

## 内毒素耐受对人中性粒细胞抗炎反应的影响

陈 杨,祝祥清,程筱番,仇嘉颖,徐 艳,孙 颖\*

(南京医科大学口腔疾病研究江苏省重点实验室,南京医科大学附属口腔医院牙周科,江苏 南京 210029)

**[摘要]** 目的:探讨脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的耐受对人中性粒细胞分泌抗炎因子白介素(interleukin, IL)-10及细胞凋亡水平的影响。方法:采用 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P.gingivalis*)LPS 或者 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E.coli*)LPS 刺激人中性粒细胞 12 h,诱导细胞耐受。洗脱后,分别采用 2 种 LPS 再次刺激 20 h,采用 ELISA 技术检测细胞分泌 IL-10 水平。同法诱导细胞耐受,洗脱后,再次刺激 3 h,采用 AV-PI 法检测细胞凋亡水平。结果:*P.gingivalis* LPS 或 *E.coli* LPS 单次刺激人中性粒细胞后,IL-10 分泌水平较刺激前明显增加( $P<0.05$ ),凋亡水平则无明显改变( $P>0.05$ )。2 种 LPS 分别重复刺激之后,IL-10 分泌水平均较单次刺激后显著增加( $P<0.05$ )。*P.gingivalis* LPS 重复刺激 3 h 后,中性粒细胞短期内凋亡水平与单次刺激后无明显改变( $P>0.05$ ),而 *E.coli* LPS 重复刺激 3 h 后,细胞短期内凋亡水平较单次刺激后明显下降( $P<0.05$ )。结论:内毒素耐受能促进人中性粒细胞分泌 IL-10,但不同 LPS 诱导的耐受对细胞凋亡水平的影响可能存在差异。

**[关键词]** 内毒素耐受;中性粒细胞;白细胞介素-10;凋亡

**[中图分类号]** R392.12

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2017)01-0030-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20170106

## Effects of endotoxin tolerance on anti-inflammatory responses in human neutrophils

Chen Yang, Zhu Xiangqing, Cheng Xiaofan, Qiu Jiaying, Xu Yan, Sun Ying\*

(Jiangsu Key Laboratory of Oral Diseases, Department of Periodontology, Affiliated Hospital of Stomatology, NJMU, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effects of endotoxin tolerance induced by lipopolysaccharide (LPS) on the production of anti-inflammatory cytokine IL-10 and the level of apoptosis in human neutrophils. **Methods:** Neutrophils were pretreated with 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) LPS or 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  *Escherichia coli* (*E.coli*) LPS for 12 h to induce cell tolerance. Then, the cells were washed and stimulated with the same LPS for additional 20 h (for ELISA) or 3 h (for flow cytometry). Levels of IL-10 in supernatants and apoptosis of neutrophils were detected by ELISA and flow cytometry, respectively. **Results:** After 20 h, the amount of IL-10 secreted by neutrophils treated with *P.gingivalis* LPS or *E.coli* LPS was increased significantly compared with that without any stimulation ( $P<0.05$ ), while no significant changes of apoptosis in neutrophils with LPS stimulation were observed after 3 h ( $P>0.05$ ). After restimulation with *P.gingivalis* LPS or *E.coli* LPS, IL-10 production was increased significantly compared with that secreted by neutrophils challenged with the same LPS only once ( $P<0.05$ ). However, no significant changes of apoptosis in the short term were detected after *P.gingivalis* LPS retreatment for 3 h ( $P>0.05$ ), and apoptosis levels in the short term were significantly decreased after *E.coli* LPS restimulations for 3 h ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Endotoxin tolerance might contribute to the increased production of IL-10 in human neutrophils, but the effects of tolerance on apoptosis might depend on the types of LPS.

**[Key words]** endotoxin tolerance; neutrophils; IL-10; apoptosis

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(01):0030-0034]

牙周炎是严重危害口腔健康的一种慢性感染

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81370025);江苏省自然科学基金(BK20161565)江苏省高等学校大学生实践创新训练计划(201310312017Z);江苏高校优势学科建设工程资助项目(2014-37)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: ebolasun@njmu.edu.cn

性疾病,牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*, *P.gingivalis*)是最重要的牙周致病菌之一<sup>[1]</sup>。脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)是 *P.gingivalis* 重要的致病因子,能直接破坏牙周组织细胞,促进骨吸收。同时,作为一种炎性刺激物, *P.gingivalis* LPS 还能促进肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、

白介素(interleukin,IL)-8、IL-10 等多种细胞因子释放,启动非特异性和特异性免疫反应,在牙周炎的发生发展过程中具有重要作用<sup>[2]</sup>。

在牙周炎漫长的病程中,*P.gingivalis* LPS 的长期刺激可能会诱使机体对后续刺激的反应性减弱,即产生内毒素耐受<sup>[3]</sup>。这种耐受可能有助于减轻宿主过度的炎症反应引起的牙周组织破坏,但也可能降低宿主杀灭致病菌的能力,增加感染风险。

中性粒细胞是非特异性免疫系统的重要成员,也是牙周组织中重要的炎性浸润细胞之一。其分泌的细胞因子种类和数量虽远远少于单核/巨噬细胞,但受到刺激后,可通过分泌大量 IL-10 发挥抗炎作用<sup>[4]</sup>。中性粒细胞属终末细胞,成熟后 24 h 即启动凋亡程序,其寿命直接影响炎症反应和免疫破坏的程度。

内毒素耐受对中性粒细胞的抗炎反应究竟有何影响,尚不得而知。本研究拟构建人中性粒细胞内毒素耐受模型,探讨 *P.gingivalis* LPS 诱导的耐受对细胞 IL-10 分泌功能和凋亡水平的影响,为进一步阐明内毒素耐受对牙周组织炎症和免疫反应的影响提供实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

中性粒细胞分离试剂 Polymorphprep (Axis-Shield 公司,挪威),*P.gingivalis* ATCC 33277 LPS (Invivogen 公司,美国),*E.coli* O127:B8 LPS (Sigma 公司,美国),人 IL-10 ELISA Kit (武汉华美生物公司),FITC annexin V 凋亡检测试剂盒 (BD 公司,美国),Spectramax190 分光光度计 (MD 公司,美国),流式细胞仪 FACSCalibur (BD 公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 人中性粒细胞内毒素耐受模型的构建

本研究经南京医科大学伦理委员会批准,所有纳入研究的志愿者均签署知情同意书。采集健康志愿者外周血 10 mL,常规密度梯度离心法分离获得中性粒细胞<sup>[5]</sup>。

将获得的中性粒细胞以  $5 \times 10^5$  个/mL 密度接种于 6 孔板,分成 5 组,每组 5 个复孔:空白对照组(A组)、*P.gingivalis* LPS 单次刺激组(B组)、*P.gingivalis* LPS 重复刺激组(C组)、*E.coli* LPS 单次刺激组(D组)、*E.coli* LPS 重复刺激组(E组)。A、B、D 组加入不含 LPS 的 RPMI1640 培养液,C 组、E 组分别加入

预先配制的含  $1 \mu\text{g/mL}$  *P.gingivalis* LPS 的 RPMI 1640 培养液或含  $1 \mu\text{g/mL}$  *E.coli* LPS 的 RPMI1640 培养液。12 h 后,弃培养液上清,洗脱 2 h。A 组仍加入不含 LPS 的 RPMI1640 培养液,B、C 组加入预先配制的含  $1 \mu\text{g/mL}$  *P.gingivalis* LPS 的 RPMI1640 培养液,D、E 组加入含  $1 \mu\text{g/mL}$  *E.coli* LPS 的 RPMI 1640 培养液,再次分别刺激 20 h(用于 ELISA 检测)或 3 h(用于凋亡水平的检测),收集细胞条件培养液上清或细胞。将条件培养液分装于 EP 管中, $-40^\circ\text{C}$  储存备用<sup>[6]</sup>;收集的细胞即刻送检。

#### 1.2.2 中性粒细胞内毒素耐受后的 IL-10 表达水平

将各组细胞条件培养液在常温下溶解,按照 ELISA 试剂盒的说明书,取  $50 \mu\text{L}$  条件培养液,加入包被了 IL-10 单抗的 96 孔板中,采用双抗体夹心法检测细胞因子的表达水平。终止反应后,检测 450 nm 的吸光度值。根据标准曲线,将各组样本吸光度值换算成所测定的细胞条件培养液中 IL-10 的浓度。

#### 1.2.3 中性粒细胞内毒素耐受后凋亡水平的检测

将收集的中性粒细胞浓度调整为  $1 \times 10^6$  个/mL。按照 FITC annexin V 凋亡检测试剂盒说明书,取 1 mL 重悬后的中性粒细胞,加入  $5 \mu\text{L}$  Annexin V-FITC 和  $10 \mu\text{L}$  PI,轻轻混匀,室温避光反应 15 min 后,流式细胞仪检测细胞凋亡水平,采用激发波长  $E_x=488 \text{ nm}$ ;发射波长  $E_m=530 \text{ nm}$ 。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,各组数据间的比较采用单因素方差分析,采用 LSD 检验进行组间两两比较, $P \leq 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 内毒素耐受对人中性粒细胞 IL-10 分泌水平的影响

*P.gingivalis* LPS(B组)或 *E.coli* LPS(D组)单次刺激后,中性粒细胞 IL-10 分泌水平均较刺激前明显增加( $P < 0.05$ )。尽管 *P.gingivalis* LPS(B组)单次刺激后诱导生成的 IL-10 水平低于 *E.coli* LPS(D组),但这种差异并无统计学意义( $P > 0.05$ )。

*P.gingivalis* LPS 重复刺激(C组)或 *E.coli* LPS 重复刺激(E组)后,IL-10 分泌水平均较相应的单次刺激组(B组或D组)显著增加( $P < 0.05$ ),且 *E.coli* LPS 重复刺激(E组)后,中性粒细胞分泌 IL-10 的水平明显高于 *P.gingivalis* LPS 重复刺激组(C组)( $P < 0.05$ ,图 1)。

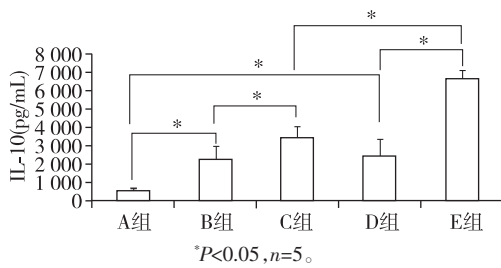
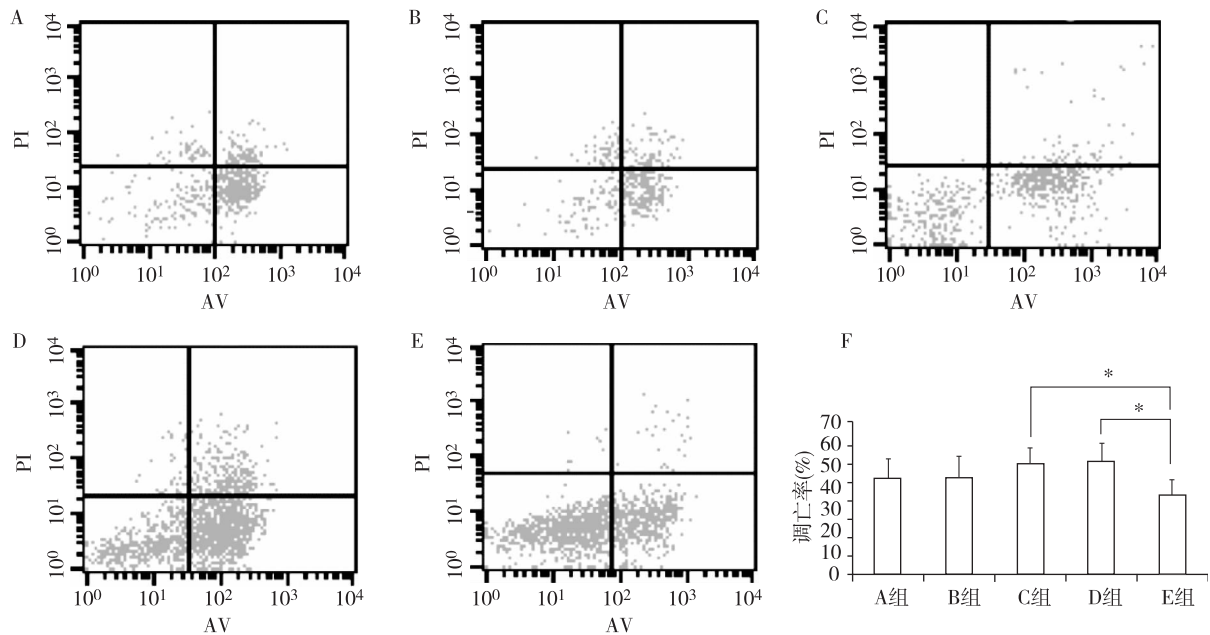


图 1 内毒素耐受对人中性粒细胞分泌 IL-10 水平的影响  
Figure 1 Effects of endotoxin tolerance on the production of IL-10 in human neutrophils

### 2.2 内毒素耐受对人中性粒细胞凋亡水平的影响

*P.gingivalis* LPS (B 组) 或 *E.coli* LPS (D 组) 单次刺激后, 凋亡的中性粒细胞数量与刺激前 (A 组) 无明显差异 ( $P>0.05$ )。*P.gingivalis* LPS 重复刺激 (C 组) 后, 凋亡的中性粒细胞数量与单次刺激后 (B 组) 无明显差别 ( $P>0.05$ )。但 *E.coli* LPS 重复刺激 (E 组) 后, 凋亡的中性粒细胞数量明显低于单次刺激 (D 组) ( $P<0.05$ ), 亦明显低于 *P.gingivalis* LPS 重复刺激 (C 组) ( $P<0.05$ , 图 2)。



A: A 组; B: B 组; C: C 组; D: D 组; E: E 组; F: 凋亡率分析。

图 2 人中性粒细胞凋亡水平的流式细胞检测

Figure 2 Apoptosis of human neutrophils detected by flow cytometry

### 3 讨论

*P.gingivalis* 是牙周炎, 尤其是慢性牙周炎的主要优势菌。LPS 是 *P.gingivalis* 的重要毒力因子之一。研究表明, *P.gingivalis* LPS 与最经典 G-菌内毒素 *E.coli* LPS 的结构存在一定差异, 二者脂质 A 的酰基链数量和磷酸化程度明显不同, 这种差异导致了两种 LPS 生物学功能和宿主反应的不同<sup>[7]</sup>。在诱导炎症和免疫反应的过程中, *E.coli* LPS 比 *P.gingivalis* LPS 的毒性和免疫源性更强<sup>[8]</sup>。因此在本研究中, 我们选择 *E.coli* LPS 作为阳性对照。本研究发现, 两种 LPS 单次刺激后, 人中性粒细胞 IL-10 分泌水平均明显增高, 且 *E.coli* LPS 诱导分泌的 IL-10 水平远高于 *P.gingivalis* LPS, 再次证明了二者生物学功能的差异。这一结果与 Morszeck<sup>[9]</sup> 的研究一致。

Gemmel<sup>[10]</sup> 和 Yamazaki<sup>[11]</sup> 的研究证实, IL-10 在

牙周组织的炎症反应中扮演了重要角色。在牙周组织炎症反应过程中, 抗炎因子 IL-10 能下调促炎因子 IL-6、趋化因子 IL-8 等细胞因子的分泌水平, 刺激机体产生保护性抗体, 在复杂的细胞因子网络中, 发挥调节免疫应答、控制炎症反应的强度和免疫损伤的作用<sup>[12]</sup>。Anirudh<sup>[13]</sup> 的临床研究也显示, 慢性牙周炎患者接受龈下刮治和根面平整后 6 个月, 包括牙龈指数、探诊深度、探诊出血在内的牙周临床指标均明显改善, 血清 IL-10 水平也明显增高, 提示 IL-10 在慢性牙周炎的病程转归中, 可能发挥了一定的抗炎作用。

目前, 关于内毒素耐受的研究主要集中于单核/巨噬细胞和树突状细胞, 而先天免疫系统的另一个重要成员, 中性粒细胞内毒素耐受的效应及机制研究相对有限。大量研究发现, 耐受单核/巨噬细胞 IL-10 分泌水平增高, 这一变化可能是内毒素耐受模型

的标志性改变之一<sup>[6,8,14]</sup>。本课题组借鉴 Martin 构建 THP-1 细胞耐受模型的经典方法<sup>[8]</sup>,构建了人单核细胞和中性粒细胞耐受模型,并在前期研究中证实内毒素耐受能促进单核细胞分泌 IL-10<sup>[6]</sup>。本研究中,耐受中性粒细胞分泌 IL-10 水平的增高符合体外耐受模型的特征性改变,表明我们构建的内毒素耐受模型是成功的。该结果也提示,内毒素耐受对不同细胞来源的 IL-10 分泌水平的调控可能是一致的。耐受时,IL-10 分泌水平的增高能在一定程度上抑制炎症反应,避免过度的免疫破坏,但这种效应也增加了感染风险。因此,内毒素耐受对牙周炎症控制的利弊仍有待深入研究。

凋亡是机体为维持内环境稳态而发生的基因控制的自主有序死亡。中性粒细胞属于终末细胞,寿命短、更新快,在组织中的存活时间仅 1~4 d。有研究报道,炎症反应过程中,中性粒细胞被激活,其凋亡受到抑制,从而使中性粒细胞介导的炎症反应增强,器官损伤进一步加剧<sup>[15]</sup>。Jin 等<sup>[16]</sup>研究也证实,激活的中性粒细胞比未受刺激者存活时间更长,并能诱导多种炎症介质,如补体、趋化因子和炎症因子的表达。但本研究结果显示,2 种 LPS 单次刺激后,中性粒细胞凋亡水平与刺激前无明显改变。Murray<sup>[17]</sup>的研究认为,*P.gingivalis* LPS 能延长中性粒细胞存活时间,但其效应与 LPS 浓度及刺激时间关系密切。该研究发现,*P.gingivalis* LPS 刺激 12 h 内,细胞凋亡水平并没有明显改变。因此本研究中,LPS 未能显著改变中性粒细胞凋亡水平的原因,可能与刺激时间较短有关。

本研究结果显示,2 种 LPS 诱导细胞耐受后,人中性粒细胞凋亡水平呈现不同的变化趋势,*P.gingivalis* LPS 耐受组无明显变化,*E.coli* LPS 耐受组凋亡水平则明显降低。这种差异可能与两种 LPS 的毒性差异有关。健康的机体内环境应达到内稳态的平衡。中性粒细胞凋亡减少可能使机体产生更强烈的炎症反应<sup>[18]</sup>。因此,*E.coli* LPS 耐受组凋亡水平的降低,可能在一定程度上对抗内毒素耐受后,IL-10 表达水平增高导致机体抵抗致病微生物能力下降的不利影响。*P.gingivalis* 的毒性弱于 *E.coli*,它能抑制补体活化,通过 C5aR-TLR2 和 CXCR4-TLR2 途径抑制细胞吞噬杀菌,其非典型性的异构 LPS 还能拮抗 TLR4,上述机制使 *P.gingivalis* 具备了逃避宿主免疫识别,长期感染牙周组织,并造成组织破坏的能力<sup>[19]</sup>。*P.gingivalis* LPS 诱导的耐受可能不能降低细胞短期内的凋亡水平,导致耐受后中性粒细胞的

持续死亡,因而可能是 *P.gingivalis* 实现免疫逃避的另一机制。

尽管 2 种 LPS 诱导中性粒细胞耐受后,其凋亡水平呈现不同的变化趋势,但 IL-10 分泌水平的增高趋势却是相同的。提示耐受中性粒细胞分泌 IL-10 水平的增高,可能与细胞数量的变化无关,而与细胞本身分泌 IL-10 能力的增强有关。

本研究结果提示,内毒素耐受能促进人中性粒细胞分泌抗炎因子 IL-10,但不同 LPS 诱导的耐受对细胞凋亡的影响存在差异。耐受中性粒细胞可能通过改变分泌抗炎因子的能力及凋亡水平,调控宿主炎症反应和免疫损伤的程度,但这一改变在牙周炎发生发展中的可能机制还有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Liu J, Tang X, Li C, et al. *Porphyromonasgingivalis* promotes the cell cycle and inflammatory cytokine production in periodontal ligament fibroblasts[J]. Arch Oral Biol, 2015, 60(8): 1153-1161
- [2] Gözl L, Memmert S, Rath-Deschner B, et al. LPS from *P. gingivalis* and hypoxia increases oxidative stress in periodontal ligament fibroblasts and contributes to periodontitis[J]. Mediators Inflamm, 2014, 2014:986264
- [3] Parker LC, Jones EC, Prince LR, et al. Endotoxin tolerance induces selective alterations in neutrophil function [J]. J Leukoc Bio, 2005, 78(6):1301-1305
- [4] Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation[J]. Nat Rev Immunol, 2013, 3(3):159-175
- [5] Hu Y. Isolation of human and mouse neutrophils *ex vivo* and *in vitro*[J]. Methods Mol Biol, 2012, 844:101-113
- [6] Sun Y, Li H, Yang MF, et al. Effects of aging on endotoxin tolerance induced by lipopolysaccharides derived from *Porphyromonasgingivalis* and *Escherichia coli* [J]. PLoS One, 2012, 7(6):e39224
- [7] Darveau RP, Pham TT, Lemley K, et al. Porphyromonasgingivalis lipopolysaccharide contains multiple lipid A species that functionally interact with both toll-like receptors 2 and 4 [J]. Infect Immun, 2004, 72(9): 5041-5051
- [8] Martin M, Katz J, Vogel SN, et al. Differential induction of endotoxin tolerance by lipopolysaccharides derived from *Porphyromonasgingivalis* and *Escherichia coli* [J]. J Immunol, 2001, 167(9):5278-5285
- [9] Morscheck CO, Drees J, Gosau M. Lipopolysaccharide from *Escherichia coli* but not from *Porphyromonasgingivalis* induce pro-inflammatory cytokines and alkaline phos-

- phatase in dental follicle cells[J]. Arch Oral Biol, 2012, 57(12):1595-1601
- [10] Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease[J]. Periodontol, 2000, 1997, 14:112-143
- [11] Yamazaki K, Tabeta K, Nakajima T, et al. Interleukin-10 gene promoter polymorphism in Japanese patients with adult and early-onset periodontitis[J]. J Clin Periodontol, 2001, 28(9):828-832
- [12] Passoja A, Puijola I, Knuutila M, et al. Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor-alpha in chronic periodontitis [J]. J Clin Periodontol, 2010, 37 (10): 881-887
- [13] Acharya AB, Thakur S, Muddapur MV. Effect of scaling and root planing on serum interleukin-10 levels and glycemic control in chronic periodontitis and type 2 diabetes mellitus[J]. J Indian Soc Periodontol, 2015, 19(2): 188-193
- [14] Cole TS, Zhang M, Standiford TJ, et al. IRAK-M modulates expression of IL-10 and cell surface markers CD80 and MHC II after bacterial re-stimulation of tolerized dendritic cells [J]. Immunol Lett, 2012, 144(1-2):49-59
- [15] Haute GV, Caberlon E, Squizani E, et al. Gallic acid reduces the effect of LPS on apoptosis and inhibits the formation of neutrophil extracellular traps [J]. Toxicol In Vitro, 2015, 30(1 Pt B): 309-317
- [16] Jin JO, Yu Q. Fucoidan delays apoptosis and induces pro-inflammatory cytokine production in human neutrophils[J]. Int J Biol Macromol, 2015, 73: 65-71
- [17] Murray DA, Wilton JMA. Lipopolysaccharide from the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis* prevents apoptosis of HL60-derived neutrophils *in vitro* [J]. Infect Immun, 2003, 71(12):7232-7235
- [18] Della Bona R, Cardillo MT, Leo M, et al. Polymorphonuclear neutrophils and instability of the atherosclerotic plaque: a causative role? [J]. Inflamm Res, 2013, 62 (6): 537-550
- [19] Hajishengallis G. Immune evasion strategies of *Porphyromonas gingivalis* [J]. J Oral Biosci, 2011, 53(3):233-240
- [收稿日期] 2016-04-28

-----

(上接第 29 页)

- [8] Lee AH, Heidtman K, Hotamisligil GS, et al. Dual and opposing roles of the unfolded protein response regulated by IRE1alpha and XBP1 in proinsulin processing and insulin secretion [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108 (21):8885-8890
- [9] Yuan L, Li X, Feng J, et al. IRE1 $\alpha$  is essential for *Xenopus* pancreas development [J]. J Biomed Res, 2014, 28 (2): 123-131
- [10] Arda HE, Benitez CM, Kim SK. Gene regulatory networks governing pancreas development [J]. Dev Cell, 2013, 25 (1):5-13
- [11] Cao Y, Knöchel S, Oswald F, et al. XBP1 forms a regulatory loop with BMP-4 and suppresses mesodermal and neural differentiation in *Xenopus* embryos [J]. Mech Dev, 2006, 123(1):84-96
- [12] Masaki T, Yoshida M, Noguchi S. Targeted disruption of CRE-binding factor TREB5 gene leads to cellular necrosis in cardiac myocytes at the embryonic stage [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 261(2):350-356
- [13] Lee AH, Chu GC, Iwakoshi NN, et al. XBP-1 is required for biogenesis of cellular secretory machinery of exocrine glands [J]. EMBO J, 2005, 24(24):4368-4380
- [14] Reimold AM, Etkin A, Clauss I, et al. An essential role in liver development for transcription factor XBP-1 [J]. Genes Dev, 2000, 14(2):152-157
- [15] Reimold AM, Iwakoshi NN, Manis J, et al. Plasma cell differentiation requires the transcription factor XBP-1 [J]. Nature, 2001, 412(6844):300-307
- [16] Yuan L, Cao Y, Knöchel W. Endoplasmic reticulum stress induced by tunicamycin disables germ layer formation in *Xenopus laevis* embryos [J]. Dev Dyn, 2007, 236(10): 2844-2851
- [17] Yuan L, Cao Y, Oswald F, et al. IRE1beta is required for mesoderm formation in *Xenopus* embryos [J]. Mech Dev, 2008, 125(3-4):207-222
- [18] Sawada T, Minamino T, Fu HY, et al. X-box binding protein 1 regulates brain natriuretic peptide through a novel API/CRE-like element in cardiomyocytes [J]. J Mol Cell Cardiol, 2010, 48(6):1280-1289
- [19] Zhou Y, Lee J, Reno CM, et al. Regulation of glucose homeostasis through a XBP-1-FoxO1 interaction [J]. Nat Med, 2011, 17(3):356-365
- [收稿日期] 2015-11-13