

过氧化物酶V在顺铂诱导HepG2肝癌细胞 凋亡过程中的调控作用

官伊希[#] 谢丹萍[#] 王闯 刘悦 崔玉东 孙虎男^{*}

(黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 大庆 163319)

摘要 过氧化物酶V(peroxiredoxin V, Prx V)是过氧化物酶家族(peroxiredoxins, Prxs)中的一员,具有清除细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的功能。该文主要阐明了Prx V在顺铂(cisplatin, CDDP)诱导HepG2人肝癌细胞凋亡过程中的调控作用。该研究利用顺铂处理HepG2肝癌细胞,通过荧光显微照相、流式细胞术、蛋白质免疫印迹分析等方法检测细胞内活性氧(ROS)水平、细胞凋亡情况以及凋亡相关蛋白水平。研究表明,顺铂可引起细胞内的ROS水平升高导致细胞凋亡,同时造成细胞内Prx V蛋白质表达水平下降。利用慢病毒载体过量表达Prx V基因后,顺铂诱导的Prx V过量表达型HepG2细胞凋亡率明显低于Mock组,同时促凋亡蛋白cleavage-Caspase-3、Bad、cleavage-PARP表达水平也明显被下调,说明Prx V在顺铂诱导HepG2细胞凋亡过程中具有一定的抑制作用。该研究初步探究了Prx V在顺铂诱导的HepG2肝癌细胞凋亡过程中的调控作用,为肝癌的治疗研究提供了新的思路和治疗靶点。

关键词 过氧化物酶V; 顺铂; 活性氧; HepG2细胞; 细胞凋亡

The Role of Peroxiredoxin V in Cisplatin-Induced Human Liver Cancer Cell Line HepG2 Apoptosis

Gong Yixi[#], Xie Danping[#], Wang Chuang, Liu Yue, Cui Yudong, Sun Hunan^{*}

(College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

Abstract Peroxiredoxin V (Prx V) is a member of the Peroxiredoxin families (Prxs) and plays a role on scavenging the intracellular reactive oxygen species (ROS). In the current study, we observed the regulatory role of Prx V on the apoptosis of HepG2 human liver cancer cells induced by cisplatin (CDDP). The CDDP induced cellular ROS, apoptosis and apoptosis related proteins expression levels were measured by fluorescence microscopy, flow cytometry and Western blot analysis. The results indicated that cisplatin could induce the HepG2 cell apoptosis by accumulating the intracellular ROS levels, while the protein expression level of Prx V was down-regulated. After over-expressed of the Prx V gene with lentivirus, the CDDP induced HepG2 cell apoptosis was decreased in Prx V over-expressed cells compared with that of mock cells. The pro-apoptotic proteins, such as cleavage-Caspase-3, Bad and cleavage-PARP expression levels were also significantly down-regulated in Prx V (O/V) cells than Mock cells. Our findings demonstrated the protective role of Prx V on CDDP induced HepG2 cell apoptosis and gave a new sight to treatment of the liver cancers.

Keywords peroxiredoxin V; cisplatin; reactive oxygen species; HepG2 cells; cell apoptosis

收稿日期: 2018-10-09

接受日期: 2018-11-21

黑龙江省大学生创新创业训练项目(批准号: 201710223025)资助的课题

[#]共同第一作者

*通讯作者。Tel: 18745968262, E-mail: sunmkbb@qq.com

Received: October 9, 2018

Accepted: November 21, 2018

This work was supported by the Training Programs of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates of Heilongjiang Province (Grant No.201710223035)

[#]These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-18745968262, E-mail: sunmkbb@qq.com

网络出版时间: 2018-12-28 17:17:12

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20181228.1717.024.html>

肝癌是世界六大恶性肿瘤之一^[1], 现已成为严重威胁人们生命健康的疾病。顺铂(cisplatin, CDDP)作为一种临床应用极为广泛的化学治疗药物, 在肝癌的化学治疗中具有极其重要的地位。CDDP可以与DNA结合破坏其结构导致肿瘤细胞发生凋亡^[2], 同时也可以直接靶向作用于线粒体, 诱导线粒体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)聚积, 激活线粒体依赖性凋亡通路, 引起细胞凋亡^[3-4]。已有研究指出, 高剂量的CDDP可诱导细胞内ROS的大量蓄积, 致使细胞内的凋亡相关蛋白过度激活和线粒体膜电位改变, 诱导HCT116结肠癌^[5]、EC-109食道癌^[6]、A2780卵巢癌等细胞发生凋亡^[7]。由于CDDP的这些作用, 因此, 在研究癌细胞凋亡相关研究领域CDDP常被作为处理药物来使用。

Peroxiredoxins(Prxs)是一类抗氧化还原酶家族, 家族中共有6个成员^[8], 广泛分布在组织和细胞内, 具有清除细胞内ROS和活性氮等功能^[9], 并在减少放疗和化疗的抗药性^[10]、诱导细胞增殖^[11]、增加细胞分化能力^[12]、调控细胞凋亡^[13]等方面发挥重要的调控作用。目前已知的Prx家族含有3种不同的亚型(Prx I-VI), 分为典型(Prx I-IV)、非典型2个半胱氨酸家族成员(Prx V)和1个半胱氨酸家族成员(Prx VI)。Prx V分布于细胞质、线粒体和过氧化物酶体等细胞器中^[14], 具有维持机体氧化还原平衡, 清除细胞内ROS、活性氮以及调控细胞信号传导通路等功能。我们的前期研究结果表明, 分别用 β -拉帕醌(β -lapachone)、链脲佐菌霉素(streptozocin)、大黄素(emodin)、硝普化钠(sodium nitroprusside dehydrate, SNP)和谷氨酸盐(glutamate)诱导SW40结肠癌细胞^[15]、MIN6胰岛瘤细胞^[16]、AGS人胃癌细胞^[17]、BV2神经小胶质细胞^[18]和HT22小鼠海马神经细胞^[19]等的凋亡过程中, 均有Prx V的参与并且发挥重要的调控作用。

本研究利用CDDP诱导HepG2细胞发生凋亡, 并通过流式细胞术、慢病毒转染技术、荧光显微照相技术、蛋白免疫印迹法检测细胞内ROS水平、细胞凋亡情况、凋亡相关蛋白表达情况, 初步阐明Prx V在CDDP诱导HepG2人肝癌细胞凋亡过程中的调控作用。

1 材料与方

1.1 材料

顺铂购于上海翊圣生物有限公司公司; HepG2

人肝癌细胞系来自黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院疾病模式动物研究中心。

1.2 试剂及仪器

DMEM/高糖培养基购于美国Hyclone公司; 胎牛血清购于美国Gibco公司; Bcl-xL、Bad、Caspase-3、Caspase-9、PARP、Prx I、Prx II、Prx V、 β -actin单克隆抗体购于美国Santa Cruz公司; Annexin V-FITC和CM-H₂DCFDA购于碧云天生物技术有限公司; 100 mm细胞培养皿、6孔细胞培养皿、48孔细胞培养皿购于NEST公司; 流式细胞仪(Beckman Coulter CytoFLEX)、蛋白质免疫印迹系统购于美国Amersham Bioscience公司。

1.3 细胞培养

HepG2细胞培养于内含10%的灭活新生胎牛血清(FBS)、100 U/mL青霉素/链霉素(penicillin/streptomycin, P/S)的DMEM培养基中, 置于37 °C、5% CO₂及饱和湿度的培养箱中培养。

1.4 细胞凋亡检测

流式细胞术检测法: 收集对照组(顺铂浓度0 mol/L)和处理组细胞(顺铂浓度2.5、5、10 mol/L)重悬于Binding buffer中, 加荧光标记的Annexin-V-FITC和PI, 在室温避光条件下孵育15 min。随即用流式细胞仪分析10 000个细胞, 得到细胞散点图。

荧光显微镜检测法: 弃去上清液后用磷酸盐缓冲液(PBS)洗2~3遍, 分别加入Binding buffer, 随后加入荧光标记的Annexin-V-FITC和PI, 置于37 °C、5% CO₂培养箱中孵育15 min, 利用荧光显微镜分别检测白光、红光、绿光以及红光与绿光的合并下的荧光强度。

1.5 活性氧(ROS)水平检测

收集处理组细胞, 弃去上清液后用磷酸盐缓冲液(PBS)洗2~3遍, 加入5 mol/L的DCFH-DA(ROS荧光探针), 置于37 °C、5% CO₂中孵育30 min, 弃去上清液, 再用磷酸盐缓冲液(PBS)洗1~2遍, 利用流式细胞仪分析10 000个细胞。每组均重复3次。

1.6 蛋白质免疫印迹法分析(Western blot)

将处理后的细胞回收, 加入蛋白质裂解液裂解, 4 °C、12 000 r/min离心30 min, 回收上清(蛋白质)。15 μ g细胞总蛋白提取物进行12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶电泳, 蛋白质转移到硝酸纤维素膜上, 封闭, 抗BAD、Bcl-xL、

cleavage-Caspase-3、cleavage-Caspase-9、cleavage-PARP、Prx I、Prx II、Prx V和 β -actin一抗于4 °C摇床孵育过夜。用TBST[含有10 mmol/L Tris-HCL(TBS)、15 mmol/L的NaCl, 0.2% Tween-20]洗涤5次, 每次5 min, 与HRP标记的鼠或兔二抗(1:5 000)孵育1 h, 洗膜后加ECL底物作用。用蛋白质免疫印迹系统进行曝光、显影、定影及结果分析。

1.7 Prx V基因过量表达型HepG2细胞系构建

取对数生长期的HepG2细胞计数后均匀种到48孔板内, 根据计数出的最佳浓度滴度转入病毒。将含有Prx V-His与Mock Prx V的慢病毒分别转染HepG2细胞, 并分别命名为O/V组与Mock组, 未转染的HepG2细胞作为空白对照组。细胞从48孔细胞培养皿不断扩增直到生长到10 cm培养皿后, 将常规培养24 h的各组细胞更换为含有10 g/mL G418的DMEM培养液中进行抗性筛选, 经过筛选后, 利用Western blot进行检测。

1.8 统计学分析

所有结果以均值 \pm 标准差表示, 两组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。每组实验均至少重复3次。

2 结果

2.1 Prx V在肝癌中的表达差异

通过<http://gepia.cancer-pku.cn>网站对The Cancer

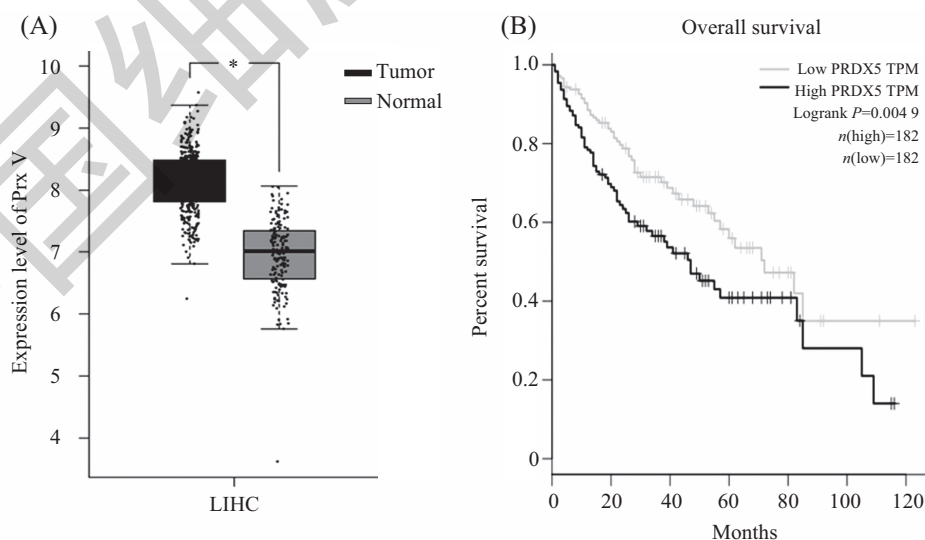
Genome Atlas(TCGA)数据库的肝癌患者与正常人肝脏组织中的Prx V表达量检索结果显示, 肝癌患者组织中Prx V的表达量明显高于正常人群组, 同时Prx V高表达的肝癌患者生存比率明显低于Prx V低表达的肝癌患者(图1A和图1B)。这些结果充分显示, Prx V在肝癌的发生、治疗及预后的诊断中具有重要的临床意义。

2.2 顺铂通过升高细胞的ROS水平诱导细胞凋亡

为了检测CDDP对HepG2细胞凋亡情况, 利用不同浓度(0、2.5、5、10 mol/L)的CDDP处理HepG2细胞24 h, 通过流式细胞术检测细胞凋亡情况。结果显示, 随着CDDP浓度的增加, HepG2细胞的凋亡情况明显增高(图2A和图2B)。同时, 为了检测CDDP对HepG2细胞内ROS水平的影响, 利用不同浓度(0、2.5、5、10 mol/L)的CDDP处理HepG2细胞24 h, 利用DCF-DA对细胞进行标记, 通过流式细胞术检测细胞内ROS的水平。结果显示, 随着细胞凋亡的增加, 细胞内的活性氧水平也明显增加, 但并不呈现浓度依赖性(图2C和图2D)。

2.3 顺铂对Prx V蛋白质水平的影响

为了检测CDDP诱导HepG2细胞凋亡过程中Prx V水平的变化, 检测了利用CDDP(5 mol/L)处理HepG2细胞不同时间段(0、6、12、24 h) Prx V蛋白质的表达水平。结果显示, 随着CDDP处理时间的增加, Prx V蛋白质的表达水平明显降低, 而同一家族

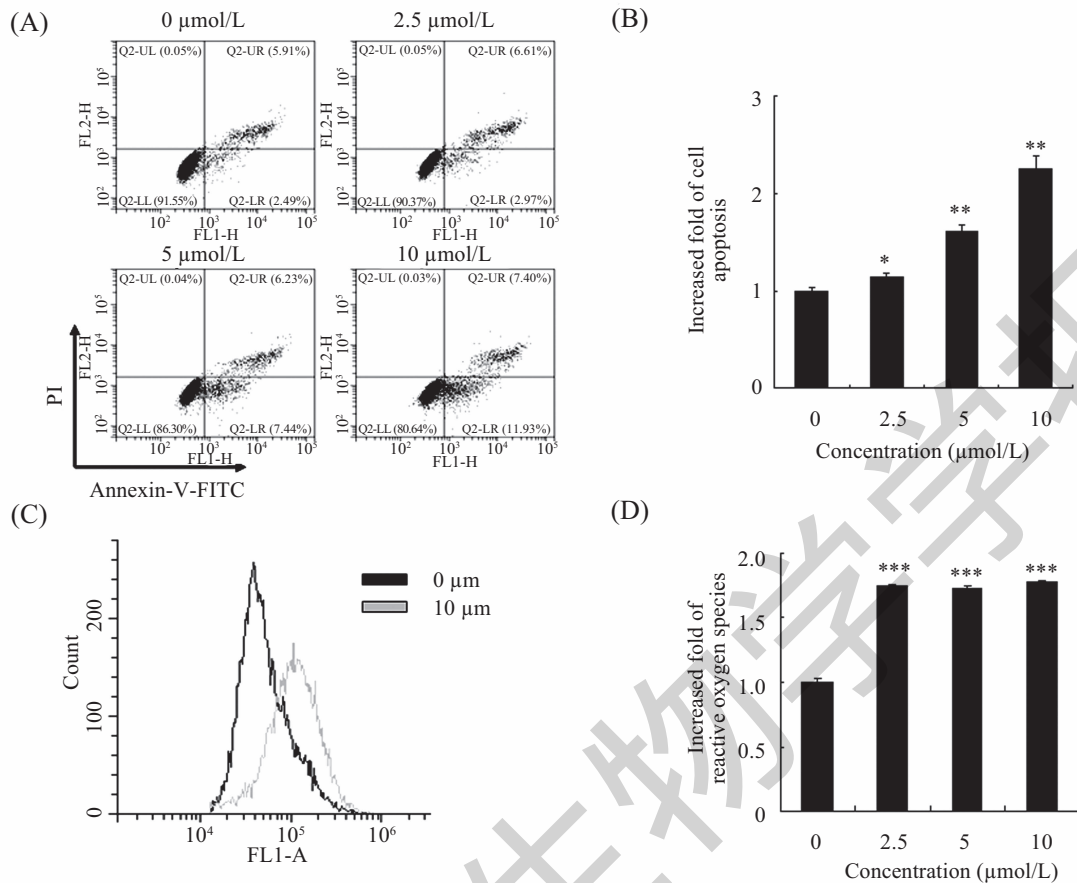


A: 肝癌组织($n=369$)和正常肝组织($n=160$)中Prx V的表达量分析, $*P < 0.01$; B: Prx V高表达患者与Prx V低表达患者的预后存活率分析。

A: the expression level of Prx V between tumor ($n=369$) and normal ($n=160$) patients liver tissue, $*P < 0.01$; B: the survival rate analysis between high and low expression of Prx V in liver adenocarcinoma patient tissues.

图1 Prx V在肝癌肿瘤中的表达和患者预后存活率的数据分析

Fig.1 The Prx V expression levels and survival rate analysis in liver cancer patient



A: 流式细胞术检测不同浓度的顺铂处理HepG2细胞24 h后的细胞凋亡情况; B: 流式细胞术检测细胞凋亡情况后的量化分析; C: 流式细胞术检测不同浓度顺铂处理HepG2细胞24 h后的细胞内ROS水平; D: 流式细胞术检测细胞内ROS水平后的量化分析。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与0 mol/L的顺铂组比较。

A: the apoptosis of HepG2 cells treated with CDDP for 24 h detected by flow cytometry; B: increased fold of cell apoptosis was represented by the mean±S.D.; C: the ROS of HepG2 cells treated with CDDP for 24 h detected by flow cytometry; D: increased fold of cell ROS was represented by the mean±S.D.. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs 0 mol/L CDDP group.

图2 顺铂通过提高细胞内ROS水平诱导细胞凋亡

Fig.2 CDDP induced HepG2 cell apoptosis through increase the cellular ROS level

的Prx I和Prx II蛋白质水平没有显著性差异(图3A和图3B)。

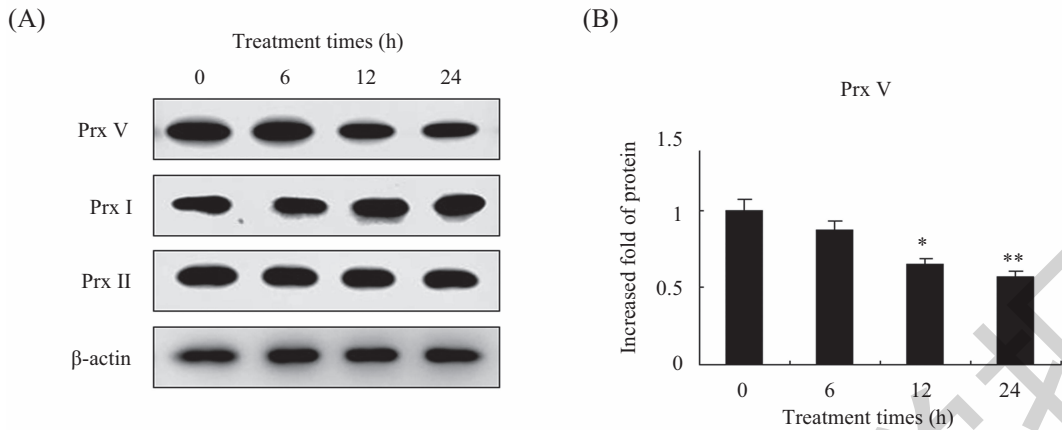
2.4 Prx V过量表达降低了顺铂诱导的HepG2细胞内ROS水平

为了检测Prx V基因过量表达对CDDP诱导的HepG2细胞内ROS水平的影响,我们利用慢病毒载体技术,构建了Prx V基因过量表达组(O/V)和空载体HepG2细胞系(Mock)两种细胞系,利用蛋白免疫印迹法进行鉴定。结果显示,构建的Prx V基因过量表达的HepG2细胞内已转入His标签,并可用于后续实验和研究(图4A)。同时,利用10 mol/L的CDDP处理Mock组及O/V组细胞不同时间(0、12、24 h)后细胞内ROS水平。结果显示,Prx V过量表达组的HepG2细胞内的ROS水平明显低于Mock组,并具有显著性

差异(图4B)。

2.5 Prx V抑制顺铂诱导的HepG2人肝癌细胞凋亡

为了检测Prx V过量表达对CDDP诱导的HepG2细胞凋亡的影响,对Mock组及O/V组细胞进行不同时间段(0、4、8、12、24 h) CDDP处理,并利用荧光显微照相技术(图5A)和流式细胞术(图5B)分别检测细胞凋亡情况。结果显示,O/V组的HepG2细胞凋亡率明显低于Mock组细胞,并存在显著差异。为了检测Prx V过量表达对CDDP诱导的HepG2细胞凋亡内相关信号蛋白的变化情况,利用CDDP分别处理Mock组及O/V组细胞不同时间段(0、2、4、6 h),收集细胞,利用蛋白免疫印迹法检测CDDP处理Mock组及O/V组细胞不同时间段后细胞内凋亡相关蛋白质水平的变化。结果发现,Prx V过量表达

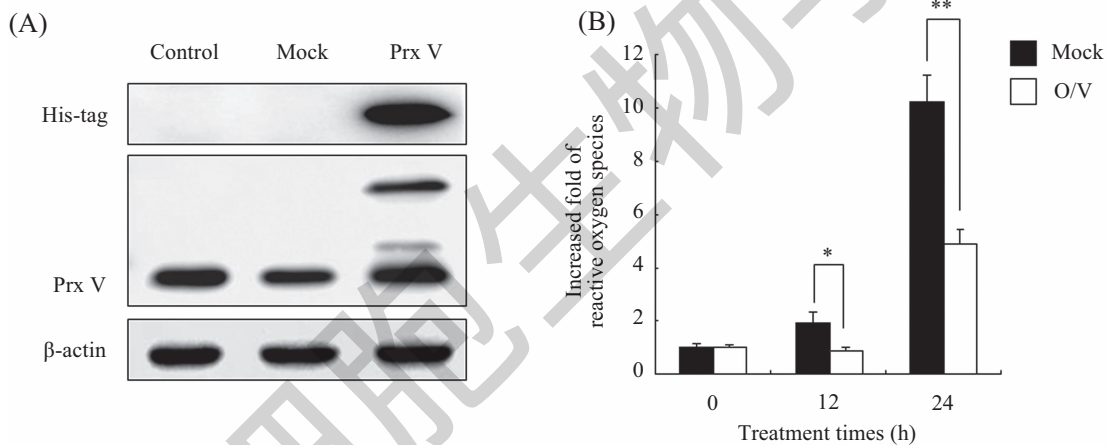


A: 利用顺铂处理HepG2细胞不同时间后, 利用蛋白免疫印迹法检测Prx V蛋白质水平; B: 蛋白免疫印迹法检测Prx V蛋白质水平的量化分析。
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与0 mol/L的顺铂组比较。

A: HepG2 was treated with CDDP for different times. The proteins level of Prx V was determined by Western blot; B: the quantitative analysis of Prx V protein expression level. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 mol/L CDDP group.

图3 顺铂对Prx V蛋白质水平的影响

Fig.3 The effect of CDDP on Prx V protein level



A: 利用蛋白免疫印迹法检测Prx V过量表达型HepG2细胞系中Prx V的表达; B: 利用流式细胞术检测顺铂对Prx V高表达组与Mock组两种HepG2细胞系内的ROS水平的量化分析, 结果以均值±标准差表示, $n=3$ 。
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

A: the expression of overexpression Prx V in the Prx V HepG2 cells and Mock HepG2 cells detected by Western blot; B: increased fold of the CDDP on Prx V HepG2 cells and Mock HepG2 cells ROS detected by flow cytometry. The result detected by the mean±S.D., $n=3$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

图4 Prx V过量表达降低了顺铂诱导的HepG2细胞内ROS水平

Fig.4 Overexpression of Prx V reduces ROS levels in CDDP-induced HepG2 cells

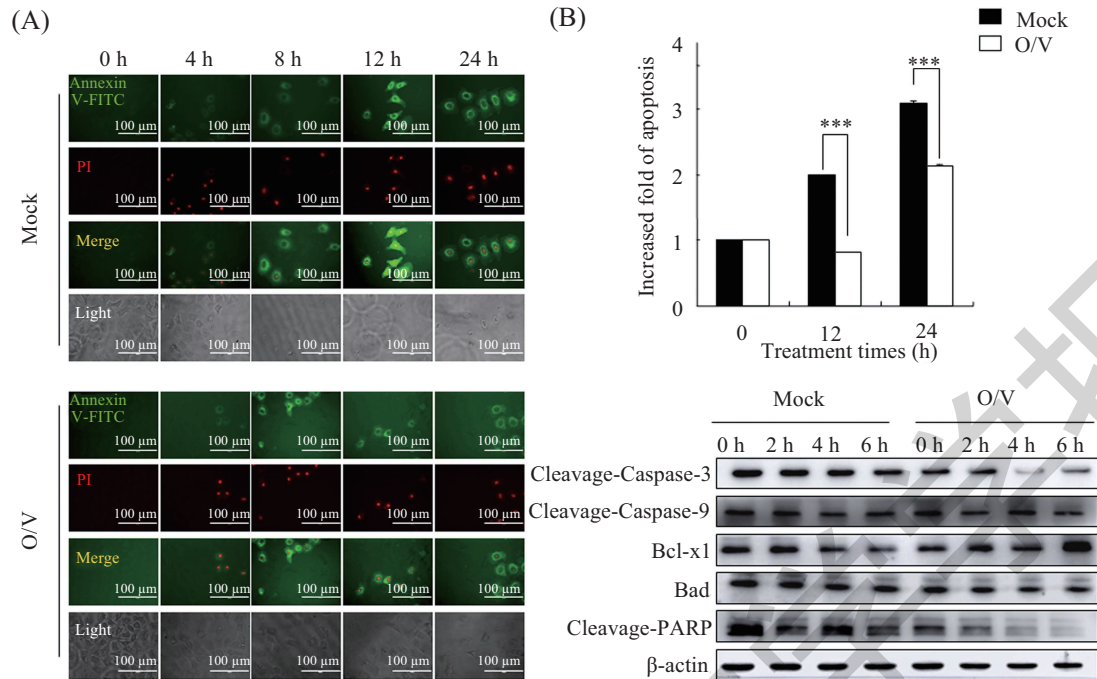
组细胞中剪切的促凋亡蛋白Caspase-3表达水平明显低于Mock组, Caspase-9的表达水平无明显变化, 促凋亡蛋白质Bad水平明显低于Mock组, 抗凋亡蛋白质Bcl-xL水平明显高于Mock组, PARP水平明显低于Mock组(图5 C)。结果说明, 在CDDP诱导两种HepG2细胞凋亡过程中, 是通过激活Caspase-3信号通路引起细胞凋亡的。

3 讨论

肝癌是严重威胁人们生命健康的恶性肿瘤之

一。随着医疗科技的进步, 治疗癌症的方法也越来越多, 其中手术治疗、化学治疗和放射治疗是目前治疗肝癌最为常用的手段。CDDP作为一种临床上较为常见的化疗药物, 在治疗癌症过程中具有极其重要的作用。目前CDDP广泛地用作癌症细胞凋亡相关研究领域上的处理药物。

在本实验中, 我们利用CDDP诱导HepG2肝癌细胞凋亡, 检测到CDDP可以浓度依赖性地引起HepG2细胞凋亡, 同时引起细胞内堆积大量的ROS。Prx V清除细胞内ROS、RNS的功能及对其他癌症



A: 顺铂对Mock组及O/V组细胞凋亡的影响, 绿光为Annexin-V-FITC染色, 红光为PI染色, Merge为红光和绿光重叠, Light为白光下的细胞状态; B: 利用流式细胞术检测顺铂对O/V组与Mock组两种HepG2细胞系的细胞凋亡的量化分析, 结果以均值±标准差表示, $n=3$; C: 利用蛋白免疫印迹法检测凋亡相关蛋白质水平变化。*** $P<0.001$, 与0 h的顺铂组比较。

A: effect of CDDP on O/V HepG2 cells and Mock HepG2 cells apoptosis. Annexin-V-FITC (green), PI (red), Merge (yellow) and light images were measured by fluorescence microscope; B: effects of CDDP on apoptosis in two HepG2 cells and measured by flow cytometry. The result detected by the mean±S.D., $n=3$; C: the apoptosis-related-proteins levels were analyzed by Western blot. *** $P<0.001$ vs 0 h CDDP group.

图5 Prx V能够抑制顺铂诱导的HepG2人肝癌细胞凋亡

Fig.5 Prx V could ameliorate CDDP-induced HepG2 human liver cancer cell apoptosis

细胞凋亡的调控作用均显示出了Prx V的重要性。因此, 我们利用蛋白免疫印迹法检测了在CDDP诱导HepG2细胞凋亡过程中Prx V的表达量变化情况。研究结果显示, CDDP的处理显著地抑制了HepG2细胞内Prx V蛋白质的表达, 而同一家族内的Prx I与Prx II蛋白表达量无明显变化, 说明Prx V对CDDP诱导HepG2细胞凋亡的调控可能具有选择性。在接下来的实验中, 我们对细胞内的Prx V进行过量表达, 发现CDDP诱导后, O/V组细胞内的ROS水平和细胞凋亡水平均低于Mock组; 同时降低促凋亡蛋白cleavage-Caspase-3的表达含量, 但不影响cleavage-Caspase-9的表达含量; 抑制促凋亡蛋白BAD的表达, 促进抗凋亡蛋白Bcl-xL的表达。以上研究结果显示, 在肝癌细胞中, CDDP的处理能够减少Prx V的蛋白表达, 而过表达Prx V能够有效降低细胞内的ROS水平, 缓解Caspase-3依赖性信号通路激活所诱导的HepG2细胞凋亡。

在CDDP诱导癌症细胞凋亡过程中发现, CDDP可以引起氧化应激, 导致细胞凋亡。本研究发现, 在

CDDP诱导的HepG2细胞凋亡过程中, 细胞内会堆积大量的ROS, 形成氧化应激。ROS是细胞内重要的第二信使, 参与到细胞生长、分化和死亡等信号通路中。有研究表明, 中、高浓度的ROS含量可以诱导线粒体膜电位的改变^[20], 释放细胞色素c^[21], 促凋亡蛋白表达含量上升, 抗凋亡蛋白表达含量下降, 激活线粒体依赖性凋亡通路^[22], 调控下游的Caspase家族中的相关蛋白表达含量^[23], 诱导细胞发生凋亡。同时有研究表明, CDDP通过线粒体途径调控Bcl-2家族相关蛋白及凋亡相关蛋白Cleaved-Caspase-3和Cleaved-PARP的表达含量, 诱导胃癌BGC823耐药细胞、人肺癌细胞A549和食道癌细胞KYSE30等癌症细胞凋亡^[24-26]。也有研究表明, ROS可以激活细胞内MAPK信号通路, 进而引起细胞凋亡等情况的发生。MAPKs是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族, 在细胞的增殖、分化、凋亡等过程中起着重要的调控作用, 并可以在ROS诱导多种癌细胞凋亡过程中, 发生ROS依赖性的磷酸化^[27-29]。例如, 谷胱甘肽可以通过刺激ROS依赖性的JNK信号通路, 同时激活Caspase信

号通路诱导肝细胞的凋亡^[30]。本文对于CDDP诱导HepG2细胞凋亡过程中参与调控的具体信号通路并无明确阐述, 这将成为我们后续研究的重点。

综上所述, CDDP通过抑制细胞内的Prx V的表达, 引起了细胞内ROS水平升高, 导致HepG2细胞发生凋亡, 过量表达细胞内Prx V基因后, 有效降低了CDDP引起的细胞内ROS含量, 抑制细胞凋亡水平。这一发现对研究和揭示Prx V蛋白的新功能具有重要意义, 同时, 也能作为未来肝癌诊断和治疗的潜在新靶点。

参考文献 (References)

- 1 Bosch FX, Ribes J, Díaz M, Cléries R. Primary liver cancer: Worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* 2004; 127(5): S5-S16.
- 2 Galluzzi L, Senovilla L, Vitale I, Michels J, Martins I, Kepp O. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene* 2012; 31(15): 1869.
- 3 Kong B, Wang Q, Fung E, Xue K, Tsang BK. p53 is required for cisplatin-induced processing of the mitochondrial fusion protein L-OPA1 that is mediated by the mitochondrial metalloproteinase Oma1 in gynecologic cancers. *J Biol Chem* 2011; 289(39): 27134-45.
- 4 刘师兵, 于洋, 谢奇, 赵国艳, 徐治. ABT-737通过线粒体凋亡途径增加HepG2细胞对顺铂的敏感性. *中国老年学杂志* (Liu Shibing, Yu Yang, Xie Qi, Zhao Guoyan, Xu Zhi. ABT-737 increased sensitivity of HepG2 cells to cisplatin through mitochondrial apoptosis. *Chinese Journal of Gerontology*) 2018; 38(6): 1442-5.
- 5 Berndtsson M, Hägg M, Panaretakis T, Havelka AM, Shoshan MC, Linder S. Acute apoptosis by cisplatin requires induction of reactive oxygen species but is not associated with damage to nuclear DNA. *Int J Cancer* 2010; 120(1): 175-80.
- 6 蔡先彬, 荆绪斌, 胡辉, 陈素钻, 李映华. 活性氧在顺铂诱导食管癌细胞EC-109凋亡中的作用(Cai Xianbin, Jing Xubin, Hu Hui, Chen Suzuan, Li Yinghua. The role of reactive oxygen species in cisplatin-induced apoptosis of esophageal cancer cell line EC-109. *Chinese Journal of Cancer*) 2006; 25(4): 427-31.
- 7 魏燕, 王蔼明, 王宁, 张兰梅. 卵巢癌顺铂敏感株A2780及耐药株CP70细胞耐药差异与细胞内活性氧的相关性. *中国临床医生杂志* (Wei Yan, Wang Yiming, Wang Ning, Zhang Meilan. The correlation between the drug resistance of cisplatin sensitive ovarian cancer strain A2780 and drug resistant strain CP70 cells and intracellular reactive oxygen species. *Chinese Journal of Clinicians*) 2015; 43(10): 68-70.
- 8 Hofmann B, Hecht HJ, Flohé L. Peroxiredoxin. *Biol Chem* 2002; 383(3/4): 347-64.
- 9 Kinnula VL, Lehtonen S, Sormunen R, Kaarteenaho-Wiik R, Kang SW, Rhee SG, *et al.* Overexpression of peroxiredoxins I, II, III, V, and VI in malignant mesothelioma. *J Pathol* 2002; 196(3): 316.
- 10 涂青松, 何剪太, 陈伟. 抑制过氧化物酶1表达对肝癌细胞放射敏感性的影响. *中国普通外科杂志* (Tu Qingsong, He Jiantai, Chen Wei. Enhancement of radiosensitivity of hepatocellular carcinoma cells by inhibition of peroxiredoxin 1 expression. *Chinese Journal of General Surgery*) 2016; 25(2): 245-51.
- 11 刘宝欣, 刘英宇, 魏中秋, 梁婷婷, 范玉磊, 杨方, 等. Prx-1基因沉默对TGF-β1诱导肺成纤维细胞增殖、ROS水平、p-AKT蛋白表达的影响. *山东医药* (Liu Baoxin, Liu Yingyu, Wei Zhongqiu, Liang Tingting, Fan Yulei, Yang Fang, *et al.* Effects of silencing peroxiredoxin-1 gene on proliferation, ROS and p-AKT protein expression of pulmonary fibroblasts induced by TGF-β1. *Shandong Medicine*) 2016; 7: 17-9.
- 12 陈甫寰. 同源异形框基因PRX-2调控成人表皮干细胞向汗腺细胞分化的基础研究. *中国人民解放军总医院, 解放军医学院, 解放军总医院, 军医进修学院* (Chen Fuhuan. Basic research on the regulation of adult epidermal stem cell differentiation into sweat gland cells by the homologous heteromorphous frame gene PRX-2. People's liberation army general hospital, people's liberation army medical school, people's liberation army general hospital), 2016.
- 13 王大宁. PrxIII在去甲肾上腺素诱导H₂O₂细胞凋亡过程中的表达变化. *河北医科大学* (Wang Daning. Studies on expression change of Prx III mRNA in H₂O₂ apoptosis process induced by Noradrenaline. Hebei Medical University), 2008.
- 14 Choi HI, Chung KJ, Yang HY, Ren L, Sohn S, Kim PR, *et al.* Peroxiredoxin V selectively regulates IL-6 production by modulating the Jak2-Stat5 pathway. *Free Radical Bio Med* 2013; 65(4): 270-9.
- 15 刘悦, 焦冰洋, 于楠楠, 王闯, 韩英浩, 金成浩, 等. β-拉帕醌通过下调过氧化物酶V诱导SW480结肠癌细胞凋亡. *中国细胞生物学学报* (Liu Yue, Jiao Bingyang, Yu Nannan, Wang Chuang, Han Yinghao, Jin Chenghao, *et al.* β-lapachone induced the apoptosis of SW480 colorectal cancer cell through down-regulation of the peroxiredoxin V expression. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2016; 38(12): 1487-93.
- 16 王闯, 孙虎男, 金成浩. Prdx V在链脲佐菌素诱导MIN6细胞凋亡过程中的调控作用. *中国细胞生物学学报* (Wang Chuang, Sun Hunan, Jin Chenghao. Regulatory effect of Prdx V on streptozotocin-induced apoptosis in MIN6 cells. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2018; 40(2): 202-9.
- 17 焦冰洋, 王闯, 刘悦, 宫伊希, 韩英浩, 金成浩, 等. 大黄素通过下调PrxV蛋白水平诱导AGS胃癌细胞凋亡. *黑龙江八一农垦大学学报* (Jiao Bingyang, Wang Chuang, Liu Yue, Gong Yixi, Han Yinghao, Jin Chenghao, *et al.* AGS gastric cancer cell apoptosis induced by emodin through down-regulate the peroxiredoxin V protein level. *Journal of Heilongjiang Bayi Agricultural University*) 2018; 30(1): 24-8.
- 18 冯丽, 金永哲, 刘磊, 韩冰, 吕春阳, 崔玉东, 等. PeroxiredoxinV保护HT22小鼠海马神经细胞抵抗NO诱导的细胞凋亡. *中国细胞生物学学报* (Feng Li, Jin Yongzhe, Liu Lei, Han Bing, Lü Chunyang, Cui Yudong, *et al.* Peroxiredoxin V protects the HT22 cells against NO mediated apoptosis. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2015; 37(1): 53-8.
- 19 GN Shen, L Liu, L Feng, Jin Y, Jin MH, Han YH, *et al.* Knockdown of peroxiredoxin V increases glutamate-induced apoptosis in HT22 hippocampal neuron cells. *Mol Med Rep* 2018; 17: 7827-34.
- 20 陈伟庆, 沈薇, 沈鼎明. 顺铂压力下HepG2细胞内活性氧及

- 线粒体膜电位的变化. 中华肝病杂志(Chen Weiqing, Shen Wei, Shen Dingming. The changes of ROS and mitochondria membrane potential in HepG2 cells on the pressure of cisplatin. Chinese journal of Hepatology) 2005; 13(7): 531-3.
- 21 杨晓葵, 郑芳, 邢辉, 高庆蕾, 王薇, 卢运萍, 等. 细胞色素c介导的半胱天冬氨酸蛋白酶-3活性改变与人卵巢癌顺铂耐药的关系. 中华肿瘤杂志(Yang Xiaokui, Zheng Fang, Xing Hui, Gao Qinglei, Wang Wei, Lu Yunping, *et al.* Relationship between cytochrome c-mediated caspase-3 activity and chemoresistance in cisplatin-resistant human ovarian cancer cell lines. Chinese Journal of Oncology) 2002; 24(6): 544-7.
- 22 Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene* 2003; 22(47): 7265-79.
- 23 Berndtsson M, Hägg M, Panaretakis T, Havelka AM, Shoshan MC, Linder S. Acute apoptosis by cisplatin requires induction of reactive oxygen species but is not associated with damage to nuclear DNA. *Int J Cancer* 2010; 120(1): 175-80.
- 24 刘蒙, 韩崢, 朱庆曦, 谭洁, 田霞. 下调CDH17基因表达对顺铂耐药的人胃癌BGC823细胞凋亡与增殖的影响. 医药导报 (Liu Meng, Han Zheng, Zhu Qingxi, Tan Jie, Tian Xia. Effect of down-regulation of CDH17 gene expression on apoptosis and proliferation of cisplatin-resistant human gastric cancer BGC823 cells. *Herald of Medicine*) 2018; 37(4): 416-21.
- 25 张伟星, 张浩, 翁伟芳. 川楝素下调ATF2蛋白的表达增强顺铂对肺癌细胞的凋亡诱导活性研究. 中国现代应用药学 (Zhang Weixing, Zhang Hao, Weng Weifang. Toosendanin enhances cisplatin-induced apoptosis in lung cancer through downregulating the expression of ATF2. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*) 2018; 35(4): 547-51.
- 26 符立平, 顾春荣, 熊佳时, 孙元珏, 吴敬波. SOX4抑制凋亡介导食管癌顺铂耐药的实验研究. 肿瘤预防与治疗(Fu Liping, Gu Chunrong, Xiong Jiashi, Sun Yuanyu, Wu Jingbo. Experimental study of SOX4 mediated cisplatin resistance in esophagus cancer by inhibiting apoptosis. *J Cancer Control Treat* 2017; 30(3): 158-63.
- 27 Singh AK, Vinayak M. Resveratrol alleviates inflammatory hyperalgesia by modulation of reactive oxygen species (ROS), antioxidant enzymes and ERK activation. *Inflamm Res* 2017; 66(10): 911-21.
- 28 Zibara K, Zeidan A, Bjeije H, Kassem N, Badran B, El-Zein N. ROS mediates interferon gamma induced phosphorylation of Src, through the Raf/ERK pathway, in MCF-7 human breast cancer cell line. *J Cell Commun Signal* 2017; 11(1): 1-11.
- 29 Bragado P, Armesilla A, Silva A, Porras A. Apoptosis by cisplatin requires p53 mediated p38alpha MAPK activation through ROS generation. *Apoptosis* 2007; 12(9): 1733-42.
- 30 Conde de la Rosa L, Schoemaker MH, Vrenken TE, Buist-Homan M, Havinga R, Jansen PL, *et al.* Superoxide anions and hydrogen peroxide induce hepatocyte death by different mechanisms: involvement of JNK and ERK MAP kinases. *J Hepatol* 2006; 44(5): 918-29.