

毒胡萝卜素对小鼠肺成纤维细胞内钙离子水平及 caspase-3 蛋白表达的影响^{*}

闫 宇¹, 肖 坤², 梁晓飞², 张梦柔¹, 毛凯璇¹, 封 帆¹, 肖永红^{2△}

1. 华北理工大学 临床医学院 (唐山 063000); 2. 华北理工大学 公共卫生学院 (唐山 063000)

【摘要】 目的 探讨钙泵抑制剂毒胡萝卜素(thapsigargin, TG)对体外小鼠肺成纤维细胞内钙离子(Ca^{2+})水平及凋亡相关蛋白含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(caspase-3)表达的影响。**方法** 小鼠肺成纤维细胞(L929)分为3组:空白对照组(不做处理)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)组、TG组,后两组均用5 ng/mL TGF- β_1 诱导24 h, TG组在诱导后再用4 $\mu\text{mol/L}$ TG作用24 h。细胞处理48 h后,分别收集各组细胞,采用透射电子显微镜观察细胞超微结构变化,激光共聚焦显微镜观察各组细胞内 Ca^{2+} 水平,免疫细胞化学方法检测 caspase-3 蛋白表达。**结果** 透射电子显微镜示,空白对照组细胞凋亡较少, TGF- β_1 组无明显凋亡细胞, TG组有大量成纤维细胞凋亡。TGF- β_1 组 Ca^{2+} 水平和 caspase-3 蛋白水平均低于空白对照组($P<0.05$), TG组细胞内 Ca^{2+} 水平和 caspase-3 蛋白水平均较 TGF- β_1 组、空白对照组升高($P<0.05$)。**结论** TG可使小鼠肺成纤维细胞细胞内钙稳态失衡,增加 caspase-3 蛋白表达,促进细胞凋亡。

【关键词】 肺成纤维细胞 毒胡萝卜素 钙离子 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3

Effects of Thapsigargin on Intracellular Ca^{2+} and Caspase-3 Protein Expression in Mouse Lung Fibroblast YAN Yu¹, XIAO Kun², LIANG Xiao-fei², ZHANG Meng-rou¹, MAO Kai-xuan¹, FENG Fan¹, XIAO Yong-hong^{2△}. 1. College of Clinical Medicine, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China; 2. College of Public Health, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, China
[△] Corresponding author, E-mail: kycxyh@tom.com

【Abstract】 Objective To explore the effects of calcium pump inhibitor thapsigargin (TG) on intracellular Ca^{2+} and the expression of caspase-3 protein in mouse lung fibroblast. **Methods** Mice lung fibroblast cells were divided into three groups: the blank control group, transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) group and TG treated group. The cells were induced by 5 ng/mL TGF- β_1 for 24 h in TGF- β_1 group and TG group, 4 $\mu\text{mol/L}$ TG was added in TG group for 24 h. After 48 h, the cells were collected, and the cell structure was observed by transmission electron microscope, intracellular Ca^{2+} level was detected with laser confocal microscope, the protein expression of caspase-3 was examined using immunohistochemistry method. **Results** Transmission electron microscopy showed that the cells in the blank control group had obvious nucleolus, complete organelles and less apoptosis. In TGF- β_1 group, the cell morphology was intact, chromatin was evenly distributed, and no apoptotic cells were found. In TG group, there were a large number of apoptosis of fibroblasts, chromatin clumps in nuclei and a small amount of collagen fibers. The level of Ca^{2+} in TGF- β_1 group was significantly lower than that in control group ($P<0.05$), and which in TG group was significantly higher ($P<0.05$). The protein expression of caspase-3 in TGF- β_1 group were significantly lower than that in blank control group ($P<0.05$), which in TG group increased obviously ($P<0.05$). **Conclusion** TG could cause intracellular calcium dysregulation in mouse lung fibroblasts, increase caspase-3 protein expression and promote cell apoptosis.

【Key words】 Lung fibroblasts Thapsigargin Calcium caspase-3

研究表明,肺纤维化过程中主要是成纤维细胞的增殖、胶原过度沉积,导致肺组织结构不可逆性破坏^[1]。故抑制肺成纤维细胞的增殖,诱导其凋亡

可能成为抗肺纤维化治疗的主要策略。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)是近年来发现的一种新的凋亡途径, ERS介导的凋亡与细胞内钙离子(Ca^{2+})有着不可分割的关系^[2]。 Ca^{2+} 作为细胞内多种死亡信号转导的第二信使,在细胞凋亡过程中处于重要地位。细胞内 Ca^{2+} 稳态主要是通过内质网来保持,细胞内钙稳态失衡是诱导 ERS 的重

^{*} 河北省科学技术研究与发展计划(No. 10276113D)和河北省大学生创新创业训练计划项目(201710081045)资助

[△] 通信作者, E-mail: kycxyh@tom.com

要因素^[3],过度的 ERS 则会导致细胞的凋亡^[4]。转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)为现知的最强烈的纤维化促进因子,其促进肺成纤维细胞过度增殖、分化,继而促进 I、III 型胶原等细胞外基质过度积聚^[5],在肺纤维化的产生和发展中起着中心性作用。有研究报道^[6],小鼠肺成纤维细胞经 TGF- β_1 刺激后,细胞内的 ERS 重要标志物葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、X 盒结合蛋白-1 (XBP-1)、活化转录因子 6 (ATF-6 α) 表达均升高,同时 I 型胶原蛋白也随之升高,表明 ERS 参与了肺成纤维细胞的转化过程。

为此,本研究使用钙泵抑制剂—毒胡萝卜素 (thapsigargin, TG) 作用于体外 TGF- β_1 刺激的小鼠肺成纤维细胞,观察细胞内 Ca^{2+} 变化及凋亡相关蛋白含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3 (caspase-3) 的表达,探讨 Ca^{2+} 变化对肺纤维化成纤维细胞凋亡的调控作用,以期对肺纤维化的防治提供新的作用靶点。

1 材料和方法

1.1 细胞、材料

液氮冻存的小鼠肺成纤维细胞 L929,由中国科学院上海细胞研究所提供。RPMI-1640 培养基购于美国 GIBCO 公司(批号: C11875500),胎牛血清购于天津灏洋生物公司(批号: 04-001-1A),青链霉素混合液购于以色列 Biological Industries (BI) 公司(批号 03-031-1B),胰蛋白酶(含 EDTA)购于美国 INVITROGEN 公司, TGF- β_1 购于美国 Peprotech 公司,毒胡萝卜素购于美国 Cayman 公司(批号: 10522,规格 1 mg),Fluo-3 AM/ Ca^{2+} 荧光探针购于美国 KPL 公司(批号: F1242),免疫细胞化学试剂盒、caspase-3 抗体购于北京博奥森生物技术有限公司, DAB 显色剂购于上海贝博生物公司; BX51 荧光倒置显微镜、激光共聚焦荧光显微镜(日本 Olympus 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养、分组及处理 液氮冻存的小鼠肺成纤维细胞 L929,快速放入 37 °C 恒温水浴箱内融化后,接种 5 mL RPMI-1640 完全培养基的 50 mL 培养瓶内,于 37 °C、体积分数 5% CO_2 的孵育箱内培养。当细胞呈单层致密状时,用 0.25% 胰蛋白酶消化后传代。细胞同步化后分为 3 组:空白对照组、TGF- β_1 组和 TGF- β_1 + TG 组(TG 组) 3 组,每个培养瓶内加入 3 mL 完全培养基,细胞浓度为 $1 \times$

10^5 mL^{-1} 。空白对照组: L929 细胞只加入 RPMI-1640 培养基,培养 48 h; TGF- β_1 组: L929 细胞加入终质量浓度为 5 ng/mL TGF- β_1 的 RPMI-1640 培养基,培养 24 h,然后换 RPMI-1640 培养基继续培养 24 h; TG 组: L929 细胞加入终质量浓度 5 ng/mL TGF- β_1 的 RPMI-1640 培养基,培养 24 h,然后换含 4 $\mu\text{mol/L}$ TG 的 RPMI-1640 培养基,培养 24 h。48 h 实验结束后,分别收集各组细胞。

1.2.2 透射电镜观察各组 L929 细胞形态 收集各组细胞于 EP 管内,加入 1 mL 戊二醛缓冲液进行固定 24 h; 用 PBS 缓冲液浸洗 2 h, 锇酸固定 1.5 h, PBS 缓冲液浸洗 2 h, 经梯度酒精(40%、50%、75%、85%、95%、100%)脱水,进行树脂包埋, AOE 型钻石切片机进行超薄切片, 枸橼酸铅、醋酸铀双染,透射电镜观察细胞形态变化。

1.2.3 激光共聚焦显微镜观察各组细胞内 Ca^{2+} 水平 细胞使用专用共聚焦小皿进行处理完成后,弃掉培养皿中原有培养基, PBS 缓冲液洗涤 2 次,用细胞培养基调整细胞浓度为 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$,加入终浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 Fluo-3 AM/ Ca^{2+} 荧光探针 400 μL ,置 37 °C、体积分数 5% CO_2 孵育箱内孵育 40 min,进行细胞负载;负载后的细胞使用 PBS 缓冲液洗涤 2 次,加入 1 mL 培养基,置孵育箱内孵育 20 min,上机检测。本实验采用的发射波长为 530 nm,激发光波长为 488 nm,使用激光共聚焦扫描显微镜观察各组细胞并进行拍照,使用配套 TCSS P2 处理软件,计算细胞的平均荧光强度。细胞内 Ca^{2+} 浓度越高,细胞的荧光强度越强。

1.2.4 免疫细胞化学检测各组成纤维细胞内 caspase-3 蛋白表达 胰蛋白酶消化细胞,用培养基调整细胞浓度为 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$,取 1 mL 种植于带有小玻片的 6 孔板内,按照各实验组要求处理完成后,用免疫细胞化学 SP 法,检测各实验组 caspase-3 蛋白表达情况。一抗浓度为 1 : 300,用 PBS 代替一抗,作为阴性对照组。实验具体方法按照试剂盒说明书进行操作。

阳性结果的判断:细胞浆或细胞核出现黄色或黄褐色。每张切片随机取 5 个视野,放大 400 倍,用 Image-pro plus 图像分析系统进行显微定量分析每张切片蛋白平均灰度值,作为 caspase-3 蛋白表达量。

1.2.5 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间差异比较采用 F 检验,两两比较采用 LSD 法, $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 L929 细胞形态

见图 1。空白对照组细胞凋亡较少,细胞器完整,粗面内质网和高尔基复合体发育良好,有少量线粒体,细胞核呈椭圆形,有明显核仁;TGF-β₁ 组细胞形态完好,染色质均匀分布,无明显凋亡细胞;TG 组有大量成纤维细胞凋亡,细胞核内染色质凝集成团块状,处于碎裂相,线粒体出现肿胀甚至呈空泡状,胶原纤维少量存在。

2.2 细胞内 Ca²⁺ 水平

见图 2。空白对照组呈淡绿色荧光,TGF-β₁ 组 Ca²⁺ 荧光强度减弱,TG 组呈强绿荧光;空白对照组、TGF-β₁ 组、TG 组细胞内 Ca²⁺ 荧光强度分别为 123.82±41.80、96.38±35.23、305.24±83.15,TGF-β₁ 组 Ca²⁺ 水平低于空白对照组($P<0.05$),加入 TG 干预后细胞内 Ca²⁺ 水平升高,与空白对照组、TGF-β₁ 组相比,差异均有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 细胞内 caspase-3 蛋白的表达

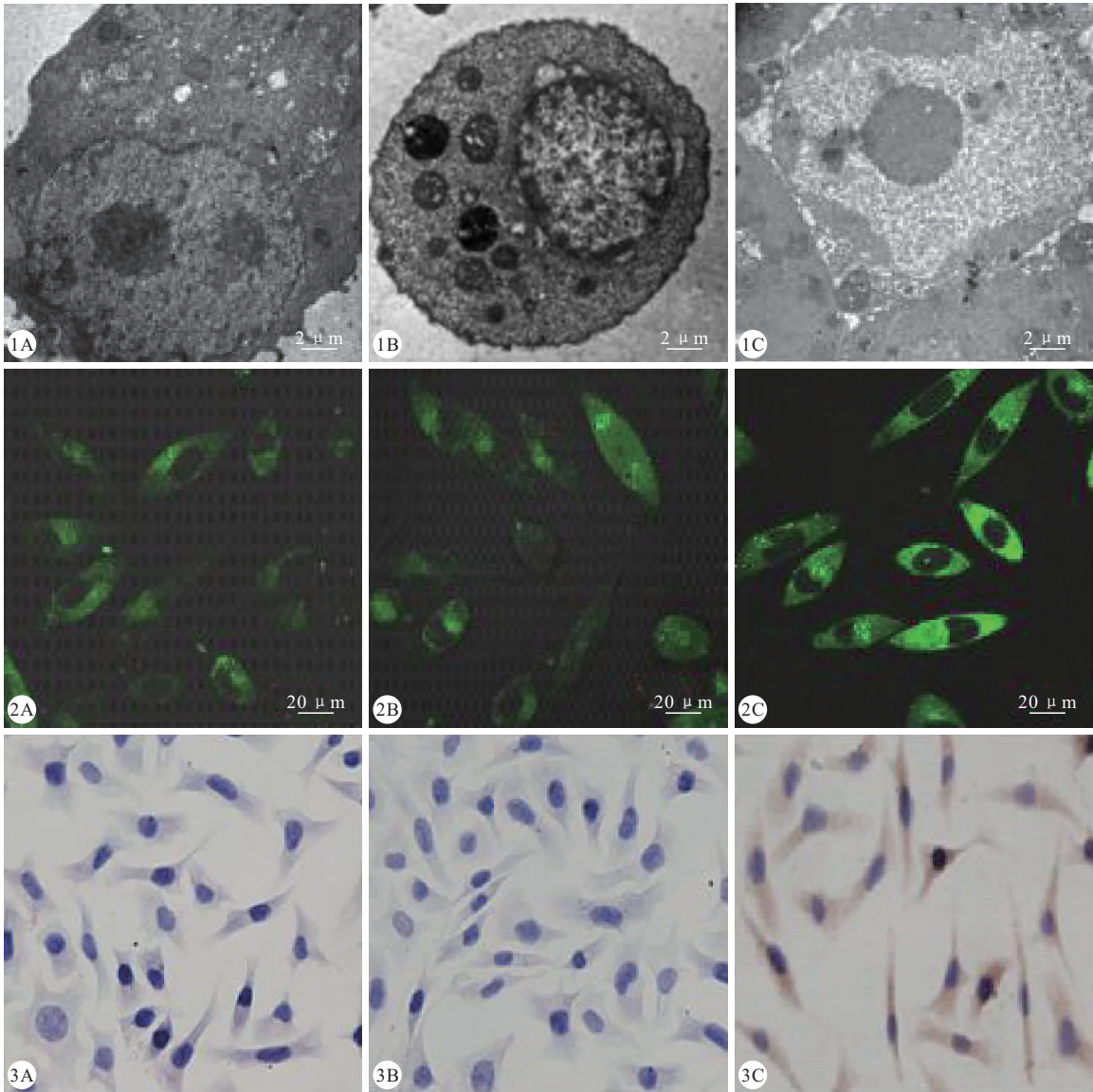


图 1 透射电子显微镜观察各处理组成纤维细胞的形态 图 2 激光共聚焦电子显微镜观察各处理组细胞内 Ca²⁺ 荧光强度 图 3

各组细胞中 caspase-3 蛋白表达。SP ×400 Fig 1 The morphology of fibroblasts in different groups observed by transmission electron microscopy Fig 2 The intracellular Ca²⁺ fluorescence intensity in different groups observed by laser confocal electron microscopy Fig 3 The expression of caspase-3 protein in different groups. SP ×400

A: Blank control group; B: TGF-β₁ group; C: TG group

见图3。TGF- β_1 组中的细胞浆黄染较空白对照组变浅,TG组的细胞浆中棕黄色染色较空白对照组和TGF- β_1 组加深。TGF- β_1 组($1\ 836.33 \pm 102.15$)与空白对照组($2\ 552.39 \pm 175.43$)比较,caspase-3蛋白表达降低($P < 0.05$);TG组caspase-3蛋白表达($3\ 798.52 \pm 220.25$)增强,高于空白对照组和TGF- β_1 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

目前研究认为,细胞凋亡的通路主要有死亡受体途径(外源性途径)、线粒体途径(内源性途径)和ERS途径,其中前两者是经典凋亡途径,ERS途径是近年才发现的一种新的凋亡途径,其引起的细胞凋亡机制尚未完全阐明。目前ERS介导细胞凋亡研究较多的两种机制为未折叠蛋白(UPR)和 Ca^{2+} 起始信号,且多条通路揭示内质网中 Ca^{2+} 参与^[7]。本研究使用钙泵抑制剂TG作用于体外小鼠肺成纤维细胞,探讨 Ca^{2+} 变化对ERS诱导肺成纤维细胞凋亡的调控作用,旨在从ERS途径探讨细胞凋亡信号通路,为肺纤维化的治疗提供实验依据,同时为实际治疗提供新的思路。

激光共聚焦结果显示,与空白对照组相比,TGF- β_1 可引起小鼠肺成纤维细胞内 Ca^{2+} 水平的降低;加入TG干预后细胞内 Ca^{2+} 水平升高,高于空白对照组和TGF- β_1 组($P < 0.05$),表明TG可提高TGF- β_1 刺激的小鼠肺成纤维细胞内 Ca^{2+} 水平,引起细胞内 Ca^{2+} 超载。而且,电镜观察TGF- β_1 组无明显凋亡细胞,经TG处理的成纤维细胞可见典型的细胞凋亡的形态改变,表明细胞内钙超载,引发了细胞凋亡的发生。TG是抑制内质网膜 Ca^{2+} -ATP酶抑制剂,是ERS特异性诱导剂,可使胞浆内 Ca^{2+} 浓度升高,诱导A549细胞、肝星状细胞、人胚肺成纤维细胞发生ERS和凋亡^[-8-10]。

内质网广泛存在于真核细胞中,是细胞内重要的细胞器,是蛋白质合成、折叠、组装和运输的主要场所,同时也是钙储备和钙信号传导的主要部位。当受不良刺激时,内质网腔内将会出现大量未折叠与错误折叠的蛋白,细胞内 Ca^{2+} 平衡被打乱^[-11-12],发生ERS。ERS关键的调节分子有分子伴侣葡萄糖调节蛋白78(GRP78)和CCAAT增强子结合蛋白同源蛋白(CCAAT/enhancer binding protein homologous protein,CHOP)及caspase-12蛋白水解酶的活化。内质网通过激活未折叠蛋白质反应以

保护由ERS所引起的细胞损伤,恢复细胞功能。长期或过强的ERS通过诱导CHOP表达、GRP78以及caspase-12的活化等一系列生物学效应,信号由生存向凋亡转换,从而诱导细胞凋亡。既往研究报道^[-13],ERS介导凋亡的关键环节是胞内钙稳态失衡和钙蛋白酶2(calpain-2)、caspase-12的激活,calpain和caspase-12在一起能形成“ Ca^{2+} 感受器”,此时 Ca^{2+} 增高,即能被其感受而引发细胞凋亡。目前研究显示^[-14],TG可促进肺成纤维细胞凋亡,增加仅被ERS活化的凋亡蛋白caspase-12的表达,表明TG诱导的细胞凋亡与ERS有关。Caspase家族在细胞凋亡过程中发挥至关重要的作用,当内质网中的 Ca^{2+} 稳态被破坏时,caspase-12被激活,它可以进一步剪切caspase-3。caspase-3是细胞凋亡过程中关键蛋白酶。细胞凋亡3个信号传导通路都能激活凋亡执行者caspase-3,它会水解各种各样的细胞成分使细胞发生凋亡。本研究结果显示,TG组的caspase-3蛋白表达高于空白对照组和TGF- β_1 组($P < 0.05$),表明TG上调了TGF- β_1 刺激的小鼠肺成纤维细胞caspase-3蛋白的表达,提示TG可能通过 Ca^{2+} 诱导的ERS途径参与了细胞凋亡。有研究报道^[-9],钙离子螯合剂乙二醇双(2-氨基乙醚)四乙酸(EGTA)或BAPTA/AM显著抑制TG诱导肝星状细胞凋亡,并且抑制calpain、caspase-12、caspase-9和caspase-3蛋白表达,说明下调细胞内 Ca^{2+} 的浓度可抑制肝星状细胞的凋亡。

本研究未探讨TG诱导小鼠肺成纤维细胞凋亡的机制,但推测可能是通过ERS凋亡途径,即TG引起细胞质内 Ca^{2+} 增加,活化细胞质中的calpain,活化型calpain促进内质网膜上的caspase-12活化,进一步激活caspase-3而导致细胞凋亡。有关TG如何通过钙稳态失衡诱导的ERS途径参与细胞凋亡,下一步实验将进行深入探讨。由于ERS诱导的细胞凋亡是一种新的凋亡途径,其信号转导途径的分子机制还有待于更深入的研究,而寻找和研制针对ERS凋亡途径的药物将成为治疗肺纤维化疾病的一个新的方向。

参 考 文 献

- [1] THANNICKAL VJ. Mechanisms of pulmonary fibrosis: role of activated myofibroblasts and NADPH oxidase. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2012, 5 (Suppl 1): 1-3.
- [2] 徐欢成, 郑明学, 古少鹏, 等. 钙信号转导对细胞凋亡的影响. *动物医学进展*, 2013, 32(1): 112-115. (下转第413页)

nh&-uid = WEEvRE
cwSlJHsldRa1FhcTdWajFuVjdiMUF5MmV1VjBLalhiS0RH
M0krRT0=MYM9A4 hF_YAuvQ5obgVAqNKPCYcEjKens
W4ggI8Fm4gTkoUKaID8j8g Fw!! &-v = MTM4NDFy
Q1VSTetmWmVacEZDbmdWTC9OVkYyNkhiSzIIZFRQcj
VFYlBJUjhlWDFMdXhZUzdEaDFUM3FUcldNMUY=.

[3] ZHONG MW, LIU SZ, ZHANG GY, *et al.* Alterations in gut microbiota during remission and recurrence of diabetes after duodenal-jejunal bypass in rats. *World J Gastroenterol*, 2016,22(29):6706-6715.

[4] 张 芹, 周中凯, 任晓冲. 高通量测序技术研究高糖饮食对小鼠肠道菌群的影响. *食品安全质量检测学报*, 2015,6(5):1776-1782.

[5] VELAGAPUDI VR, HEZAVEH R, REIGSTAD CS, *et al.* The gut microbiota modulates host energy and lipid metabolism in mice. *J Lipid Res*, 2010,51(5):1101-1112.

[6] ZHANG X, SHEN D, FANG Z, *et al.* Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71108 [2017-08-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3754967/>. doi:10.1371/journal.pone.0071108.

[7] QIN J, LI Y, CAI Z, *et al.* A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 2012,490(7418):55-60.

[8] FURET JP, KONG LC, TAP J, *et al.* Differential adaptation of human gut microbiota to bariatric surgery-induced weight loss: links with metabolic and low-grade inflammation markers. *Diabetes*, 2010,59(12):3049-3057.

[9] HIPPE B, REMELY M, AUMUELLER E, *et al.* Faecalibacterium prausnitzii phylotypes in type two diabetic, obese, and lean control subjects. *Benef Microbes*, 2016, 7(4):511-517.

[10] GRAESSLER J, QIN Y, ZHONG H, *et al.* Metagenomic sequencing of the human gut microbiome before and after bariatric surgery in obese patients with type 2 diabetes: correlation with inflammatory and metabolic parameters. *Pharmacogenomics J*, 2013,13(6):514-522.

[11] LI E, HAMM CM, GULATI AS, *et al.* Inflammatory bowel diseases phenotype, *C. difficile* and NOD2 genotype are associated with shifts in human ileum associated microbial composition. *PLoS One*, 2012, 7(6): e26284 [2017-08-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3374607/>. doi:10.1371/journal.pone.0026284.

[12] DE FILIPPO C, CAVALIERI D, DI PAOLA M, *et al.* Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010,107(33):14691-14696.

[13] GORVITOVSKAIA A, HOLMES SP, HUSE SM. Interpreting *Prevotella* and *Bacteroides* as biomarkers of diet and lifestyle. *Microbiome*, 2016,4:15.

[14] NAKAYAMA J, YAMAMOTO A, PALERMO-CONDE LA, *et al.* Impact of westernized diet on gut microbiota in children on Leyte Island. *Front Microbiol*, 2017,8:197 [2017-08-20]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00197>.

[15] WU GD, CHEN J, HOFFMANN C, *et al.* Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 2011,334(6052):105-108.

[16] 吴仲文, 李兰娟, 马伟杭, 等. 肠道菌群正常参考值的检测. *中国微生态学杂志*, 2001,13(6):8-9.

[17] CLAESSION MJ, CUSACK S, O' SULLIVAN O, *et al.* Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011,108(Suppl 1):4586-4591.

(2017-10-20 收稿, 2018-02-01 修回)

编辑 余 琳

(上接第 383 页)

[3] CHEN X, KINTNER DB, LUO J, *et al.* Endoplasmic reticulum Ca^{2+} dysregulation and endoplasmic reticulum stress following *in vitro* neuronal ischemia: role of Na^{+} - K^{+} - Cl^{-} cotransporter. *J Neurochem*, 2008,106(4):1563-1576.

[4] 赵 娜, 夏光涛, 张源潮, 等. 成纤维细胞在特发性肺纤维化发病机制及治疗中的研究进展. *世界临床药物*, 2013,34(7):439-442.

[5] 董晓峰, 赵 静, 王献华, 等. 转化生长因子 $\beta 1$ 相关基因在肺纤维化中的作用. *现代预防医学*, 2012,39(6):1548-1552.

[6] BAEK HA, KIM DS, PARK HS, *et al.* Involvement of endoplasmic reticulum stress in myofibroblastic differentiation of lung fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012,46(6):731-739.

[7] LI X, WANG Y, WANG H, *et al.* Endoplasmic reticulum stress is the crossroads of autophagy, inflammation, and apoptosis signaling pathways and participates in liver fibrosis. *Inflamm Res*, 2015,64(1):1-7.

[8] 何白梅, 罗百灵, 袁 浩. 毒胡萝卜素诱导 A549 细胞凋亡的实验研究. *现代生物医学进展*, 2010,10(1):23-25.

[9] 李晓慧. 内质网应激诱导大鼠肝星状细胞凋亡的机制研究. 合肥:安徽医科大学, 2014 [2017-04-23]. <http://www.yjsxy.ahmu.edu.cn/>.

[10] 王亚丽, 李 俊, 黄 成, 等. 毒胡萝卜素对人胚肺成纤维细胞凋亡影响及部分机制的初步探讨. *中国药理学通报*, 2012, 28(9):1281-1285.

[11] 陈娜子, 姜 潮, 李校堃, 等. ERS 与疾病. *中国生物工程杂志*, 2016,36(1):76-85

[12] 张玉静, 钟才高. 钙离子依赖的内质网应激在细胞凋亡中作用研究进展. *中国职业医学*, 2017,44(3):365-370

[13] 马 林, 张 颖, 张凯强, 等. 内质网应激诱导细胞凋亡的机制及其在氟斑牙形成中的作用. *中国实用口腔科杂志*, 2013, 6(6):379-382.

[14] 闫 宇, 马思琪, 肖 倩, 等. 毒胡萝卜素对转化生长因子 $\beta 1$ 刺激的小鼠肺成纤维细胞凋亡的影响. *中国临床药理学杂志*, 2017,33(19):1915-1917.

(2017-12-15 收稿, 2018-03-19 修回)

编辑 吕 熙