



氧化应激与肾脏细胞凋亡

皇甫冰,高继萍,杨霞,王裕,宋国华

(山西医科大学实验动物中心;实验动物与人类疾病动物模型山西重点实验室,山西太原 030001)

【摘要】 氧化应激产生的活性氧(ROS)与细胞凋亡存在密切的关系。ROS可通过激活线粒体、Bcl-2家族、NF- κ B及MAPK_s家族、Caspase家族等途径引起细胞凋亡,细胞凋亡在肾脏疾病的发病过程中起着重要作用。本文就氧化应激在肾脏疾病发生发展中的作用及其诱导细胞凋亡的机制进行了综述。

【关键词】 氧化应激;活性氧;肾细胞;细胞凋亡;

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015)02-0054-07

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.002.014

Oxidative stress and renal cell apoptosis

HUANG FU-bing, GAO Ji-ping, YANG Xia, WANG Yu, SONG Guo-hua

(Shanxi Medical University, Laboratory Animal Center, Shanxi Key Laboratory of Experimental Animal Science and Human Disease Animal Model, Shanxi Taiyuan 030001, China)

【Abstract】 Reactive oxygen species (ROS) resulting from oxidative stress have a close relationship with cell apoptosis. ROS induces cell apoptosis through activating different signaling pathways including mitochondria, Bcl-2, NF- κ B, MAPK_s and Caspases and so on. Cell apoptosis plays a significant role in the course of kidney diseases. In this paper, the function of oxidative stress in the development and progression of kidney diseases and apoptosis mechanism induced by oxidative stress are reviewed.

【Key words】 Oxidative stress; Reactive oxygen species, ROS; Renal cell; Apoptosis

肾脏细胞凋亡一直是国内外学者研究的热点,在多种肾病模型和临床肾脏病理中均可观察到细胞凋亡,其参与多种肾脏病理损伤的发生及发展^[1-3]。在肾损伤的初期,凋亡有利于清除过多的增生细胞而保护肾;而晚期的细胞凋亡加重了肾功能的恶化程度。氧化应激与肾脏细胞凋亡有着密切的关系,氧化应激产生的ROS可通过不同的途径诱导肾脏细胞凋亡。研究证实氧化应激及其诱导的细胞凋亡是慢性肾功能衰竭(CRF)^[4]、肾缺血再灌注损伤(IRI)^[5]、急性肾损伤(AKI)^[6]、糖尿病肾病(DN)^[7]的重要致病因素,在各种肾病的发病中

起着重要作用。本文就氧化应激及其诱导肾脏细胞凋亡的机制以及在肾损伤中的作用作一综述。

1 氧化应激的原因和后果

活性氧分子(reactive oxygen species, ROS)是诱导细胞凋亡的重要因素,是外源性氧化剂或机体内氧化代谢过程产生的性质活泼的含氧化合物的总称,如超氧化物、过氧化氢、单线态氧和氢氧根阴离子等。机体在正常情况下会产生少量ROS,在自由基清除酶类和抗氧化剂的作用下能维持氧代谢平衡,对于激活转录因子、促进细胞增殖分化、调控某

【基金项目】 山西省卫生厅科技攻关项目(2011080);山西省实验动物专项(2012k02)。

【作者简介】 皇甫冰(1990-),女,硕士研究生,主要研究方向:人类疾病动物模型,E-mail: bhuangfu@hotmail.com。

【通讯作者】 宋国华(1973-),女,博士,主要研究方向:人类疾病动物模型,E-mail: ghsongg@hotmail.com。

些生理活性物质和炎症免疫等具有广泛的生理意义。当细胞受到有害刺激后, ROS 大量产生, 破坏了机体氧化与抗氧化系统之间的平衡, 最终导致氧化应激^[8], 促进细胞凋亡甚至导致病理损伤。而研究显示多种肾病模型均处于氧化应激状态, 细胞外刺激作用于线粒体导致其功能障碍, 从而影响线粒体呼吸链中酶的活性, 引起氧自由基的增多; 线粒体活性氧的产生又可激活许多产生 ROS 的通路: 糖酵解途径, 多元醇途径 (PP), 解偶联一氧化氮合酶 (NOS)、黄嘌呤氧化酶途径、NADPH 氧化酶和糖基化终产物途径 (AGE)^[9-11]。实验动物模型肾组织内自由基清除剂和抗氧化酶 SOD、GSH-Px 水平和活性降低, 也可能导致 ROS 水平增多^[12]。活性氧通过与细胞内的脂质、核酸、蛋白质发生反应, 导致机体组织脂质过氧化、DNA 氧化损害和细胞内蛋白变性, 对细胞造成损伤; ROS 还可作为细胞内信使, 活化许多信号传导通路如细胞凋亡通路, 间接导致细胞损伤^[13], 细胞损伤使细胞内产生更多 ROS。可见, 氧化应激是肾脏损伤的重要病生机制, 参与了肾脏疾病的发生发展。

2 细胞凋亡与氧化应激损伤

细胞凋亡 (apoptosis) 又称为细胞的程序性死亡, 是指为维持内环境稳定, 由凋亡相关基因调控的细胞自主有序的死亡, 它涉及一系列基因的激活、表达以及调控等的作用, 在形态学和生物化学方面有别于细胞坏死。在氧化应激情况下, 过多 ROS 导致细胞损伤, 机体在应对 ROS 损害时形成一套复杂的氧化应激应答系统。我们猜想细胞凋亡也是其中一种应答机制, 通过清除过多的增生细胞而防止肿瘤的形成, 清除受损、危险的细胞而不对周围细胞产生危害, 是为更好地适应生存环境而主动争取的一种死亡过程, 以减轻细胞发生的氧化应激损伤。但细胞凋亡是细胞外界环境因素与细胞自身综合作用的结果, 不仅有特定基因控制, 还受细胞周围的刺激因素的诱导和抑制, 外源性因子亦可以通过一定的信号通路发挥刺激作用^[14]。在 ROS 积聚的情况下, 除了主动的细胞凋亡外, ROS 能通过激活一系列信号通路来诱导细胞凋亡, 导致细胞凋亡失调而使得细胞过度凋亡, 细胞过度凋亡将会引发自身免疫疾病和炎症, 与多种急慢性疾病如慢性肾功能衰竭、急性肾损伤等有关^[15]。多项研究也表明, 无论在正常生理或病理条件下, 肾脏细

胞均存在着凋亡现象, 病理条件下细胞发生过度凋亡。综上所述, 氧化应激产生的 ROS 造成细胞损伤, 细胞损伤又导致 ROS 的过量积聚, 积聚的 ROS 诱导细胞过度凋亡, 细胞凋亡进一步加剧了氧化应激损伤。

3 氧化应激诱导肾脏细胞凋亡的机制

3.1 线粒体与肾脏细胞凋亡

内源性和外源性有害刺激都可以改变线粒体的结构和功能, 诱发细胞氧化应激, 激活线粒体起始的内源性凋亡途径。研究发现, 细胞毒剂如阿霉素^[16]、砷^[17]、脂多糖^[18]、镉^[19]等都能够诱导肾脏细胞凋亡, 并且其凋亡依赖于线粒体凋亡途径。de Arriba^[20]等以环孢霉素 A (CsA) 处理的猪肾小管上皮 (LLC-PK1) 细胞为实验对象, 进一步探讨了线粒体在 LLC-PK1 细胞凋亡中的作用, 实验发现 CsA 破坏线粒体结构, 引起线粒体通透性转化孔 (MPTP) 的开放、线粒体膜电位的下降、ROS 含量增加及促进线粒体的分裂等一系列与细胞凋亡相关事件的发生。MPTP 与细胞凋亡密切相关。MPTP 是跨越线粒体外膜和内膜的通道, 由内膜蛋白如腺嘌呤核苷酸易位子 (ANT)、亲环素 D (cyclophilin D) 及外膜上的孔蛋白电压依赖性阴离子通道 (VDAC) 构成。MPTP 周期性开放, 以维持线粒体内电化学平衡及稳定状态。过多 ROS 通过氧化 MPTP 的内膜蛋白 ANT 的相邻巯基来诱导 MPTP 的开放, MPTP 的不可逆过度开放会导致线粒体跨膜电位 ($\Delta\Psi_m$) 的下降甚至完全崩解^[21]。线粒体跨膜电位一旦耗散, 细胞就会进入不可逆的凋亡过程。而 MPTP 的开放还会导致线粒体内 ROS 的过度生成及基质的高渗性, 导致促凋亡蛋白如细胞色素 c (Cyt-c) 从线粒体向细胞质释放, 加速细胞的凋亡^[22,23]。Zhou^[24]用 20 μM 镉诱导猪肾小管上皮细胞 (LLC-PK1) 凋亡的实验, 观察到伴随着 $\Delta\Psi_m$ 的下降, 细胞浆内的细胞色素 c 明显增加, 能被抗氧化剂 NAC 有效抑制。Cyt-c 的释放是细胞凋亡的关键。Cyt-c 从线粒体膜间隙释放到细胞浆内, 在 ATP/dATP 的协同作用下, 与凋亡蛋白酶活化因子 (Apaf-1) 及 Caspase-9 酶原结合而形成凋亡复合体, Caspase-9 酶原活化并激活下游的 Caspase-3 和 Caspase-7, 最终导致细胞凋亡。最近研究显示造影剂可诱导肾小管上皮细胞中调控细胞凋亡、增殖的转录因子, 如 FOXO3a、STAT3 的活化和失活^[25], FOXO3 能通过使线粒体呼吸链解耦连

而促进 ROS 的产生^[26]。综上所述,线粒体在氧化应激诱导肾脏细胞凋亡中发挥着关键性作用,是细胞凋亡调控的活动中心。

3.2 Bcl-2 家族与肾脏细胞凋亡

Bcl-2 基因家族是介导细胞凋亡的重要因子,在细胞凋亡基因调控过程中起重要调节作用。Bcl-2 和 Bax 是该家族中最具代表性的抗凋亡因子和促凋亡因子。Bcl-2 属原癌基因,编码 26×10^3 的线粒体膜蛋白,是最重要的凋亡抑制基因,Bax 表达水平增加可拮抗 Bcl-2 的作用,促进细胞凋亡。许多研究发现 ROS 可能通过增加 Bax/Bcl-2 的表达比率来启动肾脏细胞凋亡^[27-29]。Yang 等^[30]发现无论在 mRNA 还是蛋白质水平, Bax/Bcl-2 的比值与肾脏细胞凋亡都有密切联系。近来, Yang 等^[31]利用免疫组化和逆转录-聚合酶链式反应测定 80 只雄性大鼠的 Bax/Bcl-2 蛋白质表达和 mRNA 表达,结果发现 NaF 组、Na₂SeO₃ 组均明显增高,而 NaF + Na₂SeO₃c 组显著降低,提示氟化钠可通过上调 Bax/Bcl-2 的比值促使肾脏细胞凋亡,硒通过调节 Bcl-2 和 Bax 的表达来抑制凋亡。因此,Bcl-2 和 Bax 的比值可决定细胞凋亡的敏感性。Bcl-2 家族成员主要通过形成同源或异源二聚体来完成对细胞生存和死亡的调控作用。当 Bax 大量表达时,形成的大量 Bax-Bax 同源二聚体会导致线粒体功能的丧失、促凋亡因子从线粒体调控性地释放和下游 caspase 的活化,从而诱导和促进细胞凋亡;而 Bcl-2 的增多会诱导并加剧 Bax 二聚体的解聚,与 Bcl-2 形成的异源二聚体 Bax-Bcl-2 比 Bax-Bax 更为稳定^[32],凋亡被抑制。

Bcl-2 基因是目前 Bcl-2 基因家族中最受关注的基因之一,主要定位于线粒体膜和内质网上^[33]。Bcl-2 对细胞凋亡的负性调节机制可能为:1. 线粒体:抑制线粒体内 ROS 的产生;保护线粒体膜的完整和阻止 MPTP 的开放,阻断 Cyt-c、AIF 的释放和 caspase-9、caspase-3 的活化^[34,35];提高线粒体的容许负荷,使线粒体对 Ca²⁺ 的耐受力增强^[36];2. 内质网:抑制内质网内 ROS 的产生和 Ca²⁺ 的外渗^[37];3. 氧化还原机制:上调抗氧化酶活性,提高细胞的谷胱甘肽(GSH)水平,增加细胞总的抗氧化能力^[38];4. 与 Bax 的作用:阻止 Bax 向线粒体的迁移和聚集,通过形成异源二聚体抑制 Bax 的促凋亡作用^[39]。Bax 通过与线粒体膜上的 VDAC 结合而促进 MPTP 开放,诱导凋亡^[40](图 1)。Métraiiller-

Ruchonnet 等^[41]对高氧诱导小鼠成纤维细胞(L929)凋亡中 Bcl-2 的保护机制进行了研究,证明过量表达的 Bcl-2 能够通过影响线粒体凋亡通路和提高细胞内的抗氧化水平来抑制细胞凋亡。但肾脏细胞有关这方面的研究还较少,Bcl-2 对肾脏细胞凋亡的调节机制有待进一步探讨。

3.3 NF-κB 与肾脏细胞凋亡

NF-κB 是细胞内广泛存在的多向性核转录因子,可以将凋亡信号传递到细胞核,调控细胞的凋亡。Li 等^[42]研究发现茶多酚可抑制 TLR4/NF-κB p65 信号通路,以保护肾小管上皮细胞免受肾缺血再灌注引起的细胞凋亡。Xu^[43]用益母草碱处理脂多糖诱导的急性肾损伤大鼠,经 ELISA 和 Western blot 检测发现脂多糖能够引起 IκBα 磷酸化、p65 蛋白易位和 TNF-α 及 IL-6 表达增加,结果表明益母草碱可以抑制 ROS 调节的 NF-κB 信号通路来发挥保护作用。可见 NF-κB 信号通路在肾脏细胞凋亡中发挥重要作用。NF-κB 在正常细胞的胞质中以 p50-p65 异二聚体的形式与抑制亚基 IκB 结合处于失活状态。Ha 等^[44]报道,外源性的过氧化氢能够引起高糖环境中大鼠肾系膜细胞 NF-κB 活性的增高,且能被抗氧化剂抑制,提示 ROS 与 NF-κB 的活性增高有关。活性氧激活 NF-κB 的机制:ROS 通过抑制磷酸酶的活性,可以提高蛋白激酶 C(PKC)活性,促进 IκB 磷酸化并被泛素化降解,导致 NF-κB 与 IκB 解离而活化^[21];ROS 通过共价修饰 NF-κB 中的组氨酸、半胱氨酸等氨基酸残基来改变 NF-κB 的活性^[45]。活化的 NF-κB 暴露出核定位信号并转位入核,与核内特定靶基因的特异序列(GGGACCTTCC)相结合后迅速诱导多种基因的表达^[46]。邓超男等^[47]用免疫组化和实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测肾组织肾小管上皮细胞中 NF-κBp50、NF-κBp65 及 IκB 的表达,p50、p65 表达强度随染氟剂量增加逐渐降低,IκB 则呈逐渐增加趋势,结果表明 NF-κB 相关基因表达减少引起的肾小管上皮细胞凋亡是慢性氟中毒大鼠肾脏病变的机制之一。近年的研究表明,NF-κB 具有抑制细胞凋亡和促细胞凋亡的双向作用。ROS 通过调控 NF-κB 的活性决定正负性调节^[48,49];ROS 的轻度增加利于 NF-κB 的激活,抗细胞凋亡;ROS 的过度增高阻止 NF-κB 的激活,促细胞凋亡。细胞内的氧化还原水平决定 NF-κB 的激活和其转录功能的发挥。细胞核内 NF-κB 的 p50 亚基能够与靶基因结合,但当

p50 被过量的 ROS 氧化后不能维持还原状态,减弱了 NF- κ B 与 DNA 的结合能力,抗凋亡因子的表达下调,促进了细胞凋亡的发生^[21]。研究显示活化的 NF- κ B 转录凋亡相关基因从而诱导细胞凋亡, Grove^[50] 和 Qin^[51] 研究发现 NF- κ B 能激活凋亡基因 Fas、c-myc 及 TNF- α ,使基因表达增加而引起细胞凋亡。近几年的研究揭示了 ROS 调节 NF- κ B 活性的机制,证实 NF- κ B 参与并调控近 200 种基因转录^[52],在细胞凋亡中起到了十分重要的作用。

3.4 MAPK_s 家族与肾脏细胞凋亡

MAPK_s 家族在肾脏细胞凋亡中发挥重要作用。丝裂原活化蛋白激酶(MAPK_s)家族,包括细胞外信号转导蛋白激酶(ERKs)、C-Jun 氨基末端激酶(JNKs)和 p38 激酶(p38MAPK)等亚族。许多研究证实丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)介导了多种细胞外刺激导致的肾脏细胞凋亡^[53-55]。Gao^[56] 等发现花青素通过抑制 ERK 通路的活性可减弱顺铂诱导的 HK-2 细胞凋亡。Guo^[57] 等研究证实 p38MAPK 通路参与三聚氰胺诱导的大鼠肾上皮细胞凋亡。激活的 MAPK 将外界信号传导到细胞核内,参与细胞的分化、增殖和死亡(坏死或凋亡)等多种生理反应的过程,而大量实验显示 ROS 能够导致 MAPKs(ERK、p38MAPK、JNK)信号通路的激活^{[55][57-59]}。MAPK 家族激活的级联反应相似,都通过保守的三级酶促反应,MAPKKK \rightarrow MAPKK(MKK) \rightarrow MAPK^[60]。MKK4 和 MKK7 可激活 JNK, MKK3、MKK6 以及 MKK4 可激活 p38, MKK1 和 MKK2 可激活 ERK^[61]。郝卯林等^[62] 通过制作稳定高血糖糖尿病模型和波动高血糖糖尿病模型,并用免疫组化法和 Western blot 检测肾脏 JNK 蛋白表达,发现肾小管上皮细胞胞质 JNK 蛋白的磷酸化水平均明显高于正常对照组,且波动高血糖组较持续高血糖组变化更为明显,提示血糖波动可能作为一种刺激信号,会引发较单纯高血糖更加严重的氧化应激反应,通过激活 JNK,进而促进细胞凋亡。ROS 能够激活凋亡信号调节激酶 1(ASK1)^[63,64]。ASK1 是 JNK 和 p38 通路中的一种 MAPK 激酶激酶,在生理状态下与 Trx(硫氧化还原蛋白)结合不具有激酶活性。ASK1 主要通过两种方式调节 MAPK_s 信号通路,一方面氧化应激导致 Trx 的二聚化,ASK1 与其分离而获得激酶活性,另一方面 ROS 直接氧化 ASK1 而形成同源二聚体,从而获得激酶活性^[23]。活化的 ASK1 磷酸化激活 MAPK,再激活蛋白激酶 2 与 3,进

而磷酸化低分子量的热休克蛋白,最终激活 caspase 级联反应,导致细胞凋亡。而 Jeffrey 等^[65] 在 PHN 大鼠膜性肾病模型中发现 ERK 抑制剂加重肾小球足细胞中 DNA 的损伤,提示 ERK 活化可能在肾小球足细胞中起到保护细胞的作用。MAPKs 成员对氧化应激诱导的细胞凋亡过程中起正性或负性作用还未有定论,对此还存在很多争议。MAPKs 通路在不同肾病模型的发病机制中发挥的不同作用仍需进一步研究。

3.5 caspase 家族与肾脏细胞凋亡

Caspase 级联反应是多条凋亡通路的汇聚点,调控凋亡的最终执行。Caspases 是一组存在于细胞质中的具有相似结构的胱冬肽酶,均为半胱氨酸蛋白酶,专一切割蛋白质分子中的 Asp-X 肽键,导致细胞凋亡。ROS 与 caspase 之间存在双向作用,ROS 诱导 caspase 的级联反应,而 caspase 的激活也可能提升细胞内 ROS 水平。研究发现线粒体凋亡通路中的细胞色素 c 释放之后又产生了新的 ROS,线粒体膜蛋白和线粒体电子传递链成分都是 caspase 的底物^[66]。Lu 等^[67] 用对氨基苯甲酸诱导肾上皮细胞凋亡和氧化应激,并用 Western blot 检测发现活性 caspase-3、caspase-9 表达增加,结果显示 caspase-3、caspase-9 信号通路参与了细胞凋亡。氟化钠处理的大鼠均有肾脏细胞凋亡,免疫组化检测均可观察到中氟组和高氟组中 caspase-3、caspase-8、caspase-9 的光密度值高于对照组,表明 caspase 调节的线粒体通路和死亡受体通路参与了氧化应激诱导的肾脏细胞凋亡^[68,69]。胱冬肽酶参与两条细胞凋亡通路:一条是线粒体通路,由细胞色素 c 介导,激活 caspase-9 酶原启动级联反应;另一条是死亡受体通路,FasL 蛋白可发出死亡信号,caspase-8 酶原活化启动级联反应。两条通路均有 caspase-3 的参与。有研究发现,定位于内质网的 caspase-12 的激活独立于死亡受体、线粒体传递的凋亡信号,提示 caspase-12 可能参与内质网介导的新凋亡^[70]。

3.6 各机制之间的联系

氧化应激诱导细胞凋亡的机制中,线粒体起始的内源途径、Bcl-2 家族的调节、NF- κ B、MAPK_s 家族及 caspase 激活等并不是相互排斥的,各机制之间有紧密的联系。外界刺激时,MAPK_s 家族成员 JNK、P38MAPK 可以将凋亡信号传递给线粒体。线粒体接受凋亡信号,释放细胞色素 c,活化特定的 caspase 蛋白酶,诱导细胞凋亡。线粒体外膜的透化

(MOMP)引起细胞色素 c 的释放是一关键环节,主要受 Bcl-2 家族蛋白的调控^[71]。Bcl-2 家族通过促凋亡和抑凋亡因子调节线粒体介导的凋亡过程,并参与线粒体、死亡受体通路间的串话^[72]。Bcl-2 又受到 JNK 的调节,通过磷酸化 Ser-70 而抑制其抗凋亡作用^[73]。NF- κ B 可促进 Bcl-2 家族中抗凋亡因子的表达,发挥降低线粒体膜的通透性、抑制细胞色素 c 释放的抗凋亡作用^[74]。研究表明,NF- κ B 可通过抑制 JNK 激活而起到抗细胞凋亡的作用^[75]。MAPKs 诱导凋亡依赖 caspases 活性。caspase-3 可裂解定位于线粒体的 Bcl-2 产生的蛋白质分子进而诱导凋亡^[72]。线粒体通路、死亡受体通路及内质网通路均有 caspase 的激活。综上所述,各机制共同参与细胞凋亡。

4 结语

氧化应激产生的大量 ROS 不仅可直接对细胞造成损伤,也可通过多种不同途径诱导细胞过度凋亡造成细胞损伤,引起不同程度的肾损伤,氧化应激和肾脏细胞凋亡共同参与了肾脏疾病的发生发展过程。了解氧化肾损伤中的细胞凋亡机制对今后肾病的预防和治疗工作、开发和利用抗氧化活性物质具有重要意义,减少 ROS 的产生、提高肾脏的抗氧化能力及阻断 ROS 产生,可能是预防和治疗肾病的有效途径。

参考文献:

- [1] He P, Li D, Zhang B. Losartan attenuates renal interstitial fibrosis and tubular cell apoptosis in a rat model of obstructive nephropathy [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(2):638-644.
- [2] Yao J, Ke Z, Wang X, et al. Epithelial-mesenchymal transition and apoptosis of renal tubular epithelial cells are associated with disease progression in patients with IgA nephropathy [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(1):39-44.
- [3] Hruby Z, Rosinski M, Tyran B. Parenchymal injury in remnant-kidney model may be linked to apoptosis of renal cells mediated by nitric oxide [J]. *J Nephrol*, 2008, 21(5):686-693.
- [4] Thahriti HF, Messaoudi A, Kaddous A, et al. The degree of chronic renal failure is associated with the rate of pro-inflammatory cytokines, hyperhomocysteinemia and with oxidative stress [J]. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*, 2014, 63(3):135-139.
- [5] Qiao X, Li RS, Li H, et al. Intermedin protects against renal ischemia-reperfusion injury by inhibition of oxidative stress [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 304(1):F112-119.
- [6] Solanki MH, Chatterjee PK, Gupta M, et al. Magnesium protects against cisplatin-induced acute kidney injury by regulating platinum accumulation [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 307(4):F369-384.
- [7] Sato-Horiguchi C, Ogawa D, Wada J, et al. Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by suppressing oxidative stress in db/db mice [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2012, 121(3-4):e97-e108.
- [8] Pi J, Zhang Q, Fu J, et al. ROS signaling, oxidative stress and Nrf2 in pancreatic beta-cell function [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244(1):77-83.
- [9] Khoshjou F, Dadras F. Mitochondrion and its role in diabetic nephropathy [J]. *Iran J Kidney Dis*, 2014, 8(5):355-358.
- [10] Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes [J]. *Diabetes*, 2008, 57(6):1446-1454.
- [11] Zhang H, Zhang HM, Wu LP, et al. Impaired mitochondrial complex III and melatonin responsive reactive oxygen species generation in kidney mitochondria of db/db mice [J]. *J Pineal Res*, 2011, 51(3):338-344.
- [12] 陈杨, 于燕妮. 氧自由基与氟中毒 [J]. *中国地方病学杂志*, 2009, 28(2):234-237.
- [13] Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2003, 17(1):24-38.
- [14] 常芸, 袁箭峰, 祁永梅, 等. 运动心脏重塑与微损伤发生中的细胞凋亡现象 [J]. *中国运动医学杂志*, 2003, 22(4):344-349.
- [15] 翟中和、王喜忠、丁明孝. 细胞生物学 [M]. 北京:高等教育出版社, 2007.
- [16] Pal S, Sil PC. A 43 kD protein from the leaves of the herb *Cajanus indicus* L. modulates doxorubicin induced nephrotoxicity via MAPKs and both mitochondria dependent and independent pathways [J]. *Biochimie*, 2012, 94(6):1356-1367.
- [17] Roy A, Manna P, Sil PC. Prophylactic role of taurine on arsenic mediated oxidative renal dysfunction via MAPKs/NF-kappaB and mitochondria dependent pathways [J]. *Free Radic Res*, 2009, 43(10):995-1007.
- [18] Stoyanoff TR, Todaro JS, Aguirre MV, et al. Amelioration of lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by erythropoietin: involvement of mitochondria-regulated apoptosis [J]. *Toxicology*, 2014, 318:13-21.
- [19] Wang Y, Wu Y, Luo K, et al. The protective effects of selenium on cadmium-induced oxidative stress and apoptosis via mitochondria pathway in mice kidney [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 58:61-67.
- [20] de Arriba G, Calvino M, Benito S, et al. Cyclosporine A-induced apoptosis in renal tubular cells is related to oxidative damage and mitochondrial fission [J]. *Toxicol Lett*, 2013, 218(1):30-38.
- [21] 刘仪, 王凯, 王介非. 氧化应激诱导细胞凋亡的机制 [J]. *中华临床感染病杂志*, 2008, 1(3):185-188.
- [22] Schwabe RF, Brenner DA. Mechanisms of liver injury. I. TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways

- [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290 (4): G583 - G589.
- [23] 刘晓婷, 王延让, 张明. 线粒体介导细胞凋亡的研究进展 [J]. *环境与健康杂志*, 2013, 30(2):182 - 185.
- [24] Zhou YJ, Zhang SP, Liu CW, et al. The protection of selenium on ROS mediated-apoptosis by mitochondria dysfunction in cadmium-induced LLC-PK(1) cells [J]. *Toxicology In Vitro*, 2009, 23(2):288 - 294.
- [25] Andreucci M, Faga T, Russo D, et al. Differential activation of signaling pathways by low-osmolar and iso-osmolar radiocontrast agents in human renal tubular cells [J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115(2): 281 - 289.
- [26] Hagenbuchner J, Kuznetsov A, Hermann M, et al. FOXO3-induced reactive oxygen species are regulated by BCL2L1 (Bim) and SESN3 [J]. *J Cell Sci*, 2012, 125 (Pt 5): 1191 - 1203.
- [27] de Araújo Júnior RF, Leitão Oliveira AL, de Melo Silveira RF, et al. Telmisartan induces apoptosis and regulates Bcl-2 in human renal cancer cells [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 08/2014. DOI: 10.1177/1535370214546267
- [28] Shin HS, Yu M, Kim M, et al. Renoprotective effect of red ginseng in gentamicin-induced acute kidney injury [J]. *Lab Invest*, 11 August 2014, doi:10.1038/labinvest.2014.101
- [29] 徐辉, 张静敏, 张秀云, 等. 氟化钠对肾小管上皮细胞骨桥蛋白与 bax、bcl-2 基因表达的影响 [J]. *中华预防医学杂志*, 2005, 39(2): 107 - 110.
- [30] Yang B, Johnson TS, Thomas GL, et al. A shift in the Bax/Bcl-2 balance may activate caspase-3 and modulate apoptosis in experimental glomerulonephritis [J]. *Kidney Int*, 2002, 62 (4): 1301 - 1313.
- [31] Yang SY, Zhang L, Miao KK, et al. Effects of selenium intervention on chronic fluorosis-induced renal cell apoptosis in rats [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2013, 153(1 - 3): 237 - 242.
- [32] 张丽群. Bcl-2、Bax 与气道上皮细胞凋亡的研究进展 [J]. *检验医学与临床*, 2007, 4(04): 285-288.
- [33] Annis MG, Zamzami N, Zhu W, et al. Endoplasmic reticulum localized Bcl-2 prevents apoptosis when redistribution of cytochrome c is a late event [J]. *Oncogene*, 2001, 20 (16): 1939 - 1952.
- [34] 蒋静, 许峰. 氧化应激与肺细胞损伤凋亡信号途径 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2005, 20(3): 266 - 268.
- [35] Gross A, McDonnell JM, Korsmeyer SJ. Bcl-2 family members and the mitochondria in apoptosis [J]. *Genes Dev*, 1999, 13 (15): 1899 - 1911.
- [36] Costantini P, Jacotot E, Decuadin D, et al. Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(13): 1042 - 1053.
- [37] Chami M, Prandini A, Campanella M, et al. Bcl-2 and Bax exert opposing effects on Ca²⁺ signaling, which do not depend on their putative pore-forming region [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279 (52): 54581 - 54589.
- [38] Jang JH, Surh YJ. Potentiation of cellular antioxidant capacity by Bcl-2; implications for its antiapoptotic function [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(8): 1371 - 1379.
- [39] Wolter KG, Hsu YT, Smith CL, et al. Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis [J]. *J Cell Biol*, 1997, 139(5): 1281 - 1292.
- [40] 蔡循, 陈国强, 陈竺. 线粒体跨膜电位与细胞凋亡 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2001, 28(1): 3 - 6.
- [41] Métrailler-Ruchonnet I, Pagano A, Carneseccchi S, et al. Bcl-2 protects against hyperoxia-induced apoptosis through inhibition of the mitochondria-dependent pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 42(7): 1062 - 1074.
- [42] Li YW, Zhang Y, Zhang L, et al. Protective effect of tea polyphenols on renal ischemia/reperfusion injury via suppressing the activation of TLR4/NF-κB p65 signal pathway [J]. *Gene*, 2014, 542(1): 46 - 51.
- [43] Xu D, Chen M, Ren X, et al. Leonurine ameliorates LPS-induced acute kidney injury via suppressing ROS-mediated NF-κB signaling pathway [J]. *Fitoterapia*, 2014, 97: 148 - 155.
- [44] Ha H, Yu MR, Choi YJ, et al. Role of high glucose-induced nuclear factor-kappaB activation in monocyte chemoattractant protein-1 expression by mesangial cells [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(4): 894 - 902.
- [45] 于如同. 氧化应激与细胞凋亡 [J]. *医师进修杂志*, 2000, 23(9): 47 - 50.
- [46] 刘素荣, 叶孟. NF-κB 和凋亡相关的调控途径 [J]. *现代实用医学*, 2009, 21(1): 86 - 88.
- [47] 邓超男, 于燕妮, 杨丹, 等. 氟对大鼠肾脏 NF-κB 相关蛋白及 mRNA 表达影响 [J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(8): 1021 - 1023.
- [48] Li QQ, Peng SQ. Reactive oxygen species regulate NF-κB and JNK-mediated signaling pathway [J]. *Lett Biotechnol*, 2008, 19 (4): 611 - 614.
- [49] 范永肿, 任元满, 蔺春芳. 三氧化二砷诱导胃癌细胞 SGC 7901 凋亡及对 NF-κB 表达的影响 [J]. *临床医学实践*, 2008, 17(08): 662 - 663.
- [50] Grove M, Plumb M. C/EBP, NF-κB and C-Ets family members and transcriptional regulation of the cell-specific and inducible macrophage inflammatory protein-1 immediate-early gene [J]. *Mol cell Biol*, 1996, 13(9): 5276 - 5289.
- [51] Qin Y, Auh S, Blokh L, et al. TNF-alpha induces transient resistance to Fas induced apoptosis in eosinophilic acute myeloid leukemia cells [J]. *Cell Mol Immunol*, 2007, 4(1): 43 - 52.
- [52] 杨建营, 徐翔峰, 向珍蛹. NF-κB 的研究进展 [J]. *淮海医药*, 2011, 29(1): 93 - 96.
- [53] 李慧凇, 张金元. 低渗非离子造影剂对肾小管上皮细胞凋亡的作用及其机制 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2010, 26(3): 215 - 220.
- [54] Datta S, Mazumder S, Ghosh D, et al. Low concentration of arsenic could induce caspase-3 mediated head kidney macrophage apoptosis with JNK-p38 activation in *Clarias batrachus* [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 241(3): 329 - 338.
- [55] Banerjee C, Goswami R, Datta S, et al. Arsenic-induced

- alteration in intracellular calcium homeostasis induces head kidney macrophage apoptosis involving the activation of calpain-2 and ERK in *Clarias batrachus* [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 256(1): 44–51.
- [56] Gao S, Chen T, Choi MY, et al. Cyanidin reverses cisplatin-induced apoptosis in HK-2 proximal tubular cells through inhibition of ROS-mediated DNA damage and modulation of the ERK and AKT pathways [J]. *Cancer Lett*, 2013, 333(1): 36–46.
- [57] Guo C, Yuan H, He Z. Melamine causes apoptosis of rat kidney epithelial cell line (NRK-52e cells) via excessive intracellular ROS (reactive oxygen species) and the activation of p38 MAPK pathway [J]. *Cell Biol Int*, 2012, 36(4): 383–389.
- [58] Huang P, Zhang Y, Jiang T, et al. Role of aldose reductase in the high glucose induced expression of fibronectin in human mesangial cells [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(6): 3017–3021.
- [59] Shimizu H, Bolati D, Higashiyama Y, et al. Indoxyl sulfate upregulates renal expression of MCP-1 via production of ROS and activation of NF- κ B, p53, ERK, and JNK in proximal tubular cells [J]. *Life Sci*, 2012, 90(13–14): 525–530.
- [60] 王丽晖, 段惠军. MAPK 信号转导途径在糖尿病肾病发病中的作用 [J]. *国外医学泌尿系统分册*, 2004, 24(6): 832–835.
- [61] Ip YT, Davis RJ. Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK) - from inflammation to development [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1998, 10(2): 205–219.
- [62] 郝卯林, 戴雍月, 倪世容, 等. JNK 在血糖波动的糖尿病大鼠肾小管上皮细胞凋亡中的作用 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2012, 28(4): 309–312.
- [63] Soga M, Matsuzawa A, Ichijo H. Oxidative stress-induced diseases via the ASK1 signaling pathway [J]. *Int J Cell Biol*, 2012, 2012:439587.
- [64] Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling [J]. *Cell Signal*, 2012, 24(5): 981–990.
- [65] Pippin JW, Durvasula R, Petermann A, et al. DNA damage is a novel response to sublytic complement C5b-9-induced injury in podocytes [J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(6): 877–885.
- [66] Buccellato LJ, Tso M, Akinci OI, et al. Reactive oxygen species are required for hyperoxia-induced Bax activation and cell death in alveolar epithelial cells [J]. *J Cell Biochem*, 2004, 279(8): 6753–6760.
- [67] Lu Y, Yuan H, Deng S, et al. Arsanilic acid causes apoptosis and oxidative stress in rat kidney epithelial cells (NRK-52e cells) by the activation of the caspase-9 and -3 signaling pathway [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2014, 37(1): 55–62.
- [68] Song GH, Gao JP, Wang CF, et al. Sodium fluoride induces apoptosis in the kidney of rats through caspase-mediated pathways and DNA damage [J]. *J Physiol Biochem*, 2014, 70(3): 857–868.
- [69] 高继萍, 宋国华, 刘茂林, 等. 氟诱导大鼠肾脏细胞凋亡与 Caspase 蛋白表达关系的研究 [J]. *卫生研究*, 2014, 43(1): 96–100.
- [70] Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, et al. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta [J]. *Nature*, 2000, 403(6765): 98–103.
- [71] 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2014, 41(2): 103–107.
- [72] 刘芳, 毛晓华. 线粒体介导的细胞凋亡研究进展 [J]. *现代医学*, 2002, 30(3): 201–203.
- [73] Sinha K, Das J, Pal PB, et al. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis [J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(7): 1157–1180.
- [74] 刘素荣, 叶孟. NF- κ B 和凋亡相关的调控途径 [J]. *现代实用医学*, 2009, 21(1): 86–88.
- [75] Bubici C, Papa S, Pham CG, et al. NF-KappaB and JNK: an intricate affair [J]. *Cell Cycle*, 2004, 3(12): 1524–1529.

[修回日期]2014-11-16