

本文引文格式:陶怡,杨嘉辉,黄晖,等. 氢醌作用下肝细胞 DNA-PK 的表达特征及其在自噬中的作用[J]. 右江民族医学院学报, 2022, 44(5): 617-622.

【论著与临床报道】

氢醌作用下肝细胞 DNA-PK 的表达特征及其在自噬中的作用

陶怡¹, 杨嘉辉², 黄晖², 刘家仁^{1,3}, 胡恭华^{2,3}

(1. 赣南医学院基础医学院, 江西 赣州 341000;

2. 赣南医学院公共卫生与健康管理学院, 江西 赣州 341000;

3. 赣南医学院心脑血管疾病防治教育部重点实验室, 江西 赣州 341000)

摘要:目的 探讨氢醌(HQ)对 L02 肝细胞 DNA-PK 表达的影响,明确 DNA-PK 在 HQ 所致肝细胞自噬中作用,为深入探讨 DNA 损伤应答与自噬的关系提供科学依据。**方法** 将实验分为未处理对照组、DMSO 溶剂对照组、DNA-PK 抑制剂(NU7026)组、HQ 组、NU7026+HQ 组,处理时间为 24 h;采用 CCK-8 法检测 L02 肝细胞存活率;采用倒置显微镜观察细胞的形态变化;采用 Western blot 方法检测 L02 肝细胞中 DNA-PK、p62、Beclin-1、LC3 II/LC3 I 在蛋白水平上的表达情况;采用免疫荧光法检测 DNA-PK 蛋白的亚细胞定位特征。**结果** CCK-8 法检测结果显示,与对照组相比,HQ 组和 HQ+NU7026 组细胞存活率有明显降低($P < 0.01$)。Western blot 结果显示,在浓度为 0~40 μM 的 HQ 作用下,DNA-PK 蛋白的相对表达量有随着 HQ 作用浓度的增加而升高的趋势;当 HQ 作用剂量达到 40 μM 和 80 μM 时,DNA-PK 的相对表达量高于对照组($P < 0.01$);与对照组相比,NU7026 组和 NU7026+HQ 组提高了 p62 的表达水平;与 HQ 组相比,NU7026+HQ 组对 LC3 II/LC3 I、Beclin-1 和 p62 的表达无显著影响。免疫荧光实验结果显示,与对照组相比,实验组 DNA-PK 蛋白的荧光强度明显增强,各组 DNA-PK 蛋白均只在细胞核中表达。**结论** HQ 可诱导 L02 肝细胞 DNA-PK 和 LC3 II/LC3 I 蛋白表达水平的增加,而对 Beclin-1 和 p62 蛋白的表达无影响;抑制 DNA-PK 活性会增加 L02 细胞 p62 蛋白的表达水平,而对 Beclin-1 和 LC3 II/LC3 I 蛋白的表达无影响;DNA-PK 可能会通过影响 p62 蛋白的表达而在肝细胞自噬过程中发挥作用。

关键词: 氢醌; L02 肝细胞; DNA-PK; 自噬

中图分类号: R329.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2022)05-0617-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.05.001

Expression of DNA-PK in hepatocytes treated with hydroquinone and its role in autophagy

Tao Yi¹, Yang Jiahui², Huang Hui², Liu Jiaren^{1,3}, Hu Gonghua^{2,3}

(1. School of Basic Medicine, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi, China;

2. School of Public Health and Health Management, Gannan Medical University, Ganzhou

341000, Jiangxi, China; 3. Key Laboratory of Prevention and Treatment of

Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases of the Ministry of Education,

Gannan Medical University, Ganzhou 341000, Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of hydroquinone (HQ) on the expression of DNA-PK in L02 hepatocytes, and to clarify the role of DNA-PK in HQ-induced hepatocyte autophagy, so as to provide a scientific basis for further exploring the relationship between DNA damage response and autophagy. **Methods**

The experiment involved untreated control group, DMSO solvent control group, DNA-PK inhibitor (NU7026) group, HQ group and NU7026+HQ group. The treatment time was 24 hours. The survival rate of

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81960599);赣南医学院科技创新团队项目(TD201801)

第一作者简介: 陶怡(1994-),女,在读硕士研究生,研究方向:病理学与病理生理学,E-mail:862391799@qq.com

共同第一作者简介: 杨嘉辉(1999-),男,本科,研究方向:预防医学,E-mail:18779458011@163.com

通讯作者简介: 胡恭华(1972-),男,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:生化与分子毒理学,E-mail:hgh0129@163.com

L02 hepatocytes was detected by CCK-8. The morphological changes of the cells were observed by inverted microscope. The protein expressions of DNA-PK, p62, Beclin-1 and LC3 II /LC3 I in L02 hepatocytes were detected by Western blot. The sub-cellular localization characteristics of DNA-PK protein were detected by immunofluorescence assay. **Results** The result of CCK-8 assay showed that, compared with that of the control groups, the survival rate of cells in the HQ group and the HQ+NU7026 group significantly decreased ($P < 0.01$). The results of Western blot showed that the relative expression of DNA-PK protein increased with the increase of HQ concentration under the action of 0~40 μM HQ. When HQ dose reached 40 μM and 80 μM , the relative expression of DNA-PK was higher than that of the control groups ($P < 0.01$). Compared with the control groups, the expression of p62 increased in the NU7026 group and the NU7026+HQ group. Compared with the HQ group, there were no significant effects on the expression of LC3 II /LC3 I, Beclin-1 and p62 in the NU7026+HQ group. The results of immunofluorescence assay showed that compared with the control groups, the fluorescence intensity of DNA-PK protein in the experimental groups was significantly enhanced, and the DNA-PK protein in each group was only expressed in the nucleus. **Conclusion** HQ can increase the expression levels of DNA-PK and LC3 II /LC3 I proteins in L02 hepatocytes, but has no effects on Beclin-1 and p62 protein expression. Inhibition of DNA-PK activity can increase the expression of p62 protein in L02 cells, but has no effects on the expression of Beclin-1 and LC3 II /LC3 I proteins. DNA-PK may play a role in hepatocyte autophagy by affecting the expression of p62 protein.

Key words: hydroquinone; L02 hepatocytes; DNA-PK; autophagy

氢醌(hydroquinone, HQ)是一种白色晶状固体,由苯环和对羟基组成的芳香族化合物,目前, HQ 多用于化妆品中的有效增白成分、黑白摄影技术的显影剂和橡胶抗氧化剂等。在环境和职业暴露中, HQ 可经皮肤、消化道、呼吸道等途径被人体吸收,主要经肝脏代谢^[1]。长期的动物实验表明, HQ 具有肝脏毒性^[2]。大量的研究发现, HQ 可促进机体自噬水平的增加^[3-4]。本课题组前期实验证实 HQ 可促进 L02 肝细胞的自噬水平的增加。

自噬(autophagy)是一种依赖于自噬体和溶酶体合作的细胞分解代谢过程,在维持细胞稳态和正常的细胞功能中起着重要作用^[5]。研究表明^[6],自噬和 DNA 损伤反应(DNA damage response, DDR)之间存在广泛的相互作用。DNA 依赖的蛋白激酶(DNA-dependent protein kinase, DNA-PK)是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,参与了 DDR 过程^[7],并且作为 DNA 修复机制的关键组成部分,控制着对 DNA 损伤的反应,从而有助于维持基因组的完整性^[8]。DNA-PK 全酶是一个由催化亚基、DNA-PKcs 和 Ku70/80 异质体组成的三聚体复合物^[9]。有研究表明, DNA-PKcs 已被确定为辐射诱导自噬的负调控因子^[10]。虽然目前对 DNA-PK 的功能和结构进行了大量的研究,但是对于 DNA-PK 在自噬中的作用机制仍不明确。

基于此,本研究将 L02 肝细胞作为研究对象,以 HQ 和 DNA-PK 抑制剂(NU7026)为受试物,采用 CCK-8 法、Western blot 实验和免疫荧光技术来探讨 HQ 对 L02 肝细胞 DNA-PK 蛋白表达和亚细胞定位

的影响,并探讨在 HQ 作用下,抑制 DNA-PK 活性对 L02 细胞自噬相关蛋白 LC3、p62 和 Beclin-1 表达的影响,从而为深入阐明 HQ 的毒性作用机制提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验细胞及受试物 L02 肝细胞由深圳市疾病预防控制中心惠赠; DNA-PK 抑制剂(5 mM, NU7026, MCE 公司); 氢醌, 纯度 $\geq 99.9\%$, 购自美国 SIGMA 公司。

1.2 主要试剂及耗材 牛血清白蛋白(上海生物工程有限公司); 双抗(青霉素、链霉素混合液)购自美国 SIGMA 公司; DNA-PK 抗体(美国 Abcam 公司); p62 抗体(美国 CST 公司); Beclin-1 抗体(美国 CST 公司); LC3A/B 抗体(美国 Abcam 公司); BCA 蛋白测定试剂盒(北京索莱宝公司); 蛋白酶抑制剂(GLP-BIO 公司); 抗兔二抗(美国 Abcam 公司); 抗鼠二抗(美国 Abcam 公司); GAPDH 抗体(中国 Proteintech 公司); 1640 培养基(美国 GIBCO 公司); 脱脂奶粉(中国伊利公司); CCK-8 试剂(Biosharp 公司); PBS 缓冲液粉末(ORIGENE 公司); 胎牛血清(美国 GIBCO 公司)。

1.3 设备与仪器 CO₂ 恒温培养箱(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 多功能酶标仪(美国 Thermo Scientific 公司); 普通双开门冰箱(格力电器公司); 垂直板电泳机(美国 BIO-RAD 公司); 电泳转移槽(美国 BIO-RAD 公司); Zeiss LSM 880 共聚焦显微镜(德国蔡司公司); A1600 化学发光成像仪(美国通用公司);

医用低温箱(Panasonic 公司);倒置光学显微镜(德国 Laica 公司);普通冰箱(青岛海尔公司);超净工作台(苏州苏净安泰公司);恒温水浴锅(国华电器有限公司)。

1.4 细胞培养 L02 肝细胞培养于 10%胎牛血清和青链霉素混合液的 1640 培养基中,置于在 37 °C,5% CO₂ 培养箱,每天换液 1 次,当 L02 肝细胞数量为 85%~95%时即可传代处理,取对数生长期的细胞进行实验。

1.5 实验分组 通过查阅文献及前期预实验,将实验分为:对照组、NU7026 组、HQ 组、HQ+NU7026 组、DMSO 组。NU7026 处理浓度为 10 μM, HQ 作用浓度为 80 μM,作用时间均为 24 h。

1.6 CCK-8 实验 收集对数生长期的细胞,数量为 5000 个/孔,接种于 96 孔板内,37 °C,5%CO₂ 孵育 24 h。根据实验需求处理细胞,每个处理组设置 3~5 个复孔,同时设置对照孔及空白对照孔,每孔内培养基 200 μL。24 h 后弃除培养基,加入新鲜培养基 100 微升/孔,加入 CCK-8 试剂 10 微升/孔,均匀混匀后放入培养箱孵育 1~2 h。用酶标仪检测 450 nm 波长下各孔的吸光度值。细胞活力(%)=(实验孔-空白孔)/(对照孔-空白孔)×100%。

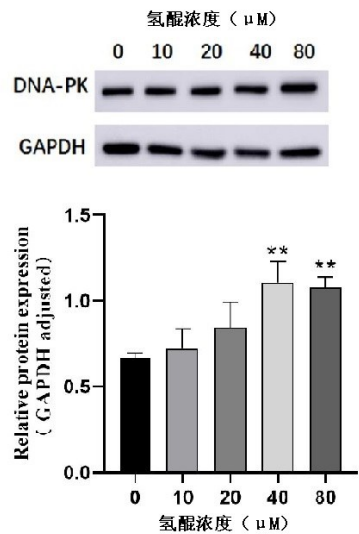
1.7 Western blot 实验 处理细胞 24 h 后提取细胞总蛋白,用 BCA 定量法将蛋白定量到 20 μg。根据伯乐快速凝胶试剂盒的说明书比例配制凝胶,每孔上样 20 μg 总蛋白后 180 V 恒压电泳,经 PVDF 转膜并用 5% 脱脂奶粉封闭,使用兔抗一抗 DNA-PK(1:2000),P62(1:1000),Beclin 1(1:1000)、LC3A/B(2 μg/mL),鼠抗一抗 GAPDH(1:200),4 °C 孵育过夜。第 2 天加入抗兔或抗鼠二抗孵育 1 h 后 PBS 洗 3 遍,显影后用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值。

1.8 免疫荧光法 在 24 孔板中接种 5×10⁴ 个细胞做细胞玻片爬片,至处理时间终点时,弃去培养液,用 PBS 洗涤 2 次,加入 500 μL 的 4%多聚甲醛固定细胞爬片 15 min 后用 PBS 轻柔的漂洗 3 次,用含 0.3% Trion X 的 5% BSA 通透及封闭细胞爬片 1 h,弃封闭液后加一抗 4 °C 孵育过夜,加入对应的荧光二抗室温避光孵育 1 h,PBS 洗 3 遍后加 DAPI 工作液避光浸染 5 min,弃去后取爬片置于滴有荧光淬灭剂的载玻片上,最后固定玻片。1 周内用激光共聚焦显微镜观察,记录细胞荧光强度。

1.9 统计学方法 使用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学分析。计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组比较采用 Dunnett-*t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

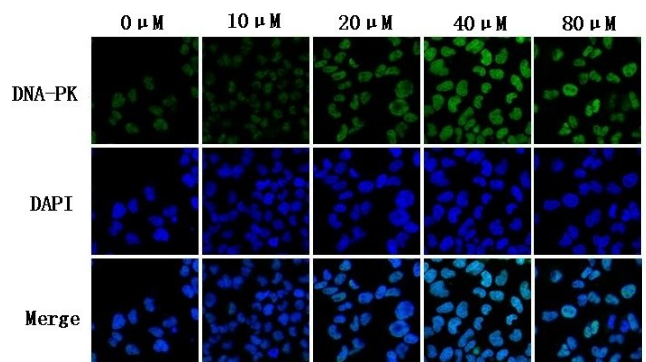
2 结果

2.1 不同浓度 HQ 对 L02 肝细胞 DNA-PK 蛋白表达及亚细胞定位的影响 Western blot 实验结果显示,在 0 μM、10 μM、20 μM、40 μM 和 80 μM HQ 作用下 L02 肝细胞 DNA-PK 蛋白的相对灰度值依次为:0.67±0.03、0.72±0.12、0.84±0.15、1.11±0.12、1.08±0.06,其中 40 μM 和 80 μM 剂量组 DNA-PK 的相对灰度值明显高于 0 μM 剂量组($P < 0.01$);10 μM 和 20 μM 剂量组 DNA-PK 蛋白的相对灰度值与 0 μM 剂量组相比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1。采用免疫荧光实验检测 HQ 作用下 DNA-PK 蛋白在 L02 肝细胞中的表达和亚细胞定位特征。激光共聚焦显微镜观察结果显示,在 L02 细胞中,DNA-PK 主要分布于细胞核中;随着 HQ 作用剂量的增加,DNA-PK 在细胞内的荧光强度也随之增强,见图 2。



注:与对照组(浓度 0 μM)相比,** $P < 0.01$; $n = 3$ 。

图 1 不同浓度 HQ 对 L02 肝细胞 DNA-PK 蛋白表达的影响



注:DNA-PK 蛋白(绿色);DAPI(蓝色)作为细胞核复染剂;Merge(绿色和蓝色图片的叠加)

图 2 不同浓度 HQ 处理 24 h 下 DNA-PK 蛋白表达的免疫荧光实验检测结果

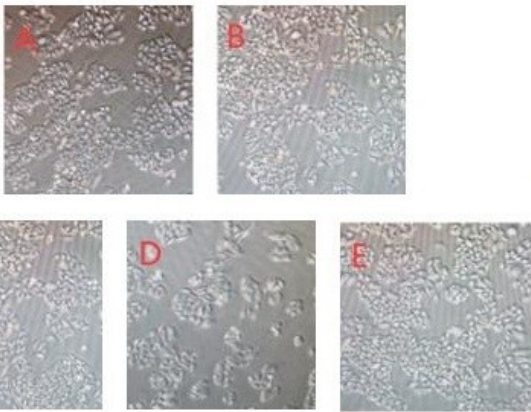
2.2 不同处理组细胞存活率的 CCK-8 检测结果 与对照组相比, HQ 组和 HQ+NU7026 组细胞存活率有明显降低 ($P < 0.01$)。NU7026 组和 DMSO 组细胞存活率与对照组相比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1。因此, 本研究在后续的蛋白质印迹实验中不设 DMSO 溶剂对照。

表 1 各处理组对 L-02 细胞存活率的影响 ($n = 4$)

组别	OD _{450nm}	细胞存活率
0(对照组)	1.79±0.03	1.00±0.01
HQ 组	1.38±0.01	0.76±0.01 ^a
NU7026 组	1.85±0.16	1.07±0.05
HQ+NU7026 组	1.38±0.40	0.77±0.02 ^a
DMSO 组	1.74±0.04	0.97±0.02

注: ①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示; ②与对照组比较, a: $P < 0.01$ 。

2.3 不同处理组 L02 肝细胞的形态学观察结果 各处理组与对照组相比较在细胞形态上均未发生明显变化, 细胞呈贴壁生长, 细胞保持多边形或梭状形态, 大小一致, 排列紧密, 边界较为清楚。HQ 组和 HQ+NU7026 组出现少量因贴壁能力下降而漂浮的细胞。见图 3。

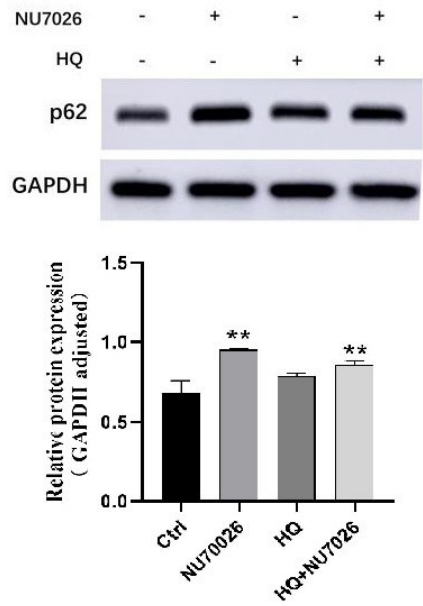


注: A~E 分别代表对照组、NU7026 组、HQ 组、HQ+NU7026 组、DMSO 组。

图 3 各处理组 L02 肝细胞镜下观察结果

2.4 DNA-PK 抑制对 L02 肝细胞中 p62 蛋白表达的影响 Western blot 实验结果显示, 对照组、NU7026 组、HQ 组、NU7026+HQ 组 L02 细胞中 p62 蛋白的相对灰度值依次为 0.68±0.08、0.95±0.01、0.79±0.02、0.85±0.02。NU7026 组和 NU7026+HQ 组的 p62 蛋白的相对灰度值与对照组相比较均有升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。NU7026+HQ 组的 p62 表达与 HQ 组相比较无明显差异 ($P > 0.05$)。

见图 4。



注: 与对照组相比, ** $P < 0.01$; $n = 3$ 。

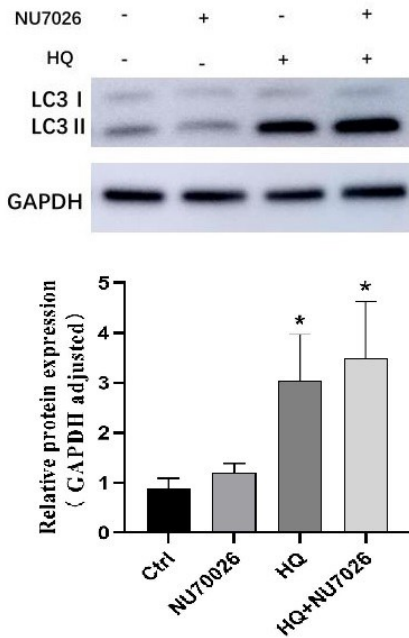
图 4 各处理组 p62 蛋白表达水平的比较

2.5 DNA-PK 抑制对肝细胞中 LC3 II/LC3 I 蛋白表达的影响 Western blot 实验结果显示, 对照组、NU7026 组、HQ 组、NU7026+HQ 组 L02 细胞中 LC3 II/LC3 I 蛋白的相对灰度值依次为: 0.88±0.21、1.20±0.19、3.04±0.93、3.50±1.13。其中 HQ 组、NU7026+HQ 组的 LC3 II/LC3 I 的相对灰度值明显高于对照组 ($P < 0.05$); NU7026 组 LC3 II/LC3 I 蛋白的相对灰度值与对照组相比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。NU7026+HQ 组的 LC3 II/LC3 I 表达与 HQ 组相比无明显差异 ($P > 0.05$), 见图 5。

2.6 DNA-PK 抑制对肝细胞中 Beclin-1 蛋白表达的影响 Western blot 实验结果显示, 对照组、NU7026 组、HQ 组、NU7026+HQ 组 L02 细胞中 Beclin-1 蛋白的相对灰度值依次为 0.86±0.09、0.83±0.02、0.87±0.10、0.81±0.03。各处理组 Beclin-1 蛋白表达与对照组相比较均无统计学差异 ($P > 0.05$)。NU7026+HQ 组的 Beclin-1 蛋白表达与 HQ 组相比较无明显差异 ($P > 0.05$), 见图 6。

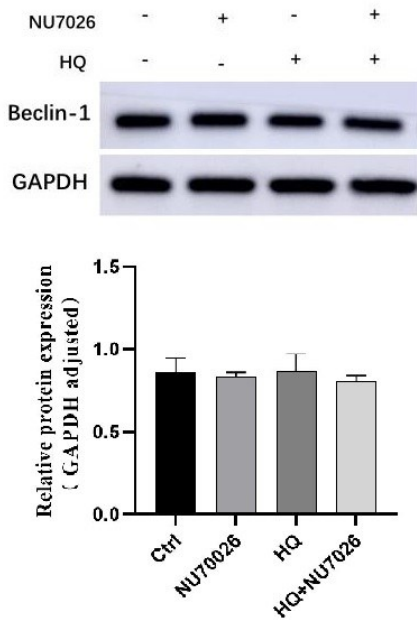
3 讨论

自噬是一种在真核生物中保守的分解代谢过程。从调节细胞内的基本代谢功能到各种疾病, 如衰老、癌症、神经退行性疾病和溶酶体疾病等, 自噬已成为控制人体内稳态的中心节点^[11]。目前最常用的自噬相关标志物蛋白主要有 Beclin-1、微管相关蛋白 1 轻链 3 (LC3) 和 SQSTM1/p62^[12]。其中当自噬被激活时, SQSTM1/p62 的表达并不总是减少, 有时会增加。有



注:与对照组相比,* $P < 0.05$; $n = 3$ 。

图 5 各处理组 LC3 II/LC3 I 蛋白表达水平的比较结果



注: $n = 3$ 。

图 6 各处理组 Beclin-1 蛋白表达水平的比较

研究表明^[13],结直肠癌细胞中 SQSTM1/p62 的表达被 β catenin/TCF4 复合物抑制,该复合物抑制自噬小体的形成。然而,在淀粉诱导的自噬条件下,因为 β 连环蛋白通过 LC3 结合 β 连环蛋白的 LIR 自发降解,所以 SQSTM1/p62 的表达显著增加。

自噬在不同的 DDR 通路中起着重要的作用^[14]。DNA-PK 是调节 DDR 的激酶之一,有研究^[15]发现 DNA-PK 也参与自噬的调控。例如,香兰素衍生物溴霉素对 DNA-PKcs 的抑制作用,通过诱导 HepG2 细

胞的凋亡和自噬,表现出强大的抗增殖作用。也有实验^[16]使用人恶性胶质瘤 M059J 和 M059K 细胞来研究 DNA-PK 在 IR 诱导细胞凋亡和自噬细胞死亡中的作用,结果发现在缺乏 DNA-PKcs 的 M059J 细胞中,低剂量的 IR 诱导了大量的自噬细胞死亡。但是目前国内外对于 DNA-PK 在肝细胞中自噬的研究很少,其中的调控机制还尚不明确。

为了探讨 HQ 对肝细胞 DNA-PK 表达的影响,并明确 DNA-PK 是否会影响肝细胞中 HQ 诱导的自噬过程,本研究采用了 CCK-8、蛋白质印迹和细胞免疫荧光的方法检测不同浓度 HQ 作用下肝细胞 DNA-PK 的表达水平,以及 DNA-PK 抑制对 HQ 作用条件下自噬相关蛋白表达的影响。CCK-8 实验结果发现,DMSO 溶剂对照组和 NU7026 组细胞存活率与对照组差异无统计学意义,因此,DMSO 溶剂对 NU7026 组的实验结果没有明显影响。不同 HQ 浓度处理的蛋白质印迹结果显示,在 40 μ M 和 80 μ M HQ 作用下,DNA-PK 的表达较对照组明显增加,这表明 DNA-PK 可能参与 HQ 所致 L02 细胞的 DDR 过程。细胞免疫荧光结果显示,不同浓度 HQ 处理下的 DNA-PK 蛋白的荧光强度表达与蛋白质印迹结果基本相符。不同处理组的蛋白质印迹结果显示,与对照组相比,NU7026 组的 p62 蛋白表达明显增加,但 Beclin-1、LC3 II/LC3 I 表达无显著差异;HQ 组的 LC3 II/LC3 I 表达明显增加,p62 和 Beclin-1 表达无显著差异;NU7026+HQ 组的 p62 和 LC3 II/LC3 I 表达明显增加。以上结果提示:HQ 诱导的肝细胞自噬可以促进 LC3 I 向 LC3 II 的转变;出现 p62 和 LC3 均升高的原因可能是 L02 肝细胞在 HQ 作用下 LC3 蛋白降解了 β -连环蛋白/转录因子 4 复合物,从而导致了 p62 表达的升高并且促进了自噬小体的生成;DNA-PK 可能会通过影响 p62 的表达而在肝细胞自噬过程中发挥作用。但是与 HQ 组相比,NU7026+HQ 组自噬相关蛋白 Beclin-1、LC3 II/LC3 I 和 p62 表达均无显著差异,这表明 DNA-PK 抑制剂(NU7026)在 HQ 诱导 L02 肝细胞自噬中的影响不大,究其原因可能是 DNA-PK 在 HQ 诱导 L02 肝细胞自噬中的作用并不是通过 p62/Keap1/Nrf2 这一信号通路^[6]来调节的,更具体详细的原因需要在以后的研究中进行探索与验证。

参考文献:

- [1] 胡恭华,庄志雄,夏芳莲,等. 氢醌对 L-02 肝细胞 DNA 损伤及细胞周期的影响[J]. 环境与健康杂志,2007,24(4): 201-203.
- [2] SHIBATA MA, HIROSE M, TANAKA H, et al. Induc-

- tion of renal cell tumors in rats and mice, and enhancement of hepatocellular tumor development in mice after long-term hydroquinone treatment[J]. *Jpn J Cancer Res*, 1991, 82(11): 1211-1219.
- [3] RAMIREZ C, PHAM K, FRANCO M F E, et al. Hydroquinone induces oxidative and mitochondrial damage to human retinal Muller cells (MIO-M1)[J]. *Neurotoxicology*, 2013, 39: 102-108.
- [4] 吴丽群, 王敏, 刘想想, 等. 苯代谢物氢醌促进人 T 细胞白血病细胞自噬的研究[J]. *环境与健康杂志*, 2016, 33(9): 753-756.
- [5] 农进, 梁琼, 廖林, 等. HMGB1 对 LPS 诱导 A549 细胞自噬表达的调控作用[J]. *右江民族医学院学报*, 2021, 43(3): 302-305.
- [6] 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.
- [7] BLACKFORD A N, JACKSON S P. ATM, ATR, and DNA-PK: the trinity at the heart of the DNA damage response[J]. *Mol Cell*, 2017, 66(6): 801-817.
- [8] GOODWIN J F, KNUDSEN K E. Beyond DNA repair: DNA-PK function in cancer[J]. *Cancer Discov*, 2014, 4(10): 1126-1139.
- [9] PARK S J, GAVRILOVA O, BROWN A L, et al. DNA-PK promotes the mitochondrial, metabolic, and physical decline that occurs during aging[J]. *Cell Metab*, 2017, 25(5): 1135-1146. e7.
- [10] PUUSTINEN P, KELDSBO A, CORCELLE-TERME AU E, et al. DNA-dependent protein kinase regulates lysosomal AMP-dependent protein kinase activation and autophagy[J]. *Autophagy*, 2020, 16(10): 1871-1888.
- [11] SAHA S, PANIGRAHI DP, PATIL S, et al. Autophagy in health and disease: a comprehensive review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 485-495.
- [12] XU G, WANG X, YU H, et al. Beclin 1, LC3, and p62 expression in paraquat-induced pulmonary fibrosis[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2019, 38(7): 794-802.
- [13] TANG J L, LI Y, XIA S L, et al. Sequestosome 1/p62: A multitasker in the regulation of malignant tumor aggression (Review)[J]. *Int J Oncol*, 2021, 59(4): 77.
- [14] HEWITT G, KOROLCHUK V I. Repair, reuse, recycle: the expanding role of autophagy in genome maintenance[J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(5): 340-351.
- [15] YAN Y Q, ZHANG B, WANG L, et al. Induction of apoptosis and autophagic cell death by the vanillin derivative 6-bromine-5-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde is accompanied by the cleavage of DNA-PKcs and rapid destruction of c-Myc oncoprotein in HepG2 cells[J]. *Cancer Lett*, 2007, 252(2): 280-289.
- [16] DAIDO S, YAMAMOTO A, FUJIWARA K, et al. Inhibition of the DNA-dependent protein kinase catalytic subunit radiosensitizes malignant glioma cells by inducing autophagy[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(10): 4368-4375.

收稿日期: 2022-08-01; 修回日期: 2022-08-30