

• 技术与方法 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.29.022

Peroxiredoxin-1 基因沉默对转化生长因子 β 1 促进肺成纤维细胞 I、III 型胶原合成的影响*

刘宝欣¹, 刘英宇¹, 魏中秋², 梁婷婷², 范玉磊², 杨方², 孙影^{2△}

(1. 华北理工大学附属唐山市工人医院呼吸内科, 河北唐山 063000;

2. 华北理工大学基础医学院病理学系, 河北唐山 063000)

[摘要] **目的** 探讨 Peroxiredoxin-1(Prx-1) 基因沉默对转化生长因子 β 1(TGF- β 1) 促进肺成纤维细胞合成 I 和 III 型胶原的影响及其作用机制。**方法** 体外培养肺成纤维细胞分为 4 组: 对照组(0.4% 血清), TGF- β 1 组(5 μ g/L), TGF- β 1+ 阴性转染组(5 μ g/L TGF- β 1+ 阴性对照 siRNA), TGF- β 1+ Prx-1 siRNA 转染组(5 μ g/L TGF- β 1+ Prx-1 siRNA)。利用脂质体 Lipo2000 将阴性对照 siRNA 和 Prx-1 siRNA 分别转染到 TGF- β 1+ 阴性转染组和 TGF- β 1+ Prx-1 siRNA 转染组的肺成纤维细胞中, 转染 48 h 后用于后续实验。实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测转染后各组的 Prx-1 mRNA 表达水平, 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测磷酸化 Akt(p-Akt)及 I 和 III 型胶原蛋白水平, 2,7-二氯荧光素二乙酸检测活性氧(ROS)水平。**结果** (1) Prx-1 siRNA 转染肺成纤维细胞后, TGF- β 1+ Prx-1 siRNA 转染组的 Prx-1 mRNA 表达明显降低。(2) 与对照组比较, TGF- β 1 组 I 和 III 型胶原、ROS 及 p-Akt 蛋白水平均明显增加(0.34 \pm 0.06 vs. 0.58 \pm 0.06, 0.42 \pm 0.05 vs. 0.56 \pm 0.06, 2 988 \pm 379 vs. 4 315 \pm 580 和 0.29 \pm 0.05 vs. 0.66 \pm 0.07, 差异有统计学意义(P <0.05)。与 TGF- β 1 组比较, TGF- β 1+ 阴性转染组 I 和 III 型胶原、ROS 及 p-Akt 水平无明显变化(P >0.05), 但 TGF- β 1+ Prx-1 siRNA 转染组 I 和 III 型胶原、ROS 及 p-Akt 蛋白水平均进一步增高(0.58 \pm 0.06 vs. 0.79 \pm 0.09, 0.56 \pm 0.06 vs. 0.77 \pm 0.08, 4 315 \pm 580 vs. 5 841 \pm 782 和 0.66 \pm 0.07 vs. 0.93 \pm 0.15, 差异有统计学意义(P <0.05)。**结论** TGF- β 1 能够诱导肺成纤维细胞生成 ROS, 并由此促进 Akt 的激活和肺成纤维细胞合成 I 和 III 型胶原; 而沉默 Prx-1 基因可激活 ROS/Akt 通路, 从而有助于 TGF- β 1 促进肺成纤维细胞合成胶原。

[关键词] 活性氧; 转化生长因子- β 1; 胶原; Peroxiredoxin-1

[中图分类号] R563.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)29-4099-04

Effect of silencing peroxiredoxin-1 on the expressions of collagen type I and III in TGF- β 1 induced pulmonary fibroblasts*

Liu Baoxin¹, Liu Yingyu¹, Wei Zhongqiu², Liang Tingting², Fan Yulei², Yang Fang², Sun Ying^{2△}

(1. Department of Respiratory Medicine, Tangshan Works Hospital Affiliated to North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China; 2. Department of Pathology, Primary Medicine

College, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of silencing peroxiredoxin-1(Prx-1) on the expressions of collagen type I and III in TGF- β 1-induced pulmonary fibroblasts and the possible mechanism. **Methods** Cultured pulmonary fibroblasts were randomly divided into four groups: control group(0.4% serum), TGF- β 1 group(5 μ g/L), TGF- β 1+ negative transfection group(TGF- β 1+ scramble siRNA) and TGF- β 1+ Prx-1 siRNA transfection group(TGF- β 1+ Prx-1 siRNA). The negative control siRNA and siRNA Prx-1 were transfected into the lung fibroblast cells transfected with TGF- β 1+ negative transfection group and TGF- β 1+ Prx-1 siRNA transfection group by liposome Lipo2000 respectively. After 48 h, the cells were used for subsequent experiments. Real-time PCR was used to evaluate Prx-1 mRNA. Western blot was employed to detect the expressions of collagen type I and III, phosphorylated Akt(p-Akt), and total Akt. Reactive oxygen species (ROS) were measured by DCFH-DA. **Results** (1) After transfection of siRNA Prx-1 into the lung fibroblasts, Prx-1 mRNA expression was significantly decreased in the TGF- β 1+ Prx-1 siRNA group. (2) Compared with control group, expressions of collagen type I and III, ROS and p-Akt in TGF- β 1 group were all increased 0.34 \pm 0.06 vs. 0.58 \pm 0.06, 0.42 \pm 0.05 vs. 0.56 \pm 0.06, 2 988 \pm 379 vs. 4 315 \pm 580, 0.29 \pm 0.05 vs. 0.66 \pm 0.07, (P <0.01). There were no differences in the levels of collagen, ROS and p-Akt between TGF- β 1 group and TGF- β 1+ negative transfection group(P >0.05). However, the levels of collagen type I and III, ROS and p-Akt in TGF- β 1+ Prx-1 siRNA transfection group were further higher than TGF- β 1 group 0.58 \pm 0.06 vs. 0.79 \pm 0.09, 0.56 \pm 0.06 vs. 0.77 \pm 0.08, 4 315 \pm 580 vs. 5 841 \pm 782 and 0.66 \pm 0.07 vs. 0.93 \pm 0.15, (P <0.05). **Conclusion** TGF- β 1 induces pulmonary fibroblasts to generate ROS, which contributes to Akt activation and collagen type I and III synthesis; these changes become more obvious with the treatment of Prx-1 siRNA.

[Key words] reactive oxygen species; transforming growth factor- β 1; collagen; Peroxiredoxin-1

矽肺是长期吸入二氧化硅粉尘而引起的一种职业病,其主要病理变化是肺组织弥漫性纤维化,I 和 III 型胶原的表达增多是其中重要原因之一^[1]。转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 在矽肺肺组织中表达增高,具有促纤维化作用。笔者前期研究显示,TGF- $\beta 1$ 可通过上调活性氧 (reactive oxygen specie, ROS) 激活 C-Jun 蛋白激酶 (JNK) 细胞内信号传导通路,从而促进肺成纤维细胞合成 I 和 III 型胶原^[2-3]。最近 Lu 等^[4] 报道博来霉素通过激活 ROS/Akt 通路促进肺组织纤维化。Peroxisome 家族是一类新发现的过氧化物酶,其中, Peroxisome 1 (Prx-1) 在哺乳动物中广泛表达,可快速有效地清除细胞内产生的 ROS,并抑制 ROS 介导的细胞内传导通路激活^[5]。但在矽肺纤维化过程中,目前并不清楚 ROS/Akt 通路是否介导了 TGF- $\beta 1$ 促肺成纤维细胞 I、III 型胶原合成增加的作用,及 Prx-1 是否通过抑制 ROS/Akt 通路激活来抑制 TGF- $\beta 1$ 的促纤维化作用。本项目利用 TGF- $\beta 1$ 刺激正常及转染 Prx-1 siRNA 的肺成纤维细胞,检测 I 和 III 型胶原、ROS 及 Akt 磷酸化的变化,探讨 Prx-1 对 ROS/Akt 通路介导的 TGF- $\beta 1$ 促纤维化作用的影响。

1 材料与与方法

1.1 材料 人胚胎肺成纤维细胞 MRC-5 购自中国科学院细胞库; TGF- $\beta 1$ 购自美国 Peprotech 公司; 总 Akt (T-Akt) 及磷酸化 Akt (p-Akt) 抗体购自美国 Cell Signaling 公司; Prx-1 抗体购自美国 Abcam 产品公司; I、III 型胶原抗体和 GAPDH 抗体购自武汉博士德生物有限公司; Prx-1 siRNA 及 Prx-1 基因上、下游引物由上海吉玛公司合成; M-MLV 逆转录试剂盒、SYBR+Tap 混合剂购自美国 Invitrogen 公司; 活性氧检测试剂盒购自江苏南通碧云天生物技术公司。凝胶图像分析仪购自美国 Bio-RAD 公司。

1.2 方法

1.2.1 肺成纤维细胞的培养 肺成纤维细胞在 5% 血清水平的改良杜氏伊格培养基 (DMEM), 5% CO₂, 37 °C 条件下常规体外培养。

1.2.2 实验分组 MRC-5 细胞分为 4 组: 对照组 (0.4% 血清), TGF- $\beta 1$ 组 (5 μ g/L), TGF- $\beta 1$ + 阴性转染组 (5 μ g/L TGF- $\beta 1$ + 阴性对照 siRNA), TGF- $\beta 1$ + Prx-1 siRNA 转染组 (5 μ g/L TGF- $\beta 1$ + Prx-1 siRNA), 每组样本数为 5。本研究共设计 3 个不同靶基因位点的特异性 Prx-1 siRNA, 分别是 Prx-1 siRNA-209、Prx-1 siRNA-289、Prx-1 siRNA-453, 选择抑制作用最明显的 Prx-1 siRNA 用于实验。利用脂质体 Lipo2000 将阴性对照 siRNA、Prx-1 siRNA 分别转染到 TGF- $\beta 1$ + 阴性转染组和 TGF- $\beta 1$ + Prx-1 siRNA 转染组, 转染 48 h 后各组细胞用 0.4% 血清培养 12 h, 使其同步化。

1.2.3 实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 检测 Prx-1 siRNA 转染后 Prx-1 mRNA 水平 Trizol 法提取对照组、TGF- $\beta 1$ + 阴性转染组和 TGF- $\beta 1$ + Prx-1 siRNA 转染组的细胞总 RNA。逆转录后取行 RT-PCR, 扩增体系如下: SYBR+Taq 混合剂 10 μ L, Prx-1 或甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 上、下游引物各 0.5 μ L (Prx-1 的上游引物为 5'-CCC CAC GGA GAT CAT TGC TT-3', Prx-1 的下游引物为 5'-CGA GAT GCC TTC ATC AGC CT-3'; GAPDH 的上游引物为 5'-ATG AAT GGG

CAG CCG TTA GG-3', GAPDH 的下游引物为 5'-TGG ATT TGC CAT GGG TGG A-3', cDNA 1 μ L, 双蒸水 8 μ L; 循环参数为: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 循环 40 次。

1.2.4 2,7-二氯荧光素二乙酸检测细胞内 ROS 水平 2,7-二氯荧光素二乙酸 (无荧光) 进入细胞后被酯酶分解, 生成还原型二氯荧光素 (无荧光), 还原型二氯荧光素不但无法穿过细胞膜, 还可被细胞内的 ROS 氧化生成氧化型二氯荧光素, 二氯荧光素可发出荧光, 因此荧光量可间接反映细胞内 ROS 水平。本研究中, 细胞同步化后, 与 TGF- $\beta 1$ 共孵育 20 min, 收集制备单细胞悬液。加入 2,7-二氯荧光素二乙酸 (终浓度为 10 μ mol/L), 37 °C 孵育 20 min, 洗涤后计数 1×10^4 个细胞, 荧光酶标仪 (激发波长 488 nm, 发射波长 525 nm) 检测各组的荧光强度。

1.2.5 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 I、III 型胶原和 Akt 水平 各组细胞同步化后, 与 TGF- $\beta 1$ 共孵育 45 min (用于检测 p-Akt) 和 48 h (用于检测 I 和 III 型胶原蛋白), 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤后细胞裂解液裂解细胞 30 min, 收集细胞, 离心后收集上清液, -70 °C 保存。利用考马斯亮蓝法测定细胞总蛋白浓度, 并以每孔 20 μ g 总蛋白量进行电泳。转膜后, 经 5% 牛血清清蛋白室温孵育 1 h, T-Akt、p-Akt、I 型胶原、III 型胶原和 GAPDH 抗体 (均 1:1 000 稀释) 4 °C 孵育过夜, II 抗 (均 1:3 000 稀释) 室温孵育 2 h, BCIP/NBT (1:50 稀释) 显色 3 min。Image J 软件扫描蛋白表达条带并进行定量分析。p-Akt 与 T-Akt 的比值为 p-Akt 的表达值, I 或 III 型胶原与 GAPDH 的比值为 I 或 III 型胶原的表达值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 15.0 统计软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 单因素方差分析用于多组间比较, 组间两两比较采用 LSD 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Prx-1 siRNA 转染对肺成纤维细胞 Prx-1 mRNA 表达的影响 RT-PCR 结果显示, 对照组和 TGF- $\beta 1$ + 阴性转染组的 Prx-1 mRNA 的表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与对照组和 TGF- $\beta 1$ + 阴性转染组相比, 转染的 3 个特异性 Prx-1 siRNA 均可不同程度地降低肺成纤维细胞 Prx-1 mRNA 水平, 其中, 以 Prx-1 siRNA-453 抑制作用最明显, 遂将 Prx-1 siRNA-453 用于后续实验, 见表 1。

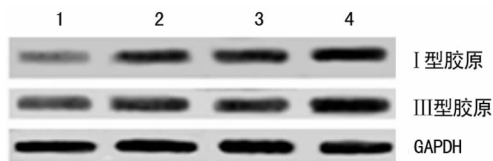
表 1 Prx-1 siRNA 转染对 MRC-5 细胞 Prx-1 mRNA 表达的影响 ($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	Prx-1 mRNA/GAPDH
对照组	1
TGF- $\beta 1$ + 阴性转染组	0.968 \pm 0.142
TGF- $\beta 1$ + Prx-1 siRNA-209	0.170 \pm 0.034 *
TGF- $\beta 1$ + Prx-1 siRNA-289	0.226 \pm 0.058 *
TGF- $\beta 1$ + Prx-1 siRNA-453	0.082 \pm 0.043 * #

*: $P < 0.01$, 与对照组和 TGF- $\beta 1$ + 阴性转染组比较; #: $P < 0.05$, 与 TGF- $\beta 1$ + Prx-1 siRNA-209 和 TGF- $\beta 1$ + Prx-1 siRNA-289 比较。

2.2 I、III 型胶原蛋白表达 Western blot 结果显示, 对照组

I 和 III 型胶原的表达值分别为 0.34 ± 0.06 和 0.42 ± 0.05 , TGF- β 1 组 I 和 III 型胶原的表达值分别为 0.59 ± 0.07 和 0.57 ± 0.07 , TGF- β 1 组 I 和 III 型胶原的表达明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。TGF- β 1 + 阴性转染组 I 和 III 型胶原的表达值分别为 0.52 ± 0.07 和 0.58 ± 0.09 , 与 TGF- β 1 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。但 TGF- β 1 + Prx-1 siRNA 转染组 I 和 III 型胶原的表达值分别为 0.79 ± 0.09 和 0.77 ± 0.08 , 明显高于 TGF- β 1 组的表达, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1。

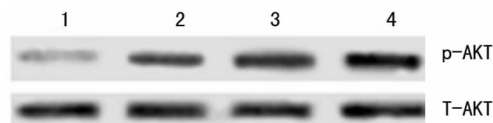


1: 对照组; 2: TGF- β 1 组; 3: TGF- β 1 + 阴性转染组; 4: TGF- β 1 + Prx-1 siRNA 转染组。

图 1 Prx-1 siRNA 转染对 TGF- β 1 诱导的 I 和 III 型胶原表达的影响

2.3 ROS 水平 对照组、TGF- β 1 组、TGF- β 1 + 阴性转染组和 TGF- β 1 + Prx-1 siRNA 转染组的荧光强度分别为 $2\ 988 \pm 379$ 、 $4\ 315 \pm 580$ 、 $4\ 850 \pm 572$ 、 $5\ 841 \pm 782$ 。TGF- β 1 组的荧光强度显著高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。TGF- β 1 + 阴性转染组和 TGF- β 1 组的荧光强度差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但 TGF- β 1 + Prx-1 siRNA 转染组的荧光强度明显高于 TGF- β 1 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.4 T-Akt 及 p-Akt 的表达 各组 T-Akt 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。对照组、TGF- β 1 组、TGF- β 1 + 阴性转染组和 TGF- β 1 + Prx-1 siRNA 转染组的 p-Akt 表达值分别为 0.29 ± 0.05 、 0.65 ± 0.07 、 0.70 ± 0.10 和 0.93 ± 0.15 。TGF- β 1 组 p-Akt 表达明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。TGF- β 1 + 阴性转染组和 TGF- β 1 组 p-Akt 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但 TGF- β 1 + Prx-1 siRNA 转染组 p-Akt 表达明显高于 TGF- β 1 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 2)。



1: 对照组; 2: TGF- β 1 组; 3: TGF- β 1 + 阴性转染组; 4: TGF- β 1 + Prx-1 siRNA 转染组。

图 2 Prx-1 siRNA 转染对 TGF- β 1 诱导的 p-Akt 表达的影响

3 讨论

ROS 是在人体有氧代谢过程中产生的一类含有活性氧功能基团的化合物, 包括氧自由基、过氧化物和激发态氧等。正常时 ROS 的生成与清除保持动态平衡, 浓度很低, 参与机体免疫过程、抵抗损伤等, 对机体有保护作用。但病理状态下 ROS 生成增多或清除减少, 浓度增高, 通过攻击细胞脂质、蛋白质和 DNA 引起细胞损伤^[6]。另外, ROS 还参与细胞内信号传导通路, 作为 TGF- β 1 等多种细胞因子的第二信使, 调节 ERK1/2、JNK 等信号传导途径, 介导细胞增殖和胶原合成等^[2,7]。Akt 又称蛋白激酶 B, 其激酶活性区的氨基酸组成与蛋白激酶 A 和

蛋白激酶 C 具有高度的同源性。Akt 属于一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 当其第 308 位苏氨酸和第 473 位丝氨酸发生磷酸化时, 该激酶即被激活, 并从细胞膜转移到细胞内, 通过调控下游靶蛋白, 进而调节细胞生物学活动。最近研究显示, ROS 激活的 Akt 途径在胶原的合成过程中发挥重要作用。如 Liu 等^[8]报道在卵清蛋白诱导的哮喘和气道重塑过程中, 高良姜素通过抑制 ROS/Akt 途径抑制胶原蛋白的合成, 说明 ROS/Akt 通路介导了卵清蛋白诱导的胶原合成增加。Pérez de Obanos 等^[9]也报道谷胱甘肽通过降低 ROS 水平抑制了亮氨酸激活的 Akt 途径, 从而减少肝星形细胞合成 I 型胶原。

利用 Western blot, 本研究发现 TGF- β 1 刺激肺成纤维细胞 48 h 后, I 和 III 型胶原表达水平较对照组分别增高了 1.71 和 1.33 倍, 说明 TGF- β 1 可诱导肺成纤维细胞合成 I 和 III 型胶原; 同时 TGF- β 1 组的 ROS 及 p-Akt 水平也明显增高, 提示 ROS/Akt 信号通路的激活在 TGF- β 1 诱导的肺成纤维细胞合成 I 和 III 型胶原过程中发挥着重要作用。

Prx-1 是一种新型过氧化物酶, 具有强大的抗氧化能力, 其含有的过氧化半胱氨酸和可溶性半胱氨酸是消除 H_2O_2 的主要功能基团。首先过氧化半胱氨酸与 H_2O_2 作用, 失去质子, 转变为半胱氨酸次磺酸。然后半胱氨酸次磺酸再通过二硫键与可溶性半胱氨酸缩合, 并在细胞内的二硫键还原酶作用下还原为氧化半胱氨酸, 回到初始状态。这个循环过程可有效降低 H_2O_2 水平^[10]。现已发现在多种疾病中 Prx-1 均可通过降低 ROS 来调节细胞的生物学活性, 如 Prx-1 通过降低 ROS 抑制内皮细胞线粒体的损伤及线粒体介导的细胞凋亡^[11]。Madrigal-Matute 等^[12]最新研究发现 Prx-1 与 NADPH 氧化酶在人动脉粥样硬化斑块巨噬细胞中表达位置相同, 表达水平也呈正相关, 认为不但 Prx-1 可在 ROS 产生的第一时间原位将其清除, 而且对 ROS 敏感度高, 是氧化应激的“感受器”。另外, 更重要的是 Prx-1 还可抑制 ROS 介导的细胞内信号传导通路激活, 如在 β -拉帕醌 (一种抗癌药) 诱导的人宫颈癌细胞凋亡过程中, 凋亡信号调节激酶 (ASK1) 可通过激活 JNK 途径促进细胞凋亡, 而 Prx-1 可通过促进 TRX 与 ASK1 的结合而抑制 ASK1 的活性和细胞凋亡^[13]。

利用体内外实验, 笔者前期研究发现 Prx-1 在矽肺大鼠肺组织中表达增高, Prx-1 可以通过抑制 ROS 来抑制 JNK 和 ERK1/2 通路激活, 抑制 TGF- β 1 诱导的肺成纤维细胞增殖及胶原合成增加, 从而抑制矽肺纤维化^[3,7,14]。本实验利用 Prx-1 siRNA 转染肺成纤维细胞使肺成纤维细胞 Prx-1 基因沉默, 发现沉默 Prx-1 基因后可明显上调 TGF- β 1 刺激的 ROS 水平, 同时 p-Akt 和 I、III 型胶原合成增强, 说明沉默 Prx-1 基因可激活 ROS/Akt 信号传导通路, 从而有助于 TGF- β 1 促进肺成纤维细胞合成胶原。也进一步证实 TGF- β 1 诱导的肺成纤维细胞合成 I 和 III 型胶原过程中, ROS/Akt 信号传导通路的激活具有重要的促进作用。

参考文献

[1] Xu H, Yang F, Sun Y, et al. A new antifibrotic target of Ac-SDKP; inhibition of myofibroblast differentiation in rat lung with silicosis[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e40301.
[2] 赵立双, 魏中秋, 杨方, 等. 活性氧参与 TGF- β 1 的促肺成

纤维细胞增殖和胶原合成作用[J]. 中华劳动卫生与职业病杂志, 2015, 33(1): 15-19.

- [3] 孙影, 魏中秋, 胡亚萍, 等. 新型过氧化物酶 Peroxiredoxin-1 对大鼠肺成纤维细胞 JNK 介导的 I 和 III 型胶原合成的影响[J]. 解剖学杂志, 2014, 37(5): 590-593.
- [4] Lu Y, Azad N, Wang L, et al. Phosphatidylinositol-3-kinase/Akt regulates bleomycin-induced fibroblast proliferation and collagen production[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 42(4): 432-441.
- [5] Bae JY, Ahn SJ, Han W, et al. Peroxiredoxin I and II inhibit H₂O₂-induced cell death in MCF-7 cell lines[J]. *J Cell Biochem*, 2007, 101(4): 1038-1045.
- [6] 李丹, 李蓓, 石亚楠, 等. 心力衰竭与活性氧关系研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(1): 8-10.
- [7] 孙影, 刘宝欣, 魏中秋, 等. ERK1/2 通路在 Peroxiredoxin-1 抑制 TGF- β 1 诱导的肺成纤维细胞增殖中的作用[J]. 广东医学, 2015, 36(14): 2139-2141.
- [8] Liu YN, Zha WJ, Ma Y, et al. Galangin attenuates airway remodelling by inhibiting TGF- β 1-mediated ROS Generation and MAPK/Akt phosphorylation in asthma[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(6): 11758.
- [9] Pérez De Obanos MP, López-Zabalza MJ, Arriazu E, et al. Reactive oxygen species (ROS) mediate the effects of leucine on translation regulation and type I collagen production in hepatic stellate cells[J]. *Biochim Biophys Acta*,

2007, 1773(11): 1681-1688.

- [10] Rhee SG, Woo HA, Kil IS, et al. Peroxiredoxin functions as a peroxidase and a regulator and sensor of local peroxides[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(7): 4403-4410.
- [11] Fiuza B, Subelzú N, Calcerrada P, et al. Impact of SIN-1-derived peroxynitrite flux on endothelial cell redox homeostasis and bioenergetics; protective role of diphenyl diselenide via induction of peroxiredoxins[J]. *Free Radic Res*, 2015, 49(2): 122-132.
- [12] Madrigal-Matute J, Fernandez-Garcia CE, Blanco-Colio LM, et al. Thioredoxin-1/peroxiredoxin-1 as sensors of oxidative stress mediated by NADPH oxidase activity in atherosclerosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 86(17): 352-361.
- [13] He T, Banach-Latapy A, Vernis L, et al. Peroxiredoxin 1 knockdown potentiates β -lapachone cytotoxicity through modulation of reactive oxygen species and mitogen-activated protein kinase signals[J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(4): 760-769.
- [14] 刘佳麒, 郑素琴, 桑银洲, 等. 染矽尘大鼠肺组织过氧化物还原酶 I 蛋白表达的情况[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2013, 31(7): 531-533.

(收稿日期: 2016-03-02 修回日期: 2016-04-19)

(上接第 4098 页)

- [6] 裴卓斐. 掌指骨骨折应用微型钢板与克氏针内固定治疗的比较研究[J]. 中国现代药物应用, 2015, 9(18): 28-29.
- [7] 石昆, 李景毅. 有限切开微型钢板与克氏针内固定治疗掌指骨骨折的对比研究[J]. 生物医学工程与临床, 2015, 3(2): 19-22.
- [8] 覃海森, 黄永军, 张惠茹, 等. 三种不同固定方法在掌指骨开放性骨折急诊治疗中的效果分析[J]. 中国医疗前沿, 2013, 8(12): 9-10.
- [9] 夏晓明. 克氏针与微型钢板置入内固定修复掌指骨骨折: 手部功能及不良反应随访[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(17): 2741-2744.
- [10] 张振, 姚烈辉. AO 微型钢板螺钉与克氏针治疗掌指骨骨折的比较研究[J]. 大家健康(中旬版), 2014, 8(21): 131.
- [11] 张之斌, 李允, 孙渺, 等. 微型钢板与克氏针在掌指骨开放性骨折急诊治疗中的疗效比较[J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2014, 17(10): 1549-1552.
- [12] 赵波, 高青凤, 邓长康. 微型钢板内固定治疗掌指骨骨折的临床研究[J]. 中国当代医药, 2015, 22(25): 76-78.
- [13] 赵根隆, 刘文豪, 曾开, 等. 微型钢板与克氏针内固定治疗掌指骨骨折的疗效对比分析[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2013, 28(1): 90-91.

- [14] Facca S, Ramdhian R, Pelissier A, et al. Fifth metacarpal neck fracture fixation; Locking plate versus K-wire? [J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2010, 96(5): 506-512.
- [15] Komurcu M, Alemdaroglu B, Kurklu M, et al. Handgun injuries with metacarpal and proximal phalangeal fractures; early definitive treatment[J]. *Int Orthop*, 2008, 32(2): 257-262.
- [16] Takigami H, Sakano H, Saito T. Internal fixation with the low profile plate system compared with Kirschner wire fixation: clinical results of treatment for metacarpal and phalangeal fractures[J]. *Hand Sur*, 2010, 15(1): 1-6.
- [17] Atthakomol P, Wangjiraphan N, Krudtong S, et al. Pull-out strength of 0 degrees / 30 degrees Kirschner wire syringe external fixators with and without polymer augmentation: a biomechanical study [J]. *J Med Assoc Thai*, 2015, 98(1): 82-87.
- [18] Kumar S, Singh SK, Jayant K, et al. Forgotten Kirschner wire causing severe hematuria[J]. *Case Rep Urol*, 2014(2014): 305868.

(收稿日期: 2016-03-01 修回日期: 2016-04-18)