

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.18.002

文章编号: 1005-8982 (2018) 18-0007-07

N-乙酰半胱氨酸对丙酮醛诱导的人肾小管上皮细胞损伤的保护作用及机制研究*

罗婷¹, 庄晓东², 凡栋¹, 顾海风³, 陈燕玲¹, 康毅¹, 吴秀香¹, 王晓玲¹

(1. 遵义医学院珠海校区 病理生理学教研室, 广东 珠海 519041; 2. 中山大学附属第一医院 心血管内科, 广东 广州 510080; 3. 中山大学肿瘤医院 妇科, 广东 广州 510080)

摘要: **目的** 探讨 N-乙酰半胱氨酸 (NAC) 对丙酮醛引起人肾小管上皮细胞 (HK-2 细胞) 损伤的保护作用及其可能机制。 **方法** HK-2 细胞分为 6 组: 对照组、丙酮醛组、丙酮醛 + 不同浓度 NAC (1、2、4 及 8 mmol/L) 处理组。采用 CCK-8 检测细胞活力, DAPI 染色观察细胞核形态, 罗丹明 123 染色及流式细胞仪检测细胞线粒体膜电位, Western blot 检测抗凋亡蛋白 Bcl-2、促凋亡蛋白 Bax、Cleaved Caspase-3 以及磷酸化 ERK1/2 (p-ERK1/2) 蛋白表达水平。 **结果** 与对照组比较, HK-2 细胞经 400 μ mol/L 丙酮醛处理后, 细胞活力、线粒体膜电位及 Bcl-2 蛋白表达水平降低, 凋亡细胞数增多, Bax、Cleaved Caspase-3 及 p-ERK1/2 蛋白表达水平则升高。而经不同浓度的 NAC 干预后, 可以逆转丙酮醛对 HK-2 细胞的上述作用。 **结论** NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞损伤具有保护作用, 其机制可能与其抗凋亡及抑制 ERK1/2 信号通路有关。

关键词: N-乙酰半胱氨酸; 丙酮醛; 凋亡; 肾小管上皮细胞

中国分类号: R691.6

文献标识码: A

Protective effect of n-acetylcysteine on injury of human renal tubular epithelial cells induced by methylglyoxal*

Ting Luo¹, Xiao-dong Zhuang², Dong Fan¹, Hai-feng Gu³, Yan-ling Chen¹,
Yi Kang¹, Xiu-xiang Wu¹, Xiao-ling Wang¹

(1. Department of Pathophysiology, Zhuhai Campus of Zunyi Medical University, Zhuhai, Guangdong 519041, China; 2. Department of Cardiovasology, The First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510080, China; 3. Department of Gynaecology, SUN Yat-Sen University Cancer Center, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

Abstract: **Objective** To investigate the protective effect of n-acetylcysteine (NAC) on injury of human renal tubular epithelial cells (HK-2 cells) induced by methylglyoxal and its underlying mechanism. **Methods** HK-2 cells were divided into six group: control group (no treatment), injury group (induced by methylglyoxal) and NAC groups (treated with different concentrations of NAC, 1, 2, 4, 8 mmol/L). Cell viability was measured by CCK-8. Morphological changes of apoptotic cell nucleus were observed by DAPI staining. Mitochondrial membrane potential (MMP) was detected by rhodamine 123 staining and flow cytometry. Expression of Bax, Bcl-2, Caspase-3 and p-ERK1/2 were identified by western blot. **Results** Compared with control group, cell viability, MMP and the expression of Bcl-2 of HK-2 cells were significantly reduced by methylglyoxal while the number of apoptotic cells

收稿日期: 2017-09-21

* 基金项目: 国家自然科学基金 (No: 81560133, 81600206); 贵州省科技合作计划项目 (No: 黔科合 LH 字 [2015]7529 号); 遵义医学院博士启动基金; 广东省自然科学基金 (No: 2016A030310140)

[通信作者] 陈燕玲, E-mail: 546475534@qq.com; Tel: 0756-7623255

and the protein level of Bax, Cleaved Caspase-3 and p-ERK1/2 were dramatically increased. However, all of the above changes were reversed by NAC intervention. **Conclusions** NAC exerts protective effect on methylglyoxal induced injury of HK-2 cells. Potential mechanism may be associated with the anti-apoptotic effect and inhibition of activation of ERK1/2 cell signaling.

Keywords: n-acetylcysteine; HK-2 cells; apoptosis; ERK1/2

丙酮醛作为葡萄糖代谢的副产物,是晚期糖基化终产物(advanced glycosylation end products, AGEs)的前体,可快速生成 AGEs^[1]。近年来,越来越多的研究发现,丙酮醛在糖尿病患者靶器官损伤中具有重要作用^[2]。长期高血糖可导致丙酮醛生成增加,丙酮醛可通过修饰蛋白质、脂质及核糖核酸等引起细胞损伤。体外研究发现,肾系膜细胞、心肌细胞及内皮细胞等经丙酮醛处理后均发生明显损伤^[3-5]。而笔者前期的研究也发现,丙酮醛可以引起人肾小管上皮细胞(HK-2 细胞)损伤^[6]。肾小管上皮细胞损伤在糖尿病肾病发生、发展中具有重要作用。肾小管上皮细胞凋亡可使肾小管重吸收及排泌功能失调,促进肾小管萎缩及肾功能恶化。而目前,在临床上还缺乏针对糖尿病肾病的特效药,只能通过对症治疗,疗效欠佳。

N-乙酰半胱氨酸(N-acetyl cystein, NAC)是临床上治疗慢性呼吸系统感染时常用的一种祛痰剂。是一种作用非常广泛的氨基酸,研究报道其具有清除自由基、抗氧化应激、调节基因表达和信号转导系统以及抑制细胞凋亡等作用^[3]。NAC 能否减轻丙酮醛诱导的肾小管上皮细胞损伤,目前尚未见报道。本实验以 HK-2 细胞作为研究对象,探讨 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞损伤是否具有抑制作用,并初步探讨其可能的机制,为临床治疗糖尿病肾病提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 HK-2 细胞来源及细胞培养 HK-2 细胞由中山大学中山医学院高血压研究所王蔚东教授提供^[7]。细胞接种于 25 cm² 无菌培养瓶中,用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基在 37℃、5% 二氧化碳 CO₂ 条件下培养,每隔 1 天进行 1 次细胞传代,取对数生长期的细胞进行实验。

1.1.2 药物与相关试剂 细胞培养用的 DMEM/F12 培养基、胰蛋白酶及胎牛血清购自 Gibco 公司,丙酮醛(购自上海源叶生物科技有限公司)(纯度 ≥ 95%),CCK-8 细胞计数试剂盒(购自同仁化学研究所),Rh123 及 DAPI 染色液(购自 Sigma 公司),Bax、Bcl-

2、Cleaved Caspase-3、p-ERK1/2、GAPDH 抗体(购自 Cell Signaling Technology 公司)。

1.2 实验仪器

蛋白电泳仪及细胞培养箱(Bio-Rad 公司),荧光倒置显微镜(Olympus 公司),酶联免疫检测仪(Thermo Fisher Scientific 公司)。

1.3 方法

1.3.1 实验分组 实验分组:对照组(只加正常培养基)、丙酮醛组(加入 400 μmol/L 丙酮醛处理 24 h)、丙酮醛 + 不同浓度 NAC 组[400 μmol/L 丙酮醛与不同浓度 NAC(1、2、4 及 8 mmol/L)共孵育 24 h]。

1.3.2 CCK-8 法检测细胞生长活力 取处于对数生长期且生长状态良好的细胞,用 0.25% 胰蛋白酶消化后,按 2 × 10⁵ 个/L 的细胞密度接种在 96 孔板中。根据实验分组给予不同药物处理,每组设置 5 个平行复孔。细胞培养 24 h 后,弃上清液,每孔加入 100 μl 含 10% CCK-8 的无血清培养基,在 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 1.5 h,用酶标仪在波长 450 nm 处测定吸光度值(OD)。细胞活力(%) = (试验组 OD 值 - 空白孔 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白孔 OD 值) × 100%。

1.3.3 DAPI 染色观察 HK-2 细胞核形态变化 取处于对数生长期且生长状态良好的细胞,用胰蛋白酶消化后,按 3 × 10⁷ 个/L 的细胞密度接种在 6 孔板中。按分组给予不同药物处理后,弃培养基,用 4% 多聚甲醛固定 10 min,再用 PBS 漂洗 3 遍后,然后加入终浓度为 1 μg/L DAPI 染色液,37℃、5% CO₂ 培养箱中避光孵育 20 min,吸除 DAPI 染色液,再用 PBS 漂洗 3 遍,荧光显微镜下观察并拍照。

1.3.4 细胞线粒体膜电位检测 取处于对数生长期且生长状态良好的细胞,胰蛋白酶消化后,按 3 × 10⁷ 个/L 的细胞密度接种在 6 孔板中,每组设置 3 个平行复孔。根据分组给予相应药物处理 24 h 后,吸除培养基,用 PBS 清洗 2 遍,然后加入终浓度为 100 μg/L 罗丹明 123 的无血清培养基,37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 30 min,用 PBS 漂洗 3 遍,荧光显微镜下观察并随机选取 10 个不重复视野进行拍照。同时重复 1 次上

述实验,在染色完成后,PBS漂洗3次,然后用不含EDTA的胰酶消化收集细胞,离心,弃上清液,加入PBS吹打混匀,流式细胞仪上机检测细胞内线粒体膜电位变化。

1.3.5 Western blot 测定 HK-2 细胞 Bax、Bcl-2、Cleaved Caspase-3 及 p-ERK1/2 蛋白表达水平 取处于对数生长期且生长状态良好的细胞,用胰蛋白酶消化后,按照 4×10^6 个/L 的细胞密度接种在 100 mm 培养皿中,待细胞长至铺满皿底约 85% 时,根据实验分组加入相应药物处理 24 h 后,弃培养基,用预冷的 PBS 洗 3 遍,再加入 150 ~ 250 μ l 含有 PMSF 的 RIPA 裂解液,在冰上裂解细胞 20 min,然后用细胞刮把蛋白刮下来,收集到 1.5 ml EP 管中,12 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液。然后用 BCA 蛋白定量试剂盒 (Thermo Scientific Pierce) 检测蛋白浓度。每个泳道上样量为 60 μ g 蛋白。电泳:80 V 恒压跑胶 30 min;然后改为 120 V 恒压跑胶 60 min;转膜:220 mA 恒流转 60 min,p-ERK1/2 蛋白转 90 min。PVDF 膜用 5% 脱脂奶粉室温下封闭 60 min,然后加入 Bax、Bcl-2、Cleaved Caspase-3 及 p-ERK1/2 抗体(抗体稀释倍数 1:1 000)孵育过夜,再用 TBST 洗 3 次,加入辣根过氧化物酶标记 II 抗(抗体稀释倍数 1:5 000),室温下孵育 60 min,TBST 洗 3 次,最后经 Jena 成像仪扫描或者暗室曝光显影后,Image J 软件分析条带的光密度值。GAPDH 为内参,以目的条带与内参的密度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间正态分布的计量资料比较用单因素方差分析,组间均数的两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞活力的影响

显微镜下示,正常 HK-2 细胞呈椭圆形或梭形,并呈铺路石样排列(见图 1)。与对照组比较,加入 400 μ mol/L 的丙酮醛后,HK-2 细胞活力降低,约有对照组的 40% ($P < 0.01$),而加入不同浓度的 NAC 处理后,HK-2 细胞活力均有不同程度的升高,且随着 NAC 剂量的增加,细胞活力呈剂量依赖性升高 ($P < 0.01$) (见表 1)。

2.2 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞凋亡的影响

正常 HK-2 细胞经 DAPI 染色后细胞核呈现均匀

表 1 不同浓度 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞活力的影响 ($n=5, \%, \bar{x} \pm s$)

组别	细胞活力
对照组	113.700 $\pm$ 1.578
400 μ mol/L 丙酮醛组	48.528 $\pm$ 1.366 ¹⁾
400 μ mol/L 丙酮醛 +1 mmol/L NAC 组	56.544 $\pm$ 0.487 ²⁾
400 μ mol/L 丙酮醛 +2 mmol/L NAC 组	67.896 $\pm$ 2.260 ²⁾
400 μ mol/L 丙酮醛 +4 mmol/L NAC 组	83.622 $\pm$ 0.811 ²⁾
400 μ mol/L 丙酮醛 +8 mmol/L NAC 组	87.759 $\pm$ 0.765 ²⁾
F 值	308.770
P 值	0.000

注: 1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与丙酮醛组比较, $P < 0.05$

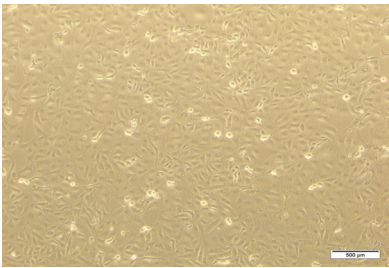


图 1 正常 HK-2 细胞形态 ($\times 100$)

的低密度蓝色荧光。对照组 HK-2 细胞胞核显示均匀的低密度蓝色荧光,经 400 μ mol/L 丙酮醛处理后,部分细胞胞核出现局部高密度蓝色荧光,呈明显的凋亡特征,即呈现核分裂及核固缩。而使用不同浓度 NAC 处理后,具有凋亡形态的细胞核数量减少。见图 2。

2.3 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞线粒体膜电位的影响

对照组 HK-2 细胞绿色荧光强度较强,线粒体膜电位较高;而经 400 μ mol/L 的丙酮醛处理后,绿色荧光强度减弱,线粒体膜电位降低;但加入 NAC 处理后,线粒体膜电位逐渐升高,以 8 mmol/LNAC 组最为明显。通过流式细胞仪检测也可得到相似的结果,1 和 2 mmol/L NAC 处理组平均荧光强度与丙酮醛组比较差异无统计学意义。当 NAC 浓度增高至 4 mmol/L 时,平均荧光强度增高,与丙酮醛组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3、4 和表 2。

2.4 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响

Western blot 检测,与对照组比较,HK-2 细胞经丙酮醛处理后,Bax/Bcl-2 比值升高 ($P < 0.01$)。而经不同浓度 NAC 干预后,Bax/Bcl-2 比值降低 ($P < 0.01$)。

见图 5 和表 3。

2.5 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞 Cleaved Caspase-3 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示, 对照组 HK-2 细胞 Cleaved Caspase-3 蛋白有基础量表达, 丙酮醛作用 24 h 后, HK-2 细胞 Cleaved Caspase-3 蛋白表达量较对照组增高 ($P < 0.01$), 而加入不同浓度 NAC 处理后, 各组细胞 Cleaved Caspase-3 蛋白表达量降低 ($P < 0.05$)。见

图 6 和表 4。

2.6 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞 p-ERK1/2 蛋白表达的影响

对照组 HK-2 细胞 p-ERK1/2 蛋白有基础量表达, 经 $400 \mu\text{mol/L}$ 浓度的丙酮醛作用 24 h 后, p-ERK1/2 蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$), 而加入不同浓度 NAC 处理后, 各组细胞 p-ERK1/2 蛋白表达水平均降低 ($P < 0.05$)。见图 7 和表 5。

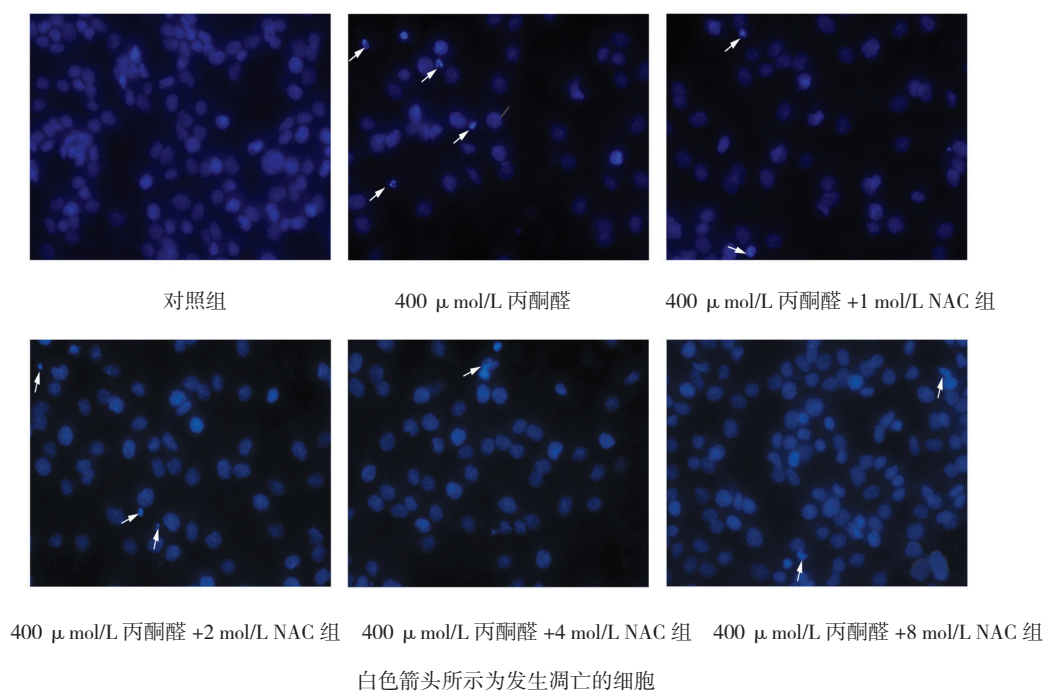


图 2 各组细胞核形态学变化 (DAPI 荧光染色 $\times 200$)

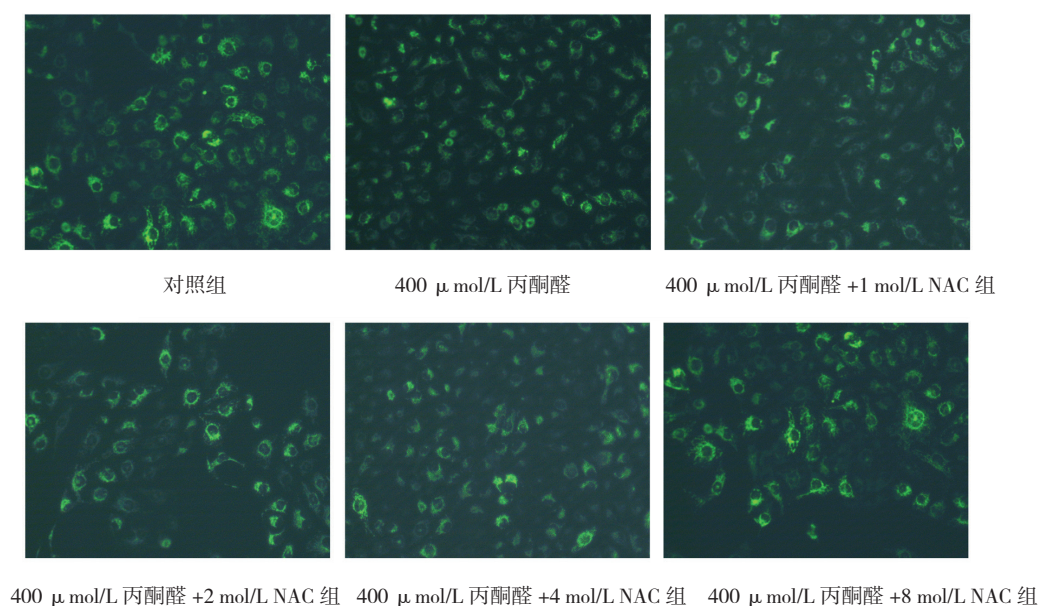


图 3 各组细胞线粒体膜电位 (荧光显微镜 $\times 200$)

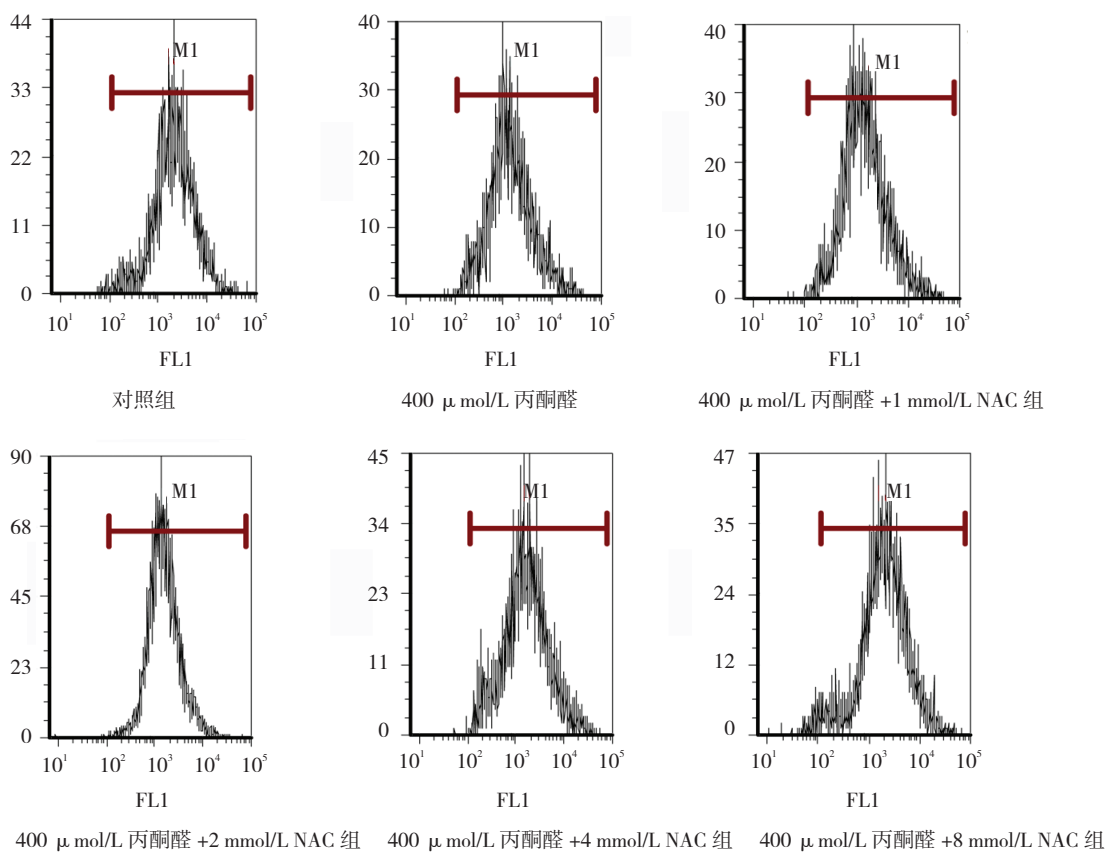


图 4 流式细胞仪检测各组细胞线粒体膜电位

表 2 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞线粒体膜电位的影响 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	平均荧光强度
对照组	2 079.983 ± 62.476
400 μmol/L 丙酮醛组	1 462.207 ± 173.187 ¹⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 1 mmol/L NAC 组	1 610.097 ± 117.216
400 μmol/L 丙酮醛 + 2 mmol/L NAC 组	1 712.750 ± 107.291
400 μmol/L 丙酮醛 + 4 mmol/L NAC 组	1 887.243 ± 78.870 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 8 mmol/L NAC 组	1 994.003 ± 99.952 ²⁾
F 值	4.474
P 值	0.016

注: 1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与丙酮醛组比较, $P < 0.05$

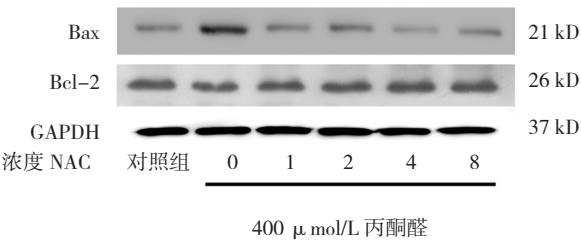


图 5 各组细胞 Bax、Bcl-2 蛋白表达 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

表 3 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞 Bax 与 Bcl-2 蛋白比值的影响 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	Bax 灰度值 / Bcl-2 灰度值
对照组	0.672 ± 0.067
400 μmol/L 丙酮醛组	2.617 ± 0.131 ¹⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 1 mmol/L NAC 组	0.581 ± 0.060 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 2 mmol/L NAC 组	0.498 ± 0.075 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 4 mmol/L NAC 组	0.249 ± 0.014 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 8 mmol/L NAC 组	0.315 ± 0.052 ²⁾
F 值	141.132
P 值	0.000

注: 1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与丙酮醛组比较, $P < 0.05$

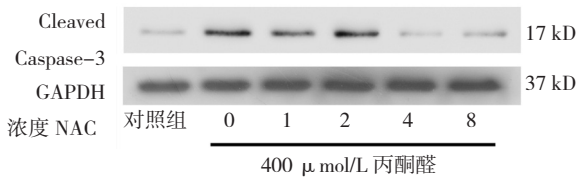


图 6 各组细胞 Cleaved Caspase-3 表达 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

表 4 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞 Cleaved Caspase-3 蛋白表达的影响 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

组别	Cleaved Caspase-3 灰度值 / GAPDH 灰度值
对照组	0.517 ± 0.062
400 μmol/L 丙酮醛组	1.185 ± 0.028 ¹⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 1 mmol/L NAC 组	0.887 ± 0.029 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 2 mmol/L NAC 组	1.026 ± 0.081 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 4 mmol/L NAC 组	0.428 ± 0.034 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 8 mmol/L NAC 组	0.625 ± 0.037 ²⁾
F 值	37.439
P 值	0.000

注: 1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与丙酮醛组比较, $P < 0.05$

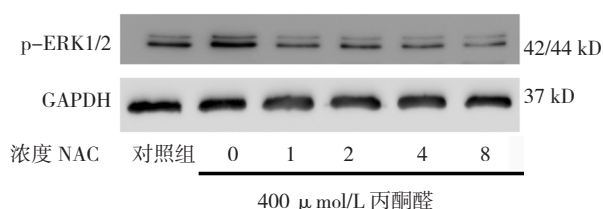


图 7 各组细胞 p-ERK1/2 蛋白的相对表达 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

表 5 NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞 p-ERK1/2 蛋白表达的影响 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

组别	p-ERK 灰度值 / GAPDH 灰度值
对照组	0.687 ± 0.066
400 μmol/L 丙酮醛组	0.996 ± 0.109 ¹⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 1 mmol/L NAC 组	0.506 ± 0.088 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 2 mmol/L NAC 组	0.497 ± 0.098 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 4 mmol/L NAC 组	0.518 ± 0.064 ²⁾
400 μmol/L 丙酮醛 + 8 mmol/L NAC 组	0.448 ± 0.060 ²⁾
F 值	6.155
P 值	0.005

注: 1) 与对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与丙酮醛组比较, $P < 0.05$

3 讨论

以往对糖尿病肾病的研究主要集中在肾小球损伤,但是近年来研究发现在糖尿病肾病中肾小管损伤可能要早于肾小球损伤,且其在糖尿病肾病的发生发展中具有重要作用^[8]。研究报道,糖尿病大鼠在病程第 1 周即可观察到肾小管扩张及肾小管上皮细胞变

性,且随着时间推移,肾小管受损的数目增加,损伤程度加重^[9]。糖尿病引起的肾小管损伤主要表现为肾小管上皮细胞肥大、高转运及凋亡。肾小管上皮细胞凋亡可促进肾小管萎缩及肾功能恶化^[10]。因此,通过控制肾小管损伤可能可以达到预防及治疗糖尿病肾病的目的。

本研究显示, HK-2 细胞经丙酮醛作用 24 h 后,细胞存活率降低,部分细胞发生凋亡;而经 NAC 处理后细胞存活率升高,凋亡细胞减少,说明 NAC 具有对抗丙酮醛诱导的 HK-2 细胞损伤的作用。

细胞凋亡主要有两种途径:外源性信号通路和内源性信号通路。内源性信号通路是由线粒体介导的。线粒体不仅是产生能量的关键场所,也是控制细胞存活的关键细胞器。线粒体膜电位的崩塌,细胞色素 C 的释放会启动 Caspase 级联反应,执行凋亡程序^[11]。在该过程中还有 Bcl-2 家族的参与。Bcl-2 蛋白是内源性凋亡途径的重要调节蛋白,当其表达量较高占主导地位时,可与 Bax 蛋白形成二聚体,抑制 Bax 的活性,预防细胞色素 C 从线粒体释放,从而抑制 Caspase 的活性^[12-13]。而当 Bax 过表达占主导地位时,可与自身形成 Bax/Bax 同源二聚体,诱导细胞发生凋亡。因此, Bax 与 Bcl-2 两者间的比例决定细胞是否发生凋亡。当细胞发生凋亡时, Bax 与 Bcl-2 两者的比值会增高^[14]。Caspase-3 作为凋亡的执行蛋白,其激活是凋亡级联反应中的关键环节,抑制 Caspase-3 的激活可以抑制细胞发生凋亡^[15-16]。本实验结果显示, NAC 可以抑制丙酮醛引起的 HK-2 细胞线粒体膜电位降低,并且降低 Bax/Bcl-2 的比值及 Cleaved Caspase-3 蛋白表达,说明 NAC 可能通过线粒体途径抑制细胞凋亡。

研究报道, NAC 可以分别通过抑制 p38 MAPK 信号通路以及 JNK 信号通路抑制丙酮醛诱导的人腹膜间皮细胞以及 H9C2 心肌细胞凋亡^[3, 17]。说明 NAC 抗凋亡的作用与 MAPK 信号通路密切相关。而糖尿病引起肾小管损伤也与 MAPK 家族相关。研究发现,糖尿病大鼠病程第 2 周起,肾小管上皮细胞 ERK 蛋白表达水平增高^[9]。本研究结果显示, HK-2 细胞经丙酮醛处理后, p-ERK1/2 蛋白表达增高,而加入 NAC 后, p-ERK1/2 蛋白表达降低,提示 NAC 对抗丙酮醛诱导的细胞损伤作用可能与抑制 ERK1/2 信号通路有关,但其确切机制还有待进一步探讨。

综上所述, NAC 对丙酮醛诱导的 HK-2 细胞损伤具有保护作用,其机制可能与其抗凋亡及抑制 ERK1/2

信号通路有关。

参 考 文 献:

- [1] KAARISALO M M, RÄIHÄ I, SIVENIUS J, et al. Diabetes worsens the outcome of acute ischemic stroke[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2005, 69(3): 293-298.
- [2] BEISSWENGER P J. Methylglyoxal in diabetes: link to treatment, glycaemic control and biomarkers of complications[J]. *Biochem Soc Trans*, 2014, 42(2): 450-456.
- [3] 董小变, 吴娟, 庄晓东, 等. N-乙酰半胱氨酸对抗丙酮醛引起的心肌细胞损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(3): 398-404.
- [4] HUANG W J, TUNG C W, HO C, et al. Ras activation modulates methylglyoxal-induced mesangial cell apoptosis through superoxide production[J]. *Ren Fail*, 2007, 29(7): 911-921.
- [5] LU J, RANDELL E, HAN Y, et al. Increased plasma methylglyoxal level, inflammation, and vascular endothelial dysfunction in diabetic nephropathy[J]. *Clin Biochem*, 2011, 44(4): 307-311.
- [6] 陈燕玲, 罗婷, 吴秀香, 等. 丙酮醛对人肾近端小管上皮细胞损伤的作用及机制[J]. *遵义医学院学报*, 2017, 40(3): 66-71.
- [7] DONG W, LI Z, CHEN Y, et al. NADPH oxidase inhibitor, diphenyleneiodonium prevents necroptosis in HK-2 cells[J]. *Biomed Rep*, 2017, 7(3): 226-230.
- [8] 刘爱东, 王簪, 田琳, 等. 外源性硫化氢对高糖诱导的肾小管上皮细胞凋亡的影响[J]. *遵义医学院学报*, 2017, 40(3): 264-267.
- [9] 张翠, 田陈, 郭焕, 等. 糖尿病大鼠肾小管 VEGF 表达的动态观察及其与 Ang II、PKC、ERK 关系的研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2008, 18(3): 313-317.
- [10] 迟雁青. Sonic Hedgehog 信号通路对高糖诱导的肾小管上皮细胞凋亡及白藜芦醇干预作用研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
- [11] CHEN Y L, ZHUANG X D, XU Z W, et al. Higenamine combined with [6]-gingerol suppresses doxorubicin-triggered oxidative stress and apoptosis in cardiomyocytes via upregulation of PI3K/Akt pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013(2013): 970490.
- [12] 孙耀, 贾云宏. 硫化氢减轻糖尿病小鼠胰岛素抵抗的作用机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(9): 13-18.
- [13] CONG H, DU N, YANG Y, et al. Enterovirus 71 2B induces cell apoptosis by directly inducing the conformational activation of the proapoptotic protein Bax[J]. *J Virol*, 2016, 90(21): 9862-9877.
- [14] 范家铭, 刘泽洪, 李静, 等. 人參多糖介导 Wnt/ β -catenin 信号转导诱导人鼻咽癌细胞 CNE-2 的凋亡[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(19): 3332-3337.
- [15] 肖英平, 桂国弘, 陈安国, 等. 谷氨酰胺对过氧化氢诱导氧化应激人结肠癌 HT-29 细胞损伤和凋亡的影响[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(8): 2734-2742.
- [16] 范红杰, 王宗立, 何志义. 大鼠脑缺血再灌注损伤后 Survivin 和 Caspase-3 表达与细胞凋亡的关系[J]. *中国现代医学杂志*, 2010, 20(20): 3065-3067.
- [17] HONG F Y, BAO J F, HAO J, et al. Methylglyoxal and advanced glycation end-products promote cytokines expression in peritoneal mesothelial cells via MAPK signaling[J]. *Am J Med Sci*, 2015, 349(2): 105-109.

(王荣兵 编辑)