

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.06.010

肝 X 受体激动剂直接激活肝细胞 NgBR 的表达

贺晓雨, 马佳玲, 闫亚丽, 陈元利

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要: Nogo-B 受体(Nogo-B receptor, NgBR)参与脂肪肝和胰岛素敏感性的形成,但是不清楚肝 X 受体(liver X receptor, LXR)激动剂是否能够调控 NgBR 的表达。文章使用人工合成的 LXR 激动剂(T0901317 和 GW3965)分析其对肝源细胞系中 NgBR 表达的影响,构建正常或突变 NgBR 启动子,通过双荧光素酶报告基因系统检测 LXR 激动剂对启动子活性的影响;采用 CRISPR-CAS9 方法建立 LXR α 或 LXR β 基因敲除的 HepG2 细胞系,通过 Western Blot 检测相关基因的表达变化;向 ApoE^{-/-} 小鼠腹腔注射 LXR 激动剂 T0901317,分析小鼠肝脏中 NgBR 的表达变化。结果发现,LXR 激动剂能够通过激活 LXR 促进 NgBR 蛋白的表达,该诱导作用是以 LXRE 依赖的方式进行的,并且 LXR 的表达发挥着重要作用。在体内实验中,也证明了 LXR 激动剂 T0901317 上调 NgBR 蛋白表达。结果表明,NgBR 是 LXR 的靶蛋白,LXR 通过结合 NgBR 启动子 LXRE 序列促进其转录和翻译。

关键词: 肝 X 受体(LXR); Nogo-B 受体(NgBR); LXR 激动剂; 肝脏

中图分类号: R543.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-5060(2024)06-0784-07

Liver X receptor agonists directly up-regulate NgBR expression in hepatocytes

HE Xiaoyu, MA Jialing, YAN Yali, CHEN Yuanli

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: Nogo-B receptor(NgBR) involves in the development of hepatic steatosis and insulin resistance. However, it is unclear whether liver X receptor(LXR) agonists can regulate NgBR expression in the liver. In this study, the effects of synthetic LXR agonists(T0901317 and GW3965) on NgBR expression in hepatic cell lines were analyzed. The normal and mutant NgBR promoters were constructed, and the effects of LXR agonists on promoter activity were detected by a dual luciferase reporter assay. Then, LXR α or LXR β knockout HepG2 cell lines were established according to the CRISPR-CAS9 method, and changes in expression of the relevant genes were determined by Western Blot. Finally, T0901317 was injected intraperitoneally into ApoE^{-/-} mice to analyze the changes of NgBR expression in the liver of mice. The results revealed that LXR agonists were able to promote the expression of NgBR protein by activating LXR, which occurred in an LXRE-dependent manner, and LXR expression played an important role. *In vivo* experiments demonstrated that LXR agonist T0901317 up-regulated NgBR protein expression in the liver. The results suggest that NgBR is a target protein of LXR, and LXR promotes its transcription and translation by binding to the LXRE sequence in the promoter region of NgBR.

Key words: liver X receptor(LXR); Nogo-B receptor(NgBR); LXR agonist; liver

收稿日期:2022-01-12;修回日期:2022-03-21

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31770863)

作者简介:贺晓雨(1996—),女,安徽合肥人,合肥工业大学硕士生;

陈元利(1985—),男,河北承德人,博士,合肥工业大学副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:chenyuanli@hfut.edu.cn.

0 引 言

肝 X 受体(liver X receptor, LXR)是配体激活的核转录因子家族成员之一,包含 LXR α (主要在脂肪、肝脏等代谢旺盛的组织中表达)和 LXR β (全身普遍性表达)2 种亚型^[1],每种亚型都能够与类视黄醇 X 受体(retinoid X receptor, RXR)形成异二聚体,激活其靶基因的表达^[2]。LXR 内源性的配体是氧化固醇^[3],包括 25-羟基胆固醇和 27-羟基胆固醇等^[4]。LXR 作为生物体内胆固醇感应器,可调节鲨烯合酶(FDFT1)^[5]及 14 α 去甲基化酶(CYP51A1)^[6]等蛋白酶的表达,调控胆固醇从头合成。此外,LXR 还能增加 ATP-结合盒转运蛋白 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)^[7]和 ATP 结合盒转运蛋白 G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1)^[8]的表达,从而刺激胆固醇逆转运,减少细胞内胆固醇含量。总之,LXR 在胆固醇转运、脂肪酸代谢和炎症信号传导中发挥着重要的作用。鉴于 LXR 在胆固醇代谢和转运过程中的积极作用,开发出许多 LXR 外源小分子激动剂,如 T0901317(简称 T317)和 GW3965,期望能用于治疗心血管等疾病。然而,LXR 激动剂造成严重的脂肪肝和高甘油三酯血症等副作用,因此,相关药物的开发进展缓慢。

Nogo-B(Neurite outgrowth inhibitor-B)是网状蛋白(Reticulon, RTN)家族成员之一^[9]。2006 年,文献^[10]发现一种之前从未表征的 Nogo-B 受体(Nogo-B receptor, NgBR),由人类 NUS1 基因编码,与 Nogo-B 的氨基末端特异性结合。研究表明,NgBR 作为 Nogo-B 的受体介导 Nogo-B 在血管生成^[11]、胚胎发育^[12]以及调节成人感觉神经元的轴突分支^[13]等过程中的作用。NgBR 的缺失还会导致顺式-PTase(一种参与合成多利酚的酶)活性降低和多萜醇合成不足,从而引起多萜醇连接的寡糖和蛋白质 N-糖基化水平降低^[14]。NgBR 在癌症发生发展中的作用也逐渐被认识,通过细胞形态学分析发现:在乳腺癌细胞中敲除 NgBR 会导致上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的可逆性,这是参与乳腺癌转移的主要机制之一^[15]。上述这些功能和作用有助于了解 NgBR 在各种疾病中的重要作用,主要包括脂肪肝、先天性糖基化障碍、新生儿持续性肺动脉高压、浸润性导管癌、恶性黑色素瘤等、非小细胞肺癌、小儿癫痫和帕金森

病等。

本课题组之前的研究表明,NgBR 敲减后细胞中的脂质水平显著上调,同时与脂肪生成相关的基因表达也增强,NgBR 肝脏特异性敲除的小鼠肝脏出现脂肪变性以及脂质积累,肝脏中与脂肪生成相关的基因表达也同样被明显刺激,而这些被上调的基因都是 LXR 的靶基因。文献^[16]确定了 NgBR 敲除能够激活 LXR α 核转移;文献^[17]发现,他汀类药物能够激活 NgBR 的表达,进而抑制 LXR α 在细胞核中的活性,同时抑制催化 LXR 内源性配体生成酶的表达,说明 NgBR 表达缺失增加 LXR α 的核异位和激活。然而 NgBR 的表达调控并不完全清楚。本文将进一步研究 LXR 活性与 NgBR 表达之间的潜在调控关系。

1 实验方法及材料

1.1 试剂及材料

DMEM 高糖培养基(Corning Subsidiary),货号:27017008;脂质体核酸转染试剂(Yeason),货号:40802ES02;NgBR 单克隆抗体(Abcam),货号:ab168351;LXR α 多克隆抗体(Proteintech),货号:14351-1-AP;LXR β 多克隆抗体(Proteintech),货号:14278-1-AP;GAPDH 多克隆抗体(Santa Cruz),货号:sc-47727;逆转录试剂盒(南京维诺赞生物科技有限公司),货号:R123-01;AceQ qPCR SYBR Green Master Mix(诺唯赞),货号:Q111-02;双荧光素酶报告基因检测试剂盒(Promega),货号:E2920;T0901317(简称 T317)和 GW3965(Cayman Chemical);人肝癌细胞 HepG2(ACCT);C57BL/6 小鼠和 ApoE^{-/-} 小鼠(江苏集萃药康生物科技有限公司),生产许可证号:SCXX(苏)2019-0008。

1.2 小鼠模型

ApoE^{-/-} 小鼠(约 8 周龄的雄鼠)被随机分为 2 组(5 只/组),腹腔注射玉米油(对照组)或含有 T317 的玉米油(5 mg/kg),持续注射 10 d。处理结束后,对小鼠进行安乐死。切开小鼠腹部皮肤,取出肝脏,-80 °C 下保存,用于 Western Blot 分析。

1.3 小鼠腹腔原代肝细胞的提取和细胞培养

小鼠用水合氯醛麻醉,暴露其腹腔,向下腔静脉中插入静脉留置针并在该静脉周围打一手术结,通过静脉留置针口注入 1 mL 肝素,剪开肝门静脉同时缓慢灌注适量灌流液 1(含 EGTA)和

30 mL 灌流液 2(含胶原酶),将完整取出的小鼠肝脏于筛网内反复摔打分离肝实质细胞,培养皿倾斜静置于冰上 5 min,弃上清后将沉淀转移至离心管内离心(4 °C, 50g 离心 2 min),重复离心 3 次并将细胞沉淀铺至于孔板内,细胞培养 6 h 后移除未贴壁的死细胞。小鼠原代肝细胞和人肝癌细胞系(HepG2)用含有 10%胎牛血清(FBS)和 1%双抗(链霉素和青霉素)的 DMEM 培养基培养,细胞长到 80%~90%时,在无血清培养基中加药处理。

1.4 HepG2 细胞 LXR α 或 LXR β 的基因敲除

本实验将利用 CRISPR-Cas9 技术在 HepG2 细胞中敲除 LXR α /LXR β ,引导 RNA 是由在线 CRISPR 设计软件(<http://tools.genome-engineering.org>)设计的,LXR α 和 LXR β 的引物序列分别为:5'-TCGGCTTCGCAAATGCCGTC-3'和 5'-ACCCCGGCAGGCATAGCGCC-3',引物合成后经过退火形成双链,然后连接插入 LentiCRISPR(pXPR.001, Addgene plasmid ID: 51761)载体。HepG2 细胞中转染特异性基因的 Cas9 载体或 pXPR.001 空载体。转染细胞加入 puromycin (3 μ g/mL) 筛选,经过 3 轮筛选后,细胞分至 96 孔板,挑选单克隆。通过 Western Blot 证实目的基因的表达缺失。将缺乏 LXR α 和 LXR β 表达的细胞分别定义为 CRISPR-LXR α 和 CRISPR-LXR β 细胞,而相应的对照细胞则定义为 CRISPR-Ctrl 细胞。为了进一步验证 LXR α /LXR β 对 NgBR 的调控作用,通过 Western Blot 检测基因敲除细胞和对照组细胞中 NgBR 的表达变化。

1.5 NgBR 启动子的构建和启动子活性的检测

人源 NgBR 启动子(-2 000~+346 bp)的 DNA 是从 HepG2 细胞分离的基因组 DNA 为模板,通过聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)生成以下引物。引物序列如下:正向为 5'-GGCTCACGCCTGTAATCCAGC-3';反向为 5'-GGCGCGCGACAGCGCCGCCAG-3'。然后将 DNA 连接到 pGL4.10 质粒中构建成正常 NgBR 启动子,命名为 pNgBR。具有 LXRE 截短的启动子以 pNgBR 为模板和含有不同长度区域的特定序列为引物通过 PCR 分子克隆技术完成。为了检测不同长度 pNgBR 启动子活性,使用脂质体核酸转染试剂将各种长度的 pNgBR 启动子的 DNA 和海肾荧光素酶表达质粒(pGL4.7)转染到 HepG2 细胞中。转染加处理 20 h 后,用双荧光

素酶报告基因检测试剂盒分别检测荧光素和海肾荧光的发光值。

1.6 RNA 提取及实时荧光定量 PCR

细胞 RNA 提取,向抽弃培养基的孔板中加入适量总 RNA 提取试剂(6 孔板加 400 μ L)静置 5 min,用移液枪反复吹打孔板细胞并将提取液转移至 1.5 mL 离心管中。加入 80 μ L 三氯甲烷,震荡混匀,放于 4 °C 离心机中,12 000 r/min 离心 10 min。将上清液转移至新的离心管并加入等量的异丙醇溶液,震荡混匀,-20 °C 过夜或-80 °C 静置 3 h。次日离心吸弃液体后用 75%和 100%乙醇溶液洗涤,置于超净台风干 20 min,加入 20 μ L ddH₂O 测浓度,取 1 μ g RNA 进行反转录得到 cDNA,然后通过 SYBR(荧光染料)检测 mRNA 的相对表达量。NgBR 正向引物序列为:5'-TGTTGAAGGTGCTGTCTCCA-3',反向引物序列为:5'-TCCCAGGGTGCTTTCTACTG-3'; GAPDH 正向引物序列为:5'-ACCCA GAAGACTGTGGATGG-3',反向引物序列为:5'-ACACATTGGGGGTAGGAACA-3'。

1.7 Western Blot 检测

细胞处理完成后加入 150 μ L 裂解液,反复吹打,移入 1.5 mL EP 管,置于冰上,每隔 5 min 振荡,重复 2 次后,于 4 °C 下、12 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,随后通过 BCA 测蛋白浓度,定量检测 60 μ g 蛋白中目的蛋白的表达,先于 100 °C 热变性 5 min,随后上样、跑胶、转膜,脱脂牛奶室温封闭 1 h,一抗过夜孵育,PBS 清洗 3 次,每次 8 min,二抗于室温孵育 1 h,PBS 清洗 3 次,每次 8 min,最后使用 ECL 显色液在曝光机中曝光。

1.8 数据分析

所有实验至少重复 3 次,所有数据均具有代表性,均以(平均值 \pm 标准差)表示。GraphPad Prism 软件(版本 7.0)用来进行 t 检验,NS 表示无显著性差异,* 表示 $P < 0.05$,** 表示 $P < 0.01$,*** 表示 $P < 0.001$ 。

2 实验结果

2.1 LXR 激动剂对 NgBR 蛋白表达的影响

前期在对 LXR α 和 LXR β 基因敲除的 HepG2 细胞和对照组细胞进行表达谱芯片分析后,通过筛选将 LXR α 和 LXR β 敲除后全部下调的基因进行归类,最终发现 NgBR 表达在敲除细胞中表达下降,因此本文推测 LXR 活化和 NgBR

蛋白表达有一定关系。为了验证这一假设,首先检测 LXR 激动剂对 NgBR 蛋白表达的调控。使用不同浓度人工合成的 LXR 配体 (T317 和 GW3965) 分别处理 HepG2 细胞 16 h, 结果如图 1 所示。

从图 1 可以看出, T317 和 GW3965 均能以浓度依赖的方式诱导 HepG2 细胞 NgBR 蛋白的表达。为了进一步确定 LXR 激动剂对 NgBR 蛋白表达的作用, 对提取的小鼠腹腔原代肝细胞进行相同处理, 结果如图 2 所示。

从图 2 可以看出, LXR 激动剂可显著上调小鼠腹腔原代肝细胞中 NgBR 表达, 且其上调表达趋势与图 1 中 HepG2 细胞结果类似。上述实验结果表明, 核转录激活因子 LXR 可间接或直接诱导 NgBR 表达。

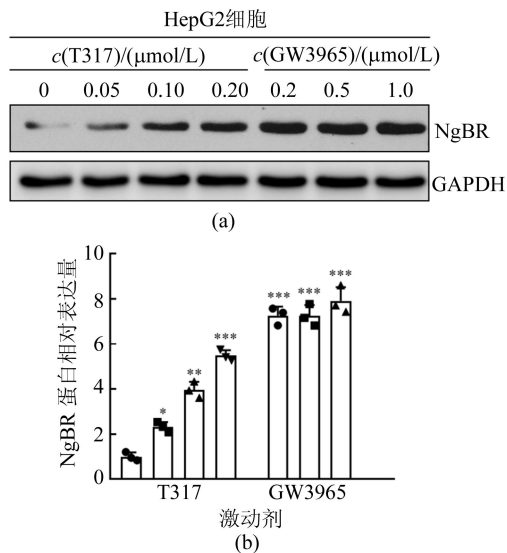


图 1 LXR 激动剂对 HepG2 细胞中 NgBR 蛋白表达的影响

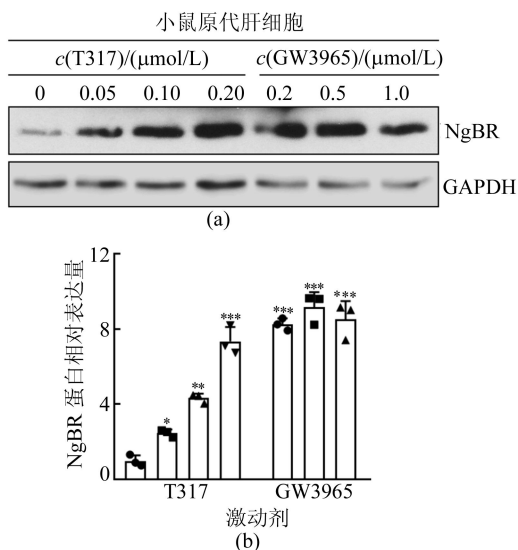


图 2 LXR 激动剂对小鼠原代肝细胞中 NgBR 蛋白表达的影响

2.2 LXR 激动剂对 NgBR 表达的诱导

为了确定 LXR 诱导 NgBR 蛋白表达是否通过调控转录水平完成, 本文首先测定了 T317 处理后 HepG2 细胞中 NgBR mRNA 的变化, 结果如图 3 所示, 由图 3 可知, T317 处理显著增加了 NgBR mRNA 水平, 表明这种调节可能是发生在转录水平上的。

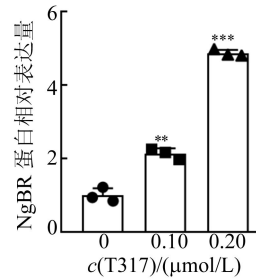


图 3 LXR 配体激活 NgBR mRNA 表达

本实验分析了人源 NgBR 启动子区域, 通过序列比对找到了 5 个 LXR 潜在结合位点, 依次将它们命名为 LXRE1 (GGATCA cctg AGGTCA)、LXRE2 (AAATGA gact AGTTGA)、LXRE3 (ATATAA atgc AAATAA)、LXRE4 (AGGGTG ttaa AGGGGA) 和 LXRE5 (AGGATA cctt AGATGA)。为了直接确定 LXR 激活对 NgBR 转录的影响, 本实验构建了全长野生型 NgBR 启动子以及缺失不同 LXRE 的截短启动子, 然后通过双荧光素酶报告基因系统检测 T317 对这些启动子活性的影响, 如图 4 所示。

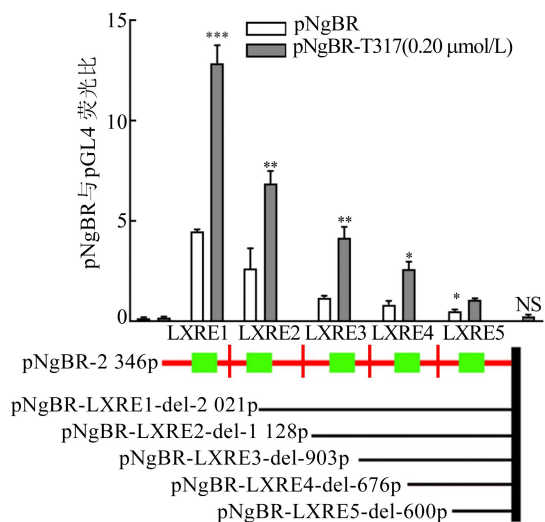


图 4 正常和突变人源 NgBR 启动子活性检测和突变位置

从图 4 可以看出, T317 显著增加了全长的 NgBR 启动子的活性, 然而, 删除 LXRE1-5 降低了 T317 对 NgBR 启动子活性的诱导作用, 当删

除 LXR5 后,启动子没有活性,LXR 激动剂也不能诱导其活性增加。综上所述,LXR 在转录水平诱导 NgBR 的表达,LXRE1-5 在 NgBR 的转录中起重要作用。

2.3 LXR 激动剂诱导 NgBR 表达的重要性

为了进一步探索 LXR 是否直接介导 T317 和 GW3965 诱导 NgBR 的表达,本文首先用 LXR α 或 LXR β 表达载体转染 HepG2 细胞,如图 5 所示,外源 LXR α 和 LXR β 表达载体以浓度依赖的方式诱导 HepG2 细胞中 NgBR 蛋白表达。

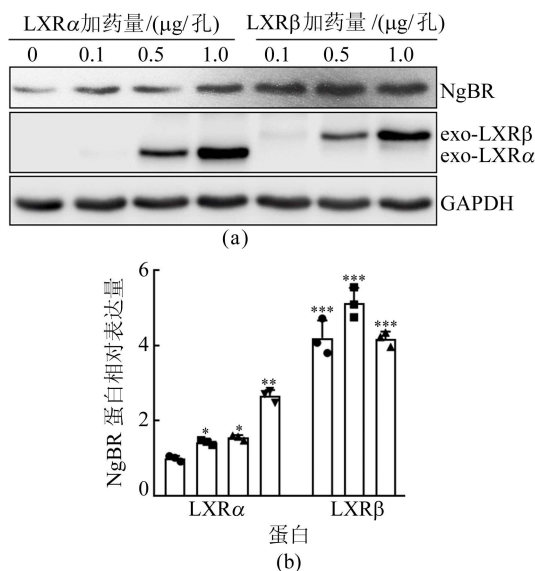


图 5 HepG2 细胞过表达 LXR α 或 LXR β 激活 NgBR 蛋白表达

LXR 激动剂对过表达 LXR α 和 LXR β 的 HepG2 细胞 NgBR 蛋白表达的激活如图 6、图 7 所示。

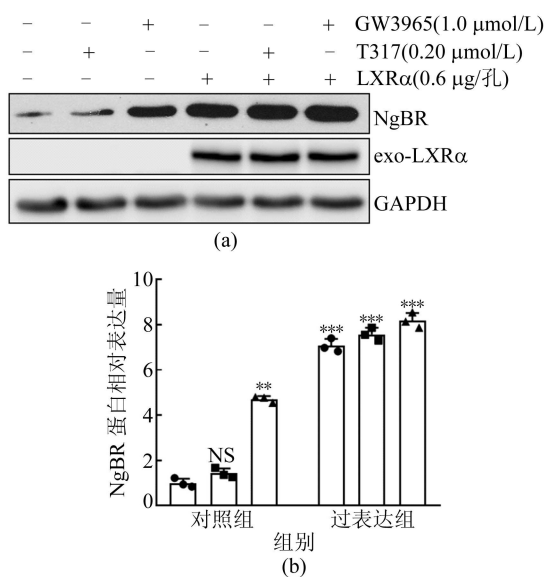


图 6 LXR 对过表达 LXR α 的 HepG2 细胞 NgBR 蛋白表达的激活

由图 6、图 7 可知,T317 和 GW3965 处理进一步增强了这种诱导作用,上述实验结果说明,LXR 激动剂可显著上调 NgBR 表达且 LXR 配体与表达载体对 NgBR 蛋白表达调控有一定程度的叠加作用。

为分析内源性 LXR 对 NgBR 的表达调控,本实验通过 CRISPR-CAS9 方法建立了 LXR α 或 LXR β 基因敲除的 HepG2 细胞系,并将其定义为 CRISPR-LXR α 或 CRISPR-LXR β 细胞。与对照组(CRISPR-Ctrl)细胞相比,基因敲除组中 LXR α 或 LXR β 蛋白表达缺失,NgBR 表达下降,如图 8 所示。综上所述,T317 和 GW3965 以 LXR 依赖的方式激活 NgBR 的表达。

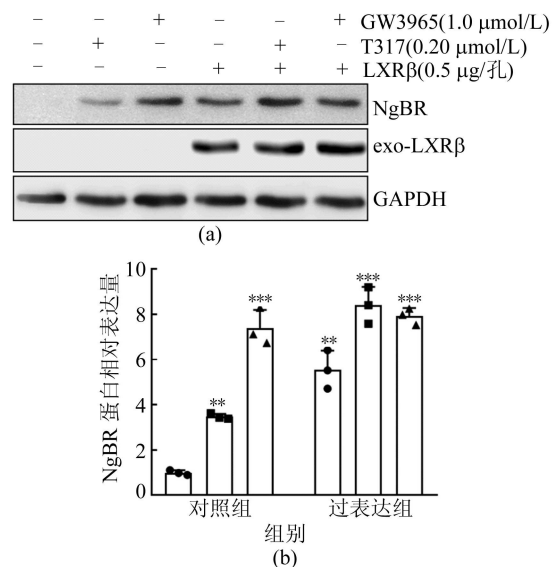


图 7 LXR 对过表达 LXR β 的 HepG2 细胞 NgBR 蛋白表达的激活

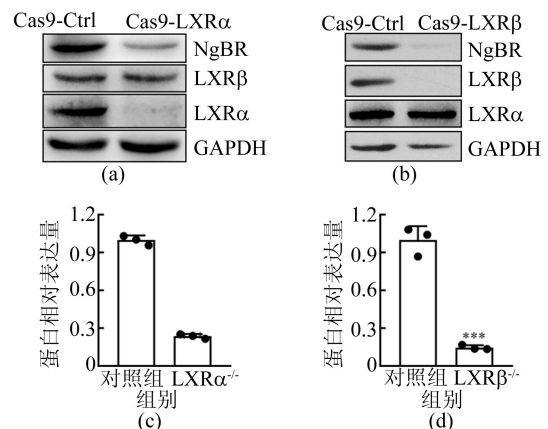


图 8 LXR α 或 LXR β 基因敲除 HepG 细胞中 NgBR 蛋白表达

2.4 LXR 激动剂对小鼠体内 NgBR 表达的影响

为证实激活 LXR 是否能在小鼠肝脏中诱导 NgBR 的表达,本实验向 ApoE $^{-/-}$ 小鼠腹腔注射玉米油(对照组)或含有 T317 的玉米油

(5 mg/kg),持续注射 10 d 后取出小鼠肝脏,与体外研究相似,T317 处理后显著提高了 ApoE^{-/-}小鼠肝脏中 NgBR 蛋白的表达,如图 9 所示。上述结果说明,在体内,LXR 激动剂也可以通过激活 LXR 活性靶向调控 NgBR 蛋白的表达。

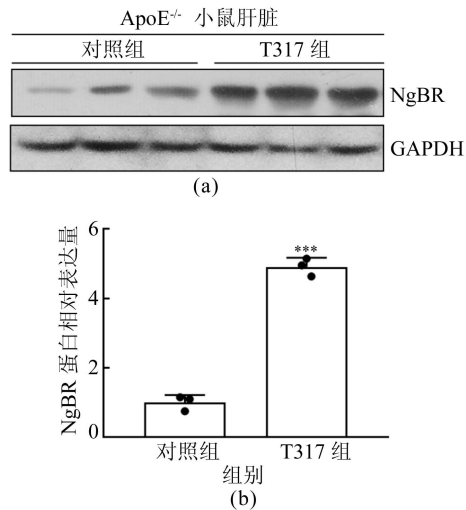


图 9 T317 对 ApoE^{-/-} 小鼠肝脏中 NgBR 蛋白表达的影响

3 结 论

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是众多心脑血管疾病共同的病理基础,也是心血管系统中最常见和最具危害性的疾病^[17]。当前研究发现,胆固醇代谢紊乱在动脉粥样硬化发生发展中起到关键作用。据报道,LXR 和 NgBR 在脂质代谢和胆固醇运输等方面,都具备重要的调节作用。本文发现了 LXR 激活对 NgBR 的诱导作用,人工合成的 LXR 配体(T317 和 GW3965)激活 LXR 增加了 HepG2 细胞和小鼠原代肝细胞 NgBR 的表达,进一步研究发现 LXR 激活增加 NgBR 转录本和启动子活性。此外,在 NgBR 启动子区域本文鉴定了 5 个和 NgBR 转录可能相关的 LXRE 元件,并且证明这 5 个 LXRE 的缺失会降低 LXR 激动剂对启动子活性的诱导作用,说明 LXR 激动剂以 LXRE 依赖的方式调控 NgBR 的表达。通过转染 LXR 表达载体或基因敲除内源 LXR 表达,证明 LXR 的表达对 T317 和 GW3965 诱导 NgBR 表达至关重要。在体内,对 ApoE^{-/-}小鼠通过腹腔注射 T317 增加 NgBR 在小鼠肝脏中的蛋白表达。

本文在 ApoE^{-/-}小鼠中,T317 诱导 NgBR 的蛋白表达表明 NgBR 的增加可能参与了 LXR 抑制动脉粥样硬化过程。文献^[18]报道 LXR 激

动剂可以有效抑制高脂诱导的野生型或 ApoE^{-/-}小鼠中动脉粥样硬化的进程,这很大程度上与 LXR 调控胆固醇运输和代谢相关。NgBR 能够增加 Niemann-Pick 型 C2 蛋白(NPC2)的稳定性,促进 NPC2 蛋白糖基化,从而增强其介导的胆固醇转运功能。因此,NgBR 对细胞胆固醇稳态具有重要的调节作用^[19],结合研究结果,LXR 是否通过调控 NgBR 这一通路影响动脉粥样硬化进程,需要更多的工作去验证。

此外 NgBR 本身能够抑制 LXR α 的核转移,LXR 激动剂对 NgBR 的激活可能是 LXR 负反馈调控机制,可能在 LXR 调控的生理、病理过程中发挥重要作用。本课题组将在今后的实验中进一步探索这种负反馈调控的功能。本研究表明 T317 和 GW3965 以 LXR 依赖的方式靶向调控 NgBR 的表达,该结果有望为研究 LXR 抑制动脉粥样硬化提供新的靶点。

[参 考 文 献]

- [1] APFEL R, BENBROOK D, LERNHARDT E, et al. A novel orphan receptor specific for a subset of thyroid hormone-responsive elements and its interaction with the retinoid/thyroid hormone receptor subfamily[J]. *Molecular & Cellular Biology*, 1994, 14(10):7025-7035.
- [2] CALKIN A C, TONTONO Z P. Transcriptional integration of metabolism by the nuclear sterol-activated receptors LXR and FXR[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2012, 13:213-224.
- [3] CHEN W, CHEN G, HEAD D L, et al. Enzymatic reduction of oxysterols impairs LXR signaling in cultured cells and the livers of mice[J]. *Cell Metabolism*, 2007, 5(1):73-79.
- [4] JANOWSKI B A, WILLY P J, DEVI T R, et al. An oxysterol signalling pathway mediated by the nuclear receptor LXRalpha[J]. *Nature*, 1996, 383:728-731.
- [5] TRAPANI L, SEGATTO M, ASCENZI P, et al. Potential role of nonstatin cholesterol lowering agents[J]. *IUBMB Life*, 2011, 63:964-971.
- [6] AKHTAR M, WRIGHT J N. Acyl-carbon bond cleaving cytochrome P450 enzymes: CYP17A1, CYP19A1 and CYP51A1[J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2015, 851:107-130.
- [7] ATTIE A. ABCA1: at the nexus of cholesterol, HDL and atherosclerosis[J]. *Trends Biochem Sci*, 2007, 32:172-179.
- [8] TARLING E. Expanding roles of ABCG1 and sterol transport[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2013, 24:138-146.
- [9] VOELTZ G K, PRINZ W A, SHIBATA Y, et al. A class of membrane proteins shaping the tubular endoplasmic reticulum[J]. *Cell*, 2006, 124:573-586.

(下转第 817 页)

- saminoglycan-based hydrogels capture inflammatory chemokines and rescue defective wound healing in mice[J]. *Science Translational Medicine*, 2017, 9(386): 1-12.
- [6] DAS S K, PARANDHAMAN T, DEY M D. Biomolecule-assisted synthesis of biomimetic nanocomposite hydrogel for hemostatic and wound healing applications [J]. *Green Chemistry*, 2021, 23(2): 629-669.
- [7] XIAO Z, ZHENG X, AN Y, et al. Zwitterionic hydrogel for sustained release of growth factors to enhance wound healing[J]. *Biomaterial Science*, 2021, 9(3): 882-891.
- [8] 谢云飞, 郭露荫, 方蔚伟, 等. 新型超支化纳米聚合物缓释材料的合成及应用[J]. *合肥工业大学学报(自然科学版)*, 2019, 42(6): 745-749.
- [9] DANKERS P Y, HARMSSEN M C, BROUWER L A, et al. A modular and supramolecular approach to bioactive scaffolds for tissue engineering [J]. *Nature Materials*, 2005, 4(7): 568-574.
- [10] HARAGUCHI K, TAKEHISA T. Nanocomposite hydrogels; a unique organic-inorganic network structure with extraordinary mechanical, optical, and swelling/De-swelling properties [J]. *Advanced Materials*, 2002, 14 (16): 1120-1124.
- [11] QIN H L, ZHANG T, LI N, et al. Dynamic Au-thiolate interaction induced rapid self-healing nanocomposite hydrogels with remarkable mechanical behaviors [J]. *Chem*, 2017, 3(4): 691-705.
- [12] KLEIN A, WHITTEN P G, RESCH K, et al. Nanocomposite hydrogels: fracture toughness and energy dissipation mechanisms[J]. *Journal of Polymer Science Part B(Polymer Physics)*, 2015, 53(24): 1763-1773.
- [13] MREDHA M T I, GUO Y Z, NONOYAMA T, et al. A facile method to fabricate anisotropic hydrogels with perfectly aligned hierarchical fibrous structures[J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(9): 1704937.
- [14] SONG P, QIN H L, GAO H L, et al. Self-healing and superstretchable conductors from hierarchical nanowire assemblies[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 2786.
- [15] ZHENG W J, AN N, YANG J H, et al. Tough Al-alginate/poly(N-isopropylacrylamide) hydrogel with tunable LCST for soft robotics [J]. *ACS Applied Material Interfaces*, 2015, 7(3): 1758-1764.
- [16] LIU K, ZHANG Y, CAO H, et al. Programmable reversible shape transformation of hydrogels based on transient structural anisotropy[J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(28): 2001693.
- [17] TAN Y, WANG D, XU H, et al. Rapid recovery hydrogel actuators in air with bionic large-ranged gradient structure [J]. *ACS Applied Material Interfaces*, 2018, 10 (46): 40125-40131.

(责任编辑 闫杏丽)

(上接第 789 页)

- [10] MIAO R Q, GAO Y, HARRISON K D, et al. Identification of a receptor necessary for Nogo-B stimulated chemotaxis and morphogenesis of endothelial cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103: 10997-11002.
- [11] PARK E J, GRABIŃSKA K A, GUAN Z Q, et al. Mutation of Nogo-B receptor, a subunit of cis-Prenyltransferase, causes a congenital disorder of glycosylation [J]. *Cell Metabolism*, 2014, 20: 448-457.
- [12] RANA U, LIU Z, KUMAR S N, et al. Nogo-B receptor deficiency causes cerebral vasculature defects during embryonic development in mice [J]. *Developmental Biology*, 2016, 410: 190-201.
- [13] CHRISTOPH E, NINA J, LILLI W, et al. Schwann cell expressed Nogo-B modulates axonal branching of adult sensory neurons through the Nogo-B receptor NgBR[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2015, 9: 454.
- [14] PARK E, GRABIŃSKA K, GUAN Z, et al. Mutation of Nogo-B receptor, a subunit of cis-prenyltransferase, causes a congenital disorder of glycosylation [J]. *Cell Metabolism*, 2014, 20(3): 448-457.
- [15] ZHAO B F, XU B, HU W Q, et al. Comprehensive proteome quantification reveals NgBR as a new regulator for epithelial-mesenchymal transition of breast tumor cells [J]. *Journal of Proteomics*, 2015, 112: 38-52.
- [16] HU W. Nogo-B receptor deficiency increases liver X receptor alpha nuclear translocation and hepatic lipogenesis through an adenosine monophosphate-activated protein kinase alpha-dependent pathway [J]. *Hepatology*, 2016, 64(5): 1559-1576.
- [17] LIBBY P, RIDKER P M, MASERI A, et al. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2002, 105(9): 1135-1143.
- [18] MA C, FENG K, YANG X, et al. Targeting macrophage liver X receptors by hydrogel-encapsulated T0901317 reduces atherosclerosis without effect on hepatic lipogenesis [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(7): 1620-1638.
- [19] HARRISON K D, MIAO R Q. Nogo-B receptor stabilizes Niemann-Pick Type C2 protein and regulates intracellular cholesterol trafficking [J]. *Cell Metabolism*, 2009, 10(3): 208-218.

(责任编辑 闫杏丽)