维普资讯 http://www.cqvip.c

局解手术学杂志 2004年第13卷第5期
J Regional Anat & Operative Surg, 2004, Vol. 13, No. 5

·综 述·

MPTP诱导多巴胺神经元退变的细胞凋亡机制

Apoptotic mechanisms of dopaminergic neuron degeneration induced by MPTP

李奇慧[1]，董兆君[2]
（1.兰州军区空军后勤部卫生防疫队，甘肃 兰州 730020；2.第三军医大学预防医学院军事毒理学教研室，重庆 400038）

[关键词] 帕金森病；MPTP；凋亡
[中图分类号] R741；Q291 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2004)05-0343-03

帕金森病（parkinson's disease，PD），又名震颤麻痹（paralysis agitans），由parkinson于1817年首先描述并由此得名，是一种常见的中老年人神经系统变性疾病。其主要病理改变是黑质多巴胺（dopamine，DA）神经元变性、缺失。当黑质的DA细胞减少50%以上时，病人出现震颤、肌肉僵硬、运动障碍等。PD的病因迄今未明，发病机制十分复杂。研究认为可能与年龄、遗传、环境等风险因素及氧化应激、线粒体功能障碍、细胞凋亡等机制密切相关。本文对帕金森病多巴胺神经元退变的细胞凋亡机制综述如下。

1 MPTP与帕金森病

针对PD的研究建立了许多动物模型，其中应用最为广泛的是小鼠MPTP模型。MPTP（1-methyl-4-phenyl-1，2,3,6-tetrahydropyridine，1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶）是目前唯一被公认的可以诱发人类及非人类灵长类动物及小鼠PD症状的合成毒素[1]。MPTP可选择性诱导小鼠黑质多巴胺神经元缺失，其作用机理目前较为明确。MPTP穿过血脑屏障，被单胺氧化酶B（MAO-B）转化为相应的二氢吡啶（$MPDP^+$），$MPDP^+$随之氧化为1-甲基-4-苯基吡啶（MPP^+），MPP^+通过多巴胺转运体（DA transporter，DAT）进入纹状体DA神经元内。MPP^+可抑制酪氨酸羟化酶（tyrosine hydroxylase，TH）的活性而减少多巴胺的合成，也可积聚于线粒体内膜而抑制复合物Ⅰ（NADH脱氢酶）的活性，干扰氧化磷酸化作用，阻断了电子传递而减少ATP的合成，中止了线粒体呼吸链的正常运转，导致ATP不足，线粒体膜电位缺失，活性氧（reactive oxygen species，ROS）的形成及氧化应激等最终导致细胞死亡。同时，MPTP的兴奋性毒性也可能来源于钙稳态失衡，诱导谷氨酸盐介导的兴奋毒性以及刺激一氧化氮合成酶形成一氧化氮。而MPTP/MPP^+诱导的细胞死亡究竟是坏死还是凋亡仍是人们关注的焦点。目前普遍认为低剂量的MPTP/MPP^+导致凋亡而高剂量则导致坏死，也有研究认为MPTP或MPP^+诱导神经元发生了凋亡而不是坏死。

2 细胞凋亡机制

线粒体是调控细胞死亡过程的中心部位。各种外界刺激如氧化应激、缺氧、辐射等通过不同的路径激活凋亡基因或凋亡起始因子作用于线粒体，线粒体膜通透性增加，释放效应因子，最终导致细胞死亡。与凋亡信号转导有关的分子有钙离子、一氧化氮、ROS、转录调控因子、蛋白激酶（JNK）、Bcl-2及其家族成员等[2]。

Bcl-2家族成员与细胞凋亡密切相关，是生理性或病理性神经元死亡的关键因子。包括抑制凋亡的Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-w、Al/Bfl-1、Mcl-1，以及促进凋亡的Bax、Bad、Bak、Bcl-xs、Bid、Bik/Nbk、Bim/bod、Blk、Bok、Hrk/Dp5、Diva。凋亡促进蛋白Bax能够与其它家族成员形成异二聚体而插入线粒体外膜形成细胞色素C转运的特殊通道，细胞色素C自线粒体释放入胞质，继而发生细胞凋亡。Bcl-2可能发挥着抑制Bax的作用而阻止凋亡发生。

细胞色素C（Cyt.c）是凋亡过程中的又一重要因子。凋亡过程中线粒体内的Cyt.c移位至胞质，与Apaf1相结合，在Apaf1的介导下，首先使caspase-9前体裂解产生活化的caspase-9，活化的caspase-9再使caspase-3前体裂解产生活化的caspase-3，活化的caspase-3使具有DEVD序列（腺苷二磷酸核糖）聚合酶（PARP）前体裂解，产生有活性的PARP，后者在细胞凋亡的后续过程中起重要作用。

3 参与MPTP/MPP^+效应的凋亡相关分子

3.1 JNK

已确定的凋亡前信号分子JNK（c-jun N末端激酶）与神经退变性疾病相关。JNK信号级联可能是MPTP诱导神经元死亡的机制之一。JNK是应激活化蛋白激酶（SAPK）系统的组成部分之一，被其它凋亡信号激活后磷酸化，并且阻止抗凋亡蛋白Bcl-xL的活性。MPTP处理后黑质纹状体系统磷酸化的JNK及JNK激酶水平迅速升高（分别为2.5倍及5倍）。JNK激酶亦称MKK4，是JNK的一种激活因子。JNK活化抑制剂CEP-1347/KT-7515能够降低小鼠注射MPTP后的神经毒作用，并能降低黑质纹状体多巴胺神经元的死亡数量[3]。

3.2 Bcl-2

凋亡负调控因子Bcl-2与MPTP/MPP^+诱导的神经元死亡相关。Itano等[4]用1 mmol/L MPP^+处理人类神经母细胞瘤SH-

[收稿日期] 2004-02-15 [修回日期] 2004-03-16

维普资讯 http://www.cqvip.com

SY5Y细胞数天后引起了Bcl-2蛋白的增加。但应用蛋白酶抑制剂staurosporine后，抑制了Bcl-2的增加而并未减少细胞死亡的数量，似乎又表明这类细胞Bcl-2的增加实际上与MPP^+诱导的细胞死亡路径无关。而Veech等[5]应用同样的细胞却得出了不同的结论，用5 mmol/L MPP^+处理SH-SY5Y细胞18～24 h，Western-blotting分析显示Bcl-2及Bcl-XL均增高，而半定量RT-PCR也表明Bcl-2 mRNA合成相应增加。进一步的发现认为Bcl-2及Bcl-XL的增加实际上是对MPP^+诱发的氧化应激及ROS产生的一种适应性反应，只有在线粒体电子传递功能正常时MPP^+才能够刺激这两种抗凋亡蛋白的增加。缺乏电子传递功能及线粒体DNA的SH-SY5Yρ0细胞经MPP^+处理后Bcl-2及Bcl-xL并不增加。当细胞转染了人类Bcl-2基因后(MN9D/ Bcl-2)，MPP^+诱导细胞死亡的效应降低。而当MN9D细胞转染了C-末端缺失突变的Bcl-2后，细胞存活率界于正常MN9D细胞以及MN9D/ Bcl-2之间，表明Bcl-2的C-末端结构域是降低MPP^+毒性的关键部位。过表达Bcl-2可减少MPTP导致的多巴胺神经元缺失。Offen等[6]用50 μmol/L MPP^+处理过表达Bcl-2的转基因小鼠皮层神经元(NSE-h Bcl-2)2～4 h后，死亡细胞数显著低于野生型皮层神经元。体内实验也证实了这一点，给野生型及转基因小鼠分别注射MPTP 10 mg/kg，间隔24 h，注射4次，10 d后野生型小鼠纹状体多巴胺水平降低了32%，而杂合型NSE-h Bcl-2小鼠无显著变化。

3.3 Bax

Bax是促凋亡的Bcl-2家族成员之一。给小鼠注射MPTP可引起黑质Bax的增加[7]。研究者给成年小鼠腹膜内注射MPTP 20 mg/kg，间隔4 h，共4次，分别于3 d及6 d后处死，测定黑质bax、mRNA及Bax免疫活性，这些参数均显著增加。但也有相反的结论，100 μmol/L MPP^+持续作用于MN9D细胞24 h并未引起Bax表达的增加。过表达鼠Bax的MN9D/Bax细胞和正常MN9D细胞经MPP^+处理后死亡率没有差别[8]。

3.4 caspases

caspases在MPTP/ MPP^+诱导的神经细胞凋亡过程中发挥了重要作用。经60 μmol/L MPP^+处理的小脑颗粒细胞caspase-3活性显著增加，约为非处理细胞的5倍左右，且呈浓度与时间依赖关系[9]。100 μmol/L MPP^+则同时引起胞浆中Cyt.c的显著增加，这种变化发生于细胞发生凋亡的结构改变之前。caspase-3抑制剂Ac-DEVD-CHO能够降低MPP^+对小脑颗粒细胞的神经毒作用。低浓度MPP^+处理培养的大鼠中脑腹侧神经元(包括多巴胺神经元)caspase-3活性亦增加。广谱caspase抑制剂ZVAD-fmk(50～100 μmol/L)抑制了MPP^+引起的CH3细胞DNA ladder的形成，并且明显抑制了MPP^+诱导的原代培养的中脑神经元发生凋亡[10]。Caspase参与了MPTP诱导的神经元凋亡在转基因小鼠体内也得到了进一步证实，突变型小鼠可以抵抗MPTP的神经毒性作用。Hartmann等[11]用1 μmol/L MPP^+诱导原代培养的大鼠中脑神经元发生凋亡，多巴胺细胞(TH-阳性)缺失从3.4%(12 h)上升到78.5%(72 h)。处理12 h后能够结合CM1抗体(特异性识别活化了的caspase-3)的多巴胺细胞数量两倍于未处理组，但72 h后约下降一半(与对照组相比)。表明caspase-3活化是细胞死亡的一个效应阶段而并非细胞死亡的结果。因此，阻断caspase的活化将能抑制细胞死亡的进程。

4 PD病人黑质中凋亡相关分子

目前已有一些研究表明PD病人黑质中存在着凋亡现象。免疫组化及Western blotting均显示PD病人脑内Bcl-2水平显著增加，但并非所有脑区，如大脑皮层等脑区无显著变化。Bcl-2水平上调使黑质多巴胺神经元耐受氧化应激的能力增加。但原位杂交法检测bcl-2 mRNA水平并不支持上述结果，PD病人黑质bcl-2 mRNA水平与对照组相比无显著差异[12]。研究者同时指出PD病人黑质神经元本身处于非正常状态，其中许多细胞功能下降，bcl-2 mRNA水平与对照组相当可能正是一种阻止神经元退变的保护机制。此外，Hartmann等亦发现PD病人中脑Bcl-xL表达增加[13]。

caspase是对PD病人检测的另一凋亡分子。PD病人的黑质纹状体区caspase-1，3的活性与对照组相比分别增加了1.5倍和2倍[14]，黑质区呈CM1抗体阳性的多巴胺神经元亦高于对照组[11]。caspase-3的活化并未发生于凋亡神经元出现典型的染色质凝聚的终阶段，而是在凋亡效应阶段的开始。

[参考文献]

[1] Olanow CW, Tatton WG. Etiology and pathogenesis of Parkinson's disease[J]. Annu Rev Neurosci, 1999, 22: 123－144.

[2] Jaattela M. Programmed cell death: many ways for cells to die decently[J]. Ann Med, 2002, 34(6): 480－488.

[3] Saporito MS, Brown EM, Miller MS, et al. CEP-1347/KT-7515, an inhibitor of c-jun N-terminal kinase activation, attenuates the 1-methyl-4-phenyl tetrahydropyridine-mediated loss of nigrostriatal dopaminergic neurons in vivo[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1999, 288(2): 421－427.

[4] Itano Y, Nomura Y. 1-Methyl-4-phenylpyridinium ion(MPP^+) causes DNA fragmentation and increases the Bcl-2 expression in human neuroblastoma, SH-SY5Y cells, through different mechanisms[J]. Brain Res, 1995, 704(2): 240－245.

[5] Veech GA, Dennis J, Keeney PM, et al. Disrupted mitochondrial electron transport function increases expression of anti-apoptotic bcl-2 and bcl-X(L) proteins in SH-SY5Y neuroblastoma and in Parkinson disease cybrid cells through oxidative stress [J]. J Neurosci Res, 2000, 61(6): 693－700.

[6] Offen D, Beart PM, Cheung NS, et al. Transgenic mice expressing human Bcl-2 in their neurons are resistant to 6-hydroxydopamine and 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(10): 5789－5794.

[7] Hassouna I, Wickert H, Zimmermann M, et al. Increase in bax expression in substantia nigra following 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP) treatment of mice[J]. Neurosci Lett, 1996, 204(1-2): 85－88.

[8] Choi WS, Yoon SY, Oh TH, et al. Two distinct mechanisms are involved in 6-hydroxydopamine and MPP^+-induced dopaminergic

维普资讯 http://www.cqvip.c

neuronal cell death: role of caspases, ROS, and JNK[J]. J Neurosci Res, 1999, 57(1): 86-94.

[9] Du Y, Dodel RC, Bales KR, et al. Involvement of a caspase-3-like cysteine protease in 1-methyl-4-phenylpyridinium-mediated apoptosis of cultured cerebellar granule neurons[J]. J Neuro Chem, 1997, 69(4): 1382-1388.

[10] Bilsland J, Roy S, Xanthoudakis S, et al. Caspase inhibitors attenuate 1-methyl-4-phenylpyridinium toxicity in primary cultures of mesencephalic dopaminergic neurons[J]. J Neurosci, 2002, 22(7): 2637-2649.

[11] Hartmann A, Hunot S, Michel PP, et al. Caspase-3: A vulnerability factor and final effector in apoptotic death of dopaminergic neurons in Parkinson's disease[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(6): 2875-2880.

[12] Vyas S, Javoy AF, Herrero MT, et al. Expression of Bcl-2 in adult human brain regions with special reference to neurodegenerative disorders[J]. J Neurochem, 1997, 69(1): 223-231.

[13] Hartmann A, Mouatt Prigent A, Vila M, et al. Increased expression and redistribution of the antiapoptotic molecule Bcl-xL in Parkinson's disease[J]. Neurobiol Dis, 2002, 10(1): 28-32.

[14] Mogi M, Togari A, Kondo T, et al. Caspase activities and tumor necrosis factor receptor R1(p55) level are elevated in the substantia nigra from parkinsonian brain[J]. J Neural Transm, 2000, 107(3): 335-341.

(编辑:雷 艳)

燕麦对脂代谢影响的研究进展

Advances in the studies of the effects of oats on lipid metabolism

尹黎明,石元刚
(第三军医大学预防医学院营养卫生与食品卫生教研室,重庆 400038)

[关键词] 燕麦;脂代谢;药理活性
[中图分类号] R151.2 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2004)05-0345-03

燕麦是禾本科燕麦属的草本植物,分皮燕麦和裸燕麦两种类型。中医认为燕麦有收敛止血、固表止汗之功效。现代医学证实燕麦是一种具有降血脂、降血压、抗氧化等多种生物活性的食品。弄清燕麦降脂和降血压机理,并从中分离提取有价值的成分加工成保健食品,达到降低血脂,预防冠心病和动脉粥样硬化以及高血压的目的,是目前营养学研究的热点之一。

1 燕麦的营养价值及化学成分

燕麦营养价值丰富而全面,其蛋白质、脂肪、维生素E、膳食纤维以及钙、镁、铁、磷等矿物元素含量均高于其它谷类作物。膳食纤维由多糖化合物和木质素组成,纤维多糖化合物主要由燕麦胶(β-葡聚糖)、果胶、瓜尔胶等组成,具有降低血清胆固醇的作用。裸燕麦中含有较多的亚油酸,占燕麦中全部不饱和脂肪酸的35%~52%。燕麦属植物中含有皂苷类、酚类、葡聚糖类等化合物。皂苷类化合物主要为齐墩果烷型皂苷(avenacin A1、A2、B1、B2)和甾体皂苷(avenacoside A、B,5、6)两种类型。苯酚类化合物主要有苯并噻类和苯丙素类两种类型,从燕麦粒和燕麦壳中分离到11个桂皮酰类衍生物,这些苯丙素类化合物是燕麦属植物抗氧化的主要活性成分。燕麦中还含有抗氧化剂咖啡酸和阿魏酸类衍生物及多糖类成分,其中葡聚糖的含量为6%~8%。

[收稿日期] 2004-02-26 [修回日期] 2004-03-12

2 燕麦对脂代谢和血压影响的研究现状

脂类代谢与心血管疾病密切相关,高血脂则是引发动脉粥样硬化(AS)的主要原因之一,特别是胆固醇(TC)及低密度脂蛋白(LDL-c)水平增高是致AS的危险指标。而高密度脂蛋白(HDL-c)与AS呈负相关,HDL-c/TC值越大,LDL-c/HDL-c值越小,则抗AS作用越强。燕麦具有降血脂、抗血小板聚集和抗高血粘作用的药理作用[1],可明显降低TC、甘油三脂(TG)、β-脂蛋白,及升高HDL-c和HDL-c/LDL-c,同时也能够降低轻、中度高血压患者的血压。

2.1 甘油三酸酯和生育三烯酸能够降低TC及LDL-C水平

美国农业研究局和威斯康星大学的科研人员从燕麦的糠皮中分离出能降低血浆TC浓度的物质甘油三酸酯和生育三烯酸(tocotrienol)。目前这两种物质虽然都没有经过人体试验,但对鸡、白鼠和猪的试验效果良好,没有副作用。饲喂含胆固醇抑制剂饲料的鸡,其血LDL-c比以玉米为主的鸡降低40%,而HDL-c含量则相当。这可能是甘油三酸酯和生育三烯酸主要具有抑制一些控制胆固醇合成和将其水解为胆汁酸酶的活性,把胆固醇降解为胆汁酸排出体外。进一步的研究将弄清各种酶是怎样控制胆固醇的。如能将这两种有价值的成分从燕麦的麸皮或籽粒中分离提纯,制成各种保健新食品,那么这些食