doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.01.015

论著·实验研究

白藜芦醇对高氧诱导早产儿外周血单个核细胞氧化应激损伤的影响及其机制研究

杨熙　董文斌　李清平　康兰　雷小平　张莲玉　卢佑英　翟雪松

（四川医科大学附属第一医院新生儿科，四川 泸州　646000）

［摘要］ **目的**　探讨沉默接合型信息调节因子 2 同源蛋白 1（SIRT1）激动剂白藜芦醇（Res）对高氧诱导早产儿外周血单个核细胞（PBMC）中 SIRT1 表达和活性氧簇（ROS）产生的影响。**方法**　采集胎龄 <32 周且未吸氧的早产儿外周血分离 PBMC，随机分为对照组、空气 +Res 组、高氧组和高氧 +Res 组，在体外建模及培养 48 h 后，采用激光共聚焦显微镜检测 PBMC 内 ROS 水平，全光谱分光光度仪检测培养液中丙二醛（MDA）含量，细胞免疫荧光检测 SIRT1 定位，Western blot 检测 PBMC 内 SIRT1 蛋白表达水平。**结果**　与对照组相比，空气 +Res 组中 SIRT1 表达水平明显增加（P<0.05）；高氧组中 ROS、MDA 水平及 SIRT1 转位率明显增加（P<0.05），SRIT1 蛋白表达水平明显降低（P<0.05）。与高氧组相比，高氧 +Res 组中 ROS、MDA 水平及 SIRT1 转位率明显降低（P<0.05），SIRT1 蛋白表达水平明显增加（P<0.05）。**结论**　在高氧诱导下，Res 可以通过提高早产儿 PBMC 的 SIRT1 表达并抑制 SIRT1 核 – 浆穿梭从而增加早产儿抗氧化应激的能力，进而减少早产儿氧化应激损伤。

［中国当代儿科杂志，2016，18（1）：72-77］

［关键词］ 白藜芦醇；沉默接合型信息调节因子 2 同源蛋白 1；氧化应激；外周血单个核细胞

Resveratrol increases sirtuin 1 expression in peripheral blood mononuclear cells of premature infants and inhibits the oxidative stress induced by hyperoxia *in vivo*

YANG Xi, DONG Wen-Bin, LI Qing-Ping, KANG Lan, LEI Xiao-Ping, ZHANG Lian-Yu, LU You-Ying, ZHAI Xue-Song. Department of Neonatology, First Affiliated Hospital of Sichuan Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China (Dong W-B, Email: dongwenbin2000@163.com)

Abstract: Objective　To explore the effect of resveratrol on the levels of sirtuin 1 (SIRT1) and reactive oxygen species (ROS) in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of premature infants exposed to hyperoxia. **Methods**　Peripheral blood and isolated PBMCs from premature infants (gestational age <32 weeks) without oxygen supplement were collected and were randomly assigned into four groups: control, air+resveratrol, hyperoxia, and hyperoxia + resveratrol. The PBMCs were cultured *in vitro* for 48 hours, then the ROS content in PBMCs was measured by laser scanning confocal microscopy. Malondialdehyde (MDA) content in the medium was measured by the whole spectrum spectrophotometer. SIRT1 positioning was assessed by immunofluorescence. SIRT1 expression levels in PBMCs were measured by Western bolt. **Results**　Compared with the control group, the level of SIRT1 in the air+resveratrol group increased significantly (P<0.05). The levels of ROS and MDA and the SIRT1 transposition rate in the hyperoxia group increased significantly, while the expression level of SIRT1 decreased significantly compared with the control group (P<0.05). The levels of ROS and MDA and the SIRT1 transposition rate decreased significantly (P<0.05), and the expression level of SIRT1 increased significantly in the hyperoxia+resveratrol group (P<0.05). **Conclusions**　Resveratrol can increase SIRT1 expression in PBMCs and inhibit SIRT1 shuttle from nucleus to cytoplasm in order to increase the ability of antioxidative stress in premature infants exposed to hyperoxia, thereby reducing the oxidative stress injury in premature infants.　**[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(1): 72-77]**

Key words: Resveratrol; Sirtuin 1; Oxidative stress; Peripheral blood mononuclear cell

［收稿日期］2015-07-27；［接受日期］2015-09-30
［基金项目］国家自然科学基金（81571480）；四川省科技厅科研项目资金（2014NZ0014）；泸州市科技局（泸州市政府 – 泸州医学院联合专项资金）（2013LZLY-J08）。
［作者简介］杨熙，女，硕士研究生。
［通信作者］董文斌，男，教授。

近年来随着机械通气等新型医疗技术的广泛应用，使早产儿存活率明显提高，但是早产儿长时间吸入高氧后常发生急慢性肺损伤、支气管肺发育不良等严重并发症[1-2]。沉默接合型信息调节因子 2 同源蛋白 1（sirtuin1, SIRT1）是一类具有高度保守性的依赖烟碱腺嘌呤二核苷酸（nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+）的第三类组蛋白去乙酰化酶，通过组蛋白 / 非组蛋白去乙酰化基的作用发挥其抗氧化应激、抗炎、抑制细胞凋亡等作用，大量研究已经证实 SIRT1 在氧化应激中具有保护作用[3-5]。白藜芦醇（resveratrol, Res）是目前发现 SIRT1 最有效的天然激动剂[6-7]，可通过上调 SIRT1 表达参与细胞能量代谢、抑制细胞凋亡等[8-11]，但在高氧诱导早产儿氧化应激损伤中是否具有保护作用，国内外尚无报道。本研究以早产儿外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cell, PBMC）为研究对象，探讨 SIRT1 激动剂 Res 在高氧诱导早产儿氧化应激损伤中是否具有保护作用，从而为 Res 用于早产儿氧化应激损伤的保护提供实验性理论依据。

1　材料与方法

1.1　主要材料与试剂

人外周血淋巴细胞分离液（天津灏洋）、Res（上海国药）、胎牛血清（美国 Gibco Invitrongen）、丙二醛（MDA）试剂盒（南京建成）、MitoSOX™ Red（Molecular Probes, 美国 Invitrogen），4% 多聚甲醛、DAPI、抗荧光淬灭剂（上海碧云天），BSA（北京索莱宝）、SIRT1 小鼠抗人抗体（武汉博士德）、罗丹明标记山羊抗小鼠抗体（北京中杉金桥）、ML- Ⅱ CB 数字智能测氧仪（北京航天鹏诚）、激光共聚焦显微镜（德国 Leica TCS SP5）、荧光显微镜（日本 OLYMPUS）、全光谱分光光度仪（美国 Thermo）、医用低速离心机（河北白洋）。

1.2　实验分组及细胞高氧模型的建立

选取 2014 年 3 月至 2015 年 3 月在四川医科大学附属第一医院新生儿科住院的胎龄 <32 周且未吸氧的 40 例早产儿为研究对象，其中男 19 例，女 21 例，出生体重 1460 ± 118 g。采集早产儿外周血 1~2 mL，EDTA 抗凝，采用 Ficoll 密度梯度离心法分离 PBMC，随机数字表法将分离得到的 PBMC 分为对照组、空气 +Res 组、高氧组、高氧 +Res 组。4 组标本所对应的早产儿性别、胎龄、出生体重比较差异无统计学意义。对照组置于 5%CO_2 培养箱中培养；空气 +Res 组：加入终浓度为 6 μmol/L 的 Res（采用二甲基亚砜避光溶解，其浓度为 1.4 g/L）后，置于 5%CO_2 培养箱中培养；高氧组：采用空气混合仪通入以 5∶95 比例混合的 CO_2 和 O_2，10 min 后置于 5%CO_2 培养箱中密闭培养，48 h 后采用 ML- Ⅱ CB 数字智能测氧仪检测培养瓶中氧浓度，如培养瓶中氧浓度低于 90%，则将此样本弃去；高氧 +Res 组：加入终浓度为 6 μmol/L 的 Res 后，通入高氧混合气 10 min 后置于 5%CO_2 培养箱中密闭培养 48 h，离心收集各组 PBMC 及培养液检测如下指标[12-13]。本研究通过四川医科大学附属第一医院伦理委员会批准，血液标本的采集征得家属同意并签署知情同意书。

1.3　激光共聚焦检测 PBMC 中活性氧簇水平

MitoSOX™ 是一种具有高度选择性的可检测线粒体内活性氧簇（ROS）的荧光染料，其可自由透过活细胞膜进入细胞内并选择性靶向线粒体，并且可以被线粒体内的 ROS 氧化产生红色荧光。（1）离心收集 PBMC：调整细胞浓度为 2×10^6/mL，取 300 μL 细胞悬液均匀涂于载玻片上，室温待干；（2）固定：4% 多聚甲醛固定 20 min 后，PBS 洗涤 3 次；（3）装载探针：按照说明书配制 MitoSOX™ Red 后，取 500 μL 均匀覆盖于细胞上，37℃湿盒孵育 30 min，PBS 洗涤 3 次；（4）染核：取 DAPI 500 μL 均匀覆盖于细胞上，3 min 后 PBS 洗涤 3 次；（4）封片：取 30 μL 抗荧光淬灭剂封片。采用激光共聚焦显微镜在 510 nm/580 nm 处检测红色荧光，采用 Image pro plus 6.0 图像分析软件对图像进行分析处理，测定平均吸光度值，进行统计分析。

1.4　硫代巴比妥酸比色法检测血清中 MDA 水平

氧化应激可以诱导大量氧自由基生成并且引发脂质过氧化作用，由此形成脂质过氧化物 MDA。MDA 可以和硫代巴比妥酸缩合，形成红色产物，在 532 nm 处有最大吸收峰。收集各组细胞培养液，采用硫代巴比妥酸比色法（TBA），全光谱分光光度仪检测培养液中 MDA 的含量[14]。

1.5　免疫荧光检测 PBMC 中 SIRT1 定位情况

采用细胞免疫荧光方法检测早产儿 PBMC

中 SIRT1 蛋白的定位。细胞涂片和固定同上，0.3%TritonX-100 室温下打孔 10 min，PBS 洗涤 3 次，3%BSA 室温下封闭 40 min，一抗（1∶50）4℃湿盒孵育过夜，PBS 洗涤 3 次，二抗（1∶50）37℃孵育 1 h，PBS 洗涤 3 次，DAPI 染核，PBS 洗涤 3 次，抗荧光淬灭剂封片，荧光显微镜检测 SIRT1 蛋白的定位。

1.6 Western Blot 检测 PBMC 内 SIRT1 的表达水平

分别提取各组细胞中的总蛋白，采用聚丙烯氨酰胺凝胶电泳，经过 SDS-PAGE 分离蛋白质，转移至 PVDF 膜上，用封闭液（5% 脱脂奶粉的 TBST 缓冲液）封闭 1 h，加入小鼠抗人 SIRT1 Amb（1∶1 000 稀释）和小鼠抗人 GAPDH Amb（1∶3 000 稀释）4 ℃孵育过夜后，TBST 洗涤 3 次，每次 5 min，加入 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG（1∶5 000 稀释），37℃孵育 1.5 h 后，TBST 洗涤 4 次，每次 5 min。进入暗室，擦去多余的发光剂，将胶片放入显影液中，出现条带后放入定影液中，流水冲洗后晾干。采用 UVP 凝胶图像处理系统 Lakworks 4.6 软件分析目的条带的灰度值，结果以 SIRT1/GAPDH 表示并做统计分析。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行统计学分析，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 SNK-q 检验；计数资料用百分率（%）表示，多组间比较采用卡方检验；P<0.05 为差异有统计学意义。计数资料组间两两比较采用卡方分割法，P<0.009 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 氧暴露后各组早产儿 PBMC 中 ROS 产生情况

与对照组相比，空气 +Res 组细胞内 ROS 无明显变化（P>0.05），高氧组细胞内 ROS 明显增加（P<0.05）；与高氧组相比，高氧 +Res 组细胞中的 ROS 明显降低（P<0.05），与对照组相比差异无统计学意义（P>0.05）。见图 1，表 1。

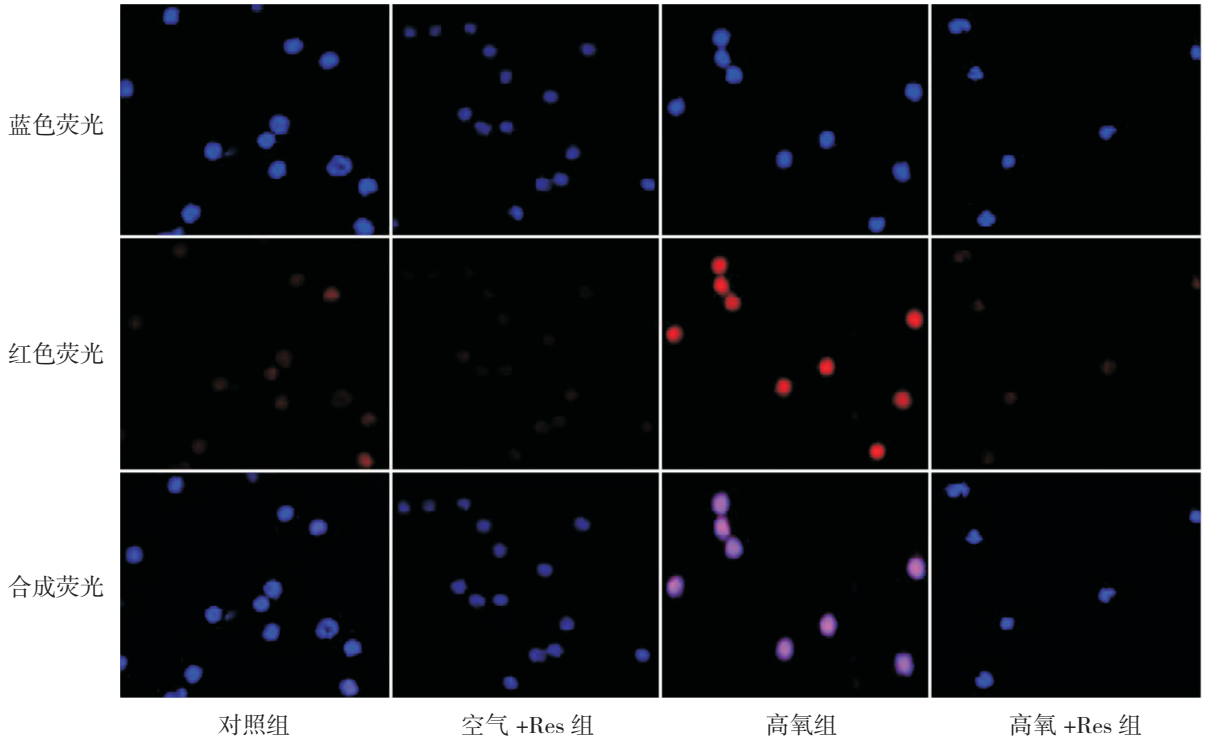

图 1 Res 对氧暴露后早产儿 PBMC 内 ROS 水平的影响（激光共聚焦，×200） 细胞核呈蓝色荧光，ROS 呈红色荧光。与对照组相比，高氧组中红色荧光明显增强，代表 ROS 明显增加。与高氧组相比，高氧 +Res 组中红色荧光明显降低，表示 ROS 明显降低。

2.2 氧暴露后各组早产儿 PBMC 培养液中 MDA 的水平

与对照组相比，空气 +Res 组细胞内 MDA 无明显变化（$P>0.05$），高氧组细胞内 MDA 明显增加（$P<0.05$）；与高氧组相比，高氧 +Res 组细胞中的 MDA 明显降低（$P<0.05$），但未达到对照组水平（$P<0.05$）。见表 1。

2.3 氧暴露后 SIRT1 在各组早产儿 PBMC 中的定位情况

与对照组相比，空气 +Res 组 SIRT1 转位率无明显变化（$P>0.009$），高氧组转位率明显增加（$P<0.009$）。与高氧组相比，高氧 +Res 组 SIRT1 转位率明显降低（$P<0.009$），但未达到对照组水平（$P<0.009$）。见表 2，图 2。

表 1 Res 对氧暴露后早产儿 PBMC 内 ROS 水平和 MDA 水平的影响 （$\bar{x}\pm s$）

组别	样本数	ROS	MDA(nm/mol)
对照组	5	10.2 ± 1.5	0.44 ± 0.05
空气 +Res 组	5	10.3 ± 1.1	0.46 ± 0.07
高氧组	5	51.2 ± 3.5^{a,b}	1.17 ± 0.08^{a,b}
高氧 +Res 组	5	12.6 ± 1.7^{c}	0.65 ± 0.15^{a,b,c}
F 值		6 332.42	46.78
P 值		<0.01	<0.01

注：a 示与对照组相比，$P<0.05$；b 示与空气 +Res 组相比，$P<0.05$；c 示与高氧组相比，$P<0.05$。

表 2 Res 对早产儿氧暴露后外周血单个核细胞内 SIRT1 转位率和 SIRT1 表达水平

组别	样本数	转位率 (%)	SIRT1/GAPDH ($\bar{x}\pm s$)
对照组	5	8.37	0.610 ± 0.012
空气 +Res 组	5	8.51	0.717 ± 0.017^{d}
高氧组	5	88.66^{a,b}	0.337 ± 0.124^{d,e}
高氧 +Res 组	5	15.66^{a,b,c}	0.571 ± 0.025^{e,f}
$\chi^2(F)$ 值		1 139.67	(62.96)
P 值		<0.01	0.02

注：a 示与对照组相比，$P<0.009$；b 示与空气 +Res 组相比，$P<0.009$；c 示与高氧组相比，$P<0.009$；d 示与对照组相比 $P<0.05$；e 示与空气 +Res 组相比，$P<0.05$；f 示与高氧组相比，$P<0.05$。

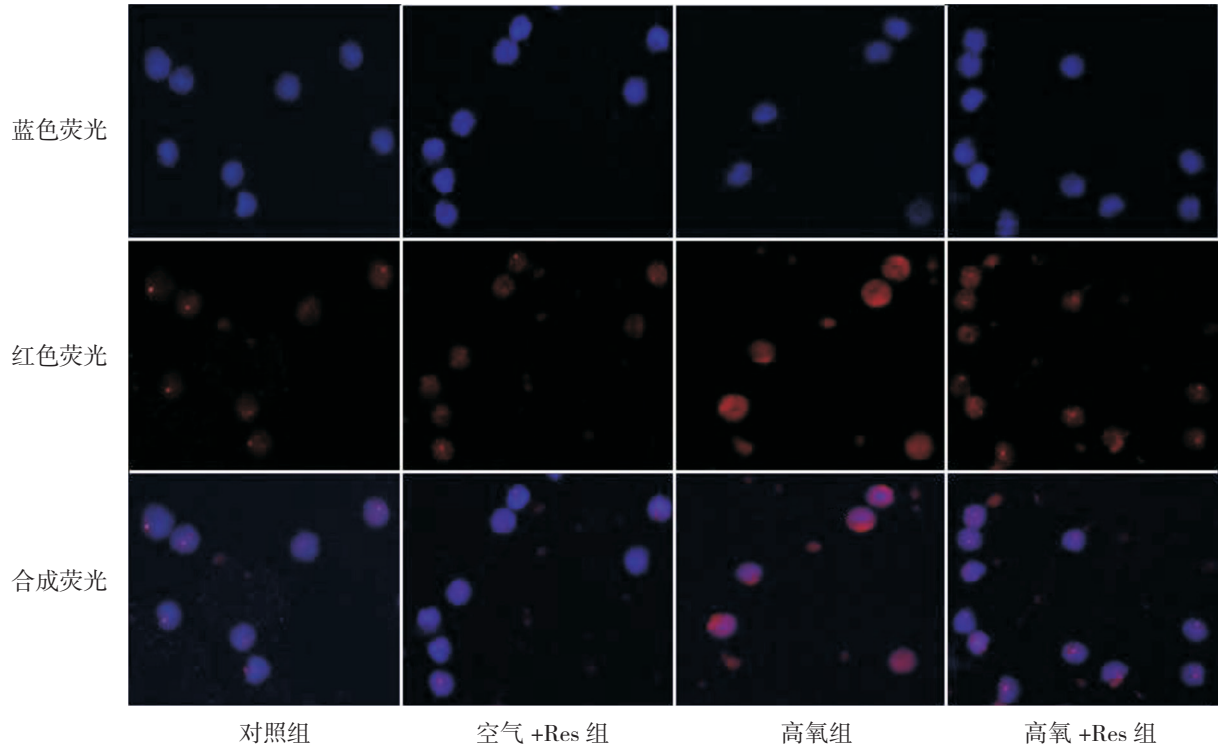

图 2 Res 对早产儿氧暴露后 PBMC 中 SIRT1 转位的影响（免疫荧光，×400） 细胞核呈蓝色荧光，SIRT1 呈红色荧光。在对照组中，SIRT1 的红色荧光均匀分布在细胞核中，细胞质中未见分离的红色荧光，表示 SIRT1 未发生蛋白转位。在高氧组中，细胞质中出现分离的红色荧光，表示 SIRT1 开始从细胞核穿梭至细胞质中。

2.4 氧暴露后早产儿 PBMC 细胞中 SIRT1 蛋白表达水平

在 Western blot 结果中，与对照组相比，空气 + Res 组 SIRT1 蛋白表达水平明显升高（$P<0.05$），高氧组 SIRT1 蛋白表达水平明显降低（$P<0.05$）；与高氧组相比，高氧 +Res 组 SIRT1 蛋白水平明显升高（$P<0.05$），与对照组相比差异无统计学意义（$P>0.05$）。见表 2，图 3。

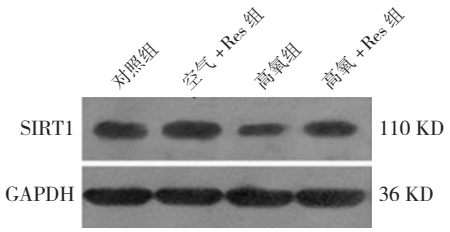

图 3 Western blot 检测 Res 对早产儿氧暴露后 PBMC 内 SIRT1 表达的影响

3 讨论

近年来随着呼吸机等新型医疗技术的广泛应用，使得早产儿，特别是超低出生体重儿存活率得到很大程度的提升，但这也同时使早产儿更多暴露在高氧环境中。早产儿在长时间吸入高浓度氧气时常发生急慢性肺损伤、支气管肺发育不良等严重并发症。研究发现，氧化应激反应在高氧肺损伤中扮演着非常重要的角色。氧暴露所致的氧化应激可诱导机体产生大量 ROS，而早产儿缺乏抗氧化应激酶，因此，当 ROS 的产生超过了自身机体的清除能力时，常发生氧化应激损伤 [14-15]。研究发现，大量 ROS 可以上调促凋亡蛋白表达，促进线粒体通透性转变孔的开放，激活天冬氨酸特异的半胱氨酸酶（caspase）诱导肺泡上皮细胞凋亡 [16-17]。

SIRT1 是一类依赖 NAD^+ 的第三类组蛋白去乙酰化酶，通过去乙酰化组蛋白 / 非组蛋白赖氨酸残基，如 P53、FOXO、NF-κB、eNOS，由此参与调节细胞能量代谢、细胞凋亡及抵抗各种应激等 [18-20]。研究发现定位在细胞核上的 SIRT1 主要起到抗凋亡作用，当在氧化应激条件下，SIRT1 从细胞核穿梭至细胞质中依赖 caspase 途径促进细胞凋亡 [16,21-24]。Res 是一种存在于葡萄、虎杖、花生等天然植物及果实中的植物多酚类化合物，是目前发现的 SIRT1 最有效的天然激动剂，大量研究表明 Res 通过上调 SIRT1 表达参与细胞能量代谢、抑制细胞凋亡 [6-11]。

本研究以早产儿 PBMC 为对象，探讨 SIRT1 激动剂 Res 在高氧诱导下早产儿的氧化应激损伤中是否具有保护作用，结果显示：与对照组相比，空气 +Res 组中 ROS、MDA、SIRT1 转位率无明显变化，SIRT1 表达水平明显增加；高氧组中 ROS、MDA、SIRT1 转位率明显增加，SRIT1 蛋白表达水平明显降低。与高氧组相比，高氧 +Res 组中 ROS、MDA、SIRT1 转位率明显降低，但仅 ROS 达到对照组水平，SIRT1 蛋白表达水平明显增加，且与对照组比较差异无统计学意义。由此推测：高氧诱导早产儿机体中产生大量 ROS、MDA，促使 SIRT1 核 – 浆穿梭并抑制 SIRT1 表达，从而抑制了 SIRT1 抗氧化应激的能力，进而增加了早产儿氧化应激损伤。SIRT1 激动剂 Res 可以通过上调 SIRT1 表达及活性并抑制 SIRT1 核 – 浆穿梭，从而增加 SIRT1 抗氧化应激的能力，进而减少了早产儿氧化应激损伤。

综述所述，通过对 SIRT1 激动剂 Res 在影响高氧诱导下早产儿 PBMC 内 SIRT1 变化及 ROS 产生的探讨，证明了 Res 在早产儿氧化应激中具有保护作用。本研究为 Res 用于早产儿氧化应激损伤的保护提供了一定实验性理论依据，Res 可能成为防治早产儿高氧肺损伤、支气管肺发育不良等疾病的新药研发靶点，但其在早产儿抗氧化应激中的具体信号通路及机制还需要进一步的探讨。

［参 考 文 献］

[1] Sureshbabu A, Syed MA, Boddupalli CS, et al. Conditional overexpression of TGFβ1 promotes pulmonary inflammation, apoptosis and mortality via TGFβR2 in the developing mouse lung[J]. Respir Res, 2015, 16: 4.

[2] Bhandari V. Postnatal inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia[J]. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol, 2014, 100(3): 189-201.

[3] Volonte D, Zou H, Bartholomew JN, et al. Oxidative stress-induced inhibition of Sirt1 by caveolin-1 promotes p53-dependent premature senescence and stimulates the secretion of interleukin 6 (IL-6)[J]. J Biol Chem, 2015, 290(7): 4202-4214.

[4] Wang SJ, Zhao XH, Chen W, et al. Sirtuin 1 activation enhances the PGC-1α/mitochondrial antioxidant system pathway in status epilepticus[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(1): 521-526.

[5] Nogueiras R, Habegger KM, Chaudhary N, et al. Sirtuin 1 and sirtuin 3: physiological modulators of metabolism[J]. Physiol Rev, 2012, 92(3): 1479-1514.

[6] Meng C, Liu JL, Du AL. Cardioprotective effect of resveratrol on atherogenic diet-fed rats[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(11): 7899-7906.

[7] Sinclair DA, Guarente L. Small-molecule allosteric activators of sirtuins[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2014, 54: 363-380.

[8] Ruan Y, Dong C, Patel J, et al. SIRT1 suppresses doxorubicin-induced cardiotoxicity by regulating the oxidative stress and p38MAPK pathways[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(3): 1116-1124.

[9] Zhang L, Guo X, Xie W, et al. Resveratrol exerts an anti-apoptotic effect on human bronchial epithelial cells undergoing cigarette smoke exposure[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(3): 1752-1758.

[10] Li J, Feng L, Xing Y, et al. Radioprotective and antioxidant effect of resveratrol in hippocampus by activating Sirt1[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(4): 5928-5939.

[11] Nicoletti NF, Rodrigues-Junior V, Santos AA Jr, et al. Protective effects of resveratrol on hepatotoxicity induced by isoniazid and rifampicin via SIRT1 modulation[J]. J Nat Prod, 2014, 77(10): 2190-2195.

[12] Yun JM, Chien A, Jialal I, et al. Resveratrol up-regulates SIRT1 and inhibits cellular oxidative stress in the diabetic milieu: mechanistic insights[J]. J Nutr Biochem, 2012, 23(7): 699-705.

[13] 车忠丽 , 董文斌 , 李清平 , 等 . PKCβ/P66Shc 氧化应激通路在高氧诱导人肺泡上皮细胞活性氧簇产生中的作用 [J]. 中国当代儿科杂志 , 2015, 17(3): 275-280.

[14] 张玲萍 , 董文斌 , 李清平 , 等 . p47phox 介导早产儿氧暴露后体内活性氧簇产生的机制 [J]. 中华实用儿科临床杂志 , 2015, 30(2): 127-130.

[15] 卢美燕 , 董文斌 . 氧化应激在高体积分数氧肺损伤中的作用 [J]. 实用儿科临床杂志 , 2012, 27(22): 1763-1765.

[16] 张春艳 , 董文斌 , 李清平 , 等 . 白藜芦醇上调人肺泡上皮细胞 SIRT1 表达抑制高氧诱导的细胞凋亡 [J]. 细胞与分子免疫学杂志 , 2015, 31(5): 590-595.

[17] 车忠丽 , 董文斌 , 李清平 , 等 . PKCβ/p66Shc 氧化应激通路介导高氧诱导人肺泡上皮细胞凋亡的作用 [J]. 临床儿科杂志 , 2013, 31(11): 1066-1069.

[18] Lau AW, Liu P, Inuzuka H, et al. SIRT1 phosphorylation by AMP-activated protein kinase regulates p53 acetylation[J]. Am J Cancer Res, 2014, 4(3): 245-255.

[19] Iyer S, Han L, Bartell SM, et al. Sirtuin1 (Sirt1) promotes cortical bone formation by preventing β-catenin sequestration by FoxO transcription factors in osteoblast progenitors[J]. J Biol Chem, 2014, 289(35): 24069-24078.

[20] Hori YS, Kuno A, Hosoda R, et al. Regulation of FOXOs and p53 by SIRT1 modulators under oxidative stress[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e73875.

[21] Kim YH, Hwang JH, Kim KS, et al. NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 activation reduces blood pressure through regulation of endothelial nitric oxide synthase acetylation in spontaneously hypertensive rats[J]. Am J Hypertens, 2015, 28(1): 50-57.

[22] Tanno M, Sakamoto J, Miura T, et al. Nucleocytoplasmic shuttling of the NAD^+-dependent histone deacetylase SIRT1[J]. J Biol Chem, 2007, 282(9): 6823-6832.

[23] Morris KC, Lin HW, Thompson JW, et al. Pathways for ischemic cytoprotection: role of sirtuins in caloric restriction, resveratrol, and ischemic preconditioning[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(4): 1003-1019.

[24] Verdin E, Dequiedt F, Kasler HG. Class II histone deacetylases: versatile regulators[J]. Trends Genet, 2003, 19(5): 286-293.

（本文编辑：万静）