

依达拉奉对惊厥持续状态大鼠海马 IRE1 mRNA 表达及神经元凋亡的影响

焦颖, 邓小龙, 李光乾

(温州医学院附属育英儿童医院小儿神经内科, 浙江 温州 325027)

[摘要] **目的** 探讨依达拉奉(EDA)对惊厥持续状态(SC)后大鼠海马内质网应激关键标志分子 IRE1 表达及神经元凋亡的影响。**方法** 将 19~21 d 日龄的 Sprague-Dawley 大鼠随机分为 SC 组、EDA 组、对照组。其中 SC 组、EDA 组再按 SC 后处死时间点不同分别分为 4, 12, 24, 48, 72 h 5 个亚组; 每组均 8 只。用 RT-PCR 检测 SC 后海马 IRE1 mRNA 的表达。用原位细胞凋亡检测法(TUNEL)观察神经元凋亡细胞数。电镜观察海马 CA1 区神经元超微结构变化。**结果** ①RT-PCR 结果: SC 组 4 h 和 12 h 时间点 IRE1 mRNA 含量较对照组明显升高, 差异有非常显著性($P < 0.01$); EDA 组 4, 12, 24 h 时间点 IRE1 mRNA 含量显著高于 SC 组对应时间点及对照组的含量, 差异有非常显著性($P < 0.01$)。②TUNEL 结果: SC 组 12~72 h 时间点 TUNEL 阳性细胞数多于对照组, 差异有显著性($P < 0.01$), 且 SC 组 TUNEL 阳性细胞数随惊厥持续时间延长而增加。EDA 组 12~72 h 时间点 TUNEL 阳性细胞数较 SC 组明显减少, 差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 但仍高于对照组, 差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。③电镜观察结果: SC 组及 EDA 组 4 h 后即开始出现核周细胞器的改变, 12 h 后出现明显细胞核的改变。其中 SC 组细胞凋亡严重, EDA 组凋亡较轻。**结论** EDA 可能通过上调 IRE1 的表达及维持其活性而缓解内质网压力而发挥对神经元的保护作用, 有望成为在体抑制内质网应激的有效药物。 [中国当代儿科杂志, 2009, 11(6): 471-475]

[关键词] 依达拉奉; 惊厥持续状态; IRE1; 神经元凋亡; 内质网应激; 大鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)06-0471-05

Effects of edaravone on IRE1 mRNA expression and neuronal apoptosis in the hippocampus of rats with status convulsivus

JIAO Ying, DENG Xiao-Long, LI Guang-Qian. Department of Pediatric Neurology, Yuying Children's Hospital Affiliated to Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang 325027, China (Li G-Q, Email: lgqcn@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To investigate the expression of the key marker of endoplasmic reticulum stress (ERS) IRE1 mRNA and neuronal apoptosis in the rat hippocampus after status convulsivus (SC), and the intervention effects of edaravone, a novel free radical scavenger. **Methods** Sprague-Dawley (SD) rats aged 19-21 days were randomly assigned to three groups: normal control, SC and edaravone-treated SC. SC was induced in the later two groups. The two groups were subdivided into 5 groups sacrificed at 4, 12, 24, 48, and 72 hrs after SC induction. IRE1 mRNA expression in the hippocampus was detected by RT-PCR. Neuronal apoptosis was observed by TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL). The ultramicrostructural changes of neuron were observed by electron microscopy. **Results** IRE1 mRNA expression was obviously up-regulated 4 and 12 hrs after SC compared with the normal control group ($P < 0.01$). IRE1 mRNA expression in the edaravone-treated SC group was notably higher than the untreated SC group 4, 12 and 24 hrs after SC and the normal control group ($P < 0.01$). TUNEL positive cells in the hippocampus in the untreated SC group were significantly more than those in the normal control group ($P < 0.01$). The number of TUNEL positive cells increased with the prolonged convulsion time. TUNEL positive cells in the edaravone-treated SC group were significantly reduced compared with those in the untreated SC group 12, 24, 48 and 72 hrs after SC ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), but remained higher than the normal control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The peri-nucleus cell organ injuries were observed 4 hrs after SC and karyopycnosis and cytoplasm condensation were observed 12 hrs after SC in the SC and the edaravone-treated SC groups. The edaravone-treated SC group demonstrated less severe apoptosis than the untreated SC group. **Conclusions** Edaravone may have neuroprotections against SC by an up-regulation of IRE1 expression. It might serve as an effective agent for reducing ERS *in vivo*. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11(6): 471-475]

Key words: Edaravone; Status convulsivus; IRE1; Neuronal apoptosis; Endoplasmic reticulum stress; Rats

[收稿日期] 2008-10-27; [修回日期] 2008-12-10

[作者简介] 焦颖, 女, 在职研究生, 主治医师。主攻方向: 小儿神经系统疾病。

[通讯作者] 李光乾, 男, 主任医师, 温州医学院附属育英儿童医院小儿神经内科, 邮编: 325027。

内质网(endoplasmic reticulum, ER)作为细胞内蛋白质合成、修饰、转运以及细胞内 Ca^{2+} 浓度稳态调节器官,对内环境的改变比较敏感。缺血缺氧^[1,2]、氧化应激^[3]等均可导致ER腔 Ca^{2+} 稳态的改变及大量未折叠和错误折叠蛋白的堆积,从而引起内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)。未折叠蛋白反应(unfolded protein response)是ERS时细胞因各种环境导致ER腔内未折叠蛋白异常聚集,而触发的一种相对保守的细胞反应。其基本功能是使细胞适应不断改变的内外环境,重建ER功能。作为内质网膜上具有感受腔内未折叠蛋白堆积的跨膜蛋白之一——IRE1(the inositol requiring enzyme 1),在一定条件下通过寡聚体化而激活^[4],在决定细胞最终生存或死亡上起着至关重要的作用。IRE1作为ERS细胞初期保护信号途径中的关键分子,惊厥持续状态(SC)后表达情况如何目前还没有相关研究报道。

依达拉奉(EDA)作为一种新型氧自由基清除剂,在缺氧缺血性脑病中对于神经元保护作用已得到证实,其对于SC后IRE1的表达及神经元损伤影响情况如何,国内外尚未见报道。本实验通过建立氯化锂-匹罗卡品SC大鼠模型,观察EDA对SC后海马IRE1 mRNA表达以及神经元凋亡的影响,初步探讨EDA在SC幼鼠中可能的神经元保护机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁级日龄为19~21 d健康雄性Sprague-Dawley大鼠,体重50~70 g。由温州医学院实验动物中心提供[合格证号:SYXK(浙)2005-0061],实验动物先置温州医学院实验动物中心层流实验室饲养2 d,自由摄食、水,室内温度25℃,相对湿度70%,12/12 h昼夜照明变化。

1.1.2 主要试剂 氯化锂、匹罗卡品购于Aldrich Sigma公司;硫酸阿托品针购于浙江瑞新药业股份公司(国药准字:H33020465);EDA注射液购于江苏先声药业公司。Trizol Reagent试剂为Invitrogen公司产品,RT-PCR试剂盒由Fermantas公司提供;引物及内参均由上海基康公司提供。琼脂糖购于上海晶美公司。原位细胞凋亡检测法(TUNEL)试剂盒购于Roche公司。

1.1.3 实验动物的分组 将大鼠随机分为SC组、EDA组、正常对照组3大组;将SC组和EDA组再分为4,12,24,48,72 h 5个亚组,每亚组8只;对

照组8只。

1.2 动物模型的制作与标本的制备

SC模型制作参照胡越等^[5]方法并稍做改进:按127 mg/kg剂量腹腔注射氯化锂,18 h后按1 mg/kg腹腔注射硫酸阿托品,30 min后按100 mg/kg腹腔注射匹罗卡品。观察SC组大鼠出现惊厥发作的行为学表现。大鼠惊厥按Racine^[6]分级法分为6级。0级:无任何发作迹象;I级:凝视、咀嚼和须动;II级:点头、湿狗样抖动或搔抓;III级:前肢阵挛抽搐;IV级:伴后肢站立的全身强直性发作;V级:伴有站立并摔倒的全身强直-阵挛性发作。惊厥发作达到IV以上,持续时间达30 min以上,惊厥缓解后状态良好的大鼠为合格SC大鼠模型。当惊厥发作达30 min时,给予10%水合氯醛300 mg/kg、硫酸阿托品1 mg/kg腹腔注射终止惊厥发作。EDA组于惊厥前3 d予以EDA 3 mg/kg腹腔注射,每天1次,其他处理同SC组。大鼠分别于惊厥发作停止后4,12,24,48,72 h,用10%水合氯醛(350 mg/kg)依次麻醉后断头,剥离大脑。将其左半球在距额极2 mm和距尾极1 mm处各切一刀,取中间段置4%多聚甲醛溶液中,4℃固定12 h,脱水、石蜡包埋后用振荡切片从视交叉处开始作冠状连续切片,片厚5 μm,用于TUNEL染色。大脑右半球在无核糖核酸(RNA)酶的环境下冰盘内钝性分离海马,称重后即置于无RNA酶的EP管中,-80℃液氮保存,用作RT-PCR标本。每组取1只大鼠海马,切成1 mm 3小块,2.5%戊二醛固定,用于电镜观察。

1.3 RT-PCR检测IRE1 mRNA含量

(1)总RNA的提取:取液氮保存的海马标本100~200 mg,用Trizol试剂提取总RNA,采用紫外分光光度计测定总RNA含量后进行RT-PCR试验。

(2)cDNA的合成:计算出相当量总RNA的体积后,应用Fermantas逆转录试剂盒,按说明书操作步骤进行逆转录反应。

(3)PCR: IRE1以GAPDH作为内参照。引物序列及反应条件:① IRE1引物序列:上游:5'-GACGGACAGAATACACCATCAC-3';下游:5'-CCACCAC AGGAGAGGCATAG-3;GAPDH引物序列:上游:5'-CAAGTTC AACGGCAGTCAA-3',下游:5'-CTCAGATGACCGCAGAAGTGGT-3',产物长度345bp。②PCR体系:包括cDNA 3 μL,10×buffer 2.5 μL, MgCl₂ 1.5 μL, dNTP 0.5 μL, ddH₂O 15.7 μL, Taq酶0.2 μL,上下游引物各0.8 μL;总反应体系为25 μL;PCR扩增条件:95℃预变性5 min,94℃变性30 s,退火30 s,72℃延伸40 s,35个循环,最后经

72℃延长8 min 终止反应。IRE1 退火温度 50.0℃, GAPDH 退火温度 55.8℃。③图像分析:取 5 μL PCR 产物在 1.67% 琼脂糖凝胶电泳后,置于凝胶图像成像分析系统(上海 FR-980)下扫描,用 Smart View 软件测定产物吸光度值,用目的条带吸光度值与内参条带吸光度值之比表示组织目的基因 mRNA 的含量。

1.4 TUNEL 染色

常规烤片、脱腊、脱水,胰蛋白酶 K 400 μg/mL 室温 15 min, 3% H₂O₂ 室温 10 min, 封闭血清室温 10 min, TUNEL 反应液 50 μL (试剂 1: 试剂 2 = 1: 19) 37℃ 孵育 60 min, POD (试剂 3) 50 μL 37℃ 孵育 30 min, DAB 显色 1.5 min, 苏木素适度复染, 常规水化、透明后中性树脂封片。阴性对照组用试剂 2 (不含 TdT) 代替 TUNEL 反应液。光镜下计阳性细胞数, 每张切片随机选择 5 个高倍镜下视野 (×1 000), 取平均值。

1.5 电镜

取电镜标本 2% 锇酸后固定 2 h, 梯度浓度丙酮脱水, 环氧树脂 120 包埋, 行半超薄切片 (1 μm), 光镜下定位后行超薄切片, 醋酸铀及枸橼酸铅双重染色, 透射电镜观察海马 CA1 区神经元的变化。

1.6 统计学分析方法

用 SPSS 11.5 统计软件分析, 所得数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组样本均数比较采用单因素方差分析 (One-way, ANOVA), 均数的两两比较采

用 (Least-significant difference, LSD) *t* 检验, 两样本率的比较用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 提示差异有显著性或差异有非常显著性。

2 结果

2.1 动物模型制作结果

动物经腹腔注射氯化锂后其行为活动无改变: 予以匹罗卡品后, SC 组于 (16.56 ± 5.31) min 后、EDA 组于 (21.16 ± 5.94) min 后出现 SC, 二者差异有非常显著性 ($P < 0.01$)。按 Racine 分级标准, 有 10 只 (10/130) 大鼠未成功诱发惊厥, 27 只 (27/130) 出现 IV 级惊厥发作, 其余大鼠 93 只 (93/130) 均诱导出 V 级惊厥发作, 并持续发作达 30 min 以上。SC 组 IV 级发作率 7.7%, V 级发作率 91.8%; EDA 组 IV 级发作率 23.1%, V 级发作率 75.0%, EDA 组 V 级发作率明显低于 SC 组, 差异有非常显著性 ($P < 0.01$)。

2.2 IRE1 mRNA 在海马的表达

对照组 IRE1 mRNA 有少量表达, SC 使海马 IRE1 mRNA 的表达增加, 惊厥后各时间点中 4 h 表达量为最高, 4 h 和 12 h 两个时间点的 IRE1 mRNA 含量较对照组明显升高 ($P < 0.01$)。EDA 组 4 h, 12 h 和 24 h 3 个时间点海马 IRE1 mRNA 的表达明显高于 SC 组和对照组, 差异有非常显著性 ($P < 0.01$), 见表 1、图 1。

表 1 各组大鼠海马 IRE1 mRNA 表达的动态变化

($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	时间点					F 值	P 值
		4 h	12 h	24 h	48 h	72 h		
对照组	8	0.497 ± 0.060	0.497 ± 0.060	0.497 ± 0.060	0.497 ± 0.060	0.497 ± 0.060		
SC 组	8	1.200 ± 0.150 ^a	0.952 ± 0.122 ^{a,b}	0.410 ± 0.107 ^b	0.496 ± 0.094 ^b	0.501 ± 0.218 ^b	45.196	< 0.01
EDA 组	8	1.360 ± 0.146 ^{a,c}	1.260 ± 0.136 ^{a,c}	0.823 ± 0.069 ^{a,c}	0.498 ± 0.085	0.445 ± 0.046	131.479	< 0.01
F 值		106.214	94.931	56.948	0.002	0.450		
P 值		< 0.01	< 0.01	< 0.01	> 0.05	> 0.05		

a: 与对照组比较, $P < 0.01$; b: 与同组 4 h 时间点比较, $P < 0.01$; c: 与 SC 组比较, $P < 0.01$

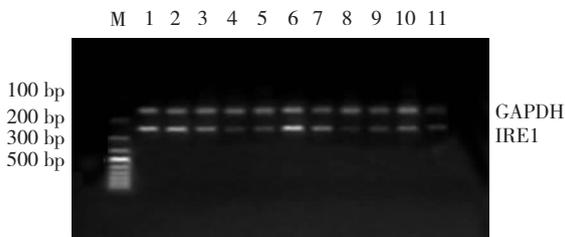


图 1 各组大鼠海马 IRE1 mRNA 表达 M: Marker; 1 ~ 5: 分别为 EDA 4 h, 12 h, 48 h 及 72 h 亚组; 6 ~ 10: 分别为 SC 4 h, 12 h, 48 h 及 72 h 亚组; 11: 对照组。

2.3 海马 CA1 区 TUNEL 结果

TUNEL 染色结果显示, TUNEL 染色阳性细胞主

要表达在神经元及神经胶质细胞, TUNEL 染色阳性细胞为胞核中出现棕黄色颗粒, 其反应产物部分固缩成块状, 部分聚集在核膜周边, 形成典型的“指环状”或“半月状”的细胞凋亡特征。SC 组海马 CA1 区 TUNEL 染色阳性细胞于惊厥后 4 h 已有少量表达, 48 h 达高峰, 之后有下降趋势; 12, 24, 48, 72 h 4 个时间点均明显高于对照组 ($P < 0.01$)。EDA 组 12, 24, 48 h 和 72 h 时间点 TUNEL 染色阳性细胞表达水平较 SC 组明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 但仍高于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 见表 2、图 2。

表2 各组大鼠海马CA1区TUNEL阳性细胞数的动态变化

($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	时间点					F 值	P 值
		4 h	12 h	24 h	48 h	72 h		
对照组	8	6.60 ± 1.69	6.60 ± 1.69	6.60 ± 1.69	6.60 ± 1.69	6.60 ± 1.69		
SC 组	8	5.06 ± 0.78 ^d	11.41 ± 2.37 ^{b,d,e}	19.69 ± 2.99 ^{b,d}	28.78 ± 5.11 ^b	25.51 ± 2.91 ^b	77.623	<0.01
EDA 组	8	5.01 ± 1.10	8.98 ± 2.22 ^{a,e}	13.09 ± 2.54 ^{b,f}	20.57 ± 4.89 ^{b,f}	18.36 ± 4.14 ^{b,f}	30.921	<0.01
F 值		4.547	8.225	44.522	47.973	76.528		
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

与对照组比较, a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$; 与同组 48 h 时间点比较, c: $P < 0.05$; d: $P < 0.01$; 与 SC 组比较, e: $P < 0.05$, f: $P < 0.01$

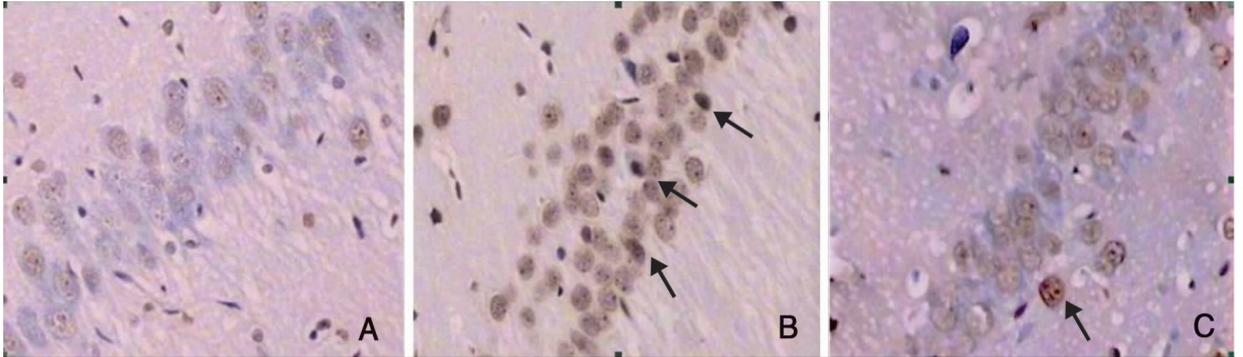


图2 各组海马CA1区TUNEL染色结果($\times 1000$) A: 对照组海马CA1区TUNEL阳性细胞少量表达; B: SC组海马CA1区TUNEL阳性细胞惊厥后24h强阳性表达; C: EDA组惊厥后24h海马CA1区TUNEL阳性细胞较SC组明显减少。

2.4 海马CA1区神经元超微结构的变化

对照组大鼠: 细胞体积大, 核大而圆, 核内染色质分布均匀, 线粒体大小正常, 嵴清晰, 胞浆富含粗面ER及核糖体。SC组及EDA组4h后即开始出

现核周细胞器的改变, 线粒体损伤, ER扩张, 12h后出现细胞核的改变, 核固缩, 核内染色质浓缩边集。其中SC组细胞凋亡严重, EDA组细胞凋亡较轻, 见图3。

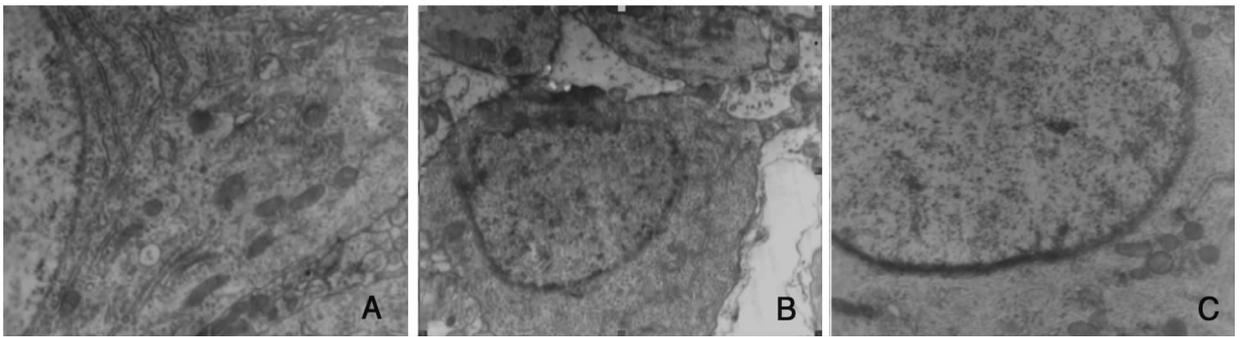


图3 各组海马CA1区神经元超微结构的变化(电镜 $\times 15000$) A: 对照组海马CA1区正常的神经元细胞超微结构; B: SC组惊厥后24h, 神经元致密度明显增加, 细胞间隙显著扩张; C: EDA组惊厥后24h核膜增厚模糊。

3 讨论

ER膜通过其3个关键跨膜蛋白IRE1, PERK及ATF6将外界刺激信号传入胞浆和胞核, 以此启动ERS。在正常情况下, IRE1和分子伴侣形成一种复合体而抑制前者的聚集, 而未折叠蛋白增多时, 由于缺乏足够的分子伴侣就会影响复合体的形成, 因此

导致IRE1通过寡聚化和磷酸化而激活, 激活的IRE1能剪接转录因子XBP1(X box protein-1)前体mRNA分子内一个26 nt的内含子。剪接后的mRNA发生翻译框移, 编码产生有活性的转录因子XBP1s(X-box binding protein-1 splicing)。受XBP1s转录调节的基因多为内质网应激蛋白, 这些应激反应基因的启动子含有ERSE(endoplasmic reticulum stress element)序列, 如CHOP、GRP78等基因, 其启

动子 ERSE 的保守区结构为 CCAAT(N)9 CCACG (N 为任意碱基)。XBP1s 和通用型转录因子 NF-Y (nuclear factor-Y) 分别与 ERSE 上 (N)9 两侧的 CCACG 和 CCAAT 序列结合, 从而诱导 CHOP、GRP78 基因的转录^[7]。Lin 等^[8]用衣霉素和毒胡萝卜素诱导人胚肾 293 细胞 ERS 时发现 IRE1 迅速活化, 随即在 8 h 内快速衰减; 用 ATP 类似物 1NM-PP1 [4-amino-1-tert-butyl-3-(1-naphthylmethyl) pyrazolo(3,4-d) pyrimidine] 延长 IRE1 活性, 细胞存活率显著提高。Yoshida 等^[9]报道在第 2 位蛋白酶缺失的细胞中转染 XBP1 转录系统后, 细胞在 ERS 诱导剂衣霉素或毒胡萝卜素处理后未见细胞凋亡, 而没有转染 XBP1 转录系统的细胞凋亡率为 60.2%。Thuerauf 等^[10]报道体外培养心肌细胞缺氧暴露 16 h 后 XBP1 及 GRP78 表达上调, 当用编码 XBP1 显性负相腺病毒重组体感染心肌细胞后, GRP78 表达下调, 同时细胞凋亡数目增加。因此, IRE1 通过剪接 XBP1, 对未折叠蛋白反应起到了协同保护作用, 从而促进错/未折叠蛋白的重新正确折叠修饰, 减轻 ER 负荷, 重新维持内环境稳定, 保护细胞免受损伤。

研究发现, 惊厥可使兴奋性氨基酸释放增加、神经元内 Ca^{2+} 超载、ER 腔内 Ca^{2+} 耗竭及未折叠蛋白聚集, 反复多次惊厥又可使大脑处于缺氧及相对性缺血状态, 并大量生成自由基; 为诱发 ERS 非折叠蛋白反应提供前提。本实验发现, SC 组海马 IRE1 mRNA 于惊厥后即增加, 各时间点以 4 h 表达为最高, 随后渐下降; 而对照组仅微量表达, 因此可推测 IRE1 信号转导通路在 SC 后幼年大鼠海马中被激活。本实验结果还显示, TUNEL 染色阳性细胞在 SC 后 48 h 达高峰, 之后缓慢下降, 可能与 ERS 初期触发了未折叠蛋白反应保护性机制, 试图提高海马神经元的生存能力有关。

EDA 的脂溶性高, 易到达脑组织, 是一种有效的脑神经保护剂。其中枢神经系统疾病, 如缺血缺氧性脑病中的临床疗效已得到明确证实^[11,12]。其机制包括清除氧自由基、抑制脂质过氧化和调控细胞凋亡相关基因的表达而发挥对神经元的保护作用^[13]。反复或长时间惊厥可引起相对脑缺血, 本实验结果显示 SC 后未成熟大脑内存在 ERS; 与 SC 组对应时间点相比, EDA 预处理使海马区病理损伤减轻, TUNEL 染色阳性细胞数明显减少; 此外, EDA 组与 SC 组 IRE1 mRNA 表达量虽然各时间点表达量高点都在 4 h, 但 EDA 组 4, 12, 24 h 表达量均高于

SC 组。据研究 IRE1 活性的维持可以提高细胞生存率^[8]。那么 EDA 预处理后是否可能在维持 IRE1 活性, 有待进一步研究证实。

综上所述, 本实验结果显示 SC 后大鼠海马 IRE1 表达增加, 说明 SC 后激活 ERS。EDA 干预后 IRE1 表达升高更加明显, 同时大鼠海马神经元凋亡数目较 SC 组减少, 病理损伤程度亦相对减轻。故推测 EDA 除减轻氧化应激外, 还有可能通过上调 IRE1 的表达在惊厥早期发挥对神经元的保护作用。

[参 考 文 献]

- [1] Ito D. Ischemic brain and endoplasmic reticulum stress[J]. Nippon Rinsho, 2006, 64 (Suppl 7):127-131.
- [2] Oida Y. Involvement of endoplasmic reticulum stress in the neuronal death induced by transient forebrain ischemia in gerbil[J]. Neuroscience, 2008, 151(1):111-119.
- [3] Malhotra JD, Kaufman RJ. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? [J]. Antioxid Redox Signal, 2007, 9(12):2277-2293.
- [4] Oikawa D, Kimata Y, Kohno K. Self-association and BiP dissociation are not sufficient for activation of the ER stress sensor Ire1 [J]. J Cell Sci, 2007, 120(9):1681-1688.
- [5] 胡越, 蒋莉. 控制氯化锂-匹罗卡品诱发惊厥持续状态发作的实验研究[J]. 儿科药科学杂志, 2003, 9(4):5-8.
- [6] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure [J]. Electroencephalography Clin Neurophysiol, 1972, 32(3):281-294.
- [7] Back SH, Lee K, Vink E, Kaufman RJ. Cytoplasmic IRE1alpha-mediated XBP1 mRNA splicing in the absence of nuclear processing and endoplasmic reticulum stress [J]. J Biol Chem, 2006, 281(27):18691-18706.
- [8] Lin JH, Li H, Yasumura D, Cohen HR, Zhang C, Panning B, et al. IRE1 signaling affects cell fate during the unfolded protein response [J]. Science, 2007, 318(5852):944-949.
- [9] Yoshida H, Nadanaka S, Sato R, Mori K. XBP1 is critical to protect cells from endoplasmic reticulum stress; evidence from site-2 protease-deficient Chinese hamster ovary cells [J]. Cell Struct Funct, 2006, 31(2):117-125.
- [10] Thuerauf DJ, Marcinko M, Gude N, Rubio M, Sussman MA, Glembotski CC. Activation of the unfolded protein response in infarcted mouse heart and hypoxic cultured cardiac myocytes [J]. Circ Res, 2006, 99(3):275-282.
- [11] Otomo E. Effect of a novel free radical scavenger, edaravone (MC-186), on acute brain infarction, randomized, placebo-controlled-blind study at multicenters [J]. Cerebrovasc Dis, 2003, 15(3):222-229.
- [12] Noor JI, Ikeda T, Ueda Y, Ikenoue T. Short-term administration of a new free radical scavenger, edaravone, is more effective than its long-term administration for the treatment of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. Stroke, 2005, 36(11):2468-2474.
- [13] Yoshida H. Neuroprotective effects of edaravone; a novel free radical scavenger in cerebrovascular injury [J]. CNS Drug Rev, 2006, 12(1):9-20.

(本文编辑:徐福兰)