

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.17.009

## 腺苷受体激动剂对心肌缺血再灌注损伤大鼠内质网应激的影响及其作用机制研究\*

王雅男<sup>1</sup> 李红杰<sup>1</sup> 杨一飞<sup>2</sup> 马艳霞<sup>1</sup> 朱艳梅<sup>1</sup> 焦凤辉<sup>1</sup> 张仁杰<sup>1</sup>  
杨 华<sup>1</sup> 李 宁<sup>1</sup> 李 琴<sup>1</sup>

(1 河北省邯郸市第一医院心内一科 河北 邯郸 056002;

2 河北工程大学附属医院学科建设与研究生教育办公室 河北 邯郸 056038)

**摘要 目的:**探讨腺苷受体激动剂对心肌缺血再灌注损伤(MIRI)大鼠内质网应激(ERS)的影响及其作用机制。**方法:**选取雄性成年 Wistar 大鼠 56 只,利用 Langendorff 装置制成大鼠离体心脏 MIRI 模型。随机分为四组(n=14):假手术组(Sham 组)、心肌缺血再灌注组(MIRI 组)、腺苷受体激动剂组(NECA 组)和内质网应激抑制剂组(TUDCA 组)。利用透射电镜观察四组心肌超微结构的变化;免疫组化观察心肌肌醇依赖酶 1 $\alpha$ (IRE1 $\alpha$ )的表达情况;Western blot 方法检测心肌 ERS 中 IRE1-XBP1 信号通路标志蛋白 IRE1 $\alpha$ 、X 盒结合蛋白 1s(XBP1s)的表达水平;TUNEL 检测心肌细胞凋亡情况。**结果:**透射电镜结果显示,Sham 组肌丝排列规则致密,嵴排列整齐,外膜和肌节形态完整;MIRI 组大部分肌丝断裂,肌节挛缩变形,嵴排列稀疏结构破坏,间隙增宽,可见线粒体空泡变性;NECA 组及 TUDCA 组较 MIRI 组损伤减轻,内质网轻度扩张或者正常,肌丝排列较整齐。免疫组化结果发现,Sham 组心肌纤维呈细长圆柱形,形态正常,少量结缔组织存在,基本无 IRE1 $\alpha$  阳性染色;MIRI 组细胞排列紊乱,有许多断裂的细胞出现,IRE1 $\alpha$  阳性染色区域显著增加,而 NECA 和 TUDCA 组细胞病理的变化较轻,相对于 MIRI 组,IRE1 $\alpha$  阳性染色部位明显减少。Western blot 结果显示,与 Sham 组相比,MIRI 组的 IRE1 $\alpha$  和 XBP1s 蛋白的表达水平明显上升(P<0.05);而与 MIRI 组相比,TUDCA 组及 NECA 组 IRE1 $\alpha$  和 XBP1s 的蛋白表达水平显著降低(P<0.05)。TUNEL 结果显示,MIRI 组细胞凋亡明显,Sham 组基本没有发生心肌细胞凋亡,MIRI 组较 NECA 组及 TUDCA 组的凋亡细胞数更多。**结论:**NECA 可通过抑制 IRE1-XBP1 信号通路来减轻 ERS 反应,达到保护心肌组织细胞的目的。

**关键词:**腺苷受体激动剂;心肌缺血再灌注损伤;内质网应激;心肌梗死

**中图分类号:**R-33;R541 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)17-3245-05

## Effect and Mechanism of Adenosine Receptor Agonist on Endoplasmic Reticulum Stress in Rats with Myocardial Ischemia Reperfusion Injury\*

WANG Ya-nan<sup>1</sup>, LI Hong-jie<sup>1</sup>, YANG Yi-fei<sup>2</sup>, MA Yan-xia<sup>1</sup>, ZHU Yan-mei<sup>1</sup>, JIAO Feng-hui<sup>1</sup>, ZHANG Ren-jie<sup>1</sup>,  
YANG Hua<sup>1</sup>, LI Ning<sup>1</sup>, LI Qin<sup>1</sup>

(1 First Department of Cardiology, The First Hospital of Handan, Handan, Hebei, 056002, China; 2 Discipline construction and Graduate Education Office, Affiliated Hospital of Hebei University of Engineering, Handan, Hebei, 056038, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effect and mechanism of adenosine receptor agonist on endoplasmic reticulum stress (ERS) in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI). **Methods:** 56 male adult Wistar rats were selected, and the rat models of Isolated heart MIRI were established by Langendorff. The rats were randomly divided into four groups (n=14): sham operation group (Sham group), myocardial ischemia reperfusion group (MIRI group), adenosine receptor agonist group (NECA group) and endoplasmic reticulum stress inhibitor Group (TUDCA group). The ultrastructural changes of myocardium in four groups were observed by transmission electron microscopy. The expression of myo inositol dependent enzyme 1 $\alpha$  (IRE1 $\alpha$ ) was observed by immunohistochemistry. The expression of IRE1-XBP1 signal pathway marker protein IRE1 $\alpha$  and X box binding protein 1s (XBP1s) in ERS of myocardium were detected by Western blot. The cardiomyocyte apoptosis was detected by TUNEL. **Results:** The results of transmission electron microscopy showed that the arrangement of muscle filament was regular and compact, the cristae were arranged neatly and the outer membrane and sarcomere morphological integrity in the Sham group. MIRI group showed most of the myofilament rupture, sarcomere contracture deformation, crista sparse structure damage, the gap widening, visible mitochondrial vacuolar degeneration. Compared with MIRI group, the injury was mild, the endoplasmic reticulum dilated slightly or normal, and the arrangement of muscle filament was neat in NECA group and TUDCA group. Immunohistochemistry showed that the Sham group showed a slender, cylindrical shape, normal morphology, and a small amount of connective tissue, and there was no IRE1 $\alpha$  positive staining. The cell arrangement of MIRI group was disorder, and

\* 基金项目:河北省医学科学研究计划重点项目(071050)

作者简介:王雅男(1986-),女,硕士,主治医师,从事心血管内科学方面的研究,E-mail:foavh@163.com

(收稿日期:2017-10-23 接受日期:2017-11-19)

many broken cells appeared, IRE1 $\alpha$  positive staining area increased significantly, the pathological changes of NECA and TUDCA group were less than that of MIRI group, and the positive staining sites of IRE1 $\alpha$  were significantly decreased. The expression levels of IRE1 $\alpha$  and XBP1s protein in MIRI group were significantly increased compared with Sham group by Western blot ( $P < 0.05$ ), the protein expression levels of IRE1 $\alpha$  and XBP1s in TUDCA group and NECA group were significantly decreased when compared with the MIRI group ( $P < 0.05$ ). The results of TUNEL showed that there was obvious apoptosis in the MIRI group, but there was no apoptosis in the Sham group, the apoptotic cells in the MIRI group were higher than those in the NECA group and the TUDCA group. **Conclusion:** NECA can alleviate the ERS response by inhibiting the IRE1-XBP1 signaling pathway and protect the cardiac muscle tissue cells.

**Key words:** Adenosine receptor agonist; Myocardial ischemia reperfusion injury; Endoplasmic reticulum stress; Myocardial infarction

**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R541 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2018)17-3245-05

## 前言

心血管疾病已成为 21 世纪人类健康的第一杀手,这其中以发病急、并发症多、死亡率高的急性心肌梗死最为显著<sup>[1]</sup>。目前主要恢复机体正常的心肌功能的原理是使心肌组织尽快恢复血液供应,主要的方法是通过静脉溶栓治疗或者是经皮冠状动脉介入治疗等<sup>[2]</sup>。然而心肌缺血再灌注恢复血液供应时,部分患者会出现心肌细胞凋亡、线粒体功能障碍,甚至是心肌梗死面积增大、室内压下降等严重情况,造成再灌注损伤(Myocardial ischemia reperfusion injury, MIRI)<sup>[3-5]</sup>。在 MIRI 发生的时候,由于钙离子耗竭血液、氧气、营养的缺乏等因素使内质网的功能发生紊乱导致内质网应激(Endoplasmic reticulum stress, ERS)反应<sup>[6-8]</sup>。当细胞处于应激状态下,使得肌醇依赖酶 1 $\alpha$ (Inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$ , IRE-1 $\alpha$ )、X 盒结合蛋白 1s(X-box-binding protein 1, XBP-1s)、活化转录因子 6(Activating transcription factor 6, ATF6)等活化激活 IRE1-XBP1 通路<sup>[9]</sup>。腺嘌呤核苷,简称腺苷(Adenine nucleoside, AN),参与了心血管系统的多种调节机制,是人体内普遍的内源性 AN 和保护性蛋白,可以激活肾上腺素 $\alpha$  受体与之高度结合后,产生保护性的效应<sup>[10]</sup>。AN 可以在 MIRI 中对心脏起到保护作用,腺苷受体激动剂(5'-N-ethylcarboxamidoadenosine, NECA)通过改善左心室功能、缩小梗死面积、抑制过度 ERS 来发挥减轻 MIRI 的作用<sup>[11,12]</sup>。然而关于 ERS 参与 NECA 对心脏保护作用的具体机制还不十分明确<sup>[13]</sup>,因此本研究主要探讨 NECA 对 MIRI 大鼠 ERS 的作用机制,为临床 MIRI 的预防和治疗提供数据和理论支持,现报道如下。

## 1 材料与方

### 1.1 实验动物

选择 SPF 雄性 Wistar 大鼠 56 只,体重为 250~300 g,购自河北医科大学实验动物学部,许可证号:SYXK(冀)2013-0026。在明暗交替各 12 h 的恒温(19~25℃)、恒湿(44~49%)环境下饲养,本研究经河北省邯郸市第一医院动物伦理委员会审核批准。

### 1.2 制备大鼠体外 MIRI 模型

大鼠离体 MIRI 模型通过结扎左冠状动脉法和心脏 Langendorff 灌流装置制备<sup>[14]</sup>。利用 10%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉。麻醉固定后打开胸腔立即取出心脏悬挂于非循环的 Langendorff 离体灌流装置,进行主动脉逆行灌流。通过剪开大鼠肺动脉,然后剪掉大鼠的左心耳,最后将带有压力传感器的

乳胶球囊置于左心室内,必须是从左心房穿过并经过二尖瓣。调节球囊内溶液的容量,使左心室舒张末期压维持在 5-10 mmHg。心脏灌流稳定 20 min 后,行结扎左冠状动脉前降支。然后在 30min 后,松开小止血钳开始进行再灌注。

### 1.3 实验动物分组以及处理

利用 Langendorff 装置制成大鼠离体 MIRI 模型后。随机分为四组( $n=14$ ),分别是:假手术组(Sham 组)、MIRI 组、NECA 组和内质网应激抑制剂组(TUDCA 组)。四组处理方法如下:心脏稳定 20 min,缺血 30 min,再灌注 2 h 为 MIRI 组。心脏稳定 20 min,只穿线但是不结扎冠状动脉的为 Sham 组。而 NECA 组和 TUDCA 组分别稳定 20 min,缺血 30 min,再灌注 2 h,并于再灌注前 5 min 时 NECA 组给予 100 nmol/L NECA, TUDCA 组给予 30 nmol/L TUDCA,两组均至再灌注 30 min 时结束。

### 1.4 透射电镜检测心肌细胞超微变化

通过戊二醛固定小于 1 立方毫米的缺血区组织 2 h, 0.1 mol/L 磷酸漂洗液漂洗, 1%锇酸固定液固定 3 小时后, 0.1 mol/L 磷酸漂洗液漂洗。不同浓度乙醇丙酮脱水,纯丙酮加包埋液(2:1)室温包埋 4 小时,经过固化、烘烤,利用超薄切片机切片, 3%醋酸铀-枸橼酸铅双染色后,利用透射电镜观察并拍片。

### 1.5 采用免疫组化方法检测大鼠心肌组织中 IRE1 $\alpha$ 蛋白的表达

多聚-L-赖氨酸溶液内浸泡处理载玻片,自然干燥并存放于干燥避光的环境下备用。取适量心肌组织置于 4%多聚甲醛中固定,经过梯度乙醇脱水和二甲苯透明后,进行常规的石蜡包埋,最后制备心肌组织的石蜡切片。经过烤片、脱蜡以及柠檬酸钠热修复,以 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 37℃孵育 10 min。滴加山羊血清后于 37℃恒温箱中放置 40 min。滴加 IRE1 $\alpha$  一抗(Santa Cruz 公司,美国),在 4℃冰箱保存 12 小时。PBS 清洗后加二抗(Santa Cruz 公司,美国)在 37℃孵育 30 min, DAB 溶液滴加显色,苏木素复染。脱水、透明,并用中性树脂胶封片。以上洗片在 PBS 缓冲液中浸洗 5 min/次,共浸洗 3 次。显微镜下观察( $\times 200$ )。有棕色颗粒沉积为阳性结果。

### 1.6 Western blotting 分析 IRE1 $\alpha$ 和 XBP1s 表达

在行再灌注结束时,每组选择 6 只大鼠取适量缺血心肌部位的心肌组织,在 4℃的生理盐水冲干净血液,迅速投入有液氮的研钵中研磨成粉末后转移到洁净的玻璃管中,加入预冷生理盐水,用匀浆机匀浆 30 s, 1000 r/min,离心 1 min,弃掉上清。根据离心后剩余的体积,加入裂解液(1:5)、蛋白酶抑制剂苯甲磺酰氟(PMSF)和磷酸酶抑制剂。按照 BCA 试剂盒说(沈阳万类生物科技有限公司,中国)明书测定蛋白液浓度,以总蛋白

质量为 50  $\mu\text{g}$  计算所需蛋白样本体积,蛋白质变性是通过加热煮沸的方法。聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,将蛋白转膜至聚偏二氟乙烯膜(PVDF)。清洗后,37℃封闭 60 min。加一抗,兔抗鼠多克隆抗体 IRE1 $\alpha$ (Santa Cruz 公司,美国)和 XBP1s(Santa Cruz 公司,美国)(1:100),放在 4℃的水平摇床孵育过夜。洗膜后加辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗(Santa Cruz 公司,美国)(1:5000),37℃孵育 90 min。清洗均为 TBST 洗膜 3 次 $\times$  10 min,超敏 ECL Plus 化学发光试剂盒(碧云天生物技术研究所,中国)显色发光,Image-J 图像软件系统分析灰度值。内参选用  $\beta$ -tubulin。

### 1.7 TUNEL 检测心肌细胞凋亡

将在固定液中的组织块,经过脱水、透明步骤后,进行石蜡组织块包埋。利用切片机进行切片,贴在干净的载玻片上,并于室温下老化 5 天,放入 60℃的烤箱中烤 30 min。后经过二甲苯浸洗、酒精梯度密度脱水,加入 0.1%Triton-100 孵育 8 min。严格按照试剂盒说明进行操作,50  $\mu\text{L}$  TUNEL 反应混合液加入到玻片上面,在 37℃的避光湿盒中反应 60 min。封片后在荧光显微镜下观察(凋亡细胞核呈绿色荧光)。

### 1.8 统计学方法

SPSS19.0 进行数据统计学分析,Western Blot 检测 IRE1 $\alpha$  和 XBP1s 蛋白表达的计量资料以均数 $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 透射电镜结果

透射电镜结果显示,Sham 组心肌细胞形态正常,肌丝排列规则致密,嵴排列整齐,外膜和肌节形态完整;MIRI 组大部分肌丝断裂,肌节挛缩变形,嵴排列稀疏结构破坏,间隙增宽,可见线粒体空泡变性;NECA 组及 TUDCA 组较 MIRI 组损伤减轻,内质网轻度扩张或者正常,肌丝排列较整齐。

### 2.2 免疫组化结果

Sham 组心肌纤维呈细长圆柱形,形态正常,少量结缔组织存在,基本无 IRE1 $\alpha$  阳性染色。MIRI 组细胞排列紊乱,有许多断裂的细胞出现,IRE1 $\alpha$  阳性染色区域显著增加,而 NECA 和 TUDCA 组细胞病理的变化相对于 MIRI 组较轻,IRE1 $\alpha$  阳性染色部位明显减少。见图 1。

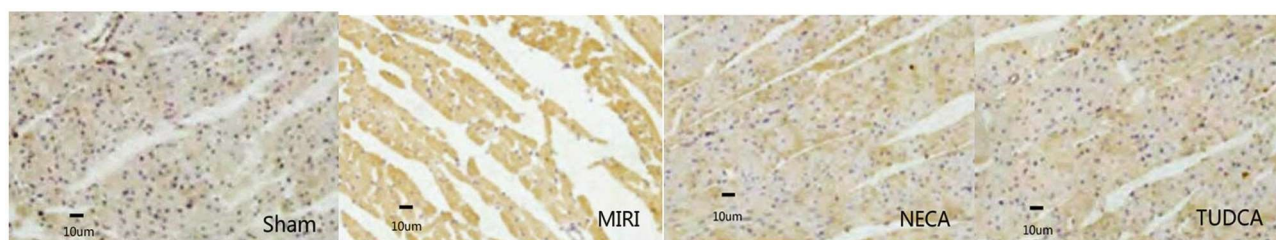


图 1 各组大鼠心肌 IRE1 $\alpha$  的表达(免疫组化染色 $\times$  200)

Fig.1 The expression of myocardium IRE1 $\alpha$  in each group( IHC  $\times$  200)

### 2.3 Western Blot 检测 IRE1 $\alpha$ 和 XBP1s 蛋白表达

与 Sham 组相比,MIRI 组的 IRE1 $\alpha$  和 XBP1s 蛋白的表达水平明显上升( $P < 0.05$ );而与 MIRI 组相比,TUDCA 组及 NECA 组 IRE1 $\alpha$  和 XBP1s 的蛋白表达水平显著降低( $P < 0.05$ )。见图 2 和表 1。

### 2.4 心肌细胞凋亡情况

MIRI 组心肌细胞凋亡明显,Sham 组基本没有发生心肌细胞凋亡,MIRI 组较 NECA 组及 TUDCA 组的心肌凋亡细胞数更多。见图 3。

## 3 讨论

在 MIRI 发病初期内质网具有一定的代偿能力,其可以通

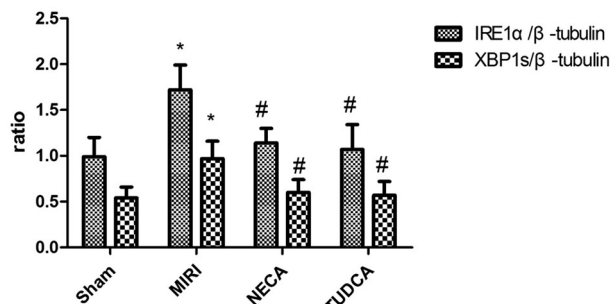


图 2 各组大鼠心肌组织 IRE1 $\alpha$  和 XBP1s 的表达  
(与 Sham 组比较,\* $P < 0.05$ ;与 MIRI 组比较,# $P < 0.05$ )

Fig.2 The expression of IRE1 $\alpha$  and XBP1s in the myocardium of the rats  
in each group

(Compared with Sham group,\* $P < 0.05$ ; Compared with MIRI group,# $P < 0.05$ )

表 1 各组大鼠心肌组织 IRE1 $\alpha$  和 XBP1s 的表达( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 The expression of IRE1 $\alpha$  and XBP1s in myocardium of each group ( $\bar{x} \pm s$ )

| Groups      | n | IRE1 $\alpha$ / $\beta$ -tubulin | XBP1s/ $\beta$ -tubulin      |
|-------------|---|----------------------------------|------------------------------|
| Sham group  | 6 | 0.97 $\pm$ 0.19                  | 0.53 $\pm$ 0.13              |
| MIRI group  | 6 | 1.68 $\pm$ 0.28*                 | 0.98 $\pm$ 0.20*             |
| NECA group  | 6 | 1.15 $\pm$ 0.17 <sup>#</sup>     | 0.59 $\pm$ 0.14 <sup>#</sup> |
| TUDCA group | 6 | 1.09 $\pm$ 0.28 <sup>#</sup>     | 0.59 $\pm$ 0.16 <sup>#</sup> |

Note: compared with Sham group,\* $P < 0.05$ ; compared with MIRI group,# $P < 0.05$ .

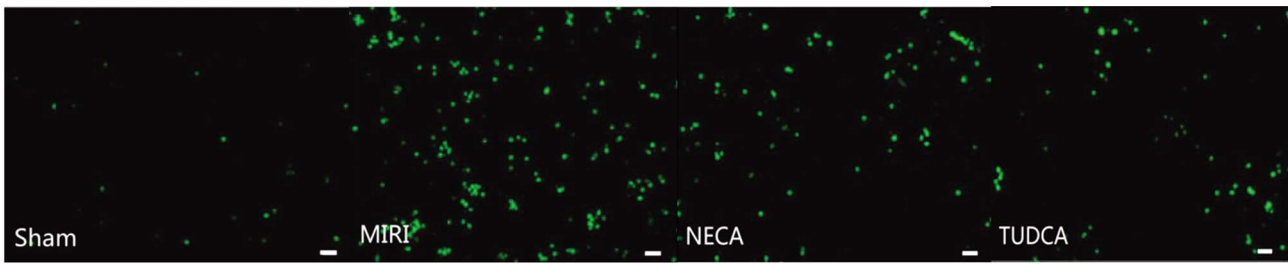


图3 NECA 减轻再灌注期细胞凋亡的发生(标尺=40 μm)

Fig.3 NECA reduces the influence of ERS-induced apoptosis at reperfusion(bar=40 μm)

过调节自由基和钙离子浓度以防止再灌注对心肌引起的损伤,但是当超过内质网代偿能力时,ERS 被触发而造成心肌组织损伤<sup>[15,16]</sup>。通过抑制 ERS 水平可有效减轻 MIRI 造成的心肌损伤,这也是影响手术成败及患者生存的重要因素。因此研究 ERS 相关信号通路以减轻和治疗 MIRI 已成为医学界急需解决的棘手问题之一。本次研究通过建立 MIRI 大鼠模型,给予 NECA 和 TUDCA 治疗,通过透射电镜观察四组大鼠心肌细胞超微结构的变化和 ERS 相关通路分子的表达,探讨 NECA 对 MIRI 大鼠 ERS 的影响及 IRE1-XBP1 信号通路在其中的作用。

在自由基损伤和钙平衡紊乱造成细胞钙超载时,内质网钙库受到严重干扰,这必然会影响到蛋白质的折叠和活性。内质网对于应激刺激非常敏感,细胞内钙离子浓度异常、能量水平、氧化应激等因素均可以使内质网腔内氧化环境遭到破坏,使蛋白质二硫键不能形成,引起错误折叠蛋白或者未折叠蛋白在其腔内聚集<sup>[17,18]</sup>。ERS 在许多疾病的发生发展过程中起到重要作用,比如 MIRI、阿尔兹海默症、帕金森、肿瘤等<sup>[19,21]</sup>。在 MIRI 时期,钙离子超载、氧化自由基生成、氧化应激等因素均可导致 ERS 的发生。ERS 可以通过三个信号通路介导应激反应,分别是未折叠蛋白反应(UPR)、质网超负荷(EOR)反应和固醇调节级联反应。UPR 是研究最为充分的一类 ERS 反应,与 MIRI 的发病密切相关。UPR 三条激活通路分别是 IRE1、蛋白激酶 R 样内质网激酶(PERK)、ATF6 受体介导。三者处于静息细胞里是处于未激活的状态,当未折叠蛋白或者错误蛋白在腔内聚集时,它们将被激活并且触发 UPR<sup>[22]</sup>。

IRE1-XBP1 通路是 UPR 中唯一可同时激活内质网应激蛋白 CHOP 和 c-Jun 氨基端激酶和 caspase-12 三条凋亡途径的抗应激通路,在 ERS 过程中发挥的作用尤为重要<sup>[23-25]</sup>。我们推测 NECA 可能是通过抑制 IRE1-XBP1 通路减轻 ERS。IRE1 是一种定位于内质网膜上的 I 型跨膜蛋白,拥有核酸内切酶和激酶活性,具有感应未折叠蛋白的能力。其在静息细胞里是处于未激活的状态,当未折叠蛋白在内质网的腔内聚集时,它们将激活 IRE1 并且触发 UPR<sup>[26]</sup>。研究发现 IRE1α 可以主导 ERS 的信号通路,当未折叠蛋白质在心肌细胞内质网中聚集时,IRE1 与糖调节蛋白解离,经过形成二聚体并发生自身磷酸化,而激活其核酸内切酶活性,剪切 XBP1u 产生 XBP1s。XBP1s 是一种高活性转录因子,可促进 UPR 的发生,在众多病理生理条件下起重要作用<sup>[27,28]</sup>。因此,IRE1-XBP1 信号通路在反应过程中起重要作用。

在宏观方面,我们通过透射电镜获得的结果,能够说明 MIRI 可以对心肌细胞造成形态结构的损伤,而 NECA 和

TUDCA 可以减轻 MIRI 造成的损伤,同 wang 等<sup>[29]</sup>和 Kalogeris 等<sup>[30]</sup>的研究结果相一致,说明可能是通过某种通路保护了心肌组织细胞。接着我们在微观方面进行了相关信号通路的研究。通过免疫组化和 Western Blot 结果显示,同 Sham 组相比较,MIRI 使 IRE1α 和 XBP1s 的蛋白表达水平提高,激活 IRE1-XBP1 通路。同 MIRI 组相比较,TUDCA 组和 NECA 组 IRE1 和 XBP1 的蛋白表达水平显著降低,说明 TUDCA 和 NECA 可抑制 IRE1-XBP1 通路,降低 ERS 反应,保护了心肌组织细胞。与 wang 等<sup>[29]</sup>研究结果相一致,验证了 IRE1-XBP1 通路正确性。心肌细胞凋亡结果表明 MIRI 组细胞凋亡明显,Sham 组基本没有发生心肌细胞凋亡,MIRI 组较 NECA 组及 TUDCA 组的凋亡细胞数更多,证明通过 IRE1-XBP1 通路抑制了心肌细胞的凋亡。

综上所述,NECA 可通过抑制 ERS 反应降低 MIRI 引起的心肌损伤,其机制与抑制 IRE1-XBP1 信号通路有关,为临床 MIRI 的预防和治疗提供数据和理论支持。

#### 参考文献(References)

- [1] Singh S, Singh A, Khosla S. Acute Myocardial Infarction [J]. Ann Intern Med, 2015, 163(2): 151-152
- [2] He XM, Chen L, Luo JB, et al. Effects of rhBNP after PCI on non-invasive hemodynamic in acute myocardial infarction patients with left heart failure[J]. Asian Pac J Trop Med, 2016, 9(8): 791-795
- [3] 高妮妮,王芳,廉哲勋,等.PI3K-Akt-eNOS 信号通路在三磷酸腺苷后处理减轻心肌缺血再灌注损伤中的作用 [J]. 中国循环杂志, 2014, 29(1): 59-63  
Gao Ni-ni, Wang Fang, Lian Zhe-xun, et al. ATP Post Conditioning of PI3K-Akt-eNOS Signaling Pathway Reducing the Myocardial Ischemia Reperfusion Injury in Experimental Rabbits [J]. Chinese Circulation Journal, 2014, 29(1): 59-63
- [4] Zhou YH, Han QF, Wang LH, et al. High mobility group box 1 protein attenuates myocardial ischemia reperfusion injury via inhibition of the p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2017, 14(2): 1582-1588
- [5] Cai X, Wang X, Li J, et al. Protective effect of glycyrrhizin on myocardial ischemia/reperfusion injury-induced oxidative stress, inducible nitric oxide synthase and inflammatory reactions through high-mobility group box 1 and mitogen-activated protein kinase expression[J]. Exp Ther Med, 2017, 14(2): 1219-1226
- [6] Ding S, Jiang J, Zhang G, et al. Resveratrol and caloric restriction prevent hepatic steatosis by regulating SIRT1-autophagy pathway and alleviating endoplasmic reticulum stress in high-fat diet-fed rats [J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183541

- [7] Tada Y, Yang PC. Myocardial Edema on T2-Weighted MRI: New Marker of Ischemia Reperfusion Injury and Adverse Myocardial Remodeling[J]. *Circ Res*, 2017, 121(4): 326-328
- [8] Xue Q, Pei H, Liu Q, et al. MICU1 protects against myocardial ischemia/reperfusion injury and its control by the importer receptor Tom70[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(7): e2923
- [9] Tohmonda T, Yoda M, Iwawaki T, et al. IRE1 $\alpha$ /XBP1-mediated branch of the unfolded protein response regulates osteoclastogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(8): 3269-3279
- [10] 肖晗,马晓伟,付勇南,等.异丙基肾上腺素不同给药模式对小鼠心脏腺苷酸活化蛋白激酶活性的影响[J].*中国病理生理杂志*, 2016, 32(12): 2177-2183  
Xiao Han, Ma Xiao-wei, Fu Yong-nan, et al. Distinct effects of different  $\beta$ -adrenoceptor stimulation patterns on cardiac AMP-activated protein kinase activity [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2016, 32(12): 2177-2183
- [11] 富旗,周正芳,李少辉,等.腺苷预处理对大鼠脊髓缺血再灌注损伤的保护作用[J].*南方医科大学学报*, 2014, 34(1): 92-95  
Fu Qi, Zhou Zheng-fang, Li Xiao-hui, et al. Protective effect of adenosine preconditioning against spinal cord ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2014, 34(1): 92-95
- [12] Xia D, Ji W, Xu C, et al. Knockout of MARCH2 inhibits the growth of HCT116 colon cancer cells by inducing endoplasmic reticulum stress[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(7): e2957
- [13] 王晴,周岩,韩会,等.NECA 抑制内质网应激抗大鼠心肌缺血再灌注损伤的作用机制[J].*医学研究生学报*, 2017, 30(6): 574-578  
Wang Qing, Zhou Yan, Han Hui, et al. Effects and mechanisms of NECA inhibit endoplasmic reticulum stress to against myocardial ischemia reperfusion injury in rats[J]. *Journal of Medical Postgraduates*, 2017, 30(6): 574-578
- [14] 刘丽娟,范蕾,常福厚,等.冠心十味丸对离体大鼠心肌缺血再灌注损伤后的保护作用[J].*中国生化药物杂志*, 2015, 35(3): 21-24  
Liu Li-juan, Fan Lei, Chang Fu-hou, et al. Protective effect of GuanXinShiWeiWan on isolated rat hearts with ischemia reperfusion injury [J]. *Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics*, 2015, 35(3): 21-24
- [15] Yang Y, Sun Y, Yi W, et al. A review of melatonin as a suitable antioxidant against myocardial ischemia-reperfusion injury and clinical heart diseases[J]. *J Pineal Res*, 2014, 57(4): 357-366
- [16] 张志坚,吴灿,田黎,等.沙苑子总黄酮对内质网应激诱导的细胞凋亡在百草枯致大鼠肺损伤中的保护作用 [J]. *医学研究生学报*, 2014, 27(8): 806-809  
Zhang Zhi-jian, Wu Can, Tian Li, et al. Effects of total flavonoids from astragalus complanatus and endoplasmic reticulum stress-induced cell apoptosis in acute lung injury following paraquat poisoning in rats[J]. *Journal of Medical Postgraduates*, 2014, 27(8): 806-809
- [17] Rajamani U, Gross AR, Ocampo C, et al. Endocrine disruptors induce perturbations in endoplasmic reticulum and mitochondria of human pluripotent stem cell derivatives[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 219
- [18] Hu YB, Wu X, Qin XF, et al. Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Silica-induced Apoptosis in RAW264.7 Cells [J]. *Biomed Environ Sci*, 2017, 30(8): 591-600
- [19] Chen Z, Wu Q, Ding Y, et al. YD277 Suppresses Triple-Negative Breast Cancer Partially Through Activating the Endoplasmic Reticulum Stress Pathway[J]. *Theranostics*, 2017, 7(8): 2339-2349
- [20] Huang HC, Tang D, Lu SY, et al. Endoplasmic reticulum stress as a novel neuronal mediator in Alzheimer's disease[J]. *Neurol Res*, 2015, 37(4): 366-374
- [21] Bailey KA, Haj FG, Simon SI, et al. Atherosusceptible Shear Stress Activates Endoplasmic Reticulum Stress to Promote Endothelial Inflammation[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 8196
- [22] 郭智东,王弋,许国根,等.心肌细胞内质网应激的研究进展[J].*心脑血管病防治*, 2014, 14(1): 48-50  
Guo Zhi-dong, Wang Yi, Xu Guo-gen, et al. Progress in endoplasmic reticulum stress in cardiomyocytes [J]. *Prevention and Treatment of Cardio-Cerebral-Vascular Disease*, 2014, 14(1): 48-50
- [23] Mottis A, Jovaisaite V, Auwerx J. The mitochondrial unfolded protein response in mammalian physiology[J]. *Mamm Genome*, 2014, 25(9-10): 424-433
- [24] Liao HY, Kao CM, Yao CL, et al. 2,4,6-Trinitrotoluene Induces Apoptosis via ROS-Regulated Mitochondrial Dysfunction and Endoplasmic Reticulum Stress in HepG2 and Hep3B Cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 8148
- [25] 谷晓峰,邓学峰,马群凤,等.RNF13 通过 IRE1/XBP-1 通路调控内质网应激介导的细胞凋亡 [J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(5): 801-805  
Gu Xiao-feng, Deng Xue-feng, Ma Qun-feng, et al. RNF13 Mediates ER Stress induced Apoptosis through IRE1/XBP-1 Pathway [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2016, 16(5): 801-805
- [26] Homma T, Fujii J. Heat stress promotes the down-regulation of IRE1 $\alpha$  in cells: An atypical modulation of the UPR pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2016, 349(1): 128-138
- [27] Cameron TL, Bell KM, Gresshoff IL, et al. XBP1-Independent UPR Pathways Suppress C/EBP- $\beta$  Mediated Chondrocyte Differentiation in ER-Stress Related Skeletal Disease [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(9): e1005505
- [28] Jiao FJ, Wang QZ, Zhang P, et al. CDK5-mediated phosphorylation of XBP1s contributes to its nuclear translocation and activation in MPP+-induced Parkinson's disease model [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5622
- [29] Wang S, Wang Z, Fan Q, et al. Ginkgolide K protects the heart against endoplasmic reticulum stress injury by activating the inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$ /X box-binding protein-1 pathway [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(15): 2402-2418
- [30] Kalogeris T, Bao Y, Korthuis RJ. Mitochondrial reactive oxygen species: a double edged sword in ischemia /reperfusion vs preconditioning[J]. *Redox Biol*, 2014, 2(1): 702-714