

益气活血中药脑泰方对脑缺血后海马 CA2 区铁跨膜转运蛋白表达的调节作用

廖 君 杨 梅 石咏梅 余清平 黄 娟 葛金文

(湖南中医药大学,长沙,410208)

摘要 目的:研究脑缺血后铁跨膜转运蛋白:转铁蛋白受体(Transferrin Receptor,TFR)、膜铁转运蛋白(Ferroportin,Fpn)、二价金属离子转运体(Divalent Metal Ion Transporter 1,DMT1)、人类猫白血病 C 亚类病毒受体(Feline Leukemia Virus Subgroup C Receptor,FLVCR)、胸腺癌抵抗蛋白(Breast Cancer Resistance Protein,BCRP)在益气活血法脑泰方(黄芪、川芎、地龙、僵蚕)干预后的表达变化。方法:随机将 SD 大鼠分为假手术组、模型组、脑泰方低、中、高剂量组(3、9、27 g/kg)。各组大鼠预处理灌胃给药连续 3 d,大脑中动脉栓塞法(Middle Cerebral Artery Occlusion,MCAO)模型制备术后连续灌胃给药 3 d,1 次/d。术后 3 d 取材,免疫组织化学及 Western-blot 检测 TFR、Fpn、DMT1、FLVCR、BCRP 的表达。结果:脑泰方高剂量组缺血海马 CA2 区 TFR 表达明显降低($P < 0.05$),DMT1 量的表达减少($P < 0.05$),Fpn 表达明显增高($P < 0.05$)。脑泰方各剂量组 FLVCR 表达明显增高($P < 0.05$),各脑泰方治疗组 BCRP 表达与模型组无差异。结论:脑泰方通过减少 TFR、DMT1 的表达,抑制铁的细胞内转运,增加 Fpn、FLVCR 的表达,促进胞内铁的外排,调节铁代谢,起到神经元的保护作用。

关键词 脑泰方提取物;铁跨膜转运蛋白;脑缺血

Naotai Formula's Regulation Effects on Expression of Iron Transmembrane Protein in Hippocampus CA2 of Cerebral Ischemia Rats

Liao Jun, Yang Mei, Shi Yongmei, Yu Qingping, Huang Juan, Ge Jinwen

(Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

Abstract Objective: To observe the effects of Naotai Formula, a qi-replenishing and blood-activating formula made up by Milkvetch Root, Sichuan Lovage Rhizome, Earthworm, Stiff Silkworm on TFR, Fpn, DMT1, FLVCR and BCRP of rats with focal cerebral ischemia. **Methods:** The rats were randomly divided into five groups as following: sham operation group, model group, low dose group of NTE(3 g/kg), medial dose group of NTE(9 g/kg), and large dose group of NTE(27 g/kg). After three days of corresponding therapy by intragastric administration once a day, the regional cerebral ischemia model was reproduced by middle cerebral artery occlusion(MCAO) with suture method. After three days, the rats were treated with previous therapy. On the third day, TFR, Fpn, DMT1, FLVCR and BCRP of rats were observed by immunohistochemical method and Western-blot. **Results:** The expression of the TFR and DMT1 decreased in large dose group of NTE($P < 0.05$); the expression of the Fpn increased in large dose group of NTE ($P < 0.05$); the expression of the FLVCR increased in each NTE dose group($P < 0.05$); the expression of BCRP had no obvious change. **Conclusion:** Naotai formula increased expression of Fpn and FLVCR, promoted the efflux of intracellular iron, decreased expression of TFR, DMT1, and inhibited the influx of iron, regulated the iron metabolism and played a role in the protection of neurons.

Key Words Naotai Formula extract (NTE); Iron transmembrane proteins; Cerebral ischemia

中图分类号:R2-031 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.04.007

铁是神经元功能和生存的一个重要微量元素。铁在 DNA 和蛋白质合成中,及神经递质和电子传递链中起重要作用。铁离子也是一种催化剂,显著增加活性氧(Reactive Oxygen Species,ROS)的浓度。

已有研究表明脑缺血后铁聚集导致神经元氧化应激损伤^[1-3]。关于细胞内外铁离子转运,我们提出“两个中心,3 个体系,网络调控”的工作模式^[4]。非血红素铁跨膜转运蛋白有:转铁蛋白受体(Transferrin

基金项目:国家自然科学基金青年项目(编号:81303078)——基于铁代谢失调探讨脑缺血及缺血再灌注损伤新机制及益气活血法的干预作用;湖南省科技厅一般项目(编号:2014SK3052)——PI3-K/Akt 通路对骨髓间充质干细胞移植的调控及机制研究;湖南省中医药管理局一般项目(编号:201593)——从亚细胞应激反应的角度探讨益气活血法治疗脑缺血的分子机制

作者简介:廖君(1978.11—),女,博士,副教授,教研室副主任,脑缺血的中医药防治,E-mail:84085006@qq.com

通信作者:葛金文(1964.09—),男,博士,教授,副校长,脑缺血的中医药防治,E-mail:40831556@qq.com

Receptor, TFR)、二价金属离子转运体(Divalent Metal Ion Transporter, DMT1)、膜铁转运蛋白(ferroportin, Fpn)。血红素铁转运蛋白包括:人类猫白血病 C 亚类病毒受体(Feline Leukemia Virus Subgroup C Receptor, FLVCR)和乳腺癌抵抗蛋白(Breast Cancer Resistance Protein, BCRP)。铁的吸收和外排是通过各种铁跨膜转运蛋白来实现的,前期研究表明益气活血中药脑泰方提取物具有良好的脑缺血治疗的临床效果^[5],本实验通过观察脑泰方干预脑缺血后铁跨膜转运蛋白 TFR、DMT1、Fpn、FLVCR、BCRP 的表达,研究益气活血中药脑泰方干预治疗脑缺血的新机制。

1 材料

1.1 实验动物 150 只 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠,体重 250 ~ 280 g,清洁级,8 周龄。由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,合格证号:SCXK(湘)2009-0004,符合清洁级实验动物标准。

1.2 药物 脑泰方提取物分别为黄芪、川芎、地龙、僵蚕 4 味药,按照 8:2:3:3 比例组成,经水煎、醇提后制成浸膏粉(由湖南中医学院药学院制剂教研室提取),1 g 浸膏粉含 4 g 生药粉。临用时以生理盐水调成所需浓度。

1.3 试剂与仪器 TFR 多克隆抗体(SANTA CLUZ),Fpn 多克隆抗体(Proteintech),DMT1(博奥森),FLVCR 多克隆抗体(SANTA CLUZ),BCRP(Proteintech),三羟甲基乙二胺(Tris,Genview),甘氨酸(北京鼎国),丙烯酰胺(Sigma),N,N'-亚甲基双丙烯酰胺(Genview),AP(过硫酸胺,Sigma),TEMED(N,N,N',N'-四甲基乙二胺,Sigma),蛋白预染 Marker(105KD-2KD,Genview),ECL 发光液(Amersham),电泳仪(北京百晶生物技术),垂直电泳槽(BIO-Rad),转移电泳槽(BIO-Rad),转移脱色摇床(海门其林贝尔仪器),制冰机(AF10 SCOTSMAN),日本 Olympus 公司 BX51 光学显微镜,彩色图像分析系统(Optimas,美国)

1.4 分组及给药方法 SD 大鼠 150 只,随机分 5 组,每组 30 只,分别为脑泰方提取物(NTE)低、中、高剂量组(灌胃剂量分别是 3 g/kg,9 g/kg,27 g/kg)和假手术组(灌胃生理盐水)、模型组(灌胃生理盐水)。药物剂量按人鼠体表面积折算等效比率计量表,计算出大鼠的等效剂量。每次灌胃容量为 1 mL/100 g 大鼠,1 次/d,术前灌胃 3 d,术后灌胃 3 d。于最后 1 次给药后 1 h 麻醉,取标本。

1.5 大鼠局部性脑缺血模型的建立 大脑中动脉

栓塞法(Middle Cerebral Artery Occlusion, MCAO) MCAO 大鼠模型参照 Garcia TH 建立的方法^[6]改进。实验选择 250 ~ 280 g SD 大鼠,线栓用直径为 0.28 mm 的鱼线,前端蘸蜡成光滑的球形。动物麻醉用 10% 水合氯醛(35 mg/kg)腹腔注射。仰卧位固定,于颈正中中线切口,沿胸锁乳突肌内侧缘分离肌肉和筋膜,分离右侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)及颈内动脉(ICA),在 CCA 的远心端和近心端及 ECA 处挂线备用。微动脉夹暂时夹闭 ICA,近心端结扎 CCA、ECA。然后在距 CCA 分叉 4 mm 处剪一小口,将拴线插入 ICA,用眼科镊轻推拴线,从血管分叉处开始算距离,当插入深度 18 mm 时,紧紧系牢 CCA 远心端的细线。血管外的拴线不要留得过长,不需缝在皮外,以防大鼠醒来后自行拔出。缝合伤口,单笼饲养观察。

1.6 免疫组化 石蜡切片烘烤,脱蜡,蒸馏水冲洗 3 min × 2 次,3% H₂O₂ 孵育 10 min,蒸馏水冲洗 3 min × 2 次,完成微波修复,PBS 冲洗 5 min × 3 次,分别加入稀释 100 倍的兔抗鼠 TFR、Fpn、FLVCR、BCRP 37 °C 2 h,PBS 冲洗 5 min × 3 次,加入二抗 PV-600/山羊抗兔 IgG,37 °C 孵育 30 min,PBS 冲洗 5 min × 3 次,然后 DAB 显色。阳性细胞浆或细胞核着棕黄色,切片于光镜下放大 400 倍,经图像分析仪对每个切片随机选择 5 个视野。采用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行检测,得出每张图片积分光密度(IOD)值。

1.7 Western blot 1) SDS-PAGE 凝胶配制。2) 样品变性及电泳:加入相应体积的总蛋白样品与 5 × 蛋白质凝胶电泳上样缓冲液,95 °C 变性 10 min,将样品轻轻加入凝胶孔中,接通电源,电泳仪设置成稳压状态,将电压调至 80 V 使样品通过浓缩胶与分离胶(电压约 8 V/cm)。110KD 左右的 Marker 跑至凝胶中间位置,停止电泳。3) 凝胶转膜及检测:凝胶电泳结束,将凝胶上分离到的蛋白条带通过转移电泳方式转印至固相支持物上,一抗反应:将一抗用封闭液稀释 1 000 倍;将封闭后的膜直接置入一抗工作液中,4 °C 反应过夜。二抗反应:将二抗用 1 × TBST 稀释 3 000 倍;将洗涤后的一抗反应膜放入二抗工作液中(室温、避光缓慢摇动)60 min。曝光及洗片:曝光完成后将膜用 PBST 洗 10 min,用膜再生液洗涤 30 min,再用 PBST 洗 10 min × 3,将膜封闭后再加一抗进行下一个抗体的检测。

2 结果

2.1 各治疗组血红素铁及非血红素铁转运蛋白免

疫组化结果 与模型组比较,假手术组及各 NTE 组 TFR 的积分光密度值(IOD) 较低($P < 0.05$);与假手术组比较, NTE 高剂量组 Fpn 的积分光密度值(IOD) 明显增高($P < 0.05$),模型组和 NTE 低、中剂量组 IOD 值无统计学意义;与模型组比较,假手术组及 NTE 高剂量组 FLVCR 的积分光密度值(IOD) 较

高($P < 0.05$),与假手术组比较,模型组和 NTE 低、中剂量组 IOD 值明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,假手术组 BCRP 积分光密度值(IOD) 增高($P < 0.05$),与假手术组比较,其他各组 BCRP 表达的 IOD 均降低($P < 0.05$),NTE 各剂量组与模型组 IOD 无统计学意义(见表 1,图 1)。

表 1 免疫组化检测脑缺血后各治疗组 TFR、Fpn、FLVCR、BCRP 的 IOD 值($\bar{x} \pm s$)					
组别	鼠数	TFR(IOD)	Fpn(IOD)	FLVCR(IOD)	BCRP(IOD)
假手术组	10	264. 41 $\pm$ 27. 56 $^{\Delta}$	244. 13 $\pm$ 61. 72	2188. 52 $\pm$ 206. 65 $^{\Delta}$	1439. 89 $\pm$ 95. 94 $^{\Delta}$
模型组	10	1093. 87 $\pm$ 107. 91 *	366. 75 $\pm$ 26. 01	377. 09 $\pm$ 89. 44 *	1089. 28 $\pm$ 61. 67 *
NTE 低剂量组	10	500. 27 $\pm$ 46. 79 $^{* \Delta}$	453. 79 $\pm$ 27. 23	677. 95 $\pm$ 92. 07 *	703. 47 $\pm$ 63. 74 *
NTE 中剂量组	10	416. 31 $\pm$ 36. 37 $^{\Delta}$	348. 10 $\pm$ 52. 60	820. 39 $\pm$ 169. 02 *	819. 92 $\pm$ 49. 28 *
NTE 高剂量组	10	303. 36 $\pm$ 34. 65 $^{\Delta}$	706. 36 $\pm$ 91. 32 $^{* \Delta}$	1877. 87 $\pm$ 252. 04 $^{\Delta}$	1006. 90 $\pm$ 60. 60 *

注:与假手术组比较: $^{*} P < 0.05$;与模型组比较: $^{\Delta} P < 0.05$ 。

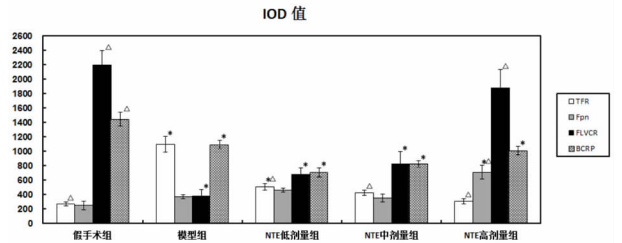


图 1 免疫组化检测脑缺血后各治疗组海马 CA2 区 TFR、Fpn、FLVCR、BCRP 表达的 IOD 值
注:与假手术组比较: $^{*} P < 0.05$;与模型组比较: $^{\Delta} P < 0.05$ 。

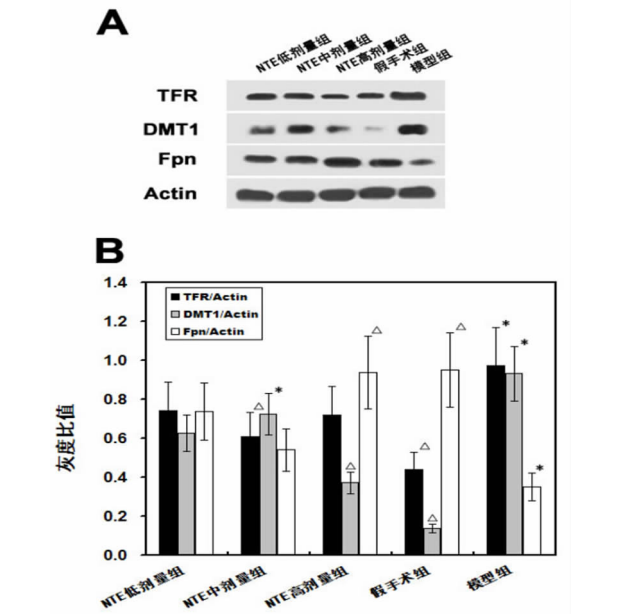


图 2 Western-blot 检测脑缺血后不同治疗组 TFR、DMT1 和 Fpn 的表达
注:A. 脑缺血后 NTE 低剂量组 3 g/kg、NTE 中剂量组 9 g/kg、NTE 高剂量组 27 g/kg、假手术组和模型组 Western-blot 结果. B. 脑缺血后不同治疗组 TFR/Actin、DMT1/Actin 和 Fpn/Actin 灰度比值,与假手术组比较($^{*} P < 0.05$),与模型组比较($^{\Delta} P < 0.05$)。

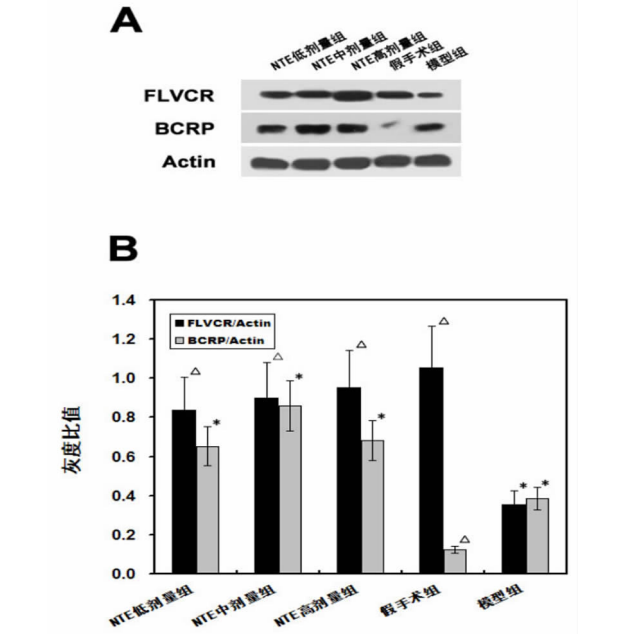


图 3 Western-blot 检测脑缺血后不同治疗组 FLVCR 和 BCRP 的表达
注:A. 脑缺血后 NTE 低剂量组 3 g/kg、NTE 中剂量组 9 g/kg、NTE 高剂量组 27 g/kg、假手术组和模型组 Western-blot 结果. B. 脑缺血后不同治疗组 FLVCR/Actin 和 BCRP/Actin 灰度比值,与假手术组比较($^{*} P < 0.05$),与模型组比较($^{\Delta} P < 0.05$)。

2.2 非血红素铁转运蛋白 Western blot 结果 脑缺血后 NTE 干预海马 CA2 区:与模型组比较,假手术组及 NTE 中剂量组的 TFR 表达降低($P < 0.05$);假手术组和 NTE 高剂量组较模型组的 DMT1 表达明显减少($P < 0.05$);与假手术组比较,模型组的 Fpn 的表达降低($P < 0.05$),与模型组比较,假手术组和 NTE 高剂量组 Fpn 表达明显增加($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 血红素铁转运蛋白 Western blot 结果 脑缺血后 NTE 干预海马 CA2 区:与模型组比较,假手术组及 NTE 各剂量组的 FLVCR 表达明显增加 ($P < 0.05$);与假手术组比较,NTE 低、中、高剂量组及模型组 BCRP 表达均明显增加 ($P < 0.05$),NTE 低、中、高剂量组与模型组 BCRP 表达无统计学意义。见图 3。

3 讨论

急性脑血管病归属于中医学中风病的范畴,中风病又名“卒中”。是以猝然昏仆,不省人事,半身不遂,口眼歪斜,语言不利为主的病症。因起病急骤,变化迅速,症见多端,与自然界善行数变之风邪特征相似,故名“中风”。按病位深浅分为中脏腑和中经络,按病性分为缺血中风和出血中风。临床证明中药治疗脑缺血中风具有肯定效果。随着中药治疗脑缺血损伤机制的研究,提出“多途径、多靶点”^[7-9],为中药治疗脑缺血的基础研究及临床合理用药提供了依据。

方中选用黄芪为君药,黄芪借其力专、性走,周行全身,大补脾胃元气,令气旺则血活,血活则瘀除,以治其本;川芎活血行气,气行则血行,是为臣药;地龙、僵蚕具有通经活络,化痰熄风的功效,两者均为佐药,诸味配合,共奏益气活血通络,祛风化痰之效。实验组获得脑泰方提取物,是采用正交设计的方法,有效的优选乙醇提取黄芪、川芎,水提地龙和僵蚕。通过对黄芪、川芎、地龙和僵蚕的定性鉴别以及对有效成分黄芪多糖、川芎嗪、阿魏酸含量测定研究,建立有效和稳定的控制制剂的质量标准,从而更好的保证药品的疗效及安全。有研究表明黄芪和三七治疗脑缺血可能是通过 JAK1/STAT1^[10] 途径抑制 NF- κ B 表达、调节内质网应激及抗炎、通过 JNK^[11-12] 达到抗凋亡的作用。川芎降低脑缺血后血脑屏障渗透性保护神经元^[13],川芎嗪通过抑制氧化应激和 Bcl-2、Bax 蛋白减少脑缺血后细胞凋亡,通过抑制炎症因子 TNF- α 、IL-8 减少炎症反应发生^[14]。僵蚕可以抑制脑缺血后兴奋性谷氨酸导致的神经元损伤^[15]。前期研究表明益气活血中药脑泰方通过 HIF-1 α /VEGF 通路^[16]及上调 VEGF-Notch1 信号通路^[17]促进脑缺血再灌注后血管新生。通过抑制 MMP-9、PA 及增加 TIMP-1 的表达脑泰方保护血脑屏障,以此减少脑水肿的发生^[18-19]。

铁广泛存在于脑组织中,铁跨膜转运蛋白在维持铁平衡过程中具有重要作用。脑微血管内皮细胞浆膜的 TFR 通过结合 TF 能完成约 50% 以上的铁吸

收^[20]。除 TFR 外,DMT1 也是跨膜铁离子转运体。在周围神经系统中雪旺细胞摄取非 TF 结合铁是通过 DMT1 完成^[21]。研究发现在大脑皮质、海马、丘脑、脑干和小脑的神经元胞体,少突胶质细胞及脉络丛均有 Fpn 的表达^[22]。神经元轴突损伤后,星形胶质细胞可通过 Fpn 分泌铁离子来促进髓鞘再生^[23]。BCRP 作为血红素铁输出蛋白,在血脑屏障内皮细胞及脑实质细胞上均有表达,临床研究中常作为药物通过血脑屏障的载体^[24]。近年来,研究发现 BCRP 与阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)中 A β 肽沉积的发病机理具有关联^[25-26]。脑缺血后铁聚集导致大量羟自由基生成,促进膜脂质和活性氧生成,细胞毒性损伤^[1]。本课题组研究脑泰方提取物干预脑缺血后非血红素铁转运蛋白 TFR、Fpn、DMT1 及血红素铁转运蛋白 FLVCR、BCRP 的表达。实验表明与模型组比较,NTE 高剂量组缺血海马 CA2 区 TFR 表达明显降低 ($P < 0.05$),DMT1 量的表达减少 ($P < 0.05$),Fpn 表达明显增高 ($P < 0.05$)。NTE 各剂量组 FLVCR 表达较模型组明显增高 ($P < 0.05$),各 NTE 治疗组 BCRP 的表达与模型组无差异。本课题组提出,益气活血中药脑泰方可能是通过减少 TFR、DMT1 的表达,抑制铁的细胞内转运,增加 Fpn、FLVCR 的表达,促进胞内铁的外排,调节铁代谢,起到神经元的保护作用。

参考文献

- [1] Lu Q, Harris VA, Rafikov R, et al. Nitric oxide induces hypoxia ischemic injury in the neonatal brain via the disruption of neuronal iron metabolism[J]. Redox Biol, 2015, 23(6): 112-121.
- [2] van Etten ES, van der Grond J, Dumas EM, et al. MRI Susceptibility Changes Suggestive of Iron Deposition in the Thalamus after Ischemic Stroke[J]. Cerebrovasc Dis, 2015, 40(1-2): 67-72.
- [3] Minhas G, Modgil S, Anand A. Role of iron in ischemia-induced neurodegeneration: mechanisms and insights[J]. Metab Brain Dis, 2014, 29(3): 583-91.
- [4] 廖君, 葛金文. 铁跨膜转运蛋白与脑神经疾病的相关性研究进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(11): 76-78, 81.
- [5] 贺运河, 郝晓元, 葛金文. 脑泰方治疗气虚血瘀证脑梗塞临床研究[J]. 中国中医急症, 2001, 10(6): 319-321.
- [6] Garcia TH. A reliable method to occlude a middle cerebral in wistar rats[J]. Stroke, 1993, 24(9): 1423.
- [7] 刘丽宁. 传统中药临床应用优势之一多靶点探讨[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(3): 745-746.
- [8] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇[J]. 药学报, 2012, 47(6): 696-703.
- [9] 陈娟, 顾俊菲, 汪春飞, 等. 组分结构中药与网络药理学: 病理机制网络的系统整体调控[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(4): 758-764.

- [10] Huang XP, Ding H, Lu JD, et al. Effects of the Combination of the Main Active Components of Astragalus and Panax notoginseng on Inflammation and Apoptosis of Nerve Cell after Cerebral Ischemia-Reperfusion[J]. Am J Chin Med, 2015, 18: 1-20.
- [11] Huang XP, Tan H, Chen BY, et al. Combination of total astragalus extract and total Panax notoginseng saponins strengthened the protective effects on brain damage through improving energy metabolism and inhibiting apoptosis after cerebral ischemia-reperfusion in mice[J]. Chin J Integr Med, 2015: 24.
- [12] Liu G, Song J, Guo Y, et al. Astragalus injection protects cerebral ischemic injury by inhibiting neuronal apoptosis and the expression of JNK3 after cerebral ischemia reperfusion in rats[J]. Behav Brain Funct, 2013, 9: 36. doi: 10.1186/1744-9081-9-36.
- [13] Tan F, Fu W, Cheng N, et al. Ligustrazine reduces blood-brain barrier permeability in a rat model of focal cerebral ischemia and reperfusion[J]. Exp Ther Med, 2015, 9(5): 1757-1762.
- [14] Zhang C, Teng F, Tu J, et al. Ultrasound-enhanced protective effect of tetramethylpyrazine against cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e113673.
- [15] Koo BS, An HG, Moon SK, et al. Bombycis corpus extract (BCE) protects hippocampal neurons against excitatory amino acid-induced neurotoxicity[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2003, 25(2): 191-201.
- [16] 陈懿, 朱惠斌, 廖君, 等. 脑泰方对脑缺血再灌注大鼠 HIF-1 α /VEGF 的调节作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(10): 1205-1230.
- [17] 陈懿, 葛金文, 廖君, 等. 局灶性脑缺血大鼠 VEGF/Notch1 信号分子的表达及脑泰方的调节作用[J]. 中国老年学杂志, 2014, 10(34): 5784-5786.
- [18] 廖君, 张薇, 夏兴, 等. 脑泰方对局灶性脑缺血大鼠脑组织核因子- κ B、基质金属蛋白酶 9 及其抑制剂表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2013, 20(9): 28-30.
- [19] 廖君, 葛金文, 陈懿, 等. 脑泰方对局灶性脑缺血大鼠血清 MMP-9、PA 及 TIMP-1 表达的影响[J]. 中国中医药现代远程教育杂志, 2013, 11(3): 150-152.
- [20] McCarthy RC, Kosman DJ. Mechanistic analysis of iron accumulation by endothelial cells of the BBB[J]. Biometals, 2012, 25(4): 665-675.
- [21] Vivot RM, Goitia B, Usach V, et al. DMT1 as a candidate for non-transferrin-bound iron uptake in the peripheral nervous system[J]. Biofactors, 2013, 39(4): 476-484.
- [22] Boserup MW, Lichota J, Haile D. Heterogenous distribution of ferroportin-containing neurons in mouse brain[J]. Biometals, 2011, 24(2): 357-375.
- [23] Schulz K, Kroner A, David S. Iron efflux from astrocytes plays a role in remyelination[J]. J Neurosci, 2012, 32(14): 4841-4847.
- [24] Yasuda K, Cline CB, Vogel P, et al. Drug Transporters on Arachnoid Barrier Cells Contribute to the Blood-cerebrospinal Fluid Barrier[J]. Drug Metab Dispos, 2013, 41(4): 923-931.
- [25] Abuznait AH, Kaddoumi A. Role of ABC Transporters in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease[J]. ACS Chem Neurosci, 2012, 3(11): 820-831.
- [26] Wolf A, Bauer B, Hartz AM. ABC Transporters and the Alzheimer's Disease Enigma[J]. Front Psychiatry, 2012, 3: 54.

(2016-03-24 收稿 责任编辑: 洪志强)

(上接第 591 页)

- [17] Kong QX, Wu ZY, Chu X, et al. Study on the anti-cerebral ischemia effect of borneol and its mechanism[J]. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2013, 11(1): 161-164.
- [18] Hayashi Y, Homma K, Ichijo H. SOD1 in neurotoxicity and its controversial roles in SOD1 mutation-negative ALS[J]. Adv Biol Regul, 2015: 31.
- [19] Penke B, Ferenc B, Fül p L. Protein Folding and Misfolding, Endoplasmic Reticulum Stress in Neurodegenerative Diseases; in Trace of Novel Drug Targets[J]. Curr Protein Pept Sci, 2015, Nov 1. [Epub ahead of print]
- [20] Sun X, Crawford R, Liu C, et al. Development-dependent regulation of molecular chaperones after hypoxia-ischemia[J]. Neurobiol Dis, 2015, 82: 123-131.
- [21] Liu X, Zhao S, Liu F, et al. Remote ischemic postconditioning alleviates cerebral ischemic injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis[J]. Transl Stroke Res, 2014, 5(6): 692-700.
- [22] Yang W, Shen Y, Chen Y, et al. Mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor prevents neuron loss via inhibiting ischemia-induced apoptosis[J]. J Neurol Sci, 2014, 344(1-2): 129-138.
- [23] Oida Y, Izuta H, Oyagi A, et al. Induction of BiP, an ER-resident protein, prevents the neuronal death induced by transient forebrain ischemia in gerbil[J]. Brain research, 2008, 1208(1): 217-224.
- [24] Nakka VP, Gusain A, Raghurib R. Endoplasmic reticulum stress plays critical role in brain damage after cerebral ischemia/reperfusion in rats[J]. Neurotox Res, 2010, 17(2): 189-202.
- [25] Duan SR, Wang JX, Wang J, et al. Ischemia induces endoplasmic reticulum stress and cell apoptosis in human brain[J]. Neuroscience letters, 2010, 475(3): 132-135.
- [26] 胡守玉, 梁丽娜, 战丽彬, 等. 滋补脾阴方药对脾阴虚糖尿病大鼠大脑皮质内质网应激的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(1): 42-53.
- [27] 李晓峰, 张红, 董艳玲, 等. 参麦注射液对大鼠神经元内质网应激诱导凋亡的影响[J]. 中国老年医学杂志, 2010, 30(2): 187-190.
- [28] 黄澈, 闵鹤鸣, 闵连秋. 原青花素对脑缺血再灌注大鼠海马内质网应激相关分子 GRP78 和 CHOP 表达的影响[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(2): 156-159.

(2016-03-24 收稿 责任编辑: 洪志强)