

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.08.001

文章编号: 1005-8982(2016)08-0001-06

论著

## 柚皮苷对 gp120 所致 BV2 小胶质 细胞损伤的保护作用\*

陈强, 秦姗姗, 刘成龙, 徐昌水

(南昌大学基础医学院 生理学教研室, 江西 南昌 330006)

**摘要:目的** 探讨 P2X<sub>7</sub> 受体在 HIV-1 包膜糖蛋白 gp120 所致 BV2 小胶质细胞损伤中的作用, 以及柚皮苷通过作用于 P2X<sub>7</sub> 受体对 gp120 所致 BV2 小胶质细胞损伤产生的保护作用。**方法** 通过 gp120 处理 BV2 小胶质细胞建立细胞损伤模型, 并通过 MTS 比色法检测细胞损伤程度和柚皮苷是否对损伤细胞具有保护作用; 应用逆转录 PCR(RT-PCR)及蛋白质印迹法(Western blot)检测 P2X<sub>7</sub> 受体的表达变化。**结果** gp120 处理 24 h 后, 与对照组比较, gp120 组细胞存活率显著下降( $P < 0.01$ ); gp120+ 柚皮苷组的细胞存活率与 gp120 组比较有所上升( $P < 0.01$ ), 但与 gp120+BBG 组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); RT-PCR 及 Western blot 的检测结果显示, gp120 组小胶质细胞的 P2X<sub>7</sub> 受体 mRNA 及蛋白均比对照组明显升高( $P < 0.01$ ), 而 gp120+ 柚皮苷组与 gp120 组比较有所下降( $P < 0.01$ )。**结论** P2X<sub>7</sub> 受体参与 gp120 所致 BV2 小胶质细胞损伤, 柚皮苷可能通过抑制 P2X<sub>7</sub> 受体的表达上调对 gp120 所致细胞损伤产生保护作用。

**关键词:** 艾滋病痴呆; BV2 小胶质细胞; 柚皮苷; gp120; P2X<sub>7</sub> 受体

**中图分类号:** R338.2

**文献标识码:** A

## Protective effect of naringin on gp120-induced injury in BV2 microglial cells\*

Qiang Chen, Shan-shan Qin, Cheng-long Liu, Chang-shui Xu

(Department of Physiology, Basic Medical Sciences College of Nanchang University,  
Nanchang, Jiangxi 330006, China)

**Abstract: Objective** To explore the effect of P2X<sub>7</sub> receptor on HIV-1 envelope glycoprotein gp120 (gp120)-induced injury in BV2 microglial cells, and research the protective effect of naringin on gp120-induced injury mediated by P2X<sub>7</sub> receptor in BV2 microglial cells. **Methods** BV2 microglial cell injury model was established by gp120 treatment; The damage degree of BV2 microglial cells and the protective effect of naringin were measured by MTS colorimetry. The expression changes of P2X<sub>7</sub> receptors were detected by RT-PCR and Western blot. **Results** Compared with Ctrl group, the cell survival rate of gp120 group decreased significantly after 24-h treatment ( $P < 0.01$ ). The cell survival rate of gp120 + naringin group increased compared with gp120 group ( $P < 0.01$ ), while there was no difference compared with gp120 + BBG group ( $P > 0.05$ ). The results of RT-PCR and Western blot showed that the expression of P2X<sub>7</sub> mRNA and protein in gp120 group was increased significantly compared with Ctrl group ( $P < 0.01$ ), and it was decreased in gp120 + naringin group compared with gp120 group ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** P2X<sub>7</sub> receptor involved in gp120-induced injury in BV2 microglial cells, and naringin may play a protective effect on gp120-induced injury by inhibiting the up-regulation of P2X<sub>7</sub> receptor expression.

**Keywords:** AIDS-Dementia complex; BV2 microglial cells; naringin; gp120; P2X<sub>7</sub> receptor

收稿日期: 2015-12-28

\* 基金项目: 国家自然科学基金课题(No: 81260187); 江西省青年科学家(井冈之星)培养对象计划项目(No: 20153BCB23033); 江西省研究生创新专项资金项目(No: YC2015-S040, YC2014-S098)

[通信作者] 徐昌水, E-mail: [xuchangshui@ncu.edu.cn](mailto:xuchangshui@ncu.edu.cn); Tel: 0791-86360556, 13320117233

人类免疫缺陷病毒感染引起的艾滋病脑病,又称为 AIDS 痴呆综合征 (AIDS-dementia complex, ADC)<sup>[1]</sup>, 主要临床表现为患者的学习和记忆能力缺陷,其具体机制尚不清楚<sup>[2]</sup>。ADC 的病情与免疫抑制程度相关,其中巨噬细胞和小胶质细胞的活化是 ADC 发生的关键<sup>[3]</sup>,其活化产生的多种有害物质对中枢神经系统内的其他细胞产生损害或导致细胞凋亡<sup>[4]</sup>。有研究发现,嘌呤 2X<sub>7</sub>(Purinergic 2X<sub>7</sub>, P2X<sub>7</sub>)受体在调节小胶质细胞功能活动中具有重要作用,三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)作为小胶质细胞功能信号分子,可通过激活 P2X<sub>7</sub> 受体活化小胶质细胞,进而释放炎症因子并导致神经细胞慢性炎症反应,最终表现神经毒性作用<sup>[5-6]</sup>。结合 P2X<sub>7</sub> 受体涉及炎症及免疫反应,并与神经退行性疾病密切相关, P2X<sub>7</sub> 受体可能成为 ADC 防治的新靶点。柚皮苷是一类天然黄酮类物质,具有抗炎、抗氧化应激、糖脂代谢调节和心肌保护等作用<sup>[7]</sup>,提示柚皮苷可能对 ADC 有一定的治疗效果。本研究通过建立小胶质细胞损伤模型,在细胞水平上探究柚皮苷是否对 gp120 所致小胶质细胞损伤起到保护作用,对拓宽柚皮苷的应用范围和探索潜在 ADC 的治疗手段等方面具有极其重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料及试剂

实验细胞:BV2 小胶质细胞(GDC0311),由中国典型培养物保藏中心提供。

试剂:DMEM 高糖培养基(美国 HyClone 公司),胎牛血清、总 RNA 提取试剂盒(北京全式金生物技术有限公司),gp120、柚皮苷及亮蓝 G(brilliant blue G, BBG)(美国 Sigma 公司),羊抗兔 P2X<sub>7</sub> 抗体(英国 Abcam 公司),羊抗小鼠  $\beta$ -actin 抗体、二抗 - 羊抗兔 IgG、二抗 - 羊抗小鼠 IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司),正反向引物(上海生物工程有限公司),细胞增殖检测试剂盒(美国 Promega 公司),E-CL 发光液、RNA 逆转录试剂盒(美国 Thermo 公司),NO 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

### 1.2 细胞培养与实验分组

以冷冻保存复苏后的细胞为第一代,所用培养基为 DMEM 高糖完全培养基(含 10%胎牛血清,1%双抗),传代比例为 1:6,3~4 d 传一代,待细胞传 3 到 4 代稳定后即可用于实验,所有实验操作所用的细胞均控制在 30 代以内。实验分为对照组、gp120

模型组(gp120)、柚皮苷处理组(gp120+柚皮苷)和 P2X<sub>7</sub> 受体拮抗剂 BBG 处理组(gp120+BBG)4 组,除对照组外,其余各组均给予 2.0  $\mu$ g/L gp120 处理 24 h,其中 gp120+柚皮苷组和 gp120+BBG 组分别同时给予柚皮苷(80  $\mu$ m/L)和 BBG(50  $\mu$ m/L)处理 24 h。接种孔板后,待细胞生长到 70%~80%左右时即可行药物干扰,其中 gp120 用无菌水溶解,柚皮苷用 DMSO 溶解,BBG 用 PBS 缓冲液溶解,所有药物用 DMEM 高糖基础培养基稀释。

### 1.3 MTS 比色法测细胞活性

待培养瓶中的细胞生长到 80%~90%左右时,进行细胞传代。离心后用 2 ml DMEM 高糖完全培养基重悬细胞,进行细胞计数。吸取适量体积细胞悬液用完全培养基稀释,充分混匀后使细胞密度约为  $1 \times 10^5$ /ml,边摇晃边加入到 96 孔板中,每孔 100  $\mu$ l。待细胞生长到 60%左右时更换含有药物的基础培养基处理 24 h。MTS 储存液按 1:10 的比例用基础培养基稀释,处理 24 h 后进行细胞换液,每孔加入 100  $\mu$ l MTS 稀释液,37 $^{\circ}$ C 培养箱(5%二氧化碳 CO<sub>2</sub>)孵育 4 h,490 nm 检测每孔的吸光值(absorbance, Abs),各组细胞存活率以 Abs 值大小表示。

### 1.4 一氧化氮 NO 检测

用 24 孔板接种细胞,接种密度约为  $1 \times 10^5$ /ml,每组做 3 个平行复孔。加药处理 24 h 后,取各组细胞上清液,根据一氧化氮 NO 检测试剂盒测定各组 BV2 小胶质细胞上清液中的一氧化氮 NO 含量。结果通过多功能酶标仪读取 Abs 值,再根据试剂盒所给的公式计算得出。

### 1.5 逆转录 PCR (reverse transcription-PCR, RT-PCR)技术测定 P2X<sub>7</sub> mRNA

用 6 孔板接种细胞,细胞密度约为  $1 \times 10^6$ /ml。药物处理 24 h 后,用总 RNA 提取试剂盒提取细胞 RNA,再通过逆转录试剂盒逆转录为 cDNA,用预先设计的正反向引物。见表 1。通过 RT-PCR 法检测各组 P2X<sub>7</sub> mRNA 的表达情况,PCR 产物经 1.5%琼脂糖凝胶电泳分析。实验结果通过 BIO-RAD 凝胶成

表 1 P2X<sub>7</sub> 及  $\beta$ -actin mRNA 的引物序列

基因	引物序列	片段长度 /bp
P2X <sub>7</sub>	正向:5'-CGTCAAGTGGGTCTTGACA-3'	333
	反向:5'-CACCCCTTTTTACAACGCCG-3'	
$\beta$ -actin	正向:5'-CACCCGCGAGTACAACCTTC-3'	240
	反向:5'-CCCATACCCACCATCACACC-3'	

像仪观察,采用 Image Lab 凝胶成像系统软件读取电泳条带的斑点密度扫描值,与其对应的肌动蛋白  $\beta$ -actin 条带的比值作为  $P2X_7$  mRNA 表达的相对水平量。

### 1.6 蛋白质印迹法(Western blot)检测 $P2X_7$ 蛋白

药物处理 24 h 后,用 RIPA 裂解液裂解细胞,提取细胞总蛋白。经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白,转膜、封闭后孵育一抗( $P2X_7$  比例为 1:1 000,4℃ 孵育过夜; $\beta$ -actin 比例为 1:800,常温孵育 2 h),经洗膜后孵育二抗(比例为 1:2 000,常温孵育 1 h),再经洗膜后通过 BIO-RAD 凝胶成像仪曝光显影。结果采用 Image-Pro Plus 6.0 分析软件读取目的条带的光密度值,与其对应的  $\beta$ -actin 条带的比值作为  $P2X_7$  蛋白表达的相对水平量。

### 1.7 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析,计量资料用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,实验中计量资料用单因素方差分析和 LSD- $t$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 柚皮苷提高 gp120 所致 BV2 小胶质细胞的存活率

药物处理 24 h 后,各组细胞通过多功能酶标仪读取 Abs 值。以 Abs 值大小代表各组细胞的存活率,经方差分析比较差异有统计学意义( $F_{3,24}=4.385$ ,  $P=0.016$ )。进一步分析发现,gp120 组细胞存活率与对照组比较明显降低,差异有统计学意义( $P=0.002$ ),提示 gp120 对 BV2 小胶质细胞有一定的损伤作用;与 gp120 组比较,gp120+柚皮苷组( $P=0.041$ )和 gp120+BBG 组( $P=0.046$ )的细胞存活率有所上升,差异有统计学意义,而 gp120+柚皮苷组与 gp120+BBG 组比较差异无统计学意义( $P=0.962$ ),提示柚皮苷对 gp120 所致 BV2 小胶质细胞损伤有一定的保护作用。见表 2。

表 2 MTS 比色法检测各组细胞存活率 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本数	Abs 值
对照组	7	0.91 $\pm$ 0.10
gp120 组	7	0.71 $\pm$ 0.09 <sup>1)</sup>
gp120+柚皮苷组	7	0.83 $\pm$ 0.10 <sup>2)</sup>
gp120+BBG 组	7	0.82 $\pm$ 0.12 <sup>2)</sup>

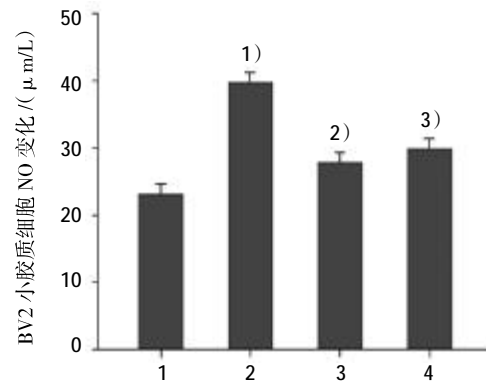
注:1)与对照组比较, $P < 0.01$ ;2)与 gp120 组比较, $P < 0.05$

### 2.2 BV2 小胶质细胞上清液中一氧化氮 NO 的含量

通过酶标仪读取各组 Abs 值后,再根据一氧化氮 NO 检测试剂盒中的公式计算得出各组细胞上清液中一氧化氮 NO 的含量,结果显示,对照组、gp120 组、gp120+柚皮苷组和 gp120+BBG 组 BV2 小胶质细胞一氧化氮 NO 的含量分别为:(23.15  $\pm$  2.47)、(39.76  $\pm$  3.77)、(27.86  $\pm$  4.60)和(29.93  $\pm$  4.34)  $\mu$  m/L。经方差分析比较差异有统计学意义( $F_{3,16}=9.704$ ,  $P=0.005$ )。进一步分析发现,gp120 组一氧化氮 NO 含量明显高于对照组( $P=0.001$ )、gp120+柚皮苷组( $P=0.006$ )和 gp120+BBG 组( $P=0.015$ ),而 gp120+柚皮苷组与 gp120+BBG 组比较差异无统计学意义( $P=0.532$ )。见图 1。

### 2.3 柚皮苷抑制 gp120 所致 BV2 小胶质细胞 $P2X_7$ mRNA 的表达上调

各组细胞提取总 RNA 后,用 RT-PCR 法检测 BV2 小胶质细胞  $P2X_7$  mRNA 的表达。结果显示,对照组、gp120 组、gp120+柚皮苷组和 gp120+BBG 组 BV2 小胶质细胞  $P2X_7$  mRNA 的相对表达量分别为:(0.73  $\pm$  0.06)、(1.05  $\pm$  0.06)、(0.78  $\pm$  0.05)和(0.81  $\pm$  0.04)。经方差分析比较差异有统计学意义( $F_{3,16}=35.478$ ,  $P=0.000$ )。进一步分析发现,gp120 组  $P2X_7$  mRNA 的表达明显高于对照组( $P=0.000$ ),提示 gp120 能诱导 BV2 小胶质细胞  $P2X_7$  mRNA 的表达上调;与 gp120 组比较,gp120+柚皮苷组( $P=0.000$ )和 gp120+BBG 组( $P=0.000$ )的表达均明显降低,而 gp120+柚皮苷组与 gp120+BBG 组比较差异无统计学意义( $P=0.480$ )。该统计结果提示,柚皮苷



1)与对照组比较, $P < 0.01$ ;2)与 gp120 组比较, $P < 0.01$ ;3)与 gp120 组比较, $P < 0.05$ 。n=5

图 1 各组 BV2 小胶质细胞上清液中一氧化氮 NO 的含量

能抑制 gp120 诱导 BV2 小胶质细胞 P2X<sub>7</sub> mRNA 的表达上调。见图 2。

#### 2.4 柚皮苷降低 gp120 诱导 BV2 小胶质细胞 P2X<sub>7</sub> 受体蛋白的表达上调

各组细胞提取总蛋白后,用 Western blot 方法检测 BV2 小胶质细胞 P2X<sub>7</sub> 受体蛋白表达的相对水平量。结果显示,对照组、gp120 组、gp120+ 柚皮苷组和 gp120+BBG 组 P2X<sub>7</sub> 受体蛋白的相对表达量分别为: (0.46 ± 0.04)、(0.79 ± 0.04)、(0.38 ± 0.07) 和 (0.42 ± 0.06)。经方差分析比较差异有统计学意义 ( $F_{3,16}=61.995, P=0.000$ )。进一步分析发现, gp120 组 P2X<sub>7</sub> 受体蛋白的表达明显高于对照组 ( $P=0.000$ ), 表明 gp120 能诱导 BV2 小胶质细胞 P2X<sub>7</sub> 受体蛋白的表达上调; 与 gp120 组比较, gp120+ 柚皮苷组 ( $P=0.000$ ) 和 gp120+BBG 组 ( $P=0.000$ ) 的表达均明显降

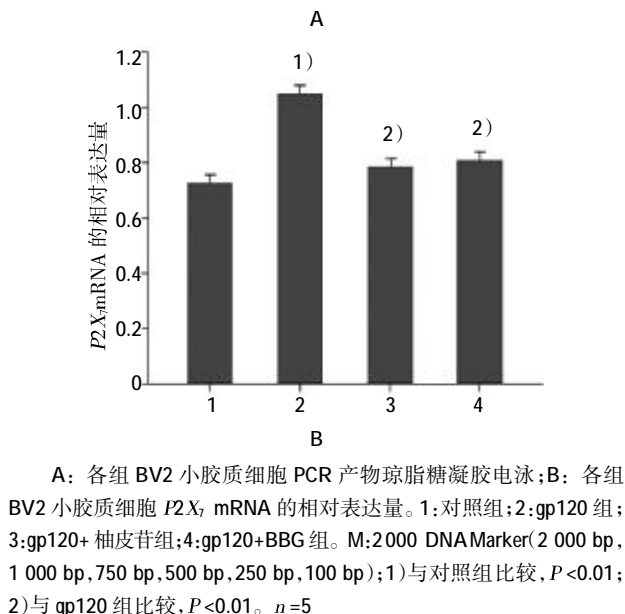
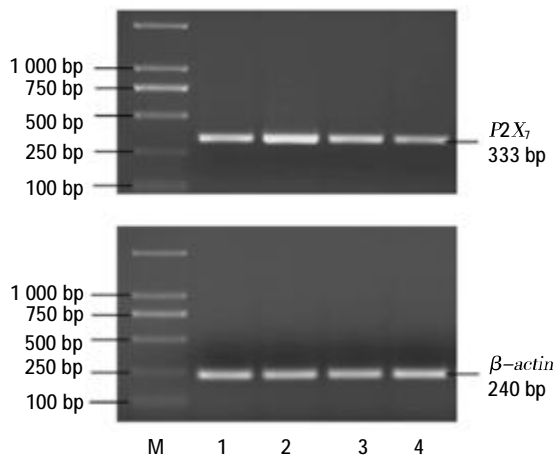


图 2 RT-PCR 法检测各组 BV2 小胶质细胞 P2X<sub>7</sub> mRNA 的表达情况

低,而 gp120+ 柚皮苷组与 gp120+BBG 组比较差异无统计学意义 ( $P=0.269$ ), 表明柚皮苷对 gp120 诱导 BV2 小胶质细胞 P2X<sub>7</sub> 受体蛋白的表达上调具有抑制作用。见图 3。

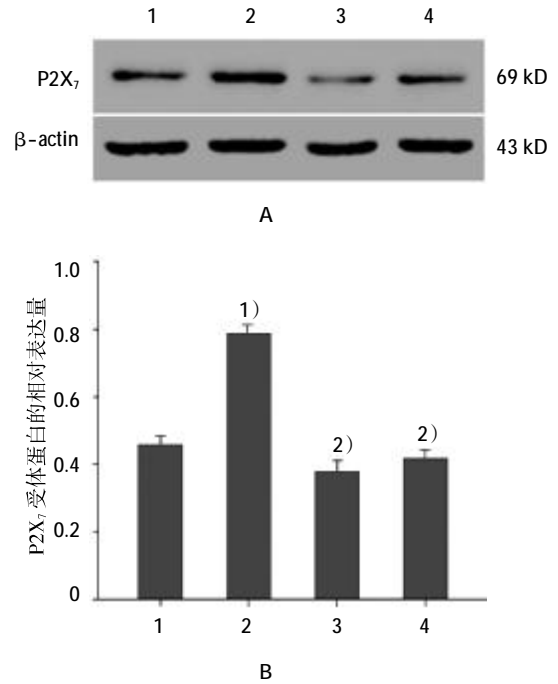


图 3 Western blot 法检测各组 BV2 小胶质细胞 P2X<sub>7</sub> 受体蛋白的表达情况

### 3 讨论

目前,ADC 的具体机制尚不清楚,临床上也没有特效的治疗药物<sup>[9]</sup>。有研究认为,HIV 或呈游离状态或借助感染的免疫细胞,跨过血脑屏障或脑脊液屏障进入中枢神经系统,间接引起 ADC 等神经退行性疾病<sup>[9]</sup>。HIV-1 包膜糖蛋白 gp120 在病毒包膜与宿主细胞表面受体识别与结合等方面有重要作用<sup>[10]</sup>, 并通过巨噬细胞和小胶质细胞产生炎症细胞因子和类花生酸类物质等神经毒素,造成细胞损伤和干扰神经递质功能,进而影响到患者的学习和记忆能力,引起记忆缺陷<sup>[11]</sup>。因此,由 gp120 间接引起的脑内巨噬细胞和小胶质细胞活化在 ADC 等神经退行性疾病中扮演重要角色<sup>[12-13]</sup>。实验中发现, gp120 组细胞存活率明显低于对照组,表明 gp120 能够对 BV2 小胶质细胞产生损伤作用。而 gp120+BBG 组细胞存活



率与对照组比较无明显差异,表明 P2X<sub>7</sub> 受体在 gp120 所致细胞损伤中发挥一定的作用,可能因损伤细胞所释放出的 ATP 通过 P2X<sub>7</sub> 受体激活小胶质细胞,活化后的小胶质细胞又以自分泌的形式将 ATP 刺激信号级联放大,从而使小胶质细胞过度激活,使其失去离子选择性,导致细胞离子通透性改变,进而引起细胞死亡<sup>[14-15]</sup>。

P2X<sub>7</sub> 受体在调节小胶质细胞功能活动中具有重要作用<sup>[6]</sup>。小胶质细胞表达 P2X<sub>7</sub> 受体,其生理功能呈多样性,包括过氧化物和一氧化氮 NO 的生成、T 细胞的激活和成熟、炎症因子产生等<sup>[7]</sup>。有研究发现,P2X<sub>7</sub> 受体可通过激活 MAPK 或其他信号通路,介导细胞对胞外增殖、分化和死亡等信号的长时程反应<sup>[8]</sup>。实验结果显示,gp120 组的 P2X<sub>7</sub> mRNA 和受体蛋白表达均高于对照组,表明 gp120 能诱导 BV2 小胶质细胞 P2X<sub>7</sub> mRNA 和受体蛋白的表达上调,提示 gp120 有可能通过 P2X<sub>7</sub> 受体介导的信号通路引起细胞损伤或死亡。通过细胞活性检测发现,gp120+ 柚皮苷组的细胞存活率较 gp120 组有所上升,说明柚皮苷对 gp120 所致细胞损伤具有保护作用,结合柚皮苷具有抗炎、抗氧化应激等特性,提示柚皮苷可能对 HIV 引起的 ADC 有一定的缓解作用。同时,gp120+ 柚皮苷组和 gp120+BBG 组的细胞存活率类似,结合 RT-PCR 及 Western blot 实验结果,推测柚皮苷可能在基因转录和蛋白翻译水平抑制 gp120 诱导的 P2X<sub>7</sub> 受体表达上调而对细胞的损伤产生保护作用。一氧化氮 NO 检测结果发现,除对照组外,其余 3 组经 gp120 处理的细胞一氧化氮 NO 水平均有所上升,与活化后的小胶质细胞释放一氧化氮 NO 等有害因子对细胞产生毒害作用相类似<sup>[9]</sup>。结合柚皮苷和 BBG 对 gp120 诱导细胞释放一氧化氮 NO 具有类似的抑制作用,推测柚皮苷对 gp120 所致细胞损伤产生的保护作用可能与抑制一氧化氮 NO 的释放有关。

总之,gp120 可通过诱导 P2X<sub>7</sub> 受体的表达上调造成细胞损伤,柚皮苷对 P2X<sub>7</sub> 受体介导的细胞损伤有一定的保护作用。但这种损伤或保护作用的具体机制还有待研究,如 gp120 是否通过 P2X<sub>7</sub> 介导的细胞信号通路呈递其损伤作用,柚皮苷是否通过参与白介素 1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子  $\alpha$  等炎症因子的调节或作用于细胞信号通路方面来发挥对细胞的保护作用等诸问题还有待解决。本实验在细胞水平上研究

ADC 等神经退行性疾病的可能性机制,对将来探索 ADC 的治疗手段及新型治疗药物的发掘等方面具有极其重要意义。

#### 参 考 文 献:

- [1] Lucas S, Nelson AM. HIV and the spectrum of human disease[J]. *J Pathol*, 2015, 235(2): 229-241.
- [2] Zhou L, Pupo GM, Gupta P, et al. A parallel genome-wide mRNA and microRNA profiling of the frontal cortex of HIV patients with and without HIV-associated dementia shows the role of axon guidance and downstream pathways in HIV-mediated neurodegeneration[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(11): 677.
- [3] Harezlak J, Cohen R, Gongvatana A, et al. Predictors of CNS injury as measured by proton magnetic resonance spectroscopy in the setting of chronic HIV infection and CART[J]. *J Neurovirol*, 2014, 20(3): 294-303.
- [4] Fu RY, Shen QY, Xu PF, et al. Phagocytosis of microglia in the central nervous system diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 49(3): 1422-1434.
- [5] Lioi AB, Ferrari BM, Dubyak GR, et al. Human  $\beta$  Defensin-3 increases CD86 expression on monocytes by activating the ATP-Gated channel P2X<sub>7</sub>[J]. *J Immunol*, 2015, 195(9): 4438-4445.
- [6] Feng JF, Gao XF, Pu YY, et al. P2X<sub>7</sub> receptors and Fyn kinase mediate ATP-induced oligodendrocyte progenitor cell migration[J]. *Purinergic Signal*, 2015, 11(3): 361-369.
- [7] Li W, Wang C, Peng J, et al. Naringin inhibits TNF- $\alpha$  induced oxidative stress and inflammatory response in HUVECs via Nox4/NF- $\kappa$ B and PI3K/Akt pathways[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2014, 15(12): 1173-1182.
- [8] Goodkin K, Hardy DJ, Singh D, et al. Diagnostic utility of the international HIV dementia scale for HIV-Associated neurocognitive impairment and disorder in south africa[J]. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2014, 26(4): 352-358.
- [9] Wrasidlo W, Crews LA, Tsigelny IF, et al. Neuroprotective effects of the anti-cancer drug sunitinib in models of HIV neurotoxicity suggests potential for the treatment of neurodegenerative disorders[J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(24): 5757-5773.
- [10] Lynch RM, Wong P, Tran L, et al. HIV-1 fitness cost associated with escape from the VRC01 class of CD4 binding site neutralizing antibodies[J]. *J Virol*, 2015, 89(8): 4201-4213.
- [11] Kesby JP, Markou A, Semenova S, et al. Cognitive deficits associated with combined HIV gp120 expression and chronic methamphetamine exposure in mice[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2015, 25(1): 141-150.
- [12] Emileh A, Duffy C, Holmes AP, et al. Covalent conjugation of a peptide triazole to HIV-1 gp120 enables intramolecular binding site occupancy[J]. *Biochemistry*, 2014, 53(21): 3403-3414.
- [13] Lisi L, Tramutola A, De LA, et al. Modulatory effects of the CCR5 antagonist maraviroc on microglial pro-inflammatory acti-

- vation elicited by gp120[J]. J Neurochem, 2012, 120(1): 106-114.
- [14] Kim EA, Cho CH, Kim J, et al. The azetidine derivative, KHG26792 protects against ATP-induced activation of NFAT and MAPK pathways through P2X7 receptor in microglia[J]. Neurotoxicology, 2015, 51(12): 198-206.
- [15] Burnstock G, Krügel U, Abbracchio MP, et al. Purinergic signalling: from normal behaviour to pathological brain function[J]. Prog Neurobiol, 2011, 95(2): 229-274.
- [16] Eyo UB, Miner SA, Ahlers KE, et al. P2X7 receptor activation regulates microglial cell death during oxygen-glucose deprivation[J]. Neuropharmacology, 2013, 73(11): 311-319.
- [17] Ficker C, Rozmer K, Kató E, et al. Astrocyte-neuron interaction in the substantia gelatinosa of the spinal cord dorsal horn via P2X7 receptor-mediated release of glutamate and reactive oxygen species[J]. Glia, 2014, 62(10): 1671-1686.
- [18] Skaper SD, Debetto P, Giusti P. The P2X7 purinergic receptor: from physiology to neurological disorders[J]. FASEB J, 2010, 24(2): 337-345.
- [19] Lenglet S, Montecucco F, Denes A, et al. Recombinant tissue plasminogen activator enhances microglial cell recruitment after stroke in mice[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2014, 34(5): 802-812.

(张蕾 编辑)

## 致作者信

尊敬的作者、读者：

最近有不法分子利用《中国现代医学杂志》假网站假邮箱诱使作者投稿、约稿，诈取版面费或者加快费，同时通过不正当手段将假网站置顶百度搜索结果前几名，请大家不要向假网站及邮箱投稿。本刊从不向作者发电子版的录用通知，除审稿费和版面费外不收加快费，凡是大家收到电子版的盖有《中国现代医学杂志》假公章的《录用通知》都是假的，更不要寄版面费和加快费。《中国现代医学杂志》投稿路径一：《中国现代医学杂志》官网 [www.zgxdyx.com](http://www.zgxdyx.com)；投稿路径二：进入中南大学湘雅医院官网→首页左下角点击“医学杂志”→点击《中国现代医学杂志》→点击《中国现代医学杂志》官网 <http://www.zgxdyx.com>。请大家提高警惕，不要上当受骗，造成不必要的损失。任何事情请来电咨询。编辑部咨询电话：0731-84327993（咨询时间上午 8:00 ~ 12:00, 下午 2:30 ~ 5:30）。

《中国现代医学杂志》编辑部