

MPTP/MPP⁺ 诱导神经元凋亡的机制研究

张玉花¹ 蔡蕊² 刘江华³ 朱春雨³ 解洪荣^{3△}

(1 大庆油田总医院 CT 室 黑龙江 大庆 163001 2 天津南开华山医院 天津 300000 ;

3 大庆油田总医院神经内科 黑龙江 大庆 163001)

摘要 :1982 年人们发现 1- 甲基 -4- 苯基 -1,2,3,6- 四氢吡啶(MPTP)能诱发 PD ,它的有效成分是 1- 甲基 -4- 苯基吡啶离子(MPP⁺)。目前 ,MPTP/MPP⁺ 广泛的被用作诱导 PD 实验模型的有效药物 ,可诱导神经元细胞发生凋亡性死亡。MPTP/MPP⁺ 诱导细胞凋亡的机制牵涉 Bcl-2、p53、caspase 家族、JNK 通路、ERK 通路和 PARP 等多种机制 ,它们共同参与了 MPTP/MPP⁺ 诱导的细胞凋亡的调控和执行阶段。本文主要综述 MPTP/MPP⁺ 诱导的神经元细胞凋亡机制。

关键词 :1- 甲基 -4- 苯基 -1,2,3,6- 四氢吡啶(MPTP) ;1- 甲基 -4- 苯基吡啶离子(MPP⁺) ;帕金森病(PD) ;凋亡

中图分类号 :R742.5 **文献标识码** :A **文章编号** :1673-6273(2011)05-964-04

The study of MPTP/MPP⁺-induced apoptosis of neurons

ZHANG Yu-hua¹, CAI Rui², LIU Jiang-hua³, ZHU Chun-yun³, XIE Hong-rong^{3△}

(1 Department of Computerized Tomography, Daqing Oilfield General Hospital, Heilongjiang, Daqing 163001, China

2 Tianjin nankai huashan hospital ,Tianjin city, 300000, China; 3 Department of Neurology, Daqing Oilfield

General Hospital, Heilongjiang, Daqing 163001, China)

ABSTRACT: Since 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) and its active neurotoxic metabolite 1-Methyl 4-phenyl-pyridinium (MPP⁺) have been shown to induce PD, people have done lots of research on the neurotoxicity of MPTP/MPP⁺. So, MPTP/MPP⁺ has been widely used to be neurotoxin to induce experimental model of PD. MPTP/MPP⁺ can induce neuronal apoptosis through various mechanisms, involving Bcl-2, p53, caspase, JNK pathway, ERK pathway and PARP etc. These mechanisms collaborative participate in the control and performance of neuronal apoptosis induced by MPTP/MPP⁺. This article mainly review the apoptosis mechanisms induced by MPTP/MPP⁺.

Key words: 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP); 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP⁺); Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R742.5 **Document code**: A

Article ID:1673-6273(2011)05-964-04

前言

1- 甲基 -4- 苯基 -1,2,3,6- 四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)能在人类产生酷似帕金森病(PD)的症状、进行性过程和病理变化 ,而且对中枢黑质多巴胺能神经元有选择性的破坏作用^[1]。MPTP 本身不具有毒性作用 ,具有毒性的是其活性代谢产物 1- 甲基 -4- 苯基吡啶离子 (1-methyl-4-pehnyl-pyridine, MPP⁺)。MPTP 具有高度脂溶性 ,容易通过血脑屏障 ,在神经胶质细胞中单胺氧化酶的作用下转化为它的有效成份 MPP⁺。MPTP/MPP⁺ 不仅可以诱导人类和整体动物的 PD 实验模型还能诱导体外培养细胞的 PD 实验模型 ,因此 MPTP/MPP⁺ 正逐渐成为一类较为理想的诱导 PD 实验模型的药物 ,在全世界范围内广泛应用。MPP⁺ 通过多巴胺转运体进入多巴胺能神经细胞 ,通过氧化应激和损伤线粒体两种方式导致细胞死亡。众多的研究发现 MPTP/MPP⁺ 不仅能引起黑质多巴胺能神经元坏死 ,还能引起

凋亡性细胞死亡^[2,3]。最广泛的解释是低浓度的 MPP⁺ 主要诱导早期凋亡 ,随着 MPP⁺ 浓度的增加 ,晚期凋亡和坏死明显增加^[4]。有研究表明 MPP⁺ 在浓度超过 0.5mM 时能引起坏死性细胞死亡^[5]。还有研究表明 MPTP/MPP⁺ 能引起自噬性细胞死亡^[6,7]。本文主要综述 MPTP/MPP⁺ 诱导的帕金森病实验模型的细胞凋亡机制。

1 MPTP/MPP⁺ 诱导神经元凋亡性死亡

MPTP/MPP⁺ 诱导神经元细胞凋亡的研究较多 ,体内外实验都证实了 MPTP/MPP⁺ 可诱导神经元细胞发生凋亡。细胞凋亡是指细胞在一定的生理或病理条件下 ,遵循自身的程序自己结束其生命的过程 ,故又称细胞程序性死亡。它是一个主动的、高度有序的、基因控制的、一系列酶参与的过程。正常生理过程和发育过程中 ,细胞凋亡是必需的 ,但过度的细胞凋亡就会造成病理过程如 PD 等。MPTP/MPP⁺ 诱导细胞凋亡的机制牵涉 Bcl-2、p53、caspase 家族、JNK 通路、ERK 通路和 PARP 等 ,它们共同参与了 MPTP/MPP⁺ 诱导的细胞凋亡的调控和执行阶段。

1.1 Bcl-2 基因家族参与 MPTP/MPP⁺ 诱导的细胞凋亡

Bcl-2 属于一个基因家族 ,包括两类 ,一类是促使细胞死亡的 Bax、Bak、Bad 和 Bcl-xs 等 ,它们能在受到凋亡信号刺激时 ,

作者简介 :张玉花(1974-) ,女 ,学士 ,主要研究方向 :头部 CT 影像。电话 :18604590297 ,E-mail:306401791@qq.com

△通信作者 :解洪荣 E-mail:xiehongrong99@yahoo.com.cn

(收稿日期 2010-11-03 接受日期 2010-11-27)

促进细胞色素 C (Cyt C) 的释放; 另一类是抑制细胞凋亡的 Bcl-2 和 Bcl-xl 等, 它们可以稳定细胞器膜从而阻止线粒体释放 Cyt C. Bcl-2、Bax 和 Bcl-x 蛋白三者形成一个凋亡调控系统, 它们的比例调节着凋亡的发生与发展。有证据表明敲除 Bax 前体基因的突变小鼠和 Bcl-2 过表达的转基因小鼠可以减轻 MPTP/MPP+ 对 DAergic 神经元造成的损伤, 而 Bcl-2 和 Bcl-xl 的表达降低促进 MPTP/MPP+ 的毒性^[8-10]。还有证据表明 Bax 的 mRNA 和蛋白在 MPTP/MPP+ 处理的细胞及体内都显著升高^[11], 促进了细胞凋亡的发生。在 MPP+ 诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡的研究发现, 随着时间延长, 细胞凋亡率逐渐上升, Bcl-2 蛋白逐渐下降, Bax 蛋白表达逐渐上升, 二者的比例与细胞凋亡呈平行关系, 提示 Bcl-2 和 Bax 蛋白在 MPP+ 诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡中可能起重要作用。这些证据提示 Bcl-2 基因家族对 MPTP/MPP+ 诱导的细胞凋亡具有重要的调节作用。Bcl-2 家族蛋白主要作用于线粒体, 主要是通过调控 Cyt C 的释放激活 caspases 从而调控细胞凋亡过程。

1.2 p53 参与 MPTP/MPP+ 诱导的细胞凋亡

p53 是一种重要的抑癌基因, 已经被证实具有凋亡促进作用, 但在不同的组织中诱导凋亡的机制可能不尽相同。p53 基因参与 MPTP/MPP+ 诱导的神经元凋亡过程可能是首先由于 DNA 损伤诱导 p53 表达增高, 然后与受损 DNA 结合并激活, 通过对下游信号分子如 Bax、Bcl-2、c-myc 等的调控而启动的。有研究表明 p53 水平增加时, 能够激活 Bax 基因的转录, 导致

Bax/Bcl-2 的比率升高^[12], 从而促进细胞凋亡。MPTP 可以诱导小鼠中脑多巴胺能神经元的凋亡, 伴有 p53、Bax 表达升高, 而使用 p53 抑制剂可以抑制上述现象, 这表明是 p53 诱导的 Bax 表达上调参与了 MPTP 的 DAergic 神经毒性^[13]。敲除 p53 基因的转基因小鼠能抵抗 MPTP 的毒性作用^[14], 这证明了 p53 基因在 MPTP/MPP+ 诱导 DAergic 神经元凋亡中的重要作用。此外, p53 的生物半衰期较短, 很容易被降解, 而 MPTP 染毒后, 迅速激活的聚腺苷二磷酸核糖基聚合酶(PARP)可以使 p53 发生聚腺苷二磷酸核糖基化而稳定性增加, 更有助于 p53 发挥促凋亡作用。

1.3 半胱氨酸蛋白酶参与 MPTP/MPP+ 诱导的细胞凋亡

半胱氨酸蛋白酶(caspase)是细胞凋亡的效应分子, 在细胞凋亡调控的生化事件中起着关键性作用。Caspase 家族蛋白具有半胱氨酸蛋白酶类和天冬氨酸特异酶切位点, 故称半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶(cysteine aspartate specific protease, caspase)。由于 caspase 是细胞凋亡的效应器, 特别是 caspase-3 被认为是细胞凋亡蛋白级联反应的必经之路, 因此在 MPTP/MPP+ 诱导的神经元凋亡中也必然起到关键性作用。越来越多实验结果证实, caspase 可介导 MPTP/MPP+ 诱导的神经元损伤并在细胞凋亡中起效应因子的作用^[15]。实验证实 MPTP/MPP+ 可使受处理的细胞凋亡, caspase-3 活性明显增加, 而 caspase-3 抑制剂能够降低 MPTP/MPP+ 的神经毒作用^[16,17], 提示 MPTP/MPP+ 的神经毒作用涉及 caspase-3 激活为终

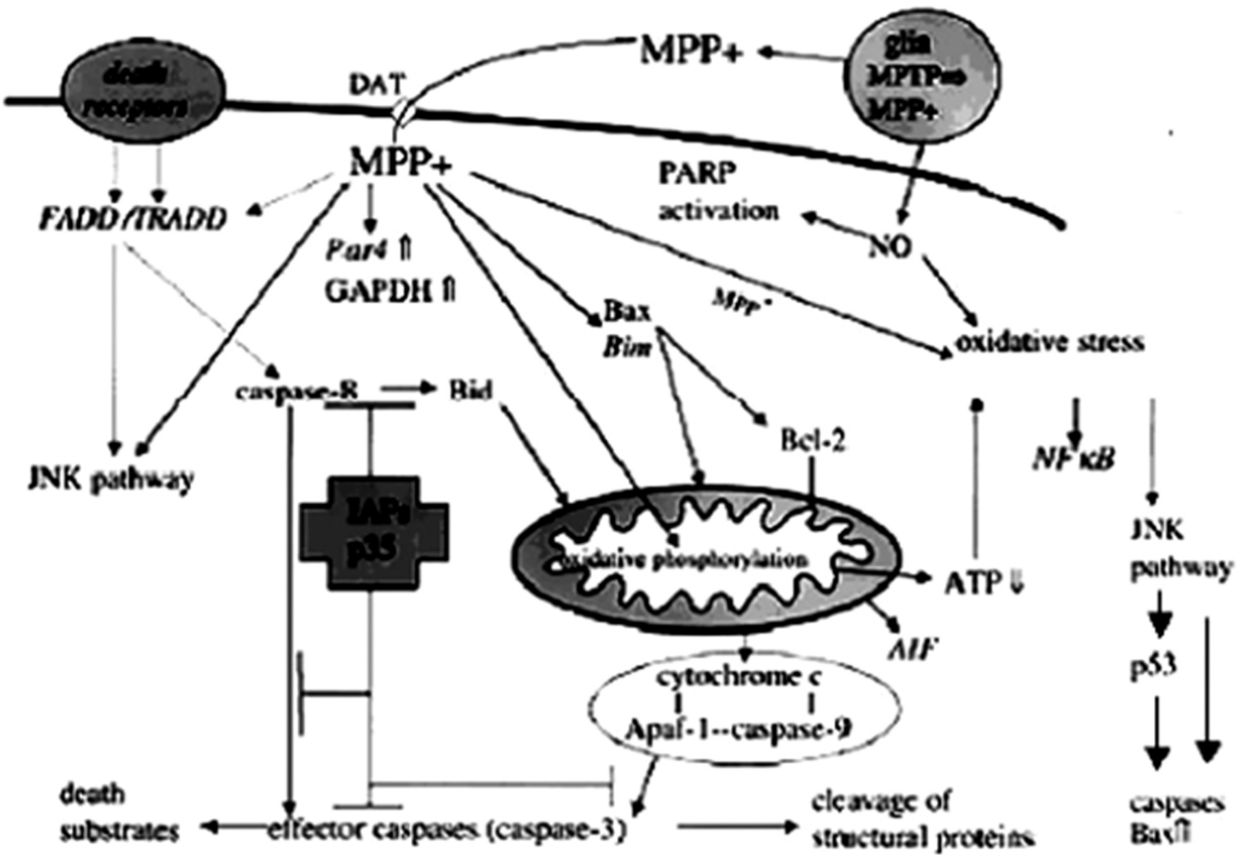


图 1 MPTP/MPP+ 诱导 DA 能神经细胞凋亡的分子机制模式^[26]

Fig.1 Pathways in MPTP/MPP+-mediated apoptosis of dopaminergic neuron

点的凋亡通路。不具有 caspase 活性的转基因鼠可抵抗 MPTP 的神经毒性作用^[18],也进一步证实了 caspase 与 MPTP 诱导的细胞凋亡间的密切关系。有研究表明,caspase-3 的活化是 MPP+ 诱导细胞凋亡的一个效应阶段而不是细胞死亡的结果^[19]。许多研究表明,MPTP/MPP+ 通过 Bcl-2 家族蛋白引起线粒体膜通透性的增加,使 Cyt C 释放入胞浆与 Apaf-1 结合,从而导致 caspase-9、caspase-8 和 caspase-3 的依次激活,启动线粒体凋亡通路,产生细胞凋亡^[20,21]。

1.4 磷酸化反应参与 MPTP/MPP+ 诱导的细胞凋亡

近来研究表明,MPTP/MPP+ 还能够通过引起一系列磷酸化反应,引起 DAergic 神经元凋亡的信号传导通路激活而导致细胞凋亡。MPTP/MPP+ 能使 MAPK 激酶 (MKK)、JNK 和 c-Jun 的磷酸化表达增加,而不影响各自的蛋白水平,继而发生 caspase 的激活及细胞凋亡。有学者证明 JNK 抑制剂可以阻止 JNK 和 c-Jun 的磷酸化,并使多巴胺能神经元免于凋亡^[22]。这提示 MPTP/MPP+ 通过磷酸化激活了 JNK 通路,诱导了神经元凋亡。MPTP/MPP+ 可能是通过产生 ROS 而介导 JNK 磷酸化的,因为单独使用氧化剂也可以诱发相似的结果,而抗氧化剂可以显著抑制上述作用^[23,24]。有学者证明 MPP+ 能引起细胞外信号调节蛋白激酶 (ERK) 的磷酸化水平增高并诱导细胞凋亡,阻断 ERK 途径可以减弱 MPP+ 的毒性。这提示 ERK 通路的活化也与 MPTP/MPP+ 诱导的神经元凋亡有关。

1.5 PARP 的激活参与 MPTP/MPP+ 诱导的细胞凋亡

PARP 的激活对于 MPTP 诱导的细胞凋亡具有重要作用。MPTP 可以诱导神经细胞氧化应激,产生大量自由基而导致 DNA 的损伤,从而强烈地激活 PARP。活化的 caspase-3 也可使 PARP 前体裂解,产生有活性的 PARP。激活的 PARP 形成聚合物,对多种核蛋白进行聚腺苷二磷酸核糖基化参与的 DNA 修复,但同时损耗烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD+) 和 ATP。受到上述分子信号刺激以后,凋亡诱导因子 (AIF) 从线粒体易位到胞核,诱导核聚缩及 DNA 碎片化,从而介导 caspases 非依赖型细胞凋亡,而敲除 PARP 基因的小鼠则无此现象^[25]。

综上所述,MPTP/MPP+ 主要通过 caspases 依赖性途径诱导的细胞凋亡,但也存在 caspases 非依赖性途径。除了上述机制以外,可能还存在其他的参与 MPTP/MPP+ 诱导的细胞凋亡的途径。图 1 是 Eberhardt 等学者综述研究的 MPTP/MPP+ 诱导多巴胺能神经元凋亡的分子机制模式图^[26]。从图示可以看出 MPTP/MPP+ 诱导的神经元细胞凋亡可能与多种机制有关,并且可能相互交叉共同发挥作用。

2 结论

MPTP/MPP+ 可诱导神经元细胞发生凋亡性死亡。MPTP/MPP+ 诱导细胞凋亡的机制牵涉 Bcl-2、p53、caspase 家族、JNK 通路、ERK 通路和 PARP 等多种机制,它们共同参与了 MPTP/MPP+ 诱导的细胞凋亡的调控和执行阶段。

参考文献 (References)

- [1] Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, et al. Chronic Parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis [J]. Science, 1983, 219(4587):979-80
- [2] Nicotra A, Parvez SH. Cell death induced by MPTP, a substrate for monoamine oxidase B [J]. Toxicology, 2000, 153(1-3):157-66
- [3] Xu J, Wei C, Xu C, et al. Rifampicin protects PC12 cells against MPP+-induced apoptosis and inhibits the expression of an alpha-Synuclein multimer [J]. Brain Res, 2007, 1139:220-5
- [4] Fan GH, Qi C, Chen SD. Heat shock proteins reduce toxicity of 1-methyl-4-phenylpyridinium ion in SK-N-SH cells [J]. J Neurosci Res, 2005, 82(4):551-62
- [5] Sharma SK, Carlson EC, Ebadi M. Neuroprotective actions of Selegiline in inhibiting 1-methyl, 4-phenyl, pyridinium ion (MPP+)-induced apoptosis in SK-N-SH neurons [J]. J Neurocytol, 2003, 32(4):329-43
- [6] Meredith GE, Totterdell S, Beales M, et al. Impaired glutamate homeostasis and programmed cell death in a chronic MPTP mouse model of Parkinson's disease [J]. Exp Neurol, 2009, 219(1):334-40
- [7] Zhu JH, Horbinski C, Guo F, et al. Regulation of autophagy by extracellular signal-regulated protein kinases during 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced cell death [J]. Am J Pathol, 2007, 170(1):75-86
- [8] Hochman A, Sternin H, Gorodin S, et al. Enhanced oxidative stress and altered antioxidants in brains of Bcl-2-deficient mice [J]. J Neurochem, 1998, 71(2):741-8
- [9] Yang L, Matthews RT, Schulz JB, et al. 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity is attenuated in mice overexpressing Bcl-2 [J]. J Neurosci, 1998, 18(20):8145-52
- [10] Vila M, Jackson-Lewis V, Vukosavic S, et al. Bax ablation prevents dopaminergic neurodegeneration in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(5):2837-42
- [11] 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):85-8
- [12] Miyashita T, Reed JC. Tumor suppressor p53 is a direct transcriptional activator of the human bax gene [J]. Cell, 1995, 80(2):293-9
- [13] Duan W, Zhu X, Ladenheim B, et al. p53 inhibitors preserve dopamine neurons and motor function in experimental parkinsonism [J]. Ann Neurol, 2002, 52(5):597-606
- [14] Trimmer PA, Smith TS, Jung AB, et al. Dopamine neurons from transgenic mice with a knockout of the p53 gene resist MPTP neurotoxicity [J]. Neurodegeneration, 1996, 5(3):233-9
- [15] von Coelln R, Kügler S, Bähr M, et al. Rescue from death but not from functional impairment: caspase inhibition protects dopaminergic cells against 6-hydroxydopamine-induced apoptosis but not against the loss of their terminals [J]. J Neurochem, 2001, 77(1):263-73
- [16] 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): 2637-49

[17] 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 Neurochem, 1997, 69(4): 1382-8

[18] Klevenyi P, Andreassen O, Ferrante RJ, et al. Transgenic mice expressing a dominant negative mutant interleukin-1beta converting enzyme show resistance to MPTP neurotoxicity [J]. Neuroreport, 1999, 10(3):635-8

[19] 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 U S A, 2000, 97(6): 2875-80

[20] Cassarino DS, Parks JK, Parker WD Jr, et al. The parkinsonian neurotoxin MPP+ opens the mitochondrial permeability transition pore and releases cytochrome c in isolated mitochondria via an oxidative mechanism [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 1453(1): 49-62

[21] Mochizuki H, Hayakawa H, Migita M, et al. An AAV-derived Apaf-1 dominant negative inhibitor prevents MPTP toxicity as antiapoptotic gene therapy for Parkinson's disease [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(19):10918-23

[22] Xia XG, Harding T, Weller M, et al. Gene transfer of the JNK interacting protein-1 protects dopaminergic neurons in the MPTP model of Parkinson's disease [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(18):10433-8

[23] Chen XC, Fang F, Zhu YG, et al. Protective effect of ginsenoside Rg1 on MPP+-induced apoptosis in SHSY5Y cells [J]. J Neural Transm, 2003, 110(8):835-45

[24] Chun HS, Gibson GE, DeGiorgio LA, et al. Dopaminergic cell death induced by MPP (+), oxidant and specific neurotoxicants shares the common molecular mechanism [J]. J Neurochem, 2001, 76(4): 1010-21

[25] Wang H, Shimoji M, Yu SW, et al. Apoptosis inducing factor and PARP-mediated injury in the MPTP mouse model of Parkinson's disease [J]. Ann N Y Acad Sci, 2003, 991:132-9

[26] Eberhardt O, Schulz JB. Apoptotic mechanisms and antiapoptotic therapy in the MPTP model of Parkinson's disease [J]. Toxicol Lett, 2003, 139(2-3):135-51

更正说明

发表在本刊 2011 年第 11 卷第 3 期第 505 页的论文《吸入 M3 受体拮抗剂对稳定期 COPD 肺功能的影响》,第一作者朱例例更改为朱莉莉。

特此证明 !!

编辑部