

颞叶癫痫患者外周免疫细胞上的谷氨酸受体表达水平变化

邓巍巍 王伟君 李富媛

【摘要】 目的 探讨颞叶癫痫(Temporal lobe epilepsy, TLE)患者外周血单核细胞(Peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)上的谷氨酸受体(Ionotropic glutamate receptors, iGluRs)表达水平变化。**方法** 纳入2019年1月-2022年6月在本院接受治疗的17例TLE患者和21名健康对照者作为研究对象;从所有研究患者及健康对照组中收集3 mL晨起静脉血样品,并通过密度梯度离心法分离PBMCs;通过聚合酶链反应(Polymerase chain reaction, PCR)检测PBMCs中iGluR基因表达水平;蛋白质印迹分析PBMCs中AMPA离子能谷氨酸受体3(AMPA receptor 3, GluA3)蛋白表达水平;使用荧光测定法来测量外源性腺嘌呤核苷三磷酸(Adenosine triphosphate, ATP)对单核细胞内 Ca^{2+} 稳态的影响。**结果** 与健康对照组比较, TLE组在焦虑和抑郁量表上表现出更高的分数($P<0.05$), 并且PBMCs中 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸(α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA)受体亚单位GluA3 mRNA表达水平显著降低($P<0.001$); TLE组PBMCs中GluA3蛋白表达水平显著低于3健康对照组($P<0.001$)。与健康对照组比较, TLE组的PBMCs在第2个周期和第3个周期显示 Ca^{2+} 水平显著降低($P<0.05$)并且在全部周期显示峰值振幅显著降低($P<0.05$)。**结论** TLE患者PBMCs中特定iGluRs亚单位GluA3受体的表达水平降低, 并可能影响单核细胞的钙稳态。

【关键词】 颞叶癫痫 谷氨酸受体 外周血单核细胞 钙稳态

【中图分类号】 R742.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2024)01-0042-07

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2024.01.008

The relationship between the expression of glutamate receptors on peripheral immune cells and the condition of temporal lobe epilepsy patients Deng Weiwei*, Wang Weijun, Li Fuyuan*. * Internal Medicine-Neurology, Qiqihar First Hospital, Qiqihar Heilongjiang 161000

【Abstract】 Objective To investigate the expression of glutamate receptors (iGluRs) on peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) in patients with temporal lobe epilepsy (TLE). **Methods** In this study, 17 TLE patients and 21 control groups who were treated in our hospital from January 2019 to June 2022 were included as study subjects. 3 ml venous blood samples were collected from patients and the control group, and PBMCs were separated by density gradient centrifugation. The expression of the iGluR gene in PBMCs was detected by PCR. The expression of GluA3 protein in PBMCs was analyzed by Western blot. Fluorescence assay was used to measure the effect of exogenous ATP on intracellular Ca^{2+} homeostasis of monocytes. **Results** Compared with the control group, TLE patients showed higher scores on anxiety and depression scale ($P<0.05$), and the expression of AMPA receptor subunit GluA3 mRNA in PBMCs decreased significantly ($P<0.001$). The expression of GluA3 protein in the PBMCs in TLE group was significantly lower than that in the control group ($P<0.001$). Compared with the control group, PBMCs of TLE patients showed a significant decrease in Ca^{2+} level in the second and third cycles ($P<0.05$), and a significant decrease in peak amplitude in all cycles ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of GluA3 receptor on of specific iGluRs subunits in PBMCs in the TLE patients decreases, which may affect the calcium homeostasis of monocytes.

【Key words】 Temporal lobe epilepsy Glutamic acid receptor Peripheral blood monocytes Calcium homeostasis

颞叶癫痫(Temporal lobe epilepsy, TLE)是癫痫的常见原因,也是难治性癫痫最常见的原因^[1]。虽然许多类型的癫痫的确切原因仍然未知,但有研究显示炎症在癫痫发展中的作用^[2]。大多数关于癫痫的研究都集中在影响神经元和神经胶质细胞之间通讯的神经炎症通路上。然而,外周免疫细胞也可能有助于癫痫的病理生理学^[3]。有研究证明,白细胞释放的炎症介质在癫痫发作和致病过程的发展中起着至关重要的作用^[4];在这种情况下外周免疫细胞表型的表征可能有助于更好地理解 TLE 的病理生理学。谷氨酸是哺乳动物中枢神经系统中最主要的兴奋性神经递质^[5]。离子型谷氨酸受体(Ionotropic glutamate receptors, iGluRs)是谷氨酸门控的阳离子通道。基于序列同源性和受体药理学, iGluR 亚单位分成 4 个受体家族,分别为 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸(α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA)受体亚单位、红藻氨酸受体亚单位、N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体亚单位和孤儿受体亚单位。先前研究发现,神经元中功能性 iGluR 的类型取决于转录的基因,并可能因年龄、大脑区域、神经元类型、突触活性甚至疾病而异^[6]。然而,尚不清楚 TLE 患者外周免疫细胞上 iGluR 的表达情况。鉴于外周免疫系统和中枢神经系统之间的双向交流,本研究比较了健康个体和 TLE 患者外周血单核细胞(Peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)的 iGluR 受体表达水平变化,并鉴定出可能与 TLE 相关的 iGluR 亚单位。

1 资料与方法

1.1 一般资料

这项研究纳入 2019 年 1 月 - 2022 年 6 月在本院接受治疗的 17 例 TLE 患者和 21 名健康对照者作为研究对象。癫痫发作和癫痫综合征的临床诊断参照国际抗癫痫联盟(International league against epilepsy, ILAE)标准^[7]。本研究中 TLE 的诊断是基于癫痫症状学、发作期/发作间期脑电图检查表现和明确显示海马萎缩的神经影像学检查表现。纳入标准为符合 TLE 诊断,至少 72 h(发作间期)没有癫痫发作,年龄 18~65 岁,有参与研究的意愿。健康对照组受试者的年龄 18~65 岁,没有癫痫或任何严重的神经精神障碍,并签署知情同意书作为入选标准。排除标准:纳入研究前 1 个月使用消炎药或抗

生素、存在严重的神经精神障碍、接受过海马手术。健康对照组受试者的年龄和性别与 TLE 患者相匹配($P>0.05$)。除了临床和社会人口统计学数据以及体重和身高的测量,还应用了汉密尔顿抑郁和焦虑量表(Hamilton anxiety scale/hamilton depression scale, HAM-D/HAM-A)和癫痫神经障碍抑郁量表(Neurological disorders depression inventory for epilepsy, NDDI-E)评估焦虑和抑郁症状。

1.2 总 RNA 提取和实时定量逆转录 PCR

从所有研究患者及健康对照者中收集 3 mL 晨起静脉血样品,并参照文献方法^[8]通过密度梯度离心法分离 PBMCs。使用 Gen Elute total RNA Miniprep(美国 Sigma-aldrich 公司)对所有样品进行总 RNA 提取处理,并使用 Nanodrop(美国 Thermo scientific 公司)测量总 RNA 的水平。此外,在 20 μ L 反应中使用 Superscript III 逆转录酶(美国 Invitrogen 公司)将 1 μ g RNA 转化为 cDNA;还进行了逆转录酶阴性对照,以确认没有基因组 DNA 污染;使用 SYBR Green I ($10000 \times$) $2 \times$ SYBR Green PCR Mastermix 试剂盒(美国 Invitrogen 公司)和正向和反向引物各 0.4 μ M 的 10 μ L 体积中进行实时定量 PCR;使用 ABI Prism 7900HT/FAST 型荧光定量 PCR 仪(瑞典 Applied biosystems 公司)进行扩增,初始变性在 95 $^{\circ}$ C 下 5 min,随后是 45 个循环,95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s,进一步通过解链曲线以确保单一产物扩增;使用仪器提供的 SDS 2.4 和 RQ Manager 1.2 软件分析循环阈值(Cycle threshold, Ct)值。在 Data Assist v 2.0 软件上使用 $2^{-\Delta\text{Ct}}$ 方法计算每个靶基因相对于归一化因子(2 个参考基因- IPO8 和 TBP 的几何平均值)的表达水平。由于参考基因的表达水平在不同的细胞类型之间可能不同,因此本研究使用输入蛋白 8 (Importin 8, IPO8)和 TATA 盒结合蛋白(TATA-binding protein, TBP)进行标准化。基因特异性引物见表 1。

1.3 蛋白质印迹法

使用放射免疫沉淀法(Radio immunoprecipitation assay, RIPA)裂解缓冲液(美国 Bimake 公司)提取 PBMCs 中的蛋白质;采用二辛可宁酸(2,2'-Biquinoline-4,4'-dicarboxylic acid, BCA)蛋白质检测试剂盒(美国 Pierce biotechnology 公司)用于蛋白质定量;然后通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离 20 μ g 蛋白质,并转移到聚偏二氟乙烯

表 1 用于实时荧光定量逆转录-聚合酶链反应(Real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)的引物

基因	正向引物序列	反向引物序列
TBP	GAGCTGTGATGTGAAGTTTCC	TCTGGGTTTGATCATTTCTGTAG
IPO8	GCAAAGGAAGGGGAATTGAT	CGAAGCTCACTAGTTTGTACCC
GRIA3(GluA3)	ACACCATCAGCATAGGTGGA	CTTCTCGGTGGTGTCTCTGGT
GRIA4(GluA4)	GGAACTCAAACAGGTTTCG	TTGTGTAATTGACTCTACGTCC
GRIK2(GluK2)	AAAGTGGTCGATGGAACGA	TAGAGCAGCATCAGTCGTC
GRIK4(GluK4)	TGAGGATCGCTGCTATCTTGG	CGTACTCGTGCTCTGAGAA
GRIK5(GluK5)	CGGTCTCCGAATCCTCAAG	GCTGTCTGCCAACATCCTCA
GRIN1(GluN1)	CATCCTCAAGTCCACGAG	TTCCTGATACCGAACCCAC
GRIN2C(GluN2C)	CTTCTTGGAGCCATATAGCC	AACATGAAGACGGTGATGG
GRIN2D(GluN2D)	ATCCCGACATGCACAGCTAC	GAGCACTGCAGCATCGTAGA
GRIN3A(GluN3A)	GCCATAGAAGGATACGCA	CTTGTATTGACTGATTAGCTCGG
GRIN3B(GluN3B)	CCTGTCCGAGTTCATCAG	CTGCAGGCTCTCTGTAAC
GRID1(GluD1)	TGGTGACTGTCTTGGAAGAG	TGGAGAACCCTTTGTAGCG
GRID2(GluD2)	TTATCCTAAGAGTGGTCACAGAG	GTATTCCACGGATATCGTATTAC

膜(美国 Millipore 公司)上;将膜与一抗 GluA3(1:50,美国 Santa cruz 公司)和肌动蛋白(β -Actin)蛋白兔多克隆抗体(1:2000,英国 Abcam 公司)在 4℃孵育过夜;然后与辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5000;英国 Abcam 公司)在室温下孵育 1 h;使用增强型化学发光试剂(美国 Pierce biotechnology 公司)显示信号;使用 Image-Pro Plus 6.0 软件对条带的灰度值进行定量,并将目标蛋白的水平表示为相对于 β -Actin 标准化的相对灰度值。

1.4 细胞内钙离子水平的测定

将 PBMCs 粘附到聚-d-赖氨酸 12 mm 盖玻片上,并装载 8 μ M 荧光 Ca^{2+} 染料 fura-2-乙酰氧基甲基酯(fura-2-AM,美国 Sigma-aldrich 公司);在 37℃、5% CO_2 下孵育 25 min,然后在室温下去酯化后固定盖玻片并用含有(mM):NaCl 129.1, KCl 5.9、葡萄糖 11.5、 MgCl_2 1.2, CaCl_2 3.2 的细胞外溶液灌注,并用 NaOH 调节至 pH 7.3;在 350 和 380 nm 的激发波长下测量荧光,并通过 Till vision 成像系统(德国 Till photonics 公司);根据荧光比率计算钙水平: $[\text{Ca}^{2+}] = \text{平衡解离常数 (Dissociation constant, KD)} \times \beta \times [\text{比值 (ratio, R)}] - \text{Rmin} / (\text{Rmax} - \text{R})$;通过细胞外和细胞间 Ca^{2+} 校正获得系数, $\text{KD} = 245, \beta = 3.6, \text{Rmin}$ 和 Rmax 分别是无 Ca^{2+} 和饱和 Ca^{2+} 时的比值 ($\text{Rmax} = 0.8, \text{Rmin} = 0.08$);在调整到基线后胞质 Ca^{2+} 水平变化被重新校准;参照文献报道的 ATP(美国 Sigma-aldrich 公司)水平刺激细胞^[9];一旦达到 Fura-2 的充分平衡,应用全细胞记录细胞外溶液 10 s;每个研究对象至少测量 10

个细胞。

1.5 统计学处理

使用 SPSS23.0 进行统计分析,并用 GraphPad Prism 6 绘制数据;采用 Shapiro-Wilk 正态性检验确定数据分布的正态性,正态分布的数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,非正态分布的数据中位数(四分位数) $[M(IQR)]$ 表示,使用 Student *t* 检验或 Mann-Whitney 检验对 2 组正态或非正态分布的数据进行比较;分类数据采用例数(*n*)和构成比(%)表示,组间比较采用卡方检验。显著性水平设定为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 2 组人口统计学和临床特征比较

表 2 显示了参与本研究的参与者的人口统计学和临床特征。2 组在年龄、性别、教育水平和体重指数方面没有明显差异($P > 0.05$)。与健康对照组比较, TLE 组在焦虑和抑郁量表上表现出更高的分数 ($P < 0.05$)。

2.2 PBMCs 中特定 iGlu 受体亚单位的表达水平

本研究比较了 2 组个体中 9 个亚单位的表达水平。图 1 总结了非 NMDA (AMPA 和红藻氨酸)、NMDA 和孤儿受体亚单位的表达水平;与健康对照组比较, TLE 组 PBMCs 中 AMPA 受体亚单位 GluA3 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.001$)。此外,通过蛋白质印迹分析证实了 TLE 组 PBMCs 中 GluA3 蛋白表达水平显著低于健康对照组 ($P < 0.001$)(图 2)。

表 2 研究参与者的人口统计学和临床特征

特征	TLE 组 (n = 17)	健康对照组 (n = 21)	P
性别[n(%)]			
女	10(58. 8)	7(33. 3)	0. 190
男	7(41. 2)	14(66. 7)	
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	44 \pm 11. 1	43 \pm 9. 1	0. 754
教育水平[中位数(IQR), 年]	10(4)	8(8. 5)	0. 622
HAM-A 评分[中位数(IQR), 分]	8. 0(10)	1(9)	0. 012
HAM-D 评分[中位数(IQR), 分]	8. 0(9)	0(8)	0. 009
NDDI-E 评分($\bar{x} \pm s$, 分)	13. 88 \pm 4. 54	10. 76 \pm 4. 45	0. 041
癫痫类型[n(%)]			
焦点意识	3(17. 6)		
局灶性意识受损	17(100)		
对双侧强直阵挛的局灶性意识受损	9(52. 9)		
癫痫发作的年龄[中位数(IQR), 岁]	2(5)		
癫痫发作后的时间($\bar{x} \pm s$, 年)	31. 4 \pm 15. 9		
每月癫痫发作频率[中位数(IQR), 次]	1(3)		
过去 6 个月无癫痫发作[n(%)]	6(35. 3)		
抗癫痫药物[n(%)]			
2-丙基戊酸钠	3(17. 6)		
酰胺咪嗪	14(82. 4)		
镇静安眠剂	3(17. 6)		
拉莫三嗪	3(17. 6)		
托吡酯	5(29. 4)		
苯二氮卓类	15(88. 2)		
抗癫痫药物治疗方案[n(%)]			
双重疗法	7(41. 2)		
3 联疗法	9(52. 9)		
4 联疗法	1(5. 9)		
服用抗癫痫药物的例数[中位数(IQR), 例]	3(1)		
抗抑郁药[n(%)]	6(35. 3)		
抗精神病药[n(%)]	2(11. 8)		

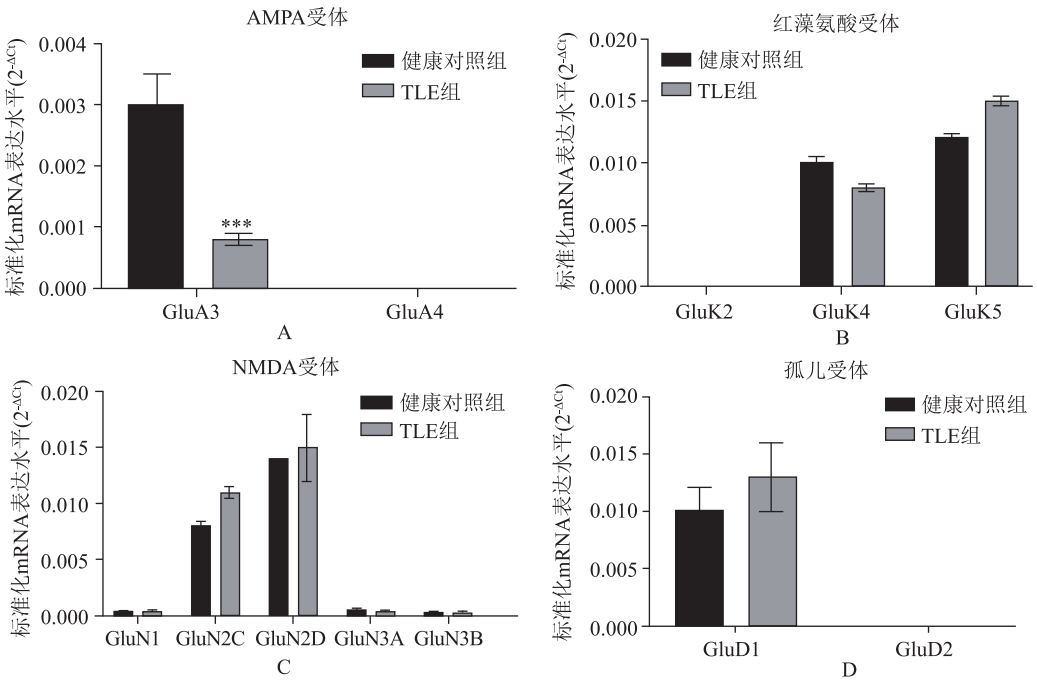


图 1 PCR 检测健康对照组和 TLE 组的 PBMCs 中特异性 AMPA(A)、红藻氨酸(B)、NMDA(C)和孤儿(D)iGlu 受体亚单位的 mRNA 表达水平 与健康对照组比较,*** P<0. 001

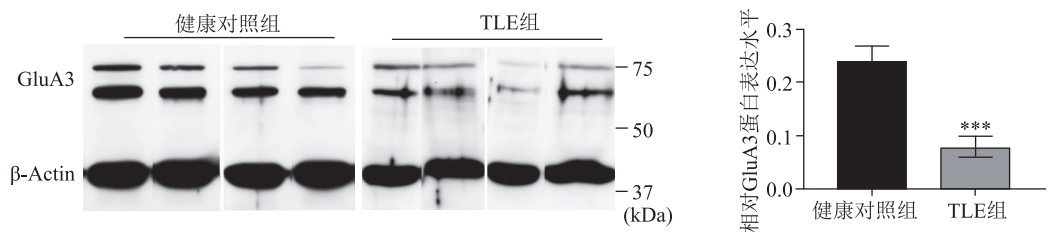


图2 蛋白质印迹分析 PBMCs 中 GluA3 的蛋白表达水平 与健康对照组比较,*** $P<0.001$

2.3 TLE 患者单核细胞内 Ca^{2+} 水平降低

使用来自 TLE 患者的 210 个细胞和来自健康对照组的 234 个细胞来测定 ATP 对细胞内 Ca^{2+} 水平的影响。加入 $10\text{ }\mu\text{M}$ ATP 后 2 组均产生了显著的 Ca^{2+} 内流。细胞内 Ca^{2+} 水平迅速达到峰值,然后衰减到持续升高的阶段。2 组都未能将 Ca^{2+} 水平恢复到最初的基线水平(图 3)。曲线下面积以及峰值振幅揭示了 2 组在激动剂应用期间对刺激的反应性降低(图 3)。与健康对照组比较,TLE 组的 PBMCs 在第 2 个周期和第 3 个周期显示 Ca^{2+} 水平显著降低($P<0.05$)和在全部周期显示峰值振幅显著降低($P<0.05$)。

3 讨论

在神经元中离子型谷氨酸受体集中在谷氨酸能突触的后位点,但也可在突触前和突触外发现。近年来,有研究发现这些受体也在免疫系统中表达,但对它们在 TLE 免疫功能中的作用知之甚少^[10]。本研究分析了谷氨酸受体离子通道的 AMPA, NMDA、红藻氨酸或 δ 受体亚单位在 TLE 患者 PBMCs 中表达情况,以鉴定哪些亚型可能存在差异表达,结果表明 TLE 组 PBMCs 中 AMPA 受体亚单位 GluA3 mRNA 表达水平较健康对照组显著降低。已知 AMPA GluA3 亚单位在脊髓、脑干、丘脑和皮

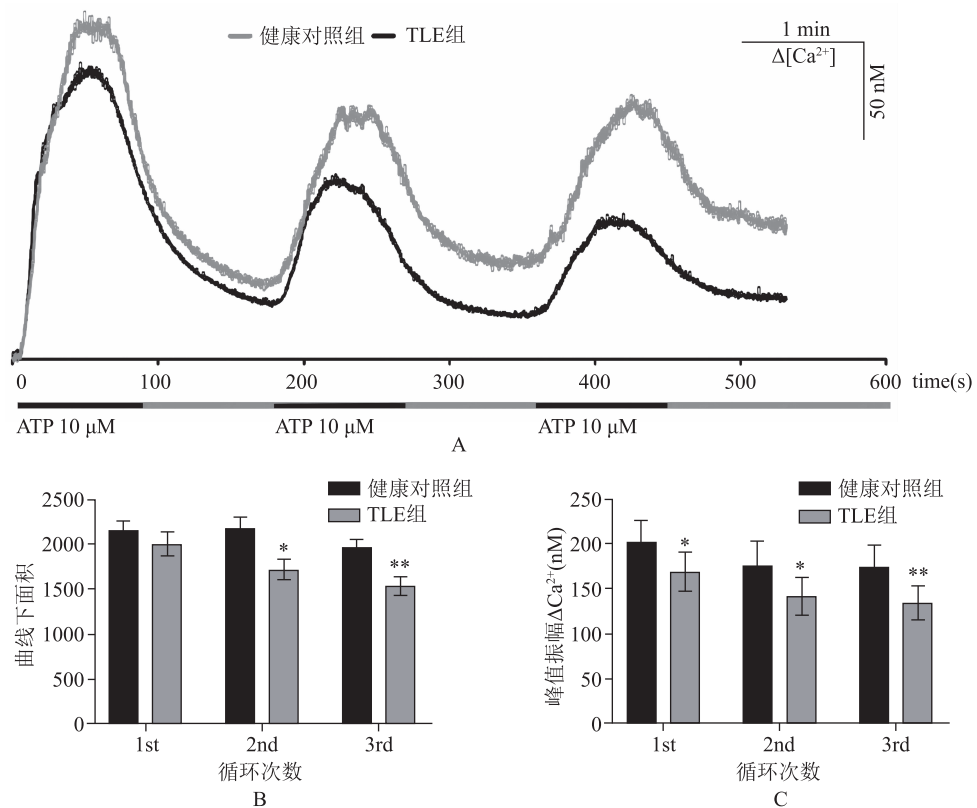


图3 ATP降低 TLE 患者单核细胞的 Ca^{2+} 内流 A 为将 $10\text{ }\mu\text{M}$ ATP 应用于 TLE 患者和健康对照者的单核细胞,每个循环刺激 1 min,间隔 2 min;每次应用 ATP 时细胞内 Ca^{2+} 水平增高;B、C 为以曲线下面积和峰值振幅表示胞质钙负荷减少;与健康对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

质中表达,并发现位于负责呼吸控制、心脏控制和运动协调的中心^[11]。最近研究发现,GluA3 基因敲除小鼠实际上缺乏脑电图和 NREM 睡眠的特征,表现为低频带(delta1、delta2 和 theta)的脑电图功率下降。此外,9 只 GluA3 基因敲除小鼠中有 3 只在清醒和睡眠期间表现出癫痫发作,表明 GluA3 基因的缺失可能会导致癫痫发作^[11]。GluA3 基因敲除也产生状态依赖的呼吸调节,在行为静止时选择性降低呼吸频率。这些发现表明 GluA3 亚单位具有不同的神经生理学影响,调节睡眠、呼吸和癫痫发作产生的振荡网络^[12]。但是 GluA3 的表达不仅限于神经系统,并对免疫系统也很重要。本研究的结果为 GluA3 在免疫细胞中的重要性提供了额外的证据。

人体血液中的谷氨酸水平为 260~300 μM ,而大脑中的间质水平要低得多,在低微摩尔至亚微摩尔范围内^[13]。谷氨酸受体离子通道在谷氨酸结合后的几毫秒内激活,但仅在相对较短的时间内保持打开,如果高水平($>100 \mu\text{M}$)的谷氨酸在较长时间内结合,则通过脱敏的过程失活^[14]。由于血液中的谷氨酸盐水平很高($>100 \mu\text{M}$),当细胞在血液中循环时免疫细胞中的离子型谷氨酸盐受体可能会被脱敏。然而,一旦这些细胞进入间质谷氨酸水平较低的组织,离子型谷氨酸受体就可能被激活。大量研究表明,谷氨酸或谷氨酸受体拮抗剂可调节免疫细胞功能,如细胞粘附、激活、增殖、迁移和细胞因子释放,这些变化是如何发生的尚不知道,但在某些情况下可能涉及钙通道的功能调节^[15-16]。在中枢神经系统中 GluA3 受体以较慢的脱敏动力学介导电流,因此有助于细胞的紧张性去极化^[17]。基于这些发现,本研究证实了粘附的单核细胞对 ATP 的应用有反应,2 组细胞内的 Ca^{2+} 水平均明显增高。在最初的 ATP 刺激后 Ca^{2+} 水平迅速达到峰值,然后衰减至持续升高的水平。本研究的数据表明 TLE 患者的 PBMCs 具有较低的 Ca^{2+} 缓冲能力和 Ca^{2+} 动员能力。先前的研究表明,低水平的 ATP 可通过 GluA3 起作用,表明 PBMCs 中的钙紊乱与谷氨酸受体信号有关^[18]。ATP 被认为是细胞的能量供应;然而细胞器损伤也会导致 ATP 释放,并作为一种危险信号;在这种情况下 ATP 水平在细胞质中较高,但在细胞外水平相对较低。因此,新合成的 ATP 被转运出质膜。几项研究表明细胞外 ATP 高水平激活单核细胞并增加细胞毒性^[11, 19]。本研究发

现 TLE 患者单核细胞上 GluA3 表达水平下调,同时细胞内钙储备减少。然而,尚不清楚 GluA3 表达水

平变化能在多大程度上影响单核细胞的钙稳态。

总之,本研究发现与健康对照组比较,TLE 组 PBMCs 上 GluA3 受体表达水平降低。通过神经递质进行免疫调节的领域仍处于起步阶段。PBMCs 是不同细胞类型的混合物例如 T 细胞、B 细胞、NK 细胞和单核细胞,不同细胞类型中 iGluR 亚单位表达的确切模式可能不同,因此谷氨酸对不同细胞群体的作用也不同。本研究的发现为这一神经免疫途径的重要性提供了初步证据。

参 考 文 献

- [1] 刘若婷,张志强,郝竞汝,等. 基于体素形态学和基于球谐函数表面形态学的内侧颞叶癫痫海马结构磁共振成像表现分析[J]. 中华医学杂志, 2021, 101(37): 3024-3028.
- [2] 许超,王娟,刘锋,等. 下调 miR-203 靶向 MEF2C/NF- κB 抑制颞叶癫痫大鼠海马胶质细胞的活化和炎症反应[J]. 中国临床神经外科杂志, 2021, 26(6): 449-454.
- [3] 谢文佳,夏天娇,周卿云,等. 小胶质细胞介导神经元损伤在神经退行性疾病中的作用[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(7): 1109-1115.
- [4] Tan THL, Perucca P, O'Brien TJ, et al. Inflammation, ictogenesis, and epileptogenesis: an exploration through human disease[J]. *Epilepsia*, 2021, 62(2): 303-324.
- [5] Zeisel A, Hochgerner H, Lönnerberg P, et al. Molecular architecture of the mouse nervous system[J]. *Cell*, 2018, 174(4): 999-1014. e22.
- [6] Burkhardt P, Jékely G. Evolution of synapses and neurotransmitter systems: the divide-and-conquer model for early neural cell-type evolution[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2021, 71: 127-138.
- [7] Gu YF, Wu HM, Wang TY, et al. Profiling analysis of circular RNA and mRNA in human temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis ILAE type 1[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2022, 42(8): 2745-2755.
- [8] Liao J, Wang S, Yang H, et al. The mRNA expression levels of GABAA receptor $\alpha 1$ and $\alpha 2$ subunits in patients with major depressive disorder during onset and remission[J]. *Int J Neurosci*, 2022, 132(6): 606-612.
- [9] Tadić V, Adam A, Goldhammer N, et al. Investigation of mitochondrial calcium uniporter role in embryonic and adult motor neurons from G93AhSOD1 mice[J]. *Neurobiol Aging*, 2019, 75: 209-222.
- [10] Vogeler S, Miller-Ezzy P, Li XX, et al. First report of a putative involvement of the NMDA pathway in pacific oyster (*Crassostrea gigas*) development; effect of NMDA receptor ligands on oyster metamorphosis with implications for bivalve hatchery management[J]. *Aquaculture*, 2018, 497: 140-146.
- [11] Levite M, Zelig D, Friedman A, et al. Dual-targeted autoimmune sword in fatal epilepsy: patient's glutamate receptor AMPA GluR3B peptide autoimmune antibodies bind, induce reactive Oxygen species (ROS) in, and kill both human neural cells and T cells[J]. *J Autoimmun*, 2020, 112: 102462.
- [12] Gardoni F, Stanic J, Scheggia D, et al. NMDA and AMPA receptor autoantibodies in brain disorders: from molecular mechanisms to clinical features[J]. *Cells*, 2021, 10(1): 77.

(下转第 72 页)

the miR-4425/MTA3 axis [J]. J Gene Med, 2019, 21 (4): e3074.

[10] Li B, Zhao HK, Song JM, et al. LINC00174 down-regulation decreases chemoresistance to temozolomide in human glioma cells by regulating miR-138-5p/SOX9 axis [J]. Hum Cell, 2020, 33(1): 159-174.

[11] Fan G, Jiao J, Shen F, et al. Long non-coding RNA HCG11 sponging miR-522-3p inhibits the tumorigenesis of non-small cell lung cancer by upregulating SOCS5 [J]. Thoracic Cancer, 2020, 11(10): 2877-2886.

[12] Zhang H, Huang H, Xu X, et al. LncRNA HCG11 promotes proliferation and migration in gastric cancer via targeting miR-1276/CTNNB1 and activating Wnt signaling pathway [J]. Cancer Cell Int, 2019, 19(1): 350-362.

[13] Liu K, Tsung K, Attenello FJ. Characterizing cell stress and GRP78 in glioma to enhance tumor treatment [J]. Front Oncol, 2020, 10(1): 608911-608928.

[14] Yang J, Yu D, Liu X, et al. LINC00641/miR-4262/NRGN axis confines cell proliferation in glioma [J]. Cancer Biol Ther, 2020, 21(8): 758-766.

[15] Liu ZZ, Tian YF, Wu H, et al. LncRNA H19 promotes glioma angiogenesis through miR-138/HIF-1 α /VEGF axis [J]. Neoplasma, 2020, 67(1): 111-118.

[16] Yu MJ, Yi BL, Zhou W, et al. Linc00475 promotes the progression of glioma by regulating the miR-141-3p/YAP1 axis [J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(1): 463-472.

[17] Park JE, Kim HW, Yun SH, et al. Ginsenoside Rh2 upregulates long noncoding RNA STXBP5-AS1 to sponge microRNA-4425 in suppressing breast cancer cell proliferation [J]. J Ginseng Res, 2021, 45(6): 754-762.

[18] Nakae A, Kodama M, Okamoto T, et al. Ubiquitin specific peptidase 32 acts as an oncogene in epithelial ovarian cancer by deubiquitylating farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2021, 552(1): 120-127.

[19] Weng ML, Chen WK, Chen XY, et al. Fasting inhibits aerobic glycolysis and proliferation in colorectal cancer via the Fdft1-mediated AKT/mTOR/HIF1 α pathway suppression [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 1869.

[20] Lu J, Zhou Y, Zheng X, et al. 20(S)-Rg3 upregulates FDFT1 via reducing miR-4425 to inhibit ovarian cancer progression [J]. Arch Biochem Biophys, 2020, 693(1): 108569-108579.

(2023-03-27 收稿)

(上接第 27 页)

[29] 汪文兵. 急性前循环大血管闭塞性卒中患者血管内治疗后早期血脑屏障损伤及其对预后影响的临床研究 [D]. 芜湖: 皖南医学院, 2020.

[30] Thorén M, Azevedo E, Dawson J, et al. Predictors for cerebral edema in acute ischemic stroke treated with intravenous thrombolysis [J]. Stroke, 2017, 48(9): 2464-2471.

[31] Li SP, Bian LG, Fu XY, et al. Gastrodin pretreatment alleviates rat brain injury caused by cerebral ischemic-reperfusion [J]. Brain Res, 2019, 1712: 207-216.

[32] De Meyer SF, Denorme F, Langhauser F, et al. Thromboinflammation in stroke brain damage [J]. Stroke, 2016, 47(4): 1165-1172.

[33] Gautier S, Ouk T, Petrault O, et al. Neutrophils contribute to intracerebral haemorrhages after treatment with recombinant tissue plasminogen activator following cerebral ischaemia [J]. Br J Pharmacol, 2009, 156(4): 673-679.

[34] Petrone AB, Eisenman RD, Steele KN, et al. Temporal dynamics of peripheral neutrophil and lymphocytes following acute ischemic stroke [J]. Neurol Sci, 2019, 40(9): 1877-1885.

(2023-08-11 收稿)

(上接第 47 页)

[13] Schmidt JA, Fensom GK, Rinaldi S, et al. NMR metabolite profiles in male meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans, and comparison with MS metabolite profiles [J]. Metabolites, 2021, 11(2): 121.

[14] Chou TH, Tajima NM, Romero-Hernandez A, et al. Structural basis of functional transitions in mammalian NMDA receptors [J]. Cell, 2020, 182(2): 357-371. e13.

[15] Foo NP, Liu YF, Wu PC, et al. Midazolam's effects on delayed-rectifier K⁺ current and intermediate-conductance Ca²⁺-Activated K⁺ channel in jurkat t-lymphocytes [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(13): 7198.

[16] Minutti-Zanella C, Gil-Leyva EJ, Vergara I. Immunomodulatory properties of molecules from animal venoms [J]. Toxicon, 2021, 191: 54-68.

[17] Eapen AV, Fernández-Fernández D, Georgiou J, et al. Multiple roles of GluN2D-containing NMDA receptors in short-term potentiation and long-term potentiation in mouse hippocampal slices [J]. Neuropharmacology, 2021, 201: 108833.

[18] Peng SX, Pei JW, Rinaldi B, et al. Dysfunction of AMPA receptor GluA3 is associated with aggressive behavior in human [J]. Mol Psychiatry, 2022, 27(10): 4092-4102.

[19] Hafner-Bratkovic I, Pelegrín P. Ion homeostasis and ion channels in NLRP3 inflammasome activation and regulation [J]. Curr Opin Immunol, 2018, 52: 8-17.

(2023-07-08 收稿)