DOI:10.16016/j.1000-5404.201511131

动力相关蛋白-1 在缺氧/复氧诱导人肾小管上皮细胞焦亡机制中的作用

陈 雨,侯卫平,袁发焕 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院肾内科,全军肾脏病中心,重庆市肾脏病研究所,国家中医药管理局重点专科)

[**摘要**] **目的** 观察人肾小管上皮细胞(HK-2 细胞)缺氧/复氧(hypoxia/reoxygenation, H/R)损伤时线粒体动力相关蛋白 1(dynamin-related protein 1, Drp1)、Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(nucleotide binding oligomerization domain-like receptor family pyrin domain containing 3, Nlrp3)以及炎性因子的表达改变和细胞焦亡情况,探讨 Drp1 在 H/R 诱导肾小管上皮细胞焦亡中的作用。**方法** HK-2 细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 液培养于 37 ℃、5% CO_2 和 95% O_2 的恒温培养箱。将细胞分为正常对照组、H/R 组、H/R + Drp1 抑制剂(H/R + Mdivi-1)组、H/R + siNlrp3 腺病毒(H/R + siNlrp3)组、H/R + 空腺病毒(H/R + Scra)组。检测细胞培养液上清乳酸脱氢酶 LDH 活性,Western blot 检测 Drp1、Nlrp3、凋亡相关蛋白-1(caspase-1)、IL-1β 表达,2′,7′-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)检测细胞活性氧(ROS)水平,流式分析仪检测细胞焦亡情况。**结果** 与正常对照组比较,H/R 组培养液上清 LDH 和细胞内 ROS 水平明显升高,Drp1、Nlrp3、caspase-1、IL-1β 表达增高,细胞焦亡明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与 H/R 组比较,H/R + Mdivi-1 组培养液上清 LDH 和细胞内 ROS 水平明显降低,Nlrp3、caspase-1、IL-1β 表达降低,细胞焦亡明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 在 H/R 条件下,Drp1 通过激活 Nlrp3 炎性体诱导人肾小管上皮细胞焦亡。

[**关键词**] 动力相关蛋白 1;Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3;细胞焦亡;人肾小管上皮细胞;缺氧/复氧损伤

[**中图法分类号**] R322.61; R329.28; R394.2 [**文献标志码**] A

Role of dynamin-related protein 1 in hypoxia/reoxygenation-induced human renal tubular epithelial cell pyroptosis

Chen Yu, Hou Weiping, Yuan Fahuan (Department of Nephrology, Kidney Disease Center, Chongqing Institute of Kidney Disease, Key Department of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the expressions of dynamin-related protein 1 (Drp1), nucleotide binding oligomerization domain-like receptor family pyrin domain containing 3 (Nlrp3) and inflammatory cytokines and the pyroptosis during hypoxia/reoxygenation (H/R) injury in human renal tubular epithelial cell line (HK-2), and discuss the relationship between Drp1 and H/R-induced pyroptosis of HK-2 cells. **Methods** HK-2 cells were cultured in DMEM/F12 containing 10% fetal bovine serum in a thermostatic incubator (37 ℃, 5% CO_2). Then the cells were divided into normal control group, H/R group, H/R + Mdivi-1 (Drp1 inhibitor) group, H/R + siNlrp3 group and H/R + Scra group. LDH activity in the supernatant of cell culture was tested with an automatic biochemical analyzer. The expressions levels of Drp1, Nlrp3, caspase-1 and IL-1β were detected by Western blotting. Reactive oxygen species was measured by 2′,7′-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) assay. Pyroptosis was analyzed with a flow cytometer.

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(81170648)

[**通信作者**] 袁发焕, E-mail:yuanfh023@126.com

[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160309.0941.003.html(2016-03-09)

Results The H/R group exhibited higher celluar ROS level and higher expressions of Drp1, Nlrp3, caspase-1 and IL-1β proteins than the normal control group ($P<0.05$), and the pyroptosis index were increased in the H/R group ($P<0.05$). Mdivi-1 could dramatically decrease the level of ROS and pyroptosis and relieve the dysfunction of HK-2 cells ($P<0.05$). **Conclusion** Drp1 can induce pyroptosis of human renal tubular epithelial cells through activating Nlrp3 in H/R injury.

[**Key words**] dynamin-related protein 1; nucleotide binding oligomerization domain-like receptor family pyrin domain containing 3; pyroptosis; human renal tubular epithelial cell; hypoxia/reoxygenation injury

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China(81170648). Corresponding author: Yuan Fahuan, E-mail: yuanfh023@126.com

急性肾损伤(acute kidney injury,AKI)是临床上常见的危重症。重症 AKI 患者的死亡率高达 40% ~ 60%,有的甚至需要终身肾脏替代治疗,给社会和家庭带来沉重经济负担[1]。缺血再灌注是导致 AKI 的常见原因,发病机制目前尚不清楚。AKI 的病理特征是肾小管上皮细胞的亚致死性和致死性损伤,包括肾小管上皮细胞的坏死、凋亡、焦亡等多种细胞损伤方式。肾小管上皮细胞线粒体功能障碍在肾小管上皮细胞损伤的发生机制中起有决定性的作用,但具体机制并不十分清楚。近年研究表明,线粒体动力相关蛋白 1(dynamin-related protein1,Drpl)是调节线粒体分裂的关键蛋白[2],参与线粒体功能障碍的发生、发展。损伤的线粒体可以通过过度产生活性氧(reactive oxygen species,ROS)、Ca^{2+} 超载、ATP 释放减少及线粒体内 DNA(mtDNA)释放等多重机制触发炎症反应瀑布和细胞死亡程序,决定 AKI 病变的严重程度和预后[3]。本课题组前期研究发现,Nod 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(nucleotide binding oligomerization domain-like receptor family pyrin domain containing 3, Nlrp3)在急性肾衰发病中发挥重要作用,并在肾小管上皮细胞焦亡发生中扮演关键角色,但其上游调控通路和机制尚不清楚。本研究通过建立人肾小管上皮细胞 HK-2 的体外缺氧/复氧(hypoxia/reoxygenation, H/R)模型(模拟在体的缺血再灌注损伤),探讨 Drp1-Nlrp3 途径在缺氧/复氧所导致的肾小管上皮细胞焦亡中的可能机制,以期为阐明急性缺血性肾损伤的发生机制及其治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

人肾小管上皮细胞 HK-2 购自中国典型培养物保藏中心,胎牛血清、DMEM/F12 培养基、胰蛋白酶、Earle's 平衡盐溶液购自美国 Gibco 公司,兔抗人 Drp1 多克隆抗体、山羊抗人 Nlrp3 多克隆抗体、兔抗人 caspase-1 多克隆抗体、小鼠抗人 IL-1β 单克隆抗体购自英国 Abcam 公司,辣根过氧化物酶羊抗兔、羊抗小鼠、驴抗羊 IgG 抗体购自碧云天生物技术公司,Mdivi-1 购自美国 MCE 公司,DCFH-DA 购自厦门生光生物科技有限公司。

1.2 细胞培养

人肾小管上皮细胞系 HK-2 用含 10% 胎牛血清的 DEME/F12 培养基于 37 ℃、5% CO_2 和 95% O_2 的恒温培养箱培养。

1.3 实验分组和缺氧/复氧细胞模型的制备

将对数生长期的 HK-2 细胞分成:①正常对照组:DMEM/F12 培养基培养 HK-2 细胞。②缺氧/复氧(H/R)组:将正常生长的 HK-2 细胞用 PBS 液漂洗 3 次,以无糖 Earle's 平衡盐溶液,于 1% O_2 + 94% N_2 + 5% CO_2 的 37 ℃ 缺氧箱中培养 4 h,后将培养皿中的细胞用 PBS 液漂洗 3 次,再加入含 10% 胎牛血清的 DEME/F12 培养基,置于 37 ℃、5% CO_2 和 95% O_2 的恒温培养箱培养 0、6、12、24 h。③缺氧/复氧 + Mdivi-1(H/R + Mdivi-1)组:缺氧前 1 h 加入 Drp1 抑制剂 Mdivi-1,用 PBS 液漂洗 3 次,以无糖 Earle's 平衡盐溶液 + Drp1 抑制剂 Mdivi-1,于 1% O_2 + 94% N_2 + 5% CO_2 的 37 ℃ 缺氧箱中培养 4 h,后将培养皿中的细胞用 PBS 液漂洗 3 次,再加入含 10% 胎牛血清的 DEME/F12 培养基 + Drp1 抑制剂 Mdivi-1,置于 37 ℃、5% CO_2 和 95% O_2 的恒温培养箱培养。④缺氧/复氧 + Nlrp3 沉默腺病毒(H/R + siNlrp3)组:缺氧前 48 h 加入 Nlrp3 沉默腺病毒,转染 4 h,换 DMEM/F12 培养基维持培养,而后处理同 H/R 组。⑤H/R + 空腺病毒(H/R + Scra)组:处理参照 H/R + siNlrp3 组。

1.4 细胞转染

6 孔板每孔含 HK-2 细胞 10^5 个,培养于 10% 胎牛血清的 DEME/F12 培养基中,在 37 ℃、5% CO_2 和 95% O_2 的恒温培养箱培养细胞达 50% ~ 60%。分别用 8 μL 腺病毒空白载体或含 siNlrp3 腺病毒转染 HK-2 细胞继续培养 4 h,弃上清,PBS 漂洗 3 次,换含 10% 胎

牛血清的 DEME/F12 培养基,置于 37 ℃、5% CO_2 和 95% O_2 的恒温培养箱培养 48 h。

1.5　细胞焦亡的检测

HK-2 细胞按 5×10^5/孔接种至 24 孔板。细胞用含 5 μg/mL Hoechst 33342 和 10 μg/mL 碘化丙啶(PI)的 PBS 处理,流式细胞仪分析。利用生化分析仪检测各组细胞培养上清乳酸脱氢酶含量,反映细胞焦亡程度。

1.6　DCFH-DA 检测细胞活性氧水平

无血清的培养基,37 ℃避光培养 30 min,弃上清,PBS 液漂洗 2 次,激光共聚焦显微镜下观察并照相(激发波长 488 nm,发射波长 525 nm)。

1.7　蛋白质免疫印迹分析

收集细胞并提取蛋白,BCA 法测蛋白浓度。将 40 μg 总蛋白提取液与 4×SDS 缓冲液混匀,100 ℃热变性 8 min,聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,电转至 PVDF 膜;5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,分别加入兔抗人 Drp1 多克隆抗体(1∶1 000)、羊抗人 Nlrp3 多克隆抗体(1∶1 000)、兔抗人 caspase-1(1∶1 000)及小鼠抗人 IL-1β 单克隆抗体(1∶1 000),4 ℃过夜;TBST 缓冲液漂洗 8 min×3 次;加入辣根过氧化物酶标记二抗(1∶1 000),37 ℃孵育 2 h,TBST 缓冲液清洗 5 min×3 次,避光加入 ECL 发光剂,X 线常规显影、定影并进行灰度分析。

1.8　统计学分析

计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件行单因素方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$。

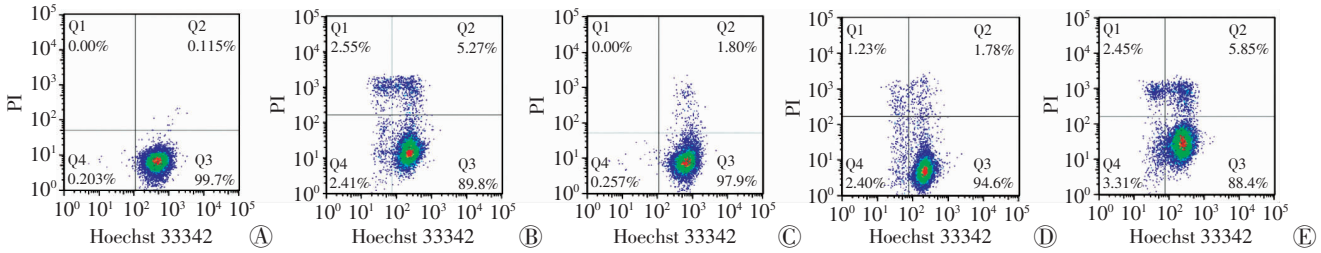
2　结果

2.1　缺氧/复氧时 HK-2 细胞发生焦亡

正常对照组培养液上清乳酸脱氢酶 LDH 为(36.90±1.89)IU/L,H/R 组 LDH 随着复氧时间增长而明显增加,复氧 0 h 时 LDH(41.60±3.82)IU/L,6 h 为(45.80±1.00)IU/L,12 h 为 LDH(50.20±3.29)IU/L,24 h 达到(58.80±6.58)IU/L,为正常对照组的 1.6 倍($P<0.05$)。流式细胞仪检测显示,与正常对照组(0.115%)相比,H/R 24 h 组细胞焦亡比例(5.27%)明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$,图 1)。

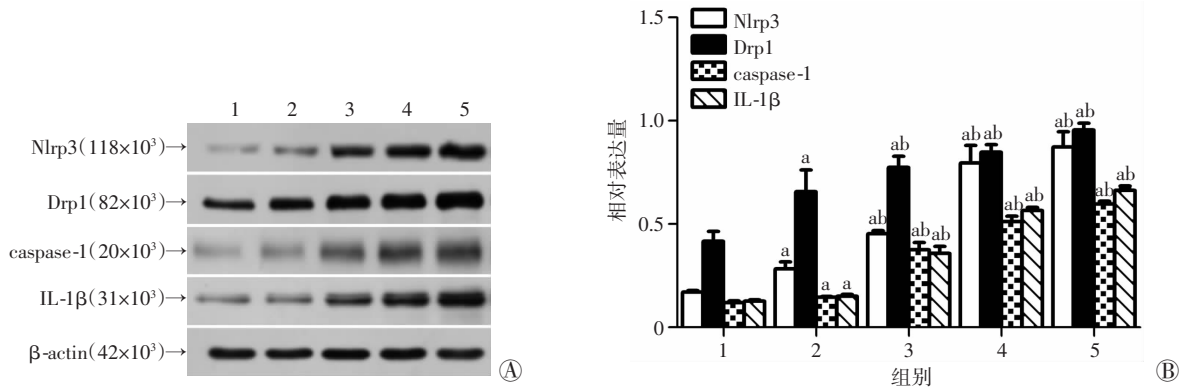
2.2　缺氧/复氧时 HK-2 细胞 Drp1、Nlrp3、活性氧的表达

Western blot 检测显示,与正常对照组相比,随着复氧时间(0、6、12、24 h)延长,Drp1 和 Nlrp3 炎性体表达随之增加,caspase-1 以及炎性因子 IL-1β 表达也逐渐升高(图 2)。DCFH-DA 检测细胞活性氧发现 HK-2 细胞活性氧表达明显增强,差异有统计学意义($P<0.05$,图 3)。



A:正常对照组;B:H/R 24 h 组;C:H/R 24 h + Mdivi-1 组;D:H/R 24 h + siNlrp3 组;E:H/R 24 h + Scra 组;Scra 为空腺病毒;siNlrp3 为 Nlrp3 沉默腺病毒

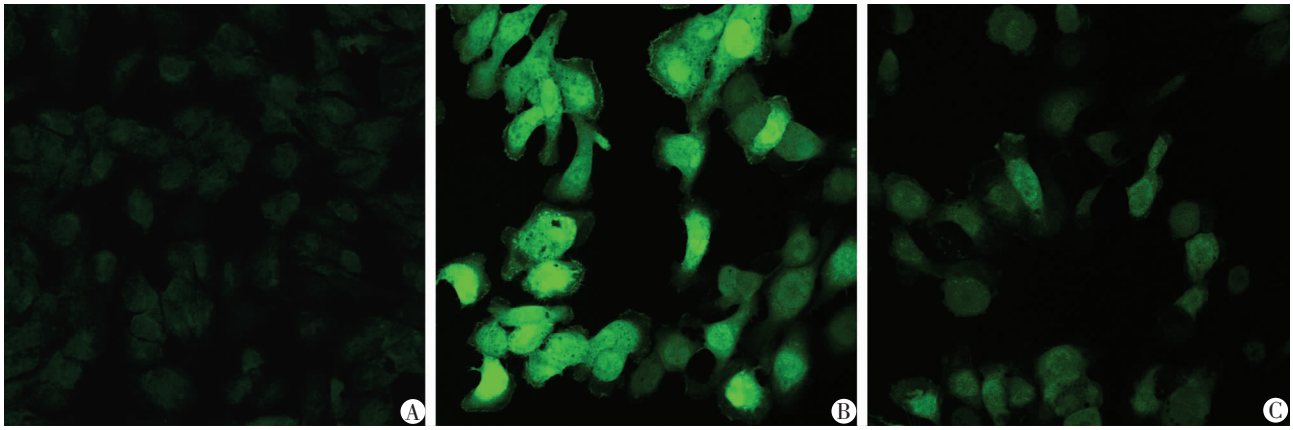
图 1　流式细胞仪分析各组细胞焦亡情况



1:正常对照组;2:H/R 0 h 组;3:H/R 6 h 组;4:H/R 12 h 组;5:H/R 24 h 组

A:Western blot 检测;B:半定量分析　a:$P<0.05$,与正常对照组比较;b:$P<0.05$,与前一组比较

图 2　Western blot 检测不同复氧时间 Nlrp3、Drp1、caspase-1、IL-1β 的表达

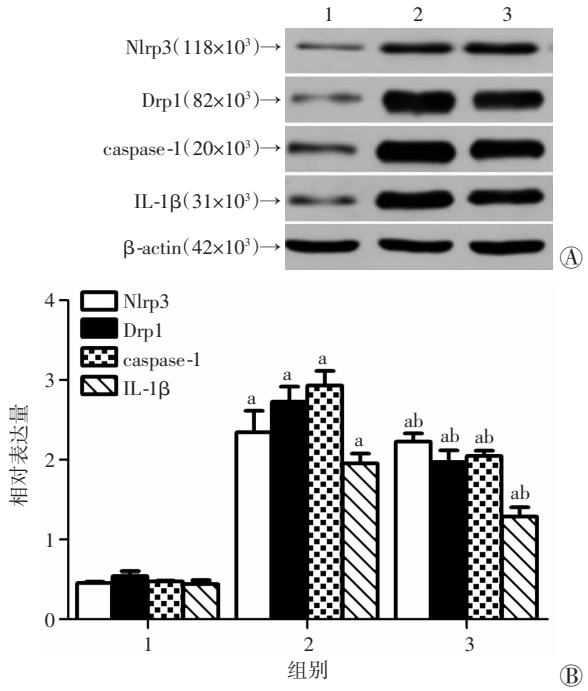


A:正常对照组;B:H/R 24 h 组;C:C:H/R 24 h + Mdivi-1 组

图 3 DCFH-DA 法检测各组细胞活性氧水平 (激光共聚焦显微镜 ×400)

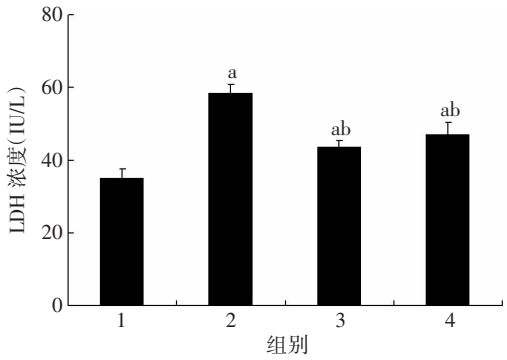
2.3 Drp1 抑制剂 Mdivi-1 减轻细胞活性氧、Nlrp3 表达以及缺氧/复氧诱导的 HK-2 细胞焦亡

与 H/R 24 h 组相比,DCFH-DA 活性氧染色结果显示 H/R 24 h + Mdivi-1 组活性氧明显降低(图 3)。加入 Drp1 抑制剂 Mdivi-1 后,Drp1 的表达无明显变化,而 Nlrp3 炎性体、caspase-1 及炎性因子 IL-1β 表达随之减少(图 4)。与 H/R 24 h 组(5.27%)相比,经 Mdivi-1 处理后,HK-2 细胞在发生缺氧/复氧时焦亡(1.8%)降低(图 1),同时细胞上清液 LDH 释放量也减少,差异有统计学意义($P<0.05$,图 5)。



A:Western blot 检测 1:正常对照组;2:H/R 24 h 组;3:H/R 24 h + Mdivi-1 组;B:半定量分析 a:$P<0.05$,与正常对照组比较;b:$P<0.05$,与 H/R 24 h 组比较

图 4 Western blot 检测 Drp1 抑制剂对 Nlrp3、Drp1、caspase-1、IL-1β 表达的影响



1:正常对照组;2:H/R 24 h 组;3:H/R 24 h + Mdivi-1 组;4:H/R 24 h + siNlrp3 组

a:$P<0.05$,与正常对照组比较;b:$P<0.05$,与 H/R 24 h 组比较

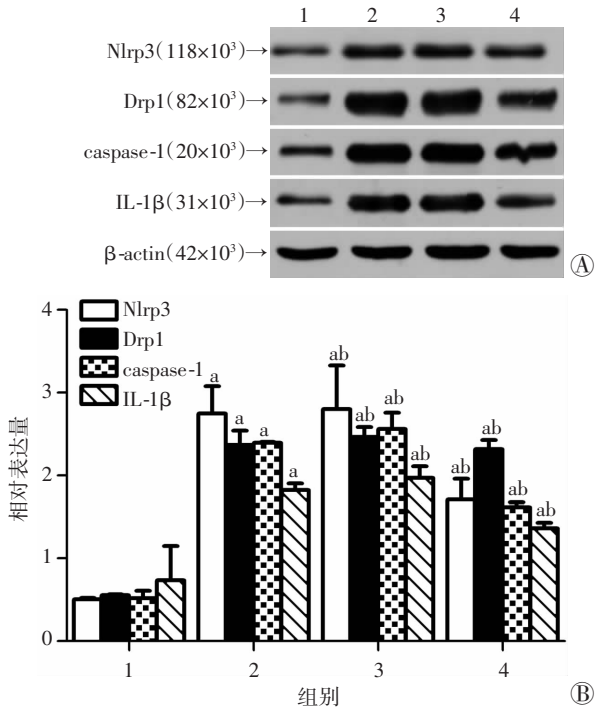
图 5 缺氧/复氧 24 h 时各组细胞培养液上清 LDH 释放量

2.4 siNlrp3 能减少 Nlrp3 的表达和炎症反应以及 HK-2 细胞焦亡

与 H/R 组相比,经空腺病毒处理后,HK-2 细胞在发生 H/R 时 Nlrp3 炎性体、caspase-1 以及炎性因子 IL-1β 没有明显变化。而 H/R 24 h + siNlrp3 组 Nlrp3 炎性体、caspase-1 以及炎性因子 IL-1β 表达减少,Drp1 的表达无明显变化,焦亡降低(1.78%,图 1),同时细胞上清液 LDH 释放量也减少,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 6)。

3 讨论

急性肾衰肾小管上皮细胞死亡可有多种死亡途径。近年研究发现除坏死和凋亡这两种常见的细胞死亡方式外,其他程序性细胞死亡通路如自噬、焦亡在 AKI 发病中也发挥重要作用,这些通路与线粒体功能障碍密切相关。细胞焦亡是近年发现并证实的一种新



1:正常对照组;2:H/R 24 h 组;3:H/R 24 h + Scra 组 4:H/R 24 h + siNlrp3 组;Scra 为空腺病毒;siNlrp3 为 Nlrp3 沉默腺病毒

A:Western blot 检测;B:半定量分析　a:$P<0.05$,与正常对照组比较;b:$P<0.05$,与 H/R 24 h 组比较

图 6　Western blot 检测 siNlrp3 对 Nlrp3、Drp1、caspase-1、IL-1β 表达的影响

的程序性细胞死亡方式,最早在弗氏志贺氏杆菌感染的巨噬细胞中发现。此种细胞死亡方式依赖于半胱天冬酶-1[4],但不伴随 caspase-3(传统细胞凋亡通路)、caspase-6 和 caspase-7 的激活,而由 caspase-1 介导[5]。caspase-1 能诱导肾小管上皮细胞膜形成孔洞,导致大量炎症因子释放,因此肾小管上皮细胞焦亡时伴有大量促炎症因子(包括 IL-1β、IL-18 等)的释放,这是细胞焦亡区别于其他死亡方式的重要特征[6]。缺血再灌注损伤是临床 AKI 的常见病因,本实验采用体外培养肾小管上皮细胞的 H/R 模型,来模拟在体的缺血再灌注模型,观察肾小管上皮细胞的焦亡及其机制。本实验发现,与对照组相比,H/R 组肾小管上皮细胞培养上清乳酸脱氢酶显著升高、流式细胞监测发现细胞焦亡显著增加,表明 H/R 确实诱导了肾小管上皮细胞焦亡。我们前期研究也证实在顺铂诱导的急性肾衰中,存在显著的肾小管上皮细胞焦亡[7]。这些均说明,肾小管上皮细胞焦亡参与了多种原因所导致的 AKI 的发生机制。Nlrp3/caspase-1 轴是介导细胞焦亡发生的关键通路,活化的 Nlrp3 会发生结构上的重排,暴露出 N 端的热蛋白结构域 PYD,PYD 结合凋亡相关的斑点样蛋白 ASC,ASC 的另一端结合 caspase-1,最终形成四聚体活化 caspase-1,caspase-1 将无活性 IL-1β 前体剪切为成熟 IL-1β,启动焦亡及炎症反应。该炎症体通路不仅广泛存在于巨噬细胞、单核细胞等多种免疫细胞中,同时也存在于包括上皮细胞在内的部分非免疫细胞中[8]。本实验观察了人肾小管上皮细胞 H/R 损伤时 Nlrp3、caspase-1、IL-1β 表达变化,并构建 siNlrp3 腺病毒抑制 Nlrp3 的表达,观察 H/R + siNlrp3 组细胞焦亡情况。发现人肾小管上皮细胞 H/R 损伤中 Nlrp3、caspase-1 以及下游炎性因子 IL-1β 表达明显上调,细胞焦亡增加。siNlrp3 能降低 H/R 时 Nlrp3、caspase-1 以及下游炎性因子表达,减少细胞焦亡,提示 Nlrp3 参与了缺血再灌注时人肾小管上皮细胞的焦亡,但何种途径激活 Nlrp3 炎性体参与肾脏缺血再灌注损伤仍需探讨。线粒体功能障碍是肾小球足细胞和肾小管上皮细胞损伤的早期事件,阻断线粒体 ROS 可减轻细胞损伤,提示线粒体功能障碍在细胞损伤的始发阶段发挥重要作用[9]。研究表明 ROS 可通过激活 Nlrp3 炎性小体促进细胞的损伤,提示线粒体来源的 ROS 可激活 Nlrp3 炎性小体。Drp1 由日本筑波大学 SHIN 等于 1997 年首次报道[2]。近年来研究表明 DRPl 蛋白是调节线粒体分裂的关键蛋白,Drp1 过表达能引起线粒体过度分裂而片段化,发生功能障碍,同时产生大量活性氧[10-11]。抑制线粒体分裂能增加线粒体内膜质子漏,质子漏增加能有效减少活性氧的产生[11-13]。本实验研究发现,相对于正常组,H/R 损伤时 Drp1 表达上调,细胞活性氧显著增加。使用 Drp1 抑制剂 Mdivi-1 能有效减少 H/R 组活性氧的表达,并降低 Nlrp3、caspase-1 以及下游炎性因子表达,减少细胞焦亡,但 Drp1 抑制剂 Mdivi-1 未能降低 Drp1 的表达。其机制不明,但有文献报道可能是其只影响 Drp1 构象变化,未能阻止 Drp1 产生有关[14]。提示 Drp1 可能通过 ROS 激活 Nlrp3 炎性体,促进机体炎症反应并引发细胞焦亡。

综上所述,本研究提示缺氧/复氧导致线粒体功能障碍,可能通过上调 Drp1,诱导 Nlrp3 炎性体表达,导致人肾小管上皮细胞发生炎症反应和焦亡,可能是急性缺血性肾损伤的重要机制。本研究缺少体内实验验证,下一步计划构建小鼠缺血再灌注模型,观察动物体内相关指标变化。

参考文献:

[1] Eachempati S R, Wang J C, Hydo L J, *et al*. Acute renal fail-

ure in critically ill surgical patients: persistent lethality despite new modes of renal replacement therapy[J]. J Trauma, 2007, 63(5): 987 - 993. DOI: 10.1097/TA.0b013e3181574930

[2] Shin H W, Shinotsuka C, Torii S, *et al*. Identification and subcellular localization of a novel mammalian dynamin-related protein homologous to yeast Vps1p and Dnm1p[J]. J Biochem, 1997, 122(3): 525 - 530. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a021784

[3] Funk J A, Schnellmann R G. Persistent disruption of mitochondrial homeostasis after acute kidney injury[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2012, 302(7): F853 - F864. DOI: 10.1152/ajprenal.00035.2011

[4] Miao E A, Rajan J V, Aderem A. Caspase-1-induced pyroptotic cell death[J]. Immunol Rev, 2011, 243(1): 206 - 214. DOI: 10.1111/j.1600-065x.2011.01044.x

[5] Fernandes-Alnemri T, Wu J, Yu J W, *et al*. The pyroptosome: a supramolecular assembly of ASC dimers mediating inflammatory cell death *via* caspase-1 activation[J]. Cell Death Differ, 2007, 14(9): 1590 - 1604. DOI: 10.1038/sj.cdd.4402194

[6] Cerqueira D M, Pereira M S, Silva A L, *et al*. Caspase-1 but Not Caspase-11 Is Required for NLRC4-Mediated Pyroptosis and Restriction of Infection by Flagellated Legionella Species in Mouse Macrophages and *In Vivo*[J]. J Immunol, 2015, 195(5): 2303 - 2311. DOI: 10.4049/jimmunol.1501223

[7] 曹雪娇, 侯卫平, 张媛媛, 等. P2X7/NALP3 在急性肾小管坏死肾组织中的表达及意义[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(6): 558 - 563. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2014.06.022

[8] Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, *et al*. Inflammasomes in health and disease[J]. Nature, 2012, 481(7381): 278 - 286. DOI: 10.1038/nature10759

[9] Su M, Dhoopun A R, Yuan Y, *et al*. Mitochondrial dysfunction is an early event in aldosterone-induced podocyte injury[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2013, 305(4): F520 - F531. DOI: 10.1152/ajprenal.00570.2012

[10] Brooks C, Wei Q, Cho S G, *et al*. Regulation of mitochondrial dynamics in acute kidney injury in cell culture and rodent models[J]. J Clin Invest, 2009, 119(5): 1275 - 1285. DOI: 10.1172/jci37829

[11] Carneiro L, Allard C, Guissard C, *et al*. Importance of mitochondrial dynamin-related protein 1 in hypothalamic glucose sensitivity in rats[J]. Antioxid Redox Signal, 2012, 17(3): 433 - 444. DOI: 10.1089/ars.2011.4254

[12] Lee H, Yoon Y. Transient contraction of mitochondria induces depolarization through the inner membrane dynamin OPA1 protein[J]. J Biol Chem, 2014, 289(17): 11862 - 11872. DOI: 10.1074/jbc.m113.533299

[13] Guo K, Lu J, Huang Y, *et al*. Protective role of PGC-1α in diabetic nephropathy is associated with the inhibition of ROS through mitochondrial dynamic remodeling[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0125176. DOI: 10.1371/journal.pone.0125176

[14] Tanaka A, Youle R J. A chemical inhibitor of DRP1 uncouples mitochondrial fission and apoptosis[J]. Mol Cell, 2008, 29(4): 409 - 410. DOI: 10.1016/j.molcel.2008.02.005

(**收稿**:2015-11-20;**修回**:2016-01-31)

(编辑 龙 亮)