

Munc13-1、Munc18-1 对锰染毒 SH-SY5Y 细胞中多巴胺分泌障碍的影响

李昌哲^a, 于春^a, 赵华^a, 李军^b, 胡婷^b

贵州医科大学 a. 毒性检测中心 b. 公共卫生与健康学院, 贵州 贵阳 550025

摘要：

[背景] 慢性锰中毒诱发神经递质分泌障碍一直是其造成机体损伤的重要原因之一, 但锰致神经递质分泌障碍的机制目前并不清楚。

[目的] 探究突触前膜胞内蛋白 13-1 (Munc13-1) 与突触融合蛋白结合蛋白 18-1 (Munc18-1) 对氯化锰 (MnCl_2) 致人神经母细胞瘤细胞 (SH-SY5Y 细胞) 多巴胺 (DA) 分泌障碍的影响。

[方法] 建立 MnCl_2 诱导 SH-SY5Y 细胞模型, 根据 MTT 法测细胞存活率, 实验分组为对照组和低、中、高浓度染锰组 (0、100、200、400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MnCl_2), 处理 24 h。用酶联免疫吸附试验试剂盒测定培养基中 DA 分泌量。通过实时荧光定量 PCR 检测细胞突触融合蛋白-1 (Syntaxin-1) mRNA 表达水平。提取细胞总蛋白, 采用 Western blotting 检测 Munc13-1、Munc18-1 以及 Syntaxin-1 蛋白表达水平。并对 MnCl_2 染毒浓度和 DA 分泌量与 Munc13-1、Munc18-1 蛋白表达量之间做 Pearson 相关性分析。

[结果] 与对照组比较, 随着锰染毒浓度的增加, 细胞存活率逐渐下降, 中、高浓度染锰组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 各锰染毒组细胞培养液中 DA 浓度随锰浓度增加呈下降趋势, 与对照组和低浓度染锰组比, 中、高浓度染锰组差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); Syntaxin-1 的表达量在 mRNA 和蛋白层次上, 在各组间变化不明显, 差异不具有统计学意义 ($P > 0.05$)。与对照组比较, Munc13-1 的蛋白表达量随染锰浓度增加而依次下降, Munc18-1 的蛋白表达量依次上升 ($P < 0.05$), 其中与低浓度染锰组相比, 高浓度染锰组 Munc13-1 和中、高浓度染锰组 Munc18-1 蛋白变化有统计学意义 ($P < 0.05$), 与中浓度染锰组比, 高浓度染锰组 Munc18-1 蛋白变化有统计学意义 ($P < 0.05$)。相关性分析显示, MnCl_2 染毒浓度与 Munc13-1 蛋白表达呈负相关 ($r = -0.898$, $P < 0.05$), 与 Munc18-1 蛋白表达呈正相关 ($r = 0.678$, $P < 0.05$); DA 浓度与 Munc13-1 蛋白表达呈正相关 ($r = 0.932$, $P < 0.05$), 与 Munc18-1 蛋白表达呈负相关 ($r = -0.817$, $P < 0.05$)。

[结论] 锰染毒 SH-SY5Y 细胞致 DA 的分泌抑制, 与其上调 Munc18-1 和下调 Munc13-1 蛋白的表达水平有关, 这可能是锰致神经损伤的原因之一。

关键词： 锰; SH-SY5Y 细胞; 多巴胺; 突触前膜胞内蛋白 13-1; 突触融合蛋白结合蛋白 18-1

Effects of Munc13-1 and Munc18-1 on dopamine secretion dysfunction in manganese-exposed SH-SY5Y cells LI Changzhe^a, YU Chun^a, ZHAO Hua^a, LI Jun^b, HU Ting^b (a. Toxicity Testing Center b. School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract:

[Background] Neurotransmitter secretion disorder induced by chronic manganese poisoning has always been one of the important causes of body injury, but the mechanism of neurotransmitter secretion disorder caused by manganese is not clear at present.

[Objective] To investigate the effects of presynaptic membrane intracellular protein 13-1 (Munc13-1) and synapse fusion protein binding protein 18-1 (Munc18-1) on dopamine secretion dysfunction induced by manganese chloride (MnCl_2) in human neuroblastoma (SH-SY5Y) cells.

[Methods] A SH-SY5Y cell model induced by MnCl_2 was established. Cell viability was measured by MTT assay. Four experimental groups were set up: control group and low-, medium-, and high-dose manganese groups (0, 100, 200, and 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MnCl_2). They were treated with



DOI 10.11836/JEOM22381

组稿专家

牛桥 (山西医科大学公共卫生学院), E-mail: niuqiao55@163.com

基金项目

国家自然科学基金项目 (81960578); 贵州省教育厅自然科学基金项目 [黔教合 KY 字 (2021)146]

作者简介

李昌哲 (1985—), 男, 硕士, 实验师; E-mail: 584795344@qq.com

通信作者

胡婷, E-mail: hutinggmc@126.com

作者中包含编委会成员 无

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2022-09-18

录用日期 2023-02-03

文章编号 2095-9982(2023)03-0268-05

中图分类号 R114

文献标志码 A

►引用

李昌哲, 于春, 赵华, 等. Munc13-1、Munc18-1 对锰染毒 SH-SY5Y 细胞中多巴胺分泌障碍的影响 [J]. 环境与职业医学, 2023, 40(3): 268-272.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22381

Funding

This study was funded.

Correspondence to

HU Ting, E-mail: hutinggmc@126.com

Editorial Board Members' authorship No

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2022-09-18

Accepted 2023-02-03

► To cite

LI Changzhe, YU Chun, ZHAO Hua, et al. Effects of Munc13-1 and Munc18-1 on dopamine secretion dysfunction in manganese-exposed SH-SY5Y cells[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2023, 40(3): 268-272.

► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22381

corresponding doses of MnCl_2 for 24 h. The secretion of dopamine was measured by enzyme-linked immunosorbent assay. The mRNA expression of *Syntaxin-1* was detected by real-time quantitative PCR. Total cell proteins were extracted, and the protein expression levels of Munc13-1, Munc18-1, and Syntaxin-1 were detected by Western blotting. The correlations of MnCl_2 exposure and dopamine secretion with the protein expressions of Munc13-1 and Munc18-1 were also analyzed by Pearson correlation.

[Results] Compared with the control group, the cell viability rate decreased gradually with the increase of manganese exposure concentration, and the difference between the medium- and the high-dose manganese groups was statistically significant ($P < 0.05$). The concentration of dopamine in cell culture medium of all manganese exposure groups decreased with the increase of manganese concentration, and compared with the control group and the low-dose manganese group, the medium- and the high-dose manganese groups were statistically significant ($P < 0.05$). The expression of *Syntaxin-1* at mRNA or protein level did not change significantly among groups ($P > 0.05$). Compared with the control group, the protein expression of Munc13-1 decreased and that of Munc18-1 increased with the increase of manganese concentration ($P < 0.05$). Compared with the low-dose manganese group, the changes of Munc13-1 protein in the high-dose manganese group and Munc18-1 protein in the medium- and high-dose manganese groups had statistical significance ($P < 0.05$). Compared with the medium-dose manganese group, the protein changes of Munc18-1 in the high-dose manganese group were statistically significant ($P < 0.05$). The correlation analysis showed that MnCl_2 dose was negatively correlated with Munc13-1 protein expression ($r = -0.898$, $P < 0.05$), and positively correlated with Munc18-1 protein expression ($r = 0.678$, $P < 0.05$). Dopamine secretion was positively correlated with Munc13-1 protein expression ($r = 0.932$, $P < 0.05$), and negatively correlated with Munc18-1 protein expression ($r = -0.817$, $P < 0.05$).

[Conclusion] The inhibition of dopamine secretion in SH-SY5Y cells induced by manganese exposure is related to up-regulation of Munc18-1 and down-regulation of Munc13-1 expression levels, which may be one of the reasons for nerve injury caused by manganese.

Keywords: manganese; SH-SY5Y cell; dopamine; presynaptic membrane intracellular protein 13-1 (Munc13-1); synapse fusion protein binding protein 18-1 (Munc18-1)

锰是人类生命活动必需微量元素之一^[1],是各种生理过程的重要参与者,但过量锰暴露可导致锰中毒。慢性锰中毒主要见于长期吸入锰烟尘的职业人群^[2]。贵州省是一个锰矿大省,目前锰矿储量位居全国第一。据统计,省内从事锰矿开采加工企业有 36 家(截至 2021 年 2 月),从事锰矿作业的职业人群也在逐年增加^[3]。且随着我国汽油无铅化的普及以及锰矿的开采,环境中锰浓度随之增高,环境人群锰暴露机会增加^[4]。而锰中毒的患者可产生帕金森病样症状,如精神障碍、认知功能障碍及运动障碍等,这些典型症状的出现主要与神经元损伤有关^[5]。据研究,锰暴露工人的神经毒性主诉症状发生率高达 32.7%,严重影响着锰暴露职业人群的健康^[6]。

锰暴露后神经递质的分泌出现障碍,这是锰中毒引起神经损伤的重要原因之一。那么锰暴露是如何影响递质的分泌,现在还没有确切的结论。Sec1/Munc18-like (SM) 蛋白是一类在膜泡运输、神经递质释放中起着重要调控作用的亲水性蛋白质,能够与 N-乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体(soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor, SNAREs)复合体中的细胞突触融合蛋白(Syntaxin)蛋白结合,调节 SNAREs 复合体的装配,并与 SNAREs 协同促进整个膜融合过程,这对神经递质分泌十分重要^[7]。而 SM 蛋白可以分为四个亚家族,突触融合蛋白

结合蛋白 18-1(synapse fusion protein binding protein 18-1, Munc18-1)是 SM 蛋白家族在脑中起主要作用的亚型,在多种膜融合和膜转运过程中扮演重要角色^[8-9]。突触前膜胞内蛋白 13-1(presynaptic membrane intracellular protein 13-1, Munc13-1)在近年研究中被发现与 Munc18-1 共同作用于 SNAREs 复合体的组装和形成,在神经递质释放的过程中同样发挥重要作用^[10]。目前,有学者指出锰中毒可干扰 SNAREs 复合物的形成来影响神经递质的分泌^[11],但是这个过程是否与 Munc18-1 和 Munc13-1 蛋白有关? Munc18-1 和 Munc13-1 与 SNAREs 复合物形成密切相关的蛋白是否参与锰致神经毒性的过程?目前尚未见相关报道。

因此,本实验采用氯化锰(MnCl_2)作用于人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y 细胞),从体外细胞层面,观察染锰对 SH-SY5Y 细胞 Munc18-1、Munc13-1、Syntaxin 蛋白的影响,探索锰中毒致神经递质分泌障碍的机制,为丰富锰中毒致神经损伤的分子机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株

SH-SY5Y 细胞株来源于中国典型培养物保藏中心,批号: AC18001424。

1.2 实验试剂和仪器

MnCl_2 、DMSO(美国 Sigma),胎牛血清、DMEM 培

养液、胰蛋白酶(美国 Gibco),青链霉素、MTT 细胞毒性检测试剂盒、MTT 蛋白浓度测定试剂盒(中国索莱宝生物),人多巴胺(dopamine, DA)酶联免疫试剂盒(中国基因美生物),兔抗 Syntaxin 1、Munc13-1、Munc18-1、 β -actin(内参)多克隆抗体(英国 Abcam)。酶标仪(Multiskan, 美国 Thermo Scientific),CO₂ 培养箱(HERAcell, 美国 Thermo Scientific),显微镜(TE2000-U, 日本 Nikon),高速冷冻离心机(5417R, 德国 Eppendorf),凝胶成像仪(Chemi Doc™XRS⁺, 美国 Bio-Rad),基础电泳仪(PowerPac Basic, 美国 Bio-Rad),实时荧光定量 PCR 仪(CFX96, 美国 Bio-Rad)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养和实验分组 将 SH-SY5Y 细胞复苏后进行传代培养,接种于含 10%胎牛血清、100 IU·mL⁻¹青霉素、100 μ g·mL⁻¹链霉素的 DMEM 高糖培养基中,37 °C、5% CO₂ 条件下培养。待细胞生长状态最佳时加入含 MnCl₂ 的培养液,锰处理浓度分别为 0、50、100、200、400、600、800 μ mol·L⁻¹ 7 种浓度,根据预实验细胞存活率(MTT 法)的结果及参考文献 [12–13],正式实验设置对照组(0 μ mol·L⁻¹ MnCl₂)、低浓度染锰组(100 μ mol·L⁻¹ MnCl₂)、中浓度染锰组(200 μ mol·L⁻¹ MnCl₂)、高浓度染锰组(400 μ mol·L⁻¹ MnCl₂)。染毒 24 h 后,收集细胞进行后续实验。

1.3.2 MTT 法检测细胞增殖 将 SH-SY5Y 细胞悬液按照 5×10⁴ 个·mL⁻¹ 的密度接种到 96 孔板中(100 μ L·孔⁻¹),放入 5% CO₂ 培养箱 37 °C 培养过夜。待细胞贴壁后,观察其密度及生长状态,弃去 96 孔板中的培养液,用含不同浓度(0、100、200、400 μ mol·L⁻¹)MnCl₂ 的培养液处理细胞,24 h 后每孔加入 20 μ L MTT 工作液(避光操作),继续培养 4 h,弃除掉所有含 MTT 工作液的培养基,每孔中添加 DMSO 150 μ L,至结晶完全溶解,并用酶标仪于 490 nm 处检测光密度(*D*)值,计算细胞的存活率。细胞存活率(%)= $D_{\text{实验组均值}}/D_{\text{对照组均值}}\times 100\%$ 。

1.3.3 DA 质量浓度(浓度)的测定 当细胞贴壁生长至 80%左右时,加入 MnCl₂ 染毒,24 h 后收集细胞培养液于 -80 °C 保存。按照酶联免疫吸附试验试剂盒操作说明书,配制标准品制作标准曲线、每孔加样、加酶、温育、洗涤、显色、终止。

1.3.4 实时荧光定量 PCR 法检测目标基因表达水平 细胞培养结束后,用 Trizol 法提取细胞总 RNA,按照说明书反转录为 cDNA。使用 TB Green™Premix Ex Taq™ II 实时定量 PCR 试剂盒进行实时荧光定量 PCR 分析, Syntaxin-1 基因的特异引物见表 1。20 μ L 反应体系:

TB Green™Premix Ex Taq™ II 10 μ L,正向、反向引物各 0.8 μ L, RNase Free dH₂O 6 μ L, cDNA 模板 2 μ L, 去干扰荧光染料 Rox Reference Dye 0.4 μ L。扩增反应程序: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 变性 5 s, 52 °C 退火 35 s, 72 °C 延伸 90 s, 共 40 个循环。用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 方法计算 Syntaxin-1 基因的相对表达量。

表 1 引物序列信息(5'-3')	
Table 1 Information of primer sequence (5'-3')	
基因(Gene)	引物(Primer)
Syntaxin-1	正向(Forward): TGATGATGATGCTGCTCTCACC
	反向(Reverse): TGTCATGAAGCCTCGAATCTCC
β -actin	正向(Forward): CTCCATCCTGGCCTCGCTGT
	反向(Reverse): GCTGTCACCTTCACCGTTCC

1.3.5 Western blotting 法检测目标蛋白的表达 用 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,使用 BCA 蛋白试剂盒进行蛋白浓度测定,测定后统一定量至 2 g·L⁻¹。加入蛋白上样缓冲液,100 °C 变性 8 min。用 SDS-PAGE 电泳、转膜后,5%的脱脂奶粉室温封闭 2 h,兔抗人多克隆抗体(1:2000)一抗 4 °C 孵育过夜后,第 2 天洗涤后加辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗(1:3 000)室温下孵育 2 h,充分洗涤后将 ECL 均匀覆盖在 PVDF 膜上,避光反应 5 min,使用凝胶成像仪拍摄图像,采用 Image J (V1.8.0) 软件对蛋白条带进行灰度分析。

1.4 统计学分析

用 SPSS 20.0 建立数据库进行统计分析。对实验数据进行正态性检验和方差齐性检验,非正态性分布的数据对其进行对数转换,结果均以 $\bar{x}\pm s$ 表示。用单因素方差分析检验组间差异,进行两两比较时,方差齐,用 LSD 检验;方差不齐,用 Games-Howell 检验。指标相关性分析用 Pearson 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

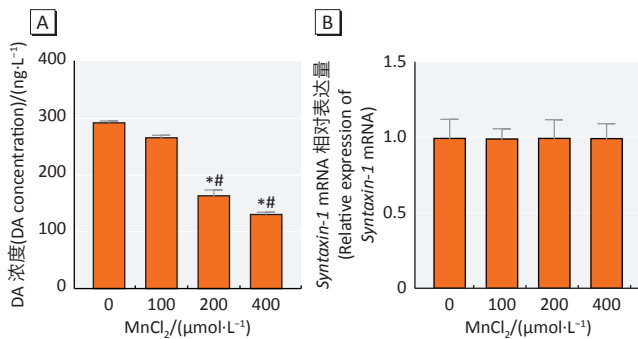
2.1 不同浓度的 MnCl₂ 对 SH-SY5Y 细胞存活率的影响

MnCl₂ 染毒 24 h 后,对照组、各染毒组细胞存活率分别为 100%、(94.27±7.13)%、(89.65±8.41)%、(77.07±3.02)%。与对照组比,中、高浓度染锰组细胞存活率明显下降($P<0.05$);与低、中浓度染锰组比,高浓度染锰组细胞存活率明显下降($P<0.05$)。

2.2 各组细胞培养基中 DA 浓度

经 MnCl₂ 染毒 24 h 后,与对照组和低浓度染锰组

比,中、高浓度染锰组分分泌到培养基中的 DA 浓度均明显下降($P<0.05$),见图 1。



[注] *: 与对照组比较, $P<0.05$; #: 与低浓度染锰组比较, $P<0.05$ 。

[Note] *: Compared with the control group, $P<0.05$; #: Compared with the low-dose manganese group, $P<0.05$.

图 1 锰染毒后多巴胺浓度 (A) 和 Syntaxin-1 mRNA 表达水平 (B) ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 1 Dopamine level (A) and Syntaxin-1 mRNA expression level (B) after manganese exposure ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.3 Syntaxin-1 mRNA 表达水平

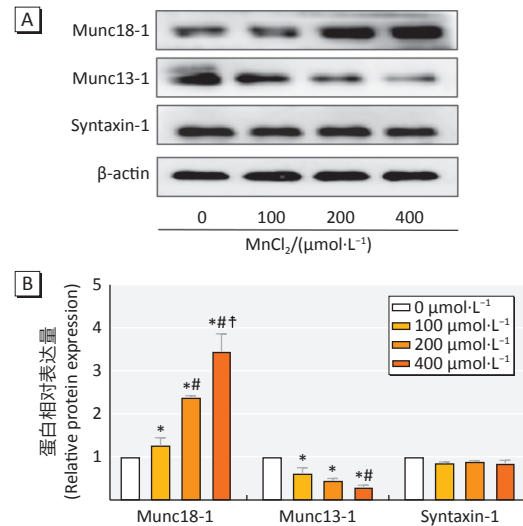
经 MnCl_2 染毒 24 h 后, Syntaxin-1 mRNA 表达在所有浓度组中差异未见统计学意义($P>0.05$),见图 1。

2.4 Munc18-1、Munc13-1 和 Syntaxin-1 的蛋白表达水平

经 MnCl_2 染毒 24 h 后, 各浓度组 Munc13-1、Munc18-1 和 Syntaxin-1 蛋白表达水平见图 2。与对照组比较, 低、中、高浓度染锰组 Munc13-1 的蛋白表达量逐渐降低, 以中、高浓度染锰组降低显著($P<0.05$); 与低浓度染锰组比较, 高浓度染锰组 Munc13-1 的蛋白表达量明显减少($P<0.05$); 与中浓度染锰组比较, 高浓度染锰组 Munc13-1 的蛋白表达量变化不明显。与对照组比较, 低、中、高浓度染锰组 Munc18-1 的蛋白表达量上升($P<0.05$); 与低浓度染锰组比较, 中、高浓度染锰组 Munc18-1 的蛋白表达量明显升高($P<0.05$); 与中浓度染锰组比较, 高浓度染锰组 Munc18-1 的蛋白表达量明显升高($P<0.05$)。在所有浓度组中, Syntaxin-1 的蛋白表达均不具有统计学差异($P>0.05$)。

2.5 指标相关性分析

结果显示, MnCl_2 染毒浓度与 Munc13-1 蛋白表达呈负相关($r=-0.898$, $P<0.05$), 与 Munc18-1 蛋白表达呈正相关($r=0.678$, $P<0.05$); DA 浓度与 Munc13-1 蛋白表达呈正相关($r=0.932$, $P<0.05$), 与 Munc18-1 蛋白表达呈负相关($r=-0.817$, $P<0.05$)。



[注] A: 不同浓度 MnCl_2 染毒 24 h 蛋白条带图; B: 不同染毒浓度组蛋白相对表达量直条图。*: 与对照组比较, $P<0.05$; #: 与低浓度染锰组比较, $P<0.05$; †: 与中浓度染锰组比较, $P<0.05$ 。

[Note] A: Protein bands at 24 h after exposure to MnCl_2 at different concentrations; B: Bar chart of histone relative expression at different concentrations. *: Compared with the control group, $P<0.05$; #: Compared with the low-dose manganese group, $P<0.05$; †: Compared with the medium-dose manganese group, $P<0.05$.

图 2 锰染毒后 Munc18-1、Munc13-1 和 Syntaxin-1 蛋白相对表达量 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 2 Relative expression levels of Munc18-1, Munc13-1, and Syntaxin-1 proteins after manganese exposure ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3 讨论

DA 是儿茶酚胺类神经递质, 调控着中枢神经系统多种生理功能^[14]。研究提示, 许多神经退行性疾病可能与 DA 失衡有关^[15-16]。本实验观察到, 随着 MnCl_2 浓度增加, SH-SY5Y 细胞培养基中的 DA 浓度呈逐渐降低的趋势, 说明 MnCl_2 的染毒抑制了神经细胞中 DA 的释放。Syntaxin-1 是 SNAREs 复合物的的重要组成部分^[17], 而 SNAREs 复合物是神经递质释放和分泌过程中的核心成分。本研究显示, SH-SY5Y 神经细胞在锰染毒后, 在 mRNA 水平, 与正常对照组比较, 染锰组 Syntaxin-1 mRNA 表达量的差异没有统计学意义。Western blotting 检测其蛋白表达情况, 与正常对照组比较, 染锰组 Syntaxin-1 的蛋白表达量没有明显变化。由此可见, 无论是从基因还是蛋白水平, 锰染毒对 Syntaxin-1 的表达量均无明显影响, 推测锰中毒致 DA 分泌减少不是通过影响 Syntaxin-1 表达产生的。

Munc18-1 和 Munc13-1 蛋白在多种膜融合和膜转运过程中扮演重要的角色。据研究, Munc18-1 可抑制神经递质的释放。例如, 在突触前神经细胞中加入 Munc18-1 的部分肽段后, 能够明显抑制突触囊泡的融合^[12]; 而 Munc13-1 促进神经递质的释放, 实验证实敲

除 *Munc13-1* 会导致神经元功能以及神经递质分泌的缺陷^[18]。同时, *Munc18-1* 和 *Munc13-1* 与 *Syntaxin-1* 之间的联系近年来也逐渐得到证实。据报道, 敲除 PC12 细胞中 *Munc18-1* 基因, 发现 *Syntaxin-1* 失去膜定位, 杂乱的堆积在核周边, 在表达野生型 *Munc18-1* 后恢复了 *Syntaxin-1* 的错位分布^[19-20]。另有研究发现, *Munc13-1* 可以与 *Syntaxin-1* 蛋白 linker 区域的 RI 残基相互作用, 使 *Syntaxin-1* 的复合物转变为开放状态, 故 *Munc18-1* 和 *Munc13-1* 还可能在空间构象上影响 *Syntaxin-1*^[21-22]。故本研究对 *Munc18-1* 和 *Munc13-1* 蛋白进行检测, 结果显示, 与对照组相比, *Munc13-1* 蛋白的表达随着染锰浓度的增加呈递减趋势, *Munc18-1* 蛋白的表达呈增长趋势, 而且 *Munc13-1* 与 *Munc18-1* 的变化均与 DA 分泌的减少存在一定相关性。

结合上述结果, 本研究推测, 虽然在 24 h 这个时间段上, *Syntaxin-1* 的基因和蛋白的表达量在锰染毒后与对照比较无变化, 但其有可能受到 *Munc18-1* 和 *Munc13-1* 调控, 发生构象上的改变, 间接影响 SNAREs 复合物的形成, 降低 DA 的释放。那么, 在锰染毒中, *Munc18-1* 和 *Munc13-1* 是如何影响 *Syntaxin-1* 构象变化的, 具体机制有待进一步研究。

综上, 本研究发现了锰染毒 SH-SY5Y 细胞致多巴胺的分泌抑制, 与其上调 *Munc18-1* 和下调 *Munc13-1* 蛋白的表达水平有关, 这可能影响 *Syntaxin-1* 构象变化, 成为锰致神经损伤的原因之一。

参考文献

- [1] 王丽娟, 刘菊林. 微量元素对人体健康的作用[J]. 临床合理用药杂志, 2013, 6(8): 63.
WANG LJ, LIU JL. Effects of trace elements on human health[J]. J Clin Rational Drug Use, 2013, 6(8): 63.
- [2] 王军义. 金属百科-锰[J]. 大众科学, 2021(7): 32-33.
WANG JY. Metal encyclopedia - manganese[J]. Popular Sci, 2021(7): 32-33.
- [3] 董雄文. 贵州省锰产业发展探讨[J]. 中国锰业, 2021, 39(1): 1-4.
DONG XW. A discussion on manganese industry development in Guizhou province[J]. China Manganese Ind, 2021, 39(1): 1-4.
- [4] ROLLE-MCFARLAND D, LIU Y, MOSTAFAEI F, et al. The association of bone and blood manganese with motor function in Chinese workers[J]. Neurotoxicology, 2022, 88: 224-230.
- [5] BUDINGER D, BARRAL S, SOO AK S, et al. The role of manganese dysregulation in neurological disease: emerging evidence[J]. Lancet Neurol, 2021, 20(11): 956-968.
- [6] 孙伟. 职业性接触锰作业工人健康危害及相关影响因素分析[D]. 宁夏: 宁夏医科大学, 2014.
SUN W. Occupational exposure manganese workers' health hazard and its related factors analytics[D]. Ningxia: Ningxia Medical University, 2014.
- [7] WANG C, MA Z, YAN DY, et al. Alpha-synuclein and calpains disrupt SNARE-mediated synaptic vesicle fusion during manganese exposure in SH-SY5Y cells[J]. Cells, 2018, 7(12): 258.
- [8] 王彦超, 于艳辉. *Munc18* 蛋白抗体在大鼠癫痫性脑病发病机制中的作用[J]. 中国临床研究, 2017, 30(9): 1165-1168.
WANG YC, YU YH. Role of *Munc18* protein antibody in pathogenesis of epileptic encephalopathy in rats[J]. Chin J Clin Res, 2017, 30(9): 1165-1168.
- [9] WANG C, XU B, SONG QF, et al. Manganese exposure disrupts SNARE protein complex-mediated vesicle fusion in primary cultured neurons[J]. Environ Toxicol, 2017, 32(2): 705-716.
- [10] 王申. *Munc13-1* 与 *Munc18-1* 调控突触分泌中 SNARE 复合物组装的分子机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2019.
WANG S. The molecular mechanism of *Munc18-1* and *Munc13-1* in neuronal SNARE complex formation and synaptic exocytosis[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2019.
- [11] 王璨, 徐斌, 邓宇, 等. 锰对神经元细胞内 SNARE 复合物蛋白及突触囊泡的影响[J]. 中国工业医学杂志, 2015, 28(3): 163-166.
WANG C, XU B, DENG Y, et al. Effect of Manganese on SNARE complex protein and synaptic vesicles in neurons[J]. Chin J Ind Med, 2015, 28(3): 163-166.
- [12] 范希敏, 罗英, 许洁, 等. 氯化锰致人骨髓神经母细胞瘤细胞株线粒体损伤及对多巴胺分泌和 PARK2 表达的影响[J]. 环境与职业医学, 2017, 34(8): 707-711, 717.
FAN XM, LUO Y, XU J, et al. Effects of manganese chloride on mitochondrial damage, dopamine secretion, and expression of PARK2 in human bone marrow neuroblastoma cells[J]. J Environ Occup Med, 2017, 34(8): 707-711, 717.
- [13] 赵琳, 李俊彦, 陈静, 等. 锰神经毒性机制研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(1): 58-64.
ZHAO L, LI JY, CHEN J, et al. Research progress in manganese neurotoxicity mechanism[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2021, 35(1): 58-64.
- [14] 万朋, 金清华. 多巴胺及其受体在中枢神经系统的作用研究进展[J]. 武汉大学学报(医学版), 2017, 38(1): 169-172.
WAN P, JIN QH. Research progress on the role of dopamine and its receptors in central nervous system[J]. Med J Wuhan Univ, 2017, 38(1): 169-172.
- [15] TSUBOI D, OTSUKA T, SHIMOMURA T, et al. Dopamine drives neuronal excitability via KCNQ channel phosphorylation for reward behavior[J]. Cell Rep, 2022, 40(10): 111309.
- [16] RENDÓN-OCCHOA E A, PADILLA-OROZCO M, CALDERON V M, et al. Dopamine D₂ and adenosine A_{2A} receptors interaction on Ca²⁺ current modulation in a rodent model of parkinsonism[J]. ASN Neuro, 2022, 14: 17590914221102075.
- [17] 李慧颖, 陆潭丽, 王进. 锰中毒对 SH-SY5Y 细胞线粒体自噬作用的影响[J]. 广西中医药大学学报, 2019, 22(1): 6-9.
LI HY, LU TL, WANG J. Effect of manganese poisoning on Mitophagy in SH-SY5Y cells[J]. J Guangxi Univ Chin Med, 2019, 22(1): 6-9.
- [18] 王璨. 锰干扰 SNARE 复合物介导的突触囊泡融合导致谷氨酸和 γ-氨基丁酸释放障碍的实验研究[D]. 沈阳: 中国医科大学, 2019.
WANG C. Study on manganese induces Glu and GABA release disorder by disrupting SNARE complex-mediated synaptic vesicle fusion[D]. Shenyang: China Medical University, 2019.
- [19] 陈瑛瑛, 张晨, 董伟, 等. 神经递质释放的分子机制[J]. 中国细胞生物学学报, 2019, 41(1): 33-41.
CHEN YQ, ZHANG C, DONG W, et al. Molecular mechanisms of neurotransmitter release[J]. Chin J Cell Biol, 2019, 41(1): 33-41.
- [20] 裴青, 林寅, 荣伊, 等. *Syntaxin-1* 通过激活突触递质传递加速早期突触的形成[J]. 生物化学与生物物理进展, 2020, 47(7): 626-633.
PEI Q, LIN Y, RONG Y, et al. *Syntaxin-1* accelerates early synapse formation via activating synaptic transmission[J]. Prog Biochem Biophys, 2020, 47(7): 626-633.
- [21] 裴青. *Syntaxin-1* 的聚集状态调控神经递质释放的分子机制研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2020.
PEI Q. The molecular mechanism of the *Syntaxin-1* aggregated state regulating neurotransmitter release[D]. Wuhan: South-Central Minzu University, 2020.
- [22] 龚吉红. *Munc13* 在 SNARE 复合体介导的囊泡分泌过程中调节机制的研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2016.
GONG JH. The mechanisms of *Munc13* in regulating SNAREs mediated vesicle exocytosis[D]. Wuhan: South-Central Minzu University, 2016.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣)