doi:10.11659/jjssx.11E022149

·基础研究·

白杨素通过抑制IRE1α/TXNIP/NLRP3通路减轻糖尿病大鼠的肾组织损伤

王 芳[1],王卫军[2],张文涛[1],张 涛[1],田晓慧[3] (1.延安大学咸阳医院血液内分泌科,陕西 咸阳 712000;2.延安大学咸阳医院肾病科,陕西 咸阳 712000;3.咸阳市第一人民医院干部保健病区,陕西 咸阳 712000)

[摘 要] **目的** 探讨白杨素(CHR)通过抑制肌醇需求酶1α(IRE1α)/硫氧还蛋白结合蛋白(TXNIP)/核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)通路减轻糖尿病大鼠肾组织损伤的机制。**方法** 将健康SPF级SD大鼠随机分为对照组、模型组、CHR组、CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组,每组8只。除对照组外,其余各组高脂高糖饲料饲养联合30 mg/kg链脲佐菌素(STZ)注射构建糖尿病模型,CHR组、CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组采用100 mg·kg^{-1}·d^{-1} CHR连续灌胃3周,CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组同时分别腹腔注射1 mL磷酸缓冲液、1×10^{9} PFU/mL Ad-IRE1α病毒悬液;对照组、模型组腹腔注射等量生理盐水。观察大鼠一般情况并称重;检测空腹血糖(FPG)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平;全自动生化分析仪检测大鼠血清肌酐(sCr)、血尿素氮(BUN)水平;苏木精-伊红染色观察肾组织形态;蛋白免疫印迹法检测肾组织中IRE1α、TXNIP、NLRP3、caspase-1、白介素-1β(IL-1β)蛋白表达情况。**结果** 模型组大鼠出现多饮、多尿、多食、消瘦情况,精神状态欠佳,肾小球肥大、基质增厚,肾小球毛细血管间有结节状粉红色玻璃样物,肾小管内皮气球样变,部分细胞出现核固缩现象;CHR组、CHR+溶剂对照组较模型组身体和精神状态有所改善,肾小球、肾小管病理现象缓解;CHR+IRE1α组相较CHR组肾小球肥大、基质变厚加重,肾小管出现病变。与对照组相比,模型组血液中FPG、TG、TC、LDL-C、sCr、BUN水平及肾脏组织中IRE1α、TXNIP、caspase-1、NLRP3、IL-1β蛋白水平升高(P<0.05),体质量减轻(P<0.05),HDL-C水平降低(P<0.05);与模型组相比,CHR组血液中FPG、TG、TC、LDL-C、sCr、BUN水平及肾组织中IRE1α、TXNIP、caspase-1、NLRP3、IL-1β蛋白水平降低(P<0.05),体质量增加(P<0.05),HDL-C水平升高(P<0.05);与CHR组相比,CHR+IRE1α组血液中FPG、TG、TC、LDL-C、sCr、BUN水平及肾组织中IRE1α、TXNIP、caspase-1、NLRP3、IL-1β蛋白水平升高(P<0.05),体质量减轻(P<0.05),HDL-C水平降低(P<0.05)。**结论** CHR可能通过抑制IRE1α/TXNIP/NLRP3通路减轻糖尿病大鼠的肾组织损伤,发挥对肾组织的保护作用。

[关键词] 白杨素;肌醇需求酶1α/硫氧还蛋白结合蛋白/核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3通路;糖尿病;大鼠;肾组织损伤
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-11-28

Chrysin attenuating renal tissue damage in rats with diabetes mellitus by inhibiting IRE1α/TXNIP/NLRP3 pathway

WANG Fang[1], WANG Wei-jun[2], ZHANG Wen-tao[1], ZHANG Tao[1], TIAN Xiao-hui[3] (1.Department of Hematology and Endocrinology, Xianyang Hospital of Yan'an University, Xianyang Shaanxi 712000, China; 2.Department of Nephrology, Xianyang Hospital of Yan'an University, Xianyang Shaanxi 712000, China; 3.Department of Cadre Health Care, Xianyang First People's Hospital, Xianyang Shaanxi 712000, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of chrysin (CHR) attenuating renal tissue damage in rats with diabetes mellitus by inhibiting inositol-requiring enzyme 1alpha (IRE1α)/thioredoxin-interacting protein (TXNIP)/nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) pathway. **Methods** Healthy SPF-grade SD rats were randomly divided into the control group, model group, CHR group, CHR+solvent control group, and CHR+IRE1α group, with 8 rats in each group. Except for the control group, other groups were fed with high-fat and high-sugar diet combined with 30 mg/kg of streptozotocin (STZ) injection to build the model of diabetes mellitus. The CHR group, CHR+solvent control group and CHR+IRE1α group were given enteral nutrition by 100 mg·kg^{-1}·d^{-1} of CHR for 3 weeks, the CHR+solvent control group and the CHR+IRE1α group were intraperitoneally injected with 1 mL of phosphate buffer solution and 1×10^{9} PFU/mL of Ad-IRE1α virus suspension, respectively, and the control group and the model group were intraperitoneally injected with an equal volume of normal saline. The rats were observed for general condition and weighed; the levels of fasting blood glucose (FPG), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) were detected; the levels of serum creatinine (sCr) and blood urea nitrogen (BUN) were detected by automatic biochemical analyzer; the morphology of renal tissue was

[基金项目] 陕西省卫生健康科研基金项目(2021D015)
[通信作者] 田晓慧,E-mail:871489608@qq.com

observed by hematoxylin-eosin staining; the protein expressions of IRE1α, TXNIP, NLRP3, caspase-1 and interleukin-1β (IL-1β) in renal tissue were determined by Western blot. **Results** The rats in the model group showed polydipsia, polyuria, polyphagia, weight loss and poor mental state, the glomeruli was hypertrophied with the matrix thickening and nodular pink glass-like materials between the glomerular capillaries, the renal tubular endothelium had ballooning changes, with nuclear pyknosis in some cells. The physical and mental states of the CHR group and the CHR+solvent control group were improved, the pathological phenomena of glomeruli and renal tubules were relieved compared with those of the model group. Compared with the CHR group, the CHR+IRE1α group showed more serious glomerular hypertrophy, matrix thickening with lesion in the renal tubule . Compared with the control group, the levels of FPG, TG, TC, LDL-C, sCr, and BUN, and the protein levels of IRE1α, TXNIP, caspase-1, NLRP3 and IL-1β in the renal tissue in the model group were increased (P<0.05), the body weight was reduced (P<0.05), and the level of HDL-C was decreased (P<0.05). Compared with the model group, the levels of FPG, TG, TC, LDL-C, sCr and BUN, and the protein levels of IRE1α, TXNIP, caspase-1, NLRP3 and IL-1β in the renal tissue in the CHR group were decreased (P<0.05), the body weight was increased (P<0.05), and the level of HDL-C was elevated (P<0.05). Compared with the CHR group, the levels of FPG, TG, TC, LDL-C, sCr and BUN, and the protein levels of IRE1α, TXNIP, caspase-1, NLRP3 and IL-1β in the renal tissue in the CHR+IRE1α group were increased (P<0.05), the body weight was reduced (P<0.05), and the level of HDL-C was decreased (P<0.05). **Conclusion** CHR may alleviate the renal tissue damage in diabetes mellitus rats by inhibiting the IRE1α/TXNIP/NLRP3 pathway, which exert a protective effect on renal tissue.

Keywords: chrysin; inositol-requiring enzyme 1alpha/thioredoxin-interacting protein/nucleotide binding domain-like receptor protein 3 pathway; diabetes mellitus; rats; renal tissue damage

糖尿病是在遗传基础及环境、自身免疫等影响下引起高血糖、高脂肪等物质代谢紊乱类疾病，慢性并发症以肾受累为主，还可出现冠心病、脑血管病等，危害严重[1]。糖尿病引起的肾病变在糖尿病患者中的发生率和病死率较高，会出现肾小球肥厚、肾小球系膜细胞和细胞外基质增加、肾纤维化等，目前临床上多使用化学合成药物治疗糖尿病肾病，但治疗效果不理想，且有诸多后遗症，因此寻找新的天然化合物缓解糖尿病引起的肾功能损伤具有重要意义[2]。白杨素(chrysin,CHR)是一类天然黄酮类化合物，具有抗炎、抗氧化、抗癌等多种生物学功能[3]，CHR可通过抑制内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)减轻脂多糖诱导的内皮功能障碍，且能抑制肌醇需求酶1α(inositol-requiring enzyme 1alpha,IRE1α)、硫氧还蛋白结合蛋白(thioredoxin-interacting protein,TXNIP)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(nucleotide binding oligomerization domain-like receptor protein 3,NLRP3)的表达[4]。还有研究显示，IRE1α上调可激活TXNIP/NLRP3通路促进糖尿病大鼠肾损伤[5]。但CHR对糖尿病肾损伤的影响及其作用机制尚未完全阐明。因此，本研究建立糖尿病大鼠模型，探讨CHR对糖尿病大鼠肾损伤的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康SPF级SD大鼠，雄性，体质量180~220 g，购自陕西中药研究所，生产许可证号：SYXK(陕)2021-007。大鼠均在23~25 ℃、12 h光照12 h黑暗条件下自由饮水摄食，暂养1周后开始实验。本研究经延安大学咸阳医院动物实验伦理委员会审批(21009025)。

1.1.2 试剂与仪器 链脲佐菌素(streptozotocin,STZ)购自湖北威德利化学试剂有限公司；Ad-IRE1α病毒由西安华曦医学检验实验室合成并鉴定；苏木精-伊红染色试剂盒购自上海生工公司；一抗兔源IRE1α、TXNIP、NLRP3、caspase-1、白介素-1β(interleukin-1β,IL-1β)、GAPDH，羊抗兔二抗均购自英国Abcam公司。血糖仪(型号：wi84041)购自天津美迪信有限责任公司；全自动生化分析仪(型号：M401542)购自北京东方化玻科技有限公司；凝胶成像系统(型号：BL3-WD-9413B)购自北京西化仪科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 建模及分组 参照文献[6]构建糖尿病大鼠模型。32只大鼠高脂高糖饲料饲养5周，空腹12 h后注射30 mg/kg STZ，1周后尾尖采血，检测空腹血糖(fasting plasma glucose,FPG)为11.1~33.3 mmol/L，则模型制备成功。造模后大鼠分为模型组、CHR组、CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组，每组8只；其余8只大鼠正常饲养，为对照组。CHR组、CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组参考文献[7]用100 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$ CHR连续灌胃3周，CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组同时分别腹腔注射1 mL磷酸盐缓冲液、1×10^{9} PFU/mL Ad-IRE1α病毒悬液；对照组、模型组腹腔注射等体积生理盐水。实验期间观察大鼠饮食、尿量、体质量、精

神状态等一般情况。

1.2.2 样品采集 给药结束后,所有大鼠称重,禁食12 h后断尾取血,置于-20 ℃备用;脱颈法处死大鼠后,心脏采血,立即摘除肾,部分置于4%多聚甲醛中固定,部分置于-80 ℃保存备用。

1.2.3 大鼠血糖、血脂、肾功能指标检测 取各组大鼠血液标本,血糖仪检测FPG水平。心脏血样本室温静置2 h,1 000 r/min离心5 min,分离血清,试剂盒检测总胆固醇(total cholesterol,TC)、三酰甘油(triglyceride,TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol,LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol,HDL-C)含量,全自动生化分析仪检测血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)、血清肌酐(serum creatinine,sCr)含量。

1.2.4 苏木精-伊红染色评价肾组织病理学改变 肾组织在4%多聚甲醛中室温固定24 h,95%乙醇脱水、55 ℃石蜡包埋,切成4 μm切片。切片经苏木精染色、伊红染色,然后在光学显微镜下观察组织病理学变化。

1.2.5 蛋白免疫印迹法检测肾组织中相关蛋白表达 取100 mg肾组织,冰上研磨,添加蛋白裂解液冰上静置20 min,BCA蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白浓度,水浴锅中沸水煮10 min使蛋白变性。蛋白经8%凝胶电泳分离,然后转至PVDF膜,与5%脱脂牛奶在室温下孵育1 h,添加IRE1α、TXNIP、NLRP3、caspase-1、IL-1β、GAPDH一抗在4 ℃孵育过夜;加入羊抗兔二抗,室温孵育2 h。DAB显色试剂盒显色,用凝胶成像系统检测蛋白信号,采用Image J软件进行灰度值分析。

1.3 统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0软件进行数据统计分析,计量数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用*SNK-q*检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

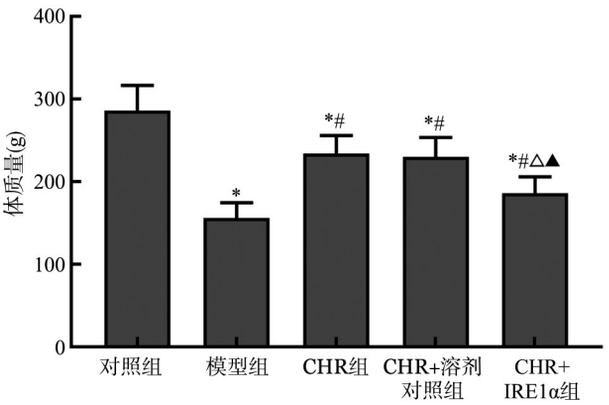
2 结果

2.1 各组大鼠一般情况

对照组大鼠精神状态良好,与实验前状态一致;模型组大鼠出现多饮、多尿、多食、消瘦情况,精神状态欠佳;CHR组、CHR+溶剂对照组大鼠身体、精神状态较模型组有所改善;CHR+IRE1α组大鼠身体和精神状态较CHR组加重。

2.2 CHR对大鼠体质量的影响

与对照组相比,模型组、CHR组、CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组体质量降低($P<0.05$);与模型组相比,CHR组、CHR+溶剂对照组体质量升高($P<0.05$);与CHR组、CHR+溶剂对照组相比,CHR+IRE1α组体质量降低($P<0.05$),见图1。



*:与对照组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$;△:与CHR组相比,$P<0.05$;▲:与CHR+溶剂对照组相比,$P<0.05$

图1 各组大鼠体质量比较

2.3 CHR对大鼠血糖、血脂、肾功能的影响

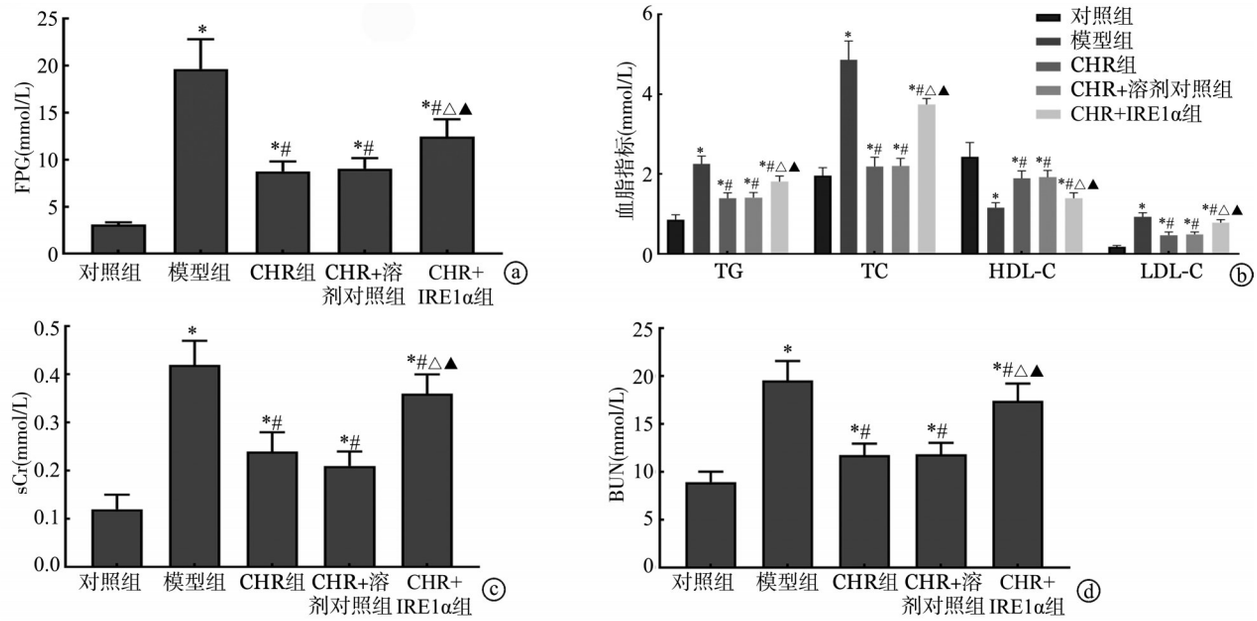
与对照组相比,模型组、CHR+IRE1α组、CHR组、CHR+溶剂对照组FPG、TG、TC、LDL-C、sCr、BUN水平升高($P<0.05$),HDL-C水平降低($P<0.05$);与模型组相比,CHR组、CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组FPG、TG、TC、LDL-C、sCr、BUN水平降低($P<0.05$),HDL-C水平升高($P<0.05$);与CHR组、CHR+溶剂对照组相比,CHR+IRE1α组FPG、TG、TC、LDL-C、sCr、BUN水平升高($P<0.05$),HDL-C水平降低($P<0.05$),见图2。

2.4 CHR对大鼠肾组织形态的影响

对照组肾小球、肾小管结构清晰;模型组肾小球肥大、基质增厚,肾小球毛细血管间有结节状粉红色玻璃样物,肾小管内皮气球样变,部分细胞出现核固缩现象;CHR组、CHR+溶剂对照组肾小球、肾小管现象较模型组缓解;相较CHR组,CHR+IRE1α组肾小球肥大、基质变厚,肾小管病变加重,见图3。

2.5 CHR对大鼠肾组织中相关蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组、CHR组、CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组肾组织中IRE1α、TXNIP、NLRP3、caspase-1、IL-1β蛋白水平升高($P<0.05$);与模型组相比,CHR组、CHR+溶剂对照组、CHR+IRE1α组肾组织中IRE1α、TXNIP、NLRP3、caspase-1、IL-1β蛋白水平降低($P<0.05$);与CHR组、CHR+溶剂对照组相比,CHR+IRE1α组肾组织中IRE1α、TXNIP、NLRP3、caspase-1、IL-1β蛋白水平升高($P<0.05$),见图4。



a:各组大鼠FPG水平;b:各组大鼠血脂指标水平;c:各组大鼠sCr水平;d:各组大鼠BUN水平 *:与对照组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$;△:与CHR组相比,$P<0.05$;▲:与CHR+溶剂对照组相比,$P<0.05$

图2 各组大鼠血糖、血脂、肾功能指标比较

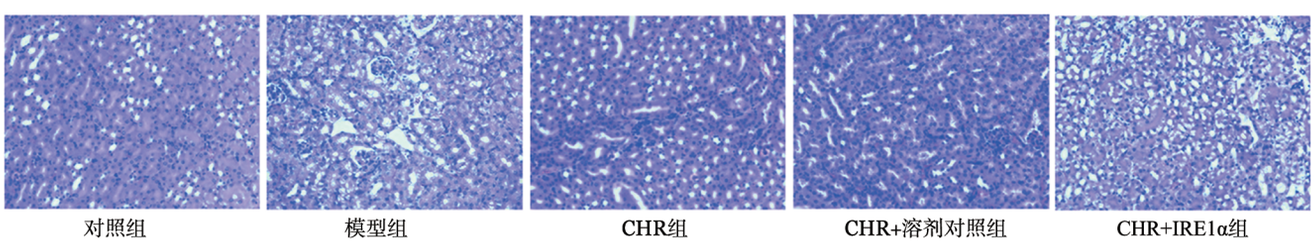
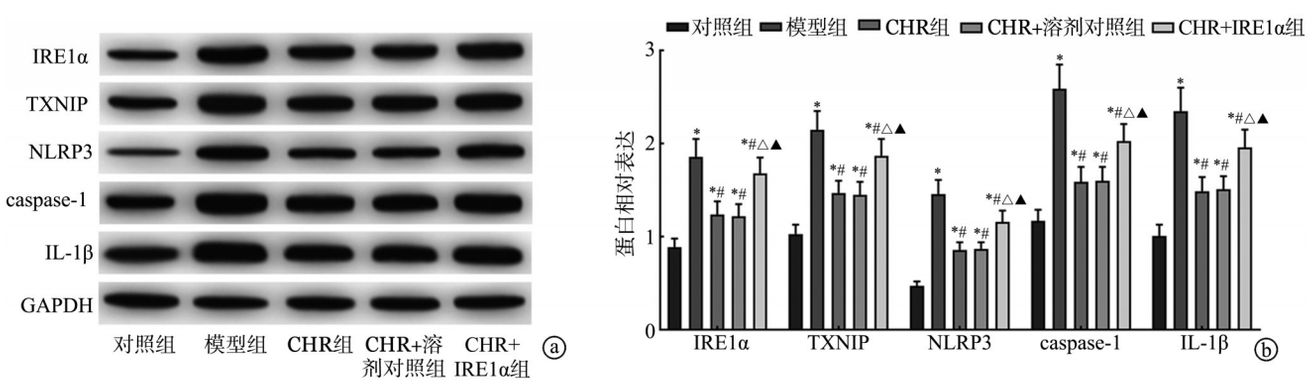


图3 各组大鼠肾组织形态(×200)



a:蛋白免疫印迹法检测大鼠肾组织中相关蛋白表达;b:各组大鼠肾组织中相关蛋白表达定量分析 *:与对照组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$;△:与CHR组相比,$P<0.05$;▲:与CHR+溶剂对照组相比,$P<0.05$

图4 各组大鼠肾组织中相关蛋白表达

3 讨论

糖尿病最初表现为胰岛素分泌异常,随着疾病的进展,若不及时治疗,可损伤其他器官,严重时威胁患者生命安全[8]。目前糖尿病治疗存在一定局限,噻唑烷二酮类药物会导致体液潴留,导致体质量增加,机体骨折风险升高;而磺脲类药物会过度降低体内血糖[9-11]。因此,寻找安全有效的药物对于糖尿病的治疗意义重大。

CHR是人类发现的第一种黄酮类化合物,主要存在于紫葳科植物木蝴蝶的种子、茎皮中,也是蜂胶的主要成分,在糖尿病中具有抗氧化等作用,且不增加体质量,也不会导致低血糖,相对安全[7]。血糖、血脂

水平直接反映机体糖脂水平，sCr、BUN反映肾功能状态[12]。本研究发现，与对照组相比，模型组大鼠出现多饮、多尿、多食、消瘦及精神状态欠佳等情况，体质量减轻，血糖含量升高，肾组织出现肾小球肥大、基质增厚，肾小球毛细血管间有结节状粉红色玻璃样物，肾小管内皮气球样变，部分细胞出现核固缩现象，血脂异常，sCr、BUN水平升高，提示糖尿病大鼠出现体质量减轻、血糖升高、脂代谢紊乱、精神欠佳等症状，且出现肾损伤现象；经CHR治疗后，大鼠体质量有所增加，但轻于对照组，血糖水平降低，但高于对照组，肾损伤症状减轻，提示CHR达到治疗目的同时不会增加体质量及导致低血糖，对于糖尿病的治疗效果较好，但具体机制尚需进一步研究。

内质网内环境稳态是各种功能活动稳定的基本条件，也是ERS的重要机制之一[13]。IRE1α是内质网上跨膜信号蛋白之一，在非ERS条件下，IRE1α与葡萄糖调节蛋白78结合处于无活性状态[14]。糖尿病中高糖、高脂、氧化应激等诱发ERS，葡萄糖调节蛋白78与IRE1α解离，导致IRE1α活化[15]。活化的IRE1α发生二聚化和自身磷酸化，IRE1α蛋白酶区域的自动磷酸化会抑制C′端核糖核酸酶的活性，使内质网蛋白的折叠、转运、降解能力增强，持续的活化导致内质网负荷加重，从而诱导内皮损伤[16]。IRE1α可诱导TXNIP活化，TXNIP是连接ERS和炎症的重要分子节点，正常状态下TXNIP处于细胞核中，高糖高脂使活性氧增加，活性氧诱导TXNIP从细胞核转移至胞质中，TXNIP与NLRP3结合，激活NLRP3炎症小体，引起IL-1β成熟与释放[17]。同时研究发现TXNIP可被IRE1α诱导，引起IL-1β mRNA转录，激活NLRP3炎症小体，加重疾病[18-19]。且TXNIP在ERS介导的促进IL-1β成熟化过程中起着重要作用[20]。本研究中模型组肾组织中IRE1α、TXNIP、NLRP3、caspase-1、IL-1β蛋白水平升高，提示糖尿病大鼠肾内出现ERS，导致IRE1α/TXNIP/NLRP3通路被激活，从而引起肾损伤，加重疾病进程；经CHR治疗后，IRE1α/TXNIP/NLRP3通路受到抑制，大鼠症状有所缓解；在CHR基础上添加IRE1α可逆转CHR的效果。以上结果提示，CHR可能通过抑制IRE1α/TXNIP/NLRP3通路缓解糖尿病大鼠肾损伤。

综上，CHR可能通过抑制IRE1α/TXNIP/NLRP3通路减轻糖尿病大鼠肾损伤，为临床上CHR对糖尿病肾损伤的治疗提供一定依据。但CHR作用机制复杂，还可能通过其他通路发挥作用，需进一步研究。

[参考文献]

[1] Lee YF, Sim XY, Teh YH, et al. The effects of high-fat diet and metformin on urinary metabolites in diabetes and pre-diabetes rat models[J]. Biotechnol Appl Biochem, 2021, 68(5): 1014-1026. doi: 10.1002/bab.2021.

[2] Griffin TP, O'Shea PM, Smyth A, et al. Burden of chronic kidney disease and rapid decline in renal function among adults attending a hospital-based diabetes center in Northern Europe[J]. BMJ Open Diabe Res Ca, 2021, 9(1): e002125-e002136. doi: 10.1136/bmjdrc-2021-002125.

[3] 衣楠玲，李海明，李 永. 白杨素通过抑制NLRP3炎性小体活化减轻小鼠肾缺血再灌注损伤[J]. 广西医科大学学报，2020，37(8)：1476-1482. doi：10.16190/j.cnki.45-1211/r.2020.08.013.

[4] 董 季. 白杨素通过抑制内质网应激减轻脂多糖诱导的内皮功能障碍[D]. 太原：山西医科大学，2020.

[5] Ke RQ, Wang Y, Hong SH, et al. Endoplasmic reticulum stress related factor IRE1α regulates TXNIP/NLRP3-mediated pyroptosis in diabetic nephropathy[J]. Exp Cell Res, 2020, 396(2): 112293-112305. doi: 10.1016/j.yexcr.2020.112293.

[6] 田莎莎，王 辉，田雨闪. 绞股蓝总皂苷调节NF-κB信号通路改善糖尿病大鼠胰岛素敏感性的实验研究[J]. 中国中药杂志，2021，46(17)：4488-4496. doi：10.19540/j.cnki.cjcmm.20210527.401.

[7] 李 倩. 白杨素对早期糖尿病大鼠的抗氧化作用及冠脉收缩性的影响[D]. 太原：山西医科大学，2015.

[8] Naidu MT, Suthari S, Kumar OA, et al. Ethno-botanico-medicine in the treatment of diabetes by the tribal groups of Visakhapatnam district, Andhra Pradesh, India[J]. Indian J Geosci, 2020, 82(2): 331-337. doi: 10.1007/978-981-15-1636-8-10.

[9] 周渊澄，聂 鲁. 具有靶向线粒体功能的治疗2型糖尿病新型小分子药物——lmeglimin[J]. 临床药物治疗杂志，2021，19(4)：1-5. doi：10.3969/j.issn.1672-3384.2021.04.001.

[10] Velichka P, Elena F, Katya U, et al. Pioglitazone therapy and fractures: systematic review and meta-analysis[J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2018, 18(5): 502-507. doi: 10.2174/1871530318666180423121833.

[11] Lv W, Wang X, Xu Q, et al. Mechanisms and characteristics of sulfonylureas and glinides[J]. Curr Top Med Chem, 2020, 20(1): 37-56. doi: 10.2174/1568026620666191224141617.

[12] Qi MY, Wang XT, Xu HL, et al. Protective effect of ferulic acid on STZ-induced diabetic nephropathy in rats[J]. Food Funct, 2020, 11(4): 3706-3718. doi: 10.1039/c9fo02398d.

[13] Zhao Y, Hu NM, Jiang Q, et al. Protective effects of sodium butyrate on rotavirus inducing endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis via PERK-eIF2α signaling pathway in IPEC-J2 cells[J]. J Anim Sci Biotechnol, 2021, 12(1): 69-80. doi: 10.1186/s40104-021-00592-0.

[14] Li JL, Chen K, Huang JH, et al. Asiatic acid induces endoplasmic reticulum stress and activates the Grp78/IRE1α/JNK and calpain pathways to inhibit tongue cancer growth[J]. Front Pharmacol, 2021, 26(12): 690612-690617. doi: 10.3389/fphar.2021.690612.