

- [19] Dimatelis J J, Hsieh J H, Sterley T L, et al. Impaired energy metabolism and disturbed dopamine and glutamate signalling in the striatum and prefrontal cortex of the spontaneously hypertensive rat model of attention-deficit hyperactivity disorder [J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 56(3): 696-707.
- [20] 李巍, 李亚平, 李瑞, 等. 益肾填精法对 SHR 大鼠纹状体及前额叶皮层突触超微结构的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(1): 10-13.
- [21] Popa-Wagner A, Mitran S, Sivanesan S, et al. ROS and brain diseases: the good, the bad, and the ugly [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013: 963520.
- [22] Leffa D T, Bellaver B, de Oliveira C, et al. Increased oxidative parameters and decreased cytokine levels in an animal model of attention-deficit/hyperactivity disorder [J]. *Neurochem Res*, 2017, 42 (11): 3084-3092.
- [23] Comim C M, Gomes K M, Réus G Z, et al. Methylphenidate treatment causes oxidative stress and alters energetic metabolism in an animal model of attention-deficit hyperactivity disorder [J]. *Acta Neuropsychiatr*, 2014, 26(2): 96-103.
- [24] Motaghinejad M, Motevalian M, Shabab B. Possible involvements of glutamate and adrenergic receptors on acute toxicity of methylphenidate in isolated hippocampus and cerebral cortex of adult rats [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2017, 31(2): 208-225.
- [25] Russell V A, Oades R D, Tannock R, et al. Response variability in attention-deficit/hyperactivity disorder: a neuronal and glial energetics hypothesis [J]. *Behav Brain Funct*, 2006, 2: 30.
- [26] Lee Y H, Song G G. Genome-wide pathway analysis in attention-deficit/hyperactivity disorder [J]. *Neurol Sci*, 2014, 35(8): 1189-1196.

## 四君子颗粒含药血清对棕榈酸诱导的 MIN6 细胞凋亡的影响

唐保露<sup>1</sup>, 郑宇辰<sup>2</sup>, 张叶明<sup>3</sup>, 袁萍<sup>1</sup>, 戚小宇<sup>1</sup>, 张旭<sup>1</sup>, 杨解人<sup>1</sup>, 郑书国<sup>1,4\*</sup>  
(1. 皖南医学院药理学教研室, 安徽 芜湖 241002; 2. 皖南医学院临床医学学院, 安徽 芜湖 241002;  
3. 皖南医学院药学院, 安徽 芜湖 241002; 4. 皖南医学院定量药理研究所, 安徽 芜湖 241002)

**摘要:** 目的 探讨四君子颗粒含药血清对棕榈酸诱导的 MIN6 细胞凋亡的影响。方法 SD 大鼠灌胃给予四君子颗粒 (10.5、5.25 g/kg) 7 d, 制备四君子颗粒含药血清。四君子颗粒含药血清预处理 MIN6 细胞 24 h 后, 加入 0.4 mmol/L 棕榈酸孵育 MIN6 细胞 24 h。CCK-8 法检测细胞活力, 流式细胞术检测细胞凋亡, Western blot 法检测 GRP78、ATF4、CHOP、p-PERK 蛋白表达。**结果** 四君子颗粒含药血清减轻了棕榈酸诱导的 MIN6 细胞损伤和凋亡 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) , 下调内质网应激相关蛋白 GRP78、ATF4、CHOP 蛋白表达, 降低 PERK 蛋白磷酸化 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** 四君子颗粒含药血清可有效减轻棕榈酸诱导的 MIN6 细胞损伤和凋亡, 其机制可能与抑制内质网应激相关的信号通路有关。

**关键词:** 四君子颗粒; 细胞凋亡; 内质网应激; 糖尿病

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1528(2020)08-2031-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.08.012

## Effects of Sijunzi Granules medicated serum on MIN6 cell apoptosis induced by palmitic acid

TANG Bao-lu<sup>1</sup>, ZHENG Yu-chen<sup>2</sup>, ZHANG Ye-ming<sup>3</sup>, YUAN Ping<sup>1</sup>, QI Xiao-yu<sup>1</sup>, ZHANG Xu<sup>1</sup>, YANG Jie-ren<sup>1</sup>, ZHENG Shu-guo<sup>1,4\*</sup>

(1. Department of Pharmacology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China; 2. College of Clinical Medicine, Wannan Medical College, Wuhu

收稿日期: 2020-01-20

基金项目: 安徽省高校省级自然科学研究重点项目 (KJ2015A192); 中国医药教育协会孙思邈中医药科研专项课题 (2016SKT-M033); 皖南医学院重点科研项目培育基金 (WK2018Z05); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (201910368012)

作者简介: 唐保露 (1994—), 男, 硕士生, 研究方向为临床药理学。Tel: (0553) 3932464, E-mail: 1171727113@qq.com

\*通信作者: 郑书国 (1967—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为临床药理学。Tel: (0553) 3932464, E-mail: zhengsg2000@163.com

241002, China; 3. College of Pharmacy, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China; 4. Institute of Quantitative Pharmacology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China)

**ABSTRACT:** AIM To investigate the effects of Sijunzi Granules (SGs) medicated serum on MIN6 cell apoptosis induced by palmitic acid. METHODS SD rats were given 7-day intragastric SGs administration (10.5, 5.25 g/kg) for preparation of SGs medicated serum. MIN6 cells pretreated with 24 h SGs serum were then exposed to 0.4 mmol/L palmitic acid induction for 24 h. The MIN6 cells were subsequently subjected to the detection of cell viability by CCK-8 method, investigation of cell apoptosis by flow cytometry, and detection of GRP78, ATF4, CHOP, and p-PERK protein expression by Western blot. RESULTS SGs medicated serum alleviated injury and apoptosis of palmitic acid-induced MIN6 cells ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), and down-regulated the expression of endoplasmic reticulum stress-related proteins GRP78, ATF4, and CHOP expression, and reduced PERK protein phosphorylation as well ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). CONCLUSION SGs medicated serum can effectively reduce MIN6 cells injury and apoptosis induced by palmitic acid-induced, and its mechanism may be related to the inhibition of endoplasmic reticulum stress-related signaling pathways.

**KEY WORDS:** Sijunzi Granules (SGs); cell apoptosis; endoplasmic reticulum stress; diabetes

2型糖尿病是一种以胰岛素抵抗、高血糖和胰岛 $\beta$ 细胞功能障碍为特征的代谢性疾病，其病因复杂，其中肥胖是最主要危险因素之一<sup>[1]</sup>。大多数肥胖人群血浆游离脂肪酸水平明显升高，高水平脂肪酸对胰岛 $\beta$ 细胞可产生明显毒性作用，并可诱导机体发生胰岛素抵抗<sup>[2]</sup>。短期暴露于高浓度游离脂肪酸，可使胰岛素分泌代偿性增加，而时间过长则导致胰岛 $\beta$ 细胞功能损伤，甚至发生凋亡<sup>[3]</sup>。胰岛 $\beta$ 细胞数量减少及功能损伤是发生糖尿病的主要机制之一<sup>[4]</sup>。因此抑制游离脂肪酸诱导的胰岛功能损伤和 $\beta$ 细胞凋亡是防治2型糖尿病的重要措施之一。

糖尿病属于中医“消渴”范畴，其发生发展与脾胃关系密切，其中脾气亏虚是糖尿病发病的重要病机，“脾虚致消”“健脾愈消”已成为中医治疗糖尿病的重要理论依据之一，临床以益气健脾方治疗2型糖尿病也取得较好疗效<sup>[5-6]</sup>。四君子汤是益气健脾的经典方剂，由党参、白术、茯苓和甘草组成，临床用于治疗糖尿病取得了良好的效果<sup>[7]</sup>，但对其改善2型糖尿病的确切机制，目前仍不清楚。前期研究<sup>[8]</sup>发现，四君子颗粒可明显改善高糖高脂饮食诱导的大鼠糖尿病前期状态，减少胰岛细胞凋亡。本研究采用体外培养的小鼠胰岛 $\beta$ 细胞株(MIN6细胞)，应用血清药理学方法观察四君子汤对棕榈酸诱导的MIN6细胞损伤和凋亡的影响，并从内质网应激角度探究其可能机制。

## 1 材料

1.1 动物 30只SD大鼠购于浙江省实验动物中心，生产许可证号SCXK(浙)2014-0001。

1.2 药物与试剂 四君子颗粒(李时珍医药集团有限公司，批号20180516)；MIN6细胞株(上海博古生物科技有限公司)；DMEM培养基(批号AD12854263)、胎牛血清(批号MKF0602)购自美国HyClone公司；棕榈酸钠(批号SLBQ0242V)、 $\beta$ -巯基乙醇(批号STBJ3747)购自美国Sigma公司；细胞凋亡检测试剂盒(货号BB18061)、细胞增殖与细胞毒性检测试剂盒(货号BB18061X)购自上海贝博生物科技有限公司；葡萄糖调节蛋白-78(GRP78，批号120617180313)、ATF4抗体(批号011018180606)购自碧云天生物技术有限公司；PERK(批号66r8853)、p-PERK抗体(批号86w3361)购自美国Affinity Biosciences公司；CHOP抗体(批号57c6807)购自美国Cell Signaling Technology公司； $\beta$ -actin抗体(批号20180926)购自博士德生物工程有限公司；ECL发光试剂盒(批号20180822)购自上海天能科技有限公司。

1.3 仪器 二氧化碳细胞培养箱(美国SIM公司)；超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司)；高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司)；DYY-6C型电泳仪(北京六一仪器厂)；Mini PROTEAN转膜仪(美国Bio-Rad公司)；Fluor chem FC3化学发光凝胶成像系统(美国Protein Simple公司)；Infinite 200 PRO酶标仪(瑞士Tecan公司)；手持式细胞计数仪(美国Millipore公司)；流式细胞仪(美国BD公司)。

## 2 方法

2.1 含药血清制备 30只SD大鼠随机分为正常

对照组及四君子颗粒高、低剂量组(10.5、5.25 g/kg),每组10只,除正常对照组,其余2组分别灌胃给予高、低剂量四君子颗粒(10.5、5.25 g/kg),连续给药7 d。末次给药2 h后,戊巴比妥钠麻醉,腹主动脉取血,无菌条件下分离血清,56℃水浴灭活30 min,-80℃冰箱保存备用。

**2.2 MIN6 细胞培养** 将MIN6细胞培养于含10%胎牛血清的DMEM培养液中(含50 μmol/L β-巯基乙醇),置于37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度培养箱中,待细胞生长至近融合时,用0.25%胰酶消化后传代培养。

**2.3 MIN6 细胞活力检测** 将MIN6细胞用0.25%胰酶消化后,制备单细胞悬液,以2×10<sup>4</sup>/孔接种于96孔培养板,24 h后弃培养液,PBS洗涤后加入新的培养液,细胞随机分为对照组、模型组、空白血清组及四君子颗粒高、低剂量组。四君子颗粒高、低剂量组分别加入相应的含药血清,空白血清组加入空白对照组血清,使血清终浓度为10%,孵育24 h;除对照组外,其余各组更换含0.4 mmol/L的棕榈酸培养基,孵育24 h,CCK-8法检测细胞活性。

**2.4 MIN6 细胞凋亡检测** 取生长状态良好的MIN6细胞,0.25%胰酶消化后制备单细胞悬液,接种于6孔培养板,24 h后更换新鲜培养液。按“2.3”项下分组及药物处理。弃培养液,PBS洗涤后0.25%胰酶消化收集细胞,预冷PBS洗涤2次。用400 μL Annexin V结合液悬浮细胞,在细胞悬液中加入5 μL Annexin V-FITC染色液,轻轻混匀后于4℃避光孵育15 min,然后加入10 μL PI染色液轻轻混匀,4℃避光孵育5 min,流式细胞仪检测细胞凋亡水平(激发波长488 nm,发射波长525 nm)。

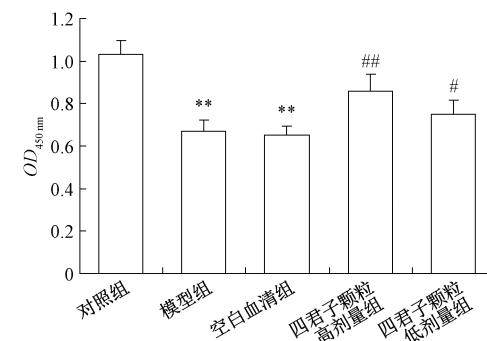
**2.5 Western blot 法检测蛋白表达** 细胞接种于6孔培养板,按“2.3”项下分组及药物处理。弃培养液,PBS洗涤2次,加入0.25%胰酶消化收集细胞,PIPA裂解液(含磷酸酶和蛋白酶抑制剂)冰浴裂解细胞。12 000 g离心15 min,收集上清液,BCA法测定蛋白浓度,聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白并转移至PVDF膜,5%脱脂牛奶封闭2 h。分别加入β-actin、GRP78、ATF4、CHOP、p-PERK、PERK抗体,4℃孵育过夜,TBST洗涤后加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育2 h,滴加ECL发光液显色,凝胶图像分析系统拍照并分析条带光密度,结果以GPR78/β-actin、ATF4/β-actin、

CHOP/β-actin、P-PERK/PERK表示。

**2.6 统计学分析** 采用DAS1.0统计软件进行分析,数据以( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD法,以P<0.05为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 四君子颗粒对MIN6细胞活力的影响** 由图1可见,0.4 mmol/L棕榈酸孵育MIN6细胞24 h后可以诱导MIN6细胞损伤(P<0.01);四君子颗粒含药血清预孵24 h可减轻棕榈酸诱导的细胞损伤(P<0.05, P<0.01);与模型组比较,空白血清组MIN6细胞活力差异无统计学意义。提示四君子颗粒可有效改善棕榈酸诱导的细胞损伤。



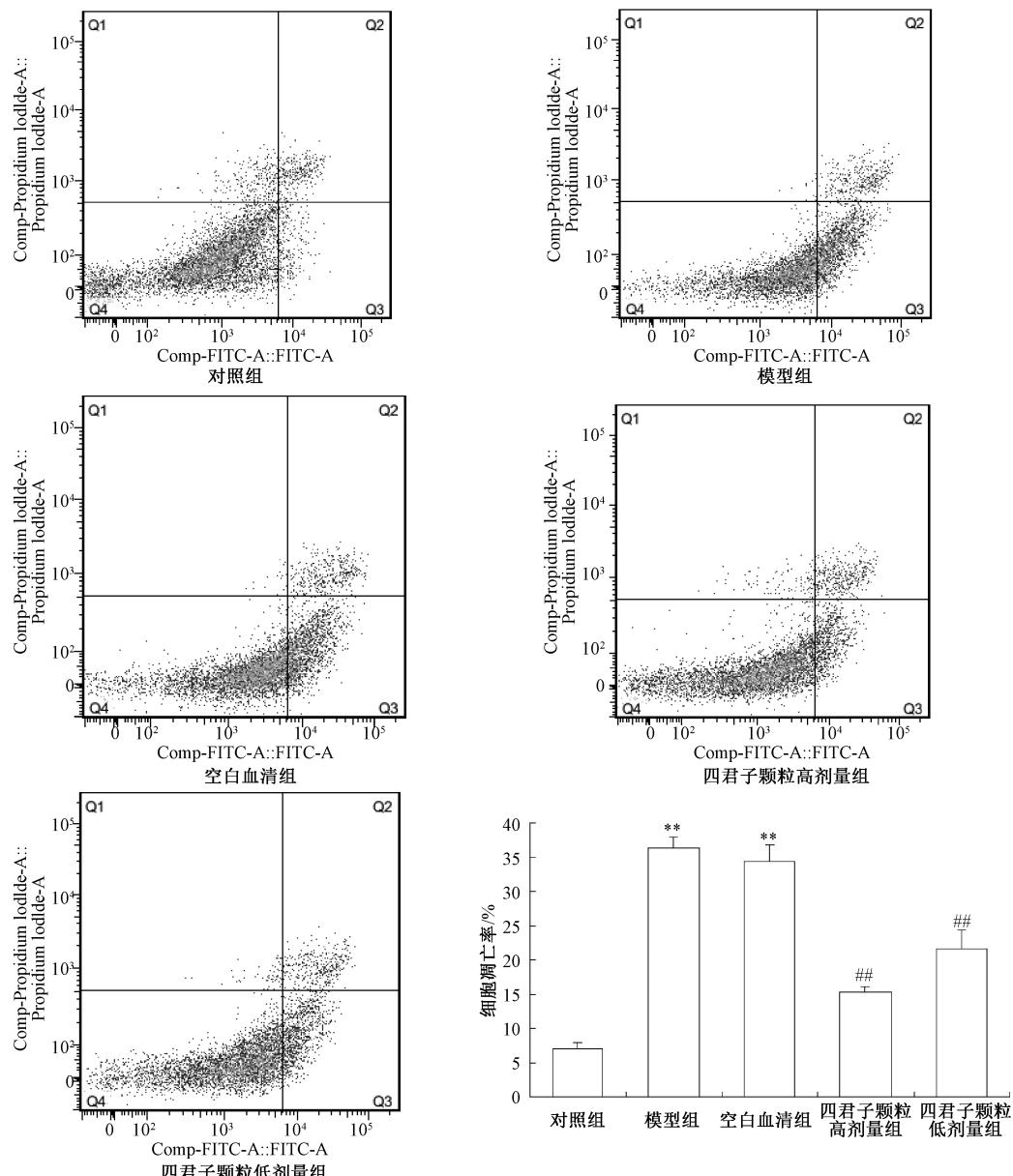
注:与对照组比较, \*\*P < 0.01;与模型组比较, #P < 0.05, ##P < 0.01。

**图1 四君子颗粒对棕榈酸诱导的MIN6细胞损伤的影响** ( $\bar{x}\pm s$ , n=6)

**Fig. 1 Effects of SGs on the viability of palmitic acid-induced MIN6 cells ( $\bar{x}\pm s$ , n=6)**

**3.2 四君子颗粒对MIN6细胞凋亡的影响** 正常培养条件下,MIN6细胞凋亡率很低,0.4 mmol/L棕榈酸诱导24 h后,MIN6细胞凋亡率升高(P<0.01),表现为凋亡早期和凋亡晚期的细胞均增加;四君子颗粒含药血清预孵24 h可降低棕榈酸诱导的MIN6细胞凋亡(P<0.01),而空白对照血清对棕榈酸诱导的细胞凋亡无明显影响,见图2。提示四君子颗粒可有效抑棕榈酸诱导的MIN6细胞凋亡。

**3.3 四君子颗粒对MIN6细胞GRP78、ATF4、CHOP、p-PERK表达的影响** 由图3可知,正常培养条件下,MIN6细胞GRP78、ATF4及CHOP蛋白表达较低,PERK蛋白磷酸化也较低;0.4 mmol/L棕榈酸诱导24 h后,MIN6细胞GRP78、ATF4、CHOP、p-PERK蛋白表达升高(P<0.01);四君子颗粒含药血清预孵24 h可降低



注：与对照组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图2 四君子颗粒对棕榈酸诱导的MIN6细胞凋亡的影响 ( $\bar{x}\pm s$ , n=4)

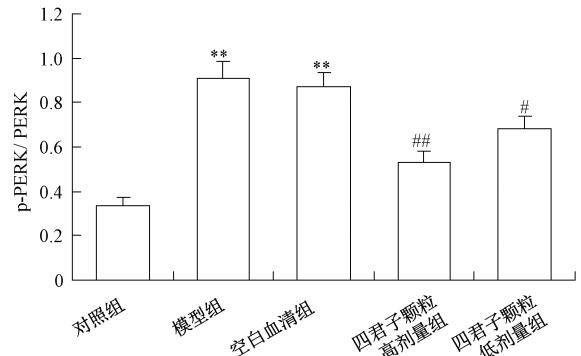
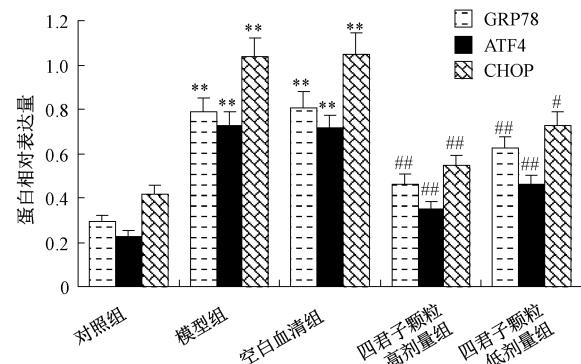
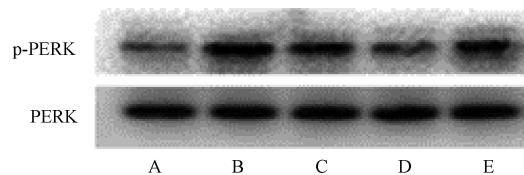
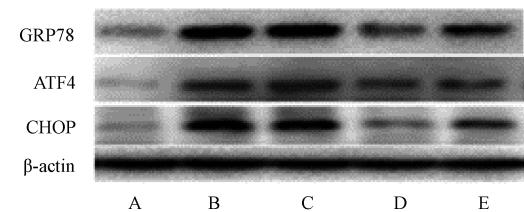
Fig. 2 Effects of SGs on the apoptosis of palmitic acid-induced MIN6 cells ( $\bar{x}\pm s$ , n=4)

细胞内 GRP78、ATF4、CHOP、p-PERK 蛋白表达 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )，而空白对照血清对 GRP78、ATF4、CHOP 及 p-PERK 蛋白表达均无明显影响，提示四君子颗粒含药血清可明显减轻棕榈酸诱导的 MIN6 细胞内质网应激，这一作用与其抑制细胞凋亡作用一致，四君子颗粒抑制棕榈酸诱导的 MIN6 细胞凋亡与抑制内质网应激 PERK- ATF4-CHOP 信号通路有关。

#### 4 讨论

流行病学资料显示，肥胖是 2 型糖尿病最主要

危险因素之一，糖尿病患者除表现为高血糖外，还普遍存在脂代谢紊乱，表现为血浆三酰甘油 (TG)、极低密度脂蛋白 (VLDL) 和游离脂肪酸等水平显著升高<sup>[9]</sup>。大量研究显示，高水平游离脂肪酸一方面可干扰胰岛素信号转导，引起胰岛素抵抗，另一方面可诱导胰岛  $\beta$  细胞凋亡，导致胰岛功能受损，诱发 2 型糖尿病。因此，抑制高浓度游离脂肪酸诱导的胰岛  $\beta$  细胞损伤和胰岛素抵抗是防治肥胖相关 2 型糖尿病的有效途径之一。本研究采用血清药理学方法，观察四君子颗粒对 MIN6 小



注：A~E 分别为对照组、模型组、空白血清组、四君子颗粒高剂量组、四君子颗粒低剂量组。与对照组比较， $^{**}P<0.01$ ；与模型组比较， $^{\#}P<0.05$ ， $^{##}P<0.01$ 。

图3 四君子颗粒对棕榈酸诱导的 MIN6 细胞 GRP78、ATF4、CHOP、p-PERK 表达的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=4$ )

Fig.3 Effects of SGs on GRP78, ATF4, CHOP and p-PERK expression of palmitic acid-induced MIN6 cells ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=4$ )

鼠胰岛  $\beta$  细胞的保护作用。结果显示，0.4 mmol/L 棕榈酸孵育 24 h 后，MIN6 细胞活力明显受损，细胞凋亡明显升高，这一结果与文献报道一致<sup>[10]</sup>。四君子颗粒含药血清预孵 24 h，棕榈酸诱导的 MIN6 细胞损伤减轻，细胞凋亡也显著下降，而空白对照血清对棕榈酸诱导的细胞损伤和凋亡无明显影响，提示四君子颗粒含药血清可有效改善棕榈酸诱导的 MIN6 细胞损伤和凋亡。

游离脂肪酸可刺激胰岛  $\beta$  细胞合成与分泌胰岛素，而长期暴露于高浓度游离脂肪酸则会加重  $\beta$  细胞胰岛素分泌负荷<sup>[11]</sup>。当胰岛素合成大量增加时，作为细胞内蛋白质合成与翻译后加工重要场所的内质网负担加重，大量未折叠或错误折叠蛋白在内质网腔内积聚，诱发内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS)<sup>[12]</sup>。一旦发生内质网应激，细胞首先启动未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 以缓解内质网应激，恢复内质网稳态。GRP78 合成增加是 UPR 标志性事件之一<sup>[13]</sup>。本研究结果显示，暴露于棕榈酸 24 h 后，MIN6 细胞 GRP78 蛋白表达显著升高，说明棕榈酸诱发了

明显的内质网应激。四君子颗粒含药血清预孵 24 h 后可明显下调细胞内 GRP78 蛋白表达，而空白对照血清对 GRP78 表达无明显影响，提示四君子颗粒含药血清可有效改善棕榈酸诱导的 MIN6 细胞内质网应激。

生理条件下，GRP78 与内质网应激感受蛋白肌醇需求酶 1 $\alpha$  (inositol-requiring enzyme 1 $\alpha$ , IRE1 $\alpha$ )、活化转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6) 和 RNA-依赖的蛋白激酶样内质网激酶 (PRK like ER associated kinase, PERK) 结合而使后者处于无活性状态。当大量未折叠蛋白在内质网腔内积聚时，一方面细胞代偿性合成 GRP78 增加；另一方面，结合于 3 种膜蛋白上的 GRP78 解离，转而去结合未折叠蛋白，游离出的 IRE-1 $\alpha$ 、PERK、ATF6 进而诱发内质网应激下游信号传递及相关基因表达<sup>[13]</sup>。通过上述信号通路，UPR 可改变细胞代谢方式，促使细胞存活。但当内质网应激过于强烈或持续时间过久，UPR 无法使内质网恢复稳态时，则可诱导细胞凋亡。IRE-1 $\alpha$ 、PERK 和 ATF6 通路的活化均可上调 CHOP 蛋白表达，诱

导细胞凋亡，其中 PERK 途径在内质网应激诱导细胞凋亡中发挥主要作用<sup>[14]</sup>。本研究结果显示，与棕榈酸孵育 24 h 后，MIN6 细胞内 ATF4 蛋白、磷酸化 PERK 及其下游蛋白 CHOP 表达均显著升高，而与四君子颗粒含药血清预孵可明显抑制上述蛋白表达，这一作用与四君子颗粒含药血清抑制 MIN6 细胞凋亡作用一致，提示四君子颗粒含药血清抑制棕榈酸诱导的 MIN6 细胞凋亡与抑制细胞内质网应激及 PERK 相关凋亡信号通路有关。

综上所述，四君子颗粒含药血清可有效抑制棕榈酸诱导的 MIN6 细胞凋亡，其机制与抑制内质网应激 PERK 信号通路有关。该研究结果提示，四君子颗粒防治 2 型糖尿病可能与保护胰岛  $\beta$  细胞、改善胰岛功能有关。

## 参考文献：

- [ 1 ] Taylor R, Al-Mrabeh A, Sattar N. Understanding the mechanisms of reversal of type 2 diabetes [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7(9): 726-736.
- [ 2 ] Smith U, Kahn B B. Adipose tissue regulates insulin sensitivity: role of adipogenesis, de novo lipogenesis and novel lipids [J]. *J Intern Med*, 2016, 280(5): 465-475.
- [ 3 ] Xiong X, Sun X, Wang Q, et al. SIRT6 protects against palmitate-induced pancreatic  $\beta$ -cell dysfunction and apoptosis [J]. *J Endocrinol*, 2016, 231(2): 159-165.
- [ 4 ] Chen C, Cohrs C M, Stertmann J, et al. Human  $\beta$  cell mass and function in diabetes: recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis [J]. *Mol Metab*, 2017, 6(9): 943-957.
- [ 5 ] 田源, 运锋, 陈依键. 益气健脾汤治疗 2 型糖尿病(脾气亏虚型)的临床疗效观察 [J]. 中医药学报, 2017, 45(4): 129-131.
- [ 6 ] 张勇, 张莉, 陈志敏. 益气健脾汤辅助二甲双胍治疗脾气亏虚型 2 型糖尿病患者临床效果评价 [J]. 内科, 2019, 14(1): 23-26.
- [ 7 ] 叶惠萍, 俞丽君. 四君子汤辅助治疗妊娠期糖尿病临床观察 [J]. 新中医, 2016, 48(6): 89-91.
- [ 8 ] 唐保露, 张旭, 袁萍, 等. 四君子颗粒对大鼠糖尿病前期的改善作用及其机制研究 [J]. 中成药, 2020, 42(3): 610-615.
- [ 9 ] Meex R C R, Blaak E E, van Loon L J C. Lipotoxicity plays a key role in the development of both insulin resistance and muscle atrophy in patients with type 2 diabetes [J]. *Obes Rev*, 2019, 20(9): 1205-1217.
- [ 10 ] Biden T J, Robinson D, Cordery D, et al. Chronic effects of fatty acids on pancreatic beta-cell function: new insights from functional genomics [J]. *Diabetes*, 2004, 53 (Suppl 1): S159-165.
- [ 11 ] 张海啸, 杨叔禹, 曹洪欣, 等. 平糖方药物血清急性抑制软脂酸刺激的 INS-1 $\beta$  细胞胰岛素分泌 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(9): 780-782.
- [ 12 ] Riahi Y, Israeli T, Cerasi E, et al. Effects of proinsulin misfolding on  $\beta$ -cell dynamics, differentiation and function in diabetes [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2018, 20 (Suppl 2), 95-103.
- [ 13 ] Ibrahim I M, Abdelmalek D H, Elfiky A A. GRP78: a cell's response to stress [J]. *Life Sci*, 2019, 226: 156-163.
- [ 14 ] Rozpedek W, Pytel D, Mucha B, et al. The role of the PERK/eIF2 $\alpha$ /ATF4/CHOP signaling pathway in tumor progression during endoplasmic reticulum stress [J]. *Curr Mol Med*, 2016, 16(6): 533-544.