

## Intestine Ischemia/reperfusion Induces ER Stress and Apoptosis in Miniature Pigs

Jae-Cheong Lim, Ho-Jae Han and Soo-Hyun Park<sup>†</sup>

Bio-therapy Human Resources Center, Animal Medical Center, Department of Veterinary Physiology,  
College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

The miniature pig is a very suitable donor species in xenotransplantation of human organs. Intestine ischemia/reperfusion (I/R) is associated with high morbidity and mortality. Endoplasmic reticulum (ER) stress and apoptosis has been associated with the onset of diverse diseases. Thus, we examined the effect of intestine I/R on the expression of ER stress and apoptosis related molecules. In the present study, I/R induced phosphorylation of protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase (PERK), IRE, and ATF-4. I/R also increased the expression of the proapoptotic transcription factor CAAT/enhancer-binding protein homologous protein (CHOP). In addition, I/R decreased the expression of Bcl-2, but increased the expression of Bax, cleaved PARP, and cleaved caspase-3. Moreover, I/R increased splicing form of XBP-1 mRNA and the expression of caspase-6 and caspase-3 mRNA. In conclusion, intestine I/R induced ER stress and apoptosis in miniature pig.

**Key Words:** Xenotransplantation, Intestine, Ischemia/reperfusion, ER stress, Apoptosis

### 서 론

이종간 장기이식 (xenotransplantation)은 현대 사회의 다양한 질환 등에 의해 절대적인 장기의 부족으로 인해 각광을 받는 영역이다. 돼지는 인간과 유사한 생리학적 특성, 번식의 용이성, 짧은 임신 기간의 특징을 가지고 있다. 또한 최근의 형질전환 동물을 생산 및 그간 연구되어 왔던 원숭이와는 달리 저렴한 비용 및 인간으로 전염되는 질병이 발견되지 않은 점 등의 다양한 장점으로 인해 이종장기 제공원으로서 가장 적절한 동물의 하나로 간주되고 있다 (Mackenzie et al., 2003; Logan, 2000). 특히, 현재 이종간 장기이식용 장기 제공원으로서 사람의 장기와 비슷한 크기 및 형태를 보유하고 있는 소형돼지 (miniature pigs)에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다 (Scheepe et al., 2007).

허혈-재관류는 조직 및 내피세포의 저산소증 및 손상

을 야기하여 허혈의 강도와 기간에 따라 각 장기에 가역적인 손상과 비가역적인 손상 (괴사)을 가져올 수 있으며 다양한 질환 발병에 관련된다 (Boyle et al., 1996). 장 허혈-재관류 손상 역시 장으로의 동맥 혈류량이 교란되어 장 점막의 보호기능의 손상을 야기하여 급성 괴사성 장염 등의 질환 유발에 관여한다 (Kinross J, et al., 2009). 짧은 기간의 장의 허혈성 손상은 다양한 cytokine 등을 분비하며, 장 점막의 투과성을 변화시키고, 점막손상을 유발시킨다고 보고되고 있다 (Crissinger & Dahlgren, 1989).

병태 생리학적 상황에서 소포체가 처리할 수 있는 능력 이상의 미성숙 단백질이 소포체 내로 유입이 되거나 소포체 내 칼슘이 고갈되면 소포체기능에 장애가 발생하는데 이러한 상태를 소포체 스트레스 (ER stress)라고 하며, 소포체 스트레스가 발생하면 세포는 생존하기 위한 방어기전을 가지는 데 이를 소포체 스트레스반응 (ER stress response)이라고 한다. 소포체 스트레스반응은 소포체 막에 존재하는 세 가지의 신호전달체계인 pancreatic ER kinase (PERK), inositol-requiring 1 $\alpha$  (IRE-1 $\alpha$ )/X-box binding protein 1 (XBP-1) 및 activating transcription factor (ATF6)에 의해 매개된다 (Weston & Puthalakath, 2010). 이러한 ER stress가 다양한 질환시에 증가하는 것으로 보고되고 있다. 세포 자멸사 (apoptosis)는 세포가 정상적인 상

\*접수일: 2010년 11월 25일 / 수정일: 2010년 11월 30일  
채택일: 2010년 12월 10일

<sup>†</sup>교신저자: 박수현, (우) 500-757 광주광역시 북구 용봉동,  
전남대학교 수의과대학 생리학교실  
Tel: +82-62-530-2832, Fax: +82-62-530-2809  
e-mail: parksh@chonnam.ac.kr

태 또는 병리학적인 요인에 노출된 후에 죽음에 이르게 되는 생리적인 과정으로 정상세포의 기능 유지에 필수적인 과정이다 (Hengartner, 2000). 세포사멸은 세포 내·외적인 신호에 의해 시작되어 Bcl-2 family 단백질 (Korsmeyer, 1995)과 caspases (Debatin, 2004) 등의 다양한 세포사멸 조절인자에 의해 조절된다. 그럼에도 불구하고 이종장기의 최적 모델에서 장 허혈/재관류에 의한 ER stress 관련 단백질 발현 및 세포 자멸사 단백질 발현에 대한 영향은 전혀 이루어지고 있지 않고 있다. 본 연구에서는 미니돼지에서 장 허혈/재관류 시 이들이 ER stress 관련 단백질 및 apoptosis 관련 단백질 발현 변화를 알아보기 위하여 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

Yucatan 소형돼지는 경기도 평택 소재 PWG Genetics Korea 사에서 구입하였으며, 실험에 사용된 4개월령 수컷 소형돼지 (3두)의 체중은  $36.7 \pm 2.28$  kg 이었다. 이들은 실험동물사에서 사육되었고 실험 기간 동안 사육 환경은  $23 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도  $55 \pm 10\%$ 를 유지하였고, 인공조명 (12시간 점등, 12시간 소등)하에서 사육하였으며, 사료와 정제수는 자유로이 급여하였다.

### 실험동물의 사료 채취

실험동물은 전신마취를 위해 isoflurane을 4.0~5.0 mg/kg로 마취 유도 후 1.0~2.0 mg/kg으로 유지하며 양와위로 복부 정중앙을 절개하여 소장 부분을 노출 후 공장 부분의 상행 장간막 동맥을 결찰하여 허혈을 유도하였다. 이후 허혈을 30분 또는 1시간 유도한 후 1시간 후에 결찰을 풀어 재관류 1시간을 실시하였다. 샘플을 적출하여 세척을 한 후 액체질소를 사용하여 동결시킨 후  $-70^\circ\text{C}$  초저온 냉장고에 보관하였다.

### Reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR)에 의한 mRNA 발현 변화 규명

전체 RNA는 TRI 시약 (Molecular Research Center, Cincinnati, OH, USA)을 이용하여 추출하였다. 역전사반응은  $42^\circ\text{C}$ 에서 60분간 4  $\mu\text{g}$  RNA 및 200 U murine leukemia virus transcriptase (GIBCO BRL Life Technologies, Gaithersburg, MD, USA)이 함유된 20  $\mu\text{l}$ 를 실시하였다. PCR 증폭은 5  $\mu\text{l}$ 의 역전사반응 산물, 각각의 primer (10

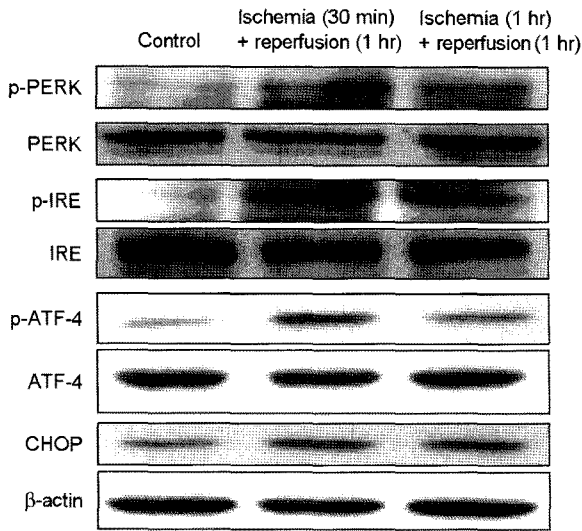
pmol), 1.25 U Taq polymerase (Promega, Madison, WI, USA) 및 1 mM dNTP을 이용하였다.  $95^\circ\text{C}$ 에서 3분간 초기 배양 후에,  $95^\circ\text{C}$  (1분),  $55^\circ\text{C}$  (1분) 및  $72^\circ\text{C}$  (1분)으로 구성된 30 증폭 cycles을 실시하였으며  $72^\circ\text{C}$ 에서 10분간 최종 extension을 실시하였다. PCR 산물들은 ethidium bromide를 함유한 2% agarose gel을  $1 \times$  TBE buffer에 전기영동하였다. 특히 primer sets은 이미 알려진 cDNA 서열로부터 제작되었다: caspase-3 mRNA: [5'-GCTGCAAATCTCAGGGAGAC-3'] (sense primer) [5'-GGCAGGCCTGAATTATGAAA-3'] (antisense primer); XBP-1 mRNA: [5'-TTACGGGAGAAAACCTCACGGC-3'] (sense primer) [5'-GGGTCCAACTTGTCCAGAATGC-3'] (antisense primer); caspase-6 mRNA: [5'-ACTGGCTTGTTCAAAGG-3'] (sense primer) [5'-CAGCGTGTAACGGAG-3'] (antisense primer); GAPDH: [5'-ATTGCCCTCAACGACCACT-3'] (sense primer) [5'-GGCC-TCTCTCCTCCTCGC-3'] (antisense primer).

### Western immunoblotting

각 시료를 PBS로 2 번씩 세척한 후, 각기 150  $\mu\text{l}$ 의 lysis buffer ( $10 \times$  PBS, 1% NP-40, 20% SDS, 0.5 M EDTA, 0.01 M PMSF, 10 mg/ml Leupeptin, 1 mg/ml pepstatin A)를 처리하여 균질화를 시켰다. 균질화된 샘플을 tube에 옮긴 후, 15,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 새로운 tube에 저장하였다. Bradford 단백질 정량법 (1976)을 이용하여 각각 60  $\mu\text{g}$ 의 sample들을 8% SDS-PAGE 전기영동을 시킨 후, polyvinylidene difluoride membrane에 transfer하였다. Membrane은 5% skim milk에 1시간 동안 차단을 시켰고, 각각의 항체 (PERK, p-PERK, IRE, p-IRE, ATF, p-ATF, CHOP, cytochrome C, Bcl-2, Bax, PARP, caspase-3, beta-actin)를 1% skim milk에 1,000배 희석하여  $4^\circ\text{C}$ 에서 18시간 이상 배양하였다. 그 후, membrane을 0.1% Tween-20/ $1 \times$  TBS에 10분 간격으로 3번 세척하였고, membrane을 1% skim milk에 5,000배 희석된 horseradish-peroxidase labeled 2차 항체에 1시간 동안 배양한 후, 3번 세척을 거쳐서 Enhanced Chemiluminescence (ECL) 시약을 1분간 처리한 다음 X-ray 필름에 30초간 노출시켜 현상하였다.

### 통계처리

실험 결과의 통계적 처리는 Student's *t*-test 및 Analysis of Variance (ANOVA)로 하였으며, *P*-value < 0.05을 유의한 차이의 한계로 하였고, 실험 결과의 표현은 means  $\pm$



**Fig. 1.** Effect of intestine ischemia/reperfusion injury on the expression of ER stress related proteins in the miniature pigs. Superior mesenteric artery of miniature pigs were ligated with hemostat forceps to induce ischemia/reperfusion injury (ischemia 30 min plus reperfusion 1 hr or ischemia 1hr plus reperfusion 1 hr, respectively). Then jejunum of small intestine was sampled and western immunoblotting was conducted as described in 'Material & Method'.  $\beta$ -actin was used as a control.

S.E로 하였다.

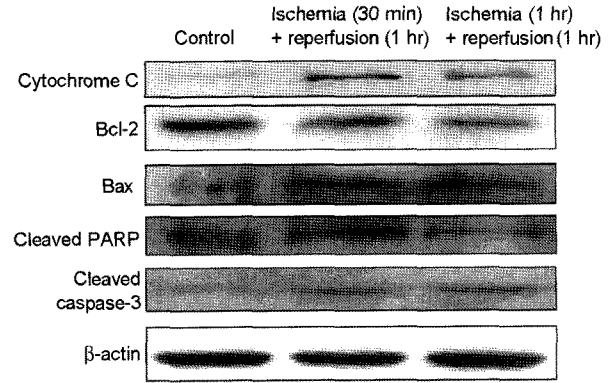
## 결 과

### 장 허혈/재관류 모델에서 ER stress 관련 단백질 발현 변화

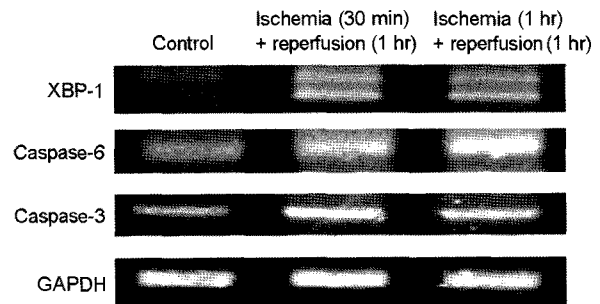
장 허혈/재관류시에 ER stress 관련 단백질 발현 변화를 보기 위하여 허혈 30분 + 재관류 60분 및 허혈 60분 + 재관류 60분을 실시하였다. 실험 결과 허혈 유도시 ER stress 관련 단백질인 PERK, IRE 및 ATF-4의 total form은 변화되지 않는 것으로 나타났다. 이에 반해 이들의 활성형 form인 인산화 form은 증가하는 것으로 나타났다. 아울러 ER stress와 밀접한 관련이 있는 사멸 단백질인 CHOP의 발현을 조사한 결과 역시 허혈/재관류시 증가하는 것으로 나타났다 (Fig. 1).

### 장 허혈/재관류 모델에서 Apoptosis 관련 단백질 발현 변화

장 허혈/재관류시에 apoptosis 관련 단백질 발현 변화를 측정하였다. 실험 결과 미토콘드리아 손상 지표인 cytochrome C 발현이 장 허혈/재관류시에 증가하였으며 세포사멸 억제 단백질인 Bcl-2의 발현은 감소하였다. 이에 비해 세포사멸 촉진 단백질인 Bax 및 PARP의 활성형은 증가하였다. 세포사멸 시행자로 알려져 있는 caspase-3



**Fig. 2.** Effect of intestine ischemia/reperfusion injury on the expression of apoptosis related proteins in the miniature pigs. Superior mesenteric artery of miniature pigs were ligated with hemostat forceps to induce ischemia/reperfusion injury (ischemia 30 min plus reperfusion 1 hr or ischemia 1hr plus reperfusion 1 hr, respectively). Then jejunum of small intestine was sampled and western immunoblotting was conducted as described in 'Material & Method'.  $\beta$ -actin was used as a control.



**Fig. 3.** Effect of intestine ischemia/reperfusion injury on the expression of ER stress and apoptosis related genes in the miniature pigs. Superior mesenteric artery of miniature pigs were ligated with hemostat forceps to induce ischemia/reperfusion injury (ischemia 30 min plus reperfusion 1 hr or ischemia 1 hr plus reperfusion 1 hr, respectively). Then jejunum of small intestine was sampled and western immunoblotting was conducted as described in 'Material & Method'. GAPDH was used as a control.

역시 활성형 form이 증가하는 것으로 나타났다 (Fig. 2).

### 장 허혈/재관류 모델에서 ER stress 및 Apoptosis 관련 유전자 발현 변화

장 허혈/재관류시에 ER stress 및 Apoptosis 관련 유전자 발현 변화를 측정하였다. 실험결과 장 허혈/재관류 모델에서 ER stress의 하나의 지표인 XBP-1의 mRNA splicing form이 증가하였다. 장 허혈/재관류시에 세포사멸 관련 유전자인 caspase-6 및 caspase-3의 유전자 발현 역시 증가하였다 (Fig. 3).

## 고 찰

본 연구에서는 미니돼지에서 장 허혈/재관류 손상에 ER stress 관련 단백질이 증가하는 것을 보여주었다. ER stress의 세 가지 중심된 축은 PERK, IRE-1 alpha, 및 ATF-6로 알려져 있다. 이중 PERK는 소포체 막에 위치한 type 1 transmembrane serine/threonine kinase로 스트레스 상황에서 Bip 단백질로부터 해리되어 eIF-2 alpha를 활성화 시켜 반응에 관여한다 (Schroder & Kaufman, 2005). 한편 IRE1은 XBP-1 mRNA를 분할 (splicing)시켜 활성이 있는 XBP-1 단백질로 발현될 수 있도록 한다 (Kaufman et al., 2002). ATF6는 소포체 막에 존재하는 전사인자로 소포체 스트레스가 발생하면 비활성형 ATF6 (p90)는 소포체에서 골지체 (Golgi apparatus)로 이동하여 site-1 protease (S1P)와 site-2 proteases (S2P)에 의해 분해 절단 (proteolytic cleavage)이 되고 절단된 N-말단 ATF6 (p50)는 핵 속으로 이동하고 직접 전사인자로 작용하게 된다 (Chen et al., 2002). 허혈시에 일부 조직에서 이러한 ER stress 반응이 유도된다고 보고되고 있다 (Duan et al., 2010). Doroudgar 등 (2009) 역시 심장 허혈시에 ATF-6의 활성이 일어난다고 하였다. 본 연구에서도 장 허혈/재관류 손상시에 PERK, IRE-1 alpha, 및 ATF-4의 활성화가 유도되었다. 나아가 본 연구에서는 장 허혈/재관류 손상시에 IRE의 하위 조절 물질인 XBP-1 mRNA 분할이 증가하여 허혈/재관류 손상시에 ER stress 반응이 강력하게 관여하고 있음을 시사해 주고 있다. ER stress에 의해 유도된 세포 자멸사에는 일반적으로 CHOP의 발현을 통하는 것으로 알려져 있다 (Szegezdi et al., 2006). 본 실험에서도 역시 허혈/재관류 손상시에 ER stress와 직접적으로 연관이 있는 세포 자멸사 촉진 단백질인 CHOP의 발현이 증가하였다. 따라서 허혈/재관류 손상에 의해서 ER stress 관련 단백질이 활성화 되어 CHOP의 발현을 유도하는 것으로 판단이 된다. 돼지에서 장 허혈/관류시에 ER stress의 관련성에 대한 보고는 다른 연구자들에 의해 보고되지 않고 있으며 본 연구 결과가 처음인 것으로 사료 된다.

세포 자멸사에는 다양한 단백질의 발현이 관련된다. Bax는 세포 자멸사를 촉진하고 Bcl-2는 세포 자멸사를 억제하는 것으로 알려져 있다 (Tong et al., 2007). 본 실험에서도 허혈/재관류 손상시 세포사멸 억제를 담당하는 Bcl-2의 발현은 감소하였고 세포사멸 촉진을 담당하는

Bax의 발현이 증가하여 Bax/Bcl-2의 비율은 증가하였다. 이러한 Bcl-2의 감소는 미토콘드리아의 손상에 기인한 것으로 판단이 되며 본 실험에서도 미토콘드리아 표지 지표인 cytochrome C 발현이 증가하는 것으로 보아 이들이 밀접히 연관되어 있을 것으로 추측되고 있다.

Caspase는 시스테인 단백질분해효소의 무리에 속하는 분해효소로 모두 12가지가 알려져 있으며, 그 가운데 caspase-6는 세포 자멸사 반응의 초기에 반응하는 단백질분해효소이며 caspase 3은 Fas 매개 세포 자멸사에서 가장 중요한 역할을 하고, 정상 세포의 세포질에 전효소 형태로 존재해 있다가 Fas 자극에 의해 단백질 분해되거나 어떤 경우에는 스스로 단백질분해과정을 거쳐 활성화되면서 세포 자멸사 과정을 진행시킨다 (Ahemri, 1997). 본 실험에서 장 허혈시에 세포 자멸사 초기에 관여하는 caspase 인 caspase-6 발현 및 말기에 관여하는 caspase-3의 발현이 증가하였다. Bcl-2는 미토콘드리아가 사이토크롬 C를 분비하지 못하도록 억제함으로써 caspase의 활성화를 저해한다 (Susnow et al., 2009). 특히 본 실험에서 장에서 허혈/재관류 유도시 cytochrome C 발현은 증가하였고 Bcl-2 발현은 감소하였다. 본 연구 결과는 Bcl-2의 감소가 사이토크롬 c 발현을 유도하여 caspase의 활성을 유도하는 것으로 사료된다.

ER stress가 세포 자멸사와 관련이 있다는 논문은 일부 논문에 의해서 밝혀지고 있다. 최근 Choi 등 (2010)도 ER stress에 의해 유도된 세포 자멸사에 CHOP 단백질이 관련된다고 하였다. 비록 본 실험에서는 장 허혈/재관류 손상시에 ER stress가 직접 세포 자멸사를 일으키는지는 확인을 못하였다. 그러나 본 실험에서 CHOP의 발현 및 apoptosis 단백질 발현이 증가하였고 최근 몇몇 연구자들에 의한 폐나 뇌 허혈/재관류 손상에서도 ER stress가 세포 자멸사 반응에 관련된다는 보고 등이 본 실험 가설을 지지해주고 있다고 하겠다 (Men et al., 2010; Nakka et al., 2010). Grootjans 등 (2010)은 소장 허혈/재관류 모델에서 Paneth 세포의 자멸사가 ER stress 관련 단백질의 활성화 수치가 일치한다고 하여 본 연구 결과를 뒷받침 해 주고 있다. 결론적으로 장 허혈/재관류 손상시에 ER stress 관련 단백질 및 apoptosis 관련 단백질의 발현이 증가하였다. 이러한 결과는 향후 무균돼지의 장 이중장기시에 나타날 수 있는 허혈/재관류 손상시에 일어날 수 있는 병태 생리학적 변화에 대한 기전을 제공할 것으로 판단이 된다.

## Acknowledgements

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21 사업의 연구비 (Code#20070401034006) 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다. 아울러 교육과학기술부의 한국 연구재단 BK 21 사업의 대학원생 지원 프로그램에 의해 수행되었습니다. 이에 깊이 감사 드립니다.

## REFERENCES

- Alnemri ES. Mammalian cell death proteases: a family of highly conserved aspartate specific cysteine proteases. *J Cell Biochem.* 1997. 64: 33-42.
- Boyle EM Jr, Pohlman TH, Comejo CJ, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: ischemia-reperfusion. *Ann Thorac Surg.* 1996. 62: 1868-1875.
- Chen X, Shen J, Prywes R. The luminal domain of ATF6 senses endoplasmic reticulum (ER) stress and causes translocation of ATF6 from the ER to the Golgi. *J Biol Chem.* 2002. 277: 13045-13052.
- Choi JH, Choi AY, Yoon H, Choe W, Yoon KS, Ha J, Yeo EJ, Kang I. Baicalein protects HT22 murine hippocampal neuronal cells against endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis through inhibition of reactive oxygen species production and CHOP induction. *Exp Mol Med.* 2010 (in press).
- Crissinger RL, Dahlgren DN. Mucosal injury induced by ischemia and reperfusion in the piglet intestine: influence of age and feeding. *Gastroenterology* 1989. 97: 920-926.
- Debatin KM. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. *Cancer Immunol Immun.* 2004. 53: 153-159.
- Doroudgar S, Thuerauf DJ, Marcinko MC, Belmont PJ, Glembotski CC. Ischemia activates the ATF6 branch of the endoplasmic reticulum stress response. *J Biol Chem.* 2009. 284: 29735-29745.
- Duan SR, Wang JX, Wang J, Xu R, Zhao JK, Wang DS. Ischemia induces endoplasmic reticulum stress and cell apoptosis in human brain. *Neurosci Lett.* 2010. 475: 132-135.
- Grootjans J, Hodin CM, de Haan JJ, Derikx JP, Rouschop KM, Verheyen FK, van Dam RM, Dejong CH, Buurman WA, Lenaerts K. Level of activation of the unfolded protein response correlates with Paneth cell apoptosis in human small intestine exposed to ischemia-reperfusion. *Gastroenterology* 2010 (in press).
- Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000. 407: 770-777.
- Kaufman RJ, Scheuner D, Schroder M, Shen X, Lee K, Liu CY, Arnold SM. The unfolded protein response in nutrient sensing and differentiation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002. 3: 411-421.
- Kinross J, Warren O, Basson S, Holmes E, Silk D, Darzi A, Nicholson JK. Intestinal ischemia/reperfusion injury: defining the role of the gut microbiome. *Biomark Med.* 2009. 3: 175-192.
- Korsmeyer SJ. Regulators of cell death. *Trends Genet.* 1995. 11: 101-105.
- Logan JS. Prospects for xenotransplantation. *Curr Opin Immunol.* 2000. 12: 563-568.
- MacKenzie DA, Hullett DA, Sollinger HW. Xenogeneic transplantation of porcine islets: an overview. *Transplantation* 2003. 76: 887-891.
- Men X, Han S, Gao J, Cao G, Zhang L, Yu H, Lu H, Pu J. Taurine protects against lung damage following limb ischemia reperfusion in the rat by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *Acta Orthop.* 2010. 81: 263-267.
- Nakka VP, Gusain A, Raghurir R. Endoplasmic reticulum stress plays critical role in brain damage after cerebral ischemia/reperfusion in rats. *Neurotox Res.* 2010. 17: 189-202.
- Scheepe JR, van den Hoek J, Junemann KP, Alken P. A standardised mini pig model for in vivo investigations of anticholinergic effects on bladder function and salivation. *Pharmacol Res.* 2007. 55: 450-454.
- Schroder M, Kaufman RJ. The mammalian unfolded protein response. *Annu Rev Biochem.* 2005. 74: 739-789.
- Susnow N, Zeng L, Margineantu D, Hockenbery DM. Bcl-2 family proteins as regulators of oxidative stress. *Semin Cancer Biol.* 2009. 19: 42-49.
- Szegezdi E, Duffy A, O'Mahoney ME, Logue SE, Mylotte LA, O'Brien T, Samali A. ER stress contributes to ischemia-induced cardiomyocyte apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006. 349: 1406-1411.
- Tong QS, Zheng LD, Tang ST, Jiang GS, Ruan QL, Zeng FQ, Dong JH. Nitrofen suppresses cell proliferation and promotes mitochondria-mediated apoptosis in type II pneumocytes. *Acta Pharmacol Sin.* 2007. 28: 672-684.
- Weston RT, Puthalakath H. Endoplasmic reticulum stress and BCL-2 family members. *Adv Exp Med Biol.* 2010. 687: 65-77.