



DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2017.11.004

www.csumed.org/xbwk/fileup/PDF/2017111263.pdf

冬虫夏草通过Sirt I发挥对HK2细胞缺血-再灌注损伤的保护作用

张影莉^{1,2}, 敖翔¹, 李慧³, 邓松筠⁴, 肖舟¹, 彭卫生¹, 项金华², 周巧玲¹

(1. 中南大学湘雅医院肾内科, 长沙 410008; 2. 长沙市第三医院肾内科, 长沙 410015;
3. 长沙市第一医院呼吸内科, 长沙 410005; 4. 中南大学湘雅医院重症监护室, 长沙 410008)

[摘要] 目的: 研究冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*, CS)对缺血-再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI)的HK2细胞凋亡水平和Sirt1表达的影响, 探讨CS对HK2细胞IRI的保护机制。方法: 不同浓度CS(10, 20, 40, 80, 160, 320 mg/L)与HK2细胞共培养24 h, 测定细胞增殖率, 确定其最佳干预浓度; 体外培养的HK2细胞用0.01 μmol/L抗霉素A处理模拟缺血过程, 2 h后恢复含血清培养基模拟再灌注过程。将HK2细胞分为对照组, I/R组, I/R+CS组(160 mg/L), I/R+CS(160 mg/L)+sirtinol(25 μmol/L)组, 24 h后提取各组细胞总RNA和蛋白。四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法检测细胞增殖; qRT-PCR及Western印迹检测Sirt1和凋亡相关基因(cleaved caspase-3)mRNA及蛋白表达的变化, AnnexinV-FITC/PI双染法及流式细胞仪检测细胞凋亡率。结果: CS 10~160 mg/L与HK2细胞作用24 h, 对细胞增殖影响不明显($P>0.05$); 当浓度增大到320 mg/L时, 出现明显抑制HK2细胞增殖的现象($P<0.01$)。与对照组相比, I/R组Sirt1, cleaved caspase-3 mRNA和蛋白表达增加($P<0.01$), 细胞凋亡率明显增加($P<0.01$); 相对于I/R组, I/R+CS组Sirt1 mRNA和蛋白水平增加($P<0.01$), 而cleaved caspase-3 mRNA和蛋白表达明显下降($P<0.01$), 细胞凋亡率降低($P<0.05$)。给予Sirt1抑制剂sirtinol后, I/R+CS+sirtinol(25 μmol/L)组Sirt1 mRNA和蛋白明显降低($P<0.05$), cleaved caspase-3 mRNA和蛋白表达明显升高($P<0.05$), 细胞凋亡率较I/R+CS组增加($P<0.05$)。结论: CS对HK2细胞IRI具有保护作用, 其机制可能与CS促进Sirt1表达有关。

[关键词] 冬虫夏草; 肾缺血-再灌注损伤; Sirt1

Cordyceps sinensis protects HK2 cells from ischemia-reperfusion injury through Sirt I pathway

ZHANG Yingli^{1,2}, AO Xiang¹, LI Hui³, DENG Songyun⁴, XIAO Zhou¹,
PENG Weisheng¹, XIANG Jinhua², ZHOU Qiaoling¹

(1. Department of Nephrology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008; 2. Department of Nephrology, Third Hospital of Changsha, Changsha 410015; 3. Department of Respiratory Medicine, First Hospital of Changsha, Changsha 410005; 4. Department of Critical Care Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

收稿日期(Date of reception): 2016-11-19

第一作者(First author): 张影莉, Email: yingli.zhang@foxmail.com

通信作者(Corresponding author): 周巧玲, Email: zqling8315@163.com

基金项目(Foundation item): 国家自然科学基金(81070552)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81070552).

ABSTRACT

Objective: To investigate the effects of *Cordyceps sinensis* (CS) on cellular apoptosis and Sirt1 expression in HK2 cells followed by ischemia-reperfusion (I/R).

Methods: HK2 cells were incubated with different concentrations of CS (10, 20, 40, 80, 160, 320 mg/L) for 24 hours, and the optimal concentration of CS was selected by measuring cell proliferation. The confluent HK2 cells were incubated with 0.01 $\mu\text{mol/L}$ antimycin A for 2 hours to induce ischemia in vitro, and then the reperfusion was achieved by incubating cells with glucose-replete complete growth medium for 24 hours. HK2 cells were divided into 4 groups: a control group, an I/R group, an I/R+CS (160 mg/L) group, and an I/R+CS (160 mg/L)+Sirtinol (25 $\mu\text{mol/L}$) group. Twenty-four hours later, total RNA and protein were collected. The cell proliferation was evaluated by MTT assay; the mRNA and protein expression of Sirt1 and the cleaved caspase-3 were measured by qRT-PCR and Western blot, respectively. The cellular apoptosis rate was determined by Annexin V-FITC/PI double staining and flow cytometry.

Results: Certain concentrations (10–160 mg/L) of CS did not show effect on the proliferation of HK2 cells ($P>0.05$), while 320 mg/L of CS inhibited cell proliferation significantly ($P<0.01$); compared with the control group, the mRNA and protein expressions of Sirt1 and the cleaved caspase-3 in the I/R group were up-regulated ($P<0.01$) and the apoptosis rate was extremely high; compared with the I/R group, CS significantly up-regulated Sirt1 mRNA and protein expression ($P<0.01$) while down-regulated cleaved caspase-3 mRNA and protein levels ($P<0.01$), and reduced apoptosis rate ($P<0.05$). The effects of CS were blocked in the presence of sirtinol, an inhibitor of CS.

Conclusion: CS protects HK2 cells from I/R injury through activation of Sirt1 pathway.

KEY WORDS

Cordyceps sinensis; renal ischemia-reperfusion injury; Sirt1

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是临床上较为常见的一种急危重症,常表现为肾功能下降及由肾功能下降引起的水肿、电解质紊乱、代谢性酸中毒等一系列临床症状^[1]。据文献^[2-6]报道:AKI发病率和病死率高,住院患者发病率为2%~7%,重症监护病房患者为5%~10%,后者AKI患者死亡率高达50%~80%。全球范围内,每年约200万人死于AKI,其发病率呈逐年增加趋势,严重威胁着人类健康,成为世界公共卫生问题。

AKI治疗目前尚无明确的措施,其主要以对症支持为主,包括液体管理、维持血糖、营养支持等^[1]。如何治疗和预防AKI,一直都是临床医生面临的难题,因此寻求新的防治措施或靶点是当前亟需解决的问题。

近年来研究^[7-9]发现沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, Sirt1)在肾脏疾病中显示了一定的保护作用,它有可能成为肾脏疾病的潜在治疗靶点。冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*, CS)是一种富含多种有机成分和微量元素的真菌,在肾脏疾病中的研究^[10-12]表明CS具有抗氧化、抗凋亡、抗纤维化等作用。CS在降低蛋白尿、延缓肾纤维化、抗炎等

方面显示了重要作用^[13-15]。本研究模拟体外人近端肾小管上皮细胞株(HK2)缺血-再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI),观察Sirt1表达和细胞凋亡水平的变化,明确CS在HK2细胞IRI时的抗凋亡作用及对Sirt1表达水平的影响,进一步探索AKI的分子机制和CS对AKI的保护机制,为AKI早期防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

HK2细胞购于美国ATCC公司,CS是经过醇提、水提及酶解,再合并3种浓缩液,均质化处理制备而成的1 g菌粉/mL提取液,由杭州中美华东制药股份有限公司提供。抗霉素A,兔抗人Sirt1多克隆抗体购于美国Sigma公司,TRIzol购于美国Invitrogen公司,反转录试剂盒购于美国Genecopoeia公司,凋亡试剂盒购于美国BD公司,sirtinol(catalog NO.S2804)购于美国Selleckchem公司,BCA蛋白定量试剂盒购于美国Thermo Scientific公司,PMSF/RIPA裂解液购于上海碧云天生物技术有限公司,ECL化学发光液购于美国

Millipore公司, 兔抗人cleaved caspase-3多克隆抗体、鼠抗人 β -actin多克隆抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG、辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠IgG二抗购自上海优宁维生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组

HK2细胞在含10% FBS, 100 U/mL青霉素, 100 U/mL链霉素的DMEM/F12培养液中培养(37 °C, 5%CO₂), 细胞长至80%融合时, 0.25%胰酶消化, 1:3~1:4传代, 待细胞生长至80%时, 进行干预处理。

实验分组: 1)不同浓度CS(10, 20, 40, 80, 160, 320 mg/L)与HK2细胞共培养24 h, 测定各组细胞增殖率, 确定其最佳干预浓度。2)将HK2细胞分为: 对照组, 正常HK2细胞不做任何处理; I/R组, IRI处理; I/R+CS组(160 mg/L), CS预处理24 h后给予IRI处理; I/R+CS (160 mg/L)+sirtinol (25 μ mol/L)组, CS预处理24 h, 缺血2 h后, 用含CS及sirtinol培养液再灌注处理。以上各组再灌注24 h后进行后续实验。

1.2.2 MTT细胞活性检测

CS用5%完全培养基分别配置成终浓度10, 20, 40, 80, 160, 320 mg/L的溶液。以 4×10^4 个/mL

铺96孔板, 细胞贴壁后, 无血清培养液培养12 h同步化处理, 弃去原无血清培养液, 每孔加入CS 100 μ L, 每组5个平行孔, 并设立对照组和调零组。24 h后每孔加MTT 10 μ L(5 g/mL), 37 °C培养箱避光培养4 h, 小心吸去孔内培养液, 每孔加入DMSO 100 μ L, 轻轻震荡10 min, 用酶标仪检测490 nm或570 nm处吸光度值(A值)。

1.2.3 细胞IRI模型建立

细胞接种于6孔板, 弃去原培养基, PBS缓冲液2 mL冲洗2次, 加入含0.01 μ mol/L抗霉素A, 1.5 mmol/L CaCl₂, 2 mmol/L MgCl₂的PBS 2 mL, 放入细胞培养箱培养2 h模拟缺血过程。2 h后弃去上清, PBS润洗一遍, 加入含血清完全培养基模拟再灌注过程^[16]。

1.2.4 qRT-PCR检测Sirt1, cleaved caspase-3 mRNA的表达水平

根据试剂盒操作说明用TRIzol提取细胞总RNA, 并进行反转录。PCR引物由上海生工有限公司合成(表1)。PCR反应程序设置为: 95 °C预变性10 min; 95 °C变性10 s, 60 °C退火20 s, 扩增40个循环; 72 °C延伸15 s。熔解曲线分析: 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

目的基因		引物序列	产物长度/bp
Sirt1	Forward	5'-CCAGCCATCTCTCTGTCACA-3'	139
	Reverse	5'-TGCAAAGGAACCATGACACTG-3'	
Cleaved caspase-3	Forward	5'-CTCTGGTITTCGGTGGGTGT-3'	152
	Reverse	5'-AGAGTCCATTGATTCGCTTCCA-3'	
β -actin	Forward	5'-CGGGACCTGACTGACTACCT-3'	271
	Reverse	5'-CACAGGACTCCATGCCAG-3'	

1.2.5 Western印迹检测Sirt1, cleaved caspase-3蛋白水平的变化

6孔板每孔加100 μ L蛋白裂解液(RIPA:PMSF=100:1)提取细胞总蛋白, BCA法进行蛋白定量, 加入5 \times 蛋白上样缓冲液充分混匀后, 置于100 °C水浴锅5 min变性。在SDS-PAGE凝胶加样, 电泳2 h后转膜, 恒流300 mA 90 min。取出PVDF膜, 用5%脱脂奶粉室温封闭2 h, 孵一抗4 °C摇床慢摇过夜, TBST清洗后孵辣根酶标记山羊抗兔IgG(1:5 000), β -actin辣根酶标记山羊抗鼠IgG(1:10 000)二抗, 室温孵育2 h。ECL发光成像, 凝胶成像分析仪系统进行扫描, 计算比值(OD_{目的蛋白}/OD _{β -actin}), 即目的蛋白的相对表达量。实验重复3次。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡率

收集6孔板上清, 不含EDTA胰酶消化收集各孔细胞, 100 μ L结合缓冲液重悬, 避光, 各管分别加入5 μ L Annexin V-FITC反应15 min, 5 μ L PI反应5~10 min, 加入400 μ L结合缓冲液混匀后1 h内上机。Flow J软件进行分析, 统计右上象限和右下象限细胞总凋亡率。实验重复3次。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0软件进行统计学分析, 数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 计量资料采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MTT检测CS对HK2细胞增殖的影响

CS与HK2细胞共同培养24 h, 10~160 mg/L CS对HK2细胞增殖没有明显影响($P>0.05$), 而320 mg/L CS明显抑制HK2细胞增殖($P<0.01$, 图1)。故CS后续最佳干预浓度为160 mg/L。

2.2 各实验组细胞凋亡情况

与对照组相比, I/R组cleaved caspase-3 mRNA和蛋白表达和细胞凋亡率增加($P<0.01$), CS干预后cleaved caspase-3 mRNA和蛋白表达和细胞凋亡率降低($P<0.05$), 而加入sirtinol后, cleaved caspase-3表达和细胞凋亡率明显升高($P<0.05$, 图2)。

2.3 各实验组Sirt1表达的变化

与对照组相比, I/R组Sirt1表达增加($P<0.01$), CS干预后Sirt1表达明显增加($P<0.01$), 而加入sirtinol后, Sirt1表达有所降低但仍高于正常对照组($P<0.05$, 图3)。

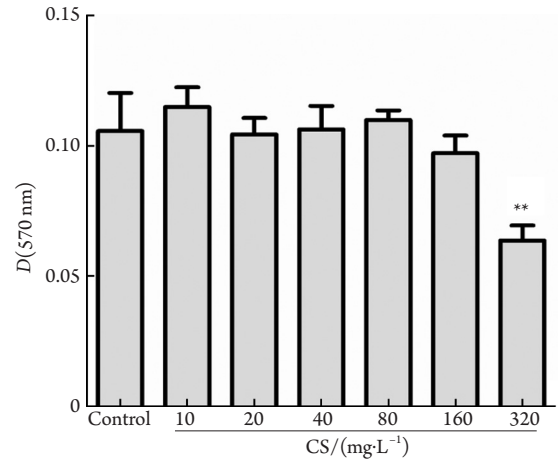


图1 不同浓度CS对HK2细胞增殖的影响 ($n=5, \bar{x}\pm s$)

Figure 1 Effects of different concentrations of CS on the proliferation of HK2 cells ($n=5, \bar{x}\pm s$)

** $P<0.01$ vs the control group

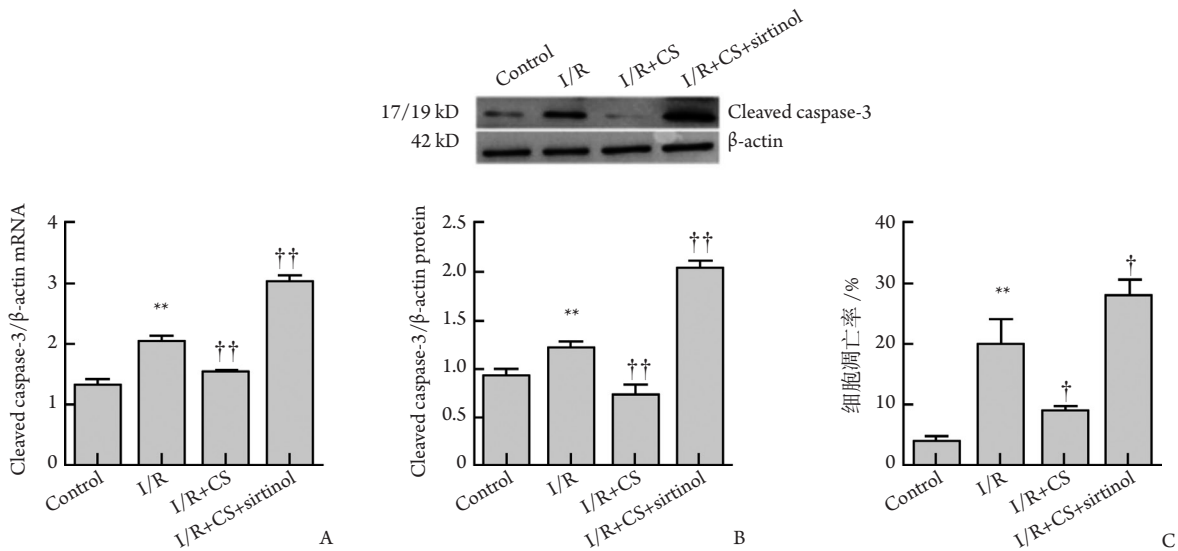


图2 各组细胞凋亡情况 ($n=5, \bar{x}\pm s$)

Figure 2 Cell apoptosis in the different groups ($n=5, \bar{x}\pm s$)

A: Comparison of expression of cleaved caspase-3 mRNA; B: Comparison of expression of cleaved caspase-3 protein by Western blot; C: Comparison of cell apoptosis rates. ** $P<0.01$ vs the control group; † $P<0.05$, †† $P<0.01$ vs the I/R group

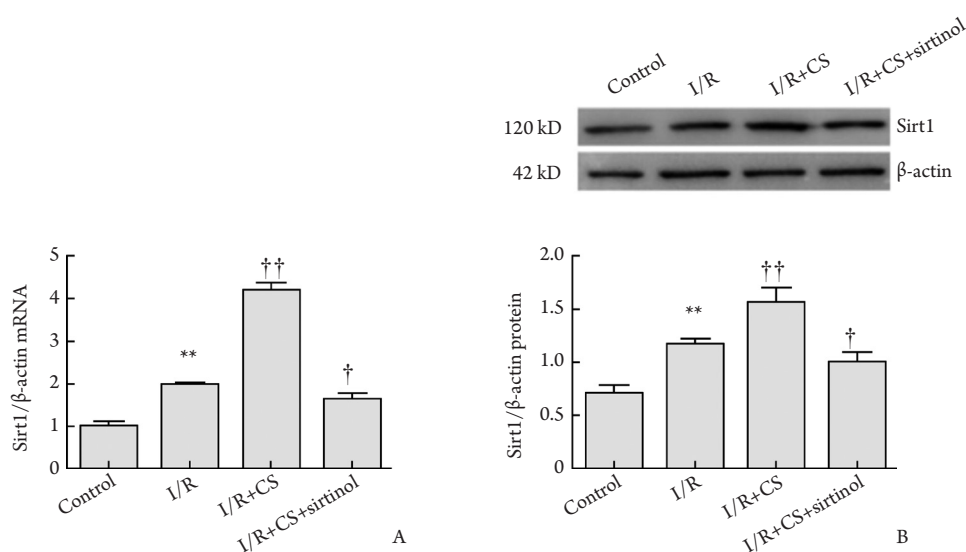


图 3 各组 Sirt1 表达的变化 ($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Figure 3 Expression of Sirt1 in the different groups ($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

A: Expression of Sirt1 mRNA; B: Expression of Sirt1 protein by Western blot. ** $P<0.01$ vs the control group; † $P<0.05$, †† $P<0.01$ vs the I/R group

3 讨论

AKI发病率在全球范围内呈逐渐增加趋势, 给人类健康造成巨大的威胁。多种因素可导致AKI的发生, 根据病因及解剖部位不同, AKI可分为肾前性、肾性及肾后性。肾前性及肾后性AKI一般在短时间内解除致病因素后, 有望恢复正常肾功能, 而肾性AKI病因相对复杂, 治疗相对困难, 一直是AKI领域研究的重点。通常认为, IRI、肾毒性物质、脓毒症损伤等是常见的肾损伤性致病因素, 其中IRI是引起AKI的一种常见病因。在肾IRI中, 缺血缺氧是其发生结构和功能损伤的关键, 由于近端肾小管上皮细胞只能依靠有氧氧化产生ATP提供能量, 在缺血缺氧情况下, 近端肾小管上皮细胞更为敏感, 更容易受损, 损伤的肾小管上皮细胞可作为介质释放信号进一步加重病情, 因此肾小管上皮细胞损伤是肾IRI的中心环节^[17-18]。

肾IRI常引起严重的肾损伤和肾功能障碍, 严重者甚至需要长期血液净化治疗, 目前AKI并无明确的治疗措施, 因缺血缺氧导致的肾小管上皮细胞损伤是其最重要的病理机制, 推测减轻缺血缺氧引起的肾小管上皮细胞损伤是治疗研究的重点。

Sirt1是一种与细胞能量代谢密切相关的第III类组蛋白去乙酰化酶。据文献[8]报道: Sirt1除对糖尿病肾病、高血压肾病、慢性肾功能不全、肾脏衰老具有保护作用外, 对AKI也显示了重要的保护作用。

研究^[19]发现在肾IRI, Sirt1可促进过氧化物酶体增殖活化受体 γ 共激活因子-1 α (PGC-1 α)去乙酰化, 增强其活性状态, 增加线粒体生物合成, 减轻活性氧产生, 促进近端肾小管上皮细胞功能恢复, 从而发挥对AKI的保护作用。此外, Sirt1还可通过去乙酰化P53, 降低P53活性, 增加泛素和蛋白酶体途径降解, 进而减少AKI细胞凋亡^[20]。AKI患者发生慢性肾脏病(CKD)的风险明显高于正常人, 纤维化是CKD发生发展的一个重要特征, 研究^[21-22]发现在Sirt1表达增强时, 肾组织纤维化程度明显减轻, 表现为肾组织 α 平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达和胶原蛋白含量显著降低, 因此Sirt1可通过抗纤维化作用, 促进AKI恢复及延缓其向CKD的进展。由此, Sirt1对肾IRI的保护作用是明确的, 但迄今为止Sirt1在人体肾脏或人体肾细胞IRI研究还少有报道, Sirt1在人IRI时是否会发生变化, 对人AKI是否具有保护作用, 目前尚不清楚。故本研究以HK2细胞IRI模型为研究对象, 观察细胞缺血缺氧凋亡情况和Sirt1的表达变化, 进一步探讨AKI损伤机制。

本组采用抗霉素A和含钙镁PBS处理HK2细胞, 建立体外IRI模型, 抗霉素A是一种从链霉菌衍生出的大环内酯类抗生素, 它可抑制琥珀酸和NADH氧化酶及线粒体细胞色素b和c之间的电子传递链, 进而干扰线粒体有氧氧化, 模拟体内缺氧过程, 而含钙镁PBS代替完全培养基可模拟缺血过程。本研究发现HK2细胞在抗霉素A及含钙镁PBS缺血缺氧处理后,

cleaved caspase-3和细胞凋亡率明显增加, 细胞形态出现改变, 表现为细胞肿胀、细胞间连接疏松、脱落死亡的细胞增多, 说明HK2细胞IRI模型成功建立。

同时, 本研究发现正常HK2细胞存在Sirt1的表达, 在IRI后, HK2细胞Sirt1表达水平明显增加, 这说明肾脏HK2细胞是表达Sirt1的, 缺氧、氧化应激等情况下Sirt1表达处于上调状态, 这与He等^[23]研究结果相符。

CS是我国历史悠久的滋补保健药品和中药, 富含虫草多糖、核苷类物质、麦角甾醇、虫草素及氨基酸等多种成分及微量元素, 其对肾的保护作用逐渐被学者们认可, 但具体保护机制尚不完全清楚^[24]。本研究发现: CS在10~160 mg/L范围内, 可以促进HK2细胞增殖, 但与对照组对比, 细胞存活率并无统计学差异, CS在此浓度范围内对HK2细胞是相对安全的, 当CS浓度增大到320 mg/L时, 出现抑制HK2细胞增殖的情况, 因此本研究选取160 mg/L作为CS作用浓度。HK2细胞IRI予以CS干预后, Sirt1 mRNA和蛋白水平均显著升高, 而凋亡执行蛋白cleaved caspase-3 mRNA和蛋白水平降低, 细胞凋亡率降低, IRI程度减轻, 死亡细胞减少, 增殖细胞增多, 由此证明CS对HK2细胞IRI具有一定的保护作用; 为进一步验证CS是否通过Sirt1发挥肾保护作用, 本实验给予Sirt1特异性抑制剂sirtinol, 结果发现加入sirtinol后Sirt1 mRNA和蛋白水平明显降低, cleaved caspase-3 mRNA和蛋白水平明显升高, 细胞损伤更加显著, 细胞凋亡率明显增加, CS对IRI的保护作用明显减弱, 证明CS可通过促进Sirt1表达发挥对IRI的保护作用, 但是CS中何种成分促进Sirt1表达及Sirt1通过何种信号转导通路起到细胞保护作用, 尚需进一步研究。

参考文献

- [1] Lameire NH, Bagga A, Cruz D, et al. Acute kidney injury: an increasing global concern[J]. *Lancet*, 2013, 382(9887): 170-179.
- [2] Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. The changing epidemiology of acute renal failure[J]. *Nat Clin Pract Nephrol*, 2006, 2(7): 364-377.
- [3] Waikar SS, Liu KD, Chertow GM. Diagnosis, epidemiology and outcomes of acute kidney injury[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008, 3(3): 844-861.
- [4] Faubel S, Chawla LS, Chertow GM, et al. Ongoing clinical trials in AKI[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012, 7(5): 861-873.
- [5] Bonventre JV, Yang L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(11): 4210-4221.
- [6] Pannu N, James M, Hemmelgarn B, et al. Association between AKI, recovery of renal function, and long-term outcomes after hospital discharge[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2013, 8(2): 194-202.
- [7] Li X, Kazgan N. Mammalian sirtuins and energy metabolism[J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(5): 575-587.
- [8] Hao CM, Haase VH. Sirtuins and their relevance to the kidney[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(10): 1620-1627.
- [9] Gao R, Chen J, Hu Y, et al. Sirt1 deletion leads to enhanced inflammation and aggravates endotoxin-induced acute kidney injury[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98909.
- [10] 黄仁发. Notch信号通路活化在肾缺血-再灌注损伤中的作用及冬虫夏草肾保护作用机制的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2011.
HUANG Renfa. The role of activated Notch pathway in the renal ischemia/reperfusion injury and the study of nephroprotective mechanism of *Cordyceps Sinensis*[D]. Changsha: Central South University, 2011.
- [11] 唐荣, 周巧玲, 舒金勇, 等. 冬虫夏草提取液对肾小管上皮细胞Klotho表达和凋亡的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2009, 34(4): 300-307.
TANG Rong, ZHOU Qiaoling, SHU Jinyong, et al. Effect of cordycepsinensis extract on Klotho expression and apoptosis in renal tubular epithelial cells induced by angiotensin II[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2009, 34(4): 300-307.
- [12] Pan MM, Zhang MH, Ni HF, et al. Inhibition of TGF- β 1/Smad signal pathway is involved in the effect of *Cordyceps sinensis*, against renal fibrosis in S/6 nephrectomy rats[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 58(5): 487-494.
- [13] 肖舟, 陈晨, 李晓照, 等. 冬虫夏草抑制ET-1对糖尿病肾病大鼠肾小管上皮细胞转分化作用[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2012, 13(12): 1082-1085.
XIAO Zhou, CHEN Chen, LI Xiaozhao, et al. Cordycepsinensis inhibits the effect of ET-1 on renal tubular epithelial-mesenchymal transition in DN rats[J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology*, 2012, 13(12): 1082-1085.
- [14] 周巧玲, 胡赛. 冬虫夏草提取液对NRK-52E缺血再灌注损伤时凋亡及TLR-4表达的干预作用[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2010, 35(1): 77-84.
ZHOU Qiaoling, HU Sai. Effect of Cordycepsinensis extract on apoptosis and expression of Toll-like receptor 4 mRNA in the ischemia-reperfusion injured NRK-52E cells[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2010, 35(1): 77-84.
- [15] 武蓉, 周巧玲, 林书典, 等. 冬虫夏草制剂对自发性高血压大鼠肾组织ICAM-1和VCAM-1表达的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2010, 35(2): 152-158.
WU Rong, ZHOU Qiaoling, LIN Shudian, et al. Effect of Cordycepsinensis on the expression of ICAM-1 and VCAM-1 in

- the kidney of spontaneously hypertensive rats[J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2010, 35(2): 152-158.
- [16] Feldenberg LR, Thevananther S, Del RM, et al. Partial ATP depletion induces Fas- and caspase-mediated apoptosis in MDCK cells[J]. Am J Physiol, 1999, 276(6 Pt 2): F837-F846.
- [17] Kinsey GR, Okusa MD. Pathogenesis of acute kidney injury: foundation for clinical practice[J]. Am J Kidney Dis, 2011, 58(2): 291-301.
- [18] Havasi A, Borkan SC. Apoptosis and acute kidney injury[J]. Kidney Int, 2011, 80(1): 29-40.
- [19] Hasegawa K, Wakino S, Yoshioka K, et al. Kidney-specific overexpression of Sirt1 protects against acute kidney injury by retaining peroxisome function[J]. J Biol Chem, 2010, 285(17): 13045-13056.
- [20] He W, Wang Y, Zhang MZ, et al. Sirt1 activation protects the mouse renal medulla from oxidative injury[J]. J Clin Invest, 2010, 120(4): 1056-1068.
- [21] Li J, Qu X, Ricardo SD, et al. Resveratrol inhibits renal fibrosis in the obstructed kidney: potential role in deacetylation of Smad3[J]. Am J Pathol, 2010, 177(3): 1065-1071.
- [22] Huang XZ, Wen D, Zhang M, et al. Sirt1 activation ameliorates renal fibrosis by inhibiting the TGF-beta/Smad3 pathway[J]. J Cell Biochem, 2014, 115(5): 996-1005.
- [23] He W, Wang Y, Zhang MZ, et al. Sirt1 activation protects the mouse renal medulla from oxidative injury[J]. J Clin Invest, 2010, 120(4): 1056-1068.
- [24] Zhang HW, Lin ZX, Tung YS, et al. *Cordyceps sinensis* (a traditional Chinese medicine) for treating chronic kidney disease[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2014, 12: D8353.

(本文编辑 彭敏宁)

本文引用: 张影莉, 敖翔, 李慧, 邓松筠, 肖舟, 彭卫生, 项金华, 周巧玲. 冬虫夏草通过Sirt1发挥对HK2细胞缺血-再灌注损伤的保护作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2017, 42(11): 1263-1269. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2017.11.004

Cite this article as: ZHANG Yingli, AO Xiang, LI Hui, DENG Songyun, XIAO Zhou, PENG Weisheng, XIANG Jinhua, ZHOU Qiaoling. *Cordyceps sinensis* protects HK2 cells from ischemia-reperfusion injury through Sirt1 pathway[J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2017, 42(11): 1263-1269. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2017.11.004