

CaMK II 在跑步机训练改善帕金森病模型小鼠记忆功能中的作用

杨新新 刘瑾 胡方方 项洁

221002 徐州医科大学附属医院神经内科(杨新新、胡方方), 康复科(刘瑾、项洁)

通信作者: 项洁, Email: xj1111@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2018.06.003

【摘要】 目的 研究钙离子/钙调蛋白激酶 II (CaMK II) 在跑步机训练改善帕金森病(PD)模型小鼠记忆功能中的分子机制, 为 PD 的治疗提供一个新的思路。方法 将 6-羟基多巴胺立体定向注射至小鼠左侧纹状体内制备侧脑 PD 小鼠模型, 利用圆柱体实验筛选 PD 模型。将造模成功的 PD 小鼠($n=32$) 随机分为 PD 非跑步机训练组(PD+no-Ex 组, $n=8$)、低速跑步机训练组(PD+Low-Ex, $n=8$)、中速跑步机训练组(PD+Medium-Ex, $n=8$) 和高速跑步机训练组(PD+High-Ex, $n=8$), 并设 Sham 组($n=8$, 在相同部位注射生理盐水) 作为对照。利用 Morris 水迷宫实验观察各组小鼠的学习记忆能力, 并对其行为学结果进行分析评价, 选取 Sham 组、PD+no-Ex 组及 PD+Low-Ex 组海马组织, 利用 Western blot 检测小鼠海马中环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)、酪氨酸羟化酶(TH)、细胞外信号调节蛋白激酶 1/2(ERK1/2) 和 CaMK II 的磷酸化水平。结果 Morris 水迷宫定位航行实验结果表明各组小鼠的平均逃避潜伏期随着训练时间的延长呈逐渐下降趋势, 低中高速跑步机训练都有利于 PD 小鼠记忆功能的恢复($P < 0.05$), 但低速跑步机训练组小鼠改善得更明显($P < 0.05$)。空间探索实验结果则表明, 与 Sham 组比较, PD+no-Ex 组小鼠穿越平台次数明显减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与 PD+no-Ex 组比较, 不同速度跑步机训练组小鼠穿越平台次数明显增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。Western blot 结果显示, 与 Sham 组比较, PD+no-Ex 组磷酸化 CREB、ERK1/2、CaMK II 及 TH 水平明显降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 与 PD+no-Ex 组比较, PD+Low-Ex 组上述指标明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结论 低速跑步机训练对 PD 模型小鼠学习记忆能力的改善作用更显著, 其可能是通过上调海马中蛋白激酶 A(PKA) 介导的信号转导通路, 从而改善 PD 小鼠的认知功能。

【关键词】 帕金森病; 跑步训练; 记忆功能; 蛋白激酶 A

基金项目: 国家自然科学基金项目(81671269); 中国博士后基金项目(2015M571822, 2016T90508); 江苏省六大人才高峰基金项目(2015-WSN-064)

Role of CaMK II in treadmill training to improve memory function of Parkinson disease mice model

Yang Xinxin, Liu Jin, Hu Fangfang, Xiang Jie

Neurology Department, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, China(Yang XX, Hu FF); Rehabilitation Department, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, China(Liu J, Xiang J)

Corresponding author: Xiang Jie, Email: xj1111@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the molecular mechanism of calcine kinase II (CaMKII) in improving the memory function of mice with Parkinson disease (PD), and to explore the possible mechanism underlying this effect, which will provide a new idea to treat PD. **Methods** 6-OHDA was stereotactically injected into the left striatum of mouse to prepare the lateral PD mouse model. Then the valid PD model was selected by cylinder test. All valid PD ($n=32$) mice were divided into four groups: PD+ no-Ex group ($n=8$), PD+Low-Ex group ($n=8$), PD+Medium-Ex group ($n=8$) and PD+High-Ex ($n=8$). Another group of sham-operated mice were involved as control ($n=8$, injection of saline at the same site). Through the analysis and evaluation of their behavioral results, the hippocampus of mice in sham-operated group, PD+no-Ex group and PD + Low-Ex group were selected for Western blot to detect the phosphorylation levels of cAMP-response element binding protein (CREB), the extracellular signal-regulated kinase1/2 (ERK1/2), Tyrosine hydroxylase (TH) and calmodulin kinase II (CaMKII). **Results** The navigation test of Morris water maze showed that the mean escape latency of each group was gradually decreased with the prolongation of training time. Different

speed of treadmill exercise all improved the memory of mice especially the low speed exercise ($P < 0.05$). In addition, spatial probe test showed that compared with mice in sham-operated group, the number of times through the platform were decreased in mice of PD + no-Ex group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Western blot results showed that the levels of phosphorylated CREB, ERK1/2, CaMKII and TH were decreased in PD mice compared to sham-operated mice ($P < 0.05$). However, compared with PD+no-Ex group, the indicators above in PD+Low-Ex group increased significantly, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusions** Low-exercise training was effective to improve memory in PD mice, which is because that low-exercise training could enhance the activity of PKA pathway, so as to improve the cognition function of PD mice.

【Key words】 Parkinson disease; Treadmill Exercise; Memory; Protein kinase A

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81671269); Postdoctoral Program for Dr. Yang (2015 M571822, 2016 T90508); Summit of Six Top Talents Program of Jiangsu Province (2015-WSN-064)

帕金森病(Parkinson disease, PD)是最常见的中枢神经系统变性疾病之一,其主要病理改变为中脑黑质致密部多巴胺(dopamine, DA)能神经元的丢失以及路易小体的形成^[1],除了常见的运动症状外,还可合并认知障碍(如学习和记忆障碍)、情绪障碍(焦虑、抑郁等)、视觉异常、自主神经功能障碍、睡眠障碍等非运动症状^[2]。近年来,有关PD认知功能的研究逐渐受到重视,尤其是早期PD患者,可能已经出现视觉空间工作记忆的损害。

PD认知障碍的治疗需要多种方式,包括胆碱酯酶抑制剂、脑深部电刺激等^[3-4],而康复锻炼亦是其重要的治疗方式之一^[5]。基础研究也发现多种康复训练方式有助于改善PD动物模型的记忆功能^[5],其原因包括康复训练可以增加DA的合成,减轻炎症的发生^[6],减少突触以及DA能神经元的丢失等^[7]。目前对PD的研究主要集中在纹状体、黑质等部位,而对于与认知记忆障碍有密切关系的海马的关注相对较少,其参与PD认识障碍的机制尚不清楚。

DA是一种调节中枢神经系统多种功能的单胺类神经递质,通过作用于不同类型的DA受体来调节大脑认知、情绪、内分泌和运动等方面的功能^[8-9]。钙离子/钙调素依赖的蛋白激酶 II (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinases II, CaMK II)是一种丝氨酸/苏氨酸特性的蛋白激酶,对多种底物具有调节功能,其中DA合成的限速酶酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)是CaMK II的底物之一^[10]。这就提示CaMK II可能对DA的合成具有调控作用。故本实验在PD模型小鼠跑步机训练的基础上,利用Morris水迷宫、Western blot方法具体探讨海马CaMK II参与PD小鼠记忆功能的可能机制,以利于临床PD认知记忆功能的治疗。

材料和方法

1. 实验动物:健康成年雄性C57/BL6小鼠60只,体重约25 g,购于上海西普尔-必凯实验动物有限

公司。动物饲养于徐州医科大学实验动物中心,保持室温(23±2)℃,相对湿度(60±5)%。

2. 方法: (1) 实验设计: 给予小鼠纹状体内立体定位注射6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamin, 6-OHDA)制作PD动物模型,注射28 d后,行圆柱体实验评分,筛选出成功PD模型。PD小鼠给予14 d跑步机康复训练,于第15天开始,进行Morris水迷宫测试,并于第20天处死取脑,行分子生物学检测。(2) 模型制作: 按照文献[11]报道,将小鼠称重麻醉后,严格平颅位将小鼠固定于脑立体定位仪上,常规备皮消毒,头顶部正中切开,在纹状体中注射6-OHDA制作PD小鼠模型,注射位置按照Paxinos和Watson图谱确定纹状体坐标: (1)AP=+1.0, L=2.1, DV=2.9; (2)AP=+0.3, L=2.3, DV=2.9。颅骨钻孔后,用10 μl的微量注射器抽取6-OHDA 4 μl,浓度为3 μg/μl,每点注射2 μl,进针速度为0.5 μl/min。4周后,行圆柱体实验评分以筛选成功PD模型: 即将小鼠放在直径10 cm,高14 cm的圆柱体玻璃瓶中观察5 min,记录每只小鼠右爪或左爪及两爪同时碰壁的次数。将损伤对侧爪贴壁与共同使用左右爪贴壁的比值小于40%的小鼠视为成功PD模型。(3) 动物分组及跑步机训练参数设置: 将筛选出来的32只成功PD模型随机分为4组,分别为PD非跑步机训练组(PD+no-Ex组, n=8)、PD低速跑步机训练组(PD+Low-Ex组, n=8)、PD中速跑步机训练组(PD+Medium-Ex组, n=8)及PD高速跑步机训练组(PD+High-Ex组, n=8),并设假手术组(Sham组, n=8)作为对照。PD+no-Ex组小鼠不给予任何跑步机训练,跑步机训练组小鼠分别给予不同的训练参数: PD+Low-Ex组: 跑步机速度8 m/min, 30 min/d。PD+Medium-Ex组: 跑步机速度: 14 m/min, 30 min/d, PD+High-Ex组: 跑步机速度20 m/min, 30 min/d, 各组小鼠持续训练14 d。(4) 水迷宫测试: 参照既往文献^[12],水迷宫测试包括定位航行实验和空间探索实验,第1~4天进行定位航行实验,每天进行4次,每

次训练时小鼠在水池中自由游泳,直到找到隐蔽平台为止,对于90 s中仍未找到隐蔽平台的小鼠,则轻轻将其引导至平台处,记录每次训练试验中逃避潜伏期。第5天进行空间探索实验,撤去水池中的隐蔽平台,小鼠在水池中游泳90 s,记录小鼠穿越隐蔽平台的次数。(5)Western blot步骤:各组小鼠断头取脑,迅速冰上剥离损伤侧海马,提取总蛋白后使用BCA蛋白测定试剂盒检测蛋白浓度,加入上样缓冲液,沸水煮5 min。取蛋白样品电泳分离后,经电转膜仪转移蛋白至PVDF膜上,用含5%脱脂奶粉的洗膜缓冲液室温封闭2 h,加入1抗4℃过夜,次日洗膜3次,二抗室温摇床孵育2 h,洗膜3次,所得膜应用Odyssey 双色红外激光成像系统扫描,ImageJ软件进行图像分析处理。检测小鼠海马区磷酸化TH、CaMK II、细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK1/2)、环磷腺苷效应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)的表达。

3. 统计学方法:采用SPSS 16.0软件进行统计学结果分析,数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组样本比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间差异经方差齐性检验后,方差齐时采用LSD/Bonferroni法进行多重比较,方差不齐时采用Dunnett T3法多重比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义,并采用GraphPad Prism 6.0作图。

结 果

1. 行为学测试结果:见表1。Morris水迷宫测试结果表明,在水迷宫测试的第1天,各组小鼠逃避潜伏期差异无统计学意义($P > 0.05$)。但在测试的第2天,与Sham组比较,PD+no-Ex组小鼠潜伏期延长($F=10.341, P < 0.05$)。与PD+no-Ex组比较,低中速跑步机训练组小鼠的逃避潜伏期均明显缩短(均 $P < 0.01$),而低速跑步训练组小鼠下降更明显。在测试的第3、4天,与Sham组比较,PD+no-Ex组小鼠潜伏期亦明显延长($F=8.187, 19.234, P < 0.05$)。而与PD+no-Ex组比较,不同速度跑步机训练组小鼠

的逃避潜伏期均明显缩短(均 $P < 0.05$)。在第5天,PD+no-Ex组穿越平台的次数较Sham组明显减少($F=10.321, P < 0.05$);且低、中、高速跑步训练组小鼠穿越平台的次数分别与PD+no-Ex组比较,均有所增多,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2. 跑步机训练对小鼠海马区磷酸化TH、CaMK II、ERK1/2、CREB表达的影响:见图1。从行为学测试结果可以看出,与PD+no-Ex组相比较,PD+Low-Ex组更有利于改善PD小鼠的空间记忆功能。所以我们利用Western blot技术检测Sham组、PD+no-Ex组以及PD+Low-Ex组小鼠海马区磷酸化TH、CaMK II、ERK1/2和CREB的表达量,结果显示PD组海马区各蛋白的磷酸化水平较Sham组明显降低($F=14.287 \sim 33.982, P < 0.05$),而经过低速跑步机训练后,上述各蛋白的磷酸化水平则明显升高($P < 0.05$)。

讨 论

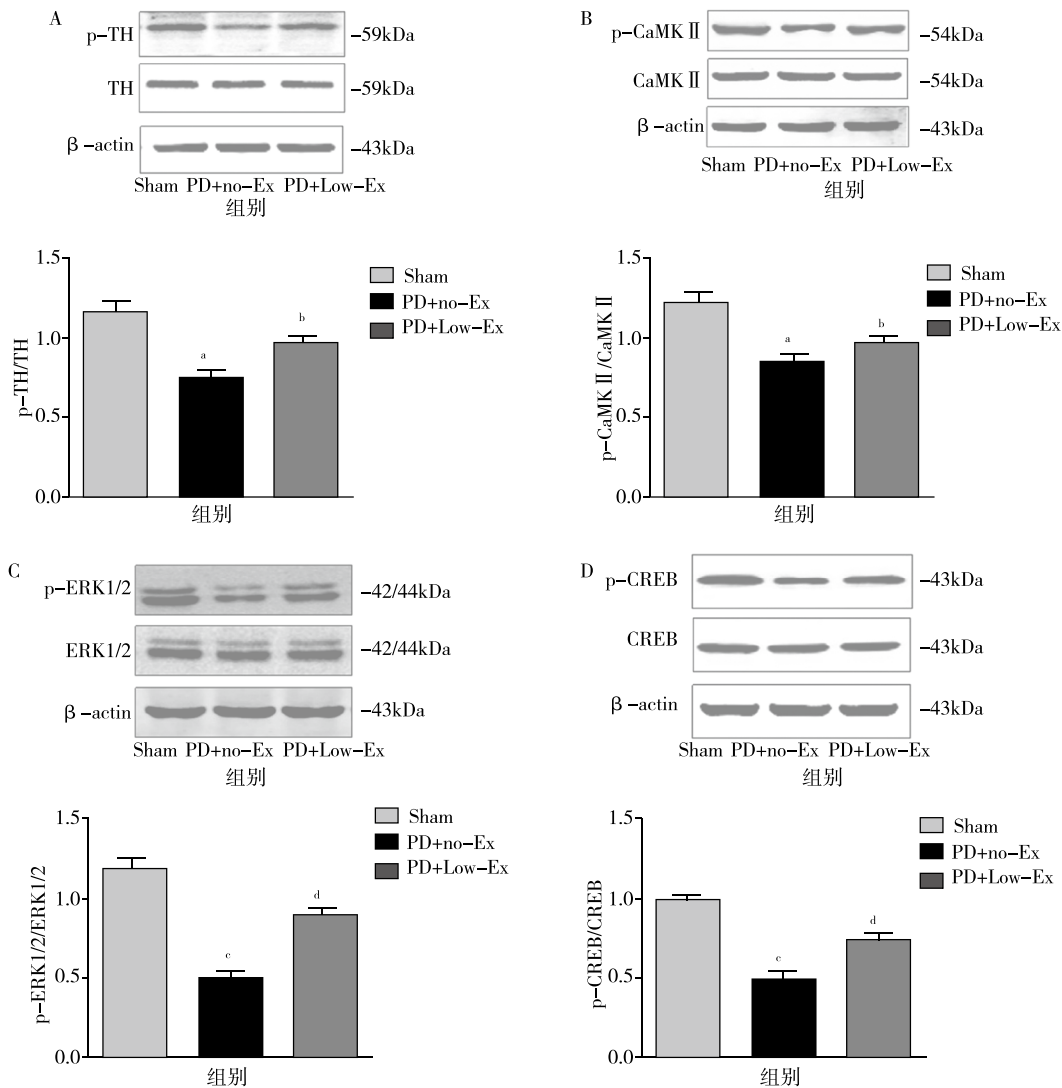
海马是编码空间和情景记忆以及新颖性检测的必要结构,现已证明海马主要负责学习、记忆、情绪等重要的中枢神经功能,尤其是在空间学习记忆功能中具有重要作用^[13]。相关研究表明,与PD学习记忆功能相关的部位包括前额颞叶、纹状体、海马等^[9, 14-16],而海马处于核心位置,它们共同调节及执行记忆认知功能,其涉及的神经递质包括DA、5-羟色胺、去甲肾上腺素等^[17-19],而DA则处于核心地位,其合成受TH的调控,对其活性进行调节势必会影响PD的认知功能^[1, 20]。

TH是脑内DA合成的限速酶,作为底物在蛋白激酶的催化下被磷酸化修饰,进而激活其活性。TH的磷酸化激活是机体的重要调控方式之一,磷酸化后解除了丝氨酸(Ser)对TH的抑制作用,对酶的活性具有正性调节作用。CaMK II与多种形式的行为学及突触可塑性有关,并且CaMK II介导的多种靶蛋白磷酸化在突触反应中也发挥着重要角色,更有趣的是DA合成的关键酶TH是CaMK II的底物之一^[10, 21],这表明CaMK II对DA的合成可能具有调控作用。此外,既往的研究表明PKA信号通路中

表1 各组小鼠Morris水迷宫测试结果($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	潜伏期时间(s)				穿越平台次数(次)
	第1天	第2天	第3天	第4天	
Sham组	70.69 ± 19.69	27.44 ± 8.17	20.66 ± 10.99	10.86 ± 4.09	13.12 ± 1.96
PD+no-Ex组	81.20 ± 11.78	53.14 ± 15.42 ^a	51.78 ± 6.98 ^a	44.52 ± 12.65 ^a	4.38 ± 3.02 ^a
PD+Low-Ex组	70.69 ± 8.23	34.47 ± 7.35 ^b	23.21 ± 8.18 ^b	12.98 ± 3.20 ^b	10.75 ± 3.11 ^b
PD+Medium+Ex组	74.31 ± 11.31	36.77 ± 7.83 ^b	30.96 ± 19.45 ^b	15.32 ± 3.97 ^b	7.18 ± 3.39 ^b
PD+High-Ex组	74.24 ± 9.29	46.82 ± 15.95	36.90 ± 13.89 ^c	28.07 ± 8.95 ^b	6.12 ± 4.09 ^b

注:与Sham组比较,^a $P < 0.01$;与PD+no-Ex组比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$



注: 与Sham组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与PD+no-Ex组比较, ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$

图1 各组海马中磷酸化TH、CaMK II、CREB及ERK1/2的表达情况

ERK1/2、CREB等蛋白参与的海马信号转导通路,是空间记忆的一个重要组成部分^[2]。海马的记忆巩固、长期记忆的形成需要磷酸化的CREB,海马神经元中的ERK/MAPK通路是调节学习记忆和突触可塑性的重要分子^[9],其可以通过磷酸化其他底物蛋白参与海马神经可塑性的调节^[22]。如ERK可以诱导CREB的活性,是CREB磷酸化的重要调节剂。所有这些研究都表明海马相关激酶(如CREB和ERK1/2)是构成海马学习和记忆的分子基础。

既然DA合成的限速酶TH是CaMK II的底物,但CaMK II是否可以通过调控TH的活性增加DA的释放,进一步激活上述通路目前尚不清楚,既往研究表明,一些蛋白如肌醇1,4,5-三磷酸受体可以通过调控抑制CaMK II调控TH的活性^[24]。我们的前期研究发现CaMK II通过上调TH的活性,促进了

PD运动并发症的发生^[23],这些均表明CaMK II具有调控TH活性的作用。在本实验中,我们想验证在PD海马中是否有类似的机制。首先,采用Morris水迷宫训练检测各组小鼠的学习记忆能力,结果显示6-OHDA制作的慢性PD模型小鼠有一定程度的空间识别记忆及空间参考记忆障碍,而经过不同速度跑步机特别是低速跑步机训练后,小鼠空间记忆能力较PD组明显提高,且差异具有统计学意义。本研究对跑步机训练改善PD小鼠的机制进行了探讨,利用Western blot技术检测了海马中PKA信号通路中几种蛋白的活性,结果提示PD+non-Ex组小鼠海马组织中磷酸化的TH、CaMK II、ERK1/2及CREB蛋白表达含量下降,而经过跑步机训练后,其表达量明显增加,差异有统计学意义。因此推测跑步机训练可能通过上调海马中磷酸化CaMK II的表达,

CaMK II 被激活(磷酸化水平增加)后进一步导致TH的活性增加,从而作用于存活的DA神经元,影响海马中DA的合成及释放,补充了DA的不足,进而导致PKA信号通路的激活,改善了PD小鼠的记忆功能。

综上所述,本实验结果提示跑步机训练可以改善PD小鼠学习记忆和空间记忆障碍,这可能是由于跑步机训练上调了海马中PKA介导的信号通路所致,为PD的治疗提供了新的思路。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 试验设计、论文撰写及修订为杨新新,研究实施、资料收集为刘瑾、胡方方,审校为项洁

参 考 文 献

- [1] Dehay B, Bourdenx M, Gorry P, et al. Targeting alpha-synuclein for treatment of Parkinson's disease: mechanistic and therapeutic considerations[J]. *Lancet Neurol*, 2015, 14(8): 855-866. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00006-X.
- [2] Mattis PJ, Niethammer M, Sako W, et al. Distinct brain networks underlie cognitive dysfunction in Parkinson and Alzheimer diseases[J]. *Neurology*, 2016, 87(18): 1925-1933. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003285.
- [3] Svenningsson P, Westman E, Ballard C, et al. Cognitive impairment in patients with Parkinson's disease: diagnosis, biomarkers, and treatment[J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(8): 697-707. DOI: 10.1016/S1474-4422(12)70152-7.
- [4] Petrelli A, Kaesberg S, Barbe MT, et al. Cognitive training in Parkinson's disease reduces cognitive decline in the long term[J]. *Eur J Neurol*, 2015, 22(4): 640-647. DOI: 10.1111/ene.12621.
- [5] Reynolds GO, Otto MW, Ellis TD, et al. The Therapeutic Potential of Exercise to Improve Mood, Cognition, and Sleep in Parkinson's Disease[J]. *Mov Disord*, 2016, 31(1): 23-38. DOI: 10.1002/mds.26484.
- [6] Fredriksson A, Stigsdotter IM, Hurtig A, et al. Running wheel activity restores MPTP-induced functional deficits[J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2011, 118(3): 407-420. DOI: 10.1007/s00702-010-0474-8.
- [7] Petzinger GM, Fisher BE, McEwen S, et al. Exercise-enhanced neuroplasticity targeting motor and cognitive circuitry in Parkinson's disease[J]. *Lancet Neurol*, 2013, 12(7): 716-726. DOI: 10.1016/S1474-4422(13)70123-6.
- [8] Wang C, Niu M, Zhou Z, et al. VPS35 regulates cell surface recycling and signaling of dopamine receptor D1 [J]. *Neurobiol Aging*, 2016, 46: 22-31. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.05.016.
- [9] D'Amico AG, Scuderi S, Leggio GM, et al. Increased hippocampal CREB phosphorylation in dopamine D3 receptor knockout mice following passive avoidance conditioning[J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(12): 2516-2523. DOI: 10.1007/s11064-013-1164-3.
- [10] Kawaai K, Mizutani A, Shoji H, et al. IRBIT regulates CaMKIIalpha activity and contributes to catecholamine homeostasis through tyrosine hydroxylase phosphorylation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(17): 5515-5520. DOI: 10.1073/pnas.1503310112.
- [11] Lundblad M, Picconi B, Lindgren H, et al. A model of L-DOPA-induced dyskinesia in 6-hydroxydopamine lesioned mice: relation to motor and cellular parameters of nigrostriatal function [J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 16(1): 110-123. DOI: 10.1016/j.nbd.2004.01.007.
- [12] Jiang J, Gao K, Zhou Y, et al. Electroacupuncture Treatment Improves Learning-Memory Ability and Brain Glucose Metabolism in a Mouse Model of Alzheimer's Disease: Using Morris Water Maze and Micro-PET[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 142129. DOI: 10.1155/2015/142129.
- [13] Yoo SH, Eckel-Mahan K. Hippocampal PER1: a circadian sentinel controlling RSK activity during memory formation[J]. *J Neurochem*, 2016, 138(5): 650-652. DOI: 10.1111/jnc.13727.
- [14] Hall H, Reyes S, Landeck N, et al. Hippocampal Lewy pathology and cholinergic dysfunction are associated with dementia in Parkinson's disease[J]. *Brain*, 2014, 137(Pt 9): 2493-2508. DOI: 10.1093/brain/awu193.
- [15] Mak E, Su L, Williams GB, et al. Baseline and longitudinal grey matter changes in newly diagnosed Parkinson's disease: ICICLE-PD study[J]. *Brain*, 2015, 138(Pt 10): 2974-2986. DOI: 10.1093/brain/awv211.
- [16] Engeln M, DeDeurwaerdere P, Li Q, et al. Widespread Monoaminergic Dysregulation of Both Motor and Non-Motor Circuits in Parkinsonism and Dyskinesia[J]. *Cereb Cortex*, 2015, 25(9): 2783-2792. DOI: 10.1093/cercor/bhu076.
- [17] Westrich L, Haddjeri N, Dkhissi-Benyahya O, et al. Involvement of 5-HT(7) receptors in vortioxetine's modulation of circadian rhythms and episodic memory in rodents[J]. *Neuropharmacology*, 2015, 89: 382-390. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2014.10.015.
- [18] Darvas M, Henschen CW, Palmiter RD. Contributions of signaling by dopamine neurons in dorsal striatum to cognitive behaviors corresponding to those observed in Parkinson's disease[J]. *Neurobiol Dis*, 2014, 65: 112-123. DOI: 10.1016/j.nbd.2014.01.017.
- [19] Christopher L, Marras C, Duff-Canning S, et al. Combined insular and striatal dopamine dysfunction are associated with executive deficits in Parkinson's disease with mild cognitive impairment[J]. *Brain*, 2014, 137(Pt 2): 565-575. DOI: 10.1093/brain/awt337.
- [20] Gratwicke J, Jahanshahi M, Foltynie T. Parkinson's disease dementia: a neural networks perspective [J]. *Brain*, 2015, 138 (Pt 6): 1454-1476. DOI: 10.1093/brain/awv104.
- [21] Wang C, Li Z, Han H, et al. Impairment of object recognition memory by maternal bisphenol A exposure is associated with inhibition of Akt and ERK/CREB/BDNF pathway in the male offspring hippocampus[J]. *Toxicology*, 2016, 341-343: 56-64. DOI: 10.1016/j.tox.2016.01.010.
- [22] Guo JQ, Deng HH, Bo X, et al. Involvement of BDNF/TrkB and ERK/CREB axes in nitroglycerin-induced rat migraine and effects of estrogen on these signals in the migraine[J]. *Biol Open*, 2017, 6(1): 8-16. DOI: 10.1242/bio.021022.
- [23] Yang X, Zhu Z, Ding X, et al. CaMKII inhibition ameliorated levodopa-induced dyskinesia by downregulating tyrosine hydroxylase activity in an experimental model of Parkinson's disease[J]. *Brain Res*, 2018, 1687: 66-73. DOI: 10.1016/j.brainres.2018.02.013.
- [24] Kawaai K, Mizutani A, Shoji H, et al. IRBIT regulates CaMKII alpha activity and contributes to catecholamine homeostasis through tyrosine hydroxylase phosphorylation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(17): 5515-5520. DOI: 10.1073/pnas.1503310112.

(收稿日期: 2018-03-27)

(本文编辑: 戚红丹)