

硫酸吲哚酚通过芳香烃受体介导 p53 的表达

李 静 张梦珂 米娜娃尔·玉努斯 叶力夏提·阿德力别克

摘 要 **目的** 探讨硫酸吲哚酚(indophenol sulfate, IS)通过芳香烃受体(aromatic hydrocarbon receptor, AHR)介导 p53 的表达水平变化及其作用机制。**方法** 体外培养人主动脉血管平滑肌细胞,分别以 250、500、1000 $\mu\text{mol/L}$ IS 干预细胞 48h, Western blot 法分别检测 p53 的蛋白表达,观察不同浓度的 IS 对 p53 变化的影响。以 500 $\mu\text{mol/L}$ IS 干预细胞 12、24、48h, Western blot 法分别检测 p53 的蛋白表达,观察 IS 干预不同时间对 p53 变化的影响。细胞分为对照组、IS 组(500 $\mu\text{mol/L}$ IS 处理 24h/48h)、有机阴离子转运体(organic anion transporter, OAT)抑制剂丙磺舒组(150 $\mu\text{mol/L}$ 丙磺舒处理 24h)、IS + 丙磺舒组(150 $\mu\text{mol/L}$ 丙磺舒干预 24h 后加入 500 $\mu\text{mol/L}$ IS 干预 24h/48h)、芳香烃受体(AHR)抑制剂 CH223191 组(10 $\mu\text{mol/L}$ CH223191 处理 24h)、IS + CH223191 组(10 $\mu\text{mol/L}$ CH223191 干预 24h 后加入 500 $\mu\text{mol/L}$ IS 干预 24h/48h),实时荧光定量 PCR、Western blot 法分别检测 p53 的 mRNA 和蛋白表达,观察 IS 通过 AHR 介导 p53 的表达水平变化。**结果** IS 以时间依赖和浓度依赖的方式诱导 p53 的表达,与对照组比较,IS 处理过的人主动脉血管平滑肌细胞上 p53 的蛋白的表达增加($P < 0.05$)。与 IS 组比较,IS + CH - 223191 和 IS + 丙磺舒干预后的细胞上 p53 的表达均降低($P < 0.05$)。**结论** IS 可促进人主动脉血管平滑肌细胞上 p53 的表达,AHR 抑制剂 CH223191 可拮抗 IS 对于 p53 表达的影响。

关键词 硫酸吲哚酚 p53 芳香烃受体 尿毒症

中图分类号 R692.5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.02.010

Indophenol Sulfate Mediates the Expression of p53 through Aromatic Hydrocarbon Receptors. LI Jing, ZHANG Mengke, Minawaer · Yunus, et al. Kidney Disease Center, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang 830000, China

Abstract Objective To investigate the expression level of p53 mediated by indoxyl sulfate (IS) through aromatic hydrocarbon receptor (AHR) and its mechanism. **Methods** Human aortic vascular smooth muscle cells were cultured *in vitro* and intervened with 250, 500 and 1000 $\mu\text{mol/L}$ for 48h. The protein expression of p53 was detected by Western blot, and the effects of different concentrations of IS on the changes of p53 were observed. The cells were intervened with IS at a concentration of 500 $\mu\text{mol/L}$ for 12, 24 and 48h, and the protein expression of p53 was detected by Western blot, respectively, the effects of IS intervention at different times on the changes of p53 were observed. The cells were divided into control group, IS group (treatment with 500 $\mu\text{mol/L}$ IS for 24h/48h), organic anion transporter (OAT) inhibitor Probenecid group (treatment with 150 $\mu\text{mol/L}$ Probenecid for 24h), IS + Probenecid group (intervention with 500 $\mu\text{mol/L}$ IS for 24h/48h after intervention with 150 $\mu\text{mol/L}$ Probenecid for 24h), AHR inhibitor CH223191 group (treatment with 10 $\mu\text{mol/L}$ CH223191 for 24h), IS + CH223191 group (intervention with 500 $\mu\text{mol/L}$ IS for 24h/48h after intervention with 10 $\mu\text{mol/L}$ CH223191 for 24h). The mRNA and protein expression of p53 were detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) and Western blot, and the changes of p53 expression level mediated by AHR were observed. **Results** IS induced the expression of p53 in a time-dependent and concentration-dependent manner. Compared with the control group, the expression of p53 protein in human aortic vascular smooth muscle cells treated with IS was increased ($P < 0.05$). Compared with IS group, the expressions of p53 in cells of IS + CH223191 and IS + Probenecid intervention were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** IS can promote the expression of p53 in human aortic vascular smooth muscle cells, and AHR inhibitor Probenecid can antagonize the effect of IS on the expression of p53.

Key words Indoxyl sulfate; P53; Aromatic hydrocarbon receptor; Uremia

基金项目:新疆维吾尔自治区科技计划项目(2021D01C311)

作者单位:830000 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院肾脏病中心、新疆维吾尔自治区肾脏病研究所、新疆肾脏替代治疗临床研究中心、国家肾脏疾病临床医学研究中心、新疆维吾尔自治区分中心、新疆维吾尔自治区血液净化质量控制中心

通信作者:叶力夏提·阿德力别克,电子信箱:497136990@qq.com

硫酸吲哚酚(indophenol sulfate, IS)是肾脏终末期产生的一种尿毒症毒素。它与白蛋白的结合率超过 90%,在血液透析时很难被滤过^[1]。因此大量 IS 在体内蓄积,对人体产生危害。目前,越来越多的研究证实慢性肾脏病终末期肾衰竭尿毒症毒素与心血

管疾病存在相关性^[2-4]。其中,IS 是研究最广泛的尿毒症毒素,它的相对分子质量是 251.3,主要来源于色氨酸代谢。色氨酸在肠道细菌的作用下生成吲哚,吲哚被吸收入血后经门静脉进入肝脏,在肝脏中经过羟化、硫酸化以后生成 IS^[5]。p53 是一种调节转录的序列特异性 DNA 结合蛋白,p53 的功能集中在其促进细胞周期停滞和细胞凋亡的能力上^[6,7]。

血管平滑肌细胞的凋亡与心血管疾病的发病机制密切相关,抑制血管平滑肌细胞凋亡是减缓心血管疾病尤其是动脉粥样硬化发展的有效预防策略^[8]。有研究表明,p53 水平与亚临床动脉粥样硬化患者的颈动脉内膜中层厚度呈正相关^[9]。芳香烃受体(aromatic hydrocarbon receptor, AHR)是 IS 的天然配体,硫酸吲哚酚通过 AHR 的转运进入细胞核内^[10]。笔者采用 IS 刺激人主动脉血管平滑肌细胞,并给与 AHR 的特异性抑制剂(CH223191)进行干预处理,检测 p53 的表达,探索 IS 是否能够通过 AHR 受体介导 p53 的表达。

材料与方法

1. 细胞和试剂:人主动脉血管平滑肌细胞(CP-H081,武汉普诺赛公司);人主动脉血管平滑肌细胞完全培养基(CM-H081,武汉普诺赛公司);吡喹钾盐(I3875,美国 Sigma-Aldrich 公司);兔抗 p53 抗体、鼠抗 GAPDH 单克隆抗体(美国 Proteintech 公司);辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠或兔 IgG 抗体(美国 Proteintech 公司);BCA 蛋白定量试剂盒(北京索莱宝公司);高效 RIPA 组织/细胞裂解缓冲液(北京索莱宝公司);蛋白酶抑制剂(北京索莱宝公司);磷酸酶抑制剂(北京索莱宝公司);蛋白印迹法专用发光液(美国 Affinity 公司);SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(北京索莱宝公司);实时定量 PCR 试剂盒(美国 Invitrogen 公司);RNA 提取试剂盒(美国 Omega 公司);cDNA 第一链合成试剂盒(中国 MCE 公司);SYBR Green PCR Master Mix(美国 Sigma-Aldrich 公司);Trizol Reagent、Ultrapure RNA 超纯 RNA 提取试剂盒(江苏康为试剂公司);反转录试剂盒(北京金式金公司)。

2. 细胞培养:人主动脉血管平滑细胞用完全培养基,放置在 37℃、5% CO₂ 条件下恒温培养。贴壁生长至融合状态,用 0.25% 的胰蛋白酶进行消化,选择生长状态良好的细胞进行传代。当细胞贴壁融合至 80% 以上时,更换为无血清培养基使细胞饥饿 24h。每次实验均选取 4 代细胞,并重复实验 3 次。

3. Western blot 法检测相关蛋白表达:收集各组细胞,加入 100μl 配制的细胞裂解液,冰上裂解 30min 后刮取细胞及裂解液,离心后取上清,选取 BCA 法测定蛋白浓度。取 30μg 总蛋白凝胶电泳分离,转膜,5% 脱脂牛奶室温封闭 1h,加一抗 p53(浓度 1:1000)或 GAPDH(浓度 1:10000),4℃ 下孵育过夜。TBST 洗膜 3 次,每次 5min,加入相应二抗室温孵育 1h,洗膜后用化学发光曝光显影,以 GAPDH 作为对照,分析各组细胞目的蛋白的相对表达量。

4. 实时定量 PCR 检测相关 mRNA 表达:每组细胞加入 400μl 的 Trizol,待细胞充分裂解后移入 1.5ml 的 EP 管中,加入 80μl 的氯仿,离心后取上清,加入等体积的异丙醇离心后弃上清,接着用 75% 的乙醇洗涤沉淀。用无菌无酶水溶解沉淀后测定 RNA 的浓度和纯度。将 RNA 反转录合成 cDNA,通过 PCR 扩增 cDNA。反应体系包括:下游引物 0.75μl,上游引物 0.75μl,cDNA 2μl,ddH₂O 6.4μl,SYBR Green 10μl,ROX 0.1μl,总体积 20μl。各基因引物序列详见表 1。

表 1 各基因引物序列

基因名称	引物序列(5'→3')	引物长度(bp)
p53	上游引物:GAGGTTGGCTCTGACTGTACC	21
	下游引物:TCCGTCCCAGTAGATTACCAC	21
β-actin	上游引物:AGAAAATCTGGCACCACACC	20
	下游引物:GTCTCAAACATGATCTGGG	20

5. 统计学方法:应用 SPSS 22.0 软件学软件对数据进行统计分析,符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同浓度的 IS 对于 p53 表达的影响:Western blot 法结果显示,不同浓度 IS(250、500、1000μmol/L)作用于人主动脉血管平滑肌细胞 48h 后,p53 的表达显著增多。与对照组比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05,图 1)。

2. IS 作用于人主动脉血管平滑肌细胞不同时间对于 p53 表达的影响:Western blot 法检测结果显示,500μmol/L 的 IS 分别以 12、24、48h 作用于人主动脉血管平滑肌细胞。24h 时 p53 的表达量明显增多,与对照组比较差异有统计学意义(*P* < 0.05,图 2)。

3. AHR 抑制剂对于 p53 表达的影响:Western blot 法结果显示,IS(500μmol/L 作用 48h)组,相较于对照组 p53 表达增多,差异有统计学意义(*P* <

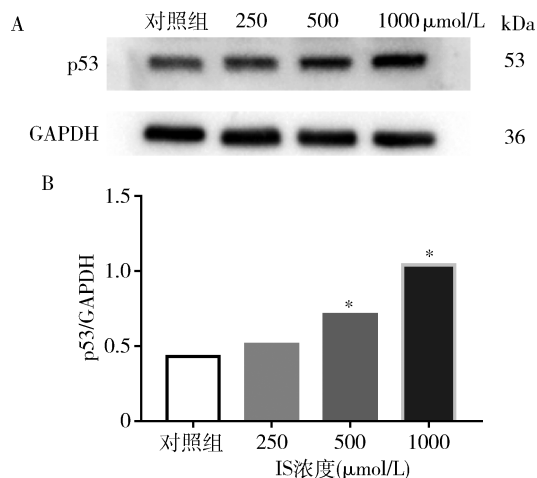


图1 不同浓度的 IS 对于 p53 表达的影响

A. p53 蛋白的表达的情况 (Western blot 法); B. p53 蛋白的表达的情况 (柱形图), 与对照组比较, * $P < 0.05$ ($n = 3$)

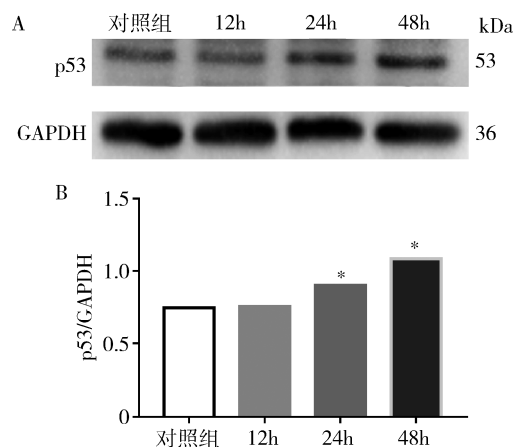


图2 IS 作用不同时间对 p53 表达的影响

A. p53 蛋白的表达的情况 (Western blot 法); B. p53 蛋白的表达的情况 (柱形图), 与对照组比较, * $P < 0.05$ ($n = 3$)

0.05)。但是在加入有机阴离子转运体 (organic anion transporter, OAT) 抑制剂丙磺舒 (150 μmol/L) 和 AHR 抑制剂 CH-223191 (10 μmol/L), p53 的表达量明显降低, 与 IS 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图3)。实时荧光定量 PCR 的结果显示, IS (500 μmol/L 作用 24h) 会使得 p53mRNA 的表达量增多, 在加入 OAT 抑制剂丙磺舒 (150 μmol/L) 和芳香烃受体抑制剂 CH-223191 (10 μmol/L) 后, 与 IS 组比较 p53mRNA 的表达量明显下降, 差异均有统计学意义。 (P 均 < 0.05 , 图4)。

讨 论

笔者采用 IS 刺激人主动脉血管平滑细胞, 观察 p53 蛋白的表达情况, 加入 AHR 抑制剂 CH223191,

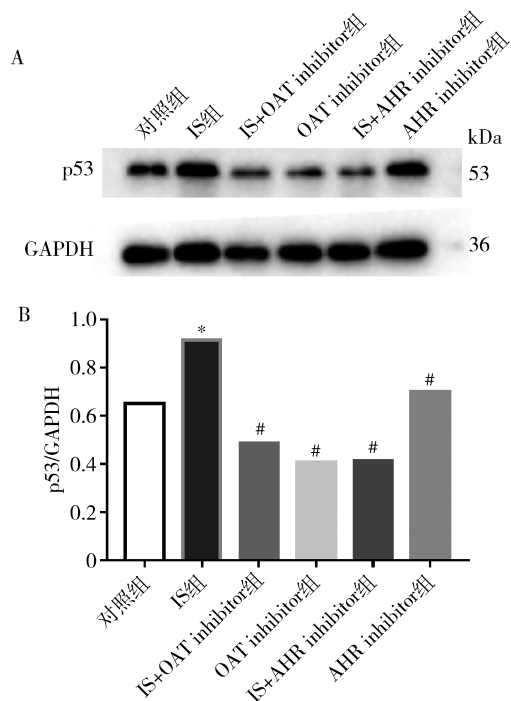


图3 AHR 抑制剂对于 IS 诱导 p53 蛋白表达的影响

A. p53 蛋白的表达的情况 (Western blot 法); B. p53 蛋白的表达的情况 (柱形图), 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 IS 组比较, # $P < 0.05$ ($n = 3$)

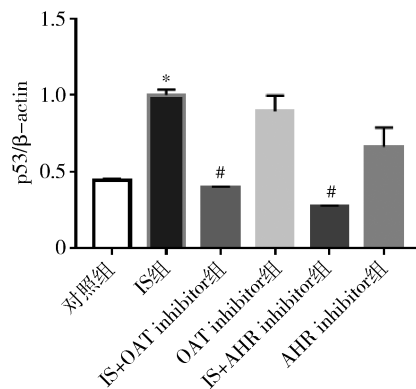


图4 AHR 抑制剂对于 IS 诱导 p53mRNA 表达的影响

与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 IS 组比较, # $P < 0.05$ ($n = 3$)

探讨 AHR 抑制剂对于 IS 诱导的 p53 的表达情况。本研究结果表明, IS 会促进 p53 蛋白的表达, 并且随着时间的延长和浓度的升高, 其表达量越来越高。Ahr 抑制剂会拮抗 IS 对于 p53 表达的影响。

心血管疾病是慢性肾脏病患者 (chronic kidney disease, CKD) 死亡的重要原因。近年来研究证实, CKD 诱发心血管疾病的发生与 IS 的蓄积密切相关^[11]。IS 是目前研究最广泛的尿毒症毒素, 在肾衰竭时常积聚在血液中, 给人体带来很大危害^[12,13]。

Barreto 等^[14]研究表明,在 CKD 患者中,心血管死亡风险与 IS 水平升高密切相关。IS 可诱导 CKD 患者的靶器官损伤,并引起心血管疾病、肾性骨营养不良、肌肉萎缩和贫血等并发症^[15,16]。IS 刺激 CKD 中活性氧(reactive oxygen species,ROS)的产生,从而引发心血管风险,并且通过对系膜细胞的直接细胞毒性作用损害肾小球滤过,进一步加重 IS 的积累^[17]。研究表明升高的 IS 诱导氧化应激、促炎反应和增强的内皮细胞中黏附分子的表达,并且 IS 对内皮细胞的毒性作用导致 CKD 患者心血管疾病的发生、发展^[18]。IS 通过 OAT 转运体进入细胞,发挥其功能。先前有研究表明,AHR 是尿毒症毒素的激动剂^[19]。如今已被证实 IS 是 AHR 的配体,它可通过芳香烃受体的介导转运进入细胞核内^[20]。AHR 是一种转录因子,通过与特定配体结合来调节广泛的生物学和毒理学效应。AHR 配体广泛存在于各种内部和外部环境中,不同的配体会表现出不同的反应^[21]。据报道,AHR 与 CKD 的整个过程都密切相关^[21]。

p53 是一种转录因子,通过反式激活和反式抑制参与调节多种基因以及功能,包括 DNA 损伤、癌基因表达、核糖体功能障碍和氧化应激^[22]。p53 表达的升高促进了细胞凋亡、细胞周期停滞和代谢改变^[23]。因此,长期以来 p53 主要被认为是一个重要的肿瘤抑制因子。然而,它在其他病理过程中也发挥作用,其在各种心血管疾病中的作用受到关注^[23]。越来越多的研究表明,p53 在包括心肌在内的心血管疾病中发挥重要的调节作用。Annarosa 等^[24]研究确定在心脏功能障碍的狗模型中,p53 的表达和活性增加,伴随着程序性细胞死亡增加。在病理性心血管环境中,p53 在患者样本和动物模型中的表达都升高,在晚期心力衰竭患者中检测到 p53 表达增加^[25]。升高的 p53 通过抑制血管生成、细胞程序性死亡、代谢调节和细胞周期停滞调节发挥调节作用。这在很大程度上促进了心血管疾病的发展,特别是心肌梗死、肥厚性心肌病、扩张型心肌病和糖尿病心肌病的心脏重构。p53 在动脉粥样硬化的中的作用也被发现。动脉粥样硬化的病理过程涉及 p53 对动脉粥样硬化相关细胞增殖和衰老的调节。巨噬细胞是动脉硬化斑块中的重要细胞,在斑块形成过程中发挥着重要作用。p53 可通过增加巨噬细胞的增殖来促进动脉粥样硬化斑块的形成^[26,27]。

综上所述,IS 和 p53 都与心血管疾病的发生密切相关。本研究通过时间依赖和剂量依赖两种方式

证实了 IS 会促进人主动脉血管平滑肌细胞上 p53 的表达。在加入了 AHR 抑制剂 CH223191 之后,p53 的表达又降低。这表明 IS 可能会通过 AHR 的介导转运进入细胞核内,然后促进 p53 的表达。

参考文献

- Leong S, Sirich T. Indoxyl sulfate – review of toxicity and therapeutic strategies[J]. *Toxins*, 2016, 8(12): 358
- Chao CT, Lin SH. Uremic vascular calcification: the pathogenic roles and gastrointestinal decontamination of uremic toxins[J]. *Toxins*: Basel, 2020, 12(12): 812
- Filipska I, Winiarska A, Knysak M, *et al.* Contribution of gut microbiota – derived uremic toxins to the cardiovascular system mineralization[J]. *Toxins*: Basel, 2021, 13(4): 274
- 郭楚楚, 夏微微, 张爱华. 硫酸吡啶酚在终末期肾病心血管并发症中的研究进展[J]. *生理学报*, 2018, 70(6): 657 – 662
- Meyer TW, Hostetter TH. Uremic solutes from colon microbes[J]. *Kidney Int*, 2012, 81(10): 949 – 954
- Laptenko O, Prives C. Transcriptional regulation by p53: one protein, many possibilities[J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(6): 951 – 961
- Kastenhuber E, Lowe S. Putting p53 in context[J]. *Cell*, 2017, 170(6): 1062 – 1078
- Liu J, Li B, Li W, *et al.* 6 – Shogaol inhibits oxidative stress – induced rat vascular smooth muscle cell apoptosis by regulating OXR1 – p53 axis[J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9: 808162
- Chen W, Wang F, Li Z, *et al.* p53 Levels positively correlate with carotid intima – media thickness in patients with subclinical atherosclerosis[J]. *Clin Cardiol*, 2009, 32(12): 705 – 710
- Ito S, Osaka M, Edamatsu T, *et al.* Crucial role of the Aryl hydrocarbon receptor (AhR) in indoxyl sulfate – induced vascular inflammation[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2016, 23(8): 960 – 975
- Cheng T, Ma M, Liao M, *et al.* Indoxyl sulfate, a tubular toxin, contributes to the development of chronic kidney disease[J]. *Toxins*, 2020, 12(11): 684
- Shyu J, Liu W, Zheng C, *et al.* Toxic effects of indoxyl sulfate on osteoclastogenesis and osteoblastogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20): 11265
- Liu W, Tomino Y, Lu K. Impacts of indoxyl sulfate and p – Cresol sulfate on chronic kidney disease and mitigating effects of AST – 120[J]. *Toxins*, 2018, 10(9): 367
- Barreto F, Barreto D, Liabeuf S, *et al.* Serum indoxyl sulfate is associated with vascular disease and mortality in chronic kidney disease patients[J]. *Clin J Am Soc Nephro: CJASN*, 2009, 4(10): 1551 – 1558
- Yamaguchi K, Yisireyli M, Goto S, *et al.* Indoxyl sulfate activates NLRP3 inflammasome to induce cardiac contractile dysfunction accompanied by Myocardial fibrosis and hypertrophy[J]. *Cardiovas Toxicol*, 2022, 22(4): 365 – 377
- 李召荣, 毕慧欣. 硫酸吡啶酚引起慢性肾脏病血管钙化机制的研究进展[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2022, 22(12):

1119 – 1121

- 17 Lu C, Zheng C, Lu K, *et al.* Indoxyl – sulfate – induced redox imbalance in chronic kidney disease[J]. *Antioxidants*; Basel, 2021, 10 (6): 936
- 18 Choroszy M, Sobieszczańska B, Litwinowicz K, *et al.* Co – toxicity of endotoxin and indoxyl sulfate, gut – derived bacterial metabolites, to vascular endothelial cells in coronary arterial disease accompanied by gut dysbiosis[J]. *Nutrients*, 2022, 14(3): 424
- 19 Schroeder J, Dinatale B, Murray I, *et al.* The uremic toxin 3 – indoxyl sulfate is a potent endogenous agonist for the human aryl hydrocarbon receptor[J]. *Biochemistry*, 2010, 49(2): 393 – 400
- 20 Liu W, Shyu J, Lim P, *et al.* Concentration and duration of indoxyl sulfate exposure affects osteoclastogenesis by regulating NFATc1 via aryl hydrocarbon receptor[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3486
- 21 Xu X, Zhang X, Yuan Y, *et al.* Species – specific differences in aryl hydrocarbon receptor responses: how and why? [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(24): 13293
- 22 Vaddavalli P, Schumacher B. The p53 network: cellular and systemic

- DNA damage responses in cancer and aging [J]. *TIG*, 2022, 38 (6): 598 – 612
- 23 Beckerman R, Prives C. Transcriptional regulation by p53[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2010, 2(8): a000935
- 24 Leri A, Liu Y, Malhotra A, *et al.* Pacing – induced heart failure in dogs enhances the expression of p53 and p53 – dependent genes in ventricular myocytes[J]. *Circulation*, 1998, 97(2): 194 – 203
- 25 Song H, Conte J, Foster A, *et al.* Increased p53 protein expression in human failing myocardium[J]. *J Heart Lung Transplantation*, 1999, 18(8): 744 – 749
- 26 Guevara N, Kim H, Antonova E, *et al.* The absence of p53 accelerates atherosclerosis by increasing cell proliferation in vivo[J]. *Nat Med*, 1999, 5(3): 335 – 339
- 27 Brown M, Goldstein J. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis [J]. *Annu Rev Biochem*, 1983, 52: 223 – 261

(收稿日期: 2022 – 04 – 18)

(修回日期: 2022 – 04 – 20)

(上接第 40 页)

- 2 郭旭堂, 韩艳萍, 梁健芬, 等. 帕金森中医病机及治法的探讨[J]. *光明中医*, 2015, 30(11): 2305 – 2307
- 3 Gennaro P, Flavia N, Marios P. The serotonergic system in Parkinson's patients with dyskinesia: evidence from imaging studies[J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2018, 125(8): 1217 – 1223
- 4 Grant LM, Barnett DG, Doll EJ, *et al.* Relationships among rat ultrasonic vocalizations, behavioral measures of striatal dopamine loss, and striatal tyrosine hydroxylase immunoreactivity at acute and chronic time points following unilateral 6 – hydroxydopamine – induced dopamine depletion[J]. *Behav Brain Res*, 2015, 15(291): 361 – 371
- 5 林臻, 陈洪志, 赵航, 等. MPTP 诱导 C57BL/6 小鼠帕金森模型的制备和评估[J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(8): 57 – 62
- 6 樊开阳, 朱丽娜, 张文利, 等. MPTP 诱导小鼠帕金森病亚急性模型和慢性模型的比较[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(1): 4 – 6
- 7 张静艳, 郭科东, 金明, 等. 基于基线等比增减设计法优选牛膝白芍对帕金森病肝阳上亢证小鼠神经保护作用的最佳配比研究[J]. *医学研究杂志*, 2021, 50(10): 59 – 64
- 8 Ro JP, Ruiz – Sánchez E, Ro JC, *et al.* Ginkgo biloba extract (EGb 761) modulates the expression of dopamine – related genes in 1 – methy – 4 – phenyl – 1, 2, 3, 6 – tetrahydropyridine Induced Parkinsonism in mice[J]. *Neuroscience*, 2012, 223(30): 246 – 257
- 9 张静艳, 郭科东, 金明, 等. 牛膝和白芍配伍对帕金森病肝阳上证小鼠的协同神经保护作用及机制研究[J]. *中南药学*, 2021, 19(11): 2269 – 2275
- 10 郭德玉, 于向东, 陈彪, 等. MPTP 致 C57BL/6 小鼠帕金森病模型的复制及常用的行为学分析方法[J]. *实验动物科学*, 2010, 27(2): 1 – 4
- 11 荣华, 齐艳秋, 孙影, 等. 镇肝熄风汤对帕金森病大鼠易激惹程度和结膜充血及 NQO – 1, TH 的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(5): 119 – 123
- 12 Li Q, Shen C, Liu Z, *et al.* Partial depletion and repopulation of microglia have different effects in the acute MPTP mouse model of Par-

kinson's disease[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(8): e13094

- 13 Lim HS, Moon BC, Lee J, *et al.* The insect molting hormone 20 – hydroxyecdysone protects dopaminergic neurons against MPTP – induced neurotoxicity in a mouse model of Parkinson's disease[J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 159: 23 – 36
- 14 Main B, Zhang M, Brody K, *et al.* Type – 1 interferons contribute to the neuroinflammatory response and disease progression of the MPTP mouse model of Parkinson's disease[J]. *Glia*, 2016, 64(9): 1590 – 1604
- 15 Obese JA, Stamelou M, Goetz CG. *et al.* Past, Present, and future of Parkinson's disease: a special essay on the 200th anniversary of the shaking palsy[J]. *Mov Disord*, 2017, 32(19): 1264 – 1310
- 16 Niu Y, Zhang J, Dong M. Nrf2 as a potential target for Parkinson's disease therapy[J]. *J Mol Med*, 2021, 99(7): 917 – 931
- 17 邓文龙. 中医药临床与基础研究的紧密结合 – 《病症结合动物模型拟临床研究思路与方法》读后[J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(1): 265 – 266
- 18 毛禹康, 苏洁贞, 刘明平, 等. 川芎 – 天麻不同剂量对比对大鼠肝阳上亢型偏头痛的药效学差异研究[J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(4): 157 – 160
- 19 王晓丽, 孙影, 朱兰芹, 等. 镇肝熄风汤对帕金森病肝阳上亢证大鼠中脑 Akt 和 GSK – 3 β 磷酸化的影响[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2016, 18(8): 1374 – 1378
- 20 Siv V, Natalie CR, Martins RW. Are rodent models of Parkinson's disease behaving as they should? [J]. *Behav Brain Res*, 2018, 352(10): 133 – 141
- 21 李晓明, 张宏宇, 孙影, 等. 镇肝熄风汤对帕金森病肝阳上亢证大鼠脑组织氧化应激的影响[J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(11): 2588 – 2590
- 22 蒙健林, 梁健芬, 张兴博, 等. 帕金森病实验动物模型的研究进展及评价[J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(3): 399 – 404

(收稿日期: 2022 – 06 – 09)

(修回日期: 2022 – 06 – 25)