

SH-SY5Y 与 U87 细胞共培养条件性培养基可降低 N-甲基-salsolinol 介导 THP-1 细胞的凋亡

王馥丽, 邓玉林

北京理工大学生命学院, 北京 100081

摘要 神经免疫在帕金森病(PD)的致病机理中发挥重要的作用,PD患者的外周血淋巴细胞的数量发生了变化,提示外周免疫系统在PD的发生发展中发挥一定的作用。但是外周单核细胞(PBMC)在其中发挥的具体作用尚不清楚。外源性神经毒素(MPTP)类似物,内源性神经毒素(NMSal)可能是导致PD发生的一种因素。研究采用NMSal损伤的SH-SY5Y与U87细胞共培养的条件性培养基培养外周单核细胞THP-1,探讨NMSal损伤的多巴胺能神经元细胞对外周单核细胞的影响。结果表明,该条件性培养基可以降低NMSal毒性诱导的THP-1细胞的凋亡、氧化应激水平(MDA和H₂O₂)、线粒体的损伤和凋亡相关蛋白FADD、Bax和caspase3的表达和活化水平。PD病人中损伤的多巴胺能神经元与星形胶质细胞的相互作用可能会影响PBMC,进而影响PD病情的进展。

关键词 帕金森病;N-甲基-salsolinol;细胞共培养;人单核细胞系THP-1;细胞凋亡

中图分类号 Q78

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.10.011

Attenuation of N-methyl-salsolinol mediated apoptosis of THP-1 cells by the conditioned medium from co-cultures of SH-SY5Y and U87 cells

WANG Fuli, DENG Yulin

School of Life Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China

Abstract Neuroinflammation has been implicated in the pathogenesis of neurodegenerative Parkinson's disease (PD). Moreover, some studies have found that total T cell pool was changed in PD. However, little is known about peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in the pathogenesis of PD. Recent studies have demonstrated that endogenous neurotoxin 1,2(N)-dimethyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (N-methyl-salsolinol, NMSal), an analogue of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the brain, could induce degeneration of dopaminergic neurons and cause neuroimmune dysfunction in PD. In the present study, we examined the effect of conditioned medium from NMSal treated co-cultures of neuroblastoma SH-SY5Y cells and glioma cell line U87 cells on human monocyte THP-1 cells. The results showed that the conditioned medium attenuated apoptosis of THP-1 cells mediated by NMSal. The conditioned medium inhibited the swelling and rupture of mitochondrial membrane, reduced the production of malondialdehyde (MDA) and H₂O₂, and decreased expression levels of caspase3, Bax and FADD of THP-1 cells induced by NMSal. These indicated that the interaction of neurons with astrocyte could affect cell amount and immune function of PBMC, then affecting the progression of PD.

收稿日期:2015-03-12;修回日期:2015-04-08

基金项目:国家重大科学仪器设备开发专项(2012YQ040140)

作者简介:王馥丽,博士研究生,研究方向为神经免疫,电子信箱:wangfuli5728@163.com;邓玉林(通信作者),教授,研究方向为神经退行性疾病,电子信箱:deng@bit.edu.cn

引用格式:王馥丽,邓玉林.SH-SY5Y与U87细胞共培养条件性培养基可降低N-甲基-salsolinol介导THP-1细胞的凋亡[J].科技导报,2015,33(10):107-112.

Keywords Parkinson's disease; N-methyl-salsolinol; co-culture; human monocyte THP-1; apoptosis

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是世界第二大神经退行性疾病,它在65岁以上老年人中的发病率为0.5%~1%,而随着年龄的增长,85岁以后,这一数据达到了3%^[1,2]。PD主要的病理特征是黑质致密部(substantia nigra pars compacta, SNpc)多巴胺能神经元的变性损伤,神经递质多巴胺的降低和路易氏小体(Lewy bodies, LB)的形成^[3,4]。

PD是多系统复杂性退行性疾病,其详细的致病原因还不是很清楚,目前研究人员提出了几种PD的致病学说,包括线粒体损伤、氧化应激、兴奋性中毒及外源性神经毒素假说。外源性神经毒素1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)是应用最为广泛的PD造模药物^[5]。MPTP介导的神经毒性主要是通过其代谢产物1-甲基-4-苯基-2,3-二氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-2,3-dihydropyridiumion, MPP⁺)实现的, MPP⁺是由MPTP经由星形胶质细胞中的单胺氧化酶氧化催化形成。MPTP类似物内源性神经毒素四氢异喹啉类物质1-甲基-4-苯基-1,2,3,4-四氢异喹啉(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline salsolinol, Sal)及其代谢产物1,2-二甲基-6,7-二羟基-1,2,3,4-四氢异喹啉(1,2-N-dimethyl-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, N-methyl-salsolinol, NMSal)可以在PD病人大脑中检测到,已有的研究也表明它们是导致PD发生的一种因素^[6]。

传统的观念认为由于血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的存在,外周免疫系统不能进入大脑实质区发挥免疫功能,近年来的研究发现,PD病人脑中有外周T、B淋巴细胞的浸润^[7-9],这说明PD病人的血脑屏障有损伤,外周的免疫细胞可以通过某种机制进入中枢神经系统进而发挥功能。研究表明,PD病人外周单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)与正常人相比数量上有所升高^[8]。目前关于PD病人中多巴胺能神经元的损伤与PBMC的异常之间关系的研究并不清楚。本实验采用多巴胺能神经元细胞SH-SY5Y、胶质细胞U87和外周单核细胞THP-1三种细胞共培养的模式,研究内源性神经毒素NMSal损伤的SH-SY5Y与U87细胞共培养的条件性培养基对THP-1细胞的作用。

1 材料与方 法

1.1 细胞培养和细胞共培养

人神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞(美国ATCC公司),采用DMEM/F12培养基,另加入10%胎牛血清,100 U/mL青霉素G和100 μg/mL链霉素和2 mmol/L L-谷氨酰胺。

人脑星形胶质母细胞瘤细胞U87细胞(美国ATCC公司),采用MEM培养基,另加入10%胎牛血清,1×非必需氨基酸,100 U/mL青霉素G和100 μg/mL链霉素。

人急性单核细胞白血病细胞THP-1细胞(美国ATCC公

司),RPMI的1640培养基,另加入10%胎牛血清,100 U/mL青霉素G和100 μg/mL链霉素。

本文采用的细胞共培养模型。先将SH-SY5Y细胞和U87细胞以数量比1:1的比例和1.1×10⁶/mL的密度接种于100 mm培养皿中,采用DMEM/F12,另加入10%胎牛血清,100 U/mL青霉素G和100 μg/mL链霉素和2 mmol/L L-谷氨酰胺。在细胞培养箱中培养8 h,待其贴壁后,更换新鲜培养基,加入500 μmol/L MPP⁺、500 μmol/L Sal或是250 μmol/L NMSal孵育24 h,然后用此条件性培养基在一个新的100 mm培养皿中培养THP-1细胞24 h,收集THP-1细胞进行研究。上述所有的细胞都培养于含有5% CO₂的恒温37℃细胞培养箱中。

1.2 过氧化氢含量的检测

采用过氧化氢(H₂O₂)试剂盒(北京碧云天公司,S0038型)检测共培养后的THP-1细胞中H₂O₂的质量摩尔浓度的变化。收集共培养以后的THP-1细胞,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗2次,1×10⁷个细胞/100 μL PBS重悬细胞,以2 s开,1 s关的条件超声破碎40 s。12000 r/min离心10 min,取上清,采用考马斯亮蓝G250方法测定蛋白浓度。按照H₂O₂试剂盒说明书要求加入所需试剂,准确反应1 min,采用分光光度计于405 nm处测定吸光值(OD),按式(1)计算H₂O₂质量摩尔浓度。

$$m_{\text{H}_2\text{O}_2} = (OD_{\text{测}} - OD_{\text{空}}) \div (OD_{\text{标}} - OD_{\text{空}}) \times m_{\text{标}} \div r \times n \quad (1)$$

式中, $m_{\text{H}_2\text{O}_2}$ 为H₂O₂质量摩尔浓度, nmol/mg; $OD_{\text{测}}$ 为测定管吸光值; $OD_{\text{空}}$ 为空白管吸光值; $OD_{\text{标}}$ 为标准管吸光值; $m_{\text{标}}$ 为标准品质量摩尔浓度, mmol/L; r 为蛋白含量, g/L; n 为稀释倍数。

1.3 丙二醛的检测

丙二醛(malondialdehyde, MDA)是一种生物体脂质氧化的天然产物,通过检测MDA的水平,设定适当的对照即可反应细胞内的脂质过氧化水平的变化程度。其测定原理为,丙二醛在高温及酸性环境中可与硫代巴比妥酸(TBA)缩合,形成红色的MDA-TBA复合物,MDA-TBA复合物在532 nm处有最大吸收峰,可通过比色法进行检测。采用商品化丙二醛(MDA)测定检测试剂盒(北京碧云天公司,S0131型)。收集共培养以后的THP-1细胞,PBS清洗2次,1×10⁷/100 μL PBS重悬细胞,以2 s开,1 s关的条件超声破碎40 s。12000 r/min离心10 min,取上清,采用考马斯亮蓝G250方法测定蛋白浓度。按试剂盒说明书测定MDA的含量。按式(2)计算细胞内MDA的质量摩尔浓度:

$$m_{\text{MDA}} = (OD_{\text{测}} - OD_{\text{空}}) \div (OD_{\text{标}} - OD_{\text{空}}) \times m_{\text{标}} \div r \quad (2)$$

式中, m_{MDA} 为MDA质量摩尔浓度, nmol/mg; $OD_{\text{测}}$ 为测定管吸光值; $OD_{\text{空}}$ 为空白管吸光值; $OD_{\text{标}}$ 为标准管吸光值; $m_{\text{标}}$ 为标准品质量摩尔浓度, mmol/L; r 为蛋白含量, g/L。

1.4 蛋白印记检测

首先使用RIPA(radio immunoprecipitation assay lysis

buffer)裂解和超声破碎的方式提取细胞全蛋白:将共培养后的THP-1细胞离心收集,用PBS洗两遍,按 $1 \times 10^7 / 50 \mu\text{L}$ 的量加入RIPA,充分混悬后,冰浴30 min,以2 s开,1 s关的条件超声破碎40 s,整个过程需在冰水浴中进行。 4°C ,12000 r/min离心10 min收集上清液,进行后续实验研究。

采用体积分数为5%的浓缩胶和体积分数为12%的分离胶的SDS-PAGE对40 μg 蛋白样品进行分离,电泳结束后,采用Bio-Rad标准湿转膜装置,将经过SDS-PAGE分离的蛋白样品,转印至PVDF膜上(孔径为0.2 μm),采用恒压转膜模式,条件110 V,90 min;采用体积分数为0.05%的Tris 盐缓冲液(TBST)配制的5%脱脂牛奶,室温封闭60 min;按照表1抗体稀释方案中的稀释浓度稀释一抗, 4°C 摇床过夜孵育;使用0.05%TBST振摇洗膜4次,每次10 min;采用辣根过氧化物酶标记的二抗(体积比为1:4000)室温孵育2 h;使用0.05%TBST振摇洗膜4次,每次10 min;采用ECL化学发光显色试剂盒进行曝光显色。将ECL显色试剂盒中的A液和B液等体积充分混合,待到室温后,均匀喷洒于PVDF膜上,然后采用Bio-Rad分子显像仪ChemiDoc™XRS+对其进行显像。最后采用Bio-Rad imaging-lab 4.0软件对实验结果进行分析。

表1 抗体配制方案
Table 1 Antibody preparation

抗体名称	一抗稀释倍数(体积比)	二抗选择
β -actin	1:8000	Mouse
Cleaved-caspase3	1:1000	Rabbit
FADD	1:1000	Rabbit
Bax	1:1000	Rabbit
HRP Anti-rabbit(pAb)	1:1000	Goat

1.5 透射电镜(TEM)检测

小于0.2 μm 的细微结构在普通的光学显微镜下无法看清,这些结构称为亚显微或超微结构。需要采用更短波长的光源以提高显微镜的分辨率,以电子束为光源的透射电子显微镜分辨率可达0.2 nm,可用于观测细胞中的细胞器的结构^[10]。首先离心收集共培养后的THP-1细胞,用质量分数为2.5%戊二醛、磷酸缓冲液(0.1 mol/L,pH值为7.0)配制固定2 h。用0.1 mol/L磷酸漂洗液漂洗3次,每次15 min,质量分数为1%锇酸水溶液固定液固定2 h,用0.1 mol/L磷酸漂洗液漂洗3次,每次15 min;脱水:用体积分数为50%乙醇 4°C 脱水15 min,70%乙醇 4°C 脱水15 min,90%乙醇 4°C 脱水15 min,90%乙醇和90%丙酮的体积比为1:1的混合溶剂 4°C 脱水15 min,100%丙酮室温脱水3次,每次5 min;包埋:纯丙酮+包埋液(环氧树脂,Epon812)(体积比为2:1)室温3 h,纯丙酮+包埋液(体积比为1:2)室温过夜,纯包埋液 37°C 2 h;固化: 37°C 烘箱内过夜, 45°C 烘箱内12 h, 60°C 烘箱内24 h;超薄切片机切片(日本Leica公司 ultracut uct型)50~60 nm;体积分数3%

醋酸铀-枸橼酸铅(柠檬酸铅)双染色;透射电镜观察(日本Hitachi公司,H-7650B型)。

1.6 统计方法

实验数据均利用Excel 2011进行统计学分析。平行处理的样本所得数据取平均值加减标准误差后进行作图,同时在图上以误差线的形式标记标准误差。数据采用t检验(平均值的成对二样本分析)分析实验样本统计学的显著性差异,其中, $P < 0.05$ 表示实验样本数据具有统计学差异,*代表 $P < 0.05$,**代表 $P < 0.01$ 。在所有的给出统计学分析的实验中,重复样本数 $n \geq 3$ 。

2 结果与分析

2.1 NMSal损伤的条件性培养基对NMSal介导的THP1细胞的影响

首先确定内源性神经毒素NMSal对THP-1细胞的毒性,采用流式细胞检测仪(美国Beckman公司,FC 500型)和Annex V/PI双染试剂盒(美国eBioscience公司)检测THP-1细胞的凋亡情况。结果显示,NMSal可以诱导 $32.00\% \pm 1.87\%$ 的THP-1细胞的凋亡(图1、图2),而SH-SY5Y和U87细胞共培养的条件性培养基可以降低NMSal对THP-1细胞的毒性进而降低THP-1细胞的凋亡,其降低幅度高达 $18.76\% \pm 0.67\%$ 。

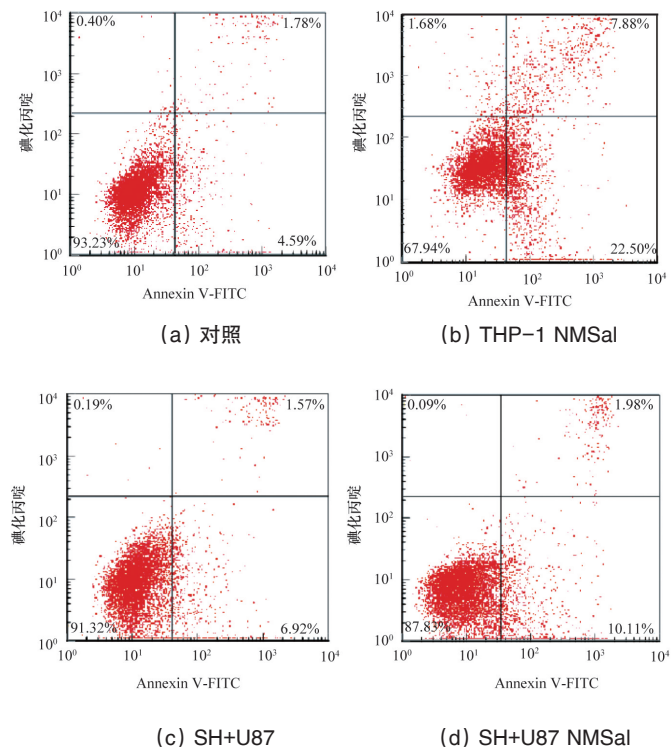


图1 NMSal损伤的条件性培养基对THP-1细胞凋亡的流式细胞分析

Fig. 1 FACS analysis of THP-1 cells apoptosis in NMSal damaged conditioned medium

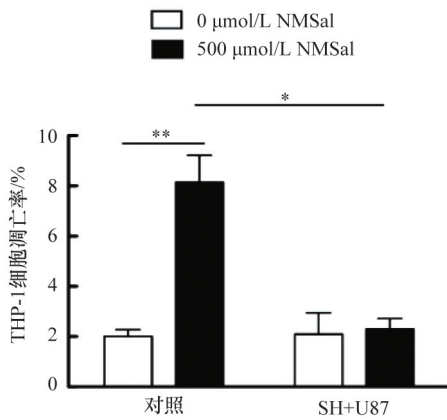


图2 THP-1细胞凋亡的流式细胞分析

Fig. 2 FACS analysis of THP-1 cells apoptosis

2.2 NMSal 损伤的条件性培养基对 THP-1 细胞线粒体的影响

内源性神经毒素 NMSal 的结构与 MPTP 结构类似,它可以与多巴胺转运体(DAT)结合进入细胞,然后与线粒体复合物 I 结合,提高细胞的氧化应激水平最终导致细胞的凋亡,以往研究发现 NMSal 可以诱导 THP-1 细胞的凋亡,采用透射电镜对线粒体的形态进行检测。结果表明,NMSal 可以诱导 THP-1 细胞线粒体的肿胀和线粒体脊断裂,而 SH-SY5Y 和 U87 细胞共培养的条件性培养基可以降低 NMSal 对 THP-1 细胞的毒性,维持 THP-1 细胞线粒体形态的完整性(图3)。

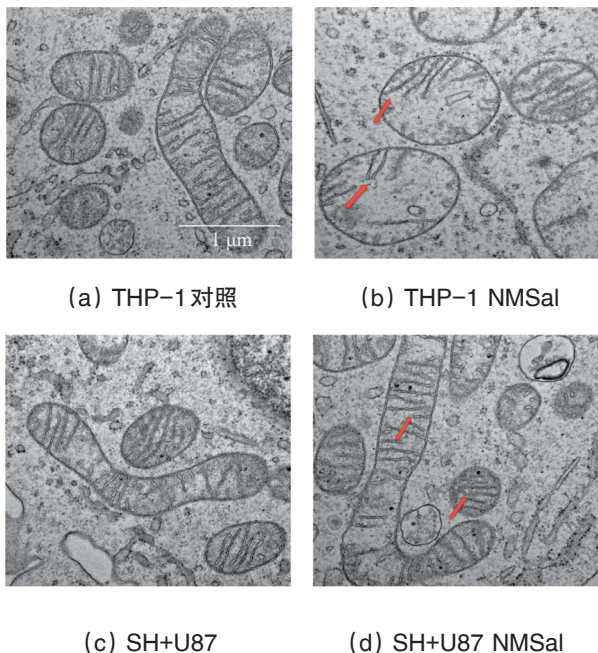


图3 共培养的条件性培养基对 THP-1 细胞线粒体结构的影响

Fig. 3 Effect of conditioned medium from co-cultures on mitochondrial structure of THP-1 cells

2.3 NMSal 损伤的条件性培养基对 THP-1 细胞氧化应激水平的影响

SH-SY5Y 和 U87 共培养的条件性培养基可以降低内源性神经毒素 NMSal 对 THP-1 细胞的损伤,维持线粒体形态的完整性,采用商品化的 MDA 和 H₂O₂ 试剂盒来检测 THP-1 细胞内的氧化应激水平。结果表明,内源性神经毒素 NMSal 可以提高 THP-1 细胞内的 MDA 和 H₂O₂ 的氧化应激水平,而 SH-SY5Y 和 U87 共培养的条件性培养基可以降低 NMSal 诱导的 MDA 和 H₂O₂ 的氧化应激水平(图4,图5)。

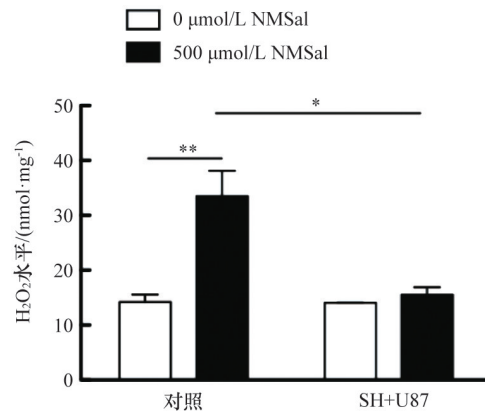


图4 NMSal 损伤的条件性培养基对 THP-1 细胞 H₂O₂ 水平影响

Fig. 4 Effect of NMSal damaged conditioned medium on H₂O₂ level of THP-1 cells

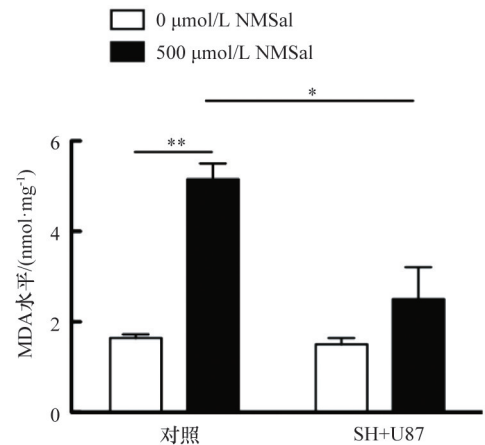


图5 NMSal 损伤的条件性培养基对 THP-1 细胞 MDA 水平影响

Fig. 5 Effect of NMSal damaged conditioned medium on MDA level of THP-1 cells

2.4 NMSal 损伤的条件性培养基对 THP-1 细胞凋亡相关蛋白表达水平的影响

NMSal 损伤的 SH-SY5Y 和 U87 共培养的条件性培养基可以降低 NMSal 诱导的 THP-1 细胞的凋亡,对其具体的分子机制进行探讨,采用蛋白印记的方法对凋亡相关蛋白的表达水平进行检测。结果表明,SH-SY5Y 和 U87 共培养的条件性

培养基可以降低 NMSal 诱导的凋亡相关蛋白 FADD、Bax 和 caspase3 的蛋白表达水平(图6,图7)。

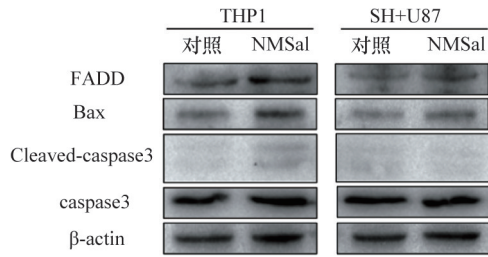


图6 NMSal 损伤的条件性培养基对 THP-1 细胞凋亡相关蛋白表达水平影响

Fig. 6 Effect of NMSal damaged conditioned medium on apoptosis related proteins expression level of THP-1 cells

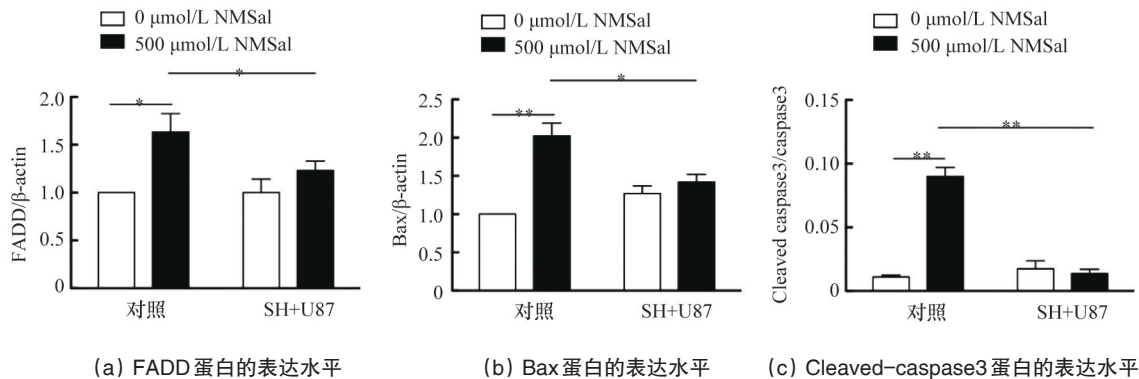


图7 NMSal 损伤的条件性培养基对 THP-1 细胞凋亡相关蛋白表达水平的影响

Fig. 7 Effect of NMSal damaged conditioned medium on apoptosis related proteins expression level of THP-1 cells

NMSal 可以通过神经元末端的多巴胺转运体(DAT)转运进入细胞,催化氧化成为 DMDHIQ⁺,损伤线粒体复合物 I,引起细胞氧化应激水平的升高进而诱导细胞的凋亡^[15]。本研究还发现,内源性神经毒素 NMSal 可以诱导 THP-1 细胞凋亡,而 SH-SY5Y 和 U87 细胞共培养的条件性培养基可以降低 NMSal 对 THP-1 细胞的毒性,进而减少 THP-1 细胞的凋亡。

细胞凋亡是一个程序性的过程,它会引起一系列的细胞形态的变化。线粒体被视作是控制细胞存活或是凋亡的关键的细胞器,线粒体的损伤或是形态的变化会引起其功能的异常进而可以导致细胞的凋亡^[16]。研究发现,内源性神经毒素 NMSal 可以诱导 THP-1 细胞线粒体的肿胀和损伤,而 SH-SY5Y 和 U87 细胞共培养的条件性培养基可以降低 NMSal 对 THP-1 细胞的毒性,进而维持其线粒体形态的完整性。

已有的体内体外实验研究表明,氧化应激可以导致细胞合成内源性神经毒素 NMSal 的能力升高,同时 NMSal 及其代谢产物可以进一步促使细胞产生更多的自由基,形成一种恶性循环,进而导致细胞的凋亡^[17]。以上的实验结果表明,NMSal 可以诱导 THP-1 细胞线粒体肿胀和损伤,采用商品化

3 讨论

越来越多的病理和生化研究表明外周免疫的活化和外周免疫细胞在 PD 的发病和发生过程中起重要的作用。近期的研究也证实外周血单核细胞(PBMC)在 PD 的发生过程中也起着很重要的作用^[11,12]。本研究发现,内源性神经毒素 NMSal 可以诱导 THP-1 细胞的凋亡、细胞氧化应激水平的升高、线粒体的损伤和凋亡相关蛋白表达量的升高。SH-SY5Y 和 U87 细胞共培养的条件性培养基可以降低 NMSal 对 THP-1 细胞的毒性、细胞的凋亡、细胞氧化应激水平、线粒体形态对损伤和凋亡相关蛋白表达水平。

内源性神经毒素 NMSal 是细胞自身合成的甲基异喹啉类物质,其结构与 MPTP 相似,它可以在 PD 病人脑内的很多部位检测到,比如,黑质区、下丘脑、额皮质和基底神经节中,其中基底神经节中的纹状体区含量最高^[13,14]。

的 MDA 和 H₂O₂ 试剂盒检测了 THP-1 细胞的氧化应激水平。结果表明,NMSal 可以提高 THP-1 细胞 MDA 和 H₂O₂ 的水平,而 SH-SY5Y 和 U87 细胞共培养的条件性培养基可以降低 NMSal 引起的 THP-1 细胞氧化应激水平。以上结果表明,内源性神经毒素 NMSal 可以导致 THP-1 细胞对自由基的敏感性,而 SH-SY5Y 和 U87 细胞共培养的条件性培养基可以降低这种敏感性。

Caspase 是半胱氨酸蛋白酶家族的一分子,其在细胞凋亡(程序性死亡)发生过程中的一系列的生物化学和形态学变化中发挥最基本的支撑作用^[18]。已有研究也证实,内源性神经毒素 NMSal 可以诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡过程中 caspase3 蛋白表达水平和活性的升高^[19]。本研究的实验结果进一步证实了内源性神经毒素 NMSal 在人的外周单核细胞 THP-1 细胞的凋亡过程中发挥重要的作用,它可以提高 THP-1 细胞凋亡相关蛋白 FADD、Bax 和 caspase3 的蛋白表达水平,而 SH-SY5Y 和 U87 细胞共培养的条件性培养基可以降低 NMSal 引起的 THP-1 细胞凋亡相关蛋白 FAD、Bax 和 caspase3 的表达水平。

4 结论

SH-SY5Y 和 U87 细胞共培养的条件性培养基可以降低 NMSal 引起的 THP-1 细胞凋亡,有助于维持 THP-1 细胞线粒体形态的完整性,降低 NMSal 诱导 THP-1 细胞内的氧化应激水平和凋亡相关蛋白 FADD、Bax 和 caspase3 的表达水平。推测胶质细胞在 PD 病人多巴胺能神经元损伤的过程中发挥重要的保护作用,同时损伤的多巴胺能神经元细胞与胶质细胞的相互作用可以激活单核细胞的免疫活性,降低 NMSal 对其的毒性作用;也有可能使得单核细胞过度活化,对内源性神经毒素诱导的多巴胺能神经元造成进一步的损伤。

参考文献 (References)

- [1] Chen X, Arshad A, Qing H, et al. Enzymatic condensation of dopamine and acetaldehyde: A salsolinol synthase from rat brain [J]. *Biologia*, 2011, 66(6): 1183-1188.
- [2] Labandeira-Garcia J L, Rodriguez-Perez A I, Villar-Cheda B, et al. Rho kinase and dopaminergic degeneration: A promising therapeutic target for parkinson's disease[J]. *Neuroscientist*, 2014, 1073858414554954.
- [3] Litvan I, Bhatia K P, Burn D J, et al. Movement disorders society scientific issues committee report: Sic task force appraisal of clinical diagnostic criteria for parkinsonian disorders[J]. *Movement Disorder*, 2003, 18(5): 467-486.
- [4] Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: Mechanisms and models [J]. *Neuron*, 2003, 39(6): 889-909.
- [5] Langston J W, Ballard P, Tetrud J W, et al. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis[J]. *Science*, 1983, 219(4587): 979-980.
- [6] Nicklas W J, Vyas I, Heikkila R E. Inhibition of nadh-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenyl-pyridine, a metabolite of the neurotoxin, 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 5, 6-tetrahydropyridine[J]. *Life Science*, 1985, 36(26): 2503-2508.
- [7] Brochard V, Combadiere B, Prigent A, et al. Infiltration of CD4⁺ lymphocytes into the brain contributes to neurodegeneration in a mouse model of parkinson disease[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2009, 119(1): 182-192.
- [8] Calopa M, Bas J, Callen A, et al. Apoptosis of peripheral blood lymphocytes in parkinson patients[J]. *Neurobiology of Disease*, 2010, 38(1): 1-7.
- [9] Saunders R N, Metcalfe M S, Nicholson M L. Rapamycin in transplantation: A review of the evidence[J]. *Kidney International*, 2001, 59(1): 3-16.
- [10] Pettit D A, Williamson J, Cabral G A, et al. *In vitro* destruction of nerve cell cultures by acanthamoeba spp: A transmission and scanning electron microscopy study[J]. *Journal of Parasitol*, 1996, 82(5): 769-777.
- [11] Funk N, Wieghofer P, Grimm S, et al. Characterization of peripheral hematopoietic stem cells and monocytes in parkinson's disease[J]. *Movement Disorder*, 2013, 28(3): 392-395.
- [12] Deleidi M, Gasser T. The role of inflammation in sporadic and familial parkinson's disease[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2013, 70(22): 4259-4273.
- [13] Naoi M, Maruyama W, Nagy G M. Dopamine-derived salsolinol derivatives as endogenous monoamine oxidase inhibitors: Occurrence, metabolism and function in human brains[J]. *Neurotoxicology*, 2004, 25(1-2): 193-204.
- [14] Mravec B. Salsolinol, a derivat of dopamine, is a possible modulator of catecholaminergic transmission: A review of recent developments[J]. *Physiological Research*, 2006, 55(4): 353-364.
- [15] Deng Y, Luan Y, Qing H, et al. The formation of catechol isoquinolines in pc12 cells exposed to manganese[J]. *Neuroscience Letters*, 2008, 444(2): 122-126.
- [16] Kroemer G, Dallaporta B, Resche-Rigon M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis[J]. *Annual Review of Physiology*, 1998, 60: 619-642.
- [17] Maruyama W, Dostert P, Naoi M. Dopamine-derived 1-methyl-6,7-dihydroisoquinolines as hydroxyl radical promoters and scavengers in the rat brain: *In vivo* and *in vitro* studies[J]. *Journal of Neurochemistry*, 1995, 64(6): 2635-2643.
- [18] Alnemri E S, Livingston D J, Nicholson D W, et al. Human ice/ced-3 protease nomenclature[J]. *Cell*, 1996, 87(2): 171.

(编辑 田恬)

·学术动态·



科学普及出版社联合科技导报社 紧急向西藏地震灾区捐赠科普读物

2015年4月25日14:00,尼泊尔博卡拉市发生8.1级强烈地震,对相邻的中国西藏地区造成巨大影响。地震发生后,根据中国科协统一部署,科学普及出版社、科技导报社迅速筹划,为西藏地区灾区捐赠抗震减灾科普资源。

根据西藏科协需要,科学普及出版社捐赠《地震应急科普丛书》11种11000册,《应急救援知识小百科》3种750册,《家庭地震应急三点通》1种350册,《震后次生灾害知识挂图》1种100套,《地震应急知识挂图》1种100套,共计捐赠图书挂图12670册;科技导报社捐赠一批《科技导报》“汶川地震特刊”、“芦山地震特刊”。这批科普读物于4月27日快速发往西藏自治区科协,委托自治区科协分发各受灾地区。