文章编号:1000-5404(2014)15-1587-05

论著

Fascin-1 在颞叶癫痫大鼠中表达的变化

詹 傲[1],石全红[1],张 超[1],谭 赢[1],刘 浏[1],谢延凤[1],但 炜[1],王 佳[2] (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院神经外科[1];401331 重庆,重庆医科大学附属大学城医院妇产科[2])

[摘要] **目的** 研究肌成束蛋白 Fascin-1 在颞叶癫痫模型大鼠颞叶皮质及海马中的表达变化,探讨 Fascin-1 与颞叶癫痫的关系及其意义。**方法** 56 只雄性 SD 大鼠分为对照组(5 只)、实验组(35 只)以及用于行为学观察的干预组(8 只)和模型组(8 只)。实验组大鼠腹腔注射匹鲁卡品建立颞叶癫痫模型,并在模型点燃后的不同时间点(6 h、24 h、72 h、1 周、2 周、1 个月、2 个月)断头取脑;干预组进行外源性 Fascin-1 干预后,观察其造模后行为学的改变。最后分别运用免疫组化、Western blot 检测实验组及对照组颞叶皮质和海马中 Fascin-1 蛋白的动态变化;用免疫荧光双标对 Fascin-1 进行定位。**结果** 行为学结果示干预组癫痫发作的潜伏期及达到 4/5 级所需的时间较模型组明显延长($P<0.05$),但发作程度与模型组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。免疫组化结果显示,实验组大鼠颞叶皮质和海马中的 Fascin-1 表达水平在各个时间点都低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$,皮质 6 h 时间点除外)。Western blot 检测结果同样显示实验组 Fascin-1 蛋白表达水平在各个时间点都低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$,皮质 6 h 时间点除外)。免疫荧光双标检测结果显示,Fascin-1 主要表达于神经元上而不是星形胶质细胞。**结论** Fascin-1 蛋白的水平在颞叶癫痫大鼠模型中显著下调,外源性给予 Fascin-1 多肽后,发现对癫痫的发作有延缓作用。提示 Fascin-1 蛋白的降低可能与颞叶癫痫的病理过程有着密切关系。

[关键词] 肌成束蛋白-1;Fascin-1;颞叶癫痫;大脑皮质;海马
[中图法分类号] R341; R363.21; R742.1 [文献标志码] A

Expression of fascin-1 in temporal lobe of epileptic rats

Zhan Ao[1], Shi Quanhong[1], Zhang Chao[1], Tan Ying[1], Liu Liu[1], Xie Yanfeng[1], Dan Wei[1], Wang Jia[2] ([1]Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Department of Obstetrics and Gynecology, University-Town Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 401331, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression pattern of fascin-1 in the temporal lobe cortex and hippocampus of rat epilepsy model, and to investigate the role of its expression in temporal lobe epilepsy (TLE). **Methods** A total of 56 male SD rats were randomly divided into control group ($n=5$), experimental group ($n=35$), intervention group (exogenous fascin-1 of 0.05 μg/kg was given by intra-peritoneal injection for 5 consecutive days, $n=8$) and epilepsy model group ($n=8$). The rats of 4 later groups were injected intra-peritoneally with pilocarpine to establish TLE model. The rats of intervention group were observed for their behavior changes and evaluated by Racine's scoring system. The rats of control and experimental group were sacrificed at different time points, including 6, 24 and 72 h, 1 and 2 weeks, and 1 and 2 months after kindling. Immunochemical assay, Western blotting and immunofluorescence assay were used to assess the expression and location of fascin-1 in the cortex and hippocampus. **Results** The latent period and the time required to reach 4/5 level was prolonger in the intervention group than model group ($P<0.05$), but there was no significance in attack degree between the 2 groups. In the hippocampus and adjacent cortex in epileptic rats, fascin-1 expression was significantly decreased at all time points after kindling when compared with the controls ($P<0.05$, but not at the time point of 6 h in the cortex). Immnofluorescence assay showed fascin-1 was mainly expressed in the neurons but not in the astrocytes. **Conclusion** The expression pattern of

[基金项目] 重庆市科委自然科学基金(CSTC2011jjA10084);国家临床重点专科建设项目(财社[2011]170 号)
[通信作者] 王 佳,E-mail:752203031@qq.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140303.1010.003.html(2014-03-03)

fascin-1 is down-regulated in the TLE rat model, and epilepsy seizures are delayed after giving exogenous fascin-1 peptides, indicating that decreased expression of fascin-1 might be involved in the pathogenesis of TLE.

[**Key words**] fascin-1; temporal lobe epilepsy; cerebral cortex; hippocampus

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing(CSTC2011jjA10084) and the Project of National Clinical Key-specialty Construction (2011-170).
Corresponding author: Wang Jiang, E-mail:752203031@qq.com

颞叶癫痫(temporal lobe epilepsy,TLE)是癫痫中最常见的类型之一,其发病率高,好发于各个年龄层,且抗癫痫药物治疗效果不佳,给患者带来了极大的身心及经济负担。目前颞叶癫痫的发病机制尚未阐明,因此进一步了解癫痫发生及癫痫相关脑损伤的分子机制是十分必要的[1]。已有研究发现苔藓纤维芽生、神经元异常放电是颞叶癫痫重要的病理基础[2]。苔藓纤维芽生及异常兴奋环路的形成,将会引起神经元的异常放电,增加癫痫发作的敏感性并促进癫痫的形成[3]。其中突触重塑是这些异位突触形成最重要的病理过程。肌成束蛋白(Fascin-1)是一种能与F-肌动蛋白(F-actin)结合的细胞骨架蛋白,在细胞形态学及功能的发展中起着重要的作用。Fascin-1可以组织肌动蛋白的捆绑,促进树突棘的形成及囊泡的转运等,在突触重塑中扮演重要的角色[4],而Fascin-1是否参与颞叶癫痫的发生、发展过程尚不清楚。本研究建立TLE大鼠模型,检测Fascin-1在TLE大鼠颞叶皮质及海马中的表达,以期初步阐明Fascin-1与TLE的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

56只清洁级健康成年雄性SD大鼠,体质量200~250 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,分为对照组5只、实验组35只以及用于观察行为学变化的模型组8只和干预组8只。本实验对大鼠的使用受到了重庆医科大学动物伦理委员会的批准。大鼠在标准环境中生长,并且自由地获取食物及水。按照重庆医科大学动物保健委员会的指导方针进行动物操作,以期最大限度减少动物所遭受的痛苦及使用数量。

1.2 TLE模型的制作

实验组大鼠首先腹腔注射无水氯化锂(127 mg/kg,美国Sigma公司)。12 h后,大鼠接受第1次匹鲁卡品腹腔注射(50 mg/kg,美国Sigma公司),随后每隔30 min腹腔注射1次匹鲁卡品(10 mg/kg)直到大鼠出现癫痫发作。参照Racine's评分[5]对大鼠癫痫的发作进行评分,其中发作评分在4~5分的认为模型点燃成功,剔除模型不成功或死亡的大鼠,并按随机抽样的原则补齐动物并重新造模,以保证每组样本量为5只。实验组大鼠在模型点燃后分为以下7个时间点:6 h、24 h、72 h、1周、2周、1个月以及2个月。对照组大鼠在腹腔内注射同样剂量的生理盐水,没有观察到癫痫发作。在以上7个时间点分别断头取脑,取出海马及邻近的颞叶皮质。

1.3 组织处理

从对照组及实验组各时间点大鼠取出的脑组织(海马及皮质)一部分立即放入液氮灌中储存,用于随后的Western blot检测;另一部分组织用4%多聚甲醛固定,4 ℃过夜后行石蜡包埋。行5 μm厚的连续冠状切片用于随后的免疫组化检测、10 μm厚的连续冠状切片用于免疫荧光检测,所有切片裱于预先包被了多聚赖氨酸的盖玻片上,室温储存备用。

1.4 行为学观察

运用外源性Fascin-1多肽(0.05 μg/kg,美国Abcam公司)对干预组大鼠进行腹腔注射,连续使用5 d,最后1次给予Fascin-1多肽后1 h进行造模,模型组则直接造模,方法同1.2。观察大鼠造模后首次出现甩头、甩尾、颈动的时间作为发作潜伏期,并参照Racine's评分对各组大鼠的发作程度进行评分,并观察首次发作达4/5级所需的时间。

1.5 免疫组化检测

对切片进行脱蜡与入水后进行抗原修复,其过程简述如下:组织切片在二甲苯中浸泡20 min后依次在梯度酒精中浸泡5 min,入水后的切片在3% H_2O_2室温孵育10 min后在微波下进行抗原修复。然后于室温下滴加山羊血清封闭液,30 min后滴加Fascin-1一抗(北京博奥森公司,1∶50),4 ℃过夜后滴加山羊抗兔二抗,37 ℃孵育1 h后滴加SABC复合物(北京中杉公司),37 ℃孵育30 min;滴加DAB(北京中杉公司)后室温显色3 min。PBS替代一抗作为阴性对照。运用OLYMPUS PM20全自动显微镜(日本Olympus)和TCFY-2050病理系统观察切片,以细胞质或细胞膜染成黄色或棕色为阳性。Image-Pro Plus软件计算Fascin-1阳性细胞的平均光密度值,以观察对照组与实验组Fascin-1表达水平的差异。

1.6 免疫荧光双标检测

运用免疫荧光双标法对Fascin-1进行细胞定位。切片的脱蜡、入水与抗原修复如1.5所述,然后分别滴加Fascin-1一抗(北京博奥森公司,1∶50)与鼠抗MAP2抗体(武汉博士德公司)的混合物,以及Fascin-1一抗(1∶50)与山羊抗鼠GFAP抗体(北京中杉公司)的混合物,4 ℃过夜。次日,加入荧光标记的二抗,分别是FITC标记的山羊抗兔IgG(1∶200,北京中杉公司)以及TRITC标记的山羊抗小鼠IgG抗体(1∶200,北京中杉公司)。在PBS清洗后,配置甘油封片,最后运用安装了Fluoview FVX共焦扫描头(德国,Heidelberg公司)的Olympus IX 70倒置显微镜(日本,Olympus公司)进行激光扫描共聚焦显微检查来获得荧光图像。

1.7 Western blot 检测

运用蛋白提取试剂盒提取总蛋白,BCA 实验检测蛋白浓度并配平。以 GAPDH 为内参(上海碧云天公司)。蛋白样品在十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶上电泳,并电转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上。5% 的脱脂奶粉封闭 2 h 后滴加 Fascin-1 一抗(1∶300,北京博奥森公司),抗 GAPDH 抗体(1∶2 000)并 4 ℃过夜。随后在膜上孵育辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗(1∶4 000,北京中杉公司)孵育 1 h。最后运用化学发光法显色。Quantity One 软件(美国 Bio-Rad 实验室)被用来检测条带的光密度值,对每组大鼠 Fascin-1 与 GAPDH 的平均光密度比值(Fascin-1/GAPDH)进行分析,从而检测 Fascin-1 蛋白表达的变化。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对照组和实验组组间比较采用单因素方差分析(用 LSD-t 检验比较两两之间的差异),模型组和干预组组间比较采用独立样本 t 检验。

2 结果

2.1 行为学表现

实验组大鼠在腹腔注射匹鲁卡品后出现癫痫的时间为 10 ~ 45 min。抽搐 1 h 后注射安定终止。大鼠癫痫发作的形式包括阵挛性前肢抖动、强烈的身体颤动、跌倒等。大鼠每天都会出现自发性癫痫发作,平均每天 1 ~ 7 次,持续时间为 15 ~ 45 s。在首次癫痫以后,大鼠会经历癫痫发作急性期(6、24、72 h),然后出现一段癫痫不发作或发作次数很少的时期,即静默期(1、2 周),最后进入自发性癫痫发作时期(1、2 个月)。根据 Racine's 评分,模型组大鼠的发作程度均达到 4/5 级,而干预组除 3 只发作程度为 3 级外,其余都达到 4/5 级,与模型组比较其发作程度略减轻,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。干预组的发作潜伏期及首次发作达 4/5 级所需的时间较模型组明显延长($P < 0.05$)。见表 1。

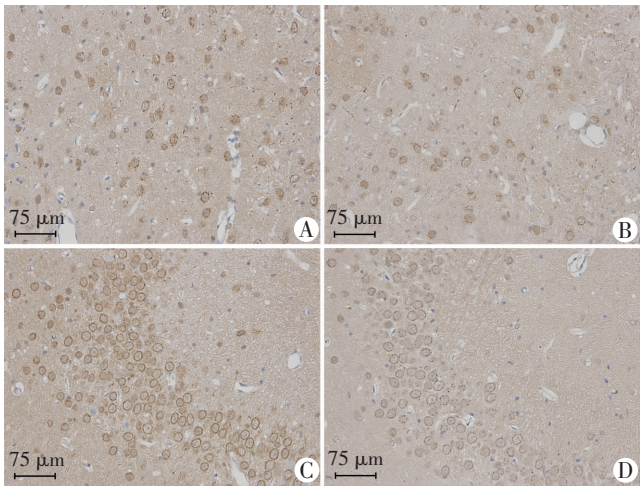
表 1 模型组和干预组大鼠发作潜伏期、发作达 4/5 级的时间及发作程度的比较($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	发作潜伏期(min)	发作达 4/5 级所需的时间(min)	Racine's 评分
模型组	20.26 ± 12.07	42.48 ± 9.11	4.5 ± 0.5
干预组	33.40 ± 11.99[a]	59.63 ± 10.74[a]	4.0 ± 0.9

a:$P < 0.05$,与模型组比较

2.2 大鼠皮质及海马免疫组化结果

在颞叶皮质中我们观察到对照组神经元细胞质及细胞膜上很强的 Fascin-1 阳性表达(图 1A),而在实验组中检测到很弱的 Fascin-1 阳性表达细胞(图 1B)。同样,在海马,尤其是 CA3 区中,检测到对照组神经元上很强的 Fascin-1 阳性表达(图 1C);而在实验组中,观测到很弱的 Fascin-1 阳性表达细胞(图 1D)。运用单因素方差分析,Fascin-1 对照组与实验组各个时间点在颞叶皮质与海马中的比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。两两比较,实验组颞叶皮质的各个时间点,除了 6 h 外($P = 0.197$),与对照组的平均光密度值差异有统计学意义($P < 0.05$)。模型点燃后,颞叶皮质中 Fascin-1 表达水平最低的时间点是 2 个月($P < 0.05$)。与颞叶皮质的结果相似,海马 Fascin-1 的表达水平在模型点燃后较对照组逐渐降低,且实验组各个时间点的表达与对照组比较,差异都具有统计学意义($P < 0.05$)。其中表达最低的时间点是在 2 周($P < 0.05$)。见表 2。



A:对照组大鼠皮质;B:实验组大鼠皮质(2 个月);C:对照组大鼠海马 CA3 区;D:实验组大鼠海马 CA3 区(2 周)

图 1 免疫组化检测各组大鼠皮质及海马 Fascin-1 的表达(SABC)

表 2 各组大鼠皮质及海马 Fascin-1 光密度值比较($n = 5, \bar{x} \pm s$)

组别	颞叶皮质	海马
对照组	1.02 ± 0.13	1.10 ± 0.10
实验组 6 h	0.92 ± 0.07	0.73 ± 0.08[a]
实验组 24 h	0.68 ± 0.10[a]	0.62 ± 0.07[a]
实验组 72 h	0.46 ± 0.08[a]	0.47 ± 0.11[a]
实验组 1 周	0.33 ± 0.10[a]	0.34 ± 0.10[a]
实验组 2 周	0.31 ± 0.07[a]	0.27 ± 0.08[a]
实验组 1 个月	0.26 ± 0.10[a]	0.30 ± 0.09[a]
实验组 2 个月	0.23 ± 0.06[a]	0.36 ± 0.11[a]

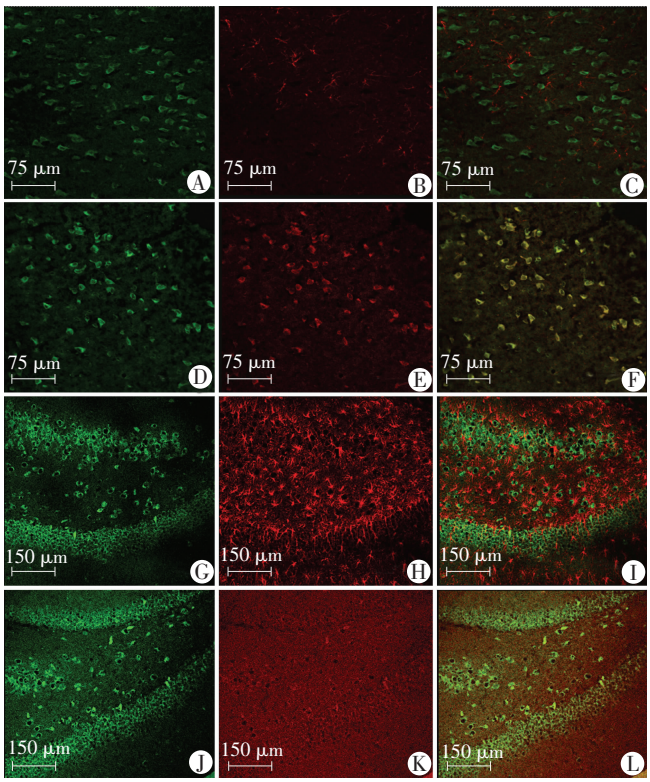
a:$P < 0.05$,与对照组比较

2.3 大鼠皮质及海马免疫荧光双标结果

MAP2 主要特异性表达于神经元,而 GFAP 特异性表达于胶质细胞。实验组大鼠免疫荧光双标结果示 Fascin-1 与 MPA2(红色)共表达于颞叶皮质及海马的神经元(黄色)上,而不与 GFAP(红色)共表达于胶质细胞上。见图 2。

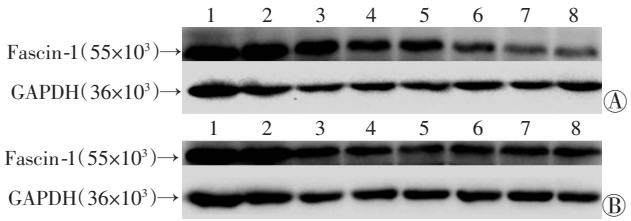
2.4 大鼠皮质及海马 Western blot 检测

Fascin-1 的免疫反应条带在 55×10^3 处被检测到,其表达水平通过 Fascin-1 的光密度值除以内参 GAPDH 的光密度值来进行标准化。在颞叶皮质中(图 3A)及海马中(图 3B),我们观测到实验组各个时间点 Fascin-1 的条带灰度明显低于对照组(皮质 6 h 除外)。Fascin-1 对照组与实验组各个时间点在颞叶皮质与海马中的比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。两两比较,实验组颞叶皮质的各个时间点,除了 6 h($P = 0.112$),与对照组的平均光密度值差异有统计学意义($P < 0.05$),表达最低的时间点是在 2 个月。海马 Fascin-1 的表达水平在实验组较对照组逐渐降低,且实验组各个时间点的表达与对照组比较,差异都具有统计学意义($P < 0.05$)。其中表达最低的时间点是在 2 周($P < 0.05$)。见表 3。



A:胶质细胞切片中的大鼠皮质荧光标记 Fascin-1;B:大鼠皮质 GFAP 荧光标记胶质细胞;C:重合;D:神经元切片中的大鼠皮质荧光标记 Fascin-1;E:大鼠皮质 MAP2 荧光标记神经元 F:重合;G:胶质细胞切片中的大鼠海马荧光标记 Fascin-1;H:大鼠海马 GFAP 荧光标记胶质细胞;I:重合;J:神经元切片中的大鼠海马荧光标记 Fascin-1;K:大鼠海马 MAP2 荧光标记神经元;L:重合

图2 各组大鼠皮质与海马的免疫荧光双标观察



A:皮质;B:海马;1:对照组;2~8:分别为实验组 6 h、24 h、72 h、1 周、2 周、1 个月、2 个月

图3 Western blot 检测各组大鼠皮质与海马 Fascin-1 的表达

表3 各组大鼠皮质与海马 Fascin-1 平均光密度值比较($n=5$,$\bar{x}\pm s$)

组别	颞叶皮质	海马
对照组	1.12±0.11	1.29±0.12
实验组 6 h	1.02±0.07	0.83±0.09[a]
实验组 24 h	0.78±0.08[a]	0.71±0.06[a]
实验组 72 h	0.56±0.04[a]	0.55±0.03[a]
实验组 1 周	0.53±0.02[a]	0.44±0.10[a]
实验组 2 周	0.37±0.05[a]	0.35±0.08[a]
实验组 1 个月	0.36±0.09[a]	0.41±0.09[a]
实验组 2 个月	0.29±0.03[a]	0.42±0.12[a]

a:$P<0.05$,与对照组比较

3 讨论

TLE 是最主要的部分性癫痫发作的类型。由于在海马中具有特殊的神经联系及环路结构,因此其结构中异位突触及异常兴奋环路的形成被认为与颞叶癫痫有着特殊的关系[6]。其中突触重塑是异位突触形成最重要的病理过程。近年已经发现许多与突触重塑有关的蛋白,并与颞叶癫痫的发生有着密切的关系,比如微管蛋白、动力蛋白(dynamin1)、神经迁移蛋白 2(Slit2)等[7-8]。

Fascin-1 是一种肌成束蛋白,参与细胞骨架的重建,在细胞形态学及功能的发展与生理调控中起着重要的作用。Fascin-1 基因的第 39 位的丝氨酸能被蛋白激酶 C 磷酸化,从而可调节 Fascin-1 与 F-actin 结合的活性,以及细胞表面的丝状伪足和微棘的形成,与突触重塑有着密切的关联。Fascin-1 的不足或者调节异常常会导致大脑发育和可塑性的失常。在 Stg 基因突变鼠模拟的大鼠失神发作模型[9]及长时记忆诱导模型中[10],Fascin-1 蛋白水平降低,这些数据暗示 Fascin-1 的水平在神经活动中被下调,这样可以允许突触结构的改变。在研究神经元保护作用的神经元培养模型中,快速诱导的缺血耐受与 Fascin-1 的泛素化有关联,Fascin-1 水平在随后出现分解降低,并伴随着树突棘的短暂回缩,这与 Fascin-1 的移除引起肌动蛋白束的分解,与相应的促进了突触的重塑相一致[11]。然而 Fascin-1 是否与颞叶癫痫的病理过程有关,目前尚不清楚。

本研究选用锂-匹鲁卡品诱导的大鼠癫痫模型检测 Fascin-1 蛋白的表达水平及其在整个癫痫发作过程中的变化情况。锂-匹鲁卡品诱导的癫痫模型已被广泛用于颞叶癫痫的临床研究,因为该模型最能模拟出颞叶癫痫的病理特点[12-13]。本研究中,免疫组化实验及免疫荧光双标实验提示 Fascin-1 主要表达于大鼠颞叶和海马神经元的细胞质及细胞膜中。Western blot 和免疫组化实验发现癫痫组大鼠颞叶皮质和海马中的 Fascin-1 表达水平在各个时间点都低于正常对照组,差异具有统计学意义(皮质 6 h 时间点除外)。免疫荧光双标发现 Fascin-1 主要表达在神经元上,而不表达于胶质细胞上,说明 Fascin-1 主要在神经元上发挥生理功能,从而影响神经元塑形。另外,我们通过外源性给予 Fascin-1 多肽后,发现干预组癫痫发作的潜伏期及达到 4/5 级所需的时间较模型组明显延长($P<0.05$),说明 Fascin-1 能延缓癫痫发作的形成过程,可能与抑制突触重塑有关。虽然干预组大鼠发作程度较模型组无统计学差异($P>0.05$),但其发作程度略有减轻,是否与样本量较小有关还有待研究,因此,Fascin-1 在减轻癫痫的发作程度上可能也有一定的作用。

Fascin-1 的表达水平被下调也许在促进颞叶癫痫的发生、发展中起着重要的作用,但其具体机制目前仍然不清楚。在丝状伪足的形成过程中,Fascin-1 首先通过低亲和力交联方式逐渐聚集在膜尖端复合物中,随后由于 Fascin-1 的不断补充及其与肌动蛋白的交联作用,使激动蛋白不断捆绑,保证了膜尖端复合物有效率得向前延伸,最终导致膜突起逐渐形成并逐渐延长而形成伪足,伪足首先寻找到突触前末梢并与之结合形成突触,随后在接触区缩短为成熟的树突棘[14]。在锂-匹鲁卡品大鼠模型中,当癫痫发作后将引起苔藓纤维芽生及突触重塑,突触重塑导致异常的兴奋环路形成,增加神经元的异常放电,促使癫痫发生发展。这是一个复杂的过程,其中 Fascin-1 的表达降低也许是一种突触联系受损的直接表现,但其具体调控机制目前尚未见相关文献报道,Fascin-1 的降低可能导致了 F-actin 的稳定性降低,促进了树突棘降解,影响突触的可塑性。树突棘的降解一方面促进了大脑异常兴奋性环路的形成,导致神经元的异常放电,从而使癫痫患者的易感性增加 ;另一方面,树突棘作为接受抑制性突触的部位,其变化使神经元的信号调控出现障碍,产生癫痫样活动[15]。另外,在本研究中,大鼠海马的 Western blot 检测结果显示 Fascin-1 在各个时间点的表达水平明显低于对照组,尤其是在潜伏期(1、2 周)其表达水平最低。而新近研究发现,癫痫模型点燃后,海马结构的异常改变,如苔藓纤维的芽生主要发生在静默期,这些异常的改变导致了癫痫的反复自发性发作[16-17]。因此 Fascin-1 在静默期和慢性期表达水平的降低可能促进了海马苔藓纤维芽生及异常网络的形成。同样,我们在大鼠皮质中也发现了相似的结果,Fascin-1 的表达水平在模型点燃后也逐渐降低。

综上所述,本实验检测了 Fascin-1 蛋白在颞叶癫痫大鼠模型中的表达水平,并发现 Fascin-1 蛋白的水平在颞叶癫痫大鼠模型中被下调,且外源性给予 Fascin-1 多肽,对癫痫的发作有延缓作用。Fascin-1 蛋白的降低可能会导致异常兴奋网络的形成,促进癫痫的发生,增加癫痫的易感性。本研究为解释颞叶癫痫的发生机制提供了新的思路,然而 Fascin-1 在颞叶癫痫形成中的具体机制,仍然不清楚,因此仍需要更多的实验进一步探索 Fascin-1 的功能。

参考文献:

[1] Beleza P. Refractory epilepsy: a clinically oriented review[J]. Eur Neurol, 2009, 62(2): 65-71.

[2] Post R M, Weiss S R. Convergences in course of illness and treatments of the epilepsies and recurrent affective disorders[J]. Clin EEG Neurosci, 2004, 35(1): 14-24.

[3] Pitkanen A, Lukasiuk K. Molecular and cellular basis of epileptogenesis in symptomatic epilepsy[J]. Epilepsy Behav, 2009, 14(Suppl 1): 16-25.

[4] Hayashi Y, Osanai M, Lee G H. Fascin-1 expression correlates with repression of E-cadherin expression in hepatocellular carcinoma cells and augments their invasiveness in combination with matrix metalloproteinases[J]. Cancer Sci, 2011, 102(6): 1228-1235.

[5] Luttjohann A, Fabene P F, van-Luijtelaar G. A revised Racine's scale for PTZ-induced seizures in rats[J]. Physiol Behav, 2009, 98(5): 579-586.

[6] Ito S, Ishizuka T, Yawo H. Remodeling of hippocampal network in pilocarpine-treated mice expressing synaptopHluorin in the mossy fiber terminals[J]. Neurosci Res, 2012, 74(1): 25-31.

[7] Fygenson D K, Needleman D J, Sneppen K. Variability-based sequence alignment identifies residues responsible for functional differences in alpha and beta tubulin[J]. Protein Sci, 2004, 13(1): 25-31.

[8] Kelly B L, Ferreira A. Beta-amyloid disrupted synaptic vesicle endocytosis in cultured hippocampal neurons[J]. Neuroscience, 2007, 147(1): 60-70.

[9] Ryu M J, Kim D, Kang U B, *et al*. Proteomic analysis of gamma-butyrolactone-treated mouse thalamus reveals dysregulated proteins upon absence seizure[J]. J Neurochem, 2007, 102(3): 646-656.

[10] Li L, Mauric V, Zheng J F, *et al*. Olfactory bulb proteins linked to olfactory memory in C57BL/6J mice[J]. Amino Acids, 2010, 39(3): 871-886.

[11] Meller R. The role of the ubiquitin proteasome system in ischemia and ischemic tolerance[J]. Neuroscientist, 2009, 15(3): 243-260.

[12] 龙莉莉, 肖波, 宋延民, 等. 匹罗卡品致痫大鼠海马 PV 中间神经元数目变化及其轴突出芽[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2011, 37(1): 15-19.

[13] 张映琦, 廖维宏, 迟路湘, 等. 匹罗卡品致大鼠癫痫持续状态后海马神经元凋亡的动态观察[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(1): 112-113.

[14] Vignjevic D, Kojima S, Aratyn Y, *et al*. Role of fascin in filopodial protrusion[J]. J Cell Biol, 2006, 174(6): 863-875.

[15] Yasuda A, Sugiura H, Yamagata K. Mechanism in diminishing dendritic spines following excessive nerve excitation[J]. Nihon Yakurigaku Zasshi, 2012, 140(3): 141-142.

[16] Scheuss V, Bonhoeffer T. Function of Dendritic Spines on Hippocampal Inhibitory Neurons[J]. Cereb Cortex, 2013, [Epub ahead of print].

[17] Becker A J, Chen J, Zien A, *et al*. Correlated stage- and subfield-associated hippocampal gene expression patterns in experimental and human temporal lobe epilepsy[J]. Eur J Neurosci, 2003, 18(10): 2792-2802.

(**收稿**:2013-12-10;**修回**:2014-01-20)

(编辑 王小宾)