

·基础研究·

Trx2、GSH 和 GSH-PX 与大鼠肝移植术后肾损伤修复的相关性研究

原冬冬, 葛 緬, 孙国亮, 张 政, 池信锦, 黑子清*
(中山大学附属第三医院麻醉科, 广东 广州 510630)

摘要:【目的】探讨线粒体型硫氧还蛋白(Trx2), 谷胱甘肽(GSH)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)对肝移植术后急性肾损伤的保护作用。【方法】建立大鼠肝移植模型, 将雄性 SD 大鼠 35 只, 随机均分为假手术组($n=7$)和移植后 4 h 组($n=7$), 移植后 8 h 组($n=7$), 移植后 16 h 组($n=7$)和移植后 24 h 组($n=7$)。假手术组只进行开腹和血管的分离, 各移植组接受自体肝移植。观察大鼠自体肝移植后不同时期肾脏病理、活性氧水平、Trx2 表达、乳酸脱氢酶(LDH)、谷胱甘肽(GSH)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)的活性。【结果】肝移植术后 8h 肾脏损伤最为严重, 移植术后 24 h 肾脏损伤有所恢复。肝移植术后 4 h 开始, 肾脏 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 、MDA 和 LDH 的含量明显增加, 逐渐达到最高水平, 术后 24 h 逐渐恢复正常。而具有保护作用的 GSH 以及 GSH-PX 的含量在肝移植术后 4 h 即开始明显下降, 术后 24 h 逐渐恢复至正常水平。肾脏 Trx2 的表达在肝移植术后 4 h 反应性的增高, 术后 8 h 达到最高峰, 而后逐渐下降。相关性分析显示, 肝移植术后肾脏 GSH、GSH-PX 的含量与肾损伤病理评分呈负相关($P < 0.01$); 肾脏 Trx2 蛋白表达与肾损伤病理评分呈正相关($P < 0.05$)。【结论】肝移植术后 4 h 即可发生明显的肾损伤, 术后 8 h 最为明显, 而后逐渐恢复。其损伤的严重程度与 GSH 和 GSH-PX 的含量呈负相关; 与 Trx2 的表达呈正相关, Trx2 表达的增加有利于抗氧化酶合成, 减轻肝移植术后的急性肾损伤。

关键词: 肝移植; 急性肾损伤; 线粒体型硫氧还蛋白; 谷胱甘肽; 谷胱甘肽过氧化物酶

中图分类号: R692.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-3554(2013)05-0666-06

Correlation Analysis among Trx2, GSH, GSH-PX and Repair of Kidney Injury Induced by Rat Liver Transplantation

YUAN Dong-dong, GE Mian, SUN Guo-liang, ZHANG Zheng, CHI Xin-jin, HEI Zi-qing*

(Department of Anesthesiology, Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】 To investigate the effects of Trx2, GSH, and GSH-PX on acute kidney injury (AKI) induced by rat orthotopic liver transplantation (OLT). 【Methods】 Thirty-five Sprague-Dawley (SD) rats were divided into 5 groups: sham group, and other 4 groups: 4 h, 8 h, 16 h, and 24 h after orthotopic liver transplantation groups. Rats in sham group only suffered from the process of laparotomy and vascular separation, while in other groups all subjected to OLT. Kidney pathological changes after OLT and levels of $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 , MDA, LDH were observed. GSH, GSH-PX and expression of Trx2 were detected to explore their protection effects on AKI induced by OLT. 【Results】 Eight hours after OLT, kidney pathological damage was most serious. From 4 hours after OLT, levels of $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 , MDA, LDH increased obviously, and recovered to the normal level until 24 hours after OLT. By contrast, both GSH and GSH-PX decreased from 4 hours after OLT and came back to the normal level at 24 hours after OLT. Expression of Trx2 increased from the time point of 4 hours after OLT and reached the top at 24 hours after OLT, then, declined gradually. Correlation analysis showed that there were negative correlations between kidney damage and levels of GSH and GSH-PX ($P < 0.01$), but positive correlations between kidney damage and Nrf2 expression ($P < 0.05$). 【Conclusion】 AKI induced by OLT changed dynamically. Eight hours after OLT, AKI was most obvious and then, recovered gradually. Kidney damage was relative with

收稿日期: 2013-03-08

基金项目: 国家自然科学基金(81170449); 广东省中医药局课题(20121143)

作者简介: 原冬冬, 博士, 助理研究员, 研究方向: 围术期器官损伤及保护, E-mail: yuandongdong123@126.com, * 通信作者: 黑子清, 教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 围术期器官损伤及保护, E-mail: heiziqing@sina.com

GSH and GSH-PX decrease. Increase of Trx2 expression could protect against AKI induced by OLT.

Key words: liver transplantation; acute kidney injury; Trx2; GSH; GSH-PX

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2013, 34(5):666-671]

我国是世界上终末期肝病发病率最高的国家之一,目前肝移植已经成为治疗终末期肝病最为有效的手段。但是,由于肝移植术后各种并发症发生率高,使得肝移植手术的死亡率高达 8%~31%^[1]。急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是肝移植围术期最为常见且严重的并发症,严重的影响患者的恢复^[2]。根据文献报道,肝移植术后发生急性肾脏损伤的比例高达 60%,而肾功能的损伤与肝移植患者术后的死亡率密切相关,造成死亡率大大增加,甚至高达 30%~40%,使肝移植术后的生存率明显降低,严重的影响了肝移植患者术后的恢复^[3]。由此可见,预防肝移植术后急性肾损伤的发生不仅有利于患者的恢复,更重要的是能够明显的降低肝移植患者的死亡率。活性氧介导的氧化应激反应是导致肝移植术后急性肾损伤的主要机制。线粒体型硫氧还蛋白(mitochondria thioredoxin, Trx2)是线粒体内重要的抗氧化调节蛋白,可以通过清除活性氧,维持抗氧化酶的还原活性从而对细胞和组织产生保护作用^[4]。目前,已经有研究证实 Trx2 可以通过其抗氧化活性而减轻细胞的氧化损伤^[5-6]。因此,我们有理由认为,Trx2 表达的改变可能与肝移植术后的急性肾损伤及损伤后修复密切相关,这一现象值得我们深入研究。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组

雄性 SD 大鼠 35 只购自广东省实验动物中心、220~280 g。随机分为假手术组(Sham group, $n = 7$)和原位自体肝移植模型组(Model group, $n = 28$);移植组再均分为 4 个亚组:移植后 4 h 组(LTR4 group, $n = 7$),移植后 8 h 组(LTR8 group, $n = 7$),移植后 16 h 组(LTR16 group, $n = 7$)和移植后 24 h 组(LTR 24 group, $n = 7$)。假手术组只进行开腹和血管的分离,各移植模型组接受原位自体肝移植。

1.2 自体原位肝移植动物模型的建立

大鼠常规禁食 12 h,自由饮水;给予乙醚吸入

麻醉后,将大鼠固定在自制的手术台上;腹部备皮、消毒,采用腹部正中切口入腹,暴露胸骨柄及剑突后,使用自制拉钩拉开腹壁;进入腹腔后逆时针方向游离肝脏,先切断左三角韧带,结扎、切断左膈静脉;然后向左翻转肝脏,并使用大小合适的湿纱布保护肝脏;进一步打开右侧后腹膜,在下腔静脉深面游离肝裸区,解剖出肝上下腔静脉;游离出右肾上腺静脉,给予结扎;在恢复肝脏解剖位置后进一步游离肝下腔静脉;暴露第一肝门后,剪开肝十二指肠韧带,从脾静脉和肠系膜下静脉汇合处向上游离门静脉到肝门部,并将门静脉壁鞘膜分离干净;因为肝动脉和胆管关系紧密,将两者一起进行游离。在进行阻断前,经尾静脉注射肝素生理盐水 1 mL,然后在肝动脉、脾静脉和肠系膜上静脉汇合处夹上微血管夹,使用 4 号针头刺入门静脉,然后推注肝素盐水(25 U/mL)3 mL,从而使肝内血液进入体循环,固定针头。开始冷灌注前,分别在肝上下腔静脉和肝下腔静脉上微血管夹;并且在肝下腔静脉血管夹稍上方静脉壁剪开大约 1 mm 作为灌注液的流出道。使用静脉输液泵以 2 mL/min 的速度经门静脉穿刺处缓慢持续灌注 0℃~4℃肝素醋酸林格氏液(12.5 U/mL)20 mL,灌注的同时给予冰生理盐水浇注肝脏表面以降温,当肝脏颜色全部变为土黄色表示灌注完成。在灌注完毕后拔出穿刺针,分别使用 9-0 Prolene 线及 8-0 Prolene 线修补门静脉穿刺点和肝下腔静脉流出道,在检查确认修补成功后,分别松开各处微血管夹,结束无肝期(20±1)min,同时给予温热生理盐水浇注肝脏进行快速复温。仔细止血后,腹腔内使用庆大霉素生理盐水(800 U/mL)1 mL,最后行连续全层缝合腹壁切口。使用台灯照射至大鼠苏醒,自由饮水^[7]。

1.3 标本的采集与处理

肝脏再灌注后,在各个时间点经下腔静脉抽血 2 mL,取各组左肾组织,40 g/L 多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,5 μm 切片 HE 染色。选取切片平展、细胞形态和组织结构清晰的组织切片进行分析。400 倍光镜下观察,并进行病理评分^[8]。

1.4 MDA、LDH 测量

过氧化脂质降解产物中的丙二醛(MDA)可与硫代巴比妥酸(TBA)缩合,形成红色产物,在532nm处有最大吸收峰,通过测定其吸光度可计算出MDA含量。按试剂盒的说明书进行操作(南京凯基生物科技发展有限公司)。LDH采用全自动血生化分析仪检测(南京凯基生物科技发展有限公司)。

1.5 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 、GSH 和 GSH-PX 含量的检测

H_2O_2 、 $\cdot OH$ 、GSH 和 GSH-PX 的检测试剂盒均购自于南京凯基生物科技发展有限公司,具体操作严格按照说明书进行。

1.6 Western Blotting 检测肾组织 Trx2 的表达

制备成组织匀浆,按蛋白提取试剂盒说明书分别提取核蛋白,用Bradford法测定其浓度, $-80^{\circ}C$ 贮存备用。聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜、5%脱脂奶粉封闭后,加入1:2 000兔Trx2抗体(Santa Cruz,美国),脱色摇床上 $4^{\circ}C$ 过夜,弃去一抗。加入1:2 000羊抗兔IgG抗体,室温下孵育1h,显色。用BIO-RAD公司的quantity one软件对Western blot结果进行图像分析,并量化了Western blot的结果。

1.7 统计学处理

所有数据使用SPSS 16.0软件处理。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)进行统计描述,组间均数的比较使用单因素方差分析;组间比较用方差分析法。等级资料采用秩和分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。肝移植术后肾脏GSH、GSH-PX的含量,肾脏Trx2蛋白表达与肾损伤病理评分的相关性分析采用Pearson相关分析。

2 结果

2.1 肾组织病理学改变特点

假手术组(图1C)肾小球、肾小管结构基本正常,间质无明显充血及水肿。各模型组(图1M1~4)即肝移植术后4、8、16和24h(LTR4、LTR8、LTR16、LTR24)均可见肾小管上皮细胞水肿,管腔变小,偶见管型,肾间质充血。随着时间的推移,间质出现较多炎性细胞浸润,肾小管扩张,部分肾小管上皮细胞变性、坏死、脱落,较多管型形成(图1M2~4),上述变化在肝移植术后8h达到高峰(图1M2),而肝移植术后24h,肾脏损伤有不同程度的恢复(图1M4)。

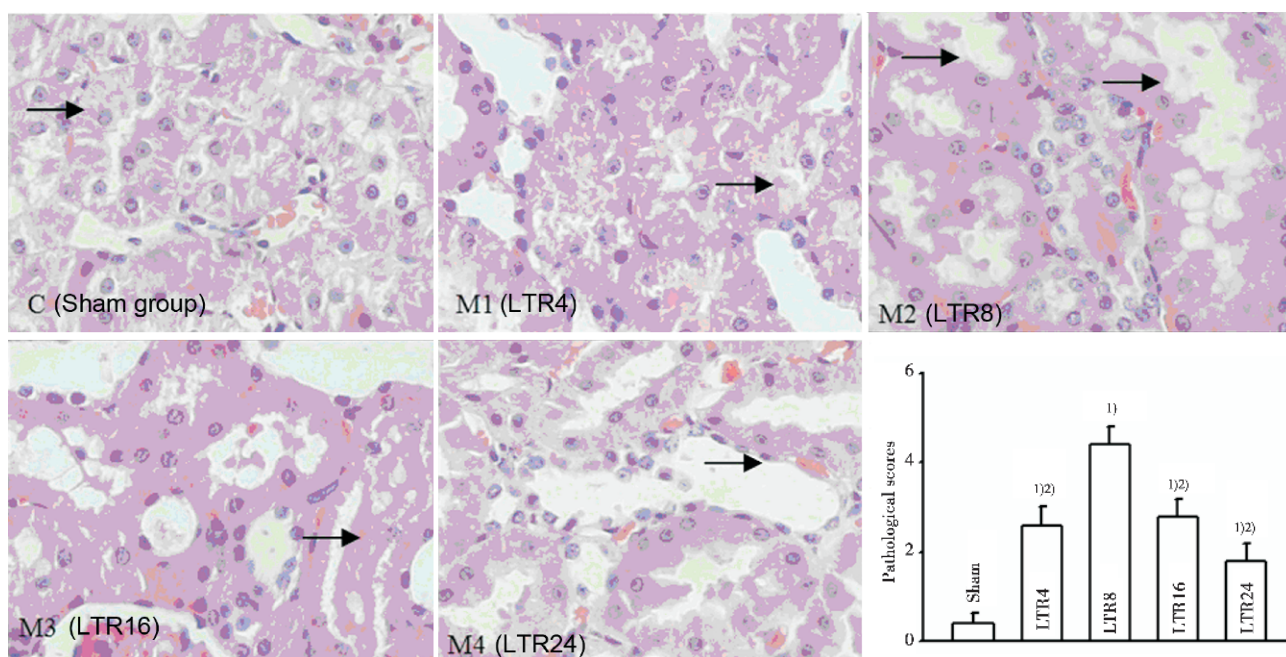


图 1 大鼠肝移植术后不同时间点的急性肾损伤

Fig.1 Pathological damage of kidney after OLT at different time point

Pathological section of kidney (HE, $\times 400$). C group (Sham group): Rats only suffered from the process of laparotomy and vascular separation. M1 (LTR4): 4 hours after OLT. M2 (LTR8): 8 hours after OLT. M3 (LTR16): 16 hours after OLT. M4 (LTR24): 24 hours after OLT. $n = 7$, 1) $P < 0.05$ vs Sham group, $n = 7$, 2) $P < 0.05$ vs LTR 8, $n = 7$

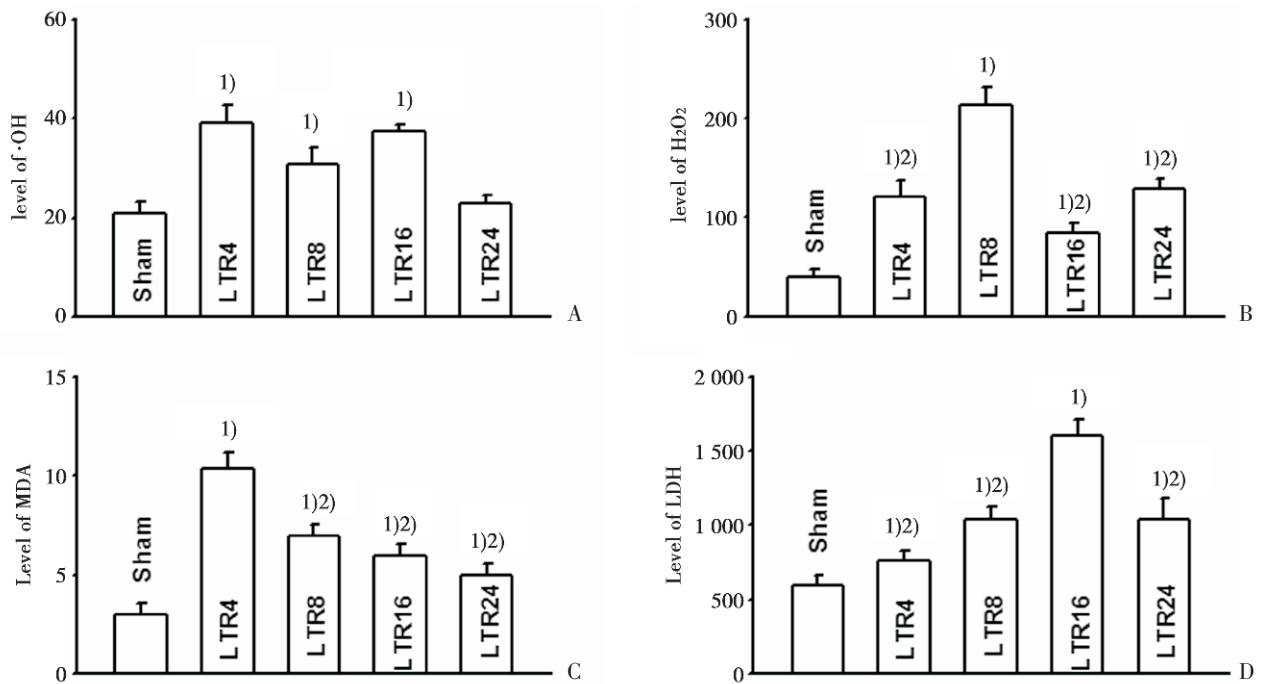


图2 移植肝术后不同时间点肾组织的氧化损伤

Fig.2 Oxidative damage of kidney after OLT at different time point

Levels of $\cdot\text{OH}$, H_2O_2 , MDA and LDH after OLT in kidneys. Sham group: Rats only suffered from the process of laparotomy and vascular separation. LTR4: 4 hours after OLT. LTR8: 8 hours after OLT. LTR16: 16 hours after OLT. LTR24: 24 hours after OLT. $n = 7$. 1) $P < 0.05$ vs Sham group, $n = 7$. B: 2) $P < 0.05$ vs LTR 8, $n = 7$. C: 2) $P < 0.05$ vs LTR 4, $n = 7$. D: 2) $P < 0.05$ vs LTR 16, $n = 7$.

2.2 肝移植术后肾组织的氧化损伤

肝移植术后 4 h, 肾组织中 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 、MDA 和 LDH 的含量即开始明显升高, 表明肝移植术后 4 h, 氧化损伤即可对肾脏造成损伤。而后 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 、MDA 和 LDH 的含量逐渐下降, 表明肾脏的损伤逐渐减轻(图 2A ~ D)。由于 $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 、MDA 和 LDH 的性质不同, 其到达峰值的时间不同, $\cdot\text{OH}$ 的含量在肝移植术后 4、8 和 16 h 无明显统计学差异, 而在术后 24 h 恢复至正常水平。 H_2O_2 、MDA 和 LDH 的峰值则分别出现在肝移植术后 8、4 和 16 h。

2.3 肝移植术后肾脏 GSH 和 GSH-PX 含量的变化

肝移植术后 4 h, GSH 的含量即开始明显下降, 术后 8 h 下降的最为明显, 而后逐渐恢复(图 3A)。而 GSH-PX 的含量在肝移植术后 4 h 下降的最为明显, 而后逐渐恢复(图 3B)。这一结果与肝移植术后肾脏的氧化损伤变化相吻合。

2.4 肝移植术后肾脏 Trx2 蛋白表达的变化

大鼠肝移植术后 4 h, 肾组织 Trx2 蛋白表达明显增加, 术后 8 h Trx2 的表达达到最高峰, 而后

逐渐下降(图 4)。

2.5 肝移植术后肾脏 GSH、GSH-PX 的含量, 肾脏 Trx2 蛋白表达与肾损伤病理评分的相关性分析

表 1 显示, 肝移植术后肾脏 GSH、GSH-PX 的含量与肾损伤病理评分呈负相关; 肾脏 Trx2 蛋白表达与肾损伤病理评分呈正相关。

3 讨论

由于手术方式的需求, 在肝移植手术过程中, 无肝期长时间阻断下腔静脉以及新肝期血液复流, 造成了肾脏的缺血再灌注损伤。根据文献报道, 肝移植术后反映氧化损伤的指标如 LDH、MDA、IL-6 和 IL-10 的含量不同程度的升高, 而抗氧化酶如 SOD 及 catalase 的含量则明显下降^[9]。这一结果提示我们, 活性氧介导的氧化应激损伤可能是肝移植术后肾损伤的重要机制之一。因此, 本研究着重观察了肝移植术后肾组织的氧化损伤以及相关抗氧化酶和 Trx2 表达的改变。结果显示: 肝移植术后的急性肝脏损伤是一个动态变化的过

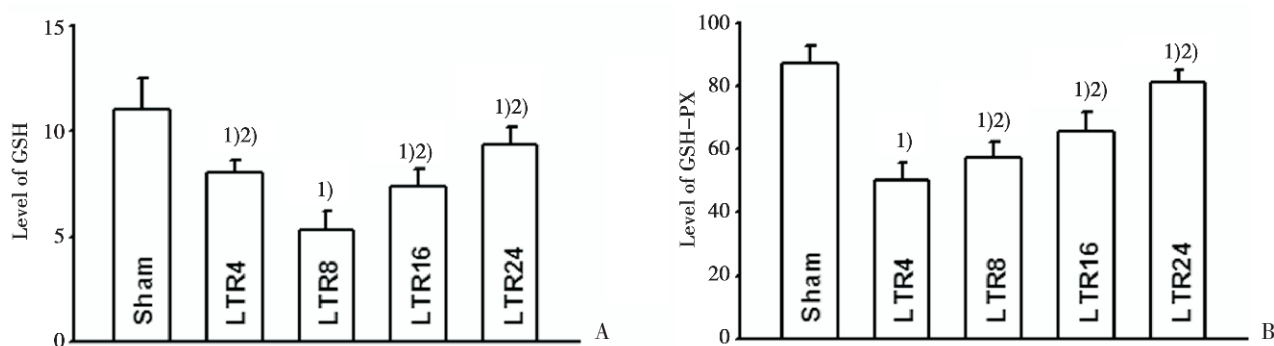


图 3 移植肝术后不同时间点肾组织 GSH 和 GSH-PX 含量的变化。

Fig.3 GSH and GSH-PX levels of kidney after OLT at different time point

Levels of GSH and GSH-PX after OLT in kidneys. Sham group: Rats only suffered from the process of laparotomy and vascular separation. LTR4: 4 hours after OLT. LTR8: 8 hours after OLT. LTR16: 16 hours after OLT. LTR24: 24 hours after OLT. $n = 7$. 1) $P < 0.05$ vs Sham group, $n = 7$. A: 2) $P < 0.05$ vs LTR 8, $n = 7$. B: 2) $P < 0.05$ vs LTR 4, $n = 7$.

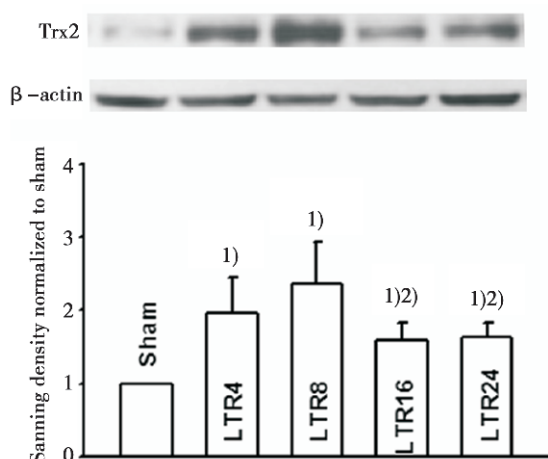


图 4 移植肝术后不同时间点肾组织 Trx2 的表达变化。

Fig.4 Expression of Trx2 on kidney after OLT at different time point

Expression of Trx2 on kidney after OLT. Sham group: Rats only suffered from the process of laparotomy and vascular separation. LTR4: 4 hours after OLT. LTR8: 8 hours after OLT. LTR16: 16 hours after OLT. LTR24: 24 hours after OLT. $n = 7$. 1) $P < 0.05$ vs Sham group, $n = 7$. 2) $P < 0.05$ vs LTR 8, $n = 7$.

程, 术后 4 h, 肾组织即出现明显的病理学改变和氧化性损伤, $\cdot\text{OH}$ 、 H_2O_2 、MDA 和 LDH 的含量明显增加, 而抗氧化酶 GSH 和 GSH-PX 的含量则明显减少。随着时间的推移, 肾组织的损伤逐渐恢复。

活性氧包括氧自由基和过氧化氢(H_2O_2)等, 其大量的产生不仅能破坏生物膜的完整性, 而且还可以攻击 DNA 和蛋白质, 对细胞和组织造成不可逆的损伤^[10]。丙二醛(MDA)是活性氧攻击细胞膜脂质多不饱和脂肪酸形成的过氧化物产物; 而

表 1 肝移植术后肾脏 GSH、GSH-PX 的含量, 肾脏 Trx2 蛋白表达与肾损伤病理评分的相关性分析

Table 1 Correlation between GSH, GSH-PX, Trx2 expression and kidney pathological scores after liver transplantation

Items	GSH	GSH-PX	Trx2
n	7	7	7
P	0.001 ²⁾	0.001 ²⁾	0.015 ¹⁾
r	-0.747	-0.774	0.612

1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$

乳酸脱氢酶(LDH)在肾脏中的含量非常高, 可以催化乳酸及丙酮酸互相转化, 这两者均是反应肾脏损伤的重要指标^[11-12]。肝移植术后, 以上物质在肾组织呈现先升高而后逐渐下降的动态变化趋势, 这一结果与肾组织的病理变化高度一致, 提示我们氧化应激损伤在肝移植术后的急性肾损伤和损伤后修复过程中具有至关重要的作用。

随着损伤的加重, 机体的自我保护机制启动, 从而可以减轻损伤因素对于细胞及组织的损害。谷胱甘肽(GSH)以及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)在清除自由基, 保护细胞和组织免受氧化应激损伤方面具有重要的作用^[13-14]。我们的研究结果发现, 在肝移植术后的早期, 抗氧化酶的含量往往有一个明显下降的过程, 这有可能是因为在肝移植术后早期, 由于损伤的加重, 导致抗氧化酶大量的消耗而引起的暂时性降低。机体的保护机制在损伤的过程中逐渐启动, 重新合成大量的抗氧化

酶,清除自由基,使组织的损伤得以修复。但目前为止,肾脏抗氧化酶合成增加的机制尚不完全清楚,值得我们进一步研究。

Trx2 是一种特异存在于线粒体内的小分子蛋白;而线粒体是呼吸链的所在,也是细胞呼吸及氧化还原的重要部位,在缺血、缺氧以及再灌注的病理生理过程中是产生活性氧的重要场所。Trx2 通过其分子内巯基/二硫键的相互转换,实现从氧化状态到还原状态的转化,对维持抗氧化酶的还原活性起着关键作用,目前已经有许多研究表明 Trx2 对器官缺血/再灌注损伤具有明显的保护作用^[15]。根据文献报道,缺血再灌注损伤后,锥体神经元 Trx2 的表达显著升高,能够降低脂质过氧化反应及线粒体介导的细胞凋亡,对缺血脑细胞发挥神经保护作用^[5]。另外,Trx2 突变体果蝇的平均寿命及运动活性均明显降低,推测 Trx2 的缺失可能通过激活氧化应激反应导致动物的寿命缩短^[6]。我们发现,在肝移植术后 4h,Trx2 的表达即明显增加,术后 8h,其表达水平达到最高峰。这一结果与 GSH 和 GSH-PX 的含量恢复高度吻合。因此,我们认为,Trx2 的表达增加在肾损伤的恢复过程中扮演着重要的角色,Trx2 的表达升高促进了 GSH、GSH-PX 的产生,从而减轻了由肝移植引起的肾脏损伤,对于肝移植术后肾损伤的研究具有重要的临床意义。

参考文献:

- [1] Wlodzimirow KA, Eslami S, Chamuleau RA, et al. Prediction of poor outcome in patients with acute liver failure—systematic review of prediction models[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e50952.
- [2] Salvalaggio PR, Felga GE, Afonso RC, et al. Early allograft dysfunction and liver transplant outcomes: a single center retrospective study [J]. *Transplant Proc*, 2012, 44(9): 2449–2451.
- [3] 朱铭力, 郇忆, 钱家麒, 等. 肝移植术后急性肾损伤的发生情况及其与预后的关系 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2009, 25(9): 86–92.
Zhu M, Li Y, Qian J, et al. Incidence of acute kidney injury and its association with prognosis after liver transplantation[J]. *Chin J Nephrology*, 2009, 25(6): 86–92.
- [4] Zhang X, Zheng Y, Fried LE, et al. Disruption of the mitochondrial thioredoxin system as a cell death mechanism of cationic triphenylmethanes[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50(7): 811–820.
- [5] Hwang IK, Yoo KY, Kim DW, et al. Changes in the expression of mitochondrial peroxiredoxin and thioredoxin in neurons and glia and their protective effects in experimental cerebral ischemic damage [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48(4): 1242–1251.
- [6] Tsuda M, Ootaka R, Ohkura C, et al. Loss of Trx-2 enhances oxidative stress-dependent phenotypes in *Drosophila*[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(6): 3398–3401.
- [7] Jin C, Zhang PJ, Wu XM, et al. Impact of hypoxic preconditioning on apoptosis and its possible mechanism in orthotopic liver autotransplantation in rats [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2009, 8(7): 40–45.
- [8] 马艳苗, 王永辉, 周然. 肾脏病理损伤评价在实验和临床研究中的应用前景[J]. *世界中西医结合杂志*, 2010, 5(7): 266–268.
Ma Y, Wang Y, Zhou R. Application of renal injury evaluation in experimental and clinical studies[J]. *World J Integ Trad West Medicine*, 2009, 8(3): 247–254.
- [9] Kadkhodae M, Mikaeili S, Zahmatkesh M, et al. Alteration of renal functional, oxidative stress and inflammatory indices following hepatic ischemia-reperfusion[J]. *Gen Physiol Biophys*, 2012, 31(8): 195–202.
- [10] Al-Gubory KH, Garrel C, Faure P, et al. Roles of antioxidant enzymes in corpus luteum rescue from reactive oxygen species-induced oxidative stress [J]. *Reprod Biomed Online*, 2012, 25(8): 551–560.
- [11] Fotakis G, Timbrell JA. In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride[J]. *Toxicol Lett*, 2006, 160(8): 171–177.
- [12] Janisch KM, Milde J, Schempp H, et al. Vitamin C, vitamin E and flavonoids[J]. *Dev Ophthalmol*, 2005, 38(8): 59–69.
- [13] Kohsaka S, Takahashi K, Wang L, et al. Inhibition of GSH synthesis potentiates temozolomide-induced bystander effect in glioblastoma[J]. *Cancer Lett*, 2013, 331(5): 68–75.
- [14] Romagnoli C, Marcucci G, Favilli F, et al. Role of GSH/GSSG redox couple in osteogenic activity and osteoclastogenic markers of human osteoblast-like SaOS-2 cells[J]. *FEBS J*, 2013, 280(6): 867–879.
- [15] Chou FC, Sytwu HK. Overexpression of thioredoxin in islets transduced by a lentiviral vector prolongs graft survival in autoimmune diabetic NOD mice[J]. *J Biomed Sci*, 2009, 16(7): 71–79.