

马钱苷对糖基化终末产物致肾系膜细胞内质网应激的保护作用机制

戴国英^{1,2}, 吕 兴^{1,2}, 许惠琴^{1,2*}, 沈红胜^{1,2}, 陈玉萍^{1,2}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 探讨山茱萸环烯醚萜苷特征性成分马钱苷对糖基化终末产物(AGEs)刺激肾小球系膜细胞(GMCs)内质网应激的保护作用及其机制。**方法** 体外培养 GMCs, 并设对照组、模型组、马钱苷(0.1、1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$)组, 氨基胍(0.1、1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$)组作为阳性对照。加入药物预孵 1 h 后, 用 AGEs (200 mg/L) 刺激, 24 h 后采用 MTS 法检测马钱苷对 GMCs 增殖的影响; Western blotting 法检测 GMCs 中糖基化终末产物受体(RAGE)、内质网应激相关蛋白葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、抑制物阻抗性酯酶(IRE1)、X 盒结合蛋白 1 (XBP1), 炎症相关因子核转录因子- κB (NF- κB)、环氧合酶-2 (COX-2) 及前列腺素 E_2 (PGE₂) 的表达。**结果** 马钱苷能够抑制 AGEs 导致的 GMCs 增殖, 下调 RAGE 蛋白的表达, 改善 GMCs 亚细胞器损伤, 降低内质网相关蛋白 GRP78、IRE1 的表达, 减少 XBP1 蛋白分化, 降低炎症相关蛋白 NF- κB 、COX-2 表达, 降低细胞上清中 PGE₂ 水平。**结论** 马钱苷可改善 AGEs 致 GMCs 的内质网应激, 减轻其引起的炎症反应及细胞器损伤, 其作用机制与降低 RAGE 蛋白表达、抑制 IRE1 通路有关。

关键词: 马钱苷; 糖基化终末产物; 肾小球系膜细胞; 内质网应激; 前列腺素 E_2

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)21-3848-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.21.016

Protective mechanism of loganin on endoplasmic reticulum stress of mesangial cells induced by advanced glycation end products

DAI Guo-ying^{1,2}, LV Xing^{1,2}, XU Hui-qin^{1,2}, SHEN Hong-sheng^{1,2}, CHEN Yu-ping^{1,2}

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Key Laboratory for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing 210023, China

Abstract: **Objective** To investigate the protective effect and the mechanism of loganin (an active component in *Cornus officinalis*) on the endoplasmic reticulum (ER) stress of glomerular mesangial cells (GMCs) induced by advanced glycation end products (AGEs). **Methods** Human GMCs were cultured *in vitro* and divided into control group, model group (AGEs group), loganin group, and amino guanidine group (set as positive control, 0.1, 1.0, and 10.0 $\mu\text{mol/L}$). After being incubated with loganin (final concentration of 0.1, 1.0, and 10.0 $\mu\text{mol/L}$) for 1 h, GMCs were stimulated by AGEs (200 mg/L) for 24 h. Then, the cell proliferation was measured of using MTS method. PGE₂ was investigated by Elisa. Receptors of advanced glycation end products (RAGE), and ER stress-related protein like GRP78, IRE1, XBP1, and inflammatory factor NF- κB and COX-2 in GMCs were detected by Western blotting. **Results** Loganin could suppress the proliferation of GMCs induced by AGEs, improve the subcellular injury of GMCs, down-regulate the expression of ER stress-related protein GRP78, IRE1, XBP1, and RAGE, reduce the inflammation-related protein NF- κB , COX-2, and the level of PGE₂. **Conclusion** Loganin could improve the ER stress of GMCs induced by AGEs, lessen the inflammation and subcellular injury of GMCs, its mechanism might be related to the decreased expression of RAGE and the inhibition of the IRE1 pathway.

Key words: loganin; advanced glycation end products; glomerular mesangial cells; endoplasmic reticulum stress; prostaglandin E_2

糖尿病是一种严重危害人类健康的慢性疾病, 是由于胰岛素绝对不足或相对不足而引起糖、脂肪、蛋白质代谢紊乱的代谢性疾病, 至今仍然无法

根治。糖尿病易引起肾小球功能与结构改变, 包括肾小球超滤、肾小球基底膜增厚及其系膜细胞基质分泌增加等^[1], 从而导致肾功能衰竭。肾小球系膜

收稿日期: 2016-05-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81374029, 81073111); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(nzyzxyj1006)

作者简介: 戴国英(1991—), 女, 硕士, 研究方向为内分泌药理学。E-mail: 562122687@qq.com

*通信作者 许惠琴(1961—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为内分泌药理学。E-mail: hqxu309@sina.com

细胞 (glomerular mesangial cells, GMCs) 是肾小球内重要的固有细胞, 在糖尿病肾病 (DN) 的发生发展中起着关键性的作用^[2]。研究发现, 在 DN 病变初期, GMCs 活化, 发生增殖, 亚细胞器损伤, 并分泌大量的细胞因子, 使细胞外基质 (ECM) 堆积, 产生炎症反应等^[3], 导致肾小球硬化及纤维化。

山茱萸中环烯醚萜苷类成分能有效改善 DN, 通过抑制氧化应激来降低糖基化终末产物 (AGEs) 诱导的肾系膜损伤, 马钱苷为环烯醚萜苷类成分中的主要药效成分^[4], 研究表明, 马钱苷可有效降低 AGEs 诱导的 GMCs 增殖, 改善 GMCs 的形态变化, 抑制 GMCs 的细胞周期^[5]。另外, 马钱苷能调节肾脏细胞内的炎症因子, 抑制氧化应激表达^[6]。而在 DN 状态下, AGEs 的刺激可以导致肾脏细胞产生内质网应激, 进而诱导细胞出现凋亡、死亡或增殖等, 使细胞内炎症等相关细胞因子表达增加, 氧化应激增强, 从而加剧 DN 的病变。因此, 本实验采用 AGEs 诱导 GMCs 产生内质网应激, 观察马钱苷通过干预 GMCs 内质网应激的影响, 减轻 GMCs 炎症反应, 探讨其改善 DN 的作用机制, 为其临床应用提供依据。

1 材料

1.1 细胞

人肾小球系膜细胞 (GMCs), 购自湖南湘雅医学院。

1.2 药品与试剂

马钱苷, 上海源叶生物科技有限公司, 质量分数 $\geq 98\%$, 批号 20100528; 氨基胍, Sigma 公司进口分装。DMEM 培养基、0.25% 胰蛋白酶, 美国 Hyclone 公司; 胎牛血清 (FBS), 南美 GEMINI; MTS, Promega 公司; RIPA 裂解液, 碧云天生物技术有限公司; 前列腺素 E₂ (PGE₂), Mlbio 公司; 糖基化终末产物受体 (RAGE)、葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、抑制物阻抗性酯酶 (IRE1)、X 盒结合蛋白 1 (XBP1)、环氧合酶-2 (COX-2) 抗体, 美国 Abcam 公司; 磷酸化核转录因子- κ B (p-NF- κ B)、核转录因子- κ B (NF- κ B) 抗体, CST 公司。

1.3 实验仪器

Synergy HT 酶标仪, 美国 Bio-Tek 公司; 二氧化碳细胞培养箱, 日本 Sanyo 公司; 超净工作台, 苏州净化设备有限公司; Ti 型倒置荧光显微镜, 日本 Nikon 公司。

2 方法

2.1 AGEs 的制备

以 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4) 为溶剂制备 AGEs: 将 50 g/L 的牛血清白蛋白 (BSA) 与 0.5 mol/L 葡萄糖溶于 PBS 中, 37 °C 避光孵育 3 个月, 使其形成 AGEs。平行条件下配制不加入葡萄糖的上述 BSA 溶液, 以制备无糖基化 BSA 作为对照。待 AGEs 形成后, 用孔径为相对分子质量 10 000 的透析袋低温透析 24 h, 除去未反应的葡萄糖, 用 0.22 μ m 滤膜滤过除菌。

2.2 细胞培养

GMCs 用含 10% FBS 的 DMEM 低糖培养基在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 取对数生长期细胞用于实验。

2.3 MTS 法检测细胞增殖

取对数生长期的分化成熟细胞, 调整细胞密度至 2×10^4 /mL 接种于 96 孔板, 每孔 100 μ L, 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中静置培养 24 h。当细胞贴壁生长至 80%~90% 融合状态时, 换无血清的 DMEM 低糖培养液饥饿培养 23 h, 分别加入氨基胍 (终浓度分别为 10.0、1.0、0.1 μ mol/L)、马钱苷 (终浓度分别为 10.0、1.0、0.1 μ mol/L) 预孵 1 h 后, 加入 200 mg/L AGEs 刺激, 同时设模型组 (200 mg/L AGEs) 和对照组 (200 mg/L BSA), 每组设 6 个复孔。24 h 后每孔加入 MTS 溶液 20 μ L, 继续孵育 1 h, 酶标仪测定 490 nm 处各孔的吸光度 (A) 值, 计算细胞增殖抑制率。

$$\text{细胞增殖抑制率} = (A_{\text{模型组}} - A_{\text{给药组}}) / A_{\text{模型组}}$$

2.4 透射电镜观察细胞形态

取对数生长期的分化成熟细胞, 调整细胞密度至 1×10^5 /mL 接种于培养皿内, 每个皿 5 mL, 于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中静置培养 24 h。当细胞贴壁生长至 80%~90% 融合状态时, 换无血清的 DMEM 低糖培养液饥饿培养 23 h, 加入氨基胍 (终浓度为 1.0 μ mol/L)、马钱苷 (终浓度为 1.0 μ mol/L) 预孵 1 h 后, 加入 AGEs (200 mg/L) 刺激, 同时设模型组和对照组 (处理同“2.3”项)。24 h 后收集细胞, 用不含 EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶消化收集后, 再用预冷的 PBS 清洗 1 遍, 800 r/min 离心 5 min, 弃上清, 去除细胞碎片, 再用 PBS 使细胞重悬, 1 500 r/min 离心 10 min, 使细胞压缩成团, 加入适量 2.5% 戊二醛固定, 用透射电镜观察细胞超微结构变化。

2.5 ELISA 法检测细胞上清中的 PGE₂ 水平

取对数生长期的分化成熟细胞, 调整细胞密度至 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 接种于 24 孔板, 每孔 500 μL , 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中静置培养 24 h。当细胞贴壁生长至 80%~90% 融合状态时, 换无血清的 DMEM 低糖培养液饥饿培养 23 h, 加药及分组同“2.3”项, 每组设 4 个复孔。24 h 后 3 000 r/min 离心 10 min, 提取上清液, ELISA 法检测细胞上清中 PGE₂ 水平, 操作按试剂盒说明进行。

2.6 Western blotting 法检测相关蛋白表达

取对数生长期细胞以 $1.5 \times 10^5/\text{mL}$ 接种于培养皿内, 每个皿 5 mL, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中静置培养 24 h。当细胞贴壁生长至 80%~90% 融合状态时, 换无血清的 DMEM 低糖培养液饥饿培养 23 h, 加药及分组同“2.3”项(氨基胍只设 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 组), 处理 24 h 后 3 000 r/min 离心 10 min, 收集细胞, 用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白, 并测定蛋白浓度。蛋白样品加入 1/4 体积的 4 $\times$ 蛋白上样缓冲液, 95 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸 5 min, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 然后转印至 PVDF 膜上, 用含 5% BSA 的封闭液封闭 1 h, 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。次日 PBST 漂洗 3 次, 加入辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h, ECL 显色。利用 Image J 软件分析各组灰度值, 以 β -actin 为内参计算各蛋白相对表达量。

2.7 统计学分析

实验结果使用 GraphPad Prism 6 软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 One-Way ANOVA 统计方法进行方差分析。

3 结果

3.1 对 GMCs 增殖的影响

给予 AGEs 刺激 24 h 后, 与对照组比较, 模型组 A 值显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氨基胍组在终浓度 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 时, 马钱苷在终浓度 1.0、10.0 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对 AGEs 引起的细胞增殖具有明显的抑制

作用 ($P < 0.05$ 、0.01), 且呈浓度相关性, 结果见表 1。

3.2 对 GMCs 细胞形态的影响

给予 AGEs 刺激 24 h 后, 与对照组比较, 模型组细胞内出现亚细胞器损伤, 内质网管腔肿胀, 排列杂乱; 与模型组比较, 马钱苷、氨基胍 (1.0 $\mu\text{mol/L}$) 可明显改善 AGEs 引起的亚细胞器损伤, 减轻内质网的病变, 见图 1。

3.3 对 GMCs 细胞 RAGE 蛋白表达的影响

给予 AGEs 刺激 24 h 后, 与对照组比较, 模型组的 RAGE 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氨基胍、马钱苷各剂量组均能使 RAGE 的蛋白表达显著降低, 且呈剂量相关性 ($P < 0.01$), 见图 2。

3.4 对 GMCs 细胞 GRP78、IRE1、XBP1 蛋白表达的影响

给予 AGEs 刺激 24 h 后, 与对照组比较, 模型组的 GRP78、IRE1 蛋白表达显著增加, XBP1 的分化显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氨基胍、马钱苷各剂量组均能使 GRP78、IRE1 的蛋白表达降低, XBP1 分化的蛋白减少, 且呈剂量相关性 ($P < 0.05$ 、0.01), 见图 3。

表1 马钱苷对AGEs诱导的GMCs增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 1 Effect of loganin on proliferation of GMCs induced by AGEs ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	C/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	A 值	增殖抑制率/%
对照	—	0.60 ± 0.05	—
模型	—	$0.96 \pm 0.11^{##}$	—
马钱苷	10.0	$0.64 \pm 0.08^{**}$	33.4
	1.0	$0.74 \pm 0.12^{*}$	22.4
	0.1	$0.78 \pm 0.09^{*}$	19.2
氨基胍	10.0	$0.69 \pm 0.21^{*}$	28.5
	1.0	0.78 ± 0.16	18.7
	0.1	0.95 ± 0.19	0.6

与对照组比较: $^{##}P < 0.01$; 与模型组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$

$^{##}P < 0.01$ vs control group; $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs model group

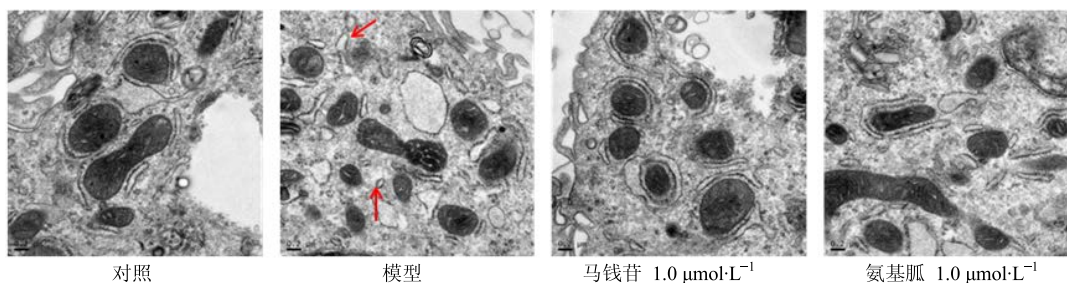
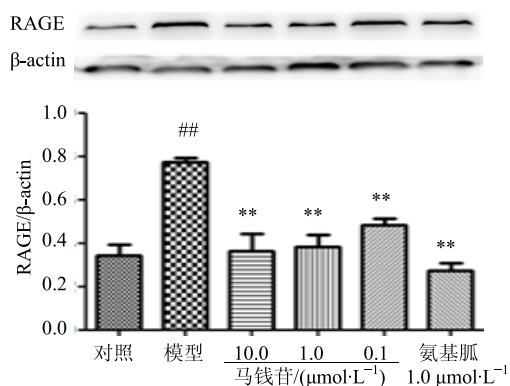


图1 马钱苷对AGEs刺激GMCs超微结构的影响

Fig. 1 Effect of loganin on ultrastructure of GMCs exposed to AGEs



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group

图 2 马钱苷对 AGEs 刺激 GMCs 后 RAGE 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of loganin on protein expression of RAGE in GMCs exposed to AGEs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.5 对 GMCs 细胞 NF-κB、COX-2 蛋白表达的影响

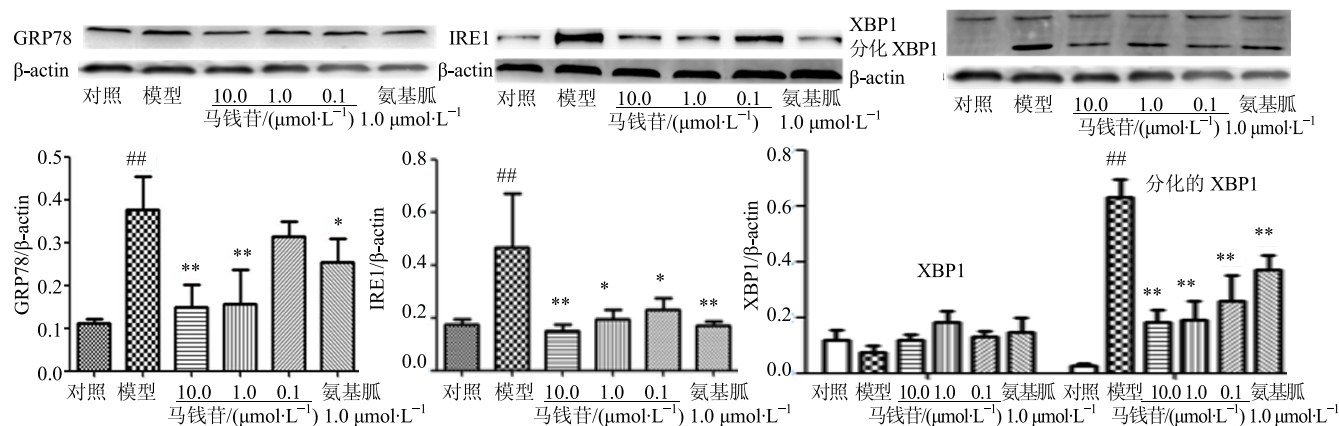
给予 AGEs 刺激 24 h 后, 与对照组比较, 模型组的 NF-κB、COX-2 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氨基胍、马钱苷各剂量组均能使 NF-κB、COX-2 的蛋白表达降低, 且呈剂量相关性 ($P < 0.05$ 、 0.01), 见图 4。

3.6 对 GMCs 细胞上清中 PGE₂ 水平的影响

给予 AGEs 刺激 24 h 后, 与对照组比较, 模型组细胞上清中 PGE₂ 水平显著上升 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 氨基胍 (除 $0.1 \mu\text{mol/L}$)、马钱苷各剂量组均能使细胞上清中 PGE₂ 水平降低, 且呈剂量相关性 ($P < 0.01$), 见图 5。

4 讨论

DN 的发病机制与多种因素密切相关, 包括糖



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 图 4 和 5 同
^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, figures 4 and 5 are same

图 3 马钱苷对 AGEs 刺激 GMCs 后 GRP78、IRE1 和 XBP1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of loganin on expression of GRP78, IRE1, and XBP1 in GMCs exposed to AGEs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

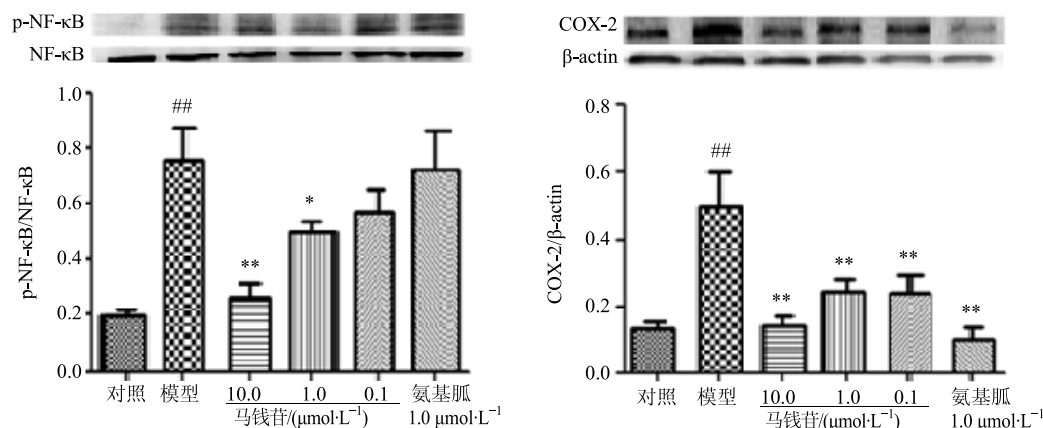


图 4 马钱苷对 AGEs 刺激 GMCs 后 NF-κB 和 COX-2 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Effect of loganin on expression of NF-κB and COX-2 in GMCs exposed to AGEs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

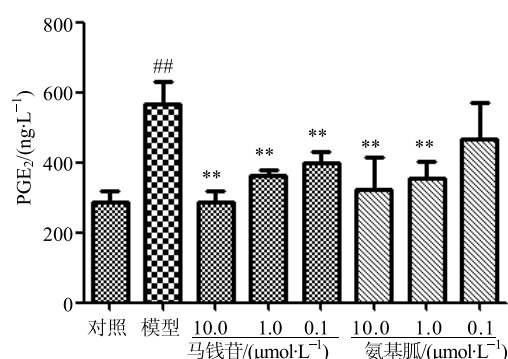


图5 马钱苷对AGEs刺激GMCs后PGE₂水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

Fig. 5 Effect of loganin on level of PGE₂ in GMCs exposed to AGEs ($\bar{x} \pm s$, $n = 4$)

代谢紊乱及非酶糖基化反应等。而非酶糖基化反应是目前关于DN研究的热点。研究表明,AGEs能引起细胞内糖基化,交联形成胶原,以及与RAGE的结合。AGEs及其受体RAGE结合后能引起下游的信号通路的激活,包括NF- κ B的活化,细胞因子和黏附分子的表达增加,诱导氧化应激,增加细胞内的活性氧(ROS)等^[7]。在DN的发病进程中,AGEs能引起系膜细胞增殖,从而导致ECM增加和基底膜增厚。研究表明,系膜细胞合成ECM的异常增加是DN肾小球基底膜增厚和系膜区ECM过度沉积并扩张,最终进展为肾小球硬化的重要病理基础^[3]。本实验研究发现,不同浓度的马钱苷能抑制AGEs引起的GMCs增殖,下调AGEs引起GMCs RAGE表达升高,且随着浓度升高而抑制作用增强,说明马钱苷对GMCs的保护作用可能与RAGE有关。

近年来研究发现,内质网应激在肾脏病理生理学发挥着关键的作用,包括DN^[8-10]。AGEs、高血糖及环孢霉素等能导致内质网内折叠蛋白积累,细胞内出现内质网应激,从而能引起未折叠蛋白效应(UPR)。UPR途径是目前内质网应激中作用机制较为明确,UPR途径通过激活3种跨膜蛋白,形成3条不同的通路。正常情况下,跨膜蛋白都与糖调节蛋白GRP78、GRP94、钙网蛋白、钙联接蛋白等伴侣分子结合而处于无活性状态。在内质网应激条件下,GRP78等链接蛋白与IRE1解离,IRE1通过二聚化或者自身磷酸化被激活^[11-12]。IRE1的激活会导致XBP1 mRNA的非常规剪接,进而产生这种转录因子的活性形式,进而诱导UPR的主要转录程序^[13-15]。Wu等^[16]的研究发现,AGEs引

起内皮细胞产生炎症反应,这与内质网应激有关。Rasheed等^[17]的实验证明,在AGEs诱导的软骨细胞中,内质网应激通过激活eIF2 α 、p-38-MAPK以及NF- κ B促进COX-2的表达增加。本实验结果证明,马钱苷能改善AGEs引起的GMCs亚细胞器损伤,显著降低内质网应激相关蛋白GRP78、IRE1的表达,减少XBP1蛋白的分化,降低NF- κ B的活化以及COX-2蛋白的表达,下调PGE₂水平,提示马钱苷通过抑制IRE1通路,能改善AGEs引起GMCs的内质网应激,抑制NF- κ B的活化,减轻GMCs的炎症反应。

综上所述,马钱苷可有效调节AGEs诱导GMCs产生的内质网应激,减轻GMCs的炎症反应,进而改善DN,其作用机制可能与下调RAGE的表达,抑制IRE1通路有关,但其确切机制仍需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] Yamagishi S, Fukami K, Ueda S, *et al.* Molecular mechanisms of diabetic nephropathy and its therapeutic intervention [J]. *Curr Drug Targets*, 2007, 8(8): 952-959.
- [2] McLennan S V, Death A K, Fisher E J, *et al.* The role of the mesangial cell and its matrix in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Cell Mol Biol*, 1999, 45(1): 123-135.
- [3] Rapacciuolo A, Suvarna S, Barki-Harrington L, *et al.* Protein kinase A and G protein-coupled receptor kinase phosphorylation mediates β -1 adrenergic receptor endocytosis through different pathways [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(37): 35403-35411.
- [4] 曹岗,邵玉蓝,张云,等.山茱萸中马钱子苷的研究进展[J].*现代药物与临床*, 2009, 24(5): 272-275.
- [5] Xu H, Shen J, Liu H, *et al.* Morroniside and loganin extracted from *Cornus officinalis* have protective effects on rat mesangial cell proliferation exposed to advanced glycation end products by preventing oxidative stress [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2006, 84(12): 1267-1273.
- [6] 刘凯,许惠琴,吴佳蕾,等.马钱苷,莫诺苷对AGEs损伤HUVCE的增殖的影响[J].*中药药理与临床*, 2014, 30(3): 53-57.
- [7] Piarulli F, Sartore G, Lapolla A. Glyco-oxidation and cardiovascular complications in type 2 diabetes: a clinical update [J]. *Acta diabetologica*, 2013, 50(2): 101-110.
- [8] Cybulsky A V. Endoplasmic reticulum stress in proteinuric kidney disease [J]. *Kidney Intern*, 2010, 77(3): 187-193.
- [9] Inagi R. Endoplasmic reticulum stress as a progression factor for kidney injury [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2010, 10(2): 156-165.

- [10] Kitamura M. Endoplasmic reticulum stress and unfolded protein response in renal pathophysiology: Janus faces [J]. *Amer J Physiology-Renal Physiol*, 2008, 295(2): F323-F334.
- [11] Shamu C E, Walter P. Oligomerization and phosphorylation of the Ire1p kinase during intracellular signaling from the endoplasmic reticulum to the nucleus [J]. *EMBO J*, 1996, 15(12): 3028-3039.
- [12] Welihinda A A, Kaufman R J. The unfolded protein response pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. Oligomerization and trans-phosphorylation of Ire1p (Ern1p) are required for kinase activation [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(30): 18181-18187.
- [13] Marcella C, Huiqing Z, Fumihiko U, *et al*. IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA [J]. *Nature*, 2002, 415(6867): 92-96.
- [14] Lee K, Tirasophon W, Kaufman R J, *et al*. IRE1-mediated unconventional mRNA splicing and S2P-mediated ATF6 cleavage merge to regulate XBP1 in signaling the unfolded protein response [J]. *Genes Dev*, 2002, 16(16): 452-466.
- [15] Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, *et al*. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor [J]. *Cell*, 2001, 107(7): 881-891.
- [16] Wu L, Wang D, Xiao Y, *et al*. Endoplasmic reticulum stress plays a role in the advanced glycation end product-induced inflammatory response in endothelial cells [J]. *Life Sci*, 2014, 110(1): 44-51.
- [17] Rasheed Z, Haqqi T M. Endoplasmic reticulum stress induces the expression of COX-2 through activation of eIF2 α , p38-MAPK and NF- κ B in advanced glycation end products stimulated human chondrocytes [J]. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Cell Res*, 2012, 1823(12): 2179-2189.