



电子、语音版

·论著·

褪黑素通过上调泛醌—细胞色素C还原酶核心蛋白1 抑制MPP⁺诱导的MN9D细胞凋亡和线粒体损伤

李傲涵¹, 曾炼^{1,4}, 刘颖¹, 张振¹, 胡鹏超², 丁旭东³, 罗辉宇¹

1. 湖北医药学院附属襄阳市第一人民医院麻醉科, 湖北 襄阳 441000

2. 湖北医药学院附属襄阳市第一人民医院中心实验室, 湖北 襄阳 441000

3. 湖北医药学院附属襄阳市第一人民医院康复科, 湖北 襄阳 441000

4. 湖北省帕金森病临床研究中心, 湖北 襄阳 441000

摘要:目的 探讨褪黑素(melatonin, MT)在1-甲基-4-苯基-吡啶离子(1-methyl-4-phenylpyridinium ion, MPP⁺)诱导的帕金森病体外模型中的作用及分子机制。方法 将MN9D细胞分为对照组、MPP⁺组、MT组、治疗组。采用细胞计数试剂盒8检测MT和MPP⁺对细胞活力的影响;采用线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1)评价线粒体功能;Hoechst/PI双染法检测细胞凋亡;通过免疫荧光蛋白质印迹法(Western blotting)检测凋亡相关蛋白[Cleaved-Caspase 3和细胞色素C(cytochrome C, CytC)]以及泛醌—细胞色素C还原酶核心蛋白1(ubiquinol-cytochrome C reductase core protein 1, UQCRC1)蛋白的表达;采用干扰RNA技术沉默MN9D细胞中UQCRC1的表达,然后采用Western blotting检测凋亡相关蛋白表达。结果 MT可以减轻MPP⁺诱导的细胞活力下降($P<0.05$);恢复MPP⁺造成的线粒体膜电位下降($P<0.05$);减少MPP⁺诱导的凋亡细胞数量($P<0.05$);抑制凋亡蛋白(CytC和Cleaved-Caspase3)的表达($P<0.05$);上调UQCRC1的表达($P<0.05$)。沉默UQCRC1后,MT组和治疗组的UQCRC1表达均下降($P<0.05$);MT对MPP⁺诱导细胞凋亡的保护作用下降($P<0.05$);凋亡蛋白(CytC和Cleaved-Caspase3)的表达增加($P<0.05$)。结论 MT对MPP⁺诱导的多巴胺能神经元损伤具有保护作用,其机制可能是通过上调UQCRC1抑制神经元凋亡。 [国际神经病学神经外科学杂志, 2023, 50(3): 26-31]

关键词:帕金森病;褪黑素;泛醌—细胞色素C还原酶核心蛋白1;细胞凋亡;MN9D细胞

中图分类号:R742.5

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2023.03.006

Melatonin inhibits MPP⁺-induced apoptosis and mitochondrial damage in MN9D cells through upregulating ubiquinol-cytochrome c reductase core protein 1

LI Aohan¹, ZENG Lian^{1,4}, LIU Ying¹, ZHANG Zhen¹, HU Pengchao², DING Xudong³, LUO Huiyu¹

1. Department of Anesthesiology, Xiangyang No.1 People's Hospital, Hubei University of Medicine, Xiangyang, Hubei 441000, China

2. Central Laboratory, Xiangyang No.1 People's Hospital, Hubei University of Medicine, Xiangyang, Hubei 441000, China

3. Department of Rehabilitation Medicine, Xiangyang No.1 People's Hospital, Hubei University of Medicine, Xiangyang, Hubei 441000, China

4. Hubei Clinical Research Center of Parkinson's Disease, Xiangyang, Hubei 441000, China

Corresponding author: LUO Huiyu, Email: 603983267@qq.com

Abstract: **Objective** To investigate the effects of melatonin in an *in vitro* model of Parkinson's disease induced by 1-methyl-4-phenylpyridinium ion (MPP⁺) and the molecular mechanisms. **Methods** MN9D cells were divided into control group, MPP⁺ group, melatonin group, and treatment group. The effects of melatonin and MPP⁺ on cell viability were

基金项目:湖北省科技计划项目(2021CFB582);襄阳市科技局项目(2021ZD13);襄阳市第一人民医院院级科研平台(XYY2022P02)。

收稿日期:2022-10-26;修回日期:2023-02-24

作者简介:李傲涵,男,硕士,住院医师。Email:446210721@qq.com。

通信作者:罗辉宇,男,博士,主任医师。Email:603983267@qq.com。

determined using cell counting kit-8. Mitochondrial function was evaluated using the mitochondrial membrane potential assay kit JC-1. Cell apoptosis was determined with Hoechst/propidium iodide double staining. Immunofluorescence assay and Western blotting were used to measure the expression of apoptotic proteins [cleaved caspase-3 and cytochrome C (CytC)] and ubiquinol-cytochrome c reductase core protein 1 (UQCRC1). RNA interference technology was used to silence UQCRC1 expression in MN9D cells to measure the expression of the apoptotic proteins by Western blotting. **Results** Melatonin significantly inhibited MPP⁺-induced decreases in cell viability and mitochondrial membrane potential, significantly reduced the number of MPP⁺-induced apoptotic cells, significantly down-regulated the expression of CytC and cleaved-caspase 3, and significantly up-regulated the expression of UQCRC1 (all $P<0.05$). After silencing UQCRC1, the expression of UQCRC1 in the melatonin group and the treatment group was significantly decreased; the protective effect of melatonin against MPP⁺-induced apoptosis was significantly decreased; and the expression of CytC and cleaved-caspase 3 was significantly increased (all $P<0.05$). **Conclusions** Melatonin has a protective effect against MPP⁺-induced damage to dopaminergic neurons, possibly by upregulating UQCRC1 to inhibit neuronal apoptosis.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2023, 50(3): 26–31]

Keywords: Parkinson's disease; melatonin; ubiquinol-cytochrome C reductase core protein 1; cell apoptosis; MN9D cell

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种复杂的神经退行性疾病,以黑质多巴胺能神经元缺失为特征,主要表现为静止性震颤、运动迟缓等运动功能障碍^[1]。目前认为PD的发病机制主要是多巴胺能神经元的损伤,涉及氧化应激、异常蛋白质聚集、泛素-蛋白酶体通路缺陷和自噬功能异常等多种生物学过程,其中最突出的是神经元线粒体功能障碍^[2-3]。线粒体的主要功能是以腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)的形式产生能量,在调节细胞凋亡、细胞自噬和Ca²⁺稳态中发挥重要作用。线粒体功能障碍导致电子传递链受损,造成ATP产生不足,最终导致神经元凋亡^[4]。电生理学和解剖学的证据表明,线粒体的健康对于维系多巴胺能神经元的完整性,尤其是黑质神经元至关重要^[5]。泛醌-细胞色素C还原酶核心蛋白1(ubiquinol-cytochrome C reductase core protein 1, UQCRC1)位于线粒体内膜,是线粒体呼吸链复合体III的关键亚基,参与电子传递和ATP的生成^[6]。有研究发现其突变或表达降低参与了神经退行性疾病的发生发展^[7]。

褪黑素(melatonin, MT)是由松果体分泌的吲哚类激素,被证实具有多种生物功能,包括抗氧化、抗炎、抗肿瘤等作用,并参与调节线粒体功能^[8-9]。MT可以被线粒体膜选择性吸收,这是其他抗氧化剂不具有的功能,同时多项体内外研究证实,MT可通过增加线粒体复合物I、IV的活性改善神经元线粒体功能,因此成为治疗神经退行性疾病极具潜力的药物^[10]。已有研究表明,MT在内皮细胞中可以通过上调UQCRC1的表达抑制细胞焦亡^[11],但目前尚无研究证实MT可以通过上调神经元细胞中的UQCRC1的表达抑制细胞凋亡。故本研究旨在探讨MT在MPP⁺诱导的PD体外模型中的作用及分子机制,为临床使用MT治疗PD提供理论依据,并探索PD新的治疗

靶点。

1 资料与方法

1.1 试剂与仪器

MN9D细胞购自湖南丰晖生物科技有限公司;MT购自Selleckchem;高糖DMEM培养液和胎牛血清购自Gibco;细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)购自碧云天生物;抗CytC、抗UQCRC1、抗Cleaved-Caspase3(C-Caspase3)、抗GAPDH抗体购自万类生物;DyLight 488绿色荧光II抗购自Abcam;JC-1线粒体膜电位检测试剂盒购自凯基生物;细胞核染料Hoechst 33258/PI、Hoechst 33342/PI双染试剂盒购自万类生物;HRP标记的山羊抗兔和山羊抗鼠IgG,以及线粒体红色荧光探针Mito-Tracker Red CMXRos购自碧云天生物;RNA干扰试剂盒购自苏州吉玛基因;LipoRNAiMAX购自北京聚合美生物。

SpectraMaxi3x酶标仪购自Molecular Devices;IX70倒置荧光显微购自Olympus。

1.2 细胞培养

MN9D细胞培养于含有10%胎牛血清的高糖DMEM培养液(含1%青链霉素混合液),置于5%CO₂、37℃的细胞培养箱中培养,状态良好。待其融合度达80%~90%,用0.25%胰酶消化,进行细胞传代、铺板。

1.3 CCK-8法检测细胞活力

将MN9D细胞以3×10⁴/mL的密度接种于96孔板,每孔100 μL培养基,待细胞进入对数增长期进行药物处理。对照组细胞在培养基中培养36 h;MPP⁺组细胞经过MPP⁺终浓度为0、50、100、200、400、800 μmol/L的培养基处理36 h;MT组细胞经过MT终浓度为0、50、100、200、400、800 μmol/L的培养基处理36 h;治疗组细胞经过200 μmol/L的MPP⁺处理12 h后,加入MT,MT终浓度分别

为0、50、100、200、400 $\mu\text{mol/L}$,继续培养24 h。处理结束后每孔加入10 μL CCK-8溶液,反应3 h。荧光酶标仪(激发光波长450 nm)测定每孔吸光度,每组设5个副孔,以空白孔调零,计算细胞相对活力。

1.4 细胞分组和处理

结合CCK-8的结果筛选出MPP⁺的适宜作用浓度为200 $\mu\text{mol/L}$,MT的适宜作用浓度为200 $\mu\text{mol/L}$ 。主要实验分为4组,即对照组(常规培养36 h)、MPP⁺组(200 $\mu\text{mol/L}$ 的MPP⁺作用36 h)、MT组(200 $\mu\text{mol/L}$ 的MT作用36 h)、治疗组(200 $\mu\text{mol/L}$ 的MPP⁺处理12 h后,给予200 $\mu\text{mol/L}$ 的MT继续培养24 h)。

1.5 线粒体膜电位检测

将细胞以 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 的密度接种于12孔板,分组处理后,用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤2次,加入线粒体膜电位检测试剂盒中的JC-1工作液覆盖细胞,置于培养箱孵育30 min,用1 \times 培养缓冲液洗涤2次,加入4%多聚甲醛室温固定30 min,再用PBS清洗2次,加入Hoechst 33258标记细胞核,置于荧光显微镜下进行观察并拍照,采用Image J进行荧光强度分析。

1.6 Hoechst 33342/PI染色

将细胞以 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 的密度接种于12孔板,分组处理后,加入配置好的细胞染色液(含5 μL Hoechst 33342染色液和5 μL PI染色液的PBS溶液),4 $^{\circ}\text{C}$ 下浸染20 min后,加入预冷的PBS漂洗2次,用荧光显微镜随机选择3个视野拍照,采用Image J进行荧光强度分析。

1.7 蛋白质印迹法检测

将细胞接种至6孔板,分组处理后,用RIPA裂解液提取各组总蛋白,BCA法检测蛋白浓度,蛋白质印迹法(Western blotting)的详细步骤及显影参照同课题组的实验方法^[12]。实验中使用的一抗分别为[CytC(1:1 000);C-Caspase3(1:1 000);UQCRC1(1:1 000);GAPDH(1:1 000)];使用的二抗分别为[山羊抗兔IgG(1:5 000);山羊抗鼠IgG(1:3 000)]。采用Bio-Rad凝胶成像系统对灰度值进行定量。

1.8 免疫荧光染色

将细胞以 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 的密度接种于载玻片上,分组处理后,PBS洗涤细胞,选用线粒体荧光探针MitoTracker Red CMXRos标记细胞中的线粒体,孵育30 min,加入4%多聚甲醛室温固定细胞30 min,PBS洗涤后使用0.2% Triton X-100透膜10 min,加入含1%马血清的PBS溶液室温封闭2 h,使用抗UQCRC1抗体(1:100)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日,PBS洗涤3次,DyLight 488绿色荧光二抗(1:1 000)避光室温孵育2 h,PBS洗涤3次,Hoechst 33258复染核,置于荧光显微镜下观察并摄片。

1.9 构建沉默UQCRC1的细胞模型

根据UQCRC1的基因片段,通过www.genscript.com设计靶点挑选3条靶片段,分别为siUQCRC1-001:正向链5'-GGUCUUUGAUUACCUGCATT-3',反向链5'-AUGCAGGUAACAAGACCTT-3';siUQCRC1-002:正向链5'-GGUCGAGUCUCCUGACUUTT-3',反向链:5'-AAGUCAGGAGACUGCGACCTT-3';siUQCRC1-003:正向链:5'-GGAUCCGCAGUGGCAUGUUTT-3',反向链:5'-AACAUCCACUGCGGAUCCTT-3'。设置阴性对照片段siNC作为监控外源基因本身对实验的影响,以上片段由苏州吉玛公司合成。

根据说明书的方法转染MN9D细胞,用Western blotting方法筛选出转染效率最高的片段用以沉默UQCRC1基因,检测沉默UQCRC1后MT对MPP⁺诱导的细胞凋亡的影响。

1.10 统计学方法

统计分析采用SPSS 22.0软件。正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用Dunnett-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MT减轻MPP⁺诱导的细胞活力下降

单独使用MT对细胞活力没有影响($P > 0.05$);随着MPP⁺浓度增加,细胞活力呈逐渐下降趋势($P < 0.05$);与MPP⁺组相比,细胞活力随MT浓度增加而增高($P < 0.05$)。见图1。

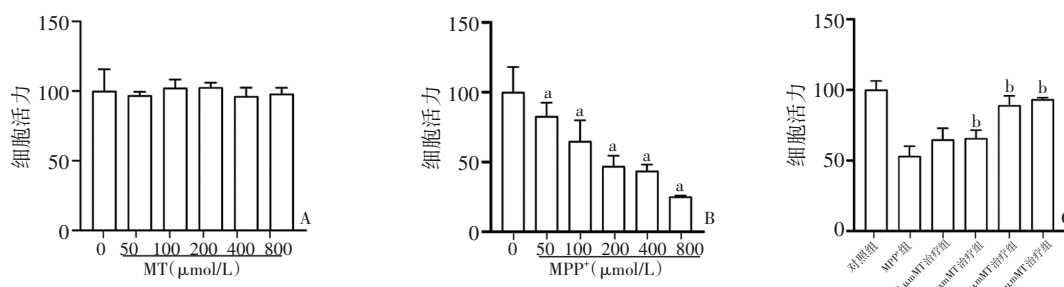


图1 MPP⁺和MT对MN9D细胞活力的影响;A:不同浓度MT对MN9D细胞活力的影响;B:不同浓度MPP⁺对MN9D细胞活力的影响;C:MT对MPP⁺诱导细胞活力下降的影响;a:与0 $\mu\text{mol/L}$ 比较, $P < 0.05$; b:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

图1 MPP⁺和MT对MN9D细胞活力的影响

2.2 MT减轻MPP⁺诱导MN9D细胞线粒体功能障碍

4组MN9D细胞中绿/红荧光强度比值定量的比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组相比,MPP⁺组中代表JC-1聚合体的红色荧光强度下降,代表游离体的绿色荧光增强,线粒体膜电位降低;与MPP⁺组相比,治疗组中红色荧光增强,绿色荧光减弱,表示MT能抑制MPP⁺造成的线粒体膜电位下降。见图2、表1。

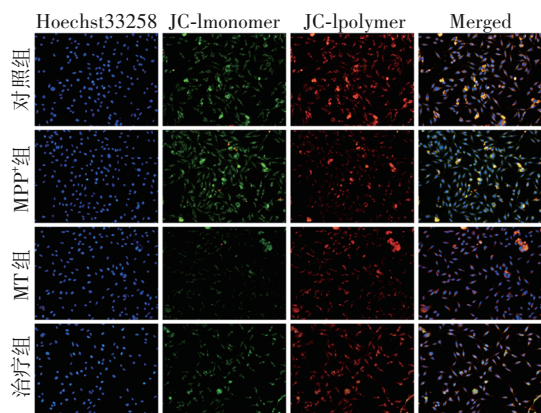


图2 JC-1染色检测线粒体膜电位免疫荧光

表1 4组MN9D细胞中绿/红荧光强度比值定量的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	绿/红荧光强度比值
对照组	5	1.01±0.06
MPP ⁺ 组	5	2.21±0.07 ^a
MT组	5	0.87±0.06 ^b
治疗组	5	1.21±0.05 ^b
F值		165.30
P值		<0.01

注:a为与对照组比较, $P<0.05$; b为与MPP⁺组比较, $P<0.05$ 。

2.3 MT抑制MPP⁺诱导的细胞凋亡

Hoechst 33342/PI染色结果显示,4组红色荧光的平均光密度比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。MPP⁺组中红色荧光的平均光密度高于对照组($P<0.05$)。治疗组红色荧光的平均光密度低于MPP⁺组($P<0.05$)。见图3、表2。

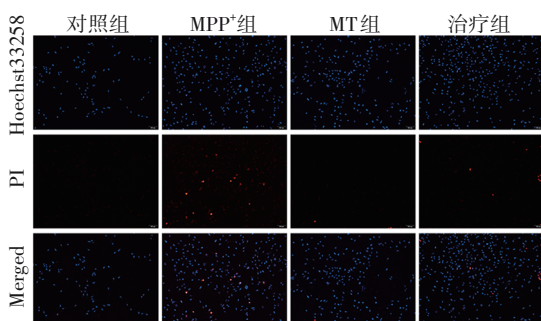


图3 Hoechst33342/PI染色

表2 4组MN9D细胞红色荧光强度比值定量的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	荧光强度定量
对照组	5	1.06±0.11
MPP ⁺ 组	5	2.36±0.14 ^a
MT组	5	1.18±0.06 ^b
治疗组	5	1.37±0.17 ^b
F值		267.09
P值		<0.01

注:a为与对照组比较, $P<0.05$; b为与MPP⁺组比较, $P<0.05$ 。

Western blotting结果显示,4组MN9D细胞(C-Caspase3、CytC)表达比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组相比,MPP⁺组MN9D细胞(C-Caspase3、CytC)表达增加($P<0.05$);与MPP⁺组比较,治疗组MN9D细胞(C-Caspase3、CytC)表达下降($P<0.05$)。见图4、表3。

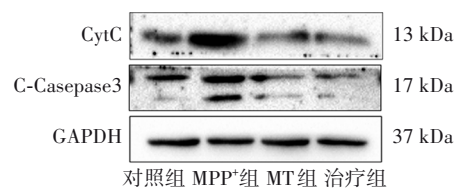


图4 CytC、C-Caspase3蛋白印记图

表3 4组MN9D细胞CytC、C-Caspase3蛋白表达的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CytC	C-Caspase3
对照组	5	0.88±0.04	1.02±0.08
MPP ⁺ 组	5	2.09±0.21 ^a	1.33±0.09 ^a
MT组	5	0.89±0.09 ^b	0.62±0.16 ^b
治疗组	5	0.96±0.05 ^b	0.75±0.08 ^b
F值		94.46	134.47
P值		<0.01	<0.01

注:a为与对照组比较, $P<0.05$; b为与MPP⁺组比较, $P<0.05$ 。

2.4 MT上调MPP⁺诱导的MN9D细胞UQCRC1下降

免疫荧光显示,4组绿色荧光强度比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较,MPP⁺组代表UQCRC1表达量的绿色荧光强度明显下降。与MPP⁺组比较,治疗组中绿色荧光强度明显增强。见图5、表4。

Western blotting结果显示,4组UQCRC1蛋白表达比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组比较,MPP⁺组UQCRC1蛋白表达明显下降($P<0.05$);与MPP⁺组比较,MT治疗后UQCRC1表达上调($P<0.05$)。见图6、表4。

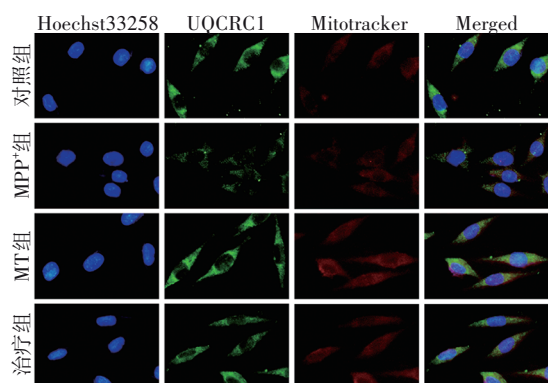


图5 UQCRC1免疫荧光染色

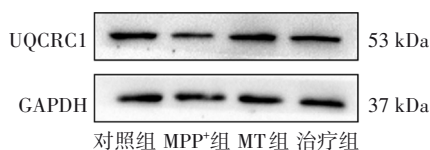


图6 UQCRC1表达的蛋白印记图

表4 4组UQCRC1免疫荧光强度和蛋白表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	荧光强度定量	蛋白表达
对照组	5	1.02±0.12	1.07±0.06
MPP ⁺ 组	5	0.56±0.17 ^a	0.49±0.01 ^a
MT组	5	0.92±0.07 ^b	0.98±0.11 ^b
治疗组	5	0.79±0.14 ^b	0.77±0.03 ^b
F值		286.10	363.20
P值		<0.01	<0.01

注:a为与对照组比较, $P<0.05$; b为与MPP⁺组比较, $P<0.05$ 。

2.5 沉默UQCRC1后MT对MPP⁺诱导的MN9D细胞凋亡保护作用减弱

采用siRNA沉默了UQCRC1基因的表达。MN9D细胞转染siUQCRC1 48 h后,UQCRC1蛋白表达明显下调。见图7、表5。

表6 沉默UQCRC1后4组MN9D细胞中UQCRC1、CytC、C-Caspase3蛋白表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	UQCRC1	CytC	C-Caspase3
对照组	5	1.01±0.12	0.98±0.05	0.91±0.06
MPP ⁺ 组	5	0.51±0.26 ^a	2.79±0.12 ^a	2.39±0.11 ^a
MT组+siUQCRC1	5	0.75±0.03 ^a	1.59±0.03 ^{ab}	1.31±0.15 ^{ab}
治疗组+siUQCRC1	5	0.41±0.08 ^a	2.51±0.24 ^a	2.21±0.24 ^a
F值		223.30	493.20	299.50
P值		<0.01	<0.01	<0.01

注:a为与对照组比较, $P<0.05$; b为与MPP⁺组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

PD是难以治愈的与衰老相关的神经退行性疾病,病理特点是黑质多巴胺能神经元选择性凋亡以及路易小体的形成。关于PD发病机制的研究提示,线粒体功能障碍在PD的发生发展中起到关键作用,靶向线粒体功能障碍

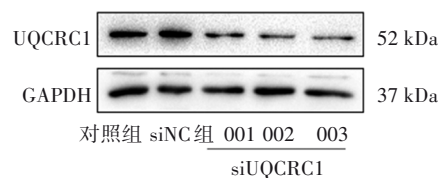


图7 转染siRNA后UQCRC1蛋白印记图

表5 siRNA沉默后MN9D细胞中UQCRC1蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	蛋白表达
对照组	3	1.05±0.02
siNC组	3	1.06±0.03
siUQCRC1-001	3	0.47±0.02 ^a
siUQCRC1-002	3	0.37±0.05 ^a
siUQCRC1-003	3	0.39±0.04 ^a
F值		589.80
P值		<0.01

注:a为与对照组比较, $P<0.05$ 。

选择最有效片段干预UQCRC1后Western blotting结果显示,与对照组相比,MPP⁺组、MT组和治疗组UQCRC1表达均降低($P<0.05$);治疗组与MPP⁺组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组相比,MPP⁺组、MT组和治疗组CytC、C-Caspase3蛋白表达均增加($P<0.05$);与MPP⁺组相比,MT组CytC、C-Caspase3蛋白表达仍然较低($P<0.05$);治疗组CytC、C-Caspase3蛋白表达与MPP⁺组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见图8、表6。

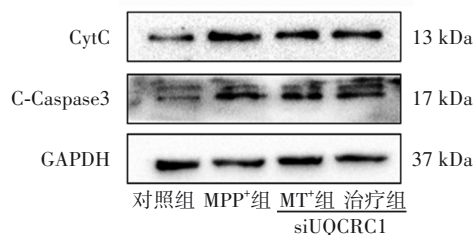


图8 沉默UQCRC1后MN9D细胞中CytC、C-Caspase3蛋白印记图

的药物是与神经系统疾病相关的新兴研究领域^[13]。

MT是一种神经调节激素,具有清除自由基、抗氧化应激、减轻神经炎症等作用,MT的这些特性使其在治疗神经损伤性疾病中有很大的应用前景^[14]。本研究中,MT减轻了MPP⁺诱导细胞活力的下降,并可以恢复下降的线

粒体膜电位。线粒体膜电位是线粒体进行氧化磷酸化、产生ATP的基础,线粒体膜电位下降导致了线粒体水肿以及去极化,逐渐引起线粒体水解,线粒体膜电位的下降被视为凋亡启动的一个条件^[15]。研究表明,MT可以通过对线粒体的保护作用减少细胞凋亡。哺乳动物线粒体呼吸链由线粒体复合体I~IV组成,电子传递在泛醌蛋白、CytC和ATP合酶中,通过电子的传递调节ATP的产生和活性氧的生成^[16]。在呼吸链中,CytC被视为连接能量生产、氧化还原反应和凋亡信号转导的枢纽。释放CytC是触发凋亡的关键特征之一,当线粒体中的抗凋亡机制失活或者降低时,释放的CytC激活Caspase级联反应引起细胞凋亡,导致神经元死亡,最终引起不可逆转的功能缺陷^[17]。研究表明,MT可降低CytC、C-Caspase3的表达,这提示MT对MPP⁺造成的细胞凋亡具有抑制作用。

为了进一步探究MT的神经保护作用机制,我们检测了UQCRC1的表达。UQCRC1是呼吸链复合体III的一个亚基,是电子传递链的第三个复合物,在ATP生成中起到关键作用,能催化电子从辅酶QH₂向亚铁CytC转移,并参与脂质代谢和氧化磷酸化,调控能量代谢和生物碱反应^[18]。有研究表明,复合体III活性的丧失会导致线粒体活性氧产生增加,并可能导致许多神经退行性疾病,包括PD^[19]。Lin等^[20]将突变的*UQCRC1*基因敲入SH-SY5Y细胞系,突变的*UQCRC1*基因表达导致SH-SY5Y细胞的神经轴突变性和线粒体呼吸链功能障碍。将UQCRC1的突变基因(*UQCRC1* p.Tyr314Ser)敲入果蝇和小鼠模型会表现出年龄依赖性运动缺陷、多巴胺能神经元缺失、周围神经病、呼吸链复合体III活性受损和黑质神经元线粒体超微结构异常。Hung等^[7]研究发现,*UQCRC1*基因敲除的果蝇表现出与年龄相关的PD症状,包括多巴胺能神经元减少和运动能力下降,而促进UQCRC1表达后可改善这种缺陷。同时还发现UQCRC1与CytC相关,UQCRC1缺失增加了细胞质中的CytC,激活了Caspase级联反应。本研究发现,MPP⁺处理后UQCRC1蛋白表达明显下降,MT治疗后UQCRC1蛋白表达增加,而沉默UQCRC1后MT抑制凋亡蛋白表达能力下降,表明其抗凋亡作用下降。

综上,我们提出MT可能通过上调UQCRC1起到抑制神经元凋亡的作用,为PD的治疗提供新的分子靶点和策略。

参 考 文 献

[1] CACABELOS R. Parkinson's disease: from pathogenesis to pharmacogenomics[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3): 551.
 [2] CHANG KH, CHEN CM. The role of oxidative stress in Parkinson's disease[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(7): 597.
 [3] PICCA A, GUERRA F, CALVANI R, et al. Mitochondrial dysfunction, protein misfolding and neuroinflammation in Parkinson's disease: roads to biomarker discovery[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(10): 1508.
 [4] MALPARTIDA AB, WILLIAMSON M, NARENDRA DP, et al.

Mitochondrial dysfunction and mitophagy in Parkinson's disease: from mechanism to therapy[J]. *Trends Biochem Sci*, 2021, 46(4): 329-343.
 [5] LI JL, LIN TY, CHEN PL, et al. Mitochondrial function and Parkinson's disease: from the perspective of the electron transport chain[J]. *Front Mol Neurosci*, 2021, 14: 797833.
 [6] SHAN WR, LI J, XU WH, et al. Critical role of UQCRC1 in embryo survival, brain ischemic tolerance and normal cognition in mice[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(7): 1381-1396.
 [7] HUNG YC, HUANG KL, CHEN PL, et al. UQCRC1 engages cytochrome c for neuronal apoptotic cell death[J]. *Cell Rep*, 2021, 36(12): 109729.
 [8] LAN M, ZHANG Y, WAN X, et al. Melatonin ameliorates ochratoxin A-induced oxidative stress and apoptosis in porcine oocytes[J]. *Environ Pollut*, 2020, 256: 113374.
 [9] CARDINALI DP, PAGANO ES, SCACCHI BERNASCONI PA, et al. Melatonin and mitochondrial dysfunction in the central nervous system[J]. *Horm Behav*, 2013, 63(2): 322-330.
 [10] GUNATA M, PARLAKPINAR H, ACET HA. Melatonin: a review of its potential functions and effects on neurological diseases[J]. *Rev Neurol (Paris)*, 2020, 176(3): 148-165.
 [11] ZENG JF, TAO J, XIA LZ, et al. Melatonin inhibits vascular endothelial cell pyroptosis by improving mitochondrial function via up-regulation and demethylation of UQCRC1[J]. *Biochem Cell Biol*, 2021, 99(3): 339-347.
 [12] 曾炼,刘晨光,孙晓东,等. 罗哌卡因通过抑制STAT3的磷酸化诱导PC12细胞线粒体自噬[J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(7): 1187-1194.
 [13] 李璇. 线粒体功能障碍及相关药物在帕金森病中的作用[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2018, 45(2): 178-181.
 [14] GURUNATHAN S, KANG MH, KIM JH. Role and therapeutic potential of melatonin in the central nervous system and cancers [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(6): 1567.
 [15] BOCK FJ, TAIT SWG. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(2): 85-100.
 [16] BENAROYA H. Brain energetics, mitochondria, and traumatic brain injury[J]. *Rev Neurosci*, 2020, 31(4): 363-390.
 [17] KALPAGE HA, BAZYLIANSKA V, RECANATI MA, et al. Tissue-specific regulation of cytochrome c by post-translational modifications: respiration, the mitochondrial membrane potential, ROS, and apoptosis[J]. *FASEB J*, 2019, 33(2): 1540-1553.
 [18] WANG Q, LI MG, GAN Y, et al. Mitochondrial protein UQCRC1 is oncogenic and a potential therapeutic target for pancreatic cancer[J]. *Theranostics*, 2020, 10(5): 2141-2157.
 [19] SHIBANUMA M, INOUE A, USHIDA K, et al. Importance of mitochondrial dysfunction in oxidative stress response: a comparative study of gene expression profiles[J]. *Free Radic Res*, 2011, 45(6): 672-680.
 [20] LIN CH, TSAI PI, LIN HY, et al. Mitochondrial UQCRC1 mutations cause autosomal dominant parkinsonism with polyneuropathy[J]. *Brain*, 2020, 143(11): 3352-3373.

责任编辑:龚学民