

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00074

内质网应激与支气管哮喘

汪莹[△],熊叶[△],商艳*,李强,白冲

第二军医大学长海医院呼吸内科,上海 200433

[摘要] 内质网应激是细胞对于内源性应激的一种适应性反应,由未折叠蛋白所诱导,其机制被称为未折叠蛋白反应(UPR)。哺乳动物 UPR 包含 3 个经典的分支通路,分别以胰腺内质网激酶(PERK)、需肌醇跨膜激酶/核酸内切酶 1(IRE1)和活化转录因子 6(ATF6)作为近端效应物,能够促进蛋白质折叠和转运,停止蛋白质的翻译合成,降解清除错误蛋白,并可启动凋亡程序诱导不能修复错误蛋白的细胞凋亡,从而维持内环境与组织细胞功能的稳态。支气管上皮内含多种蛋白质合成分泌旺盛的细胞类型,本身易出现内质网应激;支气管哮喘时,气道炎症状态等因素的存在被认为可以诱发 UPR,并与气道炎症反应互为因果,交互作用。目前的研究认为,在支气管哮喘发病中,气道上皮细胞的钙稳态失调、透明质酸与黏蛋白的异常分泌、细胞因子对炎细胞的募集作用以及免疫调节状态的异常等环节与内质网应激存在密切的关系。本文即对内质网应激与哮喘的相关研究作一综述。

[关键词] 内质网应激;哮喘;未折叠蛋白反应

[中图分类号] R 562.25 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2015)01-0074-05

Endoplasmic reticulum stress and bronchial asthma

WANG Ying[△], XIONG Ye[△], SHANG Yan*, LI Qiang, BAI Chong

Department of Respiratory Medicine, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] The endoplasmic reticulum stress (ERS) response is induced by misfolded proteins via the unfolded-protein response (UPR), allowing cells to deal with endogenous stress through arresting of protein translation, promoting peptide folding, degeneration of unfolded or misshapen proteins, and cell apoptosis. Pancreatic endoplasmic reticulum kinase (PERK), inositol-requiring transmembrane kinase/endonuclease 1 (IRE1) and activating transcription factor 6 (ATF6) are the three proximal effectors of the UPR in mammalian cells. Airway epithelial cells consist of many cell types with prosperous cell growth and numerous secretion, making those cells more liable to have ERS. Recent studies have revealed the role of ERS in the pathogenesis of bronchial asthma, which involves imbalance of calcium homeostasis, abnormal secretion of hyaluronic acid and mucin, and the abnormal recruitment and infiltration of inflammatory cells. This article summarizes the correlation of ERS with asthma.

[Key words] endoplasmic reticulum stress; asthma; unfolded protein response

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(1):74-78]

内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)是指在多种生理或病理条件下,细胞错误折叠的蛋白质积累,导致细胞启动一系列信号转导途径对其进行应答,应答的结果是细胞停止蛋白质的翻译合成,增强蛋白的折叠、转运能力,并降解清除错误蛋白,如仍不能修正这种错误状态,细胞还将最终启动凋亡程序。这些导致内质网应激的诱因包括低糖饥饿、糖蛋白的糖基化不足、跨内质网膜的钙离子流、蛋白合成

与分泌负荷的升高,以及蛋白折叠、转运和降解障碍等,此时蛋白质合成步骤中的折叠修饰步骤或细胞的钙稳态(calcium homeostasis)受到影响,从而导致内质网应激状态的出现^[1]。

内质网应激是一个在生理和病理情况下都有可能出现的过程。内质网中不成熟的新生肽与未折叠蛋白数量的生理性波动,均可以引起蛋白质翻译的暂时性衰减和蛋白折叠机制的临时上调。与此相对应,

[收稿日期] 2014-05-11 **[接受日期]** 2014-08-25

[基金项目] 国家自然科学基金(81000006),上海市浦江人才计划(14PJ1411000). Supported by National Natural Science Foundation of China (81000006) and Shanghai Pujiang Talent Program (14PJ1411000).

[作者简介] 汪莹,博士,住院医师. E-mail: wing_chhx@163.com;熊叶,博士生,住院医师. E-mail: xiongye0104@163.com

[△]共同第一作者(Co-first authors).

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-31161319, E-mail: shangyan751200@163.com

长时间的內质网应激则往往都是病理性的,且一般会引起来未折叠蛋白反应(unfolded-protein reaction,UPR)的全面动员,进而导致细胞凋亡。目前的研究显示,內质网应激在糖尿病、酪氨酸血症、心血管疾病、病毒感染、肿瘤以及免疫应答、衰老、脑梗死和神经退行性疾病等的发病机制中均发挥重要的作用^[2]。支气管哮喘作为气道的慢性炎症性疾病,具有气道嗜酸性粒细胞浸润、杯状细胞肥大、黏液过度分泌以及气道对吸入的特异性及非特异性的刺激产生高反应性等特点,常常导致血管壁通透性的增高以及浆液渗出,是一种典型的免疫反应失调性炎症性疾病^[3-4]。鉴于內质网应激与免疫应答反应的关系,近来的有关研究部分揭示了哮喘发病中內质网应激参与的机制,本文即对內质网应激与哮喘的相关研究作一综述。

1 內质网应激的分子机制简述

內质网作为一种真核细胞胞质中广泛分布、对细胞基本结构功能具有至关重要意义的细胞器,其內环境的稳定是细胞实现基本功能的必备条件。细胞维系內质网的功能稳态的能力极强,因此广义上任何对內质网功能的需求,如新生肽的折叠、蛋白质合成修饰、脂类代谢等,及与內质网实际具有或所能达到的能力之间的不平衡状态,均可称为內质网应激状态。內质网应激时,细胞自身通过改变其转录和翻译过程,减少蛋白的合成,降低进入內质网的蛋白量,同时上调內质网中分子伴侣和折叠蛋白的表达,增强內质网的蛋白折叠功能;细胞还可以通过上调內质网蛋白降解途径相关基因的表达,加速未折叠蛋白的降解过程。內质网产生的这种适应性反应被称为 UPR。简单说来,內质网应激是细胞面对某些特定伤害性刺激时的动员反应,这些伤害性刺激导致细胞內质网功能障碍和未折叠蛋白积累,而这种动员反应的产生会触发 UPR,动员反应的结局以细胞重回內质网稳态(存活途径)或细胞凋亡(凋亡途径)两种形式结束。

哺乳动物细胞典型的 UPR 通路包含 3 个分支通路,分别以跨膜蛋白活化转录因子 6(activating transcription factor 6,ATF6)、需肌醇跨膜激酶/核酸内切酶 1(inositol-requiring transmembrane kinase/endonuclease 1,IRE1)和胰腺內质网激酶(pancreatic endoplasmic reticulum kinase,PERK)作为信号通路的最近端受体,即以內质网腔面为近端,也被称为內质网应激传感器。在非应激条件下,上述 3 种跨膜蛋白的內质网腔面与 1 种內质网 HSP70 蛋白家族成员结合而处于非激活状态,这种 HSP70 蛋白家族成员即免疫球

蛋白重链结合蛋白/葡萄糖调节蛋白 78(binding immunoglobulin heavy chain protein/glucose-regulated protein 78,BiP/GPR78)。而在內质网应激时,BiP 被此时大量出现的未折叠蛋白隔离,从而导致信号通路激活^[6]。BiP/GPR78 本身与未折叠蛋白的结合还能通过內质网相关的蛋白降解(endoplasmic reticulum-associated degradation,ERAD)途径促进未折叠蛋白的降解^[7-8]。

1.1 PERK 信号通路 內质网应激时,內质网腔內大量的未折叠蛋白与热休克蛋白 BiP/GPR78 结合,PERK 与 BiP/GPR78 隔离后被磷酸化以及寡聚化,从而启动下游信号通路。PERK 活化后能磷酸化真核翻译起始因子 2 α (eIF2 α)并使其失活,在內质网应激的初期,蛋白翻译过程总体停滞就是由活化的 PERK 通路引起的。不过,此时仍有相当数量的、包含有上游非编码开放阅读框(upstream non-coding open reading frames,uORFs)的信使 RNA 可被转录出来,这对于维持细胞的存活等基本需求至关重要^[2]。

1.2 IRE1 信号通路 IRE1 通路激活的机制与 PERK 类似,其与热休克蛋白 BiP/GPR78 在未折叠蛋白的作用下隔离之后,IRE1 被自身磷酸化以及寡聚化,活化的结果是导致 *Xbp1* 基因转录因子 mRNA 的非常规剪切,此时的开放读码框会使全长 X-盒结合蛋白 1(X-box binding protein 1,XBP1)表达。XBP1 的表达可进一步激活分子伴侣以及 ERAD 相关蛋白的基因转录,从而促进蛋白折叠,加速错误蛋白降解,使细胞进入 UPR 存活途径^[9-11]。这些能被 XBP1 转录激活的蛋白多为內质网应激蛋白,包括分子伴侣 GPR78、GPR94、內质网 29/7D 蛋白(ER protein 29/72,ERp29/72)等,能够促进蛋白加工并与钙离子平衡相关,协助未折叠蛋白定位于內质网腔,防止错误蛋白的输出^[12-15]。XBP1 也在凋亡途径中发挥作用,通过转录激活 C/EBP 同源蛋白(C/EBP homologous protein,CHOP)的表达使其明显上调,并通过激活 Caspase-3 诱导细胞的凋亡^[16]。此外,IRE1 本身具有丝氨酸/苏氨酸受体蛋白激酶活性,活化的 IRE1 激酶结构域可募集肿瘤坏死因子受体相关因子 2(TNF receptor-associated factor 2,TRAF2),继而与细胞凋亡信号调节激酶 1(apoptosis signal-regulating kinase 1,ASK1)形成 IRE1/TRAF2/ASK1 复合物,激活 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun NH₂-terminal kinase,JNK)进而磷酸化 c-Jun,最终启动细胞凋亡^[17-18]。

1.3 ATF6 信号通路 ATF6 是 CREB/ATF 家族含碱性亮氨酸拉链(bZIP)结构的转录因子,其与热休克

蛋白解离后重新定位至高尔基体,并水解为 S1P 和 S2P(site 1/2 proteases)两个活性片段。S1P 和 S2P 可直接发挥类似 XBP1 的作用,作为转录因子调控其他内质网应激蛋白和分子伴侣等的表达,总体效应为促进蛋白折叠,通过 ERAD 途径加速错误蛋白降解^[19]。

2 内质网应激与支气管哮喘

实际上 UPR 过程中有许多与正常细胞必需的生理功能共用的环节,例如分泌蛋白在内质网中的肽链转运、糖基化和折叠,以及蛋白质/肽链在内质网和高尔基体之间的前向/后向转运和分泌^[20]。UPR 不完整的细胞蛋白分泌过程常受损^[21];此外,UPR 还在脂代谢、细胞周期阻滞等过程中发挥作用^[22-23]。在支气管哮喘发病过程中,出现过敏性气道炎症、黏蛋白过度分泌甚至气道重构等病理生理过程,目前认为在以下方面可能与内质网应激有关。

2.1 *ORMDL3* 基因多态性与内质网钙稳态失调

ORMDL3 蛋白全称血清类黏蛋白 1 样蛋白质 3(orosomucoid-1 like protein 3),基因定位于染色体 17q21,大小为 6 560 bp,含 3 个外显子,编码内质网上 153 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白,其序列高度保守,组织分布广泛,能够调节内质网介导的钙离子信号和细胞应激,促使 UPR 的发生^[24]。2007 年 Moffatt 等^[25]首次运用全基因组相关分析(GWAS)的方法证明了位于 17q21 的 *ORMDL3* 基因多态性与儿童哮喘易感性密切相关。研究发现,*ORMDL3* 能够提高静息状态下胞质钙离子浓度,从而抑制内质网介导的钙离子信号传导。这一效应是通过同时对表达的肌肉-内质网钙离子泵(sarco-endoplasmic reticulum calcium pump, SERCA)的结合与抑制,导致内质网内钙离子浓度降低实现的。*ORMDL3* 表达上调,则 UPR 增强,UPR 的效应基因及相关信号通路均明显上调,如使用 siRNA 敲除 *ORMDL3* 基因,则内质网释放钙内流的离子增多,UPR 作用减弱。已经证实,哮喘患者该基因的表达是上调的,从机制上推测,这可导致 UPR 效应的增强,不过,这一假设暂未获得体外实验证据的支持^[24,26]。

2.2 内质网应激诱导的气道上皮透明质酸分泌与炎性细胞募集

对体外培养的气道上皮细胞(airway epithelial cells, AECs)和气道平滑肌细胞(airway smooth muscle cells, ASMCs)予以多聚肌-胞苷酸(poly I:C)或衣霉素处理,前者是一种病毒拟似物,可使细胞产生类似病毒感染的反应,而后者则是常用的诱导内质网应激的化学试剂。结果发现,能够导致内质网应激的衣霉素使 AECs 顶端边缘大量产生一种不常见的透明

质酸细胞外基质,而 ASMCs 对多聚肌-胞苷酸和衣霉素均发生这种反应。该基质具有黏附募集白细胞的作用,使用一种单核-巨噬细胞前体细胞 U937 细胞系进行细胞黏附和趋化的实验,发现室温下 U937 聚集并黏附于这种诱导产生的透明质酸基质中,而 37℃ 时随着这种透明质酸物质的降解,研究人员也观察到了 U937 细胞的自发解离^[27]。支气管哮喘时气道中大量炎性细胞浸润现象可由该实验在一定程度上予以解释。不过,哮喘的气道炎性细胞浸润不同于感染性炎症和慢性阻塞性肺病(COPD)等,而是以显著增多的肥大细胞和嗜酸粒细胞为特点,单核-巨噬细胞来源的 U937 细胞系尚不能完全模拟哮喘中炎细胞的特征^[28]。

2.3 内质网应激与黏蛋白分泌

黏蛋白的过量分泌是哮喘患者的特征之一。有研究对人群中黏蛋白水平与内质网应激状态之间的关系进行观察对比,在正常人群中,呼吸道所分泌的黏液中主要的黏蛋白 MUC5AC 蛋白含量最高与最低相差可达 31 倍,从高 MUC5AC 组人群中共筛选出 73 个 MUC5AC 相关核心基因处于上调状态,这些基因根据功能可分为几大类,其中包含内质网应激相关基因、分泌性粒细胞相关基因、黏液过度分泌相关离子通道基因等^[29]。吸烟人群中, MUC5AC 和 MUC5AC 相关核心基因的同步上调与非吸烟人群相比差异显著;而哮喘患者与非吸烟的健康人群相比,73 个核心基因中的 6 个上调,1 个下调。调控黏蛋白分泌细胞分化的因子包括 Stat6、spdef、klf4、sox2 和 foxa2 等转录因子^[30-34],以及 Wnt、notch 和 MAPK 等信号转导分子等^[35-38]。上述因素共同构成调节黏蛋白表达分泌的“串话”(crosstalk)网络,而内质网应激相关过程则可能在这一网络中发挥重要作用。

2.4 内质网应激与免疫调节作用

哮喘时炎症细胞浸润明显,促炎性细胞因子大量产生,免疫细胞诱导的 T 细胞活化在炎症过程中的作用不容忽视。姜黄素是一种天然的多酚类抗氧化剂,因具备免疫调节作用而在哮喘治疗中发挥一定的作用。研究发现,用姜黄素处理的 T 细胞可诱发 UPR 效应,磷酸化 PERK 和 IRE1 而启动信号通路,在人类 CD4⁺ 淋巴细胞和 Jurkat T 淋巴细胞中上调内质网应激相关转录因子 XBP-1、水解的 p50^{ATF6a} 活性片段和 CHOP 蛋白,并抑制 Bcl-2 的抗凋亡作用,最终导致活化 T 淋巴细胞的凋亡。这一系列过程的实现藉由姜黄素诱导的过度的内质网应激反应,且可以通过 siRNA 敲除 CHOP 基因阻断。这也从侧面证明哮喘疾病过程中

内质网应激发挥的保护性作用^[39]。

3 结 语

内质网应激作为一种细胞应对蛋白质错误折叠导致的细胞功能异常状态的适应性反应,普遍存在于各类组织细胞。在浆细胞、肝脏细胞、胰腺腺泡细胞、浆细胞样树突状细胞、消化道上皮分泌细胞以及呼吸道上皮细胞等特性细胞中,其代谢旺盛、蛋白质合成与分泌量巨大,出现蛋白质错误折叠的概率尤高,因而属于具有内质网应激易感性的细胞类型。近年来对于支气管哮喘与内质网应激状态关系的研究部分揭示了两之间机制上的联系和相互作用,然而,气道炎症状态下的钙稳态失调、炎症因子的分泌和炎细胞募集等过程与内质网应激的因果关系仍有待进一步研究;某些与UPR过程伴随发生的分子生物学过程与内质网应激之间是否有机制上的深层次联系也尚不完全清楚;除此以外,生物信号系统复杂的“串话”机制也为解释内质网应激与哮喘关系的全貌带来难度。虽然目前有关支气管哮喘与内质网应激关系的研究尚不够明确和深入,但内质网应激作为炎症反应的重要环节,已在糖尿病、心血管疾病、衰老、炎症性肠病等多种疾病的病理生理机制中显示了重要作用,这也为今后支气管哮喘的研究指示了一个颇为有益的方向。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] Jäger R, Bertrand M J, Gorman A M, Vandenabeele P, Samali A. The unfolded protein response at the crossroads of cellular life and death during endoplasmic reticulum stress [J]. *Biol Cell*, 2012, 104: 259-270.

[2] Zhao L, Ackerman S L. Endoplasmic reticulum stress in health and disease [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2006, 18: 444-452.

[3] Kay A B. Asthma and inflammation [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1991, 87: 893-910.

[4] Fahy J V, Corry D B, Boushey H A. Airway inflammation and remodeling in asthma [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2000, 6: 15-20.

[5] Malmström K, Pelkonen A S, Mäkelä M J. Remodeling, inflammation and airway responsiveness in early childhood asthma [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2013, 13: 203-210.

[6] Schröder M, Kaufman R J. ER stress and the unfolded pro-

tein response [J]. *Mutat Res*, 2005, 569(1-2): 29-63.

[7] Liu A X, He W H, Yin L J, Lü P P, Zhang Y, Sheng J Z, et al. Sustained endoplasmic reticulum stress as a cofactor of oxidative stress in decidual cells from patients with early pregnancy loss [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96: E493-E497.

[8] Misra U K, Pizzo S V. Modulation of the unfolded protein response in prostate cancer cells by antibody-directed against the carboxyl-terminal domain of GRP78 [J]. *Apoptosis*, 2010, 15: 173-182.

[9] Shamu C E, Walter P. Oligomerization and phosphorylation of the Ire1p kinase during intracellular signaling from the endoplasmic reticulum to the nucleus [J]. *EMBO J*, 1996, 15: 3028-3039.

[10] Sone M, Zeng X, Larese J, Ryoo H D. A modified UPR stress sensing system reveals a novel tissue distribution of IRE1/XBP1 activity during normal Drosophila development [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2013, 18: 307-319.

[11] Lee K, Tirasophon W, Shen X, Michalak M, Prywes R, Okada T, et al. IRE1-mediated unconventional mRNA splicing and S2P-mediated ATF6 cleavage merge to regulate XBP1 in signaling the unfolded protein response [J]. *Genes Dev*, 2002, 16: 452-466.

[12] Farmaki E, Mkrtchian S, Papazian I, Papavassiliou A G, Kikaris H. ERp29 regulates response to doxorubicin by a PERK-mediated mechanism [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813: 1165-1171.

[13] Rainey-Barger E K, Mkrtchian S, Tsai B, Tsai B. Dimerization of ERp29, a PDI-like protein, is essential for its diverse functions [J]. *Mol Biol Cell*, 2007, 18: 1253-1260.

[14] Mkrtchian S, Fang C, Hellman U, Ingelman-Sundberg M. A stress-inducible rat liver endoplasmic reticulum protein, ERp29 [J]. *Eur J Biochem*, 1998, 251(1-2): 304-313.

[15] Kozlov G, Määttänen P, Schrag J D, Hura G L, Gabrielli L, Cygler M, et al. Structure of the noncatalytic domains and global fold of the protein disulfide isomerase ERp72 [J]. *Structure*, 2009, 17: 651-659.

[16] Binet F, Chiasson S, Girard D. Evidence that endoplasmic reticulum (ER) stress and caspase-4 activation occur in human neutrophils [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391: 18-23.

[17] Nishitoh H, Matsuzawa A, Tobiume K, Saegusa K, Takeda K, Inoue K, et al. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats [J]. *Genes Dev*, 2002, 16: 1345-1355.

[18] Zheng Q Y, Li P P, Jin F S, Yao C, Zhang G H, Zang T, et al. Ursolic acid induces ER stress response to activate ASK1-JNK signaling and induce apoptosis in human

- bladder cancer T24 cells[J]. *Cell Signal*, 2013, 25: 206-213.
- [19] Teske B F, Wek S A, Bunpo P, Cundiff J K, McClintick J N, Anthony T G, et al. The eIF2 kinase PERK and the integrated stress response facilitate activation of ATF6 during endoplasmic reticulum stress[J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22: 4390-4405.
- [20] Travers K J, Patil C K, Wodicka L, Lockhart D J, Weissman J S, Walter P. Functional and genomic analyses reveal an essential coordination between the unfolded protein response and ER-associated degradation[J]. *Cell*, 2000, 101: 249-258.
- [21] Ng D T, Spear E D, Walter P. The unfolded protein response regulates multiple aspects of secretory and membrane protein biogenesis and endoplasmic reticulum quality control[J]. *J Cell Biol*, 2000, 150: 77-88.
- [22] Brewer J W, Hendershot L M, Sherr C J, Diehl J A. Mammalian unfolded protein response inhibits cyclin D1 translation and cell-cycle progression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 8505-8510.
- [23] Brewer J W, Diehl J A. PERK mediates cell-cycle exit during the mammalian unfolded protein response[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 12625-12630.
- [24] Cantero-Recasens G, Fandos C, Rubio-Moscardo F, Valverde M A, Vicente R. The asthma-associated *ORMDL3* gene product regulates endoplasmic reticulum-mediated calcium signaling and cellular stress [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19: 111-121.
- [25] Moffatt M F, Kabesch M, Liang L, Dixon A L, Strachan D, Heath S, et al. Genetic variants regulating *ORMDL3* expression contribute to the risk of childhood asthma [J]. *Nature*, 2007, 448: 470-473.
- [26] Hsu K J, Turvey S E. Functional analysis of the impact of *ORMDL3* expression on inflammation and activation of the unfolded protein response in human airway epithelial cells[J]. *Allergy Asthma Clin Immunol*, 2013, 9: 4.
- [27] Lauer M E, Mukhopadhyay D, Fulop C, de la Motte C A, Majors A K, Hascall V C. Primary murine airway smooth muscle cells exposed to poly(I,C) or tunicamycin synthesize a leukocyte-adhesive hyaluronan matrix [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 5299-5312.
- [28] Lauer M E, Erzurum S C, Mukhopadhyay D, Vasanji A, Drazba J, Wang A, et al. Differentiated murine airway epithelial cells synthesize a leukocyte-adhesive hyaluronan matrix in response to endoplasmic reticulum stress [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 26283-26296.
- [29] Wang G, Xu Z, Wang R, Al-Hijji M, Salit J, Strulovici-Barel Y, et al. Genes associated with MUC5AC expression in small airway epithelium of human smokers and non-smokers[J]. *BMC Med Genomics*, 2012, 5: 21.
- [30] Chen G, Korfhagen T R, Xu Y, Kitzmiller J, Wert S E, Maeda Y, et al. SPDEF is required for mouse pulmonary goblet cell differentiation and regulates a network of genes associated with mucus production[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119: 2914-2924.
- [31] Tompkins D H, Besnard V, Lange A W, Wert S E, Keiser A R, Smith A N, et al. Sox2 is required for maintenance and differentiation of bronchiolar Clara, ciliated, and goblet cells[J]. *PLoS One*, 2009, 4: e8248.
- [32] Park S W, Verhaeghe C, Nguyenvu L T, Barbeau R, Easley C J, Nakagami Y, et al. Distinct roles of FOXA2 and FOXA3 in allergic airway disease and asthma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 180: 603-610.
- [33] Blease K, Schuh J M, Jakubzick C, Lukacs N W, Kunkel S L, Joshi B H, et al. Stat6-deficient mice develop airway hyperresponsiveness and peribronchial fibrosis during chronic fungal asthma[J]. *Am J Pathol*, 2002, 160: 481-490.
- [34] Katz J P, Perreault N, Goldstein B G, Lee C S, Labosky P A, Yang V W, et al. The zinc-finger transcription factor Klf4 is required for terminal differentiation of goblet cells in the colon [J]. *Development*, 2002, 129: 2619-2628.
- [35] Mucenski M L, Nation J M, Thitoff A R, Besnard V, Xu Y, Wert S E, et al. Beta-catenin regulates differentiation of respiratory epithelial cells *in vivo* [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 289: L971-L979.
- [36] Tsao P N, Vasconcelos M, Izvolsky K I, Qian J, Lu J, Cardoso W V. Notch signaling controls the balance of ciliated and secretory cell fates in developing airways [J]. *Development*, 2009, 136: 2297-2307.
- [37] Guseh J S, Bores S A, Stanger B Z, Zhou Q, Anderson W J, Melton D A, et al. Notch signaling promotes airway mucous metaplasia and inhibits alveolar development [J]. *Development*, 2009, 136: 1751-1759.
- [38] Fujisawa T, Ide K, Holtzman M J, Suda T, Suzuki K, Kuroishi S, et al. Involvement of the p38 MAPK pathway in IL-13-induced mucous cell metaplasia in mouse tracheal epithelial cells [J]. *Respirology*, 2008, 13: 191-202.
- [39] Zhang X, Zhang H Q, Zhu G H, Wang Y H, Yu X C, Zhu X B, et al. A novel mono-carbonyl analogue of curcumin induces apoptosis in ovarian carcinoma cells via endoplasmic reticulum stress and reactive oxygen species production [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 5: 739-744.