

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.04.005

缺氧缺血诱导对原代新生大鼠前脑混合细胞髓鞘形成和细胞骨架的影响*

胡 斌¹ 王成举¹ 杨 望¹ 常 琴¹ 屈福祥¹ 陈鹏慧² 张雨平^{1Δ}

(1 陆军军医大学第二附属医院儿科 重庆 400037; 2 陆军军医大学基础医学院神经生物学教研室 重庆 400038)

摘要 目的:该研究探讨了缺氧缺血诱导对新生大鼠前脑混合细胞髓鞘形成和细胞骨架的影响。**方法:**在原代培养的新生大鼠前脑混合细胞中,应用免疫组化染色髓鞘碱性蛋白(MBP)和劳克坚牢蓝(LFB)染色检测髓鞘和轴突的发育情况;Western 印迹分析 NF155 蛋白的表达情况;免疫荧光分析参与细胞骨架调节的 ERM-Rho GTP 酶家族相关蛋白表达。**结果:**缺氧缺血对混合细胞的进一步分化和成熟起到抑制作用,MBP 染色阳性率降低 57%,髓鞘和轴突染色阳性率降低 74%;NF155 蛋白表达降低 51%;Rho GTP 酶家族成员 Rac1、Cdc42 分别降低 81%和 75%。**结论:**缺氧缺血使细胞突起的形成和骨架重组受到阻碍,继而影响髓鞘的发育和成熟,这一过程与 ERM-Rho GTP 酶细胞骨架通路有关。

关键词:缺氧缺血诱导;髓鞘;细胞骨架;前脑混合细胞

中图分类号:R-33;R714.7;R744.5;Q291 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)04-624-05

Effect of Hypoxic-ischemic-induced on Myelin Formation and Cytoskeleton of Mixed Forebrain Cells in Newborn Rats*

HU Bin¹, WANG Cheng-ju¹, YANG Wang¹, CHANG Qin¹, QU Fu-xiang¹, CHEN Peng-hui², ZHANG Yu-ping^{1Δ}

(1 Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing, 400037, China;

2 Department of Neurobiology, School of Basic Medical Sciences, Army Medical University, Chongqing, 400038, China)

ABSTRACT Objective: The aim of this work was to investigate the effects of hypoxic ischemic on myelin formation and cytoskeleton of mixed forebrain cells in newborn rats. **Methods:** The expression of myelin development-related proteins myelin basic protein was verified by immunohistochemical staining and Luxol fast blue staining was used to detect the development of myelin sheath and axon in primary cultured mixed forebrain cells; the expression of protein NF155 was verified by Western blotting; the expression of ERM-Rho GTPase related proteins involved in cytoskeleton were verified by immunofluorescence analysis. **Results:** The results showed that hypoxic ischemic inhibited the further differentiation and maturation of mixed cells. The mean density of MBP, myelin sheath and axon, NF155, Rac1 and Cdc42 were decreases 57%, 74%, 51%, 81% and 75% respectively. **Conclusions:** In conclusion the formation of cell processes, the recombination of cytoskeleton were hindered by hypoxic-ischemic-induced, which affected the development and maturation of myelin sheath, and this process is related to the obstruction of cytoskeleton network ERM-Rho GTPase signal pathway.

Key words: Hypoxic-ischemic-induced; Myelination; Cytoskeleton; Mixed forebrain cells

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R714.7; R744.5; Q291 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)04-624-05

前言

围产期缺氧缺血造成的脑白质损伤是早产儿最常见的脑损伤类型^[1],其潜在的生理机制还未完全了解,据统计,诊断为新生儿脑白质损伤的早产儿有 15~20%在新生儿期死亡,存活者中 25~30%留有永久性神经系统损伤,并与长期运动、认知和心理功能受损密切相关^[2],不但影响了儿童健康,也给社会和家庭带来了沉重的负担。

脑白质是神经纤维的聚集之处。神经纤维由神经元轴突及层层包裹在轴突周围的髓鞘组成,因此髓鞘是脑白质的主要成分。脑白质损伤可造成神经细胞的凋亡和坏死,以髓鞘减少或

髓鞘形成障碍为主要病理特征^[3]。在脊椎动物中枢神经系统髓鞘形成初期,双极形状的少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cell, OPC)逐渐分化到成熟的少突胶质细胞(oligodendrocyte, OL),并聚集于神经元轴突附近,形成高密度分支并表达 NF155^[4],随着接触的形成,开始螺旋包裹神经元轴突,蛋白被重新定位且细胞形态发生巨大改变^[5],这种驱动力的产生极有可能来自于微丝和微管阵列的组织扩展和细胞分支相关的细胞骨架网络构象变化^[6],而 ERM-Rho GTP 酶信号通路是调节细胞骨架组装的主要途径,ERM 家族 Ezrin 蛋白与 NF155 胞内特异序列 FERM 形成结合基序^[7],在接收到膜蛋白信号后,激活 Rho GTP 酶家族 Rac1 和 Cdc42 进行细胞骨架微丝的

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81671496)

作者简介:胡斌(1986-),硕士,临床医学检验技师,主要研究方向:高危儿脑损伤,电话:18696540520, E-mail: 58127652@qq.com

Δ 通讯作者:张雨平(1972-),博士,副主任医师,副教授,主要研究方向:发育期脑损伤, E-mail: yupingzhang@tmmu.edu.cn

(收稿日期:2019-05-28 接受日期:2019-06-23)

聚合,形成致密的绝缘层,在保护轴突的基础上加快神经信号冲动在轴突上的跳跃式传导^[8,9]。由此可知,细胞骨架介导可能参与到髓鞘形成的过程之中并起到重要作用。

本课题组前期研究发现 HIBD 模型大鼠脑组织脂筏量减少、髓鞘量和结构出现错乱、松散和分层等形态学改变并伴有轴突萎缩,导致神经功能异常^[10]。为进一步明确其损伤机制,本研究通过对原代新生大鼠前脑混合细胞培养体系进行缺氧缺血诱导,探讨缺氧缺血对髓鞘形成和细胞骨架信号通路的影响,希望能够找到一个阐明缺氧缺血性脑白质损伤髓鞘化障碍的新思路,期待为后续的髓鞘形成障碍的防治奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 新生大鼠前脑混合细胞原代培养

出生 2-3 d 的 SD 大鼠,由陆军军医大学实验动物中心提供,雌雄不限。放入 75 % 体积分数乙醇浸泡 3-5 min,无菌条件下分离前脑皮质组织,PBS 清洗剔除脑膜及血管,剪碎研磨并过滤后,1000 r/min 离心 5 min,弃上清,接种于多聚赖氨酸(美国 Sigma 公司)包被的细胞培养板中,用含 10 % 胎牛血清(美国 Hyclone 公司)的 DMEM/F12 培养基(美国 Gibco 公司)培养,添加谷氨酰胺、血小板源性生长因子、碱性成纤维细胞生长因子(美国 Abcam 公司)、B27、腐胺、青链霉素(碧云天生物技术有限公司)等添加剂。

1.2 缺氧缺血诱导

生长状态良好的前脑混合细胞换用不含血清的无糖 DMEM 培养基,于 37℃、95 % 体积分数 N₂、5 % 体积分数 CO₂ 条件下缺氧缺血诱导 2 h,之后换用正常培养基继续常规细胞培养^[11,12]。

1.3 免疫组化染色

利用细胞爬片,于 3 % H₂O₂ 溶液中室温浸泡 10 min 以消除内源性过氧化物酶,PBS 浸泡 5 min×3 次。正常山羊血清工作液 37℃ 封闭 30 min。滴加 MBP 抗体(武汉 ABclonal 生物技术有限公司),4℃ 孵育过夜。用 PBS 漂洗后,滴加生物素标记山羊抗兔 IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司),37℃ 孵育 30 min,PBS 漂洗 5 min×3 次,DAB(北京中杉金桥生物技术有限公司)显色,在显微镜下控制显色时间,苏木素衬染,逐级酒精(70 %、80 %、95 %、100 %)脱水各 3 min,二甲苯透明 3 min,烘干玻片,甘油封片,光学显微镜下观察。

1.4 劳克坚牢蓝(Luxol fast blue, LFB)髓鞘染色

将细胞爬片固定于 4 % 多聚甲醛中 15 min,PBS 浸泡 5 min×3 次,滴加 0.1 % Triton-100(碧云天生物技术有限公司)至完全覆盖细胞,室温孵育 20 min 后,PBS 浸泡 5 min×3 次。滴加 LFB 染色液(0.1 g Solvent Blue 溶于体积分数 95 % 的 100 mL 酒精中,加冰醋酸 0.5 mL,混匀,美国 Sigma 公司)覆盖细胞,57℃ 孵育 3 h。取出爬片,放入 95 % 乙醇洗去多余染色液,蒸馏水重洗,放入 70 % 乙醇和 0.05 % 的 Li₂CO₃ 溶液中反复分色至灰白质清晰,蒸馏水冲洗,甘油封片,电镜下观察。

1.5 Western 印迹

收获细胞时,先用预冷的 PBS 缓冲液清洗三次,然后加入含 0.4 % 蛋白酶抑制剂(瑞士罗氏公司)的细胞裂解液 80 μL,冰浴 30 min,用细胞刮将细胞轻轻刮下,转移至离心管中,4℃、

14000 r/min 离心 15 min,收集上清,加入 0.2 倍体积的 6× 上样缓冲液,100℃ 沸水煮 5 min。上样于 8 % 的 SDS-PAGE,经电泳、转膜后于 5 % 的脱脂牛奶中封闭 2 h,滴加相应的 NF155 抗体(美国 CST 公司)、β-actin 抗体(碧云天生物技术有限公司),于 4℃ 孵育过夜。用 TBST 清洗 8 min×3 次后,滴加辣根过氧化物酶标记山羊抗兔或山羊抗小鼠 IgG(碧云天生物技术有限公司)室温孵育 1 h,TBST 洗 8 min×3 次后,将发光液(美国赛默飞世尔科技公司)A 液、B 液按 1:1 混匀后滴加于 PVDF 膜表面,化学发光显影。

1.6 免疫荧光染色

将细胞爬片固定于 4 % 多聚甲醛中 15 min,PBS 浸泡 5 min×3 次,滴加 0.1 % Triton-100 至完全覆盖细胞,室温孵育 30 min 后,PBS 浸泡 5 min×3 次。正常山羊血清工作液室温孵育 15 min。滴加 Rac1 抗体(武汉 ABclonal 生物技术有限公司)、Cdc42 抗体(武汉 ABclonal 生物技术有限公司)、Ezrin 抗体(美国 R&D 公司)、Moesin 抗体(美国 R&D 公司),4℃ 孵育过夜。用 PBS 浸泡 5 min×3 次,滴加相应的荧光二抗: Cy3 标记山羊抗兔 IgG 或 Cy3 标记山羊抗小鼠 IgG(碧云天生物技术有限公司),室温孵育 60 min,将爬片浸泡在 PBS 中 5 min×3 次。滴加 DAPI(碧云天生物技术有限公司)至完全覆盖细胞以复染核 5 min,用 PBS 浸泡 5 min×3 次,滴加抗荧光淬灭剂于载玻片上,将爬片倒扣在载玻片上,甘油封片,荧光显微镜下观察。

1.7 统计学分析

两组间的差异通过参数单变量 t 检验进行评价分析,使用 SPSS19.0 软件, $P < 0.05$ 具有显著性差异, $P < 0.01$ 具有极显著性差异。

2 结果

2.1 缺氧缺血对原代大鼠前脑混合细胞髓鞘形成的影响

大鼠前脑混合细胞在原代培养 14 d 后进行缺氧缺血诱导。继续培养至第 21 d 时,制作细胞爬片。免疫组化染色分析鉴定少突胶质细胞特异性免疫标志物髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein, MBP),LFB 染色检测髓鞘和轴突的发育情况。结果显示,正常对照组和缺氧缺血诱导组细胞均出现 MBP 阳性细胞,但正常对照组 MBP 染色深且表达多,缺氧缺血诱导组 MBP 染色浅且表达少(图 1A);MBP 染色阳性率降低了 57% ($P < 0.05$,图 1B);另外,正常对照组髓鞘轴突染色清晰匀称,大部分细胞外围可见完整的蓝绿色髓鞘结构,并且部分细胞可见伸长透明的轴突结构,而缺氧缺血诱导组染色减弱,部分细胞外围髓鞘不完整且浅染,轴突结构变细变少(图 1C);髓鞘和轴突阳性率降低了 74% ($P < 0.05$,图 1D)。结果提示,缺氧缺血诱导可抑制原代大鼠前脑混合细胞的生长、分化成为少突胶质细胞,细胞突起的形成和扩展受到阻碍,髓鞘的形成受阻。

2.2 缺氧缺血对 NF155 蛋白表达的影响

为进一步明确缺氧缺血诱导对原代大鼠前脑混合细胞髓鞘形成受阻影响的可能机理,应用 Western 印迹分析少突胶质源性蛋白 NF155 的表达(图 2A)。结果显示,与正常对照组相比,缺氧缺血诱导造成原代大鼠前脑混合细胞中 NF155 蛋白表达降低了 51% ($P < 0.05$,图 2B)。表明缺氧缺血可以抑制 NF155 蛋白的表达。

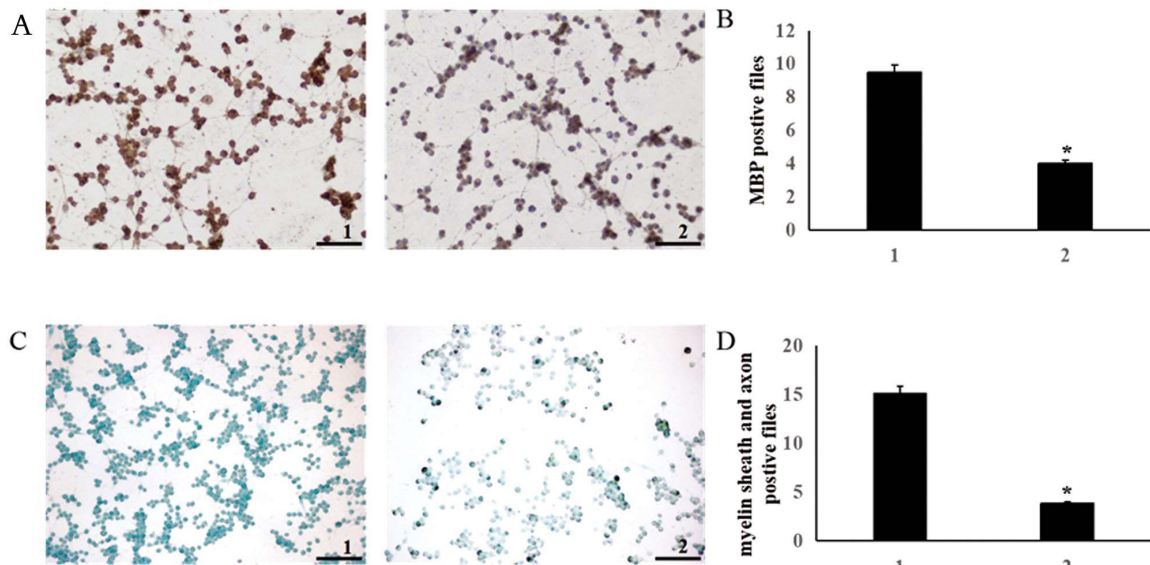


图1 缺氧缺血对原代大鼠前脑混合细胞髓鞘形成的影响

Fig.1 Effects of hypoxia-ischemia on the development of myelin sheath in newborn rat forebrain mixed cells

A: the expression of myelin development-related protein myelin basic protein(MBP) was verified by immunohistochemical staining(200×);

B: mean density was used in MBP; C: the development of myelin sheath and axon were detected by Luxol fast blue staining (200×);

D: mean density was used in myelin sheath and axon

1: normal control group; 2: hypoxic-ischemic-induced group; * $P < 0.05$

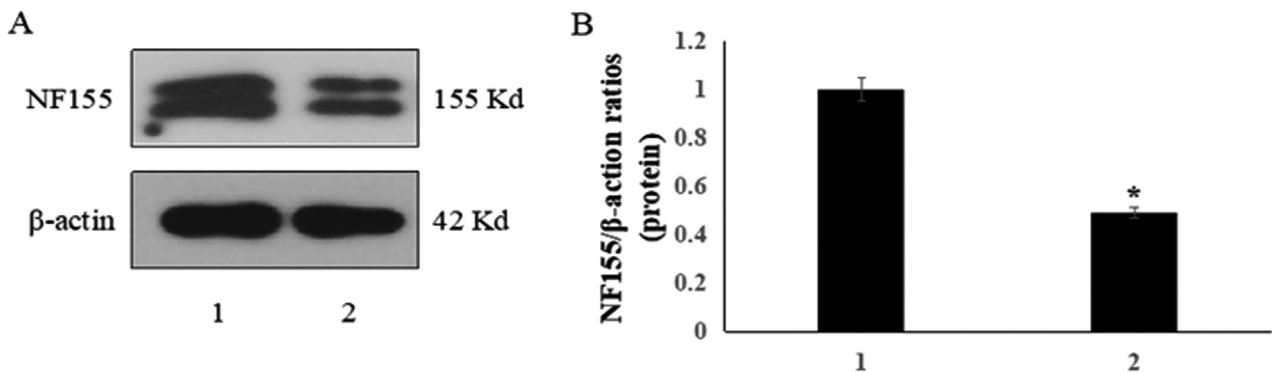


图2 缺氧缺血对 NF155 蛋白表达的影响

Fig.2 Effects of hypoxia-ischemia on the expression of protein NF155

A: the expression of oligodendrocyte related protein NF155 was verified by Western blotting; B: gray analysis was used in NF155/β-actin

1: normal control group; 2: hypoxic-ischemic-induced group; * $P < 0.05$

2.3 缺氧缺血对 ERM-Rho GTP 酶信号通路的影响

在缺氧缺血导致 NF155 表达降低的基础上,通过免疫荧光染色检测 ERM 家族相关蛋白 Ezrin、Moesin 和 Rho GTP 家族相关蛋白 Rac1、Cdc42 的表达,分析细胞骨架组装主要途径 ERM-Rho GTP 酶信号通路状态的变化情况(图 3A)。结果显示,与正常对照组相比,缺氧缺血诱导造成 Ezrin 和 Moesin 分别降低了 14%($P > 0.05$)和 3%($P > 0.05$),无显著性差异,而 Rac1 和 Cdc42 分别降低了 81%($P < 0.01$)和 75%($P < 0.01$),存在极显著差异(图 3B)。结果表明,缺氧缺血诱导不会对 ERM 造成抑制作用,但由于 Rho GTP 酶信号通路无法被激活,细胞骨架组装的调控仍受到影响。

3 讨论

本研究是基于原代新生大鼠前脑混合细胞体外培养的基础上^[13],通过缺氧缺血诱导,探讨缺氧缺血对髓鞘形成和细胞

骨架信号通路的影响及可能机制。研究发现缺氧缺血抑制混合细胞的进一步分化和少突胶质细胞的成熟,进而使细胞突起的形成和扩展及髓鞘的稳定和包裹受到阻碍。推测其原因,一方面是缺氧缺血抑制少突胶质蛋白 NF155 的表达,导致接收膜信号不足;另一方面缺氧缺血抑制 Rho GTP 酶家族 Rac1 和 Cdc42 两个亚家族成员的表达;综合两方面原因导致 Rho GTP 酶无法被激活,髓鞘结构、功能不能维持稳定,细胞骨架的成分改变,继而影响到细胞骨架结构的重塑和组装。

髓鞘形成的一般过程伴随着少突胶质前体细胞的迁移,大致分为三个特征性事件步骤^[14,15]:①少突胶质前体细胞逐渐分化成少突胶质细胞并继续发育成熟,其过程特征是形成高密度的分支结构,NF155 起始并持续高表达;②少突胶质细胞和轴突相互作用的建立和稳定,随着接触的形成和包裹的开始,初级髓鞘层逐渐形成;③接触的变多和蛋白的重新定位导致结构的不对称,使髓鞘层逐渐致密化,成熟的髓鞘得以形成。但是,

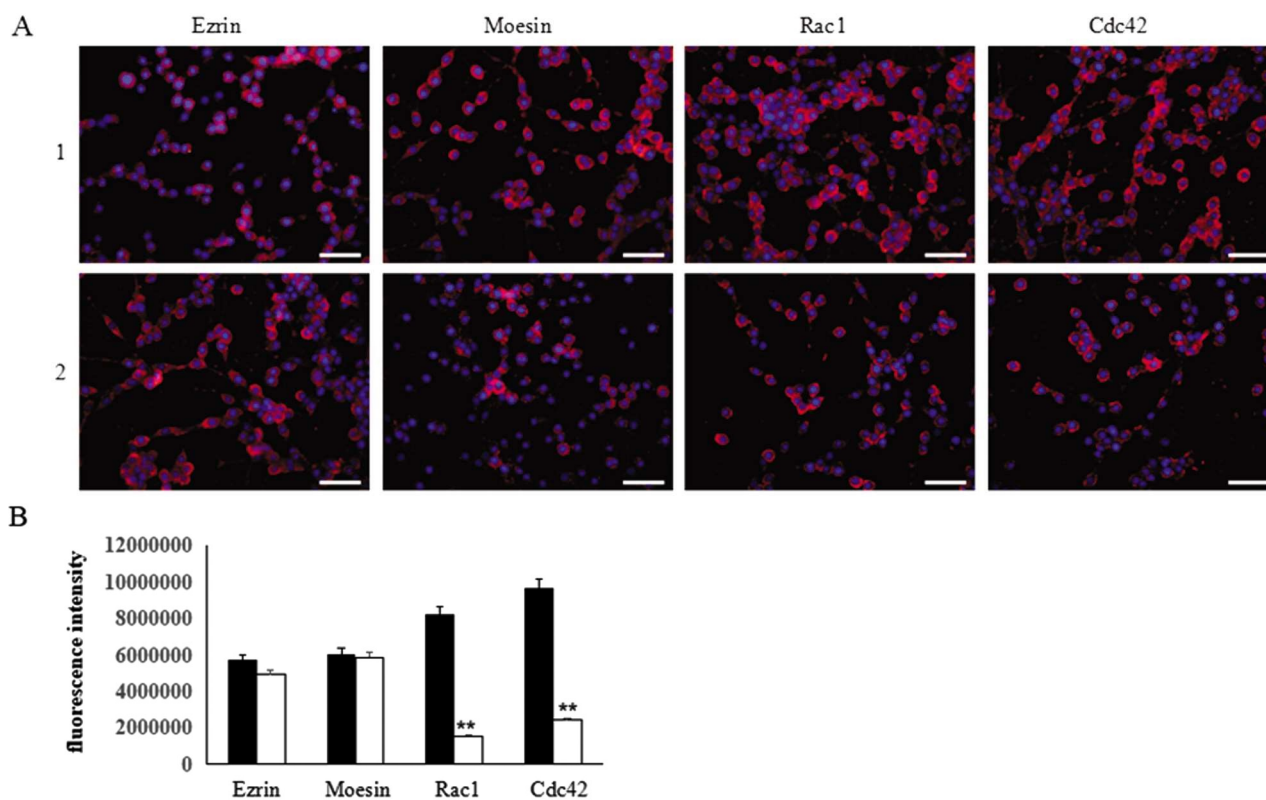


图3 缺氧缺血对 ERM-Rho GTP 酶信号通路的影响

Fig.3 Effects of hypoxia-ischemia on ERM-Rho GTPase signaling pathway

A: the expression of ERM-Rho GTPase related proteins Ezrin, Moesin, Rac1, Cdc42 were verified by immunofluorescence analysis(400×);

B: fluorescence intensity analysis was used in Ezrin, Moesin, Rac1, Cdc42

1: normal control group; 2: hypoxic-ischemic-induced group; ** $P < 0.01$

由于少突胶质系细胞对缺氧缺血高度易损, 如果受到母体炎症、围产期感染、氧供应中断或其它不利因素的影响, 将会导致小胶质细胞活化、星形胶质细胞增多、兴奋毒性和氧化应激等机制进而引起脑微环境改变, 对少突胶质细胞产生负面影响, 致使少突胶质细胞成熟受阻或死亡, 最终导致发育中的脑白质髓鞘化失败^[16]。此外, 少突胶质细胞内骨架蛋白在一系列复杂调控的介导下完成形态学改变, 伴以由肌动蛋白聚合介导的丝状伪足诱发和板状伪足产生^[17], Rho GTP 酶家族的 Rac1 和 Cdc42 被激活, 作用于细胞骨架的解离和重建^[18]。Gunn-Moore 等人的研究表明 NF155 蛋白胞内区含有能与 ERM 家族细胞骨架连接蛋白 Ezrin 结合的特异序列 FERM 结合基序^[7], 我们的研究发现, 缺氧缺血并未对 ERM 家族蛋白 Ezrin 和 Moesin 产生影响, 但 NF155 蛋白和 Rac1、Cdc42 的表达均下降, 说明 NF155 是 ERM-Rho GTP 酶信号通路的重要始动因子, 在髓鞘形成和细胞骨架重构方面起到至关重要的作用。

NF155 是一种少突胶质细胞内源性黏附分子, 是免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily, IgSF)的重要成员^[19], 它与许多脱髓鞘相关疾病的关系已备受关注, 多发性硬化(multiple sclerosis, MS)和急/慢性炎性脱髓鞘性神经病(acute/chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy, AIDP/CIDP)患者血液或脑脊液中发现了 NF155 特异性自身抗体^[20], 虽然目前尚未有 NF155 与早产儿脑白质损伤的相关报道, 但 Mathey 等人的研究发现 NF155 对髓鞘损伤后的修复功能^[21], 又为从量效关系上研究 NF155 对髓鞘形成的影响和 NF155 与早产儿脑白质损

伤的相关性方向研究提供了新的线索和挑战。

关于新生儿 HIBD 治疗方法的研究报道较多, 途径和方法亦呈多样性, 但由于发病机制并不完全清楚, 各种治疗方法的疗效十分有限^[22], 在这些方法中, 髓鞘化的正常形成和发育始终是防治的重要目标。我们的研究证明了缺氧缺血对体外培养新生大鼠前脑混合细胞髓鞘形成的影响可能与 OL 细胞骨架组装的信号传导通路受阻有关, NF155 的减少可能是 ERM-Rho GTP 酶信号通路受阻的原因之一, 具体机制还需要通过后续的研究进一步证实。髓鞘形成的机制极为复杂, 随着研究的不断深入, 更多与之相关的调节成分和信号通路不断被揭示出来, 机制也将日趋完善。我们希望通过本研究, 探索 HI 脑白质病变的髓鞘形成障碍中的新机制, 为缺氧缺血脑损伤的治疗性研究提供新思路。

参考文献(References)

- [1] Armstrong RC, Mierzwa AJ, Sullivan GM, et al. Myelin and oligodendrocyte lineage cells in white matter pathology and plasticity after traumatic brain injury [J]. *Neuropharmacology*, 2016, 110 (Pt B): 654-659
- [2] Back SA, Miller SP. Brain injury in premature neonates: a primary cerebral dysmaturation disorder? [J]. *Ann Neurol*, 2014, 75 (4): 469-486
- [3] 庞炜, 曹帅帅, 李树祎, 等. 新生儿缺氧缺血脑损伤大鼠模型的制备 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(6): 61-74
- [4] Bauer NG, Richter-Landsberg C, Ffrench-Constant C. Role of the oligodendroglial cytoskeleton in differentiation and myelination [J].

- Gila, 2009, 57(16): 1691-705
- [5] Rusielewicz T, Nam J, Damanakis E, et al. Accelerated repair of demyelinated CNS lesions in the absence of non-muscle myosin IIB[J]. Gila, 2014, 62(4): 580-591
- [6] Ross JL, Ali MY, Warshaw DM. Cargo transport: Molecular motors navigate a complex cytoskeleton[J]. Curr Opin Cell Biol, 2008, 20(1): 41-47
- [7] Gunn-Moore FJ, Hill M, Davey LR, et al. A functional FERM domain binding motif in neurofascin [J]. Mol Cell Neurosci, 2006, 33 (4): 441-446
- [8] Liang X, Draghi NA, Resh MD. Signaling from integrins to Fyn to Rho family GTPases regulates morphologic differentiation of oligodendrocytes[J]. J Neurosci, 2004, 24(32): 7140-7149
- [9] 翁超, 卢祖能, 符辉. 少突胶质细胞分化发育与髓鞘形成的研究进展[J]. 中华神经医学杂志, 2016, 15(5): 524-528
- [10] Zhang YP, Huang QL, Zhao CM, et al. GM1 improves neurofascin155 association with lipid rafts and prevents rat brain myelin injury after hypoxia-ischemia [J]. Braz J Med Biol Res, 2011, 44(6): 553-561
- [11] Palmer C, Menzies SL, Roberts RL, et al. Changes in iron histochemistry after hypoxic-ischemic brain injury in the neonatal rat[J]. J Neurosci Res, 1999, 56(1): 60-71
- [12] Yao L, Chen X, Tian Y, et al. Selection of housekeeping genes for normalization of RT-PCR in hypoxic neural stem cells of rat in vitro [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(1): 569-576
- [13] 杨凯, 李一鹏, 刘英富, 等. 大鼠皮质少突胶质细胞培养条件的优化[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(29): 4328-4333
- [14] Boulemer AI. The history of myelin[J]. Exp Neurol, 2016, 283(Pt B): 431-445
- [15] Purger D, Gibson EM, Monje M. Myelin plasticity in the central nervous system[J]. Neuropharmacology, 2016, 110(Pt B): 563-573
- [16] van Tilborg E, Heijnen CJ, Benders MJ, et al. Impaired oligodendrocyte maturation in preterm infants: Potential therapeutic targets [J]. Prog Neurobiol, 2016, 136: 28-49
- [17] Le Clairche C, Carlier MF. Regulation of actin assembly associated with protrusion and adhesion in cell migration[J]. Physiol Rev, 2008, 88(2): 489-513
- [18] Thurnherr T, Benninger Y, Wu X, et al. Cdc42 and Rac1 signaling are both required for and act synergistically in the correct formation of myelin sheaths in the CNS [J]. J Neurosci, 2006, 26 (40): 10110-10119
- [19] Ranthjen FG, Wolff JM, Chang S, et al. Neurofascin: a novel chick cell-surface glycoprotein involved in neurite-neurite interactions [J]. Cell, 1987, 51(5): 841-849
- [20] Tajima Y, Matsumura M, Yaguchi H, et al. Possible combined central and peripheral demyelination presenting as optic neuritis, cervical myelitis, and demyelinating polyneuropathy with marked nerve hypertrophy[J]. Intern Med, 2018, 57(6): 867-871
- [21] Mathey EK, Derfuss T, Storch MK, et al. Neurofascin as a novel target for autoantibody-mediated axonal injury[J]. J Exp Med, 2007, 204 (10): 2363-2372
- [22] 李濛, 张丙宏. 新生儿缺氧缺血性脑损伤相关血清学标志物研究进展[J]. 中华新生儿科杂志, 2018, 33(5): 388-392

(上接第 607 页)

- [34] Granneman J G, Moore H P, Krishnamoorthy R, et al. Perilipin controls lipolysis by regulating the interactions of AB-hydrolase containing 5 (Abhd5) and adipose triglyceride lipase (Atgl)[J]. J Biol Chem, 2009, 284(50): 34538-34544
- [35] Miyoshi H, Perfield J W, Souza S C, et al. Control of adipose triglyceride lipase action by serine 517 of perilipin A globally regulates protein kinase A-stimulated lipolysis in adipocytes [J]. J Biol Chem, 2007, 282(2): 996-1002
- [36] Hurley J H, Young L N. Mechanisms of Autophagy Initiation[J]. Annu Rev Biochem, 2017, 86: 225-244
- [37] Bechor S, Nachmias D, Elia N, et al. Adipose tissue conditioned media support macrophage lipid-droplet biogenesis by interfering with autophagic flux [J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids, 2017, 1862(9): 1001-1012
- [38] Unno R, Kawabata T, Taguchi K, et al. Deregulated MTOR (mechanistic target of rapamycin kinase) is responsible for autophagy defects exacerbating kidney stone development[J]. Autophagy, 2019: 1-15
- [39] Olzmann J A, Carvalho P. Dynamics and functions of lipid droplets [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20(3): 137-155
- [40] Walther T C, Chung J, Farese R V, Jr. Lipid Droplet Biogenesis[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2017, 33: 491-510
- [41] Suzuki M, Shinohara Y, Ohsaki Y, et al. Lipid droplets: size matters [J]. J Electron Microsc (Tokyo), 2011, 60 Suppl 1: S101-116