

# 白藜芦醇通过自噬途径对 HepG2 细胞增殖和凋亡的影响

刘 兰<sup>1</sup>, 张志敏<sup>2</sup>, 付红星<sup>1</sup>, 王 敏<sup>2</sup>, 饶智国<sup>2</sup>

(1.湖北中医药大学,湖北 武汉 430065;2.解放军武汉总医院,湖北 武汉 430070)

**摘要:** [目的] 研究白藜芦醇(Resveratrol, Res)对人肝癌 HepG2 细胞的增殖抑制作用及诱导凋亡效应,并从自噬角度探讨其机制。[方法] 不同浓度 Res 及联合自噬抑制剂 3-MA 处理 HepG2 细胞。CCK-8 法检测各组的细胞存活率;流式细胞术检测细胞凋亡;MDC 染色后荧光显微镜下观察自噬形态;RT-PCR 和 Western blot 检测 Beclin1、Bcl-2 mRNA 及蛋白表达。[结果] Res 可以显著降低 HepG2 细胞的存活率和诱导凋亡。Res 诱导 HepG2 细胞发生自噬,Beclin1 表达显著上调,Bcl-2 表达显著下调;联合 3-MA 抑制自噬后,减弱了 Res 对 HepG2 细胞增殖抑制和诱导凋亡作用。[结论] Res 可通过诱导 HepG2 细胞自噬发挥抑制增殖和促凋亡作用,其机制可能与作用于 Beclin1/Bcl-2 复合体有关。

**关键词:** 白藜芦醇;肝肿瘤;自噬;凋亡;增殖

**中图分类号:** R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2019)02-0127-06

**doi:** 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.02.B010

## Effect of Resveratrol on Proliferation and Apoptosis of HepG2 Cells and Its Mechanism

LIU Lan<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-min<sup>2</sup>, FU Hong-xing<sup>1</sup>, WANG Min<sup>2</sup>, RAO Zhi-guo<sup>2</sup>

(1. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. Wuhan General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the effects of resveratrol (Res) on proliferation and apoptosis of human hepatocellular carcinoma HepG2 cells and its mechanism. [Methods] HepG2 cells were treated with different concentrations of Res and/or autophagy inhibitor 3-MA. The cell viability was examined by CCK-8 assay; cell apoptosis was detected by Flow cytometry; the autophagy was determined by MDC staining; the expression levels of Beclin1 and Bcl-2 mRNA and the protein were detected by RT-PCR and Western blot, respectively. [Results] Res significantly inhibited the viability and induced apoptosis of HepG2 cells. Res induced the autophagy of HepG2 cells, upregulated Beclin1 expression, and downregulated Bcl-2 expression. With the combined treatment of autophagy inhibitor 3-MA, the effect of Res inhibiting cell proliferation and inducing cell apoptosis was crippled. [Conclusion] Res can inhibit proliferation and promote apoptosis by inducing autophagy of HepG2 cells, which may be related to the involvement of Beclin1/Bcl-2 complex.

**Subject words:** resveratrol; hepatocellular carcinoma; autophagy; apoptosis; proliferation

原发性肝癌(Primary carcinoma of liver, PLC)发病率和死亡率较高,统计资料显示 2015 年我国肝癌新发和死亡病例分别高达 46.6 万例和 42.2 万例,约占全球肝癌新发和死亡病例的 50%<sup>[1,2]</sup>。对于肝癌的治疗,手术切除是最根本的方法,但大多数肝癌患者

诊断时已属于肿瘤晚期,已不适合包括手术、移植和射频消融等在内的潜在治疗方案<sup>[3]</sup>。化疗作为一种全身治疗,主要应用于肝动脉栓塞治疗,是肝癌治疗的重要手段之一。但目前化疗药物的总体有效水平较低,传统细胞毒性药物单药治疗有效率不高于 20%,且存在激活 HBV 复制、损害肝功能等毒副反应。因此,积极探索更多有效的抗肿瘤药物十分重要。

白藜芦醇(Resveratrol, Res)作为一种天然多酚

**基金项目:** 湖北省卫生计生科研基金(WJ2018H0067);国家自然科学基金(81301631)

**通信作者:** 饶智国,主任,主任医师,硕士生导师,博士;解放军武汉总医院肿瘤内科,湖北省武汉市武昌区武珞路 627 号(430070);E-mail:raozhiguo@hotmail.com

**收稿日期:** 2018-05-10; **修回日期:** 2018-08-01

类化合物,被证实是沉默信息调节因子 1(silent information regulator 1, SIRT1) 激动剂,而其是一种 NAD<sup>+</sup>依赖的去乙酰化酶,可通过去乙酰化调控自噬相关基因 (autophagy related gene, Atg) 中 Atg5、Atg7、Atg8 等诱导细胞自噬<sup>[4]</sup>。近年研究发现,自噬与肝癌的发生发展密切相关,自噬相关基因 Beclin1、LC3、p65 等可作为肝癌患者生存预后的评估因子<sup>[5]</sup>。Res 是否可以通过调控自噬水平影响肝癌细胞增殖和凋亡值得进一步探究。因此,本实验研究 Res 对人肝癌 HepG2 细胞增殖和凋亡的影响,并从自噬角度来初步探讨其可能作用机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

人肝癌 HepG2 细胞系来源 ATCC,由武汉华联科生物技术有限公司实验室保种并提供;Res 购自成都曼斯特科技有限公司;3-MA 购自美国 sigma 公司;CCK-8、AnnexinV-FITC/PI 凋亡检测试剂盒、细胞自噬染色试剂盒购自 Bioswamp 公司;SYBR Green PCR 试剂盒购自 KAPA Biosystems 公司;Beclin1、Bcl-2 抗体购自 proteintech 公司。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 细胞培养

HepG2 细胞系常规培养于含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中,在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度的培养箱中培养。

#### 1.2.2 CCK-8 法检测细胞增殖

选取对数生长期的 HepG2 细胞,以 1×10<sup>4</sup> 孔接种于 96 孔板中。分为对照组、Res 药物组、3-MA+Res 药物组,每组设 3 个复孔,每孔加入 180μl 药物,对照组加入等量培养液,Res 药物组加入相应浓度 (10、20、40、80μmol/L) 的 Res,3-MA+Res 药物组先用 5 mmol/L 3-MA 孵育 HepG2 细胞 3h,再分别加入相应浓度 (10、20、40、80μmol/L) 的 Res。48h 后向每孔加入 10μl CCK-8 检测液,轻轻摇匀,孵育 4h 后,用酶标仪 (波长 450 nm) 检测每孔吸光度 (OD) 值,并计算细胞存活率。细胞存活率=实验组 OD 值/对照组 OD 值×100%。

#### 1.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡

细胞处理同前,对照组加入等量培养液,Res 药

物组分别加入终浓度为 20、40、80μmol/L 的 Res 培养液,另设 3-MA 组 (5 mmol/L 3-MA 孵育 3h)、3-MA+Res 药物组 (先用 5 mmol/L 3-MA 孵育 3h,再加入 40μmol/L Res),共 6 组,每组设 3 个复孔,24h 换液,并补充药物。48h 后用胰蛋白酶消化细胞,终止消化后收集细胞,转移至 5ml EP 管中,1000g,4℃ 离心 5min,弃上清,加 PBS 重悬,用预冷 PBS 洗涤细胞 2 次。加入 RNA 酶、碘化丙啶 (PI) 和膜联蛋白 V (AnnexinV),4℃ 避光条件下静置 30min,置于流式细胞仪进行检测,使用 CXP 分析软件进行分析。右下象限 (B4) 为早期凋亡细胞,右上象限 (B2) 为中晚期凋亡细胞,总的细胞凋亡率=(B4+B2)×100%。实验重复 3 次。

#### 1.2.4 MDC 染色检测自噬小体

将细胞分为 4 组:对照组,3-MA 组 (只加终浓度为 5mmol/L 的 3-MA),Res 组 (只加终浓度为 40μmol/L 的 Res),3-MA+Res 组 (先用 5mmol/L 3-MA 孵育 3h,再加入 40μmol/L Res)。按分组依次加入干预药物,培养 48h 后,弃培养液,加入 10μl MDC 染液,在 37℃ 孵育 30min 染色标记自噬泡,然后用 1×Wash buffer 漂洗细胞 2 次,立即用荧光显微镜检测并照相。实验重复 3 次。

#### 1.2.5 RT-PCR 检测 Res 对 HepG2 细胞中 Beclin1、Bcl-2 mRNA 表达的影响

实验分组及细胞处理方法同 1.2.3,参照试剂盒说明书进行,Trizol 提取细胞总 RNA。采用逆转录酶试剂盒逆转录 cDNA,随后进行 PCR。总反应体系为 20μl,扩增条件为:95℃,3min;95℃,5s;56℃,10s;72℃,25s;39 个循环;65℃,5s;95℃,50s。使用 GAPDH 作为实验内参。引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成,引物序列如下,Beclin1:5'-CGTGGAA-TGGAATGAGA-3' (正向),5'-CGTAAGGAACAAGT-CGG-3' (反向);Bcl-2:5'-AGTTCGGTGGGGTCAT-3' (正向),5'-CAGCCAGGAGAAATCAA-3' (反向);GAPDH:5'-CCACTCCTCCACCTTTG-3' (正向),5'-CACCACCCTGTTGCTGT-3' (反向)。采用 2-DDCT 法表示 Beclin1、Bcl-2 mRNA 相对表达水平。实验重复 3 次。

#### 1.2.6 Western blot 检测 Res 对 HepG2 细胞中 Beclin1、Bcl-2 蛋白表达的影响

实验分组及细胞处理方法同 1.2.3,48h 后加入

细胞裂解液,冰上裂解 30min,于 4℃,12 000g 离心 10min,取上清液。蛋白定量后分别取 10μg 蛋白加入上样缓冲液,95℃变性 10min。12%聚丙烯酰胺-SDS 凝胶电泳后,电转移至硝酸纤维素膜上,5%脱脂奶粉封闭后依次加入一抗和二抗,室温孵育 1h, PBST 洗涤 3 次,每次 5min。然后将膜置于全自动化学发光分析仪中检测,通过 TANON GIS 软件读取相关条带灰度值。以上述目的蛋白电泳条带灰度值与内参照 GAPDH 条带灰度值的比值作为各蛋白的相对表达水平。实验重复 3 次。

### 1.3 统计学处理

所有数据用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 *t* 检验和单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 法, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Res 对 HepG2 细胞增殖的抑制作用

CCK-8 细胞增殖实验结果显示(Figure 1A),10、20、40、80μmol/L Res 分别作用 HepG2 细胞 48h 后,细胞增殖均受到不同程度地抑制,存活率分别为 70%、58%、48%、36%,与对照组比较差异均有统计学意义 ( $F = 3200.54, P < 0.05$ )。联合自噬抑制剂 3-MA 预孵育 3h 后,HepG2 细胞的存活率分别为 72%、70%、65%、61%,与对照组比较差异均有统计学意义 ( $F = 477.52, P < 0.05$ )。40μmol/L Res 组与 40μmol/L Res+3-MA 组

存活率比较,差异有统计学意义 ( $t = 34.73, P < 0.01$ ),10μmol/L Res 组与 10μmol/L Res+3-MA 组存活率比较,差异有统计学意义 ( $t = 2.95, P = 0.042$ )。Res 对 HepG2 细胞有增殖抑制作用,联合 3-MA 后其抑制作用被部分逆转,提示该作用可能是自噬依赖性的,后续实验选用 40μmol/L Res 联合 3-MA 进一步研究。

### 2.2 Res 对 HepG2 细胞凋亡的影响

流式细胞仪结果显示(Figure 1B, Table 1),随着药物浓度升高细胞凋亡率增加,早期凋亡细胞和中晚期凋亡细胞数计数中 40、80μmol/L Res 组与对照组比较差异均有统计学意义 ( $F = 27.57, P < 0.01; F = 31.13, P < 0.01$ ),40μmol/L Res+3-MA 组、3-MA 组与对照组比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ );凋亡细胞总数计数中,20、40、80μmol/L Res 组及 40μmol/L Res+3-MA 组与对照组比较差异均有统计学意义 ( $F = 311.96, P < 0.01$ ),3-MA 预处理后,40μmol/L Res+3-MA 组凋亡率下降至  $8.93\% \pm 0.50\%$ ,与 40μmol/L Res 组 ( $17.91\% \pm 0.50\%$ ) 比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),提示在该实验剂量下 Res 诱导 HepG2 细胞凋亡与自噬相

Table 1 The apoptosis rate of HepG2 cells after treated with different concentration of Res

Groups	Early apoptotic cells(%)	Late apoptotic cells(%)	Total (%)
Control	3.77±0.62	1.00±0.19	4.76±0.79
20μmol/L Res	4.92±0.74	5.57±0.67 <sup>a</sup>	10.49±1.24 <sup>a</sup>
40μmol/L Res	11.71±2.31 <sup>a</sup>	6.20±1.84 <sup>a</sup>	17.91±0.50 <sup>a</sup>
80μmol/L Res	14.75±2.76 <sup>a</sup>	12.04±1.81 <sup>a</sup>	26.79±1.26 <sup>a</sup>
40μmol/L Res+3-MA	5.97±0.94 <sup>b</sup>	2.96±1.37 <sup>b</sup>	8.93±0.50 <sup>ab</sup>
3-MA	2.69±0.60 <sup>b</sup>	1.80±0.68 <sup>b</sup>	4.50±0.27 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>,  $P < 0.05$  vs control group; <sup>b</sup>,  $P < 0.01$  vs 40μmol/L Res group

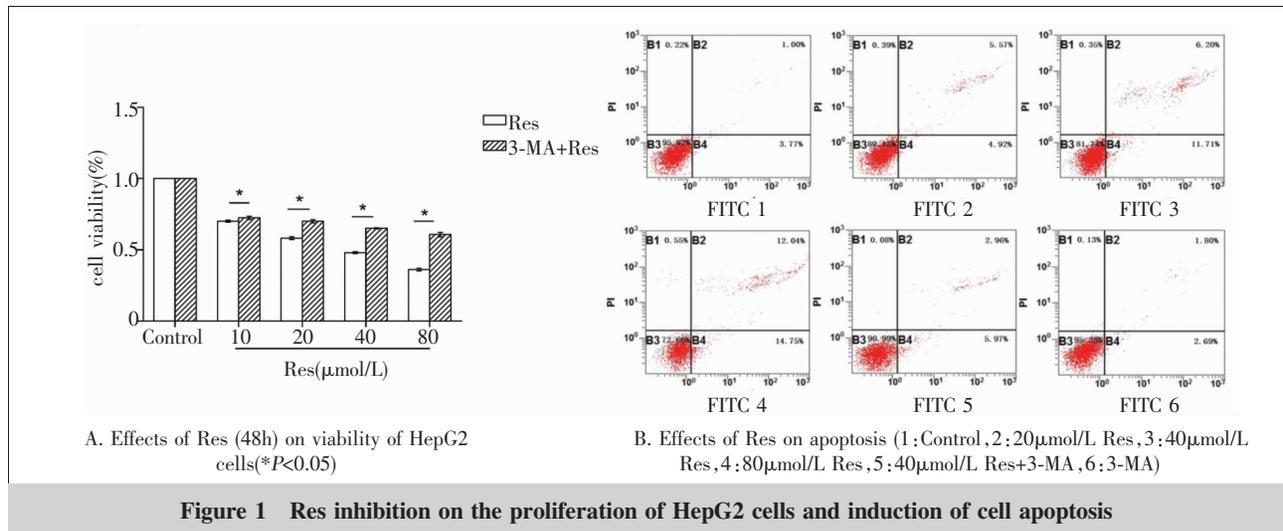


Figure 1 Res inhibition on the proliferation of HepG2 cells and induction of cell apoptosis

关,抑制自噬后 Res 诱导凋亡的作用被减弱,细胞凋亡与自噬两种死亡方式存在相互影响。

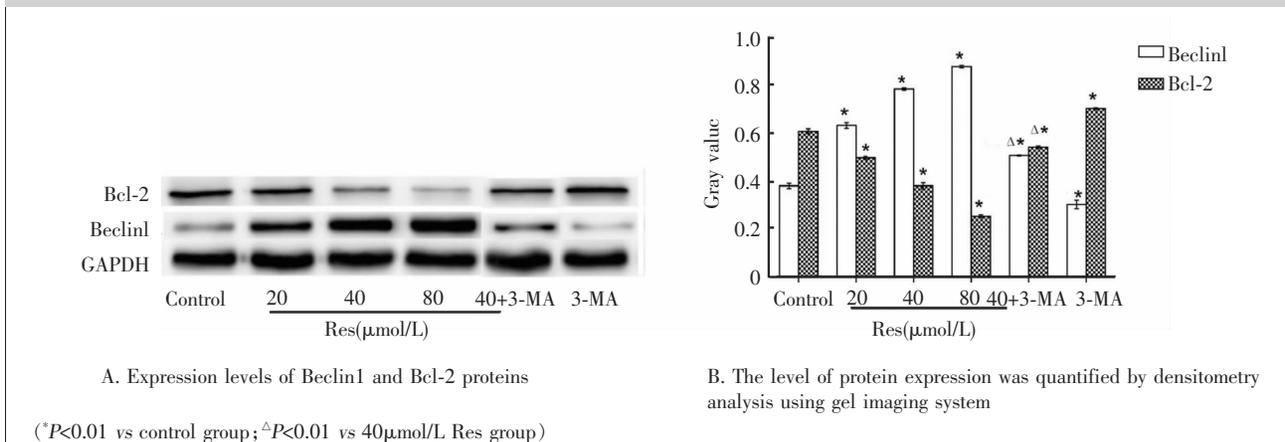
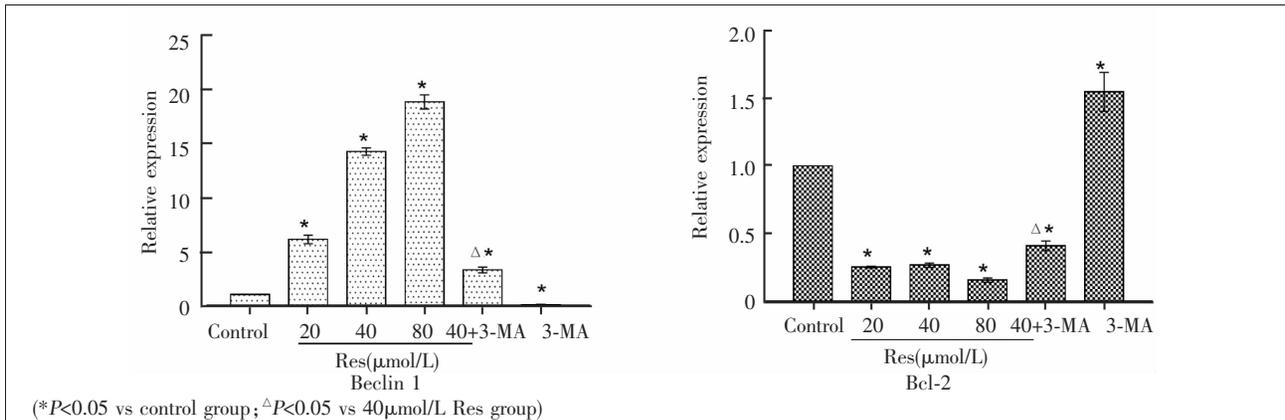
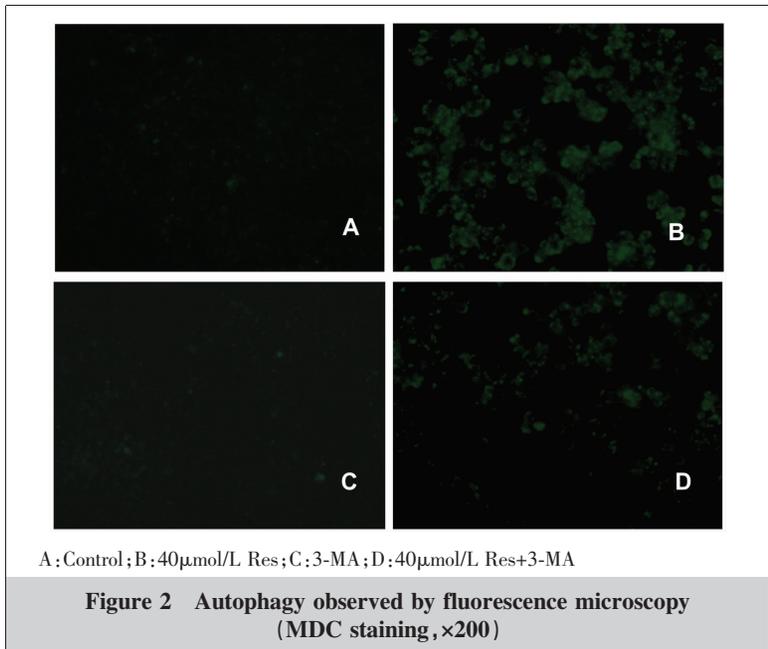
### 2.3 MDC 染色观察细胞自噬

MDC 是一种嗜酸性荧光染料,进入细胞后,可以选择性浓聚于自噬体,常被用于检测自噬体形成的特异性标记染色剂。实验结果如 Figure 2 所示,40 $\mu$ mol/L Res 组细胞内 MDC 绿色荧光基团数目增多,自噬体呈绿色点状结构,联合 3-MA 处理后绿色荧光基团数目明显减少,而对照和 3-MA 组绿色点状结构很少。说明 Res 可诱导 HepG2 细胞发生自噬。

### 2.4 Res 对肝癌 HepG2 细胞 Beclin1、Bcl-2 mRNA 表达的影响

RT-PCR 检测结果如 Figure 3 所示,经 20、40、80 $\mu$ mol/L 的 Res 作用 48 h 后,Beclin1 mRNA 的相对表达水平分别为 6.11 $\pm$ 0.40、14.26 $\pm$ 0.35、18.86 $\pm$ 0.66,与对

照组(1.00 $\pm$ 0.00)比较,随着浓度的递增,其表达逐渐上调,差异有统计学意义( $F=1330.19, P<0.01$ ),3-MA+



40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组 (3.29 $\pm$ 0.27) 与 40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组比较, Beclin1 表达显著下调 ( $P<0.01$ ); 同时, 不同浓度作用下, Bcl-2 mRNA 的相对表达分别为 0.25 $\pm$ 0.01、0.27 $\pm$ 0.02、0.16 $\pm$ 0.02, 与对照组 (1.00 $\pm$ 0.00) 比较, 随着浓度的递增, 其表达下调, 差异有统计学意义 ( $F=243.11, P<0.01$ ), 但 20 $\mu\text{mol/L}$  Res 组与 40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组相比无明显下调 ( $P=0.795$ ), 3-MA+40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组 (0.41 $\pm$ 0.04) 与 40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组比较, Bcl-2 表达上调 ( $P=0.014$ )。

### 2.5 Res 对肝癌 HepG2 细胞 Beclin1、Bcl-2 蛋白表达的影响

Western blot 检测结果如 Figure 4 所示, 经 20、40、80 $\mu\text{mol/L}$  的 Res 作用 48h 后, Beclin1 蛋白相对表达分别为 0.63 $\pm$ 0.01、0.78 $\pm$ 0.00、0.88 $\pm$ 0.01, 与对照组 (0.38 $\pm$ 0.01) 相比, 其表达逐渐上调, 差异有统计学意义 ( $F=1395.23, P<0.01$ ), 3-MA+40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组 (0.51 $\pm$ 0.00) 与 40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组比较, Beclin1 表达显著下调 ( $P<0.01$ ); 上述浓度下, Bcl-2 蛋白的表达分别为 0.50 $\pm$ 0.01、0.38 $\pm$ 0.01、0.25 $\pm$ 0.01, 与对照组 (0.61 $\pm$ 0.01) 相比, 其表达逐渐下调, 差异有统计学意义 ( $F=1167.38, P<0.01$ ), 3-MA+40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组 (0.54 $\pm$ 0.00) 与 40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组比较, Bcl-2 表达上调 ( $P<0.01$ )。实验结果进一步说明, Res 能在分子水平上增加自噬重要蛋白 Beclin1 的表达, 降低凋亡蛋白 Bcl-2 的表达, 且该作用能被 3-MA 部分减弱。

## 3 讨论

自噬是一种真核细胞内进化保守的分解代谢途径, 通过溶酶体降解自身细胞器和细胞质, 从而维持细胞自稳态。然而, 过度激活的自噬又可以导致一种非凋亡机制性死亡方式, 称为自噬性细胞死亡。大量证据表明, 自噬水平的异常涉及人类健康和疾病的诸多方面, 包括神经退化、感染和免疫应答、衰老、肝脏疾病以及癌症等<sup>[6]</sup>。在肝癌进程中, 自噬水平同样至关重要。Sun 等<sup>[7]</sup>实验证实, 在大鼠肝癌诱导模型中, 在肝细胞发育不良阶段, 基底自噬作为肿瘤抑制因子, 通过去除损伤的线粒体和突变的细胞, 从而保持基因组稳定性; 一旦肿瘤形成, 自噬水平失衡将有助于肝癌细胞的存活, 反过来促进肿瘤生长。Res 主要存在于中药虎杖、花生、葡萄等植物中, 具有广泛

的生物学活性<sup>[8]</sup>。近期研究表明 Res 还是一种天然的自噬调节剂, 可以调控 AMPK/SIRT1 及 mTOR 自噬信号通路, 诱导保护性自噬的发生, 发挥预防和治疗阿尔茨海默病的作用<sup>[9]</sup>; 在肝脏中, 被证实能调控 SIRT1 相关信号通路而激活自噬抑制肝细胞脂肪变性, 改善非酒精性脂肪性肝病<sup>[10]</sup>。本研究通过进行自噬特异性 MDC 染色和检测自噬调控基因 Beclin1 的表达, 发现 40 $\mu\text{mol/L}$  Res 组自噬体明显增多, 且 20、40、80 $\mu\text{mol/L}$  Res 组 Beclin1 表达逐渐增加, 证实了 Res 诱导肝癌 HepG2 细胞自噬的发生。同时, 3-MA 联合 Res 后明显减弱了其增殖抑制和诱导凋亡作用, 可见自噬在 Res 发挥抗肿瘤效应中具有重要意义。

Beclin1 在多种肿瘤组织中低表达, 被认为是一种潜在的抑癌基因。在 Beclin1 +/- 突变小鼠模型中, 观察到自发性恶性肿瘤例如肝癌、淋巴瘤、肺癌等发生率更高<sup>[11,12]</sup>。Beclin1 作为酵母自噬基因 Atg6/Vps30 的同源基因, 是调节自噬的关键靶点基因之一, 主要通过 III 型磷酸肌醇-3-激酶 (class III phosphoinositide 3-kinase, PI3K3C/Vps34)、Rubicon 蛋白等分子结合成复合物, 在自噬体的形成与成熟阶段发挥重要作用。它主要由三个重要的结构域组成: 与 Bcl-2 结合结构域 (Bcl-2-homology 3, BH3)、中央螺旋结构域 (central coiledcoil domain, CCD) 和进化保守结构域 (evolutionarily conserved domain, ECD)。其中 BH3 结构域可以与抗凋亡蛋白 Bcl-2 的 BH3 结合槽结合, 形成 Beclin1/Bcl-2 复合体, 参与自噬与凋亡之间的交互调控中<sup>[13]</sup>。研究证实, Beclin1 通过与 Bcl-2 结合形成 Beclin1/Bcl-2 复合体竞争性地阻断 Beclin1 与 Vps34 结合负向调控自噬的发生<sup>[14]</sup>; 而当 c-Jun N 端激酶 (c-Jun NH2-terminal kinase, JNK) 介导的 Bcl-2 磷酸化或死亡相关蛋白激酶 1 (death-associated protein kinase-1, DAPK1) 介导的 Beclin1 磷酸化, 调控 Beclin1/Bcl-2 复合体解离, 又会激活自噬发生<sup>[15,16]</sup>。总之, Beclin1/Bcl-2 复合体作为凋亡和自噬两种重要程序性死亡途径的连接点, 在肿瘤进程中发挥重要作用。

本研究中, 20、40、80 $\mu\text{mol/L}$  Res 处理 HepG2 细胞 48h 后, 检测发现 Beclin1 表达上调、同时 Bcl-2 表达下调, 提示 Res 可能是干扰了 Beclin1/Bcl-2 复合体的结合, 诱导自噬同时促进凋亡发生。而 3-MA

作为自噬特异性抑制剂,主要是通过抑制 Beclin1/Vps34 复合体的结合来抑制自噬体形成,联合 Res 处理 HepG2 细胞后,Res 抑制增殖和促凋亡的作用被减弱,Beclin1 表达下调、Bcl-2 表达上调,进一步证实了我们的结论。

综上所述,Res 可通过诱导 HepG2 细胞自噬发挥抑制增殖和促进凋亡的作用,其机制可能与作用于 Beclin1/Bcl-2 复合体有关。

## 参考文献:

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Chen WQ, Zheng RS, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] Schlachterman A, Jr CW, Hilgenfeldt E, et al. Current and future treatments for hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(28): 8478.
- [4] Lee IH, Cao L, Mostoslavsky R, et al. A role for the nad-dependent deacetylase sirt1 in the regulation of autophagy [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(9): 3374-3379.
- [5] Liu L, Liao JZ, He XX, et al. The role of autophagy in hepatocellular carcinoma: friend or foe[J]. Oncotarget, 2017, 8(34): 57707-57722.
- [6] Mizushima N, Levine B, Cuervo AM. Autophagy fights disease through cellular self-digestion [J]. Nature, 2008, 451(7182): 1069-1075.
- [7] Sun K, Guo XL, Zhao QD, et al. Paradoxical role of autophagy in the dysplastic and tumor-forming stages of hepatocarcinoma development in rats [J]. Cell Death Dis, 2013, 4(2): e501.
- [8] Rauf A, Imran M, Suleria HAR, et al. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol [J]. Food Funct, 2017, 8(12): 4284-4305.
- [9] Kou X. Resveratrol as a natural autophagy regulator for prevention and treatment of alzheimer's disease[J]. Nutrients, 2017, 9(9): E927.
- [10] Zhang Y, Chen ML, Zhou Y, et al. Resveratrol improves hepatic steatosis by inducing autophagy through the cAMP signaling pathway [J]. Mol Nutr Food Res, 2015, 59(8): 1443-1457.
- [11] Yue Z, Jin S, Yang C, et al. Beclin 1, an autophagy gene essential for early embryonic development, is a haploinsufficient tumor suppressor [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(25): 15077-15082.
- [12] Qu X, Yu J, Bhagat G, et al. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene [J]. J Clin Invest, 2003, 112(12): 1809-1820.
- [13] Decuypere JP, Parys JB. Regulation of the autophagic bcl-2/beclin1 interaction[J]. Cells, 2012, 1(3): 284-312.
- [14] Pattingre S, Tassa A, Qu X, et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit beclin1-dependent autophagy [J]. Cell, 2005, 122(6): 927-939.
- [15] Zhong L, Shu W, Dai W, et al. Reactive oxygen species-mediated c-Jun NH2-terminal kinase activation contributes to hepatitis B virus X Protein-induced autophagy via regulation of the Beclin-1/Bcl-2 interaction.[J]. J Virol, 2017, 91(15): e00001-e000017.
- [16] Pun NT. Adiponectin inhibits inflammatory cytokines production by beclin-1 phosphorylation and bcl-2 mRNA destabilization: Role for autophagy induction[J]. Br J Pharmacol, 2018, 175(7): 1066-1084.