固本防哮饮对哮喘缓解期小鼠肺组织内质网应激相关凋亡基因 CRT 和 EDEM 的影响

陆　远　赵　霞

（南京中医药大学，江苏省儿童呼吸疾病（中医药）重点实验室，南京，210023）

摘要　目的：探讨中药复方固本防哮饮对哮喘缓解期小鼠肺组织内质网应激相关的凋亡基因 CRT 和 EDEM 的影响。方法：结合前期研究采用卵蛋白（OVA）致敏和 OVA-呼吸道合胞病毒（RSV）联合诱导激发 BALB/c 雌性小鼠，建立哮喘缓解期动物模型，随机分为正常组，模型组，固本防哮饮低、中、高剂量组，孟鲁司特钠组及地塞米松组。Real-time PCR 法检测肺组织中 EDEM 和 CRT mRNA 表达水平。结果：模型组小鼠肺组织中 CRT 表达显著高于正常组（$P<0.05$）；固本防哮饮高、中剂量组，孟鲁司特钠组及地塞米松组小鼠肺组织中 CRT mRNA 表达均显著低于模型组（$P<0.05$），而 EDEM 在各组中表达无统计学意义（$P>0.05$）。结论：固本防哮饮防治哮喘减轻慢性气道炎性反应的作用机制可能是通过抑制蛋白质未折叠反应相关的凋亡基因 CRT 表达所致。

关键词　固本防哮饮；哮喘缓解期；蛋白质未折叠反应；CRT；EDEM

Effects of Gubenfangxiao Decoction on Lung Tissue ER Stress-associated Apoptotic Genes CRT and EDEM in Murine Asthmatic Remission Models

Lu Yuan, Zhao Xia

(*Jiangsu Key Laboratory of Pediatric Respiratory Disease*, *Nanjing University of Chinese Medicine*, *Nanjing* 210023, *China*)

Abstract　**Objective**: To explore the effects of Gubenfangxiao Decoction (GBFXD) on lung tissue ER stress-associated apoptotic gene CRT and EDEM in murine asthma remission models. **Methods**: According to former studies, OVA sensitization and RSV-OVA were used for stimulation and inducement on BALB/c female mice to build animal asthma remission models, which were then randomly grouped into normal group, model group, GBFXD high dose group, GBFXD medium dose group, GBFXD low dose group, Montelukast Sodium group and Dexamethasone group. The mRNA levels of ER stress-associated apoptotic genes CRT and EDEM were detected via RT-PCR method. **Results**: The lung tissue CRT expression of the model group is significantly higher than that of the normal group ($P<0.05$); In GBFXD high dose group, GBFXD medium dose group, Montelukast Sodium group and Dexamethasone group, inhibited ER stress-associated apoptotic genes CRT were observed through the significant reduction of mRNA expressions after GBFXD treatment. ($P<0.05$) **Conclusion**: Guben Fangxiao Decoction significantly attenuates RSV-OVA-induced persistent airway inflammation in murine asthma remission model. These effects may be mediated, at least partially, by inhibiting the activation of ER stress-associated apoptotic genes CRT.

Key Words　Guben Fangxiao Decoction; Asthma remission; Unfolded protein response; CRT; EDEM

中图分类号：R285.5　　**文献标识码**：A　　**doi**：10.3969/j.issn.1673－7202.2016.09.003

哮喘是以广泛多变的可逆性气道阻塞、非特异性气道高反应、慢性气道炎性反应为特征的异质性疾病，具有喘息、气促、胸闷和咳嗽的呼吸道症状，其强度可随时间而变化[1]。慢性气道炎性反应贯穿于哮喘的典型症状中，是研究哮喘有效治疗手段的主要挑战。研究发现即使在没有典型临床症状或肺功能正常的哮喘缓解期患者中，慢性气道炎性反应依然普遍存在[2]。虽然近年来吸入性糖皮质激素等抗炎药物已提升了哮喘症状的控制率，但糖皮质激素存在的多种不良反应限制了其成为哮喘治愈药物的可能，因此亟需更安全且有效的替代治疗药物。中医药重视整体观念，祛除外邪的同时强调扶正固本，是防治哮喘的理想疗法。固本防哮饮为我国著名中医儿科专家江育仁教授的经验方，由玉屏风散合二陈汤加减而来，具有益气固表，健脾化痰的作用，临床运用多年治疗哮喘安全有效并可减少复发率[3]。前期课题组发现固本防哮饮可显著抑制哮喘易感基因 ORMDL3 在哮喘缓解期小鼠模型中的表达[4]。ORMDL3 作为内质网应激（Endoplasmic Reticulum stress，ERS）下蛋白质未折叠反应（Unfolded Protein Response，UPR）的诱导因子，参与了由蛋白质未折叠反应介导的哮喘慢性气道炎性反应和气道重塑的过

基金项目：国家自然科学基金项目（编号：81473723）

程[5]。因此,本研究试图研究固本防哮饮对蛋白质未折叠反应下游细胞凋亡相关基因—CRT(Calreticulin)和 EDEM(ER degradation enhancing mannosidase like-protein)的影响,探讨固本防哮饮对抑制哮喘缓解期慢性气道炎性反应的作用机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级雌性 BALB/c 小鼠,6 ~ 8 周龄,质量 18 ~ 22 g,购于昭衍(苏州)新药研究中心有限公司,动物许可证号:SCXK(苏)2013-0003。

1.2 药物 孟鲁司特钠片:10 mg/片,由杭州默沙东药业股份有限公司提供,生产批号:K004567。地塞米松片:0.75 mg/片,由辰饮药业股份有限公司提供,生产批号:121203203。固本防哮饮:由炙黄芪、党参、白术、茯苓、煅牡蛎、蝉蜕、陈皮、防风、辛夷、五味子和生甘草等 11 味药组成,经南京中医药大学教研室鉴定其均为正品,按 5∶3.33∶3.33∶3.33∶5∶2∶2∶1∶2∶2∶1 的比例配伍,先取 8 倍量冷水浸药 30 min,煎 30 min(沸后),滤过;第 2 煎加 6 倍量水煎 30 min,将 2 次煎液过滤合并浓缩,分别调至含生药 3 g/mL 的溶液,密封于无菌量瓶,4 ℃储存备用。卵蛋白(ovalbumin, OVA)购于美国 Sigma 公司。DMEM 培养基,胎牛血清购于 Gibco 公司。人喉癌上皮细胞(HEP-2)和呼吸道合胞病毒 A2 型(Long 株)由江苏省儿童呼吸疾病(中医药)重点实验室提供。

1.3 试剂 Trizol:美国 Invitrogen 公司;DEPC:南京凯基生物科技发展有限公司;逆转录试剂盒:大连 Takara 公司;Real time PCR 定量试剂盒:大连 Takara 公司。

2 方法

2.1 呼吸道合胞病毒(RSV)制备及病毒毒力测试

1)病毒制备:以人喉癌上皮细胞(Hep-2)为宿主扩增呼吸道合胞病毒 A2 型(Long 株),细胞培养及 RSV 扩增 Hep-2 采用含 10% 小牛血清(FBS)的 DMEM 培养液,于 37 ℃、5% CO_2 及饱和湿度下培养。采用对数生长期细胞,Hep-2 以每孔 1.5 ~ 2 × 10^5/ L 接种 2 孔板,汇合至单层后弃培养液,PBS 漂洗 2 遍,接种病毒液 200 μL,吸附 1.5 h。加入适量含 2% 小牛血清的维持液继续培养 3 ~ 5d。待融合病变达 80% 以上,反复冻融 3 次,离心收集上清(即病毒液),分装后于 -70 ℃保存备用。

2)病毒毒力测试:以细胞病变法测定 RSV 对 Hep-2 的半数感染量($TCID_{50}$),Hep-2 接种于 96 孔板,待长成单层时,除正常细胞对照组外,接种各稀释度的病毒液(用维持液 10 倍梯度稀释 8 个浓度)。吸附 1.5 h 后,弃病毒液并换含 2% 胎牛血清的维持液继续培养,逐日观察病变程度并记录,以最高稀释度不再出现新病变时为终点。Reed-Muench 公式计算病毒 $TCID_{50}$,本次实验中使用的 RSV 的毒力为 $10^{4.167}TCID_{50}$/mL。

2.2 造模、分组及给药 参照前期研究造模方法[4],加以改进制备哮喘缓解期动物模型。小鼠经适应性饲养 1 周后,第 1、8 天将除正常组外的小鼠给予腹腔注射 0.2 mL 致敏液(其中包含 OVA 100 μg,硫酸铝钾 1 mg,溶解于生理盐水中)致敏,第 15 天时将小鼠放入雾化器的有机玻璃盒中,以 2.5% OVA 溶解于生理盐水中雾化吸入 30 min 激发,连续雾化 14d,1 次/d。第 32 ~ 54 天以同样的方法每隔 2d 雾化激发 1 次,每次均为 30 min 共 22 次,期间在第 29、42、55 天时分别以 RSV 50 μL/只滴鼻诱导激发。正常组均以同体积生理盐水代替 OVA 溶液致敏、RSV 滴鼻诱导激发。末次激发后(第 56 天),将除正常组外的小鼠分为模型组(蒸馏水 20 mL/kg)、孟鲁司特钠组(2.6 mg/kg)、地塞米松组(1 mg/kg)、固本防哮饮高剂量组(36 g/kg)、固本防哮饮中剂量组(24 g/kg)、固本防哮饮低剂量组(18 g/kg),灌胃 1 次/d,共 30 d,正常组以等体积蒸馏水灌胃。末次给药后 24 h,麻醉脱颈椎处死小鼠,取肺组织放于液氮中,备用。

2.3 Real-time PCR 法检测肺组织 CRT 和 EDEM mRNA 表达 参照 RNA 抽提试剂盒说明书要求抽提总 RNA。应用紫外分光光度仪测定 A260/A280 比值及浓度,A260/A280 比值在 1.8 ~ 2.0 之间为符合纯度要求。依据荧光定量 PCR 引物设计原则设计引物[4],引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,序列分别为 CRT:正向引物:5′-GACTGGGATGAACGAGCCAA-3′ 和反向引物:5′-GGTTTCCACTCGCCCTTGTA-3′,产物长度 179bp;EDEM:正向引物:5′-CCGGCGCTTCAAAATAATGCC-3′和反向引物:5′-CCGAAGACCAACCAGAGCAC-3′,引物长度 112bp。参照逆转录试剂盒操作,对已提取的 mRNA 进行逆转录,所得 cDNA 产物置于 -20 ℃冰箱中保存备用。按照试剂盒说明书进行操作扩增。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$对实时定量 PCR 结果进行数据处理。

2.4 统计学方法 计量资料采用 Mean ± SEM 表示,数据处理和作图采用 Prism 5.0 统计软件,多组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用 Dunnett′s post hoc 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3　结果

固本防哮饮对小鼠肺组织中 CRT 和 EDEM mRNA 表达的影响。由图 1 可知，模型组小鼠肺组织中 CRT 表达显著高于正常组（$P<0.05$）；固本防哮饮高、中剂量组，孟鲁司特钠组和地塞米松组小鼠肺组织中 CRT mRNA 表达均显著低于模型组（$P<0.05$），而 EDEM 在各组中 mRNA 表达无统计学意义（$P>0.05$）。

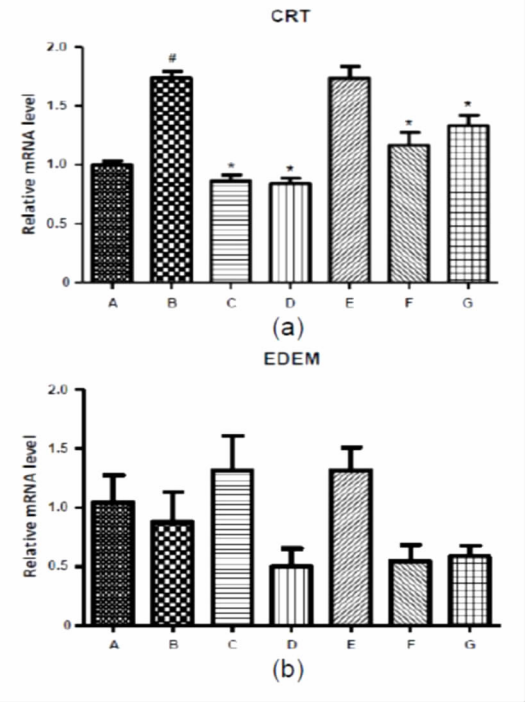

图 1　(a-b) 各组小鼠 CRT 和 EDEM mRNA 相对表达量（Mean ± SEM）

注：A-正常组；B-模型组；C-固本防哮饮高剂量组；D-固本防哮饮中剂量组；E-固本防哮饮低剂量组；F-孟鲁司特钠组；G-地塞米松组。

4　讨论

哮喘患病率呈逐年上升趋势，据 WHO 调查报道显示全球范围内已有超过 3 亿的哮喘患者。目前西医控制和预防哮喘发作的一线用药为雾化吸入糖皮质激素联合长效 β_2 受体激动剂。糖皮质激素可通过抑制上皮来源的多种细胞因子和化学趋化因子减轻慢性气道炎性反应，但约有 10% 患者属于以中性粒细胞占主导的难治性哮喘[6]，该类患者对吸入性糖皮质激素并不敏感，同时长期吸入糖皮质激素的远期疗效并不优于安慰剂，而且会降低儿童骨骼中矿物质含量[23]。

内质网是负责细胞中多种蛋白质折叠、合成、转运的主要细胞器，其理化性质和分子转运功能的稳定是正确合成蛋白质的重要条件。当各种因素刺激下使蛋白质正常折叠量超过内质网负荷时，内质网会处于应激状态并启动一种名为蛋白质未折叠反应的适应性反应，从而产生并累积错误折叠的蛋白质[7]。内质网内分泌和降解相关通道功能和结构的完整性使分子转运处于正常状态，内质网自身适应能力的失调或在各种干扰条件下，均能损害内质网正常生理功能，导致内质网应激的出现。近年来，多项研究证实内质网应激参与了多种慢性疾病的病理机制[8]，以呼吸系统疾病为例，环境中烟雾、汽车尾气和多种吸入性抗原被认为是内质网应激和失平衡的重要诱因，研究证实支气管哮喘中慢性气道炎性反应与长期存在的内质网应激下蛋白质未折叠反应密切相关[9]。同时，气道上皮细胞以及炎性细胞中内质网应激和蛋白质未折叠反应的启动是糖皮质激素抵抗型哮喘等重症哮喘的重要病理机制[10]。

真核生物包括从酵母到人类的种族跨度在内，典型的蛋白质未折叠反应由位于内质网膜上的 3 种跨膜受体蛋白所调控[11]：需肌醇酶 1（Inositol Requiring Enzyme 1，IRE1α），转录激活因子 6（Activating Transcription Factor 6，ATF6），蛋白激酶 R 样内质网激酶（Double-stranded RNA-activated Protein Kinase-like ER Kinase，PERK）。静息状态下，分子伴侣蛋白又称为结合免疫球蛋白（Binding Immunoglobulin Protein，BIP）/葡萄糖调节蛋白 78（Glucose-regulated Protein 78，GRP78），与以上 3 种跨膜受体蛋白相结合，使其处于失活状态[12]。内质网中错误折叠蛋白质或蛋白质残片的增加，会使 BIP 从 3 种跨膜受体蛋白上分离，引发内质网应激。IRE1α 和 PERK 受体的激活使其结构发生二聚化和自身磷酸化，而 ATF6 需要被转运至高尔基体中才可被激活[7]。目前在不同的细胞内条件环境下，蛋白质未折叠反应中不同通路所扮演的角色并未明确。呼吸系统中诱发蛋白质未折叠反应以及内质网应激的主要外源性物质有香烟、空降颗粒物、细菌感染、病毒、屋尘螨、卵清蛋白等[9]。1）近期研究显示支气管哮喘中蛋白质未折叠反应以及内质网应激与主要产生活性氧簇（Reactive Oxygen Species，ROS）、一氧化氮的炎性反应信号通路网络紧密联系[13-14]。三条传统蛋白质未折叠反应通路与 NF-κB 经典炎性反应通路密切相关，ATF6 与 NF-κB-IKK 信号通路相连[15]，PERK-eIF2α 通过抑制 IκB 的翻译促进炎性反应因子表达并同时让过多游离的 NF-κB 进入细胞核，激活的 IRE1α 可重新聚集 IKK 并促进 NF-κB 调控的炎性反应。中性粒细胞占主导的哮喘存在不同程度的糖

皮质激素抵抗，糖皮质激素对该类哮喘气道上皮细胞和炎性反应细胞中 NF-κB 炎性反应通路无效，而利用 ERS 或 UPR 阻断剂可能具有对糖皮质激素抵抗的反转作用[16]。2）过敏原暴露下，IRE1β 可通过 XBP1 提高粘蛋白 MUC5AC 表达[17]，另可诱导与杯状细胞分化和蛋白糖基化基因，促进杯状细胞表型分化，提示 IRE1β 的激活可能参与了哮喘气道高分泌的过程。3）哮喘易感基因 ORMDL3 可调控蛋白质未折叠反应，主要通过内质网钙泵（Sarcoendoplasmic Reticulum Ca^{2+} ATPase Pump，SERCA）调节钙离子平衡，减少磷酸化 eIF2A 的表达，导致内质网负荷增加[5]。ORMDL3 还可通过激活 ATF6 调控 SERCA，而 SERCA 表达的减少与哮喘气道重塑密切相关[18]。4）内质网应激在免疫中也具有重要作用，研究证实 XBP1 是血浆 B 细胞的起始转录因子[19]，蛋白质未折叠反应对树突细胞分化和生存起到重要作用[20]。以上研究表明，内质网应激下蛋白质未折叠反应与哮喘气道炎性反应、高分泌、重塑以及自身免疫等多方面均密切相关。

内质网应激下蛋白质未折叠反应也是内质网降解和细胞凋亡的重要途径。1）IRE1α 是进化意义上最古老以及最保守的蛋白质未折叠反应分支通路，拥有 2 个活跃的激酶和核糖核酸内切酶，而其核糖核酸内切酶促使 mRNA 编码转录因子 X 箱式结合蛋白 1（X-box-binding Protein 1，XBP1）翻译为活化的形式 XBP1s。XBP1s 可调节内质网蛋白合成、磷脂合成和凋亡位点 EDEM 涉及的内质网降解过程（ER-associated Degradation，ERAD）。2）活化后的 ATF6 属于从高尔基体释放的胞质内转录因子，可提高对 ERAD 和 XBP1 基因编码转录[21]。3）PERK 可使真核起始转录因子 2α（Eukaryotic Translational Initiation Factor 2α，eIF2α）磷酸化为 eIF2β，减少高尔基体蛋白质合成从而降低内质网负荷[21]。此外，PERK 还可通过 ATF4 等重要转录因子，调节细胞凋亡[22]。虽然，蛋白质未折叠反应是细胞的一种适应性反应，但内质网本身并非每次均能从应激状态恢复至正常，持续和严重的内质网应激状态可通过以上三条传统蛋白质未折叠反应通路诱导细胞凋亡的发生。CRT 可通过 PERK 受体蛋白调控免疫原性细胞死亡[23-25]，树突细胞可通过识别迁移至细胞膜表面 CRT 而对已死亡的细胞进行处理[26]。

本研究发现固本防哮饮对蛋白质未折叠反应中凋亡相关基因 CRT 存在抑制作用，可能是其减轻哮喘慢性气道炎性反应的作用机制。然而，CRT 和 EDEM 对于内质网应激下蛋白质未折叠反应参与的哮喘病理生理过程，以及对固本防哮饮防治哮喘作用机制中扮演的具体地位仍然需要更多深入研究进行验证。

参考文献

[1] Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. [EB/OL]. Revised, 2014. (Assessed May 2014, at www. ginasthma. org.).

[2] Broekema M, Volbeda F, Timens W, et al. Airway eosinophilia in remission and progression of asthma: accumulation with a fast decline of FEV(1) [J]. Respir Med, 2010, 104(9): 1254-1262.

[3] 袁雪晶，孙轶秋. 固本防哮饮联合穴位敷贴治疗儿童哮喘缓解期 100 例临床研究[J]. 中华中医药杂志，2010，25(12)：2306-2309.

[4] Huang Z, Gao L, Zhao X, et al. Effect of Gubenfangxiao decoction on respiratory syncytial virus-induced asthma and expression of asthma susceptibility gene orosomucoid 1-like protein 3 in mice [J]. Journal of traditional Chinese medicine, 2016, 36(1): 101-106.

[5] Cantero-Recasens G, Fandos C, Rubio-Moscardo F, et al. The asthma-associated ORMDL3 gene product regulates endoplasmic reticulum-mediated calcium signaling and cellular stress [J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(1): 111-121.

[6] McGrath KW, Icitovic N, Boushey HA, et al. A large subgroup of mild-to-moderate asthma is persistently noneosinophilic [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012, 185(6): 612-619.

[7] Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(7): 519-529.

[8] Toth A, Nickson P, Mandl A, et al. Endoplasmic reticulum stress as a novel therapeutic target in heart diseases [J]. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2007, 7(3): 205-218.

[9] Osorio F, Lambrecht B, Janssens S. The UPR and lung disease [J]. Semin Immunopathol, 2013, 35(3), 293-306.

[10] Kim SR, Kim DI, Kang MR, et al. Endoplasmic reticulum stress influences bronchial asthma pathogenesis by modulating nuclear factor κB activation [J]. J Allergy Clin Immunol, 2013, 132(6): 1397-1408.

[11] Hetz C. The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13(2): 89-102.

[12] Bertolotti A, Zhang Y, Hendershot LM, et al. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response [J]. Nat Cell Biol, 2000, 2(6): 326-332.

[13] Cullinan SB, Diehl JA. Coordination of ER and oxidative stress signaling: the PERK/Nrf2 signaling pathway [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2006, 38(3): 317-332.

[14] Gotoh T, Mori M. Nitric oxide and endoplasmic reticulum stress [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26(7): 1439-1446.

[15] Yamazaki H, Hiramatsu N, Hayakawa K. et al. Activation of the Akt-NF-kappaB pathway by subtilase cytotoxin through the ATF6 branch of the unfolded protein response [J]. J Immunol, 2009, 183(2): 1480-1487.

（下接第 1666 页）

的抗炎作用，发现尽管各中药口服液都具有抗炎作用，但改善炎性反应的程度可能有所不同，其中双黄连口服液抗炎作用最强，蒲地蓝消炎口服液、蓝芩口服液、胆木糖浆抗炎作用较强，其余两药抗炎作用相比稍弱。冰醋酸刺激致小鼠疼痛实验发现蓝芩口服液、双黄连口服液及胆木糖浆有较好的镇痛作用，其余三药可能镇痛作用相比稍弱。干酵母致大鼠发热实验发现，柴桂口服液解热效果最优，给药 30 min 即有明显的解热作用，其次是双黄连口服液及胆木糖浆给药 60 min 后有明显的解热作用，其余三药可能解热作用起效较慢，蓝芩口服液、银黄口服液解热作用相比可能也稍弱一些。本研究通过对 6 种感冒常用中药口服液的抗炎、镇痛、解热作用的初步观察并进行效应对比分析，为这些药物在临床更合理的应用提供了一定的实验依据，但中药治疗感冒所发挥的效应途径较多，如其直接抗菌抗病毒作用、免疫调节作用等[10]，对各口服液间治疗作用效果比较分析还有待进一步研究。

参考文献

[1] 孙婷婷，吕文良，陈兰羽，等. 中医药治疗外感热病（流行性感冒）研究进展[J]. 中国中医急症，2012，21(3)：437-439.

[2] 张俊玲. 浅析中药新剂型的研究与应用进展[J]. 中国现代药物应用，2013，7(18)：224-225.

[3] 马加庆，云宇，郭英，等. 利胆止痛胶囊抗炎镇痛作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志，2014，20(2)：148-151.

[4] 段娟娟，孙建宁，方芳，等. 红元颗粒抗炎镇痛作用的研究[J]. 世界中医药，2014，9(4)：470-474.

[5] 奚肇庆，刘清泉，张晓云，等. 上感颗粒治疗急性上呼吸道感染发热的随机双盲双模拟多中心临床研究[J]. 中医杂志，2013，54(8)：659-663.

[6] Fashner J, Ericson K, Werner S, Treatment of the common cold in children and adults[J]. Am Fam Physician, 2012, 86(2): 53-159.

[7] 陈腾飞，郭玉红，刘清泉. 从传统中医角度浅述对流感的认识[J]. 世界中医药，2015，10(10)：1469-1471.

[8] 侯江红，单海军，王晓燕，等. 中药药浴对风热型小儿外感发热的退热疗效观察[J]. 南京中医药大学学报，2012，28(4)：318-320.

[9] 曹迎，范圣凯，石筝筝，等. 风寒邪气与外感发热病关系探讨[J]. 北京中医药，2015，34(10)：800-802.

[10] 寇爽，李立，姜帆，等. 中药复方抗流感病毒作用机制研究概述[J]. 中医杂志，2014，55(10)：885-888.

（2016－09－09 收稿　责任编辑：洪志强）

（上接第 1662 页）

[16] Kim HJ, Jeong JS, Kim SR, et al. Inhibition of endoplasmic reticulum stress alleviates lipopolysaccharide-induced lung inflammation through modulation of NF-κB/HIF-1α signaling pathway [J]. Sci Rep, 2013, 3: 1142.

[17] Martino ME, Olsen JC, Fulcher NB, et al. Airway epithelial inflammation-induced endoplasmic reticulum Ca^{2+} store expansion is mediated by X-box binding protein-1 [J]. J Biol Chem, 2009, 284(22): 14904-14913.

[18] Mahn K, Hirst SJ, Ying S, et al. Diminished sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase (SERCA) expression contributes to airway remodelling in bronchial asthma [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(26): 10775-10780.

[19] Reimold AM, Iwakoshi NN, Manis J, et al. Plasma cell differentiation requires the transcription factor XBP-1 [J]. Nature, 2001, 412(6844): 300-307.

[20] Iwakoshi NN, Pypaert M, Glimcher LH. The transcription factor XBP-1 is essential for the development and survival of dendritic cells [J]. J Exp Med, 2007, 204(10): 2267-2275.

[21] Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease [J]. Cell, 2010, 140(6): 900-917.

[22] DuRose JB, Scheuner D, Kaufman RJ, et al. Phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 2alpha coordinates rRNA transcription and translation inhibition during endoplasmic reticulum stress [J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(15): 4295-4307.

[23] Peters LR, Raghavan M. Endoplasmic reticulum calcium depletion impacts chaperone secretion, innate immunity, and phagocytic uptake of cells [J]. J Immunol, 2011, 187(2): 919-931.

[24] Panaretakis T, Kepp O, Brockmeier U, et al. Mechanisms of pre-apoptotic calreticulin exposure in immunogenic cell death [J]. EMBO J, 2009, 28(5): 578-590.

[25] Garg AD, Krysko DV, Verfaillie T, et al. A novel pathway combining calreticulin exposure and ATP secretion in immunogenic cancer cell death [J]. EMBO J, 2012, 31(5): 1062-1079.

[26] Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death [J]. Nat Med, 2007, 13(1): 54-61.

（2016－09－09 收稿　责任编辑：洪志强）