

电针刺激对膝骨关节炎软骨细胞 SIRT1 及 p53 表达的影响

虞记华¹ 艾海波² 彭娟¹ 张弛¹ 胥方元¹

¹西南医科大学附属医院康复医学科,西南医科大学康复医学系,泸州 646000; ²绵阳市第三人民医院康复科,绵阳 621000

通信作者:胥方元,Email:x5144@163.com

【摘要】 目的 观察电针刺激对膝骨关节炎(OA)软骨细胞中沉默信息调节因子同源蛋白 1 (SIRT1) 及 p53 肿瘤抑制基因表达的影响。**方法** 采用随机数字表法将 36 只实验兔分为对照组、模型组及电针组,每组 12 只。对照组给予正常饲养,无特殊干预;采用石膏固定法将模型组、电针组实验兔左膝关节伸直位固定 6 周制成 OA 模型。制模结束后解除石膏固定,将电针组实验兔绑于治疗台上给予电针刺激,连续治疗 16 d;模型组仅固定于治疗台上且不予电针刺激。待实验结束后按照 Mankin 评分标准分别对 3 组实验兔关节软骨肉眼观、光镜下苏木精-伊红(HE)染色结果进行计分;检测各组实验兔软骨细胞 SIRT1 及 p53 免疫组化染色灰度值。**结果** 电针组关节软骨组织病理学分级、大体形态 Mankin 评分及 HE 染色各项 Mankin 评分均明显优于模型组水平($P<0.05$);3 组实验兔软骨细胞中均检测到 SIRT1 及 p53 表达;通过进一步比较发现,模型组与对照组、电针组比较,其 SIRT1 灰度值明显增高($P<0.01$),p53 灰度值明显降低($P<0.01$),表明模型组 SIRT1 表达较电针组、对照组明显降低,p53 表达较电针组、对照组明显增高。**结论** 电针干预能有效改善膝 OA 病理表现,可能与上调软骨细胞 SIRT1、抑制关节软骨细胞凋亡、促进细胞再生等多重途径有关。

【关键词】 电针; 骨关节炎; 软骨; 沉默信息调节因子同源蛋白 1

基金项目:四川省卫生厅科研基金资助项目(050075)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.02.006

Electro-acupuncture regulates the expression of the silence regulator homolog 1 and p53 tumor suppressor genes in the chondrocytes of osteoarthritic knees

Yu Jihua¹, Ai Haibo², Peng Juan¹, Zhang Chi¹, Xu Fangyuan¹

¹Department of Rehabilitation Medicine, The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; ²Department of Rehabilitation Medicine, The Third People's Hospital of Mianyan, Mianyan 621000, China
Corresponding author: Xu Fangyuan, Email: x5144@163.com

【Abstract】 Objective To investigate any effect of electro-acupuncture stimulation on the expression of the silence regulator homolog 1 (SIRT1) and p53 tumor suppressor genes in chondrocytes of persons with osteoarthritis (OA). **Methods** Thirty-six experimental rabbits were randomly divided into a control group, a model group and an electro-acupuncture group, each of 12. One knee of each rabbit in the model and electro-acupuncture groups was fixed for 6 weeks to induce OA, while the control group was not given any intervention. The rabbits in the electro-acupuncture group were then treated with electro-acupuncture for 16 days; the model group rabbits were fixed to the treatment table but were not given electro-acupuncture. At the end of the experiment, the articular cartilage was hematoxylin-eosin (HE) stained for microscopic examination and Mankin scoring. The chondrocytes' gray values after immunohistochemical staining allowed determination of the SIRT1 and p53 expression levels. **Results** The average histopathological grade, Mankin score and stained Mankin score of the electro-acupuncture group were all superior to the model group's averages. SIRT1 and p53 expression were detected in all three groups, but the SIRT1 gray value of the model group was significantly higher than the other two groups' averages. The average p53 gray value in the model group was significantly lower. **Conclusions** Electro-acupuncture can effectively alleviate the symptoms of knee OA, perhaps by up-regulating SIRT1 expression in the cartilage, inhibiting apoptosis of articular chondrocytes and generally promoting cell regeneration.

【Key words】 Electro-acupuncture; Osteoarthritis; Cartilage; Silent information regulator 2 homolog 1

Funding: A Sichuan Provincial Health Department Research Fund Project (050075)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.02.006

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 患者多伴有慢性疼痛、活动障碍, 是一种临床常见慢性代谢性疾病^[1], 严重影响患者生活质量^[2]。目前普遍认为, OA 是在生物性及机械性因素共同作用下, 关节软骨合成及分解代谢失去平衡, 诱发关节软骨细胞凋亡、细胞外基质及软骨下骨退变^[3-4]。沉默信息调节因子 2 (silent information regulator 2, Sir2) 广泛存在于原核及真核生物中, 人类 Sir2 家族中共有 7 个同源蛋白, 即 SIRT1 (silent information regulator 2 homolog protein1, SIRT1)-SIRT7^[5-6], 其中 SIRT1 与 Sir2 同源性最高, 相关研究报道数量也最多^[7]。p53 肿瘤抑制基因 (p53 tumor suppressor gene, p53) 是一种能编码 p53 蛋白的基因^[8], 该蛋白能阻断 DNA 复制能力, 激活凋亡或生长抑制途径, 参与细胞增殖中细胞凋亡、细胞周期、DNA 反应相关基因表达, 抑制肿瘤活性^[9]; 在 OA 模型中 p53 基因高表达会加速软骨细胞衰老及凋亡^[10]。相关研究发现, SIRT1 与软骨细胞凋亡、衰老关系密切, 能保护 OA 关节中软骨细胞, 通过脱乙酰化 p53 来调控细胞凋亡^[11], 其可能作用机制是 p53 沉默 miR-34a 肿瘤抑制基因, 阻止该基因诱导细胞周期停止或细胞凋亡^[12-13]。miR-34a 能调控细胞周期 G1 向 S 期转换, 抑制增殖, 与 OA 软骨细胞凋亡关系密切^[14-16]。本实验通过对关节软骨形态学变化、HE 染色及 p53、SIRT1 免疫组织化学 (免疫组化) 灰度值进行分析, 初步探讨电针治疗 OA 的可能作用机制。现报道如下。

材料与方法

一、实验材料

本研究选取 5 月龄健康新西兰大耳兔 36 只, 雌雄不限, 质量 (2.20±0.25) kg, 由西南医科大学动物实验中心提供, 实验动物使用许可证号为 SYXK (川) 2013-065。本实验经西南医科大学动物实验伦理审查批准 (20180306055), 符合西南医科大学伦理委员会制订的动物实验准则。本研究主要试剂及仪器包括: 二甲苯、5% 硝酸脱钙液、苏木素、磷酸盐缓冲液、伊红、10% 中性福尔马林 (西南医科大学中心实验室提供)、p53 及 SIRT1 免疫组化试剂盒 (北京博奥申生物工程有限公司提供)、针灸针 (北京汉医医疗器械公司提供)、6805-C 型低频电针治疗仪 (汕头医疗设备有限公司提供)、OLYMPUS Spot M20-35S 及 CH-20 型光学显微镜 (日本 OLYMPUS 公司)、LEICA DM-4000B 型荧光显微分析系统 (德国 LEICA 公司) 等。

二、实验方法

采用随机数字表法将上述 36 只实验兔分为 3 组, 每组 12 只。对照组正常饲养, 无特殊干预; 模型组、电针组采用石膏固定法将实验兔左膝关节伸直位固定 6

周, 制成 OA 模型。固定 6 周后对比观察造模侧膝关节与健侧膝关节, 如造模侧膝关节出现肿胀、屈伸功能障碍, 视为 KOA 制模成功^[17]。制模结束后解除石膏固定, 将电针组实验兔绑于治疗台上, 参照《实验针灸学》中“常用实验动物针灸穴位”相关规定^[18], 选取左后肢阳陵泉、内膝眼、足三里、血海等穴位进针, 设置间断波, 电针频率 4~8 Hz, 脉冲宽度 0.5 ms, 输出电压 2 V, 输出电流强度 0.5 mA, 每天治疗 20 min, 连续治疗 16 d。在电针组治疗期间, 模型组实验兔亦绑于治疗台上 20 min, 期间不给予特殊处理。

三、组织切片制作

于实验进行 58 d 时采用耳缘静脉空气注射法将所有实验兔处死, 取左侧股骨内髁软骨并制成大小约 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 标本, 置于 10% 中性甲醛溶液中固定 48 h 后取出, 用流水冲洗 2~3 h 后经 5% 硝酸脱钙液脱钙 38~48 h, 再用流水冲洗 2~3 h 后置于 10% 中性甲醛溶液中固定, 最后将标本用石蜡包埋, 垂直于软骨表面进行组织切片 (片厚 5 μm)。

四、标本病理学评分、HE 染色及 p53、SIRT1 灰度值检测

各组实验兔标本切片经 HE 染色及 SIRT1、p53 免疫组化处理后, 参照彭太平法组织病理学分级^[19]及 Mankin 评分标准评价各组软骨切片大体形态及软骨细胞 HE 染色情况; 于 200 倍光镜视野下观察各组实验兔免疫组化切片 p53、SIRT1 免疫反应部位, 采用医学图像分析软件 MIAS 的静态灰度分析模块, 将各组标本灰度值与磷酸盐缓冲液阴性片进行对比。灰度值高低与免疫组化实际表达值呈负相关性, 即灰度值越大, 免疫组化表达水平越低^[20]。

五、统计学分析

本研究所得计量数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 17.0 版统计学软件包进行数据分析, 关节软骨的彭太平法组织病理学分级数据组间比较采用等级资料两样本秩和检验, 关节软骨肉眼大体观察 Mankin 评分、关节软骨细胞各项 HE 染色指标 Mankin 评分及 p53、SIRT1 免疫组化灰度值 3 组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用最小显著差异法 (least-significant difference, LSD), $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组实验兔病理组织学观察

对照组关节腔内未见明显关节腔积液, 软骨外观呈蓝白色, 表面光滑、明亮、无裂纹; 模型组关节腔内可见明显积液, 软骨偏暗黄或呈米黄色, 无光泽, 表面粗糙不平, 有裂隙、裂纹、糜烂及溃疡形成, 关节负重面、软骨下方骨质外漏、骨赘形成。电针组软骨呈淡黄色,

表面不平整,有散在点状充血,偶见糜烂,关节内有少量关节积液伴滑膜增生。模型组、电针组关节软骨彭太平法组织病理学分级及 Mankin 评分结果详见表 1、表 2,表中数据经统计学比较,发现模型组、电针组关节软骨肉眼观察结果组织病理学分级(彭太平法)组间差异具有统计学意义($P<0.05$),而光镜观察结果组织病理学分级(彭太平法)组间差异无统计学意义($P>0.05$);模型组、电针组关节软骨 Mankin 评分结果组间差异具有统计学意义($P<0.01$)。

表 1 各组实验兔关节软骨彭太平法组织病理学分级结果比较(只)

组别	只数	肉眼观察分级			光镜观察分级			
		I 级	II 级	III 级	I 级	II 级	III 级	IV 级
对照组	12	12	0	0	12	0	0	0
模型组	12	0	3	9	0	1	4	7
电针组	12	1	9	2 ^a	1	4	5	2

注:与模型组比较,^a $P<0.05$

表 2 各组实验兔关节软骨切片 Mankin 评分结果比较(分, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	Mankin 评分
对照组	12	0
模型组	12	10.08 $\pm$ 1.08
电针组	12	5.50 $\pm$ 2.02 ^a

注:与模型组比较,^a $P<0.01$

二、各组实验兔关节软骨 HE 染色情况分析

通过观察各组实验兔 HE 染色,发现对照组软骨表面平整光滑,厚薄均匀,基质着染均匀,软骨细胞整齐排列、大小一致、潮线完整;模型组软骨表层有溃烂甚至缺失,厚度明显变薄,染色明显减退,细胞数量显著减少,可见大量不规则形状的大胞体软骨细胞簇聚,潮线非常紊乱;电针组关节软骨表面较规整,偶见小裂隙,软骨细胞排列较整齐,数量明显增多,细胞偶见破裂,厚度明显增厚,染色轻度减退,潮线轻度紊乱。通过组间比较发现,电针组软骨结构、软骨细胞、HE 染

色、潮线完整性改良 Mankin 评分与模型组间差异均具有统计学意义($P<0.01$),具体数据见表 3、图 1。

表 3 3 组实验兔关节软骨各项改良 Mankin 评分结果比较(分, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	软骨结构评分	软骨细胞评分	潮线完整性评分	HE 染色评分
对照组	12	0	0	0	0
模型组	12	3.00 $\pm$ 0.60	2.66 $\pm$ 0.49	1.66 $\pm$ 0.49	2.75 $\pm$ 0.45
电针组	12	1.50 $\pm$ 0.79 ^a	1.41 $\pm$ 0.51 ^a	1.33 $\pm$ 0.49 ^a	1.16 $\pm$ 0.38 ^a

注:与模型组比较,^a $P<0.01$

三、各组实验兔 SIRT1 及 p53 免疫组化结果比较

通过光镜观察发现,软骨细胞中 SIRT1、p53 免疫组化阳性细胞核均呈黄褐色。对照组关节软骨中 SIRT1 免疫组化阳性细胞核增多且大量细胞核浓染,p53 免疫组化阳性细胞核增多并只有少量细胞核淡染;模型组关节软骨中 SIRT1 免疫组化阳性细胞核减少且呈浅黄褐色淡染,p53 免疫组化阳性细胞核减少并多呈现黄褐色浓染;电针组关节软骨中 SIRT1 免疫组化阳性细胞核呈黄褐色,且染色较深,但数量略少于对照组,p53 免疫组化阳性细胞核呈少量黄褐色着色,但细胞数量略多于对照组。3 组实验兔 SIRT1、p53 免疫组化灰度值经统计学比较,发现组间差异均具有统计学意义($P<0.01$);进一步比较发现,电针组、模型组 SIRT1、p53 免疫组化灰度值与对照组间差异均具有统计学意义($P<0.01$),并且电针组 SIRT1、p53 免疫组化灰度值与模型组间差异亦具有统计学意义($P<0.01$),具体情况见表 4 及图 2、图 3。

表 4 各组实验兔关节软骨 SIRT1 及 p53 免疫组化灰度值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	SIRT1 灰度值	p53 灰度值
对照组	12	95.28 $\pm$ 3.22	154.27 $\pm$ 6.43
模型组	12	140.94 $\pm$ 6.75 ^a	93.90 $\pm$ 3.73 ^a
电针组	12	100.69 $\pm$ 4.66 ^{ab}	114.40 $\pm$ 5.86 ^{ab}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

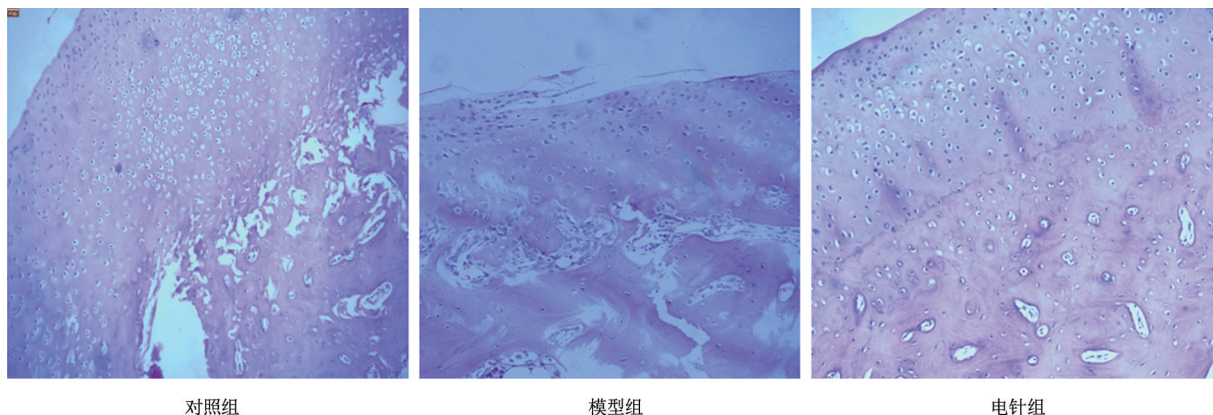
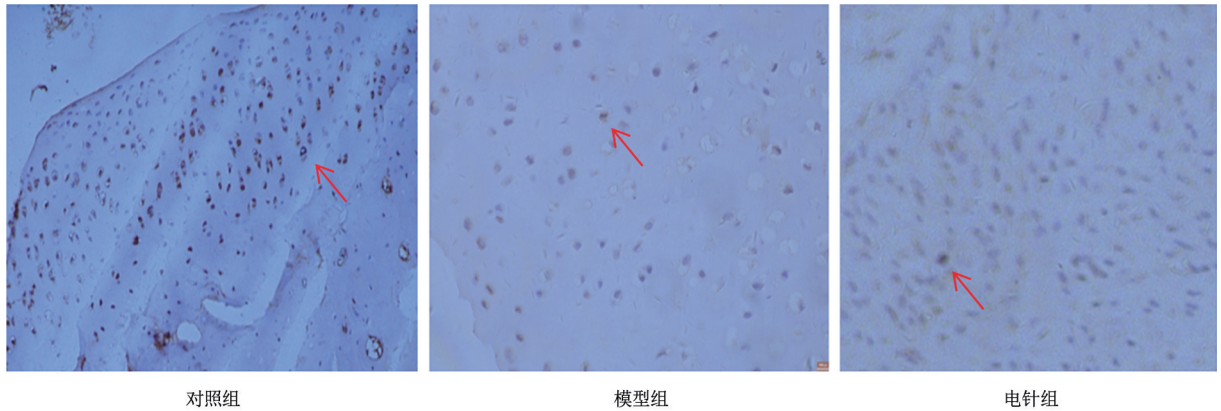
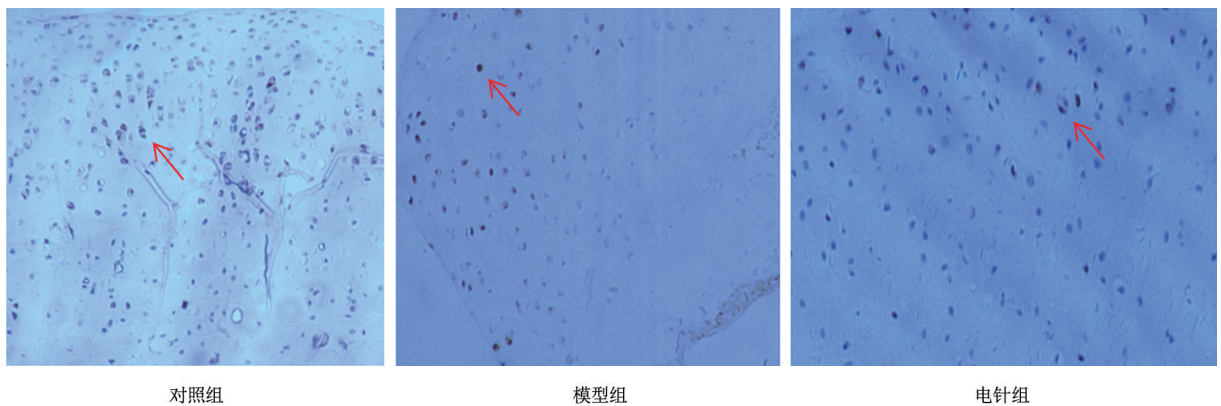


图 1 对照组、模型组及电针组关节软骨 HE 染色观察($\times 100$)



注:箭头处为 SIRT1 免疫组化阳性细胞核
图 2 对照组、模型组及电针组 SIRT1 染色结果比较(免疫组化染色,×200)



注:箭头处为 p53 免疫组化阳性细胞核
图 3 对照组、模型组及电针组 p53 染色结果比较(免疫组化染色,×200)

讨 论

本研究结果显示,电针组实验兔关节情况相对较好,仅出现少量关节内积液、轻度滑膜增生,关节软骨表面粗糙但程度较轻;HE 染色显示软骨表面较规则,裂隙少,细胞排列较整齐;与模型组比较,发现电针组软骨细胞数量明显增多,软骨层明显增厚,潮线轻度紊乱,并且电针组关节软骨组织病理学分级、大体形态 Mankin 评分及 HE 染色各项 Mankin 评分均优于模型组水平,同时电针组 SIRT1 免疫组化灰度值明显低于模型组,p53 免疫组化灰度值明显高于模型组,与对照组数值较接近,表明电针刺激能增加软骨细胞数量,促进关节软骨形态恢复,从而改善 OA 临床症状。

OA 可发生于膝、髋、颈、腰椎等承重关节,严重影响患者生活质量^[21],且随着社会人口老龄化,OA 发病率逐年升高^[22]。有学者指出,膝关节周围组织发生损伤、退变或长期关节废用等均会引起不同程度腔内关节滑液量减少^[23],导致关节内软骨表面负荷增加、软骨面摩擦力增大,引起关节软骨细胞凋亡,膝关节发生退行性变性^[24]。相关研究表明,SIRT1 可直接乙酰化

p53 从而调节软骨细胞凋亡^[25],亦可通过介导核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路间接调节 p53 活性,从而调控软骨细胞凋亡及增殖^[26];同时 p53 负反馈可激活或沉默 miR-34a 基因,促进或阻止该基因诱导细胞周期停止或凋亡^[12-13]。miR-34a 基因可再转染 SIRT1,调控 p53 脱乙酰化水平,从而上调或下调 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因关联 x 蛋白(B cell lymphoma/leukemia-2 associated protein x, Bax)、B-细胞淋巴瘤/白血病-2 (B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2) 因子水平,最终调控软骨细胞凋亡^[27];其中 Bax 蛋白水平升高能加速线粒体孔开放,释放细胞素 c,随后胱天蛋白酶被激活,最终导致细胞凋亡^[28]。Bcl-2 是细胞凋亡抑制因子,与细胞存活期密切相关;在 p53 介导的细胞凋亡中,促凋亡因子 Bax 蛋白显著上调,抗凋亡因子 Bcl-2 蛋白显著下调^[29]。本研究电针组 SIRT1 免疫组化灰度值明显低于模型组,p53 免疫组化灰度值明显高于模型组,且电针组 SIRT1、p53 免疫组化灰度值与对照组接近,表明电针刺激可上调关节软骨 SIRT1 表达,介导 p53/细胞凋亡蛋白 Bax 以及 NF- κ B 等多种信号通路,抑制软骨细胞凋亡,促进细胞再生,减轻关节

软骨破坏,从而延缓 OA 进程。

综上所述,本研究结果表明,电针干预可能通过激活软骨细胞 SIRT1,介导 p53/Bax 以及 NF- κ B 信号通路,抑制软骨细胞凋亡,促进软骨细胞再生,从而延缓 OA 进程,可作为临床治疗 OA 的基础措施之一。需要指出的是,目前临床针对电针治疗 OA 的刺激频率、强度、时间、波型等尚无统一标准,其确切治疗机制也尚未明确,均有待后续研究进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] 王丹碧,李雪萍.脂代谢紊乱与骨性关节炎的关系研究进展[J].中华物理医学与康复杂志,2019,41(5):396-400. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2019.05.022.
- [2] Yu J, Liang F, Huang H, et al. Effects of loading on chondrocyte hypoxia, HIF-1 α and VEGF in the mandibular condylar cartilage of young rats[J]. Orthod Craniofac Res, 2018, 21(1):41-47. DOI:10.1111/ocr.12212.
- [3] Poulet B, Staines KA. New developments in osteoarthritis and cartilage biology[J]. Curr Opin Pharmacol, 2016, 28:8-13. DOI:10.1016/j.coph.2016.02.009.
- [4] Queen RM, Sparling TL, Schmitt D. Hip, knee, and ankle osteoarthritis negatively affects mechanical energy exchange[J]. Clin Orthop Relat Res, 2016, 474(9):2055-2063. DOI:10.1007/s11999-016-4921-1.
- [5] Frye RA. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like protein[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 273(2):793-798. DOI:10.1006/bbrc.2000.3000.
- [6] Dali-Youcef N, Lagouge M, Froelich S, et al. Sirtuins: the “magnificent seven”, function, metabolism and longevity[J]. Ann Med, 2007, 39(5):335-345. DOI:10.1080/07853890701408194.
- [7] Kwon HS, Ott M. The ups and downs of SIRT1[J]. Trends Biochem Sci, 2008, 33(11):517-525. DOI:10.1016/j.tibs.2008.08.001.
- [8] Kazantseva M, Eiholzer RA, Mehta S, et al. Elevation of the Tp53 isoform Delta1 33 p53 beta in glioblastomas: an alternative to mutant p53 in promoting tumour development[J]. J Pathol, 2018, 246(1):77-88. DOI:10.1002/path.5111.
- [9] Labuschagne CF, Zani F, Vousden KH. Control of metabolism by p53-cancer and beyond[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2018, 1870(1):32-42. DOI:10.1016/j.bbcan.2018.06.001.
- [10] Song W, Zhang Y, Wang J, et al. Antagonism of cysteinyl leukotriene receptor 1 (cysLTR1) by montelukast suppresses cell senescence of chondrocytes[J]. Cytokine, 2018, 103:83-89. DOI:10.1016/j.cyto.2017.12.021.
- [11] 周绪昌,邹军.p53 调控骨关节炎软骨细胞凋亡[J].中国生物化学与分子生物学报,2019,35(3):280-285. DOI:10.13865/j.cnki.cjbm.2019.03.07.
- [12] Chang TC, Wentzel EA, Kent OA, et al. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis[J]. Mol Cell, 2007, 26(5):745-752. DOI:10.1016/j.molcel.2007.05.010.
- [13] Raver-Shapira N, Marciano E, Meiri E, et al. Transcriptional activation of miR-34a contributes to p53-mediated apoptosis[J]. Mol Cell, 2007, 26(5):731-743. DOI:10.1016/j.molcel.2007.05.017.
- [14] Song Z, Zhang C, He L, et al. Uncovering transcription factor and microRNA risk regulatory pathways associated with osteoarthritis by network analysis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 500(4):902-906. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.04.189.
- [15] Li C, Hu Q, Chen Z, et al. MicroRNA-140 suppresses human chondrocytes hypertrophy by targeting SMAD1 and controlling the bone morphogenetic protein pathway in osteoarthritis[J]. Am J Med Sci, 2018, 355(5):477-487. DOI:10.1016/j.amjms.2018.01.004.
- [16] Guan YJ, Li J, Yang X, et al. Evidence that miR-146a attenuates aging- and trauma-induced osteoarthritis by inhibiting Notch1, IL-6, and IL-1 mediated catabolism[J]. Aging Cell, 2018, 17(3):e12752. DOI:10.1111/acer.12752.
- [17] 汤晓晨,俞峰,姜宏,等.兔膝关节骨性关节炎动物模型的复制与评价[J].南京中医药大学学报,2014,30(5):458-460. DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2014.05.047.
- [18] 李丽,李宁,吴滨.针灸治疗膝关节骨性关节炎的文献计量学分析[J].中国针灸,2007,27(11):862-865.
- [19] 彭太平,潘秉龙,汤成华,等.益肾蠲痹液离子导入治疗骨性关节炎的实验研究[J].中医正骨,1998,10(5):6-8. [20] 郑伟,汪宝军,叶立民.灰度值、光学密度值与免疫组化片阳性表达强弱的关系[J].临床与实验病理学杂志,2003,19(5):566-568.
- [21] Funck-Brentano T, Cohen-Solal M. Subchondral bone and osteoarthritis[J]. Curr Opin Rheumatol, 2015, 27(4):420-426. DOI:10.1097/BOR.0000000000000181.
- [22] 黄媛霞,徐海斌,郭春.白细胞介素-1 β 、肿瘤坏死因子 α 及基质金属蛋白酶 13 在骨性关节炎中的表达及相关性[J].广东医学,2017,38(15):2301-2304. DOI:10.3969/j.issn.1001-9448.2017.15.011.
- [23] Fatimah N, Salim B, Raja E, et al. Predictors of response to intra-articular steroid injections in patients with osteoarthritis of the knee joint[J]. Clin Rheumatol, 2016, 35(10):1-7. DOI:10.1007/s10067-016-3365-z.
- [24] Pountos I, Giannoudis PV. Modulation of cartilage's response to injury: Can chondrocyte apoptosis be reversed? [J]. Injury, 2017, 48(12):2657-2669. DOI:10.1016/j.injury.2017.11.032.
- [25] Kobayashi Y, Furukawa-Hibi Y, Chen C, et al. SIRT1 is critical regulator of FOXO-mediated transcription in response to oxidative stress[J]. Int J Mol Med, 2005, 16(2):237-243.
- [26] Liu B, Lei M, Hu T, et al. Inhibitory effects of SIRT1720 on the apoptosis of rabbit chondrocytes by activating SIRT1 via p53/bax and NF- κ B/PGC-1 α pathways[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2016, 36(3):350-355. DOI:10.1007/s11596-016-1590-y.
- [27] Yan S, Wang M, Zhao J, et al. MicroRNA-34a affects chondrocyte apoptosis and proliferation by targeting the SIRT1/p53 signaling pathway during the pathogenesis of osteoarthritis[J]. Int J Mol Med, 2016, 38(1):201-209. DOI:10.3892/ijmm.2016.2618.
- [28] Wang W, Zhang Z, Guo Y, et al. Carbon disulfide induces mitochondria-mediated apoptosis in sertoli-germ cells coculture[J]. Mol Cell Toxicol, 2015, 11(3):387-388. DOI:10.1007/s13273-015-0016-4.
- [29] Martin DA, Elkon KB. Mechanisms of apoptosis[J]. Rheum Dis Clin North Am, 2004, 30(3):441-454. DOI:10.1016/j.rdc.2004.04.008.

(修回日期:2019-11-13)

(本文编辑:易浩)