

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.09.005

mTOR 信号通路诱导的自噬在心肌细胞缺氧损伤中的作用研究*

张 铮¹ 杨 超² 靳志涛¹ 蒋 伟¹ 赵 力³ 杨军珂¹ 丁力平¹ 王承竹¹柳彦君¹ 孙志敏¹ 胡桃红^{1Δ}

(1 火箭军总医院心血管内科 北京 100088 ;2 火箭军总医院输血科 北京 100088;

3 海军总医院心血管内科 北京 100048)

摘要 目的:探讨自噬在心肌细胞缺氧损伤中的作用及分子机制。**方法:**体外分离培养乳鼠心肌细胞,体外建立缺氧/去血清(H/SD)模型以模拟在体的缺血环境。分别给予自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3MA, 5 mM)和 mTOR 抑制剂雷帕霉素(1.0 μg/L)调节心肌细胞自噬水平。分别采用 TUNEL 染色检测心肌细胞凋亡,Western blot 方法检测心肌细胞蛋白表达水平。**结果:**H/SD 损伤可以显著诱导心肌细胞自噬水平 ($P<0.05$),并且细胞自噬水平可以被 3-MA 及雷帕霉素调节。同时,H/SD 可以显著增加心肌细胞凋亡 ($P<0.05$),而给予 3-MA 抑制自噬水平可以减少细胞凋亡($P<0.05$)。相反,雷帕霉素增加自噬同样可以加重缺氧导致的心肌细胞凋亡 ($P<0.05$)。H/SD 损伤过程中,心肌细胞 mTOR 信号通路被激活,而自噬抑制剂 3-MA 可以显著提高缺氧条件下心肌细胞中 p-mTOR(Ser2448)的表达水平($P<0.05$),并增加 mTOR 下游分子 p-p70S6k($P<0.05$)和 p-S6($P<0.05$)的表达。**结论:**mTOR 信号通路诱导的细胞自噬可能参与了缺氧损伤诱导的心肌细胞凋亡。

关键词:mTOR;心肌细胞;缺氧/去血清损伤;自噬;凋亡

中图分类号:Q95-33;R541.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)09-1619-04

The Effect of mTOR induced Autophagy on the Apoptosis of Cardiomyocytes induced by Hypoxia*

ZHANG Zheng¹, YANG Chao², JIN Zhi-tao¹, JIANG Wei¹, ZHAO Li³, YANG Jun-ke¹, DING Li-ping¹, WANG Cheng-zhu¹,LIU Yan-jun¹, SUN Zhi-min¹, HU Tao-hong^{1Δ}

(1 Department of Cardiology, The General Hospital of the PLA Rocket Force, Beijing, 100088, China;

2 Department of Blood Transfusion, The General Hospital of the PLA Rocket Force, Beijing, 100088, China;

3 Heart center, Navy general hospital of PLA, Beijing, 100048, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the potential role of autophagy on apoptosis in cardiomyocytes(CMs) induced by hypoxic injury. **Methods:** CMs were cultured in normal or hypoxia/serum deprivation (H/SD) medium for 24 h. The autophagy state was regulated by 3-Methyladenine (3MA) and rapamycin administration. Furthermore, TUNEL assay was performed to determine apoptosis in CMs. Moreover, Western blot assay was performed to assess the expressions of signaling proteins. **Results:** Hypoxic stress increased autophagy and apoptosis in CMs. Meanwhile, hypoxia increased the activation of mTOR signaling. Moreover, the apoptosis in CMs induced by hypoxia injury was abolished by 3-MA, whereas was aggravated by rapamycin. **Conclusion:** Our data provide evidence that mTOR signaling induced autophagy may play an essential role in the apoptosis of CMs induced by hypoxic injury.

Key words: mTOR; Cardiomyocytes; Hypoxia/serum deprivation injury; Autophagy; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): Q95-33; R541.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)09-1619-04

前言

缺血性心脏病已经成为全球致死率最高的一类疾病,严重威胁人类健康。心肌缺血损伤(myocardium ischemia injury)是其中重要的病理生理过程^[1]。但缺血导致心肌细胞损伤的具体机制仍不清楚。自噬(autophagy)是生物进化过程中形成的一种

保守生理过程,主要负责清除和降解细胞内受损伤的细胞结构、衰老的细胞器等,为细胞器的构建提供原料,从而修复细胞,维持正常代谢^[2]。正常情况下,基础水平的自噬参与许多生理过程。同时,饥饿、缺氧等应激刺激也可诱发过度自噬,从而破坏细胞质和细胞器^[3-5]。因此,自噬水平是调节细胞凋亡及转归的重要机制。那么在心肌缺血损伤过程中,自噬的作用如何?

* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81400274,31600681,31440039)

作者简介:张铮(1983-),博士研究生,主要研究方向:缺血性心脏病的机制及治疗,
电话:18301237709, E-mail: zhangzheng123456@gmail.com

Δ 通讯作者:胡桃红,主任医师,电话:010-66343430, E-mail: faithword@163.com

(收稿日期:2016-09-23 接受日期:2016-10-13)

目前仍不清楚。因此,本研究试图通过建立心肌细胞的缺氧/去血清(hypoxia/serum deprivation, H/SD)模型,以模拟心肌细胞在体缺血损伤,并进一步探讨自噬在心肌缺血损伤中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

SD 大鼠乳鼠,由火箭军总医院实验动物中心提供。DMEM 培养基为 GIBCO 公司产品。胎牛血清(FBS)为 HYCLONE 公司产品。II 型胶原酶、胰蛋白酶及乙二胺四乙酸(EDTA)均为 Sigma 公司产品。TUNEL 试剂盒购自美国罗氏公司(Roche, USA),LC3、P62 抗体购自美国 Cell Signal Technology 公司,mTOR、p-mTOR、70S6k、p-70S6k、S6 以及 p-S6 抗体购自美国 abcam 公司。倒置相差显微镜购自日本 OLYMPUS 公司、三气孵箱(HERACEE1150)购自德国 HERAEUS 公司,超净台购自苏州安泰空气技术公司。

1.2 乳鼠心肌细胞培养

采用酶消化法分离乳鼠心肌细胞^[6],具体操作过程如下:新生 1-2 天 SD 大鼠乳鼠处死后,无菌条件下取心室心肌组织,用眼科剪将心肌组织剪碎成约 1 mm³ 大小的组织块,加入 0.25% 胰蛋白酶 5 mL,吹打混匀后,置于 37℃ 水浴中消化 10 min,期间不断轻轻摇晃组织。消化结束后,加入含 10% FBS 的 DMEM 完全培养液中终止消化。吸取上清,将剩余组织重复上述消化过程。将上清液用 100 μm 滤网过滤后,以 1500 r/min 速度室温下离心 10 min,弃上清收集细胞,用含 15% FBS 的完全培养液(低糖 DMEM、青霉素 100 U/mL,链霉素 100 U/mL,L-谷氨酰胺 300 mg/l)将细胞团块吹打混匀。调整细胞浓度后,将细胞悬液接种于培养瓶中。放入 37℃、5% CO₂、饱和湿度细胞孵箱中培养 70 min 后,差速贴壁去除成纤维细胞。每 2-3 天换液一次。

1.3 心肌细胞 H/SD 模型的建立

取培养的心肌细胞以 1×10^5 细胞 / 孔接种于 6 孔板中培养 24 h,将细胞培养液换成缺氧液(94% N₂、5% CO₂ 及 1% O₂ 提前饱和的无血清 DMEM 培养液)后,置于缺氧环境(94% N₂、5% CO₂ 及 1% O₂) 37℃ 培养 12 h。

1.4 自噬水平调节

为了明确自噬在心肌缺血损伤中的作用,我们分别给予自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(5 mM)(3-Methyladenine, 3MA)下调心肌细胞自噬水平,并给予 mTOR 抑制剂雷帕霉素(1.0 μg/L)上调细胞自噬水平。

1.5 TUNEL 染色检测心肌细胞凋亡

将心肌细胞以 0.25% 胰酶、0.02% EDTA 消化后接种于细胞爬片上,待心肌细胞贴壁后,进行相应处理后冷丙酮于 4℃ 冰箱固定 20 min 钟。按照试剂盒说明将 50 μL 酶浓缩溶液(Enzyme solution)与 450 μL 标记溶液(Label Solution)混合均匀,配成 500 μL TUNEL 反应液。每张爬片加 50 μL TUNEL 反应液,37℃ 孵育 60 min。室温下 PBS 冲洗 3 次后加入 DAPI(1:1000)工作液,室温下孵育 5 min。荧光显微镜下观察结果。

1.6 Western blot 检测蛋白表达水平

心肌细胞经过处理后,弃去培养液,以 PBS 洗 3 次,用 120 μL 细胞裂解液裂解细胞,冰上放置 5 min 后,收集细胞裂解

液,煮沸 20 min,进行 120 g/L 的 SDS-PAGE 电泳并转膜至硝酸纤维素(NC)膜上。滴加 50 g/L 脱脂奶粉封闭 1 h 后,分别加入适当稀释比的一抗 4℃ 孵育过夜。以 TBST 洗膜 3 次后,分别滴加 1:5 000 辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase, HRP)标记的二抗(室温孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次)。经化学发光法(Enhanced chemiluminescence, ECL)曝光后观察结果。实验中以 β-actin 为内参照。Western blot 的结果采用 vision works LS, version 6.7.1 软件进行灰度分析。

1.7 统计学处理

实验数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS12.0 统计软件进行统计学分析。多组间的比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),若总体差异显著,再以 LSD-t 检验(LSD t-test)分析相应两组间的显著性差异,以 P<0.05 表明差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 H/SD 损伤对心肌细胞自噬水平的影响

Western blot 结果及半定量分析(图 1)显示:与常氧对照组相比,缺氧 12 h 后心肌细胞 LC3-II 的表达水平是常氧对照组的(2.68±0.06)倍(P<0.05);与此同时,缺氧 12 h 后心肌细胞 p62 的表达水平是常氧对照组的(0.48±0.07)倍(P<0.05)。而自噬抑制剂 3-MA 可以显著降低缺氧组心肌细胞中 LC3-II 的表达水平(1.51±0.06 vs. 2.68±0.06, P<0.05),并增加心肌细胞中 p62 的表达水平(0.69±0.09 vs. 0.48±0.07, P<0.05)。与此相反,自噬诱导剂雷帕霉素可以增加缺氧组心肌细胞中 LC3-II 的表达水平(3.25±0.06 vs. 2.68±0.06, P<0.05),并进一步下调心肌细胞中 p62 的表达水平(0.31±0.08 vs. 0.48±0.07, P<0.05)。

2.2 自噬调节对心肌细胞凋亡的影响

TUNEL 染色结果及定量分析(图 2)提示:缺氧损伤可以显著增加心肌细胞 TUNEL 阳性细胞数(17.3±2.5% vs. 7.4±1.6%, P<0.05),提示缺氧可以增加心肌细胞的凋亡。自噬抑制剂 3-MA 可以显著降低缺氧条件下的心肌细胞凋亡率(11.2±1.7% vs. 17.3±2.5%, P<0.05)。相反,雷帕霉素可以进一步增加缺氧诱导的心肌细胞凋亡(24.3±1.7% vs. 17.3±2.5%, P<0.05)。

2.3 缺氧损伤对心肌细胞 mTOR 信号通路的影响

Western blot 结果及半定量分析(图 3)显示:H/SD 损伤显著抑制心肌细胞中 p-mTOR (Ser2448) 的表达水平以及下调 mTOR 下游分子 p70S6k 和 S6 的磷酸化水平(P<0.05)。而自噬抑制剂 3-MA 可以显著提高缺氧条件下心肌细胞中 p-mTOR (Ser2448) 的表达水平(0.80±0.10 vs. 0.46±0.15, P<0.05)。并增加 mTOR 下游分子 p-p70S6k (0.72±0.09 vs. 0.51±0.10, P<0.05)和 p-S6(0.96±0.12 vs. 0.27±0.06, P<0.05)的表达。与此相反,mTOR 抑制剂雷帕霉素可以进一步降低缺氧心肌细胞中 mTOR 的磷酸化水平(0.30±0.10 vs. 0.46±0.15, P<0.05),并进一步下调 p-p70S6k (0.27±0.06 vs. 0.51±0.10, P<0.05)和 p-S6(0.16±0.06 vs. 0.27±0.06, P<0.05)的表达。

3 讨论

自噬(autophagy)是生物进化过程中形成的一种保守生理现象,参与衰老的细胞器及破坏的蛋白质的清除过程,对于维

持细胞内环境稳定至关重要。除此之外,自噬过程中产生游离的氨基酸和脂肪酸再次供细胞利用,对于细胞能量代谢同样发挥重要作用。自噬具有细胞保护和细胞损伤的双重作用。基础水平的自噬参与细胞正常生理过程。与此相反,饥饿、缺氧等应激刺激可进一步诱发过度自噬,从而破坏细胞质和细胞器的主要成分,导致程序性细胞死亡,又称为自噬性细胞死亡^[7,8]。因此,自噬水平是调节细胞凋亡及转归的重要机制。

在自噬启动过程,LC3-1 转化为 LC3-II, 后者进一步参与自噬微泡(autophagic vacuoles, AV)的形成。因此,LC3-II 一直以来都被认为是反应自噬水平的重要标志物^[9,10]。相反,在自噬的过程中,P62 被降解。因此,P62 的表达水平与自噬水平负相关^[11]。因此,我们首先通过检测各组心肌细胞中 LC3-II 和 P62 的蛋白表达水平来反应细胞的自噬水平。Western blot 结果发现,缺氧处理后可以明显增加心肌细胞的 LC3-II 的表达水平,并减少 P62 表达,提示缺氧可以增加心肌细胞的自噬。同时,给予 3-MA 后,缺氧导致的自噬水平增高被抑制,而雷帕霉素则可以进一步增加缺氧导致的心肌细胞自噬水平,提示 3-MA 和雷帕霉素可以有效地调节细胞自噬水平,为我们后续的研究建立基础。

自噬与细胞凋亡的调节具有 "双刃剑" 效果,既可以减少

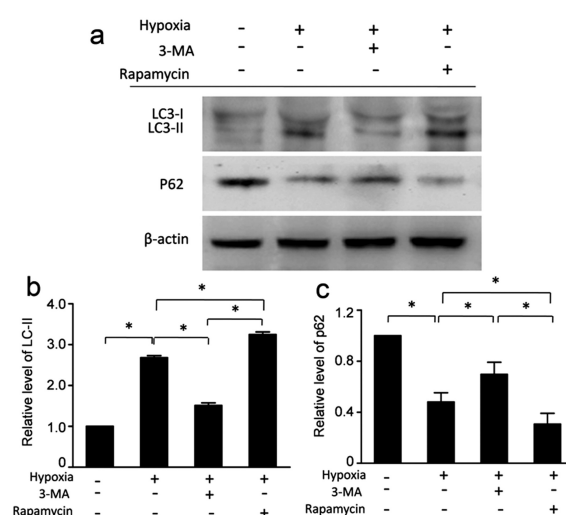


图1 缺氧对心肌细胞自噬水平的影响

Fig.1 The effect of hypoxia on the autophagy of cardiocyte

注:A:典型 Western-blot 结果;B:各组心肌细胞 LC3-II 蛋白表达的半定量分析;C:各组心肌细胞 P62 蛋白表达的半定量分析(n=5, *P<0.05)。

Note: A: Representative Western blot of LC3-I/LC3-II and P62.

Semi-quantification of the protein expressions of LC3-II (B) and p62(C) in all groups. (n=5, *P<0.05).

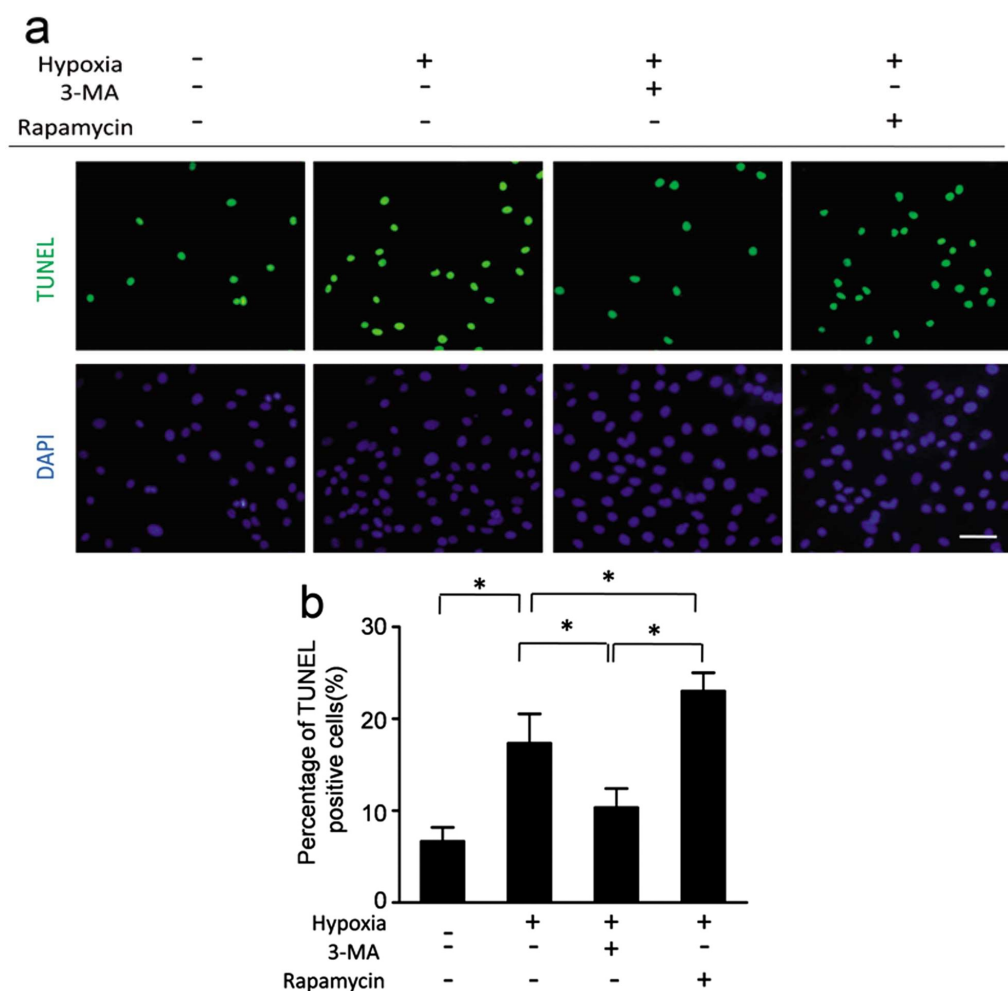


图2 自噬调节对心肌细胞凋亡的影响

Fig.2 The effect of autophagy regulation on the apoptosis of cardiocyte

注:A:典型 TUNEL 结果(标尺: 20μm); B:各组心肌细胞凋亡细胞百分比(n=5, *P<0.05)。

Note: A: Representative TUNEL images in cardiocyte(Scale bars: 20μm). B: The percentage of apoptotic cells in all groups. (n=5, *P<0.05).

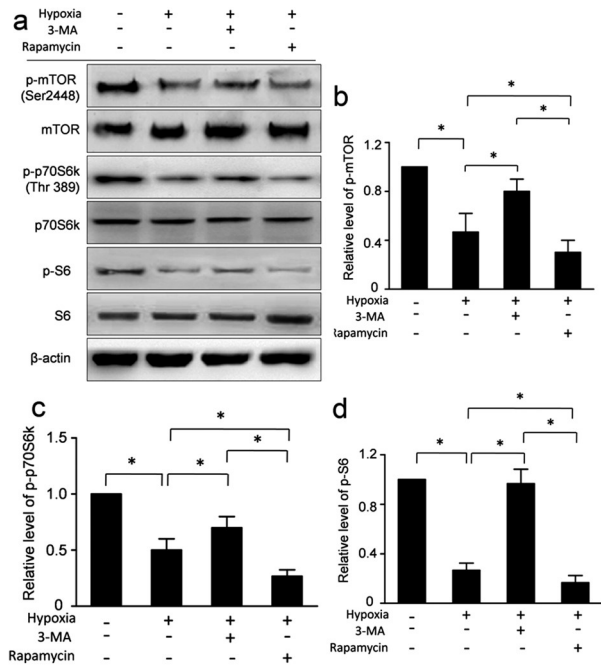


图3 缺氧损伤对心肌细胞 mTOR 信号通路的影响

Fig. 3. The effect of hypoxic stress on the activity of mTOR signal pathway
注: A: Western-blot 检测各组心肌细胞中 mTOR 信号通路活性, 包括 mTOR、p70S6k 及 S6 的蛋白表达水平及磷酸化水平; B: 各组心肌细胞 p-mTOR 蛋白表达的半定量分析; C: 各组心肌细胞 p-p70S6k 蛋白表达的半定量分析。D: 各组心肌细胞 p-S6 蛋白表达的半定量分析。
(n=5, *P<0.05)。

Note: A: Western blot assay was performed to assess the activation of mTOR signal, including p-mTOR/mTOR, p-p70S6K/p70S6K and p-S6/S6. Semi-quantification of the protein expressions of p-mTOR(B), p-p70S6K (C) and p-S6 (D) in all groups. (n=5, *P<0.05).

细胞死亡, 促进细胞存活, 相反, 也可以进一步加重细胞凋亡^[12-15]。前期将自噬引起的细胞死亡称为“自噬性细胞程序性死亡”^[9]。然而, 在心肌细胞缺氧损伤过程中, 细胞自噬与细胞凋亡之间的关系如何? 目前仍不清楚。为此我们采用 TUNEL 试剂盒研究了自噬与缺氧诱导心肌细胞凋亡之间的关系。我们结果发现: 缺氧损伤可以显著增加心肌细胞凋亡数, 提示缺氧可以增加心肌细胞的凋亡。而自噬抑制剂 3-MA 可以显著降低缺氧条件下的心肌细胞凋亡率。相反, 雷帕霉素可以进一步增加缺氧诱导的心肌细胞凋亡。以上结果提示: 缺氧损伤可能通过调节过度自噬进一步诱导心肌细胞凋亡。

自噬的过程受一系列信号分子的调节, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是细胞内氨基酸和 ATP 等营养物质的感受器^[16-18]。mTOR 在营养丰富的情况下, Class I PI3K/Akt 信号通路将 mTOR 的 Ser2448 位点磷酸化, 激活 mTOR 信号通路, 进而抑制自噬, 从而发挥自噬调节的分子“开关”^[19,20]。mTOR 的下游是一系列信号分子 p70S6k, S6 的活性间接反映了 mTOR 信号通路的活性^[21]。因此我们通过 Western blot 方法深入研究心肌细胞自噬水平调节的分子机制。Western blot 结果显示: 缺氧损伤显著抑制心肌细胞中 p-mTOR (Ser2448) 的表达水平以及下游 mTOR 下游分子 p70S6k 和 S6 的磷酸化水平而自噬抑制剂 3-MA 可以显著提

高缺氧条件下心肌细胞中 p-mTOR(Ser2448) 的表达水平, 并增加 mTOR 下游分子 p-p70S6k 和 p-S6 的磷酸化表达。以上结果提示: mTOR 信号通路可能参与了缺氧诱导的心肌细胞的过度自噬。

尽管我们的心肌细胞缺氧/去血清模型能够排除了在体复杂的神经、内分泌因素, 较好的模拟了心肌细胞在体的缺氧状态, 为探讨自噬在心肌细胞缺氧损伤中的作用奠定了基础。但该模型仍无法完全模拟在体心肌组织的缺氧状态。综上所述, 我们通过体外细胞试验建立了心肌细胞 H/SD 模型, 在此基础上研究了心肌细胞缺氧损伤与细胞自噬之间的关系。发现缺氧损伤可能通过激活 mTOR 信号通路介导的细胞过度自噬, 进一步导致心肌细胞凋亡。因此, 我们认为, 缺氧引起的心肌细胞损伤可能与 mTOR 信号通路介导的自噬有关。进一步的研究应将集中于缺血心肌自噬的在体研究, 这对于缺血性心脏病的机制的研究具有重要意义。

参考文献 (References)

- [1] Kim AS, Johnston SC. Global variation in the relative burden of stroke and ischemic heart disease[J]. Circulation, 2011, 124(3): 314-323
- [2] Kim KH, Lee MS. Autophagy as a crosstalk mediator of metabolic organs in regulation of energy metabolism [J]. Rev Endocr Metab Disord, 2013, 2: 13-16
- [3] Castino R, Isidoro C, Murphy D. Autophagy-dependent cell survival and cell death in an autosomal dominant familial neurohypophyseal diabetes insipidus in vitro model [J]. FASEB J, 2005, 19 (8): 1024-1026
- [4] Ghavami S, Gupta S, Ambrose E, et al. Freed DH, Dixon IM. Autophagy and heart disease: implications for cardiac ischemia-reperfusion damage[J]. Curr Mol Med, 2014, 14(5): 616-629
- [5] Martins-Marques T, Ribeiro-Rodrigues T, Pereira P. Autophagy and ubiquitination in cardiovascular diseases[J]. DNA Cell Biol, 2015, 34 (4): 243-251
- [6] Porrello ER, Delbridge LM. Cardiomyocyte autophagy is regulated by angiotensin II type 1 and type 2 receptors [J]. Autophagy, 2009, 5(8): 1215-1216
- [7] Abedin MJ, Wang D, McDonnell MA, et al. Autophagy delays apoptotic death in breast cancer cells following DNA damage [J]. Cell Death Differ, 2007, 14(3): 500-510
- [8] Marunouchi T, Tanonaka K. Cell Death in the Cardiac Myocyte[J]. Biol Pharm Bull, 2015, 38(8): 1094-1097
- [9] Kuma A, Matsui M, Mizushima N. LC3, an autophagosome marker, can be incorporated into protein aggregates independent of autophagy: caution in the interpretation of LC3 localization [J]. Autophagy, 2007, 3(4): 323-328
- [10] Nishida K, Otsu K. Autophagy during cardiac remodeling [J]. J Mol Cell Cardiol, 2016, 95: 11-18
- [11] Rusten TE, Stenmark H. p62, an autophagy hero or culprit? [J]. Nat Cell Biol, 2010, 12(3): 207-209
- [12] Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword [J]. Science, 2004, 306(5698): 990-995
- [13] Thapalia BA, Zhou Z, Lin X. Autophagy, a process within reperfusion injury: an update [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7 (12): 8322-8341

(下转第 1627 页)

- [3] Xia Z, Li H, Irwin M G. Myocardial ischaemia reperfusion injury: the challenge of translating ischaemic and anaesthetic protection from animal models to humans[J]. Br J Anaesth, 2016, 117(Suppl 2): i44-i62
- [4] Glick D, Barth S, Macleod K F. Autophagy: cellular and molecular mechanisms[J]. J Pathol, 2010, 221(1): 3-12
- [5] Liu L, Wu Y, Huang X. Orientin protects myocardial cells against hypoxia-reoxygenation injury through induction of autophagy [J]. Eur J Pharmacol, 2016, 776: 90-98
- [6] Mo Y, Tang L, Ma Y, et al. Pramipexole pretreatment attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury through upregulation of autophagy [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 473(4): 1119-1124
- [7] Borggreffe T, Oswald F. The Notch signaling pathway: transcriptional regulation at Notch target genes [J]. Cell Mol Life Sci, 2009, 66(10): 1631-1646
- [8] Penton A L, Leonard L D, Spinner N B. Notch signaling in human development and disease[J]. Semin Cell Dev Biol, 2012, 23(4): 450-457
- [9] Pei H, Yu Q, Xue Q, et al. Notch1 cardioprotection in myocardial ischemia/reperfusion involves reduction of oxidative/nitrative stress[J]. Basic Res Cardiol, 2013, 108(5): 373
- [10] Song B Q, Chi Y, Li X, et al. Inhibition of Notch Signaling Promotes the Adipogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Through Autophagy Activation and PTEN-PI3K/AKT/mTOR Pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(5): 1991-2002
- [11] Yao J, Zheng K, Li C, et al. Interference of Notch1 inhibits the growth of glioma cancer cells by inducing cell autophagy and down-regulation of Notch1-Hes-1 signaling pathway [J]. Med Oncol, 2015, 32(6): 610
- [12] 朱炳钗. 舰艇环境因素对机体的综合作用及其防治 [J]. 卫生毒理学杂志, 1999(03): 180-181
- Zhu Bing-chai. Combined action and prevention of naval environmental factors to human bodies [J]. Hygiene Toxicology Magazine, 1999(03): 180-181
- [13] 罗琳. 高温高湿环境对晕动病的影响及热习服与消退再巩固的研究[D]. 华东师范大学体育教学, 2010
- Luo Lin. Influence of hot and humid environment to motion sickness and research of heat acclimation and fade and consolidation [D]. Physical Education of East China Normal University, 2010
- [14] Boccacini G, Sassoli C, Formigli L, et al. Relaxin protects cardiac muscle cells from hypoxia/reoxygenation injury: involvement of the Notch-1 pathway[J]. FASEB J, 2015, 29(1): 239-249
- [15] Sun L, Zhao M, Yang Y, et al. Acetylcholine Attenuates Hypoxia/Reoxygenation Injury by Inducing Mitophagy Through PINK1/Parkin Signal Pathway in H9c2 Cells [J]. J Cell Physiol, 2016, 231 (5): 1171-1181
- [16] Song B Q, Chi Y, Li X, et al. Inhibition of Notch Signaling Promotes the Adipogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells Through Autophagy Activation and PTEN-PI3K/AKT/mTOR Pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(5): 1991-2002
- [17] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues [J]. Cell, 2011, 147(4): 728-741
- [18] Li W, Li X, Wang B, et al. ZLN005 protects cardiomyocytes against high glucose-induced cytotoxicity by promoting SIRT1 expression and autophagy[J]. Exp Cell Res, 2016, 345(1): 25-36
- [19] Shirakabe A, Ikeda Y, Sciarretta S, et al. Aging and Autophagy in the Heart[J]. Circ Res, 2016, 118(10): 1563-1576

(上接第 1622 页)

- [14] Xie S, Deng Y, Pan YY, et al. Chronic intermittent hypoxia induces cardiac hypertrophy by impairing autophagy through the adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase pathway[J]. Arch Biochem Biophys, 2016, 15(606): 41-52
- [15] Wang A, Zhang H, Liang Z, et al. U0126 attenuates ischemia/reperfusion-induced apoptosis and autophagy in myocardium through MEK/ERK/EGR-1 pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2016, 788: 280-285
- [16] Liu Y, Schiff M, Czymmek K, et al. Autophagy regulates programmed cell death during the plant innate immune response [J]. Cell, 2005, 121(4): 567-577
- [17] Wu YT, Tan HL, Huang Q, et al. Activation of the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway promotes necrotic cell death via suppression of autophagy[J]. Autophagy, 2009, 5(6): 824-834
- [18] Lavandero S, Chiong M, Rothermel BA, et al. Autophagy in cardiovascular biology[J]. J Clin Invest, 2015, 125(1): 55-64
- [19] Wang X, Proud CG. The mTOR pathway in the control of protein synthesis[J]. Physiology (Bethesda), 2006, 21: 362-369
- [20] Wu ST, Sun GH, Cha TL, et al. CSC-3436 switched tamoxifen-induced autophagy to apoptosis through the inhibition of AMPK/mTOR pathway[J]. J Biomed Sci, 2016, 23(1): 60
- [21] Zhao GX, Pan H, Ouyang DY, et al. The critical molecular interconnections in regulating apoptosis and autophagy[J]. Ann Med, 2015, 47(4): 305-315