doi:10.11659/jjssx.01E018057

·基础研究·

# 芬太尼对肺癌细胞生物学行为的影响

曾 渊[1],杭 博[2],蔺建科[1],毛延坤[1] (1.西安市第三医院麻醉科,陕西 西安 710008;2.兵器工业521医院麻醉科,陕西 西安 710065)

[摘 要] **目的** 探讨芬太尼对肺癌细胞的生物学行为的影响及其机制。**方法** Western blotting检测芬太尼促进A549细胞的自噬的影响情况;ROS诱导芬太尼诱导的A549细胞自噬情况;LysoTracker和MDC染色实验检测芬太尼影响自噬的情况;Western blotting检测ROS激活JNK途径影响芬太尼诱导自噬;裸鼠体外成瘤能力检测芬太尼对其的影响。**结果** LC3-Ⅱ的表达水平以浓度依赖性方式增加,且随着时间进展,48 h时的LC3-Ⅱ的表达转化水平明显强于24 h;NAC抑制芬太尼诱导的ROS产生,影响LC3-Ⅱ和Beclin-1的表达情况,芬太尼与抗氧化剂NAC联合应用的效果更佳;芬太尼和非氧化物联合应用可以增强A549细胞的自噬行为;ROS/JNK参与芬太尼诱导肺癌细胞相关的自噬行为;芬太尼可以抑制肺癌细胞裸鼠体外成瘤能力。**结论** 芬太尼可以通过影响肺癌细胞自噬干扰其生物学行为。

[关键词] 芬太尼;肺癌;自噬;ROS

[中图分类号] R34;R734.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2018-01-13

## Effect of fentanyl on the biological behavior of lung cancer cells

ZENG Yuan[1], HANG Bo[2], KUAI Jian-ke[1], MAO Yan-kun[1] (1. Department of Anesthesiology, Third Hospital of Xi'an, Xi'an Shaanxi 710008, China; 2. Department of Anesthesiology, the 521 Hospital of Weapons Industry, Xi'an Shaanxi 710065, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of fentanyl on the biological behavior of lung cancer cells and its mechanism. **Methods** Western blotting was used to detect the effect of fentanyl on promoting autophagy in A549 cells, autophagy of ROS induced fentanyl-induced A549 cells; LysoTracker and MDC staining test was used to detect the effect of fentanyl on autophagy; Western blotting was used to detect ROS-activated JNK pathway affecting fentanyl-induced autophagy. The effect of fentanyl on the tumorigenicity in nude mice was examined. **Results** The expression level of LC3-Ⅱ increased in a concentration-dependent manner. With the progress of time, the expression and conversion level of LC3-Ⅱ at 48 hours was significantly higher than that of LC3-Ⅱ at 24 hours. NAC could inhibit the production of ROS induced by fentanyl and affect the expression of LC3-Ⅱ and Beclin-1, and the combination effect of fentanyl and antioxidant NAC was better; fentanyl combined with non-oxide can enhance the autophagy of A549 cells; ROS/JNK participated in fentanyl-induced autophagy in lung cancer cells. Fentanyl could inhibit lung cancer cells in vitro tumorigenicity of nude mice. **Conclusion** Fentanyl can interfere with the biological behavior of lung cancer cells by affecting their autophagy.

**Keywords:** fentanyl; lung cancer; autophagy; ROS

肺癌是世界范围内恶性肿瘤相关死亡中最常见原因之一,也是男性第一常见肿瘤类型,女性第二常见的肿瘤[1]。近年来,肺癌的发病率和病死率逐年上升[2]。肺癌被分类为非小细胞肺癌(NSCLC)和小细胞肺癌(SCLC)两种,其中非小细胞肺癌约占总数的85%,5年生存率仅为15%[3-4]。由于大多数癌症患者都有严重的疼痛,所以缓解疼痛是治疗中的一项基础性任务,而探讨镇痛药物对恶性肿瘤细胞影响作用是目前的研究热点。

使用阿片受体被认为是恶性肿瘤止痛阶梯上的第三步措施,根据WHO指南可以用于减轻晚期癌症患者的疼痛。芬太尼(fentanyl)被广泛用于缓解疼痛和麻醉剂,可以有效地对抗晚期癌症患者的癌症疼痛[5]。近来,阿片类镇痛药对癌症患者的影响日益受到重视。有相关基础研究表明阿片类药物能诱导肿瘤生长,抑制细胞凋亡,促进血管生成[6-7]。然而,芬太尼对肿瘤细胞的自噬行为的影响尚未见报道。

自噬是一种进化上保守的分解代谢过程,涉及通过溶酶体机制降解细胞成分[8]。自噬可以去除和协助代谢废物循环中长期存在的蛋白质,以维持稳定的细胞环境[9]。最近的一项研究报道显示,当细胞通过提供营养物质和能量帮助细胞适应饥饿或压力(如缺氧、X射线和抗癌药物)时,细胞体内压力增加,并促进细胞存活,从而起到保护作用[10]。LC3和Beclin-1是两个参与自噬的关键蛋白。有研究证明芬太尼可以诱导更高水平的LC3-Ⅱ。LC3-Ⅱ的形成被认为是自噬的可靠的生物化学证据,因为LC3-Ⅱ的表达量通常与自噬体的数目相关[11]。另外,Beclin-1表达也以剂量

[通信作者] 毛延坤,E-mail:tangxd6686@sina.com

依赖性方式增加。Beclin-1 在起始步骤中起作用并且是自噬体形成的关键[12]。本实验通过检测芬太尼在肺癌细胞中对其自噬行为的影响,探讨芬太尼在肺癌中的可能作用,为肺癌的临床药物研究进展提供一定的理论指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和抗体

盐酸芬太尼和 DDP 由中国沈阳东北制药集团有限公司提供。N-乙酰-L-半胱氨酸(NAC)购自中国上海碧云天生物技术有限公司,JNK 抑制剂(SP600125),3-MA购自美国 Abcam 生物公司。LC3-Ⅰ、LC3-Ⅱ、Beclin-1、P62 的抗体购自中国武汉 Protein 生物公司。

### 1.2 细胞培养

人非小细胞肺癌细胞系 A549 来源于中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所(中国上海),并保存在补充有 10% 胎牛血清改良的 Eagle 培养基(DMEM)和 1% 青霉素/链霉素,于 37 ℃和 5% $CO_2$ 的湿润细胞培养箱中培养。

### 1.3 细胞活力测定

将细胞($3\times10^3$ 个/孔)接种在 96 孔板中并温育过夜。处理后,将 10 μL 的细胞计数试剂盒-8(CCK-8)试剂加入到每个孔的 90 μL 培养基中,接着进行 2 h 温育,然后使用酶标仪在 450 nm 处测量吸光度。实验重复 3 次。

### 1.4 DAPI 染色

将细胞在玻璃盖玻片上生长。用 PBS 洗涤后,将细胞在 4% 多聚甲醛-PBS 中固定 30 min,然后在 4 ℃下用 0.1% Triton X-100 处理 10 min。然后用 DAPI 染色,用 PBS 洗涤。用倒置共焦显微镜拍摄图像。实验重复 3 次。

### 1.5 Western 印迹分析

用 PBS(pH7.4)洗涤细胞,并在冰上用 2X 浓缩电泳样品缓冲液(125 mM Tris-HCl,pH 6.8,5% 甘油,2% SDS,1% β-巯基乙醇)孵育 30 min。用牛血清白蛋白(BSA)作为标准,用考马斯测定蛋白质浓度,用 8% ~15% SDS-PAGE 分离等份的蛋白质(40 mg)。将蛋白质转移至硝酸纤维素膜(Millipore Corp.,Billerica,MA,USA)上,将其在含 5% 脱脂奶粉的 TBST(含 0.1% Tween-20 的 TBS)中室温封闭 2 h,然后在 4 ℃用在 TBS/T/BSA(50 mM Tris-HCl,pH 8.0,150 mM NaCl,0.05% Tween-20,0.1% BSA)中稀释的各个抗体孵育过夜。用各种抗体对膜进行免疫印迹,然后与辣根过氧化物酶缀合的二抗一起温育。使用增强的化学发光(ECL)检测系统来显现免疫反应条带。实验重复 3 次。

### 1.6 LysoTracker 红色染色和 Monodansylcadaverine(MDC)染色

用 PBS 洗涤 2 次后,单层 A549 细胞用 50 nM LysoTracker Red(Beyotime Institute of Biotechnology)在 5% $CO_2$,37 ℃的无血清 DMEM 中标记 30 min。使用荧光显微镜(Olympus)获得图像。将细胞单层在 2 孔玻璃覆盖的室载玻片中培养 24 h,载玻片用不含血清的培养基洗涤。然后,将细胞暴露于自动荧光染料 50 mM MDC,37 ℃下 10 min,并使用共聚焦激光扫描显微镜观察。实验重复 3 次。

### 1.7 统计学分析

使用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。多组之间的数据比较采用单因素方差分析,使用 Student's $t$ 检验进行组间比较。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

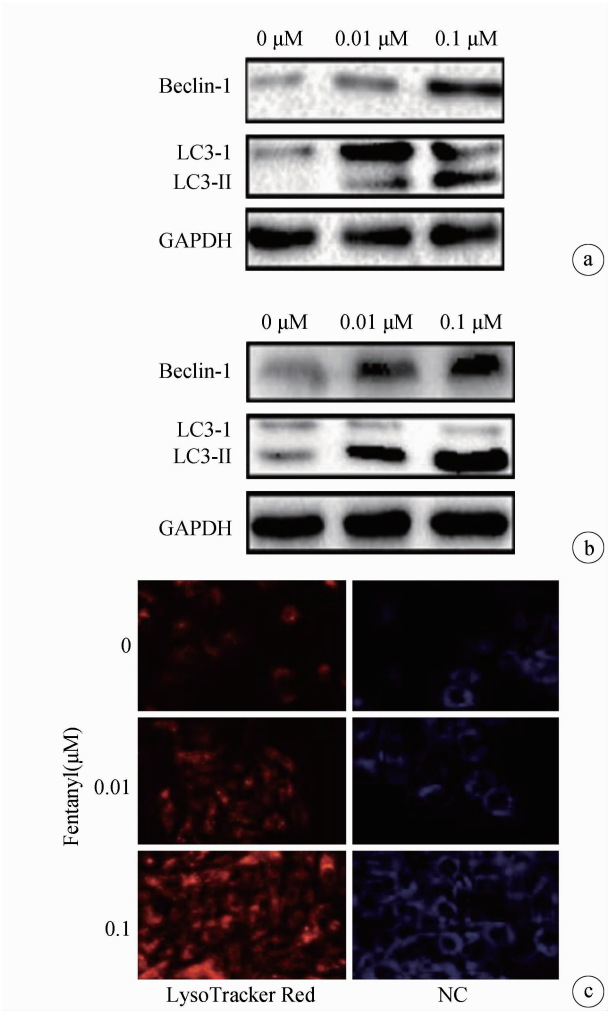
## 2 结果

### 2.1 芬太尼促进 A549 细胞的自噬

LC3(LC3-I)的可溶形式与磷脂酰乙醇胺的偶联和 LC3-I 向非溶解形式(LC3-Ⅱ)的转化已被普遍认为是有用的自噬迹象。为了确定芬太尼是否诱导自噬,我们用两种浓度的芬太尼处理 A549 细胞,通过检查 LC3-Ⅱ的表达水平证实自噬的情况。用芬太尼(0.01 或 0.1 μM)处理后,LC3-Ⅱ的表达水平以浓度依赖性方式增加,且随着时间进展,48 h 时的 LC3-Ⅱ的表达转化水平明显强于 24 h,差异具有统计学意义(图 1a ~ b)。LysoTracker Red 是用于检测自噬行为的荧光物质,常用于检测自噬的发生。与对照组相比,芬太尼在 A549 细胞的细胞质 24 h 恢复点诱发更多的红色斑点和更强的点状荧光,与对照组相比,芬太尼组自噬泡数明显增加(图 1c)。上述结果表明芬太尼促进了 A549 细胞的自噬。

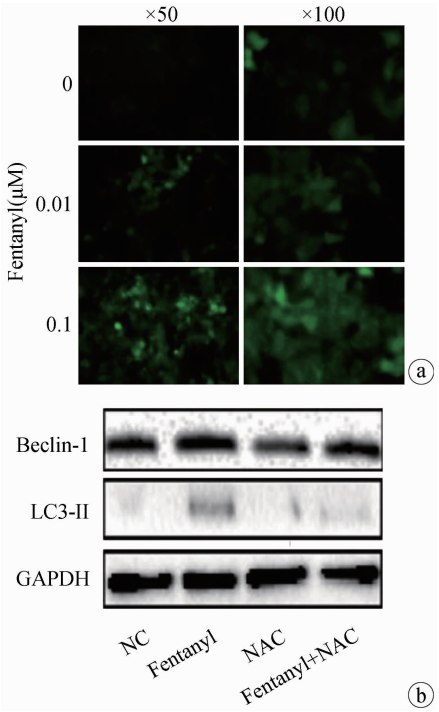
### 2.2 ROS 诱导芬太尼诱导的 A549 细胞自噬

为了研究 ROS 是否在芬太尼诱导的自噬中起作用,使用 DCFH-DA(检测氢过氧化物生成的荧光染料)标记 A549 细胞。与对照细胞相比,暴露于芬太尼 1 d 后过氧化氢增加的 A549 细胞的比例显着增加(图 2a)。与典型的抗氧化剂 NAC(5 mmol/L)预温孵育后显著抑制芬太尼诱导的 ROS 产生,影响 LC3-Ⅱ和 Beclin-1 的表达情况,芬太尼与抗氧化剂 NAC 联合应用的效果更佳(图 2b)。




a:不同浓度芬太尼处理 24 h 后,LC3-Ⅱ蛋白的表达水平;b:不同浓度芬太尼处理 48 h 后,LC3-Ⅱ蛋白的表达水平;c:免疫荧光检测不同浓度的芬太尼对肺癌细胞自噬行为的影响

**图 1 芬太尼促进 A549 细胞的自噬**




a:ROS 在芬太尼诱导自噬中相应的作用;b:芬太尼和抗氧化剂对自噬蛋白 LC3-Ⅱ和 Beclin-1 表达情况的影响

**图 2 ROS 诱导芬太尼诱导的 A549 细胞自噬**

### 2.3 LysoTracker 和 MDC 染色实验检测自噬情况

通过 LysoTracker 和 MDC 染色检测芬太尼和典型抗氧化物诱导肺癌细胞中 ROS 产生情况,结果显示使用芬太尼处理肺癌细胞后,LysoTracker 和 MDC 染色水平明显上调,而使用抗氧化物(NAC)后,自噬水平上调不明显,而同时应用芬太尼和 NAC 后,A549 肺癌细胞的自噬水平明显增强(图 3)。上述结果表明芬太尼可以和非氧化物联合应用可以增强 A549 细胞的自噬行为。

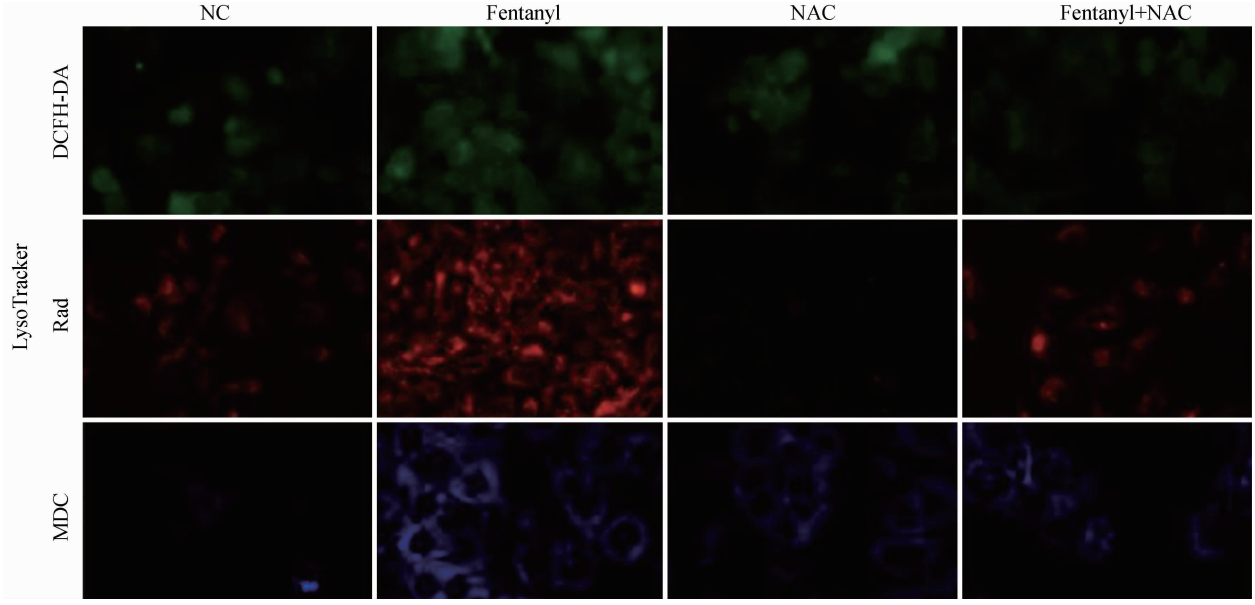


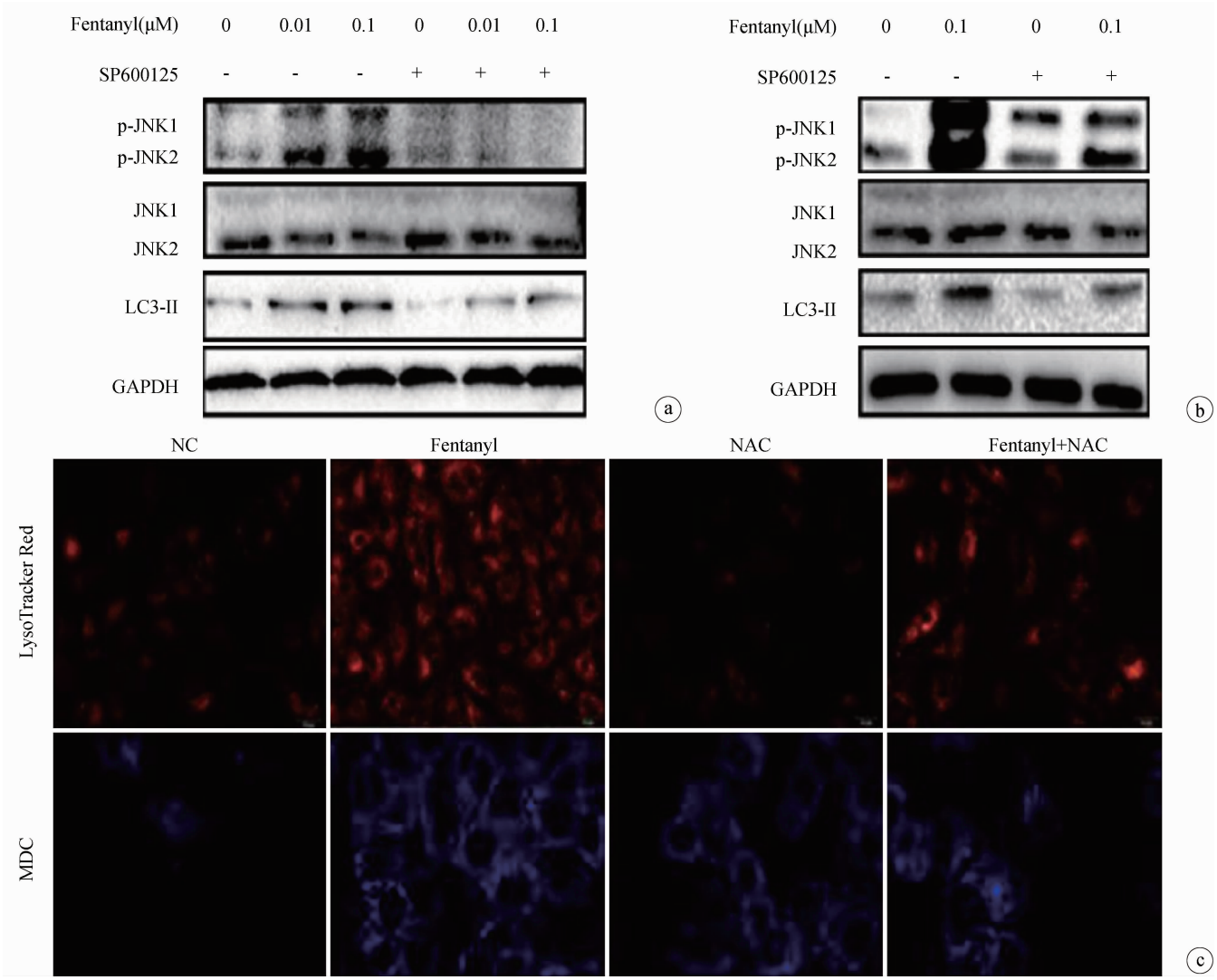

**图 3 LysoTracker 和 MDC 染色实验检测芬太尼对肺癌细胞自噬水平的影响**

2.4 ROS 激活 JNK 途径有助于芬太尼诱导自噬

ROS 是 MAPK 家族成员包括 JNK、p38 和 ERK1/2 激活的诱导剂或介质[13]。本实验观察到芬太尼以浓度依赖性方式诱导 JNK 磷酸化(图 4a～b)。因此,接下来使用芬太尼诱导的自噬是否参与 JNK 途径的激活过程。为此,使用选择性的 JNK 抑制剂 SP600125 预处理有效地抑制了芬太尼诱导的 JNK 途径和 LC3-Ⅱ表达的活化,p-JNK1 和 p-JNK2 的表达水平随芬太尼剂量上调而增高,而加入 SP600125 后,p-JNK1 和 p-JNK2 的表达水平相应的下调。这和 MDC 和 LysoTracker Red 染色产生结果相一致(图 4c)。上述结果表明 ROS/JNK 轴参与芬太尼诱导肺癌细胞相关的自噬行为。

2.5 芬太尼抑制肺癌细胞的体内成瘤情况

通过裸鼠体内成瘤实验检测芬太尼对肺癌 A549 细胞成瘤能力的变化。结果显示,与 NC 组相比,使用芬太尼处理肺癌 A549 细胞后,裸鼠成瘤能力受到一定的抑制,肿瘤的体积和质量相应地缩小,表明芬太尼可以一定程度上干扰肺癌细胞的生长情况(图 5)。



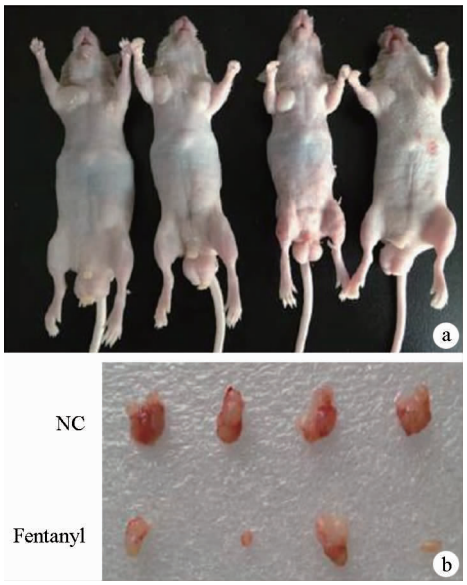

a、b:western blotting 检测芬太尼以浓度依赖性方式诱导 JNK 磷酸化;c:免疫荧光检测 ROS/JNK 轴参与芬太尼诱导肺癌出现相关的自噬行为

**图 4 Western blotting 检测 ROS 和 JNK 途径与肺癌细胞自噬的关系**

## 3 讨论

化疗是治疗早期肺癌的主要方法,尤其是术后辅助化疗。铂类药物是用于治疗肺癌的最常见的化疗药物,其他化疗药物对于中晚期肺癌患者已成为规范化治疗[14]。虽然生存率有所提高,但敏感性下降,这是化疗临床应用的主要障碍[15]。阿片类药物对肿瘤细胞的化学疗法的敏感性的直接影响还没有得到充分的研究。

在全身麻醉过程中常用的芬太尼可以改变人肺癌细胞系对恶性肿瘤化疗的敏感性[16]。越来越多的证据表明,氧化应激,内质网(ER)应激和病原体感染等多种压力条件通过不同的分子途径诱导自噬[17-18]。其中,活性氧(ROS)不仅在细胞生长、分化、增殖和凋亡中发挥信号分子的作用,而且在自噬中也起作




a:肺癌细胞内的体内成瘤;b:裸鼠剥除瘤体比较

**图5 芬太尼抑制肺癌细胞的体内成瘤情况**

用[19]。ROS是细胞代谢活性行为的副产品,此外,ROS影响多种信号传导途径,如MAPK(包括ERK、JNK和p38)信号转导级联[20]。最近,证实p38 MAPK介导自噬反应化疗药物[21]。JNK也被称为应激激活的蛋白激酶,可以涉及细胞凋亡和自噬过程[22]。尤其是ROS可以诱导JNK依赖性自噬还尚未被彻底证实。

恶性肿瘤患者通常需要同时使用镇痛药和抗肿瘤药。因此,研究集中在如何镇痛如何影响抗肿瘤药物的作用是必要的。然而,关于芬太尼在癌细胞化疗耐药中的作用的研究却很少。明确自噬在多种疾病的发病机制中的作用是目前的研究热点,如炎症性肠病,神经元变性,衰老和癌症中的相关作用[23-24]。

一项研究发现,自噬的激活诱导细胞死亡,但是自噬保护了这种效应。通过抑制肿瘤细胞凋亡的抗肿瘤治疗[25]。Bae等[26]的研究证明,缺氧诱导的自噬增强减弱了肺癌细胞对顺铂诱导的细胞凋亡的易感性。而氧化激活的自噬作用是保护肿瘤细胞免受靶向治疗,包括乳腺癌中的曲妥珠单抗,费城染色体阳性细胞中的甲磺酸伊马替尼以及蛋白酶体抑制剂在前列腺癌中的作用[27]。Pal等[28]报道,自噬作为5-氟尿嘧啶(5-FU)治疗的细胞效应的保性机制被激活,并且3-MA抑制自噬增强5-FU诱导的结肠癌细胞凋亡。本研究首次证明芬太尼可以提高A549细胞的自噬水平,进而推测其可能是通过增强其自噬行为而降低对化疗药物的敏感性。之前有实验证实,顺铂作用于A549细胞24 h后,A549细胞的IC50为10 μM,当与0.01 μM或0.1 μM芬太尼组合时,A549细胞的IC50值更高[29]。本实验通过流式细胞术和DAPI染色均提示芬太尼可以增强肺癌A549细胞的自噬,减弱顺铂诱导的细胞凋亡。在这项研究中研究了自噬在暴露于芬太尼的A549细胞中的功能作用,如LysoTracker Red和MDC阳性染色的酸性囊泡的积聚增多,通过显微镜下观察到的自噬体的形成和LC3-Ⅱ的转化增多和Beclin-1表达增强。

上述数据表明,自噬可能以保护性方式与顺铂治疗联合抑制A549细胞的生长增殖。因此我们推测随着芬太尼联合顺铂诱导的自噬显著增加,导致对顺铂的敏感性降低。Filomeni等[30]的研究表明,自噬性细胞死亡与ROS水平和/或JNK信号通路的改变有关。ROS是由不完全的单电子氧还原形成的高反应性分子,包括氧离子和过氧化物。ROS形成氧气的正常代谢的天然副产物并参与低水平的细胞信号传导和体内平衡。然而,在环境压力下,高水平的ROS会对细胞结构产生不可逆的氧化损伤[31]。在这项研究中发现芬太尼治疗导致A549细胞中ROS的增加,而ROS抑制剂NAC可以在一定程度上减弱芬太尼诱导的自噬。一些研究报道,ROS对JNK信号通路的激活代表了一种新的自噬诱导机制[32]。在本研究中,芬太尼诱导ROS生成和JNK磷酸化的显着增加。ROS抑制剂NAC完全逆转芬太尼诱导的肺癌细胞自噬的抑制。另外,JNK抑制剂也显著减弱了这些作用。本研究证实了与抑制剂NAC和SP600125阻断剂对照相比,芬太尼处理的细胞中ROS-JNK自噬被激活而不是被抑制,表明阻断肺癌细胞的自噬可以作为提高肺癌化疗效率的新方法。可以进一步通过临床试验研究使化疗耐药细胞对抗癌治疗敏感的自噬抑制剂的临床效果[33]。

综上所述,本实验研究首次证明芬太尼可以通过ROS-JNK途径干扰肺癌A549细胞的自噬行为,对降低肺癌细胞的顺铂的敏感性起到一定的调控作用。这些实验证据扩大了临床对芬太尼用法的临床理解,并提出相应的自噬抑制剂可能是解决临床耐药问题的有效措施。

## [参考文献]

[1] Shi Y,Au JSK,Thongprasert S,et al. A prospective,molecular epidemiology study of EGFR mutations in Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer of adenocarcinoma histology(PIONEER)[J]. J Thoracic Oncol,2014,9(2):154 - 162. doi:org/10. 1097/JTO. 0000000000000033.

[2] Lewis DR,Check DP,Caporaso NE,et al. US lung cancer trends by histologic type[J]. Cancer,2014,120(18):2883 - 2892. doi:10. 1002/cncr. 28749.

[3] Lortet-Tieulent J,Soerjomataram I,Ferlay J,et al. International trends in lung cancer incidence by histological subtype:adenocarcinoma stabilizing in men but still increasing in women[J]. Lung cancer,2014,84(1):13 - 22. doi. org/10. 1016/j. lungcan. 2014. 01. 009.

[4] Watanabe M,Kawaguchi T,Isa S,et al. Ultra-sensitive detection of the pre-

treatment EGFR T790M mutation in non-small cell lung cancer patients with an EGFR-activating mutation using droplet digital PCR[J]. Clin Cancer Res,2015,21(15):3552-3560. doi:10.1158/1078-0432.

[5] Walters S, Maringe C, Coleman MP, et al. Lung cancer survival and stage at diagnosis in Australia, Canada, Denmark, Norway, Sweden and the UK: a population-based study, 2004-2007[J]. Thorax, 2013: thoraxjnl-2012-202297. doi: org/10.1136/thoraxjnl-2012-202297.

[6] Manglik A, Lin H, Aryal DK, et al. Structure-based discovery of opioid analgesics with reduced side effects[J]. Nature, 2016, 537(7619): 185-190.

[7] Mack KA, Zhang K, Paulozzi L, et al. Prescription practices involving opioid analgesics among Americans with Medicaid, 2010[J]. J Health Care Poor Underserved, 2015, 26(1): 182. doi: 10.1353/hpu.2015.0009.

[8] Sahani MH, Itakura E, Mizushima N. Expression of the autophagy substrate SQSTM1/p62 is restored during prolonged starvation depending on transcriptional upregulation and autophagy-derived amino acids[J]. Autophagy, 2014, 10(3): 431-441. doi: org/10.4161/auto.27344.

[9] Yazdankhah M, Farioli-Vecchioli S, Tonchev AB, et al. The autophagy regulators Ambra1 and Beclin1 are required for adult neurogenesis in the brain subventricular zone[J]. Cell Death Dis, 2014, 5(9): e1403. doi: 10.1038/cddis.2014.358.

[10] Wei Y, Zou Z, Becker N, et al. EGFR-mediated Beclin 1 phosphorylation in autophagy suppression, tumor progression, and tumor chemoresistance[J]. Cell, 2013, 154(6): 1269-1284. doi: org/10.1016/j.cell.2013.08.015.

[11] Ashkenazi A, Bento CF, Ricketts T, et al. Polyglutamine tracts regulate beclin 1-dependent autophagy[J]. Nature, 2017, 545(7652): 108-111.

[12] Wang P, Liang J, Li Y, et al. Down-regulation of miRNA-30a alleviates cerebral ischemic injury through enhancing beclin 1-mediated autophagy[J]. Neurochemical research, 2014, 39(7): 1279-1291. doi: 10.1007/s11064-014-1310-6.

[13] Li J, Wang F, Xia Y, et al. Astaxanthin pretreatment attenuates hepatic ischemia reperfusion-induced apoptosis and autophagy via the ROS/MAPK pathway in mice[J]. Marine drugs, 2015, 13(6): 3368-3387. doi: 10.1056/NEJMoa1606774.

[14] Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2016, 2016(375): 1823-1833. doi: 10.3390/md13063368.

[15] Ryan CJ, Smith MR, De Bono JS, et al. Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy[J]. New Engl J Med, 2013, 368(2): 138-148. doi: 10.1056/NEJMoa1209096.

[16] Maher DP, Wong W, White PF, et al. Association of increased postoperative opioid administration with non-small-cell lung cancer recurrence: a retrospective analysis[J]. Brit J Anaesthesia, 2014, 113(1): 88-94. doi. org/10.1093/bja/aeu192.

[17] Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome[J]. J Clin Invest, 2017, 114(12): 1752-1761. doi: 10.1172/JCI21625.

[18] Pereira ER, Frudd K, Awad W, et al. Endoplasmic reticulum(ER) stress and hypoxia response pathways interact to potentiate hypoxia-inducible factor 1(HIF-1) transcriptional activity on targets like vascular endothelial growth factor(VEGF)[J]. J Biol Chem, 2014, 289(6): 3352-3364. doi: 10.1074/jbc.M113.507194.

[19] Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species(ROS) and ROS-induced ROS release[J]. Physiol Rev, 2014, 94(3): 909-950. doi: 10.1152/physrev.00026.2013.

[20] Sui X, Kong N, Ye L, et al. p38 and JNK MAPK pathways control the balance of apoptosis and autophagy in response to chemotherapeutic agents[J]. Cancer letters, 2014, 344(2): 174-179.

[21] Sanna MD, Stark H, Lucarini L, et al. Histamine H4 receptor activation alleviates neuropathic pain through differential regulation of ERK, JNK, and P38 MAPK phosphorylation[J]. Pain, 2015, 156(12): 2492-2504. doi: 10.1097/j.pain.0000000000000319.

[22] Huang Y, Li X, Wang Y, et al. Endoplasmic reticulum stress-induced hepatic stellate cell apoptosis through calcium-mediated JNK/P38 MAPK and Calpain/Caspase-12 pathways[J]. Mol Cell Biochem, 2014, 394(1-2): 1-12. doi: 10.1007/s11010-014-2073-8.

[23] Gao P, Liu H, Huang H, et al. The inflammatory bowel disease-associated autophagy gene atg16L1T300A acts as a dominant negative variant in mice[J]. J Immunol, 2017, 198(6): 2457-2467. doi. org/10.4049/jimmunol.1502652.

[24] Kroemer G. Autophagy: a druggable process that is deregulated in aging and human disease[J]. J Clin Invest, 2015, 125(1): 1.

[25] Wu HM, Jiang ZF, Ding PS, et al. Hypoxia-induced autophagy mediates cisplatin resistance in lung cancer cells[J]. Sci Rep, 2015, 5(3): 135-139. doi: 10.1038/srep12291.

[26] Bae SH, Sung SH, Oh SY, et al. Sestrins activate Nrf2 by promoting p62-dependent autophagic degradation of Keap1 and prevent oxidative liver damage[J]. Cell metabolism, 2013, 17(1): 73-84. doi: org/10.1016/j.cmet.2012.12.002.

[27] Nakka VP, Prakash-babu P, Vemuganti R. Crosstalk between endoplasmic reticulum stress, oxidative stress, and autophagy: potential therapeutic targets for acute CNS injuries[J]. Molecular neurobiology, 2016, 53(1): 532-544. doi: 10.1007/s12035-014-9029-6.

[28] Pal R, Palmieri M, Loehr JA, et al. Src-dependent impairment of autophagy by oxidative stress in a mouse model of duchenne muscular dystrophy[J]. Nature communications, 2014, 5: 4425. doi: 10.1038/ncomms5425.

[29] Yao J, Ma C, Gao W, et al. Fentanyl induces autophagy via activation of the Ros/MAPK pathway and reduces the sensitivity of cisplatin in lung cancer cells[J]. Oncol Rep, 2016, 36(6): 3363-3370.

[30] Filomeni G, De Zio D, Cecconi F. Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs[J]. Cell Death Differ, 2015, 22(3): 377-388. doi: 10.1038/cdd.2014.150.

[31] Chattopadhyay M, Khemka VK, Chatterjee G, et al. Enhanced ROS production and oxidative damage in subcutaneous white adipose tissue mitochondria in obese and type 2 diabetes subjects[J]. Molecular and cellular biochemistry, 2015, 399(1-2): 95-103. doi: 10.1007/s11010-014-2236-7.

[32] Zha J, Chen F, Dong H, et al. Disulfiram targeting lymphoid malignant cell lines via ROS-JNK activation as well as Nrf2 and NF-kB pathway inhibition[J]. J Transl Med, 2014, 12(1): 163. doi: org/10.1186/1479-5876-12-163.

[33] Ni Z, Wang B, Dai X, et al. HCC cells with high levels of Bcl-2 are resistant to ABT-737 via activation of the ROS-JNK-autophagy pathway[J]. Free Radical Biol Med, 2014, 70: 194-203. doi. org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.02.012

(编辑:左艳芳)