

文章编号 1006-8147(2019)05-0466-05

论 著

雷公藤甲素上调 PRDX2 抑制 2 型糖尿病肾病的氧化应激状态

姚晶瑞^{1,2}, 姜埃利¹, 王立华¹, 魏芳¹, 陈海燕¹, 于海波¹, 孟甲¹

(1.天津医科大学第二医院肾脏病血液净化科,天津 300211;2.天津市海河医院肾内科,天津 300350)

摘要 目的:通过观察雷公藤甲素对 2 型糖尿病肾病小鼠肾脏和人肾小球系膜细胞氧化应激的影响,探讨雷公藤甲素改善 2 型糖尿病肾病的分子机制。方法:体内实验分 3 组:C57 小鼠对照组、KK-Ay 小鼠模型组和 KK-Ay 小鼠加用雷公藤甲素干预组。雷公藤甲素 200 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 灌胃 12 周后取肾脏组织进行 HE 染色;体外实验采用人肾小球系膜细胞为研究对象,分为正常糖组、高糖刺激模型组和雷公藤甲素干预组 3 组。分别用含有 5.5 mmol/L(培养基组成)的 D-葡萄糖、30 mmol/L 的 D-葡萄糖、及 30 mmol/L 的 D-葡萄糖加 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的雷公藤甲素培养 24 h。采用 ELISA 法检测小鼠肾脏和人肾小球系膜细胞中 SOD 活性和 MDA 含量。Western blot 方法检测各组小鼠肾脏和人肾小球系膜细胞中 PRDX2 的蛋白表达量。结果:体内外实验结果均显示,与相应对照组相比,2 型糖尿病肾病小鼠模型组肾脏和人肾小球系膜细胞高糖刺激模型组细胞中 SOD 活性明显下降,MDA 含量明显增加,PRDX2 蛋白表达水平明显降低($P<0.05$);雷公藤甲素干预组较模型组 SOD 活性明显升高,MDA 含量明显减少,同时 PRDX2 蛋白表达水平明显增加($P<0.05$)。结论:雷公藤甲素可以通过上调 PRDX2 抑制 2 型糖尿病肾病肾脏氧化应激状态。

关键词 PRDX2;雷公藤甲素;糖尿病肾病;人肾小球系膜细胞

中图分类号 R587.1

文献标志码 A

Inhibition of Triptolide on oxidase stress via PRDX2 expression in diabetic nephropathy

YAO Jing-rui^{1,2}, JIANG Ai-li¹, WANG Li-hua¹, WEI Fang¹, CHEN Hai-yan¹, YU Hai-bo¹, MENG Jia¹

(1.Department of Renal Disease and Blood Purification, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2.Department of Nephrology, Haihe Hospital, Tianjin 300350, China)

Abstract **Objective:** To study the effect of Triptolide on oxidase stress in kidneys of mice with diabetic nephropathy and human mesangial cells. **Methods:** Three groups of mice were used in the in vivo experiments. The three groups were C57 mice controls, KK-Ay mice models, and test group of KK-Ay mice models by triptolide treatment. At the end of treatment, histopathological examination was done to examine the glomerular injury. The human mesangial cells were used in the in vitro experiments and were divided into three groups, the control group, the high glucose model group, and test group of high glucose by triptolide treatment. The MDA contents and the SOD activities in different groups were detected by ELISA. The PRDX2 protein levels were valued by Western blot. **Results:** The decreased SOD activities, the increased MDA contents, and the decreased PRDX2 protein levels were determined in kidney of KK-Ay mice models and the high glucose model group compared with the corresponding control groups ($P<0.05$). However, these three indexes were all reversed by the triptolide treatment in the test groups compared with the corresponding model groups ($P<0.05$). **Conclusion:** Triptolide may inhibit oxidase stress in diabetic nephropathy via upregulation of PRDX2 protein levels.

Key words PRDX2; triptolide; diabetic nephropathy; human mesangial cells

糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)是 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)最常见的微血管并发症之一,为引发终末期肾功能衰竭的首要原因^[1-2]。研究表明,我国成人糖尿病患病率逐年增高,目前糖尿病患者人数已近 1.139 亿,预计至 2030 年患者人数将超过 1.8 亿。这些患者中超过 1/3 的患者有可能发展为 DN 以及肾功能衰竭等,因此 DKD 一直是 T2DM 患者致残和致死的重要原因之

一^[3-4]。研究提示糖脂代谢紊乱所引起的氧化应激是 T2DM 多种并发症的共同机制之一。线粒体活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成过多与多种 T2DM 并发症发生存在关联^[5-6]。线粒体是高糖诱导 ROS 产生的重要部位。一方面,高血糖首先引起细胞内线粒体 ROS 生成增加,导致线粒体功能障碍进而活化氧化应激通路而引发组织损伤;另一方面,血糖升高时三羧酸循环生成大量还原性电子载体,使为 ROS 生成提供电子的中间物质存在时间延长,也促进了 ROS 的生成^[7-8]。雷公藤甲素(triptolide, TP)是目前已知的可以从中药雷公藤中分离出的活性最高

基金项目 天津市卫生行业 2012 重点攻关项目(12KG136)

作者简介 姚晶瑞(1982-),男,主治医师,硕士在读,研究方向:肾内;通信作者:姜埃利, E-mail:aili_j@163.com。

的环氧化二萜内酯化合物,也是雷公藤的主要有效药用成分之一。雷公藤甲素具有免疫抑制、抗炎及抗肿瘤等生物活性^[9-10]。近年研究结果显示 TP 治疗 DKD 也具有一定效果,推测 TP 主要是通过调控氧化应激相关通路来完成^[9-11]。因此,本研究旨在从 TP 调控氧化应激角度进一步研究 TP 对 DKD 的改善作用,并探讨其作用的分子机制。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂 雷公藤甲素购自中国国家药品生物制品检定所。RDX2 抗体购自 abcam 公司,肾小球系膜细胞实验室自留。DMEM 培养基、胎牛血清和胰蛋白酶购买自 Hyclone 公司。D-葡萄糖购买自天津索罗门生物科技有限公司。人肾小球系膜细胞(HRMCs)购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

1.2 实验动物 KK-Ay 小鼠 30 只和 C57 小鼠 15 只购买自北京华阜康科技股份有限公司。8 周龄,雄性,体质量(22±1.6)g。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组 小鼠在恒定室温和湿度条件下适应性喂养 1 周后, KK-Ay 小鼠随机分为 2 组,每组 15 只,分别为模型组和 TP 干预组。C57 小鼠作为对照组。各组分笼喂养,保持自由饮水和标准饮食,定期消毒。TP 干预组采用灌胃的方法,每天 1 次,200 μg/kg/d,连续灌胃 12 周。对照组和模型组给予等量生理盐水灌胃 12 周。

人肾小球系膜细胞使用 1640 基础培养基和浓度为 5% 的胎牛血清配制完全培养基,置于恒温 30℃, 5%CO₂ 的恒温培养箱中进行培养。正常生长的人肾小球系膜细胞接种于 6 孔板培养 24 h 后,分为 3 组,即继续普通培养基培养的对照组、培养基中给予 30 mmol/L D-葡萄糖培养 24 h 的高糖组及 30 mmol/LD-葡萄糖和 TP(10 μg/L)共同处理 24 h 的干预组。

1.3.2 病理学检查 于小鼠模型造模后 12 周,3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,无菌条件下取出各组小鼠肾脏组织,10%多聚甲醛固定 48 h,石蜡包埋,从肾脏组织中心部位连续切片,切片厚度为 4 μm,行苏木精-伊红(HE)染色,倒置相差显微镜下观察肾脏组织的形态学改变。

1.3.3 氧化应激因子检测 小鼠模型造模后 12 周,3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后,无菌条件下取出各组小鼠肾脏组织,充分研磨消化后离心,3 000 r/min 离心 10 min 取上清液。人肾小球系膜细胞加入 0.25% 胰酶消化后,血清中止消化,收集细胞,1 000 r/min 离心 8 min,将培养液吸净后加入 500 μL 0.01 mol/L

PBS,混匀制成细胞悬液,使用细胞超声仪中进行细胞破碎,每次 5 s,连续 20 次,间隔 10 s,总取样量为 200 μL。根据 ELISA 试剂盒说明书进行操作,酶标仪测定并计算丙二醛(Malondialdehyde,MDA)含量和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)活性。

1.3.4 硫氧还蛋白过氧化物酶 2(Peroxiredoxin-2, PRDX2)蛋白检测 采用 Western blot 检测方法。收集各组小鼠肾脏和各组细胞,提取蛋白后 95℃变性 7 min,取上清和 Marker 分别上样,于 10%的 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,转膜至硝酸纤维素膜,含 50 g/L 脱脂奶粉 TBST 封闭后,以 PRDX2 和 β-actin 抗体 4℃孵育过夜,洗膜,辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 1 h,ECL 显影,凝胶成像系统分析。实验重复 3 次。

1.3.5 免疫荧光检测 ROS 分析试剂盒(Beyotime Biotechnology Co.Ltd,S0033-1,中国上海)是一种利用荧光探针 DCFH-DA 检测细胞内 ROS 水平的试剂盒。根据说明书进行染色分析。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 16.0 统计软件分析数据(IBM 公司,美国),数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DKD 小鼠肾脏损伤情况 观察 HE 染色结果显示,对照组小鼠肾脏肾小球形态规则,无明显肾小球基底膜增厚及其他明显病变;模型组可见小鼠肾脏肾小球体积略增大,肾小球基底膜明显增厚、系膜基质增生,部分肾小球内皮细胞呈空泡变,而 TP 治疗后的小鼠肾脏肾小球的上述病理改变均有不同程度改善(图 1)。

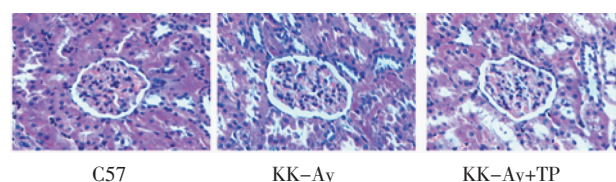


图 1 小鼠肾脏病理形态学观察

Fig 1 The morphological observation of mouse glomeruli in each group

2.2 DKD 小鼠肾脏氧化应激因子的测定 ELISA 检测结果显示,模型组小鼠肾脏组织 SOD 活性明显低于对照组(图 2A, $P < 0.05$),MDA 含量明显高于对照组(图 2B, $P < 0.05$)。相对于模型组,经 TP 干预,小鼠肾脏组织中 SOD 活性提高,MDA 含量有所减低(图 2)。

2.3 DKD 小鼠肾脏 PRDX2 的蛋白表达 Western

blot 结果显示,模型组 PRDX2 表达量明显低于对照组,而干预组明显高于模型组,见图 3。

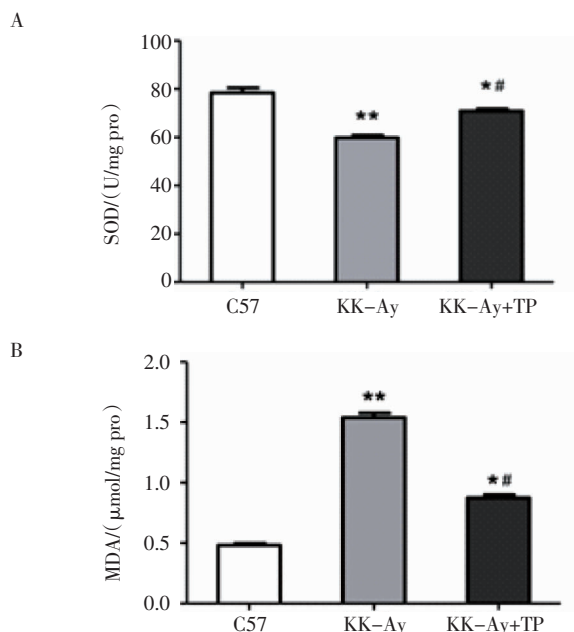


图 2 TP 对 DN 小鼠肾脏氧化应激状态影响

Fig 2 The effects of TP on oxidative stress in mouse kidney

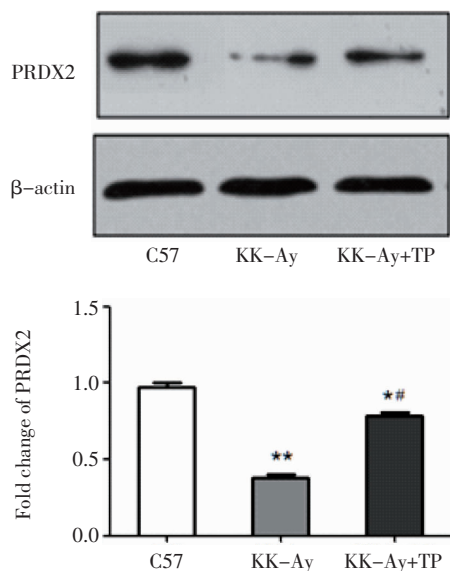


图 3 TP 对 DN 小鼠肾脏 PRDX2 表达量的影响

Fig 3 The effects of TP on PRDX2 protein expression levels in mouse kidney

2.4 人肾小球系膜细胞氧化应激因子的测定 高糖组细胞中 ROS 的产生明显高于对照组,而经 TP 干预后,人肾小球系膜细胞中 ROS 的产生减少(图 4A)。ELISA 检测结果显示,高糖组细胞 SOD 活性明显低于对照组(图 4B, $P < 0.05$),MDA 含量明显高于对照组(图 4C, $P < 0.05$)。相对于模型组,经 TP 干预,人肾小球系膜细胞中 SOD 活性有所升高,MDA 含量有所减少(图 4B、4C)。

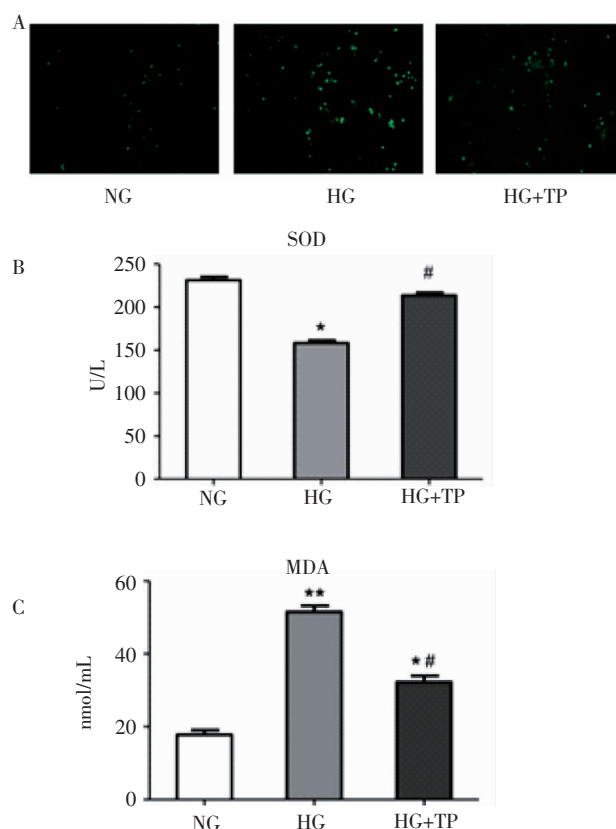


图 4 TP 对人肾小球系膜细胞氧化应激状态影响

Fig 4 The effects of TP on oxidative stress in human mesangial cells

2.5 人肾小球系膜细胞 PRDX2 的蛋白表达 Western blot 结果显示,人肾小球系膜细胞经高糖诱导后细胞中 PRDX2 蛋白表达量明显低于对照组(图 5, $P < 0.05$);但高糖组细胞经 TP 干预后,细胞中 PRDX2 蛋白表达量明显增加(图 5, $P < 0.05$)。

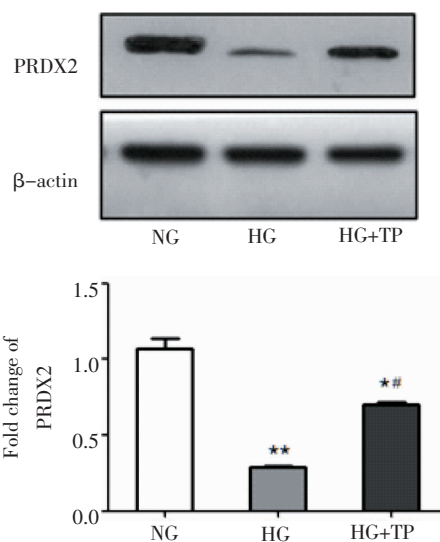


图 5 TP 对人肾小球系膜细胞 PRDX2 表达量的影响

Fig 5 The effects of TP on PRDX2 protein expression levels in human mesangial cells

3 讨论

雷公藤是一个有着悠久历史的中药。TP 作为雷公藤的主要活性成分之一,具有多种生物活性,其最初提取于雷公藤的根,目前已知其具有抗氧化、抗类风湿、抗老年性痴呆症、抗癌等功效。随着相关领域对 T2DM 及其多种并发症研究的不断深入,近年来有学者提出 TP 对于 DKD 具有治疗价值,具有潜在地改善肾脏损伤的能力^[12-13]。DKD 肾脏一般首先发生损伤的为内皮细胞,随后引起毛细血管通透性增加,蛋白等成分漏出至肾小球囊,继而刺激壁层上皮细胞增生^[14]。本研究小鼠模型肾脏的病理特征也支持此结论;研究中 DKD 组小鼠出现肾小球体积略增大,肾小球基底膜明显增厚、系膜基质增生,部分肾小球内皮细胞呈空泡变性,而经 TP 治疗后的肾小球上述病理改变有不同程度改善。研究报道 TP 可能通过调控 DKD 肾脏组织氧化应激状态而发挥治疗作用^[15-16]。因此本研究亦从 TP 调控氧化应激角度进一步研究了 TP 对 DKD 的改善作用,并探讨其作用的分子机制。

既往有研究选取新诊断未接受任何治疗措施的 T2DM 患者进行研究,发现机体的氧化应激程度在单纯的 T2DM 病理背景下即表现出增高的特征^[17];葡萄糖不耐受个体可以通过自我调节完成纠正或者成功代偿,最终保持机体的总抗氧化能力尚维系在正常范围内^[17-18];但是随着胰岛素抵抗指数以及体质指数的增高机体的氧化应激水平表现出明显的增高趋势,提示肥胖、胰岛素抵抗等在破坏 T2DM 患者氧化应激稳态过程中也发挥着重要作用^[17-18]。DKD 的存在又常常与胰岛素抵抗等因素重叠存在^[19-20],因而 DKD 患者群体普遍存在氧化应激稳态失衡状况^[19-21]。临床上使用多种血生化指标来间接反映机体氧化应激状态,比如超氧化物歧化酶 SOD 可以消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质,是生物体内重要的抗氧化酶。SOD 已被证实是生物体内清除自由基的首要物质,同多种器官组织的氧化应激状态关联密切^[22-23]。MDA 是自由基引起的脂质过氧化过程中生成的一种醛类物质,可以作为交联剂促进核酸、蛋白质及磷脂的交联,从而改变生物大分子的功能,因此临床也常常通过检测血清 MDA 含量来反映脂质过氧化程度^[24-25]。本研究体内外实验结果均显示,与相应对照组相比,DKD 小鼠模型组肾脏中和人肾小球系膜细胞高糖刺激模型组细胞中均存在 SOD 活性明显下降、MDA 含量明显增加现象,而 TP 干预后,较模型组相比,TP 干预可明显升高 SOD 活性和降低 MDA 含量,说明 TP 确

实能抑制 DKD 肾脏组织中的氧化应激现象。

PRDX2 属于过氧化物酶家族的成员,具有利用硫氧化物还原酶作为电子供体来还原过氧化氢,清除细胞内活性氧分子,维持机体氧化还原平衡的功能。PRDX2 已经被发现能够通过多种信号途径参与氧化应激过程,特别是在不同病理背景下,机体出现代谢过旺,由此引发的缺氧环境使 ROS 增多,为了能够在高水平活性氧环境中生存,细胞就必然需要增加抗氧化剂,因而出现了包括 PRDX2 蛋白在内的相关因子表达变化^[26-27]。既往研究提示,PRDX2 过表达可以保护氧化应激诱导的胰腺 β 细胞凋亡,减少糖尿病发生的危险性。DKD 等多种病理过程中的氧化应激状态变化与 PRDX2 表达及相关通路存在联系,如 PRDX2 可经 PI3K/AKT 通路参与调控肿瘤发展以及治疗中的氧化应激过程,又比如其可以通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调控结肠癌细胞的氧化应激状态以及通过调控一些微小 RNA 来影响肿瘤的氧化应激状态等^[28-30]。本研究体内外实验结果显示,与相应对照组相比,DKD 小鼠模型组肾脏中和人肾小球系膜细胞高糖刺激模型组细胞中均存在 PRDX2 蛋白表达水平明显下调,但经 TP 干预处理后,与模型组相比,PRDX2 蛋白表达量被明显增加,说明 TP 处理能够上调 PRDX2 表达,从而增强细胞抵抗高氧化应激状态的能力,有利于维持肾脏组织细胞内正常的氧化还原状态。

因此,本研究通过体内外实验结果推测 TP 很可能可以通过上调肾脏组织中 PRDX2 的蛋白表达水平来抑制了组织细胞中的氧化应激状态,从而减轻 DKD 的肾脏损伤程度。本研究探讨了 TP 通过上调 PRDX2 改善肾小球系膜细胞氧化应激状态的分子机制,为 TP 的进一步临床应用提供了实验室依据。但本研究在实验设计方面尚存在不足之处,若能够在 TP 作用人肾小球系膜细胞中下调 PRDX2 的蛋白表达水平,观察在 PRDX2 表达被下调的情况下,TP 是否失去了抑制氧化应激状态的能力,将会增加本研究结果的说服力。但本研究也提供了未来深入探讨 TP 用于治疗 DKD 及其他疾病的药理作用及其分子机制的研究方向。

参考文献:

- [1] 吴航,孙子林.糖尿病肾病的发病机制和药物干预研究进展[J].药学进展,2016,12(5): 337
- [2] Jaiswal M, Divers J, Dabelea D, et al. Prevalence of and risk factors for diabetic peripheral neuropathy in youth with type 1 and type 2 diabetes: SEARCH for diabetes in youth study [J]. Diabetes Care, 2017, 40(9): 1226
- [3] Vinik A, Nevoret M L, Casellini C, et al. Diabetic neuropathy [J].

- Endocrinol Metab Clin North Am, 2013, 42(4): 747
- [4] 魏晓, 欧三桃. 综合防治, 延缓进展—2014 年版《中国糖尿病肾病防治专家共识》解读[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(1): 1
- [5] 韩立坤, 李明举, 毛宇, 等. 糖尿病肾病大鼠铁超载对内皮功能及氧化应激的影响[J]. 中国老年学, 2017, 37(22): 5515
- [6] 张学磊, 金明花, 王莹, 等. 糖尿病肾病患者血清瘦素水平变化与氧化应激的关系[J]. 中国医药导报, 2016, 13(16): 54
- [7] 张冬燕, 刘保林, 刘康. 氧化应激与胰岛素抵抗分子机制之联系[J]. 海峡药学, 2012, 24(9): 1
- [8] 姚志灵, 陈亮, 王志胜, 等. 老年冠心病病人不同糖代谢状态与氧化应激水平的相关性研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(19): 2273
- [9] 凌厉, 陈立波, 劳国娟, 等. 雷公藤多苷对糖尿病大鼠肾小球足细胞病变的保护作用[J]. 中国慢性病预防与控制, 2016, 24(7): 489
- [10] 高清. 雷公藤甲素对糖尿病肾病的疗效及其机制的研究[D]. 南京: 南京大学, 2010
- [11] 王丹妮, 于蕊. 雷公藤甲素对糖尿病肾病大鼠肾组织 TNF- α 与 MCP-1 表达的影响[J]. 解剖科学进展, 2017 (1): 71
- [12] 崔进, 陈晓, 苏佳灿. 雷公藤甲素药理作用研究新进展[J]. 中国中药杂志, 2017(14): 2655
- [13] 林君容, 林兵, 宋洪涛. 雷公藤甲素与雷公藤红素的体内药动学研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(3): 528
- [14] 吕佳璇, 李月红. 糖尿病肾病的研究进展[J]. 临床内科杂志, 2016, 33(5): 296
- [15] 高清, 刘志红, 秦卫松, 等. 雷公藤甲素治疗 db/db 糖尿病小鼠的疗效观察[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2009, 18(6): 519
- [16] 李柯桢, 栾健, 隋爱华, 等. 厄贝沙坦联合雷公藤甲素对 2 型糖尿病大鼠肾脏 ANGPTL2、VEGF 表达影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2013, 14(11): 959
- [17] 李焱. 氧化应激与胰岛素抵抗及其对策[J]. 实用糖尿病杂志, 2007, 3(3): 6
- [18] 殷松楼, 周冬梅, 奚钰, 等. 2 型糖尿病患者氧化应激指标的变化[J]. 徐州医科大学学报, 2010, 30(1): 63
- [19] 程雯, 王华, 陈淑雯, 等. 2 型糖尿病患者同型半胱氨酸水平与糖尿病肾病、胰岛素抵抗及脂质代谢的关系探讨[J]. 上海预防医学, 2016, 28(2): 125
- [20] 操轩, 胡亚琳, 陈健. 早期糖尿病肾病与胰岛素抵抗及微炎症状态之间关系的研究[J]. 临床内科杂志, 2016, 33(1): 28
- [21] Kashiwara N, Haruna Y, Kondeti V K, et al. Oxidative stress in diabetic nephropathy[J]. Curr Med Chem, 2010, 17(34): 4256
- [22] Jha J C, Ho F, Dan C, et al. A causal Link between oxidative stress and inflammation in cardiovascular and renal complications of diabetes[J]. Clin Sci, 2018, 132(16): 1811
- [23] Malekiyan R, Abdanipour A, Sohrabi D, et al. Antioxidant and neuroprotective effects of lycopene and insulin in the hippocampus of streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Biomed Rep, 2019, 10(1): 47
- [24] Neelofar K, Arif Z, Arafat M Y, et al. A study on correlation between oxidative stress parameters and inflammatory markers in type 2 diabetic patients with kidney dysfunction in North Indian population [Z]. 2018
- [25] 夏莉莉, 汤瑜斌, 邵侃. 前列地尔对糖尿病肾病患者血液流变学、免疫功能及 MDA、SOD、ROS 的影响[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(14): 1528
- [26] 唐莉. DBDCT 致肝毒性的蛋白质组学及 Trx1 介导的氧化应激机制研究[D]. 山西医科大学, 2013
- [27] Ji D, Li M, Zhan T, et al. Prognostic role of serum AZGP1, PEDF and PRDX2 in colorectal cancer patients[J]. Carcinogenesis, 2013, 34(6): 1265
- [28] Zhou S L, Han Q L, Wang R, et al. PRDX2 protects hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells from oxidative stress[J]. Oncol Lett, 2016, 12(3): 2217
- [29] 卢伟东. Prdx2 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调控结肠癌细胞生长的研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014
- [30] Xu J, Zhang S R, Wang R, et al. Knockdown of PRDX2 sensitizes colon cancer cells to 5-FU by suppressing the PI3K/AKT signaling pathway [J]. Biosci Rep, 2017, 37 (3): pii: BSR20160447. doi: 10.1042/BSR20160447

(2019-01-02 收稿)

(上接第 465 页)

- [6] Costello J F, Plass C. Methylation matters[J]. J Med Genet, 2001, 38(5): 285
- [7] Rapley E A, Turnbull C, Al Olama A A, et al. A genome-wide association study of testicular germ cell tumor[J]. Nat Genet, 2009, 41(7): 807
- [8] Kanetsky P A, Mitra N, Vardhanabhuti S, et al. A second independent locus within DMRT1 is associated with testicular germ cell tumor susceptibility[J]. Hum Mol Genet, 2011, 20(15): 3109
- [9] Kratz C P, Greene M H, Bratslavsky G, et al. A stratified genetic risk assessment for testicular cancer[J]. Int J Androl, 2011, 34(4 Pt 2): e98
- [10] Kanetsky P A, Mitra N, Vardhanabhuti S, et al. Common variation in KITLG and at 5q31.3 predisposes to testicular germ cell cancer[J]. Nat Genet, 2009, 41(7): 811
- [11] Karlsson R, Andreassen K E, Kristiansen W, et al. Investigation of six testicular germ cell tumor susceptibility genes suggests a parent-of-origin effect in SPRY4[J]. Hum Mol Genet, 2013, 22(16): 3373
- [12] Ruark E, Seal S, McDonald H, et al. Identification of nine new susceptibility loci for testicular cancer, including variants near DAZL and PRDM14[J]. Nat Genet, 2013, 45(6): 686
- [13] Akhavan-Niaki H, Samadani A A. DNA methylation and cancer development: molecular mechanism[J]. Cell Biochem Bioph, 2013, 67(2): 501
- [14] Perney T M, Marshall J, Martin K A, et al. Expression of the mRNAs for the Kv3.1 potassium channel gene in the adult and developing rat brain[J]. J Neurophysiol, 1992, 68(3): 756
- [15] Stegen B, Klumpp L, Misovic M E, et al. K (+) channel signaling in irradiated tumor cells[J]. Eur Biophys J Bioph, 2016, 45(7): 585
- [16] Edalat L, Stegen B, Klumpp L, et al. BK K+ channel blockade inhibits radiation-induced migration/brain infiltration of glioblastoma cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(12): 14259
- [17] Ouadid-Ahidouch H, Ahidouch A. K+ channel expression in human breast cancer cells: involvement in cell cycle regulation and carcinogenesis[J]. J Membrane Biol, 2008, 221(1): 1

(2018-12-04 收稿)