文章编号:1000-5404(2012)11-1021-05

论著

电磁辐射对原代培养的皮层神经元中 tau 蛋白磷酸化的影响

李 丽,张彦文,陈 前,屈明玥,张广斌,余争平 (400038 重庆,第三军医大学军事预防医学院劳动卫生学教研室,电磁辐射医学防护教育部重点实验室)

[摘要] **目的** 研究电磁辐射对原代培养皮层神经元 tau 蛋白磷酸化的影响。**方法** 原代培养大鼠皮层神经元分为假辐照组和辐照组,辐照组采用平均功率密度为 90 mW/cm^2 的电磁波辐照 10 min,分别于辐照后 0、1、3、6、12 h 取材。采用 CCK-8 检测电磁辐射辐照后神经元活性,Western blot 检测 tau 蛋白磷酸化位点 ser199/202、ser396、ser404 磷酸化变化,同时观察细胞周期素依赖性蛋白激酶 5(cyclin dependent kinase 5,CDK5)抑制剂 Roscovitine、糖原合成激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β,GSK-3β)抑制剂氯化锂(LiCl)和钙激活蛋白酶(calpain)抑制剂 PD150606 对电磁辐射暴露后 tau 蛋白磷酸化水平的影响。**结果** 电磁辐射辐照后 6 h 和 12 h,原代培养大鼠皮层神经元细胞活性明显降低[与假辐照组比较,分别下降 19%($P<0.05$)和 30%($P<0.01$)]。电磁辐射辐照后 1 h 和 3 h,原代培养大鼠皮层神经元 tau 蛋白 ser404 位点磷酸化程度一过性增强[与假辐照组比较,分别升高 89%($P<0.01$)和 46%($P<0.05$)],而 ser199/202、ser396 位点磷酸化程度变化不明显($P>0.05$)。Roscovitine、LiCl 和 PD150606 对电磁辐射引起的 tau 蛋白 ser404 位点过度磷酸化有显著抑制作用($P<0.01$)。**结论** 电磁辐射可引起原代培养的皮层神经元 tau 蛋白 ser404 位点过度磷酸化,CDK5、GSK-3β 和 calpain 参与其中。

[关键词] 辐射;神经元;tau 蛋白质类;磷酸化
[中图法分类号] R135.99; R322.81; R329.26 [文献标志码] A

Effect of electromagnetic radiation on tau protein phosphorylation in primarily cultured cortical neurons

Li Li, Zhang Yanwen, Chen Qian, Qu Mingyue, Zhang Guangbin, Yu Zhengping (Department of Occupational Hygiene, Key Laboratory of Electromagnetic Radiation Protection of Ministry of Education, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of electromagnetic radiation on tau protein phosphorylation in primarily cultured cortical neurons. **Methods** Primarily cultured rat cortical neurons were divided into sham radiation group and radiation group. Rats in radiation group were radiated with electromagnetic wave at the average power density of 90 mW/cm^2 for 10 min. Tissue samples were taken at 0, 1, 3, 6 and 12 h after radiation. Viability of neurons was assayed with CCK-8, tau protein phosphorylation in primarily cultured neurons at ser199/202, ser396 and ser404 was detected by Western blotting, and effect of cyclin-dependent kinase5 (CDK5) inhibitor Roscovitine, glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β) inhibitor lithium chloride (LiCl), and calpain inhibitor PD150606 on tau protein phosphorylation was detected after radiation. **Results** The viability of primarily cultured neurons was 19% and 30% lower respectively at 6 and 12 h after radiation in radiation group than in sham radiation group ($P<0.05$, $P<0.01$). The tau protein phosphorylation level in primarily cultured neurons at ser404 was 89% and 46% higher respectively at 1 and 3 h after radiation in radiation group than in sham radiation group ($P<0.05$). No significant difference was found in tau protein phosphorylation level in primarily cultured neurons at ser199/202 and ser396 after radiation ($P>0.05$). The inhibitory effect of Roscovitine, LiCl and PD150606 on tau protein phosphorylation in primarily cultured neurons at ser404 was lower in radiation group than in sham radiation group after radiation ($P<0.01$). **Conclusion** Electromagnetic radiation induces over tau protein phosphorylation in primarily cultured neurons at ser404 with involvement of CDK5, GSK-3β and calpain.

[**Key words**] radiation; neuron; tau protein; phosphorylation

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30770507). Corresponding author: Yu Zhengping, Tel: 86-23-68752289, E-mail: yuzping@yahoo.com

[基金项目] 国家自然科学基金(30770507)
[通信作者] 余争平,电话:(023)68752289,E-mail:yuzping@yahoo.com

随着微波日益广泛的应用,电磁辐射对健康的影响已成为公众和国内外学者关注的热点问题之一。根据国内外文献和我室多年的研究表明,中枢神经系统是对电磁辐射最为敏感的靶器官之一。电磁辐射可以引起动物学习记忆功能下降[1];长期职业暴露于电磁场中的工作人员可出现头昏头痛、疲劳乏力、记忆力减退、睡眠功能障碍等精神症状,并且是促进阿尔兹海默病(Alzheimer's disease,AD)等发生的高危险因素[2]。另外研究发现海马脑区的病理改变(如海马神经元凋亡等)和功能改变(如一些受体结构和功能的改变等)可能是电磁辐射致学习记忆功能下降的原因[3];同时研究还发现电磁辐射可引起细胞内钙离子超载[4]。但电磁辐射对中枢神经系统的影响机制还不十分清楚。

在病理状态下,过度磷酸化的tau蛋白对微管亲和性降低,导致微管不稳定,轴浆运输下降,从而引发神经退行性病理改变,最终引起学习记忆功能障碍[5-6]。细胞周期素依赖性蛋白激酶5(cyclin dependent kinase 5,CDK5)和糖原合成激酶-3β(glycogen synthase kinase-3β,GSK-3β)是调节tau蛋白磷酸化最重要的蛋白激酶[7],而钙激活蛋白酶(calpain)是调节CDK5活性的重要因子。我室前期研究[8]发现电磁辐射能引起CDK5活性升高及其活化亚基P35断裂成P25和P10。本研究利用离体培养的皮层神经元为研究对象,旨在研究电磁辐射短期暴露对tau蛋白磷酸化的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 原代大鼠皮层神经元的培养与分组

取健康的SD大鼠1 d龄新生鼠20只(购于第三军医大学实验动物中心)大脑皮层,将神经元接种在培养基中(80% DMEM/F12培养基,10%胎牛血清,10%马血清,2%青链霉素)。第2天换全液,即6 ml无血清维持培养基(Neurobasal 98 ml,B27 2 ml,谷氨酰胺0.5 mmol/L),每隔2 d换半液,于第8天将成熟的神经元接受电磁辐射。培养神经元分为假辐照组(Sham)与电磁辐照组,其中辐照组分别于辐照后0、1、3、6、12 h取材。假辐照组除不接受辐照外,其他处理条件与辐照组相同。

1.2 电磁辐射辐照原代培养的大鼠皮层神经元

原代培养的大鼠皮层神经元在电磁辐射辐照暗室内进行辐照。环境温度(20±2)℃,湿度50%~70%。原代培养的大鼠皮层神经元置于可透射电磁辐射波的专用辐照盒内,在匀速旋转的实验平台上接受一次性电磁辐射辐照(平均功率密度为90 mW/cm^2)10 min。

1.3 ICC检测方法验证原代培养的大鼠皮层神经元

细胞玻片被PBS漂洗1次并且快速用4 ℃ 100%甲醇固定约1 min。固定的细胞在封闭液中4 ℃过夜(封闭液成分:PBS中包括3% BSA、0.1% Triton X-100、1%的马血清)。封闭好的细胞被孵育在FITC结合小鼠多克隆α-tubulin抗体(1∶50)中,室温孵育1 h后封闭液洗4次,每次15 min。玻片被安装在玻板上,激光共聚焦显微镜观察细胞形态变化。

1.4 CCK-8试剂盒检测电磁辐射辐照后原代培养的神经元活性

以1×10^5/ml浓度将神经元接种于96孔细胞培养板上,每组设2个空白对照孔,只加培养基,不加细胞。每孔总体积100 μl,培养至第8天。90 mW/cm^{2}电磁辐射暴露,于暴露后相应时相点向各孔中加入10 μl的CCK-8溶液,37 ℃下孵育2 h,选择450 nm波长,酶标仪测定各孔光密度值(空白对照为不加细胞只加培养液,空白孔调零)。实测值=样本孔读数-空白对照的读数,以每组实测值/对照组实测值作为结果进行统计计算。

1.5 Western blot检测神经元tau蛋白磷酸化位点ser199/202、ser396、ser404、tau5磷酸化变化

1 ml预冷总蛋白提取液冰上作用30 min,4 ℃ 800×g离心10 min,弃沉淀,取上清液,Lowry法测蛋白质含量,在1×Tris-甘氨酸缓冲液中电泳,先用80 V电压将样品电泳至分离胶界面,然后调整电压至100 V,溴酚蓝电泳至底部时结束。电泳结束后转印于NC膜上,于含5%封闭专用奶粉的封闭液中封闭3 h。封闭完分别用兔抗ser199/202抗体(1∶1 000),兔抗ser396抗体(1∶5 000),兔抗ser404抗体(1∶1 000),小鼠抗tau5抗体(1∶500)及小鼠抗β-actin抗体(1∶5 000)孵育后,用TBST室温洗涤4次,每次10 min。再分别用抗小鼠和抗兔的荧光二抗,室温闭光孵育1 h,后再用TBST闭光洗涤4次,每次10 min。再以PBS及清水分别洗涤1次,在Odyessy荧光扫描分析系统下扫描并保存,记录蛋白条带的光密度值。用目标蛋白条带的光密度值与各自β-actin条带的光密度值比值作为目标蛋白的表达量,每个目标蛋白重复实验3次。

1.6 3种抑制剂预处理细胞

原代培养的大鼠皮层神经元接种于6孔板。成熟的神经元在接受电磁辐射前6 h用3种抑制剂预处理,其他同上。根据Roscovitine说明书,溶解Roscovitine要用二甲基亚砜(DSMO)。由于DSMO对细胞有一定的损伤作用,为了排除DSMO对细胞的影响,我们把没有加入Roscovitine组加入等体积的DSMO。故把实验分为两部分即含DSMO组和不含DSMO组。含DSMO组:包括假辐照组(Sham+DSMO)、单独电磁辐照组(EMF+DSMO)、单独添加CDK5抑制剂处理组(EMF+Roscovitine)、CDK5抑制剂和GSK-3β抑制剂联合处理组(EMF+Roscovitine+LiCl)、CDK5抑制剂和calpain抑制剂联合处理组(EMF+Roscovitine+PD150606)。不含DSMO组:包括假辐照组(Sham)、单独电磁辐照组(EMF)、单独添加GSK-3β抑制剂处理组(EMF+LiCl)、单独添加calpain抑制剂处理组(EMF+PD150606)、GSK-3β抑制剂和calpain抑制剂联合处理组(EMF+LiCl+PD150606)。辐照10 min后,继续在细胞培养箱中培养1 h提取蛋白进行Western blot检测。假辐照组除不接受辐照源辐照、抑制剂处理外,其他处理条件与辐照组相同。

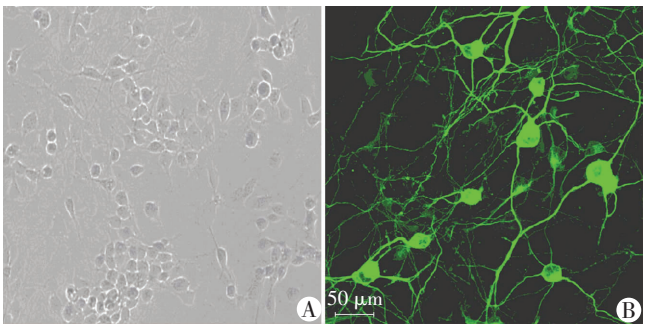
1.7 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，数据统计分析采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析，并采用 Fisher's LSD 方法进行多重比较。

2 结果

2.1 原代培养 SD 大鼠皮层神经元

原代 SD 大鼠皮层神经元接种 12 h 后，大部分细胞贴壁，呈圆形，边缘有光晕，少数细胞伸出 1、2 个突起。神经元培养至 24 h，大部分细胞伸出 3、4 个突起，长度为 10～30 μm，最长可达 50 μm 以上，其中有些神经元发生再聚合现象。神经元培养至 3 d，神经元突起进一步增多并延长，形成稀疏的网络；而神经胶质细胞开始迅速分裂增殖，在神经元下形成一片支持层。培养 8 d，神经胶质细胞的数量明显减少，神经元生长良好，胞体较大，胞浆饱满，折光性强，其突起形成稠密的神经网络。FITC-tubulin 染色后发现培养的细胞大部分为神经元（图 1）。

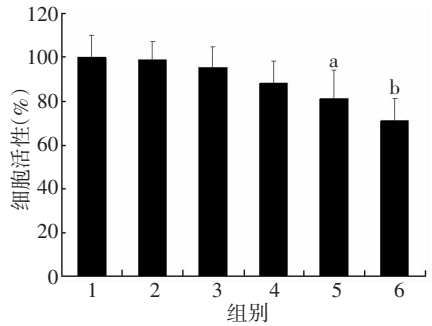


A：相差显微镜下观察原代培养的皮层神经元（×400）；B：激光共聚显微镜下观察 FITC-tubulin 染色后的皮层神经元

图 1　相差显微镜和激光共聚焦显微镜下观察原代培养的大鼠皮层神经元

2.2 电磁辐射暴露对神经元活性的影响

神经元经 90 mW/cm^2 电磁辐射暴露后，细胞活性逐渐降低，随暴露时间的延长，细胞活性降低更为明显，表明电磁辐射暴露对神经元的损伤具有显著的时间依赖性。结果表明暴露 10 min 导致细胞活性在暴露后 6、12 h 较假辐照组分别下降了 19%（$P<0.05$）和 30%（$P<0.01$）。见图 2。

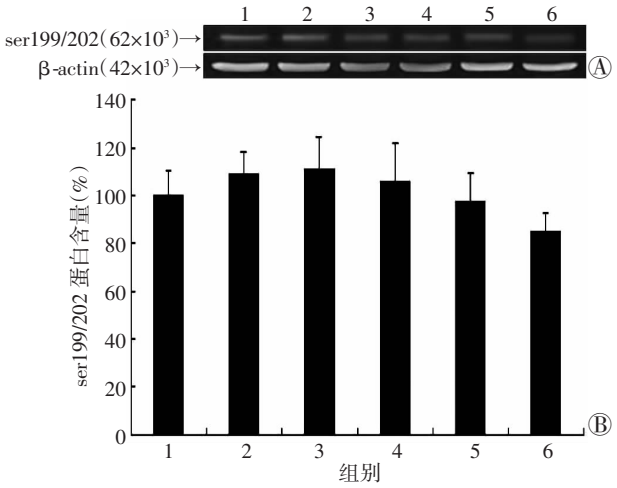


1：假辐照组；2～6：分别为辐照组辐照后 0、1、3、6、12 h；a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与假辐照组比较

图 2　CCK-8 检测电磁辐射暴露后各时间点原代培养的皮层神经元活性

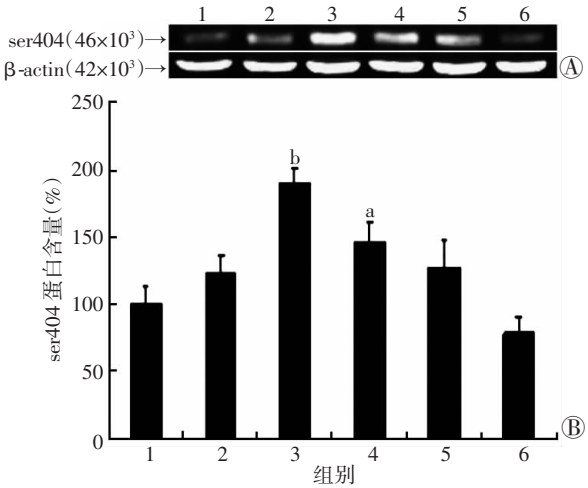
2.3 电磁辐射对原代培养大鼠皮层神经元 tau 蛋白磷酸化的影响

Western blot 结果显示，电磁辐射辐照后各时间点原代培养大鼠皮层神经元中 tau 蛋白 ser199/202 位点磷酸化水平与假辐照组比较均无统计学意义（$P>0.05$，图 3）。tau 蛋白 ser404 位点磷酸化在电磁辐射辐照后出现一过性增强。即：即刻出现升高，在 1 h 达到峰值，与假辐照组比升高约 89%（$P<0.01$），3 h 仍明显高于假辐照组约 46%（$P<0.05$），6、12 h 逐渐恢复至假辐照组水平（图 4）。tau 蛋白 ser396 位点磷酸化水平与假辐照组比较均无统计学意义（$P>0.05$，图 5）。tau5 代表细胞内全部 tau 蛋白含量，电磁辐射不会引起 tau5 变化（图 6）。提示在本实验条件下，电磁辐射可引起 tau 蛋白 ser404 位点短暂过度磷酸化。



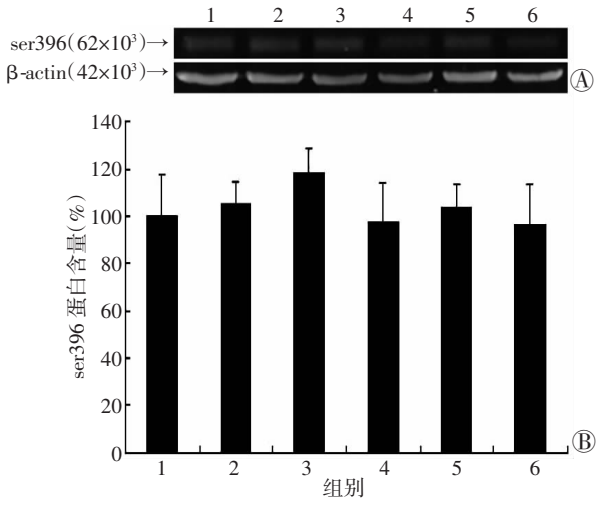
1：假辐照组；2～6：分别为辐照组辐照后 0、1、3、6、12 h　A：Western blot 结果；B：半定量分析结果

图 3　Western blot 检测原代培养大鼠皮层神经元中 tau 蛋白 ser199/202 位点磷酸化水平



1：假辐照组；2～6：分别为辐照组辐照后 0、1、3、6、12 h　A：Western blot 结果；B：半定量分析结果　a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与假辐照组比较

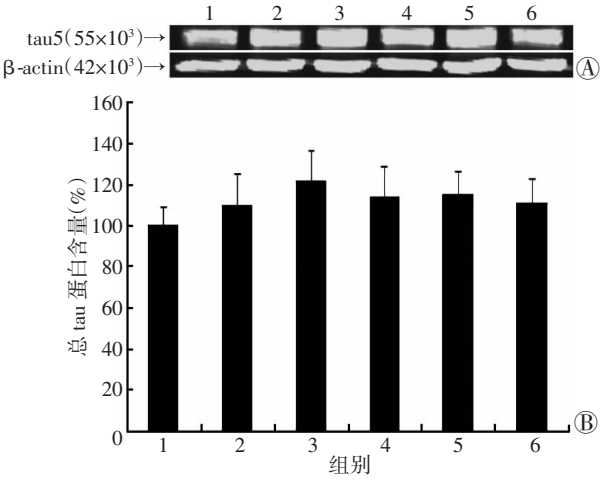
图 4　Western blot 检测原代培养大鼠皮层神经元中 tau 蛋白 ser404 位点磷酸化水平



1:假辐照组;2~6:分别为辐照组辐照后0、1、3、6、12 h

A:Western blot结果;B:半定量分析结果

图5 Western blot检测原代培养大鼠皮层神经元中tau蛋白ser396位点磷酸化水平



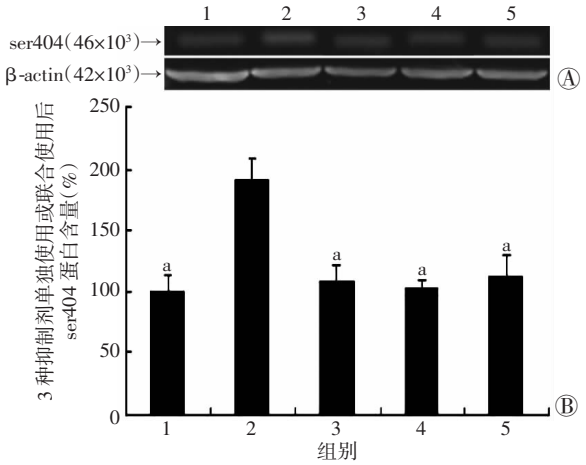
1:假辐照组;2~6:分别为辐照组辐照后0、1、3、6、12 h

A:Western blot结果;B:半定量分析结果

图6 Western blot检测原代培养大鼠皮层神经元中总tau蛋白磷酸化水平

2.4 电磁辐射引起tau蛋白ser404位点过度磷酸化的机制

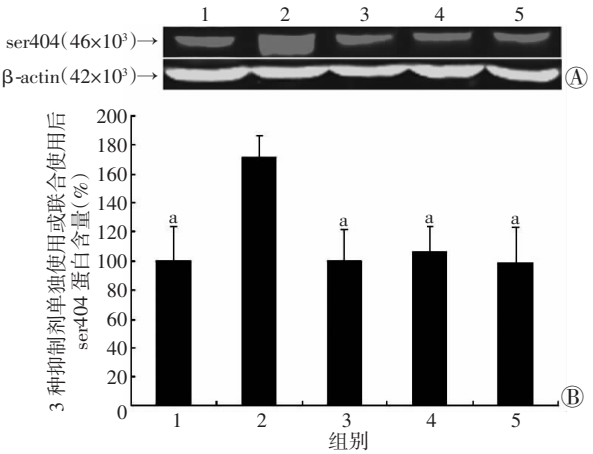
如前所述,电磁辐射可引起培养大鼠皮层神经元tau蛋白ser404位点短暂过度磷酸化(图4)。Roscovitine(CDK5抑制剂)单独预处理、Roscovitine和LiCl(GSK-3抑制剂)联合预处理、Roscovitine和PD150606(calpain抑制剂)联合预处理后,tau蛋白ser404位点的磷酸化水平明显低于单独电磁辐射组($P<0.01$),与假辐照组比无明显差异($P>0.05$,图7)。LiCl和PD150606单独或联合预处理后,tau蛋白ser404位点磷酸化水平明显低于单独电磁辐射组($P<0.01$),基本恢复至对照组(假辐照组)水平(图8)。提示CDK5、GSK-3β、calpain参与了电磁辐射引起的tau蛋白ser404位点的短暂过度磷酸化。



1:假辐照组(Sham+DSMO);2:单独电磁辐照组(EMF+DSMO);3:单独添加CDK5抑制剂处理组(EMF+Roscovitine);4:DK5抑制剂和GSK-3β抑制剂联合处理组(EMF+Roscovitine+LiCl);5:CDK5抑制剂和calpain抑制剂联合处理组(EMF+Roscovitine+PD150606)

A:Western blot结果;B:半定量分析结果 a:$P<0.01$,与单独电磁辐射组比较

图7 Western blot检测3种抑制剂(含DSMO)对原代培养大鼠皮层神经元中tau蛋白ser404位点暂时性过度磷酸化的影响



1:假辐照组(Sham);2:单独电磁辐照组(EMF);3:单独添加GSK-3β抑制剂处理组(EMF+LiCl);4:单独添加calpain抑制剂处理组(EMF+PD150606);5:GSK-3β抑制剂和calpain抑制剂联合处理组(EMF+LiCl+PD150606)

A:Western blot结果;B:半定量分析结果 a:$P<0.01$,与单独电磁辐射组比较

图8 Western blot检测3种抑制剂(不含DSMO)对原代培养大鼠皮层神经元中tau蛋白ser404位点暂时性过度磷酸化的影响

3 讨论

tau蛋白作为一个促使微管装配的微管相关蛋白,主要分布在神经元轴突中。自从发现tau蛋白是组成阿尔茨海默病(AD)的神经元纤维缠结的双螺旋细丝的主要成分后,tau蛋白即成为一个研究的热点[9]。即tau蛋白过度磷酸化与AD等神经退行性疾病的发生密切相关。过度磷酸化的tau蛋白丧失促微管组装的生物学活性,对蛋白水解酶的抵抗性增加,同时还可隔离参与微管装配的正常tau蛋白等,导致神经元功

能紊乱和退行性变。目前,以AD患者脑中分离的tau蛋白大约有40个磷酸化位点,比如ser199/202、Thr231、ser235、ser262、ser396、ser404等[10],并且不同位点磷酸化的tau蛋白有不同的生物学功能和病理学意义。ser396和ser404位点的磷酸化可促进tau蛋白的自我凝聚向成纤维方向发展[11]。中枢神经系统是电磁辐射作用的重要靶器官之一,电磁辐射对中枢神经系统的影响主要表现为神经退行性变。职业暴露于电磁场中可出现头痛、头晕、疲劳乏力、记忆力减退、睡眠功能障碍等精神症状,同时也是痴呆、AD等神经退行性变发生的高危险因素[12],但其发生机制仍不完全明确。本研究结果显示,电磁辐射可引起原代培养大鼠皮层神经元tau蛋白ser404位点过度磷酸化。提示电磁辐射暴露可促进tau蛋白聚合向成纤维方向发展,进一步提供了电磁辐射可能是促进神经退行性疾病发生的高危因素的证据。

细胞内tau蛋白磷酸化水平与特异的蛋白激酶和磷酸酶活性有关,通常认为tau蛋白的过度磷酸化可能是相关的蛋白激酶活性升高或磷酸酶活性降低所致。CDK5是目前公认的催化tau蛋白磷酸化的激酶。我们前期研究[8]显示,电磁辐射暴露可引起大鼠皮层神经元CDK5活性明显增加,本研究结果则显示CDK5抑制剂单独预处理可明显降低tau蛋白ser404位点的磷酸化水平。这些结果表明CDK5参与了电磁辐射引起的tau蛋白的过度磷酸化。在细胞内,CDK5的激酶活性受calpain活性的调节。在胞内游离钙大量存在的情况下,calpain活性增加,催化裂解P35为P25和P10。P25为CDK5的强活化亚基,其与CDK5结合后可使CDK5活性大幅度增强,进而导致tau蛋白的过度磷酸化。电磁辐射可引起细胞内游离钙超载[4]和P25蛋白含量明显增加[8]。本研究结果显示calpain抑制剂PD150606单独或与CDK5抑制剂联合预处理可明显降低电磁辐射引起的tau蛋白ser404位点的磷酸化,表明calpain-P25/CDK5胞内信号转导途径参与了电磁辐射引起的tau蛋白过度磷酸化和神经元损伤。GSK-3β是另一个参与tau蛋白磷酸化的激酶。GSK-3β可独立催化tau蛋白ser202位点的磷酸化,但不能直接引起tau蛋白ser404位点的磷酸化,其对tau蛋白ser396和ser404位点的磷酸化必须以CDK5对tau蛋白ser404位点的磷酸化为前提[13]。本研究结果显示电磁辐射暴露未能引起tau蛋白ser202和ser396位点的过度磷酸化,提示电磁辐射暴露并不通过GSK-3β活性的异常升高而引起tau蛋白相应位点的磷酸化水平改变。本研究发现,GSK-3β抑制剂单独使用或与CDK5抑制剂、calpain抑制剂联合预处理均可显著降低电磁辐射引起的tau蛋白ser404位点的过度磷酸化。这些结果提示电磁辐射暴露引起的tau蛋白ser404位点过度磷酸化依赖于GSK-3β正常激酶活性的维持。有文献表明,CDK5、GSK-3β和tau蛋白共存于脑细胞同一区域,并且可能通过形成三聚体发挥作用[12],提示CDK5对tau蛋白ser404位点的磷酸化需要GSK-3β的存在。结合本研究的结果可以推测,电磁辐射暴露虽不引起GSK-3β激酶活性及其催化位点ser202和ser396磷酸化水平的改变,但电磁辐射通过calpain-P25/CDK5途径引起的tau蛋白ser404位点的过度磷酸化需要正常生理活性的GSK-3β的存在。由此,GSK-3β抑制剂对GSK-3β正常活性的抑制,可能通过影响CDK5对ser404位点的磷酸化过程而抑制了电磁辐射暴露引起的tau蛋白ser404位点的过度磷酸化。

综上所述,电磁辐射暴露可通过calpain-P25/CDK5途径引起tau蛋白ser404位点的一过性过度磷酸化,并且这一过程依赖于GSK-3β正常生理活性的维持。虽然神经元tau蛋白磷酸化在电磁辐射暴露后12 h恢复正常,但如果长期反复暴露于电磁场中,tau蛋白过度磷酸化就可持续存在,就有可能导致神经元功能紊乱和退行性变。这需要下一步长期反复暴露和动物实验的验证。

参考文献:

[1] 张彦文, 安晓静, 谢燕, 等. 微波辐照对大鼠学习记忆行为和海马LTP影响[J]. 中国公共卫生, 2007, 23(2): 190-192.
[2] Qiu C, Fratiglioni L, Karp A, *et al*. Occupational exposure to electromagnetic fields and risk of Alzheimer's disease[J]. Epidemiology, 2004, 15(6): 687-694.
[3] 杨学森, 龚茜芬, 张广斌, 等. 电磁辐射对大鼠学习记忆和海马神经元的影响[J]. 解剖学研究, 2004, 26(2): 91-94.
[4] 杨学森, 索玉兰, 王勇, 等. 屏蔽措施对电磁辐射致学习记忆障碍的防护[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(2): 147-149.
[5] Camins A, Verdaguer E, Folch J, *et al*. The role of CDK5/P25 formation/inhibition in neurodegeneration[J]. Drug News Perspect, 2006, 19(8): 453-460.
[6] Cruz J C, Tseng H C, Goldman J A, *et al*. Aberrant Cdk5 activation by p25 triggers pathological events leading to neurodegeneration and neurofibrillary tangles[J]. Neuron, 2003, 40(3): 471-483.
[7] Gendron T F, Petrucelli L. The role of tau in neurodegeneration[J]. Mol Neurodegener, 2009, 4: 13.
[8] 佘飞, 张彦文, 李丽, 等. 电磁辐射对原代大鼠皮层神经元细胞周期素依赖性蛋白激酶5及其活化亚基的影响[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(22): 2374-2377.
[9] Sergeant N, Bretteville A, Hamdane M, *et al*. Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders[J]. Expert Rev Proteomics, 2008: 5(2): 207-224.
[10] Gong C X, Liu F, Grundke-Iqbal I, *et al*. Post-translational modifications of tau protein in Alzheimer's disease[J]. J Neural Transm, 2005, 112(6): 813-838.
[11] Gong C X, Iqbal K. Hyperphosphorylation of microtubule-associated protein tau: a promising therapeutic target for Alzheimer disease[J]. Curr Med Chem, 2008, 15(23): 2321-2328.
[12] Berg-Beckhoff G, Blettner M, Kowall B, *et al*. Mobile phone base stations and adverse health effects: phase 2 of a cross-sectional study with measured radio frequency electromagnetic fields[J]. Occup Environ Med, 2009, 66(2): 124-130.
[13] Li T, Hawkes C, Qureshi H Y, *et al*. Cyclin-dependent protein kinase 5 primes microtubule-associated protein tau site-specifically for glycogen synthase kinase 3beta[J]. Biochemistry, 2006, 45(10): 3134-3145.

(**收稿**:2012-03-08;**修回**:2012-03-14)
(编辑 吴培红)