

谭丽,毛熙光,钟影,等. 人脐带间充质干细胞移植修复大鼠的卵巢早衰[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(10): 85-91.
Tan L, Mao XG, Zhong Y, et al. Repair of premature ovarian failure in rats by transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(10): 85-91.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2019.10.015

人脐带间充质干细胞移植修复大鼠的卵巢早衰

谭 丽^{1,2},毛熙光^{1*},钟 影²,刘 敬²

(1.西南医科大学附属医院生殖中心,四川 泸州 646000; 2.成都西囡妇科医院生殖中心,成都 610000)

【摘要】 目的 探讨人脐带间充质干细胞(hUCMSCs)移植修复卵巢早衰(premature ovarian failure,POF)大鼠卵巢功能的作用机制。**方法** 将30只SPF级SD雌性大鼠随机选取10只作为对照组,其他20只大鼠建立POF模型,模型大鼠分为模型组(10只)和hUCMSCs移植组(10只)。观察各组大鼠卵泡情况和卵巢组织超微结构的变化,采用ELISA法检测血清中E2、FSH、AMH、ROS、8-OHdG水平,采用免疫组化和Western blot检测大鼠SOD1及UCP2的蛋白变化。**结果** HE染色显示:模型组与对照组比较闭锁卵泡数量上升,而生长卵泡数量下降(均 $P<0.05$),hUMSCs移植组与模型组比较闭锁卵泡数量下降,而生长卵泡数量上升(均 $P<0.05$);卵巢电镜观察结果显示:hUMSCs移植治疗后,大鼠卵巢细胞出现细胞核,核膜逐渐恢复,出现少量细胞器;ELISA结果显示:hUCMSCs移植组血清LH、FSH水平、ROS和8-OHdG生成量较模型组明显下降(均 $P<0.05$),而与对照组、模型组比较,hUCMSCs移植组E2水平明显上升($P<0.05$);免疫组化结果显示:与对照组比较,模型组免疫组化UCP-2、SOD1阳性细胞数增加,而hUCMSCs移植组UCP-2、SOD1阳性细胞数较模型组减少;Western blot结果显示:模型组大鼠卵巢组织中SOD1、UCP-2蛋白表达较对照组显著增加($P<0.05$),经过hUCMSCs移植治疗后,SOD1、UCP-2蛋白水平较模型组明显下降($P<0.05$)。**结论** hUMSCs移植可通过降低SOD1及UCP-2的表达,从而降低氧化应激反应,最终达到修复卵巢功能的作用。

【关键词】 人脐带间充质干细胞;卵巢早衰;线粒体

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019)10-0085-07

Repair of premature ovarian failure in rats by transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells

TAN Li^{1,2}, MAO Xiguang^{1*}, ZHONG Ying², LIU Jing²

(1. Reproduction Center, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China.

2. Reproduction Center, Chengdu Xiqiao Women's Hospital, Chengdu 610000)

【Abstract】 Objective To investigate the mechanism of transplantation of human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUCMSCs) in the repair of ovarian function in rats with premature ovarian failure (POF). **Methods** Thirty female specific pathogen-free Sprague-Dawley rats were divided into two groups: ten were used as the control group, and the other 20 rats used to establish a POF model. The POF model rats were divided into a model group (10 rats) and hUCMSCs transplantation group (10 rats). The changes in the follicles and ultrastructure of ovarian tissues were observed. The serum levels of estradiol (E2), follicle-stimulating hormone (FSH), anti-Mullerian hormone, reactive oxygen species (ROS), and 8-hydroxy-2' deoxyguanosine (8-OHdG) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The changes

[作者简介]谭丽(1988—),女,硕士研究生,研究方向:妇产科。E-mail: scaiisssxx@163.com

[通信作者]毛熙光(1965—),男,硕士,研究方向:妇产科。E-mail: pinganfamily2018@163.com

in superoxide dismutase 1 (SOD1) and uncoupling protein 2 (UCP-2) proteins were detected by immunohistochemistry and western blot. **Results** Pathological examination using hematoxylin-eosin staining showed that compared with the control group, the number of atretic follicles was increased and that the number of growth follicles decreased in the model group ($P < 0.05$). The number of atretic follicles decreased and the number of growing follicles increased in the hUCMSCs transplantation group compared with the model group ($P < 0.05$). The electron microscopy showed that after transplantation of hUCMSCs, the nuclei of ovarian cells appeared, the nuclear membrane gradually recovered, and a small number of organelles appeared. The ELISA results showed that the levels of serum LH, FSH, ROS, and 8-OHdG in the hUCMSCs transplantation group were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$), while the levels of E2 in the hUCMSCs transplantation group were significantly higher than those in the control group and model group ($P < 0.05$). The immunohistochemistry results showed that in the model group, the number of UCP-2-positive and SOD1-positive cells was increased, while those in the hUCMSCs transplantation group decreased. The western blot results showed that the expression levels of SOD1 and UCP-2 in the ovarian tissue of the model group were significantly increased compared with those in the control group ($P < 0.05$). After transplantation of hUCMSCs, the protein levels of SOD1 and UCP-2 were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). **Conclusions** Transplantation of hUCMSCs can reduce the oxidative stress response by reducing the expression of SOD1 and UCP-2 and ultimately promote the repair the ovarian function in rats.

[Keywords] human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation; hUCMSCs transplantation; premature ovarian failure; ovariaa function; pathology; ultrastruxture; rat

卵巢早衰 (premature ovarian failure, POF) 是由于卵巢功能衰退而引起更年期综合症、性欲减退、不孕、月经失调等症状疾病^[1]。引起 POF 发生的可能因素有自身免疫损伤、精神刺激、代谢异常、环境破坏、手术损伤及吸烟、饮酒等不良生活方式^[2-3]，但大部分 POF 患者的病因及发病机制尚未明确。目前 POF 的研究热点是如何有效恢复患者的卵巢功能和生育力，而干细胞是一类能自我更新的多潜能细胞，在一定条件下具有再生各种组织器官和人体的潜在功能。有研究表明，通过干细胞移植治疗 POF，在一定程度上能恢复卵巢组织形态、弹性和韧性，减少卵巢组织纤维化^[4-5]。hUCMSCs 移植目前在临床上广泛应用于各种组织损伤的修复。本研究通过观察 POF 大鼠移植 hUCMSCs 后的卵泡情况、卵巢超微结构、血清中激素表达水平以及 SOD1、UCP-2 蛋白的变化，探讨 hUCMSCs 修复卵巢功能的作用机制，为临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

具有正常动情周期的 SPF 级 SD 雌性大鼠 30 只，购自北京维通利华实验动物公司 [SCXK (京) 2018-0006]，体重 (200±20) g。大鼠统一饲养在我院动物房 [SCXK (川) 2018-17]，室温 (22±2) °C，适应性喂养 7 d，完全随机分为 3 组，即对照组、模型组及 hUMSCs 移植组，每组 10 只。本研究通过了我院伦理委员会审查，实验过程动物符合 3R 原则 (伦理

审批号: SLXD_201803170012)。

1.2 主要试剂与仪器

环磷酰胺 (cyclophosphamide, CTX) 购自浙江海正药业股份有限公司 (批号: 20180412); DMEM 培养液、胎牛血清 (FBS)、青/链霉素混合液和胶原酶 IV 型 (collagenase IV) 均购自中国北京索莱宝科技有限公司; 二步法免疫组织化学试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司, 批号 AH03014880); 全蛋白提取试剂盒和 BCA 蛋白定量试剂盒购自美国 Bio-Rad 公司; ELISA 检测试剂盒 (上海通蔚生物科技有限公司, 批号 CSB-E08008r); SOD1、UCP-2 和 GAPDH 抗体均购自北京博奥森生物技术有限公司; 山羊抗兔二抗购自广州展晨生物科技有限公司。美国 Bio-Rad 蛋白电泳仪和 Western 曝光仪; 日本电子 TECNA I 型透射电镜。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型的构建

模型大鼠第 1 天腹腔注射负荷剂量的 CTX 溶液，即 50 mg/kg 溶于 1 mL 生理盐水中，之后 2~15 d 连续每日以 10 mg/kg CTX 溶于 1 mL 生理盐水腹腔注射; 造模成功后，将模型大鼠随机分为模型组和 hUMSCs 移植组，hUMSCs 移植组在成功建模后 1 d 通过尾静脉注射 1 mL hUMSCs 单细胞混悬液，移植细胞量约为 1×10^6 个，模型组注射等剂量的生理盐水。

1.3.2 hUMSCs 培养与鉴定

取正常足月产妇新生儿脐带，PBS 冲洗后，除去脐动、静脉残留血，剔除血管。将脐带剪碎至 1.0~

2.0 mm³ 大小,按胰蛋白酶消化法进行培养^[6]。取第 3 代 hUCMSCs,采用流式细胞仪对其表面标记物进行鉴定。试验方案经我院伦理委员会批准,并与供者签订知情同意书。

1.3.3 标本的采集

hUMSCs 移植后 17 d,对照组、模型组及 hUCMSCs 移植组大鼠主动采血后,麻醉后,取仰卧位,迅速剖开腹腔,摘取双侧卵巢组织,将一侧卵巢组织以 4% 多聚甲醛液固定 24 h,脱水后石蜡包埋,用于 HE 染色及免疫组化检测;另一侧卵巢组织迅速切取一部分组织块用于超微结构观察,剩余部分立即置于液氮中过夜,并在第二天转移至 -80℃ 冰箱中保存,备用。

1.3.4 大鼠卵泡情况

取石蜡包埋的卵巢组织,行 6 μm 厚连续切片,每隔 10 张取 1 张,进行 HE 染色,光学显微镜下观察卵泡的生长情况和闭锁情况,并对各组大鼠卵泡进行计数^[7]。

1.3.5 大鼠卵巢组织超微结构

取新鲜卵巢组织的切片,4℃ 下置 3% 戊二醛固定液固定 24 h 后,洗去固定液,置 1% 锇酸固定液固定 90 min,脱水、包埋、修块,在超薄切片机上进行切片,厚 50 nm,采用醋酸铀和枸橼酸铅对切片双重染色,自然晾干后,置扫描电镜下观察。

1.3.6 血清 E2、FSH、AMH、ROS、8-OHdG 水平检测

将采集的血样室温静置,离心,分离血清,采用 ELISA 法检测血清中 E2、FSH、AMH、ROS、8-OHdG 含量,操作严格按照试剂盒说明书进行,用酶标仪在 532 nm 波长处测定,计算即得。

1.3.7 卵巢组织免疫组织化学染色检测

石蜡切片常规脱蜡、水化,置于修复液中微波加热修复,置于 H₂O₂ 封闭,分别加入 UCP-2 及 SOD1 一抗 4℃ 孵育过夜,PBS 冲洗 8 min × 3 次,加入二抗,37℃ 孵育 2 h,PBS 漂洗 8 min × 3 次,苏木素复染,脱水,透明,封片,显微镜观察。

1.3.8 Western blot 检测

在卵巢组织(50 mg)中加 1 mL 裂解液,冰上均浆,4℃ 离心 10 min,经 BCA 法蛋白定量后上样,SDS-PAGE 凝胶电泳分离、电泳、转膜,采用含 5% 脱脂奶粉的 TBST 封闭 2 h。加一抗,4℃ 冰箱过夜。加二抗 37℃ 2 h,漂洗后显影。对蛋白质条带进行分析,测定其吸光度值。目的蛋白的相对表达强度

= 目的蛋白的吸光度值/β-actin 的吸光度值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行分析。计量资料采用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 hUMSCs 鉴定结果

流式细胞仪检测细胞表面抗原的结果显示,hUMSCs 高表达 CD105、CD73,低表达 CD34、CD45,证实为脐带间充质干细胞,细胞纯度较好,见图 1。

2.2 病理学观察结果

由图 2 可知,对照组大鼠卵巢中各级卵泡均明显可见,组织结构正常。而与对照组相比,模型组卵巢体积变小,闭锁卵泡数量增多、生长卵泡减少。hUMSCs 移植组与模型组比较闭锁卵泡减少、生长卵泡增多;各组大鼠卵泡计数结果中,模型组与对照组比较闭锁卵泡数量上升,而生长卵泡数量下降(均 *P* < 0.05)。hUMSCs 移植组与模型组比较闭锁卵泡数量下降,而生长卵泡数量上升(均 *P* < 0.05)。各组大鼠黄体数量未见明显变化(*P* > 0.05),见表 1。

2.3 卵巢超微结构变化

大鼠卵巢电镜观察结果,对照组颗粒细胞无水肿,可见正常的细胞膜、核仁,内质网及线粒体分布均匀、清晰可见,细胞核内染色质均匀;模型组颗粒细胞染色质固缩,核溶解,核膜消失,线粒体空泡化,细胞器数量减少,同时还出现有凋亡小体;移植组细胞核出现,核膜逐渐恢复,出现少量细胞器,详见图 3。

2.4 血清检测结果

ELISA 检测各组大鼠血清激素水平变化,模型组血清 LH、FSH 水平较对照组明显升高(均 *P* < 0.05),而 E2 水平明显降低(*P* < 0.05);hUCMSCs 移植组血清 LH、FSH 水平较模型组明显下降(均 *P* < 0.05),而与对照组、模型组比较,hUCMSCs 移植组 E2 水平明显上升(*P* < 0.05),见表 2。

ELISA 检测 ROS 和 8-OHdG 结果,模型组、hUCMSCs 移植组中 ROS 和 8-OHdG 生成量较对照组明显增加(均 *P* < 0.05),而 hUCMSCs 移植组中 ROS 和 8-OHdG 生成量较模型组明显下降(*P* < 0.05),见图 4。

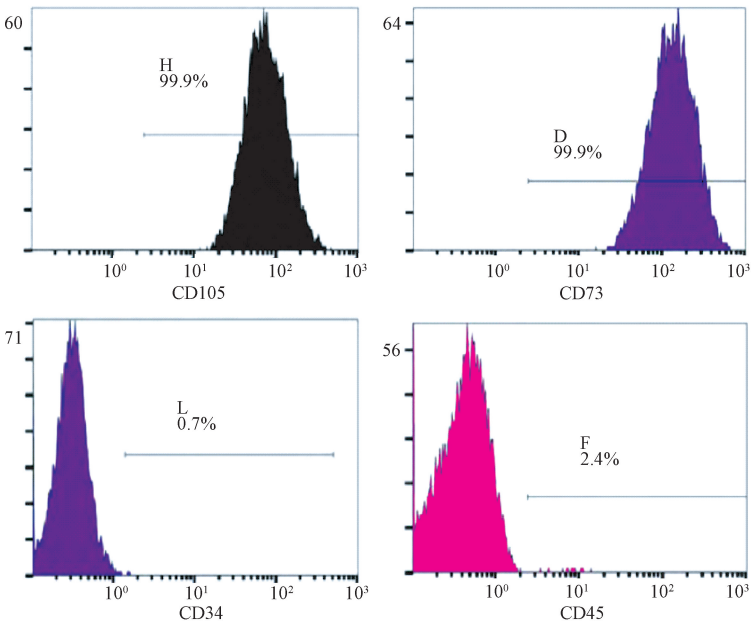
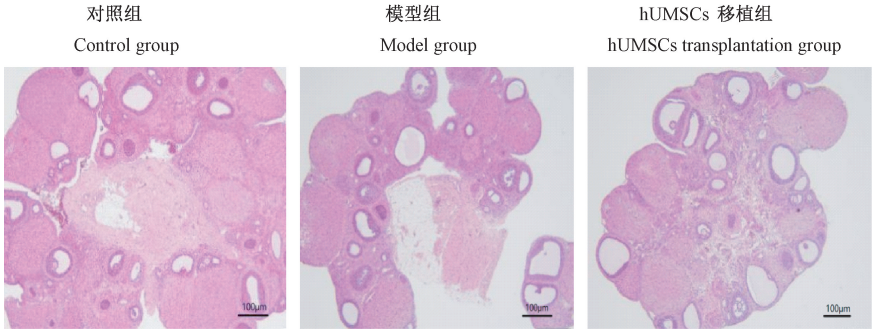


图 1 hUMSCs 流式细胞仪检测结果

Figure 1 Changes of hUMSCs detected by flow cytometry



注:与对照组相比, * $P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠卵巢组织 HE 染色

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$.

Figure 2 Pathological changes in the ovarian tissues of rats in each group. HE staining

表 1 各组大鼠卵泡计数结果($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of follicular counts in the rats of each group

组别 Groups	生长卵泡 Growing follicles	闭锁卵泡 Atretic follicle	黄体 Corpus luteum
对照组 Control group	33.5±7.2	9.7±3.1	15.7±2.8
模型组 Model group	20.4±7.3 ^a	20.6±5.9 ^a	14.3±4.2
hUMSCs 移植组 hUMSCs transplantation group	29.3±2.9 ^b	12.1±1.9 ^b	11.7±1.5

注:与对照组相比, ^a $P < 0.05$;与模型组相比, ^b $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$.

表 2 各组大鼠血清激素水平变化($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes of serum hormone levels in the rats of different groups

组别 Groups	雌二醇 (pg/L) E2	卵泡刺激素 (mIU/mL) FSH	人促黄体激素 (mIU/mL) LH
对照组 Control group	97.47±5.2	4.71±0.84	7.02±0.46
模型组 Model group	38.25±9.79 ^a	6.23±1.18 ^a	8.73±0.55 ^a
hUMSCs 移植组 hUMSCs transplantation group	81.14±10.07 ^{ab}	5.10±0.34 ^b	7.81±0.37 ^b

注:与对照组相比, ^a $P < 0.05$;与模型组相比, ^b $P < 0.05$ 。

Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$.

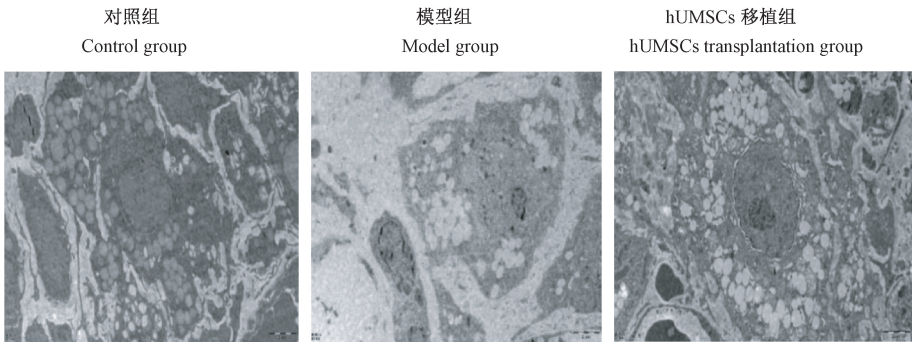
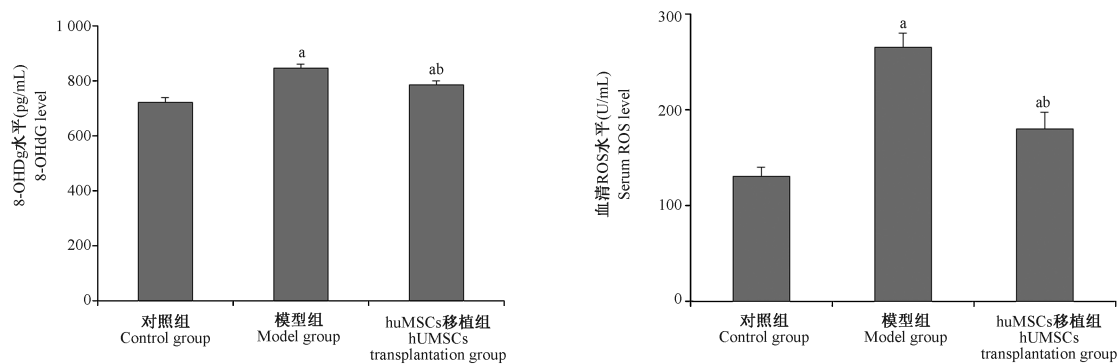


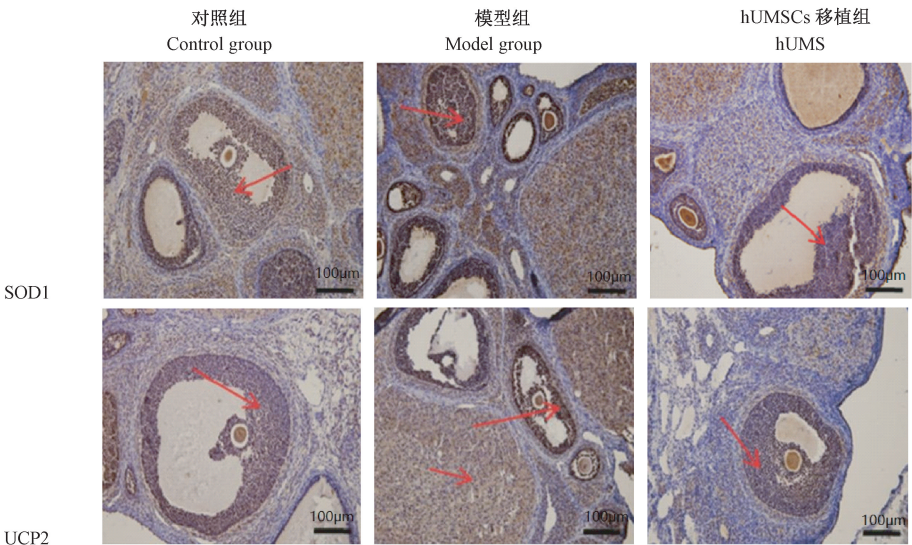
图 3 各组大鼠卵巢超微结构(×8000)

Figure 3 Ultrastructural changes of the ovary tissues of rats in each group



注:与对照组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$ 。
图 4 各组大鼠血清中 8-OHdG 和 ROS 含量变化($n=10$)
Note. Compared with the control group, ^a $P<0.05$. Compared with the model group, ^b $P<0.05$.

Figure 4 Changes of serum 8-OHdG and ROS in the rats of each group



注:箭头指阳性细胞。
图 5 免疫组化检测各组大鼠卵巢中 SOD1 及 UCP2 蛋白表达

Note. The arrow points to the positive cells.
Figure 5 Expressions of SOD1 and UCP2 proteins in the rat ovarian tissues

2.5 各组大鼠卵巢免疫组化检测

UCP-2 蛋白主要位于黄体细胞、颗粒细胞核和胞质,而 SOD1 蛋白主要位于黄体细胞、颗粒细胞胞质。与对照组比较,模型组免疫组化 UCP-2、SOD1 阳性细胞数增加,而 hUCMSCs 移植组 UCP-2、SOD1 阳性细胞数较模型组减少,见图 5。

2.6 Western blot 检测各组大鼠卵巢中 SOD1 及 UCP2 蛋白表达

模型组大鼠卵巢组织中 SOD1、UCP-2 蛋白表达较对照组显著增加 ($P<0.05$),经过 hUCMSCs 移植治疗后,SOD1、UCP-2 蛋白水平较模型组明显下降 ($P<0.05$),见图 6。

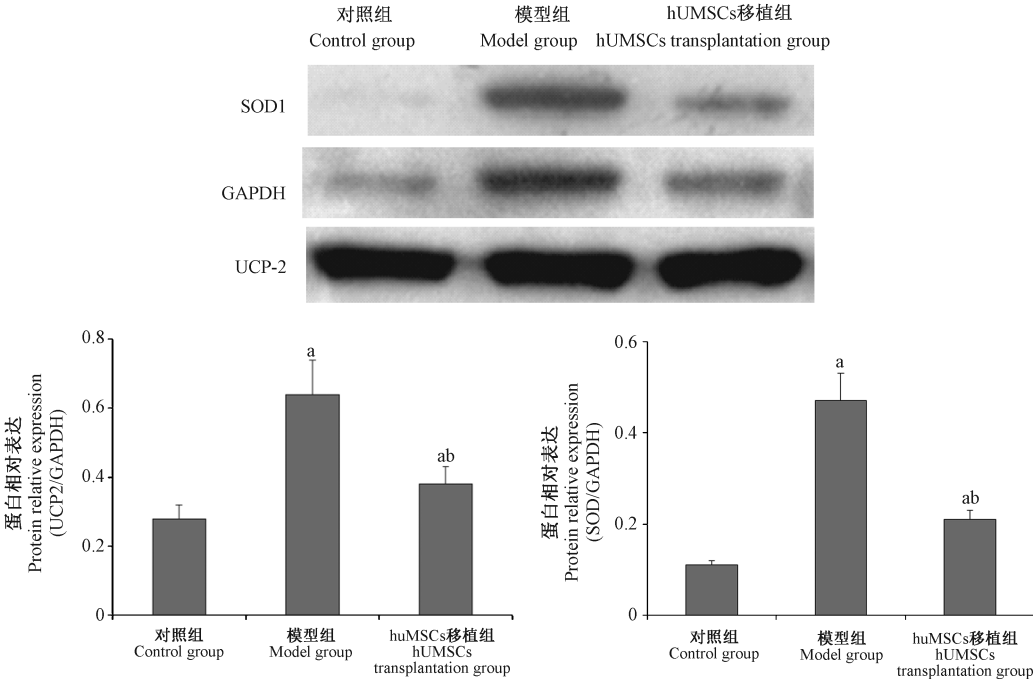
3 讨论

POF 致病因素较多,发病率也逐渐升高,但目前尚无有效的恢复卵巢功能的治疗方法,如何有效地治疗是当前亟需解决的难题之一。干细胞在医学界被称之为“万用细胞”,有研究表明,它们可能对卵巢功能有一定的修复作用^[8]。hUCMSCs 源于胎儿分娩后的废弃物,来源丰富,体外培养及移植技术成熟,研究治疗卵巢早衰方法已经成为国内外热点。CTX 是一种临床常用于非特异性细胞周期的抗癌药物,对卵巢会产生不可逆性的损伤^[9],进

而引发卵巢功能障碍,目前常用于 POF 造模。

本研究中,检测卵巢生殖激素水平的结果显示,hUCMSCs 移植组中血清 LH、FSH 水平较模型组明显下降,而与对照组、模型组比较,hUCMSCs 移植组 E2 水平明显上升,从而看出 hUCMSCs 移植后可以一定程度的改善卵巢功能。HE 染色结果显示,与对照组比较,模型组闭锁卵泡数量上升,生长卵泡数量下降,而 hUMSCs 移植组闭锁卵泡数量下降,生长卵泡数量上升,这提示 hUCMSCs 移植后能够通过减轻生长卵泡的损伤发挥作用;大鼠卵巢电镜观察结果显示,与对照组比较,模型组颗粒细胞水肿,细胞核溶解,线粒体减少,出现凋亡小体等情况,而 hUCMSCs 移植后颗粒细胞出现细胞核,核膜逐渐恢复,出现少量细胞器,这说明研究中模型大鼠采用的给药方法和用药剂量能产生卵巢损伤,而 hUCMSCs 对颗粒细胞有修复作用,研究人员推测 hUCMSCs 移植修复大鼠卵巢早衰机制可能是通过对颗粒细胞修复从而抑制卵泡凋亡。

活性氧(reactive oxygen species,ROS)是生物体内的自由基,具有很强的化学活性,线粒体是其来源和靶点,作为细胞内和细胞间的第二信使,ROS 可调节许多信号分子,在维持机体氧化/抗氧化平衡方面起着重要作用^[10-11]。本研究中大鼠经 CTX



注:与对照组相比,^a $P<0.05$;与模型组相比,^b $P<0.05$ 。

图 6 大鼠卵巢组织中 SOD1 及 UCP2 蛋白表达($n=10$)

Note. Compared with the control group, ^a $P < 0.05$. Compared with the model group, ^b $P < 0.05$.

Figure 6 Expression of SOD1 and UCP2 in the rat ovarian tissues

处理后,体内会产生大量 ROS,引起氧化应激反应,导致大鼠线粒体受损,并可能诱发 DNA/RNA 氧化损伤,其中以 8-OHdG 最为常见。ELISA 检测结果显示,模型组中 ROS 和 8-OHdG 生成量较对照组明显增加 ($P<0.05$),推测原因是环磷酰胺处理后 mtDNA 改变和氧化应激增加会引起线粒体功能降低,进一步导致各种能量代谢的下降。

解偶联蛋白 2(uncoupling protein 2,UCP2)属于线粒体阴离子转运体蛋白超家族的一员,能够介导线粒体的质子漏^[12]。有研究表明,UCP2 在体内可能参与了 ROS 生成的调控,并提出 UCP2 负调控的假设模型^[13],这一假说表明 UCP2 可能在氧化应激反应中降低 ROS 水平,从而起到保护机体的过氧化损伤。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)是一种源于生命体的活性物质,是机体氧自由基的头号杀手,作为有害物质的超氧阴离子在 SOD 的作用下和氢离子反应生成 H_2O_2 , H_2O_2 又在过氧化氢酶的作用下和氢反应生成 H_2O ,因此具有防止细胞和组织受到氧化性损伤的作用^[14-15]。本研究中免疫组化结果显示,与对照组比较,模型组 UCP-2、SOD1 阳性细胞数明显增加,而 hUCMSCs 移植组 UCP-2、SOD1 阳性细胞数较模型组减少。同时 Western blot 检测结果也显示,模型组大鼠卵巢组织中 SOD1、UCP-2 蛋白表达较对照组明显增加,经过 hUCMSCs 移植治疗后,SOD1、UCP-2 蛋白水平较模型组明显下降,推测可能机制是 UCP2 通过解耦联作用改变线粒体 ROS 合成,从而维持线粒体生物修复及 ATP 合成功能,同时 hUCMSCs 细胞移植后能改善氧化酶系统紊乱状态,抗氧化酶 SOD1 使体内的 ROS 变为活性较低的物质,从而降低氧化应激反应,最终保护卵巢线粒体形态结构及功能的作用。

本研究结果显示,hUCMSCs 治疗后,能明显修复卵巢的颗粒细胞,且 SOD1 和 UCP-2 表达水平以及 ROS 和 8-OHdG 生产量均有明显降低,因此推测 hUCMSCs 移植修复 POF 大鼠卵巢功能的作用机制可能是 hUCMSCs 能够降低氧化应激反应,提高体内卵巢线粒体功能,从而减轻 CTX 引起的卵巢损伤。

参考文献:

[1] 中华医学会妇产科学分会绝经学组. 早发性卵巢功能不全的激素补充治疗专家共识 [J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51 (12): 881-886.

[2] Al-Ajoury R, Kassem E, Al-Halabi B, et al. Investigation of some genetic variations in BMP15 accompanied with premature ovarian failure (POF) in Syrian women [J]. Mid East Fertil Soc J, 2015, 20(2): 91-96.

[3] 刘海霞, 戴淑凤. 青岛市 120 例卵巢早衰女性危险因素分析 [J]. 中国妇幼保健, 2016, 31(20): 4162-4164.

[4] Li J, Yu Q, Huang H, et al. Human chorionic plate-derived mesenchymal stem cells transplantation restores ovarian function in a chemotherapy-induced mouse model of premature ovarian failure [J]. Stem Cell Res Ther, 2018, 9(1): 81.

[5] Pan Y, Zhang L, Zhang X, et al. Biological and biomechanical analysis of two types of mesenchymal stem cells for intervention in chemotherapy-induced ovarian dysfunction [J]. Arch Gynecol Obstet, 2017, 295(1): 247-252.

[6] 杨化超, 李茂, 黄文. 人脐带间充质干细胞对小鼠皮肤创面愈合及 VEGF 表达的影响 [J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(5): 456-462.

[7] Fan CG, Zhang QJ, Zhou JR. Therapeutic potentials of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord [J]. Stem Cell Rev, 2011, 7(1): 195-207.

[8] 杨雅芝, 张小燕, 李剑, 等. 间充质干细胞衰老相关信号通路 [J]. 2018, 26(1): 307-310.

[9] Verma S, Goldammer T, Aitken R. Cloning and expression of activation induced cytidine deaminase from Bos taurus [J]. Vet Immunol Immunopathol, 2010, 134(3-4): 151-159.

[10] 张颖颖, 段然, 陈永学, 等. 布比卡因致心肌细胞线粒体损伤大鼠模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(1): 13-18.

[11] West J, Fan Y. Lung injury induced by TiO_2 nanoparticles depends on their structural features: size, shape, crystal phases, and surface coating [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(12): 22258-22278.

[12] 顾迁, 高鑫. 解耦联蛋白 2(UCP2)与胰岛 β 细胞功能研究进展 [J]. 复旦学报(医学版), 2013, 40(1): 106-111.

[13] Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, et al. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins [J]. Free Radic Biol Med, 2004, 37(6): 755-767.

[14] Homayouni-Tabrizi M, Asoodeh A, Soltani M. Cytotoxic and antioxidant capacity of camel milk peptides: Effects of isolated peptide on superoxide dismutase and catalase gene expression [J]. J Food Drug Analysis, 2017, 25(3): 567-575.

[15] Heer CD, Davis AB, Riffe DB, et al. Superoxide dismutase mimetic GC4419 enhances the oxidation of pharmacological ascorbate and its anticancer effects in an H_2O_2 -dependent manner [J]. Antioxidants(Basel), 2018, 7(1): 18-21.