

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2019)27-02-0120-06

糖尿病大鼠主动脉自噬水平的变化及雷帕霉素的干预作用

石文姣, 袁瑞霞, 郭志新

(山西医科大学第二医院内分泌科, 山西省太原市 030001)

[关键词] 糖尿病; 自噬; 雷帕霉素; 内质网应激; 细胞凋亡

[摘要] **目的** 观察糖尿病大鼠主动脉自噬水平的变化及雷帕霉素的干预作用, 探讨雷帕霉素是否通过调节自噬、内质网应激和细胞凋亡对糖尿病大鼠主动脉产生保护作用。**方法** 雄性 SD 大鼠用随机数字表法分为正常对照组、糖尿病组和雷帕霉素干预组。采用链脲佐菌素制备 1 型糖尿病大鼠模型。雷帕霉素干预组给予雷帕霉素 2 mg/(kg·d) 灌胃。于实验第 8 周留取血标本, 用于血生物化学指标和脂联素水平检测, 然后处死动物并迅速取出胸主动脉和腹主动脉, 测定主动脉 Beclin1、微管相关蛋白轻链 3 (LC3)、p62、C/EBP 同源蛋白 (CHOP)、Caspase-12、葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、Bax 和 Bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达。**结果** 与正常对照组比较, 糖尿病组大鼠血清脂联素水平显著降低 ($P<0.05$), 主动脉壁增厚, 内皮严重受损, 主动脉 Beclin1、LC3 的 mRNA 和蛋白表达水平及 Bcl-2 mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.05$), 主动脉 p62、CHOP、Caspase-12 和 GRP78 的 mRNA 和蛋白表达水平及 Bax mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$)。与糖尿病组比较, 雷帕霉素干预组大鼠血清脂联素水平显著升高 ($P<0.05$), 主动脉组织病理改变显著减轻, 主动脉 Beclin1、LC3 的 mRNA 和蛋白表达水平及 Bcl-2 mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$), 主动脉 p62、CHOP、Caspase-12 和 GRP78 的 mRNA 和蛋白表达水平及 Bax mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.05$)。**结论** 糖尿病大鼠主动脉组织自噬水平降低, 雷帕霉素可能通过激活自噬和减轻内质网应激和细胞凋亡水平对糖尿病大鼠主动脉产生保护作用。

[中图分类号] R587

[文献标识码] A

Expression of autophagy level in the aorta of diabetic rats and the intervention effect of rapamycin

SHI Wenjiao, YUAN Ruixia, GUO Zhixin

(Department of Endocrinology, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

[KEY WORDS] diabetes mellitus; autophagy; rapamycin; endoplasmic reticulum stress; cell apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the expression of autophagy level in the aorta of type 1 diabetic rats and the intervention effect of rapamycin, and determine whether rapamycin has a protective effect on the aorta of diabetic rats by regulating autophagy, endoplasmic reticulum stress, and apoptosis. **Methods** Male SD rats were randomly divided into three groups: normal control group, diabetes mellitus group, and rapamycin intervention group. Diabetic rats were induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin. The rats in the rapamycin intervention group were given rapamycin in a dose of 2 mg/kg once a day by gavage. After rapamycin treatment for 8 weeks, blood samples were collected for biochemical indicators and adiponectin detection. The protein or mRNA expression of Beclin1, microtubule-associated protein light chain 3 (LC3), p62, C/EBP homologous protein (CHOP), Caspase-12, glucose-regulated protein 78 (GRP78), Bax and Bcl-2 were assayed by Western blot or real-time fluorescence quantitative PCR. **Results** Compared with normal control group, the level of serum adiponectin in diabetic rats was significantly decreased ($P<0.05$), aortic wall was thicker, endothelium was severely damaged, the mRNA and protein expression of Beclin1 and LC3 and the mRNA expression of Bcl-2 in aorta were significantly decreased ($P<0.05$), and the mRNA and protein expression of p62, CHOP, Caspase-12 and GRP78 and the mRNA expression of Bax in aorta were significantly increased ($P<0.05$). Compared with diabetes mellitus group, the level of serum adiponectin in rapamycin intervention group was significantly

[收稿日期] 2018-08-04

[修回日期] 2018-09-25

[基金项目] 山西省国际科技合作项目(201703D421032)

[作者简介] 石文姣, 硕士研究生, 研究方向为糖尿病及其慢性并发症, E-mail 为 2394425757@qq.com。通信作者郭志新, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为糖尿病及其慢性并发症, E-mail 为 zhxguo1966@163.com。

increased ($P<0.05$), the pathological changes of aorta tissue were significantly alleviated, the mRNA and protein expression of Beclin1 and LC3 and the mRNA expression of Bcl-2 in aorta were significantly increased ($P<0.05$), and the mRNA and protein expression of p62, CHOP, Caspase-12 and GRP78 and the mRNA expression of Bax in aorta were significantly decreased ($P<0.05$).

Conclusions The level of autophagy in aorta tissue of diabetic rats decreased. Rapamycin may protect the aorta of diabetic rats by activating autophagy and alleviating endoplasmic reticulum stress and cell apoptosis.

糖尿病是一种以持续血糖升高为特征的代谢紊乱性疾病,心、脑及外周动脉等大血管发生病变是糖尿病致残、致死的主要原因,其主要病理特征是动脉粥样硬化^[1]。越来越多的研究表明,内质网应激、氧化应激与糖尿病及其血管并发症之间关系密切^[2-3]。自噬是细胞利用溶酶体降解自身受损的细胞器和大分子物质的过程,以维持细胞自身内环境的自身稳定^[4]。研究发现,自噬在糖尿病及其心血管、肾脏及视网膜并发症中发挥重要的作用^[5]。自噬受损能够加速动脉粥样硬化形成而自噬恢复能够稳定动脉粥样硬化斑块^[6]。但自噬在 1 型糖尿病大鼠主动脉中的表达情况及雷帕霉素干预后对其表达的影响目前国内外尚未见报道。本研究旨在观察 1 型糖尿病大鼠主动脉自噬水平的变化及雷帕霉素的干预作用,探讨雷帕霉素是否通过调节自噬、内质网应激和细胞凋亡对糖尿病大鼠主动脉产生保护作用,从而为临床防治糖尿病大血管病变提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 糖尿病大鼠模型的建立及分组

SPF 级 6 周龄雄性 SD 大鼠 36 只(由中国辐射防护研究院提供),体质量(200 ± 20) g,适应性喂养 1 周后按随机数字表法分为正常对照组($n=10$)和糖尿病造模组($n=26$)。糖尿病造模组给予链脲佐菌素(购自美国 Sigma 公司,将其溶解于 4℃、pH4.5 柠檬酸缓冲液) 60 mg/kg 腹腔注射,72 h 后从尾静脉取血,禁食血糖 ≥ 16.7 mmol/L,并稳定 3 天,即为造模成功。共有 23 只大鼠造模成功,将造模成功的 23 只大鼠按随机数字表法分为糖尿病组($n=11$)和雷帕霉素干预组($n=12$)。雷帕霉素干预组给予 2 mg/(kg·d)雷帕霉素(上海生工生物工程股份有限公司)灌胃^[7],正常对照组和糖尿病组给予等量生理盐水灌胃,共干预 8 周。实验经山西医科大学实验动物伦理委员会批准。

1.2 标本收集

雷帕霉素干预 8 周后,所有大鼠于实验结束前

1 天禁食 10~12 h 后称体质量,留取血标本用于检测血糖、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)和脂联素水平。采血后处死大鼠,迅速取出胸主动脉和腹主动脉,用生理盐水冲洗干净并用滤纸吸干水分后称重。取部分动脉组织用 10% 中性福尔马林液固定,用于 HE 染色。其余动脉组织迅速投入液氮中,冻透后储藏于 -70℃ 冰箱待用。

1.3 大鼠血液指标检测

血糖采用葡萄糖氧化酶法测定,血清总胆固醇(total cholesterol, TC)和甘油三酯(triglyceride, TG)采用酶偶联比色法测定(试剂盒购自南京建成生物工程研究所),血清脂联素采用 ELISA 测定(试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司)。

1.4 大鼠主动脉组织形态学观察

动脉组织用 10% 中性福尔马林固定,乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,制成 5 μ m 厚切片,经 HE 染色,脱水透明封固,于光镜下观察大鼠动脉组织形态学改变。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测 p62、CHOP、Caspase-12、GRP78、Bax 及 Bcl-2 mRNA 表达

取 30 mg 主动脉组织,用 Trizol 提取总 RNA,反转录成 cDNA,采用实时荧光定量 PCR 仪进行扩增。PCR 扩增条件:95℃ 预变性 3 min,95℃ 变性 20 s,60℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,共循环 40 次。25 μ L PCR 反应体系包括:12.5 μ L SYBR(包括 dTNP、10×缓冲液、rTaqDNA 聚合酶及 $MgCl_2$)、2 μ L 引物、2 μ L cDNA 和 8.5 μ L 去离子水。目的基因表达阳性的标本荧光定量扩增曲线呈 S 形,从荧光定量 PCR 仪系统中读取 Ct 值。以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示样品中目的基因 mRNA 相对于对照组的表达量。基因引物序列见表 1。

1.6 Western blot 检测 LC3、Beclin1、p62、CHOP、Caspase-12 及 GRP78 蛋白表达

从主动脉组织中提取蛋白,用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。取 40 μ g 蛋白上样到 SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,将蛋白条带转印到 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉室温封闭 3 h,加入一抗 Beclin1

表 1. 引物序列

Table 1. Primer sequence

基因名称	上游引物序列	下游引物序列
GRP78	5'-TCAGCCCACCGTAA-CAATCAAG-3'	5'-TCCAGTCAGATCAAAT-GTACCCAGA-3'
CHOP	5'-TGGAAGCCTGGTAT-GAGGATCTG-3'	5'-GAGGTGCTTGTGAC-CTCTGCTG-3'
Caspase-12	5'-CAATTCCGACAAA-CAGCTGAGTTTA-3'	5'-CATGGGCCACTCCAA-CATTAC-3'
p62	5'-TGAAGGCTATTACAGC-CAGAGTCAA-3'	5'-CCTTCAGTGATGGCCT-GGTC-3'
Bax	5'-GTTACAGGGTTTCATC-CAGG-3'	5'-CGTGCCACGTCAGCAAT-3'
Bcl-2	5'-CGGGAGAACAGGG-TATGA-3'	5'-CAGGCTGGAAG-GAGAAGAT-3'
GAPDH	5'-GGCACAGTCAAGGCT-GAGAATG-3'	5'-ATGGTGCTGAAGACGC-CAGTA-3'

(1 : 2000)、LC3 (1 : 2000)、p62 (1 : 1000)、CHOP (1 : 2000)、Caspase-12 (1 : 1000)、GRP78 (1 : 2000)和 GAPDH (1 : 2000) (均购自 Abcam 公司),于 4 ℃摇床过夜。加入二抗(1 : 5000 稀释,购自博士德生物工程有限公司),室温孵育 2 h。加入增强化学显影剂 (ECL) 显影,凝胶自动成像仪扫描图像,Image Lab 软件对条带进行定量分析。

表 2. 各组大鼠体质量和血液指标比较

Table 2. Comparison of body mass and blood indexes of rats in each group

分组	n	血糖 (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	体质量 (g)	脂联素 (mmol/L)
正常对照组	10	6.81±0.64	1.95±1.97	2.44±0.72	536.88±14.09	2.21±0.69
糖尿病组	11	26.05±3.04 ^a	2.92±0.48 ^a	4.92±1.33 ^a	269.02±57.31 ^a	1.29±0.59 ^a
雷帕霉素干预组	12	26.73±3.72 ^a	3.23±0.87 ^a	4.48±1.28 ^a	177.25±20.83 ^{ab}	2.40±0.57 ^b

a 为 $P<0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P<0.05$,与糖尿病组比较。

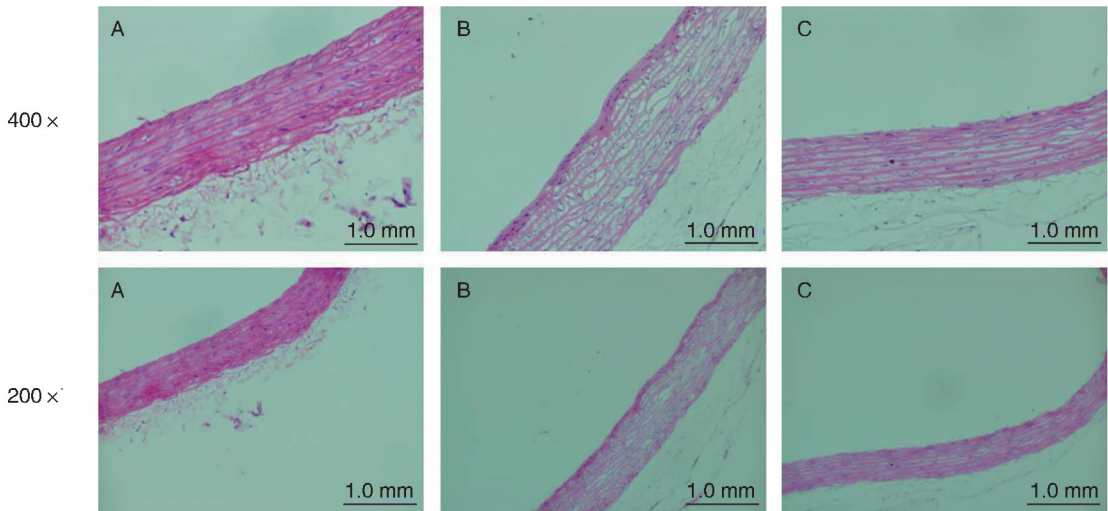


图 1.各组大鼠主动脉组织 HE 染色结果 A 为正常对照组,B 为糖尿病组,C 为雷帕霉素干预组。

Figure 1. Results of HE staining in aorta tissue of rats in each group

1.7 统计学分析

所有数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠体质量和血液指标比较

与正常对照组比较,糖尿病组大鼠体质量和血清脂联素水平显著降低 ($P<0.05$),血糖、TC 和 TG 水平显著升高 ($P<0.05$)。与糖尿病组比较,雷帕霉素干预组大鼠体质量显著降低 ($P<0.05$),血清脂联素水平显著升高 ($P<0.05$),而血糖、TC 和 TG 差异无统计学意义 ($P>0.05$;表 2)。

2.2 大鼠主动脉组织形态学变化

主动脉组织 HE 染色结果显示,正常对照组大鼠主动脉壁层次清晰,内膜平滑完整,动脉中膜平滑肌细胞排列整齐,纤维走行正常;糖尿病组大鼠主动脉壁增厚,细胞核增多且排列紊乱,内皮细胞肿胀,有的甚至脱落、坏死,动脉中膜平滑肌细胞排列混乱,弹力纤维走行紊乱;雷帕霉素干预组大鼠主动脉有轻微病理改变,但内膜光滑完整(图 1)。

2.3 大鼠主动脉自噬水平的变化

与正常对照组比较,糖尿病组大鼠主动脉 LC3 II/I 和 Beclin1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$), p62 蛋白和 mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$),表明糖尿病大鼠主动脉自噬水平受到抑制。雷帕霉

素干预治疗能够显著逆转糖尿病大鼠主动脉上述指标的变化,表明雷帕霉素能够诱导糖尿病大鼠主动脉自噬相关指标的表达,提高主动脉自噬水平,减轻糖尿病大鼠主动脉损伤(图 2)。

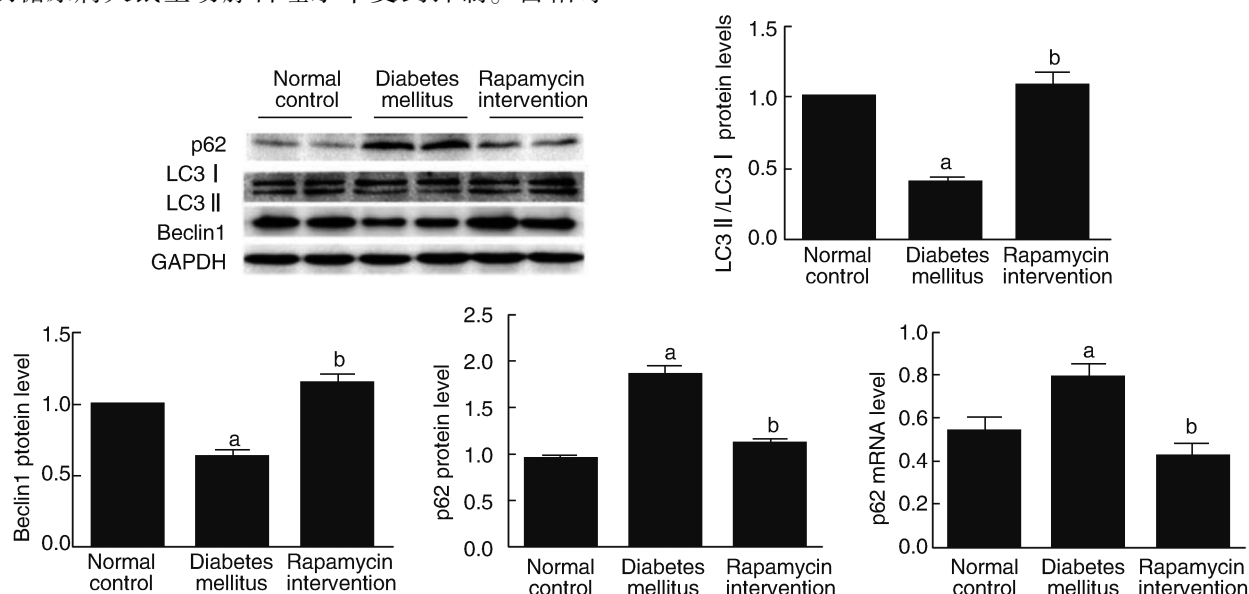


图 2. 各组大鼠自噬指标 LC3、Beclin1 和 p62 的表达 a 为 $P<0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P<0.05$,与糖尿病组比较。

Figure 2. Expression of autophagy-related markers LC3, Beclin1, and p62 in each group

2.4 大鼠主动脉内质网应激水平的变化

与正常对照组比较,糖尿病组大鼠主动脉 GRP78、CHOP 和 Caspase-12 蛋白和 mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$),表明糖尿病大鼠主动脉内质网

应激水平显著升高。雷帕霉素干预后,大鼠主动脉 GRP78、CHOP 和 Caspase-12 蛋白和 mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.05$),提示雷帕霉素可能通过降低内质网应激水平减轻糖尿病大鼠主动脉损伤(图 3)。

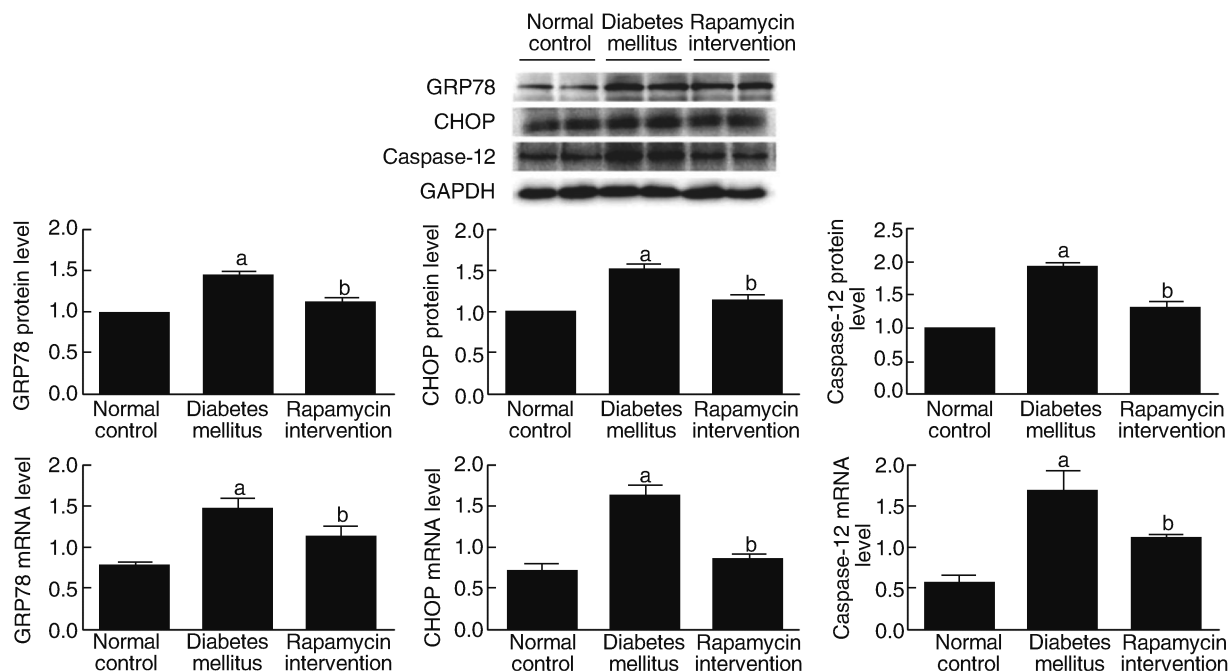


图 3. 各组大鼠内质网应激指标 CHOP、Caspase-12 和 GRP78 的表达 a 为 $P<0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P<0.05$,与糖尿病组比较。

Figure 3. Expression of endoplasmic reticulum stress-related markers CHOP, Caspase-12, and GRP78 in each group

2.5 大鼠主动脉组织细胞凋亡水平的变化

与正常对照组比较,糖尿病组大鼠主动脉 Bax mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$), Bcl-2 mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.05$),表明糖尿病大鼠主动脉组织细胞凋亡水平升高。雷帕霉素干预后,大鼠主动脉 Bax mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.05$), Bcl-2 mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.05$),提示雷帕霉素可能通过减少组织细胞凋亡水平减轻糖尿病大鼠主动脉损伤(图4)。

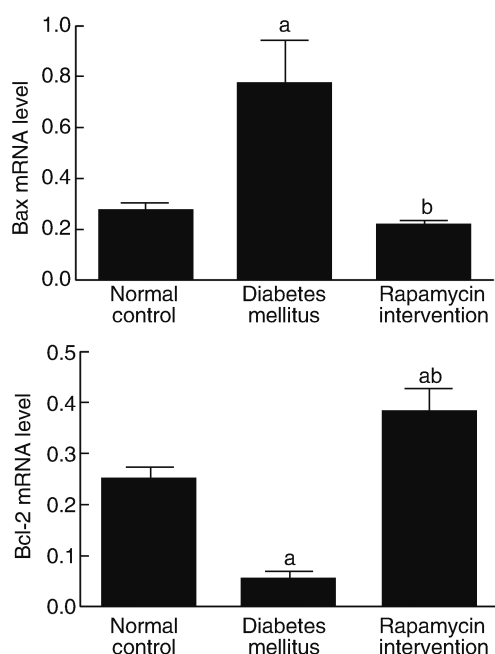


图4. 各组大鼠细胞凋亡指标 Bax 和 Bcl-2 的表达 a 为 $P<0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P<0.05$,与糖尿病组比较。

Figure 4. Expression of apoptosis-related markers Bax, and Bcl-2 in each group

3 讨论

本研究结果发现,链脲佐菌素诱导的1型糖尿病大鼠主动脉自噬水平降低,内质网应激和细胞凋亡水平升高,病理改变明显,经自噬诱导剂雷帕霉素干预后能够显著逆转上述水平。表明激活自噬可降低糖尿病大鼠主动脉内质网应激和细胞凋亡水平,提示雷帕霉素对糖尿病大鼠主动脉有一定的保护作用。

糖尿病相关的大血管病变已经成为糖尿病患者致死、致残的主要原因,其主要病理特征是动脉粥样硬化^[1]。引起糖尿病血管功能和结构异常的主要因素包括内皮细胞功能障碍、血管顺应性减低和动脉粥样硬化^[8]。自噬是真核生物细胞内一种

保守的溶酶体依赖性降解过程,在多种病理学中起着适应性作用^[9]。研究表明自噬的调节异常可以引起动脉粥样硬化的发生^[6,10]。自噬缺乏与糖尿病内皮细胞功能障碍密切相关^[11]。本研究中,链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠主动脉壁增厚,内皮严重受损,自噬相关蛋白 LC3 II/I 和 Beclin1 表达降低, p62 表达增加,提示糖尿病大鼠主动脉损伤可能与自噬受到抑制有关。而雷帕霉素干预后能够提高自噬水平并显著改善受损的主动脉,表明雷帕霉素可能通过激活自噬对糖尿病大鼠主动脉发挥保护作用。

据报道,糖尿病能够诱导血管细胞发生内质网应激和细胞凋亡^[12]。糖尿病患者内质网应激水平的升高促进了动脉粥样硬化病变的发展^[13],持续存在高水平内质网应激时,GRP78 通过促进 CHOP 转录诱导,激活酶原形式的 Caspase-12 而启动细胞凋亡过程,诱导细胞凋亡^[14-15]。本研究结果显示,糖尿病大鼠主动脉内质网应激相关因子 CHOP、Caspase-12 和 GRP78 表达增加,抗凋亡因子 Bcl-2 表达减少,促凋亡因子 Bax 表达增加,提示糖尿病大鼠主动脉内质网应激水平增加促进了主动脉细胞凋亡,加重了糖尿病主动脉病变。此外,雷帕霉素能够显著逆转上述各项指标的变化,提示雷帕霉素通过降低内质网应激水平减少细胞凋亡,对糖尿病大鼠主动脉产生保护作用。

雷帕霉素是从吸水性链球菌发酵液中提取出来的一种低毒性大环内酯类抗生素,作为一种新型免疫抑制剂多用于器官移植术后急/慢排斥反应的防治^[16]。雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是存在于哺乳动物体内的一种非典型的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,其信号通路能有效调控动脉粥样硬化的发生和发展^[17]。雷帕霉素受体为 FK 结合蛋白 12(FK binding protein-12, FKBP-12),雷帕霉素通过与 FKBP-12 结合形成复合体,通过与 mTOR 结合导致 mTOR 失活,从而激活自噬^[16]。研究发现,雷帕霉素抑制 mTORC1 信号通路能够减轻内质网应激反应^[18-19]。mTORC1 抑制剂能够激活自噬并阻止内质网应激诱导的 β 细胞破坏和凋亡^[20]。因此,内质网应激增强和自噬抑制会引起疾病的发生。然而,在各种各样的条件下,内质网应激和自噬之间复杂的关系还需要进一步研究。

既往研究发现,脂联素可刺激机体自噬并减少氧化应激水平从而增加高脂饮食所致的肥胖小鼠对胰岛素的敏感性^[21]。敲除脂联素的老年雄性小鼠在压力超负荷时心功能紊乱与自噬缺乏有关^[22]。本研究结果显示,糖尿病大鼠主动脉自噬水平降低

伴随着血清脂联素水平降低,雷帕霉素干预后血清脂联素水平升高伴随着主动脉自噬水平升高,推测糖尿病大鼠主动脉自噬水平降低可能与低脂联素水平有关。本研究中,雷帕霉素干预后未能显著改善糖尿病大鼠血糖和血脂水平,且大鼠体质量较糖尿病组进一步降低,这是由于雷帕霉素能够减少脂肪细胞的直径,降低脂肪细胞含量从而减轻大鼠体质量,且雷帕霉素对胃肠道有一定的不良反应^[23]。此外,还可能与雷帕霉素的使用剂量、作用时间及给药方式有关,要探讨雷帕霉素对糖尿病大鼠上述指标的改变尚需要进一步研究。

综上所述,糖尿病大鼠主动脉自噬水平降低,内质网应激和细胞凋亡水平升高,雷帕霉素可能通过增强自噬以及减轻内质网应激和细胞凋亡水平对糖尿病大鼠主动脉产生保护作用。

[参考文献]

- [1] Rao Kondapally Seshasai S, Kaptoge S, Thompson A, et al. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(9): 829-841.
- [2] Vedantham S, Ananthakrishnan R, Schmidt AM, et al. Aldose reductase, oxidative stress and diabetic cardiovascular complications[J]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2012, 10(3): 234-240.
- [3] 胡小磊, 陈凤玲. 巨噬细胞内质网应激与糖尿病大血管病变[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2013, 33(4): 269-272.
- [4] Levine B, Klionsky DJ. Development by self-digestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy[J]. *Dev Cell*, 2004, 6(4): 463-477.
- [5] 屈岭, 梁晓春. 自噬对糖尿病慢性并发症的影响[J]. *基础医学与临床*, 2013, 33(5): 577-580.
- [6] Zhai C, Cheng J, Mujahid H, et al. Selective inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway regulates autophagy of macrophage and vulnerability of atherosclerotic plaque[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e90563.
- [7] Paschoal VA, Amano MT, Belchior T, et al. mTORC1 inhibition with rapamycin exacerbates adipose tissue inflammation in obese mice and dissociates macrophage phenotype from function[J]. *Immunobiology*, 2017, 222(2): 261-271.
- [8] Tabas I, Garcíacardeña G, Owens GK. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis[J]. *J Cell Biol*, 2015, 209(1): 13-22.
- [9] Singh R, Kaushik S, Wang Y, et al. Autophagy regulates lipid metabolism[J]. *Nature*, 2009, 458(6): 1131-1135.
- [10] Choi AM, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(7): 651-662.
- [11] Fetterman JL, Holbrook M, Flint N, et al. Restoration of autophagy in endothelial cells from patients with diabetes mellitus improves nitric oxide signaling[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 247: 207-217.
- [12] Beriault DR, Werstuck GH. The role of glucosamine-induced ER stress in diabetic atherogenesis[J]. *Exp Diabetes Res*, 2012, 2012(22): 187018.
- [13] Werstuck GH, Khan MI, Femia G, et al. Glucosamine-induced endoplasmic reticulum dysfunction is associated with accelerated atherosclerosis in a hyperglycemic mouse model[J]. *Diabetes*, 2006, 55(1): 93-101.
- [14] Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, et al. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis[J]. *EMBO Rep*, 2006, 7(9): 880-885.
- [15] 景怡, 蔡丹凤, 林超, 等. 慢性内质网应激诱导的凋亡在动脉粥样硬化斑块形成中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(9): 957-962.
- [16] Hartford CM, Ratain MJ. Rapamycin: something old, something new, sometimes borrowed and now renewed[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2007, 82(4): 381-388.
- [17] 胡木, 张永生, 孔柄坛, 等. mTOR 信号通路对动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(12): 1269-1272.
- [18] Ozcan U, Ozcan L, Yilmaz E, et al. Loss of the tuberous sclerosis complex tumor suppressors triggers the unfolded protein response to regulate insulin signaling and apoptosis[J]. *Mol Cell*, 2008, 29(5): 541-551.
- [19] Li H, Min Q, Ouyang C, et al. AMPK activation prevents excess nutrient-induced hepatic lipid accumulation by inhibiting mTORC1 signaling and endoplasmic reticulum stress response[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(9): 1844-1854.
- [20] Demirtas L, Guclu A, Erdur FM, et al. Apoptosis, autophagy & endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus[J]. *Indian J Med Res*, 2016, 144(4): 515-524.
- [21] Liu Y, Palanivel R, Rai E, et al. Adiponectin stimulates autophagy and reduces oxidative stress to enhance insulin sensitivity during high-fat diet feeding in mice[J]. *Diabetes*, 2015, 64(1): 36-48.
- [22] Jahng JW, Turdi S, Kovacevic V, et al. Pressure overload-induced cardiac dysfunction in aged male adiponectin knockout mice is associated with autophagy deficiency[J]. *Endocrinology*, 2015, 156(7): 2667-2677.
- [23] Rovira J, Arellano EM, Burke JT, et al. Effect of mTOR inhibitor on body weight: from an experimental rat model to human transplant patients[J]. *Transpl Int*, 2010, 21(10): 992-998.

(此文编辑 文玉珊)