

·基础研究·

本文引用:李腾辉,董一昕,闫凤娜,王淑艳,王珊珊,于雪,王旭,许明阳,李卫红. 补中益气汤对PC12细胞线粒体DNA部分缺失模型的保护作用[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(12): 1473-1478.

## 补中益气汤对PC12细胞线粒体DNA部分缺失模型的保护作用

李腾辉<sup>1</sup>, 董一昕<sup>1</sup>, 闫凤娜<sup>2</sup>, 王淑艳<sup>1</sup>, 王珊珊<sup>1</sup>, 于雪<sup>1</sup>, 王旭<sup>1</sup>, 许明阳<sup>1</sup>, 李卫红<sup>1\*</sup>

(1.北京中医药大学中医学院,北京 100029;2.首都医科大学附属北京地坛医院,北京 100020)

**[摘要]** 目的 探讨补中益气汤对PC12细胞线粒体DNA(mtDNA)部分缺失模型的保护作用及其分子机制。方法 利用神经细胞株PC12细胞,溴化乙锭诱导法制备mtDNA部分缺失模型。将PC12细胞分为4组:正常组、模型组、达纳康组、补中益气汤组。给药24 h后,CCK-8法检测各组细胞线粒体活性;比色法检测线粒体呼吸链复合物I、II、III、IV活性及ATP含量;RT-PCR法检测各组线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM)表达。结果 500 ng/mL浓度溴化乙锭能够使细胞mtDNA拷贝数下降( $P<0.01$ )造成PC12细胞mtDNA部分缺失。与正常组相比,模型组细胞线粒体活性和呼吸链复合物I-IV活性降低( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),ATP含量减少( $P<0.01$ ),TFAM基因表达量下降( $P<0.01$ )。与模型组相比,补中益气汤组线粒体活性显著升高( $P<0.01$ ),呼吸链复合物I、II、IV活性有所升高( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ),ATP含量和TFAM基因表达量增加( $P<0.01$ ),治疗效果与达纳康组无统计学差异( $P>0.05$ )。结论 补中益气汤对溴化乙锭所致mtDNA部分缺失模型具有保护作用,可显著改善线粒体的代谢功能,其机制可能与上调TFAM表达有关,这可能是补中益气汤发挥"补气"功能的现代生物学基础。

**[关键词]** 补中益气汤;PC12细胞;线粒体;DNA部分缺失

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.12.007

### Protective Effect of Buzhong Yiqi Decoction on Partial Deletion Models of Mitochondrial DNA in PC12 Cells

LI Tenghui<sup>1</sup>, DONG Yixin<sup>1</sup>, YAN Fengna<sup>2</sup>, WANG Shuyan<sup>1</sup>, WANG Shanshan<sup>1</sup>, YU Xue<sup>1</sup>, WANG Xu<sup>1</sup>,  
XU Mingyang<sup>1</sup>, LI Weihong<sup>1\*</sup>

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the protective effect of Buzhong Yiqi Decoction on partial deletion models of mitochondrial DNA (mtDNA) in PC12 cells and its molecular mechanism. **Methods** By using a nerve cell strain of PC12 cells, the ethidium bromide induction method was used to prepare partial deletion models of mtDNA. The PC12 cells were divided into 4 groups: a normal group, a model group, a Tanakan group and a Buzhong Yiqi Decoction group. Twenty-four hours after administration, the CCK-8 method was used to detect mitochondrial activities of the cells in each group; colorimetry was used to detect activities of mitochondrial respiratory chain complexes I, II, III, IV and ATP contents; and the RT-PCR method was used to detect expressions of mitochondrial transcription factor A (TFAM) in each group. **Results** Ethidium bromide at a concentration of 500 ng/mL could decrease the copy number of cell mitochondrial DNA ( $P<0.01$ ), resulting in partial deletion of mitochondrial DNA in the PC12 cells. Compared with the normal group, the mitochondrial activity and activities of respiratory chain complexes I-IV in

**[收稿日期]** 2020-05-21

**[基金项目]** 北京中医药大学新奥奖励基金课题(2017-XAJLJJ-002)。

**[作者简介]** 李腾辉,男,在读硕士研究生,研究方向:中医药治疗脑病的基础研究。

**[通讯作者]** \*李卫红,女,教授,硕士研究生导师,E-mail:liweihong.403@163.com。

the model group were decreased ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), the ATP content was decreased ( $P<0.01$ ), and the TFAM gene expression was decreased. Compared with the model group, the mitochondrial activity in the Buzhong Yiqi Decoction group was significantly increased ( $P<0.01$ ), the activities of respiratory chain complexes I, II and IV were increased ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), the content of ATP and the expression of TFAM gene were increased ( $P<0.01$ ), and the efficacy was not statistically different from that in the Tanakan group ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Buzhong Yiqi Decoction has a protective effect on the partial deletion models of mitochondrial DNA induced by ethidium bromide, which can significantly improve the mitochondrial metabolic function. The mechanism may be related to up-regulation of the TFAM expression, which may be a modern biological basis of Buzhong Yiqi Decoction exerting the function of supplementing Qi.

[**Keywords**] Buzhong Yiqi Decoction; PC12 cells; mitochondria; DNA partial deletion model

中医学认为气是构成人体和维持人体生命活动的最基本物质,人体的精微物质血、津液和精等均由气所化生<sup>[1]</sup>。气通过推动、温煦作用,对人体的生长发育以及各脏腑组织器官的生理活动均具有激发和促进作用<sup>[2]</sup>。线粒体通过氧化磷酸化过程合成ATP,为细胞的各种生命活动提供能量,是人体“动力工厂”。当线粒体功能障碍时,机体会出现“气虚”的相关症状。由于中医“气”和线粒体在功能和病理表现上的高度一致性,有学者提出了“气-线粒体”相关学说<sup>[3-4]</sup>,提示改善线粒体损伤可能是补气药物发挥疗效的内在机制。

中枢神经系统代谢旺盛,能量需求高,神经细胞线粒体含量丰富<sup>[5]</sup>。线粒体是除了动物细胞核之外唯一含有DNA的细胞器,但由于线粒体DNA(mtDNA)缺乏组蛋白的保护,极易受到氧自由基等因素损伤发生缺失突变,导致线粒体能量代谢功能异常<sup>[6]</sup>。因此,本实验采用具有神经细胞特征的PC12细胞,通过建立mtDNA部分缺失细胞模型,观察补中益气汤对线粒体损伤的作用及其内在机制,为揭示中医“补气”疗法的生物内涵提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 药物

补中益气汤:黄芪 15 g,炙甘草 15 g,人参 9 g,当归 6 g,陈皮 6 g,升麻 6 g,柴胡 6 g,白术 9 g,均购自北京同仁堂。补中益气汤母液制备:将补中益气汤饮片加适量水浸泡 0.5 h,煎煮两次,合并两次药液浓缩至含生药 315 mg/mL 的母液,过滤除菌 4 °C 保存备用。达纳康母液制备:达纳康作为阳性对照药,制备成总有效成分 0.4 mg/mL 的母液,4 °C 保存以备用。

### 1.2 细胞

PC12 细胞(大鼠肾上腺嗜铬瘤细胞株)购自北

京协和细胞库。

### 1.3 主要试剂与仪器

DMEM、胎牛血清(Gibco 公司);马血清(拜尔迪公司);溴化乙锭(兰博利德公司);丙酮酸、尿嘧啶(Sigma 公司);CCK8 试剂盒(碧云天公司);线粒体呼吸链复合物 I-IV 活性检测试剂盒(索莱宝公司);ATP 检测试剂盒(碧云天公司);DNA 提取试剂盒(艾科瑞公司);RNA 检测试剂盒(艾科瑞公司)。

实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);CO<sub>2</sub> 培养箱(德国 Eppendorf 公司);酶标仪(美国 BioTek 公司)。

## 2 方法

### 2.1 PC12 细胞 mtDNA 部分缺失模型建立

2.1.1 细胞活性检测 将 PC12 细胞按  $5\times 10^5$ /mL 密度接种于 96 孔板,待细胞生长至对数期,吸弃旧培养基,除正常对照组外,其余各组加入不同终浓度(125、250、500、1 000、2 000 ng/mL)溴化乙锭,以及 100  $\mu$ g/mL 丙酮酸,50  $\mu$ g/mL 尿嘧啶的培养基,48 h 后将细胞按照  $1\times 10^5$ /mL 密度接种于 96 孔板中,每组设定 6 个复孔,进行 CCK8 检测。最终确定溴化乙锭的浓度为 500 ng/mL 用于后续实验。

2.1.2 mtDNA 拷贝数检测 为证实 mtDNA 的缺失情况,采用 RT-PCR 法检测线粒体单拷贝基因环氧化酶 2(COX2)来代表 mtDNA 拷贝数。500 ng/mL 浓度溴化乙锭造模完成后,收集细胞,采用 DNA 提取试剂盒提取细胞 DNA,检测 DNA 质量并测定浓度。扩增 COX2 基因,引物大小为 156 bp,正向引物序列为 5'-TGGCTTACAAGACGCCACAT-3',反向引物序列为 5'-TGGGCGTCTATTGTGCTTGT-3',核编码基因  $\beta$ -actin 作为内参,引物大小为 262 bp,正向引物序列为:5'-TTACTGCCCTGGCTCCTAG-3',反向引物序列为 5'-CGTACTCCTGCTTGCTGATC-3'。

反应体系为 2×SYBR Green Mix 10 μL, DNA 1 μL, 引物各 0.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 8 μL, 扩增程序为 95 °C 预变性 10 min, 95 °C 变性 10 s, 55 °C 退火 30 s, 65 °C 延伸 5 s, 49 个循环。采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法进行结果计算。

## 2.2 实验细胞分组与处理

将 PC12 细胞分为 4 组: 正常组、模型组、达纳康组、补中益气汤组。除正常组外, 其余 3 组按“2.1”方法造模。造模完成后, 模型组更换为无血清 DMEM 基本培养基。前期预实验筛选出补中益气汤和达纳康的给药浓度分别为 16 mg/mL、100 ng/mL。补中益气汤组和达纳康组按照预实验筛选出的药物浓度进行给药干预, 24 h 后进行指标检测。

## 2.3 指标检测

**2.3.1 细胞活性检测** 细胞分组处理完成后, 吸弃旧培养基, 用 PBS 溶液轻柔清洗 2 遍, 加入 90 μL DMEM 培养基和 10 μL CCK8 检测液, 37 °C 孵育 3 h, 用酶标仪测定每孔在 450 nm 处的 OD 值。

**2.3.2 线粒体呼吸链复合物 I、II、III、IV 活性和 ATP 含量测定** 细胞分组处理完成后, 用线粒体呼吸链复合物活性检测试剂盒及 ATP 检测试剂盒, 比色法检测各组细胞线粒体呼吸链复合物 I、II、III、IV 含量, 具体操作严格按照试剂盒说明书上的实验步骤进行。

**2.3.3 线粒体转录因子 A (mitochondrial transcription factor A, TFAM) mRNA 水平检测** 各组药物作用完成后, 收集细胞, 采用 RNA 提取试剂盒提取细胞总 RNA, 测定 RNA 浓度并检测纯度。采用反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA 模板, 反转录反应条件: 37 °C, 15 min; 85 °C, 4 s, TFAM 引物大小为 148 bp, 正向引物序列为 5'-TTAGAGAAGGAAGC CCGGCA-3', 反向引物序列为 5'-GTGACTCATC CTTAGCCCC-3'。内参 GAPDH 引物大小为 153 bp, 正向引物序列为 5'-CCATTCTTCCACCTTTGAT-3', 反向引物序列为 5'-TGGTCCAGGTTTCTTACT-3'。反应体系为 2×SYBR Green Mix 10 μL, cDNA 1 μL, 引物各 0.5 μL, ddH<sub>2</sub>O 8 μL, 反应程序及结果计算方法同“2.1.2”。

## 2.4 统计学方法

计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示, 当各组数据满足正态分布且方差齐性时, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 *t* 检验, 若各组数据不符合正态

分布或方差不齐时, 采用非参数检验。运用 GraphPad Prism 8 进行处理。P<0.05 为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 mtDNA 部分缺失模型中溴化乙锭浓度的确定

与正常组比较, 溴化乙锭各浓度组 OD 值均降低 (P<0.001), 呈现出线性量效关系, 表明溴化乙锭引起线粒体活性下降。实验中发现, 由于溴化乙锭对细胞毒性较大, 1 000 ng/mL、2 000 ng/mL 浓度组细胞造模后死亡较多, 药物治疗很难挽救, 故选择中间剂量 500 ng/mL 溴化乙锭作为本实验的造模浓度。见表 1。

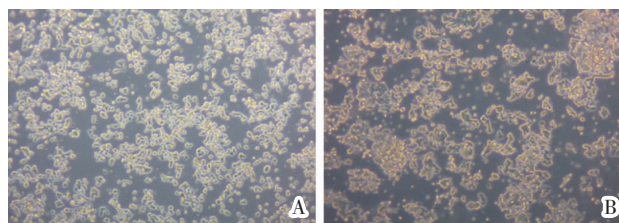
表 1 不同浓度溴化乙锭对 PC12 细胞活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	OD 值
正常组	1.55±0.07
125 ng/mL	0.77±0.05**
250 ng/mL	0.50±0.05**
500 ng/mL	0.41±0.06**
1 000 ng/mL	0.35±0.02**
2 000 ng/mL	0.33±0.02**

注: 与正常组比较, \*\*P<0.001

### 3.2 mtDNA 拷贝数检测

正常组细胞形态呈椭圆形或锥形, 折光性良好, 细胞贴壁性好, 有聚成小团簇状生长的倾向 (图 1A); 模型组细胞贴壁性较差, 部分细胞悬浮在培养液中, 提示出现细胞损伤状态 (图 1B)。



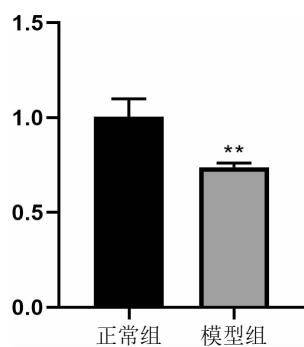
注: A. 正常组; B. 模型组

图 1 细胞形态图 (×100)

与正常组相比, 模型组 PC12 细胞 COX2 基因表达明显下降 (P<0.01), 提示 mtDNA 拷贝数下降, 表明 500 ng/mL 浓度溴化乙锭造模造成了 PC12 细胞线粒体部分 DNA 缺失。见图 2。

### 3.3 各组细胞线粒体活性的检测结果

与正常组比较, 模型组细胞线粒体活性显著升高 (P<0.01)。与模型组相比, 达纳康组和补中益气汤



注:与正常组比较,\*\* $P<0.01$

图2 mtDNA拷贝数检测结果

组细胞活性显著升高( $P<0.01$ ),提示补中益气汤可以改善 mtDNA 缺失造成的细胞活性下降。见表2。

表2 各组 PC12 细胞线粒体活性检测结果( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	OD 值
正常组	2.27±0.27
模型组	0.52±0.11**
达纳康组	2.02±0.22▲▲
补中益气汤组	2.14±0.17▲▲

注:与正常组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,▲▲ $P<0.01$

### 3.4 线粒体呼吸链复合物 I、II、III、IV 活性检测结果

与正常组比较,模型组线粒体呼吸链复合物 I、II、III、IV 活性均显著下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ );与模型组比较,达纳康组和补中益气汤组线粒体呼吸链复合物 I、II、IV 活性显著升高( $P<0.01$ ),复合物 III 活性有升高趋势,但组间无显著差异,结果

见图3。

### 3.5 各组细胞线粒体 ATP 含量

与正常组比较,模型组细胞 ATP 含量显著下降,差异有统计学意义( $P<0.001$ );与模型组比较,达纳康组和补中益气汤组细胞线粒体 ATP 含量显著回升( $P<0.001$ ),表明两种药物干预后细胞线粒体能量代谢功能有所恢复。见表3。

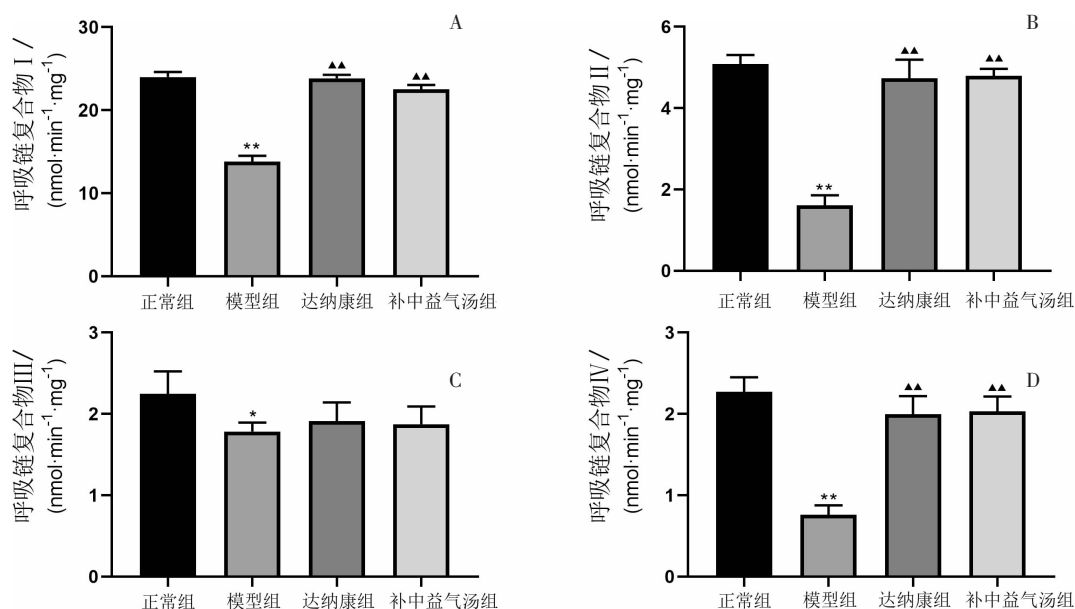
### 3.6 TFAM mRNA 表达水平

与正常组比较,模型组 TFAM mRNA 表达水平降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与模型组比较,达纳康组和补中益气汤组 TFAM mRNA 表达显著升高( $P<0.01$ )。见图4。

## 4 讨论

中医理论认为气是一种肉眼不可见的精微物质,可以通过生理功能和病理现象来感知生命物质的存在<sup>[7]</sup>。现代研究认为,线粒体是细胞进行能量代谢的主要场所,线粒体呼吸链经过一系列的电子和氢离子传递产生 ATP,可以为细胞生存提供95%以上能量,对所在组织、器官和生命质量产生重要影响<sup>[8]</sup>。正如气一样人体生命状态会随着线粒体功能的变化而改变,线粒体也载负着生命现象。故中医学中的气与线粒体功能和作用的统一性逐渐成为现代中医学者的共识<sup>[7-9]</sup>。

脑为“元神之府”,主宰人体的生命活动。随着机



注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,与模型组比较,▲▲ $P<0.01$ 。A.呼吸链复合物 I;B.呼吸链复合物 II;C.呼吸链复合物 III;D.呼吸链复合物 IV

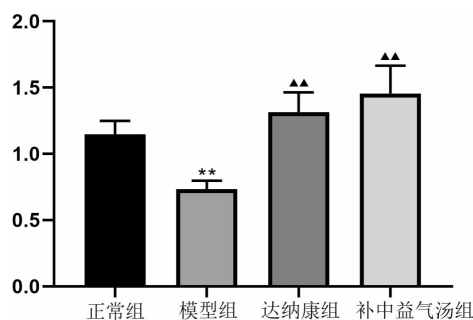
图3 各组细胞向立体呼吸链复合物活性检测结果



表 3 各组细胞 ATP 含量 ( $\bar{x}\pm s, n=6, \text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )

组别	ATP 含量
正常组	836.16±12.76
模型组	244.17±8.00**
达纳康组	804.60±13.55▲▲
补中益气汤组	815.70±16.70▲▲

注:与正常组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,▲▲ $P<0.01$



注:与正常组比较,\*\* $P<0.01$ ;与模型组比较,▲▲ $P<0.01$

图 4 各组 TFAM mRNA 表达水平

体衰老,髓减脑消,神机失用会对人的生活质量造成极大的影响。有报道指出,老年小鼠的脑和海马组织内 mtDNA 缺失的比例较青年幼鼠明显增加,mtDNA 缺失与年龄相关的退行性病变的发生密切相关<sup>[10-11]</sup>。由于 mtDNA 没有内含子,任何形式的突变都可能会造成 mtDNA 序列改变,导致线粒体能量生成障碍,出现学习记忆功能降低、精神意识障碍等现象<sup>[12]</sup>。因此,有人认为 mtDNA 突变可能是导致衰老和神经退行性疾病的重要因素<sup>[13]</sup>。为探讨大脑 mtDNA 缺失对线粒体的功能影响,本实验采用 PC12 大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤分化细胞株(它具有神经内分泌细胞的一般特征,被广泛应用于神经药理研究)建立了 mtDNA 部分缺失细胞模型。造模采用经典的溴化乙锭诱导法,溴化乙锭可插入 mtDNA 内部,逐步减少 mtDNA 的复制,但不影响核 DNA 的复制<sup>[14]</sup>。以往线粒体 mtDNA 研究多采用线粒体缺失细胞株 Rho0 ( $\rho 0$ ),即通过长时间的溴化乙锭干预造成 mtDNA 完全缺失<sup>[15]</sup>,这种“全或无”细胞模型无法研究 mtDNA 不同拷贝数对疾病的影响,不适用于衰老、疲劳综合征等线粒体部分受损疾病的研究<sup>[16]</sup>。故本实验采用 500 ng/mL 浓度的溴化乙锭进行造模,并通过检测 mtDNA 拷贝数证实该浓度可造成 mtDNA 部分缺失,建立更适于中医“气虚证”相关疾病研究的 mtDNA 部分缺失模型。

线粒体呼吸链通过一系列递氢、递电子反应和氧化还原反应形成能量提供给细胞<sup>[17]</sup>,一定程度上

体现了气的推动作用。本实验采用李东垣创立的补气代表方“补中益气汤”作为治疗药物<sup>[18-19]</sup>,观察它对线粒体功能的影响。前期预实验发现,在到达最佳给药浓度之前,补中益气汤组和达纳康组细胞活性会随药物浓度的升高而增强,之后二者呈反比关系,提示两个治疗药物在一定范围内对细胞活性有改善作用。与正常组相比,模型组的线粒体呼吸链复合物 I、II、IV 活性和 ATP 含量明显下降,提示 mtDNA 部分缺失导致线粒体呼吸功能障碍可能与这 3 个复合物有关。线粒体复合物 I 的 7 个亚基、复合物 IV 的 2 个亚基和 ATP 合酶 FO 结构的 2 个亚基由 mtDNA 自己编码,受 mtDNA 缺失影响较大。与模型组相比,补中益气汤可显著增强呼吸链复合物 I、II、IV 活性,这可能是补中益气汤改善线粒体功能的作用环节之一。复合物 I 主要把氢或电子从辅酶 I(NADH)传递给辅酶 Q(CoQ),同时将 4 个氢离子从线粒体内膜内侧泵到膜间隙,复合体 II 的主要功能是将电子从琥珀酸传递给 CoQ,然后传递给复合物 III,再通过 Cyt c 将电子传递到复合体 IV,驱动 ADP 和 Pi 合成 ATP<sup>[20]</sup>。与模型组相比,补中益气汤组 ATP 含量增高,与阳性药达纳康效果相近,提示线粒体呼吸链整体功能改善。

TFAM 是一种由细胞核基因编码的线粒体蛋白质。TFAM 可以通过包裹 mtDNA,形成类似组蛋白的核样结构,使其免受氧化损伤,同时促进 mtDNA 的复制,调节拷贝数,起到保护 mtDNA 的作用<sup>[21]</sup>。线粒体功能紊乱与许多线粒体疾病、肿瘤的发生发展、神经退行性疾病和衰老等密切相关,TFAM 在相关疾病的治疗中起到了关键作用<sup>[22]</sup>。有报道称在前脑神经细胞中 TFAM 的基因敲除可导致 mtDNA 和线粒体转录的减少以及严重的呼吸链缺陷,从而导致神经退行性疾病和明显的行为失调<sup>[23]</sup>。本实验结果显示,与模型组相比,补中益气汤组的 TFAM 表达显著提高,提示上调 TFAM 表达可能是补中益气汤发挥线粒体保护作用的内在机制之一。

综上所述,本实验通过观察补中益气汤对 PC12 细胞 mtDNA 部分缺失模型的影响,发现补气药物可能通过改善线粒体呼吸链功能和 mtDNA 修复对线粒体损伤起到保护作用,为补气药治疗 mtDNA 部分缺失引起的相关疾病提供了实验依据。另一方面,通过“以药测证”的方法验证了中医气与线粒体之间的

密切相关性,为揭示中医“气”实质提供了证据支撑。

## 参考文献

- [1] 王小平.论中医气概念的内涵[J].陕西中医学院学报,2015,38(2):1-5.
- [2] 葛巍,王海燕,张磊昌,等.论肠道菌群与中医“气”的相关性[J].中华中医药学刊,2019,37(2):354-356.
- [3] 李艳,严灿,邓中炎.气虚证实质探讨[J].安徽中医学院学报,2000(5):7-8.
- [4] 林飞,郭丽丽,王阶.基于线粒体的功能阐释中医“气”的作用[J].中国中西医结合杂志,2014,34(8):903-906.
- [5] 朱笠,邓健文,王鹏,等.与神经退行性疾病相关的RNA结合蛋白在线粒体损伤中的作用[J].生物化学与生物物理进展,2016,43(4):374-382.
- [6] YOUSEFI S, SIMON D, STOJKOV D, et al. In vivo evidence for extracellular DNA trap formation[J]. Cell Death and Disease, 2020,11(4):300.
- [7] 李斌,纪立金,闵寅,等.从《黄帝内经》的思维方法探讨“气”和能量的相关性[J].中华中医药杂志,2019,34(11):5033-5036.
- [8] 徐婷,李华,鲁姗姗,等.线粒体电子传递呼吸链及其生物学意义的研究进展[J].复旦学报(医学版),2015,42(2):250-255.
- [9] 林飞,奚肇庆,谢劲松,等.基于气与线粒体的相关性探析温病卫气营血传变机制[J].中医杂志,2016,57(22):1901-1906.
- [10] 陈彩珍,卢健.衰老小鼠脑老化过程中线粒体结构功能与mtDNA缺失的生物学规律[J].中国临床康复,2005,9(15):110-111.
- [11] TAKAKI A, JIMI S, SEGAWA M, et al. Cadmium-Induced Nephropathy in Rats Is Mediated by Expression of Senescence-Associated Beta-Galactosidase and Accumulation of Mitochondrial DNA Deletion[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2004,1011(1):332-338.
- [12] 王红娟,侯宏卫,王安,等.mtDNA拷贝数的生物学意义及其调控[J].中国生物化学与分子生物学报,2017,33(6):547-554.
- [13] 项平,高国全,周丽华,等.老年学习记忆减退大鼠脑线粒体DNA缺失[J].中国病理生理杂志,2000(6):56-60.
- [14] 马立波,石昕,牛淑妍,等.溴化乙锭与DNA相互作用的电化学及紫外-可见光谱研究[J].青岛科技大学学报(自然科学版),2003(5):398-400.
- [15] 王磊,程鹤香,赵倩,等.缺失mtDNA的人喉癌细胞系的建立[J].中国实验诊断学,2012,16(11):1972-1975.
- [16] 倪一平,王小娟,孙一丹,等.线粒体DNA数目不同的人角质形成细胞模型的建立[J].中国细胞生物学学报,2017,39(9):1188-1195.
- [17] 王佳,贾连群,宋囡,等.健脾化痰祛瘀方对动脉粥样硬化巴马猪小肠线粒体呼吸链复合物及ATP活性的影响[J].中华中医药学刊,2019,37(11):2677-2681.
- [18] 周龙云,田子睿,刘书芬,等.黄芪对中枢神经系统的药理作用及毒理研究现状[J].中草药,2018,49(20):4935-4944.
- [19] 郑清炼,楚世峰,许鑫,等.黄芪甲苷的神经保护作用研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2019,33(10):877.
- [20] RUNYU G, JINKE G, SHUAI Z, et al. Structure and mechanism of mitochondrial electron transport chain.[J]. Biomedical journal, 2018,41(1):9-20.
- [21] ANJALIAH H, VALLIKANNAN B. Lutein upregulates the PGC-1 $\alpha$ , NRF1, and TFAM expression by AMPK activation and downregulates ROS to maintain mtDNA integrity and mitochondrial biogenesis in hyperglycemic ARPE-19 cells and rat retina[J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 2019, 66(6): 999-1009.
- [22] 陈纯,叶钦勇.线粒体转录因子A与神经系统疾病关系的研究进展[J].国际神经病学神经外科学杂志,2014,41(03):297-300.
- [23] 张纪亮,张宜家,王杰,等.线粒体转录因子A及其相关疾病[J].中国细胞生物学学报,2013,35(5):712-719.

(本文编辑 苏维)