

• 论著 •

细胞自噬对脂多糖介导血管通透性增加的作用

王盛标 殷爽 李云峰 李翠玲 李涛 刘友坦

423000 湖南郴州,郴州市第一人民医院重症医学科(王盛标、李云峰、李涛);524000 广东湛江,广东医科大学研究生学院(殷爽);518000 广东深圳,南方医科大学深圳医院麻醉科(殷爽、李翠玲、刘友坦)

通讯作者:刘友坦, Email : youtanliuhao@163.com

DOI : 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.08.001

【摘要】目的 探讨细胞自噬对脂多糖(LPS)介导血管通透性增加的影响。**方法** ①体外实验:将人脐静脉内皮细胞(HUVEC)分为空白组、LPS组(LPS 5 mg/L 刺激)、自噬抑制剂6-氨基-3-甲基嘌呤(3-MA)+LPS组(5 mmol/L 3-MA预处理30 min+LPS 5 mg/L 刺激)及自噬诱导剂雷帕霉素(RAP)+LPS组(10 nmol/L RAP预处理30 min+LPS 5 mg/L 刺激)。4组于LPS刺激60 min后检测跨内皮细胞电阻(TER)以反映内皮通透性;采用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测自噬标志性蛋白微管相关蛋白轻链3(LC3 II/I)和自噬相关基因Beclin-1的蛋白表达;采用流式细胞仪检测内皮细胞凋亡情况;采用荧光法检测天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(caspase-3)活性。②体内实验:将24只SD大鼠按随机数字表法分为4组,每组6只。对照组不予任何处理;模型组经尾静脉注射LPS 10 mg/kg;3-MA预处理组及RAP预处理组经尾静脉注射3-MA 10 mg/kg或RAP 2 mg/kg预处理30 min后再注射LPS 10 mg/kg。荧光显微镜下观察肠系膜微静脉内荧光白蛋白的渗出情况,并计算血管内外荧光强度变化值(ΔI)以反映血管通透性。**结果** ①在细胞水平,LPS组LC3 II/I、Beclin-1、caspase-3活性及细胞凋亡率均较空白组明显增加,TER值明显降低。与LPS组比较,3-MA+LPS组LC3 II/I、Beclin-1、caspase-3活性及细胞凋亡率均明显降低,TER值明显升高[LC3 II/I蛋白:(288.2±33.3)%比(420.5±39.4)%;Beclin-1蛋白:(185.3±26.4)%比(293.3±36.1)%;caspase-3活性:(196.6±28.5)%比(339.5±25.4)%;细胞凋亡率:(9.50±0.99)%比(15.40±1.55)%;TER值:0.88±0.09比0.63±0.05,均P<0.05];RAP+LPS组LC3 II/I、Beclin-1、caspase-3活性及细胞凋亡率进一步增加,TER值进一步降低[LC3 II/I蛋白:(519.6±45.2)%比(420.5±39.4)%;Beclin-1蛋白:(359.0±38.3)%比(293.3±36.1)%;caspase-3活性:(449.1±31.0)%比(339.5±25.4)%;细胞凋亡率:(19.30±1.72)%比(15.40±1.55)%;TER值:0.54±0.05比0.63±0.05,均P<0.05]。②在动物水平,模型组肠系膜微静脉内白蛋白渗出明显增多,肠系膜血管通透性较对照组明显增加(ΔI :0.54±0.07比0.13±0.03,P<0.05)。与模型组比较,3-MA预处理组白蛋白渗出明显减少,血管通透性明显降低(ΔI :0.25±0.05比0.54±0.07,P<0.05);RAP预处理组白蛋白渗出进一步增多,血管通透性进一步增加(ΔI :0.67±0.07比0.54±0.07,P<0.05)。**结论** 抑制细胞自噬可以减轻LPS介导的血管通透性增加,而增强细胞自噬则可进一步增加血管通透性,其机制可能与细胞自噬导致内皮细胞凋亡有关。

【关键词】 细胞自噬; 细胞凋亡; 血管通透性; 内皮细胞; 脂多糖

基金项目:国家自然科学基金(81500066)

Effects of autophagy on lipopolysaccharide-induced vascular hyper-permeability Wang Shengbiao, Yin Shuang, Li Yunfeng, Li Cuiling, Li Tao, Liu Youtan

Department of Critical Care Medicine, the First People's Hospital of Chenzhou, Chenzhou 423000, Hunan, China (Wang SB, Li YF, Li T); The Graduate School of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, Guangdong, China (Yin S); Department of Anesthesiology, Shenzhen Hospital, Southern Medical University, Shenzhen 518000, Guangdong, China (Yin S, Li CL, Liu YT)

Corresponding author: Liu Youtan, Email: youtanliuhao@163.com

【Abstract】Objective To investigate the effects of autophagy on lipopolysaccharide (LPS)-induced vascular hyper-permeability. **Methods** ① *In vitro*: Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were randomly divided into blank group, LPS group (5 mg/L LPS stimulation), autophagy inhibitor 6-amino-3-methyl purine (3-MA) + LPS group (5 mmol/L 3-MA pretreatment for 30 minutes + 5 mg/L LPS stimulation) and autophagy revulsive Rapamycin (RAP) + LPS group (10 nmol/L RAP pretreatment for 30 minutes + 5 mg/L LPS stimulation). After LPS simulation

for 60 minutes in four groups, endothelial permeability was detected by trans-endothelial electrical resistance (TER) determination. The protein expressions of autophagy marker protein microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3 II / I) and autophagy related gene Beclin-1 were detected by Western Blot. Cell apoptosis was evaluated by using flow cytometry. Caspase-3 activity was detected by fluorometric assay kit. ② *In vivo*: 24 Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned to four groups according to random number table, with 6 rats in each group. The rats in control group received no treatment; rats in model group were tail intravenous injected 10 mg/kg of LPS. The rats in 3-MA pretreatment and RAP pretreatment groups were tail intravenous injected 10 mg/kg of 3-MA or 2 mg/kg of RAP pretreatment for 30 minutes before 10 mg/kg LPS injection. The extravasation of FITC-albumin in mesenteric post-capillary venules was observed by fluorescence microscope. Then the change in fluorescence intensity of FITC-albumin between the intravascular and extravascular space (ΔI) were measured to reflect vascular permeability. **Results** ① *In vitro*, compared with blank group, the LC3 II / I protein, Beclin-1 protein, caspase-3 activity and rate of cell apoptosis in LPS group were increased, and the TER was decreased. Compared with LPS group, the LC3 II / I, Beclin-1, caspase-3 activity and rate of cell apoptosis in 3-MA+LPS group were decreased, and the TER was increased [LC3 II / I protein: (288.2 ± 33.3)% vs. (420.5 ± 39.4)%; Beclin-1 protein: (185.3 ± 26.4)% vs. (293.3 ± 36.1)%; caspase-3 activity: (196.6 ± 28.5)% vs. (339.5 ± 25.4)%; rate of cell apoptosis: (9.50 ± 0.99)% vs. (15.40 ± 1.55)%; TER: 0.88 ± 0.09 vs. 0.63 ± 0.05, all $P < 0.05$]. Compared with LPS group, the LC3 II / I, Beclin-1, caspase-3 activity and rate of cell apoptosis in RAP+LPS group were further increased, and the TER was further decreased [LC3 II / I protein: (519.6 ± 45.2)% vs. (420.5 ± 39.4)%; Beclin-1 protein: (359.0 ± 38.3)% vs. (293.3 ± 36.1)%; caspase-3 activity: (449.1 ± 31.0)% vs. (339.5 ± 25.4)%; rate of cell apoptosis: (19.30 ± 1.72)% vs. (15.40 ± 1.55)%; TER: 0.54 ± 0.05 vs. 0.63 ± 0.05, all $P < 0.05$]. ② *In vivo*, the albumin extravasation and vascular permeability were increased in model group as compared with those of control group (ΔI : 0.54 ± 0.07 vs. 0.13 ± 0.03, $P < 0.05$). The albumin extravasation and vascular permeability were obviously decreased in 3-MA pretreatment group as compared with those of model group (ΔI : 0.25 ± 0.05 vs. 0.54 ± 0.07, $P < 0.05$). The albumin extravasation and vascular permeability were obviously increased in RAP pretreatment group as compared with those of model group (ΔI : 0.67 ± 0.07 vs. 0.54 ± 0.07, $P < 0.05$). **Conclusions** Inhibition of autophagy can reduce the LPS-induced vascular hyper-permeability, and enhanced autophagy can further increase vascular permeability. The mechanism of autophagy mediate vascular permeability may be related to the endothelial cells apoptosis.

【Key words】 Autophagy; Apoptosis; Vascular permeability; Endothelial cell; Lipopolysaccharide

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81500066)

血管通透性增加导致全身性水肿是脓毒症的重要特征,而血管通透性增加的机制尚不清楚^[1-2]。本课题组前期研究证实,抑制细胞凋亡信号可以减轻失血性休克以及氧化应激血管通透性增加^[3-4]。有研究证实细胞自噬可以通过清除细胞内损伤细胞器帮助细胞存活^[5];但也有许多研究证实细胞自噬可以导致细胞凋亡,从而促进疾病发展^[6-8]。本课题组前期在缺血/再灌注(I/R)损伤动物模型中证实,抑制细胞自噬可以减轻细胞凋亡^[9],那么细胞自噬是否可以通过调节细胞凋亡进而影响血管通透性呢?本研究旨在探讨细胞自噬在脂多糖(LPS)介导血管通透性增加中的作用及可能机制。

1 材料及方法

1.1 主要试剂:人脐静脉内皮细胞株(HUVEC,美国Scien Cell公司);天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(caspase-3)试剂盒(美国Biovision公司);异硫氰酸荧光素标记膜联蛋白V(FITC-Annexin V)试剂盒、FITC-白蛋白(美国Sigma公司),自噬标志性蛋白微管相关蛋白轻链3(LC3 II / I),自噬相关基

因Beclin-1单克隆抗体(英国Abcam公司);3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)、辣根过氧化物酶(HRP)标记二抗(天津三箭生物科技有限公司)。

1.2 体外实验

1.2.1 细胞分组及处理:将HUVEC细胞分为4组。空白组不予任何处理;LPS组加LPS 5 mg/L刺激;6-氨基-3-甲基嘌呤(3-MA)+LPS组以5 mmol/L自噬抑制剂3-MA^[5]预处理30 min后再给予LPS 5 mg/L刺激;雷帕霉素(RAP)+LPS组以10 nmol/L自噬诱导剂RAP^[5]预处理30 min后给予LPS 5 mg/L刺激。各组于LPS刺激60 min后检测相关指标。

1.2.2 内皮通透性检测:HUVEC接种于Transwell插入皿,待细胞90%以上融合后用无血清DMEM培养基培养12 h,使细胞同步生长并处于静止期。分组处理后,用EVOM2跨细胞电阻测量仪测定单层HUVEC的跨内皮细胞电阻(TER)以反映内皮通透性^[3]。标准化TER=实验组数值/空白组平均值。

1.2.3 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测LC3 II / I 及Beclin-1的蛋白表达:裂解细胞,BCA

法蛋白定量,凝胶电泳后转膜,免疫化学发光溶液(ECL)曝光,用Image J软件分析灰度值。以目的蛋白与内参照GAPDH的灰度值比值表示蛋白表达量,并以空白组表达量作为对照。

1.2.4 细胞凋亡检测^[3]: HUVEC分组处理后加入FITC-Annexin V 5 μL和碘化丙啶(PI)10 μL混匀,室温避光孵育5 min,流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.5 caspase-3活性检测:充分裂解细胞,BCA法检测蛋白浓度,采用荧光法检测caspase-3活性,步骤参照试剂盒说明书进行。

1.3 体内实验

1.3.1 动物分组及处理:SD大鼠24只,购自南方医科大学实验动物中心,合格证号:44002100000579,按随机数字表法分4组,每组6只。对照组不予任何处理;模型组经尾静脉注射LPS 10 mg/kg;3-MA预处理组经尾静脉注射3-MA 10 mg/kg^[10]预处理30 min后再注射LPS;RAP预处理组经尾静脉注射RAP 2 mg/kg^[11]预处理30 min后再注射LPS。

1.3.2 血管通透性检测^[4]:取大鼠空肠组织,显微镜下寻找20~50 μm周围无脂肪细胞包裹的微静脉,持续滴注FITC-白蛋白0.15 mg·kg⁻¹·min⁻¹,连续60 min用NIS.Element BR软件观察血管内荧光物质渗出情况,测定血管内荧光强度值(I_i)和血管外渗出的荧光强度值(I_o),以血管内外荧光强度变化值(ΔI)表示血管通透性, $\Delta I=1-(I_i-I_o)/I_o$, ΔI 值越大表示通透性越高。

1.4 统计学处理:应用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和LSD多重比较法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体外实验结果

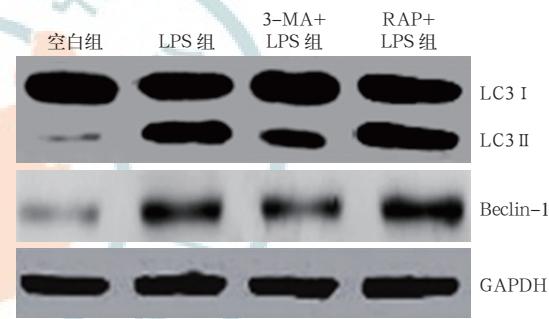
2.1.1 3-MA或RAP对LPS介导HUVEC细胞自噬的影响(表1;图1):LPS组LC3 II/I及Beclin-1的蛋白表达较空白组明显增加(均 $P<0.05$)。与LPS组比较,3-MA+LPS组LC3 II/I及Beclin-1表达明显下调,RAP+LPS组LC3 II/I及Beclin-1表达进一步上调(均 $P<0.05$)。

2.1.2 3-MA或RAP对LPS介导HUVEC细胞凋亡的影响(表2;图2):LPS组细胞caspase-3活性及凋亡率较空白组明显增加(均 $P<0.05$)。与LPS组比较,3-MA+LPS组细胞caspase-3活性及凋亡率明显下降,RAP+LPS组则进一步升高(均 $P<0.05$)。

表1 3-MA或RAP预处理对LPS介导HUVEC细胞自噬的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数(孔)	LC3 II/I蛋白(%)	Beclin-1蛋白(%)
空白组	6	100.0±8.1	100.0±11.5
LPS组	6	420.5±39.4 ^a	293.3±36.1 ^a
3-MA+LPS组	6	288.2±33.3 ^{ab}	185.3±26.4 ^{ab}
RAP+LPS组	6	519.6±45.2 ^{ab}	359.0±38.3 ^{ab}
F值		213.341	129.401
P值		0.000	0.000

注:3-MA为6-氨基-3-甲基嘌呤,RAP为雷帕霉素,LPS为脂多糖,HUVEC为人脐静脉内皮细胞,LC3 II/I为微管相关蛋白轻链3,Beclin-1为自噬相关基因;与空白组比较,^a $P<0.05$;与LPS组比较,^b $P<0.05$



LC3 II/I为微管相关蛋白轻链3,Beclin-1为自噬相关基因,LPS为脂多糖,3-MA为6-氨基-3-甲基嘌呤,RAP为雷帕霉素,GAPDH为3-磷酸甘油醛脱氢酶

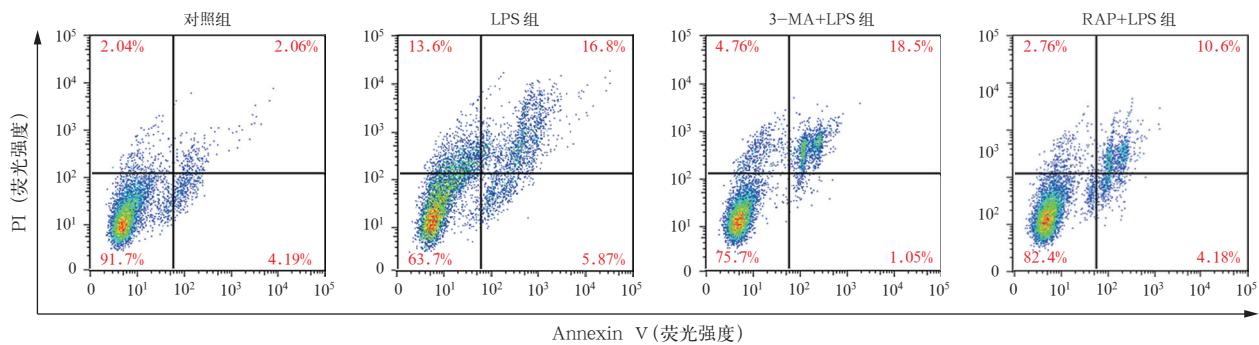
图1 蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测各组人脐静脉内皮细胞LC3 II/I及Beclin-1的蛋白表达

表2 3-MA或RAP预处理对LPS介导HUVEC细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数(孔)	caspase-3活性(%)	凋亡率(%)
空白组	6	100.0±14.5	2.60±0.44
LPS组	6	339.5±25.4 ^a	15.40±1.55 ^a
3-MA+LPS组	6	196.6±28.5 ^{ab}	9.50±0.99 ^{ab}
RAP+LPS组	6	449.1±31.0 ^{ab}	19.30±1.72 ^{ab}
F值		154.038	35.800
P值		0.018	0.000

注:3-MA为6-氨基-3-甲基嘌呤,RAP为雷帕霉素,LPS为脂多糖,HUVEC为人脐静脉内皮细胞,caspase-3为天冬氨酸特异半胱氨酸蛋白酶3;与空白组比较,^a $P<0.05$;与LPS组比较,^b $P<0.05$

2.1.3 3-MA或RAP对LPS介导HUVEC细胞通透性的影响(表3):LPS组TER值较空白组明显降低($P<0.05$)。与LPS组比较,3-MA+LPS组TER值明显升高,RAP+LPS组进一步降低(均 $P<0.05$)。



注:LPS为脂多糖,3-MA为6-氨基-3-甲基嘌呤,RAP为雷帕霉素,Annexin V为膜联蛋白V,PI为碘化丙啶

图2 流式细胞仪检测各组人脐静脉内皮细胞凋亡情况

2.2 体内实验 3-MA 或 RAP 对 LPS 介导大鼠肠系膜血管通透性的影响(表3;图3):模型组白蛋白渗出较对照组明显增多($P<0.05$),血管通透性增加。与模型组比较,3-MA 预处理组白蛋白渗出明显减少($P<0.05$),血管通透性下降;RAP 组白蛋白渗出进一步增多($P<0.05$),血管通透性进一步增加。

表3 3-MA或RAP预处理对LPS介导HUVEC内皮通透性及LPS介导大鼠肠系膜血管通透性的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	样本数 (孔/只)	体外实验 TER 值	体内实验血管内外 荧光强度变化值
对照组	6	1.00 ± 0.07	0.13 ± 0.03
模型组	6	0.63 ± 0.05^a	0.54 ± 0.07^a
3-MA 组	6	0.88 ± 0.09^{ab}	0.25 ± 0.05^{ab}
RAP 组	6	0.54 ± 0.05^{ab}	0.67 ± 0.07^{ab}
F 值		92.400	34.291
P 值		0.013	0.008

注:3-MA为6-氨基-3-甲基嘌呤,RAP为雷帕霉素,LPS为脂多糖,HUVEC为人脐静脉内皮细胞;与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$

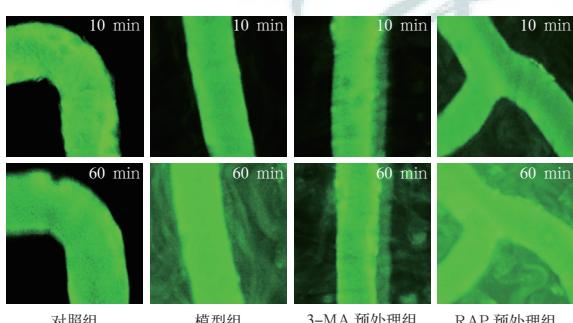


图3 荧光显微镜下观察各组大鼠肠系膜血管通透性改变
10 min时各组荧光白蛋白均无外渗。60 min时对照组无白蛋白外渗;模型组有大量白蛋白外渗;6-氨基-3-甲基嘌呤(3-MA)预处理组外渗白蛋白较模型组明显减少;雷帕霉素(RAP)预处理组外渗白蛋白较模型组进一步增加 高倍放大

3 讨论

自噬通过程序性清除受损的细胞器以利于细胞存活,但过度的自噬可以促进细胞凋亡从而导致机体损伤^[7-8, 12]。本课题组前期研究证实,内皮细胞凋亡是血管通透性增加的重要原因^[3-4]。在本研究中,我们通过自噬抑制剂3-MA及自噬诱导剂RAP干预,检测自噬对内皮细胞凋亡及LPS介导血管通透性增加的影响,以研究细胞自噬在LPS介导血管通透性增加中的作用。

LC3与自噬相关,是自噬的标志性蛋白,最常用于检测自噬水平^[13-15]。本研究结果显示,LPS刺激后LC3 II/I表达显著增加,提示LPS可以导致细胞自噬增强;自噬抑制剂3-MA可抑制其表达,而自噬诱导剂RAP则可进一步增加其表达。Beclin-1蛋白是自噬体形成过程中的一个必需分子,通过介导其他自噬蛋白定位从而调控自噬体的形成与成熟^[9, 16]。本研究中Beclin-1蛋白变化与LC3 II/I蛋白相符,在自噬过程中Beclin-1表达水平上调,3-MA可抑制其表达,而RAP则进一步增强其表达。

为了观察自噬对LPS介导血管通透性的影响,我们在细胞水平给予3-MA或RAP预处理,结果显示,LPS可导致内皮细胞TER值降低,而3-MA可提高TER值,RAP则进一步降低TER值。提示3-MA可以降低LPS介导的内皮通透性增加,而RAP则导致LPS介导的内皮通透性进一步增加。我们通过给大鼠体内注射荧光白蛋白,检测其在肠系膜静脉的渗漏情况以反映血管通透性。结果显示,3-MA可以减少LPS介导的荧光白蛋白渗出,而RAP则导致LPS介导的白蛋白渗出更加严重。以上结果提示细胞自噬可以增强LPS介导的血管通透性增加,而抑制细胞自噬则可以显著减轻LPS介导的血管通透性增加。

自噬可以引起细胞凋亡^[17]。研究证实,线粒体凋亡信号可以通过激活 caspase,导致血管通透性增加^[4]。因此本研究检测了细胞自噬对 LPS 介导细胞凋亡的影响。结果显示,3-MA 可以降低 LPS 介导的内皮细胞凋亡,而 RAP 则可增强 LPS 介导的细胞凋亡。最近发现 Beclin-1 可以被 caspase-3 切割,其 C-末端片段可放大线粒体介导的凋亡作用,使凋亡过程中产生更多的 caspase-3,从而形成正反馈以促进凋亡,而 caspase-3 激活是细胞凋亡的主要特征^[9,18]。我们检测 caspase-3 活性发现,3-MA 可以抑制 caspase-3 活性,而 RAP 则增强 caspase-3 活性。进一步提示自噬可以增强 LPS 介导的细胞凋亡,而抑制自噬则可减轻细胞凋亡。

综上所述,本研究发现抑制细胞自噬可以减轻 LPS 介导的血管通透性增加,而增强自噬则可进一步导致血管通透性增加,其机制可能与自噬介导的内皮细胞凋亡有关。

参考文献

- [1] Zheng YJ, Xu WP, Ding G, et al. Expression of HMGB1 in septic serum induces vascular endothelial hyperpermeability [J]. Mol Med Rep, 2016, 13 (1): 513–521. DOI: 10.3892/mmr.2015.4536.
- [2] Li Y, Hadden C, Cooper A, et al. Sepsis-induced elevation in plasma serotonin facilitates endothelial hyperpermeability [J]. Sci Rep, 2016, 6 : 22747. DOI: 10.1038/srep22747.
- [3] Li G, Li T, Li Y, et al. Ulinastatin inhibits oxidant-induced endothelial hyperpermeability and apoptotic signaling [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7 (11): 7342–7350.
- [4] Lin B, Liu Y, Li T, et al. Ulinastatin mediates protection against vascular hyperpermeability following hemorrhagic shock [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8 (7): 7685–7693.
- [5] 李翅翹,李力群,黄春霞,等.自噬通过抑制凋亡促进体外饥饿状态下脂肪细胞存活 [J].中国病理生理杂志,2015,31 (12): 2228–2232. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2015.12.019.
- [6] Li CC, Li LQ, Huang CX, et al. Autophagy promotes survival of adipose cells by inhibiting apoptosis under in vitro starvation [J]. Chin J Pathophysiol, 2015, 31 (12): 2228–2232. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2015.12.019.
- [7] Mizumura K, Cloonan SM, Nakahira K, et al. Mitophagy-dependent necroptosis contributes to the pathogenesis of COPD [J]. J Clin Invest, 2014, 124 (9): 3987–4003. DOI: 10.1172/JCI74985.
- [8] Zhuang H, Ali K, Ardu S, et al. Autophagy in dental tissues: a double-edged sword [J]. Cell Death Dis, 2016, 7: e2192. DOI: 10.1038/cddis.2016.103.
- [9] Yang S, Imamura Y, Jenkins RW, et al. Autophagy inhibition dysregulates TBK1 signaling and promotes pancreatic inflammation [J]. Cancer Immunol Res, 2016, 4 (6): 520–530. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0235.
- [10] 解春艳,李云峰,梁江水,等.右美托咪定对肠缺血再灌注损伤中自噬与凋亡的影响 [J].中华结核和呼吸杂志,2015,38 (10): 761–764. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2015.10.010.
- [11] Xie CY, Li YF, Liang JS, et al. The effect of dexmedetomidine on autophagy and apoptosis in intestinal ischemia reperfusion-induced lung injury [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2015, 38 (10): 761–764. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2015.10.010.
- [12] 董艾莉,陈红光,谢克亮,等.自噬在脓毒症小鼠肺损伤中的作用 [J].中华麻醉学杂志,2015,35 (9): 1124–1127. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2015.09.026.
- [13] Dong AL, Chen HG, Xie KL, et al. Role of autophagy in lung injury in septic mice [J]. Chin J Anesthesiol, 2015, 35 (9): 1124–1127. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2015.09.026.
- [14] Gao L, Lv G, Guo X, et al. Activation of autophagy protects against cholestasis-induced hepatic injury [J]. Cell Biosci, 2014, 4 : 47. DOI: 10.1186/2045-3701-4-47.
- [15] 刘烨,余娇,蔡艳星,等.自噬在炎症性疾病中的研究进展 [J].中华危重病急救医学,2015,27 (6): 527–529. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.022.
- [16] Liu Y, Yu J, Cai YX, et al. Research progress regarding autophagy in inflammatory diseases [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (6): 527–529. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.022.
- [17] Zhao Q, Guo Z, Deng W, et al. Calpain 2-mediated autophagy defect increases susceptibility of fatty livers to ischemia-reperfusion injury [J]. Cell Death Dis, 2016, 7: e2186. DOI: 10.1038/cddis.2016.66.
- [18] 陈胜利,黄锦达,曾其毅,等.自噬和线粒体辅酶 Q 对急性脓毒症大鼠胰腺外分泌功能的影响 [J].中华危重病急救医学,2015,27 (2): 86–91. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.02.002.
- [19] Chen SL, Huang JD, Zeng QY, et al. Effect of autophagy and mitochondrial coenzyme Q on exocrine function of pancreas in rats with acute sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (2): 86–91. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.02.002.
- [20] 王勇,刘琴,朱紫结,等.艾迪注射液对人肺腺癌 A549 细胞放疗敏感性的增加作用及其机制 [J].中国中西医结合急救杂志,2015,22 (6): 582–586. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.06.007.
- [21] Wang Y, Liu Q, Zhu ZJ, et al. The enhancing radiosensitization effect of Aidi injection on human lung adenocarcinoma A549 cells and its mechanism [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2015, 22 (6): 582–586. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.06.007.
- [22] Kim WK, Pyee Y, Chung HJ, et al. Antitumor Activity of Spicatoside A by Modulation of Autophagy and Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells [J]. J Nat Prod, 2016, 79 (4): 1097–1104. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b00006.
- [23] 张俊.自噬在肺缺血再灌注损伤中的作用及其机制研究 [D]. 武汉:华中科技大学, 2013.
- [24] Zhang J. Changes of autophagy and its role in rat lung ischemia/reperfusion injury [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2013.
- [25] 李涛,李金河,李浩波,等.高渗氯化钠羟乙基淀粉溶液对蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛的影响及机制研究 [J].中华危重病急救医学,2014,26 (8): 589–593. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.08.014.
- [26] Li T, Li JH, Li HB, et al. Effects of hypertonic sodium chloride hydroxyethyl starch solution on cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage and its mechanism [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (8): 589–593. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.08.014.

(收稿日期:2016-04-21)
(本文编辑:孙茜,李银平)