

柴胡疏肝汤对慢性颞叶癫痫大鼠海马 Kv4.2 及 KChIP1 通道蛋白表达的影响

禩正正¹, 谢炜^{1,2*}, 金汉娜¹, 洪雨¹, 周扬¹, 任志军¹, 胡冬蓉¹

(1. 南方医科大学中医药学院, 广州 510515; 2. 南方医科大学南方医院, 广州 510515)

[摘要] 目的: 观察柴胡疏肝汤对匹罗卡品导致的慢性颞叶癫痫大鼠海马 A 型钾离子通道电压门控型钾通道 4.2 (Kv4.2) 及钾离子通道相互作用蛋白 1 (KChIP1) 表达的影响。方法: SPF 级 Wistar 大鼠 80 只, ip 匹罗卡品, 经过潜伏期后有自发作即为成功模型, 将成功模型随机分为模型组、钾通道开放剂瑞替加滨组、柴胡疏肝汤低、中、高剂量组, 每组 10 只, 另设正常组 10 只, 分别给予瑞替加滨 $12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 柴胡疏肝汤低、中、高剂量 $2.5, 5, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 正常组与模型组对应给予等体积生理盐水, 连续干预 8 周, 2 次/d。通过视频录像监测系统观察各组癫痫发作次数的变化; 通过免疫组化法、蛋白质免疫印迹 (Western blot) 检测各组大鼠海马 Kv4.2 通道蛋白和 KChIP1 蛋白表达。结果: 连续干预 8 周后, 与模型组比较, 瑞替加滨、柴胡疏肝汤低中、高剂量组大鼠癫痫发作次数均有不同程度的减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 而 F 组发作次数最少 ($P < 0.01$); 与正常组比较, 模型组海马区两蛋白的表达均明显降低 ($P < 0.05$), 瑞替加滨、柴胡疏肝汤低中、高剂量组 Kv4.2 表达较模型组升高 ($P < 0.05$), 其中瑞替加滨组与柴胡疏肝汤低高剂量组表达量相近。瑞替加滨、柴胡疏肝汤低高剂量组海马 KChIP1 的表达也较模型组升高 ($P < 0.05$)。结论: 柴胡疏肝汤中、高剂量能减少癫痫发作次数, 其可能的机制是上调 Kv4.2 通道蛋白和 KChIP1 蛋白表达。

[关键词] 柴胡疏肝汤; 颞叶癫痫模型; 电压门控型钾通道 4.2; 钾离子通道相互作用蛋白 1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)12-0113-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016120113

Effect of Chaihu Shugan Decoction on Potassium Channel Kv4.2 and Kv Channel Interacting Protein KChIP1 in Adult Rats with Chronic Lobe Epilepsy

XUAN Zheng-zheng¹, XIE Wei^{1,2*}, JIN Han-na¹, HONG Yu¹,
ZHOU Yang¹, REN Zhi-jun¹, HU Dong-rong¹

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

2. Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Chaihu Shugan decoction on the expression of voltage-gated potassium channel 4.2 (Kv4.2) and Kv channel-interacting protein 1 (KChIP1) in a rat model of chronic temporal lobe epilepsy induced by pilocarpine. **Method:** Totally 80 SPF Wistar rats were injected with pilocarpine intraperitoneally, and those with spontaneous recurrent seizures after latent period were selected into the model. All of the modeled rats were randomly divided into five groups: model group, potassium channel agonist retigabine treatment group ($12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and high, medium and low-dose Chaihu Shugan decoction groups ($2.5, 5, 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), with 10 rats in each group. Another 10 normal rats were included in the normal group and administrated with saline same as model group. All groups were treated for 8 weeks. To evaluate the effect on

[收稿日期] 20150815(006)

[基金项目] 国家自然科学基金面上基金项目(81373810); 广东省科技厅社会发展领域科技计划项目(2013A032500004); 高等学校博士学科点专项科研基金项目(201144331100)

[第一作者] 禩正正, 硕士, 从事中西医结合脑病临床及基础研究, Tel:13268268154, E-mail:381480432@qq.com

[通讯作者] * 谢炜, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事中西医结合脑病临床及基础研究, Tel:020-61641672, E-mail:xiweizn@fimmu.com

seizure frequencies, the behavior of the rats were continuously recorded by digital camera during the study. The expression of the voltage-gated potassium channel 4.2 (Kv4.2) and KChIP1 in hippocampus and temporal lobe were detected through immunohistochemistry and Western blot. **Result:** After 8 weeks of treatment, retigabine group and Chaihu Shugan decoction groups (medium and high doses) showed significantly low seizure frequencies than model group ($P < 0.05$). Compared with normal group, the expressions of the two proteins in model group reduced in hippocampus ($P < 0.05$); retigabine group and Chaihu Shugan decoction group (medium and high doses) showed remarkably higher Kv4.2 expression ($P < 0.05$), and retigabine group was similar with Chaihu Shugan decoction low and high-dose groups. **Conclusion:** Chaihu Shugan decoction had a significant effect on Kv4.2 and KChIP1 in CA1 region of hippocampus and temporal lobe in rats with chronic temporal lobe epilepsy.

[**Key words**] Chaihu Shugan decoction; temporal lobe epilepsy; voltage-gated potassium channel 4.2; kv channel-interacting protein 1

癫痫是一种具有持续性产生痫性发作倾向的脑部疾患^[1]。据 WHO 估计,目前全球大约有 5 000 万左右的癫痫患者,在发达国家的患病率大约 0.4% ~ 1%,而在发展中国家的患病率则更高。尽管市场上有众多抗癫痫药物,但这些药物仍无法控制 20% ~ 30% 癫痫患者的病情^[2],因此需要研发新型抗癫痫药物。然而癫痫的发病机制极其复杂,近年来 A 型电压门控型钾通道(Kv)成为研究的热点,因为它具有调节动作电位发放频率和幅度,控制后传播动作电位和调节突触可塑性的作用^[3-4]。Kv4.2 是海马锥体神经元 A 型钾电流最主要的组成成分^[5],而 KChIP1 被认为能与 Kv4.2 结合共同调节 A 型钾电流的强弱^[6],Kv4.2 和钾离子通道相互作用蛋白 1 (KChIP1)的表达下调可导致神经元高兴奋性,成为癫痫发生以及反复发作的重要原因^[7-8]。研究者们在不同类型的人类癫痫或癫痫动物模型发现 Kv4.2 的表达降低^[9-11]。而通过上调 Kv4.2 介导的 A 型钾电流,能抑制原代海马神经元的痫性放电^[12]。瑞替加滨是新型的抗癫痫药物,同时也是首个批准上市的钾通道开放剂,能增强钾电流从而抑制神经元的痫性放电,但此药有难以耐受的不良反应。中医“从肝论治”治疗慢性颞叶癫痫具有一定疗效,副反应少^[13-14]。本实验通过建立锂-匹罗卡品慢性癫痫模型,观察柴胡疏肝汤对模型大鼠海马中 Kv4.2 和 KChIP1 蛋白表达的影响,探讨柴胡疏肝汤的可能作用机制。

1 材料

1.1 动物 6 ~ 8 周龄雄性 SPF 级 Wistar 大鼠 80 只,体重 160 ~ 220 g,由南方医科大学实验动物中心提供,合格证号 SYXK(粤)2011-0015。

1.2 药物及试剂 柴胡疏肝汤的组成为柴胡 25 g,黄芩 10 g,法半夏 10 g,生姜 10 g,党参 10 g,大枣 7

枚,甘草 10 g,当归 10 g,川芎 10 g,地黄 10 g,白芍 10 g,桂枝 10 g,钩藤 30 g,龙骨 30 g,牡蛎 30 g(购自南方医科大学南方医院)。每付中药水煎 2 次,龙骨、牡蛎先煎 10 min,后入其他各味中药煎煮 25 min,钩藤后下再煎煮 5 min,过滤除渣,合并 2 次药液浓缩至 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 冷藏备用。氯化锂,匹罗卡品和溴甲东莨菪碱(美国 Sigma 公司,批号分别为 SLBK5674V, MKBR2985V, SLBK63688);瑞替加滨(大连美仑生物技术公司,批号 20140301),兔单克隆抗体 Kv4.2 和兔单克隆抗体 KChIP1(博奥森技术有限公司,批号分别为 20140523, 20140701)。

1.3 仪器 RM2235 型石蜡切片机(瑞士莱卡公司),Eoipse Ti-s 型倒置显微镜(日本尼康公司),BIO-R40 型电泳仪(美国伯乐公司),Kodak2000MM 型凝胶成像系统(美国柯达公司)。

2 方法

2.1 模型制作方法 70 只 Wistar 大鼠 ip 氯化锂 ($127 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),18 ~ 24 h 后 ip 溴甲东莨菪碱 ($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),30 min 后 ip 匹罗卡品 ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),如未出现癫痫持续状态(Racine 标准 4 级或 4 级以上),则每隔 30 min 再 ip 匹罗卡品 ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),直至大鼠出现癫痫持续状态(SE)后停止注射。参照 Racine 标准评价发作程度,IV 级以上发作为成功的模型。SE 出现 60 min 后 ip 10% 水合氯醛 ($300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 终止发作。上述方法参考 Turski WA 制备颞叶癫痫模型的方法^[15]。正常组则全程注射等体积的生理盐水。

2.2 筛选实验动物和给药 实验动物在经过 12 ~ 24 h 的急性发作期后,进入 2 ~ 3 周的无发作期(或潜伏期),潜伏期期间每天予 ip 5% 糖盐水 5 mL。潜伏期后进入慢性期,使用录像系统观察行为学。慢性期前 4 周具有 IV 级及以上发作的动物为成功的慢性自发作癫痫模型,并将其随机分为 5 组,模型

组、瑞替加滨组、柴胡疏肝汤低、中、高剂量组。加上正常组共 6 组。正常组和模型组 *ip* 等体积生理盐水,瑞替加滨组给予瑞替加滨 $12.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ *ip*,柴胡疏肝汤低剂量组给予柴胡疏肝汤 $2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ *ig*,柴胡疏肝汤中剂量组给予柴胡疏肝汤 $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ *ig*,柴胡疏肝汤高剂量组给予柴胡疏肝汤 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ *ig*,各组均连续给药 8 周并连续录像记录行为学数据。

2.3 标本收集 治疗结束后麻醉取脑,冰上迅速分离海马,一部分用甲醛固定后石蜡包埋,行冠状切片,切片厚约 $4 \mu\text{g}$ 。另一部分放入 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 低温冰箱保存。

2.4 免疫组化法 将切片脱蜡、水化,然后置于枸橼酸盐中用微波进行热抗原修复,磷酸盐缓冲液(PBS)缓冲液洗 3 次,每次 5 min(下同),3% 过氧化氢孵育 10 min,加 PBS 缓冲液洗,封闭,一抗于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜,PBS 洗 3 次,二抗于 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 1 h,PBS 洗后 DAB 显色,苏木素复染,脱水,透明,封片。200 倍物镜及其他相同拍摄条件下在 CA1 区和颞叶各随机选取 3 个视野。用 Imagepro-plus 分析图像,将 3 个视野中阳性物质单位面积下吸光度 *A* 的平均值作为样品 *A*。

2.5 蛋白质免疫印迹(Western blot)检测 裂解组

织提取总蛋白,BCA 法测定蛋白含量,制备十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)凝胶,加样电泳,待溴酚蓝电泳至分离胶底部时结束电泳,90 V 电压下转膜 90 min,室温封闭 1 h,一抗(1:1 000) $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 摇床过夜,洗膜缓冲液(TBST)洗涤后加入二抗,室温孵育 1 h,再 TBST 洗涤 3 次后吸干多余的 TBST,增强型化学发光试剂(ECL)发光液显影(A 液与 B 液 1:1 配置),Kodak Image Station 2000MM 成像系统采集后运用 Imagepro-plus 分析图像。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同用药组之间的比较采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD 法,各组大鼠于不同用药时间发作次数的比较采用单个重复测量的方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对慢性颞叶癫痫大鼠痫性发作次数的影响 药物干预前,各组发作次数比较无统计学差异。药物干预 8 周后,与模型组比较,瑞替加滨、柴胡疏肝汤中、高剂量组大鼠痫性发作次数减少,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。用药前后比较,瑞替加滨、柴胡疏肝汤中、高剂量组大鼠痫性发作次数均减少,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1。

表 1 柴胡疏肝汤对慢性颞叶癫痫大鼠痫性发作数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Chaihu Shugan decoction on frequencies of seizures in rats with temporal lobe epilepsy ($\bar{x} \pm s, n = 10$)		治疗前 4 周				治疗 4 周	
组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	≤ 2 级	3 级	4 级	5 级	≤ 2 级	3 级
模型	-	0.33 ± 0.58	8.40 ± 2.16	13.92 ± 1.21	11.17 ± 2.25	0.87 ± 0.32	8.32 ± 1.00
瑞替加滨	0.012 5	0.67 ± 1.15	8.33 ± 3.06	14.73 ± 1.52	11.34 ± 1.47	0.31 ± 0.20	$5.11 \pm 0.68^{2)}$
柴胡疏肝汤	2.5	0.77 ± 1.33	8.78 ± 1.19	14.01 ± 2.14	11.00 ± 1.82	0.93 ± 0.66	9.54 ± 0.40
	5	0.92 ± 0.85	10.44 ± 4.87	14.44 ± 1.04	10.48 ± 0.80	1.27 ± 0.46	6.94 ± 0.20
	10	1.63 ± 1.19	9.21 ± 1.06	13.76 ± 1.57	10.82 ± 1.43	0.23 ± 0.25	$4.82 \pm 1.16^{2,3)}$

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	治疗 4 周		治疗 8 周		
		4 级	5 级	≤ 2 级	3 级	5 级
模型	-	13.43 ± 0.45	11.02 ± 0.70	1.03 ± 0.25	7.95 ± 1.12	10.50 ± 0.40
瑞替加滨	0.012 5	$3.11 \pm 2.01^{2,3)}$	$5.27 \pm 0.75^{2,3)}$	0.65 ± 0.11	$4.28 \pm 0.86^{2)}$	$4.33 \pm 1.13^{2,3)}$
柴胡疏肝汤	2.5	15.15 ± 0.85	10.29 ± 0.92	0.80 ± 0.36	7.53 ± 0.61	10.28 ± 0.92
	5	11.61 ± 1.13	9.46 ± 0.58	0.77 ± 0.14	$6.25 \pm 0.50^{1)}$	8.90 ± 0.46
	10	$5.71 \pm 0.72^{2,3)}$	$3.63 \pm 1.26^{2,3)}$	$0.09 \pm 0.10^{2)}$	$5.62 \pm 0.36^{2,3)}$	$4.38 \pm 1.27^{2,3)}$

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与治疗前 4 周比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 对慢性颞叶癫痫大鼠 Kv4.2 和 KChIP1 蛋白在海马 CA1 区表达的影响 Kv4.2 及 KChIP1 主要表达于海马锥体神经元的胞膜上。在海马 CA1 区,模型组的锥体神经元细胞数目减少,排列松散,细胞周围的棕黄色阳性反应物均较正常组少,颜色较浅。Imagepro-plus 软件分析得出,与正常组比较,Kv4.2

和 KChIP1 蛋白表达明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。用药后,与模型组比较,瑞替加滨、柴胡疏肝汤中、高剂量组细胞数目明显增多,排列紧密,胞膜周围棕黄色阳性反应物增加,平均光密度增加,以柴胡疏肝汤高剂量组最为明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1 和表 2。

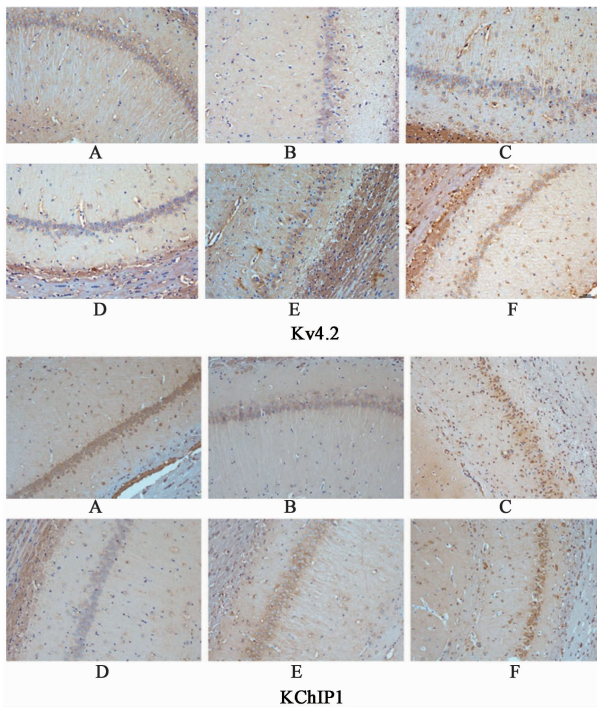


图 1 柴胡疏肝汤对慢性颞叶癫痫大鼠 Kv4.2 和 KChIP1 蛋白在海马 CA1 区表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig.1 Effect of Chaihu Shugan decoction on expression of Kv4.2 and KChIP1 in CA1 region of rats with temporal lobe epilepsy (IHC, ×200)

表 2 柴胡疏肝汤对慢性颞叶癫痫大鼠 Kv4.2 和 KChIP1 蛋白在海马 CA1 区表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Chaihu Shugan decoction on expression of Kv4.2 and KChIP1 in CA1 region of rats with temporal lobe epilepsy ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Kv4.2	KChIP1
正常	-	0.62 ± 0.14	0.83 ± 0.05
模型	-	0.35 ± 0.05 ¹⁾	0.33 ± 0.09 ¹⁾
瑞替加滨	0.012 5	1.07 ± 0.14 ²⁾	0.84 ± 0.08 ²⁾
柴胡疏肝汤	2.5	0.40 ± 0.09	0.32 ± 0.10
	5	0.82 ± 0.11 ²⁾	0.64 ± 0.09 ²⁾
	10	1.20 ± 0.06 ²⁾	0.96 ± 0.09 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (图 2 同)。

3.3 免疫印迹法检测各组 Kv4.2 和 KChIP1 在海马的表达 模型组海马 Kv4.2 的表达与正常组比较明显降低 ($P < 0.05$), 瑞替加滨、柴胡疏肝汤中、高剂量组 Kv4.2 的表达均较模型组高 ($P < 0.05$), 其中瑞替加滨、柴胡疏肝汤高剂量组 2 组 Kv4.2 表达量相近。模型组海马 KChIP1 的表达较正常组下降 ($P < 0.05$), 瑞替加滨、柴胡疏肝汤高剂量组 KChIP1 的表达量与模型组比较明显升高 ($P < 0.05$)。见图 2。

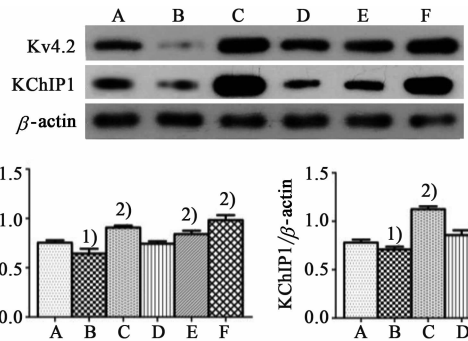


图 2 柴胡疏肝汤对慢性颞叶癫痫大鼠海马 Kv4.2 和 KChIP1 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig.2 Effect of Chaihu Shugan decoction on expression of Kv4.2 and KChIP1 in hippocampus of rat ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

4 讨论

癫痫属于中医“痫病”的范畴,早在《黄帝内经》中就有关于癫痫的记载,并提出了“诸风掉眩,皆属于肝”的理论,为癫痫“从肝论治”提供了基础。课题组前期研究发现,柴胡疏肝汤能够降低锂-匹罗卡品癫痫大鼠模型脑电图的痫性放电^[16],并且运用全细胞膜片钳技术发现,君药柴胡的有效成分柴胡皂苷 a (SSa) 能够抑制 4-AP 外液诱导的大鼠海马神经元癫痫样放电并且上调海马神经元 A 型钾电流幅度^[17],但具体的机制仍不清楚。

A 型钾通道能调节神经元冲动发放频率,并且影响海马 CA1 区神经元树突的可塑性。A 型钾通道的数量、功能下降或分布异常神经元兴奋性升高,并使个体易于出现痫性发作,A 型钾通道的表达增强则能缩短神经元去极化时间,稳定膜电位,从而减少痫性发作。由于在海马的 CA1 区, Kv4.2 是构成 A 型钾通道主要成分, KChIP1 又往往与 Kv4.2 结合并调节其表达,因此 A 型钾电流幅度的改变可能是由 Kv4.2 和 KChIP1 来介导。有研究证实,在匹罗卡品导致颞叶癫痫大鼠模型,海马 CA1 区的 A 型钾电流幅度降低,同时 Kv4.2 表达下降,笔者的实验结果与之一致。Aronica 在难治性癫痫人类的硬化海马中发现,海马 CA1 区 Kv4.2 表达减少^[10]。而 Barnwell 将小鼠的 Kv4.2 基因敲除后发现,与正常小鼠比较, Kv4.2 敲除鼠对海人酸刺激更易感,更容易出现痫性发作^[18], KChIP1 基因敲除后痫性发作的阈值也降低^[8]。Kv4.2 除了让 K⁺ 通过形成钾电流,还能让 Ca²⁺ 通过从而调节海马 CA1 区树突的兴奋性突触后电位^[19]。A 型钾通道生理作用广泛,其功能下降可能是癫痫自发放电的重要原因,因此如何上调 A 型钾电道将有望成为治疗癫痫的新策略。临床上,钾通道开放剂瑞替加滨获美国 FDA 批准用

于成人癫痫部分发作的辅助治疗,但瑞替加滨有导致视网膜色素沉着和视力减退等副反应^[20],因此需要进一步寻找能够上调 A 型钾通道的药物。

本实验研究结果显示,柴胡疏肝汤能减少氯化锂-匹罗卡品颞叶癫痫大鼠痫性发作次数,降低发作级别,并且能上调海马 CA1 区 Kv4.2 和 KChIP1 的表达,说明柴胡疏肝汤可能通过上调 CA1 区 Kv4.2 和 KChIP1 的表达从而增强 A 型钾电流,稳定膜电位,从而起到抗癫痫的作用。此外,结果发现,瑞替加滨组及柴胡疏肝汤组海马 Kv4.2 及 KChIP1 的表达较正常组明显升高,其可能的机制是由于慢性颞叶癫痫影响神经元的正常生理功能,导致突触易化,兴奋性突触后电位上升,因此需要更强的钾电流才能稳定膜电位,从而保护神经元。该假设需要进一步实验证明。

[参考文献]

- [1] Fisher R S, Acevedo C, Arzimanoglou A, et al. ILAE official report; a practical clinical definition of epilepsy [J]. *Epilepsia*, 2014, 55(4):475-482.
- [2] Espinosa-Jovel C A, Sobrino-Mejia F E. Drug resistant epilepsy. Clinical and neurobiological concepts [J]. *Rev Neurol*, 2015, 61(4):159-166.
- [3] Hoffman D A, Magee J C, Colbert C M, et al. K⁺ channel regulation of signal propagation in dendrites of hippocampal pyramidal neurons [J]. *Nature*, 1997, 387(6636):869-875.
- [4] Labno A, Warriar A, Wang S, et al. Local plasticity of dendritic excitability can be autonomous of synaptic plasticity and regulated by activity-based phosphorylation of Kv4.2 [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e84086.
- [5] Chen X, Yuan L L, Zhao C, et al. Deletion of Kv4.2 gene eliminates dendritic A-type K⁺ current and enhances induction of long-term potentiation in hippocampal CA1 pyramidal neurons [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(47):12143-12151.
- [6] Su T, Cong W D, Long Y S, et al. Altered expression of voltage-gated potassium channel 4.2 and voltage-gated potassium channel 4-interacting protein, and changes in intracellular calcium levels following lithium-pilocarpine-induced status epilepticus [J]. *Neuroscience*, 2008, 157(3):566-576.
- [7] Smith S E, Xu L, Kasten M R, et al. Mutant LGI1 inhibits seizure-induced trafficking of Kv4.2 potassium channels [J]. *J Neurochem*, 2012, 120(4):611-621.
- [8] Xiong H, Xia K, Li B, et al. KChIP1: a potential modulator to GABAergic system [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2009, 41(4):295-300.
- [9] Monaghan M M, Menegola M, Vacher H, et al. Altered expression and localization of hippocampal A-type potassium channel subunits in the pilocarpine-induced model of temporal lobe epilepsy [J]. *Neuroscience*, 2008, 156(3):550-562.
- [10] Aronica E, Boer K, Doorn K J, et al. Expression and localization of voltage dependent potassium channel Kv4.2 in epilepsy associated focal lesions [J]. *Neurobiol Dis*, 2009, 36(1):81-95.
- [11] Bernard C, Anderson A, Becker A, et al. Acquired dendritic channelopathy in temporal lobe epilepsy [J]. *Science*, 2004, 305(5683):532-535.
- [12] Zhang Y, Huang Y, Liu X, et al. Estrogen suppresses epileptiform activity by enhancing Kv4.2-mediated transient outward potassium currents in primary hippocampal neurons [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(3):865-872.
- [13] 黄运生,陈宝田,谢炜,等.柴胡疏肝汤添加治疗原发性癫痫 108 例疗效观察 [J]. *中药材*, 2002, 25(5):374-376.
- [14] 陈汉江,张喜莲,刘璇,等.浅析调肝八法在儿童癫痫治疗中的应用 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(1):155-158.
- [15] Turski W A, Cavalheiro E A, Schwarz M, et al. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats; behavioural, electroencephalographic and neuropathological study [J]. *Behav Brain Res*, 1983, 9(3):315-335.
- [16] 谢炜,史国军,李长征,等.柴胡疏肝汤对难治性癫痫大鼠脑电图及多药耐药蛋白 P-糖蛋白表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(3):128-131.
- [17] Xie W, Yu Y H, Du Y P, et al. Saikosaponin a enhances transient inactivating potassium current in rat hippocampal CA1 neurons [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, doi:10.1155/2013/413092.
- [18] Barnwell L F, Lugo J N, Lee W L, et al. Kv4.2 knockout mice demonstrate increased susceptibility to convulsant stimulation [J]. *Epilepsia*, 2009, 50(7):1741-1751.
- [19] Wang K, Lin M T, Adelman J P, et al. Distinct Ca²⁺ sources in dendritic spines of hippocampal CA1 neurons couple to SK and Kv4 channels [J]. *Neuron*, 2014, 81(2):379-387.
- [20] Lerche H, Daniluk J, Lotay N, et al. Efficacy and safety of ezogabine/retigabine as adjunctive therapy to specified single antiepileptic medications in an open-label study of adults with partial-onset seizures [J]. *Seizure*, 2015, 30:93-100.

[责任编辑 周冰冰]