

## • 实验研究 •

# 1 400W 抑制内质网应激减轻人肝内胆管上皮细胞缺血再灌注损伤

余起文 唐红卫 杨东菁 郭文治 李捷 张水军

郑州大学第一附属医院肝胆胰外科 河南省器官移植医学工程技术中心 郑州市肝胆胰疾病与器官移植医学重点实验室 郑州市器官移植技术与应用工程重点实验室

通信作者:张水军,Email: zhangshuijun@zzu.edu.cn

**【摘要】目的** 探讨诱导型一氧化氮合酶抑制剂 1 400W 减轻人肝内胆管上皮细胞缺血再灌注损伤的作用及其机制。**方法** 对数生长长期的人肝内胆管上皮细胞(HIBEC)以合适的密度接种于培养板中,将细胞分为 3 组:对照组(C 组)、缺血再灌注组(I/R 组)和缺血再灌注 + 1 400W 组(I/R + 1 400W 组)。C 组正常培养,I/R 组和 I/R + 1 400W 组细胞置于三气培养箱中 12h 模拟缺血,然后再正常培养 6h 模拟再灌注;I/R + 1 400W 组于缺血缺氧前加入终浓度为 100 μmol/L 的 1 400W。再灌注结束后收集细胞及培养液,采用 CCK-8 法检测细胞活力,微板法检测培养液中乳酸脱氢酶(LDH)含量,AnnexinV-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡水平,Western blot 法测定内质网应激(ERS)相关蛋白半胱氨酰天冬氨酸特异性蛋白酶 12(Caspase-12)、葡萄糖调节蛋白 78(glucose regulated protein, GRP78)、C/EBP 同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)及诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达水平。**结果** 与 C 组细胞相比,I/R 组和 I/R + 1 400W 组细胞活力显著降低(53.8 ± 2.3)%和(66.5 ± 2.8)%, ( $P < 0.05$ ),细胞培养液 LDH 显著升高(287.4 ± 9.0)U/L 和(212.0 ± 8.3)U/L( $P < 0.05$ ),细胞凋亡水平显著升高(27.5 ± 2.3)%和(18.3 ± 1.8)%( $P < 0.05$ ),Caspase-12、GRP78、CHOP 和 iNOS 的表达升高( $P < 0.05$ );与 I/R 组相比,I/R + 1 400W 组细胞活力升高,细胞培养液 LDH 含量、凋亡水平、Caspase-12、GRP78、CHOP 和 iNOS 的表达降低( $P < 0.05$ )。**结论** 1 400W 可减轻人肝内胆管上皮细胞缺血再灌注损伤,其机制可能与抑制内质网应激有关。

**【关键词】** 缺血再灌注损伤;胆管上皮细胞;一氧化氮合酶

**基金项目:**国家自然科学基金面上项目(81571947, 81671958);河南省教育厅重点科研项目(16A320079)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2019.04.011

## Inducible nitric oxide synthase inhibitor 1 400W suppresses endoplasmic reticulum stress and alleviates ischemia-reperfusion injury in human intrahepatic bile duct epithelial cells

Yu Qirwen, Tang Hongwei, Yang Dongjing, Guo Wenzhi, Li Jie, Zhang Shuijun

Department of Hepatobiliary & Pancreatic Surgery, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Henan Organ Transplantation Medical Engineering Technology Center, Zhengzhou Key Laboratory of Hepatobiliary and Pancreatic Diseases & Organ Transplantation, Zhengzhou Key Laboratory of Organ Transplantation Technology & Application Engineering, Zhengzhou 450000, China

Corresponding author: Zhang Shuijun, Email: zhangshuijun@zzu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To explore the role and mechanism of inducible nitric oxide synthase inhibitor 1 400W in alleviating ischemia-reperfusion injury of human intrahepatic bile duct epithelial cells. **Methods** Human intrahepatic bile duct epithelial cells (HIBEC) in logarithmic phase were inoculated into culture plate at an appropriate density. The samples were randomly divided into control group (group C), ischemia-reperfusion group (group I/R) and ischemia-reperfusion + 1 400W group (group I/R + 1 400W). Group C was cultured routinely; cells in I/R and I/R + 1 400W groups were placed in a three-gas incubator for 12h for simulating ischemia and then normal culture for 6h for simulating reperfusion. The I/R + 1 400W group had a final concentration of 100 μmol/L of 1 400W before ischemia and hypoxia. After reperfusion, cells and culture medium were collected, CCK 8 was used for detecting cell vitality, microplate method for detecting the content of lactate dehydrogenase (LDH) in culture medium, AnnexinV-FITC/PI double stain for detecting apoptosis level, Western blot for analyzing the expressions of endoplasmic reticulum stress (ERS) related protein cysteinyl aspartic acid protease 12 (caspase-12), glucose regulatory protein 78 (GRP78) C/EBP homologous protein (CHOP) and inducible nitric oxide synthase (iNOS). **Results** As compared with

group C, cell viability significantly decreased in I/R and I/R + 1 400W groups ( $53.8\% \pm 2.3\%$  vs.  $100\%$ ,  $66.5\% \pm 2.8\%$  vs.  $100\%$ ) ( $P < 0.05$ ) while LDH increased markedly in cell culture medium ( $287.4 \pm 9.0 \text{ U/L}$  vs  $120.2 \pm 8.7 \text{ U/L}$ ,  $212.0 \pm 8.3 \text{ U/L}$  vs  $120.2 \pm 8.7 \text{ U/L}$ ) ( $P < 0.05$ ). Apoptosis accelerated markedly ( $41.5\% \pm 2.3\%$  vs  $5.2\% \pm 0.5\%$ ,  $32.7\% \pm 1.8\%$  vs  $5.2\% \pm 0.5\%$ ) ( $P < 0.05$ ) and the expressions of caspase-12, GRP78, CHOP and iNOS spiked ( $P < 0.05$ ); as compared with I/R group, cell viability of I/R + 1 400W group rose while LDH, apoptosis level, caspase-12, GRP78 and CHOP declined in cell culture medium ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** 1 400W may alleviate ischemia-reperfusion injury of human intrahepatic bile duct epithelial cells and its mechanism may be correlated with a suppression of endoplasmic reticulum stress.

**【Key words】** Ischemia-reperfusion injury; Bile duct epithelial cells; Nitric oxide synthase

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81571947 & 81671958); Key Scientific Research Project of Henan Education Department (16A320079)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1785.2019.04.011

随着外科手术技术的改进,新型免疫抑制剂、器官保存液的应用,围手术期管理水平的提高,肝移植的成功率和术后存活率逐步提高<sup>[1]</sup>。但肝移植术后胆道并发症发生率仍高达 5%~25%,严重影响肝移植术后的远期疗效<sup>[2-3]</sup>。缺血再灌注损伤在肝移植中很难避免,是导致肝移植术后胆道并发症的主要原因之一<sup>[4]</sup>。相关研究表明,缺血再灌注可引起内质网应激,导致细胞损伤和器官功能障碍<sup>[5-8]</sup>。1 400W(N-3-氨基-苄基-乙酰氨)作为一种选择性诱导型一氧化氮合酶抑制剂,可抑制诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的表达,减轻多种器官缺血再灌注损伤<sup>[9-10]</sup>,但其具体机制尚不明确。本研究拟探讨 1 400W 对人肝内胆管上皮细胞缺血再灌注损伤的保护作用及其机制。

## 资料与方法

### 一、材料

人肝内胆管上皮细胞(HIBEC)购自北京北纳创联生物技术研究院,1 400W 购自美国 Sigma, CCK-8 试剂购自日本同仁公司, iNOS 抗体购自美国 Abcam 公司, GRP78、CHOP、Caspase-12、 $\beta$ -actin 抗体均购自武汉 ProteinTech 公司,细胞凋亡检测试剂盒购自美国 BD 公司,胎牛血清购自 GEMINI 公司, LDH 检测试剂盒购自南京建成公司,胰蛋白酶、BCA 蛋白定量试剂盒、RIPA 细胞裂解液、含糖 RPMI-1 640 培养基、无糖 RPMI-1 640 培养基和 PBS 购自北京索莱宝公司。

### 二、方法

1. 细胞培养:人肝内胆管上皮细胞用含 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素及 100  $\mu\text{g/ml}$  链霉素的 RPMI-1 640 培养基培养,置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中培养,根据细胞生长情况进行换液和传代。

2. 细胞缺血再灌注模型的建立:HIBEC 细胞生长至对数期后,胰酶消化,以  $2 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板中,将细胞分为 3 组:对照组(C 组)、缺血再灌注组(I/R 组)和缺血再灌注 + 1 400W 组(I/R + 1 400W 组),待细胞张至约 70% 融合度时进行试验。C 组正

常培养,I/R 组和 I/R + 1 400W 组进行缺血再灌注培养;I/R + 1 400W 于处理前加入终浓度 100  $\mu\text{mol/L}$  的 1 400W。模拟缺血:I/R 组和 I/R + 1 400W 组培养液更换为预热的无糖无血清培养基,置于含体积分数 1%  $\text{O}_2$ 、5%  $\text{CO}_2$ 、94%  $\text{N}_2$  三气培养箱中,待  $\text{O}_2$  浓度降至 1% 时开始计时培养 12 h。模拟再灌注:缺血结束后,迅速将无糖无血清培养基更换为正常培养基,置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中再灌注培养 6 h。

3. 细胞活力检测:将 HIBEC 细胞以  $1 \times 10^4$  个/孔的密度接种于 96 孔板中,每组 6 个复孔,正常培养 12 h 后,按上述分组进行不同处理。再灌注结束后,每孔加入 10  $\mu\text{l}$  的 CCK-8 试剂,混匀后放在常规培养箱中孵育 2 h;用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度,以吸光度值反映细胞的活力。以对照组 HIBEC 细胞活性为基准(100%),用百分比表示各组细胞活性。

4. LDH 检测:再灌注结束后,收集各组细胞培养液,1 200  $\times g$  离心 5 min 后取上清液,按照说明书操作步骤测定培养液中 LDH 含量。

5. 细胞凋亡检测:再灌注结束后,用预热的不含 EDTA 的胰酶消化并收集细胞,4  $^{\circ}\text{C}$  200  $\times g$ 、离心 5 min 后弃上清,加入预冷的 PBS 重悬细胞,4  $^{\circ}\text{C}$  200  $\times g$ 、离心 5 min,弃掉上清,重复用 PBS 润洗一次。将细胞重悬于 200  $\mu\text{l}$  的 Binding Buffer,加入 5  $\mu\text{l}$  的 AnnexinV-FITC 和 5  $\mu\text{l}$  PI 轻轻混匀后室温避光应 15 min,反应结束后加入 300  $\mu\text{l}$  Binding Buffer,用流式细胞仪进行检测。

6. Western blot 法检测内质网应激的标志性蛋白葡萄糖调节蛋白 78(Glucose regulated protein, GRP78)、C/EBP 同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)及半胱氨酰天冬氨酸特异性蛋白酶 12(Caspase-12)和诱导型一氧化氮合酶(inducible NOS, iNOS)的表达水平:接种于 6 孔板的 HIBEC 细胞,经过不同处理结束后每组取 3 孔,弃净培养液,并用 PBS 轻轻润洗 2 遍,每孔加入含 1% PMSF 的细胞裂解液 100  $\mu\text{l}$ ,置于冰上 30 min 后用枪头刮下细胞收集蛋白,BCA 法测蛋白浓度,根据测定浓

度取相应体积蛋白加入  $5 \times$  上样缓冲液  $100^\circ\text{C}$  煮沸 10 min。取  $30\ \mu\text{g}$  的总蛋白,进行 10% 的十二烷基钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶电泳,然后转移至硝酸纤维素膜上。用  $1 \times$  PBST 配制 5% 的脱脂奶粉室温封闭 2 h。分别加入稀释浓度为 1:1 000 的 GRP78、CHOP、Caspase-12、iNOS 和  $\beta$ -actin 一抗(均为兔抗人), $4^\circ\text{C}$  孵育过夜。PBST 洗膜 10 min,重复 3 次,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(1:2500,北京鼎国昌盛)后室温孵育 1h。 $1 \times$  PBST 洗膜 10 min,重复 3 次,经 ECL 化学发光试剂显色,用 LI-COR 扫膜仪采集发光信号并做分析。根据内参灰度值校准三组蛋白的相对表达量,并以对照组蛋白表达量为 1,计算另外两组蛋白的相对表达量。

### 三、统计学处理

应用 SPSS22.0 统计学软件进行分析。所有计数资料以 Mean  $\pm$  SD 表示,组间差异比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、1 400W 增加 HIBEC 缺血再灌注细胞活性

CCK-8 检测结果表明,与 C 组相比,I/R 组和 I/R + 1 400W 组细胞活力明显降低( $P < 0.05$ );与 I/R 组比较,I/R + 1 400W 组细胞活力升高( $P < 0.05$ ,表 1)。

表 1 缺血再灌注后三组 HIBEC 细胞活性和上清液中乳酸脱氢酶含量的比较(Mean  $\pm$  SD)

分组	CCK-8(%)	乳酸脱氢酶(U/L)
C 组	100	120.2 $\pm$ 8.7
I/R 组	53.8 $\pm$ 2.3 <sup>a</sup>	287.4 $\pm$ 9.0 <sup>a</sup>
I/R + 1 400W 组	66.5 $\pm$ 2.8 <sup>ab</sup>	212.0 $\pm$ 8.3 <sup>ab</sup>

注:与 C 组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 I/R 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$

### 二、1 400W 降低 HIBEC 缺血再灌注后细胞培养液中乳酸脱氢酶(LDH)含量

缺血 12 h 再灌注后 6 h 后,与 C 组相比,I/R 组和 I/R + 1 400W 组细胞培养液中 LDH 含量明显升高( $P < 0.05$ ,表 1);与 I/R 组比较,I/R + 1 400W 组细胞培养液中 LDH 含量降低( $P < 0.05$ ,表 1)。

### 三、1 400W 减少 HIBEC 缺血再灌注后细胞凋亡数量

流式细胞仪检测结果显示,与 C 组(5.2  $\pm$  0.5)%相比,I/R 组(27.5  $\pm$  2.3)%和 I/R + 1 400W

组(18.3  $\pm$  1.8)%细胞凋亡数量均明显增加( $P < 0.05$ )。与 I/R 组比较,I/R + 1 400W 组细胞凋亡数量降低( $P < 0.05$ )。

### 四、1 400W 抑制 HIBEC 缺血再灌注后 GRP78、CHOP、Caspase-12 和 iNOS 蛋白的表达

缺血 12h 再灌注后 6 h 后,Western blot 结果显示,与 C 组相比,I/R 组和 I/R + 1 400W 组 Caspase-12、GRP78、CHOP 和 iNOS 蛋白表达均升高(I/R 组分别为 1.660  $\pm$  0.066、1.734  $\pm$  0.075、1.777  $\pm$  0.067、1.373  $\pm$  0.085)(I/R + 1 400W 组分别为 1.337  $\pm$  0.096、1.241  $\pm$  0.095、1.257  $\pm$  0.083、1.182  $\pm$  0.065)( $P < 0.05$ ,表 2);与 I/R 组比较,I/R + 1 400W 组 Caspase-12、GRP78、CHOP 和 iNOS 蛋白表达均降低( $P < 0.05$ )。

## 讨 论

胆管上皮细胞对缺血、缺氧耐受能力较差,肝移植过程中,同肝细胞相比,更容易受到缺血再灌注损伤的影响<sup>[11-12]</sup>。当前肝细胞缺血再灌注损伤的细胞模型较为成熟,而关于胆管细胞缺血再灌注损伤细胞模型较少报道。我们参照相关文献<sup>[13]</sup>及预实验结果,建立人 HIBEC 缺血再灌注模型,模拟临床肝移植过程中的胆道缺血再灌注损伤。选取细胞活性、细胞上清液中 LDH 含量、细胞凋亡水平作为损伤评价指标<sup>[14]</sup>,结果表明,与对照组比较,I/R 组细胞活性明显降低,细胞上清液中 LDH 含量和细胞凋亡数量明显增加,表明成功制备了 HIBEC 缺血再灌注损伤细胞模型。

人体内的一氧化氮合酶可分为神经型(nNOS)、内皮型(eNOS)和 iNOS 三种亚型。在细胞处于生理状态下 nNOS 和 eNOS 即有表达,而 iNOS 不表达或低表达,当细胞受到各种刺激因子刺激时 iNOS 可大量表达<sup>[15]</sup>。多种器官或组织缺血再灌注后都可检测到 iNOS 表达量明显升高,抑制其表达可减轻器官损伤程度。1 400W 是一种高选择性的诱导型一氧化氮合酶体外和体内抑制剂,对 iNOS 的抑制作用是 eNOS 的 5 000 倍<sup>[16]</sup>,研究表明 1 400W 可通过抑制 iNOS 表达减轻缺血再灌注造成的器官损伤。本研究,中,HIBEC 经历缺血再灌注后出现明显损伤,iNOS 蛋白表达增加,根据相关文献及预实验结果,加用 100  $\mu\text{mol/L}$  1 400W 干预后细胞损伤减轻,iNOS 蛋白表

表 2 缺血再灌注后三组人肝内胆管上皮细胞 Caspase-12、CHOP、GRP78、和 iNOS 蛋白的表达(Mean  $\pm$  SD)

分组	Caspase-12	CHOP	GRP78	iNOS
C 组	1.000	1.000	1.000	1.000
I/R 组	1.660 $\pm$ 0.066 <sup>a</sup>	1.734 $\pm$ 0.075 <sup>a</sup>	1.777 $\pm$ 0.067 <sup>a</sup>	1.373 $\pm$ 0.085 <sup>a</sup>
I/R + 1 400W 组	1.337 $\pm$ 0.096 <sup>ab</sup>	1.241 $\pm$ 0.095 <sup>ab</sup>	1.257 $\pm$ 0.083 <sup>ab</sup>	1.182 $\pm$ 0.065 <sup>ab</sup>

注:与 C 组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 I/R 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$



达量降低,后表明 1 400W 可通过抑制 iNOS 的表达,减轻 HIBEC 缺血再灌注损伤。

环境或遗传因素可以破坏正常的蛋白质折叠过程,引起内质网应激,激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR),诱导内质网伴侣蛋白合成,减少其他蛋白质合成,降解错误折叠的蛋白,以恢复内质网稳态<sup>[17-18]</sup>。适度的内质网激活可促进内质网功能的恢复,但持续而强烈的内质网应激超过细胞的适应能力时可导致细胞凋亡<sup>[19]</sup>。GRP78、CHOP 及 Caspase-12 作为内质网应激的标志性蛋白,在多种器官缺血再灌注时表达增加<sup>[5-8]</sup>。本研究中, HIBEC 缺血再灌注后出现明显损伤、Caspase-12、GRP78 和 CHOP 蛋白表达量明显升高,表明缺血再灌注通过内质网应激引起 HIBEC 缺血再灌注损伤。缺血再灌注损伤引起 iNOS 表达增加常伴有内质网应激<sup>[5-8]</sup>,由此推测 1 400W 抑制 iNOS 表达减轻器官缺血再灌注损伤可能与抑制内质网应激有关,因此我们检测了内质网应激相关蛋白表达变化。与 I/R 组相比, I/R + 1 400W 组 HIBEC 损伤程度减轻, GRP78、CHOP 和 Caspase-12 蛋白表达水平降低,表明 1 400W 对 HIBEC 缺血再灌注损伤的保护作用可能与抑制内质网应激有关。

本研究中,成功构建了 HIBEC 体外缺血再灌注模型, HIBEC 经历缺血再灌注后出现明显损伤并伴有 iNOS 表达增加及内质网应激的激活,应用 1 400W 后 HIBEC 损伤明显减轻, iNOS 及内质网应激相关蛋白表达降低。综上所述,本研究初步探讨了诱导型一氧化氮合酶抑制剂 1 400W 减轻 HIBEC 体外缺血再灌注损伤的作用及其机制,为减轻胆道缺血再灌注损伤提供了新的治疗方向。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] Zarrinpar A, Busuttil RW. Liver transplantation: past, present and future[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10(7): 434-440. DOI: 10.1038/nrgastro.2013.88.
- [2] Memeo R, Piardi T, Sanguuolo F, et al. Management of biliary complications after liver transplantation[J]. World J Hepatol, 2015, 7(29): 2890-2895. DOI: 10.4254/wjh.v7.i29.2890.
- [3] Nemes B, Gámán G, Doros A. Biliary complications after liver transplantation[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2015, 9(4): 447-466. DOI: 10.1586/17474124.2015.967761.
- [4] Seehofer D, Eurich D, Veltzke-Schlieker W, et al. Biliary complications after liver transplantation: old problems and new challenges[J]. Am J Transplant, 2013, 13(2): 253-265. DOI: 10.1111/ajt.12034.
- [5] Wang Y, Tian J, Qiao X, et al. Intermedin protects against renal ischemia-reperfusion injury by inhibiting endoplasmic reticulum stress[J]. BMC Nephrol, 2015, 16: 169. DOI: 10.1186/s12882-015-0157-7.
- [6] Liu MQ, Chen Z, Chen LX. Endoplasmic reticulum stress: a novel mechanism and therapeutic target for cardiovascular diseases[J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(4): 425-443. DOI: 10.1038/aps.2015.145.
- [7] Lin Y, Chen T, Hung C, et al. Melatonin protects brain against ischemia/reperfusion injury by attenuating endoplasmic reticulum stress[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(1): 182-192. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3607.
- [8] Zhou H, Zhu J, Yue S, et al. The dichotomy of endoplasmic reticulum stress response in liver ischemia-reperfusion injury[J]. Transplantation, 2016, 100(2): 365-372. DOI: 10.1097/TP.0000000000001032.
- [9] Hosgood SA. 1 400W reduces ischemia reperfusion injury in an ex-vivo porcine model of the donation after circulatory death kidney donor[J]. World J Transplant, 2014, 4(4): 299-305. DOI: 10.5500/wjt.v4.i4.299.
- [10] Ovechkin AV, Lominadze D, Sedoris KC, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase attenuates platelet adhesion in subpleural arterioles caused by lung ischemia-reperfusion in rabbits[J]. J Appl Physiol, 2005, 99(6): 2423-2432. DOI: 10.1152/jappphysiol.01302.2004.
- [11] 黄志强. 胆道的解剖生理学及肝移植后胆道并发症[J]. 中华外科杂志, 2006, 44(5): 289-291. DOI: 10.3760/j.issn:0529-5815.2006.05.001.
- [12] 黄志强. 当今胆道外科的发展与方向[J]. 中华外科杂志, 2006, 44(23): 1585-1586. DOI: 10.3760/j.issn:0529-5815.2006.23.001.
- [13] Huang X, Qin J, Lu S. Magnesium isoglycyrrhizinate protects hepatic L02 cells from ischemia/reperfusion induced injury[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(8): 4755-4764.
- [14] Wang B, Guo H, Li X, et al. Adiponectin attenuates oxygen-glucose deprivation-induced mitochondrial oxidative injury and apoptosis in hippocampal HT22 cells via the JAK2/STAT3 pathway[J]. Cell Transplant, 2018, 27(12): 1731-1743. DOI: 10.1177/0963689718779364.
- [15] Tran AN, Boyd NH, Walker K, et al. NOS expression and NO function in glioma and implications for patient therapies[J]. Redox Biol, 2017, 26(17): 986-999. DOI: 10.1089/ars.2016.6820.
- [16] Garvey EP, Oplinger JA, Furfine ES, et al. 1 400W is a slow, tight binding, and highly selective inhibitor of inducible nitric-oxide synthase in vitro and in vivo[J]. J Biol Chem, 1997, 272(8): 4959-4963. DOI: 10.1074/jbc.272.8.4959.
- [17] Bachar E, Ariav Y, Cerasi E, et al. Neuronal nitric oxide synthase protects the pancreatic beta cell from glucolipotoxicity-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis[J]. Diabetologia, 2010, 53(10): 2177-2187. DOI: 10.1007/s00125-010-1833-6.
- [18] Cybulsky AV. Endoplasmic reticulum stress, the unfolded protein response and autophagy in kidney diseases[J]. Nat Rev Nephrol, 2017, 13(11): 681-696. DOI: 10.1038/nrneph.2017.129.
- [19] Obert DP, Wolpert AK, Korff S. Modulation of endoplasmic reticulum stress influences ischemia-reperfusion injury after hemorrhagic shock[J]. Shock, 2018. In Press. DOI: 10.1097/SHK.0000000000001298.

(收稿日期: 2018-08-30)