



电子、语音版

·综述·

SH-SY5Y 细胞的神经分化与神经退行性疾病

任晓玲^{1,3}, 许莉莉^{2,3}, 吕佩源³

1. 河北医科大学研究生院, 河北 石家庄 050017
2. 河北北方学院研究生院, 河北 张家口 075000
3. 河北省人民医院神经内科, 河北 石家庄 050051

摘要: SH-SY5Y 细胞来源于人骨髓, 是神经母细胞瘤细胞系的亚克隆, 其形态、生理、生化功能与人体细胞相似, 可转化为神经元样细胞, 表现出一系列具有高度指导意义的神经生物学特性, 且具有可简单快速地大规模扩增、可重复性、低成本维持、与原代神经元的培养相比没有伦理问题等优势, 被广泛运用于神经系统疾病的体外实验研究中。SH-SY5Y 细胞可以制备成未分化和分化两种形式, 通过多种分化方案可使细胞分化为更接近于人体内成熟的神经元样细胞。不同的分化方案可使 SH-SY5Y 细胞表达不同的神经元表型, 且表现出应用于不同疾病病理生理机制研究的优点和局限性, 使其更适合研究神经退行性疾病, 例如帕金森病、阿尔茨海默病等。该文就 SH-SY5Y 细胞的神经分化方法及其在神经退行性疾病实验研究中的应用进行综述。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(3): 88-92.]

关键词: 神经退行性疾病; SH-SY5Y 细胞; 神经分化

中图分类号: R741

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.03.017

SH-SY5Y cells' neural differentiation and neurodegenerative diseases

REN Xiao-Ling^{1,3}, XU Li-Li^{2,3}, LV Pei-Yuan³

1. Graduate School of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050017, China
2. Graduate School of Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China
3. Department of Neurology, Hebei Provincial People's Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050051, China

Corresponding author: LV Pei-Yuan, Email: peiyuanlu@163.com

Abstract: SH-SY5Y cells are a subclone of a neuroblastoma cell line derived from human bone marrow. With similar morphological, physiological, and biochemical characteristics to human cells, SH-SY5Y cells can be transformed into neuron-like cells, showing a range of highly instructive neurobiological characteristics. They are widely used in *in vitro* experimental studies of nervous system diseases, based on the advantages of simple and rapid large-scale expansion, reproducibility, and low-cost maintenance and with no ethical concerns associated with primary neuron culture. SH-SY5Y cells can be prepared into undifferentiated and differentiated forms. Through various differentiation protocols, SH-SY5Y cells can differentiate into neuron-like cells which are more approximate to mature human neurons. With different differentiation protocols, SH-SY5Y cells express different neuronal phenotypes, showing their pros and cons when applied in research on the pathophysiological mechanisms of different diseases, and they are more suitable for the studies of neurodegenerative diseases, such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease. This paper reviews the neural differentiation methods of SH-SY5Y cells and their application in the experimental studies of neurodegenerative diseases.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(3): 88-92.]

Keywords: neurodegenerative diseases; SH-SY5Y cells; neural differentiation

基金项目: 河北省高端人才资助项目(6833452; 83587216)。

收稿日期: 2021-10-01; 修回日期: 2022-05-05

通信作者: 吕佩源, 主任医师, 硕士生导师。Email: peiyuanlu@163.com。

人神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞系被广泛用于神经系统研究,该细胞系是SK-N-SH细胞系的亚系,于1970年从4岁女性转移性神经母细胞瘤的骨髓穿刺活检中建立,该细胞系包括两种形态上不同的细胞类型,一种为成神经细胞,另一种为上皮样细胞。SH-SY是来源于SH-N-SH的成神经细胞亚系,SH-SY5是SH-SY的亚系,SH-SY5Y是SH-SY5的亚系,经历了三轮克隆选择最终形成。SH-SY5Y细胞可以制备成未分化和分化两种形式,两种SH-SY5Y细胞都被用于神经科学领域的体外实验研究。在未分化状态下,SH-SY5Y细胞不能完全表现出原代神经元的某些特征。通过向细胞培养物中添加特定化合物,神经母细胞瘤细胞可以分化为更成熟的神经元样细胞,表现出胆碱能、肾上腺素能或多巴胺能表型^[1-2]。完全分化的SH-SY5Y神经细胞比其未分化的前体细胞更接近于体内发现的成熟人类神经元^[3]。此外,SH-SY5Y细胞可以进行基因遗传操作,包括基于转基因的基因敲除或病毒诱导地过表达,因此适合研究与疾病相关的基因功能。本文阐述SH-SY5Y细胞系的神经分化方法,SH-SY5Y细胞在神经退行性疾病,尤其在帕金森病、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)等实验研究中的应用。

1 SH-SY5Y细胞的神经分化

未分化的SH-SY5Y细胞形态特征为神经母细胞样、未极化的胞体,突起少而截断。这些细胞倾向于成簇生长,并可能形成团块。未分化的SH-SY5Y细胞持续增殖,表达不成熟的神经元标记,缺乏成熟的神经元标记^[1]。SH-SY5Y细胞经过不同的分化方法可以分化为胆碱能、肾上腺素能或多巴胺能表型,分化的特征是细胞增殖停止,以及形态、生化和功能改变。形态学上,细胞突起明显延长;生化变化包括神经递质、神经调节剂、酶活性、神经组织特异性蛋白和囊泡蛋白的增加^[4];从功能上讲,细胞的膜电位增加,导致细胞兴奋性增强^[5]。

多种化合物可诱导SH-SY5Y细胞分化,常用的分化剂有维甲酸(retinoic acid, RA)、十四烷基佛波醇醋酸酯(tetradecanoylphorbol acetate, TPA)、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)^[6-7]。另外,神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、星形孢子素、17 β -雌二醇、胆固醇、二丁酰环磷腺苷(dibutyl cyclic AMP, dbcAMP)、胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)、胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)等也可诱导SH-SY5Y细胞分化^[8-10]。

不同的分化剂组合,不同的培养环境也可促进细胞分化为更接近于体内的成熟人类神经元,分化后的SH-SY5Y细胞表现出不同的生化和功能改变。SH-SY5Y细胞经过逐渐去除血清,添加RA、BDNF和细胞外基质蛋白,以及连续裂解来筛选分化的成熟贴壁神经元形成完全分化的SH-SY5Y神经元,比未分化的细胞更接近于成

熟人类神经元^[3]。BDNF是轴突标志物tau和树突状微管相关蛋白-2(dendritic microtubule-associated protein-2, MAP2)表达的关键驱动和调节因子,BDNF促进突触发生和突触连接的形成。在RA处理下,SH-SY5Y细胞形成基本的轴突,但是在RA-BDNF联合作用下,SH-SY5Y细胞分化并显示出分子不对称和大量神经元标志物的表达,RA-BDNF对SH-SY5Y细胞的序贯调节导致了形态和分子的快速极化,模拟了真实神经元的分化^[11]。另外,Goldie等^[12]通过对SH-SY5Y细胞的基因表达和转录后调控环境的研究发现,全反式RA(all-trans RA, ATRA)和BDNF的序贯调节分化诱导关键突触基因,脑特异性miRNA和miRNA生物发生机制的表达以及乙酰胆碱酯酶活性显著增加,产生更多具有显著特征的成熟神经元细胞群体。相比之下,仅由ATRA诱导的变化似乎在未成熟的神经母细胞和成熟的神经元之间产生了一种中间表型,并且可能是研究发育中神经元的合适模拟物。而Strother等^[13]提出了一种新颖、简单、无BDNF的技术,即使用RA诱导细胞分化,将SH-SY5Y细胞在含5-氟脱氧尿苷、铁强化小牛血清或市售血清替代品(SR-2)的培养基中培养,形成了SH-SY5Y细胞的有效分化和长期培养。此外,在无血清培养条件下,RA和GLP-1可诱导SH-SY5Y细胞分化为形态和生理成熟的谷氨酸和多巴胺能神经元^[10]。用RA预处理然后进行ECM凝胶培养,并结合BDNF、神经调节蛋白 β 1、NGF和维生素D3处理可产生与成人神经元明显相似的可持续细胞^[8]。SH-SY5Y细胞生长在层粘连蛋白包被的玻璃片上,用RA处理后,显示出良好的神经元分化的形态,并强烈附着在玻片上(作为下游功能分析中稳定的细胞间连接的一部分),使其适合于研究突触分子^[14]。以人神经干细胞条件培养液为诱导剂,与RA联合诱导SH-SY5Y细胞向神经元分化,SH-SY5Y细胞在3 d内就足以产生神经元,显著缩短了SH-SY5Y细胞产生神经元分化所需的时间,而且能显著提高SH-SY5Y细胞中神经元的比例^[15]。利用与基质细胞系PA6的共培养系统可以更容易,更快速地诱导SH-SY5Y细胞分化为与成熟原代神经元非常接近的特性,这种分化加快了速度,缩短了时间,能够获得足够分化的细胞以供实验使用^[16]。

2 SH-SY5Y细胞在神经退行性疾病中的应用

人神经母细胞瘤细胞系SH-SY5Y是研究神经退行性疾病的常用细胞系。神经分化的SH-SY5Y细胞表达神经元特异性标志物,更适用于帕金森病、阿尔茨海默病等的生化、毒理学研究。

2.1 帕金森病

帕金森病(Parkinson's disease, PD)的特征是黑质多巴胺能神经元的死亡,鱼藤酮、1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine,

MPTP)和6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)等毒素可引发与运动和行为改变相关的黑质多巴胺能神经元死亡,被广泛应用于帕金森病实验模型。SH-SY5Y细胞的未分化和分化两种形式都被广泛应用于帕金森病的研究,但是哪种细胞是最合适的模型仍在争论中。通过比较未分化的SH-SY5Y细胞和分化的SH-SY5Y细胞的大量神经元标志物,以及对PD神经毒素1-甲基-4-苯基-吡啶离子(1-methyl-4-phenyl-pyridinium ion, MPP⁺)和6-OHDA的反应性,Cheung等^[17]发现未分化的SH-SY5Y细胞在RA分化后多巴胺能特性没有改变,但对帕金森神经毒素的敏感性降低,因此认为未分化的SH-SY5Y细胞可能更适合作为实验性PD研究的模型。而Lopes等^[2]将SH-SY5Y细胞RA分化后,分化细胞在分化后第4天、第7天和第10天中神经元标志物酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)、神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)和神经元核蛋白(neuronal nuclei protein, Neun)的免疫含量明显高于未分化细胞,在分化的第7天和第10天,对神经毒素6-OHDA的敏感性增加,因此认为第7天RA分化的SH-SY5Y细胞是研究PD病理生理基础的分子和细胞机制的更合适的实验模型。

MPP⁺或鱼藤酮诱导的毒性机制取决于不同的分化细胞类型,应用RA、佛波酯12-肉豆蔻13-醋酸酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)和BDNF诱导SH-SY5Y细胞分别分化为胆碱能乙酰胆碱转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)阳性表型及多巴胺能TH阳性表型。氧化应激在多巴胺能表型中占主导地位,而炎症介质在胆碱能表型中占主导地位,两种分化细胞在暴露于线粒体毒素的情况下都表现出钙蛋白酶的激活^[18]。有研究者认为,RA处理SH-SY5Y细胞诱导促进一般神经元样表型和主要多巴胺能特征的分化程序。RA分化的SH-SY5Y细胞能够摄取MPP⁺,很可能是通过多巴胺和去甲肾上腺素转运蛋白,其模仿体内多巴胺能神经元摄取MPP⁺,因此,检测MPP⁺在RA分化的神经元样细胞中的作用,可能会更准确地模拟PD脑中多巴胺能神经元的线粒体功能障碍^[19]。而另有研究者认为,RA+TPA诱导分化的SH-SY5Y细胞表现出更明显的多巴胺能表型,表现出与体内多巴胺神经元相似的MPP⁺毒性特征。与RA+TPA分化细胞相比,RA分化细胞对多巴胺的摄取明显减少,对MPP⁺的毒性不敏感,且对MPP⁺的毒性不受多巴胺转运蛋白阻滞剂的抑制。RA+TPA分化的SH-SY5Y细胞为探索MPP⁺引起的细胞死亡机制提供了一种更可行的模型^[20]。分化的SH-SY5Y细胞暴露于低剂量鱼藤酮模型模拟了早期帕金森病的变化,可能有助于筛选该疾病阶段的神经保护疗法,特别是那些可能防止突起回缩和路易神经突起形成的初始病理的疗法^[21]。

α -突触核蛋白(α -synuclein)是帕金森病的主要成分。

α -synuclein可以与多巴胺转运蛋白相互作用,减少底物摄取,调节多巴胺传递,从而影响神经元功能。过表达的 α -synuclein可以形成 α -synuclein聚集体,诱导SH-SY5Y细胞的细胞毒性和凋亡。在亚铁存在的情况下,RA和BDNF诱导神经元分化促进胞浆内 α -突触核蛋白阳性包涵体的形成,这些包涵体与人路易体有相同的基本免疫病理特征^[22]。Song等^[23]设计了表达人突变型A53T- α -synuclein的质粒转染SH-SY5Y细胞,证明了作为研究PD突触核蛋白异常聚集的细胞模型,SH-SY5Y细胞中类似突触核蛋白异常调节通路的完整性。Vasquez等^[24]建立并鉴定了一个含有Tet-on SNCA cDNA盒的SH-SY5Y细胞系,它不仅避免了高水平的 α -synuclein对分化的不利影响,而且允许在神经元分化之前/之后有控制的、有条件的和可重复的 α -synuclein的过度表达,与其他常规使用的细胞模型相比,这种可诱导的神经细胞系为PD和其他帕金森病样突触病变提供了一个可靠和更相关的细胞模型。Pantazopoulou等^[25]研究了在诱导表达人 α -synuclein神经分化的SH-SY5Y神经母细胞瘤细胞中,重组 α -突触核蛋白预制纤维(PFF)诱导 α -synuclein组装的周转。这一成熟的细胞模型可以被证明是评估 α -synuclein组件的聚集和周转以及不同翻译后修饰(即磷酸化、泛素化、截断、磺酰化)的作用及其对寡聚化的影响的重要工具,并可以进一步筛选影响 α -synuclein聚集、清除、分泌和细胞间传递的修饰物。

2.2 阿尔茨海默病

AD的特点是认知功能减退,并伴有胆碱能神经元的特定变性。组织学上,AD的主要病理特征有2个:神经纤维缠结和淀粉样蛋白- β (A β)的细胞外沉积。AD体外模型的一个重要特征是基于表达AD相关基因的人胆碱能神经元的产生,形成tau磷酸化及A β 沉积病理生理学相似的体外模型有助于研究AD疾病机制及筛选神经保护药物等。RA分化后,SH-SY5Y细胞获得了胆碱能样表型,适合作为研究A β 暴露对胆碱能影响的细胞模型^[26]。在RA+BDNF处理的细胞中,我们观察到胆碱能标志物的高表达和酶活性。联合使用亚致死剂量的冈田酸和可溶性A β 寡聚体处理分化的SH-SY5Y细胞,提供了一种与最初受AD影响的胆碱能神经元的病理生理学相似的体外模型^[27]。dbcAMP对去甲肾上腺素能表型的处理和RA+BDNF对胆碱能表型的处理增加了细胞对A β 42毒性的易感性,dbcAMP分化和RA+BDNF分化的SH-SY5Y细胞可能为进一步研究A β 的毒性机制以及筛选保护神经细胞免受A β 毒性作用的化合物提供依据^[28]。RA+TPA分化的多巴胺能SH-SY5Y细胞具有对A β 介导的毒性具有高度抗性的特点,RA+TPA分化细胞可用于揭示A β 耐受的机制,有助于更好地理解AD的神经退行性变和神经保护作用^[6]。闫宇辉等^[29]采用APP基因转染SH-SY5Y细胞模

拟 A β 沉积致阿尔茨海默病的细胞模型,进而探究药物的神经保护作用。在 RA+BDNF 分化的 SH-SY5Y 细胞中,tau 的含量和磷酸化状态均增加,这与形态学上明显的突起生长一致。RA+BDNF 分化的 SH-SY5Y 细胞可作为研究 tau 磷酸化机制和筛选潜在的 GSK3 β 抑制剂的合适模型^[6]。Agholme 等^[8]将 SH-SY5Y 细胞用 RA 预处理,然后在培养基中加入 BDNF、NRG、NGF 和 VitD3 的 ECM 凝胶培养分化为神经元样细胞,显示出成熟神经元的形态和生化特征,tau 的表达水平与成人脑相当,这种细胞体外模型可用于阿尔茨海默病的研究。

3 小结

SH-SY5Y 细胞来源于人骨髓,是神经母细胞瘤细胞系的亚克隆,通过不同的分化方法可以使 SH-SY5Y 细胞分化为更成熟的神经元样表型,表现出一系列极具指导性的神经生物学特性,从而促进对神经元细胞和分子机制的研究。SH-SY5Y 细胞广泛应用于神经退行性疾病的实验研究,不同的分化导致细胞代谢和特定神经元特征的差异,因此,不同的分化方案可使 SH-SY5Y 细胞表达不同的神经元表型,且能让 SH-SY5Y 细胞应用于不同疾病病理生理机制研究的优点和局限性表现出来,选择分化方案显得至关重要。另外,基因方法也应用于 SH-SY5Y 细胞的功能研究中,以靶向与疾病相关的一种或多种途径。这些对不同的分化 SH-SY5Y 细胞模型的正确利用将更有利于神经退行性疾病的病理机制及疾病的药物治疗研究。

参 考 文 献

- [1] KOVALEVICH J, LANGFORD D. Considerations for the use of SH-SY5Y neuroblastoma cells in neurobiology[J]. *Methods Mol Biol*, 2013, 1078: 9-21.
- [2] LOPES FM, SCHRÖDER R, FROTA MLCDA Jr, et al. Comparison between proliferative and neuron-like SH-SY5Y cells as an in vitro model for Parkinson disease studies[J]. *Brain Res*, 2010, 1337: 85-94.
- [3] SHIPLEY MM, MANGOLD CA, SZPARA ML. Differentiation of the SH-SY5Y human neuroblastoma cell line[J]. *J Vis Exp*, 2016 (108): 53193.
- [4] SIMÕES RF, FERRÃO R, SILVA MR, et al. Refinement of a differentiation protocol using neuroblastoma SH-SY5Y cells for use in neurotoxicology research[J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 149: 111967.
- [5] ŞAHİN M, ÖNCÜ G, YILMAZ MA, et al. Transformation of SH-SY5Y cell line into neuron-like cells: investigation of electrophysiological and biomechanical changes[J]. *Neurosci Lett*, 2021, 745: 135628.
- [6] JÄMSÄ A, HASSLUND K, COWBURN RF, et al. The retinoic acid and brain-derived neurotrophic factor differentiated SH-SY5Y cell line as a model for Alzheimer's disease-like tau phosphorylation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 319(3): 993-1000.
- [7] MAGALINGAM KB, RADHAKRISHNAN AK, SOMANATH SD, et al. Influence of serum concentration in retinoic acid and phorbol ester induced differentiation of SH-SY5Y human neuroblastoma cell line[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(11): 8775-8788.
- [8] AGHOLME L, LINDSTRÖM T, KÅGEDAL K, et al. An in vitro model for neuroscience: differentiation of SH-SY5Y cells into cells with morphological and biochemical characteristics of mature neurons[J]. *J Alzheimers Dis*, 2010, 20(4): 1069-1082.
- [9] TEPPOLA H, SARKANEN JR, JALONEN TO, et al. Morphological differentiation towards neuronal phenotype of SH-SY5Y neuroblastoma cells by estradiol, retinoic acid and cholesterol[J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(4): 731-747.
- [10] YANG JL, LIN YT, CHEN WY, et al. The neurotrophic function of glucagon-like peptide-1 promotes human neuroblastoma differentiation via the PI3K-AKT axis[J]. *Biology (Basel)*, 2020, 9 (11): 348.
- [11] HROMADKOVA L, BEZDEKOVA D, PALA J, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) promotes molecular polarization and differentiation of immature neuroblastoma cells into definitive neurons[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867(9): 118737.
- [12] GOLDIE BJ, BARNETT MM, CAIRNS MJ. BDNF and the maturation of posttranscriptional regulatory networks in human SH-SY5Y neuroblast differentiation[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 325.
- [13] STROTHER L, MILES GB, HOLIDAY AR, et al. Long-term culture of SH-SY5Y neuroblastoma cells in the absence of neurotrophins: a novel model of neuronal ageing[J]. *J Neurosci Methods*, 2021, 362: 109301.
- [14] JAHN K, WIELTSCH C, BLUMER N, et al. A cell culture model for investigation of synapse influenceability: epigenetics, expression and function of gene targets important for synapse formation and preservation in SH-SY5Y neuroblastoma cells differentiated by retinoic acid[J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2017, 124 (11): 1341-1367.
- [15] YANG HN, WANG J, SUN JH, et al. A new method to effectively and rapidly generate neurons from SH-SY5Y cells[J]. *Neurosci Lett*, 2016, 610: 43-47.
- [16] FERGUSON R, SUBRAMANIAN V. PA6 stromal cell Co-culture enhances SH-SY5Y and VSC4.1 neuroblastoma differentiation to mature phenotypes[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0159051.
- [17] CHEUNG YT, LAU KW, YU MS, et al. Effects of all-trans-retinoic acid on human SH-SY5Y neuroblastoma as in vitro model in neurotoxicity research[J]. *Neurotoxicology*, 2009, 30(1): 127-135.
- [18] KNARYAN VH, SAMANTARAY S, PARK S, et al. SNJ-1945, a calpain inhibitor, protects SH-SY5Y cells against MPP⁺ and rotenone[J]. *J Neurochem*, 2014, 130(2): 280-290.
- [19] KORECKA JA, KESTEREN REVAN, BLAAS E, et al. Pheno-

- typic characterization of retinoic acid differentiated SH-SY5Y cells by transcriptional profiling[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63862.
- [20] PRESGRAVES SP, AHMED T, BORWEGE S, et al. Terminally differentiated SH-SY5Y cells provide a model system for studying neuroprotective effects of dopamine agonists[J]. *Neurotox Res*, 2004, 5(8): 579-598.
- [21] BORLAND MK, TRIMMER PA, RUBINSTEIN JD, et al. Chronic, low-dose rotenone reproduces Lewy neurites found in early stages of Parkinson's disease, reduces mitochondrial movement and slowly kills differentiated SH-SY5Y neural cells[J]. *Mol Neurodegener*, 2008, 3: 21.
- [22] HASEGAWA T, MATSUZAKI M, TAKEDA A, et al. Accelerated alpha-synuclein aggregation after differentiation of SH-SY5Y neuroblastoma cells[J]. *Brain Res*, 2004, 1013(1): 51-59.
- [23] SONG ZW, XIE BM. LncRNA OIP5-AS1 reduces α -synuclein aggregation and toxicity by targeting miR-126 to activate PLK2 in human neuroblastoma SH-SY5Y cells[J]. *Neurosci Lett*, 2021, 740: 135482.
- [24] VASQUEZ V, MITRA J, PERRY G, et al. An inducible alpha-synuclein expressing neuronal cell line model for Parkinson's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 66(2): 453-460.
- [25] PANTAZOPOULOU M, BREMBATI V, KANELLIDI A, et al. Distinct alpha-synuclein species induced by seeding are selectively cleared by the Lysosome or the Proteasome in neuronally differentiated SH-SY5Y cells[J]. *J Neurochem*, 2021, 156(6): 880-896.
- [26] LIU Q, XIE XT, EMADI S, et al. A novel nicotinic mechanism underlies β -amyloid-induced neurotoxicity[J]. *Neuropharmacology*, 2015, 97: 457-463.
- [27] DE MEDEIROS LM, DE BASTIANI MA, RICO EP, et al. Cholinergic differentiation of human neuroblastoma SH-SY5Y cell line and its potential use as an in vitro model for Alzheimer's disease studies[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(11): 7355-7367.
- [28] KRISHTAL J, METSLA K, BRAGINA O, et al. Toxicity of amyloid- β peptides varies depending on differentiation route of SH-SY5Y cells[J]. *J Alzheimers Dis*, 2019, 71(3): 879-887.
- [29] 闫宇辉,张二飞,李红艳,等. 楮实子水提取物对 APP 转染的 SH-SY5Y 细胞的影响[J]. *中成药*, 2020, 42(1): 187-192.

责任编辑:龚学民