文章编号:1000-5404(2014)23-2367-05

论著

epoxomicin可诱发前列腺癌细胞内质网应激蛋白GADD153促进细胞凋亡

王利平[1,2],罗荣城[1],符鹏程[2],黄朝刚[2] (510315 广州,南方医科大学中西医结合医院肿瘤中心[1];423000 湖南 郴州,郴州市第一人民医院肿瘤科[2])

[摘要] **目的** 探讨蛋白酶体抑制剂(epoxomicin,EPO)诱导前列腺癌DU145细胞凋亡及其与GADD153/CHOP的关系。**方法** 不同浓度的EPO处理DU145不同时间,MTS检测细胞生长情况;流式细胞仪检测细胞凋亡率情况;Real-time PCR检测内质网应激的相关分子GADD153、GRP78 mRNA以及Western blot方法检测GADD153、GRP78蛋白表达情况;转染GADD153siRNA从而沉默基因GADD153,通过基因转录水平及蛋白水平检测GADD153证实转染是否成功;转染GADD153后,通过MTS法及流式细胞仪技术检测细胞增殖情况及凋亡情况。**结果** EPO抑制DU145细胞生长,并呈现剂量、时间依赖。处理组细胞凋亡率高于未处理组,高剂量组凋亡率高于低剂量组。EPO处理后GADD153, GRP78基因转录水平随时间逐渐升高,72 h最为明显。GADD153、GRP78蛋白在EPO处理后不断增加,均在72 h增加到最高,且低剂量与高剂量组在72 h差异有统计学意义($P<0.05$)。转染GADD153siRNA后,GADD153基因转录水平及蛋白表达水平明显降低,其中GADD153siRNA 50 nmol/L最为明显。沉默基因GADD153后,EPO处理DU145细胞,其细胞数目的减少部分被阻断,细胞凋亡部分被阻断。**结论** 蛋白酶体抑制剂epoxomicin能抑制DU145细胞生长,诱导凋亡,其机制可能与激活内质网应激,诱发内质网的相关分子GADD153表达有关。

[关键词] 蛋白酶体抑制剂; GADD153/CHOP;GRP78;内质网应激
[中图法分类号] R737.25; R966; R979.19 [文献标志码] A

Epoxomicin induces endoplasmic reticulum stress protein GADD153/CHOP to promote cell apoptosis in prostate cancer DU145 cells

Wang Liping[1,2], Luo Rongcheng[1], Fu Pengcheng[2], Huang Chaogang[2]([1]Cancer Center, Traditional Chinese Medicine Integrated Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong Province, 510315; [2]Department of Oncology, First People's Hospital of Chenzhou City, Chenzhou, Hunan Province, 423000, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the proteasome inhibitor, epoxomicin (EPO), inducing the cell apoptosis and its relation with endoplasmic reticulum stress protein GADD153/CHOP. **Methods** After DU145 cells were treated with EPO at different doses and/or for different times, the cell proliferation was detected by using MTS assay. Cell apoptosis was examined by flow cytometry. The mRNA expression of endoplasmic reticulum stress-related genes, GADD153 and GRP78 was tested by real-time PCR, while the protein levels were detected by Western blotting. GADD153 siRNA was transfected to silence the gene, which was verified by real-time PCR and Western blotting. Cell proliferation and apoptosis were tested again after the transfection with MTS assay and flow cytometry. **Results** Cell proliferation was inhibited after EPO treatment in a time- and dose-dependent fashion. The apoptotic rate was also in a dose-dependent manner. With the elapse of time, the mRNA levels of GADD153 and GRP78 were increased obviously when DU145 cells were treated with EPO, and reached the highest in 72 h after treatment. The same tendency was observed in the protein levels of GADD153 and GRP78, and the highest levels were also seen in 72 h ($P<0.05$). The mRNA and protein expression of GADD153 was decreased obviously after the transfection with GADD153 siRNA, with the dose of 50 nmol/L most significant. The inhibitory effects of EPO on the proliferation and apoptosis in DU145 cells were partly blocked by silencing the gene GADD153. **Conclusion** Proteasome inhibitor EPO inhibits the cell proliferation and apoptosis in DU145 cells, which might be due to activate the endoplasmic

[基金项目] 郴州市第一人民医院青年基金(N2013-009)
[通信作者] 罗荣城,E-mail:luorc01@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20141020.1012.002.html(2014-10-20)

reticulum stress and up-regulate its associated molecule GADD153.

[**Key words**] epoxomicin; GADD153/CHOP; GRP78; endoplasmic reticulum stress

Supported by the Foundation for Young Scholars of First People's Hospital of Chenzhou City (N2013-009). Corresponding author: Luo Rongcheng, E-mail: luorc01@163.com

越来越多的证据表明蛋白酶体是肿瘤治疗较好的靶点。研究证实增加蛋白酶体的活性与肿瘤的恶性程度相关,包括结肠癌、前列腺癌、白血病[1]。研究表明许多增殖活跃的肿瘤比良性或者癌前病变的肿瘤对蛋白酶体抑制剂更加敏感[2];蛋白酶体的药物抑制导致了促凋亡蛋白的增加,并伴随着抗凋亡蛋白的减少,导致细胞周期停止以及凋亡[3]。在人类各种肿瘤细胞的研究中发现蛋白酶体抑制剂与标准的细胞毒性药物相比,表现出更加有效的诱导细胞凋亡的能力。蛋白酶体是放化疗的增敏剂,通过选择性作用于靶点从而克服耐药,对正常组织有较小副作用[4]。这些研究强有力地证实蛋白酶体抑制剂对于人类恶性肿瘤的治疗有着广泛的前景。环氧甲酮四肽蛋白酶体抑制剂(Epoxomicin,EPO)是蛋白酶体抑制剂,此药物在前列腺癌细胞有抗肿瘤作用,但其机制尚不明确[5]。内质网应激(endoplasmic reticulum stress,er-stress)是指由于内质网稳态受到破坏后的一系列分子、生化改变。内质网应激包括:内质网未折叠蛋白质反应(unfolded protein res ponse, UPR)、内质网超负荷反应和固醇调节级联反应[6]。内质网应激激活最初阶段产生BIP蛋白,也就是GRP78蛋白,从而激活PERK、IRE1、AFT6通路,内质网应激最终阶段产生细胞凋亡蛋白GADD153/CHOP,促进细胞凋亡。因此,本研究旨在探讨蛋白酶体抑制剂EPO是否可激活前列腺癌DU145细胞内质网应激及与GADD153之间是否有关联。

1 材料与方法

1.1 材料

细胞培养用的DMEM及OPTI-MEM培养基购自Sigma及Gibco公司;10%的胎牛血清(FBS),青霉素购自Gemini公司;L-谷氨酰胺,非必需氨基酸,丙酮酸钠购自Sigma公司;MTS试剂盒,反转录酶,反转录酶抑制剂,dNTP混合物购自Promega公司;随机引物购自AB公司;Annexin V-FITC及PI购自Sigma公司;GADD153,GRP78抗体购自Santa Cruz生物公司;β-actin抗体购自Sigma公司;SYBR green(ROX)及Tripure试剂(总RNA提取试剂)购自Roche公司;GADD153,GRP78基因购自Invitrogen公司。GADD153siRNA,Nonsepcific siRNA购自Ambion。

1.2 细胞培养

DU-145(ATCC)由康奈尔大学医学院提供。DU145细胞培养选用含有10%胎牛血清及含有酚红的DMEM,置于37 ℃、5% CO_2的孵育箱,待长到70% ~80%时,予以传代,取传代3代内细胞用于实验。细胞处理前随机分为正常组(Control)和各个干预处理组,并更换为不含酚红的DMEM培养基。

1.3 细胞增殖实验

在96孔板中均匀接种前列腺癌细胞DU145,按照细胞数5×10^3/孔培养,24 h后予以epoxomicin(EPO)不同浓度处理,24、48、72 h后按照MTS分析试剂盒说明检测活细胞数目。

1.4 流式细胞术

分别收集不同浓度EPO(0、10、20 nmol/L)处理24 h的DU145细胞(1×10^6),PBS洗涤后加100 μL结合缓冲液重悬细胞,然后加入5 μL Annexin V-FITC和2 μL PI,4 ℃避光30 min,1 h内进行流式细胞仪分析。转染沉默基因GADD153后细胞凋亡检测用同样的方法。

1.5 Real-time PCR检测mRNA表达水平

DU145按照7.6×10^4/孔种植到12孔板,24 h后予以EPO不同浓度处理不同时间,Tripure收集细胞并提取总RNA,反转录试剂盒获得cDNA,按照Roche公司SYBR green(ROX)试剂盒说明检测GADD153、GRP78mRNA表达,选用β-actin作为内参照。转染沉默基因GADD153后基因转录水平检测用同样的方法。各引物序列见表1。

表1 实验中所需各基因引物序列

基因	引物序列	扩增片段
hGRP78	上游:5′-CGAGAACACGGTCTTTGACG-3′	531 bp
	下游:5′-ACCACCTTGAACGGCAAGAACT-3′	
hCHOP/GADD153	上游:5′-CCTGAGGAGAGAGTGTTCAAG-3′	456 bp
	下游:5′-CTCTTGCAGGTCCTCATACCA-3′	
hβ-ACTIN	上游:5′-CTAGAAGCATTTGCGGTGGACGATG-3′	320 bp
	下游:5′-TCATGAAGTGTGACGTGGACATCCG-3′	

1.6 Western blot检测蛋白含量

DU145按浓度7.25×10^5/板种植于100 mm的培养板,加无酚红培养基24 h后,加入不同剂量的EPO处理24、48、72 h后收集细胞,并按照Thermo公司的厂家说明用RIPR缓冲液(加入Cocktail及PMSF)冰上裂解细胞30 min,14 000 × g离心15 min后,取上清液,并用BCA法检测蛋白浓度。25 μg蛋白量与样本缓冲液作用,并95 ℃加热变性5 min,以SDS-PAGE胶(Bio-Rad公司)电泳分离,转印于0.45 μm PVDF膜(Bio-Rad公司)。后予以5%的脱脂牛奶TBST室温封闭2 h,GADD153、GRP78、β-actin多克隆抗体4 ℃孵育过夜,TBST洗涤3次(10 min/次),辣根过氧化物酶标记的多克隆抗兔、抗山羊及抗小鼠IgG抗体室温孵育1 h,重复洗涤,ECL显色,Bio-Rad公司Image lab version4.1版系统进行拍照,分析吸光光度值。β-actin作为内参照。转染沉默基因GADD153后蛋白检测用同样的方法。

1.7 GADD153基因沉默

DU145细胞用无抗生素无酚红的培养基均匀种植于96、12孔板及60 mm的培养板,24 h后,根据Invitrogen厂家说明将Lipofectamine 2000按照(0.25 μL/well 96孔板,2 μL/well 12孔板,5 μL/well 60 mm培养板)及10、50 nmol/L GADD153

siRNA(Small interfering RNA)及阴性对照 non-specific siRNA(NEG 组)加入无血清 OPTI-MEM 培养基中,5 h 更换培养基,再根据实验给予相应处理。

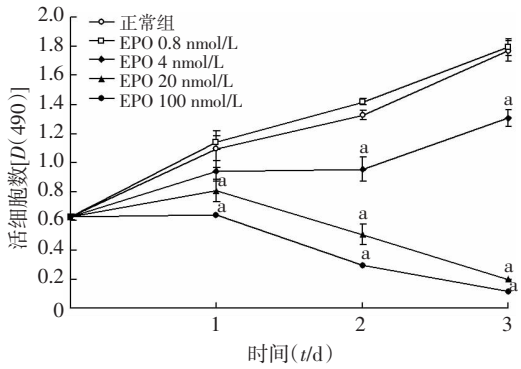
1.8 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 Sigmaplot 12.5 软件处理,单因素方差分析进行组间比较。

2 结果

2.1 EPO 对 DU145 细胞生长的影响

由图 1 可见 DU145 随着时间成线性增殖,说明 DU145 细胞按照这个浓度接种,其生长曲线成线性增殖。选用此浓度细胞用不同浓度 EPO 处理,发现呈浓度时间依赖性。EPO 0.8 nmol/L 处理组与正常组对应时间比较差异无统计学意义($P>0.05$);EPO 4 nmol/L 与正常组比较第 1 天差异无显著意义($P>0.05$),第 2、3 天活细胞数量较正常组下降约 26% 和 28%,差异有统计学意义($P<0.05$);EPO 20 nmol/L 及 EPO 100 nmol/L 组活细胞数量与正常组比较,第 1、2、3 天均明显下降($P<0.05$)。



a:$P<0.05$,与正常组比较

图 1　不同浓度 EPO 对 DU145 细胞的生长影响($n=15, \bar{x} \pm s$)

2.2 EPO 对 DU145 细胞凋亡影响

用 0、10、20 nmol/L EPO 处理 DU145 细胞 24 h 后流式细胞仪检测细胞凋亡率,结果显示:低剂量及高剂量组分别为(25.04 ± 3.67)%、(38.88 ± 5.52)%,与正常组(1.45 ± 0.29)%相比差异有统计学意义($P<0.05$),同时也发现高剂量组凋亡率高于低剂量组凋亡率($P<0.05$)。

2.3 Real-time PCR 结果

经 EPO 处理 24、48、72 h 后,GADD153/CHOP、GRP78 mRNA 表达呈现逐渐增加趋势。GADD153 mRNA 表达在 24 h EPO 10、20 nmol/L 组分别为正常组的 15.41 及 15.48 倍;48 h 分别为正常组的 32.46 及 60.61 倍,差异有统计学意义($P<0.05$);72 h 分别为正常组的 94.65 及 94.42 倍,差异有统计学意义($P<0.01$,图 2)。GRP78 mRNA 表达在 24 h 不同剂量 EPO 与正常组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);48 h EPO 10 nmol/L 组是正常组的 19.86 倍($P>0.05$),而高剂量组 EPO 20 nmol/L 是正常组的 31.17 倍,差异有统计学意义($P<0.05$);72 h 两组与正常组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$,图 3)。

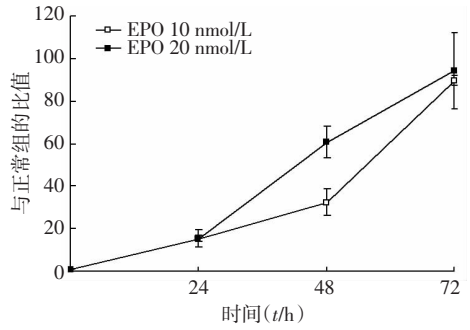


图 2　EPO 对 DU145 细胞 CHOPmRNA 表达情况($n=3, \bar{x} \pm s$)

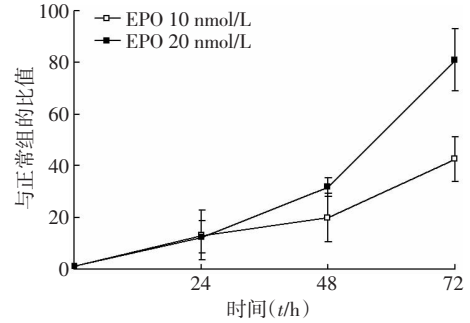
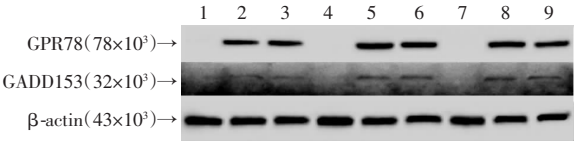


图 3　EPO 对 DU145 细胞 GRP78mRNA 表达情况($n=3, \bar{x} \pm s$)

2.4 EPO 对 DU145 细胞 GADD153、GRP78 蛋白的影响

EPO 处理 DU145 细胞 24、48 h GADD153 蛋白较正常组升高,与正常组比较无统计学差异($P>0.05$);72 h 与正常组比较,差异有统计学意义($P<0.01$);72 h 高剂量与低剂量组比较差异有统计学意义($P<0.01$,图 4、5)。EPO 处理 DU145 后 GRP78 蛋白明显增加,在 24 h 低剂量与高剂量组即为正常组的 180 及 260 倍,与正常组比较具有统计学差异($P<0.01$);48、72 h 处理组均显著高于正常组($P<0.01$);低剂量组与高剂量组在 24、48 h 组间比较,无显著差异($P>0.05$),72 h 比较两组间差异有统计学意义($P<0.01$,图 4、6)。



1~3:分别为 24 h 正常组、EPO 10 nmol/L、EPO 20 nmol/L 组;4~6:分别为 48 h 正常组、EPO 10 nmol/L、EPO 20 nmol/L 组;7~9:分别为 72 h 正常组、EPO 10 nmol/L、EPO 20 nmol/L 组

图 4　Western blot 检测 GRP78、GADD153 蛋白表达情况

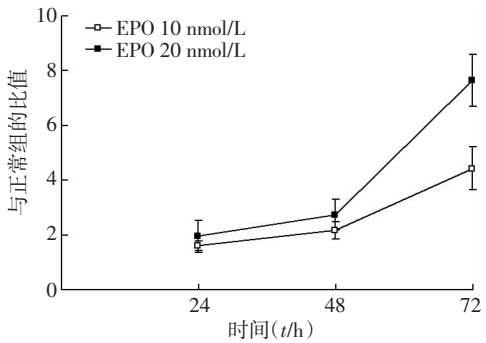


图 5　EPO 对 DU145 细胞 GADD153 蛋白的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

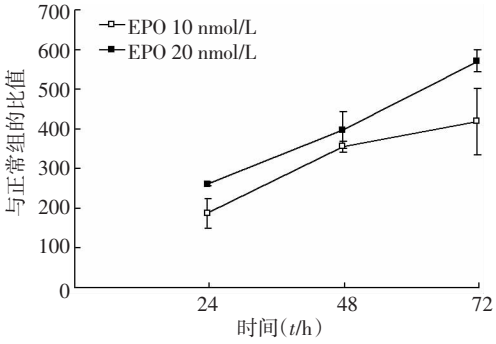
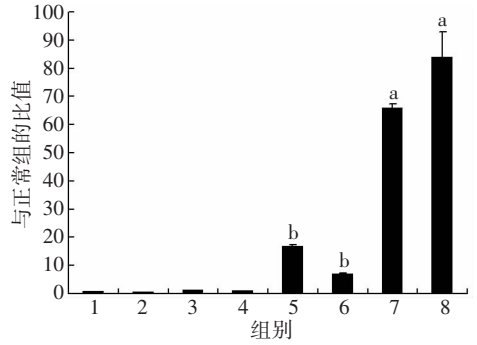


图6 EPO对DU145细胞GRP78蛋白的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

2.5 GADD153基因沉默后基因转录水平及蛋白水平

沉默基因GADD153后,我们检测GADD153转录基因表达情况见图7。EPO 20 nmol/L处理48 h后GADD153基因转录水平表达为正常组(正常组为1)的80多倍,与正常组比较有显著差异($P<0.01$);而NEG(阴性对照non-specific siRAN组)+EPO组GADD153表达是正常组的66倍,与EPO组比较无显著差异($P>0.05$)。GADD153 siRNA10(CHOP10)及GADD153 siRNA50(CHOP50)联合EPO组,其GADD153明显下降,与EPO组比较差异显著($P<0.01$)。



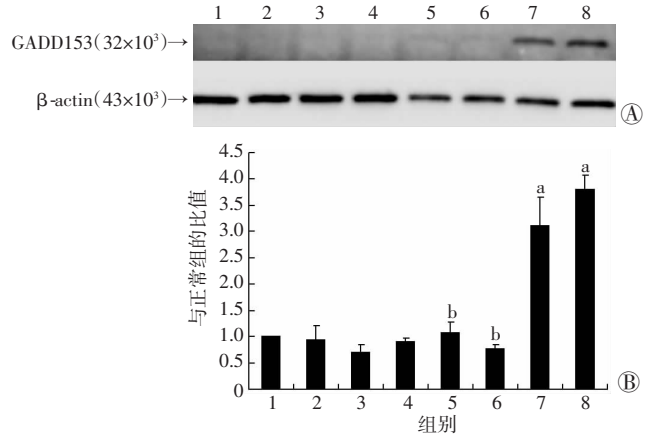
1:CHOP10组;2:CHOP50组;3:NEG组;4:正常组;5:CHOP10+EPO组;6:CHOP50+EPO组;7:NEG+EPO组;8:EPO组 a:$P<0.01$,与正常组比较;b: $P<0.01$,与EPO组比较

图7 蛋白印迹检测GADD153沉默后基因mRNA表达情况

如图8所示,沉默基因GADD153,并继续使用EPO 20 nmol/L处理DU145细胞48 h后,通过Western blot检测GADD153蛋白,发现EPO组GADD153蛋白表达为正常组的3.8倍左右,这与前面的结果一致,且与正常组相比,差异显著($P<0.01$);NEG(阴性对照non-specific siRNA组)+EPO较正常组明显升高($P<0.01$),与EPO组差异无统计学意义($P>0.05$)。基因沉默CHOP10+EPO,CHOP50+EPO组其GADD153/CHOP表达明显下降,与正常组比较无显著差异($P>0.05$);与EPO组显著降低($P<0.01$)。

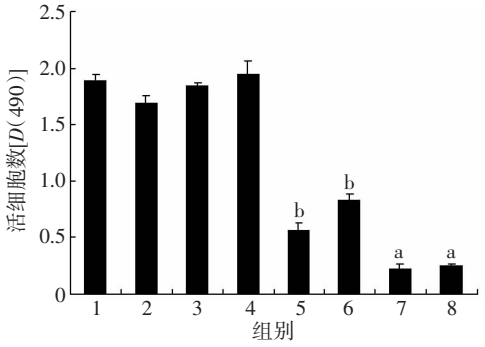
2.6 沉默GADD153基因后对DU145细胞生长及凋亡的影响

沉默GADD153后通过MTS方法检测EPO 20 nmol/L处理DU145细胞72 h(预实验中检测转染72 h GADD153基因转录水平仍然处于低值,图片未列出)活性细胞数量情况。EPO 20 nmol/L处理DU145细胞后,活细胞数量与正常组比较明显降低($P<0.01$);NEG+EPO组与EPO组比较无明显差异($P>0.05$)。转染GADD153后,GADD153 siRNA 10、50 nmol/L+EPO组细胞减少数目较EPO组显著减少($P<0.05$),50 nmol/L组更为明显。见图9。



A:Western blot检测结果;B:半定量分析($n=3, \bar{x} \pm s$) 1:正常组;2:GADD153siRNA 10 nmol/L组;3:GADD153siRAN 50 nmol/L组;4:non-specific组;5:GADD153siRNA 10 nmol/L+EPO组;6:GADD153siRAN 50 nmol/L+EPO组;7:NEG+EPO组;8:EPO组 a:$P<0.05$,与正常组比较;b: $P<0.05$,与EPO组比较

图8 Western blot检测GADD153/CHOP沉默后蛋白表达情况



1:正常组;2:GADD153siRNA 10 nmol/L组;3 :GADD153siRAN 50 nmol/L组;4:NEG组;5:GADD153siRNA 10 nmol/L+EPO组;6:GADD153siRAN 50 nmol/L+EPO组;7:NEG+EPO组;8:EPO组;a:$P<0.05$,与正常组比较;b: $P<0.05$,与EPO组比较

图9 沉默GADD153基因对DU145细胞生长及凋亡的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

根据MTS实验,细胞凋亡实验选用GADD153siRNA 50 nmol/L做转染,并选用EPO 20 nmol/L处理细胞,24 h后按前面方法收集细胞,通过流式细胞仪检测细胞凋亡率,结果显示:GADD153 siRAN 50 nmol/L组与正常组比较,无显著差异($P>0.05$)。EPO 20 nmol/L处理DU145细胞24 h,细胞凋亡率36.13%,与正常组比较有显著差异($P<0.01$)。GADD153沉默基因后EPO处理,其凋亡率22.25%,显著高于正常组,明显低于EPO组($P<0.01$)。

3 讨论

GRP78 (78×10^3 glucose-regulated protein)也就是BIP/HSPA5,是内质网应激主要的分子伴侣,内质网应激的主要调节器[7]。它的出现可以激活IRE1α、

PEPK、AFT6等多种通路,这些通路的激活最终诱发更多GADD153蛋白的产生。

GADD153/CHOP(growth arrest and DNA-damage-inducible protein 153)是一种普遍以低浓度存在于增殖期细胞核内小分子蛋白,会在生长停滞或毒性应激尤其内质网应激时被大量诱导。而且这种蛋白是构成内质网应激终止阶段的主要成分,可以激发细胞生长的停滞和促使细胞凋亡。许多细胞的干扰情况包括血糖或者氨基酸的缺乏,钙离子及糖基化诱导均可诱发内质网应激,并激发GADD153蛋白的产生[8]。越来越多的研究表明在许多肿瘤细胞株中,GADD153蛋白有助于促进细胞凋亡[9-10],并导致严重的病理现象[11-12]。

本研究发现蛋白酶体抑制剂EPO处理DU145细胞,细胞生长受抑制,且呈时间剂量依赖。通过流式细胞仪检测细胞凋亡情况,发现EPO处理后低剂量组与高剂量组均出现细胞凋亡率增加,高剂量增加更明显。表明EPO处理后细胞DU145生长受到抑制,与细胞凋亡增加有关。而导致细胞凋亡原因是什么?是通过什么途径进行的?

通过检测GADD153、GRP78,发现不管是基因转录水平,还是蛋白水平,均出现明显增加,且随着时间而增加,在72 h均达到了最高。GADD153、GRP78是内质网应激产生的主要特征,内质网应激发生诱导GRP78增加,从而诱发AFT4、AFT6、PEPK等通路的激活,最终产生GADD153。GADD153蛋白是内质网应激导致细胞凋亡的重要蛋白。也就是说经过EPO处理细胞DU145,可激活内质网应激。GADD153在内质网应激导致细胞凋亡过程中,有重要作用。因此我们设想,如果阻断GADD153基因,是不是就可以阻断DU145细胞的凋亡,细胞的生长也不受抑制。

本研究采用GADD153siRNA沉默基因GADD153表达,再观察蛋白酶体抑制剂对细胞DU145的影响。为了检测沉默基因是否成功,在转染siRNA后分别检测GADD153基因转录水平及蛋白水平表达情况,发现沉默GADD153基因后,蛋白酶体抑制剂转染组与未转染组相比,基因GADD153明显下降,而剂量10、50 nmol/L组基因表达明显下降,且具有剂量依赖。在后续的试验中,选择了10、50 nmol/L siRNA转染细胞DU145,并收集细胞,提取蛋白,Western blot检测发现蛋白GADD153蛋白表达明显下降,且与剂量相关,50 nmol/L siRNA组GADD153蛋白下降明显。这两个实验证实基因GADD153沉默是成功的。

在后续转染后的MTS实验、细胞凋亡实验中选择前面证实有效的转染剂量。MTS实验发现转染siRNA后活性细胞数量减少只是部分被阻断,并没有完全阻断。凋亡实验也发现转染后细胞凋亡率有所减少,但并不是完全阻断细胞凋亡。由此可见GADD153虽然是重要的内质网应激凋亡蛋白,但只是EPO诱导前列腺癌细胞DU145凋亡的部分原因,细胞凋亡可能合并了其他途径,诸如JNK、线粒体等等,这需要在后续的实验中继续探索。

本研究表明蛋白酶体抑制剂EPO可以激发DU145产生内质网应激,导致内质网应激蛋白GADD153、GRP78明显升高,影响细胞凋亡及细胞生长,然而GADD153只是引起细胞凋亡的部分原因,沉默基因GADD153只能部分阻断细胞凋亡,因此还有其他途径需要在今后研究中进一步探讨。

参考文献:

[1] Li B, Dou Q P. Bax degradation by the ubiquitin/proteasome-dependent pathway: involvement in tumor survival and progression[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(8): 3850-3855.

[2] Almond J B, Cohen G M. The proteasome: a novel target for cancer chemotherapy[J]. Leukemia, 2002, 16(4): 433-443.

[3] Yang H, Chen D, Cui Q C, *et al*. Celastrol, a triterpene extracted from the Chinese "Thunder of God Vine," is a potent proteasome inhibitor and suppresses human prostate cancer growth in nude mice[J]. Cancer Res, 2006, 66(9): 4758-4765.

[4] Orlowski R Z, Kuhn D J. Proteasome inhibitors in cancer therapy: lessons from the first decade[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(6): 1649-1657.

[5] Gasparian A V, Guryanova O A, Chebotaev D V, *et al*. Targeting transcription factor NF kappaB: comparative analysis of proteasome and IKK inhibitors[J]. Cell Cycle, 2009, 8(10): 1559-1566.

[6] Hu P, Han Z, Couvillon A D, *et al*. Critical role of endogenous Akt/IAPs and MEK1/ERK pathways in counteracting endoplasmic reticulum stress-induced cell death[J]. J Biol Chem, 2004, 279(47): 29420-29429.

[7] Ni M, Lee A S. ER chaperones in mammalian development and human diseases[J]. FEBS Lett, 2007, 581(19): 3641-3651.

[8] Schroder M. The unfolded protein response[J]. Mol Biotechnol, 2006, 34(2): 279-290.

[9] Marciniak S J, Yun C Y, Oyadomari S, *et al*. CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum[J]. Genes Dev, 2004, 18(11): 3066-3077.

[10] Watanabe Y, Tsuchiya H, Sakabe T, *et al*. CD437 induces apoptosis in ovarian adenocarcinoma cells via ER stress signaling[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 366(3): 840-847.

[11] Liu G, Sun Y, Li Z, *et al*. Apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress involved in diabetic kidney disease[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 370(4): 651-656.

[12] Li Z, Zhang T, Dai H, *et al*. Endoplasmic reticulum stress is involved in myocardial apoptosis of streptozocin-induced diabetic rats[J]. J Endocrinol, 2008, 196(3): 565-572.

(**收稿**:2014-07-09;**修回**:2014-08-03)

(编辑 汪勤俭)