

非酒精性脂肪性肝病中蛋白激酶R样内质网激酶/真核翻译起始因子-2 α 通路的变化及意义

王欢, 胡晓霞, 路华

王欢, 贵州医科大学电镜室 贵州省贵阳市 550025
 胡晓霞, 贵州医科大学生理学教研室 贵州省贵阳市 550025
 路华, 贵州医科大学第三附属医院消化科 贵州省都匀市 558000

王欢, 讲师, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 本课题由王欢与胡晓霞共同设计; 实验操作由胡晓霞与路华共同完成; 实验试剂由王欢提供; 数据分析由胡晓霞完成; 论文写作由王欢完成。

通讯作者: 路华, 副主任医师, 558000, 贵州省都匀市七星路7号, 贵州医科大学第三附属医院消化科. gywanghuan@sina.com

收稿日期: 2015-07-01 修回日期: 2015-07-30

接受日期: 2015-08-10 在线出版日期: 2015-09-18

Change of protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase/eukaryotic translation initiator factor-2 α signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease in rats

Huan Wang, Xiao-Xia Hu, Hua Lu

Huan Wang, Department of Electron Microscopy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou Province, China

Xiao-Xia Hu, Department of Physiology, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou Province, China

Hua Lu, Department of Gastroenterology, the Third Hospital Affiliated to Guizhou Medical University, Duyun 558000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Hua Lu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Third Hospital Affiliated to Guizhou Medical University, 7 Qixing Road, Duyun 558000, Guizhou Province, China. gywanghuan@sina.com

Received: 2015-07-01 Revised: 2015-07-30

Accepted: 2015-08-10 Published online: 2015-09-18

Abstract

AIM: To observe the change of the protein kinase

R-like endoplasmic reticulum kinase/eukaryotic translation initiator factor-2 α (PERK/eIF-2 α) signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and to discuss the possible clinical significance.

METHODS: Thirty Wistar rats were randomly and equally divided into two groups: a normal control group (group 1) and an NAFLD group (group 2). NAFLD was induced by feeding a high-fat, high-glucose diet for 16 wk, and group 1 was given an ordinary diet at the same time. Serum levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein (LDL) and high-density lipoprotein (HDL) were measured in all rats. The mRNA expression of PERK, eIF-2 α , C/EBP homology protein (CHOP) and glucose regulated protein 78 kDa (GRP78) in the liver was detected by real-time PCR, while Western blot was used to detect the expression of p-PERK, p-eIF-2 α , CHOP and GRP78 proteins. Cell apoptosis was tested by flow cytometry.

RESULTS: Levels of TC, TG, and LDL in group 1 were significantly higher than those in group 2 ($P < 0.05$), but the level of HDL was significantly lower in group 1 ($P < 0.05$). Compared with group 1, the expression of p-PERK, p-eIF-2 α , CHOP and GRP78 protein in group 2 was significantly increased ($P < 0.05$), and the expression of PERK, eIF-2 α , CHOP and GRP78 mRNAs was also significantly elevated in group 2 ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Flow cytometry analysis suggested that apoptosis in group 2 was increased.

CONCLUSION: The PERK/eIF-2 α signaling

■背景资料

非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种无过量饮酒史, 由过多甘油三酯聚积于肝细胞而导致肝脏脂质代谢紊乱为主要特点的综合征。在世界范围内NAFLD已被列为公共健康的危险因素。目前关于NAFLD的发生机制还不完全清楚, 因此其发病机制的研究一直是肝病研究的热点内容。

■同行评议者

张锦生, 教授, 复旦大学上海医学院病理学系

■ 研发前沿

近年来关于内质网应激在NAFLD中的作用研究十分广泛,但其介导肝细胞损伤的具体机制尚未完全阐明。

pathway is involved in the development and progression of NAFLD, which may cause endoplasmic reticulum stress and induce apoptosis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Word: Nonalcoholic fatty liver disease; Protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase; Eukaryotic translation initiator factor-2 α ; C/EBP homology protein; Apoptosis

Wang H, Hu XX, Lu H. Change of protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase/eukaryotic translation initiator factor-2 α signaling pathway in nonalcoholic fatty liver disease in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(26): 4155-4161 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4155.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i26.4155>

摘要

目的: 观察蛋白激酶R样内质网激酶/真核翻译起始因子-2 α (protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase/eukaryotic translation initiator factor-2 α , PERK/eIF-2 α)信号通路在大鼠实验性非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)中的变化并探讨该信号通路在NAFLD中可能的作用。

方法: 健康Wistar大鼠30只,雌雄不限,按照随机数字表法分为正常对照组和NAFLD组,每组各15只。NAFLD组大鼠采用高脂高糖饮食诱导NAFLD的发生,而正常对照组大鼠则给予普通饲料喂养,时间总计为16 wk。检测血清中总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)和低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)的含量;实时荧光定量PCR技术检测肝脏中PERK、eIF-2 α 、CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)及葡萄糖调节蛋白78(glucose regulated protein 78, GRP78)等指标在mRNA水平的表达改变;蛋白质免疫印迹(Western blot)技术检测肝脏中磷酸化PERK(p-PERK)、磷酸化eIF-2 α (p-eIF-2 α)、CHOP及GRP78等指标在蛋白水平的改变;同时采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

结果: NAFLD组大鼠血清中TC、TG、LDL含量较正常对照组明显增高($P<0.05$),而HDL则明显低于正常对照组大鼠($P<0.05$);PCR结果发现,NAFLD组大鼠肝组织中

PERK、eIF-2 α 、CHOP及GRP78的mRNA表达水平均较正常对照组大鼠显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);同时Western blot结果显示NAFLD大鼠肝脏中p-PERK、p-eIF-2 α 、CHOP及GRP78等指标的蛋白水平表达较正常对照组大鼠明显增多($P<0.05$);此外,流式细胞仪检测发现NAFLD大鼠肝细胞凋亡较正常对照组大鼠显著升高。

结论: NAFLD的发生发展过程中可能有内质网应激诱导细胞凋亡通路PERK/eIF-2 α 的参与。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 非酒精性脂肪肝; 蛋白激酶R样内质网激酶; 真核翻译起始因子-2 α ; CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白; 细胞凋亡

核心提示: 近年来内质网应激信号通路介导的细胞凋亡在非酒精性脂肪性肝病中的作用逐渐引起了研究人员的关注。本文通过观察蛋白激酶R样内质网激酶/真核翻译起始因子-2 α (protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase/eukaryotic translation initiator factor-2 α , PERK/eIF-2 α)信号通路在非酒精性脂肪性肝病发生过程中的变化,初步证实高脂高糖饮食可通过肝细胞内质网应激反应激活PERK/eIF-2 α 信号通路诱导细胞凋亡,从而介导肝细胞损伤的发生。

王欢, 胡晓霞, 路华. 非酒精性脂肪性肝病中蛋白激酶R样内质网激酶/真核翻译起始因子-2 α 通路的变化及意义. *世界华人消化杂志* 2015; 23(26): 4155-4161 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/4155.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i26.4155>

0 引言

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指排除酒精引起的,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床综合征^[1,2]。近年来,由于人们生活水平的提高,日常膳食中以脂肪为代表的高热量食物摄取明显增加,因此NAFLD的发病率逐年上升,在我国NAFLD已经成为仅次于病毒性肝炎的常见肝脏疾病^[3]。近年来内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)信号通路介导的细胞凋亡在NAFLD中的作用逐渐进入了研究人员的视野^[4,5],但具体的机制还不是十分清楚。蛋白激酶R样内质

表 1 引物情况

引物名称	引物序列
β -actin	上游引物: 5'-TCCTCCTGAGCGCAAGTACTCT-3' 下游引物: 5'-GCTCAGTAACAGTCCGCCTAGA-3'
PERK	上游引物: 5'-ATCCCCCATGGAACGACCTG-3' 下游引物: 5'-ACCCGCCAGGGACAAAAATG-3'
eIF-2 α	上游引物: 5'-CTGCCGCTGTCTCCACTCCT-3' 下游引物: 5'-GCACTTGAGGTCATTCTAAA-3'
GRP78	上游引物: 5'-TGGAATCTTCACCTCAGAGTG-3' 下游引物: 5'-ATATCCAAGGTGAACACACAC-3'
CHOP	上游引物: 5'-CCTCGCTCTCCAGATTCCA-3' 下游引物: 5'-CTCATTCTCCTGCTCCTTCTCC-3'

PERK: 蛋白激酶R样内质网激酶; eIF-2 α : 真核翻译起始因子-2 α ; CHOP: CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白; GRP78: 葡萄糖调节蛋白78.

网激酶/真核翻译起始因子-2 α (protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase/eukaryotic translation initiator factor-2 α , PERK/eIF-2 α)信号通路是除IRE1 α -JNK及Caspase12信号途径外ERS时诱导细胞凋亡的又一重要信号通路^[6,7], 当ERS过于强烈或持续存在时, 可激活PERK/eIF-2 α 信号通路从而介导细胞凋亡的发生^[8]. 本研究通过观察PERK/eIF-2 α 信号通路在NAFLD发生过程中的变化, 探讨该信号通路在NAFLD发病机制中的可能作用.

1 材料和方法

1.1 材料 健康清洁级Wistar大鼠30只, 雌雄不限, 体质量160-170 g(贵州医科大学实验动物中心, 许可证号SCXK-黔2002-0001); ECL化学发光试剂与PVDF膜购自美国Millipore公司; p-PERK、p-eIF-2 α 、GRP78、CHOP一抗购自Bioworld公司; 荧光染料SYBR Green及逆转录试剂购自大连宝生物公司; 流式检测试剂盒购自南京碧云天公司; 三羟甲基氨基甲烷(Tris)、十二烷基硫酸钠(SDS)、丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、过硫酸铵、甘氨酸、吐温20购自美国Sigma公司; 内参照 β -actin、PERK、eIF-2 α 、CHOP及GRP78引物由大连宝生物公司合成(表1).

1.2 方法

1.2.1 建立NAFLD动物模型: 大鼠适应性喂养1 wk后随机分为2组: 正常对照组和NAFLD组, 每组各15只. 正常对照组大鼠给予普通饲料喂养; NAFLD组大鼠采用含78%基础饲料、15%

猪油、5%蔗糖及2%胆固醇的高脂高糖饲料喂养16 wk制备NAFLD动物模型, 所有大鼠均自由饮用自来水. 16 wk末采用乙醚麻醉大鼠, 股动脉放血处死全部实验动物, 采集血清及肝组织标本.

1.2.2 病理检查: 肝组织切片采用苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色后在光学显微镜下观察肝组织的病理学变化.

1.2.3 血清生化检测: 血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)和低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)含量采用Siemens全自动生化分析仪检测.

1.2.4 Western blot检测: 取0.1 g肝组织匀浆后取上清液, 考马斯亮蓝法测定上清液中总蛋白浓度. 采用10%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质, 然后经转膜、封闭后分别加入p-PERK一抗(1:500)、p-eIF-2 α 一抗(1:500)、CHOP一抗(1:1000)、GRP78一抗(1:600)及 β -actin一抗(1:1000), 在25℃室温孵育2 h. 洗膜3次后加入二抗(1:2000)在25℃室温孵育1 h, 充分洗膜4次后采用ECL化学发光显影, 凝胶成像系统采集图像并进行分析, 采用目的蛋白的灰度值/ β -actin蛋白的灰度值代表目的蛋白的相对表达水平.

1.2.5 实时荧光定量PCR检测: 取0.1 g肝组织提取总RNA, 逆转录合成cDNA后进行实时荧光定量PCR检测: cDNA模板2 μ L, 10 μ mol/L上游引物1.0 μ L, 10 μ mol/L下游引物1.0 μ L, 2 \times SYBR Green I 12.5 μ L, DEPC H₂O补足总体

■ 相关报道

有研究人员发现在NAFLD的发生过程中, 由于大量游离脂肪酸在肝细胞内聚集可诱导肝细胞发生脂质过氧化, 而持续存在的脂质过氧化反应可进一步诱发内质网应激并对细胞造成损害.

创新盘点

本次研究进一步证实了在高脂高糖饮食诱导的NAFLD的发生过程中存在肝细胞内质网应激反应。内质网应激时PERK/eIF-2 α 信号通路的激活可促进肝细胞凋亡, 从而介导肝组织的损伤。

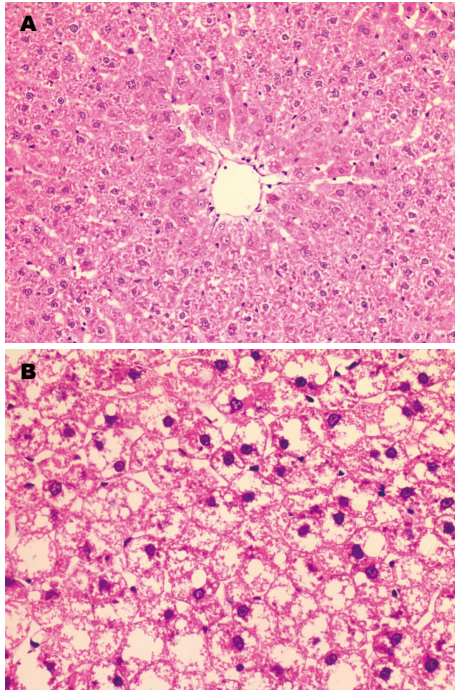


图1 大鼠肝脏组织形态学改变(HE \times 400)。A: 对照组; B: 非酒精性脂肪肝组。

积至25 μ L。反应条件为95 $^{\circ}$ C 30 s, 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 最后两步重复40个循环。采用目的基因与 β -actin基因循环值的比值代表该目的基因的相对表达水平。

1.2.6 细胞凋亡检测: 取新鲜大鼠肝脏组织各1 g, 置于预冷的PBS中, 用剪刀剪碎, 多次PBS悬浮、洗涤后400目滤网过滤, 得到悬浮肝细胞。取含10-50万细胞的细胞悬液, 1000 r/min离心5 min, 弃上清, 加入195 μ L结合液轻轻重悬细胞。加入5 μ L Annexin V-FITC, 轻轻混匀; 再加入10 μ L碘化丙啶, 轻轻混匀。室温避光孵育15 min后上流式细胞仪进行检测。

统计学处理 用SPSS17.0进行统计分析, 计量资料采用mean \pm SD表示, 两两比较采用 t 检验, $P<0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠血清中TC、TG、HDL、LDL浓度 NAFLD组大鼠血清中TC、TG、LDL浓度较正常组大鼠含量显著增加(3.95 mmol/L \pm 0.26 mmol/L vs 1.76 mmol/L \pm 0.49 mmol/L、4.08 mmol/L \pm 0.51 mmol/L vs 1.54 mmol/L \pm 0.42 mmol/L、3.51 mmol/L \pm 0.69 mmol/L vs 1.59 mmol/L \pm 0.27 mmol/L, $P<0.05$), 而NAFLD组大鼠血清中HDL浓度则较正常组大鼠明显下降(0.25 mmol/L \pm 0.03 mmol/L vs

0.68 mmol/L \pm 0.15 mmol/L, $P<0.05$)。

2.2 大鼠肝脏组织形态学改变 正常组大鼠肝组织经常规切片、HE染色后在400倍显微镜下观察发现, 肝小叶结构完整, 肝细胞围绕中央静脉呈放射状排列, 肝窦排列整齐, 汇管区结构清晰, 未见肝细胞变性、坏死及炎症细胞的浸润(图1A)。NAFLD组大鼠肝组织切片在显微镜下观察发现, 正常肝小叶结构遭到破坏, 肝细胞肿大, 肝细胞胞浆内有大量圆形脂滴, 肝细胞空泡样变性较为明显(图1B)。

2.3 肝脏中细胞凋亡检测 流式细胞仪检测大鼠肝脏内细胞凋亡发现, 经高脂高糖饮食诱导16 wk, NAFLD组大鼠肝组织中细胞凋亡率较正常组明显增多(0.58% \pm 0.13% vs 0.23% \pm 0.09%, $P<0.05$)(图2)。

2.4 肝脏中p-PERK、p-eIF-2 α 、CHOP及GRP78蛋白表达 通过Western blot检测结果可见, NAFLD组大鼠肝脏内p-PERK、p-eIF-2 α 的表达与正常组大鼠的表达比较显著升高(1.08 \pm 0.19 vs 0.32 \pm 0.11、1.15 \pm 0.32 vs 0.24 \pm 0.09)($P<0.05$), p-PERK的表达量约为正常组的3倍, p-eIF-2 α 的表达量约为正常组的5倍。此外, NAFLD组大鼠肝脏内CHOP及GRP78蛋白的表达也较正常组显著增加(0.83 \pm 0.25 vs 0.37 \pm 0.14、3.51 \pm 0.95 vs 1.17 \pm 0.37)($P<0.05$), 其中CHOP的表达较正常组增加2倍, GRP78蛋白的表达较正常组增加3倍左右(图3)。

2.5 肝脏中PERK、eIF-2 α 、CHOP及GRP78 mRNA表达 PCR检测结果发现, 经高脂高糖饮食诱导16 wk后, NAFLD组大鼠肝脏内PERK、eIF-2 α 、CHOP及GRP78在基因水平的表达较正常组大鼠明显升高(519.8 \pm 59.9 vs 217.4 \pm 46.6、366.9 \pm 41.6 vs 173.5 \pm 19.2、208.3 \pm 29.5 vs 96.7 \pm 20.9、657.3 \pm 129.6 vs 209.4 \pm 65.1, $P<0.05$)。

3 讨论

近年来由于人们饮食结构及生活方式的变化, NAFLD也随着高脂血症、II型糖尿病等代谢相关疾病的增加而越来越引起人们的重视。在发达国家NAFLD已成为一种威胁人类健康的主要因素, 在发展中国家NAFLD的发病率也呈逐年上升的趋势。NAFLD根据病变由轻到重依次分为单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎及脂肪性肝硬化, 其病理特征与酒精性脂

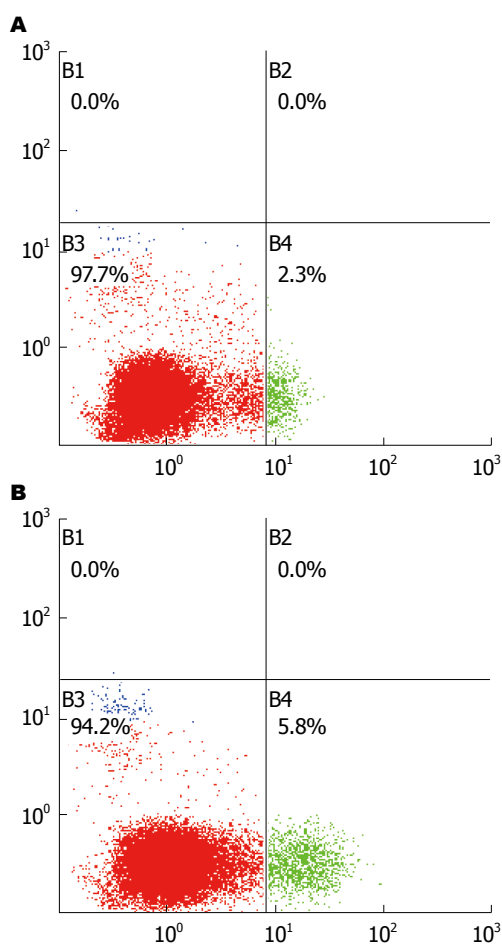


图 2 流式细胞仪检测大鼠肝组织内细胞凋亡。A: 对照组; B: 非酒精性脂肪肝组。

肪肝相同, 但患者无长期过量饮酒史^[9,10]。

近年来ERS在代谢相关性疾病中的作用引起了广泛的关注, 科研人员也对ERS信号通路与NAFLD之间的关系进行了大量研究^[11,12], 但其具体作用机制尚未完全阐明。内质网是生物膜构成的互相连通的片层隙状或小管状系统, 是合成蛋白质的场所^[13,14]。肝细胞中含有丰富的内质网, 肝细胞的许多重要功能, 如脂质的代谢、糖代谢、蛋白质合成、毒物及药物代谢等均在内质网上进行^[15,16]。当内质网稳态被打乱诸如错误折叠蛋白在内质网腔内大量聚集、脂质合成紊乱时, 将通过相应的信号通路引发细胞内一系列的反应, 称为ERS^[17-19]。GRP78是分布于内质网的一种分子伴侣, 其主要作用是协助蛋白质的正确折叠, 减少错误折叠蛋白在内质网腔的大量聚集^[20]。发生ERS时, GRP78在基因及蛋白水平的表达会显著增加, 因此GRP78被公认为ERS的标志蛋白^[21,22]。本次研究发现, 高脂高糖饮食喂养大鼠16 wk,

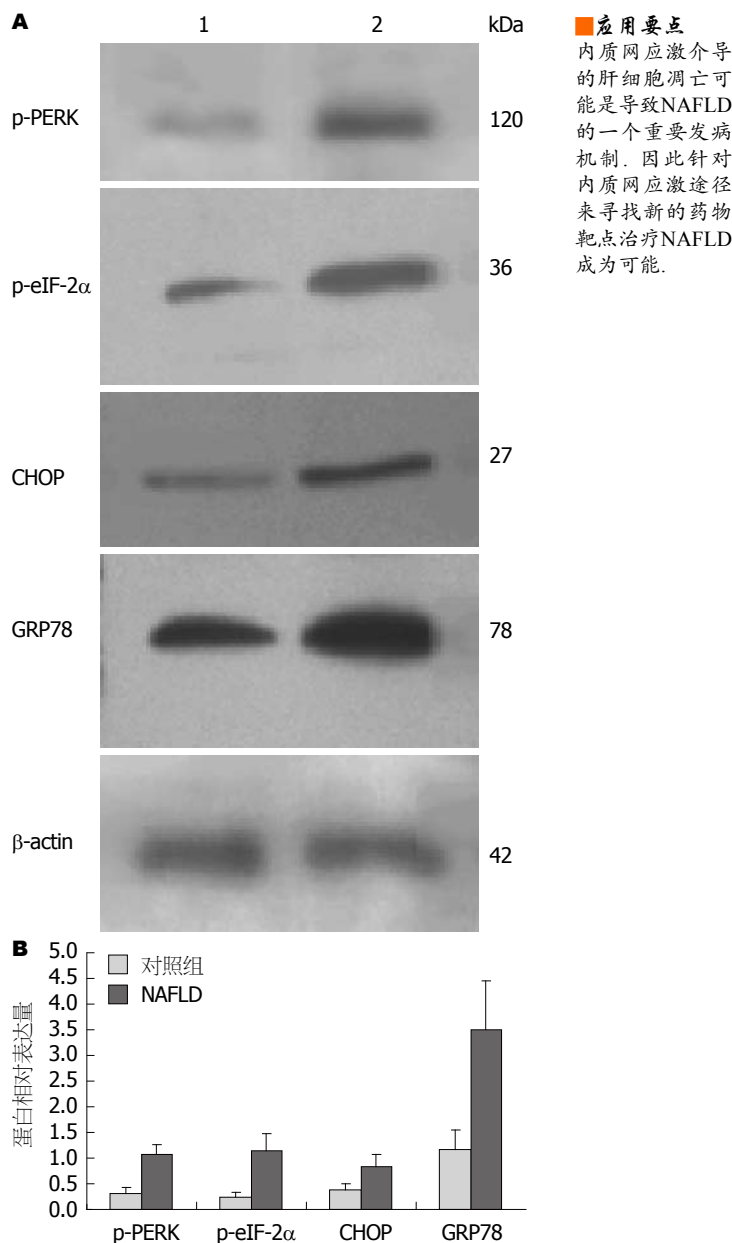


图 3 Western blot技术检测肝脏内p-PERK、p-eIF-2 α 、CHOP及GRP78蛋白表达。A: Western blot检测; B: 蛋白相对表达量。1: 对照组; 2: NAFLD。p-PERK: 磷酸化的蛋白激酶R样内质网激酶; p-eIF-2 α : 磷酸化的真核翻译起始因子-2 α ; CHOP: CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白; GRP78: 葡萄糖调节蛋白78; NAFLD: 非酒精性脂肪肝。

大鼠肝脏内GRP78 mRNA及蛋白的表达均显著增多, 说明高脂高糖饮食可诱发肝细胞ERS。

一定程度的ERS能增强对内质网腔内未折叠或错误折叠蛋白的处理, 从而发挥细胞保护作用; 但如果ERS过于强烈或持续时间过久, 保护机制不能与损伤相抗衡, ERS就可通过多条信号通路诱导细胞发生凋亡^[23,24]。

■同行评价

内质网应激引起的肝脏细胞凋亡在NAFLD中研究得不多, 有一定新意。

PERK/eIF-2 α 信号通路是ERS时除IRE1 α - JNK和Caspase12信号通路外诱导细胞凋亡的另一重要信号通路。PERK是eIF-2 α 上游蛋白激酶家族, 他是位于内质网膜上的I型跨膜蛋白, 主要转导ERS信号^[25,26]。无ERS时, PERK与分子伴侣GRP78结合处于无活性状态; 发生ERS时, PERK则与GRP78解离, 解离出来的PERK通过自身磷酸化, 并进一步磷酸化下游的eIF-2 α , 从而转导ERS反应信号^[27,28]。例如PERK/eIF-2 α 信号通路被激活后可进一步促进CHOP的表达, 且PERK/eIF2 α 是CHOP表达所必需的^[29]。CHOP又称生长停滞及DNA损伤诱导基因, Prachasilchai等^[30]发现敲除CHOP基因小鼠能明显减轻ERS诱导的肾小管上皮细胞凋亡; 此外, 杜锡潮等^[31]也发现肝纤维化过程中肝脏内CHOP基因及蛋白的表达均较正常大鼠显著增加, 且与肝细胞凋亡增加有关, 因此推测持续的ERS时PERK/eIF-2 α 信号通路的激活可能通过诱导下游CHOP蛋白的表达来促进细胞凋亡的发生。本次研究发现, 高脂高糖饮食喂养大鼠16 wk, 大鼠肝组织中PERK、eIF-2 α mRNA的表达显著高于正常组大鼠, 且肝脏内p-PERK、p-eIF-2 α 的表达也显著增加, 说明在NAFLD的发生过程中PERK/eIF-2 α 信号通路被激活了。进一步研究发现, NAFLD组大鼠肝脏内CHOP在基因及蛋白水平的表达显著升高, 且流式细胞仪检测发现肝细胞凋亡较正常组大鼠显著增加。因此我们推测高脂高糖饮食可诱导肝细胞发生明显的ERS反应, ERS时通过激活PERK/eIF-2 α 信号通路并促进下游CHOP蛋白的表达从而启动ERS相关的凋亡程序诱导肝细胞发生凋亡, 这可能是NAFLD重要的发病机制之一。

4 参考文献

- 1 王洪岩, 刘晓璐, 杜雅菊, 赵磊. 内质网应激与肝脏疾病研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 451-459
- 2 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 临床肝胆病杂志 2010; 26: 120-124
- 3 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
- 4 马光斌, 陆伦根. 内质网应激在肝脏疾病中的研究进展. 胃肠病学 2012; 17: 433-435
- 5 Zhang N, Lu Y, Shen X, Bao Y, Cheng J, Chen L, Li B, Zhang Q. Fenofibrate treatment attenuated chronic endoplasmic reticulum stress in the liver of nonalcoholic fatty liver disease mice.

- Pharmacology* 2015; 95: 173-180 [PMID: 25896720 DOI: 10.1159/00038]
- 6 Jiang Q, Li F, Shi K, Wu P, An J, Yang Y, Xu C. Involvement of p38 in signal switching from autophagy to apoptosis via the PERK/eIF2 α /ATF4 axis in selenite-treated NB4 cells. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1270 [PMID: 24874742 DOI: 10.1038/cddis.2014.200]
- 7 Fan J, Long H, Li Y, Liu Y, Zhou W, Li Q, Yin G, Zhang N, Cai W. Edaravone protects against glutamate-induced PERK/eIF2 α /ATF4 integrated stress response and activation of caspase-12. *Brain Res* 2013; 1519: 1-8 [PMID: 23648361 DOI: 10.1016/j.brainres.2013]
- 8 Chen YJ, Su JH, Tsao CY, Hung CT, Chao HH, Lin JJ, Liao MH, Yang ZY, Huang HH, Tsai FJ, Weng SH, Wu YJ. Simuliriolide induced hepatocellular carcinoma apoptosis through activation of mitochondrial-related apoptotic and PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP pathway. *Molecules* 2013; 18: 10146-10161 [PMID: 23973991 DOI: 10.3390/molecules180910146]
- 9 范建高. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). 中华肝病杂志 2010; 18: 163-165
- 10 吴涛, 季光. 非酒精性脂肪性肝病的代谢发病机制. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2908-2914
- 11 Zhang Q, Li Y, Liang T, Lu X, Zhang C, Liu X, Jiang X, Martin RC, Cheng M, Cai L. ER stress and autophagy dysfunction contribute to fatty liver in diabetic mice. *Int J Biol Sci* 2015; 11: 559-568 [PMID: 25892963 DOI: 10.7150/ijbs.10690]
- 12 Li JS, Wang WJ, Sun Y, Zhang YH, Zheng L. Ursolic acid inhibits the development of nonalcoholic fatty liver disease by attenuating endoplasmic reticulum stress. *Food Funct* 2015; 6: 1643-1651 [PMID: 25892149 DOI: 10.1039/c5fo00083a]
- 13 Malhi H, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *J Hepatol* 2011; 54: 795-809 [PMID: 21145844 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.11.005]
- 14 温静静, 谢汝佳, 韩冰, 杨婷, 钱程, 杨勤. 肝纤维化大鼠肝细胞内质网形态及GRP78蛋白表达的研究. 中国病理生理杂志 2011; 27: 2210-2213
- 15 黄啸, 周植星, 段为钢, 江振洲, 孙丽新, 张陆勇. 内质网应激与肝脏损伤的治疗. 现代药物与临床 2011; 26: 168-173
- 16 周婷, 刘铁夫. 内质网应激与肝脏疾病. 现代生物医学进展 2012; 12: 5982-5984
- 17 Cho HK, Cheong KJ, Kim HY, Cheong J. Endoplasmic reticulum stress induced by hepatitis B virus X protein enhances cyclo-oxygenase 2 expression via activating transcription factor 4. *Biochem J* 2011; 435: 431-439 [PMID: 21244365 DOI: 10.1042/BJ20102071]
- 18 Marciniak SJ, Ron D. Endoplasmic reticulum stress signaling in disease. *Physiol Rev* 2006; 86: 1133-1149 [PMID: 17015486]
- 19 Mei Y, Thompson MD, Cohen RA, Tong X. Endoplasmic reticulum stress and related pathological processes. *J Pharmacol Biomed Anal* 2013; 1: 1000107 [PMID: 24611136]
- 20 李皎, 申宗侯. 内质网驻留的分子伴侣与内质网应激的细胞内信号传导途径. 中国药物与临床 2005; 5: 245-249
- 21 张海燕, 温韬, 丁淑芹, 卢静, 李胜利, 王晶晶, 武彦宁, 朴正福. 内质网及氧化应激在大鼠慢性肝损伤中

- 的变化. 肝脏 2009; 14: 23-26
- 22 温韬, 张海燕, 卢静, 李胜利, 王晶晶, 朴正福. 内质网应激在四氯化碳致大鼠急性肝损伤中的作用探讨. 胃肠病学和肝病杂志 2008; 17: 786-789
- 23 Liu Y, Wang J, Qi SY, Ru LS, Ding C, Wang HJ, Zhao JS, Li JJ, Li AY, Wang DM. Reduced endoplasmic reticulum stress might alter the course of heart failure via caspase-12 and JNK pathways. *Can J Cardiol* 2014; 30: 368-375 [PMID: 24565258 DOI: 10.1016/j.cjca.2013.11.001]
- 24 Lakshmanan AP, Thandavarayan RA, Palaniyandi SS, Sari FR, Meilei H, Giridharan VV, Soetikno V, Suzuki K, Kodama M, Watanabe K. Modulation of AT-1R/CHOP-JNK-Caspase12 pathway by olmesartan treatment attenuates ER stress-induced renal apoptosis in streptozotocin-induced diabetic mice. *Eur J Pharm Sci* 2011; 44: 627-634 [PMID: 22033153 DOI: 10.1016/j.ejps.2011.10.009]
- 25 Mitsuda T, Omi T, Tanimukai H, Sakagami Y, Tagami S, Okochi M, Kudo T, Takeda M. Sigma-1Rs are upregulated via PERK/eIF2 α /ATF4 pathway and execute protective function in ER stress. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 415: 519-525 [PMID: 22079628 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.10.113]
- 26 Han XH, Wang JY, Wang L, Zheng PY, Ji G. [Role of PERK/eIF2 α signaling pathway in hepatocyte apoptosis of alcoholic liver injury rats]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2010; 18: 768-772 [PMID: 21059295 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2010.10.011]
- 27 宋洋, 袁宜勤, 郁洁. 内质网应激PERK凋亡通路研究进展. 中华中医药学刊 2013; 31: 1009-1011
- 28 侯志强, 李宏亮, 潘琳, 赵家军, 李光伟. PERK-eIF2 α -ATF4通路在波动性高糖损伤胰岛 β 细胞分泌功能中的作用. 中华内分泌代谢杂志 2008; 24: 82-85
- 29 Han J, Murthy R, Wood B, Song B, Wang S, Sun B, Malhi H, Kaufman RJ. ER stress signalling through eIF2 α and CHOP, but not IRE1 α , attenuates adipogenesis in mice. *Diabetologia* 2013; 56: 911-924 [PMID: 23314846 DOI: 10.1007/s00125-012-2809-5]
- 30 Prachasilchai W, Sonoda H, Yokota-Ikeda N, Oshikawa S, Aikawa C, Uchida K, Ito K, Kudo T, Imaizumi K, Ikeda M. A protective role of unfolded protein response in mouse ischemic acute kidney injury. *Eur J Pharmacol* 2008; 592: 138-145 [PMID: 18644364 DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.06.108]
- 31 杜锡潮, 韩冰, 谢汝佳, 邹河, 杨勤. 肝纤维化大鼠肝脏中内质网应激相关分子CHOP和TRB3的表达变化. 中国病理生理杂志 2013; 29: 906-912

编辑: 郭鹏 电编: 闫晋利

