

上皮细胞能量代谢对炎症性肠病线粒体的影响*

马志华¹ 阿迪力江·喀日¹ 阿布来提·阿不都哈尔¹

[摘要] **目的:**探究肠上皮细胞炎症发生过程中细胞能量代谢损伤对肠上皮细胞线粒体结构和功能的影响。**方法:**采用过氧化氢构建肠上皮细胞体外炎症模型,给予0 μmol/L和100 μmol/L脱氧胆酸(DCA)干预5 d,分别记为模型组和实验组,同时以不做任何处理的人正常结肠上皮细胞 NCM460 为空白对照组,采用透射电镜观察各组肠上皮细胞线粒体超微结构差异;采用CCK8实验检测各组细胞活力;采用ATP试剂盒检测各组细胞ATP生成量;采用激光共聚焦显微镜检测细胞线粒体膜电位改变;检测各组肠上皮细胞耗氧率、呼吸代谢指标及活性氧百分含量差异情况。**结果:**空白对照组线粒体形态结构正常;模型组线粒体肿胀,内嵴紊乱,甚至断裂消失;实验组线粒体出现气球样自噬泡。与空白对照组比较,模型组和实验组肠上皮细胞活性受到明显抑制($P < 0.05$),细胞线粒体ATP生成量及ATP酶活性明显较低($P < 0.05$),线粒体膜电位也明显较低($P < 0.05$),细胞耗氧率及基础呼吸、质子渗漏、最大呼吸、储备呼吸率、非线粒体呼吸等呼吸指标也明显较低($P < 0.05$),细胞活性氧百分含量则明显较高($P < 0.05$);与模型组比较,实验组肠上皮细胞活性抑制更明显($P < 0.05$),细胞线粒体ATP生成量、ATP酶活性、线粒体膜电位均进一步降低($P < 0.05$),细胞耗氧率及基础呼吸、质子渗漏、最大呼吸、储备呼吸率、非线粒体呼吸等呼吸指标进一步减少($P < 0.05$),细胞活性氧百分含量则进一步增高($P < 0.05$)。**结论:**线粒体参与肠上皮细胞炎症的能量代谢调节,其作用与线粒体呼吸功能抑制及膜电位下降有关。

[关键词] 炎症性肠病;肠上皮细胞;线粒体;能量代谢;呼吸代谢;膜电位

DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2021.07.12

[中图分类号] R574 **[文献标志码]** A

Effects of energy metabolism in epithelial cells on mitochondrial pathology in inflammatory bowel disease

MA Zhihua ADILIJANG · Kari ABULAITI · Abduhar

(Department of Pediatric Acute and Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, 830054, China)

Corresponding author: ABULAITI · Abduhar, E-mail: apollo200107@163.com

Abstract Objective: To investigate the effects of cellular energy metabolism damage on the mitochondrial structure and function of intestinal epithelial cells during the inflammatory process. **Methods:** The hydrogen peroxide (H_2O_2) was used to construct intestinal epithelial cells in vitro model of inflammation, 0 μmol/L and 100 μmol/L deoxycholic acid (DCA) intervention in 5 d, respectively for the model group and experimental group,

*基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(No:2019D01C473)

¹新疆医科大学第一附属医院小儿急危重症医学科(乌鲁木齐,830054)

通信作者:阿布来提·阿不都哈尔, E-mail: apollo200107@163.com

- [10] 胡叶,李萌,王毛毛,等. 消化系统恶性肿瘤术后胃肠道功能紊乱的中药治疗方法分析[J]. 现代中医临床, 2017,24(1):41-48.
- [11] 吴娟,任秀玲,王尹蓉,等. 化疗对老年非小细胞肺癌患者营养状况及生命质量的影响[J]. 中华老年医学杂志, 2018,37(11):1258-1261.
- [12] 单孟俊,张丽媛,游捷. 中医辨证疗法联合化疗治疗老年晚期非小细胞肺癌患者随机对照研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2018,38(2):163-167.
- [13] 李勇森,韩孟伊,陈冰霞,等. 黄芪对小鼠淋巴细胞及其表面分子的调节作用[J]. 免疫学杂志, 2020,3(1), 52-57.
- [14] 郜艳雪,时坤,李健明,等. 党参多糖对动物免疫调节作用研究进展[J]. 动物医学进展, 2019,40(9):103-105.
- [15] 吴宿慧,李寒冰,吕宁,等. 火麻仁与人源肠道菌相互作用的初步研究[J]. 中药材, 2019,50(5):1189-1191.
- [16] 于岚,邢志凯,双利,等. 中药对肠道菌群的调节作用[J]. 中国中药杂志, 2019,44(1):34-39.
- [17] DE Vadder F, Grasset E, Manneras HL, et al. Gut microbiota regulates maturation of the adult enteric nervous system via enteric serotonin networks[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018,115(25):6458-6463.
- [18] 张俊杰,张淑静,董瑞娟,等. 高通量测序研究中药经方对正常小鼠肠道菌群的影响[J]. 世界中医药, 2019,14(5):1123-1132.
- [19] 刘昌孝. 肠道菌群与健康、疾病和药物作用的影响[J]. 中国抗生素杂志, 2018,43(1):1-14.

(收稿日期:2021-04-15)

at the same time with those who do not do any processing normal colon epithelial cells NCM460 as blank control group, with transmission electron microscope each enterocyte mitochondrial ultrastructure of difference; the cell activity of each group was measured by CCK8 experiment. ATP production of each group was detected by ATP kit. The changes of mitochondrial membrane potential were detected by laser confocal microscopy. The differences of oxygen consumption rate, respiratory metabolism index and reactive oxygen content in intestinal epithelial cells were detected. **Results:** In the blank control group, mitochondria were normal in morphology and structure; in the model group, mitochondria were swollen, internal cristae were disordered, and even rupture disappeared; in the experimental group, balloon-like autophagy vesicles appeared. Compared with blank control group, model group and experimental group of intestinal epithelial cell activity was significantly inhibited ($P < 0.05$), the cells mitochondrial ATP generation and atpase activity significantly lower ($P < 0.05$), mitochondrial membrane potential is also significantly lower ($P < 0.05$), the cell oxygen consumption rate and respiration, proton leakage, maximum, reserve breathing rate, the mitochondrial respiratory breathing indexes such as also significantly lower ($P < 0.05$), active oxygen has a significantly higher percentage of cells ($P < 0.05$). Compared with model group, experimental group activity of intestinal epithelial cells more obvious ($P < 0.05$), the cells mitochondrial ATP generation, atpase activity and mitochondrial membrane potential were further reduced ($P < 0.05$), the cell oxygen consumption rate and respiration, proton leakage, maximum, reserve breathing rate, the mitochondrial respiratory breathing indexes such as further reduce reactive oxygen percentage ($P < 0.05$), the cells are further increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Mitochondria are involved in the regulation of energy metabolism in intestinal epithelial inflammation, which is related to the inhibition of mitochondrial respiratory function and the decrease of membrane potential.

Key words inflammatory bowel disease; intestinal epithelial cells; mitochondria; energy metabolism; respiratory metabolism; membrane potential

肠上皮细胞是机体肠黏膜屏障的关键所在,在分泌、屏障、吸收等正常的生命活动维持中扮演着重要角色^[1]。肠道是机体应激反应的中心器官,研究发现,肠黏膜的能量代谢紊乱是导致肠道炎症反应及损害的主要原因之一,肠黏膜上皮细胞参与机体的消化吸收、内分泌、免疫屏障等作用,是肠道中的重要功能细胞,了解肠上皮细胞炎症状态下的能量代谢情况对于治疗肠道疾病具有重要意义^[2-3]。线粒体是肠上皮细胞内的一个重要细胞器,是细胞产生能量和发挥呼吸代谢作用的主要场所,其结构与功能和细胞的生命活动息息相关,可通过三羧酸循环、氧化磷酸化反应、呼吸链作用等直接参与细胞成分的调节^[4]。现已有大量文献指出,细胞内线粒体对炎症及氧化应激刺激极为敏感,其受炎症和氧化应激攻击致结构及功能障碍,继而可引起机体多种疾病的发生、发展^[5-6]。本研究拟通过构建肠上皮细胞体外炎症模型,在此基础上通过干预细胞能量代谢,从线粒体结构和功能角度出发,探究线粒体在肠上皮细胞炎症损伤能量代谢改变中的作用,初步探索肠上皮细胞炎症发生过程中细胞能量代谢与线粒体结构和功能的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 实验用人正常肠上皮细胞 NCM460 购于中国科学院上海细胞库。

1.1.2 主要试剂 RPMI1640 培养液、胎牛血清 FBS 购于 Gibco 公司; Rhodamine 123、脱氧胆酸 (DCA) 购于 Sigma 公司; 细胞线粒体分离试剂盒、活性氧检测试剂盒购于上海碧云天; CCK8 试剂

盒、ATP 检测试剂盒购于南京建成; 细胞呼吸代谢检测试剂盒购于 Seahorse Biosciences。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人正常肠上皮细胞 NCM460 置于含 10% 胎牛血清 RPMI1640 培养液中, 于 37℃、5% CO₂ 的培养箱中常规培养。待细胞铺满 80% 镜下视野时采用 0.25% 含 EDTA 胰酶消化传代。取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 肠上皮细胞体外炎症模型构建 采用过氧化氢诱导构建肠上皮细胞体外炎症模型^[7]。常规培养肠上皮细胞 NCM460, 待细胞铺满 80% 镜下视野时, 采用 PBS 轻轻洗 1 遍, 加入 4 mmol/L 过氧化氢处理 2 h, 收集细胞。

1.2.3 细胞分组 采用 DCA 干预诱导细胞能量代谢障碍^[8], 向肠上皮细胞体外炎症模型细胞中添加 0 μmol/L 和 100 μmol/L DCA, 干预 5 d, 分别记为模型组和实验组, 同时以不做任何处理的肠上皮细胞 NCM460 为空白对照组。所有细胞均常规培养。

1.2.4 透射电镜观察细胞线粒体超微结构变化 收集各组细胞离心成团, 采用 2.5% 戊二醛固定, 常规修块, 漂洗, 1% 锇酸固定, 饱和醋酸铀过夜, 系列丙酮酸脱水, 环氧同丙烷置换, 环氧树脂包埋, 超薄切片, 透射电镜下观察细胞线粒体超微结构变化情况。

1.2.5 CCK8 实验检测细胞活力 各组细胞制成细胞悬液, 调整细胞浓度至 5000 个/mL, 96 孔板每孔加入细胞悬液 1 mL, 每组 3 个复孔, 置于 37℃、5% CO₂ 培养箱常规培养 48 h。分别于 0、

24、48、72 h时每孔加入 10 μL CCK8 试剂,继续置于培养箱中放置 2 h,用酶标仪测定其在 450 nm 处的吸收度(A)值。以相对应 A 值百分率表示细胞活性大小,绘制细胞生长曲线。

1.2.6 ATP 试剂盒检测细胞 ATP 生成量 各组细胞制成细胞悬液,离心取上清液,采用 ATP 检测试剂盒检测各组细胞 ATP 生成量,实验严格按照试剂盒说明书操作进行。

1.2.7 试剂盒检测线粒体总 ATP 酶活性 各组细胞制成细胞悬液,加入 1 mg/mL 线粒体蛋白液及 1 mL 10% TCA,培养箱中常规孵育 60 min,冰浴终止反应,加入 0.02 mol/L ATP NaCl₂ 250 μL + 0.05 mol/L MgCl₂ 100 μL , 28 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 min。加入 1 mL 10% TCA 终止反应,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 15 min,取上清液采用无机磷检测试剂盒检测 Pi 含量,记为 ATP 酶活性。

1.2.8 激光共聚焦显微镜检测细胞线粒体膜电位 采用 Rhodamine 123 摄取法检测细胞线粒体膜电位。各组细胞于 24 孔板盖玻片上培养 24 h,添加 0.75 $\mu\text{mol/L}$ Rhodamine 123 共培养 30 min,细胞分组处理后,分别于 0、1、2、3 h 采用激光共聚焦显微镜检测,根据细胞荧光强度检测细胞线粒体膜电位。

1.2.9 细胞呼吸代谢指标检测 取对数生长期细胞以 5×10^3 个/孔接种于 24 孔细胞呼吸代谢板中培养,待细胞贴壁过夜后,分组处理,处理 72 h 后上机检测,去除细胞培养液,采用 1 mL 分析检测液清洗 2 次,随后添加 500 μL 分析检测液,常规孵育 1 h。探针板依次加入寡霉素、FCCP 和 ROT-

AA。检测前探针板每孔添加 1 mL 校正缓冲液,水化过夜激活探针。按照设定程序上机检测细胞呼吸耗氧率及基础呼吸、质子渗漏、最大呼吸、储备呼吸率、非线粒体呼吸等呼吸代谢指标情况,采用 XFe Analyzer 2.1 软件处理数据。

1.2.10 细胞活性氧百分含量检测 取对数生长期细胞,装载探针,按照 1:1000 的比例使用无血清培养液稀释 DCFH-DA,终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 。收集细胞重悬于 DCFH-DA 中,置于培养箱中常规孵育 20 min,每隔 3~5 min 混匀一下,保证探针与细胞充分接触。随后采用无血清培养液清洗细胞 3 次,在阳性对照孔内加入 ROS 阳性对照剂,采用流式细胞仪检测各组细胞荧光强度差异。

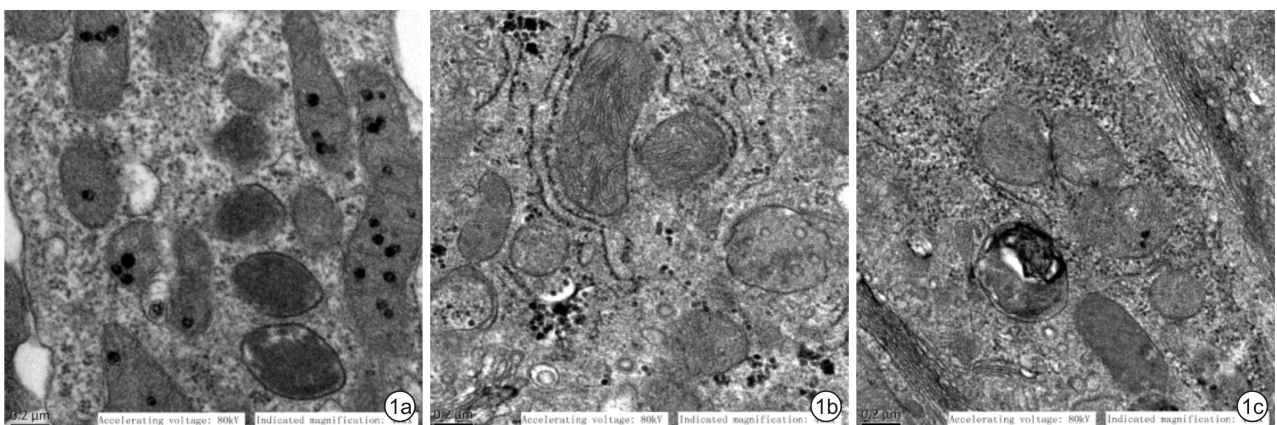
1.3 统计学处理

应用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。采用 *Shapiro-Wilk* 检验数据是否符合正态分布,采用 *Bartlett t* 检验进行方差齐性检验。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据间比较采用方差分析,2 组数据间均数比较采用 *SNK-q* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 能量代谢对肠上皮细胞线粒体超微结构的影响

透射电镜下观察发现,空白对照组线粒体形态结构正常,呈椭圆形,双层膜清晰;模型组线粒体大小不一,内室肿胀,内嵴水肿、紊乱,甚至断裂消失;实验组线粒体基质呈气球样改变,出现自噬泡,可见受损线粒体被自噬体吞噬,并与溶酶体融合。见图 1。



1a:空白对照组;1b:模型组;1c:实验组。

图1 能量代谢对肠上皮细胞线粒体超微结构的影响

2.2 能量代谢对肠上皮细胞活力的影响

CCK8 细胞增殖实验结果显示,与空白对照组比较,从 48 h 开始,模型组和实验组肠上皮细胞活

性明显受到抑制 ($P < 0.05$),与模型组比较,实验组肠上皮细胞活性抑制更为明显 ($P < 0.05$),组间差异有统计学意义。见图 2。

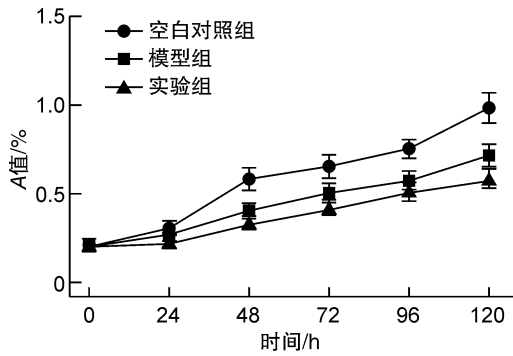


图 2 能量代谢对肠上皮细胞活力的影响

2.3 能量代谢对肠上皮细胞 ATP 生成量的影响

试剂盒检测结果显示,与空白对照组比较,模型组细胞线粒体 ATP 生成量较低 ($P < 0.05$),与模型组比较,实验组细胞线粒体 ATP 生成量进一步减少 ($P < 0.05$),组间差异有统计学意义。见图 3。

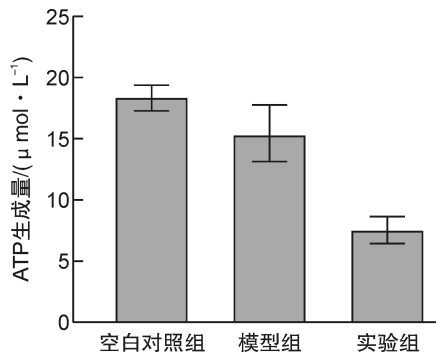


图 3 能量代谢对肠上皮细胞 ATP 生成量的影响

2.4 能量代谢对肠上皮细胞线粒体总 ATP 酶活性的影响

实验结果显示,经过过氧化氢处理后,与空白对照组比较,肠上皮细胞 ATP 酶活性明显降低 ($P < 0.05$),经 DCA 进一步干预细胞能量代谢后,肠上皮细胞 ATP 酶活性进一步降低,实验组肠上皮细胞 ATP 酶活性明显低于模型组水平 ($P < 0.05$),组间差异有统计学意义。见图 4。

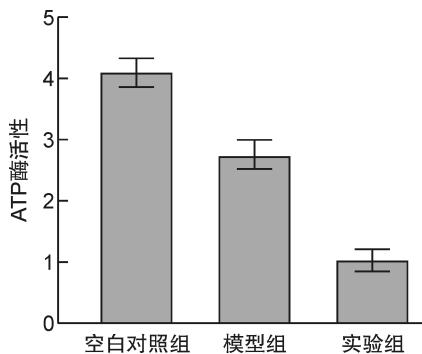


图 4 能量代谢对肠上皮细胞线粒体总 ATP 酶活性的影响

2.5 能量代谢对肠上皮细胞线粒体膜电位的影响

实验以 Rhodamine 123 荧光强度反映线粒体膜电位改变情况,实验结果显示,与空白对照组比较,模型组和实验组肠上皮细胞荧光强度下降明显 ($P < 0.05$),且与模型组比较,实验组肠上皮细胞荧光强度下降更为明显 ($P < 0.05$),组间差异有统计学意义。见图 5。

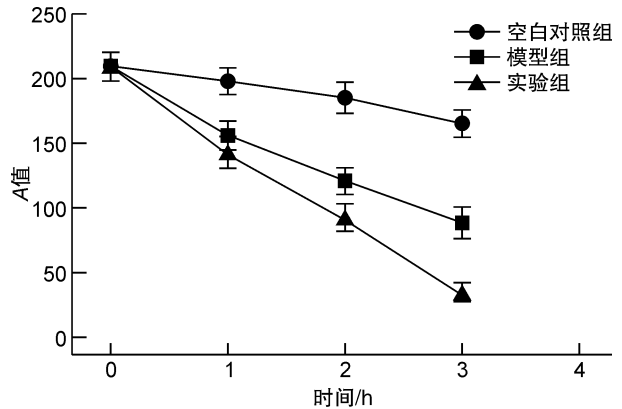


图 5 能量代谢对肠上皮细胞线粒体膜电位的影响

2.6 能量代谢对肠上皮细胞耗氧率的影响

细胞呼吸代谢检测结果显示,与不做处理的空白对照组比较,采用过氧化氢干预的模型组和实验组细胞内耗氧率明显降低 ($P < 0.05$),且与模型组比较,加用 DCA 干预的实验组细胞耗氧率进一步降低 ($P < 0.05$),组间差异有统计学意义。见图 6。

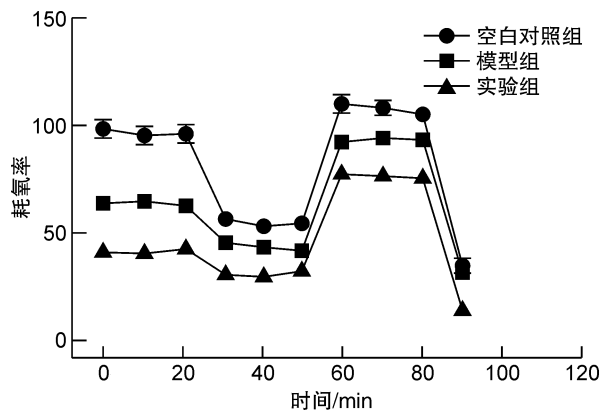


图 6 能量代谢对肠上皮细胞耗氧率的影响

2.7 能量代谢对肠上皮细胞呼吸指标的影响

呼吸代谢指标检测结果显示,与空白对照组比较,采用过氧化氢干预的模型组和实验组肠上皮细胞基础呼吸、质子渗漏、最大呼吸及储备呼吸率均明显降低 ($P < 0.05$),与模型组细胞比较,实验组肠上皮细胞基础呼吸、质子渗漏、最大呼吸、储备呼吸率及非线粒体呼吸均进一步降低 ($P < 0.05$),组间差异有统计学意义。见图 7。

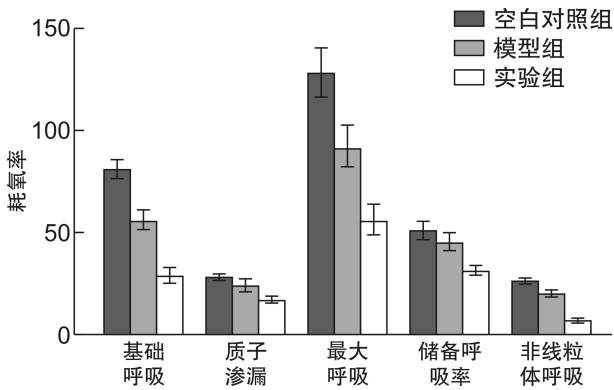


图7 能量代谢对肠上皮细胞呼吸指标的影响

2.8 能量代谢对肠上皮细胞活性氧百分含量的影响

采用 DCFH-DA 荧光探针法检测上皮细胞内活性氧自由基水平,实验结果显示,与空白对照组比较,模型组和实验组上皮细胞活性氧百分含量明显较高($P < 0.05$),且与模型组比较,进行能量代谢干预的实验组上皮细胞活性氧百分含量明显较高($P < 0.05$),组间差异有统计学意义。见图8。

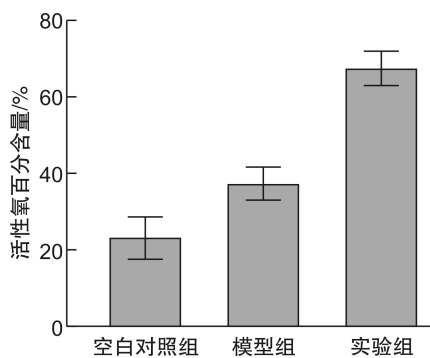


图8 能量代谢对肠上皮细胞活性氧百分含量的影响

3 讨论

肠黏膜屏障是机体肠道阻止有害物质进入组织循环的重要屏障,以肠道黏膜上皮屏障这一肠上皮细胞屏障最为关键^[9]。肠上皮细胞参与机体肠道消化、吸收、免疫屏障、氧化应激等生理功能,在机体内环境稳态的维持中起着重要作用^[10]。肠上皮细胞作为机体内代谢最快的一类细胞,极易受氧化应激刺激,与此同时,肠上皮细胞也是烧伤休克和缺血再灌注损伤的重要靶器官之一^[11]。了解肠上皮细胞在氧化应激中的功能作用和反应,对于修复肠道屏障损伤具有重要意义。

线粒体是细胞能量代谢的重要场所,不仅可产生 ATP 为细胞提供能量,还可产生活性氧调节细胞核基因表达,以此对氧化应激及细胞死亡作出反应,其结构和功能障碍直接影响细胞的生命活动^[12-13]。线粒体在细胞能量代谢中的作用已被证实,线粒体功能障碍是细胞能量代谢损伤产生的主

要原因之一^[14]。近来有研究发现,增加细胞线粒体质量,能有效逆转乳酸的过度生成,从而增加细胞 ATP 的生成,改善细胞产能^[15-16]。然而细胞线粒体的结构和功能是否受细胞能量调节的影响尚未明了。线粒体是应激反应状态下产生活性氧的主要来源,但同时线粒体也是活性氧的作用细胞器,细胞会根据线粒体的产能及活性氧合成情况,通过调节细胞内线粒体的数量以及质量来平衡细胞内环境,满足细胞的能量需求^[17-18]。即:细胞内线粒体的功能作用在一定程度上受细胞自身能量代谢的需要,为了探究细胞能量代谢对线粒体功能的影响,我们以线粒体为研究中心,通过过氧化氢干预构建肠上皮细胞体外炎症模型,在肠上皮细胞炎症的基础上,采用 DCA 干预进一步抑制肠上皮细胞的能量代谢,通过观察不同组别细胞活性、ATP 产生量、ATP 酶活性以及细胞呼吸效率等指标的改变,初步探索肠上皮细胞能量代谢对炎症性肠病线粒体病理的影响。

本研究结果显示,空白对照组肠上皮细胞线粒体形态结构正常,采用过氧化氢干预后,细胞出现炎症反应,线粒体肿胀,内嵴紊乱,甚至断裂消失,在肠上皮细胞炎症基础上进一步抑制能量代谢,可见线粒体出现气球样自噬泡,受损线粒体被自噬体吞噬,并与溶酶体融合。细胞功能实验结果显示,模型组和实验组肠上皮细胞活性受到明显抑制($P < 0.05$),细胞线粒体 ATP 生成量较低($P < 0.05$),ATP 酶活性较低($P < 0.05$),细胞线粒体膜电位也明显较低($P < 0.05$),提示在炎症基础上,进一步抑制细胞能量呼吸可降低细胞线粒体膜电位,抑制 ATP 酶活性,减少 ATP 产生。为了进一步探究上皮细胞能量代谢对线粒体功能作用的影响,本课题组对不同组别肠上皮细胞的呼吸及活性氧产生情况进行了检测,结果显示,模型组和实验组细胞耗氧率、基础呼吸、质子渗漏、最大呼吸、储备呼吸率、非线粒体呼吸等呼吸指标明显降低($P < 0.05$),其中实验组各呼吸指标进一步降低($P < 0.05$),细胞活性氧百分含量则明显较高($P < 0.05$),提示肠上皮细胞能量障碍可通过影响细胞活性氧含量及线粒体呼吸功能,参与调节线粒体产能情况,进而影响线粒体病理结构和功能作用。

综上所述,肠上皮细胞炎症状态下,上皮细胞能量障碍可通过抑制线粒体呼吸,降低膜电位,抑制线粒体产能。

参考文献

- [1] Abudayyak M, Gzel E, Gül Z. Cytotoxic, Genotoxic, and Apoptotic Effects of Nickel Oxide Nanoparticles in Intestinal Epithelial Cells[J]. Turk J Pharm Sci, 2020,17(4):446-451.

- [2] Ghosh AK, Sinha D, Biswas R, et al. IL-15 stimulates NKG2D while promoting IgM expression of B-1a cells [J]. *Cytokine*, 2017, 95:43-50.
- [3] Kwonil J, Ayako M, Hui H, et al. Susceptibility of porcine IPEC-J2 intestinal epithelial cells to infection with porcine deltacoronavirus(PDCoV) and serum cytokine responses of gnotobiotic pigs to acute infection with IPEC-J2 cell culture-passaged PDCoV[J]. *Veterinary Microbiol*, 2018, 221:49-58.
- [4] Yin A, Luo Y, Chen W, et al. FAM96A Protects Mice From Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis by Preventing Microbial Dysbiosis[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9:381.
- [5] Meng X, Dong H, Pan Y, et al. Diosgenyl Saponin Inducing Endoplasmic Reticulum Stress and Mitochondria-Mediated Apoptotic Pathways in Liver Cancer Cells[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(41):11428-11435.
- [6] Wang FY, Tang XM, Wang X, et al. Mitochondria-targeted platinum (II) complexes induce apoptosis-dependent autophagic cell death mediated by ER-stress in A549 cancer cells[J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 155:639-650.
- [7] Stein KT, Moon SJ, Nguyen AN, et al. Kinetic modeling of H₂O₂ dynamics in the mitochondria of HeLa cells [J]. *PLoS Computat Biol*, 2020, 16(9):e1008202.
- [8] Fujii K, Luo Y, Sasahira T, et al. Co-treatment with deoxycholic acid and azoxymethane accelerates secretion of HMGB1 in IEC6 intestinal epithelial cells[J]. *Cell Prolif*, 2010, 42(5):701-709.
- [9] Kessel D. Apoptosis, Paraptosis and Autophagy: Death and Survival Pathways Associated with Photodynamic Therapy[J]. *Photochem Photobiol*, 2019, 95(1):119-125.
- [10] Zheng XH, Li LC, Furtado GC, et al. Interleukin 33 regulates gene expression in intestinal epithelial cells independently of its nuclear localization[J]. *Cytokine*, 2018, 111:146-153.
- [11] Wan J, Zhang J, Chen D, et al. Alginate oligosaccharide-induced intestinal morphology, barrier function and epithelium apoptosis modifications have beneficial effects on the growth performance of weaned pigs [J]. *J Animal Sci Biotechnol*, 2018, 9(4):191-202.
- [12] Wang Z, Xu JH, Mou JJ, et al. Photoperiod Affects Harderian Gland Morphology and Secretion in Female *Cricetulus barabensis*: Autophagy, Apoptosis, and Mitochondria[J]. *Front Physiol*, 2020, 11:408.
- [13] Krzyszt M, Katarzyna K, Jolanta SK, et al. Excessive Endoplasmic Reticulum Stress Correlates with Impaired Mitochondrial Dynamics, Mitophagy and Apoptosis, in Liver and Adipose Tissue, but Not in Muscles in EMS Horses[J]. *Int J Mol*, 2018, 19(1):165.
- [14] Kicinska A, Jarmuszkiewicz W. Flavonoids and Mitochondria: Activation of Cytoprotective Pathways? [J]. *Molecules*, 2020, 25(13):3060.
- [15] Liu W, Beck BH, Vaidya KS, et al. Metastasis suppressor KISS1 seems to reverse the Warburg effect by enhancing mitochondrial biogenesis [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(3):954-963.
- [16] Fan XL, Men RT, Wang HR, et al. Methylprednisolone Decreases Mitochondria-Mediated Apoptosis and Autophagy Dysfunction in Hepatocytes of Experimental Autoimmune Hepatitis Model via the Akt/mTOR Signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:1189.
- [17] Chen S, Dong G, Wu S, et al. Novel fluorescent probes of 10-hydroxyevodiamine: autophagy and apoptosis-inducing anticancer mechanisms[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2019, 9(1):144-156.
- [18] Wang K, Zhan Y, Chen B, et al. Tubeimoside I-induced lung cancer cell death and the underlying crosstalk between lysosomes and mitochondria [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(8):708-711.

(收稿日期:2021-03-22)