

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2024.03.002

❖ 基础研究 ❖

深度烧伤痂脂肪干细胞源性外泌体蛋白组学差异的初步研究

巴雅力嘎^{1,2}, 巴特², 李全², 高雷^{1,2}, 李芳², 曹胜军²

(1. 内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古 包头 014060; 2. 内蒙古医科大学第三附属医院烧伤外科·内蒙古烧伤医学研究所, 内蒙古 包头 014010)

【摘要】目的: 分析不同脂肪组织来源干细胞源性外泌体 (ADSC-Exos) 蛋白质组学差异, 为深度创面修复提供理论依据。**方法:** 取烧伤痂组织与正常皮下脂肪组织, 分离脂肪干细胞 (ADSC), 通过光镜观察、Western blot (WB)、成骨分化、成脂分化鉴定 ADSC。差速离心方法收集脂肪干细胞外泌体 (ADSC-Exos), 通过电镜观察、WB 法、Nanosight 分析仪鉴定 ADSC-Exos; 通过非标记定量蛋白质组 (LFQ) 技术分析两组患者 ADSC-Exos 蛋白质表达水平差异。**结果:** 成功分离 ADSC, 光镜下呈纤维状, WB 显示细胞稳定表达 CD29 及 CD105, 成骨诱导分化细胞内见红色密集钙结节、成脂诱导分化细胞内存在折光性好的透亮脂滴。成功分离 ADSC-Exos, 电镜下呈双膜性结构, WB 显示外泌体可稳定表达表面标志物 CD63 及 CD81, Nanosight 显示外泌体均匀对称分布, 直径 30 ~ 150 nm。两组表达水平差异蛋白质 184 种, 差异倍数显著上调前 10 种蛋白: 丝裂原活化蛋白激酶 3、丝裂原活化蛋白激酶 1、转化生长因子 β -1 前蛋白、细胞凋亡调节因子 BAX、热休克蛋白 HSP 90 α 、微管蛋白 α -1B 链、腺病毒 E1B19kDa 相互作用蛋白 2、钙调素-3、热休克蛋白 HSP 90 β 、蛋白激酶 C β 型; 差异倍数显著下调前 10 种蛋白: 激肽源 B1、激肽源 1、补体家族 (C3、C1q C 链、C1q B 链、C5、C1q A、C4B、C4A、C9)。**结论:** 烧伤痂下组织来源 ADSC-Exos 蛋白与正常组织的表达存在明显差异, 可能与烧伤创面修复、抑制瘢痕过度增生及抗炎与机体免疫等密切相关。

【关键词】 烧伤; 外泌体; 脂肪干细胞; 蛋白质组学

【中图分类号】 R644 **【文献标志码】** A

Preliminary proteomic analysis of adipose-derived stem cell exosomes in severe burn patients

BA Ya-li-ga^{1,2}, BA Te², LI Quan², GAO Lei^{1,2}, LI Fang², CAO Sheng-jun²

(1. Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014060; 2. Burn Medical Institute of Inner Mongolia, Department of Burn Surgery, the Third Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Baotou, 014010, Inner Mongolia, China)

【Abstract】Objective: To provide theoretical basis for deep wound repair by analyzing the proteomic differences of adipose-derived stem cell-derived exosomes (ADSC-Exos) from different adipose tissue sources. **Methods:** The adipose tissue derived under the eschar of burn patients and normal subcutaneous adipose tissue were used for isolating adipose-derived stem cells (ADSC). ADSC were identified through light microscopy, Western blot (WB), osteogenic differentiation and adipogenic differentiation. ADSC-Exos were collected using differential centrifugation method. ADSC-Exos were identified by electron microscopy, Western Blot, and Nanosight analyzer. The proteomics differential expression of ADSC-Exos was analyzed by using label-free quantitative proteomics (LFQ) technique between the two groups. **Results:** ADSC was successfully separated, presenting a fibrous shape under the light microscope, the stable expression of CD29 and CD105 were showed by Western Blot analysis. Red dense calcium nodules were observed in osteogenic induced differentiation cells, and there were transparent lipid droplets with good refractive properties in adipogenic induced differentiation cells. ADSC-Exos were successfully isolated, exhibiting a bilayered structure under electron microscopy, the stable expression of surface markers CD63 and CD81 were revealed by Western Blot analysis, the uniform and symmetrical distribution of ADSC-Exos were showed by Nanosight analysis, with a diameter ranging 30 ~ 150 nm. There were 184 differentially expressed proteins, top 10 proteins exhibiting a significant upregulation in fold change were selected, including Mitogen-activated protein kinase 3, Mitogen-activated protein kinase 1,

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金 (2021MS08066); 重大疾病防治科技行动计划 (2018-ZX-01S-001); 内蒙古医科大学联合项目 (YKD2024LH015); 内蒙古医学科学院临床需求性基础研究项目 (2023GLLH0245)

作者简介: 巴雅力嘎 (1997 -), 男, 硕士研究生, 住院医师。E-mail: baylig@126.com

通讯作者: 李全, 博士。E-mail: bgyylq@126.com

Transforming growth factor beta-1, Apoptosis regulator BAX, Heat shock protein HSP 90-alpha, Tubulin alpha-1B chain, adenovirus E1B 19kDa interacting protein 2, Calmodulin-3, Heat shock protein HSP 90-beta, Protein kinase C beta type. As well as the top 10 proteins showing a significant downregulation in fold change, including kallikrein B1, kininogen 1, and complement family members (C3, C1q C chain, C1q B chain, C5, C1q A, C4B, C4A, C9). **Conclusion:** Significant differences are observed in the protein expression of ADSC-Exos from different sources, and these differential proteins may play important roles in burn wound healing, reducing excessive scar formation, exerting anti-inflammatory and immune-modulating effects on the body.

[Key words] Burn; Exosomes; Adipose stem cell exosomes; Proteomics

外泌体是由细胞分泌产生直径 30 ~ 150 nm 的小囊泡, 内含各种 RNA、DNA、蛋白质等, 可介导细胞间信息传递及调控细胞功能活动^[1-2]。同一个体不同细胞来源乃至不同病理生理状态下, 外泌体所含蛋白质组及其执行的生物学功能不尽相同^[3-4]。蛋白质组学是研究不同蛋白质之间相互作用及其在生物体内发挥功能的有效手段, 可为疾病的诊断与治疗提供一定的理论依据^[5]。

创面修复与瘢痕防治是烧伤外科学重点和难点。脂肪干细胞源性外泌体 (adipose stem cell exosomes, ADSC-Exos) 具有促进创面愈合、重塑及减轻瘢痕过度增生的作用^[5-7], 但关于 ADSC-Exos 的蛋白质组学研究鲜有报道。本研究以深度烧伤痂与正常皮下脂肪组织来源 ADSC-Exos 为研究对象, 应用非标记定量蛋白质组 (label free quantification, LFQ) 技术研究 ADSC-Exos 蛋白质组表达水平差异, 筛选标志蛋白并对其进行分析。

1 试剂与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 实验主要仪器及试剂 颗粒物粒度分析仪 (NanoSight NS300, 英国马尔文公司); 生物型透射电子显微镜 (Tecnai G2 SpiritBiotwin, 美国 FEI 公司); 智能型高效离心机 (AvantiJXN-30, 美国贝克曼库尔特公司); 质谱仪 (timsTOF Pro, 美国布鲁克公司); 液相色谱仪 (UltiMate 3000 RSLCnano, 丹麦泰尔茂费舍尔公司); 0.15% I 型胶原酶 (美国 Gibco 公司); 胎牛血清 (美国 Gibco 公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (美国 Sigma 公司); 成骨、成脂培养基 (中国 Cyagen Biosciences Inc. 公司); 碳支持膜 (中国中镜科仪公司); 10% 胎牛血清 (美国 Gibco 公司); 0.25% 胰蛋白酶 (美国 Gibco 公司); 兔抗人 CD64 (日本 SAB 公司); 兔抗人 CD81 单克隆抗体 (日本 Epitomics 公司); DMEM/F12 基础培养基 (美国 Hyclone 公司) 等。

1.1.2 取材对象 实验组选取 III 度烧伤且 < 10% 体表面积的痂下脂肪组织, 患者年龄 36 ~ 54 岁; 对照组选取整形外科患者, 取腹部抽脂术中废弃的皮下脂肪组织, 年龄 38 ~ 52 岁。两种来源的脂肪组织

肉眼观察呈淡黄色, 质地均匀、光滑、富有弹性, 无明显液化、碳化、硬结。手术过程中的脂肪组织均选取肉眼观察健康的脂肪组织, 对获取脂肪干细胞 (adipose stem cell, ADSC) 进行分离与传代, 对初代 ADSC-Exos 进行蛋白质组学分析。两组患者年龄差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.1.3 统计学分析 样本定量结果取 log₂, 采用双样本双尾 *T* 检验的方法计算 *P* 值。以 $P < 0.05$ 且差异表达量变化 > 1.5 或 < 0.67 分别作为显著上调及下调的阈值。

1.2 实验方法

1.2.1 ADSC 的分离、传代及鉴定 将实验组和对照组脂肪使用含双抗的磷酸盐缓冲液冲洗, 除去多余组织, 将脂肪组织剪碎, 加入 I 型胶原酶消化外基质, 使用滤网将溶解的脂肪组织从缓冲液中分离, 在 4 °C 条件下 300 × g 离心除去其余夹杂细胞, 弃去上清液及脂滴, 获得初代 ADSC^[8]。将获得的细胞染色, 光镜下进行观察, 拍照记录。采用 Western blot 法将培养基中初代细胞离心后收集蛋白质, 将得到的蛋白质电泳分离, 转移至膜上, 测定 CD29、CD34、CD105 表达水平。使用成骨、成脂培养基诱导 ADSC 向成骨、成脂细胞分化, 染色结果为鉴定 ADSC 提供参考^[8]。

1.2.2 ADSC-Exos 的分离与鉴定 取 ADSC, 用胎牛血清培养基培养, 待细胞融合后用胎牛血清反复清洗, 将培养基更换为不含胎牛血清培养基继续培养 36 ~ 48 h, 收集培养基上清液, 采用差速离心法 4 000 × g 离心 40 min 除去细胞碎片及较大囊泡, 获得外泌体浓缩液。将外泌体浓缩液移至浓度 30% 蔗糖/重水密度垫上, 离心管 100 000 × g 离心 2 h, 收集底部外泌体^[8]。取 20 μL 外泌体悬液滴至电子显微镜铜网栅中等待, 负染、固定, 晾干后拍照观察。使用去离子水溶液倒入 20 μL 外泌体浓缩液稀释至 1 000 μL, 上样, 用 Nanosight 颗粒物粒度分析仪检测 ADSC-Exos 的粒径和浓度, 评估性质和质量。Western blot 法测定 ADSC-Exos 表面标志物 CD81、CD64 表达水平^[8]。

1.2.3 利用 LFQ 技术检测 ADSC-Exos 蛋白质组学 (1) 样品处理: 向 ADSC-Exos 中加入裂解液充分混

匀,进行组织匀浆离心,取上清。沉淀蛋白。将蛋白沉淀复溶,加入二硫苏糖醇孵育,加入碘乙酰胺进行烷基化反应。利用 Bradford 法测定蛋白浓度。向还原、烷基化样品中加入 100 mmol/L Tris-HCl 溶液,将 Urea 浓度稀释至 < 2 mol/L,以酶与蛋白 1:50 质量比加入胰蛋白酶,37 °C 孵育振荡酶切。第 2 天加入三氟乙酸(trifluoroacetic acid, TFA) 终止酶切,取上清进行脱盐,抽干 -20 °C 冻存待用。(2) 质谱检测:样品进样与分离通过质谱仪在线液相色谱仪进行。肽段样品通过自动进样器吸入,结合至补集柱(trap column, TC),洗脱至分析柱进行分离。利用两个流动相建立分析梯度 60 min。肽段进入质谱进行数据依赖采集模式(data dependent acquisition, DDA)扫描。(3) 数据分析:质谱数据通过 MaxQuant (V1.6.6) 软件进行检索,数据库检索算法为 Andromeda,使用 Uniprot 中 Human 的蛋白质组参考数

据库^[9]。

2 结果

2.1 ADSC 的分离、培养与鉴定

两组患者初代 ADSC 体积较小,呈多形性,细胞形态分散。第 2 代 ADSC 保持较小的细胞体积和多形性,形态更为均匀、黏附性和增殖能力进一步增强。第 3 代 ADSC 细胞体积和形态更加统一,细胞的黏附性和增殖能力进一步增加光镜下呈纤维样、漩涡状或放射状生长,偶见多角形、纺锤形。细胞稳定表达 ADSC 表面标志物 CD29、CD105,未表达 CD34(造血系分子标志物)。成骨诱导的细胞进行茜素红染色,镜下见成骨细胞特征性红色密集的钙结节。成脂诱导的细胞胞浆内有大量透亮、折光性好的脂滴,油红 O 染色呈红色。见图 1。

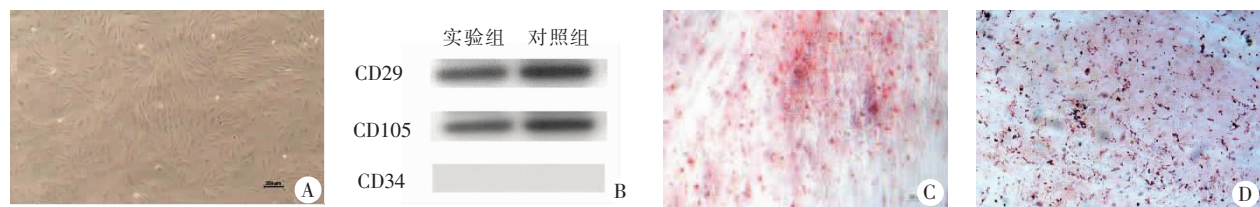


图 1 ADSC 的分离、培养与鉴定

A. 光学显微镜结果;B. ADSC 稳定表达 CD29、CD105;C. 诱导成骨细胞;D. 诱导成脂细胞。

2.2 ADSC-Exos 分离与鉴定

透射电镜下可见分布较集中的外泌体,分散良好,直径 30 ~ 150 nm,大小均一,呈双膜性结构的圆形或类圆形,中央较边缘电子密度稍低。Western

blot 检测显示, ADSC-Exos 稳定表达表面标志物 CD63、CD81。NanoSight 纳米颗粒跟踪分析表明,外泌体均匀对称分布,纯度较高,大部分直径 30 ~ 150 nm,符合外泌体正常的粒径范围。见图 2。

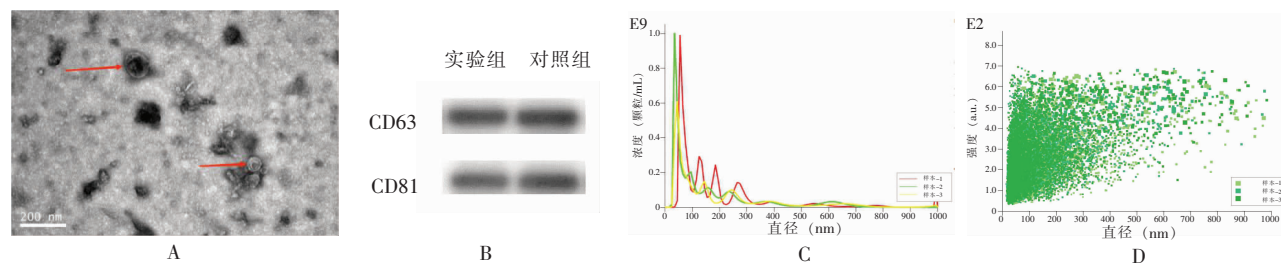


图 2 ADSC-Exos 分离与鉴定

A. 透射电镜;B. Western blot;C. Nanosight 测定外泌体粒径;D. Nanosight 测定外泌体浓度。

2.3 ADSC-Exos 差异蛋白分析

基于 LFQ 技术,实验组/对照组差异倍数 > 1.5 或 < 0.67 ,通过 MaxQuant (V1.6.6) 软件筛选出表达差异蛋白 184 个,筛选上调蛋白前 10 位丝裂原活化蛋白激酶 3 (mitogen-activated protein kinase 3, MAPK3)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、转化生长因子 β -1 (transforming growth factor beta-1, TGF- β 1)、细胞凋亡调节

因子 BAX (apoptosis regulator BAX, BAX)、热休克蛋白 HSP 90 α (heat shock protein 90-alpha, HSP 90 α)、微管蛋白 α -1B 链 (tubulin alpha-1B chain, T α -1B)、腺病毒 E1B19kDa 相互作用蛋白 2 (adenovirus E1B 19kDa interacting protein 2, AEIP2)、钙调素 3 (calmodulin-3, Clam3)、热休克蛋白 HSP 90 β (heat shock protein 90-beta, HSP 90 β)、蛋白激酶 C β 型 (protein kinase C beta type, PKC β),下调蛋白前 10 位激肽源

B1 (kallikrein B1, KLKB1)、激肽源 1 (kininogen 1, KNG1)、补体 C3 (complement C3, C3)、补体 C1q C 链 (complement C1q C chain, C1q C)、补体 C1q B 链 (complement C1qB chain, C1qB)、补体 C5 (complement C5, C5)、补体 C1q A 链 (complement C1q A chain, C1q A)、补体 C4B (complement C4B, C4B)、补体 C4A (complement C4A, C4A)、补体 C9 (complement C9, C9) 进行分析。见表 1。

表 1 不同来源 ADSC-Exos 蛋白表达水平差异

蛋白	ID	基因	比值	P 值
MAPK3	P27361	MAPK3	6.066 ↑	0.008
MAPK1	P28482	MAPK1	3.897 ↑	0.003
TGF-β1	P01137	TGFβ1	3.172 ↑	0.011
BAX	Q07812	BAX	3.132 ↑	0.024
HSP 90α	P07900	HSP90AA1	2.685 ↑	0.001
Tα-1B	P68363	TUBA1B	2.550 ↑	0.001
AEIP2	Q12982	BNIP2	2.499 ↑	0.001
Clam3	PODP25	CALM3	2.343 ↑	0.013
HSP 90β	P08238	HSP90AB1	1.959 ↑	0.004
PKCβ	P05771	PRKCB	1.754 ↑	0.002
KLKB1	P03952	KLKB1	0.563 ↓	0.006
KNG1	P01042	KNG1	0.369 ↓	0.001
C3	P01024	C3	0.336 ↓	0.001
C1q C	P02747	C1QC	0.312 ↓	0.013
C1qB	P02746	C1QB	0.298 ↓	0.013
C5	P01031	C5	0.296 ↓	0.001
C1q A	P02745	C1QA	0.295 ↓	0.008
C4B	POC0L5	C4B	0.262 ↓	0.001
C4A	POC0L4	C4A	0.230 ↓	0.001
C9	P02748	C9	0.151 ↓	0.001

3 讨论

间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 作为一类多能非造血成体干细胞,骨髓、肌肉、肺、肝、胰腺、脂肪等组织中均可分离培养,来源广泛,具有向多种细胞分化、免疫调节、自我更新、抗炎及创面修复的能力^[10-11]。ADSC 隶属于 MSC,易于获取且具有较强的迁移能力,可快速集聚于受伤部位,并能够分化为真皮成纤维细胞、内皮细胞和角质形成细胞等,因此在创伤修复、组织工程、皮肤及器官移植等研究领域具有较广泛的应用潜力^[12-13]。但 ADSC 保存及运输较困难,移植异体 ADSC 易诱发较强的排斥反应,并存在潜在致癌风险、伦理学等问题,其在烧、创伤患者救治中的临床应用受限^[1,12]。胞吐是细胞执行生物学功能的重要途径,外泌体是细

胞胞吐后的重要成分^[14-15],且外泌体在无活体细胞的情况下仍可发挥与母细胞相似的生理功能^[5-6]。因此,ADSC-Exos 无免疫原性,与母细胞功能高度同源且特异性较强,在内环境中较稳定,并易于量化、保存方便,可弥补 ADSC 临床应用的缺陷^[16-17]。本研究利用高速离心法分离出直径 30 ~ 150 nm 细胞外泌体,分别通过电镜观察、Western blot、纳米颗粒跟踪分析仪证实其为 ADSC-Exos,证明实验获取的外泌体具有一定的稳定性和可靠性。

蛋白组学研究可为 ADSC-Exos 在烧、创伤中实现创面愈合、瘢痕过度增生及其它分子机制提供重要参考。本研究对不同来源外泌体行蛋白质组学分析,筛选出表达差异蛋白 184 个,分析其功能主要集中在参与创面修复、减轻瘢痕过度增生、抗炎及机体免疫作用等方面。MAPK3 与 MAPK1 可调节磷酸化下游靶点蛋白,是重要的细胞分化、增殖诱导信号分子^[18-19];HSP90AA1 可激活相关信号通路抑制皮肤细胞凋亡^[20-22],可能与促进局部创面修复密切相关。细胞凋亡调节因子 BAX 为促凋亡基因激活物,BNIP2 为抗凋亡基因激活物,两者通过级联反应致调节细胞凋亡^[23-24],可能与创面修复和减轻创面过度增生相关。PRKCB 表达与炎症、感染及细胞自噬相互联系^[25-26],KLKB1 与 KNG1 下调可减少血管扩张^[27]。另外,补体家族蛋白与机体感染免疫均有一定联系,以上蛋白下调可有效减少机体局部炎症反应,改善局部微环境,在抗炎及调节机体免疫反应中发挥重要作用^[28]。

外泌体蛋白组学研究近年来逐渐成为生命科学和临床医学的热点领域。本研究通过对不同来源 ADSC-Exos 的蛋白组学进行差异分析,初步筛选了表达水平差异蛋白,发现差异蛋白不仅参与创面修复及减轻瘢痕过度增生等作用,在抗炎、免疫、抗感染方面也有积极作用,为靶向治疗药物研发提供了有效的理论依据,但具体分子机制还需要进一步实验来阐明。

参考文献

- [1] Abraham A, Krasnodembskaya A. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for the treatment of acute respiratory distress syndrome [J]. Stem Cells Translational Medicine, 2020, 9 (1): 28 - 38.
- [2] Elsharkasy OM, Nordin JZ, Hagey DW, et al. Extracellular vesicles as drug delivery systems: why and how? [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2020, 159: 332 - 343.
- [3] Babuta M, Furi I, Bala S, et al. Dysregulated autophagy and lysosome function are linked to exosome production by micro-RNA 155 in alcoholic liver disease [J]. Hepatology (Baltimore, Md), 2019, 70(6): 2123 - 2141.

- [4] Meleady P, Abdul Rahman R, Henry M, *et al.* Proteomic analysis of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Expert Review of Proteomics*, 2020, 17(6):453–467.
- [5] Hade MD, Suire CN, Suo Z. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: applications in regenerative medicine [J]. *Cells*, 2021, 10(8):1959.
- [6] Monavarian M, Kader S, Moeinzadeh S, *et al.* Regenerative scar-free skin wound healing [J]. *Tissue Engineering Part B, Reviews*, 2019, 25(4):294–311.
- [7] Zang T, Broszczak DA, Broadbent JA, *et al.* The biochemistry of blister fluid from pediatric burn injuries: proteomics and metabolomics aspects [J]. *Expert Review of Proteomics*, 2016, 13(1):35–53.
- [8] 李洪超,金银鹏,王哲,等. 人脂肪干细胞及其外泌体的分离与鉴定 [J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(13):2033–2038.
- [9] 张厚君,邓博文,蒋昇源,等. 脑性瘫痪儿童脑脊液内外泌体的蛋白质组学分析 [J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(6):903–908.
- [10] Nam D, Park A, Dubon MJ, *et al.* Coordinated regulation of mesenchymal stem cell migration by various chemotactic stimuli [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(22):8561.
- [11] Hart DA. What molecular recognition systems do mesenchymal stem cells/medicinal signaling cells (MSC) use to facilitate cell-cell and cell matrix interactions? A review of evidence and options [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(16):8637.
- [12] Guo J, Hu H, Gorecka J, *et al.* Adipose-derived mesenchymal stem cells accelerate diabetic wound healing in a similar fashion as bone marrow-derived cells [J]. *American Journal of Physiology Cell Physiology*, 2018, 315(6):C885–C896.
- [13] Mazini L, Rochette L, Admou B, *et al.* Hopes and limits of adipose-derived stem cells (ADSCs) and mesenchymal stem cells (MSCs) in wound healing [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(4):1306.
- [14] Cui W, Sathyanarayan A, Lopresti M, *et al.* Lipophagy-derived fatty acids undergo extracellular efflux via lysosomal exocytosis [J]. *Autophagy*, 2021, 17(3):690–705.
- [15] Schillemans M, Karampini E, Kat M, *et al.* Exocytosis of Weibel-Palade bodies: how to unpack a vascular emergency kit [J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*, 2019, 17(1):6–18.
- [16] An Y, Lin S, Tan X, *et al.* Exosomes from adipose-derived stem cells and application to skin wound healing [J]. *Cell Proliferation*, 2021, 54(3):e12993.
- [17] Zhu Y, Ge J, Huang C, *et al.* Application of mesenchymal stem cell therapy for aging frailty: from mechanisms to therapeutics [J]. *Theranostics*, 2021, 11(12):5675–5685.
- [18] Liu F, Feng XX, Zhu SL, *et al.* Sonic hedgehog signaling pathway mediates proliferation and migration of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis via MAPK/ERK signaling pathway [J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9:2847.
- [19] Chou V, Fancher SB, Pearse RV, *et al.* INPP5D/SHIP1 regulates inflammasome activation in human microglia [J]. *BioRxiv: the Preprint Server for Biology*, 2023, 14(1):7552.
- [20] Lodyga M, Hinz B. TGF- β 1 - A truly transforming growth factor in fibrosis and immunity [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2020, 101:123–139.
- [21] 董毅,徐贵颖,马牧松,等. 热休克蛋白 90 α 激活 PI3K/Akt 通路介导乳腺癌他莫昔芬耐药的机制研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(22):2758–2762.
- [22] Li JY, Ren KK, Zhang WJ, *et al.* Human amniotic mesenchymal stem cells and their paracrine factors promote wound healing by inhibiting heat stress-induced skin cell apoptosis and enhancing their proliferation through activating PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2019, 10(1):247.
- [23] Jensen K, WuWong DJ, Wong S, *et al.* Pharmacological inhibition of Bax-induced cell death: Bax-inhibiting peptides and small compounds inhibiting Bax [J]. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N J)*, 2019, 244(8):621–629.
- [24] Sharma M. Apoptosis-antagonizing transcription factor (AATF) gene silencing: role in induction of apoptosis and down-regulation of estrogen receptor in breast cancer cells [J]. *Biotechnology Letters*, 2013, 35(10):1561–1570.
- [25] Patergnani S, Marchi S, Rimessi A, *et al.* PRKCB/protein kinase C, beta and the mitochondrial axis as key regulators of autophagy [J]. *Autophagy*, 2013, 9(9):1367–1385.
- [26] Deretic V. Autophagy in inflammation, infection, and immunometabolism [J]. *Immunity*, 2021, 54(3):437–453.
- [27] Ponczek MB. High molecular weight kininogen: a review of the structural literature [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(24):13370.
- [28] Ding Z, Du F, Richard Averitt V, *et al.* Targeting S100A9 reduces neutrophil recruitment, inflammation and lung damage in abdominal sepsis [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(23):12923.

(收稿日期:2023-07-23

修回日期:2023-11-05)