

## 论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.21.003

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210923.0105.002.html\(2021-09-24\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20210923.0105.002.html(2021-09-24))

# 白藜芦醇通过调控 NLRP3/caspase-1 信号通路抑制 $H_2O_2$ 诱导的心肌纤维化\*

赵雅欣, 范奕好, 程 阳, 蒙中元, 吴建福, 吴倩文, 何 燕<sup>△</sup>

(广西医科大学第一附属医院, 南宁 530000)

**[摘要]** **目的** 探讨白藜芦醇(RES)通过抑制体外过氧化氢( $H_2O_2$ )诱导的心肌成纤维细胞(CFs)氧化应激而降低心肌纤维化及其与 NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)/半胱天冬酶-1(caspase-1)信号通路的关系。**方法** 从 SD 乳鼠取心脏进行原代 CFs 培养,分为对照组, $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L)组、 $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L)+RES(5  $\mu$ mol/L)组。采用免疫荧光鉴定 CFs, CCK-8 法检测 CFs 存活率,聚合酶链反应检测 CFs 白细胞介素-1(IL-1)、caspase-1、I 型胶原(Collagen I)、III 型胶原(Collagen III)基因表达,Western blot 法检测 CFs NLRP3、caspase-1、Collagen I、Collagen III 蛋白表达。**结果** 波形蛋白呈阳性表达,证明提取细胞为 CFs;与对照组比较, $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L)组 CFs 存活率明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L)组 IL-1、caspase-1、Collagen I、Collagen III 基因表达均明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );NLRP3、caspase-1、Collagen I、Collagen III 蛋白表达均明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与  $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L)组比较, $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L)+RES(5  $\mu$ mol/L)组 CFs 存活率升高;IL-1、caspase-1、Collagen I、Collagen III 基因表达明显降低差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );NLRP3、caspase-1、Collagen I、Collagen III 蛋白表达明显降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** RES 可能通过抑制炎症从而有效缓解氧化应激损伤引起的心肌纤维化。

**[关键词]** 白藜芦醇;心肌纤维化;炎症;氧化应激;NLRP3/caspase-1**[中图分类号]** R654.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)21-3612-05

## Resveratrol inhibits $H_2O_2$ induced myocardial fibrosis induced by regulating NLRP3/caspase-1 signaling pathway\*

ZHAO Yaxing, FANG Yihao, CHENG Yang, MENG Zhongyuan, WU Jiangfu, WU Qianwen, HE Yan<sup>△</sup>

(First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the resveratrol (RES) in reducing myocardial fibrosis by inhibiting in vitro hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )-induced oxidative stress of cardiac fibroblasts (CFs) and its relationship with NOD-like receptor protein 3 (NLRP3)/caspase-1 (CASpase-1) signaling pathway. **Methods** The hearts of SD rats were taken for conducting the CFs culture and divided into the control group,  $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L) group and  $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L)+RES (5  $\mu$ mol/L) group. The immunofluorescence was used to identify the CFs cells. The survival rate of CFs cells was determined by the CCK8 method. PCR was used to detect the gene expressions of IL-1, caspase-1, type I collagen (collagen I) and collagen type III (collagen III) in CFs cells. Western blot was used to detect NLRP3, caspase-1, Collagen I and Collagen III protein expressions in CFs cells. **Results** Vimentin was positively expressed, which proved that the extracted cells were CFs; compared with the control group, the survival rate of CFs cells in the  $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L) group was significantly decreased, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The gene expressions of caspase-1, Collagen I and Collagen III in the  $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L) group were significantly increased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ); the protein expressions of NLRP3, caspase-1, Collagen I and Collagen III were significantly increased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the  $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L) group, the survival rate of CFs cells in the  $H_2O_2$  (10  $\mu$ mol/L)+RES (5  $\mu$ mol/L) group was significantly increased ( $P < 0.05$ ), the gene expressions of caspase-1, Collagen I and Collagen III were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the protein expressions of NLRP3, caspase-1, Collagen I and Collagen III were significantly decreased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** RES can effectively alleviate the myocardial fibrosis caused by oxidative stress injury by inhibiting inflammation.

**[Key words]** resveratrol; myocardial fibrosis; inflammation; oxidative stress; NLRP3/caspase-1

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(81760061)。 作者简介:赵雅欣(1993—),在读硕士研究生,主要从事心律失常介入治疗、心力衰竭临床与基础的研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail:hyxjwxy@126.com。

心房颤动(房颤)是最常见的心律失常,房颤的药物治疗效果较差,其中一个关键原因是心肌纤维化过程难以逆转。心脏重构与氧化应激水平升高、细胞凋亡均与心肌纤维化有关,心房纤维化引起的结构重构促进了房颤的发生和发展<sup>[1-5]</sup>。衰老和高血压均可诱发心房纤维化<sup>[6]</sup>。有研究表明,高血压患者存在固有免疫异常激活,介导下游炎性反应的发生<sup>[7]</sup>。炎症所致的结构重构是发生房颤的重要病理生理基础<sup>[8]</sup>。预防心房纤维化可能是治疗房颤的关键靶点之一<sup>[9]</sup>。

白藜芦醇(resveratrol, RES)是一种具有较强的抗氧化和抗炎活性的天然多酚化合物,其存在于葡萄、花生等植物中<sup>[10]</sup>。有研究表明,RES 可参与干扰成纤维细胞活化过程而发挥对心肌肥厚、心肌纤维化和心力衰竭的治疗作用<sup>[11-12]</sup>。然而,其具体作用机制尚未清楚。因此,本研究探讨了 RES 是否通过抑制氧化应激下的炎性反应从而抑制心肌纤维化,以期进一步明确 RES 对心肌纤维化的干预作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

SD 乳鼠(出生 1~3 d)10 只均购自广西医科大学实验动物中心。

### 1.2 试剂

RES、过氧化氢(hydrogen peroxide, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)均购自美国 Sigma 公司,兔抗大鼠 NOD 样受体蛋白 3(NOD like receptor protein 3, NLRP3)抗体购自美国 Abcam 公司,兔抗大鼠 I 型胶原(Collagen I)/III 型胶原(III 型胶原)抗体、兔抗大鼠甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗均购自武汉三鹰生物技术有限公司。

### 1.3 仪器

提 RNA 试剂盒、cDNA 逆转录试剂盒、实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)试剂盒均购自宝生物工程(大连)有限公司, NanoDrop 微量核酸蛋白分析仪购自美国 Thermo Fisher 公司, 7500 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Thermo Fisher 公司, FluorChem FC3 全能型成像系统购自美国 ProteinnSimple 公司。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 细胞培养

取 SD 乳鼠心脏,使用差速贴壁法提取心肌成纤维细胞(cardiac fibroblasts, CFs)于 10% 胎牛血清进行培养。采用倒置相差显微镜观察 SD 乳鼠 CFs 形态。

#### 1.4.2 免疫荧光鉴定

取 2 代细胞进行细胞爬片后去掉培养基,磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution, PBS)洗 5 min×2, 4% 多聚甲醛室温固定细胞 15 min,用 PBS 洗 5 min×3, 0.25% Triton 破膜, 37 °C 保存 10 min,用 PBS 洗 5 min×3, 10% 山羊血清溶液 37 °C 封闭 30 min,一抗 4 °C 孵育过夜。第 2 天取爬片,用 PBS 洗 10 min×3, 荧光标记素标记羊抗兔二抗 37 °C 孵育 45 min,用 PBS 洗 10 min×3, 抗荧光淬灭剂(含 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚)

封片,于荧光共聚焦显微镜下拍照观察。

#### 1.4.3 CCK-8 法检测 CFs 存活率

细胞培养后分为对照组, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5、10、20、40、80 μmol/L)组,接种于 96 孔板培养 24 h 后将培养基更换成含不同浓度 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的培养基预处理 6 h 后更换培养基,再加入 CCK-8 试剂 10 μL, 37 °C 孵育 3 h,在 450 nm 波长处使用酶标仪检测其光密度值,计算 CFs 存活率。

#### 1.4.4 PCR 检测基因表达水平

将细胞分为对照组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 μmol/L) 组和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 μmol/L)+RES(5 μmol/L)组,RES 预处理 12 h 后加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 μmol/L)处理 6 h,提取 RNA,逆转录,加 GAPDH、白细胞介素(interleukin, IL-1)、caspase-1、Collagen I、Collagen III 引物上机并计算相关基因表达量。

#### 1.4.5 Western blot 检测蛋白表达水平

分组处理与 1.4.4 项相同,提取蛋白并用 2,2'-联喹啉-4,4'-二羧酸钠检测蛋白浓度,对蛋白样品(总量 30 μg/μL)进行电泳,转膜,GAPDH、NLRP3、caspase-1、Collagen I、Collagen III 蛋白抗体孵育,二抗孵育,增强化学发光法显色,计算上述蛋白表达水平。

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,行正态性或方差齐性检验,满足正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析和 *t* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 倒置相差显微镜观察 SD 乳鼠 CFs 形态

细胞逐渐变成为成纤维细胞形态,体积大,呈三角形或星形,一般含 2~3 个细胞核,核较大且多居中,细胞核呈卵圆形,细胞质透明。细胞呈放射状贴壁,随着细胞融合度增加逐渐变为梭形,见图 1。

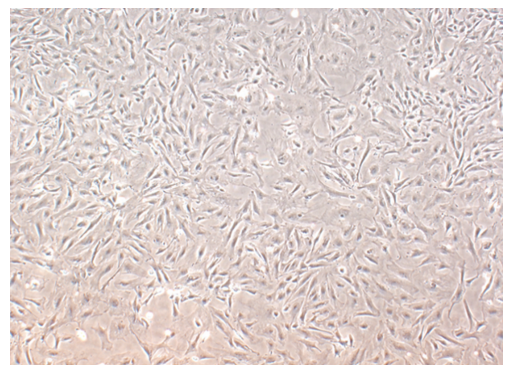


图 1 倒置相差显微镜观察 CFs 形态(40×)

### 2.2 免疫荧光鉴定

CFs 特异性生物学标记物——波形蛋白呈阳性表达,说明培养的细胞为 CFs,见图 1、2。

### 2.3 CCK-8 法检测 CFs 存活率

与对照组比较, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 μmol/L)组 CFs 存活率明显降低,差异有统计学意义(*P* < 0.05),见图 3;与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 μmol/L)组比较, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 μmol/L)+RES (5 μmol/L)组 CFs 存活率明显升高,差异有统计学意义(*P* < 0.05),见图 4。

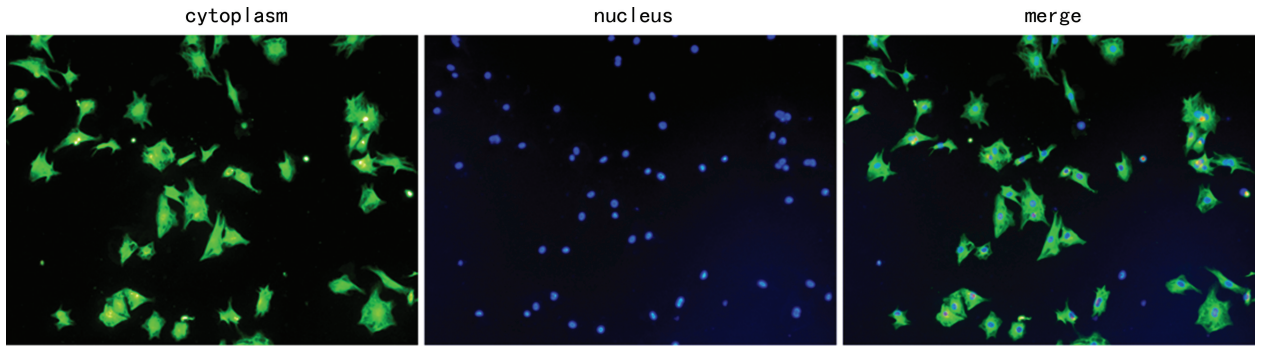
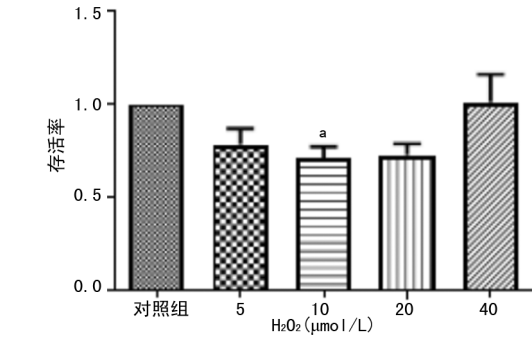
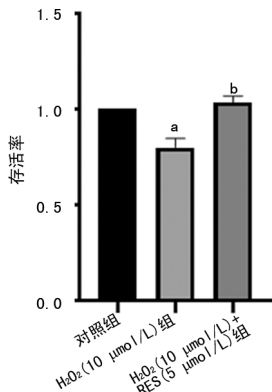


图 2 CFs 表达波形蛋白的免疫荧光鉴定(100×)



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

图 3 不同浓度  $H_2O_2$  对 CFs 细胞存活率的影响



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组比较。

图 4 RES 对 CFs 存活率的影响

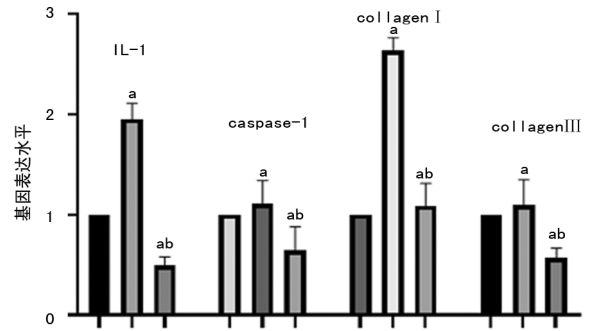
### 2.4 PCR 检测基因表达水平

与对照组比较,  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 IL-1、caspase-1、Collagen I、Collagen III 基因表达水平均明显升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组比较,  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) + RES (5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 IL-1、caspase-1、Collagen I、Collagen III 基因表达水平均明显降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 5。

### 2.5 Western blot 检测蛋白表达水平

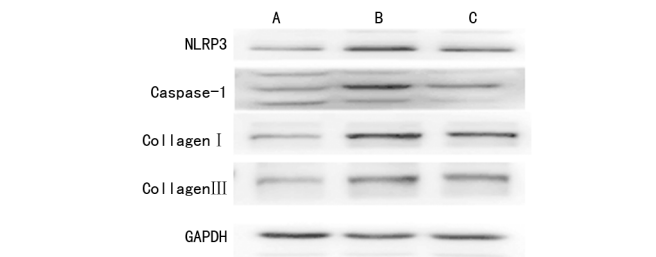
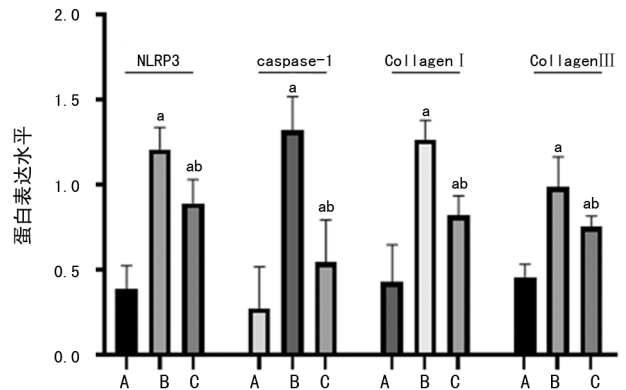
与对照组比较,  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组和  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) + RES (5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 NLRP3、caspase-1、Collagen I、Collagen III 蛋白表达均升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组比较,  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) + RES (5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组 NLRP3、

caspase-1、Collagen I、Collagen III 蛋白表达均降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 6。



A: 对照组; B:  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组; C:  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) + RES (5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组。 <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组比较。

图 5 各组 IL-1、caspase-1、Collagen I、Collagen III 基因表达水平



A: 对照组; B:  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组; C:  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) + RES (5  $\mu\text{mol/L}$ ) 组。 <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与  $H_2O_2$  (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 组比较。

图 6 各组 NLRP3、caspase-1、Collagen I、Collagen III 蛋白表达水平

### 3 讨 论

目前,有研究表明,心房重构、自主神经系统改变、钙离子异常电流共同作用引起房颤,其中心房重构在房颤中扮演了重要角色<sup>[13]</sup>。心房重构由心房结构重构和心房电重构组成,心肌纤维化是结构重构的特征性改变,其主要表现为胶原沉积导致的细胞外基质扩增, Collagen I / Collagen III 比例的改变造成细胞外基质代谢异常,进而导致正常心肌纤维网络结构被破坏,从而影响心肌细胞之间的传导连续性,包括减慢传导速度、增加传导异质性等,为折返环的形成和单项传导阻滞提供了病理基础<sup>[14-15]</sup>。心肌纤维化作为房颤最危险的因素之一,探讨其发病机制对阻断心房结构重构具有重要意义,可为房颤的预防和治疗提供新的思路。

NLRP3 炎症小体是机体固有免疫的重要组成部分,其通过促发宿主细胞的炎症反应而达到消灭入侵细菌的目的<sup>[16]</sup>。NLRP3 被细胞内外相关信号激活后可通过调控下游关键效应分子(如 caspase-1)引发炎症级联反应,最终导致局部或全身炎症反应。有研究在小鼠压力超负荷模型中发现,NLRP3 炎症小体参与了心室重构的病理生理过程,NLRP3 被抑制时心室重构可获得改善<sup>[17]</sup>。在瓣膜性房颤患者中心房 NLRP3 表达明显增高,并在心房炎症反应和血栓形成中发挥着重要作用<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,CFs 被 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激后 NLRP3、caspase-1、IL-1、Collagen I、Collagen III 均升高,说明 CFs 在氧化应激下可能促进了炎症反应,进而促进了 CFs 纤维化。

RES 是主要存在于桑葚、葡萄、花生等植物内的多酚类化合物,据文献报道,其具有广泛的生物和药理活性,对各大系统如心血管、呼吸、神经等发挥抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗凋亡等作用<sup>[19-22]</sup>。本研究结果显示,当 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激 CFs 氧化应激产生炎症反应,加入 RES 后抑制 NLRP3、caspase-1 蛋白表达,并降低 Collagen I、Collagen III 蛋白表达,从而减轻心肌纤维化。

综上所述,RES 可能通过 NLRP3/caspase-1 信号通路调节氧化应激水平抑制炎症反应,进而减轻心肌纤维化,为预防和治疗房颤提供了新靶点。

### 参考文献

[1] WANG Q, YU Y, ZHANG P, et al. The crucial role of activin A/ALK4 pathway in the pathogenesis of Ang-II-induced atrial fibrosis and vulnerability to atrial fibrillation[J]. Basic Res Cardiol, 2017, 112(4): 47.

[2] GIAM B, CHU P Y, KURUPPU S, et al. N-acetylcysteine attenuates the development of cardiac fibrosis and remodeling in a mouse model of heart failure [J]. Physiol Rep, 2016, 4 (7): e12757.

[3] DZESHKA M S, LIP G Y, SNEZHITSKIY V, et al. Cardiac fibrosis in patients with atrial fibrillation: mechanisms and clinical implications [J]. J Am Coll Cardiol, 2015, 66(8): 943-959.

[4] COLLIER P, WATSON C J, VAN ES M H, et al. Getting to the heart of cardiac remodeling; how collagen subtypes may contribute to phenotype [J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 52(1): 148-153.

[5] BOSTROM P, MANN N, WU J, et al. C/EBP-beta controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling [J]. Cell, 2010, 143(7): 1072-1083.

[6] KALLISTRATOS M S, POULIMENOS L E, MANOLIS A J. Atrial fibrillation and arterial hypertension [J]. Pharmacol Res, 2018, 128: 322-326.

[7] LOPEZ GELSTON C A, MITCHELL B M. Recent advances in immunity and hypertension [J]. Am J Hypertens, 2017, 30(7): 643-652.

[8] HU Y F, CHEN Y J, LIN Y J, et al. Inflammation and the pathogenesis of atrial fibrillation [J]. Nat Rev Cardiol, 2015, 12(4): 230-243.

[9] CHEN T, LI M, FAN X, et al. Sodium tanshinone II A sulfonate prevents angiotensin II-induced differentiation of human atrial fibroblasts into myofibroblasts [J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 6712585.

[10] BRTMAN A Y, MOTTECHIN R A, WIESEN-FELD M Y, et al. The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials [J]. NPJ Precis Oncol, 2017, 1: 35.

[11] CAPPETTA D, ESPOSITO G, PIEGARI E, et al. SIRT1 activation attenuates diastolic dysfunction by reducing cardiac fibrosis in a model of anthracycline cardiomyopathy [J]. Int J Cardiol, 2016, 205: 99-110.

[12] QIN F, SIWIK D A, LUPTAK I, et al. The polyphenols resveratrol and S17834 prevent the structural and functional sequelae of diet-induced metabolic heart disease in mice [J]. Circulation, 2012, 125(14): 1757-1764.

- [13] HATEM S N, RWDHEUIL A, GANDJBA-KHCH E. Cardiac adipose tissue and atrial fibrillation; the perils of adiposity [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 109(4):502-509.
- [14] SHEN D F, TANG Q Z, YAN L, et al. Tetrandrine blocks cardiac hypertrophy by disrupting reactive oxygen species-dependent ERK1/2 signalling [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 159(4):970-981.
- [15] GUO J, JIA F, JIANG Y, et al. Potential role of MG53 in the regulation of transforming-growth-factor-beta1-induced atrial fibrosis and vulnerability to atrial fibrillation [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 362(2):436-443.
- [16] KAWAGUCHI M, TAKAHASHI M, HATA T, et al. Inflammasome activation of cardiac fibroblasts is essential for myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2011, 123(6):594-604.
- [17] WANG Y, WU Y, CHEN J, et al. Pirfenidone attenuates cardiac fibrosis in a mouse model of TAC-induced left ventricular remodeling by suppressing NLRP3 inflammasome formation [J]. *Cardiology*, 2013, 126(1):1-11.
- [18] HE G, TAN W, WANG B, et al. Increased M1 macrophages infiltration is associated with thrombogenesis in rheumatic mitral stenosis patients with atrial fibrillation [J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0149910.
- [19] 阎雯, 齐薛浩. 白藜芦醇对新生大鼠神经元缺血缺氧时 SDF-1/CXCR4 通路抗凋亡作用的调控机制 [J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(7):1177-1182.
- [20] ZHU X D, LEI X P, DONG W B. Resveratrol as a potential therapeutic drug for respiratory system diseases [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11:3591-3598.
- [21] SAWDA C, MOUSSA C, TURNER R S. Resveratrol for Alzheimer's disease [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2017, 1403(1):142-149.
- [22] BREUSS J M, ATANASOV A G, UHRIN P. Resveratrol and its effects on the vascular system [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7):1523.

(收稿日期:2021-02-18 修回日期:2021-05-08)

(上接第 3611 页)

- [17] ZHOU Y, REN H, DAI B, et al. Hepatocellular carcinoma-derived exosomal miRNA-21 contributes to tumor progression by converting hepatocyte stellate cells to cancer-associated fibroblasts [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):324.
- [18] FANG T, LV H, LV G, et al. Tumor-derived exosomal miR-1247-3p induces cancer-associated fibroblast activation to foster lung metastasis of liver cancer [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):191.
- [19] TAKAHASHI K, YAN IK, KOGURE T, et al. Extracellular vesicle-mediated transfer of long non-coding RNA ROR modulates chemosensitivity in human hepatocellular cancer [J]. *FEBS Open Bio*, 2014, 4:458-467.
- [20] WANG G, LIU W, ZOU Y, et al. Three isoforms of exosomal circPTGR1 promote hepatocellular carcinoma metastasis via the miR449a-MET pathway [J]. *EBio Med*, 2019, 40:432-445.
- [21] HUANG X Y, HUANG Z L, HUANG J, et al. Exosomal circRNA-100338 promotes hepatocellular carcinoma metastasis via enhancing invasiveness and angiogenesis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1):20.
- [22] YU Y, BIAN L, LIU R, et al. Circular RNA hsa\_circ\_0061395 accelerates hepatocellular carcinoma progression via regulation of the miR-877-5p/PIK3R3 axis [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1):10.
- [23] ZHANG P F, GAO C, HUANG X Y, et al. Cancer cell-derived exosomal circUHRF1 induces natural killer cell exhaustion and may cause resistance to anti-PD1 therapy in hepatocellular carcinoma [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):110.
- [24] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5):646-674.

(收稿日期:2021-02-11 修回日期:2021-05-08)