

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.14.001

## · 基础研究 ·

异菝葜皂苷元对 MPP<sup>+</sup> 诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响\*范蕾<sup>1</sup> 何萱<sup>2</sup> 茅洪维<sup>1</sup> 张评奥<sup>1</sup> 张永芳<sup>1Δ</sup>

(1 上海交通大学医学院 上海 200025; 2 上海交通大学医学院附属瑞金医院 上海 200003)

**摘要 目的:**探讨异菝葜皂苷元对 MPP<sup>+</sup> 诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响及机制。**方法:**采用 MPP<sup>+</sup> 处理人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞构建体外 PD 细胞模型。取对数生长期的 SH-SY5Y 细胞分为四组: Control 组(正常对照组), MPP<sup>+</sup> 组(模型组), 异菝葜皂苷元组(10 μM), MPP<sup>+</sup> 异菝葜皂苷元组(3 mM, 10 μM)。首先采用细胞增殖实验(CCK-8)检测异菝葜皂苷元作用的最佳浓度及对 SH-SY5Y 细胞活力的影响。采用 AnnexinV-FITC/PI 双染法检测异菝葜皂苷元对 SH-SY5Y 细胞凋亡率的影响, 采用蛋白免疫印迹实验检测凋亡相关蛋白 Bax, Bcl-2 的蛋白表达。**结果:**细胞活力实验确定 10 μM/mL 的异菝葜皂苷元作为后续试验的添加浓度。与对照组相比, MPP<sup>+</sup> 组细胞活力显著降低( $P < 0.001$ ), 细胞凋亡率显著升高( $P < 0.001$ ), 凋亡相关蛋白 Bax/Bcl-2 表达显著升高( $P < 0.01$ )。相较于 MPP<sup>+</sup> 组, MPP<sup>+</sup> 异菝葜皂苷元组细胞活力显著升高( $P < 0.001$ ), 细胞凋亡率显著降低( $P < 0.01$ ), 凋亡相关蛋白 Bax/Bcl-2 表达显著升高降低( $P < 0.01$ )。**结论:**异菝葜皂苷元可以抑制 MPP<sup>+</sup> 诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡, 可能与其调节凋亡相关蛋白 Bax, Bcl-2 的蛋白表达有关。

**关键词:**异菝葜皂苷元; 中草药; SH-SY5Y; 细胞凋亡; 帕金森病

中图分类号: R-33; R742.5; R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2024)14-2601-05

Protective Effect of Smilagenin on MPP<sup>+</sup>-induced Apoptosis  
in SH-SY5Y Cells\*FAN Lei<sup>1</sup>, HE Xuan<sup>2</sup>, MAO Hong-wei<sup>1</sup>, ZHANG Ping-ao<sup>1</sup>, ZHANG Yong-fang<sup>1Δ</sup>

(1 Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200025, China;

2 Ruijin Hospital affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai, 200003, China)

**ABSTRACT Objective:** The purpose of this article was to investigate the exerting protective effect of smilagenin on MPP<sup>+</sup>-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. **Methods:** In the experiment, PD cell model was constructed using MPP<sup>+</sup> treated human neuroblastoma SH-SY5Y cells. SH-SY5Y cells in logarithmic growth phase were taken and divided into four groups: the Control group (Control), the MPP<sup>+</sup> group (model group), the smilagenin group (10 μM), and the MPP<sup>+</sup> smilagenin group (3 mm, 10 μM). The cell proliferation assay (CCK-8) was firstly used to detect the optimal concentration of smilagenin action and the effect on SH-SY5Y cell viability. The effect of smilagenin on the apoptosis rate of SH-SY5Y cells was detected by AnnexinV-FITC/PI double staining assay, and the protein expression of apoptosis-related proteins Bax, Bcl-2 was detected by protein immunoblotting assay. **Results:** The cell viability assay determined 10 μM/mL of smilagenin as the added concentration for the subsequent experiments. Compared with the control group, the MPP<sup>+</sup> group showed significantly lower cell viability ( $P < 0.001$ ), higher apoptosis rate ( $P < 0.001$ ), and significantly higher expression of apoptosis-related protein Bax/Bcl-2 ( $P < 0.01$ ). Compared with the MPP<sup>+</sup> group, cell viability was significantly higher in the MPP<sup>+</sup> smilagenin group ( $P < 0.001$ ), apoptosis rate was significantly lower ( $P < 0.01$ ), apoptosis-related protein Bax/Bcl-2 expression was significantly lower ( $P < 0.01$ ). **Conclusions:** Smilagenin can inhibit MPP<sup>+</sup>-induced apoptosis in SH-SY5Y cells, which may be related to its regulation of protein expression of apoptosis-related proteins Bax and Bcl-2.

**Key words:** Smilagenin; Herbal medicine; SH-SY5Y; Apoptosis; Parkinson's disease

**Chinese Library Classification (CLC):** R-33; R742.5; R285.5 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2024)14-2601-05

## 前言

帕金森是一种常见的神经退行性疾病, 临床表现为运动功能减退, 肌肉强直, 震颤和步态异常<sup>[1-3]</sup>。病理变化为黑质中多巴

\* 基金项目: 国家自然科学基金项目(82003719)

作者简介: 范蕾(1998-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向: 药学, E-mail: fan\_lei2022@foxmail.com

Δ 通讯作者: 张永芳(1976-), 女, 硕士生导师, 副研究员, 主要研究方向: 药学, E-mail: 13391269883@163.com

(收稿日期: 2024-01-26 接受日期: 2024-02-23)

胺神经元的丢失,神经元中异常  $\alpha$ -突触核蛋白聚集体路易小体的形成等<sup>[4-6]</sup>。具体机制包括细胞凋亡、线粒体功能缺陷引起的氧化应激等。1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)及其相应的活性代谢产物 1-甲基-4-苯基吡啶(MPP+)具有潜在的神经毒性<sup>[7]</sup>,通过多巴胺转运蛋白进入神经元并抑制线粒体呼吸链中的复合物 I 活性,导致 ATP 耗竭,诱导神经元细胞死亡<sup>[8,9]</sup>。有证据表明 MPP+ 会导致细胞中活性氧(ROS)和活性氮(RNS)生成增加,从而引起氧化应激,线粒体功能障碍,炎症和细胞凋亡等,因此被广泛应用于构建帕金森病模型<sup>[10-12]</sup>。

目前尚无改善疾病或治愈帕金森病的有效方法,因此发现一种新的治疗药物对于预防和管理帕金森病至关重要<sup>[13,14]</sup>。异菝菟皂苷元(smilagenin, SMI)是一种来源于天冬的脂溶性小分子甾体皂苷元,具有抗炎、抗氧化和改善认知的作用。异菝菟皂苷元可以降低 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化损伤神经细胞中 ROS 水平,也可以促进纹状体中神经胶质细胞神经营养因子(GDNF)的释放发挥神经保护作用<sup>[15,16]</sup>。但异菝菟皂苷元对氧化应激损伤引起的帕金森病的影响及作用机制仍不明确。因此,本研究通过添加 MPP+ 构建 PD 细胞模型,探讨异菝菟皂苷元对 MPP+ 诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡的保护作用,为寻找药物预防和治疗帕金森病提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

SH-SY5Y 人神经母细胞瘤购于中国科学院细胞库。异菝菟皂苷元由 Phytopharm Plc. (Huntingdon, UK) 提供,纯度 >98%。MPP+(M7068)购于 Millipore Sigma 公司。高糖 DMEM 培养基 (Gibco, 11995065),胰蛋白酶,胎牛血清(Gibco, 10091148)均购于 Gibco 公司。CCK-8 试剂盒(C0038),RIPA 裂解液,BCA 蛋白浓度测定试剂盒(P0012)和乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒(C0016)均购于碧云天生物技术有限公司。Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒(40302ES20)购于翊圣公司,Bcl-2 抗体、Bax 抗体以及  $\beta$ -Actin 抗体均购于 CST 公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 将 SH-SY5Y 细胞置于含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素的培养基中,于 5% CO<sub>2</sub> 的 37 °C 恒温培养箱中培养。将异菝菟皂苷元溶解在 DMSO 中以制备 5 mM 储备溶液,并以 10  $\mu$ M 终浓度加入培养基中 24 h。在培养液中加入 MPP+,体外构建 PD 模型,建模 24 h 后进行功能实验和表型检测。

**1.2.2 细胞活性检测 (CCK-8)** 使用 CCK-8 检测试剂盒,待细胞处理后,向细胞中加入 100  $\mu$ L 新鲜制备的 CCK-8 工作溶液(CCK-8 储备溶液与新鲜培养基的比例为 1:9,现配现用),在恒温培养箱中在 37 °C 孵育 1 小时后,使用酶标仪测量 450 nm 处的吸光度。

**1.2.3 LDH 释放量检测** 使用 LDH 测定试剂盒,待细胞处理后,向细胞中加入配置好的 LDH 释放试剂(LDH 释放试剂和 PBS 1:9 比例的工作溶液),在 37 °C 的恒温培养箱中孵育 1 小时,离心分离,将上清液加入 96 孔板中,加入 LDH 测定工作溶液,室温避光孵育 30 分钟,使用酶标仪测量在 490 nm 处的吸光度。

**1.2.4 细胞凋亡检测 (流式细胞术)** 使用细胞凋亡检测试剂盒,待细胞处理后,用胰酶消化细胞,收集全部细胞悬液,离心

5 分钟后弃去上清。加入 Annexin V-FITC 结合液重悬细胞,再将适量的膜联蛋白 V-FITC 和碘化丙啶(PI)染色液加入细胞悬液中,室温下避光孵育 15 分钟,并用流式细胞术检测。

**1.2.5 Western blot 检测** 待细胞处理后,24 h 提取细胞总蛋白,加热变性后,取 20  $\mu$ g 蛋白上样后经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,再转移到 PVDF 膜上。牛奶室温封闭 30 分钟后,加入 Bcl-2、Bax、 $\beta$ -Actin 抗体,4 °C 过夜。一抗孵育完成后,膜用 TBST 清洗 3 次后加入对应种属的辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗,室温下孵育 1 h。将 ECL 发光工作液均匀覆盖上膜,放入双色红外成像系统(美国 LI-COR 公司)中显影,采集图像。

### 1.3 统计学分析

实验数据均以 "平均值  $\pm$  标准差" 表示,每组实验进行三次重复,利用 Graphpad prism 8 软件对实验数据进行分析,多组间数据使用单因素方差分析,\*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05 表示具有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 异菝菟皂苷元对 MPP+ 处理的 SH-SY5Y 细胞活性影响

为了验证异菝菟皂苷元在 SH-SY5Y 细胞中的保护作用,通过使用 CCK-8 法观察不同浓度异菝菟皂苷元对 SH-SY5Y 细胞活力的结果。如图 1 所示,与未处理的细胞相比,以 1-4 mM 的剂量进行 MPP+ 处理可显著降低 SH-SY5Y 细胞的活力,提示 PD 细胞模型构建成功。用不同浓度的异菝菟皂苷元预处理细胞 24 h,再用 MPP+ 培养 24 小时后,以确定异菝菟皂苷元的最终有效剂量。如图 2 所示,与对照组相比,MPP+ 诱导组细胞存活率显著降低;与 MPP+ 诱导组相比,异菝菟皂苷元预处理后显著提高细胞存活率。在 10  $\mu$ M/mL 的异菝菟皂苷元处理下,MPP+ 诱导的细胞活力损失显著减少,因此选用 10  $\mu$ M/mL 异菝菟皂苷元用于后续实验。

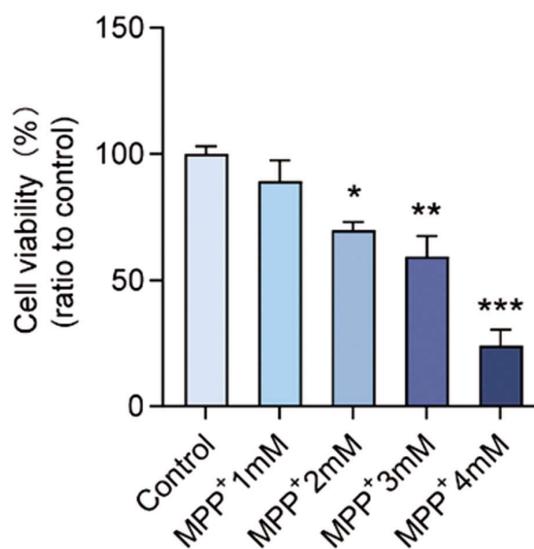


图 1 MPP+ 对 SH-SY5Y 细胞活力的影响

Fig.1 Effects of MPP+ on the viability of SH-SY5Y cells

Note: Data were expressed as  $\bar{x} \pm SD$ , n=3. \*\*\* $P$ <0.001, \*\* $P$ <0.01, \* $P$ <0.05, compared with control group. The following figure is the same.

### 2.2 异菝菟皂苷元对 MPP+ 处理的 SH-SY5Y 细胞 LDH 释放量的影响

如图 3 所示,与对照组相比,MPP+ 诱导组 LDH 释放量显著升高( $P<0.001$ );与 MPP+ 诱导组相比,异菝萸皂苷元预处理

后显著降低 LDH 释放量( $P<0.001$ )。在 10  $\mu\text{M}$ /mL 的异菝萸皂苷元处理下,MPP+ 诱导的 LDH 释放量增加显著减少。

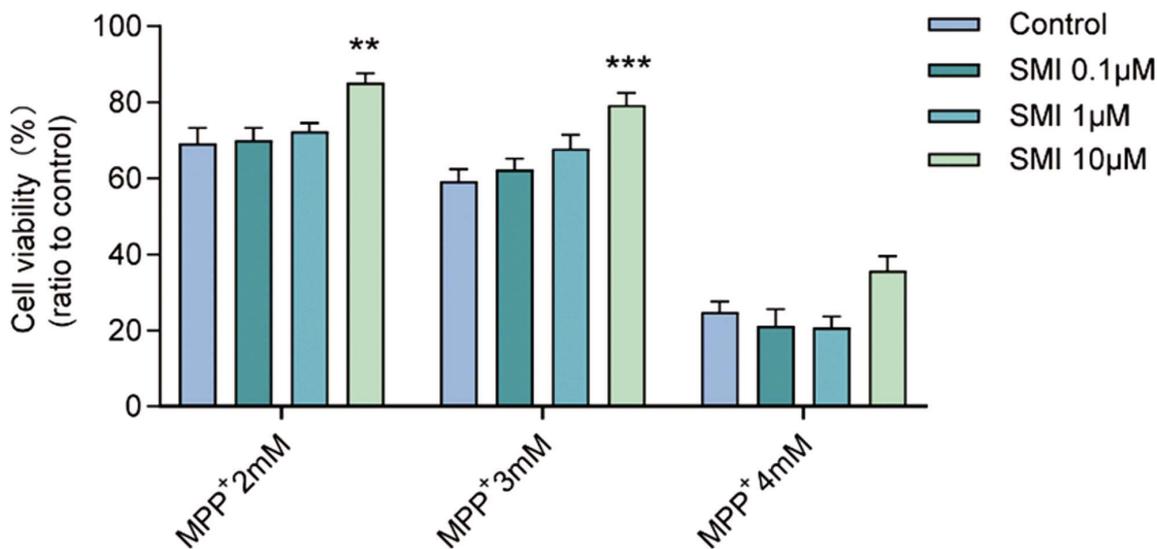


图 2 SMI 对 MPP+ 处理的 SH-SY5Y 细胞活力的影响

Fig.2 Effects of MPP+ and MPP++SMI on the viability of SH-SY5Y cells

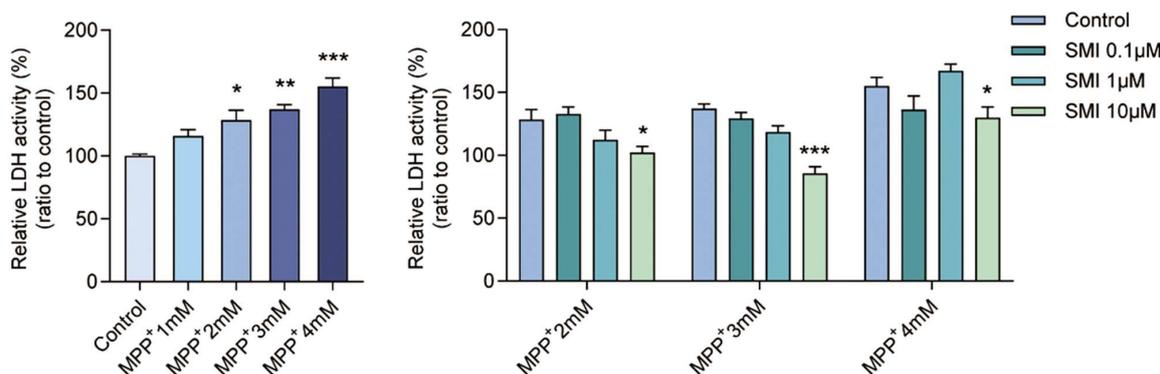


图 3 SMI 对 MPP+ 处理的 SH-SY5Y 细胞 LDH 释放量的影响

Fig.3 Effects of MPP+ and MPP++SMI on LDH release of SH-SY5Y cells

### 2.3 异菝萸皂苷元对 MPP+ 处理的 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响

进一步研究异菝萸皂苷元对细胞凋亡的影响及其机制,通过 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测各组细胞凋亡率。如图 4 所示,和对照组比较,MPP+ 诱导组中细胞凋亡水平显著升高( $P<0.001$ );与 MPP+ 诱导组比较,经异菝萸皂苷元干预后,SH-SY5Y 细胞的凋亡水平显著降低( $P<0.01$ ),这表明异菝萸皂苷元可以显著降低 MPP+ 处理导致的细胞凋亡。

### 2.4 异菝萸皂苷元对 MPP+ 诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax 表达的影响

为探讨异菝萸皂苷元对细胞凋亡影响的可能机制,我们通过 Western blot 实验探究异菝萸皂苷元对与凋亡相关因子 Bcl-2 和 Bax 表达的影响。如图 5 所示,与正常组比较,MPP+ 诱导组 Bax/ Bcl-2 表达明显增高( $P<0.01$ );同时与 MPP+ 诱导组比较,异菝萸皂苷元干预组 Bax/ Bcl-2 表达明显降低( $P<0.01$ )。

## 3 讨论

随着人口老龄化的进一步加深,帕金森病在全球越来越受到关注。目前的研究认为细胞凋亡的不断增加是造成帕金森病黑质纹状体多巴胺神经元丢失的主要原因之一,干扰细胞凋亡

来抑制黑质纹状体多巴胺神经元丢失和帕金森的发生是一种可行的策略<sup>[17,18]</sup>。

中药具有多环节和多靶点的特点,疗效稳定但副作用小,其应用于帕金森病的治疗经过长期的探索展现出独特的优势。现代中医认为帕金森病以肝肾阴虚为本,因此能够滋补肾阴的中药方剂可作为防治帕金森病的重要手段。知母是天门冬科植物知母的干燥根,《草纲目》记载知母具有滋阴润燥,清热泻火的功效。异菝萸皂苷元是来源于知母的脂溶性甾体皂苷元的有效单体成分<sup>[19,20]</sup>。既往的研究发现,异菝萸皂苷元通过提高 M1 受体密度,改善老年大鼠的学习记忆能力<sup>[21,22]</sup>。异菝萸皂苷元也可以通过促进 GDNF 及 BDNF 的表达,减弱  $\text{A}\beta$  或 MPP+ 对神经元的损伤<sup>[23,24]</sup>。本研究通过 MPP+ 处理 SH-SY5Y 细胞建立帕金森病的体外细胞模型,并使用异菝萸皂苷元进行预处理 24 小时,通过对细胞增殖活性和凋亡水平的影响,探讨异菝萸皂苷元对帕金森病模型的保护作用。

为建立神经毒性模型,本研究通过给予 SH-SY5Y 细胞不同浓度的 MPP+ 处理,结果发现 3 mM 的 MPP+ 处理 SH-SY5Y 细胞后表现为较为适中的细胞增殖活性抑制。因此在后续实验中选取 3 mM 的 MPP+ 对 SH-SY5Y 细胞进行诱导

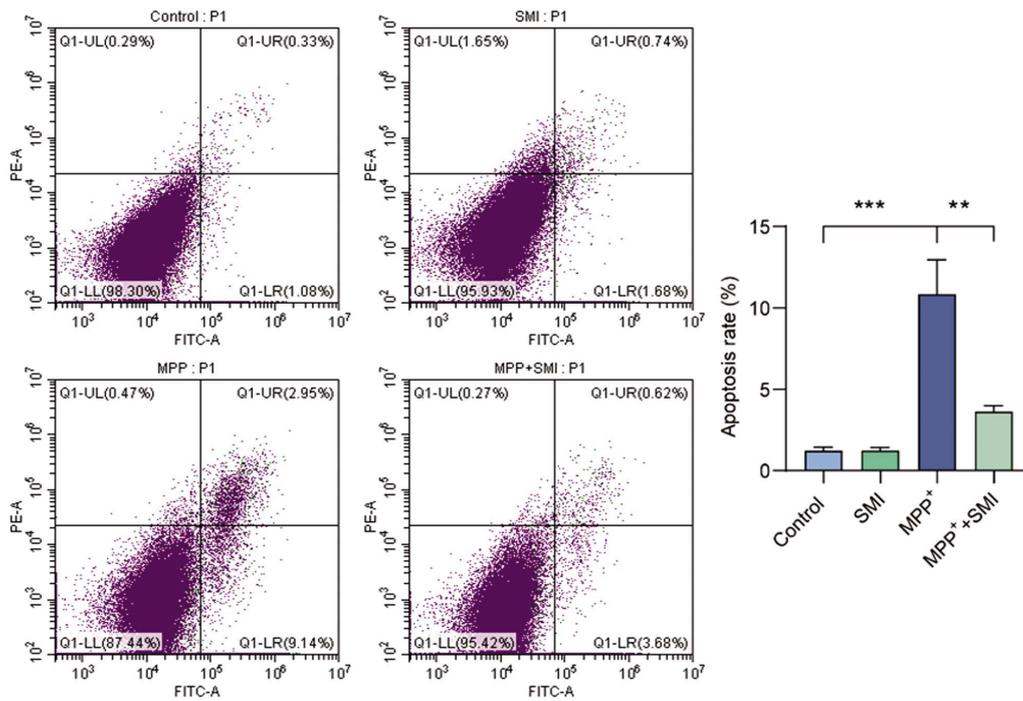


图4 异菝蕈皂苷元对 MPP<sup>+</sup> 诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响  
Fig.4 Effects of SMI on MPP<sup>+</sup>-induced apoptosis in SH-SY5Y cells

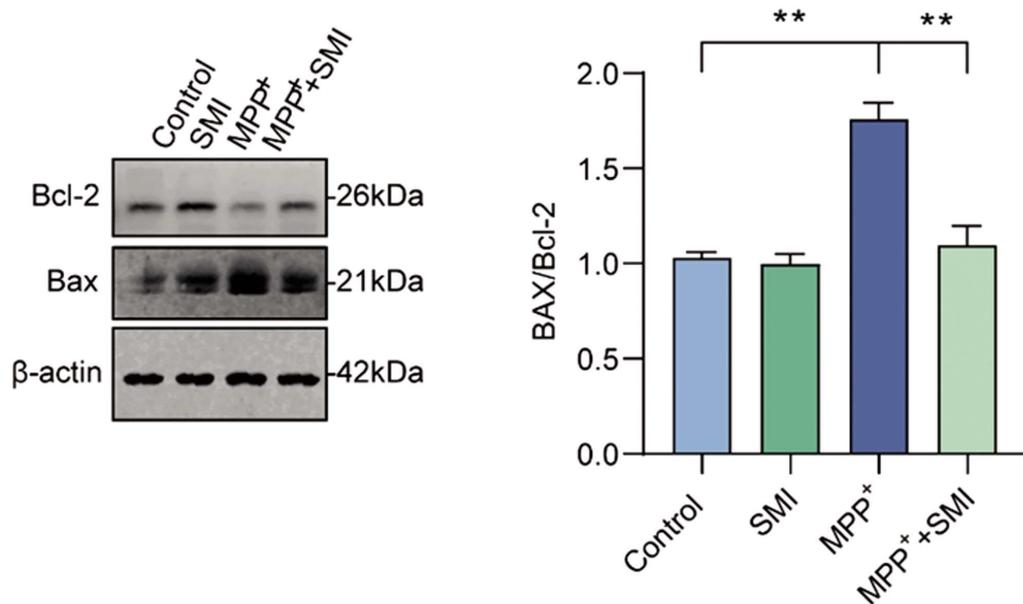


图5 SMI 对 MPP<sup>+</sup> 诱导的 SH-SY5Y 细胞内凋亡相关蛋白表达的影响  
Fig.5 Effects of SMI on expression of apoptosis-related protein in MPP<sup>+</sup>-induced SH-SY5Y cells

干预,发现异菝蕈皂苷元通过剂量依赖的方式减弱了 MPP<sup>+</sup> 对 SH-SY5Y 细胞增殖活性的抑制作用。通过检测不同浓度的异菝蕈皂苷元处理后的 SH-SY5Y 细胞的增殖活性变化,发现 0.1 和 1  $\mu$ M/mL 浓度的异菝蕈皂苷元对 SH-SY5Y 细胞无毒性作用,而 10  $\mu$ M/mL 的异菝蕈皂苷元可显著提高细胞的活性。

细胞凋亡是维持生物体稳态不可或缺的一部分,对机体正常发育和体内环境稳定至关重要,细胞凋亡的失衡与帕金森病有着密切关系<sup>[25,26]</sup>。促凋亡蛋白 Bax 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 同属于 Bcl-2 家族,是细胞凋亡的主要调节因子<sup>[27,28]</sup>。Bcl-2 家族蛋白通过在线粒体上产生跨越内外膜的通道:通透性转换孔(PTP),改变细胞内线粒体的通透性,导致细胞色素 C(Cyt C)、细胞凋

亡诱导因子(AIF)等释放进入细胞质。抗凋亡蛋白 Bcl-2 可形成异二聚体维持在细胞中的固定位置,防止 Caspase 的激活和内膜破裂后 Cyt C 的释放,阻止细胞凋亡发生。促凋亡蛋白可移位至线粒体膜,破坏线粒体的功能和结构,并插入到线粒体外膜上导致 Cyt C 释放,最终诱导细胞凋亡<sup>[29,30]</sup>。本研究首次发现异菝蕈皂苷元有抑制细胞凋亡的作用,为了研究异菝蕈皂苷元对 MPP<sup>+</sup> 诱导的神经母细胞瘤细胞引起的凋亡情况,采用 AnnexinV-FITC/PI 双染法结合流式细胞仪对 SH-SY5Y 细胞的凋亡情况进行检测,结果发现异菝蕈皂苷元可以显著抑制 MPP<sup>+</sup> 对 SH-SY5Y 细胞造成的凋亡。同时使用 Western blot 对相应的凋亡蛋白进行了检测,结果发现异菝蕈皂苷元逆转了

MPP<sup>+</sup> 对 SH-SY5Y 细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 的表达的影响。

综上所述,具有抗炎、抗氧化和改善认知等功能的异菝菹皂苷元,可以显著降低 MPP<sup>+</sup> 引起的 SH-SY5Y 细胞的损伤,可能是通过改变细胞的抗凋亡相关蛋白的表达,增强了细胞的抗凋亡活性,从而抑制细胞凋亡。本研究探讨了异菝菹皂苷元作为一种中草药有效成分对 PD 具有潜在的神经保护作用,为其预防和治疗 PD 提供现实的理论依据。然而异菝菹皂苷元抑制细胞凋亡的具体调节机制尚不明确,仍待进一步研究。

#### 参考文献 (References)

- [1] Caproni S, Colosimo C. Diagnosis and Differential Diagnosis of Parkinson Disease[J]. Clin Geriatr Med, 2020, 36(1): 13-24.
- [2] Raccagni C, Nonnekes J, Bloem BR, et al. Gait and postural disorders in parkinsonism: a clinical approach [J]. J Neurol, 2020, 267(11): 3169-3176.
- [3] Waller S, Williams L, Morales-Briceno H, et al. The initial diagnosis and management of Parkinson's disease[J]. Aust J Gen Pract, 2021, 50(11): 793-800.
- [4] Hayes MT. Parkinson's Disease and Parkinsonism[J]. Am J Med, 2019, 132(7): 802-807.
- [5] Dickson DW. Neuropathology of Parkinson disease [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2018, 46 Suppl 1(Suppl 1): S30-S33.
- [6] 刘旺,赵虹,夏兆云,等.帕金森病相关病理演变研究进展[J].神经损伤与功能重建, 2022, 17(03): 148-151.
- [7] Masuda K, Tsutsuki H, Kasamatsu S, et al. Involvement of nitric oxide/reactive oxygen species signaling via 8-nitro-cGMP formation in 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced neurotoxicity in PC12 cells and rat cerebellar granule neurons [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 495(3): 2165-2170.
- [8] Javitch JA, D'Amato RJ, Strittmatter SM, et al. Parkinsonism-inducing neurotoxin, N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine: uptake of the metabolite N-methyl-4-phenylpyridine by dopamine neurons explains selective toxicity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1985, 82(7): 2173-2177.
- [9] Eberhardt O, Schulz JB. Apoptotic mechanisms and antiapoptotic therapy in the MPTP model of Parkinson's disease [J]. Toxicol Lett, 2003, 139(2-3): 135-151.
- [10] Ioghen OC, Ceafalan LC, Popescu BO. SH-SY5Y Cell Line In Vitro Models for Parkinson Disease Research-Old Practice for New Trends [J]. J Integr Neurosci, 2023, 22(1): 20.
- [11] Adams JD Jr, Chang ML, Klaidman L. Parkinson's disease--redox mechanisms[J]. Curr Med Chem, 2001, 8(7): 809-814.
- [12] Chia SJ, Tan EK, Chao YX. Historical Perspective: Models of Parkinson's Disease [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(7): 2464. Published 2020 Apr 2.
- [13] Reich SG, Savitt JM. Parkinson's Disease [J]. Med Clin North Am, 2019, 103(2): 337-350.
- [14] Jankovic J, Tan EK. Parkinson's disease: etiopathogenesis and treatment[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2020, 91(8): 795-808.
- [15] 江文青,李加梅,王韞智,等.异菝菹皂苷元对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化损伤 SH-SY5Y 细胞的保护作用及其分子机制[J].上海交通大学学报(医学版), 2015, 35(05): 631-636.
- [16] Li J, Xia Z, Sun X, et al. Reversal of dopamine neurons and locomotor ability degeneration in aged rats with smilagenin [J]. Neuroscience, 2013, 245: 90-98.
- [17] 黄镜璇,商慧芳.帕金森病的病因和发病机制研究进展[J].中国实用内科杂志, 2023, 43(10): 797-801+821.
- [18] 张辉,王运良.帕金森病的发病机制及治疗进展[J].中国实用神经疾病杂志, 2021, 24(15): 1371-1380.
- [19] 彭纓,李玲芝,李成磊,等.知母中菝菹皂苷元分离、其衍生物合成及活性[J].沈阳药科大学学报, 2012, 29(12): 927-932.
- [20] 张志勇,熊慧林,茅向军.天冬中菝菹皂苷元含量的双波长薄层扫描测定[J].时珍国医国药, 2012, 23(01): 93-94.
- [21] Hu Y, Wang Z, Zhang R, et al. Regulation of M1-receptor mRNA stability by smilagenin and its significance in improving memory of aged rats[J]. Neurobiol Aging, 2010, 31(6): 1010-1019.
- [22] He X, Yang S, Zhang R, et al. Smilagenin Protects Dopaminergic Neurons in Chronic MPTP/Probenecid-Lesioned Parkinson's Disease Models[J]. Front Cell Neurosci, 2019, 13: 18.
- [23] Yang S, Fan L, Zhang R, et al. Smilagenin induces expression and epigenetic remodeling of BDNF in alzheimer's disease [J]. Phytomedicine, 2023, 118: 154956.
- [24] Zhang Y, Xia Z, Hu Y, et al. Role of glial cell derived neurotrophic factor in the protective effect of smilagenin on rat mesencephalic dopaminergic neurons damaged by MPP<sup>+</sup> [J]. FEBS Lett, 2008, 582(6): 956-960.
- [25] Erekat NS. Apoptosis and its therapeutic implications in neurodegenerative diseases[J]. Clin Anat, 2022, 35(1): 65-78.
- [26] 唐显军,冯占辉,叶兰.MPTP 慢性帕金森病小鼠海马内氧化应激与细胞凋亡蛋白的表达 [J]. 世界科技研究与发展, 2010, 32(06): 840-842.
- [27] Czabotar PE, Garcia-Saez AJ. Mechanisms of BCL-2 family proteins in mitochondrial apoptosis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24(10): 732-748.
- [28] Ku B, Liang C, Jung JU, et al. Evidence that inhibition of BAX activation by BCL-2 involves its tight and preferential interaction with the BH3 domain of BAX[J]. Cell Res, 2011, 21(4): 627-641.
- [29] Liu J, Liu W, Yang H. Balancing Apoptosis and Autophagy for Parkinson's Disease Therapy: Targeting BCL-2 [J]. ACS Chem Neurosci, 2019, 10(2): 792-802.
- [30] Ethell DW, Fei Q. Parkinson-linked genes and toxins that affect neuronal cell death through the Bcl-2 family [J]. Antioxid Redox Signal, 2009, 11(3): 529-540.