基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003581

上调海马区GluN3A表达对小鼠行为学及髓鞘表达的影响

刘　灿[1]，张萌萌[1]，曹佳宁[1]，窦霄云[1]，孔祥如[2]，修　芸[1]
（1.重庆医科大学生命科学研究院，重庆　400016；2.重庆医科大学附属儿童医院小儿肿瘤外科，重庆　400014）

【摘　要】**目的**：探究海马区N-甲基-D-天冬氨酸受体（N-methyl-d-aspartate receptor，NMDAR）3A亚基（N-methyl-D-aspartate receptor subtype 3A，GluN3A）在焦虑、学习记忆和抑郁样行为中的作用及其可能的机制。**方法**：选取7~8周龄雄性C57BL/6N小鼠30只，随机分成GluN3A基因过表达组（GluN3A overexpression，GluN3A OE组）和对照组，分别注射过表达GluN3A病毒和对照空病毒至双侧海马，注射3周后，进行旷场实验、Y迷宫、强迫游泳和悬尾实验行为学测试，随后以Western blot和qRT-PCR检测GluN3A、髓鞘碱性蛋白（myelin basic protein，MBP）、髓鞘相关糖蛋白（myelin associated glycoprotein，MAG）和少突胶质细胞转录因子2（oligodendrocyte Lineage Transcription factor 2，Olig2）的表达情况；以免疫荧光技术检测少突胶质细胞发育状况。**结果**：旷场实验中，2组小鼠间总运动距离（P=0.256）、中心区域停留时间（P=0.487）差异均无统计学意义；Y迷宫实验中，GluN3A OE组小鼠进臂总次数低于对照组小鼠（P=0.015），但进臂交替率在2组小鼠间差异无统计学意义（P=0.381）；强迫游泳实验（P=0.347）和悬尾实验（P=0.471）显示，不动时间在2组小鼠间差异均无统计学意义。双侧海马区域注射rAAV-GluN3A后，海马区GluN3A蛋白表达较对照组明显增加（P=0.005），海马区MBP蛋白（P=0.019）、MAG蛋白（P=0.022）和Olig2蛋白（P=0.022）表达降低，海马区MBP mRNA（P=0.043）、MAG mRNA（P=0.032）和Olig2 mRNA（P<0.001）的表达与蛋白表达下降趋势相一致，均降低；免疫荧光染色显示：GluN3A OE组小鼠海马区结肠腺瘤样息肉标记成熟少突胶质细胞密度降低（P<0.001），但血小板衍生生长因子受体标记少突胶质前体细胞密度无明显变化（P=0.542）。**结论**：在双侧海马区域过表达GluN3A亚基基因并未引发小鼠出现学习记忆能力改变、焦虑行为及抑郁样行为，仅引发海马区域髓鞘相关蛋白低表达及成熟少突胶质细胞减少。

【关键词】3A亚基；海马；行为学；髓鞘；少突胶质细胞
【中图分类号】R74　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2024-01-06

Effects of GluN3A overexpression in the bilateral hippocampus on mouse behaviors and myelination

Liu Can[1], Zhang Mengmeng[1], Cao Jianing[1], Dou Xiaoyun[1], Kong Xiangru[2], Xiu Yun[1]
(1. Institute of Life Science, Chongqing Medical University; 2. Department of Pediatric Surgical Oncology, Children's Hospital Affiliated to Chongqing Medical University)

【**Abstract**】***Objective***: To explore the role and possible regulatory mechanism of hippocampal N-methyl-D-aspartate receptor subtype 3A (GluN3A) subunit in anxiety-related behaviors, ability of learning and memory, and depression-like behaviors. ***Methods***: Thirty male C57BL/6N mice aged 7-8 weeks were randomly divided into GluN3A overexpression group (GluN3A OE) and control group. Recombinant adeno-associated viruses with (rAAV-GluN3A) and without (rAAV-control) the gene encoding GluN3A were injected into the bilateral hippocampus of mice in the GluN3A OE and control groups, respectively. At 3 weeks after virus injection, behavioral assessments were conducted using the open field test, Y maze test, forced swimming test, and tail suspension test. Subsequently, Western blot and qRT-PCR were performed to determine the expression levels of GluN3A, myelin basic protein (MBP), myelin-associated glycoprotein (MAG), and oligodendrocyte transcription factor 2 (Olig2). Moreover, immunofluorescence staining was carried out to evaluate the development of oligodendrocytes. ***Results***: In the open field test, there were no significant differences in the total moving distance (P=0.256) and the time spending in central area of open field (P=0.487) between the two groups. In the Y maze test, the total number of arm entries of mice was significantly lower in the GluN3A OE group than in the control group (P=0.015), while no significant difference was observed in alternating rate between the two groups (P=0.381). Both forced swimming test (P=0.347) and tail suspension test (P=0.471) showed no significant differences in immobility time between the two groups. After injection of rAAV-GluN3A in the bilateral hippocampus, the expression of GluN3A

作者介绍：刘　灿，Email：1601297310@qq.com，研究方向：精神分裂症的机制研究。
通信作者：修　芸，Email：xiuyun123@cqmu.edu.cn。
基金项目：国家自然科学基金青年科学基金资助项目（编号：81301149）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240926.0938.006（2024-09-26）

protein in the hippocampus was significantly increased compared to that of control group（P=0.005）. The expression levels of MBP protein（P=0.019）, MAG protein（P=0.022）, and Olig2 protein（P=0.022）were significantly decreased in mice of the GluN3A OE group compared to mice of the control group. The expression levels of MBP mRNA（P=0.043）, MAG mRNA（P=0.032）, and Olig2 mRNA（P<0.001）were significantly decreased in mice of the GluN3A OE group, which was consistent with the decreased expression of MBP, MAG, and Olig2 proteins. Immunofluorescence showed that the density of $CC1^+$ mature oligodendrocytes was significantly decreased in the hippocampus of mice in the GluN3A OE group（P<0.001）, while the density of $PDGFR\alpha^+$ oligodendrocyte precursor cells displayed negligible variation（P=0.542）. ***Conclusion***: Overexpression of GluN3A subunit gene in the bilateral hippocampus did not lead to changes in ability of learning and memory, anxious behaviors, and depression-like behaviors in mice, but led to the low expression of myelin-related proteins and decreased density of mature oligodendrocytes in the hippocampus.

【Key words】GluN3A; hippocampus; behavior; myelin sheath; oligodendrocyte

3A 亚基（N-methyl-D-aspartate receptor subtype 3A, GluN3A）是 N-甲基-D-天冬氨酸受体（N-methyl-d-aspartate receptor, NMDAR）的构成亚基之一，其在大脑呈现“先升后降”的表达时序性，即在出生后第 1 周结束时达到峰值，随后急剧下降，在成年大脑内维持低表达水平[1-2]。然而，临床研究发现，精神分裂症患者大脑中 GluN3A mRNA 水平较健康对照者高 32%[3]，提示 GluN3A 可能在精神分裂症中发挥作用；本研究团队前期也在地唑西平(dizocilpine, MK-801）长期腹腔注射诱导的精神分裂症小鼠模型大脑中发现 GluN3A mRNA 表达较对照小鼠增高[4]。另有研究报道，GluN3A 异常还与孤独症[1]、亨廷顿舞蹈综合征[5]、阿尔茨海默病[6]及抑郁症[7]等精神类疾病的发生也高度相关，这提示 GluN3A 在精神分裂症等精神类疾病的发生中具有重要的调控意义。

以往研究表明，GluN3A 对发育早期突触成熟、修剪具有重要调控功能[8]。以转基因操控技术调控发育早期 GluN3A 维持高表达至出生后第 25 天，GluN3A 高表达转基因小鼠可出现树突棘密度降低、突触数量减少、突触后致密区长度减少等现象并伴长期记忆储存受损、空间记忆力下降等行为学改变，提示 GluN3A 亚基可能通过调控突触参与上述精神类疾病[8]。然而，GluN3A 亚基可能还通过其他路径参与。GluN3A 已被证明在少突胶质细胞和髓鞘上表达丰富，且介导缺血后的少突胶质细胞突起萎缩等髓鞘损伤[9-10]；抑郁、焦虑及精神分裂症等精神类疾病也被证明存在髓鞘完整性受损等现象[11-13]。目前，尚不清楚 GluN3A 是否通过对髓鞘的影响发挥其参与抑郁、焦虑等精神类疾病的作用。本研究拟通过脑立体定位注射病毒技术制备 GluN3A 过表达小鼠模型，观察 GluN3A 过表达对小鼠行为学以及对髓鞘和少突胶质细胞相关蛋白的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

本实验采用 7~8 周龄，体质量为 20~23 g 的 C57BL/6N 小鼠共 30 只，由重庆恩斯维尔生物公司提供。饲养环境为重庆医科大学实验动物中心 IVC 级动物房，12 h/12 h 光暗循环，温度（25 ± 1）℃，每周更换垫料。小鼠自由获得食物和水，动物伦理批件号为：IACUC-CQMU-2023-11032。

1.2 GluN3A 重组腺相关病毒(recombination adeno-associated virus, rAAV）脑立体定位注射

用于本实验的 30 只小鼠在适应周围环境 1 周后，被随机分为对照组（n=15）和 GluN3A-OE 组（GluN3A overexpression, GluN3A OE, n=15）。1% 的戊巴比妥钠腹腔注射麻醉小鼠后，以冠状缝和矢状缝汇合处（即前囟）为原点，根据以下坐标：AP, -2.3 mm; ML, ±1.8 mm; DV, -2 mm[7]，钻孔后缓慢将 5 μL 微量注射器推入脑内海马处。对照组小鼠双侧海马内注射对照空病毒（rAAC-CMV-HA-WPRES, rAAV-control），滴度为 5.39×10^{12} vg/mL；GluN3A-OE 组小鼠双侧海马内注射过表达 GluN3A 病毒（rAAV-CMV-Grin3a-HA-WPRES, rAAV-GluN3A），滴度为 5.8×10^{12} vg/mL。每侧海马注射 1.5 μL 病毒，注射速度为 0.3 μL/min。注射 3 周后进行行为学测试。

1.3 行为学检测

1.3.1 旷场实验 测试前 2 h，将动物放入安放有旷场箱的房间以适应环境。旷场箱大小为 25 cm（长）× 25 cm（宽）× 30 cm（高），顶部带有摄像头，箱底自动划分为左上、上边、左边、中央、右边、左下、下边、右边 9 个区域。将小鼠放入中央区域任其自动活动，记录 5~10 min。

1.3.2 Y 迷宫 测试前 2 h，将动物放入安放有 Y 迷宫的房

间以适应环境。将小鼠放在Y迷宫中间处（任意一臂末端），任其自由探索迷宫8 min，视频分析系统记录总进臂次数和连续进入3个不同臂的次数，并按公式计算交替率：交替率=连续进入3个不同臂的次数/（总进臂次数-2）。

1.3.3 强迫游泳 测试前2 h，将动物放入实验房间以适应环境。实验时将小鼠放置在1个直径为20 cm，高35 cm的玻璃圆柱体中，圆柱体中装有20 cm深的温水（24 ± 1）℃。每只小鼠测试6 min，测试结束，以干毛巾擦拭小鼠后将其放回笼盒中。实验由固定的摄像机录像，分析录像后4 min内小鼠的不动时间。

1.3.4 悬尾实验 测试前2 h，将动物安放在实验房间以适应环境。实验时将每只小鼠的尾巴用胶布悬挂在金属环上，实验持续6 min，计数录像后4 min不动时间。结束后用70%酒精清理器材。

1.4 蛋白质免疫印迹

每组选取小鼠8只，获取单侧海马组织，使用RIPA裂解液和PMSF混合液提取蛋白。采用BCA法对蛋白定量后，进行SDS-PAGE电泳，将分离的蛋白转移到PVDF膜上，牛奶封闭2 h，一抗孵育过夜：抗肌动蛋白（actin），1∶7 000，购自博奥森生物技术有限公司，货号：bs-0061R；抗微管蛋白（tubulin），1∶3 000，购自absin公司，货号：abs830032；抗GluN3A；1∶1 000，购自Biorbyt公司，货号：orb157999；抗髓鞘碱性蛋白（myelin basic protein，MBP），1∶3 000，购自Abcam公司，货号：ab218011；抗少突胶质细胞转录因子2（Oligodendrocyte Lineage Transcription factor 2，Olig2），1∶3 000，购自Abcam，货号：ab109186；抗髓鞘相关糖蛋白（myelin associated glycoprotein，MAG），1∶500，购自santa cruz公司，货号：sc-166849，过夜后用TBST漂洗3次并加入对应的二抗（山羊抗小鼠IgG，1∶10 000，购自博奥森公司，货号：bs-0296G；山羊抗兔IgG，1∶10 000，购自博奥森公司，货号：bs-0295G），室温孵育1 h后用TBST洗涤3次，最后经增强型化学发光试剂（enhanced chemiluminescence，ECL）液曝光。以Actin抗体或抗微管蛋白作为内对照，经Image J软件进行灰度分析，用目的蛋白与内参蛋白的比值表示目的蛋白的相对表达量。

1.5 实时荧光定量聚合酶链反应（quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction，qRT-PCR）

以上述8只小鼠的另一半海马组织，使用TRIzol试剂提取总的RNA，总RNA中的基因组DNA使用PrimerScript™ RT试剂盒去除，逆转录成cDNA后进行PCR反应。qPCR反应体系为10 μL：cDNA模板（1 μL），SYBR Green PCR mix（5 μL），上下游引物（各0.5 μL，终浓度为1 μmol/L），DEPC水（3 μL）。反应条件为：95 ℃ 2 min，95 ℃ 10 s，56 ℃ 30 s，第2、3步重复39个循环。以Actin作为内参基因，目的基因相对表达量使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算。本研究中使用的引物序列见表1。

表1 实时荧光定量PCR引物序列

基因名称	引物序列（5'→3'）
Actin	F：TGCTCCTCCTGAGCGCAAGTACTC
	R：CGGACTCATCGTACTCCTGCTTGC
MBP	F：GGCGGTGACAGACTCCAAG
	R：GAAGCTCGTCGGZCTCTGAG
MAG	F：CTGCCGCTGTTTTGGATAATGA
	R：CATCGGGGAAGTCGAAACGG
Olig2	F：TCCCCAGAACCCGATGATCTT
	R：CGTGGACGAGGACACAGTC

1.6 免疫荧光染色

小鼠心脏灌注后，取出脑组织，蔗糖脱水，之后进行冰冻切片，每片约30 μm厚。经PBS清洗30 min后，0.3%Triton+0.1%Tween破膜1 h，置于1×柠檬酸盐中抗原修复6 min，10%的山羊血清或驴血清封闭2 h，一抗：[抗结肠腺瘤样息肉（adenomatous polyposis coli clone，CC1），1∶500，购自millipore公司，货号OP80-100-UG；抗血小板衍生生长因子受体（platelet derived growth factor receptor alpha，PDGFRα），1:500，购自R&D systems，货号：AF1062]4 ℃孵育过夜。PBS清洗3次后，加入对应的二抗（山羊抗小鼠DyLight488，1∶500，购自Abbkin公司，货号：A23210；驴抗山羊DyLight488，1:500，购自Abbkin公司，货号11：A24231），37 ℃避光孵育2 h，PBS洗涤3次后，加入4′，6-二脒基-2-苯基吲哚（4′，6-diamidino-2-phenylindole，DAPI）进行细胞核染色，室温避光孵育5 min，洗涤后用抗荧光淬灭剂封片，于共聚焦显微镜下采集图片。图片采集后导入PS中计算出图片的实际面积，用图片中的阳性个数除以实际面积得出此图片阳性细胞的密度。

1.7 统计学方法

所有统计分析均采用Prism 8软件进行，计量资料符合正态分布且方差齐用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，采用独立样本t检验对2组数据进行分析，非正态分布用中位数（四分位间距）[M_d（P_{25}，P_{75}）]表示，采用Mann-Whitney U检验进行分析。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 海马注射rAAV-GluN3A后表达情况

将带GFP的病毒脑立体定位注射，3周后将小鼠冰冻切片脑片置于共聚焦显微镜下观察主要在海马区域表达，提示病毒注射部位正确（图1A）。蛋白质免疫印迹验证双侧海马注射rAAV-GluN3A后海马脑区GluN3A蛋白表达量高于对照组（[0.547（0.340，0.739）] vs. [1.199（0.861，1.249）]，Z=4.779，P=0.005）（图1B~C）。

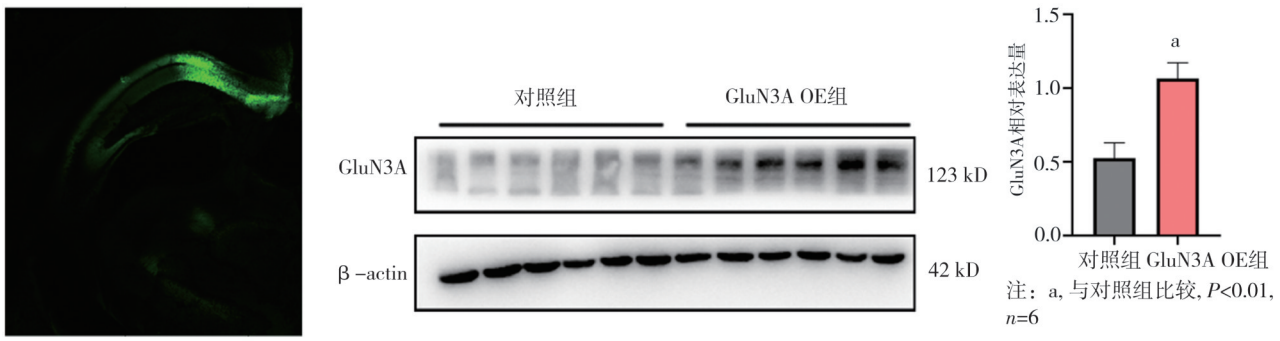
2.2 海马脑区过表达GluN3A对小鼠行为学的影响

旷场实验结果显示：对照组小鼠和GluN3A OE组小鼠总运动距离（12.478 ± 2.28 vs. 11.321 ± 2.954，t=1.680，P=0.256）和中央区域停留时间（51.786 ± 30.763 vs. 44.143 ± 26.529，t=1.513，P=0.487）相当，差异无统计学意义（图2A~B），

提示海马脑区过表达GluN3A未引发小鼠焦虑样行为。Y迷宫结果显示：GluN3A OE组小鼠进臂总次数低于对照组小鼠（35.000 ± 11.308 vs. 25.133 ± 8.663，t=2.592，P=0.015），但2组小鼠的进臂交替率差异无统计学意义（0.557 ± 0.075 vs. 0.624 ± 0.123，t=1.738，P=0.381）（图2C~D），提示海马脑区过表达GluN3A未引发小鼠学习记忆能力改变。2组小鼠在强迫游泳（100.467 ± 48.071 vs. 116.533 ± 40.505，t=0.910，P=0.347）和悬尾实验（106.200 ± 38.578 vs. 116.400 ± 35.185，t=1.223，P=0.471）中的不动时间差异均无统计学意义（图2E~F），提示海马脑区过表达GluN3A未引发小鼠出现绝望样抑郁行为。

2.3　海马脑区过表达GluN3A下调髓鞘相关蛋白的表达

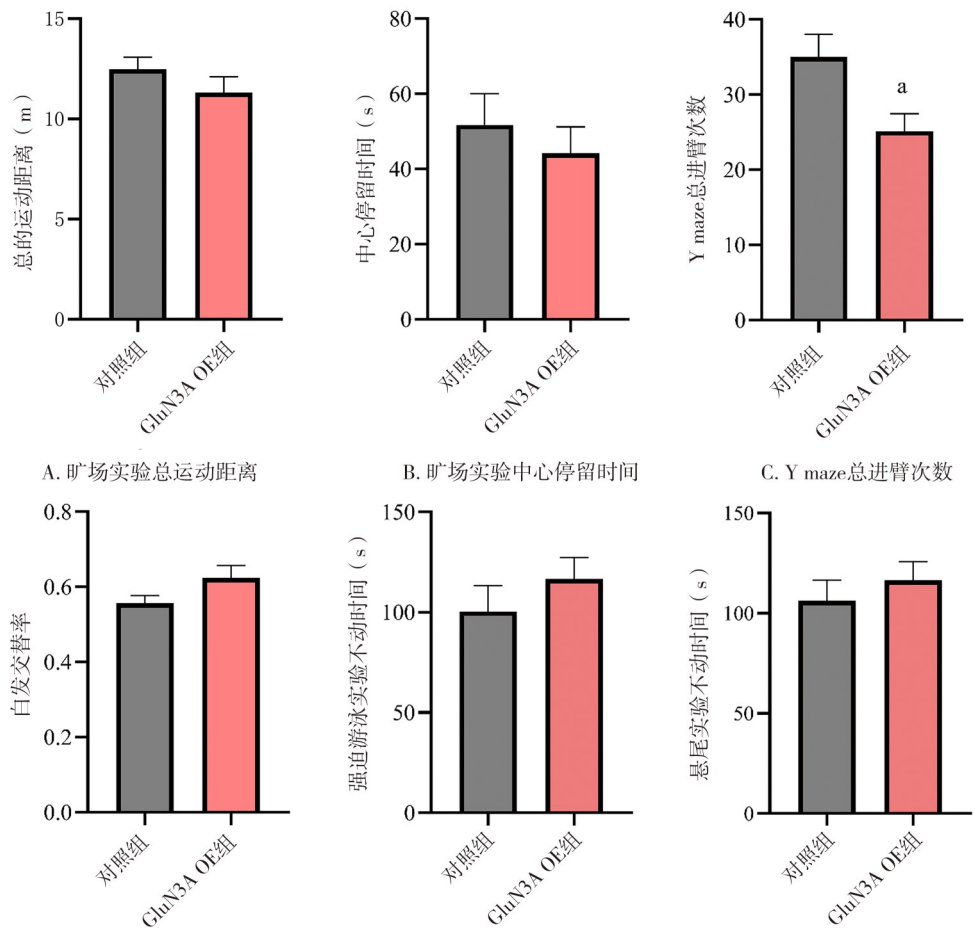
为验证海马脑区过表达GluN3A对髓鞘的影响，通过蛋白质免疫印迹和qRT-PCR检测海马中髓鞘相关蛋白和



A. 脑立体定位注射海马部位验证　　B. GluN3A蛋白表达示意图　　C. GluN3A蛋白半定量统计图

注：a，与对照组比较，P<0.01，n=6

图1　海马注射rAAV-GluN3A后表达情况



A. 旷场实验总运动距离　B. 旷场实验中心停留时间　C. Y maze总进臂次数

D. Y maze自发交替率　E. 强迫游泳实验不动时间　F. 悬尾实验不动时间

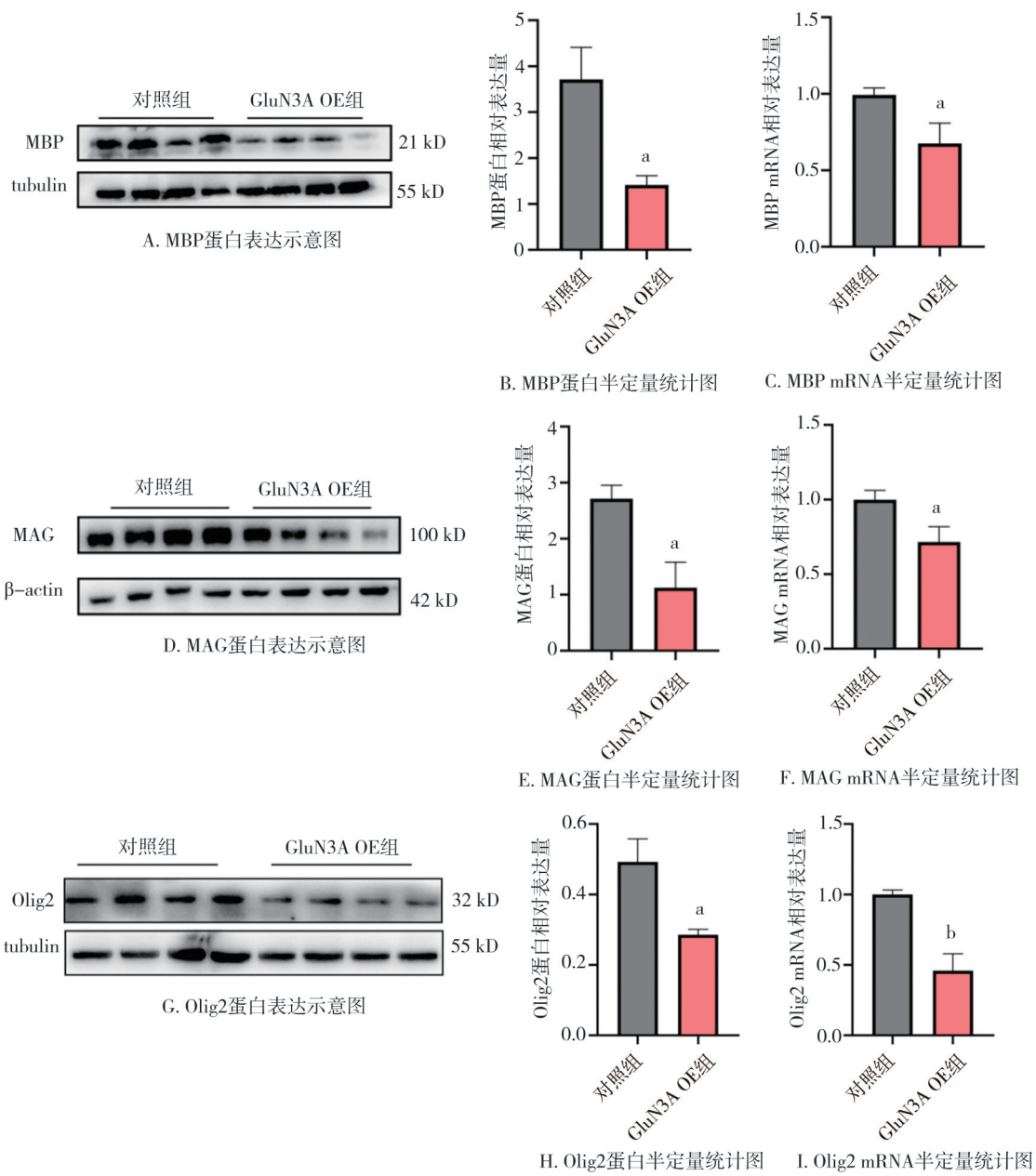
注：a，与对照组比较，P<0.05，n=15

图2　GluN3A过表达对小鼠行为学的影响

mRNA 表达情况。结果发现：双侧海马注射 rAAV-GluN3A 后，GluN3A OE 组小鼠海马组织 MBP 蛋白（3.715 ± 1.203 vs. 1.416 ± 0.343，t=3.184，P=0.019）和 MBP mRNA（0.993 ± 0.112 vs. 0.675 ± 0.325，t=2.263，P=0.043）表达低于对照组小鼠（图 3A~C）；MAG 蛋白[2.942(2.694,2.962)] vs. [0.896(0.661, 1.358)]（Z=0.909，P=0.022）和 MAG mRNA（1.000 ± 0.164 vs. 0.716 ± 0.269，t=2.383，P=0.032）表达低于对照组小鼠（图 3D~F）。髓鞘是由少突胶质细胞包裹轴突形成，进一步对海马中 Olig2 蛋白和 Olig2 mRNA 检测，结果显示，GluN3A OE 组小鼠的 Olig2 蛋白（0.493 ± 0.113 vs.0.286 ± 0.027，t=3.079，P=0.022）和 Olig2 mRNA（1.000 ± 0.083 vs. 0.459 ± 0.317，t=4.369，P<0.001）表达均低于对照组小鼠（图 3G~I）。

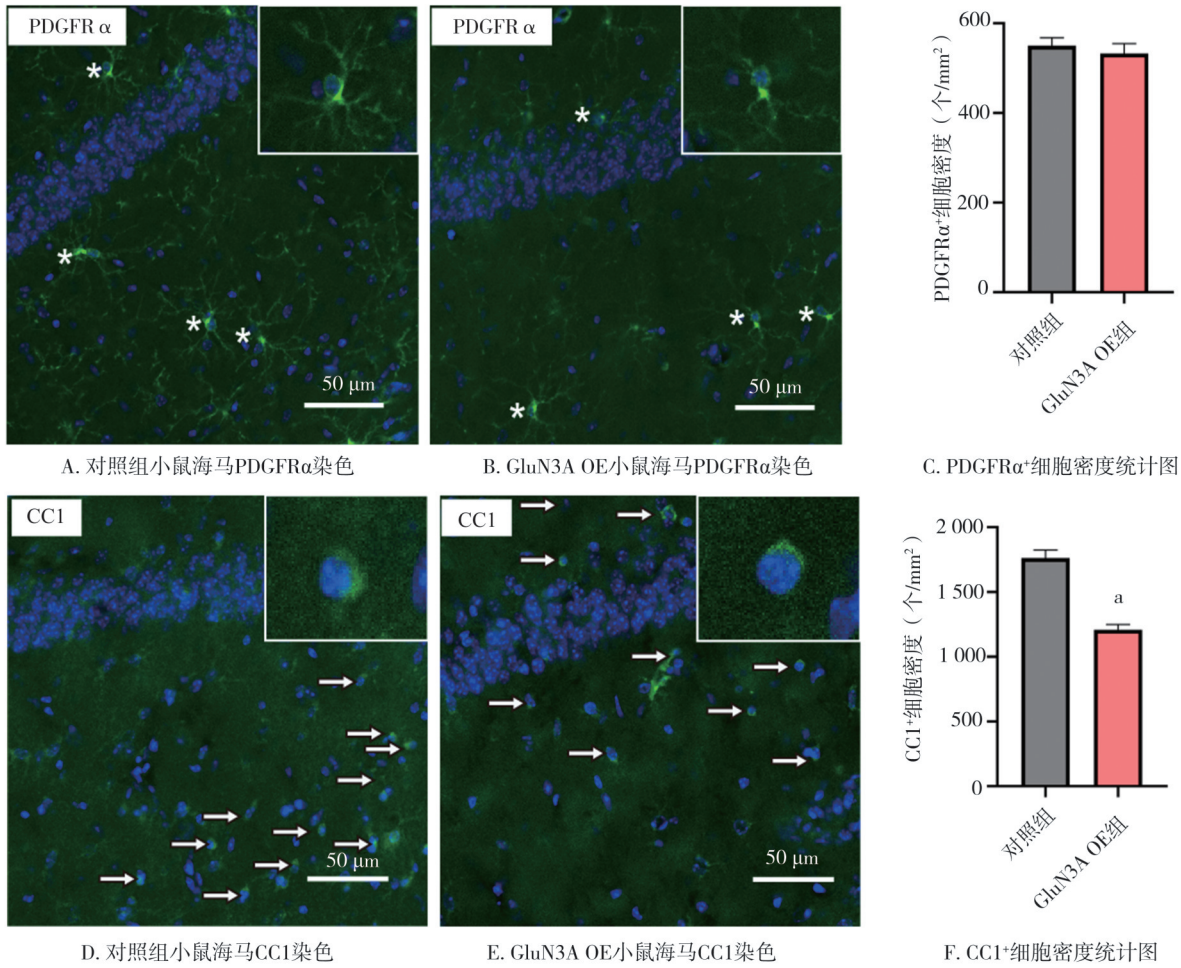
2.4 海马脑区过表达 GluN3A 对少突胶质细胞的影响

为了检测海马中少突胶质细胞的分化情况，使用免疫荧光染色对海马中不同发育阶段的少突胶质细胞进行计数，CC1 阳性指示成熟少突细胞、PDGFRα 阳性表示少突胶质前体细胞。免疫荧光结果显示：与对照组相比，GluN3A OE 组小鼠海马中 PDGFRα 阳性少突胶质细胞[546.875（546.875, 781.250）] vs. [507.813（507.813, 781.250）]（Z=549.842，P=0.496）无明显改变（图 4A~C），CC1 阳性成熟少突胶差异有统计学意义（Z=13.903，P<0.001）（图 4D~F）。



注：a，与对照组比较，P<0.05；b，与对照组比较，P<0.01；Western blot，n=4；qRT-PCR，n=8

图 3　GluN3A 过表达对海马脑区髓鞘相关蛋白表达的影响



A. 对照组小鼠海马PDGFRα染色　B. GluN3A OE小鼠海马PDGFRα染色　C. PDGFRα+细胞密度统计图

D. 对照组小鼠海马CC1染色　E. GluN3A OE小鼠海马CC1染色　F. CC1+细胞密度统计图

注：a，与对照组比较，$P<0.01$，$n=4$；*表示PDGFRα+细胞；→表示CC1+细胞

图4　GluN3A过表达对海马区少突胶质前体细胞和成熟少突胶质细胞的影响

3　讨　论

以往研究报道，GluN3A异常与精神分裂症、孤独症、亨廷顿舞蹈综合征、阿尔茨海默病及抑郁症等精神类疾病的发生高度相关[1,5-8]。如Robert应用基因操控技术调控GluN3A高表达至出生后第25天或成年期（海马CA1区典型高表达），GluN3A过表达转基因成年小鼠较对照小鼠表现出较强的空间学习能力，但长时程记忆能力减弱[8]；Zhang MM等[7]发现慢性束缚抑郁小鼠模型海马脑区GluN3A表达下调，以rAAV-GluN3A挽救海马脑区GluN3A下调，慢性束缚引发的抑郁样行为可被逆转。此外，尚有团队发现GluN3A基因敲除小鼠表现出运动功能障碍、学习记忆能力增强[6,14]及社交功能受损[15]等表型。本研究中，采用双侧海马注射rAAV-GluN3A制备海马区GluN3A过表达成年小鼠模型，Y迷宫行为学检测结果显示，海马区GluN3A过表达小鼠进臂总次数明显下降，但进臂交替率在两组小鼠间无明显差异，表明仅在海马区过表达GluN3A并未引发小鼠学习记忆能力的显著性改变。尽管海马被证明在储存和检索新记忆以及空间导航方面有重要意义[16]，但仅改变海马区GluN3A可能不足以引发行为学改变，推测可能是大脑内GluN3A的综合改变而非单独的大脑区域参与了异常行为学的发生。以往研究报道，精神分裂症患者GluN3A表达上调仅发生在大脑背外侧前额叶皮质区而非下颞叶新皮层[3]。后续将制备全脑GluN3A过表达小鼠，以探讨GluN3A过表达的对行为学影响的综合效应。此外，旷场实验结果显示，旷场中总运动距离、中央区域运动时间在两组小鼠中也无显著性差异，提示仅在海马区过表达GluN3A未引发小鼠运动能力及焦虑样行为的改变；悬尾实验和强迫游泳结果提示，仅在海马区过表达GluN3A未引发小鼠抑郁样行为。

以往研究表明，GluN3A对突触成熟、修剪具有重要调控功能：例如，过表达GluN3A亚基可导致纹

状体或海马CA1区树突棘密度降低、突触数量减少及突触后致密区度减少[5,8]。既往研究证明NMDAR还表达在少突胶质细胞突起和髓鞘上，并参与缺血诱导的髓鞘/白质损伤，颠覆以往“NMDAR仅表达在神经元、突触后膜PSD”的研究发现[10,17-18]。而少突胶质细胞突起/髓鞘NMDAR区别于突触NMDAR的特点就是GluN3A亚基含量丰富[19]，Henson MA等[9]提出，可能正是含GluN3A亚基的NMDAR介导了缺血后的少突胶质细胞突起萎缩等白质损伤。本团队前期研究发现，MK-801诱导的精神分裂症模型小鼠脑内GluN3A亚基转录水平增加的同时，其胼胝体内髓鞘蛋白MBP表达下调、髓鞘板层分离、细小有髓神经纤维丢失等神经损伤[20]。依据前述证据推测，除了调控突触，GluN3A亚基可能还通过调控髓鞘、影响白质完整性参与抑郁、焦虑等精神类疾病的发生。本研究显示在双侧海马区过表达GluN3A可显著下调海马区髓鞘蛋白MBP和MAG的表达。少突胶质细胞是中枢内成髓鞘细胞，其发育大致可分为少突胶质前体细胞、不成熟少突胶质细胞和成熟少突细胞等阶段[21]。本研究中，采用少突胶质细胞不同发育时期的标志物进行了少突胶质细胞谱系分析，结果显示，少突胶质细胞全谱系标志物蛋白Olig2及成熟少突胶质细胞标志物CC1在双侧海马区过表达GluN3A小鼠海马均显著性降低，但少突胶质前体细胞PDGFRα无显著性改变，提示GluN3A过表达可能通过影响少突胶质细胞分化成熟而非通过影响少突胶质细胞的增殖发挥对髓鞘形成的调控作用。

综上所述，本研究分析了在双侧海马过表达GluN3A基因对小鼠行为学及髓鞘和少突胶质细胞的影响，研究首次揭示GluN3A过表达可导致脱髓鞘和少突胶质细胞生成分化障碍。尽管仅在双侧海马过表达GluN3A并未引发明显的行为学改变，但全脑过表达GluN3A对行为学的影响及其可能的机制值得深入探讨。

参 考 文 献

[1] Crawley O, Conde-Dusman MJ, Pérez-Otaño I. GluN3A NMDA receptor subunits: more enigmatic than ever?[J]. J Physiol, 2022, 600(2): 261-276.

[2] Murillo A, Navarro AI, Puelles E, et al. Temporal dynamics and neuronal specificity of Grin3a expression in the mouse forebrain[J]. Cereb Cortex, 2021, 31(4): 1914-1926.

[3] Mueller HT, Meador-Woodruff JH. NR3A NMDA receptor subunit mRNA expression in schizophrenia, depression and bipolar disorder[J]. Schizophr Res, 2004, 71(2/3): 361-370.

[4] 陈 静，孔祥如，刘文嵌，等. 髓鞘形成相关NMDA-R亚基在精神分裂症小鼠模型中的变化[J]. 神经解剖学杂志，2021，37(1)：15-20.
Chen J, Kong XR, Liu WQ, et al. Alterations of myelination-related NMDA-R subunits in schizophrenia mouse model[J]. Chin J Neuroanat, 2021, 37(1): 15-20.

[5] Marco S, Giralt A, Petrovic MM, et al. Suppressing aberrant GluN3A expression rescues synaptic and behavioral impairments in Huntington's disease models[J]. Nat Med, 2013, 19(8): 1030-1038.

[6] Zhong WW, Wu A, Berglund K, et al. Pathogenesis of sporadic Alzheimer's disease by deficiency of NMDA receptor subunit GluN3A[J]. Alzheimers Dement, 2022, 18(2): 222-239.

[7] Zhang MM, Kong XR, Chen J, et al. Dysfunction of GluN3A subunit is involved in depression-like behaviors through synaptic deficits [J]. J Affect Disord, 2023, 332: 72-82.

[8] Roberts AC, Díez-García J, Rodriguiz RM, et al. Downregulation of NR3A-containing NMDARs is required for synapse maturation and memory consolidation[J]. Neuron, 2009, 63(3): 342-356.

[9] Henson MA, Roberts AC, Pérez-Otaño I, et al. Influence of the NR3A subunit on NMDA receptor functions[J]. Prog Neurobiol, 2010, 91(1): 23-37.

[10] Salter MG, Fern R. NMDA receptors are expressed in developing oligodendrocyte processes and mediate injury[J]. Nature, 2005, 438(7071): 1167-1171.

[11] Boda E. Myelin and oligodendrocyte lineage cell dysfunctions: new players in the etiology and treatment of depression and stress-related disorders[J]. Eur J Neurosci, 2021, 53(1): 281-297.

[12] Greenberg T, Bertocci MA, Versace A, et al. Depression and anxiety mediate the relationship between frontotemporal white matter integrity and quality of life in distressed young adults[J]. J Psychiatr Res, 2021, 132: 55-59.

[13] Takahashi N, Sakurai T, Davis KL, et al. Linking oligodendrocyte and myelin dysfunction to neurocircuitry abnormalities in schizophrenia [J]. Prog Neurobiol, 2011, 93(1): 13-24.

[14] Mohamad O, Song MK, Wei L, et al. Regulatory roles of the NMDA receptor GluN3A subunit in locomotion, pain perception and cognitive functions in adult mice[J]. J Physiol, 2013, 591(1): 149-168.

[15] Lee JH, Zhang JY, Wei ZZ, et al. Impaired social behaviors and minimized oxytocin signaling of the adult mice deficient in the N-methyl-d-aspartate receptor GluN3A subunit[J]. Exp Neurol, 2018, 305: 1-12.

[16] Lazarov O, Hollands C. Hippocampal neurogenesis: learning to remember[J]. Prog Neurobiol, 2016, 138/139/140: 1-18.

[17] Micu I, Jiang Q, Coderre E, et al. NMDA receptors mediate calcium accumulation in myelin during chemical ischaemia[J]. Nature, 2006, 439(7079): 988-992.

[18] Káradóttir R, Cavelier P, Bergersen LH, et al. NMDA receptors are expressed in oligodendrocytes and activated in ischaemia[J]. Nature, 2005, 438(7071): 1162-1166.

[19] Matute C. Oligodendrocyte NMDA receptors: a novel therapeutic target[J]. Trends Mol Med, 2006, 12(7): 289-292.

[20] Xiu Y, Kong XR, Zhang L, et al. White matter injuries induced by MK-801 in a mouse model of schizophrenia based on NMDA antagonism[J]. Anat Rec, 2014, 297(8): 1498-1507.

[21] Zhou BT, Zhu ZQ, Ransom BR, et al. Oligodendrocyte lineage cells and depression[J]. Mol Psychiatry, 2021, 26: 103-117.

（责任编辑：曾 玲）