

血必净通过高迁移率族蛋白1对热应激神经干细胞的保护作用研究

李红波, 温敏勇, 罗苑苑, 郑述铭, 张先进, 李春河, 曹蕊, 王林

(广州中医药大学第一附属医院, 广东广州 510405)

摘要:【目的】探讨血必净通过高迁移率族蛋白1(HMGB1)对热应激神经干细胞的保护作用机制。【方法】以43℃热刺激60 min建立热应激大鼠脑神经干细胞模型。实验分为7组,即阴性对照组、热应激组、非热应激+血必净(浓度25%)组、热应激+血必净低剂量(浓度5%)组,热应激+血必净中剂量(浓度15%)组、热应激+血必净高剂量(浓度25%)组、热应激+HMGB1抑制剂组。采用细胞计数试剂盒8(CCK-8)检测细胞增殖能力;采用Ac-DEVD-pNA底物法检测细胞Caspase-3活性;采用蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测自噬相关蛋白p62、微管相关蛋白轻链3(LC3)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)及凋亡相关蛋白、Caspase-3表达水平;使用核蛋白/胞浆蛋白提取试剂盒提取细胞胞核、胞浆蛋白,Western Blot检测胞内及胞浆内HMGB1表达水平。【结果】选择热应激复温9 h时间点与血必净高剂量用于后续实验。与阴性对照组比较,热应激组细胞p62、LC3-up表达量降低,p-mTOR、LC3-bottom、HMGB1(胞浆)表达量增高($P < 0.01$);与热应激组比较,血必净处理组(热应激+高剂量血必净)p62、LC3-up、Caspase-3表达量进一步下降($P < 0.01$),p-mTOR、LC3-bottom、HMGB1(胞浆)的表达量进一步升高($P < 0.01$);与血必净处理组比较,HMGB1抑制剂处理组(热应激+HMGB1抑制剂)p62、p-mTOR、LC3、Caspase-3及HMGB1(胞浆)的表达量无显著性差异($P > 0.05$)。【结论】血必净可通过促进HMGB1胞浆转位诱导自噬抑制热应激神经干细胞凋亡,从而发挥脑保护作用。

关键词: 血必净; 热射病; 热应激; 脑保护; 高迁移率族蛋白1; 自噬; 凋亡; 神经干细胞

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2022)01-0165-06

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2022.01.028

Protective Effect of Xuebijing through High Mobility Group Box 1 on Heat Stressed Neural Stem Cells

LI Hong-Bo, WEN Min-Yong, LUO Yuan-Yuan, ZHENG Shu-Ming,
ZHANG Xian-Jin, LI Chun-He, CAO Rui, WANG Lin

(The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To explore the protective mechanism of Xuebijing through high mobility group box 1 (HMGB1) for heat stressed neural stem cells. **Methods** A heat stress model of rat brain neural stem cells was established by thermal stimulation at 43℃ for 60 minutes. There was negative control group, heat stress group, non-heat stress+Xuebijing group, heat stress+low-dose Xuebijing(concentration 5%) group, heat stress+medium-dose Xuebijing(concentration 15%) group, heat stress+high-dose Xuebijing(concentration 25%) group and heat stress + HMGB1 inhibitor group in the experiment. Cell Counting Kit 8 (CCK-8) was used to detect cell proliferation; the Ac-DEVD-pNA substrate method was used to detect the activity of Caspase-3; Western Blot was used to detect the expression levels of autophagy related protein p62, microtubule associated protein light chain 3 (LC3) and mammalian target of rapamycin protein (mTOR) and apoptosis-related protein Caspase-3; nucleoprotein/cytoplasmic protein extraction kit was used to extract nucleoprotein and cytoplasmic protein, and Western Blot was used to detect the expression levels of intracellular and cytoplasmic HMGB1. **Results** The 9-hour time point of heat stress rewarming and high-dose of Xuebijing were selected for subsequent experiments. Compared with the negative control group, the expression levels of p62 and LC3-up in heat stress group were decreased,

收稿日期: 2021-09-07

作者简介: 李红波(1982-),女,博士,主治医师;E-mail: 1619845304@qq.com

通讯作者: 王林,男,副主任中医师;E-mail: 59338765@qq.com

项目基金: 广东省中医药局科研项目(编号: 20202065);广州市科技计划项目(编号: 202102080465)

while the expression levels of p-mTOR, LC3-bottom and HMGB1 (cytoplasm) were increased ($P < 0.01$); compared with the heat stress group, the expression levels of p62, LC3-up and Caspase-3 in the *Xuebijing* treatment group (heat stress plus high-dose *Xuebijing*) were further decreased ($P < 0.01$), while the expression levels of p-mTOR, LC3-bottom and HMGB1 (cytoplasm) were further increased ($P < 0.01$). Compared with the *Xuebijing* treatment group, the expression levels of p62, p-mTOR, LC3, Caspase-3 and HMGB1 (cytoplasm) in HMGB1 inhibitor treatment group (heat stress plus HMGB1 inhibitor) had no significant differences ($P > 0.05$).

Conclusion *Xuebijing* plays a role in brain protection by promoting cytoplasmic translocation of HMGB1 to induce autophagy, thus inhibiting the apoptosis of brain neural stem cells under heat stress.

Keywords: *Xuebijing*; heat stroke; heat stress; brain protection; high mobility group box 1(HMGB1); autophagy; apoptosis; neural stem cells

热射病是以脑损伤并伴有多器官损害的临床危重症。研究报道,1年中热射病患者的生存率为57%,近30%的存活者出院后仍遗留有神经损伤^[1],严重威胁生命健康。因此,探讨热射病的治疗机制具有重要的研究意义。本课题组前期已成功建立热应激神经干细胞(neural stem cells, NSCs)模型,并证实 NSCs 损伤机制中涉及氧化应激损伤、细胞凋亡、自噬等分子信号通路的调节^[2-3]。我们前期在研究热应激诱导肝损伤的大鼠模型中发现,热应激可促进肝细胞核内高迁移率族蛋白1(HMGB1)向胞浆易位^[4]。HMGB1是染色质相关核蛋白和细胞外损伤相关分子模式(DAMP)分子。既往研究表明,细胞内(胞浆)HMGB1不仅可负性调节哺乳动物和酵母细胞的外源性(Fas和其他肿瘤坏死因子受体超家族成员和配体)和内在(线粒体相关和内质网应激相关)凋亡途径,还与自噬的发生密切相关。已有报道血必净注射液治疗热射病可明显降低炎症反应并缩短住院日^[5]。血必净注射液(简称“血必净”)是中西医结合急救医学奠基人王今达教授以“三证三法”为辨证原则,以“菌毒并治”理论为指导,以清代王清任血府逐瘀汤组方为基础,研制而成的中药复方静脉制剂,有降低炎症反应、抗氧化应激、调节免疫功能、内皮细胞保护等作用^[6-7]。我们前期亦证实,血必净可显著提高热射病大鼠的存活率及减轻下丘脑的氧化应激损伤^[8]。为进一步探讨血必净是否通过HMGB1诱导自噬发挥热应激 NSCs 保护的分子机制,从而为临床救治热射病提供理论基础,现将研究结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 细胞来源 大鼠脑NSCs,由中国科学院上海细胞生物研究所提供。

1.2 药物、试剂与仪器 血必净注射液(生产厂家:天津红日药业有限公司;批准文号:Z20040033);HMGB1抑制剂——丙酮酸乙酯(Ethyl pyruvate)(江苏康达化工有限公司)。DMEM培养基、胰酶(美国Invitrogen Life Technology公司);胎牛血清(美国Gibco公司);二甲基亚砜(DMSO)(美国Sigma公司);细胞计数试剂盒8(CCK-8)(武汉博士德生物工程技术有限公司);辣根过氧化物酶(HRP)标记的免疫球蛋白(IgG)二抗(美国Invitrogen Life Technology公司);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、Caspase-3活性检测试剂盒(美国Biovision公司);核蛋白/胞浆蛋白提取试剂盒(美国Thermo Scientific公司);二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒(博士德公司);电化学发光(ECL)检测试剂盒(美国Pierce公司);抗大鼠p62、微管相关蛋白轻链3(LC3)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、HMGB1、 β -actin及Histone单克隆抗体(美国Abcam公司)。DU7400紫外分光光度计(美国Beckman公司);蛋白质电泳和转膜系统(美国Bio-Rad公司);Infinite M1000酶标仪(瑞士Tecan公司)。

1.3 分组与细胞模型的建立 细胞以 1.0×10^5 个/mL密度孵育于培养皿中。实验分为7组,即阴性对照组、热应激组、非热应激+血必净组、热应激+血必净低剂量组、热应激+血必净中剂量组、热应激+血必净高剂量组、热应激+HMGB1抑制剂组。以43℃热应激60 min建立热应激模型^[2],作为热应激组。37℃孵育的细胞作为阴性对照组,阴性对

照组细胞始终置于37℃细胞培养箱中培养。

1.4 药物预处理 热应激+血必净低、中、高剂量组NSCs在43℃热应激前分别对应用等容积的浓度为5%、15%、25%的血必净预处理30 min;热应激+HMGB1抑制剂组NSCs在43℃热应激前分别对应用等容积的5 mmol/L丙酮酸乙酯预处理30 min;非热应激+血必净组37℃正常孵育细胞,给予等容积的浓度为25%的血必净预处理30 min;阴性对照组、热应激组给予等容积的生理盐水预处理30 min。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 细胞活力检测 按照预设的复温时间点(0、3、6、9 h),在热应激后的不同时间收集细胞培养上清和NSCs,采用CCK-8细胞增殖活性检测试剂盒对各组NSCs活力进行检测。将细胞以 1×10^3 个/mL密度接种于96孔细胞培养板中,热应激模型建立后0、3、6、9 h每组加入10 μ L CCK-8溶液,孵育1~4 h,应用酶标仪检测450 nm波长处各组细胞的吸光度值。选择热应激复温合适时间,用于后续实验。

1.5.2 Caspase-3活性检测 按照Caspase-3活性检测试剂盒的说明书进行操作。取对数期生长的NSCs给予各处理因素后吸取细胞培养液备用,用胰酶消化贴壁细胞,并收集至备用的细胞培养液中;以 $600 \times g$ 4℃离心5 min收集细胞,洗涤,按比例加入裂解液,重悬沉淀,冰浴裂解15 min,离心10~15 min,把上清转移到预冷的离心管中;取少量样品用Bradford法测定蛋白浓度,尽量使蛋白浓度达到1~3 mg/mL;加入Ac-DEVD-pNA(2 mmol/L)后混匀,37℃孵育60~120 min,发现颜色变化比较明显时,应用紫外分光光度计测定其在405 nm波长处的吸光度值。

1.5.3 蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测自噬相关蛋白p62、LC3、mTOR表达 将NSCs在43℃热应激前用25%浓度的血必净处理30 min后,用磷酸缓冲液(PBS)洗涤细胞3次,加入放射免疫沉淀分析(RIPA)裂解液充分裂解细胞,细胞刮收集细胞碎片并离心;用BCA法检测总蛋白浓度;取等量蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白,洗涤;转膜1 h;室温下用50 g/L脱脂奶粉封闭2 h;分别加入p62、LC3、mTOR等一抗,4℃过夜;洗涤,加入相应的二抗,室温孵育2 h;洗涤后,ECL发光显影,分析

X线光片上显影条带的灰度。使用ImageJ软件测得各条带灰度值,以目的蛋白条带灰度值与内参蛋白(GAPDH)条带灰度值的比值反映目的蛋白的表达量。

1.5.4 HMGB1细胞组分检测 使用核蛋白/胞浆蛋白提取试剂盒提取细胞核、胞浆蛋白。提取的细胞核、胞浆蛋白分别采用Western Blot法检测HMGB1水平,操作步骤同“1.5.3”项。以 β -actin作为总蛋白内参,Histone作为核蛋白内参。

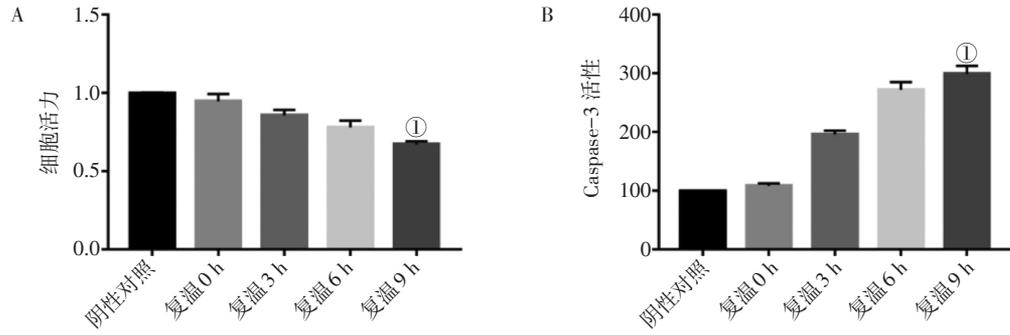
1.6 统计方法 采用Graphpad prism 7.0统计软件进行数据分析,多组间进行单因素方差分析,两组间采用Fisher最小显著性差异统计检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 热应激复温时间与血必净剂量的选择 图1结果显示:与阴性对照组比较,热应激NSCs活力明显下降,并呈时间依赖性,以第9 h复温点细胞活力下降最低($P < 0.01$),见图1-A;在相同热应激条件下,随着时间延长,可检测到细胞内凋亡执行蛋白Caspase-3活性明显升高,以热应激复温9 h时间点为最高($P < 0.01$),见图1-B。表明热应激复温9 h可明显诱导NSCs活力降低、诱导NSCs发生细胞凋亡。因此,采集热应激复温9 h时间点的NSCs进行后续实验。

而给予低、中、高剂量(对应浓度5%、15%、25%)血必净预处理后,热应激NSCs活力呈剂量依赖性升高,且高浓度25%血必净预处理结果的差异有统计学意义($P < 0.05$),见图2-A;Caspase-3活性呈剂量依赖性下降,且高浓度25%血必净预处理结果的差异有统计学意义($P < 0.05$),见图2-B。故后续实验均采用高剂量血必净进行预处理热应激NSCs。

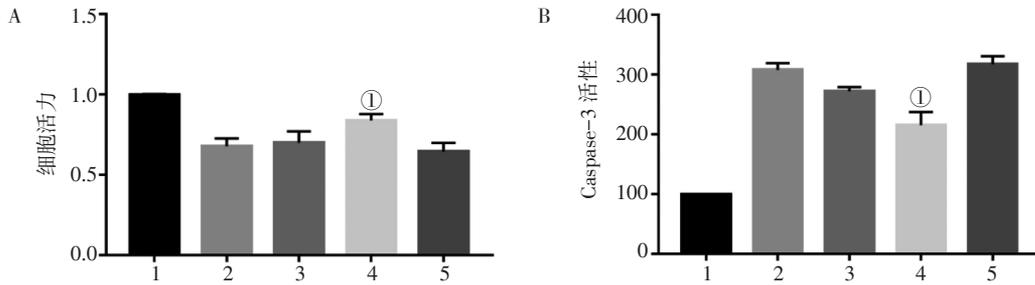
2.2 血必净预处理可促进热应激NSCs自噬 我们进一步观察证实,与阴性对照组比较,热应激组细胞p62、LC3-up水平降低($P < 0.01$),p-mTOR、LC3-bottom水平升高($P < 0.01$),非热应激+血必净组p62、LC3-up、p-mTOR、LC3-bottom水平均无显著性差异($P > 0.05$);与热应激组比较,血必净处理组p62、LC3-up水平进一步下降($P < 0.01$),p-mTOR、LC3-bottom水平明显升高($P < 0.01$);与血必净处理组比较,HMGB1抑制剂处理



A. 热应激不同复温时间NSCs活力比较; B. 热应激不同复温时间NSCs的Caspase-3活性比较
① $P < 0.01$, 与阴性对照组比较

图1 热应激对NSCs活力及Caspase-3活性的影响

Figure 1 Effects of heat stress on NSCs viability and Caspase-3 activity



A. 不同剂量血必净预处理热应激NSCs活力比较; B. 不同剂量血必净预处理热应激NSCs的Caspase-3活性比较
1. 阴性对照组; 2. 热应激+血必净低剂量组; 3. 热应激+血必净中剂量组; 4. 热应激+血必净高剂量组; 5. 热应激组
① $P < 0.05$, 与热应激组比较

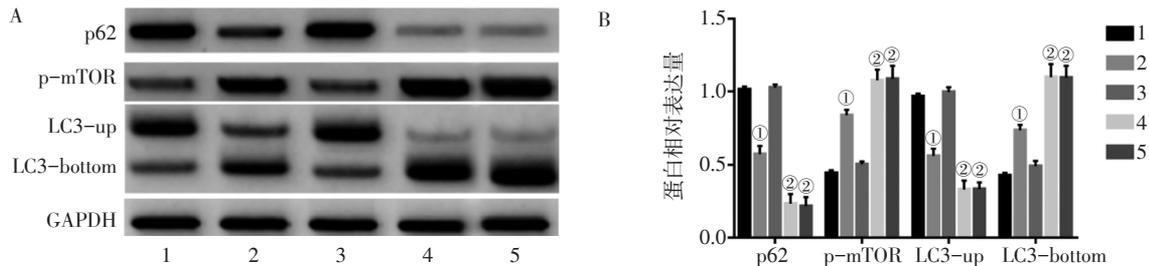
图2 血必净对热应激NSCs活力及Caspase-3活性的影响

Figure 2 Effects of Xuebijing on viability of heat stressed NSCs and Caspase-3 activity

组 p62、LC3-up、p-mTOR、LC3-bottom 水平均无显著性差异($P > 0.05$)。结果见图3。

2.3 血必净预处理可抑制NSCs凋亡 与阴性对照组比较,热应激组细胞Caspase-3表达水平显著升高($P < 0.01$),非热应激+血必净组细胞Caspase-3

表达水平无显著性差异($P > 0.05$)。给予血必净预处理热应激NSCs的结果显示,与热应激组比较,血必净处理组细胞Caspase-3表达水平明显下降($P < 0.01$);与血必净处理组比较,HMGB1抑制剂处理组细胞Caspase-3表达水平无显著性差异



A. 各自噬相关蛋白的Western Blot电泳条带; B. 各自噬相关蛋白的表达量

1. 阴性对照组; 2. 热应激组; 3. 非热应激+血必净组; 4. 血必净处理组(热应激+高剂量血必净); 5. HMGB1抑制剂处理组(热应激+丙酮酸乙酯)

① $P < 0.01$, 与阴性对照组比较; ② $P < 0.01$, 与热应激组比较

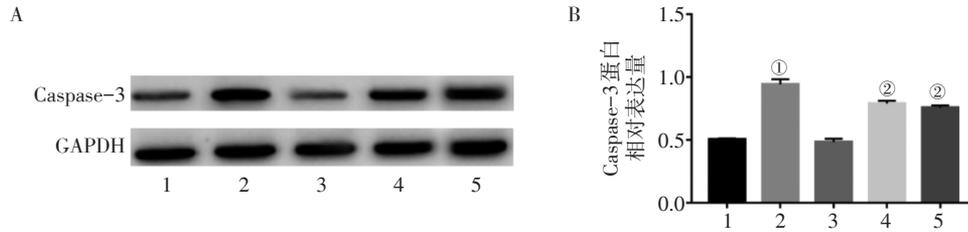
图3 血必净预处理促进脑NSCs自噬

Figure 3 Xuebijing pretreatment promotes autophagy of brain NSCs

($P > 0.05$)。具体结果见图4。说明血必净可能是通过HMGB1抑制细胞凋亡。

2.4 血必净预处理可促进热应激 NSCs 核内的 HMGB1 向胞浆转位 与阴性对照组比较,热应激处理后 NSCs 的 HMGB1 细胞浆表达量增高($P < 0.01$),非热应激+血必净组 HMGB1 的胞浆表达量

水平无显著性差异($P > 0.05$);与热应激组比较,血必净处理组 HMGB1 的胞浆表达量进一步升高($P < 0.01$);与血必净处理组比较, HMGB1 抑制剂处理组 HMGB1 的胞浆表达量水平无显著性差异($P > 0.05$)。具体结果见图5。



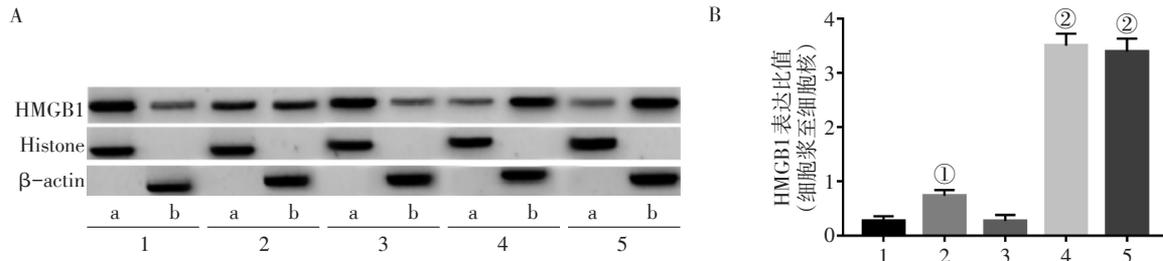
A. Caspase-3 的 Western Blot 电泳条带; B. Caspase-3 的表达量

1. 阴性对照组; 2. 热应激组; 3. 非热应激+血必净组; 4. 血必净处理组(热应激+高剂量血必净); 5. HMGB1 抑制剂处理组(热应激+丙酮酸乙酯)

① $P < 0.01$, 与阴性对照组比较; ② $P < 0.01$, 与热应激组比较

图4 血必净预处理抑制 NSCs 凋亡

Figure 4 *Xuebijing* pretreatment inhibits apoptosis of NSCs



Histone: 核蛋白内参; β -actin: 胞浆蛋白内参。a: 细胞核; b: 细胞浆

A. HMGB1 的 Western Blot 电泳条带; B. HMGB1 的表达量

1. 阴性对照组; 2. 热应激组; 3. 非热应激+血必净组; 4. 血必净处理组(热应激+高剂量血必净); 5. HMGB1 抑制剂处理组(热应激+丙酮酸乙酯)

① $P < 0.01$, 与阴性对照组比较; ② $P < 0.01$, 与热应激组比较

图5 血必净预处理促进热应激 NSCs 核内的 HMGB1 向胞浆易位

Figure 5 *Xuebijing* promotes the cytoplasmic translocation of HMGB1 in the nucleus of heat-stressed NSCs

3 讨论

我们前期研究已证实,热应激可诱导神经干细胞(NSCs)发生严重的细胞凋亡,NSCs 自噬是热应激诱导脑组织损伤过程中存在的另一现象。另外,还有研究证实,热应激大鼠模型的大脑皮层神经元及小脑浦肯野细胞自噬相关蛋白在热应激的不同恢复时间的表达显著升高^[9-10]。本研究结果显示,热应激可引起 NSCs 自噬相关蛋白 mTOR、自噬标志物 LC3 水平升高($P < 0.01$),表明热应激可诱导 NSCs 发生自噬。

血必净的主要有效成分包括红花黄色素 A、川芎嗪、丹参素、阿魏酸、芍药苷及原儿茶醛等。本研究应用血必净处理后可明显提高热应激 NSCs 自噬蛋白的表达水平,而凋亡执行蛋白 Caspase-3 表达水平明显下降,提示血必净可增强自噬并抑制热应激 NSCs 的凋亡水平。为进一步探讨血必净发挥作用的靶标,本研究聚焦 HMGB1 与自噬的调控关系。

Kang 和 Tang 等^[11-12]研究证实, HMGB1 是一种具有自噬活性的 Beclin 1 结合蛋白。正常状态下,

HMGB1位于细胞核内,在炎症、创伤、坏死、氧化、高温和代谢应激期间HMGB1可向胞质和胞外易位。经典的自噬刺激(如雷帕霉素或饥饿)均会导致细胞内HMGB1易位出核。此外,多种原因引起的脑部损伤,如脓毒症脑损伤、脑缺血等,亦可导致HMGB1的出核^[13-14]。HMGB1出核后,随即与自噬蛋白Beclin 1相结合,进而促进细胞的自噬^[15]。另外, HMGB1对自噬和凋亡的调节依赖于其氧化/还原状态,还原型HMGB1可诱导LC3的形成,抑制Beclin 1/Bcl-2之间的相互作用,促使HMGB1与Beclin 1结合,维持自噬^[16]。本研究结果显示,热应激处理后NSCs的HMGB1细胞浆表达量较阴性对照组增高($P < 0.01$);与热应激组比较,血必净处理组HMGB1的胞浆表达量进一步升高($P < 0.01$)。为明确血必净是否通过HMGB1增强自噬,我们给予HMGB1抑制剂丙酮酸乙酯预处理后,检测热应激NSCs p-mTOR、LC-bottom等自噬蛋白及Caspase-3表达水平,发现与血必净处理组无显著性差异($P > 0.05$),结果表明血必净可能是通过HMGB1而发挥作用。

为进一步明确热应激后HMGB1的细胞内亚定位,我们检测了热应激神经元细胞核浆中HMGB1的表达量,发现血必净处理后, HMGB1在热应激NSCs中的出核定位显著升高,丙酮酸乙酯处理后HMGB1的胞浆转位及自噬水平明显下降,表明血必净通过促进HMGB1出核增强自噬减轻凋亡。

综上所述,血必净可以通过促进HMGB1出核增强自噬,减少凋亡,从而发挥脑保护的作用,提示血必净作为HMGB1的增强剂,在热射病脑损伤的治疗中具有广阔的应用前景,可为深入研究血必净的药效物质基础提供新的思路,其进一步的分子机制仍需展开基础及临床研究深入探讨。

参考文献:

- [1] 刘树元, 宋景春, 毛汉丁, 等. 中国热射病诊断与治疗专家共识[J]. 解放军医学杂志, 2019, 44(3): 181-196.
- [2] LI H, LIU Y, WEN M, et al. p38MAPK-MK2 pathway regulates the heat stress induced accumulation of reactive oxygen species that mediates apoptotic cell death in glial cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(1): 775-782.
- [3] LI H B, LIU Y N, WEN M Y, et al. Hydroxysafflor yellow A (HSYA) alleviates apoptosis and autophagy of neural stem cells induced by heat stress via p38 MAPK/MK2/Hsp27-78 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 114: 108815.
- [4] GENG Y, MA Q, LIU Y N, et al. Heatstroke induces liver injury via IL-1 β and HMGB1-induced pyroptosis [J]. *J Hepatol*. 2015, 63(3): 622-633.
- [5] 姜利勇. 血必净注射液治疗重症中暑的效果分析[J]. 河南医学研究, 2018(1): 2630-2631.
- [6] 曹书华, 王今达, 李银平. 从"菌毒并治"到"四证四法"——关于中西医结合治疗多器官功能障碍综合征辨证思路的深入与完善[J]. 中华危重病急救医学, 2005, 17(11): 641-643.
- [7] 李陆军, 马蓉, 曹越. 血必净注射液治疗脓毒症的药理作用机制研究进展[J]. 药物评价研究, 2018, 41(8): 186-191.
- [8] PAN Z G, TANG S H, YU S, et al. Attenuating brain inflammation, ischemia, and oxidative damage by *Xuebijing* in heat stroke rats [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2016, 9(4): 7524-7533.
- [9] LIU T T, HU C H, TSAI C D, et al. Heat stroke induces autophagy as a protection mechanism against neurodegeneration in the brain [J]. *Shock*, 2010, 34(6): 643-648.
- [10] LI C W, LIN Y F, LIU T T, et al. Heme oxygenase-1 aggravates heat stress-induced neuronal injury and decreases autophagy in cerebellar Purkinje cells of rats [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2013, 238(7): 744-754.
- [11] KANG R, LIVESEY K M, ZEH H J 3rd, et al. HMGB1: a novel Beclin 1-binding protein active in autophagy [J]. *Autophagy*, 2010, 6(8): 1209-1211.
- [12] TANG D, KANG R, LIVESEY K M, et al. Endogenous HMGB1 regulates autophagy [J]. *J Cell Biol*, 2010, 190(5): 881-892.
- [13] LI Y F, LI X, QU Y, et al. Role of HMGB1 translocation to neuronal nucleus in rat model with septic brain injury [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 645: 90-96.
- [14] ZHANG J, KLUFAS D, MANALO K, et al. HMGB1 translocation after ischemia in the ovine fetal brain [J]. *J Neuropath Exp Neur*, 2016, 75(6): 527-538.
- [15] KANG R, ZEH H J, LOTZE M T, et al. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 2011, 18(4): 571-580.
- [16] LI G, TANG D, LOTZE M T. M \acute{e} nage \grave{a} Trois in stress: DAMPs, redox and autophagy [J]. *Semin Cancer Biol*, 2013, 23(5): 380-390.

【责任编辑：侯丽颖】