

奥克托今及其主要合成中间体对中国仓鼠肺细胞凋亡和氧化应激的影响

郭旺旺, 刘进仁, 范小琳, 王鸿, 牛浩, 高俊宏

兵器工业卫生研究所毒理技术研究室, 陕西 西安 710065

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2020.20083

摘要:

[背景] 奥克托今 (HMX) 是当今综合性能最好的单质炸药。有研究发现 HMX 可影响职业暴露者神经行为功能和周围神经传导速度。3, 7-二硝基-1, 3, 5, 7-四氮杂双环 [3, 3, 1] 壬烷 (DPT) 是合成 HMX 的主要中间体, 但目前国内外关于 DPT 的毒性研究尚未见报道。

[目的] 探讨 HMX 及 DPT 对中国仓鼠肺细胞 (CHL) 细胞凋亡及氧化应激水平的影响。

[方法] 应用含有 0、31.25、62.50、125、250、500 mg·L⁻¹ 质量浓度 (后称浓度) 的 HMX、DPT 分别对体外培养的 CHL 染毒 24 h, 利用 CCK-8 法检测细胞活力; Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡情况; DCFH-DA 荧光探针检测细胞内活性氧 (ROS) 荧光强度。采用抗氧化剂干预, 即 2.5 mmol·L⁻¹ N-乙酰半胱氨酸 (NAC) 预处理 CHL 4 h, 经 120 mg·L⁻¹ DPT 染毒 24 h 后检测细胞活力和凋亡情况。

[结果] 细胞活力检测结果显示 DPT 对 CHL 的半数抑制浓度为 119.55 mg·L⁻¹。当 DPT 浓度为 250 mg·L⁻¹ 时, 细胞活力下降至 (17.95±2.18) %; HMX 浓度为 500 mg·L⁻¹ 时, 细胞活力为 (83.34±3.03) %。细胞凋亡结果显示, 与各自对照组相比, 各染毒组的凋亡率均随染毒剂量增加而逐渐升高 ($P<0.05$)。62.50~500 mg·L⁻¹ 范围内, HMX 导致的细胞凋亡率由 (15.63±0.58) % 缓慢升至 (37.00±1.25) %, 而 DPT 引起的细胞凋亡率从 (33.75±0.57) % 迅速升至 (96.57±0.53) %。细胞内 ROS 检测结果显示, HMX 和 DPT 均能引起细胞内 ROS 水平升高。但 HMX 引起细胞内 ROS 变化较小, 250、500 mg·L⁻¹ HMX 组细胞内 ROS 荧光强度分别为 103.96±5.59 和 119.61±4.42, 而相同剂量 DPT 组的 ROS 荧光强度分别为 238.52±7.15 和 451.02±13.02 ($P<0.05$)。另外, NAC 干预可有效缓解 DPT 引起的细胞活力抑制和凋亡, NAC 预处理 +DPT 组的细胞活力、凋亡率为 (76.41±4.91) %、(16.85±0.12) %, 而 DPT 组为 (48.02±2.63) %、(62.67±8.49) % ($P<0.05$)。

[结论] 相同剂量下 DPT 对 CHL 的毒性大于 HMX, 高剂量 DPT 引起细胞内 ROS 水平升高, 导致细胞凋亡。

关键词: 奥克托今; 3, 7-二硝基-1, 3, 5, 7-四氮杂双环 [3, 3, 1] 壬烷; 职业暴露; 细胞凋亡; 活性氧

Effects of octogen and its intermediate product on apoptosis and oxidative stress of Chinese hamster lung cells GUO Wang-wang, LIU Jin-ren, FAN Xiao-lin, WANG Hong, NIU Hao, GAO Jun-hong (Toxicology Research Laboratory, Institute for Hygiene of Ordnance Industry, Xi'an, Shaanxi 710065, China)

Abstract:

[Background] Octogen (HMX) is the best comprehensive explosive compound at present. Studies have found that HMX can affect the neurobehavioral function and peripheral nerve conduction velocity of occupational exposure groups. 3, 7-dinitro-1, 3, 5, 7-tetraazabicyclo[3, 3, 1]nonane (DPT) is the main intermediate of HMX synthesis, but the toxicities of DPT have been rarely reported across the world.

[Objective] This experiment investigates the effects of HMX and DPT on apoptosis and oxidative stress of Chinese hamster lung cells (CHL).

[Methods] Designed doses (0, 31.25, 62.50, 125, 250, and 500 mg·L⁻¹) of HMX and DPT were applied to treat CHL cultured *in vitro* for 24 h. CCK-8 method was used to detect cell viability, Annexin V-FITC/PI double staining assay for cell apoptosis, and DCFH-DA fluorescent probe for intracellular reactive oxygen species (ROS). Furthermore, having been pretreated with 2.5 mmol·L⁻¹

作者简介

郭旺旺 (1994—), 男, 学士, 助理工程师; E-mail: 953381196@qq.com

通信作者

高俊宏, E-mail: gaoxing2285@126.com

利益冲突 无申报

收稿日期 2020-03-02

录用日期 2020-07-07

文章编号 2095-9982(2020)08-0808-04

中图分类号 R34

文献标志码 A

引用

郭旺旺, 刘进仁, 范小琳, 等. 奥克托今及其主要合成中间体对中国仓鼠肺细胞凋亡和氧化应激的影响 [J]. 环境与职业医学, 2020, 37 (8): 808-811.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2020.20083

Correspondence to

GAO Jun-hong, E-mail: gaoxing2285@126.com

Competing interests None declared

Received 2020-03-02

Accepted 2020-07-07

To cite

GUO Wang-wang, LIU Jin-ren, FAN Xiao-lin, et al. Effects of octogen and its intermediate product on apoptosis and oxidative stress of Chinese hamster lung cells [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2020, 37(8): 808-811.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2020.20083

N-acetyl cysteine (NAC) for 4 h and administered with 120 mg·L⁻¹ DPT for 24 h, the cell viability and apoptosis of CHL were detected.

[Results] The results of cell viability assay showed that the half inhibitory concentration of DPT on CHL was 119.55 mg·L⁻¹. DPT at 250 mg·L⁻¹ decreased the cell viability to (17.95±2.18) %, and 500 mg·L⁻¹ HMX decreased it to (83.34±3.03) %. Compared with corresponding control groups, the apoptosis rates of the exposure groups increased gradually with the exposure dose rising ($P<0.05$). The apoptosis rate of the 62.50-500 mg·L⁻¹ HMX exposure groups increased moderately from (15.63±0.58) % to (37.00±1.25) %, while that of the 62.50-500 mg·L⁻¹ DPT exposure groups increased drastically from (33.75±0.57) % to (96.57±0.53) %. Both HMX and DPT increased intracellular ROS levels. However, HMX caused a smaller change of ROS levels than DPT did. The ROS intensity were 103.96±5.59 and 119.61±4.42 at 250 and 500 mg·L⁻¹ HMX, and 238.52±7.15 and 451.02±13.02 at 250 and 500 mg·L⁻¹ DPT, respectively ($P<0.05$). In addition, the NAC intervention effectively alleviated the cell viability inhibition and apoptosis caused by the DPT exposure. The cell viability and apoptosis rate of the NAC pretreatment+DPT group were (76.41±4.91) % and (16.85±0.12) %, while those of the DPT group were (48.02±2.63) % and (62.67±8.49) %, respectively ($P<0.05$).

[Conclusion] The toxicity of DPT to CHL is higher than that of HMX at the same dose. DPT at a high concentration could increase cell apoptosis of CHL via elevating intracellular ROS.

Keywords: octogen; 3, 7-dinitro-1, 3, 5, 7-tetraazabicyclo[3, 3, 1]nonane; occupational exposure; apoptosis; reactive oxygen species

奥克托今, 即 1, 3, 5, 7-四硝基-1, 3, 5, 7-四氮杂环辛烷 (1, 3, 5, 7-tetranitro-1, 3, 5, 7-tetraazacyclooctane, HMX), 是当今综合性能最好的单质炸药, 在国防工业和国民经济建设中得到广泛应用^[1]。动物实验研究表明, 小鼠急性经口染毒 HMX 的半数致死剂量 (median lethal dose, LD₅₀) 为 2710 mg·kg⁻¹ (以体重计), 大鼠 LD₅₀ 为 7360 mg·kg⁻¹ (以体重计)^[2]。小鼠急性经口染毒 5000 mg·kg⁻¹ (以体重计) HMX 8 h 后, 出现听觉刺激敏感性增高, 过度兴奋、频繁抽搐等神经毒性症状^[3]。HMX 的人群暴露资料显示, HMX (13.15 mg·m⁻³) 暴露者以神经行为改变为主, 主要表现为头疼、记忆力减退等^[3], 工作场所空气中 HMX 时间加权平均容许浓度为 2 mg·m⁻³, 短时间接触容许浓度为 4 mg·m⁻³^[4]。

3, 7-二硝基-1, 3, 5, 7-四氮杂双环 [3, 3, 1] 壬烷 [3, 7-dinitro-1, 3, 5, 7-tetraazabicyclo[3, 3, 1]nonane, DPT] 是合成 HMX 的重要中间体^[5-7]。在实际作业场所, HMX 和 DPT 均以气溶胶形式存在于粉尘中, 作业人员的暴露途径以吸入为主^[8]。因此, 迫切需要研究 HMX 和 DPT 的毒性及其毒作用机制, 为科研、生产人员的职业防护提供依据。本课题以中国仓鼠肺细胞 (Chinese hamster lung cells, CHL) 为研究对象, 进行不同浓度 HMX 和 DPT 染毒, 探讨两种物质对 CHL 的毒性及其机制。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

CO₂ 培养箱 (SHELLAB 公司, 美国), 倒置显微镜 (Carl Zeiss AG 公司, 德国), Enspire 2300 多功能酶标仪 (珀金埃尔默股份有限公司, 美国), 流式细胞仪 (BD 公司, 美国), 激光共聚焦显微镜 (莱卡公司, 德

国); DMEM 高糖培养液、胰酶消化液 (Hyclone 公司, 美国), 胎牛血清、青-链霉素 (Invitrogen 公司, 美国), DCFH-DA 荧光探针 (碧云天生物技术公司, 中国), N-乙酰半胱氨酸 (N-acetyl cysteine, NAC) (碧云天生物技术公司, 中国), CCK-8 试剂盒 (上海翊圣生物科技有限公司, 中国), Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡试剂盒 (上海七海复泰生物科技有限公司, 中国)。HMX 和 DPT 由西安近代化学研究所提供, 纯度为 99%, 用 DMSO (西安试剂公司, 中国) 溶解至 1 g·L⁻¹ 备用。

1.2 细胞培养

CHL 购于中科院上海细胞库, 培养在完全培养液中 (含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素混合液的 DMEM 高糖培养液), 在 5% CO₂、37°C、饱和湿度的细胞培养箱中培养。选取对数生长期细胞进行试验, 支原体检测结果为阴性。

1.3 分组与处理

HMX 和 DPT 染毒试验各设 5 个染毒剂量组和 1 个对照组。染毒剂量分别为 31.25、62.50、125、250、500 mg·L⁻¹, 对照组为完全培养液处理; 染毒 24 h。

抗氧化剂 NAC 干预: 用含 2.5 mmol·L⁻¹ NAC 的细胞培养液孵育细胞 4 h, 弃去含 NAC 的培养液, 用 PBS 洗细胞 2 次, 再用 120 mg·L⁻¹ DPT 染毒 24 h。分别设对照组 (完全培养液处理)、NAC 预处理+DPT 组、DPT 组 (120 mg·L⁻¹)。

1.4 指标与方法

1.4.1 细胞活力检测 细胞活力检测采用 CCK-8 试剂盒。将 CHL 按 2.5×10⁴ 个·mL⁻¹、每孔 200 μL 接种于 96 孔板。HMX 或 DPT 染毒细胞 24 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 试剂, 继续孵育 2 h。在 450 nm 处利用酶标仪检测光密度值 (D), 细胞活力 = $D_{\text{实验组}}/D_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。每

个剂量设5个复孔, 试验独立重复3次。

1.4.2 细胞凋亡检测 采用Annexin V-FITC/PI双染法, 将CHL以 2.5×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 、每孔500 μL 接种于24孔培养板。HMX或DPT染毒细胞24h后, 收集上清液, 并用不含EDTA的胰酶消化所有细胞, 用预冷的PBS洗细胞2次, 用binding buffer重悬细胞, 加入Annexin V室温避光孵育15 min, 加入PI染料, 冰上孵育5 min后用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。细胞凋亡率=(早期凋亡细胞数+晚期凋亡细胞数)/细胞总数 $\times 100\%$ 。试验独立重复3次。

1.4.3 细胞内ROS检测 将CHL以 2.5×10^4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 、每孔500 μL 接种于24孔培养板。将HMX或DPT染毒24h后的细胞收集于离心管, 将DCFH-DA探针用不含酚红、不含胎牛血清的DMEM高糖培养液稀释至 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 细胞培养箱内孵育15 min, 避光条件下用预冷PBS洗细胞2次, PBS重悬, 采用流式细胞仪检测荧光强度。试验独立重复3次。

1.4.4 NAC干预 分别检测对照组、NAC预处理+DPT组、DPT组的细胞活力和细胞凋亡情况。

1.5 统计学分析

采用SPSS 13.0软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数比较采用单因素方差分析, 两两比较采用LSD检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 HMX和DPT对CHL活力的影响

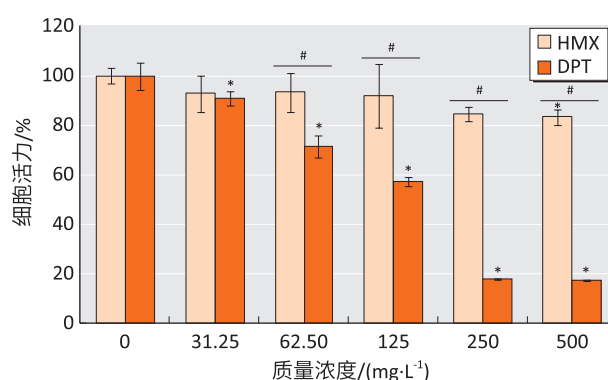
细胞活力检测结果显示相同剂量条件下, DPT对细胞的毒性更强并且呈现一定的剂量效应关系。DPT对CHL的半数抑制浓度(half-inhibitory concentration, IC_{50})为 $119.55 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其95%CI为(70.68, 278.30) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。当DPT浓度为 $125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 细胞活力为(57.33 $\pm$ 2.00)%; 浓度为 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 细胞活力下降至(17.95 $\pm$ 2.18)%; 浓度为 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时继续下降不明显。HMX没有表现出太大的细胞毒性, $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度时, CHL细胞活力为(83.34 $\pm$ 3.03)%, 与对照组相比, 差异有统计学意义($P<0.05$), 其余各组差异均无统计学意义, 见图1。

2.2 HMX和DPT对CHL细胞凋亡和ROS的影响

与各自对照组相比, DPT和HMX各染毒组的凋亡率均随染毒剂量增加而逐渐升高($P<0.05$)。62.50~ $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内HMX导致的细胞凋亡率由(15.63 $\pm$ 0.58)%缓慢升至(37.00 $\pm$ 1.25)%, 而DPT引起的细胞凋亡率从(33.75 $\pm$ 0.57)%迅速升至(96.57 $\pm$

0.53)%, 在相同剂量下, DPT对CHL细胞凋亡的影响大于HMX(均 $P<0.05$)。见表1。

细胞内ROS检测结果显示, HMX和DPT均能引起细胞内ROS水平升高。但HMX引起细胞内ROS变化较小, 250 、 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量下细胞内ROS荧光强度分别为 103.96 ± 5.59 和 119.61 ± 4.42 ; 而相同剂量的DPT组细胞内ROS荧光强度分别为 238.52 ± 7.15 和 451.02 ± 13.02 , 约是前者的2.3倍和3.8倍($P<0.05$)。在 $\leq 62.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量范围内, HMX引起的细胞内ROS荧光强度略高于DPT($P<0.05$)。见表1。



[注] *: 与对照组相比, $P<0.05$; #: 相同剂量的DPT与HMX比较, $P<0.05$ 。

图1 HMX和DPT对CHL细胞活力的影响 ($n=3$)

Figure 1 Effects of HMX and DPT on the viability of CHL ($n=3$)

表1 HMX和DPT对CHL细胞凋亡和ROS的影响 ($n=3$)

Table 1 Effects of HMX and DPT on apoptosis and ROS of CHL ($n=3$)

质量浓度 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	细胞凋亡率/%		ROS 荧光强度	
	HMX	DPT	HMX	DPT
0	0.33 $\pm$ 0.21	0.38 $\pm$ 0.23	4.41 $\pm$ 0.11	4.43 $\pm$ 0.03
31.25	9.07 $\pm$ 0.38*	19.80 $\pm$ 1.02**	42.72 $\pm$ 1.53*	23.98 $\pm$ 1.45**
62.50	15.63 $\pm$ 0.58*	33.75 $\pm$ 0.57**	54.01 $\pm$ 2.20*	42.87 $\pm$ 3.89**
125	27.94 $\pm$ 1.64*	68.53 $\pm$ 1.09**	57.15 $\pm$ 1.32*	71.18 $\pm$ 3.88**
250	29.77 $\pm$ 1.52*	84.08 $\pm$ 1.48**	103.96 $\pm$ 5.59*	238.52 $\pm$ 7.15**
500	37.00 $\pm$ 1.25*	96.57 $\pm$ 0.53**	119.61 $\pm$ 4.42*	451.02 $\pm$ 13.02**

[注] *: 与对照组相比, $P<0.05$; #: 相同剂量的DPT与HMX比较, $P<0.05$ 。

2.3 NAC可减弱DPT诱导的CHL凋亡

结果显示, 对照组的细胞活力和凋亡率分别为(100 $\pm$ 0.80)%、(4.75 $\pm$ 0.40)%; NAC预处理+DPT组、DPT组的细胞活力为(76.41 $\pm$ 4.91)%、(48.02 $\pm$ 2.63)%, 凋亡率分别为(16.85 $\pm$ 0.12)%、(62.67 $\pm$ 8.49)%, 与对照组相比, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

本研究结果显示, HMX对CHL的毒性较DPT小。有文献报道HMX对大鼠经口染毒的 LD_{50} 大于 $5000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 前期研究发现DPT对大鼠经口染毒 LD_{50}

约为 $2802 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [9-10], 这一结果与两种化学品对 CHL 的抑制趋势一致。进一步研究发现两种化学品均能引起 CHL 凋亡, 但 DPT 的作用能力更强。同时发现两种化学品可使细胞内 ROS 水平出现不同程度的升高。但在 $\leq 62.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量范围内, 两种物质引起的细胞内 ROS 变化水平相近, 但细胞活力表现出了差异, 说明在低剂量暴露条件下, DPT 引起的细胞活力抑制可能与其引起的细胞内 ROS 变化无关。在高于 $125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量时, DPT 引起细胞内 ROS 水平快速上升, 同时细胞活力大幅降低。NAC 是一种常见的抗氧化剂, 在本研究中利用 NAC 预处理 CHL 后, 发现 $120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ DPT 对细胞活力的抑制程度下降, 并且 DPT 引起细胞凋亡的能力也下降。说明在较大剂量暴露时, 细胞损伤和凋亡与 DPT 引起的细胞内 ROS 水平升高有关。

通常化学品或抗肿瘤药物通过诱导细胞凋亡达到抑制其生长的作用, 凋亡与细胞活力抑制呈正相关 [11]。在本研究中 HMX 对 CHL 的细胞毒性较小, $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量染毒 24 h 后细胞活力仅被抑制 16.66%, 而在相同染毒条件下细胞凋亡率却高达 37.00%。可以看出, HMX 引起的细胞凋亡并没有导致细胞活力发生相应的变化。可能是因为低溶解度的 HMX 在培养液中析出并黏附在细胞表面, 影响了 Annexin V 与细胞膜磷脂酰丝氨酸的结合。

ROS 在细胞内具有双向作用, 即正常生理水平的 ROS 作为细胞内氧化还原信号分子, 发挥信号传递作用。而过量的 ROS 会引起细胞内生物大分子氧化修饰, 影响其结构和功能, 最终引起细胞损伤 [12-14]。细胞凋亡是过量 ROS 引起正常细胞不良结局之一, 其机制与 ROS 引起的以死亡分子/死亡受体、肿瘤坏死因子/肿瘤坏死因子受体、肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体等死亡受体通路激活, 线粒体膜通透性增加、通透性转运通道开放、细胞色素 c 和凋亡诱导因子释放为特点的线粒体凋亡通路激活 [15-17], 丝裂原活化蛋白激酶超家族相关的应激活化蛋白激酶介导的凋亡通路激活 [18] 等诸多因素有关。DPT 如何引起 CHL 内 ROS 水平升高以及通过何种机制诱导细胞凋亡, 对于研究 DPT 职业危害特征和职业防护具有重要意义, 也将是下一步的研究重点。

参考文献

- [1] 曹欣茂, 李副平. 奥克托今高能炸药及其应用 [M]. 北京: 兵器工业出版社, 1993: 4-61.
- [2] CUTHBERT JA, D'ARCY-BURT KJ, CARR S MA. HMX: acute toxicity tests in laboratory animals [R]. Frederick: U.S. Army Medical Research and Development Command, 1985.
- [3] 王延琦, 严川信, 夏宝清, 等. 车间空气中奥克托今卫生标准研究 [J]. 工业卫生与职业病, 2001, 27 (3): 134-136.
- [4] 工作场所所有害因素职业接触限值 第 1 部分: 化学有害因素: GBZ 2.1—2019 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [5] 许同利. 1, 3, 5, 7, 7-五硝基-1, 3, 5-三氮杂环辛烷合成方法的改进 [J]. 含能材料, 1997, 5 (4): 184-187.
- [6] 吕春绪. N_2O_5 绿色硝化研究及其新进展 [J]. 含能材料, 2010, 18 (6): 611-617.
- [7] 严川信, 程先升, 张延巍, 等. 奥克托今对作业工人周围神经传导速度的影响 [J]. 工业卫生与职业病, 2003, 29 (1): 4-7.
- [8] 李陈. 奥克托今粉尘爆炸特性及其热分解研究 [D]. 太原: 中北大学, 2018.
- [9] 陈国元, 丁瑞卿. 奥克托金的 (HMX) 的毒性研究 [J]. 化工劳动保护 (工业卫生与职业病分册), 1984 (1): 17.
- [10] 李全良, 陈军, 王建龙. DPT 制备 HMX 工艺研究 [J]. 含能材料, 2007, 15 (5): 509-510.
- [11] 谭亚琦, 何焱玲. 细胞增殖的检测方法 [J]. 医学研究杂志, 2016, 45 (12): 6-8, 5.
- [12] ALTIERI DC. Survivin, cancer networks and pathway-directed drug discovery [J]. Nat Rev Cancer, 2008, 8 (1): 61-70.
- [13] WILLI J, KÜPFER P, EVÉQUOZ D, et al. Oxidative stress damages rRNA inside the ribosome and differentially affects the catalytic center [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46 (4): 1945-1957.
- [14] RUIZ-RAMOS R, LOPEZ-CARRILLO L, RIOS-PEREZ AD, et al. Sodium arsenite induces ROS generation, DNA oxidative damage, HO-1 and c-Myc proteins, NF- κ B activation and cell proliferation in human breast cancer MCF-7 cells [J]. Mutat Res, 2009, 674 (1/2): 109-115.
- [15] CIRCU ML, AW TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis [J]. Free Radic Biol Med, 2010, 48 (6): 749-762.
- [16] MARTIN KR, BARRETT JC. Reactive oxygen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cell signaling versus high-dose toxicity [J]. Hum Exp Toxicol, 2002, 21 (2): 71-75.
- [17] SIMON HU, HAJ-YEHIA A, LEVI-SCHAFFER F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction [J]. Apoptosis, 2000, 5 (5): 415-418.
- [18] WADA T, PENNINGER JM. Mitogen-activated protein kinases in apoptosis regulation [J]. Oncogene, 2004, 23 (16): 2838-2849.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)