

电休克干预对嗅球切除抑郁模型大鼠海马 Glu 浓度和 Tau 蛋白过度磷酸化的影响

刘超¹, 闵苏¹, 魏珂¹, 刘东², 董军¹, 罗洁¹, 刘小滨¹

¹重庆医科大学附属第一医院麻醉科, 重庆 400016

²天津医科大学附属第二医院神经外科, 天津 300211

通信作者: 闵苏 电话/传真: 023-89011068, 电子邮件: minsu89011068@yahoo.com.cn

摘要: **目的** 观察不同电量和不同电休克干预对嗅球切除抑郁模型大鼠海马 Glu 浓度和 Tau 蛋白过度磷酸化的影响。**方法** 建立大鼠嗅球切除抑郁模型, 采用随机单位组 3×3 析因设计: 将每只大鼠视为 1 个单位, 对每个单位给予 3 个处理因素, 即电量因子 (3 个水平: 25、50、75 mA) 和电休克因子 (3 个水平: 3、6、9 次电休克) 的所有组合 (共 9 组, $n=6$)。全部电休克处置结束 12 h 内留取海马, 高效液相色谱法检测 Glu 在海马中的含量, Western blot 检测 p-PHF-1^{Ser396/404}、p-AT8^{Ser199/202}、p-12E8^{Ser262} 在海马中的表达。**结果** 电休克引发海马 Glu 浓度升高及 Tau 蛋白磷酸化加剧, 且电休克的电流和电休克均可影响这一过程, 两者的作用是相加的。**结论** 电休克导致海马 Glu 浓度升高, 从而加剧海马 Tau 蛋白的磷酸化程度。

关键词: 电休克; 抑郁症; Tau 蛋白; 过度磷酸化; 谷氨酸

中图分类号: R395.1; R749.054; R614.2⁺⁴ **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-503X(2012)03-0216-06

DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2012.03.005

Effect of Electroconvulsive Shock on the Glutamate Level and the Hyperphosphorylation of Protein Tau in Depression Rat Models Whose Olfactory Bulbs Were Removed

LIU Chao¹, MIN Su¹, WEI Ke¹, LIU Dong², DONG Jun¹, LUO Jie¹, LIU Xiao-Bin¹

¹Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

²Department of Neurosurgery, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

Corresponding author: MIN Su Tel/Fax: 023-89011068, E-mail: minsu89011068@yahoo.com.cn

ABSTRACT: Objective To explore the effect of the electroconvulsive shock (ECS) on the glutamate level and the hyperphosphorylation of tau protein in depressed rats. **Methods** The depression rat models whose olfactory bulbs were removed were established. Using the analysis of variance of factorial design, we set up two intervention factors including electric current (three levels: 25, 50, and 75 mA) and duration (three levels: 3, 6, and 9 times), which constituted 9 combinations ($n=6$). Fifty-four adult depression rat models whose olfactory bulbs were removed were randomly divided into nine experimental groups ($n=6$ in each group). The hippocampus was removed within 12 hours after the ECS finished. The level of glutamate in the hippocampus was detected by high-performance liquid chromatography, and that of Tau protein, which includes p-PHF-1^{Ser396/404}, p-AT8^{Ser199/202}, and p-12E8^{Ser262}, in the hippocampus with Western blot analysis. **Results** The glutamate level

and the hyperphosphorylation of tau protein in the hippocampus of depressed rats remarkably increased. The changes of the hyperphosphorylation of tau protein were correlated with the electric current and duration of ECS, and these two factors showed an synergic effect. **Conclusion** ECS enhances the hyperphosphorylation of tau protein in the hippocampus of depressed rats by up-regulating the glutamate level.

Key words: electroconvulsive therapy; depression; tau protein; hyperphosphorylation; glutamic acid

Acta Acad Med Sin., 2012, 34(3):216-221

电休克 (electmconrulsive therapy, ECT) 后可出现病理性谷氨酸 (glutamic acid, Glu) 信号系统功能异常^[1-2], 引起氧化应激, 导致海马不加选择且泛发的长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 饱和状态, 造成突触可塑性障碍。Glu 在人脑中含量为 8.4 $\mu\text{Mol/g}$, 是最重要的兴奋性递质, 约 40% 的突触以 Glu 为递质。Glu 对学习记忆的影响具双向作用, 适当激动 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (N-methyl-d-aspartic acid receptor, NMDAR) 是学习记忆所必须的, 但如果脑内 Glu 释放过多, 过度激动膜电位依赖式谷氨酸受体 (glutamate receptor, GluR) 导致 Ca^{2+} 大量内流^[3-4], 激活对 Ca^{2+} 敏感的各种酶类, 产生氧自由基、线粒体损害, 激活磷酸肌醇环路, 破坏细胞的超微结构^[5], 使神经元变性乃至死亡, 造成学习记忆障碍。ECT 后学习记忆障碍与 Glu 信号系统功能异常有关^[1], 其可引起氧化应激^[6], 导致海马 LTP 饱和状态和突触可塑性障碍^[7]。

Tau 蛋白又名陶蛋白, 即低分子微管相关蛋白 (microtubule associated protein, MAP), 集中分布于轴突和树突, 为高度不对称的磷蛋白, 可促进轴突微管的装配和稳定, 保持微管间距离, 影响神经细胞轴突的物质运输, 促进神经元生长发育, 抑制脂质过氧化, 抑制微管蛋白聚集^[8], 与学习记忆相关。Tau 蛋白磷酸化是调节神经元功能的主要手段^[9], 其被异常磷酸化后发生错误折叠和分子聚集^[10], 可削弱稳定微管的功能, 造成递质运输、储存和释放障碍, 或改变朊蛋白 (prion protein, PrP) 的分布和活性^[11], 导致学习记忆障碍^[12], 推测其机制为 Tau 蛋白可能作为一种可溶性 DNA 分子伴侣发挥生理作用, 当 Tau 发生变性或在甲醛诱导下发生错误折叠时, 将失去与 DNA 的结合能力。

新近研究发现, GluR 受体拮抗剂可显著抑制冷水应激引起的磷酸化 Tau 蛋白水平升高, 证明应激可影响兴奋性神经传递系统, 通过离子型兴奋性氨基酸受体和异常神经激活来调节 Tau 蛋白磷酸化, 兴奋性神经传递系统的激活在应激诱导的海马 Tau

蛋白磷酸化中发挥作用^[13-14]。ECT 等应激引起的 Glu 升高是否上调 Tau 蛋白的过度磷酸化程度, ECT 的治疗电量和时程是否与此过程具有量效和时效关系, 成为研究者关注的焦点。本研究观察了不同电量和不同时程 ECT 干预对嗅球切除抑郁模型大鼠海马 Glu 浓度和 Tau 蛋白过度磷酸化的影响, 以期为神经保护的分子生物学机制研究和临床干预性治疗提供实验依据。

材料和方法

主要试剂及仪器 纯品 L-谷氨酸 (美国 Sigma 公司), 兔抗牛 p-PHF-1^{Ser396/404} 单克隆抗体 (英国 Abcam 公司), 兔抗人 p-AT8^{Ser199/202} 多克隆抗体 (美国 Invitrogen 公司), 兔抗人 p-12E8^{Ser262} 多克隆抗体 (美国 Life Span Biosciences 公司), DAB 显色试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (上海碧云天生物有限公司); HPD-25D 型无油隔膜真空泵 (上海鲁硕实业有限公司), YDJZ-II 型医用微型电动磨钻 (上海慧恩医疗器械有限公司), Harvard 啮齿类动物电休克仪 (美国自然基因有限公司), Morris 水迷宫视频分析系统 (军事医学科学院), HPLC 色谱系统 (美国 Waters 公司), 蛋白电泳系统 (美国 Bio-rad 公司), 金盘多媒体图像处理系统 (成都金盘电子科大多媒体技术有限公司), 光学显微照相系统 (Olympus-45, 日本 Olympus 公司)。

实验动物及模型建立 备选 24 周龄健康雄性 SD 大鼠, 体重 250 ~ 300 g, 天津医科大学实验动物科学部提供。将大鼠置于通风良好、12 h 明暗交替、自由饮水摄食条件下, 每日触摸 2 min, 使大鼠适应实验室环境及实验人员操作。大鼠适应性饲养 1 周后, 建立嗅球切除抑郁模型: 2.75% 戊巴比妥钠 ($55 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 腹腔注射) 麻醉大鼠, 在两耳联线中点处将皮肤切开, 暴露颅骨, 在距前凶前 7 ~ 8 mm, 与正中缝两侧旁开 2 mm 的交点处, 用电动磨钻将颅骨钻两个直径 2 mm 的小孔, 用探针搅动破坏全部嗅

球后用真空泵将破坏的嗅球组织吸出,待全部嗅球组织吸出后方结束,吸收性明胶海绵填入小孔止血。青霉素溶液(20万U·ml⁻¹)冲洗手术切口,缝合皮肤,肌注青霉素钠4万U/只,连续给药3d,以防术后感染^[15]。术后每天对大鼠抚摸和称重,恢复2周后进行旷场实验测试,每次测试均于上午9:00开始,选取大鼠在旷场箱内水平计分及垂直计分总分30~120s间的54只大鼠。所有动物实验均按照美国医学研究协会《实验动物处理原则》及美国科学学会和国家卫生研究院《实验动物使用和处理指南》进行,所有测试和检测均循双盲原则,所有大鼠均在整个实验中行孤笼饲养。

实验动物分组和干预措施 采用随机单位组3×3析因设计:将每只大鼠视为1个单位,对每个单位给予3个处理因素,即电量因子(3个水平:25、50、75mA)和时程因子(3个水平:3、6、9次ECT)的所有组合(共9组,n=6)。通过随机数字发生器将54只嗅球切除抑郁模型大鼠随机分为9组(n=6):I组(25mA,3次ECT),II组(25mA,6次ECT),III组(25mA,9次ECT),IV组(50mA,3次ECT),V组(50mA,6次ECT),VI组(50mA,9次ECT),VII组(75mA,3次ECT),VIII组(75mA,6次ECT),IX组(75mA,9次ECT)。

ECT处置 每次施行ECT前15min腹腔注射每组相应药物,然后于大鼠双颞侧安放电极,采用Harvard啮齿类动物ECT仪行ECT处理,给予方波(单个正弦半波20ms),相应电流(25、50、75mA),频率50Hz,持续1s的电刺激,引起大鼠强直阵挛抽搐发作为治疗成功,隔天1次,共相应次数(3、6、9次),均于9Am开始进行。

取材 在全部ECT干预结束后12h内取实验大鼠海马,大鼠取材前24h禁食不禁水,腹腔注射1.5g/kg 20%氨基甲酸乙酯麻醉后,快速断头开颅取脑;在DEPC冰面上吸除血迹,分离海马。大鼠左侧海马用锡箔纸标记包裹后置于液氮中过夜,然后保存于-80℃超低温冰箱中,备做Western blot检测;大鼠右侧海马称重,加入1ml甲醇-水离心液,低温匀浆,取部分匀浆液4℃,10000×g,离心15min,取上清,滤膜过滤后-80℃保存,待测Glu含量。

高效液相色谱法检测Glu在大鼠海马中的含量

检测样品: 处理好的大鼠右侧海马组织匀浆上清液。

试剂: Glu标准品;OPA(国产分析纯,上海碧

云天生物有限公司),β-巯基乙醇(美国Amresco公司),甲醇(色谱级,上海碧云天生物有限公司)。

仪器及色谱条件: Centrifuge 5810R型低温高速离心机(德国Eppendorf公司);HPLC色谱系统(美国Waters公司),包括600泵、荧光2475检测器、Empower色谱工作站;18-ODS色谱柱(美国Dima公司),柱温35℃。流动相A:0.1mol·L⁻¹醋酸钾。流动相B:甲醇,进行二元梯度洗脱,梯度洗脱程序:(T,B%)(0,45%)(1,65%)(6,75%)(20,45%),T指时间,B%指B流动相所占的比例。流动相经0.45μm微孔滤膜过滤,超声脱气。流速1.0ml·min⁻¹、激发波长250nm,发射波长410nm,以Glu峰面积定量。

衍生化试剂的配制: 将20mgOPA溶于500μl甲醇中,超声溶解,加入β-巯基乙醇500μl,再加入9mlpH10.0的硼酸缓冲液,避光密封后0~4℃保存。

氨基酸标准液配制: Glu标准品配成100μmol·L⁻¹的标准溶液,测前稀释。

衍生及分析: 取100μl标准液或者组织样品液于EP管中,加入100μl衍生化试剂反应2min后进样20μl。

Glu标准曲线建立: 配制浓度分别为0.150、0.300、0.735、1.470、2.940、3.675、5.880mg·L⁻¹的Glu标准溶液,衍生化处理后测定。应用外标法进行定量分析,以其峰面积(Y)对其浓度(X)进行直线回归,得到线性方程。

海马中Glu含量测定: 对海马组织匀浆上清液解冻,置入玻璃匀浆器,加入冰冻的甲酸(1mol·L⁻¹,2ml),冰浴下手动充分匀浆。将匀浆液于4℃7000r·min⁻¹(r=13.5cm)离心30min。取上清液置于-20℃保存备用。每1ml脑组织匀浆上清液加0.75ml4%的碳酸氢钠溶液混匀,4℃3000r·min⁻¹(r=13.5cm)离心5min,取上清液过0.45μm滤膜,分装。然后取该分装液24μl,在进样瓶中加入衍生试剂12μl,四硼酸钠缓冲液(pH9.18)960μl,混匀,温度控制在20℃下静置3min后依次进样,梯度洗脱,分别测定Glu含量^[16]。

Western blot检测p-PHF-1^{Ser396/404}蛋白、p-AT8^{Ser199/202}蛋白和p-12E8^{Ser262}蛋白在大鼠海马中的含量 取大鼠左侧海马,匀浆,取0.2g,经Western blot及IP细胞裂解液提取蛋白,再用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度,据此调节蛋白浓度一致。取等量蛋白

样品,用 5×SDS 加样缓冲液按 1:1 (V/V) 稀释待测样品,于 100℃煮沸 5 min;另用 1×SDS 加样缓冲液溶解预染蛋白质分子量标准混合物,于 100℃煮沸 3 min。取待测标本 15 μl 上样 [甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GRPDH) 作为蛋白质上样量的标定],经 SDS-PAGE 电泳至预染蛋白质分子量标准所示目的分子量出现为止,用湿法将蛋白条带电转至 Immun-blot PVDF 膜,50 g/L 脱脂奶粉封闭 3 h,加入相应抗体 [兔抗牛 p-PHF-1^{Ser396/404} 单克隆抗体、兔抗人 p-AT8^{Ser199/202} 多克隆抗体、兔抗人 p-12E8^{Ser262} (1:200)] 4℃孵育过夜,使用相应辣根酶标记 IgG (1:200) 37℃孵育 2 h, DAB 试剂盒显色,金盘多媒体图像处理系统测定阳性条带的积分光密度值。

统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对各组样本进行方差齐性检验,将各组样本进行析因设计单因素方差分析各处理因素主效应和交互效应;采用单因素方差分析法分析各处理因素单独效应,行 LSD 检验和 SNK-q 检验两两比较; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

大鼠海马中 Glu 的含量 随着 ECT 电流加大 ($F = 310.488, P = 0.000$) 和干预时程延长 ($F = 35.677, P = 0.000$),大鼠海马中 Glu 的浓度显著增加;两者的影响呈相加效果 ($F = 4.484, P = 0.003$) (表 1)。

表 1 大鼠海马中 Glu 的含量 ($n = 6, \bar{x} \pm s, \mu\text{mol/gprot}$)

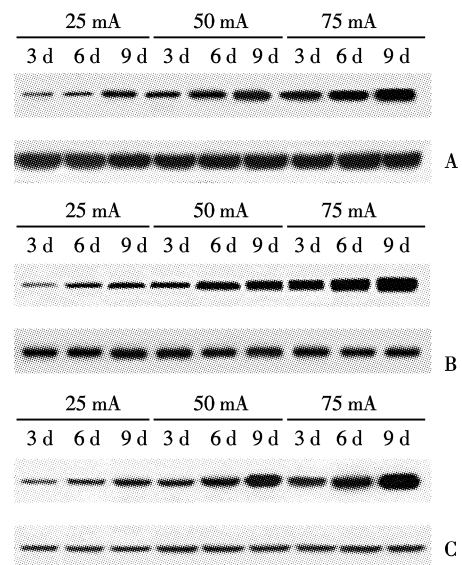
Table 1 Glutamate level in the hippocampus of rats ($n = 6, \bar{x} \pm s, \mu\text{mol/gprot}$)

分组 Group	3 ECT	6 ECT	9 ECT	合计 Sum	<i>F</i>	<i>P</i>
25 mA	50.21 ± 7.92	54.69 ± 7.66	65.27 ± 8.73	56.72 ± 8.73	9.082	0.001
50 mA	69.15 ± 18.20	90.91 ± 16.17	121.36 ± 6.43	93.80 ± 22.94	17.823	0.000
75 mA	137.60 ± 13.73	172.90 ± 20.02	180.52 ± 24.64	163.65 ± 24.61	13.011	0.000
合计 Sum	23.15 ± 9.47	28.69 ± 0.26	33.08 ± 12.23	28.31 ± 13.60	35.677 ^a	0.000 ^a
<i>F</i>	108.728	152.780	78.997	310.488 ^a		
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000 ^a	($F = 4.484, P = 0.003$) ^b	

ECT: 电休克;^a: 主效应的 *F* 统计量和 *P* 值;^b: 交互效应的 *F* 统计量和 *P* 值

ECT: electroconvulsive therapy; ^a: *F* statistic and *P* value of main effect; ^b: *F* statistic and *P* value of crossover effect

大鼠海马中 p-PHF-1^{Ser396/404} 蛋白、p-AT8^{Ser199/202} 蛋白和 p-12E8^{Ser262} 蛋白的含量 随着 ECT 电流加大,海马中磷酸化 Tau 蛋白的表达显著增加 (p-12E8^{Ser262}: $F = 286.967, P = 0.000$; p-PHF-1^{Ser396/404}: $F = 294.670, P = 0.000$; p-AT8^{Ser199/202}: $F = 309.969, P = 0.000$); 随着 ECT 干预时程延长,海马中磷酸化 Tau 蛋白的表达也显著增加 (p-12E8^{Ser262}: $F = 40.238, P = 0.001$; p-PHF-1^{Ser396/404}: $F = 29.467, P = 0.000$; p-AT8^{Ser199/202}: $F = 35.804, P = 0.000$); 两者的影响呈相加效果 (p-12E8^{Ser262}: $F = 5.552, P = 0.001$; p-PHF-1^{Ser396/404}: $F = 4.110, P = 0.004$; p-AT8^{Ser199/202}: $F = 4.132, P = 0.004$) (图 1, 表 2~4)。



A. p-12E8^{Ser262}; B. p-PHF-1^{Ser396/404}; C. p-AT8^{Ser199/202}

图 1 Tau 蛋白在大鼠海马中的含量

Fig 1 Tau protein level in the hippocampus of rats

表 2 大鼠海马中 p-12E8^{Ser262} 蛋白含量 ($n=6, \bar{x} \pm s$)Table 2 Content of p-12E8^{Ser262} protein in the hippocampus of rats ($n=6, \bar{x} \pm s$)

分组 Group	3 ECT	6 ECT	9 ECT	合计 Sum	F	P
25 mA	425.94 ± 67.86	462.73 ± 66.42	544.50 ± 75.43	481.05 ± 74.15	8.761	0.001
50 mA	654.93 ± 150.31	801.07 ± 171.83	1081.66 ± 223.45	845.89 ± 204.98	14.805	0.000
75 mA	1197.29 ± 128.42	1482.90 ± 200.11	1816.43 ± 303.91	1535.35 ± 289.64	19.353	0.000
合计 Sum	759.61 ± 301.08	932.05 ± 416.47	1150.63 ± 479.66	947.66 ± 494.57	40.238 ^a	0.001 ^a
F	107.589	121.203	85.419	286.967 ^a		
P	0.000	0.000	0.000	0.000 ^a	(F = 5.552, P = 0.001) ^b	

^a: 主效应的 F 统计量和 P 值; ^b: 交互效应的 F 统计量和 P 值

^a: F statistic and P value of main effect; ^b: F statistic and P value of crossover effect

表 3 大鼠海马中 p-PHF-1^{Ser396/404} 蛋白含量 ($n=6, \bar{x} \pm s$)Table 3 Content of p-PHF-1^{Ser396/404} protein in the hippocampus of rats ($n=6, \bar{x} \pm s$)

分组 Group	3 ECT	6 ECT	9 ECT	合计 Sum	F	P
25 mA	346.39 ± 39.57	374.12 ± 55.46	445.56 ± 63.45	388.69 ± 58.75	7.913	0.002
50 mA	513.71 ± 100.11	646.25 ± 110.92	850.71 ± 163.09	670.22 ± 15.51	17.644	0.000
75 mA	955.51 ± 95.53	1193.33 ± 141.01	1219.65 ± 195.05	1122.83 ± 110.92	9.529	0.001
合计 Sum	605.36 ± 235.03	727.90 ± 312.08	838.48 ± 45.43	727.09 ± 341.69	29.467 ^a	0.000 ^a
F	136.951	148.159	65.421	294.670 ^a		
P	0.000	0.000	0.000	0.000 ^a	(F = 4.110, P = 0.004) ^b	

^a: 主效应的 F 统计量和 P 值; ^b: 交互效应的 F 统计量和 P 值

^a: F statistic and P value of main effect; ^b: F statistic and P value of crossover effect

表 4 大鼠海马中 p-AT8^{Ser199/202} 蛋白含量 ($n=6, \bar{x} \pm s$)Table 4 Content of p-AT8^{Ser199/202} protein in the hippocampus of rats ($n=6, \bar{x} \pm s$)

分组 Group	3 ECT	6 ECT	9 ECT	合计 Sum	F	P
25 mA	538.20 ± 81.40	596.63 ± 85.73	707.16 ± 92.67	614.02 ± 95.76	9.789	0.001
50 mA	764.07 ± 94.93	985.37 ± 183.80	1296.32 ± 244.45	1009.26 ± 244.23	17.362	0.000
75 mA	1477.67 ± 148.32	1855.26 ± 214.24	1937.99 ± 267.39	1756.97 ± 264.00	12.595	0.000
合计 Sum	920.65 ± 375.98	1145.77 ± 486.10	1313.83 ± 480.02	1126.74 ± 537.71	35.804 ^a	0.000 ^a
F	109.649	143.161	81.298	309.969 ^a		
P	0.000	0.000	0.000	0.000 ^a	(F = 4.132, P = 0.004) ^b	

^a: 主效应的 F 统计量和 P 值; ^b: 交互效应的 F 统计量和 P 值

^a: F statistic and P value of main effect; ^b: F statistic and P value of crossover effect

讨 论

本研究观察了不同电量和不同时期 ECT 干预对嗅球切除抑郁模型大鼠海马 Glu 浓度和 Tau 蛋白过度磷酸化的影响, 结果显示, 随着 ECT 电流加大和干预时期延长, 大鼠海马中 Glu 的浓度显著增加; 两者的影响呈相加效果, 与以往研究结果类似^[1-2], 即 ECT 可诱发 Glu 相关的兴奋性毒性。此外本研究还发现, 随着 ECT 电流加大和干预时期延长, 海马中磷酸化 Tau 蛋白的表达显著增加, 与 Wu 等^[13] 发现应激可激活兴奋性神经传递系统诱导海马 Tau 蛋白过磷酸化的研究结果一致。与以往研究不同的是,

本研究发现无论是 ECT 提升海马中 Glu 浓度, 抑或进而增加海马中 Tau 蛋白过度磷酸化程度均具有量效性和时效性。在诸过度磷酸化位点中, pSer^{199/202} 位点磷酸化程度与 ECT 应激关系最为紧密, 似乎在导致学习记忆障碍的 Tau 蛋白过度磷酸化机制中扮演主要角色。这可能与 Ser^{199/202} 位点定位于微管结合区, 其磷酸化参与调节 Tau 蛋白与微管的结合活性有关^[16]。

Glu 抑制包括 Akt 等多种蛋白激酶的活性, Akt 是 PIK/AKT 信号转导通路的核心^[17], 参与调控 Tau 蛋白的磷酸化程度。故笔者推测相关信号传导途径可能如下: ECT 作为强应激导致海马 Glu 浓度升高, 而 Glu 激动离子型受体 GluR, 抑制 Akt 信号通路,

从而增加海马 Tau 蛋白的磷酸化程度, 影响降低轴突转运效率, 神经信号传递障碍及突触退化, 甚至造成神经元凋亡或死亡。其中, 海马 Tau 蛋白过磷酸化后会导致神经递质运输障碍, 可进一步造成 Glu 在受损神经元的积聚, 形成恶性循环, 加重神经元损伤程度。

(志谢: 感谢清华大学神经科学研究所所长左焕琮教授和刘破资教授在实验设计方面的指点, 感谢天津医科大学神经科学研究所神经肿瘤研究室主任康春生教授提供的实验指导)

参 考 文 献

- [1] Luo J, Min S, Wei K, et al. Propofol protects against impairment of learning-memory and imbalance of hippocampal Glu/GABA induced by electroconvulsive shock in depressed rats [J]. *J Anesth*, 2011, 25(5):657-665.
- [2] Dong J, Min S, Wei K, et al. Effects of electroconvulsive therapy and propofol on spatial memory and glutamatergic system in hippocampus of depressed rats [J]. *J ECT*, 2010, 26(2):126-130.
- [3] Dennis SH, Jaafari N, Cimarosti H, et al. Oxygen/glucose deprivation induces a reduction in synaptic NMDA receptors on hippocampal CA3 neurons mediated by mGluR1 and adenosine A3 receptors [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(33):11941-11952.
- [4] Vieira M, Fernandes J, Burgeiro, et al. Excitotoxicity through Ca^{2+} -permeable NMDA receptors requires Ca^{2+} -dependent JNK activation [J]. *Neurobiol Dis*, 2010, 40(3):645-655.
- [5] Bliss RM, Finckbone VL, Trice J, et al. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) augments NMDA-induced Purkinje neuron toxicity [J]. *Brain Res*, 2011, 1836(1):1-14.
- [6] Kartalci S, Karabulut AB, Ozcan AC, et al. Acute and chronic effects of electroconvulsive treatment on oxidative parameters in schizophrenia patients [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2011, 35(7):1689-1694.
- [7] Kato N. Neurophysiological mechanisms of electroconvulsive therapy for depression [J]. *Neurosci Res*, 2009, 64(1):3-11.
- [8] Osiecka KM, Nieznanska H, Skowronek KJ, et al. Tau inhibits tubulin oligomerization induced by prion protein [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1813(10):1845-1853.
- [9] De Calignon A, Fox LM, Pitstick R, et al. Caspase activation precedes and leads to tangles [J]. *Nature*, 2010, 464(16):1201-1204.
- [10] Combs B, Voss K, Gamblin TC, et al. Pseudohyperphosphorylation has differential effects on polymerization and function of tau isoforms [J]. *Biochemistry*, 2011, 50(44):9446-9456.
- [11] Canu N, Filesi I, Pristerù A, et al. Altered intracellular distribution of PrPC and impairment of proteasome activity in Tau overexpressing cortical neurons [J]. *J Alzheimers Dis*, 2011, 27(3):603-613.
- [12] Kopeikina KJ, Carlson GA, Pitstick R, et al. Tau accumulation causes mitochondrial distribution deficits in neurons in a mouse model of tauopathy and in human Alzheimer's disease brain [J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(4):2071-2082.
- [13] Wu FY, Feng Q, Cheng M, et al. The activation of excitatory amino acid receptors is involved in tau phosphorylation induced by cold water stress [J]. *Prog Biochem Biophys*, 2010, 37(5):510-516.
- [14] Petroni D, Tsai J, Mondal D, et al. Attenuation of low dose methylmercury and glutamate induced-cytotoxicity and tau phosphorylation by an N-methyl-D-aspartate antagonist in human neuroblastoma (SHSY5Y) cells [J]. *Environ Toxicol*, 2011, DOI:10.1002/tox.20765.
- [15] Tasset I, Medina FJ, Pena J, et al. Olfactory bulbectomy induced oxidative and cell damage in rat: protective effect of melatonin [J]. *Physiol Res*, 2010, 59(2):105-112.
- [16] 董素平, 徐畅, 原婷婷, 等. 海马 NMDA 受体经 SP-NK1 受体通路参与慢性应激诱发的抑郁样行为 [J]. *心理学报*, 2011, 43(9):1045-1054.
- [17] Bibow S, Mukrasch MD, Chinnathambi S, et al. The dynamic structure of filamentous Tau [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2011, DOI:10.1002/anie.201105493.
- [18] 李洁颖, 晏勇, 蔡志友, 等. 胰岛素信号通路磷脂酰肌醇-3 激酶/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶对海马神经元 β -淀粉样前体蛋白裂解酶 1 表达的影响 [J]. *中华神经科杂志*, 2009, 42(11):737-741.

(收稿日期: 2011-11-11)