doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2020.01.019 ◇药学研究◇

中介素对急性肾衰竭的肾脏保护作用

崔艳丽,何利珍,李小亮
作者单位:焦作市第二人民医院检验科,河南 焦作454000

摘要:目的 探讨中介素在急性肾衰竭病人血清中的表达及其对肾脏的保护机制。**方法** 选取焦作市第二人民医院2015年12月至2018年6月间确诊的急性肾衰竭病人45例和健康对照组30例,采用酶联免疫吸附试验检测血清中介素水平,寻找血清中中介素水平与急性肾衰竭的相关性。另外,建立大鼠肾小管上皮细胞(NRK-52E)缺氧/复氧模型,模拟急性肾衰竭肾脏缺血再灌注过程,MTT法检测细胞活性,流式细胞术检测细胞凋亡情况,RT-PCR和蛋白质印迹法检测自噬标志蛋白beclin-1、微管相关蛋白轻链3(LC3)和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/雷帕霉素靶蛋白(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin,PI3K/Akt/mTOR)信号相关蛋白表达水平,以进一步探索中介素对肾脏的保护作用。**结果** 急性肾衰竭病人血清中中介素表达水平明显高于健康对照组者。大鼠肾小管上皮细胞经过缺氧/复氧处理后,细胞的存活率为(45.3±4.5)%,与对照组(100±1.4)%相比显著下降($P<0.05$)。采用不同浓度的中介素(2 μmol/L、4 μmol/L、6 μmol/L)对细胞进行干预后,细胞存活率分别为(55.9±2.6)%,(75.4±3.2)%,和(86.7±2.9)%,与缺氧/复氧模型组相比显著上升($P<0.05$)。细胞在缺氧再复氧后发生了严重的细胞凋亡现象,凋亡率为(42.3±3.6)%,与对照组(10.2±1.7)%相比显著上升($P<0.05$),而经过中介素(4 μmol/L)预孵育4 h的细胞凋亡率为(27.6±3.1)%,与缺氧/复氧模型组相比显著下降($P<0.05$)。随着中介素浓度升高,PI3K/Akt/mTOR信号通路关键蛋白磷酸化水平显著降低($P<0.05$),beclin-1、LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ表达量升高,细胞自噬水平显著升高;与中介素单独处理组相比,PI3K抑制剂LY290042与中介素(2 μmol/L)联合用组,PI3K、Akt、mTOR磷酸化水平极显著下降($P<0.05$),beclin-1、LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ表达量极显著上升,细胞自噬水平极显著升高。**结论** 中介素在急性肾衰竭病人血清中高度表达,通过抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路,上调细胞的自噬水平,实现直接保护肾脏作用。

关键词:降钙素基因相关肽; 肾功能不全; 磷酸肌醇3-激酶类; 凋亡抑制蛋白质类; 自噬; 再灌注损伤; 中介素; 磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素蛋白信号通路

The renal protective effect of IMD on acute renal failure

CUI Yanli,HE Lizhen,LI Xiaoliang
Author Affiliation:Laboratory of Second People's Hospital of Jiaozuo City,JiaoZuo,Henan 454000,*China*

Abstract:Objective To investigate the expression of intermedin (IMD) in serum of patients with acute renal failure (ARF) and its protective mechanism to the kidney.**Methods** Form December 2015 to June 2018,The Second People's Hospital of Jiaozuo was selected a total of 45 cases of ARF patients and 30 cases of healthy volunteers were selected.The serum IMD levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to explore the correlation between serum IMD levels and ARF.In addition, the in vitro hypoxia/reoxygenation (I/R) model was established in the rat renal tubular epithelial cells (NRK-52E) to further explore the protective effect of IMD on ARF.Cell viability was detected by MTT assay.Cell apoptosis was measured by flow cytometry. The protein levels of two marker molecules of autophagy including beclin-1 and LC3,as well as phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) related proteins,were detected by RT-PCR and western blotting. **Results** The serum levels of IMD in patients with ARF was significantly higher than that in healthy controls.After I/R stimulation, the cell viability of NRK-52E cells was significantly decreased (45.3±4.5)% as compared to the control group (100±1.4)%.After IMD intervention (2 μmol/L,4 μmol/L,6 μmol/L),cell viability was significantly increased to (55.9±2.6)%,(75.4±3.2)%,and (86.7±2.9)%,respectively.Cell apoptotic rate in I/R group (42.3±3.6)% was significantly upregulated when compared with control group (10.2±1.7)%,while treatment with IMD (4 μmol/L) markedly reduced the apoptotic rate (27.6±3.1)%.In addition,the phosphorylation levels of key proteins in PI3K/Akt/mTOR signaling pathway were significantly decreased by IMD intervention in a dose-dependent manner ($P<0.05$).The expression levels of beclin-1 and LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ were also increased after IMD intervention.The PI3K inhibitor LY290042 caused significant decrease in phosphorylation levels of PI3K,Akt and mTOR,as well as increase in beclin-1 and LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ in IMD treatment NRK-52E cells.**Conclusion** IMD was highly expressed in the serum of patients with ARF,and directly protected the physiological process of kidney disease.This protective effect may be achieved by suppressing the

PI3K/Akt/mTOR signaling pathway,thereby raising the autophagy level.

Key words:Calcitonin gene-related peptide; Renal insufficiency; Phosphatidylinositol 3-kinases; Inhibitor of apoptosis proteins; Autophagy; Reperfusion injury; Intermedin; Phosphatidylinositol-3-kinase/Protein kinase B/Mammalian target of rapamycin signaling pathway

急性肾衰竭(acute renal failure,ARF)在临床上的发生率非常高的,而肾脏缺血/再灌注损伤(renal ischemia/reperfusion injury,I/R)是其主要原因[1]。研究表明,ARF的预后不仅取决于损伤的严重程度,而且取决于损伤后肾脏修复和再生情况,因此减轻急性期损伤和促进肾组织再生的因素均能改善ARF的预后。中介素是降钙素基因相关肽超家族的新成员[2],可非选择性结合于该家族的共同受体即降钙素受体样受体/受体活性修饰蛋白系统,具有广泛的生物学效应[3],在调节心血管、消化、泌尿、呼吸以及神经内分泌功能等方面有着重要的作用[4]。

目前关于中介素的研究多集中与动物器官、细胞水平,关于基因信号通路的报道尚较少,也没有相应的临床试验,故从磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase,PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B,Akt)和哺乳动物雷帕霉素蛋白(mammalian target of rapamycin,m TOR)信号通路(PI3K/Akt/mTOR信号通路)探讨中介素对器官的保护作用及其机制,对后续的转化医学研究尤为重要。

1 资料与方法

1.1 主要试剂 大鼠肾小管上皮细胞NRK-52E细胞购自美国ATCC;中介素购自Phoenix;Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购自BD公司;PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR等抗体购自美国CST公司;自噬标志蛋白beclin-1、微管相关蛋白轻链3-Ⅱ(LC3-Ⅱ)、微管相关蛋白轻链3-Ⅰ(LC3-Ⅰ)和β-actin抗体购自Abcam公司;聚偏二氟乙烯膜购自Millipore公司;ECL发光液购自Thermo公司;RT-PCR试剂盒购于宝生物工程(大连)有限公司;中介素快速检测酶联免疫吸附试剂盒购于上海桑戈生物科技有限公司,生产批号18101913。其余试剂均为国产分析纯。

1.2 样本采集及检测 采集焦作市第二人民医院2015年12月至2018年6月间确诊的急性肾衰竭病人45例,病人或其近亲属知情同意,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。所有研究对象入院24 h内晨起空腹采集肘静脉血5 mL,室温条件下静置30 min,3 000×g离心15 min后抽取血清,置于收集管中,-80 ℃冰箱中保存。酶联免疫吸附试验测定血清中介素水平。

1.3 NRK-52E细胞培养和处理 NRK-52E细胞用含10%胎牛血清的DMEM培养基,5%二氧化碳,37 ℃条件下培养箱中培养。采用对数生长期的细胞进行实验。实验分组:①对照组,正常细胞,不做任何处理;②I/R模型组,细胞进行缺氧/复氧处理,不加任何干预物;③中介素干预组,加入不同浓度的中介素(2,4,6 μmol/L)进行干预;④PI3K抑制剂LY290042组;⑤中介素+LY290042干扰组。

1.4 NRK-52E细胞缺氧/复氧模型的建立 NRK-52E细胞放置于无血清培养基中,在含有1%氧气,5%二氧化碳和94%氮气条件下的培养箱内培养6 h,然后将细胞置于正常培养条件下培养12 h。③④⑤组的细胞在进行缺氧/复氧实验前加入相应试剂预处理4 h。

1.5 MTT比色法检测细胞活性 将NRK-52E细胞接种于96孔板,加入不同浓度的中介素(2、4、6 μmol/L)作用48 h后,采用MTT法检测NRK-52E细胞的存活情况。每孔加入20 μL 0.5%的MTT溶液,37 ℃条件下孵育4 h,弃去培养基,然后每孔加150 μL二甲基亚砜,缓慢振荡10 min后,于波长为490 nm处测定OD值。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡 NRK-52E细胞与中介素(4 μmol/L)作用后,收集细胞,将细胞重悬于400 μL缓冲液中,加入5 μL Annexin V-FITC,充分混匀后避光孵育15 min。加入10 μL PI染液,混匀后冰浴避光孵育5 min,上流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.7 蛋白质印迹法检测相关蛋白表达 用预冷PBS漂洗2次后加入200 μL含有蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液,将刮下的细胞转移至1.5 mL离心管中,于冰上裂解30 min后,用超声波细胞破碎仪间歇裂解30 s,12 000 r/min离心10 min后收集上清液。将制备好的蛋白样品(40 μg)采用12% SDS-PAGE(十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳)垂直电泳进行分离,电泳分离后将蛋白转至聚偏二氟乙烯膜上,将膜用含5%脱脂奶粉的封闭液室温封闭2 h,4 ℃条件下孵育一抗过夜。次日用TBST 110 r/min振荡培养,洗涤5次,二抗室温孵育1 h,用TBST洗涤,用发光液显影检测PI3K/Akt/mTOR通路相关蛋白的表达水平。

1.8 RT-PCR检测mRNA水平 Trizol法提取

NRK-52E细胞总RNA,使用试剂盒进行反转录。扩增引物均由北京三博远志生物技术有限责任公司合成,引物序列见表1。PCR扩增条件如下:94 ℃预变性5 min,94 ℃变性30 s,56℃退火30 s,72 ℃延伸1 min,共35个循环。用β-actin做内参,得到相对表达量,实验重复3次后进行统计分析。

表1 引物序列

基因	引物序列
Beclin-1	正向:5′-AGGAGCAGTGGACCCCAGAAGC-3′ 反向:5′-AGGGAAGAGGGAAAGGACGGC-3′
LC3-Ⅱ	正向:5′-GTGCAGTTAGCCTACCGGTCGTCT-3′ 反向:5′-GAGTACCACGTATGGAGCCTGCA-3′
LC3-Ⅰ	正向:5′-AGTTCCCACTCAACAACTCCT-3′ 反向:5′-GACGGTGCGCTCAATGTCTG-3′
β-actin	正向:5′-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA-3′ 反向:5′-GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG-3′

1.9 统计学方法 运用GraphPad Prism 6进行数据分析。观测数据主要是计量数据,以$\bar{x}\pm s$表示,多组比较为单因素方差分析,两组比较为成组t检验。$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急性肾衰竭与健康体检者血清中中介素水平比较 45例ARF组血清中介素水平为(6.4±2.2)ng/mL,显著高于对照组水平(2.4±1.2)ng/mL,差异有统计学意义($t=10.707$,$P=0.000$),说明ARF病人血清中介素表达上调,提示中介素可能在急性肾衰竭病理生理过程中发挥作用。

2.2 中介素对NRK-52E细胞活性的影响 NRK-52E细胞经过缺氧/复氧实验后,细胞的存活率为(45.3±4.5)%,与对照组(100±1.4)%相比显著下降($P<0.05$)。采用不同浓度的中介素(2、4 μmol/L、6 μmol/L)对细胞进行干预后,细胞存活率分别为(55.9±2.6)%,(75.4±3.2)%和(86.7±2.9)%,与缺氧/复氧模型组相比显著上升($P<0.05$)。表明中介素对NRK-52E细胞的缺氧/复氧过程有保护作用。

2.3 中介素对NRK-52E细胞凋亡的影响 采用流式细胞术对处理后的NRK-52E细胞进行测定。结果表明缺氧再复氧后,细胞发生了严重的细胞凋亡现象,凋亡率为(42.3±3.6)%,与对照组(10.2±1.7)%相比显著上升($P<0.05$)。经过中介素(4 μmol/L)预孵育4 h的细胞凋亡率为(27.6±3.1)%,与缺氧/复氧模型组相比显著下降($P<0.05$)。见图1。

2.4 中介素对NRK-52E细胞自噬水平的影响 Beclin-1和LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ是细胞自噬过程中的标志性分子,当自噬体形成过程中,LC3会酶解掉一小段多肽形成LC3-Ⅰ,LC3-Ⅰ跟PE结合转变为(自噬体)膜型(即LC3-Ⅱ),因此,常用LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ比值的来评估自噬水平。本研究采用RT-PCR和蛋白质印迹法检测细胞中Beclin-1和LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ的mRNA和蛋白水平。图2结果表明,缺氧/复氧后的细胞beclin-1和LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ的mRNA和蛋白水平均升高($P<0.05$)。与模型组相比,中介素(4 μmol/L)干扰组的细胞beclin-1和LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ的mRNA和蛋白水平均显著升高($P<0.05$),细胞自噬显著增强。

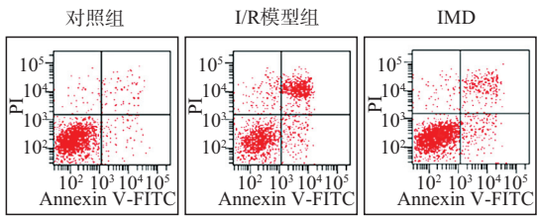
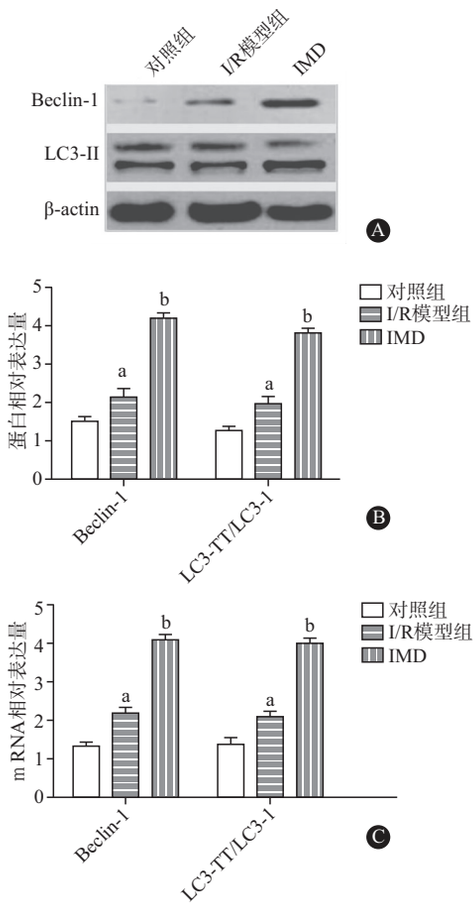


图1 中介素对肾小管上皮细胞(NRK-52E)细胞凋亡的影响

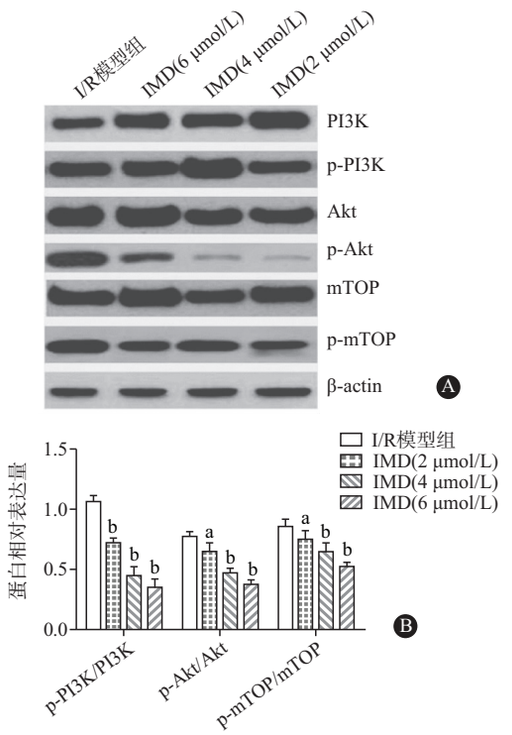


注:与对照组比较,$^aP<0.05$,与I/R模型组比较,$^bP<0.05$

图2 中介素对肾小管上皮细胞(NRK-52E)细胞自噬水平的影响:A示蛋白质印迹法检测电泳图;B示NRK-52E细胞中beclin-1和LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ的蛋白水平;C示NRK-52E细胞中beclin-1和LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ的mRNA水平

2.5 中介素对PI3K/Akt/mTOR信号通路相关蛋白表达的影响 不同浓度的中介素(2 μmol/L、4 μmol/L、6 μmol/L)处理细胞24 h后,利用蛋白质

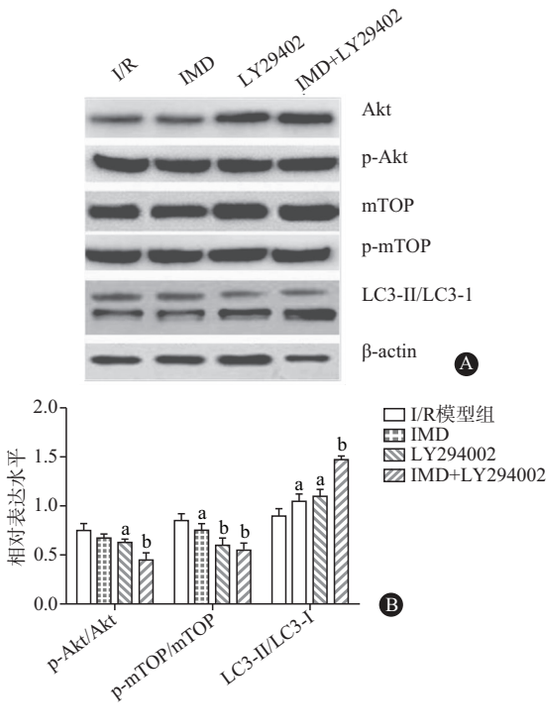
印迹法检测PI3K/Akt/mTOR信号通路相关蛋白表达情况。结果如图3所示：在一定浓度范围内，随着中介素浓度的升高，PI3K、Akt、mTOR蛋白磷酸化水平逐渐下降。与对照相比，PI3K蛋白磷酸化水平在2 μmol/L时显著下降，Akt、mTOR蛋白磷酸化水平变化同样显著下降（$P<0.05$）；当中介素浓度大于4 μmol/L时PI3K、Akt、mTOR蛋白磷酸化水平极显著下降（$P<0.01$），表明中介素可以通过激活PI3K/Akt/mTOR信号通路而诱导自噬的发生。



注：与I/R模型组比较，$^aP<0.05$，$^bP<0.01$

图3　中介素对磷脂酰肌醇-3-激酶（PI3K）/蛋白激酶B（Akt）和哺乳动物雷帕霉素蛋白（m TOR）信号通路相关蛋白表达影响：A示蛋白质印迹法检测电泳图；B示不同浓度中介素诱导下，PI3K、Akt、mTOR表达水平

2.6　PI3K抑制剂对中介素诱导NRK-52E细胞中PI3K/Akt/mTOR信号通路相关蛋白表达和自噬标志性蛋白的影响　为了进一步验证PI3K/Akt/mTOR信号通路在自噬中过程中的作用，使用PI3K抑制剂LY294002处理细胞，蛋白质印迹法检测PI3K/Akt/mTOR信号通路及自噬相关蛋白的表达。结果显示：LY294002+中介素处理组与中介素处理组相比，Akt蛋白的磷酸化水平、mTOR蛋白的磷酸化水平极显著下降（$P<0.01$），LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ表达量极显著升高（$P<0.01$）），单独使用中介素、PI3K抑制剂LY294002，mTOR蛋白的磷酸化水平显著下降（$P<0.05$），LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ显著升高（$P<0.05$）），表明PI3K/Akt/mTOR信号通路中介素在细胞自噬中起负调控作用。见图4。



注：与I/R模型组比较，$^aP<0.05$，$^bP<0.01$

图4　磷脂酰肌醇-3-激酶（PI3K）抑制剂对蛋白激酶B（Akt）和哺乳动物雷帕霉素蛋白（m TOR）信号通路和LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ表达的影响：A示蛋白质印迹法检测电泳图；B示PI3K抑制剂LY294002干预下，中介素诱导的Akt、mTOR、LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ水平

3　讨论

中介素作为CGRP超家族的新成员，由于其强大的生物学效应和广泛的多系统作用特性，在心脑血管、消化、泌尿、呼吸以及代谢等多种疾病的发生发展过程中可能发挥着重要的作用。近年来研究发现，中介素可以通过对抗长期氧化应激、抑制细胞凋亡等多种机制[5]，减轻心、脑、I/R损伤，并具有稳定血管内皮屏障、减轻血管渗漏等活性。有研究表明中介素在肾脏有大量表达，作为一种内源性调节肽中介素对肾脏的进展性损伤有一定的保护作用[6]。有报道指出中介素对肾血管有舒张作用[7]，向大鼠肾动脉注射中介素（100 pmol·kg^{-1}·min^{-1}）可增加肾血流量，但是血压和心率没有变化。邱淑怡、高云[8]尝试大鼠静脉注射中介素可引起血压下降，肾血流量增加、肾交感神经活性增加，停止注射后血压恢复至基础水平，而肾血流量在停止注射60 min后仍有显著增高[9]。

自噬是细胞维持自身内平衡的一个分解代谢过程[10]，自噬表现为细胞生长过程中形成的能够降解长寿命蛋白以及自体多余的或失去功能的细胞器的功能，从而维持细胞的正常功能[11]。自噬的信

号通路主要为两种:腺苷酸活化激酶信号通路和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号通路[12],前者主要受胞内能量水平影响,而后者主要感受营养状况和生长因子等多种胞外影响因素,调控细胞周期、翻译、转录和代谢,其中PI3K/Akt/mTOR通路在肿瘤的发生发展中起重要作用[13]。有研究表明,在肾癌中PI3K/Akt/mTOR信号途径上调S期激酶相关蛋白2蛋白表达,从而激活mTORC1,进而促进细胞增殖[14]。

缺血再灌注损伤与氧化应激,线粒体功能紊乱等机制有关[15],而自噬在肾脏缺血再灌注过程中起到重要作用,自噬不足能够引起肾脏损伤[16]。有报道表明中介素能够提高小鼠结肠炎中的自噬水平从而缓解结肠炎症状[17]。自噬代表了一种修复,维持生命的过程。mTOR是自噬重要的调控因子之一[18],可感知细胞的营养状况和细胞应激。PI3K和Akt是mTOR重要的上游调控因子,Ⅰ型PI3K可以激活Akt,活化的Akt进一步磷酸化mTOR。PI3K抑制剂LY294002可降低Akt蛋白的磷酸化水平,下调PI3K/Akt/mTOR通路,诱导细胞自噬水平上升。近年来,该通路作用的研究受到重视[19],应用抑制剂对该通路进行干预,体外实验证实均能抑制肿瘤细胞增殖和诱导细胞凋亡[20]。

本研究结果表明,急性肾衰竭病人血清中中介素表达水平明显高于健康对照组者,大鼠肾小管上皮细胞经过缺氧/复氧处理后,模拟急性肾衰竭肾脏缺血再灌注过程,细胞的存活率显著下降。采用中介素对细胞进行干预后,自噬标志蛋白beclin-1、LC3-Ⅱ表达水平升高,细胞存活率显著上升。随着中介素浓度的升高,PI3K/Akt/mTOR信号通路中的关键蛋白磷酸化水平下降,表明中介素可以激活PI3K/Akt/mTOR信号通路。在加入PI3K抑制剂LY294002(10 μmol/L)同样发现,自噬蛋白表达量增多,PI3K/Akt/mTOR信号通路蛋白表达量显著减少。

总之,中介素在一定浓度范围内,可以通过抑制PI3K/Akt/mTOR信号通路诱导细胞自噬的发生,该信号通路的对自噬发生起负调控作用,调控自噬的信号通路PI3K/Akt/mTOR的激活在急性肾衰竭过程中起保护作用。

参考文献

[1] 王群锁,李响,王涛,等.IL-17在小鼠肾脏缺血再灌注损伤表达的变化及意义[J].临床泌尿外科杂志,2015,30(3):254-257.

[2] ZHANG Q,JIAO F,HUA C.Perioperative application of salvianolate on oxidative stress and plasma IMD/ADM2 in patients with acute myocardial infarction undergoing PCI[J].Exp Ther Med,2017,13(4):1475-1479.

[3] SATYAVATHI VV,MOHAMED AA,KUMARI S,et al.The IMD pathway regulates lysozyme-like proteins (LLPs) in the silkmoth Antheraea mylitta[J].J Invertebr Pathol,2018,154:102-108.

[4] 周芸,李荣山.中介素的生物学效应研究进展[J].医学综述,2010,16(1):13-16.

[5] 李翠,刘丽云,王治平.中介素对冠状动脉粥样硬化性心脏病的作用机制研究[J].国际心血管病杂志,2016,43(3):164-166,182.

[6] 李虹.Intermedin在糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤中的保护作用及其机制研究[D].太原:山西医科大学,2014.

[7] BELL D,MCDERMOTT B J.Intermedin (adrenomedullin-2):a novel counter-regulatory peptide in the cardiovascular and renal systems[J].Br J Pharmacol,2008,153 Suppl 1:S247-S262.

[8] 邱淑怡,高云.中介素在各系统的研究进展[J].神经解剖学杂志,2012,28(6):627-630.

[9] 周芸.Intermedin对肾脏缺血再灌注损伤保护作用的实验研究[D].山西医科大学,2009.

[10] 李荣虎,于论,缪珀,等.缺氧缺血海马组织中自噬相关蛋白Beclin-1和LC3的表达变化以及雷帕霉素对其表达的影响[J].中国当代儿科杂志,2015,17(4):400-404.

[11] ZHAN L,LI J,WEI B.Autophagy therapeutics:preclinical basis and initial clinical studies[J].Cancer Chemother Pharmacol,2018,82(6):923-934.

[12] WANG SS,CHEN YH,CHEN N,et al.Hydrogen sulfide promotes autophagy of hepatocellular carcinoma cells through the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J].Cell Death Dis,2017,8(3):e2688.DOI:10.1038/cddis.2017.18.

[13] SHI Y,ZHANG W,YE Y,et al.Benefit of everolimus as a monotherapy for a refractory breast cancer patient bearing multiple genetic mutations in the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J].Cancer Biol Med,2018,15(3):314-321.

[14] 王立文.奶牛脐带间充质干细胞通过激活PI3K/Akt/mTOR信号通路调控奶牛乳腺上皮细胞生理功能的研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2016.

[15] 孔莹,陈丽.地佐辛预处理对下肢缺血再灌注损伤的影响分析[J].当代医学,2013(5):136-137.

[16] HOU X,XIAO H,ZHANG Y,et al.Transient receptor potential channel 6 knockdown prevents apoptosis of renal tubular epithelial cells upon oxidative stress via autophagy activation[J].Cell Death Dis,2018,9(10):1015.

[17] 伍俊霞,周芸,董红霖,等.中介素对大鼠肾小球内皮细胞缺氧损伤的保护作用[J].中国药物与临床,2016,16(5):641-644.

[18] CHEN JF,WU P,XIA R,et al.STAT3-induced lncRNA HAGLROS overexpression contributes to the malignant progression of gastric cancer cells via mTOR signal-mediated inhibition of autophagy[J].Mol Cancer,2018,17(1):6.

[19] 斯庆图娜拉,刘磊.抑制自噬增加PI3K/AKT/mTOR信号通路抑制剂引起的胃癌细胞死亡[J].中国实验诊断学,2015,19(9):1457-1460.

[20] GOHR K,HAMACHER A,ENGELKE LH,et al.Inhibition of PI3K/Akt/mTOR overcomes cisplatin resistance in the triple negative breast cancer cell line HCC38[J].BMC Cancer,2017,17(1):711.

(收稿日期:2018-10-16,修回日期:2019-10-13)