

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.17.011

兴奋性突触传入对皮层神经元形态发育的影响 *

贾 宁¹ 刘子赫² 贾瑞华³ 李 瑞² 张正平⁴ 王 璐¹ 高 方^{5Δ}

(1 延安大学医学院 陕西 延安 716000; 2 空军军医大学基础医学院四大队 陕西 西安 710032;

3 空军军医大学西京医院 陕西 西安 710032; 4 西安交通大学红会医院 陕西 西安 710054;

5 空军军医大学基础医学院神经生物学教研室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨离子型谷氨酸受体中的 AMPA 受体(α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate receptor, AMPA 受体)和 NMDA 受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor)对抑制性中间神经元以及兴奋性神经元的形态发育的影响。**方法:**采用原代培养皮层神经元,通过药物干预 AMPA 受体和 / 或 NMDA 受体的方法阻断神经元的离子型谷氨酸受体,并采用 GAD67-GFP 鼠的绿色荧光来显示混合细胞群中抑制性神经元、CaMKII 免疫荧光染色显示兴奋性神经元。**结果:**当阻断 AMPA 和 / 或 NMDA 受体时,光镜下显示神经网络的密度降低,且随着药物浓度的增加,神经网络的变化更明显。对于 GFP 阳性的抑制性神经元,当阻断 AMPA 受体时,神经元突起分支数降低至对照组的约 65%(低浓度)和 55%(高浓度),突起长度缩短至对照组的大约 43%(低浓度)和 36%(高浓度);当阻断 NMDA 受体时,分支数降低至约 70%(低浓度)和 45%(高浓度),长度缩短至约 43%(低浓度)和 31%(高浓度);联合用药时,分支数和长度分别为对照的约 42%和 38%。对于 CaMKII 阳性的兴奋性神经元,尽管变化程度稍弱,但其形态也出现类似变化。当阻断 AMPA 受体时,神经元的分支数降低至对照组的 64%(高浓度),突起长度变化不大;当阻断 NMDA 受体时,分支数降低至约 50%(高浓度),长度缩短至约 77%(低浓度)和 71%(高浓度);联合用药时,分支数和长度分别为对照的约 69%和 62%。**结论:**在神经元发育的过程中,离子型谷氨酸受体介导的兴奋性突触传入可影响抑制性神经元和兴奋性神经元的形态发育,最终对神经环路的形成发挥重要的调控作用。

关键词:抑制性神经元;兴奋性神经元;AMPA 受体;NMDA 受体;形态发育

中图分类号:R-33;Q593.2;R338 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)17-3257-06

Effect of Excitatory Synaptic Afferent Signal on the Morphological Development of Cortical Neurons *

JIA Ning¹, LIU Zi-he², JIA Rui-hua³, LI Ru², ZHANG Zheng-ping⁴, WANG Lu¹, GAO Fang^{5Δ}

(1 The Medical College of Yan'an University, Yan'an, Shaanxi, 716000, China; 2 Air Force Military Medical University (Fourth Military Medical University), School of Basic Medicine, Brigade Four, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 3 Air Force Military Medical University (Fourth Military Medical University) Xijing Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710032, China; 4 Hong Hui Hospital, Xi'an Jiaotong University College of Medicine, Xi'an, Shaanxi, 710054, China; 5 Air Force Military Medical University (Fourth Military Medical University), School of Basic Medicine, Department of Neurobiology, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To detect the effects of AMPA receptor (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate receptor) and NMDA receptor (N-methyl-D-aspartic acid receptor), two of ionotropic glutamate receptors, on the morphological development of inhibitory interneurons and excitatory neurons. **Methods:** Primary cultured cortical neurons were treated with drugs to interfere with AMPA receptors and/or NMDA receptors, to block neuronal ionotropic glutamate receptors. Neurons of each group were observed, and the inhibitory neurons were displayed by green fluorescence in GAD67-GFP transgenic mice while the excitatory neurons were showed by CaMKII immunofluorescence staining. **Results:** When AMPA and/or NMDA receptors were blocked, the density of the neural network decreased when observed under light microscope, and the degree of decreasing became even more obvious with the increase of drug concentration. For GFP-positive inhibitory interneurons, when AMPA receptors were blocked, the number of neuronal branches decreased to 65% (low concentration) and 55% (high concentration) of the control group, and the length of processes was shortened to 43% (low concentration) and 36% (high concentration) of the control. When NMDA receptors were blocked, the number of branches decreased to 70% (low concentration) and 45% (high concentration), and the length decreased to 43% (low concentration) and 31% (high concentration). And when AMPA and NMDA receptors were blocked together, the number of branches decreased to 42% and the length decreased to 38%. For CaMKII-positive excitatory neurons, although the degree was weaker, the neurons showed similar changes in morphology, with

* 基金项目:陕西省自然科学基金项目(2018KW-063);延安大学资政育人项目(YDZZYB17-092)

作者简介:贾宁(1990-),硕士研究生,主要研究方向:神经生物学, E-mail: halouxiding@163.com

Δ 通讯作者:高方(1982-),博士,副教授,主要研究方向:神经生物学, E-mail: gao_fang_2011@163.com, 电话:13891812645

(收稿日期:2019-03-23 接受日期:2019-04-18)

reduced number of branches and shortened length of processes. When AMPA receptors were blocked, the number of branches decreased to 64% (high concentration), and the length didn't vary too much. When NMDA receptors were blocked, the number of branches decreased to 50% (high concentration), and the length decreased to 77% (low concentration) and 71% (high concentration). And when AMPA and NMDA receptors were blocked together, the number of branches decreased to 69% and the length decreased to 62%. **Conclusion:** During neuronal development, the excitatory synaptic afferent signal mediated by ionic glutamate receptors showed effects on the morphological development of inhibitory interneurons and excitatory neurons, and finally plays an important regulatory role in the formation of neural circuits.

Key words: Inhibitory interneuron; Excitatory neuron; AMPA receptor; NMDA receptor; Morphological development

Chinese Library Classification (CLC): R-33; Q593.2; R338 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)17-3257-06

前言

抑制性中间神经元仅占皮质和海马神经元总数的 15%,但发挥着重要的作用,其通过神经递质 γ -氨基丁酸(aminobutyric acid, GABA)介导向下游靶标的抑制性神经传递,对于神经系统功能的正常行使非常重要^[1]。皮质和海马的抑制性中间神经元起源于端脑腹侧,并通过切向迁移到达新皮质和原始海马区,然后再以放射状移动到达特定的皮层或海马层^[2]。随后形成广泛的轴突分支(arborization)与靶细胞连接,精细地有选择性地调节着局部和远程的神经元回路。中间神经元迁移至皮层后,椎体神经元通过各种分子对中间神经元发挥调控作用,例如离子型谷氨酸受体 (ionotropic glutamate receptors, iGluRs)。iGluRs 包括 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 受体、海人藻酸 (KA)受体和 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑(AMPA)受体等。AMPA 和 NMDA 等受体的亚基在胚胎期就有表达,提示 iGluRs 参与中间神经元的发育^[3]。

为了检测 AMPA 和 NMDA 受体在中间神经元形态发育过程中的作用,我们采用 GAD67-GFP 转基因小鼠,培养其皮层神经元,加入 AMPA 或 / 和 NMDA 受体的阻断剂^[4],观察 GFP 阳性神经元的形态改变,以反映 GABA 能抑制性中间神经元的形态变化。结果表明当阻断 AMPA 或 NMDA 受体的阻断剂时, GFP 阳性的抑制性中间神经元的突起分支数降低,突起长度缩短;当同时加入 AMPA 和 NMDA 受体的阻断剂时,中间神经元的形态变化同上,没有出现更严重的变化。进一步检查发现 GFP 阴性 CaMK II 阳性的兴奋性神经元的形态也发生了变化,分支数降低,突起长度缩短。这些结果提示 iGluRs 中 AMPA 和 NMDA 受体的正常功能对 GABA 能抑制性中间神经元的形态发育非常重要,同时对兴奋性椎体神经元自身的形态发育也很重要,最终对神经环路的形成发挥重要的调控作用。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物、仪器与试剂。

1.1.1 主要试剂和仪器 Neurobasal-A(美国 Gibco 公司), B27 (50X, 美国 Gibco 公司)。一抗主要包括山羊抗 GFP 多克隆抗体 (Rockland 公司), 兔抗 CaMKII 单克隆抗体 (Abcam 公司)。二抗包括抗山羊绿色荧光二抗 (Donkey anti-Goat IgG(H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody Alexa Fluor 488, invitrogen by Thermo Fisher Scientific, A21206), 抗兔红色荧光二抗 (Alexa

Fluor 594 donkey anti-Rabbit IgG(H+L), molecular probes by life technologies, A21203)。主要仪器包括: Olympus BX51, Olympus Confocal DP72。

1.1.2 实验动物 GAD67-GFP 转基因小鼠, 饲养于 SPF 动物房内, 24 度恒温, 正常给水与喂食, 12 h 明暗交替光照。

1.2 方法

1.2.1 原代皮层神经元培养 新生 1 天的 GFP 乳鼠, 酒精全身消毒, 无菌条件下断头取脑, 将脑组织放入预先盛有预冷 HBSS 液的培养皿中, 于解剖显微镜下分离皮层, 去除血管、被膜等组织, 用预冷的 HBSS 洗涤, 移入 0.25% 胰蛋白酶中, 于 37℃ 消化约 15 min。加入含有 10% 胎牛血清的 DMEM 终止消化。用尖端钝化的巴氏滴管反复吹打成细胞悬液, 过 100 目不锈钢筛, 收集细胞悬液, 1000 rpm 离心 5 min, 去上清。加入适量的 Neurobasal-A (2% 的 B27) 培养基, 反复吹打成细胞悬液。取少量细胞悬液台盼蓝染色计数, 以 $1 \sim 5 \times 10^4$ 细胞密度接种于预先多聚赖氨酸包被的盖玻片上, 置于 37℃, 5% CO₂ 培养箱。

1.2.2 药物干预 将培养 48 小时的神元分为对照组和实验组, 实验组再分为 5 组。实验组加入用 Neurobasal-A (2% 的 B27) 培养基配制的药物, 使其终浓度分别为 10 μ M MNBQX、50 μ M MNBQX、50 μ M MAP5、250 μ M MAP5、50 μ M MNBQX+250 μ M MAP5, 对照组则加入等量的 Neurobasal-A (2% 的 B27) 培养基。药物作用 6 天后终止。

1.2.3 免疫荧光细胞染色 取皮层神经元, 4% 多聚甲醛室温固定 15 min, 吸除后用 0.01 mol/L PBS 清洗 3 次, 每次 10 min, 1% 牛血清白蛋白 (BSA)+0.03% Triton+PBS 室温封闭 1 h。山羊抗 GFP 抗体 (1:10000) 和兔抗 CaMKII 抗体 (1:10000) (一抗稀释液: 1% BSA+PBS) 4℃ 过夜, 0.01 mol/L 的 PBS 清洗, 驴抗山羊 488 (1:2000) (二抗稀释液: PBS) 和驴抗兔 594 (1:2000) 室温避光孵育 1.5 h, PBS 清洗, Hoechst (1:1000) (稀释液: PBS) 孵育 2~3 min, PBS 清洗, 50% 甘油封片, 观察。阴性对照用 PBS 代替一抗, 其余步骤相同。

1.2.4 神经元突起和长度检测 用 Image J 分别计数两种神经元突起数, 同时记录最长突起的长度。

1.3 统计学处理

实验数据采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, 多组间差异显著性采用单因素方差分析, 两样本均数间的多重比较采用 Newman-Keuls 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 光镜下细胞形态和网络的观察

以对照组为参照 (见图 1A), 加入 AMPA 受体阻断剂 NBQX 低浓度组和高浓度组、加入 NMDA 受体阻断剂 AP5 低浓度组和高浓度组以及两种药物联合添加组 N+A 组的神经元

胞体没有明显的变化, 但神经元的突起变得稀疏 (见图 1B1、B2、C1、C2、D), 并且增加药物浓度时, 变化更加明显 (见图 1B2、C2、D)。

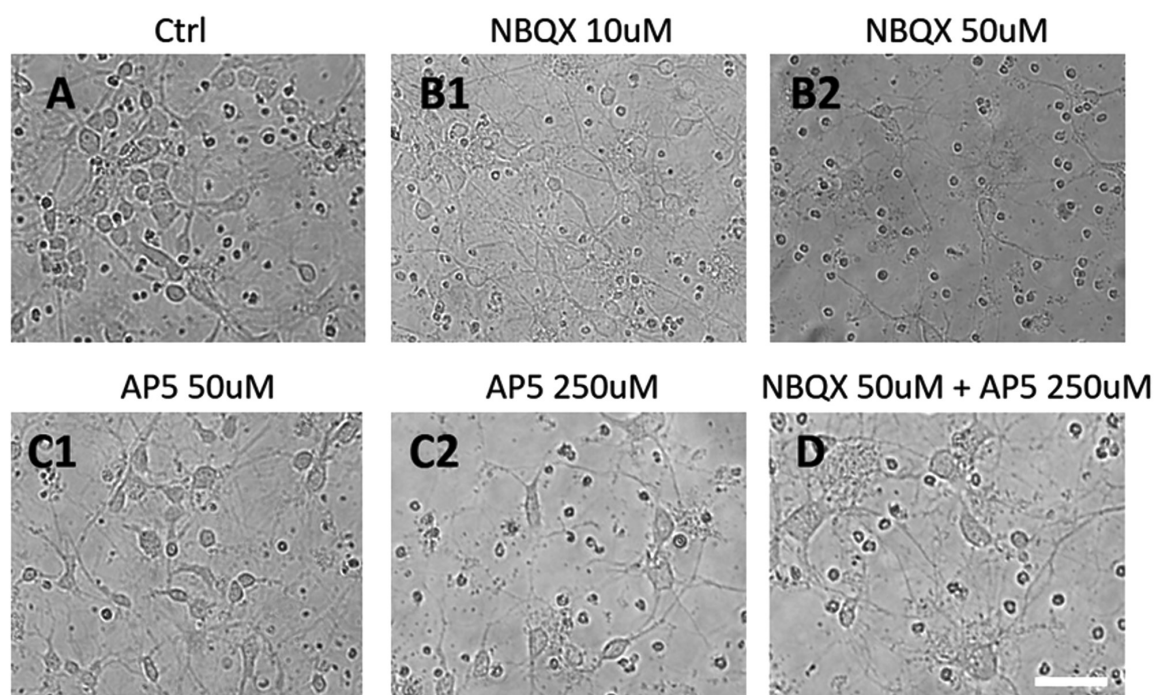


图 1 皮层原代培养神经元药物干预后的形态变化

Fig.1 Morphological changes of primary cultured cortical neurons after drug intervention

Note: A: control group treated with normal Neurobasal-A. B-D: groups treated with different antagonists. B1: group treated with NBQX at 10 μ M. B2: group treated with NBQX at 50 μ M. C1: group treated with AP5 at 50 μ M. C2: group treated with AP5 at 250 μ M. D: group treated with both NBQX at 50 μ M and AP5 at 250 μ M. The scale bar is 50 μ m.

2.2 不同受体阻断剂对中间神经元形态的影响

为了定量分析 iGluRs 中 AMPA 或 / 和 NMDA 受体阻断剂对抑制性中间神经元形态变化的影响, 我们采用 GAD67-GFP 转基因小鼠, 培养其皮层神经元, 通过 GFP 抗体染色来显示出抑制性神经元的形态。结果显示 (见图 2, 表 1) 相比于对照组, 各加药组的中间神经元分支数减少, 突起缩短。对照组中间神经元的分支数为 3.27 ± 1.35 , 突起长度为 $39.48 \pm 12.3 \mu$ m。NBQX 低浓度 10 μ M 组细胞分支降低至 2.14 ± 1.03 , 为对照组的 $65.53 \pm 31.41\%$, 长度降低至 $17.32 \pm 7.01 \mu$ m, 是对照组的 $43.86 \pm 17.77\%$ 。NBQX 高浓度 50 μ M 组细胞形态变化加剧, 细胞分支数降低至对照组的 $55.05 \pm 45.15\%$, 长度降低至对照组的 $36.76 \pm 24.70\%$ 。AP5 组的变化与 NBQX 组的变化相似, 低浓度 50 μ M 组细胞分支数降低至对照组的 $70.72 \pm 39.82\%$, 长度降低至对照组的 $43.47 \pm 18.90\%$; 高浓度 250 μ M 组细胞分支数降低至对照组的 $45.14 \pm 25.69\%$, 长度降低至对照组的 $31.71 \pm 18.60\%$ 。两种药物联合用药 N+A 组则分别降低至对照组的 $42.81 \pm 21.38\%$ 和 $38.50 \pm 16.62\%$ 。

2.3 不同受体阻断剂对兴奋性椎体神经元形态的影响

为了检测抑制性中间神经元发生变化时, 兴奋性神经元自身是否有变化, 我们通过 CaMKII 标记物的免疫荧光染色来进行观察。结果显示 (见图 3, 表 2) 各个加药组兴奋性神经元的形态也有变化。NBQX 低浓度 10 μ M 组细胞分支数降低至对照

组的 $81.97 \pm 30.27\%$, 突起长度降低至对照组的 $95.78 \pm 29.84\%$ 。NBQX 高浓度 50 μ M 组细胞分支数降低至对照组的 $64.89 \pm 24.46\%$, 长度降低至对照组的 $82.04 \pm 42.44\%$ 。AP5 浓度 50 μ M 组细胞分支数降低至对照组的 $93.68 \pm 10.52\%$, 突起长度降低至对照组的 $77.10 \pm 27.65\%$; 高浓度 250 μ M 组, 细胞分支数降低至对照组的 $50.44 \pm 13.53\%$, 突起长度降低至对照组的 $71.35 \pm 24.35\%$ 。两种药物联合用药 N+A 组细胞分支数和突起长度分别降低至对照组的 $69.36 \pm 28.42\%$ 和 $62.42 \pm 38.25\%$ 。

3 讨论

抑制性神经元以 γ -氨基丁酸(GABA)作为主要的神经递质, 通过释放 GABA 作用于 GABAA 受体或 GABAB 受体, 进而使突触后膜上的 Cl⁻ 内流或 K⁺ 外流, 导致膜电位的超极化, 降低突触后神经元的膜兴奋性。抑制性中间神经元数量虽少, 但作用却不容小觑, 其通过高度的时空精确性调节神经元的兴奋性, 从而控制神经环路的电活动和节奏性。同时, 中间神经元因其结构和功能的多样性使其在神经环路的功能和调节中起着关键的作用。在皮层 GABA 能神经元中, 有 40~50% 是 parvalbumin(PV)阳性的中间神经元, 20~30% 为 somatostatin(SST)阳性的中间神经元^[9], 还有很多其他类型的中间神经元等。多种抑制性中间神经元在不同的脑区参与不同的大脑神经功能, 发挥着重要的作用^[6,7]。

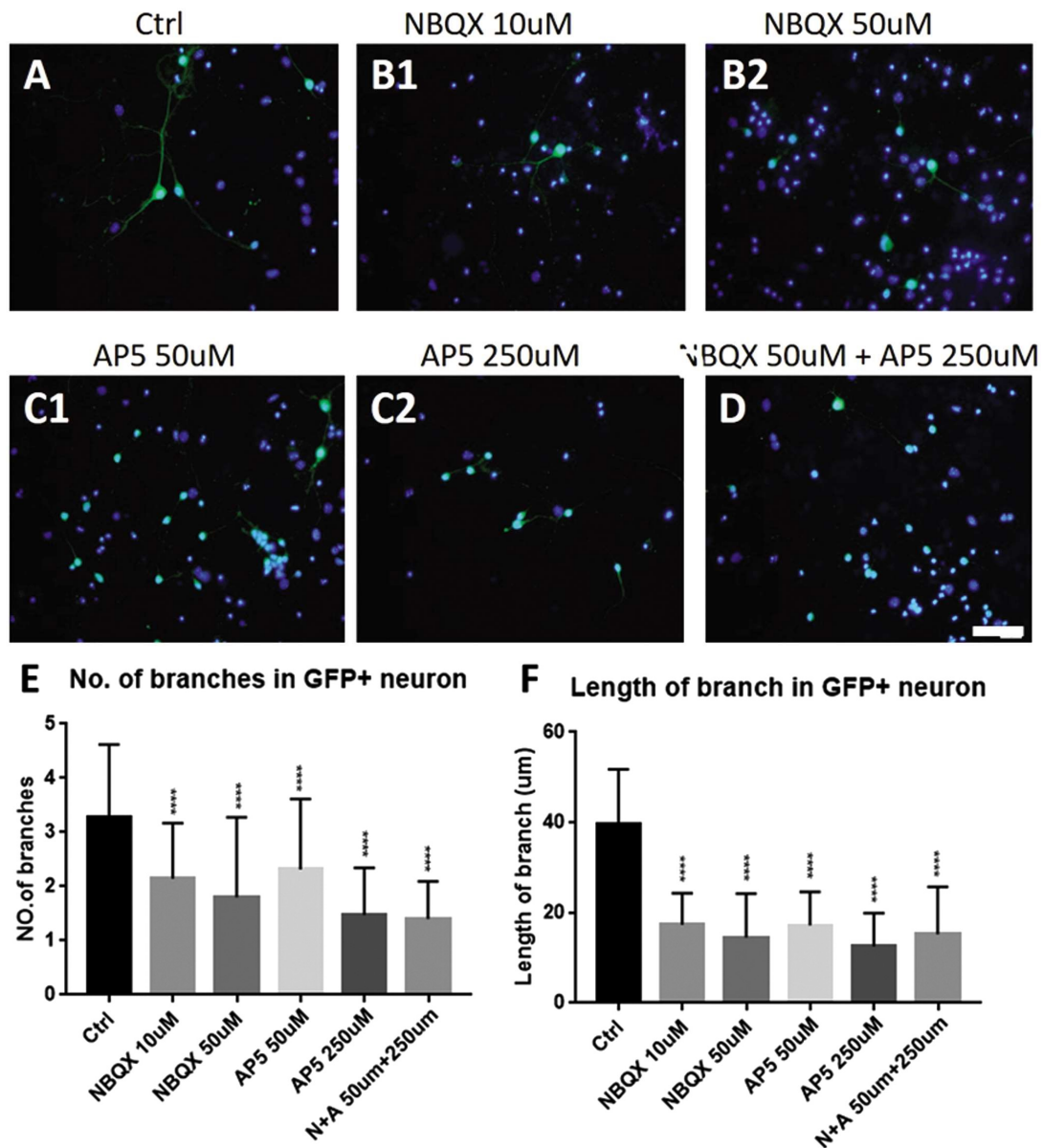


图 2 皮层抑制性神经元药物干预 6 天后 GFP 免疫荧光染色观察形态变化

Fig.2 Morphological changes of cortical inhibitory interneurons observed through anti-GFP immunofluorescence staining after 6-day of drug treatment
Note: A: control group treated with normal Neurobasal-A. B-D: groups treated with different antagonists. B1: group treated with NBQX at 10 μ M. B2: group treated with NBQX at 50 μ M. C1: group treated with AP5 at 50 μ M. C2: group treated with AP5 at 250 μ M. D: group treated with both NBQX at 50 μ M and AP5 at 250 μ M. E-F: Statistical analysis of the number of branches (E) and the length of branch (F) of interneurons. The scale bar is 50 μ m.

表 1 GFP⁺ 中间神经元的形态变化分析

Table 1 Analysis of the morphological changes of GFP⁺ interneuron

	NBQX		AP5		NBQX+AP5
	10 μ M	50 μ M	50 μ M	250 μ M	50 μ M + 250 μ M
No. of branches*					
Mean $\pm$ SD (%)	65.53 $\pm$ 31.41	55.05 $\pm$ 45.15	70.72 $\pm$ 39.82	45.14 $\pm$ 25.69	42.81 $\pm$ 21.38
Length of branch*					
Mean $\pm$ SD (%)	43.86 $\pm$ 17.77	36.76 $\pm$ 24.70	43.47 $\pm$ 18.90	31.71 $\pm$ 18.60	38.50 $\pm$ 16.62

Note: *Ration=Drug-treated group / control group.

上述复杂的中间神经网络是精巧的神经发育的结果^[9]。神经发育过程中,皮层和海马的抑制性神经元都起源于神经节隆起(ganglionic eminence, GE)。GE 位于端脑腹侧,根据解剖位置分三部分:外侧隆起(lateral ganglionic eminence, LGE),中间

隆起(medial ganglionic eminence, MGE)和尾部隆起(caudal ganglionic eminence, CGE)。首先,新生的抑制性神经元必须历经长时程的从腹侧到背侧的切线性迁移才能到达目标脑区^[9]。其次,中间神经元到达皮层或海马后开始进行放射状迁移,到达合适

的皮质板层或海马层。整体上看抑制性神经元分散地迁移到整个端脑区域,分散在兴奋性椎体神经元周围,然后形成突触,正确地整合入合适的神经环路内^[2,10,11]。

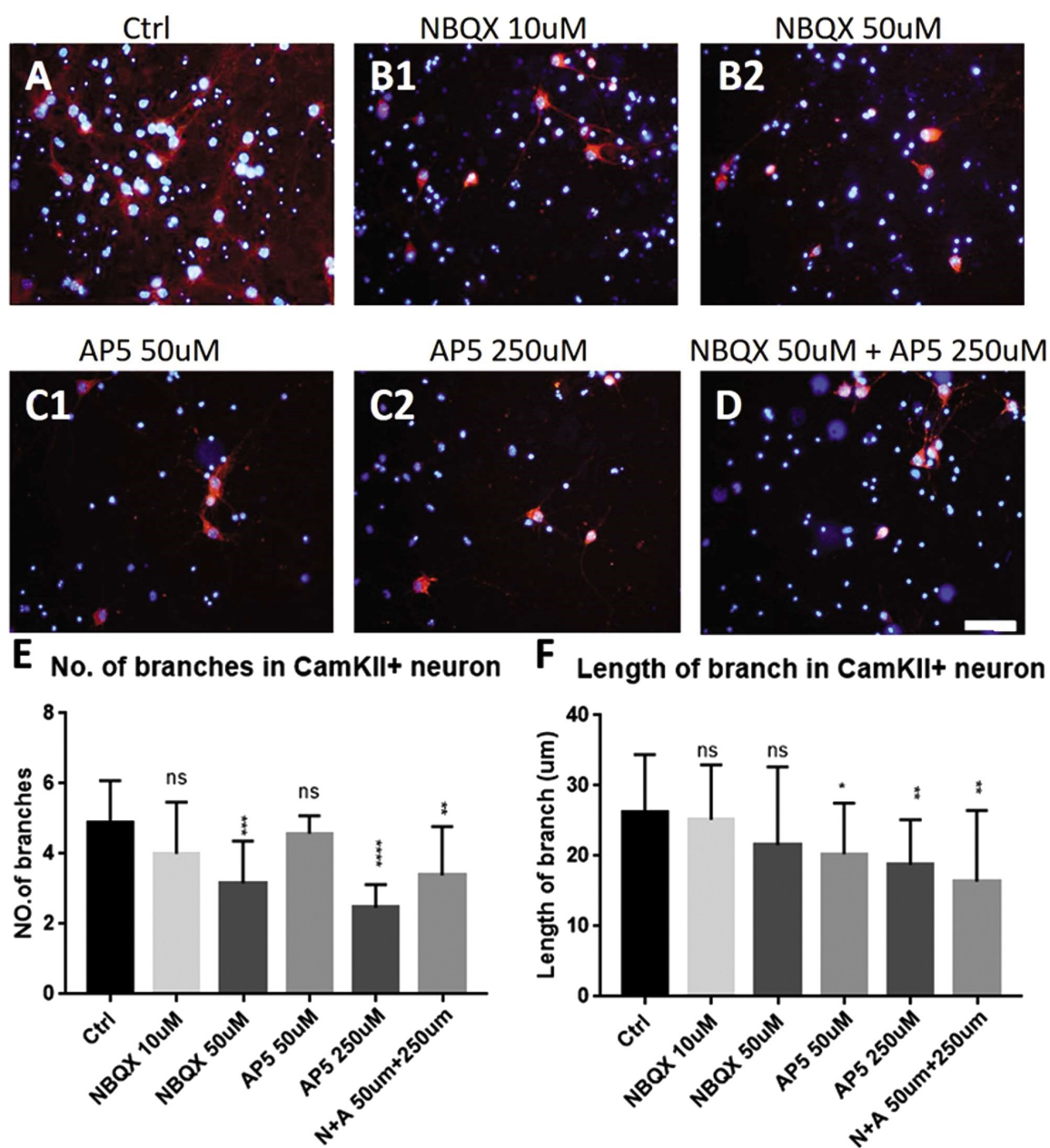


图3 皮层神经元药物干预6天后CaMKII免疫荧光染色观察

Fig.3 Morphological changes of cortical excitatory neurons observed through anti-CaMKII immunofluorescence staining after 6-day of drug treatment
Note: A: control group treated with normal Neurobasal-A. B-D: groups treated with different antagonists. B1: group treated with NBQX at 10 μ M. B2: group treated with NBQX at 50 μ M. C1: group treated with AP5 at 50 μ M. C2: group treated with AP5 at 250 μ M. D: group treated with both NBQX at 50 μ M and AP5 at 250 μ M. E-F: Statistical analysis of the number of branches (E) and the length of branch (F) of excitatory neurons. The scale bar is 50 μ m.

表2 CaMKII⁺兴奋性神经元的形态变化分析

Table 2 Analysis of the morphological changes of CaMKII⁺ interneuron

	NBQX		AP5		NBQX+AP5
	10 μ M	50 μ M	50 μ M	250 μ M	50 μ M+250 μ M
No. of branches*					
Mean $\pm$ SD (%)	81.97 $\pm$ 30.27	64.89 $\pm$ 24.46	93.68 $\pm$ 10.52	50.44 $\pm$ 13.53	69.36 $\pm$ 28.42
Length of branch*					
Mean $\pm$ SD (%)	95.78 $\pm$ 29.84	82.04 $\pm$ 42.44	77.10 $\pm$ 27.65	71.35 $\pm$ 24.35	62.42 $\pm$ 38.25

Note: *Ration=Drug-treated group / control group.

抑制性神经元发育异常往往与多种神经精神类疾病相关,包括癫痫^[12,13]、自闭症^[14,15]和精神分裂症等^[2,16-18]。皮层和海马的 GABA 能神经元减少、GABA 能神经元的迁移错误、GABA 能神经元板层的分布异常等发育异常都被认为与神经精神类疾病的发生发展有密切的联系^[19-21]。抑制性神经元延迟或者减少进入皮质板,也能够引起癫痫发作^[22]。GABA 能神经元产生于 GE 早期,但在迁移到皮层失败后,打破了兴奋性和抑制性神经元的平衡,导致网络的过度兴奋和皮质发育不良^[23,24]。PV 阳性的中间神经元的发育受到损害^[25]与自闭症的发病相关。特发性自闭症模型 BTBR 小鼠可自发性的减少 GABA 神经递质的传递,通过突触后 GABA_A 受体正向变构调节增加抑制性神经递质的传递,对自闭症行为有所改善^[26]。因此,我们需要研究清楚正常发育表达的调控,并为异常发育所导致的疾病研究打好基础。

在抑制性神经元发育的过程中,其中一个环节 -- 中间神经元从切线迁移转向放射状迁移、并到达新皮质和海马的指定位置这一过程,需要许多机制的共同参与,例如趋化因子、神经递质调节的钙通路、神经元离子通道型受体的极化去极化^[27]等。兴奋性椎体神经元也作为其中一份子,影响中间神经元的迁移、最终位置和突触联系的建立^[28]。兴奋性椎体神经元通过 iGluRs 与中间神经元建立联系,并调节着中间神经元的发育。多项研究表明 iGluRs 在中间神经元发育的迁移、细胞存活和形态等各个方面都有调控作用。在迁移方面,体外实验和体内实验研究都提示 NMDA 受体或 AMPA 受体缺失会影响 GABA 能中间神经元的迁移。在细胞存活方面,iGluRs 在不同脑区对中间神经元的作用有所不同。NMDA 受体敲除后,大脑皮质躯体感觉区域的 PV 阳性中间神经元的存活不受影响,但嗅球部位的成年新生颗粒神经元的细胞死亡增加^[29]。在形态方面,研究普遍认为电活动是中间神经元形态发育成熟的一个重要因素。例如,通过过度表达内流钾通道使细胞膜的兴奋性减弱,会阻碍神经元形态的分化成熟。具体到 iGluR 受体的作用,一些研究揭示了其在中间神经元特定亚型中的作用。例如, *reelin* 阳性中间神经元中敲除 NMDA 受体亚基 *GluN1* 和 *GluN2B* 会导致细胞树突和轴突形态发育缺陷。此外,iGluRs 中的 AMPA 受体或 / 和 NMDA 受体对中间神经元形态会产生什么结果,这一影响对兴奋性神经元自身又会有怎样的反馈,还有待进一步的实验探讨。

本研究结果显示使用 NBQX 阻断 AMPA 受体时,细胞光镜下即表现出突起减少变稀疏的表型;GAD67-GFP 阳性的中间神经元表现出突起分支数降低,突起长度缩短;这些变化反过来对 CaMKII 兴奋性神经元本身也造成影响,使得其也发生突起分支数降低和长度缩短的结果;并且,当药物浓度增加时,表型更加明显,呈现出一定的浓度依赖性。使用 AP5 阻断 NMDA 受体时,抑制性中间神经元和兴奋性神经元也都表现出突起分支减少和长度缩短的表型,只是在 AP5 高浓度时,这种抑制作用比 NBQX 高浓度时的抑制作用更强烈。当将两种抑制剂合用时,两种神经元也都表现出了类似的表型,但是表型变化没有比同样浓度的单个药物的作用更明显,提示两种药物在一起没有叠加效应。这些结果提示当阻断 AMPA 受体或 / 和 NMDA 受体时,发育过程中神经元兴奋性 - 抑制性环路平衡被破坏,会造成抑制性中间神经元和兴奋性神经元的

形态发育异常。而单独一种受体的阻断效果就堪比对两种受体同时阻断的效果,这表明即使只是在一个环节上对环路的破坏,都可能会造成整个环路平衡的破坏,从而影响环路中各种神经元的形态发育。这些结果为相关神经发育疾病的研究提供了基础数据和进一步的研究方向。

参考文献(References)

- [1] Pelkey KA, Chittajallu R, Craig MT, et al. Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons[J]. *Physiol Rev*, 2017, 97(4): 1619-1747
- [2] Marin O, Valiente M, Ge X, et al. Guiding neuronal cell migrations[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(2): a001834
- [3] Akgul G, McBain CJ. Diverse roles for ionotropic glutamate receptors on inhibitory interneurons in developing and adult brain[J]. *J Physiol*, 2016, 594(19): 5471-5490
- [4] Chen Wen. AMPA receptor antagonist NBQX decreased seizures by normalization of perineuronal nets [D]. Shandong: Shandong University, 2017
- [5] Rudy B, Fishell G, Lee S, et al. Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons[J]. *Dev Neurobiol*, 2011, 71(1): 45-61
- [6] Neske GT, Patrick SL, Connors BW. Contributions of diverse excitatory and inhibitory neurons to recurrent network activity in cerebral cortex [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(3): 1089-1105
- [7] Hu H, Vervaeke K. Synaptic integration in cortical inhibitory neuron dendrites[J]. *Neuroscience*, 2018, 368: 115-131
- [8] Xia Wen-long. Study of the embryonic cortex neurogenesis process [D]. Anhui: University of Science and Technology of China, 2017
- [9] Fukumoto K, Tamada K, Taya T, et al. Identification of genes regulating GABAergic interneuron maturation [J]. *Neurosci Res*, 2018, 134: 18-29
- [10] Guo J, Anton ES. Decision making during interneuron migration in the developing cerebral cortex [J]. *Trends Cell Biol*, 2014, 24 (6): 342-351
- [11] Zimmer-Bensch G. Diverse facets of cortical interneuron migration regulation - Implications of neuronal activity and epigenetics[J]. *Brain Res*, 2018, 1700: 160-169
- [12] Govindaiah G, Kang YJ, Lewis HES, et al. Group I metabotropic glutamate receptors generate two types of intrinsic membrane oscillations in hippocampal oriens/alveus interneurons[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 139: 150-162
- [13] Shetty AK, Upadhyay D. GABA-ergic cell therapy for epilepsy: Advances, limitations and challenges [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2016, 62: 35-47
- [14] Pla R, Stanco A, Howard MA, et al. *Dlx1* and *Dlx2* Promote Interneuron GABA Synthesis, Synaptogenesis, and Dendritogenesis[J]. *Cereb Cortex*, 2018, 28(11): 3797-3815
- [15] Jacob J. Cortical interneuron dysfunction in epilepsy associated with autism spectrum disorders[J]. *Epilepsia*, 2016, 57(2): 182-193
- [16] Li S, Kumar TP, Joshee S, et al. Endothelial cell-derived GABA signaling modulates neuronal migration and postnatal behavior [J]. *Cell Res*, 2018, 28(2): 221-248
- [17] Volk DW, Lewis DA. The Role of Endocannabinoid Signaling in Cortical Inhibitory Neuron Dysfunction in Schizophrenia[J]. *Biol Psychiatry*, 2016, 79(7): 595-603

(下转第 3279 页)

- [12] Warnatz K, Voll RE. Pathogenesis of autoimmunity in common variable immunodeficiency[J]. *Front Immunol*, 2012, 3(7): 210
- [13] 梁一晨,姚洋,张芮君,等.外周血效应型滤泡辅助性T细胞和滤泡辅助性T细胞亚型在系统性红斑狼疮发病机制中的作用[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(3): 164-168
- [14] 赵芬,张爱萍,张楠楠,等.类风湿关节炎患者血清IL-27水平及外周血PLR检测与疾病活动度的相关性研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(1): 34-37
- [15] Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised of the European criteria proposed by the American-European consensus group [J]. *Ann Rheum Dis*, 2002, 61(6): 554-558
- [16] 冯润,龚邦东,程防,等.血清学指标EULAR干燥综合征疾病活动指数在原发性干燥综合征中的意义[J]. *中华风湿病学杂志*, 2016, 20(7): 446-452
- [17] 高娴.TNF- α 抑制剂在炎症性肠病治疗中的应用[J]. *转化医学电子杂志*, 2016, 3(7): 90-91
- [18] 邓剑兰,范媛.肿瘤坏死因子- α 、B细胞刺激因子、细胞间黏附分子-1、血管细胞黏附分子-1在原发性舍格伦综合征患者血清中的水平变化[J]. *口腔医学*, 2016, 36(11): 1011-1013
- [19] Kim SH, Han SY, Azam T, et al. Interleukin-32: a cytokine and inducer of TNF α [J]. *Immunity*, 2005, 22(1): 131-142
- [20] 李奕璇,朱红兰,刘代顺.IL-32在炎症相关性疾病中的研究进展[J]. *中国医药导报*, 2017, 14(12): 47-51
- [21] 康书慧,刘士甫,张鑫.结核性胸膜炎患者血清及胸腔积液中INF- γ 、IL-6和IL-17水平及临床意义研究[J]. *转化医学电子杂志*, 2018, 5(1): 32-34
- [22] Yang XP, Ghoreschi K, Steward-Tharp SM, et al. Opposing regulation of the locus encoding IL-17 through direct, reciprocal actions of STAT3 and STAT5[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(3): 247-254
- [23] 王柏山.原发性干燥综合征患者外周血Th17细胞及CXCL13检测及其临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(14): 1705-1707, 1711
- [24] 王喜梅,厉小梅,李向培,等.白细胞介素-17在原发性干燥综合征患者唇腺组织和外周血的表达[J]. *中华风湿病学杂志*, 2009, 13(5): 292-295, 前插1
- [25] 李鸣远,孟岩,武云,等.Treg细胞在类风湿关节炎合并潜伏性结核感染患者中的表达及意义[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2016, 8(12): 112-115
- [26] KANG EH, LEE YJ, HYON JY, et al. Salivary cytokine profiles in primary Sjögren's syndrome differ from those in non-sjögren sicca in terms of TNF- α levels and Th-1/Th-2 ratios [J]. *Clinical and experimental rheumatology*, 2011, 6(6): 970-976
- [27] Zhao J, Zhao J, Perlman S. Differential effects of IL-12 on Tregs and non-Treg T cells: roles of IFN- γ , IL-2 and IL-2R [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e46241
- [28] Hwang, Chul Ju, Yun, Hyung-Mun, Jung, Yu Yeon, et al. Reducing Effect of IL-32 α in the Development of Stroke Through Blocking of NF-kappa B, but Enhancement of STAT3 Pathways [J]. *Molecular Neurobiology*, 2015, 2(2): 648-660
- [29] 霍晓萌.活血解毒方联合硫酸羟氯喹治疗干燥综合征疗效及对Th17/Treg免疫失衡的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2018, 27(12): 1331-1333
- [30] Zeng QL, Li S, Zhou Y, et al. Interleukin-32 contributes to invasion and metastasis of primary lung adenocarcinoma via NF-kappaB induced matrix metalloproteinases 2 and 9 expression [J]. *Cytokine*, 2014, 1(1): 24-32

(上接第3262页)

- [18] Xu MY, Wong AHC. GABAergic inhibitory neurons as therapeutic targets for cognitive impairment in schizophrenia[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(5): 733-753
- [19] Abbah J, Juliano SL. Altered migratory behavior of interneurons in a model of cortical dysplasia: the influence of elevated GABAA activity [J]. *Cereb Cortex*, 2014, 24(9): 2297-2308
- [20] Hashemi E, Ariza J, Rogers H, et al. The Number of Parvalbumin-Expressing Interneurons Is Decreased in the Prefrontal Cortex in Autism [J]. *Cereb Cortex*, 2017, 27(3): 1931-1943
- [21] Zou Ming-ming. The role and underlying mechanism of GABA interneurons in the cognitive impairment of Trim32KO mice [D]. Chongqing: Army Medical University, 2017
- [22] Bozzi Y, Casarosa S, Caleo M. Epilepsy as a neurodevelopmental disorder[J]. *Front Psychiatry*, 2012, 3: 19
- [23] Poluch S, Jablonska B, Juliano SL. Alteration of interneuron migration in a ferret model of cortical dysplasia [J]. *Cereb Cortex*, 2008, 18(1): 78-92
- [24] Kato M. Genotype-phenotype correlation in neuronal migration disorders and cortical dysplasias[J]. *Front Neurosci*, 2015, 9: 181
- [25] Vogt D, Cho KKA, Shelton SM, et al. Mouse Cntnap2 and Human CNTNAP2 ASD Alleles Cell Autonomously Regulate PV+ Cortical Interneurons[J]. *Cereb Cortex*, 2018, 28(11): 3868-3879
- [26] Han S, Tai C, Jones CJ, et al. Enhancement of inhibitory neurotransmission by GABAA receptors having α 2,3-subunits ameliorates behavioral deficits in a mouse model of autism [J]. *Neuron*, 2014, 81(6): 1282-1289
- [27] Wang Y, Li G, Stanco A, et al. CXCR4 and CXCR7 have distinct functions in regulating interneuron migration[J]. *Neuron*, 2011, 69(1): 61-76
- [28] Greig LC, Woodworth MB, Galazo MJ, et al. Molecular logic of neo-cortical projection neuron specification, development and diversity[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14(11): 755-769