

核呼吸因子 1 在心肌细胞损伤中的保护作用

秦国华^{1,2*}, 王瑞霞¹, 徐志芳^{1,3}, 桑楠¹ (1.山西大学环境与资源学院, 山西太原 030006; 2.暨南大学环境学院, 广州市环境暴露与健康重点实验室, 广东广州 510632; 3.山西省环境规划院, 山西太原 030001)

摘要: 构建含有核呼吸因子 1(NRF1)cDNA 全长的质粒 NRF1-pcDNA3.1, 用该质粒转染 H9C2 细胞, 探讨 NRF1 在 NaHSO₃ 诱导心肌细胞线粒体损伤中的作用。用空质粒或 NRF1-pcDNA3.1 转染 H9C2 细胞, 100μmol/L 的 NaHSO₃ 处理转染后的 H9C2 心肌细胞 24h 后, 首先采用 Western blot 免疫印迹法检测 H9C2 心肌细胞中 NRF1 和线粒体转录因子 A(TFAM)蛋白的表达情况。其次, 采用化学发光法检测细胞中 ATP 含量, 考察 NRF1 对 NaHSO₃ 诱导 H9C2 心肌细胞线粒体损伤的影响。结果表明, 与未染毒组相比, 空质粒转染组 NaHSO₃ 染毒 24h 后, NRF1 和 TFAM 蛋白的表达及 ATP 含量均降低; 而 NRF1-pcDNA3.1 转染显著上调了 NRF1 和 TFAM 蛋白表达和细胞内 ATP 含量; NRF1-pcDNA3.1 转染的 H9C2 细胞经过 NaHSO₃ 染毒 24h 后, 与空质粒转染后 NaHSO₃ 染毒组相比, NRF1 和 TFAM 的蛋白表达及 ATP 含量均极显著上升。由此说明: NaHSO₃ 可降低 H9C2 细胞中 NRF1 和 TFAM 表达及 ATP 含量, NRF1 的高表达可通过调控下游基因 TFAM 的表达进而增加细胞内 ATP 的产生, 并且 NRF1 的高表达可使暴露于 NaHSO₃ 所引起的线粒体功能异常得到缓解, 揭示 NRF1 在调节 NaHSO₃ 诱导的线粒体损伤过程中有重要意义。

关键词: NRF1; TFAM; 亚硫酸氢钠; 质粒构建

中图分类号: X503 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2017)04-1556-06

The protect role of nuclear respiratory factor 1 in mitochondrial damage in cardiac muscles. QIN Guo-hua^{1,2*}, WANG Rui-xia¹, XU Zhi-fang^{1,3}, SANG Nan¹ (1.College of Environmental Science and Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2.Guangzhou Key Laboratory of Environmental Exposure and Health, School of Environment, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 3.Shanxi Academy for Environmental Planning, Taiyuan 030001, China). *China Environmental Science*, 2017,37(4): 1556~1561

Abstract: We constructed a NRF1-pcDNA3.1 plasmid and transfected it in H9C2 cells to explore the effects of NRF1 in sodium bisulfite-induced mitochondrial damage in cardiac muscles of rats. H9C2 cells were treated with 100μmol/L NaHSO₃ for 24h after NRF1-pcDNA3.1 or pcDNA3.1 transfection. Protein levels of NRF1 and TFAM were measured by Western blotting. The amount of ATP was detected by the chemiluminescence method. It showed that NaHSO₃ treatment for 24h resulted in significant decreases of NRF1 and TFAM protein expression and ATP amount. The protein levels of NRF1 and TFAM were significantly elevated after NRF1-pcDNA3.1 plasmid transfection, accompanied by a significant increase of ATP amounts. NRF1 and TFAM protein expressions and ATP amount significantly increased after NaHSO₃ exposure for 24h in NRF1 over-expression group, compared with the pcDNA3.1-transfection group. It implied that over-expression of NRF1 might regulate TFAM to increase intracellular ATP production. In addition, over-expression of NRF1 alleviated the dysfunction of mitochondrial ATP caused by NaHSO₃ exposure. NRF1 plays an important role in the regulation of NaHSO₃-induced mitochondrial damage.

Key words: NRF1; TFAM; NaHSO₃; over-expression plasmid

随着工业化和城市化的快速发展,近几十年亚洲地区的空气污染逐渐加重,而 SO₂ 是主要污染物之一。SO₂ 主要是由含硫物质燃烧产生的,通过呼吸系统进入体内后,会与水结合生成亚硫酸盐(SO₃²⁻)和亚硫酸氢盐(HSO₃⁻),两者在中性溶液中以摩尔比为 3:1 的动态平衡状态下存在^[1]。SO₂

及其衍生物进入机体后,会增加心血管疾病,如心

收稿日期: 2016-07-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21007036);广州市环境暴露与健康重点实验室开放基金资助项目(GZKLEEH201612);环境化学与生态毒理学国家重点实验室开放基金资助项目(KF2016-17)

* 责任作者, 教授, qinguoju@sxu.edu.cn

梗、心律失常、缺血性心脏病、心力衰竭等的发生率和死亡率^[2]。此外,作为一种食品添加剂,亚硫酸氢盐广泛用于水果、蔬菜的保鲜。实验室前期研究表明,SO₂进入机体后可到达小鼠各个组织器官(包括心脏),造成氧化应激和 DNA 损伤^[3-4]。进一步研究显示,SO₂可以引起小鼠心脏超微结构的改变,其中以线粒体最明显,受损伤最严重^[5]。

前期研究发现,SO₂的衍生物 NaHSO₃可诱导大鼠心肌细胞线粒体结构及功能的损伤,表现为线粒体膜电位、细胞色素 C 氧化酶活性及 ATP 含量降低。与此同时,线粒体 DNA(mtDNA)含量减少,调控 mtDNA 的核呼吸因子 1(NRF1)和线粒体转录因子 A(TFAM)的表达也降低。通过构建 TFAM-pcDNA3.1 质粒,发现在 H9C2 细胞中高表达 TFAM 后,TFAM 的蛋白表达显著上升,ATP 含量也显著上升^[6]。为了进一步探究 NRF1 是否是 SO₂ 及其衍生物诱导线粒体功能紊乱的决定因素,本研究中我们构建了 NRF1-pcDNA3.1 重组质粒,并将其在 H9C2 细胞中高表达,研究 NRF1 在 SO₂ 诱导心肌细胞线粒体损伤信号通路中的作用,为 SO₂ 长期接触所诱导的心血管疾病的预防及治疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 质粒、细胞和培养基

研究中采用的 pcDNA3.1 质粒为山西大学马恩波老师实验室赠送。H9C2 细胞来自国家实验细胞资源共享平台。大鼠心肌细胞 H9C2 来源于胚胎期 BD1X 大鼠心脏组织的亚克隆细胞系,表现很多骨骼肌细胞的特性。H9C2 细胞在含 10%胎牛血清(FBS, Invitrogen)的 DMEM 培养基中进行培养。

1.2 实验材料

Trizol、LA Taq 酶购自 Takara 公司;反转录试剂盒购自 Fermentas;ATP 检测试剂盒均购自 Beyotime 公司;限制性内切酶购自 NEB 公司;连接酶、pGEM-T easy Vector、FuGENE HD 转染试剂盒购自 Promega 公司;其他试剂均为分析纯。

1.3 NRF1-pcDNA3.1 的质粒构建

1.3.1 NRF1 基因的获取

取 100mg 左右

Wistar 大鼠心脏组织,加入 1mL Trizol 匀浆,提取总 RNA。蛋白核酸测定仪测 RNA 的浓度及 OD₂₆₀/OD₂₈₀,确保比值在 1.9~2.1 的范围内。取 1μg 总 RNA,采用反转录试剂盒合成 cDNA,加入 NRF1 上下游引物,上游引物为 5'-GTCGAATGATCTGTGGTTCA-3',下游引物为 5'-GCCGTTTATTTCTTTTCAGTTGC-3',使用 Analytik Jena 荧光定量 PCR 仪进行扩增。反应体系为 100μL,其中 buffer 10μL, MgCl₂ 10μL, dNTP 16μL, Taq 酶 0.5μL、上下游引物各 4μL、cDNA 4μL。扩增程序为:95 预变性 4min;95 30s,55 30s,72

2min 进行 35 个循环;72 延伸 10min, 4℃ 终止。琼脂糖凝胶电泳检测目的 DNA 片段大小。然后以此 PCR 的产物为模板,加入含 *Bam*H I 和 *Xho* I 双酶切位点的引物,上游引物为 5'-GCAGGATCCCGAATGATCTGTG-3',下游引物为 5'-ACTCTCGAGCCGTTTATTTCC-3'进行扩增,反应体系与反应条件同上。琼脂糖凝胶电泳鉴定 PCR 产物,并用胶回收试剂盒回收 DNA 片段。

1.3.2 含 NRF1 基因片段重组质粒的构建

胶回收 DNA 产物与 pcDNA3.1 质粒经 *Bam*H I 和 *Xho* I 双酶切后,酶切产物在 T4DNA 连接酶的催化下,混合 4 过夜连接。然后转化、挑取单克隆菌落,进行摇菌扩增并提取质粒。通过菌落 PCR 及质粒酶切初步鉴定重组质粒,选取酶切鉴定成功的质粒送往英骏公司进行序列测定。

1.4 细胞培养及染毒

H9C2 细胞,用加入 10%胎牛血清的 DMEM 培养基在 37℃,5% CO₂ 培养箱中进行培养。细胞生长到 50%~60%时,用 0.4μg 空质粒 pcDNA3.1 或 NRF1-pcDNA3.1 和 1μL FuGENE HD 转染试剂转染 24h 之后再加 100μmol/L NaHSO₃ 染毒 24h,每组设 3 个平行样。细胞存活率采用 MTT 法检测。

1.5 Western blot

取 1×10⁶H9C2 细胞,加入蛋白裂解液进行匀浆,12000×g,4 条件下离心 15min,提取蛋白,取 30μg 蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳,转到 NC 膜上,封闭,加入目的蛋白抗体(anti-GAPDH 一抗, CST; anti-NRF1 一抗, Anbo; anti-TFAM 一抗,

BioVision)4℃ 孵育过夜,荧光标记二抗(IRDye 800CW goat anti-rabbit IgG(H+L), LI-COR)孵育后, LI-COR Odyssey 双色红外激光成像系统进行扫描检测.每组设 3 个平行样,每样测定 2 次.

1.6 胞内 ATP 的检测

将生长至 70%~80% 状态良好的细胞用 200μL ATP 检测裂解液进行裂解,4℃,12000×g,离心 10min,取上清,使用酶标仪检测相对光单位值(RLU),考马斯亮蓝法测定蛋白含量.用试剂盒中 ATP 标准品设立 ATP 浓度梯度,测定 RLU 值,建立 RLU 值-ATP 浓度的标准曲线,所测得 RLU 值/对应的 ATP 上清蛋白含量,即为所求结果,每组设 3 个平行样,每样测定 3 次.

1.7 数据统计分析

用 SPSS 11.5 统计软件对实验数据进行分析,采用单因素方差分析与 LSD 多重比较, $P < 0.05$ 时认为具有统计学显著性.

2 结果

2.1 菌落 PCR 的扩增含酶切位点 NRF1 结果

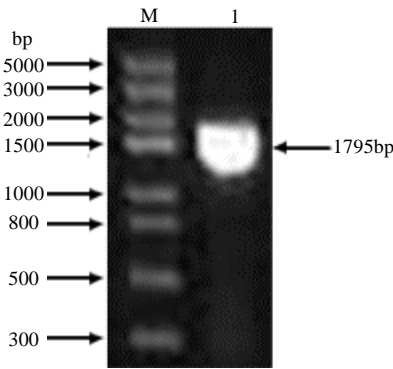


图 1 菌落 PCR 扩增含酶切位点 NRF1 的琼脂糖凝胶电泳结果

Fig.1 Agarose gel electrophoresis of colonies PCR amplifying that contain the restriction sites of NRF1
M. Trans 5000 marker;1.含酶切位点的 NRF1 菌落 PCR 扩增片段

如图 1 所示,菌落 PCR 扩增显示在 1500~2000bp 有特异性产物,与预期目的片段(1795bp)大小吻合,初步证明所选菌落中含 NRF1-pcDNA3.1.

2.2 重组质粒 NRF1-pcDNA3.1 的酶切结果

如图 2 所示,将双酶切后的重组质粒 NRF1-pcDNA3.1 进行电泳,可观察到有 2 条带, Lane2 的上方条带为 pcDNA3.1 质粒,下方为 NRF1 条带.进一步表示 NRF1-pcDNA3.1 质粒构建成功.

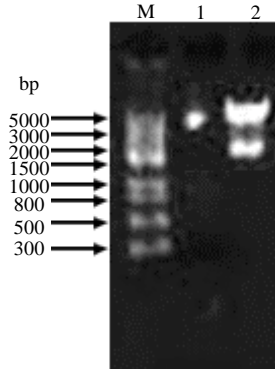


图 2 重组质粒 NRF1-pcDNA3.1 酶切的琼脂糖凝胶电泳结果

Fig.2 Agarose gel electrophoresis of containing the restriction sites of recombinant plasmid NRF1-pcDNA3.1
M.Trans5000marker;1.pcDNA3.1 空质粒酶切产物;2.重组质粒 NRF1-pcDNA3.1 酶切产物

2.3 质粒转染及 NaHSO₃ 处理对细胞存活率影响

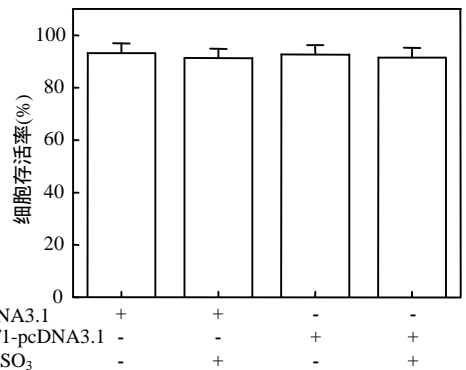


图 3 质粒转染及 NaHSO₃ 处理对细胞存活率影响
Fig.3 Effects of plasmid transfection and NaHSO₃ exposure on H9C2 cell viability

如图 3 所示,转染空质粒或重组质粒 NRF1-pcDNA3.1 对细胞存活率影响无显著差异,

100μmol/L NaHSO₃ 处理对细胞存活率也无明显影响.细胞存活率均在 90%以上.

2.4 NRF1 过表达对线粒体相关蛋白表达的影响

如图 4 所示,转染空质粒后,再用 100μM NaHSO₃ 处理 H9C2 细胞 24h, NRF1 和 TFAM 的蛋白含量与空质粒转染组相比均显著降低 ($P<0.05$).重组质粒 NRF1-pcDNA3.1 转染组与空质粒转染组相比,细胞中 NRF1 蛋白极显著增高,表示 NRF1 高表达成功,同时其下游蛋白—TFAM 的蛋白含量也显著升高 ($P<0.01$).与空质粒转染组相比,细胞转染 NRF1-pcDNA3.1 后再暴露于 NaHSO₃,NRF1 和 TFAM 的蛋白含量均显著增高,表明 NRF1 高表达可有效恢复 NaHSO₃ 所致的 NRF1 和 TFAM 的表达降低.

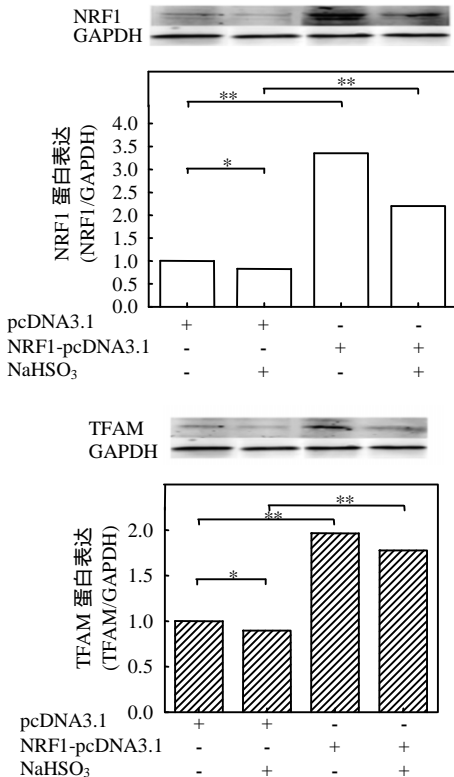


图 4 NaHSO₃ 处理和 NRF1 高表达对 H9C2 细胞中 NRF1 和 TFAM 蛋白表达的影响

Fig.4 Effects of NaHSO₃ exposure and NRF1 over-expression on NRF1 and TFAM in H9C2 cells

* $P<0.05$,** $P<0.01$

2.5 NRF1 过表达对胞内 ATP 含量的影响

如图 5 所示,转染空质粒后,再用 100μmol/L NaHSO₃ 处理 H9C2 细胞 24h,胞内 ATP 含量与空质粒转染组相比显著降低 ($P<0.05$).重组质粒 NRF1-pcDNA3.1 转染组与空质粒转染组相比,胞内 ATP 含量极显著增高,表示 NRF1 高表达可导致胞内 ATP 含量上升.与空质粒转染组相比,细胞转染 NRF1-pcDNA3.1 后再暴露于 NaHSO₃ 胞内 ATP 含量显著增高,表明 NRF1 高表达可有效恢复 NaHSO₃ 所致的胞内 ATP 含量降低.

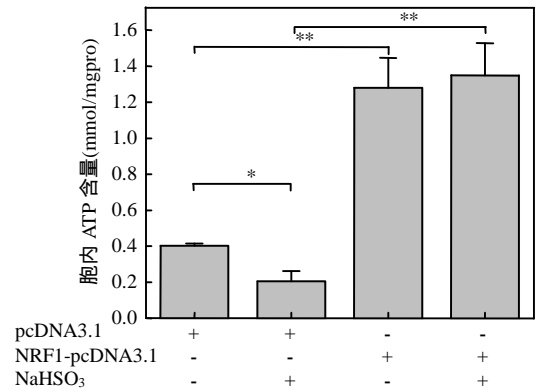


图 5 NaHSO₃ 处理和 NRF1 过表达对 H9C2 细胞内 ATP 含量的影响

Fig.5 Effects of NaHSO₃ exposure and NRF1 over-expression on ATP contents in H9C2 cells

* $P<0.05$,** $P<0.01$

3 讨论

线粒体是细胞进行氧化磷酸化的主要场所,是提供细胞能量的主要来源,而心脏是高度依赖 ATP 的器官.所以,研究污染物对心肌细胞线粒体的损伤很有必要.线粒体生物合成受转录因子,如核呼吸因子(NRFs)和 TFAM 等调节^[7-9].其中, NRF1 基因能调节由核编码的线粒体呼吸链部分亚基的表达^[10]. TFAM 是一个核编码的 HMG 蛋白,通过序列结合重链启动子(HSP)和轻链启动子来刺激 mtDNA 的转录^[11-13]. TFAM 具有调节 mtDNA 的拷贝数,维护 mtDNA 的完整和稳定,以及促进 mtDNA 损伤修复的功能.若无转录因子存在,mtRNA 聚合酶则不能识别线粒体转录启

动子,而仅有极弱的非特异性转录活性^[14].相关研究表明:NRF1 可以激活 mtDNA 的转录因子 TFAM,进而影响线粒体编码的氧化磷酸化复合物的表达,包括 F_0F_1 的 α 与 β 亚基、细胞色素 C 氧化酶的亚基和 UCPs 等^[15-16].敲除 NRF1 基因的小鼠表现出 mtDNA 数量的显著减少,这种现象在胚胎发育过程中是致命的^[17].由此可得,NRF1 和 TFAM 基因是 mtDNA 复制和表达必不可少的因子^[18].

亚硫酸氢盐和亚硫酸盐等试剂已被广泛用于抗氧化等食品加工领域,在正常的人体血清中,亚硫酸盐的平均浓度为 $5\mu\text{mol/L}$,然而口服富含亚硫酸盐的蔬菜汁 30min 后,血浆中亚硫酸盐的浓度上升为 $112\mu\text{mol/L}$ ^[19].相关研究表明,浓度低于 $100\mu\text{mol/L}$ 的 NaHSO_3 对细胞活力无显著差异. NaHSO_3 浓度为 $300\mu\text{mol/L}$ 时,细胞活力出现显著下降^[6].因此,使用 $100\mu\text{mol/L}$ 的 NaHSO_3 进行体外实验,具有一定实际意义.本研究中, $100\mu\text{mol/L}$ NaHSO_3 可引起 H9C2 细胞中 NRF1、TFAM 蛋白表达和 ATP 含量的显著降低,这与先前关于 SO_2 对大鼠心肌细胞的研究结果相一致.实验表明,高表达 NRF1 也引起 TFAM 的高表达,使得 ATP 的产量显著增加.心肌细胞在急、慢性缺氧及多种病理状态下 ATP 含量均会降低^[20],而高表达 NRF1 的 H9C2 细胞暴露于相同浓度的 NaHSO_3 之后, NRF1 和 TFAM 的蛋白表达以及 ATP 的产量均发生显著上调.心肌细胞内 ATP 含量的恢复可有效提高心肌供氧,减少由于线粒体产能不足引起的其他损伤,如维持线粒体钙稳态、保护线粒体内膜功能等.我们前期的研究表明, SO_2 动式染毒暴露 Wistar 大鼠,可能通过降低 NRF1 的表达,影响了其对 TFAM 的调控,进一步抑制了线粒体基因组转录,使心肌线粒体的氧化磷酸化功能受损^[21].在对高脂饮食的研究中证实, C57BL/6J 小鼠暴露于酮症诱发性和非诱导性的高脂饮食,都引起了 NRF1 和 TFAM mRNA 水平的显著下降,从而降低了 mtDNA 的复制和转录^[22].同时, NRFs(包括 NRF1)会诱导氧化磷酸化(OXPHOS)基因的转录,使细胞核编码的蛋白转移至线粒体上^[23],而促进线粒体的合成. TFAM

是核编码转录因子,需要从胞浆转入线粒体才能发挥活性.而在整个运转过程中,前体蛋白 TFAM 的前导肽序列、胞浆中分子伴侣 Chsp70、外膜表面受体 Tom20、外膜转位酶复合体核心分子 Tom40、内膜转位酶复合体 Tim23、基质中 mtHSP60 和线粒体的膜电位都发挥了重要的作用^[24].由此,我们推测通过高表达的 NRF1 调控下游基因 TFAM,使得线粒体生物合成增加,减缓了 NaHSO_3 的暴露对线粒体的损伤,使线粒体功能得到改善.这对探讨 NRF1 在 SO_2 及其衍生物诱导线粒体损伤和凋亡途径的通路具有重要的意义.

本实验证实了 NRF1 在 NaHSO_3 -NRF1-TFAM-mtDNA-ATP 信号通路中的重要作用.此外,在线粒体损伤过程中,过氧化物酶体增生物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α)^[25]、AMPK^[23] 及炎症细胞因子均可能参与, SO_2 及其衍生物诱导线粒体损伤是否有上述因子的参与有待进一步研究,对探究保护和维持线粒体功能的机制有重要意义.

4 结论

4.1 $100\mu\text{mol/L}$ 的 NaHSO_3 处理空质粒转染后的 H9C2 细胞,下调了 NRF1 和 TFAM 蛋白的表达,同时导致胞内 ATP 含量降低.

4.2 通过构建重组质粒 NRF1-pcDNA3.1 并转染 H9C2 细胞,使 NRF1 高表达,并且上调了 TFAM 的表达和 ATP 含量的产生.

4.3 NRF1 的高表达可能通过 NRF1-TFAM-mtDNA 的信号通路使 NaHSO_3 的暴露引起线粒体功能异常得到缓解, NRF1 对 SO_2 及衍生物诱导的线粒体功能紊乱具有保护作用.

参考文献:

- [1] Shapiro R. Genetic effects of bisulfite (sulfur dioxide) [J]. *Mutation Research*, 1977,39(2):149-175.
- [2] 阚海东,陈秉衡.我国部分城市大气污染对健康影响的研究10年回顾 [J]. *中华预防医学杂志*, 2002,36(1):59-61.
- [3] Meng Z Q. Oxidative damage of sulfur dioxide on various organs of mice: sulfur dioxide is a systemic oxidative damage agent [J]. *Inhalation Toxicology*, 2003,15(2):181-195.
- [4] Meng Z Q, Qin G H, Zhang B, et al. DNA damaging effects of

- sulfur dioxide derivatives in cells from various organs of mice [J]. *Mutagenesis*, 2004,19(6):465-468.
- [5] Meng Z Q, Liu Y. Cell morphological ultrastructural changes in various organs from mice exposed by inhalation to sulfur dioxide [J]. *Inhalation Toxicology*, 2007,19(6/7):543-551.
- [6] Qin G H, Wu M Q, Wang J X, et al. Sulfur Dioxide Contributes to the Cardiac and Mitochondrial Dysfunction in Rats [J]. *Toxicological Sciences*, 2016,151(2):334-346.
- [7] Scarpulla R C. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function [J]. *Physiological Reviews*, 2008,88(2):611-638.
- [8] Medeiros D M. Assessing mitochondria biogenesis [J]. *Methods*, 2008,46(4):288-294.
- [9] Yin W, Signore A P, Iwai M, et al. Rapidly increased neuronal mitochondrial biogenesis after hypoxic-ischemic brain injury [J]. *Stroke*, 2008,39(11):3057-3063.
- [10] Scarpulla R C. Nuclear control of respiratory gene expression in mammalian cells [J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2006, 97(4):673-683.
- [11] Lenka N, Vijayasathy C, Mullick J, et al. Structural organization and transcription regulation of nuclear genes encoding the mammalian cytochrome oxidase complex [J]. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 1998,61:309-344.
- [12] Scarpulla R C. Transcriptional activators and coactivators in the nuclear control of mitochondrial function in mammalian cells [J]. *Gene*, 2002,286(1):81-89.
- [13] Clayton D A. Nuclear-mitochondrial intergenomic communication [J]. *Biofactors*, 1998,7(3):203-205.
- [14] 黄 珊,高文祥,高钰琪.线粒体 DNA 稳定性与疾病的关系 [J]. *中国病理生理杂志*, 2014,30(2):369-373.
- [15] Scarpulla R C. Nuclear activators and coactivators in mammalian mitochondrial biogenesis [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002,1576(1/2):1-14.
- [16] 阎德民,王 伟,王 波,等.温度对 PGC-1 在心肌细胞中表达的影响 [J]. *中国医科大学学报*, 2008,37(1):38-40.
- [17] Bergeron R, Ren J M, Cadman K S, et al. Chronic activation of AMP kinase results in NRF1 activation and mitochondrial biogenesis [J]. *American journal of physiology-Endocrinology and metabolism*, 2001,281(6):E1340-1346.
- [18] Dumollard R, Duchen M, Carroll J. The role of mitochondrial function in the oocyte and embryo [J]. *Current Topics in Developmental Biology*, 2007,77:21-49.
- [19] Van Blerkom J, Davis P W, Lee J. ATP content of human oocytes and developmental potential and outcome after in-vitro fertilization and embryo transfer [J]. *Human reproduction*, 1995, 10(2):415-424.
- [20] 肖 芳,钟才高.外源化学物干扰肝细胞线粒体 ATP 合成体系机制的研究进展 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2010,24(3):232-235.
- [21] 秦国华,霍雅俊,桑 楠.二氧化硫对心肌细胞线粒体损伤的分子机制探讨 [J]. *环境科学学报*, 2014,34(4):1074-1078.
- [22] Selfridge J E, Wilkins H M, E L, et al. Effect of one month duration ketogenic and non-ketogenic high fat diets on mouse brain bioenergetic infrastructure [J]. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2015,47(1/2):1-11.
- [23] Reznick R M, Shulman G I. The role of AMP-activated protein kinase in mitochondrial biogenesis [J]. *The Journal of Physiology*, 2006,574(Pt1):33-39.
- [24] Hood D A, Joseph A M. Mitochondrial assembly: protein import [J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2004,63(2):293-300.
- [25] Ugucioni G, Hood D A. The importance of PGC-1 α in contractile activity-induced mitochondrial adaptations [J]. *American journal of physiology-Endocrinology and metabolism*, 2011,300(2):E361-E371.
- 作者简介：秦国华(1977-),女,山西潞城人,教授,博士,主要从事环境与健康方面的研究.发表论文 40 余篇.