

刺芒柄花素对单侧输尿管梗阻大鼠 ASK1、JNK 蛋白表达的影响

张 翠, 张思琪, 王丹枫, 张腾娇, 孙 博

哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

摘 要: **目的** 探讨刺芒柄花素对单侧输尿管梗阻(UUO)大鼠凋亡信号调节激酶1(ASK1)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)蛋白表达的影响。**方法** 制备单侧输尿管梗阻诱导肾间质纤维化动物模型,将大鼠随机分为假手术组、模型组、依那普利组及刺芒柄花素高、中、低剂量(100、50、25 mg/kg)组;术后14 d处死大鼠并采集血清检测血清肌酐(Scr)和血尿素氮(BUN)水平;采用HE染色观察大鼠肾脏的病理改变及评定肾小管损伤指数;Masson染色观察肾间质胶原沉积的面积;采用Western blotting免疫印迹法检测肾组织ASK1、JNK蛋白表达水平;采用TUNEL法检测肾小管上皮细胞的凋亡。**结果** 与模型组比较,各治疗组大鼠血清Scr、BUN水平均显著降低($P<0.05$ 、 0.01);肾小管损伤指数、肾间质胶原分布相对面积均显著降低($P<0.05$ 、 0.01);肾组织ASK1、JNK蛋白表达水平显著降低($P<0.05$ 、 0.01);肾小管上皮细胞凋亡指数显著降低($P<0.05$ 、 0.01)。刺芒柄花素高剂量组各项指标优于依那普利组。**结论** 刺芒柄花素能够抑制UUO模型大鼠ASK1、JNK蛋白表达水平,阻止细胞凋亡,从而减缓梗阻性肾病病理进程的发生和发展。

关键词: 刺芒柄花素;单侧输尿管梗阻;内质网应激;凋亡信号调节激酶1; c-Jun 氨基末端激酶

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)19-4607-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.022

Effect of formononetin on protein expression of ASK1 and JNK in rats after unilateral ureteral obstruction

ZHANG Cui, ZHANG Si-qi, WANG Dan-feng, ZHANG Teng-jiao, SUN Bo

College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

Abstract: **Objective** To study the effect of formononetin on the expression of ASK1 and JNK on the protein level in rat after unilateral ureteral obstruction (UUO). **Methods** Rats were then randomly divided into control group, model group, the enalapril group, and the high, medium, and low dose groups of formononetin (100, 50, and 25 mg/kg). Renal interstitial fibrosis (RIF) rats model was established by unilateral ureteral obstruction except the control group. The rats were sacrificed 14 d after surgery, and blood samples were collected to detect serum creatinine (Scr) and blood urea nitrogen (BUN) levels. HE staining was used to observe renal pathologic change and determine renal tubular damage index. The area percentage of RIF was detected by Masson staining. Expressions of ASK1 and JNK protein in kidney were determined by Western blotting. Tubular epithelial cell apoptosis was detected by TUNEL assay. **Results** Serum Scr, BUN level, tubulointerstitial injury index, RIF, the expressions of ASK1 and JNK protein, and apoptotic index were significantly decreased in the treatment groups when compared with the model group ($P<0.05$, 0.01). The high dose group of formononetin was more effective than enalapril group. **Conclusion** Formononetin inhibited the expressions of ASK1 and JNK protein in UUO rats model. Ultimately renal tubular epithelial cell apoptosis was suppressed and the progression of obstructive nephropathy pathologic process was retarded.

Key words: formononetin; unilateral ureteral obstruction (UUO); endoplasmic reticulum stress (ERS); ASK1; JNK

肾脏纤维化是多种慢性肾脏疾病最终导致肾衰竭的主要病理改变和共同通路,也是所有形式的肾脏慢性衰竭最终转归^[1]。近年来研究表明,内质网

应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)诱导的细胞凋亡途径是独立于经典的线粒体损伤途径和死亡受体信号途径以外的一种新的细胞凋亡途径,ERS

收稿日期: 2018-05-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81373547); 哈尔滨商业大学研究团队支持项目(2016TD008); 哈尔滨商业大学研究生创新科研项目(YJSCX2017-445HSD)

作者简介: 张 翠(1958—),女,教授,博士后,博士生导师,主要从事中医药治疗肾病研究。Tel: (0451)84838207 E-mail: zhangcuiliulu@163.com

诱导的细胞凋亡是导致肾纤维化的重要因素^[2]。当肾小管上皮细胞受到炎症刺激时,内质网便会发挥适宜的保护作用,但过久或过强的 ERS 则会诱导细胞凋亡,无法保持细胞的稳态,造成间质纤维化^[3]。凋亡信号调节激酶 1 (ASK1) 是维持细胞稳态的关键分子,特别是在应激条件下,在细胞因子及应激诱导的细胞凋亡过程中起着关键作用^[4]。c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 是未折叠蛋白下游的重要部分,是凋亡蛋白酶连锁反应的必要条件。JNK 的活化是细胞凋亡的早期生化指标。

刺芒柄花素 (formononetin) 为异黄酮类化合物,在黄芪、鸡血藤以及红车轴草中普遍存在^[5]。现代研究表明,刺芒柄花素能抗细胞凋亡、调节肾组织血清肌酐 (Scr)、血尿素氮 (BUN) 水平和改善病理损伤,对肾脏起到保护作用^[6]。本研究探讨刺芒柄花素对 ASK1 和 JNK 的蛋白表达水平及细胞凋亡通路的影响,以期阐明刺芒柄花素对梗阻性肾病的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级健康雄性 Wistar 大鼠,体质量 (200±20) g,购自吉林大学实验动物中心,合格证号 SCXK-(吉)-2016-0003。

1.2 试剂及仪器

刺芒柄花素 (批号 CY170208, 质量分数 98.4%), 购自陕西慈缘生物有限公司; 马来酸依那普利 (批号 170301), 上海现代制药股份有限公司; Scr 试剂盒, 中生北控生物科技股份有限公司; BUN 测定试剂盒, 中生北控生物科技股份有限公司; TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒, 德国罗氏公司; 碱性磷酸酯酶标记马抗小鼠 IgG (H+L)、碱性磷酸酯酶标记山羊抗兔 IgG (H+L), Jackson 公司; β -actin 抗体, ZS 公司; 一抗兔抗鼠 ASK1 抗体, Bioss 公司; 一抗兔抗鼠 JNK 抗体, Abcam 公司。医学病理图像分析系统 Image J 分析软件。Glamour 2000 型全自动生化分析仪 (美国 Molecular Devices 公司)。

2 方法

2.1 模型制备、分组及给药

60 只大鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为 6 组, 即假手术组、模型组、依那普利 (0.45 mg/kg) 组及刺芒柄花素高、中、低剂量 (100、50、25 mg/kg) 组, 每组 10 只。采用单侧输尿管结扎 (unilateral ureteral obstruction, UUO) 方法制备肾间质纤维化

大鼠模型。大鼠禁食 24 h, ip 10% 水合氯醛 3 mL/kg 麻醉, 无菌条件下从大鼠左肋脊角下方剪开皮肤及肌层至腹膜后, 游离左侧输尿管, 在肾盂处和肾下极处分别结扎并从中剪断输尿管。假手术组分离输尿管 (但不结扎和剪断输尿管) 后即缝合腹腔。手术前 1 d 各给药组开始 ig 相应剂量药物, 假手术组和模型组给予同体积生理盐水。每天给药 1 次, 共 14 d。

2.2 Scr 和 BUN 水平检测

于术后第 14 天采用摘眼球取血法取血, 约 5 mL, 不抗凝, 血液收集后经 2 500 r/min 离心 10 min 分离出血清, 将血清保存于 -20 °C 冰箱, 利用 Glamour 2000 型全自动生化分析仪进行 Scr 和 BUN 水平检测。

2.3 UUO 大鼠肾脏指数检测

观察大鼠精神状态、饮食、饮水等情况。每天同一时间称体质量并记录。处死大鼠前, 观察肾脏外观特征; 摘除大鼠肾脏后, 称肾质量, 计算肾脏指数 (肾脏指数为肾质量/体质量)。

2.4 UUO 大鼠肾脏病理学检测

大鼠肾组织样本经过 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片, 以备 HE、Masson 染色。每例 HE 切片在 400 倍光镜下随机选择 10 个不含肾小球的视野, 进行半定量分析。依据间质纤维化程度、小管萎缩、间质浸润、红细胞管型、蛋白管型、间质水肿、小管扩张、小管细胞空泡变性 8 项指标观察肾间质病理改变。每个参数分为 4 个等级: 正常为 0 分, 轻度受损为 1 分, 中度受损为 2 分, 重度为 3 分, 每个样本小管间质损伤总评分为 0~24 分。行 Masson 染色切片后, 每张切片在高倍镜 400 倍下随机选取 20 个视野, 测定间质纤维化面积占同视野小管间质总面积的百分比。取平均值为每例切片的肾间质相对面积, 作为衡量肾小管损伤的指标。应用 Image J 多媒体彩色病理图像分析软件进行半定量分析。

2.5 Western blotting 法检测 UUO 大鼠肾组织 ASK1、JNK 蛋白表达水平

取 20 mg 大鼠肾组织, 将细胞裂解液注入其中并采取匀浆器进行后续处理, 放入高速离心机中离心 (12 000 r/min, 10 min), 取上清液。BCA 试剂盒测定其蛋白含量。蛋白按照 5:1 的比例加入 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液, 在沸水中煮 5 min。配制 12% 分离胶和 5% 浓缩胶, 按蛋白含量上样, 浓缩胶采用恒压 80 V (大约 30 min), 分离胶采用恒

压 120 V, 待溴酚蓝移至分离胶底部时, 终止电泳。将蛋白转到 NC 膜上, 封闭 1 h 后, 孵育一抗 (1:1 000) 过夜、孵育二抗 (1:10 000) 1 h, 用 BCIP/NBT 碱性磷酸酯酶显色试剂盒显色, 用 Gel Image system ver. 4.00 软件对条带进行灰度分析, 记录灰度值。

2.6 TUNEL 法检测 UUO 大鼠肾小管上皮细胞凋亡

取部分梗阻侧肾组织, 严格按照 TUNEL 检测试剂盒说明书进行操作。显微镜下细胞核中呈棕黄色至黄棕色为阳性细胞, 即凋亡细胞。光镜下随机选取 10 个非重叠的高倍视野 (10×40), 避开肾小球及大血管, 采用 Image J 等分析软件测定凋亡指数。

2.7 统计学处理

所有数据采用 SPSS 23.0 统计分析软件进行统计学处理, 所得结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析, 组内比较采用 *t* 检验。

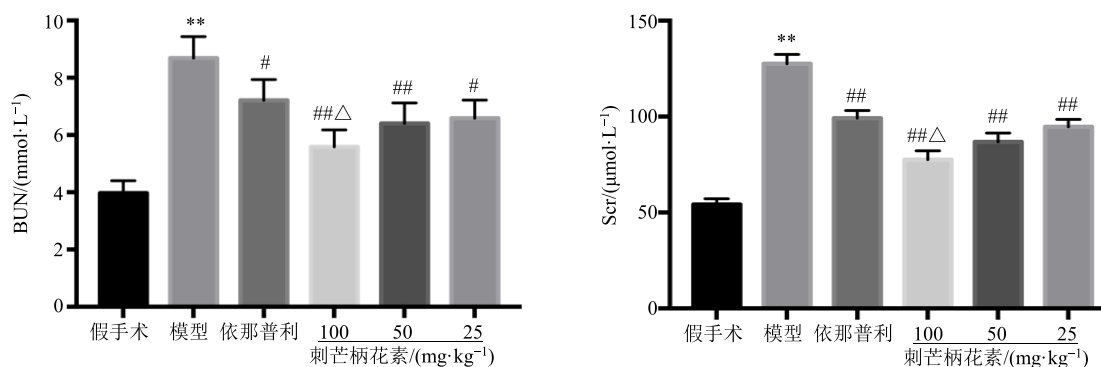
3 结果

3.1 刺芒柄花素对 UUO 大鼠血清中 Scr、BUN 水平的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠血清中 BUN 和 Scr 水平均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各治疗组大鼠血清中 BUN 和 Scr 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 刺芒柄花素高剂量降低 BUN、Scr 作用明显优于依那普利 ($P < 0.05$), 见图 1。

3.2 刺芒柄花素对 UUO 大鼠肾脏指数的影响

图 2 结果显示, 与假手术组比较, 模型组大鼠梗阻侧肾脏指数显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各治疗组大鼠肾脏指数显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 说明各治疗组大鼠肾脏积水的程度减轻。刺芒柄花素高剂量组大鼠肾脏指数较依那普利组显著降低 ($P < 0.05$), 说明刺芒柄花素高剂量抑制肾脏积水作用优于依那普利。



与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与依那普利组比较: △ $P < 0.05$, 下同
 ** $P < 0.01$ vs Sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; △ $P < 0.05$ vs Enalapril group, same as below

图 1 刺芒柄花素对 UUO 大鼠血清 BUN、Scr 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 1 Effects of formononetin on Scr and Bun levels in UUO rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

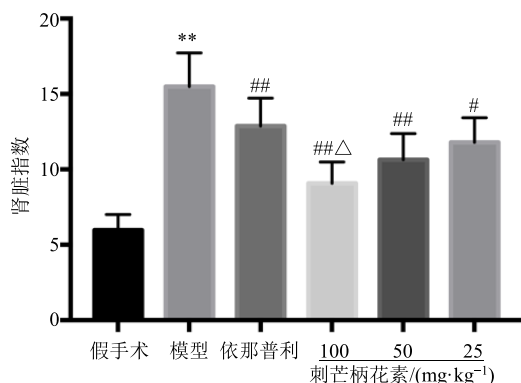


图 2 刺芒柄花素对 UUO 大鼠肾脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 2 Effect of formononetin on ratio of kidney weight to body weight in UUO rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

3.3 刺芒柄花素对 UUO 大鼠肾小管损伤指数的影响

HE 染色结果显示, 假手术组 HE 染色肾脏病理未见明显异常。模型组肾间质淋巴细胞、单核细胞浸润, 肾小管扩张, 肾小管上皮细胞肿胀空泡变性, 并有坏死和脱落。各治疗组与模型组比较, 肾小管扩张及肾小管变性脱落的情况有不同程度的减轻 ($P < 0.05$, 0.01), 刺芒柄花素高剂量组减轻肾小管损伤作用优于依那普利组 ($P < 0.05$)。见图 3、4。

3.4 刺芒柄花素对 UUO 大鼠肾组织胶原分布面积的影响

Masson 染色结果显示, 假手术组大鼠肾组织未见异常, 模型组大鼠肾组织大量胶原纤维增生, 间

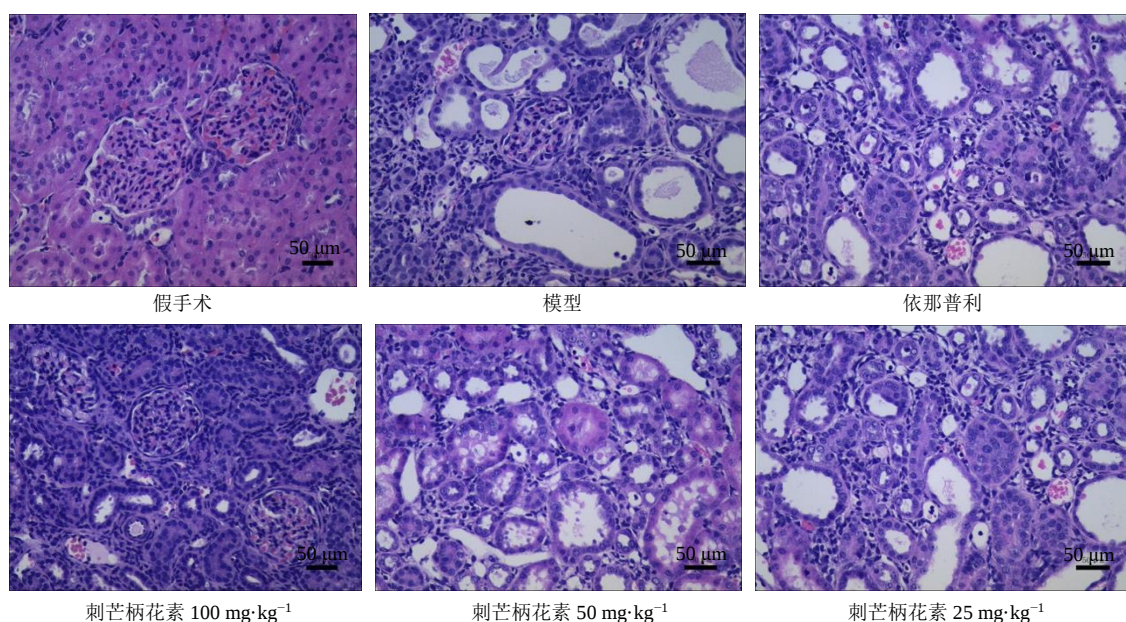


图 3 刺芒柄花素对 UUO 大鼠肾小管损伤指数的影响 (×400, HE)

Fig. 3 Effect of formononetin on renal tubular damage index in UUO rats (× 400, HE)

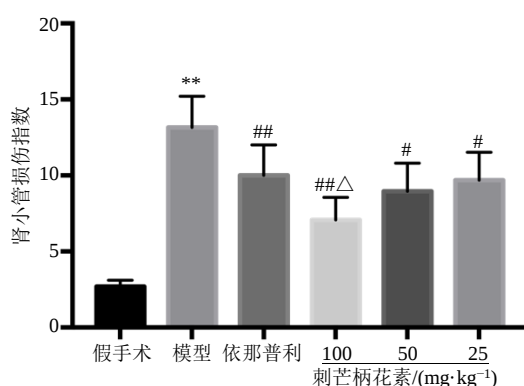


图 4 刺芒柄花素对 UUO 大鼠肾小管损伤指数的影响 (̄x ± s, n = 10)

Fig. 4 Effect of formononetin on rat renal tubular damage index in UUO rats (̄x ± s, n = 10)

质胶原纤维染成蓝色, 密集分布于皮肤与骨髓交界处, 部分肾小管萎缩变形。与模型组比较, 各治疗组大鼠肾组织胶原分布面积均有不同程度的减轻 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与依那普利组比较, 刺芒柄花素高剂量降低大鼠肾间质胶原相对面积的效果更为显著 ($P < 0.05$), 见图 5、图 6。

3.5 刺芒柄花素对 UUO 大鼠肾组织 ASK1、JNK 蛋白表达的影响

假手术组大鼠肾组织 ASK1、JNK 蛋白表达较少。与假手术组比较, 模型组大鼠肾组织 ASK1、JNK 的蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各治疗组大鼠肾组织 ASK1、JNK 蛋白表

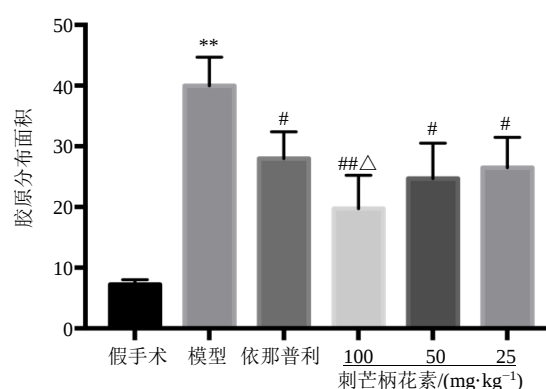


图 5 刺芒柄花素对 UUO 大鼠胶原分布面积的影响 (̄x ± s, n = 10)

Fig. 5 Effect of formononetin on collagen distribution area in UUO rats (̄x ± s, n = 10)

达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与依那普利组比较, 刺芒柄花素高剂量能显著抑制大鼠肾组织 ASK1、JNK 蛋白的表达 ($P < 0.05$), 见图 7。

3.6 刺芒柄花素对 UUO 大鼠肾小管上皮细胞凋亡的影响

术后第 14 天, 假手术组大鼠肾小管仅能观察到少量阳性表达细胞。与假手术组比较, 模型组大鼠则见大量黄棕色颗粒分布在肾小管上皮细胞, 细胞凋亡指数显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各治疗组大鼠细胞凋亡指数显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与依那普利组比较, 刺芒柄花素高剂量组大鼠肾小管上皮细胞凋亡指数显著降低 ($P < 0.05$), 见图 8、9。

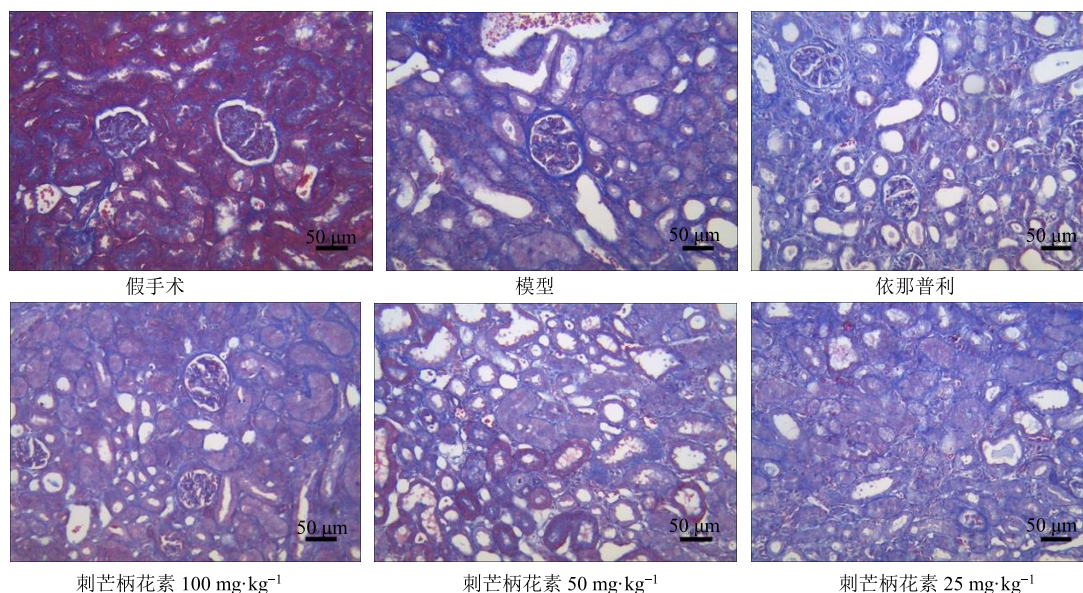


图 6 刺芒柄花素对 UVO 大鼠胶原分布面积的影响 ($\times 400$, Masson)

Fig. 6 Effect of formononetin on collagen distribution area in UVO rats ($\times 400$, Masson)

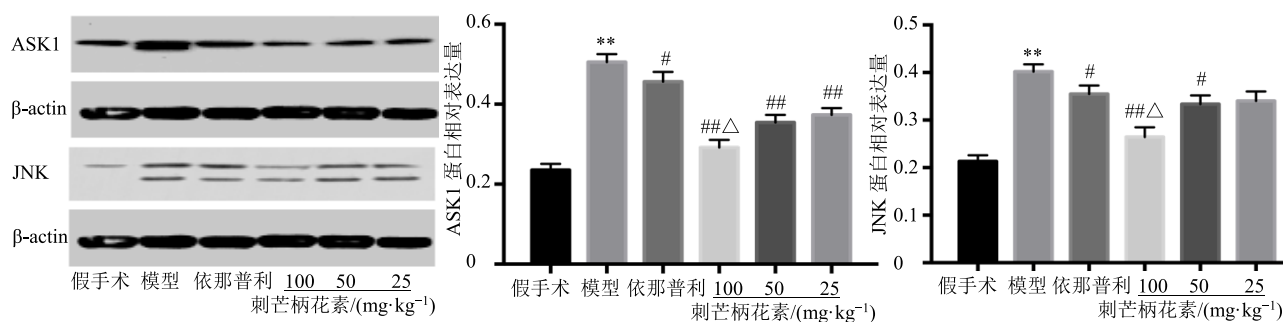


图 7 刺芒柄花素对 UVO 大鼠肾组织 ASK1、JNK 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 7 Effect of formononetin on expression of ASK1 and JNK in renal tissue of UVO rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

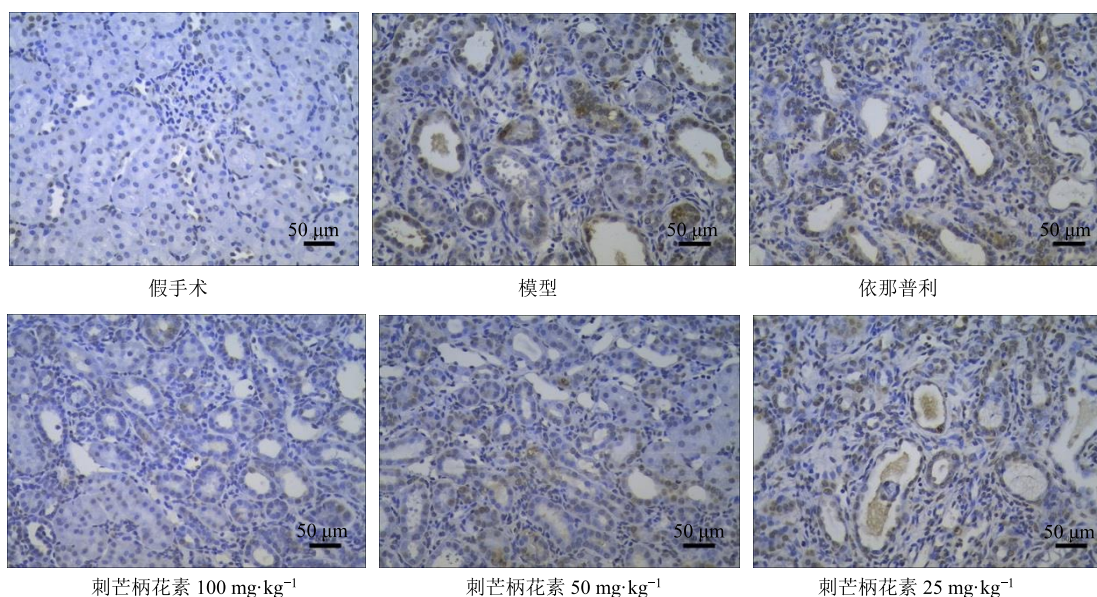


图 8 刺芒柄花素对 UVO 大鼠肾小管上皮细胞凋亡的影响 ($\times 400$, TUNEL)

Fig. 8 Effect of formononetin on apoptosis of renal tubular epithelial cell in UVO rats ($\times 400$, TUNEL)

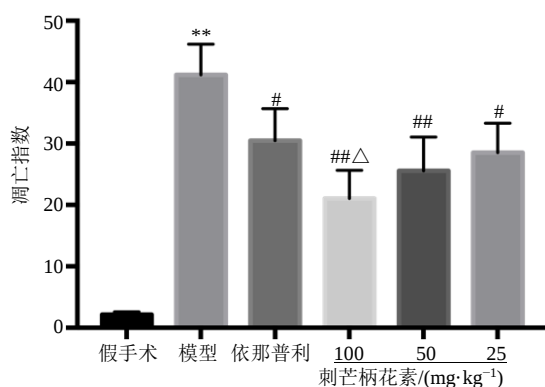


图9 刺芒柄花素对UUO大鼠肾小管上皮细胞凋亡指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 9 Effect of formononetin on renal tubular epithelial cell apoptosis index in UUO rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

4 讨论

本实验采用肾小管间质纤维化的经典模型UUO大鼠模型,以肾小管损伤和间质成纤维细胞的增殖为主要病理学特征,其优点在于造模时间短,病理程度具有可控性,且能够很好地模拟肾脏纤维化的病理过程^[7]。研究结果表明,术后14 d,与假手术组比较,模型组大鼠血清中BUN和Scr水平显著增加($P < 0.01$)。各治疗组大鼠血清BUN和Scr水平显著低于模型组($P < 0.05$ 、 0.01)。与依那普利组比较,刺芒柄花素高剂量组降低大鼠血清BUN和Scr水平的作用更显著($P < 0.05$)。模型组大鼠肾脏梗死侧肾脏指数明显升高,肾脏积水严重。HE染色结果显示,模型组大鼠灶状单核细胞浸润,多数肾小管扩张、萎缩,肾小管上皮细胞空泡变性,部分缺血性坏死。Masson染色结果显示,模型组大鼠肾小管、肾间质可见纤维阳性染色,多数肾小管萎缩,纤维化增多。各治疗组大鼠的肾小管损伤指数和相对胶原分布面积与模型组比较均显著降低($P < 0.05$ 、 0.01),且与依那普利组比较,高剂量刺芒柄花素效果更显著($P < 0.05$)。表明刺芒柄花素能通过降低血清BUN和Scr水平,改善病理组织改变来延缓肾纤维化进程。

未折叠蛋白反应是一种细胞自我保护性措施,维持内质网功能与稳态,但是内质网应激过强或持续时间过久会导致上皮细胞向间质细胞的转化,参与肾脏纤维化^[8]。ASK1只在病理条件下被激活,无法在生理条件下进行自我调控。ASK1被各种类型的应激激活,包括内质网应激、氧化应激以及受

体介导的炎症信号等,过度活化的ASK1激活下游JNK信号通路,诱导细胞凋亡和形态学改变,过度应激反应,导致多种疾病的发生,包括肾脏疾病^[9]。有研究表明,ASK1是阻断肾脏中JNK信号通路的重要上游激活因子,是肾脏纤维化的潜在治疗靶点^[10]。JNK是促分裂原活化蛋白激酶(MAPKs)家族重要成员,是凋亡过程中重要的蛋白。JNK信号转导参与由死亡受体引发的外源性凋亡途径以及在线粒体起始的内源性途径。JNK在调节多种促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白的活性方面有重要作用。在对各类肾病人及啮齿动物肾病的肾脏分析中发现,激活的JNK在大部分肾损伤的肾小球及肾小管中均有表达^[11]。研究表明,肾损伤的修复与JNK引起的促纤维化信号有关,并且JNK可以抑制缺血再灌注损伤的肾小管间质纤维化^[12]。在激活之前阻断JNK信号,可以预防急性肾小管坏死和肾功能不全导致的缺血再灌注损伤^[13]。

在UUO后第14天,与假手术组比较,模型组大鼠肾组织中的ASK1、JNK表达水平显著上升,表明未折叠蛋白反应的激活,过度活化的ASK1激活下游JNK通路,导致肾小管上皮细胞凋亡。与模型组比较,刺芒柄花素各剂量组均能降低大鼠肾组织ASK1、JNK的表达水平,降低肾小管上皮细胞凋亡指数,表明ASK1介导的细胞凋亡途径参与肾间质纤维化的发展。TUNEL染色结果表明肾纤维化与肾小管上皮细胞凋亡是相互促进的,在间质纤维化进展过程中,肾纤维化程度与肾小管上皮细胞凋亡数量呈正相关,凋亡数量越多,纤维化程度越重,随着纤维化进程中肾小管的扩张或萎缩进一步导致肾小管上皮细胞的凋亡,这与文献报道一致^[14]。由于凋亡是一个过程,抑制ASK1的激活,通过调控JNK通路阻断肾小管上皮细胞的凋亡是治疗肾间质纤维化的有效途径。

参考文献

- [1] Ahmed H, Mohamed Y, Tawfek A, et al. Renal fibrosis [J]. *Menoufia Med J*, 2015, 28(2): 540-546.
- [2] Inagi R, Ishimoto Y, Nangaku M. Proteostasis in endoplasmic reticulum-new mechanisms in kidney disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2014, 10(7): 369-378.
- [3] Tanjore H, Lawson W E, Blackwell T S. Endoplasmic reticulum stress as a pro-fibrotic stimulus [J]. *BBA-Mol Basis Dis*, 2013, 1832(7): 940-947.
- [4] Sakauchi C, Wakatsuki H, Ichijo H, et al. Pleiotropic

- properties of ASK1 [J]. *BBA-Gen Subjects*, 2016, 1861(1): 3030-3038.
- [5] 王健, 孙瑜, 陈磊等. 芒柄花素的现代研究进展 [J]. 山西中医学院学报, 2017, 18(5): 74-77.
- [6] Huang D, Wang C Y, Meng Q, *et al.* Protective effects of formononetin against rhabdomyolysis-induced acute kidney injury by upregulating Nrf2 *in vivo* and *in vitro* [J]. *Royal Soc Chem*, 2016, 112(6): 110874-110883.
- [7] 袁媛. 大鼠单侧输尿管结扎模型和饥饿模型尿液蛋白质组研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2015.
- [8] 陈娜子, 姜潮, 李校堃. 内质网应激与疾病 [J]. 中国生物工程杂志, 2016, 36(1): 76-85.
- [9] Gong J, Wang X Z, Chen J J, *et al.* Molecular signal networks and regulating mechanisms of the unfolded protein response [J]. *J Zhejiang Univ-Sci B*, 2017, 18(1): 1-14.
- [10] Ma F Y, Tesch G H, Nikolic-Paterson D J. ASK1/p38 signaling in renal tubular epithelial cells promotes renal fibrosis in the mouse obstructed kidney [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 307(11): 1263-1273.
- [11] de Borst M H, Prakash J, Sandovici M, *et al.* c-Jun NH₂-terminal kinase is crucially involved in renal tubulo-interstitial inflammation [J]. *J Pharm Exp Ther*, 2009, 331(3): 896-905.
- [12] Lan R, Geng H, Polichnowski A J, *et al.* PTEN loss defines a TGF- β -induced tubule phenotype of failed differentiation and JNK signaling during renal fibrosis [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302(9): F1210-F1223.
- [13] Kanellis J, Ma F R R, Dowling J P, *et al.* JNK signalling in human and experimental renal ischaemia/reperfusion injury [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(9): 2898-2908.
- [14] 邹朝霞, 李均. 内质网应激与肾脏纤维化 [J]. 海南医学, 2017, 28(4): 615-617.
- (上接第 4606 页)
- [12] Jollow D J, Mitchell J R, Zampaglione N, *et al.* Bromobenzene-induced liver necrosis. Protective role of glutathione and evidence for 3,4-bromobenzene oxide as the hepatotoxic metabolite [J]. *Pharmacology*, 1974, 11(3): 151-169.
- [13] Habig W H, Pabst M J, Fleischner G, *et al.* The identity of glutathione S transferase B with ligandin, a major binding protein of liver [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(10): 3879-3882.
- [14] Ambaw A, Zheng L, Tambe M A, *et al.* Acrolein-mediated neuronal cell death and alpha-synuclein aggregation: Implications for Parkinson's disease [J]. *Mol Cell Neurosci*, 2018, 88(1): 70-82.
- [15] Quintero-Espinosa D, Jimenez-Del-Rio M, Velez-Pardo C. Knockdown transgenic Lrrk *Drosophila* resists paraquat-induced locomotor impairment and neurodegeneration: A therapeutic strategy for Parkinson's disease [J]. *Brain Res*, 2017, 1657(1): 253-261.
- [16] Xu S, Yang X, Qian Y, *et al.* Parkinson's disease-related DJ-1 modulates the expression of uncoupling protein 4 against oxidative stress [J]. *J Neurochem*, 2018, 145(4): 312-322.
- [17] Agil A, Durán R, Barrero F, *et al.* Plasma lipid peroxidation in sporadic Parkinson's disease. Role of the L-dopa [J]. *Digest World Core Med J*, 2006, 240(1): 31-36.
- [18] 罗蔚锋, 包仕尧, 刘春风. 还原型谷胱甘肽治疗帕金森病的临床研究 [J]. 中国临床神经科学, 2003, 11(2): 195-197.
- [19] 陈丽君. 谷胱甘肽 S-转移酶基因家族的研究进展 [J]. 皖南医学院学报, 2003, 22(2): 144-146