原创精选
Selected article

慢性铝染毒对大鼠海马突触可塑性及神经连接蛋白 1 表达的影响

张淑惠，张慧芳，徐义荣，王姗姗，赵宇卿，牛侨

山西医科大学公共卫生学院劳动卫生教研室，山西 太原 030001

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2019.18715

基金项目
国家自然科学基金项目（81430078）；国家自然科学基金项目（81703202）

作者简介
张淑惠（1993—），女，硕士生；
E-mail：lovelyanastasia@163.com

通信作者
牛侨，E-mail：niuqiao55@163.com

利益冲突 无申报
收稿日期 2018-10-29
录用日期 2019-05-09

文章编号 2095-9982(2019)07-0621-06
中图分类号 R135
文献标志码 A

▸引用
张淑惠，张慧芳，徐义荣，等. 慢性铝染毒对大鼠海马突触可塑性及神经连接蛋白 1 表达的影响 [J]. 环境与职业医学，2019，36 (7)：621-626.

▸本文链接
www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2019.18715

摘要：

[背景] 铝抑制海马长时程增强（LTP）的功能，表明铝可能损伤突触可塑性。神经连接蛋白 1（NLGN1）能通过募集 N- 甲基 -D- 天冬氨酸受体（NMDAR）及突触后致密蛋白 95（PSD-95）等影响树突棘的发育、成熟。

[目的] 探讨慢性铝染毒对大鼠海马突触可塑性和 NLGN1 表达的影响，揭示 NLGN1 在其中的作用。

[方法] 取清洁雄性 SD 大鼠 48 只随机分为对照组，低、中、高剂量铝染毒组，每组 12 只。对照组给予生理盐水，低、中、高剂量组分别给予 10、20、40 μmol/kg 麦芽酚铝溶液，采用染 5 d 停 2 d 模式腹腔注射麦芽酚铝溶液建立慢性铝染毒模型，染毒时长 3 个月。染毒周期结束后，用 Morris 水迷宫检测逃避潜伏期、穿越平台次数，反映大鼠学习记忆功能。用 LTP 实验记录海马 CA1 区场兴奋性突触后电位（fEPSP）。用高尔基染色观察海马 CA1 区神经元树突棘的形态和数量改变。Western blot 检测大鼠海马 NLGN1、NMDAR-2A、NMDAR-2B 以及 PSD-95 的表达。

[结果] 随着训练天数的增加，对照组及铝染毒组大鼠潜伏期用时逐渐减少。与对照组相比，20 μmol/kg 和 40 μmol/kg 染铝组大鼠在 Morris 水迷宫检测中潜伏期明显延长（第 2、3、4 天分别延长 19.67、5.96、6.49 s 和 21.77、10.20、9.91 s，$P<0.05$），穿越平台的次数分别减少了 2.14 次和 3.93 次（$P<0.05$）。30 min 高频刺激后，20 μmol/kg 及 40 μmol/kg 染铝组大鼠 fEPSP 分别为 1.15±0.03、1.10±0.06，60 min 高频刺激后则下降为 1.03±0.18、0.98±0.22，均低于对照组（1.41±0.05、1.47±0.11，$P<0.05$）。与对照组 [(1.302±0.111) /μm] 相比，20 μmol/kg 及 40 μmol/kg 染铝组大鼠树突棘密度 [(0.790±0.056)、(0.725±0.152) /μm] 明显降低（$P<0.05$）。慢性铝染毒后，与对照组（1.00±0.00）相比，20 μmol/kg 铝染毒组（0.80±0.07）、40 μmol/kg 铝染毒组（0.55±0.05）NLGN1 表达降低（$P<0.05$）；与对照组（1.00±0.00）相比，20 μmol/kg 铝染毒组 NMDAR-2A（0.58±0.08）、NMDAR-2B（0.56±0.04）、PSD-95（0.76±0.01）表达降低（$P<0.05$）。

[结论] 慢性铝染毒可能通过下调 NLGN1、NMDAR-2A、NMDAR-2B 以及 PSD-95 蛋白表达水平损伤海马突触功能，导致大鼠学习记忆功能受损。

关键词：慢性铝染毒；长时程增强；树突棘；海马；神经连接蛋白 1

Effects of chronic aluminum exposure on hippocampal synaptic plasticity and neuroligin 1 expression in rats *ZHANG Shu-hui, ZHANG Hui-fang, XU Yi-rong, WANG Shan-shan, ZHAO Yu-qing, NIU Qiao* (*Department of Occupational Health, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi* 030001, *China*)

Abstract:

[Background] Aluminum inhibits hippocampal long-term potentiation (LTP), suggesting that aluminum may impair synaptic plasticity. Neuroligin 1 (NLGN1) can affect the development and maturation of dendritic spines by recruiting N-methyl-D-aspartic acid receptor (NMDAR) and postsynaptic density protein 95 (PSD-95).

[Objective] The purpose of this study is to investigate the effect of chronic aluminum exposure on hippocampal synaptic plasticity and NLGN1 expression in rats, and reveal the role of NLGN1 in this process.

[Methods] Forty-eight clean male SD rats were randomly divided into control group, and low, medium, and high dose aluminum groups, with 12 rats in each group. The control group was given normal saline, and the low, medium, and high dose groups were given 10, 20, 40 μmol/kg aluminum-maltolate complex [$Al(mal)_3$], respectively. A chronic aluminum exposure model was

Funding
This study was funded.

Correspondence to
NIU Qiao, E-mail: niuqiao55@163.com

Competing interests None declared
Received 2018-10-29
Accepted 2019-05-09

▸To cite
ZHANG Shu-hui, ZHANG Hui-fang, XU Yi-rong, et al. Effects of chronic aluminum exposure on hippocampal synaptic plasticity and neuroligin 1 expression in rats[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2019, 36(7): 621-626.

▸Link to this article
www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2019.18715

established by weekly intraperitoneal injection of $Al(mal)_3$ for 5 days and rest for 2 days. The duration of the exposure was 3 months. After the exposure, Morris water maze was used to evaluate escape latency and the number of crossing, indicators of learning and memory function of rats. Field excitatory postsynaptic potential (fEPSP) in CA1 region of hippocampus was measured by LTP assay *in vivo*. The morphological presentation and number change of dendritic spine of CA1 neurons in hippocampus were detected with Golgi staining. The expressions of hippocampal NLGN1, NMDAR-2A, NMDAR-2B, and PSD-95 were examined by Western blot.

[Results] As the training days increased, the latencies of the control group and the aluminum exposure groups gradually decreased. Compared with the control group, the latencies of the 20 and 40 μmol/kg aluminum exposure groups significantly prolonged in the Morris water maze (on day 2, 3, and 4, 19.67, 5.96, and 6.49 s increased of the 20 μmol/kg group; 21.77, 10.20, and 9.91 s increased of the 40 μmol/kg group; $P<0.05$), and the numbers of crossing the original platform decreased by 2.14 times and 3.93 times, respectively ($P<0.05$). In 30 min post high frequency stimulation, the fEPSPs of the 20 and 40 μmol/kg aluminum exposure groups were 1.15±0.03 and 1.10±0.06 respectively, and the fEPSPs decreased to 1.03±0.18 and 0.98±0.22 respectively after 60 min, with significant differences compared with the control group (1.41±0.05 and 1.47±0.11, $P<0.05$). Compared with the control group [(1.302±0.111)/μm], the dendritic spine densities of the 20 and 40 μmol/kg aluminum exposure groups [(0.790±0.056), (0.725±0.152)/μm] decreased significantly ($P<0.05$). After chronic aluminum exposure, compared with the control group (1.00±0.00), the NLGN1 expression levels in the 20 μmol/kg group (0.80±0.07) and in the 40 μmol/kg group (0.55±0.05) were reduced significantly ($P<0.05$); compared with the control group (1.00±0.00), the expression levels of NMDAR-2A (0.58±0.08), NMDAR-2B (0.56±0.04), and PSD-95 (0.76±0.01) in the 20 μmol/kg group were reduced significantly ($P<0.05$).

[Conclusion] Chronic aluminum exposure may impair hippocampal synaptic function by down-regulating NLGN1, NMDAR-2A, NMDAR-2B, and PSD-95 protein expressions, resulting in impaired learning and memory.

Keywords: aluminum exposure; long-term potentiation; dendritic spine; hippocampus; neuroligin 1

铝是一种广泛存在于自然界中的慢性蓄积性神经毒物，可通过多种方式及途径进入人体并对多器官系统造成危害，其中神经系统受到的危害最为严重，可导致多种神经退行性疾病，包括帕金森病、阿尔茨海默病和透析性脑病等[1]。近年来的队列研究也显示，职业性电解铝作业工人的短时记忆能力、书写言语能力以及计算能力均相较于对照人群明显降低，其轻度认知障碍的检出率也明显升高[2]。因此，研究铝毒性机制，积极防治铝暴露导致的中毒是重要的职业卫生和环境卫生问题。

以往的研究主要集中在铝染毒对N-甲基-D-天冬氨酸（N-methyl-D-aspartic acid，NMDA）和α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸（α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid，AMPA）受体功能的损害，以及对长时程增强（long-term potentiation，LTP）的抑制作用[3]。通过急性侧脑室和亚慢性腹腔注射染毒模型，均发现铝会引起N-甲基-D-天冬氨酸受体（N-methyl-D-aspartic acid receptor，NMDAR）1、NMDAR-2A、NMDAR-2B表达下降，进而影响NMDA受体通道开放，导致学习记忆能力损伤[4]。铝可能通过抑制AMPA受体外化而损伤LTP[3]，而对铝染毒损伤海马神经元结构可塑性及其分子机制的研究较少。神经连接蛋白家族分子在大脑发育及成熟期均有表达，并被证实与突触形成及树突棘发育成熟密切相关[5]，其中神经连接蛋白1（neuroligin 1，NLGN1）是其家族分子中只表达于兴奋性突触后膜上的分子，可通过募集谷氨酸能NMDAR受体以及突触后致密蛋白95（postsynaptic density protein 95，PSD-95）等促进树突棘的发生、发育和成熟[6-7]。研究发现，铅可能是通过降低NLGN1、PSD-95和NMDAR-2A表达介导树突棘的发育成熟，引起突触可塑性损伤[8]。因此，铝染毒损伤机制的全面研究中，应考虑海马神经元的可塑性、突触功能可塑性和结构可塑性。本实验建立慢性铝染毒模型，研究慢性铝染毒对大鼠海马突触功能和NLGN1的影响，探讨NLGN1在其中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 清洁雄性成年SD大鼠48只，由中国食品药品检验所动物中心提供，生产许可证号SCXK-（京）2014-0013，体重220~300 g，按体重相近随机分为对照组以及10、20、40 μmol/kg麦芽酚铝[$Al(mal)_3$]染毒组，每组12只。所有实验操作均遵循单位和国家有关实验动物管理和使用的规定。

1.1.2 仪器和试剂 SS-55-102j隔离器、SEN-3301电刺激仪器（日本Kohden公司），RM6240B/C多路生物信号采集与分析仪（中国成都仪器厂），BX51光学显微镜（日本Olympus公司），生物化学发光成像系统（美国Bio-Rad公司）。麦芽酚和氯化铝（美国Sigma Aldrich公司），GAPDH抗体（中国北京康维试剂公司），NMDAR-2A抗体（英国Abcam公司），NLGN1抗体、NMDAR-2B抗体、PSD-95抗体（美国GeneTex公司），高尔基染色试剂盒（美国Hitobiotec公司）。

1.1.3 $Al(mal)_3$溶液配制 $Al(mal)_3$溶液按照文献[9]方法

现用现配，调节 pH 至 7.4，并用水系 0.22 μm 滤膜抽滤。

1.2 方法

1.2.1 慢性铝染毒模型 按照每 100 g 体重 0.1 mL 进行腹腔注射，对照组注射生理盐水，铝染毒组分别注射 10、20、40 μmol/kg（以体重计）$Al(mal)_3$，采用染毒 5 d 停 2 d 的注射方式染毒，持续 3 个月，室内环境温度控制在 22~24℃，昼夜节律自然照明。染毒结束后即开始进行各项实验。

1.2.2 Morris 水迷宫 实验在一个可被水平垂直均等分成 4 个象限的直径 120 cm、高 75 cm 的水池中进行，在目标象限的正中放置一个直径 12 cm、高 50 cm 的平台，水位高于平台 1~2 cm。前 5 天进行定位航行实验，每天在随机选择的 4 个象限中训练；每个象限中，大鼠头朝池壁，从象限中央进入水中，训练时长 120 s，记录大鼠从入水到发现平台的潜伏期，引导大鼠停留在平台上 10 s。第 6 天，大鼠在无平台的条件下由随机一个象限入水，在 120 s 内记录大鼠穿越平台的次数，最后进行统计分析。

1.2.3 LTP 实验 每组选取 6 只大鼠，按照每 100 g 体重给予 0.7 mL 20% 乌拉坦溶液麻醉，完全麻醉的大鼠用专用脑立体定向定位器固定，暴露颅骨，以前囟中点右旁开 3.8 cm，向后 4.2 cm 为圆心钻直径 4 mm 的孔，清理周围碎颅骨，暴露脑皮质，利用微推进装置将电极下放至预定的海马刺激及记录部位，刺激电极顶端位于 Schaffer 侧枝部位，记录电极的顶端则位于海马 CA1 区。每 30 s 给予 1 次测试刺激，获得场兴奋性突触后电位（field excitatory postsynaptic potential，fEPSP）；根据产生最大 fEPSP 振幅 50% 的刺激强度作为基础刺激，连续记录 30 min，保证稳定的突触传递。随后，高频刺激（high-frequency stimulation，HFS）3 次，每次 3 组，每个刺激包括 20 个脉冲，频率为 200 Hz。记录 HFS 后的 fEPSP 幅值（LTP 值）60 min，每分钟记录 2 个 LTP 值，取均值，以基础刺激电位幅度为 100%，进行 LTP 标准化，各组分别取 1、30、60 min 时的 fEPSP 幅值代表 LTP 在 60 min 内的变化[10-11]。

1.2.4 高尔基染色 采用颈椎脱臼法处死雄性 SD 大鼠，取出脑组织，并留取有海马的组织块。利用双蒸水冲洗血液，根据高尔基染色试剂盒说明，置组织块于高尔基浸染液中室温避光保存 24 h，更换新浸染液继续避光保存 2 周；更换高尔基染色试剂盒中的溶液 -3 浸泡组织，4℃避光保存 12 h；更换新溶液 -3，并继续浸泡 24~72 h，随后取出组织块置于 -80℃储存。组织块冰冻切片，切片厚度设为 80 μm，用明胶玻片裱片；干燥后进行高尔基染色，梯度酒精脱水，二甲苯透明，树胶封片。通风条件下平放 24 h 后显微镜观察，在油镜下拍照，用 ImageJ 软件对树突棘密度进行分析。

1.2.5 Western blot 检测 将大鼠用 20% 乌拉坦溶液麻醉，腹主动脉取血后，颅骨钳取脑，冰皿上迅速剥离海马，称取海马组织约 50 mg，置于 1.5 mL EP 管内。每管加入 500 μL 组织蛋白提取液，超声破碎机匀浆 5 s×3 次。冰上放置 20 min 后，上清液经低温高速离心（4℃，14 000×*g*，25 min）收集到新 EP 管中，用聚氰基丙烯酸正丁酯（bicinchoninic acid，BCA）法测定蛋白含量。随后加入 1/5 体积的 5× 蛋白上样缓冲液进行混匀，蛋白质经沸水加热 5 min 后，在 -80℃保存备用。8% 分离胶、4% 积层胶，蛋白上样 30 μg，室温恒压 60 V 90 min；在冰水混合浴 400 mA 恒流下湿式转膜 100 min，将蛋白转移至 PVDF 膜；室温 5% 脱脂奶粉封闭 2 h；用封闭液稀释一抗（兔抗 NLGN1，1∶100；兔抗 NMDAR-2A，1∶1 000；兔抗 NMDAR-2BA；1∶1 000，兔抗 PSD-95，1∶1 000），4℃一抗封闭过夜；用 TBST 溶液洗涤 8 min×3 次，室温孵育二抗 2 h；用 TBST 溶液洗涤 9 min×3 次，ECL 试剂显影，凝胶成像分析系统采集信息。

1.3 统计学分析

计量数据以均数 ± 标准差表示，用 SPSS 14.0 统计软件进行单因素方差分析，用 LSD 法分析各组间的差异。检验水准 α=0.05。

2 结果

2.1 大鼠的一般情况

在整个实验过程中，对照组及铝染毒组在体重增加、食物和水的消耗量没有明显差异（见表 1）。随着染毒的进行，铝染毒组大鼠后期出现不同程度的脱毛、活动量减少现象。每周例行检查的结果显示，铝染毒组大鼠无任何严重疾病包括腹泻、癫痫发作、精神运动过度激动等。解剖后，各组大鼠未发现内脏及血液异常。

2.2 大鼠学习记忆功能的改变

定位航行实验结果表明：与对照组相比，20 μmol/kg 铝染毒组大鼠在第 2、3、4 天的潜伏期分别延长了 19.67、5.96、6.49 s，40 μmol/kg 铝染毒组在第 2、3、4 天的潜伏期分别延长了 21.77、10.20、9.91 s，重复测量分析潜伏期差异有统计学意义（P < 0.05，图

1A)。空间探索实验结果表明：与对照组相比，20、40 μmol/kg 铝染毒组大鼠穿越平台的次数分别减少了 2.14 次和 3.93 次，差异具有统计学意义（P<0.05，图 1B）。

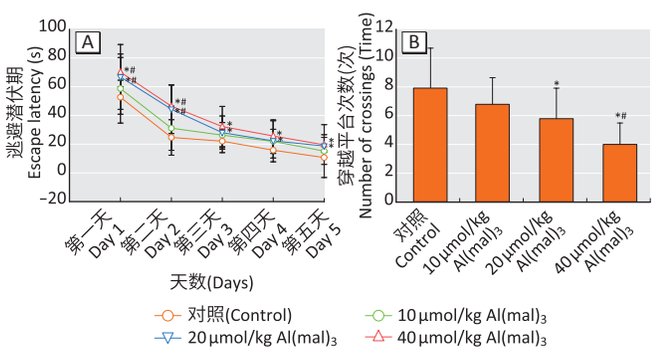
表 1　慢性铝染毒大鼠体重变化（$\bar{x}\pm s$，n=12，g）

Table 1　Body weight changes of rats after chronic aluminum exposure

分组（Group）	染毒 4 周（Week 4）	染毒 8 周（Week 8）	染毒 12 周（Week 12）
对照组（Control）	339.42±20.22	366.25±38.54	421.67±36.90
10 μmol/kg $Al(mal)_3$	303.67±34.44*	377.67±30.27	394.83±35.00
20 μmol/kg $Al(mal)_3$	324.08±19.77	362.08±35.06	392.67±34.90
40 μmol/kg $Al(mal)_3$	325.58±30.95	382.00±29.25	388.75±39.35
F	3.538	0.940	2.019
P	**0.022**	0.430	0.125

［注］*：与对照组比较，P<0.05。

［Note］*: Compared with the control group, P<0.05.



［注］*：与对照组比较，P<0.05；#：与 10 μmol/kg $Al(mal)_3$ 组比较，P<0.05。

［Note］*: Compared with the control group, P<0.05; #: Compared with the 10 μmol/kg $Al(mal)_3$ group, P<0.05.

图 1　慢性铝染毒对大鼠逃避潜伏期（A）和穿越平台次数（B）的影响（n=6）

Figure 1　Escape latency (A) and number of crossings (B) of rats after chronic aluminum exposure

2.3　对大鼠海马 CA1 区 LTP 的影响

在给予 HFS 1 min 后，对照组的 fEPSP 从基础刺激后的 1.02±0.06 增大至 1.52±0.06，60 min 后为 1.47±0.11。除 10 μmol/kg 组 HFS 刺激后 1 min 外，其他全部剂量染毒组在 HFS 刺激后 1、30、60 min 的 fEPSP 幅度均小于对照组相应时点值，且 40 μmol/kg 染毒组的 fEPSP 幅度小于 10 μmol/kg 组。见表 2。

2.4　对大鼠海马树突棘数量的影响

图 2 显示大鼠海马 CA1 区位于锥体细胞层顶树突的二级分支（图 2A）及其树突棘密度（图 2B），可见，对照组的树突棘分布较为密集，且随着铝染毒剂量的升高，出现树突断裂及树突棘脱落的现象。与对照组［(1.302±0.111) /μm］及 10 μmol/kg 铝染毒组［(1.149±0.183) /μm］树突棘密度相比，20 μmol/kg 铝染毒组［(0.790±0.056) /μm］、40 μmol/kg 铝染毒组［(0.725±0.152) /μm］树突棘密度均明显下降（F=21.20，P<0.001）。

表 2　慢性铝染毒对大鼠海马 CA1 区 LTP 的影响

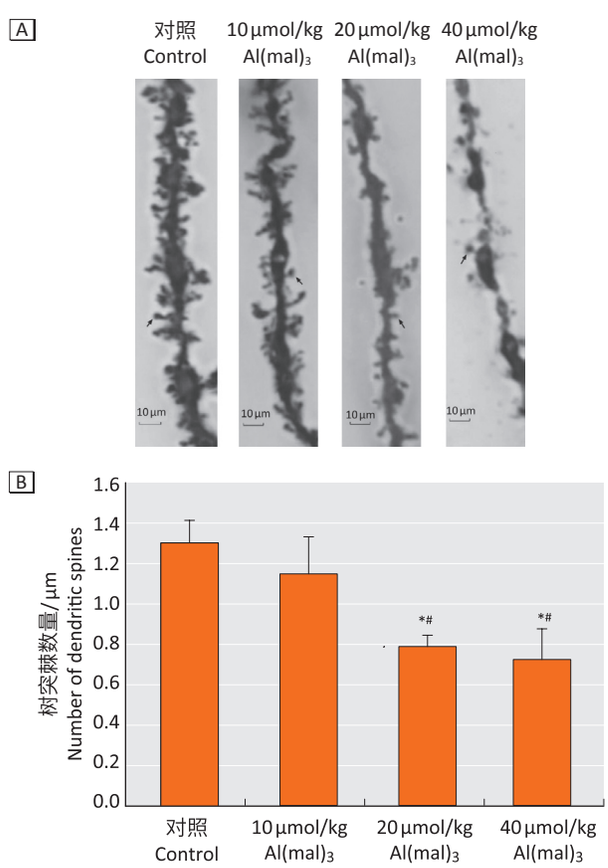
（fEPSP 幅度，$\bar{x}\pm s$，n=12）

Table 2　LTP in CA1 region of rats after chronic aluminum exposure (fEPSP amplitude)

分组 Group	基础刺激 Basic stimulation	HFS 刺激后时间（min） After HFS stimulation		
		1	30	60
对照组（Control）	1.02±0.06	1.52±0.06	1.41±0.05	1.47±0.11
10 μmol/kg $Al(mal)_3$	1.00±0.05	1.36±0.04	1.21±0.09*	1.16±0.09*
20 μmol/kg $Al(mal)_3$	0.99±0.05	1.30±0.08*	1.15±0.03*	1.03±0.18*
40 μmol/kg $Al(mal)_3$	1.00±0.03	1.10±0.05*#	1.10±0.06*#	0.98±0.22*#
F	1.06	21.21	15.87	5.69
P	**0.37**	**0.00**	**0.00**	**0.02**

［注］*：与对照组比较，P<0.05；#：与 10 μmol/kg $Al(mal)_3$ 组比较，P<0.05。

［Note］*: Compared with the control group, P<0.05; #: Compared with the 10 μmol/kg $Al(mal)_3$ group, P<0.05.



［注］A：油镜下树突及其树突棘，箭头表明树突棘；B：树突棘密度。*：与对照组比较，P<0.05；#：与 10 μmol/kg $Al(mal)_3$ 组比较，P<0.05。

［Note］A: Dendrites and dendritic spines under oil immense lens, and arrows indicate dendritic spines; B: Dendritic spine density. *: Compared with the control group, P<0.05; #: Compared with the 10 μmol/kg $Al(mal)_3$ group, P<0.05.

图 2　慢性铝染毒对大鼠海马 CA1 区椎体神经元树突棘的影响（n=6）

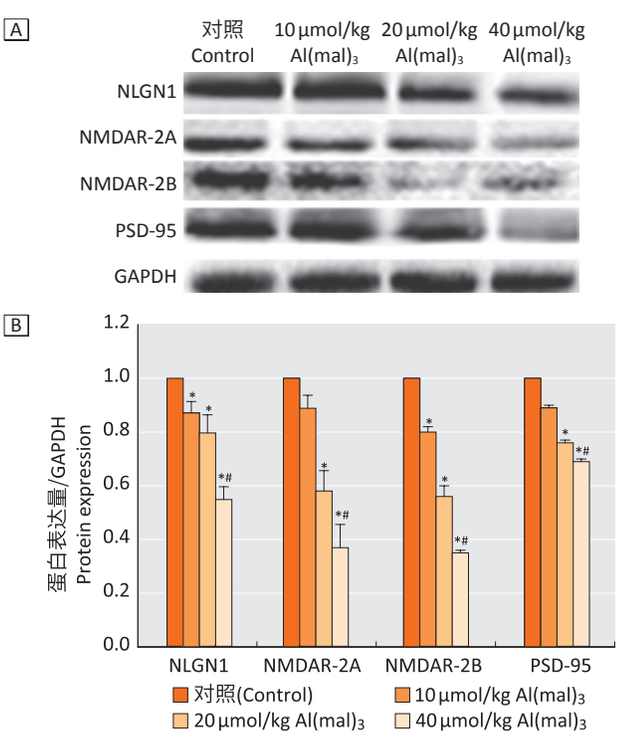
Table 2　Dendritic spines in CA1 region of rats after chronic aluminum exposure

2.5 对大鼠海马组织 NLGN1 表达的影响

Western blot 检测结果显示，随着铝染毒剂量的增加，大鼠海马组织 NLGN1 表达水平逐渐降低（图 3A）。20、40 μmol/kg 铝染毒组海马 NLGN1 的表达较对照组明显下降，差异有统计学意义（F=33.23，P<0.001）（图 3B）。

2.6 对大鼠海马组织 NMDAR-2A、NMDAR-2B 和 PSD-95 表达的影响

图 3A、B 显示，20 μmol/kg 铝染毒组海马 NMDAR-2A、NMDAR-2B 和 PSD-95 的表达分别低于对照组（F=6.34，P=0.003；F=8.53，P<0.001；F=25.02，P<0.001），40 μmol/kg 铝染毒组海马 NMDAR-2A、NMDAR-2B 和 PSD-95 的表达分别低于对照组和 10 μmol/kg 铝染毒组，差异有统计学意义（P<0.001）。



[注] A：蛋白电泳条带；B：条带灰度分析。*：与对照组比较，P<0.05；#：与 10 μmol/kg Al(mal)$_3$ 组比较，P<0.05。

[Note] A: Protein electrophoresis result; B: Grey analysis result. *: Compared with the control group, P<0.05; #: Compared with the 10 μmol/kg Al(mal)$_3$ group, P<0.05.

图 3 慢性铝染毒对大鼠海马组织 NLGN1、NMDAR-2A、NMDAR-2B 和 PSD-95 蛋白表达的影响（n=6）

Table 3 Hippocampal NLGN1, NMDAR-2A, NMDAR-2B, and PSD-95 protein expression levels of rats after chronic aluminum exposure

3 讨论

突触可塑性包括结构可塑性和功能可塑性，其中功能可塑性长期以来都被认为是神经生物学基础，主要包括两种形式：LTP 和长时程抑制。NMDAR 与 LTP 密切相关[12]，NMDAR 调节活动的异常可能影响神经元突触可塑性进而使大脑功能紊乱[13]。PSD-95 是位于突触后膜的蛋白多聚体，可通过与 NMDAR2 亚基结合使 NMDA 受体紧密固定于突触后膜上，并结合相应蛋白促进 Ca^{2+} 内流，参与调节突触可塑性，与学习记忆紧密相关[13-14]。本研究与课题组前期研究[15]结果一致，慢性铝染毒对海马 CA1 区基础 fEPSP 无影响，但以剂量依赖性抑制 LTP 的幅度。本次研究 NMDA 受体蛋白表达与贾茹等[4]发现一致，结果表明慢性铝染毒后，NMDAR-2A、NMDAR-2B 蛋白表达下降，与对照组相比，PSD-95 的表达也呈下降趋势。由此可见，NMDAR 和 PSD-95 可能参与慢性铝染毒致突触可塑性损伤的病理过程。

树突棘是一个动态结构，其形态、密度及结构的变化等均具有可塑性，而这种可塑性的改变不仅与突触在结构和功能上的变化密切相关，而且被认为是影响学习记忆的关键因素[16-18]。研究表明众多与学习功能下降有关的神经系统疾病均伴有树突棘密度的降低[19]。本研究结果显示，海马树突棘密度明显下降，表明铝对学习和记忆功能损伤的机制与树突棘的结构可塑性密切相关。因此，在铝染毒引起的突触可塑性损伤中，还应考虑与树突棘有关的结构可塑性。

NLGNs 家族分子包括四个亚基，NLGN1、NLGN2、NLGN3 和 NLGN4，在啮齿类动物以及人类中均有表达，主要表达于神经元突触后膜上[5]。Blundell 等[20]通过实验发现敲除 *NLGN1* 基因的小鼠更易在海马谷氨酸能突触数量上减少以及长时程突触可塑性上受到抑制。杨玲等[10]利用免疫共沉淀技术在翻译后层面研究发现，与对照组相比，铝染毒 3 个月后，染毒组与 NLGN1 相结合的 NMDAR1、NMDAR-2A、NMDAR-2B 表达出现不同程度的减少，且 LTP 受到抑制。本研究通过免疫印迹技术在翻译层面发现，铝染毒组大鼠海马 NLGN1、NMDAR-2A、NMDAR-2B 和 PSD-95 表达降低，LTP 受到抑制，完善了铝致 NLGN1 在翻译水平及翻译后水平的改变，为后期针对性靶向研究提供实验数据。但是，罗丹等[21]研究则发现创伤后应激障碍模型大鼠海马 NLGN1 含量增加与海马相关的空间学习障碍有关，这与本研究结论相反，推测因动物模型、造模方法、分组剂量选择的不同而有所差异。本研究还发现神经元突触树突棘和 NMDAR-2A 在中剂量组才有变化，而 LTP 和 NLGN1 在低剂量组即有降低，从毒

理学角度反映海马 NLGN1 对铝的损伤更敏感。

综上所述，慢性铝染毒损伤大鼠学习与记忆能力，且随着染毒剂量的增加对 LTP 的抑制作用越明显，大鼠海马树突棘形态松散，密度降低。综合课题组前期研究，推测 NLGN1 可能在铝致突触功能障碍中发挥重要作用，慢性铝染毒可能通过下调 NLGN1、NMDAR-2A、NMDAR-2B 以及 PSD-95 蛋白表达水平损伤海马突触功能，导致大鼠学习记忆功能受损。因此，NLGN1 可能成为铝损伤学习和记忆功能的治疗新靶点，但是基于现状，对其靶向研究仍需进一步探索。

参考文献

[1] KAWAHARA M. Effects of aluminum on the nervous system and its possible link with neurodegenerative diseases [J]. J Alzheimers Dis，2005，8 (2)：171-182.

[2] LU X，LIANG R，JIA Z，et al. Cognitive disorders and tau-protein expression among retired aluminum smelting workers [J]. J Occup Environ Med，2014，56 (2)：155-160.

[3] ZHANG H，YANG X，QIN X，et al. Caspase-3 is involved in aluminum-induced impairment of long-term potentiation in rats through the Akt/GSK-3β pathway [J]. Neurotox Res，2016，29 (4)：484-494.

[4] 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.

[5] SÜDHOF T C. Neuroligins and neurexins link synaptic function to cognitive disease [J]. Nature，2008，455 (7215)：903-911.

[6] BARROW S L，CONSTABLE J R，CLARK E，et al. Neuroligin1：a cell adhesion molecule that recruits PSD-95 and NMDA receptors by distinct mechanisms during synaptogenesis [J]. Neural Dev，2009，4：17.

[7] CHIH B，ENGELMAN H，SCHEIFFELE P. Control of excitatory and inhibitory synapse formation by neuroligins [J]. Science，2005，307 (5713)：1324-1328.

[8] CHEN S X，TARI P K，SHE K，et al. Neurexin-neuroligin cell adhesion complexes contribute to synaptotropic dendritogenesis via growth stabilization mechanisms *in vivo* [J]. Neuron，2010，67 (6)：967-983.

[9] SONG J，LIU Y，ZHANG H F，et al. Effects of exposure to aluminum on long-term potentiation and AMPA receptor subunits in rats *in vivo* [J]. Biomed Environ Sci，2014，27 (2)：77-84.

[10] 杨玲，付雪莹，聂继盛，等. 麦芽酚铝暴露对大鼠海马神经连接蛋白 1 与长时程增强的影响 [J]. 中国职业医学，2017，44 (3)：261-265.

[11] 马文彦，张慧芳，张林，等. 砷、氟暴露对子代大鼠空间学习记忆和海马 CA1 区长时程增强的影响 [J]. 毒理学杂志，2018，32 (2)：122-125.

[12] LEVINSON J N，LI R，KANG R，et al. Postsynaptic scaffolding molecules modulate the localization of neuroligins [J]. Neuroscience，2010，165 (3)：782-793.

[13] MCGEE A W，BREDT D S. Assembly and plasticity of the glutamatergic postsynaptic specialization [J]. Curr Opin Neurobiol，2003，13 (1)：111-118.

[14] COUSINS S L，PAPADAKIS M，RUTTER A R，et al. Differential interaction of NMDA receptor subtypes with the post-synaptic density-95 family of membrane associated guanylate kinase proteins [J]. J Neurochem，2008，104 (4)：903-913.

[15] 宋静，张慧芳，刘莹，等. 麦芽酚铝对大鼠在体海马长时程增强影响 [J]. 中国公共卫生，2013，29 (5)：688-691.

[16] GREENHILL S D，JUCZEWSKI K，DE HAAN A M，et al. Adult cortical plasticity depends on an early postnatal critical period [J]. Science，2015，349 (6246)：424-427.

[17] OTA Y，ZANETTI A T，HALLOCK R M. The role of astrocytes in the regulation of synaptic plasticity and memory formation [J]. Neural Plast，2013，2013：185463.

[18] SALA C，SEGAL M. Dendritic spines：the locus of structural and functional plasticity [J]. Physiol Rev，2014，94 (1)：141-188.

[19] ASHBY M C，ISAAC J T R. Maturation of a recurrent excitatory neocortical circuit by experience-dependent unsilencing of newly formed dendritic spines [J]. Neuron，2011，70 (5)：1020.

[20] BLUNDELL J，BLAISS C A，ETHERTON M R，et al. Neuroligin-1 deletion results in impaired spatial memory and increased repetitive behavior [J]. J Neurosci，2010，30 (6)：2115-2129.

[21] 罗丹，廖燕凌，邱丽丽，等. 氯胺酮下调神经连接蛋白 -1 在创伤后应激功能障碍动物模型中的作用 [J]. 临床麻醉学杂志，2018，34 (1)：80-83.

（英文编辑：汪源；编辑：汪源；校对：丁瑾瑜）