论著。

初级纤毛在肺微血管内皮细胞抗缺氧损伤中的作用研究

秦 荣 李雪雁 李 凯 田永辉 刘天珍 崔冰冰 邵佳乐 陈克明 马慧萍

[摘要] 目的 研究初级纤毛在肺内皮细胞抗缺氧损伤中的作用及机制。方法 将肺微血管内皮细胞(PM-VEC) 培养至接近融合时 置于密闭缺氧盒中处理 0.6.12.18 和 24h 观察处理不同时间后的细胞形态和初级纤毛长度的变化。用 RNA 干扰法(siRNA) 抑制 IFT-88 的表达以观察 PMVEC 初级纤毛的发生情况,同时以无意义干扰序列作为阴性对照组(对照组)。将对照组和 siRNA 组同时置于缺氧环境 0.6.12.18 和 24h 检测各时间点的活性氧(ROS) 和丙二醛(MDA) 含量 冷胱甘肽氧化物酶(GSP-PX) 和超氧化物歧化酶(SOD) 活性。结果 缺氧导致 PMVEC 细胞受损,且初级纤毛长度较常氧环境下显著增加(P < 0.01)。 IFT88 表达被干扰后 PMVEC 的初级纤毛发生受抑制。对照组 PMVEC 的 ROS、MDA 水平在缺氧后逐渐升高,12h 时达到峰值,之后开始下降 24h 后又略有回升; GSH-PX 和 SOD 活性逐渐升高,至 12h 时达到峰值,之后持续下降(P < 0.01)。 siRNA 组的 ROS 和 MDA 水平随着缺氧时间的延长持续升高,GSH-PX 和 SOD 活性无明显变化。结论 纤毛参与了胞外缺氧及氧化胁迫信息向胞内的传递并在抗缺氧损伤中发挥了不可或缺的作用。

[关键词] 缺氧; 肺微血管内皮细胞; 初级纤毛; RNA 干扰; 抗氧化酶; 活性氧

[中国图书资料分类号] R594.3; Q26 [文献标志码] A [文章编号] 2095-140X(2019) 05-0009-06

[**DOI**] 10. 3969/j. issn. 2095-140X. 2019. 05. 003

Effect of Primary Cilia in Anti-hypoxia Damage of Pulmonary Microvascular Endothelial Cells

QIN Rong¹, LI Xue-yan¹, LI Kai^{2a}, TIAN Yong-hui^{2a}, LIU Tian-zhen^{2a}, CUI Bing-bing^{2a}, SHAO Jia-le^{2a}, CHEN Ke-ming^{2a}, MA Hui-ping^{2b} (1. Collage of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China; a. Institute of Orthopaedics, b. Department of Pharmacy, 2. 940 Hospital of PLA Joint Logistics Support Forces, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] Objective To investigate effect and its mechanism of primary cilia in anti-hypoxia damage of pulmonary microvascular endothelial cells (PMVEC). Methods PMVECs were cultivated to near fusion, and then the cells were placed to airtight hypoxia-box in 0 h, 6 h, 12 h, 18 h and 24 h of treatment respectively, and changes of cell morphological and length of primary cilia were observed at different times. RNA interference (siRNA) was used to inhibit ITF-88 expression in order to observe occurrence of PMVEC primary cilia , and nonsense RNA sequence was used as negative control (NC) group. Both siRNA and NC groups were simultaneously placed into hypoxia environment for 0 h, 6 h, 12 h, 18 h and 24 h, and then contents of reactive oxygen species (ROS) and malondialdehyde (MDA) and activities of glutathion peroxidase (GSH-PX) and superoxide dismutase (SOD) were detected at different times. Results PMVEC cells were damaged and length of primary cilia was significantly increased under hypoxia environment compared with those under normoxia environment (P<0.01). Occurrence of PMVEC primary cilia was inhibited after interfering ITF-88 expression. In NC group, PMVEC intracellular levels of ROS and MDA were gradually increased under hypoxia environment, and peaked after hypoxia for 12 h, and then the levels began to decrease, and then the levels were increased a little after hypoxia for 24 h; activities of GSH-PX and SOD were gradually increased and peaked after hypoxia for 12 h, and then the activities were decrease continuously (P < 0.01). In siRNA group, ROS and MDA levels were increased continuously with prolonging hypoxia time (P < 0.01), and no activities of SOD and GSH-PX were found. Conclusion Primary cilia participates transmitting of anoxia out of cells and oxidative stress information into cells , and it plays an indispensable role in anti-hypoxia damage.

[Key words] Anoxia; Microvascular endothelial cells; Primary cilia; RNA interference; Anti-oxidant enzyme; Reactive oxygen species

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81571847)

[作者单位] 730050 兰州, 兰州理工大学生命科学与工程学院(秦荣、李雪雁); 730050 兰州, 中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院(原解放军兰州总医院)骨科研究所(李凯、田永辉、刘天珍、崔冰冰、邵佳乐、陈克明) 药剂科(马惠萍) [通讯作者] 李雪雁, E-mail: 13919157898, lixueyan@ lut. cn

缺氧是导致多种急、慢性疾病的重要原因。在 缺氧状态下,机体处于氧化胁迫状态,由活性氧 (Reactive oxygen species ,ROS) 和其他自由基引起的 脂质过氧化、蛋白质氧化、糖化氧化和 DNA 氧化损 伤等可导致细胞凋亡和坏死,并进而引起组织结构 与功能的退变。机体存在一套天然的抗氧化防御系 统,包括超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物 酶(GPH-PX)、维生素 E 和抗坏血酸等,它们可消灭 或中和自由基,从而限制二次氧化损伤[12]。关于 抗氧化系统被激活的机制在近年来已取得很大进 展 例如已发现核因子 NF-E 相关因子(Nuclear factor erythroid 2 -related factor 2, Nrf2) 可以激活 90% 以上抗氧化相关基因的表达[34]。但作为存在于细 胞内部的转录因子 Nrf2 是如何感知胞外的缺氧和 氧化胁迫环境 从而启动下游抗氧化反应的 目前国 内外尚无相关研究报道。

初级纤毛是一种大多数哺乳类动物细胞表面的杆状凸出结构,已知在初级纤毛膜上及其内部存在由大量离子通道和受体蛋白,可感知外界味道、光和力学刺激等,将其传递到细胞内部并激活相关信号级联反应,使细胞对外界刺激做出相应反应^[5-7]。初级纤毛一旦发生结构或功能缺陷,会导致多种发育和退行性疾病,这些疾病统称为纤毛病^[8]。

已有研究结果表明,初级纤毛的物理尺寸将影响其准确感知化学梯度的能力^[940]。Kim 等^[11]报道,缺氧引起的氧化应激产物 ROS 可以调节初级纤毛长度,H₂O₂则可引起初级纤毛解聚。本课题组前期的研究表明,PC12 细胞在物理性缺氧或氧化钴模拟化学缺氧条件下培养一定时间后,其初级纤毛长度均有不同程度的增加^[12]。由于初级纤毛的"天线样"结构及其"信号中枢"的作用,我们推测初级纤毛有可能感知缺氧和氧化胁迫环境并将信号传递到胞内。为证明这一推测,我们以肺内皮细胞株为研究对象,采用 RNA 干扰法抑制其初级纤毛发生,并比较了有初级纤毛和无初级纤毛的肺内皮细胞对缺氧反应的差异。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料 肺内皮细胞株(PMVEC) 购自北纳生物科技有限公司; DMEM(高糖) 培养基、opti-MEM 培养基和胰蛋白酶为 Gibco 公司产品; FBS 为 LON-SERA 公司产品; 质粒小提试剂盒为康为世纪生物公司产品; DAPI 购自 Sigma 公司; GSH-PX、SOD、ROS 和细胞丙二醛(MDA) 检测试剂盒均为南京建

成公司产品; Trition—X-400、ECL Plus 超敏发光液、SDS-PAGE 凝胶、BCA 蛋白浓度试剂盒均为索莱宝公司产品; Lipofectamine 2000 和 pENTRTM/U6 质粒载体为 Invitrogen 公司产品; 乙酰化 α-tubulin 抗体购自 abcam 公司; β-Actin 抗体购自 Bioworld 公司; FITC 标记的免疫荧光二抗购自 KPL 公司; TB Green Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) 和 PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser 购自 TaKaRa 公司。仪器设备包括: 荧光倒置相差显微镜(Loympus, BX51)、实时荧光定量 PCR 仪(ABI,7300)、全波长酶标仪(Biotek Epoch)和荧光酶标仪(Molecular Devices SpectraMax i3)等。

- 1.2 细胞培养与观察 PMVEC 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 高糖培养基(含 1×10^5 IU/L 青霉素和1 × 10^5 IU/L 链霉素)接种于 100 mm 培养皿(康宁公司)中 置于饱和湿度下含 5% 二氧化碳的 37% 培养箱内 海 3 d 更换一次新鲜培养基 待生长至接近融合时传代。用 60 mm 中皿进行缺氧处理和指标检测 荧光倒置相差显微镜下观察细胞形态。
- 1.3 细胞的缺氧处理 将 PMVEC 细胞传代培养于中皿中 待细胞生长至 70% 融合时 ,用含 1% FBS 的培养基处理过夜,次日换正常培养基培养 3 h 开始缺氧处理。将 PMVEC 放入低氧处理盒(美国 Billups-rothenberg 公司,MIC-101 型)后,通入 95% N₂和 5% CO₂的混合气体以排出容器内氧气,至氧浓度达到 1% 后开始计时,分别于 $6 \times 12 \times 18 \times 24$ h 后取出相应细胞,观察细胞形态并检测各项指标。
- 1.4 免疫荧光染色 将 PMVEC 接种于事先处理好的 $0.5~\rm cm \times 0.5~\rm cm$ 盖玻片上 盖玻片置于中皿中培养 其余处理步骤同前。将正常培养或经过不同时间缺氧处理的盖玻片取出后,迅即用 PBS 漂洗 $3~\rm cm$ 多聚甲醛固定 $10~\rm min$ 0.1% Triton-X- $100~\rm cm$ 膜 $3~\rm cm$ min。加入封闭液处理 $1~\rm bm$ 方封闭液,加入乙酰化 α -tubulin 一抗 1.4% 解育过夜; PBS 清洗 $3~\rm cm$ 次,避光加入 FTC、DAPI(PBS1: $1.500~\rm cm$ 倍稀释)。1.5% 解育 $1~\rm bm$ pBS 清洗 1.5% 次,封片后置免疫荧光倒置相差显微镜下观察初级纤毛。FITC 标记的抗体将初级纤毛染成绿色,用 DAPI 将细胞核染成蓝色;通过IPP 软件测量初级纤毛的长度。
- 1.5 RNA 干扰法抑制初级纤毛发生 IFT88 是初级纤毛动力运输系统的重要组分 ,抑制 IFT88 表达以抑制初级纤毛发生是常用的初级纤毛缺陷模型^[13]。本实验所采用方法同以前报道 ,IFT88 干扰序列为5~GGAUAUGGGUCCAAGACAUCC-3~同时以

scrambled RNA (nonsense RNA) 序列为阴性对照 (negative control ,NC) ,分别构建含 siRNA 和 NC 序列的重组质粒 ,用大肠埃希菌扩增培养后 ,以无内毒素质粒小提试剂盒提取重组质粒。分别将重组质粒 用脂质体转染至接近融合的 PMVEC 细胞中 ,继续培养 24 h 后用倒置荧光显微镜观察转染效率 ,用 real time PCR 法检测 IFT88mRNA 表达量 ,其中IFT88 的引物序列为 5 ~GGCACAGTCAAGGCT-GAGAATG-3(F)和5~ACGTTCCATTTG CCTAAGAT-GGTC-3(R),作为内参的 GAPDH 的引物序列为 5~GGCACAGTCAAGGCT-GGTGAAGACGCTGAGAATG-3(F)和5~ATGGT-GGTGAAGACGCCAGTA-3(R)。IFT88 蛋白表达量用 Western blot 法检测 量化分析用 IPP 软件进行。

1.6 氧化和抗氧化指标分析

- 1.6.1 GSH-PX、SOD 活性和 MDA 含量检测: 将细胞裂解液加入经过不同时间缺氧处理的细胞培养皿中,震荡混匀后冰浴 10 min,12000 r/min 离心10min 收集上清液,用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度,GSH-PX、SOD 及 MDA 的检测按试剂盒说明书进行 酶活性检测结果表示为 U/mg prot,MDA 表示为nmol/mg prot。
- 1.6.2 ROS 含量检测: 将 PMVEC 细胞接种于 96 孔板中,分为对照组和 siRNA 组,分别进行不同时

间缺氧处理后,弃培养液,PBS洗3遍,换含10 μmol/L的 DCFH-DA 无血清培养液 37℃避光孵育 20 min,PBS洗3次后加100 μl PBS,上荧光酶标仪检测,激发波长488 nm,发射波长525 nm,结果表示为%/control,其中 control 是指缺氧0h(常氧环境)时对照组的平均值。

1.7 统计学方法 采用统计学 SPSS 17.0 软件进行数据处理。计量数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$) 表示,每组至少平行做 3 份(n = 3),每个实验至少重复 3 次。先用方差分析进行多组间比较,如果有显著差异,则继续用单因素方差分析 LSD 法进行 2 组间比较。 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 大鼠肺内皮细胞株 PMVEC 在缺氧环境中的形态变化 PMVEC 在缺氧 0 h(常氧环境)下生长至接近融合状态时,呈典型的成纤维细胞样形态(图1A);缺氧6h后形态无明显改变(图1B),但随着缺氧时间的延长,部分细胞开始皱缩变形,并由贴壁生长转为悬浮状态。缺氧时间越长,呈白色亮点状的悬浮细胞越多(图1A~1D)表明 PMVEC 受到明显的缺氧损伤。

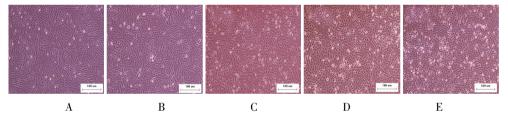


图 1 不同时间缺氧后肺内皮细胞株 PMVEC 的形态学变化(SP×4) A. 缺氧 0 h; B. 缺氧 6 h; C. 缺氧 12 h; D. 缺氧 18 h; E. 缺氧 24 h

2.2 PMVEC 初级纤毛在缺氧环境的变化 PM-VEC 初级纤毛在常氧环境的长度为 (1.55 ± 0.44) μm (见图 2A); 但在缺氧环境其长度显著增加 缺氧 18~h 时达到高峰 ,长度为 (4.52 ± 1.04) μm

(P < 0.01) (见图 $2B \sim 2D$); 但在缺氧 24 h 后其长度又略微变短,下降至(3.61 ± 1.22) μm (见图 2E); 仍显著长于常氧环境(P < 0.01)。见图 3。

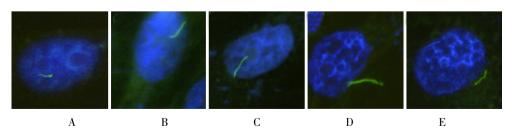


图 2 不同时间缺氧后 PMVEC 细胞初级纤毛长度(免疫荧光 × 40) A. 缺氧 0 h; B. 缺氧 6 h; C. 缺氧 12 h; D. 缺氧 18 h; E. 缺氧 24 h

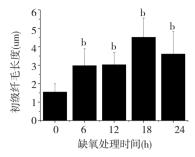


图 3 不同时间缺氧后 PMVEC 细胞的初级纤毛长度变化 与缺氧 0 h 时比较 , P < 0.01

2.3 干扰 IFT88 基因表达对初级纤毛发生的影响 siRNA 组和阴性组的细胞转染成功率(成功转染的细胞显示绿色荧光)均在 70% 以上(见图 4)。转染 24 h 后 siRNA 组 IFT88 的 mRNA 表达量和蛋白表达量显著低于对照组(P < 0.05)(图 5 A、5 B),siRNA 组细胞的初级纤毛消失(见图 6)。

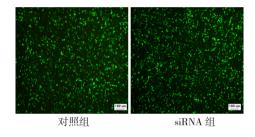
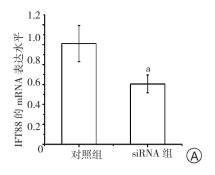
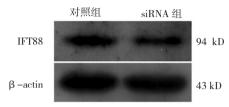


图 4 重组质粒对 PMVEC 细胞的转染效率(免疫荧光×4)

2. 4 初级纤毛对 PMVEC 氧化指标的影响 对照组 MDA 含量随缺氧时间的延长而升高,至 12 h 时达高峰(P < 0.01),之后开始下降, $18 \times 24 \text{ h}$ 后的MDA 含量均低于 12 h 24 h 的含量略高于 18 h(见图 7A)。活性氧(ROS)水平呈相同的变化趋势,即缺氧 12 h 后达到最高水平,之后趋于下降,虽然 24 h 后略有回升,但仍低于 12 h(图 7B)。siRNA 组的 MDA 含量在 $0 \times 6 \times 12 \text{ h}$ 与对照组相同,但之后持续增加,至 24 h 达到最高水平,并在 18 h 后显著高于对照组(P < 0.01)。ROS 水平的变化与 MDA 相同,虽然在 $0 \times 6 \times 12 \text{ h}$ 与对照组处于同一水平,之后持续上升,至 18 h 显著高于对照组(P < 0.01) 24 h 达到最高值。

2.5 初级纤毛对 PMVEC 抗氧化指标的影响 对照组 SOD 和 GSH-PX 缺氧后酶活性逐渐增加 ,至 12 h达到峰值 ,之后持续下降 24 h 后的酶活性更低于 18 h ,但仍显著高于 0 h(P < 0.05)。 siRNA 组的 SOD 和 GSH-PX 活性虽然也呈现先增加后下降的变化趋势 ,但变化幅度很小 ,比较差异无统计学意义 (P > 0.05) ,但在 12 h 后 siRNA 组的 SOD 和 GSH-PX 活性显著低于对照组(P < 0.05)。 见图 8。





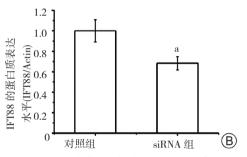


图 5 IFT88 siRNA 转染 24 小时后 PMVEC 中 IFT88 的表达水平

A. IFT88 的 mRNA 表达水平; B. IFT88 的蛋白质表达水平; 与对照组比较 , $^{*}P$ < 0. 05

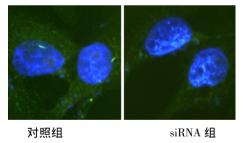


图 6 IFT88 siRNA 转染对 PMVEC 初级纤毛的影响(免疫 荧光×40)

3 讨论

由于初级纤毛是凸起于细胞表面的杆状结构,因而具有更早感知外界信号的结构优势。另外,由于其面积/体积比值显著高于胞体,其表面和内部可以分布更高密度的受体、离子通道和信号蛋白等,因而对外界刺激更加敏感^[14-15]。Brown等曾报道,小鼠骨髓 MSCs 在5% 低氧环境下,其初级纤毛长度较常氧环境增加了19% ^[16]。为研究初级纤毛在缺氧损伤和抗缺氧损伤中的作用,办法之一是抑制初级纤毛的发生。因为纤毛内转运蛋白88(IFT88)是初

级纤毛动力运输系统的核心组分 ,所以抑制 IFT88 的表达可抑制初级纤毛发生 $^{[11]}$ 。本实验结果显示 , PMVEC 的初级纤毛在缺氧 18~h 后的长度是常氧时的 3~f ,与我们前期在 PC12 细胞中的发现相一致 $^{[12]}$ 。本实验结果同时显示 ,siRNA 组 IFT88 的

mRNA 表达量和蛋白质表达量均低于对照组,提示干扰 IFT88 表达可以起到抑制 PMVC 初级纤毛发生的作用。这些结果均表明,缺氧环境可导致初级纤毛长度的改变,且以长度增加为主。而长度增加的原因可能与缺氧引起 ROS 增多有关[17]。

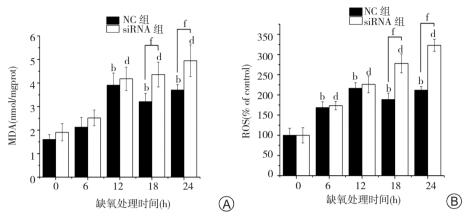


图 7 缺氧处理对 MDA 和 ROS 氧化水平的影响

A. MDA; B. ROS; NC 组为对照组; MDA 为丙二醛 ,ROS 为活性氧; 与 NC 组 0 h 相比 , bP < 0. 01; 与 siRNA 组 0 h 相比 , dP < 0. 01; 与 NC 组在同一时间点比较 , fP < 0. 01

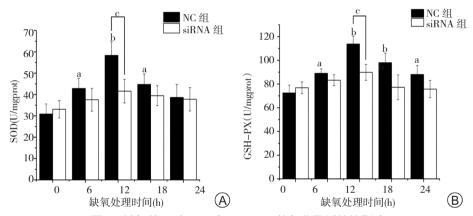


图 8 缺氧处理对 SOD 和 GSH-PX 抗氧化酶活性的影响

A. SOD; B. GSH-PX; NC 组为对照组; SOD 为超氧化物歧化酶 $_{0}$ GSH-PX 为谷胱甘肽过氧化物酶; 与对照组 0 h 相比 $_{0}$ P < 0. 05 或 $_{0}$ P < 0. 01; 与 NC 组在同一时间点比较 $_{0}$ P < 0. 05

在缺氧环境下 机体出现氧自由基代谢紊乱 氣化/抗氧化动态平衡遭到了破坏[18-20]。当机体处于氧化应激状态时,体内相应组织中的 ROS 含量升高 异致脂质过氧化水平升高 脂质过氧化反应的终产物为 MDA 其作为氧化应激的标志物,会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合,且具有细胞毒性[21]。本实验对照组中,胞内 ROS 和 MDA 含量随缺氧时间的延长而明显升高,12 h 达到峰值,但18 h 后开始下降。SOD 是机体最重要的抗氧化酶之一,主要负责清除超氧阴离子;结合对 SOD 和 GSH-PX 活性的检测结果可知,12 h 时这两种抗氧化酶的活性也达到峰值,此时胞内抗氧化能力达到最高,因而

氧化指标 ROS 和 MDA 在 18 h 后趋于下降。然而,由于缺氧环境持续存在,在无外源性抗氧化剂支持的情况下,SOD 和 GSH-PX 的高活性难以为继,在18 h 和 24 h 后连续下降,导致氧化指标 ROS 和MDA 在 24 h 后又有所上升。这一过程体现出氧化胁迫刺激抗氧化水平升高,抗氧化水平的升高短暂抑制了氧化胁迫进一步发展的动态变化趋势。

然而 siRNA 组无论是氧化指标还是抗氧化指标都表现出不同的变化趋势。首先是 ROS 和 MDA 在 12h 时并未达到峰值 而是在 18 h 和 24 h 后仍然继续升高。同时抗氧化指标 SOD 和 GSH-PX 在 12 h 时的活性并未明显升高,直至 24 h 后都未达到显

著高于常氧环境的水平。结合氧化指标和抗氧化指标的检测结果可以看出,正是由于 SOD 和 GSH-PX 始终没有明显升高,才导致了 ROS 和 MDA 水平的持续升高。由于对照组和 siRNA 组的唯一差别是前者有初级纤毛而后者没有,由此可以推知,正是初级纤毛感受到了缺氧和氧化胁迫,然后由其将此信息传递给胞内并激活了抗氧化系统。没有了初级纤毛的 PMVEC 不能将缺氧信息传递至胞内,因而不能激活 SOD 和 GSH-PX 等抗氧化酶的表达,因而失去了启动抗氧化系统的能力。

本文首次报道肺内皮细胞如果没有初级纤毛就不能启动缺氧环境下的抗氧化系统,表明初级纤毛参与了对缺氧和氧化胁迫信息的感受及胞内传递。但初级纤毛如何与胞内抗氧化系统发生联系,例如通过何种途径激活 Nrf2 并继而激活抗氧化基因的表达,则有待在今后的研究中予以阐明。

[参考文献]

- [1] Irarrázaval S , Allard C , Campodónico J , et al. Oxidative Stress in Acute Hypobaric Hypoxia [J]. High Alt Med Biol , 2017 , 18(2): 128-134.
- [2] Coimbra-Costa D , Alva N , Duran M , et al. Oxidative stress and apoptosis after acute respiratory hypoxia and reoxygenation in rat brain [J]. Redox Biol , 2017 ,12: 216-225.
- [3] O Connell MA, Hayes JD. The Keap1/Nrf2 pathway in health and disease: from the bench to the clinic [J]. Biochem Soc Trans, 2015, 43(4):687-689.
- [4] Zhang H , Davies KJA. Oxidative stress response and Nrf2 signaling in aging [J]. Free RadicBiol Med , 2015 , 88(Pt B): 314-336.
- [5] Kirschen GW, Xiong Q. Primary cilia as a novel horizon between neuron and environment [J]. Neural Regen Res, 2017, 12(8): 1225-1230.
- [6] Basten SG , Giles RH. Functional aspects of primary cilia in signaling , cell yele and tumorigenesis [J]. Cilia , 2013 2(1):6
- [7] Kaku M , Komatsu Y. Functional Diversity of Ciliary Proteins in Bone Development and Disease [J]. Curr Osteoporos Rep , 2017 ,15(2): 96-102
- [8] Youn Y H , Han Y G. Primary Cilia in Brain Development and Diseases [J]. Am J Pathol , 2018 , 188(1):11–22.

- [9] Wicher D. Functional and evolutionary aspects of chemoreceptors [J]. Front Cell Neurosci, 2012, 6:48.
- [10] Hamamoto A, Yamato S, Katoh Y, et al. Modulation of primary cilia length by melanin-concentrating hormone receptor 1 [J]. Cell Signal, 2016, 28(6): 572-584.
- [11] Kim J I, Kim J, Jang H S, et al. Reduction of oxidative stress during recovery accelerates normalization of primary cilia length that is altered after ischemic injury in murine kidneys [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2013, 304 (10): F1283-1294.
- [12] 漆欣筑 冯慧萍 汪昕 等. 缺氧环境对 PC12 细胞初级 纤毛长度的影响 [J]. 解放军医药杂志 2016 28(7): 10-12.
- [13] Yan J L , Zhou J , Ma H P , et al. Pulsed electromagnetic fields promote osteoblast mineralization and maturation needing the existence of primary cilia [J]. Mol Cell Endocrinol , 2015 , 404: 132-140
- [14] Satir P , Pedersen L B , Christensen S T. The primary cilium at a glance [J]. J Cell Sci ,2010 ,123(4): 499-503.
- [15] Mukhopadhyay S, Wen X, Ratti N, et al. The ciliary G-Protein-coupled receptor Gpr161 negatively regulates the Sonic hedgehog pathway via cAMP signaling [J]. Cell, 2013, 152(1-2): 210-223.
- [16] Brown JA, Santra T, Owens P, et al. Primary cilium-associated genes mediate bone marrow stromal cell response to hypoxia [J]. Stem Cell Res 2014, 13(2): 284-99
- [17] Verghese E , Zhuang J , Saiti D , et al. In vitro investigation of renal epithelial injury suggests that primary cilium length is regulated by hypoxia-inducible mechanisms [J]. Cell Biol Int , 2011 35(9): 909-913.
- [18] 姚娟, 马慧萍, 李倩, 海, 乙酰唑胺对 PC12 细胞缺氧损伤的保护作用及其机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2012 28(9):1244-1248.
- [19] Irarrázaval S , Allard C , Campodónico J , et al. Oxidative Stress in Acute Hypobaric Hypoxia [J]. High Alt Med Biol , 2017 ,18(2): 128-134.
- [20] Coimbra-Costa D , Alva N , Duran M , et al. Oxidative stress and apoptosis after acute respiratory hypoxia and reoxygenation in rat brain [J]. Redox Biol , 2017 ,12: 216-225.
- [21] Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress [J]. CurrBiol, 2014,24 (10): R453-462.
 - (收稿时间: 2019-01-09 修回时间: 2019-02-01)