

竹节参总皂苷减轻衰老大鼠的神经细胞凋亡

王瑞, 王佳文, 王婷, 袁丁, 张长城, 赵海霞, 何毓敏, 刘朝奇, 周志勇

(三峡大学医学院, 湖北宜昌 443002)

摘要: 本研究探讨竹节参总皂苷(saponins from *Panax japonicus*, SPJ)对自然衰老大鼠内质网应激相关蛋白的调节作用以及对神经细胞凋亡的干预作用。雄性SD大鼠随机分为6月龄组、24月龄组、SPJ低剂量组(10 mg/kg)和高剂量组(30 mg/kg)。Western blot法检测大鼠皮层和海马内质网应激相关蛋白(GRP78、p-PERK、p-EIF2 α 、ATF4、ATF6、p-IRE1、XBP1)以及凋亡相关蛋白(p-JNK、CHOP、Bcl-2、Bax)表达变化。结果显示,与6月龄组相比,24月龄组皮层/海马组织中GRP78、p-PERK、p-EIF2 α 、ATF4、ATF6、p-IRE1、XBP1和Bcl-2/Bax蛋白表达分别下降了80%/59%、82%/78%、79%/77%、94%/74%、72%/66%、78%/81%、82%/71%和90%/92%,p-JNK/JNK、CHOP蛋白表达分别上升了1/1.72、3.33/1.33倍。给予不同剂量竹节参总皂苷干预后,均能明显上调内质网应激相关蛋白和Bcl-2/Bax的表达水平,下调促凋亡蛋白表达水平。研究结果表明,竹节参总皂苷能通过上调内质网应激相关蛋白以及抗凋亡蛋白的表达水平,下调促凋亡蛋白的表达,从而维持衰老大鼠脑组织的内质网稳态,减少神经细胞凋亡。

关键词: 竹节参总皂苷; 葡萄糖调节蛋白78(GRP78); 衰老

文章编号: 1673-9078(2020)01-8-15

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.1.002

The Total Saponins of *Panax japonicus* Improved the Apoptosis of Natural Aging Rats

WANG Rui, WANG Jia-wen, WANG Ting, YUAN Ding, ZHANG Chang-cheng, ZHAO Hai-xia, HE Yu-min, LIU Chao-qi, ZHOU Zhi-yong

(College of Medical Science, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the regulation of saponins from *Panax japonicus* (SPJ) on endoplasmic reticulum stress-related proteins in natural aging rats and the intervention on neuronal apoptosis. Male SD rats were randomly divided into four groups: 6-month old group, 24-month old group and SPJ-treated groups with the doses of 10 mg/kg and 30 mg/kg. Western blot was used to detect the expression of endoplasmic reticulum stress-related proteins (GRP78, p-PERK, p-EIF2 α , ATF4, ATF6, XBP1) and apoptosis-related proteins (p-JNK, CHOP, Bcl-2, Bax) in cerebral cortex and hippocampus of SD rats. The results showed that, compared with the 6-month old group, the protein expression levels of GRP78, p-PERK, p-EIF2 α , ATF4, ATF6, p-IRE1, XBP1 and Bcl-2/Bax were noticeably reduced by 80% or 59%, 82% or 78%, 79% or 77%, 94% or 74%, 72% or 66%, 78% or 81%, 82% or 71%, 90% or 92% in the cerebral cortex or hippocampus of 24-month old group rats, respectively. And, p-JNK/JNK and CHOP increased by 1 or 1.72, 3.33 or 1.33 times, respectively. In addition, these changes were reversed after different doses of SPJ treatment. In summary, SPJ treatment can maintain endoplasmic reticulum homeostasis in brain tissue by up-regulating the levels of endoplasmic reticulum stress-related proteins and anti-apoptosis proteins, and down-regulating levels of pro-apoptosis-related proteins, hence to reduce neuronal apoptosis of aging rats.

Key words: saponins from *Panax japonicus*; glucose-regulated protein 78(GRP78); aging

随着社会水平提高,老龄化人口比例明显增加,伴随着老龄化到来,衰老相关退行性疾病如阿尔茨海

收稿日期: 2019-08-09

基金项目: 三峡大学学位论文培优基金项目(2019SSPY106); 国家自然科学基金项目(81374001; 81673778)

作者简介: 王瑞(1995-),女,在读硕士研究生,研究方向: 神经病学与中药药理

通讯作者: 周志勇(1983-),男,博士,副教授,研究方向: 衰老相关疾病及中药药理

默症,帕金森病等发病率也不断上升。神经退行性疾病的主要病理表现是神经元大量变性,凋亡。大量研究显示,神经系统病变与内质网功能紊乱密切相关^[1]。当机体受到如氧化还原稳态的失衡、病毒感染、钙离子浓度失调等刺激因素时,内质网蛋白质的折叠过程会受到影响,产生大量折叠和未折叠蛋白囤积在内质网腔中,超出内质网负荷限度,这种状态称为内质网应激^[2]。为了阻止内质网应激对细胞的损害,细胞进化出一套完整感知与应对内质网应激的机制,称为未

折叠蛋白反应(Unfolded protein response, UPR)^[3]。在内质网应激下, UPR 被激活去恢复蛋白质稳态的平衡。反应前期是适应性反应, 包括减少蛋白质合成, 增加蛋白质折叠和转运速度, 增加内质网相关蛋白降解和自噬, 目的是恢复内质网稳态; 一旦细胞无法从这种应激状态恢复过来时, 未折叠蛋白反应进入非适应阶段, 诱导细胞走向凋亡, 导致退行性神经疾病的发生发展^[4]。在衰老过程中, 过度 UPR 导致内质网稳态失衡, 从而诱导神经细胞凋亡。PERK-eIF2 α , IRE1-XBP1, ATF6 是内质网经典三条信号通路^[5]。如有研究发现, 在衰老大鼠的海马中, 内质网分子伴侣 GRP78 的表达下调而促凋亡介质 CHOP 和位于内质网的 caspase-12 的表达增加^[6]。另有研究发现, 在衰老大鼠脑组织中检测到 ATF4 和 GRP78 蛋白水平下调, 凋亡相关基因 p-JNK 和 CHOP 明显上调^[7]。以上研究表明, 内质网稳态在维持神经系统稳定方面发挥重要作用, 衰老过程中引起内质网稳态失衡, 诱导神经细胞凋亡。

竹节参(rhizoma *Panax japonicus*)别名竹节三七、竹节人参、白三七等, 是五加科人参属竹节参(*Panax japonicus*.C.A.Mey)的干燥根状茎, 总皂苷是其主要有效成分。现有研究表明, 竹节参具有抗氧化、抗炎、抗衰老和免疫调节等多种药理作用^[8,9]。有研究发现, 竹节参总皂苷对衰老大鼠脑组织皮层和海马中损伤的神经元具有保护作用, 并能减弱衰老过程中伴随的神经炎症反应^[10]。竹节参总皂苷可通过下调 p-JNK 及 Bax 的表达、上调 Bcl-2 蛋白的表达减轻过氧化氢所致的 SH-SY5Y 细胞凋亡程度^[11]。以上研究提示, 竹节参总皂苷具有一定的神经保护效应。但竹节参是否通过调节内质网稳态发挥抗凋亡效应还未有报道。基于此, 以自然衰老 SD 大鼠为研究对象, 探讨自然衰老过程中脑组织内质网应激相关蛋白变化以及竹节参总皂苷能否通过调节内质网稳态发挥抗凋亡作用, 为后续药物开发提供理论基础和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

SPF 级雄性 SD 大鼠, 由湖北省宜昌市三峡大学动物中心提供, 生产许可证号: SCXK(鄂)2011-0012。饲养在(23±3) °C、相对湿度 60%±5% 以及 12 h 白天和黑夜光照交替循环的 SPF 级动物房中, 自由饮食水。本研究所有程序均符合伦理委员会要求。

实验所用药物竹节参总皂苷从竹节参中提取; 竹节参采购地: 湖北省恩施州宣恩县椿木营竹节参种植

基地, 经日本国立富山大学博士何毓敏讲师鉴定为五加科人参属植物 *Panax japonicus* C.A. Mey。根据文献^[12], 准确称取干燥的竹节参粗粉 40 g(生药中总皂苷含量 143.55 mg/g), 加入乙醇加热回流, 正丁醇萃取, 烘干后得到竹节参产品, 经纯化后总皂苷可达 83.48%。p-EIF2 α (ab32157)、ATF4(ab184909)、p-IRE1 (ser724)、(ab48187)、XBP1(ab37152)、Bcl-2(ab59348) 等抗体购于美国 Abcam 公司; p-PERK(Thr 981) (sc-32577)、ATF-6(sc-166659)、GRP78(sc-13968)、Bax(sc-7480)等抗体购于美国 santa cruz 公司; β -Actin (#4970)、p-JNK(#9251)、JNK(#9252)、CHOP (#2895) 等抗体购于美国 cell signaling 公司, 二抗均购自武汉科瑞生物技术有限公司。其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 模型的制备

购买 18 月龄大鼠 30 只, 均等分为三组, 18 月龄组、SPJ 10 mg/kg 组和 SPJ 30 mg/kg 组, 18 月龄组给予生理盐水灌胃至 24 月龄, SPJ 用药组从 18 月龄开始, 分别灌胃至 24 月龄。每周灌胃 6 d, 连续灌胃 6 个月, 在第 21 个月时, 购买 10 只 3 月龄大鼠在同条件下饲养 3 个月作为 6 月龄组。将 6 月龄组、24 月龄组、SPJ 10 mg/kg 组和 SPJ 30 mg/kg 组四个不同组别的 SD 大鼠经腹腔注射麻醉后, 断头处死, 在冰上快速分离皮层和海马组织部位, 组织储存于 -80 °C 超低温冰箱备用。

1.2.2 Western Blot

准确称取脑组织(皮层或海马)50 mg, 加 500 μ L 裂解液, 提取总蛋白。BCA 法蛋白定量, 加入 loading buffer, 100 °C 变性 10 min, 储存于 -80 °C 冰箱备用。经 SDS-PAGE 凝胶电泳、PVDF 转膜, 5% 牛奶封闭, 敷一抗于 4 °C 摇床过夜, TBST 洗膜, ECL 显影后分析统计结果。

1.2.3 统计学分析

所有实验结果的数据均用均数±SD 表示, 分析实验数据主要采用 Image-proplus 6.0、GraphPad Prism 5 等统计学软件。多组间比较采用单因素分差分析(One-Way ANOVA)进行统计检验分析, $p < 0.05$ 认为具有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 竹节参总皂苷干预对 SD 大鼠脑组织皮层和海马中内质网应激相关蛋白表达水平的影响

2.1.1 竹节参总皂苷对自然衰老大鼠脑组织皮层和海马中 GRP78 蛋白表达水平的影响

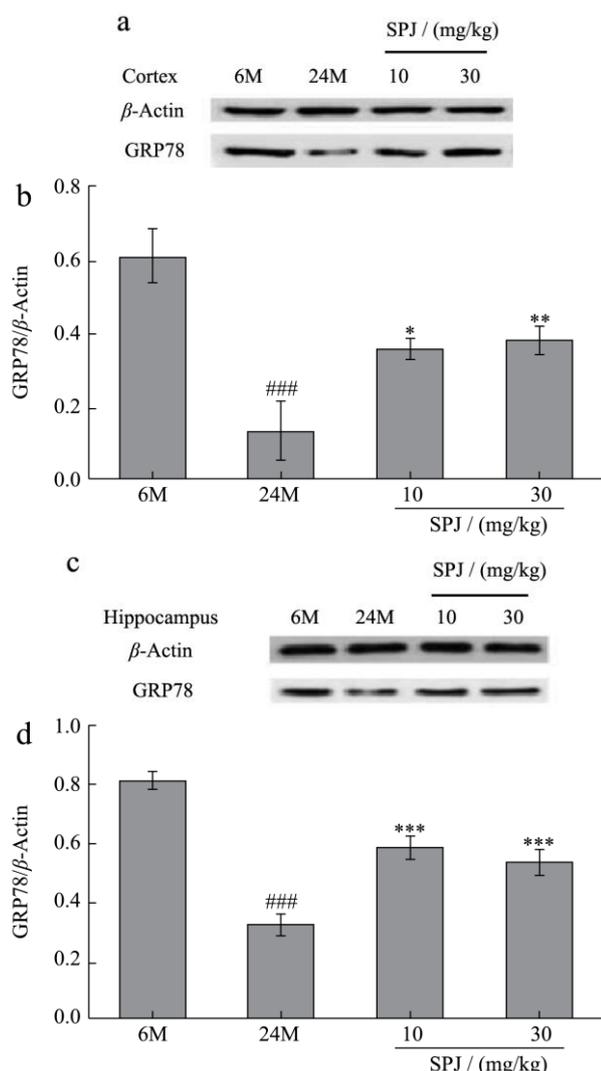


图 1 竹节参总皂苷干预后 SD 大鼠脑组织皮层和海马中 GRP78 蛋白的表达水平变化

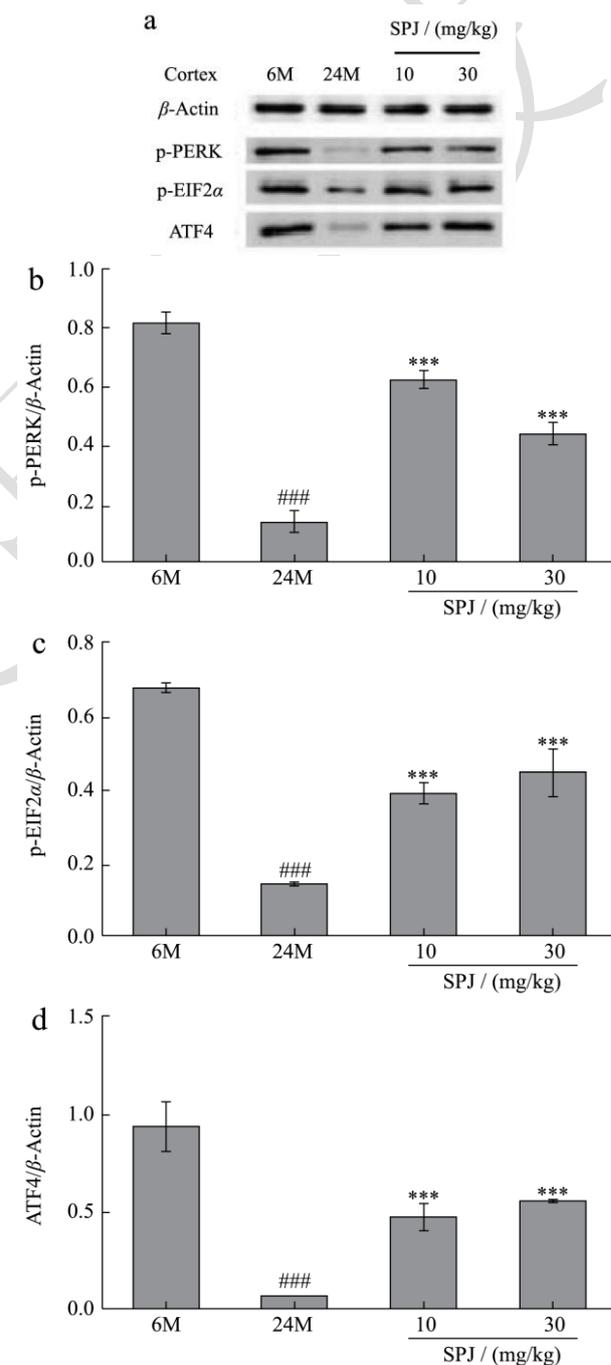
Fig.1 Effect of SPJ on the expression of GRP78 in the cortex and Hippocampus of aging rats (n=4)

注：与 6M 相比，### $p < 0.001$ ；与 24M 相比，* $p < 0.05$ ，** $p < 0.001$ 。

GRP78,也称为免疫球蛋白结合蛋白,主要位于内质网,参与细胞内源性保护过程。内置网应激发生时,未折叠蛋白反应(UPR)被激活,GRP78 表达增加,激活下游通路发挥细胞保护功能。随着年龄的增长,UPR 的许多关键分子如分子伴侣和酶的表达和活性降低^[13]。有研究发现,与青年鼠相比,23~26 月龄衰老鼠皮层和海马组织中 GRP78 蛋白表达均明显减少并表现出 UPR 减弱^[14,15]。如图 1 所示,与 6 月龄大鼠相比,24 月龄自然衰老大鼠皮层和海马中 GRP78 的蛋白表

达水平明显下降($p < 0.05$)。给予不同剂量竹节参总皂苷干预后,均能明显上调 GRP78 的蛋白表达水平,其中,低剂量组中皮层和海马 GRP78 分别上调了 1.93 和 0.77 倍,高剂量组中皮层和海马 GRP78 分别上调了 2.08 和 0.32 倍($p < 0.05$),提示竹节参总皂苷可拮抗衰老导致的 GRP78 活性降低。

2.1.2 竹节参总皂苷对自然衰老大鼠脑组织皮层和海马中 p-PERK、p-EIF2 α 和 ATF4 蛋白表达水平的影响



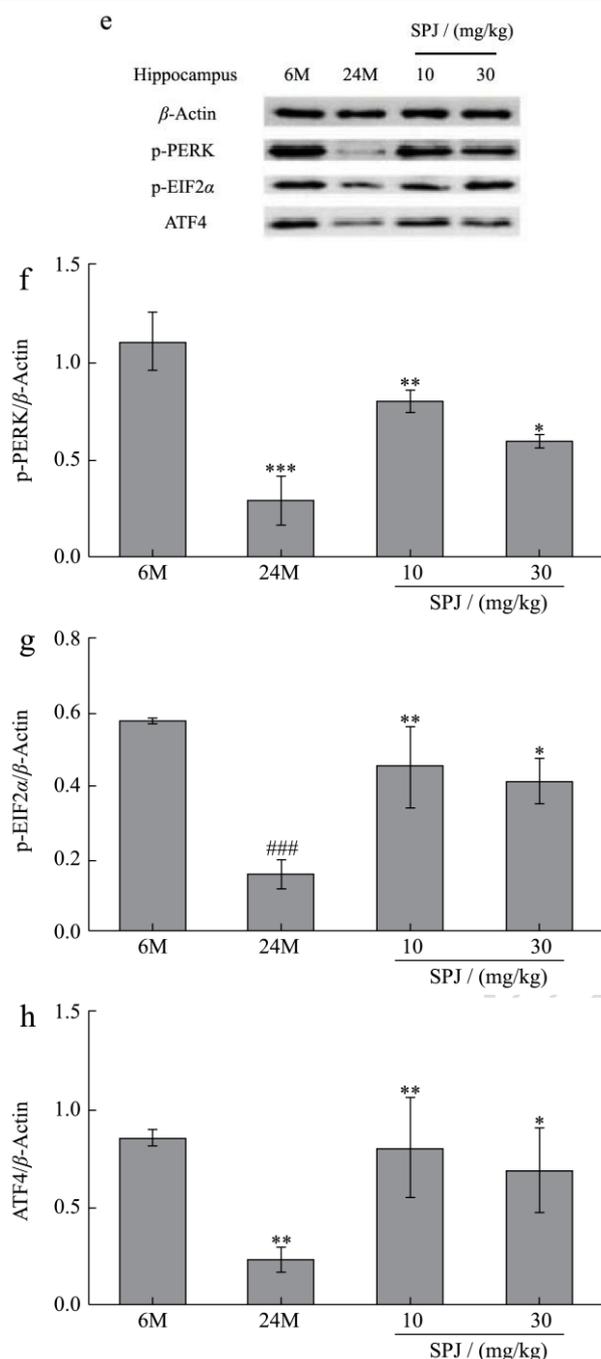


图2 竹节参总皂苷干预后SD大鼠脑组织皮层和海马中p-PERK、p-EIF2 α 、ATF4 蛋白表达水平变化

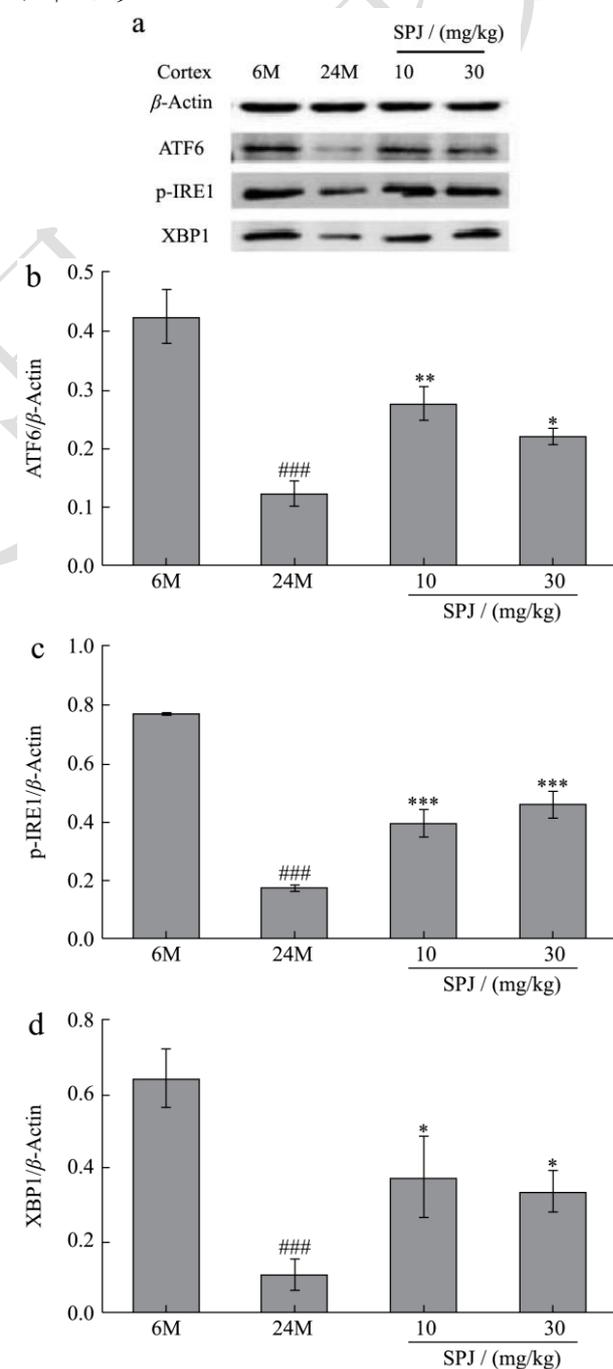
Fig.2 Effect of SPJ on the expression of p-PERK、 p-EIF2 α 、ATF4 in the cortex and hippocampus of aging rats (n=4)

注:与 6M 相比较,### $p < 0.001$,与 24M 相比,*** $p < 0.001$ 。

在内质网应激状态下,通过内质网分子伴侣 GRP78 激活位于内质网膜上的三种应激感受器:包括 PERK、ATF6、IRE1,以启动 UPR^[16]。如图 2 所示,与 6 月龄大鼠相比,24 月龄自然衰老大鼠皮层和海马中 p-PERK、p-EIF2 α 和 ATF4 的蛋白表达水平明显下降($p < 0.05$)。PERK 是内质网膜上 I 型跨膜蛋白,为了减轻内质网中蛋白质折叠的负荷,PERK 发生寡聚化

并被自磷酸化激活,随后去磷酸化下游的 EIF2 α ,下调 ATF4,减少蛋白质合成,利于恢复内质网稳态。随着年龄增加,细胞无法从应激状态恢复过来,内质网稳态破坏,进而引起神经细胞凋亡^[7]。给予不同剂量竹节参总皂苷干预后,均能上调 p-PERK、p-EIF2 α 和 ATF4 的蛋白表达水平,其中低剂量组中皮层和海马 p-PERK、p-EIF2 α 和 ATF4 的蛋白表达分别上调了 3.3/2.18、1.72/2.35 和 7.4/2.5 倍,高剂量组中分别上调了 2/1.27、2.2/2.04 和 9/2 倍($p < 0.05$)。

2.1.3 竹节参总皂苷对自然衰老大鼠脑组织皮层和海马中 ATF6、p-IRE1 和 XBP1 蛋白表达水平的影响



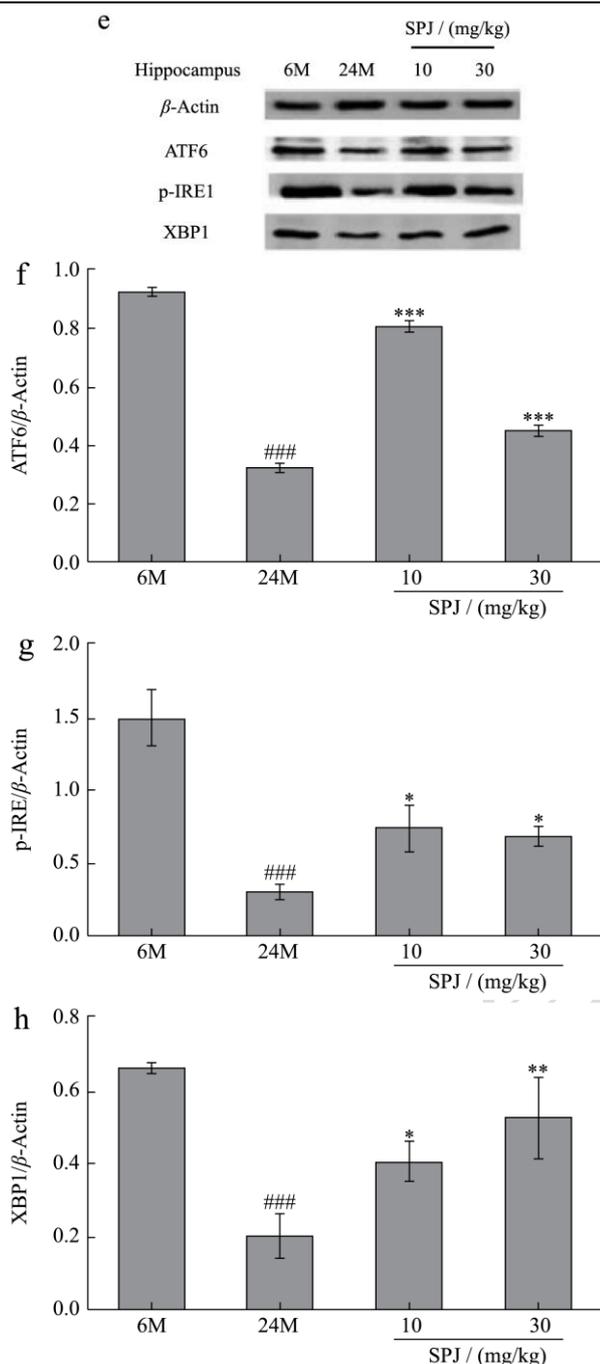


图3 竹节参总皂苷干预后SD大鼠脑组织皮层和海马中ATF6、p-IRE1、XBP1蛋白表达水平

Fig.3 Effect of SPJ on the expression of ATF6, p-IRE1, XBP1 in the cortex and hippocampus of aging rats (n=4)

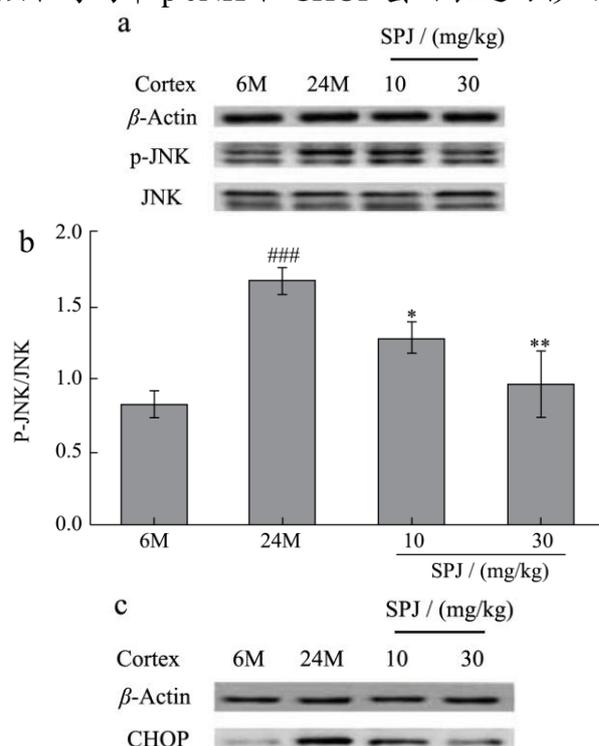
注: 与6M相比较, ### $p < 0.001$, 与24M相比, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 。

ATF6属II型跨膜蛋白,当发生未折叠蛋白反应时,ATF6与GRP78解离并转运至高尔基复合体中,在蛋白酶作用下降解为具有转录活性的ATF6,进入细胞核,调控XBP1以及蛋白质折叠所需蛋白及酶类表达。IRE1信号通路是整个未折叠蛋白反应信号通路最保守的一条分支。在内置网应激的刺激下,IRE1发

生二聚化并反式自磷酸化,构象改变致使其RNA内切酶被激活,选择性地剪切下游XBP1的mRNA,翻译后生成具备转录活性的XBP1s,进入细胞核参与激活未折叠蛋白反应相关基因表达。有研究表明,老化的巨噬细胞表现出IRE1活化减少和对内质网应激依赖性细胞凋亡的易感性增加^[17],衰老过程中在神经元或肠道中选择性过表达XBP1能有效恢复对ERS刺激的敏感性,且XBP1在神经元中过表达对延长寿命具有积极的影响,使动物存活率增加^[18]。如图3所示,与6月龄大鼠相比,24月龄自然衰老大鼠皮层和海马中ATF6、p-IRE1和XBP1的蛋白表达水平明显下降($p < 0.5$)。给予不同剂量竹节参总皂苷干预后,均能上调ATF6、p-IRE1和XBP1的蛋白表达,其中低剂量组中,皮层和海马ATF6、p-IRE1和XBP1的蛋白表达分别上调了1.3/1.62、1.31/1.67和2.33/1.06倍,高剂量组中分别上调了0.8/0.38、1.83/1.33和2/1.76倍($p < 0.05$),提示竹节参总皂苷可一定程度调节衰老过程脑组织内质网应激。

2.2 竹节参总皂苷对自然衰老大鼠脑组织皮层和海马中p-JNK、CHOP、Bcl-2和Bax蛋白表达的影响

2.2.1 竹节参总皂苷对自然衰老大鼠脑组织皮层和海马中p-JNK和CHOP蛋白表达的影响



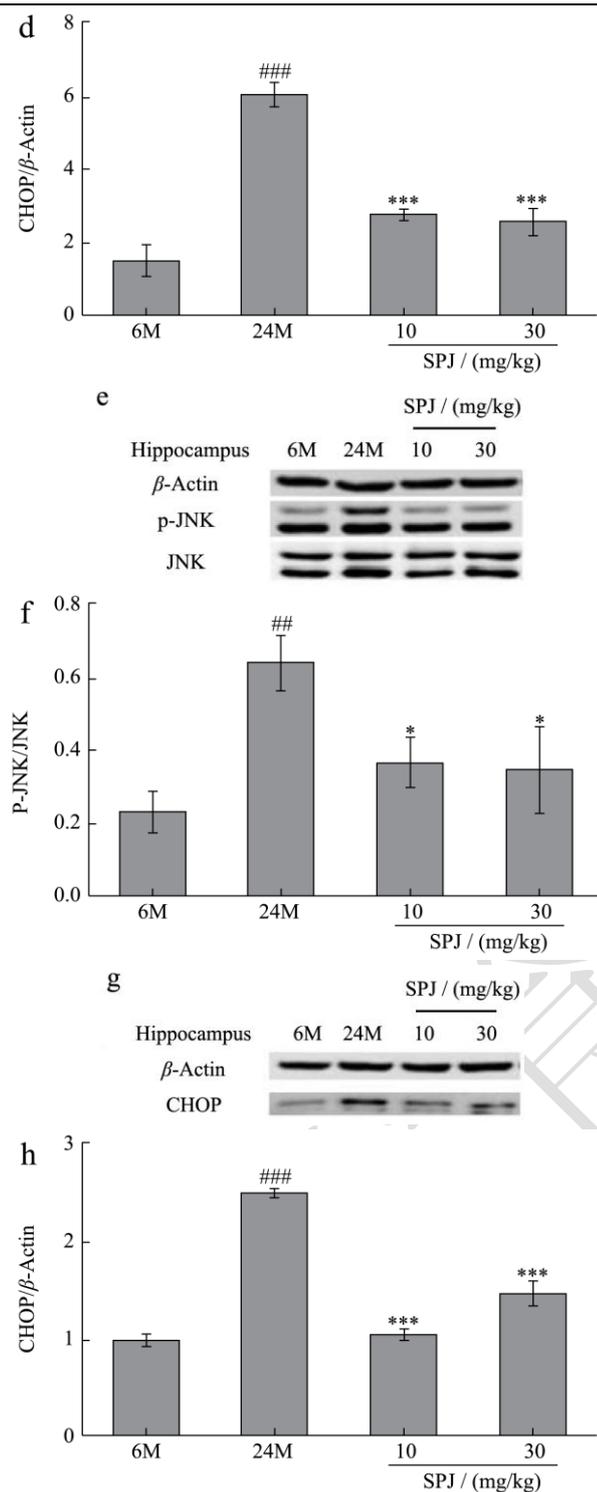


图4 竹节参总皂苷对自然衰老大鼠大脑皮层和海马中p-JNK和CHOP蛋白表达的影响

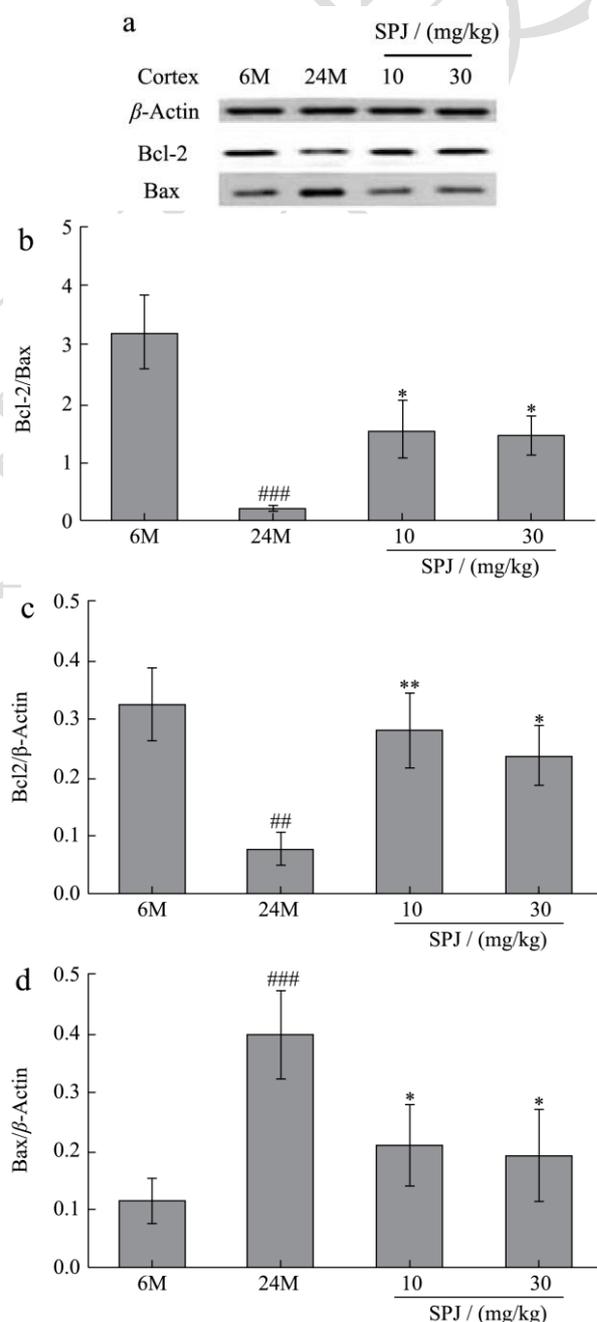
Fig.4 Effect of SPJ on the expression of p-JNK、CHOP in the cortex and hippocampus of aging rats (n=4)

注：与6M相比，### $p < 0.01$ ，与24M比较，* $p < 0.05$ ，** $p < 0.01$ 。

当持续ERS时，未折叠蛋白反应进入非适应阶段，直接激活凋亡相关蛋白JNK、CHOP等通路介导

细胞凋亡。如图4所示，与6月龄SD大鼠相比，24月龄自然衰老大鼠大脑皮层和海马中p-JNK/JNK和CHOP的蛋白表达水平分别上升了1/1.72和3.33/1.33倍($p < 0.05$)，与文献报道一致^[8-10]。给予不同剂量竹节参总皂苷干预后，皮层和海马组织中p-JNK和CHOP的蛋白表达均明显下调($p < 0.05$)。其中低剂量组中皮层和海马分别下调了21%/45%和54%/57%，高剂量组中分别下调了43%/49%和58%/43%，提示竹节参总皂苷对脑组织凋亡起到一定干预作用。

2.2.2 竹节参总皂苷对大鼠脑组织皮层和海马中Bax和Bcl-2蛋白表达的影响



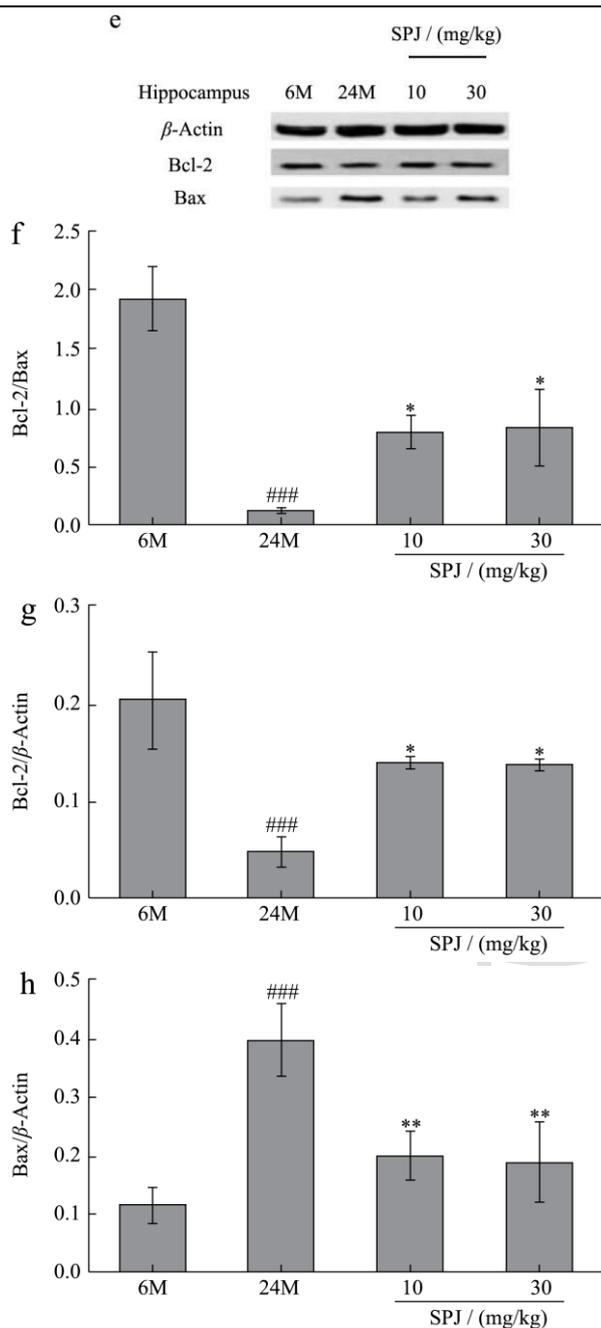


图5 竹节参总皂苷对自然衰老大鼠大脑皮层和海马中 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

Fig.5 Effect of SPJ on the expression of Bcl-2, Bax in the cortex and hippocampus of aging rats (n=4)

注:与 6M 相比, # $p < 0.05$, ### $p < 0.01$, 与 24M 相比, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

JNK 及 CHOP 通路介导细胞凋亡与线粒体介导的细胞凋亡通路密切相关, 诱导细胞凋亡。凋亡抑制基因 Bcl-2 可调节线粒体膜通透性, 阻止细胞色素 C 释放入胞质, 且对下游 Caspase 也有抑制作用, 从而减少细胞凋亡。Bax 与 Bcl-2 为同源分子, 但其功能相反, 是促细胞凋亡的。结果显示, 与 6 月龄大鼠相比, 24 月龄自然衰老大鼠皮层和海马中 Bcl-2/Bax 比值均

明显降低($p < 0.05$), 表明在自然衰老过程中, 脑组织内质网应激增强, 适应能力下降, 蛋白质翻译受到抑制, 未折叠蛋白减少, 内质网应激介导的凋亡通路被激活使细胞走向凋亡。给予不同剂量竹节参总皂苷干预后, 均能下调 Bax 的蛋白表达, 上调 Bcl-2 的蛋白表达, 且 Bcl-2/Bax 显著上升, 其中低剂量组中皮层和海马 Bcl-2/Bax 分别上调了 7.33 和 4 倍, 高剂量组分别上调了 6.5 和 4.5 倍($p < 0.05$), 提示竹节参总皂苷能通过缓解自然衰老大鼠脑组织内质网应激, 改善蛋白翻译抑制, 减少神经细胞凋亡。

3 结论

3.1 研究发现, 衰老组皮层和海马组织中分子伴侣 GRP78 及其下游的 p-PERK、p-EIF2 α 、ATF4、ATF6、p-IRE1、XBP1 的蛋白表达水平均明显降低, 内质网应激凋亡相关蛋白 CHOP、p-JNK、Bax、Bcl-2 的表达水平明显上升, 差异具有统计学意义($p < 0.05$), 说明自然衰老过程中脑组织内质网稳态失衡, 激活内质网应激凋亡通路, 导致神经细胞凋亡, 这与相关文献报道一致^[3,6,7]。给予竹节参总皂苷干预后, 可一定程度恢复内质网应激相关蛋白表达, 并减轻脑组织凋亡程度, 差异具有统计学意义($p < 0.05$), 说明竹节参总皂苷能够干预衰老过程脑组织凋亡进程, 起到抗神经细胞凋亡的作用。

3.2 综上所述, 竹节参总皂苷能调节大鼠脑组织内质网稳态, 减轻衰老大鼠脑组织凋亡程度, 其机制可能与其上调内质网应激 3 条信号通路 PERK、IRE1、ATF6 相关蛋白表达, 减少促凋亡蛋白表达, 增加抗凋亡蛋白表达有关。本实验为竹节参总皂苷改善衰老大鼠脑组织凋亡提供一定理论基础, 同时也为临床应用竹节参总皂苷提供实验基础。

参考文献

- [1] Martínez G, Duran Aniotz C, Cabral Miranda F, et al. Endoplasmic reticulum proteostasis impairment in aging [J]. Aging Cell, 2017, 16(4): 615-623
- [2] Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress [J]. Nature Cell Biology, 2011, 13(3): 184-190
- [3] Wang M, Kaufman R J. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease [J]. Nature, 2016, 529(7586): 326-335
- [4] Hetz C, Chevet E, Harding H P. Targeting the unfolded protein response in disease [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2013, 12(9): 703-719

- [5] Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation [J]. Science, 2011, 334(6059): 1081-1086
- [6] Paz Gavilan M, Pintado C, Gavilan E, et al. Dysfunction of the unfolded protein response increases neurodegeneration in aged rat hippocampus following proteasome inhibition [J]. Aging Cell, 2009, 8(6): 654-665
- [7] Hussain S G, Ramaiah K V A. Reduced eIF2 α phosphorylation and increased proapoptotic proteins in aging [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2007, 355(2): 365-370
- [8] 李春艳,张杰,李劲平,等.竹节参化学成分与药理活性研究进展[J].中医药导报,2012,18(4):68-71
LI Chun-yan, ZHANG Jie, LI Jin-ping, et al. Research on chemical constituents and biological activities of rhizoma of *Panax japonicus* [J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2012, 18(4):68-71
- [9] He H, Xu J, Xu Y, et al. Cardioprotective effects of saponins from *Panax japonicus* on acute myocardial ischemia against oxidative stress-triggered damage and cardiac cell death in rats [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2012,140(1):73-82
- [10] Deng L, Yuan D, Zhou Z, et al. Saponins from *Panax japonicus* attenuate age-related neuroinflammation via regulation of the mitogen-activated protein kinase and nuclear factor kappa B signaling pathways [J]. Neural Regeneration Research, 2017,12(11):1877-1884
- [11] 杨莉,阮波,张长城,等.竹节参总皂苷通过JNK/Bcl-2/Bax信号通路对H₂O₂致SH-SY5Y神经细胞凋亡的保护作用研究[J].中药新药与临床药理,2016,27,5:627-631
YANG Li, RUAN Bo, ZHANG Chang-cheng, et al. Protective effects of total Saponins of *Panax japonicus* on H₂O₂-induced SH-SY5Y cell apoptosis through JNK/Bcl-2/ Bax signaling pathway [J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2016, 27, 5: 627-631
- [12] 何毓敏,鲁科明,袁丁,等.竹节参总皂苷的制备工艺及含量测定[J].中国中药杂志,2008,22:2607-2611
HE Yu-min, LU Ke-ming, YUAN Ding, et al. Preparation technology and content determination of total saponins of *Panax japonicus* [J]. China Journal of Chinese Materia Medical, 2008, 33(22):2607-2611
- [13] Zhang H, Wang Z, Lu X, et al. Endoplasmic reticulum stress: relevance and therapeutics in central nervous system diseases [J]. Molecular Neurobiology, 2015,51(3):1343-1352
- [14] Naidoo N. ER and aging-protein folding and the ER stress response [J]. Ageing Research Reviews, 2009,8(3):150-159
- [15] Cláudio N, Dalet A, Gatti E, et al. Mapping the crossroads of immune activation and cellular stress response pathways [J]. The EMBO Journal, 2013,32(9):1214-1224
- [16] Cao S S, Luo K L, Shi L. Endoplasmic reticulum stress interacts with inflammation in human diseases [J]. Journal of Cellular Physiology, 2016, 231(2): 288-294
- [17] Naidoo N, Ferber M, Master M, et al. Aging impairs the unfolded protein response to sleep deprivation and leads to proapoptotic signaling [J]. Journal of Neuroscience, 2008, 28(26): 6539-6548
- [18] Song Y, Shen H, Du W, et al. Inhibition of x-box binding protein 1 reduces tunicamycin-induced apoptosis in aged murine macrophages [J]. Aging Cell, 2013,12(5):794-801

(上接第 280 页)

- [21] 刘伟森,朱珍,张兴茂,等.清洗方法对蔬菜中有机磷农药残留去除效果的研究[J].现代食品科技,2010,26(12):1395-1398
LIU Wei-sen, ZHU Zhen, ZHANG Xing-mao, et al. Study on removing organophosphorus pesticide residues from vegetable with four rinsing method [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(12): 1395-1398
- [22] 李杨,马智宏,平华,等.不同清洗方法对韭菜中有机磷类农药去除效果的研究[J].食品安全质量检测学报,2016,7(2): 529-534
LI Yang, MA Zhi-hong, PING Hua, et al. Removal efficiency of organophosphorus pesticides in Chinese chives by different rinsing methods [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2016, 7(2): 529-534
- [23] 唐志玲.不同清洗方式对生菜表面农药残留的降解效果[J].农业与技术,2017,37(16):43
TAGN Zhi-ling. Degradation effect of pesticide residues in lettuce by different washing methods [J]. Agriculture and Technology, 2017, 37(16): 43
- [24] 张艳丽,刘宏伟,李勇,等.不同清洗方法对蔬菜中农药残留去除效果的研究[J].河南农业,2016,21(10):26-28
ZHANG Yan-li, LIU Hong-wei, LI Yong, et al. Study on removing pesticide residues from vegetable with different washing methods [J]. Agriculture of Henan, 2016, 21(10): 26-28