

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.23.004

mitoTEMPO 改善糖尿病小鼠脂肪干细胞的氧化损伤 *

冯禹楠¹ 韩鹏¹ 汪钦² 王汝涛³ 赵帅¹ 杨茂森¹

陈根锐³ 陈有虎³ 李成祥^{3△} 廉坤^{3△}

(空军军医大学:1 基础医学院学员队;2 空军军医大学药学系生物制药学教研室;3 西京医院心血管内科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨线粒体靶向抗氧化剂 mitoTEMPO 对糖尿病小鼠脂肪干细胞(Adipose-derived stem cells, ADSCs)氧化损伤的影响。**方法:**采用 60%高脂饮食喂养雄性 C57 小鼠(4 周龄)连续 8 周,并在高脂喂养第 2 周,对小鼠进行连续 5 天腹腔注射低剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(25 mg·kg⁻¹)制备 2 型糖尿病小鼠模型。喂养 2 周后,检测小鼠血浆葡萄糖水平等指标符合 2 型糖尿病标准者纳入实验。分别从正常小鼠与 STZ 诱导的糖尿病小鼠的腹股沟处皮下脂肪组织分离培养脂肪干细胞(ADSCs),并将其各分为 4 组:DMEM 培养的正常 ADSCs 组(nADSCs 组),DMEM 培养的糖尿病 ADSCs 组(dADSCs 组),TEMPO 治疗的糖尿病 ADSCs 组(T-dADSCs 组),mitoTEMPO 治疗的糖尿病 ADSCs 组(mitoT-dADSCs 组)。采用细胞计数试剂盒-8(CCK-8)检测细胞存活能力;油红-O 和茜素红染色分别检测成脂细胞分化与成骨细胞分化能力;划痕实验和 Transwell 试验分别测定细胞迁移能力;DCF 和 mitoSOX 染色荧光成像分别检测细胞内和线粒体中的活性氧簇(Reactive oxygen species, ROS)水平。**结果:**①与 nADSCs 组相比,dADSCs 组的细胞活力明显下降($P<0.05$)、成骨细胞分化与成脂细胞分化程度明显下降($P<0.05$)、脂肪干细胞迁移能力明显下降($P<0.05$)、细胞内和线粒体中 ROS 水平明显升高($P<0.05$)。②与 dADSCs 组相比,T-dADSCs 和 mitoT-dADSCs 组的细胞内和线粒体中的 ROS 水平明显降低($P<0.05$);与 dADSCs 组相比,mitoT-dADSCs 组的成骨细胞分化与成脂细胞分化能力明显提升($P<0.05$),基本达到 nADSCs 组的分化水平;与 dADSCs 组相比,mitoT-dADSCs 治疗组的细胞迁移能力显著升高($P<0.05$)、T-dADSCs 组的细胞迁移能力增长无明显差异。**结论:**mitoTEMPO 可以减轻糖尿病时线粒体内活性氧簇蓄积造成的脂肪干细胞的氧化应激损伤与功能紊乱。

关键词:糖尿病;脂肪干细胞;氧化应激

中图分类号:R-33;R587.1;R329.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2019)23-4415-06

mitoTEMPO Improves Oxidative Damage in Adipose-derived Stem Cells of Diabetic Mice*

FENG Yu-nan¹, HAN Peng¹, WANG Qin², WANG Ru-tao³, ZHAO Shuai¹, YANG Mao-sen¹, CHEN Gen-rui², CHEN You-hu³, LI Cheng-xiang^{3△}, LIAN Kun^{3△}

(Air Force Medical University: 1 Cadet Brigade, College of basic medicine, Air Force Medical University;

2 State Key Laboratory of Cancer Biology, Biotechnology Center, School of Pharmacy, The Fourth Military Medical University;

3 Department of Cardiology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of mitochondria-targeted antioxidant mitoTEMPO on the oxidative damage of adipose-derived stem cells (ADSCs) in diabetic mice. **Methods:** Male C57 mice (4-week-old) were fed 60 % high-fat diet for 8 weeks and intraperitoneally injected with low-dose streptozotocin (STZ) (25 mg·kg⁻¹) for 5 consecutive days in the second week of high-fat diet to establish type 2 diabetes mouse model. After fed for 2 weeks, the plasma glucose levels and other test indicators of mice were determined and the ones complaint with the criteria for type 2 diabetes were involved in the experiment. Adipose-derived stem cells (ADSCs) were isolated from normal mouse and STZ-induced diabetic mouse respectively in the inguinal subcutaneous adipose tissue and divided into 4 groups: DMEM cultured normal ADSCs group (nADSCs group), DMEM cultured diabetic ADSCs group (dADSCs group), TEMPO-treated diabetic ADSCs group (T-dADSCs group), and mitoTEMPO-treated diabetic ADSCs group (mitoT-dADSCs group). Cell viability was determined by Cell Counting Kit-8 (CCK-8); oil red-O and alizarin red staining were adopted to assess adipogenic differentiation and osteoblast differentiation respectively; scratch assay and Transwell assay were used to determine cell migration ability; DCF and mitoSOX staining fluorescence imaging were performed to detect the intracellular and mitochondrial reactive oxygen species (ROS) lev-

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81670229);国家自然科学基金青年科学基金项目(81500272);陕西省科学技术研究发展计划项目(2016SF-034);陕西省重点研发计划一般项目 - 社会发展领域(2018SF-153);白求恩 - 默克糖尿病研究基金

作者简介:冯禹楠(1995-),男,本科,主要从事心脏代谢研究,电话:18392397551,E-mail: 1586280894@qq.com

△ 通讯作者:李成祥,男,博士,副教授,副主任医师,主要从事冠心病治疗及基础研究,E-mail: lichx1@163.com;

廉坤,女,博士,讲师,主治医师,主要从事心脏代谢研究,E-mail: michealo@qq.com,电话:17792398286

(收稿日期:2019-03-28 接受日期:2019-04-23)

els respectively. **Results:** 1). Compared with nADSCs group, the cell viability was significantly decreased in dADSCs group ($P<0.05$), the degree of osteoblast differentiation and adipogenic differentiation was significantly declined in dADSCs group ($P<0.05$), the migration ability of adipose-derived stem cells was significantly decreased in dADSCs group ($P<0.05$), and the intracellular and mitochondrial ROS levels were significantly increased in dADSCs group ($P<0.05$) ; 2). Compared with dADSCs group, the intracellular and mitochondrial ROS levels were significantly declined in T-dADSCs and mitoT-dADSCs groups ($P<0.05$), the ability of osteoblast differentiation and adipogenic differentiation was significantly increased in mitoT-dADSCs group ($P<0.05$) which basically reached the differentiation level of nADSCs group, the cell migration ability was significantly increased in mitoT-dADSCs group ($P<0.05$), and the cell migration ability indicated no significant difference in T-dADSCs group. **Conclusions:** mitoTEMPO can alleviate the oxidative stress damage and dysfunction of adipose-derived stem cells caused by mitochondrial ROS accumulation in diabetic environment.

Key words: Diabetes; Adipose-derived stem cells; Oxidative stress

Classification(CLC): R-33; R587.1; R329.2 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2019)23-4415-06

前言

脂肪干细胞(Adipose-derived stem cell, ADSCs)是源于皮下脂肪组织的间充质干细胞，在人体中含量丰富且易于分离，因此，其在干细胞移植治疗的临床应用上具有极大的潜力^[1]。ADSCs作为一种多能干细胞，具备广泛的分化潜能，包括成脂肪细胞、成骨细胞、成软骨细胞、成内皮细胞和肌源性细胞谱系分化能力，为临床干细胞疗法提供了丰富的候选细胞^[2]。ADSCs已被证明具有向体内损伤部位的迁移能力，并通过促进血管生成从而促进组织修复^[3]。

细胞内活性氧簇的主要来源为线粒体，其次为 NADPH 氧化酶 (NADPH oxidase, NOX) 以及环加氧酶(cyclooxygenases, COXs)、脂氧合酶(lipoxygenases, LOX)、黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidases, XOD)、一氧化氮合酶 (nitric oxide synthases, NOS) 和细胞色素 p450 酶(cytochrome p450 enzymes, CYP450) 等^[4]。线粒体是细胞内活性氧簇(Reactive oxygen species, ROS)的主要产生部位，并且线粒体在实现细胞功能中发挥重要作用^[5,6]。由 ROS 水平增加引起的氧化应激可导致细胞凋亡^[7]。研究显示糖尿病与线粒体氧化应激相关的功能障碍之间存在联系^[8,9]，且氧化应激被认为是 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)发病机制和进展的主要标志^[10]。研究表明 T2DM 时 ROS 产生的主要来源是线粒体^[11]，并且糖尿病脂肪干细胞(Diabetes adipose-derived stem cells, dADSCs) 在细胞增殖和促血管生成能力等方面存在较为严重的功能障碍，从而使其修复功能受损^[12-14]。因此，线粒体 ROS 产生的氧化应激损伤在 dADSCs 功能障碍中发挥重要作用。

氮氧化合物 TEMPO 即 2,2,6,6- 四甲基哌啶 -1- 氧基，能够渗透细胞膜，并抑制细胞内羟基自由基的生成，保护细胞免于 ROS 蓄积形成的损伤^[15]。TEMPO 的保护作用主要依赖其催化超氧化物歧化的能力以及对以碳为中心的烷氧自由基和过氧化物的解毒作用^[16]，而 mito-TEMPO 是一种新型的细胞渗透性线粒体靶向抗氧化剂，由抗氧化剂哌啶氮氧化物 TEMPO 和亲脂性三苯基𬭸阳离子 TPP+ 结合形成，其中 TEMPO 是超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)模拟物，使超氧化物的蓄积减少，而 TPP+ 是膜渗透阳离子，使其在膜电位驱动的线粒体内累积数百倍^[17-19]。同时，mitoTEMPO 还能通过阻止 ROS 氧化应激诱导的 Ca²⁺ 释放，从而减轻 Ca²⁺ 超载所致的细胞凋

亡与坏死^[18]。本研究旨在探讨 mitoTEMPO 对糖尿病环境中脂肪干细胞的氧化应激损伤的保护作用。

1 材料与方法

1.1 2型糖尿病(T2DM)小鼠模型的建立与鉴定

采用 60 % 高脂饮食喂养 4 周龄雄性 C57 小鼠连续 8 周，并且每周测量体重。高脂喂养第 2 周，对小鼠进行连续 5 天腹腔注射低剂量 STZ(25 mg·kg⁻¹)。2 周后通过血糖仪(美国加州 Life-Scan 公司)测量造模小鼠颈动脉血液葡萄糖浓度，从而进行腹膜内葡萄糖耐量试验(Intraperitoneal glucose tolerance tests, IPGTT) 和腹膜内胰岛素耐量试验 (Intraperitoneal insulin tolerance tests, IPITTs) 以确认 T2DM 模型的建立。将小鼠禁食过夜并在腹膜内注射葡萄糖(1.0 g·kg⁻¹)或胰岛素(1.0 U·kg⁻¹)后进行 IPGTT 或 IPITT。在注射后 0, 30, 60, 90 和 120 分钟采集血液样品测定葡萄糖水平。造模成功指标为：STZ 诱导第 4 周(高脂饮食喂养第 6 周)小鼠随机血糖 ≥ 200 mg·dL⁻¹ 连续三次以上。

1.2 ADSCs 分离与表型鉴定

dADSCs 与 nADSCs 分别取材自 STZ 诱导的糖尿病 C57 小鼠和正常 C57 小鼠(12 周龄)腹股沟区域的皮下脂肪组织。在低浓度葡萄糖 (5 mM) 的 DMEM 中培养分离的 ADSCs (即 dADSCs 与 nADSCs)。用 PBS 洗涤 ADSCs 并与连接藻红蛋白的抗小鼠抗体 (CD11b, CD29, CD31, CD44, CD90.1, CD133 和主要组织相容性复合物 II(MHC-II)) 在 4 °C 的黑暗环境中共同孵育 25 分钟，然后用 PBS 洗涤并收集 nADSCs 与 dADSCs 用于流式细胞术分析 (美国 Beckman Coulter 公司) 进行 ADSCs 表型鉴定。

1.3 实验分组与培养

将分离的 nADSCs 与 dADSCs 置于 DMEM 完全培养基，于 37 °C、5 % CO₂ 的培养箱中连续培养 3 代后进行分组。将 ADSCs 分成 4 组，具体分组情况如下，(1) DMEM 培养的正常 ADSCs 组 (nADSCs 组)：仅使用 DMEM 培养液培养 ADSCs；(2) DMEM 培养的糖尿病 ADSCs 组 (dADSCs 组)：仅使用 DMEM 培养液培养 dADSCs；(3) TEMPO 治疗的糖尿病 ADSCs 组 (T-dADSCs 组)：使用添加 TEMPO(1 μM) 的 DMEM 培养液培养 dADSCs；(4) mitoTEMPO 治疗的糖尿病 ADSCs 组 (mitoT-dADSCs 组)：使用添加 mitoTEMPO(1 μM) 的 DMEM 培养液培养 dADSCs。上述 4 组 ADSCs 分别处理培养 3 代(从第

3代到第5代)后,当细胞融合达到80%左右时,将长势良好的dADSCs与ADSCs用于进一步的实验。

1.4 细胞存活能力的测定

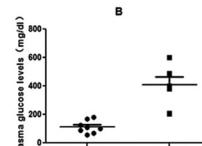
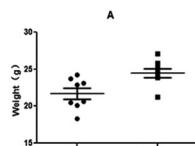
使用细胞计数试剂盒-8(CCK-8,日本Dojindo Laboratories公司),按说明书检测ADSCs的增殖能力。

1.5 成骨细胞与成脂细胞分化能力的测定

使用成脂培养基或成骨培养基培养第5代ADSCs,培养3周后,使用茜素红染色(美国Sigma-Aldrich公司)对钙积累水平进行测定,使用油红-O染色(美国Sigma-Aldrich公司)对脂肪形成水平进行评估,从而测定ADSCs的成骨细胞与成脂细胞分化能力。

1.6 划痕实验和Transwell小室侵袭实验

利用划痕实验和Transwell试验测定mitoTEMPO对体外培养的ADSCs迁移能力的影响。划痕实验:将密度为 10^5 个/mL的ADSCs接种于6孔板,每孔接种3mL,待培养皿中ADSCs达到90%融合时进行划痕实验。以3mm标准划痕分割ADSCs培养皿中的贴壁细胞,测量划痕平均宽度并在Olympus倒置显微镜(日本Olympus公司)下拍照。Transwell小室侵袭实验:使用8mm,24孔Transwell小室(美国Corning公司)进行细胞迁移测定。将Matrigel均匀铺满每个小室底部,并在小室下室中加入含有10%胎牛血清的DMEM培养基用作趋化引诱剂,在小室上室中加入含有0.5%胎牛血清的DMEM培养基。将细胞密度为 1×10^5 个/mL的ADSCs细胞悬液加入Transwell小室上室,并将其培养24小时。用棉签擦掉上室中未穿出细胞。将小室下室的细胞用多聚甲醛固定,并放入配制于2%乙醇的1%结晶紫染液染色。显微镜下拍照观察,并对细胞进行计数统计。



1.7 线粒体与ADSCs中的ROS浓度检测

为检测ADSCs中的线粒体ROS水平,在细胞培养皿中加入线粒体超氧化物指示剂mitoSOX(5 μM)室温孵育20分钟并洗涤后,使用具有40×,1.3NA油浸物镜的倒置共聚焦显微镜(德国Zeiss公司,型号LSM 800)观察荧光显像结果(激发波长为488 nm,发射波长为540-625 nm)。为检测ADSCs的细胞内ROS水平,在细胞培养皿中加入氧化敏感荧光探针DCFH(5 μM),即2,7'-二氯荧光黄双乙酸盐,室温孵育10分钟并洗涤后,使用共聚焦显微镜(德国Zeiss公司,型号LSM 800)观察荧光显像结果(激发波长为488 nm,发射波长为>500 nm)。

1.8 统计学处理

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,结果均以表示。多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两组间比较采用两样本非配对t检验。使用Kolmogorov-Smirnov检验分析数据的正态分布情况。在多重检验中使用Bonferroni校正。 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 2型糖尿病小鼠造模成功

与正常饲料喂养小鼠相比,8周高脂饮食诱导的小鼠体重明显增加(图1A)。STZ注射4周后,造模小鼠符合随机血糖测定连续三次高于 $200 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ 的造模成功指标(图1B),IPGTT的结果 $\geq 22.2 \text{ mM}$ ($400 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$)和IPITT的结果 $\geq 12.5 \text{ mM}$ ($225 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$),均表明葡萄糖代谢和胰岛素敏感性显著恶化(图1C-D)。以上结果提示2型糖尿病模型建立成功,并用于进行下一步实验。

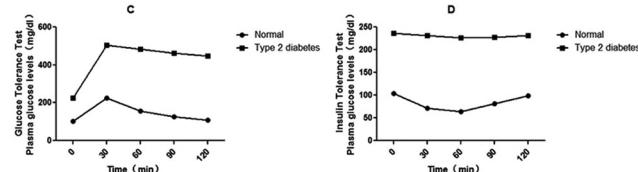


图1 2型糖尿病小鼠的血糖水平

Fig.1 Blood glucose level of type 2 diabetes mouse model

2.2 ADSCs表型鉴定结果

流式细胞仪分析显示ADSCs的干细胞表面抗原CD29、CD44和CD90.1呈阳性。炎症细胞、造血细胞或免疫细胞污染较少,如CD11b、CD31、CD133和MHC-II为低表达(Fig.2)。以上结果表明实验中分离所得细胞是ADSCs。

2.3 mitoTEMPO对2型糖尿病小鼠ADSCs的细胞功能的影响

荧光成像检测ROS水平结果显示与nADSCs组相比,dADSCs组的细胞内和线粒体内ROS水平平均明显升高($P < 0.05$);与dADSCs组相比,T-dADSCs组和mitoT-dADSCs组的细胞内和线粒体内的ROS水平明显降低($P < 0.05$)(图3A)。细胞计数试剂盒-8(CCK-8)检测结果显示与nADSCs组相比,dADSCs组的细胞活力明显下降($P < 0.05$);与dADSCs组相比,T-dADSCs组和mitoT-dADSCs组的细胞活力均有提高,其中mitoT-dADSCs组提升更明显($P < 0.05$)(图3B)。茜素红与油红-O染色显示与nADSCs组相比,dADSCs组的成骨细胞分化与成

脂细胞分化程度明显下降($P < 0.05$);与dADSCs组相比,mitoT-dADSCs组的成骨细胞分化与成脂细胞分化能力明显提升($P < 0.05$),基本达到nADSCs组的分化水平(图3C-D)。划痕试验结果显示与nADSCs组相比,dADSCs组的脂肪干细胞迁移能力明显下降($P < 0.05$);与dADSCs组相比,mitoT-dADSCs组的细胞迁移能力显著升高($P < 0.05$)(图4A)。Transwell试验结果显示与nADSCs组相比,dADSCs组的脂肪干细胞迁移能力明显下降($P < 0.05$);与dADSCs组相比,mitoT-dADSCs组中通过Transwell膜迁移的细胞数量明显增加($P < 0.05$)(图4B)。然而,与dADSCs组相比,T-dADSCs组的细胞迁移能力无明显提高(图4A-B)。

3 讨论

据世界卫生组织公布数据显示全球有4.22亿成年人患有糖尿病,其中每年由糖尿病直接致死的人口有160万。2017年

的伤残调整寿命年(Disability Adjusted Life Year, DALY)将糖尿病列为男性致死的第八大疾病以及女性致死的第九大疾病^[20]。2013 年,在中国大陆 170287 名参与者中开展的全国糖尿病患

病率的横断面调查显示总糖尿病患病率为 10.9 %, 糖尿病前期发生率为 35.7 %^[21]。

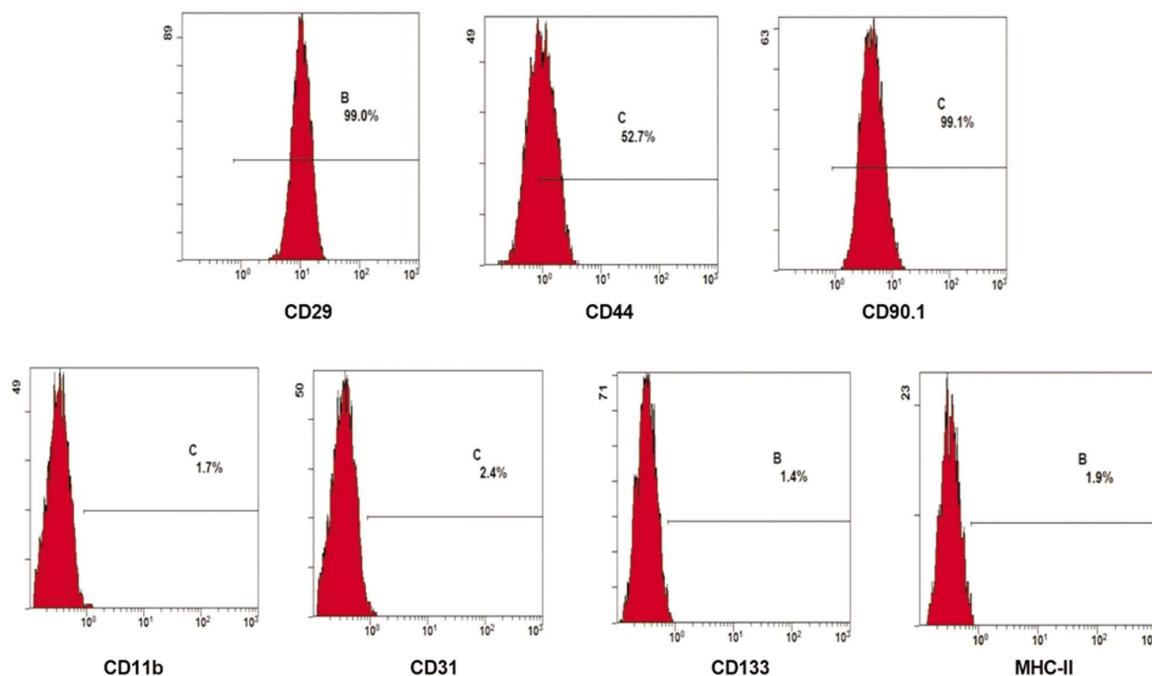


图 2 ADSCs 的表型鉴定

Fig.2 The phenotype determination of ADSCs

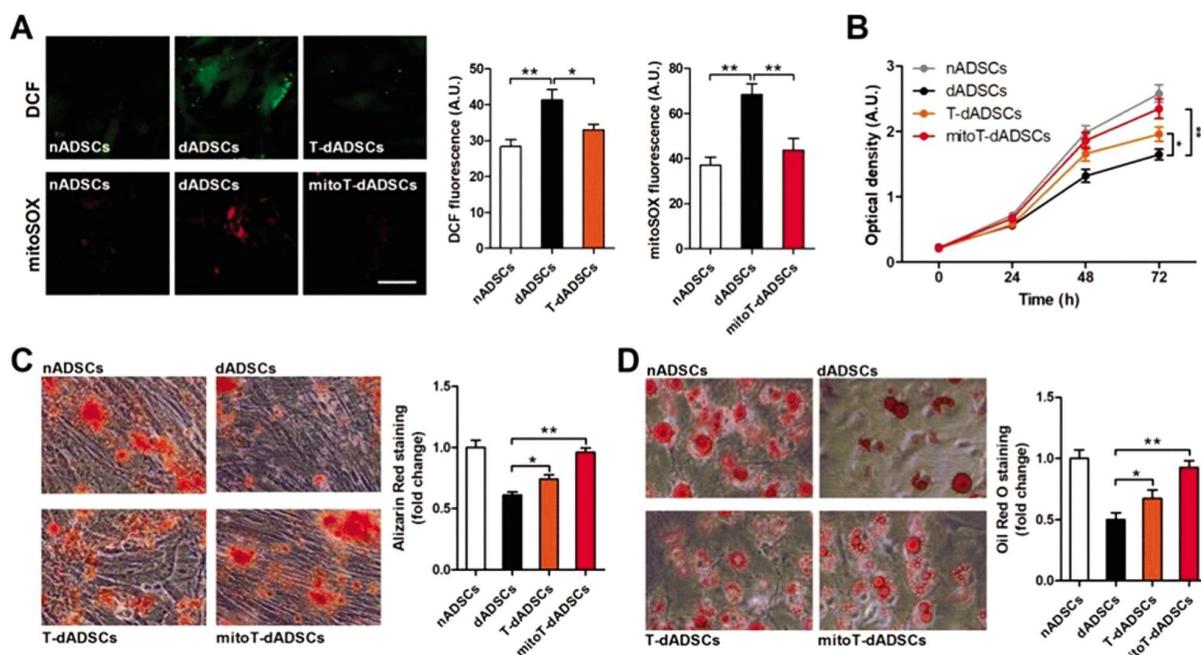


图 3 ROS 水平检测、细胞活力测定与 ADSCs 分化功能测定

Fig.3 ROS level test, cell viability assay and ADSCs differentiation capacity test

注: 荧光成像检测(A); CCK-8(B); 苋素红染色(C); 油红-O 染色(D)

Note: Fluorescence imaging detection (A); CCK-8 (B); alizarin red staining (C); Oil Red-O staining (D)

氧化应激在胰岛素抵抗中发挥重要作用,并且高血糖,炎症和晚期糖基化终产物可以诱导氧化应激的发生^[22]。ADSCs 的自我增殖、多重分化与促血管生成特性使得其在组织损伤恢复过程中发挥极为重要的作用,而糖尿病 ADSCs 的细胞活力、分化和迁移功能均受到不同程度的损伤^[13,23,24]。线粒体是氧化应激

过程中 ROS 的主要来源^[25,26],并且线粒体具有直接参与干细胞功能的调节作用^[27,28]。本研究发现 dADSCs 的线粒体 ROS 水平明显高于 nADSCs 且 dADSCs 的细胞活力、成脂分化与成骨分化能力、迁移能力均受到损伤。因此,线粒体 ROS 在诱导糖尿病 ADSCs 氧化损伤所致功能障碍中发挥重要作用。使用 mi-

toTEMPO 对 dADSCs 进行连续 3 代处理可以明显降低线粒体 ROS 浓度，并提高功能受损的 dADSCs 的细胞活力，分化和迁移能力，使其表现出与 nADSC 相似的特征。此外，TEMPO 预

处理仅仅显示出较微弱的细胞保护作用，表明线粒体 ROS 在诱导糖尿病 ADSCs 氧化应激功能障碍中起着比胞质 ROS 更重要的作用。

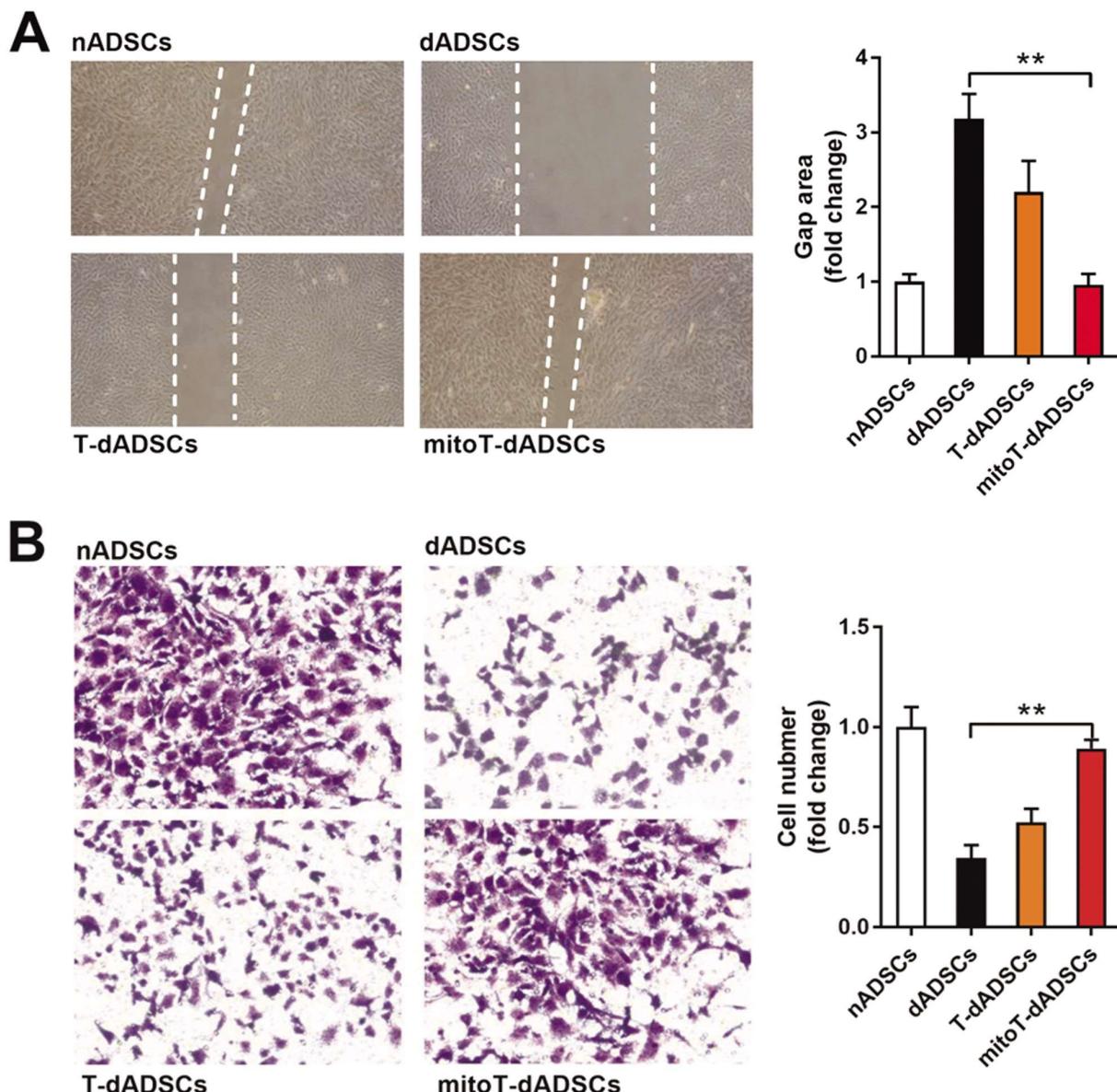


图 4 ADSCs 迁移能力测定

Fig.4 ADSCs migration capacity test

注：划痕试验(A)；Transwell 试验(B)

Scratch assay (A) ; Transwell assay (B)

TEMPO 是细胞内 ROS 的清除剂，而 mitoTEMPO 是一种新型的细胞渗透性 ROS 清除剂，由哌啶氮氧化物 TEMPO 单元和亲脂性三苯基𬭸(TPP)部分组成，赋予 mitoTEMPO 快速通过脂质双层膜的能力，并在 ROS 的主要生成部位 – 活化的线粒体中大量积累^[29]。到目前为止，已有研究表明 mitoTEMPO 能够抑制多种组织细胞的氧化应激损伤^[27-30]以及褪黑激素(Melatonin)、姜黄素和 DNA 甲基转移酶抑制剂 5- 氮杂胞苷(5-Azacytidine, 5AZA) 能够抑制 ADSCs 的氧化应激水平并增强细胞活力^[31-33]，但是尚没有研究评估 mitoTEMPO 对糖尿病 ADSCs 的保护作用。本研究结果显示应用线粒体靶向抗氧化剂 mitoTEMPO 清除线粒体 ROS 对糖尿病氧化应激造成的 ADSCs

功能损伤发挥了明显保护作用。因此，mitoTEMPO 可以显著降低糖尿病环境中脂肪干细胞内线粒体 ROS 的蓄积，并缓解由此导致的脂肪干细胞氧化应激损伤，例如恢复糖尿病脂肪干细胞的活力，提高成脂细胞与成骨细胞分化能力以及恢复细胞迁移能力。本实验研究结果提示对糖尿病患者短期应用线粒体 ROS 清除剂 mitoTEMPO 可以提高糖尿病患者受损的自体 ADSCs 的多种细胞功能，促进糖尿病患者的良好预后的发生。

参考文献(References)

- [1] Gimble JM, Bunnell BA, Guilak F. Human adipose-derived cells: an update on the transition to clinical translation [J]. Regen Med, 2012, 7(2): 225-235

- [2] Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells[J]. Mol Biol Cell, 2002, 13(12): 4279-4295
- [3] Zhao L, Johnson T, Liu D. Therapeutic angiogenesis of adipose-derived stem cells for ischemic diseases[J]. Stem Cell Research & Therapy, 2017, 8(1): 125
- [4] Moloney JN, Cotter TG. ROS signalling in the biology of cancer[J]. Semin Cell Dev Biol, 2018, 80: 50-64
- [5] Holzerová E, Prokisch H. Mitochondria: Much ado about nothing How dangerous is reactive oxygen species production? [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2015, 63: 16-20
- [6] Kowaltowski AJ, Vercesi AE. Mitochondrial damage induced by conditions of oxidative stress [J]. Free Radic Biol Med, 1999, 26(3-4): 463-471
- [7] Wei W, Ying X, Zhang W, et al. Effects of vitexin-2"-O-rhamnoside and vitexin-4"-O-glucoside on growth and oxidative stress-induced cell apoptosis of human adipose-derived stem cells [J]. J Pharm Pharmacol, 2014, 66(7): 988-997
- [8] Santos DL, Palmeira CM, Sei?a R, et al. Diabetes and mitochondrial oxidative stress: a study using heart mitochondria from the diabetic Goto-Kakizaki rat[J]. Mol Cell Biochem, 2003, 246(1-2): 163-170
- [9] Ahmad W, Ijaz B, Shabbiri K, et al. Oxidative toxicity in diabetes and Alzheimer's disease: mechanisms behind ROS/ RNS generation.[J]. J Biomed Sci, 2017, 24(1): 76
- [10] Rehman K, Akash MSH. Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: How Are They Interlinked?[J]. J Cell Biochem, 2017, 118(11): 3577-3585
- [11] Moussa SA. Oxidative stress in diabetes mellitus[J]. Romanian J Biophys, 2008, 18: 225-236
- [12] Liu MH, Li Y, Han L, et al. Adipose-derived stem cells were impaired in restricting CD4 (+)T cell proliferation and polarization in type 2 diabetic ApoE(-/-) mouse[J]. Mol Immunol, 2017, 87: 152-160
- [13] Rennert RC, Sorkin M, Januszyk M, et al. Diabetes impairs the angiogenic potential of adipose-derived stem cells by selectively depleting cellular subpopulations[J]. Stem Cell Res Ther, 2014, 5(3): 79
- [14] Dzhoyashvili NA, Efimenko AY, Kochegura TN, et al. Disturbed angiogenic activity of adipose-derived stromal cells obtained from patients with coronary artery disease and diabetes mellitus type 2 [J]. J Transl Med, 2014, 12: 337
- [15] Shi F, Zhang P, Mao Y, et al. The nitroxide Tempo inhibits hydroxyl radical production from the Fenton-like reaction of iron (II)-citrate with hydrogen peroxide [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 483(1): 159-164
- [16] Źamojc K, Wiczka W, Zaborowski B, et al. Fluorescence quenching of 7-amino-4-methylcoumarin by different TEMPO derivatives[J]. Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy, 2015, 136: 1875-1880
- [17] Du K, Farhood A, Jaeschke H. Farhood and H. Jaeschke, Mitochondria-targeted antioxidant Mito-Tempo protects against acetaminophen hepatotoxicity[J]. Arch Toxicol, 2017, 91(2): 761-773
- [18] Liang HL, Sedlic F, Bosnjak Z, et al. SOD1 and MitoTEMPO partially prevent mitochondrial permeability transition pore opening, necrosis, and mitochondrial apoptosis after ATP depletion recovery [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2010, 49(10): 1550-1560
- [19] Lu L, Guo L, Gauba E, et al. Transient Cerebral Ischemia Promotes Brain Mitochondrial Dysfunction and Exacerbates Cognitive Impairments in Young 5xFAD Mice[J]. Plos One, 2015, 10(12): e0144068
- [20] Dicker D, Nguyen G, Abate D, et al. Global, regional, and national age-sex-specific mortality and life expectancy, 1950-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. Lancet, 2018, 392(10159): 1684-1735
- [21] Wang L, Gao P, Zhang M, et al. Prevalence and Ethnic Pattern of Diabetes and Prediabetes in China in 2013 [J]. JAMA, 2017, 317(24): 2515-2523
- [22] Nowotny K, Jung T, H?hn A, et al. Advanced Glycation End Products and Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Mellitus [J]. Biomolecules, 2015, 5(1): 194-222
- [23] Hascall V, Wang A. Hyperglycemia diverts dividing stem cells to pathological adipogenesis[J]. Stem Cell Res Ther, 2014, 5(6): 128
- [24] Li TS, Furutani A, Takahashi M, et al. Impaired potency of bone marrow mononuclear cells for inducing therapeutic angiogenesis in obese diabetic rats [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 290 (4): H1362-9
- [25] Escribano-Lopez I, Diaz-Morales N, Iannantuoni F, et al. The mitochondrial antioxidant SS-31 increases SIRT1 levels and ameliorates inflammation, oxidative stress and leukocyte-endothelium interactions in type 2 diabetes[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): p. 15862
- [26] Ruegsegger GN, Creo AL, Cortes TM, et al. Altered mitochondrial function in insulin-deficient and insulin-resistant states [J]. J Clin Invest, 128 (2018): 3671-3681
- [27] Zhan L, Li R, Sun Y, et al. Effect of mito-TEMPO, a mitochondria-targeted antioxidant, in rats with neuropathic pain [J]. Neuroreport, 2018, 29(15): 1275-1281
- [28] Liu Y, Wang Y, Ding W, et al. Mito-TEMPO Alleviates Renal Fibrosis by Reducing Inflammation, Mitochondrial Dysfunction, and Endoplasmic Reticulum Stress [J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 5828120
- [29] Jiang XP, Wang SQ, Wang W, et al. Enolase1 (ENO1) and glucose-6-phosphate isomerase (GPI) are good markers to predict human sperm freezability[J]. Cryobiology, 2015, 71(1): 141-145
- [30] Ni R, Cao T, Xiong S, et al. Therapeutic inhibition of mitochondrial reactive oxygen species with mito-TEMPO reduces diabetic cardiomyopathy[J]. Free Radic Biol Med, 2016, 90: 12-23
- [31] Tan SS, Han X, Sivakumaran P, et al. Melatonin Protects Human Adipose-Derived Stem Cells from Oxidative Stress and Cell Death[J]. Arch Plast Surg, 2016, 43(3): 237-241
- [32] Wang N, Wang F, Gao Y, et al. Curcumin protects human adipose-derived mesenchymal stem cells against oxidative stress-induced inhibition of osteogenesis[J]. J Pharmacol Sci, 2016, 132(3): 192-200
- [33] Kornicka K, Marycz K, Mare?dziak M, et al. The effects of the DNA methyltransferases inhibitor 5-Azacitidine on ageing, oxidative stress and DNA methylation of adipose derived stem cells [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(2): 387-401