

论著 · 实验研究

MK-801 诱导的精神分裂症大鼠脑组织 PV、GAD67 和 KCC2 的表达变化

刘勇¹ 唐亚梅² 张向晖¹ 赵靖平¹

(中南大学湘雅二医院,1. 精神卫生研究所; 2. 检验科,湖南 长沙 410011)

[摘要] **目的** 通过对地佐环平(MK-801)诱导的精神分裂症(SZ)大鼠脑组织小清蛋白(PV)、谷氨酸脱羧酶 67(GAD67)以及 K⁺-Cl⁻ 协同转运蛋白2(KCC2)表达的比较研究,探讨围产期 NMDA 受体阻断剂致 SZ 的 γ-氨基丁酸(GABA) 机制。**方法** 36 只新生雄性 Sprague-Dawley 大鼠于出生后(postnatal, P) 6 d 随机分为 2 批,每批又随机分为正常对照组、SZ 发育模型组和 SZ 慢性给药模型组。SZ 发育模型组于 P7~10 d 皮下注射 0.1 mg/kg MK-801,每日 2 次;SZ 慢性给药模型组于 P47~60 d 腹腔注射 0.2 mg/kg MK-801,每日 1 次;对照组和各模型组大鼠于相应时段注射 0.9% 的生理盐水。P63 d,第 1 批大鼠断头取脑,多聚甲醛固定后行组织切片,以免疫组化方法检测内侧前额叶皮质(mPFC)和海马 CA1 区 PV 及 GAD67 的表达情况;第 2 批大鼠处死后取 mPFC 和海马组织匀浆,以免疫印记方法检测 mPFC 和海马组织 KCC2 的表达水平。**结果** 两模型组 mPFC 和海马 CA1 区 PV 以及 GAD67 的表达水平显著低于对照组($P<0.05$);SZ 发育模型大鼠 mPFC 和海马 CA1 区的 KCC2 表达水平显著低于慢性给药模型组和对照组($P<0.05$)。**结论** MK-801 诱导的 SZ 发育模型可模拟 SZ 患者大脑 PV 和 GAD67 的表达改变,并可能通过下调 KCC2 的表达影响 mPFC 和海马 GABA 递质系统的发育。

[中国当代儿科杂志,2012,14(11):869-874]

[关键词] 精神分裂症;发育;小清蛋白;谷氨酸脱羧酶 67;K⁺-Cl⁻ 协同转运蛋白;大鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2012)11-0869-06

Changes in expression levels of PV, GAD67 and KCC2 in the brain tissue of rats with schizophrenia induced by MK-801

LIU Yong, TANG Ya-Mei, ZHANG Xiang-Hui, ZHAO Jing-Ping. Institute of Mental Health, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China (Zhao J-P, E-mail: zhaojingpingcsu@163.com)

Abstract: Objective To study changes in the expression levels of parvalbumin (PV), glutamate decarboxylase 67 (GAD67) and K⁺-Cl⁻ cotransporter 2 (KCC2) in the brain tissue of rats with schizophrenia (SZ) induced by dizocilpine (MK-801), and to investigate the mechanism involving gamma-aminobutyric acid (GABA) by which NMDA receptor blocker induces SZ in the perinatal period. **Methods** Thirty-six neonatal male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to two batches on postnatal day 6. Each batch was divided into normal control (treated by 0.9% normal saline), SZ-development model (treated by subcutaneous injection of 0.1 mg/kg MK-801 on postnatal days 7-10; bid), and SZ-chronic medication model groups (treated by intraperitoneal injection of 0.2 mg/kg MK-801 on postnatal days 47-60; qd). On postnatal day 63, the brain tissue of the first batch of rats was obtained and then fixed with paraform for histological sections; expression levels of PV and GAD67 in the medial prefrontal cortex (mPFC) and hippocampus CA1 were measured by immunohistochemistry. Simultaneously, the second batch of rats was sacrificed and the mPFC and hippocampus were obtained and homogenized; expression levels of KCC2 in the mPFC and hippocampus were measured by Western blot. **Results** Expression levels of PV and GAD67 in the mPFC and hippocampus CA1 were significantly lower in the SZ-development and chronic medication model groups than in the normal control group ($P<0.05$). Expression levels of KCC2 in the mPFC and hippocampus were significantly lower in the SZ-development model group than in the SZ-chronic medication model and normal control groups ($P<0.05$). **Conclusions** The expression changes of PV and GAD67 in SZ can be simulated using the SZ development model induced by MK-801, which might affect the development of the GABA system in the PFC and hippocampus by downregulating KCC2 expression.

[Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14(11):869-874]

Key words: Schizophrenia; Development; Parvalbumin; Glutamate decarboxylase 67; K⁺-Cl⁻ cotransporter 2; Rats

[收稿日期]2012-06-27;[修回日期]2012-07-22
[基金项目]国家自然科学基金资助项目(81171268)。
[作者简介]刘勇,男,博士,助理研究员。
[通信作者]赵靖平,教授。

精神分裂症(schizophrenia, SZ)是一种神经发育性疾病,发育早期来自遗传和环境因素的影响可能改变脑神经环路的发育轨迹。围产期子代的感染、创伤、缺氧和中毒等都可能影响中枢神经系统(central nervous system, CNS)的发育进程。N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)受体功能缺陷是SZ谷氨酸假说的核心内容,是SZ的主要致病机制之一。围产期NMDA受体阻断诱导的神经细胞凋亡可致CNS的广泛损害,并引起SZ样病理改变,由此产生的神经精神症状可在儿童期出现,更多的于成年后逐渐显现^[1]。

SZ患者CNS存在NMDA受体介导的兴奋-抑制性失衡, γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是主要的抑制性递质系统。尸检及关联研究均发现SZ患者大脑存在GABA递质系统功能缺陷。小清蛋白(parvalbumin, PV)是一种钙结合蛋白,主要在篮状和树枝状GABA神经元表达,PV阳性GABA神经元的突触抑制功能障碍与SZ患者的阴性症状和认知功能损害密切相关^[2]。SZ患者前额叶皮质背外侧区、海马和杏仁核等脑区PV阳性的GABA神经元密度下降^[3]。谷氨酸脱羧酶67(glutamate decarboxylase 67, GAD67)是GABA合成的关键酶,GAD67阳性神经元的数量、形态及活性可反映大脑GABA递质系统的功能状态。SZ患者前额叶皮质(prefrontal cortex, PFC)区GAD67 mRNA和蛋白的表达水平下降30%~50%,GABA的合成和释放显著减少,导致锥体神经元过度活化并产生兴奋性毒性损伤。 K^+-Cl^- 协同转运蛋白2(K^+-Cl^- cotransporter 2, KCC2)是CNS神经细胞胞浆膜上的一种跨膜转运蛋白,参与维持GABA受体介导的突触抑制功能^[4]。KCC2的表达和功能变化与CNS GABA神经元的发育、分化、迁移以及神经网络的构建密切相关。KCC2功能下调可易化NMDA受体介导的信号转导,调节发育期和神经损伤时的GABA神经环路形成、突触成熟及可塑性^[5]。

围产期NMDA受体阻断诱导的SZ发育动物模型较成年期慢性给药模型有更高的信效度,其神经化学和行为学改变与SZ患者非常相似,相关病理改变也可持久存在,是目前研究SZ神经发育假说和NMDA受体功能缺陷假说最理想的实验动物模型,但该模型动物大脑是否存在显著的GABA递质系统病变尚不明确,相关的研究报道鲜见。PV和GAD67表达下降是SZ患者大脑GABA递质系统病理改变的重要指标,KCC2是GABA递质系统发育过程的重要调控因子,本研究拟通过观察NMDA受

体阻断剂地佐环平(MK-801)诱导的SZ发育模型大鼠脑组织PV、GAD67和KCC2的表达变化,并与SZ慢性给药模型比较,以明确SZ发育大鼠模型GABA递质系统病理改变的结构效度,探讨相关的病理机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠,清洁级,购自中南大学湘雅医学院实验动物学部。出生后随母鼠饲养于动物房内,生后(postnatal, P)20 d断奶并与母鼠分离,6~8只合笼饲养。动物房室温维持在 $22 \pm 1^\circ\text{C}$,采用12 h昼夜节律(8:00~20:00)。所有实验于9:00~17:00点之间完成。整个实验过程中动物自由饮水进食。

1.1.2 实验药品和试剂 MK-801(Sigma公司),注射前溶于0.9%生理盐水配置成相应浓度的溶液。免疫组化抗体及试剂盒:PV、GAD67和KCC2一抗(Milipore公司); β -tubulin一抗(康成生物有限公司);ABC复合物试剂盒(Vector公司);DAB显色试剂盒(Vector公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组和模型制备 36只雄性SD大鼠来自14窝出生不同的仔鼠,仔鼠于P6 d被随机分为2批,每批被随机分为正常对照组、SZ发育模型组和SZ慢性给药模型组,每组6只。MK-801重复处理诱导的SZ发育大鼠模型参照Stefani等^[6]的方法,仔鼠于P7~10 d称重,于P7 d接受0.1 mg/kg MK-801皮下注射,2次/d(9:00~16:00),连续注射4 d,注射时将仔鼠放在预热的加热盘上离笼1 h,以保持仔鼠体温在 37°C 左右,P20 d后6~8只合笼饲养;SZ慢性给药大鼠模型参照Rujescu等^[7]的方法,仔鼠合笼饲养至P46~60 d,每天称重1次,于P47 d接受0.2 mg/kg MK-801腹腔注射,1次/d(9:00),连续注射14 d;为消除注射带来的应激影响,正常对照组和各模型组大鼠于相应时段注射生理盐水。各组于P63 d分批进行PV和GAD67的免疫组化研究以及KCC2的蛋白印记分析。

1.2.2 免疫组织化学检测和结果分析 第一批3组大鼠于P63 d腹腔注射戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,经4%的多聚甲醛灌注固定后,取出大鼠端脑置于4%的多聚甲醛溶液中继续固定4 h,随后转入30%的蔗糖溶液中脱水,OCT包埋,行常规冰冻切片,脑片厚度30 μm ,参考大鼠解剖图谱,留取包含

内侧前额叶皮质(medial prefrontal cortex, mPFC)和海马 CA1 区的脑片,行 Avidin-Biotin peroxidase Complex (ABC) 法组织染色,具体步骤参照 ABC 试剂盒说明书进行。每只大鼠随机选取相应脑区免疫组化脑片各 4 张,使用 Motic 病理图像分析系统分析阳性神经元的平均灰度值。灰度值相对定量反映阳性区域的强弱变化,切片阳性区域的强弱与灰度值成反比,即灰度值越大阳性表达越弱。

1.2.3 蛋白印记分析 第二批 3 组大鼠于 P63 d 断头取脑,于冰盘上分离出 mPFC 和海马,冻存管分装,液氮保存待测。冰上研磨脑组织后加预冷的蛋白裂解液,碾磨至液态,4℃ 下 12000 转离心 30 min,取上清液至另一 EP 管中,按蛋白质定量试剂盒说明进行总蛋白 Bradford 法定量。聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE):标准品上样量为 5 μL,其余每孔上样量为 40 μg;初始电压为 80 V,当电泳至分离胶与堆积胶交界处时,电压改为 100 V,待溴酚蓝指示剂跑到胶的下缘,停止电泳,时间约 120 min。转膜封闭后,经一、二抗孵育、曝光,将胶片进行扫描或拍照,用凝胶图象处理系统分析目标带的净光密度值,内参为 β-tubulin。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件包进行统计学分析,各组数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA),组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 mPFC 区和海马 CA1 区 PV 表达的比较

3 组大鼠 mPFC 和海马 CA1 区的 PV 灰度值总体比较差异有统计学意义(分别 $F = 3.828, P = 0.035$; $F = 3.934, P = 0.030$)。发育模型组 mPFC 和海马 CA1 区的 PV 灰度值均显著高于对照组(分别 $P = 0.042$ 和 0.037);慢性给药模型组 mPFC 和海马 CA1 区的 PV 灰度值亦显著高于对照组(分别 $P = 0.021$ 和 0.035);在 2 个模型组间比较,mPFC 和海马 CA1 区的 PV 灰度值差异无统计学意义(分别 $P = 0.683$ 和 0.652);提示围产期或成年期 MK-801 重复处理均可导致大鼠 mPFC 和海马 CA1 区 PV 表达的下降。见图 1~2。

2.2 各组大鼠 mPFC 区和海马 CA1 区 GAD67 表达的比较

3 组大鼠 mPFC 和海马 CA1 区的 GAD67 灰度值总体比较差异有统计学意义(分别 $F = 3.997, P = 0.028$; $F = 4.767, P = 0.016$)。发育模型组 mPFC 和海马 CA1 区 GAD67 的灰度值均显著高于对照组(分别 $P = 0.039$ 和 0.042);慢性给药模型组 mPFC 和海马 CA1 区 GAD67 的灰度值亦显著高于对照组(分别 $P = 0.020$ 和 0.009);mPFC 和海马 CA1 区 GAD67 的灰度值在 2 个模型组间比较差异无统计学意义(分别 $P = 0.731$ 和 0.471),提示围产期或成年期 MK-801 重复处理均可导致大鼠 mPFC 和海马 CA1 区 GAD67 的表达减少。见图 3~4。

2.3 各组大鼠 mPFC 区和海马 CA1 区 KCC2 表达的比较

3 组大鼠 mPFC 和海马 CA1 区 KCC2 的表达水平总体比较差异有统计学意义(分别 $F = 4.27, P = 0.019$; $F = 3.929, P = 0.030$)。SZ 发育模型组 mPFC 和海马 CA1 区 KCC2 的表达水平显著低于对照组(分别 $P = 0.034$ 和 0.016);慢性给药模型组 mPFC 和海马 CA1 区 KCC2 的表达水平与发育模型组比较显著升高(分别 $P = 0.022$ 和 0.037),但与对照组比较差异无统计学意义(分别 $P = 0.790$ 和 0.675),提示围产期 MK-801 重复处理可导致大鼠成年后 mPFC 和海马 CA1 区 KCC2 的表达减少。见图 5。

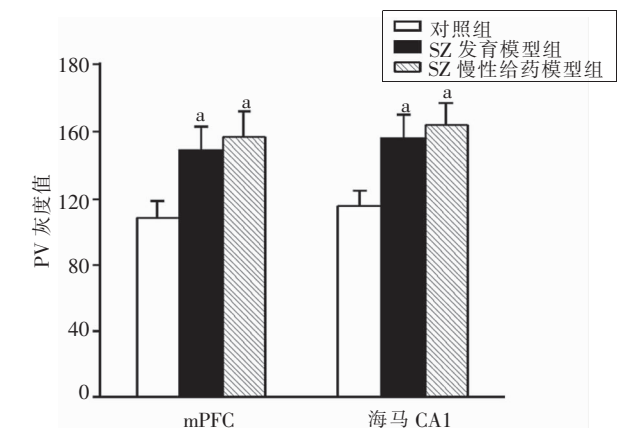


图 1 各组大鼠 mPFC 和海马 CA1 区 PV 的表达比较 ($n = 6$) a:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

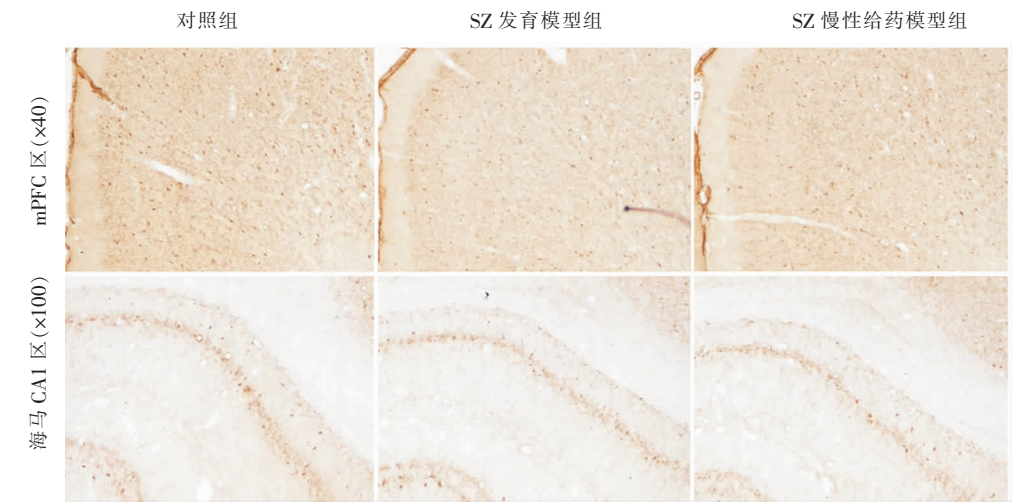


图2 各组大鼠 mPFC 区和海马 CA1 区 PV 表达变化的免疫组化结果(ABC 染色) SZ 发育模型组和 SZ 慢性给药模型组大鼠 mPFC 区及海马 CA1 区 PV 阳性表达较对照组显著减少。棕褐色颗粒为 PV 阳性表达。

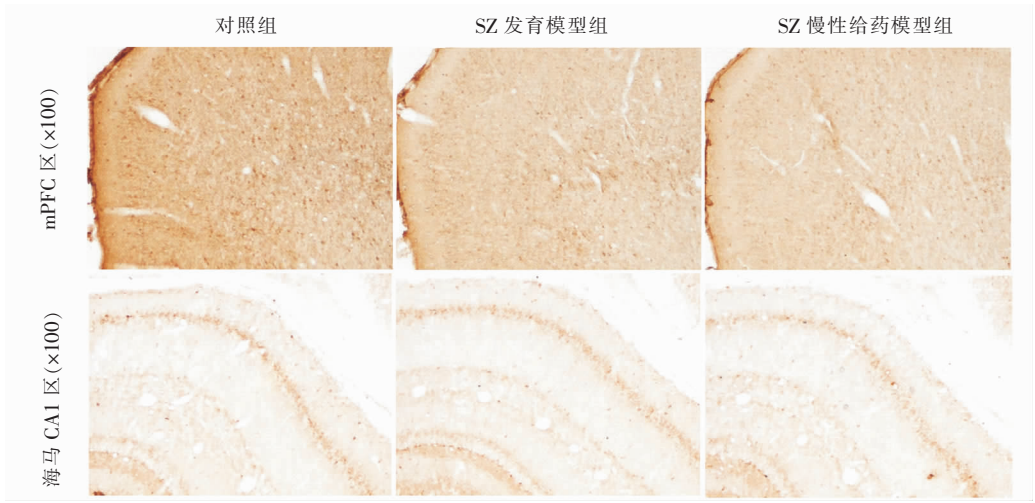


图3 各组大鼠 mPFC 区和海马 CA1 区 GAD67 表达变化的免疫组化结果(ABC 染色) SZ 发育模型组和 SZ 慢性给药模型组大鼠 mPFC 区及海马 CA1 区 GAD67 阳性表达较对照组显著减少。棕褐色颗粒为 GAD67 阳性表达。

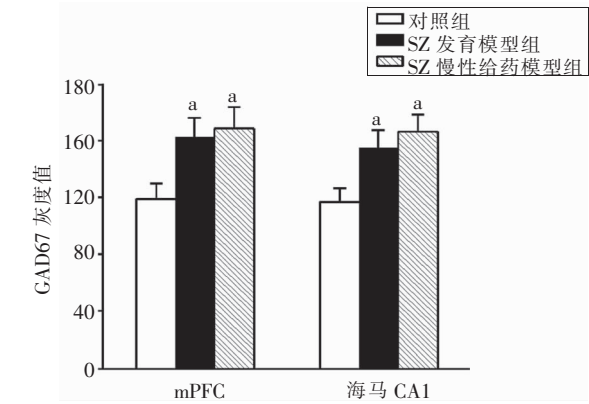


图4 各组大鼠 mPFC 和海马 CA1 区 GAD67 的表达比较($n=6$) a:与对照组比较, $P<0.05$ 。

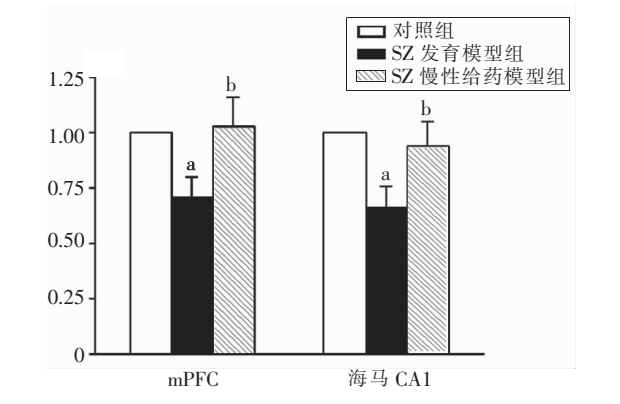


图5 各组大鼠 mPFC 和海马 CA1 区 KCC2 的表达比较($n=6$) a:与对照组比较, $P<0.05$;b:与 SZ 发育模型组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

SZ 是一种发育性疾病,发育早期遗传和环境因素改变可能导致脑神经环路发育异常,包括脑结构改变和神经细胞形态学的异常^[8]。SZ 神经发育假说的理论依据源自儿童 SZ 表现出更为明显的神经发育障碍。儿童期脑发育过程中较少存在成人的心理社会应激影响,因此遗传因素对脑发育的影响比重较大,而且儿童 SZ 的围产期风险频率显著高于成人^[9]。SZ 是一种多基因疾病,儿童 SZ 患者的临床表现也反映出遗传或围产期风险因素(如母体感染和毒物影响等)对神经发育的影响。儿童 SZ 与成人 SZ 症状不完全相同,因为儿童的大脑正处于发育期,认知功能不够完善,故其临床表现不像成人那样复杂多样,因年龄生理心理的不同,无论在思维、情感还是意志行为等方面均有差别。儿童 SZ 的症状有时并不十分明显和典型。因此 SZ 神经发育假说实际上体现了儿童 SZ 的临床和生物学基本特征。动物实验研究显示,大鼠发育早期接受 NMDA 受体阻断剂重复处理可致成年后大脑皮层结构改变以及神经化学和行为学异常,行为异常主要包括自发活动过度、刻板行为、社会交往和认知功能损害等^[10-11],这些行为表现与大脑神经生物学和神经化学改变密切相关。本课题组先前的行为学研究结果显示,SZ 发育模型大鼠自发活动无显著改变,SZ 慢性给药模型大鼠自发活动显著增加,两组模型大鼠的社会交往和学习记忆功能受损^[12]。

PV 阳性的 GABA 神经元占皮层 GABA 神经元总数的 25% 左右,主要包括篮状细胞和树枝状细胞,二者在皮层网络振荡和工作记忆活动中发挥重要作用。SZ 患者尸检研究显示,PFC 和海马等多个脑区存在 PV 阳性的 GABA 神经元密度下降及 GABA 受体上调,提示 SZ 患者大脑 GABA 传递异常^[13]。NMDA 受体阻断剂重复处理青春期和成年期啮齿类动物可致海马、PFC、背侧丘脑和丘脑网状核等脑区 PV 阳性 GABA 神经元明显丢失^[14]。PV 阳性 GABA 神经元发育的关键时期阻断突触膜 NMDA 受体将导致大脑 GABA 递质系统出现持久的功能缺陷。研究显示,产前 MK-801 重复处理孕鼠可致仔鼠成年后 mPFC 和纹状体 PV 阳性 GABA 神经元密度显著减少,可能与 NMDA 受体阻断扰乱 PV 阳性 GABA 神经元的成熟和迁移有关^[15]。

GAD67 是 GABA 合成的限速酶,在脑组织中的分布与 GABA 神经元基本一致,因此被视为 GABA

神经元的直接标记物^[3]。SZ 患者尸检和功能成像等研究发现大脑 GABA 递质系统存在异常。尸检研究显示,SZ 患者 PFC 和纹状体等脑区 GAD67 mRNA 及蛋白的表达水平显著下降^[16]。SZ 动物模型研究发现,NMDA 受体阻断剂重复处理可诱导成年大鼠海马等多个脑区 GAD67 表达下降^[17]。GAD67 表达下降可导致 GABA 合成和释放减少,对谷氨酸神经元的抑制作用减弱。PV 阳性 GABA 神经元的 PV 和 GAD67 表达对锥体神经元功能活动的稳态维持非常重要,PV 和 GAD67 的表达下降均可导致 GABA 神经元靶向锥体神经元的抑制性输出减少,由此引起的兴奋-抑制性平衡失调将导致锥体神经元过度活化,并触发一系列的病理生理反应。PV 阳性 GABA 神经元 GAD67 的表达异常能部分解释 SZ 的相关病理机制,但相关的动物模型研究多集中于成年动物,而发育期的 SZ 动物模型研究鲜有报道。

本研究发现,两模型组 mPFC 和海马 CA1 区 PV 及 GAD67 的表达较对照组均明显减少,表明围产期或成年期 MK-801 重复处理均可诱导大鼠 mPFC 和海马 CA1 区 PV 及 GAD67 表达的 SZ 样改变;模型组间比较未见 PV 和 GAD67 表达的显著差异,说明两种不同的 MK-801 处理方式对大鼠 mPFC 和海马 CA1 区 PV 及 GAD67 表达的影响相似。所以围产期 MK-801 重复处理可模拟 SZ 患者 PV 和/或 GAD67 阳性神经元的病理改变,适用于 SZ 的发育病理学机制研究。

KCC2 决定神经发育早期 GABA 反应的差异性,其表达成熟是 GABA 突触成熟的驱动力。出生后第 2 周阻断 KCC2 可延迟大鼠海马神经元 GABA 兴奋-抑制性转换并致 GABA 突触成熟受阻,进而引起 GABA 神经环路发育缺陷^[18]。因此,GABA 神经元的发育、分化、神经网络构建与 KCC2 的表达和功能变化密切相关。KCC2 功能下调可易化 NMDA 受体介导的信号转导,调节发育期和神经损伤时 GABA 神经环路的形成、突触成熟以及突触可塑性。有研究报道 NMDA 受体阻断可致培养的海马神经元 KCC2 表达下调,一些麻醉剂诱导的记忆损害与 KCC2 的表达下调有关^[19]。MK-801 作为一种分离性麻醉剂,对活体动物脑组织 KCC2 表达是否存在影响未见相关的文献报道。

本研究结果显示,SZ 发育模型组大鼠 mPFC 和海马的 KCC2 表达较对照组和 SZ 慢性给药模型组均显著减少,而 SZ 慢性给药模型组与对照组比较未见上述脑区 KCC2 表达的显著性差异。已经明确围

产期 NMDA 受体阻断剂如 PCP 或 MK-801 处理可诱导啮齿类动物脑细胞大量凋亡和神经退行性变^[20]。大脑发育期机体代偿机制不全,此时 NMDA 受体阻断剂处理可能导致大脑 GABA 递质系统和 KCC2 介导的 Cl^- 转运系统出现持久广泛的不可逆损害,导致成年后 KCC2 的表达下调。成年大鼠 NMDA 受体阻断剂处理主要通过兴奋性毒性机制损伤大脑神经元,但成年期大脑神经细胞的代偿机制健全,本实验所用 MK-801 剂量又较低,可能不足以诱导 KCC2 的表达改变,相关的机制仍有待进一步的深入研究。总之,围产期或成年期 MK-801 重复处理均可部分模拟 SZ 的 GABA 系统病理改变;围产期 MK-801 重复处理可导致模型大鼠成年后 mPFC 和海马的 KCC2 表达减少,KCC2 可能与 SZ 的发育病理机制相关。

[参 考 文 献]

- [1] Mouri A, Noda Y, Enomoto T, Nabeshima T. Phencyclidine animal models of schizophrenia: approaches from abnormality of glutamatergic neurotransmission and neurodevelopment[J]. *Neurochem Int*, 2007, 51(2-4): 173-184.
- [2] Light GA, Hsu JL, Hsieh MH, Meyer-Gomes K, Sprock J, Swerdlow NR, et al. Gamma band oscillations reveal neural network cortical coherence dysfunction in schizophrenia patients[J]. *Biol Psychiatry*, 2006, 60(11): 1231-1240.
- [3] Zhang ZJ, Reynolds GP. A selective decrease in the relative density of parvalbumin immunoreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia[J]. *Schizophr Res*, 2002, 55(1-2): 1-10.
- [4] Lee HH, Deeb TZ, Walker JA, Davies PA, Moss SJ. NMDA receptor activity downregulates KCC2 resulting in depolarizing GABA_A receptor-mediated currents[J]. *Nat Neurosci*, 2011, 14(6): 736-743.
- [5] Pellegrino C, Gubkina O, Schaefer M, Becq H, Ludwig A, Mukhtarov M, et al. Knocking down of the KCC2 in rat hippocampal neurons increases intracellular chloride concentration and compromises neuronal survival[J]. *J Physiol*, 2011, 589(Pt 10): 2475-2496.
- [6] Stefani MR, Moghaddam B. Transient N-methyl-D-aspartate receptor blockade in early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia[J]. *Biol Psychiatry*, 2005, 57(4): 433-436.
- [7] Rujescu D, Bender A, Keck M, Hartmann AM, Ohl F, Raeder H, et al. A pharmacological model for psychosis based on N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction: molecular, cellular, functional and behavioral abnormalities[J]. *Biol Psychiatry*, 2006, 59(8): 721-729.
- [8] 尚云,刘玲,曹坤峰,王多德,王薇,许浩. 宫内感染对早产新生大鼠脑发育的影响[J]. *中国当代儿科杂志*, 2010, 12(7): 569-572.
- [9] Hagberg H, Gressens P, Mallard C. Inflammation during fetal and neonatal life: implications for neurologic and neuropsychiatric disease in children and adults[J]. *Ann Neurol*, 2012, 71(4): 444-457.
- [10] 齐志业,贺湘英,李琪,莫亚雄,梁琨. 新生小鼠兴奋毒性脑损伤的神经行为功能研究[J]. *中国当代儿科杂志*, 2009, 11(3): 191-193.
- [11] Wedzony K, Fijał K, Mackowiak M, Chocyk A, Zajackowski W. Impact of postnatal blockade of N-methyl-D-aspartate receptors on rat behavior: a search for a new developmental model of schizophrenia[J]. *Neuroscience*, 2008, 153(4): 1370-1379.
- [12] 刘勇,唐亚梅,蒲唯丹,张向晖,赵靖平. MK-801 诱导的精神分裂症发育模型大鼠脑组织 DA、DOPAC、Glu 和 GABA 浓度的变化[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2011, 36(8): 712-719.
- [13] Reynolds GP, Abdul-Monim Z, Neill JC, Zhang ZJ. Calcium binding protein markers of GABA deficits in schizophrenia—post-mortem studies and animal models[J]. *Neurotox Res*, 2004, 6(1): 57-61.
- [14] Romón T, Mengod G, Adell A. Expression of parvalbumin and glutamic acid decarboxylase-67 after acute administration of MK-801. Implications for the NMDA hypofunction model of schizophrenia[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2011, 217(2): 231-238.
- [15] Abekawa T, Ito K, Nakagawa S, Koyama T. Prenatal exposure to an NMDA receptor antagonist, MK-801 reduces density of parvalbumin-immunoreactive GABAergic neurons in the medial prefrontal cortex and enhances phencyclidine-induced hyperlocomotion but not behavioral sensitization to methamphetamine in postpubertal rats[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2007, 192(3): 303-316.
- [16] Woo TU, Walsh JP, Benes FM. Density of glutamic acid decarboxylase 67 messenger RNA-containing neurons that express the N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A in the anterior cingulate cortex in schizophrenia and bipolar disorder[J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2004, 61(7): 649-657.
- [17] Paulson L, Martin P, Persson A, Nilsson CL, Ljung E, Westman-Brinkmalm A, et al. Comparative genome- and proteome analysis of cerebral cortex from MK-801-treated rats[J]. *J Neurosci Res*, 2003, 71(4): 526-533.
- [18] Rivera C, Voipio J, Payne JA, Ruusuvoori E, Lahtinen H, Lamsa K, et al. The K^+/Cl^- co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation [J]. *Nature*, 1999, 397(6716): 251-255.
- [19] Rivera C, Voipio J, Kaila K. Two developmental switches in GABAergic signalling: the K^+/Cl^- cotransporter KCC2 and carbonic anhydrase CAVII[J]. *J Physiol*, 2005, 562(Pt 1): 27-36.
- [20] du Bois TM, Huang XF. Early brain development disruption from NMDA receptor hypofunction: relevance to schizophrenia [J]. *Brain Res Rev*, 2007, 53(2): 260-270.

(本文编辑:万静)