

3-氯-1,2-丙二醇通过线粒体途径诱导 HK2 细胞凋亡

晋程妮^{1,2} 李 洋¹ 闫帅帅¹ 徐建国¹ 彭晓丽²

(1. 山西师范大学食品科学学院, 山西 太原 030000;

2. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 咸阳 712100)

摘要: [目的] 探究食品污染物 3-氯-1,2-丙二醇 (3-monochloropropane-1,2-diol, 3-MCPD) 对人肾小管上皮细胞系 (HK2) 的毒性作用及机制。[方法] 通过 MTT 法、Hoechst 33342 染色法、试剂盒及 Western blot 检测了细胞存活率、形态、线粒体功能、酶活性及凋亡相关蛋白的表达。[结果] 浓度低于 80 mmol/L 的 3-MCPD 处理 24 h 后, 细胞存活率呈浓度依赖性降低。20, 30 mmol/L 的 3-MCPD 处理不同时间后, 细胞存活率呈时间依赖性降低。20, 40, 60 mmol/L 的 3-MCPD 引起 LDH 的释放率增加, 线粒体膜电位和 ATP 水平降低, 荧光显微镜观察可见高强度的蓝色荧光, 核皱缩, 凋亡小体等细胞凋亡现象。同时, 3-MCPD 处理能降低抗凋亡蛋白 Bcl2 的表达, 增加促凋亡蛋白 Bax 的表达, 提高 Caspase 9 和 Caspase 3 的酶活性, 且呈浓度依赖性。[结论] 3-MCPD 对 HK2 细胞具有毒性作用, 并通过线粒体途径诱导其凋亡。

关键词: 3-氯-1,2-丙二醇; HK2 细胞; 线粒体; 细胞凋亡

3-Monochloropropane-1,2-diol induced cell apoptosis in HK2 cells via mitochondria-dependent pathway

JIN Chengni^{1,2} LI Yang¹ YAN Shuaishuai¹ XU Jianguo¹ PENG Xiaoli²

(1. College of Food Science, Shanxi Normal University, Taiyuan, Shanxi 030000, China; 2. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Xianyang, Shaanxi 712100, China)

Abstract: [Objective] This study investigated the toxic effects of the food contaminant 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) on the human renal tubular epithelial cell line (HK2) and examined the underlying mechanisms. [Methods] Cell viability, morphology, mitochondrial function, enzyme activities, and apoptosis-associated proteins expressions were assessed using MTT assay, Hoechst 33342 staining, biochemical test kits and Western blot, respectively. [Results] Results showed a concentration-dependent decrease in cell viability when 3-MCPD was below 80 mmol/L for 24 h. Treatment with 20 and 30 mmol/L 3-MCPD over varying durations also led to a time-dependent reduction in cell viability. Additionally, 3-MCPD at 20, 40 and 60 mmol/L significantly increased LDH release, decrease mitochondrial membrane potential, and lowered ATP levels. Fluorescence microscopy revealed notable morphological changes, including bright blue fluorescence, nuclear shrinkage and apoptosis bodies. Furthermore, 3-MCPD treatment downregulated the anti-apoptotic protein Bcl2, upregulated the pro-apoptotic protein Bax, and increased Caspase 9 and Caspase 3 activity in a dose-dependent manner. [Conclusion] 3-MCPD exhibits toxic effects on HK2 cells and induces apoptosis through a mitochondria-dependent pathway.

Keywords: 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD); HK2 cells; mitochondria; apoptosis

3-氯-1,2-丙二醇 (3-monochloropropane-1,2-diol, 3-MCPD) 是氯丙醇类化合物中最常见的食品污染物, 以游离状态或酯结合的形式在酱油、植物油、婴幼儿配方奶粉、谷类食品、水产品等多种食品中广泛存在^[1]。3-MCPD

最初是作为酸水解植物蛋白的副产物, 通过盐酸作用于残留的脂质而被检测到, 通常用作咸味增强剂^[2]。最近的研究^[3]发现, 3-MCPD 也可在植物油的高温加工过程中形成, 主要发生在除臭阶段。单甘油酯、双甘油酯和氯离子

基金项目: 山西省自然科学基金 (编号: 202203021222231); 山西师范大学自然科学基金 (编号: 020820240001/0113)

通信作者: 彭晓丽 (1982—), 女, 西北农林科技大学副教授, 博士。E-mail: xiaolipeng@nwfau.edu.cn

收稿日期: 2024-05-12 改回日期: 2024-08-15

等前体物质的浓度,以及加工过程中的温度和持续时间等因素会影响 3-MCPD 的形成^[4]。此外,该污染物在与食品基质接触后从食品包装或接触材料迁移到食品中,这是因为聚酰胺环氧氯丙烷树脂 (polyamide-epichlorohydrin resin, PAE) 是用于纸制品防潮的主要湿强剂,在合成 PAE 树脂的过程中会产生环氧氯丙烷,其水解生成 3-MCPD^[5]。目前,日常饮食中 3-MCPD 的基本来源主要是精炼食用油,许多食品在加工过程中都会使用精炼植物油,不可避免地将其引入各种类型的食品中。例如,植物油中 3-MCPD 酯含量不超过 8.39 mg/kg,平均值为 1.46 mg/kg^[6];葵花籽油、玉米油、榛子油、精炼橄榄油和人造黄油中 3-MCPD (含 3-MCPD 酯) 含量分别为 0.02~0.44, 0.05~0.37, 0.06~2.12, 0.16~11.69, 0.14~1.17 mg/kg^[4];婴幼儿配方奶粉中 3-MCPD 酯含量为 1.7~362.9 $\mu\text{g/kg}$,平均值为 53.3 $\mu\text{g/kg}$ ^[7];油炸薯片中 3-MCPD 酯含量为 0.04~0.37 $\mu\text{g/g}$ 薯片^[8]。而且,游离形式的 3-MCPD 仅占食品污染的一小部分,而 3-MCPD 酯占主导地位^[2,4]。先前的研究^[9]表明,3-MCPD 酯在消化过程中被脂肪酶催化,并有效地水解为游离形式的 3-MCPD,经血液吸收后分布到全身的各器官和组织中,危害人体健康,因此认为 3-MCPD 酯的毒性与其游离形式相当。3-MCPD 可在体内诱导各种毒性作用,如肾脏毒性、生殖毒性、免疫毒性、神经毒性和致癌性等^[10]。体内、体外试验^[11-12]表明,肾脏对 3-MCPD 的毒性作用最为敏感。灌胃 30 mg/kg 3-MCPD 会导致大鼠肾体比增加,血清肌酐和尿素氮水平显著提高,组织病理学结果显示部分集合管上皮细胞变性肿胀,肾小管上皮细胞轻微脱落^[13]。最近的一项研究^[11]显示,45 mg/kg 3-MCPD 灌胃处理大鼠 28 d 后,其肾小管和肾小球结构严重受损,肾小管间质可见炎性细胞浸润,肾小球内可见嗜酸性粒细胞增多。

关于 3-MCPD 致肾毒性的机制研究已有很多报道,主要有抑制糖酵解和能量的产生^[14]、氧化应激^[15]、线粒体损伤^[12]、诱导细胞凋亡和自噬^[16]等。其中,越来越多的研究表明线粒体介导的细胞凋亡参与了 3-MCPD 的肾毒性进展。细胞凋亡是指为维持内环境稳定,由基因控制的一种程序性细胞死亡^[17]。外源化合物可通过多种途径诱导细胞凋亡的发生,包括线粒体途径、死亡受体途径和内质网应激。体外试验^[18]显示,3-MCPD 暴露导致线粒体氧化磷酸化损伤,引起活性氧水平升高,线粒体膜电位丧失。3-MCPD 可通过线粒体途径调控细胞凋亡^[19]。而且,线粒体分裂与融合动力学紊乱导致线粒体损伤和凋亡,最终降低肾细胞的存活率^[20]。3-MCPD 暴露也可引发细胞内钙超载,导致线粒体损伤和内质网应激^[21]。3-MCPD 诱导的多种形式的细胞凋亡都有线粒体的参与,线粒体结构和功能受损,继而引起细胞活力下降,最终导致细胞死亡和肾损伤。前期的体外研究多是以人胚肾细胞为模

型,而对于其他细胞模型的研究较少。研究拟将不同浓度的 3-MCPD 作用于人肾小管上皮细胞系 (HK2),检测细胞活性、乳酸脱氢酶活性、线粒体膜电位、ATP、Caspase 9 和 Caspase 3 活性等细胞凋亡指标以及细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl2 的表达水平,探究 3-MCPD 对 HK2 细胞凋亡的影响,以阐明 3-MCPD 诱导肾细胞毒性的作用机理,以期寻求 3-MCPD 毒性作用的靶点及解毒方法提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

3-MCPD:纯度 $\geq 98\%$,北京百灵威科技有限公司;

HK2 细胞株:武汉普诺赛生命科技有限公司;

DMEM 高糖培养基、0.25% 胰酶 EDTA 溶液、青霉素-链霉素双抗溶液 (100 $\times$):上海源培生物科技股份有限公司;

胎牛血清:美国 Gibco 公司;

噻唑蓝 (methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT):纯度 $\geq 98\%$,北京索莱宝科技有限公司;

BCA 蛋白定量试剂盒:康为世纪生物科技股份有限公司;

超敏 ECL 化学发光试剂盒:苏州新赛美生物科技有限公司;

Bcl2 Polyclonal antibody、Bax Polyclonal antibody:武汉三鹰生物科技有限公司;

Hoechst 33242 染色液、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 细胞毒性检测试剂盒、ATP 检测试剂盒、线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 检测试剂盒、Caspase 9 活性检测试剂盒、Caspase 3 活性检测试剂盒、Western 及 IP 细胞裂解液、苯甲基磺酰氟 (phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF)、蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物 (50 $\times$)、 β -actin Mouse Monoclonal antibody、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (H+L)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG (H+L):上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 仪器与设备

CO₂ 培养箱:HF90 型,上海力申科学仪器有限公司;

低速离心机:TD5A-WS 型,湘仪离心机仪器有限公司;

超速冷冻离心机:PTIMAL-100XP 型,美国 Beckman 公司;

多功能酶标仪:VictorX303030923 型,美国 PE 公司;

倒置荧光显微镜:DMI8 型,德国 Leica 公司;

化学发光成像系统:Champ Chemi 610 Plus 型,北京赛智创业科技有限公司;

立式灭菌器:新华牌 LMQ.C 型,山东新华医疗器械股份有限公司;

电热恒温鼓风干燥箱:DGG-9140A 型,上海森信实验

仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 细胞培养与传代 HK2细胞培养于DMEM高糖培养基(含10%胎牛血清和1%青霉素—链霉素双抗溶液)中,置于含5% CO₂的37℃培养箱。待细胞融合度达到80%左右时,胰酶消化传代。选择对数生长期的细胞进行后续试验。

1.3.2 MTT法测定细胞存活率 HK2细胞接种于96孔板(1×10⁴个/孔)中,待细胞贴壁后,弃去原培养基,加入用DMEM培养基配制的不同浓度(0,10,20,30,40,50,60,80 mmol/L)的3-MCPD溶液,培养细胞24 h。随后每孔加入10 μL 5 mg/mL MTT溶液,继续孵育4 h,弃掉上清液,各孔加入150 μL DMSO,室温下振荡10 min,570 nm处测定吸光度值,并计算存活率,获得合适的3-MCPD浓度,供进一步研究。

1.3.3 LDH活性的检测 HK2细胞接种于96孔板中,培养细胞至融合状态,弃去原培养基,分别加入不同浓度(0,20,40,60 mmol/L)的3-MCPD溶液,孵育24 h,400×g离心5 min,取上清。向各孔的上清液中加入试剂盒提供的LDH检测工作液,室温下避光孵育30 min,490 nm处测定吸光度值,并计算LDH释放率。

1.3.4 细胞形态染色 HK2细胞接种于12孔板中,培养结束后弃去上清液,各孔加入250 μL Hoechst 33342染色液,避光染色5 min,用PBS洗涤2次后置于荧光显微镜下观察细胞形态。

1.3.5 线粒体功能的检测

(1) 线粒体膜电位的测定:HK2细胞接种于6孔板中,培养结束后弃去上清液,各孔加入1 mL培养液和1 mL JC-1染色工作液混匀,37℃下孵育30 min。然后用JC-1染色缓冲液洗涤细胞2次,加入2 mL培养液后置于荧光显微镜下观察,并在激发波长490 nm、发射波长530 nm(JC-1为单体,绿色荧光)和激发波长525 nm、发射波长590 nm(JC-1为聚合物,红色荧光)下分别测定荧光值。

(2) ATP水平的测定:HK2细胞接种于6孔板中,培养结束后弃去上清液,各孔加入200 μL裂解液裂解细胞,4℃、12 000×g离心5 min,取上清。向96孔全黑酶标板中依次加入100 μL ATP检测工作液和30 μL上清液或ATP标准溶液,混匀后用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪测定。

1.3.6 Caspase 9和Caspase 3酶活性的检测 HK2细胞接种于6孔板中,培养结束后弃去上清液,胰酶消化收集细胞于离心管内。向各管内加入150 μL裂解液,冰浴裂解细胞15 min,4℃、16 000×g离心15 min,取上清。随后,向96孔酶标板中依次加入20 μL检测缓冲液、25 μL上清液、5 μL 2 mmol/L Ac-LEHD-pNA或Ac-DEVD-

pNA,混匀后于37℃孵育2 h,405 nm处测定吸光度值,通过标准曲线计算Caspase 9和Caspase 3酶活性。

1.3.7 Western blot检测Bax、Bcl2蛋白表达 HK2细胞接种于细胞培养皿中,培养结束后弃去上清液,PBS洗涤后加入细胞裂解液(含1 mmol/L PMSF和1×蛋白酶磷酸酶抑制剂)裂解细胞,然后用细胞刮铲将其收集到离心管中,4℃、12 000×g离心5 min,取上清。蛋白样品定量变性后,依次进行电泳分离、冰浴下将蛋白转移到PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭2 h,随后加入相应的一抗(Bax、Bcl2、β-actin),4℃孵育过夜。次日室温下孵育二抗2 h,随后进行化学发光显影。结果用Image J软件进行灰度分析。

1.4 数据分析

采用Origin 2018软件绘图,数据用平均值±标准差表示,并采用SPSS 20.0软件进行统计分析,各组间采用单因素方差分析, $P<0.05$ 时认为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 3-MCPD对HK2细胞存活率的影响

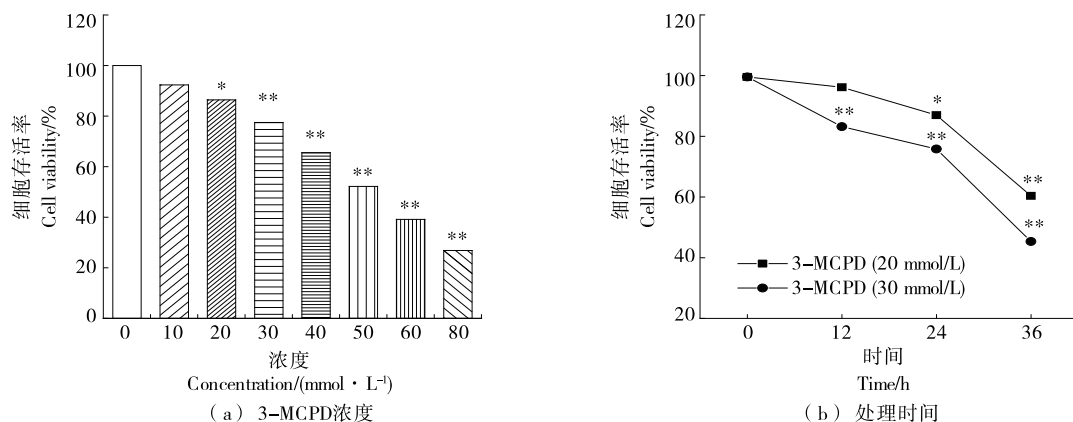
由图1可知,不同浓度(10,20,30,40,50,60,80 mmol/L)的3-MCPD作用HK2细胞24 h后,随着3-MCPD浓度的升高,细胞存活率逐渐下降,与在大鼠肾小管上皮细胞NRK-52E和人胚肾细胞HEK293上观察到的结果一致^[12,20]。而且,动物试验^[12]证实肾脏是3-MCPD的靶器官,具有显著的肾毒性,表明3-MCPD能诱导HK2细胞活力下降,且具有浓度依赖性。3-MCPD浓度在20,30 mmol/L时出现显著抑制作用,细胞存活率分别下降13.59%($P<0.05$)和22.51%($P<0.01$),基于此,试验进一步探究了3-MCPD作用于HK2细胞不同时间后对细胞存活率的影响。3-MCPD浓度为20,30 mmol/L作用细胞12,24,36 h后,同一浓度下,随着处理时间的增加,细胞存活率呈下降趋势,与Liu等^[16]的研究结果一致。综上,3-MCPD暴露可引起显著的细胞毒性,且呈浓度和时间依赖性。

2.2 3-MCPD对HK2细胞LDH活性的影响

由图2可知,浓度为20,40,60 mmol/L的3-MCPD处理HK2细胞24 h后,LDH释放率分别为1.92%,8.37%($P<0.01$),23.76%($P<0.01$)。健康细胞的LDH在其细胞质中稳定,如果细胞膜结构受到破坏,LDH就会从细胞浆内释放到细胞外。因此,细胞培养液中LDH的活性水平可以反映出药物作用对细胞的毒性情况^[22]。3-MCPD能诱导细胞培养上清液中LDH水平呈浓度依赖性增加,表明3-MCPD处理引起HK2细胞中的LDH释放,对HK2细胞具有毒性作用。

2.3 3-MCPD对HK2细胞形态的影响

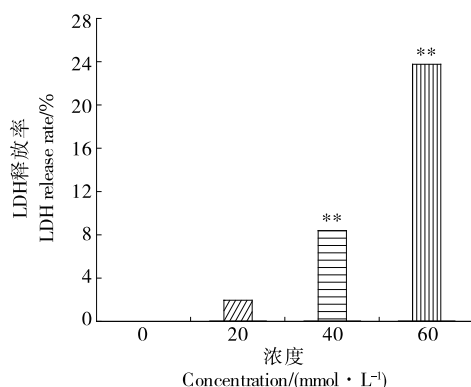
由图3可知,HK2细胞经Hoechst 33342染色后,未经3-MCPD处理的细胞呈现出均匀的低强度的蓝色荧光,经



与未经 3-MCPD 处理组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 1 3-MCPD 对 HK2 细胞存活率的影响

Figure 1 Effects of 3-MCPD on the viability of HK2 cells



与未经 3-MCPD 处理组相比, ** $P < 0.01$

图 2 3-MCPD 对 HK2 细胞 LDH 活性的影响

Figure 2 Effects of 3-MCPD on the LDH activity of HK2 cells

胞形态完整,细胞核呈椭圆形态,细胞边缘清晰;浓度为 20,40 mmol/L 时 3-MCPD 处理的细胞部分呈现高强度的颗粒状蓝色荧光,出现细胞体积缩小、边界不清晰或核皱缩等细胞凋亡现象;浓度为 60 mmol/L 时 3-MCPD 处理的细胞呈现染色加深现象,出现细胞破裂或核皱缩,部分细胞核染色质呈新月形聚集于核膜一侧,以及凋亡小体。一般来说, Hoechst 33342 能够穿透细胞膜并与 DNA 结合,发出蓝色荧光,被用于细胞凋亡检测,因为细胞死亡会增加膜的潜在损失以及改变染色体构型^[23]。凋亡细胞的形态学特征为细胞体积缩小,核浓缩,细胞染色质 DNA 降解,凋亡小体形成,最终凋亡小体被吞噬细胞吞噬^[24]。因此, Hoechst 33342 染色结果表明 3-MCPD 处理诱导 HK2 细胞发生凋亡,与之前在其他细胞^[19,25]上观察到的结果一致。

2.4 3-MCPD 对 HK2 细胞线粒体功能的影响

由图 4 和图 5 可知,与未经 3-MCPD 处理组相比,20,

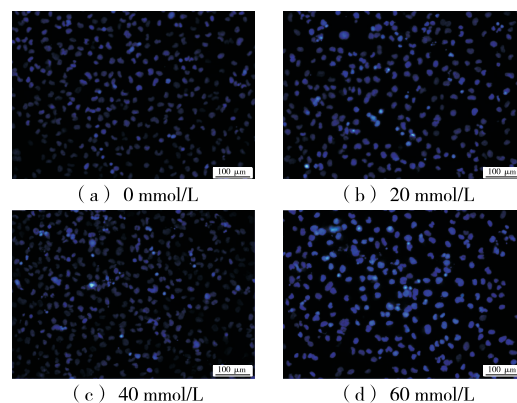


图 3 3-MCPD 对 HK2 细胞形态的影响

Figure 3 Effects of 3-MCPD on the morphology of HK2 cells

40,60 mmol/L 3-MCPD 处理组表现为红色荧光减弱,绿色荧光增强, MMP 显著降低 ($P < 0.01$), 分别下降了 22.10%, 32.05%, 38.49%。经 20,40,60 mmol/L 3-MCPD 处理后,相较于未经 3-MCPD 处理组, ATP 水平分别减少

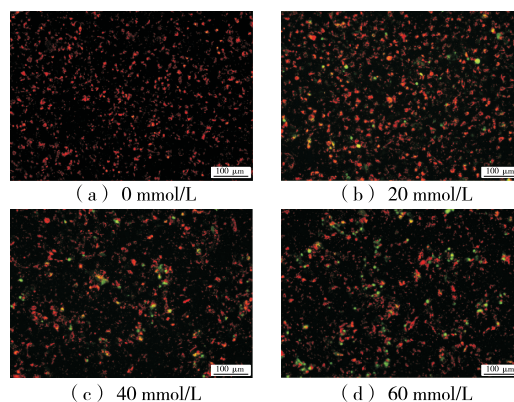
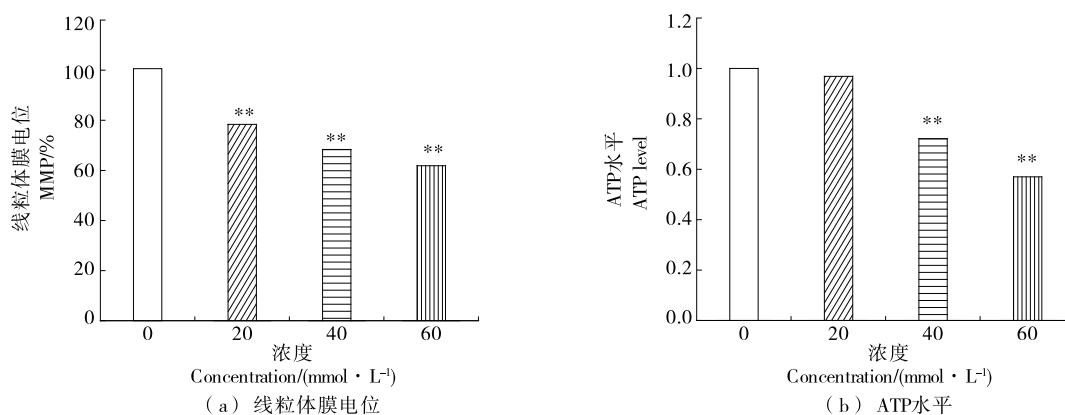


图 4 3-MCPD 对 HK2 细胞 MMP 荧光强度的影响

Figure 4 Effects of 3-MCPD on the MMP fluorescence intensity of HK2 cells

到0.97,0.72($P<0.01$),0.57($P<0.01$)倍。肾脏是一个能量需求高、线粒体丰富的器官^[26]。已发现线粒体功能障碍与3-MCPD诱导肾损伤和细胞死亡有关^[18-19,21]。线粒体不仅通过氧化磷酸化产生ATP,为机体提供能量,还参与介导细胞凋亡的发生^[27]。MMP显著降低通常与细胞凋亡的早期发作有关。在细胞受到凋亡诱导因素刺激时,线粒体内外膜之间通透性转运孔开放,线粒体膜通透性增加,致使MMP下降,导致各种凋亡相关因子的活化和

释放^[28]。JC-1染色的独特性源于其表现出双发射荧光的能力,其随MMP水平的变化而变化。在高MMP情况下,JC-1在线粒体中形成聚集体,产生红色荧光;另一方面,低MMP、线粒体去极化导致JC-1保持单体状态,发出绿色荧光^[22]。因此,在暴露于3-MCPD的HK2细胞中观察到MMP的显著降低表明细胞凋亡的开始。而且,3-MCPD处理致使MMP下降和ATP减少,说明3-MCPD引起HK2细胞线粒体损伤。



与未经3-MCPD处理组相比,** $P<0.01$

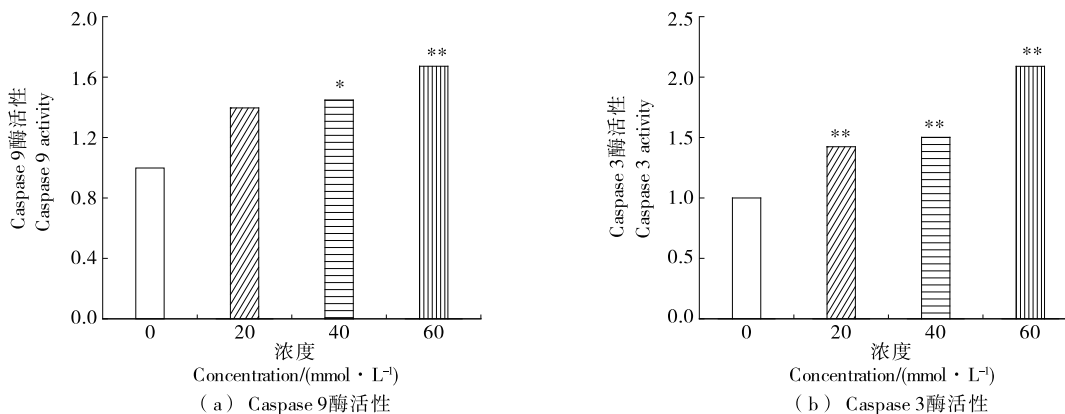
图5 3-MCPD对HK2细胞MMP和ATP水平的影响

Figure 5 Effects of 3-MCPD on the MMP and ATP levels of HK2 cells

2.5 3-MCPD对HK2细胞Caspase 9和Caspase 3酶活性的影响

由图6可知,与未经3-MCPD处理组相比,20,40,60 mmol/L 3-MCPD处理组Caspase 9酶活性分别提高到1.40,1.45($P<0.05$),1.67($P<0.01$)倍,Caspase 3酶活性分别升高到1.42($P<0.01$),1.50($P<0.01$),2.09($P<0.01$)倍,均具有正的剂量依赖效应。Caspase 9和Caspase 3是细胞凋亡发生过程中的关键酶,参与介导线

粒体凋亡途径。细胞凋亡是由许多改变线粒体膜通透性的信号引起的,这些信号增强促使细胞色素C从线粒体外膜释放到细胞质中,细胞色素C可以与Apaf-1和Pro-Caspase 9连接以激活Caspase 9,进一步引起Caspase 3激活,最终诱导细胞凋亡^[29]。在3-MCPD暴露的HK2细胞中检测到Caspase 9和Caspase 3的酶活性增加,说明3-MCPD诱导细胞凋亡发生,这与体内试验^[13,21]观察到的结果一致。



与未经3-MCPD处理组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$

图6 3-MCPD对HK2细胞Caspase 9和Caspase 3酶活性的影响

Figure 6 Effects of 3-MCPD on the Caspase 9 and Caspase 3 activities of HK2 cells

2.6 3-MCPD对HK2细胞Bax、Bcl2蛋白表达水平的影响

利用Western blot检测了细胞内Bax和Bcl2蛋白的表达水平,由图7可知,与未经3-MCPD处理组相比,20,40,60 mmol/L 3-MCPD处理组Bax蛋白表达分别升高到1.40 ($P<0.01$),1.52($P<0.01$),1.79($P<0.01$)倍,而Bcl2蛋白表达分别降低到0.94,0.83($P<0.05$),0.63($P<0.01$)倍。Bcl2家族分子在细胞凋亡的调控中发挥着重要作用,通过促凋亡和抗凋亡分子相互作用来控制细胞的凋亡和存

活^[30]。抗凋亡蛋白Bcl2与促凋亡蛋白Bax之间的不平衡刺激线粒体内膜分泌细胞色素复合物,并促进Caspases的激活^[31]。前期研究^[21]表明,Bax表达升高而Bcl2表达降低是3-MCPD损伤肾脏和诱导细胞凋亡的重要事件。试验发现3-MCPD可降低HK2细胞内抗凋亡蛋白Bcl2的表达,增加促凋亡蛋白Bax的表达,且Caspase 9和Caspase 3的活性明显升高,表明3-MCPD经线粒体途径诱导HK2细胞凋亡。

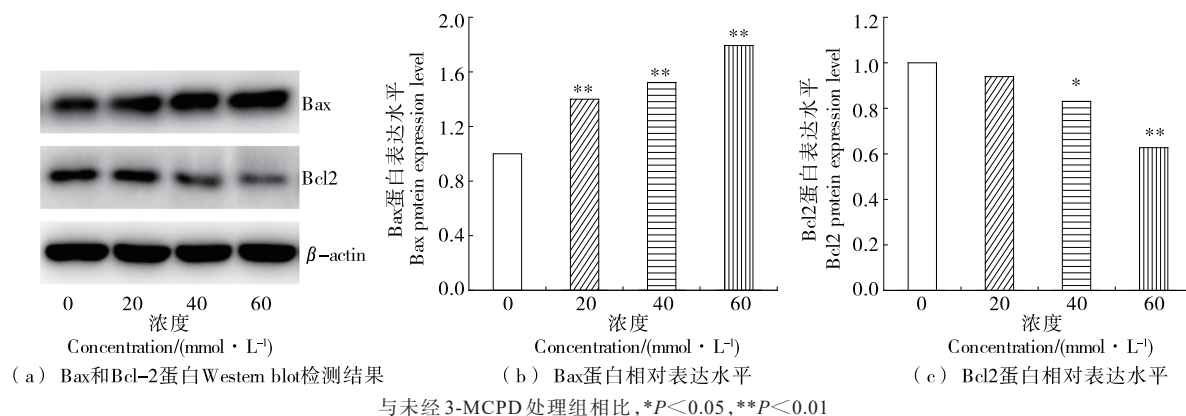


图7 3-MCPD对HK2细胞Bax和Bcl2蛋白表达水平的影响

Figure 7 Effects of 3-MCPD on the expression of Bax and Bcl2 proteins in HK2 cells

3 结论

毒理学研究表明,3-氯-1,2-丙二醇在试验动物肾脏中引起毒性损伤,并且肾脏是3-氯-1,2-丙二醇毒性作用的靶器官。3-氯-1,2-丙二醇引起肾脏毒性机制的揭示是防治氯丙醇类污染物中毒的基础。以HK2细胞为研究对象,发现3-氯-1,2-丙二醇对HK2细胞具有毒性作用,降低细胞存活率,增加LDH释放率,引起线粒体功能受损,并通过线粒体途径诱导其发生凋亡。对于3-氯-1,2-丙二醇致HK2细胞毒性作用的分子机制,仍需进一步的研究。该研究仅在线粒体凋亡途径上揭示了3-氯-1,2-丙二醇诱导凋亡发生,后期可以从死亡受体途径和内质网途径上深入探究凋亡发生的机制,以及借助基因沉默、基因过表达等手段,或者使用凋亡抑制剂和诱导剂进一步探讨凋亡在3-氯-1,2-丙二醇诱导肾毒性中的作用。

参考文献

- [1] 上官佳, 吴海智, 梁军, 等. 婴幼儿乳粉中新兴持久性有机污染物的来源、检测技术及污染水平研究进展[J]. 食品与机械, 2023, 39(2): 227-235.
SHANGGUAN J, WU H Z, LIANG J, et al. Progress on source, detection technique and pollution level of the new persistent organic pollutant in infant milk powder[J]. Food & Machinery, 2023, 39(2): 227-235.
- [2] AHMADPOURMIR H, VELAYATI M, TSITSIMPIKOU C, et al. 3-Monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) (free and

esterified) in edible oil, soy sauce and infant formula: a systematic review of the occurrence and employed analytical approaches[J]. Microchemical Journal, 2024, 200: 110501.

- [3] MAYAYO C, OEY S B, VAN DER FELS-KLERX H J, et al. Mitigation methods during physical refining for the reduction of 2- and 3-MCPD esters and glycidyl esters in (organic) high oleic sunflower and rapeseed oils[J]. Food Control, 2024, 162: 110480.
- [4] GÜNDÜZ A O, CEYLAN M M, BAŞTÜRK A. 3-MCPD and glycidol levels in edible oils and fats obtained from local markets in Türkiye[J]. Grasas Y Aceites, 2023, 74(2): e501.
- [5] SUN C X, WU N, KOU S L, et al. Occurrence, formation mechanism, detection methods, and removal approaches for chloropropanols and their esters in food: an updated systematic review[J]. Food Chemistry-X, 2023, 17: 100529.
- [6] LIAO Z Y, GAO Z B, YANG Q W, et al. Occurrence and exposure evaluation of 2- and 3-monochloropropanediol (MCPD) esters and glycidyl esters in refined vegetable oils marketed in Tianjin of China[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2024, 130: 106150.
- [7] LI S H, LI J H, FENG S W, et al. Headspace solid-phase microextraction and on-fiber derivatization for the determination of 3-/2-MCPDE and GE in breast milk and infant formula by gas chromatography tandem mass spectrometry[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 154: 112575.
- [8] QUEK W P, ONG Y H, YAP M K K, et al. The effects of quality changes in vegetable oils on the formation and absorption of monochloropropanediol esters (MCPDE) and glycidyl esters

- (GE) during deep-frying of potato chips[J]. Food Control, 2023, 149: 109699.
- [9] 李荣蕊, 闫海洋, 袁媛. 食品中3-氯-1,2-丙二醇脂肪酸酯的检测方法及防控措施研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(4): 180-187.
- LI R R, YAN H Y, YUAN Y. Research progress on detection methods and prevention and control measures of 3-monochloropropane-1, 2-diol fatty acid esters in food[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2023, 14(4): 180-187.
- [10] FATTORE E, LANNO A, DANIELI A, et al. Toxicology of 3-monochloropropane-1,2-diol and its esters: a narrative review [J]. Archives of Toxicology, 2023, 97(5): 1 247-1 265.
- [11] WEI T, CAO N, HAN T T, et al. Lipidomics analysis explores the mechanism of renal injury in rat induced by 3-MCPD[J]. Toxics, 2023, 11(6): 479.
- [12] GUAN S, WANG Z Y, ZHANG R R, et al. 3-MCPD induced mitochondrial damage of renal cells via the rhythmic protein BMAL1 targeting SIRT3/SOD2[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(39): 14 351-14 364.
- [13] ZHONG Y J, JIN C N, WANG X R, et al. Protective effects of apigenin against 3-MCPD-induced renal injury in rat[J]. Chemico-Biological Interactions, 2018, 296: 9-17.
- [14] SAWADA S, OBEREMM A, BUHRKE T, et al. Proteomic analysis of 3-MCPD and 3-MCPD dipalmitate-induced toxicity in rat kidney[J]. Archives of Toxicology, 2016, 90(6): 1 437-1 448.
- [15] SCHULTRICH K, HENDERSON C J, BRAEUNING A, et al. Correlation between 3-MCPD-induced organ toxicity and oxidative stress response in male mice[J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 136: 110957.
- [16] LIU P W, LI C I, HUANG K C, et al. 3-MCPD and glycidol coexposure induces systemic toxicity and synergistic nephrotoxicity via NLRP3 inflammasome activation, necroptosis, and autophagic cell death[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 405: 124241.
- [17] 谢昆, 李兴权. 细胞凋亡的信号通路[J]. 山东农业大学学报 (自然科学版), 2015, 46(4): 514-518.
- XIE K, LI X Q. The signal pathway of apoptosis[J]. Journal of Shandong Agricultural University (Natural Science Edition), 2015, 46(4): 514-518.
- [16] NAZARI F, NASERZADEH P, DIZAJI R, et al. Toxicological assessment of 3-monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) as a main contaminant of foodstuff in three different *in vitro* models: involvement of oxidative stress and cell death signaling pathway [J]. Journal of Food Science, 2020, 85(11): 4 061-4 069.
- [19] PENG X L, GAN J, WANG Q, et al. 3-Monochloro-1, 2-propanediol (3-MCPD) induces apoptosis via mitochondrial oxidative phosphorylation system impairment and the caspase cascade pathway[J]. Toxicology, 2016, 372: 1-11.
- [20] JIN C N, ZHONG Y J, HAN J H, et al. Drp1-mediated mitochondrial fission induced autophagy attenuates cell apoptosis caused by 3-chloropropane-1,2-diol in HEK293 cells [J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 145: 111740.
- [21] ZHONG Y J, JIN C N, HAN J H, et al. Diosgenin protects against kidney injury and mitochondrial apoptosis induced by 3-MCPD through the regulation of er stress, Ca^{2+} homeostasis, and Bcl2 expression[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2021, 65(15): 2001202.
- [22] YE J W, CHANG T M, ZHANG X H, et al. Mefenamic acid exhibits antitumor activity against osteosarcoma by impeding cell growth and prompting apoptosis in human osteosarcoma cells and xenograft mice model[J]. Chemico-Biological Interactions, 2024, 393: 110931.
- [23] LI Y F, GUO Y J, WU D, et al. Phenylbutyric acid inhibits hypoxia-induced trophoblast apoptosis and autophagy in preeclampsia via the PERK/ATF-4/CHOP pathway[J]. Molecular Reproduction and Development, 2024, 91(4): e23742.
- [24] 徐慧, 贾丽娜, 苏婧一, 等. 棒曲霉素对人胃黏膜细胞体外毒性机理研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(11): 92-97.
- XU H, JIA L N, SU J Y, et al. *In vitro* toxicity mechanism of patulin on human gastric epithelial cells[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(11): 92-97.
- [25] LU J N, LU J, BU X J, et al. Ginsenoside Rb1 alleviates liver injury induced by 3-chloro-1, 2-propanediol by stimulating autophagic flux[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(12): 5 503-5 515.
- [26] TIAN C W, LIU Y F, LI Z S, et al. Mitochondria related cell death modalities and disease[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2022, 10: 832356.
- [27] XIAO L, YE G. RUNX3 alleviates mitochondrial dysfunction and tubular damage by inhibiting TLR4/NF- κ B signalling pathway in diabetic kidney disease[J]. Nephrology, 2024, 29 (8): 470-481.
- [28] 肖岚, 李诚, 程小平, 等. 牦牛血低聚肽对缺氧介导的H9c2心肌细胞损伤的保护及其作用机制[J]. 食品与机械, 2019, 35 (3): 159-165, 188.
- XIAO L, LI C, CHENG X P, et al. Effects of yak blood oligopeptides on hypoxia-induced injury of H9c2 cardiomyocytes protection and its mechanism[J]. Food & Machinery, 2019, 35(3): 159-165, 188.
- [29] GHAFOR N, EHSAN N, HAYAT M F, et al. Aucubin mitigates nonylphenol-induced renal damage by attenuating apoptosis, oxidative stress and histopathological profile[J]. Journal of King Saud University Science, 2024, 36(2): 103044.
- [30] 胡善明, 王亚楠, 许正茂, 等. Bcl-2家族分子在细胞凋亡中的作用研究进展[J]. 动物医学进展, 2021, 42(10): 85-89.
- HU S M, WANG Y N, XU Z M, et al. Progress on Bcl-2 family molecular function in apoptosis[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2021, 42(10): 85-89.
- [31] CUI J W, LIU Y H, HAO Z Y, et al. Cadmium induced time-dependent kidney injury in common carp via mitochondrial pathway: impaired mitochondrial energy metabolism and mitochondrion-dependent apoptosis[J]. Aquatic Toxicology, 2023, 261: 106570.