·实验研究·

丁苯酞对血管性痴呆大鼠内质网应激相关蛋白的影响

牛小莉,楚　宝,谢小华,徐国栋,董晓莉,吕佩源
(河北省人民医院神经内科,石家庄 050012)

[摘要]　**目的**:观察血管性痴呆大鼠海马组织中内质网相关蛋白的表达变化及丁苯酞对相关蛋白表达的影响。**方法**:将 SD 大鼠分为模型组和丁苯酞干预组,行水迷宫实验,取材后应用 Western Blot 法和 RT-PCR 法检测各组间内质网相关蛋白的表达变化情况。**结果**:水迷宫实验中给予丁苯酞后,大鼠的逃避潜伏期明显缩短。Model 组大鼠逃避潜伏期较 Sham 组大鼠明显延长,3 ~ 5 d 时逃避潜伏期延长更加显著($P<0.05$);给予不同剂量丁苯酞后大鼠表现出逃避潜伏期较 Model 组大鼠明显缩短($P<0.05$),尤其以 NBP_{120} 组缩短更加显著。Western Blot 方法检测发现,与假手术组相比,模型组中内质网应激各指标均显著上调($P<0.05$);除了 NBP_{30} 组中 GRP78 的表达外,其他各治疗组中其余指标均有所下调($P<0.05$);除了 XPB1 和 elF2α 蛋白外,NBP_{120} 组对内质网应激的各指标均有显著下调作用($P<0.05$)。RT-PCR 法检测发现,与模型组相比,除了 CHOP 和 elF2α 的 mRNA 水平外,NBP_{120} 组对内质网应激的其余各指标均有显著下调作用($P<0.01$);CHOP 和 elF2α 的 mRNA 水平在 NBP_{30} 组显著升高($P<0.01$);这 2 个指标的 mRNA 水平在 NBP_{60} 组和模型组之间差异无统计学意义。**结论**:血管性痴呆模型大鼠海马组织细胞内的内质网应激活跃,内质网应激参与了血管性痴呆发生发展过程。丁苯酞通过调节内质网应激各指标的表达,发挥神经保护作用。

[关键词]　血管性痴呆;内质网应激;丁苯酞
[中图分类号]　R972.6　　[文献标志码]　A　　[文章编号]　1003 - 3734(2021)08 - 0747 - 07

Butylphthalide regulates the expressions of markers related to ERS in hippocampus of rats with vascular dementia

NIU Xiao-li, CHU Bao, XIE Xiao-hua, XU Guo-dong, DONG Xiao-li, LÜ Pei-yuan
(*Department of Neurology*, *Hebei General Hospital*, *Shijiazhuang* 050012, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: To observe the expression of endoplasmic reticulum related protein in hippocampus of VD model rats, determine whether endoplasmic reticulum stress (ERS) plays an important role in the progress of VD, and observe whether different doses of butylphthalide (NBP) has protective effect by regulating the expressions of markers related to ERS. **Methods**: Grouping and model preparation were carried out in accordance. A Morris water maze experiment was conducted after giving NBP intervention. Western Blot and real time-PCR assay were used for evaluating the expression of endoplasmic reticulum related protein after bilateral common carotid artery occlusion among sham group, model group and different doses of NBP-treated groups. **Results**: The escape latency of model group was significantly longer than the sham group and NBP-treated groups on day 2 ($P<0.05$). Compared with the sham group, the escape latency of the model group was significantly longer on days 3 ~ 5 ($P<0.05$). We detected the protein expression of endoplasmic reticulum related protein. Except for GRP78 in 30 $mg\cdot kg^{-1}$ NBP group, the expressions of other proteins in rats treated with NBP significantly decreased compared with the model group ($P<0.05$). NBP of 120 $mg\cdot kg^{-1}$ significantly down-regulated the expression of all the proteins except for

[基金项目]　2019 年度河北省医学科学研究重点课题资助项目(20190009);河北省"三三三人才工程"资助项目(A202001045)
[作者简介]　牛小莉,女,博士研究生,主要从事脑小血管病研究。联系电话:(0311)85988292,E-mail:niuxl0327@163.com。
[通讯作者]　吕佩源,男,博士生导师,教授,主要从事脑小血管病研究。联系电话:(0311)85988292,E-mail:peiyuanlv@163.com。

XPB1 and elF2α ($P<0.05$). Except for proteins, we also detected the mRNA expression of endoplasmic reticulum related protein. The mRNA levels of CHOP and elF2α were significantly increased in NBP_{30} group compared with the model group ($P<0.01$) and there was no significant difference between NBP_{60} group and the model group. Besides CHOP and elF2α, all the other markers were significantly decreased in NBP_{120} group compared with the model group ($P<0.01$). The NBP_{120} group exhibited the most significant differences among the treated groups except for caspase-12 (equal in NBP_{120} and NBP_{60} groups) ($P<0.01$). **Conclusion**: The markers of ERS in hippocampal tissue were activated in the VD model rats. After giving NBP, the expressions of endoplasmic reticulum related protein were down-regulated. NBP played neuroprotective effects by inhibiting apoptosis of neurons and promoting cell survival by down-regulating the markers related with ERS.

[**Key words**] vascular dementia; endoplasmic reticulum stress; DL-3-n-butylphthalide

血管性认知功能障碍定义为由脑血管相关事件引起的从轻度认知损害直至痴呆的一系列综合征表现。颅内多种血管因素的可控性使得血管性痴呆(vascular dementia,VD)变得可防可治,尽早提前开始的干预可以延缓认知障碍向痴呆转化。Jia 等[1]实验证实,内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)这一生理过程存在于正常细胞过程中,并积极参与了多种损伤机制,在 VD 发展过程中起着举足轻重的作用。ERS 主要的通路为折叠未成功/折叠错误的蛋白质大量聚集进而导致的未折叠蛋白质反应(unfolded protein response,UPR)[2],3 条信号通路在 UPR 中各司其职,包含以下内容:① 依赖于双链 RNA 的蛋白激酶样 ER 激酶(protein kinase R-Like endoplasmic reticulum kinase,PERK)信号通路。② 跨膜蛋白激酶 1α(inositol-requiring enzyme 1α, IRE-1α,又命名为核酸内切酶)信号通路。③ 活化的转录因子 6(activating transcription factor 6,ATF6)信号通路。在阿尔茨海默病(Alzheimer' disease,AD)和帕金森病(Parkinson's disease,PD)患者中,ERS 过程的调节或改变可以使痴呆患者的空间记忆能力得到提高,改善认知[3-4]。

丁苯酞化学名为消旋-3-正丁基苯酞(DL-3-n-butylphthalide, NBP),目前主要应用领域为治疗急性缺血性脑卒中。丁苯酞可以通过保护细胞内线粒体功能和调节能量代谢过程进而使得缺血性脑卒中预后得到改善,主要作用机制为使得细胞内线粒体结构完整性得到保护,使线粒体复合酶/ATP 合酶活性维持稳定,线粒体膜内外电位均得到稳定维持。丁苯酞同样可以通过能量代谢治疗非缺血性卒中疾病,其能够通过抑制 β 淀粉样蛋白累积所导致的线粒体损伤,发挥保护细胞内线粒体的神经保护作用。其还可以通过改变线粒体膜内外电位、影响细胞内外活性氧产生及细胞凋亡提高细胞生存率。这些神经保护作用可以使得颅内脑组织海马神经元细胞凋亡率降低,增加颅内脑血管血流灌注,促进血管内皮细胞新生等,从而综合作用改善患者认知。本研究将实验大鼠两侧颈总动脉(bilateral common carotid artery occlusion, BCCAO)结扎,切断颅内主要供血动脉,减少颅内血供,从而创建血管性痴呆大鼠模型,术后给予不同剂量丁苯酞进行干预研究,丁苯酞对血管性痴呆大鼠的保护作用是否与 ERS 的调节机制有关,本实验将进一步深入探讨。

材料与方法

1 材料

1.1 实验动物及分组 选取明确 3 月龄的清洁 SD 雄性大鼠,体重约 250 ~ 300 g。将所筛选出来的大鼠随机分组,共分为 5 组:低、中、高剂量组,分别为 NBP_{30},NBP_{60},NBP_{120}组,假手术组即 Sham 组和模型组即 Model 组。血管性痴呆大鼠模型制备成功后 d 2 分别依照 30,60,120 $mg\cdot kg^{-1}$的剂量给予大鼠药物丁苯酞灌胃,Model 组和 Sham 组的实验大鼠分别给予相同体积的玉米油灌胃,*qd*,连续灌胃给药共 28 d。

1.2 模型制备 将 SD 实验大鼠的双侧颈总动脉(bilateral common carotid artery occlusion, BCCAO)结扎,从而创建血管性痴呆实验大鼠模型,血管性痴呆大鼠模型创建成功后给予药物丁苯酞干预。

1.3 药物 丁苯酞(石药控股集团有限公司),生产批号:518141001, 纯度 99.6%。

2 实验方法

2.1 Morris-水迷宫测试创建成功后的血管性痴呆模型大鼠空间学习和记忆能力 Morris-水迷宫行为学测试实验大鼠内容主要包括:① 定位航行实验。

② 空间探索实验。定位航行实验主要用于测试制备成功模型大鼠的空间学习能力,空间探索实验重点应用于测试大鼠的空间记忆能力。

2.2 新鲜标本取材 将实验动物处死后,选取脑组织进而分离双侧海马。

2.3 检测方法 用 Western Blot 技术和实时荧光定量 PCR(real time-PCR, RT-PCR)技术检测血管性痴呆大鼠海马组织神经元细胞内质网伴侣葡萄糖蛋白 78(glucose-regulated protein 78, GRP78)和 CAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)、依赖于双链 RNA 的蛋白激酶样 ER 激酶(protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)、真核细胞启动子-2α(eukaryotic translation initiation factor 2α, eIF2α)、跨膜蛋白激酶-1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)、X 盒结合蛋白 1(X box-binding protein-1, XBP1)、X 盒结合蛋白 1s(X box-binding protein-1s, XBP1s)、激活作用转录因子-6(activating transcription factor 6, ATF6)和 caspase-12 蛋白及 mRNA 表达水平。

2.4 结果分析 将基因 β-actin 作为参考,扩增程序结束后进一步与对照组比较,通过相关计算值得到统计样本的相对性定量计算值(RQ 值)。

3 统计学方法

应用 SPSS 22.0 统计软件分析数据,以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用方差分析对数据进行详细比较,两两比较采用 SNK 方法分析,检验水准 α 设定是 0.05。

结 果

1 Morris 水迷宫实验

血管性痴呆大鼠模型制备成功后,实验大鼠从进行训练的 d 2 开始,可以发现 Model 组的逃避潜伏期相比较于 Sham 组延长显著,尤其以 3 ~ 5 d 时的逃避潜伏期延长具有统计学差异($P < 0.05$);NBP_{30},NBP_{60}及 NBP_{120}组实验大鼠从 d 2 开始表现出逃避潜伏期相比较于 Model 组显著下降($P < 0.05$);实验进一步进行到 d 4 和 d 5 时,各治疗组相比较于 Model 组大鼠逃避潜伏期缩短更加明显($P < 0.05$),尤以 NBP_{120}组缩短显著,具有统计学意义。实验结果证明,丁苯酞剂量逐渐增加,大鼠逃避潜伏期逐渐缩短,但各个治疗组之间无显著性统计学差异。d 5 时,NBP_{120}组实验大鼠的逃避潜伏期与 Sham 组空白大鼠相比无显著性统计学差异;Model 组中模型实验大鼠在空间探索实验阶段相比较于 Sham 组空白大鼠,目标象限的停留时间百分比降低显著($P < 0.05$);与 Model 组相比,各治疗组大鼠在目标象限停留时间百分比均显著增加($P < 0.05$),各组之间没有差异,结果见图 1 及表 1、表 2。

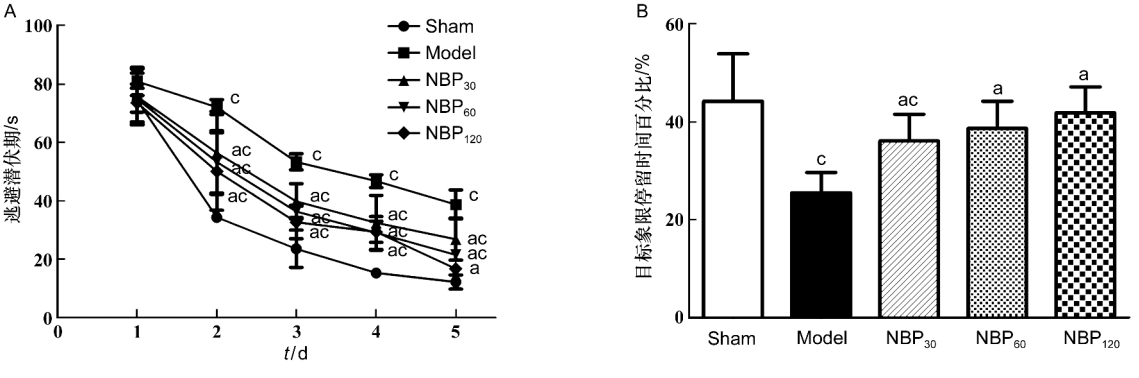


图 1 丁苯酞对 2v 诱导的模型实验大鼠空间学习和记忆的能力影响

表 1 5 组大鼠 5 d 训练期间的逃避潜伏期 $\bar{x} \pm s$

分组	n	d 1	d 2	d 3	d 4	d 5
假手术组	6	74.49 ± 4.13	34.38 ± 1.57	23.64 ± 6.37	15.40 ± 1.12	12.29 ± 2.45
模型组	6	80.93 ± 4.83	72.15 ± 2.55[a]	53.39 ± 2.80[a]	46.81 ± 2.15[a]	38.83 ± 4.99[a]
NBP_{30}	6	75.81 ± 9.43	56.48 ± 14.15[ab]	39.91 ± 6.07[ab]	32.55 ± 9.36[ab]	26.98 ± 7.15[ab]
NBP_{60}	6	74.93 ± 8.89	53.38 ± 10.64[ab]	36.40 ± 2.13[ab]	29.08 ± 5.60[ab]	21.56 ± 1.91[ab]
NBP_{120}	6	73.58 ± 6.49	50.09 ± 13.28[ab]	32.71 ± 5.62[ab]	29.44 ± 3.57[ab]	16.75 ± 1.60[b]

a:与假手术组对比 $P < 0.05$; b:与模型组对比 $P < 0.05$

表 2 模型制备成功的 5 组实验大鼠在目标象限中停留时间百分比 $\bar{x} \pm s$

分组	n	时间/%
假手术组	6	44.21 ± 9.74
模型组	6	25.55 ± 4.13[a]
NBP_{30}	6	36.13 ± 5.43[ab]
NBP_{60}	6	38.68 ± 5.53[b]
NBP_{120}	6	41.88 ± 5.23[b]

a:与假手术组对比 $P<0.05$;b:与模型组对比 $P<0.05$

2 不同实验仪器方法检测出的内质网应激相关性蛋白改变

2.1 应用 Western-Blot 方法检测出的各个指标改变情况 与 Sham 组相比,Model 组实验大鼠的内质网应激的各个检测实验指标均可以看到明显上升($P<0.05$);只有 NBP_{30} 组中 GRP-78 的表达相比较于 Model 实验大鼠组无显著性统计学差异外($P>0.05$),其他各治疗组中其余指标均能看到有所下调($P<0.05$);各个治疗组对 XPB1 的表达无显著性统计学差异($P>0.05$);治疗组 NBP_{120} 组内的内质网应激各个指标均有明显下降,除外 XPB1 和 eIF-2α 蛋白($P<0.05$);实验结果发现各治疗组之间无明显剂量依赖关系,结果见图 2 及表 3。

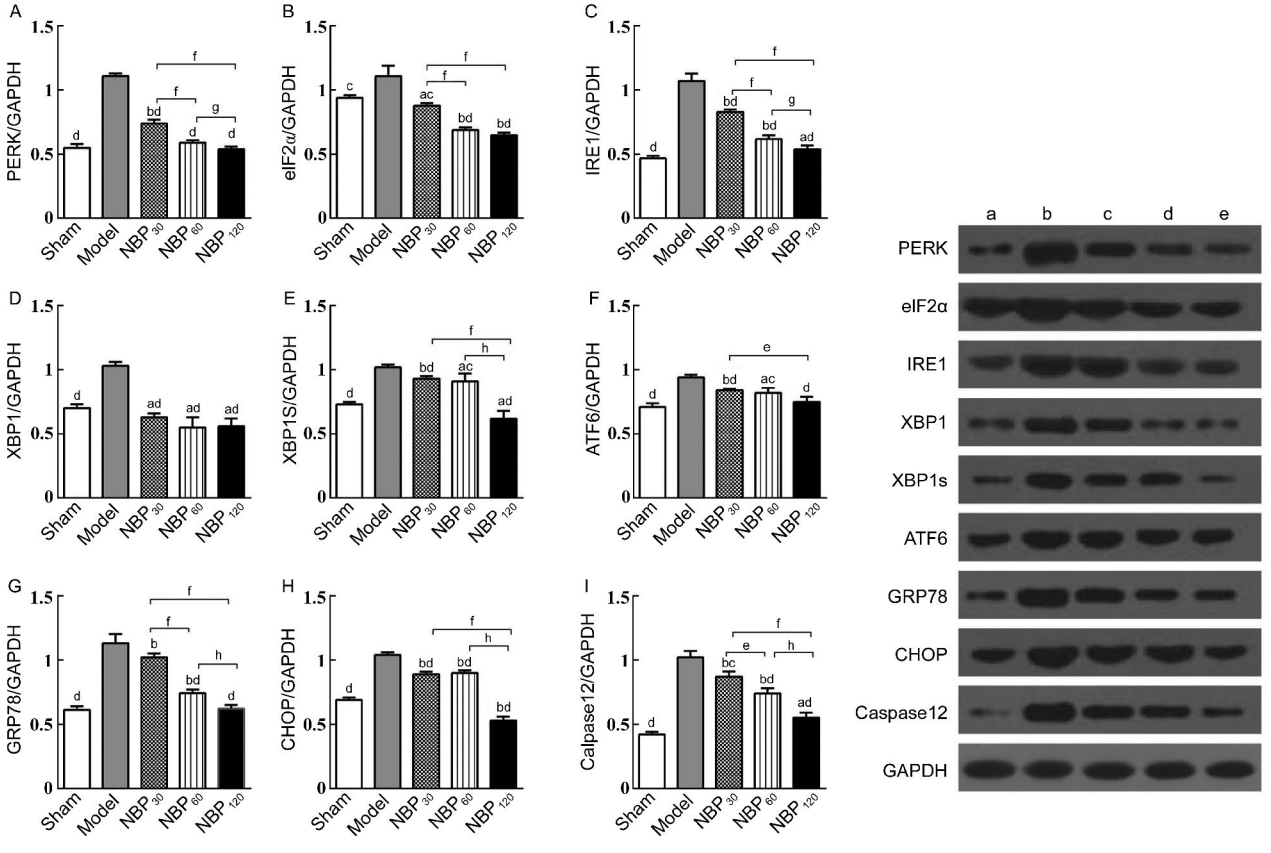


图 2 大鼠海马 PERK,eIF2α,IRE1,XBP1,XBP1s,ATF6,GRP78,CHOP 和 caspase-12 的 WB 结果

表 3 Western Blot 检测各组大鼠海马组织 PERK, eIF2α, IRE1, XBP1, XBP1s, ATF6, GRP78, CHOP 和 caspase-12 蛋白的表达 $\bar{x} \pm s$

分组	n	ATF6/GAPDH	IRE1/GAPDH	XBP1/GAPDH	XBP1S/GAPDH	PERK/GAPDH
假手术组	6	0.71 ± 0.03[d]	0.47 ± 0.02[d]	0.70 ± 0.03[d]	0.73 ± 0.02[d]	0.55 ± 0.03[d]
模型组	6	0.94 ± 0.02	1.07 ± 0.06	1.03 ± 0.03	1.02 ± 0.02	1.11 ± 0.02
NBP_{30}	6	0.84 ± 0.01[bd]	0.83 ± 0.02[bd]	0.63 ± 0.03[ad]	0.93 ± 0.02[bd]	0.74 ± 0.03[bd]
NBP_{60}	6	0.82 ± 0.04[ac]	0.62 ± 0.03[bdf]	0.55 ± 0.08[ad]	0.91 ± 0.06[ac]	0.59 ± 0.02[df]
NBP_{120}	6	0.75 ± 0.04[de]	0.54 ± 0.03[adfg]	0.56 ± 0.06[ad]	0.62 ± 0.06[adfh]	0.54 ± 0.02[dfg]

续表 3

分组	n	CHOP/GAPDH	eIF2α/GAPDH	GRP78/GAPDH	Calpase12/GAPDH
假手术组	6	0.69 ± 0.02^{d}	0.94 ± 0.02^{c}	0.61 ± 0.03^{d}	0.42 ± 0.02^{d}
模型组	6	1.04 ± 0.02	1.11 ± 0.08	1.13 ± 0.07	1.02 ± 0.05
NBP_{30}	6	0.89 ± 0.02^{bd}	0.88 ± 0.02^{ac}	1.02 ± 0.03^{b}	0.87 ± 0.04^{bc}
NBP_{60}	6	0.90 ± 0.02^{bd}	0.69 ± 0.02^{bdf}	0.74 ± 0.03^{bdf}	0.74 ± 0.04^{bde}
NBP_{120}	6	0.53 ± 0.03^{bdfh}	0.65 ± 0.02^{bdf}	0.62 ± 0.03^{dfh}	0.55 ± 0.04^{adfh}

与假手术组比较，a：$P<0.05$，b：$P<0.01$；与模型组比较，c：$P<0.05$，d：$P<0.01$；与 NBP_{30}组比较，e：$P<0.05$，f：$P<0.01$；与 NBP_{60}组比较，g：$P<0.05$，h：$P<0.01$

2.2 RT-PCR 法检测各指标的变化 与模型组相比，除了 CHOP 和 eIF2α 的 mRNA 水平外，NBP_{120}组对内质网应激的其余各指标均有显著下调作用（$P<0.01$）；有趣的是，与模型组相比，CHOP 和 eIF2α 这 2 个指标的 mRNA 水平在 NBP_{30}组显著升高（$P<0.01$）；而且这 2 个指标的 mRNA 水平在 NBP_{60}组和模型组之间差异无统计学意义，结果见图 3 及表 4。

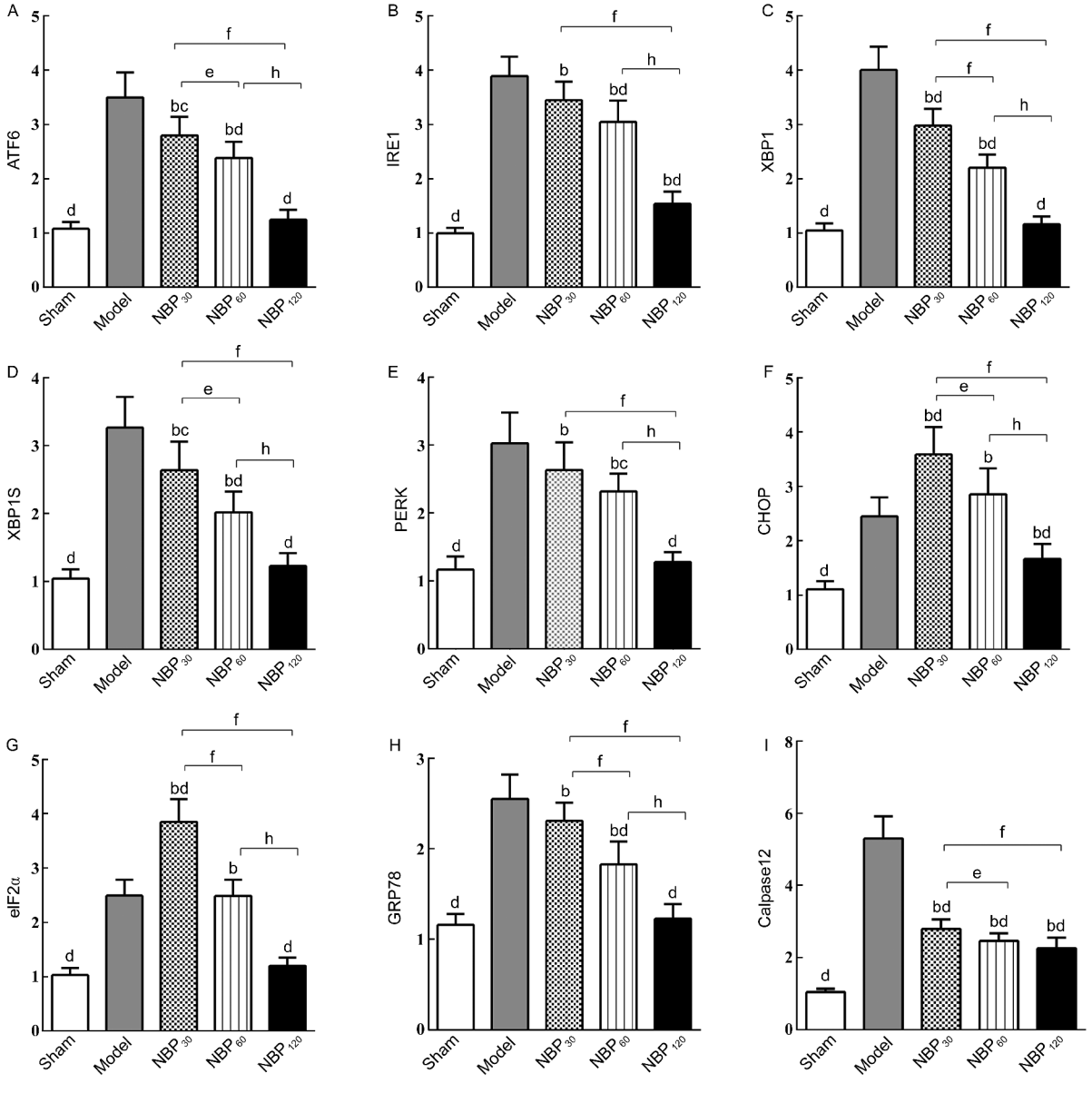


图 3 大鼠海马 PERK，eIF2α，IRE1，XBP1，XBP1s，ATF6，GRP78，CHOP 和 caspase-12 的 RT-PCR 结果

表 4 RT-PCR 检测各组大鼠海马组织 PERK，eIF2α，IRE1，XBP1，XBP1s，ATF6，GRP78，CHOP 和 caspase-12 mRNA 的表达 $\bar{x} \pm s$

分组	n	ATF6/β-actin	IRE1/β-actin	XBP1/β-actin	XBP1S/β-actin	PERK/β-actin
假手术组	6	1.08 ± 0.13[d]	1.00 ± 0.10[d]	1.05 ± 0.13[d]	1.05 ± 0.13[d]	1.17 ± 0.19[d]
模型组	6	3.50 ± 0.46	3.89 ± 0.36	4.01 ± 0.42	3.27 ± 0.45	3.03 ± 0.45
NBP_{30}	6	2.80 ± 0.34[bc]	3.45 ± 0.34[b]	2.98 ± 0.31[bd]	2.64 ± 0.42[bc]	2.63 ± 0.41[b]
NBP_{60}	6	2.38 ± 0.30[bde]	3.05 ± 0.39[bd]	2.21 ± 0.24[bdf]	2.02 ± 0.31[bde]	2.32 ± 0.26[bc]
NBP_{120}	6	1.25 ± 0.18[dfh]	1.54 ± 0.23[bdfh]	1.17 ± 0.14[bfh]	1.23 ± 0.19[dfh]	1.28 ± 0.15[dfh]
分组	n	CHOP/β-actin	eIF2α/β-actin	GRP78/β-actin	Calpase12/β-actin	Calpase9/β-actin
假手术组	6	1.11 ± 0.15[d]	1.03 ± 0.13[d]	1.16 ± 0.12[d]	1.05 ± 0.10[d]	1.09 ± 0.11[d]
模型组	6	2.45 ± 0.35	2.49 ± 0.29	2.55 ± 0.27	5.31 ± 0.61	5.63 ± 0.58
NBP_{30}	6	3.59 ± 0.50[bd]	3.85 ± 0.42[bd]	2.31 ± 0.20[b]	2.80 ± 0.27[bd]	3.14 ± 0.32[bd]
NBP_{60}	6	2.86 ± 0.47[be]	2.48 ± 0.30[bf]	1.83 ± 0.25[bdf]	2.47 ± 0.21[bde]	1.86 ± 0.17[bdf]
NBP_{120}	6	1.67 ± 0.27[bdfh]	1.20 ± 0.15[dfh]	1.23 ± 0.16[dfh]	2.27 ± 0.29[bdf]	1.45 ± 0.25[adfh]

与假手术组比较，a：$P<0.05$，b：$P<0.01$；与模型组比较，c：$P<0.05$，d：$P<0.01$；与 NBP_{30} 组比较，e：$P<0.05$，f：$P<0.01$；与 NBP_{60} 组比较，g：$P<0.05$，h：$P<0.01$

讨　论

VD 是指由脑血管因素引起的大脑认知功能的减退，严重影响了患者的生活和社交。建立合理的 VD 动物模型是寻求有效的治疗方法的前提。目前全世界范围内都认可的经典 VD 动物模型就是应用 BCCAO 法造成慢性脑低灌注从而引起 VD[5]。

关于 VCI 的发病机制，目前认为许多机制参与其中。有实验证实，ERS 在 VD 发展过程中起重要作用。内质网是细胞内一种重要的细胞器，它参与了蛋白质正确折叠与分泌。当体内异常蛋白聚集超过内质网的转录功能时就会产生 ERS[6-10]。ERS 是细胞在急性期存活的重要因素，ERS 可以通过抑制海马神经元凋亡，改善 VD 大鼠的学习和记忆能力，但是其发挥作用的具体机制不详。

早期的急性期 ERS 可以通过清除异常蛋白来促进组织修复，从而对疾病的病理过程起到有益的作用。但是，持续的 ERS 则会超过中枢神经系统的识别能力，引发细胞凋亡，从而导致疾病的发展。PERK-eIF2α，IRE1-XBP1 和 ATF6 这 3 条通路在决定细胞生存或死亡上具有双重作用[11-15]。持续的 ERS 可以激活下游蛋白，促进细胞凋亡，比如 Caspase12 和 CHOP[16]，它们能抑制抗凋亡基因 *Bcl-2* 和 *Bax* 的表达，并激活促进细胞凋亡的 p53 等因子的表达，最终引起细胞的凋亡。可见 ERS 的 3 条通路决定了细胞的存亡[17-18]。

Fernandes 等[19]报道，在 AD 模型中，记忆和认知功能的下降和持续慢性的 ERS 高度相关。在 PD 的病理过程中，可以观察到 ERS 相关蛋白的高表达，证实 ERS 持续存在。研究还表明，NBP 可以通过抑制 ERS 来保护受损脊髓的血脊髓屏障免受破坏[20]。ERS 参与了认知功能的损害。本实验发现，与模型组相比，NBP_{30} 组中 CHOP 和 eIF2α 的 mRNA 水平有所增加，提示虽然经过 30 $mg\cdot kg^{-1}$ 的 NBP 治疗，仍有凋亡相关途径的显著激活。总之，在 VD 大鼠的病理过程中，NBP 起到了保护作用，可能与通过调节 ERS 从而抑制细胞凋亡途径有关。

NBP 是由我国独立研发的治疗缺血性卒中的一类新药，临床上用于缺血性卒中的治疗，具有神经保护作用。近年来有研究显示，NBP 还可以改善血管性认知障碍患者的认知功能[21]。本实验采用 BCCAO 的方法成功制备了 VD 大鼠模型，经过 NBP 干预后，VD 大鼠的学习记忆能力明显改善，证明了 NBP 对认知功能的保护作用[22]。

[参 考 文 献]

[1] JIA Y, JIN W, XIAO Y, *et al*. Lipoxin A4 methyl ester alleviates vascular cognition impairment by regulating the expression of proteins related to autophagy and ER stress in the rat hippocampus[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2015, 20(3):475-487.

[2] CALLEGARI S, DENNERLEIN S. Sensing the Stress: A Role for the UPR(mt) and UPR(am) in the Quality Control of Mitochondria[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2018, 6(1):31-41.

[3] SHEN H, PAN X D, ZHANG J, *et al*. Endoplasmic reticulum stress induces the early appearance of pro-apoptotic and anti-apoptotic proteins in neurons of five familial Alzheimer's disease mice[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2016, 129(23):2845-2852.

[4] GUO X, LV J, LU J, *et al*. Protopanaxadiol derivative DDPU improves behavior and cognitive deficit in AD mice involving reg-

ulation of both ER stress and autophagy[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 130(2):77 - 91.
[5] WAKITA H, TOMIMOTO H, AKIGUCHI I, *et al*. Glial activation and white matter changes in the rat brain induced by chronic cerebral hypoperfusion: an immunohistochemical study[J]. *Acta Neuropathol*, 1994, 87(5):484 - 492.
[6] HETZ C, SAXENA S. ER stress and the unfolded protein response in neurodegeneration[J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13(8):477 - 491.
[7] WANG YW, ZHOU Q, ZHANG X, *et al*. Mild endoplasmic reticulum stress ameliorates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and cognitive impairment via regulation of microglial polarization[J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1):233.
[8] HETZ C, MOLLEREAU B. Disturbance of endoplasmic reticulum prote-ostasis in neurodegenerative diseases[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2014, 15(4):233 - 249.
[9] SUNDARAM A, PLUMB R, APPATHURAI S, *et al*. The Sec61 translocon limits IRE1alpha signaling during the unfolded protein response[J]. *Elife*, 2017, 11(2):6 - 13.
[10] WANG F, WU Y, QUON M J, *et al*. ASK1 mediates the teratogenicity of diabetes in the developing heart by inducing ER stress and inhibiting critical factors essential for cardiac development[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2015, 309(5):487 - 499.
[11] WANG T, WANG B, HUANG H, *et al*. Enterovirus 71 protease 2Apro and 3Cpro differentially inhibit the cellular endoplasmic reticulum-associated degradation (ERAD) pathway via distinct mechanisms, and enterovirus 71 hijacks ERAD component p97 to promote its replication[J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(10):66 - 74.
[12] LHOMOND S, AVRIL T, DEJEANS N, *et al*. Dual IRE1 RNase functions dictate glioblastoma development[J]. *EMBO Mol Med*, 2018,11(2):13 - 19.
[13] WU Y, SHAN B, DAI J, *et al*. Dual role for inositol-requiring enzyme ialpha in promoting the development of hepatocellular carcinoma during diet-induced obesity[J]. *Hepatology*, 2018, 12(3):14 - 19.
[14] HUANG N, YU Y, QIAO J. Dual role for the unfolded protein response in the ovary: adaption and apoptosis[J]. *Protein Cell*, 2017, 8(1):14 - 24.
[15] CHOI JY, WON NH, PARK JD, *et al*. From the cover: ethylmercury-induced oxidative and endoplasmic reticulum stress-mediated autophagic cell death: involvement of autophagosome-lysosome fusion arrest[J]. *Toxicol Sci*, 2016, 154(1):27 - 42.
[16] B'CHIR W, CHAVEROUX C, CARRARO V, *et al*. Dual role for CHOP in the crosstalk between autophagy and apoptosis to determine cell fate in response to amino acid deprivation[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(7): 1385 - 1391.
[17] LOURENCO MV, CLARKE JR, FROZZA RL, *et al*. TNF-alpha mediates PKR-dependent memory impairment and brain IRS-1 inhibition induced by Alzheimer's beta-amyloid oligomers in mice and monkeys[J]. *Cell Metab*, 2013, 18(6):831 - 843.
[18] LEINARTAITE L, SVENNINGSSON P. Folding underlies bidirectional role of GPR37/Pael-R in parkinson disease[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38 (8):749 - 760.
[19] FERNANDES HJ, RYAN BJ, WADE-MARTINS R. Commentary: Parkinson disease-linked GBA mutation effects reversed by molecular chaperones in human cell and fly models[J]. *Front Neurosci*, 2016, 10(2):578 - 579.
[20] ZHENG B, ZHOU Y, ZHANG H, *et al*. Dl-3-n-butylphthalide prevents the disruption of blood-spinal cord barrier via inhibiting endoplasmic reticulum stress following spinal cord injury[J]. *Int J Biol Sci*, 2017, 13(12):1520 - 1531.
[21] JIA J, WEI C, LIANG J, *et al*. The effects of DL-3-n-butylphthalide in patients with vascular cognitive impairment without dementia caused by subcortical ischemic small vessel disease: A multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Alzheimers Dement*, 2016, 12(2): 89 - 99.
[22] QI Q, XU J, LV P, *et al*. DL-3-n-butylphthalide alleviates vascular cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion by activating the Akt/Nrf2 signaling pathway in the hippocampus of rats[J]. *Neurosci Lett*, 2018, 672(9):59 - 64.

编辑:杨青/接受日期:2020 - 06 - 29