

帕病2号方对帕金森病模型大鼠中脑黑质 Nrf2, HO-1 表达的影响

赵贝贝¹, 郑春叶^{2*}, 雒晓东², 孙玉芝², 吴寿海², 崔晓峰³

(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广东省中医院, 广州 510120;
3. 中山市黄圃人民医院, 广东 中山 528429)

[摘要] **目的:**观察帕病2号方对6-羟基多巴胺(6-OHDA)所致帕金森病(PD)大鼠中脑黑质组织内核因子E2相关性因子2(Nrf2)以及下游靶基因血红加氧酶1(HO-1)的表达。**方法:**采用6-OHDA左侧纹状体两点注射法建立PD大鼠模型,经阿扑吗啡(APO)诱导表现为恒定右侧旋转且旋转圈数大于210 r·30 min⁻¹视为成功PD大鼠模型。24只造模成功大鼠随机分为模型组,帕病2号方低、中、高剂量组(8.0, 16.0, 32.0 g·kg⁻¹),同时设立正常组,假手术组。正常组,假手术组,模型组给予等容积蒸馏水,连续灌胃给药4周。Western blot法检测中脑黑质Nrf2细胞核蛋白及HO-1蛋白表达。RT-PCR法检测中脑黑质Nrf2, HO-1 mRNA表达。**结果:**与假手术组比较,模型组Nrf2细胞核蛋白,HO-1蛋白表达上调($P < 0.01$),Nrf2, HO-1 mRNA水平上调($P < 0.01$);与模型组比较,帕病2号方低、中、高剂量组大鼠中脑黑质组织Nrf2细胞核蛋白,HO-1蛋白表达明显上调($P < 0.01$),Nrf2, HO-1 mRNA水平上调($P < 0.01$),帕病2号方高剂量组与中、低剂量组比较有明显差异($P < 0.01$)。**结论:**6-OHDA造模后可以激活Nrf2/HO-1信号通路;帕病2号方治疗后可进一步提高Nrf2细胞核蛋白和Nrf2 mRNA表达,进而上调下游靶基因HO-1蛋白及HO-1 mRNA的表达,且帕病2号方高剂量组作用更为明显。

[关键词] 帕病2号方; 帕金森病; 核因子E2相关性因子2; 血红加氧酶1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)08-0158-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014080158

Research on Expressions of Nrf2 and HO-1 in Substantia Nigra of Rats with Parkinson Disease Treated with Pabing 2 Formula

ZHAO Bei-bei¹, ZHENG Chun-ye^{2*}, LUO Xiao-dong², SUN Yu-zhi², WU Shou-hai², CUI Xiao-feng³

(1. Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Guangzhou 510405, China;
2. Guangdong Province Hospital of TCM, Guangzhou 510120, China;

[收稿日期] 20131124(004)

[基金项目] 广东省中医药管理局项目(20132150)

[第一作者] 赵贝贝,博士研究生,从事中医药治疗帕金森病的临床与实验研究, Tel:15920450585, E-mail:64699609@qq.com

[通讯作者] * 郑春叶,博士,主治医师,从事中西医结合治疗神经内科各类疾病, Tel:13570490496, E-mail:16021659@qq.com

- [8] Kannan R P, Hensley L L, Evers L E, et al. Hepatitis C virus infection causes cell cycle arrest at the level of initiation of mitosis [J]. J Virol, 2011, 85(16):7989.
- [9] Wang H, Ye Y, Chui J H, et al. Oridonin induces G₂/M cell cycle arrest and apoptosis through MAPK and p53 signaling pathways in HepG-2 cells [J]. Oncol Rep, 2010, 24(3):647.
- [10] 晏芳,田雪梅,马晓冬,白藜芦醇抑制 HepG2 细胞生长和对细胞间隙连接通讯的影响[J]. 南方医科大学学报,2006,26(7):963.
- [11] 孟璐,张学武,李正禄. 黄芩苷诱导人肝癌 HepG-2 细胞凋亡及对相关蛋白表达的影响[J]. 时珍国医国药,2010,21(9):2212.
- [12] 兰涛,苑建磊,王桂华. Bag 及 Bcl-2 在肝癌中的表达及意义[J]. 中国实用诊断与治疗杂志,2013,27(3):257.
- [13] 杨连君,王文亮,司晓辉. 肝细胞癌细胞凋亡相关蛋白 Bcl-和 Bax 的表达及意义[J]. 中国肿瘤临床,2001,28(6):411.

[责任编辑 聂淑琴]

3. Huangpu People's Hospital of Zhongshan City, Zhongshan 528429, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effect of Pabing 2 formula on the expression of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) and the hemeoxygenase 1 (HO-1) in substantia nigra tissue of Parkinson disease (PD) rats model induced by 6-hydroxydopamine (6-OHDA). **Method:** The rats were stereotaxically injected with 6-OHDA solution into the left striatum in two-site. Rats showed consistently right whirling and the number of rotation was more than $210 \text{ r} \cdot 30 \text{ min}^{-1}$ induced by APO, then the rat was judged as PD model. Twenty-four modeling rats successfully were randomly divided into four groups: model group, Pabing 2 formula (8.0, 16.0, 32.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), at the same time, the normal group and sham group were established and given distilled water at the same volume, all with a course of 4 weeks. The nuclear Nrf2 protein and HO-1 protein levels of the substantia nigra tissue were detected by Western blot, and the mRNA levels of Nrf2 and HO-1 were determined with RT-PCR. **Result:** Compared with sham group, the nuclear Nrf2 protein and HO-1 protein in substantia nigra tissue were significant increased ($P < 0.01$), and the mRNA levels of Nrf2 and HO-1 were increased in model group ($P < 0.01$). Compared with model group, the nuclear Nrf2 protein and HO-1 protein in substantia nigra tissue were significantly increased ($P < 0.01$), and the mRNA levels of both Nrf2 and HO-1 were also upregulated in Pabing 2 formula low dose group, media dose group and high dose group ($P < 0.01$), Pabing 2 formula high dose group were significantly differences compared with the low dose group and media dose group ($P < 0.01$). **Conclusion:** After 6-OHDA injection, the Nrf2/HO-1 signal transduction pathway is activated. Pabing 2 formula can enhance antioxidation ability. The underlying mechanism might be associated with activating Nrf2/HO-1 signal transduction pathway, promoting the nuclear Nrf2 protein and Nrf2 mRNA, then advancing the expression of antioxidant gene in the downstream such as HO-1 protein and HO-1 mRNA. The effects were more obvious in Pabing 2 formula high dose group.

[Key words] Pabing 2 formula; Parkinson disease; Nrf2; HO-1

帕金森病(Parkinson disease, PD)是多发于中老年的—种渐进性中枢神经系统变性疾病。以左旋多巴为代表的多巴胺替代疗法可以不同程度改善临床症状,但不能阻止或延缓疾病的发展进程,长期治疗后逐渐产生治疗开关现象、运动障碍和精神症状等副作用。陆建明^[1]等发现左旋多巴可加重 PD 大鼠黑质区氧化应激损伤,抑制线粒体呼吸链酶活性。因此,对神经保护作用研究成为干预 PD 发生、发展的重要方向。中医药治疗 PD 有诸多探索,在增效减副、抗氧化应激等方面突显—定疗效优势和应用前景^[2]。帕病 2 号方具有滋养肝肾,熄风止颤的功效。临床观察表明帕病 2 号方与美多巴合用治疗,在改善患者日常活动能力、运动功能及精神、行为和情绪等非运动症状方面取得满意疗效^[3]。动物实验证明帕病 2 号方减轻 PD 模型鼠脑内氧化应激反应,提高抗氧化酶系活性和清除自由基的能力^[4]。本实验利用 6-OHDA 建立 PD 大鼠模型,观察核因子 E2 相关性因子 2(Nrf2)、血红加氧酶 1(HO-1)在中脑黑质组织表达,探讨帕病 2 号方对 PD 大鼠中脑黑质氧化应激损伤关系。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 43 只,体重 220 ~ 250 g,购自广东省医学实验动物中心,许可证号 SYXK(粤)2008-0094。

1.2 仪器 TL-251603 型大鼠脑立体定位仪(美国 Stoelting),精密分析天平(瑞士 XS-105DU),微量进样器(上海高鸽工贸有限公司),DF-23B 型凝胶扫描系统(英国 UVP 公司),ABI9700 PCR 扩增仪(美国 ABI 公司),Stratagene Mx3000P Real time PCR 仪(美国 Agilent 公司)。

1.3 试剂 6-羟基多巴胺(6-OHDA, 031M4605V, Sigma 公司),阿扑吗啡(APO, SLBF5500V, Sigma 公司),抗坏血酸(100M0159V, Sigma 公司),兔抗大鼠 Nrf2 抗体(GR105978-12, Abcam 公司),兔抗大鼠 HO-1 抗体(11021240, Enzolife 公司),细胞核蛋白抽提试剂盒(P0027-3, 碧云天公司)。

1.4 受试药物 帕病 2 号方(乌梅 20 g,黄连 3 g,白芍 20 g,当归 10 g,熟附子 10 g,熟地黄 10 g,何首乌 20 g,川芎 10 g,葛根 20 g,人参 10 g,石菖蒲 5 g,天麻 10 g,龟板 10 g,炙甘草 3 g)饮片购自广东省中

医院药剂科,以 1:10 及 1:8 比例分别水煎 2 次,过滤,80 ℃ 水浴浓缩至 1.6 kg·L⁻¹。

2 方法

2.1 试剂配制 6-OHDA 溶液:5 mg 6-OHDA 溶解于含 0.02% 抗坏血酸的生理盐水 1 mL 中,分装后避光保存 -20 ℃ 冰箱。0.05% APO 溶液:5 mg APO 溶于生理盐水 10 mL,现用现配。

2.2 PD 模型制备 大鼠造模前经 APO (0.5 mg·kg⁻¹) 诱导确定无异常旋转行为后采用左侧纹状体两点注射 6-OHDA 制备 PD 模型,10% 水合氯醛 (0.35 mL·kg⁻¹) 予大鼠腹腔注射麻醉后,俯卧位固定于脑立体定位仪上。参照 Paxions 大鼠脑立体定位图谱^[5],确定左侧纹状体两点坐标,坐标 1:前囟前 1.2 mm,矢状缝左侧 2.2 mm,硬膜下 4.0~6.0 mm;坐标 2:前囟后 1.0 mm,矢状缝左侧 4.4 mm,硬膜下 4.5~6.5 mm,三棱针垂直钻透颅骨,微量进样器吸取 6-OHDA 溶液 3 μL,分别缓慢进针达 6.0,6.5 mm 处,在 4.0~6.0,4.5~6.5 mm 之间以 1 μL·min⁻¹ 速度注射,注射完毕后留针 15 min,以 1.0 mm·min⁻¹ 速度缓慢退针,缝合皮肤,术后连续 3 d 腹腔注射青霉素防止感染。假手术组注射等量 0.02% 抗坏血酸生理盐水溶液,余步骤相同。

2.3 模型成功标准 分别于术后 1,2,3,4 周行旋转实验。大鼠颈背部皮下注射 APO 溶液,5 min 后记录 30 min 内旋转圈数,若连续 4 周出现恒定向健侧(右侧)旋转 ≥7r·min⁻¹ (210 r·30 min⁻¹),视为造模成功。

2.4 分组及给药 24 只造模成功大鼠按照旋转圈数结合体重随机分为 4 组,每组 6 只,即模型组,帕病 2 号方低、中、高剂量组,同时纳入正常组,假手术组各 6 只。按体表面积法将帕病 2 号方临床用量折算成大鼠用药剂量,低、中、高治疗组分别 ig 给药 8.0,16.0,32.0 g·kg⁻¹ (按生药量计),正常对照组,假手术组和模型组予等容积蒸馏水。每日用药总量分 2 次灌胃,连续给药 4 周。

2.5 样本的采集 末次给药后,大鼠以 10% 水合氯醛麻醉,快速开颅取出脑组织,于冰盘上迅速分离左侧中脑黑质组织,-80 ℃ 冰箱保存待测。

2.6 Nrf2 细胞核蛋白、HO-1 蛋白表达检测 取一半左侧中脑黑质组织,冰上匀浆,分别提取总蛋白,细胞核蛋白并测定蛋白含量。将蛋白样品通过 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,对不同相对分子质量蛋白分离,转至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉 (TBST 配制) 溶液室温封闭 1.5 h,再分别与兔抗大鼠 Nrf2 抗体

(1:1 000)、兔抗大鼠 HO-1 抗体 (1:1 000) 室温孵育 1 h,TBST 溶液洗 3 次,后分别在二抗辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG (1:10 000 稀释) 室温孵育 1 h,最后加入发光剂,显影,曝光。胶片扫描后,使用 ipwin 32 软件分析条带灰度值,以目的条带灰度值与内参蛋白 (GAPDH, Lamin) 条带灰度值比值作为该蛋白相对表达量。

2.7 Nrf2, HO-1 mRNA 的表达检测 取另一半中脑黑质组织,采用 Trizol 法从组织提取总 RNA,逆转录后进行 PCR 扩增。基因引物, Nrf2:5'-AGGTTGCCACATTCCCAA-3' (上游),5'-GGAATATCCAGGGCAAGCGA-3' (下游); HO-1:5'-TGCACATCCGTGCAGAGAAT-3' (上游),5'-CTGGGTTCTGCTTGTTCGC-3' (下游); GAPDH:5'-CCTCGTCTCATAGACAAGATGGT-3' (上游),5'-GGGTAGAGTCATACTGGAA-CATG-3' (下游)。PCR 扩增的反应体系为 25 μL,反应条件:94 ℃ 2 min,94 ℃ 30 s,58 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,40 循环,Agilent Stratagene 荧光定量 PCR 仪 Mx3000P 进行荧光定量 PCR 实验。采用比较 2^{-ΔΔCt} 法分析各组 mRNA 基因含量。

2.8 统计学方法 统计软件 SPSS 13.0 处理数据,实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据符合正态分布和方差齐性的采用单因素方差分析,若不符合正态分布和方差齐性则采用多个相关样本的非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 行为学观察 造模后大鼠出现不同程度少动、运动迟缓、尾僵、自发性右侧旋转行为。APO 诱导后首先表现木僵,弓背,颤抖,1~5 min 后出现典型右旋行为(左后肢为支点,首尾相接地旋转),常伴竖毛、搔耳、咬足、身体翻转、易激惹以及嗅探、觅食、洗脸样等动作,30 min 向右侧旋转圈数平均超过 7 r·min⁻¹。造模成功大鼠共 24 只,成模率为 77.4%。

3.2 对大鼠左侧中脑黑质 Nrf2 细胞核蛋白,HO-1 蛋白表达影响 正常组与假手术组 Nrf2 细胞核蛋白,HO-1 蛋白呈低表达,两组间无明显差异;与假手术组比较,模型组、各治疗组 Nrf2 细胞核蛋白、HO-1 蛋白表达均有显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组 Nrf2 细胞核蛋白、HO-1 蛋白表达均明显升高 ($P < 0.01$);与帕病 2 号方中剂量组比较,高剂量组 Nrf2 细胞核蛋白、HO-1 蛋白表达显著上调 ($P < 0.01$)。见表 1,图 1。

3.3 对左侧中脑黑质 Nrf2 mRNA,HO-1 mRNA 表达影响 正常组与假手术组 Nrf2,HO-1 mRNA 无明

表 1 帕病 2 号方对帕金森病模型大鼠左侧中脑黑质 Nrf2 细胞核蛋白、HO-1 蛋白相对表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | Nrf2/Lamin | HO-1/GAPDH |
|---------|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 正常 | - | 0.024 ± 0.006 | 0.193 ± 0.024 |
| 假手术 | - | 0.025 ± 0.007 | 0.198 ± 0.033 |
| 模型 | - | 0.086 ± 0.007 ¹⁾ | 0.381 ± 0.034 ¹⁾ |
| 帕病 2 号方 | 8.0 | 0.163 ± 0.018 ²⁾ | 0.607 ± 0.051 ²⁾ |
| | 16.0 | 0.167 ± 0.017 ²⁾ | 0.623 ± 0.054 ²⁾ |
| | 32.0 | 0.206 ± 0.012 ^{2,3)} | 0.963 ± 0.071 ^{2,3)} |

注:与正常组及假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$;与帕病 2 号方 16 g·kg⁻¹ 组比较³⁾ $P < 0.01$ (图 2 同)。

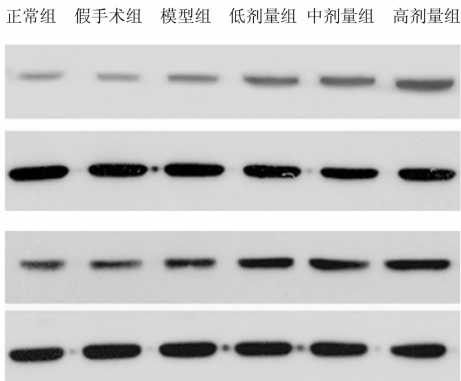


图 1 帕病 2 号方对帕金森病模型大鼠左侧中脑黑质 Nrf2,HO-1 蛋白表达的影响

显著差异;与假手术组比较,模型组、各治疗组 Nrf2, HO-1 mRNA 表达均上调 ($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组 Nrf2, HO-1 mRNA 表达明显上调 ($P < 0.01$);与帕病 2 号方中剂量组比较,高剂量组 Nrf2, HO-1 mRNA 表达明显上调 ($P < 0.01$)。见图 2。

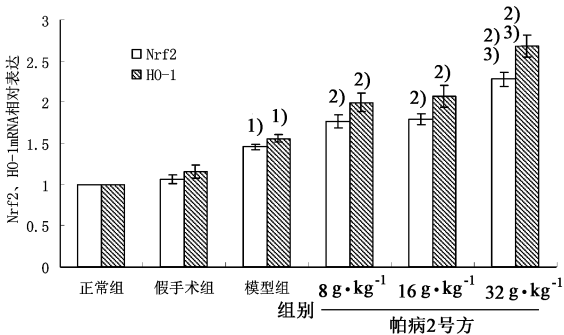


图 2 帕病 2 号方对帕金森病模型大鼠左侧中脑黑质 Nrf2,HO-1mRNA 相对表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

研究发现氧化应激损伤可能是多巴胺能神经元变性的最后共同途径^[6],激活细胞内源性抗氧化系统改善氧化损伤成为目前研究热点^[7]。Nrf2-抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 通路

在多个脏器中被证实可发挥内源性抗氧化作用来拮抗氧化应激损伤。在中枢神经系统细胞内,如多巴胺能神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞, Nrf2 通过上调抗氧化基因表达维持氧化还原平衡^[8]。研究发现 PD 患者黑质多巴胺神经元中, Nrf2 多数已经核转位至细胞核内,而在同年龄的正常对照, Nrf2 则多存在胞浆中^[9]。Jakel 等^[10]研究证实 Nrf2 过表达可以减轻 6-OHDA 对多巴胺神经元损伤。在生理状态下, Nrf2 细胞核内蛋白水平表达较低,主要集中在细胞浆内与 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1 (Kelch-like ECH-associated protein-1, Keap1) 相互作用,当发生氧化应激时, Nrf2 磷酸化与 Keap1 蛋白解耦连,转位进入细胞核内与 ARE 结合,诱导调控下游靶基因,如 HO-1, 醌氧化还原酶 I (NAD(P)H: quinone oxidoreductase1 (NQO1) 等表达,从而增强细胞解毒进程和抗氧化能力。体外实验证实 HO-1 表达上调可以保护细胞对抗谷氨酸、过氧化氢、 β -淀粉样蛋白等引起的氧化性损伤^[11]。有研究发现腺病毒介导的 HO-1 过表达可以保护黑质多巴胺神经元减轻神经毒素 1-甲基-4-苯基吡啶 (MPP⁺) 的毒性损伤,减少致炎细胞因子的产生^[12]。Hwang Y P 等^[13]发现咖啡双萜内脂 (coffee diterpene kahweol) 通过 PI3K 和 P38/Nrf2 通路诱导激活 Nrf2, HO-1 的表达从而减轻 6-OHDA 对多巴胺能神经元的氧化损伤。有专家提出 Nrf2-ARE 通路介导抗氧化机制可为神经退行性病变提供一个可行的防治方案^[14]。本实验显示模型组 Nrf2 细胞核蛋白, HO-1 蛋白及 mRNA 表达与正常组比较有明显差异,神经毒性物质 6-OHDA 纹状体注射后,通过和多巴胺竞争多巴胺转运体进入纹状体-黑质多巴胺能神经元,发生氧化应激反应,激活 Nrf2 细胞核蛋白和 mRNA 表达上调,同时又活化下游抗氧化物质基因表达增强,机体内源性抗氧化系统被激活。与同期模型组比较,各治疗组 PD 大鼠中脑黑质组织 Nrf2 细胞核蛋白、下游靶基因 HO-1 蛋白及 mRNA 表达明显升高,结果提示,帕病 2 号方发挥对氧化应激损伤神经元的保护作用可能是增加 Nrf2 的核积聚和磷酸化,上调 Nrf2 的表达和转录活性,并增加 Nrf2 下游靶基因 mRNA 和蛋白表达,且以帕病 2 号方高剂量组作用更为明显,呈剂量效应关系。

帕病 2 号方源出《伤寒论》厥阴病主方乌梅丸,由乌梅、熟地黄、何首乌、葛根、天麻、白芍、人参、龟板等主成。方中乌梅养肝柔筋使内风不起,龟板滋阴潜阳,何首乌、熟地黄补益肝肾,天麻熄风定颤,白

芍柔肝息风,葛根解肌舒筋,人参大补元气,扶正治本。全方滋肾补肝并重、熄风止颤兼顾,使肝肾阴精得补,阴阳得以平衡,筋脉得以滋养,髓海充盈,则颤证可除。葛根中的葛根素是一种异黄酮类植物雌激素,黎荣^[15]等研究发现,葛根素可有效逆转 6-OHDA 致 PD 大鼠氧化应激性损伤,增加大鼠黑质组织中 Nrf2 和 Keap1 表达,激活核转位,并启动抗氧化功能酶的合成和表达。天麻的重要酚类成分 4-HBA (4-hydroxybenzal alcohol)在抵抗脑缺血再灌注应激损伤研究中发现,其可以激活 PI3K/AKT 信号通路,促进 Nrf2 蛋白表达并向细胞核内聚集,发挥神经保护作用^[16]。人参主要活性成分为人参皂苷, Hwang Y P 等^[17]发现人参皂苷 Rb₁ 能够上调 HO-1 表达,保护多巴胺能细胞人神经母细胞瘤细胞 (SH-SY5Y)抵抗 6-OHDA 诱导的氧化应激损伤。钟树志^[18]等研究发现芍药苷可以活化 Nrf2/ARE 抗氧化通路,逆转相关蛋白的表达,从而减轻 A β ₍₁₋₄₂₎ 诱导的大鼠海马神经元损伤。

[参考文献]

[1] 陆建明,周厚广,鲍远程,等. 左旋多巴对帕金森病大鼠毒性作用的实验研究[J]. 临床神经病学杂志, 2004, 17(5):354.

[2] 郑春叶,雒晓东,孙玉芝,等. 中医辨证治疗帕金森病进展述评[J]. 新中医, 2004, 36(1):73.

[3] 范宇鹏,曾亮,孙玉芝,等. 帕病 2 号方治疗震颤型帕金森病的临床研究[J]. 天津中医药, 2010, 27(3):190.

[4] 文晓东,雒晓东,王春玲. 帕病 2 号方对帕金森病大鼠的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9):224.

[5] George Paxinos, Charles Watson. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2005:18.

[6] Miller Rebecca L, James-Kracke Marilyn, Sun Grace Y, et al. Oxidative and inflammatory pathways in Parkinson's disease[J]. Neurochem Res, 2009, 34(1):55.

[7] Satoh Takumi, Lipton Stuart A. Redox regulation of neuronal survival mediated by electrophilic compounds[J]. Trends Neurosci, 2007, 30(1):37.

[8] Innamurato N G, Rojo A I, García-Yagüe ÁJ, et al. The transcription factor Nrf2 is a therapeutic target against brain inflammation[J]. J Immunol, 2008, 181(1):680.

[9] Ramsey Chenere P, Glass Charles A, Montgomery Marshall B, et al. Expression of Nrf2 in neurodegenerative diseases[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 2007, 66(1):75.

[10] Jakel R J, Townsend J A, Kraft A D, et al. Nrf2-mediated protection against 6-hydroxydopamine[J]. Brain Res, 2007, 1144:192.

[11] Kim Ji-Woo, Li Mei-Hua, Jang Jung-Hee, et al. 15-Deoxy-Delta (12, 14)-prostaglandin J (2) rescues PC12 cells from H2O2-induced apoptosis through Nrf2-mediated upregulation of heme oxygenase-1: potential roles of Akt and ERK1/2[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 76(11):1577.

[12] Hung Shih-Ya, Liou Houng-Chi, Kang Kai-Hsiang, et al. Overexpression of heme oxygenase-1 protects dopaminergic neurons against 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced neurotoxicity[J]. Mol Pharmacol, 2008, 74(6):1564.

[13] Hwang Yong Pil, Jeong Hye Gwang. The coffee diterpene kahweol induces heme oxygenase-1 via the PI3K and p38/Nrf2 pathway to protect human dopaminergic neurons from 6-hydroxydopamine-derived oxidative stress[J]. FEBS Letters, 2008, 582(17):2655.

[14] de Vries Helga E, Witte Maarten, Hondius David, et al. Nrf2-induced antioxidant protection: a promising target to counteract ROS-mediated damage in neurodegenerative disease? [J]. Free Radical Biol Medicine, 2008, 45(10):1375.

[15] 黎荣,徐灵源,梁韬,等. 葛根素对 6-羟多巴胺所致帕金森病大鼠黑质组织 Nrf2/ARE 通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(6):230.

[16] 喻姗姗. 4-HBA 诱导内源性保护因子 Prdx6, PDI 抗脑缺血再灌注氧化应激损伤的机制研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2012.

[17] Hwang Yong Pil, Jeong Hye Gwang. Ginsenoside Rb₁ protects against 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress by increasing heme oxygenase-1 expression through an estrogen receptor-related PI3K/Akt/Nrf2-dependent pathway in human dopaminergic cells[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2010, 242(1):18.

[18] 钟树志,马世平,洪宗元. 芍药苷活化 Nrf2/ARE 通路减轻 A β ₍₁₋₄₂₎ 诱导的大鼠海马神经元损伤[J]. 药学报, 2013, 48(8):1353.

[责任编辑 聂淑琴]