

吡咯喹啉醌对 Bmi-1 基因缺失引起小鼠皮肤早衰的保护作用

黄元清^{1*}, 苗登顺², 陈 宁³

(¹湖南医药学院口腔医学系, 湖南 怀化 418000; ²南京医科大学解剖医学系骨与干细胞研究中心, 江苏 南京 211166; ³南京医科大学附属口腔医院口腔种植中心, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:研究吡咯喹啉醌(pyrroloquinoline quinone, PQQ)是否通过抑制氧化应激发挥对 Bmi-1 缺失小鼠引起皮肤早衰的治疗作用。方法:将同窝的 Bmi-1 杂合子(Bmi-1^{+/-})雌雄小鼠进行配对,取 7 周龄正常饮食野生型(wild type, WT)小鼠 10 只,正常饮食 Bmi-1 基因敲除(Bmi-1 knock out, BKO)小鼠 10 只,以及正常饮食添加 PQQ 的 BKO 小鼠(PQQ+BKO)10 只,利用 HE 染色、组织化学、免疫组织化学及流式细胞仪检测等方法进行相关实验。结果:与 BKO 组小鼠比较,PQQ+BKO 组小鼠整体表型部分纠正,毛色光滑,体重增加,生存期明显延长;PQQ+BKO 组小鼠皮肤厚度[(142.65±0.25)μm]与 BKO 组小鼠[(78.45±0.35)μm]相比,差异有统计学意义($P<0.01$);PQQ+BKO 组小鼠皮肤总胶原阳性面积百分比[(25.64±0.28)%]与 BKO 组小鼠[(14.87±0.47)%]相比,差异有统计学意义($P<0.01$);PQQ+BKO 组小鼠皮肤 PCNA 阳性细胞百分比[(18.54±0.37)%]与 BKO 组小鼠[(5.85±0.64)%]相比,差异有统计学意义($P<0.01$);PQQ+BKO 组小鼠皮肤纤维化阳性面积百分比[(48.64±0.28)%]与 BKO 组小鼠[(87.64±0.46)%]相比,差异有统计学意义($P<0.01$);PQQ+BKO 组小鼠皮肤的 ROS 水平(298.17±0.25)较 BKO 组小鼠(427.80±0.63)显著下降($P<0.01$)。结论:PQQ 通过增加皮肤胶原蛋白、促进皮肤细胞增殖、减少皮肤组织纤维化、清除氧自由基 ROS 水平等对 Bmi-1 缺失所致皮肤早衰发挥保护作用。

[关键词] 吡咯喹啉醌;Bmi-1;皮肤;早衰;氧化应激

[中图分类号] R329.2+5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)06-691-06

doi:10.7655/NYDXBNS20170608

Protective effect of pyrroloquinoline quinone on premature aging of skin in Bmi-1 knockout mice

Huang Yuanqing^{1*}, Miao Dengshun², Chen Ning³

(¹Department of Stomatology, Hunan University of Medicine, Huaihua 418000; ²Research Center for Bone and Stem Cells, Department of Anatomy, NJMU, Nanjing 211166; ³Department of Oral Implantology, the Affiliated Stomatological Hospital to NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate whether pyrroloquinoline quinone (PQQ) plays a treatment role in premature aging of skin in Bmi-1^{+/-} mice by inhibiting oxidative stress. **Methods:** We paired with littermates Bmi-1^{+/-} between male and female mice, and selected the mice at the age of 7 weeks; wild type mice and normal diet (10 mice), Bmi-1^{+/-} mice and normal diet (10 mice), Bmi-1^{+/-} mice and add PQQ diet (10 mice). HE staining, histochemistry, immunohistochemistry, and flow cytometry were performed. **Results:** Compared with BKO mice, PQQ partially rescued total body phenotype, made hair of skin smooth, increased body weight and prolonged survival time. Compared skin thickness of PQQ+BKO mice [(142.65±0.25)μm] to BKO mice [(78.45±0.35)μm], the difference was statistically significant ($P<0.01$). The percentage of total collagen positive area of skin in the PQQ+BKO group [(25.64±0.28)%] was significantly different from that in the BKO group [(14.87±0.47)%], $P<0.01$. The percentage of skin PCNA positive cells in the PQQ+BKO group [(18.54±0.37)%] was significantly different from that in the BKO group [(5.85±0.64)%], $P<0.01$. The positive area of skin fibrosis in the PQQ+BKO group [(48.64±0.28)%] was significantly different from that in the BKO group [(87.64±0.46)%], $P<0.01$. Compared with BKO mice (427.80±0.63), the levels of ROS in the skin of the PQQ+BKO group (298.17±0.25) were significantly decreased, and the difference was statistically significant ($P<0.01$). **Conclusion:** The results of these studies indicated that PQQ played a role in protecting premature aging of skin induced by Bmi-1 defection through multiple aspects, such as promoting skin

[基金项目] 湖南省教育厅青年科学研究项目(14B141)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: huang1977789@126.com

cell proliferation, reducing skin tissue fibrosis, scavenging ROS levels of oxygen free radical.

[Key words] pyrroloquinoline quinone; Bmi-1; skin; senilism; oxidative stress

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(03): 691-696]

衰老是指个体随着时间推移发生的功能性和器质性衰退的渐进过程,皮肤位于体表,是最早显现机体衰老的组织。皮肤衰老不仅影响外貌,还与许多皮肤病有病因学联系,因此预防和延缓皮肤衰老已成为医学和美容的研究热点^[1-2]。

B细胞淋巴瘤滤过性病毒插入位点1(B cell-specific moloney leukemia virus insert site-1, Bmi-1)基因属于聚硫蛋白复合体基因家族的成员之一^[3],具有抑制转录的作用,被认为是一种原癌基因。目前研究已经证实 Bmi-1 对下游通路的调节主要是通过减少氧化应激活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平的产生,减少DNA双链断裂(DNA double strand breaks, DSBs),促进其修复而调控氧化应激反应,从而参与DNA的损伤修复^[4-5]。本课题组前期研究发现:Bmi-1基因敲除小鼠表现为皮肤过早老化^[6]。

吡咯喹啉醌(pyrroloquinoline quinone, PQQ)首次在甲基营养菌中被鉴定为一种乙醇和葡萄糖脱氢酶的新型辅因子,目前被认为是一种重要的营养生长因子^[7-8]。研究发现,PQQ的化学结构为一种4,5-二氢-4,5-二氧代-1H-吡咯并[2,3-f]喹啉-2,7,9-三羧酸复合物,分子式为 $C_{14}H_6N_2O_8$,相对分子质量为330.21,广泛分布于植物、细菌、动物、食物及许多生物体液内^[9-10],具有水溶性和热稳定性等特点,存在氧化和还原形式。研究发现,PQQ的抗氧化应激作用已经成为近年的研究热点,已经证实PQQ作为抗氧化剂具有神经保护、心血管保护以及抗肿瘤作用^[11-14]。研究证实PQQ作为氧化应激中ROS的清除剂,在体外试验中能不断与ROS发生中和反应,而产生非反应性分子产物,从而保护质粒DNA和蛋白免遭氧化应激损伤^[12],这些结果表明PQQ作为ROS的清除剂可能直接通过中和ROS,从而保护线粒体的功能,防治机体衰老的发生。然而PQQ作为抗氧化剂,能否纠正Bmi-1基因敲除小鼠引起的皮肤早衰,目前尚未见报道。

为了探讨PQQ作为抗氧化剂是否具有抵抗皮肤早衰的作用,本研究利用Bmi-1基因缺失小鼠构建典型小鼠皮肤早衰的动物模型,推测PQQ是否能够通过降低氧自由基ROS水平,从而对Bmi-1基因

缺失小鼠引起的皮肤早衰具有治疗作用。

1 材料和方法

1.1 材料

实验动物的繁殖:Bmi-1基因敲除杂合子小鼠共8只,分两笼,其中每笼1只雄鼠,配3只雌鼠(由荷兰肿瘤研究所Anton Berns教授惠赠,合格证号:12901a/FVB/N),由南京医科大学SPF级实验动物中心饲养,进行雌雄配对合笼,得到的子代小鼠用PCR方法进行基因型鉴定^[15],获得同窝配对的野生型(wild type, WT)和Bmi-1基因敲除(Bmi-1 knock out, BKO)即纯合子Bmi-1^{-/-}小鼠(其中WT 10只, BKO 10只, BKO+PQQ 10只)用于实验。本研究经过了南京医科大学实验动物伦理委员会的批准(批准号: BK2006576)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组

取子代WT和BKO组小鼠分别进行以下处理:①WT组(10只),子代小鼠3周龄断奶后普通饮食饲养WT小鼠4周;②BKO组(10只),子代小鼠3周龄断奶后,普通饮食饲养BKO小鼠4周;③BKO+PQQ组(10只),普通饮食中添加PQQ饮食(每公斤普通饲料中添加PPQ 4 mg)喂养BKO小鼠的孕母鼠,子代小鼠3周龄断奶后继续喂养添加PQQ饮食4周。分别取7周龄WT、BKO、BKO+PQQ 3组小鼠进行相关实验。在3组中各取10只小鼠观察统计分析小鼠的表型、生存期及体重(平均每5 d称体重1次)。

1.2.2 组织标本准备

取7周龄WT、BKO及BKO+PQQ组小鼠,麻醉后即刻行颈椎脱臼处死,取背部皮肤组织,使用能更好保存酶活性和组织抗原性的甲醛混合物(2%副醛、75 mmol/L 赖氨酸、10 mmol/L 过碘酸钠、Paraldehyde、Lysine、Sodium periodate、PLP)固定液固定,经常规脱水、石蜡包埋、切片,用于HE染色、组织化学染色和免疫组织化学染色。

1.2.3 HE染色

石蜡切片常规脱蜡水化,苏木精(Sigma公司,美国)染色,1%盐酸酒精分化,流水冲洗返蓝,伊红

(Sigma 公司, 美国)复染, 常规脱水透明, 中性树脂封片。

1.2.4 组织化学染色

取背部皮肤组织的石蜡切片, 按照 Miao 等^[16]方法, 检测反映皮肤胶原成分的指标总胶原蛋白(total collagen, TCOL)。

1.2.5 免疫组织化学染色

取背部皮肤组织进行固定、脱水、石蜡包埋切片, 按照 Mickle 等^[17]方法进行免疫组织化学染色, 检测反映皮肤组织细胞增殖的指标增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA), 同时 Masson 染色检测反映皮肤组织间质纤维化的指标。

1.2.6 流式细胞仪技术检测 ROS 水平

取 3 组小鼠的皮肤组织, 用流式细胞仪检测 ROS 水平。

1.3 统计学方法

采用 Image Pro Plus 图像处理与分析软件分析组化染色图像, Graphpad Prism 5.0 软件进行体重和生存期的数据统计分析。运用 SPSS11.0 软件和 Image 图像分析软件, 总胶原阳性面积百分比、PCNA 阳性细胞百分比、纤维化阳性面积百分比的比较采用卡方检验; 皮肤厚度、ROS 水平等计量资料 3 组间的总体比较和两两比较分别进行单因素方差分析和 LSD-*t* 检验, 以双侧 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PQQ 从整体上部分纠正了 Bmi-1 缺失小鼠的早衰表型

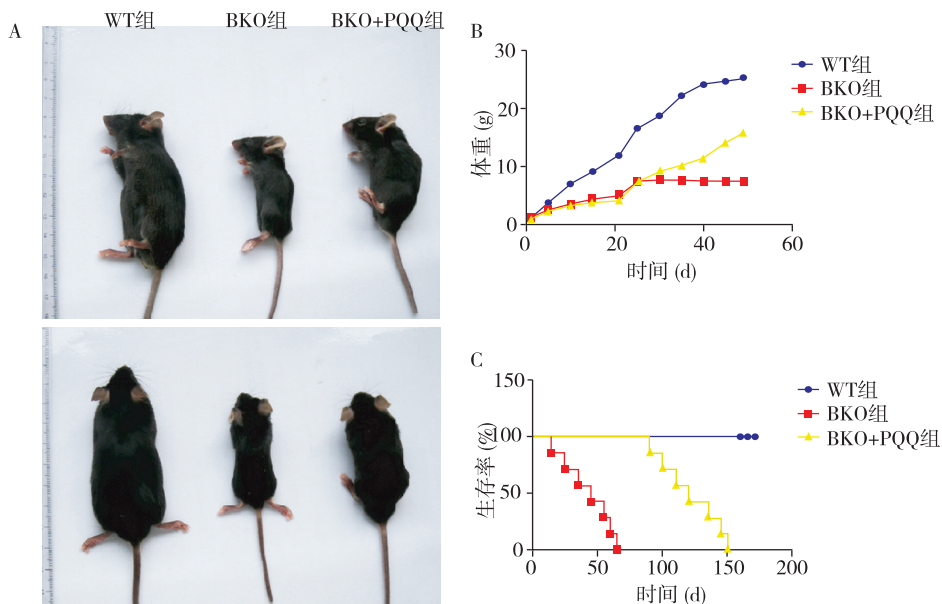
与 WT 组小鼠相比, BKO 组小鼠表现为早衰表型, 体重减轻, 生存期缩短; 皮肤产生退化性变, 表现为体表毛发稀疏欠光泽, 皮肤变薄、弹性消退、萎缩起皱; PQQ+BKO 组从整体上部分纠正了 7 周龄成年 BKO 组小鼠的早衰表型(图 1A), 毛色光泽稠密, 而且 PQQ+BKO 组的体重(图 1B)和生存期(图 1C)与 BKO 组相比均得到了纠正。说明饮食补充 PQQ 对 BKO 小鼠导致的早衰表型有明显纠正作用。

2.2 PQQ 对 BKO 小鼠皮肤厚度及胶原蛋白的影响

HE 染色结果显示, 与 WT 组小鼠相比, BKO 组小鼠皮肤厚度变薄(图 2A)、总胶原阳性面积百分比明显减少(图 2B), 二者差异有统计学意义($P < 0.001$); 与 BKO 组小鼠相比, BKO+PQQ 组小鼠皮肤厚度增宽、总胶原阳性面积百分比明显增加, 差异有统计学意义($P < 0.001$, 图 2C)。表明 PQQ 具有增加 BKO 小鼠皮肤厚度及总胶原蛋白的作用。

2.3 PQQ 对 BKO 小鼠皮肤细胞增殖的作用

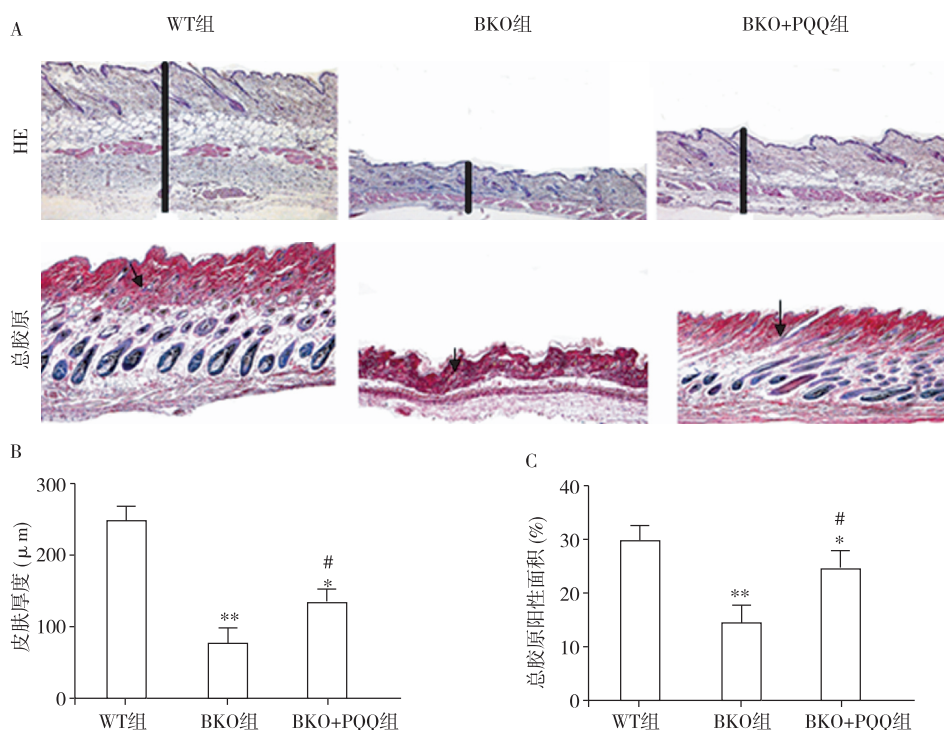
结果显示与 WT 组小鼠相比, BKO 组小鼠皮肤的 PCNA 阳性细胞数目明显减少(图 3A), 阳性细胞百分比明显减少, 二者差异有统计学意义($P < 0.001$, 图 3B); 与 BKO 组小鼠相比, BKO+PQQ 组小鼠皮肤



A: 3 组表型比较; B: 3 组体重比较; C: 3 组生存期比较。

图 1 PQQ 对 BKO 小鼠表型、体重及生存期的作用

Figure 1 Effect of PQQ on phenotype, body weight, percent survival in BKO mice



A: HE 染色和总胶原染色($\times 100$); B: 3 组小鼠皮肤厚度比较柱状图; C: 3 组小鼠皮肤总胶原阳性面积百分比比较柱状图。黑色柱状棒表示皮肤厚度, 黑色箭头所指的紫红色染色为总胶原成分。与 WT 小鼠比较, $*P < 0.01$, $**P < 0.001$; 与 BKO 小鼠比较, $#P < 0.01$ 。

图 2 PQQ 对 BKO 小鼠皮肤厚度的影响

Figure 2 Effect of PQQ on skin thickness in BKO mice

的 PCNA 阳性细胞数目明显增多(图 3A), 阳性细胞百分比明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 3B)。提示饮食补充 PQQ 有利于促进 BKO 小鼠皮肤细胞的增殖。

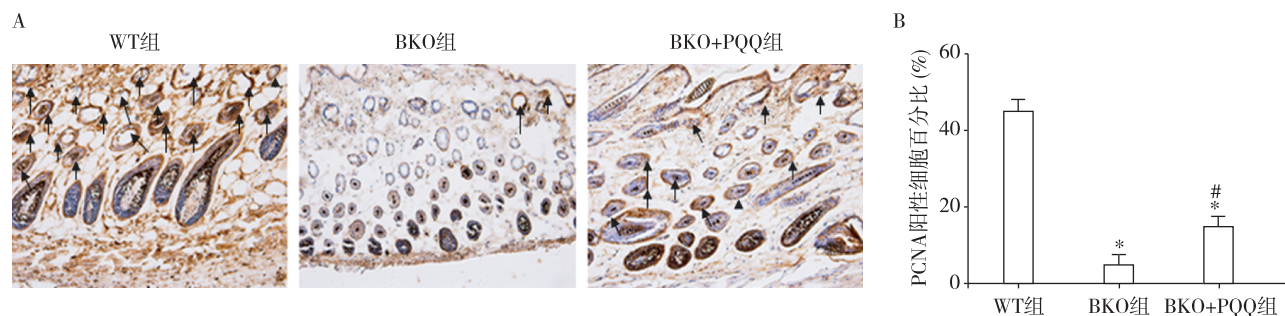
2.4 PQQ 对 BKO 组小鼠皮肤纤维化的作用

与 WT 组小鼠相比, BKO 组小鼠皮肤间质纤维化明显(图 4A), 纤维化阳性面积百分比明显增加, 二者差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 4B); 与 BKO 组小鼠相比, BKO+PQQ 组小鼠皮肤间质的纤维化面积减少(图 4A), 纤维化阳性面积百分比减少, 差异

有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 4B)。提示饮食补充 PQQ 有利于减少 BKO 小鼠皮肤间质纤维化。

2.5 PQQ 对 BKO 小鼠皮肤组织中 ROS 的调节

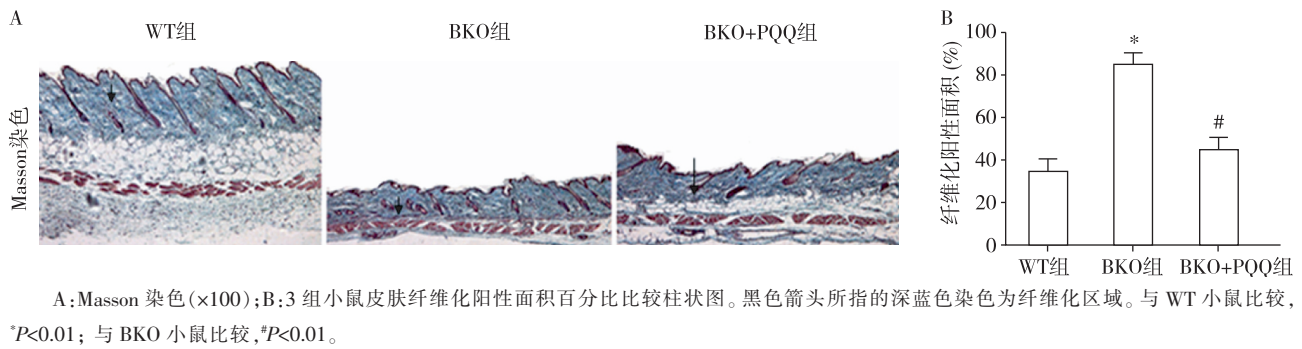
3 组小鼠皮肤组织的 ROS 水平检测结果显示(图 5A), 与 WT 组小鼠相比, BKO 组小鼠皮肤组织中 ROS 水平明显增加, 二者差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 5B); 与 BKO 组小鼠相比, BKO+PQQ 组小鼠皮肤组织中的 ROS 水平明显下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 5B)。提示饮食补充 PQQ 有利于降低 BKO 小鼠皮肤组织中的 ROS 水平。



A: PCNA 免疫组织化学染色($\times 400$); B: 3 组小鼠皮肤 PCNA 阳性细胞百分比比较柱状图。黑色箭头所指的为 PCNA 阳性细胞。与 WT 小鼠比较, $*P < 0.001$; 与 BKO 小鼠比较, $#P < 0.01$ 。

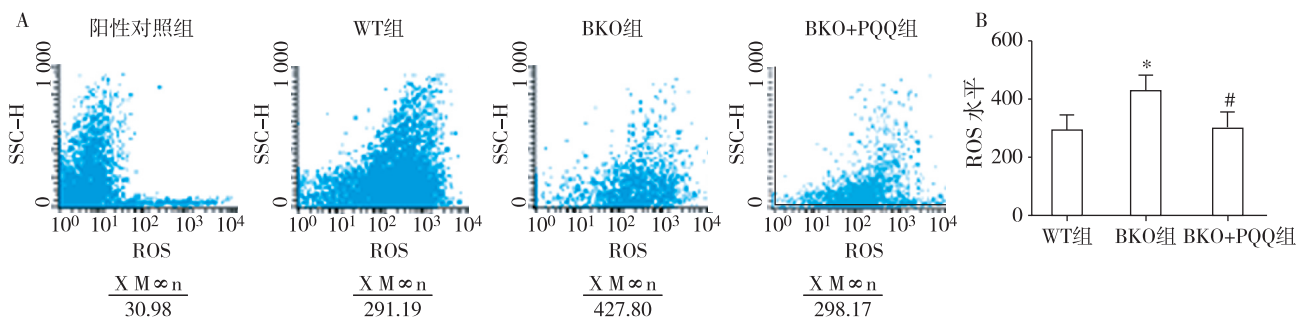
图 3 PQQ 对 BKO 小鼠皮肤增殖的作用

Figure 3 Effect of PQQ on skin proliferation in BKO mice



A: Masson 染色($\times 100$); B: 3 组小鼠皮肤纤维化阳性面积百分比比较柱状图。黑色箭头所指的深蓝色染色为纤维化区域。与 WT 小鼠比较, $*P < 0.01$; 与 BKO 小鼠比较, $#P < 0.01$ 。

图 4 PQQ 对 BKO 小鼠皮肤纤维化的作用
Figure 4 Effect of PQQ on skin fibrosis in BKO mice



A: 流式细胞 ROS 水平的检测; B: 3 组小鼠皮肤组织中 ROS 水平比较柱状图。与 WT 小鼠比较, $*P < 0.01$; 与 BKO 小鼠比较, $#P < 0.01$ 。

图 5 PQQ 对 BKO 小鼠皮肤 ROS 水平的调节作用

Figure 5 Effect of PQQ on regulation of skin ROS levels in BKO mice

3 讨论

皮肤衰老是机体衰老的一个重要组成部分,且与许多皮肤病如脂溢性角化、日光性角化、基底细胞癌、鳞状细胞癌的发生有关,因此预防和延缓皮肤衰老已成为生命科学研究的热点之一^[18]。PQQ 作为细菌脱氢酶的新型辅因子,是一种重要营养生长因子,具有抗氧化作用,然而目前 PQQ 能否作为抗氧化剂、具有抗皮肤早衰的作用目前尚不清楚。

因而本研究利用 Bmi-1 基因缺失小鼠导致的典型皮肤早衰动物模型,采用饮食添加抗氧化剂 PQQ 喂养 BKO 小鼠,与同周龄 WT、不添加 PQQ 的 BKO 小鼠比较,PQQ 对 Bmi-1 缺失小鼠导致的皮肤早衰确有纠正作用,具体表现如下:PQQ+BKO 组小鼠较同周龄的 BKO 小鼠毛色光滑,体积增大,无驼背现象,生存期明显延长,体重明显增加。为了检测 PQQ 对 BKO 小鼠皮肤厚度及胶原蛋白成分的影响,进行了 HE、总胶原染色,结果显示 PQQ+BKO 组小鼠皮肤厚度以及总胶原蛋白的量均得到了明显纠正,表明饮食补充 PQQ 有利于增强 BKO 小鼠皮肤厚度以及胶原蛋白总量。为了检测 PQQ 对 BKO 小鼠皮肤细胞的增殖作用,进行了 PCNA 免疫组织化学染色,PQQ+BKO 组小鼠皮肤 PCNA 阳性细胞百分比明显

较 BKO 组小鼠多,表明饮食补充 PQQ 有利于促进 BKO 小鼠皮肤细胞的增殖。为了检测 PQQ 是否具有减少皮肤间质纤维化的作用,进行了皮肤组织的 Masson 染色,结果表明 PQQ+BKO 组小鼠皮肤组织纤维化明显较 BKO 组小鼠少,表明饮食补充 PQQ 有利于减少 BKO 小鼠皮肤纤维化。

自由基对细胞的损伤是皮肤衰老的原因之一,自由基具有极强的氧化能力,可使生物膜中不饱和脂类发生过氧化,形成过氧化脂质,其终产物丙二醛是强交联剂,与蛋白质、核酸或脂类结成难溶性物质,使生物膜硬化导致通透性降低,影响细胞物质交换,继而使之破裂、死亡。自由基可攻击生物膜上特殊的受体蛋白质,使其发生氧化变性,数量减少,敏感性降低。研究发现随着年龄增长,表皮角质形成细胞和真皮成纤维细胞生长变缓,逐渐失去对外来有丝分裂原的应答性,其原因是细胞丧失了高亲和力受体或降低了受体后信号转导能力。

PQQ 作为抗氧化剂是否通过降低 ROS 水平发挥抗皮肤早衰的作用,本研究取小鼠皮肤组织进行了 ROS 水平的流式细胞检测,结果证明饮食补充 PQQ 有利于降低 BKO 小鼠皮肤组织中的 ROS 水平。

Bmi-1 基因属于表观遗传学调节因子多梳基因家族的成员之一。Bmi-1 基因敲除的小鼠中线粒体

功能严重损伤,导致 ROS 水平显著升高,进而通过 DNA 损伤介导引起机体衰老,从而导致皮肤早衰的发生。因而针对 Bmi-1 基因功能缺陷的治疗主要是抑制氧化应激,减少 DNA 损伤,保护线粒体功能,从而发挥对皮肤早衰的治疗作用。研究表明 PQQ 能保护线粒体活性使其免遭氧化应激损伤^[19],表明 PQQ 作为 ROS 的清除剂可能是直接通过中和 ROS,从而保护线粒体功能,防治机体早衰。结合本研究结果提示 PQQ 有可能通过降低 ROS 水平,从而对 Bmi-1 基因缺失小鼠的皮肤早衰有治疗作用。

因此 PQQ 有可能作为饮食替代药品或作为药品补充剂应用于皮肤衰老的治疗和预防,为 PQQ 在抗皮肤早衰临床新药的研发提供了实验和理论依据。

[参考文献]

- [1] 周晓杰, 苗登顺. 活性维生素 D 缺乏促进小鼠皮肤衰老[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2010, 30(5): 591-596
- [2] 梁国恩, 张陈威. 枸杞多糖延缓小鼠皮肤衰老的实验研究[J]. 中国美容医学, 2007, 16(6): 734-736
- [3] Xie CF, Jin JL, Miao DS, et al. Anti-aging effect of transplanted amniotic membrane mesenchymal stem cells in a premature aging model of Bmi-1 deficiency[J]. *Sci Rep*, 2015, 5:13975
- [4] Jette N, Lees-Miller SP. The DNA-dependent protein kinase; a multifunctional protein kinase with roles in DNA double strand break repair and mitosis[J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2015, 117(2-3): 194-205
- [5] Liu J, Cao L, Chen JC, et al. Bmi1 regulates mitochondrial function and the DNA damage response pathway[J]. *Nature*, 2009, 459(7245): 387-392
- [6] 金署蕾, 苗登顺, 韩群颖. Bmi-1基因敲除导致小鼠皮肤老化[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2008, 23(3): 312-316
- [7] Hauge G. Glucose dehydrogenase of *Bacterium anitratum*: an enzyme with a novel prosthetic group[J]. *J Biol Chem*, 1964, 239: 3630-3639
- [8] Wojdyla K, Rogowska-Wrzesinska A. Differential alkylation-based redox proteomics-lessons learnt[J]. *Redox Biol*, 2015, 6: 240-252
- [9] Tchapanian E, Marshal L, Cutler G, et al. Identification of transcriptional networks responding to pyrroloquinoline quinone dietary supplementation and their influence on thioredoxin expression, and the JAK/STAT and MAPK pathways[J]. *Biochem J*, 2010, 429(3): 515-526
- [10] Yang CF, Yu LF, Kong LB, et al. Pyrroloquinoline quinone (PQQ) inhibits lipopolysaccharide induced inflammation in part via downregulated NF- κ B and p38/JNK activation in microglial and attenuates microglia activation in lipopolysaccharide treatment mice[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109502
- [11] Ouchi A, Nakano M, Nagaoka S, et al. Kinetic study of the antioxidant activity of pyrroloquinolinequinol (PQQH (2), a reduced form of pyrroloquinoline quinone) in micellar solution[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(2): 450-456
- [12] Zhang LL, Liu J, Cheng C, et al. The neuroprotective effect of pyrroloquinoline quinone on traumatic brain injury[J]. *J Neurotrauma*, 2012, 29(5): 851-864
- [13] Huang YQ, Chen N, Miao DS. Biological effects of pyrroloquinoline quinone on liver damage in Bmi-1 knockout mice[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(2): 451-458
- [14] Bhavani SS, Pandey R, Prayag A, et al. Sainis role of glutathione in augmenting the anticancer activity of pyrroloquinoline quinone(PQQ)[J]. *Redox Report*, 2010, 15(4): 146-154
- [15] Molofsky V, He SH, Bydon M, et al. Bmi-1 promotes neural stem cell self-renewal and neural development but not mouse growth and survival by repressing the p16Ink4a and p19Arf senescence pathways[J]. *Genes Dev*, 2005, 19(12): 1432-1437
- [16] Miao D, Bai X, Panda D, et al. Osteomalacia in hyp mice is associated with abnormal phex expression and with altered bone matrix protein expression and deposition[J]. *Endocrinology*, 2001, 142(2): 926-939
- [17] Mickle D, Shepherd J, Loo LP, et al. Induction of thermal and mechanical hypersensitivity by parathyroid hormone-related peptide through upregulation of TRPV1 function and trafficking[J]. *Pain*, 2015, 156(9): 1620-1636
- [18] 张春丽, 邹阳, 林金德, 等. 吡咯喹啉醌对 UVA 诱导人皮肤成纤维细胞衰老的保护作用机制研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2013, 33(3): 337-341
- [19] Bauerly K, Harris C, Chowanadisai W, et al. Altering pyrroloquinoline quinone nutritional status modulates mitochondrial, lipid, and energy metabolism in rats[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e21779

[收稿日期] 2016-09-21