

· 基础论著 ·

注射用血栓通对实验性肝损伤的防治作用及其机制

李国力 魏红山 张剑平 肖凡 韩俊燕 刘志英 樊文梅 刘顺爱 曾辉

【摘要】 目的 本研究旨在观察注射用血栓通对肝损伤的防治效果,并初步探讨其发挥药效的机制。**方法** 将 0.6 mmol/L 的 H_2O_2 加入到 $10^{-7} \sim 10^2 \mu\text{g/ml}$ 的经注射用血栓通预处理 HepG2 细胞中,四甲基偶氮唑盐(MTT)观察细胞活力;10% CCl_4 腹腔注射于经注射用血栓通(50 mg/kg、5 mg/kg、0.5 mg/kg)预处理的 SD 大鼠,于注射 CCl_4 的 24、48、72 h 动态观察大鼠血清 ALT、AST、TBil 的变化,并于实验结束取大鼠肝组织进行组织学检查;HepG2 细胞经 $10^{-3} \mu\text{g/ml}$ 注射用血栓通作用 48 h,提取 mRNA,逆转录成 cDNA,与芯片杂交,根据基因芯片杂交信号强弱筛选相关基因。**结果** 注射用血栓通处理的 HepG2 细胞受到 H_2O_2 损伤时能够维持细胞的活力状态;注射用血栓通可以抑制 CCl_4 造成肝损伤时血清 ALT、AST、TBil 的升高,并减轻肝损伤时大鼠肝组织的病理改变;注射用血栓通的肝细胞损伤保护作用可能与上调肝细胞损伤修复基因有关。**结论** 注射用血栓通能够抑制 H_2O_2 造成的肝细胞损伤,抑制 CCl_4 造成的大鼠肝损伤,其机制可能与其上调某些损伤修复基因的表达及/或下调某些损伤相关基因表达有关。

【关键词】 肝损伤;大鼠;基因芯片;肝细胞

The protection of panax notoginseng saponins against liver damage and its potential mechanisms LI Guo-li, WEI Hong-shan, ZHANG Jian-ping, XIAO Fan, HAN Jun-yan, LIU Zhi-ying, FAN Wen-mei, LIU Shun-ai, ZENG Hui. Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Beijing 100011, China

Corresponding author: ZENG Hui, Email: hzeng98@yahoo.com

【Abstract】 Objective Previous investigation demonstrated that PNS could protect many kinds of tissue against oxidative and inflammatory damage. In this study we observed the protection of PNS on liver damage, and discuss its potential mechanisms on this effect. **Methods** HepG2 cell already treated with 10^{-7} - 10^2 mg/ml of PNS was incubated with 0.6 mmol/L H_2O_2 , and its livingness was detected by MTT method. The rats were treated with PNS, then were injected with 10% CCl_4 abdominally, and after the injection of CCl_4 , their ALT, AST and TBil within serum were

基金项目:北京市优秀人才培养专项经费项目(20041D0301548)

作者单位:100011 北京地坛医院传染病研究所

通讯作者:曾辉 Email:hzeng98@yahoo.com

observed in time point of 24, 48, 72 h. Finally we studied the biopsy of the rat liver. The mRNA expression of HepG2 cell incubated with 10^{-3} mg/ml PNS was examined by human DNA Chips analysis system. **Results** By MTT method the absorbency of HepG2 cell with PNS treated was higher than its control cell which treated only with PBS. PNS could restrain the rise of ALT, AST and total bilirubin within serum when the rat liver was damaged by CCl_4 , and biopsy examination showed that PNS could decrease the denaturation, necrosis and inflammation. The mRNA microarray showed that PNS could affect expression of about 105 kinds of genes. **Conclusions** PNS can protect hepatocyte from damage induced by H_2O_2 , can help rat against hepatic damage by CCl_4 , and it can probably exert protective effect by controlling the expression of some genes.

【Key words】 Liver damage; Rat; DNA chips; Hepatocyte

注射用血栓通是用特殊工艺从三七主根中提取出三七总皂甙制成,其特点是纯度高、生物活性高、水溶性好、毒性低,三七总皂甙中的人参皂苷 Rg1、Rb1 和三七皂苷 R1 等 3 种组分的含量达 80% 以上,使注射用血栓通具有较好的扩血管、改善微循环的作用。近年来的研究表明其具有抗氧化、抗炎的作用,能防护心、脑、肾、肝等组织的缺血再灌注损伤^[1]。本研究用化学物质 H_2O_2 、 CCl_4 造成体内、体外的肝细胞损伤,以明确注射用血栓通的肝保护作用,并通过基因芯片初步筛选了注射用血栓通作用下肝细胞差异表达的基因,以初步明确其肝保护作用的机制。

材料与方法

一、材料

HepG2 细胞系为本室保存,SD 大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,注射用血栓通由广西梧州制药(集团)股份有限公司提供,注射用还原型谷胱甘肽(阿托莫兰)由重庆药友制药有限责任公司提供,MTT、DMEM 为 Sigma 产品、胎牛血清为 Gibco 产品、Trizol 试剂为 Invitrogen 产品。

二、方法

1. 注射用血栓通对 H_2O_2 损伤的 HepG2 细胞的保护作用: HepG2 细胞以 7.5×10^3 /孔接种到 96 孔板中,分别加入终浓度 $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^2$ mg/ml 的注射用血栓通,作用 48 h,加入终浓度 0.6 mmol/L 的 H_2O_2 作用 1 h^[2],弃上清,每孔加入 0.5 mg/ml 的 MTT 溶液 100 μl ,培养箱中孵育 4 h 后弃上清,每孔中加入酸化异丙醇(1: 300),充分混匀后将 96 孔板置酶标仪上,检测 570 nm 处的吸光度(A)值^[3]。

2. 注射用血栓通对 CCl_4 导致的大鼠急性肝损伤的保护作用:将雄性 Wistar 大鼠随机分为 PNS 治疗组(50 mg/kg、5 mg/kg、0.5 mg/kg)、还原型谷胱甘肽组、

模型组、正常组,每组 10 只。于造模前 3 d 开始给药,每日 1 次,腹腔注射,至实验结束。给药后第 3 天,正常组腹腔注射橄榄油 1 ml,其余各组均注射 10% CCl_4 橄榄油溶液^[4]。分别于模型复制后第 24、48、72 h 各组大鼠内眦取血,收集血清,全自动生化仪上检测血清中 TBil、ALT、AST 含量。留取动物肝脏,10% 中性福马林固定,脱水,石蜡包埋,切成 5 mm 切片,HE 染色,病理检查。

3. 注射用血栓通对 HepG2 细胞基因表达的影响:以 1×10^{-3} mg/ml 注射用血栓通(DMEM 溶解)处理 HepG2 细胞,同时设有只加入溶剂(DMEM)的对照组,48 h 后每 5×10^6 个细胞加入 1 ml Trizol 试剂,吹打均匀,立即于液氮中保存。

4. 总 RNA 提取及 mRNA 纯化:Trizol 试剂一步法提取实验和对照组 HepG2 细胞总 RNA(分别标记为实验组和对照组),样品经分光光度计检测 A 值,并行热稳定实验,于 -20°C 和 70°C 保温 1 h 后,经琼脂糖凝胶电泳检测 28 S、18 S 条带变化。

5. 探针标记:总 RNA 逆转录标记 cDNA 探针并纯化。Cy3-dUTP 标记对照组细胞 mRNA($5\text{ }\mu\text{g}$),Cy5-dUTP 标记实验组细胞 mRNA($5\text{ }\mu\text{g}$)。乙醇沉淀后溶解在 $20\text{ }\mu\text{l}$ $5 \times \text{SSC} + 0.2\%$ SDS 杂交液中。

6. 芯片制备:芯片包含的 4096 个 cDNA 由上海博星基因芯片有限公司提供,包括原癌基因和抑癌基因、免疫调节相关基因、细胞凋亡和应激反应蛋白相关基因、信号转导相关基因等。以通用引物进行 PCR 扩增,PCR 产物长度为 1000 ~ 3000 bp。靶基因以 $0.5\text{ }\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 溶解于 $3 \times \text{SSC}$ 溶液中,用 Cartesian 公司的 Cartesian 7500 点样仪及 TeleChem 公司的硅烷化玻片进行点样。玻片经水合(2 h)、室温干燥(0.5 h),紫外线交联,再分别用 0.2% SDS、水及 0.2% 的硼氢化钠溶液处理 10 min,晾干备用。

7. 杂交及洗涤:将基因芯片和杂交探针在 95°C 水浴变性 5 min,将混合探针加在基因芯片上,置于 60°C 杂交 15 ~ 17 h。依次以 $2 \times \text{SSC} + 0.2\%$ SDS、 $0.1 \times \text{SSC} + 0.2\%$ SDS、 $0.1 \times \text{SSC}$ 洗涤 10 min,室温晾干。

8. 检测与分析:用 General Scanning 公司的 ScanArray 3000 扫描芯片。为了监控芯片杂交技术体系的整个过程,用预先选定的内参照基因(24 条管家基因,每个基因点 2 个点,共 48 个点)对 Cy3 和 Cy5 的原始提取信号进行均衡和修正。用 ImaGene 3.0 软件分析 Cy3、Cy5 两种荧光信号的强度,计算 Cy5/Cy3 比值。阳性结果判断: $\text{Cy5/Cy3} > 2.0$,红色荧光,显示表达增强; $\text{Cy5/Cy3} < 0.5$,为绿色荧光,显示表达减弱;黄色代表表达水平无差异。

三、统计学处理

数据采用 SPSS 11.5 软件分析,组间比较采用方差分析,两两比较应用 Student-Newman-Keuls 法,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、注射用血栓通对 H_2O_2 损伤的肝细胞活力的影响

0.6 mmol/L H_2O_2 作用 HepG2 细胞 1 h 可使细胞明显受损, A 值显著低于正常对照组 ($P < 0.05$)。注射用血栓通 ($1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^2 \mu\text{g/ml}$) 预处理的 HepG2 细胞的 A 值均高于 H_2O_2 对照组, 其中注射用血栓通 ($1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-1} \text{ mg/ml}$) 的 A 值和 H_2O_2 对照组比较, $P < 0.05$ (表 1)。

二、注射用血栓通对 CCl_4 导致急性肝损伤的大鼠血清 ALT、AST、TBil 的影响
10% CCl_4 1 ml 腹腔注射能够造成大鼠肝脏受损, 血清转氨酶、总胆红素水平升高。注射用血栓通和还原型谷胱甘肽均显示了一定的降低胆红素、转氨酶的作用 (表 2)。

正常组肝小叶结构完整, 肝细胞结构正常, 肝索排列规则, 肝窦及汇管区无异常, 基本无炎细胞浸润。模型组肝细胞脂肪变的肝细胞占肝细胞总数的 $1/3 \sim 1/2$, 肝细胞大片坏死, 每个高倍视野下有 20 个以上的炎细胞浸润。还原型谷胱甘肽组及注射用血栓通 3 个剂量组的病变程度要明显轻于模型组 (图 1), 都显示了对肝损伤有一定的防治效果。

表 1 注射用血栓通对 H_2O_2 损伤的肝细胞活力的影响

组别	n	$A(\bar{x} \pm s)$
正常对照组	6	$1.0875 \pm 0.0751^*$
H_2O_2 对照组	6	0.7568 ± 0.0419
注射用血栓通组 ($\mu\text{g/ml}$)		
10^{-7}	6	0.7677 ± 0.0673
10^{-6}	6	0.7998 ± 0.0568
10^{-5}	6	$0.8460 \pm 0.0389^*$
10^{-4}	6	$0.8478 \pm 0.0681^*$
10^{-3}	6	$0.8978 \pm 0.0475^*$
10^{-2}	6	$0.8832 \pm 0.0222^*$
10^{-1}	6	$0.8527 \pm 0.0304^*$
10	6	0.8348 ± 0.0283
10^1	6	0.8253 ± 0.0206
10^2	6	0.7975 ± 0.0460

注: 与 H_2O_2 对照组相比, $^*P < 0.05$

三、注射用血栓通对大鼠急性肝损伤病理改变的影响

正常组肝小叶结构完整, 肝细胞结构正常, 肝索排列规则, 肝窦及汇管区无异常, 基本无炎细胞浸润。模型组肝细胞脂肪变的肝细胞占肝细胞总数的 $1/3 \sim 1/2$, 肝细胞大片坏死, 每个高倍视野下有 20 个以上的炎细胞浸润。还原型谷胱甘肽组及注射用血栓通 3 个剂量组的病变程度要明显轻于模型组 (图 1), 都显示了对肝损伤有一定的防治效果。

四、注射用血栓通对 HepG2 细胞基因表达的影响

$10^{-3} \mu\text{g/ml}$ 的注射用血栓通对培养 HepG2 细胞基因表达的影响: 基因芯片扫描过程中将上调信号定义为两种荧光叠加信号比值 (Cy5/Cy3) 大于 2.0; 下调信号比值定义为 0.5。我们共筛选到 105 个差异表达的基因; 其中和细胞损伤、死亡、增殖相关的基因 15 个 (表 3)。

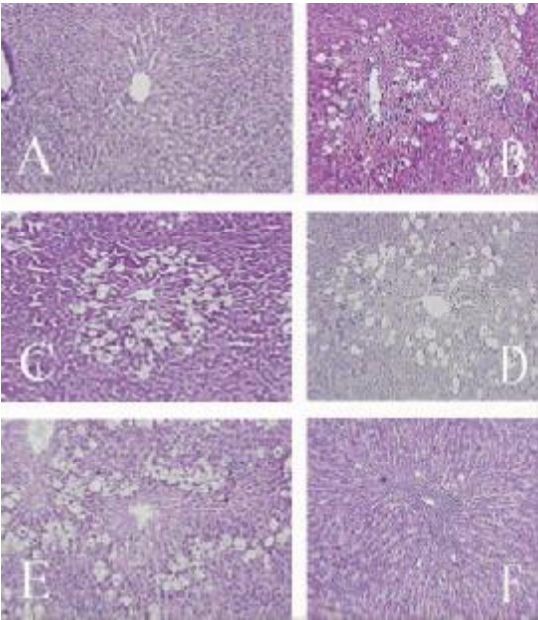


图 1 注射用血栓通对大鼠急性肝损伤病理改变的影响

表 2 注射用血栓通对 CCl₄ 导致急性肝损伤的大鼠血清 ALT、AST、TBil 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	ALT (U/L)			AST (U/L)			TBil ($\mu\text{mol/L}$)		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
正常对照组	63.2 \pm 8.12*	63.1 \pm 8.20*	57.0 \pm 3.73*	187.7 \pm 22.08*	213.0 \pm 24.35*	167.9 \pm 27.36*	1.34 \pm 0.15	1.36 \pm 0.23*	1.31 \pm 0.11*
损伤对照组	360.4 \pm 74.58	386.6 \pm 85.28	169.3 \pm 33.57	757.8 \pm 155.36	778.8 \pm 152.96	448.1 \pm 89.03	2.90 \pm 0.48	2.86 \pm 0.54	1.92 \pm 0.38
GSH	301.8 \pm 60.99*	74.4 \pm 72.64*	146.9 \pm 28.50*	913.5 \pm 186.13*	780.2 \pm 162.08*	438.9 \pm 87.74*	2.83 \pm 0.50	2.67 \pm 0.53*	1.90 \pm 0.34*
注射用血栓通组(mg/ml)									
0.5	491.3 \pm 60.29	727.4 \pm 151.19	304.2 \pm 60.03	1224.0 \pm 226.04	1086.1 \pm 202.96	603.1 \pm 113.71	3.08 \pm 0.52	4.38 \pm 0.83	2.61 \pm 0.51
5	407.1 \pm 84.85*	436.4 \pm 86.14*	217.2 \pm 39.21*	845.4 \pm 160.54*	772.5 \pm 145.30*	427.1 \pm 86.22*	3.24 \pm 0.68	3.75 \pm 0.72	2.56 \pm 0.53
50	33.3 \pm 67.44*	370.7 \pm 74.05*	176.1 \pm 35.86*	605.2 \pm 124.01*	604.1 \pm 126.07*	463.4 \pm 94.59*	3.29 \pm 0.49	4.13 \pm 0.84	2.62 \pm 0.48

注: * 与损伤对照组相比有显著性差异($P < 0.05$)

表 3 注射用血栓通对 HepG2 细胞基因表达的影响

GenBank ID	Cy5/Cy3	基因名称
BC006286	0.462	双特异性蛋白酶(DUSP12)
NM_005318	0.467	组蛋白 H1F0
NM_005729	0.474	肽酰-脯氨酸-顺反式异构酶(PP1F)
NM_016835	0.475	微管相关蛋白 σ (MAPT)
AB209596	0.475	G 蛋白通路抑制因子 1(GPS1)
NM_001002031	0.485	膜联蛋白 I(ANXA1)
NM_003846	0.487	过氧化酶体发生因子 11 β (PEX11B)
NM_001007156	0.488	神经营养酪氨酸激酶受体 3(NTRK3)
NM_006910	2.003	视网膜母细胞瘤相关蛋白(RBBP6)
NM_003217	2.013	BAX 抑制因子 1(BI-1)
NM_003300	2.021	TNF 受体相关因子 3(TRAF3)
NM_013332	2.032	缺氧诱导因子 2(HIG2)
NM_000488	2.086	丝氨酸蛋白酶抑制剂 1(SERPINC1)
NM_003463	2.090	蛋白酪氨酸磷酸酶 4A1(PTP4A1)
BX537699	2.099	alk 分子类似物 1

讨 论

高分化的肝癌细胞 HepG2, 生物学特性与正常肝细胞相近, 常用于体外毒理、药理研究^[5]。通过 MTT 实验发现注射用血栓通能够抑制由 H₂O₂ 造成的 HepG2 细胞活力下降, 提示注射用血栓通可能具有肝脏保护作用^[2]。

CCl₄ 诱导的大鼠肝脏损伤是经典的肝损伤动物模型, 通过此模型我们发现注射用血栓通能够抑制 CCl₄ 导致的肝功能受损后血清中谷 ALT、AST 以及总胆红素的升高; 能够抑制 CCl₄ 造成的大鼠肝组织病理改变, 减轻肝组织变性、坏死的程度, 减少肝组织中炎细胞的浸润。这些均表明了注射用血栓通对肝损伤具有良好的防治效果。

近年通过 PNS 抗组织器官缺血再灌注损伤的研究, 人们对其发挥药效的机制进行了一些探讨, 但是仍不够系统。本研究中我们用基因芯片对注射用血栓通作用下肝细胞差异表达的基因进行筛选, 寻找到和损伤、死亡及增殖相关的基因 15 个, 从 3 个方面对这些基因的功能进行简单的描述: (1) 与损伤相关: 缺氧诱导因子 2 (HIF2) 能够提高细胞抵抗缺氧损伤的能力^[6]; alk 分子类似物 1 (ALKBH1) 参与 DNA 烷氧化损伤的修复^[7]; 丝氨酸蛋白酶抑制剂 1 DNA 烷氧化损伤的修复^[7]; 丝氨酸蛋白酶抑制剂 1 (SERPINC1) 可以预防刀豆蛋白 A (Con A) 诱导的小鼠肝损伤^[8]; 注射用血栓通可能通过上调这 3 种蛋白增强了肝组织抗损伤的能力; (2) 与增殖相关: 双特异性蛋白酶 (DUSP12) 能够负性调节和细胞增殖相关的丝裂原激活蛋白酶^[9]; 组蛋白 H1FO 也是与细胞增殖是负相关, 可能参与了细胞生长抑制^[10,11]; G 蛋白通路抑制因子 1 (GPS1) 能够抑制丝裂原激活的信号转导通路, 抑制有丝分裂^[12]; 而视网膜母细胞瘤相关蛋白 (RBBP6) 是一种和细胞增殖相关的蛋白^[13], 注射用血栓通可以通过抑制上面 3 种细胞增殖的负性调节蛋白的表达, 并上调 RBBP6 来维持细胞的生长状态; (3) 和细胞死亡相关: 有研究表明肽酰-脯氨酰-顺反式异构酶 (PPIF)^[14]、微管相关蛋白 σ (MAPT)^[15] 和膜联蛋白 I (ANXA1)^[16] 都能够诱导细胞凋亡; 过氧化酶体发生因子 11 β (PEX11B)^[17] 在凋亡发生时反应性的上调; 提示它可能参与了凋亡的过程; 体外降低神经生长酪氨酸激酶受体 3 (NTRK3) 的水平可以减少细胞死亡^[18]; 敲除蛋白酪氨酸磷酸酶 4A1 (PTP4A1) 可引起细胞周期相关蛋白降解, 并导致凋亡^[19]; BAX 抑制因子 1 (BI-1)^[20]、TNF 受体相关因子 3 (TRAF3)^[21] 能够抑制细胞凋亡, 注射用血栓通可能通过下调 PPIF、ANXA1、PEX11B、NTRK3, 并上调 PTP4A1、BI-1、TRAF3 抑制可能发生的细胞死亡, 从而保护肝组织免受损伤。对以上结果的深入研究在进行中。

本研究结果提示, 注射用血栓通对实验大鼠急性肝损伤具有良好的保护作用, 其机制可能与其上调某些损伤修复基因表达及/或下调某些损伤相关基因表达有关。

参 考 文 献

- 1 元文勇,叶启发,姜文泉,等.三七总皂甙对大鼠肝脏缺血再灌注损伤肝细胞线粒体的自由基的清除作用.中国现代医学杂志,2005,15:3076-3078.
- 2 杨雁,陈敏珠.体外大鼠肝细胞坏死性损伤模型的建立.安徽医科大学学报,1999,34:467-469.
- 3 Furukawa S. In vitro chemosensitivity of hepatocellular carcinoma for hepatic arterial infusion chemotherapy using the MTT assay with the combinations of antitumor drugs. Kurume Med J,2004,51:25-33.
- 4 Rusova TV, Korolenko TV, Titova VG, et al. Intracellular distribution of hyaluronidase in rats with acute and chronic hepatitis and reparative liver regeneration. Bull Eksp Biol Med,1976,81:295-297.
- 5 张大志,张风定,任红,等.重组人生长激素对内毒素导致肝细胞凋亡效应的抑制作用.中华肝脏病杂志,2001,9:100-102.
- 6 Heidbreder M, Frohlich F, Jöhren O, et al. Hypoxia rapidly activates HIF-3 α mRNA expression. FASEB J,2003,17:1541-1543.
- 7 Wei YF, Carter KC, Wang RP, et al. Molecular cloning and functional analysis of a human cDNA encoding an Escherichia coli AlkB homolog, a protein involved in DNA alkylation damage repair. Nucleic Acids Res,1996,24:931-937.
- 8 Nakamura K, Ito T, Yoneda M, et al. Antithrombin III prevents concanavalin A-induced liver injury through inhibition of macrophage inflammatory protein-2 release and production of prostacyclin in mice. J Hepatol,2002,36:766-773.
- 9 Bueno OF, De Windt LJ, Lim HW, et al. The dual-specificity phosphatase MKP-1 limits the cardiac hypertrophic response in vitro and in vivo. Circ Res, 2001,88:88-96.
- 10 Gorka C, Lawrence JJ, Khochbin S. Variation of H1(0) content throughout the cell cycle in regenerating rat liver. Exp Cell Res, 1995,217:528-533.
- 11 Bouterfa HL, Piedrafit FJ, Doenecke D, et al. Regulation of H1(0) gene expression by nuclear receptors through an unusual response element: implications for regulation of cell proliferation. DNA Cell Biol, 1995,14:909-919.
- 12 Spain BH, Bowdish KS, Pacal AR, et al. Two human cDNAs, including a homolog of Arabidopsis FUS6 (COP11), suppress G-protein- and mitogen-activated protein kinase-mediated signal transduction in yeast and mammalian cells. Mol Cell Biol, 1996, 16:6698-6706.
- 13 Yoshitake Y, Nakatsura T, Monji M, et al. Proliferation potential-related protein, an ideal esophageal cancer antigen for immunotherapy, identified using complementary DNA microarray analysis. Clin Cancer Res,2004,10:6437-6448.
- 14 Bowles KR, Zintz C, Abraham SE, et al. Genomic characterization of the human peptidyl-prolyl-cis-trans-isomerase, mitochondrial precursor gene: assessment of its role in familial dilated cardiomyopathy. Hum Genet,1999,105:582-586.
- 15 Zemlan FP, Mulchahey JJ, Gudelsky GA. Quantification and localization of kainic acid-induced neurotoxicity employing a new biomarker of cell death: cleaved microtubule-associated protein-tau (C-tau). Neuroscience,2003,121:399-409.
- 16 Debret R, El Btaoui H, Duca L, et al. Annexin A1 processing is associated with caspase-dependent apoptosis in BZR cells. FEBS Lett,2003,546:195-202.
- 17 Cherkaoui-Malki M, Meyer K, Cao WQ, et al. Identification of novel peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) target genes in mouse liver using cDNA microarray analysis. Gene Expr,2001,9:291-304.
- 18 Kim JY, Nelson AL, Algon SA, et al. Medulloblastoma tumorigenesis diverges from cerebellar granule cell differentiation in patched heterozygous mice. Dev Biol, 2003,263:50-66.
- 19 Wang Y, Sekiguchi T, Noguchi E, et al. A hamster temperature-sensitive alanyl-tRNA synthetase mutant causes degradation of cell-cycle related proteins and apoptosis. J Biochem,2004,135:7-16.
- 20 Bailly-Maitre B, Fondevila C, Kaldas F, et al. Cytoprotective gene bi-1 is required for intrinsic protection from endoplasmic reticulum stress and ischemia-reperfusion injury. Proc Natl Acad Sci USA,2006,103:2809-2814.
- 21 Hauer J, Puschner S, Ramakrishnan P, et al. TNF receptor (TNFR)-associated factor (TRAF) 3 serves as an inhibitor of TRAF2/5-mediated activation of the noncanonical NF-kappaB pathway by TRAF-binding TNFRs. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102:2874-2879.
- 22 Pugh DJ, Ab E, Faro A, et al. DWN, a novel ubiquitin-like domain, implicates RBBP6 in mRNA processing and ubiquitin-like pathways. BMC Struct Biol,2006,6:1-8.

(收稿日期:2006-12-12)

(本文编辑:孙凤霞)