

甲基-苯基四氢吡啶对脑不对称小鼠纹状体内多巴胺和白介素含量的影响*

申延琴^{1,2)} 李康生^{1)**} E. MOZE²⁾ P. J. NEVEU²⁾

(¹⁾汕头大学医学院微生物学与免疫学教研室, 汕头 515031

(²⁾Neurobiologie Intégrative, CNRS FRE2723, Institut François Magendie, Rue Camille Saint-Saëns, 33077 Bordeaux Cedex, France)

摘要 为探讨甲基-苯基四氢吡啶 (MPTP) 注射后脑不对称小鼠纹状体内多巴胺降低程度, 及纹状体内细胞因子水平变化, C57BL/6J 小鼠经过伸爪取食试验, 筛选为反映脑不对称的左利鼠和右利鼠, 并接受 25 mg/kg MPTP 腹腔注射连续 5 天, 检测注射后的第 1 天, 第 3 天和第 14 天纹状体内多巴胺及代谢物含量和细胞因子 IL-1 β 、IL-6 的动态水平. 结果表明, 无论在左利鼠还是右利鼠, 纹状体内多巴胺含量在 MPTP 注射后每个检测时间点都显著降低, 纹状体内 IL-1 β 水平在第 1 天显著降低, 纹状体内 IL-6 水平在 MPTP 注射后每个检测时间点也显著降低. 实验结果同时表明, 左利鼠和右利鼠 IL-1 β 和 IL-6 的基础水平有显著不同. MPTP 注射后, 与右利小鼠相比, 左利小鼠有较高的多巴胺翻转降低和较低的细胞因子表达, 而且, 纹状体内多巴胺水平与纹状体内 IL-6 水平呈正相关. 这些结果提示, MPTP 诱导多巴胺丢失伴随着黑质纹状体系统内细胞因子水平的改变, 而且, 脑不对称有可能通过影响纹状体内细胞因子水平而进一步影响 MPTP 诱导的多巴胺降低的程度.

关键词 甲基-苯基四氢吡啶, 多巴胺, 纹状体, 白介素 6(IL-6), 白介素 1(IL-1), 脑不对称

学科分类号 R742.5

甲基-苯基四氢吡啶 (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP) 可选择性地破坏脑内黑质多巴胺能神经元, 继而引起纹状体内多巴胺含量的降低. 20 年前, MPTP 首次被用来在灵长类动物中模拟帕金森病^[1], 猴子被注射 MPTP 后, 出现了类似人类帕金森病的脑内生化改变 (纹状体多巴胺减少) 和临床症状 (震颤等). 其后, MPTP 作用于大鼠、小鼠的研究工作也陆续被报道^[2,3]. 小鼠, 尤其是 C57BL/6 小鼠, 对 MPTP 的毒性作用较为敏感^[4], 因此, MPTP 注射 C57BL/6 小鼠已成为一个广泛使用的帕金森病动物模型. 虽然目前帕金森病因不明, 但已有研究表明炎症反应可能参与了该病的发病机制, 不同研究小组实验证明, 无论是在人类帕金森病^[5,6] 还是在 MPTP 注射后的小鼠^[7,8], 都发现有纹状体内促炎症细胞因子的水平变化.

另外, 行为不对称是存在于大多数哺乳动物中的普遍现象, 它可以在一定程度上反映脑不对称. 研究表明, 小鼠外周免疫反应和外周细胞因子的产生^[9], 都受到了由伸爪优势反映的脑不对称的影响. 付清玲等^[10] 的研究表明, 在中枢神经系统大脑皮质 IL-6 基础水平也有赖于行为不对称. 既然脑不对称与脑内细胞因子的产生有关, 我们想了解 MPTP 对脑不对称小鼠脑内纹状体细胞因子产生有

无影响, 以及这种影响是否涉及到纹状体内多巴胺的破坏程度.

在本研究中, 我们动态检测了 MPTP 注射后小鼠纹状体内多巴胺的含量及纹状体内 IL-1 β 和 IL-6 水平. 同时研究了行为不对称对多巴胺含量变化和细胞因子水平变化的影响.

1 材料和方法

1.1 动物

所有实验均符合中国科学技术委员会于 1988 年 11 月 14 日颁发的 2 号法令中的实验动物管理条例, 及法国波尔多第二大学实验室动物保护和使用指导.

C57BL/6J 小鼠, 共 45 只 (中国医学科学院实验动物中心, 北京), 清洁级, 雄性, 8 周龄, 每笼 5 只喂养, 自由摄取水和食物, 12 h 明/暗环境 (7:00/19:00). 适应环境一周后进行正式实验.

*国家自然科学基金资助项目 (30271211, 30371315)、汕头大学研究与发展基金资助项目 (L00011).

** 通讯联系人.

Tel: 0754-8900840, Fax: 0754-8900456

E-mail: ksli@stu.edu.cn

收稿日期: 2004-06-02, 接受日期: 2004-09-30

实验均安排在上午 10:00 进行。

1.2 行为不对称试验

伸爪取食试验 (paw preference test) 方法如 Collins^[11] 所述, 小鼠禁食 16~18 h 后, 置于测试盒内, 以小块食物逗引其伸爪取食. 计数连续 50 次伸爪中伸右爪次数, 将其记为右利分 (right paw entry, RPE), 测试 3 次, 取其平均值. 1~20 分为左利鼠 (left pawed mouse), 21~29 分为双利鼠 (ambidextrous mouse), 30~50 分为右利鼠 (right pawed mouse). 此方法稳定性高, 比较可靠. 即使相隔数周后重复此实验仍可得到相同的结果^[11,12]. 结果表明, 有 19 只左利鼠和 19 只右利鼠, 分出左右利鼠后将其随机分组为生理盐水左利鼠组, 生理盐水右利鼠组, MPTP 左利鼠组和 MPTP 右利鼠组.

1.3 模型建立和样本收集

无菌生理盐水溶解 MPTP (Sigma 公司, USA) 后, 25 mg/kg 小鼠腹腔注射, 每日一次, 连续 5 日注射, 对照组注射等体积生理盐水 (左右利小鼠各 5 只). 最后一次注射 MPTP 和生理盐水后的第 1 天 (左右利小鼠各 4 只), 第 3 天 (左右利小鼠各 5 只) 和第 14 天 (左右利小鼠各 5 只) 断头杀鼠, 迅速取出左右侧纹状体并保存在 -80℃ 待用. 右侧纹状体用于测定多巴胺及其代谢物的含量, 左侧纹状体用于检测细胞因子的水平.

1.4 多巴胺及其代谢产物的测定

高效液相色谱仪 (Waters 2690, 美国) 和荧光扫描检测装置 (Waters 474) 用来检测纹状体内多巴胺及其代谢产物 DOPAC 含量. 流动相 (pH 4.3) 包含 0.04 mol/L 乙酸钠, 0.02 mol/L 柠檬酸, 0.2 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠, 0.25 mmol/L 辛磺酸; 12% 甲醇. 纹状体组织以 1:40 (重量/体积比) 在 0.1 mol/L 过氧酸溶液中匀浆, 离心之后过滤 (0.45 μm 滤膜). 将 40 μl 滤液注入 C18 儿茶酚胺反相柱中 (Novapak, Waters, 美国), 流速为 1 ml/min. 多巴胺及代谢产物 DOPAC 的水平参照外部标准品的峰面积确定, 浓度以每克组织中 DOPAC 质量 (ng/g) 表示. MPTP 注射后第 1 天, 第 3 天和第 14 天纹状体内多巴胺的翻转效应用 DA/DOPAC 比率确定.

1.5 酶联免疫吸附检测细胞因子水平

样品称重后, 以 1:10 (重量/体积比) 在稀释液 (含 0.32 mol/L 蔗糖, 蛋白酶抑制剂: 100 μmol/L 苯甲基磺酰氟 (phenylmethylsulfonyl fluoride); 50 mg/L 亮抑制肽 (leupeptin), 胃酶抑素 (pepstatin)

和木瓜蛋白酶抑制剂 (antipain)) 中匀浆, 离心后取上清液用于 ELISA 检测. IL-1β 和 IL-6 单克隆抗体 (Pharmingen, 美国) 包被 96 孔酶标板, 4℃ 过夜; 小牛血清封闭 1 h; 将已知浓度的标准品及待测样品加入微孔板中, 孵育 3 h; 加入酶联的 IL-1β 和 IL-6 单克隆抗体 (Pharmingen, 美国), 孵育 1 h; 加入显色液显色 30 min 后, 酶标仪 (BIO-RAD 3550-UV Microplate Reader) 检测 450 nm 和 570 nm 的 A 值. 450 nm 处的读数减去 570 nm 处的读数即为各孔的 A 值. 先将每个标准品的 A 值换算成对数后, 以此对数为 x 坐标, 以每个标准品浓度的对数为 y 坐标, 用直线回归的方法引导出 $y=ax+b$ 的直线方程. 然后将待测样品 A 值的对数引入此方程, 计算其浓度的对数, 再换算为反对数后, 即为每孔样品对应的浓度. 细胞因子水平用每克组织中细胞因子的质量 (pg/g) 来表示.

1.6 统计学分析

每组数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示. 将 $P < 0.05$ 设为显著性差异的标准. 在统计之前, 对数据进行正态分布检验和方差齐性检验. 所使用的统计方法有单因素方差分析、多因素方差分析、t 检验和直线回归.

2 结 果

2.1 MPTP 对多巴胺, IL-6 和 IL-1β 水平的影响

首先在不考虑行为不对称的情况下分析 MPTP 对纹状体内多巴胺、IL-6 和 IL-1β 水平的影响.

2.1.1 纹状体内多巴胺含量. 如图 1 所示, 单因素方差分析显示 MPTP 注射影响了纹状体内多巴胺含量, $P < 0.001$ (图 1). 与对照组 (8.47 ± 1.13) ng/g 相比, 注射 MPTP 后第一天 (2.16 ± 0.34) ng/g,

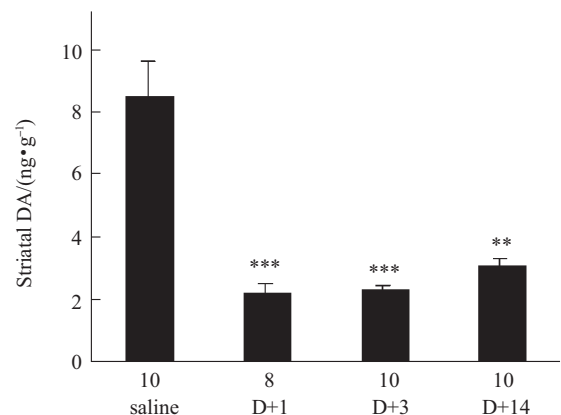


Fig.1 Striatal DA contents in C57BL/6J mice at saline group as well as 1 day, 3 days and 14 days after MPTP treatment

Each value represents $(\bar{x} \pm s)$ for 10 or 8 animals in each group. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

$P<0.001$) 多巴胺含量降低了 74.48%，第 3 天 (2.30 ± 0.13) ng/g, $P<0.001$) 降低了 72.84%，第 14 天 (3.08 ± 0.24) ng/g, $P=0.001$) 降低了 63.87%，证明该实验中 MPTP 导致小鼠产生了帕金森病样脑内神经生化的改变。

2.1.2 纹状体内 IL-6 和 IL-1 β 水平. 如图 2 所示, 在纹状体, MPTP 注射导致了 IL-6 ($P=0.004$)

(图 2a) 和 IL-1 β ($P=0.021$) (图 2b) 水平的变化. SNK *post hoc* 检验表明, IL-6 ($P=0.002$) 和 IL-1 β ($P=0.019$) 水平在 MPTP 注射后第 1 天明显降低. IL-6 水平到第 3 天 ($P=0.008$) 和第 14 天 ($P=0.002$) 仍然持续低于对照组. 而且, 纹状体内多巴胺含量与 IL-6 水平有正相关关系 ($r=0.59$, $P<0.001$), IL-6 水平越高, 纹状体内多巴胺含量也越高(图 3).

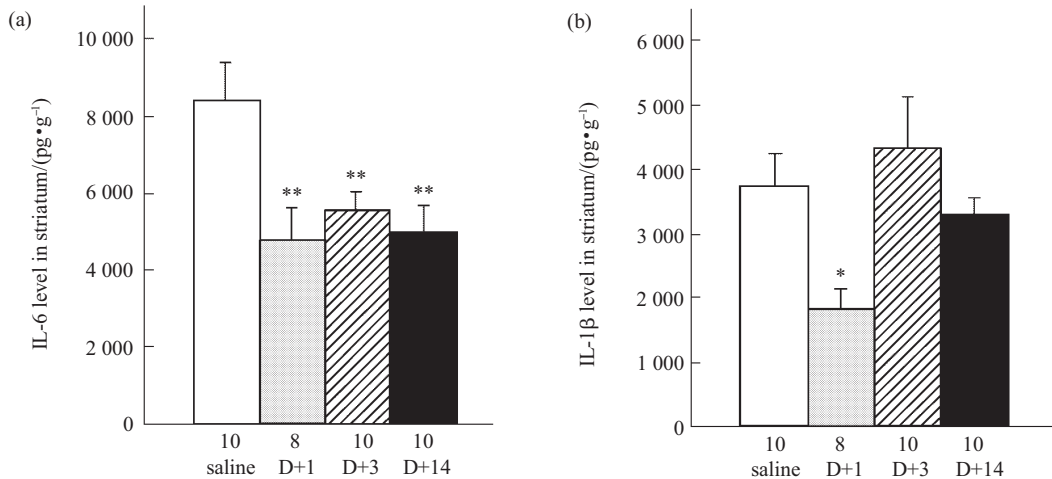


Fig.2 Striatal IL-6 (a) and IL-1 β (b) in C57BL/6J mice at 1 day, 3 days and 14 days after MPTP treatment

Each value represents ($\bar{x} \pm s$) for 10 or 8 animals in each group. * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

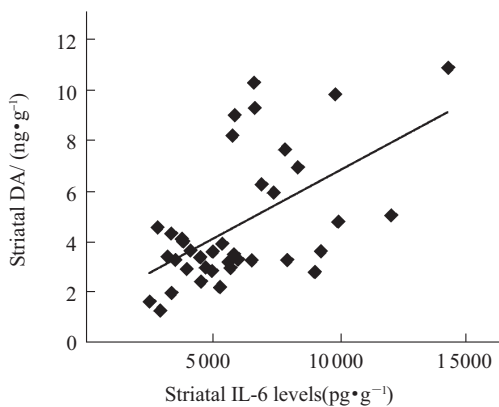


Fig.3 Correlation between individual striatal DA contents and striatal IL-6 levels in C57BL/6J mice

linear correlation, $r=0.59$, $P<0.001$.

2.2 行为不对称对 MPTP 作用的影响

接下来, 加入行为不对称因素进行统计学分析.

2.2.1 纹状体内 DA/DOPAC 比率在左利组和右利组内不同变化. 无论是左利鼠还是右利鼠, 在注射 MPTP 后, 纹状体内多巴胺含量都显著下降, 但是行为不对称因素对基础水平的 DA 含量没有影响, 虽然右利组基础 DA 水平 (7.11 ± 1.18) ng/g 低于左利

组 (9.84 ± 1.84) ng/g, 但是经统计两者并无显著性差异.

为了评估行为不对称对 MPTP 注射后纹状体内多巴胺含量变化的影响, 我们研究了对照组和 MPTP 组之间 DA/DOPAC 比率的不同 (图 4). 考虑时间因素 (第 1 天, 第 3 天, 第 14 天) 和行为不对

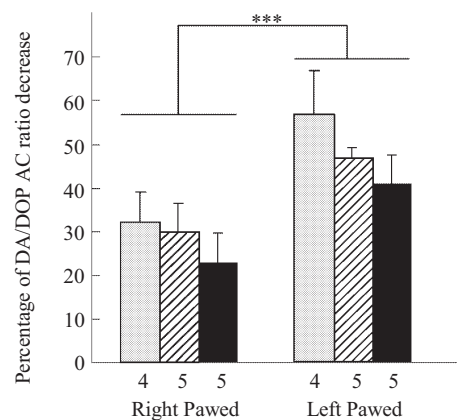


Fig.4 Effect of behavioral lateralization on the percentage of striatal DA/DOPAC ratio decrease in C57BL/6J mice at 1 day, 3 days and 14 days after MPTP treatment

Each value represents ($\bar{x} \pm s$) for 5 or 4 animals in each group.

*** $P<0.001$.

称因素(左利组, 右利组), 双因素方差分析显示既没有时间因素 ($P = 0.267$) 也没有时间因素和行为不对称的交互作用 ($P = 0.758$) 对此比率有影响. 然而, 行为不对称因素对此比率有显著影响 ($P < 0.001$), MPTP 诱导的 DA/DOPAC 比率在左利组的增加高于右利组 ($P < 0.001$).

2.2.2 行为不对称对纹状体内 IL-6 和 IL-1 β 水平的影响. 双因素方差分析显示时间因素 ($P < 0.001$) 和行为不对称因素 ($P < 0.001$) 对纹状体 IL-6 有影响(图 5a), 未发现时间因素和行为不对称因素的交互作用 ($P = 0.633$). 在右利组, SNK *post-hoc* 检验表明, IL-6 水平在第 1 天($P = 0.024$), 第 3 天 ($P = 0.025$) 和第 14 天降低($P = 0.013$); 在左利组, SNK *post-hoc* 检验显示, IL-6 水平在第 1 天 ($P < 0.001$),

第 3 天($P = 0.003$) 和第 14 天($P < 0.001$) 降低. *t* 检验表明, 在正常对照组, 右利鼠比左利鼠有较高的 IL-6 的水平($P = 0.035$), 在 MPTP 注射后第 3 天也是如此($P = 0.020$).

双因素方差分析显示时间因素 ($P < 0.001$) 和行为不对称因素 ($P < 0.001$) 都对纹状体内 IL-1 β 水平有影响(图 5b). 时间因素和行为不对称因素的交互作用也对其有影响 ($P = 0.010$). 其后的单因素方差分析显示时间因素只对右利组有影响 ($P < 0.001$), 而对左利组没有影响 ($P = 0.527$). 在右利组, SNK *post-hoc* 检验表明, 与对照组相比, IL-1 β 水平在第 1 天降低 ($P < 0.001$). 而且, *t*-检验表明, 在正常对照组 ($P < 0.001$) 和 MPTP 注射后第 3 天, 右利鼠 IL-1 β 水平高于左利鼠 ($P = 0.008$).

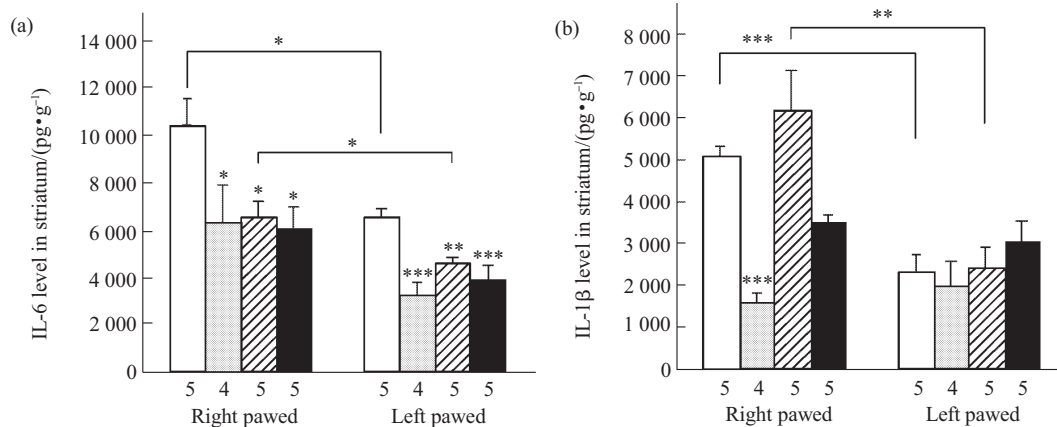


Fig.5 Effect of behavioral lateralization on striatal in C57BL/6J mice at 1 day, 3 days and 14 days after MPTP treatment

Each value represents ($\bar{x} \pm s$) for 5 or 4 animals in each group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. □: saline; ▨: D+1; ▩: D+3; ■: D+14.

3 讨 论

本研究结果提示, 小鼠注射 MPTP 后不仅可影响纹状体内多巴胺含量以及 IL-1 β 和 IL-6 水平, 而且 MPTP 的作用与行为不对称有关.

MPTP 在注射后第 1 天诱导出了纹状体内 IL-1 β 和 IL-6 蛋白水平的降低, 其后 IL-1 β 回到了正常水平, IL-6 水平直至第 14 天检测仍然低于对照组. 虽然 MPTP 注射可引起纹状体内促炎症细胞因子的表达或蛋白质的变化^[7,8,13~15], 但目前的大多数报道表明, MPTP 注射后细胞因子的表达在纹状体内是增加的. 我们首次报道 MPTP 注射可引起纹状体内促炎症细胞因子的降低. 由于 MPTP 的使用剂量、给药途径、小鼠种系和年龄都强烈影响着神

经元对 MPTP 的易感性^[4,16~18]. 这种差异在 MPTP 诱导的炎症反应中也会有所表现. 那么在不同实验中选择不同剂量 MPTP 和不同给药途径以及不同年龄小鼠, 这些因素的影响都会使得不同实验室之间的研究结果出现差异.

那么, 使用 125 mg 总剂量 MPTP 注射后纹状体内细胞因子水平为什么会降低? 我们分析有如下原因, 第一, 神经胶质细胞是中枢神经系统面对 MPTP 时产生细胞因子的主要细胞^[19,20]. 同时星形胶质细胞主要负责 MPTP 向有活性的代谢物 MPP⁺ 转化^[21,22], 因此 MPTP 给药剂量将直接影响星形胶质细胞产生细胞因子. 这一点进一步被 Serra 等^[23] 的研究所证实, 使用与本研究相似的 MPTP 剂量诱导出了黑质纹状体通路中胶质细胞的凋亡, 因此胶

质细胞数量的减少可能是细胞因子水平降低的原因之一. 第二, 在目前大部分的报道中是关于细胞因子 mRNA 水平的变化, 而我们这里测到的是蛋白质水平, 其实, 蛋白质水平可以更加真实地反应细胞因子的功能状态, mRNA 水平和蛋白质水平之间的差异也可能是原因之一. 第三, MPTP 可以改变外周免疫细胞的群体组成和反应性^[24, 25], 从而通过外周和中枢的交流来影响中枢免疫反应. 第四, 细胞因子的升高往往是一过性表达, 不同实验小组选取动态观察的时间点不同会极大地影响实验结果. 另外, 我们并没有显示在杀鼠前 1~5 天内细胞因子是如何变化的 (其实小鼠已接受 MPTP 注射). 总而言之, 给小鼠注射 MPTP 既可能诱导纹状体内细胞因子的升高, 也可能诱导其降低, 这取决于 MPTP 的剂量以及观察时间. 在本研究中所用的剂量可以诱导纹状体内细胞因子水平降低.

本实验中相关性研究表明, 纹状体 IL-6 水平与纹状体内多巴胺含量呈正相关, 表明 IL-6 可能在 MPTP 注射后对多巴胺丢失有神经保护作用. 这一发现与脑脊液 IL-6 水平与帕金森病的严重程度呈负相关的发现是一致的^[26]. 而且, 最近使用 IL-6 缺陷小鼠证明, 细胞因子能够在 MPTP 和 6-OHDA 诱导的多巴胺丢失中起到保护作用^[27, 28], 有可能是通过减少胶质细胞反应来实现这一作用的^[29].

此项研究的第二个目的是了解行为不对称对 MPTP 作用的影响. 免疫反应和优势爪之间的关联在外周中有所体现^[9]. 细菌内毒素 LPS 或束缚实验诱导的血浆 IL-1 β 水平与行为不对称有关^[30]. 因此我们推测脑内细胞因子对 MPTP 的应答也可能受到行为不对称的影响. 而且, IL-1 β 和 IL-6 被认为可以在帕金森病中改善纹状体多巴胺翻转效应^[27, 28], 那么行为不对称可能也会进而影响纹状体内多巴胺含量恢复.

虽然 MPTP 在左利鼠和右利鼠都诱导出了纹状体多巴胺的显著降低, 可是左利组比右利组表现出更重要的 DA/DOPAC 比率的降低. 这提示着左利组比右利组对 MPTP 更加敏感. 在正常对照组的纹状体, IL-6 和 IL-1 β 水平在右利组高于左利组, MPTP 注射后第 3 天, 纹状体 IL-6 和 IL-1 β 水平也是右利组高于左利组, 而且, MPTP 注射只影响了右利组纹状体 IL-1 β 水平. 既然纹状体 DA/DOPAC 比率降低较少的小鼠如右利鼠有较高的 IL-1 β 和 IL-6 水平 (在基础条件和注射后第 3 天), 说明具有较高水平的 IL-6 和 IL-1 β 的右利鼠

对 MPTP 较不敏感, 这一结果再次证实 IL-6 和 IL-1 β 在纹状体多巴胺丢失中有神经保护的作用^[27~29, 31]. 脑不对称很有可能通过影响纹状体内细胞因子水平, 而进一步影响 MPTP 诱导的多巴胺降低的程度.

MPTP 模拟人类帕金森病是一个很好的动物模型, 从 MPTP 动物模型的研究中得到的结果有可能为人类帕金森病的研究提供一定的数据. 既然我们发现行为不对称对小鼠细胞因子的表达有影响, 那么在人类帕金森病中, 行为不对称会不会通过影响细胞因子的表达而对疾病的症状和病程有影响, 目前尚无这方面研究. 但是有研究表明在另一个神经变性疾病老年痴呆症 (阿尔兹海默氏病) 中, 左利患者比右利患者在疾病进程中会更早出现一些认知缺陷^[32], 我们知道, 细胞因子可以诱导病态行为和认知障碍^[33], 因此左利者和右利者之间不同的认知缺陷程度很可能与不同程度的细胞因子表达有关. 但是这样的推测仍然有待于进一步实验来证实.

本研究展示了 MPTP 注射后小鼠纹状体内多巴胺含量和细胞因子水平的变化, 首次报道了行为不对称既可以影响生理状态下的免疫反应, 也可以在病理条件下影响动物的免疫反应. 然而, 细胞因子在 MPTP 所致的病变中如何起到保护作用以及脑不对称对细胞因子的影响机制还需要进一步的研究来阐明.

参 考 文 献

- 1 Burns R S, Chiu C C, Markey S P, *et al.* A primate model of parkinsonism: selective destruction of dopaminergic neurons in the pars compacta of the substantia nigra by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1983, **80** (14): 4546~4550
- 2 Heikkila R E, Hess A, Duvoisin R C. Dopaminergic neurotoxicity of 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine in mice. *Science*, 1984, **224** (4656): 1451~1453
- 3 Bas J, Calopa M, Mestre M, *et al.* Lymphocyte populations in Parkinson's disease and in rat models of parkinsonism. *J Neuroimmunol*, 2001, **113** (11):146~152
- 4 Hamre K, Tharp R, Poon K. Differential strain susceptibility following 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) administration acts in an autosomal dominant fashion: quantitative analysis in seven strains of *Mus musculus*. *Brain Res*, 1999, **828** (1~2): 91~103
- 5 Mogi M, Harada M, Kondo T, *et al.* Interleukin-1 beta, interleukin-6, epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha are elevated in the brain from parkinsonian patients. *Neurosci Lett*,

- 1994, **180** (2):147~150
- 6 Mogi M, Harada M, Kondo T, *et al.* Interleukin-2 but not basic fibroblast growth factor is elevated in parkinsonian brain. *J Neural Transm*, 1996, **103** (8~9):1077~1081
- 7 Hébert G, Arsaut J, Dantzer R, *et al.* Time-course of the expression of inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases in the striatum and mesencephalon of mice injected with MPTP, a dopaminergic neurotoxin. *Neurosci Lett*, 2003, **349** (3):191~195
- 8 Ho A, Blum M. Induction of interleukin-1 associated with compensatory dopaminergic sprouting in the denervated striatum of young mice: model of aging and neurodegenerative disease. *J Neurosci*, 1998, **18** (15): 5614~5629
- 9 Neveu P J. Cerebral lateralization and the immune system. *Int Rev Neurobiol*, 2002, **52**: 303~323
- 10 Fu Q L, Shen Y Q, Gao M X, *et al.* Brain interleukin asymmetries and paw preference in mice. *Neuroscience*, 2003, **116** (3): 639~647
- 11 Collins R L. On the inheritance of direction and degree of asymmetry, In: Glick S D, ed. *Cerebral Lateralization in Non human Species*. New York: Academic Press, 1985. 41~71
- 12 Neveu P J, Barneoud P, Vitiello S, *et al.* Brain modulation of the immune system: association between lymphocyte responsiveness and paw preference in mice. *Brain Res*, 1988, **457** (2): 392~394.
- 13 Kaku K, Shikimi T, Kamisaki Y, *et al.* Elevation of striatal interleukin-6 and serum corticosterone contents in MPTP-treated mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1999, **26** (9): 680~683
- 14 Mogi M, Togari A, Ogawa M, *et al.* Effects of repeated systemic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) to mice on interleukin-1beta and nerve growth factor in the striatum. *Neurosci Lett*, 1998, **250** (1): 25~28
- 15 申延琴, Arsaut J, Moze E, 等. 细胞因子和凋亡相关基因在小鼠帕金森病模型中的表达. *中华神经科杂志*, 2003, **36** (3): 209
Shen Y Q, Arsaut J, Moze E, *et al.* *Chin J Neurology*, 2003, **36** (3): 209
- 16 Ali S F, David S N, Newport, G D, *et al.* Age-related susceptibility to MPTP-induced neurotoxicity in mice. *Neurotoxicology*, 1993, **14** (1): 29~34
- 17 Cochiolo J A, Ehsanian R, Bruck D K. Acute ultrastructural effects of MPTP on the nigrostriatal pathway of the C57BL/6 adult mouse: evidence of compensatory plasticity in nigrostriatal neurons. *J Neurosci Res*, 2000, **59** (1):126~135
- 18 Gerlach M, Riederer P. Animal models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in man. *J Neural Transm*, 1996, **103** (8~9): 987~1041
- 19 Kohutnicka M, Lewandowska E, Kurkowska-Jastrzebska I, *et al.* Microglial and astrocytic involvement in a murine model of Parkinson's disease induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). *Immunopharmacology*, 1998, **39** (3): 167~180
- 20 Wu D C, Jackson-Lewis V, Vila M, *et al.* Blockade of microglial activation is neuroprotective in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson disease. *J Neurosci*, 2002, **22** (5):1763~1771
- 21 Brooks W J, Jarvis M F, Wagner G C. Astrocytes as a primary locus for the conversion MPTP into MPP⁺. *J Neural Transm*, 1989, **76** (1): 1~12
- 22 Di Monte D A, Royland J E, Irwin I, *et al.* Astrocytes as the site for bioactivation of neurotoxins. *Neurotoxicology*, 1996, **17** (3~4): 697~703
- 23 Serra P A, Sciola L, Delogu M R, *et al.* The neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine induces apoptosis in mouse nigrostriatal glia. Relevance to nigral neuronal death and striatal neurochemical changes. *J Biol Chem* 2002, **277** (37): 34451~34461
- 24 Bieganowska K, Czlonkowska A, Bidzinski A, *et al.* Immunological changes in the MPTP-induced Parkinson's disease mouse model. *J Neuroimmunol*, 1993, **42** (1): 33~37
- 25 Pacheco-Lopez G, Niemi M B, Kou W, *et al.* Central catecholamine depletion inhibits peripheral lymphocyte responsiveness in spleen and blood. *J Neurochem*, 2003, **86** (4): 1024~1031
- 26 Muller T, Blum-Degen D, Przuntek H, *et al.* Interleukin-6 levels in cerebrospinal fluid inversely correlate to severity of Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand*, 1998, **98** (2): 142~144
- 27 Bolin L M, Strycharska-Orczyk I, Murray R, *et al.* Increased vulnerability of dopaminergic neurons in MPTP-lesioned interleukin-6 deficient mice. *J Neurochem*, 2002, **83** (1): 167~175
- 28 Parish C L, Finkelstein D I, Tripanichkul W, *et al.* The role of interleukin-1, interleukin-6, and glia in inducing growth of neuronal terminal arbors in mice. *J Neurosci*, 2002, **22** (18): 8034~8041
- 29 Cardenas H, Bolin L M. Compromised reactive microgliosis in MPTP-lesioned IL-6 KO mice. *Brain Res*, 2003, **985** (1): 89~97
- 30 Neveu P J, Merlot E. Cytokine stress responses depend on lateralization in mice. *Stress*, 2003, **6** (1):5~9
- 31 Wang J, Bankiewicz K S, Plunkett R J, *et al.* Intrastriatal implantation of interleukin-1. Reduction of parkinsonism in rats by enhancing neuronal sprouting from residual dopaminergic neurons in the ventral tegmental area of the midbrain. *J Neurosurg*, 1994, **80** (3): 484~490
- 32 Doody R S, Vacca, J L, Massman P J, *et al.* The influence of handedness on the clinical presentation and neuropsychology of Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 1999, **56** (9):1133~1137
- 33 Luterma J D, Haroutunian V, Yemul S, *et al.* Cytokine gene expression as a function of the clinical progression of Alzheimer disease dementia. *Arch Neurol*, 2000, **57** (8): 1153~1160

Effect of MPTP on Striatal Dopamine and Cytokine Levels in Mice With Brain Asymmetry *

SHEN Yan-Qin^{1,2)}, LI Kang-Sheng^{1)**}, E. MOZE²⁾, P. J. NEVEU²⁾

¹⁾ Department of Microbiology and Immunology, Shantou University Medical College, Shantou 515031, China;

²⁾ Neurobiologie Intégrative, CNRS FRE2723, Institut François Magendie, Rue Camille Saint-Saëns, 33077 Bordeaux Cedex, France)

Abstract MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) can induce dopaminergic cell death in substantia nigra of primates and rodents. In order to investigate the effects of brain lateralization on dopamine loss and cytokine variations in mice which were treated with MPTP, male C57BL/6J mice were selected by paw preference test to constitute right pawed mice and left pawed mice. Mice were injected with 25 mg/kg MPTP *i.p.*, for five consecutive days, and killed on day 1, day 3 and day 14 after MPTP injection. The control group was treated with saline. Striatal dopamine and DOPAC contents were measured by HPLC and striatal IL-1 β and IL-6 were quantified by ELISA. The Results showed that after MPTP treatment, dopamine contents decreased at day 1 (74.48%, $P < 0.001$), day 3 (72.84%, $P < 0.001$) and day 14 (63.87%, $P < 0.01$); IL-6 levels decreased on day 1 ($P < 0.01$), day 3 ($P < 0.01$) and day 14 ($P < 0.01$); while IL-1 β levels only decreased on day 1 ($P < 0.05$). Interestingly, behavioral lateralization had effect on dopamine turnover and cytokine variations. In basal condition, the significant difference was found between right pawed mice and left pawed mice in IL-6 level ($P < 0.05$) and IL-1 β level ($P < 0.001$). After MPTP treatment, left pawed mice showed a greater decrease of dopamine turnover ($P < 0.05$) as compared with right pawed mice, at day 3 after treatment, left pawed animals showed a lower levels of IL-6 ($P < 0.05$) and IL-1 β level ($P < 0.001$) as compared with right pawed animals. Furthermore, the positive correlation between striatal IL-6 levels and striatal dopamine contents was found ($P < 0.001$). These results indicated that MPTP-induced dopamine turnover was influenced by behavioral lateralization, possibly through an effect on brain cytokine levels.

Key words N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), dopamine, striatum, interleukin-6, interleukin-1 β , behavioral lateralization

*This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30271211, 30371315), Scientific Research and Development Foundation of Shantou University (L00011).

**Corresponding author . Tel: 86-754-8900840, Fax: 86-754-8900456, E-mail: ksli@stu.edu.cn

Received: June 2, 2004 Accepted: September 30, 2004