

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.15.004

京尼平对脓毒血症小鼠 T 细胞的免疫调节作用及其潜在机制*

段凯¹ 李小刚^{1△} 黄国庆¹ 易峰² 吴磊²

(1 中南大学湘雅医院急诊科 湖南长沙 410008; 2 岳阳市第一人民医院急诊科 湖南岳阳 414000)

摘要 目的:探究京尼平对脓毒血症小鼠 T 细胞的免疫调节作用及其潜在机制。**方法:**小鼠盲肠结扎穿孔手术(CLP)后,分别在 0h 和 24 h 尾静脉注射 1 mg/kg、2.5 mg/kg、5 mg/kg 京尼平和磷酸盐缓冲液(PBS),连续 7d 观察和记录小鼠的死亡数。另取小鼠分为 Sham 组(n=8)、Genipin 组(n=8)、CLP 组(n=8)、Genipin+CLP 组(n=14),Sham 组注射 PBS 并实施假手术,Genipin 组注射 2.5 mg/kg 京尼平并实施假手术,CLP 组注射 PBS 并实施手术,Genipin+CLP 组注射 2.5 mg/kg 京尼平并实施手术。CLP 手术 26 h 后收集脾脏,检测脾脏淋巴细胞总数、CD4⁺、CD8⁺、细胞因子和凋亡蛋白 FADD、caspase-3、caspase-8 表达水平。**结果:**给药 2.5 mg/kg 的京尼平小鼠存活率高于其他小鼠。CLP 组小鼠脾脏淋巴细胞总数、CD4⁺、CD8⁺、白介素(IL)-2、干扰素(IFN)- γ 水平低于 Sham 组,CLP+Genipin 组小鼠上述指标高于 CLP 组($P<0.05$);CLP 组小鼠凋亡蛋白 FADD、caspase-3、caspase-8 表达、IL-4、IL-10 水平高于 Sham 组,CLP+Genipin 组小鼠上述指标低于 CLP 组($P<0.05$)。**结论:**京尼平能够通过抑制 T 细胞凋亡改善脓毒血症后期的免疫抑制,提高脓毒性小鼠的存活率。

关键词:京尼平;脓毒血症;盲肠结扎穿孔手术;T 细胞;凋亡蛋白;细胞因子

中图分类号:R-33;R631.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)15-2818-04

Immunomodulatory Effect of Genipin on T Cell in Sepsis Mice and Its Potential Mechanism*

DUAN Kai¹, LI Xiao-gang^{1△}, HUANG Guo-qing¹, YI Feng², WU Lei²

(1 Department of Emergency, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan, 410008, China;

2 Department of Emergency, The First People's Hospital of Yueyang, Yueyang, Hunan, 414000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the immunomodulatory effect of genipin on T cell in sepsis mice and its potential mechanism.

Methods: After cecal ligation and puncture (CLP) in mice, 1 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg genipin and phosphate buffer (PBS) were injected into tail vein at 0 h and 24 h, respectively. Mortality of mice was observed and recorded for 7 consecutive days. The mice were divided into Sham group (n=8), Genipin group (n=8), CLP group (n=8), CLP and Genipin group (n=14). Sham group was injected with PBS and Sham operation was performed. Genipin group was injected with 2.5 mg/kg genipin and sham operation was performed. CLP group was injected with PBS and operated. CLP and Genipin group was injected with 2.5 mg/kg Genipin and operated. The spleens were collected 26 hours after CLP. The total splenic lymphocyte count, CD4⁺, CD8⁺, cytokines and apoptotic proteins FADD, caspase-3 and caspase-8 were detected. **Results:** The survival rate of genipin mice treated with 2.5 mg/kg was higher than that of other mice. The total splenic lymphocyte count, CD4⁺, CD8⁺, interleukin (IL)-2, interferon (IFN) - γ levels in CLP group were lower than those in Sham group and Genipin group, the above indexes in CLP group were higher than those in CLP group ($P<0.05$). The expression of apoptotic proteins FADD, caspase-3, caspase-8, IL-4 and IL-10 levels in CLP group were higher than those in Sham group, Genipin group, the above indexes in CLP group were lower than those in CLP group ($P<0.05$). **Conclusion:** Genipin can improve the immune suppression in late sepsis by inhibiting T cell apoptosis, and it can improve the survival rate of septic mice.

Key words: Genipin; Sepsis; Cecal ligation and puncture; T cell; Apoptotic proteins; Cytokines

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R631.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)15-2818-04

前言

脓毒血症是指由感染引起的全身炎症反应综合征,具有发病率高、病情发展迅速、病死率高等特点^[1,2]。脓毒血症发生分为两个阶段,前期主要为感染引起的过度炎症反应,后期以免疫

系统紊乱和功能抑制为主的二次感染^[3,4]。研究表明,免疫细胞的凋亡是脓毒血症诱导的免疫抑制主要原因,脓毒血症患者存在大量的淋巴细胞凋亡,并且淋巴细胞的凋亡程度与脓毒血症的严重性相关^[5,6]。动物实验显示,脓毒血症会导致大量的免疫细胞凋亡,而应用抗凋亡免疫疗法可以减少免疫细胞的凋亡,

* 基金项目:湖南省卫计委科研项目(B20160725)

作者简介:段凯(1983-),男,本科,主治医师,研究方向:脓毒症、急性中毒,E-mail: kaikai_vip@sina.com

△ 通讯作者:李小刚(1959-),男,博士,主任医师,研究方向:脓毒症、急性中毒、重症营养,E-mail: 13548594151@163.com

(收稿日期:2019-02-11 接受日期:2019-02-28)

提高存活率^[7]。目前脓毒血症诱导的免疫抑制机制还不清楚。京尼平(Genipin)是梔子花中的主要活性成分,常用于治疗伤寒疾病、黄疸和化脓感染^[8]。相关实验证明,京尼平能够抑制脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)诱导的小鼠脓毒血症恶化和脑小胶质细胞的炎症反应^[9,10]。小鼠肝细胞体外培养表明,京尼平还能抑制由 Fas-介导的肝细胞凋亡^[11,12]。因此,京尼平对脓毒血症的治疗及其机制值得进一步研究。本研究通过盲肠结扎穿孔手术(Cecal ligation and puncture, CLP)建立小鼠脓毒血症模型,阐述京尼平对脓毒血症小鼠 T 细胞的免疫调节作用及其潜在机制,为临床治疗脓毒血症提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 京尼平(Sigma-Aldrich 公司);RPMI 1640 培养液、PBS、青霉素(100 U/mL)/链霉素(100 μg/mL)和 10%胎牛血清(Glico 公司和 Life technologies 公司);流式细胞仪分析的抗体由 eBioscience 公司提供;Anti-CD3e(14-0032)、anti-CD28(14-0281)均购买于 eBioscience 公司;Anti-FADD(sc-6036)购买于 Santa Cruz 公司。anti-p-caspase-3(ab59425)和 anti-p-caspase-8(ab61755)均购买于 Abcam 公司。Anti-β-actin(A1978)购买于 Sigma-Aldrich 公司。其它用于细胞培养的材料都购买于 Sigma-Aldrich 公司。

1.1.2 动物 ICR 小鼠 120 只,雄性,6-8 周龄,体重 27-29 g,小鼠来源于中南大学湘雅医院(合格证号:SYXK(湘)2017-0002)。小鼠饲养在无菌的笼盒内,每笼 5 只,提供经高压灭菌的食物和水。动物房温度控制在 20-25℃,光照节律为 12 小时-12 小时循环,所有动物自由摄取水和食物,1 周后进行实验。本研究经过实验动物管理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及实验操作 (1)动物生存实验:从 ICR 小鼠中随机选取 40 只,分为 4 组,每组 10 只。A 组:CLP+磷酸盐缓冲液(Phosphate buffer, PBS);B 组:CLP+京尼平(1 mg/kg);C 组:CLP+京尼平(2.5 mg/kg);D 组:CLP+京尼平(5 mg/kg)。所有实验动物行 CLP 手术后分别造模,即在 0 h 及 24 h 时点两次给予:A 组静脉注射 PBS,其它 3 组分别静脉注射京尼平(1 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg)。首次造模后 7 d,记录小鼠死亡数。(2)细胞与蛋白分析实验:从剩下的 ICR 小鼠中,以 2.5 mg/kg 剂量的京尼平,并以前述方法造模,再随机分为 4 组,进行细胞与蛋白分析实验:Sham 组:PBS+假手术(n=8);Genipin 组:京尼平(2.5 mg/kg)+假手术(n=8);CLP 组:PBS+手术(n=20);Genipin+CLP 组:京尼平(2.5 mg/kg)+手术(n=20)。CLP 手术后 26 h,CLP 组死亡 12 只,Genipin+CLP 组死亡 6 只。其它存活动物进行麻醉,经腹部下腔静脉收集血液和脾脏。脾脏二等分立即放入 RPMI 1640 培养液中,4℃储存,一部分用于后续细胞分析,另一部分用于后续蛋白分析。

1.2.2 实验动物模型的建立 手术:CLP 组动物术前 8 小时禁食,可自由饮水。手术前,动物经肌肉注射氯胺酮(100 mg/kg)和甲苯噻嗪(10 mg/kg)进行麻醉,进行常规腹部消毒,切开腹部皮肤正中 2 cm 左右,轻轻提出盲肠,分离其远端与大肠的系膜,避免损伤肠系膜血管。采用无菌 3 号丝线结扎盲肠远端 1/2

处,注意避免造成肠梗塞,采用无菌 20 号注射针头在已结扎盲肠远端中央处贯通穿刺 2 次,形成 4 个穿刺孔,轻轻挤出少量肠内物以防止穿刺孔闭合,然后把盲肠推向腹腔,关闭腹腔,逐层缝合。假手术:不进行结扎穿刺,仅分离盲肠末端,其他操作参考 CLP 组手术。所有动物注射生理盐水(50 mL/kg)进行液体复苏治疗。室温环境下进行手术,术后小鼠可自由饮食饮水。

1.2.3 脾脏细胞分离和计数 脾脏通过注射器柱塞研磨匀浆后使用 70 μm 的尼龙网过滤器(Coming Inc., USA)进行过滤以去除细胞碎片。然后使用 RBC 裂解液(eBioscience)裂解红细胞(RBCs),剩下的脾脏细胞经 PBS 洗两次,用血细胞计数器进行计数,统计淋巴细胞总数。

1.2.4 流式细胞仪测试 脾脏细胞(5×10⁶)用 anti-mouse CD16/CD32 抗体(Cat.No:14-0161)封闭 15 min,流式细胞缓冲液(eBioscience)终止封闭,离心收集细胞沉淀。加入荧光标记的 anti-mouse CD3(PerCP-Cy5.5)(Cat.No:45-0031),CD4(APC)(Cat.No:17-0041),CD8(PE)(Cat.No:12-0081)。使用 FACScan(Becton Dickinson, Calif)仪器和 Cell Quest Pro software(BD Pharmigen, Calif)软件进行流式细胞数据分析。

1.2.5 ELISA 测试 分离的脾脏细胞(1×10⁶/mL)经 anti-CD3e(5 μg/mL, eBioscience)和 anti-CD28(3 μg/mL, eBioscience)刺激培养后,24 h 收集培养液,应用酶联免疫吸附实验检测干扰素(Interferon, IFN)-γ、白介素(Interleukin, IL)-2、IL-4、IL-10 水平,试剂盒由 BD Bioscience 提供。

1.2.6 Western blot 测试 等量蛋白上样,经 4%-12%的聚丙烯酰胺凝胶电泳后,使用 Semi-Dry Trans-Blot cell(Bio-Rad Laboratories, USA)转移到 NC 膜上。然后用含 0.1% Tween-20 的 TBS 缓冲液洗涤,加 5%脱脂奶粉进行室温封闭 1 h。一抗(anti-FADD, anti-p-caspase-3, anti-p-caspase-8, anti-β-actin)孵育 4℃过夜,洗 3 次,二抗室温孵育 2h,然后加入 enhanced chemiluminescence detection system 显影,应用凝胶成像系统进行灰度值定量,并与 β-actin 比值为校正。

1.3 统计学方法

采用 SPSS23.0 进行统计分析,生存资料数据行 Kaplan-Meier 计算和 Log-rank test 分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析,两两多重比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 京尼平对 CLP 诱导小鼠存活率的影响

7 天后,经 Log-rank test 分析,给药 2.5 mg/kg 的京尼平小鼠存活率为 65%,高于 A 组小鼠的存活率($\chi^2=9.812, P=0.020$)。见图 1。

2.2 各组脾脏细胞总数变化情况

CLP 组小鼠脾脏淋巴细胞总数低于 Sham 组($P < 0.05$),CLP+Genipin 组小鼠脾脏淋巴细胞总数高于 CLP 组($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 各组脾脏 T 细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺ 比较

CLP 组小鼠脾脏 T 细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺ 低于 Sham 组($P < 0.05$),CLP+Genipin 组小鼠脾脏 T 细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺ 高于 CLP 组($P < 0.05$)。见表 2。

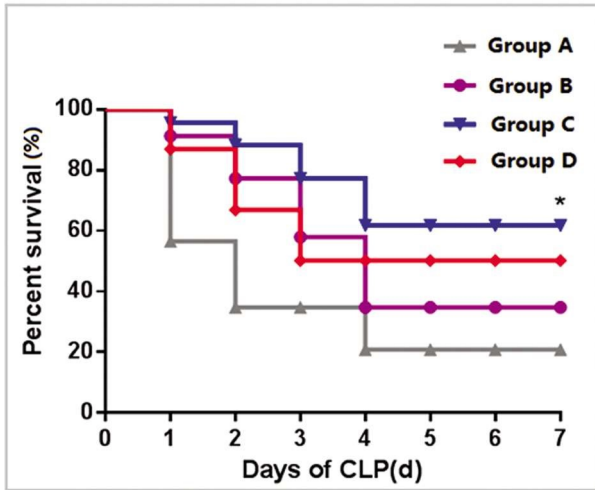


图 1 CLP 术后小鼠生存曲线

Fig.1 Survival curve of mice after CLP

Note: Compared with group A, * $P < 0.05$.

表 1 各组脾脏淋巴细胞总数变化情况($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes of total splenic lymphocyte count in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Total splenic lymphocyte count ($\times 10^7$)
Sham group	8	1.47 \pm 0.05
Genipin group	8	1.46 \pm 0.07
CLP group	8	0.67 \pm 0.09*
CLP and Genipin group	8	1.44 \pm 0.16 [#]

Note: compared with Sham group, * $P < 0.05$; compared with CLP group, [#] $P < 0.05$.

2.4 各组脾脏细胞的凋亡蛋白表达水平

CLP 组小鼠脾脏细胞的凋亡蛋白 FADD、caspase-3、caspase-8 表达水平高于 Sham 组 ($P < 0.05$), CLP+Genipin 组小鼠脾脏细胞的凋亡蛋白 FADD、caspase-3、caspase-8 表达水平低于 CLP 组 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 2 各组脾脏 T 细胞亚群 CD4⁺、CD8⁺ 比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of splenic T cell subsets CD4⁺, CD8⁺ in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)
Sham group	8	61.88 \pm 3.94	30.65 \pm 1.13
Genipin group	8	65.46 \pm 2.17	29.68 \pm 1.02
CLP group	8	24.73 \pm 1.57*	12.96 \pm 0.48*
CLP and Genipin group	14	42.44 \pm 2.16 [#]	27.53 \pm 1.26 [#]

Note: compared with Sham group, * $P < 0.05$; compared with CLP group, [#] $P < 0.05$.

表 3 各组脾脏细胞的凋亡蛋白表达水平($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Expression of apoptotic protein in spleen cells of each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	FADD	caspase-3	caspase-8
Sham group	8	0.30 \pm 0.12	0.27 \pm 0.07	0.20 \pm 0.06
Genipin group	8	0.27 \pm 0.07	0.30 \pm 0.06	0.20 \pm 0.06
CLP group	8	0.83 \pm 0.15*	0.60 \pm 0.12*	0.40 \pm 0.06*
CLP and Genipin group	14	0.27 \pm 0.09 [#]	0.37 \pm 0.07 [#]	0.17 \pm 0.03 [#]

Note: compared with CLP group, * $P < 0.05$; compared with CLP group, [#] $P < 0.05$.

2.5 各组脾脏细胞因子水平比较

CLP 组小鼠 IL-2、IFN- γ 水平低于 Sham 组 ($P < 0.05$), CLP+Genipin 组小鼠 IL-4、IL-10 水平低于 CLP 组 ($P < 0.05$)。见 CLP+Genipin 组小鼠 IL-2、IFN- γ 水平高于 CLP 组 ($P < 0.05$); 表 4。

CLP 组小鼠 IL-4、IL-10 水平高于 Sham 组 ($P < 0.05$), CLP+Genipin 组小鼠 IL-4、IL-10 水平低于 CLP 组 ($P < 0.05$)。见 表 4。

表 4 各组脾脏细胞因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of splenic cytokine levels in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	IL-2 (pg/mL)	IL-4 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)	IFN- γ (ng/mL)
Sham group	8	216.17 \pm 17.64	19.00 \pm 2.08	60.33 \pm 10.17	1.92 \pm 0.13
Genipin group	8	228.13 \pm 15.52	21.23 \pm 1.94	61.84 \pm 9.68	1.73 \pm 0.11
CLP group	8	110.36 \pm 5.77*	40.67 \pm 6.36*	138.33 \pm 10.93*	0.67 \pm 0.05*
CLP and Genipin group	14	204.88 \pm 9.73 [#]	15.64 \pm 4.21 [#]	62.97 \pm 8.63 [#]	1.54 \pm 0.08 [#]

Note: compared with CLP group, * $P < 0.05$; compared with CLP group, [#] $P < 0.05$.

3 讨论

尽管脓毒血症的实验研究很多,但目前对脓毒血症诱导的免疫反应机制的理解还存在争议。有人认为,脓毒血症的高发

病率和死亡率是由持续的免疫激活和炎症反应导致的,同时也有人认为,免疫抑制是导致脓毒血症的高发病率和死亡率的主要原因,但临床上单独使用抗炎药物治疗脓毒血症并不能提高患者的生存率^[13-15]。因此,脓毒血症并不仅仅是由过度的炎症反应引起的。Hotchkiss RS 等研究表明,免疫细胞凋亡是脓毒血症诱导的免疫抑制的主要原因,并且脓毒血症患者后期的各个器官发生细胞凋亡引起明显的免疫细胞缺失,包括 CD4⁺、CD8⁺T 细胞、B 细胞和树状突细胞,从而导致免疫抑制^[16]。在小鼠研究中,京尼平通过抑制细胞凋亡改善了肝脏缺血和再灌注的损伤,并通过抗凋亡和抗氧化的作用保护 D- 半乳糖胺 /LPS 诱导的肝损伤^[17,18]。此外,京尼平还能通过减少多种器官功能紊乱保护脓毒性导致的损伤^[19,20]。本研究表明,小鼠 CLP 手术后给予京尼平可以提高它们的存活率,但是给予高剂量 5 mg/kg 京尼平的小鼠存活率比 2.5 mg/kg 京尼平的小鼠存活率低,可能是由于高剂量的京尼平可能会产生一定的副作用。

脓毒血症后期主要以免疫抑制为主,并且免疫细胞凋亡是免疫抑制的主要特点,病毒感染对 T 细胞缺少的免疫抑制患者产生高死亡率^[21,22]。患者的脾脏在感染反应中起着关键作用,如 T 细胞激活,抗体产生和抗原递呈,大量的免疫细胞凋亡发生在脓毒性患者的脾脏中^[23]。临床上发现,脓毒血症后期脾脏中 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞大量减少,凋亡加剧,并且给予京尼平可以有效的减少死亡率^[24]。本研究也表明,京尼平通过阻断 T 细胞凋亡对脓毒性损伤产生一定的保护作用。脓毒血症后期细胞凋亡是通过死亡受体信号途径介导的,与免疫细胞的缺失直接相关^[25]。动物研究表明,阻断死亡受体信号途径可以减少免疫细胞缺失和提高脓毒性动物的存活率^[26]。caspase-3 和 caspase-8 抑制剂不仅抑制 T 细胞的凋亡还能减少 CLP 模型动物的死亡率^[27]。FADD 是死亡受体信号的接头蛋白,抑制 FADD 可以提高脓毒血症动物的生存率^[28]。本研究证明了脓毒性小鼠的脾脏中,FADD、caspase-3 和 caspase-8 蛋白表达增加,并且给予京尼平能够抑制 FADD、caspase-3 和 caspase-8 蛋白磷酸化水平,这表明了京尼平能够抑制脓毒血症后期的免疫细胞凋亡。CD4⁺ 是适应性免疫系统的主要效应细胞,并在抗感染反应中发挥着重要作用。辅助性 T 淋巴细胞分为 Th1、Th2 和调节性 T 淋巴细胞,Th1 细胞产生 IFN- γ 和 IL-2,负责细胞介导的免疫和炎症反应,Th2 细胞和 Treg 细胞产生 IL-4 和 IL-10,负责体液免疫和抗炎反应^[29]。研究表明,T 淋巴细胞亚群在脓毒性患者中发生病理性改变,如 Th1/Th2 比率降低和 Treg 细胞增多^[30]。脓毒血症后期,促炎症细胞因子的产生向抗炎细胞因子的产生转变,而且这种细胞因子的转变与脓毒血症后期死亡率高发密切相关。本研究也表明了小鼠 CLP 手术后,脾脏中 IFN- γ 和 IL-2 的产生减少,IL-4 和 IL-10 的产生增加,给予京尼平可以增加 IFN- γ 和 IL-2 的含量和减少 IL-4 和 IL-10 的含量。总而言之,京尼平在脓毒血症可以恢复 Th1 细胞产生细胞因子和抑制 Th2 细胞因子的产生。

综上所述,京尼平可以通过抑制 T 细胞的凋亡改善脓毒血症后期的免疫抑制,这为京尼平可能成为脓毒血症治疗的潜在治疗药物提供了研究基础。

参考文献(References)

[1] Rhee C, Kalil AC. Toward a More Nuanced Approach to the Early Ad-

- ministration of Intravenous Fluids in Patients with Sepsis [J]. JAMA Netw Open, 2018, 1(8): e185844
- [2] Lim J, Choi J, Guk K, et al. Peptidoglycan binding protein (PGBP)-modified magnetic nanobeads for efficient magnetic capturing of Staphylococcus aureus associated with sepsis in blood [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 129
- [3] 陈森,林晓军,张红璇,等. 降钙素原和 C 反应蛋白在肺炎合并脓毒血症中的意义[J]. 中华急诊医学杂志, 2017, 26(7): 807-810
- [4] Łysenko L, Leżnik P, Nelke K, et al. Immune disorders in sepsis and their treatment as a significant problem of modern intensive care[J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2017, 71(1): 703-712
- [5] Sherwood ER, Hotchkiss RS. BTLA as a biomarker and mediator of sepsis-induced immunosuppression[J]. Crit Care, 2013, 17(6): 1022
- [6] Hutchins NA, Unsinger J, Hotchkiss RS, et al. The new normal: immunomodulatory agents against sepsis immune suppression[J]. Trends Mol Med, 2014, 20(4): 224-233
- [7] 刘骥,李金宝,邓小明,等. 基于动物模型的脓毒症免疫研究进展[J]. 中国急救医学, 2009, 29(9): 843-847
- [8] Pugliese R, Maleki M, Zuckermann RN, et al. Self-assembling peptides cross-linked with genipin: resilient hydrogels and self-standing electrospun scaffolds for tissue engineering applications[J]. Biomater Sci, 2018, 7(1): 76-91
- [9] Li CC, Hsiang CY, Lo HY, et al. Genipin inhibits lipopolysaccharide-induced acute systemic inflammation in mice as evidenced by nuclear factor- κ B bioluminescent imaging-guided transcriptomic analysis[J]. Food Chem Toxicol, 2012, 50(9): 2978-2986
- [10] Nam KN, Choi YS, Jung HJ, et al. Genipin inhibits the inflammatory response of rat brain microglial cells[J]. Int Immunopharmacol, 2010, 10(4): 493-499
- [11] Kim SJ, Kim JK, Lee DU, et al. Genipin protects lipopolysaccharide-induced apoptotic liver damage in D-galactosamine-sensitized mice[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 635(1-3): 188-193
- [12] Ye J, Li J, Wang X, et al. Medicinal supplement genipin induces p53 and Bax-dependent apoptosis in colon cancer cells [J]. Oncol Lett, 2018, 16(3): 2957-2964
- [13] van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets[J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17(7): 407-420
- [14] 孙小平,邓扬嘉,李佳俊,等. PPAR γ 促进 miR-16 表达抑制脓毒症炎症反应的作用研究[J]. 第三军医大学学报, 2018, 40(2): 141-148
- [15] 范昊,张林娜,王子文,等. 血必净注射液联合替加环素治疗脓毒症休克患者的临床疗效观察 [J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(1): 104-107
- [16] Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach [J]. Lancet Infect Dis, 2013, 13(3): 260-268
- [17] Kim J, Kim HY, Lee SM. Protective Effects of Geniposide and Genipin against Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury in Mice [J]. Biomol Ther (Seoul), 2013, 21(2): 132-137
- [18] 毕杨辉,崔晓萌,於海天,等. 京尼平对 ob/ob 小鼠肝部分切除术后肝再生的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(8): 26-31
- [19] Cho HI, Kim SJ, Choi JW, et al. Genipin alleviates sepsis-induced liver injury by restoring autophagy [J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(6): 980-991

- [6] Wen M, Kwon Y, Wang Y, et al. Elevated expression of UBE2T exhibits oncogenic properties in human prostate cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28): 25226-25239
- [7] Hu W, Xiao L, Cao C, et al. UBE2T promotes nasopharyngeal carcinoma cell proliferation, invasion, and metastasis by activating the AKT/GSK3beta/beta-catenin pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12): 15161-15172
- [8] Zhou X M, Sun R, Luo D H, et al. Upregulated TRIM29 promotes proliferation and metastasis of nasopharyngeal carcinoma via PTEN/AKT/mTOR signal pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12): 13634-13650
- [9] Gong Y Q, Peng D, Ning X H, et al. UBE2T silencing suppresses proliferation and induces cell cycle arrest and apoptosis in bladder cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(6): 4485-4492
- [10] Chen Q, Kang J, Fu C. The independence of and associations among apoptosis, autophagy, and necrosis [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2018, 3: 18
- [11] Zhang J, Zhang H Y, Li J, et al. The elevated NLR, PLR and PLT may predict the prognosis of patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(40): 68837-68846
- [12] Su S, Hong F, Liang Y, et al. Lgr5 Methylation in Cancer Stem Cell Differentiation and Prognosis-Prediction in Colorectal Cancer [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0143513
- [13] Zhang Y, Zhou X, Huang P. Fanconi anemia and ubiquitination [J]. *J Genet Genomics*, 2007, 34(7): 573-580
- [14] Kelsall I R, Langenick J, MacKay C, et al. The Fanconi anaemia components UBE2T and FANCM are functionally linked to nucleotide excision repair[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36970
- [15] Grosse J, Warnke E, Wehland M, et al. Mechanisms of apoptosis in irradiated and sunitinib-treated follicular thyroid cancer cells [J]. *Apoptosis*, 2014, 19(3): 480-490
- [16] Ueki T, Park JH, Nishidate T, et al. Ubiquitination and Downregulation of BRCA1 by Ubiquitin-Conjugating Enzyme E2T Overexpression in Human Breast Cancer Cells [J]. *Cancer Research*, 2009, 69(22): 8752-8760
- [17] Kumar N, Srivastava S, Burek M, et al. Assessment of estradiol-induced gene regulation and proliferation in an immortalized mouse immature Sertoli cell line[J]. *Life Sciences*, 2016, 148: 268-278
- [18] Wei Y, Shen X, Li L, et al. TM4SF1 inhibits apoptosis and promotes proliferation, migration and invasion in human gastric cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6081-6088
- [19] Gerdes J, Dallenbach F, Lennert K, et al. Growth fractions in malignant non-Hodgkin's lymphomas (NHL) as determined in situ with the monoclonal antibody Ki-67 [J]. *Hematological Oncology*, 2015, 2(4): 365-371
- [20] Gonzalez-Ramirez R A, Barboza-Quintana O, Flores-Gutierrez J P, et al. Perfil de expresion de Ki67 en lesiones melanociticas palmo-plantares: estudio de casos y controles [J]. *Cir Cir*, 2018, 86(3): 250-254
- [21] Zhong W, Jin W, Xu S, et al. Pioglitazone Induces Cardiomyocyte Apoptosis and Inhibits Cardiomyocyte Hypertrophy Via VEGFR-2 Signaling Pathway[J]. *Arq Bras Cardiol*, 2018, 111(2): 162-169
- [22] You B R , Park W H . Zebularine-induced apoptosis in Calu-6 lung cancer cells is influenced by ROS and GSH level changes [J]. *Tumor Biology*, 2013, 34(2): 1145-1153
- [23] Gong YQ, Gong YQ, Peng D, et al. UBE2T silencing suppresses proliferation and induces cell cycle arrest and apoptosis in bladder cancer cells[J]. *Oncology Letters*, 2016, 12(6): 4485-4492

(上接第 2821 页)

- [20] Zhong H, Liu M, Ji Y, et al. Genipin Reverses HFD-Induced Liver Damage and Inhibits UCP2-Mediated Pyroptosis in Mice [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(5): 1885-1897
- [21] 赵群, 邹圣强, 章晋辉, 等. 老年脓毒血症患者淋巴细胞水平的变化[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(15): 3704-3706
- [22] Delano MJ, Ward PA. Sepsis-induced immune dysfunction: can immune therapies reduce mortality[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(1): 23-31
- [23] Gigliotti JC, Okusa MD. The spleen: the forgotten organ in acute kidney injury of critical illness [J]. *Nephron Clin Pract*, 2014, 127(1-4): 153-157
- [24] Boomer JS, To K, Chang KC, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure [J]. *JAMA*, 2011, 306(23): 2594-2605
- [25] 周荣, 丁晓莉, 刘良明, 等. 脂多糖致脓毒血症大鼠血管内皮细胞凋亡的实验观察[J]. *微循环学杂志*, 2015, 25(4): 7-10
- [26] Brahmamdam P, Inoue S, Unsinger J, et al. Delayed administration of anti-PD-1 antibody reverses immune dysfunction and improvessurvival during sepsis[J]. *J Leukoc Biol*, 2010, 88(2): 233-240
- [27] Wesche-Soldato DE, Chung CS, Lomas-Neira J, et al. In vivo delivery of caspase-8 or Fas siRNA improves the survival of septic mice[J]. *Blood*, 2005, 106(7): 2295-2301
- [28] Matsuda N, Teramae H, Yamamoto S, et al. Increased death receptor pathway of apoptotic signaling in septic mouse aorta: effect of systemic delivery of FADD siRNA [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298(1): H92-101
- [29] Ahmadi M, Abdolmohammadi-Vahid S, Ghaebi M, et al. Regulatory T cells improve pregnancy rate in RIF patients after additional IVIG treatment[J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2017, 63(6): 350-359
- [30] Yoon SJ, Kim SJ, Lee SM. Overexpression of HO-1 Contributes to Sepsis-Induced Immunosuppression by Modulating the Th1/Th2 Balance and Regulatory T-Cell Function [J]. *J Infect Dis*, 2017, 215(10): 1608-1618