文章编号:1000-5404(2009)12-1127-04

论著

Pten基因对小鼠胚胎成纤维细胞中Cu/Zn-SOD基因表达的调控

苟 巧[1,2],米 粲[1],胡迎春[2],李 刚[2],吴德昌[2],霍艳英[2] ([1]重庆医科大学基础医学院病理学教研室,重庆 400016;[2]军事医学科学院放射与辐射医学研究所,北京 100850)

摘 要:目的 研究Pten基因对抗氧化蛋白Cu/Zn-SOD基因表达的调控,初步探索其调控机制。**方法** 运用Northern blot比较$Pten^{+/+}$ MEFs与$Pten^{-/-}$ MEFs细胞中基础Cu/Zn-SOD mRNA表达差异,以及0.1 mmol/L H_2O_2诱导后$Pten^{+/+}$ MEFs与$Pten^{-/-}$ MEFs细胞中Cu/Zn-SOD mRNA表达差异;运用Western blot分析PI3K/AKT通路抑制剂LY294002作用$Pten^{-/-}$ MEFs细胞不同时间(30 min,1、2、6、24 h)后,与空白$Pten^{-/-}$ MEFs细胞相比,磷酸化AKT及Cu/Zn-SOD蛋白表达变化;利用Northern blot分析LY294002作用$Pten^{-/-}$ MEFs细胞30 min,1、2、6、24 h后,与空白$Pten^{-/-}$ MEFs细胞相比,Cu/Zn-SOD mRNA表达变化。**结果** $Pten^{-/-}$ MEFs细胞中,基础Cu/Zn-SOD mRNA表达水平降低,H_2O_2诱导的Cu/Zn-SOD mRNA表达明显受到抑制;在LY294002作用$Pten^{-/-}$ MEFs细胞30 min时,AKT磷酸化水平明显降低,2 h时基本没有表达;与此对应,在LY294002作用$Pten^{-/-}$ MEFs细胞30 min时,Cu/Zn-SOD蛋白及mRNA表达均增强,并持续增强至24 h。**结论** 小鼠胚胎成纤维细胞中,Pten基因可通过拮抗PI3K/AKT信号通路调控Cu/Zn-SOD蛋白及mRNA的表达。

关键词: Pten;超氧化物歧化酶;基因表达;AKT;信号通路
中图法分类号: R321;R394-33;R394.3 **文献标识码:** A

Pten gene regulates the expression of Cu/Zn superoxide dismutase gene in mouse embryonic fibroblasts

GOU Qiao[1,2], MI Can[1], HU Ying-chun[2], LI Gang[2], WU De-chang[2], HUO Yan-ying[2] ([1]Department of Pathology, College of Basic Medical Sciences Chongqing Medical University, Chongqing 400016; [2]Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medicine, Beijing 100850, China)

Abstract: Objective To study the regulatory effect of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (Pten) gene on the expression of Cu/Zn superoxide dismutase (Cu/Zn-SOD) gene and to explore the possible mechanisms in mouse embryonic fibroblasts. **Methods** Northern blot was employed to measure the basal level of Cu/Zn-SOD mRNA and the expression of Cu/Zn-SOD mRNA after treatment with 0.1 mmol/L H_2O_2 in $Pten^{+/+}$ and $Pten^{-/-}$ MEFs. Western blot was used to analyze the protein levels of phospho-AKT and Cu/Zn-SOD in $Pten^{-/-}$ MEFs treated with 30 μmol/L LY294002 for 0, 0.5, 1, 2, 6, and 24 h. Northern blot was applied to examine the mRNA level of Cu/Zn-SOD in $Pten^{-/-}$ MEFs treated with 30 μmol/L LY294002 for 0, 0.5, 1, 2, 6, and 24 h. **Results** In $Pten^{-/-}$ MEFs, the basal level of Cu/Zn-SOD mRNA decreased; the 0.1 mmol/L H_2O_2-induced expression of Cu/Zn-SOD mRNA was inhibited, and the protein level of phospho-AKT decreased at 0.5, 1, 2, 6, and 24 h after treatment with 30 μmol/L LY294002. Correspondingly, the protein and mRNA levels of Cu/Zn-SOD increased at 0.5, 1, 2, 6, and 24 h after treatment with 30 μmol/L LY294002. **Conclusion** Pten gene may regulate the expression of Cu/Zn-SOD gene through the inhibition of the PI3K/AKT signal pathway in mouse embryonic fibroblasts.

Key words: Pten; superoxide dismutase; gene expression; AKT; signal pathway

---

基金项目: 国家自然科学基金(30770652);北京市自然科学基金(7052056)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30770652) and the Natural Science Foundation of Beijing (7052056)
作者简介: 苟 巧,女,重庆市人,博士研究生,主要从事肿瘤发病机制方面的研究。E-mail:xiaogou824@163.com
通信作者: 米 粲,电话:(023)68485789,E-mail:micancq@yahoo.com.cn
霍艳英,电话:(010)66828340,E-mail:huoyy@nic.bmi.ac.cn
收稿日期: 2008-08-27;**修回日期:** 2008-10-17

Pten (Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)是第一个被发现的具有磷酸酶活性的抑癌基因,参与对细胞的生长、增殖、粘附、迁移、侵袭与凋亡等多项生命过程的调控[1-3]。Pten 也是在人类肿瘤中突变频率最高的基因之一,在多种原发性肿瘤中存在缺失或突变,如恶性胶质瘤、子宫内膜癌、乳腺癌、前列腺癌等[3,4]。本实验室前期在与加州大学洛杉矶分校吴虹博士的合作研究中,以小鼠胚胎成纤维细胞系 $Pten^{+/+}$ MEFs 为基础,成功建立了体外条件敲除 Pten 基因的具有恶性表型的小鼠胚胎成纤维细胞系 $Pten^{-/-}$ MEFs[5];运用蛋白质组学技术,研究了 $Pten^{+/+}$ MEFs 和 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞蛋白表达谱的差异,发现抗氧化蛋白铜锌 - 超氧化物歧化酶(Cu,Zn superoxide dismutase,Cu/Zn-SOD)在 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中表达下调;利用 Western blot 验证,亦显示 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞内 Cu/Zn-SOD 蛋白表达水平明显下调[6],说明 Pten 基因对 Cu/Zn-SOD 的蛋白的表达具有正性调控作用。本研究进一步探讨 Pten 对 Cu/Zn-SOD mRNA 表达的调控,并探索其调控机制。

1 材料与方法

1.1 材料

DMEM 培养基、M-PER 蛋白提取剂为美国 Pierce 公司产品。新生胎牛血清购自 HyClone 公司。TRIzol 试剂和发光显迹液均为美国 Invitrogen 公司产品。Prime-a-Gene 标记试剂盒为美国 Promega 公司产品。Express Hyb™ 杂交液购自美国 Clontech 公司。LY294002 粉剂购自美国 Sigma 公司,用 DMSO 稀释至 50 mmol/L,于 -20 ℃保存。兔抗 Cu/Zn-SOD 抗体(封闭液 1∶400稀释)及兔抗磷酸化 AKT 抗体(Ser308,5% BSA 1∶800 稀释)均购自美国 Cell Signaling 公司。兔抗 β-actin 抗体(封闭液 1∶2 000 稀释)及 HRP 标记的山羊抗兔抗体(封闭液 1∶2 000 稀释)均购自北京中杉金桥公司。

1.2 细胞培养

$Pten^{-/-}$ MEFs 细胞是原代培养的 Pten 基因敲除小鼠的胚胎成纤维细胞永生化而来,$Pten^{+/+}$ MEFs 为其野生型对照细胞。均由美国加州大学洛杉基分校吴虹博士馈赠。在37 ℃、5% CO_2 条件下,细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养。

1.3 Northern blot 检测基础及 H_2O_2 诱导后 Cu/Zn-SOD mRNA 表达水平

按常规方法在 75 cm^2 培养瓶中培养 $Pten^{+/+}$ MEFs 和 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞各 2 瓶,当细胞达到 60% ~70% 融合时,2 种细胞各取 1 瓶,培养液中均加入 3% H_2O_2(终浓度 0.1 mmol/L)作用 6 h。弃去培养液,加入 TRIzol 试剂提取总 RNA,各取 20 μg RNA 进行 Northern blot 检测。甲醛变形胶电泳后转膜,用 Prime-a-Gene 标记试剂盒标记 α-^{32}P dCTP 于 Cu/Zn-SOD 基因的 cDNA 片段作为探针,杂交在 62 ℃、Express Hyb™ 杂交液中按说明书推荐操作步骤进行,杂交结束后洗膜,保鲜膜包裹杂交膜,置于暗盒中,RNA 与探针接合面上放置 X 线胶片,压片,-70 ℃放射自显影 60 h,经显影、定影后扫描胶片。以同一张膜上看家基因 GAPDH 探针的杂交信号为对照。用 Quantity One 4.6.2 图像分析软件检测 Cu/Zn-SOD mRNA 与 GAPDH mRNA 在各组表达条带的灰度值,两者灰度值的比值反映 Cu/Zn-SOD 基因表达的变化,重复 3 次。

1.4 Western blot 检测 PI3K/AKT 通路活化抑制后磷酸化 AKT 及 Cu/Zn-SOD 蛋白表达水平

按常规方法在 75 cm^2 培养瓶中培养 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞 6 瓶,当细胞达到 60% ~70% 融合时,各瓶培养液中加入 PI3K/AKT 通路抑制剂 LY294002(终浓度 30 μmol/L),分别作用 0、30 min,1、2、6、24 h 后收获细胞。细胞团内加入 100 μl 冰冷的 M-PER 蛋白提取剂,振荡 5 min。于 14 000 r/min 离心 10 min,立即将上清液移入干净 EP 管,保存于 -70 ℃中。电泳前用 GeneQuant 进行总蛋白浓度测定,保证每孔上样量的一致性。每种细胞提取的蛋白各取 60 μg,加入 6 × 加样缓冲液按 1∶5体积分数稀释待测蛋白质样品,进行 12% SDS-PAGE 蛋白电泳,用转印槽转印蛋白质至硝酸纤维素膜,5% 脱脂牛奶封闭 1 h,加入抗体(兔抗 Cu/Zn-SOD、兔抗磷酸化 AKT),4 ℃杂交过夜,TTBS 洗膜 5 min × 3 次,HRP 标记的相应二抗作用 1 h,洗膜后用发光显迹液化学发光,Kodak X 线胶片曝光,经显影、定影后扫描胶片。以同一张膜上 β-actin 蛋白的杂交信号为对照。用 Quantity One 4.6.2 图像分析软件定量分析杂交信号,重复 3 次。

1.5 Northern blot 检测 PI3K/AKT 通路活化抑制后 Cu/Zn-SOD mRNA 表达水平

在 75 cm^2 培养瓶中培养 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞 6 瓶,当细胞达到 60% ~70% 融合时,各瓶培养液中加入 PI3K/AKT 通路抑制剂 LY294002(终浓度 30 μmol/L),分别作用 0、30 min,1、2、6、24 h 后弃去培养液,加入 TRIzol 试剂提取总 RNA,各取 20 μg RNA 进行 Northern blot,检测 Cu/Zn-SOD mRNA 表达水平。以同一张膜上看家基因 GAPDH 探针的杂交信号为对照。用 Quantity One 4.6.2 图像分析软件定量分析杂交信号,重复 3 次。

1.6 统计学处理

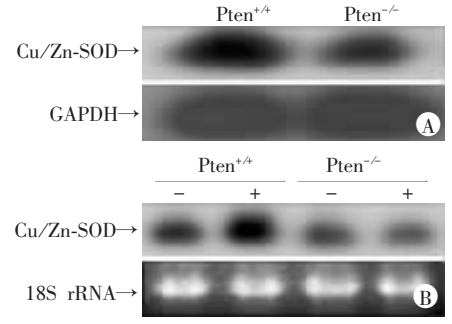
数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 12.0 统计软件进行 t 检验。

2 结果

2.1 基础及 H_2O_2 诱导后 Cu/Zn-SOD mRNA 表达水平检测

比较 $Pten^{+/+}$ MEFs 和 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中 Cu/Zn-SOD mRNA 表达水平,结果显示:在 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中,基础 Cu/Zn-SOD mRNA 表达水平明显降低($P < 0.01$)(图 1A)。说明 Pten 缺失抑制 Cu/Zn-SOD 基因表达。此外,我们在 H_2O_2 诱导实验中发现:与空白 $Pten^{+/+}$ MEFs 细胞相比,0.1 mmol/L H_2O_2

作用后的 $Pten^{+/+}$ MEFs 细胞中 Cu/Zn-SOD mRNA 表达明显增强($P<0.01$);与 H_2O_2 作用后的 $Pten^{+/+}$ MEFs 细胞相比,H_2O_2 作用后的 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中 Cu/Zn-SOD mRNA 表达明显受到抑制($P<0.01$)(图 1B)。说明 H_2O_2 能够诱导 $Pten^{+/+}$ MEFs 细胞中 Cu/Zn-SOD 基因表达,但 Pten 缺失后,H_2O_2 对 MEFs 细胞中 Cu/Zn-SOD mRNA 表达的诱导明显受到抑制,这进一步说明 Pten 缺失导致 Cu/Zn-SOD mRNA 表达的紊乱。

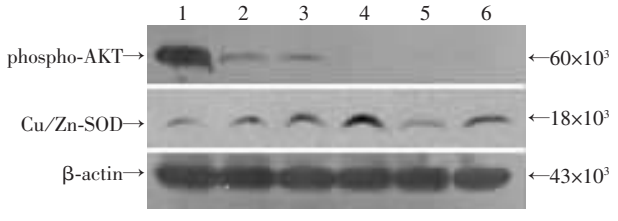


A:基础水平的 Cu/Zn-SOD 及 GAPDH mRNA 的 Northern blot 检测结果;B:H_2O_2 诱导前后 Cu/Zn-SOD mRNA 及 18S rRNA 的 Northern blot 检测结果;−:H_2O_2 诱导前;+:H_2O_2 诱导后

图 1　$Pten^{+/+}$ MEFs 和 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞基础及 H_2O_2 诱导后 Cu/Zn-SOD mRNA 表达水平

2.2　PI3K/AKT 通路活化抑制后磷酸化 AKT 及 Cu/Zn-SOD 蛋白表达水平检测

通过大量文献调研,结合预实验所见,我们选择用 30 μmol/L LY294002 作用 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞 0、30 min、1、2、6 h 和 24 h 后,观察磷酸化 AKT 和 Cu/Zn-SOD 蛋白表达的变化,为下一步实验找到合适的作用时间点。Western blot 结果显示:在 LY294002 作用 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞 30 min 时,AKT 磷酸化水平明显降低,2 h 时基本没有表达($P<0.01$)(图 2)。说明 LY294002 成功抑制了 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中 PI3K/AKT 通路的活化。与此对应,在 LY294002 作用 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞 30 min 时,Cu/Zn-SOD 蛋白表达明显增强,并持续增强至 24 h;值得注意的是,虽然 LY294002 作用 30 min 至 2 h 阶段呈现增加趋势,6 h 时却下降,但 Cu/Zn-SOD 蛋白表达始终高于空白对照水平($P<0.05$)(图 2)。说明 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中 PI3K/AKT 通路活化抑制后 Cu/Zn-SOD 的蛋白表达增强。由此可知,Pten 基因可通过拮抗 PI3K/AKT 通路对 Cu/Zn-SOD 蛋白表达进行调控。

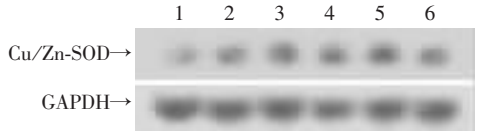


1:空白对照;2:LY294002 作用 30 min;3:LY294002 作用 1 h;4:LY294002作用 2 h;5:LY294002 作用 6 h;6:LY294002 作用 24 h

图 2　LY294002 作用 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞不同时间点磷酸化 AKT 及 Cu/Zn-SOD 蛋白表达水平

2.3　PI3K/AKT 通路活化抑制后 Cu/Zn-SOD mRNA 表达水平检测

确定了 Pten 基因通过 PI3K/AKT 通路对 Cu/Zn-SOD 蛋白表达进行调控后,我们进一步研究 Pten 是否通过该通路对 Cu/Zn-SOD mRNA 表达进行调控。Northern blot 结果显示:在 LY294002 作用 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞 30 min 时,Cu/Zn-SOD mRNA 表达明显增强,并持续增强至 LY294002 作用 24 h($P<0.05$,图 3)。说明 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中 PI3K/AKT 通路活化抑制后 Cu/Zn-SOD mRNA 表达增强。由此可知,Pten 基因可通过拮抗 PI3K/AKT 通路,在转录水平上对 Cu/Zn-SOD 的表达进行调控。



1:空白对照;2:LY294002 作用 30 min;3:LY294002 作用 1 h;4:LY294002作用 2 h;5:LY294002 作用 6 h;6:LY294002 作用 24 h

图 3　LY294002 作用 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞不同时间点 Cu/Zn-SOD mRNA 表达水平

3　讨论

SOD(Cu/Zn, Mn)与过氧化氢酶(CAT)、过氧化物还原酶家族(Prdxs)、谷胱苷肽过氧化物酶等抗氧化蛋白同属于抗氧化防御系统,构成机体的活性氧(ROS)清除系统,这些酶含量和活性的变化直接影响细胞内 ROS 的含量。体内的 ROS 是人体重要的信号分子,参与调控细胞的分化、增殖、转化、凋亡等一系列生命活动。其过量与不足均可对细胞造成损伤。生理情况下,人体内的 ROS 生成与清除处于动态平衡,这种平衡的维持主要依靠抗氧化防御系统。当某种因素使 ROS 生成过多或(和)清除能力减弱时,过多的 ROS 可形成氧化压力,引起细胞 DNA 氧化损伤,产生染色体不稳定性,促进细胞恶性转化。所以,研究调控 Cu/Zn-SOD 表达的因素及调控机制,对补充和完善恶性肿瘤形成机制具有重大意义。我们的前期研究表明:抑癌基因 Pten 可能通过对 Cu/Zn-SOD 等抗氧化蛋白表达的调控,影响细胞内 ROS 水平,从而拮抗 DNA 氧化损伤以及由此产生的染色体不稳定性[6,7]。本研究表明:小鼠胚胎成纤维细胞中,Pten 缺失导致基础和 H_2O_2 诱导的 Cu/Zn-SOD mRNA 表达均受到抑制。说明 Pten 基因从转录水平对 Cu/Zn-SOD 的表达进行正性调控。

对 PTEN 的功能研究表明:PTEN 具有脂磷酸酶的活性,其作用的脂类底物 3,4,5-三磷酸磷脂酰肌醇

(PIP_3)是介导 PI3K/AKT 信号转导通路的主要信号分子,PTEN 通过对 PIP3 D3 位点去磷酸化来拮抗 PI3K/AKT 通路。Pten 基因的缺失可导致 AKT 激酶磷酸化增强,PI3K/AKT 信号级联活化,刺激细胞生长和增殖[8,9]。我们通过大量文献调研发现:AKT 激酶对其下游重要的转录因子 FoxO 家族(FoxOs)的磷酸化可以促进 FoxOs 从核内排出,随后发生降解而失去其转录调控作用,从而抑制同属于抗氧化防御系统的 Mn-SOD 和 CAT 的转录[10-13]。那么,Pten 基因对抗氧化蛋白 Cu/Zn-SOD 的蛋白和 mRNA 表达的正性调控是否也通过 PI3K/AKT 信号通路进行呢? 为了验证这一假设,我们引入了 PI3K 抑制剂 LY294002 作用细胞。LY294002 能使 PI3K 去磷酸化进而导致 AKT 激酶失活,与 Pten 一样具有抑制 PI3K/AKT 通路活化的功能。本实验结果显示:LY294002 作用 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞 30 min 时,Cu/Zn-SOD 的蛋白和 mRNA 表达均增强,并持续增强至 24 h。说明 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中 PI3K/AKT 通路活化受到抑制后 Cu/Zn-SOD 蛋白及 mRNA 表达增强。由此证实,Pten 基因可通过拮抗 PI3K/AKT 通路对 Cu/Zn-SOD 蛋白和基因的表达进行正性调控。但是否通过 PI3K/AKT 信号通路下游 FoxOs 转录因子调控 Cu/Zn-SOD 基因表达? 还有待于进一步探索。值得注意的是,在 LY294002 作用 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞 6 h 时出现 Cu/Zn-SOD 蛋白与 mRNA 表达背离的现象(即蛋白表达减少,mRNA 表达增高),我们考虑与蛋白的降解和(或)修饰有关,具体原因需进一步研究。另外,在前期实验中我们发现:外源性H_2O_2对 AKT 激酶的活化或抑制作用均依赖于 PTEN。用 0.1 mmol/L H_2O_2作用 $Pten^{+/+}$ MEFs 细胞 6 h,AKT 激酶磷酸化水平明显降低,而 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中 AKT 磷酸化没有变化[14]。由此推测:在本研究中,0.1 mmol/L H_2O_2作用 6 h 后引起的 $Pten^{+/+}$ MEFs 细胞中 Cu/Zn-SOD 基因表达增强与 H_2O_2依赖 PTEN 对 AKT 激酶的抑制有关,而 $Pten^{-/-}$ MEFs 细胞中 H_2O_2诱导的 Cu/Zn-SOD mRNA 表达明显受到抑制则与H_2O_2无 PTEN 依赖后 AKT 磷酸化没有变化有关。

到目前为止,还没有任何关于 Pten 对 Cu/Zn-SOD 的转录进行调控的报道。本研究证实:Pten 从转录水平对抗氧化蛋白 Cu/Zn-SOD 的表达进行正性调控,并阐明 Pten 基因可通过拮抗 PI3K/AKT 信号通路调控 Cu/Zn-SOD 蛋白及 mRNA 的表达。Pten 基因对 Cu/Zn-SOD 转录调控机制的阐明可以进一步补充和完善 Pten 的抑癌作用机制,对肿瘤的预防和治疗将有一定的指导意义。

参考文献:

[1] Li D M, Sun H. TEP1, encoded by a candidate tumor suppressor locus, is a novel protein tyrosine phosphatase regulated by transforming growth factor beta[J]. Cancer Res, 1997, 57 (11): 2124-2129.

[2] Li J, Yen C, Liaw D, *et al*. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer[J]. Science, 1997, 275(5308): 1943-1947.

[3] Cantley L C, Neel B G. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(8): 4240-4245.

[4] Baker S J. PTEN enters the nuclear age[J]. Cell, 2007, 128(1): 25-28.

[5] Li G, Robinson G W, Lesche R, *et al*. Conditional loss of PTEN leads to precocious development and neoplasia in the mammary gland[J]. Development, 2002, 129(17): 4159-4170.

[6] 杨 柳, 苟 巧, 米 粲. PTEN 缺失对小鼠成纤维细胞 Cu/Zn 超氧化物歧化酶表达的影响及其意义[J]. 中华病理学杂志, 2008, 37(7): 477-480.

[7] 苟 巧, 霍艳英, 胡迎春, 等. 对 PTEN 缺失小鼠成纤维细胞中 DNA 氧化损伤的研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2008, 20(1): 6-10.

[8] Stambolic V, Suzuki A, de-la-Pompa J L, *et al*. Negative regulation of PKB/Akt-dependent cell survival by the tumor suppressor PTEN[J]. Cell, 1998, 95(1): 29-39.

[9] Sun H, Lesche R, Li D M, *et al*. PTEN modulates cell cycle progression and cell survival by regulating phosphatidylinositol 3, 4, 5, -trisphosphate and Akt/protein kinase B signaling pathway[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(11): 6199-6204.

[10] Plas D R, Thompson C B. Akt-dependent transformation: there is more to growth than just surviving[J]. Oncogene, 2005, 24(50): 7435-7442.

[11] Birkenkamp K U, Coffer P J. Regulation of cell survival and proliferation by the FOXO (Forkhead box, class O) subfamily of Forkhead transcription factors[J]. Biochem Soc Trans, 2003, 31(Pt 1): 292-297.

[12] Kops G J, Dansen T B, Polderman P E, *et al*. Forkhead transcription factor FOXO3a protects quiescent cells from oxidative stress[J]. Nature, 2002, 419(6904): 316-321.

[13] Tothova Z, Kollipara R, Huntly B J, *et al*. FoxOs are critical mediators of hematopoietic stem cell resistance to physiologic oxidative stress [J]. Cell, 2007, 128(2): 325-339.

[14] 霍艳英, 傅春玲, 苟 巧, 等. 过氧化氢以 PTEN 依赖方式介导细胞凋亡[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2007, 23(4): 304-308.

(编辑 吴培红)