

α -细辛醚治疗前后海人酸致痫大鼠海马 差异表达蛋白质的筛选研究

谭明会 吴原 刘秋弟 叶洁梅 黄金山 韦兴 李偲俊

【摘要】 目的 应用蛋白质芯片技术筛选海人酸致痫大鼠于 α -细辛醚治疗前后海马区差异表达蛋白质,寻找 α -细辛醚治疗癫痫的药物作用靶点。方法 健康成年SD大鼠20只,随机分为模型组和 α -细辛醚组,经腹腔注射海人酸制备癫痫模型,选择Racine发作标准达IV~V级的大鼠作为观察动物,BCA法分别测量 α -细辛醚治疗前后海马组织差异表达的蛋白质水平,以 $INR \geq 1.30$ 表示蛋白质表达水平上调, $INR \leq 0.77$ 表示蛋白质表达水平下调。结果 共发现35种差异表达的蛋白质,与模型组大鼠相比, α -细辛醚组大鼠海马组织共有5种高表达蛋白质、30种低表达蛋白质,其中大多数蛋白质参与了机体的细胞信号转导、细胞周期调控、基因转录及调控、细胞凋亡和神经生物学等重要生物功能。结论 α -细辛醚可调节由海人酸诱发的SD大鼠海马组织中多种蛋白质的表达变化,提示 α -细辛醚具有多个药物治疗靶点。

【关键词】 石菖蒲; 细辛醚; 癫痫; 寡核苷酸探针; 蛋白质类; 疾病模型,动物

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2012.05.016

Effects of α -asarone on expressions of proteins in hippocampus of rats with seizures induced by kainic acid

TAN Ming-hui, WU Yuan, LIU Qiu-di, YE Jie-mei, HUANG Jin-shan, WEI Xing, LI Si-jun

Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China

Corresponding author: WU Yuan (Email: wuyuan90@126.com)

【Abstract】 Objective To explore the effects of α -asarone on expressions of proteins in hippocampus of rats with seizures induced by kainic acid (KA), and find the drug action targets of α -asarone. **Methods** Twenty healthy male Sprague-Dawley (SD) rats were given KA by intraperitoneal injection to induce epilepsy, and were randomly divided into 2 groups: the KA group ($n=10$) and α -asarone (24 mg/kg) group ($n=10$). In α -asarone group α -asarone were administered once daily by intraperitoneal injection in 7 consecutive days. Bicinchoninic acid (BCA) method was used to measure the protein expression in hippocampus before and after α -asarone therapy. The endogenous international normalized ratio (INR) was calculated according to the standardization of hybridization fluorescence signal strength, and was used to measure the difference of protein expression between the two groups. $INR \geq 1.30$ indicated the protein expression up-regulated while $INR \leq 0.77$ indicated the protein expression down-regulated. **Results** Thirty-five differentially expressed proteins were found. In comparison with KA group 5 proteins presented higher expression, while 30 lower expression in α -asarone group, and most of them involved in signal transduction, cell cycle regulation, gene transcription and regulation, apoptosis, and neurobiological functions. **Conclusion** α -Asarone may regulate a variety of protein expression in hippocampus of rats with seizures induced by kainic acid, and it may indicate that the drug has multiple therapeutic targets.

【Key words】 Acorus tatarinowii; Asarone; Epilepsy; Oligonucleotide probes; Proteins; Disease models, animal

Fund Project: National Natural Science Foundation of China (No. 81160167)

石菖蒲(*Acorus tatarinowii* Schott)系天南星科

(araceae)菖蒲属多年生草本植物。其味辛,性微温,入心、肝、脾经,具芳香开窍、醒神益智之功效^[1],临床广泛用于治疗癫痫、卒中后失语、昏迷、老年痴呆等症。现代药理学研究证实, α -细辛醚是石菖蒲的主要活性成分之一,亦是石菖蒲发挥醒脑开窍和

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:81160167)

作者单位:530021 南宁,广西医科大学第一附属医院神经内科

通讯作者:吴原(Email:wuyuan90@126.com)

镇静、抗惊厥作用的主要活性成分;其毒性较小,还可治疗支气管炎和癫痫^[2]。有研究证实, α -细辛醚为广谱抗癫痫药物,具有确切的抗癫痫作用,对临床大发作、失神发作及复杂部分性发作均有较好的治疗效果^[3]。为了深入了解 α -细辛醚抗癫痫作用的药理作用机制,本研究以海人酸(KA)致痫的SD大鼠为模型,采用蛋白质芯片技术筛查 α -细辛醚治疗前后SD大鼠海马区差异表达蛋白质,以期寻找 α -细辛醚治疗癫痫的药物作用靶点。

材料与方法

一、实验材料

1. 主要试剂 广西桂林南药股份有限公司提供的 α -细辛醚注射液(规格:2 ml:8 mg,批准文号:H45021202)。海人酸粉剂(规格:10 mg/瓶)为美国Sigma公司产品,由广西恒因生物科技有限公司分装,配制成1 μ g/ μ l备用。二辛可宁酸(BCA)蛋白定量试剂盒购自美国Pierce Biotechnology公司。³H-吲哚菁型生物荧光标示染料Cy5和Cy3由美国GE Healthcare公司提供。蛋白质芯片试剂盒Ab Microarray-380购自美国Clontech公司。

2. 主要实验仪器 动物立体定向仪由日本Narishige公司提供。28通道数字化脑电图扫描仪购自意大利EB Neuro Sirius BB公司。DNM-9602酶标仪购自北京普朗新技术公司。Gene Pix 4000B扫描仪(型号:CapitalBio LuxScan-10K/A)购自北京博奥生物有限公司。

二、实验方法

1. 动物及分组 健康雄性成年SD大鼠20只,体质量(196.00 \pm 11.67) g,由广西医科大学动物实验中心提供,符合国家健康一级动物标准。所有实验大鼠均以标准饲料笼养,自由摄食、饮水,自然光照射,换气扇通风,室温维持在22 $^{\circ}$ C左右,实验期间禁食并避免噪音干扰。采用抽签法随机分为海人酸组(模型组)和 α -细辛醚组,每组各10只动物。

2. 难治性癫痫大鼠模型的制备 (1)操作方法:采用质量浓度为10%的水合氯醛(10 g水合氯醛/100 ml蒸馏水)腹腔注射麻醉大鼠,仰卧位固定于立体定位仪上,剔毛、沿头部正中切开皮肤、显露前囟,参照Paxinos大鼠脑立体定位图谱,以前囟点后1.00 mm、矢状线旁2.00 mm、硬脑膜下3.70 mm为坐标定位大鼠右侧侧脑室。采用5 ml注射器针头钻

开颅骨,1 μ l微量注射器以0.05 μ l/min注射速度于侧脑室注射海人酸,注射剂量为0.40 μ l(2 μ g/kg),留针5 min后缓慢退出,然后再缝合头皮。模型制备成功后, α -细辛醚组大鼠经腹腔注射 α -细辛醚(24 mg/kg,注射1次/d),连续注射7 d,模型组大鼠则经腹腔注射等体积生理盐水。(2)模型制备成功判断标准:分别于大鼠右侧额叶皮质下和同侧鼻端埋置电极,记录 α -细辛醚治疗前后癫痫模型鼠脑电图变化并观察其行为学改变。其中,脑电图异常以出现丛集性棘波、尖波、尖慢复合波为癫痫发作。模型制备完成后大鼠行为学异常依据Racine分级标准共分为5级,I级,面肌抽动,节律性咀嚼动作;II级,节律性点头或“湿狗”样抖动(WDS);III级,一侧前肢阵挛;IV级,双侧前肢阵挛伴站立;V级,跌倒、全面性强直-阵挛发作。以IV~V级发作大鼠作为癫痫模型。

3. 蛋白质芯片的制备 购买美国Clontech公司生产的ClontechTM380抗体芯片,每张芯片包含760个点,共排列380种抗体,其中每一种抗体在芯片上有2个点。内源性标准化处理系指对两种样品(A、B)分别采用两种荧光标记分子(Cy3和Cy5,Cy3标记呈绿色、Cy5标记呈红色)进行标记,并交叉与芯片杂交,即A-Cy5和B-Cy3为一组、A-Cy3和B-Cy5为另一组,分别与芯片杂交。以质量分数为10%的水合氯醛(0.30 ml/100 g)经腹腔注射麻醉大鼠,迅速断头取脑、冰上分离海马组织。每组大鼠海马组织混合后按照试剂盒说明书提取蛋白质,BCA法测量蛋白质浓度,并稀释浓度至1.10 mg/ml。分别以Cy5(红色)和Cy3(绿色)两种不同颜色的荧光分子标记两个样品,分别标记为A-Cy5、A-Cy3及B-Cy5、B-Cy3,然后将A-Cy5与B-Cy3、A-Cy3与B-Cy5混合,与包含380个抗体的蛋白质芯片进行杂交孵育。通过Gene Pix 4000B扫描仪扫描并提取两张杂交抗体芯片,将获得的荧光数据进行均一化处理,分别获得两组荧光信号比[$\text{ratio} = (\text{A-Cy5}) / (\text{B-Cy3})$ 或 $\text{ratio} = (\text{B-Cy5}) / (\text{A-Cy3})$],以美国BD Clontech公司生产的数据分析表(the Microarray Analysis Workbook)计算每一种抗原抗体复合物的国际标准化比值(INR)。以 $\text{INR} \geq 1.30$ 或 ≤ 0.77 作为临界值,筛查海人酸致痫大鼠及 α -细辛醚治疗后海马组织差异表达的蛋白质水平,若 $\text{INR} > 1$ 则表示一种抗原在样本A中的表达量多于样本B;相反, $\text{INR} < 1$ 则

代表一种抗原在样本 A 中的表达量少于样本 B。

结 果

一、难治性癫痫模型的建立

于侧脑室注射海人酸 10 min 后大鼠即出现双眼凝视现象,随后头面部肌肉轻微抽搐、胡须抖动,麻醉稍清醒后出现“湿狗”样抖动并伴有搔抓动作,继而单肢阵挛、奔跑跳跃、竖尾、头偏向一侧并转圈,摔倒、翻滚及全身阵发性抽搐;发作停止后,仍自由活动。注射海人酸 30 min 后,可于脑电图扫描仪上描记到典型的丛集性棘波、尖波、尖慢复合波发放,经 α -细辛醚治疗后大鼠癫痫发作频次显著减少,且发作时症状亦明显减轻。

二、蛋白质芯片筛查

与模型组大鼠比较, α -细辛醚治疗组大鼠海马组织中共有 5 种蛋白质呈高表达,其分别为:STAT6、SNX1、SCP3、PI₃K 和 I-TRAF;30 种蛋白质呈低表达,分别为:RPTPb、Cyclin A2、hcKrox、Catenin (b)、TAFII70、TAF172、Carboxypeptidase E、E2A、Kalinin B1、PKC η 、PIP5g、AKAP79、Arginase I、NEK2、GM-CSF、IL-5、NEDD-4、EEA1、ORC5、Doublecortin、IL-3、JIP-1、Bak、Fas、Na⁺-K⁺ ATPase、PKC α 、Pkr、MST1、Syntaxin 11 和 GRIP。其中大多数蛋白质参与了神经元的信号转导、细胞周期调控、基因转录与调控、细胞凋亡和神经生物学等重要生物功能(表 1)。

讨 论

石菖蒲为天南星科多年生草本植物,除了具有宁神镇静作用外,更有醒神益智、豁痰开窍平癫痫之功效,是历代中医治疗癫痫的首选中药。而 α -细辛醚则是石菖蒲的主要成分之一^[2],体内毒理学实验结果证实 α -细辛醚毒性低、安全范围大^[4]。有研究证实,海人酸所致癫痫持续状态可诱发神经元凋亡^[5];而 α -细辛醚可以降低难治性癫痫细胞模型中的神经元坏死和凋亡,对神经元具有显著的保护作用^[6]。杨立彬等^[7]的研究发现, α -细辛醚可以抑制癫痫神经元凋亡,发挥脑保护作用。

蛋白质芯片技术是近年来生命科学领域中迅速发展起来的一项生物芯片技术,集高通量、高速度、高质量和自动化等特点于一身^[8]。Ab Microarray-380 是首张商品化抗体芯片,其上共排列

378 种已知的蛋白质单克隆抗体,这些单克隆抗体相对应的蛋白质均为具有重要细胞结构和功能的蛋白质,涉及细胞信号转导、肿瘤标志物、细胞周期调控、细胞结构、细胞凋亡和神经生物学等广泛领域。本实验结果显示, α -细辛醚治疗组大鼠海马组织中有 5 种高表达蛋白质、30 种低表达蛋白质。其中大多数蛋白质参与了细胞信号转导、细胞周期调控过程、神经生物学行为及细胞凋亡的调控等多项功能。由于篇幅所限,本文仅对部分相关蛋白质进行讨论。(1) 磷脂酰肌醇 3-激酶(PI₃K):是一种细胞内蛋白激酶,参与细胞生长代谢、增殖分化及凋亡等多项生物学过程^[9]。Akt 又称蛋白激酶 B(PKB),为丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶。细胞的抗凋亡信号转导开始从 PI₃K 到 Akt,PI₃K 形成的信使物 PtdInsP3 激活 Akt,后者则可以通过两种方式影响细胞凋亡过程^[10]。其一,Akt 直接磷酸化多种转录因子,通过调控这些转录因子而抑制凋亡基因的表达和增强抗凋亡基因的表达,从而促进细胞存活。其二,除了抑制转录因子的活性外,Akt 尚能够正向调节两种转录因子即核因子- κ B(NF- κ B)和 bcl-2。其中核因子- κ B 可与多种细胞基因的启动子及增强子序列位点发生特异性结合,在促进转录和表达,参与免疫应答、炎症和应激反应有关的基因转录的同时也参与细胞增殖调控和凋亡等过程^[11]。核因子- κ B 还具有调节各种与细胞存活和凋亡有关的基因产物的作用,如凋亡抑制蛋白(IAP)、Bfl-1/A1(Bcl-2 家族成员 A1)、Bcl-2、Bcl-xL 和 survivin 等^[12],处于活化状态的核因子- κ B 通过转录激活这些抗凋亡基因而起到抗细胞凋亡作用。Dudek 等^[13]发现,PI₃K-Akt 信号转导通路是重要的细胞存活信号通路,多种神经营养因子可通过激活 PI₃K-Akt 信号转导通路抑制细胞凋亡,从而发挥脑保护作用。本实验结果显示, α -细辛醚治疗组大鼠海马组织 PI₃K 及 I-TRAF 表达水平上调,I-TRAF 是核因子- κ B 的激活剂,核因子- κ B 在 α -细辛醚治疗组大鼠海马组织中表达水平显著升高,推测 α -细辛醚可能通过 PI₃K/Akt 信号转导通路正向调节核因子- κ B,使处于活化状态的核因子- κ B 转录激活抗凋亡基因,抑制海马神经元发生凋亡,从而发挥脑保护作用。(2) 蛋白激酶 C(PKC):是一种依赖钙离子激活的磷脂依赖性蛋白激酶,可使细胞内蛋白质底物发生磷酸化,在细胞信号转导过程中起第二信使作用。蛋白激酶 C 通常以无活性的形式存在于细胞中,细胞外信号分子与受体相结合通

表 1 海人酸致痫 SD 大鼠 α -细辛醚治疗前后差异表达蛋白质的功能变化**Table 1.** Protein expression in hippocampus of rats with seizures induced by kainic acid before and after treatment of α -asarone

基因种类	蛋白	INR	Prot ID*	功能	
信号转导及调控	STAT6	1.20	P42226	信号转导及转录活化蛋白 6	
	PLK	1.32	P27986	磷脂酰肌醇 3-激酶	
	RPTPb	0.79	O76043	酪氨酸磷酸酶(受体型)	
	Catenin(b)	0.77	P35222	连环蛋白	
	PKC q	0.78	Q04759	蛋白激酶 C θ	
	PIP5g	0.76	O70161	磷脂-4-5 磷酸激酶	
	AKAP79	0.79	P24588	激酶(PRKA)的锚定蛋白 5	
	I-TRAF	1.35	Q92844	TRAF 家族成员相关核因子- κ B 活化剂	
	PKC α	0.70	P17252	蛋白激酶 C α	
	Pkr	0.77	P19525	蛋白激酶、干扰素诱导的双链 RNA 依赖性蛋白	
	MST1	0.72	Q13043	丝氨酸/苏氨酸激酶 4	
	JIP-1	0.73	Q9UQF2	丝裂原活化蛋白激酶相互作用蛋白 1	
	NEK2	0.79	P51955	NIMA 相关激酶 2	
	细胞周期调控	SCP3	1.22	P70281	联合会复合体蛋白
		Cyclin A2	0.79	P20248	细胞周期蛋白 A2
Catenin(b)		0.77	P35222	连环蛋白	
基因转录及调控	hcKrox	0.78	O15156	锌指蛋白、转录因子及对基因调控起重要作用	
	TAFII70	0.76	P49848	TAF6 RNA 聚合酶 II 和 TATA 盒结合蛋白(磷酸三丁酯)相关因子	
	TAF172	0.79	O14981	BTAFI RNA 聚合酶 II、B-TFIIID 转录相关因子	
	E2A	0.70	P15923	转录相关因子 3	
	ORC 5	0.69	O43913	原始识别复合物	
免疫与炎症	GM-CSF	0.80	P04141	集落刺激因子	
	IL-5	0.78	P05113	白细胞介素-5	
	IL-3	0.72	P08700	白细胞介素-3	
神经生物学	Kalinin B1	0.75	Q13751	层黏连蛋白	
	NEDD-4	0.71	P46934	在神经前体细胞中表达	
	Doublecortin	0.77	O43602	双皮质素	
	Syntaxin 11	0.72	O75558	突触前膜蛋白	
	GRIP	0.72	Q9Y3R0	谷氨酸受体相互作用蛋白 1	
细胞凋亡	Bak	0.79	Q16611	Bcl-2 拮抗剂	
	Fas	0.76	P25445	肿瘤坏死因子受体超家族成员 6	
蛋白运输及细胞代谢	SNX 1	1.40	Q13596	分选微管连接蛋白	
	Carboxypeptidase E	0.78	P16870	羧肽酶 E	
	Arginase I	0.79	P05089	精氨酸酶	
	EEA1	0.78	Q14221	早期内涵体抗原 1	
	Na ⁺ -K ⁺ ATPase	0.76	P54709	ATP 酶、Na ⁺ -K ⁺ 运输、 β 3 多肽	

注: INR, 国际标准化比值; INR \geq 1.30 表示 α -细辛醚治疗组大鼠海马组织蛋白质表达水平上调, INR \leq 0.77 代表 α -细辛醚治疗组大鼠海马组织蛋白质表达水平下调。*, PubMed 美国生物信息网中的蛋白质序列号

过耦联蛋白活化磷脂酶 C β (PLC β), 使磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸(PIP₂) 分解, 产生 1, 4, 5-三磷酸肌醇(IP₃) 和二酰甘油(DAG) 两种细胞内第二信使, 然后分别激活信号传递途径中的 IP₃-Ca²⁺ 和 DAG-PKC 通

路, 从而启动细胞内诸多重要生理功能。实验研究显示, 谷氨酸致痫大鼠海马组织中蛋白激酶 C α (PKC α) 免疫反应增强, 提示蛋白激酶 C α 可能参与了谷氨酸致痫的细胞内机制^[14]。Lu 等^[15] 发现, 蛋

白激酶 C 活性降低可抑制 Propofol 诱发的大脑皮质神经元兴奋性,减少谷氨酸释放,抑制癫痫发作。潘三强等^[16]对戊四唑点燃大鼠模型进行研究,结果显示点燃组大鼠海马和齿状回内蛋白激酶 C 阳性细胞数目比对照组显著增多,表明蛋白激酶 C 参与了癫痫兴奋的过程。Mirnikjoo 等^[17]发现,W-3 脂肪酸可以通过抑制蛋白激酶 C 等蛋白激酶活性而发挥抗癫痫作用。上述这些研究结果一致表明,蛋白激酶 C 参与了癫痫的兴奋过程,癫痫发作时,海马和齿状回 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)过度激活,钙离子内流增加,蛋白激酶 C α 活性增强,经活化的蛋白激酶 C 使 γ -氨基丁酸(GABA)A 型受体发生磷酸化,降低抑制性中间神经元的传递;或促进钙离子通道耦联受体 NMDAR 进一步活化,从而加重癫痫发作程度^[18]。本项实验结果显示,海人酸致痫大鼠经 α -细辛醚干预后其海马神经元蛋白激酶 C α 表达水平下调,结合 JIP-1 和 GRIP 表达水平下调,据此推测 α -细辛醚可能通过 PKC-MAPK 途径、PKC-NMDA 途径或 PKC-NF- κ B 途径影响神经元的凋亡过程,进而发挥脑保护作用。

综上所述, α -细辛醚可能通过抑制蛋白激酶 C α 活性进而影响蛋白激酶 C α 相关信号转导通路,抑制海马神经元凋亡;也可能通过促进 PI₃K 表达,抑制海马神经元凋亡,继而发挥脑保护作用。但是由于本实验所采用的蛋白质芯片的 378 种抗体的局限性,不能完整地反映信号转导通路相关蛋白的表达变化,因此需要进一步研究加以证实。实验中所发现的差异蛋白质是否确实参与了癫痫发病机制,以及 α -细辛醚干预的药理学作用机制,亦尚需进一步研究验证。本研究获得的结果为 α -细辛醚治疗癫痫的药物靶点的研究提供了初步数据。

参 考 文 献

- [1] Xiao PG. New edition of "A Record of Chinese Materia Medica". Beijing: Chemical Industry Press, 2002: 284-288. [肖培根. 新编中药志. 北京: 化学工业出版社, 2002: 284-288.]
- [2] Chen XJ, Cheng LH. The pharmacological effect and clinical application of acorus gramineus. Zhong Cao Yao, 2007, 38:附 1-3. [陈新俊, 程黎晖. 石菖蒲的药理作用和临床应用探讨. 中草药, 2007, 38:附 1-3.]
- [3] Miao JK, Wu XM, Chen QX, et al. Experimental study on the antiepileptic properties of alpha-asarone in different epilepsy models. Zhongguo Yao Li Xue Tong Bao, 2008, 24:1660-1662. [苗静琨, 吴小玫, 陈启雄, 等. 石菖蒲 α -细辛醚抗癫痫作用的实验研究. 中国药理学通报, 2008, 24:1660-1662.]
- [4] Cho J, Kim YH, Kong JY, et al. Protection of cultured rat cortical neurons from excitotoxicity by asarone, a major essential oil component in the rhizomes of Acorus gramineus. Life Sci, 2002, 71:591-599.
- [5] Fujikawa DG, Shinmei SS, Cai B. Kainic acid-induced seizures produce necrotic, not apoptotic, neurons with internucleosomal DNA cleavage: implications for programmed cell death mechanisms. Neuroscience, 2000, 98:41-53.
- [6] Wu YJ, Wu Y, Su J, et al. Effect of α -asarone on construction of intractable epilepsy cell models by culturing hippocampal neurons with magnesium-free extracellular solution. Zhongguo Zu Zhi Gong Cheng Yan Jiu Yu Lin Chuang Kang Fu, 2011, 15: 6139-6142. [吴月娟, 吴原, 苏婕, 等. α -细辛醚对无镁细胞外液培养海马神经元构建难治性癫痫细胞模型的影响. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15:6139-6142.]
- [7] Yang LB, Li SL, Huang YZ, et al. Effect of Acorus gramineus and its active component α -asarone on behavior and memory function of epileptic young rats. Zhong Cao Yao, 2005, 36:1035-1038. [杨立彬, 李树蕾, 黄艳智, 等. 石菖蒲及其有效成分 α -细辛醚对癫痫幼鼠运动行为和记忆功能的影响. 中草药, 2005, 36:1035-1038.]
- [8] Hultschig C, Kreutzberger J, Seitz H, et al. Recent advances of protein microarrays. Curr Opin Chem Biol, 2006, 10:4-10.
- [9] Toh CK. The changing epidemiology of lung cancer. Methods Mol Biol, 2009, 472:397-411.
- [10] Nicholson KM, Anderson NG. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. Cell Signal, 2002, 14: 381-395.
- [11] Huang WL, Zhu XF. Signal transduction. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 138-139. [黄文林, 朱孝峰. 信号转导. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 138-139.]
- [12] Takada Y, Kobayashi Y, Aggarwal BB. Evodiamine abolishes constitutive and inducible NF- κ B activation by inhibiting I κ B kinase activation, thereby suppressing NF- κ B-regulated antiapoptotic and metastatic gene expression, up-regulating apoptosis, and inhibiting invasion. J Biol Chem, 2005, 280:17203-17212.
- [13] Dudek H, Datta SR, Franke TF, et al. Regulation of neuronal survival by the serine-threonine protein kinase Akt. Science, 1997, 275:661-665.
- [14] Tunquist BJ, Hoshi N, Guire ES, et al. Loss of AKAP150 perturbs distinct neuronal processes in mice. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105:12557-12562.
- [15] Lu CW, Lin TY, Chiang HS, et al. Facilitation of glutamate release from rat cerebral cortex nerve terminal by subanesthetic concentration propofol. Synapse, 2009, 63:773-781.
- [16] Pan SQ, Su BG, Lü LQ, et al. Change of protein kinase C positive neurons of hippocampus formation in rats by pentylene-tetrazol kindling. Jie Pou Xue Yan Jiu, 2002, 24:133-134. [潘三强, 宿宝贵, 吕来清, 等. 戊四唑点燃大鼠模型海马结构蛋白激酶 C 阳性细胞的变化. 解剖学研究, 2002, 24:133-134.]
- [17] Mirnikjoo B, Brown SE, Kim HF, et al. Protein kinase inhibition by omega-3 fatty acids. J Biol Chem, 2001, 276:10888-10896.
- [18] Wang B, Chi HJ. Intervention effect of a Chinese herbal compound on expression of PKC in hippocampus of epileptic rats induced by pentetrazole. Zhonghua Zhong Yi Yao Xue Kan, 2010, 28:2632-2634. [王玢, 迟华基. 中药复方对戊四唑致痫大鼠海马 PKC 表达的干预作用. 中华中医药学刊, 2010, 28:2632-2634.]

(收稿日期:2012-09-03)