

熊去氧胆酸对急性肝功能衰竭大鼠肝细胞凋亡内质网途径的阻断作用

白璐¹, 朱丽影¹, 杨宝山² (1.哈尔滨医科大学附属第四医院 感染科, 哈尔滨 150001; 2.哈尔滨医科大学附属第二医院 感染科, 哈尔滨 150001)

摘要: 目的 探讨熊去氧胆酸对急性肝功能衰竭大鼠肝细胞凋亡内质网途径的阻断作用。方法 以D-氨基半乳糖(D-Gal)腹腔注射一次性诱导大鼠出现急性肝功能衰竭模型, 将模型鼠(60只)随机分为A、B两组, 每组30只。A组为熊去氧胆酸药物治疗组, B组为空白对照组, 于不同时间点检测大鼠的生存率和肝功能, 采用琼脂糖凝胶电泳检测肝细胞DNA凋亡带, 用半定量逆转录聚合酶链反应检测肝组织中Caspase-12 mRNA的表达水平。结果 D-Gal成功完成了大鼠急性肝功能衰竭模型, 两组大鼠在24小时内无死亡, 24~48小时死亡最多, 96小时后两组均无死亡。B组24小时肝组织DNA梯度分析显示出现典型凋亡带, 48小时时未减弱, 72小时时开始减弱, 直至7天后消失, ALT于48小时达到峰值, TBil水平变化不显著, ALB水平无变化, Caspase-12 mRNA在48小时亦达到峰值, 随后其表达量逐渐降低。A组24小时与48小时肝组织DNA梯度分析均显示非典型凋亡带, 72小时后无显著凋亡带出现。ALT水平和Caspase-12 mRNA表达量与B组相比, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 熊去氧胆酸对急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡内质网途径有明显阻断作用。

关键词: 熊去氧胆酸; 肝功能衰竭, 急性; 凋亡; 内质网; Caspase-12

Restraining effects of ursodesoxycholic acid on endoplasmic reticulum stress route of hepatocyte apoptosis in rats with acute liver failure

BAI Lu¹, ZHU Li-Ying¹, YANG Bao-shan² (1. Department of Infectious Diseases, The 4th Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China; 2. Department of Infectious Diseases, The 2nd Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract: Objective To explore the restraining effect of ursodeoxycholic acid (UDCA) on endoplasmic reticulum stress route of hepatocyte apoptosis in rats with acute liver failure. **Methods** Acute liver failure rat model was induced by intraperitoneal injection of D-Gal. Total of 60 model rats were randomly divided into two groups (group A and group B), 30 rats in each group. Group A was the ursodesoxycholic acid group and group B was blank control group. The survival rate and liver function of rats were detected at different time points. Agarose gel electrophoresis was used to observe hepatocyte DNA apoptosis band and semi-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction was used to detect the expression level of Caspase-12 mRNA in liver tissues. **Results** Acute liver failure rat model was successfully induced by D-Gal. No death occurred in both groups within 24 h, most deaths occurred in 24~48 h, and no death occurred after 96 h. In the DNA gradient analysis for liver tissues of group B, typical apoptosis band appeared at 24 h, which did not attenuated at 48 h, began to attenuate at 72 h and disappeared after 7 d. ALT reached a peak at 48 h, with no significant changes in TBil and no changes in ALB. The expression of Caspase-12 mRNA also reached a peak at 48 h, and gradually decreased later. In the DNA gradient analysis for liver tissues of group A, atypical apoptosis band appeared at 24 h, the apoptosis band at 48 h was similar to that at 24 h, and no obvious apoptosis band was present after 72 h. Compared with group B, the differences of ALT and Caspase-12 mRNA levels were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** UDCA has obvious restraining effect on the endoplasmic reticulum stress route of hepatocyte apoptosis in rats with acute hepatic failure.

Key words: Ursodeoxycholic acid; Liver failure, acute; Apoptosis; Endoplasmic reticulum; Caspase-12

急性肝功能衰竭(acute hepatic failure, AHF)是由各种因素导致的急性或亚急性大块肝细胞坏死,临床上以凝血酶原时间显著延长及肝性脑病为主要特征。AHF的发病机制十分复杂,即使应用各种综合治疗方法,其病死率仍居高不下。近年来,诸多医务工作者都在寻找新的方法或药物来治疗重症肝炎以降低其病死率,但都未取得令人满意的效果。熊去氧胆酸药物口服吸收好,被肝脏摄取量可达50%~75%,血浆蛋白的结合率为96%~99%,且能透过血-脑屏障。当熊去氧胆酸药物的服用剂量达到20~30 mg/(kg·d)时,其在胆汁中的浓度可突破60%,此时药物可以达到最佳治疗作用。细胞凋亡共有3种途径,第1种为细胞表面死亡受体途径,第2种为线粒体途径,第3种为内质网途径。本实验拟应用熊去氧胆酸阻止急性肝功能衰竭大鼠肝细胞凋亡的第3种途径,从而抑制肝细胞进一步坏死,为重症肝炎的治疗开辟新的思路并且为熊去氧胆酸药物更好的应用于临床提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂 实验动物为雄性SD大鼠60只,体重180~200 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。主要试剂为D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-gal)购自美国Sigma公司,鼠Caspase-12(N7)单克隆抗体购自美国Exalpha Biologicals公司, Taq酶和逆转录聚合链反应(RT-PCR)试剂盒购自美国Promega公司, DNA Marker购自美国Invitrogen公司,熊去氧胆酸片(优思弗)购自Dr.falk.Pharma GmbH公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物模型的建立 经预实验确定全部大鼠以D-gal 1.3 g/kg一次性腹腔注射诱发建立急性肝功能衰竭模型,其肝组织病理变化相当于重型肝炎肝组织病理特征。

1.2.2 实验动物的分组及处理 将60只SD雄性大鼠随机分为A、B两组分笼饲养,每组30只,下午3:00~8:00喂食,饮水不限,适应1周后开始实验,处死前12小时开始禁食。一次性腹腔注射D-gal 1.3 g/kg后18小时开始药物阻断,A组给予熊去氧胆酸片25 mg/(kg·d)溶于纯净水中口服灌胃;B组给予同等量纯净水口服灌胃。分别在24小时、48小时、72小时、5天、7天和10天时尾静脉采血,3000 r/min($r=8$ cm)离心10分钟后吸取血清或血浆于-20℃冷存待检,检测ALT、TBil和ALB 3项指标并于24小时、48小时和72小时统计存活率。

1.2.3 DNA的抽提和梯度分析 在液氮中将不同时间

点(24小时、48小时、72小时、5天、7天和10天)提取的肝组织捣碎后加入400 μ l缓冲溶液,振荡,悬浮于65℃温浴使小块组织消失,颠倒离心管,再加入200 μ l LDT液、8 μ l RNaseA和25 μ l蛋白酶K,迅速温和颠倒混匀,置65℃温浴30分钟,来回颠倒混匀,10000 r/min($r=8$ cm)离心3分钟,将上清液移至另一离心管中。加入200 μ l异丙醇,剧烈颠倒离心管混匀,全部移入吸附柱中,10000 r/min离心30秒,弃去收集管中的液体,将吸附柱放入同一收集管中10000 r/min再离心30秒,将吸附柱移入一个干净的收集管中。加入500 μ l NaAc-HAc缓冲液静置1分钟后10000 r/min离心30秒,弃收集管中液体,将吸附柱放入同一个收集管中,加入500 μ l W₁液10000 r/min离心15秒,弃收集管中液体,将吸附柱放入同一个收集管中,再次10000 r/min离心1分钟,将吸附柱移入一个1.5 μ l离心管中,在吸附膜中央加入100 μ l Tris-HCl缓冲液,65℃静置5分钟后10000 r/min离心1分钟,将收集管DNA于-20℃保存。用上述抽提方法取得A、B两组6个不同时间点肝组织DNA,取DNA标本15 μ g,行20 g/L琼脂糖凝胶电泳。

1.2.4 肝组织总RNA的抽提及浓度和纯度的鉴定 在液氮中将不同时间点(24小时、48小时、72小时、5天、7天和10天)提取的肝组织捣碎后加入1 ml Trizol液,移入1.5 ml Eppendorf管中,用吸头反复吸打混匀,加入300 μ l氯仿,13000 r/min($r=8$ cm)离心15分钟。将上层溶液转移到另一1.5 ml的Eppendorf管中,再加入等体积异丙醇,颠倒混匀,13000 r/min离心15分钟。将离心管液体倒在吸水纸上控干,保留沉淀,再加入600 μ l 75%乙醇混匀,13000 r/min离心10分钟。将离心管中的乙醇倒在吸水纸上控干,沉淀即为所提取的RNA,加入20 μ l DEPC处理水溶解RNA,调整RNA浓度为1 g/L,-20℃保存备用。

1.2.5 半定量RT-PCR检测肝组织Caspase-12 mRNA的表达 GenBank检索鼠Caspase-12和 β -肌动蛋白(β -actin)序列,自行设计引物,由上海Sangon公司合成。Caspase-12引物(506 bp)上游:5'-AGCGAAGTCTGATGCAGTTC-3'(1319~1338 bp),下游:5'-AACGATCTATCGCAGAGACC-3'(18477~1866 bp)。 β -actin引物(288 bp)上游:5'-Ati GATGCTATCGCCGCGCTC-3'(78~97 bp),下游:5'-GAGCGACACGCAGCTCATTG-3'(346~365 bp)。取总RNA 4 μ l,加入Olig(dT) 1 μ l,65℃ 15分钟后立即置于冰上,加入10 \times RT缓冲液2 μ l、dNTP 2 μ l、25 mmol/L MgCl₂ 2 μ l、RNA

酶抑制剂1 μl 以及A-MV 1 μl , 加DEPC处理水至总体积为20 μl , 42 $^{\circ}\text{C}$ 60分钟进行逆转录。取逆转录产物cDNA 4 μl , 加入10 \times PCR缓冲液5 μl , dNTP 1 μl , Caspase-12和 β -actin的上、下游引物各2 μl (20 pmol), Taq酶 (5 U/ μl) 0.25 μl , 25 mmol/L MgCl_2 3 μl , 加入无菌双蒸水至总体积为50 μl 。PCR条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 5分钟; 94 $^{\circ}\text{C}$ 40秒, 55 $^{\circ}\text{C}$ 40秒, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90秒, 35个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10分钟。取PCR扩增产物10 μl 行琼脂糖凝胶电泳, 经Touching2002凝胶成像系统扫描Caspase-12和 β -actin条带的灰度值, 所得灰度比值即为相对表达量。

1.3 统计学分析 数据采用SPSS 10.0软件进行统计学分析, ALT、TBil及ALB的检测结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不同组别间采用配对 t 检验及成组 t 检验, 其余数据仅采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠的存活率 本研究中SD雄性大鼠诱导AHF后24小时内无死亡, 死亡开始时间为24~72小时, 超过96小时后无死亡。A组24小时存活率为100% (30/30), 48小时存活率为93.3% (28/30), 72小时存活率为90% (27/30); B组24小时存活率为100% (30/30), 48小时存活率为86.7% (26/30), 72小时存活率为63.3% (19/30)。

2.2 血清ALT、TBil和ALB的变化 48小时A、B两组ALT的表达水平均达到峰值, 且B组较A组高, 随后A、B两组ALT表达水平开始下降, A组72小时基本达到基线水平, 见图1、表1。B组TBil水平较A组高, 两组都在48小时达到峰值, A组在72小时逐渐回落达基线。A组TBil水平显著低于B组同期水平, 72小时两组均基本恢复正常, 见图2、表1。

2.3 肝组织DNA梯度分析 A组24小时DNA有裂解, 表现出不十分典型的DNA梯形凋亡带, 48小时情况与此类似, 3天后DNA无裂解, 无明显凋亡带出现, 见图3。B组24小时时凋亡带较A组增强, 48小时时亦未衰减。72小时起DNA梯形凋亡带逐渐减弱, 7天后消失, 见图4。

2.4 肝组织Caspase-12 mRNA的表达 A组24小时Caspase-12 mRNA表达开始出现变化, 48小时显著增强, 72小时后开始减弱直至消失, 见图5。B组24小时时Caspase-12 mRNA表达显著高于A组, 48小时时增高亦较明显, 72小时表达开始减弱, 7天后消失无表达, 见图6。以 β -actin作为内参, A、B两组Caspase-12mRNA与 β -actin灰度的比值见表2。

3 讨论

本实验应用D-Gal一次性诱导大鼠发生急性肝功能障碍, 熊去氧胆酸组的生存率高于空白对照组, 两组24小时内及超过96小时均无死亡, 这可能

表1 各组大鼠 ALT、ALB 及 TBil 水平 ($\bar{x} \pm s$)

| 时间 | ALT (U/L) | | | | ALB (U/L) | |
|-------|------------------|----------------------|---------|-------|------------------|------------------|
| | A 组 | B 组 | t 值 | P 值 | A 组 | B 组 |
| 24 小时 | 62.8 \pm 8.96 | 319.7 \pm 59.41 | -7.045 | 0.002 | 36.64 \pm 0.99 | 37.26 \pm 1.66 |
| 48 小时 | 73.6 \pm 96.16 | 1907.25 \pm 355.42 | 8.626 | 0.001 | 35.13 \pm 2.38 | 37.68 \pm 1.23 |
| 72 小时 | 51.5 \pm 3.42 | 466.3 \pm 65.38 | -10.974 | 0.000 | 32.03 \pm 0.58 | 35.77 \pm 0.45 |
| 5 天 | 49.4 \pm 5.94 | 103.6 \pm 16.04 | -5.488 | 0.005 | 38.62 \pm 2.15 | 37.6 \pm 0.56 |
| 7 天 | 45.4 \pm 6.15 | 69.7 \pm 7.02 | -4.510 | 0.011 | 36.7 \pm 1.27 | 36.37 \pm 0.74 |
| 10 天 | 44.2 \pm 5.50 | 63.67 \pm 8.14 | -3.433 | 0.026 | 39.7 \pm 1.81 | 36.23 \pm 1.81 |

| 时间 | ALB (U/L) | | TBil ($\mu\text{mol/L}$) | | | |
|-------|-----------|-------|----------------------------|-------------------|--------|-------|
| | t 值 | P 值 | A 组 | B 组 | t 值 | P 值 |
| 24 小时 | -0.556 | 0.608 | 1.93 \pm 0.27 | 3.76 \pm 1.18 | -2.618 | 0.059 |
| 48 小时 | -1.649 | 0.175 | 34.75 \pm 5.18 | 64.02 \pm 12.37 | -3.780 | 0.019 |
| 72 小时 | -8.824 | 0.001 | 38.63 \pm 2.91 | 21.86 \pm 4.89 | 5.105 | 0.007 |
| 5 天 | 0.795 | 0.471 | 2.57 \pm 0.84 | 1.88 \pm 0.20 | 1.384 | 0.239 |
| 7 天 | 0.389 | 0.717 | 1.93 \pm 0.15 | 1.88 \pm 0.12 | 0.451 | 0.675 |
| 10 天 | 2.348 | 0.079 | 1.99 \pm 0.56 | 5.51 \pm 6.20 | -0.979 | 0.383 |

表2 各组大鼠的肝组织 Caspase-12 mRNA 表达量 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 24 小时 | 48 小时 | 72 小时 | 5 天 | 7 天 | 10 天 |
|-------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| A 组 | 0.38 \pm 0.19 | 0.89 \pm 0.08 | 0.60 \pm 0.04 | 0.24 \pm 0.01 | 0.31 \pm 0.05 | 0.25 \pm 0.04 |
| B 组 | 0.88 \pm 0.24 | 0.10 \pm 0.08 | 0.99 \pm 0.1 | 0.38 \pm 0.03 | 0.39 \pm 0.01 | 0.31 \pm 0.01 |
| t 值 | -2.829 | 12.094 | -6.272 | -7.668 | -2.717 | -2.521 |
| P 值 | 0.047 | 0.000 | 0.003 | 0.002 | 0.053 | 0.065 |

与大鼠的特质有关。治疗后熊去氧胆酸组肝功能水平除ALB外均优于对照组。肝组织DNA梯度分析可以更直观展示出各组凋亡出现的时间、强度变化以及减弱消失的过程,与血清肝功情况相吻合;从目的基因表达上可以直观描述出Caspase-12 mRNA不同时间点的变化^[1],与其相对表达量的测量结果相符。

内质网与凋亡的关系一是内质网对钙离子的调控;二是Caspase在内质网上的激活,具体如下:
①钙离子依赖的钙蛋白酶(Calpain)(钙依赖性的蛋白酶为另一半胱氨酸蛋白酶家族成员),其异构体为“m-calpain”^[2],凋亡早期,胞质内的钙离子迅速持续升高(来源于胞外钙离子内流及内质网储库释放),激活胞质中的Calpain,进而使m-calpain活化并转位于内质网膜,剪切内质网膜上的procaspase-12(Caspase-12的前体),使之

活化释放入胞质;②肿瘤坏死因子受体相关因子2(TNF receptor associated factor 2, TRAF-2)依赖机制^[3]:正常情况下TPAF-2与procaspase-12形成稳定复合物,而内质网应激使之分离(发生同源二聚化或寡聚化)进而使Caspase-12活化;③Caspase-7的内质网转位^[4]:内质网应激时Caspase-7转位于内质网膜并活化,与Caspase-12形成复合物,并在天冬氨酸-94-391位点剪切Caspase-12,使Caspase-12活化释放于胞质;④GRP78(伴侣蛋白)^[5]、Caspase-7-12复合物途径:内质网应激诱导GRP78

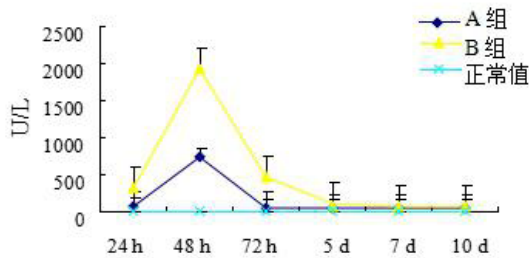


图1 各时间点 ALT 的表达水平

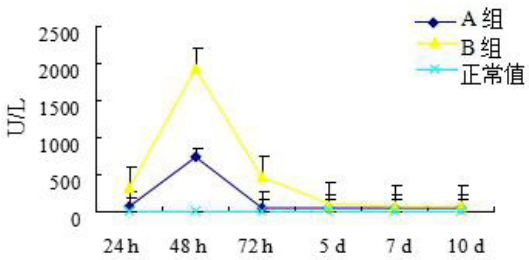


图2 各时间点 TBil 的表达水平

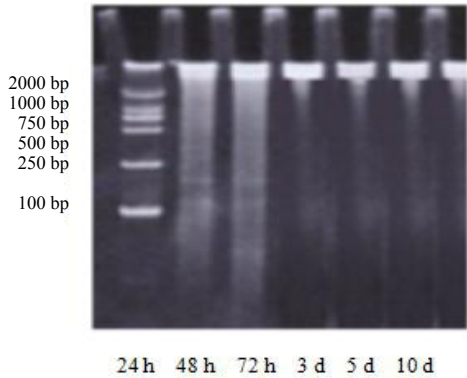


图3 A 组肝组织 DNA 梯度分析

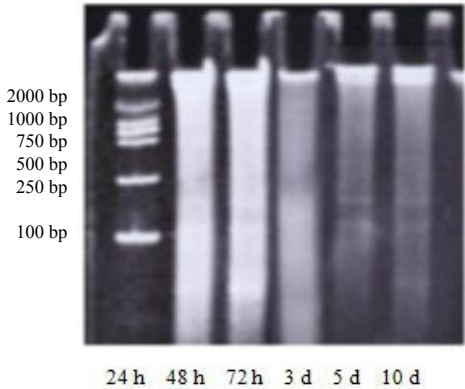


图4 B 组肝组织 DNA 梯度分析

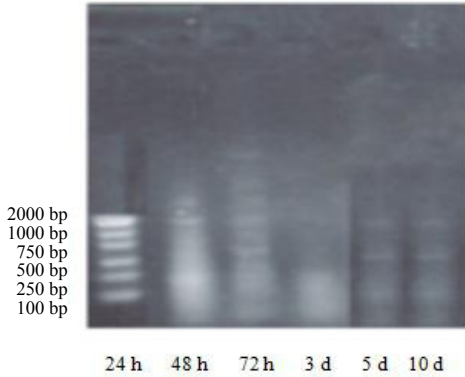


图5 A 组肝组织 Caspase-12 mRNA 电泳图

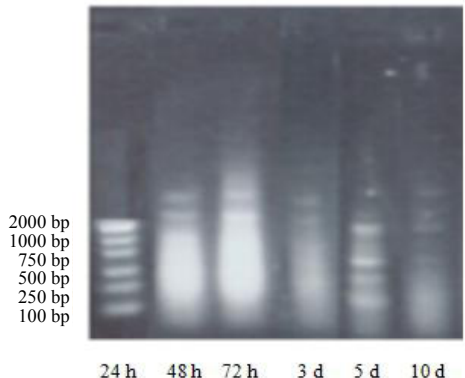


图6 B 组肝组织 Caspase-12 mRNA 电泳图

表达并重新分布于内质网膜,与Caspase-7-12形成复合物,阻止Caspase-12的释放,而(d)ATP的加入可使复合物解离,Caspase-12向胞质转位活化释放^[6-8]。

Caspase-12酶原位于内质网膜侧受活化,是内质网应激诱导细胞凋亡关键和特异的蛋白酶^[6]。本实验是区别于凋亡的前两种途径(线粒体途径和死亡受体介导途径)的第3种途径,即内质网应激途径^[9,10],它启动内质网应激介导的肝细胞凋亡信号通路,最终导致肝细胞坏死,发生急性肝功能衰竭^[6]。因此在该环节上对细胞凋亡早期加以抑制是本实验的理论依据。虽然内质网应激途径作为引发凋亡的第3种途径,但其存在也并非独立的,Caspase-12的前体物质pro-Caspase-12^[11]位于内质网,激活后转运至胞质,与Caspase-9介导的凋亡过程结合完成凋亡^[12]。Caspase-9剪切活化Caspase-3,活化的Caspase-12弱剪切Caspase-7^[13,14]。另外,内质网应激过程中有细胞色素C从线粒体中释放,表明内质网应激与线粒体可能有交联^[15]。近年来的研究发现,钙离子作为一个主要的细胞内信使参与调控许多细胞和组织生理活动^[16],熊去氧胆酸的抗凋亡作用可能与其可调节内质网钙离子稳态有关,钙离子信号的改变使细胞对凋亡的敏感性减弱,但其中的机制较复杂,且还存在许多调控因子^[17]。

总之,内质网应激与细胞生存和死亡关系密切,内质网应激导致的凋亡受多种因素调节^[18-20]。本实验用药物在细胞凋亡早期内质网应激环节上加以抑制,从而减轻了凋亡后坏死,为临床提供了实验依据。但是内质网应激仍有许多问题有待探讨,如内质网和胞质内其他细胞器应激之间的关系、在组织与器官功能障碍中的作用以及在疾病发展中的意义等,这些问题的解决将有助于揭示疾病发生发展的亚细胞机制并寻找有效的防治措施。熊去氧胆酸药物可显著提高AHF大鼠的生存率、改善肝功能以及抑制肝细胞凋亡内质网途径,对AHF大鼠肝细胞的保护作用十分显著。

参考文献

- [1] LI Z, ZHANG T, DAI H, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in myocardial apoptosis of streptozocin-induced diabetic rats[J]. J Clin Biochem Nutr, 2007, 41(1): 58-67.
- [2] Ozaki T, Yamashita T, Ishiguro S, et al. Mitochondrial m-calpain plays a role in the release of truncated apoptosis-inducing factor from the mitochondria[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1793(12): 1848-1859.
- [3] van Galen JC, Muris JJ, Giroth CP, et al. Expression of TNF-receptor associated factor 2 correlates with poor progression-free survival time in ABC-like primary nodal diffuse large B-cell lymphomas[J]. Histopathology, 2008, 52(5): 578-584.
- [4] Saini RV, Wilson C, Finn MW, et al. Granulysin delivered by cytotoxic cells damages endoplasmic reticulum and activates caspase-7 in target cells[J]. J Immunol, 2011, 186(6): 3497-3504.
- [5] SUN Q, HUA J, WANG Q, et al. Expressions of GRP78 and Bax associate with differentiation, metastasis, and apoptosis in non-small cell lung cancer[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(6): 6753-6761.
- [6] Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, et al. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta[J]. Nature, 2000, 403(6765): 98-103.
- [7] Rao RV, Castrcr-Obregon S, Frankowski H, et al. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. An Apaf-1-independent intrinsic pathway[J]. J Biol Chem, 2002, 277(24): 21836-21842.
- [8] 周惠娟, 谢青, 姜山, 等. Caspase-12在D-氨基半乳糖联合脂多糖诱导小鼠急性肝功能衰竭中的表达及作用[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 9(9): 685-688.
- [9] Pahl HL. Signal transduction from the endoplasmic reticulum to the cell nucleus[J]. Physiol Rev, 1999, 79(3): 683-701.
- [10] Parker R, Phan T, Baumeister P, et al. Identification of ATF1 as the endoplasmic reticulum stress response element binding factor ERSF: its autoregulation by stress and interaction with ATF6[J]. Mol Cell Biol, 2001, 21(9): 3220-3233.
- [11] WANG ZC, WANG JF, LI YB, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in apoptosis of testicular cells induced by low-dose radiation[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2013, 33(4): 551-558.
- [12] 刘洪亮, 崔玉山. Caspase-12在内质网应激中的激活途径及与疾病关系研究进展[J]. 环境卫生学杂志, 2011, 1(4): 41-45.
- [13] WU Y, WANG D, WANG X, et al. Caspase 3 is activated through caspase 8 instead of caspase 9 during H2O2-induced apoptosis in HeLa cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2011, 27(5): 539-546.
- [14] 邓利娟, 李湛军, 罗楹, 等. Caspase抑制剂F1013对急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学[J]. 2010, 15(11): 1229-1233.
- [15] ZHAI DY, HHUANG XX, HAN XH, et al. Characterization of tBid-induced cytochrome c release from mitochondria and liposome[J]. FEBS Lett, 2000, 472(2-3): 293-296.
- [16] Foyouzi-Youssefi R, Arnaudeau S, Borner C, et al. Bcl-2 decreases the free Ca²⁺ concentration within the endoplasmic reticulum[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 23(97): 5723-5728.
- [17] Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signaling[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2000, 1(1): 11-21.
- [18] 刘晓君, 刘北彦, 孔俊英, 等. P38MAPK抑制剂对急性肝衰竭大鼠内质网应激反应性凋亡的作用[J]. 世界华人消化杂志, 2014, 22(24): 3625-3631.
- [19] 蒋天鹏, 王黎州, 李兴, 等. 内质网应激反应触发肝硬化大鼠模型肝细胞凋亡及纤维化机制的探讨[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(2): 92-95.
- [20] 慕永平, 刘平, 都广礼, 等. CC14诱导大鼠肝硬化形成过程中Caspase-12蛋白表达与肝细胞凋亡的相关性[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(2): 132-137.

收稿日期: 2016-05-04

白璐, 朱丽影, 杨宝山. 熊去氧胆酸对急性肝功能衰竭大鼠肝细胞凋亡内质网途径的阻断作用[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2016, 8(3): 103-107.