

## W-7 对惊厥持续状态幼鼠海马 GRP78 表达及神经元凋亡的影响

周朱瑛<sup>1</sup> 李光乾<sup>2</sup>

(1. 温州医学院附属育英儿童医院神经内科, 浙江 温州 325027;

2. 浙江中医药大学附属杭州市第六医院、杭州市儿童医院神经内科, 浙江 杭州 310014)

**[摘要]** 目的 探讨钙调蛋白抑制剂 W-7 对幼年大鼠惊厥持续状态(SC)后 GRP78 表达及神经元凋亡的影响。方法 将 19~21 日龄 Sprague-Dawley 大鼠 117 只随机分为生理盐水对照(NS)组、惊厥持续状态(SC)组、W-7 预处理(W-7)组;各组再按不同时间点分 4 h、24 h、48 h 3 个亚组( $n=13$ )。应用氯化锂-匹鲁卡品建立大鼠 SC 模型, W-7 组在制模前 15 min 予尾静脉注射 W-7。逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和免疫组织化学法检测每组各时间点大鼠海马 GRP78 RNA 和蛋白的表达情况;原位末端标记法(TUNEL)检测海马 CA1 区的神经元凋亡情况。结果 SC 组幼年大鼠海马 24 h GRP78 mRNA 的表达量较 NS 组显著升高( $P<0.01$ ), SC 组 24 h 和 48 h GRP78 蛋白表达量较 NS 组相应时间点也显著升高( $P<0.01$ ); W-7 组 24 h 和 48 h 的 GRP78 mRNA 及蛋白表达量较 SC 和 NS 组明显升高( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ); SC 组在 24 h、48 h 海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞数( $21.0 \pm 2.5, 29.4 \pm 2.8$ )显著高于 NS 组( $7.1 \pm 1.4, 7.3 \pm 1.6$ ;  $P<0.01$ ); W-7 组在 24 h、48 h 海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞数( $15.0 \pm 2.5, 20.0 \pm 2.9$ )较 SC 组显著降低( $P<0.01$ ),但仍显著高于 NS 组( $P<0.01$ )。结论 钙调蛋白抑制剂 W-7 可通过上调 GRP78 的表达,减轻神经元凋亡,具有脑保护作用。 [中国当代儿科杂志, 2011, 13(1): 44-49]

**[关键词]** 钙调蛋白抑制剂 W-7; 惊厥持续状态; GRP78; 神经元凋亡; 大鼠

**[中图分类号]** R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2011)01-0044-06

### Effects of W-7 on the expression of GRP78 and neuronal apoptosis in immature rat hippocampus after status convulsion

ZHOU Zhu-Ying, LI Guang-Qian. Department of 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 effects of the calmodulin inhibitor W-7 on the expression of the key marker of ERS GRP78 and neuronal apoptosis in the immature rat hippocampus after status convulsion (SC). **Methods** One hundred and seventeen male Sprague-Dawley rats aged 19-21 days were randomly divided into three groups: normal saline control (control), SC with and without W-7 pretreatment. Each of the 3 groups was further subdivided into subgroups sacrificed at 4, 24 and 48 hrs. SC model was prepared using lithium-pilocarpine. GRP78 mRNA expression in the hippocampus was detected by semiquantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). GRP78 protein was ascertained by immunohistochemistry. Neuronal apoptosis was observed with TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL). **Results** The expression of GRP78 mRNA was significantly increased in the non-pretreated SC group compared with the control group 24 hrs after injection of saline or lithium-pilocarpine ( $P<0.01$ ), and the expression of GRP78 protein also increased markedly in the seizure group compared with the control group 24 and 48 hrs after the injection ( $P<0.01$ ). The expression of GRP78 mRNA and protein in the W-7 pretreatment group was significantly higher than both the control and the non-pretreated seizure groups 24 and 48 hrs after injection. The TUNEL positive cells in the hippocampus CA1 in the non-pretreated SC group 24 and 48 hrs after injection ( $21.0 \pm 2.5$  and  $29.4 \pm 2.8$ , respectively) were increased compared to the control group ( $7.1 \pm 1.4$  and  $7.3 \pm 1.6$ , respectively;  $P<0.01$ ). W-7 pretreatment decreased TUNEL positive cells to  $15.0 \pm 2.5$  and  $20.0 \pm 2.9$  at 24 and 48 hrs after injection compared to the non-pretreated seizure group ( $P<0.01$ ), but the number of TUNEL positive cells in the W-7 pretreatment group remained significantly greater than in the control group ( $P<0.01$ ). **Conclusions** W-7 may up-regulate the expression of GRP78 and reduce the number of apoptotic neurons, thus provides a neuroprotective effect against brain damage following SC.

[Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13(1): 44-49]

**Key words:** W-7; Status convulsion; GRP78; Neuronal apoptosis; Rats

[收稿日期]2010-05-30; [修回日期]2010-07-13

[作者简介]周朱瑛,女,硕士研究生。

[通信作者]李光乾,教授。

动物模型已证明惊厥持续状态(status convulsion, SC)后大量的海马神经细胞出现凋亡<sup>[1-2]</sup>。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)启动的凋亡途径是近年才发现的一种新的凋亡途径<sup>[3-4]</sup>,GRP78/Bip(glucose regulated protein/immunoglobulin binding protein)是ERS的经典标志物,GRP78表达上调对细胞起保护作用<sup>[5]</sup>。内质网钙剥夺、钙稳态失衡是引起ERS的一个重要诱因<sup>[4,6]</sup>。钙调蛋白(calmodulin, CaM)是大脑中主要的Ca<sup>2+</sup>信号转导媒介,已有研究表明,CaM在惊厥性脑损伤的发生发展过程中亦起着重要的作用<sup>[7]</sup>。W-7[N-(6-氨基己烷基)-5-氯-1-萘-黄胺]是一种CaM抑制剂,在体外实验及一些疾病模型中它对Ca<sup>2+</sup>浓度的调控、应激细胞的保护作用已得到证实<sup>[8-9]</sup>,但其对SC后海马GRP78的表达及神经元凋亡的影响,国内外尚未见报道。本研究通过建立氯化锂-匹鲁卡品SC大鼠模型,应用RT-PCR、免疫组化和TUNEL技术,动态观察W-7对SC后不同时间点大鼠海马GRP78 mRNA和蛋白表达以及神经元凋亡情况的影响,旨在探讨CaM与ERS介导的惊厥性脑损伤的关系,以及W-7对未成熟脑惊厥性脑损伤的保护作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 生后19~21日龄健康雄性清洁级Sprague-Dawley(SD)大鼠117只,体重60~70g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供[许可证号:SCXK(沪)2007-0005],于实验动物中心层流实验室分笼饲养和实验,环境温度(23±2)℃,相对湿度70%,12/12h昼夜照明变化,控制进食大鼠标准饲料和任意饮用自来水。

1.1.2 主要试剂 氯化锂(批号:2312123)、匹鲁卡品(批号:2057237)、溴化甲基东莨菪碱(批号:2832401)购于Aldrich Sigma公司;硫酸阿托品针(批号:20060901)购于浙江瑞新药业股份公司(国药准字:H33020465);W-7[hydrochloride, N-(6-Aminohexyl)-5-chloro-1-naphthalenesulfonamide hydrochloride, Cat. No:0369]由TOCRIS Bioscience公司提供。Trizol Reagent试剂由Invitrogen公司提供,RT-PCR试剂盒由Fermantas公司提供;引物及内参均由上海捷瑞公司提供。琼脂糖购于上海晶美公司。GRP78兔抗大鼠一抗(sc-1050)由Santa Cruze公司提供;TUNEL试剂盒由Roche公司提供。

### 1.2 实验方法

1.2.1 实验动物分组 将大鼠随机分入SC组、W-7预处理(W-7)组、生理盐水对照(NS)组;每组再随机均分为4h、24h、48h 3个亚组,每亚组13只。若因模型不成功、死亡造成各亚组样本量不足13只的,按随机原则补足。

1.2.2 动物模型的制作 SC模型制作参照王海萍等<sup>[1]</sup>采用的方法,具体方法如下:每只大鼠经氯化锂3mEq/kg腹腔注射,18h后腹腔注射溴化甲基东莨菪碱1mg/kg以拮抗匹罗卡品外周胆碱能反应,30min后予100mg/kg匹罗卡品腹腔注射。按Racine分级标准<sup>[1]</sup>:0级,正常行为状态;I级,面肌抽动,咀嚼;II级,节律性点头;III级,单侧前肢阵挛;IV级,双侧前肢阵挛伴站立;V级,持续站立,失去平衡、跌倒。当大鼠惊厥发作达30min时给予10%的水合氯醛(批号:20061212)300mg/kg、硫酸阿托品1mg/kg腹腔注射,如不能缓解惊厥,可重复给予水合氯醛1~2次,直至惊厥停止。选择惊厥发作达IV级及以上,持续时间达30min以上,解除惊厥后状态良好的大鼠为合格SC模型。SC组按照SC模型制作;NS组以生理盐水代替氯化锂及匹罗卡品,其他处理同SC组。W-7组大鼠在注射匹罗卡品前15min,予尾静脉注射W-750μM/kg,其他处理同SC组。

1.2.3 动物标本的制备 大鼠分别于各时间点,经10%水合氯醛(350mg/kg)腹腔麻醉后,断头处死。迅速剥离颅骨,完整取出脑组织,全脑置于冰盘上,采用高温(180℃)灭RNA酶的刀片和镊子进行修块,快速右侧分离海马,放入去RNA酶的EP管中,-180℃液氮保存,用作RT-PCR标本。左侧大脑在垂直视交叉处离断,并于冠状位向后切取约5mm,再平均分成两块,每块厚度则约为2.5mm,放入预冷的4%多聚甲醛固定4~6h,转入70%乙醇,进行石蜡包埋,用于免疫组化和TUNEL检测。

1.2.4 原位末端标记(TUNEL)检测神经细胞凋亡 每亚组随机取10只,观察海马CA1区中神经元凋亡。具体步骤如下:①石蜡切片常规脱蜡至水;②用蛋白酶K37℃孵育15min;③标记:PBS冲洗3次×5min后,擦干样品周围的水份,滴加50μL TUNEL反应混合物(1:9),在湿盒中37℃孵育100min;④信号转化和分析:PBS冲洗3次×5min后,擦干样品周围的水份,加入50μL转化剂-POD,在湿盒中37℃孵育30min;⑤PBS洗3次×5min后,加入新鲜配制的DAB,显微镜下观察,自来水冲洗适时中止显色;苏木素复染,梯度酒精脱水、二甲

苯透明、中性树胶封片。光镜下分析结果,计算阳性细胞数,每组各选阳性细胞最集中的5个高倍视野,计算出每个高倍视野的阳性细胞数,取其平均值;⑥结果判定:细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞,即凋亡的细胞;⑦阴性对照:以试剂2代替TUNEL反应混合物,其余步骤同上。

### 1.2.5 RT-PCR法检测海马 GRP78 mRNA 的表达

①引物的设计与合成,引物序列及预期PCR产物长度见表1。②总RNA提取:Trizol一步法抽提海马总RNA,采用紫外分光光度法测定RNA含量。③cDNA的合成:计算出相当量总RNA的体积后,应用Fermentas逆转录试剂盒,按说明书操作步骤进行逆转录反应。④PCR:以GAPDH为内参照,PCR反应体系:RNase Free dH<sub>2</sub>O 11.5 μL,5 × PCR buffer 2.0 μL,10 mM dNTP Mixture 0.5 μL,25 mM MgCl<sub>2</sub> 1.2 μL,Taq DNA 酶 0.2 μL,上下游特异性PCR引物各 0.8 μL,cDNA模板 3.0 μL。PCR扩增条件:94℃预变性5 min,后延伸72℃ 8 min,PCR产物4℃保存备用。⑤图像分析:取5 μL PCR产物在1.67%琼脂糖凝胶电泳后,置于FR-980生物电泳图像分析系统下扫描并获取凝胶图像,用Gel-Pro Analyzer 32专业凝胶图像分析软件测定产物光密度值,用目的条带产物光密度值与GAPDH产物光密度值之比表示组织中目的基因mRNA的含量,见表1。

表1 PCR各引物序列

引物	序列	5'	3'	目的长度(bp)
GAPDH	Sense	TCATCATCTCCGCCCTTCC		150
	Antisense	CAAAGTTGTCATGGATGACCTTGG		
GRP78	Sense	CGTATCCCTGCGCTCTTGTG		325
	Antisense	CAGCAGCCTCCGGCTCTA		

### 1.2.6 免疫组织化学染色法检测海马 GRP78 蛋白的表达

采用SABC法检测海马中GRP78蛋白表达。具体步骤参见说明书。棕黄色或棕褐色细胞为阳性细胞,每张切片随机选择5个高倍镜下视野

(×400),应用image-pro plus 6.0图像分析软件测定阳性部位的平均光密度(OD),以代表阳性部位的蛋白表达水平。

### 1.3 统计学分析

全部数据均采用SPSS 17.0统计软件处理,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,均数的两两比较方差齐性者采用LSD法,方差不齐者采用Dunnnett't T3法,两变量的相关采用直线相关分析法分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 GRP78 mRNA 在海马组织中的表达

SC组GRP78 mRNA的表达在SC后24 h显著升高,其表达量高于NS组( $P < 0.01$ );48 h表达已明显下降,虽仍高于NS组,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。W-7组GRP78 mRNA的表达在SC后4 h已升高,24 h达高峰,48 h下降;各时间点GRP78 mRNA的表达量均显著高于NS组和SC组( $P < 0.05$ 或0.01);NS组各时间点之间GRP78 mRNA的表达量差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表2、图1。

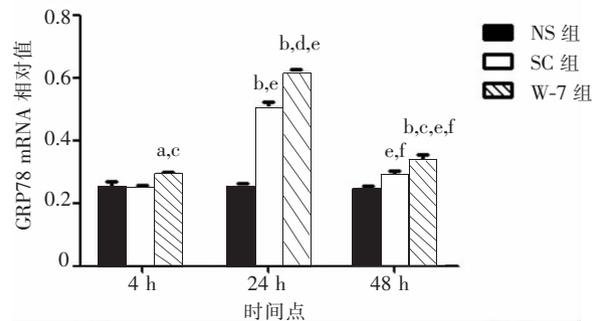


图1 各组大鼠GRP78 mRNA相对值比较 a:与NS组比较, $P < 0.05$ ; b:与NS组比较, $P < 0.01$ ; c:与SC组比较, $P < 0.05$ ; d:与SC组比较, $P < 0.01$ ; e:与同组4 h比较, $P < 0.01$ ; f:与同组24 h比较, $P < 0.01$ 。

表2 各组大鼠GRP78 mRNA的相对含量 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	时间点			F值	P值
		4 h	24 h	48 h		
NS组	10	0.25 ± 0.07	0.25 ± 0.04	0.25 ± 0.04	0.056	0.946
SC组	10	0.25 ± 0.03	0.50 ± 0.06 <sup>b,e</sup>	0.29 ± 0.06 <sup>e,f</sup>	89.061	<0.001
W-7组	10	0.29 ± 0.04 <sup>a,c</sup>	0.62 ± 0.04 <sup>b,d,e</sup>	0.34 ± 0.07 <sup>b,e,e,f</sup>	163.871	<0.001
F值		3.757	192.438	8.168		
P值		0.033	<0.001	0.001		

a:与NS组比较, $P < 0.05$ ; b:与NS组比较, $P < 0.01$ ; c:与SC组比较, $P < 0.05$ ; d:与SC组比较, $P < 0.01$ ; e:与同组4 h比较, $P < 0.01$ ; f:与同组24 h比较, $P < 0.01$

### 2.2 GRP78 蛋白在海马组织中的表达

24 h时NS组个别神经元胞浆中少量阳性表

达;SC组可见部分神经元的胞浆中有阳性表达;W-7组可见绝大多数神经元的胞浆中有大量阳性表

达,且以核膜周围为著。见图2。统计分析显示,SC组 GRP78 蛋白的表达在 24 h 升高达峰值,48 h 已有下降,但 24 h 和 48 h 时间点的表达量均显著高于 NS 组( $P < 0.01$ );W-7 组 GRP78 蛋白表达的动态变化趋势与 SC 组相似,24 h、48 h 时间点的表达量较

SC 组显著升高( $P < 0.05$  或  $0.01$ ),同时 W-7 组 GRP78 蛋白在 24 h、48 h 的表达量也显著高于 NS 组( $P < 0.05$  或  $0.01$ );NS 组各时间点之间 GRP78 蛋白表达量差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表3、图3。

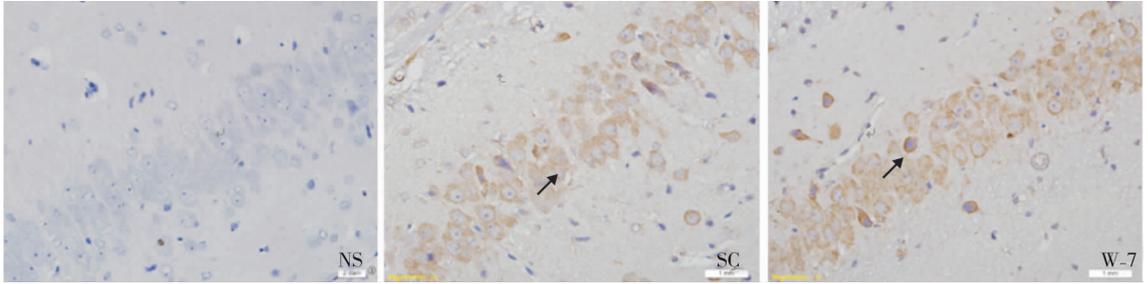


图2 各组大鼠海马 CA1 区 GRP78 蛋白表达情况(DAB, ×400) ①NS 组 24 h:个别神经元的胞浆中少量阳性表达;②SC 组 24 h:部分神经元的胞浆中阳性表达;③W-7 组 24 h:绝大多数神经元的胞浆中大量阳性表达,以核膜周围为著。

表3 各组大鼠不同时间点海马 CA1 区 GRP78 蛋白 OD 值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	时间点			F 值	P 值
		4 h	24 h	48 h		
NS 组	10	0.114 ± 0.017	0.116 ± 0.016	0.117 ± 0.013	0.145	0.866
SC 组	10	0.124 ± 0.120	0.167 ± 0.018 <sup>a,d</sup>	0.153 ± 0.013 <sup>a,d,e</sup>	29.844	<0.001
W-7 组	10	0.126 ± 0.014	0.189 ± 0.024 <sup>a,c,d</sup>	0.165 ± 0.017 <sup>a,b,d,e</sup>	37.107	<0.001
F 值		2.464	42.225	38.126		
P 值		0.099	<0.001	<0.001		

a: 与 NS 组比较,  $P < 0.01$ ; b: 与 SC 组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与 SC 组比较,  $P < 0.01$ ; d: 与同组 4 h 比较,  $P < 0.01$ ; e: 与同组 24 h 比较,  $P < 0.01$

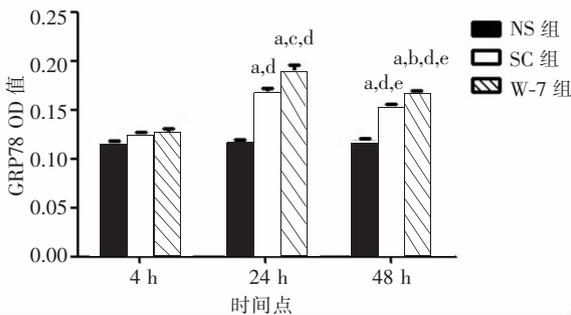


图3 各组大鼠 GRP78 蛋白 OD 值比较 a: 与 NS 组比较,  $P < 0.01$ ; b: 与 SC 组比较,  $P < 0.05$ ; c: 与 SC 组比较,  $P < 0.01$ ; d: 与同组 4 h 比较,  $P < 0.01$ ; e: 与同组 24 h 比较,  $P < 0.01$

### 2.3 海马 CA1 区 TUNEL 结果

SC 组 TUNEL 阳性细胞数在 24 h 显著增加, 48 h 达高峰, 自 SC 后 24 h 开始均显著高于 NS 组 ( $P < 0.01$ ); W-7 组在 24 h、48 h 较 SC 组显著下降 ( $P < 0.01$ ), 但仍高于 NS 组 ( $P < 0.01$ ); NS 组海马 CA1 区可见个别 TUNEL 阳性细胞, 各时间点间阳性细胞数比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表4、图4、图5。

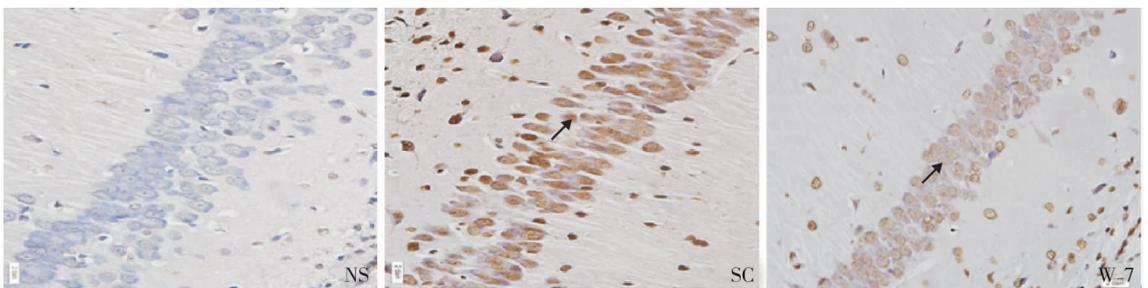


图4 各组大鼠海马 CA1 区 TUNEL 免疫组化表达情况(DAB, ×400) ①NS 组 48 h:个别 TUNEL 阳性神经细胞;②SC 组 48 h:TUNEL 阳性神经细胞明显增多;③W-7 组 48 h:TUNEL 阳性神经细胞较 SC 组明显减少。

表4 各组大鼠不同时间点海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞表达的动态变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	时间点			F 值	P 值
		4 h	24 h	48 h		
NS 组	10	16.8 ± 1.6	7.1 ± 1.4	7.3 ± 1.6	0.265	0.769
SC 组	10	7.2 ± 1.8	21.0 ± 2.5 <sup>a,c</sup>	29.4 ± 2.8 <sup>a,c,d</sup>	226.152	<0.001
W7 组	10	6.6 ± 1.0	15.0 ± 2.5 <sup>a,b,c</sup>	20.0 ± 2.9 <sup>a,b,c,d</sup>	86.941	<0.001
F 值		0.423	101.807	197.108		
P 值		0.659	<0.001	<0.001		

a: 与 NS 组比较,  $P < 0.01$ ; b: 与 SC 组比较,  $P < 0.01$ ; c: 与同组 4 h 比较,  $P < 0.01$ ; d: 与同组 24 h 比较,  $P < 0.01$

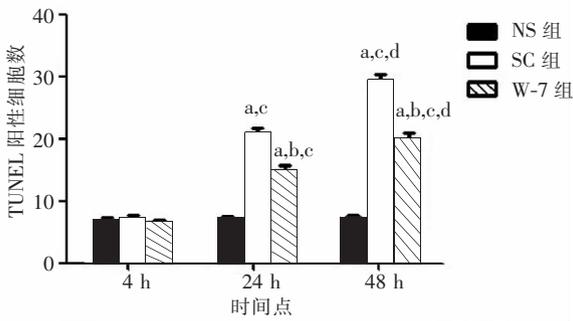


图5 各组大鼠 CA1 区 TUNEL 阳性细胞表达情况

a: 与 NS 组比较,  $P < 0.01$ ; b: 与 SC 组比较,  $P < 0.01$ ; c: 与同组 4 h 比较,  $P < 0.01$ ; d: 与同组 24 h 比较,  $P < 0.01$

### 3 讨论

内质网是蛋白质合成的基地,也是细胞的巨大钙库,内质网钙剥夺、蛋白质糖基化抑制、氧化还原状态改变等各种刺激都可能引起内质网功能障碍,导致ERS<sup>[3-4]</sup>,使蛋白折叠能力提高、蛋白合成抑制以适应应激,但是长时间过强的ERS则启动细胞凋亡<sup>[10]</sup>。GRP78是ERS的一个经典标志物,其上调可减轻内质网蛋白负荷。CaM作为Ca<sup>2+</sup>感受蛋白,是大脑中主要的Ca<sup>2+</sup>结合蛋白,在神经元内对细胞内钙离子浓度变化的调节中起重要作用<sup>[11]</sup>。

有报道指出ERS与癫痫等惊厥性脑损伤密切相关<sup>[12]</sup>。而内质网钙剥夺、钙稳态失衡是引起ERS的一个重要诱因。因此,钙调蛋白在ERS介导的惊厥性脑损伤过程中可能扮演某个重要角色。本研究通过免疫组化和RT-PCR证实,SC后大鼠海马神经元可诱导时间依赖性的GRP78表达,表明惊厥持续状态启动了ERS通路。本研究用TUNEL法检测到的凋亡神经元,提示惊厥持续状态后,神经元损伤具有典型凋亡特征,这与Sankar等<sup>[13]</sup>的报道相符。SC组GRP78 mRNA和蛋白的表达量在24h显著性升高,至48h已有下降,相应的SC组海马神经元凋亡细胞数48h较24h有显著性升高,提示海马神经元受刺激时GRP78的高表达反应,可能是海

马神经元的一种重要的原始防御机制,从而延长在各种不利因素刺激下的细胞生存期;但由于应激时间过长将导致内质网功能障碍,以及应激时总蛋白处于合成抑制状态,故后期GRP78表达减低,神经元凋亡增多,GRP78的适度表达对于细胞的适应或凋亡至关重要。文献表明,当细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度达到了10<sup>-6</sup>~10<sup>-5</sup>M时,CaM与Ca<sup>2+</sup>结合形成Ca<sup>2+</sup>/CaM复合物,启动各种靶酶,参与神经递质释放<sup>[7]</sup>。因此,CaM抑制剂W-7<sup>[14-15]</sup>可通过抑制CaM的活性,从而抑制神经递质释放,并且还可通过阻断Ca<sup>2+</sup>/CaM依赖的能量消耗,起到神经保护的作用。李桦等<sup>[16]</sup>通过观察CaM抑制剂W-7对L型钙离子通道激动剂Bayk-8644致痫小鼠行为和脑电图的影响,发现W-7延长了痫性发作和痫波发放的潜伏期,减轻了痫性发作程度,明显减少了痫波发放频率,但具体作用机制尚未阐明。胥向红等<sup>[17]</sup>也发现W-7可降低惊厥发作程度,减轻神经元损伤。本研究结果显示相同时间点,应用W-7预处理组GRP78 mRNA和蛋白的表达量明显高于SC组,同时W-7预处理组海马神经元凋亡细胞数明显低于SC组,故推测W-7作为一种钙调蛋白抑制剂,还可能通过GRP78介导的内质网应激通路来抑制神经元凋亡,减轻惊厥性脑损伤。

综上所述,惊厥持续状态启动ERS反应,早期GRP78表达上调,细胞进行自我保护,后期GRP78表达抑制,启动细胞凋亡途径,且钙调蛋白抑制剂W-7在这一通路上具有提高GRP78表达、抑制神经元凋亡的脑保护作用,具体机制尚待进一步研究。

### [参 考 文 献]

- [1] 王海萍,邓小龙,李光乾. 依达拉奉对惊厥持续状态幼年大鼠海马IL-1 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B表达及细胞凋亡的影响[J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(8): 575-580.
- [2] 王海萍,李光乾. 依达拉奉预处理对惊厥持续状态幼年大鼠海马神经元保护及IL-1 $\beta$ 表达的影响[J]. 中国当代儿科杂志, 2010, 12(3): 205-210.
- [3] Rao RV, Niazi K, Mollahan P, Mao X, Crippen D, Poksay KS, et

- al. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell-death program: a novel HSP90-independent role for the small chaperone protein p23 [J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(3): 415-425.
- [4] Schroder M, Kaufman RJ. ER stress and the unfolded protein response [J]. *Mutat Res*, 2005, 569(1-2): 29-63.
- [5] Ni M, Lee AS. ER chaperones in mammalian development and human diseases [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(19): 3641-3651.
- [6] Bakhshi J, Weinstein L, Poksay KS, Nishinaga B, Bredeisen DE, Rao RV. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program in mouse melanoma cells: effect of curcumin [J]. *Apoptosis*, 2008, 13(7): 904-914.
- [7] Savina TA, Shchipakina TG, Godukhin OV. Single audiogenic seizure promotes the increased levels of calcineurin and Ca(2+)-calmodulin-dependent protein kinase II in the rat brain [J]. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova*, 2009, 95(8): 813-819.
- [8] 王文广, 张存泰, 吴杰, 卜军, 刘念, 任勇, 等. 钙调蛋白抑制剂对陈旧性心肌梗死兔室性心律失常的影响 [J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2005, 19(1): 60-62.
- [9] 赵晖, 李英奇, 张目, 陈庆梅, 张雷, 郑筱祥. 钙调蛋白抑制剂三氟拉嗪对海马脑片缺氧损伤的保护作用 [J]. *生物物理学报*, 2003, 19(2): 130-134.
- [10] Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis [J]. *EMBO Rep*, 2006, 7(9): 880-885.
- [11] Chen S, Song Y, Cao J, Wang G, Wei H, Xu X, et al. Localization and function of calmodulin in live-cells of *Aspergillus nidulans* [J]. *Fungal Genet Biol*, 2010, 47(3): 268-278.
- [12] Yamamoto A, Murphy N, Schindler CK, So NK, Stohr S, Taki W, et al. Endoplasmic reticulum stress and apoptosis signaling in human temporal lobe epilepsy [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2006, 65(3): 217-225.
- [13] Sankar R, Auvin S, Shin D, Mazarati A. Inflammation modifies status epilepticus-induced hippocampal injury during development [J]. *Epilepsia*, 2007, 48 (Suppl 8): 16-18.
- [14] Sepehri G, Sheibani V, Azarang A, Shamsizadeh A, Afarinesh MR, Azizollahi S, et al. The intracerebroventricular (ICV) administration of W-7, a calmodulin inhibitor, attenuates the development of morphine tolerance in rats [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2010, 23(2): 170-174.
- [15] Sengupta P, Ruano MJ, Tebar F, Golebiewska U, Zaitseva I, Enrich C, et al. Membrane-permeable calmodulin inhibitors (e. g. W-7/W-13) bind to membranes, changing the electrostatic surface potential: dual effect of W-13 on epidermal growth factor receptor activation [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(11): 8474-8486.
- [16] 李桦, 朱国行, 洪震. 钙调素拮抗剂对癫痫动物模型抗痫作用的研究 [J]. *神经疾病与精神卫生*, 2002, 2(3): 138-140.
- [17] 胥向红, 刘学文, 韩锜, 贾宁. 癫痫大鼠海马 p 38 MAPK 变化及 W-7 对其的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2009, 7(4): 436-437.

(本文编辑:俞 燕)

· 消息 ·

## 《中华临床医师杂志(电子版)》2011年度征稿征订

《中华临床医师杂志(电子版)》是中国科技核心期刊,半月刊,全年出刊24期,定价672元,国内刊号CN 11-9147/R,邮发代号80-728,被万方数据库、中国期刊网、维普数据库、美国化学文摘、乌利希期刊指南、波兰哥白尼索引等国内外知名数据库收录。

2011年度重点栏目征稿及2011年优惠征订详情请见中华临床医师杂志官方网站 [www.clinicmed.net](http://www.clinicmed.net) 的期刊动态。

欢迎广大临床医师积极投稿并订阅杂志! 欢迎各位专家组织、推荐、撰写重点栏目论文!

投稿信箱:北京市100035-50信箱编辑部收 邮编 100035

投稿电子邮箱:Ledoctor@163.com

电话:010-62219211

传真:010-62222508

网址:www.clinicmed.net

《中华临床医师杂志(电子版)》编辑部