

## · 白鲜皮多脏器的级联损伤研究专题 ·

[编者按] 白鲜皮作为传统中药中的“治痒要药”，在湿疹、荨麻疹等皮肤疾病治疗中疗效显著，其清热燥湿、祛风解毒的功效在《本草纲目》等历代本草著作中均有记载。但其潜在的药物性肝损伤风险近年来引发广泛关注。国内外监测数据显示，含白鲜皮的复方制剂(如克银丸、痔血胶囊)及单味药应用均与肝损伤病例相关，尤其在韩国，白鲜皮甚至成为中草药相关肝损伤的第二大诱因，这一发现对白鲜皮临床应用的安全性提出了严峻挑战，也凸显了深入开展其系统性毒理学研究的迫切性和重要性。值得注意的是，既往的研究多聚焦于肝脏损伤的单一机制探索，而对药物可能引发的多器官损伤反应及其内在分子机制缺乏系统性研究。黑龙江中医药大学临床中药学研究团队针对这一关键科学问题，整合多组学技术(代谢组学技术与网络药理学)与系统毒理学方法，建立动物模型评估肠道、肾脏、大脑等多个靶器官的损伤特征，并采用分子生物学技术阐明各靶器官损伤的分子机制。该研究从分子、细胞、组织到整体水平多层次揭示其诱导的多脏器级联损伤过程，为白鲜皮的临床安全用药及风险预警提供科学依据，希冀通过构建“中药多脏器级联损伤机制”研究范式，推动中药毒理学研究从传统的单一器官评价向多器官系统评价的转变，为类似损伤中药的风险评估建立了方法学参考体系，对推动中药安全性研究的理论创新和保障临床用药安全具有重要的学术价值和实践指导意义。

# 基于网络毒理学与代谢组学技术探究白鲜皮神经损伤机制

徐晓敏，沃佳美雪，贾素霞，胡文凯，卢芳\*，刘树民\*

(黑龙江中医药大学中医药研究院，哈尔滨 150040)

[摘要] 目的:该研究整合网络毒理学与代谢组学技术探究白鲜皮神经毒性机制。方法:采用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、传统中医药信息数据库(TCM-ID)和比较毒理基因组学数据库(CTD)数据库筛选白鲜皮所致神经损伤靶点，并采用Swiss Target Prediction预测成分靶标;通过药效团匹配与潜在靶标识别平台(PharmMapper)、GeneCards、疾病基因关联网络数据库(DisGeNET)和人类在线孟德尔遗传数据库(OMIM)数据库收集神经损伤相关靶标，取交集靶点，进行蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)、京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析及基因本体(GO)富集分析，采用Cytoscape软件构建“药物-化合物-毒性靶点-通路”图谱，以显示核心调控网络;根据预测结果，采用苏木素-伊红(HE)染色法、尼氏染色、酶联免疫吸附测定法(ELISA)、实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)、蛋白免疫印迹法(Western blot)对白鲜皮暴露处理的小鼠的神经损伤的机制进行验证，并整合非靶向代谢组学技术进一步探究白鲜皮对小鼠脑组织代谢轮廓的影响。结果:网络毒理学筛选得到白鲜皮中的13种化合物，175个靶点与白鲜皮诱导的神经损伤相关，PPI网络分析显示，核心靶点为蛋白激酶1(Akt1)、肿瘤蛋白53(TP53)。此外，GO/KEGG富集分析表明，白鲜皮可能调节磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/Akt通路，影响氧化应激、细胞凋亡等生物进程进而诱导神经损伤。“白鲜皮-化合物-毒性靶点-途径-神经损伤”网络显示，白鲜碱、黄柏酮和栲酮可能为潜在毒性化合物;动物实验结果显示，相较于空白组，白鲜皮给药干预后小鼠脑组织海马神经元受损，脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)、乙酰胆碱(ACh)水平显著降低，丙二醛(MDA)含量显著升高，脑组织中Akt1、磷酸化(p)-Akt1 mRNA及蛋白含量显著降低、TP53 mRNA及蛋白含量显著升高。非靶向代谢组学结果显示，白鲜皮可扰乱小鼠脑组织中40种代谢物水平进而调控苯丙氨酸、甘油磷脂及视黄醇等13条代谢途径稳态。整合分析可知，Akt1、p-Akt1、TP53与苯丙氨酸、甘油磷脂及视黄醇代谢物具有显著相关性，提示白鲜皮通过调节Akt1、p-Akt1、TP53进而调控苯丙氨酸、甘油磷脂及视黄醇代谢途径进而诱发小鼠神经损伤。结论:白鲜皮可诱发小鼠神经损伤，其潜在作用机制可能与激活氧化应激水平、抑制PI3K/Akt信号通路、调控苯丙氨酸、甘油磷脂及视黄醇代谢途径密切相关。

[关键词] 白鲜皮;网络毒理学;代谢组学;神经损伤

[中图分类号] R282;R259;R285 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2025)20-0031-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20251206

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250725.1739.006>

[网络出版日期] 2025-07-28 08:50:16 [增强出版附件] 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



[收稿日期] 2025-04-22

[基金项目] 国家重点研发计划“中医药现代化”重点专项(2022YFC3502100)

[第一作者] 徐晓敏，在读博士，从事中药药性理论及药物功效研究，E-mail:2381236162@qq.com

[通信作者] \*刘树民，博士生导师，从事中药药性理论及药物功效研究，Tel:0451-87266817，E-mail:keji-liu@163.com;

\*卢芳，博士生导师，从事中药药性理论及药物功效研究，E-mail:lufang\_1004@163.com

## Neurotoxicity Mechanism of Dictamni Cortex Based on Network Toxicology and Metabolomics

XU Xiaomin, WO Jiameixue, JIA Suxia, HU Wenkai, LU Fang\*, LIU Shumin\*  
(Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine,  
Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** This study aims to explore the neurotoxicity mechanism of Dictamni Cortex by integrating network toxicology and metabolomics techniques. **Methods:** The neurotoxicity targets induced by Dictamni Cortex were screened by the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), Traditional Chinese Medicine Information Database (TCM-ID), and Comparative Toxicogenomics Database (CTD). The target predictions of the components were performed by the Swiss Target Prediction tool. Neurotoxicity-related targets were collected from the Pharmacophore Mapping and Potential Target Identification Platform (PharmMapper), GeneCards Human Gene Database (GeneCards), DisGeNET Disease Gene Network (DisGeNET), and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), and the intersection targets were identified. Protein-protein interaction (PPI) analysis, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis, and Gene Ontology (GO) enrichment analysis were conducted. A "drug-compound-toxicity target-pathway" network was constructed via Cytoscape software to display the core regulatory network. Based on the prediction results, the neurotoxicity mechanism of Dictamni Cortex in mice was verified by using hematoxylin-eosin (HE) staining, Nissl staining, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), quantitative real-time fluorescence polymerase chain reaction (Real-time PCR), and Western blot. The effects of Dictamni Cortex on the metabolic profile of mouse brain tissue were further explored by non-targeted metabolomics. **Results:** Network toxicology screening identified 13 compounds and 175 targets in Dictamni Cortex that were related to neurotoxicity. PPI network analysis revealed that serine/threonine-protein kinase (Akt1) and tumor protein 53 (TP53) were the core targets. Additionally, GO/KEGG enrichment analysis indicated that Dictamni Cortex may regulate the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt pathway and affect oxidative stress and cell apoptosis, thereby inducing neural damage. The "Dictamni Cortex-compound-toxicity target-pathway-neural damage" network showed that dictamnine, phellodendrine, and fraxinellone may be the toxic compounds. Animal experiments showed that compared with those in the blank group, the hippocampal neurons in the brain tissue of mice treated with Dictamni Cortex were damaged. The level of superoxide dismutase (SOD) and acetylcholine (ACh) in the brain tissue was significantly reduced, while the content of malondialdehyde (MDA) was significantly increased. The level of Akt1 and p-Akt1 mRNAs and proteins in the brain tissue was significantly decreased, while the level of TP53 was significantly increased. Non-targeted metabolomics results showed that Dictamni Cortex could disrupt the level of 40 metabolites in mouse brain tissue, thereby regulating the homeostasis of 13 metabolism pathways, including phenylalanine, glycerophospholipid, and retinol. Combined analysis revealed that Akt1, p-Akt1, and TP53 were significantly correlated with phenylalanine, glycerophospholipid, and retinol metabolites. This suggested that Dictamni Cortex induced neurotoxicity in mice by regulating Akt1, p-Akt1, and TP53 and further modulating the phenylalanine, glycerophospholipid, and retinol metabolism pathways. **Conclusion:** Dictamni Cortex can induce neurotoxicity in mice, and its potential mechanism may be closely related to the activation of oxidative stress, inhibition of the PI3K/Akt signaling pathway, and regulation of phenylalanine, glycerophospholipid, and retinol metabolism pathways.

**[Keywords]** Dictamni Cortex; network toxicology; metabolomics; neurotoxicity

白鲜皮为芸香科植物白鲜 *Dictamnus dasycarpus* 的干燥根皮,有清热燥湿、祛风解毒的功效,临床常用于湿热疮毒,黄水淋漓,湿疹,风疹,疥癣疮癩。现代药理学研究显示,具有抗菌、抗肿瘤、抗过敏等药理作用<sup>[1-2]</sup>。然而近年来关于其不良事件频发,这些不良反应报告大多集中在对肝损伤的报告上,这限制了白鲜皮的临床应用。据报道,白鲜皮具有一定的肝损伤性<sup>[3-5]</sup>,且表明肝损伤机制可能与氧化应激、胆汁淤积、肝功能异常与急性肝细胞损伤等有关<sup>[6]</sup>。而迄今为止,文献中尚未记录对

其他器官的重大影响。本课题组依托于国家重点研发计划资助项目对白鲜皮进行深入的毒理学研究,并在前期研究中发现<sup>[7]</sup>,白鲜皮可通过调控 mmu-mir-6240-p3\_2 抑制 *pde6a* 基因的表达进而诱导 HT22 细胞损伤,提示白鲜皮具有潜在的神经损伤。

网络毒理学的概念是基于网络药理学在中药毒性研究中具有天然优势而提出的概念<sup>[8-9]</sup>,即“构建“毒性表征-毒性成分-基因-蛋白质特定的网络模型,描绘研究对象的毒理学性质,应用网络剖析和

预测药物的毒性,从而了解药物对机体的不良反应并预测药物的毒性成分”,与传统毒理学相比,具有速度快、节省资源和时间、实用性强等优点<sup>[10-11]</sup>。这为中药的毒性评价及分子机制研究提供了新的视角与思路。

代谢组学是系统生物学的重要组成部分,旨在对生物体内所有小分子代谢物进行定性和定量分析,以揭示其与生理病理变化的关联<sup>[12]</sup>,广泛应用于毒理学的研究中,其通过分析模式动物组织内代谢产物的轮廓分布,进而确定毒性作用的靶器官及毒性生物标志物,从而更好地服务于毒理机制的研究及药物毒性评价<sup>[13-14]</sup>。近年来,网络毒理学和代谢组学被广泛用于研究药物代谢和毒性机制。基于此,本研究整合网络毒理学与代谢组学技术,探究白鲜皮诱发神经损伤的潜在机制,以期对白鲜皮临床用药有一定的提示作用。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** SPF级BALB/c雄性小鼠40只,体质量(18~22)g,购自辽宁长生生物科技股份有限公司,合格证号SCXK(辽)2020-0001,实验前小鼠饲养于标准实验室条件[温度(22±2)℃,湿度(50±10)%,12h/12h光/暗周期]中7d,以适应环境。本研究通过黑龙江中医药大学动物实验伦理委员会的批准,所有动物均符合国家规定的实验动物质量标准(批准号2023062501)。

**1.2 药物** 实验所用中药饮片白鲜皮购自河北全泰药业有限公司(批号Y057-23-05-001),经黑龙江中医药大学药学院药用植物学教研室南洋副教授鉴定为白鲜皮芸香科植物白鲜*Dictamnus dasycarpus*的干燥根皮,称取白鲜皮300g,加入8倍蒸馏水,浸泡30min,回流提取30min,过滤药液;再加6倍蒸馏水,回流提取30min,合并2次药液,旋转蒸发器浓缩后冻干备用。

**1.3 试剂** 苏木素-伊红(HE)染色液(珠海贝索生物科技有限公司,货号C203203);超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒、丙二醛(MDA)检测试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司,货号分别为S0101S、S0131S);乙酰胆碱(ACh)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号A105-1-1);实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)去基因组与逆转录预混液、通用型快速抗体染料法Real-time PCR预混液(莫纳生物科技有限公司,货号分别为MR05101M、M910701S);PCR引物合成(黑龙江箭速基因科技有限公司);4%多聚甲醛固定液、尼氏

染液、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的兔抗山羊免疫球蛋白(Ig)G、HRP标记的山羊抗小鼠IgG(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号分别为G1101、G1036、GB15002-100、GB23204、GB23301);蛋白激酶B1(Akt1)、TP53、磷酸化(p)-Akt1抗体(美国Affinity公司,货号分别为AF0836、DF7238、F0016)。

**1.4 仪器** Quantstudio3型Real-time PCR仪(美国Waters公司);M2000Pro型酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司);Eclipse Ci-L型正置白光拍照显微镜(日本Nikon公司);BT-230型组织摊片烤片机(湖北博大电子科技有限公司);R155NP-Q2型石蜡切片机(英国Taiva公司);G2-XS Q-TOF型LC-MS/MS系统(美国Thermo Fisher Scientific Waters XEVO);LC-12N/18N-50C型冻干机(湖南力辰仪器科技有限公司);R-1010型旋转蒸发器(郑州长城科工贸有限公司);5300型化学发光成像仪(上海勤翔科学仪器公司);165-3301型电泳仪及附件(美国Bio-Rad公司)。

**1.5 所用数据库** 中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>); Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>); GeneCards数据库(<http://www.genecards.org/>); CTD数据库(<http://ctdbase.org/>); TCM-ID (<https://www.bidd.group/TCMID/>); OMIM数据库(<https://omim.org>); PBD数据库(<http://www.rcsb.org/>)。

**1.6 药材及配置** 每300g白鲜皮药材,加入8倍体积蒸馏水浸泡30min后,回流提取30min,收集滤液;加入6倍体积蒸馏水,重复操作1次。合并2次滤液,采用旋转蒸发器浓缩,再经冻干机干燥,制成粉末,置于干燥器中保存备用。

## 2 方法

**2.1 基于网络毒理学技术预测白鲜皮所致神经毒性靶标** 基于TCMSP数据库,以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18为筛选条件,收集白鲜皮的化学成分,并通过Swiss Target Prediction在线数据库预测白鲜皮中化学成分的作用靶标;在GeneCards数据库、CTD数据库中输入关键词“药物所致神经损伤(Drug-induced nerve injury)”筛选已报道的、与神经损伤相关的,标记有“marker/mechanism”的基因,去除重复基因和假阳性基因,得到神经损伤靶标;将筛选得到的药物成分潜在靶标与神经损伤靶标,在Venny2.1.0平台对其二者取

交集,得到白鲜皮致神经损伤的作用靶标。

**2.2 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络的构建** 将交集靶点导入 STRING,蛋白种类设置为“Homo sapiens”,得到 PPI 网络模型,导入 Cytoscape 软件进行可视化,计算得到节点连接度(Degree)、介数中心性(BC)及紧密度(CC),筛选核心靶点。

**2.3 基因本体(GO)富集分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析** 将交集靶点导入 Metascape,设置属性“Homo sapiens”,分别进行 GO 分析及 KEGG 通路分析,通过微生信平台可视化分析。

**2.4 “中药-化学成分-靶点-神经毒性-通路”网络构建** 将白鲜皮化学成分、白鲜皮毒性靶点和 KEGG 通路导入 Cytoscape 软件,构建网络图,计算 Degree、BC 及 CC,筛选核心成分。

**2.5 动物分组及给药** 将 BALB/c 雄性小鼠随机分为 2 组,空白组、白鲜皮组( $92.7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),白鲜皮组在 24 h 内按最大浓度、最大灌胃体积( $40 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ )单次给予小鼠。

**2.6 样本收集与处理** 小鼠颈椎脱位死亡,一部分剥离小鼠脑组织经 10% 多聚甲醛固定,用于后续 HE 染色及免疫组化检测;一部分冻存用于酶联免疫吸附测定法(ELISA)及 Real-time RCR 检测。

**2.7 脑组织中 SOD、MDA、ACh 水平检测** 取脑组织,加入 9 倍量体积冷冻的甲醇研磨,涡旋混匀 3 min,离心( $12\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 15 min,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 离心半径 10 cm)2 次,取上清采用 ELISA 检测小鼠脑组织中 SOD、MDA、ACh 指标水平。

**2.8 小鼠脑组织病理学观察** 取固定后的脑组织进行石蜡包埋及切片后,进行 HE 染色及尼氏染色,光学显微镜下观察组织病理变化并拍照。

**2.9 Real-time RCR 检测小鼠脑组织中 Akt1、TP53 mRNA 水平** 取各组小鼠脑组织,按照试剂盒说明书 TRIzol 法提取总 RNA 后,按逆转录试剂盒说明书步骤将 RNA 逆转录成 cDNA,然后以 cDNA 为模板进行 Real-time RCR,以 GAPDH 为内参基因,每个目的基因待测样本做 3 个重复。反应条件:  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性 30 s,  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性 5 s,  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火 31 s, 40 个循环,  $95\text{ }^{\circ}\text{C}$  扩增 15 s,以  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  表示目的基因的相对表达量,引物序列见表 1。

**2.10 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测小鼠脑组织中 Akt1、p-Akt1 和 TP53 蛋白水平** 提取小鼠脑组织总蛋白,BCA 法测蛋白浓度。SWE 快速高分辨电泳检测,免冰浴快速转膜将分离的蛋白样品转

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
GAPDH	上游 GGTCCCAGCTTAGGTTTCATCA	120
	下游 AATCCGTTTCACACCGACCTT	
Akt1	上游 AGCGACGTGGCTATTGTGAAG	150
	下游 GCCATCATTCTTGAGGAGGAAGT	
TP53	上游 CAGCACATGACGGAGGTTGT	180
	下游 TCATCCAAATACTCCACACGC	

印至 PVDF 膜上,5% 脱脂牛奶封闭 PVDF 膜 60 min 后,加入一抗: Akt1(1:500)、TP53(1:500)、p-Akt1(1:500)、GAPDH(1:3 000),  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,与辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗(1:1 000)室温下孵育 60 min 后,用 TBST 洗膜 3 次,每次 5 min。滴加混合好的 ECL 发光液,于化学发光仪成像系统中曝光成像。用 Image J 软件分析条带灰度值。

### 2.11 非靶向代谢组学检测及分析

**2.11.1 UPLC-MS 检测条件** ACQUITY UPLC BEH  $C_{18}$  色谱柱( $2.1 \text{ mm}\times 100 \text{ mm}$ ,  $1.7 \mu\text{m}$ ),柱温  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)和乙腈(B),梯度洗脱(0~0.5 min, 99%~80% A; 0.5~2.5 min, 80%~40% A; 2.5~4 min, 40%~34% A; 4~5 min, 34%~20% A; 5~7.5 min, 20%~14% A; 7.5~8 min, 14%~1% A; 8~9 min, 1% A)。进样量  $4 \mu\text{L}$ ,流速  $0.4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。质谱条件,分别在正负离子模式下检测,正离子毛细管喷雾电压 2 kV,负离子毛细管喷雾电压 1.5 kV;正离子锥孔电压 60 V,负离子锥孔电压 70 V;离子源温度  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;脱溶剂气温度  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;脱溶剂气流速  $1\ 000 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ ;锥孔气流速  $50 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ ;碰撞能 15~45 V。

**2.11.2 数据处理** 利用 QI 软件,通过对小鼠脑组织样本数据进行无监督主成分分析(PCA)及监督正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)筛选潜在的生物标志物,检验标准为变量重要性投影(VIP)值 > 1 作为投射筛选条件,找出贡献值较大的生物标志物,同时联合人类代谢组学数据库(HMDB)和 KEGG 进行相关代谢通路分析。

**2.12 统计学处理** 使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,数据以  $\bar{x}\pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 基于网络毒理学技术预测白鲜皮所致神经损伤的靶点** 网络药理学结果显示,基于 TCMSP 化

学成分数据库及文献报道,共筛选和整理出白鲜皮中13个化学成分,并得到199个化学成分对应的作用靶标;以“药物所致神经损伤(Drug-induced nerve injury)”为关键词,在CTD、GeneCard中共找到2 025个毒性靶点;将得到的药物潜在靶标、神经损伤靶标进行比对,得到2者的交集靶标合计157个,其被认为是白鲜皮致神经损伤的相关作用靶标。见增强出版附加材料。

**3.2 PPI网络的构建** 将上述157个交集靶点导入STRING数据库中,设定物种为“Homo sapiens”,进行PPI分析,得到最低交互得分 $\geq 0.90$ 的PPI网络,该网络共有67个节点,共1 809条边,其节点代表作用靶点,每条边表示各节点间相互作用,边数越多表示该节点与其他节点作用次数越多,该节点也就越重要,利用Cytoscape软件根据节点互做次数信息制作PPI图,其中圆圈大小、颜色深浅变化与Degree值成正比,通过Analyer Network计算出各节点的Degree、BC及CC,筛选出Degree $>115$ 且BC $\geq 0.033 9$ 且CC $\geq 0.787 8$ 的靶点蛋白有2个主要核心靶蛋白,即Akt1、TP53,见增强出版附加材料及表2,以上核心靶蛋白可能在白鲜皮所致神经损伤中发挥主要作用。

表2 基于PPI拓扑分析白鲜皮所致神经损伤核心靶点

Table 2 Core neurotoxicity targets of Dictamni Cortex based on PPI topology analysis

No.	靶蛋白	Degree	BC	CC
1	Akt1	120	0.034 7	0.808 2
2	TP53	116	0.033 9	0.787 8

**3.3 GO富集与KEGG通路分析** 利用KEGG将白鲜皮对应的靶蛋白映射到通路上,以 $P < 0.05$ 为筛选条件,富集得到181条通路。以fold enrichment和P为指标,选择count排列前20个富集分析绘制气泡图,其中去除疾病相关通路,以PI3K/Akt信号通路最为显著;通过GO富集分析,以 $P < 0.05$ ,为筛选条件,得BP,CC,MF,富集条目分别为770、87、156条,根据P值大小选取排名前21条的生物学过程绘制气泡图,见增强出版附加材料,主要涉及细胞凋亡、氧化应激等生物进程。

**3.4 “中药-化学成分-靶点-神经毒性-通路”网络构建** 利用Cytoscape构建“中药-成分-靶点-通路”网络图,见增强出版附加材料。通过Analyer Network计算得到Degree、BC及CC值,除去前面植物共有成分,筛选出白鲜皮潜在毒性化合物为白鲜碱、黄

柏酮和栲酮,按照Degree值对关键化学成分进行排序,具体见表3,推测其可能为白鲜皮所致神经损伤的活性成分。

表3 白鲜皮所致神经损伤关键化学成分

Table 3 Key chemical components of Dictamni Cortex causing neurotoxicity

No.	化学成分	Degree	BC	CC
1	白鲜碱	10	0.043 2	0.365 3
2	黄柏酮	15	0.004 9	0.374 0
3	栲酮	9	0.033 0	0.352 0

**3.5 白鲜皮对小鼠脑组织中SOD、MDA、ACh指标的影响** 与空白组比较,给予白鲜皮干预后,小鼠脑组织中MDA水平显著升高( $P < 0.01$ ),SOD、ACh水平显著降低( $P < 0.01$ ),提示脑组织受到一定损伤,损伤机制可能与氧化应激水平有关。见表4。

表4 白鲜皮对小鼠脑组织中SOD、MDA、ACh水平的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Table 4 Effect of Dictamni Cortex on SOD, MDA, and ACh levels in mouse brain tissue ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

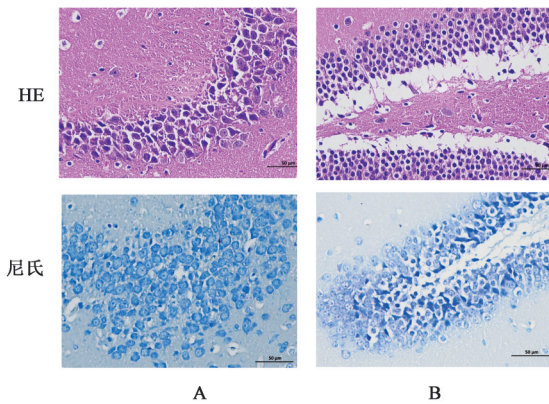
组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	SOD /U·mg <sup>-1</sup>	MDA /mmol·g <sup>-1</sup>	ACh /mg·g <sup>-1</sup>
空白组		28.71 $\pm$ 5.59	15.72 $\pm$ 4.16	155.03 $\pm$ 25.37
白鲜皮组	92.7	5.89 $\pm$ 3.88 <sup>1)</sup>	53.80 $\pm$ 16.93 <sup>1)</sup>	60.97 $\pm$ 15.11 <sup>1)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ (表5同)

**3.6 白鲜皮对小鼠脑组织的病理学观察** 空白组小鼠脑组织皮层与海马体CA3区细胞形态结构正常且轮廓较为清晰;白鲜皮给药后,脑组织皮层可见较多神经元皱缩,细胞染色加深,胞核胞质分界不清;尼氏染色结果显示,空白组尼氏体丰富,细胞排列整齐,且细胞形态规则,轮廓清晰,神经细胞数量较多;与空白组比较,给予白鲜皮干预后,细胞数量减少,细胞皱缩,轮廓不清,细胞间隙增宽及肿胀,尼氏体减少。综上所述,白鲜皮可致小鼠脑组织病理学损伤,且损伤主要部位为海马神经元。见图1。

**3.7 白鲜皮对小鼠脑组织中Akt1、TP53 mRNA水平的影响** 与空白组比较,白鲜皮给药组小鼠脑中Akt1 mRNA表达水平显著降低( $P < 0.01$ )、TP53 mRNA表达水平显著升高( $P < 0.01$ )。见表5。

**3.8 白鲜皮对小鼠脑组织中Akt1、p-Akt1、TP53蛋白水平的影响** 与空白组比较,白鲜皮组小鼠脑组织中Akt1、p-Akt1蛋白水平显著降低( $P < 0.01$ ),TP53蛋白水平明显升高( $P < 0.05$ )。见图2、表6。



注:A.空白组;B.白鲜皮组(图2同)

图1 白鲜皮对小鼠脑组织中Akt1、p-Akt1、TP53蛋白表达的影响(×400)

Fig. 1 Effect of Dictamnini Cortex on protein expression of Akt1, p-Akt1, and TP53 in mouse brain tissue(×400)

表5 白鲜皮对小鼠脑组织中Akt1、TP53 mRNA水平的影响(̄x±s, n=3)

Table 5 Effect of Dictamnini Cortex on Akt1 and TP53 mRNA levels in mouse brain tissue (̄x±s, n=3)

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	Akt1	TP53
空白组		1.05±0.22	1.51±0.15
白鲜皮组	92.7	0.45±0.12 <sup>1)</sup>	3.25±1.25 <sup>1)</sup>

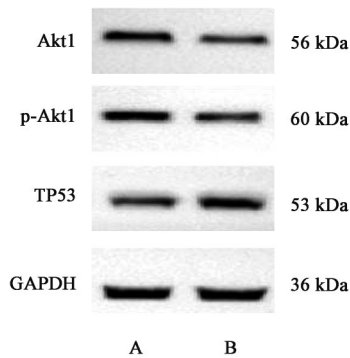


图2 各组小鼠脑组织中Akt1、p-Akt1、TP53蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of protein expressions of Akt1, p-Akt1 and TP53 in brain tissues of mice in each group

表6 白鲜皮对小鼠脑组织中Akt1、p-Akt1、TP53蛋白表达的影响(̄x±s, n=3)

Table 6 Effect of Dictamnini Cortex on protein expression of Akt1, p-Akt1, and TP53 in mouse brain tissue (̄x±s, n=3)

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	Akt1 /GAPDH	p-Akt1 /GAPDH	TP53 /GAPDH
空白组		1.06±0.036	4.83±0.11	0.86±0.02
白鲜皮组	92.7	0.68±0.025 <sup>2)</sup>	0.84±0.01 <sup>2)</sup>	1.09±0.13 <sup>1)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup>P<0.05,<sup>2)</sup>P<0.01(表7同)

3.9 白鲜皮对小鼠脑组织代谢轮廓的影响 采用PCA来衡量不同组的聚类情况,空白组与白鲜皮给

药组在PCA评分图中明显分开,显示白鲜皮导致小鼠脑组织代谢水平发生显著改变;为了探讨两组间代谢物差异,建立OPLS-DA模型进行分析,OPLS-DA得分图模型进行200次随机置换检验,正离子模式下模型参数 $R^2Y=1, Q^2=0.999$ ,负离子模式下模型参数 $R^2Y=0.997, Q^2=0.994, R^2Y、Q^2$ 均接近1,表明模型具有较高的解释率及预测率,且 $R^2Y$ 均 $>Q^2$ ,表明未发生过拟合,模型可靠。观察S-plot图可知,大多数代谢产物离子在坐标原点周围聚集,偏离原点的离子占少数,这些偏离原点的离子说明两组之间存在差异,见增强出版附加材料。

3.10 白鲜皮对小鼠脑组织内源性潜在生物标志物的影响 通过对小鼠脑组织样本代谢产物变化的预测,寻找符合VIP>1, Fold Change>1.2或<0.8及q-value<0.05的代谢产物,空白组与白鲜皮给药组经比较发现40个差异代谢产物,经过离子强度的比较分析,与空白组比较,白鲜皮导致31个生物标志物显著性上调,9个生物标志物显著性下调,见增强出版附加材料。

3.11 白鲜皮对小鼠脑组织中代谢通路的影响 将小鼠脑组织样本中筛选出的潜在生物标志物进行富集分析,以临界值应>0.10为条件筛选,结果显示共涉及13条代谢通路,其中P<0.05且影响值>0的关键代谢途径主要为苯丙氨酸代谢、甘油磷脂代谢、视黄醇代谢等,见增强出版附加材料。

#### 4 整合分析网络毒理学与代谢组学

采用pearson相关性系数,对网络毒理学筛选出的核心靶点Akt、TP53及代谢组学所筛选出的40个差异代谢物进行相关性分析,通过聚类构建代谢物-蛋白相关性网络图,可视化显示Akt、p-Akt、TP53与40种代谢物集群存在显著性关联,见增强出版附加材料。其中,58对正相关,62对负相关,|R|>0.999为8对,其中以p-Akt与Retinyl ester相关性最强,见表7。该分析揭示Akt、TP53可能通过调控差异代谢物及涉及的关键通路参与白鲜皮诱导神经损伤过程,且核心调控途径可能为p-Akt参与调控的Retinol metabolism代谢途径,这为解析白鲜皮所致神经损伤机制提供了多组学整合证据。

#### 5 讨论

本研究采用网络毒理学预测白鲜皮诱发神经毒性的潜在机制,网络毒理学结果显示,白鲜皮通过调节毒性靶点Akt1、TP53进而调控PI3K/Akt通路进而影响氧化应激、细胞凋亡等多种生物进程进而发挥神经损伤。且研究发现,毒性成分为白鲜

表7 差异代谢物与靶基因相关性分析

Table 7 Correlation analysis between differential metabolites and target genes

编号	Akt	p-Akt	TP53
HMDB0036811	0.990	0.999	-0.826
HMDB0003598	0.994	0.999	-0.830
HMDB0035631	0.989	0.999	-0.825
HMDB0031299	0.989	0.997	-0.822
HMDB0036565	0.990	0.999	-0.827
HMDB0031152	0.990	0.999	-0.821
HMDB0032913	0.990	0.998	-0.816
HMDB0035622	0.992	0.999	-0.829
HMDB0001999	0.988	0.998	-0.828
HMDB0012225	-0.987	-0.997	0.792
HMDB0003119	-0.989	-0.998	0.811
HMDB0034171	-0.991	-0.999	0.818
HMDB0002725	0.994	0.999	-0.831
HMDB0001065	-0.986	-0.997	0.792
HMDB0000567	-0.984	-0.996	0.780
HMDB0006236	-0.988	-0.998	0.802
HMDB0003447	-0.989	-0.997	0.849
HMDB0004186	-0.991	-0.998	0.829
HMDB0006482	0.991	0.996	-0.817
HMDB0029387	-0.956	-0.974	0.699
HMDB0036458	-0.971	-0.984	0.757
HMDB0001369	-0.902	-0.924	0.561
HMDB0036579	0.984	0.989	-0.838
HMDB0000157	0.973	0.988	-0.862
HMDB0030124	0.891	0.891	-0.934
HMDB0000620	-0.973	-0.976	0.726
HMDB0010382	-0.982	-0.995	0.801
HMDB0010397	-0.910	-0.950	0.703
HMDB0010396	-0.866	-0.916	0.655
HMDB0010395	-0.947	-0.968	0.781
HMDB0010383	-0.854	-0.884	0.693
HMDB0000917	-0.993	-0.998	0.850
HMDB0001095	0.977	0.993	-0.815
HMDB0012276	-0.984	-0.997	0.818
HMDB0011148	-0.952	-0.960	0.859
HMDB0003337	0.961	0.980	-0.777
HMDB0012108	-0.946	-0.964	0.839
HMDB0011637	0.850	0.868	-0.661
HMDB0005030	0.989	0.971	-0.845
HMDB0008069	-0.981	-0.989	0.750

碱、黄柏酮和栲酮。SOD是细胞中活性氧最重要的清除酶,当毒性物质体内积累时,细胞内抗氧化酶的清除能力被破坏,进而引起氧化应激,并在大脑中诱发神经损伤;此外,关于氧化应激引起的脂质过氧化,氧化的最终产物是MDA,具有细胞增殖抑制作用,MDA水平的检测可以评估细胞内氧化应激的水平<sup>[15-16]</sup>。氧化应激通过诱导脑组织损伤和逆行性改变来促进神经疾病的进展,大脑中的神经递质如ACh很可能在氧化应激条件下失活<sup>[17]</sup>。实验结果显示白鲜皮可降低抗氧化酶SOD活性且降低ACh含量,升高脂质过氧化物MDA含量,从而产生神经损伤,这可能与其促进氧化应激反应有关<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,白鲜皮诱导小鼠脑组织病理损伤,降低脑组织中SOD、ACh水平、升高脑组织中MDA水平,提示白鲜皮通过调节MDA、SOD、ACh水平进而调控氧化应激水平,最终诱发神经损伤。

PI3K/Akt信号通路是调节细胞凋亡的经典信号通路,PI3K/Akt信号转导在神经元中发挥抗神经炎症、抗氧化应激和抗凋亡特性<sup>[19-21]</sup>。PI3K是一种细胞内磷脂酰肌醇激酶,可以诱导Akt的磷酸化,Akt可以磷酸化细胞中的一系列蛋白质成分,从而发挥抗凋亡作用<sup>[22-25]</sup>。同时研究显示,TP53通过结合和抑制编码p3α的PIK3CA来调节PI110K,并减少Akt活化,有证据表明抑制Akt活化来阻止TP53的降解<sup>[26-27]</sup>。本研究结果显示,白鲜皮可降低小鼠脑组织中Akt1 mRNA水平及Akt1、p-Akt1蛋白水平,升高小鼠脑组织中TP53 mRNA及TP53蛋白表达水平,进一步提示白鲜皮所致神经损伤机制为降低Akt1活化,抑制TP53的降解,进而调控PI3K/Akt信号通路,进而诱发细胞凋亡,从而导致神经损伤。

非靶向代谢组学结果进一步提示,白鲜皮扰乱小鼠脑组织中40种代谢物水平,进而调控13条代谢途径诱发神经损伤,其中以苯丙氨酸、甘油磷脂及视黄醇代谢途径较为显著。苯丙氨酸是人体必需氨基酸之一,属于芳香族氨基酸。作为一种必需氨基酸,苯丙氨酸可以通过血脑屏障,影响多巴胺和肾上腺素等关键神经传导物质的合成,直接影响脑部的化学状态<sup>[28]</sup>。本研究显示,白鲜皮可升高小鼠脑组织中的Enol-phenylpyruvate进而扰乱苯丙氨酸代谢途径。与此同时,相关研究显示,甘油磷脂代谢紊乱会影响神经元的结构和功能,本研究结果显示,白鲜皮可扰乱小鼠脑组织中LysoPC(16:0/0:0)、LysoPC[20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)/0:0]、LysoPC[20:4(8Z,11Z,14Z,17Z)/0:0]、LysoPC

[20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/0:0]、LysoPC(16:1(9Z)/0:0)、PC[18:1(9Z)e/2:0]、PC[18:1(11Z)/18:0]、LysoPC(17:0/0:0)水平进而扰乱甘油磷脂代谢稳态<sup>[29]</sup>。以往的研究也表明,类视黄醇信号是神经元发育、成熟和分化的决定因素<sup>[30-31]</sup>,其包含的视网醇、视网醛、视网酸与视网酯等物质参与细胞分化、抗氧化活性、炎症及神经元可塑性等几个重要的稳态过程,在阿尔茨海默病等神经退行性疾病的发病机制和病理生理学中起到重要作用<sup>[32-33]</sup>,其稳态失衡也可诱发海马神经的病变<sup>[34]</sup>。本研究结果显示,白鲜皮干预后,小鼠脑组织中视网酯含量显著下调,提示,白鲜皮通过影响视网酯等代谢物水平,进而扰乱视黄醇代谢稳态。整合分析可知,Akt1、p-Akt1、TP53与苯丙氨酸、甘油磷脂及视黄醇代谢物具有显著相关性,提示白鲜皮通过调节Akt1、p-Akt1、TP53进而调控苯丙氨酸、甘油磷脂及视黄醇代谢途径进而诱发小鼠神经损伤,其中以p-Akt参与调控的视黄醇代谢途径为核心毒性机制。综上所述,白鲜皮可诱发小鼠神经损伤,其潜在作用机制可能与激活氧化应激水平、抑制PI3K/Akt信号通路、调控苯丙氨酸、甘油磷脂以及视黄醇代谢途径密切相关。

**[利益冲突]** 刘树民为本刊编委,未参与本文的审校环节,本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 高丽娜,李睿超,周长征,等. 白鲜皮化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2022,47(14):3723-3737.  
GAO L N, LI R C, ZHOU C Z, et al. Chemical constituents and pharmacological effects of Dictamnii Cortex: A review [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(14): 3723-3737.
- [2] 陈禹竹,徐晓敏,刘树民,等. 白鲜皮及其有效成分的药理作用研究进展[J]. 药物评价研究,2024,47(2):409-418.  
CHEN Y Z, XU X X, LIU S M, et al. Research progress on pharmacological effects of Cortex Dictamnii and its active ingredients [J]. Drug Evaluat Res, 2024, 47(2): 409-418.
- [3] 贾旭晨,许妍妍,李遇伯. 复方青黛制剂及单味药的毒性研究进展[J]. 中草药,2023,54(24):8282-8289.  
JIA X C, XU Y Y, YU Y B. Research progress on toxicity of compound Qingdai preparation and single drug [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(24): 8282-8289.
- [4] 范琼尹,赵保胜,张晶璇,等. 痔血胶囊肝毒性药物因素分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(1):150-157.  
FAN Q Y, ZHAO B S, ZHANG J X, et al. Analysis on drug factors for hepatotoxicity of Zhixue capsule [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2018, 24(01): 150-157.
- [5] 石伟,高源,郭玉明,等. 基于免疫应激的白鲜皮致特异质肝损伤评价研究[J]. 药学报,2019,54(4):678-686.

- SHI W, GAO Y, GUO Y M, et al. Idiosyncratic hepatotoxicity evaluation of Cortex Dictamnii based on immune stress [J]. Acta Pharm Sin, 2019, 54(4): 678-686.
- [6] LIN Q, GUAN H, MA C, et al. Biotransformation patterns of dictamnine *in vitro/in vivo* and its relative molecular mechanism of dictamnine-induced acute liver injury in mice [J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2021, 85: 103628.
- [7] XU X, LU F, YU D, et al. Cortex Dictamnii induces retinitis pigmentosa in zebrafish by inhibiting pde6a post-transcriptional activity via mmu-mir-6240-p3\_2 [J]. J Ethnopharmacol, 2025, 340: 119282.
- [8] 范晓辉,赵筱萍,金焯成,等. 论建立网络毒理学及中药网络毒理学研究思路[J]. 中国中药杂志,2011,36(21):2920-2922.  
FAN X H, ZHAO X P, JIN Y C, et al. Network toxicology and its application to traditional Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2011, 36(21): 2920-2922.
- [9] LI Y, ZHANG Y, WANG Y, et al. A strategy for the discovery and validation of toxicity quality marker of Chinese medicine based on network toxicology [J]. Phytomedicine, 2019, 54: 365-370.
- [10] LIU C, ZHANG C, HE T, et al. Study on potential toxic material base and mechanisms of hepatotoxicity induced by *Dysosma versipellis* based on toxicological evidence chain (TEC) concept [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2020, 190: 110073.
- [11] LIAO Y, DING Y, YU L, et al. Exploring the mechanism of *Alisma orientale* for the treatment of pregnancy induced hypertension and potential hepato-nephrotoxicity by using network pharmacology, network toxicology, molecular docking and molecular dynamics simulation [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 1027112.
- [12] DING H, LIU Y, WANG S, et al. Metabolomics as an emerging tool for the pharmacological and toxicological studies on *Aconitum* alkaloids [J]. Chin J Nat Med, 2025, 23(2): 182-190.
- [13] YUE Y, ZOU L, TAO J, et al. Transcriptomics and metabolomics together reveal the underlying mechanism of heroin hepatotoxicity [J]. Toxicology, 2023, 483: 153393.
- [14] LI R, LUO C, QIU J, et al. Metabolomic and transcriptomic investigation of the mechanism involved in enantioselective toxicity of imazamox in *Lemna minor* [J]. J Hazard Mater, 2022, 425: 127818.
- [15] HAO M, LIU R. Response to the comments on: Molecular mechanism of CAT and SOD activity change under MPA-CdTe quantum dots induced oxidative stress in the mouse primary hepatocytes [J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc, 2020, 231: 117872.
- [16] DISASA D, CHENG L, MANZOOR M, et al. Amarogentin from gentiana rigescens franch exhibits antiaging and neuroprotective effects through antioxidative stress [J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 3184019.
- [17] WANG Z X, LIAN W W, HE J, et al. Cornuside ameliorates

- cognitive impairments in scopolamine induced AD mice: Involvement of neurotransmitter and oxidative stress [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 293:115252.
- [18] BAARINE M, ANDRÉOLETTI P, ATHIAS A, et al. Evidence of oxidative stress in very long chain fatty acid-treated oligodendrocytes and potentialization of ROS production using RNA interference-directed knockdown of ABCD1 and ACOX1 peroxisomal proteins [J]. *Neuroscience*, 2012, 213:1-18.
- [19] CHEN S, PENG J, SHERCHAN P, et al. TREM2 activation attenuates neuroinflammation and neuronal apoptosis via PI3K/Akt pathway after intracerebral hemorrhage in mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17 (1):168.
- [20] ZHU M, LI D, WU Y, et al. TREM-2 promotes macrophage-mediated eradication of *Pseudomonas aeruginosa* via a PI3K/Akt pathway [J]. *Scand J Immunol*, 2014, 79 (3):187-196.
- [21] LV M R, LI B, WANG M G, et al. RETRACTED: Activation of the PI3K-Akt pathway promotes neuroprotection of the  $\delta$ -opioid receptor agonist against cerebral ischemia-reperfusion injury in rat models [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93:230-237.
- [22] ZHOU F, WANG Z, XIONG K, et al. Alantolactone reduced neuron injury via activating PI3K/Akt signaling pathway after subarachnoid hemorrhage in rats [J]. *PLoS One*, 2022, 17 (6):e0270410.
- [23] LEE K C, CHEN Y L, LIN P Y, et al. Ursolic acid-induced apoptosis via regulation of the PI3K/Akt and MAPK signaling pathways in Huh-7 cells [J]. *Molecules*, 2018, 23 (8):2647.
- [24] LI T, KILIC A, WEI X, et al. Regional imbalanced activation of the calcineurin/BAD apoptotic pathway and the PI3K/Akt survival pathway after myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 166 (1):158-165.
- [25] ZHU Q, ENKHJARGAL B, HUANG L, et al. Aggf1 attenuates neuroinflammation and BBB disruption via PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway after subarachnoid hemorrhage in rats [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15 (1):178.
- [26] PORTA C, PAGLINO C, MOSCA A. Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling in cancer [J]. *Front Oncol*, 2014, 4:64.
- [27] EUSTACE A J, LEE M J, COLLEY G, et al. Aberrant calcium signalling downstream of mutations in TP53 and the PI3K/Akt pathway genes promotes disease progression and therapy resistance in triple negative breast cancer [J]. *Cancer Drug Resist*, 2022, 5 (3):560-576.
- [28] 常佳东, 吴江, 韩瑞, 等. 整合脑组织代谢组学和肠道菌群测序分析研究酸枣仁汤抗抑郁的作用机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(3):905-918.
- WU J D, WU J, HAN R, et al. Study on anti-depression mechanism of Suanzaoren decoction by integrated brain metabolomics and gut microbiota sequencing analysis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2025, 56(3):905-918.
- [29] LI Y, WANG L, WANG H, et al. Polysaccharides from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves alleviates alcohol-induced mouse brain injury and BV-2 microglial dysfunction [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 273 (Pt 1):132887.
- [30] SNODGRASS S R. Vitamin neurotoxicity [J]. *Mol Neurobiol*, 1992, 6 (1):41-73.
- [31] MACDONALD P N, BOK D, ONG D E. Localization of cellular retinol-binding protein and retinol-binding protein in cells comprising the blood-brain barrier of rat and human [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87 (11):4265-4269.
- [32] LANE M A, BAILEY S J. Role of retinoid signalling in the adult brain [J]. *Prog Neurobiol*, 2005, 75 (4):275-293.
- [33] MARIE A, DARRICAU M, TOUYAROT K, et al. Role and mechanism of vitamin A metabolism in the pathophysiology of Parkinson's disease [J]. *J Parkinsons Dis*, 2021, 11 (3):949-970.
- [34] ARFAOUI A, NASRI I, BOULBAROUD S, et al. Effect of vitamin A deficiency on retinol and retinyl esters contents in rat brain [J]. *Pak J Biol Sci*, 2009, 12(13):939-948.

[责任编辑 周冰冰]