

山药储藏蛋白Dioscorin研究进展

高琦^{1,2}, 王晓文¹, 贾有峰¹, 张俊伟¹, 于唐滢¹, 薛友林^{1,*}

(1. 辽宁大学轻工产业学院, 辽宁 沈阳 110036; 2. 辽宁行政学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 作为传统的药食同源物品, 山药含有丰富的营养及保健成分, 包括淀粉、多糖、酚类、蛋白等。其中山药储藏蛋白Dioscorin占山药总可溶性蛋白的80%。本文综述了Dioscorin的提取工艺、基本特征及其所具有的多种生物活性, 为山药蛋白的进一步开发和利用提供参考。

关键词: 山药储藏蛋白; Dioscorin; 提取工艺; 生物活性

Recent Progress in Yam Storage Protein Dioscorin

GAO Qi^{1,2}, WANG Xiao-wen¹, JIA You-feng¹, ZHANG Jun-wei¹, YU Tang-ying¹, XUE You-lin^{1,*}

(1. College of Light Industry, Liaoning University, Shenyang 110036, China;

2. Liaoning Administrative College, Shenyang 110161, China)

Abstract: As a traditional Chinese medicine and a common tuber crop, yam contains many nutritional and health-protective substances, including starch, polysaccharides, phenolic compounds and proteins. Approximately 80% of the total soluble proteins in yam tuber are dioscorins. In this paper, we review the recent progress in research on the extraction of dioscorins from yam and the characteristics and multiple biological activities of these storage proteins, aiming to provide references for further development and utilization of dioscorins from yam tubers.

Key words: yam storage proteins; Dioscorin; extraction technique; biological activity

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)11-0299-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201411059

山药为薯蓣科(Dioscoreaceae)薯蓣属多年生草质藤本植物, 主要种植于非洲、亚洲、南美洲, 以及加勒比海和南太平洋群岛地区。现已记录的山药有600多种, 其主要的栽培品种为: *D. alata*、*D. bulbifera*、*D. cayenensis*、*D. esculenta*、*D. japonica*、*D. nummularia*、*D. opposita*、*D. pentaphylla*、*D. rotundata*和*D. trifid*^[1]。在亚洲, *D. alata*、*D. japonica*和*D. opposita*作为主要的栽培品种, 被广泛应用于健康食品 and 传统草药^[2-3]。我国山药资源丰富, 东北、华北、西南、华东和华中地区的17个省市都有种植, 其中比较知名的有主产于河南的怀山药(*D. opposita* Thunb.), 江浙至云贵一带的参薯(*D. alata* L.)以及在长江以南广泛种植的日本薯蓣(*D. japonica* Thunb.)^[4]。《本草纲目》记载, 山药“主治伤中, 补虚羸, 除寒热邪气, 补中益气力, 长肌肉, 久服耳目聪明, 轻身不饥延年”^[5]。山药含有丰富的蛋白质, 其含量为山药干质量的3%左右, 其储藏蛋白Dioscorin占山药块根总蛋白质含量的80%以上^[6]。

1 Dioscorin的提取及纯化

Harvey与Boulter最初使用碱溶法, 将冻干的*D. rotundata* cv Nwapoko粉末加入pH 8.3的硼酸或Tris缓冲液中(1:20, m/V), 4℃搅拌4 h后, 30 000×g离心取上清液, 上清液经阴离子交换层析(DE-52)纯化后得到了Dioscorin(占总可溶蛋白的85%)^[5]。其后的Dioscorin提取虽然都以鲜山药作为原料, 但基本都以碱溶法为主, 只是纯化方法稍有不同: Conlan等^[7]使用Sephadex G-75凝胶层析法纯化了从*D. cayenensis-rotundata*中得到的Dioscorin; 而在一些文献中, 在离子交换层析/色谱(DE-52、DEAE Sephadex A-25、Resource Q)之前, 会进行硫酸铵沉淀处理(保留45%~75%之间组分), 以除去杂蛋白及黏多糖等杂质^[8-10]。

2 Dioscorin的基本特征

Dioscorin作为细胞质蛋白凝聚体存在于山药块根的

收稿日期: 2013-07-25

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31201285); 教育部留学回国人员科研启动基金项目(教外司留2013693);

辽宁大学大学生创新创业训练计划项目(X201210140017; X201310140020)

作者简介: 高琦(1980—), 女, 博士研究生, 主要从事植物活性成分研究。E-mail: gaoqi0952@163.com

*通信作者: 薛友林(1980—), 男, 副教授, 博士, 主要从事农产品加工及食物营养研究。E-mail: xueyoulin@lnu.edu.cn

液泡中^[7,11],虽然来源于不同品种,但其分子量均大致为31 kD^[6,11,13]。此蛋白质为多种异形体(isoform)的混合物,早期的研究根据其基因序列将其分为A与B两大类,两者氨基酸相似度为69.6%,且其分子中均含有链内的二硫键^[6-7,11](半胱氨酸位置见图1)。PAS(periodic acid-schiff)法与荧光法不能将*D. rotundata* cv Nwapoko来源的Dioscorin染色^[6],而Con A-peroxidase染色法能够使4种其他来源的Dioscorin显色(*D. batatas*、*D. alata*、*D. pseudojaponica*、*D. japonica*)^[10,12],说明Dioscorin的糖基化可能与其品种有关,或其所携带的糖链部分比较小,较难染色。Dioscorin与 α -碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)的氨基酸序列相似度较高(图1),虽然其 α -CA活性部位(图1中 Δ 标记)的3个组氨酸中有一个变为谷氨酰胺,但不同来源的Dioscorin仍具有CA活性^[7-8,12,14]。圆二色光谱^[10,15]与近红外傅里叶变换拉曼光谱^[13]结果显示,Dioscorin主要由 α -螺旋和反平行 β -折叠组成。目前,Dioscorin已经被成功的结晶化,且已得到初步的单晶X射线衍射数据^[16],在不远的将来其三维立体结构(图2)将帮助我们更加深入地了解其多活性机理。

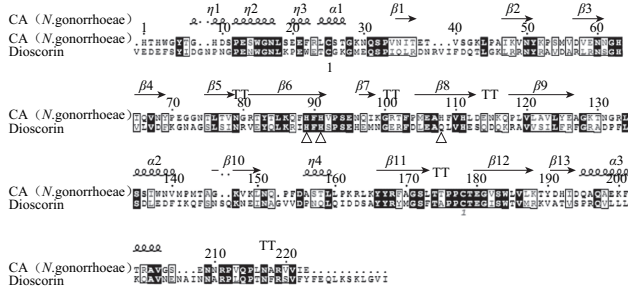


图1 Dioscorin (*D. japonica*) 与 *N. gonorrhoeae* CA 的序列比对

Fig.1 Sequence alignment of *D. japonica* dioscorin and *N. gonorrhoeae* CA

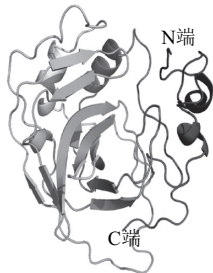


图2 基于 *N. gonorrhoeae* CA 的Dioscorin结构模型 (SWISS-MODEL)

Fig.2 Structural model of dioscorin based on its homology with that of *N. gonorrhoeae* CA

3 Dioscorin的生物活性

3.1 α -CA活性

碳酸酐酶是一族含锌酶,主要催化 CO_2 和 HCO_3^- 之间的可逆转换,其 CO_2 固定作用对植物和蓝藻的光合十

分重要。在动物中,CA参与体内酸碱平衡调节,离子交换及呼吸作用等过程。CA大致分为5类: α 、 β 、 γ 、 δ 与 ε ,目前的研究主要集中在存在于脊椎动物、细菌、藻类及植物胞浆中的 α 与存在于高等植物及藻类叶绿体的 β 上^[7,12,17-18]。尽管Dioscorin的 α -CA活性部位残基出现了一个错位,但Hou等^[8]于1999年首次使用pH-stat法(反应方向为碳酸氢钠脱水方向,使用0.1 mol/L硫酸自动滴定至pH 7.1)及SDS-PAGE溴百里酚蓝活性染色证明了*D. batatas* Decne来源的Dioscorin的确具有CA活性。随后,5种其他来源的Dioscorin均被活性染色法证明具有CA活性。但此活性不依赖于Zn而存在,且添加乙酰唑胺(CA抑制剂)或2,6-吡啶二甲酸(锌螯合剂)均不影响Dioscorin的CA活性,说明Dioscorin的CA活性机理可能与传统 α -CA不同^[12]。Xue等^[10]于2012年克隆并在大肠杆菌中表达了Dioscorin (*D. japonica*),其CA活性保持不变。

3.2 胰蛋白酶抑制剂(trypsin inhibitor, TI)活性

蛋白类蛋白酶抑制剂广泛地存在于植物王国中,其相对紧凑的抑制结构域能与靶蛋白酶活性部位相互作用,竞争性抑制其与底物的接触,从而降低酶的活性。在植物中,蛋白酶抑制剂参与种子的休眠和萌发过程中内源性蛋白酶活力的调节,抑制昆虫、真菌等外源性蛋白酶以保护植物免受侵害^[19-20]。近年来植物来源TI因其具有多种药理活性,如抗炎、抗癌、抗病毒等,引起了广泛关注^[21]。Hou等^[8]经活性测定(抑制胰蛋白酶对*N*-benzoyl-L-arginine-4-nitroanilide的水解)、SDS-PAGE活性染色及PVDG免疫染色(兔抗38 kD红薯TI多克隆抗体)证明了*D. batatas* Decne来源的Dioscorin具有TI活性^[8]。随后,5种其他来源的Dioscorin均被活性染色法证明具有TI活性^[12]。此外,重组Dioscorin (*D. japonica*)也被证明具有TI活性^[10]。

3.3 抗氧化活性

脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, DHAR)与单脱氢抗坏血酸还原酶(monodehydroascorbate reductase, MDHAR)均是谷胱甘肽-抗坏血酸循环系统中重要的酶,能够保护植物免受活性氧的攻击^[22]。Hou等^[23]发现*D. batatas* Decne来源的Dioscorin接近中性pH值时具有DHAR与MDHAR活性。但经大肠杆菌表达后,两种活性均消失,此现象可能与大肠杆菌表达系统无法表达糖蛋白的糖链有关^[10]。此外,还发现*D. batatas* Decne来源的Dioscorin能够清除DPPH自由基与羟自由基,且存在剂量依赖关系^[24]。为模拟其在体内的消化状况,胃蛋白酶被加入*D. alata* L.cv. Tainong1来源的Dioscorin,其水解产物的DPPH自由基清除能力随水解时间的延长而增强^[25]。通过电脑模拟胃蛋白酶对Dioscorin的水解,4种人工合成的含硫Dioscorin短

肽均显示了不同的抗氧化能力,其中KTCGY的抗氧化能力最强^[26]。

3.4 免疫调节活性

Toll样受体(TLR)是天然免疫反应中重要的细胞表面模式识别受体,迄今为止人体内已鉴定出了10种TLR^[27]。Fu等^[28]发现*D. alata*来源的Dioscorin能够通过TLR4激活NF- κ B与MAPKs信号通路,诱导C3H/HeN小鼠骨髓细胞与小鼠巨噬细胞RAW264.7的诱生型一氧化氮合酶(iNOS)与促炎性细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 与IL-6)的表达,而在C3H/HeJ小鼠(TLR4基因突变型)中此功能不存在。此外,Liu等^[29]发现*D. alata* cv. Tainong No. 1来源的Dioscorin不仅能够增强RAW264.7细胞的细菌吞噬作用与氧化迸发(oxidative burst)活性,还能够促进BALB/c小鼠肾脏细胞的增殖。为了评价Dioscorin经消化后的作用效果,Liu等^[30]将相同来源的Dioscorin饲喂(2.5与20 mg/kg·day)给BALB/c小鼠21 d后发现:淋巴细胞亚群中B细胞与自然杀伤细胞水平升高;多形核细胞、单核白细胞的吞噬作用与自然杀伤细胞的胞毒性显著增强;脾细胞增殖得到促进,说明此免疫调节作用与黏膜免疫应答相关性较大。经小鼠腹腔注射,*D. alata*和*D. japonica*来源的Dioscorin显示出不同的免疫调节效果,其中*D. alata*来源的Dioscorin能增强淋巴细胞的吞噬作用,而*D. japonica*来源的Dioscorin对淋巴细胞的增殖更有效果^[9]。

3.5 凝集素活性

凝集素(Lectin)是一种从各种植物,无脊椎动物和高等动物中提纯的糖蛋白或结合糖的蛋白,在细胞识别和黏着反应中起重要作用。许多植物凝集素如植物血凝素、刀豆素A等可作为丝裂原,在免疫学中广泛用于促进淋巴细胞的增殖^[31]。Gaidamashvili等^[15]从*D. batatas*中纯化出4种蛋白质,其中DB2(占总提取蛋白的50%)被鉴定为A类Dioscorin,不具有凝集素活性;而另外3种蛋白(DB1、DB3与DB4)均具有凝集素活性。DB3的大亚基由2个31 kD的部分经二硫键连接组成,其与B类Dioscorin的氨基酸同源性较高(90%),是DB3凝集素活性的主体。然而,Dioscorin的淋巴细胞增殖(免疫调节)作用与其凝集素活性是否相关还需要进一步验证。

3.6 抗高血压活性

肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)是人体调节血压与体液平衡的关键系统,而血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)是此系统的关键酶,负责催化血管紧张素I转化为血管紧张素II(具有收缩血管活性),从而使血压升高^[32]。Hsu等^[33]最先报道了*D. alata* cv. Tainong No. 1来源的Dioscorin及其酶解(胃蛋白酶)产物均能够剂量相关地抑制ACE,且Dioscorin

对ACE为混合非竞争性抑制,其IC₅₀为6.4 μ mol/L。在随后的实验中,Lin等^[34]将相同来源的Dioscorin与其水解物饲喂给自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR):在24 h实验中,按40 mg/kg体重饲喂一次,蛋白及其水解物均能显著降低SHR的平均压,收缩压与舒张压,且其降低水平与卡托普利(市售降压药)相当;在25 d实验中,每天一次按40 mg/kg体重质量饲喂蛋白,血压在第9天降到最低,且降压效果持续到实验结束。为了评价Dioscorin对人体的作用效果,Liu等^[35]经安慰剂对照双盲法人体实验证明,含dioscorin的饮食(140 mg)对高血压人群具有血压调节作用,但不排除山药的其他成分在该实验中起到了类似的作用。

3.7 呼吸道上皮细胞保护活性

呼吸道上皮细胞是呼吸道防御病原体感染的第一道屏障,通过3种方式抵御外来病原体侵害:黏膜纤毛的清除功能;细胞间紧密连接调节上皮细胞旁通透性;分泌抗菌成分杀死吸入的病原菌^[36]。尘螨提取液不仅是一种过敏原而且还具有胰蛋白酶活性,能够破坏支气管上皮细胞的紧密连接。Ko等^[37]发现Dioscorin能够通过维持细胞间紧密连接结构与表达紧密连接相关蛋白(ZO-1, EC与DP)来保护A549细胞不受尘螨提取液侵害,其保护作用可能与其胰蛋白酶抑制剂活性有关。氧化应激会导致呼吸道上皮细胞旁通透性增加。Hsu等^[38]发现Dioscorin能削弱过氧化氢引起的G2/M期阻滞,抑制IL-8的分泌,减少过氧化氢诱导的黏附分子的表达,从而起到对A549细胞氧化应激损伤的保护作用,其保护作用可能与其抗氧化与免疫调节活性有关。

4 展 望

山药储藏蛋白Dioscorin拥有很多生物活性,但目前其三维立体结构还未得到破解,其众多活性的分子机理还是未知。期待在不远的将来其三维立体结构能够带领我们更加深入地了解Dioscorin的多活性机理。

因山药产量、种植规模及蛋白提取工艺等多因素的制约,目前并没有山药蛋白产品问世,而山药也只是主要用作鲜食或作为传统中药材使用,附加值不高。在食品行业虽有山药粥、山药饮料、山药雪糕等,但并未形成山药深加工产品的广泛流通。在人们越来越关注健康的今天,随着食品加工技术的不断发展,针对不同人群的山药深加工系列产品必将不断涌现。

参考文献:

- [1] ASIEDU R, SARTIE A. Crops that feed the World 1. Yams: yams for income and food security[J]. Food Security, 2010, 2(4): 305-315.
- [2] AKANBI C T, GUREJE P O, ADEYEMI I A. Effect of heat-moisture

- pre-treatment on physical characteristics of dehydrated yam[J]. Journal of Food Engineering, 1996, 28(1): 45-54.
- [3] OMONIGHO S E, IKENEBOMEH M J. Effect of temperature treatment on the chemical composition of pounded white yam during storage[J]. Food Chemistry, 2000, 71(2): 215-220.
- [4] 宋君柳. 山药品种资源及化学成分研究进展[J]. 长江蔬菜, 2009(6): 1-5.
- [5] 黄桂东, 钟先锋, 易军鹏. 山药的研究概况[J]. 农产品加工: 学刊, 2006(7): 55-57.
- [6] HARVEY P J, BOULTER D. Isolation and characterization of the storage protein of yam tubers (*Dioscorea rotundata*)[J]. Phytochemistry, 1983, 22(8): 1687-1693.
- [7] CONLAN S, GRIFFITHS L A, TUMER M, et al. Characterization of the yam tuber storage protein dioscorin[J]. Journal of Plant Physiology, 1998, 153(1/2): 25-31.
- [8] HOU W C, LIU J S, CHEN H J, et al. Dioscorin, the major tuber storage proteins of yam (*Dioscorea batatas* Decne) with carbonic anhydrase and trypsin inhibitor activities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(5): 2168-2172.
- [9] LIN P L, LIN K W, WENG C F, et al. Yam storage protein dioscorins from *Dioscorea alata* and *Dioscorea japonica* exhibit distinct immunomodulatory activities in mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(11): 4606-4613.
- [10] XUE Y L, MIYAKAWA T, SAWANO Y, et al. Cloning of genes and enzymatic characterizations of novel dioscorin isoforms from *Dioscorea japonica*[J]. Plant Science, 2012(1): 14-19.
- [11] CONLAN R S, GRIFFITHS L A, NAPIER J A, et al. Isolation and characterisation of cDNA clones representing the genes encoding the major tuber storage protein (dioscorin) of yam (*Dioscorea cayenensis* Lam.) [J]. Plant Molecular Biology, 1995, 28(3): 369-380.
- [12] HOU W C, CHEN H J, LIN Y H. Dioscorins from different *Dioscorea* species all exhibit both carbonic anhydrase and trypsin inhibitor activities[J]. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 2000, 41(3): 191-196.
- [13] LIAO Y H, WANG C H, TSENG C Y, et al. Compositional and conformational analysis of yam proteins by near infrared fourier transform Raman spectroscopy[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(26): 8190-8196.
- [14] HEWETT-EMMETT D, TASHIAN R E. Functional diversity, conservation, and convergence in the evolution of the α -, β -, and γ -carbonic anhydrase gene families[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1996, 5(1): 50-77.
- [15] GAIDAMASHVILI M, OHIZUMI Y, IJIMA S, et al. Characterization of the yam tuber storage proteins from *Dioscorea batatas* exhibiting unique lectin activities[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(25): 26028-26035.
- [16] XUE Y L, MIYAKAWA T, SAWANO Y, et al. Crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of dioscorin from *Dioscorea japonica*[J]. Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 2012, 68(2): 193-195.
- [17] SUPURAN C T. Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2008, 7(2): 168-181.
- [18] GILMOUR K M. Perspectives on carbonic anhydrase[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2010, 157(3): 193-197.
- [19] MOSOLOV V V, GRIGOREVA L I, VALUEVA T A. Plant proteinase inhibitors as multifunctional proteins (review)[J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2001, 37(6): 643-650.
- [20] HABIB H, FAZILI K M. Plant protease inhibitors: a defense strategy in plants[J]. Biotechnology and Molecular Biology Reviews, 2007, 2(3): 68-85.
- [21] PARK S S, OHBA H. Suppressive activity of protease inhibitors from buckwheat seeds against human T-acute lymphoblastic leukemia cell lines[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2004, 117(2): 65-74.
- [22] DRAZKIEWICZ M, SKORZYNSKA-POLIT E, KRUPA Z. Effect of BSO-supplemented heavy metals on antioxidant enzymes in *Arabidopsis thaliana*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2010, 73(6): 362-369.
- [23] HOU W C, CHEN H J, LIN H Y. Dioscorin, the major tuber storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) with dehydroascorbate reductase and monodehydroascorbate reductase activities[J]. Plant Science, 1999, 149(2): 151-156.
- [24] HOU W C, LEE M H, CHEN H J, et al. Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(10): 4956-4960.
- [25] LIU Y H, LIANG H J, CHENG H C, et al. Comparisons of *in vitro* antioxidant activities of storage proteins in tuber of two *Dioscorea* species[J]. Botanical Studies, 2006, 47(3): 231-237.
- [26] HAN C H, LIU J C, FANG S U, et al. Antioxidant activities of the synthesized thiol-contained peptides derived from computer-aided pepsin hydrolysis of yam tuber storage protein, dioscorin[J]. Food Chemistry, 2013, 138(2/3): 923-930.
- [27] LEE C C, AVALOS A M, PLOEGH H L. Accessory molecules for Toll-like receptors and their function[J]. Nature Reviews Immunology, 2012, 12(3): 168-179.
- [28] FU S L, HSU Y H, LEE P Y, et al. Dioscorin isolated from *Dioscorea alata* activates TLR4-signaling pathways and induces cytokine expression in macrophages[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 339(1): 137-144.
- [29] LIU Y W, SHANG H F, WANG C K, et al. Immunomodulatory activity of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea alata* cv. Tainong No. 1) tuber[J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45(11): 2312-2318.
- [30] LIU Y W, LIU J C, HUANG C Y, et al. Effects of oral administration of yam tuber storage protein, dioscorin, to BALB/c mice for 21-days on immune responses[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(19): 9274-9279.
- [31] SOUZA M A, CARVALHO F C, RUAS L P, et al. The immunomodulatory effect of plant lectins: a review with emphasis on ArtinM properties[J]. Glycoconjugate Journal, 2013, 30(7): 641-657.
- [32] LU J, REN D F, XUE Y L, et al. Isolation of an antihypertensive peptide from alcalase digest of *Spirulina platensis*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(12): 7166-7171.
- [33] HSU F L, LIN Y H, LEE M H, et al. Both dioscorin, the tuber storage protein of yam (*Dioscorea alata* cv. Tainong No. 1), and its peptic hydrolysates exhibited angiotensin converting enzyme inhibitory activities[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(21): 6109-6113.
- [34] LIN C L, LIN S Y, LIN Y H, et al. Effects of tuber storage protein of yam (*Dioscorea alata* cv. Tainong No.1) and its peptic hydrolysates on spontaneously hypertensive rats[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86(10): 1489-1494.
- [35] LIU D Z, LIANG H J, HAN C H, et al. Feeding trial of instant food containing lyophilised yam powder in hypertensive subjects[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2009, 89(1): 138-143.
- [36] PARKER D, PRINCE A. Innate immunity in the respiratory epithelium[J]. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 2011, 45(2): 189-201.
- [37] KO Y H, LIN K W, HSU J Y, et al. Dioscorin protects tight junction protein expression in A549 human airway epithelium cells from dust mite damage[J]. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 2009, 42(6): 457-463.
- [38] HSU J Y, CHU J J, CHOU M C, et al. Dioscorin pre-treatment protects A549 human airway epithelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress[J]. Inflammation, 2013, 36(5): 1013-1019.