

本文引用: 谢薇, 彭俊, 宋厚盼, 欧晨, 彭清华. 基于 PERK/ATF4/CHOP 信号通路研究滋阴明目方含药血清对衣霉素诱导的 ARPE-19 细胞的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(5): 785-790.

基于 PERK/ATF4/CHOP 信号通路研究滋阴明目方含药血清对衣霉素诱导的 ARPE-19 细胞的作用机制

谢薇¹, 彭俊^{1,2}, 宋厚盼¹, 欧晨^{1,2*}, 彭清华^{1,2*}

1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007

[摘要] 目的 研究滋阴明目方含药血清对衣霉素诱导 ARPE-19 细胞的影响及其可能机制。方法 构建细胞内质网应激损伤模型, 将 ARPE-19 细胞分为空白组、模型组、空白血清组、滋阴明目方含药血清组、牛磺熊去氧胆酸组。对细胞进行形态观察, CCK-8 检测细胞存活率, TUNEL 法检测细胞凋亡, Western blot 检测细胞蛋白激酶样内质网激酶 (PERK)、活化转录因子 4 (ATF4)、C/EBP 同源蛋白 (CHOP) 蛋白的表达。结果 选用浓度 50 $\mu\text{mol/L}$ 衣霉素干预 ARPE-19 细胞造模。观察细胞形态发现, 滋阴明目方含药血清组和牛磺熊去氧胆酸组 ARPE-19 细胞较模型组细胞数量增多, 生长较均匀, 漂浮的死亡 ARPE-19 细胞及碎片减少。与空白组相比, 模型组和空白血清组的细胞存活率下降 ($P < 0.01$), 凋亡率明显上升 ($P < 0.01$), PERK、ATF4、CHOP 蛋白表达上调 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 滋阴明目方含药血清组细胞存活率上升 ($P < 0.01$), 凋亡率明显下降 ($P < 0.01$), PERK、ATF4、CHOP 蛋白表达下调 ($P < 0.01$)。结论 滋阴明目方含药血清可以减少 ARPE-19 细胞内质网应激损伤模型的凋亡, 其分子机制与调控 PERK-ATF4-CHOP 信号通路有关。

[关键词] 滋阴明目方; ARPE-19 细胞; 衣霉素; 内质网应激损伤模型; PERK/ATF4/CHOP 信号通路

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.05.010

Mechanism of action of Ziyin Mingmu Formula medicated serum on tunicamycin-induced ARPE-19 cells based on PERK/ATF4/CHOP signaling pathway

XIE Wei¹, PENG Jun^{1,2}, SONG Houpan¹, OU Chen^{1,2*}, PENG Qinghua^{1,2*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of Ziyin Mingmu Formula (ZYMMF) medicated serum on tunicamycin (TM)-induced ARPE-19 cells and its potential mechanism. **Methods** The endoplasmic reticulum stress injury model was constructed and ARPE-19 cells were divided into blank control, model, blank control serum, ZYMMF medicated serum, and taurodeoxycholic acid groups. Cell morphology was observed, cell survival rate was determined by CCK-8, cell apoptosis was tested by TUNEL, and protein expressions of PERK kinase (PERK), activating transcription factor 4 (ATF4), and transcription factor CHOP (CHOP) were measured by Western blot. **Results** ARPE-19 cells were treated with 50 $\mu\text{mol/L}$ tunicamycin for modeling. Compared with the model group, the number of ARPE-19 cells in ZYMMF medicated serum and taurodeoxycholic acid groups increased with more uniform growth and reduced floating dead ARPE-19 cells and fragments. Compared with blank control group, the cell survival rate

[收稿日期] 2023-10-11

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目 (82074196, 82004427); 湖南省自然科学基金项目 (2023JJ40474); 湖南省教育厅科学研究项目 (23B0347); 中医药防治五官科疾病湖南省重点实验室建设项目 (2017TP1018)。

[通信作者] * 彭清华, 男, 教授, 博士研究生导师, E-mail: pengqinghua@hnu.edu.cn; 欧晨, 男, 博士, E-mail: 465325286@qq.com。

in model group and blank control serum group decreased ($P<0.01$), the apoptosis rate increased significantly ($P<0.01$), and the protein expressions of PERK, ATF4, and CHOP were significantly up-regulated ($P<0.01$). Compared with the model group, the survival rate of ZYMMF medicated serum group increased ($P<0.01$), the apoptosis rate decreased significantly ($P<0.01$), and the protein expressions of PERK, ATF4, and CHOP were significantly down-regulated ($P<0.01$). **Conclusion** ZYMMF medicated serum can reduce the apoptosis of endoplasmic reticulum stress injury model of ARPE-19 cells, and its molecular mechanism is related to the regulation of PERK/ATF4/CHOP signaling pathway.

[**Keywords**] Ziyin Mingmu Formula; ARPE-19 cells; tunicamycin; endoplasmic reticulum stress injure model; PERK/ATF4/CHOP signaling pathway

内质网是一种细胞内细胞器,负责蛋白质合成、加工、运输和维持细胞内钙稳态^[1]。多种因素如缺氧、营养缺乏、温度或 pH 变化、钙稳态失调等可能扰乱内质网的正常功能,引起内质网应激^[2]。适度的内质网应激有助于机体抵御外来刺激、恢复细胞内稳态;而持续性的、强烈的内质网应激反而会导致内质网功能失代偿,启动相关细胞凋亡程序^[3]。PERK-ATF4-CHOP 信号通路是内质网应激介导细胞凋亡的重要通路^[4]。

视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium,RPE)细胞是位于光感受器和 Bruch 膜-脉络膜复合体之间富含色素的单层上皮细胞,在视觉功能中起着至关重要的作用,若结构和功能受损会导致多种视网膜退行性疾病^[5]。研究表明,视网膜退行性疾病中 RPE 细胞的损伤与内质网应激关系密切^[6-7]。本团队自 20 世纪 90 年代一直从事视网膜退行性疾病的防治研究,优化出滋阴明目方,临床疗效显著^[8-9]。前期研究证实,滋阴明目方可增加视网膜厚度、改善视网膜功能^[10]。本研究借助衣霉素诱导的 RPE 细胞内质网应激损伤模型,以 PERK/ATF4/CHOP 信号通路为切入点,探讨滋阴明目方调控 ARPE-19 细胞内质网应激反应的潜在机制。

1 材料

1.1 细胞

实验细胞为 ARPE-19 细胞(批号:GNHu45),即人视网膜色素上皮细胞系,购自中国科学院细胞库。

1.2 药物

实验药物为滋阴明目方(熟地黄、枸杞子、黄精、丹参、川芎、牛膝各 15 g),所有药材均购自湖南中医药大学第一附属医院中药房。枸杞子,产地:宁夏,批号:NG21112803;丹参,产地:山东,批号:TH21102403;熟地黄,产地:河南,批号:2108203;黄精,产地:

河北,批号:2021102508;川芎,产地:四川彭州,批号:2106076;牛膝,产地:河南,批号:TH21092601。

1.3 主要试剂

衣霉素(批号:M4798)、牛磺熊去氧胆酸(货号:M5158)、CCK-8 试剂盒(货号:M4839)购自美国 Abmole Bioscience 公司;Tunel 凋亡检测试剂盒(货号KTA2010)购自美国 Abbkine 公司;12-230 kDa Wes 分离试剂盒(货号 SM-W004)、Wes 抗兔检测试剂盒(货号:DM-001)购自美国 ProteinSimple 公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(货号:5174S)、PERK 抗体(货号:5683)、ATF4 抗体(货号:11815)购自美国 Cell Signaling Technology 公司;CHOP 抗体(货号:NB600-1335SS)购自美国 Novus Biologicals 公司。

1.4 主要仪器

HERAcell vios 250i 型二氧化碳培养箱(美国 ThermoFisher Scientific 公司);IncuCyte S3 型多时间动态细胞功能分析系统(美国 Essen BioScience 公司);Panoramic MIDI 型全景扫描仪(匈牙利 3D HISTECH 公司);Wes 全自动蛋白表达分析系统(美国 ProteinSimple 公司)。

2 方法

2.1 细胞内质网应激损伤模型构建

采用衣霉素干预 ARPE-19 细胞,构建内质网应激损伤模型^[11]。ARPE-19 细胞用 DMEM/F12 液体培养基+10%胎牛血清+1%青链霉素混合液制备细胞悬液,接种于 96 孔板。每孔加入 100 μ L 细胞悬液,细胞密度控制在 6 000 个细胞/孔。衣霉素设置 7 个浓度组(1、2、5、10、20、50、100 μ mol/L),采用 CCK-8 法检测细胞活性。每组设 4 个复孔,放置 37 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 12 h 后,弃去培养基,加入 100 μ L 新鲜培养基和 10 μ L CCK-8 溶液,37 $^{\circ}$ C 培养 2 h,采用微孔板分光光度计在 450 nm 处检测吸光度 OD 值,计

算细胞存活率和 IC_{50} 值,得出最佳干预浓度。

2.2 滋阴明目方含药血清制备

20 只成年健康雄性 SD 大鼠随机分成空白组、含药血清组,每组 10 只。SD 大鼠适应性喂养 1 周,根据“动物与人体质量的每千克质量等效剂量折算系数”计算动物给药临床等效剂量,折算系数 $W=6.25$ 。取 5 倍大鼠临床等效剂量水煎制成滋阴明目方混悬液,用以含药血清组灌胃,空白组予以蒸馏水灌胃,每日 1 次。连续灌胃 7 d 后麻醉,无菌条件下腹主动脉取血,收集血液于 15 mL 的无菌离心管内,颠倒混匀后静置。4 ℃、3 500 r/min(离心半径 10 cm),离心 10 min,收集上清液于无菌 50 mL 离心管。56 ℃ 水浴灭活 30 min,在超净工作台用一次性无菌注射器和 0.22 μm 微孔滤膜过滤后分装,置于 -80 ℃ 超低温冰箱保存。

2.3 实验分组及干预方法

实验分为空白组、模型组、空白血清组、滋阴明目方含药血清组、牛磺熊去氧胆酸组 5 组。正常未处理的 ARPE-19 细胞设为空白组,其余组均为内质网应激损伤模型。依据前期实验结果,牛磺熊去氧胆酸组加入 100 $\mu\text{mol/L}$ 牛磺熊去氧胆酸干预 24 h^[12]。空白血清组和滋阴明目方含药血清组分别加入 10% 浓度的空白血清和滋阴明目方含药血清干预 24 h。

2.4 观察指标及检测方法

2.4.1 细胞形态观察 干预 24 h 后,使用多时间动态细胞功能分析系统对各组细胞进行形态观察。

2.4.2 CCK-8 检测细胞活力 干预 24 h 后,弃去培养基,加入 110 μL 按 9:1 用新鲜培养基稀释 CCK-8 溶液,37 ℃ 培养 2 h,采用微孔板分光光度计在 450 nm 检测吸光度 OD 值,计算存活率。

2.4.3 TUNEL 法检测细胞凋亡 干预 24 h 后,用 4% 多聚甲醛固定 30 min,加入破膜工作液孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次。然后滴加 50 μL 反应混合液,37 ℃ 孵育 2 h 后, PBS 洗涤,行 DAPI 核染色 10 min,使用全景切片扫描仪采集图像, Image J 软件统计凋亡细胞数量。

2.4.4 Western blot 检测蛋白的表达 干预 24 h 后,用 RIPA 组织细胞裂解缓冲液裂解细胞, BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质浓度。根据 12-230 kDa Wes 分离试剂盒说明书要求进行操作,配制 DTT、Loading Buffer 和 Marker,将配制好的细胞样品放在

95 ℃ 变性 5 min 后,冰上冷却 5 min,每孔加入 3 μL 样品。按 1:25 稀释 ATF4 和 CHOP 抗体, 1:50 稀释 PERK 抗体, 1:100 稀释 GAPDH 抗体,每孔加入 10 μL 抗体稀释液。再依次加入 Streptavidin-HRP、二抗、发光液、Wash Buffer,室温下 2 500 r/min 离心 5 min(离心半径 10 cm)。使用全自动蛋白表达分析系统检测,结果用 Compass for SW software 5.0.1 进行分析。

2.5 统计分析

本研究采用 Graphpad Prism 8 进行数据处理、统计分析及绘图。符合正态分布的计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”描述。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验,2 组间比较采用独立样本 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 衣霉素对细胞活力的影响

CCK-8 结果显示,衣霉素对细胞有抑制作用并呈剂量趋势,显示随着浓度的增高,细胞存活率下降得越明显。通过 SPSS 计算每组抑制率 IC_{50} 为 51.05,故本次实验采用浓度 50 $\mu\text{mol/L}$ 衣霉素干预 ARPE-19 细胞进行后续实验。详见图 1。

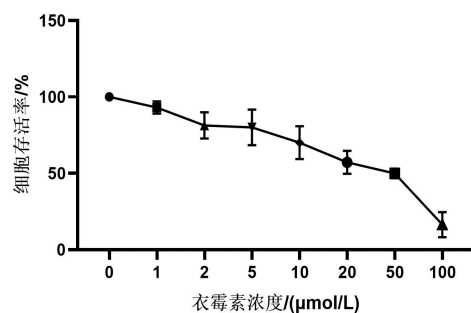


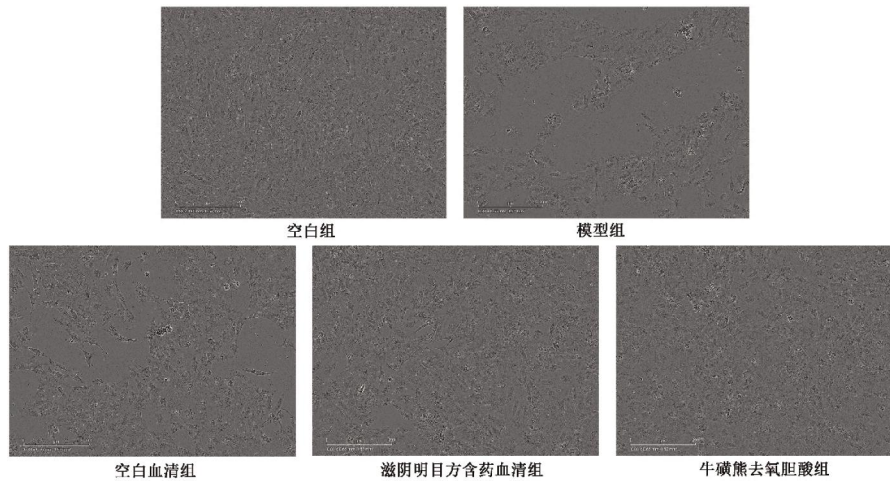
图 1 不同衣霉素浓度下 ARPE-19 细胞存活率

3.2 各组细胞形态比较

空白组 ARPE-19 细胞贴壁,呈梭形,具有上皮细胞特征,细胞生长均匀。模型组 ARPE-19 细胞形态出现改变,细胞核变圆、肿大,细胞数量减少,生长不均匀,可见漂浮的死亡 ARPE-19 细胞及碎片。滋阴明目方含药血清组和牛磺熊去氧胆酸组 ARPE-19 细胞较模型组细胞数量增多,生长较均匀,漂浮的死亡 ARPE-19 细胞及碎片减少。详见图 2。

3.3 各组细胞存活率比较

CCK-8 结果显示,与空白组相比,模型组、空白

图2 各组细胞形态($\times 20$)

血清组、滋阴明目方含药血清组存活率均下降 ($P < 0.01$)。与模型组相比,空白血清组数值差异不大 ($P > 0.05$),滋阴明目方含药血清组和牛磺熊去氧胆酸组细胞存活率上升 ($P < 0.01$)。详见表 1。

表1 各组 ARPE-19 细胞存活率比较 ($n=4, \bar{x} \pm s$)

组别	细胞存活率/%
空白组	100.00 \pm 0.07
模型组	48.24 \pm 0.06 ^{##}
空白血清组	50.75 \pm 0.08 ^{##}
滋阴明目方含药血清组	75.36 \pm 0.06 ^{###**}
牛磺熊去氧胆酸组	88.92 \pm 0.10 ^{**}

注:与空白组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$ 。

3.4 各组细胞凋亡情况比较

TUNEL 法染色结果显示,与空白组相比,各组细胞 TUNEL 阳性细胞比例上升 ($P < 0.01$)。与模型组相比,空白血清组数值差异不大 ($P > 0.05$),滋阴明目方含药血清组和牛磺熊去氧胆酸组细胞凋亡率均明显下降 ($P < 0.01$)。详见表 2。

表2 各组 ARPE-19 细胞凋亡率比较 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	细胞凋亡率/%
空白组	13.28 \pm 4.09
模型组	60.18 \pm 2.12 ^{##}
空白血清组	55.46 \pm 2.22 ^{##}
滋阴明目方含药血清组	36.03 \pm 3.75 ^{###**}
牛磺熊去氧胆酸组	24.92 \pm 2.66 ^{###**}

注:与空白组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$ 。

3.5 各组细胞 PERK、ATF4、CHOP 蛋白表达比较

Western blot 结果显示,与空白组相比,模型组、

空白血清组 PERK、ATF4、CHOP 蛋白表达上调。滋阴明目方含药血清组 PERK、CHOP 蛋白表达上调,牛磺熊去氧胆酸 PERK、ATF4 蛋白表达上调 ($P < 0.05$)。与模型组相比,滋阴明目方含药血清组和牛磺熊去氧胆酸组 PERK、ATF4、CHOP 蛋白表达下调 ($P < 0.01$)。详见图 3。

4 讨论

RPE 细胞是位于光感受器和 Bruch 膜-脉络膜复合体之间富含色素的单层六角形上皮细胞,其主要作用是吞噬感光细胞脱落的外节膜盘^[13]。研究认为,视网膜退行性疾病的发生是因为 RPE 对感光细胞脱落的膜盘吞噬功能下降,致使其在视网膜外层堆积,结构紊乱,从而引起视觉功能障碍^[14]。同时 RPE 细胞还能分泌神经营养因子、参与视循环代谢、发挥血-视网膜屏障作用,保持细胞内环境稳定^[15-16]。视网膜退行性疾病患者 RPE 细胞的色素颗粒减少,局部增生形成色素团块。部分色素细胞移位到动静脉周围,优先获得血液供给,使得视网膜血液供给减少,进而加重视网膜的损害^[17]。

视网膜退行性疾病与肝肾密切相关,主要病机为先天禀赋不足或后天目失所养,致神光衰微。肾藏精,肝藏血,精与血二者相互为用,相互滋生,故中医治疗眼科疾病时有肝肾同源、肝肾同治之说^[18]。临床上治疗该病多以“滋补肝肾,活血明目”为基本法则。滋阴明目方中熟地黄补肝肾、益真阴为君药,枸杞子益精明目、黄精补气养阴为臣药,佐以丹参、川芎活血化瘀,使以牛膝补肝肾、引火下行。诸药合之,共奏滋补肝肾、活血明目之功。现代药理学研究表明,熟

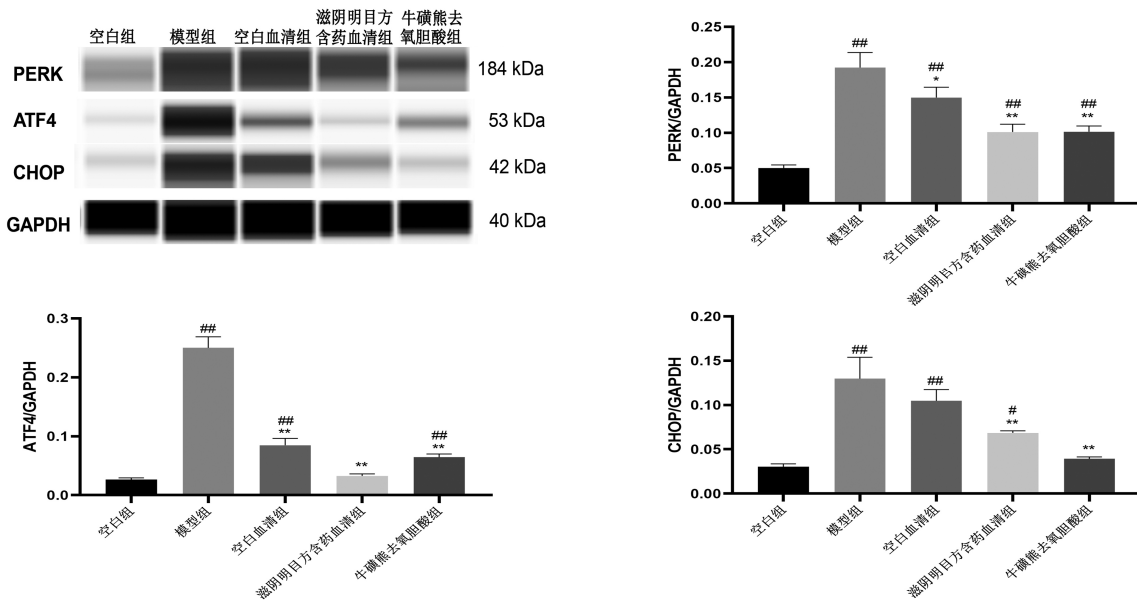


图3 各组细胞 PERK、ATF4、CHOP 蛋白表达量的比较(n=3)

注:与空白组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$;与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

地黄粗提取物对光诱导的视网膜损伤有保护作用,可能与抗氧化和促进抗炎基因表达有关^[19]。枸杞子中的胡萝卜素能促进视网膜内视紫红质的再生或合成,有效保护视神经^[20]。黄精含有的黄精多糖能逆转视网膜电图振幅的降低,缓解视网膜血管的异常和渗漏,减少视网膜 TUNEL 阳性细胞,抑制视网膜神经节细胞凋亡^[21]。

衣霉素是诱导内质网应激的常用化合物,能抑制内质网内新生蛋白糖基化途径中十四糖二磷酸长萜醇的生成,使新生蛋白质不能正确折叠而堆积^[22]。本实验用衣霉素构建细胞内质网应激损伤模型,通过计算 IC_{50} 筛选出浓度 $50 \mu\text{mol/L}$ 衣霉素干预 ARPE-19 细胞造模。研究结果显示,模型组的细胞形态发生改变,细胞核变圆、肿大,细胞数量减少,活力降低,凋亡率升高,证实了模型构建成功。牛磺熊去氧胆酸是熊胆汁中主要有效成分,常用来作为内质网应激的抑制剂,对神经退行性疾病也有潜在治疗作用,可作为实验的阳性对照^[23]。

细胞凋亡是生理或病理条件下的一种由遗传基因控制的细胞主动死亡形式,对维持机体的正常发育以及内环境的稳定起重要作用。本实验通过 TUNEL 法检测 ARPE-19 细胞的凋亡情况,发现滋阴明目方含药血清可降低衣霉素诱导后细胞的凋亡率,而空白血清效果不明显,提示滋阴明目方对过度的内质网应激诱导的 ARPE-19 细胞凋亡有抑制作用。PERK-ATF4-CHOP 信号通路是内质网应激介

导细胞凋亡的关键通路。当内质网应激发生后,GRP78 与跨膜蛋白 PERK 发生解离,同时与未折叠蛋白结合,导致下游相关信号通路激活^[24]。PERK 通过激活 eIF2 α 磷酸化,阻止新合成的蛋白进入处于应激状态的内质网中。磷酸化的起始因子 2 的 α 亚单位(eIF2 α)选择性增强 ATF4 mRNA 的翻译,上调 CHOP 的表达^[25]。CHOP 通过调控线粒体途径和死亡受体途径两大经典方式执行细胞凋亡。本实验采用 Western blot 检测 ARPE-19 细胞中 PERK、ATF4、CHOP 蛋白的表达,与空白组相比,模型组 PERK、ATF4、CHOP 蛋白表达上调。滋阴明目方含药血清干预后,PERK、ATF4、CHOP 表达降低,提示滋阴明目方含药血清可以通过抑制内质网应激反应,减少 RPE 细胞的凋亡。

综上所述,本研究利用衣霉素成功诱导 ARPE-19 细胞内质网应激损伤模型,采用滋阴明目方含药血清进行干预,发现滋阴明目方含药血清可以减少 ARPE-19 细胞内质网应激损伤模型的凋亡,其分子机制与调控 PERK-ATF4-CHOP 信号通路有关。该研究为 RP 潜在机制研究提供了新思路,具有较为广阔的应用前景。

参考文献

- [1] MOHAMMED THANGAMEERAN S I, TSAI S T, HUNG H Y, et al. A role for endoplasmic reticulum stress in intracerebral hemorrhage[J]. Cells, 2020, 9(3): 750.

- [2] ITOH T, HATANO R, HORIMOTO Y, et al. IL-26 mediates epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor resistance through endoplasmic reticulum stress signaling pathway in triple-negative breast cancer cells[J]. *Cell Death & Disease*, 2021, 12(6): 520.
- [3] 练毅, 宫丽荣, 余剑波, 等. 内质网应激介导的细胞凋亡与急性肺损伤的研究进展[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2021, 27(2): 358-360.
- [4] 敖琴, 胡欢, 刘俊, 等. 基于 PERK/ATF4/CHOP 信号通路探讨瑞香素对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞的影响[J]. *中国药理学通报*, 2022, 38(5): 705-711.
- [5] 孟佳敏, 李健, 张红兵. 干性 ARMD 中视网膜色素上皮细胞的作用及损伤机制[J]. *国际眼科杂志*, 2021, 21(7): 1200-1204.
- [6] ZHANG L M, XIA Q Q, ZHOU Y Y, et al. Endoplasmic reticulum stress and autophagy contribute to cadmium-induced cytotoxicity in retinal pigment epithelial cells[J]. *Toxicology Letters*, 2019, 311: 105-113.
- [7] PARK J H, KIM M, OH J H. Effects of bevacizumab on endoplasmic reticulum stress in hypoxic retinal pigment epithelial cells[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179048.
- [8] 彭清华, 张健, 张明亮. 97 例日本籍视网膜色素变性并发、继发及伴有症的分析[J]. *湖南中医学院学报*, 1991, 11(1): 14-16.
- [9] 李传课, 李波, 彭清华, 等. 滋阴明目丸治疗肝肾阴虚视网膜色素变性老年黄斑变性的临床观察[J]. *湖南中医学院学报*, 2001, 21(3): 38-40.
- [10] 曾梅艳, 熊萌, 仇婧玥, 等. 滋阴明目丸干预视网膜色素变性小鼠效应及机制研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2023, 30(7): 88-93.
- [11] 王海贝, 容子玲, 张路煜, 等. 补阳还五汤调控衣霉素诱导的 ApoE^{-/-}小鼠内质网应激从而减少动脉粥样硬化易损斑块面积[J]. *中药新药与临床药理*, 2022, 33(6): 721-726.
- [12] OU C, XIE W, JIANG P F, et al. Lycium barbarum L. and Salvia miltiorrhiza Bunge protect retinal pigment epithelial cells through endoplasmic reticulum stress[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 296: 115519.
- [13] 张娟美, 李根林. 视网膜色素上皮细胞特异性吞噬功能的研究[J]. *国际眼科纵览*, 2006(5): 300-305.
- [14] GHAZI N G, ABOUD E B, NOWILATY S R, et al. Treatment of retinitis pigmentosa due to MERTK mutations by ocular subretinal injection of adeno-associated virus gene vector: Results of a phase I trial[J]. *Human Genetics*, 2016, 135(3): 327-343.
- [15] 邓雯丽, 向萍, 金子兵. 多能干细胞分化来源视网膜色素上皮细胞移植治疗视网膜变性研究进展[J]. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2014, 4(2): 97-103.
- [16] 张姝雅, 孔玮, 孔珺. 视网膜色素上皮细胞的功能及其抗新生血管作用[J]. *国际眼科杂志*, 2016, 16(2): 265-269.
- [17] 罗清礼. 视网膜色素变性的组织病理学改变[J]. *中华眼底病杂志*, 1994(1): 63-66.
- [18] 欧晨, 彭俊, 蒋鹏飞, 等. 枸杞丹参对 rd10 小鼠感光细胞凋亡及氧化激的影响[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(11): 2580-2582.
- [19] 刘莹, 刘垚杰, 李丽维, 等. 熟地黄粗提物对光损伤小鼠视网膜的保护作用[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(5): 82-86.
- [20] 苏保洲. 枸杞子活性成分药理作用研究进展[J]. *江苏中医药*, 2022, 54(3): 78-81.
- [21] WANG Y, QIN S C, PEN G Q, et al. Original Research: Potential ocular protection and dynamic observation of Polygonatum sibiricum polysaccharide against streptozocin-induced diabetic rats' model[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2017, 242(1): 92-101.
- [22] 王琪, 段冷昕, 徐正顺, 等. 衣霉素诱导 L02 细胞内质网应激模型的构建[J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(9): 1282-1284.
- [23] 周鸿缘, 王萌, 李春亭, 等. 牛磺熊去氧胆酸的药理作用及应用研究进展[J]. *动物医学进展*, 2022, 43(8): 102-105.
- [24] STROBERG W, EILERTSEN J, SCHNELL S. Information processing by endoplasmic reticulum stress sensors[J]. *Journal of the Royal Society, Interface*, 2019, 16(158): 20190288.
- [25] HUMEAU J, BEZU L, KEPP O, et al. EIF2 α phosphorylation: A hallmark of both autophagy and immunogenic cell death[J]. *Molecular & Cellular Oncology*, 2020, 7(5): 1776570.

(本文编辑 苏维)