

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.26.045

# 腺苷在癫痫发病机制中的作用以及腺苷相关癫痫治疗的研究进展\*

陈宇亮 张亚楠 张智瑞 张 婷 李润平<sup>△</sup>

(第二军医大学海医系潜水医学教研室 上海 200433)

**摘要:** 癫痫是慢性反复发作性的脑功能失调综合征,近年来,关于星形胶质细胞及腺苷和癫痫关系的研究逐渐成为热点。腺苷在中枢神经系统中广泛存在,其可以作为整合中枢兴奋性以及抑制性神经递质的调节因子,其诸多生理作用都是通过受体介导实现的。研究腺苷通过星形胶质细胞及腺苷激酶、谷氨酸、表观遗传基因修饰、伽马氨基丁酸受体等通路在抑制癫痫发病机制中的作用,将为治疗癫痫提供全新的治疗思路 and 措施。本文将针对腺苷抑制癫痫发生的机制以及目前与腺苷有关的癫痫治疗方法进行综述。如果在今后的研究工作中能够进一步明确腺苷在抑制癫痫中的作用机制,就有可能寻找新的干预靶点,对发展新的预防措施,指导预防药物研发,都具有重要意义。

**关键词:** 腺苷; 癫痫; 星形胶质细胞; 腺苷激酶; 中枢神经系统

**中图分类号:** R742.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)26-5180-04

## The Recent Researches of the Effect of Adenosine in Epileptic Pathogenesis and Therapy\*

CHEN Yu-liang, ZHANG Ya-nan, ZHANG Zhi-rui, ZHANG Ting, LI Run-ping<sup>△</sup>

(Department of Diving Medicine, Second Military Medical University, Shanghai, 200433, China)

**ABSTRACT:** Epilepsy is a chronic and recurrent syndrome of cerebral dysfunction. Recently, the relationship between epilepsy and astrocyte or adenosine has become a research hotspot. Adenosine is recognized as the modulator of central nervous system excitability and plays a key role in depressing neuronal transmission by combining its receptor. Researching the relationship of adenosine and astrocyte, adenosine kinase(ADK), Epigenetic modifications or GABAAR can provide a new and challenging therapy of epilepsy. In this paper, we will summarize the recent researches of the effects of adenosine in epileptic pathogenesis and therapy. If the clear mechanism of how adenosine inhibits epilepsy can be found in the future researches, we will have the new targets to aim at and it will have important implications for the researches and developments of precautionary measures and medicine.

**Key words:** Adenosine; Epilepsy; Astrocyte; Adenosine kinase(ADK); Central nervous system(CNS)

**Chinese Library Classification:** R742.1 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2014)26-5180-04

癫痫是慢性反复发作性的脑功能失调综合征,以脑神经元异常放电引起反复痫性发作为发病特征,其中癫痫大发作最为常见,临床表现为全身强直阵挛发作,发作期间脑电图表现为典型的爆发性多棘波和棘-慢波。在最常见的神经系统紊乱中,其发生率排名第三,世界上将近五千万人患有不同程度的癫痫。尽管针对其已经研究多年,但是由于对癫痫真正发病原因认识的不足使得现有的治疗方法对将近半数的癫痫患者无明显效果。目前对癫痫的发病机制主要有以下几种理论:(1)神经炎症反应;(2)选择性神经元细胞丢失;(3)苔藓状纤维出芽现象;(4)神经异常传导通路;(5)胶质细胞增生及腺苷功能紊乱<sup>[1,2]</sup>。近年来,关于星形胶质细胞及腺苷和癫痫的关系的研究逐渐成为热点。腺苷全称为腺嘌呤核苷,由腺嘌呤和戊糖结合形成,在中枢神经系统中广泛存在,且可以作为整合中枢兴奋性以及抑制性神经递质的调节因子<sup>[3]</sup>。机体内腺苷的主要来源

包括以下三种途径:(1)在体内耗能增加或能量供应相对不足时,ATP失去2个磷酸转变成AMP,后者在5-核苷酸酶作用下脱去磷酸转化成腺苷;(2)腺嘌呤可与1-磷酸核糖作用,转变成磷酸和腺苷;(3)S腺苷同型半胱氨酸经过水解后可以产生同型半胱氨酸和腺苷。腺苷的代谢途径主要有两条,分别为:(1)在腺苷脱氨酶的作用下,生成次黄嘌呤和次黄嘌呤核苷酸,最后变成腺苷的最终代谢产物—尿酸。(2)大部分腺苷通过双向平衡转运体进入细胞内,经中枢内仅存在于星形胶质细胞内的腺苷激酶(adenosine kinase, ADK)磷酸化生成AMP,进而形成ATP,完成腺苷的再循环,这也是清除腺苷的主要途径<sup>[4]</sup>(图1)。本文将针对腺苷抑制癫痫发生的机制以及目前与腺苷有关的癫痫治疗方法进行综述。

### 1 腺苷与其受体

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(81272179)

作者简介:陈宇亮(1979-),男,硕士,电话:18600131786,主要研究方向:高压医学

△通讯作者:李润平,电话:021-81871142, E-mail: smartpli@hotmail.com

(收稿日期:2014-03-31 接受日期:2014-04-20)

腺苷诸多生理作用都是通过受体介导实现的,其受体属于 G 蛋白偶联受体(GPCR)家族,主要包括 A1、A2A、A2B、A3 四种受体<sup>[9]</sup>。腺苷降低神经兴奋性的作用主要是通过与 A1R 结合而实现的。A1R 是一种糖蛋白,包含 326 个氨基酸,相对分子量为 36600,它与腺苷的亲和力最高,其在各个系统中都有存在,但在中枢神经系统(center nervous system, CNS)中表达最高,分布密度较高的部位有大脑皮层、海马、丘脑、脊髓等。在突触前膜,A1R 激活后,抑制腺苷酸环化酶,使环磷酸腺苷(cyclic adenosine-3', 5' monophosphate, cAMP)含量下降,调节 cAMP 依赖的蛋白激酶活性。此外激活的 A1R 还能激活磷脂酶 C (phospholipase C, PLC),后者可以调节胞膜上的磷酸肌醇代谢,增加三磷酸肌醇(inositol 1, 4, 5-triphosphate, IP3)和甘油二酯(diacylglycerol, DAG),其中,IP3 能够刺激胞内钙库内  $\text{Ca}^{2+}$  的释放,抑制 N 型钙通道,从而导致  $\text{Ca}^{2+}$  内流的减少,抑制谷氨酸的释放,降低神经传导的兴奋性。在突触后膜,激活的 A1R 可开放钾通道,增加  $\text{K}^{+}$  的外流,导致膜的超极化,从而使兴奋性降低,保护神经元<sup>[9]</sup>。研究还发现,激活的 A1R 能够开放脑黑质神经元的 ATP 敏感钾通道(KATP),增加外向电流,降低膜的兴奋性<sup>[7]</sup>。A1Rs 的遗传缺陷可导致神经兴奋性的升高并且促进癫痫的发生<sup>[8]</sup>。A2AR 相对分子量为 45000,主要分布于纹状体、嗅结节和听神经核,在皮层和海马也有散在分布。与 A1R 不同,腺苷 A2AR 被激活后,则会促进兴奋性神经递质的释放而加速癫痫发作。研究表明<sup>[9]</sup>对腺苷 A2AR 基因敲除的小鼠进行诱发癫痫,惊厥发作的程度以及发生惊厥的动物比例显著下降,提示腺苷激活 A2AR 后,刺激兴奋性递质产生,加重癫痫的发作。A2BR 只存在于星状细胞,相对分子量为 36350。A3R 在整个脑内广泛分布,但密度较其他受体,分布最低<sup>[10]</sup>。

## 2 腺苷与星形胶质细胞及 ADK

星形胶质细胞在癫痫的形成和发展中具有非常重要的作用,是突触内腺苷的主要来源并对其起调节作用(见图 1)<sup>[11, 12]</sup>。研究发现,星形胶质细胞聚集可出现在癫痫及阿尔茨海默病等疾病中,并对细胞外腺苷水平及下游信号系统产生重要影响<sup>[13, 14]</sup>。Phil Haydon 通过对星形胶质细胞基因敲除的研究中发现,基因敲除的小鼠缺乏腺苷对突触传递的抑制作用,从而第一次证明了星形胶质细胞可以释放腺苷前体 -ATP 而调节突触内腺苷含量<sup>[15]</sup>。星形胶质细胞还可以表达两种核苷转运体,维持细胞内外的腺苷平衡<sup>[16]</sup>。仅存于星形胶质细胞中的 ADK 可以将细胞内的腺苷转化为 AMP,细胞内的腺苷被清除后,细胞内腺苷浓度减低,细胞外的腺苷就可以通过核苷转运体进入细胞内,维持细胞内外腺苷浓度的平衡。即使微小的 ADK 活性的变化,也会导致腺苷水平出现较大的改变<sup>[17]</sup>。高浓度的腺苷激酶必然对应着低浓度的腺苷,低浓度的腺苷激酶必然对应着高浓度的腺苷。而由于细胞内腺嘌呤核苷酸的水平是腺苷水平的 10000 倍<sup>[18]</sup>,所以,ADK 活性的改变会导致腺苷水平明显的变化,而对腺嘌呤核苷酸影响不大,也就是说,对能量代谢基本不会产生影。因此星形胶质细胞中的 ADK 是决定突触内腺苷浓度,调控突触兴奋性传播的关键因素。ADK 活性升高,将使突触内腺苷含量减少,促发癫痫形成。而通过抑制 ADK,则有望找到防治癫痫的新措施。

## 3 腺苷与谷氨酸

谷氨酸是 CNS 内含量最高的氨基酸,是明确的兴奋性氨基酸之一,对大脑皮层有广泛而强烈的兴奋作用,并与癫痫样放电的触发和扩布有密切关系<sup>[19]</sup>。腺苷对谷氨酸的释放与其和哪种受体结合有关。研究表明,当腺苷与其 A1R 结合后,可通过抑制 N 型电压门控的钙离子通道,从而抑制兴奋性递质谷氨酸的释放<sup>[20]</sup>。而当腺苷与其 A2AR 结合后,通过蛋白激酶 A 途径,升高细胞内钙离子浓度,从而刺激谷氨酸的释放<sup>[21]</sup>。以往的研究发现,通过激动腺苷 A1R 或者抑制腺苷 A2AR 均可抑制谷氨酸的释放<sup>[20, 22]</sup>。这也是腺苷相关的癫痫治疗中一个重要的研究方向。

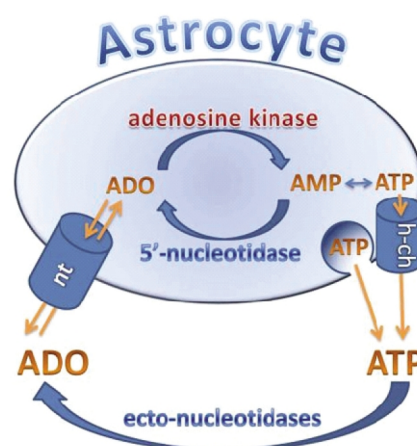


图 1 星形胶质细胞对胞外腺苷含量的调节

Fig. 1 Extracellular adenosine levels are thought to be regulated by an astrocyte-based adenosine cycle

astrocyte:星形胶质细胞;adenosine monophosphate(AMP):腺苷一磷酸;adenosine kinase:腺苷激酶;adenosine triphosphate(ATP):三磷酸腺苷;adenosine kinase:腺苷激酶;adenosine(ADO):腺苷;5'-nucleotidase:5'-核苷酸酶;ecto-nucleotidase:胞外核苷酸酶;nucleoside transporter(nt):核苷转运体;hemichannel (h-ch):半通道

## 4 腺苷与表观遗传基因修饰

表观遗传是指 DNA 序列不发生变化,但基因表达却发生了可遗传的改变。且这种改变在发育和细胞增殖过程中能稳定传递。表观遗传修饰具有高度可塑性且可以迅速对周围环境的改变做出反应。DNA 甲基化是一种非常重要的表观遗传修饰方式。一度认为 DNA 甲基化只出现在分裂过程中的细胞中,而最近的研究表明,中枢神经系统中的成熟细胞也可出现 DNA 甲基化现象<sup>[23, 24]</sup>。在对癫痫动物模型的研究中发现了 DNA 甲基化现象,且这种甲基化可以进一步加重癫痫的发生<sup>[1, 24, 25]</sup>。DNA 甲基化需要 S-腺苷甲硫氨酸提供甲基,并在 DNA 甲基转移酶的催化下完成。反应生成的 S-腺苷高半胱氨酸在其水解酶的作用下生成腺苷和同型半胱氨酸。整个反应的持续进行需要腺苷和同型半胱氨酸被及时清除<sup>[26, 27]</sup>。因此如果突触间的腺苷未及时清除或给予外源性的腺苷后则可以抑制 DNA 甲基化的进程从而抑制癫痫的发生。Rebecca 等在对大鼠颞叶癫痫的研究中,通过应用生物工程改造的蚕丝植入持续给予大鼠脑

内一定剂量的腺苷后发现,给予外源性腺苷可以逆转 DNA 甲基化进程,抑制海马苔状纤维出芽,控制癫痫的发生<sup>[28]</sup>。由此可见,DNA 甲基化有可能是癫痫发生的机制之一,而通过给予腺苷治疗逆转 DNA 甲基化进程可以抑制癫痫的发生(图 2)。

## 5 腺苷与伽马氨基丁酸受体(GABAAR)通路

在成年人脑内,GABAAR 介导的  $\text{Cl}^-$  流向突触后神经元,导致神经元超极化和神经传导抑制作用。然而 Ilie 在关于  $\gamma$ -氨基丁酸的研究中发现由于过多的细胞内  $\text{Cl}^-$  积累,在癫痫发作时神经元  $\text{Cl}^-$  浓度梯度可以被倒转,从而使 GABA 能的信号从超极化状态或抑制性的转变为去极化状态或者兴奋性的。因

此,在持续时间较长的癫痫中,GABAAR 激动剂反而会加剧癫痫的发作。同时 Ilie 在使用海马癫痫的模型中发现应用具有阻滞腺苷受体作用的药物,可以延长癫痫发作的时间。提示内生的腺苷可以限制癫痫的发作程度。同时他们还发现,在癫痫发作时,通过内生腺苷激活腺苷受体,可以减弱 GABAAR 介导的神经元从超极化向去极化转变的过程,其潜在的机制可能是通过激活钾离子通道,从而导致膜电导增加<sup>[29,30]</sup>。由于 GABAAR 介导的去极化在癫痫的起始和发展中起到非常重要的作用,因此腺苷对该通路的抑制作用也可能成为腺苷抑制癫痫发生的可能机制。

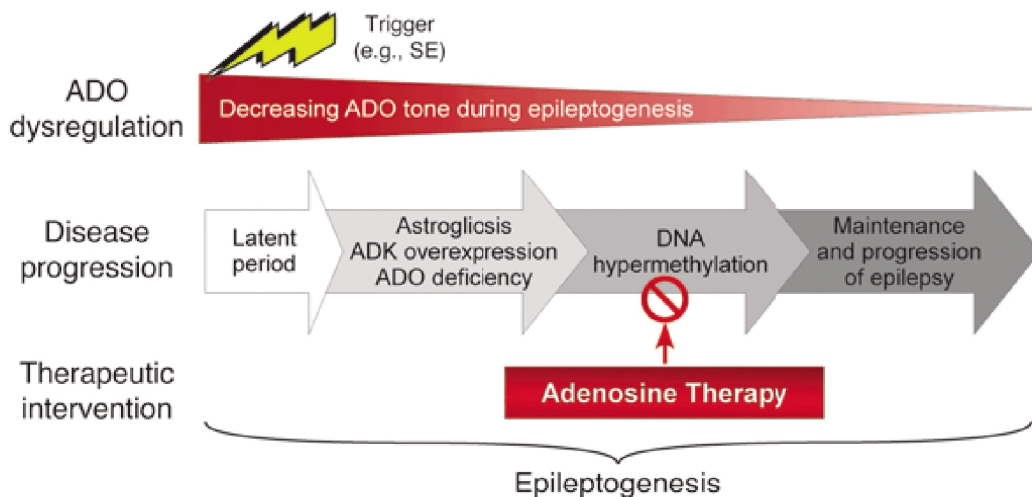


图 2 腺苷和相关 DNA 甲基化在癫痫中的作用

Fig. 2 The role of adenosine and associated DNA methylation changes in epileptogenesis

## 6 与腺苷相关的癫痫治疗方法

如果说腺苷水平的下降时癫痫的一个病理学标记,那么给予外源性的腺苷应具有治疗癫痫的可能性。实际上,无论是通常的癫痫还是难治性癫痫,通过给予腺苷激酶抑制剂或腺苷 A1R 激动剂,都可以有效预防癫痫的发作或降低发作的程度<sup>[15,31,32]</sup>。但是由于腺苷在心血管系统的副作用以及 ADK 的肝毒性,外源性腺苷治疗一直没有成为主要的癫痫治疗手段<sup>[33,34]</sup>。因此,重构癫痫部位脑区的腺苷代谢平衡成为局部癫痫腺苷增效治疗的发展方向。腺苷局部增效治疗的首次成功是在对大鼠心室内移植幼仓鼠肾脏纤维母细胞后再诱发其癫痫发作的模型中实现的。幼仓鼠肾脏纤维母细胞可以释放腺苷,且在植入前,用半渗透聚合物膜将其密封,从而避免免疫排斥<sup>[35]</sup>。应用该方法,植入细胞组表现出明显的癫痫抑制作用,而且未出现任何腺苷相关的副作用<sup>[35]</sup>。随后,在对大鼠颅内注射腺苷并诱发癫痫的模型中,再一次证明了局部腺苷增效治疗可以抑制癫痫的发作<sup>[36]</sup>。目前主要有以下四种主要的方式来实现腺苷增效治疗。

1)控制腺苷释放的蚕丝。蚕丝是经过美国 FDA 认证的生物聚合物,可以合成为可以控制局部药物释放的膜,在最近的两个研究中,应用了海马旁种植蚕丝膜包裹的腺苷,可以有效控制癫痫的发作。这种蚕丝膜可以控制其内含的腺苷每日可持

续释放 1 mg,而且控制程度和剂量有一定的量效关系<sup>[37]</sup>。

2)可以释放腺苷的干细胞。人间充质干细胞和小鼠胚胎干细胞经过敲除内生 ADK 基因或者通过慢病毒载体表达抗 ADK 的 miRNA 后,可以释放腺苷<sup>[38,39]</sup>。这些干细胞被种植到海马后,可以有效控制癫痫的发生<sup>[40]</sup>。在杏仁体内注射 KA24 小时后给予海马移植上述干细胞,3 周后可以显著降低 ADK 表达水平,且在大于 100 小时的脑电图记录中,未发现任何癫痫。而在对照组中,星形胶质细胞聚集明显,过表达 ADK,平均每每小时出现 4 次癫痫<sup>[41]</sup>。

3)基因治疗。通过腺病毒 8 基因表达系统对 ADK 表达进行基因敲除的小鼠的海马区胶质细胞中,可以发现明显的 ADK 水平下降并控制癫痫的发生<sup>[42]</sup>。因此,控制 ADK 表达是基因治疗的一个主要目标。

4)生酮饮食。在过去的将近 80 年里,尽管抗惊厥机制并不十分明显,生酮饮食一直在临床中被应用于癫痫病人的治疗<sup>[43]</sup>。最近的研究发现,生酮饮食可以减少小鼠脑内 ADK 的表达<sup>[44]</sup>。但是在腺苷 A1R 基因敲除的小鼠模型中,生酮饮食却不能对癫痫产生明显的控制作用<sup>[44]</sup>。说明生酮饮食可以增强腺苷的信号传递或可能有腺苷 A1R 的激动作用。

这些治疗途径的最终目的就是增加脑内局部腺苷含量同时避免其副作用和其他器官的损害。同时在健康和病理条件下探索这些途径起效的机制,就可以最终找到一种可以治疗复杂

性或难治性癫痫的全新治疗措施

腺苷是一种效用明确的抑制性胶质递质,能够抑制神经传导及癫痫的发生。由于传统癫痫治疗存在很大的局限性,因此关于腺苷在抑制癫痫中的研究逐渐成为热点。但是虽然国内外已经对其做了大量的研究,也得到了许多宝贵的研究成果,但是到目前为止,始终没有发现关于腺苷在神经传导中非常明确的信号通路系统。如果在今后的工作中能够进一步明确腺苷在抑制癫痫中的作用机制,就有可能寻找新的干预靶点,对发展新的预防措施,指导预防药物研发,都具有重要意义。

#### 参考文献(References)

- [1] Kobow K, Blü mcke I. The methylation hypothesis: do epigenetic chromatin modifications play a role in epileptogenesis?[J]. *Epilepsia*, 2011, 52(s4): 15-19
- [2] Qureshi I A, Mehler M F. Epigenetic mechanisms underlying human epileptic disorders and the process of epileptogenesis [J]. *Neurobiology of disease*, 2010, 39(1): 53-60
- [3] Dulla C G, Masino S A. Physiologic and metabolic regulation of adenosine: Mechanisms[M]. *Adenosine*, Springer, 2013: 87-107
- [4] Boison D, Chen J, Fredholm B B. Adenosine signaling and function in glial cells[J]. *Cell Death & Differentiation*, 2010, 17(7): 1071-1082
- [5] Ralevic V, Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines[J]. *Pharmacological reviews*, 1998, 50(3): 413-492
- [6] Muzzi M, Coppi E, Pugliese A M, et al. Anticonvulsant effect of AMP by direct activation of adenosine A1 receptor [J]. *Experimental neurology*, 2013, 250: 189-193
- [7] Andoh T, Ishiwa D, Kamiya Y, et al. A1 adenosine receptor-mediated modulation of neuronal ATP-sensitive K channels in rat substantia nigra[J]. *Brain research*, 2006, 1124(1): 55-61
- [8] Li T, Lan J Q, Fredholm B B, et al. Adenosine dysfunction in astroglia: cause for seizure generation? [J]. *Neuron glia biology*, 2007, 3(4):353
- [9] El Yacoubi M, Ledent C, Parmentier M, et al. Adenosine A2A receptor deficient mice are partially resistant to limbic seizures [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 2009, 380 (3): 223-232
- [10] Sheth S, Brito R, Mukherjee D, et al. Adenosine Receptors: Expression, Function and Regulation [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(2): 2024-2052
- [11] Boison D. Adenosine dysfunction and adenosine kinase in epileptogenesis[J]. *The open neuroscience journal*, 2010, 4: 93
- [12] Boison D. The adenosine kinase hypothesis of epileptogenesis[J]. *Progress in neurobiology*, 2008, 84(3): 249-262
- [13] Nagele R G, Wegiel J, Venkataraman V, et al. Contribution of glial cells to the development of amyloid plaques in Alzheimer's disease [J]. *Neurobiology of aging*, 2004, 25(5): 663-674
- [14] Cagnin A, Brooks D J, Kennedy A M, et al. In-vivo measurement of activated microglia in dementia [J]. *The Lancet*, 2001, 358 (9280): 461-467
- [15] Pascual O, Casper K B, Kubera C, et al. Astrocytic purinergic signaling coordinates synaptic networks[J]. *Science*, 2005, 310(5745): 113-116
- [16] Baldwin S A, Beal P R, Yao S Y, et al. The equilibrative nucleoside transporter family, SLC29 [J]. *Pflü gers Archiv*, 2004, 447 (5): 735-743
- [17] Etherington L V, Patterson G E, Meechan L, et al. Astrocytic adenosine kinase regulates basal synaptic adenosine levels and seizure activity but not activity-dependent adenosine release in the hippocampus[J]. *Neuropharmacology*, 2009, 56(2): 429-437
- [18] Fredholm B B, Chen J, Cunha R A, et al. Adenosine and brain function[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2005, 63(1): 191-270
- [19] Tani H, Dulla C G, Farzampour Z, et al. A Local Glutamate-Glutamine Cycle Sustains Synaptic Excitatory Transmitter Release[J]. *Neuron*, 2014, 81(4): 888-900
- [20] Manita S, Kawamura Y, Sato K, et al. Adenosine A1-receptor-mediated tonic inhibition of glutamate release at rat hippocampal CA3-CA1 synapses is primarily due to inhibition of N-type  $Ca^{2+}$  channels [J]. *European journal of pharmacology*, 2004, 499(3): 265-274
- [21] Nishizaki T. ATP-and adenosine-mediated signaling in the central nervous system: adenosine stimulates glutamate release from astrocytes via A2a adenosine receptors[J]. *Journal of pharmacological sciences*, 2004, 94(2): 100-102
- [22] Kanno T, Nishizaki T. A2a adenosine receptor mediates PKA-dependent glutamate release from synaptic-like vesicles and  $Ca^{2+}$  efflux from an IP3-and ryanodine-insensitive intracellular calcium store in astrocytes [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2012, 30(6): 1398-1412
- [23] Feng J, Zhou Y, Campbell S L, et al. Dnmt1 and Dnmt3a maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult forebrain neurons[J]. *Nature neuroscience*, 2010, 13(4): 423-430
- [24] Ma D K, Jang M, Guo J U, et al. Neuronal activity induced Gadd45b promotes epigenetic DNA demethylation and adult neurogenesis[J]. *Science*, 2009, 323(5917): 1074-1077
- [25] Kobow K, Jeske I, Hildebrandt M, et al. Increased reelin promoter methylation is associated with granule cell dispersion in human temporal lobe epilepsy[J]. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 2009, 68(4): 356-364
- [26] Boison D, Scheurer L, Zumsteg V, et al. Neonatal hepatic steatosis by disruption of the adenosine kinase gene [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99(10): 6985-6990
- [27] Kredich N M, Martin Jr D W. Role of S-adenosylhomocysteine in adenosine-mediated toxicity in cultured mouse T lymphoma cells[J]. *Cell*, 1977, 12(4): 931-938
- [28] Williams-Karnesky R L, Sandau U S, Lusardi T A, et al. Epigenetic changes induced by adenosine augmentation therapy prevent epileptogenesis[J]. *The Journal of clinical investigation*, 2013, 123(8): 3552
- [29] Viitanen T, Ruusuvuori E, Kaila K, et al. The  $KCl_2$  cotransporter KCC2 promotes GABAergic excitation in the mature rat hippocampus[J]. *The Journal of physiology*, 2010, 588(9): 1527-1540
- [30] Isomura Y, Sugimoto M, Fujiwara-Tsakamoto Y, et al. Synaptically activated  $Cl^-$  accumulation responsible for depolarizing GABAergic responses in mature hippocampal neurons[J]. *Journal of neurophysiology*, 2003, 90(4): 2752-2756

- 1996, 21(4): 399-401
- Chen Qiang, Feng Xiao-yi. On bucculent a species group of metaphire and reproductive organ polymorphism [J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 1996, 21(4): 399-401
- [45] 李军德, 黄璐琦, 唐仕欢, 等. 《中国药典》2010 年版一部部分动物药材来源探讨[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16): 2052-2056
- Li Jun-de, Huang Lu-qi, Tang Shi-huan, et al. Origin of some medicinal materials from animals in Chinese Pharmacopoeia 2010 Edition 1[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2010, 35(16): 2052-2056
- [46] 薛德焯. 蚯蚓第 3 卷[M]. 上海新亚书店, 1933: 1-15
- Xue De-yu. The earthworm III [M]. Shanghai Xinya Bookstore, 1933: 1-15
- [47] 黄福珍. 蚯蚓[M]. 农业出版社, 1982: 64-82
- Huang Fu-zhen. The earthworm[M]. Agriculture Press, 1982: 64-82
- [48] 爱德华兹, 洛夫蒂. 蚯蚓生物学[M]. 科学出版社, 1984: 34-57
- C.A.Edwards, J.R.Lofty. Biology of earthworms [M]. Science Press, 1984: 34-57
- [49] 邱江平, 王海军, 陈旸, 等. Zophoscolex 属蚯蚓的因子对应分析 (寡毛纲: 正蚓科)[J]. 上海交通大学学报, 2004, 38(5): 822-828
- Qiu Jiang-ping, Wang Hai-jun, Chen Yang, et al. Factorial Analysis of Correspondence on the Genus Zophoscolex (Oligochaeta: Lumbricidae)[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University, 2004, 38(5): 822-828
- [50] Blakemore, R. Further records of non-cryptic New Zealand earthworms[J]. ZooKeys, 2011, 160: 23-46
- [51] Ueangfa Bantaowong, R.C. Piyoros Tongkerd, Chirasak Sutcharit, et al. New earthworm species of the genus Amyntas Kinberg, 1867 from Thailand [J]. ZooKeys, 2011, 90: 35-62
- [52] Christian Mulder, R.B., Leo Posthuma. Empirical maximum lifespan of earthworms is twice that of mice[J]. AGE, 2007, 29: 229-231
- [53] Samuel W. James, D.P. Thibaud Decae<sup>ns</sup>, Benoit Richard, et al. DNA Barcoding Reveals Cryptic Diversity in Lumbricus terrestris L., 1758 (Clitellata): Resurrection of L. herculeus (Savigny, 1826)[J]. PLoS ONE, 2010, 5(12): 1-8
- [54] Seana K. Davidson, D.A.S.. Transmission of Nephridial Bacteria of the Earthworm Eisenia Fetida [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(1): 769-775
- [55] 吕国庆, 牛宪立, 姬可平. 动物性中药材地龙 DNA 条形码初步研究[J]. 广东农业科学, 2011: 114-116
- Lu Guo-qing, Niu Xian-li, Ji Ke-ping. Preliminary study on DNA bar code of pheretima[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2011: 114-116

## (上接第 5183 页)

- [31] Benarroch E E. Adenosine and its receptors Multiple modulatory functions and potential therapeutic targets for neurologic disease[J]. Neurology, 2008, 70(3): 231-236
- [32] Gouder N, Fritschy J M, Boison D. Seizure suppression by adenosine A1 receptor activation in a mouse model of pharmacoresistant epilepsy[J]. Epilepsia, 2003, 44(7): 877-885
- [33] Fredholm B B, Chen J, Masino S A, et al. Actions of adenosine at its receptors in the CNS: insights from knockouts and drugs [J]. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol, 2005, 45: 385-412
- [34] Boison D, Scheurer L, Zumsteg V, et al. Neonatal hepatic steatosis by disruption of the adenosine kinase gene [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2002, 99(10): 6985-6990
- [35] Huber A, Padrun V, Dé glon N, et al. Grafts of adenosine-releasing cells suppress seizures in kindling epilepsy [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2001, 98(13): 7611-7616
- [36] Anschel D J, Ortega E L, Kraus A C, et al. Focally injected adenosine prevents seizures in the rat[J]. Experimental neurology, 2004, 190(2): 544-547
- [37] Szybala C, Pritchard E M, Lusardi T A, et al. Antiepileptic effects of silk-polymer based adenosine release in kindled rats[J]. Experimental neurology, 2009, 219(1): 126-135
- [38] Fedele D E, Koch P, Scheurer L, et al. Engineering embryonic stem cell derived glia for adenosine delivery[J]. Neuroscience letters, 2004, 370(2): 160-165
- [39] Ren G, Li T, Lan J Q, et al. Lentiviral RNAi-induced downregulation of adenosine kinase in human mesenchymal stem cell grafts: a novel perspective for seizure control[J]. Experimental neurology, 2007, 208 (1): 26-37
- [40] Li T, Steinbeck J A, Lusardi T, et al. Suppression of kindling epileptogenesis by adenosine releasing stem cell-derived brain implants[J]. Brain, 2007, 130(5): 1276-1288
- [41] Li T, Ren G, Lusardi T, et al. Adenosine kinase is a target for the prediction and prevention of epileptogenesis in mice [J]. The Journal of clinical investigation, 2008, 118(2): 571
- [42] Theofilas P, Brar S, Stewart K A, et al. Adenosine kinase as a target for therapeutic antisense strategies in epilepsy [J]. Epilepsia, 2011, 52 (3): 589-601
- [43] Kossoff E H, Rho J M. Ketogenic diets: evidence for short-and long-term efficacy[J]. Neurotherapeutics, 2009, 6(2): 406-414
- [44] Masino S A, Li T, Theofilas P, et al. A ketogenic diet suppresses seizures in mice through adenosine A1 receptors [J]. The Journal of clinical investigation, 2011, 121(7): 2679