

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.20.011

LASS2 通过 AMPK α /mTORC1 信号通路诱导 HepG2 肝癌细胞自噬和凋亡*

黎 兵^{1,2}, 何 维², 向加林^{1,2}, 杨 艳^{1,2}, 杨小理^{1,2 Δ}

1. 遵义医科大学附属医院医学检验科, 贵州遵义 563000; 2. 遵义医科大学检验医学院, 贵州遵义 563000

摘 要:目的 研究 LAG1 长寿保障基因 2(LASS2)过表达对 HepG2 肝癌细胞凋亡、自噬的作用及可能的信号通路。方法 采用 HepG2 肝癌细胞进行研究,设置空白对照组、空载组(重组腺病毒 Adv-GFP 感染细胞)、实验组(重组腺病毒 Adv-LASS2-GFP 感染细胞)。感染 48 h 后分别提取各组细胞总 RNA 和蛋白,采用实时荧光定量反转录 PCR(qRT-PCR)、Western blot 检测 LASS2 mRNA、蛋白表达水平的变化;CCK-8 实验评价各组细胞增殖能力的差异及流式细胞术检测各组细胞凋亡情况;Western blot 检测各组细胞凋亡相关蛋白(BCL2、Bax)、自噬相关蛋白(SQSTM1、LC3A/B、Beclin-1)及单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK) α /哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1(mTORC1)信号通路相关蛋白(t-AMPK α 、p-AMPK α 、t-Raptor 和 p-Raptor)的表达水平。结果 与空白对照组、空载组相比,实验组 LASS2 mRNA、蛋白相对表达水平均明显上调($P < 0.001$),且 HepG2 肝癌细胞增殖能力明显被抑制($P < 0.001$)。流式细胞仪检测结果表明过表达的 LASS2 促进 HepG2 细胞凋亡($P < 0.001$)。Western blot 显示,实验组 BCL2、SQSTM1 蛋白相对表达水平较空白对照组、空载组均明显下调($P < 0.001$),Bax、Beclin-1、LC3A/B 蛋白相对表达水平均明显上调($P < 0.001$),而 p-AMPK α /t-AMPK α 及 p-Raptor/t-Raptor 比值明显上调($P > 0.05$)。结论 过表达的 LASS2 可能通过调控 AMPK α /mTORC1 信号通路诱导 HepG2 肝癌细胞自噬和凋亡。

关键词:肝癌; 自噬; 凋亡; 单磷酸腺苷活化蛋白激酶 α ; 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1

中图分类号:R735.7

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)20-2781-05

LASS2 induces HepG2 hepatoma cells autophagy and apoptosis through AMPK α /mTORC1 signaling pathway*

LI Bing^{1,2}, HE Wei², XIANG Jialin^{1,2}, YANG Yan^{1,2}, YANG Xiaoli^{1,2 Δ}

1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China; 2. College of Laboratory Medicine, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China

Abstract: Objective To investigate the effect of LAG1 longevity assurance homologue 2 (LASS2) over-expression on apoptosis and autophagy signaling pathway in HepG2 hepatocellular carcinoma cells and the possible mechanism. **Methods** HepG2 hepatoma cells were used in the study, and were divided into negative control group, empty vector group (infected with recombinant adenoviruses Adv-GFP) and experimental group (infected with recombinant adenoviruses Adv-LASS2-GFP). After 48 h of infection, total RNA and protein were extracted from each group, and the changes of LASS2 mRNA and protein expression levels were detected by quantitative real-time fluorescence PCR (qRT-PCR) and Western blot; the growth and proliferation of cells were examined by the CCK-8, and apoptosis was detected by flow cytometry in each group. The expression levels of apoptosis-related proteins (BCL2, Bax), autophagy-related proteins (SQSTM1, LC3A/B, Beclin-1) and AMP-activated protein kinase (AMPK) α /mammalian target of rapamycin 1 (mTORC1) signaling pathway proteins (t-AMPK α , p-AMPK α , t-Raptor and p-Raptor) were detected by Western blot in each group. **Results** Compared with NC group and Adv-GFP group, the relative expression levels of LASS2 mRNA and protein were significantly upregulated in Adv-LASS2-GFP group ($P < 0.001$), and the flow cytometry results indicated that overexpressed LASS2 promoted apoptosis in HepG2 cells ($P < 0.001$); Western blot results showed that Adv-LASS2-GFP group, the relative expression levels of BCL2 and SQSTM1 proteins were sig-

* 基金项目:贵州省卫生健康委员会基金项目(gzwjkj2019-1-192)。

作者简介:黎兵,男,主管技师,主要从事医学分子生物学方面的研究。 Δ 通信作者, E-mail:460917674@qq.com。

nificantly down-regulated compared with NC group and Adv-GFP group ($P < 0.001$), and the relative expression levels of Bax, Beclin-1 and LC3A/B proteins were significantly up-regulated ($P < 0.001$). The ratio of p-AMPK α /t-AMPK and p-raptor/t-raptor were significantly increased ($P < 0.001$). **Conclusion** Overexpressed LASS2 may induce autophagy and apoptosis in HepG2 hepatoma cells through regulating of AMPK α /mTORC1 signaling pathway.

Key words: hepatocellular carcinoma; autophagy; apoptosis; AMP-activated protein kinase α ; mammalian target of rapamycin 1

原发性肝癌是全球最常见的恶性肿瘤之一,每年新确诊的肝癌病例数位居恶性肿瘤第 6 位^[1]。在我国,肝癌患者的 5 年生存率仅为 14.1%^[1],是仅次于胰腺癌的第 2 大致死癌症。尽管近年来肝癌的治疗取得了很大进展,但其治疗的选择和临床结局仍很有限。由于肝癌在遗传、代谢、分子机制及临床症状方面存在极大的异质性,使得其早期诊断和癌基因靶向治疗的设计极具挑战性。一些研究试图阐明肝癌细胞产生和存活的潜在机制,因为这些研究可以为肝癌的治疗提供新的干预措施或靶点。细胞生存和死亡之间的平衡对体内稳态至关重要,其中自噬起重要作用^[2]。自噬是一个高度保守的分解代谢过程,它可以循环利用胞内成分来保护细胞,同时也可以在一定条件下杀死细胞^[3]。研究表明,自噬在肝癌的发生和进展中可能发挥双刃剑的作用,靶向自噬或与其他化疗药物联合阻断自噬可能是治疗肝癌的潜在策略^[4]。

LAG1 长寿保证基因 2 (LASS2), 又被称为肿瘤转移抑制基因 1 (TMSG-1)、神经酰胺合酶 2 (CERS2), 在肝癌^[5]、乳腺癌^[6]、膀胱癌^[7]等恶性肿瘤的浸润和生长发挥抑癌作用。LASS2 能通过促进神经酰胺的合成诱导肺上皮细胞保护性自噬^[8]。本课题组前期研究发现 LASS2 过表达增加了 HepG2 胞内活性氧(ROS)^[9], 最新的研究表明 ROS 可作为第二信使直接参与细胞存活的调节, 并能诱导自噬的发生^[10]。然而 LASS2 过表达是否激活 HepG2 肝癌细胞的自噬并影响其存活, 目前未见相关报道。本研究以 HepG2 肝癌细胞株为研究模型, 检测 LASS2 过表达对 HepG2 细胞自噬、凋亡的影响及探讨其可能的信号通路。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器 HepG2 购自中科院上海细胞库; Adv-GFP、Adv-LASS2-GFP 重组腺病毒由北京百奥川生物科技有限责任公司合成; DMEM 培养基、胎牛血清(FBS)购自 Gibco 公司; 单磷酸腺苷活化蛋白激酶(AMPK) α 、p-AMPK α 、Raptor、p-Raptor、Beclin-1、LC3A/B 一抗购自 CST 公司; GAPDH、SQSTM1、BCL2、Bax 一抗购自华安生物技术有限公司; Trizol (总 RNA 抽取试剂盒)、实时荧光定量反转录 PCR (qRT-PCR)试剂购自 TAKARA 宝日生物技术有限公司;

全蛋白提取试剂盒购自凯基生物技术有限公司; BCA 蛋白定量试剂盒购自上海雅酶生物科技有限公司; LASS2 抗体购自 Abcam 公司; Annexin V-APC/7AAD 凋亡检测试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司; FACS A II 流式细胞仪(FACS Calibur 型, BD 公司); Chemi-DocTM 凝胶成像系统购自 Bio-Rad 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养与转染 HepG2 肝癌细胞采用含 10% FBS 的 DMEM 培养基、置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。将 HepG2 细胞分为 3 组: 空白对照组 ($n=3$)、空载组 ($n=3$, 重组腺病毒 Adv-GFP 感染细胞) 和实验组 ($n=3$, 重组腺病毒 Adv-LASS2-GFP 感染细胞), 转染 48 h 后根据各实验目的进行收集样品。所有实验重复 3 次。

1.2.2 qRT-PCR 检测 LASS2 mRNA 表达情况 感染 48 h 后, 提取各组细胞总 RNA, 测定 RNA 浓度与纯度, 并逆转录合成 cDNA, 储存于 -80 °C 冰箱中待用。以 β -actin 作为内参, qRT-PCR 检测分析 LASS2 mRNA 相对表达水平(反应条件: 95 °C、30 s; 95 °C、5 s; 60 °C、34 s, 40 个循环; 融解曲线: 95 °C、15 s; 60 °C、60 s; 95 °C、15 s), 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算基因相对表达量。目的基因引物序列: β -actin 上游 5'-TCCTGTG-GCATCCACGAAACT-3', 下游 5'-GAAGCATTT-GCGGTGGACGAT-3'; LASS2 上游 5'-ATCGTCT-TCGCCATTGTT-3', 下游 5'-CGGTCACGTGCGT-TCATCT-3'。

1.2.3 CCK-8 法检测细胞增殖能力 将呈对数生长的 HepG2 细胞接种至 96 孔板中, 次日感染 Adv-GFP、Adv-LASS2-GFP, 分别在感染 0、24、48、72 h, 加入 100 μ L DMEM 以及 10 μ L CCK-8 试剂, 37 °C 孵育 2 h 后, 于酶标仪 450 nm 处测定各吸光度(A)值并制作生长曲线。

1.2.4 Annexin V-APC/7AAD 双染色检测细胞凋亡 感染 48 h 后, 采用不含 EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶消化并收集各组 HepG2 细胞, 严格按试剂说明书操作, 用冷 PBS 洗涤 2 次, 收集细胞、加入 500 μ L 的 Binding Buffer 重悬细胞, 依次添加 5 μ L Annexin V-APC 和 5 μ L 7-AAD, 充分混匀并在室温下避光孵育

15 min 后,置于流式细胞仪检测并采用 Cell Quest 软件分析各组细胞凋亡率。

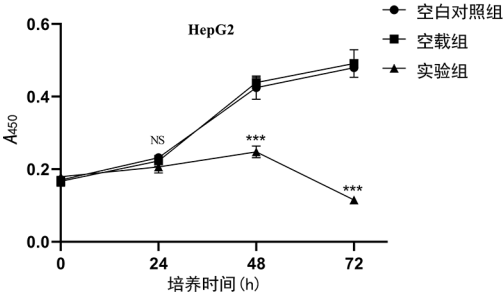
1.2.5 Western blot 法检测 各组细胞 LASS2、自噬、凋亡相关蛋白及 AMPK α /哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1(mTORC1)信号通路相关蛋白的相对表达水平 转染 48 h 后,按照全蛋白提取试剂盒说明书提取各组细胞总蛋白,BCA 法定量蛋白浓度,经蛋白变性、分装并暂存于-80℃。每个泳道上样量为 20 μ g,10%或 12.5%SDS-PAGE 分离各组细胞蛋白并电转至 PVDF 膜。5%脱脂牛奶在室温下封闭 2 h,4℃一抗(参照各一抗厂家推荐稀释比)孵育过夜。二抗(羊抗鼠、羊抗兔二抗稀释倍数均为 1:5 000)室温孵育 2 h,洗膜、成像,测量条带灰度值并统计数据,计算 LASS2、BCL2、Bax、SQSTM1、Beclin-1、LC3A/B、t-AMPK α 、p-AMPK α 、t-Raptor、p-Raptor 蛋白相对表达量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行实验数据统计分析,GraphPad Prism8.0 作图,符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 LASS2 在 HepG2 肝癌细胞过表达的验证 实验组 LASS2 mRNA、蛋白相对表达水平较空白对照组、空载组明显上调($P < 0.001$),LASS2 mRNA 相对表达水平较空白对照组上调 51.6 倍,其蛋白表达水平上调 40 倍,而空白对照组和空载组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 过表达 LASS2 对 HepG2 肝癌细胞增殖的抑制作用 与空白对照组、空载组比较,实验组细胞活力在 24 h 差异无统计学意义($P > 0.05$),而 48 h、72 h 的细胞活力分别为空白对照组的(57.6 $\pm$ 3.0)%和(23.8 $\pm$ 0.3)%,差异均有统计学意义($P < 0.001$);空白对照组和空载组细胞活力比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。这表明过表达 LASS2 抑制了 HepG2 肝癌细胞增殖的,见图 1。



注:与对照组及空载组比较,*** $P < 0.001$ 。

图 1 CCK-8 实验检测 HepG2 各组细胞存活率

2.3 过表达 LASS2 对 HepG2 肝癌细胞凋亡的影响 实验组细胞凋亡率明显高于对照组,差异有统计

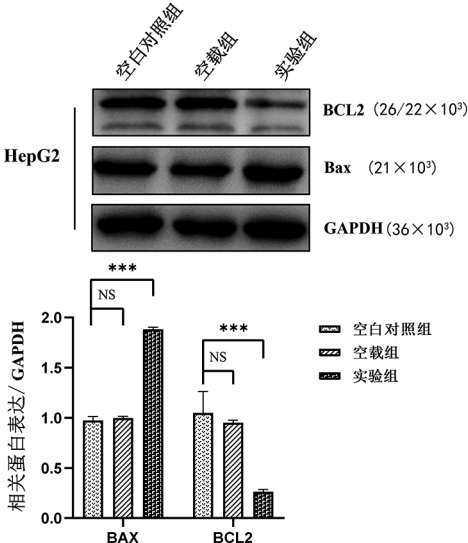
学意义(均 $P < 0.001$),空白对照组和空载组未见明显统计学差异($P > 0.05$)。

表 1 流式细胞术检测 HepG2 各组细胞的凋亡率($\bar{x} \pm s$)

组别	早期凋亡细胞 (%)	晚期凋亡细胞 (%)	总和 (%)
空白对照组	5.09 $\pm$ 0.34	0.94 $\pm$ 0.11	6.02 $\pm$ 0.24
空载组	4.72 $\pm$ 0.16	1.09 $\pm$ 0.14	5.80 $\pm$ 0.26
实验组	19.65 $\pm$ 0.49 ***	6.73 $\pm$ 0.45 ***	26.38 $\pm$ 0.2 ***
F	1 714.087	419.927	7 730.750
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与空白对照组及空载组比较,*** $P < 0.001$ 。

2.4 过表达 LASS2 对 HepG2 细胞中凋亡相关蛋白的影响 与空白对照组、空载组相比,实验组凋亡相关蛋白 BCL2 相对表达水平明显下调($P < 0.001$),同时 Bax 蛋白相对表达水平明显上调($P < 0.001$),空白对照组与空载组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),这表明过表达的 LASS2 促进 HepG2 肝癌细胞凋亡,见图 2。



注:与空白对照组及空载组比较,*** $P < 0.001$;NS 表示差异无统计学意义。

图 2 LASS2 过表达对 HepG2 各组细胞 Bax、BCL2 蛋白水平的影响

2.5 过表达 LASS2 对 HepG2 细胞自噬相关蛋白 Beclin-1、LC3A/B、SQSTM1 的影响 与空白对照组、空载组相比,实验组 SQSTM1 蛋白相对表达水平明显较低($P < 0.001$),而 Beclin-1、LC3A/B 蛋白表达水平均明显上调($P < 0.001$);空白对照组和空载组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 3。

2.6 LASS2 诱导 HepG2 细胞自噬和凋亡与 AMPK α /mTORC1 信号通路的关系 与空白对照组、空载组相比,实验组 p-AMPK α /t-AMPK α 的比值和 p-Raptor/t-Raptor 比值均明显上调($P < 0.001$),空白对照组和空载组比较差异无统计学意义($P >$

0.05), 见图 4。

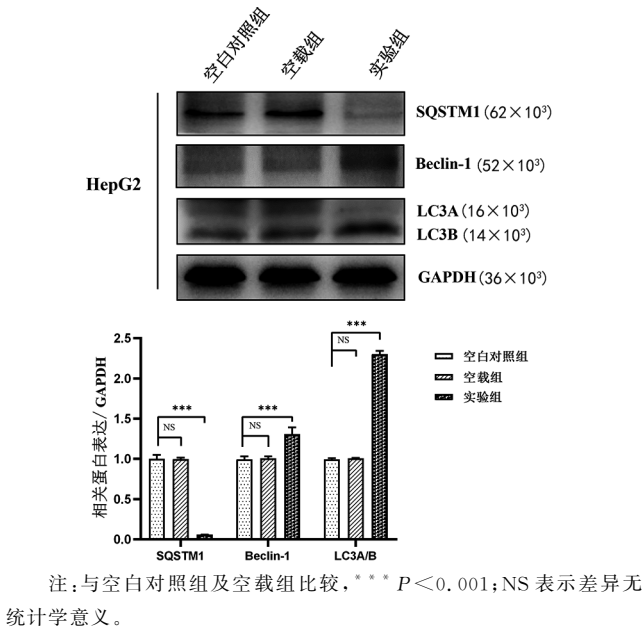


图 3 LASS2 过表达对 HepG2 各组细胞 Beclin-1、LC3A/B、SQSTM1 蛋白水平的影响

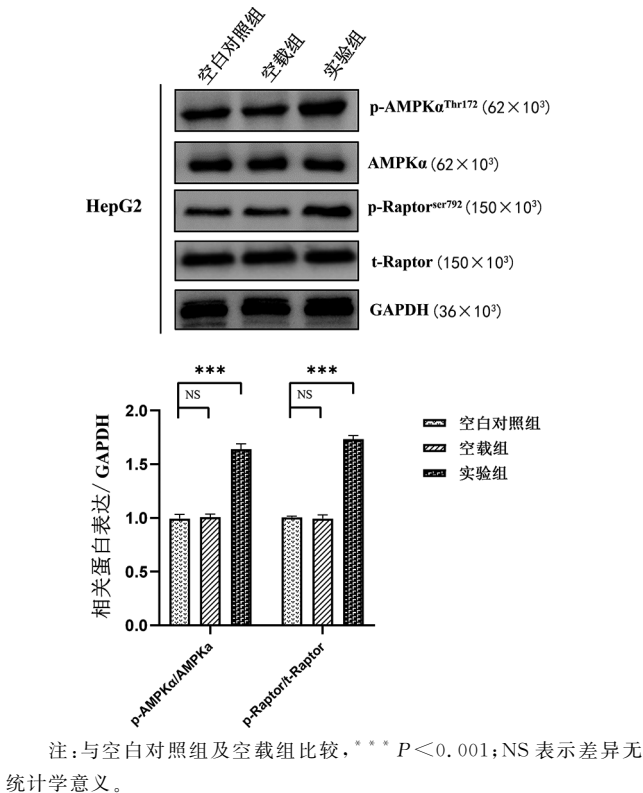


图 4 LASS2 过表达对 HepG2 各组细胞 AMPKα/mTORC1 信号通路相关蛋白水平的影响

3 讨 论

多数研究认为 LASS2 是一个抑癌基因,在肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移起抑制作用并可促其凋亡。SU 等^[11]研究提出 TMSG1/LASS2 可能通过 caspase 依赖的线粒体途径抑制 HEK293 和 293T 细胞增殖,诱导细胞凋亡。本课题组前期研究发现,LASS2 过表达可促 HepG2 肝癌细胞、Hepal-6 肝癌细胞 ROS 生

成增多^[9,12]。然而,内源性 ROS 主要在线粒体或由还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶产生,线粒体是否存在 LASS2 的作用靶点本课题组对此进行了深入研究,并率先揭示 LASS2 可能与线粒体复合物 I 活性主要调节因子——NDUFS2 相互作用介导了线粒体活性氧(mtROS)的生成^[12]。而 mtROS 的积累可使线粒体膜通道开放并影响线粒体的功能,研究认为线粒体功能的严重损害可引起自噬、凋亡^[13]。

在本课题前期研究中证实了 LASS2 过表达使 HepG2 肝癌细胞线粒体膜电位下降,且胞内 Ca²⁺ 超载,线粒体功能受损,但是否激活细胞凋亡信号通路和自噬需进一步研究证实。在本研究中,流式细胞术分析及 Western blot 结果表明,过表达的 LASS2 显著促进 HepG2 肝癌细胞凋亡并上调其 Bax 蛋白、降低 BCL2 蛋白的表达,提示 LASS2 通过调控线粒体相关内源性凋亡途径介导肝癌细胞程序性死亡。有研究表明,下调 LASS2 导致神经母细胞瘤细胞系 SMS-KCNR 细胞发生自噬和未折叠蛋白反应^[14]。不同的是,在关于心肌细胞损伤的研究中,LASS2 的过度表达导致 VLC 神经酰胺升高,导致胰岛素抵抗、氧化应激、线粒体功能障碍和线粒体自噬^[15]。然而,自噬在癌症中的作用仍不清楚,因为它可以作为肿瘤的启动子或抑制剂。QU 等^[16]研究发现 Beclin-1 杂合子小鼠和肝脏特异性 Atg5 KO 小鼠在衰老时发生自发性肝肿瘤,提供了支持自噬在肝肿瘤中抑制作用的证据。本研究结果提示:LASS2 过表达促使 HepG2 肝癌细胞中 Beclin-1、LC3A/B 蛋白相对表达水平增加,自噬底物蛋白 SQSTM1 表达降低,激活 HepG2 肝癌细胞自噬。这与 LAW 等^[15]研究报道相同,与 STEFKA 等^[14]的研究不符,这可能与不同癌症类型和遗传背景有关。越来越多的研究揭示,细胞凋亡调节与自噬诱导之间存在深层联系,在每个过程的不同阶段都发生串扰^[17],而这种串扰是癌症发病机制的基础,也是肝癌治疗有希望的靶点之一。笔者推测 LASS2 促 HepG2 肝癌细胞凋亡并激活自噬,两者相互促进癌细胞程序性死亡,这将为肝癌的临床前治疗选择提供参考资料。

基于本课题前期研究基础“LASS2 过表达促 ROS 生成增加”,本研究进一步探讨过表达 LASS2 激活自噬、凋亡的可能信号通路。自噬的激活受营养/能量传感器的两个关键组成部分 AMPK 和 mTORC1 的调节。mTORC1 是 mTOR 激酶与 mTOR 调节相关蛋白、MLST8、PRAS40 和 DEP-TOR 等亚基形成的复合物,是自噬的主要调节因子,还直接调节自噬过程的后续步骤^[18]。激活的 AMPK 也可以通过 Raptor 磷酸化抑制 mTORC1 的活性,进

而启动自噬,且两者之间存在一个必不可少的双重负反馈机制,对自噬的适当动态特性至关重要^[19]。本研究结果表明 LASS2 过表达激活 AMPK α ,促使 Raptor 磷酸化抑制 mTORC1 的活性,结合本课题前期研究结果^[12],NDUFS2 作为氧感知器及线粒体复合物 I 产生 ROS 的主要靶点之一,LASS2 与其互相作用介导了 mtROS 的生成,而 mtROS 作为第二信使通过 AMPK α 亚基直接激活 AMPK 及下游级联信号如 mTORC1 信号通路,这可能是 LASS2 激活 HepG2 自噬的机制,这一结果的发现是不同于既往研究的。最近的研究表明,AMPK 通过刺激不同的细胞过程,如凋亡、自噬、细胞生长和增殖,通过各种信号分子发挥肿瘤抑制活性^[20],mTOR(尤其是 mTORC1)信号的过度激活与致癌细胞过程有关^[18]。因此,本研究推测 AMPK α /mTORC1(Raptor)信号通路是 LASS2 激活 HepG2 肝癌细胞自噬和凋亡的关键信号通路,也是 LASS2 抑制肝癌进程的可能机制,将会在后续研究中证实这一科学假设。

综上所述,LASS2 可能通过 AMPK α /mTORC1 信号通路诱导 HepG2 肝癌细胞自噬和凋亡,但具体作用机制有待后续深入研究,这可能为肝癌的治疗提供新的理论基础或新的策略。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] ZHANG T, WANG Y, YU H, et al. PGK1 represses autophagy-mediated cell death to promote the proliferation of liver cancer cells by phosphorylating PRAS40[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(1): 68.
- [3] KLIONSKY D J, ABDEL-AZIZ A K, ABDEFATAH S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition)[J]. Autophagy, 2021, 17(1): 1-382.
- [4] WHITE E. The role for autophagy in cancer[J]. J Clin Invest, 2015, 125(1): 42-46.
- [5] RUAN H, WANG T, YANG C, et al. Co-expression of LASS2 and TGF- β 1 predicts poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. Sci Rep, 2016, 6: 32421.
- [6] PANI T, RAJPUT K, KAR A, et al. Alternative splicing of ceramide synthase 2 alters levels of specific ceramides and modulates cancer cell proliferation and migration in Luminal B breast cancer subtype[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(2): 171.
- [7] HUANG L, LUAN T, CHEN Y, et al. LASS2 regulates invasion and chemoresistance via ERK/Drp1 modulated mitochondrial dynamics in bladder cancer cells[J]. J

- Cancer, 2018, 9(6): 1017-1024.
- [8] MIZUMURA K, JUSTICE M J, SCHWEITZER K S, et al. Sphingolipid regulation of lung epithelial cell mitophagy and necroptosis during cigarette smoke exposure[J]. FASEB J, 2018, 32(4): 1880-1890.
- [9] YANG Y, YANG X, LI L, et al. LASS2 inhibits proliferation and induces apoptosis in HepG2 cells by affecting mitochondrial dynamics, the cell cycle and the nuclear factor- κ B pathways[J]. Oncol Rep, 2019, 41(5): 3005-3014.
- [10] FORTE M, BIANCHI F, COTUGNO M, et al. An interplay between UCP2 and ROS protects cells from high-salt-induced injury through autophagy stimulation[J]. Cell Death Dis, 2021, 12(10): 919.
- [11] SU J, YU W, GONG M, et al. Overexpression of a novel tumor metastasis suppressor gene TMSG1/LASS2 induces apoptosis via a caspase-dependent mitochondrial pathway[J]. J Cell Biochem, 2015, 116(7): 1310-1317.
- [12] YANG Y, YANG X, LIN Y, et al. LASS2 regulates hepatocyte steatosis by interacting with NDUFS2/OXPHOS related proteins[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 526(4): 871-879.
- [13] WANG Z, YIN F, XU J, et al. CYT997 (Lexibulin) induces apoptosis and autophagy through the activation of mutually reinforced ER stress and ROS in osteosarcoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 44.
- [14] SPASSIEVA S D, MULLEN T D, TOWNSEND D M, et al. Disruption of ceramide synthesis by CerS2 down-regulation leads to autophagy and the unfolded protein response[J]. Biochem J, 2009, 424(2): 273-283.
- [15] LAW B A, LIAO X, MOORE K S, et al. Lipotoxic very-long-chain ceramides cause mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and cell death in cardiomyocytes[J]. FASEB J, 2018, 32(3): 1403-1416.
- [16] 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.
- [17] FAIRLIE W D, TRAN S, LEE E F. Crosstalk between apoptosis and autophagy signaling pathways[J]. Int Rev Cell Mol Biol, 2020, 352: 115-158.
- [18] DOSSOU A S, BASU A. The emerging roles of mTORC1 in macromanaging autophagy[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(10): 1422.
- [19] ZHAO Y, HU X, LIU Y, et al. ROS signaling under metabolic stress: cross-talk between AMPK and AKT pathway[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 79.
- [20] DERMAKU-SOPJANI M, SOPJANI M. Intracellular signaling of the AMP-activated protein kinase[J]. Adv Protein Chem Struct Biol, 2019, 116: 171-207.