

miR-139-5p修饰UC-MSC来源外泌体对乳腺癌细胞干性和放疗敏感性的影响

时彩艳, 黄国定, 李崇伟, 刘峰
(海南西部中心医院肿瘤内科, 海南 儋州 571700)

摘要 目的 探究miR-139-5p修饰的人脐带间充质干细胞(UC-MSC)来源的外泌体对乳腺癌细胞干性和放疗敏感性的影响。方法 UC-MSC转染miR-139-5p模拟物和阴性对照后,提取外泌体并鉴定。将乳腺癌MCF-7细胞分为对照组、miR-NC Exo组、miR-139-5p Exo组,免疫荧光染色观察外泌体被细胞摄取情况,细胞肿瘤球形成实验检测肿瘤球形成数量,Western blotting检测细胞中干性相关蛋白Nanog、SOX2和OCT4的表达。将MCF-7细胞分为对照组、2 Gy X线组、miR-139-5p Exo组、miR-139-5p Exo+2 Gy X线组,MTT法检测细胞存活率,流式细胞术检测细胞凋亡率。结果 成功分离到UC-MSC来源的外泌体,且转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体中miR-139-5p相对表达量高于转染miR-NC的UC-MSC来源的外泌体($P < 0.05$),2种外泌体均能被MCF-7细胞摄取。与对照组、miR-NC Exo组比较,miR-139-5p Exo组MCF-7细胞肿瘤球形成数量减少,Nanog、SOX2和OCT4蛋白的相对表达水平下调($P < 0.05$)。与对照组比较,2 Gy X线组和miR-139-5p Exo组MCF-7细胞存活率下降,凋亡率升高($P < 0.05$);与2 Gy X线组比较,miR-139-5p Exo+2 Gy X线组MCF-7细胞存活率下降,凋亡率升高($P < 0.05$)。结论 经miR-139-5p修饰的UC-MSC来源的外泌体能够抑制乳腺癌MCF-7细胞干性特征,并提高MCF-7细胞的放疗敏感性。

关键词 乳腺癌; miR-139-5p; 外泌体; 肿瘤细胞干性; 放疗敏感性

中图分类号 737.9 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2025)03-0251-06

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20250318.1427.006>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2025.03.012

Effects of miR-139-5p-modified UC-MSC-derived exosomes on stemness and radiotherapy sensitivity of breast cancer cells

SHI Caiyan, HUANG Guoding, LI Chongwei, LIU Feng
(Department of Oncology, Hainan Western Central Hospital, Danzhou 571700, China)

Abstract Objective To investigate the effects of miR-139-5p-modified human umbilical cord mesenchymal stem cell (UC-MSC)-derived exosomes on stemness and radiotherapy sensitivity of breast cancer cells. **Methods** MCF-7 cells were divided into the control, miR-NC Exo, and miR-139-5p Exo groups. Immunofluorescence staining was used to observe the cellular uptake of exosomes. A tumor sphere formation assay determined the number of tumor spheres formed. Western blotting detected NANOG, SOX2, and OCT4 protein expression levels. MCF-7 cells were divided into control, 2 Gy X ray, miR-139-5p Exo, and miR-139-5p Exo+2 Gy X ray groups. The survival rate of MCF-7 cells was detected by the MTT method. The apoptosis rate of MCF-7 cells was determined using flow cytometry.

Results Compared to the control and miR-NC Exo groups, the number of tumor spheres formed by MCF-7 cells in the miR-139-5p Exo group was significantly decreased, and the relative expression levels of Nanog, SOX2, and OCT4 proteins were significantly downregulated ($P < 0.05$). Compared to the control group, the survival rate of MCF-7 cells in the 2 Gy X ray and miR-139-5p Exo groups was significantly decreased, and the apoptosis rate was significantly increased ($P < 0.05$). Compared to the 2 Gy X ray group, the survival rate of MCF-7 cells in the miR-139-5p Exo+2 Gy X ray group was significantly decreased, and the apoptosis rate was significantly increased ($P < 0.05$).

Conclusion UC-MSC-derived exosomes modified by miR-139-5p inhibit the stemness of MCF-7 cells and enhance the radiotherapy sensitivity of MCF-7 cells.

Keywords breast cancer; miR-139-5p; exosome; stemness; radiotherapy sensitivity

在乳腺癌的发展过程中,存在于肿瘤实体中的

一小部分恶性上皮细胞表现出干细胞样特性,这是导致肿瘤扩散和转移的重要介质^[1]。放疗是目前乳腺癌的主要治疗方法之一,直接通过电离辐射引起DNA损伤破坏肿瘤细胞。然而,部分患者在放疗后复发^[2]。研究^[3]表明,乳腺癌细胞具有的干性特征能够使细胞不断自我更新,并具有组成肿瘤异质细

基金项目:海南省卫生健康行业科研基金(22A200157)

作者简介:时彩艳(1977-),女,主治医师,本科。

通信作者:刘峰, E-mail: nuanliu@126.com

收稿日期:2024-03-07

网络出版时间:2025-03-19 10:47:57

胞群的能力,可以在放疗后维持肿瘤的生长,这是影响放疗效果的关键因素。因此,通过探讨乳腺癌细胞干性特征的调控机制,能够为以靶向抑制干性来提高肿瘤细胞放疗敏感性的治疗策略提供治疗靶点。

微RNA (microRNA, miRNA) 是一组非编码单链小RNA,在肿瘤细胞的恶性行为中起重要的调节作用,并影响肿瘤细胞的干性特征^[4]。前期研究^[5]表明,miR-139-5p在乳腺癌不同分子亚型中表达较低,能够抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭,提示miR-139-5p可能是乳腺癌的治疗靶标。然而,miR-139-5p对乳腺癌细胞干性维持和放疗效果的影响尚不明确。外泌体是直径为30~150 nm的囊泡样结构,广泛存在于所有生物体液和组织中。供体细胞可以通过外泌体将蛋白质、mRNA、miRNA和脂质等外源性物质转移到受体细胞,从而介导细胞间通信^[6]。目前,使用外泌体作为药物输送载体已成为研究热点。本研究旨在探究人脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cell, UC-MSC)来源的外泌体能否将miR-139-5p传递至乳腺癌细胞,从而对乳腺癌细胞干性和放疗敏感性产生影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂

人UC-MSC和人乳腺癌细胞系MCF-7,购自美国ScienCell公司;胎牛血清,购自翌圣生物科技(上海)股份有限公司;DMEM培养基,购自美国Gibco公司;Lipofectamine 2000和TRIzol试剂盒,购自美国Invitrogen公司;miScript SYBR Green定量PCR试剂盒,购自德国QIAGEN公司;外泌体提取试剂盒,购自北京百奥创新科技有限公司;细胞裂解液和PKH26,购自美国Sigma-Altrich公司;BCA蛋白质定量试剂盒,购自天根生化科技(北京)有限公司;化学发光试剂、DAPI、MTT试剂盒、Annexin V-FITC试剂盒,购自上海碧云天生物技术股份有限公司;鬼笔环肽,购自武汉博欧特生物科技有限公司;所有抗体购自英国abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞转染:在UC-MSC中添加含10%胎牛血清的DMEM培养基,在37℃、5%CO₂培养箱内培养至贴壁后,以5×10³/孔接种到96孔板,过夜培养后,根据

Lipofectamine 2000试剂说明书,将miR-139-5p模拟物和阴性对照(negative control, NC)分别转染至UC-MSC,记为miR-139-5p组和miR-NC组,并将未经转染的UC-MSC作为对照组。继续培养48 h,收集细胞进行检测。

1.2.2 实时定量PCR:TRIzol法提取总RNA,反转录合成底物cDNA。参照miScript SYBR Green PCR试剂盒说明书配制反应体系,包括底物cDNA、上游和下游引物、SYBR试剂液和无酶水。在检测系统上进行两步法PCR,以U6为内参基因,采用2^{-ΔΔCt}法计算miR-139-5p相对表达量。

1.2.3 外泌体提取和鉴定:根据外泌体提取试剂盒说明书操作,提取转染后UC-MSC来源的外泌体,-20℃保存。取10 μL外泌体样品,加载到铜网上,1%戊二醛固定,制备电镜样品,在透射电镜下观察、拍照,通过纳米颗粒跟踪分析仪检测直径分布。

1.2.4 Western blotting:采用细胞裂解液提取总蛋白,BCA法测定浓度,取20 μg蛋白通过电泳分离,转至硝酸纤维素膜,5%脱脂奶粉封闭。将一抗和膜在4℃下共孵育过夜,TBST洗膜,加入二抗,室温孵育2 h,化学发光试剂显色,曝光,ImageJ软件分析蛋白条带的灰度值。

1.2.5 外泌体处理细胞:将MCF-7细胞以1×10⁵/孔接种到96孔板上,分为3组。对照组,正常培养MCF-7细胞;miR-NC Exo组,采用转染10 μg/mL miR-NC的UC-MSC来源的外泌体培养MCF-7细胞;miR-139-5p Exo组,采用转染10 μg/mL miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体培养MCF-7细胞。在培养箱培养48 h后,收集各组细胞进行检测。

1.2.6 免疫荧光染色:在外泌体中加入PKH26染液,混匀,室温静置10 min,PBS洗涤并重悬;用鬼笔环肽标记MCF-7细胞骨架,室温静置30 min,PBS洗涤后,在细胞中加入PKH26标记的外泌体,对照组加PBS,孵育过夜。DAPI染核,封片,在荧光共聚焦显微镜下观察、拍照。

1.2.7 细胞肿瘤球形成实验:按照1.2.5分组处理MCF-7细胞,弃原液,换用肿瘤细胞成球培养基重悬,按800/孔铺于低黏附的24孔板中,轻轻晃动后,置于培养箱培养7 d,在光学显微镜下观察、拍照,计数肿瘤球数量。

1.2.8 细胞放射处理:将MCF-7细胞分为4组。对照组,正常培养MCF-7细胞;2 Gy X线组,采用6 MV X

线照射MCF-7细胞,剂量为2 Gy(剂量率100 Mu/min,照射野为10 cm × 10 cm,等中心照射);miR-139-5p Exo组,采用转染10 μg/mL miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体培养MCF-7细胞;miR-139-5p Exo+2Gy X线组,采用转染10 μg/mL miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体培养MCF-7细胞后,2 Gy X线照射。处理结束后,收集各组细胞进行检测。

1.2.9 MTT法和流式细胞术:按照1.2.8分组处理MCF-7细胞。每孔加入5 mg/mL MTT处理4 h,弃原液,加入150 μL二甲基亚砜,摇床振荡10 min,酶标仪检测490 nm处各孔吸光度值,计算细胞存活率。另将MCF-7细胞收集于检测管内,胰酶消化,加入缓冲液洗涤并重悬细胞,加入Annexin V-FITC和碘化丙啶染色,室温静置20 min,采用流式细胞仪检测细胞凋亡水平。

1.3 统计学分析

采用GraphPad Prism8.0软件分析数据。计量资

料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间比较用 t 检验,多组间比较用单因素方差分析,多组间进一步两两比较采用LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

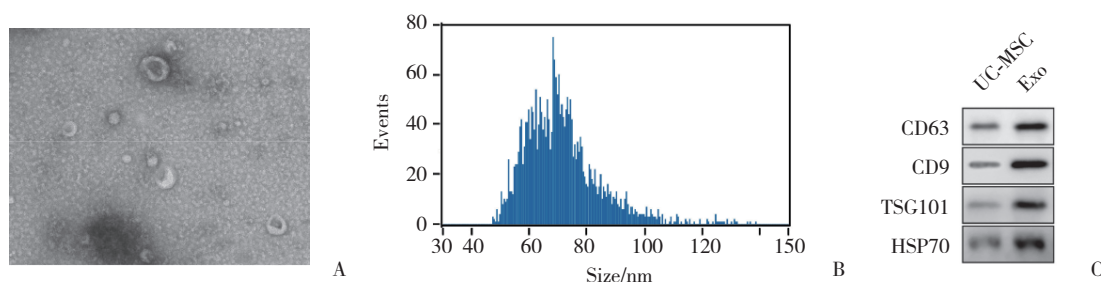
2 结果

2.1 UC-MSC转染效果

与对照组(1.00 ± 0.08)和miR-NC组(1.02 ± 0.10)比较,miR-139-5p组UC-MSC中miR-139-5p相对表达量(3.24 ± 0.35)显著上调($P < 0.05$),表示转染成功。

2.2 转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体鉴定

分离的颗粒物呈盘状小囊泡,直径为45~120 nm(图1A、1B);CD63、CD9、TSG101、HSP70等外泌体标志蛋白均明显表达(图1C),说明成功分离到外泌体。此外,转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体中miR-139-5p相对表达量(2.69 ± 0.28)显著高于转染miR-NC的UC-MSC来源的外泌体(1.00 ± 0.07 , $P < 0.05$)。



A, morphology observed under a transmission electron microscope ($\times 10\ 000$); B, diameter distribution detected by a nanoparticle tracking analyzer; C, expression of CD63, CD9, TSG101, and HSP70 proteins detected by Western blotting.

图1 外泌体的鉴定

Fig.1 Identification of exosomes

2.3 转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体被乳腺癌细胞摄取

PKH26标记转染miR-NC的UC-MSC来源的外泌体和转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体后,再与鬼笔环肽标记的MCF-7细胞共培养,观察到以上2种外泌体均能够被MCF-7细胞摄取。见图2。

2.4 转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体对乳腺癌细胞肿瘤球形成的影响

miR-139-5p Exo组MCF-7细胞肿瘤球数量显著少于对照组和miR-NC Exo组($P < 0.05$)。见图3。

2.5 转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体对乳腺癌细胞干性相关因子水平的影响

与对照组和miR-NC Exo组比较,miR-139-5p Exo组MCF-7细胞中Nanog、SOX2和OCT4蛋白的相对表达水平均显著下调($P < 0.05$),见图4。

2.6 转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体对乳腺癌细胞放疗敏感性的影响

对照组、2 Gy X线组、miR-139-5p Exo组、miR-139-5p Exo+2 Gy X线组MCF-7细胞存活率分别为(100.00 ± 9.29)%、(72.56 ± 7.41)%、(79.82 ± 8.05)%、(56.64 ± 5.89)%。与对照组比较,2 Gy X线组和miR-139-5p Exo组MCF-7细胞存活率显著下降($P < 0.05$);miR-139-5p Exo+2 Gy X线组MCF-7细胞存活率较2 Gy X线组显著下降($P < 0.05$)。

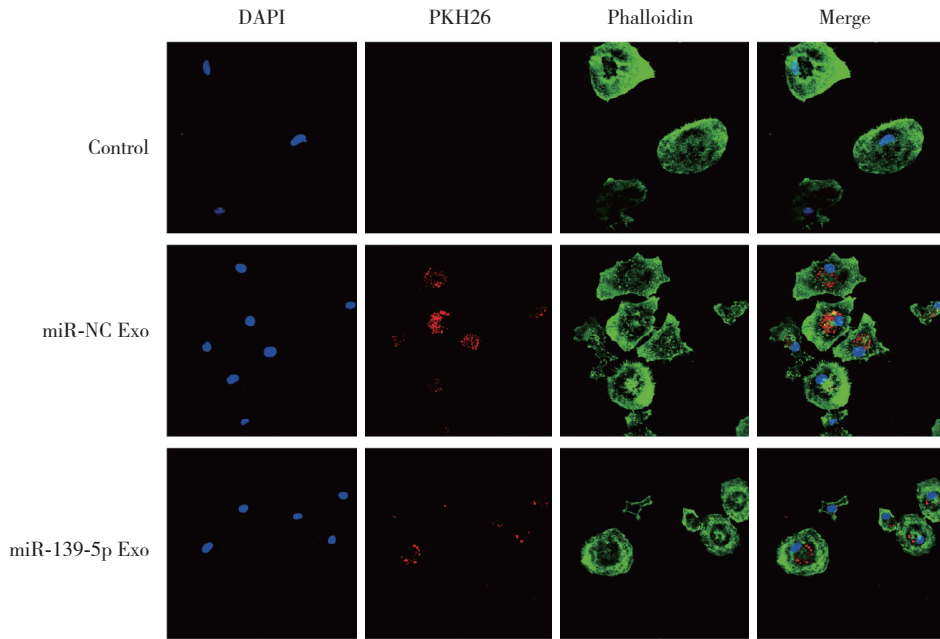
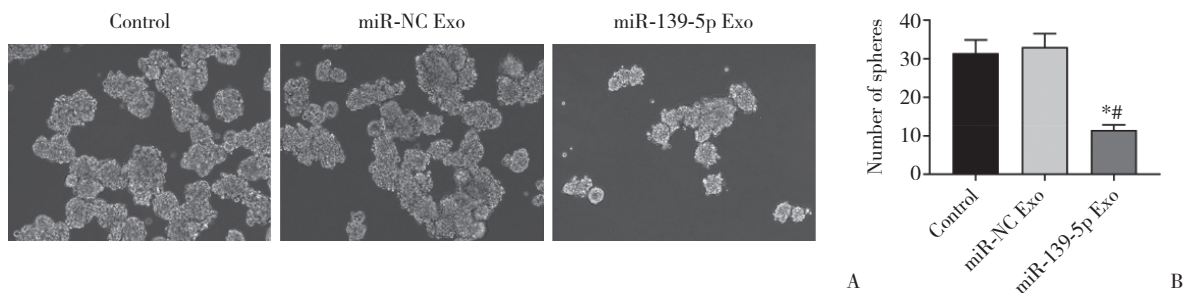


图2 免疫荧光染色观察外泌体被乳腺癌细胞摄取情况 ×100

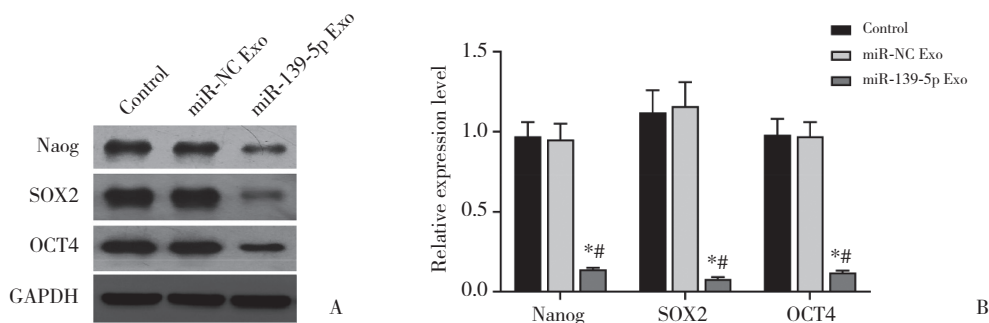
Fig.2 Uptake of exosomes by breast cancer cells as observed by immunofluorescence staining ×100



A, formation of tumor spheres observed under an inverted microscope (×100); B, statistical analysis of the number of tumor spheres formed. * $P < 0.05$ vs. control group; # $P < 0.05$ vs. miR-NC Exo group.

图3 各组乳腺癌细胞肿瘤球形成数量的比较

Fig.3 Comparison of the number of tumor spheres formed in breast cancer cells in each group



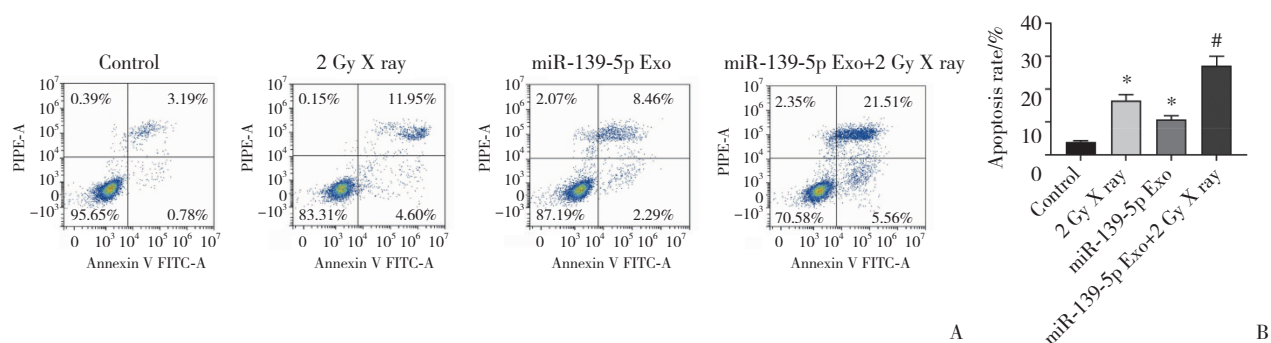
A, Nanog, SOX2, and OCT4 proteins detected by Western blotting; B, statistical analysis of the expression of Nanog, SOX2, and OCT4 proteins. * $P < 0.05$ vs. control group; # $P < 0.05$ vs. miR-NC Exo group.

图4 各组乳腺癌细胞Nanog、SOX2、OCT4蛋白表达水平的比较

Fig.4 Comparison of the expression levels of Nanog, SOX2, and OCT4 proteins in breast cancer cells in each group

与对照组比较, 2 Gy X线组和miR-139-5p Exo组 MCF-7细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$); miR-139-5p

Exo+2 Gy X线组MCF-7细胞凋亡率显著高于2 Gy X线组 ($P < 0.05$)。见图5。



A, apoptosis detected by flow cytometry; B, statistical analysis of the apoptosis rate. * $P < 0.05$ vs. control group; # $P < 0.05$ vs. 2 Gy X ray group.

图5 各组乳腺癌细胞凋亡率的比较

Fig.5 Comparison of the apoptosis rate of breast cancer cells in each group

3 讨论

研究^[7]表明,乳腺癌细胞具有的干细胞样特征有助于肿瘤生长、转移和复发,从而导致不良临床结局。因此,阐明控制肿瘤细胞干性的机制可以为乳腺癌提供新的治疗方法。目前,已经发现多种miRNA通过调节肿瘤细胞干性特征影响肿瘤进展。如miRNA-145、miRNA-148和miRNA-185参与调节前列腺癌细胞的多种生物学过程以及肿瘤干细胞的增殖、分化和自我更新^[8];miR-181a在高级别浆液性卵巢癌原代细胞中高表达,可驱动该肿瘤细胞的干性和化学耐药性,诱导肿瘤复发^[9]。miR-139-5p通常在肿瘤中起抑癌作用,它还通过调控胰岛素样生长因子1及其受体途径,抑制血管瘤干细胞的增殖、迁移和脂肪生成^[10];此外,miR-139-5p通过靶向E蛋白家族成员E2-2减弱结肠癌干细胞的干性特征,从而抑制肿瘤转移^[11]。基于上述研究结果,本研究将miR-139-5p转染至UC-MSC后分离其外泌体,通过外泌体传递miR-139-5p至乳腺癌细胞,明确了miR-139-5p对乳腺癌细胞干性维持和放疗敏感性的调节作用。

近年来,通过基因工程技术将miRNA加载至外泌体对其进行修饰,可定制具有一定靶向性的外泌体,这对肿瘤的靶向治疗意义重大。由于间充质干细胞具有向肿瘤组织或细胞的归巢能力,间充质干细胞来源的外泌体也具有此特性,对肿瘤细胞具有天然的靶向性,并可以穿透生物屏障,因此具有天然药物递送的优势^[12]。本研究中,在转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体中检测到miR-139-5p表达升高,且该外泌体能够被MCF-7细胞摄取,说明外

泌体成功将miR-139-5p递送至MCF-7细胞,这为本研究的后续研究奠定了基础。

肿瘤细胞的干性维持受到Nanog、SOX2、OCT4等转录因子的调节。Nanog是一种分化的同源盒结构域蛋白,具有典型的自我更新和多能转录的调节功能,能够促进肿瘤生长和肿瘤球形成^[13];OCT4是Pit-Oct-Unc家族的同源域转录因子,目前已被证实是诱导和维持干细胞多能性的主要转录因子^[14];SOX2是具有高迁移率基因特征性结构域的转录因子,也是维持肿瘤细胞干性的关键转录因子,并具有促进肿瘤转移的作用^[15]。本研究结果显示,采用转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体处理MCF-7细胞后,细胞肿瘤球数量减少,Nanog、SOX2和OCT4蛋白的相对表达水平也下调,提示通过外泌体传递的miR-139-5p能够抑制乳腺癌细胞的自我更新能力,减少干性转录因子表达,从而抑制乳腺癌细胞的干性特征。本研究还发现,采用转染miR-139-5p的UC-MSC来源的外泌体处理MCF-7细胞后再进行2 Gy X线照射,细胞存活率降低,调亡率增加,这表明外泌体传递的miR-139-5p提高了乳腺癌细胞的放疗敏感性,并推测这一作用可能与其靶向调控肿瘤细胞的干性有关。

综上所述,本研究表明,UC-MSC来源的外泌体能够将miR-139-5p传递至乳腺癌细胞,通过抑制乳腺癌细胞的肿瘤球形成以及细胞内干性相关转录因子Nanog、SOX2、OCT4蛋白的表达,降低肿瘤细胞干性,提高乳腺癌细胞的放疗敏感性,能够为乳腺癌的治疗提供新靶标。然而,外泌体传递miR-139-5p介导乳腺癌细胞干性的具体机制有待后续研究进一步探索。

参考文献:

- [1] TAURIN S, ALKHALIFA H. Breast cancers, mammary stem cells, and cancer stem cells, characteristics, and hypotheses [J]. *Neoplasia*, 2020, 22 (12) : 663-678. DOI: 10.1016/j.neo.2020.09.009.
- [2] UPADHYAY R, BAZAN JG. Advances in radiotherapy for breast cancer [J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2023, 32 (3) : 515-536. DOI: 10.1016/j.soc.2023.03.002.
- [3] SAHA T, LUKONG KE. Breast cancer stem-like cells in drug resistance: a review of mechanisms and novel therapeutic strategies to overcome drug resistance [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 856974. DOI: 10.3389/fonc.2022.856974.
- [4] PAN G, LIU Y, SHANG L, et al. EMT-associated microRNAs and their roles in cancer stemness and drug resistance [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41 (3) : 199-217. DOI: 10.1002/cac2.12138.
- [5] SUN H, DAI J, CHEN M, et al. miR-139-5p was identified as biomarker of different molecular subtypes of breast carcinoma [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 857714. DOI: 10.3389/fonc.2022.857714.
- [6] 原日明, 李建军. 巨噬细胞及其外泌体在骨科疾病中的作用 [J]. *中国医科大学学报*, 2024, 53 (5) : 464-467. DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.05.013.
- [7] ZHANG L, CHEN W, LIU S, et al. Targeting breast cancer stem cells [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19 (2) : 552-570. DOI: 10.7150/ijbs.76187.
- [8] CORADDUZZA D, CRUCIANI S, ARRU C, et al. Role of miRNA-145, 148, and 185 and stem cells in prostate cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (3) : 1626. DOI: 10.3390/ijms23031626.
- [9] BELUR NAGARAJ A, KNARR M, SEKHAR S, et al. The miR-181a-SFRP4 axis regulates Wnt activation to drive stemness and platinum resistance in ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2021, 81 (8) : 2044-2055. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-20-2041.
- [10] WU Y, LI H, XIE J, et al. miR-139-5p affects cell proliferation, migration and adipogenesis by targeting insulin-like growth factor 1 receptor in hemangioma stem cells [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45 (2) : 569-577. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4430.
- [11] MA X, LIU J, LI J, et al. miR-139-5p reverses stemness maintenance and metastasis of colon cancer stem-like cells by targeting E2-2 [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234 (12) : 22703-22718. DOI: 10.1002/jcp.28836.
- [12] MATSUZAKA Y, YASHIRO R. Therapeutic strategy of mesenchymal-stem-cell-derived extracellular vesicles as regenerative medicine [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (12) : 6480. DOI: 10.3390/ijms23126480.
- [13] VASEFIFAR P, MOTAFAKKERAZAD R, MALEKI LA, et al. Nanog, as a key cancer stem cell marker in tumor progression [J]. *Gene*, 2022, 827: 146448. DOI: 10.1016/j.gene.2022.146448.
- [14] MOHIUDDIN IS, WEI SJ, KANG MH. Role of OCT4 in cancer stem-like cells and chemotherapy resistance [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866 (4) : 165432. DOI: 10.1016/j.bbadis.2019.03.005.
- [15] CHAUDHARY S, ISLAM Z, MISHRA V, et al. Sox2: a regulatory factor in tumorigenesis and metastasis [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2019, 20 (6) : 495-504. DOI: 10.2174/1389203720666190325102255.
- (编辑 陈 姜)
-
- (上接第250页)
- 10.1001/archsurg.1970.01340280030009.
- [10] 张俊亮, 曾其毅. 脓毒症与胃肠道功能损伤的关系及研究进展 [J]. *实用医学杂志*, 2016, 32 (17) : 2925-2927. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2016.17.042.
- [11] LEI XZ, TENG WB, FAN Y, et al. The protective effects of HIF-1 α activation on sepsis induced intestinal mucosal barrier injury in rats model of sepsis [J]. *PLoS One*, 2022, 17 (5) : e0268445. DOI: 10.1371/journal.pone.0268445.
- [12] 郭久冰, 王隽笙, 林锦洲, 等. 降钙素基因相关肽对脓毒症大鼠肠黏膜屏障的保护作用及机制 [J]. *解放军医学杂志*, 2019, 44 (12) : 1024-1029. DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2019.12.06.
- [13] JIN SF, JIANG RL, LEI S, et al. Shenfu injection prolongs survival and protects the intestinal mucosa in rats with sepsis by modulating immune response [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2019, 30 (4) : 364-371. DOI: 10.5152/tjg.2019.18418.
- [14] DU XJ, TIAN D, WEI J, et al. MiR-199a-5p exacerbated intestinal barrier dysfunction through inhibiting surfactant protein D and activating NF- κ B pathway in sepsis [J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020: 8275026. DOI: 10.1155/2020/8275026.
- [15] ZINGARELLI B, PIRAINO G, HAKE PW, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor delta regulates inflammation via NF-kappa B signaling in polymicrobial sepsis [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177 (4) : 1834-1847. DOI: 10.2353/ajpath.2010.091010.
- [16] WANG CR, ZHOU GP, ZENG Z. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor- β/δ on sepsis induced acute lung injury [J]. *Chin Med J*, 2014, 127 (11) : 2129-2137.
- [17] XU SQ, LI LL, WU J, et al. Melatonin attenuates sepsis-induced small-intestine injury by upregulating SIRT3-mediated oxidative-stress inhibition, mitochondrial protection, and autophagy induction [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 625627. DOI: 10.3389/fimmu.2021.625627.
- [18] 万晟霞, 张宏泽, 马爽, 等. 脓毒症大鼠肠上皮细胞自噬水平的研究 [J]. *肠外与肠内营养*, 2014, 21 (6) : 368-371, 376. DOI: CNKI: SUN: CWCN.0.2014-06-018.
- [19] 周彩华, 李国峰, 莫伟彬. 益生菌对力竭运动大鼠肠上皮细胞自噬的影响 [J]. *现代预防医学*, 2019, 46 (7) : 1238-1241, 1280.
- [20] CHEN M, JING D, YE R, et al. PPAR β/δ accelerates bone regeneration in diabetic mellitus by enhancing AMPK/mTOR pathway-mediated autophagy [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12 (1) : 566. DOI: 10.1186/s13287-021-02628-8.
- (编辑 王又冬)