

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003033

3-甲基腺嘌呤通过抑制自噬和内质网应激途径保护睡眠紊乱诱导的大鼠肝损伤

严 苹¹, 陈 霞², 赵宏贤³

(1. 古蔺县人民医院消化内科, 泸州 646500; 2. 西南医科大学附属医院消化内科, 泸州 646000;

3. 西南医科大学组织与胚胎学教研室, 泸州 646000)

【摘要】目的:观察与分析3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)对睡眠紊乱诱导的大鼠肝损伤的保护作用及其相应的机制。**方法:**将30只雄性SD大鼠随机分为对照组、模型组和3-MA组, 每组10只, 对比各组大鼠实验前后体质量变化。处死大鼠后进行以下实验分析:①采用ELISA法检测各组大鼠血清丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)与天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平变化;②运用HE观察肝脏组织形态学的改变;③使用透射电子显微镜观察各组大鼠肝细胞中自噬体的形成;④采用TUNEL法评估各组肝细胞的凋亡水平, 并计算凋亡指数;⑤通过RT-PCR与Western blot检测肝组织自噬相关蛋白微管相关蛋白轻链3(LC3-II)、Beclin1、葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein 78, GRP78)及Caspase-3的mRNA与蛋白表达水平。**结果:**动物实验结果表明睡眠紊乱会诱导大鼠肝损伤, 同时伴随肝脏自噬与内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)水平升高;相比对照组, 模型组大鼠造模后体质量增量明显减小, 而肝细胞形态结构变化明显, 同时, 血清ALT与AST水平、凋亡指数、自噬体数量及相关标志蛋白表达水平均明显上升($P<0.05$);相比模型组, 肝细胞形态结构、血清ALT与AST水平、凋亡指数、自噬体数量及相关标志蛋白表达水平均有改善($P<0.05$)。**结论:**睡眠紊乱可诱导SD大鼠肝损伤, 进而通过上调LC3-II、Beclin1及GRP78蛋白表达和mRNA水平激活自噬与ERS信号通路, 3-MA可拮抗自噬与ERS信号通路来保护肝细胞及抗凋亡作用。

【关键词】睡眠紊乱; 自噬; 内质网; 凋亡; 3-甲基腺嘌呤**【中图分类号】**R817.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2021-05-01

3-methyladenine prevents sleep disturbance-induced liver injury by suppressing autophagy and endoplasmic reticulum stress

Yan Ping¹, Chen Xia², Zhao Hongxian³

(1. Department of Gastroenterology, Gulin People's Hospital; 2. Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Southwest Medical University; 3. Teaching and Research Section of Histology and Embryology, Southwest Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the protective effect and corresponding mechanisms of 3-methyladenine (3-MA) on liver injury induced by sleep disturbance. **Methods:** Thirty SD mice were randomly divided into three groups, control group, modeling group, and 3-MA group, with 10 mice in each group. After the end of exposure, the weight changes in mice were measured and compared among the groups before and after the experiments. After the mice were sacrificed, the following experiments were made. ①The level changes of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected by ELISA method. ②HE staining was conducted to observe the histomorphological changes of the liver. ③Autophagosomes were analyzed using transmission electron microscope. ④TUNEL method was used to evaluate the apoptosis level of hepatocytes in each group and calculate the apoptosis index. ⑤RT-PCR and Western blot methods were used to detect the mRNA and expression levels of autophagy-related proteins, such as microtubule-associated protein light-chain-3 (LC3-II), Beclin1, glucose-regulated protein 78 (GRP78), and Caspase-3. **Results:** The animal experiments showed that sleep disturbance could induce the liver damage, and which was accompanied with the increase of autophagy and endoplasmic reticulum stress (ERS). Compared with the control group, the body weight increment of the model group decreased significantly, while the morphological structure of hepatocytes remarkably changed. Meantime, the levels of ALT and AST, apoptosis index, autophagosomes and the expression of related marker proteins increased respectively ($P<0.05$). In contrast with the model group, the morphological structure, serum ALT and AST, apoptosis index, autophagosomes and the expression of related marker proteins were improved ($P<0.05$). **Conclusion:** Sleep disturbance exposure can induce liver damage in SD rats, and then further activate autophagy and ERS signaling pathways by up-regulating the protein expression and mRNA level of LC3-II, Beclin1 and GRP78. 3-MA can antagonize autophagy and ERS signaling pathways to protect hepatocytes and resist apoptosis.

【Key words】sleep disturbance; autophagy; endoplasmic reticulum; apoptosis; 3-methyladenine

作者介绍: 严 苹, Email: 1254037277@qq.com,

研究方向: 消化内科常见病诊治。

通信作者: 赵宏贤, Email: 744702202@qq.com。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20220531.1036.002.html>

(2022-06-02)

睡眠是依赖下丘脑的视交叉上核调控昼夜运输输出周期蛋白所产生的最基本节律性活动,在维持人体内环境稳态中扮演重要角色^[1]。睡眠节律紊乱指机体出现反复性昼夜睡眠障碍或睡眠-觉醒周期异常表现,持续累积的失调将危及人体健康和生命安全^[2]。近年来,由于社会竞争日益加剧与生活方式不断改变,我国约 40% 的人群呈现不同类型的睡眠障碍,已成为影响现代人生活和身体疾患的重要议题。自噬与内质网应激是细胞生长、发育、分化及维持机体免疫与内环境稳定等方面不可或缺的途径。既往研究表明,自噬与内质网应激参与肝病的发生发展。人和动物的生理节律与光线明暗变化具有相关性,因此本研究通过连续性改变大鼠的明暗周期,诱导大鼠发生睡眠节律紊乱,并进一步探究 3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)是否可通过抑制自噬和内质网应激从而减轻睡眠节律紊乱引起的肝损伤,为寻找新的治疗手段提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验试剂

一抗与二抗稀释液(均购自 ASPEN);丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)与天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒(购自南京建成生物工程研究所);TRI pure Total RNA Extraction Reagent、EntiLink™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit、EnTurbo™ SYBR Green PCR SuperMix(均购自 ELK Biotechnology)。

1.2 实验动物与分组

30 只 8 周龄 SPF 级 SD 健康雄性大鼠(生产许可证编号 SCXK2020-0018, 使用许可证编号 SYXK2017-0065), 体重(250±50)g, 购自武汉恒意赛科技公司, 动物饲养及实验方案均严格按照西南医科大学动物实验规范执行。将其随机分为对照组、模型组、3-MA 组, 每组 10 只, 均适应性自由饮水与进食 1 周。模型组与 3-MA 组大鼠于实验第 8 天起, 每晚 24:00 开灯, 中午 12:00 关灯, 制造昼夜颠倒环境, 连续 21 d^[3-4]。对照组大鼠正常饲养。3-MA 组大鼠则于实验第 8 天行腹腔注射溶解于 1 mL 生理盐水的 3-MA(20 mg/kg)^[5-8], 对照组和模型组大鼠均给予 1 mL 生理盐水行腹腔注射, 每周给药 2 次, 共 3 周。造模完成后, 观察、计算 3 组大鼠实验

前后体质量变化, 并取各组 5 只大鼠的差值进行比较, 绘制体质量变化折线图。

1.3 灌注固定和取材

实验第 29 天行体质量检测后, 用 2% 戊巴比妥钠对各组大鼠行腹腔注射进行麻醉后处死。经下腔静脉采血, 2 000 r/min 离心 10 min, 提取血浆。开腹收集肝组织, 将部分肝组织块迅速置入 4% 多聚甲醛中固定, 而另一部分放入 -80℃ 冰箱以备用。经离心后提取血浆, 采用 ELISA 法, 按照 ALT 与 AST 试剂盒说明书进行 ALT 与 AST 检测。

1.4 病理染色肝组织损伤情况

取大鼠肝组织, 常规进行 HE 染色和缺口末端标记法(TdT-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL)染色, 400 倍镜下观察大鼠肝细胞损伤和凋亡情况。

1.5 透射电镜检测肝组织自噬体形成量

取大小为 1 mm³ 的肝组织块经固定、梯度脱水、包埋、固化后进行超薄切片。在透射电镜下观察并记录细胞胞质内自噬体数量, 取均数。

1.6 逆转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)检测自噬和内质网应激相关蛋白的 mRNA 表达

取适量肝组织提取总 RNA, 测定 RNA 浓度和纯度后, 反转录合成 cDNA 后 PCR 仪进行扩增, 本实验以 GAPDH 为内参, 取引物各 1 mL, 95℃ 预变性 3 min, 循环扩增 95℃、10 s, 退火 58℃、30 s, 延伸 72℃、30 s, 循环 40 次。GADPH: 上游引物: 5'-GCC AAGGTCATCCATGACAAC-3', 下游引物: 5'-GTGGAT GCAGGGATGATGTTTC-3'。LC3 II: 上游引物: 5'-GAG TGGAAGATGTCCGGCTC-3', 下游引物: 5'-GACACAC TCACCATGCTGTGC-3'。Beclin1: 上游引物: 5'-TCAAT GCGACCTTCCATATCTG-3', 下游引物: 5'-CTGTCAGG GACTCCAGATACGAG-3'。GRP78: 上游引物: 5'-GAT AATCAGCCCACCGTAACAAT-3', 下游引物: 5'-GCAA ACTTCTCGGCGTCATT-3'。Caspase-3: 上游引物: 5'-GTATGCTTACTCTACCGCACCC-3', 下游引物: 5'-CAGGGAGAAGGACTCAAATTCC-3'。

1.7 Western blot 检测蛋白表达水平

将上述肝组织提取总蛋白, 使用 12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 将蛋白转移到 PVDF 膜, 置于 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h 后加入各需要检测蛋白一抗、二抗室温孵育 2 h, 以 GAPDH 为内参蛋白, 利用凝胶成像系统扫描采集条带, 经 Al-

phaEaseFC 软件处理系统分析目标带的光密度值。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析。数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- t 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 模型建立

模型组大鼠与对照组对比, 出现睡眠潜伏期延长及过度嗜睡等情况, 表明睡眠紊乱模型已建立。通过观察体质量、血清肝酶水平及肝组织形态学改变以确定肝损伤模型的成功构建。

2.1.1 大鼠体质量的比较 取各组任意 5 只大鼠比较造模前后体质量的变化, 模型组大鼠呈负增长趋势, 较造模前平均减少 4.98 g, 而对照组大鼠体质量平均增加 49.86 g; 予以 3-MA 处理后, 大鼠平均体质量较前增加 30.03 g (均 $F=9.317, P<0.05$)。

2.1.2 大鼠血清 ALT 和 AST 水平测定 ELISA 结果显示, 与对照组比较, 睡眠紊乱暴露后的模型组血清转氨酶水平会明显上升 (ALT: $t_0=17.706, P=0.001$; AST: $t_0=25.987, P<0.001$); 而给予 3-MA 预处理后, 转氨酶水平较模型组相比会明显下降 (ALT: $t_0=8.175, P=0.020$; AST: $t_0=17.216, P=0.001$) (表 1)。

表 1 各组大鼠血清转氨酶水平 ($\bar{x} \pm s, U/L$)

组别	ALT	AST
对照组	7.91 \pm 4.04	18.62 \pm 2.68
模型组	25.62 \pm 3.59 ^a	44.61 \pm 4.44 ^a
3-MA 组	17.44 \pm 1.20 ^{ab}	27.40 \pm 3.44 ^{ab}
F 值	22.945	40.569
P 值	0.002	<0.001

注: a, 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$

2.1.3 HE 染色检测大鼠肝细胞形态学结构变化 建模 3 周后, 光镜下观察可见对照组中肝细胞呈条索状整齐排列, 且肝小叶结构完整, 汇管区内仅仅存在少许炎症细胞分布。与对照组相比, 模型组肝细胞肿大、胞核缩小且染色加深, 伴有汇管区明显的炎症细胞浸润。与模型组比较, 3-MA 处理后的肝细胞结构及炎症程度减轻 (图 1)。表明大鼠肝细胞在睡眠紊乱应激后可发生明显的结构改变, 而 3-MA 可阻止破坏作用的发生。

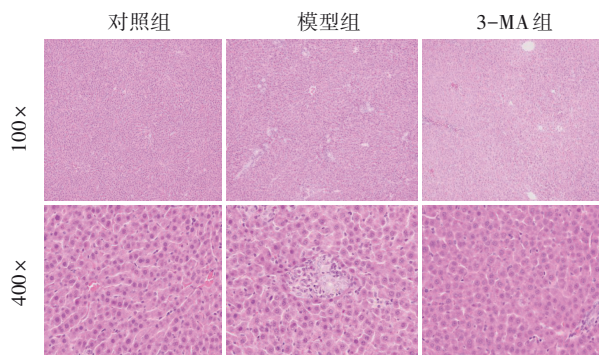


图 1 HE 染色下 3-MA 对肝细胞形态学的影响

2.2 TUNEL 免疫荧光染色及凋亡指数比较

与对照组比较, 模型组绿色荧光的数目明显增加; 3-MA 组与模型组比较, 绿色荧光细胞数目减少 (图 2)。由此推测, 3-MA 预处理可以抑制睡眠紊乱对肝细胞的凋亡作用。

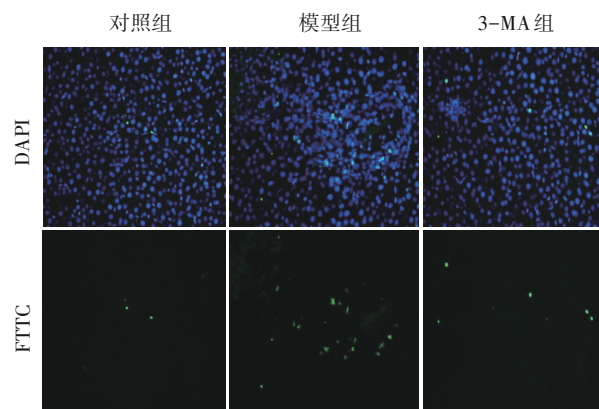


图 2 各组大鼠肝细胞凋亡情况 (DAPI/FITC, 400 \times)

2.3 各组大鼠自噬体形成量检测

为了进一步探讨肝细胞中的自噬量在睡眠紊乱后是否发生变化, 本研究通过透射电镜观察以证实。对照组肝细胞内仅存在少量的自噬体, 但暴露于睡眠紊乱应激后的肝组织中自噬体数量急剧增多, 较对照组具有明显改变; 与模型组相比, 3-MA 处理后的大鼠自噬体数量会减少 (图 3), 这表明大鼠在睡眠紊乱后肝细胞中自噬体的量明显增加。

2.4 各组大鼠肝组织自噬与内质网应激信号通路相关蛋白的 mRNA 及蛋白表达的检测

拟进一步分析潜在的作用机制, 随后通过 RT-PCR 及 Western blot 检测各组大鼠肝组织中自噬与内质网应激相关蛋白的 mRNA 及蛋白表达情况 (表 2、表 3)。与对照组比较, 模型组中 LC3 II、Beclin1、GRP78 及 Caspase-3 的表达量均明显增加 (mRNA: LC3 II: $t_0=18.077, P<0.001$; Beclin1: $t_0=$

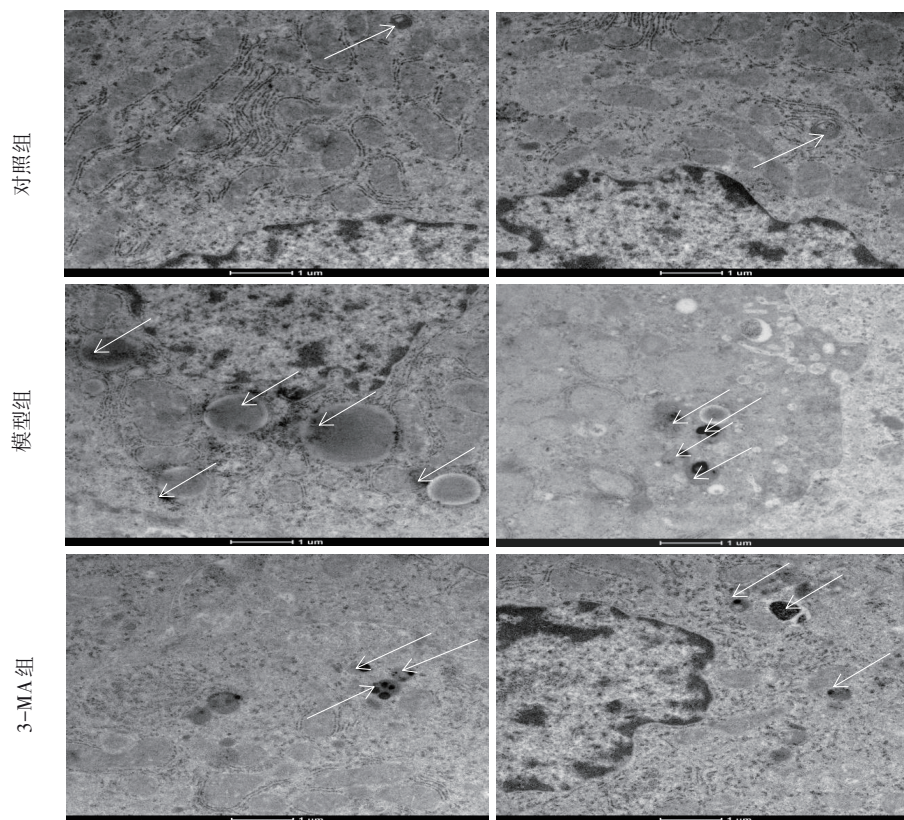


图 3 各组大鼠肝细胞自噬小体情况(白色箭头所指)

9.128, $P=0.001$; GRP78: $t_0=12.843$, $P<0.001$; Caspase-3: $t_0=28.335$, $P<0.001$; 蛋白: LC3 II: $t_0=9.476$, $P=0.001$; Beclin1: $t_0=4.552$, $P=0.010$; GRP78: $t_0=7.963$, $P=0.001$; Caspase-3: $t_0=5.446$, $P=0.006$; 予以 3-MA 腹腔注射预处理后,大鼠中各种蛋白及 mRNA 的表达水平均急剧减少(mRNA: LC3 II: $t_0=3.292$, $P=0.030$; Beclin1: $t_0=5.486$, $P=0.005$; GRP78: $t_0=7.169$, $P=0.002$; Caspase-3: $t_0=16.704$, $P<0.001$; 蛋白: LC3 II: $t_0=5.216$, $P=0.006$; Beclin1: $t_0=2.339$, $P=0.080$; GRP78: $t_0=5.205$, $P=0.006$; Caspase-3: $t_0=2.858$, $P=0.048$)。可见同期 3-MA 预处理可以明显削弱睡眠紊乱后诱导肝组织的自噬、内质网应激及凋亡标志物的表达。

表 2 各组大鼠 Caspase-3、GRP78、LC3 II 和 Beclin1 等蛋白的定量分析

组别	Caspase-3	GRP78	LC3 II	Beclin1
对照组	0.33±0.05	0.07±0.01	0.34±0.03	0.13±0.08
模型组	0.91±0.17 ^a	0.65±0.13 ^a	1.29±0.17 ^a	0.60±0.16 ^a
3-MA 组	0.60±0.07 ^{ab}	0.26±0.03 ^{ab}	0.77±0.02 ^{ab}	0.35±0.07 ^{ab}
<i>F</i> 值	450.814	99.804	49.422	58.191
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: a, 与对照组比较, $P<0.05$; b, 与模型组比较, $P<0.05$

表 3 各组大鼠内 Caspase-3、GRP78、LC3 II 和 Beclin1 等 mRNA 的表达情况

组别	Caspase-3	GRP78	LC3 II	Beclin1
对照组	1.06±0.17	1.06±0.17	1.02±0.07	0.88±0.10
模型组	4.35±0.12 ^a	3.37±0.26 ^a	3.42±0.45 ^a	3.22±0.20 ^a
3-MA 组	2.71±0.12 ^{ab}	2.12±0.15 ^{ab}	1.77±0.26 ^{ab}	2.36±0.41 ^{ab}
<i>F</i> 值	20.153	41.774	13.947	67.682
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	0.006	<0.001

注: a, 与对照组比较, $P<0.05$; b, 与模型组比较, $P<0.05$

3 讨论

睡眠是人类可持续发展及良好健康所必需的基础支撑。本实验发现睡眠紊乱组大鼠出现睡眠潜伏期延长、快速眼动睡眠时间缩短及过度嗜睡现象,与正常饲养大鼠相比平均体质量呈负增长趋势。该结果证实睡眠紊乱可干扰正常生命活动进行,使机体代谢出现严重紊乱。

肝脏是拥有节律性转录活动的第一大器官^[5],参与物质合成与代谢的昼夜节律调节。大量研究发现,慢性肝病患者通常伴有睡眠障碍的基础病变,推测可能与激活肝脏免疫细胞和星状细胞,促进炎症因子过度分泌,导致慢性肝脏炎症、损伤和纤维化相关^[6]。本研究发现大鼠肝组织生命活动

存在一定的节律性,睡眠紊乱会使肝细胞的形态学结构遭到破坏,血清 ALT 与 AST 水平升高,且在 HE 染色下可观察到类似结果,但具体分子机制如何目前尚未阐明。

自噬是机体调控新陈代谢活动的一种生理反应,有助于降解胞内代谢产物及异物,对维持内环境稳态具有积极作用^[7-8]。自噬过度可抑制细胞正常的生理功能^[9-10],加重疾病的发生发展。诸多研究发现,LC3 是定位于自噬体膜上的特异性的标记,参与自噬体的形成,对衡量自噬程度的高低至关重要^[11];Beclin1 先于自噬体形成前出现,指导与协助其他自噬相关蛋白的正确定位,在促进自噬中扮演重要角色^[12]。内质网是细胞组成的重要结构,当胞内错误折叠和未折叠蛋白蓄积时,将会促发内质网应激反应发生,进一步上调分子伴侣 GRP78 高表达,增强内质网的折叠能力,在一定程度上对细胞具有保护性作用。但过强的内质网应激反应会激活 Caspase 家族诱导线粒体发生氧化应激反应,加速细胞的自噬与凋亡^[13],其中 Caspase-3 是最重要的执行者。为了验证自噬、内质网应激反应参与睡眠紊乱诱导的肝损伤进程,本实验首先运用 TUNEL 荧光染色与透射电镜观察,发现睡眠紊乱暴露组大鼠凋亡细胞和自噬体数目明显增加。为了探究潜在的作用机制,进一步采取 RT-PCR 及 Western blot,发现睡眠紊乱可使肝细胞内 GRP78、LC3、Beclin1、Caspase-3 mRNA/蛋白的异常表达明显上调。这些结果都支持大鼠历经睡眠紊乱后,通过激活自噬、内质网应激的相关蛋白表达促使肝细胞损伤。

3-MA 是一种自噬的抑制剂,主要通过阻断 III 型 PI3K 与自噬相关标志性蛋白间的相互结合抑制细胞的自噬能力,经信号转导对细胞的凋亡与内质网折叠反应发挥作用。许多研究证实 3-MA 可减轻细胞毒性作用,促进细胞新生,但对肝细胞是否发挥类似作用尚不明确。为探究这一假设,本实验在造模期间对睡眠紊乱暴露的部分大鼠腹腔注射 3-MA,结果发现经 3-MA 预处理后的肝细胞形态学及肝功能均得到明显改善,从而发挥对肝细胞的保护及抗凋亡作用。以上结果提示 3-MA 在睡眠紊乱诱导的肝损伤中发挥重要保护作用。

综上所述,推测自噬、内质网应激反应与睡眠紊乱引起的肝损伤密切相关,3-MA 可负性调控大鼠肝组织中相关基因与蛋白的表达,从而改善肝细胞结构和功能的完整性。本实验是在睡眠紊乱引起肝损伤的基础上,通过腹腔注射 3-MA 进一步探

讨睡眠紊乱诱导大鼠肝损伤中可能存在的机制,目前国内外暂无相关报道。本实验的研究结果可在一定程度上为睡眠紊乱诱导肝损伤的患者提供潜在的治疗靶点。但是由于实验样本少,研究周期短,且信号通路调控不够严谨,因此还需要更深入的研究。

参 考 文 献

- [1] Sack RL, Auckley D, Auger RR, et al. Circadian rhythm sleep disorders: part I, basic principles, shift work and jet lag disorders[J]. Sleep, 2007, 30(11): 1460-1483.
- [2] Grandou C, Wallace L, Fullagar HHK, et al. The effects of sleep loss on military physical performance[J]. Sports Med, 2019, 49(8): 1159-1172.
- [3] Xing C, Huang X, Zhang YF, et al. Sleep disturbance induces increased cholesterol level by NR1D1 mediated CYP7A1 inhibition[J]. Front Genet, 2020, 11: 610496.
- [4] Shah NM, Malhotra AM, Kaltsakas G. Sleep disorder in patients with chronic liver disease: a narrative review[J]. J Thorac Dis, 2020, 12(Suppl 2): S248-S260.
- [5] Zhang R, Lahens NF, Ballance HI, et al. A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(45): 16219-16224.
- [6] Pudit R, Pidrman V, Krejsek J, et al. Cytokines and adhesion molecules in the course of acute myocardial infarction[J]. Clin Chimica Acta, 1999, 280(1/2): 127-134.
- [7] Nakahira K, Cloonan SM, Mizumura K, et al. Autophagy: a crucial moderator of redox balance, inflammation, and apoptosis in lung disease[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(3): 474-494.
- [8] Ryter SW, Cloonan SM, Choi AMK. Autophagy: a critical regulator of cellular metabolism and homeostasis[J]. Mol Cells, 2013, 36(1): 7-16.
- [9] Mouna LN, Hernandez E, Bonte D, et al. Analysis of the role of autophagy inhibition by two complementary human cytomegalovirus BECN1/Beclin 1-binding proteins[J]. Autophagy, 2016, 12(2): 327-342.
- [10] Gamberi T, Modesti A, Magherini F, et al. Activation of autophagy by globular adiponectin is required for muscle differentiation[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1863(4): 694-702.
- [11] 张云, 罗萍, 冷平. 自噬抑制剂硫酸羟氯喹对去势抵抗性前列腺癌化疗敏感性的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2019, 50(3): 323-327.
- [12] Zhang Y, Luo P, Leng P. Effect of autophagy inhibitor hydroxychloroquine sulfate on chemotherapy sensitivity of castration-resistant prostate cancer[J]. J Sichuan Univ (Med Sci), 2019, 50(3): 323-327.
- [13] 赵明明, 杨斌, 张昱, 等. 蝉苏地黄汤对阿霉素大鼠肾脏纤维化及自噬相关蛋白 LC3 和 Beclin1 表达的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(1): 57-61.
- [14] Zhao MM, Yang B, Zhang Y, et al. Impacts of Chansu Dihuang Decoction on renal fibrosis in rats with adriamycin and autophagy-related protein LC3 and Beclin1[J]. World J Integr Tradit West Med, 2017, 12(1): 57-61.
- [15] Fu YF, Liu X, Gao M, et al. Endoplasmic Reticulum stress induces autophagy and apoptosis while inhibiting proliferation and drug resistance in multiple myeloma through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8(37): 61093-61106.

(责任编辑: 冉明会)