

# 心肺复苏大鼠神经元凋亡和内质网应激相关因子 GRP78 及 CHOP 表达的变化

赵芯晨 王晶 何婧瑜 周小超 田欣

**【摘要】** 目的 研究心跳骤停复苏后大鼠脑内质网应激相关因子葡萄糖调节蛋白 78(GRP78) 和 CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP) 表达的动态变化及其与神经元凋亡的关系, 从而探讨内质网应激与脑缺血再灌注损伤的机制。方法 将 48 只 SD 大鼠随机分为对照组和复苏组, 采用经食道起搏诱发室颤法制备大鼠心肺复苏模型; 应用尼氏染色观察各组大鼠海马 CA1 区 6 h、12 h、24 h、48 h 存活神经元形态; 应用 TUNEL 染色法, 观察各组大鼠海马 CA1 区神经元凋亡情况, 并进行凋亡阳性细胞计数; 应用免疫组化法检测 GRP78 及 CHOP 抗原的表达、应用 Western Blot 法检测 GRP78 及 CHOP 蛋白的表达量。结果 与对照组比较, 复苏组大鼠海马 CA1 区神经元细胞变性更严重, 出现凋亡细胞, 随着再灌注时间的延长, 凋亡细胞明显增多。与对照组比较, 复苏组 GRP78 阳性细胞于再灌注 6 h 逐渐增多, 于 12 h 明显增高, 此后表达逐渐减少; 复苏组 CHOP 于再灌注 6 h 开始阳性细胞即有表达, 逐渐增多, 于再灌注 24 h 显著增加, 直至 48 h。结论 心跳骤停复苏后诱发内质网应激, 早期通过上调促生存因子 GRP78 蛋白的表达达到自我保护作用, 晚期通过上调凋亡因子 CHOP 诱导神经元凋亡。

**【关键词】** 心肺复苏; 内质网; 神经元; 凋亡; GRP78; CHOP

doi: 10.3969/j.issn.1009-6574.2017.10.004

**Changes of neuronal apoptosis and expression of endoplasmic reticulum stress related factors GRP78 and CHOP in rats after cardiopulmonary resuscitation** ZHAO Xin-chen, WANG Jing, HE Jing-yu, et al. Emergency Department, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the dynamic changes of endoplasmic reticulum stress-related factors, the expression of glucose regulated protein 78 (GRP78) and CCAAT/ enhancer binding protein homologue protein (CHOP) in rats after cardiac arrest and resuscitation, their relationship with neuronal apoptosis, so as to explore the mechanism of endoplasmic reticulum stress and cerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods** A total of 48 male SD rats were randomly divided into two groups: the group of without cardiopulmonary resuscitation (CPR)(control group)( $n=24$ ) and the group of normothermia after CPR (CPR group)( $n=24$ ). The CPR model in rats were prepared by esophagus pacing induced ventricular fibrillation. At the time of 6 h, 12 h, 24 h, and 48 h after restoration of spontaneous circulation, the morphology of the surviving neurons in the hippocampal CA1 region of rats was observed by Nissl staining. TUNEL staining was used to observe the apoptosis of hippocampal CA1 neurons in rats and to count the number of positive apoptotic cells. The expression of antigen of GRP78 and CHOP was detected by immunohistochemical method. The expression of GRP78 and CHOP was detected by Western Blot method. **Results** Compared with control group, the neuronal cell degeneration in the hippocampal CA1 area was more severe in the resuscitation group. Apoptotic cells increased significantly with the increase of reperfusion time. Compared with control group, GRP78 positive cells in the resuscitation group increased gradually at reperfusion 6 h, and increased significantly in 12 h, and then the expression decreased gradually. In the CPR group, CHOP positive cells began to be expressed at the beginning of the reperfusion 6 h, and gradually increased, and increased significantly at 24 h until 48 h. **Conclusions** Endoplasmic reticulum stress is induced after CA/CPR. It can protect itself at the early stage by upregulated the expression of GRP78 protein, and apoptosis is induced by upregulated apoptosis factor CHOP at the late stage.

**【Key words】** Cardiopulmonary resuscitation; Endoplasmic reticulum; Neurons; Apoptosis; GRP78; CHOP

基金项目:北京市医管局重点医学专业发展项目(ZYLX201706)

作者单位:100053 首都医科大学宣武医院急诊科

通讯作者:王晶 Email: wj139113@xwhosp.org

心跳骤停(Cardiac Arrest, CA)目前仍是常见的临床危重症之一,其中CA后脑损害是CA/心肺复苏(CPR)后导致病情加重,甚至死亡的主要原因之一<sup>[1]</sup>。CA后脑组织严重缺血缺氧,当自主循环恢复以后,脑血流恢复,出现再灌注损伤。脑缺血缺氧再灌注损伤的分子生物学机制主要涉及氧自由基生成、钙稳态失衡、兴奋性氨基酸毒性、脑组织低灌注状态、病理性蛋白酶的级联反应等,它们最终都会直接或间接引起细胞凋亡信号传导通路的激活而导致易损区域(海马、皮层、丘脑等)神经元凋亡。凋亡是神经元死亡的主要形式,它决定神经系统的最终损伤程度<sup>[2-3]</sup>。既往研究多认为线粒体在细胞凋亡中起着核心作用,近年来研究发现内质网在维持细胞稳态和调控细胞凋亡中发挥着同样重要的作用<sup>[4]</sup>。其中内质网应激经典标志物葡萄糖调节蛋白78(Glucose Regulated Protein 78, GRP78)和CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(CCAAT/Enhancer-binding Protein Homologous Protein, CHOP)在脑缺血再灌注损伤后神经元凋亡中发挥着重要作用。

本实验通过经食道起搏诱发室颤法制备大鼠CPR模型,观察CPR后短暂性全脑缺血再灌注后大鼠海马内质网应激相关因子GRP78及CHOP表达的动态变化及其与神经元凋亡的关系,从而对内质网应激与脑缺血再灌注损伤的机制进行探讨。

## 1 材料与方法

1.1 动物与分组 健康成年48只SD大鼠,SPF级,体重350~450 g,雄性,由首都医科大学宣武医院动物实验室提供。随机分为两组:对照组( $n=24$ ),麻醉后行气管插管,股动静脉置管,不进行CA及CPR;复苏组( $n=24$ ),麻醉后行气管插管,股动静脉置管操作,稳定10 min后进行CA及CPR。

### 1.2 方法

1.2.1 室颤模型制备 大鼠术前禁食,自由进水,以大鼠面罩以1%~2%恩氟烷联合30%氧气及70%一氧化二氮混合吸入麻醉,在ZEISS显微镜下经口气管插管,插入16 g套管后连接小动物呼吸机,持续吸入全麻根据大鼠体重由呼吸机设定通气频率,潮气量6.5 ml/kg,吸入氧浓度为21%。经四肢皮下针头监测II导联心电图动态变化;肛门插入内置式温度探头(MP150)监测直肠温度[维持肛温( $37.0 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ ];分离左侧股动静脉,经股动脉插入PE50管接MP150生理记录仪监测血压变化,经股静脉插管,开放静脉通道给药。参考文献<sup>[5-6]</sup>的方法经食道起搏诱发室颤法,持续6 min后行CPR,静脉注射肾上腺素20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,按压频率为200次/min,按压深度为胸廓前后径的1/3,持续3 min,未复苏者予2J非同步单极电除颤。

大鼠恢复室上性心律,收缩压 $> 60$  mmHg(1 mmHg=0.133 kPa),并且维持10 min以上。经上述过程抢救10 min未能恢复自助循环者认为CPR失败;复苏过程中监测大鼠血气情况,超出规定范围者剔除。

1.2.2 灌注取材 取各组动物各3只,10%水合氯醛麻醉大鼠,开胸腹充分暴露心脏和肝脏,剪开心尖,经左心室插导管至主动脉根部并固定,快速灌注生理盐水后剪开右心耳,继续匀速灌注生理盐水300~400 ml,至肝脏变白、右心耳流出澄清液体后,换用4%多聚甲醛固定液匀速灌注300 ml至大鼠颈、肢体僵直,即固定完成。放置2 h左右,然后断头,完整取出鼠脑投入30%蔗糖的多聚甲醛后固定液中,待脑组织沉底后,换后固定液一次,待脑组织再次沉底后即可。

1.2.3 新鲜标本取材 取各组实验动物各3只,10%水合氯醛麻醉,迅速断颈,剪开颅顶部皮肤,剥除颅骨,将脑取出,置于冰上操作,取双侧海马,迅速放入无RNA酶的Eppendorf管中,投入液氮中暂存,随后保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,备用于蛋白的提取。

1.2.4 尼氏染色检测残存神经元形态 20  $\mu\text{m}$ 冰冻切片入焦油紫工作液染15~30 min,切片入蒸馏水洗去浮色,分别入70%,80%,95%梯度酒精脱色各1~2 s,镜下观察尼氏体颗粒清晰;切片入特殊分色液褪去背景颜色(100%乙醇:乙醚:氯仿=1:1:1),晾干后二甲苯透明,中性树胶封片,观察海马神经元的形态改变,400倍显微镜下计数每高倍视野下海马神经元数目。

1.2.5 TUNEL染色检测神经元凋亡 以10  $\mu\text{m}$ 石蜡切片常规脱蜡,用PBST洗涤,3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 甲醇室温孵育30 min,用样品通透液冰浴下通透5 min,血清37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min,加入按1:9稀释好的反应液(阴性对照加50  $\mu\text{l}$  2号液),37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min,加POD转换液,每步之间用PBST洗涤,DAB工作液显色2 min左右,镜下控制染色程度,自来水终止显色反应,裱片,晾干,梯度酒精脱水,二甲苯透明;中性树胶封片,观察海马神经元的形态:凋亡细胞表现为核棕染,着色不均,染色质向外周分散,400倍显微镜下计数每高倍视野下凋亡细胞数目。

1.2.6 免疫组化检测GRP78和CHOP抗原的表达 冰冻切片厚度20~40  $\mu\text{m}$ ,于相应部位连续切片,每隔3张取一张,每个标本每个抗体取4张切片,采用SABC法(注:抗体稀释度,GRP78-2 1:100、CHOP 1:50)DBA显色剂显色,常规封片,400倍显微镜下定性观察。

1.2.7 Western Blot检测GRP78和CHOP蛋白的表达量 采用Folin酚法测定蛋白含量,上样后SDS-

PAGE凝胶电泳,湿转法转PVDF膜,一抗(1:200)4℃孵育过夜结束后选择合适的二抗室温下孵育,化学发光显影成像,比较曝光板上的膜记录下的marker,各条带的位置,将胶片进行扫描或拍照,用凝胶图像处理系统分析目标带的分子量和净光密度值。

1.3 统计学方法 采用SPSS 17.0软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,因组间定量资料差异较大,故采用秩和检验,组内不同时间点比较采用方差分析;相关性分析采用Person相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 残存神经元形态 见图1。尼氏染色发现,对照组神经元形态饱满、核周苍白圈明显、细胞排列整齐;复苏组细胞胞膜皱褶、胞核固缩,呈三角形,核仁消失细胞空泡减少、结构紊乱,可见梭形和三角形细胞,细胞变性严重,胞体缩小,细胞缺失,并且随着再灌注时间的延长,细胞变性越严重。

2.2 神经元凋亡 见图2,表1。对照组,偶见凋亡细胞的表达;复苏组于缺血再灌注6 h后,海马CA1区TUNEL阳性细胞开始增多,细胞核呈棕色或棕褐色,浓缩,致密,核形状不规则,大小不一;再灌注12 h,海马CA1区神经细胞凋亡逐渐增多,峰值持续至48 h。复苏组相邻各时间点比较,6 h与12 h、24 h、48 h比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),12 h与24 h、48 h

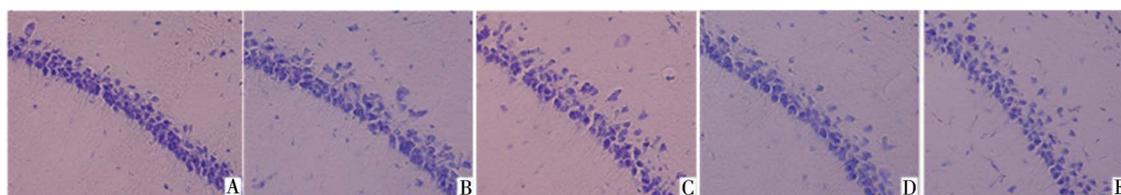
比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),24 h与48 h比较差异无统计学意义( $P = 0.716$ )。

2.3 GRP78和CHOP抗原的表达 (1)GRP78抗原表达:对照组海马CA1区未见明显GRP78表达;复苏组GRP78阳性细胞于再灌注6 h即有表达,于12 h明显增高,此后表达有所减少;阳性染色细胞呈棕黄色,于细胞胞浆内,细胞形态基本正常;(2)CHOP抗原表达:对照组大鼠海马CA1区神经细胞未见明显CHOP阳性表达;复苏组CHOP于再灌注6 h开始即有表达,逐渐增多,于再灌注24 h显著增加,直至48 h;阳性细胞呈棕黄色,胞质可有淡染,细胞质及部分突起,细胞胞体较大,呈卵圆形或三角形。

2.4 GRP78和CHOP蛋白的表达 见图3,表2,3。对照组GRP78及CHOP蛋白微弱表达,条带较弱;复苏组,GRP78蛋白于再灌注后6 h即有表达,于再灌注12 h达高峰,而后逐渐下降,48 h仍有表达。复苏组,CHOP蛋白于再灌注6 h即有表达,随着时间的延长逐渐增加,于再灌注24 h达高峰,持续至48 h;CHOP的阳性表达与神经细胞凋亡随时间变化趋势一致,两者呈正相关[6 h( $r = 0.522, P = 0.150$ ),12 h( $r = 0.749, P = 0.020$ ),24 h( $r = 0.807, P = 0.009$ ),48 h( $r = 0.913, P = 0.001$ )]。

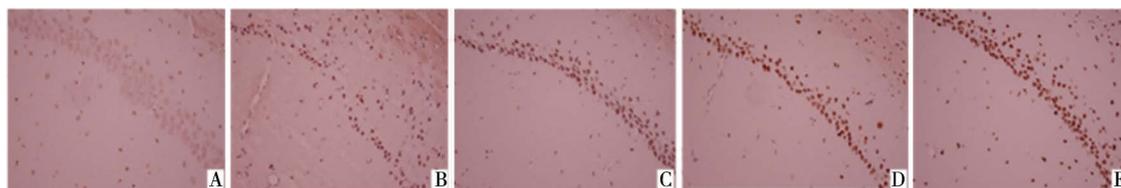
## 3 讨论

CA/CPR至短暂的全脑缺血再灌注后,一系列复



注:A 对照组;B 复苏组6 h;C 复苏组12 h;D 复苏组24 h;E 复苏组48 h

图1 神经元尼氏染色(400×)



注:A 对照组;B 复苏组6 h;C 复苏组12 h;D 复苏组24 h;E 复苏组48 h

图2 凋亡细胞TUNEL染色(400×)

表1 两组大鼠各时间点TUNEL染色阳性细胞计数( $\bar{x} \pm s$ )

组别	6 h	12 h	24 h	48 h	F值	P值
对照组	3.22 ± 1.09	4.00 ± 1.00	3.44 ± 1.33	3.78 ± 1.09	0.83	> 0.05
复苏组	15.56 ± 3.61	22.00 ± 2.45 <sup>#</sup>	39.56 ± 7.40 <sup>*#</sup>	45.11 ± 10.30 <sup>*#</sup>	39.42	< 0.01
Z值	3.595	3.606	3.589	3.595		
P值	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05		

注:与6 h比较\* $P < 0.01$ ,与12 h比较# $P < 0.01$

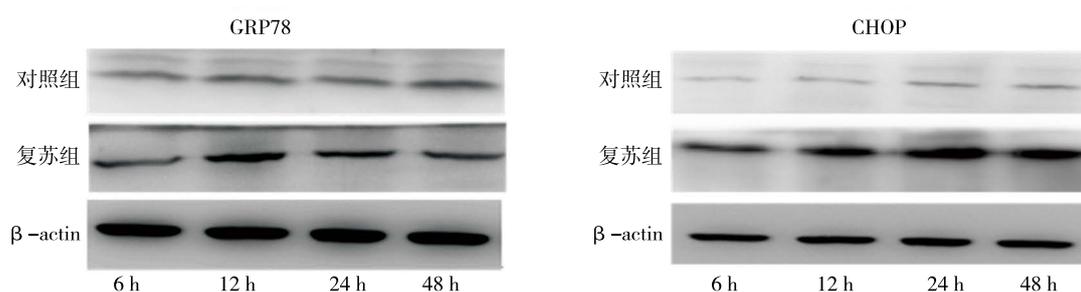


图3 对照组、复苏组 GRP78 和 CHOP 蛋白的表达条带图

表2 两组大鼠各时间点 GRP78 蛋白的表达量( $\bar{x} \pm s$ )

组别	6 h	12 h	24 h	48 h	F 值	P 值
对照组	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.00	0.24 ± 0.11	0.36	> 0.05
复苏组	0.36 ± 0.03*	0.78 ± 0.12	0.47 ± 0.07*	0.39 ± 0.04*	20.19	< 0.01
Z 值	1.964	1.964	1.964	1.964		
P 值	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05		

注: 与 12 h 组比较 \* $P < 0.01$ 表3 两组大鼠各时间点 CHOP 蛋白的表达量( $\bar{x} \pm s$ )

组别	6 h	12 h	24 h	48 h	F 值	P 值
对照组	0.33 ± 0.01	0.32 ± 0.02	0.32 ± 0.01	0.32 ± 0.01	0.92	> 0.05
复苏组	0.40 ± 0.04	0.62 ± 0.07	0.88 ± 0.14**	1.02 ± 0.21**	12.83	< 0.01
Z 值	1.964	1.964	1.964	1.964		
P 值	< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05		

注: 与 6 h 比较 \* $P < 0.01$ , 与 12 h 比较 # $P < 0.05$ 

杂的病理生理反应最终导致神经元迟发性死亡; 内质网是加工、转运蛋白质和  $\text{Ca}^{2+}$  储存的主要场所, 也是凋亡信号整合的主要位点, 缺血缺氧、病毒感染等有害刺激可使内质网功能紊乱, 出现蛋白质加工/转运障碍, 蛋白质不能正确折叠, 导致错误折叠蛋白在内质网腔内堆积以及  $\text{Ca}^{2+}$  失衡, 诱发内质网应激<sup>[7-9]</sup>。早期, 内质网应激可激活相关保护性因子来维持内质网正常功能, 但过强或时间过长的内质网应激则会诱导下游凋亡分子的转录, 最终诱导细胞凋亡发生<sup>[10]</sup>。葡萄糖调节蛋白 GRP78, 生理状态下处于无活性状态, 脑缺血再灌注时诱发内质网应激, 保护性因子 GRP78 表达上调, 协助错误蛋白折叠修复, 维持内环境稳态, 因此 GRP78 在应激状态下对细胞起到促生存效应<sup>[11]</sup>; Ye 等<sup>[12]</sup>发现, 脑缺血再灌注后 COX-2 抑制剂帕瑞昔布可诱导大鼠神经细胞 GRP78 的增加, 抑制神经元凋亡。同源蛋白 CHOP, 是联系内质网应激与细胞凋亡的重要信号分子, 其被激活后可通过调节下游基因的表达而促进凋亡<sup>[13-14]</sup>; Liu 等<sup>[15]</sup>通过制作 MCAO 模型发现, 远程缺血后适应可降低 CHOP 等在缺血半暗带的表达, 减小梗死体积, 发挥抗神经元凋亡作用。可见, GRP78 和 CHOP 在脑缺血再灌注损伤后神经元凋亡中发挥着重要作用。

本实验发现, 对照组未见 GRP78 和 CHOP 蛋白的表达; CPR 后 6 h, GRP78 和 CHOP 蛋白表达开始上调, 较对照组明显增加, 提示缺血再灌注早期启动了内质网应激; GRP78 于缺血再灌注 6 h 开始表达, 再灌注 12 h 达高峰, 此后逐渐下调, 24~48 h 仅有微量表达, 我们认为在脑缺血再灌注早期内质网应激启动保护性因子 GRP78 大量表达, 抑制神经元凋亡, 维持内环境稳态, 随着再灌注时间的延长, 细胞损伤严重, 未折叠蛋白过度消耗, GRP78 最终蛋白合成受到抑制启动下游的凋亡通路导致细胞凋亡, 表明脑缺血再灌注神经元的损伤与 GRP78 表达下降相关; 而此时促凋亡因子 CHOP 蛋白表达逐渐升高, 于 12 h 显著升高, 再灌注 24 h 达高峰, 峰值持续至 48 h, 最终诱导细胞凋亡; Wang 等<sup>[16]</sup>发现, GRP78 过表达可抑制神经元凋亡, GRP78 表达的增多可抑制 CHOP 的表达; 本研究中虽未发现 GRP78 和神经细胞凋亡有相关性, 也未发现 GRP78 和 CHOP 相关, 但本研究发现, GRP78 表达升高相对应的时间点神经元凋亡减少, CHOP 的表达量减少, 而当 GRP78 表达下调时, CHOP 表达明显增加, 神经元凋亡数量增多; 并且本实验还发现, CHOP 蛋白的表达与神经元凋亡时间变化趋势是一致的, 具有正相关性, 由此我们推测,

GRP78 早期上调具有抑制神经元凋亡的作用,随着再灌注时间的延长,细胞损伤严重,GRP78 依赖的促生存途径被抑制,CHOP 依赖的促神经元凋亡途径逐渐发挥主要作用,最终导致神经元凋亡。本研究中发现 GRP78 和 CHOP 蛋白表达升高的时间和峰值与前人的研究存在一定差异,考虑与动物类别、模型的不同及缺血、观察时间的不同有关。

本实验通过尼氏染色进一步观察到,再灌注 6 h 海马 CA1 区即出现神经元形态的改变,残存神经元结构紊乱,缺失明显,随着再灌注时间的延长,细胞变性明显,48 h 细胞损伤仍较严重,存活神经元明显减少;TUNEL 染色显示再灌注 6 h 即出现神经元凋亡,随着再灌注时间的延长,凋亡神经元逐渐增多,24 h 达高峰,持续至 48 h,这与以往研究中神经元凋亡的时间趋势一致;由此说明,CA/CPR 后 6 h 即出现严重的神经元损伤,随着缺血再灌注时间的延长,神经元的缺失及神经元的凋亡逐渐加重,最终加重神经元损害影响神经功能。

综上所述,CA/CPR 后诱发内质网应激,早期通过上调促生存因子 GRP78 蛋白的表达达到自我保护作用,随着促生存因子、促凋亡因子表达的失衡,晚期通过上调凋亡因子 CHOP 诱导神经元凋亡,最终影响神经功能。

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] Turakhia M, Tseng ZH. Sudden cardiac death: epidemiology, mechanisms, and therapy[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2007, 32(9): 501-546.
- [ 2 ] Nakka VP, Gusain A, Mehta SL, et al. Molecular mechanisms of apoptosis in cerebral ischemia: multiple neuroprotective opportunities[J]. *Mol Neurobiol*, 2008, 37(1): 7-38.
- [ 3 ] Kwon WY, Suh GJ, Kim KS, et al. Niacin suppresses the mitogen-activated protein kinase pathway and attenuates brain injury after cardiac arrest in rats[J]. *Crit Care Med*, 2013, 41(9): e223-e232.
- [ 4 ] Nakka VP, Gusain A, Raghuram R. Endoplasmic reticulum stress plays critical role in brain damage after cerebral ischemia/reperfusion in rats[J]. *Neurotox Res*, 2010, 17(2): 189-202.
- [ 5 ] Song FQ, Xie L, Chen MH. Transoesophageal cardiac pacing is effective for cardiopulmonary resuscitation in a rat of asphyxial model[J]. *Resuscitation*, 2006, 69(2): 263-268.
- [ 6 ] 王晶, 何婧瑜, 田欣, 等. 胰岛素对心肺复苏术后大鼠海马神经元凋亡及神经功能缺失评分的影响[J]. *中国脑血管病杂志*, 2009, 6(10): 538-542.
- [ 7 ] Oida Y, Shimazawa M, Imaizumi K, et al. Involvement of endoplasmic reticulum stress in the neuronal death induced by transient forebrain ischemia in gerbil[J]. *Neuroscience*, 2008, 151(1): 111-119.
- [ 8 ] Hebert DN, Molinari M. In and out of the ER: protein folding, quality control, degradation, and related human diseases[J]. *Physiol Rev*, 2007, 87(4): 1377-1408.
- [ 9 ] DeGracia DJ, Hu BR. Irreversible translation arrest in the reperfused brain[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(5): 875-893.
- [ 10 ] 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.
- [ 11 ] Yu Y, Zhang L, Liu Q, et al. Endoplasmic reticulum stress preconditioning antagonizes low-density lipoprotein-induced inflammation in human mesangial cells through upregulation of XBP1 and suppression of the IRE1 $\alpha$ /IKK/NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(3): 2048-2054.
- [ 12 ] Ye Z, Wang N, Xia P, et al. Parecoxib suppresses CHOP and Foxo1 nuclear translocation, but increases GRP78 levels in a rat model of focal ischemia[J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(4): 686-693.
- [ 13 ] Osada N, Kosuge Y, Ishige K, et al. Characterization of neuronal and astroglial responses to ER stress in the hippocampal CA1 area in mice following transient forebrain ischemia[J]. *Neurochem Int*, 2010, 57(1): 1-7.
- [ 14 ] Raghuram R, Nakka VP, Mehta SL. Endoplasmic reticulum stress in brain damage[J]. *Methods Enzymol*, 2011, 489: 259-275.
- [ 15 ] Liu X, Zhao S, Liu F, et al. Remote ischemic preconditioning alleviates cerebral ischemic injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis[J]. *Transl Stroke Res*, 2014, 5(6): 692-700.
- [ 16 ] Wang XZ, Lawson B, Brewer JW, et al. Signals from the stressed endoplasmic reticulum induce C/EBP-homologous protein (CHOP/GADD153) [J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(8): 4273-4280.

(收稿日期: 2017-09-17)