

辛二酰苯胺异羟肟酸联合索拉菲尼对人肝癌细胞增殖和凋亡的影响^{*}

蔡爽, 韩冰, 郑璐, 汤雷, 马子华, 陈雨丝, 杨婷, 杨勤^{**}, 谢汝佳^{**}

(贵州医科大学 贵州省常见慢性疾病发病机制及药物研究重点实验室 病理生理学教研室, 贵州 贵阳 550025)

[摘要] 目的: 探讨辛二酰苯胺异羟肟酸(SAHA)联合索拉菲尼(SOR)对人肝癌(HepG2)细胞增殖与凋亡的影响,并探讨其可能的分子机制。方法: 采用3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐法(MTT)法检测SAHA联合SOR对HepG2细胞增殖的抑制作用,流式细胞术检测SAHA联合SOR对HepG2细胞凋亡的影响,Western blot法检测SAHA联合SOR对HepG2细胞中葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、蛋白激酶R样内质网激酶(PERK)、磷酸化PERK(p-PERK)及活化转录因子4(ATF4)蛋白表达的影响。结果: 与单独的SAHA及SOR组比较,SAHA联合SOR可使HepG2细胞增殖率明显下降、并显著促进细胞凋亡,差异有统计学意义($P < 0.01$); Western blot检测发现,SAHA联合SOR可显著上调GRP78、p-PERK及ATF4的表达水平,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: SAHA联合SOR可显著增强对HepG2细胞增殖的抑制作用、并促进肝癌细胞凋亡,其机制可能与激活内质网应激凋亡信号通路有关。

[关键词] 肝肿瘤; 内质网; 细胞凋亡; 细胞增殖; 索拉菲尼; 辛二酰苯胺异羟肟酸

[中图分类号] R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2020)02-0151-05

DOI:10.19367/j.cnki.1000-2707.2020.02.005

Effect of Octyldiamide Isothamic Acid Combined with Sorafenin on Proliferation and Apoptosis of Hepatoma Cells

CAI Shuang, HAN Bing, ZHENG Lu, TANG Lei, MA Zihua, CHEN Yusi, YANG Ting, YANG Qin, XIE Rujia

(Key Laboratory of the Pathogenesis and Drug Research of Common Chronic Diseases in Guizhou, Department of Pathological Physiology, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of similamide isohydroxyxamic acid (SAHA) combined with Sorafenin (SOR) on proliferation and apoptosis of human liver cancer (HepG2) cells and its possible molecular mechanism. **Methods:** The Inhibitory effect of SAHA combined with SOR on proliferation of HepG2 cells was examined by 3-(4,5-dimethylthiazole-2)-2 and 5-diphenyltetrazol bromide (MTT). Effect of SAHA combined with SOR on apoptosis of HepG2 cell was examined by flow cytometry. The effects of SAHA combined with SOR on the expression of glucose regulatory protein 78 (GRP78), protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase (PERK), phosphorylated PERK (p-PERK) and activated transcription factor 4 (ATF4) protein in HepG2 cells were examined by the method of Western blot. **Results:** Compared with SAHA and SOR group alone, SAHA combined with SOR could significantly decrease the proliferation rate of HepG2 and promote apoptosis, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). Western blot showed that SAHA combined with SOR significantly upregulated the expression levels of GRP78, p-PERK and ATF4, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** SAHA combined with SOR can significantly

^{*} [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81560105); 贵州医科大学2018年度学术新苗培养及创新探索专项项目培育项目[黔科合平台人(2018)5779-19]

^{**} 通信作者 E-mail: qinyang@gmc.edu.cn; xierujia790319@163.com

enhance the inhibition of HepG2 cell proliferation and promote the apoptosis of hepatoma cells, and its mechanism may be related to the activation of endoplasmic reticulum stress apoptosis signaling pathway.

[**Key words**] liver neoplasms; endoplasmic reticulum; apoptosis; cell proliferation; sorafenib (SOR); suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA)

肝癌是世界上第六大常见癌症,每年约有 84.1 万新病例和 78.2 万人死亡^[1]。肝癌恶性程度高,复发率高,容易侵袭转移,且大多数患者确诊时已处于中晚期阶段,不适合手术、肝移植或局部消融等治疗方法^[2-3],因此非手术治疗在肝癌的治疗中占有重要地位。索拉菲尼(sorafenib, SOR)是美国 FDA 批准用于晚期肝癌治疗的分子靶向药物^[4-5],研究表明,SOR 可以通过抑制血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)和血小板衍生生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)的表达、从而阻断肿瘤血管生成^[6-7];此外,SOR 还具有抗丝氨酸(Ser)/苏氨酸(Thr)激酶 Raf 的活性,从而抑制肿瘤细胞的增殖和信号转导^[8]。尽管 SOR 在临床肝癌的治疗中取得了一定的突破和进展,但总体效果并不十分满意。因此,如何提高 SOR 的临床疗效成为迫切需要解决的难题。近年来有研究报道,辛二酰苯胺异羟肟酸(suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA),一种用于临床血液系统恶性肿瘤治疗的新型抗癌药物与 SOR 联合应用时可显著增强 SOR 对肝癌细胞增殖的抑制作用,但其具体的作用机制还有待进一步阐明。本研究旨在观察 SAHA 联合 SOR 对人肝癌细胞增殖和凋亡的影响,并初步探讨 HepG2 细胞中葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulated protein 78, GRP78)、蛋白激酶样内质网激酶(PKR-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)、磷酸化 PERK(p-PERK)、及活化转录因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)蛋白表达的分子机制,为临床肝癌的治疗提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人肝癌细胞株 HepG2 购自中国科学院典型培养物保藏中心上海细胞库(KCB 200507YJ),索拉菲尼由贵州医科大学附属医院肛肠外科詹玮博士

惠赠,SAHA 购自英国 Abcam 公司,胎牛血清购自美国 ScienCell 公司,DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司,胰酶购自 Biological Industry,彩虹 Marker 购自上海爱必信生物科技有限公司,BCA 蛋白定量试剂盒和 AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自江苏凯基生物技术有限公司,兔抗 GAPDH、兔抗 GRP78、兔抗 PERK、兔抗 ATF4 购自英国 Abcam 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人肝癌细胞株 HepG2 用含 10% 胎牛血清,1% 双抗(青霉素和链霉素)的 DMEM 培养基进行培养,培养皿置于 37 ℃、5% CO₂ 及饱和湿度的培养箱中,2~3 d 换 1 次液,细胞密度 85% 时以 1:2 传代。本实验所使用细胞均处于对数生长期。

1.2.2 细胞活力检测 采用 MTT 法取对数生长期的 HepG2 细胞,以 10⁴ 个/孔密度接种于 96 孔板,放置于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养;待细胞贴壁后,分别加入不同浓度的 SOR(0.5、1、3、6、12、25、50 μmol/L)、SAHA(0.5、1、3、6、12、25、50 μmol/L)及同剂量的 SAHA 联合 SOR(剂量同前)处理细胞,同时设置阴性对照组和空白对照组,每个浓度均设 5 个复孔,继续培养 48 h 后,每孔加入 5 g/L MTT 20 μL 培养 4 h,小心吸去上清液,加入二甲基亚砜(DMSO)150 μL,置于摇床上低速震荡 10 min、在酶联免疫检测仪 490 nm 处测定各孔的吸光度值(OD),计算各组细胞存活率并绘制生长曲线。存活率(%)=(实验组 OD 值-空白组 OD 值)/(对照组 OD 值-空白组 OD 值)×100%。

1.2.3 细胞凋亡 采用流式细胞术检测,随机将对数生长期的 HepG2 细胞分为对照(control)组、SOR 组(12 μmol/L)、SAHA 组(6 μmol/L)及 SAHA 联合 SOR 组(6 μmol/L+12 μmol/L)。给药 48 h 后,使用不含 EDTA 的胰酶消化收集各组细胞,2 000 r/min 离心 5 min 后弃上清,加入的 binding buffer 液 500 μL 悬浮细胞,再加入 5 μL annexin V-FITC 和

5 μL 碘化丙啶 (PI), 充分混匀, 室温避光反应 15 min 后用流式细胞仪进行检测。

1.2.4 GRP78、PERK、p-PERK 及 ATF4 蛋白水平

采用 Western blot 法检测, 收集各组细胞, 用蛋白裂解液提取细胞中的总蛋白, BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量。取 40 μg 总蛋白上样, 经 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白后, 湿转蛋白至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上, 用 5% 脱脂奶粉封闭 90 min, 加入相应 I 抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。第 2 天用 TBST 洗膜 3 次后加入 II 抗, 室温孵育 90 min, TBST 洗膜后 ECL 发光成像, Bio-Rad 凝胶成像仪系统获取图像。用 Image Lab 图像分析软件对每个条带进行定量分析。

1.3 统计学处理

使用 GraphPad Prism 5 统计软件进行统计分析。以上实验重复至少 3 次, 实验数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 组间两两比较采用最小显著性差异法 (LSD 法), 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

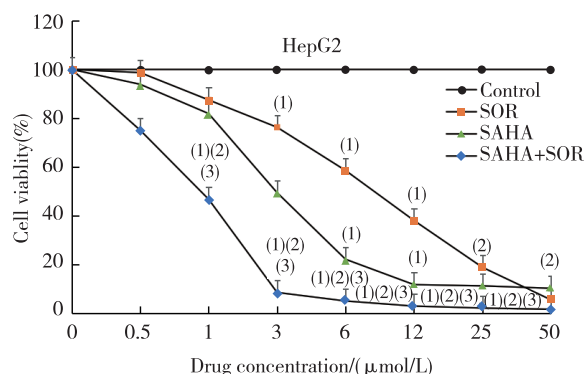
2 结果

2.1 SAHA 联合 SOR 对 HepG2 细胞增殖的抑制作用

MTT 法结果显示, 与对照组比较, 不同浓度的 SAHA 和 SOR 均能明显抑制 HepG2 细胞的增殖, 且 SAHA 或 SOR 对 HepG2 的抑制作用呈明显的剂量依赖性。与单独的 SAHA 和 SOR 组比较, SAHA 联合 SOR 对 HepG2 细胞增殖的抑制作用更为显著, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 1。根据 MTT 结果, 后续实验中选择 6 $\mu\text{mol/L}$ SAHA、12 $\mu\text{mol/L}$ SOR 及 6 $\mu\text{mol/L}$ SAHA 联合 12 $\mu\text{mol/L}$ SOR 处理 HepG2 细胞进行后续实验。

2.2 SAHA 联合 SOR 对 HepG2 细胞凋亡的影响

流式细胞术检测各组细胞凋亡发现, 6 $\mu\text{mol/L}$ SAHA、12 $\mu\text{mol/L}$ SOR 及两药联合均能明显诱导 HepG2 细胞发生凋亡。6 $\mu\text{mol/L}$ SAHA 处理 HepG2 细胞 48 h 后的凋亡率为 $(10.85 \pm 0.86)\%$, 12 $\mu\text{mol/L}$ SOR 处理 HepG2 细胞 48 h 后的凋亡率为 $(13.57 \pm 1.12)\%$, SAHA 联合 SOR 处理 HepG2 细胞 48 h 后的凋亡率为 $(23.20 \pm 1.06)\%$; 上述 3 组细胞凋亡率均显著高于对照组, 其中以联合用药组凋亡率最高, 与 SOR 和 SAHA 单药组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 2。



注: ⁽¹⁾ 与 control 比较, $P < 0.01$; ⁽²⁾ 与 SAHA 组比较, $P < 0.01$; ⁽³⁾ 与 SOR 组比较, $P < 0.01$ 。

图 1 SAHA、SOR 及两药联合对 HepG2 细胞存活率的影响

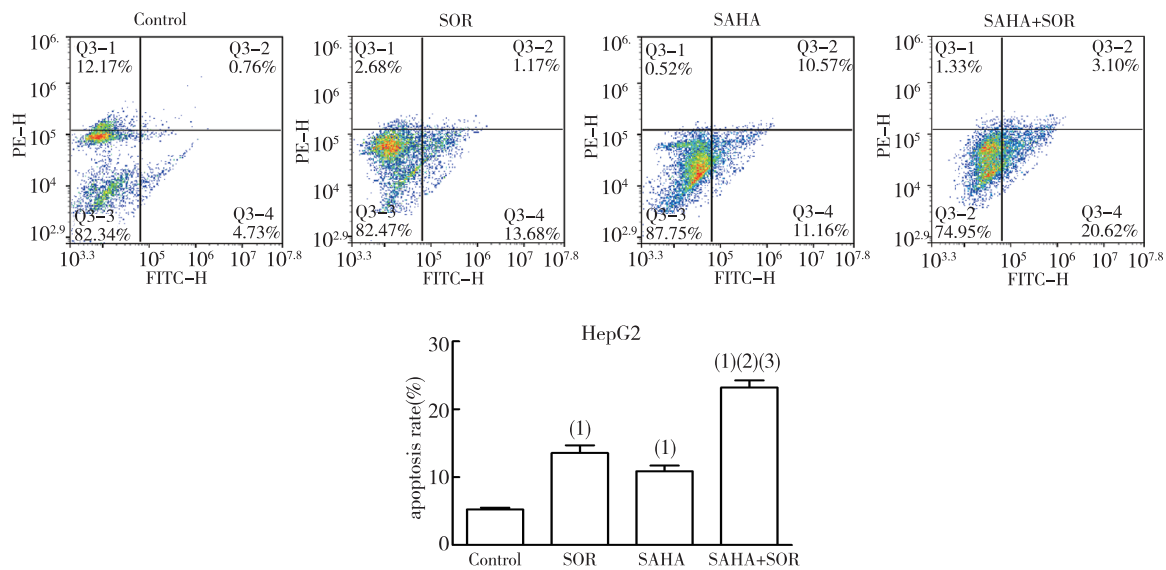
Fig. 1 Effect of SAHA, SOR and two drugs on survival rate of HepG2 cells

2.3 HepG2 细胞中 GRP78、PERK、p-PERK 及 ATF4 蛋白表达

与对照组比较, SAHA 和 SOR 单药组可在一定程度上上调 HepG2 细胞 GRP78、p-PERK、ATF4 蛋白的表达, 两药联合上述效应更加显著, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。而 SAHA、SOR 及两药联合对 PERK 蛋白的表达无明显影响, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3。

3 讨论

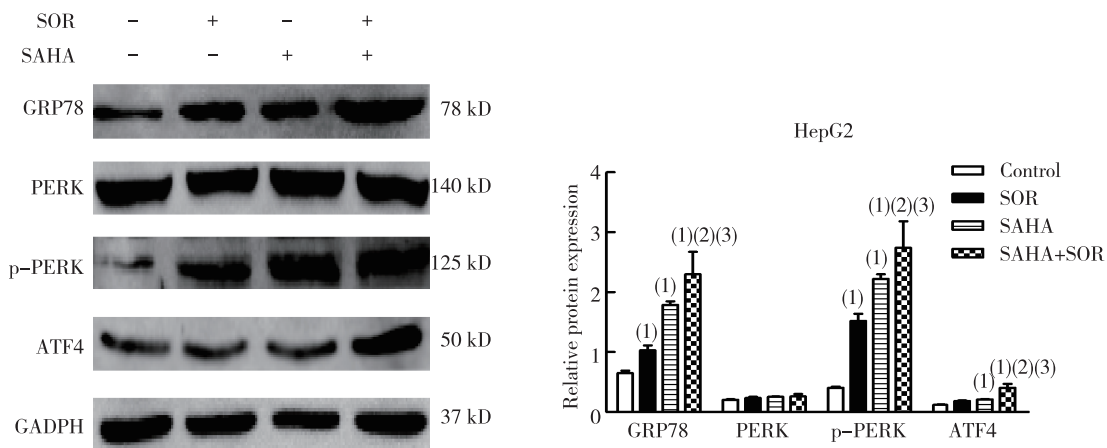
SOR 是一种多靶点口服抗肿瘤药物, 也是一种多激酶抑制剂, 因其对肾细胞癌和肝细胞癌的疗效, 在临床上, 已被批准用于治疗晚期肾细胞癌和肝细胞癌^[4-5]。SOR 具有双重的抗肿瘤作用, 一方面它可通过阻断由 RAF/MEK/ERK 介导的细胞信号传导通路而直接抑制肿瘤细胞的增殖^[8-9]; 另一方面它还可通过抑制 VEGFR 和 PDGFR 而阻断肿瘤新生血管的形成, 从而间接地抑制肿瘤细胞的生长^[6-7]。虽然 SOR 为临床肝癌的治疗打开了一扇希望之窗, 但总体效果并不十分令人满意, 因此, 如何提高 SOR 的临床疗效成为迫切需要解决的难题。近年来 Yuan H^[10] 的研究发现, SAHA 与 SOR 联合应用时可显著抑制体外培养肝癌细胞的增殖。本次研究结果也证实了 SAHA 与 SOR 联合应用能够显著抑制人肝癌细胞 HepG2 的增殖, 表明两药具有协同效应, 因此, 两药联合可能为临床上治疗肝癌提供更优的治疗效果。



注: ⁽¹⁾与 control 组比较, $P < 0.01$; ⁽²⁾与 SAHA 组比较, $P < 0.01$; ⁽³⁾与 SOR 组比较, $P < 0.01$ 。

图 2 SOR、SAHA 及两药联合对 HepG2 细胞凋亡的影响

Fig. 2 Effects of SOR, SAHA and two drugs on apoptosis of HepG2 cells



注: ⁽¹⁾与 control 组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与 SAHA 组比较, $P < 0.05$; ⁽³⁾与 SOR 组比较, $P < 0.05$ 。

图 3 SOR、SAHA 及两药联合对 HepG2 细胞中 GRP78、PERK、p-PERK 及 ATF4 蛋白表达的影响 (Western blot)

Fig. 3 Effects of SOR, SAHA and two drugs on the expression of GRP78, PERK, p-PERK and ATF4 in HepG2 cells (Western blot)

SAHA 是一种广谱组蛋白去乙酰化酶抑制剂,有研究表明,它可通过抑制细胞周期进程、诱导细胞凋亡和分化从而抑制肝癌细胞的生长^[11]。课题组前期研究发现 SAHA 可以激活内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 凋亡通路从而诱导 HepG2 细胞发生凋亡^[12]。内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 是真核细胞中重要的细胞器,几乎所有分泌型蛋白 (包括膜结合蛋白) 都在 ER 中产生。

ER 不仅参与了蛋白质的合成和折叠,还参与了钙平衡的调节以及胆固醇和类固醇等脂质的生物合成,以此来调节细胞稳态^[13]。而当这些过程受到多种生理性或病理性因素的干扰时,会导致未折叠或错误折叠蛋白质在 ER 中积累,最终导致 ER 稳态失去平衡,引发 ERS。在 ERS 条件下,细胞能够激活未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR),通过一系列信号转导途径以减轻或终止

ERS,从而恢复细胞内环境稳态。然而,当刺激因素持续时间过长或强度过大时,UPR 也可激活细胞凋亡通路导致细胞死亡^[14-15]。ERS 介导的细胞凋亡在很多肿瘤的发生、发展中具有重要意义。因此,通过激活 ERS 凋亡通路促使肿瘤细胞发生凋亡,有望成为肿瘤治疗的新靶点^[16-17]。

当前的研究报道可知,UPR 信号转导过程主要由以下 3 种内质网跨膜效应蛋白所启动:活化转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6)、肌醇需求酶 1 (inositol-requiring enzyme 1, IRE1) 和 PERK^[14]。正常情况下 ATF6、IRE1 和 PERK 与内质网分子伴侣 GRP78 紧密结合,从而处于无活性状态。发生 ERS 时,由于内质网腔中积累的未折叠或错误折叠蛋白与 GRP78 竞争结合,导致 GRP78 与 3 种跨膜蛋白发生解离。解离后的 PERK、IRE1 和 ATF6 通过各自的途径被激活,例如,与 GRP78 解离后的 PERK 可通过自身二聚化和磷酸化被激活,并进一步促进其下游的 ATF4 及 CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)的表达,从而诱导细胞凋亡的发生^[18]。在本次研究中,流式细胞术检测结果表明两药联合能显著促进 HepG2 细胞凋亡,说明两药联合不仅能抑制肝癌细胞的增殖,同时还促进了肝癌细胞的凋亡。进一步通过 Western blot 检测发现 SAHA 组和 SOR 组的 GRP78、p-PERK 和 ATF4 表达均较对照组显著上调,说明 SAHA、SOR 均可通过激活 ERS 凋亡信号通路促进肝癌细胞凋亡;而 SAHA 联合 SOR 能进一步促进上述蛋白的表达,提示 ERS 凋亡通路可能是 SAHA 增强 SOR 促进肝癌细胞凋亡的靶点之一,其机制可能是经 SAHA 和 SOR 联合处理肝癌细胞后,通过阻断蛋白质从内质网到高尔基体的运输,诱导了高水平的 ERS,从而激活了 PERK-ATF4 信号通路,启动细胞凋亡信号。

综上所述,SAHA 和 SOR 能够协同增强对肝癌细胞 HepG2 的增殖抑制作用,且能显著诱导肝癌细胞的凋亡,其协同作用可能与激活 ERS 凋亡通路有关。

4 参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] FENG M, BEN-JOSEF E. Radiation therapy for hepatocellular carcinoma [J]. *Seminars in Radiation Oncology*, 2011, 21(4): 271-277.
- [3] PAGE A J, COSGROVE D C, PHILOSOPHE B, et al. Hepatocellular carcinoma: diagnosis, management, and prognosis [J]. *Surgical Oncology Clinics of North America*, 2014, 23(2): 289-311.
- [4] DAL LAGO L, D' HONDT V, AWADA A. Selected combination therapy with sorafenib: a review of clinical data and perspectives in advanced solid tumors [J]. *Oncologist*, 2008, 13(8): 845-858.
- [5] KIRSTEIN M M, SCHWEITZER N, SCHMIDT S, et al. Long-lasting tumour response to sorafenib therapy in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *Acta Gastroenterol Belg*, 2014, 77(4): 386-388.
- [6] WILHELM S M, ADNANE L, NEWELL P, et al. Pre-clinical overview of sorafenib, a multikinase inhibitor that targets both Raf and VEGF and PDGF receptor tyrosine kinase signaling [J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2008, 7(10): 3129-3140.
- [7] TANAKA S, ARII S. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2010, 48(4): 1312-1327.
- [8] LIU L, CAO Y, CHEN C, et al. Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5 [J]. *Cancer Research*, 2007, 66(24): 11851-11858.
- [9] BROECKERPREUSS M, MÜLLER S, BRITTEN M, et al. Sorafenib inhibits intracellular signaling pathways and induces cell cycle arrest and cell death in thyroid carcinoma cells irrespective of histological origin or BRAF mutational status [J]. *Bmc Cancer*, 2015, 15(1): 184-196.
- [10] YUAN H, LI A J, MA S L, et al. Inhibition of autophagy significantly enhances combination therapy with sorafenib and HDAC inhibitors for human hepatoma cells [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, 20(17): 4953-4962.
- [11] JOHNSTONE, RICKY W. Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2002, 1(4): 287-299.
- [12] 余蕾, 韩冰, 田甜, 等. 辛二酰苯胺异羟肟酸通过内质网应激凋亡通路诱导 HepG2 细胞凋亡 [J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(12): 2151-2156.
- [13] SCHWARZ D S, BLOWER M D. The endoplasmic reticulum: structure, function and response to cellular signaling [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2016, 73(1): 79-94.

- rantly activated HOTAIR/EZH2/miR-193a feedback loop in progression of prostate cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 159–173.
- [20] MENG F, SAXENA S, LIU Y, et al. The phospho-caveolin-1 scaffolding domain dampens force fluctuations in focal adhesions and promotes cancer cell migration[J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(16): 2190–2201.
- [21] PACE G, MASSIMO C D, AMICIS D D, et al. Inflammation and endothelial activation in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer[J]. *Int Braz J Urol*, 2011, 37(5): 617–622.
- [22] THORSEN K, SORENSEN K D, BREMS-ESKILDSEN A S, et al. Alternative splicing in colon, bladder, and prostate cancer identified by exon array analysis[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2008, 7(7): 1214–1224.
- [23] KOWALSKI M P, KRUEDE T. Functional roles of non-coding Y RNAs[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 66: 20–29.
- [24] ZEYBEK A, OZ N, KALEMCI S, et al. Diagnostic value of mir-125b as a potential biomarker for stage I lung adenocarcinoma lung Adenocarcinoma [J]. *Curr Mol Med*, 2019, 19(3): 216–227.
- [25] WU F, MO Q, WAN X, et al. NEAT1/has-mir-98-5p/ MAPK6 axis is involved in non-small-cell lung cancer (NSCLC) development[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3): 2836–2846.
- [26] CHEN X, XIONG D, YE L, et al. Atractylenolide II reverses the influence of lncRNA XIST/miRNA-30a-5p/ ROR1 axis on chemo-resistance of colorectal cancer cells [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(5): 3151–3165.
- [27] RUIJUAN Z, ZHIJUN W, QIANYUN Y, et al. KCNQ1OT1/miR-217/ZEB1 feedback loop facilitates cell migration and epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer[J]. *Cancer Biol Ther*, 2019, 20(6): 886–896.
- [28] 罗振国, 李淑奎, 陶然, 等. 检测尿液中的 USP9Y-TTTY15RNA 对前列腺癌的早期诊断 [J]. *黑龙江医药科学*, 2017, 40(3): 30–31, 34.
(2019-11-15 收稿, 2020-01-09 修回)
中文编辑: 刘平; 英文编辑: 丁廷森

(上接第 155 页)

- [14] MARTINON F. Targeting endoplasmic reticulum signaling pathways in cancer[J]. *Acta Oncologica*, 2012, 51(7): 822–830.
- [15] BHAT T A, CHAUDHARY A K, KUMAR S, et al. Endoplasmic reticulum-mediated unfolded protein response and mitochondrial apoptosis in cancer[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 2017, 1867(1): 58–66.
- [16] MOHAMED E, CAO Y, RODRIGUEZ P C. Endoplasmic reticulum stress regulates tumor growth and anti-tumor immunity: a promising opportunity for cancer immunotherapy[J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2017, 66(8): 1069–1078.
- [17] BETTIGOLE S E, GLIMCHER L H. Endoplasmic Reticulum Stress in Immunity[J]. *Annual Review of Immunology*, 2015, 33(1): 107–138.
- [18] MEI Y, THOMPSON M D, COHEN R A, et al. Endoplasmic reticulum stress and related pathological processes[J]. *Journal of Pharmacological & Biomedical Analysis*, 2013, 1(2): 1000107.
(2019-11-15 收稿, 2020-01-06 修回)
中文编辑: 刘平; 英文编辑: 乐萍

(上接第 160 页)

- [12] SHOU L D, YAN Z, KUN Y, et al. Melatonin up-regulates the expression of the GATA-4 transcription factor and increases testosterone secretion from leydig cells through ROR α signaling in an in vitro goat spermatogonial stem cell differentiation culture system[J]. *Molecular Sciences*, 2017, 8(66): 592–605.
- [13] 袁梦, 林艳云, 高鹏等. 1840 MHz 电磁辐射对雄性 SD 大鼠性激素的影响及其抗氧化损伤作用研究 [J]. *现代医学研究进展*, 2017(28): 5406–5411.
- [14] MYUNG G, CHAN J P. Effect of electromagnetic field exposure on the reproductive system[J]. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 2012, 39(1): 1–9.
- [15] ALI A, AMIR A K, ASGHAR R, et al. A review on Electromagnetic fields (EMFs) and the reproductive system [J]. *Electron Physician*, 2016, 8(7): 2655–2662.
(2019-12-18 收稿, 2020-01-03 修回)
中文编辑: 刘平; 英文编辑: 冉海勇