

· 实验研究 ·

瞬时受体电位阳离子通道 M7 在海马神经元损伤中的作用

王广治 伍晓莹 朱国松 陈超

【摘要】 目的 探讨瞬时受体电位阳离子通道 M7 (TRPM7) 在七氟醚预处理缓解缺血缺氧性损伤 (OGD) 后海马神经元损伤中的作用。**方法** 出生 1 d 的 SD 大鼠, 提取海马神经元, 将其随机分为五组: 对照组 (C 组)、七氟醚预处理组 (Sev 组)、OGD 组、七氟醚预处理 + OGD 组 (SD 组) 和七氟醚预处理 + 缓激肽 (TRPM7 特异性激动剂) + OGD (B 组)。缺氧缺氧 1.5 h 后复糖复氧, 再正常培养 24 h 以制备 OGD 模型。C 组海马神经元仅做正常培养; Sev 组海马神经元行 2% 七氟醚预处理 1 h; OGD 组海马神经元仅制备 OGD 模型; SD 组海马神经元行 2% 七氟醚预处理 1 h, 24 h 后制备 OGD 模型; B 组神经元于七氟醚预处理前 15 min 在培养基中加入缓激肽 (TRPM7 特异性激动剂, 终浓度 200 $\mu\text{mol/L}$), 之后行 2% 七氟醚预处理 1 h, 24 h 后制备 OGD 模型。正常培养 24 h 后, 分别采用 MTT 法检测神经元相对存活指数, TUNEL 凋亡染色法检测神经元凋亡率, Western blot 检测 TRPM7 蛋白含量, 实时定量 PCR 法检测 TRPM7 mRNA 表达水平, ELISA 法测定神经元 IL-1 β 和 TNF- α 蛋白含量。**结果** OGD 组海马神经元 TRPM7 蛋白含量及 mRNA 表达水平、凋亡率、IL-1 β 、TNF- α mRNA 表达水平及上清蛋白含量明显高于 C 组 ($P < 0.05$), 而相对存活指数明显低于 C 组 ($P < 0.05$)。SD 组海马神经元 TRPM7 蛋白含量及 mRNA 表达水平、凋亡率、IL-1 β 、TNF- α mRNA 表达水平及上清蛋白含量明显低于 OGD 组 ($P < 0.05$), 而相对存活指数明显高于 OGD 组 ($P < 0.05$)。B 组海马神经元 TRPM7 蛋白含量及 mRNA 表达水平、凋亡率、IL-1 β 、TNF- α mRNA 表达水平及上清蛋白含量明显高于 SD 组 ($P < 0.05$), 而相对存活指数明显低于 SD 组 ($P < 0.05$)。**结论** 七氟醚预处理可通过缓解神经元 TRPM7 过度表达, 减轻缺血缺氧性损伤后海马神经元凋亡和炎症反应。

【关键词】 TRPM7; 七氟醚; 缺血预处理; 缺血缺氧性损伤; 神经元凋亡; 炎症反应

Roles of transient receptor potential melastatin 7 in hippocampal neuron injury WANG Guangzhi, WU Xiaoying, ZHU Guosong, CHEN Chao. Department of Anesthesiology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, China

Corresponding author: WU Xiaoying, Email: 13673713703@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the role of transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) in the protective role of sevoflurane preconditioning against hippocampal neuron injury caused by oxygen-glucose deprivation (OGD). **Methods** Hippocampal neurons were harvested from postnatal day 1 SD rats, and randomly divided into 5 groups: control group (group C), sevoflurane group (group Sev), oxygen-glucose deprivation group (group OGD), sevoflurane + OGD group (group SD) and sevoflurane + OGD + bradykinin group (group B). To build up the model of OGD, the neurons were cultured in a deoxygenated glucose-free medium and exposed to 95% N_2 and 5% CO_2 in an anaerobic chamber equilibrated at 37°C for 1.5 h, followed by replacement with glucose-containing medium and return to a standard incubator for additional 24 h. The neurons in group C received no treatment. Group OGD was preconditioned with 2% sevoflurane for 1 h. The neurons in group OGD were subjected to OGD. Group SD was preconditioned with 2% sevoflurane for 1 h, followed by OGD at 24 h after the sevoflurane exposure. The neurons in group B was incubated in a medium supplemented with 200 $\mu\text{mol/L}$ bradykinin (the selective agonist of TRPM7), followed sequentially by the preconditioning of 2% sevoflurane for 1 h and then OGD challenge. Twenty-four hours after re-oxygenation, The relative neuronal cell viability was determined by MTT assay, the neuronal apoptotic rate was analyzed by TUNEL assay, the protein expression of TRPM7 was detected by

DOI:10.12089/jca.2018.01.017

作者单位: 450003 郑州市, 河南省人民医院麻醉科 (王广治、朱国松、陈超), 内镜中心 (伍晓莹)

通信作者: 伍晓莹, Email: 13673713703@163.com

Western blot, the mRNA level of TRPM7 was estimated by real-time PCR, the neuronal release of IL-1 β and TNF- α in the serum was measured by ELISA. **Results** Compared with group C, the mRNA and protein levels of TRPM7, the neuronal apoptotic rate, the mRNA and supernatant protein levels of IL-1 β and TNF- α were significantly up-regulated in group OGD ($P < 0.05$), whereas the cell viability was decreased ($P < 0.05$). Compared with group OGD, the mRNA and protein levels of TRPM7, the neuronal apoptotic rate, the mRNA and supernatant protein levels of IL-1 β and TNF- α were significantly down-regulated in group SD ($P < 0.05$), whereas the cell viability was increased ($P < 0.05$). Compared with group SD, the mRNA and protein levels of TRPM7, the neuronal apoptotic rate, the mRNA and supernatant protein levels of IL-1 β and TNF- α were significantly up-regulated in group B ($P < 0.05$), whereas the cell viability was decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Sevoflurane attenuates apoptosis and inflammatory responses induced by OGD via reduction of the overexpression of TRPM7 in the hippocampal neurons.

【Key words】 Transient receptor potential melastatin 7; Sevoflurane; Ischemic preconditioning; Oxygen-glucose deprivation; Neuronal apoptosis; Inflammatory responses

近年来大量研究表明,吸入麻醉药(尤其是七氟醚)预处理具有显著的脑保护作用^[1,2]。脑缺血动物模型中,七氟醚预处理可明显减少缺血-再灌注损伤造成的细胞凋亡和神经炎症反应^[1~3]。钙稳态失衡在脑缺血后神经元凋亡和兴奋性细胞毒性中发挥重要作用^[4]。而研究表明,脑缺血-再灌注损伤后瞬时受体电位阳离子通道(TRPM7)可过度表达并通过诱发 Ca²⁺ 过度内流加重神经元损伤或凋亡^[5,6]。因此,TRPM7 已成为治疗脑缺血性损伤的重要靶点^[7]。但七氟醚预处理是否通过缓解 TRPM7 过度表达发挥脑保护作用尚不清楚。本实验通过建立原代大鼠海马神经元缺血缺氧性损伤(OGD)模型,探讨 TRPM7 在七氟醚预处理抑制大鼠 OGD 海马神经元凋亡和炎症反应中的作用。

材料与方法

海马神经元培养 参照文献^[10]和^[11],采用出生 1 d 内的新生 SD 大鼠(由郑州大学实验动物中心提供)提取海马神经元。75%酒精消毒后断头处死大鼠,于冰上仔细分离海马组织,海马组织剪成约 1 mm³ 的小块后加入 0.125%胰蛋白酶 37℃ 消化 5 min。之后加入含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基洗终止胰酶消化。离心 6 min(1 000 r/min)后,弃去上清,重悬细胞并进行细胞计数,以 6.5×10⁵/孔或 1×10⁵/孔的细胞密度分别接种到多聚赖氨酸包被的 6 孔板或 96 孔板中,6 孔板培养板中提前置入盖玻片。细胞培养基为含 2% B27、5% 马血清、0.5 mmol/L L-谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素的高糖 DMEM 培养基。细胞在 37℃、5% CO₂-95% 空气的湿润培养箱中培养,每天观察并记录细胞生长状态,每 2~3 天行半量换液,并于培养 3 d 时向培养集中加入终浓度为 10

mmol/L 阿糖胞苷以抑制非神经元细胞的生长。

OGD 模型的建立 参照文献^[8]和^[9],建立海马神经元 OGD 模型。神经元培养 10 d 后,将细胞培养基换为无糖 DMEM 培养基。培养板置于培养箱中,以 5~10 L/min 的流速向缺氧培养箱内吹入含 95% N₂ 和 5% CO₂ 的混合气体,1.5 h 后将培养板取出并换回原来高糖 DMEM 培养基,于原培养箱培养 24 h。

七氟醚预处理 参照文献^[3]和^[10],于 OGD 模型建立前 24 h 行七氟醚预处理。将培养的神经元放入培养箱中,麻醉机与培养箱连接后,七氟醚挥发罐刻度开到 2%,用含 5% CO₂ 的空气(流速 2 L/min)将七氟醚送入培养箱,1 h 后关闭挥发罐,继续通入空气洗脱七氟醚,30 min 后放回原培养箱培养,培养 24 h。

神经元处理方法 神经元随机分为五组:对照组(C组)、七氟醚预处理组(Sev组)、OGD组、七氟醚预处理+OGD组(SD组)和七氟醚预处理+缓激肽+OGD(B组)。C组海马神经元仅做正常培养;Sev组海马神经元行 2%七氟醚预处理;OGD组海马神经元仅制备 OGD 模型;SD组神经元行 2%七氟醚预处理后制备 OGD 模型;B组神经元于七氟醚预处理前 15 min 在培养基中加入缓激肽(TRPM7 特异性激动剂,终浓度 200 μ mol/L),之后行 2%七氟醚预处理 1 h,24 h 后制备 OGD 模型^[11]。

MTT 法检测 96 孔板中培养的神经元,各组随机取 10 孔,于正常培养 24 h 后使用 MTT 比色法检测神经元相对存活指数。每孔中加入终浓度为 0.5 mg/mL 的 MTT,于 37℃、含 5% CO₂-95% 空气的湿润培养箱中反应 4 h。倒出反应液体后,每孔中加入 100 μ l 的二甲基亚砜(DMSO),反应 10 min 至蓝紫色结晶完全溶解,用酶标仪在 570 nm

波长测得吸光度(OD_{570})值,计算神经元相对存活指数 $= (\text{实验组 } OD_{570} / \text{对照组 } OD_{570}) \times 100\%^{[12]}$ 。

TUNEL 凋亡染色法 参照文献[13],6 孔板中各组培养的神经元,随机取 5 孔,采用末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)法检测神经元凋亡。室温下 4%多聚甲醛固定神经元 30 min 后,加新鲜配制的破膜液(含 0.2% TritonX-100)处理 3 min。每孔加入 TUNEL 反应混合液 40~50 μ l,并于 37℃的暗箱内孵育 1 h。使用含二脒基苯基吡啶(DAPI)水溶性封片剂封片。荧光显微镜下每个样本随机选 5 个视野($\times 400$),DAPI 染色细胞核发蓝色荧光,TUNEL 染色凋亡细胞发绿色荧光,计算神经元凋亡率 $= [\text{TUNEL 阳性凋亡细胞} / \text{细胞总数(DAPI)}] \times 100\%$ 。

Western blot 检测 正常培养 24 h 后,6 孔板中培养的神经元,各组随机取 6 孔,使用 Western blot 法检测神经元 TRPM7 蛋白含量。各组细胞培养板中加入裂解液,裂解产物用 BCA 试剂盒进行蛋白定量。加入 5 $\times$ SDS 上样缓冲液,沸水中煮 8~10 min 后自然冷却,然后行 SDS-PAGE 电泳,并将蛋白转至 PVDF 膜。PVDF 膜在含 2%胎牛血清封闭液中室温封闭 1 h 后,浸于稀释的一抗(抗 TRPM7 抗体,1:1 000;抗 β -actin 抗体,1:500)中 4℃孵育过夜。第 2 天,TBST 液洗涤 5 min $\times$ 3 次后,浸于稀释的相应生物二抗(1:5 000)室温孵育 2 h,TBST 液洗涤 5 min $\times$ 3 次后行 ECL 显色,在凝胶成像系统中成像,并用 Image Lab 3.0 软件进行灰度分析。

实时定量 PCR (RT-PCR) 检测 参照文献[14],6 孔板中培养的神经元,各组随机取 6 孔,采用 RT-PCR 法进行测定 TRPM7 的 mRNA 表达水平。提取总 RNA,逆转录合成 cDNA,取产物 5 μ L。TRPM7 上游引物:5'-GCAAATGACTCCACTCTC-3',下游引物:5'-GATTCTCTCTTCACTCCCA-G-3',扩增片段长度 422 bp;IL-1 β 上游引物:5'-GTGGGGATGATGACGACC-3',下游引物:5'-TACGACCAGAGGCATACAGG-3',扩增片段长度 241 bp;TNF- α 上游引物:5'-AACTGGCAGAGGAGGCG-3',下游引物:5'-CAGAAGAGCGTGGTGGC-3',扩增片段长度为 115 bp^[14]。 β -actin 上游引物:5'-GACGATATCGCTGCGCTG-3',下游引物:5'-GTACGACCAGAGGCATACAGG-3',扩增片段长度 348 bp。参照文献[15]的方法,获得 TRPM7、IL-1 β 、TNF- α 与 β -actin mRNA 的 C_T 值,以实验组目的基因相对于对照组的表达量即 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ [—

$\Delta\Delta C_T = -(\Delta C_{T\text{实验组}} - \Delta C_{T\text{对照组}})$; $\Delta C_T = C_{T\text{目的基因}} - C_{T\beta\text{-actin}}$]反映其表达水平。

ELISA 法测定神经元 IL-1 β 和 TNF- α 含量 正常培养 24 h 后,96 孔板中培养的神经元,各组随机取 6 孔,收集神经元培养上清,采用 ELISA 法测定 IL-1 β 和 TNF- α 含量。加入终止液之后轻轻震荡,即可测量吸光度值(OD_{450})。根据标准品的吸光度值分别绘制标准曲线后,计算各个样本上清 IL-1 β 及 TNF- α 蛋白含量。

统计分析 采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

OGD 组海马神经元 TRPM7 蛋白含量及 mRNA 表达水平明显高于 C 组和 SD 组($P < 0.05$)。B 组海马神经元 TRPM7 蛋白含量及 mRNA 表达水平明显高于 SD 组($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 五组海马神经元 TRPM7 蛋白含量和 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数	TRPM7 蛋白	TRPM7 mRNA
C 组	6	100.0 $\pm$ 16.5	100.0 $\pm$ 20.7
Sev 组	6	106.1 $\pm$ 22.7	96.0 $\pm$ 23.4
OGD 组	6	162.6 $\pm$ 34.0 ^a	216.1 $\pm$ 52.6 ^a
SD 组	6	111.1 $\pm$ 18.5 ^b	129.3 $\pm$ 29.0 ^b
B 组	6	194.9 $\pm$ 33.5 ^c	150.5 $\pm$ 27.8 ^c

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 OGD 组比较,^b $P < 0.05$;与 SD 组比较,^c $P < 0.05$

OGD 组海马神经元 IL-1 β 、TNF- α mRNA 表达水平及蛋白含量明显高于 C 组和 SD 组($P < 0.05$)。Sev 组与 C 组差异无统计学意义。B 组海马神经元 IL-1 β 、TNF- α mRNA 表达水平及蛋白含量明显高于 SD 组($P < 0.05$)(表 2)。

OGD 组海马神经元相对存活指数明显低于 C 组和 SD 组($P < 0.05$),而凋亡率明显高于 C 组和 SD 组($P < 0.05$)。B 组海马神经元相对存活指数明显低于,凋亡率明显高于 SD 组($P < 0.05$)(表 3,图 1)。

讨 论

本实验研究结果显示,七氟醚预处理可缓解缺

表 2 五组海马神经元 IL-1 β 、TNF- α mRNA 表达水平及蛋白含量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数	mRNA (%)		蛋白含量($\mu\text{g/ml}$)	
		IL-1 β	TNF- α	IL-1 β	TNF- α
C 组	6	100.0 $\pm$ 22.9	100.0 $\pm$ 24.4	70.2 $\pm$ 16.9	82.4 $\pm$ 15.4
Sev 组	6	109.6 $\pm$ 28.1	96.7 $\pm$ 22.5	72.5 $\pm$ 19.5	88.2 $\pm$ 23.1
OGD 组	6	214.5 $\pm$ 55.6 ^a	179.2 $\pm$ 33.6 ^a	172.3 $\pm$ 33.8 ^a	162.4 $\pm$ 35.4 ^a
SD 组	6	142.3 $\pm$ 25.8 ^b	113.5 $\pm$ 21.8 ^b	100.8 $\pm$ 25.6 ^b	97.2 $\pm$ 16.7 ^b
B 组	6	179.5 $\pm$ 20.9 ^c	155.8 $\pm$ 25.8 ^c	142.8 $\pm$ 38.4 ^c	149.3 $\pm$ 24.4 ^c

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 OGD 组比较,^b $P < 0.05$;与 SD 组比较,^c $P < 0.05$

表 3 五组海马神经元相对存活指数和凋亡率的比较($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	孔数	神经元相对存活指数	神经元凋亡率
C 组	6	100.0 $\pm$ 14.5	11.6 $\pm$ 1.9
Sev 组	6	98.2 $\pm$ 14.4	12.0 $\pm$ 2.7
OGD 组	6	42.7 $\pm$ 6.7 ^a	62.5 $\pm$ 10.9 ^a
SD 组	6	87.4 $\pm$ 11.1 ^b	25.4 $\pm$ 6.2 ^b
B 组	6	52.9 $\pm$ 6.5 ^c	55.2 $\pm$ 9.4 ^c

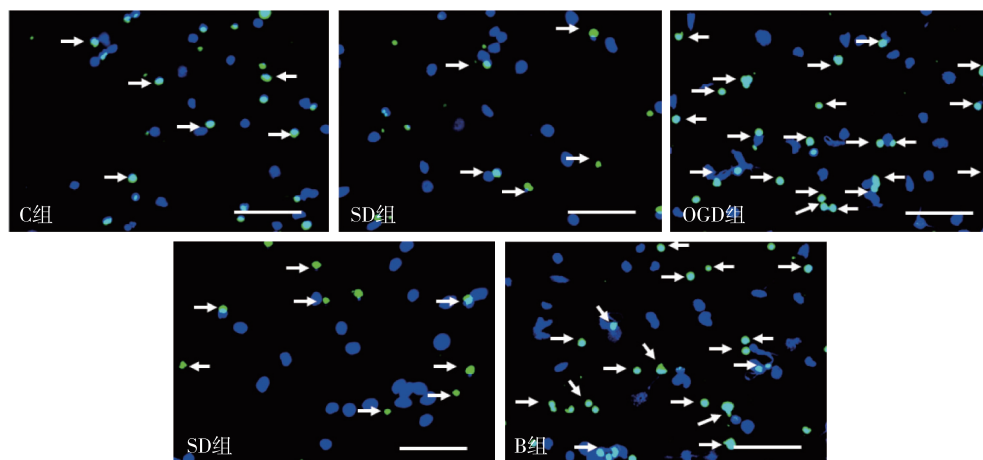
注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 OGD 组比较,^b $P < 0.05$;与 SD 组比较,^c $P < 0.05$

血缺氧性损伤后海马神经元 TRPM7 过度表达,并减轻神经元细胞凋亡和炎症因子释放。而 TRPM7 特异性激动剂缓激肽可逆转七氟醚预处理的抗炎及抗凋亡作用,说明七氟醚预处理的保护作用可能与抑制缺血缺氧性损伤后海马神经元 TRPM7 的过度表达相关。

七氟醚具有起效快、苏醒快等优点,且其脑保护作用也得到广泛关注^[1,2,16]。大鼠中七氟醚的最低肺泡有效浓度(MAC)为 2%,1 MAC 七氟醚预处理

理 1 h 已在体外脑和心肌缺血-再灌注损伤模型中应用^[17,18]。而海马组织对于缺血缺氧最为敏感。因此,本研究于缺血缺氧性损伤模型建立前 24 h,使用 2% 七氟醚处理海马神经元 1 h,作为七氟醚预处理的实验方法。

TRPM7 是一种广泛表达于中枢神经系统的离子通道蛋白,在海马神经元有十分重要的功能调节作用^[6,19]。在缺血缺氧状态下,氧自由基可通过激活或上调海马神经元 TRPM7 介导过度的神经元 Ca^{2+} 内流,进而导致细胞毒性和细胞凋亡,本研究结果与之一致^[20,21]。研究表明,抑制或下调 TRPM7 可缓解缺氧缺血及创伤所致的神经元死亡和功能紊乱^[5,22]。本研究结果显示,七氟醚预处理不仅可缓解缺血缺氧性损伤后的神经元凋亡,亦可下调 TRPM7 mRNA 和蛋白表达水平,提示缺血缺氧性损伤后七氟醚预处理的神经元保护作用可能与其下调 TRPM7 的效果相关。而进一步实验证实,TRPM7 的特异性激动剂缓激肽可逆转七氟醚预处理的抗凋亡和神经元保护作用,说明七氟醚预处理可通过减少缺血缺氧性损伤后海马神经元 TRPM7 的过度表达,发挥抗凋亡和神经元保护作用。



注: TUNEL 阳性细胞用 FITC 标记发绿色荧光,细胞核使用 DAPI 标记发蓝色荧光。

图 1 五组海马神经元凋亡率的电镜图

抗炎作用是七氟醚预处理脑保护作用的重要机制^[10,23]。在遭受缺血-再灌注损伤后,神经元可能反应性地激活其内部的炎症相关信号通路,合成并释放促炎因子,从而加重神经元损伤甚至诱发神经元凋亡。近年的研究表明,TRPM7 是调节神经炎症反应的重要分子和抗炎治疗的潜在靶点^[22,24]。本研究结果显示,缺血缺氧性损伤可诱发海马神经元 IL-1 β 和 TNF- α 等促炎因子 mRNA 和蛋白含量显著升高,而七氟醚预处理可缓解缺血缺氧性损伤诱发的 IL-1 β 和 TNF- α 释放。而 TRPM7 的特异性激动剂缓激肽可逆转七氟醚的这种抗炎作用,说明七氟醚预处理可通过减少缺血缺氧性损伤后海马神经元 TRPM7 的过度表达发挥其抗炎作用。

综上所述,七氟醚预处理可通过缓解神经元 TRPM7 过度表达,减轻缺血缺氧性损伤后海马神经元凋亡和炎症反应。

参 考 文 献

- [1] Wang H, Shi H, Yu Q, et al. Sevoflurane preconditioning confers neuroprotection via anti-apoptosis effects. *Acta Neurochir Suppl*, 2016, 121: 55-61.
- [2] Li L, Saiyin H, Xie J, et al. Sevoflurane preconditioning induced endogenous neurogenesis against ischemic brain injury by promoting microglial activation. *Oncotarget*, 2017, 8 (17): 28544-28557.
- [3] 孙文波, 张立民, 康立娜, 等. 七氟醚预处理对缺氧诱导因子 1 α 表达和 Slit2/Robo1 信号通路的影响. *临床麻醉学杂志*, 2015, 31(8): 793-796.
- [4] Lejay A, Fang F, John R, et al. Ischemia reperfusion injury, ischemic conditioning and diabetes mellitus. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 91: 11-22.
- [5] Chen W, Xu B, Xiao A, et al. TRPM7 inhibitor carvacrol protects brain from neonatal hypoxic-ischemic injury. *Mol Brain*, 2015, 8: 11.
- [6] Abumaria N, Li W, Liu Y. TRPM7 functions in non-neuronal and neuronal systems: Perspectives on its role in the adult brain. *Behav Brain Res*, 2016, pii: S0166-4328(16)30556-30553.
- [7] Bae CY, Sun HS. TRPM7 in cerebral ischemia and potential target for drug development in stroke. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32(6): 725-733.
- [8] Ge QF, Hu X, Ma ZQ, et al. Baicalin attenuates oxygen-glucose deprivation-induced injury via inhibiting NMDA receptor-mediated 5-lipoxygenase activation in rat cortical neurons. *Pharmacol Res*, 2007, 55(2): 148-157.
- [9] 赵国良, 衡新华, 邵建林. 丙泊酚诱导血红素氧化酶-1 表达抑制氧糖剥夺大鼠海马神经元凋亡及机制研究. *临床麻醉学杂志*, 2011, 27(11): 1104-1106.
- [10] Wang H, Lu S, Yu Q, et al. Sevoflurane preconditioning confers neuroprotection via anti-inflammatory effects. *Front Biosci (Elite Ed)*, 2011, 3: 604-615.
- [11] Dou Y, Li Y, Chen J, et al. Inhibition of cancer cell proliferation by midazolam by targeting transient receptor potential melastatin 7. *Oncol Lett*, 2013, 5(3): 1010-1016.
- [12] Magiera MM, Mora S, Mojsa B, et al. Trim17-mediated ubiquitination and degradation of Mcl-1 initiate apoptosis in neurons. *Cell Death Differ*, 2013, 20(2): 281-292.
- [13] Liu D, Zhang H, Gu W, et al. Neuroprotective effects of ginsenoside Rb1 on high glucose-induced neurotoxicity in primary cultured rat hippocampal neurons. *PLoS One*, 2013, 8(11): e79399.
- [14] 施庆余, 罗爱林, 李世勇. 异氟烷对发育期大鼠海马 IL-1 β mRNA, IL-6 mRNA 和 TNF- α mRNA 表达的影响. *中华麻醉学杂志*, 2010(3): 324-326.
- [15] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [16] Zhang DX, Zhang LM, Zhao XC, et al. Neuroprotective effects of erythropoietin against sevoflurane-induced neuronal apoptosis in primary rat cortical neurons involving the EPOR-Erk1/2-Nrf2/Bach1 signal pathway. *Biomed Pharmacother*, 2017, 87: 332-341.
- [17] Obal D, Dettwiler S, Favocchia C, et al. The influence of mitochondrial KATP-channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo. *Anesth Analg*, 2005, 101(5): 1252-1260.
- [18] Wang JK, Yu LN, Zhang FJ, et al. Postconditioning with sevoflurane protects against focal cerebral ischemia and reperfusion injury via PI3K/Akt pathway. *Brain Res*, 2010, 1357: 142-151.
- [19] Turlova E, Bae CYJ, Deurloo M, et al. TRPM7 regulates axonal outgrowth and maturation of primary hippocampal neurons. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(1): 595-610.
- [20] Faouzi M, Kilch T, Horgen FD, et al. The TRPM7 channel kinase regulates store-operated calcium entry. *J Physiol*, 2017, 595(10): 3165-3180.
- [21] Zhao Y, Wang J, Jiang H, et al. Following OGD/R, annexin 1 nuclear translocation and subsequent induction of apoptosis in neurons are assisted by myosin IIA in a TRPM7 kinase-dependent manner. *Mol Neurobiol*, 2015, 51(2): 729-742.
- [22] Xu H L, Liu M D, Yuan X H, et al. Suppression of cortical TRPM7 protein attenuates oxidative damage after traumatic brain injury via Akt/endothelial nitric oxide synthase pathway. *Neurochem Int*, 2017, pii: S0197-0186(17)30136-30135.
- [23] Li S, Xu J, Yao W, et al. Sevoflurane pretreatment attenuates TNF-alpha-induced human endothelial cell dysfunction through activating eNOS/NO pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 460(3): 879-886.
- [24] Zierler S, Hampe S, Nadoln W. TRPM channels as potential therapeutic targets against pro-inflammatory diseases. *Cell Calcium*, 2017, 67: 105-115.

(收稿日期: 2017-06-12)