

## 研究论文

# 不同浓度降钙素基因相关肽对小鼠海马区长时程抑制的作用

武鑫, 王冬慧, 孙宁宁, 苏少华, 张松江, 高剑峰\*

河南中医药大学基础医学院生理学学科, 郑州 450046

**摘要:** 本研究旨在探讨给予不同浓度降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)对小鼠海马区长时程抑制(long-term depression, LTD)的作用。将60只30日龄C57BL/6J雄性小鼠随机分为对照组、不同浓度(50, 100, 200 nmol/L) CGRP组、CGRP+CGRP<sub>8-37</sub>组以及CGRP+APV组, 每组10只。用离体场电位方法检测外源性给予脑片不同浓度CGRP对小鼠海马区突触可塑性及LTD的作用。结果显示, 与对照组相比, 100和200 nmol/L CGRP可明显易化海马区LTD的诱发, 差异具有显著性, 并且CGRP可提高N-甲基-D-天门冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)受体介导的兴奋性突触后电流的幅度。CGRP的上述作用均可被CGRP选择性阻断剂CGRP<sub>8-37</sub>和NMDA受体阻断剂APV所阻断。以上结果提示, CGRP可剂量依赖性地易化小鼠海马区LTD的诱发, 作用机制可能与NMDA受体功能的调节有关。

**关键词:** 降钙素基因相关肽; 海马区; 长时程抑制; 谷氨酸受体

**中图分类号:** R338.64

## Effects of different concentrations of calcitonin gene-related peptide on long-term depression of hippocampus in mice

WU Xin, WANG Dong-Hui, SUN Ning-Ning, SU Shao-Hua, ZHANG Song-Jiang, GAO Jian-Feng\*

Department of Physiology, School of Basic Medicine, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

**Abstract:** The purpose of this study was to explore the effects of calcitonin gene-related peptide (CGRP) on the long-term depression (LTD) of hippocampus in mice. Sixty C57BL/6J mice (30 days old) were randomly divided into control group, three CGRP (50, 100, and 200 nmol/L) groups, CGRP + CGRP<sub>8-37</sub> group and CGRP + APV group (10 mice for each group). The effects of exogenous application of different concentrations of CGRP on synaptic plasticity and LTD in hippocampus of mice were detected by *in vitro* recording of local field potential. The results showed that higher doses (100 and 200 nmol/L) of CGRP significantly enhanced the induction of LTD in the hippocampus. Moreover, CGRP increased the magnitude of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor-mediated excitatory postsynaptic currents. The above-mentioned effects of CGRP were blocked by either CGRP selective antagonist CGRP<sub>8-37</sub> or NMDA receptor antagonist APV. These results suggest that CGRP can dose-dependently enhance the induction of LTD in hippocampus of mice, and the underlying mechanism involves the mediation of NMDA receptor function.

**Key words:** calcitonin gene-related peptide; hippocampus; long-term depression; glutamate receptor

神经肽类物质在调节神经结构及功能中发挥着重要的作用。降钙素基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP) 是降钙素基因转录的 RNA 翻

译成的一种神经多肽。在中枢神经系统中, CGRP 作为调节因子参与认知功能和学习记忆的过程。已有研究结果表明抑郁症模型小鼠脑内 CGRP 含量显

Received 2019-03-12 Accepted 2019-05-28

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81373852), the Key Scientific Research Project of Colleges and Universities in Henan Province, China (No. 15A310019) and PhD Research Fund of Henan University of Traditional Chinese Medicine, China (No. BSJJ-201510).

\*Corresponding author. Tel: +86-371-65676898; E-mail: jc.gjfeng@hotmail.com

著降低, 而外源性给予 CGRP 可一定程度减轻模型小鼠的认知功能损伤<sup>[1]</sup>。Okutsu 等研究显示, CGRP 可浓度依赖性地提高杏仁中央核区 *N*-甲基-*D*-天门冬氨酸 (*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA) 受体介导的兴奋性突触后电流 (excitatory postsynaptic currents, EPSCs) 强度, 提示 CGRP 是治疗相关精神疾病 (如抑郁症、创伤后应激等) 的潜在分子靶点<sup>[2]</sup>。而本研究组前期行为学实验显示, 外源性给予 CGRP 可浓度依赖性地增强小鼠新物体认知功能以及空间学习记忆能力, 主要表现为认知指数的提高及寻找平台潜伏期显著缩短<sup>[3]</sup>。进一步的电生理实验研究表明, CGRP 可提高小鼠海马区 CA3-CA1 通路长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 的幅度, 该作用呈现浓度依赖性<sup>[4]</sup>。

LTP 和长时程抑制 (long-term depression, LTD) 作为突触可塑性的两种不同形式, 被认为是学习记忆的神经生物学基础, 是研究各种学习记忆的常用指标。两者无论诱发模式、表现形式还是分子抑制都有明显的差异。LTP 和 LTD 分别可以选择性地增强和减弱突触功能连接, 诱发产生过程涉及突触前和突触后表达的多种受体及蛋白信号通路, 近些年来有关 LTP 和 LTD 的分子机制研究明确了蛋白信号通路的基本轮廓, 但是还有一些细节不甚详尽<sup>[5,6]</sup>。研究表明, 多种神经系统疾病如阿尔茨海默病、帕金森病、抑郁症等的典型病理表现为认知功能和学习记忆功能的受损, 而突触可塑性的异常和这些病理表现密切相关<sup>[7,8]</sup>。因此阐明突触可塑性的分子生物学机制具有重要的临床参考价值。在本研究中, 我们将在前期实验研究基础上, 给予小鼠脑片不同浓度 CGRP, 利用离体场电位方法进一步探讨 CGRP 对小鼠海马区 LTD 的影响, 以期全面阐明 CGRP 对海马区突触可塑性的调控作用, 明确 CGRP 调节认知功能及学习记忆过程的分子生物学机制。

## 1 材料和方法

**1.1 动物分组** 实验采用健康清洁级 C57BL/6J 雄性小鼠 60 只, 30 日龄, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物合格证号为 No. 11400700063049。将实验动物置于 7:00~19:00 光照, 19:00~7:00 黑暗的实验室中饲养一周, 自由进食和饮水, 随机分为对照组、CGRP 50 nmol/L 组, CGRP 100 nmol/L 组, CGRP 200 nmol/L 组, CGRP+

CGRP<sub>8-37</sub> 组以及 CGRP+APV 组, 每组 10 只。本研究动物实验方案获得河南中医药大学实验动物伦理委员会审核批准, 方案符合科技部《有关善待动物的指导意见》和河南中医药大学《实验动物伦理委员会章程》。

**1.2 仪器和试剂** 电子天平 (津岛, 日本), 生物信号处理系统 (成都仪器厂), 放大器 (成都仪器厂), 恒流泵 (金达生物仪器有限公司), 振动切片机 (Leica, 型号: 1000S, 德国), 体视学显微镜 (Leica, 型号: M205FA, 德国),  $\alpha$ -CGRP (ab142518, Abcam, 美国), CGRP 阻断剂 CGRP<sub>8-37</sub> (ab142492, Abcam, 美国), NMDA 受体阻断剂 *D*-APV (Sigma, St. Louis, 美国), 非 NMDA 受体阻断剂 CNQX (Sigma, St. Louis, 美国), 记录电极自制 (毛坯外径 1.5 mm, 长度为 10 cm), 有芯玻璃电极 (南京泉水教学实验器材厂)。

## 1.3 离体场电位记录方法

### 1.3.1 人工脑脊液 (artificial cerebrospinal fluid, ACSF)

**配制** ACSF 的具体配方为 (mmol/L): NaCl 119, KCl 3.5, MgSO<sub>4</sub> 1.3, CaCl<sub>2</sub> 2.5, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1, NaHCO<sub>3</sub> 26.2, 葡萄糖 11。实验前向 ACSF 中通入 95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub> 的混合氧 30 min, 混合氧通气速度既要维持 pH 值的稳定性, 又要防止速度过快导致脑片晃动, 影响脑片活性。

**1.3.2 小鼠脑片制备** 将 300 mL ACSF 放入 -80 °C 冰箱冷冻 30 min, 取出捣碎冰块, 然后通入混合氧气 20 min。将孵育槽装满 ACSF 并放置于水浴槽中, 加温并维持在 26~28 °C, 并通入 95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub> 的混合气体。固定振荡切片机的刀片, 调节切片机制片速度及频率。小鼠断头后迅速取出脑组织, 浸泡于通入氧气的冰冻脑脊液中约 10 s 后取出, 并从嗅球端头颅骨横断面横剪, 然后沿颅骨的两侧分别剪开颅骨。用镊子夹住嗅球端的颅骨将其翻开, 取出整个大脑半球, 立即浸泡于冰冻 ACSF 中, 冰浴约 1 min。然后取出大脑, 依据实验的具体要求用刀片切割脑组织, 用 502 胶将脑组织固定于振荡切片机的载物台上, 沿冠状面连续切片, 厚度为 400  $\mu$ m。将切好的脑片用勺子或刷子转移至孵育槽中, 孵育约 1 h。

**1.3.3 离体细胞外场电位记录** 打开恒流泵, 建立 ACSF 循环并通入混合氧。刺激电极与记录电极入水并排除噪声干扰。调节记录槽液面高度, 液面高度要保持适当, 即不可太高防止脑片漂浮, 影响

记录,也不可太低影响脑片活性。调节 ACSF 循环速度为 2~4 mL/min。将脑片转移至记录槽内,并用金属环固定脑片。刺激电极与记录电极入水后,调节放大器的测量状态至校正状态,检查记录电极电阻,记录电极电阻为 2~4 M $\Omega$ ,电极内液配方为 3 mol/L 饱和 NaCl 溶液。在显微镜下将刺激电极插入海马 CA3 区,记录电极插入海马 CA1 区,记录细胞外场兴奋性突触后电位 (field excitatory postsynaptic potentials, fEPSPs),记录的电活动为海马区 CA3-CA1 通路的 fEPSPs。在电极安放好后,调节输出电压刺激,输出电压幅度由小到大 (1~6 V),并记录幅度由小变大的 fEPSPs,即输入-输出反应

(input-output relationship, IOR)。若最大 fEPSPs > 3 mV,则该脑片活性达到后续实验要求。然后调整刺激强度,使产生的 fEPSP 幅度为最大 fEPSP 幅度的 1/3~1/2,输出刺激频率为 0.033 Hz,波宽为 0.1 ms,延时为 40 ms,刺激间隔为 30 s,记录基础 fEPSPs 曲线作为平均基础值。对照组给予经典低频刺激模式 (900 pulse/1 Hz) 的电刺激,以诱发 LTD。不同药物处理组在记录基础 fEPSP 后给予药物孵育 20 min,然后给予经典低频刺激模式的电刺激后记录 fEPSP。每组记录 3 只小鼠,每只小鼠记录 2 张脑片。

### 1.3.4 神经元膜片钳记录 记录电极内液配方成

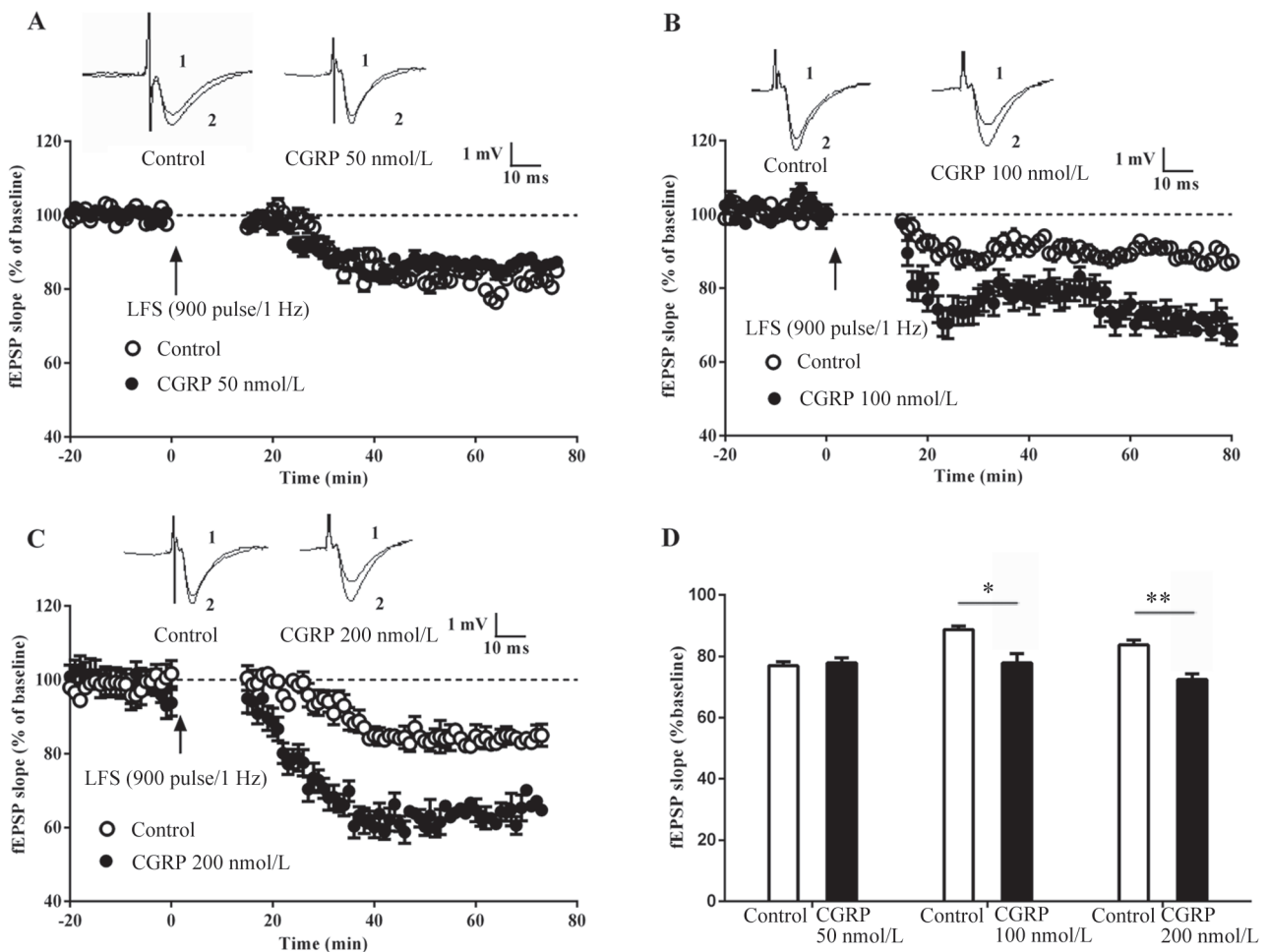


图 1. 不同浓度降钙素基因相关肽(CGRP)对小鼠海马区CA3-CA1通路长时程抑制(LTD)诱发的作用

Fig. 1. Effects of different concentrations of calcitonin gene-related peptide (CGRP) on the long-term depression (LTD) in the CA3-CA1 pathway of hippocampus of mice detected by *in vitro* extracellular field potential recording. A: Exogenous application of 50 nmol/L CGRP did not influence LTD in the CA3-CA1 pathway in the hippocampus of mice. B: Exogenous application of 100 nmol/L CGRP enhanced amplitude of LTD induction in the CA3-CA1 pathway in hippocampus. C: Exogenous application of 200 nmol/L CGRP enhanced amplitude of LTD induction in the CA3-CA1 pathway in hippocampus. D: The bar diagram showed the average fEPSP slope in all groups. Mean  $\pm$  SEM,  $n = 6$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ . LFS, low frequency stimulation.

分(mmol/L): Cs-gluconate 122.5, CsCl 17.5, EGTA 0.2, HEPES 10, NaCl 8, Mg-ATP 2, Na-GTP 0.3, QX314 5, pH 7.2, 渗透压 280~290 mOsmol/L。在记录 EPSCs 时, 将刺激电极插入海马 CA3 区, 将装有电极内液的记录电极(电阻约为 2~4 MΩ)与海马 CA1 区的突触后神经元进行封接破膜, 然后通过刺激 CA3 区产生 EPSCs。对照组外源性给予 CNQX (20 μmol/L), 在 -70 mV 钳制电压并且无 Mg<sup>2+</sup> 条件下记录 NMDA 受体介导的 EPSCs。各组脑片的处理如下: 在 CGRP 组 ACSF 中加入 CGRP (200 nmol/L); 在 CGRP + CGRP<sub>8-37</sub> 组 ACSF 中加入 CGRP (200 nmol/L) 和 CGRP 阻断剂 CGRP<sub>8-37</sub> (1 μmol/L); 在 CGRP +

APV 组 ACSF 中加入 CGRP (200 nmol/L) 和 NMDA 受体阻断剂 APV (50 μmol/L), 给药后均孵育 20 min, 然后记录 NMDA 受体介导的 EPSCs。每组记录 4 只小鼠, 每只小鼠记录 2 张脑片。

**1.4 统计和分析** 数据用 mean ± SEM 表示, 采用 GraphPad Prism 6.0 统计学软件进行统计分析。多组间比较用单因素方差分析结合 Tukey's multiple comparisons test,  $P < 0.05$  时认为差异具有显著性。

## 2 结果

### 2.1 不同浓度 CGRP 对小鼠海马区 LTD 的作用

结果显示, 给予不同浓度的 CGRP 后, 在各组

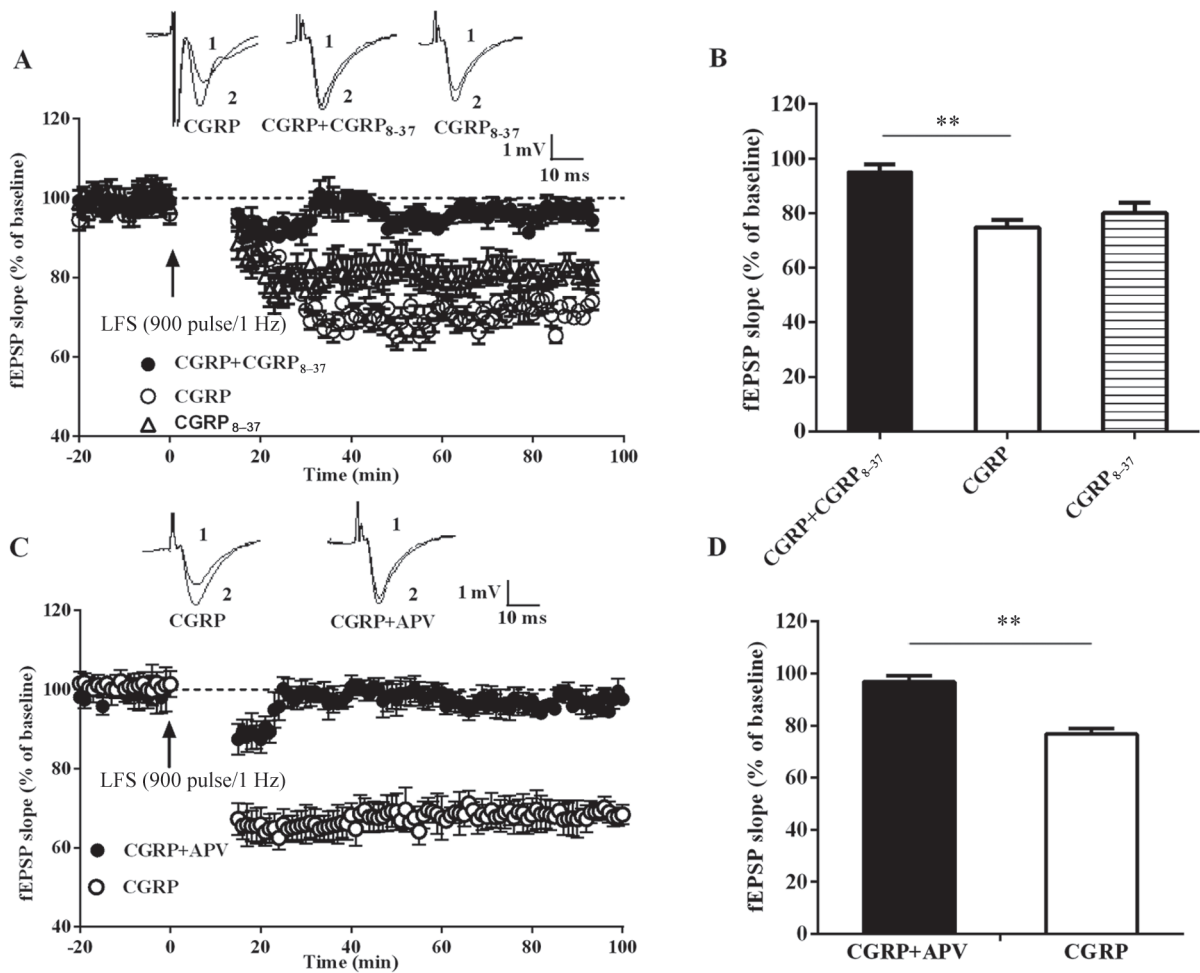


图 2. CGRP<sub>8-37</sub>和APV对CGRP易化CA3-CA1通路LTD诱发的作用

Fig. 2. The effects of CGRP<sub>8-37</sub> and APV on the facilitation of LTD induction in the CA3-CA1 pathway detected by *in vitro* extracellular field potential recording. *A*: Exogenous application of CGRP<sub>8-37</sub> significantly blocked the facilitation of CGRP (200 nmol/L) on LTD induction in the CA3-CA1 pathway of hippocampus slices, whereas CGRP<sub>8-37</sub> alone did not affect the induction of LTD. *B*: The bar diagram showed the average fEPSP slope in CGRP+CGRP<sub>8-37</sub>, CGRP and CGRP<sub>8-37</sub> groups. *C*: Exogenous application of NMDA receptor antagonist APV significantly blocked the facilitation of CGRP in LTD induction. *D*: The bar diagram showed the average fEPSP slope in two groups. Mean ± SEM,  $n = 6$ . \*\* $P < 0.01$ . LFS, low frequency stimulation.

小鼠海马区 LTD 的诱发过程中, fEPSP 斜率分别下降至  $(77.81 \pm 1.68)\%$  (50 nmol/L CGRP 组)、 $(77.84 \pm 3.01)\%$  (100 nmol/L CGRP 组) 和  $(72.45 \pm 1.87)\%$  (200 nmol/L CGRP 组)。与对照组相比, 给予 100 nmol/L 和 200 nmol/L CGRP 易化了 LTD 的诱发, 差异具有显著性 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) (图 1)。

## 2.2 CGRP 阻断剂 CGRP<sub>8-37</sub> 及 NMDA 受体阻断剂 APV 可阻断 CGRP 对海马区 LTD 诱发的易化作用

与 200 nmol/L CGRP 组 ( $74.77\% \pm 2.64\%$ ) 比较, CGRP + CGRP<sub>8-37</sub> 组 LTD 的诱发明显受抑, fEPSP 斜率 ( $95.24\% \pm 2.61\%$ ) 的下降幅度显著减少 ( $P < 0.01$ )。与对照组比较, 单独给予 CGRP 阻断剂 CGRP<sub>8-37</sub> 未能诱发出 LTD, fEPSP 斜率 ( $80.11\% \pm 3.71\%$ ) 下降幅度没有明显变化。这一实验结果表明 CGRP 是通过作用于 CGRP 受体发挥调节海马区突触可塑性的生理作用。而在给予 NMDA 受体阻断

剂 APV 后, 与 200 nmol/L CGRP 组 ( $76.75\% \pm 2.11\%$ ) 比较, CGRP + APV 组 fEPSP 斜率 ( $96.10\% \pm 2.27\%$ ) 的下降幅度也出现显著减少 ( $P < 0.01$ )。这一结果提示 CGRP 对海马区 LTD 的易化作用与 NMDA 受体相关。

## 2.3 CGRP 对海马区 NMDA 受体介导的 EPSCs 的作用

与对照组 ( $198.20 \text{ pA} \pm 31.88 \text{ pA}$ ) 比较, 给予 CGRP (200 nmol/L) 可显著增加小鼠海马区 NMDA 受体介导的 EPSCs 的幅度 ( $369.11 \text{ pA} \pm 53.65 \text{ pA}$ ) ( $P < 0.01$ )。而给予 CGRP 阻断剂 CGRP<sub>8-37</sub> 和 NMDA 受体阻断剂 APV 后, NMDA 受体介导的 EPSCs 显著下降, 与对照组没有显著性差异 [对照组: ( $185.79 \pm 25.68$ ) pA; CGRP + CGRP<sub>8-37</sub> 组: ( $213.0 \pm 27.29$ ) pA。对照组:  $163.39 \text{ pA}$ ; CGRP+APV 组: ( $180.90 \pm 24.71$ ) pA] (图 3)。上述结果提示, CGRP 是通过与其受体结合易化了 NMDA 受体依赖性 LTD 的诱发。

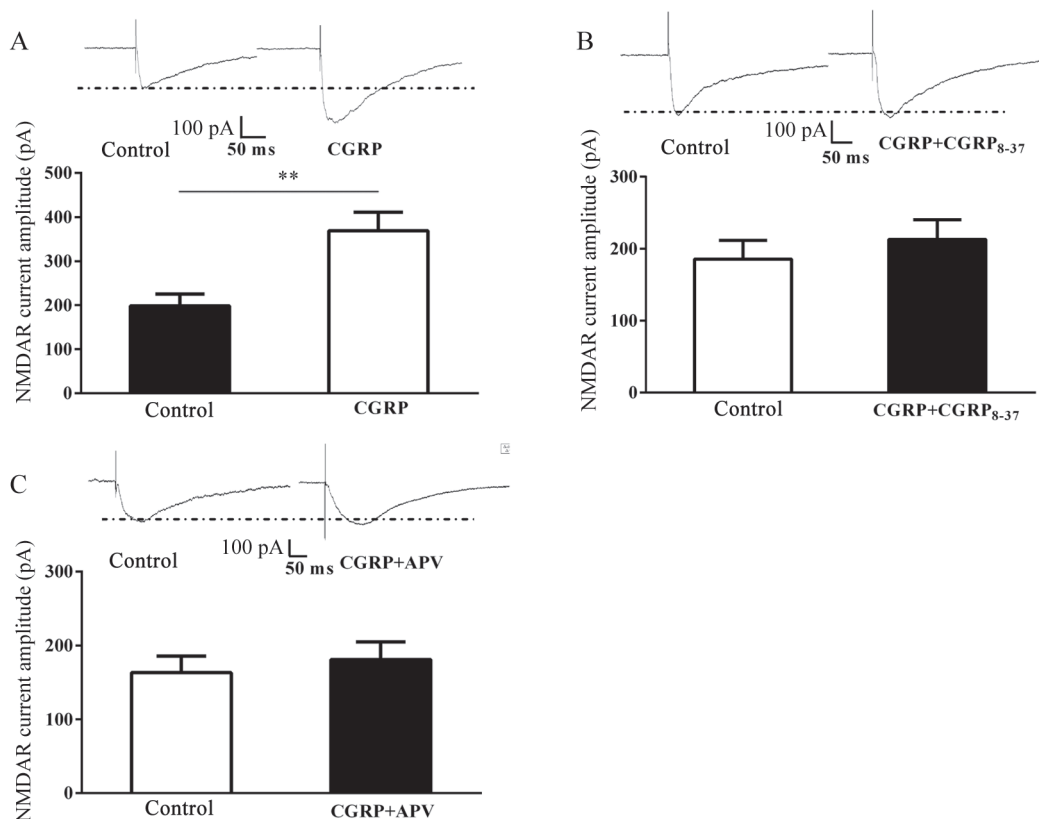


图 3. CGRP 对 NMDA 受体介导的兴奋性突触后电位的作用

Fig. 3. The effects of CGRP on the NMDA receptor (NMDAR)-mediated EPSCs. *A*: The representative traces of the NMDAR-mediated EPSCs recorded in individual cells of control and CGRP (200 nmol/L) groups. The summary histogram showed NMDAR-mediated EPSCs amplitude in two groups. *B*: The representative traces of the NMDAR-mediated EPSCs recorded in individual cells of control and CGRP+CGRP<sub>8-37</sub> groups. The summary histogram showed NMDAR-mediated EPSCs amplitude in two groups. *C*: The representative traces of the NMDAR-mediated EPSCs recorded in individual cells of control and CGRP+APV groups. The summary histogram showed NMDAR-mediated EPSCs amplitude in two groups. Mean  $\pm$  SEM,  $n = 8$ . \*\* $P < 0.01$ .

### 3 讨论

本研究组前期的研究表明外源性给予神经肽类物质 CGRP 参与调控海马区突触可塑性, 可易化 LTP 的诱发, 作用机制可能与改变突触后神经元活性相关。在本研究中, 我们在已有的电生理结果基础上进一步探讨了给予 CGRP 后对海马区 LTD 诱发的作用。本研究结果显示, 100 和 200 nmol/L 的 CGRP 对海马区 CA3-CA1 通路 LTD 的诱发具有显著的易化作用, 表明 CGRP 可参与调节海马区突触可塑性。此外, 在给予 CGRP 阻断剂 CGRP<sub>8-37</sub> 后, CGRP 的易化作用被阻断, 表明 CGRP 是通过与特异性受体结合后发挥上述调节作用, 这一研究结果与前期 CGRP 调节 LTP 诱发是一致的<sup>[4]</sup>。一般认为 LTP 与学习记忆的获得密切相关, 而 LTD 则与记忆的消散和遗忘相关<sup>[9, 10]</sup>。已有的研究表明抑郁症、创伤后应激等精神疾病所表现出的负性情绪记忆——恐惧记忆的消散受损与神经递质谷氨酸介导的信号通路密切相关, 表现为与记忆消散相关的突触可塑性形式——LTD 的诱发幅度下降, 脑内脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) 含量下降等<sup>[11]</sup>。CGRP 参与调节海马区 LTD 的诱发过程, 可能在记忆消散过程中发挥了一定的作用。本研究组前期行为学实验表明给予 CGRP 可促进认知功能和空间学习能力<sup>[3]</sup>, 而 CGRP 在记忆消散过程中的作用需要进一步的行为学实验研究明确。

经典的 LTD 诱发需要突触后 NMDA 受体的参与。在给予持续低频刺激后, 海马区突触后 NMDA 受体的激活主要参与调节 LTD 的诱发<sup>[12]</sup>。已有研究表明, 与 LTP 诱发机制不同, 低频刺激激活的 NMDA 受体介导了少量的钙离子内流, 而内流的钙离子通过与高亲和性的磷脂酶 PP1 结合, 诱发磷酸化的 AMPA 受体去磷酸化, 使突触后膜上 AMPA 受体的数量减少, 造成突触传递效能的减弱<sup>[13, 14]</sup>。本研究结果显示, NMDA 受体阻断剂 APV 可完全阻断 CGRP 对海马区 LTD 诱发的易化作用。另外, 本研究结果还显示, 在给予 200 nmol/L CGRP 后, 海马区神经元 NMDA 受体介导的 EPSCs 幅度显著增加, 而这一增强作用可被 CGRP 阻断剂 CGRP<sub>8-37</sub> 以及 NMDA 受体阻断剂 APV 完全阻断。上述结果提示 CGRP 对 LTD 诱发的易化作用是通过激活突触后 NMDA 受体而产生的。结合前期实验结果, 我们可以明确 CGRP 参与海马区突触可塑性的调

节, 其机制可能是通过作用于突触后的 NMDA 受体。已有研究表明, 突触后 NMDA 受体与多种信号通路具有结构联系, NMDA 受体亚单位如 NR2A 和 NR2B 可通过激活不同的蛋白信号通路分别参与 LTP 和 LTD 的诱发过程, 并且两种受体的数目比值会影响 LTP 和 LTD 的诱发<sup>[15]</sup>。那么, CGRP 是通过激活哪种受体亚型实现对 LTP 和 LTD 诱发的影响作用, 参与的信号转导通路有哪些, 这些问题需要我们进一步的探索和研究。另外, 临床研究表明神经系统退行性疾病及药物成瘾均和大脑特定区域突触可塑性调节失控有关<sup>[16, 17]</sup>, 因此全面阐明 CGRP 对突触可塑性的调节作用可为临床治疗这类疾病提供新靶点与新思路。

### 参考文献

- 1 Hashikawa-Hobara N, Ogawa T, Skamoto Y, Matsuo Y, Ogawa M, Zamami Y, Hashikawa N. Calcitonin gene-related peptide pre-administration acts a novel antidepressant in stressed mice. *Sci Rep* 2015; 5: 12559.
- 2 Okutsu Y, Takahashi Y, Nagase M, Shinohara K, Ikeda R, Kato F. Potentiation of NMDA receptor-mediated synaptic transmission at the parabrachial-central amygdala synapses by CGRP in mice. *Mol Pain* 2017; 13: 1744806917709201.
- 3 Wu X (武鑫), Zheng WJ, Lv MH, Gao JF. Effect of bilateral injection of calcitonin gene-related peptide into amygdala on learning and memory of mice. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2017; 69(2): 167–171 (in Chinese with English abstract).
- 4 Wu X (武鑫), Zheng WJ, Lv MH, Su SH, Zhang SJ, Gao JF. Effect of different concentrations of calcitonin gene-related peptide on the long-term potentiation in hippocampus of mice. *Acta Physiol Sin (生理学报)* 2018; 70(1): 17–22 (in Chinese with English abstract).
- 5 Diering GH, Haganir RL. The AMPA receptor code of synaptic plasticity. *Neuron* 2018, 100(2): 314–329.
- 6 An L, Sun W. Acute melamine affects spatial memory consolidation via inhibiting hippocampal NMDAR-dependent LTD in rat. *Toxicol Sci* 2018; 163(2): 385–396.
- 7 Trillaud-Doppia E, Paradis-Isler N, Boehm J. A single amino acid difference between the intracellular domains of amyloid precursor protein and amyloid-like precursor protein 2 enable induction of synaptic depression and block of long-term potentiation. *Neurobiol Dis* 2016; 91: 94–104.
- 8 Picconi B, Picconi G, Calabresi P. Synaptic dysfunction in parkinson's disease. *Adv Exp Med Biol* 2012; 970: 553–572.
- 9 Ma J (马婧), Liu XL, Qiao DC. Role of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Chin Pharmacol Bull (中国药理*

- 学通报) 2018; 34(11): 1485–1488 (in Chinese with English abstract).
- 10 Wu X, Zhang JT, Li D, Zhou J, Yang J, Zheng HL, Chen JG, Wang F. Aquaporin-4 deficiency facilitates fear memory extinction in the hippocampus through excessive activation of extrasynaptic GluN2B-containing NMDA receptors. *Neuropharmacology* 2017; 112: 124–134.
  - 11 O’Riordan KJ, Hu NW, Rowan MJ. Physiological activation of mGlu5 receptors supports the ion channel function of NMDA receptors in hippocampal LTD induction *in vivo*. *Sci Rep* 2018; 8: 4391.
  - 12 Liu X, Gu QH, Duan K, Li Z. NMDA receptor-dependent LTD is required for consolidation but not acquisition of fear memory. *J Neurosci* 2014; 34(26): 8741–8748.
  - 13 Jo J, Son GH, Winters BL, Kim MJ, Whitcomb DJ, Dickinson BA, Lee YB, Futai K, Amici M, Sheng M, Collingridge GL, Cho K. Muscarinic receptors induce LTD of NMDA EPSCs via a mechanism involving hippocalcin, AP2 and PSD-95. *Nat Neurosci* 2010; 13(10): 1216–1224.
  - 14 Qian Z, Wu X, Qiao Y, Shi M, Liu Z, Ren W, Han J, Zheng Q. Downregulation of mGluR2/3 receptor during morphine withdraw in rats impairs mGluR2/3- and NMDA receptor-dependent long-term depression in the nucleus accumbens. *Neurosci Lett* 2019; 690: 76–82.
  - 15 Cui Z, Feng R, Jacobs S, Duan Y, Wang H, Cao X, Tsien JZ. Increased NR2A:NR2B ratio compresses long-term depression and constrains long-term memory. *Sci Rep* 2013; 3: 1036.
  - 16 Zorumski CF, Mennerick S, Izumi Y. Acute and chronic effects of ethanol on learning-related synaptic plasticity. *Alcohol* 2014; 48(1): 1–17.
  - 17 Wu M, Shi H, He Y, Yuan L, Qu X, Zhang J, Wang Z, Cai H, Qi J. Colivelin ameliorates impairments in cognitive behaviors and synaptic plasticity in APP/PS1 transgenic mice. *J Alzheimers Dis* 2017; 59(3): 1067–1078.