

tenuates expression of Notch signaling and proinflammatory mediators in activated microglia in experimentally induced cerebral ischemia and hypoxic BV-2 microglia [J]. *BMC Neurosci*, 2017, 18(1): 32.

[17] Shahin S, Banerjee S, Singh S P, *et al.* 2.45 GHz microwave radiation impairs learning and spatial memory via oxidative/nitrosative stress induced p53-dependent/independent hippocampal apoptosis: molecular basis and underlying mechanism[J]. *Toxicol Sci*, 2015, 148(2): 380-399.

[18] Chtourou Y, Aouey B, Kebieche M, *et al.* Protective role of naringin against cisplatin induced oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in rat striatum via suppressing ROS-me-

diated NF-κB and p53 signaling pathways[J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 239: 76-86.

[19] Khan M M, Ishrat T, Ahmad A, *et al.* Sesamin attenuates behavioral, biochemical and histological alterations induced by reversible middle cerebral artery occlusion in the rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 183(1): 255-263.

[20] Ji X, Luo Y, Ling F, *et al.* Mild hypothermia diminishes oxidative DNA damage and pro-death signaling events after cerebral ischemia: a mechanism for neuroprotection[J]. *Front Biosci*, 2007, 12: 1734-1747.

[21] 曾 南, 周玖瑶. 药理学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2014: 70.

葛根素对高糖诱导 HUVEC-12 细胞氧化损伤的保护作用

张 婷¹, 张 慧², 宋小锋¹, 石晓卫^{1*}
(1. 新乡医学院三全学院, 河南 新乡 453000; 2. 新乡医学院药学院, 河南 新乡 453000)

摘要: **目的** 研究葛根素对高糖诱导人脐静脉内皮细胞 HUVEC-12 氧化损伤的保护作用。**方法** 用含 100 mmol/L 葡萄糖和 10、25、50 μmol/L 葛根素的培养基共同孵育 HUVEC-12 细胞 36 h 后, 测定细胞存活率, 细胞培养液中乳酸脱氢酶 (LDH) 水平及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 活性, 细胞内活性氧 (ROS) 水平及超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性及丙二醛 (MDA)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平。qPCR 检测细胞中 SIRT1、PGC-1α mRNA 表达, 酶联免疫吸附法检测培养液中 SIRT1、PGC-1α 蛋白含量。**结果** 葛根素可增加 HUVEC-12 细胞存活率, 抑制细胞 LDH 释放, 清除 ROS, 降低 MDA 含量与 Caspase-3 活性, 增加 SOD、CAT 活性和 GSH 含量。同时, 葛根素还能提高 SIRT1、PGC-1α mRNA 表达及蛋白含量。**结论** 葛根素能通过激活 SIRT1/PGC-1α 通路来保护高糖诱导 HUVEC-12 细胞氧化损伤。

关键词: 葛根素; 高糖; 氧化损伤; HUVEC-12 细胞; SIRT1/PGC-1α 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)06-1248-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.06.004

Protective effects of puerarin on high glucose-induced oxidative injury in HUVEC-12 cells

ZHANG Ting¹, ZHANG Hui², SONG Xiao-feng¹, SHI Xiao-wei^{1*}
(1. Sanquan Medical College, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, China; 2. College of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453000, China)

ABSTRACT: **AIM** To explore the action mechanism of puerarin's protective effects against oxidative stress of HUVEC-12 cells induced by high glucose. **METHODS** HUVEC-12 cells cultured with 100 mmol/L glucose medium and 10, 25, 50 μmol/L puerarin for 36 h had the cell proliferation, the levels of lactate dehydrogenase (LDH), intracellular reactive oxygen species (ROS), the activities of caspase-3, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), and the contents of malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) measured. The mRNA

收稿日期: 2017-07-03
基金项目: 国家自然科学基金项目 (U1604179); 2016 年度河南省高等学校青年骨干教师培养计划支持项目 (2016GGJS-220)
作者简介: 张 婷 (1986—), 女, 硕士, 讲师, 从事中药活性成分及药效学研究。E-mail: eward1986@163.com
* 通信作者: 石晓卫 (1982—), 男, 硕士, 副教授, 从事细胞分子生物学研究。Tel: (0373) 7375205, E-mail: tege377@163.com

expressions of *SIRT1* and *PGC-1 α* were detected by real-time fluorescence quantitative PCR, and the protein contents of *SIRT1* and *PGC-1 α* were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. **RESULTS** The puerarin treatment to HUVEC-12 cells resulted in markedly lowered LDH level, caspase-3 activity, intracellular levels of MDA and ROS, and notable improvement of the cell viability, the activities of SOD and CAT, GSH content, the mRNA expressions and the protein contents of *SIRT1* and *PGC-1 α* as well. **CONCLUSION** The protective effect of puerarin on high glucose-induced oxidative damage of HUVEC-12 cells may be attributed to the *SIRT1*/*PGC-1 α* pathway activation.

KEY WORDS: puerarin; high glucose; oxidative injury; HUVEC-12 cells; *SIRT1*/*PGC-1 α* pathway

2013 年, 全球患糖尿病人数已达 3.82 亿, 并且发病率逐年增加。糖尿病会使多种大血管疾病的发病风险增高, 65% 患者死于其合并症^[1], 其中动脉粥样硬化是引起糖尿病大血管合并症的常见原因, 其始动环节是内皮细胞损伤^[2]。沉默信息调节因子 1 (*SIRT1*) 是一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 的去乙酰化酶, 参与细胞生存、凋亡、自噬、新陈代谢等多种细胞活动^[3-4], 它可通过调控其下游过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子-1 α (*PGC-1 α*) 基因和蛋白表达水平来发挥抑制细胞凋亡、抗氧化应激、促进血管内皮细胞增生等作用^[5]。

葛根素是野葛中的一种活性物质, 具有神经保护、抗氧化、抗炎、减弱胰岛素抗性等活性, 具有促进成骨生成和血管再生的作用^[6-7], 对帕金森病、糖尿病和心血管疾病有很好的疗效, 并可通过 *SIRT1*/*PGC-1 α* 信号通路保护肾脏^[8], 但该成分能否通过该信号通路保护 HUVEC-12 细胞氧化损伤尚不明确。因此, 本实验拟通过高糖诱导 HUVEC-12 细胞损伤探讨葛根素对其的保护作用, 并探讨该成分与 *SIRT1*/*PGC-1 α* 信号通路的关系, 以期防治糖尿病大血管合并症提供可行的方法。

1 材料

HUVEC-12 细胞购自中国科学院上海细胞生物研究所。葛根素 (含量 >99.0%, 德国 Sigma 公司, 批号 031M1302V)。MTT (德国 Sigma 公司, 批号 MKBZ4723V); Caspase-3、ROS、LDH 检测试剂盒 (碧云天生物技术有限公司, 批号 151017、160320、150621); MDA、GSH、SOD、CAT 检测试剂盒 (南京建成生物技术研究, 批号 20150927、20150515、20150421、20141120); 引物由上海生工生物工程公司合成; 总 RNA 提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司, 批号 K9403]; SYBR Premix Ex TaqTM、逆转录、RT-PCR 试剂盒 (日本 Takara 公司); *SIRT1*、*PGC-1 α* 酶联

免疫吸附试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司)。电子分析天平 (德国 Sartorius 公司); 酶标仪 (美国赛默飞世尔科技公司); U-2001 型紫外分光光度计 (日本 Hitachi 公司); ABI 7500 Real-Time PCR system (美国 ABI 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养与分组处理 用含 10% 胎牛血清、 1×10^5 U/L 青霉素、100 mg/L 链霉素的 RPMI 1640 培养基于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养 HUVEC-12 细胞, 当形成致密单层细胞、基本铺满瓶底时, 胰蛋白酶-EDTA 消化液消化, 开始传代, 应用第 2 次传代的细胞进行分组, 即正常组 (无血清培养基)、高糖组 (含 100 mmol/L 葡萄糖的无血清培养基)、药物组 (含 100 mmol/L 葡萄糖的无血清培养基分别与 10、25、50 μ mol/L 葛根素共同孵育), 继续培养 36 h 后测定各项指标。

2.2 存活率测定 将 HUVEC-12 细胞接种于 96 孔培养板中, 每孔加 0.1 mL 培养液培养 24 h, 待细胞贴壁后, 按各组处理方法更换培养液, 置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中继续培养 36 h。然后, 每孔加 5 g/mL MTT 20 μ L, 4 h 后弃去培养液, 加 150 μ L DMSO 振荡 10 min 使其充分溶解, 酶标仪测定 490 nm 波长处的光密度, 计算细胞存活率。

2.3 细胞内 ROS 水平和细胞上清液中 LDH 水平、Caspase-3 活性检测 通过乳酸脱氢酶检测试剂盒检测细胞上清液中 LDH 水平。取正常组、高糖组、药物组细胞上清液各 120 μ L, 加入到新的 96 孔板中, 每孔中加 60 μ L LDH 检测工作液, 25 ℃避光孵育 30 min, 测定 490 nm 处光密度。

根据活性氧检测试剂盒说明书检测细胞内 ROS 水平。于 37 ℃孵育 HUVEC-12 细胞 (5×10^6 /mL) 与 DCFH-DA (10 μ mol/L) 探针 35 min 后, PBS 洗去未结合的探针, 进入细胞的 DCFH-DA 被细胞内酯酶水解为 DCFH 后, 再被 ROS 氧化

为有荧光的 DCF，这可反映细胞内 ROS 水平。实验重复 3 次。

应用 Caspase-3 活性检测试剂盒检测细胞上清液中 Caspase-3 活性。分别裂解各组细胞后取上清，Bradford 法测定细胞液蛋白浓度，将其调整为 2 mg/mL，于 50 μL 待测样品中加入 2 mmol/L Caspase-3 显色底物 Ac-DEVD-pNA 10 μL，并与 40 μL 检测缓冲液混匀。37 ℃ 孵育 2 h 后，在 405 nm 波长处测定光密度。

2.4 细胞内 SOD、CAT 活性和 MDA、GSH 含有量测定 超声破碎培养后的各组 HUVEC-12 细胞，离心取上清 200 μL，分别按 SOD、CAT、MDA、GSH 检测试剂盒说明书操作后，在 550、240、532、412 nm 波长处测定光密度。

2.5 *SIRT1* 和 *PGC-1α* 基因表达测定 RNA 提取试剂盒提取细胞内总 RNA 后，反转录试剂盒进行逆转录。以管家基因 β -actin 为内标，逆转录后的 cDNA 为模板，实时荧光定量 PCR 仪上对各基因进行 PCR 扩增。反应体系为正反向引物各 0.4 μL，2 μL cDNA，0.4 μL ROX Reference Dye (50 ×)，6.8 μL RNase-free 水，10 μL Taq MasterMix，总体积 20 μL。引物序列为 *SIRT1* 正向 5'-GTCTGTGC-

CTTCCAGTTGCT-3'，反向 5'-CTGCTTGCTGTCCAT-ACCTG-3'；*PGC-1α* 正向 5'-TGGAGCAATAAAGCA AAGAGC-3'，反向 5'-GTGTAGGGAGGGTCATCGTT-3'； β -actin 正向 5'-GGAGATTACTGCCCTGGCTC-CTA-反向 5'-GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG-3'。反应条件为 95 ℃ 预变性 1 min，95 ℃ 变性 10 s，60 ℃ 退火延伸 31 s，重复 35 个循环。各基因相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示，每个样品重复 3 次。

2.6 *SIRT1*、*PGC-1α* 蛋白含有量测定 取各组细胞上清液，1 000 × *g* 离心 10 min 后去除沉淀，根据酶联免疫吸附试剂盒说明书测定 *SIRT1*、*PGC-1α* 蛋白含有量。

2.7 统计学处理 通过 SPSS 19.0 软件进行分析，数据以 (平均数 ± 标准差) 表示，组间比较采用单因素方差分析，以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 葛根素对 HUVEC-12 细胞活力的影响 与正常组比较，高糖组 HUVEC-12 细胞活力明显降低 ($P < 0.01$)；药物中、高剂量组显著高于高糖组 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)，但低剂量组作用不明显 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 葛根素对 HUVEC-12 细胞活力、LDH、ROS 水平和 Caspase-3 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$ ， $n = 3$)

Tab. 1 Effect of puerarin on HUVEC-12 cell viability, LDH, ROS release and Caspase-3 activities ($\bar{x} \pm s$ ， $n = 3$)

组别	剂量/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	正常组占比/%	LDH/ (% 正常组)	Caspase-3/ (% 正常组)	ROS/ (% 正常组)
正常组	—	100	100	100	100
高糖组	—	49.27 ± 7.03 ^{##}	254.46 ± 25.54 ^{##}	269.46 ± 24.33 ^{##}	205.25 ± 18.14 ^{##}
药物组	10	62.78 ± 6.25	225.15 ± 21.23	205.17 ± 20.22 [*]	189.27 ± 19.02
药物组	25	69.54 ± 5.21 [*]	189.58 ± 19.15 [*]	178.35 ± 16.21 [*]	170.39 ± 18.85
药物组	50	82.32 ± 5.53 ^{**}	130.72 ± 16.42 ^{**}	140.69 ± 13.94 ^{**}	145.23 ± 15.34 [*]

注：与高糖组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ ；与正常组比较，^{##} $P < 0.01$

3.2 葛根素对 LDH、ROS 水平和 Caspase-3 活性的影响 高糖组 LDH、ROS 水平和 Caspase-3 活性较正常组显著升高 ($P < 0.01$)。与高糖组比较，药物中、高剂量组 LDH 水平明显降低 ($P < 0.05$)，但低剂量组作用不明显 ($P > 0.05$)；高剂量组 ROS 水平明显降低 ($P < 0.05$)，但低、中剂量组作用不明显 ($P > 0.05$)；各剂量组均能明显降低 Caspase-3 活性 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)。见表 1。

3.3 葛根素对 CAT、SOD 活性和 MDA、GSH 含有量的影响 与正常组比较，高糖组 MDA 含有量明显增加，GSH 含有量和 CAT、SOD 活性明显下降 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与高糖组比较，药物各剂

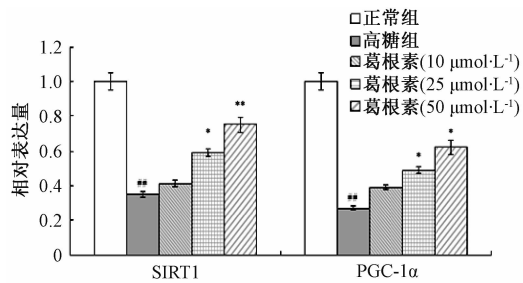
量组能明显降低 MDA 含有量 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)；中、高剂量组能明显增强 CAT 活性 ($P < 0.05$)，但低剂量组作用不明显 ($P > 0.05$)；各剂量组均能明显提高 SOD 活性 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)；中、高剂量组能明显增加 GSH 含有量 ($P < 0.01$)，但低剂量作用不明显 ($P > 0.05$)。见表 2。

3.4 葛根素对 *SIRT1*、*PGC-1α* mRNA 表达的影响 与正常组比较，高糖组 *SIRT1*、*PGC-1α* mRNA 表达显著下降 ($P < 0.01$)。与高糖组比较，药物中、高剂量组均显著上升 ($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)，并呈剂量依赖效应，但低剂量组变化不明显 ($P > 0.05$)。见图 1。

表2 葛根素对 CAT、SOD 活性和 MDA、GSH 含有量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Tab.2 Effects of puerarin on CAT, SOD activities and MDA, GSH contents ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	CAT/($\text{U} \cdot \text{mg prot}^{-1}$)	SOD /($\text{U} \cdot \text{mg prot}^{-1}$)	MDA/($\text{nmol} \cdot \text{mg prot}^{-1}$)	GSH/($\text{mg} \cdot \text{g prot}^{-1}$)
正常组	—	14.21 $\pm$ 1.56	33.32 $\pm$ 3.01	0.31 $\pm$ 0.02	3.84 $\pm$ 0.42
高糖组	—	7.35 $\pm$ 0.84 [#]	14.57 $\pm$ 1.13 ^{##}	0.55 $\pm$ 0.02 [#]	1.51 $\pm$ 0.34 ^{##}
药物组	10	6.27 $\pm$ 0.75	25.35 $\pm$ 2.34 [*]	0.43 $\pm$ 0.02 [*]	1.85 $\pm$ 0.32
药物组	25	9.59 $\pm$ 0.93 [*]	34.64 $\pm$ 2.85 [*]	0.32 $\pm$ 0.02 [*]	2.49 $\pm$ 0.38 ^{**}
药物组	50	12.48 $\pm$ 1.16 [*]	37.97 $\pm$ 3.21 ^{**}	0.29 $\pm$ 0.01 ^{**}	2.88 $\pm$ 0.35 ^{**}

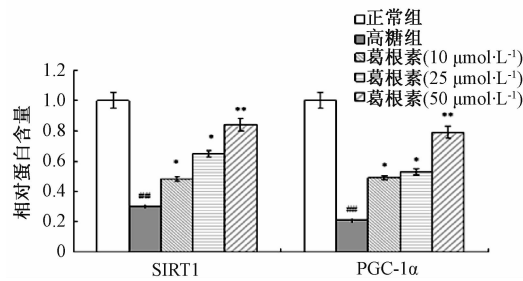
注:与高糖组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与正常组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$



注:与高糖组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与正常组比较,^{##} $P < 0.01$

图1 葛根素对 SIRT1、PGC-1α mRNA 表达的影响
Fig.1 Effects of puerarin on mRNA expressions of SIRT1 and PGC-1α

3.5 葛根素对 SIRT1、PGC-1α 蛋白含有量的影响 与正常组比较,高糖组 SIRT1、PGC-1α 蛋白含有量显著降低 ($P < 0.01$); 药物各剂量组显著高于高糖组,并呈剂量依赖效应 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见图2。



注:与高糖组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与正常组比较,^{##} $P < 0.01$

图2 葛根素对 SIRT1、PGC-1α 蛋白含有量的影响
Fig.2 Effects of puerarin on protein contents of SIRT1 and PGC-1α

4 讨论

高糖可导致血管内皮功能损伤,进而诱发糖尿病血管病变^[9],氧化应激是主要因素之一,此时 ROS 产生增多或清除能力降低,对糖尿病并发症的发展起到关键性作用。因此,本实验建立高糖诱导的 HUVEC-12 细胞损伤模型,用于探讨葛根素对

血管内皮细胞的保护作用。
乳酸脱氢酶 (LDH) 是一种稳定存在于细胞内的胞浆酶,其外渗可作为细胞膜损伤的重要指标,与细胞凋亡密切相关,故细胞培养液中其水平可代表细胞损伤程度。本实验发现,高糖组 HUVEC-12 细胞培养液中的 LDH 水平与正常组比较显著提高,而经中、高浓度葛根素处理后明显降低,表明该成分可减轻高糖诱导的 HUVEC-12 细胞损伤。作为凋亡的最终执行蛋白,Caspase-3 被激活后可诱导细胞凋亡^[10],本研究显示高糖诱导下其活性显著增强,而经葛根素处理后有所下降,表明该成分可降低 Caspase-3 活性来保护 HUVEC-12 细胞。

机体受到外界损伤条件刺激后,会生成大量 ROS,从而造成细胞损伤,其氧化细胞膜上脂类所产生的 MDA 已作为一种氧化应激的生物标记。SOD、CAT、GSH 作为重要的抗氧化酶,能通过清除 ROS 来保护细胞免受损伤。研究表明,SIRT1、PGC-1α 可通过提高抗氧化酶 CAT、SOD 活性和 GSH 含有量来增加对 ROS 的清除作用^[11-13],本实验发现高糖组细胞内 ROS、MDA 含有量明显增加,CAT、SOD 活性与 GSH 含有量显著下降,而经葛根素处理后恰好相反。

PGC-1α 位于 SIRT1 的下游区,后者不仅可提高前者的去乙酰化水平,还能增强其基因和蛋白表达水平。在氧化应激反应中,SIRT1 可调节 PGC-1α,促进 ROS 清除,增加抗氧化酶类活性,从而发挥抗氧化作用^[14],Wareski 等^[15]报道,过表达的 SIRT1 可通过促进 PGC-1α 转录来增强线粒体密度,从而提高神经细胞抗氧化应激能力。结果显示,与高糖组比较,葛根素干预后能显著提高 SIRT1、PGC-1α 基因表达量和蛋白含有量,表明该成分能通过激活 SIRT1/PGC-1α 信号通路来保护 HUVEC-12 细胞的氧化损伤。

综上所述,葛根素能提高高糖作用下 HUVEC-

12 细胞活力,降低 ROS、LDH 水平,Caspase-3 活性和 MDA 含有量,提高 CAT、SOD 活性和 GSH 含有量,同时还能增加 *SIRT1*、*PGC-1 α* 基因表达量和蛋白含有量,进而保护细胞。另外,葛根素还能激活 *SIRT1*/*PGC-1 α* 信号通路来保护血管内皮细胞,有望为防治糖尿病大血管合并症提供可行的方法。

参考文献:

[1] Guariguata L, Whiting D R, Hambleton I, *et al.* Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035 [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2013, 103(2): 137-149.

[2] Strojek K. Features of macrovascular complications in type 2 diabetic patients[J]. *Acta Diabetol*, 2003, 40(2): 334-337.

[3] Susanti V Y, Sasaki T, Yokota-Hashimoto H, *et al.* Sirt1 rescues the obesity induced by insulin-resistant constitutively-nuclear FoxO1 in POMC neurons of male micee[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2014, 22(10): 2115-2119.

[4] Pantazi E, Zaouali M A, Bejaoui M, *et al.* Role of sirtuins in ischemia reperfusion injury[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(43): 7594-7602.

[5] Amat R, Planavila A, Chen S L, *et al.* SIRT1 controls the transcription of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma Co-activator-1alpha (PGC-1alpha) gene in skeletal muscle through the PGC-1alpha autoregulatory loop and interaction with MyoD [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (33): 21872-21880.

[6] Zhou Y X, Zhang H, Peng C. Puerarin: a review of pharmacological effects[J]. *Phytother Res*, 2014, 28(7): 961-975.

[7] Yang Y, Chin A, Zhang L, *et al.* The role of traditional Chinese medicines in osteogenesis and angiogenesis[J]. *Phytother Res*, 2014, 28(1): 1-8.

[8] Xu X, Zheng N, Chen Z, *et al.* Puerarin, isolated from *Pueraria lobata* (Willd.), protects against diabetic nephropathy by attenuating oxidative stress [J]. *Gene*, 2016, 591 (2): 411-416.

[9] 柴伟栋,陈家伟,沈捷,等. 葡萄糖、胰岛素和氧化低密度脂蛋白对内皮细胞内皮素-1 生成及其 mRNA 水平的影响[J]. 中国微循环, 2003, 7(2): 74-77.

[10] Yeh J Y, Huang W J, Kan S F, *et al.* Effects of bufalin and einobufagin on the proliferation of androgen dependent and independent prostate cancer cells[J]. *Prostate*, 2003, 54 (2): 112-124.

[11] Ou X, Lee M R, Huang X, *et al.* SIRT1 positively regulates autophagy and mitochondria function in embryonic stem cells under oxidative stress[J]. *Stem Cells*, 2014, 32(5): 1183-1194.

[12] Antero S, Kai K, Anu K. Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: Impact on the aging process[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(2): 3834-3859.

[13] 王会奇,脱厚珍. 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助活化因子-1 α 的研究进展[J]. 临床和实验医学杂志, 2013, 12 (19): 1590-1592.

[14] Anderson R M, Barger J L, Edwards M G, *et al.* Dynamic regulation of PGC-1alpha localization and turnover implicates mitochondrial adaptation in calorie restriction and the stress response[J]. *Aging Cell*, 2008, 7(1): 101-111.

[15] Wareski P, Vaarmann A, Choubey V, *et al.* PGC-1 α and PGC-1 β regulate mitochondrial density in neurons[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(32): 21379-21385.