

沉默信息调节因子 1 对高糖诱导的足细胞凋亡的影响及机制研究

段荣 蒋健 杨志忠 郑晓玉

641000 四川省内江市第一人民医院肾内科

【摘要】 目的 研究沉默信息调节因子 1 (silence information regulator 1, SIRT1) 对高糖诱导的足细胞凋亡的影响和机制。**方法** 取足细胞分别给予不同处理, 分为 5 组: Control 组 (5.6 mmol/L 葡萄糖培养液培养)、Osmotic-NC 组 (葡萄糖 5.6 mmol/L + 甘露醇 25 mmol/L 培养液培养)、HG 组 (30 mmol/L 葡萄糖培养液培养)、HG + SIRT1 组 [SIRT1 过表达载体 (pcDNA3.1-SIRT1) 转染 + 30 mmol/L 葡萄糖培养液培养]、HG + NC 组 [阴性对照载体 (pcDNA3.1) 转染 + 30 mmol/L 葡萄糖培养液培养], 采用 qRT-PCR 和 Western blot 技术检测各组 SIRT1 表达效果, 以试剂盒分别检测各组细胞中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性和丙二醛 (MDA)、活性氧簇 (ROS) 水平, 采用流式细胞术检测各组细胞凋亡, 采用 Western blot 检测各组细胞中 Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-9 蛋白表达变化。**结果** 高糖培养后的足细胞中 SIRT1 mRNA 及蛋白水平均降低。转染 SIRT1 过表达载体后的足细胞经过高糖处理以后, 细胞中的 SIRT1 mRNA 及蛋白水平升高。高糖处理后的足细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性降低, MDA 和 ROS 水平升高, 细胞凋亡率升高, 细胞中 Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-9 蛋白水平升高。上调 SIRT1 可以提高高糖条件下足细胞 SOD、CAT、GSH-Px 活性, 减少细胞中 MDA 和 ROS 水平, 减少细胞凋亡率和 Cleaved Caspase-3、Cleaved Caspase-9 蛋白表达。**结论** 上调 SIRT1 可以降低高糖诱导的足细胞凋亡, 其作用机制可能与降低氧化损伤有关。

【关键词】 高糖; 足细胞; 凋亡; 沉默信息调节因子 1

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2390.2019.09.010

Effect and its mechanism of SIRT1 on apoptosis of podocytes induced by high glucose DUAN Rong, JIANG Jian, YANG Zhi-zhong, ZHENG Xiao-yu. Department of Nephrology, Neijiang First People's Hospital, Sichuan 641000, China

【Abstract】 Objective To study the effect and its mechanism of SIRT1 on glucose-induced apoptosis of podocytes. **Methods** Human kidney podocytes were taken to treat with different methods, and divided into 5 groups: control group (culturing with the medium containing 5.6 mmol/L glucose), osmotic-NC group (culturing with the medium containing glucose 5.6 mmol/L + mannitol 25 mmol/L), HG group (culturing with the medium of 30 mmol/L glucose), HG + SIRT1 group [transfecting with SIRT1 over-expression vector (pcDNA3.1-SIRT1) + culturing with the medium containing 30 mmol/L glucose], and HG + NC group [transfecting with the negative control vector (pcDNA3.1) + culturing with the medium containing 30 mmol/L glucose]. The expression of SIRT1 in each group was detected by qRT-PCR and Western blot. Activities of SOD, CAT and GSH-Px, and levels of MDA and ROS in the cells from each group were detected with various corresponding kits. Cell apoptosis in each group were detected by flow

【作者简介】 段荣, 男, 本科, 副主任医师, 研究方向: 肾脏内科常见病的诊断与治疗, E-mail: duan-rong@sohu.com

【通信作者】 郑晓玉, 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 肾内科常见病的临床与基础, E-mail: zhengxiaoyu151046@163.com

cytometry. Western blot was used to detect changes of the expression of Cleaved Caspase-3 and Cleaved Caspase-9 in the cells from each group. **Results** The levels of SIRT1 mRNA and protein in podocytes cultured with high glucose decreased. After high glucose treatment of podocytes transfected with pcDNA3. 1-SIRT1, the levels of SIRT1 mRNA and protein in podocytes increased, the activities of SOD, CAT and GSH-Px decreased, the levels of MDA and ROS increased, the apoptotic rate increased, and the levels of cleaved caspase-3 and cleaved caspase-9 protein increased in podocytes treated with high glucose. Upregulation of SIRT1 could increase SOD, CAT, GSH-Px activities, decrease MDA and ROS levels, and decrease apoptosis and expression of cleaved caspase-3 and cleaved caspase-9 in podocytes under high glucose conditions. **Conclusions** Upregulation of SIRT1 can reduce the apoptosis of podocytes induced by high glucose, and the mechanism may be related to reduction of oxidative damage.

【Key words】 High sugar; Podocyte; Apoptosis; SIRT1

糖尿病肾病(DN)是引起终末期肾病的主要原因^[1]。随着细胞生物学的不断发展,足细胞已经被认为是 DN 发生的关键细胞之一^[2]。较多研究发现,足细胞损伤是 DN 发生的重要原因^[3]。沉默信息调节因子 1 (silence information regulator 1, SIRT1)是 Sir 家族的成员之一,其活性的高低与烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)的浓度有关,其可以根据 NAD⁺ 浓度从而感知细胞能量代谢的情况^[4]。研究发现,SIRT1 参与肥胖、糖尿病、心血管系统等疾病的发生^[5]。SIRT1 对于 DN 损伤具有保护作用,而对于其在高糖诱导的足细胞凋亡中的作用尚未阐明^[6]。本实验探讨 SIRT1 在高糖诱导的足细胞凋亡中的作用和机制,为明确 SIRT1 在 DN 肾组织损伤中的机制提供参考。

材料与方法

一、实验材料

人肾脏足细胞 HPC 购自中科院细胞库,使用青链霉素终浓度为 100 U/mL 的 RPMI1640 培养液培养,在使用前添加胎牛血清,使其终浓度为 10%; Cleaved Caspase-9 抗体以及 Cleaved Caspase-3 抗体均购自美国 Cell Signaling Technology; BCA 蛋白浓度检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司; SIRT1 抗体购自美国 Abcam; SYBR 定量 PCR 试剂盒、cDNA 合成试剂盒均购自宝生物工程(大连)有限公司; Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen; SOD 活性检测试剂盒、CAT 活性检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所; GSH-Px 活性检测试剂盒和 MDA 含量检测试剂盒购自上海晶都生物技术有限公司; ROS 水平检测试剂盒购自江苏凯基生物科技股份有限公司; Caspase-9、Caspase-3 抗体购自美国 Abcam。

二、方法

1. 细胞培养与分组 取足细胞,用分别含 5.6、30 mmol/L 葡萄糖细胞培养液培养,分别记为 Control、HG 组,以含有葡萄糖 5.6 mmol/L + 甘露醇 25 mmol/L 细胞培养液培养的细胞为 Osmotic-NC 组。细胞转染采用密度为 60% 的足细胞,用 Lipofectamine 2000 把 SIRT1 过表达载体(pcDNA3. 1-SIRT1)和阴性对照载体(pcDNA3. 1)分别转染至足细胞中,转染操作按照转染试剂的标准流程进行, SIRT1 过表达载体(pcDNA3. 1-SIRT1)和阴性对照载体(pcDNA3. 1)由基尔顿生物科技(上海)有限公司构建。细胞在转染后 6 h,将细胞培养液更换成含有 30 mmol/L 葡萄糖培养液,分别记为 HG + SIRT1 和 HG + NC 组。Control、Osmotic-NC、HG、HG + NC、HG + SIRT1 组细胞在培养 24 h 以后,用于后续实验。

2. qRT-PCR 检测 SIRT1 mRNA 水平 取各组细胞,按照常规 Trizol 试剂说明书分别提取足细胞中的 RNA,用 MMLV 逆转录酶合成 cDNA,步骤同 cDNA 合成试剂盒,将合成的 cDNA 置于 -20 °C 条件下保存。PCR 引物均交由上海生工生物合成,序列为: SIRT1 正义链 5'-TTGTGGGCTGGCCTCAATTC-3', 反义链 5'-AGTGCAAAGCGTCACGTTTC-3'; β -actin 正义链 5'-GTGGGGCGCCAGGCACCA-3', 反义链 5'-CTCCTTAAGT-CACGCACGATTTC-3'。PCR 反应条件为: 95 °C, 10 min; 95 °C, 15 s; 60 °C, 45 s; 共 40 个循环。采用 SYBR 定量 PCR 试剂盒对 SIRT1 mRNA 进行定量,计算方法为 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法,内参设置为 β -actin。

3. Western blot 检测 SIRT1 蛋白水平 取各组细胞,在足细胞中分别添加蛋白抽提试剂,裂解 30 min 以后,以 12 000 × g 离心 10 min,用移液枪

将上清溶液转移到 EP 管中,保存在 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。蛋白定量使用 BCA 法,步骤同 BCA 蛋白浓度检测试剂盒,最后根据标准曲线分别计算蛋白的浓度。按照常规方法依次配制 4% 的浓缩胶、10% 的分离胶,按照每个上样孔内添加 $40\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白样品进行电泳,在浓缩胶内设置电泳电压为 80 V ,在分离胶中设置电泳电压为 110 V 。采用半干法电转膜,电流为 40 mA ,转膜持续 70 min 。将转膜操作后的 NC 膜放置在封闭液中,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h ,取出 NC 膜,放置在 SIRT1 抗体稀释液中,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下反应过夜;然后将 NC 膜放在 HRP 标记的二抗稀释液中,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h 。采用 ECL 方法显色以后,以 Odyssey infrared imaging system 分析扫描结果,以 Quantity One 软件扫描灰度值,蛋白内参为 β -actin, SIRT1 蛋白相对表达水平 = SIRT1 灰度值 \div β -actin 灰度值。

4. 抗氧化指标检测 取各组细胞,按照试剂盒说明书分别检测细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性以及 MDA 含量和 ROS 水平。ROS 水平分析以 Control 组作为内参,即 Control 组细胞中 ROS 水平为 100% ,分析 Osmotic-NC、HG、HG + NC、HG + SIRT1 细胞中 ROS 水平。

5. 流式细胞仪检测 取各组细胞,在细胞中添加 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷后的 PBS 将细胞重悬并洗涤 1 次,然后以 $1\text{ }000\times g$ 离心 10 min ,再分别添加 $400\text{ }\mu\text{L}$ 的缓冲液混合均匀以后,依次再加入 $5\text{ }\mu\text{L}$ PI 和 $5\text{ }\mu\text{L}$ Annexin V-FITC 染液,然后放置在避光环境下结合孵育 20 min ,最后上流式细胞仪测定细胞凋亡变化,检测前再添加 $100\text{ }\mu\text{L}$ 的缓冲液。

6. Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-9 蛋白表达检测 取各组细胞,按照“3. Western blot 检测 SIRT1 蛋白水平”项下的步骤检测细胞中 Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-9 蛋白表达水平。

三、统计学处理

本研究所有实验均重复 3 次。实验数据均采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组之间的比较用 t 检验;多组差异比较用单因素方差分析,两两比较采用 SNK- q 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、高糖对足细胞中 SIRT1 表达的影响

HG 组足细胞经过高糖培养液处理以后, SIRT1 mRNA 和蛋白表达显著低于 Control 组 ($P < 0.05$),说明高糖刺激可以下调足细胞中 SIRT1 mRNA 和蛋

白表达水平。(图 1、表 1)

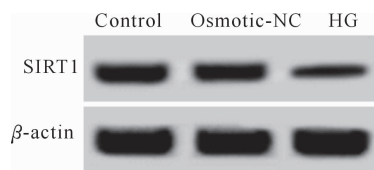


图 1 Western blot 法检测 Control 组、Osmotic-NC 组、HG 组足细胞中 SIRT1 蛋白表达结果

表 1 Control 组、Osmotic-NC 组、HG 组足细胞中 SIRT1 mRNA 和蛋白相对表达水平

组别	SIRT1 mRNA (以 Control 组作为 1 计算相对表达量)	SIRT1 蛋白
Control	1.00 \pm 0.09	0.90 \pm 0.06
Osmotic-NC	1.01 \pm 0.10	0.89 \pm 0.08
HG	0.62 \pm 0.07 ^a	0.53 \pm 0.04 ^a
F	19.344	34.474
P	0.002	0.001

注:与 Control 组比较, ^a $P < 0.05$

二、SIRT1 过表达载体对高糖环境下足细胞中 SIRT1 表达的影响

HG + SIRT1 组足细胞经由高糖刺激以后, SIRT1 mRNA 和蛋白水平均显著高于 HG 组和 HG + NC 组 ($P < 0.05$),说明 SIRT1 过表达载体可以成功上调高糖条件下足细胞中 SIRT1 的表达,为研究 SIRT1 在高糖条件下足细胞中的作用提供了基础。(图 2、表 2)

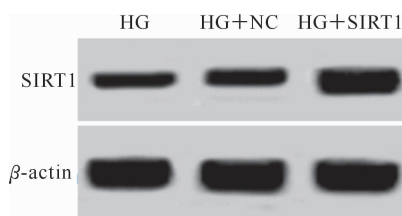


图 2 Western blot 法检测 HG 组、HG + NC 组、HG + SIRT1 组足细胞中 SIRT1 蛋白表达结果

表 2 HG 组、HG + NC 组、HG + SIRT1 组足细胞中 SIRT1 mRNA 和蛋白相对表达水平

组别	SIRT1 mRNA (以 HG 组作为 1 计算相对表达量)	SIRT1 蛋白
HG	1.00 \pm 0.09	0.50 \pm 0.06
HG + NC	1.01 \pm 0.12	0.52 \pm 0.05
HG + SIRT1	2.05 \pm 0.21 ^{ab}	0.87 \pm 0.09 ^{ab}
F	49.194	27.444
P	0.000	0.001

注:与 HG 组比较, ^a $P < 0.05$;与 HG + NC 组比较, ^b $P < 0.05$

三、SIRT1 对高糖环境下足细胞中 MDA 和 ROS 水平的影响

HG 组足细胞经过高糖处理以后, MDA 和 ROS 水平均显著高于 Control 组 ($P < 0.05$); HG +

SIRT1 组足细胞经高糖刺激以后,MDA 和 ROS 水平均显著低于 HG 组和 HG + NC 组($P < 0.05$),说明 SIRT1 能够降低高糖条件下足细胞中 MDA 和 ROS 水平。(表 3)

表 3 各组足细胞 MDA 和 ROS 水平检测结果

组别	MDA(nmol/mg)	ROS(%)
Control	3.6 ± 0.4	100.0 ± 9.5
Osmotic-NC	3.6 ± 0.5	99.8 ± 10.3
HG	11.7 ± 1.8 ^a	186.4 ± 12.0 ^a
HG + NC	10.8 ± 2.0	188.5 ± 15.2
HG + SIRT1	5.6 ± 0.4 ^{bc}	126.7 ± 11.8 ^{bc}
F	28.937	41.523
P	0.000	0.000

注:与 Control 组比较,^a $P < 0.05$;与 HG 组比较,^b $P < 0.05$;与 HG + NC 组比较,^c $P < 0.05$

四、SIRT1 对高糖环境下足细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性的影响

HG 组足细胞经高糖处理以后,SOD、CAT、GSH-Px 活性均显著低于 Control 组($P < 0.05$);HG + SIRT1 组足细胞经高糖刺激以后,SOD、CAT、GSH-Px 活性均显著高于 HG 组和 HG + NC 组($P < 0.05$),说明 SIRT1 能够提高高糖条件下足细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性。(表 4)

表 4 各组足细胞 SOD、CAT、GSH-Px 活性影响

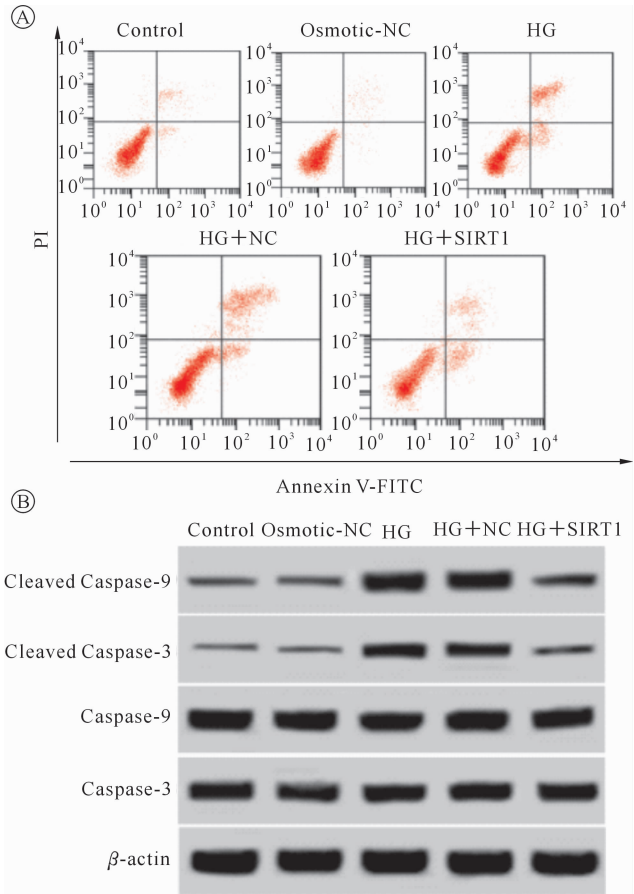
组别	SOD(U/mg)	CAT(U/mg)	GSH-Px(U/mg)
Control	78.6 ± 7.6	21.6 ± 2.6	713.6 ± 63.8
Osmotic-NC	77.5 ± 9.2	20.9 ± 3.2	711.9 ± 67.4
HG	30.5 ± 4.1 ^a	10.4 ± 1.2 ^a	368.5 ± 41.8 ^a
HG + NC	31.3 ± 3.9	9.9 ± 1.1	375.3 ± 34.2
HG + SIRT1	52.7 ± 3.2 ^{bc}	15.2 ± 1.2 ^{bc}	589.3 ± 44.2 ^{bc}
F	61.289	32.792	38.421
P	0.000	0.000	0.000

注:与 Control 组比较,^a $P < 0.05$;与 HG 组比较,^b $P < 0.05$;与 HG + NC 组比较,^c $P < 0.05$

五、SIRT1 对高糖环境下足细胞凋亡的影响

HG 组足细胞经高糖处理以后,细胞凋亡率和细胞中 Cleaved Caspase-3、Cleaved Caspase-9 蛋白水平均显著高于 Control 组($P < 0.05$);HG + SIRT1 组经高糖刺激以后,细胞凋亡率和细胞中 Cleaved Caspase-3、Cleaved Caspase-9 蛋白水平均

显著低于 HG 组和 HG + NC 组($P < 0.05$),说明 SIRT1 能够减少高糖条件下足细胞凋亡。(图 3、表 5)



注:图 A 为采用流式细胞术检测各组足细胞凋亡情况;图 B 为采用 Western blot 方法检测各组足细胞中凋亡相关蛋白 Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-9 的表达结果

图 3 各组足细胞凋亡的检测结果

讨 论

近年来的研究报道显示,糖尿病并发症是糖尿病致死的重要原因,其中 DN 是常见的并发症之一^[7]。糖尿病患者体内长期的高血糖环境导致足细胞过度凋亡,从而使足细胞功能受损,引发肾脏组织功能缺失^[8]。

表 5 各组足细胞凋亡率和 Cleaved Caspase-3、Cleaved Caspase-9、Caspase-3、Caspase-9 蛋白表达结果

组别	凋亡率(%)	Cleaved Caspase-3	Cleaved Caspase-9	Caspase-3	Caspase-9
Control	3.7 ± 0.4	0.27 ± 0.05	0.35 ± 0.06	0.65 ± 0.06	0.77 ± 0.08
Osmotic-NC	3.4 ± 0.3	0.28 ± 0.06	0.34 ± 0.05	0.63 ± 0.07	0.80 ± 0.09
HG	26.1 ± 2.1 ^a	0.57 ± 0.07 ^a	0.67 ± 0.08 ^a	0.64 ± 0.08	0.78 ± 0.06
HG + NC	26.0 ± 2.6	0.58 ± 0.06	0.69 ± 0.07	0.64 ± 0.05	0.79 ± 0.09
HG + SIRT1	16.8 ± 1.4 ^{bc}	0.39 ± 0.05 ^{bc}	0.46 ± 0.08 ^{bc}	0.65 ± 0.07	0.77 ± 0.05
F	141.689	19.974	18.069	0.047	0.089
P	0.000	0.000	0.000	0.995	0.984

注:与 Control 组比较,^a $P < 0.05$;与 HG 组比较,^b $P < 0.05$;与 HG + NC 组比较,^c $P < 0.05$

本实验发现, SIRT1 在高糖刺激后的足细胞中表达下调, 通过转染 SIRT1 过表达载体提高足细胞中 SIRT1 表达水平后, 足细胞的凋亡水平降低, 细胞中抗氧化酶活性升高, 细胞中 ROS 水平也降低, 说明 SIRT1 可能通过抑制高糖诱导的足细胞氧化应激而减少细胞凋亡, 从而发挥抗足细胞损伤作用。

SIRT1 是一个与能量代谢以及还原状态关系十分密切的去乙酰化酶, 其发挥生物学作用与 NAD⁺ 有关^[9]。后续人们还发现, SIRT1 还参与细胞生长、能量代谢等多个生物学过程, 具有促进细胞抵抗外界刺激的作用^[10]。本实验结果显示, SIRT1 上调可以减少高糖诱导的足细胞凋亡, 这与 SIRT1 抗糖尿病肾组织损伤结果相符合, 并首次证实了 SIRT1 在高糖诱导的足细胞凋亡中可发挥保护作用。

过量的 ROS 不仅可以诱导细胞内脂质发生过氧化, 还可激活细胞内 Caspase 凋亡反应, 从而诱导细胞凋亡发生^[11-12]。SOD、CAT、GSH-Px 是广泛存在于人体内的抗氧化酶^[13-14]。Caspase 蛋白家族由多个成员组成, 其中 Caspase-9 位于凋亡反应的上游, Caspase-3 位于凋亡反应的下游, 二者以酶原的形式存在于细胞内, 只有被激活后形成 Cleaved Caspase-3 和 Cleaved Caspase-9 后才可以发挥促进细胞凋亡的作用^[15-16]。SIRT1 是一个细胞损伤保护因子, 具有抗氧化、抗细胞凋亡的作用^[17-18]。本实验发现上调 SIRT1 可以提高高糖条件下足细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性, 减少细胞中 ROS 和 MDA 含量, 抑制细胞中活化的 Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白表达, 这说明上调 SIRT1 可能通过抑制高糖诱导的足细胞氧化损伤而抵抗细胞凋亡发生。

总而言之, SIRT1 其作用机制与减少氧化损伤有关, 这对于研究 SIRT1 在 DN 发病中的作用提供了参考。

参 考 文 献

- [1] Zhao SQ, Hu Z. Mannose-binding lectin and diabetic nephropathy in type 1 diabetes[J]. J Clin Lab Anal, 2016, 30(4): 345-350.
- [2] Tagawa A, Yasuda M, Kume S, et al. Impaired podocyte autophagy exacerbates proteinuria in diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2016, 65(3): 755-767.
- [3] Ling L, Chen L, Lao G, et al. Effect of matrix metalloproteinase 9 on podocyte injuries in diabetic nephropathy[J]. J Med Imaging Health Inform, 2016, 6(6): 1393-1398.
- [4] Park SY, Lee SW, Kim HY, et al. SIRT1 inhibits differentiation of monocytes to macrophages; amelioration of synovial inflammation in rheumatoid arthritis[J]. J Mol Med (Berl), 2016, 94(8): 921-931.
- [5] 张玉佩, 孔怡琳, 杨钦河, 等. SIRT1/UCP2 通路在脂肪变性 HepG2 细胞线粒体能量代谢中的调控机制[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(3): 513-516.
- [6] Imasawa T, Obre E, Bellance N, et al. High glucose repatterns human podocyte energy metabolism during differentiation and diabetic nephropathy[J]. FASEB J, 2017, 31(1): 294-307.
- [7] Simpson K, Wonnacott A, Fraser DJ, et al. MicroRNAs in diabetic nephropathy: from biomarkers to therapy[J]. Curr Diab Rep, 2016, 16(3): 35.
- [8] 王晓丹, 高丽辉, 牛艳芬, 等. 缬沙坦对糖尿病肾病大鼠足细胞自噬的影响[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(2): 184-189.
- [9] Liu H, Xing R, Cheng X, et al. De-novo NAD⁺ synthesis regulates SIRT1-FOXO1 apoptotic pathway in response to NQO1 substrates in lung cancer cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(38): 62503-62519.
- [10] 宋亚男, 王佼, 袁丁, 等. Sirt1 在心血管衰老中的作用机制研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(17): 1767-1770.
- [11] Kaleem S, Siddiqui S, Siddiqui HH, et al. Eupalitin induces apoptosis in prostate carcinoma cells through ROS generation and increase of caspase-3 activity[J]. Cell Biol Int, 2016, 40(2): 196-203.
- [12] Skąła E, Kowalczyk T, Toma M, et al. Induction of apoptosis in human glioma cell lines of various grades through the ROS-mediated mitochondrial pathway and caspase activation by Rhaponticum carthamoides transformed root extract[J]. Mol Cell Biochem, 2018, 445(1/2): 89-97.
- [13] Wang M, Zhao X, Xiao Z, et al. A wheat superoxide dismutase gene TaSOD2 enhances salt resistance through modulating redox homeostasis by promoting NADPH oxidase activity[J]. Plant Mol Biol, 2016, 91(1/2): 115-130.
- [14] Shafique E, Torina A, Reichert K, et al. Mitochondrial redox plays a critical role in the paradoxical effects of NAPDH oxidase-derived ROS on coronary endothelium[J]. Cardiovasc Res, 2017, 113(2): 234-246.
- [15] Mitupatum T, Aree K, Kittisenachai S, et al. mRNA expression of bax, bcl-2, p53, cathepsin B, caspase-3 and caspase-9 in the HepG2 cell line following induction by a novel monoclonal Ab Hep88 mAb: cross-talk for paraptosis and apoptosis[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2016, 17(2): 703-712.
- [16] Bahadori M, Baharara J, Amini E. Anticancer properties of chrysin on colon cancer cells, in vitro and in vivo with modulation of caspase-3, -9, bax and sall4[J]. Iran J Biotechnol, 2016, 14(3): 177-184.
- [17] He X, Wu C, Cui Y, et al. The aldehyde group of gossypol induces mitochondrial apoptosis via ROS-SIRT1-p53-PUMA pathway in male germline stem cell[J]. Oncotarget, 2017, 8(59): 100128-100140.
- [18] Xiang F, Hu L, Zhang Y, et al. MiR-22 inhibits mouse ovarian granulosa cell apoptosis by targeting SIRT1[J]. Biol Open, 2016, 5(3): 367-371.