

# 丙戊酸钠活化大鼠海马和额叶 ERK-1/2 信号传导通路\*

李建玲 汤参娥 陈主初 肖志强\*\*

(中南大学湘雅医院中心实验室, 长沙 410008)

**摘要** 为探讨慢性服用丙戊酸钠对中枢神经系统细胞外调控激酶(ERK)-1/2 信号传导通路活性的影响, 阐明丙戊酸钠治疗躁狂抑郁症作用的可能分子机制, 将 40 只雄性 Wistar 大鼠随机分为实验组和对照组, 每组各 20 只. 实验组大鼠用含丙戊酸钠的饲料喂养, 对照组大鼠用常规饲料喂养, 4 周后取大鼠海马和额叶组织制备蛋白质样本, 蛋白质印迹方法分析海马和额叶组织丝裂原活化的蛋白激酶激酶 (MEK)、ERK-1/2、MAPK 活化的蛋白激酶 1 (RSK1)、cAMP 效应元件结合因子 (CREB) 的磷酸化水平以及 Bcl-2 的表达水平, 电泳迁移率变动分析 (EMSA) 方法分析海马和额叶组织激活蛋白-1 (AP-1) 的 DNA 结合活性. 与对照组比较, 丙戊酸钠显著增强海马和额叶 MEK、ERK-1/2、RSK1、CREB 和 AP1 的活性, 上调海马和额叶 Bcl-2 的表达. 结果表明: 慢性服用丙戊酸钠激活中枢神经系统 ERK-1/2 信号传导通路、上调中枢神经系统 Bcl-2 蛋白表达, 这些作用可能与丙戊酸钠治疗躁狂抑郁症的作用有关.

**关键词** 丙戊酸钠, ERK-1/2, Bcl-2, 信号传导, 躁狂抑郁症

**学科分类号** R749.05, R363.2<sup>+</sup>1

躁狂抑郁症是一种常见的、严重的、慢性精神病, 临床上常用的治疗药物主要有碳酸锂、丙戊酸钠和酰胺咪嗪等情绪稳定剂. 虽然丙戊酸钠 (VPA) 是一种有效的治疗躁狂抑郁症药物, 但是其作用的分子机理仍然不大清楚<sup>[1]</sup>. 临床观察表明, 丙戊酸钠发挥临床治疗效果需要慢性服药, 这种时间作用模式提示: 丙戊酸钠抗躁狂抑郁症的作用可能涉及到基因水平的改变<sup>[2]</sup>. 研究发现<sup>[3, 4]</sup>, 丙戊酸钠活化体外培养神经细胞的细胞外信号调控激酶 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK-1/2), 抑制体外培养神经细胞和大鼠脑组织蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 的活性, 提示丙戊酸钠可能通过对中枢神经系统复杂的信号传导网络, 进行调控而发挥治疗作用. 另有研究发现<sup>[3, 5]</sup>, 丙戊酸钠能上调神经细胞 Bcl-2 表达, 促进神经细胞轴突生长、抑制神经细胞凋亡, 提示丙戊酸钠还具有营养和保护神经细胞的作用, 丙戊酸钠的这种作用亦可能有益于躁狂抑郁症的治疗.

虽然体外研究提示丙戊酸钠可能通过激活 ERK-1/2 信号传导通路、调控相应的靶基因表达而发挥治疗躁狂抑郁症的作用. 但至今, 丙戊酸钠对脑组织 ERK-1/2 信号通路有无调控作用还不清楚. 为此, 我们用丙戊酸钠慢性喂养大鼠, 取与情绪调节有关的脑区 (海马和额叶) 作为研究样本, 探讨丙戊酸钠是否活化中枢神经系统 ERK-1/2 信号传导通路, 是否增加 Bcl-2 蛋白表达. 研究结果

显示: 丙戊酸钠显著激活大鼠海马和额叶 ERK-1/2-RSK1 信号传导通路, 活化转录因子 cAMP 效应元件结合因子 (CREB) 和激活蛋白-1 (AP1), 上调抑制凋亡蛋白 Bcl-2 表达. 这一研究不仅有助于阐明丙戊酸钠抗躁狂抑郁症作用的分子机理, 而且也有助于揭示躁狂抑郁症的发病机制.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 主要试剂:** 兔抗磷酸化丝裂原活化的蛋白激酶激酶 (phospho-MEK)、MEK、phospho-ERK-1/2、ERK-1/2、phospho-CREB、CREB、phospho-RSK1、RSK1 多克隆抗体购自 New England Biolabs 公司. 兔抗 Bcl-2 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司. 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗兔 IgG 和增强化学发光 (ECL) 检测试剂盒购自 Amersham 公司. AP1 双链寡核苷酸探针及其标记试剂盒购自 Promega 公司, 探针序列如下: 5'-CGC TTG ATG AGT CAG CCG GAA-3'. [<sup>32</sup>P] ATP (11.1 × 10<sup>13</sup> Bq/mmol) 购自 NEN 公司. 蛋白酶抑制剂混合物 (proteinase inhibitor cocktail)、磷酸酶抑制剂混合物 I (phosphatase inhibitor cocktail I) 和磷酸

\* 教育部留学回国人员科研启动基金项目 (教外司留 [2002-247]), 湖南省卫生厅重点科研项目 (202-04) 和中南大学湘雅医院优秀人才基金项目资助.

\*\* 通讯联系人.

Tel: 0731-4327239, E-mail: zqxiao2001@yahoo.com.cn

收稿日期: 2002-10-09, 接受日期: 2002-10-28

酶抑制剂混合物 II (phosphatase inhibitor cocktail II) 购自 Sigma 公司. 二喹啉甲酸 (BCA) 蛋白质浓度测定试剂盒购自 Pierce Chemical 公司. 其他化学试剂均为分析纯、购自 Sigma 公司.

**1.1.2 实验动物:** 雄性 Wistar 大鼠 (体重 150~200 g, 共 40 只), 购买一周后用于实验.

## 1.2 方法

**1.2.1 丙戊酸钠慢性处理动物:** 将 Wistar 大鼠分为实验组和对照组, 每组 20 只动物. 实验组大鼠用含丙戊酸钠的颗粒型饲料 (3.6 g/kg) 喂养, 对照组动物用不含丙戊酸钠的常规颗粒型饲料喂养, 所有动物自由进食和饮水. 4 周后, 断颈处死动物, 砍下鼠头, 冰上开颅, 切取海马和额叶, -80℃超低温冰箱中保存备用. 同时收集外周血, 测定血药浓度, 血浆丙戊酸钠浓度为 (0.46 ± 0.08) mmol/L (与临床应用丙戊酸钠治疗精神病人的血药浓度相当).

**1.2.2 细胞总蛋白质的制备:** 实验组和对照组大鼠的海马和额叶组织在预冷的蛋白质抽提缓冲液 (20 mmol/L Tris-HCl、pH 7.5, 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EGTA, 1 mmol/L EDTA, 5 mmol/L DTT, 1% Triton X-100, 10% 蛋白酶抑制剂混合物, 1% 磷酸酶抑制剂混合物 I, 1% 磷酸酶抑制剂混合物 II) 中匀浆, 冰上裂解 30 min, 12 000 r/min、4℃离心 15 min 去除细胞碎片, 吸取上清液, 即为细胞总蛋白质, 用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白质浓度, 立即用于蛋白质印迹分析.

**1.2.3 蛋白质印迹分析:** 20 μg 蛋白质在 10% 或 14% SDS-聚丙烯酰胺凝胶中电泳分离, 电转移至 PVDF 膜, 印迹膜在含 5% 脱脂奶粉或 1% BSA 的 TBS 缓冲液中阻断 1 h; 在抗 phospho-MEK1/2、MEK1/2、phospho-ERK-1/2、ERK-1/2、phospho-RSK1、RSK1 或 Bcl-2 的一抗溶液 (抗体用含 5% 的脱脂奶粉或 10% BSA 的 TBS 缓冲液 1:1 000~1:2 000 稀释) 中, 4℃、孵育 12 h, TBS 缓冲液漂洗膜 3 次; 在 HRP 标记的羊抗兔二抗溶液 (抗体用含 5% 脱脂奶粉的 TBS 缓冲液 1:5 000 稀释) 中室温孵育 2 h, TBS 缓冲液漂洗膜 3 次; ECL 检测试剂盒显带, 曝光、显影和定影. X 光片上的信号用图象分析仪 (Molecular Dynamics) 进行光密度扫描分析. 当同一印迹膜用于多次蛋白质印迹分析时, 在完成蛋白质印迹分析后, 先用洗脱液 (100 mmol/L β-巯基乙醇, 2% SDS, 62.5 mmol/L Tris-HCl、pH 7.6) 56℃漂洗印迹膜 1 h、以去除

上一次蛋白质印迹分析结合的抗体, 再按上法进行下一次蛋白质印迹分析.

**1.2.4 细胞核蛋白的制备:** 实验组和对照组大鼠的海马和额叶组织用 PBS 洗 2 次, 置于加入了低渗缓冲液 (10 mmol/L HEPES、pH 7.9, 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 10 mmol/L KCl, 0.2 mmol/L 苯甲基磺酰氟, 1 mmol/L 二硫苏糖醇, 5 mg/L 抑蛋白酶肽, 5 μg/L 亮抑制肽) 的玻璃匀浆器中、冰上匀浆 20 次, 匀浆液 3 000 r/min、4℃离心 15 min. 去上清液, 沉淀块浮于冰冷的核蛋白抽提缓冲液 (20 mmol/L HEPES、pH 7.9, 25% 甘油, 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 0.4 mol/L KCl, 0.2 mmol/L 苯甲基磺酰氟, 1 mmol/L 二硫苏糖醇, 0.2 mmol/L EDTA, 5 mg/L 抑蛋白酶肽和 5 μg/L 亮抑制肽) 中、置冰上 30 min. 25 000 r/min、4℃离心 30 min, 收获上清即为核蛋白, 用 BCA 试剂盒测定核蛋白浓度, 用于电泳迁移率变动分析 (EMSA).

**1.2.5 电泳迁移率变动分析:** AP1 双链寡核苷酸探针按试剂盒说明用 T4 多核苷酸激酶标记, 再用 Sephadex G-25 柱层析纯化探针. DNA 与蛋白质结合反应如下: 5 μg 核蛋白和 2 μg poly (dI-dC) · poly (dI-dC) 在 20 μl 结合缓冲液 (10 mmol/L HEPES, pH 7.5, 4% 甘油, 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 50 mmol/L KCl, 0.5 mmol/L EDTA, 1 mmol/L 二硫苏糖醇) 4℃预反应 15 min, 然后加入 cpm 值为 3 × 10<sup>6</sup> 放射标记的 AP1 探针, 室温再反应 30 min. 反应产物用 6% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 凝胶干燥后进行放射自显影, X 光片上的信号用图象分析仪进行光密度扫描分析.

## 1.3 统计学处理

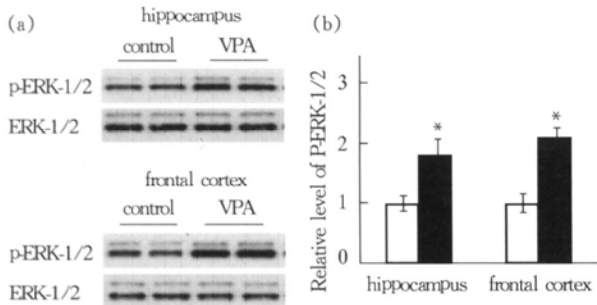
数据以均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SPSS 统计软件进行统计学处理, 用 ANOVA 作均数的显著性检验.  $P < 0.05$ , 差异有显著性.

## 2 结果

### 2.1 丙戊酸钠活化大鼠海马和额叶的 ERK-1/2

为探讨慢性服用丙戊酸钠是否激活脑组织 ERK-1/2, 用抗 phospho-ERK-1/2 抗体、蛋白质印迹方法检测实验组和对照组大鼠海马和额叶组织 ERK-1/2 的磷酸化水平 (活化程度); 印迹膜洗脱后再用抗 ERK-1/2 抗体、蛋白质印迹方法检测非磷酸化 ERK-1/2 水平作为加样量对照. 结果如图 1 所示: 实验组大鼠海马和额叶组织 ERK-1/2 的磷酸化水平明显增加, 分别为对照组的 1.8 倍和 2.1

倍。说明慢性服用丙戊酸钠显著激活大鼠海马和额叶的 ERK-1/2。

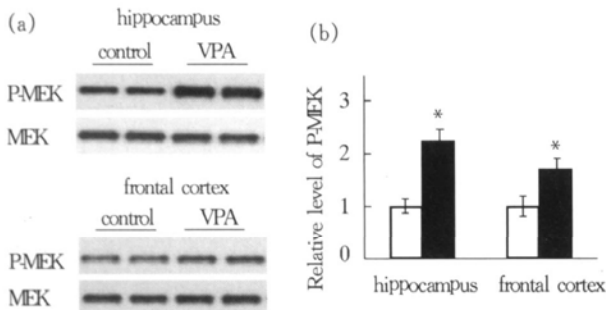


**Fig. 1 Effects of chronic VPA administration on activity of ERK-1/2 in rat hippocampus and frontal cortex**

(a) The levels of phospho-ERK-1/2 protein (in duplicate) in rat hippocampus and frontal cortex from control and VPA-treated animals were determined by Western blot analysis; (b) Relative levels of phospho-ERK-1/2 protein were quantified by densitometry. The data represent the mean of three independent experiments ( $\bar{x} \pm s$ ). \*  $P < 0.01$ , compared to control animals. □: control; ■: VPA.

## 2.2 丙戊酸钠活化大鼠海马和额叶的 MEK

在 ERK-1/2 信号传导通路中 MEK 是 ERK-1/2 的激酶，MEK 通过磷酸化活化 ERK-1/2。为探讨慢性服用丙戊酸钠是否也激活脑组织 MEK，用抗 phospho-MEK 抗体、蛋白质印迹方法检测实验组和对照组大鼠海马和额叶组织 MEK 的磷酸化水平（活化程度），印迹膜洗脱后，再用抗 MEK 抗体检测非磷酸化 MEK 水平作为加样量对照。结果如图 2 所示：实验组大鼠海马和额叶组织 MEK 磷酸化水平明显增加，分别为对照组的 2.2 和 1.7 倍。这说明：慢性服用丙戊酸钠显著激活大鼠海马和额叶的 MEK。

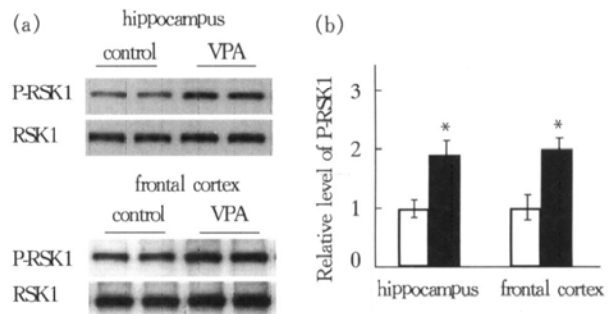


**Fig. 2 Effects of chronic VPA administration on activity of MEK in rat hippocampus and frontal cortex**

(a) The levels of phospho-MEK protein (in duplicate) in rat hippocampus and frontal cortex from control and VPA-treated animals were determined by Western blot analysis; (b) Relative levels of phospho-MEK protein were quantified by densitometry. The data represent the mean of three independent experiments ( $\bar{x} \pm s$ ). \*  $P < 0.01$ , compared to control animals. □: control; ■: VPA.

## 2.3 丙戊酸钠活化大鼠海马和额叶的 RSK1

RSK1 (90 ku ribosomal protein S6 kinase 1 或称为 MAPK activated protein kinase 1) 是 ERK-1/2 信号传导通路下游的信号转导子之一，ERK-1/2 通过磷酸化活化 RSK1，活化的 RSK1 调控凋亡相关蛋白质的表达<sup>[6]</sup>。为探讨慢性服用丙戊酸钠是否激活大鼠脑组织的 RSK1，用抗 phospho-RSK1 抗体、蛋白质印迹方法检测实验组和对照组大鼠海马和额叶组织 RSK1 磷酸化水平（活化程度），印迹膜洗脱后再用抗 RSK1 抗体检测非磷酸化 RSK1 水平作为加样量对照。结果如图 3 所示：实验组海马和额叶组织 RSK1 磷酸化水平明显增加，分别为对照组的 1.9 和 2.0 倍。说明慢性服用丙戊酸钠显著激活大鼠海马和额叶的 RSK1。



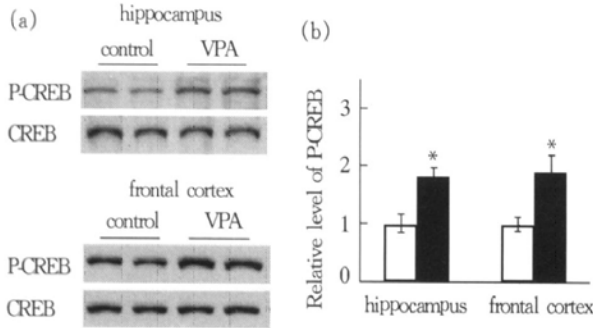
**Fig. 3 Effects of chronic VPA administration on activity of RSK1 in rat hippocampus and frontal cortex**

(a) The levels of phospho-RSK1 protein (in duplicate) in rat hippocampus and frontal cortex from control and VPA-treated animals were determined by Western blot analysis; (b) Relative levels of phospho-RSK1 protein were quantified by densitometry. The data represent the mean of three independent experiments ( $\bar{x} \pm s$ ). \*  $P < 0.01$ , compared to control animals. □: control; ■: VPA.

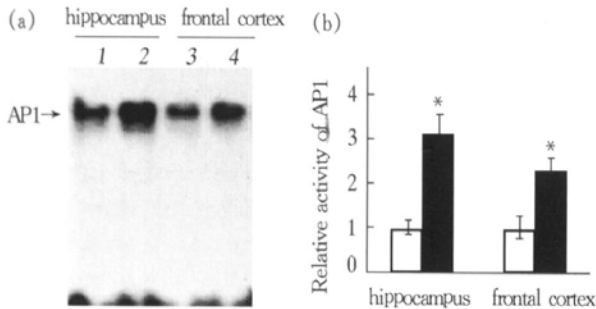
## 2.4 丙戊酸钠活化大鼠脑组织的 CREB 和 AP1

ERK-1/2 信号传导通路具有调节 cAMP 效应元件结合因子 (cAMP responsive element binding protein, CREB) 和 AP1 等转录因子活性的功能。ERK-1/2 激活的 RSK1 可通过磷酸化活化转录因子 CREB<sup>[6]</sup>，ERK-1/2 亦可通过增强 c-Fos 表达上调转录因子 AP1 的活性<sup>[7]</sup>。为探讨丙戊酸钠是否激活大鼠脑组织的 CREB 和 AP1，分别采用蛋白质印迹和 EMSA 方法检测实验组和对照组大鼠海马和额叶组织 CREB 磷酸化水平（活化程度）和 AP1 的 DNA 结合活性。结果如图 4 和图 5 所示：与对照组比较，实验组海马和额叶组织 CREB 磷酸化水平明显增加，分别为对照组的 1.8 和 1.9 倍，实验组海马和额叶组织 AP1 的 DNA 结合活性亦明

显增加, 分别为对照组的 3.1 倍和 2.3 倍. 提示: 慢性服用丙戊酸钠显著激活大鼠海马和额叶的转录 CREB 和 API.



**Fig. 4 Effects of chronic VPA administration on activity of transcriptional factor CREB in rat hippocampus and frontal cortex** (a) The levels of phospho-CREB protein (in duplicate) in rat hippocampus and frontal cortex from control and VPA-treated animals were determined by Western blot analysis; (b) Relative levels of phospho-CREB protein were quantified by densitometry. The data represent the mean of three independent experiments ( $\bar{x} \pm s$ ). \*  $P < 0.01$ , compared to control animals. □: control; ■: VPA.

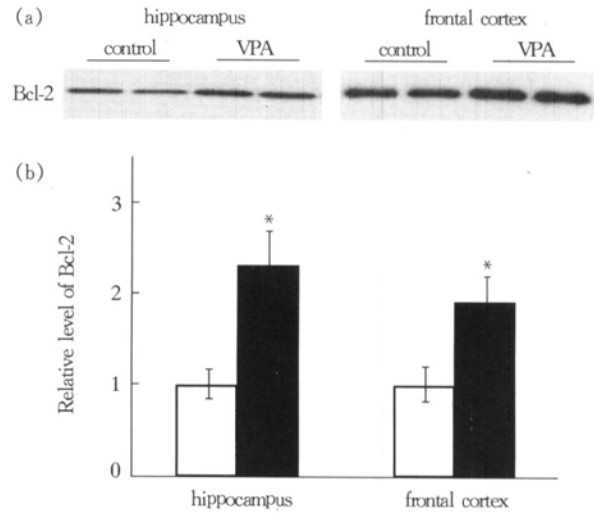


**Fig. 5 Effects of chronic VPA administration on activity of transcriptional factor API in rat hippocampus and frontal cortex** (a) The DNA binding activity of API protein in rat hippocampus and frontal cortex from control and VPA-treated animals were determined by EMSA. 1: control; 2: VPA; 3: control; 4: VPA. (b) Relative levels of API DNA binding activity were quantified by densitometry. The data represent the mean of three independent experiments ( $\bar{x} \pm s$ ). \*  $P < 0.01$ , compared to control animals. □: control; ■: VPA.

### 2.5 丙戊酸钠上调大鼠海马和额叶 Bcl-2 表达

上述实验结果显示丙戊酸钠可激活大鼠海马和额叶的 ERK-1/2-RSK1 信号传导通路. 由于 ERK-1/2 具有调节体外培养细胞 Bcl-2 家族蛋白表达的作用<sup>[3, 6]</sup>, 因此我们探讨慢性服用丙戊酸钠是否也调控脑组织 Bcl-2 蛋白表达. 用蛋白质印迹方法检测实验组和对照组大鼠脑组织 Bcl-2 表达水平. 结果如图 6 所示: 实验组大鼠海马和额叶 Bcl-2 水平明显增加, 分别为对照组的 2.3 倍和 1.9 倍. 说明

慢性服用丙戊酸钠显著上调大鼠海马和额叶组织 Bcl-2 表达.



**Fig. 6 Effects of chronic VPA administration on expression of Bcl-2 protein in rat hippocampus and frontal cortex**

(a) The levels of Bcl-2 protein (in duplicate) in rat hippocampus and frontal cortex from control and VPA-treated animals were determined by Western blot analysis; (b) Relative levels of Bcl-2 protein were quantified by densitometry. The data represent the mean of three independent experiments ( $\bar{x} \pm s$ ). \*  $P < 0.01$ , compared to control animals. □: control; ■: VPA.

## 3 讨 论

躁狂抑郁症是一种常见的、严重的、慢性精神病. 发现丙戊酸钠和锂盐具有稳定情绪的作用, 革新了躁狂抑郁症的治疗, 丙戊酸钠是目前临床治疗躁狂抑郁症的一种有效药物. 近 10 年来, 人们逐渐认识到治疗精神病的药物可通过调控神经细胞信号传导通路而发挥作用<sup>[4, 8]</sup>. 研究显示<sup>[3]</sup>, 丙戊酸钠能激活体外培养的神经细胞 ERK-1/2 信号通路. 然而, 丙戊酸钠对脑组织 ERK-1/2 信号通路活性有无影响还不清楚. 本文研究结果表明, 慢性服用丙戊酸钠显著激活大鼠海马和额叶 ERK-1/2-RSK1 信号传导通路, 上调下游转录因子 CREB 和 API 的活性. 由于 ERK-1/2 在中枢神经系统具有重要的生理功能, 如 ERK-1/2 与大脑的学习和记忆功能密切相关<sup>[9]</sup>, 也是中枢神经系统激动剂——吗啡和可卡因作用的靶标之一<sup>[10]</sup>. 另外, 大脑海马和额叶参与情绪调控, 是情绪性精神病发病相关的脑区<sup>[11]</sup>. 因此, 丙戊酸钠激活海马和额叶组织 ERK-1/2-RSK1 信号传导通路、上调大鼠海马和额叶转录因子 CREB 和 API 的活性可能与其抗躁狂

和稳定情绪作用有关。此外, 我们的研究结果也间接提示: 中枢神经系统 ERK-1/2-RSK1 信号传导通路活性下调、转录因子 CREB 和 AP1 活性下降可能与躁狂抑郁症的发病有关。

影像学和病理学研究均表明<sup>[8, 12]</sup>, 躁狂抑郁症的发生发展与大脑某些区域神经元和神经胶质细胞萎缩有关, 而 Bcl-2 蛋白具有抑制神经细胞凋亡和促进神经细胞生存的作用<sup>[13, 14]</sup>。我们的研究显示: 慢性服用丙戊酸钠能上调抑制凋亡蛋白 Bcl-2 表达, 而且丙戊酸钠的这种作用与 BDNF 等神经营养因子的作用相似<sup>[15]</sup>, 提示慢性服用丙戊酸钠具有保护脑神经细胞、营养神经细胞的作用。丙戊酸钠的这种作用可能对躁狂抑郁症患者大脑神经元和神经胶质细胞萎缩有治疗作用。

慢性服用丙戊酸钠激活中枢神经系统 ERK-1/2-RSK1 信号传导通路, 上调转录因子 CREB 和 AP1 的活性, 增加 Bcl-2 蛋白表达, 这些作用可能是丙戊酸钠治疗躁狂抑郁症的分子基础之一, 中枢神经系统 ERK-1/2-RSK1 信号传导通路活性下降可能与躁狂抑郁症的发病有关。

**致谢** 本文部分实验在 Laboratory of Molecular Pathophysiology (Department of Psychiatry and Behavioral Neurosciences, Wayne State University School of Medicine, USA) 完成, 特此致谢!

### 参 考 文 献

- Manji H K, Moore G J, Chen G. Bipolar disorder: leads from the molecular and cellular mechanisms of action of mood stabilizers. *Br J Psychiatry*, 2001, **41** (suppl): s107~ 119
- Hyman S E, Nestler E J. Initiation and adaptation: a paradigm for understanding psychotropic drug action. *Am J Psychiatry*, 1996, **153** (2): 151~ 162
- Yuan P X, Huang L D, Jiang Y M, *et al.* The mood stabilizer valproic acid activates mitogen-activated protein kinases and promotes neurite growth. *J Biol Chem*, 2001, **276** (34): 31674~ 31683
- Manji H K, Bechuk J M, Moore G J, *et al.* Modulation of CNS signal transduction pathways and gene expression by mood stabilizing agents: therapeutic implications. *J Clin Psychiatry*, 1999, **60** (suppl 2): 27~ 39
- Chen G, Zeng W Z, Yuan P X, *et al.* The mood-stabilizing agents lithium and valproate robustly increase the levels of the neuroprotective protein Bcl-2 in the CNS. *J Neurochem*, 1999, **72** (2): 879~ 882
- Bonni A, Brunet A, West A E, *et al.* Cell survival promoted by the Ras-MAPK signaling pathway by transcriptional-dependent and -independent mechanisms. *Science*, 1999, **286** (5443): 1358~ 1362
- Karin M. The regulation of AP-1 activity by mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem*, 1995, **270** (28): 16483~ 16486
- Manji H K, Drevets W C, Charney D S. The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine*, 2001, **7** (5): 541~ 547
- Blum S, Moore A N, Adams F. A mitogen-activated protein kinase cascade in the CA1/CA2 subfield of the dorsal hippocampus is essential for long-term spatial memory. *J Neurosci*, 1999, **19** (9): 3535~ 3544
- Berhow M T, Hiroi N, Nestler E J. Regulation of ERK (extracellular signal regulated kinase), part of the neurotrophin signal transduction cascade, in the rat mesolimbic dopamine system by chronic exposure to morphine or cocaine. *J Neurosci*, 1996, **16** (15): 4707~ 4715
- 袁勇贵, 张心保, 吴爱勤. 焦虑和抑郁三种理论模式的研究进展. *中华精神科杂志*, 2002, **34** (1): 55~ 57  
Yuan Y G, Zhang X B, Wu A Q. *Chin J Psychiatry*, 2002, **34** (1): 55~ 57
- 王雪琦, 路长林, 李丽云, 等. 大鼠抑郁模型的脑磁共振成像研究. *中华精神科杂志*, 1999, **32** (1): 12~ 14  
Wang X Q, Lu C L, Li L Y, *et al.* *Chin J Psychiatry*, 1999, **32** (1): 12~ 14
- Orike N, Middleton G, Borthwick E, *et al.* Role of PI-3 kinase, Akt and Bcl-2-related proteins in sustaining the survival of neurotrophic factor-independent adult sympathetic neurons. *J Cell Biol*, 2001, **154** (5): 995~ 1005
- 辛 宏, 颜光涛, 陈泮藻. 生物膜信号转导与细胞凋亡. *生物化学与生物物理进展*, 2001, **28** (1): 52~ 55  
Xin H, Yan G T, Chen B Z. *Prog Biochem Biophys*, 2001, **28** (1): 52~ 55
- Schabitz W R, Sommer C, Zoder W. Intravenous brain-derived neurotrophic factor reduces infarct size and counterregulates Bax and Bcl-2 expression after temporary focal cerebral ischemia. *Stroke*, 2000, **31** (9): 2212~ 2217

## Valproic Acid Activates ERK-1 / 2 Signaling Pathway in The Rat Hippocampus and Frontal Cortex\*

LI Jian-Ling, TANG Cen-E, CHEN Zhu-Chu, XIAO Zhi-Qiang\*\*  
(Central Laboratory, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, China)

**Abstract** In order to study the effects of chronic *in vivo* valproic acid administration on ERK-1/2 signaling pathway, and to elucidate the molecular mechanisms underlying the therapeutic effects of valproic acid, male Wistar rats were divided into two groups (each 20 animals), one group was treated with valproic acid chow (3.6 g/kg) for 4 weeks, the other group had access to normal chow as control. By the end of the 4th week, rat brains were removed immediately on decapitation and dissected on ice, and the hippocampus and frontal cortex were obtained. The total proteins or nuclear proteins of rat brain hippocampus and frontal cortex were prepared. Levels of the phosphorylated, active forms of MEK, ERK-1/2, RSK1, CREB and expression levels of Bcl-2 were assayed by Western blot analysis. DNA binding activity of transcriptional factor AP1 was determined by EMSA. Valproic acid increased the activities of MEK, ERK-1/2, RSK1, CREB and AP1, and up-regulated the expression of Bcl-2 in rat brain hippocampus and frontal cortex. These data suggest chronic treatment of valproic acid activates ERKs signaling pathway and up-regulates the expression of Bcl-2 proteins in central nerve system (CNS), which may associate with the therapeutic efficacy of valproic acid in the treatment of manic depressive illness.

**Key words** valproic acid, ERK-1/2, Bcl-2, signaling pathway, manic depressive illness

---

\* This work was supported by The Studied Abroad and Returned Scholars From Ministry of Education of China, Key Research Program From Public Health Bureau of Hunan Province (Z02-04) and Outstanding Scholars of Xiangya Hospital of Central South University.

\*\* Corresponding author. Tel: 86-731-4327239, E-mail: zqxiao2001@yahoo.com.cn

Received: October 9, 2002 Accepted: October 28, 2002