

亚慢性染铝对大鼠海马 PSD95 及长时程增强的影响

高婷, 夏欣宇, 袁春满, 宋静

山西医科大学公共卫生学院, 山西 太原 030001

摘要:

[背景] 铝广泛存在于环境中, 是一种确定的神经毒物。已有大量研究证明铝会损害大鼠海马的长时程增强 (LTP), 但其机制尚不明了。

[目的] 研究亚慢性染铝对大鼠海马突触后致密蛋白 95 (PSD95) 以及 LTP 的影响。

[方法] 清洁级的健康成年雄性 SD 大鼠 24 只, 按照体重随机分为 4 组, 分别是对照组、低/中/高剂量麦芽酚铝染毒组, 每组 6 只。对大鼠进行隔天腹腔注射染毒, 对照组注射生理盐水, 麦芽酚铝染毒组分别注射 10、20、40 $\mu\text{mol/kg}$ 的麦芽酚铝, 持续 12 周。染毒结束后采用在体电生理法检测海马 CA1 区 LTP, 记录场兴奋性突触后电位 (fEPSP); 然后断头取海马, 采用 Western blotting 检测 PSD95 蛋白相对表达水平, 采用免疫沉淀-酰基生物素置换法检测 PSD95 蛋白棕榈酰化水平。

[结果] 大鼠海马 CA1 区 LTP 结果显示, 各组间大鼠基础波的 fEPSP 标准化幅值 (简称“幅值”) 差异没有统计学差异 ($P>0.05$), 高频刺激后 1、30、60 min, 各组大鼠的幅值有差异 ($P<0.05$)。1 min 和 60 min 时, 低、中、高剂量组大鼠的幅值均低于对照组 ($P<0.05$), 中、高剂量组大鼠的幅值低于低剂量组 ($P<0.05$), 高剂量组大鼠的幅值低于中剂量组大鼠 ($P<0.05$)。30 min 时, 低、中、高剂量组大鼠的幅值均低于对照组 ($P<0.05$), 中、高剂量组大鼠的幅值低于低剂量组 ($P<0.05$)。Western blotting 结果显示, 低、中、高剂量组大鼠的 PSD95 蛋白相对表达水平分别为 0.84 ± 0.08 、 0.76 ± 0.17 、 0.68 ± 0.19 , 均低于对照组 (1.00 ± 0.00) ($P<0.05$)。免疫沉淀-酰基生物素置换法结果显示, 对照组、低/中/高剂量组的 PSD95 蛋白的棕榈酰化水平分别是 0.66 ± 0.20 、 0.55 ± 0.11 、 0.37 ± 0.11 、 0.36 ± 0.15 , 中、高剂量组的 PSD95 蛋白棕榈酰化水平低于对照组 ($P<0.05$)。

[结论] 亚慢性铝染毒可导致大鼠海马 PSD95 蛋白表达水平及棕榈酰化水平降低, 可能是铝损害 LTP 的机制之一。

关键词: 亚慢性; 铝; 长时程增强; 突触后致密蛋白 95; 棕榈酰化

Effects of subchronic aluminum exposure on PSD95 and long-term potentiation in hippocampus of rats GAO Ting, XIA Xin-yu, YUAN Chun-man, SONG Jing (School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

Abstract:

[Background] Aluminum is environmentally abundant in our biosphere and an identified neurotoxicant. A number of studies have shown that aluminum damages long-term potentiation (LTP) in the hippocampus of rats, but the mechanism is not clear.

[Objective] This *in vivo* experiment investigates the effects of subchronic aluminum exposure on postsynaptic density protein 95 (PSD95) and LTP in the hippocampus of rats.

[Methods] Twenty-four healthy Sprague-Dawley male rats were randomly divided into control group, low-dose aluminum group, medium-dose aluminum group, and high-dose aluminum group according to body weight, with six rats in each group. Via intraperitoneal injection every two days, the control group was administered with saline, and the aluminum groups were injected with 10, 20, or 40 $\mu\text{mol/kg}$ $\text{Al}(\text{mal})_3$ for 12 weeks. The field excitatory post-synaptic potential (fEPSP) in CA1 region was recorded by field potentiation technique *in vivo*. The hippocampal PSD95 protein relative expression was examined by Western blotting. The level of palmitoylated PSD95 was determined by immunoprecipitation-acyl biotin replacement.

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2019.19457

基金项目

山西医科大学博士启动基金 (03201413)

作者简介

高婷 (1995—), 女, 硕士生;
E-mail: gao950601@163.com

通信作者

宋静, E-mail: sj4933749@126.com

利益冲突 无申报

收稿日期 2019-07-08

录用日期 2019-09-11

文章编号 2095-9982(2019)11-0995-06

中图分类号 R114

文献标志码 A

►引用

高婷, 夏欣宇, 袁春满, 等. 亚慢性染铝对大鼠海马 PSD95 及长时程增强的影响 [J]. 环境与职业医学, 2019, 36 (11): 995-1000.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19457

Funding

This study was funded.

Correspondence to

SONG Jing, E-mail: sj4933749@126.com

Competing interests None declared

Received 2019-07-08

Accepted 2019-09-11

►To cite

GAO Ting, XIA Xin-yu, YUAN Chun-man, et al. Effects of subchronic aluminum exposure on PSD95 and long-term potentiation in hippocampus of rats[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2019, 36(11): 995-1000.

►Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19457

[Results] The LTP results in CA1 region in hippocampus of rats showed that the amplitudes of fEPSP in each group were similar at baseline ($P > 0.05$), but different at 1, 30, and 60 min after high-frequency stimulation ($P < 0.05$). At 1 min and 60 min, the amplitudes of the low-, medium-, and high-dose groups were lower than those of the control group ($P < 0.05$), the amplitudes of the medium- and high-dose groups were lower than those of the low-dose group ($P < 0.05$), and the amplitude of the high-dose group was lower than that of the medium-dose group ($P < 0.05$). At 30 min, the amplitudes of the low-, medium-, and high-dose groups were lower than that of the control group ($P < 0.05$), and the amplitudes of the medium- and high-dose groups were lower than that of the low-dose group ($P < 0.05$). The Western blotting results showed that the relative expression levels of PSD95 of the low-, medium-, and high-dose groups were 0.84 ± 0.08 , 0.76 ± 0.17 , and 0.68 ± 0.19 , respectively, lower than that of the control group (1.00 ± 0.00) ($P < 0.05$). The results of immunoprecipitation-acyl biotin replacement showed that the palmitoylation levels of PSD95 protein in the control group and the low-, medium-, and high-dose groups were 0.66 ± 0.20 , 0.55 ± 0.11 , 0.37 ± 0.11 , and 0.36 ± 0.15 , respectively; the palmitoylation levels of PSD95 protein in the medium-dose and high-dose groups were lower than that in the control group ($P < 0.05$).

[Conclusion] Subchronic aluminum exposure could lead to decreased expression of PSD95 protein and palmitoylation in rat hippocampus, which may be one of the mechanisms of impaired LTP induced by aluminum.

Keywords: subchronic; aluminum; long-term potentiation; postsynaptic density protein 95; palmitoylation

铝在生物圈中普遍存在,是地壳中含量位列第三的元素,铝具有神经毒性,与人类中枢神经系统的多种神经发育障碍有关^[1]。有研究发现阿尔兹海默病患者脑组织中铝含量明显增高^[2]。铝的神经毒性主要表现在对学习记忆和认知功能的损害^[3-4]。突触可塑性被认为是反映学习记忆的基本神经机制,主要表现形式有长时程增强(long-term potentiation, LTP)和长时程抑制(long-term depression, LTD)。其中,LTP是高频刺激后发生在神经元细胞信号传输上的持久增强现象,是研究学习记忆的经典模型。国内外有许多研究证明铝对LTP的诱导和维持具有一定的损害作用^[5-7]。

突触后致密蛋白95(postsynaptic density protein, PSD95)是膜相关鸟苷酸激酶家族的成员^[8],是兴奋性突触中含量最丰富、最主要的支架蛋白,分布在所有的大脑皮质和海马组织中,与各种蛋白质[包括 α -氨基-3-羟基-5-甲基异恶唑-4-丙酸受体(α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptor, AMPAR)和N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR)]相互作用,是突触功能的标志性蛋白^[9]。一方面,PSD95的蛋白表达量会影响其与AMPA和NMDAR相互作用从而影响突触可塑性^[10-11]。另一方面,研究发现PSD95是高度棕榈酰化的^[11],棕榈酰化修饰是唯一一种可逆的翻译后脂质修饰形式,广泛发生于神经系统中,在神经系统蛋白质的运输、定位和功能等方面发挥重要作用^[9]。棕榈酰化修饰会改变PSD95的构象^[12]及分布^[13],在突触可塑性的调节中发挥着重要作用^[8, 12]。但是目前对铝影响PSD95的研究较少,因此本实验的目的是为了研究亚慢性铝染毒对大鼠PSD95和LTP的影响,为铝损害

LTP的机制研究提供新思路。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (天津风船化学试剂), 麦芽酚、苯甲基磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)、羟胺(hydroxylamine, HAM)、N-乙基顺丁二酰亚胺(N-ethylmaleimide, NEM) (美国Sigma-aldrich公司), 牛血清白蛋白(albumin from bovine serum, BSA)、非变性组织细胞裂解液(北京索莱宝科技有限公司), 聚氰基丙烯酸正丁酯(bicinchoninic acid, BCA) 蛋白定量试剂盒、蛋白酶抑制剂、高灵敏度化学发光检测试剂盒、 β 微管蛋白(β -tubulin) 单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔/抗鼠IgG、蛋白示踪上样缓冲液、A+G琼脂糖珠(北京康为世纪生物科技有限公司), 1-生物素酰氨基-4-[4'-(甲基马来酰亚胺)环己烷甲酰胺]丁烷(Biotin-BMCC)、链霉亲和素抗体、蛋白印迹膜再生液(美国Thermo scientific公司), PSD95单克隆抗体(美国Abcam公司)。大鼠脑立体定位仪(日本Narishige公司), 2100刺激器、3000放大器(美国A-M System公司), Micro 1401高速数据采集系统(英国CED公司), 同心圆刺激电极、金属记录电极(美国FHC公司), 超声破碎仪(美国Sonics & material公司), 高速低温离心机(德国Eppendorf公司), 电泳仪(北京六一仪器), 凝胶成像仪、化学发光成像系统(美国Bio-Rad公司)。

1.2 实验动物分组及染毒

清洁级的健康成年雄性SD大鼠24只, 购买于山西医科大学实验动物中心, 批号SCXK(晋)2015-0001。根据本课题组前期研究, $10 \mu\text{mol/L}$ 的杂毒剂量是观

观察到有害作用的最低水平, 40 $\mu\text{mol/kg}$ 是不引起大鼠死亡的最大非致死剂量, 因此本实验确定麦芽酚铝的染毒剂量为 10、20、40 $\mu\text{mol/kg}$ 。按照体重将大鼠随机分为 4 组, 分别是对照组 (生理盐水)、低剂量组 (10 $\mu\text{mol/kg}$ 麦芽酚铝)、中剂量组 (20 $\mu\text{mol/kg}$ 麦芽酚铝)、高剂量组 (40 $\mu\text{mol/kg}$ 麦芽酚铝), 每组 6 只。饲养 5 d 让其适应环境, 然后进行腹腔注射染毒 (0.001 mL/g), 隔天染毒, 持续 12 周。染毒期间, 所有大鼠在恒温恒湿条件下自由摄食、饮水。本实验遵循单位和国家有关实验动物管理和使用的规定, 实验动物许可证号为 SCXK (晋) 2015-0001。

1.3 在体电生理法检测大鼠 LTP

手术方法参考本课题组前期实验^[5]。染毒结束后, 用乌拉坦 (1.5 g/kg) 麻醉大鼠, 将其固定在大鼠脑立体定位仪上, 暴露前后囟门。以前囟点和矢状缝为基准, 在前囟点后侧 4.2 mm、右侧 3.8 mm 做一标记, 以此点为圆心画半径为 1 cm 的圆, 用颅骨钻钻孔, 剔除硬脑膜。将大鼠固定在 LTP 脑定位仪上, 刺激电极尖端定位于海马 Schaffer 侧支处, 记录电极尖端定位于 CA1 区放射层。使用微推进装置插入电极, 根据记录到的波形特征推测刺激电极和记录电极是否达到预定部位。开始记录 30 min 基础波, 基础波的刺激频率为 0.033 Hz (即每 30 s 给 1 次刺激), 刺激强度为引起最大场兴奋性突触后电位 (field excitatory post synaptic potential, fEPSP) 幅值的 50%。然后给予诱发 LTP 的高频刺激 (3 个串刺激, 每个串刺激包含 20 个脉冲, 频率为 200 Hz, 波宽 100 μs , 间隔 30 s), 直到出现最大的 fEPSP, 记录高频刺激诱发的 fEPSP 60 min。高频刺激结束后继续记录基础波 60 min, 观察高频刺激前后 fEPSP 幅值变化。

1.4 Western blotting 测海马中 PSD95 表达水平

在体电生理法测完 LTP 后, 将大鼠断头取海马, 称取各剂量组海马 20 mg 左右, 提取总蛋白。根据 BCA 试剂盒说明书将各组蛋白定至同一浓度, 按照体积比 1:4 加入 5 $\times$ 蛋白示踪上样缓冲液, 100 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸变性 5 min, 室温冷却后 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。使用 8% SDS-PAGE 分离胶和 3.9% SDS-PAGE 积层胶电泳, 蛋白上样量均为 56 μg , 内参为 β -tubulin, PSD95 一抗浓度为 1:800, β -tubulin 一抗浓度为 1:4 000。二抗浓度均为 1:3 000。用凝胶成像仪进行检测, Quantity One 4.6.5 软件读数, 得到灰度值。PSD95 蛋白表达水平用其蛋白灰度值/ β -tubulin 灰度值表示。

1.5 免疫沉淀-酰基生物素置换法测 PSD95 棕榈酰化水平

采用免疫沉淀-酰基生物素置换法检测 PSD95 蛋白的棕榈酰化水平, 具体实验方法参考文献 [14]。称取各组海马 50 mg 左右, 加入适量含蛋白酶抑制剂、PMSF、2 mol/L NEM 的非变性组织裂解液, 超声破碎组织后在冰上孵育 25 min, 4 $^{\circ}\text{C}$, 18 407 $\times g$, 离心 10 min, 收集上清, 用 BCA 法测定蛋白浓度, 将各组蛋白定到同一浓度, 相同体积。各加入适量 PSD95 特异性一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育过夜。次日, 于 4 $^{\circ}\text{C}$, 1 $\times g$ 离心 1 min, 弃去上清, 加入 300 μL A+G 琼脂糖珠, 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育 4 h 后弃去上清, 加入 600 μL 含 10 mmol/L NEM 的裂解液冰上孵育 10 min。各剂量组分别取 300 μL 混合液作为 HAM 阳性组和 HAM 阴性组后, 按照下列顺序操作: 加入 500 μL stringent buffer (2 mol/L NEM 25 μL +SDS 0.005 g+裂解液 5 mL) 快速洗涤; 加入 500 μL pH=7.2 的裂解液洗三次; HAM 阳性组加入 500 μL 1 mol/L HAM 溶液 (66 μL HAM+2 mL pH=7.2 的裂解液), HAM 阴性组加入 500 μL pH=7.2 的裂解液, 室温摇床孵育 50 min, 弃去上清; pH=6.2 的裂解液轻柔洗涤一次; 加入 500 μL 5 $\mu\text{mol/L}$ 的 Biotin-BMCC (2 mL pH=6.2 的裂解液+1.25 μL Biotin-BMCC), 4 $^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育 50 min; 用 pH=6.2 的裂解液轻柔洗涤一次; pH=7.5 的裂解液洗涤三次, 弃去上清, 留下珠子; 加入体积比为 1:4 的蛋白示踪上样缓冲液, 涡旋混匀, 100 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸 5 min; 室温冷却。离心取上清, 用于 SDS-PAGE, 将蛋白转印到聚偏二氟乙烯膜上。5% BSA 室温摇床封闭 1 h; TBST 洗 10 min 一次; 加入辣根过氧化物酶标记的链霉亲和素抗体, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。TBST 洗 10 min 三次; 滴加显影液, 用凝胶成像仪进行成像和拍照, Quantity One 4.6.5 软件进行读数, 得到各剂量组的 PSD95 棕榈酰化灰度值。棕榈酰化测定结束后, 用蛋白印迹膜再生液室温摇床洗膜 5 min, TBST 洗膜 10 min 一次。封闭, 一抗孵育, 洗膜, 二抗孵育, 洗膜, 显影得到各剂量组的总 PSD95 蛋白灰度值。PSD95 蛋白的棕榈酰化水平用其棕榈酰化灰度值/其总蛋白灰度值表示。

1.6 统计学分析

所有数据均用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析。经正态性检验, 所有数据均服从正态分布, 用均数 $\pm$ 标准差表示。LTP 结果采用重复测量方差分析, 其余实验结果的比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD- t 法。检验水准 $\alpha=0.05$, 双侧检验。

2 结果

2.1 染毒期间大鼠的一般情况

对照组和低剂量组大鼠生长状态良好。染毒后期,中剂量组和高剂量组大鼠摄食减少,生长缓慢,活动减少。

2.2 各剂量组大鼠 LTP 检测结果

图1散点图为各剂量组大鼠 LTP 的检测结果。各剂量组间大鼠基础波的 fEPSP 标准化幅值(简称“幅值”)大致处于同一水平,差异没有统计学意义($P>0.05$);高频刺激后各剂量组大鼠的幅值均瞬间增大,且随着时间延长开始下降。图2为 LTP 的统计结果,结

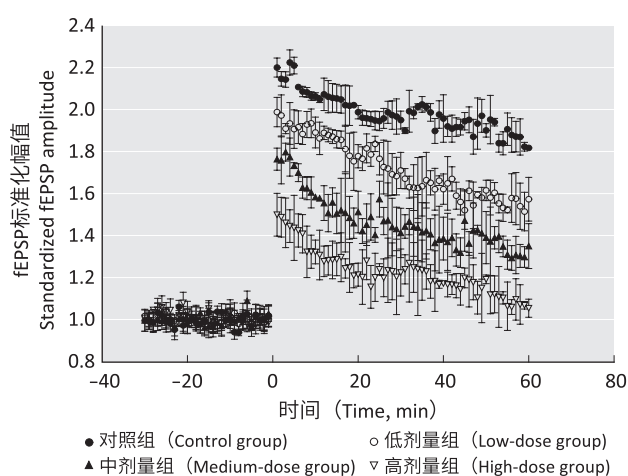
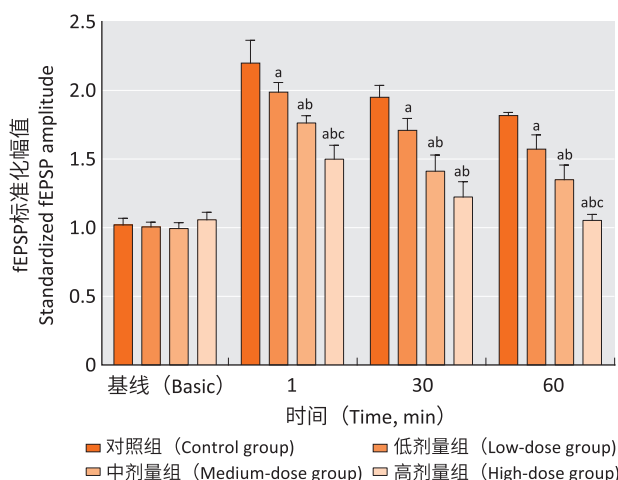


图1 染铝12周后各组大鼠 LTP 检测结果

Figure 1 Results of LTP in different groups after aluminum exposure for 12 weeks



[注] a: 与对照组相比, $P<0.05$; b: 与低剂量组相比, $P<0.05$; c: 与中剂量组相比, $P<0.05$ 。

[Note] a: Compared with the control group, $P<0.05$; b: Compared with the low-dose group, $P<0.05$; c: Compared with the medium-dose group, $P<0.05$.

图2 染铝12周后各组大鼠不同时间点的 fEPSP 幅值比较
Figure 2 Comparison of fEPSP amplitudes at selected time points in different groups after aluminum exposure for 12 weeks

果显示:高频刺激后1、30、60 min,各组的幅值差异均有统计学意义($F=23.868$, $P<0.001$; $F=29.912$, $P<0.001$; $F=51.500$, $P<0.001$)。1 min和60 min时,各染铝组大鼠的幅值均低于对照组($P<0.05$);中、高剂量组大鼠的幅值低于低剂量组($P<0.05$);高剂量组大鼠的幅值低于中剂量组($P<0.05$)。30 min时,低、中、高剂量组大鼠的幅值均低于对照组大鼠($P<0.05$);中、高剂量组大鼠的幅值低于低剂量组大鼠($P<0.05$);高剂量组大鼠的幅值与中剂量组大鼠差异没有统计学意义($P>0.05$)。

2.3 各剂量组大鼠海马的 PSD95 蛋白水平

随着染毒剂量的增加,大鼠海马 PSD95 的蛋白水平逐渐降低。对照组和低、中、高剂量组大鼠海马的 PSD95 蛋白相对表达水平不相同;后三者分别为 0.84 ± 0.08 、 0.76 ± 0.17 、 0.68 ± 0.19 ($F=8.63$, $P<0.01$),均低于对照组 (1.00 ± 0.00) ($P<0.05$);各染毒组大鼠组间没有差异($P>0.05$)。见图3。

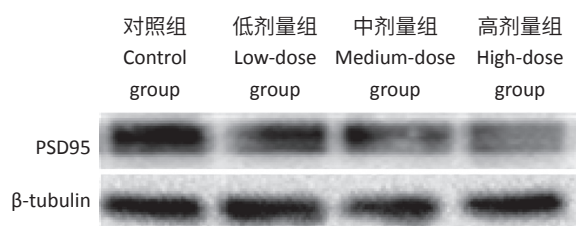


图3 染铝12周后各组大鼠海马的 PSD95 蛋白电泳图

Figure 3 Electrophoretogram of PSD95 protein expression levels in hippocampus of rats in different groups after aluminum exposure for 12 weeks

2.4 各剂量组 PSD95 蛋白棕榈酰化水平

图4为 PSD95 蛋白的棕榈酰化水平,从图中可以看出:随着染毒剂量的增加,PSD95 的棕榈酰化水平逐渐降低。对照组和低、中、高剂量组的 PSD95 蛋白的棕榈酰化水平分别是 0.66 ± 0.20 、 0.55 ± 0.11 、 0.37 ± 0.11 、 0.36 ± 0.15 。与对照组相比,中、高剂量组大鼠的 PSD95 蛋白棕榈酰化水平降低($P<0.05$)。

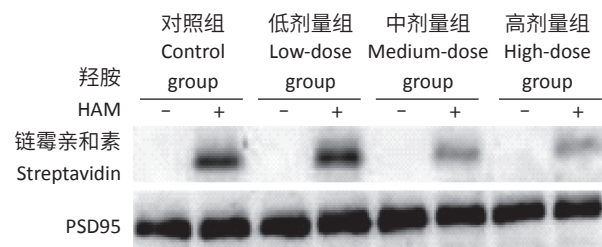


图4 染铝12周后各组大鼠海马 PSD95 棕榈酰化水平电泳图
Figure 4 Electrophoretogram of palmitoylation levels of PSD95 in different groups after aluminum exposure for 12 weeks

3 讨论

铝及其各种化合物广泛存在于生产生活中,但不是人体的必需元素。它通过各种途径进入人体后,蓄积于肺、脑、肌肉、骨骼等组织中,对人体产生各种毒作用。进入脑组织后,可引起学习记忆和认知功能损害。海马 LTP 是评价学习记忆能力的重要指标。本实验结果显示,铝会抑制大鼠海马 LTP,影响 LTP 的诱导和维持,且与染毒剂量存在一定关系,与本课题组前期及国内外的研究结果一致^[6-7]。此外,铝在体内产生蓄积作用,可能会扰乱中枢神经的活动,引起消化系统功能紊乱,妨碍正常的钙、磷代谢。本实验中,高剂量组大鼠摄食减少,生长缓慢可能是由于这种原因造成的。

目前对于铝损害 LTP 的机制尚未完全清楚,本课题组前期的研究结果发现 AMPAR 运输及其棕榈酰化水平与铝损害 LTP 密切相关^[15-16],但具体机制尚不清楚。PSD95 样膜相关性鸟苷酸激酶作为谷氨酸能突触受体的主要支架蛋白家族,由 3 个 PDZ 结构域(PDZ1-3)和一个 SH3-GK 模块组成^[17],可以与 AMPAR 和 NMDAR 相互作用,调控突触传递和突触可塑性。有研究利用转基因动物、过表达、急性敲除和分子替代等实验工作作为 PSD95 在控制突触 AMPAR 水平中的作用提供了强有力的证据,证明了 PSD95 蛋白的表达水平与 AMPAR 介导的兴奋性突触后电流的大小直接相关^[18]。国外有研究发现,在神经精神疾病患者中 PSD95 蛋白表达水平降低^[19],这也说明 PSD95 蛋白表达水平与神经系统发育障碍有关。本次研究发现,染铝组大鼠海马 PSD95 蛋白表达水平降低,表明铝会影响 PSD95 蛋白的表达水平。因此我们推测铝可以通过影响 PSD95 的蛋白表达水平,从而影响其与 AMPAR 的相互作用导致 LTP 受损。

此外,PSD95 在突触后致密区中是高度棕榈酰化的^[11],已有研究表明 PSD95 仅在其棕榈酰化和延伸构象中直接与 AMPAR 亚基结合,并且在紧密构象中不存在结合,PSD95 的棕榈酰化调控其与 AMPAR 的相互作用^[12]。本实验的结果显示铝会影响大鼠海马 PSD95 棕榈酰化水平,导致其棕榈酰化水平降低。那么铝损害 LTP 的机制是否与 PSD95 棕榈酰化水平有关?催化棕榈酰化修饰的酶是蛋白质 S-酰基转移酶(protein S-acyltransferases, PATs),内含锌指样-半胱氨酸残基聚集域(DHHC)结构域,这个结构域是 PATs 的必备结构。有研究表明 Al^{3+} 进入人体后会竞争性地替代 Zn^{2+} ,

影响酶促反应^[20]。因此推测铝可能会通过影响蛋白质 S-酰基转移酶而导致 PSD95 棕榈酰化水平降低。

基于以上结果,我们推测铝可能会通过影响 PSD95 的蛋白表达水平及其棕榈酰化水平,从而影响海马 LTP,导致学习记忆功能降低和认知功能损害。但是本次实验只研究了铝对大鼠海马 LTP 及 PSD95 蛋白表达水平和棕榈酰化水平的影响,本课题组未来将研究铝影响 PSD95 蛋白的机制,并用体内和体外实验加以验证。

参考文献

- [1] LIANG R F, LI W Q, WANG X H, et al. Aluminium-maltolate-induced impairment of learning, memory and hippocampal long-term potentiation in rats [J]. *Ind Health*, 2012, 50 (5): 428-436.
- [2] MCLACHLAN D R, BERGERON C, ALEXANDROV P N, et al. Aluminum in neurological and neurodegenerative disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56 (2): 1531-1538.
- [3] ZAWILLA N H, TAHA F M, KISHK N A, et al. Occupational exposure to aluminum and its amyloidogenic link with cognitive functions [J]. *J Inorg Biochem*, 2014, 139: 57-64.
- [4] KREWSKI D, YOKEL R A, NIEBOER E, et al. Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide [J]. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 2007, 10 (S1): 1-269.
- [5] 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.
- [6] 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-3 β pathway [J]. *Neurotox Res*, 2016, 29 (4): 484-494.
- [7] ZHANG L, JIN C, LU X, et al. Aluminium chloride impairs long-term memory and downregulates cAMP-PKA-CREB signalling in rats [J]. *Toxicology*, 2014, 323: 95-108.
- [8] XU W. PSD-95-like membrane associated guanylate kinases (PSD-MAGUKs) and synaptic plasticity [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2011, 21 (2): 306-312.
- [9] ZARĘBA-KOZIOŁ M, FIGIEL I, BARTKOWIAK-KACZMAREK A, et al. Insights into protein S-Palmitoylation in synaptic plasticity and neurological disorders: potential and

- limitations of methods for detection and analysis [J]. *Front Mol Neurosci*, 2018, 11 : 175.
- [10] CHEN X, NELSON CD, LI X, et al. PSD-95 is required to sustain the molecular organization of the postsynaptic density [J]. *J Neurosci*, 2011, 31 (17) : 6329-6338.
- [11] EL-HUSSEINI A E, SCHNELL E, DAKOJI S, et al. Synaptic strength regulated by palmitate cycling on PSD-95 [J]. *Cell*, 2002, 108 (6) : 849-863.
- [12] JEYIFOUS O, LIN E I, CHEN X, et al. Palmitoylation regulates glutamate receptor distributions in postsynaptic densities through control of PSD95 conformation and orientation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113 (52) : E8482-E8491.
- [13] FUKATA Y, DIMITROV A, BONCOMPAIN G, et al. Local palmitoylation cycles define activity-regulated postsynaptic subdomains [J]. *J Cell Biol*, 2013, 202 (1) : 145-161.
- [14] BRIGIDI GS, BAMJI SX. Detection of protein palmitoylation in cultured hippocampal neurons by immunoprecipitation and acyl-biotin exchange (ABE) [J]. *J Vis Exp*, 2013 (72) : e50031.
- [15] SONG J, LIU Y, ZHANG H F, et al. The RAS/PI3K pathway is involved in the impairment of long-term potentiation induced by acute aluminum treatment in rats [J]. *Biomed Environ Sci*, 2016, 29 (11) : 782-789.
- [16] 夏欣宇, 王翊, 高婷, 等. AMPA受体棕榈酰化在亚慢性铝染毒大鼠海马马长时程增强中的作用 [J]. *环境与职业医学*, 2018, 35 (12) : 1083-1088.
- [17] VALLEJO D, CODOCEDO JF, INESTROSA NC. Posttranslational modifications regulate the postsynaptic localization of PSD-95 [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54 (3) : 1759-1776.
- [18] ELIAS GM, NICOLL RA. Synaptic trafficking of glutamate receptors by MAGUK scaffolding proteins [J]. *Trends Cell Biol*, 2007, 17 (7) : 343-352.
- [19] KRISTIANSEN LV, BENEYTO M, HAROUTUNIAN V, et al. Changes in NMDA receptor subunits and interacting PSD proteins in dorsolateral prefrontal and anterior cingulate cortex indicate abnormal regional expression in schizophrenia [J]. *Mol Psychiatry*, 2006, 11 (8) : 737-747.
- [20] WALTON JR. Aluminum disruption of calcium homeostasis and signal transduction resembles change that occurs in aging and Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimer's Dis*, 2012, 29 (2) : 255-273.

(英文编辑: 汪源; 编辑: 王晓宇; 校对: 陈姣)

· 告知栏 ·

欢迎关注《环境与职业医学》杂志微信公众号

《环境与职业医学》杂志微信公众号已正式上线,该平台包括“读者”“作者”和“我们”三个主菜单,主要提供稿件状态查询、当期最新内容及稿件撰写要求等内容,同时也发布国内外最新研究动态及发展前沿等资讯,满足读者网络时代碎片化阅读的需求。本平台旨在为编者、作者、读者之间搭建一个分享、学习、互动的平台,以此推动《环境与职业医学》杂志的健康发展。

请直接扫描右侧二维码或在公众号中搜索“环境与职业医学”(微信号: JEOM),即可关注本刊微信公众号。

