

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.24.004

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231213.1639.007\(2023-12-13\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231213.1639.007(2023-12-13))

柴黄清胰活血颗粒对重症急性胰腺炎大鼠 胰腺组织细胞自噬的影响*

蒋亚玲,张雨森,冯 雯,王天刚,陈 辉,向 未,李 翼,王阳洋,李 丽[△]

(西南医科大学附属中医医院脾胃科,四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 观察柴黄清胰活血颗粒对重症急性胰腺炎(SAP)大鼠胰腺组织细胞自噬的影响。**方法** 将SD大鼠随机分为假手术组(SO组)、SAP组和柴黄清胰活血颗粒治疗组(CH组),应用3.5%牛磺胆酸钠建立SAP模型,CH组予以柴黄清胰活血颗粒灌胃,SO组和SAP组予以生理盐水灌胃,12、24 h分批处死大鼠。苏木素-伊红(HE)染色对胰腺组织进行病理学评价;Western blot检测自噬效应蛋白(Beclin-1)、微管相关蛋白1轻链3-I(LC3-I)、微管相关蛋白1轻链3-II(LC3-II)、可溶/不可溶自噬底物募集蛋白(Soluble/Insoluble p62)、溶酶体相关膜蛋白2(LAMP2)相对表达水平;免疫荧光双染色法检测LC3表达,并进行LC3和Insulin共定位分析。**结果** 12、24 h时,与SO组比较,SAP组和CH组病理学评分明显升高,LC3-II/LC3-I、Beclin-1、LAMP2、p62(Insoluble)相对表达水平明显升高,p62(Soluble)相对表达水平明显降低,LC3免疫荧光强度升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。12、24 h时,与SAP组比较,CH组LC3-II/LC3-I、LAMP2、p62(Insoluble)相对表达水平降低,LC3免疫荧光强度降低,差异有统计学意义($P<0.05$);p62(Soluble)相对表达水平无差异($P>0.05$)。蛋白共定位分析结果显示,SAP组LC3和胰岛素(Insulin)在胰岛细胞的细胞质区域、分泌颗粒区域中均有分布,SO组及CH组未见明显共定位表现。**结论** 柴黄清胰活血颗粒可抑制SAP大鼠胰腺组织Beclin-1、LC3-II/LC3-I、p62(Insoluble)、LAMP2相对表达水平,从而抑制SAP中异常活跃自噬,提高自噬通量,发挥对胰腺细胞的保护作用。

[关键词] 柴黄清胰活血颗粒;自噬;自噬通量;重症急性胰腺炎

[中图法分类号] R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2023)24-3699-08

Effect of Chaihuang Qingyi Huoxue Granule on autophagy of pancreatic cells in SAP rats*

JIANG Yaling, ZHANG Yusen, FENG Wen, WANG Tiangang, CHEN Hui,

XIANG Wei, LI Yi, WANG Yangyang, LI Li[△]

(Department of Spleen and Stomach, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital
of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of Chaihuang Qingyi Huoxue Granule on autophagy of pancreatic cells in rats with severe acute pancreatitis (SAP). **Methods** SD rats were randomly divided into the sham operation group (SO group), the severe acute pancreatitis model group (SAP group) and the Chaihuang Qingyi Huoxue Granule treatment group (CH group). The SAP model was established by 3.5% sodium taurocholate. The CH group was given Chaihuang Qingyi Huoxue Granule by gavage, and the SO group and the SAP group were given normal saline by gavage. The rats were sacrificed in batches at 12 and 24 h. Hematoxylin and eosin (HE) staining was used to evaluate the pathology of pancreatic tissue. Western blot was used to detect the expression of autophagy effector protein (Beclin-1), microtubule-associated protein L light chain 3-I (LC3-I), microtubule-associated protein L light chain 3-II (LC3-II), soluble/insoluble autophagic substrate recruitment protein (Soluble/Insoluble p62), lysosomal-associated membrane protein 2 (LAMP2). Immunofluorescence double staining was used to detect the immunofluorescence intensity of LC3, and the co-localization

* 基金项目:四川省中医药管理局科技项目(2021MS533)。 作者简介:蒋亚玲(1988-),主治医师,硕士,主要从事消化系统疾病基础与临床研究。 [△] 通信作者, E-mail:347206623@qq.com。

of LC3 and Insulin was analyzed. **Results** Compared with the SO Group, the pathological scores of the SAP group and the CH group were significantly increased, the expressions of LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ, Beclin-1, LAMP2, p62(Insoluble) were significantly increased, the expression of p62 (Soluble) was significantly decreased, and the expression of LC3 was increased at 12, 24 h, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with the SAP group, the expression of LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ, LAMP2, p62 (Insoluble) was down-regulated in the CH group, and the immunofluorescence intensity of LC3 decreased ($P<0.05$). There was no difference in the expression of p62 (Soluble) ($P>0.05$). The results of protein co-localization analysis showed that LC3 and Insulin were distributed in the cytoplasm and secretory granules of islet cells in the SAP group, but no obvious co-localization was found in the SO group and the CH group. **Conclusion** Chaihuang Qingyi Huoxue Granule can inhibit the expression of Beclin-1, LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ, p62 (Insoluble) and LAMP2 in pancreatic cells of SAP rats, thereby inhibiting abnormal active autophagy in SAP, increasing autophagy flux, and playing a role in pancreatic cells.

[Key words] Chaihuang Qingyi Huoxue Granule; autophagy; autophagy flux; severe acute pancreatitis

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是由多种病因引起胰酶异常活化的化学性炎症,是急性胰腺炎中病情最凶险的一种,其临床死亡率高达15%~30%^[1]。目前,SAP的发病机制主要集中在胰腺腺泡细胞内胰酶的异常激活^[2]。研究证实,胰酶异常激活导致细胞损害与自噬受损有较大关系^[3-4]。而评价自噬受损的一个重要指标就是自噬通量,它不仅仅是检测自噬小体数量,还需动态追踪自噬底物的行程变化,即证实底物是否到达溶酶体,并观察自噬底物降解率的变化,以此综合评价自噬水平的高低^[5]。课题组前期研究表明^[6-9],柴黄清胰活血颗粒能明显改善患者临床症状和体征,减轻炎症反应,改善肠道微循环,保护肝肺肾等重要脏器功能,但其具体作用机制尚不明确。本实验拟探讨柴黄清胰活血颗粒对SAP大鼠自噬通量的调控,从而初步揭示其治疗SAP的部分机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠48只,体重200~230 g,8周龄,许可证号SCXK(川)2018-17,购自西南医科大学实验动物中心。SPF级动物房恒温适应性喂养1周,自由饮食。

1.2 试剂与仪器

柴黄清胰活血颗粒(西南医科大学附属中医医院,批号20220416);牛磺胆酸钠(美国Sigma公司,货号T9034);微管相关蛋白1轻链3(LC3)兔多克隆抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,货号DF7421),自噬效应蛋白(Beclin-1)抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,货号AF5128),溶酶体相关膜蛋白2(LAMP2)抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司,货号DF6719),SQSTM1/p62抗体(英国Abcam公司,货号AF5384),胰岛素兔多克隆抗体(Insulin Rabbit

pAb,武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号A2090)。辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗(武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号AS014);全自动生化分析仪(日本Olympus公司),光学显微镜(福建麦克奥迪实业集团有限公司),激光共聚焦显微镜(德国Leica公司),电热恒温培养箱(上海博迅实业有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 造模及分组

本实验通过西南医科大学实验动物伦理委员会批准(20220120-003)。采用随机数字表法将48只SD大鼠随机分成假手术组(SO组)、SAP组和柴黄清胰活血颗粒治疗组(CH组),每组16只。造模前大鼠禁食12 h,不禁饮。SAP组和CH组分别在十二指肠逆行胰胆管内注入3.5%的牛磺胆酸钠^[10]构建SAP大鼠模型。前期实验证实柴黄清胰活血颗粒的作用呈剂量依赖性,0.2 g/100 g剂量疗效最佳^[11]。CH组采用柴黄清胰活血颗粒(0.2 g/100 g,生理盐水1 mL/0.2 g稀释)灌胃,SO组和SAP组采用生理盐水(1 mL/100 g)灌胃。各组均每4小时灌胃1次,12、24 h分批处死大鼠,死前4 h停止灌胃。除生理盐水及药物灌胃外,所有大鼠持续禁食,但不禁饮。

1.3.2 苏木素-伊红(HE)染色

胰腺组织用10%多聚甲醛浸泡24 h后,全自动脱水仪进行脱水,石蜡包埋切片,HE染色,显微镜下观察并拍照,参照文献^[12]的评分标准进行病理学评价。

1.3.3 Western blot 检测大鼠胰腺组织细胞自噬通量相关蛋白表达水平

一抗浓度:LC3(1:1 000)、Beclin-1(1:500)、p62(1:1 000)、LAMP2(1:1 000),以β-actin(1:1 000)为内参,按照Western blot检测步骤进行实验,采用Image J软件对Beclin-1、LC3-Ⅰ、LC3-Ⅱ、p62

(Insoluble、Soluble)、LAMP2 和 β -actin 的表达条带进行了灰度值检测,结果以目的蛋白/内参的比值表示,统计并绘制成柱形图。

1.3.4 免疫荧光双染色法检测细胞自噬情况

采用免疫荧光双染色法处理胰腺组织,LC3 兔多克隆一抗及 Insulin 兔多克隆一抗稀释比为 1 : 500,羊抗兔荧光二抗稀释比为 1 : 900,激光共聚焦显微镜下拍照,Imag J 软件分析免疫荧光强度及其定位情况。

1.4 统计学处理

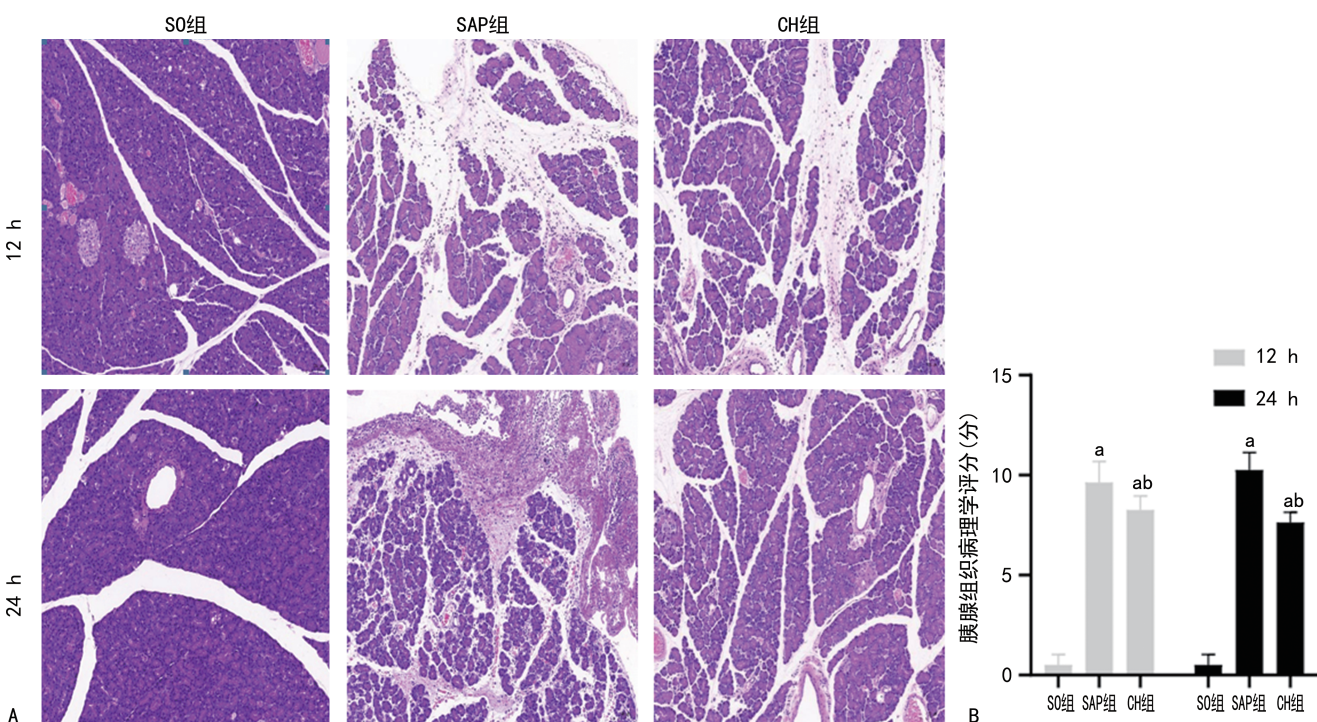
采用 SPSS22.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因

素方差分析(One-Way ANOVA 法),不符合正态分布的计量资料采用非参数检验中的 K-W 检验,组内或组间两两比较采用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠胰腺组织病理学评分比较

12、24 h 时 SO 组胰腺组织病理学评分分别为 (0.125 ± 0.354) 分、 (0.125 ± 0.354) 分,SAP 组分别为 (9.625 ± 1.061) 分、 (10.250 ± 0.886) 分,CH 组分别为 (8.250 ± 0.707) 分、 (7.125 ± 0.835) 分。不同时间点 SAP 组和 CH 组病理学评分均高于 SO 组,SAP 组高于 CH 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。



A: HE 染色(100 $\times$);B:病理学评分;^a: $P < 0.05$,与 SO 组比较;^b: $P < 0.05$,与 SAP 组比较。

图 1 各组大鼠胰腺组织 HE 染色及病理学评分

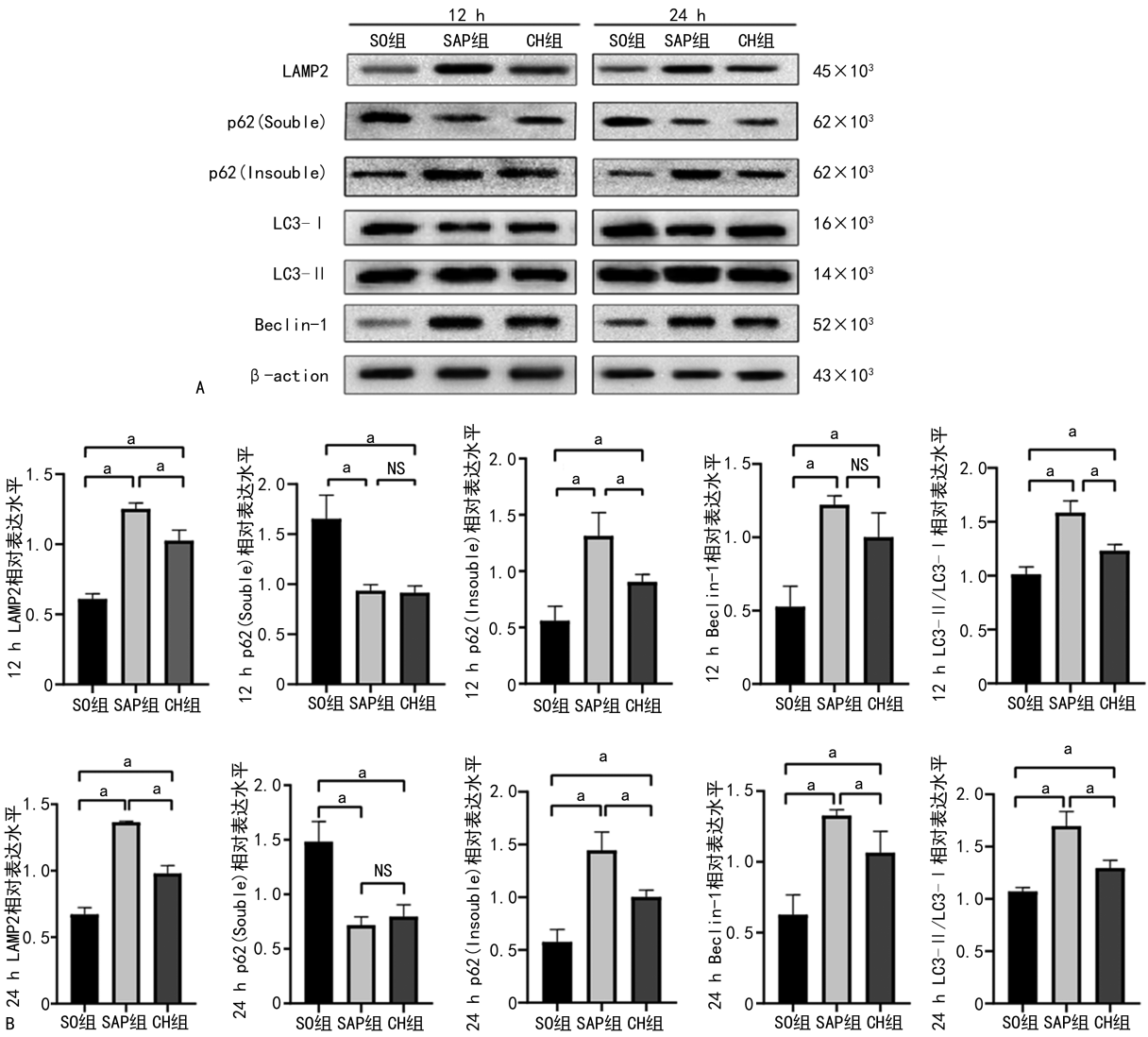
2.2 各组大鼠胰腺组织细胞自噬通量相关蛋白表达水平比较

12、24 h 时 SO 组大鼠胰腺组织中 LC3-II/LC3-I、Beclin-1、LAMP2、p62(Insoluble)相对表达水平均低于 SAP 组和 CH 组,p62(Soluble)相对表达水平均高于 SAP 组和 CH 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。12、24 h 时 SAP 组大鼠胰腺组织中 LC3-II/LC3-I、LAMP2、p62(Insoluble)相对表达水平明显高于 CH 组,24 h 时 SAP 组 Beclin-1 相对表达水平高于 CH 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。SAP 组 12、24 h 时 p62(Soluble)相对表达水平及 12 h 时 Beclin-1 相对表达水平与 CH 组比较无差异($P > 0.05$),见图 2。

2.3 各组大鼠胰腺组织 LC3 表达水平及与 Insulin

共定位情况

12、24 h 时 SO 组大鼠胰腺组织 LC3 免疫荧光强度分别为 (30.18 ± 4.67) 、 (49.74 ± 9.44) ,LC3 主要表达于胰腺腺泡细胞;SAP 组免疫荧光强度分别为 (85.90 ± 14.57) 、 (102.80 ± 18.71) ,LC3 主要分布于胰腺腺泡细胞,少量分布于胰岛细胞;CH 组免疫荧光强度分别为 (68.42 ± 12.18) 、 (74.61 ± 9.23) ,LC3 主要分布于胰腺腺泡细胞,极少量分布于胰岛细胞。SAP、CH 组 LC3 阳性表达率明显高于 SO 组($P < 0.05$),CH 组明显低于 SAP 组($P < 0.05$),见图 3~6。12、24 h 时 SAP 组 LC3 和 Insulin 在胰岛细胞的细胞质区域、分泌颗粒区域中均有分布,SO 组、CH 组 LC3 及 Insulin 未见明显共定位,见图 7、8。



A: Western blot; B: 各组相关蛋白表达水平; ^a: $P < 0.05$, NS: $P > 0.05$ 。

图 2 各组大鼠胰腺组织 LAMP2、p62 (Soluble、Insoluble)、LC3-II / LC3-I、Beclin-1 相对表达水平比较

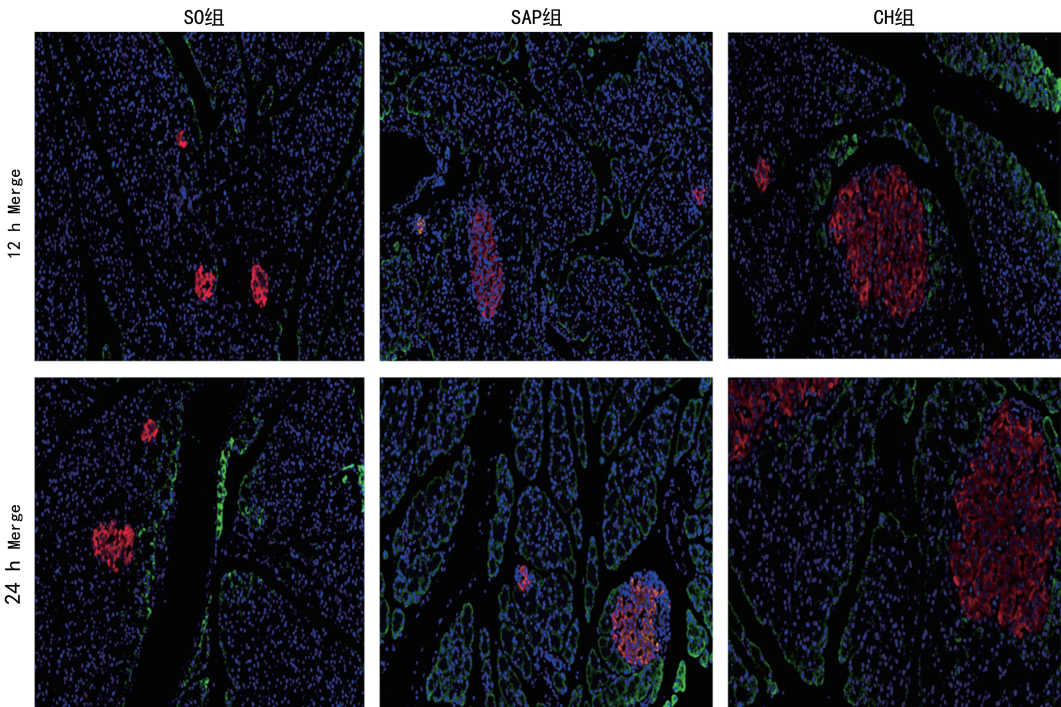


图 3 各组大鼠胰腺组织免疫荧光双染图 (100 ×)

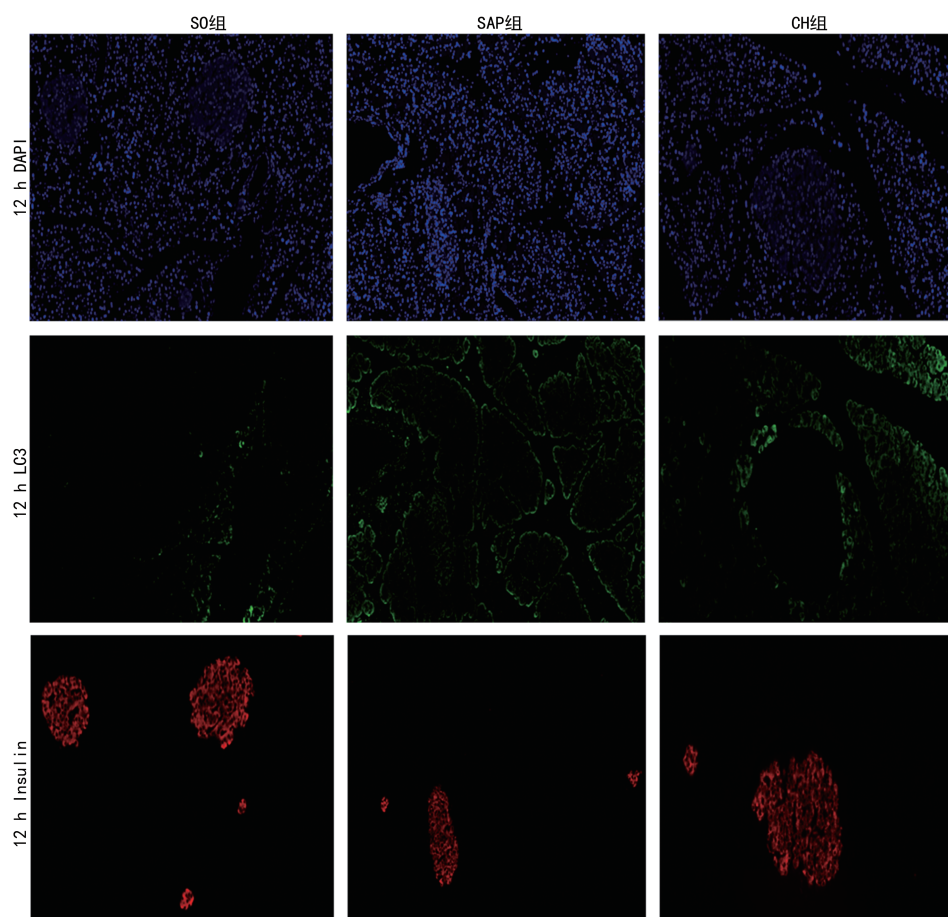


图 4 各组大鼠 12 h 免疫荧光双染 LC3 表达情况 (100×)

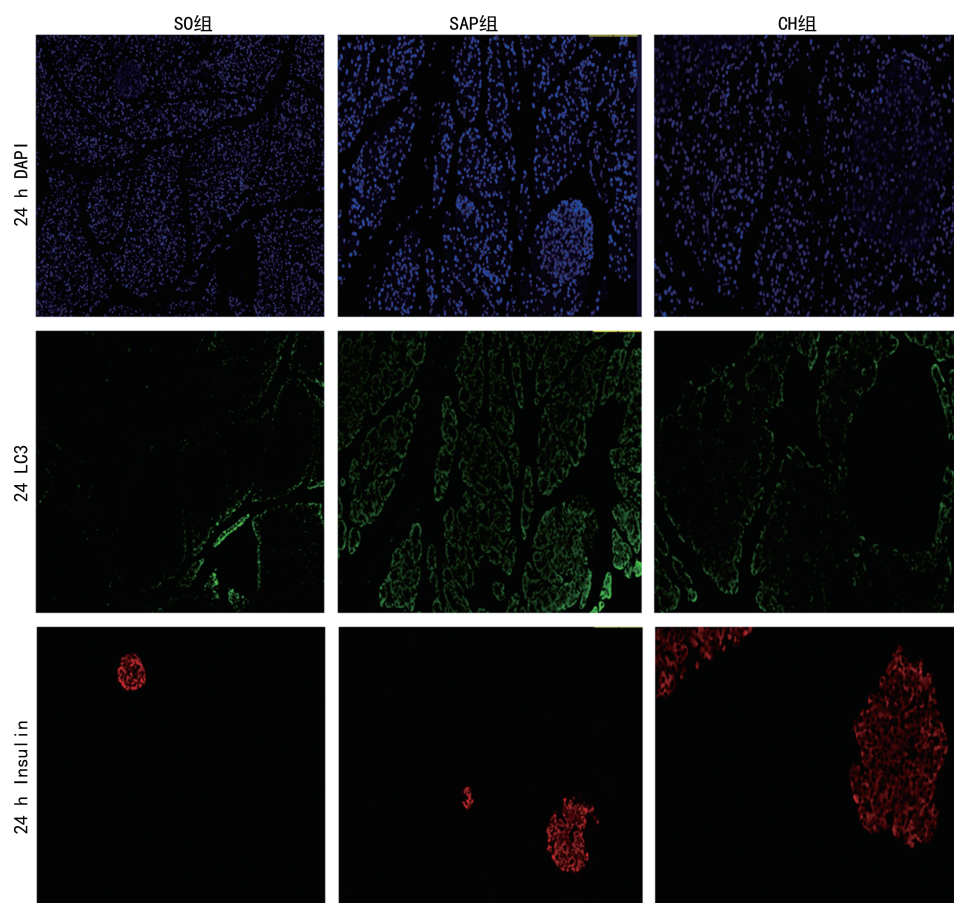
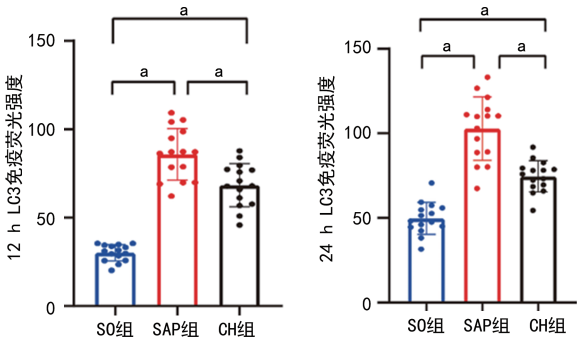


图 5 各组大鼠 24 h 免疫荧光双染 LC3 表达情况 (100×)



^a: $P < 0.05$.

图 6 各组大鼠 12、24 h LC3 免疫荧光强度比较

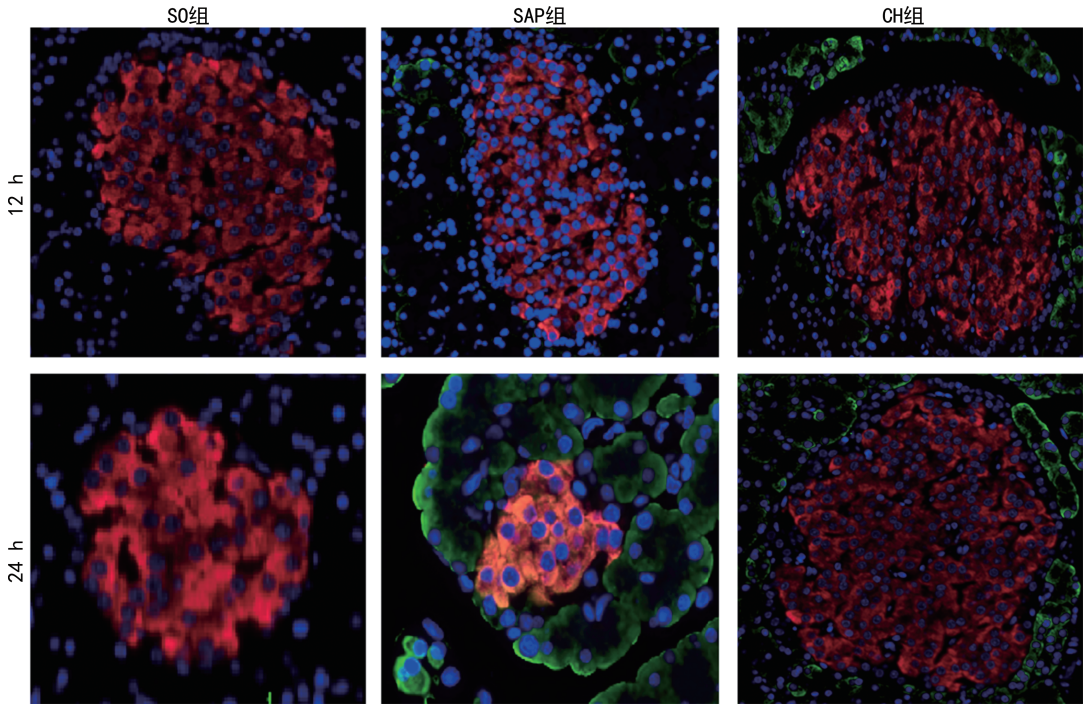


图 7 各组大鼠胰岛细胞团 LC3、Insulin 截面分布 (400×)

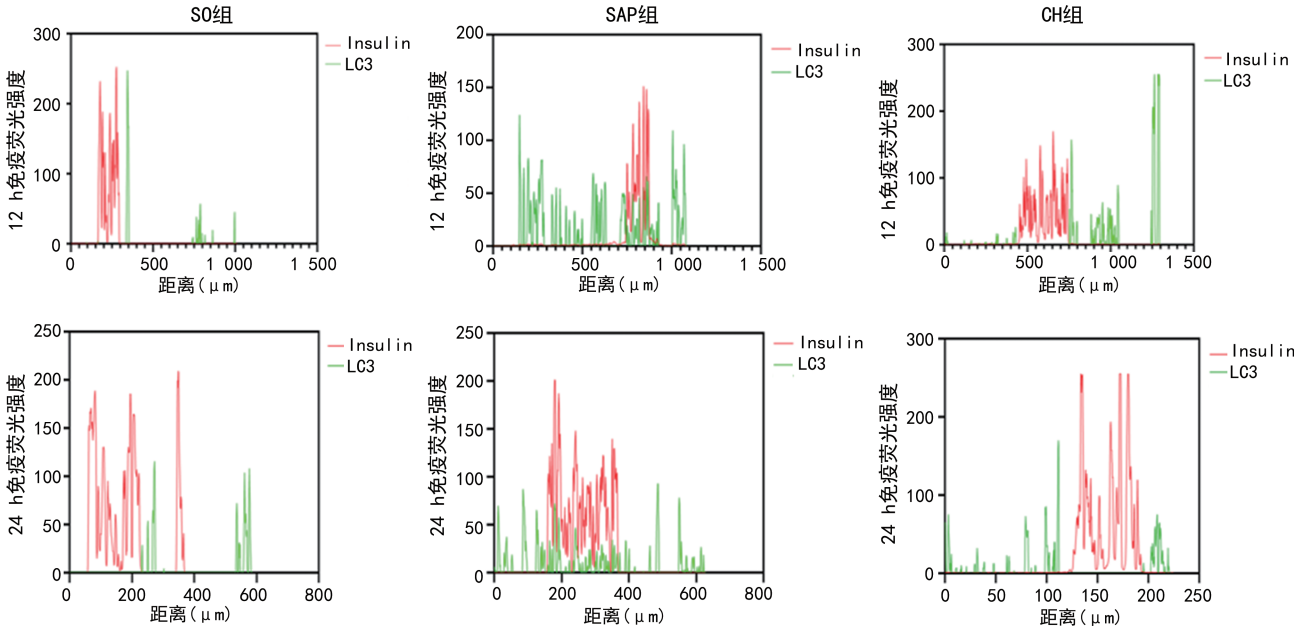


图 8 各组大鼠胰腺细胞 LC3 和 Insulin 共定位分析

3 讨 论

SAP 是由于胰酶异常活化导致胰腺充血水肿坏死,常合并多器官功能障碍和全身炎症性反应综合征的临床急危重症。中医学理论认为,SAP 主要病机是湿热壅滞、血瘀互结、气滞痰凝,治疗当以通腑泄热,化湿解毒,散瘀止痛为法。柴黄清胰活血颗粒是遵从上述治则,长期广泛运用于临床且疗效确切的院内制剂。方中生大黄、柴胡共为君药,以除少阳阳明之邪;黄芩、桅子、延胡索、赤芍、丹参、桃仁共为臣药,行气止痛,清热凉血活血,入营入血,透邪于外;枳实、厚朴、黄芪、白芍共为佐使,通腑泄热,补气升阳,敛阴养血,柔肝止痛;诸药合用,共奏通腑泄热、清热解毒、行气止痛、活血化瘀之功效。

本研究采用牛磺胆酸钠建立 SAP 模型,SAP 组、CH 组胰腺组织 HE 染色及病理学评分达到诊断标准,提示造模成功。予以柴黄清胰活血颗粒干预后,胰腺组织坏死面积及病理学评分明显降低,从组织学水平上证实了柴黄清胰活血颗粒对 SAP 有确切的改善作用。

目前 SAP 发病机制仍主要集中在胰酶的异常激活,早期 SAP 病理学改变以腺泡细胞受损为主。研究证实,腺泡细胞的损伤、胰酶酶原异常激活均与自噬损伤密切相关^[13-14]。GRASSO 等^[15]的研究表明,在胰腺炎早期,自噬可以选择性地吞噬胰蛋白酶,从而保护胰腺细胞。随着病程发展,自噬小体生成速率与溶酶体降解率之间失衡导致自噬通量降低。TANG 等^[16]证明 miR-20b-5p 可通过靶向作用 AKT3 调节自噬来改善 SAP,随后抑制炎症和凋亡,促进血管生成。CHOI 等^[17]研究阐明了番茄红素可以抑制胰腺腺泡细胞自噬损伤,从而减轻 AP 的炎症反应。自噬损伤可能出现在自噬过程中的任何环节,其中包含了自噬小体形成的异常、自噬小体和溶酶体的融合受到阻碍、溶酶体的降解功能障碍等。

评价自噬受损的重要指标就是自噬通量,又称自噬流。自噬通量是指细胞内自噬过程的速率或强度,可以通过以下指标来描述:(1)LC3 包括 LC3-I 与 LC3-II,LC3-II 被募集到自噬小体膜上,修饰后的 LC3-II 只存在于自噬小体上,待自噬小体与溶酶体融合后,LC3-II 被溶酶体水解酶降解。因此,LC3-II 增多反映了自噬小体的形成增多,LC3-II/LC3-I 反映了自噬的活跃度。(2)p62 是一个与 LC3 相互作用的蛋白,p62 分为 Soluble 和 Insoluble^[18],当细胞出现自噬现象的时候,自噬小体所携带的底物会穿过细胞骨架的微管系统,而 p62(Soluble)会将自噬小体所携带的底物通过泛素化蛋白 Ubiquitin 修饰,然后与 LC3-II 一起转运到溶酶体中进行分解^[19],故而 p62(Solu-

ble) 可作为自噬小体的标记蛋白^[20]。但当细胞损伤时内源性的 p62 也可能出现不可溶性聚集体(Triton X-100),导致自噬流受阻,因此 p62(Insoluble) 能侧面反映自噬底物降解水平。(3)Beclin-1 与 III 型磷酸肌醇-3 激酶(Vps34)发生相互作用,在细胞自噬的关键环节自噬小体的产生中发挥了重要作用。研究发现,Beclin-1-Vps34 复合物激酶活化可以提高磷脂酰肌醇 3-磷酸的生成,进而提高脂质膜延伸、底物招募及参与自噬隔离膜的构建,加快自噬小体的成熟^[21],因此 Beclin-1 是激活自噬的重要蛋白。(4)LAMP 与溶酶体功能密切相关,溶酶体降解率受体内酸性水解酶 Cathepsins B 的影响,LAMP 和 Cathepsins B 可协同作用于溶酶体的降解,可以显示溶酶体功能的变化^[19]。在 LAMP2 缺陷小鼠中,溶酶体-自噬功能障碍可导致自发性胰腺炎^[22]。因此,LC3-II/LC3-I、Beclin-1、LAMP2、p62(Soluble、Insoluble)表达水平可系统评价自噬流通畅度,较好地反映自噬-溶酶体系统运行情况。

本研究结果表明,SAP 组、CH 组大鼠胰腺组织 Beclin-1、LC3-II/LC3-I、LAMP2、p62(Insoluble)相对表达水平及 LC3 免疫荧光强度均明显高于 SO 组,提示 SAP 组及 CH 组自噬活性明显增强,且存在异常自噬,这可能是导致胰腺组织出现坏死的重要原因之一。与 SAP 组比较,CH 组 LC3-II/LC3-I、LAMP2、p62(Insoluble)相对表达水平降低,LC3 免疫荧光强度降低,周边胰腺腺泡细胞及胰岛细胞 LC3 占比减少,提示 CH 组自噬溶酶体清除功能初步恢复,自噬通量部分恢复通畅。通过共定位分析发现 LC3 和 Insulin 在胰岛细胞团中的空间位置上存在重叠和相关性,表明它们可能在胰岛细胞中具有一定的功能联系,但还需要进行更多的实验和研究来进一步探索它们之间的相互作用机制和生物学功能关系。

综上所述,柴黄清胰活血颗粒可通过抑制 SAP 中异常活跃自噬,提高自噬通量,从而对胰腺细胞起到一定的保护作用,为进一步挖掘传统中医药治疗 SAP 的价值提供依据。

参考文献

- [1] GUO Y,CAO F,LI C,et al. Continuous hemofiltration reduces mortality in severe acute pancreatitis; a meta-analysis[J]. Emerg Med Int, 2020,2020:6474308.
- [2] SALUJA A,DUDEJA V,DAWRA R,et al. Early intra-acinar events in pathogenesis of pancreatitis[J]. Gastroenterology, 2019, 156 (7): 1979-

- 1993.
- [3] GUKOVSKAYA A S,GUKOVSKY I,ALGUL H, et al. Autophagy, inflammation, and immune dysfunction in the pathogenesis of pancreatitis[J]. *Gastroenterology*,2017,153(5):1212-1226.
- [4] WANG S,NI H,CHAO X, et al. Impaired TFEB-mediated lysosomal biogenesis promotes the development of pancreatitis in mice and is associated with human pancreatitis[J]. *Autophagy*, 2019,15(11):1954-1969.
- [5] KLIONSKY D J,ABDELMOHSEN K,ABE A, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition) [J]. *Autophagy*,2016,12(1):1-222.
- [6] 石容,肖国辉,冯雯,等. 柴黄清胰活血颗粒对重症急性胰腺炎患者的临床疗效及相关细胞因子的影响[J/CD]. *世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊)*,2019,19(61):28-30.
- [7] 付娟,姜朝丽,王天刚,等. 柴黄清胰活血方对重症急性胰腺炎模型大鼠肝脏氧化应激的影响[J]. *西南医科大学学报*,2021,44(3):189-196.
- [8] 李晓渝,陆俊,付娟,等. 基于 KEAP1/NRF2 信号通路探讨柴黄清胰活血颗粒改善重症急性胰腺炎模型大鼠胰腺微循环障碍的机制[J]. *中药药理与临床*,2023,39(3):26-31.
- [9] 余霞,刘建琴,姜朝丽,等. 柴黄清胰活血方对重症急性胰腺炎肺损伤模型大鼠 JNK/P38MAPK 信号通路的影响[J]. *中药药理与临床*,2021,37(5):85-92.
- [10] 鲍伟奇,梁鲁,姚碧辉,等. 重症急性胰腺炎动物模型构建方法的研究进展[J]. *内蒙古医科大学学报*,2022,44(6):649-654.
- [11] 李婷,仁德芳,付裕,等. 柴黄清胰活血颗粒对重症急性胰腺炎模型大鼠的治疗作用研究[J]. *中药药理与临床*,2018,34(6):169-172.
- [12] KUSSKE A M,RONGIONE A J,ASHLEY S W, et al. Interleukin-10 prevents death in lethal necrotizing pancreatitis in mice[J]. *Surgery*,1996, 120(2):284-289.
- [13] MARENINOVA O A,JIA W,GRETTLER S R, et al. Transgenic expression of GFP-LC3 perturbs autophagy in exocrine pancreas and acute pancreatitis responses in mice [J]. *Autophagy*, 2020,16(11):2084-2097.
- [14] ANTONUCCI L,FAGMAN J B,KIM J Y, et al. Basal autophagy maintains pancreatic acinar cell homeostasis and protein synthesis and prevents ER stress[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015,112(45):E6166-6174.
- [15] GRASSO D,ROPOLO A,LO RÉ A, et al. Zymophagy, a novel selective autophagy pathway mediated by VMP1-USP9x-p62, prevents pancreatic cell death[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(10):8308-8324.
- [16] TANG G,YANG M, XIANG K, et al. MiR-20b-5p modulates inflammation, apoptosis and angiogenesis in severe acute pancreatitis through autophagy by targeting AKT3[J]. *Autoimmunity*,2021,54(7):460-470.
- [17] CHOI S,KIM H. The remedial potential of lycopene in pancreatitis through regulation of autophagy[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(16):5775.
- [18] LUO T,PARK Y,SUN X, et al. Protein misfolding, aggregation, and autophagy after brain ischemia[J]. *Transl Stroke Res*, 2013, 4(6): 581-588.
- [19] NILSSON P,SAIDO T C. Dual roles for autophagy: degradation and secretion of Alzheimer's disease Abeta peptide[J]. *Bioessays*,2014,36(6):570-578.
- [20] FENG J,NIU P,CHEN K, et al. Salidroside mediates apoptosis and autophagy inhibition in concanavalin A-induced liver injury[J]. *Exp Ther Med*,2018,15(6):4599-4614.
- [21] KIHARA A,NODA T,ISHIHARA N, et al. Two distinct Vps34 phosphatidylinositol 3-kinase complexes function in autophagy and carboxypeptidase Y sorting in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Cell Biol*,2001,152(3):519-530.
- [22] CUI D,SUN D,WANG X, et al. Impaired autophagosome clearance contributes to neuronal death in a piglet model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(7):e2919.

(收稿日期:2023-05-18 修回日期:2023-09-29)

(编辑:唐 璞)