

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.09.001

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20190301.1205.012.html(2019-03-04)

PPAR- α 受体激动剂对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用*

杨旭堃, 申 芹

(四川大学华西第四医院重症监护室, 成都 610041)

[摘要] **目的** 探讨过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α)激动剂非诺贝特(FEN)对肝脏缺血再灌注损伤(HI/R)的保护作用。**方法** 将 40 只 SD 大鼠随机分成对照组、模型组、PPAR- α 激动剂 FEN 组(FEN 组)和 PPAR- α 抑制剂 GW6471 组(GW 组),每组 10 只。全自动生化分析仪检测各组大鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和碱性磷酸酶(ALP)水平;通过苏木精-尹红(HE)染色观察各组大鼠肝脏组织病理形态;TUNEL 法检测肝脏细胞凋亡;利用 Western blot 检测各组肝脏沉默信息调节因子 1(SIRT1)、叉头转录因子 1(FOXO1)、乙酰化 FOXO1(AceFOXO1)、裂解型天冬氨酸蛋白水解酶(C-caspase3)和细胞质中细胞色素 C(CytC)表达水平。**结果** 与模型组相比,PPAR- α 激动剂 FEN 预处理可明显减轻肝脏病理损伤,减少肝脏 AceFOXO1、C-caspase3、TUNEL 和细胞质 CytC 的表达水平及增加肝脏 SIRT1 表达水平。而 FEN 组血清中 AST[(90.15 \pm 11.21)U/L],ALT[(135.18 \pm 20.46)U/L]和 ALP[(211.12 \pm 22.75)U/L]水平较模型组血清中 AST[(189.37 \pm 21.55)U/L],ALT[(378.15 \pm 36.78)U/L]和 ALP[(495.93 \pm 31.14)U/L]水平明显降低。而予以 PPAR- α 抑制剂 GW6471 预处理可明显增加肝脏病理损伤,上调肝脏 AceFOXO1、C-caspase3、TUNEL 和细胞质 CytC 的表达水平及减少肝脏 SIRT1 表达水平。GW 组血清中 AST[(177.21 \pm 18.54)U/L],ALT[(199.46 \pm 28.54)U/L]和 ALP[(286.12 \pm 24.51)U/L]水平较 FEN 组血清中 AST,ALT 和 ALP 水平明显增高($P < 0.05$)。**结论** PPAR- α 受体激动剂 FEN 对大鼠 HI/R 具有保护作用,该作用可能与 FEN 能促进 SIRT1 去乙酰化修饰 FOXO1,减少 FOXO1 介导线粒体凋亡,改善肝功能有关。

[关键词] 再灌注损伤;非诺贝特;肝脏缺血再灌注;沉默信息调节因子 1;叉头转录因子**[中图分类号]** R541.4**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)09-1441-04Protection of PPAR- α agonists on the liver ischemia-reperfusion injury of rats*

YANG Xukun, SHEN Qin

(ICU, the Fourth Hospital of Huaxi, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect of PPAR- α agonist Fenofibrate (FEN) on liver ischemia-reperfusion injury. **Methods** 40 SD rats were randomly divided into the control group, the model group (HI/R), the PPAR- α agonist FEN group (the FEN group) and the PPAR- α inhibitor GW6471 group (the GW group). The content of alanine aminotransferase (ALT), glutamic oxalate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) in serum of each group were detected by automatic biochemical analyzer. The pathological changes of liver tissues were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining, the apoptosis of liver cells was detected using TUNEL assay, and Western blot was used to detect the regulation factor of liver silencing information 1 (SIRT1), forkhead transcription factor 1 (FOXO1), acetylation of FOXO1 (Acetyl FOXO1), Cleaved-caspase3 (C-caspase3) and cytoplasm of cytochrome C (CytC) expression level. **Results** Compared with the model group, fenofibrate pretreatment could significantly attenuate the liver pathological damage and down-regulate the expression of C-caspase3, TUNEL and cytoplasmic cytochrome C in liver with increasing the expression of SIRT1 in liver. In addition, the levels of AST [(90.15 \pm 11.21)U/L], ALT [(135.18 \pm 20.46)U/L] and ALP [(211.12 \pm 22.75)U/L] in the FEN group were significantly lower than those in the model group AST [(189.37 \pm 21.55)U/L], ALT [(378.15 \pm 36.78)U/L] and ALP [(495.93 \pm 31.14)U/L]. PPAR- α inhibitor GW6471 precondition could exacerbate the pathological damage of liver and up-regulate the expression of Acetyl FOXO1, C-caspase3, TUNEL and cytochrome C in liver with reducing the expression of liver SIRT1. Moreover, the levels of AST [(177.21 \pm 18.54)U/L], ALT [(199.46 \pm 28.54)U/L] and ALP [(286.12 \pm 24.51)U/L] in the GW group were significantly higher than those in the FEN group. **Conclusion** FEN, the PPAR- α receptor agonist, has a protective effect on liver ischemia-reperfusion injury in rats.

This effect may be associated with promoting SIRT1 deacetylation of FOXO1, reducing FOXO1-mediated mitochondrial apoptosis and improving liver function.

[Key words] reperfusion injury; fenofibrate; hepatic ischemia-reperfusion injury; silence information regulator 1; forkhead transcription factor

肝脏部分切除在临床上被广泛用于治疗肝脏外伤、肝脏肿瘤、肝脏内胆管结石等疾病。此外,肝移植还是目前治疗终末期肝脏疾病惟一的有效治疗方式。肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion injury, HI/R)严重制约了肝移植及肝脏切除术的广泛开展^[1]。其发病机制复杂,目前尚未完全阐明。既往研究显示,再灌注过程中引起的线粒体凋亡途径广泛激活是导致缺血再灌注损伤的重要因素^[1]。过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor α , PPAR- α)是由配体激活的在肝脏广泛表达的核转录因子,可调控脂肪肝等多种肝脏疾病的发病过程,但对缺血再灌注损伤的作用尚不清楚^[2]。为此,本实验在成功构建大鼠 HI/R 模型的基础上,观察 PPAR- α 激动剂非诺贝特(fenofibrate, FEN)对 HI/R 的影响,并初步探讨其在 HI/R 中的可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 40 只健康雄性 SPF 级 SD 大鼠,体质量(220±30)g,购于四川大学华西医院实验动物中心。

1.1.2 主要试剂 PPAR- α 激动剂 FEN 购自北京京丰制药有限公司,PPAR- α 抑制剂 GW6471 购自天津彬馨博澳有限公司;水合氯醛购自武汉谷歌科技有限公司;沉默信息调节因子 1(silence information regulator 1, SIRT1)、叉头转录因子 1(forkhead transcription factor 1, FOXO1)、乙酰化 FOXO1(Ace-FOXO1)、裂解型天冬氨酸蛋白水解酶(cleaved-caspase3, C-caspase3)和细胞质中细胞色素 C(cytochrome C, CytC)、Bax 均购自美国 CST 公司; β -actin 购自美国 Abgent 公司;TUNEL 试剂盒购买于北京中生有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及建模 根据 OHMORI 等^[3]方法构建大鼠 HI/R 模型。按 4 mg/kg 的 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,取上腹部正中切口进入腹腔,充分暴露肝门部,利用无创血管夹钳夹闭门静脉和肝动脉分枝,诱发 70% 的热缺血,60 min 后松开血管钳恢复肝脏血流即行再灌注,120 min 肝脏再灌注完成后从门静脉取血 2~3 mL,并迅速切取缺血的肝组织,置于-80℃低温冰箱保存,具体手术方式参照文献^[4]。将 40 只 SD 大鼠均分为对照组、模型组、PPAR- α 激动剂 FEN 组(FEN 组)和 PPAR- α 抑制剂 GW6471 组(GW 组),每组 10 只。FEN 组术前 1 h

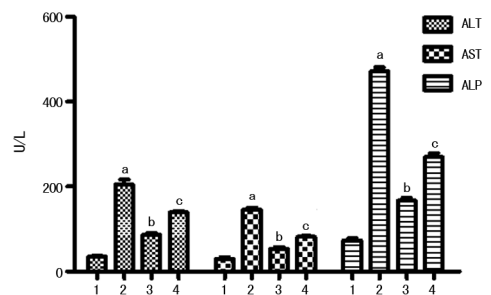
给予 FEN 腹腔注射(50 mg/kg),GW 组术前 1 h 给予 FEN(50 mg/kg)+GW6471(3.5 mg/kg)腹腔注射,剂量参考文献^[5]。对照组和模型组则给予等量生理盐水腹腔注射。模型组、FEN 组和 GW 组行 HI/R 损伤,对照组操作同上,但不夹闭门静脉和肝动脉分枝。

1.2.2 标本检测 在再灌注后 2 h 从门静脉抽取静脉血,利用全自动生化分析仪检测血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和碱性磷酸酶(ALP)水平。收取各组肝脏标本,采用 TUNEL 法检测肝脏细胞凋亡,利用苏木精-伊红(HE)染色观察各组肝脏组织病理形态。利用 Western blot 检测 SIRT1、FOXO1、Ace-FOXO1、C-caspase3 和细胞质中 CytC 表达水平,具体方法参考文献^[6]。

1.3 统计学处理 采用 SPSS12.0 统计软件进行分析,计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数间比较用 *t* 检验,多样本均数间比较用单因素方差分析(ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血清中 ALT、AST 和 ALP 水平比较 与对照组比较,模型组大鼠血清中 ALT、AST 和 ALP 水平明显升高($P < 0.01$);经 FEN 预处理,FEN 组 HI/R 大鼠血清中 ALT、AST 和 ALP 水平较模型组明显降低($P < 0.05$);而 GW 组与 FEN 组比较,HI/R 大鼠血清中 ALT、AST 和 ALP 水平明显增高($P < 0.05$),见图 1。

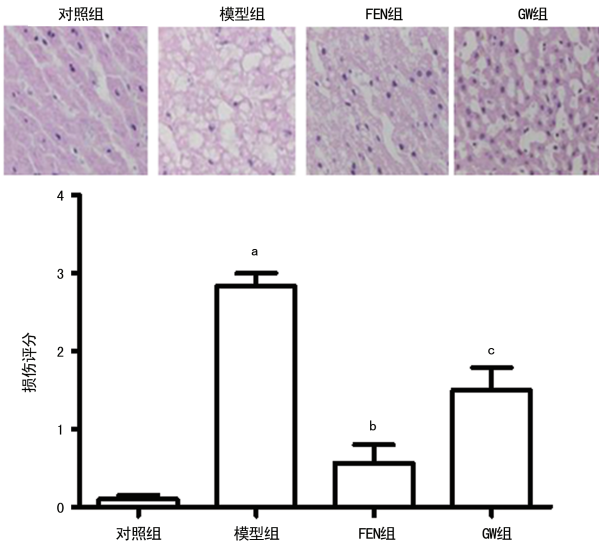


1: 对照组; 2: 模型组; 3: FEN 组; 4: GW 组; ^a: $P < 0.01$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 FEN 组比较

图 1 各组大鼠血清中 ALT、AST 和 ALP 水平比较

2.2 各组大鼠肝脏病理形态结构比较 对照组肝小叶结构完整清晰,模型组肝细胞大范围出血坏死,汇管区大量炎症细胞浸润中央静脉,与对照组比较,病理损伤明显增加($P < 0.05$);FEN 组肝细胞水肿变性,未见坏死,散在空泡样变,汇管区可见少量炎症细胞浸润,与模型组比较,FEN 组病理损伤明显减轻($P < 0.05$);GW 组可见肝细胞广泛肿胀、空泡样变、

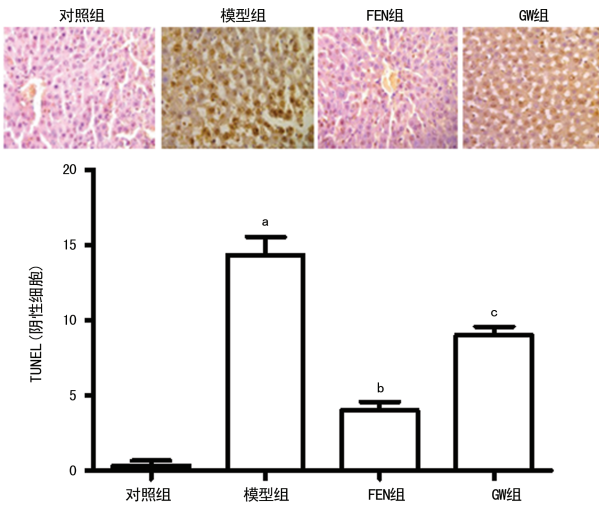
坏死,汇管区可见较多炎症细胞浸润,与 FEN 组比较,病理损伤明显增加($P < 0.05$),见图 2。



^a: $P < 0.01$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 FEN 组比较

图 2 各组大鼠肝脏组织病理改变(HE, $\times 200$)

2.3 各组大鼠肝脏 TUNEL 表达比较 与对照组比较,模型组 TUNEL 阳性表达率明显增高($P < 0.05$); FEN 组与模型组相比,TUNEL 阳性表达率明显降低($P < 0.05$);GW 组与 FEN 组比较,TUNEL 阳性表达率明显增高($P < 0.05$),见图 3。



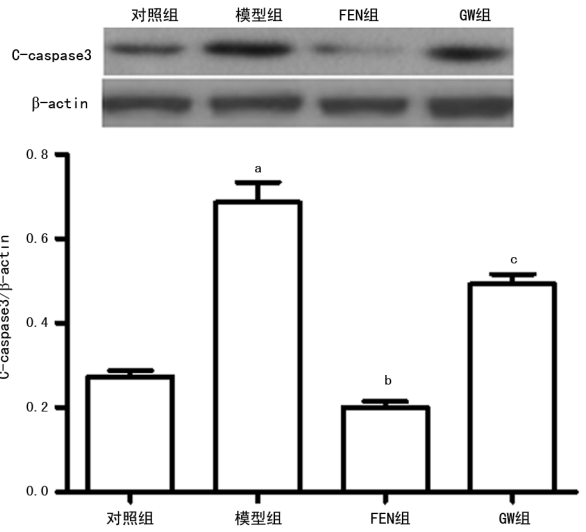
^a: $P < 0.01$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 FEN 组比较

图 3 各组大鼠肝脏细胞凋亡情况(TUNEL, $\times 100$)

2.4 各组大鼠肝脏 C-caspase3 表达水平比较 Western blot 检测结果显示,与对照组比较,模型组 C-caspase3 表达水平明显增高($P < 0.05$); FEN 组与模型组比较,C-caspase3 表达水平明显降低($P < 0.05$);与 FEN 组比较,GW 组 C-caspase3 表达水平明显增高($P < 0.05$),见图 4。

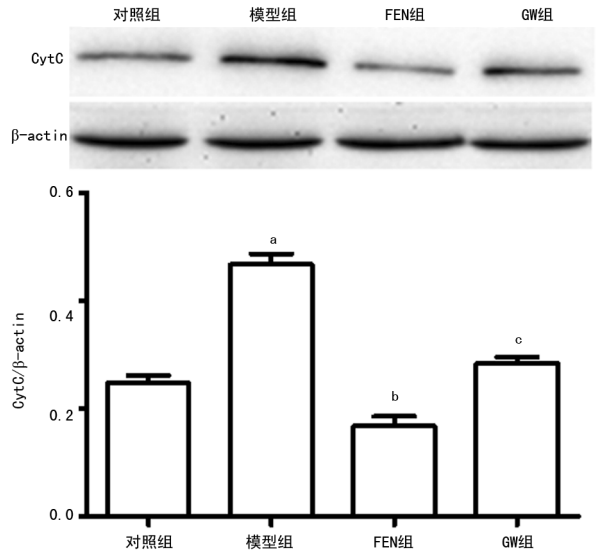
2.5 各组大鼠肝脏细胞质中 CytC 表达水平比较 Western blot 检测结果显示:与对照组比较,模型组细胞质 CytC 表达水平明显增高($P < 0.05$); FEN 组与

模型组比较,细胞质 CytC 表达明显降低($P < 0.05$),与 FEN 组比较,GW 组细胞质中 CytC 表达水平明显增高($P < 0.05$),见图 5。



^a: $P < 0.01$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 FEN 组比较

图 4 各组大鼠肝脏 C-caspase3 蛋白表达水平比较

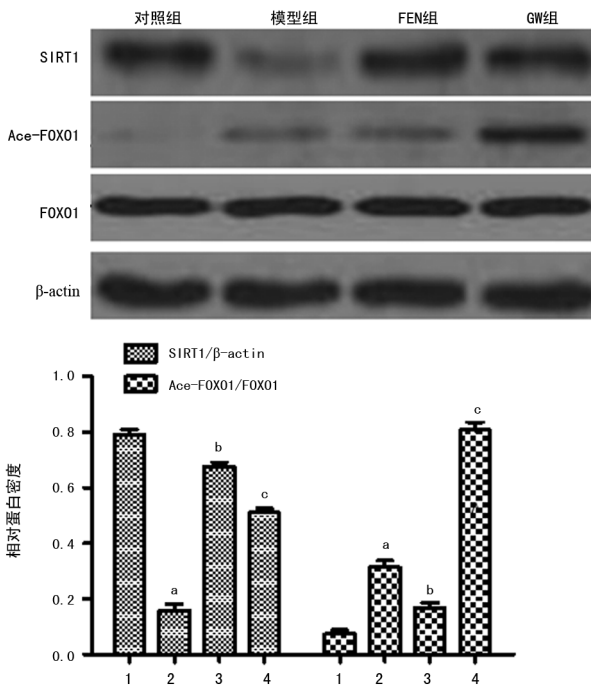


^a: $P < 0.01$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 FEN 组比较

图 5 各组大鼠肝脏细胞质中 CytC 蛋白表达水平比较

2.6 FEN 对 HI/R 大鼠肝脏 SIRT1/FOXO1 信号通路的影响 Western blot 检测结果显示,与对照组比较,模型组 SIRT1 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$),而 Ace-FOXO1 蛋白表达水平明显增高($P < 0.05$),FOXO1 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组比较,FEN 组 SIRT1 蛋白表达水平明显增高($P < 0.05$),而 Ace-FOXO1 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$),FOXO1 表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 FEN 组比较,GW 组 SIRT1 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$),而 Ace-FOXO1 蛋白表达水平明显增高($P < 0.05$),FOXO1 表达差异无统计学意义

($P>0.05$)。见图 6。



1: 对照组; 2: 模型组; 3: FEN 组; 4: GW 组; ^a: $P<0.01$, 与对照组比较; ^b: $P<0.05$, 与模型组比较; ^c: $P<0.05$, 与 FEN 组比较

图 6 各组大鼠 SIRT1 及 Ace-FOXO1 等蛋白表达水平比较

3 讨论

缺血性肝损伤是临床上常见的肝脏疾病之一,其诱发的肝脏功能受损乃至肝脏功能衰竭发生率较高^[1-2]。肝脏缺血发生后,及时恢复缺血区肝脏血流是减少肝脏受损最有效的治疗方案,但缺血肝组织恢复肝脏血流灌注后,伴随大量活性氧产生,继而导致肝脏细胞凋亡和坏死加重,这种临床现象称之为 HI/R^[1-2]。目前对 HI/R 的防治手段极其有限,因此,寻找有效治疗药物具有紧迫而重大的临床现实意义。

FEN 是 PPAR- α 激动剂之一,在临床上广泛用于降血脂^[3]。研究显示,PPAR- α 激动剂 FEN 除具有降脂的活性外,还具有抗氧化、抗癌、抗炎及抗凋亡等多种生物学活性^[3]。最近研究发现,PPAR- α 激动剂对心、肠、肾等器官缺血损伤具有保护作用,但对 HI/R 的作用及机制尚不清楚^[7]。此外,PPAR- α 特异性阻断剂,如 GW6471 可反转 PPAR- α 激动剂对器官缺血损伤的保护作用^[8]。因此本研究拟探讨 PPAR- α 激动剂非诺贝特对 HI/R 的保护作用及其相关作用机制。

在 OHMORI 等^[3] 构建的经典 HI/R 模型中,HI/R 可导致大鼠肝功严重受损和肝脏病理改变。本研究结果显示 HI/R 可导致血清中急性肝损伤指标如 ALT、AST 和 ALP 表达水平增高及肝脏病理形态改变,与 OHMORI 等^[3] 的研究结果一致,提示本研究构建大鼠 HI/R 模型成功。而 PPAR- α 激动剂 FEN 预处理可明显减少 ALT、AST 和 ALP 表达水平,而肝脏病理损伤及 PPAR- α 特异性阻断剂 GW6471 可

反转 FEN 的上述作用,提示 PPAR- α 激动剂对 HI/R 保护作用,其作用机制与激活 PPAR- α 相关。

细胞凋亡是受基因严密控制的程序化细胞死亡,是细胞死亡的一种重要形式,是可反映机体器官受损的一个重要指标^[9]。既往研究显示,线粒体介导的肝脏细胞凋亡是 HI/R 的重要致病机制^[1]。caspase9 是线粒体凋亡途径中的启动子及重要关联蛋白^[10]。当线粒体凋亡途径被缺血再灌注损伤激活时,位于线粒体中的 CytC 迁徙到细胞质,与线粒体凋亡诱导因子(AIF)等形成凋亡体。该凋亡体可与 caspase9 结合,在 ATP 的作用下,可促进 caspase9 转化为活化的 caspase9,然后活化的 caspase9 可呈级联反应促进 caspase3 降解和 C-caspase3 表达增高,然后导致细胞凋亡^[11]。因此 C-caspase3、TUNEL 及细胞质中 CytC 表达的高低可反映线粒体介导凋亡信号途径的强弱。结果显示,与 GW 组和模型组相比,FEN 组 C-caspase3、TUNEL 及细胞质中 CytC 表达明显降低,提示 PPAR- α 激动剂 FEN 可通过抑制线粒体凋亡信号途径激活减轻 HI/R。

SIRT1 是一组蛋白脱乙酰化修饰酶,其活性主要依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺),大量研究显示其具有调节细胞代谢、分化、凋亡和抗衰老及减轻 HI/R 的重要作用,其转录底物包括 FOXO1, p53 和 Ku70 等^[12]。本课题组既往研究显示,其抗凋亡的信号途径为促进转录因子 FOXO1 去乙酰化,继而减少线粒体凋亡信号途径的激活和细胞凋亡^[12]。本研究结果显示,与 GW 组和模型组相比,FEN 组 SIRT1 表达增高,而 Ace-FOXO1 的表达降低。提示 PPAR- α 激动剂 FEN 可通过增加 SIRT1 的表达而减少 FOXO1 的乙酰化修饰,从而抑制线粒体凋亡途径的激活。

综上所述,PPAR- α 激动剂 FEN 对 HI/R 具有保护作用,而 SIRT1/FOXO1 信号通路抑制线粒体介导的凋亡信号途径在其肝脏保护作用中起重要作用,该研究为临床上应用 PPAR- α 激动剂治疗缺血性肝损伤患者提供了新的理论依据。

参考文献

- [1] KONISHI T, LENTSCH A B. Hepatic ischemia/reperfusion: mechanisms of tissue injury, repair, and regeneration [J]. *Gene Expr*, 2017, 17(4): 277-287.
- [2] KERRU N, SINGH-PILLAY A, AWOLADE P, et al. Current anti-diabetic agents and their molecular targets: A review [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 152: 436-488.
- [3] OHMORI M, MIYASHITA F, UCHIDA H, et al. Effect of erythromycin on ischemia-reperfusion injury of liver in rats [J]. *Transplant Proc*, 2000, 32(4): 811-814.
- [4] 曹晓飞, 张峰, 张业伟. PPAR γ 激动剂罗格列酮在大鼠肝缺血再灌注损伤中的作用及机制探讨 [J]. *南京医科大学学报*, 2007, 27(11): 1271-1273.

- [12] LI L, HUANG L, SUNG S S, et al. NKT cell activation mediates neutrophil IFN-gamma production and renal ischemia-reperfusion injury[J]. *J Immunol*, 2007, 178(9): 5899-5911.
- [13] ZHAO Z, GUAN R, SONG S, et al. Sinomenine protects mice against ischemia reperfusion induced renal injury by attenuating inflammatory response and tubular cell apoptosis[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(9): 1702-1712.
- [14] WANG F, YU G, LIU S Y, et al. Hydrogen-rich saline protects against renal ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *J Surg Res*, 2011, 167(2): 339-344.
- [15] ILHAN H, EROGLU M, INAL V, et al. Hyperbaric Oxygen Therapy alleviates oxidative stress and tissue injury in renal ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Ren Fail*, 2012, 34(10): 1305-1308.
- [16] JIANG C M, ZHU W, YAN X, et al. Rescue therapy with Tanshinone II A hinders transition of acute kidney injury to chronic kidney disease via targeting GSK3 β [J]. *Sci Rep*, 2016(6): 36698.
- [17] HU H L, ZHAI C L, QIAN G, et al. Protective effects of tanshinone II A on myocardial ischemia reperfusion injury by reducing oxidative stress, HMGB1 expression, and inflammatory reaction[J]. *Pharm Biol*, 2015, 53(12): 1752-1758.
- [18] DAI J P, ZHU D X, SHENG J T, et al. Inhibition of tanshinone II A, salvianolic acid a and salvianolic acid B on areca nut extract-induced oral submucous fibrosis in vitro[J]. *Molecules*, 2015, 20(4): 6794-6807.
- [19] ZHAN C Y, TANG J H, ZHOU D X, et al. Effects of tanshinone II A on the transforming growth factor β 1/Smad signaling pathway in rat cardiac fibroblasts[J]. *Indian J Pharmacol*, 2014, 46(6): 633-638.
- [20] GU J, LI H L, WU H Y, et al. Sodium tanshinone II A sulfonate attenuates radiation-induced fibrosis damage in cardiac fibroblasts[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2014, 16(9): 941-952.
- [21] KISSELEVA T, KÖCKRITZ-BLICKWEDE K M, REICHART D, et al. Fibrocyte-like cells recruited to the spleen support innate and adaptive immune responses to acute injury or infection[J]. *J Mol Med*, 2011, 89(10): 997-1013.
- [22] HOFF U, LUKITSCH I, CHAYKOVSKA L, et al. Inhibition of 20-HETE synthesis and action protects the kidney from ischemia/reperfusion injury [J]. *Kidney Int*, 2011, 79(1): 57-65.
- [23] MIGITA H, YOSHITAKE S, TANQE Y, et al. Hyperbaric Oxygen therapy suppresses apoptosis and promotes renal tubular regeneration after renal ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Nephrourol Mon*, 2016, 8(1): e34421.
- [24] GILL A L, BELL C N. Hyperbaric oxygen: its uses, mechanisms of action and outcomes [J]. *QJM*, 2004, 97(7): 385-395.
- [25] BRICKER N S, MORRIN P A, KIME S W Jr. The pathologic physiology of chronic Bright's disease. An exposition of the "intact nephron hypothesis" [J]. *Am J Med*, 1960, 28(1): 77-98.
- [26] BRICKER NS. On the pathogenesis of the uremic state. An exposition of the "trade-off hypothesis" [J]. *N Engl J Med*, 1972, 286(20): 1093-1099.

(收稿日期: 2018-08-18 修回日期: 2018-12-23)

(上接第 1444 页)

- [5] BOSHRVA V, MOUSTAFA A M. Effect of preischemic treatment with fenofibrate, a peroxisome proliferator-activated receptor- α ligand, on hepatic ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *J Mol Histol*, 2011, 42(2): 113-122.
- [6] YUAN J, MO H D, LUO J, et al. PPAR alpha activation alleviates damage to the cytoskeleton during acute myocardial ischemia/reperfusion in rats[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(5): 7218-7226.
- [7] SUKHOTNIK I, NISSIMOV N, BEN SHAHAR Y, et al. Fenofibrate reduces intestinal damage and improves intestinal recovery following intestinal ischemia-reperfusion injury in a rat [J]. *Pediatr Surg Int*, 2016, 32(12): 1193-1200.
- [8] LV J, WANG X, LIU S Y, et al. Protective effect of Fenofibrate in renal ischemia reperfusion injury: Involved in suppressing kinase 2 (JAK2)/transcription 3 (STAT3)/p53 signaling activation[J]. *Pathol Biol (Paris)*, 2015, 63(6): 236-242.
- [9] OU L L, LIN S Q, SONG B, et al. The mechanisms of graphene-based materials-induced programmed cell death: a review of apoptosis, autophagy, and programmed necrosis[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017(12): 6633-6646.
- [10] NIE C, LUO Y, ZHAO X, et al. Caspase-9 mediates Puma activation in UCN-01-induced apoptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(10): e1495.
- [11] CORREA F, SOTO V, ZAZUETA C. Mitochondrial permeability transition relevance for apoptotic triggering in the post-ischemic heart [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(4): 787-798.
- [12] YANG Y, JIANG S, DONG Y S, et al. Melatonin prevents cell death and mitochondrial dysfunction via a SIRT1-dependent mechanism during ischemic-stroke in mice [J]. *J Pineal Res*, 2015, 58(1): 61-70.

(收稿日期: 2018-08-20 修回日期: 2018-12-25)