶液购自深圳晶美公司。参松养心胶囊购自山东步长制药有限公司(国药准字 Z10950026)。

1.2 心肌细胞的分离

无菌条件下,70%乙醇消毒仔鼠皮肤,剪开胸腔,去除血污与大血管,取出心脏,无菌冰 PBS 清洗 3 次,每次 5 min。将心脏置于小烧杯中,剪至 1 mm³左右的组织碎块。加入 1 g/L I 型胶原蛋白酶,0.22 μm 过滤除菌,分 6~8 次将组织消化完全。静置后收集上清液,加入等体积含 50 mL/L 胎牛血清的 DMEM 培养基,1 500 r/min 离心 10 min,选择 DMEM 培养基重悬细胞,200 目细胞筛过滤再接种于细胞培养瓶中。37 °C、CO₂ 培养 1 h 之后,利用差速贴壁法去除杂细胞,比如纤维细胞等,取上清,继续培养 2~3 天后进行后续实验。

1.3 细胞分组

把心肌细胞随机分为 3 组。正常组:5% CO₂、37 °C 常规培养;I/R 组:建立缺氧复氧心肌细胞损伤模型;胶囊组:模型建立前加入终浓度为 320 μmol/L 参松养心胶囊(0.9% NaCl)溶液预处理 24 h。

1.4 心肌缺血再灌注损伤模型的建立

弃原代心肌细胞的上清培养基,对饱和状态下的模拟缺氧液进行更换操作,取出缺氧的密闭容器,把细胞培养板放置其中,然后持续通入 5% CO₂、95% N₂ 的混合气体,并且在 37 °C 环境中进行缺氧处理,时长为 3 h,弃上清,更换为饱和的模拟复氧液,持续通入 5% CO₂、95% O₂ 混合气体在 37 °C 进行复氧 2 h。

1.5 MTT 法检测细胞存活率

取 96 孔板进行接种,每孔接种的原代心肌细胞个数为 1×10⁵ 个,促使每孔体积达到 200 μL, 然后进行细胞处理,时长分别是 24 h、36 h 与 48 h 后加入 MTT(5 g/L)10 μL,在室温状态下避光进行孵育,时长为 4 h,将上清液弃去,每孔细胞中添加 150 μL DMSO,涡旋 5~10 min。在酶标仪上选择 490 nm 波长,测定各孔吸光度值,计算细胞成活率。

1.6 流式细胞仪检测 ROS 表达水平

细胞处理后 24 h、36 h 与 48 h,收集 1×10⁶ 个原代心肌细胞后,1 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,用 10 μmol/L DCFH-DA 500 μL 溶液重悬细胞,1 000 r/min 离心 4 min 去上清,用 300 μL PBS 重悬,用流式细胞仪检测细胞内的活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平,使用 FCS Express V3 软件数据处理。

1.7 流式细胞仪检测细胞周期

细胞处理后 48 h,收集 6 孔板细胞,PBS 冲洗 2 次,70%乙醇固定 48 h,1 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,加入 10 g/L RNase 20 μL 混匀,水浴 45 min;1 000 r/min 离心 10 min,PBS 洗涤去除 RNase, PBS 重悬,加入 500 μL 碘丙啶(PI),4 °C 避光染色 30 min。应用流式细胞仪对荧光强度进行测定,从而得出细胞周期分布。

1.8 Western Blot 检测 IGF-1、chemerin 表达水平

细胞处理后 48 h,对细胞进行收集,然后将细胞裂解液加入其中,静置于冰上 30 min,待细胞完全裂解后,放置在 4 °C 环境中进行离心操作,12 000 r/min 离心 10 min,收集上清蛋白液。通过 BCA 法对蛋白样品进行检测,得出具体浓度,通过电泳和封

闭等一系列步骤,结合曝光条带灰度值对 IGF-1、chemerin 蛋白进行分析,了解其表达水平。一抗稀释浓度为 1:1 000,二抗稀释浓度为 1:10 000。上述实验都重复 3 次,取平均值纳入分析。

1.9 统计方法

采用 SPSS22.00 软件进行统计分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示计量资料,先进行方差齐性检验、单因素方差分析(One-way ANOVA),组间比较采用 LSD 比较,检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组细胞存活率比较

细胞处理 24 h、36 h 与 48 h 后,与正常组比较, I/R 组和胶囊组的细胞存活率显著降低($P<0.05$), 胶囊组显著高于 I/R 组($P<0.05$,表 1)。

表 1. 各组不同时间点细胞存活率的比较(%)

Table 1. Comparison of cell viability at different time points in three groups(%)

| 分组 | n | 24 h | 36 h | 48 h |
|-------|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 正常组 | 3 | 98.33±1.38 | 97.48±2.55 | 98.01±3.22 |
| I/R 组 | 3 | 67.30±2.48 ^a | 60.20±4.84 ^a | 50.28±5.11 ^a |
| 胶囊组 | 3 | 78.02±3.58 ^{ab} | 74.28±3.11 ^{ab} | 75.08±4.11 ^{ab} |
| F | | 13.022 | 18.372 | 22.472 |
| P | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

a 为 $P<0.05$,与正常组比较;b 为 $P<0.05$,与 I/R 组比较。

2.2 各组 ROS 水平比较

细胞处理 24 h、36 h 与 48 h 后,与正常组比较, I/R 组和胶囊组细胞 ROS 水平显著增加($P<0.05$), 胶囊组显著低于 I/R 组($P<0.05$,表 2)。

表 2. 各组不同时间点的细胞 ROS 水平比较(AU)

Table 2. Comparison of ROS levels in three groups at different time points(AU)

| 分组 | n | 24 h | 36 h | 48 h |
|-------|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 正常组 | 3 | 187.22±14.02 | 194.28±15.77 | 195.76±16.22 |
| I/R 组 | 3 | 687.72±56.21 ^a | 763.22±68.01 ^a | 812.48±71.47 ^a |
| 胶囊组 | 3 | 245.29±17.02 ^{ab} | 254.28±22.18 ^{ab} | 300.71±76.88 ^{ab} |
| F | | 23.103 | 27.455 | 30.744 |
| P | | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

a 为 $P<0.05$,与正常组比较;b 为 $P<0.05$,与 I/R 组比较。

2.3 各组细胞周期比较

细胞处理 48 h 后,与正常组比较, I/R 组和胶囊组的 G0/G1 期细胞比例增加($P<0.05$), S 期与 G2 期/M 期细胞比例减少($P<0.05$);胶囊组的 G0 期/G1 期细胞比例显著低于 I/R 组,而 S 期与 G2 期/M 期细胞显著高于 I/R 组($P<0.05$,表 3)。

表 3. 各组细胞处理 48 h 后的细胞周期比较(%)

Table 3. Cell cycle comparison of three groups of cells treated for 48 hours(%)

| 分组 | n | G0 期/G1 期 | S 期 | G2 期/M 期 |
|-------|---|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 正常组 | 3 | 70.33±4.87 | 18.22±2.95 | 11.45±2.45 |
| I/R 组 | 3 | 77.83±3.14 ^a | 9.27±0.44 ^a | 5.75±1.03 ^a |
| 胶囊组 | 3 | 74.30±5.14 ^{ab} | 11.29±0.33 ^{ab} | 7.98±1.15 ^{ab} |
| F | | 7.482 | 6.586 | 11.942 |
| P | | 0.008 | 0.012 | 0.000 |

a 为 $P<0.05$,与正常组比较;b 为 $P<0.05$,与 I/R 组比较。

2.4 各组 IGF-1、chemerin 蛋白表达比较

细胞处理 48 h 后,与正常组比较, I/R 组与胶囊组 IGF-1、chemerin 蛋白相对表达量显著增加($P<0.05$), 胶囊组显著低于 I/R 组($P<0.05$,表 4、图 1)。

表 4. 各组细胞处理 48 h 后 IGF-1、chemerin 蛋白表达的比较

Table 4. Comparison of the expressions of IGF-1 and Chemerin in three groups of cells treated for 48 hours

| 分组 | n | IGF-1 | chemerin |
|-------|---|-------------------------|-------------------------|
| 正常组 | 3 | 0.66±0.13 | 2.11±0.53 |
| I/R 组 | 3 | 4.20±0.15 ^a | 11.37±0.47 ^a |
| 胶囊组 | 3 | 2.31±0.18 ^{ab} | 6.29±0.11 ^{ab} |
| F | | 12.773 | 10.001 |
| P | | 0.000 | 0.001 |

a 为 $P<0.05$,与正常组比较;b 为 $P<0.05$,与 I/R 组比较。

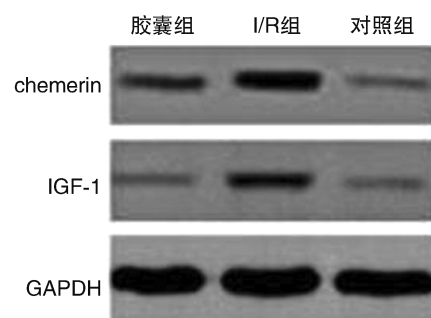


图 1. 各组细胞处理 48 h 后 IGF-1、chemerin 蛋白表达的比较
Figure 1. Comparison of the expressions of IGF-1 and Chemerin in three groups of cells treated for 48 hours

3 讨论

心肌缺血再灌注损伤为多种导致心肌缺血的心血管疾病在恢复灌注过程中可能发生的病理状态,可进一步加重心肌损伤程度,反而对患者预后产生严重不良影响^[12-13]。参松养心胶囊是主要抗心肌损伤药物,成分主要包括五味子、丹参及麦冬等,诸药共用可增强营养络脉之功效,全方位体现了“温清补通、整合调节”的特色^[14]。现代药理学研究表明参松养心胶囊主有降压、降脂、抗动脉硬化、增加冠状动脉血流量的作用,可抑制由二磷酸腺苷诱导引起的血小板聚集,也具有活血化瘀、镇静的作用^[15]。不过参松养心胶囊的化学成分相对西药复杂,对于心肌细胞可能也有一定的损害。通过 DCF 荧光检测可了解细胞内的活性氧水平,主要是因为 DCF 荧光强度和细胞内 ROS 水平之间属于正比关系^[16]。当心肌缺血再灌注损伤造成细胞膜受损后,细胞内 ROS 增多,抗氧化系统的活性也随之降低,从而形成细胞的二次损伤^[17]。本研究显示细胞处理 24 h、36 h 与 48 h 后,与正常组比较,I/R 组与胶囊组的细胞存活率显著降低($P<0.05$),ROS 水平显著增加($P<0.05$),胶囊组与 I/R 组比较差异也有统计学意义($P<0.05$),表明心肌缺血再灌注损伤能导致心肌细胞存活率降低与 ROS 释放增加,而参松养心胶囊的加入可部分逆转这一过程。当前药理学研究也表示麦冬、甘松对心肌细胞自律性、兴奋性及收缩性也有一定影响^[18];丹参具有扩张血管、改善微循环等作用;五味子具有减慢心率、调节免疫功能等作用,有利于提高心肌损伤细胞的存活率,也可抑制心肌细胞增殖并诱导其凋亡与分化^[19]。同时本研究显示细胞处理 48 h 后,与正常组比较,I/R 组与胶囊组的 G0/G1 期细胞比例增加($P<0.05$),S 期与 G2 期/M 期细胞比例减少($P<0.05$),胶囊组与 I/R 组比较差异也有统计学意义($P<0.05$)。说明参松养心胶囊可以让大量心肌细胞阻滞于 G1 期,调控细胞周期进展,从而起到保护心肌细胞的作用。

IGF-1 属于多功能生长因子,对于心肌损伤的治疗具有重要意义。有关研究显示,IGF-1 在损伤心肌细胞中出现异常高表达^[20]。当 IGF-1 有效结合细胞表面的 IGF1R,IGF1R 信号传导随之启动,激发 PI3k/Akt 信号通路,从而抑制细胞增殖与生长,并且可促进肿瘤细胞的程序性凋亡^[21]。Chemerin 在脂肪细胞中以自分泌、旁分泌的方式释放并且与周围 chemerin 受体相结合,从而促使胰岛素具有更

强的刺激信号,进一步增加葡萄糖的摄取率,从而调节脂肪组织的胰岛素敏感性^[22]。Chemerin 能够趋化树突状细胞到达炎症组织,促进炎症因子的释放,也在自然免疫和获得性免疫中发挥一定的作用^[23];同时肿瘤坏死因子 α 、干扰素 γ 等炎症因子可使单核细胞 chemerin 的表达上调^[24-25]。本研究显示细胞处理 48 h 后,与正常组比较,I/R 组与胶囊组的 IGF-1、chemerin 蛋白相对表达量显著增加($P<0.05$),胶囊组显著低于 I/R 组($P<0.05$)。表明参松养心胶囊对心肌细胞的保护作用可能是通过抑制 IGF-1、chemerin 表达实现的。但具体作用机制尚不明确,且具体作用途径也不清晰,将在后续研究中进行深入分析。

综上所述,参松养心胶囊可抑制心肌细胞 IGF-1、chemerin 表达,降低细胞 ROS 水平与平衡细胞周期,提高心肌细胞存活率,发挥对心肌缺血再灌注损伤的保护作用。

[参考文献]

- [1] Dwaich KH, Al-Amran FG, Al-Sheibani BI, et al. Melatonin effects on myocardial ischemia-reperfusion injury: impact on the outcome in patients undergoing coronary artery bypass grafting surgery[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 221(13): 977-986.
- [2] Han J, Tan H, Duan Y, et al. The cardioprotective properties and the involved mechanisms of Naoxintong Capsule [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 141(11): 409-417.
- [3] Liu F, Huang ZZ, Sun YH, et al. Four main active ingredients derived from a traditional chinese medicine guanxin shutong capsule cause cardioprotection during myocardial ischemia injury calcium overload suppression [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(3): 507-515.
- [4] Moludi J, Keshavarz S, Tabaee AS, et al. Q10 supplementation effects on cardiac enzyme CK-MB and troponin in patients undergoing coronary artery bypass graft: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial[J]. *J Cardiovasc Thorac Res*, 2016, 8(1): 1-7.
- [5] 娄蓉蓉, 陈亮, 李强. 参松养心胶囊对 R_yR₂ 介导的自发性钙释放的抑制作用[J]. *海军医学杂志*, 2018, 39(3): 219-223.
- [6] 马彦卓, 孔令锋, 南凯, 等. 参松养心胶囊对血管紧张素 II 引起的心肌细胞凋亡的影响[J]. *河南中医*, 2017, 37(4): 602-604.
- [7] 张敬, 冯红兵, 李君, 等. 参松养心胶囊对心肌梗死大鼠心肌细胞的保护作用[J]. *心脑血管病防治*, 2017, 17(5): 332-334.
- [8] Wang W, Wang L, Yang H, et al. Protective effects of

- yindanxinnaotong capsule in a rat model of myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *J Tradit Chin Med*, 2014, 34(6): 699-709.
- [9] 马金, 丁春华. 房颤发病机制和相关中药研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, (2): 149-151.
- [10] Dörner J, Struck R, Zimmer S, et al. Ultrasound-mediated stimulation of microbubbles after acute myocardial infarction and reperfusion ameliorates left-ventricular remodeling in mice via improvement of borderzone vascularization[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56841.
- [11] Genead R, Fischer H, Hussain A, et al. Ischemia-reperfusion injury and pregnancy initiate time-dependent and robust signs of up-regulation of cardiac progenitor cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36804.
- [12] Herrmann JL, Fiege JW, Abarbanell AM, et al. TGF- α equalizes age disparities in stem cell-mediated cardioprotection[J]. *J Surg Res*, 2012, 176(2): 386-394.
- [13] Labat-Robert J, Robert L. Longevity and aging. Role of free radicals and xanthine oxidase. A review[J]. *Pathol Biol (Paris)*, 2014, 62(2): 61-66.
- [14] Li G, Xing W, Zhang M, et al. Antifibrotic cardioprotection of berberine via downregulating myocardial IGF-1 receptor-regulated MMP-2/MMP-9 expression in diabetic rats[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 315(4): H802-h813.
- [15] 张萍, 王海云, 苏博, 等. 延胡索提取物对AMI大鼠模型心肌梗死面积及 Na^+ - K^+ -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase活性的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2017, 15(4): 410-415.
- [16] 沈伟生, 夏德洪, 高春恒, 等. 参松养心胶囊加红景天干预放射性心脏损伤的临床研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2016, 32(5): 431-434.
- [17] 连亚军, 王治平, 胡耀东, 等. 参松养心胶囊对心律失常大鼠抗室性心律失常作用及其机制[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(6): 1289-1291.
- [18] 程林忠, 程瑜蓉, 李青. 参松养心胶囊对大鼠心肌细胞L-型钙电流和钾电流的抑制作用[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2015, 21(7): 806-808.
- [19] Li J, Zhu K, Yang S, et al. Fibrin patch-based insulin-like growth factor-1 gene-modified stem cell transplantation repairs ischemic myocardium[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2015, 240(5): 585-592.
- [20] Song CL, Liu B, Diao HY, et al. Down-regulation of microRNA-320 suppresses cardiomyocyte apoptosis and protects against myocardial ischemia and reperfusion injury by targeting IGF-1[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(26): 39740-39757.
- [21] 高慧燕, 李学文. 参松养心胶囊对大鼠心肌细胞L-型钙电流和瞬时外向钾电流的抑制作用[J]. *中国药房*, 2014, 25(23): 2128-2130.
- [22] Tao L, Bei Y, Zhang H, et al. Exercise for the heart: signaling pathways[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(25): 20773-20784.
- [23] Tejada T, Tan L, Torres RA, et al. IGF-1 degradation by mouse mast cell protease 4 promotes cell death and adverse cardiac remodeling days after a myocardial infarction[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(25): 6949-6954.
- [24] Tobisawa T, Yano T, Tanno M, et al. Insufficient activation of Akt upon reperfusion because of its novel modification by reduced PP2A-B55 α contributes to enlargement of infarct size by chronic kidney disease[J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112(3): 31.
- [25] Wang R, Xi L, Kukreja RC. PDE5 inhibitor tadalafil and hydroxychloroquine cotreatment provides synergistic protection against type 2 diabetes and myocardial infarction in mice[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2017, 361(1): 29-38.
- (此文编辑 朱雯霞)