

## 尼古丁对脐带间充质干细胞微观形貌及增殖活性的影响

钟启<sup>1</sup>, 覃永亮<sup>2</sup>, 曾慧兰<sup>3</sup>, 刘爽<sup>1</sup>, 张青<sup>1\*</sup>

1.广东省第二人民医院血液科, 广东 广州 510317; 2.江门市人民医院血液科, 广东 江门 529300;

3.暨南大学附属第一医院血液科, 广东 广州 510630

**摘要:**目的 探讨尼古丁对脐带间充质干细胞(MSCs)形态学、细胞周期、细胞增殖及凋亡的影响。方法 不同浓度尼古丁作用于MSCs,以相差显微镜及原子力显微镜(Atomic Force Microscope, AFM)观察形态学变化;MTT法分别于24h、48h、72h检测细胞增殖;流式细胞仪法于24h检测细胞周期与细胞凋亡。结果 尼古丁作用于MSCs后,细胞固缩,细胞膜表面形成空洞及凹陷,微绒毛样突起多见;细胞周期改变,G0/G1期的细胞比例明显增加( $P<0.05$ ),G2期及S期细胞比例则逐渐减少( $P<0.01$ ),周期阻滞随着尼古丁浓度递增而增加;细胞增殖受抑,呈时间剂量依赖性,凋亡率增高,0.5、1、1.5mg/mL的尼古丁作用MSCs 24h后,细胞凋亡率均高于对照组。0.5mg/mL组凋亡率( $4.867\pm 0.404$ )%与对照组( $3.300\pm 0.400$ )%比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );1mg/mL组凋亡率( $10.333\pm 0.961$ )%、1.5mg/mL组凋亡率( $44.367\pm 3.612$ )%与对照组比较,差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。结论 尼古丁使MSCs形态及超微结构发生早期凋亡改变,阻滞细胞周期,抑制细胞增殖且促进其凋亡。

**关键词:**尼古丁;间充质干细胞;增殖;凋亡;微观形貌

中图分类号:R329.24 文献标识码:A 文章编号:1009-9727(2015)08-912-05 DOI:10.13604/j.cnki.46-1064/r.2015.08.02

## The effects of nicotine on ultrastructure and proliferation of umbilical cord mesenchymal stem cells

ZHONG Qi<sup>1</sup>, Qin Yong-liang, ZENG Hui-lan, LIU Shuang, ZHANG Qing

1.Department of Hematology, Guangdong No.2 Provincial People's Hospital, Guangzhou 510317, Guangdong, P.R. China

Corresponding author: ZHANG Qing, E-mail: zhqing@vip.163.com

**Abstract:** Objective To explore the effects of nicotine on morphology, cell cycle, proliferation and apoptosis of umbilical cord mesenchymal stem cells (MSCs). **Methods** MSCs was treated with multiple concentration of nicotine, the variety of morphology was recorded by phase microscope and atomic force microscope. Cell growth was examined by MTT at 24h, 48h, 72h. Cell cycle and apoptosis were measured by flow cytometer at 24h. **Results** Upon nicotine treatment, the morphological changes of MSCs including cellular pyknosis, increased vacuolations, hollows and microvilli in the surface of cell membrane were noticed. The G0/G1 phase is dramatically increased ( $P<0.05$ ), accompanied by gradually reduction of G2 and S phase by nicotine stimulation in a dose-dependent manner ( $P<0.01$ ). Cell proliferation was inhibited by nicotine in a dose- and time-dependent manner. Compared with control group cell apoptosis rates in experimental groups were greatly increased by nicotine treatment for 24 hrs at 0.5, 1, 1.5 mg/mL. The cell apoptosis rate of cell treated with nicotine at 0.5mg/mL was  $4.867\pm 0.404\%$  and ( $3.300\pm 0.400\%$ ) in control group without significant difference ( $P>0.05$ ). The cell apoptosis rates of cells treated with nicotine at 1mg/mL and 1.5mg/mL were ( $10.333\pm 0.961\%$ ) and ( $44.367\pm 3.612\%$ ), respectively, all showed significant difference compared to that in control group ( $P<0.01$ ). **Conclusions** Nicotine stimulation can alter MSCs morphology, ultrastructure and induce early apoptosis, as well as inhibit cell cycle, proliferation and promote cell apoptosis.

**Key words:** Nicotine; Mesenchymal stem cells; Proliferation; Apoptosis; Topography

烟草依赖及戒断综合征困扰全球<sup>[1]</sup>。探讨尼古丁依赖机制,尼古丁在戒断综合征中发挥的作用对改善控烟现状有重大意义。Khaldoynidi等<sup>[2]</sup>报道尼古丁抑制骨髓MSC的CD44表达,但对MSCs的生物学特性的影响尚不明了。本文探讨尼古丁对脐带MSCs的形态学、细胞周期、细胞增殖及凋亡等的影响,阐明尼古丁致病机理,从而为有效的控烟措施提供依据。

## 1 材料与方法

1.1 材料 CO<sub>2</sub>培养箱(三洋MCO-18AIC);原子力显微镜(THERMO, USA);酶标仪(Biotek Instruments, NC);流式细胞检测仪(Becton Dickinson, USA)。尼古丁(北京伊普瑞斯公司);南美胎牛血清、DMEM/F12培养基、II型胶原酶(HyClone公司);青霉素、链霉素(民生药业);MTT、胰酶、碘化丙啶(GBICO公司);PI-An-

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目资助(No.81400168);

广州市健康医疗协同创新重大专项基金项目资助(No.201400000003-1)

作者简介:钟启(1986—),女,硕士,主治医师,研究方向:间充质干细胞。

\*通讯作者:张青, E-mail: zhqing@vip.163.com

nexin V 双染试剂盒(美国BD公司)。

## 1.2 方法

1.2.1 细胞分离培养<sup>[3]</sup> 健康足月剖宫产胎儿脐带(由暨南大学附属第一医院产科提供,均获得产妇及家属知情同意),剪碎,PBS洗涤,加0.2%Ⅱ型胶原酶、青、链霉素消化6h;过滤,滤液离心,沉淀重悬,接种。观察3~4d,细胞贴壁后换液和传代培养。

1.2.2 细胞形态学观察 细胞爬片后,实验组加入含100 g/L FBS的DMEM/F12培养基配制的尼古丁液(0.5、1 mg/mL),对照组加入含100 g/L FBS的DMEM/F12培养基,继续培养24h后,40g/L戊二醛固定盖玻片约10min,三蒸水漂洗,风干。相差显微镜及AFM观察MSCs形态及表面形貌变化。

1.2.3 PI法测定细胞周期 细胞以 $2 \times 10^5$ /mL接种于6孔板,培养24h,实验组加100 g/L FBS的DMEM/F12培养基配制不同浓度的尼古丁液;对照组加100 g/L FBS的DMEM/F12培养基,培养24h,常规消化细胞,PBS洗涤2次,70 g/L冰乙醇固定,200  $\mu$ L PI染色30min,各样本随机分析12 000个细胞,得各组细胞周期比例,以BD FAC Sort Cell Quest 软件分析结果。

1.2.4 MTT法测增殖抑制率<sup>[3]</sup> MSCs以 $3 \times 10^4$ /mL密度接种于96孔板。实验组加100g/L FBS的DMEM/F12培养基配制的尼古丁(0.5、1、1.5 mg/mL);对照组加100g/L FBS的DMEM/F12培养基。作用24、48和72h,加MTT 20 $\mu$ L,酶标仪测吸光度值(A490)。

1.2.5 Annexin V-FITC/PI双染测定细胞凋亡率 按试剂盒说明进行操作,(0.5、1、1.5 mg/mL)尼古丁液作用MSCs 24 h后,收集细胞,预冷的PBS洗涤3次,200  $\mu$ L缓冲液重悬细胞,加5 $\mu$ L Annexin V-FITC和10 $\mu$ L PI,避光染色30min(4℃),用流式细胞仪分析。

1.3 统计学分析 SPSS13.0统计软件进行统计学处理,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行单因素方差分析(One-way ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 尼古丁对MSCs形态学的影响 倒置显微镜下,正常细胞体积较大,外观呈纺锤状、梭状或多角形等

不规则形态;尼古丁作用后,0.5mg/mL组形态与对照组比较无明显变化;1mg/mL组,细胞萎缩明显,胞质中见大量空泡。AFM下,正常细胞呈长梭状,长度超过100 $\mu$ m,宽度达30~40 $\mu$ m,细胞骨架明显,胞质、胞核界限清晰,四周延伸出丝状伪足。尼古丁作用后,细胞固缩,细胞膜表面形成空洞及凹陷,胞质与胞核界限模糊,微绒毛样突起多见,见图1。

2.2 尼古丁对MSCs细胞周期的影响 0.4、0.6、0.8mg/mL的尼古丁作用MSCs 24h后,各组细胞各期比例发生明显改变。随浓度的增加,实验组与对照组相比,G0/G1期比例逐渐增高( $P < 0.05$ ),G2期及S期比例下降,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表1。

表1 尼古丁干预MSCs 24h后细胞周期比例的比较( $\bar{x} \pm s$ %)

Table 1 The effects of multiple concentration of nicotine on MSCs cell cycle(24h)

细胞周期 Cell cycle	尼古丁作用浓度 Nicotine concentration			
	0mg/mL	0.4mg/mL	0.6mg/mL	0.8mg/mL
G0/G1	73.73 $\pm$ 1.91	82.50 $\pm$ 0.27*	85.60 $\pm$ 0.15*	87.26 $\pm$ 0.32*
S	18.98 $\pm$ 1.57	12.97 $\pm$ 0.60**	10.14 $\pm$ 0.45**	8.87 $\pm$ 1.37**
G2/M	7.26 $\pm$ 0.60	4.29 $\pm$ 0.30**	4.25 $\pm$ 0.26**	3.76 $\pm$ 0.21**

注:与对照组比较(Compared with control),\*  $P < 0.05$ ,\*\*  $P < 0.01$ ;

2.3 尼古丁对MSCs增殖的影响 尼古丁(0.5、1、1.5mg/mL)作用MSCs 24、48和72h后,抑制MSCs的生长,并且呈时间浓度依赖性。0.5mg/mL尼古丁组在24h对MSCs增殖活性与对照组比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),48和72h组,细胞生长明显受抑( $P < 0.05$ )。1.0和1.5mg/mL尼古丁组各时间点与对照组相比,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表2。

2.4 尼古丁对MSCs凋亡率的影响 0.5、1、1.5mg/mL的尼古丁作用MSCs 24h后,细胞凋亡率均高于对照组。0.5mg/mL组凋亡率(4.867 $\pm$ 0.404)%与对照组(3.300 $\pm$ 0.400)%比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );1mg/mL和1.5mg/mL组凋亡率分别为(10.333 $\pm$ 0.961)%和(44.367 $\pm$ 3.612)%,与对照组比较,差异均有统计学意义( $F = 24.361, 181.294, P < 0.01$ ),见图2。

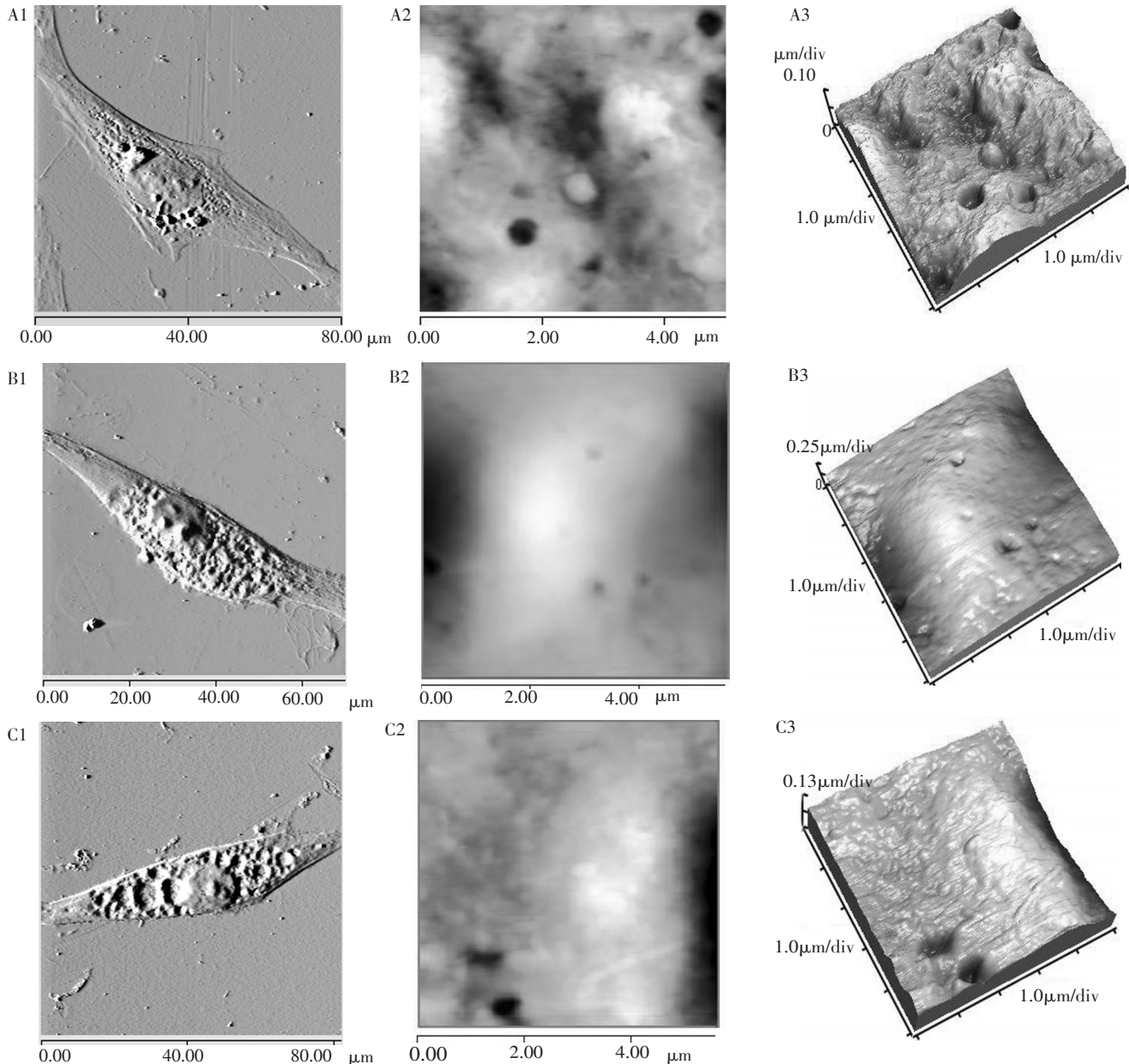
表2 不同浓度尼古丁对MSCs增殖的影响( $A_{490} \bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Inhibition of MSCs proliferation upon nicotine treatment at different concentration

组别	增殖率 $A_{490}$ Proliferation rate			抑制率 Inhibition rate		
	24h	48h	72h	24h	48h	72h
0 mg/mL	0.2362 $\pm$ 0.0144	0.4555 $\pm$ 0.0198	0.5101 $\pm$ 0.0305	0.00	0.00	0.00
0.5 mg/mL	0.2306 $\pm$ 0.0123	0.4035 $\pm$ 0.0227 <sup>a</sup>	0.4688 $\pm$ 0.0429 <sup>a</sup>	0.02	0.11	0.08
1.0 mg/mL	0.2095 $\pm$ 0.0119 <sup>b</sup>	0.1630 $\pm$ 0.0192 <sup>b</sup>	0.1060 $\pm$ 0.0094 <sup>b</sup>	0.11 <sup>c</sup>	0.64 <sup>c</sup>	0.79 <sup>c</sup>
1.5 mg/mL	0.1868 $\pm$ 0.0138 <sup>b</sup>	0.1012 $\pm$ 0.0080 <sup>b</sup>	0.0536 $\pm$ 0.0084 <sup>b</sup>	0.21 <sup>c</sup>	0.78 <sup>c</sup>	0.89 <sup>c</sup>

注:a与对照组比较,(Compared to control) $P < 0.05$ ;b与对照组比较(Compared to control) $P < 0.01$ ;

c与0.5mg/mL组比较(Compared to experimental group at 0.5mg/mL), $P < 0.01$ 。



注:A为对照组;B为实验组(0.5mg/mL);C为实验组(1mg/mL)。1为80μm微观形貌图;2为5μm微观形貌图;3为3D形貌图(μm/div为AFM标尺)。

Note: (A) Control. A1, overall topography of untreated MSCs; A2, enlarged area; and A3, 3D surface topography. (B) Nicotine treatment (0.5mg/mL, 24h). B1, overall topography of MSCs, B2, enlarged area; and B3, 3D surface topography. (C) Nicotine treatment (1mg/mL, 24h). C1, overall topographical of MSCs; C2, enlarged area; and C3, 3D surface topography.

图1 尼古丁作用后MSCs的微观形貌变化(24h)

Fig. 1 Effects of nicotine on MSCs topography(24h)

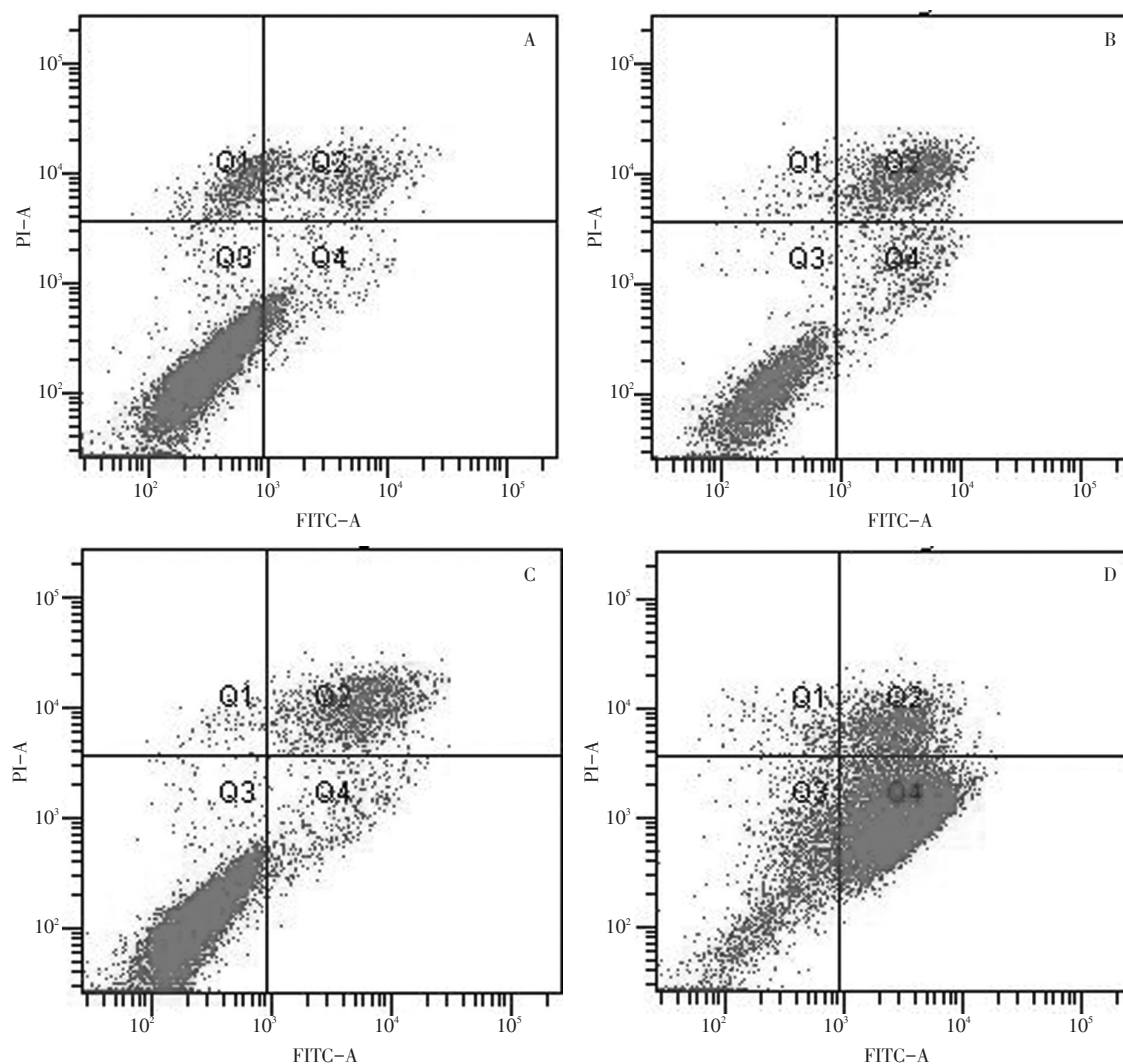
### 3 讨论

目前全世界的烟民数量约12亿,3.5亿在我国,每年死于吸烟相关疾病者大于100万,远远超过艾滋病、结核、交通事故死亡及自杀的总和。控制烟民数量、降低吸烟危害成为世界性的运动。尼古丁(烟碱nicotine)是烟草的主要活性成分,可促进阿尔茨海默病、肺气肿、肺癌等疾病发生<sup>[4-6]</sup>,破坏女性内分泌腺的正常调节功能,可大大增高流产率、早产率<sup>[7]</sup>。通过损伤骨髓基质细胞、干扰细胞代谢而影响造血微环境,

影响肝脏代谢功能和药物代谢,导致药物有效浓度降低,同时尚促进抗利尿激素释放,从而延迟代谢产物排出,导致药物在体内蓄积诱发中毒可能。

MSCs最早发现于骨髓,后来被证实存在于多种组织器官中,如脐带、胎盘、骨骼、脂肪、神经系统及肝肾等脏器。MSCs可分泌造血干细胞相关生长因子,调节造血干细胞的增殖和分化,MSCs功能受损将导致机体造血功能受损<sup>[8]</sup>。MSCs的多向分化潜能及免疫调节作用,使其在肿瘤免疫、基因治疗、组织修复工





注:A为对照组;B为实验组(0.5mg/mL);C为实验组(1mg/mL);D为实验组(1.5mg/mL)

Note:(A) Control group;(B) Experimental group(0.5mg/mL);(C) Experimental group(1mg/mL) (D) Experimental group(1.5g/mL.)

图2 不同浓度尼古丁作用MSCs后凋亡率(24h)

Fig. 2 Apoptosis rates of MSCs upon nicotine treatment at different concentration (24h)

程中发挥重要作用,目前许多临床研究已开始运用 MSCs 治疗各种细胞、组织工程相关疾病<sup>[9]</sup>。外源性 MSCs 在诱导因子作用下迁移到受损组织、器官,进行细胞和组织修复<sup>[10]</sup>,但是对于主动吸烟或被动吸烟者而言,吸入的尼古丁已进入血液并沉积于体内,干扰 MSCs 的生物学特性及免疫调节作用。

Lu 等<sup>[11]</sup>认为 MSCs 用化学方法诱导后出现的细胞改变是细胞毒性损害、胞浆收缩、细胞骨架改变的结果。研究者们对 MSCs 的超微结构观察多采用倒置显微镜,扫描电镜,透射电镜等,本研究应用 AFM 对于 MSCs 的微观形貌进行观察,国内外罕见报道。AFM 无侵入性及破坏性,在细胞的自然状态下进行观察,具有高空间分辨率<sup>[12]</sup>,本文结果发现尼古丁使 MSCs 发生细胞固缩,出现早期凋亡改变,这与 Ruiz JP 等<sup>[13]</sup>的结果一致, MSCs 在尼古丁的作用下,胞核及胞浆固

缩,与尼古丁浓度呈剂量依赖性,可使 MSCs 对于其他化学诱导或物理刺激应答减弱,由此影响 MSCs 在吸烟者体内治疗效能的发挥。细胞膜表面形成空洞及凹陷,微绒毛样突起多见等早期凋亡改变,而细胞形态与 MSCs 黏附、伸展、迁移、增殖等性能相关<sup>[14]</sup>,尼古丁减弱 MSCs 粘附迁移能力,干扰其迁移并粘附到靶向病变部位就起不到治疗作用。同时,本实验也提示尼古丁抑制细胞增殖,促进其凋亡,并呈剂量依赖性。尼古丁使 MSCs 的 DNA 合成阻滞在 G0/G1 分裂间期,使 S 期和 G2 期处于分裂增殖期的细胞 DNA 合成减少,细胞生长受到阻滞,从而 MSCs 数量减少。关艳中等<sup>[15]</sup>也发现尼古丁抑制粒细胞巨噬细胞集落刺激因子诱导的小胶质细胞增殖,显著减少小胶质细胞数量。可见体内沉积的尼古丁对 MSCs 的数量和质量的影响,均将干扰其体内的治疗效果。尼古丁在血管

内皮细胞及神经小中既有保护作用—抑凋亡,促生长;同时又有损伤作用—诱凋亡,抑生长<sup>[16]</sup>。低浓度尼古丁可促进内皮细胞增殖,而高浓度尼古丁则使细胞凋亡<sup>[17-18]</sup>。NO双重调控细胞凋亡,高浓度的NO可促使细胞凋亡,低浓度则延缓细胞凋亡<sup>[19]</sup>。Lee H等<sup>[20]</sup>研究表明,尼古丁通过增加NO和炎症因子的表达从而抑制鼠神经干细胞的增殖。本研究也提示低浓度的尼古丁对MSCs的抑制及凋亡作用并不明显,但随着尼古丁作用时间延长,或药物浓度增大,细胞受抑明显,且出现了大量凋亡细胞,与我们之前的研究结果相一致。高浓度的ROS攻击线粒体膜,致使其发生脂质过氧化,通透性改变,释放凋亡诱导因子,从而形成ROS-线粒体损伤的恶性循环,则细胞凋亡不可逆转<sup>[21-22]</sup>。另一方面,氧化应激、一氧化氮合酶(NOS)、诱生型一氧化氮合酶(iNOS)亦可导致细胞活性和功能受到损伤,与细胞凋亡也关系密切。Zanetti F等<sup>[23]</sup>研究证明,尼古丁通过NOX1和BCL-2调控肺上皮细胞的氧化应激和凋亡。我们之前的实验也提出,尼古丁可增加脐带MSCs的NOS及iNOS活性,从而导致细胞氧化应激损伤,诱生氧化—抗氧化系统失衡<sup>[24]</sup>。

本实验应用AFM发现了脐带MSCs的微观形貌发生早期凋亡改变,与其强大的增殖、迁移、分化潜能密不可分,为其在组织工程中的应用拓展空间。提出尼古丁对脐带MSCs有毒性作用的理念,尼古丁可阻滞细胞周期,抑制细胞增殖且促进其凋亡,减弱细胞粘附能力,干扰细胞定向迁移至靶向部位,降低MSCs的组织修复能力等。下一步拟研究尼古丁依赖症状相关的调控机制,寻求治疗戒断症状的新靶点。

## 参考文献

- [1] Harrison-Woolrych M, Ashton J. Utilization of the smoking cessation medicine varenicline: an intensive post-marketing study in New Zealand[J]. *Pharmacoepidemiology and drug safety*, 2010, 19(9): 949 - 953.
- [2] Khaldoyanidi S, Sikora L, Orlovskaya I, et al. Correlation between nicotine induced inhibition of hematopoiesis and decreased CD44 expression on bone marrow stromal cells[J]. *Blood*, 2001, 98(2):303-312.
- [3] Zeng HL, Zhong Q, Qin YL, et al. Hypoxia-mimetic agents inhibit proliferation and alter the morphology of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells[J]. *BMC Cell Biology*, 2011, 12(32):1-10.
- [4] Durazzo TC, Mattsson N, Weiner MW, et al. Smoking and increased Alzheimer's disease risk: a review of potential mechanisms[J]. *Alzheimer's Dement*, 2014, 10(3 Suppl): 122-145.
- [5] Schaal C, Chellappan SP. Nicotine-mediated cell proliferation and tumor progression in smoking-related cancers[J]. *Mol Cancer Res*, 2014, 12(1): 14-23.
- [6] Chernyavsky AI, Shchepotin IB, Galitovskiy V, et al. Mechanisms of tumor-promoting activities of nicotine in lung cancer: synergistic effects of cell membrane and mitochondrial nicotinic acetylcholine receptors[J]. *BMC Cancer*, 2015, 15(152): 1-12.
- [7] Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Storgaard L, et al. Is prenatal exposure to tobacco smoking a cause of poor semen quality? A follow-up study[J]. *Am J Epidemiol*, 2007, 165(12):1372-1379.
- [8] Maitra B, Szekely E, Gjini K, et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation[J]. *Bone Marrow Transplantation*, 2004, 33(6):597-604.
- [9] Ramdasi S, Sarang S, Viswanathan C, et al. Potential of Mesenchymal Stem Cell based application in Cancer[J]. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*, 2015, 9(2): 95-103.
- [10] Karussis D, Kassir I, Kurkalli BG, et al. Immunomodulation and neuroprotection with mesenchymal bone marrow stem cells (MSCs): A proposed treatment for multiple sclerosis and other neuroimmunological/neurodegenerative diseases[J]. *J Neurol Sci*, 2008, 265(1-2):131-135.
- [11] Lu P, Blesch A, Tuszynski MH. Induction of bone marrow stromal cells to neurons: differentiation, transdifferentiation, or artifact[J]? *J Neurosci Res*, 2004, 77(2): 174-191.
- [12] Muller DJ. AFM: a nanotool in membrane biology[J]. *Biochemistry*, 2008, 47(31): 7986-7998.
- [13] Ruiz JP, Pelaez D, Dias J, et al. The effect of nicotine on the mechanical properties of mesenchymal stem cells[J]. *Cell Health Cytoskeleton*, 2012, 28(4): 29-35.
- [14] Kidoaki S, Matsuda T. Shape-engineered fibroblasts: cell elasticity and actin cytoskeletal features characterized by fluorescence and atomic force microscopy[J]. *Biomed Mater Res A*, 2007, 81(4): 803-810.
- [15] 关艳中, 金秀东, 高天明, 等. 尼古丁对小胶质细胞增殖的影响[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2007, 41(6):566-568.
- [16] 张涛, 程汉华, 周荣家, 等. 尼古丁调控细胞凋亡的分子机制[J]. *细胞生物学杂志*, 2006, 28(6): 827-832.
- [17] 朱军慧, 王兴祥, 陈君柱, 等. 尼古丁对外周血内皮干细胞数量和活性的影响[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2005, 19(3):199-2004.
- [18] Yu J, Huang NF, Wilson KD, et al. nAChRs Mediate Human Embryonic Stem Cell-Derived Endothelial Cells: Proliferation, Apoptosis, and Angiogenesis[J]. *PLoS One*, 2009, 4(9):1-10.
- [19] 赵君怡, 刘伟国, 郭秀丽, 等. 一氧化氮与细胞凋亡相关疾病的关系及其调控[J]. *中国药理学杂志*, 2010, 45(14):1044-1047.
- [20] Lee H, Park JR, Yang J, et al. Nicotine inhibits the proliferation by upregulation of nitric oxide and increased HDAC1 in mouse neural stem cells[J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2014, 50(8):731-739.
- [21] 覃永亮, 曾慧兰, 卜欠欠, 等. 尼古丁诱导人脐带间充质干细胞凋亡的机制[J]. *暨大学学报*, 2011, 32(6):598-601.
- [22] 曾慧兰, 卜欠欠, 陈慧中, 等. 尼古丁对人脐带间充质干细胞增殖和迁移的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(5):778-783.
- [23] Zanetti F, Giacomello M, Donati Y, et al. Nicotine mediates oxidative stress and apoptosis through cross talk between NOX1 and Bcl-2 in lung epithelial cells[J]. *Free Radic Biol Med*. 2014, 20(76C):173-184.
- [24] 卜欠欠, 陈慧中, 曾慧兰, 等. 尼古丁对人脐带间充质干细胞氧化应激的影响[J]. *暨南大学学报*, 2012, 33(4):362-366.

收稿日期:2015-04-20 编辑:符式刚