

· 实验研究 ·

新生大鼠反复惊厥对脑内 γ -氨基丁酸 A 受体 $\alpha 1$ 和 $\beta 2$ 亚单位表达的短期影响

薄涛,王团美,朱晓华,里健,李杏芳,陈勇,毛定安

(中南大学湘雅二医院儿科,湖南 长沙 410011)

[摘要] 目的 γ -氨基丁酸 A 受体(GABA_AR)作为脑内最重要的抑制性受体在脑功能中起重要作用。该实验通过研究新生期反复惊厥对大鼠脑内 GABA_AR $\alpha 1$ 和 $\beta 2$ 亚单位表达的短期影响,探讨其与发育中脑损伤的关系。**方法** 生后 7 d 的 Sprague-Dawley 大鼠随机分成两组,每组 32 只,惊厥组每日吸入三氟乙醚诱导惊厥发作 1 次,每次持续 30 min,连续 6 d;对照组同样操作但不吸入三氟乙醚。分别于反复惊厥后 1 d 和 7 d 每组各处死 16 只大鼠,每个时间点分别采用免疫组化方法和 Western blot 方法观察大鼠大脑皮层及海马 GABA_AR $\alpha 1$ 和 $\beta 2$ 亚单位表达的变化。**结果** 反复惊厥后 1 d 时,在惊厥组大鼠顶叶及海马齿状核、CA3 和 CA4 区 GABA_AR $\alpha 1$ 亚单位免疫化学累积光密度(AOD)较对照组明显增高($P < 0.05$),反复惊厥后 7 d 时,在惊厥组大鼠顶叶及海马齿状核、CA1 至 CA4 区 GABA_AR $\alpha 1$ 亚单位免疫化学 AOD 较对照组明显增高($P < 0.05$),反复惊厥后 1 d 和 7 d 时,在惊厥组大鼠大脑皮层和海马区 GABA_AR $\alpha 1$ 亚单位蛋白表达均明显高于对照组($P < 0.01$)。反复惊厥后 7 d 时,在惊厥组大鼠海马 CA1、CA2 区 GABA_AR $\beta 2$ 亚单位免疫化学 AOD 明显高于对照组($P < 0.05$),在丘脑区明显低于对照组($P < 0.05$),惊厥组大鼠海马区 GABA_AR $\beta 2$ 亚单位蛋白表达明显高于对照组($P < 0.05$)。**结论** 新生大鼠反复惊厥造成脑内 GABA_AR $\alpha 1$ 和 $\beta 2$ 亚单位表达的短期改变,这种改变可能参与发育期惊厥性脑损伤。

[中国当代儿科杂志,2008,10(3):371-375]

[关键词] 惊厥;受体; γ -氨基丁酸;大鼠,新生

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2008)03-0371-05

Short-term effects of recurrent neonatal seizures on γ -aminobutyric acid A receptor $\alpha 1$ and $\beta 2$ subunit expression in the rat brain

BO Tao, WANG Tuan-Mei, ZHU Xiao-Hua, LI Jian, LI Xing-Fang, CHEN Yong, MAO Ding-An. Department of Pediatrics, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China (Email: boily@yeah.net)

Abstract: Objective To investigate the short-term effects of flurothyl-induced neonatal recurrent seizures on γ -aminobutyric acid A receptor (GABA_AR) $\alpha 1$ and $\beta 2$ subunit expression in the rat brain, and to study the relationship between the alterations of GABA_AR subunits in the developing brain and seizure-induced brain injury. **Methods** Sixty-four 7-day-old Sprague-Dawley rats were randomly divided into two groups; control and seizure. Seizures were induced by inhalant flurothyl daily for six consecutive days. The expression of GABA_AR $\alpha 1$ and $\beta 2$ subunits protein in the cerebral cortex and the hippocampus were detected by Western blot and immunohistochemistry method 1 and 7 days after recurrent seizures. **Results** Compared to the control, the accumulated optical density (AOD) of GABA_AR $\alpha 1$ subunit immunoreactivity (IR) in the parietal cortex, the CA3-CA4 regions and the dentate gyrus in seizure rats increased significantly 1 day after recurrent seizures ($P < 0.05$). The AOD of GABA_AR $\alpha 1$ subunit IR in the parietal cortex, the CA1-CA4 regions and the dentate gyrus in seizure rats increased significantly 7 days after recurrent seizures compared with the control ($P < 0.05$). The expression of GABA_AR $\alpha 1$ subunit in the hippocampus and the cerebral cortex increased significantly in seizure rats compared with that in control rats 1 and 7 days after recurrent seizures. After 7 days of recurrent seizures, the AOD of GABA_AR $\beta 2$ subunit IR in the CA1-CA2 regions increased significantly in the seizure group compared with that in the control group ($P < 0.05$), but the AOD of GABA_AR $\beta 2$ subunit IR in the thalamus decreased significantly in the seizure group compared with that in the control group ($P < 0.05$). The expression of GABA_AR $\beta 2$ subunit protein in the hippocampus increased significantly in the seizure group compared with that in the control group 7 days after recurrent seizures ($P < 0.05$). **Conclusions** Recurrent neonatal seizures may result in the short-term

[收稿日期]2007-09-27;[修回日期]2008-01-25
[基金项目]国家自然科学基金青年科学基金资助项目(项目批准号 30400483)。
[作者简介]薄涛,男,博士,副教授。主攻方向:发育中脑损伤。

alterations of GABA_A R α 1 and β 2 subunits expression in the cerebral cortex and the hippocampus in rats, suggesting the alterations of GABA_A R subunit expression may be related to the developing brain injury following recurrent seizures.

[Chin J Contemp Pediatr, 2008, 10 (3):371-375]

Key words: Seizure; Receptor, γ -aminobutyric acid; Neonatal rats

发育期常见的病理因素如缺氧缺血、惊厥造成发育中的脑不同程度的损伤。现今认为发育中脑损伤属于兴奋毒性损伤,而在脑中存在有兴奋性和抑制性两种系统,正常情况下这两种系统保持平衡,当这种平衡被破坏后,将导致脑功能的紊乱。发育中脑损伤后脑内抑制性系统是否也产生变化,是否脑内抑制性系统的改变也参与到继发脑损伤的过程中,现在尚缺乏相关研究。

γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)作为一种重要的抑制性神经递质,与相应的 GABA 受体结合而发挥抑制和调节作用。GABA_A 受体(GABA_A R)作为脑内最重要的抑制性受体,它诱导产生的抑制性突触后电位强烈抑制神经元兴奋性,快速中断兴奋性传入,增强兴奋性突触传递的精确性^[1]。GABA_A R 是由 2 个 α 、2 个 β 与 1 个 γ 2 组成五聚体大分子,在成熟脑中 GABA_A R α 1 与 β 2 亚单位的组合在脑内广泛表达,是数量最多的 GABA_A R 亚型之一。它们同时又是 GABA_A R 的重要功能基团, α 1 亚单位在 GABA_A R 分子的中心部位形成门控氯离子通道,影响 GABA_A R 功能,而且 α 1 和 β 2 亚单位存在抗惊厥药物的结合位点,有重要的临床意义。本研究使用化学致惊剂三氟乙醚制作新生大鼠反复惊厥模型,研究新生期反复惊厥对大鼠脑内 GABA_A R α 1 和 β 2 亚单位表达影响。

1 材料和方法

1.1 三氟乙醚致新生大鼠反复惊厥模型的制作

生后 7 d 的 Sprague-Dawley 仔鼠 64 只(中南大学湘雅二医院实验动物中心提供)被随机分入惊厥组和对照组,每组 32 只。将惊厥组仔鼠置于 40 cm $\times$ 20 cm $\times$ 20 cm 的实验舱中,通过舱顶的注射孔滴入 0.1 mL 三氟乙醚(Aldrich 公司,USA)^[2],封闭实验舱,从仔鼠出现惊厥开始记时,30 min 后取出仔鼠,观察仔鼠 4 h。仔鼠每天诱导惊厥 1 次,连续 6 d。对照组同样操作但不吸入三氟乙醚。分别于诱导反复惊厥后 1 d 和 7 d 每组随机处死一半大鼠,每个时间点处死大鼠随机等分成两部分,分别用于免疫组织化学染色和 western blot 试验。

1.2 GABA_A R α 1 和 β 2 亚单位免疫组织化学染色

和半定量检测分析

取大鼠双侧大脑半球制作石蜡切片。用 3% 过氧化氢灭活内源性过氧化物酶,正常山羊血清封闭 1 h,滴加兔抗大鼠 GABA_A R α 1 或 β 2 亚单位的多克隆抗体(CHEMICON 公司 USA, α 1 亚单位抗体稀释比例为 1:400, β 2 亚单位抗体稀释比例为 1:100),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,应用 ABC 法免疫组织化学试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司)进行免疫组织化学染色,具体过程见说明书。选取切片中额叶、顶叶及海马区,GABA_A R β 2 亚单位同时选取丘脑区,以 $\times$ 400 倍随机分别留取 2 个视野,应用 Imagine-Pro 5.0 图像处理软件(Media Cybernetic Inc. USA),计算累积光密度值(AOD),代表相关亚单位蛋白在相关区域表达水平。

1.3 神经细胞膜的制备

大鼠断头处死后,分离大脑皮层和海马,加入 10 倍体积的匀浆缓冲液匀浆后,1 000 r/min 离心 20 min,弃除沉淀,上清液用 12 000 r/min 再次离心 20 min,用 1 mL 匀浆缓冲液重悬沉淀,以上操作均在 4 $^{\circ}$ C 进行。应用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度后,-20 $^{\circ}$ C 保存待用作神经细胞膜的制备^[3]。

1.4 GABA_A R α 1 和 β 2 受体亚单位 Western blot 分析

蛋白标本加入等体积的加样缓冲液[125 mmol/L-1, Tris-HCl (pH 6.8), 20% (v/v) 甘油, 0.002% (v/v) 溴酚蓝, 10% (v/v) β -巯基乙醇和 4% (v/v) 十二烷基磺酸钠(SDS)]在 7% (w/v) SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,每条泳道蛋白上样量 50 μ g,每次电泳包括两组所有个体的皮层或海马的蛋白标本。电泳结束后,用半干法电转蛋白至硝酸纤维素(NC)膜上。转移后的 NC 膜用 5% (w/v)脱脂奶粉封闭 1 h,加入一抗[CHEMICON 公司 USA,兔抗大鼠 GABA_A R α 1(1:1 000)、兔抗大鼠 GABA_A R β 2(1:500)],4 $^{\circ}$ C 过夜。用 TTBS 洗膜,加入辣根过氧化物酶标记的相应二抗(山羊抗兔 IgG, 1:2500,北京中杉金桥生物技术有限公司),室温孵育 1 h,TTBS 充分洗膜,通过 DAB 显色法,显示目的条带^[3]。应用 Imagine-Pro 5.0 图像处理软件(Media Cybernetic Inc. USA),计算累积光密度值代表目的蛋白在皮层或海马区表达水平。

1.5 统计学分析

所有数据采用 SPSS13.0 统计软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差齐性检验应用 Levene's test,两组间均数差异性比较采用 independent-samples T test。

2 结果

2.1 三氟乙醚诱导惊厥大鼠的行为特点

实验组大鼠吸入三氟乙醚后 1~2 min,出现烦躁不安、摇头尖叫,继之强直阵挛发作,每次发作持续 5~8 min,间歇 3~5 min,惊厥间歇期意识不恢复。脱离实验舱大鼠处于嗜睡状态,30 min 左右恢复正常活动。各组大鼠无自发性惊厥发作。

表 1 新生大鼠反复惊厥后 1 d 脑内 GABA _A R α1 亚单位免疫化学累积光密度的变化 (n = 16)							
组别	额叶	顶叶	齿状核	CA1	CA2	CA3	CA4
对照组	77546 ± 17661	18627 ± 7138	25864 ± 13651	26537 ± 12822	29111 ± 13799	22768 ± 11053	21209 ± 12152
惊厥组	62219 ± 24235	28298 ± 14055	57557 ± 23515	35307 ± 11111	34439 ± 18438	35537 ± 14879	41648 ± 20351
<i>t</i> 值	2.044	2.454	3.227	1.894	0.878	2.577	3.449
<i>P</i> 值	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

表 2 新生大鼠反复惊厥后 7 d 脑内 GABA _A R α1 亚单位免疫化学累积光密度的变化 (n = 16)							
组别	额叶	顶叶	齿状核	CA1	CA2	CA3	CA4
对照组	40032 ± 17167	22663 ± 10323	34881 ± 15400	19029 ± 8605	17472 ± 7782	16076 ± 4586	28684 ± 12466
惊厥组	36293 ± 15136	61061 ± 18101	92230 ± 20472	48350 ± 11390	59606 ± 17209	57045 ± 22311	87239 ± 38203
<i>t</i> 值	0.519	7.371	8.955	8.216	8.924	7.195	5.828
<i>P</i> 值	>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表 3 新生大鼠反复惊厥后 1 d 脑内 GABA _A R α1 和 β2 亚单位蛋白表达累积光密度变化 (n = 8)				
	皮层		海马	
	α1	β2	α1	β2
对照组	62 ± 11	604 ± 207	73 ± 12	27 ± 12
惊厥组	531 ± 57	646 ± 225	654 ± 91	49 ± 15
<i>t</i> 值	8.314	0.390	6.307	1.178
<i>P</i> 值	<0.01	>0.05	<0.01	>0.05

表 4 新生大鼠反复惊厥后 7 d 脑内 GABA _A R α1 和 β2 亚单位蛋白表达累积光密度变化 (n = 8)				
	皮层		海马	
	α1	β2	α1	β2
对照组	344 ± 86	564 ± 186	163 ± 45	39 ± 15
惊厥组	875 ± 145	630 ± 265	936 ± 186	2744 ± 1175
<i>t</i> 值	3.148	0.580	4.038	3.535
<i>P</i> 值	<0.01	>0.05	<0.01	<0.01

2.3 新生大鼠反复惊厥对脑内 GABA_AR β2 亚单位表达的影响

正常对照组中,GABA_AR β2 亚单位在大脑皮层

2.2 新生大鼠反复惊厥对脑内 GABA_AR α1 亚单位表达的影响

在正常对照组中,GABA_AR α1 亚单位主要分布在大鼠大脑皮层的外颗粒层及海马区神经细胞胞体的细胞膜上。反复惊厥后 1 d 时,惊厥组大鼠 GABA_AR α1 亚单位免疫化学累积光密度值(AOD)在顶叶及海马齿状核、CA3 和 CA4 区较对照组明显增高(*P* < 0.05),反复惊厥后 7 d 时,惊厥组大鼠 GABA_AR α1 亚单位免疫化学 AOD 在顶叶及海马齿状核、CA1~CA4 区均较对照组明显增高(*P* < 0.05)(表 1,2;图 1,2)。Western blot 显示反复惊厥后 1 d 和 7 d 时,惊厥组大鼠中 GABA_AR α1 亚单位蛋白表达在大脑皮层和海马区均明显高于对照组(*P* < 0.01)(表 3,4)。

和海马区细胞表达较少,而在丘脑表达较高。反复惊厥后 1 d 时,在两组大鼠脑内 GABA_AR β2 亚单位主要表达在神经细胞胞体的细胞膜上,两组之间在海马、额叶、顶叶及丘脑区的 GABA_AR β2 亚单位免疫化学 AOD 差异无显著性(*P* > 0.05);反复惊厥后 7 d 时,两组大鼠脑内 GABA_AR β2 亚单位主要表达在神经细胞突起,呈现纤维状,在惊厥组大鼠海马 CA1,CA2 区 GABA_AR β2 亚单位免疫化学 AOD 明显高于对照组(*P* < 0.05),在丘脑区明显低于对照组(*P* < 0.05)(表 5,6;图 3,4)。Western blot 显示反复惊厥后 1 d 时,两组大鼠脑内皮层和海马区 GABA_AR β2 亚单位蛋白表达差异无显著性(*P* > 0.05);反复惊厥后 7 d 时,两组大鼠脑内皮层 GABA_AR β2 亚单位蛋白表达差异无显著性(*P* > 0.05),惊厥组大鼠海马区 GABA_AR β2 亚单位蛋白表达明显高于对照组(*P* < 0.05),(表 3,4)。

表 5 新生大鼠反复惊厥后 1 d 脑内 GABA_AR β2 亚单位免疫化学累积光密度的变化 (n = 16, $\bar{x} \pm s$)

组别	丘脑	额叶	顶叶	齿状核	CA1	CA2	CA3	CA4
对照组	1061 ± 393	543 ± 188	499 ± 193	462 ± 225	226 ± 135	183 ± 88	121 ± 49	226 ± 113
惊厥组	1046 ± 336	574 ± 217	531 ± 219	411 ± 248	187 ± 90	174 ± 73	141 ± 49	222 ± 92
t 值	0. 113	0. 439	0. 432	0. 613	0. 976	0. 325	1. 184	0. 100
P 值	>0. 05	>0. 05	>0. 05	>0. 05	>0. 05	>0. 05	>0. 05	>0. 05

表 6 新生大鼠反复惊厥后 7 d 脑内 GABA_AR β2 亚单位免疫化学累积光密度的变化 (n = 16, $\bar{x} \pm s$)

组别	丘脑	额叶	顶叶	齿状核	CA1	CA2	CA3	CA4
对照组	141099 ± 27335	13225 ± 8091	66634 ± 16188	4332 ± 2753	7342 ± 2194	6316 ± 2310	5025 ± 2690	5972 ± 3204
惊厥组	111009 ± 46128	14023 ± 8103	55135 ± 23078	2799 ± 1501	38009 ± 21091	24116 ± 15188	6774 ± 2174	7216 ± 4097
t 值	2. 245	0. 279	1. 632	1. 647	5. 785	4. 623	2. 031	2. 279
P 值	<0. 05	>0. 05	>0. 05	>0. 05	<0. 01	<0. 01	>0. 05	<0. 05

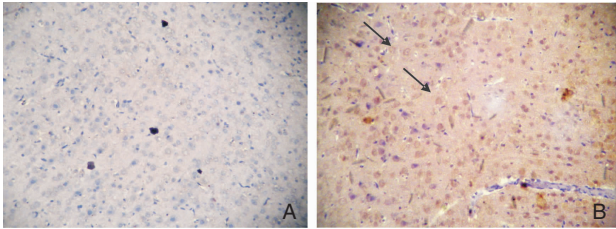


图 1 新生大鼠反复惊厥后 1 d 顶叶 GABA_AR α1 蛋白表达的变化 (DAB 染色 ×100) GABA_AR α1 蛋白表达在胞体细胞膜,箭头所示为阳性细胞。A:对照组; B:惊厥组:惊厥组阳性细胞数目较对照组多,强度较对照组强

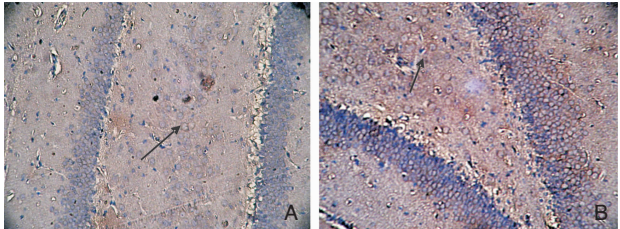


图 2 新生大鼠反复惊厥后 7 d 海马 DG-CA4 区 GABA_AR α1 蛋白表达的改变 (DAB 染色 × 100) GABA_AR α1 蛋白表达在胞体细胞膜,箭头所示为阳性细胞。A:对照组; B:惊厥组 惊厥组阳性细胞染色强度强于对照组

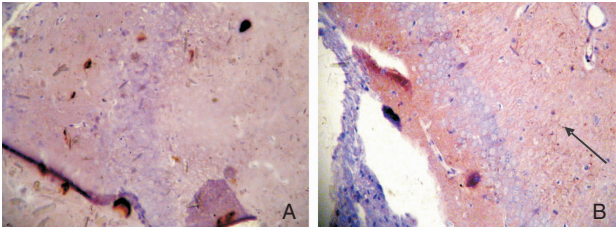


图 3 新生大鼠反复惊厥后 7 d 海马 CA1-2 区 GABA_AR β2 蛋白表达的改变 (DAB 染色 × 100) GABA_AR β2 蛋白表达在神经突起,箭头所示为阳性纤维。A:对照组; B:惊厥组:惊厥组阳性染色强度强于对照组

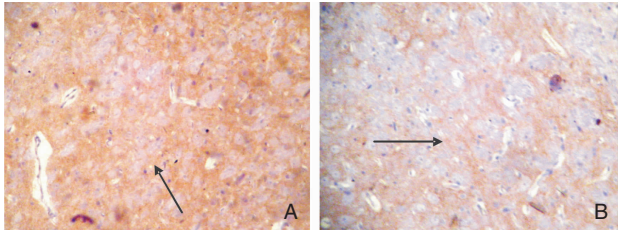


图 4 新生大鼠反复惊厥后 7 d 海马丘脑区 GABA_AR β2 蛋白表达的改变 (DAB 染色 ×200) GABA_AR β2 蛋白表达在神经突起,箭头所示为阳性纤维。A:对照组; B:惊厥组:惊厥组阳性细胞数量和强度弱于对照组

3 讨论

兴奋和抑制之间平衡对于维持神经元的正常功能是重要的,相关试验已证实在脑内 GABA 能系统是神经元活动同步化的基础,当脑中 GABA_AR 作用受到抑制时,可激活兴奋性反馈环路,产生神经元反复群集性放电,从而诱发惊厥^[4,5]。临床研究发现 GABA_AR 亚单位表达异常,将诱导癫痫性惊厥发生。编码 GABA_AR α1 亚单位的基因内发生 A322D 突变后,脑内 GABA_AR 数目减少,引起青少年肌强直性癫痫^[6]。通过基因敲除技术抑制 α1 或 β2 亚单位表达时,GABA_AR 表达数量明显减少,同时对 GABA 的亲合力明显下降,对惊厥易感性增加^[7,8]。因此,

GABA_AR α1 和 β2 亚单位正常表达对于维持神经系统稳定性有重要意义。

本研究显示吸入三氟乙醚诱导新生大鼠反复惊厥后短期,皮层和海马内 GABA_AR α1 亚单位表达均显著上调,通过免疫组化分析进一步发现这些改变具有时空性。反复惊厥后 1d 时,惊厥大鼠 GABA_AR α1 亚单位在顶叶及海马齿状核、CA3 和 CA4 区较对照组明显增高,反复惊厥后 7 d 时,惊厥组大鼠 CA1 和 CA2 区 GABA_AR α1 亚单位表达也较对照组明显增高。还发现同期 GABA_AR β2 亚单位表达改变位于海马区,但发生改变的时间晚于 GABA_AR α1 亚单位。提示在新生期反复惊厥发生后,脑内 GABA_ARα1 和 β2 亚单位短期内发生改变,在不同的脑区有部位的差异性,随着时间的延长,改

变的范围和程度逐渐加大。由于 $\alpha 1$ 和 $\beta 2$ 亚单位是脑内主要的 GABA_AR 亚单位,其表达水平的改变必将影响相关区域 GABA 系统功能。作为脑内主要的抑制性神经递质系统,GABAR 表达增强,必将拮抗兴奋毒性对脑的损伤,相关试验发现过度表达 GABA_AR $\alpha 1$ 的大鼠则对惊厥抵抗,可能和惊厥的发生、内源性保护机制的增强及对抗癫痫药物治疗耐药高度相关^[4]。因此,脑内 GABA_AR 亚单位改变可能参与到脑损伤过程中,拮抗惊厥性脑损伤。

值得注意的是,与在大脑皮层和海马区的改变不同,新生儿反复惊厥导致在大鼠丘脑区广泛表达 $\beta 2$ 亚单位表达明显下调。丘脑在癫痫发病机制中占有重要地位,丘脑网状核、丘脑以及新皮层锥体细胞组成的维持爆发放电的丘脑-皮层环路,以及能够增加丘脑-皮层振荡可能性的内在神经元机制参与儿童失神癫痫的发生。GABA 作为丘脑中主要的抑制性神经递质,通过 GABA_AR 抑制这些异常兴奋性环路,维持兴奋-抑制平衡^[9]。研究表明含有 $\beta 2$ 亚单位的受体对苯巴比妥等抗惊厥药反应较含有 2 个 $\beta 1$ 的受体表现出更大的变构效应^[10]。当丘脑区 $\beta 2$ 亚单位低表达,很有可能改变惊厥易感性及对抗惊厥药物的敏感性。

本试验所制作的模型损伤发生在脑发育期,许多研究显示 GABA 在神经元分化早期是一种兴奋性神经递质,可能参与到发育期惊厥性脑损伤过程中^[11],所以发育中脑发生惊厥性损伤后脑内 GABA_AR 变化规律可能不同于成熟脑,甚至完全相反,对功能的影响也可能不尽相同。是否发育中脑内相关受体亚单位表达上调,加重兴奋毒性脑损伤,直接造成发育中脑损害,这些都需要进一步深入研究。

GABA_AR $\alpha 1$ 与 $\beta 2$ 亚单位在脑的发育过程中逐渐表达成熟,这种变化与脑的发育成熟、神经元的迁移、分化以及突触的形成有着密切的联系^[12]。我们既往研究发现新生大鼠反复惊厥后将导致成年期皮层和海马 GABA_AR $\alpha 1$ 和 $\beta 2$ 亚单位表达持续下调^[13],与惊厥后短期改变相反,如果了解了这个变化是在发育的什么时期、通过何种机制发生的,如何

干预以改变此过程可能为治疗发育中脑损伤、改善长期预后提供一条新的治疗途径。

[参 考 文 献]

- [1] Nicoll RA. My close encounter with GABA (B) receptors [J]. *Biochem Pharmacol*, 2004, 68 (8):1667-1674.
- [2] Bo T, Jiang Y, Cao H, Wang J, Wu X. Long-term effects of seizures in neonatal rats on spatial learning ability and N-methyl-D-aspartate receptor expression in the brain [J]. *Brain Res Dev Brain Res*, 2004, 152 (2):137-142.
- [3] Andreas W, Jean MF, Hanns M, Benke D. NMDA receptor heterogeneity during postnatal development of the rat brain: differential expression of the NR2A, NR2B, and NR2C subunit proteins [J]. *J Neurochem*, 1997, 68 (2): 469-478.
- [4] Darlison MG, Pahal I, Thode C. Consequences of the evolution of the GABA (A) receptor gene family [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2005, 25 (3-4):607-624.
- [5] Noe KH, Manno EM. Mechanisms underlying status epilepticus [J]. *Drugs Today (Barc)*, 2005, 41 (4):257-266.
- [6] Krampfl K, Maljevic S, Cossette P, Ziegler E, Rouleau GA, Lerche H, et al. Molecular analysis of the A322D mutation in the GABA receptor α -subunit causing juvenile myoclonic epilepsy [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 22 (1):10-20.
- [7] Ogris W, Lehner R, Fuchs K, Furtmüller B, Höger H, Homanics GE, et al. Investigation of the abundance and subunit composition of GABA receptor subtypes in the cerebellum of $\alpha 1$ -subunit-deficient mice [J]. *J Neurochem*, 2006, 96 (1):136-147.
- [8] Li RW, Yu W, Christie S, Miralles CP, Bai J, Loturco JJ, et al. Disruption of postsynaptic GABA receptor clusters leads to decreased GABAergic innervation of pyramidal neurons [J]. *J Neurochem*, 2005, 95 (3):756-770.
- [9] Ran I, Mathers DA, Puil E. Pentobarbital induces thalamic oscillations in brain slices, modulated by GABA and glycine receptors [J]. *Neuropharmacology*, 2004, 47 (7):985-993.
- [10] Oulineau N, Baur R, Minier F, Sigel E. Consequence of the presence of two different β subunit isoforms in a GABA receptor [J]. *J Neurochem*, 2005, 95 (6): 1724-1731.
- [11] Wells JE, Porter JT, Agmon A. GABAergic inhibition suppresses paroxysmal network activity in the neonatal rodent hippocampus and neocortex [J]. *J Neurosci*, 2000, 20 (23): 8822-8830.
- [12] Janine LS, Shelley JR. GABAA receptors: building the bridge between subunit mRNAs, their promoters, and cognate transcription factors [J]. *Pharmacol Ther*, 2004, 101 (3): 259-281.
- [13] 薄涛,陈勇,毛定安,朱晓华,李艳芳. 新生大鼠反复惊厥对脑内 γ -氨基丁酸 A 受体 $\alpha 1$ 和 $\beta 2$ 亚单位表达的长期影响 [J]. *中华医学杂志*, 2007, 87 (4):275-278.

(本文编辑:吉耕中)