文章编号:1000-5404(2014)16-1689-05

论著

瞬时受体电位通道M7和程序性坏死标志物RIP1在大鼠肾脏缺血再灌注损伤中的表达及意义

梅 玫,申兵冰,赵洪雯,余荣杰,李 敛,吴雄飞 (400038 重庆,第三军医大学西南医院肾科)

[摘要] **目的** 观察大鼠缺血再灌注损伤模型中,瞬时受体电位通道M7(trallsient receptor potential melastatiIl related 7,TRPM7)的表达变化及其与肾组织病理损伤、程序性坏死标志物RIP1、聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶-1(PARP-1)表达变化的关系,初步探讨TRPM7在肾脏缺血再灌注损伤细胞程序性坏死中的作用及其可能的机制。**方法** 55只雄性SD大鼠建立缺血再灌注模型后,于再灌注后24、48 h、5、7 d取动脉血检测大鼠血肌酐、尿素氮水平;肾组织标本HE染色观察肾组织病理损伤;免疫组化和Western blot检测肾组织TRPM7、PARP-1、RIP1定位及表达变化。**结果** 对照组和假手术组相比,血肌酐尿素氮水平、肾脏组织形态无明显变化;与对照组、假手术组相比,缺血再灌注后大鼠血肌酐尿素氮水平明显升高,再灌注后24 h达到最高值,随后逐渐下降,7 d左右降至接近正常。HE染色显示肾组织在再灌注24、48 h均出现明显急性肾小管损伤,5 d时开始修复,至第7天基本修复。免疫组化及Western blot显示,TRPM7主要在肾小管上皮细胞表达,再灌注后TRPM7表达显著升高,其中24 h达高峰,随后逐渐下降。PARP-1、RIP1的表达变化有相似的趋势。相关性分析显示TRPM7表达变化与肾小管急性损伤评分呈正相关($r=0.71$,$P<0.05$)。**结论** 瞬时受体电位通道M7可能参与了肾脏缺血再灌注损伤,通过下游钙依赖的信号传导途径调控PARP-1、RIP1影响程序性坏死发挥作用。

[关键词] 缺血再灌注损伤;程序性坏死;TRPM7;PARP-1;RIP1
[中图法分类号] R363.21;R364.12;R692 [文献标志码] A

Expression and significance of TRPM7 and necroptosis marker RIP1 in rat kidney ischemia/reperfusion injury

Mei Mei, Shen Bingbing, Zhao Hongwen, Yu Rongjie, Li Lian, Wu Xiongfei (Department of Kidney, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the expression changes of transient receptor potential melastatin related 7 (TRPM7), poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1), and necroptosis marker receptor interacting protein-1 (RIP1) in rat kidneys after ischemia/reperfusion (I/R) injury and their relationship with nephridial tissue injury so as to preliminarily explore the role of TRPM7 in the kidney I/R injury of programmed cell necrosis and its possible mechanism. **Methods** Renal I/R injury models of 55 male SD rats were established. Serum creatinine (SCr) and urea nitrogen (BUN) were detected on days 1, 2, 5 and 7 after kidney I/R. Renal injury was observed under a light microscope with PAS staining. TRPM7, PARP-1, and RIP1 were tested by immunohistochemistry and Western blotting. **Results** Comparing the control group with the sham operation group, the levels of SCr and BUN and the renal morphology had no significant difference. The levels of SCr and BUN were significantly higher in the I/R group than in the sham operation group. The levels of SCr and BUN in the I/R group reached the peak at the time point of 24 h after reperfusion, and then gradually declined, falling to be nearly normal levels about 7 d. HE staining results showed that nephridial injury appeared obviously at the time points of 24 and 48 h after reperfusion, and started to repair on day 5 and recovered on day 7. Immunohistochemistry and Western blot results showed that TRPM7 was expressed mainly in the renal tubular epithelial cells. In the I/R group, TRPM7 expression in kidney tissue started to rise significantly after reperfusion, reached the peak at the time point of 24 h after reperfusion, and then declined gradually. The changes of PARP-1 and RIP1 expression were similar to TRPM7 expression. Correlation analysis showed that

[通信作者] 吴雄飞,电话:(023)68754188,E-mail:wuxfei@126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140225.1541.015.html(2014-02-25)

there was a positive relation between the changes of TRPM7 expression and acute renal tubular injury grading ($r=0.71$, $P<0.05$). **Conclusion** TRPM7 expression rises in the early period of kidney I/R injury, and then returns to the normal level gradually. The expression of PARP-1 and RIP1 and nephridial tissue injury have similar change trends. TRPM7 may participate in the kidney I/R injury through the downstream calcium-dependent signal pathways regulating PARP 1 and RIP1 to influence necroptosis.

[**Key words**] ischemic/reperfusion injury; necroptosis; transient receptor potential melastatin related 7; poly(ADP-ribose) polymerase 1; necroptosis marker receptor interacting protein-1

Corresponding author: Wu Xiongfei, Tel:86-23-68754188, E-mail:wuxfei@126.com

肾缺血再灌注损伤(renal ischemic reperfusion injury,RIRI)是急性肾损伤(acute kidney injury,AKI)的常见原因,也是肾脏移植术后影响移植肾早期功能恢复和移植肾长期存活的主要因素之一。因此,深入认识RIRI的机制以及降低其损伤程度是临床上密切关注的问题。程序性坏死(necroptosis)是近年来发现的一种在组织和细胞的损伤中,普遍存在和非常重要的细胞死亡形式[1-2],在病理学上具有明显坏死特性,能诱导明显的炎症反应,并可被小分子化合物necrostatin-1(Nec-1)特异性阻断[3]。激酶受体相互作用蛋白激酶1(receptor interacting protein-1,RIP1)是程序性坏死的关键调控分子,其活性受sirtuin-2调控[4]。程序性坏死已被证实存在于RIRI中[5-6],并认为可能比细胞凋亡(apotosis)在RIRI过程中扮演更为重要的角色。因此,深入探讨程序性坏死在RIRI中发生及调控的机制对于AKI的防治具有重要的意义。瞬时受体电位通道M7(trallsient receptor potential melastatill related 7,TRPM7)是近年来发现的表达在肾小管上皮细胞的重要的非选择性钙镁离子通道,同时具有激酶的活性,被认为可能介导细胞内外信号转导,参与细胞的多种生理/病理功能[7-8]。已有研究证明TRPM7在神经元缺血损伤中发挥重要的调节作用[9],但机制尚不清楚。本研究拟通过观察大鼠肾脏缺血再灌注损伤模型中TRPM7的表达变化与肾脏损伤指标、程序性坏死的关键分子RIP1,以及聚腺苷酸二磷酸核糖转移酶-1[poly(ADP- ribose)polymerase-1,PARP-1]表达变化的关系,初步探讨TRPM7在AKI损伤中的可能的作用及其机制,为进一步研究奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 试剂

3%戊巴比妥钠;10%福尔马林;无损伤动脉夹;显微手术器械;低速离心机;Ultrospec4300pro分光光度计(Amersham Pharmacia Biotech);Eclipse 50i显微镜(Nikon Corporation);Olympus AU2700全自动生化分析仪;兔抗TRPM7抗体购自Alomone labs;兔抗RIP1、PARP-1抗体购自Santa cruz biotechnology;二抗购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 动物模型制备

清洁级雄性SD大鼠55只,体质量(200±20)g,鼠龄5周左右,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供[生产许可证号:SCXK(军)2012-0013];批号R20130706。饲养实验动物于室温在21~25 ℃,湿度在65%~70%,自然光照周期环境,术前自由进食和饮水。动物随机数字表法分为对照组($n=5$)和假手术组($n=10$)、缺血再灌注(I/R)组($n=40$,分为24、48 h、5、7 d,4个时相点,每个时相点10只)。参照文献[10]的手术方式:3%戊巴比妥钠,1~1.5 mL/kg腹腔注射麻醉,经腹正中切口,切除大鼠左侧肾脏,分离大鼠右侧肾蒂,用无损动脉夹夹闭40 min后恢复灌注;假手术组仅暴露肾蒂不夹闭。手术完毕,分层缝合关闭腹腔后将大鼠置于常规环境饲养,自由饮食,并观察大鼠生命体征。缺血再灌注各组分别于24、48 h、5、7 d采血处死,并留取肾脏组织标本。

1.3 肾脏病理学观察

新鲜肾组织经10%福尔马林固定24 h后,常规石蜡包埋,行HE染色观察,并进行肾小管坏死半定量评分。评分标准参照文献[11]的方法:每张切片在高倍镜下随机取24个视野,无损伤为0分,轻微损伤(0~5%)为1分,轻度损伤(5%~25%)为2分,中度损伤(25%~75%)为3分,重度损伤(75%~100%)为4分。

1.4 肾功能检测

经大鼠心脏采血5 mL,室温放置,2 500 r/min,离心10 min,留取上层血清,Olympus AU2700全自动生化分析仪检测大鼠血清血肌酐、尿素氮水平。

1.5 组织免疫组化检测

所有标本均经10%福尔马林固定,石蜡包埋,4 μm连续切片。使用超敏二步法免疫组化检测试剂盒进行TRPM7、PARP-1、RIP1染色。按照试剂盒说明书进行,应用DAB溶液显色。PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照。自来水充分冲洗、复染、脱水、透明、封片。对肾小管皮髓区域TRPM7、PARP-1、RIP1免疫组化染色的各组切片情况采用Image ProPlus6.0进行半定量分析,每张切片随机选取×200高倍镜视野10个。分别测定每个视野的阳性染色平均密度值(MOD)并做统计分析。

1.6 Western blot 检测

利用全蛋白提取试剂盒抽提肾组织总蛋白行SDS-PAGE电泳,电转;一抗(TRPM7为1∶300,PARP-1为1∶600,RIP-1为1∶400,β-Actin为1∶5 000)4 ℃孵育过夜;二抗室温孵育1 h;ECL显色,采用荧光化学发光凝胶成像分析系统检测蛋白水平变化,用图像分析软件(Image Pro. Plus 6.0)对目的条带的灰度进行分析。该实验重复5次。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计分析软件进行数据分析。

2 结果

2.1 各组大鼠的肾功能变化

与假手术组比较，肾脏缺血再灌注 24 h 后大鼠血肌酐（SCr）、尿素氮（BUN）水平显著升高，具有统计学差异（$P<0.05$），24 h 达峰值（$P<0.05$），再灌注后 5 d 肾功能开始恢复，至 7 d 后逐渐降至接近正常水平（表 1）。

表 1 各组大鼠血肌酐、尿素氮水平比较（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

组别	血肌酐（μmol/L）	尿素氮（mmol/L）
假手术组	28.78 ± 2.35	5.38 ± 0.48
I/R 组		
24 h	148.63 ± 12.41^{ac}	33.52 ± 9.02^{ac}
48 h	82.37 ± 10.13^{ab}	24.13 ± 4.34^{ab}
5 d	45.23 ± 3.69^{abc}	6.87 ± 2.12^{bc}
7 d	33.33 ± 5.45^{ac}	5.98 ± 1.79^{bc}

a：$P<0.05$，与假手术组比较；b：$P<0.05$，与 I/R 24 h 组比较；c：$P<0.05$，与 I/R 48 h 组比较

2.2 肾脏病理学改变

从（图 1）可以看出，HE 染色见假手术组肾脏组织结构基本正常，肾小管上皮细胞排列清晰，无脱落。I/R 组再灌注后 24 h 可见肾小管上皮细胞明显肿胀，脱落、崩解，基底膜裸露、断裂，肾间质可见炎细胞浸润，48 h 后开始出现新生肾小管细胞。5 d 时，肾小管新生细胞增多明显，仅有少部分肾小管基底膜仍裸露。7 d 时，大部分肾小管已修复完全，但部分小管出现细胞呈扁平状等慢性化倾向。对肾小管损伤情况进行半定量评分显示，与假手术组大鼠肾小管损伤评分（0 分）相比，I/R 24 h 组评分最高为（3.57 ± 0.31），其余各组评分均较假手术组明显升高[48 h（2.79 ± 0.27）、5 d（2.01 ± 0.24）、7 d（1.08 ± 0.23），$P<0.05$]，且各组间具有统计学意义（$P<0.05$）。

2.3 免疫组化肾脏组织 TRPM7、PARP-1、RIP1 表达定位

对照组、假手术组 TRPM7 主要在肾小管上皮细胞膜表达，再灌注后 24、48 h 肾小管上皮细胞 TRPM7 的表达明显增多（$P<0.05$）；第 5 天 TRPM7 的表达开始减少；第 7 天 TRPM7 的表达进一步减少（$P<0.05$）（图 2）。PARP-1、RIP1 的蛋白表达与 TRPM7 有类似的变化趋势（图 3、4）。见表 2。

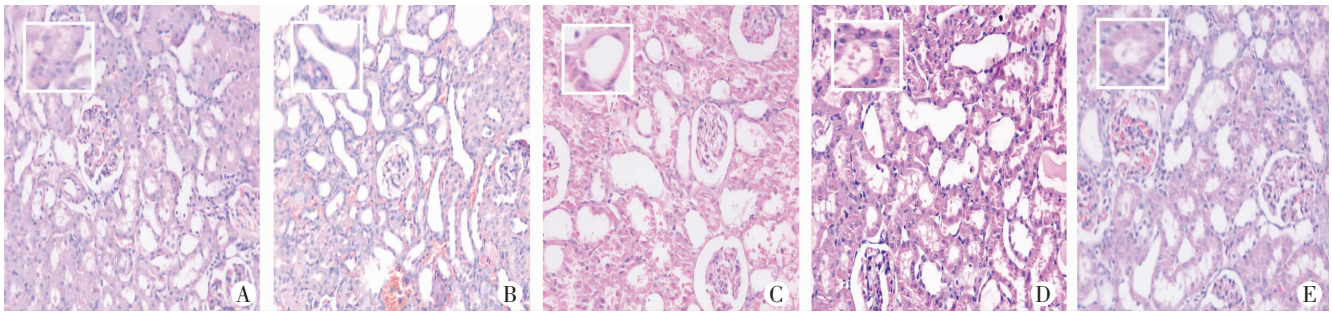
表 2 各组大鼠肾组织中 TRPM7、PARP-1、RIP1 的 MOD 值比较（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

组别	TRPM7	PARP-1	RIP1
假手术组	0.061 ± 0.002	0.059 ± 0.004	0.029 ± 0.003
I/R 组			
24 h	0.270 ± 0.054^{ac}	0.354 ± 0.043^{ac}	0.439 ± 0.046^{ac}
48 h	0.197 ± 0.047^{ab}	0.215 ± 0.022^{ab}	0.276 ± 0.027^{ab}
5 d	0.121 ± 0.034^{ab}	0.146 ± 0.035^{abc}	0.229 ± 0.012^{abc}
7 d	0.098 ± 0.016^{abc}	0.096 ± 0.021^{bc}	0.166 ± 0.010^{abc}

a：$P<0.05$，与假手术组比较；b：$P<0.05$，与 I/R 24 h 组比较；c：$P<0.05$，与 I/R 48 h 组比较

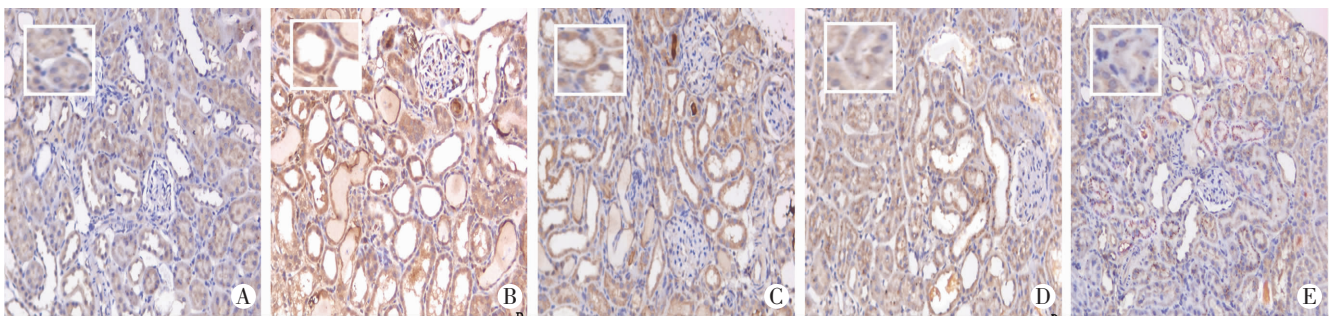
2.4 Western blot 检测肾脏组织 TRPM7、PARP-1、RIP1 蛋白表达

采用 Western blot 检测大鼠肾组织 TRPM7 表达，如（图 5）再灌注后 24、48 h、5 d TRPM7 蛋白表达均明显升高，至 7 d 开始明显下降[假手术组（0.099 ± 0.007）；I/R 组 24 h（0.698 ± 0.021）；I/R 组 48 h（0.608 ± 0.033）；I/R 组 5 d（0.538 ± 0.043）；I/R 组 7 d（0.208 ± 0.015），$P<0.05$]。见图 6、7，RIP1 的蛋白表达[假手术组（0.186 ± 0.014）；I/R 组 24 h



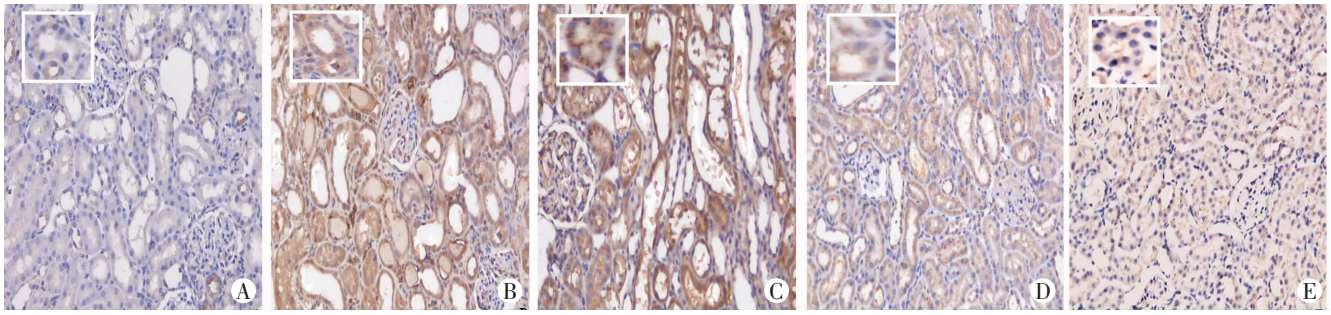
A：假手术组；B：I/R 组 24 h；C：I/R 组 48 h；D：I/R 组 5 d；E：I/R 组 7 d（方框为局部放大）

图 1 各组大鼠肾脏组织病理变化（HE × 200）



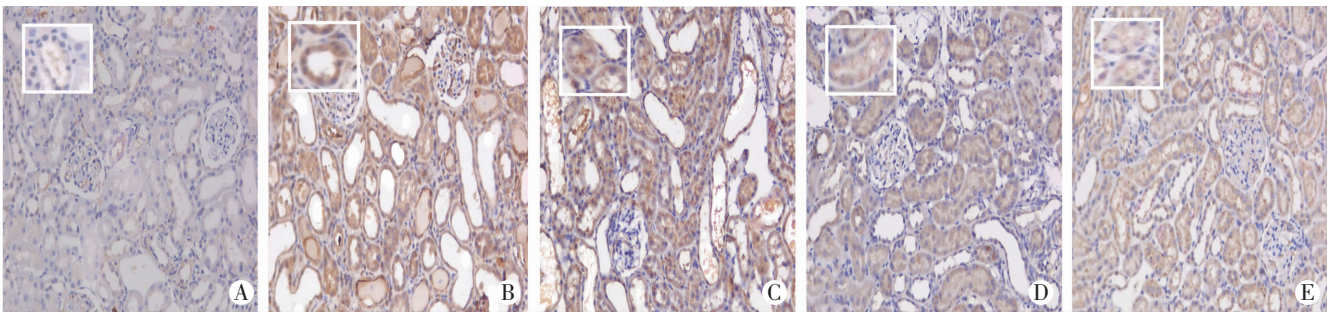
A：假手术组；B：I/R 组 24 h；C：I/R 组 48 h；D：I/R 组 5 d；E：I/R 组 7 d（方框为局部放大）

图 2 免疫组化检测各组大鼠肾组织 TRPM7 表达（二步法 ×200）



A：假手术组；B：I/R 组 24 h；C：I/R 组 48 h；D：I/R 组 5 d；E：I/R 组 7 d（方框为局部放大）

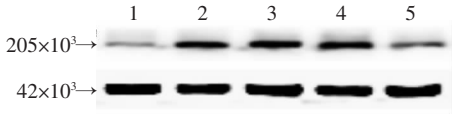
图 3　免疫组化检测大鼠缺血再灌注后肾组织 PARP-1 表达　（二步法　×200）



A：假手术组；B：I/R 组 24 h；C：I/R 组 48 h；D：I/R 组 5 d；E：I/R 组 7 d（方框为局部放大）

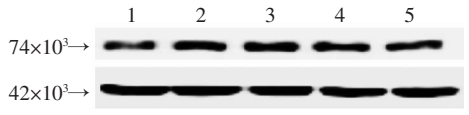
图 4　免疫组化检测缺血再灌注后肾组织 RIP1 表达　（二步法　×200）

（0.798 ± 0.038）；I/R 组 48 h（0.818 ± 0.019）；I/R 组 5 d（0.442 ± 0.022）；I/R 组 7 d（0.371 ± 0.047）］、PARP-1 的蛋白表达［假手术组（0.107 ± 0.020）；I/R 组 24 h（0.577 ± 0.019）；I/R 组 48 h（0.403 ± 0.009）；I/R 组 5 d（0.491 ± 0.051）；I/R 组 7 d（0.381 ± 0.057）］和 TRPM7 的蛋白表达有类似的趋势，均为再灌注后明显升高后再下降，其差别有统计学意义（$P < 0.05$）。



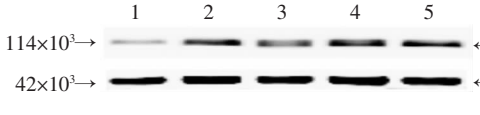
1：假手术组；2：I/R 组 24 h；3：I/R 组 24 h；4：I/R 组 5 d；5：I/R 组 7 d

图 5　Western blot 检测各组大鼠肾组织 TRPM7 的表达



1：假手术组；2：I/R 组 24 h；3：I/R 组 48 h；4：I/R 组 5 d；5：I/R 组 7 d

图 6　Western blot 检测各组大鼠肾组织 RIP1 的表达



1：假手术组；2：I/R 组 24 h；3：I/R 组 48 h；4：I/R 组 5 d；5：I/R 组 7 d

图 7　Western blot 检测各组大鼠肾组织 PARP-1 的表达

2.5　TRPM7、PARP-1、RIP1 和肾功能、肾小管急性损伤评分的相关性分析

直线相关分析显示，I/R 组大鼠 TRPM7、PARP-1、RIP1 表达水平分别与肌酐（$r = 0.75$，$P < 0.05$）、（$r = 0.83$，$P < 0.05$）、（$r = 0.77$，$P < 0.05$），尿素氮水平（$r = 0.83$，$P < 0.05$）、（$r = 0.91$，$P < 0.05$）、（$r = 0.89$，$P < 0.05$）均呈正相关。Pearson 相关分析显示，缺血再灌注损伤肾组织 TRPM7、PARP-1、RIP1 表达分别与肾小管急性损伤评分呈显著正相关（$r = 0.71$，$P < 0.05$）、（$r = 0.79$，$P < 0.05$）、（$r = 0.69$，$P < 0.05$）。

3　讨论

肾缺血再灌注损伤是临床上常见的病理过程，在肾脏手术、肾移植等过程中均可发生，它是急性肾损伤最常见的原因，目前认为的其机制有氧自由基产生、白细胞的作用、钙超载等，但是在防治肾缺血再灌注损伤上临床目前并无行之有效的办法。因此，继续深入认识 RIRI 的机制以及降低其损伤程度是临床上密切关注的问题。程序性坏死在肾脏缺血再灌注损伤中的发现被证实给我们打开了一扇希望之窗，让我们从一个新的角度——可调控的程序性细胞死亡，探讨肾脏缺血再灌注损伤的机制，有可能为临床提供崭新的视角和干预靶点。我们的研究结果表明在大鼠 RIRI 模型中，RIP1 的表达是明显升高的，证明了程序性坏死在 RIRI 中的地位。因此，开发研究阻断细胞的程序性坏死来阻止 RIRI 具有深远意义和广阔应用前景。

程序性坏死受代谢调控，与 NAD^+ 依赖的脱乙酰酶 sirtuin-2 活性有关。sirtuin-2 的脱乙酰化作用是 RIP1 活化的必要条件。同时 sirtuin-2 的酶活性取决于它的辅因子 NAD^+ 的水平。而 PARP-1 是细胞核中能够通过修复 DNA 和充当转录调节因子来维持细胞

动态平衡的酶[12-13]。目前认为[14],PARP-1的适度激活并与DNA修复酶相互作用将损伤DNA修复,细胞存活;而严重刺激时,大量的DNA损伤导致PARP-1过度激活,并通过激活炎症反应,促进细胞损伤。PARP-1和sirtuin-2均属于NAD^+依赖性的ADP-核糖基转移酶,均依赖于辅因子NAD^+的水平,二者互为竞争性抑制的地位,所以PARP-1可能作为程序性坏死的潜在调控者。

TRPM7是瞬时受体电位(transient recep tor potential, TRP)通道Melastatin相关家族的成员之一,由1 863个氨基酸构成的6次跨膜蛋白,是TRP家族中第1个被发现同时具有通道功能和激酶功能的膜蛋白,因此亦被称为"通道酶"[15-16]。TRPM7广泛地存在于机体的组织细胞中,参与细胞的多种生理/病理功能,包括细胞的增殖和分化、运动和迁移、氧化应激反应以及细胞的死亡等过程中发挥重要作用。有研究表明[15],当氧和能量剥夺时,ATP产生降低,Na^+/K^+-ATP酶功能衰竭,可触发Na^+和Ca^{2+}经TRPM7通道进入细胞,并激活TRPM7下游的分子发挥调控作用。TRPM7在肾脏主要表达在肾小管上皮细胞,而急性肾小管坏死是AKI的标志性损伤。我们的结果表明在再灌注动物模型中,TRPM7的表达明显升高,提示缺血再灌注的病理生理变化导致了TRPM7的激活,并发挥其生理作用。所以TRPM7可能成为RIRI调控的潜在重要靶点,值得深入探讨其机制。

本研究发现,在RIRI早期TRPM7的蛋白表达即显著上调,随后逐渐恢复正常,其表达变化与肾小管损伤程度呈正相关,也和程序性坏死的关键分子RIP1的表达呈正相关的关系,提示其可能在RIRI中扮演重要的调控作用。TRPM7激活后促使钙内流,可激活下游的钙信号依赖的信号传导通路发挥作用,其在RIRI过程中的下游路径如何是下一步关注的重点。而PARP-1的活性也是钙依赖的,它需要CaMKII诱导驱动蛋白超级家族蛋白质4(KIF4,kinesin superfamily protein 4)从PARP-1脱离才具有生物学的活性[17]。PARP-1的活化状态对于细胞的存活和死亡具有不同的作用,同时由于其与sirtuin-2的竞争性抑制作用,提示我们其可能参与调控程序性坏死通路的活性。我们的研究发现,在RIRI过程中,当TRPM7表达增加时,PARP-1的表达也是增加的,具有时间和剂量上的一致性。这些都提示TRPM7有可能激活钙内流调控PARP-1,并通过PARP-1调控sirtuin-2活性,从而通过影响程序性坏死的过程在RIRI中起到了的调控作用。因此,进一步阐明TRPM7在RIRI过程中的作用及其机制具有重要的价值,值得我们继续深入研究。

参考文献:

[1] He S, Wang L, Miao L, *et al*. Receptor interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF-alpha[J]. Cell, 2009, 137(6): 1100-1111.

[2] Zhang D W, Shao J, Lin J, *et al*. RIP3, an energy metabolism regulator that switches TNF-induced cell death from apoptosis to necrosis[J]. Science, 2009, 325(5938): 332-336.

[3] Cho Y S, Challa S, Moquin D, *et al*. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation[J]. Cell, 2009, 137(6): 1112-1123.

[4] Narayan N, Lee IH, Borenstein R, *et al*. The NAD-dependent deacetylase SIRT2 is required for programmed necrosis[J]. Nature, 2012, 492(7428): 199-204.

[5] Linkermann A, Bräsen J H, Himmerkus N, *et al*. Rip1 (receptor-interacting protein kinase 1) mediates necroptosis and contributes to renal ischemia/reperfusion injury[J]. Kidney Int, 2012, 81(8): 751-761.

[6] Linkermann A, De-Zen F, Weinberg J, *et al*. Programmed necrosis in acute kidney injury[J]. Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(9): 3412-3419.

[7] Trzeciakiewicz A, Opolski A, Mazur A. TRPM7: a protein responsible for magnesium homeostasis in a cell[J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2005, 59: 496-502.

[8] Su L T, Agapito M A, Li M, *et al*. TRPM7 regulates cell adhesion by controlling the calcium-dependent protease calpain[J]. J Biol Chem, 2006, 281(16): 11260-11270.

[9] Krapivinsky G, Mochida S, Krapivinsky L, *et al*. The TRPM7 ion channel functions in cholinergic synaptic vesicles and affects transmitter release[J]. Neuron, 2006, 52(3): 485-496.

[10] 吴长利, 史明, 张文岚. 缺血再灌注对肾细胞氧化损伤与细胞凋亡的影响[J]. 深圳中西医结合杂志, 2006, 16(2): 68-71.

[11] Erdogan H, Fadillioglu E, Yagmurca M, *et al*. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine[J]. Urol Res, 2006, 34(1): 41-46.

[12] Moroni F. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) and postischemic brain damage[J]. Curr Opin Pharmacol, 2008, 8(1): 96-103.

[13] Wang Y, Dawson V L, Dawson T M. Poly(ADP-ribose) signals to mitochondrial AIF: a key event in parthanatos[J]. Exp Neurol, 2009, 218(2): 193-202.

[14] Nagayama T, Simon R P, Chen D, *et al*. Activation of poly(ADP-ribose) polymerase in the rat hippocampus may contribute to cellular recovery following sublethal transient global ischemia[J]. J Neurochem, 2000, 74(4): 1636-1645.

[15] Ryazanova L V, Dorovkov MV, Ansari A, *et al*. Characterization of the protein kinase activity of TRPM7/ChaK1, a protein kinase fused to the transient receptor potential ion channel[J]. J Biol Chem, 2004, 279(5): 3708-3716.

[16] Clark K, Middelbeek J, Morrice N A, *et al*. Massive autophosphorylation of the Ser/Thr-rich domain controls protein kinase activity of TRPM6 and TRPM7[J]. PLoS One, 2008, 3(3): e1876.

[17] Midorikawa R, Takei Y, Hirokawa N. KIF4 motor regulates activity-dependent neuronal survival by suppressing PARP-1 enzymatic activity[J]. Cell, 2006, 125(2): 371-383.

(收稿:2014-01-09;修回:2014-02-11)

(编辑 王 红)