

# 蒜氨酸通过激活自噬改善 HepG2 细胞脂质的积聚

李天娇<sup>1</sup>, 刘禹含<sup>1</sup>, 张彤<sup>1</sup>, 杨傲雪<sup>1</sup>, 李应华<sup>2</sup>, 程碧君<sup>1\*</sup>

(1. 吉林农业科技学院食品工程学院, 吉林吉林 132101) (2. 漯河职业技术学院, 河南漯河 462002)

**摘要:** 研究蒜氨酸对棕榈酸诱导的 HepG2 细胞脂质积聚的影响, 并探讨蒜氨酸的作用机制与自噬的关系。利用 CCK8 法测定细胞活性, 采用尼罗红染色法观察细胞内脂质堆积情况, 并使用 ELISA 试剂盒检测甘油三酯和总胆固醇含量, 采用 Western Blot 测定自噬标志蛋白含量。结果显示, 与空白组相比, 阳性对照组中 HepG2 细胞的总胆固醇和甘油三酯含量显著增加, 分别增加约 1.69 和 1.36 倍; 而在蒜氨酸在 40~160  $\mu\text{mol/L}$  浓度范围作用下, 细胞脂滴减少, 总胆固醇和甘油三酯显著降低, 且呈现剂量依赖性, 在 160  $\mu\text{mol/L}$  浓度的蒜氨酸作用下总胆固醇和甘油三酯含量均极显著下降, 分别降低了 37.52% 和 33.33%。同时, 蒜氨酸在 80~160  $\mu\text{mol/L}$  浓度范围内显著增加自噬标志蛋白 LC3-II/LC3-I 比例, 分别增加了 23.87% 和 66.13%。因此得出, 蒜氨酸改善了棕榈酸诱导的 HepG2 细胞脂质积聚, 并可能通过激活细胞自噬的活性起到改善细胞脂质积聚的作用。

**关键词:** 蒜氨酸; 棕榈酸; 脂质积聚; 自噬

文章编号: 1673-9078(2023)04-33-38

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.4.1352

## Alliin Improves Lipid Accumulation in HepG2 Cells by Activating Autophagy

LI Tianjiao<sup>1</sup>, LIU Yuhan<sup>1</sup>, ZHANG Tong<sup>1</sup>, YANG Aoxue<sup>1</sup>, LI Yinghua<sup>2</sup>, CHENG Bijun<sup>1\*</sup>

(1. School of Food Engineering, Jilin University of Agricultural Science and Technology, Jilin 132101, China)

(2. Luohe Vocational and Technical College, Luohe 462002, China)

**Abstract:** The effect of alliin on palmitic acid-induced lipid accumulation in HepG2 cells was studied, and the relationship between lipid metabolism and autophagy was also explored in the article. The cell activity was measured by CCK8 method, the intracellular lipid accumulation was observed by Nile red staining, the contents of triglyceride and total cholesterol were detected by ELISA kits, and the content of autophagy marker protein was determined by Western blot. The results showed that compared with the blank group, the contents of total cholesterol and triglyceride in HepG2 cells in the positive control group increased significantly, about 1.69-times and 1.36-times respectively; Under the action of alliin in the concentration range of 40~160  $\mu\text{mol/L}$ , the cell lipid droplets decreased, and the contents of total cholesterol and triglyceride decreased significantly in a dose-dependent manner. Under the action of alliin in the concentration range of 160  $\mu\text{mol/L}$ , the contents of total cholesterol and triglyceride decreased significantly, 37.52% and 33.33% respectively. Meanwhile, alliin significantly increased the ratio of autophagy marker protein LC3-II/LC3-I in the concentration range of 80~160  $\mu\text{mol/L}$ , increasing by 23.87% and 66.13% respectively. Therefore, alliin improved the lipid metabolism disorder in HepG2 cells induced by PA (palmitic acid), and may ameliorate the lipid accumulation by activating the activity of autophagy.

**Key words:** alliin; palmitic acid; lipid accumulation; autophagy

引文格式:

李天娇, 杨傲雪, 刘禹含, 等. 蒜氨酸通过激活自噬改善 HepG2 细胞脂质的积聚[J]. 现代食品科技, 2023, 39(4): 33-38.

LI Tianjiao, YANG Aoxue, LIU Yuhan, et al. Alliin improves lipid accumulation in HepG2 cells by activating autophagy [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(4): 33-38.

收稿日期: 2021-11-30

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (YDZJ202301ZYTS162; YDZJ202201ZYTS401); 川菜发展研究中心科研项目 (CC21Z01); 吉林农业科技学院营养与健康食品科研团队经费资助

作者简介: 李天娇 (1984-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 功能性食品开发与利用, E-mail: 280395882@qq.com

通讯作者: 程碧君 (1987-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品生物制造与功能性食品, E-mail: 549193121@qq.com

脂质代谢紊乱是一种或多种脂蛋白的浓度和/或成分紊乱,如TC(血清总胆固醇)、TG(甘油三酯)或LDL-C(低密度脂蛋白胆固醇)升高,或HDL-C(高密度脂蛋白胆固醇)降低<sup>[1,2]</sup>。脂质异常积聚会伴随很多系统性疾病的发生,包括非酒精性脂肪性肝病、高尿酸血症、2型糖尿病、甲状腺功能减退、肥胖、原发性肝细胞癌、慢性肾病和非心血管疾病<sup>[3-5]</sup>。据研究,一些食品中的有益成分能显著改善脂质积聚。

蒜氨酸是生鲜大蒜中特有的内源性氨基酸,新鲜大蒜中并没有大蒜素,只含有蒜氨酸。当大蒜被切开或粉碎后,大蒜中的内源酶即蒜氨酸酶被激活,催化蒜氨酸分解合成大蒜素<sup>[6]</sup>。大蒜素极不稳定,遇热或碱即失去抗菌活性,而且具有强烈的大蒜臭。但蒜氨酸不仅无臭无味,而且效果更好<sup>[7]</sup>。西方医药研究人员对蒜氨酸神奇的药理作用进行了大量探索性研究工作。研究发现,以蒜氨酸为代表的含硫氨基酸不仅对金黄色葡萄球菌、结核杆菌、脑膜炎双球菌等常见致病菌有较强的杀灭作用,对真菌感染、原虫病等微生物感染性疾病同样有显著疗效;此外在降血糖、提高人体免疫力、抗衰老、抗癌防癌等方面也有很好效果<sup>[8,9]</sup>。但蒜氨酸的降脂功效和其相关分子机制仍不清楚。

自噬是一种细胞循环途径,在许多生理过程中是必不可少的。自噬作为受损细胞器、细胞碎片和错误折叠蛋白质的一种极为有序的降解过程,参与了细胞生长、发育和死亡的调节。自噬被激活后,可以分解多余的细胞成分,并为细胞正常代谢提供氨基酸和其他前体分子<sup>[10-15]</sup>。同时,在脂质代谢中,营养物质的消耗动员细胞内储存的脂质,将游离脂肪酸转化为代谢所需的能量,由此可见,自噬和脂质代谢之间的调节和功能具有相似性。这两者之间的显著相似性促使一些研究聚焦于这两个过程之间的联系。大量研究证实了细胞自噬功能异常与脂质异常积聚有着密切联系<sup>[16-18]</sup>。因此,自噬与蒜氨酸对棕榈酸诱导的脂质积聚是否存在关联,有待进一步研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

本研究中人肝癌细胞株(HepG2)购于美国模式微生物保藏中心;蒜氨酸标准品(Alliin)购于Sigma Chemical有限公司。

实验中所用主要试剂有:DMEM细胞培养液胎牛血清、胰蛋白酶,美国HyClone公司;甘油三酯(TG)ELISA、总胆固醇(TC)ELISA、BCA法蛋白测定试剂盒,碧云天科技公司;Anti-LC3、Anti-P62、Anti- $\beta$ -actin,

艾博抗(中国上海)商贸有限公司;二抗过氧化物酶结合的羊抗兔IgG(H+L)、过氧化物酶结合的羊抗鼠IgG(H+L),Sigma Chemical有限公司。

### 1.2 仪器设备

高速冷冻离心机,美国Thermo公司;酶标仪,奥地利TECAN公司;HF90二氧化碳培养箱,上海力申科学仪器有限公司;数显恒温水浴锅,美国圣克鲁兹生物技术公司;METTLE TOLEDO 6204型电子天平,瑞士公司,倒置荧光显微镜, MOTIC; THZ-8A 台式恒温振荡器,跃进医疗器械有限公司(上海);-80℃超低温冰箱、高压灭菌锅、Thermo超净工作台,美国Thermo公司

### 1.3 方法

#### 1.3.1 HepG2 细胞培养与处理

当细胞汇合度达到为80%时进行传代,加入高糖DMEM完全培养基(10%胎牛血清和1%双抗, *m/m*),放于37℃的CO<sub>2</sub>细胞培养箱。根据药品的稀释比例加入相应浓度的蒜氨酸及棕榈酸。

#### 1.3.2 HepG2 细胞活性检测

待HepG2细胞汇合度为80%时,用胰酶消化细胞并进行细胞计数。调整细胞浓度为每毫升 $6 \times 10^4$ 个待用。取96孔细胞培养板,每孔加入100  $\mu$ L细胞悬液(即每孔6000个),分别加入不同浓度的蒜氨酸(10、20、40、80、160、320、640、1280  $\mu$ mol/L),药物作用22 h后,避光加入CCK8溶液10  $\mu$ L,放回培养箱培养2 h。随后取出96孔板,用酶标仪检测450 nm波长处的吸光度值OD<sub>450 nm</sub>。

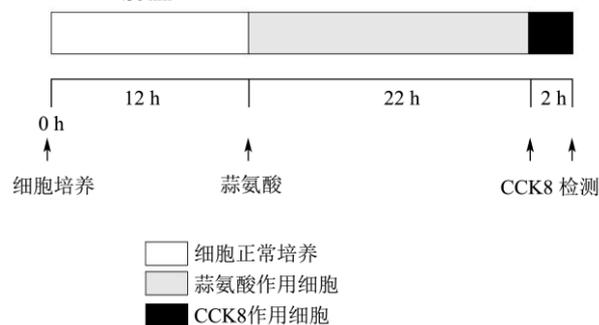


图1 CCK-8 流程示意图

Fig.1 Flow diagram of CCK-8

#### 1.3.3 尼罗红染色法

取24孔培养板,每孔细胞调整为 $8 \times 10^3$ 个,培养过夜。然后,药物组加入梯度浓度的蒜氨酸(0、40、80、160  $\mu$ mol/L)预处理2 h,而后再加入100  $\mu$ mol/L棕榈酸,继续培养22 h。使用PBS清洗后,每孔加入250  $\mu$ L尼罗红染液。染色10 min后,弃去尼罗红染液,

用 PBS 清洗细胞两次。然后, 加入 250  $\mu\text{L}$  DAPI 对细胞核进行染色, 染色 5 min 后, 弃去 DAPI 染液, 用 PBS 清洗细胞两次, 荧光显微镜下观察并拍照。

### 1.3.4 测定细胞内 TG 及 TC 含量

取 6 孔细胞培养板, 以每孔铺板  $1 \times 10^5$  个, 每个实验组设 3 个复孔, 加药处理后空白组仅加 DMEM 培养基培养 24 h; 药物组加入梯度浓度的蒜氨酸 (0、40、80、160  $\mu\text{mol/L}$ ) 预处理 2 h, 而后再加入 100  $\mu\text{mol/L}$  棕榈酸, 继续培养 22 h。弃去上清液, 取细胞, 严格按照 TG 和 TC 检测试剂盒 (Applygen Technologies Inc., Beijing, China) 的说明操作测定细胞中 TG 和 TC 含量。做 3 次重复试验。以每毫克蛋白浓度校正 TG 和 TC 含量。

### 1.3.5 Western blot

取 6 孔细胞培养板, 以每孔铺板  $5 \times 10^5$  个, 每个实验组设 3 个复孔, 药物组加入梯度浓度的蒜氨酸 (0、40、80、160  $\mu\text{mol/L}$ ) 预处理 2 h, 再加入 100  $\mu\text{mol/L}$  棕榈酸, 继续培养 22 h。弃去上清液, 取细胞, 加适量蛋白裂解液 (RIPA:PMSF=9:1), 放冰上 30 min, 充分涡旋震荡后离心, 收集蛋白上清液到 1.5 mL 的离心管中, 用 BCA 法测定蛋白质浓度 (Beyotime Institute of Biotechnology, China)。根据检测的蛋白浓度, 统一蛋白上样量 (40~100  $\mu\text{g}$ ), 并用细胞裂解液调整至同一体积 20  $\mu\text{L}$ ; 按照上样缓冲液:裂解液=1:4, 每管中加入 5  $\mu\text{L}$  上样缓冲液, 98  $^{\circ}\text{C}$  以上灭活 8 min 以充分变性蛋白; 快速离心, 将样品分装, 方便上样,  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。每个样品取等量蛋白用  $m=8\%$  SDS-PAGE 电泳分离后, 低温转移至 PVDF 膜, 含  $m=1\%$  BSA 封闭液封闭, 与相应的一抗、二抗杂交, 超敏发光液 (ECL Plus, Azure c300, America) 显影, 用数字凝胶成像仪对图像进行拍照。做 3 次重复试验。

### 1.3.6 统计学分析

所有数据都采用 SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 进行统计分析, 计量数据以均数  $\pm$  标准误差 ( $\bar{X} \pm \text{SEM}$ ) 表示, 蒜氨酸剂量组、棕榈酸对照组和空白对照组之间比较采用  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。为了定量分析, 蛋白质印迹法所得相应条带应用 Quantity One 软件 (Bio-Rad 公司) 计算 OD 值 (Optical Density 光密度, 即透光率), 并以  $\beta$ -actin 来校正。所有实验至少重复 3 次。

## 2 结果与讨论

### 2.1 细胞活性

CCK-8 细胞活性测定结果如图 2 所示, 不同剂量的蒜氨酸作用 HepG2 细胞 24 h 后, 在 320  $\mu\text{mol/L}$  时蒜

氨酸对 HepG2 细胞活性出现显著抑制作用 ( $P < 0.05$ ), 640~1 280  $\mu\text{mol/L}$  时蒜氨酸对 HepG2 细胞活性出现极显著抑制作用 ( $P < 0.01$ ); 而 0~160  $\mu\text{mol/L}$  剂量范围的蒜氨酸与空白对照无统计性差异, 这表明, 当蒜氨酸在 0~160  $\mu\text{mol/L}$  剂量范围时, 对 HepG2 细胞活性没有影响, 即蒜氨酸的 NOAEL 为 0~160  $\mu\text{mol/L}$ 。基于此结果, 在后续实验中, 蒜氨酸采用 0~160  $\mu\text{mol/L}$  剂量范围。

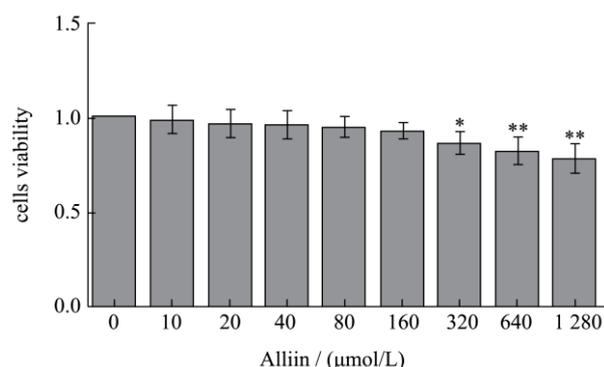


图 2 Alliin 对 HepG2 的细胞毒性作用

Fig.2 Effect of alliin on the viability of HepG2

注: 与空白组相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

### 2.2 蒜氨酸抑制棕榈酸诱导的肝细胞的脂质积累

近些年研究发现肝脂的过度积累最终会导致肝脂毒性, 严重损害了人体的健康, 脂质积聚是肥胖、胰岛素抵抗、非酒精性脂肪肝等慢性代谢性疾病的重要病理基础。在心血管疾病中, 脂质代谢紊乱引起的血管内皮细胞损伤以及随后发生的炎性浸润是动脉粥样硬化等疾病发生的主要病因。近来有研究表明, 大蒜素通过调节固醇调节元件结合蛋白激活 AMPK-SREBPs 信号通路能有效抑制 HepG2 细胞发生脂质积累。蒜氨酸是大蒜素的前体, 两者同为大蒜的功能成分, 大蒜素有良好的抑制 HepG2 细胞脂质积累的作用<sup>[19]</sup>。因此, 本文研究了蒜氨酸对棕榈酸诱导的 HepG2 细胞脂质积聚的影响, 文中采用尼罗红染色法来观察细胞内脂质堆积情况, 并使用 ELISA 试剂盒法检测甘油三酯和总胆固醇含量。

#### 2.2.1 尼罗红染色实验结果

通过荧光显微镜观察尼罗红染色实验结果, 细胞中油脂堆积情况如图 3。正常培养的细胞 (空白组, 即只添加 DMEM 培养基) 边界清晰, 细胞形态明显。而阳性对照组 HepG2 细胞内观察到较多红色荧光。而蒜氨酸组的 HepG2 细胞相较于阳性对照组细胞而言, 其 HepG2 细胞红色荧光明显变少, 且呈现剂量依赖性降低 (见图 3), 且在蒜氨酸的干预下细胞相较于空白对照组变化不明显, 细胞边缘轮廓仍可见。

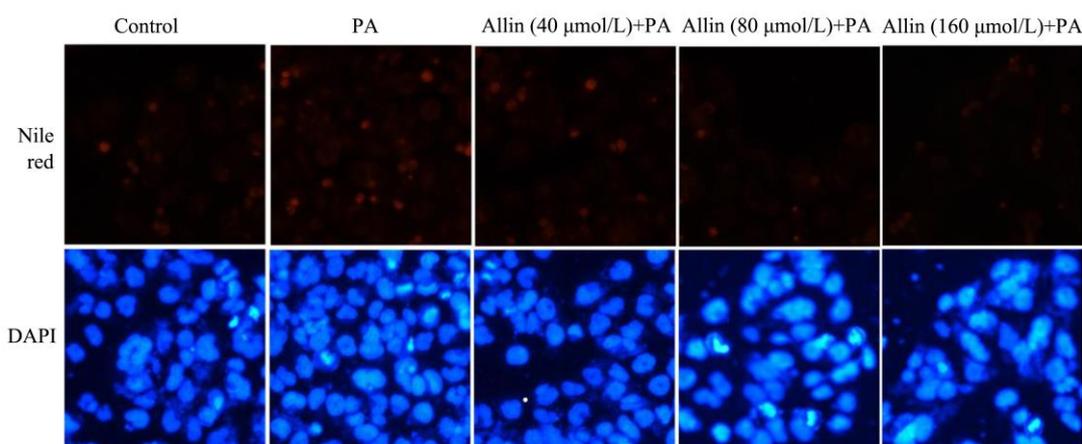


图3 Alliin对HepG2的细胞脂质积聚的改善作用

Fig.3 Inhibition of PA-induced lipid accumulation by alliin in HepG2 cells

### 2.2.2 蒜氨酸对 HepG2 细胞总胆固醇 (TC) 含量影响结果分析

如图4所示, TC的数据验证了尼罗红染色实验的结果。与空白组相比, 阳性对照组中 HepG2 细胞 TC 含量极显著增加 ( $P < 0.01$ ), 增约 1.69 倍。这与李婷<sup>[20]</sup> 和何勇等<sup>[21]</sup> 的研究结果一致, 棕榈酸能够显著增加 HepG2 细胞和骨骼肌细胞中 TC 含量, 分别增约 1.5 和 1.8 倍, 可见本试验采用棕榈酸建模成功。而蒜氨酸能很好的抑制 HepG2 细胞总胆固醇积聚, 与阳性对照组相比, 在 40  $\mu\text{mol/L}$  浓度的蒜氨酸作用下 TC 含量显著下降 ( $P < 0.05$ ), 降低了 21.25%; 在 80 和 160  $\mu\text{mol/L}$  浓度的蒜氨酸作用下 TC 含量极显著下降 ( $P < 0.01$ ), 分别降低了 25% 和 37.52%。结果表明, 蒜氨酸在 40~160  $\mu\text{mol/L}$  浓度范围内可以显著抑制棕榈酸诱导的 HepG2 细胞总胆固醇增加, 而且呈现剂量依赖性。

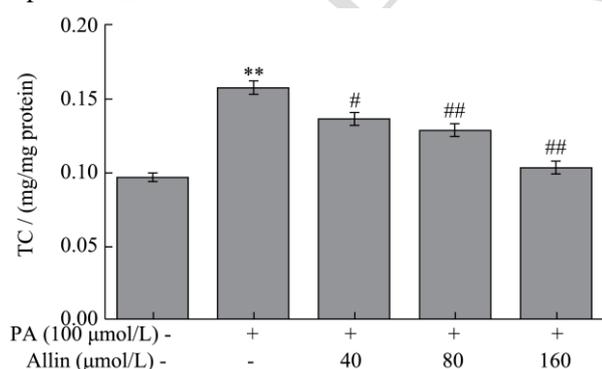


图4 蒜氨酸对 HepG2 的细胞总胆固醇含量的影响

Fig.4. Inhibition of PA-induced TC accumulation by alliin in HepG2 cells

注:  $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ 。与空白组相比,  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ ; 与棕榈酸组相比,  $\#P < 0.05$ ,  $\#\#P < 0.01$ 。下图同。

### 2.2.3 蒜氨酸对 HepG2 细胞甘油三酯 (TG) 含量影响结果分析

如图5所示, TG的数据同样验证了尼罗红染色实

验的结果。与空白组相比, 阳性对照组中 HepG2 细胞 TG 含量极显著增加 ( $P < 0.01$ ), 增约 1.36 倍。而蒜氨酸能很好的抑制 HepG2 细胞甘油三酯积聚, 与阳性对照组相比, 在 40  $\mu\text{mol/L}$  浓度的蒜氨酸作用下 TG 含量下降 ( $P < 0.05$ ), 降低了 10.67%; 在 80 和 160  $\mu\text{mol/L}$  浓度的蒜氨酸作用下 TG 含量极显著下降 ( $P < 0.01$ ), 分别降低了 30.67% 和 33.33%。结果表明, 蒜氨酸在 40~160  $\mu\text{mol/L}$  浓度范围内可以显著抑制棕榈酸诱导的脂质积聚, 极显著减少细胞甘油三酯的含量, 而且呈现剂量依赖性。

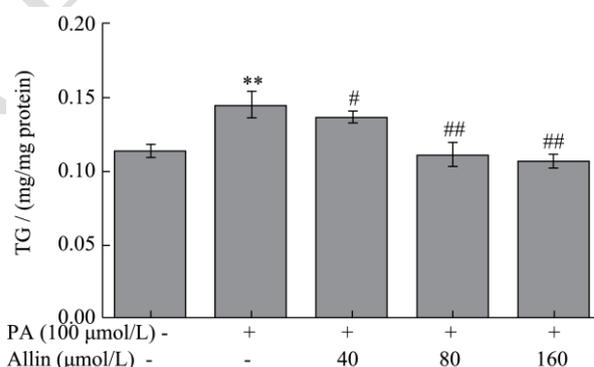


图5 蒜氨酸对 HepG2 的细胞甘油三酯含量的影响

Fig.5 Inhibition of PA-induced TG accumulation by alliin in HepG2 cells

### 2.3 蒜氨酸激活 HepG2 细胞自噬

为了探究蒜氨酸抑制棕榈酸诱导的细胞脂质积聚的分子机制, 本文采用 Western Blot 测定自噬标志蛋白含量来观察蒜氨酸对 HepG2 细胞自噬的影响。LC3 是自噬体膜上的标记蛋白。细胞内存在两种形式的 LC3 蛋白, LC3-I 和 LC3-II。LC3 由可溶解形 LC3-I 转变为脂溶形式 LC3-II, 与自噬泡结合形成自噬体, 这是自噬最重要的过程。LC3-II 的含量或 LC3-II/LC3-I 的比例与自噬体的数量成正相关, 在某种程度上反映了

细胞的自噬活性。

如图6所示:棕榈酸显著降低了LC3-II/LC3-I的比例( $P<0.05$ ),降低约34.78%,;而蒜氨酸药物组与阳性对照组相比,蒜氨酸提高了LC3-II/LC3-I的比例,在80和160  $\mu\text{mol/L}$ 剂量作用非常显著,分别增加了23.87%和66.13%。实验结果表明,棕榈酸抑制了HepG2细胞自噬,而蒜氨酸能够激活棕榈酸所抑制的细胞自噬。这与Zhao等<sup>[22]</sup>和Yue等<sup>[23]</sup>研究结果相一致,进一步证明了蒜氨酸对棕榈酸所抑制的细胞自噬的回调作用。另外越来越多的证据表明自噬能调节脂质代谢。有文献报道,慢性肥胖小鼠或胰岛素抵抗的小鼠,更易于发展为非酒精性脂肪肝,而且其肝自噬显著降低<sup>[24]</sup>。有研究发现,MTOR可通过磷酸化VAMP8抑制肝脏中的自噬体-溶酶体融合,阻断自噬,从而导致脂质异常积聚<sup>[25]</sup>。这些研究表明自噬阻断会导致脂质积聚,自噬激活可有效改善脂质积聚,避免肝细胞损伤。

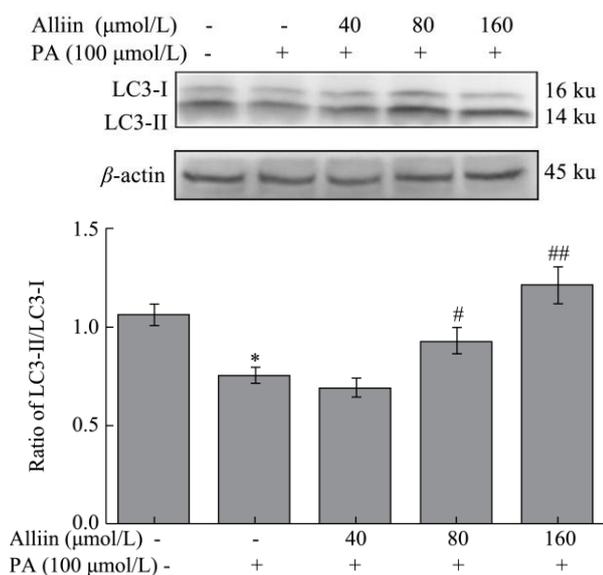


图6 Alliin对HepG2细胞自噬的影响

Fig.6 Effect of alliin on autophagy in HepG2 cells

### 3 结论

本文研究了蒜氨酸通过激活自噬改善HepG2细胞脂质积聚的作用机制,结果表明,棕榈酸显著增加了HepG2细胞中总胆固醇和甘油三酯含量显著增加,而蒜氨酸减少了细胞脂滴,显著降低了总胆固醇和甘油三酯含量,且呈现剂量依赖性。棕榈酸作用后,自噬分子标志物LC3-II/LC3-I比例降低,而经蒜氨酸作用后,LC3-II/LC3-I比例显著提高。因此,蒜氨酸可能通过激活自噬有效改善了棕榈酸诱导的细胞脂质积聚。尽管本研究并未对蒜氨酸如何激活自噬进行深入研究,但有相关文献提示蒜氨酸可能通过激活活性氧以及AMPK/mTOR信号通路激活自噬,这将会在今后

工作中进一步研究。

### 参考文献

- [1] 李宗泽,张雯婷,李润,等.自噬在非酒精性脂肪肝发病机制和治疗中的作用[J].浙江中西医结合杂志,2021,31(9):883-886.
- [2] 于智慧.鸡蛋高密度脂蛋白对脂质代谢的影响及机制研究[D].武汉:华中农业大学,2019.
- [3] ZHANG Xiongfeng, LI Zhengsheng, XIE Juan, et al. Comparison of changes in lipid metabolism disorder, insulin resistance, inflammation and intestinal flora in patients in different stages of uremia [J]. Minerva Medica, 2021.
- [4] WAN Xuemei, CHEN Jing, WANG Min, et al. Puerarin attenuates cadmium-induced hepatic lipid metabolism disorder by inhibiting oxidative stress and inflammation in mice [J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2021, 222(5): 111521.
- [5] 陈静.油酰乙醇酰胺改善脂肪酸诱导的肝细胞脂质沉积和氧化应激的研究[D].无锡:江南大学,2020.
- [6] 朱瑾.蒜氨酸对照品的制备及其质量研究[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2008.
- [7] 何妮.大蒜中活性成分和质量安全的评价研究[D].郑州:郑州大学,2014.
- [8] 郑永军.基于分子印迹技术的大蒜功能成分的分离提取及药理活性研究[D].青岛:中国海洋大学,2012.
- [9] LU Jing, CHENG Bijun, GUAN Shuang. Protective effects of alliin on 1,3-DCP-induced lipid metabolism disorder in HepG2 cells [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 96(6): 1411-1417.
- [10] 傅建.运动对非酒精性脂肪肝干预效果及机制研究[D].扬州:扬州大学,2019.
- [11] 宋淑玲.内质网应激介导的自噬在间歇低氧致胰岛 $\beta$ 细胞凋亡中的作用机制研究[D].天津:天津医科大学,2019.
- [12] 王振兴.黄芪甲苷经AMPK/mTOR信号通路调控细胞自噬与凋亡保护PM2.5诱导急性肺损伤的机制研究[D].成都:成都中医药大学,2019.
- [13] CHINATSU Otomo, ZOLTAN Metlagel, GIICHI Takaesu, et al. Structure of the human ATG12~ATG5 conjugate required for LC3 lipidation in autophagy [J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2013, 20(1): 59-U79.
- [14] 曹鹏.当归多糖治疗代谢综合征相关疾病的作用及机制研究[D].武汉:华中科技大学,2017.
- [15] OKADA Tomoko, OGURA Toshihiko. Scanning electron-assisted dielectric microscopy reveals autophagosome formation by LC3 and ATG12 in cultured mammalian cells [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(4):1834.
- [16] GUA Zhengyan, JIA Rui, HE Qin, et al. Alteration of lipid

- metabolism, autophagy, apoptosis and immune response in the liver of common carp (*Cyprinus carpio*) after long-term exposure to bisphenol A [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 211: 111923.
- [17] YOUNG Do Koo, ROMILIA Tatiana Castillo, ANENTOR Othrell Hinton, et al. ULK1 regulates hepatic lipid metabolism via autophagy independent mechanisms [J]. *Journal of the Endocrine Society*, 2021, 5(1): A303-A303.
- [18] 饶雨涵,李丹阳,侯晓俐,等.血管平滑肌 SCAP 过表达抑制自噬促进脂质积聚的机制研究[J].*第三军医大学学报*,2022,9:44.
- [19] 管敏杰.大蒜油中主要脂溶性有机硫化物对小鼠酒精性肝损伤拮抗作用的研究[D].济南:山东大学,2019.
- [20] 李婷.低浓度二甲双胍通过 AMPK 途径抑制棕榈酸酯处理的 HepG2 肝细胞中的 C/EBP $\beta$  介导的 GOS2 表达[D].山西医科大学,2021.
- [21] 何勇,洪莉,黄国涛.棕榈酸对骨骼肌细胞脂质沉积的诱导作用[J].*吉林大学学报(医学版)*,2021,47(6):6.
- [22] ZHAO Rui, XIE Enzehua, YANG Xiubin, et al. Alliin alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury by promoting autophagy [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 512: 236-243.
- [23] YUE Lijun, ZHU Xiy, LI Ruisha, et al. Sallylcysteine sulfoxide (alliin) alleviates myocardial infarction by modulating cardiomyocyte necroptosis and autophagy [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019, 44(5): 1943-1951.
- [24] TONG Wenxin, QIU Liping, XIE Miaoyan, et al. Liraglutide ameliorates non-alcoholic fatty liver disease by enhancing mitochondrial architecture and promoting autophagy through the SIRT1/SIRT3-FOXO3a pathway [J]. *Hepatology Research*, 2016, 46(9): 933-943.
- [25] OUYANG Qinqin, LIU Rong. MTOR-mediates hepatic lipid metabolism through an autophagic SNARE complex [J]. *Autophagy*, 2022, 2: 1-3.