DOI:10.16016/j.1000-5404.201511088

FBXL20 在颞叶癫痫患者及癫痫大鼠模型中的表达变化

伏鹏飞,温跃桃,王 刚,高 超,谢延风,詹 彦,石全红 (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院神经外科)

[摘要] **目的** 通过研究 E3 泛素连接酶 FBXL20 及其下游蛋白-神经元突触膜胞外分泌调节蛋白 1(regulating synaptic membrane exocytosis 1,RIM1)在颞叶癫痫患者皮质及匹鲁卡品癫痫大鼠模型皮质、海马组织中的表达变化,探讨 FBXL20 在癫痫形成中的作用。**方法** 以颞叶癫痫患者手术切除病灶标本($n=25$)为癫痫组,以脑外伤减压手术所切皮质标本($n=10$)为对照组。另取 40 只健康雄性 SD 大鼠腹腔注射氯化锂(127 mg/kg),20 h 后腹腔注射匹鲁卡品(50 mg/kg),每 30 分钟重复给予 1 次匹鲁卡品(10 mg/kg),直到大鼠癫痫发作。2 周后出现癫痫自发性发作的大鼠纳入癫痫组;2 个月后仍未出现癫痫自发性发作的大鼠纳入对照组。采用免疫荧光对 FBXL20 的表达进行定位;免疫组化检测 FBXL20 的表达水平;Western blot 检测 FBXL20、RIM1 的表达水平。**结果** 免疫荧光检测结果显示 FBXL20 主要表达于神经元;免疫组化及 Western blot 检测结果均显示癫痫患者皮质、癫痫大鼠模型皮质与海马中 FBXL20 表达较对照组明显下降($P<0.05$);同时 Western blot 检测结果显示 RIM1 表达较对照组明显升高($P<0.05$)。**结论** FBXL20 在癫痫患者及大鼠模型中的表达水平明显降低,RIM1 表达明显升高,提示 FBXL20 可能通过调控 RIM1 参与了癫痫的形成。

[关键词] FBXL20;RIM1;颞叶癫痫;泛素化;突触重塑;突触囊泡

[中图法分类号] R341; R741.02; R742.1 [文献标志码] A

Altered expression of FBXL20 in temporal lobe epilepsy patients and pilocarpine-induced rat model

Fu Pengfei, Wen Yuetao, Wang Gang, Gao Chao, Xie Yanfeng, Zhan Yan, Shi Quanhong (Department of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the role of E3 ubiquitin ligase FBXL20 in the epileptogenesis through detecting the expression level of FBXL20 and its downstream regulating synaptic membrane exocytosis 1 (RIM1) in brain tissue of temporal lobe epilepsy patients and pilocarpine-induced rat model. **Methods** Epilepsy focus resected from temporal lobe epilepsy patients was taken as the epilepsy group ($n=25$), and the cortex resected from brain trauma patients was taken as the control group ($n=10$). Forty male, healthy SD rats were injected with pilocarpine (127 mg/kg). The rats with spontaneous seizures in 2 weeks later were selected into the epilepsy model group, while those without spontaneous seizures until 2 months later were selected into the control group. FBXL20 and RIM1 in the human brain cortex and rat cortex and hippocampus were detected by immunofluorescence staining, Western blotting and immunohistochemistry assay. **Results** Immunofluorescence staining showed that FBXL20 mainly located in the neurons. Immunohistochemistry assay and Western blotting showed that the expression of FBXL20 was down-regulated in the epilepsy group ($P<0.05$). Western blotting indicated that expression of RIM1 was up-regulated in the epilepsy group ($P<0.05$). **Conclusion** Altered expression of FBXL20 indicates that FBXL20 may be involved in the epileptogenesis.

[**Key words**] FBXL20; RIM1; temporal lobe epilepsy; ubiquitination; synapse plasticity; synaptic vesicle

Supported by the Foundation of Chongqing Municipal Health Bureau (2013-1-005). Corresponding author: Shi Quanhong, E-mail: 417149803@qq.com

[基金项目] 重庆市卫生局资助项目(2013-1-005)

[通信作者] 石全红,E-mail:417149803@qq.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160126.1536.029.html(2016-01-26)

癫痫(epilepsy,Ep)是中枢神经系统第二大疾病,以脑部神经元异常放电导致的发作性、反复性脑功能紊乱为主要表现,患者常有自发性发作的倾向[1]。全球约有5 000万患者受其困扰[2]。尽管目前有多种治疗方法,仍有约五分之一的患者不能缓解发作并最终发展为难治性癫痫。难治性癫痫治疗效果欠佳的原因是人类对其发病的分子机制研究尚未取得突破性进展,无法根据发病的中心环节寻找新的治疗方式。但不论什么机制,最终都通过神经元高度同步异常放电导致癫痫的发作,如果可以中断神经元的异常放电,则癫痫发作可以被抑制[3]。神经元的突触重塑被认为是癫痫异常放电的重要机制,而突触囊泡的异常释放可以导致异常突触重塑[4-7]。经典的抗癫痫药物左乙拉西坦,就是通过与SV2蛋白相结合,调节突触囊泡释放,从而发挥抗癫痫的作用[8-9]。

突触囊泡的释放与多种突触前膜蛋白的调控相关。Yao等[10]发现,FBXL20(F-box and leucine-rich repeat protein 20)作为一种在中枢神经系统中广泛表达的E3泛素连接酶,通过调节突触膜胞外分泌调节蛋白1(regulating synaptic membrane exocytosis 1,RIM1)的代谢来调节突触囊泡的释放。而RIM1作为囊泡释放过程中最重要的调节因子之一,有研究提示其参与了癫痫形成[11-12]。

FBXL20的表达水平是否在癫痫患者中发生改变,其改变是否也参与到癫痫的发生、发展中,目前尚不清楚。因颞叶癫痫(temporal lobe epilepsy)多为药物难治性癫痫,且多采用手术治疗,故本实验将在手术切除的颞叶癫痫患者及相对正常皮质中,检测FBXL20与RIM1的表达情况;由于伦理学的限制,无法获得正常的人脑海马组织,颞叶癫痫患者海马切除由于手术量极少也难以获得,锂-匹鲁卡品大鼠模型出现自发性发作后可以很好地反映颞叶癫痫的病理特点,被广泛用于难治性癫痫的研究。本研究观察锂-匹鲁卡品大鼠模型大脑皮层和海马组织中及癫痫患者皮质中FBXL20的表达,探讨FBXL20在癫痫形成中的作用。

1 材料与方法

1.1 患者临床特征

癫痫组:从建立的170例癫痫脑组织库中随机选取25例颞叶癫痫病灶组织标本进行研究。这些病灶组织都是癫痫患者经外科手术切除,而且患者都有临床症状和特征性脑电图改变。其中女性12例,男性13例,年龄(23.04±10.05)岁,患病年限为(12.90±7.27)年。所有癫痫灶在取材前均经术中电生理检测并定位,遵从相关标准实验方案进行[13]。研究标本从以下医院神经外科获取:重庆医科大学附属第一医院,首都医科大学天坛医院、宣武医院,第三军医大学新桥医院、大坪医院。癫痫患者的诊断和发作类型依据2001年国际抗癫痫联盟的癫痫分类,具体纳入标准为:患者对至少3种抗癫痫药物耐药,包括苯妥英钠、卡马西平、丙戊酸钠、拉莫三嗪、托吡酯和苯巴比妥;24 h动态脑电图、视频脑电图及术中电生理检查等确定患者脑组织有固定的异常放电部位;磁共振检查提示这些患者颅内都没占位性病变及渐进性损伤;没有癫痫以外的其他神经系统疾病。

对照组:收集重庆医科大学附属第一医院神经外科2013-2015年外科手术切除的标本。纳入标准为:既往无中枢神经系统疾病史,未使用过抗癫痫药物,经常规病理检查为相对正常的皮质。10例经减压手术后获得的正常皮质,均为脑外伤患者且无癫痫病史。其中女性4例,男性6例,年龄(29.4±11.26)岁。

两组年龄和性别差异无统计学意义($P>0.05$)。所有人体标本的使用征得了患者的知情同意,所有实验动物的处理方式征得了重庆医科大学伦理委员会的批准。

1.2 癫痫动物模型的制备

用锂-匹鲁卡品大鼠模型来模拟临床颞叶癫痫的发作[14-15]。在实验中,40只雄性、健康的Sprague-Dawley大鼠(体质量160~250 g)均先腹腔注射氯化锂(127 mg/kg,Sigma,USA),20 h后腹腔注射匹鲁卡品(50 mg/kg,Sigma,USA),每30分钟重复给予1次匹鲁卡品(10 mg/kg,腹腔注射),直到大鼠癫痫发作。1 h后用安定(10 mg/kg,腹腔注射,Sigma)终止发作,运用Racine评分来检测发作级别,评分达到4~5级被认为点燃成功。观察癫痫发作行为学,动物模型首次点燃后,将进入一段长约2周的潜伏期,潜伏期过后观察到自发性发作的动物被认为造模成功[15-16],选入癫痫组;2个月后仍未出现自发性发作的选入对照组。所有动物在2个月后断头取脑。

1.3 标本的准备

所有取材的新鲜组织标本立即处理。用于Western blot检测的组织每例用冻存管单独包装后,立即放入液氮罐中储存;用于免疫组化及免疫荧光的组织置于4%多聚甲醛室温下固定24 h。用于免疫组化检测的组织经石蜡包埋,完成后切为连续冠状切片,厚度5 μm;用于免疫荧光检测的组织进行冰冻切片,切片厚度为10 μm。盖玻片包被多聚赖氨酸后盖于切片上,分别储存于室温及-20 ℃冰箱中。

1.4 免疫荧光双标对 FBXL20 定位

将 -20 ℃保存的冰冻组织切片取出,放入丙酮浸泡 30 min,PBS 冲洗 5 min × 3 次,随后滴加 0.4% Triton,放入 37 ℃水浴箱中 30 min,PBS 冲洗 5 min × 3 次;将切片放入修复盒中,加入枸橼酸缓冲液,放入微波炉中高火 3 min,再低火 15 min,完成后 PBS 冲洗 5 min ×3 次,加山羊血清在 37 ℃封闭 3 h,弃掉血清,加入兔抗 FBXL20 多克隆抗体(1∶50)与小鼠抗 MAP2(1∶50),或者兔抗 FBXL20 与山羊抗鼠 GFAP 抗体(1∶50)混合液,放入湿盒并 4 ℃过夜;次日,弃掉表面液体后 PBS 冲洗 5 min ×3 次,避光条件下加入 TRITC 标记的山羊抗小鼠抗体及 FITC 标记的山羊抗兔抗体(1∶200),37 ℃孵育 2 h,PBS 冲洗 5 min ×3 次,滴加 DAPI 抗核抗体常温孵育 10 min,PBS 冲洗后配制甘油封片,运用激光共聚焦显微采集荧光图像。

1.5 免疫组织化学检测 FBXL20 的表达

石蜡切片进行脱蜡和入水,完成后进行抗原修复:组织切片浸于二甲苯中 20 min,随后依次在梯度酒精中浸泡 5 min,置于 3% H_2O_2 室温孵育 10 min,放入微波炉进行抗原修复。取出切片冷却,于室温下滴加山羊血清封闭液,30 min 后弃掉封闭液,加入兔抗 FBXL20 一抗(北京博奥森公司,1∶50),4 ℃环境过夜,弃掉一抗后滴加山羊抗兔二抗,37 ℃环境孵育 1 h,随后滴加 SABC 复合物(北京中杉公司)显色。运用Olympus PM20 全自动显微镜(日本 Olympus)在 200 倍及 400 倍视野下观察,阳性标准为细胞膜或细胞质染成棕色或黄色。采用 Image Pro Plus 软件计算切片平均光密度值。

1.6 Western blot 检测 FBXL20、RIM1 蛋白表达变化

对每例组织标本逐一进行检测。每例组织加入蛋白提取液(碧云天公司)后匀浆,提取总蛋白后检测浓度并配平。蛋白样品上样于聚丙烯酰胺凝胶系统电泳,完成后电转 3 h 至 PVDF 膜。将膜置于 5% 脱脂牛奶中封闭 1 h,结束后滴加兔抗 FBXL20 一抗(1∶450,北京博奥森公司),兔抗 RIM1 一抗(1∶900,Proteintech 公司),兔抗 GAPDH 抗体(1∶2 000,Proteintech 公司),4 ℃过夜。随后 TBST 洗膜 20 min,在膜上孵育 HRP 标记羊抗兔二抗(1∶3 500,Proteintech 公司),2 h 后运用 ECL 显色。运用 Quantity One 软件用来检测条带光密度值,分析每组 FBXL20、RIM1 与 GAPDH 的平均光密度值(FBXL20/GAPDH、RIM1/GAPDH)。

1.7 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 动物模型的行为学表现

大鼠首次注射匹鲁卡品约 14 d 后出现自发性发作,自发性发作标准为无明显诱因动物出现湿狗样抖动、前肢抖动伴强烈阵挛、四肢搔抓样动作,强烈体颤伴跌倒等。造模后有 23 只达到 4/5 级发作,有 5 只达到 3/4 级发作,作为癫痫组;有 9 只大鼠未出现自发性发作,作为对照组,死亡 3 只。对照组与癫痫组消除了因暴露因素所造成的差异,更能模拟颞叶癫痫的病理变化。

2.2 癫痫患者和动物模型脑组织中的免疫双标荧光结果

通过免疫荧光双标检测颞叶癫痫患者大脑皮层中 FBXL20 的表达部位。结果显示 FBXL20(绿色)与 MAP2(红色)重合,说明其在神经元中表达;不与 GFAP(红色)重合,显示不在星形胶质细胞中表达(图 1)。通过免疫荧光双标检测癫痫动物模型海马及大脑皮层中 FBXL20 的表达部位。MAP2 为神经元特异性标记物,而 GFAP 为星形胶质细胞特异性标记物。结果显示在海马与皮层中,FBXL20(绿色)与 MAP2(红色)重合,不与 GFAP(蓝色)重合(图 1)。这说明 FBXL20 主要表达在神经元胞质中,不在星形胶质细胞中表达。

2.3 FBXL20 在癫痫患者和动物模型中的免疫组化结果

在人脑对照组中,检测到 FBXL20 在神经元细胞膜和细胞质呈较强阳性表达(图 2A),而癫痫组中阳性表达较弱(图 2D)。癫痫组中 FBXL20 的平均光密度值明显低于对照组($P < 0.05$),即癫痫患者大脑皮质中 FBXL20 表达水平较正常人显著降低。通过免疫组化检测 FBXL20 在颞叶癫痫大鼠的海马和大脑皮层表达,显示 FBXL20 主要表达在海马与皮层的神经元中,在对照组中呈较强阳性表达,而癫痫组中阳性表达较弱,在没有加入 FBXL20 抗体的阴性对照组中,没有观察到阳性表达的细胞。癫痫组中 FBXL20 的平均光密度值明显低于对照组($P < 0.05$),即动物模型中 FBXL20 表达水平较对照组显著降低(图 2、表 1)。

表 1 免疫组化观测癫痫患者皮质、大鼠皮质、海马 FBXL20 的表达(光密度值,$\bar{x} \pm s$)

组别	患者皮质	大鼠皮质	大鼠海马
对照组	1.57 ± 0.14(10)	1.23 ± 0.11(9)	1.17 ± 0.05(9)
癫痫组	0.83 ± 0.03[a](25)	0.81 ± 0.06[a](28)	0.62 ± 0.16[a](28)

括号内数据为对应例数;a:$P < 0.05$,与对照组比较

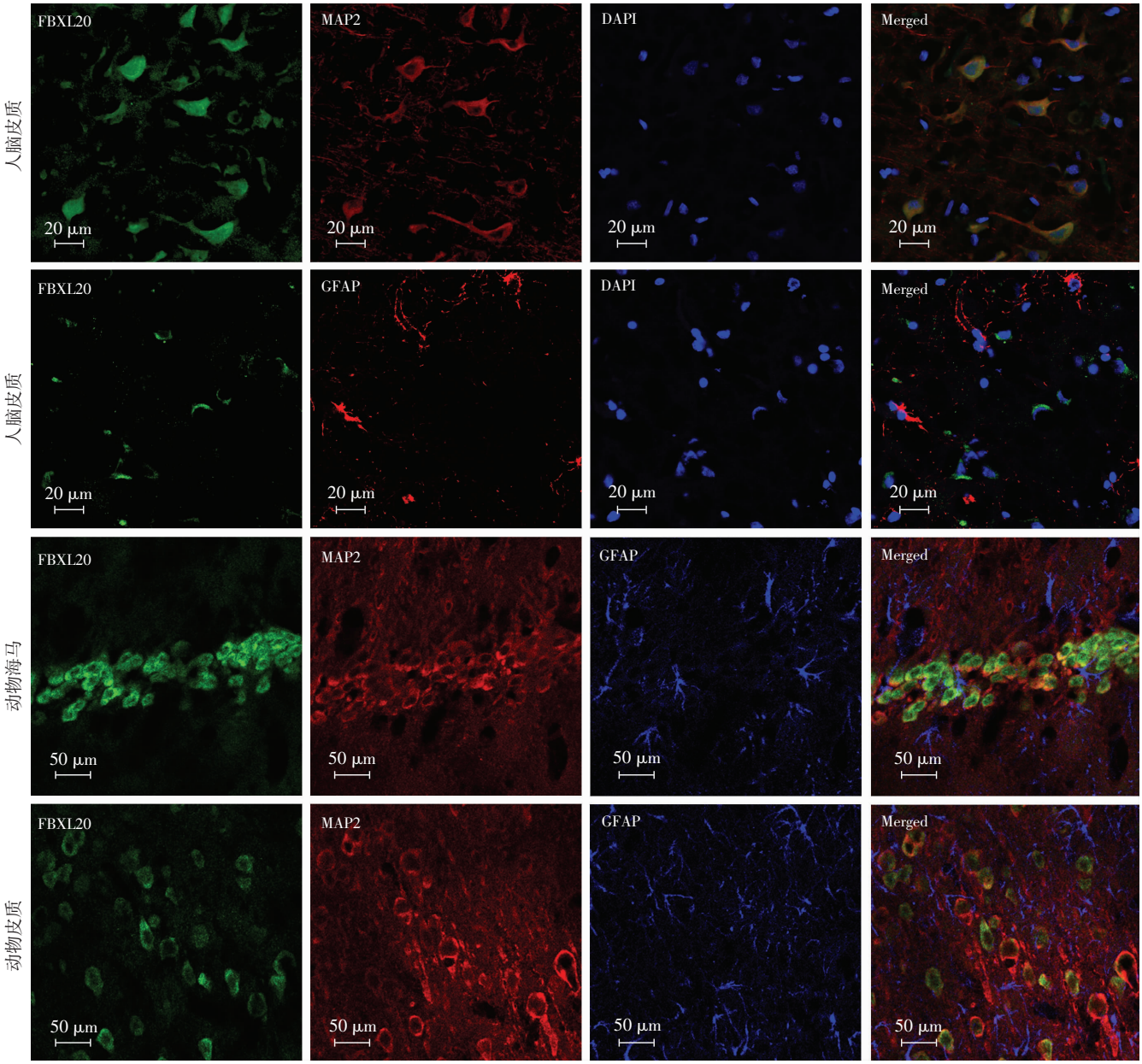
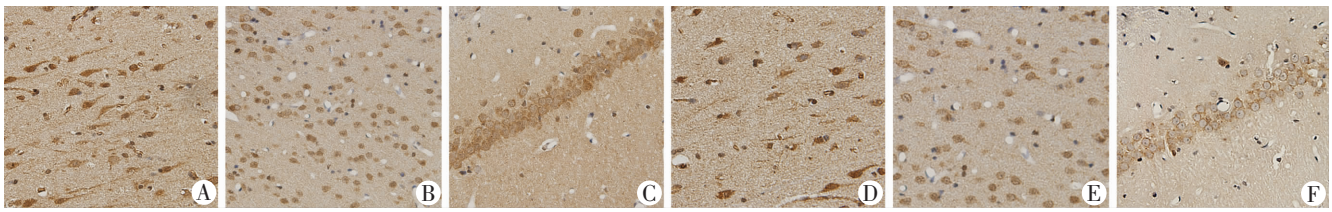


图 1　免疫荧光双标检测癫痫患者和动物模型大脑皮层中 FBXL20 的表达定位　(激光共聚焦显微镜)

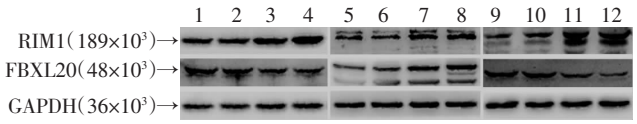


A:对照组人脑皮质;B:对照组大鼠皮质(2 个月);C:对照组大鼠海马(2 个月);D:癫痫组患者皮质;E:癫痫组大鼠皮质(2 个月);F:癫痫组大鼠海马(2 个月)

图 2　免疫组化观察癫痫患者和动物模型大脑皮质、海马中 FBXL20 的表达　(×400)

2.4 Western blot 检测癫痫患者和动物模型中 FBXL20、RIM1 蛋白的表达

Western blot 检测 FBXL20、RIM1 的表达水平,用 GAPDH 作为内参,结果显示在(44~48)×10³检测到 FBXL20,在 189×10³检测到 RIM1。检测结果用内参 GAPDH 标准化后显示,FBXL20 在癫痫患者及大鼠模型中的表达水平较对照组明显降低($P<0.05$);而 RIM1 较对照组则明显升高($P<0.05$,图 3、表 2)。



1、2:对照组患者;3、4:癫痫组患者;5、6:对照组动物皮质;7、8:癫痫组动物皮质;9、10:对照组动物海马;11、12:癫痫组动物海马

图 3 Western blot 检测各组 FBXL20、RIM1 蛋白的表达变化

表 2 Western blot 检测癫痫患者皮质,大鼠皮质、海马 FBXL20、RIM1 的表达(光密度值,$\bar{x}\pm s$)

蛋白	组别	人脑皮质	大鼠皮质	大鼠海马
FBXL20	对照组	1.39±0.32(10)	2.1±0.37(9)	1.41±0.56(9)
	癫痫组	0.41±0.13[a](25)	0.6±0.16[a](28)	0.31±0.09[a](28)
RIM1	对照组	0.47±0.11(10)	0.62±0.33(9)	1.01±0.21(9)
	癫痫组	1.21±0.35[a](25)	1.8±0.27[a](28)	1.57±0.19[a](28)

括号内数据为对应例数;a:$P<0.05$,与对照组比较

3 讨论

突触重塑是癫痫发病机制的重要理论之一,它是神经元选择性增强或者减弱突触的功能以应对外界刺激的过程,常通过改变突触相关受体的数量和神经递质的释放量实现[16-17]。神经递质的释放与突触囊泡释放密切相关,受多种囊泡相关蛋白调控。

RIM1 即突触膜胞外分泌调节蛋白 1,相对分子质量 189×10³,主要分布于突触前膜活性区域,参与突触囊泡释放的激活[18-19]。Xanthos 等[20]研究发现 RIM1 活性及表达的异常可导致突触的异常重塑。FBXL20 是一种广泛表达于中枢神经系统神经元兴奋性突触前膜的 E3 泛素连接酶,可与 RIM1 的 C2B 区结合,为 RIM1 贴上泛素化"标签"导致其降解[21]。

本研究以颞叶癫痫患者及锂-匹鲁卡品癫痫大鼠动物模型为研究对象,检测癫痫脑组织中 FBXL20、RIM1 的表达情况。免疫荧光双标结果显示,FBXL20 与神经元标记物——MAP2 具有共定位关系,但不与星形胶质细胞的标记物——GFAP 共表达,与 Takagi 等[22]的研究结果一致。同时可见神经元轴突处荧光明显,而轴突是形成突触连接的重要部位,提示 FBXL20 可能在神经元突触连接处发挥生理作用。

进而本研究检测了癫痫患者和动物模型中 FBXL20 的表达水平。免疫印迹和免疫组化均发现,癫痫患者大脑皮质中 FBXL20 的表达量明显降低,匹鲁卡品大鼠模型脑组织中发现相同变化趋势,提示 FBXL20 异常表达与癫痫发生关系密切。Yao 等[23]通过 Cre/loxp 基因敲除技术抑制小鼠脑部 FBXL20 的表达后,发现中枢神经元兴奋性突触后电位(mEPSC)显著增强,伴随有小鼠夜间活动增多,躁狂行为增加。这说明 FBXL20 可能影响了 mEPSC 的变化,进而导致异常的突触重塑。

在神经元突触前膜中,FBXL20 主要作用是调节 RIM1 的代谢,影响囊泡释放。因此本研究检测了 RIM1 的表达变化,发现在癫痫患者及动物模型脑组织中,其表达水平较对照组明显升高。而 Yao 等[10]在小鼠脑组织中敲除 FBXL20 后也发现,RIM1 半衰期延长,具有生理活性的 RIM1 显著升高,进而 NMDA 受体介导的兴奋性突触后电位(mEPSC)频率升高;当重新导入 FBXL20 后,RIM1 的水平下降,mEPSC 频率得以恢复;若同时敲除 RIM1,mEPSC 的相关改变则被逆转。这些研究均提示 FBXL20 可以通过调节 RIM1 的代谢,进而诱导异常突触重塑。

从本研究的结果来看,FBXL20 主要表达于神经元,并且在癫痫患者和动物模型中其表达明显异常,并伴随有 RIM1 相应的表达变化。因此我们推测:FBXL20 表达降低,使得 RIM1 泛素化降解减少,导致有生理活性的 RIM1 蓄积。蓄积的 RIM1 通过影响突触前膜钙离子浓度,使得 NMDA 受体介导的 mEPSC 频率和强度增加,导致突触重塑,进而参与癫痫的发生。

本研究检测了颞叶癫痫患者及大鼠模型中 FBXL20 的表达水平,发现 FBXL20 在癫痫中表达降低,并提出"FBXL20 的降低可能导致了癫痫相关的突触重塑,从而引发癫痫"这一新的思路,下一步我们将在动物模型中探索其具体的分子机制。

参考文献:

[1] Leach J P, Abassi H. Modern management of epilepsy[J]. Clin Med (Lond), 2013, 13(1): 84-86.

[2] Dulac O, Milh M, Holmes G L. Brain maturation and epilepsy[J]. Handb Clin Neurol, 2013, 111: 441-446. DOI: 10.1016/B978-0-444-52891-9.00047-6

[3] Cousin M A, Robinson P J. Mechanisms of synaptic vesicle recycling illuminated by fluorescent dyes[J]. J Neurochem, 1999, 73(6): 2227 - 2239.

[4] Martin B S, Huntsman M M. Pathological plasticity in fragile X syndrome[J]. Neural Plast, 2012, 2012: 275630. DOI: 10.1155/2012/275630

[5] Holderith N, Lorincz A, Katona G, *et al*. Release probability of hippocampal glutamatergic terminals scales with the size of the active zone[J]. Nat Neurosci, 2012, 15(7): 988 - 997. DOI: 10.1038/nn.3137

[6] Frank C A. How voltage-gated calcium channels gate forms of homeostatic synaptic plasticity[J]. Front Cell Neurosci, 2014, 8: 40. DOI: 10.3389/fncel.2014.00040

[7] Upreti C, Otero R, Partida C, *et al*. Altered neurotransmitter release, vesicle recycling and presynaptic structure in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy[J]. Brain, 2012, 135(Pt 3): 869 - 885. DOI: 10.1093/brain/awr341

[8] Janz R, Goda Y, Geppert M, *et al*. SV2A and SV2B function as redundant Ca^{2+} regulators in neurotransmitter release[J]. Neuron, 1999, 24(4): 1003 - 1016.

[9] Nowack A, Malarkey E B, Yao J, *et al*. Levetiracetam reverses synaptic deficits produced by overexpression of SV2A[J]. PLoS One, 2011, 6(12): e29560. DOI: 10.1371/journal.pone.0029560

[10] Yao I, Takagi H, Ageta H, *et al*. SCRAPPER-dependent ubiquitination of active zone protein RIM1 regulates synaptic vesicle release[J]. Cell, 2007, 130(5): 943 - 957. DOI: 10.1016/j.cell.2007.06.052

[11] Girach F, Craig T J, Rocca D L, *et al*. RIM1α SUMOylation is required for fast synaptic vesicle exocytosis[J]. Cell Rep, 2013, 5(5): 1294 - 1301. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.10.039

[12] Pitsch J, Opitz T, Borm V, *et al*. The presynaptic active zone protein RIM1α controls epileptogenesis following status epilepticus[J]. J Neurosci, 2012, 32(36): 12384 - 12395. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0223-12.2012

[13] Xu X, Yang X, Xiong Y, *et al*. Increased expression of receptor for activated C kinase 1 in temporal lobe epilepsy[J]. J Neurochem, 2015, 133(1): 134 - 143. DOI: 10.1111/jnc.13052

[14] 詹傲, 石全红, 张超, 等. Fascin-1 在颞叶癫痫大鼠中表达的变化[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(15): 1587 - 1591. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2014.15.023

[15] Covolan L, Mello L E. Temporal profile of neuronal injury following pilocarpine or kainic acid-induced status epilepticus[J]. Epilepsy Res, 2000, 39(2): 133 - 152.

[16] 吴彬, 孙红斌. 海马苔藓纤维出芽与癫痫[J]. 实用医院临床杂志, 2012, 9(1): 133 - 135. DOI: 10.3969/j.issn.1672-6170.2012.01.051.

[17] Dobie F, Craig A M. A fight for neurotransmission: SCRAPPER trashes RIM[J]. Cell, 2007, 130(5): 775 - 777. DOI: 10.1016/j.cell.2007.08.020

[18] Han Y, Kaeser P S, Sudhof T C, *et al*. RIM determines Ca^{2+} channel density and vesicle docking at the presynaptic active zone[J]. Neuron, 2011, 69(2): 304 - 316. DOI: 10.1016/j.neuron.2010.12.014

[19] Kiyonaka S, Wakamori M, Miki T, *et al*. RIM1 confers sustained activity and neurotransmitter vesicle anchoring to presynaptic Ca^{2+} channels[J]. Nat Neurosci, 2007, 10(6): 691 - 701. DOI: 10.1038/nn1904

[20] Xanthos D N, Sandkuhler J. Neurogenic neuroinflammation: inflammatory CNS reactions in response to neuronal activity[J]. Nat Rev Neurosci, 2014, 15(1): 43 - 53. DOI: 10.1038/nrn3617

[21] Setou M, Yao I. SCRAPPER: an F-box protein that regulates synaptic vesicle release *via* RIM1 degradation[J]. Tanpakushitsu Kakusan Koso, 2008, 53(1): 36 - 43.

[22] Takagi H, Setou M, Ito S, *et al*. SCRAPPER regulates the thresholds of long-term potentiation/depression, the bidirectional synaptic plasticity in hippocampal CA3-CA1 synapses[J]. Neural Plast, 2012, 2012: 352829. DOI: 10.1155/2012/352829

[23] Yao I, Takao K, Miyakawa T, *et al*. Synaptic E3 ligase SCRAPPER in contextual fear conditioning: extensive behavioral phenotyping of Scrapper heterozygote and overexpressing mutant mice[J]. PLoS One, 2011, 6(2): e17317. DOI: 10.1371/journal.pone.0017317

(收稿:2015-11-14;修回:2015-12-18)

(编辑 王小宾)