

6-羟基-1-氢-吡啶保护 MPP⁺ 诱导凋亡的 SH-SY5Y 细胞的机制梁小凤¹, 朱雯婷², 饶进军¹, 王文雅¹

摘要 目的 研究 6-羟基-1-氢-吡啶对 1-甲基-4-苯基-吡啶离子(MPP⁺) 诱导凋亡的 SH-SY5Y 细胞的保护作用机制。方法 体外培养人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y,以 200 μmol/L MPP⁺ 诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡建立体外帕金森病细胞模型。Western blot 法分别检测 200 μmol/L MPP⁺ 和 200 μmol/L MPP⁺ 联合 0.1 μmol/L 6-羟基-1-氢-吡啶作用后 SH-SY5Y 细胞内糖原合酶激酶 3β (GSK-3β)、周期依赖性蛋白激酶 5 (CDK5) 以及凋亡蛋白酶 3 (caspase-3) 的活性。结果 200 μmol/L MPP⁺ 作用 SH-SY5Y 细胞 8 h, GSK-3β、CDK5 与 caspase-3 活性升高。200 μmol/L MPP⁺ 联合 0.1 μmol/L 6-羟基-1-氢-吡啶作用 SH-SY5Y 细胞 8 h, GSK-3β、CDK5 与 caspase-3 的活性降低。结论 6-羟基-1-氢-吡啶对 MPP⁺ 诱导凋亡的 SH-SY5Y 细胞的保护机制可能是抑制 GSK-3β、CDK5 和 caspase-3 的活性。

关键词 6-羟基-1-氢-吡啶; SH-SY5Y 细胞; MPP⁺; 糖原合酶激酶 3β; 周期依赖性蛋白激酶 5; 凋亡蛋白酶 3

中图分类号 R 962; R 742.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)05-0585-05

帕金森病(Parkinson's disease, PD) 是位居第二的神经退行性疾病^[1]。PD 病因未明,主要病理改变是多巴胺能神经元丢失、Lewy-body 蛋白沉淀、tau 过度磷酸化等^[2]。现今主流的治疗方案是补充左旋多巴,但左旋多巴不能减缓 PD 的病程,长期使用疗效不佳^[3],这迫使人们寻找新的治疗方案。前期工作表明 1-甲基-4-苯基-吡啶离子(1-methyl-4-phenylpyridinium, MPP⁺) 诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡建立的体外 PD 细胞模型中,6-羟基-1-氢-吡啶可保护多巴胺能神经元和抑制 tau 磷酸化,但作用的具体信号通路尚不清楚。PD 普遍存在 tau 过度磷酸化^[4],体内磷酸化 tau 的主要激酶有糖原合酶激酶 3β (glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β) 和周期依赖性蛋白

激酶 5 (cyclin dependent kinase 5, CDK5)^[5]。GSK-3β 的活性主要通过 216 位点酪氨酸 (Tyr216) 和 9 位点丝氨酸 (Ser9) 的磷酸化水平调节,两位点磷酸化可分别使 GSK-3β 失活和活化^[6]。p25 是由 p35 降解而得,催化 CDK5 活性的能力比 p35 强很多,两者在体内处于动态平衡,统计 p35/p25 可检测 CDK5 的活性变化^[7]。caspase-3 是体内调节神经元凋亡的关键蛋白酶^[8],该研究还将检测该酶的活性变化来探讨 6-羟基-1-氢-吡啶抑制 SH-SY5Y 细胞凋亡的可能通路。

1 材料与方法

1.1 细胞 人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 由中山大学中山医学院药理教研室惠赠。

1.2 药品 高糖 DMEM 培养基(美国 Hyclone 公司); 6-羟基-1-氢-吡啶、MPP⁺ (美国 Sigma 公司)。

1.3 抗体 特异性磷酸化 p-GSK-3β (Tyr216) 的小鼠多克隆抗体(美国 BD 公司); 特异性磷酸化 p-GSK-3β (Ser9)、CDK5 亚基 p35/p25 蛋白、caspase-3 的兔多克隆抗体(美国 CST 公司)。

1.4 仪器 CEA-800 型 CO₂ 组织培养箱(美国 Forma Scientific 公司); BJ-2CD 型超净工作台(上海博迅公司); 5810R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); iMark 型吸收光酶标仪、PowerPac 300 型电泳仪、PowerPac 200 型半干转膜仪(美国 BIO-RAD 公司)。

1.5 方法

1.5.1 SH-SY5Y 细胞培养 SH-SY5Y 细胞用含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基在 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养。消化传代接种在 24 孔细胞培养板,待细胞贴壁。

1.5.2 MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞 MPP⁺ 用无血清的 DMEM 培养基配成 100 × 1 mmol/L 储备液,加到培养基中,使终浓度为 200 μmol/L,在 2、4、8、16 和 24 h 时间点,收集正常对照组、各时间点 MPP⁺ 组细胞,通过 Western blot 法检测 MPP⁺ 对 SH-SY5Y 细胞内 p-GSK-3β (Tyr216)、p-GSK-3β (Ser9) 和 p35 蛋白表达水平影响的时效。

1.5.3 6-羟基-1-氢-吡啶联合 MPP⁺ 处理 SH-SY5Y

2015-01-20 接收

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(编号: 81030024); 广东省自然科学基金(编号: S2012010009368); 广东省教育部产学研结合项目(编号: 2012B091100465)

作者单位: ¹南方医科大学药学院临床药理研究所 广州 510515

²江西省新余市人民医院药剂科 新余 338000

作者简介: 梁小凤,女,硕士研究生;

王文雅,女,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail: wangwy

@fimmu.com

细胞 在细胞实验中 6-羟基-1-氢-吲唑用 DMSO 溶解 配成 100 μmol/L 的储备液 ,直接加到 6-羟基-1-氢-吲唑给药组培养基中 ,使终浓度为 0.1 μmol/L。正常对照组、MPP⁺ 组加入等体积 DMSO。2 h 后 ,各组加入 MPP⁺ ,培养 8 h 后 ,收集各组细胞 ,使用 Western blot 法检测各组细胞 p-GSK-3β (Tyr216) 、p-GSK-3β (Ser9) 、p35、p25 和 caspase-3 的表达水平 用以探讨 6-羟基-1-氢-吲唑保护 MPP⁺ 诱导凋亡的 SH-SY5Y 细胞的可能作用机制。

1.5.4 Western blot 法检测 弃去 24 孔板内的培养液 ,用预冷的 PBS 漂洗细胞 2 次 ,置于冰上 ,每孔加入 150 μl 细胞裂解液 (SDS 2 g、Tris 碱 0.757 1 g、溴酚蓝 0.01 g、DTT 0.771 g、去离子水 90 ml、甘油 10 ml) 裂解 20 min ,超声 4 ℃、1 400 r/min 离心 10 min ,沸水煮 5 min ,冷却。BCA 法进行蛋白定量后 ,加入 5 × 上样缓冲液 ,上样 ,以 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离 ,半干电转移法转移至 PVDF 膜 ,室温下用封闭液封闭 1 h 后加入用封闭液稀释的一抗 4 ℃ 震荡过夜 ,第 2 天取出 ,室温孵育二抗 2 h ,ECL 显色液两种显色底物 1 : 1 等体积混合 ,暗室反应 1 min ,压胶片曝光 ,β-actin 作为内参照。扫描胶片 ,运用 ger-pro analyzer 对免疫印迹条带进行半定量分析 ,目的蛋白条带的密度与 β-actin 相比 ,用相对光密度 (relative optical density ,ROD) 来表示。

1.6 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析 ,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示 ,采用 One-way ANOVA 分析。

2 结果

2.1 MPP⁺ 诱导 SH-SY5Y 细胞内 GSK-3β 活性增高 Western blot 法结果显示 200 μmol/L MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞 8 h 后 ,GSK-3β Tyr216 位点的磷酸化水平明显比正常对照组高 (*P* < 0.01) ; GSK-3β Ser9 位点的磷酸化水平则在 4 h 后开始显著降低 8 h 达到最低水平 (*P* < 0.01) 。200 μmol/L MPP⁺ 在 8 h 可使 SH-SY5Y 细胞的 GSK-3β 达到最高活性。见图 1。

2.2 MPP⁺ 诱导 SH-SY5Y 细胞内 CDK5 的活性增高 Western blot 法结果显示 200 μmol/L MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞 2、4、8、16 和 24 h 后 ,p35 表达明显比正常对照组低 (*P* < 0.01) 。见图 2。

2.3 6-羟基-1-氢-吲唑对 MPP⁺ 诱导增高的 GSK-3β 活性具有抑制作用 因为 MPP⁺ 作用 8 h 对 SH-

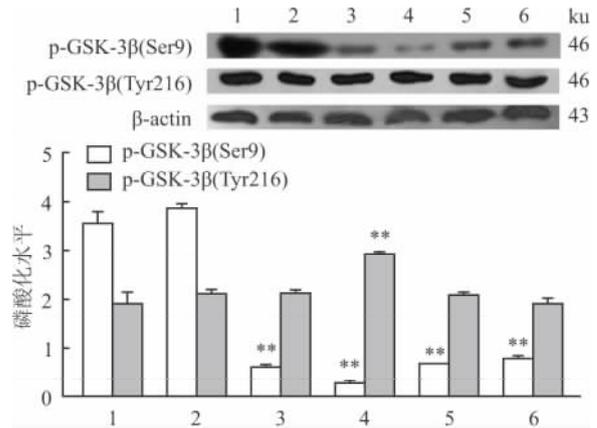


图 1 MPP⁺ 激活 GSK-3β 活性的时间效应
1: 正常对照组; 2: MPP⁺ 作用 2 h 组; 3: MPP⁺ 作用 4 h 组; 4: MPP⁺ 作用 8 h 组; 5: MPP⁺ 作用 16 h 组; 6: MPP⁺ 作用 24 h 组; 与相应蛋白的正常对照组比较: ** *P* < 0.01

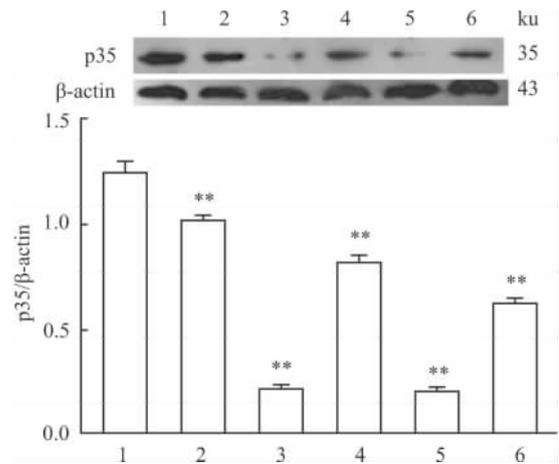


图 2 MPP⁺ 对 CDK5 活性影响的时间效应
1: 正常对照组; 2: MPP⁺ 作用 2 h 组; 3: MPP⁺ 作用 4 h 组; 4: MPP⁺ 作用 8 h 组; 5: MPP⁺ 作用 16 h 组; 6: MPP⁺ 作用 24 h 组; 与正常对照组比较: ** *P* < 0.01

SY5Y 细胞内 GSK-3β 和 CDK5 的活性综合影响最大 ,故选择在此时间点探讨 6-羟基-1-氢-吲唑抑制 MPP⁺ 诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡的作用机制。Western blot 法结果显示 ,200 μmol/L MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞 8 h 后 ,GSK-3β (Ser9) 磷酸化水平明显比正常对照组低 ,GSK-3β Tyr216 位点的磷酸化水平明显比正常对照组高 (*P* < 0.01) 。200 μmol/L MPP⁺ 联合 0.1 μmol/L 6-羟基-1-氢-吲唑处理 SH-SY5Y 细胞 8 h 后 ,GSK-3β (Ser9) 磷酸化水平明显比 200 μmol/L MPP⁺ 处理组高 ,GSK-3β Tyr216 位点的磷酸化水平明显比 200 μmol/L MPP⁺ 处理组低 (*P* < 0.01) 。见图 3。

2.4 6-羟基-1-氢-吲唑对 MPP⁺ 诱导增高的 CDK5

活性具有抑制作用 Western blot 法结果显示, 200 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞 8 h 后, p35/p25 的比值明显比正常对照组低 ($P < 0.01$)。200 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺ 联合 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 6-羟基-1-氢-吲唑处理 SH-SY5Y 细胞 8 h 后, p35/p25 的比值明显比 200 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺ 处理组高 ($P < 0.01$)。见图 4。

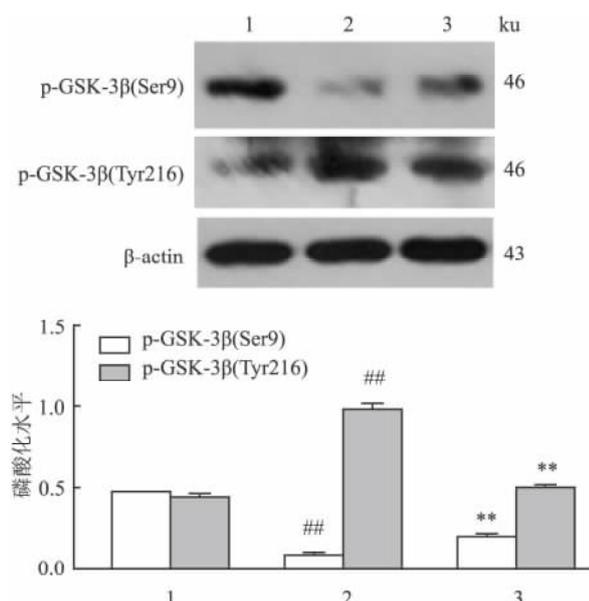


图3 6-羟基-1-氢-吲唑对 MPP⁺ 激活的 GSK-3β 活性的影响

1: 正常对照组; 2: MPP⁺ 处理组; 3: MPP⁺ 联合 6-羟基-1-氢-吲唑处理组; 与正常对照组比较: $^{##} P < 0.01$; 与 MPP⁺ 处理组比较: $^{**} P < 0.01$

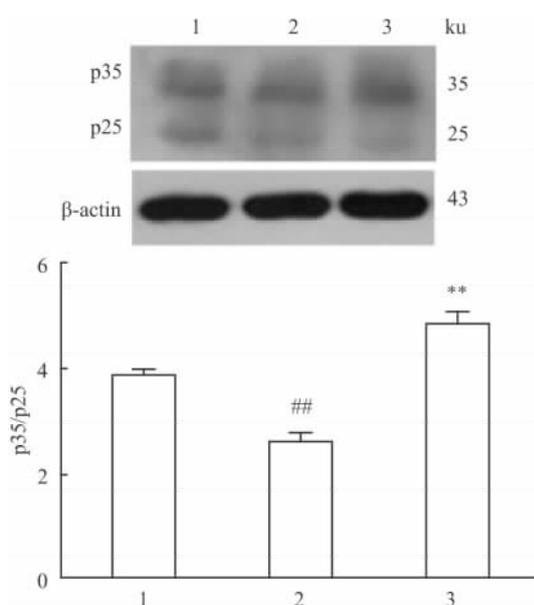


图4 6-羟基-1-氢-吲唑对 MPP⁺ 激活的 CDK5 活性的影响

1: 正常对照组; 2: MPP⁺ 处理组; 3: MPP⁺ 联合 6-羟基-1-氢-吲唑处理组; 与正常对照组比较: $^{##} P < 0.01$; 与 MPP⁺ 处理组比较: $^{**} P < 0.01$

2.5 6-羟基-1-氢-吲唑可抑制 MPP⁺ 诱导 SH-SY5Y 细胞内凋亡蛋白酶 caspase-3 的增高 Western blot 法结果显示, 200 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺ 处理 SH-SY5Y 细胞 8 h 后, caspase-3 的表达明显比正常对照组高 ($P < 0.01$); 200 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺ 联合 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 6-羟基-1-氢-吲唑处理 SH-SY5Y 细胞 8 h 后, caspase-3 的表达明显比 200 $\mu\text{mol/L}$ MPP⁺ 处理组低 ($P < 0.01$)。见图 5。

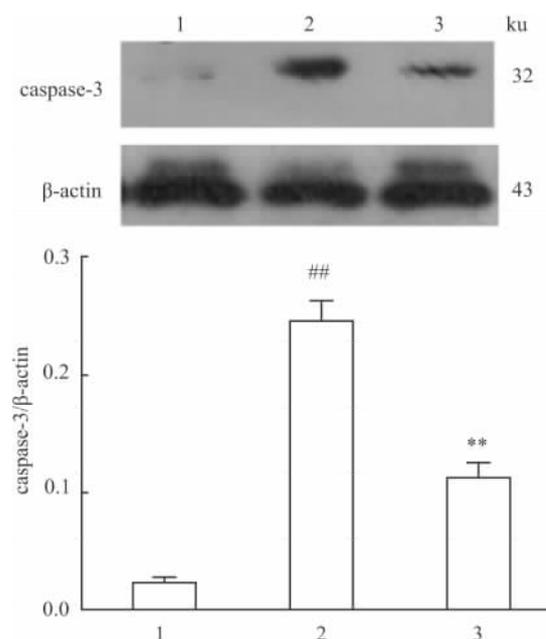


图5 6-羟基-1-氢-吲唑对 MPP⁺ 激活的 caspase-3 活性的影响

1: 正常对照组; 2: MPP⁺ 处理组; 3: MPP⁺ 联合 6-羟基-1-氢-吲唑处理组; 与正常对照组比较: $^{##} P < 0.01$; 与 MPP⁺ 处理组比较: $^{**} P < 0.01$

3 讨论

MPP⁺ 诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡是现今广泛用于建立体外研究 PD 病理机制和筛选新药的 PD 细胞模型的方法^[9]。虽然 PD 病因未明, 但已有研究^[5]表明 PD 患者体内 GSK-3β 和 CDK5 的活性增高, 与病因密切相关。GSK-3β 是 PD 中引起神经元凋亡的关键性激酶, 过度激活可致 tau 过磷酸化。而 tau 过磷酸化可导致微管稳定性及其有丝分裂功能和维持神经元生长发育功能异常, 由此介导了多巴胺能神经元凋亡^[10]。此前的研究^[11]证明, Indirubin-3'-oxime 和 AR-A014418 可通过抑制 GSK-3β 的活性来降低 tau 过磷酸化, 并且由此抑制 MPP⁺ 诱导的多巴胺能神经元凋亡。在本研究中, 通过 Western blot 检测到 MPP⁺ 可提高 GSK-3β Tyr216 的磷酸化水平,

同时抑制 Ser9 磷酸化水平,以致 GSK-3 β 过度激活,但是 6-羟基-1-氢-吲唑降低 GSK-3 β Tyr216 的磷酸化水平的同时也提高了 Ser9 的磷酸化水平,由此可知 6-羟基-1-氢-吲唑可降低 MPP⁺ 诱发升高的 GSK-3 β 活性,可能由此抑制了 tau 磷酸化,减少多巴胺能神经元的凋亡。实验中观察到 6-羟基-1-氢-吲唑还可以降低 MPP⁺ 诱发升高的 p35/p25 比值,抑制 CDK5 的活性。已有研究^[7]证明,CDK5 在 PD 中是异常活跃的,可引起 tau 过度磷酸化和小神经胶质细胞过度增生。甚至,已发现过表达 CDK5 亚基 p25 的小鼠可致神经退行性疾病和认知障碍,并且其机制为 CDK5 过度激活导致 tau 过度磷酸化^[12]。由此可知,6-羟基-1-氢-吲唑抑制 CDK5 的活性,可能进一步降低 tau 蛋白过磷酸化,保护多巴胺能神经元。

目前,已有研究^[13]表明神经退行性疾病普遍存在 caspase-3 过度激活,从而诱发神经元凋亡,其具体表现为 DNA 断裂、线粒体损伤、神经元退化及其轴突病变,若抑制该酶的活性,依赖此凋亡酶的细胞凋亡途径将无法正常进行。MPP⁺ 可引起 caspase-3 的过度激活,促进 SH-SY5Y 细胞死亡^[14]。但是给予 6-羟基-1-氢-吲唑预处理后,SH-SY5Y 细胞内 caspase-3 表达量显著下降,因此抑制 caspase-3 的活性是 6-羟基-1-氢-吲唑保护多巴胺能神经元的另一机制。

综上所述,6-羟基-1-氢-吲唑保护多巴胺能神经元的机制可能是同时抑制 GSK-3 β 和 CDK5 活性。此外,6-羟基-1-氢-吲唑还可抑制凋亡蛋白酶 caspase-3 的活性,这是该化合物保护多巴胺能神经元的另一可能机制。

参考文献

- [1] Harikrishna R D, Misra S, Medhi B. Advances in drug development for Parkinson's disease: present status [J]. *Pharmacology*, 2014, 93(5-6): 260-71.
- [2] Fujishiro H, Imamura A Y, Lin W L, et al. Diversity of pathological features other than Lewy bodies in familial Parkinson's disease due to SNCA mutations [J]. *Am J Neurodegener Dis*, 2013, 2(4): 266-75.
- [3] 孙慧勤, 陈先文, 李芳, 等. 左旋多巴诱发异动症大鼠模型的制作及其行为学研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2009, 44(3): 355-8.
- [4] 张晶晶, 王法财, 王海萍, 等. 重组人 tau 蛋白对神经细胞的毒性作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2009, 42(2): 167-72.
- [5] Wang J Z, Xia Y Y, Grundke-Iqbal I, et al. Abnormal hyperphosphorylation of tau: sites, regulation, and molecular mechanism of neurofibrillary degeneration [J]. *J Alzheimers Dis*, 2013, 33 Suppl 1: S123-9.
- [6] Ruan H, Yang Y, Zhu X, et al. Neuroprotective effects of (+/-)-catechin against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced dopaminergic neurotoxicity in mice [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 450(2): 152-7.
- [7] Giese K P. Generation of the Cdk5 activator p25 is a memory mechanism that is affected in early Alzheimer's disease [J]. *Front Mol Neurosci*, 2014, 5(7): 36.
- [8] Luong K V, Nguyen L T. The beneficial role of thiamine in Parkinson disease [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19(7): 461-8.
- [9] Xie H R, Hu L S, Li G Y. SH-SY5Y human neuroblastoma cell line: *in vitro* cell model of dopaminergic neurons in Parkinson's disease [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2010, 123(8): 1086-92.
- [10] Petit-Paitel A, Brau F, Cazareth J, et al. Involvement of cytosolic and mitochondrial GSK-3 β in mitochondrial dysfunction and neuronal cell death of MPTP/MPP-treated neurons [J]. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5491.
- [11] Wang W, Yang Y, Ying C, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 β protects dopaminergic neurons from MPTP toxicity [J]. *Neuropharmacology*, 2007, 52(8): 1678-84.
- [12] Shi L L, Yang W N, Chen X L, et al. The protective effects of tanshinone IIA on neurotoxicity induced by beta-amyloid protein through calpain and the p35/Cdk5 pathway in primary cortical neurons [J]. *Neurochem Int*, 2012, 61(2): 227-35.
- [13] 陈琪, 步仰高, 王杨, 等. IGF-1 对缺氧缺血性脑损伤新生小鼠脑细胞线粒体 Cyt-C、caspase-3 表达的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 49(10): 1422-7.
- [14] Mahato R I. Gene expression and silencing for improved islet transplantation [J]. *J Control Release*, 2009, 140(3): 262-7.

The mechanism of 6-hydroxy-1H-indazole's neuroprotection from MPP⁺-induced apoptosis of SH-SY5Y cells

Liang Xiaofeng¹, Zhu Wenting², Rao Jinjun¹, et al

(¹Institute of Clinical Pharmacology of School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515; ²Dept of Pharmacy, Xinyu People's Hospital in Jiangxi Province, Xinyu 338000)

Abstract Objective To investigate the mechanism of 6-hydroxy-1H-indazole's neuroprotection from 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺)-induced apoptosis of SH-SY5Y cells. **Methods** The model of Parkinson's disease *in*

沉默 Piwil2 表达对子宫颈癌细胞增殖和衰老的影响

张红丽¹, 冯定庆², 凌 斌^{1,3}, 尤青叶¹, 李 兵¹, 伍娇娇¹, 赵婷婷¹

摘要 目的 采用 shRNA 沉默 Piwil2 基因的表达, 探讨其对宫颈癌细胞株增殖和衰老特性的影响。方法 通过脂质体 Lipofectamine2000 转染技术和嘌呤霉素筛选, 建立稳转 Sh-piwil2 宫颈癌细胞株, 采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应 (qRT-PCR) 和 Western blot 法验证沉默效果。采用细胞增殖实验、集落形成实验、细胞周期和细胞衰老等实验观察沉默 Piwil2 表达对宫颈癌细胞生物学特性的影响。结果 建立稳定转染 Sh-piwil2 宫颈癌细胞株, 与对照组相比, 沉默 Piwil2 表达后细胞的增殖和集落形成能力均显著降低 ($P < 0.05$); 细胞 G₀/G₁ 期比例增加、S 期比例明显下降 ($P < 0.05$), 同时沉默 Piwil2 后细胞衰老数量明显增多 ($P < 0.05$)。结论 沉默 Piwil2 基因可发挥抗宫颈癌作用, 推测 Piwil2 基因可作为宫颈癌临床治疗的一个潜在靶点。

关键词 宫颈癌; shRNA; Piwil2; 细胞增殖; 细胞衰老

中图分类号 R 737.33

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)05-0589-05

宫颈癌是女性生殖系统第一位恶性肿瘤, 目前手术与化疗是主要的治疗手段, 但并发症、副作用等使治疗具有局限性, 迫切需要一种更为有效的方法来达到治愈宫颈癌的目的^[1]。研究^[2]证实肿瘤干细胞是肿瘤发生、转移和复发的根源, 因此寻找一种特异性表达在肿瘤干细胞中的基因作为靶点会为宫

颈癌的治疗带来突破。Piwil2 蛋白是 AGO/PIWI 蛋白家族的一种, 正常情况下只表达在睾丸组织中, 另外也可特异性表达在肿瘤细胞和肿瘤干细胞中, 赋予肿瘤干细胞恶性转化能力^[3]。课题组前期研究^[4]也证实 Piwil2 可作为宫颈癌干细胞的特异标志物之一。该研究运用 shRNA 沉默宫颈癌细胞株中 Piwil2 基因的表达, 观察对细胞增殖和衰老等特性的影响, 为探讨 Piwil2 基因作为宫颈癌治疗靶点提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 细胞和试剂 人宫颈癌 C33A 和 HeLa 细胞由安徽医科大学附属省立医院分子医学重点实验室保存; 实验所需质粒 pGFP-VRS shRNA-piwil2 由美国 Origene 公司构建和合成; 质粒小量提取试剂盒购自美国 Axygen 公司; RNA 提取试剂 TRIzol、DNA 转染试剂 Lipofectamine2000、DMEM 细胞培养液、胎牛血清购自美国 Invitrogen 公司; 细胞衰老 β-半乳糖苷酶试剂购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 质粒的扩增与提取 将购买的 ShRNA-piwil2 质粒转化 BL21 感受态大肠杆菌, 42 °C 热击、冰浴、摇床、涂板、37 °C 培养 16 h, 挑选卡那霉素阳性菌落, 摇菌, 菌种于 -20 °C 保存。参照 Takara Min-BEST 质粒小量提取试剂盒操作规程提取纯化质粒。

1.2.2 稳定表达 Sh-piwil2 宫颈癌细胞系的建立 将宫颈癌 C33A 和 HeLa 细胞以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板上, 当细胞融合达到 60% ~ 70% 时, 采用 Lipofectamine2000 进行 Sh-piwil2 质粒转染, 转染 6 h

2015-01-12 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81372777、81372779、81072127)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院¹ 妇产科、² 分子实验室, 合肥 230001

³ 卫生部中日友好医院妇产科, 北京 100086

作者简介: 张红丽, 女, 硕士研究生;

凌 斌, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: lingbin.ling@gmail.com

in vitro was built through SH-SY5Y cells' s exposure to 200 μmol/L MPP⁺. Cultured SH-SY5Y cells were respectively exposed to 200 μmol/L MPP⁺ and 200 μmol/L MPP⁺ combined 0.1 μmol/L 6-hydroxy-4H-indazole, then the variations of activity of glycogen synthase kinase-3β (GSK-3β), cyclin dependent kinase 5 (CDK5) and caspase-3 were determined by Western blot. **Results** 200 μmol/L MPP⁺ increased the activity of GSK-3β, CDK5 and caspase-3 in SH-SY5Y cells. 200 μmol/L MPP⁺ combined 0.1 μmol/L 6-hydroxy-4H-indazole inhibited the activity of GSK-3β, CDK5 and caspase-3 in SH-SY5Y cells. **Conclusion** 6-hydroxy-4H-indazole decreases the activity of GSK-3β, CDK5 and caspase-3 to protect SH-SY5Y cells from MPP⁺-induced toxicity.

Key words 6-hydroxy-4H-indazole; SH-SY5Y cells; MPP⁺; GSK-3β; CDK5; caspase-3