

二苯乙烯苷对6-OHDA损伤的SH-SY5Y细胞外氨基酸， 细胞内钙离子浓度的影响

焦玥¹，李涛¹，马淑骅¹，欧阳竞峰¹，王毅¹，孙丹丹¹，王丹巧^{1*}，梁嵘^{2*}

(1. 中国中医科学院医学实验中心，北京市中医药防治重大疾病基础研究重点实验室，北京 100700；
2. 北京中医药大学基础医学院，北京 100029)

【摘要】 目的：观察二苯乙烯苷(TSG)对6-羟基多巴胺(6-OHDA)损伤的SH-SY5Y细胞的保护作用并探讨相关机制。方法：以SH-SY5Y细胞为研究对象，以100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-OHDA建立SH-SY5Y细胞损伤模型，以浓度6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ TSG作用损伤的SH-SY5Y细胞，另设空白组，四甲基偶氮唑盐(MTT)法测定细胞存活率，观察不同浓度的TSG对其的保护作用，激光共聚焦显微镜检测细胞内钙离子浓度的变化，高效液相-荧光法检测上清液中兴奋性氨基酸谷氨酸(Glu)，抑制性氨基酸 γ -氨基丁酸(GABA)含量。结果：与空白组比较，模型组细胞存活率降低，游离钙明显增多($P < 0.01$)，细胞外Glu及GABA浓度明显升高($P < 0.01$)；与模型组比较，TSG预处理24 h可以改善6-OHDA造成的细胞存活率的下降，其中12.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的细胞保护作用最为明显($P < 0.05$)，明显降低内游离钙含量，明显降低细胞外Glu及GABA浓度($P < 0.05$, $P < 0.01$)，TSG对其有明显的抑制作用。结论：TSG可能通过减轻钙超载及兴奋性毒性对6-OHDA损伤的SH-SY5Y细胞起到保护作用。

【关键词】 二苯乙烯苷；6-羟基多巴胺；钙离子；氨基酸

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2015)15-0111-05

【doi】 10.13422/j.cnki.syfjx.2015150111

Effect of Tetrahydroxystilbene Glucoside on Concentrations of Extracellular Amino Acid and Intracellular Calcium Ions in SH-SY5Y Cells Damaged by 6-OHDA JIAO Yue¹, LI Tao¹, MA Shu-hua¹, OUYANG Jing-feng¹, WANG Yi¹, SUN Dan-dan¹, WANG Dan-qiao^{1*}, LIANG Rong^{2*} (1. Beijing Key Laboratory of Basic Research on Traditional Chinese Medicine Prevention and Treatment of Major Diseases, Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medicine Science, Beijing 100700, China; 2. School of Basic Medical Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

【Abstract】 **Objective:** To observe the protective effect and related mechanism of tetrahydroxystilbene glucoside (TSG) on SH-SY5Y cells damaged by 6-hydroxydopamine (6-OHDA). **Method:** The SH-SY5Y cell damage model was established with 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-OHDA. The SH-SY5Y cells were pretreated by TSG with the concentrations of 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. The blank group was also set up. The protective effect of different concentrations of TSG on cell viability was measured by MTT assay. The changes in the concentration of intracellular calcium was observed by the laser scanning confocal microscopy. The concentration of excitatory amino acids glutamate (Glu) and inhibitory amino acid γ -aminobutyric acid (GABA) in supernatant of different-treated cells were tested by HPLC-FLD. **Result:** Compared with the blank group, the model group showed lower cell viability and higher free calcium ($P < 0.01$) and extracellular Glu and GABA concentrations ($P < 0.01$). Compared with the model group, the 24-hour pre-treatment with TSG can inhibit the decrease in the cell viability caused by 6-OHDA, with the most significant protective effect in 12.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P < 0.05$),

【收稿日期】 20150306(017)

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81274121);中国中医科学院自主选题研究项目(ZZ2012010)

【第一作者】 焦玥,在读博士,从事中药药理学研究, Tel:010-64089525, E-mail:jiaoyue_medicine@163.com

【通讯作者】 *王丹巧,博士生导师,从事中药药理、中西医结合老年医学基础研究, E-mail:dq_wang96@sohu.com;

*梁嵘,博士生导师,从事中医诊法的客观化与规范化研究, E-mail:liangr@hotmail.com

decrease intracellular free calcium content and extracellular Glu and GABA concentrations ($P < 0.05$, $P < 0.01$).

Conclusion: TSG can protect SH-SY5Y cells damaged by 6-OHDA by relieving calcium overload and excitatory toxicity.

[**Key words**] 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystobene-2-O- β -D-glucoside; 6-hydroxydopamine; calcium ion; amino acid

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是常见的老年神经退行性疾病,其病理变化为脑内黑质纹状体多巴胺(DA)神经元损伤、死亡引起的 DA 递质含量减少,乙酰胆碱系统相对亢进。其发病原因与环境因素,年龄老化,体内氧化应激损伤,兴奋性毒性,细胞内钙超载,线粒体功能障碍等多种因素有关。二苯乙烯苷(2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystibene-2-O- β -D-glucoside, TSG)是从中药何首乌提取的有效成分,常用来作为其质量控制标准。现代药理学研究证实何首乌及其有效成分 TSG 具有改善学习记忆,延缓衰老,抗氧化等作用^[1],常用于阿尔兹海默病(Alzheimer's disease, AD)和 PD 的治疗。研究表明 TSG 可以通过增加 MPTP 诱导的 PD 小鼠 DA 转运体(DAT)阳性神经元数目,促进突触间隙 DA 浓度增加,从而改善小鼠行为学变化,使爬杆时间缩短,悬挂能力增强^[2]。TSG 对 6-羟基多巴胺(6-OHDA), MPP⁺, H₂O₂ 损伤的 PC12 细胞均有抗氧化损伤作用^[3-5]。SH-SY5Y 细胞为人源性神经母细胞瘤株,具有神经细胞样突起,表达酪氨酸和多巴胺- β -羟化酶以及 DA 能神经元特有的 DAT^[6],用于 PD 病理机制研究时比大鼠来源的 PC12 细胞更具有种属优势。而 TSG 对于 SH-SY5Y 细胞制备的 PD 细胞模型是否具有干预作用尚未见报道。因此本实验采用 6-OHDA 损伤的 SH-SY5Y 细胞作为体外 PD 模型,观察 TSG 是否对 6-OHDA 损伤的 SH-SY5Y 细胞具有保护作用;采用激光共聚焦显微镜和高效液相荧光法检测技术,通过观察其对活细胞内钙离子浓度及细胞外氨基酸水平的影响,探讨 TSG 对神经细胞可能的保护作用机制,为 TSG 干预 PD 提供药理学依据,也为何首乌延缓衰老、治疗老年神经退行性病变的物质基础提供参考。

1 材料

1.1 细胞株 人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞株由中国中医科学院医学实验中心形态实验室惠赠。

1.2 药物与试剂 6-OHDA, 四甲基偶氮唑盐(MTT), 谷氨酸(Glu)和 γ -氨基丁酸(GABA)均购自美国 Sigma 公司,批号分别为 MKBP78 IV, MKBQ9338, 121K1249, 124H0364; 二甲基亚砷

(DMSO)为国药集团化学试剂有限公司产品,批号分别为 090901, 910529; TSG 对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110844-201310),钙离子荧光探针 Fluo-4/AM(美国 Invitrogen 公司),四氢呋喃(美国 Dima 公司,批号 G35804),邻苯二甲醛(OPA,美国 Aldrich 公司,批号 BCBL2514V)。

1.3 仪器 iMark 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司), CKX 41 型倒置显微镜, FluoView1000 型激光共聚焦(日本 Olympus 公司), S-2100 型高效液相色谱检测系统(德国 Sykam 公司), G1321A 型荧光检测器、化学工作站。

2 方法

2.1 细胞培养及处理 SH-SY5Y 细胞株(DMEM 完全培养基, 10% FBS)于 5% CO₂, 37 °C 的培养箱中培养。取对数生长的 SH-SY5Y 细胞接种于 96 孔板,培养箱中培养 24 h 后,吸弃原培养基,进行实验。

2.2 6-OHDA 对 SH-SY5Y 细胞形态及损伤的影响

用低血清(1% FBS)培养基培养 24 h 后加入不同浓度的 6-OHDA(终浓度 10, 25, 50, 100, 150, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)损伤 24 h,用倒置显微镜观察细胞形态。用 MTT 法检测细胞存活率:小心吸出 96 孔板内的培养基,每孔加入终质量浓度为 0.5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ MTT 的新鲜培养基,然后细胞在 37 °C 中继续培养 4 h。4 h 后小心移除细胞上清液,每孔加入 150 μL DMSO 振荡溶解,用酶标仪检测吸光度 A。波长 490 nm。

计算细胞存活率 = $A_{\text{实验组}}/A_{\text{空白组}} \times 100\%$

加入倍比稀释(6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的含有 TSG 的低血清培养基培养 24 h 时,加入 6-OHDA 培养 24 h。空白组加入等体积的生理盐水。用 MTT 法检测细胞存活率,步骤同上。

2.3 细胞内钙离子浓度检测 按照上述方法处理细胞后,加入用无血清培养基配制的钙离子荧光探针 Fluo-4/AM,浓度 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,在培养箱中培养细胞 30 min 后弃去上清液,用 PBS 洗 3 次,然后加入无血清培养基 100 μL 于激光共聚焦显微镜下检测细胞内钙离子荧光强度。激发波长 488 nm,发射波长 525 nm。由于 Fluo-4/AM 结合钙离子后其荧光

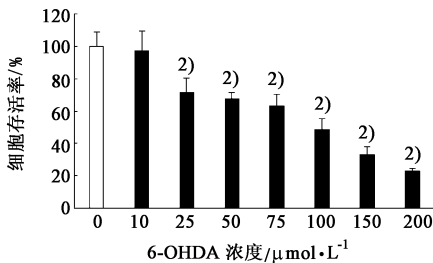
强度可间接反映细胞内钙离子浓度,因此钙离子浓度以细胞荧光强度代表,每个孔随机取 3 张照片($\times 400$),通过激光共聚焦显微镜自带软件计算细胞荧光强度。

2.4 细胞上清液中氨基酸检测 高效液相色谱-荧光法(HPLC-FLD)测定细胞上清液中 Glu 和 GABA 浓度。细胞按照上述药物处理后收集细胞上清液,按照 1:2 体积加入乙腈,12 000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液后同样条件再离心 5 min,取上清液用于 HPLC-FLD 检测。检测方法参照本实验室已经建立的方法^[7]。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 16.0 应用统计软件处理数据,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 6-OHDA 对 SH-SY5Y 细胞形态及存活率的影响 正常 SH-SY5Y 细胞多为梭形,形态舒展;6-OHDA 作用细胞 24 h 后,镜下可见明显的形态学变化,细胞皱缩成圆形,数量较空白组减少。MTT 结果可见,与空白组比较,6-OHDA 明显抑制细胞增殖,呈剂量依赖性($P < 0.01$)。见图 1。当 6-OHDA 浓度为 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时细胞存活率为 $(48.5 \pm 6.7)\%$,因此选择此浓度为后续实验造模。



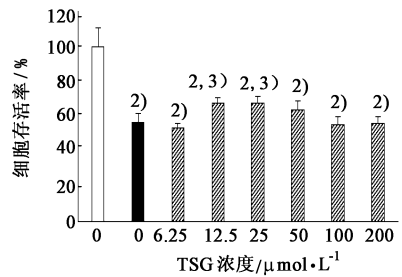
与空白组比较²⁾ $P < 0.01$

图 1 6-OHDA 对 SH-SY5Y 细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 1 Effects of 6-OHDA on cell viability of SH-SY5Y cells ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

3.2 TSG 对 6-OHDA 损伤后 SH-SY5Y 细胞的影响 在 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度以内 TSG 对 SH-SY5Y 细胞形态及数量没有产生影响。与模型组比较,12.5, 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSG 对 6-OHDA 的损伤有明显保护作用($P < 0.05$),将细胞存活率从 $56.3\% \pm 5.4\%$ 提高到 $67.9\% \pm 3.5\%$ 和 $67.8\% \pm 4.2\%$,50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 组细胞存活率为 $64.6\% \pm 5.9\%$,但无统计学意义。当 TSG 浓度更高时,细胞存活率并没有明显升高。见图 2。

3.3 TSG 对 6-OHDA 损伤细胞内钙浓度的影响

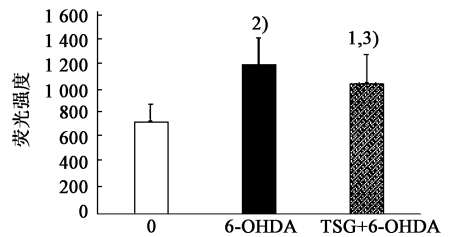


与空白组比较²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$

图 2 TSG 对 6-OHDA 损伤 SH-SY5Y 细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 2 Effects of TSG on cell viability of SH-SY5Y cells damaged by 6-OHDA ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

与空白组比较,6-OHDA 损伤后细胞内钙离子平均荧光强度明显增高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。用 12.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TSG 预处理后可降低钙离子荧光强度($P < 0.05$)。见图 3。



与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$

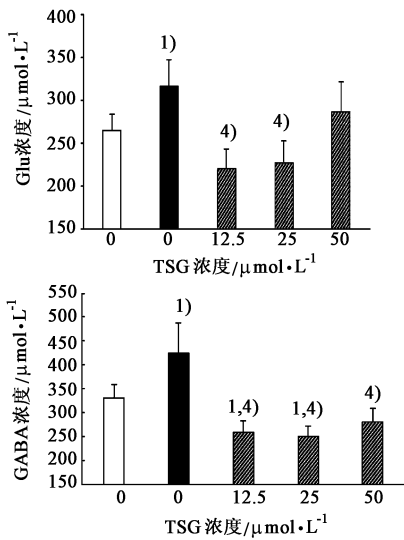
图 3 TSG 对细胞内钙离子荧光强度的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effects of TSG on calcium fluorescence intensity in SH-SY5Y cells damaged by 6-OHDA ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.4 TSG 对细胞上清液中 Glu 及 GABA 浓度的影响 与空白组比较,模型组 Glu 及 GABA 浓度在细胞上清液中增高($P < 0.05$),12.5,25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSG 预处理可以显著降低 Glu 浓度($P < 0.01$),12.5, 25,50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TSG 均可降低 GABA 浓度($P < 0.01$)。见图 4。

4 讨论

6-OHDA 是广泛用于 PD 体内外模型制作的神经毒性物质^[8],可以氧化生成大量的自由基,过氧化氢,恩醌类物质等,通过氧化应激,抑制线粒体功能,细胞内钙超载,诱使 DA 神经元变性,死亡,模拟 PD 的病理变化。本实验采用 6-OHDA 损伤 SH-SY5Y 细胞,可见细胞皱缩,细胞存活率下降。预先加入 TSG 培养 24 h,在 12.5 ~ 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高 6-OHDA 损伤的细胞存活率。然而更高浓度的 TSG 没有出现更为明显的保护作用。可能与本实验所用模型的特殊性有关。查阅近年文献中,TSG 对各种



与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较⁴⁾ $P < 0.01$

图 4 TSG 对细胞上清液中 Glu 和 GABA 浓度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Fig. 4 Effects of TSG on Glu and GABA levels in supernatant of cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

细胞模型的保护作用以 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下居多^[3,9], 与本实验的结果一致。而 TSG 在 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上时对正常 PC12 细胞及 $\alpha\text{-Syn}$ 基因转染的 PC12 细胞的细胞数量产生抑制作用^[10-11]。

钙离子作为细胞内第二信使分子,参与细胞内信号转导及代谢活动,其浓度变化对维持机体生命活动,调节疾病状态均具有重要的作用^[12-13]。细胞内钙超载与细胞的凋亡密切相关^[14]。本研究结果表明,6-OHDA 单独处理后的 SH-SY5Y 细胞,随其形态学变化,存活率下降,细胞内钙离子浓度明显升高,细胞上清液中 Glu 浓度升高。细胞内钙离子浓度的升高引起线粒体膜电位降低,包浆内多种酶的激活并触发钙依赖的蛋白间相互作用,破坏细胞稳态,导致神经元不可逆损伤;同时由于细胞溶解,包浆内 Glu 会释放到细胞外液,以及钙依赖的突触囊泡进行胞外分泌,引起细胞外 Glu 浓度增高^[15]。Glu 作为重要的兴奋性氨基酸类神经递质,促使神经元持续去极化,继而引起细胞内变化,产生兴奋性毒性,促进细胞凋亡。由于 NMDA 受体是介导 Glu 受体兴奋性毒性的主要受体,具有钙离子的高度通透性,因此 Glu 浓度与钙离子浓度在受体水平也具有密切关系。本实验还观察到 6-OHDA 损伤的 SH-SY5Y 细胞在 Glu 水平升高的同时抑制性氨基酸 GABA 也有升高,与既往本实验室发现的 6-OHDA 在大鼠脑内灌注时引起纹状体细胞外液 Glu 及 GABA 升高^[7]的现象一致。生理情况下,GABA 作为抑制性氨基酸与兴奋性氨基酸 Glu 的水平保持动

态平衡,抑制 Glu 的兴奋性。但有研究认为在病理状态下二者的平衡被打破,SH-SY5Y 细胞具有谷氨酸脱羧酶活性^[16],可以将升高的 Glu 部分代谢为 GABA,引起 GABA 浓度的增高;GABA 浓度升高及其受体过度激活对神经细胞也具有兴奋毒性作用^[17],并可通过 L-型和 T-型离子通道促进钙离子内流,造成细胞内钙离子升高^[18],这也是对本实验结果的另一种解释。另有研究表明,在某些神经病理过程中,氯离子共转运体在调节细胞内外氯离子浓度的同时,促使 GABA 翻转电位由超级化向去极化转变,介导了 GABA 的兴奋性效应^[19]。

何首乌是补肝肾,益精血,强筋壮骨的传统中药,长期以来,被用于延缓衰老、治疗 PD,AD 等老年神经退行性疾病,疗效确切。但近年来,何首乌的毒副作用引起了医学界的广泛关注。为能安全、有效地使用该药,既要找到毒副作用的物质基础,也要深入进行主要成分的药效和安全性研究。本实验观察到何首乌的主要成分 TSG 在低于 $400 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度时对 SH-SY5Y 细胞活性没有影响,在 $12.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对 6-OHDA 引起的细胞损伤的保护作用最为明显;进一步采用激光共聚焦显微镜观察到 TSG 对活细胞内的钙超载有抑制作用;高效液相荧光检测法观察到 TSG 可以降低 6-OHDA 引起的细胞外 Glu 及 GABA 的升高。这既为何首乌延缓衰老、治疗老年神经退行性病变的主要物质基础 TSG 提供了直接的药理学依据,也为何首乌的安全性研究提供了间接的参考。尚有与本实验结果相似的报告,TSG 对 $A\beta$ 诱发的大鼠海马细胞内钙失衡有保护作用,其机制是通过抑制蛋白激酶 C 和 A 的活化^[20-21]。TSG 通过抑制 NMDA 受体结合力从而减轻脑缺血沙鼠和小鼠皮质及海马神经元的损伤^[22],通过减轻细胞膜损伤,抑制钙离子浓度升高、对 Glu 损伤的海马神经元起保护作用^[23],也支持 TSG 具有神经保护作用的结论。

本研究采用人源的 SH-SY5Y 细胞制备 6-OHDA 损伤的 PD 细胞模型,观察到 TSG 可以减轻细胞损伤、提高细胞存活率及保护作用最为明显的 TSG 浓度,并探讨了 TSG 可能通过减轻钙超载及兴奋性毒性对该模型起到保护作用的神经药理学机制。至于 GABA 在该模型中的病理作用及 TSG 对其发挥的深入的药理学作用机制尚待进一步研究。

[参考文献]

[1] 高任龙,王会肖,李晓娜,等. 何首乌的药理毒理研究

- 进展[J]. 河北医药, 2015, 37(2): 269-271.
- [2] 张玲玲, 陈磊, 陶丽珍, 等. 二苯乙烯苷对 MPTP 诱导的帕金森病小鼠模型黑质多巴胺转运体的影响[J]. 神经解剖学杂志, 2012, 28(1): 33-37.
- [3] 李晓冰, 陈建宗, 李晓峰, 等. 二苯乙烯苷通过抑制氧化应激对 MPP⁺ 诱导的 PC12 细胞凋亡的保护作用[J]. 神经解剖学杂志, 2009, 25(6): 667-671.
- [4] 马海涵, 邵阳, 陈力学, 等. 二苯乙烯苷对过氧化氢诱导的 PC12 细胞损伤的保护作用[J]. 中国康复理论与实践, 2010(4): 322-324.
- [5] 张丽, 赵宁, 王蓉, 等. 参乌胶囊及其有效成分二苯乙烯苷对老年大鼠脊髓腰节段神经营养因子表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(12): 1557-1561.
- [6] Xie H R, Hu L S, Li G Y. SH-SY5Y human neuroblastoma cell line: *in vitro* cell model of dopaminergic neurons in Parkinson's disease[J]. Chin Med J (Engl), 2010, 123(8): 1086-1092.
- [7] 焦玥, 王丹巧, 吴兆恩, 等. 脑内灌流 6-羟基多巴胺对大鼠纹状体细胞外液氨基酸类神经递质的影响及美多芭的作用[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(8): 1055-1059.
- [8] Blesa J, Phani S, Jackson-Lewis V, et al. Classic and new animal models of Parkinson's disease[J]. J Biomed Biotechnol, 2012, 845618: 1-10.
- [9] 王婷, 熊章鄂. 二苯乙烯苷对 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞损伤的抗氧化作用[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(15): 2885-2886.
- [10] 陶丽珍. 二苯乙烯苷通过调节 ROS-NO 通路保护 6-OHDA 诱导的 PC12 细胞凋亡[D]. 西安: 第四军医大学, 2011.
- [11] 刘莹, 李林, 张兰. 二苯乙烯苷对基因转染 PC12 细胞 α -突触核蛋白过表达和泛素-蛋白酶体系统的影响[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(1): 34-39.
- [12] Berridge M J, Bootman M D, Roderick H L. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2003, 4(7): 517-529.
- [13] Rivero-Rios P, Gomez-Suaga P, Fdez E, et al. Upstream deregulation of calcium signaling in Parkinson's disease[J]. Front Mol Neurosci, 2014, 7(53): 1-10.
- [14] 徐蕾, 李文军, 林丹苗, 等. 钙稳态失衡在 1-甲基-4-苯基吡啶离子诱导的人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞凋亡中的作用[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(4): 479-485.
- [15] 陈生弟. 帕金森病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 96-99.
- [16] 冯波, 王蓉, 盛树力. 神经退行性疾病研究中拟神经细胞模型: 人神经母细胞瘤株 SH-SY5Y 的来源特性及应用[J]. 中国临床康复, 2006, 10(6): 121-123.
- [17] Nunez J L, McCarthy M M. Androgens predispose males to GABA-mediated excitotoxicity in the developing hippocampus[J]. Exp Neurol, 2008, 210(2): 699-708.
- [18] Young S Z, Platel J C, Nielsen J V, et al. GABA (A) increases calcium in subventricular zone astrocyte-like cells through L- and T-Type voltage-gated calcium channels[J]. Front Cell Neurosci, 2010, 4(8): 1-9.
- [19] 王亚云, 武胜昔, 李云庆. KCC2/NKCC1 氯离子转运体、GABA 以及神经病理性痛[C]. 北京: 第五届海内外华人神经科学家研讨会, 2010.
- [20] 罗红波, 杨金升, 石向群, 等. A β 诱发钙失衡中蛋白激酶 C 作用及二苯乙烯苷干预效果研究[J]. 人民军医, 2011(S1): 14-17.
- [21] 罗红波, 石向群, 张志强, 等. A β 诱发细胞钙失衡中蛋白激酶 A 的表达变化及二苯乙烯苷的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(1): 20-24.
- [22] 刘治军, 李林, 叶翠飞, 等. 二苯乙烯苷对脑缺血啮齿动物脑 NMDA 受体及细胞内钙离子的影响[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(10): 1112-1115.
- [23] 李雅莉, 赵玲, 徐艳玲, 等. 二苯乙烯苷对谷氨酸致原代培养大鼠海马神经元损伤的保护作用[J]. 中国康复理论与实践, 2004, 10(12): 751-753.

[责任编辑 周冰冰]