

电针结合经颅磁刺激对局灶性脑缺血大鼠 p-CREB 表达的影响*

黄国付^{1,2} 黄晓琳^{1,3} 郭铁成¹ 陈红¹ 韩肖华¹

摘要 目的: 探讨电针结合重复经颅磁刺激 (rTMS) 对局灶性脑缺血大鼠磷酸化环腺苷酸反应元件结合蛋白 (p-CREB) 表达的影响及其治疗缺血性脑损伤的机制。**方法:** Wistar 大鼠 75 只, 采用线栓法制备大鼠大脑中动脉闭塞模型, 随机分为正常组、模型组、电针组、rTMS 组和电针结合 rTMS 组, 通过免疫组化检测脑缺血后第 7 天、第 14 天与第 28 天三个不同时相大鼠海马胞核内 p-CREB 表达的变化, 并观测其神经功能评分和学习记忆能力。**结果:** 脑缺血后不同时相缺血侧海马 p-CREB 阳性表达, 模型组在第 7 天时高于正常组, 第 28 天时低于正常组 $P < 0.05$, 第 14 天时与正常组相比 $P > 0.05$; 电针组、rTMS 组和电针结合 rTMS 组三个时相均高于模型组, 第 7 天、第 14 天时高于正常组, 差异具有显著性意义 ($P < 0.05$), 第 28 天时与正常组相比 $P > 0.05$, 其中, 电针结合 rTMS 组第 7 天、第 14 天时高于电针组、rTMS 组 $P < 0.05$, 电针组和 rTMS 组各时相均无显著性差异 ($P > 0.05$)。电针组、rTMS 组和电针结合 rTMS 组各时相神经功能评分和电跳台实验评分均较模型组改善 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 尤以电针结合 rTMS 组为明显。**结论:** 电针结合 rTMS 促进 p-CREB 的表达可能是其治疗缺血性脑卒中的机制之一。

关键词 脑缺血; 电针; 重复经颅磁刺激; 磷酸化环腺苷酸反应元件结合蛋白

中图分类号: R743.3, R245 文献标识码: A 文章编号: 1001-1242(2009)-04-0289-04

Effects of electro-acupuncture combined with rTMS on p-CREB expression after focal cerebral ischemia in adult rats/HUANG Guofu, HUANG Xiaolin, GUO Tiecheng, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2009, 24(4): 289—292

Abstract Objective: To investigate the effects of electro-acupuncture (EA) combined with repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) on phosphorylated CAMP responsive element binding protein (p-CREB) expression after focal cerebral ischemia in adult rats and to explore the mechanism of EA combined with rTMS in treating ischemic brain injury. **Method:** The model of transient focal cerebral ischemia was made by occlusion of the middle cerebral artery. Seventy-five Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, EA group, rTMS group and EA combined with rTMS group. The expressions of p-CREB in hippocampus were detected and the neurologic impairment rating, ability of learning and memory were observed at the 7th, 14th and 28th d after infarction respectively. **Result:** The number of p-CREB-positive cells in hippocampus after focal cerebral ischemia in model group was higher at the 7th d, lower at the 28th d than that in normal group ($P < 0.05$); higher in EA group, rTMS group, EA combined with rTMS group than that in model group at each time point and normal group at the 7th and 14th d ($P < 0.05$), higher in EA combined with rTMS group than that in EA group, rTMS group at 7 and 14th d, and there was no difference between EA group and rTMS group. The improvement of neural motor function as well as the indexes of learning and memory were much better in EA group, rTMS group, and EA combined with rTMS group compared with model group ($P < 0.01$, $P < 0.05$), and the improvement were the most obvious in EA combined with rTMS group. **Conclusion:** EA combined with rTMS can enhance the expression of p-CREB in hippocampus after focal cerebral ischemia, which might be one of the important mechanisms of EA combined with rTMS in treating ischemia brain injury.

Author's address Department of Rehabilitation Medicine, Tongji Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430030

Key words cerebral ischemia; electro-acupuncture; repetitive transcranial magnetic stimulation; phosphorylated cyclic AMP response element binding protein

缺血性脑卒中是中国最常见的脑血管疾病, 致残率和致死率均较高。对于大多数脑缺血患者而言, 神经元死亡不可避免, 如何积极有效地促进缺血性脑卒中患者神经功能的恢复仍然是目前脑缺血的研究重点。研究表明, 电针结合重复经颅磁刺激

* 基金项目: 国家自然科学基金资助课题 (30672216)

1 华中科技大学同济医学院附属同济医院康复医学科, 武汉市, 430030

2 华中科技大学同济医学院附属中西医结合医院针灸科

3 通讯作者

作者简介: 黄国付, 男, 主治医师, 博士在读

收稿日期: 2008-09-20

(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS) 治疗能促进大鼠神经干细胞的增殖, 改善大鼠学习记忆能力^[1]。环腺苷酸反应元件结合蛋白(cAMP responsive element binding protein, CREB) 的活化对海马神经元的存活起重要作用^[2]。本研究采用免疫组化观察 rTMS 对局灶性脑缺血大鼠不同时相海马细胞核内磷酸化环腺苷酸反应元件结合蛋白(phosphorylated cyclic AMP response element binding protein, p-CREB) 表达的影响, 以探讨其在脑缺血神经修复中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物及分组: 选用健康雄性清洁级 Wistar 大鼠 75 只, 体重为(200±20)g, 由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供, 在标准条件下适应性饲养 3 周后开始实验。随机分为正常组(A 组)、模型组(B 组)、电针组(C 组)、rTMS 组(D 组)和电针+rTMS 组(E 组), 选取 1 天作为开始治疗的时间点, 按第 7、14、28 天 3 个时相点分为 3 个亚组, 每个时相点 5 只。

1.1.2 主要仪器和试剂: 石蜡切片机 (Leica 2025 型, 德国), 生物显微镜 (Olympus BS-50 型, 日本), CCD 数码相机 (Canon 970 型), 图像分析系统 (HPIAS21000), G6805-1 电针治疗仪 (青岛华青仪器厂); p-CREB 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司; 免疫组化染色试剂盒包括生物素化抗小鼠抗体 (二抗)、亲和卵白素化过氧化物酶 (三抗) 均购于 Sigma 公司; PBS 购于北京中山生物技术公司; 正常山羊血清, DAB 购于武汉 BOSTER 公司; 去离子甲酰胺, TritonX-100 等。

1.2 实验方法

1.2.1 模型建立: 采用线栓法制备大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型; 参照廖维靖等^[3]的大鼠大脑中动脉缺血模型造模方法, 腹腔注射 6%水合氯醛(剂量为 350mg/kg 体重), 颈部正中切口, 长约 2cm, 暴露右侧颈总动脉(common cerebral artery, CCA) 和颈外动脉(external carotid artery, ECA), 5/0 号丝线结扎颈外动脉。分离与颈总动脉伴行的迷走神经, 在距颈总动脉分叉近端 0.5—0.6cm 处结扎颈总动脉。在结扎线的远端置丝线备用。用微小动脉夹夹闭备用线远端的颈总动脉, 在备用线的近端用眼科剪剪一小切口, 将黑色 5/0 尼龙线线栓送进切口, 向上推至动脉夹处, 将备用线稍微扎紧, 随即松开动脉夹。将线栓沿颈总动

脉、颈内动脉顺行向上插入至大脑中动脉(MCA)起始部, 遇阻力时停止, 从颈总动脉分叉处计算插入深度为(1.7±0.2)cm, 造成大脑中动脉供血阻断。尼龙线由上海申丁实业有限公司生产, 直径约 0.15mm。实验前, 用电烙铁加热线栓头端使之成为光滑球形, 线栓长 4cm。缺血 2h 后, 无需再次麻醉, 轻轻抓握动物将栓线后拔退至颈总动脉, 松开颈总动脉即恢复大脑中动脉的血供。造模时室温保持在 20—30℃, 使用加热垫使动物的肛温维持在(37±0.5)℃, 术后将动物置于放有清洁垫料的饲养盒, 自由饮水、进食, 必要时用滴管给动物喂水、湿润鼻部和眼部。

术后 24h 采用 Bederson 标准^[4]初步评分并进行筛选。0 分: 未见行为缺陷; 1 分: 左前肢屈曲(提尾悬空实验阳性); 2 分: 侧推抵抗力下降(侧向推力实验阳性), 伴左前肢屈曲, 无转圈行为; 3 分: 同 2 分行为, 伴自发性旋转。选择评分为 1—3 分的大鼠纳入本研究。

1.2.2 干预方法: A 组和 B 组造模后当日开始按同等条件抓取, 但不实施电针及 rTMS 处理; C 组采用督脉电针的刺激方式, 以橡皮筋将大鼠四肢固定在治疗台上, 参照《实验针灸学》^[5]选取督脉经穴“百会”、“大椎”, 以 30 号 1 寸毫针斜刺入“百会”10mm, 直刺入“大椎”5mm, 将针柄分别连接至电针仪上, 选取连续波, 频率为 20Hz, 强度为 1—2mA。在手术 2h 后即进行第 1 次治疗, 每次治疗 30min, 1 次/d。D 组采用丹麦 Dantec 公司生产的磁刺激器及圆形线圈, 线圈的直径为 12cm, 脉冲磁场的强度峰值为 2T。刺激时固定大鼠头部, 线圈紧贴头皮, 与大鼠右侧大脑半球相切, 中心位于动物右耳前 9mm, 在手术 2h 后即进行第 1 次治疗, 刺激频率为 0.5Hz, 强度为 70% 最大输出强度, 连续刺激 20 次为 1 组, 2 组/d, 至各时间点大鼠处死前 1 日结束。E 组参数与疗程分别同电针组和 rTMS 组。

1.2.3 神经功能缺损评分: 参照 Bederson 等^[4]的评分方法, 分别于第 7、14、28 天 3 个时间点处死前观察大鼠行为表现并进行神经功能缺损评分。

1.2.4 电跳台实验: 跳台装置由冀星实验仪器有限公司制造, 为 50cm×10cm×20cm 的被动回避反应箱, 箱底为可通电的铜栅, 反应箱的右后角均放置一个直径和高为 4.5cm 的绝缘橡皮垫, 作为大鼠回避电击的安全台。由一个调压器调节电压提供交流电。各时间点大鼠处死前 1d, 将大鼠放入此装置中适应 3 min, 然后立刻通以 40V 交流电, 动物受电击后, 其正常反应是跳到安全台躲避电击, 记录通电后其跳至安全台上的时间, 作为反应期; 观察 5min 内受电

击的次数为错误次数,以反应期和错误次数作为其学习成绩。24h后重复试验,将大鼠置于安全台上,即刻通电,观察5min内大鼠从台上跳至铜栅上的时间为潜伏期,受电击次数为错误次数,以潜伏期和错误次数为记忆成绩。测试时大鼠停留在平台上超过5min,其潜伏期以300s计。分别于造模前、造模后第7、14、28天处死前进行评定。

1.2.5 切片制备:分别于第7、14、28天三个时间点,动物腹腔注射10%水合氯醛麻醉剂(350mg/kg),行左心室升主动脉插管,剪开胸腔暴露心脏,剪开心包膜,用恒流泵经过心脏灌注肝素化生理盐水250ml,灌注4%多聚甲醛的磷酸缓冲液(0.1M,pH7.4)350ml,之后立刻断头取脑,放入4℃的4%多聚甲醛的磷酸缓冲液(0.1M,pH7.4)中过夜,固定不超过24h,以梗死灶海马为中心冠状切脑,洗净脑组织表面的固定液,随后梯度酒精脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋,石蜡切片连续冠状位切片(片厚20 μ m),每隔5张取1张。

1.2.6 p-CREB 免疫组化染色:石蜡切片脱蜡和水化后,用PBS(以下均为0.01M,pH7.4)冲洗30min,滴加0.3%Triton X-100 50 μ l,3% H_2O_2 -甲醇液室温避光孵育30min,PBS冲洗3次共15min。滴加5%正常山羊血清50 μ l,室温下孵育30min除去血清,滴加50ml p-CREB 抗体(1:200),4℃湿盒中孵育过夜,PBS冲洗。滴加50ml生物素标记的第二抗体,室温下孵育2h,PBS冲洗。滴加ABC试剂,3h。每张切片滴加100ml新鲜配制的DAB溶液,显微镜下观察10min。自来水冲洗,苏木复染,PBS冲洗返蓝。切片经梯度酒精脱水干燥,中性树胶封固。光镜下观察、拍片。阴性对照采用正常羊血清代替一抗,其余同前。染色结果采用生物显微镜观察并摄片,在10 \times 40倍光镜下观察缺血侧海马区 p-CREB 阳性细胞,每只动物分别取3张染色切片,每张在待测部位各取3个视野,用HPIAS21000图像分析软件进行光密度半定量分析。

1.3 统计学分析

每组细胞计数结果均以均数 \pm 标准差表示,使用SPSS10.0软件包行方差分析及组间比较。

2 结果

2.1 各组大鼠缺血后神经行为学评分比较

Bederson 神经功能评定: A组得分均为0, C、D、E组与B组在第7、14、28天相比均有显著性差异($P<0.01$),E组与C、D组相比差异有显著性($P<0.01$),见表1。

2.2 电跳台实验结果

C、D、E与B组在第7、14、28天相比,学习成绩、记忆成绩的各项指标均有显著性差异($P<0.05$);E与C、D组相比,也有显著性差异($P<0.05$)见表2。

2.3 免疫组化结果

p-CREB 阳性表达主要位于胞核,胞质略有着色。海马齿状回颗粒细胞层着色深,阴性对照未见阳性细胞表达。B组在第7天时 p-CREB 阳性表达高于A组,第28天时低于A组,差异均有显著性意义($P<0.05$),第14天时与A组相比无显著性差异($P>0.05$);C、D、E组三个时相 p-CREB 阳性表达均高于B组,第7、14天时高于A组,差异具有显著性意义($P<0.05$),第28天时与A组相比无显著性差异($P>0.05$),其中E组第7、14天时高于C、D组,差异具有显著性意义($P<0.05$),C、D两组各时相均无显著性差异($P>0.05$)。见表3。

表1 各组大鼠缺血后神经功能缺损评分比较 ($\bar{x}\pm s$,分)

组别	例数	第7天	第14天	第28天
A组	5	0	0	0
B组	5	2.68 \pm 0.06	2.52 \pm 0.12	1.60 \pm 0.13
C组	5	1.96 \pm 0.09 ^①	1.68 \pm 0.10 ^①	0.59 \pm 0.15 ^①
D组	5	1.97 \pm 0.09 ^①	1.64 \pm 0.15 ^①	0.52 \pm 0.14 ^①
E组	5	1.28 \pm 0.07 ^{①②}	1.01 \pm 0.10 ^{①②}	0.30 \pm 0.12 ^{①②}

与B组比较,① $P<0.01$;与C、D组比较,② $P<0.01$

表2 各组电跳台学习成绩、记忆成绩评分比较 ($\bar{x}\pm s$,分)

	例数	第7天	第14天	第28天
学习成绩反应期(s)				
A组	5	13.88 \pm 9.26	14.63 \pm 8.46	13.76 \pm 7.96
B组	5	78.28 \pm 8.76	49.52 \pm 7.12	37.93 \pm 8.14
C组	5	62.76 \pm 7.39 ^①	34.68 \pm 7.15 ^①	26.69 \pm 7.15 ^①
D组	5	59.87 \pm 8.24 ^①	32.74 \pm 8.14 ^①	25.72 \pm 6.92 ^①
E组	5	49.24 \pm 9.07 ^{①②}	25.01 \pm 8.10 ^{①②}	15.50 \pm 7.34 ^{①②}
学习成绩错误次数(次)				
A组	5	1.32 \pm 0.69	1.48 \pm 0.86	1.41 \pm 0.72
B组	5	7.84 \pm 1.11	4.84 \pm 1.16	1.59 \pm 0.11
C组	5	6.86 \pm 1.62 ^①	1.50 \pm 0.12 ^①	0.97 \pm 0.15 ^①
D组	5	6.87 \pm 1.34 ^①	1.14 \pm 0.13 ^①	0.98 \pm 0.13 ^①
E组	5	4.86 \pm 1.21 ^{①②}	1.92 \pm 0.82 ^{①②}	0.49 \pm 0.14 ^{①②}
记忆成绩潜伏期(s)				
A组	5	271.36 \pm 17.22	267.88 \pm 32.86	269.93 \pm 33.37
B组	5	40.07 \pm 7.35	67.57 \pm 20.19	127.36 \pm 22.76
C组	5	51.89 \pm 17.52 ^①	158.31 \pm 34.64 ^①	211.73 \pm 19.91 ^①
D组	5	52.87 \pm 19.83 ^①	187.57 \pm 32.37 ^①	213.80 \pm 17.54 ^①
E组	5	82.94 \pm 8.86 ^{①②}	246.26 \pm 42.32 ^{①②}	261.70 \pm 18.45 ^{①②}
记忆成绩错误次数(次)				
A组	5	0.81 \pm 0.19	0.78 \pm 0.16	0.76 \pm 0.11
B组	5	4.87 \pm 0.23	2.74 \pm 0.18	2.42 \pm 0.15
C组	5	3.63 \pm 0.09 ^①	1.57 \pm 0.12 ^①	1.48 \pm 0.72 ^①
D组	5	3.56 \pm 0.08 ^①	1.47 \pm 0.13 ^①	1.42 \pm 0.72 ^①
E组	5	2.61 \pm 0.13 ^{①②}	0.82 \pm 0.12 ^{①②}	0.62 \pm 0.10 ^{①②}

与B组比较,① $P<0.05$;与C、D组比较,② $P<0.05$

表3 缺血后不同时间海马胞核内 p-CREB 免疫反应阳性表达光密度值的比较 ($\bar{x}\pm s$,mm²)

组别	例数	第7天	第14天	第28天
A组	5	578 \pm 232	579 \pm 233	575 \pm 231
B组	5	637 \pm 166 ^②	513 \pm 114 ^③	228 \pm 116 ^②
C组	5	838 \pm 316 ^{①②}	691 \pm 215 ^{①②}	573 \pm 209 ^{①③}
D组	5	821 \pm 302 ^{①②}	683 \pm 207 ^{①②}	570 \pm 201 ^{①③}
E组	5	1108 \pm 347 ^{①②}	972 \pm 222 ^{①②}	582 \pm 216 ^{①③}

与B组比较:① $P<0.05$;与A组比较:② $P<0.05$,③ $P>0.05$

3 讨论

研究表明,脑卒中后积极采用针刺治疗,明显有助于神经功能的恢复,可促进海马神经元增殖^[6]。根据祖国传统医学的经验及国际上针刺循证医学的证据,针刺治疗脑卒中功能障碍的疗效是肯定的。rTMS是一种现代无创、无痛临床证明又安全的新技术,可以在皮质产生可传导性的感生电流,从而对刺激位点或有突触联系的远处皮质兴奋性产生抑制或易化。rTMS不仅可作为脑卒中后功能评估和预测预后的方法,并且对脑功能恢复有促进作用^[7-9]。在前期的研究工作中我们将中医传统的针刺治疗和现代经颅磁刺激技术相结合用于大鼠缺血性脑损伤的研究,发现其对缺血后血管的新生和神经再生的微环境均有一定的影响^[10]。

神经细胞内 p-CREB 能够激活相关下游基因(NGF、BDNF 等)的转录,这些转录表达的蛋白分子在促进神经细胞的存活与修复中起着非常重要的作用^[11]。对于胞内 CREB 的磷酸化调控途径的研究,主要集中于 3 种信号转导通路:AMP 环化酶发动的蛋白激酶 A 信号通路、CaM 激活的 Ca²⁺-CaMK 激酶信号通路、丝分裂原激活的蛋白激酶信号通路^[12-14]。这几种信号途径的共同终点就是磷酸化 CREB 的 Ser133 位点,p-CREB 与环腺苷酸反应元件(cAMP response element, CRE)结合促进下游基因转录,发挥生理效应。p-CREB 是下游基因表达的共同启动因子。

Zhu 等^[15]研究发现局灶性脑缺血可刺激成年大鼠齿状回新的神经元发生,这与转录因子 CREB 的激活及促进下游基因 BDNF 的转录有关。脑缺血时及早增强的磷酸化阻止了梗死灶在半影区的扩大^[16],同时体外研究发现磷酸化在介导神经元对各种神经营养素如 BDNF 和 NGF 的反应方面起重要作用。

在本实验中,脑缺血后不同时相缺血侧海马 p-CREB 阳性表达,模型组在第 7 天时高于正常组,第 28 天时低于正常组,第 14 天时与正常组相比无显著性差异;电针组、rTMS 组和电针结合 rTMS 组三个时相均高于模型组,第 7、14 天时高于正常组,第 28 天时与正常组相比无显著性差异,其中电针结合 rTMS 组第 7、14 天时高于电针组、rTMS 组,电针组和 rTMS 组各时相均无显著性差异。电针组、rTMS 组和电针结合 rTMS 组各时相神经功能评分和电跳台实验评分均较模型组改善,尤以电针结合 rTMS 组为明显。

综上所述,电针结合 rTMS 对局灶性脑缺血大

鼠神经行为学的改善作用与其促进缺血侧海马 p-CREB 的表达密切相关,促进缺血后海马 p-CREB 的表达是其治疗缺血性脑卒中的重要作用机制之一。但其对上游信号通路和下游基因转录的影响,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 彭力,黄晓琳,韩肖华,等.电针结合经颅磁刺激对脑缺血大鼠神经干细胞增殖和电跳台的影响[J].中国中医急症,2008,17(2):206—208.
- [2] 王丽,章军建,刘涛.PKA-CREB 信号转导通路在大鼠慢性脑缺血所致认知功能障碍中的作用[J].中国临床神经科学,2006,14(5):449—453.
- [3] 廖维靖,刘淑红,范明,等.线栓阻断大鼠大脑中动脉制作缺血性脑损伤模型的改良[J].中华物理医学与康复杂志,2002,24(6):345—349.
- [4] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion:evaluation of the model and development of a neurologic examination[J].Stroke,1986,17(3):472—476.
- [5] 邓春雷,殷克敬.实验针灸学[M].北京:人民卫生出版社,1998.143.
- [6] Kim EH, Chung JH, Kim CJ. Auricular acupuncture increases cell proliferation in the dentate gyrus of Sprague-Dawley rats[J]. Acupunct Electrother Res,2001,26:187—194.
- [7] McAllister TW. Repetitive transcranial magnetic stimulation after acute ischemic stroke[J]. Curr Psychiatry Rep, 2005,7:369.
- [8] Feng HL, Yan L, Guan YZ, et al. Effects of transcranial magnetic stimulation on motor cortical excitability and neurofunction after cerebral ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Chin Med Sci J, 2005,20:226—230.
- [9] Khedr EM, Ahmed MA, Fathy N, et al. Therapeutic trial of repetitive transcranial magnetic stimulation after acute ischemic stroke[J]. Neurology,2005,65:466—468.
- [10] 黄晓琳,韩肖华.电针联合经颅磁刺激对脑缺血大鼠碱性成纤维细胞生长因子和血管生成素及其受体表达的影响[J].中国康复医学杂志,2005,20(7):499—501.
- [11] Sung JY, Shin SW, Ahn YS, et al. Basic fibroblast growth factor-induced clutivation of novel CREB kinase during the differentiation of immortalized hippocampal cells [J]. J Biol Chem, 2001,276:13858—13866.
- [12] Mitsuda N, Ohkubo N, Tamatani M, et al. Activated cAMP-response element-binding protein regulates neuronal expression of Presenilin-1[J]. J Biol Chem,2001, 276:9688—9691.
- [13] Shao J, Evers BM, Sheng H. Prostaglandin E2 synergistically enhances receptor tyrosine kinase-dependent signaling system in colon cancer cells [J]. J Biol Chem, 2004,279:14287—14293.
- [14] Gee K, Angel JB, Mishra S, et al. IL-10 regulation by HIV-Tat in primary human monocytic cells:involvement of calmodulin/calmodulin-dependent protein kinase-activated p38 MAPK and Sp-1 and CREB-1 transcription factors [J]. J Immunol, 2007,178:798—807.
- [15] Zhu DY, Lau L, Liu SH, et al. Activation of cAMP of cAMP-response-element-binding protein (CREB) after focal cerebral ischemia stimulates neurogenesis in the adult dentate-gyrus[J].Proc Natl Acad Sci USA,2004,101:9453—9457.
- [16] Riccio A, Pierchala BA, Ciarallo CL, et al. An NGF-TrkA-mediated retrograde signal to transcription factor CREB in sympathetic neurons[J].Science,1997,277:1097—1100.