

# 六味地黄丸含药血清对 KCl 诱导 PC12 细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 离子浓度及钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II 的影响

王俊, 陈文娜, 刘慧慧, 柳春\*  
(辽宁中医药大学, 沈阳 110847)

**[摘要]** 目的: 研究六味地黄丸含药血清对 KCl 诱导 PC12 细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度及钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (CaMK II) mRNA 水平的影响。方法: 取对数生长期的 PC12 细胞株(大鼠肾上腺嗜铬肿瘤细胞株), 经 10% 六味地黄丸含药血清预保护 48 h 后, 加入  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl 刺激后, 应用细胞活性检测 (MTT 法) 观察细胞活性和应用激光共聚焦等技术方法观察六味地黄丸含药血清对 PC12 细胞  $\text{Ca}^{2+}$  浓度变化的影响, RT-PCR 法检测各组 PC12 细胞 CaMK II mRNA 表达水平。结果: 10% 六味地黄丸血清 [细胞吸光度 (A) 为  $(1.15 \pm 0.09)$ ] 能显著提升细胞存活率, 与模型组 [细胞吸光度 (A) 为  $(0.47 \pm 0.11)$ ] 相比有显著性差异 ( $P < 0.01$ ); PC12 细胞经 10% 六味地黄丸血清预保护 48 h 后静息钙强度与空白对照组、模型组相比有显著性差异 ( $P < 0.05$ ),  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl 刺激后, 经 10% 六味地黄丸血清预保护 48 h 的细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  平均荧光强度明显低于模型组 ( $P < 0.05$ ), 同时细胞内 CaMK II mRNA 表达显著升高 ( $P < 0.05$ )。结论: 六味地黄丸含药血清对 KCl 诱导 PC12 细胞内钙超载有抑制作用, 且可提高细胞内 CaMK II mRNA 表达水平。

**[关键词]** 六味地黄丸; PC12 细胞; 钙离子; 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0243-05

## Effect of Serum Containing Liuwei Dihuang Wan on Calcium Concentration and Level of CaMKII mRNA in PC12 Cells Induced by KCl

WANG Jun, CHEN Wen-na, LIU Hui-hui, LIU Chun\*  
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of serum containing Liuwei Dihuang Wan on calcium concentration and the level of calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II) mRNA in PC12 cells induced by KCl. **Method:** The models of PC12 cells was established (rat adrenal pheochromocytoma cell line) by being stimulated by  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl. Then Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) containing 10% Liuwei Dihuang Wan serum was added to exponentially-growing PC12 cells for pre-protection. After 48 h, the proliferation of PC12 cells was detected by MTT and the calcium concentration in PC12 cells was observed by laser scanning confocal microscope. The level of CaMK II mRNA was analyzed by RT-PCR. **Result:** It can significantly improve the activity of cells in traditional Chinese medicine treatment group ( $1.15 \pm 0.09$ ), compared with the model group ( $0.47 \pm 0.11$ ), ( $P < 0.01$ ). It can significantly reduced the mean fluorescence intensity of calcium in PC12 cells induced by KCl ( $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in traditional Chinese medicine treatment group compared with the model group ( $P < 0.05$ ). The basic calcium intensity in PC12 cells was down-regulated in traditional Chinese medicine pre-protection group compared with the control group and the model group. In addition, the level of CaMK II mRNA in traditional Chinese medicine treatment group was up-regulated compared with that in model group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The serum containing with 10% Liuwei Dihuang Wan can effectively inhibit the

**[收稿日期]** 20120730(006)

**[第一作者]** 王俊, 助理研究员, 博士在读, 从事中医药对脏腑功能调控作用的信号转导机制研究, E-mail: 20361712@qq.com

**[通讯作者]** \* 柳春, 教授, 医学博士, 博士生导师, 从事中医药对脏腑功能调控作用的信号转导机制研究, E-mail: liuchun5@yahoo.com.cn

intracellular calcium overload induced by KCl and improve the expression of CaMK II mRNA in PC12 cells.

[Key words] Liuwei Dihuang Wan; PC12 cell; calcium concentration; CaMK II

随着我国逐步进入老龄化社会,老年痴呆的发病率也逐年升高。其发病机制众说不一,其中细胞内钙稳态失调在神经细胞损伤、死亡中起很重要作用。 $\text{Ca}^{2+}$  是重要的第二信使,参与神经细胞发育、分化、损伤、修复和凋亡等一系列活动,因此神经细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的稳态调节对神经细胞功能的正常维持有重要意义。CaMK II (钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II) 是神经细胞内由  $\text{Ca}^{2+}$ /CaM (钙离子-钙调蛋白) 激活的重要蛋白激酶,是海马内含量最丰富的一种蛋白激酶。近年来, CaMK II 在学习记忆及老年痴呆病理变化中的作用越来越受到重视。CaMK II 的缺乏、活性降低或过度激活都可能促进或导致老年痴呆的发生<sup>[1-2]</sup>。六味地黄丸为滋阴补肾的经典名方,具有抗氧化、抗衰老的作用<sup>[3]</sup>,临床应用其治疗老年痴呆也取得较好的疗效<sup>[4]</sup>。本实验观察六味地黄丸含药血清对 PC12 细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度及 CaMK II 基因表达的影响,以探讨六味地黄丸预防老年痴呆的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 雄性 SD 大鼠 22 只,体重 300 ~ 350 g,购于北京华阜康生物科技股份有限公司 [SCXK (京) 2009-0004]。按照随机数字法分为 2 组,即空白对照组与六味地黄丸组,每组 10 只,分笼饲养。动物室温度控制在 18 ~ 23 °C,相对湿度 45% ~ 55%。

**1.2 药品与试剂** 六味地黄丸 (北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂,批号 1071957), KCl (安徽合肥工业大学化学试剂厂, 070301), MTT (北京鼎国昌盛生物技术有限公司, M2128), Flou-3, (Biotium. Inc 批号 6F022), Pluronic F-127 (Sigma 分装,批号 13010173), 二甲基亚砜 (Sigma, D5879), 台氏液含:氯化钠 8.0 g, 氯化钾 0.2 g, 氯化镁 0.1 g, 磷酸二氢钠 0.05 g, 碳酸氢钠 1.0 g, 氯化钙 0.2 g, 葡萄糖 1.0 g。RT-PCR 试剂盒 (BK-4501), CaMK II 引物 (SYD12094), TaKaRa,  $\beta$ -actin 引物 (SYD12094), TaKaRa; Trizol 试剂盒 (B2302-1), 琼脂糖 (111860), DEPC (17000116), GENEFINDER (101018) [均为宝生物工程 (大连) 有限公司], 异丙醇, 氯仿, 无水乙醇 (均为国药集团化学试剂有限公司)。

**1.3 细胞株** 细胞 PC12 细胞株 (大鼠肾上腺嗜铬肿瘤细胞株), 高分化, 购于中国科学院上海生命科

学研究所生化与细胞所。

**1.4 仪器** 二氧化碳培养箱 (Thermo, 美国), 倒置相差显微镜 (Leica, 德国), SP5 型激光扫描共聚焦显微镜 (Leica, 德国), Anthos2010 型酶标仪 (奥地利); Jouan C412 型离心机 (法国), 湘仪离心机 (GL-21MC), 梯度 PCR 仪 (Mycycler™ Thermal Cycle, 美国 BIO-RAD); WD-9413B 凝胶成像分析系统 (北京市六一仪器厂), EPS300 型电泳仪 (上海天能科技有限公司), TU-1810 紫外分光光度计 (北京普析通用仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 含药血清的制备** 大鼠按体重随机分为空白对照组和六味地黄丸组, 生药质量浓度为  $0.75 \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$  水溶液<sup>[5]</sup> 按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  六味地黄丸水溶液 ig, 每天 2 次, 空白组给予同体积双蒸水 ig, 连续给药 4 d, 第 5 天首次给药 1.5 h 后腹主动脉取血, 静置 2 h,  $2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min 后分离血清。经 56 °C, 30 min 灭活,  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜过滤灭菌, -20 °C 保存备用。

**2.2 PC12 细胞培养** 取培养瓶中处于对数生长期的 PC12 细胞, 经 0.25% 胰蛋白酶于 37 °C 消化后, 加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养液, 细胞密度为  $1 \times 10^5$  个/mL, 于 37 °C, 5%  $\text{CO}_2$  下继续培养 12 h 后, 细胞贴壁生长, 换用无血清的 DMEM 培养液继续培养 12 h 后用于实验。

**2.3 药物制备** 将  $50 \mu\text{g}$  Fluo-3/AM 溶于  $88 \mu\text{L}$  二甲基亚砜 (DMSO) 中, 配制为  $500 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  原液, -20 °C 避光保存。Pluronic F-127 用 DMSO 配制成 20% 溶液。用 D-Hanks 液将 Fluo-3/AM 稀释成终浓度为  $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 并加入 0.1% 的 Pluronic F-127 备用。

**2.4 分组及药物处理** ①空白对照组: 10% 正常血清; ②模型组: 10% 正常血清 +  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl; ③10% 六味地黄丸血清组: 10% 六味地黄丸血清 (预保护 48 h) +  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl。经  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl 刺激 20 min 后, 用 PBS 洗 2 遍后加入无血清 DMEM 继续培养 6 h。

**2.5 MTT 法测定细胞存活率** 实验结束后, 加入终质量浓度为  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MTT  $10 \mu\text{L}$ , 37 °C, 5%  $\text{CO}_2$  下作用 4 h 后离心弃上清液, 每孔加入 DMSO  $100 \mu\text{L}$ , 置振荡器上振荡 10 min 使结晶充分溶解。酶标

仪检测 492 nm 波长的吸光度(A),每孔 A 值减去空白孔 A 值为测试孔 A 值。活细胞数与 A 值成正比。每组设 8 个复孔。

**2.6 Fluo-3 的负载及激光共聚焦显微镜检测胞质钙** 各组培养 48 h 后,移去培养皿中的原培养液,用 PBS 液冲洗 PC12 细胞 3 次,避光条件下加入  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  染料液 200  $\mu\text{L}$ ,置于 37  $^{\circ}\text{C}$  的  $\text{CO}_2$  孵箱里避光温育 45 min。将染色后的 PC12 细胞用 PBS 液冲洗 3 遍,加入台式液 500  $\mu\text{L}$ 。将培养皿置于激光共聚焦显微镜的载物台上,激发波长为 488 nm,发射波长为 515 ~ 545 nm,采样频率为 488 Hz,空白对照组静态扫描后每隔 10 s 扫描一次,连续动态扫描 180 s。模型组和中药预保护组开始静态扫描 2 次后加入 KCl  $150 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  每隔 2 s 扫描 1 次,连续动态扫描 120 s 选定细胞(每组 8 个细胞)内  $Ca^{2+}$  荧光强度的变化。细胞内  $Ca^{2+}$  荧光强度变化图像由随机软件进行分析处理,得到细胞内  $Ca^{2+}$  变化(相对荧光强度值)的时间-效应曲线,将数据进行整理、统计、分析。

**2.7 细胞内总 RNA 的提取和 RT-PCR 的测定** 反应条件:①94  $^{\circ}\text{C}$ , 2 min;②94  $^{\circ}\text{C}$ , 30 s;③65  $^{\circ}\text{C}$ , 30 s;④72  $^{\circ}\text{C}$ , 1 min;⑤72  $^{\circ}\text{C}$ , 5 min;⑥4  $^{\circ}\text{C}$  保存。其中,②~④为 35 个循环。扩增产物经 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳,所得条带使用 WD-9413B 凝胶成像分析仪进行图像分析。计算 CaMK II mRNA 相对  $\beta$ -actin mRNA 的表达量(%)。

表 1 RT-PCR 中各基因引物序列

基因	引物序列	片段长度 /bp
CaMK II	Forward 5'-AGTCCCGAGCCTAAAGCC-3'	372
	Reverse 5'-CAGCCTCACTGTAATACTCCG-3'	
$\beta$ -actin	Forward 5'-AGTGGCAGCTGGACATCCG-3'	295
	Reverse 5'-TGGCTCTAACAGTCCGCTAG-3'	

**2.8 统计学方法** 实验数据运用 SPSS 11.0 处理,以表示实验结果,进行多组数据的方差分析,组间资料统计用单因素方差分析(ANOVA)检验。 $P < 0.05$  为有统计学意义。

**3 结果**

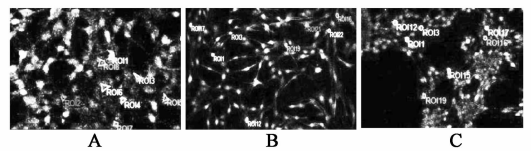
**3.1 KCl 损伤后对各组细胞活力(MTT)的影响** 如表2所示,与空白对照组比较,模型组细胞活力显著降低( $P < 0.01$ );10% 六味地黄丸血清组细胞活性显著优于模型组( $P < 0.01$ )。

表 2 各组细胞损伤后细胞活力的比较( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	药物浓度	A
空白对照	-	$1.15 \pm 0.09$
模型(KCl)	$150 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	$0.47 \pm 0.11^{1)}$
六味地黄丸血清	10%	$1.14 \pm 0.12^{2)}$

注:与空白对照组相比<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组相比<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

**3.2 细胞内  $Ca^{2+}$  变化(相对荧光强度值)的时间-效应变化** 静息时,10% 六味地黄丸血清组细胞内平均荧光强度值低于空白对照组和模型组( $P < 0.05$ ),将  $150 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl 刺激细胞后,细胞内钙迅速升高,与空白对照组比较,模型组细胞内平均荧光强度值显著增大( $P < 0.01$ );与模型组比较,10% 六味地黄丸血清组细胞内平均荧光强度值显著降低( $P < 0.05$ )。图 1 ~ 3。



a. 正常组;b. 模型组;c. 10% 六味地黄丸血清组(图 2,4 同)

图 1 激光共聚焦检测细胞内钙荧光强度

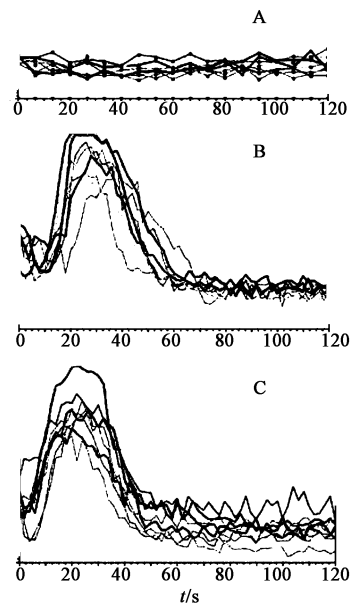
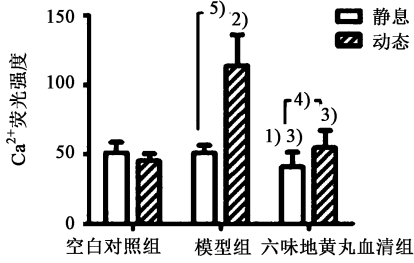


图 2 细胞内钙光强度随时间变化曲线

**3.3 各组细胞 CaMK II 基因表达的变化** 与空白对照组比较,模型组与六味地黄丸血清组细胞的 CaMK II mRNA 表达显著减少( $P < 0.01$ );与模型组比较,六味地黄丸血清组细胞的 CaMK II mRNA 表达显著升高( $P < 0.05$ )。图 4 ~ 5。

**4 讨论**

$Ca^{2+}$  是细胞内重要的信号传导因子,胞内游离钙离子浓度( $[Ca^{2+}]_i$ )的变化是调节细胞生理功能



与空白对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;  
与模型组相比<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ ; 与静息状态相比<sup>4)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.05$

图 3 细胞内  $Ca^{2+}$  变化 (平均荧光强度值,  $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

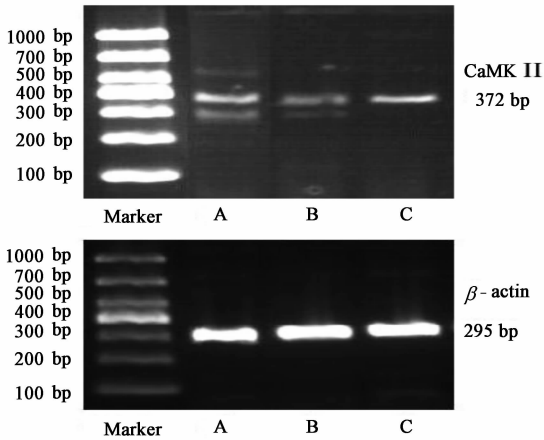
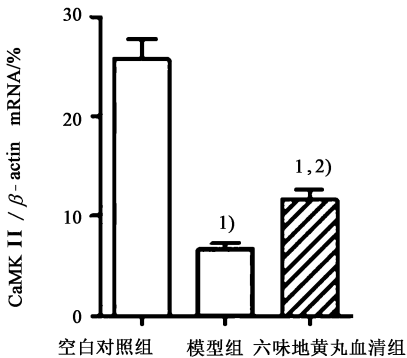


图 4 各组细胞 CaMK II 及  $\beta$ -actin 的 mRNA 表达凝胶电泳



与空白对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组相比<sup>2)</sup>  $P < 0.05$

图 5 各组细胞 CaMK II 及  $\beta$ -actin 的 mRNA 表达凝胶电泳

$[Ca^{2+}]_i$  的持续升高会导致神经细胞损伤和凋亡。本实验运用激光共聚焦显微镜观察 KCl 致 PC12 细胞内  $[Ca^{2+}]_i$  变化的影响。结果表明 KCl 致 PC12 细胞损伤时可使细胞内发生  $Ca^{2+}$  超载, 细胞活力明显减弱。

CaMK II 的激活对学习记忆、基因表达及神经元的可塑性都起着重要的作用<sup>[7]</sup>, 是神经信息传导通路中的重要因子。当 KCl 进入 PC12 细胞后, 细胞去极化使胞内  $Ca^{2+}$  水平快速大幅增高时, 导致磷酸化型 CaMK II 剧增, 致使 CaMK II 活性下降<sup>[8]</sup>, 磷脂酶、核酸内切酶、蛋白酶等被激活, 导致细胞骨架破坏、崩解, 细胞产生不可逆损伤<sup>[9]</sup>, 实验中模型组的 CaMK II mRNA 表达较空白对照组显著减少 ( $P < 0.01$ )。

目前治疗老年痴呆的方法很多, 中药在此方面占有很大优势, 尤其是复方在延缓脑老化方面有丰富的理论和实践经验, 比用单一因素治疗更具有优势<sup>[10]</sup>。祖国医学认为肾精亏损、肾气不足是脑衰老、老年痴呆发生的最基本变化<sup>[11]</sup>。六味地黄丸是滋阴补肾的传统名方, 健脑益智, 已有研究表明其可改善体内自由基代谢和大脑功能, 使人体各组织器官处于正常状态协调运行, 起到延缓衰老的作用<sup>[12]</sup>。实验也表明长期给予六味地黄丸可提高快速老化模型小鼠记忆获得和记忆保持能力, 改善其空间记忆能力并部分改善其条件性回避反应能力<sup>[13]</sup>。本试验六味地黄丸含药血清预保护 PC12 细胞 48 h, 当 KCl 作用细胞时, 10% 六味地黄丸血清组明显减轻细胞内  $Ca^{2+}$  超载的效应, 从而提高细胞活力, 提高细胞内 CaMK II mRNA 表达, 而正常大鼠血清无此效应。六味地黄丸的作用机制可能是通过阻止胞内  $Ca^{2+}$  超载, 维持和调节细胞内  $Ca^{2+}$  稳态, 进而调控 CaMK II 的基因表达, 发挥其 PC12 细胞的保护作用。本实验初步揭示了六味地黄丸预防老年痴呆的可能机制和作用靶点与  $[Ca^{2+}]_i$  的变化密切相关, 其深入作用机制有待进一步研究。

[参考文献]

[ 1 ] Jayanthi L D, Wilson J J, Montalvo J, et al. Differential regulation of mammalian brain-specific praline transporter by calcium and calcium dependent protein kinases [ J ]. Br J Pharmacol, 2000, 129 ( 3 ) : 465.  
[ 2 ] Chen G, Greengard P, Yah Z. Potentiation of NMAD receptor currents by dopamine D 1 receptors in prefrontal coax [ J ]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101 ( 8 ) : 2596.

的物质基础。正常时细胞通过一系列转运机制维持细胞内低钙状态, 但大量的 KCl 可引起  $Ca^{2+}$  平衡系统功能失调,  $Ca^{2+}$  分布紊乱, 导致细胞内  $Ca^{2+}$  浓度异常性升高, 即  $Ca^{2+}$  超载。  $Ca^{2+}$  超载时可损伤细胞膜和线粒体, 引起细胞损伤, 从而加速了不可逆转的细胞死亡。1994 年 Khachaturian 提出了阿尔茨海默病 ( Alzheimer disease, AD ) 的钙稳态学说<sup>[6]</sup>, 认为

# 葛根素对 6-羟多巴胺致帕金森病模型大鼠黑质组织神经细胞的保护作用

黎荣<sup>1</sup>, 徐灵源<sup>2</sup>, 梁韬<sup>3</sup>, 张士军<sup>3</sup>, 李勇文<sup>1</sup>, 段小群<sup>1\*</sup>

(1. 桂林医学院, 广西 桂林 541004; 2. 右江民族医学院附属医院药剂科, 广西 百色 533000;  
3. 广西医科大学, 南宁 530021)

**[摘要]** 目的: 研究葛根素对 6-羟多巴胺(6-OHDA)致帕金森病(PD)模型大鼠黑质组织神经细胞的保护作用。方法: 建立帕金森病大鼠模型, 随机分成 5 组: 模型组、左旋多巴阳性组及葛根素低、中、高剂量组。ig 给予葛根素 20, 40, 80 mg·kg<sup>-1</sup>, 阳性组给予左旋多巴 40 mg·kg<sup>-1</sup>, 连续灌胃 30 d。检测黑质组织中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)活性以及丙二醛(MDA)含量, 进行黑质神经细胞常规染色观察, Western blot 法检测黑质组织内诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、环-磷酸腺苷(cAMP)反应元件结合蛋白(CREB)蛋白表达。**结果:** 葛根素能缓解帕金森模型大鼠病情。与模型组比较, 葛根素有效增加帕金森病大鼠黑质组织中 GSH-Px、SOD 活性, 同时降低 MDA 含量 ( $P < 0.01$ )。下调黑质组织中 iNOS 蛋白水平, 并上调 CREB 蛋白表达 ( $P < 0.01$ )。**结论:** 葛根素对 6-羟多巴胺所致 PD 大鼠黑质组织神经细胞具有保护作用, 机制可能与其抑制过氧化应激作用以及调节内源性 iNOS、CREB 蛋白的表达有关。

**[关键词]** 葛根素; 6-羟多巴胺; 帕金森病; 过氧化应激; 保护作用

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0247-04

## Protective Effect of Puerarin on Nerve Cells in Substantia Nigra of Parkinson's Disease Rats Induced by 6-hydroxydopamine

LI Rong<sup>1</sup>, XU Ling-yuan<sup>2</sup>, LIANG Tao<sup>3</sup>, ZHANG Shi-jun<sup>3</sup>, LI Yong-wen<sup>1</sup>, DUAN Xiao-qun<sup>1\*</sup>

(1. Guilin Medical University, Guilin 541004, China;

**[收稿日期]** 20120711(015)

**[第一作者]** 黎荣, 硕士, 从事抗帕金森研究, Tel: 13407720550, E-mail: lirong1278@163.com

**[通讯作者]** \* 段小群, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事抗帕金森研究, Tel: 0773-5895291, E-mail: duanxiaogun668@163.com

- [3] 周坤福, 王明艳, 赵凤鸣, 等. 六味地黄丸延缓衰老作用机理的实验研究[J]. 江苏中医, 1999, 20(1): 44.
- [4] 卿照前. 六味地黄丸延缓老年痴呆症 50 例疗效观察[J]. 中国中医药科技, 2007, 16(5): 373.
- [5] 郝艳鹏, 张悦, 刘煜敏, 等. 六味地黄丸含药血清对 HK-2 细胞对 TGF- $\beta$ Smad 信号通路的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(1): 149.
- [6] Lukasz Bojarski, Jochen Herms, Jacek Kuznicki. Calcium dysregulation in Alzheimer's disease [J]. Neurochemistry International, 2008, 52: 621.
- [7] Frankland P W, O' Brien C, Ohno M, et al. Alpha-CaMK II-dependent plasticity in the cortex is required for permanent memory [J]. Nature, 2001, 411(6835): 309.
- [8] 李燕华, 李吕力, 王铁建, 等. 大鼠脑缺血后 P-CaMK II 的表达与 Ca<sup>2+</sup> 浓度的关系[J]. 中国急救医学, 2006, 26(6): 436.
- [9] 何雨, 金玉芬. 血管性痴呆大鼠海马钙调蛋白激酶 II 变化机制的研究[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(1): 116.
- [10] 杨斌. 复方地黄对老年痴呆动物模型学习记忆能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 195.
- [11] 孙蓉, 钱晓路, 张丽美. 基于当归有效成分的抗早老性痴呆药理作用及分子机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 255.
- [12] 周慧生. 六味地黄丸延缓衰老作用的理论探讨[J]. 光明中医, 2006, 21(10): 45.
- [13] 周建政, 张永祥, 周金黄. 六味地黄汤对快速老化模型小鼠学习记忆能力的改善作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5(4): 29.

[责任编辑] 聂淑琴