

郭朋璐, 董曼, 严晓红, 等. 雄激素对老年大鼠胃粘膜线粒体功能的影响及机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(11): 21-26, 34.

Guo PL, Dong M, Yan XH, et al. Effect and mechanism of androgens on mitochondrial functions of gastric mucosa in aged rats [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(11): 21-26, 34.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.11.004

雄激素对老年大鼠胃粘膜线粒体功能的影响及机制

郭朋璐^{1*}, 董曼¹, 严晓红², 康洁²

(1. 哈励逊国际和平医院, 消化内科内镜室, 河北 衡水 053000; 2. 河北省以岭医院, 石家庄 050000)

【摘要】 目的 探讨雄激素对睾丸切除(GDX)老年大鼠胃粘膜线粒体功能的影响及机制。**方法** 36只SD雄性大鼠随机分为3组:假手术组(Sham, $n=12$)、模型组(GDX, $n=12$)和补充雄激素的模型大鼠($n=12$)。造模大鼠行GDX,造模后雄激素组灌胃睾丸酮($13.6\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,溶于芝麻油中)。假手术组和模型组大鼠使用芝麻油进行相同的治疗。治疗结束后收集胃组织标本,分别采用试剂盒检测胃粘膜线粒体中Mn-SOD、GSH-Px、GSH、GSSG、GSH/GSSG和ROS水平,罗丹明123荧光法检测线粒体膜电位,流式细胞仪检测细胞凋亡。体外试验以人永生胃粘膜细胞GES-1为研究对象,应用 H_2O_2 诱导细胞损伤,考察雄激素和ALDH2抑制剂Disulfiram对细胞活力和凋亡影响。**结果** 与Sham组相比,GDX组ROS、GSSG水平、胃粘膜细胞凋亡和裂解的Caspase-3、细胞质Cyt c蛋白表达显著增加($P<0.05$),而Mn-SOD、GSH-Px、GSH、GSH/GSSG水平、线粒体膜电位、ATP水平和线粒体Cyt c蛋白、ALDH2蛋白表达显著降低($P<0.05$)。在雄激素治疗后,GDX老年大鼠上述变化显著逆转($P<0.05$)。体外实验中,雄激素处理显著逆转了 H_2O_2 对GES-1细胞的损伤作用($P<0.05$);然而,当联合加入Disulfiram时,雄激素的治疗活性明显降低($P<0.05$)。**结论** 雄激素缺乏导致老年大鼠胃粘膜细胞线粒体功能障碍和线粒体ROS积累增加,诱导胃黏膜细胞凋亡,这种损害作用至少部分与ALDH2的抗氧化功能抑制有关。

【关键词】 雄激素;老年大鼠;胃粘膜;线粒体;睾丸切除

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 11-0021-06

Effect and mechanism of androgens on mitochondrial functions of gastric mucosa in aged rats

GUO Penglu^{1*}, DONG Man¹, YAN Xiaohong², KANG Jie²

(1. Department of Gastroenterology, Harrison International Peace Hospital, Hengshui 053000, China.

2. Hebei Yiling Hospital, Shijiazhuang 050000)

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of androgens on mitochondrial functions of gastric mucosa in aged gonadectomized male (GDX) rats. **Methods** 36 male SD rats were randomly divided into three groups: sham operation group (Sham, $n=12$), model group (GDX, $n=12$) and androgen-supplemented model rats ($n=12$). GDX rats were used for modeling. After modeling, the AG group was administered testosterone ($13.6\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$, dissolved in sesame seed oil). Rats in sham operation and model groups were treated with sesame seed oil. After the treatment, gastric tissue samples were collected and the levels of Mn-SOD, GSH-Px, GSH, GSSG, GSH/GSSG and ROS in gastric mucosa mitochondria were measured by kits, the mitochondrial membrane potential was measured by rhodamine 123 fluorescence, and apoptosis was analyzed by flow cytometry. *In vitro*, GES-1 cells were used as the research object.

【基金项目】 2018 河北省医学科学研究课题计划项目 (20180894)。

【作者简介】 郭朋璐 (1983—), 女, 研究方向: 消化道系统疾病。E-mail: fansuqin1988@163.com

H₂O₂ was used to induce cellular injury. The effects of androgens and ALDH2 inhibitor disulfiram on cell viability and apoptosis were investigated. **Results** Compared with Sham group, ROS and GSSG levels, gastric mucosal cell apoptosis and cleaved Caspase-3 and cytoplasmic Cyt c protein expression were significantly increased in the GDX group ($P < 0.05$), while Mn-SOD, GSH-Px, GSH and GSH/GSSG levels, the mitochondrial membrane potential, ATP level and mitochondrial Cyt c and ALDH2 protein expression were decreased significantly ($P < 0.05$). After androgen treatment, the above changes in GDX elderly rats were reversed significantly ($P < 0.05$). *In vitro*, androgen treatment significantly reversed damage induced by H₂O₂ in GES-1 cells ($P < 0.05$). However, when combined with Disulfiram, the therapeutic activity of androgen was reduced significantly ($P < 0.05$). **Conclusions** Androgen deficiency leads to mitochondrial dysfunction and increased mitochondrial ROS accumulation in gastric mucosal cells of elderly rats and induces gastric mucosal cell apoptosis, which is at least partly related to inhibition of the antioxidant function of ALDH2.

【Keywords】 androgens; old rats; gastric mucosa; mitochondria; testicular resection

氧化应激增加和抗氧化功能降低被认为是胃损伤的关键因素^[1-2]。线粒体是衰老过程中细胞生存和死亡的关键调节因子,与年龄相关的结构和功能改变已在人类胃肠道中得到证实^[3]。随着年龄的增长,老年大鼠的腺体萎缩被过度产生活性氧的结缔组织所取代,并且 Caspase-3 凋亡蛋白的表达增加^[4]。研究表明雄激素具有抗氧化作用,雄激素缺乏与心血管氧化应激密切相关^[5]。雄激素水平影响去势大鼠黑质的氧化应激^[6]。目前,尚不清楚雄激素在胃粘膜线粒体介导的细胞凋亡中的作用。因此,本研究旨在探讨雄激素对睾丸切除(gonadectomized, GDX)雄性老年大鼠胃黏膜细胞凋亡的影响,并探讨其分子机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

36 只成年雄性 SD 大鼠,20 月龄,体重(550±20)g 由北京斯贝福生物技术有限公司[SCXK(京)2016-0002]提供。所有大鼠每笼四只,在受控温度(22±1)℃和湿度(55±5)%条件下,以 12 h 的明暗循环进行饲养。食物和水可以自由食用。大鼠的组织取材于河北医科大学实验动物中心[SYXK(冀)2019-0004]。动物的使用及实验操作按照河北医科大学实验动物管理委员会(IACUC-JY-2018-075)的规定执行。实验过程中依照 3R 原则给予所有动物人道主义关怀。

1.1.2 细胞

人永生胃粘膜细胞 GES-1(图 1)购自上海科学院细胞库。

1.2 主要试剂与仪器

睾丸酮购自北京 Solarbio 公司(批号:G0712);

组织线粒体分离试剂盒(批号:M10274)、ATP 检测试剂盒(批号:S33279)购自上海 Beyotime 公司;Mn-SOD、GSH-Px 活性、GSH、GSSG 和 ROS 试剂盒购自南京建成生物工程研究所(批号分别为:960734、970105、944382、983711、952326);AnnexinV-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购自美国 Invitrogen 公司(批号:BC705);Cell Counting Kit-8 试剂盒购自日本 Dojindo 公司(批号:741261);原位细胞死亡检测试剂盒购自瑞士 Roche 公司(批号:15396021);Cyt c、Caspase-3 或 ALDH2 抗体均购自美国 Abcam 公司(批号分别为:ab169407、ab184538、ab11397)。

Synergy2 多功能检测仪购自美国 BioTek 公司;Safire2 酶标仪购自瑞士 TECAN 公司;Tanon 5200 Multi 全自动化学发光购自上海天能科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 手术和治疗

将大鼠随机分为 3 组:假手术组(Sham, $n = 12$)、模型组(GDX, $n = 12$)和补充雄激素(androgen, AG)的模型大鼠($n = 12$)。模型大鼠腹腔注射 2% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,并在无菌条件下接受双侧睾丸切除术,包括睾丸、附睾和附睾脂肪的切

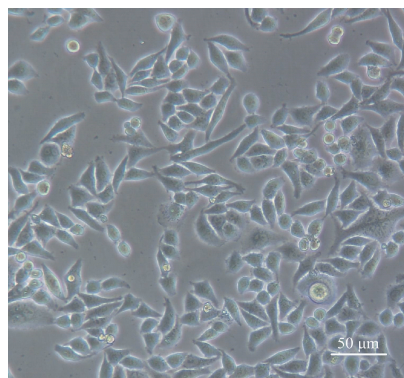


图 1 GES-1 细胞

Figure 1 GES-1 cell

除。切口用外科钉闭合。假手术组大鼠除双侧睾丸切除术外均接受相同的手术治疗。对于 AG 组,在下午 5:00~6:00 将睾丸酮(13.6 mg/(kg·d),溶于芝麻油中)灌胃到大鼠体内。其他组使用芝麻油进行治疗。大鼠连续治疗 28 d,进行以下实验。

1.3.2 生化分析

在最后 1 次治疗后 24 h 内,大鼠麻醉处死。切除大鼠的胃并用冰冷的生理盐水冲洗,用玻片刮取胃粘膜,采用组织线粒体分离试剂盒分离胃粘膜线粒体,检测线粒体中 Mn-SOD、GSH-Px、GSH、GSSG、GSH/GSSG 和 ROS 水平。具体操作为:将胃粘膜在冰冷的缓冲液(10 mmol/L HEPES, pH = 7.5, 包括 200 mmol/L 甘露醇、70 mmol/L 蔗糖、1.0 mmol/L EGTA、2.0 mg/mL 血清白蛋白)中均质,并在 4℃ 下 1000 r/min 离心 10 min。取上清液在 4℃ 下 3500 r/min 离心 10 min,以收集线粒体颗粒。采用试剂盒测定 Mn-SOD、GSH-Px 活性及 GSH、GSSG 和 ROS 的含量。

1.3.3 线粒体膜电位

将胃粘膜碎片用平衡盐溶液研磨,并通过尼龙网筛过滤。收集细胞并在 37℃ 的 Rh123 溶液(10 μg/mL)中培养 30 min。在清洗并重新悬浮在 1 mL PBS 中后,立即通过流式细胞仪(激发/发射波长,488 nm/534 nm)对细胞进行分析。

1.3.4 ATP 水平测定

使用 ATP 检测试剂盒检测 ATP。具体操作为,将大鼠胃粘膜匀浆于 150 μL 溶解缓冲液中,于 4℃ 下 12000 r/min 离心 10 min 以收集细胞上清液。在 96 孔板中加入 100 μL ATP 检测工作液,然后将收集到的 50 μL 细胞上清液添加到孔中,并立即使用 Synergy2 多功能检测仪测量 562 nm 处吸光值。ATP 水平 = ATP 浓度/蛋白质浓度。

1.3.5 细胞凋亡检测

用 AnnexinV-FITC/PI 凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡。取处理后细胞,用冷磷酸盐缓冲盐水冲洗。将细胞(1×10^5 个)重新悬浮在 100 μL 膜联蛋白结合缓冲液中,然后添加 5 μL FITC 膜联蛋白 V 和 1 μL PI 工作液。室温孵育 15 min 后,加入 400 μL 膜联蛋白结合缓冲液并混合,然后用流式细胞仪分析样品。

1.3.6 细胞培养和分组

将人永生胃粘膜细胞 GES-1 接种在含 10% 胎牛血清(FBS)的 RPMI1640 培养基中培养。将细胞

分为以下几组:(1)对照组,(2)H₂O₂ 组,(3)AG 组(含 20% AG),(4)Disulfiram 组(含 5 μmol/L ALDH2 抑制剂 Disulfiram),(5)Disulfiram + AG 组(含 5 μmol/L Disulfiram + 20% AG)。除对照组外,其余各组均用 100 μmol/L H₂O₂ 处理 6 h,进行以下实验。

1.3.7 细胞活力测定

在孵育 6 h 后,采用 Cell Counting Kit-8 试剂盒测量 GES-1 细胞增殖。将 100 μL 的混合物(CCK-8 与无血清培养基按体积比 1:10 混合)添加到各孔中,继续孵育 1 h,然后使用 Safire2 酶标仪通过测量 450 nm 和 600 nm 之间的光密度差来确定存活细胞的数量。所有实验均重复 3 次。

1.3.8 TUNEL 分析

将 GES-1 细胞(3×10^5 个/孔)接种于载玻片上,37℃ 培养 24 h,用 100 μmol/L H₂O₂ 处理 6 h,再用 4% 多聚甲醛固定。使用原位细胞死亡检测试剂盒进行 TUNEL 分析。用荧光显微镜对载玻片进行分析和成像。所有实验均重复 3 次。

1.3.9 Western blot 分析

将胃粘膜在 RIPA 缓冲液中匀浆,在 4℃ 以 12000 r/min 离心 20 min,收集上清液。将蛋白质样品(20~50 μg)加载在 12% 聚丙烯酰胺凝胶上,电泳转移到 PVDF 膜。将膜暴露于封闭缓冲液中 2 h,在 4℃ 下与一级抗体 Cyt c (1:200)、Caspase-3 (1:1000)或 ALDH2 (1:1000)抗体孵育过夜。然后在室温下与 HRP 结合的二级山羊抗兔 IgG (1:2000)和山羊抗鼠 IgG (1:5000)一起孵育 1 h。最后用化学发光法在 Tanon 5200 Multi 全自动化学发光观察结果。

1.4 统计学方法

所有数据均以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用单向方差分析和 SNK-*q* 检验进行多重比较。显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 雄激素对 GDX 老年大鼠氧化指标的影响

假手术、GDX 与 AG 组间 ROS、Mn-SOD、GSH-Px、GSH 和 GSSG 水平存在显著差异($P < 0.001$)。与 Sham 组相比,GDX 组 ROS 和 GSSG 水平显著增加($P < 0.05$),而 Mn-SOD、GSH-Px、GSH、GSH/GSSG 水平显著降低($P < 0.05$)。在雄激素治疗后,GDX 老年大鼠上述变化显著逆转($P < 0.05$)(表 1)。

2.2 雄激素对 GDX 老年大鼠胃粘膜线粒体膜电位、ATP 水平和 Cyt c 蛋白影响

假手术、GDX 与 AG 组间线粒体膜电位、ATP 水平、细胞质 Cyt c 蛋白和线粒体 Cyt c 蛋白存在显著差异 ($F=33.126, 24.412, 55.518, 89.742$, 均 $P<0.001$)。事后检验显示,与 Sham 组相比,线粒体膜电位、ATP 水平和线粒体 Cyt c 蛋白表达均显著降低 ($P<0.05$),而细胞质 Cyt c 蛋白表达显著增加 ($P<0.05$)。在雄激素治疗后,GDX 老年大鼠上述变化显著逆转 ($P<0.05$) (图 2)。

2.3 雄激素对 GDX 老年大鼠胃粘膜细胞凋亡分析

假手术、GDX 与 AG 组间胃粘膜细胞凋亡和 ALDH2、裂解的 Caspase-3 蛋白表达存在显著差异 ($F=35.416, 28.291, 27.526$, 均 $P<0.001$)。事后检验显示,与 Sham 组相比,胃粘膜细胞凋亡和裂解的

Caspase-3 蛋白表达均显著增加 ($P<0.05$),而 ALDH2 蛋白表达显著降低 ($P<0.05$)。在雄激素治疗后,GDX 老年大鼠上述变化显著逆转 ($P<0.05$) (图 3)。

2.4 雄激素降低 H_2O_2 处理的 GES-1 细胞氧化应激相关损伤

ALDH2 是一种线粒体基质蛋白,在肝、肾、心、肺和胃肠道等多种组织中有组成性表达。ALDH2 在由氧化应激诱导的脂质过氧化产生的 ROS 清除中起着重要作用^[7]。研究进一步考察雄激素是否通过激活 ALDH2 保护氧化应激诱导的胃粘膜细胞凋亡。采用 Disulfiram 抑制 GES-1 细胞中 ALDH2 表达,Western blot 分析显示,GES-1 细胞暴露于 H_2O_2 或者加入 Disulfiram 后,ALDH2 蛋白表达明显降低,而加入雄激素可增强 ALDH2 蛋白表达 (图 4 A)。此外,与对照组相比, H_2O_2 组细胞活力显著

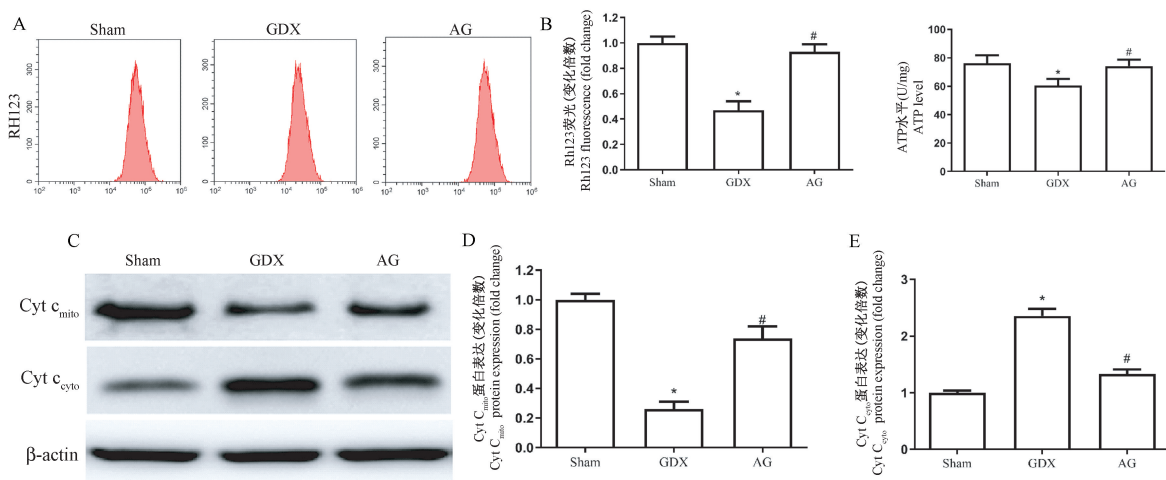
表 1 GDX 和雄激素给药对胃黏膜线粒体 ROS、Mn-SOD、GSH-Px、GSH 和 GSSG 水平的影响

Table 1 Effects of GDX and androgen on the levels of ROS, Mn-SOD, GSH Px, GSH and GSSG in gastric mucosa mitochondria

组别 Groups	ROS (U/mg)	Mn-SOD (U/mg)	GSH-Px (U/mg)	GSH (mg/g)	GSSG (mg/g)	GSH/GSSG
Sham	174.5±18.2	37.6±13.8	59.1±13.2	73.4±8.3	0.35±0.04	201.3±14.6
GDX	252.3±24.6*	23.7±9.5*	42.3±8.8*	58.1±6.5*	0.43±0.06*	132.5±10.4*
AG	180.4±16.3 [#]	35.2±10.6 [#]	57.5±9.9 [#]	71.6±6.1 [#]	0.32±0.05 [#]	190.8±12.7 [#]
F	36.302	22.512	22.010	24.237	9.747	67.002
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 Sham 组相比,* $P<0.05$;与 GDX 组相比,[#] $P<0.05$ 。

Note. Compared with Sham group,* $P<0.05$. Compared with GDX group,[#] $P<0.05$.



注:A:ATP 水平;B:膜电位;C~E:Cyt c 蛋白表达的影响。与 Sham 组相比,* $P<0.05$;与 GDX 组相比,[#] $P<0.05$ 。

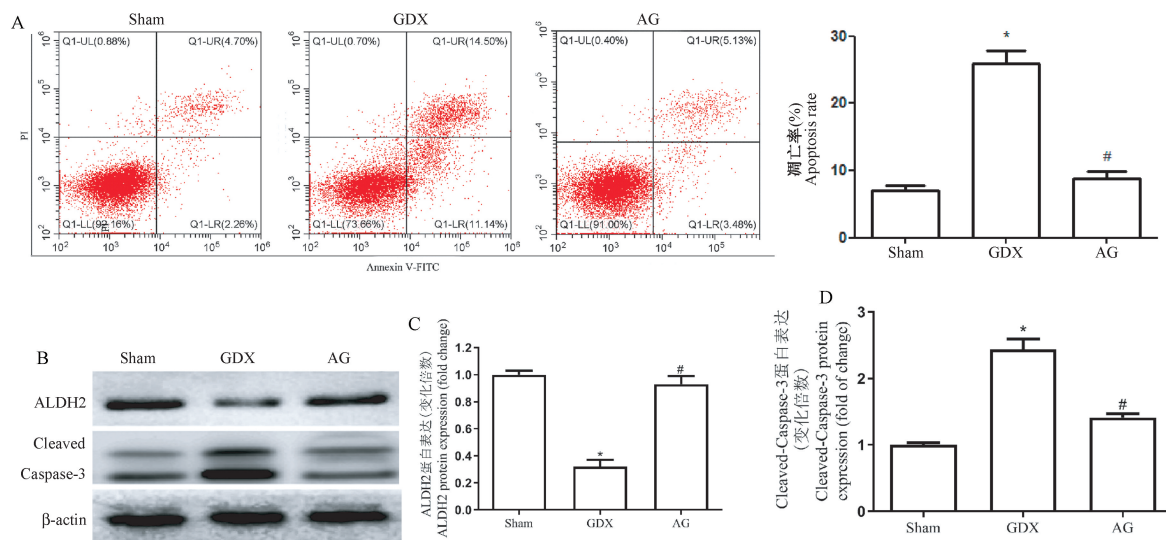
图 2 GDX 和雄激素给药对胃粘膜的影响

Note. A, ATP level. B, Membrane potential. C~E, Cyt C protein expression. Compared with Sham group,* $P<0.05$. Compared with GDX group,[#] $P<0.05$.

Figure 2 Effects of GDX and androgen in gastric mucosa

降低($P<0.05$),细胞凋亡数目明显增加($P<0.05$)。雄激素处理显著逆转了 H_2O_2 对 GES-1 的损伤作用($P<0.05$),并减少了细胞凋亡数目($P<0.05$);然而,当联合加入 Disulfiram 时,雄激素的治疗活性明

显降低($P<0.05$)(图 4B~G)。此外,雄激素处理显著逆转了 H_2O_2 诱导的 GSH 活性和 GSH/GSSG 比例降低,和 GSSG 活性增加;当联合加入 Disulfiram 时,这种逆转作用降低。

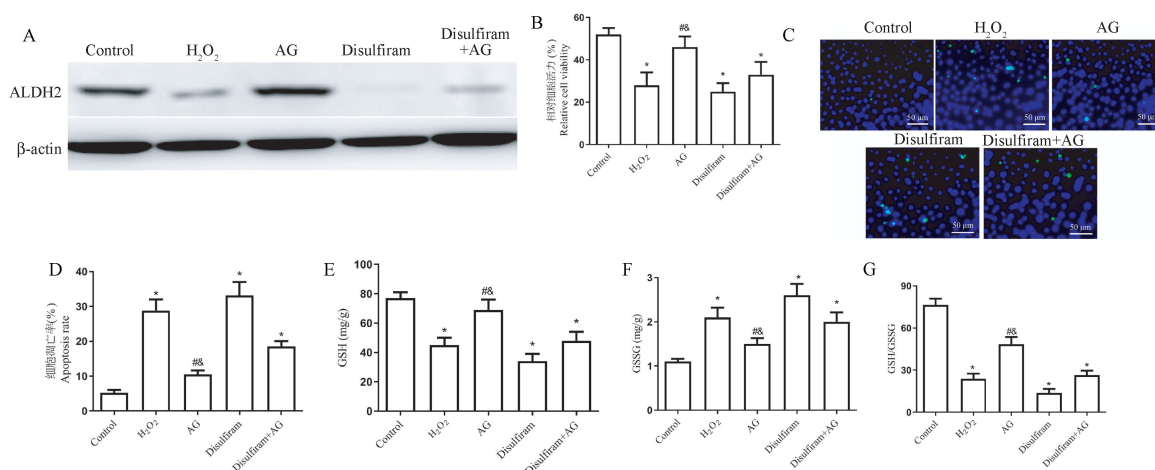


注:A;流式细胞术检测细胞凋亡情况;B~D;Western blot 分析 ALDH2 和裂解的 Caspase-3 蛋白表达情况。与 Sham 组相比,* $P<0.05$;与 GDX 组相比,# $P<0.05$ 。

图 3 GDX 和雄激素给药对胃粘膜细胞凋亡影响

Note. A, Cell apoptosis was detected by flow cytometry. B~D, Western blot was used to analyze the expression of ALDH2 and Caspase-3. Compared with Sham group, * $P<0.05$. Compared with GDX group, # $P<0.05$.

Figure 3 Effects of GDX and androgen on apoptosis of gastric mucosal cells



注:A;Western blot 分析 ALDH2 蛋白表达情况;B;CCK-8 检测细胞活力;C、D;TUNEL 法检测细胞凋亡情况;E~G;GSH 和 GSSG 的水平,以及 GSH/GSSG 比率。与对照组相比,* $P<0.05$;与 H_2O_2 组相比,# $P<0.05$;与 Disulfiram+AG 组相比,* $P<0.05$ 。

图 4 雄激素降低 H_2O_2 处理的 GES-1 细胞氧化应激相关损伤

Note. A, Expression of ALDH2 protein was analyzed by Western blot. B, CCK-8 was used to detect cell viability. C, D, TUNEL method was used to detect the apoptosis. E~G, GSH and GSSG levels, and GSH/GSSG ratio. Compared with control group, * $P<0.05$. Compared with H_2O_2 group, # $P<0.05$. Compared with Disulfiram + AG group, * $P<0.05$.

Figure 4 Androgen reduced oxidative stress-related injury in GES-1 cells treated with H_2O_2

3 讨论

在本研究中,我们发现雄激素影响 GDX 老年大鼠胃黏膜氧化应激参数、线粒体功能和凋亡。雄性 GDX 老年大鼠线粒体 ROS 和 GSSG 水平升高,线粒体 Mn-SOD、GSH-px 和 GSH 活性降低,线粒体膜电位和 ATP 水平降低。GDX 也增加了胃粘膜细胞凋亡以及胞浆 Cyt c 和裂解 Caspase-3 的表达,并降低线粒体 Cyt c 的表达。这些数据支持雄激素在维持胃粘膜线粒体功能中起着重要作用,线粒体作为潜在的雄激素靶点与大鼠胃粘膜细胞凋亡有关。

线粒体作为 ROS 的主要来源和 ROS 损伤的主要靶点,受到外源性 ROS 清除和内源性 ROS 刺激的影响^[8]。Mn-SOD 和 GSH-Px 存在于线粒体基质或线粒体膜间空间。其中, Mn-SOD 能催化超氧自由基转化 H_2O_2 , 从而清除毒素。GSH-Px 催化线粒体 H_2O_2 的还原,使 GSH 生成 GSSG^[9]。GSH 水平和 GSH/GSSG 比值的降低被认为是氧化还原失衡的证据^[9]。本研究发现, GDX 老年大鼠胃粘膜线粒体 ROS 升高, Mn-SOD、GSH-Px 和 GSH/GSSG 水平降低,提示 GDX 老年大鼠存在氧化应激。抗氧化防御和氧化损伤的恶化与线粒体功能障碍密切相关^[4]。线粒体功能障碍又会导致更多的自由基生成,并降低抗氧化能力^[10]。补充雄激素可恢复 GDX 老年大鼠胃粘膜线粒体膜电位和 ATP 水平。因此,研究结果表明雄激素可以通过调节线粒体功能提供抗氧化作用。线粒体膜电位的降低与凋亡相关的线粒体功能障碍相关,这会导致活性氧的生成,并启动线粒体介导的凋亡信号^[11]。

ROS 参与了细胞凋亡的诱导。以前的研究表明,细胞内 ROS 的产生可能是一个保守的凋亡事件^[12]。线粒体在内源性凋亡途径中起着关键作用。高浓度 ROS 暴露可引起线粒体释放 Cyt c^[13]。内源性途径的诱导依赖于 Cyt c 从线粒体释放到胞质,并诱导与凋亡细胞死亡有关的细胞内蛋白质水解,特别是 Caspases-3^[14]。在本研究中,我们发现 GDX 雄性大鼠胃粘膜细胞凋亡明显增加,伴随着 Cyt c 从线粒体释放到胞浆中的增加,及 Caspase-3 的激活。补充雄激素可逆转这些变化,表明雄激素缺乏诱导 GDX 老年大鼠胃粘膜细胞凋亡,涉及线粒体介导的凋亡途径参与。衰老可能增加患消化性溃疡病的风险。一些研究表明,老化的胃粘膜随着脂质过氧化氢和 Caspase-3 表达的增加而受损^[15]。因此,雄激素可能是预防消化性溃疡病的潜在药物。

ALDH2 是一种由位于染色体 12q24 的核基因编码的线粒体基质蛋白,该蛋白是一种具有 56×10^3

相同亚基的四聚体酶^[7]。ALDH2 在由氧化应激诱导的脂质过氧化产生的 ROS 清除中起着重要作用^[16]。本研究发现,在 GDX 老年大鼠胃黏膜中 ALDH2 水平降低,补充雄激素可恢复 ALDH2 水平。因此,我们进一步验证了雄激素是否通过激活 ALDH2 减轻胃粘膜细胞氧化应激相关损伤。体外分析结果显示, ALDH2 抑制剂 Disulfiram 降低雄激素对 GES-1 细胞损伤的保护作用,证实了雄激素通过激活 ALDH2 来减轻 GDX 老年大鼠胃粘膜细胞损伤。

综上所述,雄激素缺乏导致老年大鼠胃粘膜细胞线粒体功能障碍和线粒体 ROS 积累增加,诱导胃粘膜细胞凋亡,这种损害作用至少部分与 ALDH2 的抗氧化功能抑制有关。

参考文献:

- [1] 张鑫磊,陈盼,夏裕宁,等. 氢气对大鼠脑缺血/再灌注损伤线粒体功能的影响机制[J]. 实用医学杂志, 2018, 34(2): 184-187.
- [2] 王亚平,朱智勇,唐颖,等. 急性低氧对大鼠胃粘膜组织细胞端粒长度的影响及其机制[J]. 生理学报, 2017, 69(4): 67-74.
- [3] 张佳琪,张丽颖,王雪,等. 从线粒体功能异常探讨功能性消化不良胃肠动力障碍的发病机制[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3637-3639.
- [4] Kang JM, Kim N, Kim JH, et al. Effect of aging on gastric mucosal defense mechanisms: ROS, apoptosis, angiogenesis, and sensory neurons [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2010, 299(5): 1147-1153.
- [5] 徐涛,韩敬丽,姚伟娟. 雄激素剥夺治疗相关心血管疾病的机制与临床对策[J]. 北京大学学报(医学版), 2020, 52(4): 607-609.
- [6] Yan WS, Kang YX, Ji XM, et al. Testosterone upregulates the expression of mitochondrial ND1 and ND4 and alleviates the oxidative damage to the nigrostriatal dopaminergic system in orchiectomized rats [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 1-13.
- [7] Zhai X, Zhang Z, Liu W, et al. Protective effect of ALDH2 against cyclophosphamide-induced acute hepatotoxicity via attenuating oxidative stress and reactive aldehydes [J]. Biochem Bioph Res Co, 2018, 499(1): 93-98.
- [8] 黄凯,高佳明,贺爽,等. 线粒体作为中药治疗心力衰竭靶点的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(9): 120-128.
- [9] Lin Y, Miao LH, Pan WJ, et al. Effect of nitrite exposure on the antioxidant enzymes and glutathione system in the liver of bighead carp, *Aristichthys nobilis* [J]. Fish Shellfish Immun, 2018, 76: 126-132.
- [10] Yen K, Mehta HH, Kim SJ, et al. The mitochondrial derived peptide humanin is a regulator of lifespan and healthspan [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(12): 11185.

(下转第 34 页)

- Chem, 2019, 294(34): 12795–12806.
- [9] 刘煌, 王玮, 李芹, 等. 延龄草苷对肺炎链球菌感染的肺泡上皮细胞损伤的保护作用及其机制研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(10): 1228–1232.
- [10] Tripathi A, Volsko C, Garcia JP, et al. Oligodendrocyte intrinsic miR-27a controls myelination and remyelination [J]. Cell Rep, 2019, 29(4): 904–919, e9.
- [11] Dong Y, Fan G, Li Y, et al. TUG1 represses apoptosis, autophagy, and inflammatory response by regulating miR-27a-3p/SLIT2 in LPS-Treated vascular endothelial cells [J]. J Surg Res, 2020, 256: 345–354.
- [12] Zhou Z, Wan J, Hou X, et al. MicroRNA-27a promotes podocyte injury via PPAR γ -mediated β -catenin activation in diabetic nephropathy [J]. Cell Death Dis, 2017, 8(3): e2658.
- [13] Wang SL, Shao BZ, Zhao SB, et al. Intestinal autophagy links psychosocial stress with gut microbiota to promote inflammatory bowel disease [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(6): 391.
- [14] Varshney P, Saini N. PI3K/AKT/mTOR activation and autophagy inhibition plays a key role in increased cholesterol during IL-17A mediated inflammatory response in psoriasis [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2018, 1864(5): 1795–1803.
- [15] Zeng M, Sang W, Chen S, et al. 4-PBA inhibits LPS-induced inflammation through regulating ER stress and autophagy in acute lung injury models [J]. Toxicol Lett, 2017, 271: 26–37.
- [16] Du C, Zhang T, Xiao X, et al. Protease-activated receptor-2 promotes kidney tubular epithelial inflammation by inhibiting autophagy via the PI3K/Akt/mTOR signalling pathway [J]. Biochem J, 2017, 474(16): 2733–2747.
- [17] 谢盈斌, 许晓敏, 张军平, 等. 基于 PI3K/Akt/mTOR 通路探讨补肾抗衰片介导自噬调控动脉粥样硬化的机制 [J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(5): 586–593.
- [18] Thorburn A. Autophagy and its effects: making sense of double-edged swords [J]. PLoS Biol, 2014, 12(10): e1001967.
- [19] Liu G, Cao P, Chen H, et al. MiR-27a regulates apoptosis in nucleus pulposus cells by targeting PI3K [J]. PLoS One, 2013, 8(9): e75251.

[收稿日期]2020-11-27

(上接第 26 页)

- [11] Dingeldein APG, Sparman T, Åden J, et al. Oxidatively stressed mitochondrial membranes: insight into their organization and function during apoptosis [J]. Biophys J, 2018, 114(3): 33a.
- [12] Araniti F, Costas-Gil A, Cabeiras-Freijanes L, et al. Rosmarinic acid induces programmed cell death in Arabidopsis seedlings through reactive oxygen species and mitochondrial dysfunction [J]. PLoS One, 2018, 13(12): e0208802.
- [13] Li W, Yu KN, Ma J, et al. Non-thermal plasma induces mitochondria-mediated apoptotic signaling pathway via ROS generation in HeLa cells [J]. Arch Biochem Biophys, 2017, 633: 68–77.
- [14] Yan Z, Xu T, An Z, et al. Costunolide induces mitochondria-mediated apoptosis in human gastric adenocarcinoma BGC-823 cells [J]. BMC Complement Altern Med, 2019, 19(1): 1–10.
- [15] Kwon YH, Kim N, Nam RH, et al. Change in the interstitial cells of Cajal and nNOS positive neuronal cells with aging in the stomach of F344 rats [J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0169113.
- [16] Ma X, Luo Q, Zhu H, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 activation ameliorates CC $_4$ -induced chronic liver fibrosis in mice by up-regulating Nrf2/HO-1 antioxidant pathway [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(8): 3965–3978.

[收稿日期]2020-11-17