

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.32.006

褪黑素提高 HO-1 表达对氯胺酮相关性肾损伤的影响*

曾锦江,卢 勇,牛得草,谭伟明,米 华[△]
(广西医科大学第一附属医院泌尿外科,南宁 530021)

[摘要] **目的** 探讨氯胺酮致肾脏氧化损伤及褪黑素在其中的治疗作用机制。**方法** 将32只大鼠均分为A、B、C、D 4组,分别给予等量生理盐水、氯胺酮30 mg/kg、褪黑素5 mg/kg、氯胺酮30 mg/kg+褪黑素5 mg/kg腹腔注射,连续12周。比色法检测丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)水平,苏木精-伊红(HE)染色及马松(Masson)染色观察肾组织病理改变,脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)检测肾组织细胞的凋亡情况,Western blot检测血红素氧化酶-1(HO-1)蛋白表达水平。**结果** 与A组比较,B组大鼠血清肌酐、尿素氮及MDA水平升高,SOD及GSH-Px降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);肾组织可见大量炎症细胞浸润,多处局灶性坏死,甚至出现肾小球萎缩、封闭,间质有条索状纤维,出现明显的细胞凋亡。与B组比较,C组大鼠SOD、GSH-Px及HO-1表达升高($P<0.05$),但未见肾损害;D组大鼠MDA水平明显下降,SOD、GSH-Px及HO-1表达明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$),且组织炎症浸润、肾小球萎缩、间质纤维化及细胞凋亡等肾损害减少。**结论** 褪黑素可拮抗氯胺酮导致的大鼠肾脏氧化应激损伤,其机制可能与增加HO-1蛋白表达有关。

[关键词] 氯胺酮;褪黑素;氧化应激;血红素氧化酶-1

[中图分类号] R692.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)32-4107-05

Effect of melatonin on ketamine-related renal injury by increasing HO-1*
ZENG Jinjiang, LU Yong, NIU Decao, TAN Weiming, MI Hua[△]
(Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the efficacy and mechanism of melatonin in treating ketamine-induced kidney damage involved in oxidative stress injury. **Methods** Thirty-two male rats were divided into groups A, B, C and D, then respectively given normal saline, 30 mg/kg ketamine, 5 mg/kg melatonin, 30 mg/kg ketamine combined with 5 mg/kg melatonin for 12 weeks. Detected the levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) by colorimetry, observed the pathological changes of the renal tissue by hematoxylin-eosin (HE) and Masson staining, the apoptotic cells were detected by deoxyribonucleotide terminal transferase labeling (TUNEL), the expression level of heme oxygenase-1 (HO-1) was measured by Western blot. **Results** Compared with group A, the levels of creatinine, urea nitrogen and MDA in group B significantly increased, while SOD and GSH-Px significantly decreased, the difference was statistically significant ($P<0.05$). There were inflammatory cells infiltration and multiple focal necrosis in renal tissue, furthermore glomerular atrophy and interstitial cord were found in group B, even with a large number of apoptotic cells. Compared with group B, the levels of SOD, GSH-Px and HO-1 increased in group C, the difference was statistically significant ($P<0.05$), and renal damage was not observed. The level of MDA in group D decreased, the expression of SOD, GSH-Px and HO-1 increased ($P<0.05$). Inflammatory cells infiltration, glomerular atrophy, renal interstitial fibrosis and apoptosis reduced. **Conclusion** Melatonin treatment could ameliorate ketamine induce renal oxidative injury via activation of HO-1 expression.

[Key words] ketamine; melatonin; oxidative stress; heme oxygenase-1

氯胺酮是 N-甲基-D-门冬氨酸受体的拮抗药^[1], 因其致幻及中枢兴奋等特性被滥用于各类娱乐场所, 现为当今流行毒品 K 粉的主要成分。在 2007 年 SHAHANI 等^[2]首次报道 9 例滥用氯胺酮造成泌尿系统损害后, 氯胺酮相关性泌尿系统损害 (ketamine associate urinary dysfunction, KAUD)才引起人们的

* 基金项目:广西自然科学基金资助项目(2017JJA10208);广西高校科学研究项目(2013YB059)。 作者简介:曾锦江(1990—),住院医师,硕士研究生,主要从事药物性泌尿系统疾病的诊治研究。 △ 通信作者, E-mail: mihua570@aliyun.com。

重视,KAUD 起初主要表现为尿频、尿急、急迫性尿失禁、尿痛、血尿等,随着病情进展可导致膀胱挛缩和上尿路损害,严重影响生活质量。目前氯胺酮滥用致泌尿系统损害的相关研究大多停留在临床病例报道,临床上更是缺乏统一有效的治疗手段。近期有研究表明,氯胺酮通过氧化应激损伤的激活导致膀胱炎及细胞凋亡的发生、发展^[1,3]。褪黑素作为安全、不良反应小的抗氧化剂,可在机体氧自由基刺激下,活化和增加血红素氧化酶-1(HO-1)表达出明显的抗氧化、抗炎和抗凋亡的保护效应^[4]。鉴于 KAUD 在临床上下尿路症状突出表现,与之相关肾损害往往被忽视,而 GIMONA 等^[5]报道一些氯胺酮滥用导致肾功能不全者的肾穿刺检查结果显示肾小管破坏、血管及间质再生,提示氯胺酮导致上尿路损害可能是直接损伤为主。本研究旨在建立氯胺酮导致大鼠肾损害模型,探讨褪黑素对氯胺酮相关性肾损害的保护机制为揭示其中相关的发病机制和治疗方案提供思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 盐酸氯胺酮注射液(规格 100 mg/2 mL)购于福建古田制药有限公司;褪黑素 1 g 购自美国 Sigma 公司;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)细胞凋亡检测试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司;HO-1 一抗购自英国 Abcam 公司,内参 β -actin 和二抗(羊抗兔)均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.1.2 主要仪器 电动匀浆机购自德国 IKA 公司;低温离心机购自德国 Eppendorf 公司;MK3 酶标仪购自上海雷博生物技术有限公司;组织切片机购自德国 Leica 公司;荧光显微镜及显微镜照相系统购自日本 Olympus 公司;微量加样器购自德国 Eppendorf 公司;双垂直电泳槽、半干转膜仪购自上海天能科技有限公司;Odyssey 双色红外荧光成像系统购自美国 LI-COR 公司。

1.1.3 实验动物 清洁级 SD 雄性大鼠 32 只,体重 190~210 g,购于广西医科大学实验动物中心,饲养于温度、湿度适宜的动物房,本研究已通过动物伦理委员会审核。

1.2 方法

1.2.1 建立氯胺酮致 SD 大鼠肾损害模型 参考 YEUNG 等^[6]成功造模及结合本课题组预实验经验,将 32 只大鼠按随机数字表法随机分为 A 组(等量生理盐水)、B 组(氯胺酮 30 mg/kg)、C 组(褪黑素 5 mg/kg)及 D 组(氯胺酮 30 mg/kg+褪黑素 5 mg/kg),各组大鼠每天 09:00 予以腹腔注射给药,持续 12 周。褪黑素用量参照文献^[4,7]实验的最佳用量。建模过程中,每 3 天称 1 次各组大鼠体质量以调整用药

量。大鼠于 12 周后采用 10%水合氯醛腹腔注射麻醉,固定、常规备皮,充分暴露大鼠腹主动脉及肾脏,用采血针取腹主动脉血 5 mL 并置于 4℃冰箱中静置 30 min 后取上清液送至广西医科大学药学院实验室平台行血清肌酐及尿素氮检测。同时迅速分离右侧新鲜肾脏,置于-20℃保存,用于氧化指标及 Western blot 检测,随后应用 4%多聚甲醛缓冲液灌注固定后,取左侧肾脏浸泡于多聚甲醛缓冲液内用于组织学相关检测。

1.2.2 氧化指标测定 准确称取预先保存的各组大鼠新鲜右侧肾脏制备成 10%的组织匀浆(冰浴下),4℃ 25 000 r/min,离心 5 min。取上清液后用冰生理盐水稀释成 1%的匀浆。各组 MDA 水平用硫代巴比妥酸(TBA)法测定,各组肾组织中 SOD 及 GSH-Px 水平采用直接比色法检测,组织蛋白水平用微量酶标法(BCA)测定。

1.2.3 肾组织切片苏木精-伊红(HE)及马松(Masson)染色 各组大鼠肾组织用 4%多聚甲醛固定 48 h 后,常规行脱水、透明、浸蜡、包埋后,切成 5 μ m 厚度石蜡切片,随后行贴片、脱蜡、水化、HE 染色及 Masson 染色和封片等步骤,在显微镜下观察各组大鼠肾实质、间质等形态变化。

1.2.4 TUNEL 法检测肾组织细胞凋亡 各组肾脏石蜡切片常规脱蜡后,用 3%过氧化氢甲醇溶液清除内源性过氧化物酶的活性。随后,滴加蛋白酶 K 工作液 20 μ g/mL,室温下孵育 30 min,用 PBS 冲洗 3 次后,滴加 TUNEL 反应液,置于孵育盒中室温下孵育 60 min。滴加转化剂-酶标记抗荧光素抗体(POD)之后,再次置于孵育盒中孵育 25 min,随后用加入配好的二氨基联苯胺(DBA)显色液,显色 5 min 并在显微镜下观察颜色深浅控制染色强度,将切片置于 HE 染液复染,常规脱水、透明及封闭后显微镜下观察凋亡细胞并计数。

1.2.5 Western blot 测定组织蛋白表达 称取新鲜保存肾组织置于 1.5 mL 离心管,剪碎后加入蛋白质裂解液(RIPA)和蛋白酶抑制剂(PMSF),冰浴下匀浆之后静置 30 min,4℃ 15 000 r/min、离心 5 min,取上清液采用 BCA 法测蛋白水平以调整上样量。随后加入上样缓冲液,高温至蛋白质变性,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),之后进行转膜、封闭及漂洗。将膜置于一抗 HO-1(兔抗鼠,1:15 000)及内参 β -actin(1:500)孵育盒,4℃摇床过夜,TBST 洗膜后,二抗按照 1:10 000 稀释,4℃摇床孵育 3 h,Odyssey 双色红外荧光成像系统下扫膜、拍照并测量灰度值,分析结果。计算目的蛋白的灰度值和内参 β -actin 蛋白灰度值的比值作为目的蛋白的相对表达率。

1.3 统计学处理 使用 SPSS22.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,

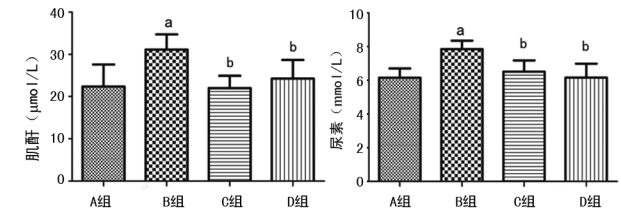
两两比较采用 SNK 检验,方差不齐时用 Dunnett's T3 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠行为及肾功能指标比较 与 A 组比较,B、D 组大鼠立即出现活动增加、共济失调,随后平静不动;而 D 组大鼠活跃持续及平静到恢复正常的时
间均比 B 组短。以体质量为协变量调整后,各组大鼠血肌酐及尿素氮采用协方差分析结果显示,B 组血肌酐、尿素氮水平较其余各组明显升高($P<0.05$),而 C、D 两组大鼠血肌酐、尿素氮与 A 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见图 1。

2.2 各组大鼠肾组织中 SOD、GSH-Px 及 MDA 水平比较 与 B 组比较,A、C、D 组 MDA 水平明显降低,SOD、GSH-Px 水平明显升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);而 C 组中 MDA 水平与 A 组无明显差异,SOD 及 GSH-Px 水平与 D 组无明显差异($P>$

0.05),见表 1。



^a: $P<0.05$,与 A 组比较;^b: $P<0.05$,与 B 组比较

图 1 各组大鼠血清肌酐及尿素氮水平比较($n=8$)

表 1 各组大鼠肾组织中 SOD 及 MDA 等水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	MDA(nmol/mgprot)	SOD(U/mgprot)	GSH-Px(U/mgprot)
A 组	2.68±0.14 ^a	359.53±3.76 ^a	562.33±6.82 ^a
B 组	4.05±0.37	329.35±10.13	537.87±7.04
C 组	2.88±0.36 ^a	345.75±12.33 ^{ab}	545.39±5.32 ^{ab}
D 组	3.66±0.32 ^{ab}	343.26±6.27 ^{ab}	547.36±7.50 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与 B 组比较;^b: $P<0.05$,与 A 组比较

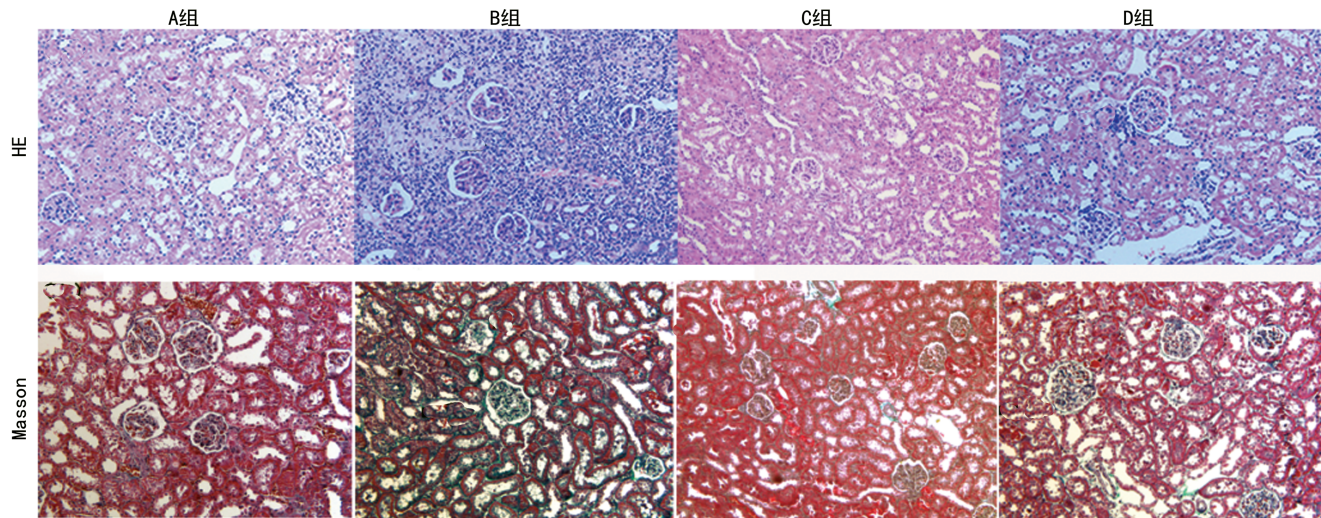


图 2 大鼠肾组织 HE 染色及 Masson 染色结果($\times 200$)

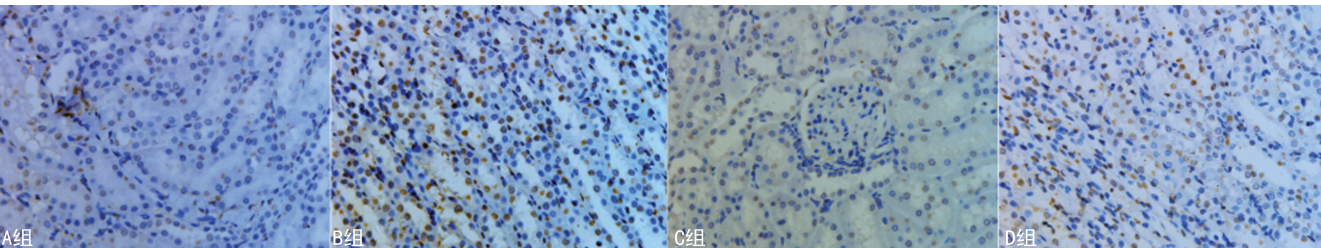


图 3 各组大鼠肾组织凋亡细胞病理图($\times 400$)

2.3 肾脏组织 HE 及 Masson 染色结果 光镜下 HE 染色可见 A、C 组大鼠肾组织无明显单核炎症细胞浸润,肾小球及肾小管形态正常;B 组大鼠肾间质和肾小球周围可见大量炎症细胞浸润,多处局灶性坏死,甚至出现肾小球萎缩、封闭;与 B 组比较,D 组大鼠炎症细胞浸润减少,肾小球及肾小管尚完整,间质破坏不明显。Masson 染色切片显示,B 组可见肾组织胶原染色加深,有条索状纤维形成,D 组胶原染色与 A、C 组无明显差别,见图 2。

2.4 各组 TUNEL 细胞凋亡结果 A、C 组大鼠中肾组织偶见呈棕黄色的阳性细胞(凋亡细胞),可能是正常细胞凋亡的假阳性结果;B 组大鼠无论在肾实质还在间质阳性染色细胞明显增多($P<0.05$);与 B 组比较,D 组大鼠肾组织的阳性细胞减少明显($P<0.05$),只出现少许凋亡细胞。凋亡细胞数半定量结果显示,与 A 组比较,B 组大鼠肾组织凋亡细胞明显增加($P<0.05$),而 D 组凋亡细胞数量比 B 组明显减少($P<0.05$),C、A 组大鼠肾凋亡细胞比较差异无统计学意

义($P>0.05$),见图 3、4。

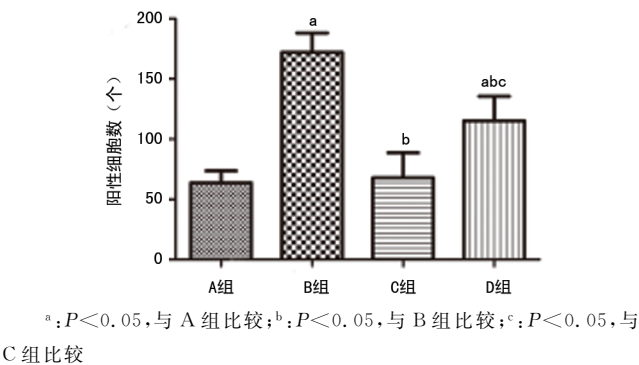


图 4 各组大鼠肾组织凋亡细胞数半定量水平比较

2.5 各组大鼠肾组织 HO-1 蛋白表达水平 与 A 组比较, B、C、D 组大鼠 HO-1 蛋白水平均明显升高($P<0.05$); 而 D 组中 HO-1 蛋白水平升高更明显($P<0.05$), 见图 5。

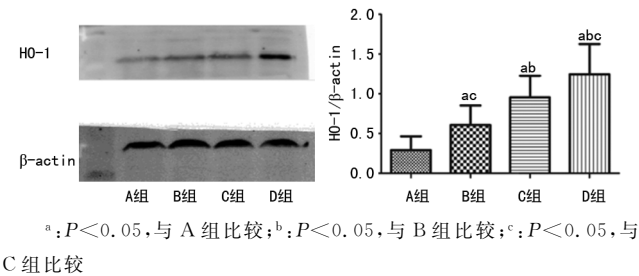


图 5 各组大鼠肾组织 HO-1 蛋白水平比较($n=8$)

3 讨 论

氯胺酮作为毒品“K 粉”的主要成分, 非法滥用情况逐年递增, 不容乐观。氯胺酮的滥用对神经、心血管系统及肝脏的毒副作用已有充分认识, 但关于 KAUD 研究目前仅限于临床治疗, 相关的基础研究也大多呈现单一性, 未能系统深入的探究, 导致临床上尚无统一规范的治疗, 其发病机制有待进一步研究^[8-9]。

氯胺酮滥用导致的泌尿系统损害由于突出的膀胱刺激症状, 其相关性肾损害往往被忽视。GIMONA 等^[5]发现一些氯胺酮滥用导致肾功能不全者的肾穿刺检查结果显示, 肾小管破坏、血管及间质再生, 提示氯胺酮导致上尿路损害可能是直接损伤为主, 间接损害为辅的病理过程。本研究发现, 长期予以氯胺酮注射后, 大鼠的血清肌酐及尿素氮水平明显高于其余各组, 同时在大鼠肾病理组织切片可见大量炎症细胞浸润, 出现肾小球萎缩, 间质纤维化严重等, 甚至在 TUNEL 凋亡结果中发现, 肾间质和实质细胞凋亡数量明显增加, 提示氯胺酮长期作用可导致肾脏的多种直接损害。尽管已发现长期滥用氯胺酮可导致严重泌尿系统损伤, 可其治疗方案却无相关研究证据可循, 对于一些严重肾积水并感染者, 可行患侧肾切除术, 由于滥用氯胺酮患者主要为青少年群体, 不主张轻易行外科手术治疗, 对于此类患者临床上迫切需要

有效而明确的药物和治疗手段的出现。

本研究发现长期予以氯胺酮后大鼠肾组织匀浆的 MDA 水平明显增加, 而抗氧化蛋白 SOD、GSH-Px 水平明显降低, 而在予以抗氧化剂褪黑素作用后能有效地降低 MDA 水平, 并提高 SOD、GSH-Px 水平, 另外仅予以褪黑素后 SOD、GSH-Px 水平也有不同程度提高, 说明褪黑素能有效抵抗氯胺酮导致的肾组织氧化损伤和提高抗氧化相关蛋白表达。近年来, 氧化应激损伤成为学者们研究肾脏疾病的热点, 氧化损伤与反应氮原子和活性氧(ROS)的过量产生相关, ROS 使体内自由基增加, 自由基中超氧化物和脂质过氧化产物(如 MDA)可诱导细胞和组织相应靶分子累积氧化变性或损伤, 是造成细胞代谢和功能紊乱的基本环节和重要病理生理基础^[10-11], 褪黑素是哺乳动物中松果体产生的一种激素, 研究表明其具有促进睡眠和强大的抗氧化作用, 其作为一种高效的抗氧化剂, 能够直接清除氧自由基从而减轻氧自由基对抗氧化酶的破坏, 不仅其清除羟自由基的能力及清除烷过氧化物能力是维生素 E 的 2 倍^[12], 而且其几乎无任何有害不良反应^[13-14], 可在临床上安全推广。

相比于抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px, HO-1 拥有更为强大的抗氧化特性, 例如 HO-1 能促进抗氧化代谢产物胆红素和胆绿素的形成, 可分解血红素(具有强烈氧化毒性的底物)且减少细胞内氧化剂铁和铁蛋白的合成^[15]。由于 HO-1 具有上述突出的抗氧化特性, 使得其成为近年来预防氧化损伤备受瞩目的靶基因^[16-17]。为了更进一步阐明褪黑素治疗氯胺酮对肾脏的氧化损伤是否与激活 HO-1 高表达相关, 本研究通过 Western blot 技术观察各组大鼠肾组织 HO-1 蛋白表达水平, 发现仅长期予以氯胺酮注射后大鼠肾组织 HO-1 的蛋白水平增加并不明显, 但在增加褪黑素干预后 HO-1 蛋白水平明显增加($P<0.05$), 并且单独予以褪黑素的大鼠肾组织 HO-1 水平也明显增加($P<0.05$), 说明氯胺酮可导致肾组织产生氧化应激, 使得 HO-1 表达略微升高, 只是机体的自身加强氧化系统防御的机制, 但是远不足以抵抗氯胺酮所致的 ROS 和 MDA 水平的增加。相比之下, 褪黑素可以有效增加 HO-1 蛋白水平, 从而明显抑制 MDA 水平, 表明在氯胺酮导致肾氧化应激性损伤后应用褪黑素可有效增加 HO-1 蛋白水平, 进而拮抗 SOD、GSH-Px 耗竭, 其机制可能与上调 HO-1 相关靶基因转录的激活有关。

综上所述, 本研究结果表明, 褪黑素能很大程度上改善氯胺酮导致肾脏氧化损伤, 降低脂质过氧化产物(如 MDA)水平, 提高组织抗氧化蛋白 SOD、GSH-Px 及 HO-1 的水平, 从而减少炎症细胞浸润, 细胞凋亡, 肾小球萎缩、封闭及间质纤维形成等, 其保护机制可能与增加 HO-1 蛋白表达有关, 而抵抗氧化损伤有望成为研究 KAUD 的药物靶点。本研究对于揭示氯

胺酮相关性肾损害的发病机制、设计合理的药物治疗靶点,为发掘更精确和个性化的诊断和治疗方法可提供研究基础。

参考文献

[1] LIU K M, CHUANG S M, LONG C Y, et al. Ketamine-induced ulcerative cystitis and bladder apoptosis involve oxidative stress mediated by mitochondria and the endoplasmic reticulum[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2015, 309(4):318-331.

[2] SHAHANI R, STREUTKER C, DICKSON B, et al. Ketamine-associated ulcerative cystitis: a new clinical entity[J]. *Urology*, 2007, 69(5):810-812.

[3] JUAN Y S, LEE Y L, LONG C Y, et al. Translocation of NF-kappaB and expression of cyclooxygenase-2 are enhanced by ketamine-induced ulcerative cystitis in rat bladder[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(8):2269-2285.

[4] ZHANG Q H, ZHOU Z S, LU G S, et al. Melatonin improves bladder symptoms and may ameliorate bladder damage via increasing HO-1 in rats[J]. *Inflammation*, 2013, 36(3):651-657.

[5] GIMONA M, KAVERINA I, RESCH G P, et al. Calponin repeats regulate actin filament stability and formation of podosomes in smooth muscle cells[J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(6):2482-2491.

[6] YEUNG L Y, RUDD J A, LAM W P, et al. Mice are prone to kidney pathology after prolonged ketamine addiction[J]. *Toxicol Lett*, 2009, 191(2/3):275-278.

[7] KUMAR A, SINGH A. Possible involvement of GABAergic mechanism in protective effect of melatonin against sleep deprivation-induced behaviour modification and oxidative damage in mice[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2009, 23(4):439-448.

[8] RAJANDRAM R, YAP N Y, ONG T A, et al. Oral ketamine induced pathological changes of the urinary tract in a rat model[J]. *Malays J Pathol*, 2017, 39(1):47-53.

(上接第 4106 页)

[12] CHIPUK J E, MOLDOVEANU T, LLAMBI F, et al. The Bcl-2 family reunion[J]. *Mol Cell*, 2010, 37(3):299-310.

[13] PAPAGEORGIS P, CHENG K, OZTURK S, et al. Smad4 inactivation promotes malignancy and drug resistance of colon cancer[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(3):998-1008.

[14] 潘理会, 刘海旺, 李春辉. TGF- β 1, T β R-I 和 Smad4 在胃癌发生发展中的相互关系[J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(19):3192-3194.

[15] KALLIONIEMI A. Bone morphogenetic protein 4-a fasci-

[9] WAI M S, CHAN W M, ZHANG A Q, et al. Long-term ketamine and ketamine plus alcohol treatments produced damages in liver and kidney[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2012, 31(9):877-886.

[10] AHMADVAND H, TAVAFI M, KHOSROWBEYGI A. Amelioration of altered antioxidant enzymes activity and glomerulosclerosis by coenzyme Q10 in alloxan-induced diabetic rats[J]. *J Diabetes Complications*, 2012, 26(6):476-482.

[11] OZGUVEN A A, YILMAZ O, TANELI F, et al. Protective effect of ketamine against hemorrhagic cystitis in rats receiving ifosfamide[J]. *Indian J Pharmacol*, 2014, 46(2):147-151.

[12] TAN D X, MANCHESTER L C, REITER R J, et al. Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products[J]. *Biol Signals Recept*, 2000, 9(3/4):137-159.

[13] LEIBOWITZ A, VOLKOV A, VOLOSHIN K, et al. Melatonin prevents kidney injury in a high salt diet-induced hypertension model by decreasing oxidative stress[J]. *J Pineal Res*, 2016, 60(1):48-54.

[14] OZDINC S, OZ G, OZDEMIR C, et al. Melatonin: is it an effective antioxidant for pulmonary contusion? [J]. *J Surg Res*, 2016, 204(2):445-451.

[15] 徐冬辉, 邓宇, 李乐慧, 等. 褪黑素激活 Nrf2 和 HO-1 对锰诱导线粒体氧化应激的影响[J]. *毒理学杂志*, 2013, 27(4):269-273.

[16] GUO Y, SUN J, LI T, et al. Melatonin ameliorates restraint stress-induced oxidative stress and apoptosis in testicular cells via NF-kappaB/iNOS and Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):95-99.

[17] NITURE S K, KASPAR J W, SHEN J, et al. Nrf2 signaling and cell survival[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244(1):37-42.

(收稿日期:2018-01-26 修回日期:2018-06-20)

nating regulator of cancer cell behavior[J]. *Cancer Genet*, 2012, 205(6):267-277.

[16] 马松林, 张姮, 廖宇圣, 等. BMP4 对胃癌细胞迁移和侵袭的影响及其作用机制[J]. *山东医药*, 2017, 57(8):38-40.

[17] BARROS R, PEREIRA B, DULUC I, et al. Key elements of the BMP/SMAD pathway co-localize with CDX2 in intestinal metaplasia and regulate CDX2 expression in human gastric cell lines[J]. *J Pathol*, 2008, 215(4):411-420.

(收稿日期:2018-04-28 修回日期:2018-07-22)