

· 论著 ·

同型半胱氨酸激活 JNK 信号通路诱导血管平滑肌细胞氧化应激的损伤研究

沈启睿¹, 李永华², 张文杰³, 王培³ (1. 中国计量大学生命科学院动植物检疫系, 浙江 杭州 310018; 2. 第二军医大学附属长征医院麻醉科, 上海 200003; 3. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433)

[摘要] **目的** 观察同型半胱氨酸(Hcy)在 A10 血管平滑肌细胞株(vascular smooth muscle cells, VSMC)上对氧化应激的影响及其可能的分子机制。**方法** 在体外培养的 A10 细胞上,用 3 个不同浓度(5、30 和 100 $\mu\text{mol/L}$)的 Hcy 孵育细胞共 48 h,随后破裂细胞,一方面使用试剂盒检测细胞裂解液中的活性氧(ROS)水平、 H_2O_2 含量、总抗氧化能力(T-AOC),以评价其氧化应激情况。另一方面,用免疫印迹法检测磷酸化应激活化蛋白激酶(JNK)及总 JNK 的表达量。**结果** Hcy 可诱导 ROS、 H_2O_2 的含量升高,而导致 T-AOC 的水平下降。而且,Hcy 增加了磷酸化 JNK 的蛋白表达量($P<0.05$)。**结论** Hcy 在 VSMC 上通过激活 JNK 信号通路诱导氧化应激。

[关键词] 氧化应激;同型半胱氨酸;血管平滑肌细胞;JNK

[中图分类号] R741 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2018)06-0499-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.06.005

Oxidative stress induced by homocysteine via activating JNK signaling pathway in vascular smooth muscle cells

SHEN Qirui¹, LI Yonghua², ZHANG Wenjie³, WANG Pei³ (1. School of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China; 2. Department of Anesthesiology, Changzheng Hospital Affiliated to Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 3. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the influence and the underlying mechanisms of homocysteine on oxidative stress production in vascular smooth muscle cells (VSMC). **Methods** A10 cell line (a kind of VSMC) was cultured *in vitro*. Three different concentrations of homocysteine (5, 30 and 100 $\mu\text{mol/L}$) were added into the medium for 48 hours and then cells were lysed for determination of reactive oxygen species (ROS) production, H_2O_2 level and total anti-oxidant capacity. Moreover, the effects of homocysteine on JNK signaling pathway were evaluated by immunoblotting. **Results** ROS production ($P<0.05$) in VSMC were induced by three different concentrations of homocysteine (5, 30 and 100 $\mu\text{mol/L}$). Two concentrations of homocysteine (30 and 100 $\mu\text{mol/L}$) increased H_2O_2 content and decreased T-AOC. Moreover, homocysteine induced phosphorylation of JNK in VSMC in a dose-dependent manner ($P<0.05$). **Conclusion** Oxidative stress induced by homocysteine via activating JNK signaling pathway in VSMC.

[Key words] oxidative stress; homocysteine; vascular smooth muscle cells; JNK

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是体内蛋氨酸脱甲基代谢中产生的一种含硫氨基酸。近年来,国内外大量的临床研究表明,Hcy 是心血管疾病的一个独立危险因素。早在 20 世纪 80~90 年代,就有多项大规模前瞻性临床试验研究共同发现:Hcy 代谢异常可导致 Hcy 在血液中蓄积,即所谓的

高 Hcy 血症;而血 Hcy 浓度升高是高血压、动脉粥样硬化和冠心病等心血管疾病的独立危险因素^[1]。在我国人群的研究中,亦有诸多证据验证高 Hcy 与高血压、脑卒中、动脉粥样硬化、慢性肾病等心血管重大疾病密切相关^[2-4]。

高 Hcy 为何会导致心血管疾病?针对这一科学问题,目前已有深入的研究。就目前的现状而言,大部分研究均针对 Hcy 在内皮细胞上导致的氧化应激及损害开展。高 Hcy 可显著提高血管内皮细胞内的部分炎症相关蛋白,如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)或者天冬氨酸蛋

[基金项目] 国家自然科学基金(81673485,81773719)

[作者简介] 沈启睿,本科, Tel: 15868153577

[通讯作者] 王培,博士,副教授,研究方向:心脑血管药理学, Tel: (021)81871276, Email: pwang@smmu.edu.cn

白水解酶(如 caspase-1)的表达,及其导致的氧化应激水平,从而诱导血管内皮细胞凋亡^[5,6]。此外, Hcy 可通过抑制 FGF2 的表达以及 DNA 的甲基化水平,导致 ROS、过氧化物增加,这一氧化应激又可抑制血管内皮细胞的生长^[7]。Hcy 还可上调可溶性环氧化物水解酶,从而导致内皮功能损伤^[8]。

值得注意的是,对于 Hcy 在血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)上的作用研究相对较少。事实上,由于 VSMC 与高血压、脑卒中、动脉粥样硬化都有极为密切的关系,因此 Hcy 在 VSMC 上诱导的一些病理生理学改变很有可能参与了心脑血管疾病的发病机制。已有研究发现, Hcy 可增强 VSMC 内的钙离子释放,可进一步改变血管的收缩-舒张活性^[9]。Hcy 也可改变 VSMC 内 DNA 的甲基化水平,从而改变血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)的表达,促进 VSMC 的异常增殖^[10]。此外, Hcy 可通过激动丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路刺激 VSMC 增殖^[11-13]。但是, Hcy 是否能够在 VSMC 上诱导氧化应激的产生,并导致 VSMC 损伤,目前仍未有报道。

本研究通过观察 Hcy 在 VSMC 上对氧化应激的影响,探讨 Hcy 导致血管功能异常的分子机制,从而为深入了解高 Hcy 血症与高血压、动脉粥样硬化等血管疾病的内在关系提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 试剂和动物

A10 大鼠主动脉血管平滑肌细胞株(美国 ATCC 公司);高糖 DMEM 细胞培养基、胎牛血清(美国 Invitrogen 公司);细胞培养级 Hcy(美国 Sigma 公司);磷酸化 JNK 抗体、总 JNK 抗体(英国 Abcam 公司);IRDye-800cw 荧光标记二抗(美国 Licor 公司);蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂、Bradford 蛋白浓度测定试剂盒、ROS 检测试剂盒、H₂O₂ 检测试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒(江苏海门碧云天生物技术公司);RIPA 细胞裂解液(美国 Pierce 公司);硝酸纤维素膜(美国 Millipore 公司);四甲基乙二胺(TEMED)、二巯基乙醇(美国 AMRESCO 公司),其他试剂均为国产分析纯。

1.2 细胞培养

A10 细胞株在含有 95% 空气和 5% CO₂ 的培养箱中培养,所用培养基为含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液。传代时,使用胰酶消化,按细胞密度 1×10^5 个/ml 传代培养。

1.3 药物处理

将 Hcy 溶于 PBS(pH 值 7.4)制备成母液,置于 -20 °C 保存。待平滑肌细胞生长到 40% ~ 50% 融合度时,加入 Hcy,使其终浓度分别为 5、30 和 100 μmol/L,持续培养 48 h。对照组则加入 PBS。

1.4 氧化应激检测

给药后细胞在培养箱中培养 48 h 后,去除培养液,用冰 PBS 冲洗 3 次。随后加含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液,孵育 2 min,裂解细胞,收集裂解液。在 4 °C 下以 $14\ 000 \times g$ 离心 10 min,取上清液,用 Bradford 法测定蛋白浓度。然后使用 ROS 检测试剂盒、H₂O₂ 检测试剂盒、T-AOC 试剂盒,按照试剂盒的流程操作。将获得的结果用蛋白浓度标化,获得相对 ROS 含量、H₂O₂ 含量以及 T-AOC 能力。在本实验中,ROS 含量检测试剂盒基于荧光探针 DCFH-DA 进行检测,使用 488 nm 激发波长,525 nm 发射波长,使用酶标仪检测。H₂O₂ 含量试剂盒通过过氧化氢氧化 Fe²⁺ 产生 Fe³⁺,然后和二甲酚橙在特定的溶液中形成紫色的产物,使用酶标仪检测 540 nm 的吸收值,实现对 H₂O₂ 浓度的测定。在本实验中使用的 T-AOC 试剂盒采用 ABTS 作为显色剂,在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的 ABTS⁺,在抗氧化物存在时 ABTS⁺ 的产生会被抑制,在 405 nm 处测定 ABTS⁺ 的吸光度,即可测定并计算出样品的总抗氧化能力。

1.5 蛋白质印迹法检测磷酸化 JNK

给药后细胞在培养箱中培养 48 h 后,去除培养液,用冰 PBS 冲洗 3 次。随后加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液,孵育 2 min,裂解细胞,收集裂解液。在 4 °C 下以 $14\ 000 \times g$ 离心 10 min,取上清液,用 Bradford 法测定蛋白浓度。在细胞蛋白样品中加入同体积的免疫印迹上样缓冲液,煮沸 15 min。自然冷却后, $14\ 000 \times g$ 离心 10 min。取含有蛋白总量约 30 μg 的样品,用 10% 浓度的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质。然后采用湿转法转膜,使用硝酸纤维素膜,恒压 100 V,持续 1 h。使用 10% 脱脂牛奶封闭 2 h 后,分别用鼠源的 JNK 单克隆抗体及鼠源的磷酸化 JNK(p-JNK)单克隆抗体孵育。PBS 洗脱 3 次后,再用羊抗鼠的 IRDye-800 cw 二抗孵育,用 Odyssey 近红外激光扫描系统扫描。采用 Image J 软件进行条带光密度分析,以 p-JNK 与 JNK 的比值作为 JNK 信号通路激活的相对值。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。数据以

($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用单因素方差分析。以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 Hcy 可显著诱导 VSMCs 产生 ROS

结果显示,与对照组相比,3个不同浓度的 Hcy 处理 VSMC 后均可提高细胞的 DCFH-DA 荧光值 (525 nm),差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。3个不同浓度的 Hcy 对 ROS 的促进作用之间差异亦有统计学意义 ($P < 0.05$)。这说明 Hcy 可剂量依赖性诱导 VSMCs 产生 ROS (图 1)。

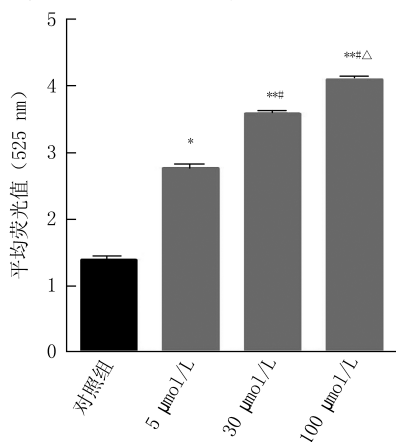


图 1 Hcy 可显著诱导 VSMCs 产生 ROS

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较;
$P < 0.05$, 与 Hcy (5 μmol/L) 组比较;
Δ $P < 0.05$, 与 Hcy (30 μmol/L) 组比较 ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

2.2 Hcy 可显著诱导 VSMCs 产生 H₂O₂

结果显示,和对照组相比,5 μmol/L 的 Hcy 处理对 H₂O₂ 含量无明显作用 ($P > 0.05$)。30、100 μmol/L 的 Hcy 处理 VSMC 后均可提高 H₂O₂ 含量,与对照组之间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。30 μmol/L Hcy 组与 100 μmol/L Hcy 组之间也有显著性差异 ($P < 0.05$)。这说明, Hcy 存在剂量依赖性诱导 VSMCs 产生 H₂O₂ (图 2)。

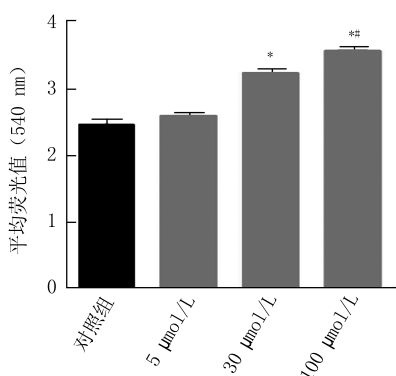


图 2 Hcy 可显著诱导 VSMCs 产生 H₂O₂

* $P < 0.05$, 与 Hcy (5 μmol/L) 组比较; # $P < 0.05$,
与 Hcy (30 μmol/L) 组比较 ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

2.3 Hcy 可显著下调 VSMCs 的 T-AOC

与对照组相比,5 μmol/L 的 Hcy 处理对 T-AOC 无明显作用 ($P > 0.05$)。30、100 μmol/L 的 Hcy 处理 VSMC 后均可显著下调 T-AOC,与对照组之间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。30 μmol/L Hcy 组和 100 μmol/L Hcy 组之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。这提示 Hcy 可显著下调 VSMC 的 T-AOC (图 3)。

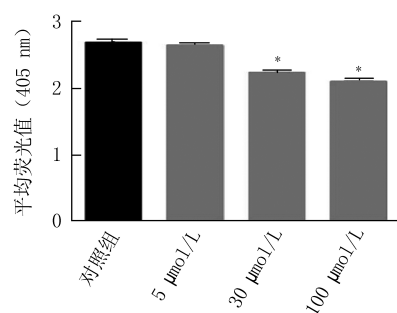


图 3 Hcy 可显著下调 VSMCs 的 T-AOC

* $P < 0.05$, 与对照组比较 ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

2.4 Hcy 激活 VSMCs 的 JNK 信号通路

结果显示,用 5、30 和 100 μmol/L 的 Hcy 处理 VSMCs 共 48 h 后,5、30 和 100 μmol/L 的 Hcy 均可升高 p-JNK 与 JNK 的比例,与对照组的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。这提示 Hcy 在 VSMCs 上可激活 JNK 信号通路 (图 4)。

3 讨论

Hcy 是重要的心血管疾病致病因素之一。对于 Hcy 在 VSMC 上作用的认识相对较少。有多项工作对 Hcy 促 VSMC 增殖的作用开展了较为仔细的研究。例如,25~50 μmol/L 的 Hcy 即可显著刺激 VSMC 的增殖^[14]。这一促进 VSMC 增殖的作用机制较为复杂。目前认为,ERK 通路的激活^[15]、钙离子信号通路的激活^[9]、基质金属蛋白酶 2 的激活^[17]等诸多因素与 VSMC 在 Hcy 刺激下的增殖密切相关。

在 VSMC 上关于 Hcy 与氧化应激的报道并不多。Chang 等^[17]首先报道,高剂量的 Hcy (0.5 mmol/L) 在 VSMC 上可诱导 H₂O₂ 的产生,而牛磺酸可对抗这一作用。Shirpoor 等^[18]则发现,酒精可以在培养的 VSMC 上诱导 Hcy 的产生,并导致氧化应激增加。值得注意的是,Luo 等^[19]发现,S-腺苷 Hcy 在 ApoE^{-/-} 小鼠的平滑肌细胞上显著诱导氧化应激的产生,该作用可以被超氧化物歧化酶 SOD 预处理抵消。在本研究中,笔者也验证了这一现象:低至 5 μmol/L 的 Hcy 即可有效诱导 VSMC

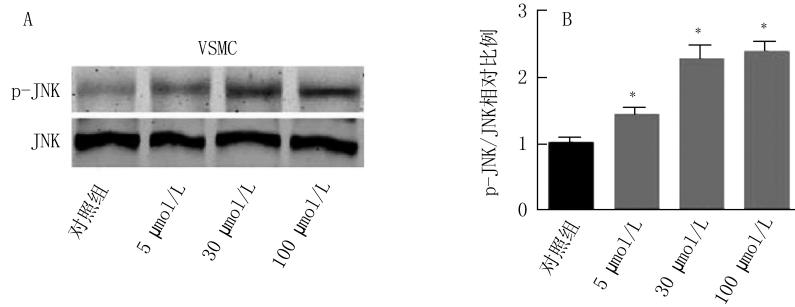


图4 Hcy在VSMC上激活JNK信号通路

* $P < 0.05$, 与对照组比较 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

A. p-JNK与JNK蛋白表达典型图; B. p-JNK/JNK蛋白量的相对比值

产生ROS,而对T-AOC的下降作用和对 H_2O_2 的诱导作用在 $30 \mu\text{mol/L}$ 的Hcy处理组也可以明显看到。这些结果都验证了Hcy可在VSMC上诱导氧化应激的出现。

在本研究中,笔者首次发现JNK信号通路可能参与Hcy在VSMC上诱导氧化应激这一过程。c-Jun氨基端激酶(JNK)是MAPK超家族的成员,主要参与各种生长因子、细胞因子、丝裂原以及激素受体活化后的信号转导,在细胞增殖、分化、凋亡等多种生物学事件中扮演着重要角色。一些分子,如microRNA-92a、人参皂苷、穿心莲内酯,均可通过抑制JNK通路来遏制细胞凋亡^[20-22],这说明JNK信号通路是一个细胞生存的负向调控因子。例如,JNK通路激活后可通过激活p53,介导VSMC凋亡和自噬性死亡^[23]。此外,JNK可通过调控氧化应激来决定细胞的生存或死亡^[24]。本结果显示, $5 \mu\text{mol/L}$ 的Hcy即可在VSMC上有效诱导JNK的磷酸化水平升高,意味着Hcy在较低浓度下即可激活JNK通路。 30 和 $100 \mu\text{mol/L}$ 的Hcy对JNK的激活更为明显,且具有剂量依赖性。鉴于JNK通路是诱导氧化应激的重要通路,这一结果无疑进一步支持了对于Hcy在VSMC上可诱导氧化应激的推测。

综上所述,本实验在体外培养的VSMC上验证了Hcy可诱导氧化应激,而且可能是通过激活JNK信号通路实现的。这一结果有助于揭示高Hcy血症与高血压、动脉粥样硬化等心血管疾病的内在联系,为相关疾病的治疗提出新的理论依据。

【参考文献】

[1] NYGARD O, VOLLSET SE, REFSUM H, *et al.* Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study [J]. JAMA, 1995, 274 (19):

1526-1533.

- [2] LI Z, SUN L, ZHANG H, *et al.* Elevated plasma homocysteine was associated with hemorrhagic and ischemic stroke, but methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism was a risk factor for thrombotic stroke: a multi-center case-control study in China [J]. Stroke, 2003, 34 (9): 2085-2090.
- [3] YE Z, WANG C, ZHANG Q, *et al.* Prevalence of homocysteine-related hypertension in patients with chronic kidney disease [J]. J Clin Hypertens (Greenwich), 2017, 19 (2): 151-160.
- [4] HAN L, WU Q, WANG C, *et al.* Homocysteine, ischemic stroke, and coronary heart disease in hypertensive patients: a population-based, prospective cohort study [J]. Stroke, 2015, 46 (7): 1777-1786.
- [5] RODRIGO R, PASSALACQUA W, ARAYA J, *et al.* Implications of oxidative stress and homocysteine in the pathophysiology of essential hypertension [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2003, 42 (4): 453-461.
- [6] XI H, ZHANG Y, XU Y, *et al.* Caspase-1 inflammasome activation mediates homocysteine-induced pyroptosis in endothelial cells [J]. Circ Res, 2016, 118 (10): 1525-1539.
- [7] CHANG PY, LU SC, LEE CM, *et al.* Homocysteine inhibits arterial endothelial cell growth through transcriptional downregulation of fibroblast growth factor-2 involving G protein and DNA methylation [J]. Circ Res, 2008, 102 (8): 933-941.
- [8] ZHANG D, XIE X, CHEN Y, *et al.* Homocysteine upregulates soluble epoxide hydrolase in vascular endothelium *in vitro* and *in vivo* [J]. Circ Res, 2012, 110 (6): 808-817.
- [9] MUJUMDAR VS, HAYDEN MR, TYAGI SC. Homocysteine induces calcium second messenger in vascular smooth muscle cells [J]. J Cell Physiol, 2000, 183 (1): 28-36.
- [10] ZHANG D, CHEN Y, XIE X, *et al.* Homocysteine activates vascular smooth muscle cells by DNA demethylation of platelet-derived growth factor in endothelial cells [J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 53 (4): 487-496.

(下转第511页)

温通膏方中君药补骨脂有效成分补骨脂素、异补骨脂素含量作为第一评价指标,浸膏得率与剂型为第二评价指标进行正交试验,最终研制得到新的温通膏提取工艺,新工艺提取方法对方中主药的有效成分提取更加充分,因而对温通膏发挥更好的疗效发挥了关键的作用。研究结果提示新工艺温通膏镇痛、抗炎、祛瘀方面具有较好的疗效,但由于研究的局限性,新工艺温通膏疗效是否真的优于原工艺温通膏,还有待于进一步开展有关药理药效以及相关临床实验研究进行验证,为下一步制剂再注册或者转化为上市药品注册提供更多实验依据。

【参考文献】

[1] 吴雪茹,朱金段,吴康郁.温通膏定性鉴别研究[J].新中医,2008,40(8):90-91.
[2] 张华林.温通膏药学研究[D].广州中医药大学,2005.
[3] 吴涵,王凌,吴雪茹,谢华民.多指标综合评价法优化温通膏的提取工艺[J].中药新药与临床药理,2016,(05):716-719.
[4] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学,第3版[M].北京:

人民卫生出版社;2002:911.

[5] SATYANARAYANA PSV, JAIN NK, SINGH A, *et al.* Isobolographic analysis of interaction between cyclooxygenase inhibitors and tramadol in acetic acid-induced writhing in mice [J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2004, 28(4): 641-649.
[6] TJ LSEN A, BERGE OG, HUNSKAAR S, *et al.* The formalin test: an evaluation of the method [J]. *Pain*, 1992, 51(1): 5-17.
[7] 杨光华.病理学,第5版[M].北京:人民卫生出版社,2001.
[8] WANG K, XU J, HUNTER DJ, *et al.* Investigational drugs for the treatment of osteoarthritis [J]. *Expert opinion on investigational drugs*, 2015, 24(12): 1539-1556.
[9] 刘华,王蔚,郑垂志,邢雪花.癌症三阶梯止痛563例分析[J].中国肿瘤临床,2004,23:30-32.
[10] 李胜利,方苏亭,李列大,李刚,王凤娟.白芍止痛方对动物活血止痛调节的实验研究[J].中国中医骨伤科杂志,2009,06:13-14+17.
[11] 郭家良.局部应用伊班膦酸钠复合胶原蛋白海绵对去势大鼠股骨骨折愈合的影响[D].河北医科大学,2017.
[收稿日期] 2018-03-02 [修回日期] 2018-07-13
[本文编辑] 陈盛新

(上接第502页)

[11] ZOU T, YANG W, HOU Z, *et al.* Homocysteine enhances cell proliferation in vascular smooth muscle cells: role of p38 MAPK and p47phox [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2010, 42(12): 908-915.
[12] TSAI JC, WANG H, PERRELLA MA, *et al.* Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells [J]. *J Clin Invest*, 1996, 97(1): 146-153.
[13] TSAI JC, PERRELLA MA, YOSHIZUMI M, *et al.* Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(14): 6369-6373.
[14] DALTON ML, GADSON PF, WRENN RW, *et al.* Homocysteine signal cascade: production of phospholipids, activation of protein kinase C, and the induction of *c-fos* and *c-myc* in smooth muscle cells [J]. *FASEB J*, 1997, 11(8): 703-711.
[15] BROWN JC, ROSENQUIST TH, MONAGHAN DT. ERK2 activation by homocysteine in vascular smooth muscle cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 251(3): 669-676.
[16] DORONZO G, RUSSO I, MATTIELLO L, *et al.* Homocysteine rapidly increases matrix metalloproteinase-2 expression and activity in cultured human vascular smooth muscle cells. Role of phosphatidylinositol 3-kinase and mitogen activated protein kinase pathways [J]. *Thromb Haemost*, 2005, 94(6): 1285-1293.
[17] CHANG L, XU JX, ZHAO J, *et al.* Taurine antagonized oxidative stress injury induced by homocysteine in rat vascular smooth muscle cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25

(3): 341-346.

[18] SHIRPOOR A, SALAMI S, KHADEM ANSARI MH, *et al.* Ethanol promotes rat aortic vascular smooth muscle cell proliferation *via* increase of homocysteine and oxidized-low-density lipoprotein [J]. *J Cardiol*, 2013, 62(6): 374-378.
[19] LUO X, XIAO Y, SONG F, *et al.* Increased plasma S-adenosyl-homocysteine levels induce the proliferation and migration of VSMCs through an oxidative stress-ERK1/2 pathway in apoE(-/-) mice [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 95(2): 241-250.
[20] ZHANG L, ZHOU M, WANG Y, *et al.* miR-92a inhibits vascular smooth muscle cell apoptosis: role of the MKK4-JNK pathway [J]. *Apoptosis*, 2014, 19(6): 975-983.
[21] LIU YZ, CHEN JK, LI ZP, *et al.* High-salt diet enhances hippocampal oxidative stress and cognitive impairment in mice [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2014, 114: 10-15.
[22] ZHANG XJ, HE C, TIAN K, *et al.* Ginsenoside Rb1 attenuates angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm through inactivation of the JNK and p38 signaling pathways [J]. *Vascul Pharmacol*, 2015, 73: 86-95.
[23] CHENG Y, QIU F, TASHIRO S, *et al.* ERK and JNK mediate TNF α -induced p53 activation in apoptotic and autophagic L929 cell death [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 376(3): 483-488.
[24] SHEN HM, LIU ZG. JNK signaling pathway is a key modulator in cell death mediated by reactive oxygen and nitrogen species [J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 40(6): 928-939.
[收稿日期] 2018-04-28 [修回日期] 2018-06-01
[本文编辑] 李睿旻