# DJ-1 蛋白稳定剂干预厄洛替尼诱导的肝脏毒性研究

薛涛[1a]，郭璐[1b]，莫建明[1b]，吴娟萍[1b]，何俏军[2]，管建明[1c*](1.湖州师范学院附属第一医院，a.分子医学实验中心，b.药学部，c.爱山医学体检中心，浙江 湖州 313000；2.浙江大学药物安全评价研究中心，杭州 310058)

**摘要：目的** 考察小分子酪氨酸激酶抑制剂厄洛替尼诱导的肝脏毒性，研究 DJ-1 蛋白稳定剂 Compound-23 的肝脏保护作用。**方法** 培养 Chang liver 细胞研究厄洛替尼对细胞的体外毒性作用，氧化应激的影响，以及细胞内 DJ-1 蛋白氧化还原状态的改变。SD 大鼠随机分为对照组，厄洛替尼肝损伤造模组及其合用 Compound-23 的高、低剂量组共 4 组，研究厄洛替尼的体内肝脏毒性，并通过对大鼠体质量，肝功能 AST、ALT、LDH 值，肝脏 GSH、SOD、MDA 值，肝脏坏死及凋亡程度的检测，评价 DJ-1 蛋白稳定剂 Compound-23 对厄洛替尼诱导的肝脏毒性的干预作用。**结果** 厄洛替尼在体内外均有肝脏毒性作用，诱导细胞内 ROS 水平的升高，DJ-1 蛋白等电点降低，二聚体的解离，呈现氧化应激状态。合用 DJ-1 蛋白稳定剂 Compound-23 高剂量组能显著改善厄洛替尼诱导的细胞凋亡损伤，细胞增殖抑制，大鼠体质量下降，肝功能值升高，氧化应激状态($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，以及肝脏坏死和凋亡的程度。**结论** 厄洛替尼通过诱导氧化应激，抑制 DJ-1 蛋白还原态活性产生肝脏毒性，DJ-1 蛋白稳定剂 Compound-23 通过减轻细胞损伤、改善肝功能、缓解氧化应激，对肝脏起保护作用。

**关键词：**酪氨酸激酶抑制剂；厄洛替尼；肝脏毒性；DJ-1；氧化应激

**中图分类号：**R965.3　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1007-7693(2021)24-3064-07

**DOI:** 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.24.002

**引用本文：**薛涛，郭璐，莫建明，等. DJ-1 蛋白稳定剂干预厄洛替尼诱导的肝脏毒性研究[J]. 中国现代应用药学，2021，38(24): 3064-3070.

## Study on the Intervention Effect of DJ-1-binding Compound on Erlotinib-induced Hepatotoxicity

XUE Tao[1a], GUO Lu[1b], MO Jianming[1b], WU Juanping[1b], HE Qiaojun[2], GUAN Jianming[1c*](*1.First People's Hospital Affiliated to Huzhou University, a.Center for Molecular Medicine, b.Department of Pharmacy, c.Center for Aishan Medical Examination, Huzhou 313000, China; 2.Center for Drug Safety Evaluation and Research of Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To investigate the hepatotoxicity induced by erlotinib, which was a small molecular tyrosine kinase inhibitor, and to observe the protective effect of DJ-1-binding compound Compound-23 on liver. **METHODS** To study the cytotoxic effect of erlotinib on cells *in vitro*, the effect on oxidative stress, and the changes of DJ-1 redox status in cultured Chang liver cell line. SD rats were randomly divided into 4 groups, including control group, erlotinib-induced liver injury model group, high dose and low dose of Compound-23 groups. The hepatotoxicity of erlotinib was studied *in vivo*, and the intervention effect of DJ-1-binding compound Compound-23 on erlotinib-induced hepatotoxicity was evaluated by detecting body weight of rats, the level of liver function index such as AST, ALT, LDH, the level of GSH, SOD, MDA in liver, liver necrosis, and apoptosis in rats. **RESULTS** Erlotinib caused hepatotoxicity both *in vitro* and *in vivo*, and induced the increase in ROS level, the decrease in isoelectric point of DJ-1, and the dissociation of DJ-1 dimer in cells, which indicated the oxidative stress status. High dose of DJ-1-binding compound Compound-23 group could significantly improve erlotinib-induced cell apoptosis damage, proliferation inhibition, weight loss, increase levels of liver function index and oxidative stress($P<0.05$ or $P<0.01$), as well as necrosis and apoptosis degree in rats. **CONCLUSION** Erlotinib induce hepatotoxicity by induce oxidative stress and inhibit reduced activity of DJ-1 protein, DJ-1-binding compound Compound-23 protect the liver by reducing cell damage, improving liver function, and attenuating oxidative stress.

**KEYWORDS:** tyrosine kinase inhibitors; erlotinib; hepatotoxicity; DJ-1; oxidative stress

随着人类生存环境的不断变化、生活习惯的改变和寿命的延长，肿瘤的发病率正在逐步上升。与肿瘤增殖相关的细胞信号转导通路中的蛋白激酶，已成为抗肿瘤药物作用的重要靶点之一。大量研究表明肿瘤细胞中蛋白激酶表达异常，而通过小分子化合物抑制蛋白激酶的异常活性可发挥抗肿瘤作用。因此，以蛋白激酶为靶点的抗肿瘤药物成为研发的重点和热点。厄洛替尼最早是由

**基金项目：**浙江省卫生健康科技计划(2021RC030)；浙江省自然科学基金项目(LQ15H310004)

**作者简介：**薛涛，男，博士，主管药师　Tel: (0572)2575084　E-mail: xuehutc@163.com　*通信作者：管建明，男，硕士，主任医师，教授　Tel: (0572)2575084　E-mail: guan9300@126.com

OSI Pharmaceuticals 与 Genentech 公司联合研发的一种新型的小分子酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor，TKI)，针对表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor，EGFR)酪氨酸激酶表现出显著的选择性抑制作用。目前厄洛替尼主要用于非小细胞肺癌的治疗，治疗效果优于传统的铂剂和多西紫杉醇，具有重要的临床应用价值[1]。

随着厄洛替尼在临床治疗中的广泛应用，由其引起的不良反应被逐渐发现，而厄洛替尼产生的肝脏毒性则更不容忽视。多个临床研究中心均发现厄洛替尼可诱导肝脏毒性，研究人员陆续报道了厄洛替尼引发的肝炎、肝衰竭、肝功能障碍引起乳酸中毒的临床不良反应案例[2-5]。此后出于用药安全的考虑，美国 FDA 明确发布了对该药的安全性警告。

通过化学结构模拟分析显示，厄洛替尼与对乙酰氨基酚、双氯芬酸钠、曲格列酮等可诱发肝脏毒性的药物一样，均能够在肝药酶的作用下形成苯醌亚胺的结构[6-7]，而苯醌亚胺可以共价结合并消耗细胞内谷胱甘肽(glutathione，GSH)，形成细胞内氧化应激状态[8]。DJ-1 蛋白参与了体内氧化还原状态的平衡，是抗氧化应激的新靶点[9]。研究表明 DJ-1 蛋白具有同源二聚体结构，对氧化状态敏感，氧化应激等因素可应激性上调细胞内 DJ-1 蛋白的表达，而 DJ-1 蛋白高表达可增强细胞抵抗氧化应激损伤的能力[10]。本实验从体内外 2 个方面进一步研究厄洛替尼诱导的肝脏毒性，并评价 DJ-1 蛋白稳定剂 Compound-23(*N*-[4-(8-甲基(4-氢咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基))苯基]-(3,4,5)三甲氧苯基甲酰胺，结构式见图 1)，在体外细胞水平和大鼠体内对厄洛替尼诱导的肝脏毒性的保护作用。

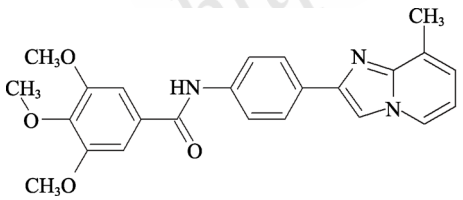


**图 1** Compound-23 的化学结构式
**Fig. 1** Chemical structure of Compound-23

## 1 材料

### 1.1 动物与试剂

SD 大鼠，♂，32 只，体质量 200 g 左右，购自上海斯莱克实验动物有限责任公司，生产许可证号：SCXK (沪) 2017-0005；Chang liver 细胞购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库；厄洛替尼(MCE 公司，货号：HY-50896)；Compound-23 (Enamine Ltd，货号：923946)；磺酰罗丹明 B (sulfonyl rhodamine B，SRB)(Merck，货号：230162)；TUNEL 试剂盒(碧云天，货号：C1086)；GSH 试剂盒(货号：A006-2-1)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase，SOD) 试剂盒(货号：A001-3-2)、丙二醛(malondialdehyde，MDA)试剂盒(货号：A003-1-2)均购自南京建成科技有限公司；PARP 抗体(货号：sc-8007)、DJ-1 抗体(货号：sc-55572)、Actin(货号：sc-8432)抗体均购自 Santa Cruz；ALT 试剂盒(货号：C009-2-1)、AST 试剂盒(货号：C010-2-1)、LDH 试剂盒(货号：A020-2-2)均购自南京建成科技有限公司。

### 1.2 仪器

3111 型细胞培养箱(Thermo Forma)；DG3022A 型酶标仪(Bio Tec)；DMI 4000B 型正置荧光显微镜(LEICA)；BD FACS Calibur 型流式细胞仪(Biosciences)；RM2235 型切片机(LEICA)；5910 R 型低温高速离心机(Eppendorf)；Western blotting 相关仪器(Bio-Rad)。

## 2 方法

### 2.1 SRB 法评价细胞存活率

细胞加入厄洛替尼培养 48 h 后，于预冷的 10%三氯醋酸固定，去离子水洗去，加入 0.4%的 SRB 染色。干燥后用非缓冲 Tris 碱液溶解，在平板振荡器上振荡后，使用酶标仪测定在 515 nm 的吸光度值(OD 值)。细胞存活率=加药组 OD 值/对照组 OD 值×100%。

### 2.2 二维电泳检测 DJ-1 蛋白等电点的变化

将蛋白样品加入含水化液的 EP 管混匀后，均匀上样加入电泳槽端，加入胶条在不同电压下进行电泳。电泳结束，取出胶条，于平衡液中平衡后，置于电泳槽两玻璃之间的 SDS 聚丙烯凝胶胶面上，排除气泡并加琼脂糖封胶液固定。继续电泳一定时间后，取出胶条并转至 PVDF 膜，进行 DJ-1 蛋白 Western blotting 检测。

### 2.3 流式细胞术检测活性氧(reactive oxygen species，ROS)含量

Chang liver 细胞接种于 6 孔板，置于细胞培养箱 24 h 后，分别给予指定浓度厄洛替尼作用 6 h 后，加入终浓度 10 μmol·L$^{-1}$的 $H_2$DCFDA，37 ℃作用 20 min 消化后 PBS 重悬，用流式细胞仪在

FL-1 通道测定绿色荧光强度，计算 ROS 含量变化。

**2.4** 分组与给药

将 32 只 SD 大鼠随机分成 4 组，对照组，厄洛替尼肝损伤造模组(100 mg·kg$^{-1}$)，Compound-23 高剂量组(100 mg·kg$^{-1}$)， Compound-23 低剂量组(50 mg·kg$^{-1}$)。每天 1 次灌胃给药，连续 15 d，并 1 周 3 次称体质量，在末次给药前尾静脉微量采血检测 AST、ALT 和 LDH 值，于第 15 天剖杀大鼠。

**2.5** ELISA 检测肝脏损伤标记物、氧化应激指标

大鼠剖杀后，取肝组织匀浆，于 4 ℃，3 000 r·min$^{-1}$ 离心，收集上清分装保存。严格按试剂盒说明书测定 GSH、SOD 和 MDA 值。

**2.6** HE 染色观察肝脏损伤

取大鼠左叶肝脏组织，经 4%甲醛水溶液缓冲液固定，常规石蜡包埋、切片及 HE 染色，光镜下观察肝组织损伤情况。

**2.7** TUNEL 法染色检测肝脏细胞凋亡情况

肝脏组织切片按照试剂盒说明书进行 TUNEL 染色，荧光显微镜下(488 nm 激发光，530 nm 吸收光)观察，TUNEL 阳性细胞特征为细胞核内呈绿色荧光，阴性细胞则无荧光。

**2.8** Western blotting 检测

严格按照试剂盒说明书操作，冰上裂解提取总蛋白，蛋白定量后调平行，SDS-PAGE 凝胶电泳分离并转至 PVDF 膜，脱脂牛奶室温封闭 1 h 后加入 1∶1 000 稀释的一抗，4 ℃孵育过夜，次日加入辣根过氧化物酶标记的对应二抗，孵育 2 h。最后滴加 ECL 发光液曝光，以β-actin 为内参。

**2.9** 统计学分析

使用 SPSS 18.0 统计软件对数据进行统计，实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。方差齐且服从正态分布，则组间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行检验，$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 3 结果

**3.1** 厄洛替尼对 Chang liver 细胞的毒性作用

SRB 法检测厄洛替尼对 Chang liver 细胞存活率的抑制作用，厄洛替尼作用 Chang liver 细胞 48 h 的 $IC_{50}$ 值为 18.6 μmol·L$^{-1}$。结果见图 2。

**3.2** 厄洛替尼对 Chang liver 细胞内 ROS 水平的影响

流式细胞术检测不同浓度厄洛替尼作用 Chang liver 细胞 6 h 后细胞内的 ROS 水平，随着药物作用浓度的升高，细胞内 ROS 呈现上升趋势。结果见图 3。

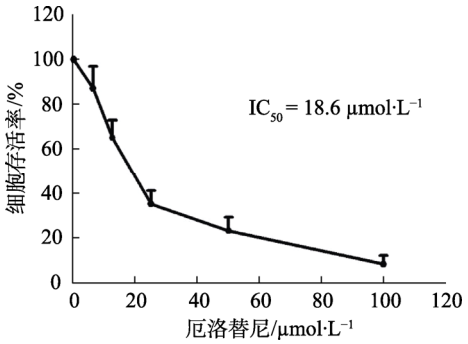


**图 2** 厄洛替尼作用 Chang liver 细胞的 $IC_{50}$ 值

**Fig. 2** $IC_{50}$ value of erlotinib on Chang liver cells

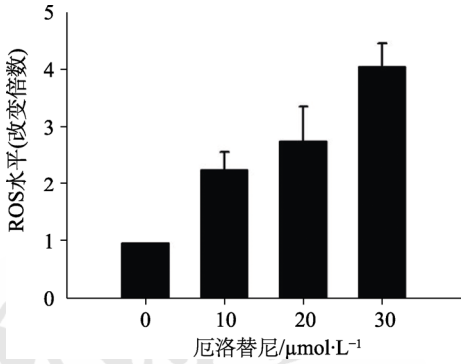


**图 3** 不同浓度厄洛替尼作用 Chang liver 细胞后 ROS 水平的变化

**Fig. 3** Change of ROS levels after treatment of Chang liver cells with varying concentrations of erlotinib

**3.3** 厄洛替尼作用 Chang liver 细胞后 DJ-1 蛋白等电点的变化

采用厄洛替尼 2 个不同浓度(15 μmol·L$^{-1}$<$IC_{50}$，30 μmol·L$^{-1}$>$IC_{50}$)分别处理 Chang liver 细胞，伴随作用浓度的提高，DJ-1 蛋白的氧化程度逐步增加，蛋白电泳等电点从 5.7 逐渐向 5.0 方向移动。DJ-1 蛋白等电点逐渐降低，提示其氧化态水平进一步提高。结果见图 4。

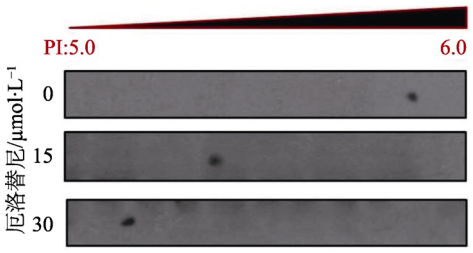


**图 4** 不同浓度厄洛替尼作用 Chang liver 细胞后的 DJ-1 蛋白等电点变化

**Fig. 4** Change of isoelectric point in DJ-1 protein after treatment of Chang liver cells with varying concentrations of erlotinib

**3.4** 厄洛替尼作用 Chang liver 细胞后 DJ-1 蛋白二聚体的变化

DJ-1 以二聚体的形式存在时具备抗氧化活

性，若二聚体发生解离(单体)，则抗氧化活性减弱甚至消失。当低浓度的厄洛替尼作用后，二聚体形式的 DJ-1 仍有部分存在，而当高浓度的厄洛替尼作用后，随着时间的延长，二聚体 DJ-1 逐渐解离消失。而 Compound-23(5 μmol·L$^{-1}$)作用 DJ-1 的稳定性未有明显变化。结果见图 5。

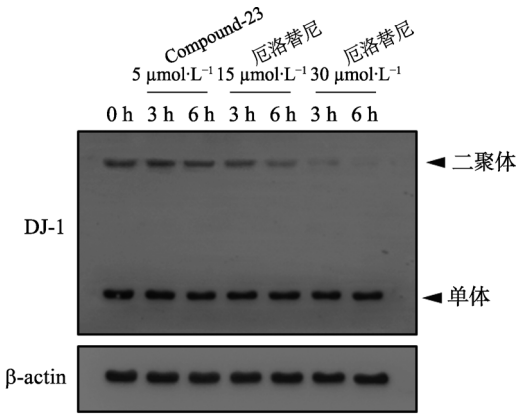


**图 5** Compound-23 和不同浓度厄洛替尼作用 Chang liver 细胞后的 DJ-1 蛋白二聚体的变化

**Fig. 5** Change of DJ-1 protein dimer after treatment with Compound-23 and varying concentrations of erlotinib on Chang liver cells

### 3.5 Compound-23 对厄洛替尼诱导的 Chang liver 细胞损伤具有保护作用

Chang liver 细胞孵育 Compound-23 后，随着诱导 PARP 蛋白裂解片段的厄洛替尼浓度增加，表达下降，凋亡程度降低。且 Compound-23 显著缓解厄洛替尼诱导的细胞增殖抑制程度。结果见图 6。

### 3.6 DJ-1 Compound-23 可逆转厄洛替尼对大鼠体质量减轻的影响

厄洛替尼 100 mg·kg$^{-1}$造模组大鼠体质量不断下降，而对照组大鼠的体质量持续增加，说明厄洛替尼对大鼠有毒性作用。合用 Compound-23 50，100 mg·kg$^{-1}$均能逆转厄洛替尼诱导的体质量下降，其中 Compound-23 100 mg·kg$^{-1}$的改善程度更显著。结果见图 7。

### 3.7 Compound-23 对厄洛替尼诱导的 AST、ALT 和 LDH 值的影响

AST、ALT 和 LDH 是动物肝脏功能的指标，反映体内肝细胞的损伤情况，厄洛替尼诱导能使 AST、ALT 和 LDH 升高，而合用 Compound-23 后 AST、ALT 和 LDH 都得到了一定程度的降低，特别是 LDH 值，下降尤为显著，表明 Compound-23 能抑制并减轻厄洛替尼诱导的肝细胞的损伤，改善肝脏功能。结果见图 8。

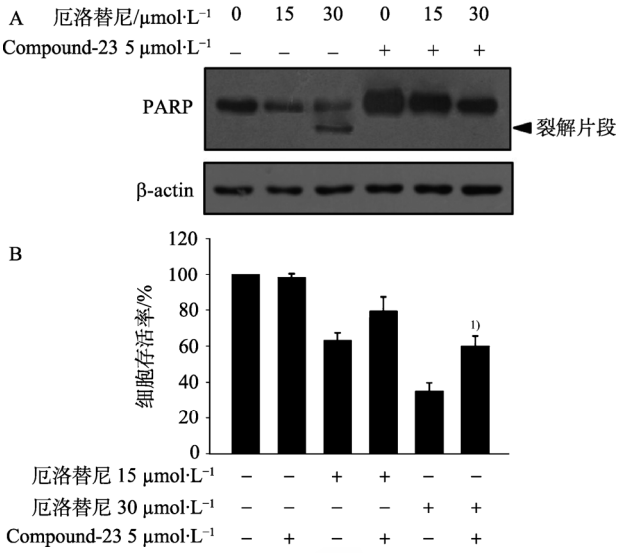


**图 6** Chang liver 细胞孵育 Compound-23 后厄洛替尼诱导的凋亡和细胞增殖抑制检测

A–凋亡蛋白 PARP 表达；B–细胞增殖情况；与厄洛替尼 30 μmol·L$^{-1}$单用组相比，$^{1)}P<0.05$。

**Fig. 6** Detection of erlotinib-induced apoptosis and inhibition of cell proliferaction after pretreatment of Chang liver cells with Compound-23

A–expression of apoptotic protein PARP; B–status of cell proliferation; compared with erlotinib 30 μmol·L$^{-1}$ individual group, $^{1)}P<0.05$.

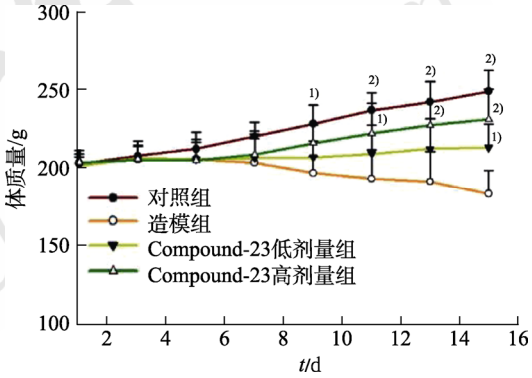


**图 7** Compound-23 对大鼠体质量的影响

与造模组相比，$^{1)}P<0.05$，$^{2)}P<0.01$。

**Fig. 7** Effect of Compound-23 on rats' weight

Compared with model group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$.

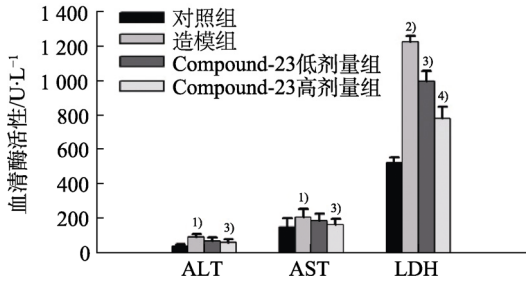


**图 8** 大鼠肝脏功能指标 AST、ALT 和 LDH 的检测

与对照组相比，$^{1)}P<0.05$，$^{2)}P<0.01$；与造模组相比，$^{3)}P<0.05$，$^{4)}P<0.01$。

**Fig. 8** Detection of liver function index AST, ALT, and LDH of rats

Compared with control group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$; compared with model group, $^{3)}P<0.05$, $^{4)}P<0.01$.

**3.8** Compound-23 对厄洛替尼诱导的肝脏 GSH、SOD 和 MDA 值的影响

GSH、SOD 和 MDA 均为体内氧化应激水平的重要指标。厄洛替尼能诱导 GSH 含量、SOD 活性下降，以及 MDA 水平升高，而合用 Compound-23 后这些指标都得到了一定程度的缓解，表明 Compound-23 能够抑制厄洛替尼诱导的氧化应激的产生。结果见图 9。

**3.9** Compound-23 对厄洛替尼诱导的大鼠肝组织损伤具有保护作用

大鼠肝脏 HE 染色显示，厄洛替尼能诱导肝脏产生广泛性坏死灶点并伴炎性物质渗出，而合用 Compound-23 后，这种坏死程度能够得到减轻。结果见图 10。

大鼠肝脏 TUNEL 染色显示，厄洛替尼能诱导肝脏发生大量的凋亡，而合用 Compound-23 后，凋亡的产生(绿色荧光)得到抑制。结果见图 11。

## 4 讨论

厄洛替尼是一种临床上广泛使用的抗肿瘤药物[11]，药动学数据分析显示，口服 150 mg·d$^{-1}$ 剂量的厄洛替尼，人体血药浓度稳态可以达到 6~8 μmol·L$^{-1}$[12]，并且该药在肝脏、肾脏、肺分布较多，其中肝脏中的药物浓度为肿瘤组织的 3~4 倍[7]，可以产生一个明显的器官蓄积效应。此外，药物经过代谢可以暴露亲电子基团，形成毒性代谢产物，这些亲电子基团可以与细胞内的生物大分子物质共价结合，破坏生物大分子的结构，影响生物大分子的活性，有的甚至形成半抗原，对肝脏产生自身免疫性损害[13-14]。值得注意的是，Li 等[15]研究发现厄洛替尼主要通过肝药酶 CYP3A4 氧化代谢进行消除，Li 等和 Duckett 等[7,12]研究发现厄洛替尼经过肝脏氧化代谢后形成苯醌亚胺的结构，共价结合并消耗细胞内 GSH，这些报道无疑都提示了厄洛替尼可能是通过氧化应激对肝脏产生毒性作用。本实验也进一步验证了这种推测，厄洛替尼能诱导体外细胞水平 ROS 的升高，以及体内 GSH 含量、SOD 活性的下降，MDA 含量的升高，氧化应激的产生。

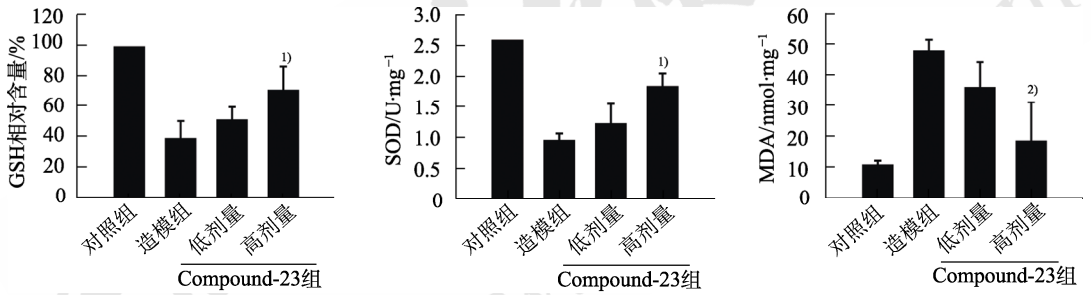


**图 9** 肝组织 GSH、SOD 和 MDA 的检测

与造模组相比，$^{1)}P<0.05$，$^{2)}P<0.01$。

**Fig. 9** Detection of liver GSH, SOD, and MDA

Compared with model group, $^{1)}P<0.05$, $^{2)}P<0.01$.

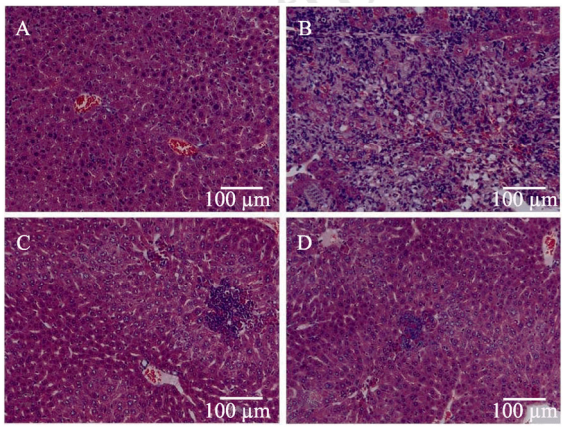


**图 10** 肝脏组织形态学情况(HE，100×)

**Fig. 10** Histomorphological results of liver tissue(HE, 100×)

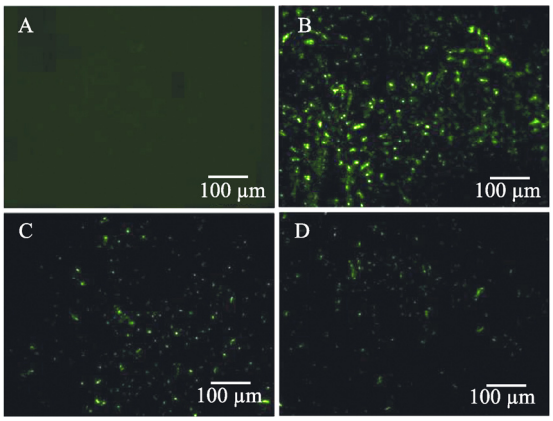


**图 11** 肝脏组织凋亡情况(TUNEL，100×)

**Fig. 11** Apoptosis results of liver tissue(TUNEL, 100×)

DJ-1 作为胞内蛋白，是蛋白质超家族 ThiJ/PfpI 的一员，具有多种重要的生理功能，包括抗细胞凋亡、基因转录调节、“分子伴侣”及促进细胞生长等作用[16-17]，特别是在帕金森病抗氧化作用方面已被认可，是细胞内一种重要的氧化应激保护蛋白[18]。DJ-1 蛋白具有同源二聚体结构，对氧化状态敏感，在 Cys-46、Cys-53 和 Cys-106 位点分别含有 3 个半胱氨酸基团[19]，半胱氨酸被氧化时会干扰 DJ-1 蛋白的二聚化[20]。Compound- 23 是 DJ-1 蛋白氧化态的稳定剂，该化合物被报道可以使 DJ-1 的氧化态处于较低水平，维持二聚体结构，保持其抗氧化活性[21]。因此 DJ-1 蛋白成为本次实验另一个切入点，本研究显示 DJ-1 蛋白作为一个细胞内氧化还原状态的感受器，高浓度厄洛替尼作用后，Chang liver 细胞 DJ-1 蛋白等电点逐渐降低，氧化态水平提高。并且厄洛替尼抑制 DJ-1 蛋白二聚化形式的存在，DJ-1 蛋白的氧化还原活性受到影响。DJ-1 蛋白稳定剂 Compound-23 在体内外对厄洛替尼诱导的肝毒性都具有较好的保护作用。

传统方式利用 GSH、维生素 C 等还原性物质的抗氧化治疗并没有在体内试验中取得预期效果，使人们意识到单纯过度补充还原性物质在清除过量有害自由基的同时亦会影响自由基作为信息分子的正常生理功能[22]。而 DJ-1 蛋白作为一种新型的抗氧化应激蛋白，由于其内源性特点，对于它的调节为实现适度、可控的抗氧化治疗开辟了新途径。药物诱导的肝毒性发病率高，危害患者健康，增加治疗负担，并进一步制约新药的研发。与细胞毒性抗肿瘤药物相比，以细胞信号转导分子为靶点的抗肿瘤药物具有更高的抑瘤效率和更少的不良反应，但仍存在不容忽视的脱靶效应[23]。本研究揭示了厄洛替尼诱导氧化应激，抑制 DJ-1 蛋白还原态活性，产生肝脏毒性的分子机制，并进一步探索了 DJ-1 蛋白氧化还原作用在药物诱导的氧化应激中扮演的角色，证实了 DJ-1 蛋白稳定剂 Compound-23 通过减轻细胞损伤，改善肝功能，缓解氧化应激保护厄洛替尼诱导的肝脏毒性，这些研究结果将对临床合理用药以及基于 DJ-1 蛋白靶点保护药物的进一步开发具有重要的理论意义和现实价值。

**REFERENCES**


[1] LANDI L, CAPPUZZO F. Experience with erlotinib in the treatment of non-small cell lung cancer[J]. Ther Adv Respir Dis, 2015, 9(4): 146-163.

[2] LIU W T, MAKRAUER F L, QAMAR A A, et al. Fulminant hepatic failure secondary to erlotinib[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2007, 5(8): 917-920.

[3] RAMANARAYANAN J, SCARPACE S L. Acute drug induced hepatitis due to erlotinib[J]. JOP, 2007, 8(1): 39-43.

[4] PELLEGRINOTTI M, FIMOGNARI F L, FRANCO A, et al. Erlotinib-induced hepatitis complicated by fatal lactic acidosis in an elderly man with lung cancer[J]. Ann Pharmacother, 2009, 43(3): 542-545.

[5] RUDIN C M, LIU W, DESAI A, et al. Pharmacogenomic and pharmacokinetic determinants of erlotinib toxicity[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(7): 1119-1127.

[6] ZHAO H, LI S, YANG Z, et al. Identification of ketene-reactive intermediate of erlotinib possibly responsible for inactivation of P450 enzymes[J]. Drug Metab Dispos, 2018, 46(4): 442-450.

[7] LI X, KAMENECKA T M, CAMERON M D. Cytochrome P450-mediated bioactivation of the epidermal growth factor receptor inhibitor erlotinib to a reactive electrophile[J]. Drug Metab Dispos, 2010, 38(7): 1238-1245.

[8] KENNY J R, MUKADAM S, ZHANG C, et al. Drug-drug interaction potential of marketed oncology drugs: *In vitro* assessment of time-dependent cytochrome P450 inhibition, reactive metabolite formation and drug-drug interaction prediction[J]. Pharm Res, 2012, 29(7): 1960-1976.

[9] LEI Y, ZHANG Z F, LEI R X, et al. DJ-1 suppresses cytoplasmic TDP-43 aggregation in oxidative stress-induced cell injury[J]. J Alzheimers Dis, 2018, 66(3): 1001- 1014.

[10] LEV N, ICKOWICZ D, MELAMED E, et al. Oxidative insults induce DJ-1 upregulation and redistribution: Implications for neuroprotection[J]. Neurotoxicology, 2008, 29(3): 397-405.

[11] TAGLIAMENTO M, GENOVA C, RIJAVEC E, et al. Afatinib and erlotinib in the treatment of squamous-cell lung cancer[J]. Expert Opin Pharmacother, 2018, 19(18): 2055-2062.

[12] DUCKETT D R, CAMERON M D. Metabolism considerations for kinase inhibitors in cancer treatment[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2010, 6(10): 1175-1193.

[13] HOOFNAGLE J H, BJÖRNSSON E S. Drug-induced liver injury-types and phenotypes[J]. N Engl J Med, 2019, 381(3): 264-273.

[14] REAL M, BARNHILL M S, HIGLEY C, et al. Drug-induced liver injury: Highlights of the recent literature[J]. Drug Saf, 2019, 42(3): 365-387.

[15] LI J, ZHAO M, HE P, et al. Differential metabolism of gefitinib and erlotinib by human cytochrome P450 enzymes[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(12): 3731-3737.

[16] OH S E, MOURADIAN M M. Cytoprotective mechanisms of DJ-1 against oxidative stress through modulating ERK1/2 and $ASK_1$ signal transduction[J]. Redox Biol, 2018, 14: 211-217.

[17] JIN W. Novel insights into PARK7 (DJ-1), a potential anti-cancer therapeutic target, and implications for cancer progression[J]. J Clin Med, 2020, 9(5): E1256.

[18] SAITO Y. Oxidized DJ-1 as a possible biomarker of Parkinson's disease[J]. J Clin Biochem Nutr, 2014, 54(3): 138-144.

[19] KINUMI T, KIMATA J, TAIRA T, et al. Cysteine-106 of DJ-1 is the most sensitive cysteine residue to hydrogen peroxide-mediated oxidation *in vivo* in human umbilical vein endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 317(3): 722-728.

[20] WILSON M A. The role of cysteine oxidation in DJ-1 function and dysfunction[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 15(1): 111-122.

[21] INDEN M, YANAGISAWA D, HIJIOKA M, et al. Therapeutic activities of DJ-1 and its binding compounds against neurodegenerative diseases[J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 1037: 187-202.

[22] JAKUBCZYK K, DEC K, KAŁDUŃSKA J, et al. Reactive oxygen species-sources, functions, oxidative damage[J]. Pol Merkur Lekarski, 2020, 48(284): 124-127.

[23] CAO Y, MARKS J D, HUANG Q, et al. Single-chain antibody-based immunotoxins targeting Her2/neu: Design optimization and impact of affinity on antitumor efficacy and off-target toxicity[J]. Mol Cancer Ther, 2012, 11(1): 143-153.

收稿日期：2021-05-21

(本文责编：蔡珊珊)

http://www.chinjmap.com