

PC12细胞铝染毒后代代谢型谷氨酸受体1在PKC和NMDAR表达中的调控作用

王翊, 张婷, 李立荣, 薛星莉, 牛侨

摘要:

[目的] 探讨激动和抑制代谢型谷氨酸受体1(mGluR1)蛋白表达对麦芽酚铝染毒的大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤分化细胞株(PC12)蛋白激酶C(PKC)及N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)表达的影响。

[方法] 取对数生长期PC12细胞,分为空白对照组(正常PC12细胞)、激动剂组(100 μmol/L mGluR1激动剂)、抑制剂组(100 μmol/L mGluR1抑制剂)、麦芽酚铝染毒组(200 μmol/L 麦芽酚铝)、染铝+激动剂组(100 μmol/L mGluR1激动剂+200 μmol/L 麦芽酚铝)、染铝+抑制剂组(100 μmol/L mGluR1抑制剂+200 μmol/L 麦芽酚铝),染毒时间为24 h。采用实时荧光定量PCR法测定各组PC12细胞中PKC及NMDAR亚基的mRNA表达水平;采用Western blot法测定各组PC12细胞中PKC及NMDAR亚基的蛋白表达水平;采用ELISA法测定各组PC12细胞的PKC酶活性。

[结果] 与空白对照组相比,麦芽酚铝染毒组的PKC、NMDAR1、NMDAR2A和NMDAR2B mRNA表达水平分别下降39%、21%、38%和26%,差异有统计学意义($P<0.05$),其蛋白表达水平分别下降39%、31%、41%和46%,差异有统计学意义($P<0.05$)。染铝+抑制剂组的NMDAR1 mRNA和蛋白表达与麦芽酚铝染毒组相比分别上调32%和36%($P<0.05$);与麦芽酚铝染毒组相比,染铝+抑制剂组NMDAR2B mRNA表达下调46%,染铝+激动剂组NMDAR2B蛋白表达上调95%,差异有统计学意义($P<0.05$)。与对照组相比,麦芽酚铝染毒组PKC酶活性下降56%,而染铝+激动剂组PKC酶活性相对于麦芽酚铝染毒组上调116%($P<0.05$)。

[结论] 麦芽酚铝可以抑制PC12细胞的PKC和NMDAR各亚基的mRNA和蛋白表达;麦芽酚铝可通过mGluR1调节NMDAR表达和PKC酶活性;mGluR1对NMDAR的调节主要作用于NMDAR1和NMDAR2B。

关键词: 麦芽酚铝; mGluR1激动; mGluR1抑制; PKC; NMDAR

引用: 王翊, 张婷, 李立荣, 等. PC12细胞铝染毒后代代谢型谷氨酸受体1在PKC和NMDAR表达中的调控作用[J]. 环境与职业医学, 2018, 35(11): 1025-1030. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2018.18431

Regulation of mGluR1 on expression of PKC and NMDAR in PC12 exposed to aluminum maltolate
WANG Fei, ZHANG Ting, LI Li-rong, XUE Xing-li, NIU Qiao (School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China). Address correspondence to NIU Qiao, E-mail: niuqiao55@163.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

[Objective] To investigate the effects of agitating and inhibiting mGluR1 on protein kinase C (PKC) and N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) expressions in rat adrenal-derived pheochromocytoma cells (PC12) induced by aluminum maltolate.

[Methods] PC12 cells at logarithmic growth phase were divided into a control group (normal PC12), an agonist group (100 μmol/L mGluR1 agonist), an inhibitor group (100 μmol/L mGluR1 inhibitor), an aluminum maltolate exposure group (200 μmol/L aluminum maltolate), an aluminum maltolate + agonist group (200 μmol/L aluminum maltolate + 100 μmol/L mGluR1 agonist), and an aluminum maltolate + inhibitor group (200 μmol/L aluminum maltolate + 100 μmol/L mGluR1 inhibitor), and all groups were treated for 24 h. The mRNA expression levels of PKC and subunits of NMDAR in PC12 were measured by real-time fluorescence quantitative PCR, the protein expression levels of PKC and subunits of NMDAR by Western blot, and the PKC enzyme activity of PC12 by ELISA.

[Results] Compared with the control group, the mRNA expression levels of PKC, NMDAR1, NMDAR2A, and NMDAR2B of

• 作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(编号: 81430078)

[作者简介] 王翊(1993—),女,硕士生;研究方向:铝的神经毒性;E-mail: wflxs55@163.com

[通信作者] 牛侨, E-mail: niuqiao55@163.com

[作者单位] 山西医科大学公共卫生学院劳动卫生学教研室,山西 太原 030001

the aluminum maltolate exposure group were decreased by 39%, 21%, 38%, and 26%, respectively ($P < 0.05$), and the protein expression levels decreased by 39%, 31%, 41%, and 46%, respectively ($P < 0.05$). The *NMDAR1* mRNA and protein expression levels of the aluminum maltolate + inhibitor group were increased by 32% and 36%, respectively, compared with the aluminum maltolate exposure group ($P < 0.05$). The *NMDAR2B* mRNA expression levels of the aluminum maltolate + inhibitor group was decreased by 46%, and the *NMDAR2B* protein expression levels of the aluminum maltolate + agonist group was increased by 95%, compared with the aluminum maltolate exposure group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the PKC enzyme activity of the aluminum maltolate exposure group decreased by 56%, while the PKC activity of the aluminum maltolate+agonist group was up-regulated by 116% compared with the maltolate exposure group ($P < 0.05$).

[Conclusion] The PKC and subunits of *NMDAR* mRNA and protein expressions in PC12 cells are inhibited by aluminum maltolate. Aluminum maltolate may regulate the *NMDAR* expression and the PKC enzyme activity via mGluR1. *NMDAR1* and *NMDAR2B* play roles in the proposed regulation.

Keywords: aluminum maltolate; mGluR1 agitation; mGluR1 inhibition; PKC; *NMDAR*

Citation: WANG Fei, ZHANG Ting, LI Li-rong, et al. Regulation of mGluR1 on expression of PKC and *NMDAR* in PC12 exposed to aluminum maltolate[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2018, 35(11): 1025-1030. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2018.18431

自19世纪以来,人类暴露于各种高浓度金属毒物中,其中就包括铝^[1]。近年来,铝是否为阿尔茨海默病的独立危险因素仍然存在争议,但高浓度的铝暴露能够引起认知功能损害却是学界公认的事实^[2]。在铝的神经毒性中,铝致神经元的突触可塑性改变一直是研究的热点。研究表明,铝可经消化道、呼吸道等途径吸收入血并透过血脑屏障蓄积于大脑海马体,通过影响N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methy-D-aspartate receptor, *NMDAR*)和代谢型谷氨酸受体(metabotropic glutamate receptors, mGluR)的表达而影响神经元突触可塑性^[3-4]。O'CONNOR等^[5]发现*NMDAR*和mGluR可以双向调节突触可塑性。另有研究表明,mGluR1对*NMDAR*的调节作用主要依赖于蛋白激酶C(PKC)-Src信号通路^[6],但是在铝致突触可塑性改变中mGluR调节*NMDAR*是否依赖PKC还未知。本研究通过分析mGluR1的激动和抑制对染铝PC12细胞PKC和*NMDAR*各亚基表达的影响来初步阐明mGluR在PKC和*NMDAR*表达中的调控作用。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

高糖达尔伯克氏改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM, 赛默飞世尔科技公司,美国);标准胎牛血清、D-Hanks液(武汉博士德生物工程有限公司,中国);麦芽酚、(S)-3, 5-二羟基苯基甘氨酸水合物[(S)-3, 5-dihydroxyphenylglycine hydrate, DHPG]和(±)-α-甲基-(4-羧基苯基)甘氨酸[(±)-α-methyl-(4-carboxyphenyl)glycine, MCPG](纯度分别为99%、98%、98%, Sigma-Aldrich公司,美国);三氯化铝(纯度为97.00%,天津市风船化学试剂

科技有限公司,中国);青链霉素混合液、Cell Counting Kit-8(CCK-8)细胞增殖-毒性检测试剂盒、胰蛋白酶(北京索莱宝科技有限公司,中国);mGluR1、PKC、*NMDAR1*、*NMDAR2A*、*NMDAR2B*引物、总RNA提取试剂Trizol、哺乳动物蛋白抽提试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、蛋白示踪上样缓冲液(还原型, 5×)、SDS-PAGE凝胶制备试剂盒、高灵敏度化学发光检测试剂盒、抗GAPDH鼠单克隆抗体、山羊抗兔IgG、山羊抗鼠IgG(北京康为世纪生物科技有限公司,中国);反转录试剂盒(5×Prime Script RT Master Mix试剂)、SYBR Premix Ex Taq II(TaKaRa生物工程有限公司,日本);PKC抗体(Abcam公司,美国);*NMDAR1*、*NMDAR2A*、*NMDAR2B*抗体(GeneTex公司,美国);PKC Kinase Activity Kit(Enzo Biochem公司,美国)。

Bio Tek酶标仪(伯腾仪器有限公司,美国);实时荧光定量聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)仪(赛默飞世尔科技公司,美国);Biospectrometer fluorescence分光光度计(Eppendorf, 德国);二氧化碳恒温培养箱(Heraeus公司,德国);倒置荧光数码显微镜(奥林巴斯公司,日本)。

1.2 细胞培养及染毒

大鼠肾上腺髓质嗜铬瘤分化细胞株(PC12)在37℃恒温、饱和湿度的CO₂(5%)细胞培养箱培养,DMEM细胞完全培养液包含10%的胎牛血清、100 U/mL的青霉素、100 μg/mL的链霉素,隔天用2.5 g/L的胰酶消化后进行传代。

本课题组前期研究结果发现,麦芽酚铝中剂量染毒组(200 μmol/L)PC12细胞活力为70%~80%,且产生明显神经毒作用^[7]。本研究预实验结果发现100 μmol/L DHPG和MCPG分别作用于PC12细胞24 h,

细胞活力可维持在90%以上,其本身的化学毒性可忽略不计,且干扰效力明显。故实验取生长良好的对数生长期PC12细胞分为空白对照组、激动剂组、抑制剂组、麦芽酚铝染毒组、染铝+激动剂组和染铝+抑制剂组,其中麦芽酚铝染毒剂量为200 μmol/L,激动剂和抑制剂染毒剂量为100 μmol/L,染毒时间为24 h。

1.3 实时荧光定量PCR

采用Trizol法提取细胞总RNA,使用BioSpectrometer fluorescence分光光度计测定样品总RNA的纯度及浓度。使用ReverTra Ace qPCR RT Master Mix进行反转录得到cDNA产物,反转录反应条件:65℃ 5 min 预变性,37℃ 15 min,50℃ 5 min,98℃ 5 min;使用SYBR® Green Realtime PCR Master Mix进行反转录(RT)-PCR,RT-PCR反应条件(两步法):95℃ 60 s,1个循环;95℃ 5 s,60℃ 30 s,40个循环;95℃ 60 s,65℃ 30 s,95℃ 1 s,1个循环。每个样品做3个复孔,各样品Ct值经内参基因GAPDH标化后,根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算各组PKC、NMDAR1、NMDAR2A、NMDAR2B mRNA的相对表达量。

表1 引物序列

基因	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
GAPDH	AAACCCATCACCATCTTCCA	GTGGTTCACACCCATCACAA
PKC	GCTAGCTGGGCAGCTTATGA	CGCACACTTTGGGCTTGAAT
NMDAR1	GTCCAGCGTCTGCTTTCAGA	GTCCGCGCTTGTGTGCATAG
NMDAR2A	GAACCCGCTAAACCTGCTGG	CATGGTCGCCACTTAGGGTC
NMDAR2B	GGGTCACGCAAAACCTTTTC	CCTTGTTTTTCAGCGCCCTG

1.4 Western blot

细胞样品总蛋白的提取按照哺乳动物蛋白抽提试剂盒说明书进行,BCA蛋白定量法测各组蛋白浓度,加入蛋白示踪上样缓冲液,充分混匀,沸水浴5 min,冷却至室温。取约80 μg总蛋白进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶60 V恒压垂直电泳130 min,后湿转至聚偏二氟乙烯膜(PVDF)上。用5%脱脂奶粉室温封闭2 h后,加入一抗(一抗稀释比例分别为:GAPDH,1:3000;PKC,1:1000;NMDAR1,1:500;NMDAR2A,1:500;NMDAR2B,1:500),4℃过夜。次日TBST漂洗8 min×5次,加入二抗(二抗稀释比例均为1:3000),37℃孵育2 h,TBST漂洗8 min×5次。用Universal Hood II凝胶成像仪进行检测,用Quantity One-4.6.5软件进行灰度值的分析。

1.5 ELISA

按照哺乳动物蛋白抽提试剂盒说明书提取总蛋白,采用BCA蛋白定量法测定各组蛋白浓度并调至同一浓度。按照PKC Kinase Activity Kit分别设阳性对照

和空白对照,操作步骤与试剂盒说明书一致,在波长450 nm处测定吸光度值。按照说明书计算方法计算出各组PC12细胞的PKC相对活性,即每微克总蛋白中活性PKC的量(ng/μg)。

1.6 统计学分析

采用SPSS 22.0软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,经正态性检验和方差齐性检验,不同组间均数比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用LSD法,方差不齐时采用Games-Howell检验。检验水准以 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 mGluR1激动和抑制对染铝PC12细胞PKC mRNA表达的影响

与对照组相比,麦芽酚铝染毒组、染铝+激动剂组和染铝+抑制剂组的PKC mRNA表达分别下降39%、45%和38%(均 $P<0.05$),而染铝+激动剂组和染铝+抑制剂组的PKC mRNA表达同麦芽酚铝染毒组相比,差异没有统计学意义。

2.2 mGluR1激动和抑制对染铝PC12细胞NMDAR各亚基mRNA表达的影响

与对照组相比,麦芽酚铝染毒组、染铝+激动剂组和染铝+抑制剂组的NMDAR2A、NMDAR2B mRNA表达分别下降38%、31%、35%和26%、32%、60%,麦芽酚铝染毒组和染铝+激动剂组的NMDAR1 mRNA表达分别下降21%、32%,差异有统计学意义($P<0.05$)。与麦芽酚铝染毒组相比,染铝+抑制剂组NMDAR1 mRNA表达上调32%,而NMDAR2B则下调46%,差异有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表2 各组PC12细胞NMDAR各亚基mRNA表达的改变($\bar{x} \pm s, n=3, 2^{-\Delta\Delta Ct}$)

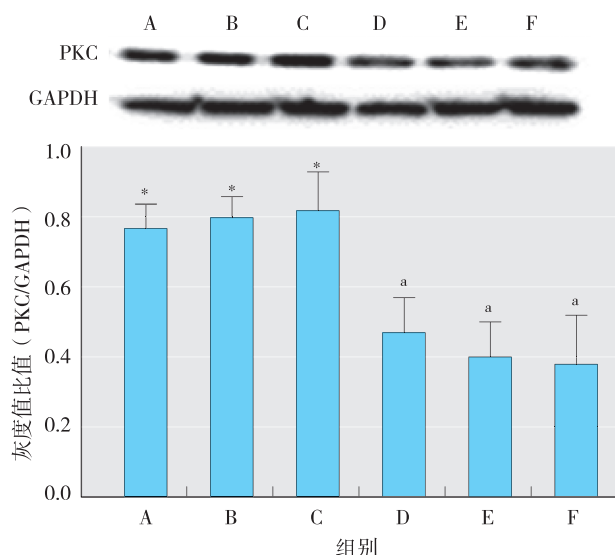
组别	NMDAR1	NMDAR2A	NMDAR2B
空白对照组	1.00 ± 0.00 ^a	1.00 ± 0.00 ^a	1.00 ± 0.00 ^a
激动剂组	0.99 ± 0.08 ^a	1.02 ± 0.07 ^a	1.08 ± 0.07 ^a
抑制剂组	1.05 ± 0.02 ^a	1.00 ± 0.06 ^a	0.94 ± 0.05 ^a
麦芽酚铝染毒组	0.79 ± 0.12 ^a	0.62 ± 0.10 ^a	0.74 ± 0.08 ^a
染铝+激动剂组	0.68 ± 0.09 ^a	0.69 ± 0.09 ^a	0.68 ± 0.11 ^a
染铝+抑制剂组	1.04 ± 0.13 ^a	0.65 ± 0.06 ^a	0.40 ± 0.06 ^{a*}

[注]*:与麦芽酚铝染毒组比较, $P<0.05$;a:与空白对照组比较, $P<0.05$ 。

2.3 mGluR1激动和抑制对染铝PC12细胞PKC蛋白表达的影响

与对照组相比,麦芽酚铝染毒组、染铝+激动剂组和染铝+抑制剂组的PKC蛋白表达分别下降39%、48%、51%($P<0.05$),而染铝+激动剂组和染铝+抑

制剂组的PKC蛋白表达同麦芽酚铝染毒组相比,差异没有统计学意义。见图1。

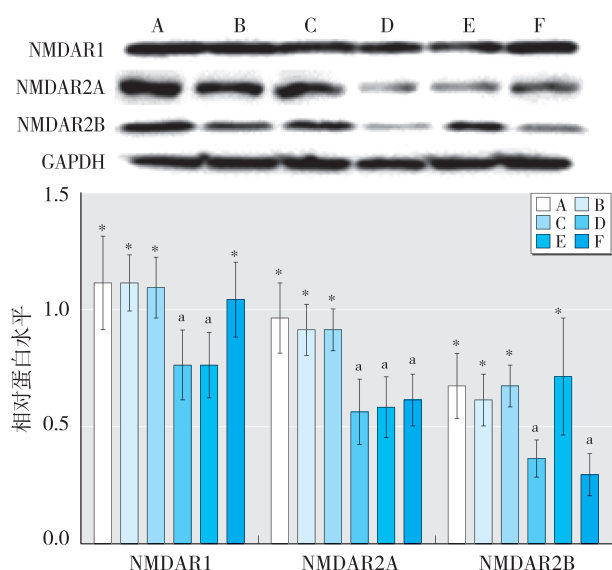


[注]A: 空白对照组; B: 激动剂组; C: 抑制剂组; D: 麦芽酚铝染毒组; E: 染铝+激动剂组; F: 染铝+抑制剂组。*: 与麦芽酚铝染毒组比较, $P<0.05$; a: 与空白对照组比较, $P<0.05$ 。

图1 各组PC12细胞PKC蛋白表达的改变

2.4 mGluR1激动和抑制对染铝PC12细胞NMDAR各亚基蛋白表达的影响

与对照组相比, 麦芽酚铝染毒组NMDAR1、NMDAR2A、NMDAR2B蛋白表达分别下降31%、41%、46%, 差异有统计学意义($P<0.05$)。与麦芽酚铝染毒组相比, 染铝+抑制剂组NMDAR1蛋白表达上调36%, 染铝+激动剂组NMDAR2B蛋白表达上调95%, 差异有统计学意义($P<0.05$), 见图2。



[注]A: 空白对照组; B: 激动剂组; C: 抑制剂组; D: 麦芽酚铝染毒组; E: 染铝+激动剂组; F: 染铝+抑制剂组。*: 与麦芽酚铝染毒组比较, $P<0.05$; a: 与空白对照组比较, $P<0.05$ 。

图2 各组PC12细胞NMDAR各亚基蛋白表达的改变

2.5 mGluR1激动和抑制对染铝PC12细胞PKC酶活性的影响

空白对照组PC12细胞PKC酶活性为(153.85 ± 9.87)ng/ μ g, 麦芽酚铝染毒组PC12细胞PKC酶活性为(67.64 ± 8.34)ng/ μ g, 与对照组相比, 麦芽酚铝染毒组PKC酶活性下降56%($P<0.05$); 而染铝+激动剂组PC12细胞PKC酶活性为(145.91 ± 28.44)ng/ μ g, 染铝+抑制剂组PC12细胞PKC酶活性为(81.25 ± 18.30)ng/ μ g, 相对于麦芽酚铝染毒组, 染铝+激动剂组PC12细胞PKC酶活性上调116%($P<0.05$), 染铝+抑制剂组PC12细胞PKC酶活性与麦芽酚铝染毒组的差异无统计学意义。

3 讨论

PC12因其与神经元相似的形态、生理和生化功能而被广泛应用于各种神经系统毒物毒作用机制的研究中^[8-9], 临床上也常应用PC12细胞研究各种神经系统疾病的发病机制^[8, 10]。本课题组前期对铝致PC12细胞神经毒性的作用剂量及作用时间进行了探索, 发现麦芽酚铝在较低剂量即对PC12细胞产生明显的剂量依赖性毒作用, 且麦芽酚铝是呈电中性的铝化合物, 在pH值为3.0~10.0时理化特性较为稳定, 因此采用麦芽酚铝作为染铝剂比其他铝化合物更具有优势。中剂量染毒组即200 μ mol/L剂量组细胞活力为70%~80%, 且会对细胞产生明显神经毒作用^[7]。故本研究采用PC12细胞作为研究对象, 麦芽酚铝作为PC12细胞的铝染毒剂, 200 μ mol/L作为麦芽酚铝染毒剂量。

DHPG和MCPG分别作为mGluR1的激动剂和抑制剂在研究中应用广泛^[11-13]。据文献报道, DHPG和MCPG的作用浓度为100 μ mol/L时, 分别会对mGluR1产生明显的激动和抑制作用^[14-15]。本研究前期预实验结果发现, 100 μ mol/L的DHPG和MCPG分别作用于PC12细胞, 细胞活力可维持在90%以上, 其本身的化学毒性可忽略不计。故本研究采用DHPG和MCPG分别作为mGluR1的激动剂和抑制剂, 干扰剂量均为100 μ mol/L。

近年来, 多项研究表明PKC在突触可塑性和长时程增强(long-term potentiation, LTP)的形成中发挥重要作用^[16], PKC的激活是LTP产生的重要条件^[17]。NMDAR在兴奋性突触功能中发挥作用, LTP的产生依赖于NMDAR的激活^[18]。研究发现PKC可以解除Mg²⁺对NMDAR通道的阻滞, 使Ca²⁺内流增多, 经过一系列级联反应最终引起突触可塑性的改变^[19-20]。mGluR属

于G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCR),能够调节中枢神经系统功能,介导神经元信号转导^[21],文献报道称I组 mGluRs 介导的 NMDAR 活性增强,在突触传递和突触可塑性以及 LTP 形成过程中起重要作用^[22]。有文献提出 I 组 mGluRs 通过 PKC 信号通路调节 NMDAR 功能,PKC 是 I 组 mGluRs 和 NMDAR 相互作用的关键因素^[23]。

本课题组前期研究发现,职业性铝暴露可能影响工人的记忆功能,外周血淋巴细胞中 NMDAR 的亚基 NR1 和 NR2A 的表达与认知功能指数相关^[24]。动物实验发现^[25-26],铝会通过影响 NMDAR 的表达进而影响大鼠的学习记忆功能。这与本研究麦芽酚铝可以抑制 NMDAR 表达的结果一致。同时本研究发现麦芽酚铝暴露抑制了 NMDAR 各亚基的 mRNA 和蛋白表达,其中受 mGluR1 调控的主要是 NMDAR1 和 NMDAR2B,且对二者的调控机制不同, mGluR1 对 NMDAR2B 起正向调控作用,而对 NMDAR1 起负向调控作用。

KRIEGER 等^[27]对八目鳗运动神经元的研究发现 I 组 mGluRs 增强 NMDAR 的作用,而 PKC 抑制剂则无此作用,说明在此条件下 NMDAR 和 I 组 mGluRs 的相互作用不依赖于 PKC,而本研究发现激动和抑制 mGluR1 没有影响 PKC 的基因和蛋白表达,激动 mGluR1 使 PKC 的酶活性显著增强,但抑制 mGluR1 尚未发现 PKC 的酶活性有显著差异。提示 mGluR1 对 PKC 的调节作用可能为单向的,而 PKC 作为一种丝/苏氨酸蛋白激酶,其被 I 组 mGluRs 激活可能仅仅表现于酶活性的增强而不导致基因和蛋白表达的增加。

本研究分别从基因、蛋白以及酶活性分析了 mGluR1 的激动和抑制对染铝 PC12 细胞 PKC 和 NMDAR 各亚基表达的影响,发现麦芽酚铝通过 mGluR1 调节 NMDAR 表达和 PKC 酶活性,而 mGluR1 对 NMDAR 表达的调控作用是否依赖 PKC 的参与仍有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] NDAY CM, DREVER BD, SALIFOLOU T, et al. Aluminium interferes with hippocampal calcium signaling in a species-specific manner[J]. J Inorg Biochem, 2010, 104(9): 919-927.
- [2] POLIZZI S, PIRA E, FERRARA M, et al. Neurotoxic effects of aluminium among foundry workers and Alzheimer's disease[J]. Neurotoxicology, 2002, 23(6): 761-774.
- [3] YUAN CY, WANG GS, LI YJ. Aluminum alters NMDA receptor 1A and 2A/B expression on neonatal hippocampal neurons in rats[J]. J Biomed Sci, 2011, 18: 81.
- [4] TÜZMEN MN, YÜCEL NC, KALBURCU T, et al. Effects of curcumin and tannic acid on the aluminum- and lead-induced oxidative neurotoxicity and alterations in NMDA receptors[J]. Toxicol Mech Methods, 2015, 25(2): 120-127.
- [5] O'CONNOR JJ, ROWAN MJ, ANWYL R. Tetanically induced LTP involves a similar increase in the AMPA and NMDA receptor components of the excitatory postsynaptic current: investigations of the involvement of mGlu receptors[J]. J Neurosci, 1995, 15(3): 2013-2020.
- [6] HORAK M, PETRALIA RS, KANIAKOVA M, et al. ER to synapse trafficking of NMDA receptors[J]. Front Cell Neurosci, 2014, 8: 394.
- [7] 段春梅, 樊瑾, 刘承芸, 等. 不同铝化合物对 PC12 细胞毒性作用比较[J]. 中国职业医学, 2017, 44(1): 20-24.
- [8] SLOTKIN TA, SKAVICUS S, CARD J, et al. In vitro models reveal differences in the developmental neurotoxicity of an environmental polycyclic aromatic hydrocarbon mixture compared to benzo[a]pyrene: neuronotypic PC12 cells and embryonic neural stem cells[J]. Toxicology, 2017, 377: 49-56.
- [9] JUNG IS, KIM HJ, NOH R, et al. Effects of extremely low frequency magnetic fields on NGF induced neuronal differentiation of PC12 cells[J]. Bioelectromagnetics, 2014, 35(7): 459-469.
- [10] ZHANG J, CAI S, LI J, et al. Neuroprotective effects of theaflavins against oxidative stress-induced apoptosis in PC12 cells[J]. Neurochem Res, 2016, 41(12): 3364-3372.
- [11] RAO AM, HATCHER JF, DEMPSEY RJ. Neuroprotection by group I metabotropic glutamate receptor antagonists in forebrain ischemia of gerbil[J]. Neurosci Lett, 2000, 293(1): 1-4.
- [12] THOMAS LS, JANE DE, HARRIS JR, et al. Metabotropic glutamate autoreceptors of the mGlu5 subtype positively modulate neuronal glutamate release in the rat forebrain in vitro[J]. Neuropharmacology, 2000, 39(9): 1554-1566.
- [13] HUBER KM, SAWTELL NB, BEAR MF. Effects of the metabotropic glutamate receptor antagonist MCPG on phosphoinositide turnover and synaptic plasticity in visual cortex[J]. J Neurosci, 1998, 18(1): 1-9.
- [14] SUN XR, CHEN L, CHEN WF, et al. Electrophysiological and behavioral effects of group III metabotropic glutamate receptors on pallidal neurons in normal and parkinsonian rats

- [J]. Synapse, 2013, 67(12): 831-838.
- [15] 王健. I 组 mGluRs 介导 A β 31-35 神经毒的作用观察[D]. 太原: 山西医科大学, 2006.
- [16] 杨红卫, 张红梅, 胡晓东, 等. PKC 在成年大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位长时程增强的诱导和维持中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(2): 252-255.
- [17] 孙莉, 刘声远, 王建枝. 蛋白激酶 A 与阿尔茨海默病[J]. 生命的化学, 2002, 22(1): 45-47.
- [18] 颜景芝. PKC 诱导谷氨酸能受体转运上膜的分子机制研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2010.
- [19] LI H B, JACKSON M F, YANG K, et al. Plasticity of synaptic GluN receptors is required for the Src-dependent induction of long-term potentiation at CA3-CA1 synapses[J]. Hippocampus, 2011, 21(10): 1053-1061.
- [20] YANG K, TREPANIER C, SIDHU B, et al. Metaplasticity gated through differential regulation of GluN2A versus GluN2B receptors by Src family kinases[J]. EMBO J, 2012, 31(4): 805-816.
- [21] 王欣梅. 低水平铅暴露对不同发育期大鼠学习记忆及 mGluR1、NMDA 受体表达的影响[D]. 武汉: 华中科技大学, 2008.
- [22] GABRA B H, KESSLER F K, RITTER J K, et al. Decrease in N-methyl-D-aspartic acid receptor-NR2B subunit levels by intrathecal short-hairpin RNA blocks group I metabotropic glutamate receptor-mediated hyperalgesia[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 322(1): 186-194.
- [23] SKEBERDIS V A, LAN J Y, OPITZ T, et al. mGluR1-mediated potentiation of NMDA receptors involves a rise in intracellular calcium and activation of protein kinase C[J]. Neuropharmacology, 2001, 40(7): 856-865.
- [24] 任佩, 李瑞, 原宇宙, 等. 职业性铝接触对工人认知功能和谷氨酸受体蛋白表达的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2017, 35(2): 85-90.
- [25] 贾茹. PKC 调控 NMDAR 在铝致大鼠学习记忆损伤中的作用机制研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2016.
- [26] 刘莹, 宋静, 段蕾, 等. NMDAR 在亚慢性染铝致大鼠学习记忆损害中作用[J]. 中国公共卫生, 2013, 29(7): 1007-1009.
- [27] KRIEGER P, HELLGREN-KOTALESKI J, KETTUNEN P, et al. Interaction between metabotropic and ionotropic glutamate receptors regulates neuronal network activity[J]. J Neurosci, 2000, 20(14): 5382-5391.
- (收稿日期: 2018-06-30; 录用日期: 2018-09-28)
- (英文编辑: 汪源; 编辑: 陈姣; 校对: 陈非儿)

(上接第 1024 页)

- [26] 李随民, 栾文楼, 宋泽峰, 等. 河北省南部平原区大气降尘来源及分布特征[J]. 中国地质, 2010, 37(6): 1769-1774.
- [27] 叶欣. 2016 年宝鸡市国民经济和社会发展统计公报[EB/OL]. (2017-03-29). <http://www.shaanxi.gov.cn/jbyw/ggjj/tjgh/fgggh/74106.htm>.
- [28] 杨忠平, 赵剑剑, 曹明哲, 等. 长春市城区土壤重金属健康风险评价[J]. 土壤通报, 2015, 46(2): 502-508.
- [29] U.S. EPA. Supplemental guidance for developing soil screening levels for superfund sites[R]. Washington, DC: EPA, 2002.
- [30] 杨春, 塔西甫拉提·特依拜, 侯艳军, 等. 新疆准东煤田降尘重金属污染及健康风险评价[J]. 环境科学, 2016, 37(7): 2453-2461.
- (收稿日期: 2018-04-22; 录用日期: 2018-10-29)
- (英文编辑: 汪源; 编辑: 汪源; 校对: 王晓宇)