

褪黑素在热打击诱导细胞凋亡中可能的保护作用

龚健¹ 古正涛² 苏磊³

¹ 深圳市龙岗区第三人民医院重症医学科, 广东深圳 518115; ² 南方医科大学第三附属医院
急危重症医学部, 广东省医学休克微循环重点实验室, 广东广州 510630; ³ 南部战区总医院
重症医学科, 全军热区创伤救治与组织修复重点实验室, 广东广州 510010

通信作者: 苏磊, Email: sulei_icu@163.com

【摘要】 在中暑发病过程中, 热是最根本的致伤原因。多项动物和细胞实验证实, 高热可直接诱导组织损伤和细胞死亡, 根据遭受热打击的程度不同, 细胞可激活凋亡信号或直接坏死。一般高热打击大多是激活了细胞凋亡信号, 诱导细胞凋亡。因此, 对于中暑发病过程中组织细胞的损伤形式, 目前一般认为以凋亡为主。近年来针对热应激分子生物学研究表明, 热在广阔范围内调节着细胞各项生理活动, 参与细胞内信号转导过程。褪黑素及其代谢物是广谱抗氧化剂和自由基清除剂, 它们在不同病理生理情况下调节多种分子途径, 例如炎症、增殖、凋亡和转移。本文总结褪黑素及热打击对细胞凋亡影响的相关研究, 评估了褪黑素对中暑发病机制的可能保护作用, 以期临床提供新的治疗思路。

【关键词】 热打击; 中暑; 褪黑素; 细胞凋亡; 内质网应激; 线粒体

基金项目: 国家自然科学基金(81671896); 军队后勤医学科研项目(CWH17L020, 17CXZ008, 18CXZ030); 广东省自然科学基金(2014A030313599); 广东省科技计划项目(2013B021800047); 广东省深圳市科技计划项目(JCYJ20180228162214347)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.05.028

Possible protective role of melatonin on heat stress induced apoptosis

Gong Jian¹, Gu Zhengtao², Su Lei³

¹Department of Intensive Care Medicine, the Third People's Hospital of Longgang District, Shenzhen 518115, Guangdong, China; ²Department of Intensive Care Medicine, Third Affiliated Hospital, Southern Medical University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Shock and Microcirculation Research, Guangzhou 510630, Guangdong, China; ³Department of Intensive Care Medicine, General Hospital of Southern Theatre Command, Key Laboratory of Tropical Zone Trauma Care and Tissue Repair of PLA, Guangzhou 510010, Guangdong, China

Corresponding author: Su Lei, Email: sulei_icu@163.com

【Abstract】 During the onset of heat stroke, heat is the most fundamental cause of injury. It has been demonstrated in a number of animal and cell experiments that hyperthermia can directly induce tissue damage and cell death, and cells can activate apoptotic signals or direct necrosis depending on the extent of heat stress. In general, high heat stress activates apoptotic signals and induce apoptosis. Therefore, the form of damage of tissue cells during the onset of heat stroke is currently considered to be mainly apoptosis. In recent years, it has been found that the heat stress molecular biology research regulates the physiological activities of cells in a wide range and participates in the intracellular signal transduction process. Melatonin and its metabolites are broad-spectrum antioxidants and free radical scavengers that regulate a variety of molecular pathways, such as inflammation, proliferation, apoptosis, and metastasis, under different pathophysiological conditions. This article summarized the research on the effects of melatonin and heat shock on apoptosis, and evaluated the possible protective effects of melatonin on the pathogenesis of heat stroke, and provided new therapeutic ideas for the clinic.

【Key words】 Heat stress; Heat stroke; Melatonin; Apoptosis; Endoplasmic reticulum stress; Mitochondria

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81671896); Military Logistics Medical Research Project of PLA (CWH17L020, 17CXZ008, 18CXZ030); Natural Science Foundation of Guangdong Province (2014A030313599); Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2013B021800047); Shenzhen City Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (JCYJ20180228162214347)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.05.028

中暑病理过程中, 热是外界环境中最为常见而重要的刺激因子之一, 对机体细胞的许多功能和结构都会产生重要的影响。越来越多的证据表明, 凋亡可能在中暑病理过程中扮演了重要的角色。进一步深入研究表明, 热对组织细胞的影响除了热暴露的直接损伤外, 在热打击过程中产生的各种氧化代谢产物、蛋白酶类、细胞因子等可以作为信号分子激活或

抑制多条信号转导通路^[1-2], 介导细胞存活或死亡。

褪黑素(N-乙酰 5-甲氧基色胺) 主要是由松果体分泌的激素。然而, 它也存在于其他器官和组织中, 如胃肠道、视网膜、晶状体、皮肤、睾丸、淋巴细胞和造血细胞^[3]。早期研究表明, 褪黑素有调节昼夜节律、减轻失眠和调整飞行时差的作用^[4]。随着研究的深入, 褪黑素更多重要的生理功能

被发现,包括抗氧化、自由基清除、抗炎、抗癌等^[5]。褪黑素在免疫功能、能量代谢、心血管系统、生殖系统和神经精神系统等多方面均表现出一定的调节作用^[6]。作为一种著名的抗氧化剂和自由基清除剂,褪黑素在包括心脏、肾脏、肝脏和脑部在内的若干组织中均显示出对抗氧化损伤的保护作用^[7]。也有证据表明,使用高浓度褪黑素时,其在体外模型中也具有促氧化能力^[8]。例如在癌细胞中,褪黑素可促凋亡,而在正常细胞中,它通常可抗凋亡^[9]。

细胞凋亡是生物个体发育及组织形态构建中出现的不同于细胞坏死的一种细胞死亡方式,由于多种刺激因素触发了细胞内预存的死亡程序,进而引发细胞的自杀过程,是由特定基因控制的细胞有序、自主的死亡,亦称为程序性细胞死亡(PCD)^[10]。目前认为,细胞凋亡的信号转导通路主要包括 3 条,即内源性途径(又称线粒体凋亡途径)、外源性途径(又称死亡受体凋亡途径)以及内质网凋亡途径^[11]。无论内源性、外源性还是内质网途径,都可以引起天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(caspases)激活^[12]。在凋亡进程中,以上 3 条凋亡途径相互作用、彼此协调,共同调控细胞凋亡。

1 热打击对细胞凋亡的作用机制

1.1 热打击与线粒体:强烈的热打击可以通过激活线粒体途径以及线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)的改变、细胞色素 C 的释放和 caspase-9、caspase-3 的激活来诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的早期凋亡。转录非依赖性线粒体 p53 途径对氧化应激诱导的 HUVEC 细胞早期凋亡起着关键作用。用 PFT(一种 p53 线粒体移位抑制剂)预处理后,热打击诱导的线粒体 p53 移位受到显著抑制,伴随着 $\Delta\Psi_m$ 释放,细胞色素 C 释放的显著缓解和 caspase-9 激活^[13]。进一步研究表明,热打击可通过活性氧簇(ROS)依赖性线粒体 p53 移位和随后 Bax 线粒体移位而诱导凋亡。抗氧化剂锰三甲胺吡啶(MnTBAP)可显著降低热打击诱导的 p53 线粒体移位和经信号介导的线粒体通透性转换孔(MPTP)开放,以及随后的 Bax 线粒体移位和 caspase 级联的活化。热打击激活后 Bax 线粒体移位在线粒体信号转导途径的启动中起着重要作用。p53 线粒体移位和经信号介导的 MPTP 开放可激活 Bax 线粒体移位^[14]。

线粒体通过融合和裂变响应环境刺激而不断改变其形态来调节细胞存活。轻度热适应和中等热休克似乎对骨骼肌细胞中线粒体动力相关蛋白 Drp1 具有不同的影响。线粒体完整性在热打击下的细胞存活中起关键作用。线粒体形态的调节与应激过程中的细胞存活密切相关。研究表明,小鼠 C2C12 肌肉细胞暴露于热休克可导致凋亡性死亡,其特征在 caspase-3 与 caspase-7 激活、细胞色素 C 释放和细胞膜完整性丧失^[15]。该研究者通过检测小鼠 C2C12 骨骼肌细胞线粒体形态的变化发现,热休克导致 C2C12 细胞线粒体过度分裂、 $\Delta\Psi_m$ 丧失和 ROS 产生。蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)和免疫荧光图像分析显示 Drp1 移位至暴露于热休克的 C2C12 细胞的线粒体。线粒体分裂抑制因子 1 或 Drp1 基因沉默子在热休克期间可减少线粒体碎裂和

增加的细胞生存力。这些结果说明,Drp1 依赖的线粒体分裂可能调节对肌肉细胞中热诱导凋亡的易感性,并且 Drp1 可以作为预防热相关损伤的靶标^[15]。热诱导骨骼肌损伤与 Drp1 介导的线粒体分裂增加和线粒体融合无变化有关。热暴露引起线粒体破碎和线粒体裂变蛋白 Drp1 表达增加,而对小鼠腓肠肌中线粒体融合蛋白 1、2(Mfn1、Mfn2)和视神经萎缩相关蛋白 1(OPA1)没有影响,说明 Drp1 介导的线粒体分裂在骨骼肌热诱导的氧化应激中起作用^[16]。

核转录因子- κ B(NF- κ B)信号转导在预防炎症应激诱导的早期凋亡中起着至关重要的作用。同样,NF- κ B 信号转导是抵抗热打击诱导的 HUVEC 细胞早期凋亡所必需的。当抑制热打击后的 HUVEC 细胞中 NF- κ B 信号或靶向 p65 的小干扰 RNA(siRNA)时,可观察到细胞凋亡和 caspase-3 活性显著增加,热休克蛋白 27(HSP27)向核内的表达和移位减少,ROS 的积累及丝裂素活化蛋白激酶(MAPKs)的磷酸化。说明 NF- κ B 信号转导途径涉及 HSP27、ROS 和 MAPKs,其对热打击诱导的细胞凋亡有保护作用^[17]。高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)是激活 NF- κ B 通路的重要信号分子,热打击早期即可使血液内 HMGB1 迅速增高并持续达 6 d,促使炎症因子大量表达,导致组织损伤^[18]。

1.2 热打击与内质网应激(ERS):强烈的热打击可诱导 HUVEC 细胞中 ERS 相关的未折叠蛋白应答(UPR)保护细胞抵抗 ERS,其激活 3 种 UPR 转导通路:双链 RNA 依赖性蛋白激酶样内质网激酶-真核翻译起始的磷酸化因子 2 α -激活转录因子 4(PERK-eIF2 α -ATF4)、肌醇需要酶 1-剪接的 X 盒结合蛋白-1S(IRE1-XBP-1S)和 ATF6;然而,经受热打击的细胞中生长抑制 DNA 损伤基因 153(GADD153)表达或 caspase-4 活性没有明显增加,表明高强度热打击不能诱导 HUVEC 细胞中的细胞凋亡 ERS 反应途径^[19]。

有研究表明,热打击诱导的小鼠心肌细胞凋亡主要由 PERK-eIF2 α -CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP)未折叠的蛋白质反应的活化介导,其活化可上调 p53 及凋亡调控因子(PUMA)表达,以及调节细胞氧化还原状态;熊果酸通过重建细胞内氧化还原状态和诱导抗凋亡蛋白髓细胞白血病基因 1(MCL-1)的表达,进而使 CHOP 诱导的 PUMA 上调失活^[20]。

1.3 热打击与自由基:ROS 产生在热打击的细胞中起重要作用,热打击主要引起超氧阴离子(O_2^-)和过氧化氢(H_2O_2)两种自由基持续增加,但一氧化氮(NO)没有显著变化^[19]。ROS 活性增加对热应激诱导的 HUVEC 细胞凋亡有重要作用,其机制可能与 Bcl-2 和 Bax 的表达有关。有实验证明,随着高达 41 °C 和 43 °C 的热应激温度的增加,细胞活性呈现下降趋势,ROS 增加,Bax 的 mRNA 和蛋白表达增加,caspase-3 蛋白表达显著增加,Bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达呈温度依赖性下降^[21]。

ROS(特别是超氧化物)是由强烈热打击诱导并导致细胞死亡的主要氧化性物质。热打击通过在细胞中过量表达锰超氧化物歧化酶(MnSOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)

诱导 HUVEC 细胞线粒体凋亡途径。超氧化物调节热打击的凋亡效应的机制是通过泛素-蛋白酶体降解,其中涉及 Bcl-2 的下调。超氧化物的产生还通过 MAPK 激酶、细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2) 的失活导致 Bcl-2 去磷酸化,促进 Bcl-2 泛素化^[22]。

有研究表明,在热打击诱导的细胞损伤中,丙泊酚的保护作用与其抗氧化性密切相关^[23]。该实验表明,热打击可显著降低 MnSOD、铜超氧化物歧化酶 (CuSOD) 和锌超氧化物歧化酶 (ZnSOD) 的水平,丙泊酚可抑制 MnSOD 的还原。用 MnSOD siRNA 转染 HUVEC 细胞可显著降低 MnSOD 的表达,丙泊酚对 MnSOD siRNA 克隆的保护作用显著降低。丙泊酚可以通过上调 MnSOD 表达,有效减少氧化应激引起的直接或间接的细胞损伤^[23]。

2 褪黑素对抗细胞凋亡的作用机制

2.1 褪黑素受体依赖性作用

2.1.1 褪黑素与线粒体: 研究表明,褪黑素及其代谢物通过影响基础信号转导途径的激活来保护线粒体。在压力应激诱导的小鼠睾丸细胞中,褪黑素可降低诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、NF- κ B 抑制蛋白 α (I κ B α) 的磷酸化和 p65 的核移位,减轻由压力应激诱导的核转录因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 和血红素加氧酶-1 (HO-1) 的表达下调。提示褪黑素通过 NF- κ B-iNOS 和 Nrf2-HO-1 信号通路来改善氧化应激及凋亡^[24]。褪黑素还可增加细胞内环磷酸鸟苷 (cGMP) 水平和 cGMP 依赖性蛋白激酶 I α (PKGI α) 表达,通过磷酸化血管扩张刺激磷蛋白 (p-VASP) 与血管扩张刺激磷蛋白 (VASP) 的比值进一步调节心肌 Nrf2-HO-1 和 MAPK 信号转导,从而减少糖尿病缺血/再灌注 (MI/R) 损伤心肌细胞凋亡和氧化应激以及保存心脏功能。重要的是,褪黑素膜受体 (MT),特别是 MT2 依赖性 cGMP-PKGI α 信号转导在这一过程中发挥了关键作用^[25]。

褪黑素可将 Bcl-2 定位于线粒体,使 Bax 以无活性形式进入线粒体以防止细胞凋亡^[26]。在铁超负荷诱导的骨髓间充质干细胞 (BMSC) 凋亡中,褪黑素处理后抑制了抗凋亡蛋白 Bcl-2 的减少以及促凋亡蛋白 Bax 和剪切的 caspase-3 的增加,同时抑制了坏死相关蛋白受体相互作用蛋白 1、3 (RIP1、RIP3) 的表达。褪黑素通过调节 Bcl-2、Bax、剪切的 caspase-3、RIP1 和 RIP3 途径来保护 BMSC 细胞免于铁超载诱导的细胞凋亡^[27]。

褪黑素还可通过抑制 Drp1 介导的线粒体裂变来防止糖尿病引起的心脏功能障碍。在糖尿病引起的心脏功能障碍的小鼠中,褪黑素能增加烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 依赖性去乙酰化酶-沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 和过氧化物酶增殖物激活受体 γ 辅助激活因子-1 α (PGC-1 α) 的表达,减少 Drp1 表达,从而抑制 Drp1 介导的线粒体分裂和线粒体衍生的超氧化物的产生^[28]。

2.1.2 褪黑素与 ERS: 褪黑素是 ERS 的抑制剂并可减弱 ERS 标志物的激活。长期糖尿病导致的心肌病大鼠的心肌细胞凋亡研究表明,褪黑素降低了心脏组织中 ERS 标志物

的表达,包括 CHOP、葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、PERK 和 ATF6 α 。褪黑素通过抑制 ERS 来改善心肌细胞凋亡^[29]。在脑梗死大鼠模型中,褪黑素可以减少磷酸化 PERK (p-PERK)、p-eIF2 α ,还可抑制 ATF4 和 CHOP 的表达,通过减弱 ERS 来保护大脑免受 MI/R 损伤^[30]。

Tungkum 等^[31]研究表明,褪黑素以浓度依赖性方式降低 ERS 反应基因和蛋白的表达,包括 p-PERK、ATF6、磷酸化 IRE1 (p-IRE1)、结合免疫球蛋白 (Bip)、CHOP、caspase-12、p-eIF2 α 和 XBP-1 mRNA;褪黑素能降低由甲基苯丙胺 (METH) 毒性诱导的 ERS;此外,褪黑素以浓度依赖性方式促进 Bip 伴侣蛋白的表达。

褪黑素可以通过减少钙超载进一步抑制三磷酸肌醇受体 (IP3R) 表达,并通过 ERK1 通路促进心肌细胞肌浆网钙 ATP 酶 (SERCA2a) 表达,减少心肌细胞 MI/R 损伤^[32]。褪黑素还可通过抑制钙超载和钙依赖性黄嘌呤氧化酶 (XO) 介导的 ROS“爆发”来减少脂多糖 (LPS) 诱导的内皮细胞凋亡^[33]。

2.1.3 褪黑素与自由基: 由于线粒体可产生 ROS 和活性氮 (RNS),它们被认为是清除自由基的主要目标。在磷化铝急性中毒导致心肌细胞死亡的研究中,褪黑素充当有效的 ROS 清除剂,不但可以缓解呼吸链的抑制复合物,而且可增加 ATP 产生;同时,它可以直接抑制 MPTP 开放,从而预防细胞凋亡^[34]。近年来研究表明,褪黑素可上调线粒体解耦联蛋白 2 (UCP2) 的表达,保护脓毒性心肌病小鼠细胞免受形态学改变,并抑制 $\Delta\Psi_m$ 损失、线粒体钙超载、MPTP 的开放,以及随后的 ROS 生成和 ATP 减少^[35]。

2.2 褪黑素受体非依赖性作用: 褪黑素受体非依赖性功能的特点是清除自由基和抗氧化活性,及其与胞质蛋白和亚细胞器的相互作用^[36]。褪黑素及其代谢物是直接和强大的自由基清除剂及间接抗氧化剂,作为一种直接的 ROS 清除剂,褪黑素可中和过氧亚硝基阴离子 (ONOO⁻)、H₂O₂、O₂⁻、单线态氧 (1O₂)、羟自由基 (•OH) 和 NO 以及其他毒性反应物^[37]。

褪黑素间接抗氧化活性是通过增加抗氧化酶 [过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD)、硒依赖性 GSH-Px] 的活性实现的。在地塞米松引起的睾丸氧化应激中,褪黑素预处理增强了 SOD、CAT、GSH-Px 的酶活性^[38]。缺血/再灌注引起的肺损伤小鼠模型中,褪黑素使抗氧化剂 GSH-Px 和谷胱甘肽还原酶 (GSH-Rd) 增加^[39]。

3 结语

本综述总结了热打击所致细胞凋亡病理生理学中涉及的途径。氧化应激、线粒体功能障碍和 ERS 在热打击所致细胞凋亡中起重要作用。由于褪黑素的抗氧化及其调节线粒体和内质网功能的能力,对热打击所致细胞凋亡病理生理学具有有益作用。然而,有关褪黑素在热打击所致细胞凋亡中保护作用的研究很少见,并且需要进一步研究来确定褪黑素在热打击所致细胞凋亡中潜在保护作用的分子途径。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] North S, Hainaut P. p53 and cell-cycle control: a finger in every

- pie [J]. *Pathol Biol (Paris)*, 2000, 48 (3): 255–270.
- [2] Ye F, Deng PY, Li D, et al. Involvement of endothelial cell-derived CGRP in heat stress-induced protection of endothelial function [J]. *Vascul Pharmacol*, 2007, 46 (4): 238–246. DOI: 10.1016/j.vph.2006.10.008.
 - [3] Leon J, Acuña-Castroviejo D, Sainz RM, et al. Melatonin and mitochondrial function [J]. *Life Sci*, 2004, 75 (7): 765–790. DOI: 10.1016/j.lfs.2004.03.003.
 - [4] Smith MR, Lee C, Crowley SJ, et al. Morning melatonin has limited benefit as a soporific for daytime sleep after night work [J]. *Chronobiol Int*, 2005, 22 (5): 873–888. DOI: 10.1080/09636410500292861.
 - [5] Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, et al. Melatonin defeats neurally-derived free radicals and reduces the associated neuromorphological and neurobehavioral damage [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2007, 58 Suppl 6: 5–22.
 - [6] Ren W, Liu G, Chen S, et al. Melatonin signaling in T cells: functions and applications [J]. *J Pineal Res*, 2017, 62 (3): e12394. DOI: 10.1111/jpi.12394.
 - [7] Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, et al. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species: a review of the evidence [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2001, 34 (2): 237–256. DOI: 10.1385/CBB:34:2:237.
 - [8] Zhang HM, Zhang Y. Melatonin: a well-documented antioxidant with conditional pro-oxidant actions [J]. *J Pineal Res*, 2014, 57 (2): 131–146. DOI: 10.1111/jpi.12162.
 - [9] Bizzarri M, Proietti S, Cucina A, et al. Molecular mechanisms of the pro-apoptotic actions of melatonin in cancer: a review [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2013, 17 (12): 1483–1496. DOI: 10.1517/14728222.2013.834890.
 - [10] Trieb K, Eberl T, Steger M, et al. Apoptosis is involved in endothelial cell damage during preservation and influenced by organ storage solutions [J]. *Transplant Proc*, 1997, 29 (1–2): 416–418. DOI: 10.1016/S0041-1345(96)00159-5.
 - [11] 张勤丽, 牛侨. 细胞凋亡机制概述 [J]. *环境与职业医学*, 2007, 24 (1): 102–107. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3617.2007.01.029. Zhang QL, Niu Q. Mechanism of cell apoptosis [J]. *J Environ Occup Med*, 2007, 24 (1): 102–107. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3617.2007.01.029.
 - [12] Green DR. Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors [J]. *Cell*, 2000, 102 (1): 1–4.
 - [13] Gu ZT, Wang H, Li L, et al. Heat stress induces apoptosis through transcription-independent p53-mediated mitochondrial pathways in human umbilical vein endothelial cell [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 4469. DOI: 10.1038/srep04469.
 - [14] Gu ZT, Li L, Wu F, et al. Heat stress induced apoptosis is triggered by transcription-independent p53, Ca²⁺ dyshomeostasis and the subsequent Bax mitochondrial translocation [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11497. DOI: 10.1038/srep11497.
 - [15] Yu T, Deuster P, Chen Y. Role of dynamin-related protein 1-mediated mitochondrial fission in resistance of mouse C2C12 myoblasts to heat injury [J]. *J Physiol*, 2016, 594 (24): 7419–7433. DOI: 10.1111/JP272885.
 - [16] Yu T, Ferdjallah I, Elenberg F, et al. Mitochondrial fission contributes to heat-induced oxidative stress in skeletal muscle but not hyperthermia in mice [J]. *Life Sci*, 2018, 200: 6–14. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.02.031.
 - [17] Liu Y, Zhou G, Wang Z, et al. NF-κB signaling is essential for resistance to heat stress-induced early stage apoptosis in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13547. DOI: 10.1038/srep13547.
 - [18] 倪啸晓, 刘志峰, 谢秋幼, 等. 中暑脑损伤机制及高压氧治疗作用的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29 (6): 572–576. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.06.020. Ni XX, Liu ZF, Xie QY, et al. Cerebral injury induced by heat stroke and the therapeutic effect of hyperbaric oxygen therapy [J]. *Chin Crit Care Med*, 2017, 29 (6): 572–576. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.06.020.
 - [19] Li L, Tan H, Gu Z, et al. Heat stress induces apoptosis through a Ca²⁺-mediated mitochondrial apoptotic pathway in human umbilical vein endothelial cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (12): e111083. DOI: 10.1371/journal.pone.0111083.
 - [20] Yang Y, Li C, Xiang X, et al. Ursolic acid prevents endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis induced by heat stress in mouse cardiac myocytes [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 67: 103–111. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2013.12.018.
 - [21] 李莉, 古正涛, 刘志峰, 等. 活性氧调控 Bcl-2、Bax 表达参与热打击后人脐静脉内皮细胞凋亡的研究 [J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26 (7): 458–463. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.07.003. Li L, Gu ZT, Liu ZF, et al. The effect of reactive oxygen species regulation of expression of Bcl-2 and Bax in apoptosis of human umbilical vein endothelial cell induced by heat stress [J]. *Chin Crit Care Med*, 2014, 26 (7): 458–463. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.07.003.
 - [22] Li L, Tan H, Yang H, et al. Reactive oxygen species mediate heat stress-induced apoptosis via ERK dephosphorylation and Bcl-2 ubiquitination in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (8): 12902–12916. DOI: 10.18632/oncotarget.14186.
 - [23] Wu F, Dong XJ, Zhang HQ, et al. Role of MnSOD in propofol protection of human umbilical vein endothelial cells injured by heat stress [J]. *J Anesth*, 2016, 30 (3): 410–419. DOI: 10.1007/s00540-015-2129-2.
 - [24] Guo Y, Sun J, Li T, et al. Melatonin ameliorates restraint stress-induced oxidative stress and apoptosis in testicular cells via NF-κB/iNOS and Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 9599. DOI: 10.1038/s41598-017-09943-2.
 - [25] Yu LM, Di WC, Dong X, et al. Melatonin protects diabetic heart against ischemia-reperfusion injury, role of membrane receptor-dependent cGMP-PKG activation [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864 (2): 563–578. DOI: 10.1016/j.bbdis.2017.11.023.
 - [26] Radogna F, Albertini MC, De Nicola M, et al. Melatonin promotes Bax sequestration to mitochondria reducing cell susceptibility to apoptosis via the lipoxygenase metabolite 5-hydroxyeicosatetraenoic acid [J]. *Mitochondrion*, 2015, 21: 113–121. DOI: 10.1016/j.mito.2015.02.003.
 - [27] Yang F, Li Y, Yan G, et al. Inhibition of iron overload-induced apoptosis and necrosis of bone marrow mesenchymal stem cells by melatonin [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (19): 31626–31637. DOI: 10.18632/oncotarget.16382.
 - [28] Ding M, Feng N, Tang D, et al. Melatonin prevents Drp1-mediated mitochondrial fission in diabetic hearts through SIRT1-PGC1α pathway [J]. *J Pineal Res*, 2018, 65 (2): e12491. DOI: 10.1111/jpi.12491.
 - [29] Xiong FY, Tang ST, Su H, et al. Melatonin ameliorates myocardial apoptosis by suppressing endoplasmic reticulum stress in rats with long-term diabetic cardiomyopathy [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17 (1): 374–381. DOI: 10.3892/mmr.2017.7841.
 - [30] Lin YW, Chen TY, Hung CY, et al. Melatonin protects brain against ischemia/reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42 (1): 182–192. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3607.
 - [31] Tungum W, Jumnonprakhon P, Tocharus C, et al. Melatonin suppresses methamphetamine-triggered endoplasmic reticulum stress in C6 cells glioma cell lines [J]. *J Toxicol Sci*, 2017, 42 (1): 63–71. DOI: 10.2131/jts.42.63.
 - [32] Hu S, Zhu P, Zhou H, et al. Melatonin-induced protective effects on cardiomyocytes against reperfusion injury partly through modulation of IP3R and SERCA2a via activation of ERK1 [J]. *Arq Bras Cardiol*, 2018, 110 (1): 44–51. DOI: 10.5935/abc.20180008.
 - [33] Cui J, Li Z, Zhuang S, et al. Melatonin alleviates inflammation-induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells via suppression of Ca²⁺-XO-ROS-Drp1-mitochondrial fission axis by activation of AMPK/SERCA2a pathway [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2018, 23 (2): 281–293. DOI: 10.1007/s12192-017-0841-6.
 - [34] Asghari MH, Abdollahi M, de Oliveira MR, et al. A review of the protective role of melatonin during phosphine-induced cardiotoxicity: focus on mitochondrial dysfunction, oxidative stress and apoptosis [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2017, 69 (3): 236–243. DOI: 10.1111/jphp.12682.
 - [35] Pan P, Zhang H, Su L, et al. Melatonin balance the autophagy and apoptosis by regulating UCP2 in the LPS-induced cardiomyopathy [J]. *Molecules*, 2018, 23 (3): pii: E675. DOI: 10.3390/molecules23030675.
 - [36] García JJ, López-Pingarrón L, Almeida-Souza P, et al. Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: a review [J]. *J Pineal Res*, 2014, 56 (3): 225–237. DOI: 10.1111/jpi.12128.
 - [37] Reiter RJ, Tan DX, Galano A. Melatonin: exceeding expectations [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2014, 29 (5): 325–333. DOI: 10.1152/physiol.00011.2014.
 - [38] Mukherjee A, Haldar C, Vishwas DK. Melatonin prevents dexamethasone-induced testicular oxidative stress and germ cell apoptosis in golden hamster, *Mesocricetus auratus* [J]. *Andrologia*, 2015, 47 (8): 920–931. DOI: 10.1111/and.12357.
 - [39] Wang ML, Wei CH, Wang WD, et al. Melatonin attenuates lung ischaemia-reperfusion injury via inhibition of oxidative stress and inflammation [J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2018, 26 (5): 761–767. DOI: 10.1093/icvts/ivx440.

(收稿日期: 2018-12-28)