

# 脂多糖通过 p38/MAPK 通路对巨噬细胞自噬的调控作用

杜涛<sup>1</sup>, 江先汉<sup>3</sup>, 陈慧<sup>1</sup>, 赖义明<sup>2</sup>, 张睿<sup>1</sup>, 黄海<sup>2\*</sup>

(中山大学孙逸仙纪念医院 1.妇产科, 2.泌尿外科 广东 广州 510120; 3.广州医学院附属第五医院泌尿外科, 广东 广州 510700)

**摘要:**【目的】观察脂多糖(LPS)对巨噬细胞自噬的影响及 p38/MAPK 通路在其中的作用。【方法】体外培养巨噬细胞株 RAW264.7, 分为对照组、饥饿状态激活自噬组、单纯 LPS 刺激组、LPS+P38 抑制剂(SB203582)组和 LPS+mTOR 抑制剂(rapamycin)组。将前期构建的载体 pcDNA3.1-GFP-LC3, 转染 RAW264.7, 通过荧光显微镜观察各组细胞中自噬体形成情况。qRT-PCR 方法检测各组中与细胞自噬相关的基因 Atg5, Atg7, LC3-II 和 Bnip3 mRNA 表达水平的改变。利用 Western blotting 检测 LC3-II、p-P38、P38 蛋白在各组中的表达情况, 以评价 LPS 激活巨噬细胞自噬过程中 p38/MAPK 通路的作用。【结果】在荧光显微镜下可以观察到自噬在饥饿状态组、LPS+SB203582 组和 LPS+rapamycin 组有明显增强; qRT-PCR 检测到自噬相关基因 Atg5, Atg7, LC3-II, 和 Bnip3 mRNA 的表达在饥饿状态组、LPS+SB203582 组和 LPS+rapamycin 组有明显增强; Western blotting 检测发现 p-P38 在饥饿状态组、LPS 组和 LPS+rapamycin 组中表达明显升高; LC3-II 的表达在饥饿状态组、LPS+SB203582 组和 LPS+rapamycin 组中表达要高于对照组和 LPS 组。【结论】LPS 参与巨噬细胞自噬的调控, 除经典 mTOR 通路之外, p38/MAPK 通路是其抑制通路之一。

**关键词:**脂多糖; 自噬; 巨噬细胞; p38/MAPK

**中图分类号:** R363 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2014)06-0807-07

## Preliminary Study of p38/MAPK Pathway in LPS Regulated Macrophages Autophagy

DU Tao<sup>1</sup>, JIANG Xian-han<sup>3</sup>, CHEN Hui<sup>1</sup>, LAI Yi-ming<sup>2</sup>, ZHANG Rui<sup>1</sup>, HUANG Hai<sup>2\*</sup>

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China;  
2. Department of Urology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China; 3. Department of Urology, The Fifth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510700, China)

**Abstract:** 【Objective】To detect the role of P38/MAPK signaling pathways in the activation of autophagy in macrophages caused by lipopolysaccharide. 【Methods】The macrophage cell line RAW264.7 cultured in vitro, and was divided into five groups according culture environment, including normal culture group, starvation activates autophagy group, simple LPS group, LPS+P38 inhibitor (SB203582) group and LPS+mTOR inhibitors (rapamycin) group. Fluorescent expression vector pcDNA3.1-GFP-LC3 constructed in previous work, was transfected into macrophages, and the fluorescence microscopy was used to detect the autophagosome formation in each group. qRT-PCR was used to detect autophagy associated genes Atg5, Atg7, LC3-II and Bnip3 expression levels in each group. Western Blot was used to test LC3-II, p-P38, P38 expression in each group, so as to evaluate LPS activated macrophages autophagy molecular pathways. 【Results】We successfully got the stably expressing GFP-LC3 macrophages, which can be used to observe the autophagy under a fluorescence microscope. The autophages in starvation group, LPS stimulation+SB203582 group and LPS stimulation+ rapamycin group were significantly increased. qRT-PCR detected that autophagy-related genes Atg5, Atg7, LC3-II and Bnip3 expression levels were significantly increased in starvation group, LPS stimulation+SB203582 group and LPS stimulation+ rapamycin group. Western Blot showed that p-P38 in starvation group, LPS group and LPS stimulation+rapamycin group was significantly increased. LC3-II expression level in starvation group, LPS stimulation+SB203582 group and LPS stimulation+rapamycin

收稿日期: 2014-07-24

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(81101947); 广东省科技社会发展项目(2012B032000006)

作者简介: 杜涛, 博士研究生, 助理研究员, 研究方向: 产前诊断和遗传, E-mail: dutao377@126.com; \* 通信作者: 黄海, 副主任医师, 硕士生导师, E-mail: huanghai257@126.com

was higher than control group and LPS group. 【Conclusions】 LPS can regulate macrophage autophagy, and p38/MAPK pathway is one of its down-regulated pathways besides the classic PI3K/Akt/mTOR pathway.

**Key words:** lipopolysaccharide; autophagy; macrophages; p38/MAPK

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2014, 35(6): 807-813]

巨噬细胞是胚胎免疫耐受的核心细胞, 流产患者中巨噬细胞的增多并活化是导致流产的主要因素之一<sup>[1]</sup>。自噬是溶酶体对自身结构的吞噬降解, 它既是细胞内的再循环系统, 也是机体一种重要的防御和保护机制。自噬作为机体的一种防御机制, 在母体对胚胎免疫耐受的发病机制中具有十分重要的作用<sup>[2]</sup>。因此研究母体中巨噬细胞的自噬情况及其调控机制对自然流产的发生具有深远意义。我们前期研究证实 LPS 可以通过经典的 PI3K/Akt/mTOR 通路对巨噬细胞的自噬进行调控, 但是这并不是唯一的通路<sup>[3]</sup>。因此, 我们检测 LPS 对巨噬细胞调控的非 mTOR 通路, 以进一步对流产中母体巨噬细胞自噬的机制进行探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

RPMI1640 培养基、胎牛血清(Hyclone 公司); 2.5 g/L 胰酶(吉玛公司); 3-磷酸甘油醛脱氢酶(Glyceraldehyde -3 -phosphate dehydrogenase, GAPDH) 内参抗体(Santa), LC3-II 抗体(Santa), P38 抗体(Santa), p-P38 抗体(Santa); 辣根过氧化物酶(peroxidase horseradish, HRP) 标记羊抗兔抗体(ICL); BCA 法蛋白定量试剂盒(上海申能博采); 柯达黑白胶片; 增强化学发光(Enhanced chemiluminescence) ECL 试剂盒(Thermo)、超敏 ECL 试剂盒(Millipore)。

### 1.2 方法

1.2.1 实验分组 将巨噬细胞体外培养, 共分为 5 组, 分别检测不同状态下巨噬细胞的自噬情况以及 P38/MAPK 通路激活状态; 同时在阻断经典自噬调控 mTOR 通路后, 检测巨噬细胞自噬, 明确巨噬细胞自噬与 P38/MAPK 通路之间的关系。A 组: 单纯小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞; B 组: Earle's 平衡盐溶液培养的巨噬细胞(饥饿状态, 激活自噬); C 组: LPS 刺激的巨噬细胞; D 组: LPS 刺激后的巨噬细胞 +P38 抑制剂(SB203582); E 组: LPS 刺激后的巨噬细胞 +mTOR 抑制剂(雷帕霉

素)。

1.2.2 各组巨噬细胞体外培养 小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞购自 American Type Tissue Collection(ATCC), 常规传代培养, 培养基采用 100 mL/L FCS 的 DMEM。C 组用 LPS 刺激巨噬细胞, 浓度为 1  $\mu$ g/L。D 组和 E 组分别加入 SB203582 和雷帕霉素分别阻断 P38/MAPK 通路和 mTOR 通路。

1.2.3 稳定表达 GFP-LC3 的 RAW264.7 细胞系的建立 构建 pcDNA3.1-GFP-LC3 真核表达载体, 应用转染技术将该质粒导入 RAW264.7 细胞, 用 G418 筛选稳定表达的细胞系。真核细胞中 GFP-LC3 的表达分别用荧光显微镜检测, 并利用该稳定表达细胞系观察内质网应激时细胞发生自噬的情况。

1.2.4 用 qRT-PCR 方法检测与细胞自噬相关基因的 mRNA 表达水平 qRT-PCR 采用的是 LightCycler Real Time PCR 扩增仪。用 TRIzol 从细胞内提取总 RNA。然后用 SuperScript 试剂盒合成 cDNA。细胞自噬相关基因 Atg5, Atg7, LC3-II 和 Bnip3 的引物设计为: ATG5, 5'-TTGACGTTGGTA ACTGACAAAGT -3', 5' -TGTGATGTTCCAAGGA AGAGC -3'; ATG7, 5' -GATCCGGGGATTTCTTTC ACG -3', 5' -CAGCAGCTTGGGTTTCTTGAT -3'; LC3-II, 5' -GATGTCCGACTTATTCGAGAGC -3', 5' -TTGAGCTGTAAGCGCTTCTA -3'; BNP3, 5' -TGGACGGAGTAGCTCCAAGAG -3', 5' -CCGACT TGACCAATCCCATATC -3'。预变性: 95 $^{\circ}$ C 30 s; PCR 反应: 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 循环 40 次; 融解曲线分析: 95 $^{\circ}$ C 1 s, 65 $^{\circ}$ C 15 s, 95 $^{\circ}$ C 5 s。反应结束后确认扩增曲线和融解曲线。

1.2.5 在荧光显微镜下采用 GFP-LC3 融合蛋白来示踪自噬形成 利用 LC3 在自噬形成过程中发生聚集的现象对此进行观察。无自噬时, GFP-LC3 融合蛋白弥散在胞浆中; 自噬形成时, GFP-LC3 融合蛋白转位至自噬体膜, 在荧光显微镜下形成多个明亮的绿色荧光斑点, 一个斑点相当于一个自噬体, 可以通过计数来评价自噬活性的高低。

1.2.6 利用 Western blotting 检测 LC3- II、P38、p-P38 的表达 将 5 组细胞培养后,吸除培养基,冰上裂解。离心取细胞总蛋白。BCA 法蛋白定量,于 12% SDS-PAGE 行细胞蛋白电泳,转膜后剪取目的条带,脱脂奶封闭后,分别孵 LC3- II、p-P38 和 P38 I 抗过夜,第 2 天孵 HRP 标记 II 抗 1 h,暗室中加入发光液,黑白胶片曝光。所得免疫印迹的定量可以用 BioRad 提供的 Molecular Analyst software 进行灰度分析。计算 LC3- II、p-P38 和 P38 和内参 GAPDH 比值,评价自噬形成及 P38 通路激活情况。

### 1.3 统计学处理

计量资料采用单因素方差分析或者 *K-W* 检验;计数资料采用 Pearson  $\chi^2$  检验。统计分析软件使用 SPSS 17.0。

## 2 结果

### 2.1 稳定表达 GFP-LC3 的 RAW264.7 细胞系的建立

构建 pcDNA3.1-GFP-LC3 真核表达载体,应用转染技术将该质粒导入 RAW264.7 细胞,用 G418 筛选稳定表达的细胞系。真核细胞中 GFP-LC3 的表达用荧光显微镜检测,如图 1 所示,可见 RAW264.7 细胞稳定表达 GFP-LC3 并在蓝光照射下发出绿色荧光。

### 2.2 检测各组巨噬细胞自噬情况

2.2.1 qRT-PCR 方法检测与细胞自噬相关的基因 mRNA 的表达 如图 2 所示,在 5 组细胞中,自

噬相关基因的表达存在明显差异,在饥饿状态下巨噬细胞均处于自噬激活状态,自噬相关基因 Atg5, Atg7, LC3- II 和 Bnip3 的 mRNA 的表达均上升;在 LPS 刺激下,巨噬细胞的自噬处于抑制状态,与对照组比,Atg5, LC3- II 和 Bnip3 存在统计学差异;加入 p38 抑制剂和 mTOR 抑制剂后,巨噬细胞的自噬明显处于激活状态,其与对照组比自噬相关基因 Atg5、Atg7、LC3- II 和 Bnip3 的 mRNA 的表达均上升。

2.2.2 GFP-LC3 融合蛋白示踪自噬形成 将 GFP-LC3 融合蛋白转入巨噬细胞后,在荧光显微镜下可以观察自噬体的形成。单纯巨噬细胞组中 GFP-LC3 融合蛋白弥散在胞浆中,很少形成代表自噬体的荧光斑点;Earle's 平衡盐溶液中巨噬细胞处于自噬激活状态,可见自噬体形成;LPS 组虽然有自噬体形成,单荧光强度低于 Earle's 平衡盐溶液组;另外两组均可看到较多自噬体的形成,LPS+雷帕霉素组最明显(图 3)。各组荧光强度与对照组之间存在明显统计学差异。见图 4。

2.2.3 Western blotting 检测 LC3- II、p-P38、P38

如图 5 所示,p-P38 在 Earle's 平衡盐组、LPS 组和 LPS+雷帕霉素组中表达明显升高;P38 在 LPS 组、LPS+P38 抑制剂组及 LPS+mTOR 抑制剂组升高。LC3- II 的表达在 Earle's 平衡盐组、LPS+P38 抑制剂组和 LPS+雷帕霉素组中表达要高于对照组和 LPS 组。阻断 mTOR 后,巨噬细胞自噬增强,这与文献报道相同,mTOR 对细胞自噬起到负调节作用,而阻断 mTOR 通路后,p-P38 水平没有明显变化情况下自噬仍然处于活化状态,而阻断 p-

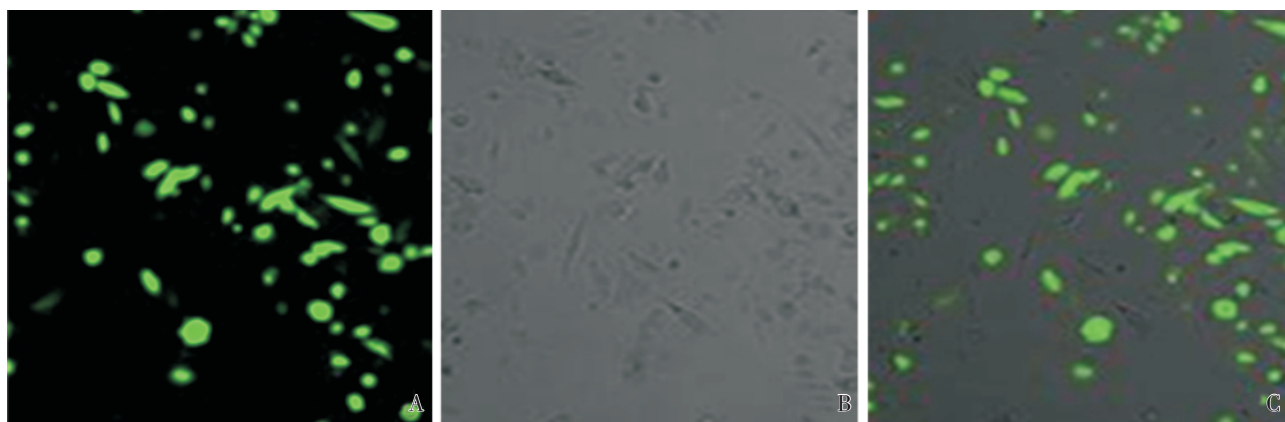


图 1 pcDNA3.1-GFP-LC3 转染 RAW264.7 细胞

Fig.1 pcDNA3.1-GFP-LC3 transfected into RAW264.7 cells

A: fluorescent vision; B: bright field; C: B and A overlays.  $\times 200$

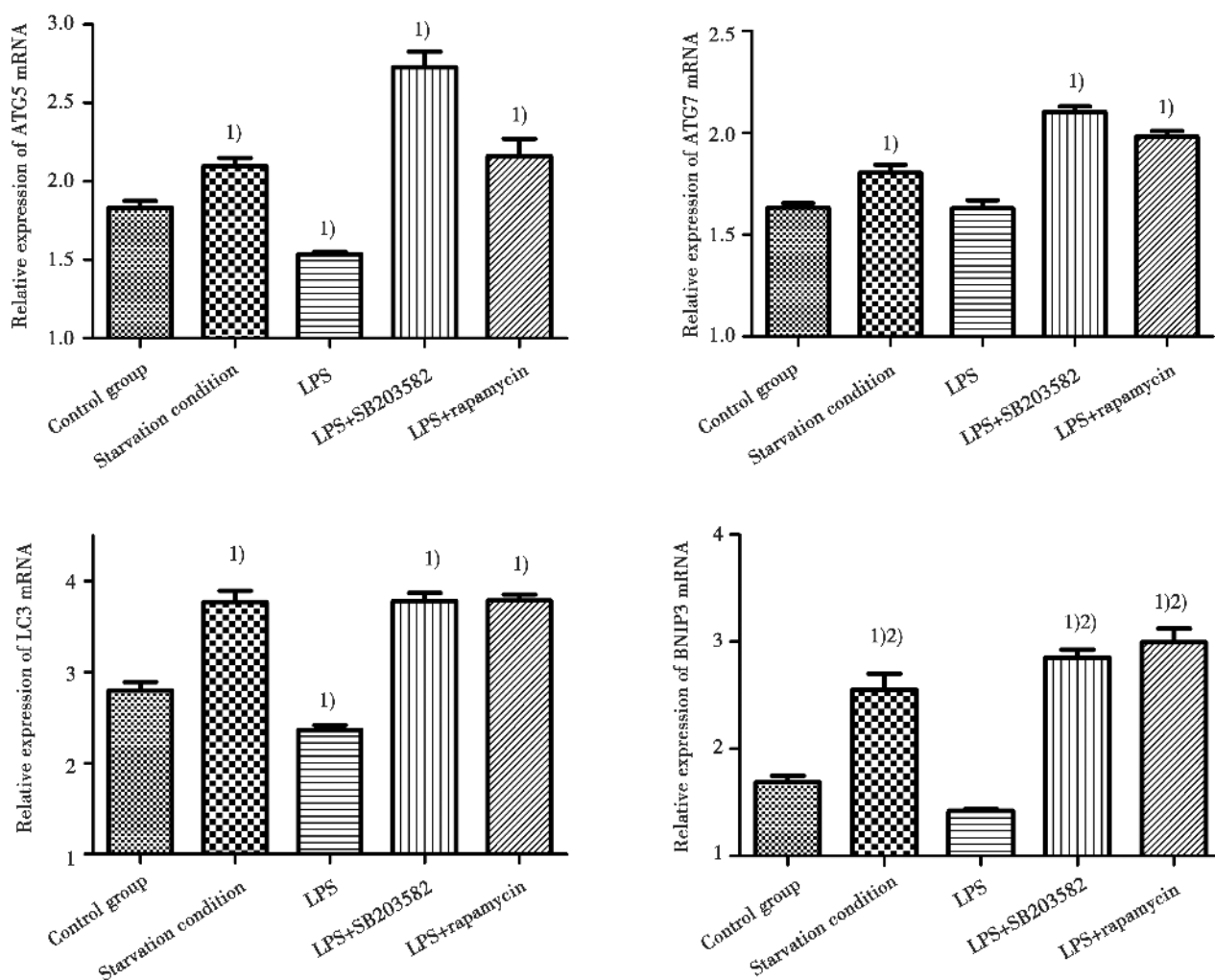


图 2 各组细胞中自噬相关基因 Atg5, Atg7, LC3- II 和 Bnip3 的 mRNA 表达情况

Fig.2 The mRNA expression of autophagy related genes Atg5, Atg7, LC3- II and Bnip3 in each group

Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$ . 1)  $P < 0.05$  vs. Control group; 2)  $P < 0.05$  vs. LPS group

P38 后自噬也处于活化状态, 这证明 mTOR 通路与 P38 通路可以同时调巨噬细胞自噬的活性, 且两者处于一种平衡状态。

### 3 讨论

在免疫网络中巨噬细胞既是免疫效应细胞, 又是免疫调节细胞<sup>[4-5]</sup>, 其具有免疫正相调节作用、免疫负相调节作用及抗原呈递功能<sup>[6]</sup>。在胚胎发育过程中巨噬细胞是调控母体免疫状况产生免疫耐受的重要细胞, 其决定胚胎是否可以免受免疫打击而流产<sup>[7-9]</sup>。巨噬细胞是天然性免疫和获得性免疫的桥梁, 通过识别并耐受胚胎抗原直接影响妊娠结局, 巨噬细胞的功能异常是导致母胎耐

受异常、流产发生的重要原因<sup>[10-12]</sup>, 研究已经证明在流产的动物模型及临床标本中巨噬细胞均处于活化状态。因此明确巨噬细胞功能状态对了解流产有重要意义。

细胞自噬是溶酶体对自身结构的吞噬降解, 它既是细胞内的再循环系统, 也是机体一种重要的防御和保护机制。巨噬细胞自噬状态可以影响的其具体功能。巨噬细胞可以通过自噬和溶酶体结合, 消除、降解和消化受损、变性、衰老和失去功能的细胞、细胞器和变性蛋白质与核酸等生物大分子, 为细胞的重建、再生和修复提供必需的原料, 实现细胞内资源的再循环和再利用。在生理状态下, 自噬作为机体的一种防御机制, 在母体对胚胎免疫耐受的发病机制中具有十分重要的作用。

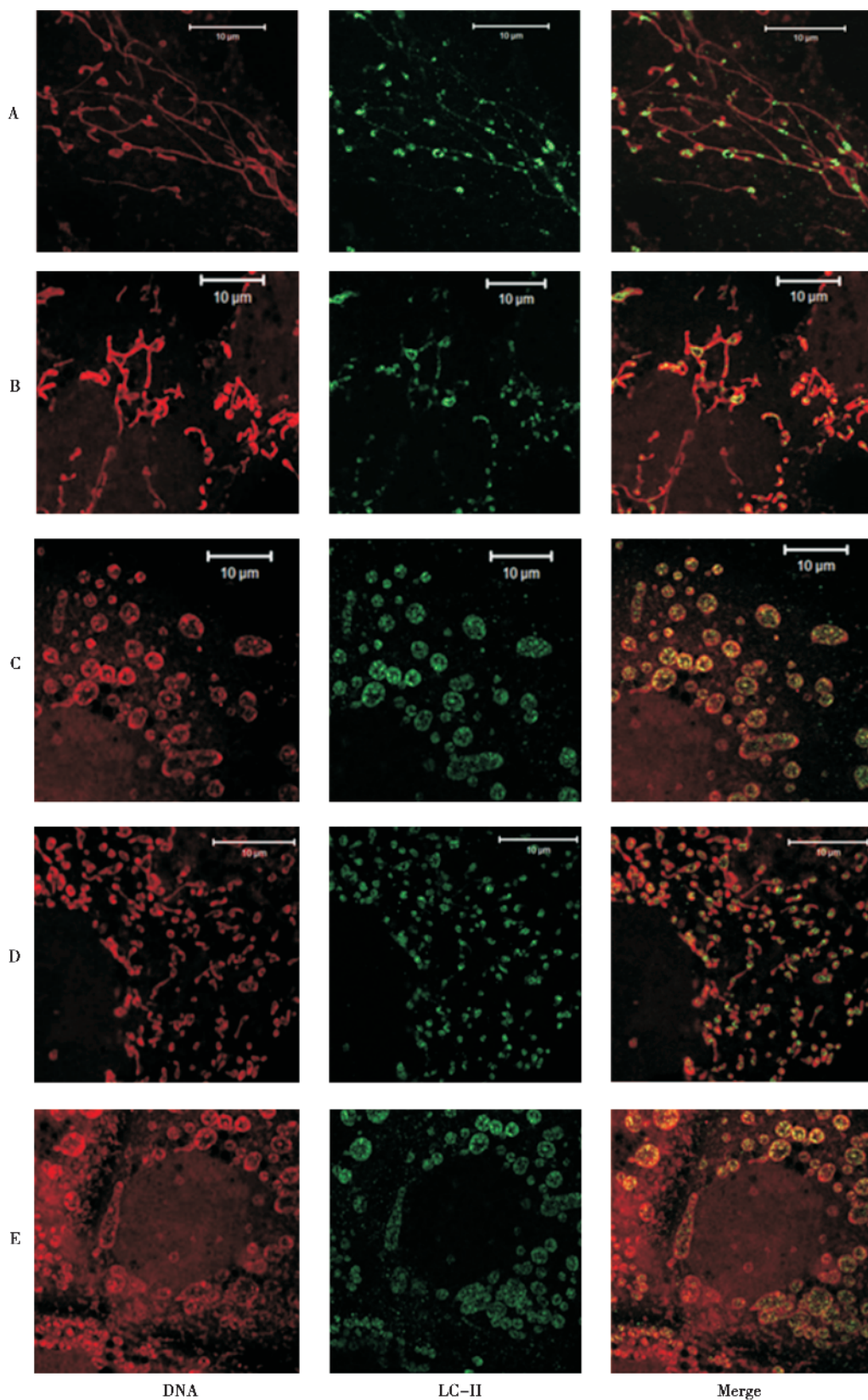


图 3 各组细胞在荧光显微镜下通过 GFP-LC3 观察自噬体的形成

Fig.3 The autophagy formation of each group under a fluorescence microscope via GFP-LC3

A: normal culture group; B: starvation activates autophagy group; C: simple LPS group; D: LPS + p-P38 inhibitor (SB203582) group; E: LPS + mTOR inhibitors (rapamycin) group. × 400

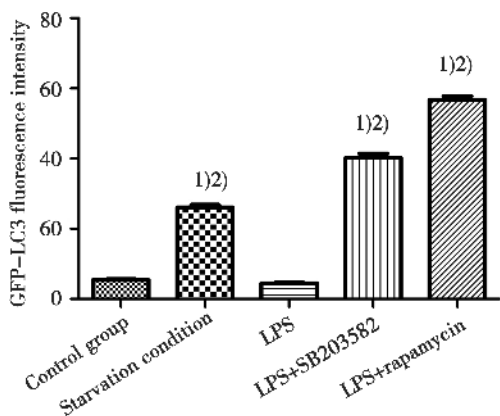


图 4 各组细胞 GFP-LC3 荧光强度

Fig.4 The GFP-LC3 fluorescence intensity in each group  
Mean ± SD. n = 3. 1) P < 0.05 vs. Control group; 2) P < 0.05 vs. LPS group

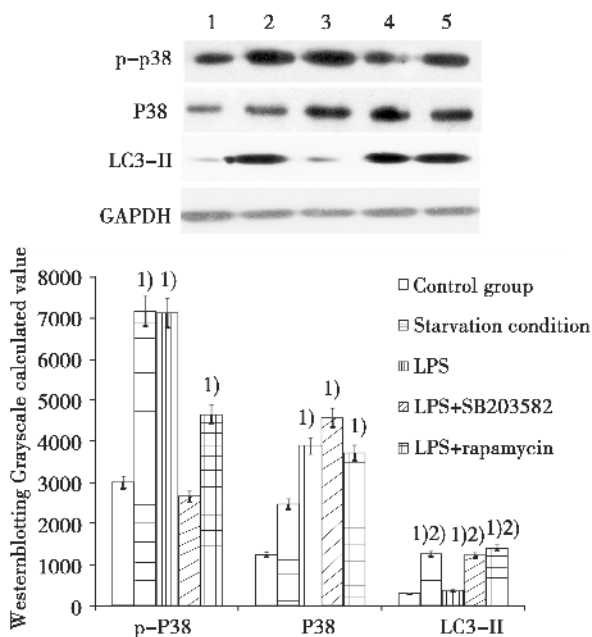


图 5 Western blotting 检测各组细胞中 LC3-II、p-P38、P38 的表达

Fig.5 Expression of LC3-II, p-P38, P38 tested by Western blotting

Lane 1: normal culture group; Lane 2: starvation activates autophagy group; Lane 3: simple LPS group; Lane 4: LPS + p-P38 inhibitor (SB203582) group; Lane 5: LPS + mTOR inhibitors (rapamycin) group. Mean ± SD. n = 3. 1) P < 0.05 vs. Control group; 2) P < 0.05 vs. LPS group

自噬在对中枢免疫耐受的诱导中起到关键作用。首先,自噬相关基因 Atg5 缺陷的胸腺移植可导致自身反应性 CD4+T 细胞的产生<sup>[13]</sup>;其次,自身免

疫性肠病-克罗恩氏病的发生部分归因于自噬相关基因 Atg16L1 的多态性<sup>[14]</sup>。因此,自噬状态关系到巨噬细胞的功能,在流产孕妇中间关系到免疫状态,从而对胎儿产生影响。

目前关于自噬的调控通路主要包括①依赖 mTOR (哺乳动物雷帕霉素靶点)途径调控的自噬<sup>[15]</sup>,具体又可分为 PI3K/AKT/mTOR 信号通路和 AMPK-TSC1/2-mTOR 信号通路<sup>[16]</sup>。我们前期的研究已经证实巨噬细胞被 LPS 激活的过程中自噬处于活化状态,而 PI3K/AKT/mTOR 信号通路参与巨噬细胞自噬的活化,但不是唯一通路<sup>[3]</sup>。②非依赖 mTOR 的信号通路。具体包括 3-甲基腺嘌呤(3-MA)通过抑制 Class III PI3K 的活性抑制自噬;beclin1 和 UVRAG 作为正调控子,抗凋亡因子 bcl-2 作为负调控子共同参与组成 Class III PI3 复合物调控自噬;GTP 结合的 G 蛋白亚基 Gαi3 抑制自噬,GDP 结合的 Gαi3 蛋白活化自噬;死亡相关蛋白激酶(death-associated protein kinase, DAPK)和 DAPK 相关蛋白激酶(DAPK-related protein kinase-1, DRP-1)诱导自噬。还有实验发现胰岛素,氨基酸等通过激活 p38/MAPK (p38α)而抑制自噬,且不依赖于 mTOR 途径。PKA、casein 激酶 II、MAP 激酶、calcium 途径也存在于自噬过程错综复杂的调控网络中,但其机制还不甚清楚。本实验我们在研究依赖 mTOR 途径调控自噬的基础上对非 mTOR 通路进行检测,证实 P38/MAPK 通路参与巨噬细胞自噬的活化。P38/MAPK 对自噬的调控主要是抑制作用。P38/MAPK 通路在细胞的发展过程中的作用是非常复杂的。激活这条通路的特定细胞将导致细胞增殖被抑制,p38α 还可以诱导细胞周期进入静止期,并且促进 DNA 修复从而抵抗化疗诱导 DNA 损伤<sup>[17]</sup>。尤其是 p38β 已经被指出其在各种细胞系中有抗凋亡的效果,并且 p38 可能直接影响肿瘤浸润和迁移<sup>[18]</sup>。

我们加入 P38 抑制剂 SB203582 后,巨噬细胞的自噬明显增强,这证明 LPS 可以激活 p-P38,其可以抑制巨噬细胞自噬的发生;加入 mTOR 抑制剂雷帕霉素后,自噬同样增强。这证明 LPS 对巨噬细胞的作用除了 P38/MAPK 通路和 AKT/mTOR 通路外还存在其他的信号通路。LPS 刺激巨噬细胞后,通过免疫荧光及 Western blotting 均可检测到巨噬细胞的自噬有所增加,考虑是外界因素刺激巨噬细胞后,细胞本身产生的保护机制。而加入

SB203582 和雷帕霉素后,细胞内自噬增加主要为分别抑制了自噬调控通路 P38/MAPK 和 mTOR 后,侧枝通路调控加强所引起,同时协同 LPS 对细胞的 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)的激活,各方效果叠加后巨噬细胞的自噬反而增强。因此,LPS 可以调控巨噬细胞的自噬,P38/MAPK 为其可能的调控通路之一。

#### 参考文献:

- [1] Moretta L, Moretta A. Killer immunoglobulin-like receptors[J]. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16(5): 626-633.
- [2] Baek KH, Lee EJ, Kim YS. Recurrent pregnancy loss: the key potential mechanisms [J]. *Trends in Mol Med*, 2007, 13(7): 310-317.
- [3] 杜涛,黄海,陈欣,等. 脂多糖通过 PI3K/Akt/mTOR 通路激活巨噬细胞自噬的初步研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(4): 675-680.
- Du T, Huang H, Chen X, et al. LPS regulates macrophage autophagy through PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2014, 30(4): 675-680.
- [4] Nkamura O. Children's immunology, what can we learn from animal studies (1): Decidual cells induce specific immune system of feto-maternal interface [J]. *J Toxicol Sci*, 2009, 34(2): 331-339.
- [5] 林羿,曾耀英,曾山,等. 免疫治疗对母胎交界面 NK 细胞表面 CD69 表达水平的影响及其与鼠胚和鼠仔预后的关系 [J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(3): 282-287.
- Lin Y, Zeng YY, Zeng S, et al. Effects of immunotherapy on CD69 expression on NK cells at the fetomaternal interface and the relationship with the outcomes of murine fetuses and pups [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2002, 18(3): 282-287.
- [6] Yu G, Sun Y, Foerster K, et al. LPS-induced murine abortions require C5 but not C3, and are Prevented by upregulating expression of the CD200 tolerance signaling molecule[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2008, 60(2): 135-140.
- [7] Jin LP, Fan DX, Li DJ. Regulation of costimulatory signal in maternal-fetal immune tolerance [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2011, 66(2): 76-83.
- [8] Yin Y, Han X, Shi Q, et al. Adoptive transfer of CD4+CD25+ regulatory T cells for prevention and treatment of spontaneous abortion [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2012, 161(2): 177-181.
- [9] Saini V, Arora S, Yadav A, et al. Cytokines in recurrent pregnancy loss [J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(9-10): 702-708.
- [10] Bao SH, Wang XP, De LQ, et al. Decidual CD4+CD25+CD127dim/- regulatory T cells in patients with unexplained recurrent spontaneous miscarriage[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2011, 155(1): 94-98.
- [11] Arruvito L, Sotelo AI, Billordo A, et al. A physiological role for inducible FOXP3(+) Treg cells. Lessons from women with reproductive failure [J]. *Clin Immunol*, 2010, 136(3): 432-441.
- [12] Zhang Z, Song Q, Lin M, et al. Immunomodulated signaling in macrophages: Studies on activation of Raf-1, MAPK, cPLA(2) and secretion of IL-12 [J]. *Sci China C Life Sci*, 1997, 40(6): 583-592.
- [13] Virgin HW, Levine B. Autophagy genes in immunity [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(5): 461-470.
- [14] Prescott NJ, Fisher SA, Franke A, et al. A nonsynonymous SNP in ATG16L1 predisposes to ideal Crohn's disease and is independent of CARD15 and IBD5 [J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(5): 1665-1671.
- [15] Jiang X, Li X, Huang H, et al. Elevated levels of mitochondrion-associated autophagy inhibitor LRPPRC are associated with poor prognosis of human patients with prostate cancer [J]. *Cancer*, 2014, 120(8): 1228-1236.
- [16] Guo Z, Lai Y, Du T, et al. Prostate specific membrane antigen knockdown impairs the tumorigenicity of LNCaP prostate cancer cells by inhibiting the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway [J]. *Chin Med J(Engl)*, 2014, 127(5): 929-936.
- [17] Zhang Y, Guo Z, Du T, et al. Prostate specific membrane antigen (PSMA): A novel modulator of p38 for proliferation, migration, and survival in prostate cancer cells [J]. *Prostate*, 2013, 73(8): 835-841.
- [18] 杜涛,张一鸣,郭正辉,等. 前列腺特异性膜抗原通过 p38 通路对前列腺癌细胞增殖、迁移的调控研究 [J]. *中华实验外科杂志*, 2013, 30(12): 2496-2499.
- Du T, Zhang YZ, Gou ZH, et al. Regulatory effects of prostate specific membrane antigen on proliferation, survival and metabolism of prostate cancer cells via P38 pathway [J]. *Chin J Exp Surg*, 2013, 30(12): 2496-2499.